

추출 용매를 달리한 생강 추출물에 대한 생리활성의 비교 평가 연구

김소영^{1#}, 최문열¹, 도은주², 김미려^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : (재)대구테크노파크 한방산업지원센터

Comparative evaluation on biological activities of *Ziingiber officinale* Roscoe extracted from different solvents

So Young Kim^{1#}, Moon-Yeol Choi¹, Eun ju Do², Mi Ryeo Kim^{1*}

1 : Department of Herbal Pharmacology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Korea
2 : Daegu Technopark Oriental Medicine Industry Support Center, Daegu, Korea

ABSTRACT

Objective : This study was designed to investigate anti-oxidative, anti-aging and anti-inflammatory activities of *Ziingiber officinale* Roscoe water (ZD) and 50% ethanol extracts (ZE).

Method : The antioxidant capacity of ZD or ZE was analyzed by DPPH, ABTS scavenging activities and reducing power, respectively. The anti-aging efficacy was performed with tyrosinase and collagenase inhibition activities. The anti-inflammatory activities were confirmed through inhibition of nitric oxide production and TNF- α expression in LPS-treated Raw 264.7 cells.

Result : As a result of measuring DPPH and ABTS radical scavenging activities, both ZD and ZE extracts increased in concentration-dependent manners. The ABTS radical scavenging activities of water and 50% ethanol extract were similar to that of positive control at high concentration. On reducing power, both ZD and ZE showed higher activities than the positive control at high concentration. On inhibition activities of tyrosinase and collagenase both ZD and ZE showed the large inhibition rates at low concentration. Also, the inhibitory efficacy of ZD on NO and TNF- α production was better than ZE in RAW 264.7 cells.

Conclusion : These results suggest that ZD and ZE have anti-oxidative, anti-aging and anti-inflammatory effects *in vitro*. Especially, ZD was more effective than ZE. Thus, Ginger extract is considered to be highly useful as a cosmetic or food material with anti-oxidative, anti-aging (prevention of whitening and wrinkle) and anti-inflammatory effects. Also these effects may vary depending on the extraction solvent.

Key words : *Ziingiber officinale* Roscoe, anti-aging, anti-oxidant, anti-inflammation

I. 서 론

우리나라는 다른 나라에 비해 급속한 고령화 사회에 진입하고 있으며, 경제성장 및 생활수준의 향상으로 인해 외적인 아름다움에 대한 관심이 증가하고 있다. 그 중 피부는 인상을 결정짓는 매우 중요한 요소로서 피부상태에 따른 우울함과 스

트레스 등으로 인해 삶의 질이 달라진다는 보고가 있다¹⁾. 피부 노화는 자연적으로 발생하는 내인적 노화와 내인성 형성과 더불어 자외선에 의해 발생하는 광노화(photoaging)로 야기 된다²⁾. 자외선에 의해 피부에 과다하게 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 피부조직을 구성하고 있는 collagen과 elastin 단백질을 산화시켜 피부 손상, 주름 형성 및

*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea.

· Tel : +82-53-770-2361 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : So Young Kim, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea.

· Tel : +82-53-770-2241 · E-mail : un7849@naver.com

· Received : 10 Feb 2021

· Revised : 15 Mar 2021

· Accepted : 25 Mar 2021

피부탄력 저하를 일으킴으로써 피부노화를 촉진 시킨다^{3,4)}. 뿐만 아니라 피부가 자외선에 노출되면 홍반과 같은 염증반응이 일어날 수 있으며, 다양한 종류의 염증 유발인자들이 발현되는데 이 중 cyclo oxygenase-2 (COX-2), inducible nitric oxide synthase (iNOS)는 각각 prostaglandin E2 (PGE2)와 nitric oxide (NO)를 생성하게 되고 더 나아가 염증반응을 매개하는 tumor growth factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 (IL-1) 및 interferon- γ (IFN- γ) 등의 다양한 염증성 인자들의 발현을 도와 피부 염증반응을 촉진 시킨다⁵⁻⁷⁾. 따라서 외부요인에 의한 피부노화를 억제하고 예방하기 위해서 항산화, 항염증 뿐 만 아니라, elastase저해 및 콜라겐 합성을 촉진시키는 다양한 천연 기능성 소재 개발에 많은 관심이 모아지고 있다.

생강(*Zingiber officinale* Roscoe)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로 열대 아시아가 원산지이며, 근경 부위의 독특한 향과 매운맛으로 세계적으로 널리 애용되고 있는 향신료 중 하나이다. 이는 생강 특유의 자극성 맛을 느끼게 해주는 gingerol, shogaol 및 paradols 등의 페놀화합물에 의한 것으로 보인다⁸⁻¹⁰⁾. 한의학에서는 생강의 맵고 따뜻한 성질이 비와 위로 들어가 구토를 멈추는데 중요한 약으로 알려져 있으며, 구풍제 및 소화제 등에도 많이 사용 된다¹¹⁾. 이밖에도 위장관 기능개선 효과¹²⁾, 항균¹³⁾, 항염¹⁴⁾, 항암¹⁵⁾, pancreatic lipase 저해 및 항산화 활성¹⁶⁾, 체내 지질 및 콜레스테롤 저하¹⁷⁻¹⁸⁾ 등 많은 약리작용 등이 보고되어 있다. 이처럼 오랫동안 의약학, 식음료 산업 분야 등에서 널리 사용되고 있고, 항산화 및 항염증 효능의 실험이 보고되어 있지만 핵산 등 산업화에 적용하기가 어려운 용매로 추출된 소재를 많이 사용하였으며, 산업화에 적합한 용매인 열수 또는 50% 에탄올 추출물에 대한 비교 연구는 부족하다. 따라서 본 연구에서는 산업화에 적합한 용매인 열수 또는 50% 에탄올로 추출된 각 추출물의 항산화, 피부 항노화 및 미백 효능과 항염증 효능을 측정함으로써, 화장품 소재 등으로의 산업화에 대한 활용가능성을 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 제조

본 실험에 사용된 안동산 생강 열수 및 50% 에탄올 추출물(이하 ZD 및 ZE)은 (재)대구 테크노파크 한방산업지원센터에서 제공받아 사용하였다. 생강은 경북 안동 농협 파머스 마켓에서 구입하였으며, 생강은 수세 후 두께 3 cm 이하의 절편으로 하여 4℃ 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였으며, 열수 추출은 시료 1 kg와 정제수 18 kg을, 50% 에탄올 추출은 시료 1 kg을 정제수 9 kg, 에탄올 9 l 를 넣어 각각 98℃에서 10시간 추출을 실시하였다. 추출은 경서기계산업(COSMOS-660)추출기를 사용하였으며, 동결건조는 일신랩(PVTFD 10R)기기로 동결건조 하였고, 에탄올은 Prethanol A 99.8%(Duksan)를 사용하였다(수율: 열수-1.026%, 50% 에탄올-0.92%).

1) DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 전자공여능 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 전자공여능 측정은 Blois¹⁹⁾의 방법을 수정하여 측정하였다. DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma)는 0.2 mM로 에탄올에 희석하여 사용하였으며, 양성 대조군은 BHA (Butylated hydroxy-anisole, Sigma)를 0.1 mg/ml로 희석하여 사용하였다. 96 well에 시료를 각각 100 μ l씩 분주한 다음 0.2 mM 농도의 DPPH 시약 50 μ l을 첨가하여 상온에서 10분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radicals scavenging activity(%)는 아래의 식으로 계산하여 나타냈다.

DPPH radicals scavenging activity(%)

$$= 1 - (\text{시료처리구 흡광도} - \text{공시험흡광도} / \text{무처리구 흡광도}) \times 100$$

2) ABTS radical 소거 활성 측정

ABTS 라디칼 소거 활성 측정은 Van den berg 등²⁰⁾의 방법을 수정하여 측정하였다. 7 mM ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzoline-6-sulfonic acid), sigma) 용액과 2.45 mM의 potassium persulfate (sigma)을 혼합하여 실온의 암소 상태에서 약 16시간이상 방치하여 ABTS+을 형성시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 이 되게 증류수로 희석하여 사용하였으며, 양성 대조군은 BHA를 0.1 mg/ml로 희석하여 사용하였다. 96 well에 시료를 각각 50 μ l씩 분주한 다음 희석된 ABTS 용액 100 μ l를 첨가하여 상온에서 5분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다. ABTS radicals scavenging activity(%)는 아래의 식으로 계산하여 나타냈다.

ABTS radicals scavenging activity(%)

$$= 1 - (\text{시료처리구 흡광도} - \text{공시험흡광도} / \text{무처리구 흡광도}) \times 100$$

3) 환원력 측정

96well에 시료를 각 100 μ l씩 분주한 다음 0.2 M Sodium potassium phosphate buffer 및 1% Potassium ferricyanide 100 μ l를 첨가하여 50℃에서 20분 방치하였다. 그 후, 10% Trichloroacetic acid 500 μ l를 가하였다. 위 반응액을 1800 rcf에서 10분간 원심 분리 후 상층액 500 μ l에 증류수 500 μ l 및 0.1% Iron(III) chloride 100 μ l를 가하여 혼합한 뒤, 25℃에서 15분 반응 후에 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군은 BHA를 0.1 mg/ml로 희석하여 사용하였다.

2. 항노화 실험

1) Tyrosinase 활성 억제능 측정

96 well에 시료를 각 20 μ l씩 분주한 다음 125 unit mushroom tyrosinase 40 μ l를 분주하고 0.067 M로 제조한 sodium potassium phosphate buffer 100 μ l과 10 mM 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine 40 μ l를 가하였다. 그 후, 반응액을 37.5℃에서 2분간 반응 후 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 vitamin C (sigma)를 0.1 mg/ml로 희석하여 사용하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨

가군과 무 첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2) Collagenase 활성 억제능 측정

Collagenase 활성 억제 측정법은 Wunsch 등²¹⁾의 방법을 수정하여 측정하였다. 0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl₂를 첨가한 반응완충액 250 μ l에 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg를 0.3 mg/ml 농도로 녹인 기질액 125 μ l과 각 농도 별로 희석한 시료 50 μ l를 혼합하였다. 그 후 혼합액에 Collagenase type-1을 75 μ l를 첨가하여 37°C에서 30분간 방치하여 반응시킨 뒤, 6% citric acid 250 μ l를 넣어 반응을 정지시켰으며, ethyl acetate 1 ml를 첨가하여 혼합하였다. 위 반응액을 안정화시킨 후 상층액 200 μ l를 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 vitamin C (sigma)를 0.1 mg/ml로 희석하여 사용하였다. Collagenase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

3. 항염증 실험

1) 세포 배양

Mouse 유래 macrophage cell line인 RAW 264,7 세포는 ATCC에서 분양받았으며, 10% fetal bovine serum (FBS; Hyclone)과 1% Penicillin/streptomycin (Hyclone) 100 unit/ml가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Hyclone) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator (Thermo)에서 배양하였으며, 2일에 한 번씩 계대 배양을 시행하였다.

2) MTT assay

각 시료의 세포 독성을 알아보기 위해 MTT assay를 사용하여 측정하였다. Raw 264,7 cell을 96well plate에 1×10^5 cells/well로 접종한 뒤 세포 증식을 막기 위해 serum free media로 배양하였다. 24시간 후 추출물을 농도 별로 처리하였다. 추출물 24시간 처리 후, thiazolyl blue tetrazolium bromide (Sigma)를 1 mg/ml의 농도로 200 μ l씩 분주하였다. 4시간 후 시약을 모두 제거 한 뒤, DMSO (Sigma) 200 μ l를 넣어 cell을 녹여낸 뒤 micro reader (Thermo)를 사용하여 560 nm 흡광도로 측정하였다.

3) NO assay

배지 중으로 유리된 NO를 Griess 반응으로 정량하였다. Raw 264,7 cell을 96well plate에 1×10^5 cells/well로 접종한 뒤 24시간 후 LPS 1 μ g/ml 및 시료를 농도별로 동시처리한 후 24시간 후 상층액을 채취하여 상층액 50 μ l에 5% H₃PO₄ (Alfa aesar)가 포함된 1% sulfanilamide (TCI)와 0.1% n-naphtyl ethylenediamine dihydrochloride (Sigma)를 1:1로 혼합한 뒤 50 μ l를 첨가하여 상온에서 10분간 반응시켰다. Micro reader (Thermo)를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 sodium nitrite standard (Sigma)를 사용하여 표준곡선을 작성한 후 나타내었다.

4) TNF- α assay

측정은 배지 중으로 유리된 TNF- α 를 ELSA kit (Bio vision, K-1051-100)을 사용하여 측정하였다. Raw 264,7 cell을 48 well plate에 2×10^5 cells/well로 로 접종한 뒤 24시간 후 LPS 1 μ g/ml 및 시료를 농도별로 동시처리한 후 24시간 후 배양된 상층액 100 μ l를 항체가 첨가된 96 well plate에 분주 후 밀봉하여 37°C에서 90분간 배양하였다. 배양 후 내용물을 제거 한 뒤, anti body diluent buffer로 1:100으로 희석된 biotinylated anti-mouse TNF- α anti body를 100 μ l 분주하여 37°C에서 60분간 다시 배양하였다. 그 후, 0.01 M TBS buffer 300 μ l로 1분 이상 총 3회 세척 해주었다. 세척이 끝난 뒤, avidin-biotin-peroxidase complex 100 μ l를 분주한 뒤 37°C에서 30분간 배양하였다. 배양이 끝난 후, TBS buffer로 세척하였다. TMB 발색제 90 μ l를 넣고 차광하여 37°C에서 20-25분간 마지막으로 배양한 뒤 TMB stop solution 100 μ l를 첨가하여 30분 이내에 micro reader (Thermo)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. TNF- α 함량은 kit에 동봉된 TNF- α standard를 사용하여 표준곡선을 작성한 후 나타내었다.

4. 통계 처리

모든 실험 결과의 통계처리는 SPSS statistics (v. 25.0)을 이용하여 산출되었으며, 각 군 간의 평균차이에 대한 유의성 검정은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하였다. 각 군 간의 차이는 Duncan's multiple range test에 $P < 0.05$ 이상의 수준에서 사후검정을 실시하였으며, mean \pm SD로 표시하였다.

III. 결 과

1. DPPH radical 소거 활성

ZD 및 ZE를 0.1, 0.5, 1 및 5 mg/ml 농도로 처리한 후 DPPH 전자공여능을 측정된 결과, ZD는 각각 $23.36 \pm 0.53\%$, $52.58 \pm 0.21\%$, $60.8 \pm 0.21\%$ 및 $71.72 \pm 2.03\%$ 로 ZE는 각각 $20.54 \pm 0.2\%$, $51.64 \pm 0.2\%$, $61.86 \pm 0.73\%$ 및 $73.01 \pm 0.2\%$ 로 두 추출물 모두 농도 의존적으로 증가하였으며 각 처리 농도군 간에는 통계적 유의성이 있었다. 그리고 처리 농도에 따른 두 추출물은 0.1 mg/ml 처리 농도에서 ZD와 ZE간에 유의적인 차이가 있었으며, BHA 처리군과도 통계적 유의성이 확인되었다(Figure 1).

2. ABTS radical 소거 활성

ABTS 라디칼 소거능은 ZD 및 ZE를 0.1, 0.5, 1 및 5 mg/ml의 농도로 측정된 결과, ZD는 각각 $11.06 \pm 1.22\%$, $39.11 \pm 0.9\%$, $62.03 \pm 0.24\%$ 및 $99.8 \pm 0.13\%$ 로 ZE는 각각 $10.16 \pm 0.13\%$, $35.44 \pm 1.43\%$, $58.67 \pm 0.68\%$ 및 $99.69 \pm 0.07\%$ 로 두 추출법 모두 농도 의존적으로 측정되어 각 처리 농도군 간 유의성이 나타났다. 그리고 ZD 및 ZE 5 mg/ml에서 BHA 처리군과 같은 수준의 소거능을 나타내었다(Figure 2).

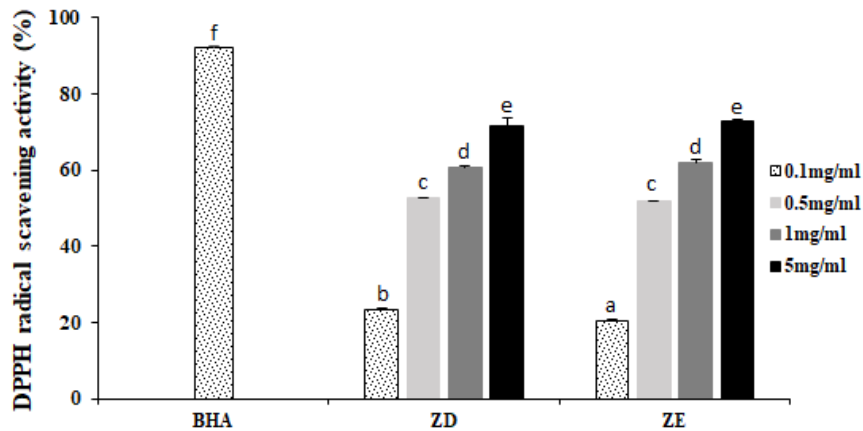


Figure 1. DPPH radical scavenging activities of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe.

Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a–f) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. a, b; 0.1 mg/ml in ZE vs 0.1 mg/ml ZD, a, c; 0.1 mg/ml in ZE vs 0.5 mg/ml in ZE and ZD, a, d; 0.1 mg/ml in ZE vs 1 mg/ml in ZE and ZD, a, e; 0.1 mg/ml in ZE vs 5 mg/ml in ZE and ZD, b, c; 0.1 mg/ml vs 0.5 mg/ml in ZD and ZE, b, d; 0.1 mg/ml vs 1 mg/ml in ZD and ZE, b, e; 0.1 mg/ml vs 5 mg/ml in ZD and ZE, c, d; 0.5 mg/ml in ZD and ZE vs 1 mg/ml in ZD and ZE, d, e; 1 mg/ml in ZD and ZE vs 5 mg/ml in ZD and ZE, e, f; 5 mg/ml in ZD and ZE vs BHA. ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe. ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

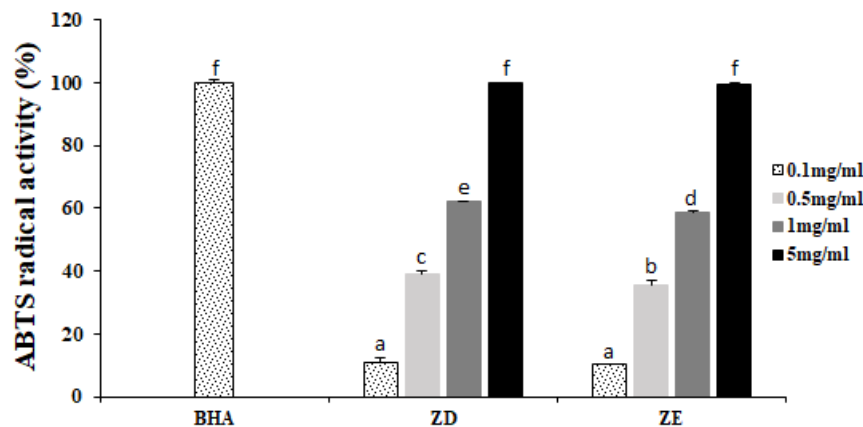


Figure 2. ABTS radical scavenging activities of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe.

Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a–f) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. a, b; 0.1 mg/ml in ZD and ZE vs 0.5 mg/ml in ZE, a, c; 0.1 mg/ml in ZD and ZE vs 0.5 mg/ml in ZD, a, d; 0.1 mg/ml in ZD and ZE vs 1 mg/ml in ZE, a, e; 0.1 mg/ml in ZD and ZE vs 1 mg/ml in ZD, a, f; 0.1 mg/ml in ZD and ZE vs 5 mg/ml in ZD and ZE vs BHA, b, c; 0.5 mg/ml in ZE vs 0.5 mg/ml in ZD, b, d; 0.5 mg/ml vs 1 mg/ml in ZE, b, e; 0.5 mg/ml in ZE vs 1 mg/ml in ZD, b, f; 0.5 mg/ml in ZE vs 5 mg/ml in ZD and ZE vs BHA, c, d; 0.5 mg/ml in ZD vs 1 mg/ml in ZE, c, e; 0.5 mg/ml vs 1 mg/ml in ZD, c, f; 0.5 mg/ml in ZD vs 5 mg/ml in ZD and ZE vs BHA, d, e; 1 mg/ml in ZE vs 1 mg/ml in ZD, d, f; 1 mg/ml in ZE vs 5 mg/ml in ZD and ZE vs BHA, e, f; 1 mg/ml in ZD vs 5 mg/ml in ZD and ZE vs BHA. ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe. ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

3. 환원력 측정

ZD 및 ZE를 각각 0.5, 0.1, 1 및 5 mg/ml의 농도로 처리한 후 환원력을 측정할 결과, ZD는 각각 $1.77 \pm 0.00\%$, $5.78 \pm 0.00\%$, $11.22 \pm 0.00\%$ 및 $44.38 \pm 0.00\%$ 로 ZE는 각각 $3.14 \pm 1.18\%$, $7.67 \pm 0.00\%$, $12.89 \pm 0.00\%$ 및 $44.82 \pm 0.38\%$ 로 농도 의존적으로 나타났으며, 양성대조군에 비해 두 추출물 모두 5 mg/ml에서 유의적으로 우수한 환원력을 가지고 있는 것으로 나타났다(Figure 3).

4. Tyrosinase 활성 억제

ZD 및 ZE를 0.1, 0.5, 1 및 5 mg/ml 농도로 처리하고 tyrosinase 활성 억제를 측정할 결과, 양성대조군에 비해 ZD는 각각 $77.68 \pm 0.62\%$, $75.17 \pm 0.00\%$, $73.37 \pm 0.62\%$ 및 $70.13 \pm 0.62\%$ 로, ZE는 각각 $75.53 \pm 0.62\%$, $74.81 \pm 0.62\%$, $74.81 \pm 0.62\%$ 및 $70.49 \pm 0.62\%$ 로 ZD군의 경우 각 농도별로 유의성이 나타났으며, ZE군은 고농도인 5 mg/ml 농도를 제외한 나머지 농도에서 유의성이 나타나 저농도 일수록 억제율이 증가함을 나타냈다. 또한 Vitamin C군과도 통계적 유의성이 확인되었다(Figure 4).

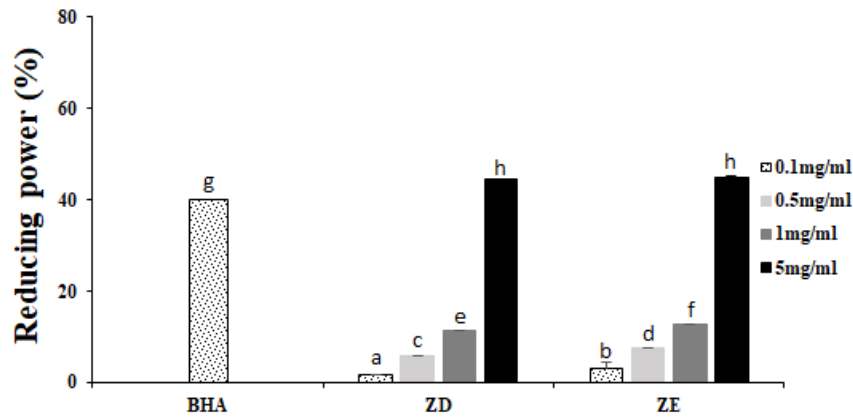


Figure 3. Reducing power of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe. Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a–h) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. a, b; 0.1 mg/ml in ZD vs 0.1 mg/ml ZE, a, c; 0.1 mg/ml vs 0.5 mg/ml in ZD, a, d; 0.1 mg/ml in ZD vs 0.5 mg/ml in ZE, a, e; 0.1 mg/ml vs 1 mg/ml in ZD, a, f; 0.1 mg/ml in ZD vs 1 mg/ml in ZE, a, g; 0.1 mg/ml in ZD vs BHA, a, h; 0.1 mg/ml in ZD vs 5 mg/ml in ZD and ZE, b, c; 0.1 mg/ml in ZE vs 0.5 mg/ml in ZD, b, d; 0.1 mg/ml vs 0.5 mg/ml in ZE, b, e; 0.5 mg/ml in ZE vs 1 mg/ml in ZD, b, f; 0.5 mg/ml vs 1 mg/ml in ZE, b, g; 0.1 mg/ml in ZE vs BHA, b, h; 0.1 mg/ml in ZE vs 5 mg/ml ZD and ZE, c, d; 0.5 mg/ml in ZD vs 0.5 mg/ml in ZE, c, e; 0.5 mg/ml vs 1 mg/ml in ZD, c, f; 0.5 mg/ml in ZD vs 1 mg/ml in ZE, c, g; 0.5 mg/ml in ZD vs BHA, c, h; 0.5 mg/ml in ZD vs 5 mg/ml ZD and ZE, d, e; 0.5 mg/ml in ZE vs 1 mg/ml in ZD, d, f; 0.5 mg/ml vs 1 mg/ml in ZE, d, g; 0.5 mg/ml in ZE vs BHA, e, f; 1 mg/ml in ZD vs 1 mg/ml in ZE, e, g; 1 mg/ml in ZD vs BHA, e, h; 1 mg/ml in ZD vs 5 mg/ml ZD and ZE, f, g; 1 mg/ml in ZE vs BHA, f, h; 1 mg/ml in ZE vs 5 mg/ml in ZD and ZE, ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe, ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

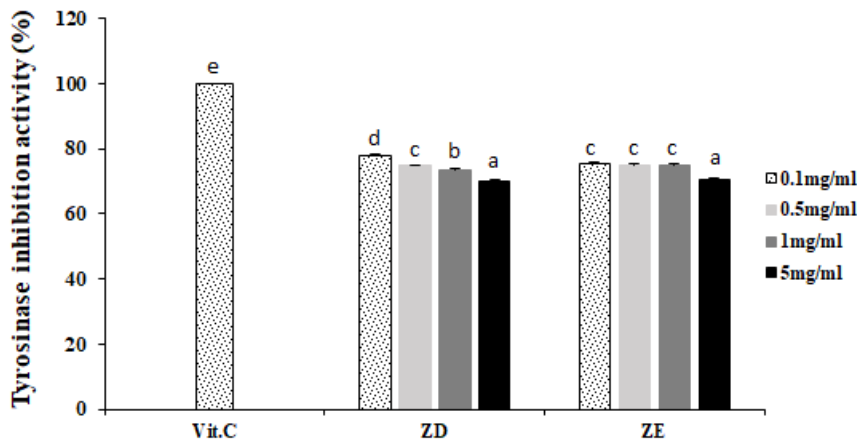


Figure 4. Tyrosinase inhibition activities of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe. Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a–e) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. a, b; 5 mg/ml in ZD and ZE vs 1 mg/ml ZD, a, c; 5 mg/ml in ZD and ZE vs 0.5 mg/ml in ZD and 0.1–1 mg/ml in ZE, a, d; 5 mg/ml in ZD and ZE vs 0.1 mg/ml in ZD, a, e; 5 mg/ml in ZD and ZE vs Vit.C, b, c; 1 mg/ml in ZD vs 0.5 mg/ml in ZD and 0.1–1 mg/ml in ZE, b, d; 1 mg/ml vs 0.1 mg/ml in ZD, b, e; 0.1 mg/ml in ZD vs Vit.C, c, d; 0.5 mg/ml in ZD and 0.1–1 mg/ml in ZE vs 0.5 mg/ml in ZD, d, e; 0.1 mg/ml in ZD vs Vit.C, ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe, ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

5. Collagenase 억제 활성

ZD 및 ZE를 0.1, 0.5, 1 및 5 mg/ml 농도로 처리하고 collagenase 억제 활성을 측정한 결과, 양성대조군에 비해 ZD는 각각 $82.84 \pm 3.32\%$, $81.77 \pm 1.89\%$, $82.78 \pm 0.93\%$ 및 $80.51 \pm 1.71\%$ 로 군 간 유의성은 나타나지 않았으며, ZE는 각각 $74.61 \pm 0.5\%$, $83.28 \pm 0.5\%$, $84.79 \pm 0.38\%$ 및 $85.1 \pm 3.82\%$ 로 농도 의존적으로 나타나지는 않았으나, 고농도로 갈수록 억제율이 증가하는 경향이 나타났으며, Vitamin C군과도 통계적 유의성을 확인하였다(Figure 5).

6. 세포 독성 확인

ZD를 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1 mg/ml로 처리한 결과, 각각 $116.64 \pm 4.36\%$, $113.96 \pm 3.11\%$, $113.39 \pm 1.14\%$, $110.76 \pm 5.12\%$, 108.49 ± 4.35 및 $107.23 \pm 4.24\%$ 의 세포 생존율을 보임으로써, 모든 처리 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았다. ZE의 경우 각각 $128.89 \pm 4.02\%$, $121.92 \pm 0.69\%$, $118.39 \pm 0.52\%$, $113.37 \pm 4.87\%$, 106.91 ± 2.51 및 $98.56 \pm 3.08\%$ 로 모든 농도에서 세포 독성이 나타나지 않았다(Figure 6.a,b).

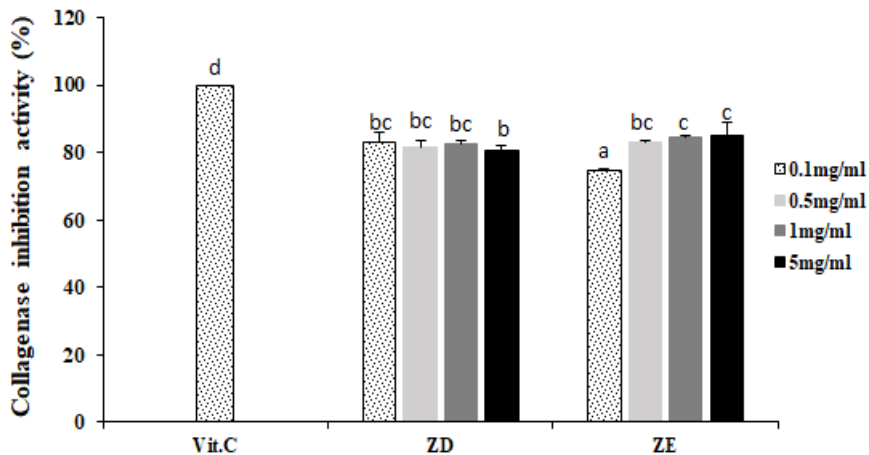


Figure 5. Collagenase inhibition activities of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe. Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a–d) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test, a, b; 0.1 mg/ml in ZE vs 5 mg/ml ZD, a, bc; 0.1 mg/ml in ZE vs 0.1–1 mg/ml in ZD and 0.5 mg/ml in ZE, a, c; 0.1 mg/ml vs 1–5 mg/ml in ZE, a, d; 0.1 mg/ml in ZE vs Vit.C, b, c; 5 mg/ml in ZD vs 1–5 mg/ml in ZE, b, d; 5 mg/ml in ZD vs Vit.C, ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe, ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

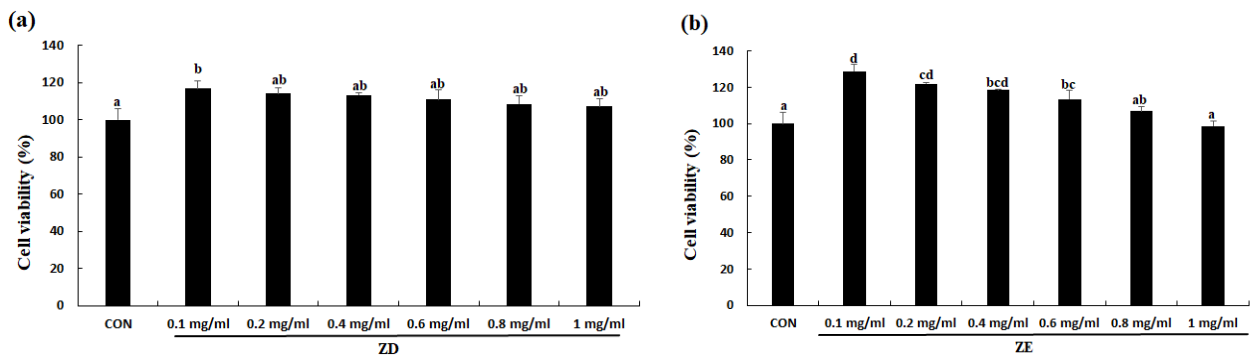


Figure 6. Cytotoxicity of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Rosc. in Raw 264.7 cells. (a) : water extracts from *Zingiber officinale* Rosc. (b) : 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Rosc. Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a–d) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. (a) : a, b; control vs 0.1 mg/ml in ZD (b) : a, d; control and 1 mg/ml in ZE vs 0.1 mg/ml in ZE, a, cd; control and 1 mg/ml in ZE vs 0.2 mg/ml in ZE, a, bcd; control and 1 mg/ml in ZE vs 0.4 mg/ml in ZE, a, bc; control and 1 mg/ml in ZE vs 0.6 mg/ml in ZE, ab, cd; 0.8 mg/ml vs 0.2 mg/ml in ZE, ab, d; 0.8 mg/ml vs 0.1 mg/ml in ZE bc, d; 0.6 mg/ml vs 0.1 mg in ZE, d, ab; 0.1 mg/ml vs 0.8 mg/ml in ZE.

7. NO (Nitric oxide) 저해능 확인

Raw 264.7 세포에 세균 유래의 LPS를 처리하여 자극하였을 때, ZD 및 ZE가 NO의 생성을 저해하는지 알아보고자 하였으며, 그 결과는 Figure 7.에 나타내었다, RAW 264.7 세포에 LPS 1 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리한 결과, 대조군에 비해 약 10배 높게 NO 발현을 증가시켰으며, ZD 및 ZE군 또한 0.1, 0.25 및 0.5 mg/ml 농도에서 ZD군 각 2.44 ± 0.11 , 1.48 ± 0.22 및 $1.42 \pm 0.23 \mu\text{M}$ 로 나타났으며, ZE군은 각 3.12 ± 0.29 , 2.83 ± 0.38 및 $2.76 \pm 0.45 \mu\text{M}$ 로 ZD 및 ZE군 모두 LPS에 비해 유의적인 NO저해능이 나타났다(Figure 7).

8. TNF- α 억제 확인

ZD 및 ZE의 항염증 효과를 확인하기 위하여 LPS에 의해 활성화된 RAW 264.7 세포에서 염증성 cytokine인 TNF- α 를 측정하였다. Raw 264.7 세포에 LPS 1 $\mu\text{g/ml}$ 을 처리한 결과, 대조군에 비해 약 200배 높게 TNF- α 생성을 증가시켰으며, ZD 및 ZE군 또한 0.1, 0.25 및 0.5 mg/ml 농도에서 ZD군은 각각 138.51 ± 5.78 , 144.88 ± 3.21 및 $133.74 \pm 4.18 \text{ pg/ml}$ 로 군 간 유의성은 보이지 않았으며, ZE군은 각 171.02 ± 3.53 , 179.43 ± 5.14 및 $128.74 \pm 8.03 \text{ pg/ml}$ 로 5 mg/ml 농도에서 크게 TNF- α 생성을 억제하였다. 또한 ZD 및 ZE군 모두 LPS에 비해 유의적으로 TNF- α 생성을 억제하였다(Figure 8).

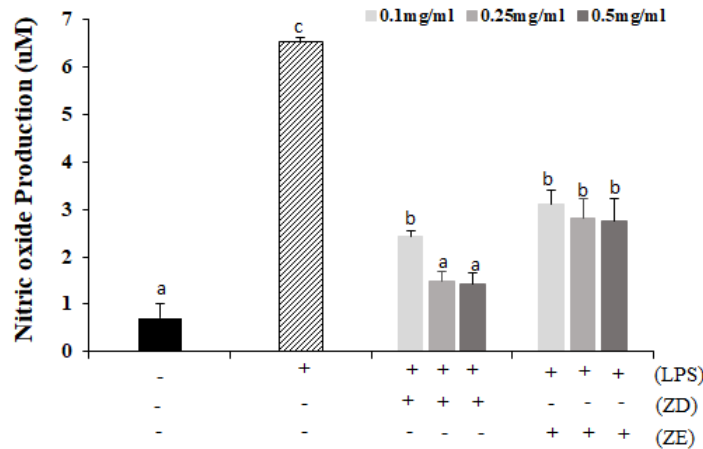


Figure 7. Inhibitory effect of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe, on the production of nitric oxide in RAW 264.7 cells with LPS. Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a-c) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. a, b; control and 0.25-0.5 mg/ml in ZD vs 0.1 mg/ml in ZD and 0.1-0.5 mg/ml in ZE, a, c; control and 0.25-0.5 mg/ml in ZD vs LPS, b, c; 0.1 mg/ml in ZD and 0.1-0.5 mg/ml in ZE vs LPS, ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe, ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

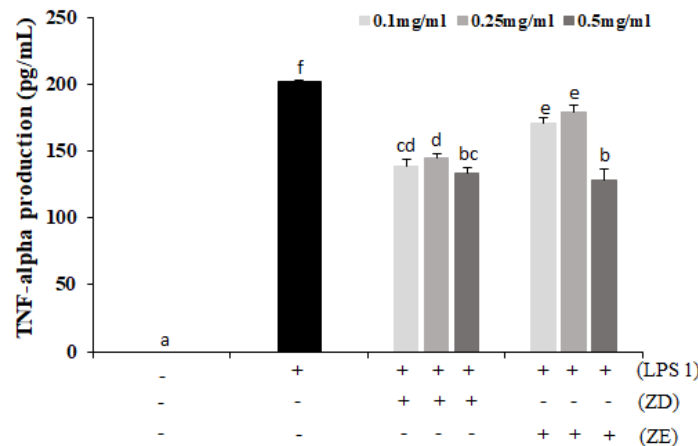


Figure 8. Inhibitory effect of water and 50% ethanol extracts from *Zingiber officinale* Roscoe, on the production of TNF- α in RAW 264.7 cells with LPS. Data are presented as mean \pm SD. (n=3). Values that do not share common letters (a-f) between each treatment groups indicate a significant difference in $p < 0.05$ by Duncan's multi-range test. a, b; control vs 0.5 mg/ml in ZD and ZE, a, bc; control vs 0.5 mg/ml in ZD, a, c; control vs 0.1, 0.5 mg/ml in ZD, a, cd; control vs 0.1 mg/ml in ZD, a, d; control vs 0.1-0.25 mg/ml in ZD, a, e; control vs 0.1-0.25 mg/ml in ZE, a, f; control vs LPS, b, cd; 0.5 mg/ml in ZE vs 0.1 mg/ml in ZD, b, d; 0.5 mg/ml in ZE vs 0.1-0.25 mg/ml in ZD, b, e; 0.5 mg/ml vs 0.1-0.25 mg/ml in ZE, b, f; 0.5 mg/ml in ZE vs LPS, bc, e; 0.5 mg/ml in ZD vs 0.1-0.25 mg/ml in ZE, bc, f; 0.5 mg/ml in ZD vs LPS, cd, e; 0.1 mg/ml in ZD vs 0.1-0.25 mg/ml in ZE, cd, f; 0.1 mg/ml in ZD vs LPS, d, e; 0.25 mg/ml in ZD vs 0.1-0.25 mg/ml in ZE, d, f; 0.25 mg/ml in ZD vs LPS, e, f; 0.1-0.25 mg/ml in ZE vs LPS, ZD ; Distilled water extract of *Zingiber officinale* Roscoe, ZE ; 50% Ethanol extract of *Zingiber officinale* Roscoe.

IV. 고 찰

생강은 예로부터 오랫동안의 의약학, 식음료 산업 분야 등에서 널리 사용되고 있으며, 항산화 및 항염증 효능에 대한 실험이 다양하게 연구되어지고 있다. 따라서 생강을 산업화하기 용이한 열수 및 50% 에탄올로 용매 별로 추출하고, 각 추출물에 대한 항산화, 항주름 및 미백 효능을 비교하였으며, Raw 264.7 세포에서 항염증 효능을 측정 및 비교하여 화장품 소재로서의 활용가능성을 검토하였다. 본 연구의 생강 열수 및 50% 에탄올 추출물의 수율은 각각 1.026% 및 0.92%로 낮게 나타

났으나 Lee 등²⁶⁾의 연구에서 생강을 부위별로 메탄올 추출을 하였을 때 뿌리의 수율이 가장 낮게 나타났으며, 이는 섬유질과 전분 함량이 높기 때문이라 보고되었다.

항산화 효능을 측정하기 위한 분광광도법은 다양한 방법이 있으며, 그 중 DPPH, ABTS 및 환원력은 가장 흔히 쓰이는 방법들이다. 이들은 생체 외(in vitro) 실험방법으로 빠르고 간단하게 다양한 시료들의 항산화능을 간접적으로 screening 할 수 있기에 널리 이용되고 있다²²⁾. DPPH 및 ABTS는 안정된 free radical로 항산화 물질에 의해 환원되어 특유의 색이 탈색되는 원리로 분석하는 방법이다. DPPH는 짙은 보라색이

탈색되며, 폐놀성 및 방향성 아민 화합물이 많이 함유된 시료에서 항산화 활성 측정에 사용된다²³⁻²⁴. ABTS는 특유의 청록색이 peroxy radical이나 산화제에 의해 양이온 radical로 산화되며, 극성 및 비극성 물질의 항산화 측정이 모두 가능하다. 따라서 DPPH 분석법에 비해 다양한 시료에 이용가능하며, 더 민감하게 항산화 활성을 측정할 수 있다²⁵. 본 연구의 ZD 및 ZE의 DPPH 및 ABTS 결과 각각 농도 의존적으로 비슷한 항산화 활성을 나타내었다. Guon 등²⁶은 생강의 70% 에탄올 추출물이 0.1, 0.2, 0.8 및 1 mg/ml의 처리 농도에서 각각 1.9%, 7.0%, 23.5% 및 27.5% DPPH 라디칼 소거 활성을 보였으며, ABTS 라디칼 소거 활성은 각각 8.4%, 10.6%, 22.6% 및 27.5%라고 보고 하였다. 본 연구의 시료인 ZD 및 ZE는 모든 처리 농도에서 Guon 등²⁶의 연구에서 사용한 70%에탄올 생강 추출물 보다 더 우수한 활성을 보였다. 한편, Jeya 등²⁷의 연구에서는 생강을 물과 함께 분쇄하여 여과한 물 추출물을 사용하였는데, 0.5%, 1% 및 5% 농도에서 DPPH 활성이 각 5.92%, 9.25% 및 35.31%로서, 본 연구에서 사용한 열수 추출물의 DPPH 억제 활성이 더 우수하게 나타났다. 이는 장시간 고온 추출로 얻어진 본 연구 시료와의 유효성분에 대한 추출률의 차이에 기인한 것으로 보여 진다. DPPH 및 ABTS 활성은 시료의 폐놀화합물의 함유량과 밀접한 관계가 있다고 보고되어 있으며²⁸, 본 연구에서는 시료의 폴리페놀 함량을 측정하지 않았으나 Shirin 등²⁹은 열수, 80%메탄올 및 80% 에탄올 등 다양한 용매에서 추출한 생강의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 각 840 mg/100g, 780 mg/100g 및 800 mg/100g으로 열수 추출물에서 가장 높게 나타났다고 보고하였다. 환원력은 시료가 수소 원자를 공여하여 free radical chain reaction을 중단시킴으로써 시료의 잠재적 항산화 활성의 중요한 지표를 제공 한다³⁰. ZD 및 ZE의 환원력 실험 결과, 두 추출물 모두에서 농도 의존적으로 나타났으며, 환원력은 두 추출물 모두 비슷한 수준으로 나타났다. 특히 5 mg/ml 농도에서 양성대조군인 BHA 0.1 mg/ml 보다 유의적으로 더 우수한 환원력이 나타났다. 이러한 생강의 항산화능은 Jung 외³¹, Lee 외³², Ali 외³³ 등 보고와 같이 다양한 폐놀 및 플라보노이드 화합물과 6-gingerol, 6-shogaol 등 진저롤류를 함유하고 있기 때문인 것으로 사료된다.

피부와 모발의 주요 색소인 melanin은 melanosome 내의 melanocyte에 의해 합성되며, 자외선에 의해 피부에 멜라닌이 과잉 생산되고 축적되어 기미, 주근깨, 검버섯 등을 발생 시킨다³⁴. Melanin의 생성 과정 중 tyrosinase는 L-tyrosine이 L-DOPA로 수산화 전환되고, DOPA quinone 및 DOPA chrome으로 더 산화되는 속도 제한 단계의 핵심 효소이므로 tyrosinase 활성을 저해하는 것은 피부의 노화방지에 있어 중요하다³⁵. 본 실험결과 ZD 및 ZE 모두 저농도에서 높은 tyrosinase 저해활성이 나타났으며, 0.1 mg/ml 농도에서는 ZD가 ZE 보다 유의적으로 우수한 tyrosinase 저해활성이 나타났다. Lee의 연구³⁵에서 수증기 추출법으로 추출한 생강 오일을 B16F10세포에 처리하고 melanin 함량을 측정한 결과 매우 강력한 멜라닌 분해 효능이 나타났다고 보고하였는데, 본 연구에서도 ZD 및 ZE가 높은 tyrosinase 저해활성을 나타냈으므로 우수한 미백효능이 있을 것으로 판단된다.

Collagen 섬유는 진피층 속 섬유아세포로부터 생성되는

섬유상의 기질 단백질로 진피에서 약 75%를 차지하며, 주로 type I 및 III collagen이 넓은 범위의 세포 외 기질을 형성함으로써, elastin과 함께 피부의 탄력 및 주름을 예방하는데 중요한 역할을 담당하고 있다³⁶⁻³⁸. 자외선 및 산화스트레스에 의한 진피에서 세포 외 기질 파괴는 collagenase에 의해 collagen이 분해되어 주름이 생기게 된다³⁹. 따라서 collagenase의 활성을 억제하는 것이 주름생성을 억제할 수 있다. 본 실험결과 ZD 및 ZE 모두 저농도에서 높은 collagenase 저해활성이 나타났으며 ZD가 ZE보다 유의적으로 우수한 collagenase 저해효과를 보였다. 이와 관련된 연구로 생강 7% 추출물은 고기 패티에 처리 시 콜라겐 용해도, 육즙 및 부드러움 이 크게 증가되었으며, 버거 패티의 지질 안정성을 향상시켰다고 보고된 바 있다⁴⁰.

염증은 암, 심혈관 및 신경 질환을 포함하여 노화와 관련된 다양한 질병과 관련이 있다. 대식세포는 침입하는 병원체를 인식하고 적절한 면역 반응을 높이는 데 중요하며, lipopolysaccharide (LPS) 또는 interferon gamma (IFN γ) 등의 자극에 의해 활성화되면 대식세포는 nitric oxide (NO)와 사이토카인을 포함한 다양한 매개체를 분비 한다⁴¹. NO는 inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의해 합성되며, 염증에 여러 가지 조절 효과를 나타내며 면역 반응 조절에 중요한 역할을 한다⁴². 활성화된 대식세포에 의해 상향 조절되는 주요 사이토카인 중 하나인 tumor necrosis factor (TNF)는 TNF- α 및 TNF- β 의 두 가지 주요 형태가 있으며, 그 중 TNF- α 는 세포의 자유 라디칼 양을 증가시켜 결과적으로 세포의 세포 사멸을 자극 한다⁴³. 따라서 염증 억제 및 이러한 염증 매개체의 형성을 억제시키는 것에 대한 많은 연구가 보고 되어 있으며, 폴리페놀 화합물이 효과가 있음이 보고되었다⁴⁴. 본 연구에서 마우스 대식세포인 Raw 264.7 세포에서 ZD 및 ZE을 0.1 ~ 1 mg/ml 농도 범위에서 세포독성을 측정한 결과 모든 농도에서 세포독성이 나타나지 않았다. Mustafa 등⁴⁵의 연구결과 Raw 264.7 세포에서 건조 생강의 세포독성이 나타나지 않았다. 이는 본 실험의 결과와 마찬가지로 식품으로 널리 이용되는 생강의 안정성 때문으로 사료된다. LPS 1 μ g/ml로 자극된 Raw 264.7 세포에서 NO 및 TNF- α 억제능 측정 결과 ZD 및 ZE 모두 농도 의존적으로 NO 생성을 억제하였으며, LPS에 비해 유의적인 억제력을 보였다. 추출용매를 달리한 조건에서는 ZD에서 ZE 보다 유의적으로 우수한 NO 저해능을 보였다. TNF- α 결과에서도 ZD 및 ZE 모두 LPS에 비해 유의적인 억제력을 보였으며, ZD에서 ZE 보다 유의적으로 우수하게 TNF- α 생성을 억제하였다. Oh⁴⁶는 정향 물 추출물이 70% 에탄올 추출물에 비해 NO 생성억제 활성이 높게 나타났으며, 이는 추출용매에 따라 NO 생성 억제 활성에 영향을 미치는 것으로 사료된다고 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과 또한 추출용매에 따라 항염증 활성에 영향을 미친 것으로 사료된다. Kim 등⁴⁷은 생강의 주성분인 6-Shogaol이 Raw 264.7 세포에서 NF- κ B 활성화를 통해 COX-2의 발현을 억제시켰다고 보고하였으며, Lee 등⁴⁸ 또한 6-Shogaol이 UVA에 의해 손상된 인간 진피 섬유아세포에서 NF- κ B의 promoter 활성을 억제함으로써 염증물질의 발현을 억제시켰다고 보고하였다. 이 밖에도 LPS가 처리된 정상 세포와 염증 유발 동물 모델에서 6-Shogaol의 TNF- α , NO, COX-2 및 iNOS 발현 억제에 대한 연구가 보

고되었다⁴⁹⁾. 따라서 생강 추출물의 항염증 효능은 생강 추출물에 함유된 6-Shogaol에 의한 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 고농도 생강 추출물의 항산화 효능은 양성대조군과 비슷한 저해효과를 보였으며, 미백 효능을 반영하는 tyrosinase 저해활성도는 저농도에서 효능이 높게 나타났다. 또한, collagenase 저해활성에서는 모든 농도에서 저해활성이 높게 나타난 것을 알 수 있었다. 항염증 실험의 결과, 생강 추출물 모두 대조군에 비해 유의적으로 염증반응 시 생성되는 nitric oxide 및 염증인자인 TNF- α 생성을 유의적으로 억제시킨 것으로 나타났다. 항산화, 항노화 및 항염증 실험에서 추출 용매별로 비교하였을 때 항산화 및 항노화 활성은 두 추출물 모두 비슷한 효능이 나타났으며, 항염증 활성은 50%에탄올 추출물 보다 열수 추출물의 효능이 더 우수한 것으로 나타났다. 위의 결과를 바탕으로, 생강 열수 및 50%에탄올 추출물 모두 항산화, 항노화 및 항염증 효능을 가진 소재로서 활용도 높게 화장품이나 식품에 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

IV. 결 론

본 연구에서는 생강 (*Zingiber officinale* Roscoe)의 추출 용매에 따른 항산화, 항노화 및 항염증 활성을 확인하기 위해 실험을 진행하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DPPH 및 ABTS radical 소거 활성을 측정한 결과, ZD 및 ZE 추출물 모두 농도 의존적으로 증가하였으며, 특히 ABTS radical 소거 활성 측정결과 ZD 및 ZE는 5 mg/ml 농도에서 양성대조군과 비슷한 소거능을 나타냈다.
2. 환원력을 측정한 결과, ZD 및 ZE 추출물 모두 농도 의존적으로 환원력이 증가하였으며, 5 mg/ml에서 추출 용매에 상관없이 양성대조군 보다 유의한 결과를 나타냈다.
3. Tyrosinase 및 Collagenase 활성 억제능을 측정한 결과, 두 추출물 모두 고농도보다 저농도일 경우에 더 높은 억제률이 나타났다.
4. NO (Nitric oxide) 측정 결과, 두 추출물 모두 LPS에 비해 유의적으로 NO 생성을 저해시켰으며, 추출 용매의 비교 시 ZE에 비해 ZD에서 효능이 더 우수하게 나타났다.
5. TNF- α 측정 결과, 두 추출물 모두 LPS에 비해 유의적으로 TNF- α 생성을 억제시켰으며, 추출 용매의 비교 시 ZE에 비해 ZD에서 효능이 더 우수하게 나타났다.

References

1. Kim MS. A study on the effects of depression caused by skin condition on life stress and quality of life. *J Kor Soc Cosm*, 2017 ; 23(4) : 739-52.
2. Seo JY, Cho KH, Eun HC, Chung JH. Skin aging from phenotype to mechanism. *Ko. J. Invest. Dermatol*, 2001 ; 8(4) : 187-94.
3. Edwin DL. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects via biochemical and molecular mechanisms. *Ageing Res Rev*, 2016 ; 31 : 36-54.
4. Rossetti D, Kielmanowicz MG, Vigodman S, Hu YP, Chen N, Nkengne A, Oddos T, Fischer D, Seiberg M, Lin CB. A novel anti-ageing mechanism for retinol: induction of dermal elastin synthesis and elastin fibre formation. *Int J Cosmet Sci*, 2011 ; 33 : 62-9.
5. Gonzaga ER. Role of UV light in photoaging, skin aging, and skin cancer. *Am. J. Clin. Dermatol*, 2009 ; 10(1) : 19-24.
6. Fischer SM, Pavone A, Mikulec C, Langenbach R, Rundhaug JE. Cyclooxygenase-2 expression is critical for chronic UV-induced murine skin carcinogenesis. *Mol Carcinog*, 2007 ; 46(5) : 363-71.
7. Chun KS, Cha HH, Shin JW, Na H., Park KK, Chung WY, Surh YJ. Nitric oxide induces expression of cyclooxygenase-2 in mouse skin through activation of NF- κ B. *Carcinogenesis*, 2004 ; 25(3) : 445-54.
8. Kim JS, Koh MS, Kim YH, Kim MK, Hong JS. Volatile flavor components of korean ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Korean J Food Sci Technol*, 1991 ; 23 : 141-9.
9. Mao QQ, Xu XY, Cao SY, Gan RY, Corke H, Beta T, Li HB. Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber ocinale* Roscoe). *Foods*, 2019 ; 8(6) : 1-21.
10. Connell DW. The chemistry of the essential oil and oleoresin of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Flavour Industry*, 1970 ; 1 : 677-93.
11. Yang WK, Jung CS, Jung KW, Kim JW, Lee EB. Antigastric and antiulcerative action of the extract of *Zingiberis Rhizoma*. *Yakhak Hoeji*, 1992 ; 36 : 173-79.
12. Yamahara J, Huang Q, Li Y, Xu L, Fujimura H. Gastrointestinal motility enhancing effect of ginger and its active constituents. *Chem Pharm Bull*, 1990 ; 38(2) : 430-1.
13. Sheo HJ. The antibacterial action of garlic, onion, ginger and red pepper juice. *J Kor Soc Food Sci Nutr*, 1999 ; 28 : 94-9.
14. Ali AMA, El-Nour MEM, Mohammad O, Yagi SM. In vitro anti-inflammatory activity of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) rhizome, callus and callus treated with some elicitors. *J Med Plants Res*, 2019 ; 13(10) : 227-35.
15. Shukla Y, Singh M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food Chem Toxicol*, 2007 ; 45(5) : 683-90.

16. Bae JS, Kim TH, Pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activities of *Zingiber officinale* extracts. *Kor J Food Preserv.* 2011 ; 18(3) : 390–6.
17. Ebrahimzadeh Attari V, Malek Mahdavi A, Javadivala Z, Mahluji S, Zununi Vahed S, Ostadrahimi A. A systematic review of the anti-obesity and weight lowering effect of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and its mechanisms of action. *Phytother Res.* 2018 ; 32(4) : 577–85.
18. Fuhrman B, Rosenblat M, Hayek T, Coleman R, Aviram M. Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. *J Nutr.* 2000 ; 130(5) : 1124–31.
19. Blois MS, Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature.* 1958 ; 191 : 1199–200.
20. Van den Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A, Applicability of an improved trolox equivalent anti-oxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* 1999 ; 66 : 511–7.
21. Wunsch E, Heidrich HG, Quantitativen bestimmung der collagenase. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem.* 1963 ; 333(1) : 149–51.
22. Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun O.K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compost Anal.* 2011 ; 24(7) : 1043–8.
23. Shi J, Gong J, Liu J, Wu X, Zhang Y. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. *LWT-Food Sci Technol.* 2009 ; 42 : 477–82.
24. Awika JM, Rooney LW, Wu X, Prior RL, Cineros-Zevallos L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J Agric Food Chem.* 2003 ; 51 : 6657–62.
25. Fellegrini N, Roberta K, Yang M, Rice-Evans C. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation de-colorization assay. *Method Enzymol.* 1999 ; 299 : 379–89.
26. Guon TE, Chung SH. Effect of *Zingiber officinale* Roscoe extract on antioxidant and apoptosis in A2058 human melanoma cells. *J East Asian Soc Diet Life.* 2016 ; 26(3) : 207–14.
27. Kumari JA, Venkateshwarlu G, Choukse MK, Anandan R. Effect of essential oil and aqueous extract of ginger (*Zingiber officinale*) on oxidative stability of fish oil-in-water emulsion. *J Food Process Technol.* 2014 ; 6 : 412–6.
28. Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 2011 ; 40(1) : 29–36.
29. Shirin AP, Prakash J. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *J Med Plants Res.* 2010 ; 24(4) : 2674–9.
30. Kim MJ, Park EJ. Feature analysis of different *in vitro* antioxidant capacity assays and their application to fruit and vegetable samples. *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 2011 ; 40(7) : 1053–62.
31. Jung YS, Park SJ, Park JH, Jhee KH, Lee IS, Yang SA. Effects of ethanol extracts from *Zingiber officinale* Rosc., *Curcuma longa* L., and *Curcuma aromatica* Salisb. on acetylcholinesterase and antioxidant activities as well as GABA contents. *Kor Soc Food Sci Nutr.* 2012 ; 41(10) : 1395–401.
32. Lee BS, Ko MS, Kim HJ, Kwak IS, Kim DH, Chung BW. Separation of 6-gingerol from ginger [*Zingiber officinale* Roscoe] and antioxidative activity. *KSBB Journal.* 2006 ; 21(6) : 484–8.
33. Ali BH, Blunden G, Tanira MO, Nemmar A. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food Chem Toxicol.* 2008 ; 46(2) : 409–20.
34. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev.* 2004 ; 84(4) : 1155–228.
35. Iwata M, Corn T, Iwata S, Everett MA, Fuller BB. The relationship between tyrosinase activity and skin color in human foreskins. *J Invest Dermatol.* 1990 ; 95(1) : 9–15.
36. Lee SM. A study on volatile flavor component analysis of ginger essential oil, and its whitening and antibacterial effects. *KSCC.* 2019 ; 9(3) : 429–39.
37. Park KJ, Park SH, Kim JK. Anti-wrinkle activity of *Acanthopanax senticosus* extract in Ultraviolet B (UVB)-induced photoaging. *J Kor Soc Food Sci Nutr.* 2010 ; 39 : 42–6.
38. Oishi Y, Fu ZW, Ohnuki Y, Kato H, Noguchi T. Molecular basis of the alteration in skin collagen metabolism in response to *in vivo* dexamethasone treatment: effects on the synthesis of collagen type I and III, collagenase, and tissue inhibitors of metalloproteinases. *Br J Dermatol.* 2002 ; 147(5) : 859–68.
39. Yoon Y, Bae S, An S, Choe Y, Ahn K, An I. Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways. *Kor J Aesthet Cosmetol.* 2013

- : 11 : 417-26.
40. Abdel-Naeem HH, Mohamed HM. Improving the physico-chemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. *Meat Science*. 2016 ; 118 : 52-60.
 41. Rodriguez D, Silvera R, Carrio R, Nadji M, Caso R, Rodríguez G, Charyulu V, Torroella-Kouri M. Tumor microenvironment profoundly modifies functional status of macrophages: peritoneal and tumor-associated macrophages are two very different subpopulations. *Cell Immunol*. 2013 ; 283 : 51-60.
 42. Guzik T, Korbut R, Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide in inflammation. *J physiol pharmacol*. 2003 ; 54(4) : 469-87.
 43. Farias-Eisner R, Sherman MP, Aeberhard E, Chaudhuri G. Nitric oxide is an important mediator for tumoricidal activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994 ; 91 : 9407-11.
 44. Caban M, Chojnacka K, Owczarek K, Laskowska J, Fichna J, Podsedek A, Sosnowska D, Lewandowska, U. Spent hops (*Humulus lupulus* L.) extract as modulator of the inflammatory response in lipopolysaccharide stimulated raw 264.7 macrophages. *J Physiol Pharmacol*. 2020 ; 71(1) : 67-78.
 45. Mustafa I, Chin NL, Fakurazi S, Palanisamy A. Comparison of phytochemicals, antioxidant and anti-inflammatory properties of sun-, oven- and freeze-dried ginger extracts. *Foods*. 2019 ; 8(10) : 1-11.
 46. Oh HK. Antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from *Eugenia caryophyllata* Thunb. *J Korean Soc Food Cult*. 2016 ; 31(5) : 481-8
 47. Kim JJ, An SI, Lee JS, Yun SM, Lee MY, Yun HS. Suppression of the expression of cyclooxygenase-2 induced by Toll-like receptor 2, 3, and 4 agonists by 6-shogaol. *Kor J Food Sci Technol*. 2008 ; 40(3) : 332-6.
 48. Lee NK, Ku JE, Han HS, Lee NK, Ku JE, Han HS. Cytoprotective and anti-inflammatory effects of 6-shogaol on human dermal fibroblasts. *Asian J Beauty Cosmetol* . 2017 ; 15(3) : 367-76.
 49. Ha SK, Moon E, Ju MS, Kim DH, Ryu JH, Oh MS, Kim SY. 6-Shogaol, a ginger product, modulates neuroinflammation: a new approach to neuroprotection. *Neuropharmacology*. 2012 ; 63(2) : 211-23.