

수용성 누에 실샘 가수분해물의 미백 및 항노화 효과

정지혜^{1,a}, 황정욱^{1,a}, 김호진¹, 차현명², 김동일^{2*}, 최용수^{1*}

Whitening and Anti-aging Activities of Soluble Silkworm Gland Hydrolysate

Ji-Hye Jung^{1,a}, Jung Wook Hwang^{1,a}, Hojin Kim¹, Hyun-Myoung Cha², Dong-Il Kim^{2*}, and Yong-Soo Choi^{1*}

접수: 2013년 4월 30일 / 게재승인: 2013년 6월 25일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Silkworm-derived silk materials which contain 45 to 55% protein (18 amino acids, including 8 essential amino acids) have free radical-scavenging activities. In the present study, we investigated the whitening and anti-aging effects of silkworm gland under various conditions with B16F1 melanoma cells and human dermal fibroblasts. To evaluate the toxicity of soluble gland hydrolysate (SGH), mouse-derived B16F1 melanoma cells were treated with 0.2~5 mg/mL, cytotoxicity was not observed at all concentrations. The tyrosinase and elastase activities were significantly decreased as dosage levels of SGH increased. In addition, cell death was decreased by treated with SGH and antioxidative activity was the most effective in the SGH treatment. These findings suggest that SGH may be used as a potential functional biomaterial in having the skin whitening effect and anti-aging activity by inhibition of tyrosinase and elastase activities.

Keywords: Anti-aging, ROS, Silkworm gland hydrolysate, Whitening

¹차의과학대학교 생명과학대학 바이오공학과
¹Department of Applied Bioscience, CHA University, Seongnam 463-836, Korea
Tel: +82-31-725-8358, Fax: +82-31-725-8359
e-mail: yschoi@cha.ac.kr

²인하대학교 공과대학 생물공학과
²Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea
Tel: +82-32-860-7515, Fax: +82-32-872-4046
e-mail: kimdi@inha.ac.kr

^aThe first two authors contributed equally to this study.

1. 서론

여성의 사회적 기여도 증가 및 남성들에 대한 미적 관심도가 증가함에 따라 화장품 산업은 지속적인 성장세를 나타내고 있다. 최근 자연주의를 선호하는 문화의 영향으로 화장품 산업에도 천연물을 이용한 화장품 소재 연구가 활발히 진행되고 있다 [1]. 특히, 주목 받고 있는 천연 소재 중 하나인 누에 실크 단백질은 인간에게 친숙하며 항산화, 보습, 미백, 항노화 효과가 우수하고 생체적합성 및 기계적 물성이 우수하다 [2]. 천연 실크 단백질은 누에의 체내에 존재하는 실샘으로부터 합성되며 70%가 피브로인, 30%가 세리신으로 구성되어 있다. 누에고치에서 분리한 피브로인 단백질은 보습능 및 항염증 효과가 밝혀진 이후 수 많은 응용연구가 수행되었다 [3,4]. 반면에 세리신 단백질의 경우 tyrosinase 활성을 효과적으로 저해하였다는 연구결과가 있음에도 불구하고, 정련하는 과정 중에 폐수와 함께 제거되므로 세리신을 이용한 응용연구는 미비한 실정이다 [5].

멜라닌은 피부나 모발의 갈색 혹은 검은색의 근원이 되는 색소로 멜라닌 세포의 의해 생성되는데, 이 멜라닌 세포가 피부 표면에서 멜라닌을 많이 합성하면 피부색이 어두워진다 [6]. 따라서 멜라닌이 피부에서 과도하게 합성되는 것을 방지하기 위하여 많은 미백제가 개발되었다. 미백제가 멜라닌 합성을 억제하는 주된 방법으로는 1) tyrosinase 효소 활성을 유도하는 신호전달 차단, 2) 자외선 차단, 3) 멜라닌 세포가 표피세포로 이동하는 단계 차단, 4) 멜라닌 색소를 빠르게 bleaching, tyrosinase 효소 활성을 억제하는 방법으로 크게 구분할 수 있다 [7,8]. 이 중 tyrosinase 효소활성을 억제하는 연구방법이 미백제 개발을 위해 가장 많이 이용되고 있다 [9,10]. 자외선에 의해 아미노산의 일종인 tyrosine이 멜라닌

세포 내에서 tyrosinase의 자극을 받아 도파 (DOPA, 3,4-dihydroxyphenylalanine)와 도파퀴논 (DOPA-quinone)으로 전환됨으로써 멜라닌의 합성이 시작된다. 따라서 tyrosinase 효소 활성을 유도하는 신호전달을 차단하는 것은 미백 효과를 극대화시키기 위한 기초 과정이라 할 수 있다.

피부의 노화는 나이가 들어감에 따라 산화적 스트레스의 증가로 자연적으로 발생하기도 하고 (자연노화: intrinsic aging), 자외선과 같은 광선에 장기간 노출되어 일어나기도 (광노화: photo aging) 한다. 산소를 이용하여 생존하는 피부 세포는 자외선에 노출되면 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)이 증가되어 피부의 효소 및 비효소적 항산화 방어체계가 손상된다. 산화적 스트레스는 지질과산화, 단백질 산화, 피부 염증 유발, 피부 면역기능 억제 등을 야기시켜 광노화를 촉진시킨다. 특히 단백질 분해효소, elastase 발현의 증가로 피부의 진피 조직 단백질이 현저히 감소하여 피부의 탄력을 유지하는 결합조직이 파괴되고 주름과 탄력저하, 피부 처짐이 동반된다 [11,12].

현재까지 누에 실크 단백질을 이용하여 미백 및 항노화에 대한 연구는 보고된 사례가 많지 않다. 본 연구진은 최근 고온, 고압 또는 유기용매 등을 사용하지 않고 동결 건조한 누에 실샘으로부터 수용성 가수분해물을 제조하는 새로운 제조방법을 개발하였다 [13]. 따라서 본 연구에서는 새로운 제조법으로 생산한 누에 실샘 가수분해물의 미백 및 항노화 효과를 검증하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 세포 배양

마우스 유래 B16F1 세포와 인간 피부 유래 섬유아세포 (Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)는 Alpha-Minimum Essential Medium (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) 배지에 10% FBS (Sigma-Aldrich Co., MO, USA)와 1% penicillin-streptomycin (Thermo Fisher Scientific Inc.)을 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

2.2. 누에 실샘 가수분해물의 제조

5령 7일 익은 누에 (백옥잠)를 동결건조하여 실샘만 분리한 후, 원심식 초미세분말 제조기를 이용하여 실샘 분말을 제조하였다. 수용성 실샘 가수분해물 (soluble gland hydrolysate, SGH)의 제조는 실샘 분말 24 g을 증류수 0.8 L에 혼합하여 상온에서 30분 동안 교반 후 4°C에서 13,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 상등액만 회수하였다. 회수한 상등액에 1 M NaOH를 가하여 상온에서 30분간 가수분해 하였다. 전체 실샘 가수분해물 (total gland hydrolysate, TGH)의 제조는 실샘 분말 24 g을 1 M NaOH 0.8 L에 혼합하여 80~90°C에서 1시간 동안 가수분해 하였다. 가수분해된 SGH와 TGH의 상등액에 인산을 첨가하여 중화시킨 뒤 셀룰로오스 투석막 (MWCO = 3,000, Spectrum, USA)을 이용하여 3일 동안 증류

수로 투석하였다. 투석 과정 중 발생한 침전물을 제거하기 위하여 4°C에서 13,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 누에 실샘 가수분해 용액을 제조하였다. 이렇게 제조된 누에 실샘 가수분해 용액을 영하 20°C에서 냉동시킨 후 동결 건조하여 분말상태로 제조하였다 [13]. 대조군으로는 누에고치 유래 세리신 가수분해물 (cocoon-derived sericin hydrolysate, CSH) (Sigma-Aldrich)을 사용하였다.

2.3. 세포 생존율 분석

세포 생존율은 Cyto X™ cell viability assay kit (LPS solution, Daejeon, Korea)를 이용하여 분석하였다. 마우스 유래 B16F1 세포는 96-well plates에 3×10³ cells/mL로 분주하여 24시간 동안 배양 후 사용하였다. SGH, TGH, CSH를 농도 별로 처리한 배지를 제조하여 (0.2, 0.5, 1, 2, 5 mg/mL) 200 µL씩 cell에 첨가 후 24시간 동안 배양하였다. 각 well에 WST-1 20 µL씩 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 조건에서 3시간 동안 배양한 다음 ELISA reader (Epoch microplate spectrophotometer, Bio-Tek Inc., VT, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 확인하였다.

2.4. Tyrosinase 활성 분석

누에 실샘 가수분해물의 미백효과를 확인하기 위하여 시험관에 시료 물질을 0.1 M 인산염완충액 (pH 6.5)에 녹여 tyrosinase 활성 억제 효과 분석을 위한 농도범위 (1, 2, 4 mg/mL)로 희석하여 시험에 사용하였다. 0.1 M 인산염 완충액 200 µL와 시료액 20 µL, 그리고 1500~2000 U/mL mushroom tyrosinase (Sigma-Aldrich, MO, USA) 용액 20 µL를 순서대로 넣었다. 이 용액에 1.5 mM tyrosine 40 mL을 첨가하고 37°C에서 5~15분 동안 반응시켜 반응액 중 생성된 도파크롬 (Dopa chrome)을 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로 ascorbic acid를 이용하였다.

2.5. Elastase 활성 분석

누에 실샘 가수분해물의 항노화 효과를 확인하기 위해 N-succinyl-(L-Ala)₃-p-nitroanilide를 기질로 사용하여 37°C에서 30분간 p-nitroanilide의 생성량을 측정함으로써 porcine pancreas elastase 저해 활성을 분석하였다. 시료 물질을 일정 농도(1, 2, 4 mg/mL)가 되도록 조제하여 0.1 mL씩 시험관에 취하고 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 0.6 units/mL elastase pancreas 용액 (Sigma-Aldrich) 0.05 mL을 가하였다. 기질로 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 1 mg/mL N-succinyl-(L-Ala)₃-p-nitroanilide를 0.1 mL 첨가하여 30분간 반응시키고 ELISA reader를 이용하여 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. Elastase 활성은 시료의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다. 양성 대조군으로 ursolic acid를 이용하였다.

2.6. 활성산소종 활성 분석

활성 산소종의 생성 양을 분석하기 위하여 인간 피부 유래 섬유

유아세포 (human dermal fibroblasts)를 이용하여 FACSCalibur (Becton-Dickinson, CA, USA)로 활성산소종 활성 수치를 측정하였다. 6-well plates에 1×10^5 cells/mL이 되도록 분주한 후 24시간 배양하였다. 이후 누에 실샘 및 고치 유래 가수분해물 (1 mg/mL)이 첨가된 배지로 교체하여 24시간 배양하였다. 0.2 mM H_2O_2 를 처리하여 30분간 배양, trypsin-EDTA를 이용하여 세포를 회수한 후 PBS로 2회 세척하였다. 2',7'-Dichloro-dihydroflu-orescein diacetate (DCF-DA) 5 μ M을 첨가하여 30분간 반응, 세포를 회수하여 PBS로 세척한 뒤 500 μ L PBS에 부유시킨 후 FACS를 이용하여 활성산소종의 생성량을 분석하였다.

2.7. DPPH radical 소거 활성 분석

항산화 효과를 확인하기 위하여 일정 농도의 각 시료에 0.2 mM DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액을 첨가하여 37°C에서 30분간 반응 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 무첨가군과 첨가군의 흡광도 차와 무첨가군의 흡광도로 나눈 값을 백분율로 계산하여 소거율을 계산하고 이를 다시 농도와의 상관관계로 50%의 소거율을 나타내는 IC_{50} 값으로 산출하였다. 양성 대조군으로 vitamin C를 이용하였다.

2.8. 통계 분석

본 연구의 모든 결과는 SAS (Statistic Analysis System) 9.2 통계 프로그램을 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였고, $p < 0.05$ 수준에서 ANOVA test 후 Duncan's multiple analysis로 사후 검정 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 세포독성

피부 미백 및 항노화 효과를 나타내는 대표적인 기능성 화장품 원료인 arbutin, ascorbic acid 및 retinol과 다른 유도체들은 피부에 장기간 사용시 독성을 나타내며 피부의 투과 및 안정성 등과 같은 문제점들을 가지고 있다고 보고되고 있다 [14-16]. 이러한 문제점들을 해결하고자 최근에는 천연물에 대한 미백 소재에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있고 [17], 천연물 소재 중 하나인 누에의 실크 단백질은 우수한 생체 적합성을 가지고 있으며 면역반응을 일으키지 않는 것으로 알려져 각광을 받고 있다 [18]. 독성 검사는 의료용 재료의 생체 적합성이나 화장품, 기능성식품 개발시 안전성 평가에 사용된다 [19]. 특히 WST-1 analysis는 독성물질 첨가에 따른 명확한 상관관계를 지니고 있어 독성평가에 주로 사용된다 [20]. 따라서 본 연구에 사용한 누에의 실샘 및 고치 유래 가수분해물의 세포독성 반응을 확인하고자 마우스 유래 B16F1 세포를 실험에 사용하였다. 누에의 실샘 및 고치 유래 가수분해물을 마우스 유래 B16F1 세포에 0.2~5 mg/mL 농도 범위로 처리시 가장 높은 농도인 5 mg/mL에서도 독성을 나타내지 않았다 (Fig. 1). 본 연구 결과를 통해 누에 유래 실샘 및 고치 가

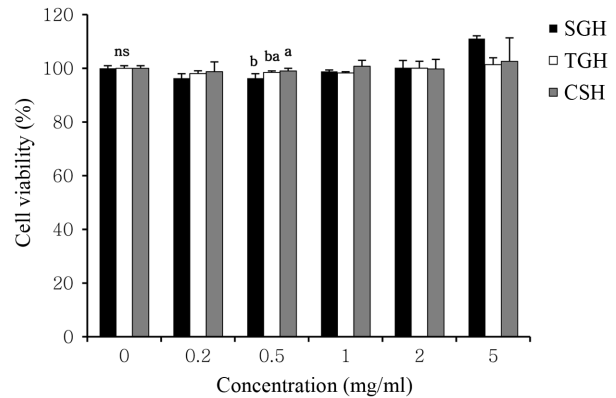


Fig. 1. Cytotoxicity of silkworm-derived hydrolysate. SGH, soluble gland hydrolysate; TGH, total gland hydrolysate; CSH, cocoon-derived sericin hydrolysate. Each bar represents the mean \pm SE. Comparison among different type of silkworm-derived hydrolysate that yielded significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar (1-way ANOVA with Duncan's multiple test).

수분해물은 세포독성이 없음을 확인하였다.

3.2. Tyrosinase 활성 저해

Tyrosinase는 멜라닌 소체 내에서 아미노산인 tyrosine과 반응하여 도파와 도파퀴논으로 전환되어 멜라닌의 합성이 시작되는데 중요한 역할을 한다 [9,10]. 멜라닌이 다량 합성되면 피부의 색소 침착이 일어나는데 tyrosinase 활성이 억제되면 결과적으로 멜라닌 합성이 저해되므로, 이 효소의 활성을 억제하는 미백제 개발 연구들이 활발히 진행되고 있다 [21]. 본 연구에서는 개발한 공정으로 제조한 SGH의 미백 효과를 검증하기 위해 tyrosinase 활성 저해 실험을 진행한 결과, SGH 1 mg/mL의 농도에서 65.7%, 2 mg/mL의 농도에서 84.9%로 CSH를 처리한 군과 비교 시 높은 tyrosinase 활성 저해능은 보이지 않았다. 그러나 4 mg/mL의 농도에서 107.6% tyrosinase 활성이 감소되는 것을 확인하였으며, 농도가 높아짐에 따라 tyrosinase 활성 저해능이 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다 (Fig. 2). TGH와 CSH도 투여 농도를 증가시키기에 따라 tyrosinase 활성 저해능이 증가하였으나 4 mg/mL의 농도에서의 저해능이 2 mg/mL의 농도에 비해 유의적으로 증가하지 않았고, 4 mg/mL에서는 SGH보다 낮은 저해능을 보여 3가지 물질 중 SGH의 tyrosinase 활성 저해능이 가장 높은 것을 확인하였다. 또한 양성 대조군인 vitamin C보다 SGH를 4 mg/mL 첨가하였을 경우 tyrosinase 활성 저해능이 유의적으로 증가하는 것을 보였다. Kato 등 [5]은 실크 단백질인 세리신이 외부 환경으로부터 오는 산화스트레스를 방어함으로써 tyrosinase를 저해하는 효과를 나타낸다고 보고하였다. 세리신을 에탄올로 추출한 것의 tyrosinase 활성억제 효능이 가장 뛰어났고, 이를 통해 기능성식품이나 의약품으로 개발할 수 있다고 보고하였다 [22]. 본 연구 결과에서도 SGH 투여 농도가 증가함에 따라 tyrosinase 활성을 유의적으로 억제하였다. 따라

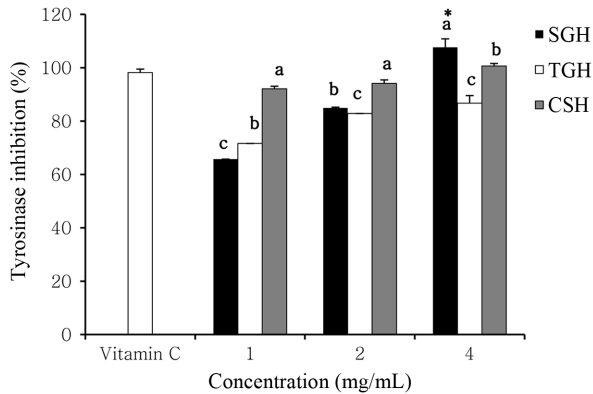


Fig. 2. Tyrosinase inhibition activity of silkworm-derived hydrolysate. SGH, soluble gland hydrolysate; TGH, total gland hydrolysate; CSH, cocoon-derived sericin hydrolysate. Each bar represents the mean \pm SE. Comparison among different type of silkworm-derived hydrolysate that yielded significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar (1-way ANOVA with Duncan's multiple test). * $p < 0.05$ versus vitamin C (t -test).

서 Wang 등 [22]의 연구 결과와 종합하여 볼 때 누에 실샘의 수용성 및 불용성 성분 모두 tyrosinase 활성을 억제하여 멜라닌 합성을 저해하는데 효과적이라 사료된다.

3.3. Elastase 활성 저해

피부 탄력에 영향을 주는 주요 단백질인 collagen은 피부의 진피층에 90% 이상 존재하며 elastin은 3~4% 정도 존재한다. Collagen과 elastin은 주로 섬유아세포에서 합성되며 피부의 물리적, 화학적 성질을 결정하고 피부의 노화와 밀접한 관련이 있다 [23]. 자외선에 노출되면 활성산소가 발생, collagen과 elastin을 분해하는 효소인 collagenase와 elastase의 발현이 증가된다. 이 또한 멜라닌 합성 반응을 촉진하여 피부의 색소 침착을 유도하고 피부 노화를 일으키는 주범이 된다 [24]. 본 연구에서 제조한 SGH의 항노화 효과를 검증하기 위해 elastase 활성 저해 실험을 진행한 결과, 1 mg/mL의 농도에서 79.1% elastase를 저해하는 것을 확인하였다 (Fig. 3). 또한 농도를 증가시키면 따라 elastase를 저해하는 능력이 유의적으로 증가하였고 TGH와 CSH보다도 유의적으로 저해능이 높은 것을 확인하였다. 양성 대조군인 ursolic acid와 비교 시 SGH 2 mg/mL 이상의 농도에서 유의적으로 증가하여 SGH가 항산화 및 항노화에 관여하는 것으로 사료된다.

3.4. 활성산소종 억제

피부의 노화는 산화적 스트레스에 의해 일어나는데, 일반적으로 세포는 산소를 이용하여 생존하기 때문에 산소의 이용은 필수적이다. 산소의 정상적 대사 산물인 활성산소종은 세포 내 항산화 방어체계에 의해 일부 제거되지만 일부는 체내에 축적되어 세포에 산화적 손상을 유발하여 노화를 초래한다 [11]. 따라서 산소의 대사로 생성된 활성산소종의 축적을 억제하는 것이 노화 방지에 효과적이라 할 수 있으며 [25], 본

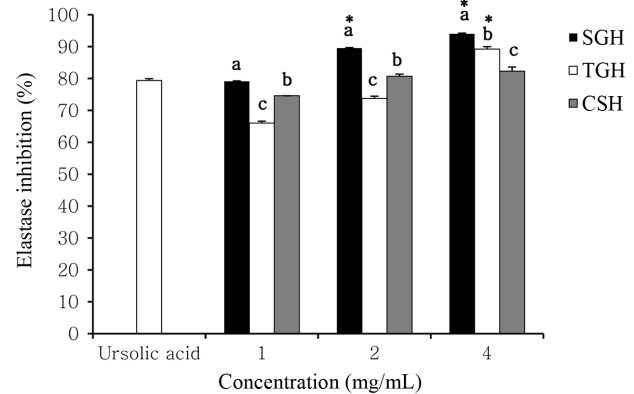


Fig. 3. Elastase inhibition activity of silkworm-derived hydrolysate. SGH, soluble gland hydrolysate; TGH, total gland hydrolysate; CSH, cocoon-derived sericin hydrolysate. Each bar represents the mean \pm SE. Comparison among different type of silkworm-derived hydrolysate that yielded significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar (1-way ANOVA with Duncan's multiple test). * $p < 0.05$ versus ursolic acid (t -test).

연구에서도 누에 실샘 및 고치 유래 가수분해물에 대한 활성산소종 억제 효과를 H_2O_2 처리한 군과 비교하여 분석하였다. Tyrosinase 활성 저해 효과가 4 mg/mL 농도에서는 SGH가 가장 높은 값을 나타내었지만 1 mg/mL에서는 CSH보다 낮은 값을 나타냈다. 반면, elastase 활성 저해 효과는 모든 농도에서 SGH가 가장 높은 효과를 나타내었다. 따라서 tyrosinase 활성 저해 효과가 비교적 적은 것으로 나타난 1 mg/mL 농도를 선정하여 SGH, TGH, CSH를 각각 처리, 활성산소종 억제에는 어떠한 영향을 미치는지 확인하고자 하였다. 활성산소종 억제 효과는 H_2O_2 를 처리한 대조군에 대비하여 계산하였고, 1 mg/mL의 농도에서 SGH, TGH, CSH는 각각 20.6%, 5.9%, 8.5%의 활성산소종 억제 효과를 나타내었다 (Fig. 4a). 이는 H_2O_2 를 처리하여 생성된 활성산소종을 SGH가 가장 탁월하게 억제하였음을 의미한다. 또한 H_2O_2 로 인해 증가되는 세포사멸은 SGH를 1 mg/mL 농도로 처리 시 TGH나 CSH를 처리한 군에 비해 통계적으로 가장 높은 감소율을 보였다 (Fig. 4b). 이는 SGH가 활성산소종 억제 효과가 우수하여 세포사멸을 저해시키는 능력이 높다는 것을 보여주는 것이다. 따라서 SGH는 활성산소종 억제에 의한 노화 방지에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 사료된다.

3.5. DPPH radical 소거 활성

항산화 능력, 특히 radical 소거능은 생물학적 체계에서 free radical의 유해한 기능을 밝히기 위해 매우 중요하다 [26]. 그 중 DPPH radical 소거 활성은 다양한 물질과 식물 추출물들의 free radical 소거능을 측정하기 위한 방법으로 간단하며 매우 민감하다 [27]. 본 연구에서는 활성산소종을 억제하는 것이 항산화 활성 증가로 인한 것인지 확인하고자 DPPH radical 소거 활성을 평가하였다. 그 결과, SGH는 33 mg/mL, TGH는 152 mg/mL, CSH는 149 mg/mL로 SGH에서 가장 높은 DPPH

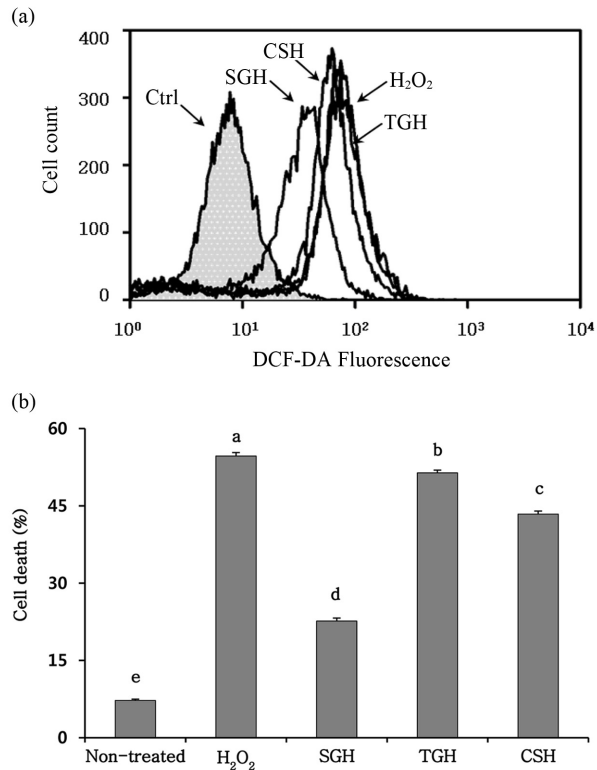


Fig. 4. Effect of silkworm-derived hydrolysate on the inhibition of ROS production. Inhibition of ROS production (a) and cell death rate by H₂O₂ (b). Each bar represents the mean \pm SE. Comparison among different type of silkworm-derived hydrolysate that yielded significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar (1-way ANOVA with Duncan's multiple test).

radical 소거 활성을 나타내었다 (Table 1). 따라서 SGH의 활성산소종 억제제는 항산화 능력의 증가로 인한 것으로 사료되며, SGH에 항산화 효능이 우수함을 확인, 노화 방지 효과가 있음을 다시 한 번 확인하였다.

4. 결론

본 논문에서는 누에 유래 실샘 가수분해물을 얻을 수 있는 인체에 무해한 가수분해공정 개발 후 제조된 실샘 가수분해물의 미백효과를 연구하고자 멜라닌 생성에 관여하는 효소인 tyrosinase 저해 활성을 분석하였다. 그 결과 1 mg/mL의 농도에서 65.7%의 tyrosinase 저해 효과를 나타내었다. 또한 항노화 효과를 연구하고자 elastase와 활성산소 저해 활성을 분석

Table 1. Comparison of silkworm gland hydrolysates and cocoon-derived sericin hydrolysate on DPPH radical scavenging activity

	Vitamin C	SGH	TGH	CSH
IC ₅₀ (μ g/mL)	0.7 \pm 0.12 ^{c1}	33 \pm 3.2 ^b	152 \pm 0.08 ^a	149 \pm 0.06 ^a

¹⁾Comparison among different type of silkworm and sericin that yielded significant differences ($p < 0.05$) are indicated by different letters above each bar (1-way ANOVA with Duncan's multiple test).

하였다. 그 결과 1 mg/mL의 농도에서 79.1%의 elastase 저해 효과를 나타내었고, 인위적으로 활성산소를 유도한 인간 피부 유래 섬유아세포에 처리한 결과 20.6%의 활성산소 저해 효과를 나타냈으며 DPPH radical 소거능 또한 SGH에서 가장 높은 값을 나타내었다. 상기 결과들을 종합해 볼 때 SGH는 우수한 미백 후보물질로 이용할 수 있는 가능성이 있으며 다양한 응용연구를 통해 의료용 소재, 건강기능식품, 화장품분야로 이용가능 할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Souza, P. M., S. T. Elias, L. A. Simeoni, J. E. de Paula, S. M. Gomes, E. N. Guerra, Y. M. Fonseca, E. C. Silva, D. Silveira, and P. O. Magalhães (2012) Plants from *Brazilian Cerrado* with potent tyrosinase inhibitory activity. *PLoS One* 7: e48589.
- Oh, H., J. Y. Lee, M. K. Kim, I. C. Um, and K. H. Lee (2011) Refining hot-water extracted silk sericin by ethanol-induced precipitation. *Int. J. Biol. Macromol.* 48: 32-37.
- Daitankar, A. V., M. N. Padamwar, S. S. Pisal, A. R. Paradkar, and K. R. Mahadik (2005) Moisturizing efficiency of silk protein hydrolysate silk fibroin. *Indian J. Biotechnol.* 4: 115-121.
- Kim, D. W., H. S. Hwang, D. S. Kim, S. H. Sheen, D. H. Heo, G. Hwang, S. H. Kang, H. Kweon, Y. Y. Jo, S. W. Kang, K. G. Lee, K. W. Park, K. H. Han, J. Park, W. S. Eum, Y. J. Cho, H. C. Choi, and S. Y. Choi (2011) Effect of silk fibroin peptide derived from silkworm *Bombyx mori* on the anti-inflammatory effect of Tat-SOD in a mice edema model. *BMB Rep.* 44: 787-792.
- Kato, N., S. Sato, A. Yamanaka, H. Yamada, N. Fuwa, and M. Nomura (1998) Silk protein, sericin, inhibits lipid peroxidation and tyrosinase activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62: 145-147.
- Cho, Y. J. (2011) Characteristics of cosmetic with whitening compounds from *Phellodendron amurense*. *J. Appl. Biol. Chem.* 54: 108-113.
- Sim, G. S., J. H. Kim, B. C. Lee, D. H. Lee, G. S. Lee, and H. B. Pyo (2008) Inhibitory effects on melanin production in B16 melanoma cells of *Sedum sarmentosum*. *Yakhak Hoeji* 52: 165-171.
- Parvez, S., M. Kang, H. S. Chung, C. Cho, M. C. Hong, M. K. Shin, and H. Bae (2006) Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents. *Phytother. Res.* 20: 921-934.
- Bellei, B., A. Pitisci, C. Catricalà, L. Larue, and M. Picardo (2011) Wnt/ β -catenin signaling is stimulated by α -melanocyte-stimulating hormone in melanoma and melanocyte cells: implication in cell differentiation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 24: 309-325.
- Schmid, D., E. Belser, and F. Züllli (2007) Self-tanning based on stimulation of melanin biosynthesis. *Cosmetics and Toiletries* 122: 55-62.
- Chon, J. W., H. Y. Kweon, Y. Y. Jo, K. S. Rye, and H. S. Lee (2012) A study on the development of functional cosmetics using silk-gland powder of silkworm. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* 38: 7.
- Corinne, V. C., L. François, S. Juliette, P. Cécile, M. Claire, and B. Françoise (2006) Reconstructed human skin: From photodamage to sunscreen photoprotection and anti-aging molecules. *J. Dermatol. Sci. Suppl.* 2: S1-S12.

13. Hwang, J. W., H. S. Lee, H. J. Kim, K. O. Kim, and Y. S. Choi (2012) Manufacture and characterization of silkworm gland hydrolysate. *J. Seric. Entomol. Sci.* 50: 76-81.
14. Seo, D. H., J. H. Jung, J. E. Lee, E. J. Jeon, W. Kim, and C. S. Park (2012) Biotechnological production of arbutins (α - and β -arbutins), skin-lightening agents, and their derivatives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 95: 1417-1425.
15. Panich, U., V. Tangsupa-a-nan, T. Onkoksoong, K. Kongtaphan, K. Kasetsinsombat, P. Akaraseenont, and A. Wongkajornsilp (2011) Inhibition of UVA-mediated melanogenesis by ascorbic acid through modulation of antioxidant defense and nitric oxide system. *Arch. Pharm. Res.* 34: 811-820.
16. Hwang, J. G., J. K. Yun, K. H. Han, E. J. Do, J. S. Lee, E. J. Lee, J. B. Kim, and M. R. Kim (2011) Anti-oxidation and anti-aging effect of mixed extract from Korean medicinal herbs. *Korean J. Herbolology* 26: 111-117.
17. Yen, F. L., M. C. Wang, C. J. Liang, H. H. Ko, and C. W. Lee (2012) Melanogenesis inhibitor(s) from *Phylla nodiflora* extract. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 867494.
18. Mondal, M., K. Trivedy, and S. N. Kumar (2007) The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn. *Caspian. J. Env. Sci.* 5: 63-76.
19. Garcia, S. N., L. Gutierrez, and A. McNulty (2013) Real-time cellular analysis as a novel approach for *in vitro* cytotoxicity testing of medical device extracts. *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* 101A: 2097-2106.
20. Yin, L. M., Y. Wei, Y. Wang, Y. D. Xu, and Y. Q. Yang (2013) Long term and standard incubations of WST-1 reagent reflect the same inhibitory trend of cell viability in rat airway smooth muscle cells. *Int. J. Med. Sci.* 10: 68-72.
21. Yoshida-Amano, Y., A. Hachiya, A. Ohuchi, G. P. Kobinger, T. Kitahara, Y. Takema, and M. Fukuda (2012) Essential role of RAB27A in determining constitutive human skin color. *PLoS One* 7: e41160.
22. Wang, H. Y., Y. J. Wang, L. X. Zhou, L. Zhu, and Y. Q. Zhang (2012) Isolation and bioactivities of a non-sericin component from cocoon shell silk sericin of the silkworm *Bombyx mori*. *Food Funct.* 3: 150-158.
23. Schulze, C., F. Wetzel, T. Kueper, A. Malsen, G. Muhr, S. Jaspers, T. Blatt, K. P. Wittern, H. Wenck, and J. A. Käs (2010) Stiffening of human skin fibroblasts with age. *Biophys. J.* 99: 2434-2442.
24. Sumiyoshi, M., and Y. Kimura (2010) Effects of olive leaf extract and its main component oleuropein on acute ultraviolet B irradiation-induced skin changes in C57BL/6J mice. *Phytother. Res.* 24: 995-1003.
25. Muller, F. L., M. S. Lustgarten, Y. Jang, A. Richardson, and H. Van-Remmen (2007) Trends in oxidative aging theories. *Free Radic. Biol. Med.* 43: 477-503.
26. Predes, F. S., A. L. Ruiz, J. E. Carvalho, M. A. Foglio, and H. Dolder (2011) Antioxidative and *in vitro* antiproliferative activity of *Arctium lappa* root extracts. *BMC Complement. Altern. Med.* 11: 1-20.
27. Huang, Z., B. Wang, D. H. Eaves, J. M. Shikany, and R. D. Pace (2009) Total phenolics and antioxidant capacity of indigenous vegetables in the southeast United States: Alabama Collaboration for Cardiovascular Equality Project. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 60: 100-108.