

별 불가사리(*Asterina pectinifera*) 및 아므르 불가사리(*Asterias amurensis*) 추출물의 항균, 항산화 활성 및 미백 효과

조우진¹ · 이현화² · 정연정 · 김훈³ · 정은정⁴ · 박시향⁵ · 임치원⁶ · 차용준*

창원대학교 식품영양학과, ¹부산식품의약품안전처 유해물질분석과, ²창원문성대학교 미용예술과, ³일리노이주립대학교 식품공학과, ⁴창신대학교 식품영양학과, ⁵선마린바이오테크, ⁶국립수산과학원 식품안전과

The Antimicrobial, Antioxidant, and Tyrosinase Inhibitory Activities of Solvent Extracts of *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis*

Woo-Jin Cho¹, Hyun-Hwa Lee², Yeon-Jung Jung, Hun Kim³, Eun-Jeong Jeong⁴, Sihyang Park⁵, Chi-Won Lim⁶ and Yong-Jun Cha*

Department of Food and Nutrition, Changwon National University, Changwon 61140, Korea

¹Center for Food & Drug Analysis, Busan Regional Ministry of Food and Drug Safety, Busan 47366, Korea

²Department of Cosmetology Care, Changwon Moonsung University, Changwon 51410, Korea

³Department of Food Science and Human Nutrition, University of Illinois, Illinois 61801, USA

⁴Department of Food and Nutrition, Changshin University, Tongyeong 53063, Korea

⁵Sun marine Biotechnology Co., Tongyeong 53063, Korea

⁶Department of Food Safety, National Fisheries R&D Institute, Busan 46084, Korea

This study examined the antimicrobial, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activities of bioactive compounds extracted from two starfish, *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis*, using solvent extraction after Protamex™ hydrolysis. Methanol and acetone fractions collected by stepwise extraction from specimens were subjected to silica gel column chromatography (SGCC) (200 mesh and 400 mesh), followed by high-performance liquid chromatography (HPLC). Two fractions (7:3 and 5:5 chloroform : methanol ratio, v/v) eluted using silica gel column chromatography from the two starfishes showed higher antimicrobial activity against *Propionibacterium acnes* and dermatophyte fungi (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton ferrugineum*, *Trichophyton mentagrophytes*, and *Trichophyton rubrum*), antioxidant activity (EDA₅₀, mg/mL), and tyrosinase inhibitory activity compared to the other fractions. The final fractions obtained from *Asterina pectinifera* (RT 7.53, 8.93, and 10.48 min) and *Asterias amurensis* (RT 5.02 min) by SGCC (400 mesh) and HPLC from two SGCC fractions (200 mesh) showed 8.94 and 15.59 mg/mL antioxidant activity (EDA₅₀) and 46.89 and 40.19 % tyrosinase inhibitory activity, respectively. Extracts from starfishes are potential cosmetic basic material.

Key words: Starfish, *Asterina pectinifera*, *Asterias amurensis*, Antioxidant, Tyrosinase inhibitory

서 론

불가사리는 수온 15-20℃의 범위에서 연안해역의 패류 양식장과 마을어장에 서식하는 피조개, 전복, 바지락, 가리비 등 유용 조개류를 무차별 포식함으로써 연안 패류자원을 감소시켜 양식 어업인에게 막대한 피해를 주어 심각한 문제를 야기하고

있다(Park et al., 1997). 특히 우리 나라 패류 양식어장에 피해를 주는 불가사리류는 아므르 불가사리(*Asterias amurensis*)와 별 불가사리(*Asterina pectinifera*)의 2종으로 알려져 있다(Kang et al., 2000).

그러나 이용 가공면에서 보면, 불가사리는 특정 무기질, 아미노산 및 신물질에 대한 연구를 통하여 기능성 식품소재로서의

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2015.0432>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 48(4) 432-438, August 2015

Received 14 July 2015; Revised 3 August 2015; Accepted 18 August 2015

*Corresponding author: Tel: +82. 55. 213. 3513 Fax: +82. 55. 281. 7480

E-mail address: yjcha@changwon.ac.kr

가능성이 제시된다. 불가사리의 칼슘성분을 이용한 사료 또는 비료 첨가제(Lee et al., 1989) 활용연구, 산란 전 불가사리의 유문맹장과 생식선에 아미노산 함량 변화 및 높은 글리신 함량(Kishimura and Hayashi, 1990)에 관한 보고, 단백질분해효소를 이용하여 탄산칼슘을 제거한 불가사리 엑기스 농축액(Higashi et al., 1955) 무독성에 관한 연구 및 불가사리의 탄산칼슘과 콜라겐의 산업적 이용에 관한 보고(Park, 2003)를 통하여 불가사리의 식품소재로서의 영양학적 가치를 알 수 있다. 또한 극피동물에서 발견된 주된 신물질인 saponin계 물질에 관한 연구(Seo, 1997), *Asterias vulgaris*로부터 추출한 asterosaponin 이 소염, 진통작용(Findlay et al., 1984), 별 불가사리에서 적혈구 응집작용이 있는 lectine의 추출(Song, 1992), 불가사리 추출물의 항균·항산화성(Choi, 1993; Choi et al., 1999a; Cho et al., 1994b; Cho et al., 2000a; Cho et al., 2000b) 및 근수축활성을 갖는 생리활성물질의 추출(Seo, 1997)을 통하여 불가사리의 기능성 소재로서의 활용성이 제시된다.

따라서 본 연구에서는 불가사리를 효율적으로 이용할 목적으로 연근해에 서식하는 별 불가사리와 아므르 불가사리를 대상으로 단백질 분해효소에 의한 가수분해 및 용매순차추출에 의한 각각의 용매 추출부를 분리하여 항균성, 항산화성 및 미백효과를 분석하였다. 본 연구의 결과는 극피동물에 대한 생리활성물질의 기초자료로 사용될 수 있으며 향후 불가사리로부터 고부가가치 제품 개발에 이용될 수 있을 것으로 기대한다.

재료 및 방법

재료

별 불가사리(*Asterina pectinifera*, 체장; 9 ± 2 cm, 체중; 49 ± 5 g)와 아므르 불가사리(*Asterias amurensis*, 체장; 22 ± 4 cm, 체중; 137 ± 10 g)는 경남 창원시 진전면 일대 해안가에서 수중 채집하여 ice chest에 담아 실험실로 1시간 이내에 운반하여, 표면의 이물질을 제거하고 깨끗이 수세한 후 표면의 물기를 제거하기 위해 신문지 위에 1시간 정도 방치한 다음 균질기(Waring blender Co., Winsted, CT, USA)로 갈아서 분석용 시료로 사용하였고, 일부는 -70°C 의 심온 동결고(Ilshin Biobase, Dongducheon, Korea)에서 저장하였다.

용매추출 및 column chromatography에 의한 생리활성물질의 분획

별 불가사리 및 아므르 불가사리로부터 생리활성물질을 가지는 물질의 추출은 Jung (2002)의 방법을 기초로 변형하여 Fig. 1과 같이 균질화된 생시료(5 kg)에 3배량의 증류수를 넣은 다음, 단백질 분해효소(Protamex™, Novo Nordisk Co., Denmark) 처리하여, 상등액을 제거하고 나서 용매순차추출에 의한 methanol과 acetone분획을 취하였다. 다음으로 200 mesh (I) 및 400 mesh (II) silica gel column chromatography (ϕ 10.0 mm \times 50 cm length)에서 chloroform : methanol 비율(v/v)에 따라 순차

Homogenized raw starfish + D.W (1:3 ratio, w/v) → Agitation for 5 h with Protamex™ (0.5%, w/w) at 50°C → Centrifugation (17,500 g, 10 min, 4°C)

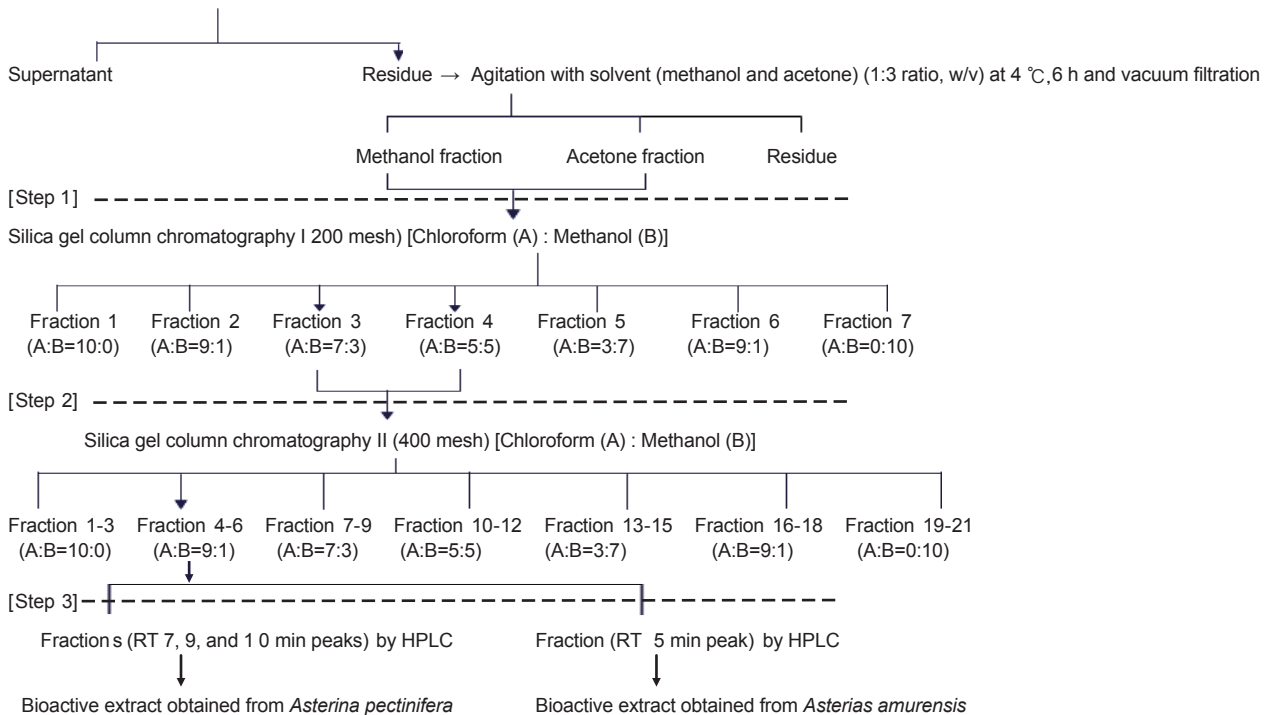


Fig. 1. Procedure for extraction of bioactive compounds from starfishes *Asterina pectinifera*.

적으로 각각 7분획 및 21분획을 분취하여 이들 분획의 생리활성을 분석하였다. 그리고 활성이 우수한 분획을 취하여 모으고, 다시 HPLC (HP 1100 series, Hewlett-Packard Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 단일 피크의 활성이 우수한 분획을 분취하였다. HPLC로 분리·정제시 column은 C18 (HP Eclipse XDB, Hewlett-Packard Co, Palo Alto, CA, USA) (0.94 mm i.d, 25 cm length)을 사용하였으며, 검출기는 UV 254 nm, 이동상은 acetonitrile:methanol 용매계(80:20), 유속은 4 mL/min로 하였다.

항균성실험

실험균주로는 피부 백선균류, *Epidermophyton floccosum* (KCTC 6586), *Microsporum audouinii* (KCTC 6346), *Trichophyton ferrugineum* (KCTC 6351), *Trichophyton mentagrophytes* (KCTC 6316), *Trichophyton rubrum* (KCTC 6345) 등 5종과 혐기성 여드름균 *Propionibacterium acnes* (KCTC 3314) 1종을 포함하여 총 6종을 사용하였다. 백선균류 배지는 Sabouraud dextrose agar (28°C)를, 여드름균용 배지는 GAM semisolid (37°C)를 사용하였다. 혐기성균인 *Propionibacterium acnes*는 혐기용기(2.5 L 용량, Oxoid Co., USA)에 Anaerogen을 같이 넣고 배양하였다. 항균성 측정은 disk diffusion method로 petri dish에 각 배지를 분주하여 하룻밤 건조 시킨 후, 균액을 각 petri dish 당 0.1 mL 분주하여 고체 배지 표면에 균일하게 도말하고, 각 불가사리 용매 추출물(1,000 µg/disk)을 멸균된 disk (ø 8 mm, Toyo Seisakusho Co., Japan)에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate 표면에 올려놓은 후 incubator에 넣고, 배양하여 disk 주위에 생성된 저지환(clear zone)의 직경(mm)으로 항균활성을 측정하였다.

항산화성 및 미백효과 실험

항산화 효과 시험은 Blois (1958)의 방법에 준하여 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Aldrich Co., USA) radical 소거능을 측정하였다. 즉 조제한 DPPH 용액 0.8 mL에 에탄올 3-4 mL를 가하고 10초 동안 강하게 진탕하여 분광 광도계의 흡광도 값이 0.95-0.99가 되도록 에탄올의 양을 조정한다. 다음 시료 0.2 g을 취하여 앞에서 조절한 적정량의 에탄올과 DPPH용액 0.8 mL를 가하여 10초 동안 강하게 진탕한 후 10분 동안 방치하고 525 nm에서 흡광도를 측정하여, DPPH radical 소거능 (Electron donating ability, EDA%)을 구하였으며, 각 시료의 억제 강도는 free radical inhibition의 50% 억제 농도(EDA₅₀)로 구하여 비교하였다. 그리고 미백효과는 Chen and Kubo (2002)의 방법을 변형한 tyrosinase 저해활성(inhibitory activity)을 측정하였다. 즉, 5% (w/v) 시료 0.1 mL, 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 1.8 mL, mushroom tyrosinase 0.1 mL (125 units) 및 2.5 mM L-DOPA 1 mL 등 총 4.5 mL의 반응액을 10초간 진탕 후 25°C 에서 10분간 배양한 후 475 nm에서 측정하였다.

결과 및 고찰

용매추출 및 column chromatography에 의한 분획물의 항균성 효능

별 불가사리와 아므르 불가사리의 용매추출법(Fig. 1, Step 1)은 용매순차추출법에서 항균성, 항산화능 등과 같은 생리활성능이 우수한 분획으로 밝혀진(Jung, 2002) methanol 및 acetone추출물을 수거하여 본 실험에서 연속적 분획을 위한 원물로 하였다. Fig. 1 (Step 2)의 Silica gel column chromatography I (200 mesh)에서는 chloroform : methanol의 비율비에 따라 7개의 분획물을 얻었다. 피부백선균류 5종과 혐기성 여드름균 1종에 대해 별 불가사리로부터 얻어진 분획물(1,000 µg/disk)의 항균성을 측정된 결과는 Table 1과 같다. 3번 및 4번분획의 항균효과가 모든 균에서 효능이 나타났으며 다른 분획물에 비해 가장 높았다. 특히 3번 분획은 피부의 피지 안에서 증식하며 여드름의 대표적인 균(*Propionibacterium acnes*) (Choi et al., 1999b)과 백선균(*Epidermophyton floccosum*)에서 각각 14.0 mm 및 16.5 mm의 높은 항균활성을 보였다. 반면 아므르 불가사리에서 추출한 분획물(1,000 µg/disk)의 항균력(Table 2)은 별 불가사리에서와 마찬가지로 3번 및 4번분획물의 항균활성이 우수하였고 여드름균(*P. acnes*) 및 백선균(*E. floccosum*)에 대한 항균력은 각각 3번분획(12.0 mm, 12.5 mm) 및 4번분획(12.0 mm, 16.5 mm)에서 항균패턴도 비슷하였으나, 별 불가사리에 비해서는 상대적으로 낮았다.

Choi et al. (1998)은 *P. acnes*에 대한 항균성 물질을 탐색한 결과, 고삼(*Sophora flavescens*)추출물(저지환 26.5 mm)이 매우 우수한 항균력을 갖는 천연물로 평가하였으며, 건강(*zingiber offic*)과 소엽(*Perilla frutescens*)의 MIC (minimal inhibitory concentration)가 여드름 치료제의 대표적 성분인 azelaic acid와 유사한 수준임을 보고하였다. 건강(저지환 13.0 mm) 및 소엽의 항균활성(저지환 11.0 mm)과 비교하여 볼 때, 첨가농도에 따라 저지환의 크기가 달라지므로 객관적인 비교분석은 힘들다. 의약품이 아닌 여드름 피부 개선을 위한 화장품의 기능성 성분으로의 이용 가능성은 충분하다고 사료되었다.

용매추출 및 column chromatography에 의한 분획물의 항산화성 효능

별 불가사리와 아므르 불가사리의 methanol 및 acetone 분획(Fig. 1, Step 2) 각각으로부터 분취한 7분획에 대한 항산화능(DPPH의 radical 소거능, %)을 EDA₅₀ (mg/mL)으로 환산하여 Table 3에 나타내었다. 별 불가사리의 경우 methanol 및 acetone추출물에서 4번 분획물이 각각 4.04 및 4.94 mg/mL (EDA₅₀)로 항산화능이 가장 높았으며, 아므르 불가사리의 경우 methanol추출물에서는 3번분획이 10.66 mg/mL, acetone추출물에서는 5번분획이 10.06 mg/mL으로 가장 활성이 좋았다. 그러나 항균성효능(Table 1 및 2)과 뒤에서 언급할 미백효

Table 1. Antimicrobial activities of fractions obtained from methanol extract of *Asterina pectinifera* by silica gel column chromatography I (200 mesh) (Unit : mm)

| Fraction | Clear zone on plate (mm) ¹ | | | | | |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| | Gram (+) | Fungi | | | | |
| | <i>Propionibacterium acnes</i> | <i>Epidermophyton floccosum</i> | <i>Microsproum audouinii</i> | <i>Trichophyton ferrugineum</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> |
| 1 | 11.0 | - ² | - | - | - | - |
| 2 | 11.0 | - | - | - | 9.0 | - |
| 3 | 14.0 | 16.5 | 10.0 | 11.0 | 10.0 | 12.5 |
| 4 | 12.0 | 16.5 | 12.5 | 11.5 | 10.0 | 9.5 |
| 5 | 11.0 | 10.0 | - | - | - | - |
| 6 | 10.0 | - | - | - | - | - |
| 7 | 10.0 | - | - | - | - | - |

¹Detected by paper disk method (1,000 µg/disk).

²- : Not detected.

Table 2. Antimicrobial activities of fractions obtained from methanol extract of *Asterias amurensis* by silica gel column chromatography I (200 mesh) (Unit : mm)

| Fraction | Clear zone on plate (mm) ¹ | | | | | |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------|------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| | Gram (+) | Fungi | | | | |
| | <i>Propionibacterium acnes</i> | <i>Epidermophyton floccosum</i> | <i>Microsproum audouinii</i> | <i>Trichophyton ferrugineum</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> |
| 1 | 10.0 | - ² | - | - | - | - |
| 2 | 10.0 | - | - | - | - | - |
| 3 | 12.0 | 12.5 | 9.0 | 9.0 | 10.0 | 11.0 |
| 4 | 12.0 | 16.5 | 12.0 | 10.5 | 10.0 | 12.0 |
| 5 | - | 12.5 | 9.0 | - | - | 9.0 |
| 6 | - | - | - | - | - | - |
| 7 | - | - | - | - | - | - |

¹Detected by paper disk method (1,000 µg/disk).

²- : Not detected.

Table 3. Antioxidant activities (EDA₅₀, mg/mL)¹ of fractions obtained from solvent extracts of starfishes by silica gel column chromatography I (200 mesh) (Unit : mg/mL)

| Fraction | Activity (EDA ₅₀ , mg/mL) | | | |
|----------|--------------------------------------|------------|---------------------------|------------|
| | <i>Asterina pectinifera</i> | | <i>Asterias amurensis</i> | |
| | Methanol | Acetone | Methanol | Acetone |
| 1 | 87.71±0.09 ² | 15.20±0.06 | 18.38±0.07 | 14.71±0.05 |
| 2 | 10.84±0.05 | 7.13±0.03 | 13.30±0.03 | 12.95±0.08 |
| 3 | 8.42±0.05 | 8.41±0.04 | 10.66±0.02 | 20.00±0.04 |
| 4 | 4.04±0.01 | 4.94±0.02 | 12.59±0.04 | 13.30±0.06 |
| 5 | 5.92±0.02 | 4.77±0.01 | 11.66±0.05 | 10.06±0.01 |
| 6 | 7.63±0.05 | 3.05±0.01 | 11.55±0.04 | 13.59±0.03 |
| 7 | 7.44±0.03 | 3.94±0.02 | 12.82±0.04 | 16.23±0.04 |

¹ EDA₅₀: Median dose, that dose that has an effect in 50% of antioxidant activity.

²Mean value±SD (n=3).

능(Table 6) 및 추출물로부터 회수되는 수득량(Table 4)을 고려하고, 산업적으로 공정의 효율성을 감안하여 분획 3 및 4번을 분취하여 다음 단계(Fig. 1, Step 3)인 silica gel column chromatography II (400 mesh)에서 21개의 분획으로 재 분리하였다. 이때에 수득율(Table 4)을 보면 5번분획이 별 불가사리에서는 2.628 g/kg이었고, 아르르 불가사리의 경우는 2.775 g/kg이었으며, 나머지는 모두 1.0 g 이하였다. 그러나 분획당 분리가 어려워 별 불가사리에서는 4, 5번분획을 포집하여 HPLC로 재분획하여 Fig. 2에서처럼 RT 7.532, 8.929 및 10.478 min의 3개의 분획을 얻었다. 그리고 아르르 불가사리에서는 5번분획만을 포집하여 HPLC로 재분획하여 RT 5.018 min의 1개 분획을 얻었다. 이러한 피크들은 TLC (thin layer chromatography)로 통하여 단일피크를 확인하였다.

별 불가사리에서 HPLC로부터 재분취한 3개의 분획(A)과 아르르 불가사리로부터 분취한 1개의 분획(B)으로 항산화능

을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 별 불가사리에서는 8.94 mg/mL로서 아르르 불가사리(15.59 mg/mL)에 비해 높은 활성을 나타내었지만, Table 3의 methanol 및 acetone 추출물에 비해서는 낮았다. 이는 시료 추출과정과 보관의 장기화에 따른 기능성 물질의 산화의 결과로 추정되며, 이러한 문제는 산업화로 대량 생산 공정의 처리시간의 단축으로 실험실 수준의 문제점을 해결할 수 있다고 사료된다. 또한 L-ascorbic acid의 항산화효과($EDA_{50}=0.65$ mg/mL) (Cho et al., 2001)와 비교하면 별 불가사리와 아르르 불가사리의 항산화능은 약 1/10-1/20배 정도로 활성이 낮았다.

Carotenoid계 색소류가 활성산소로부터 생체 세포와 조직을 보호하는 것으로 알려져 있어(Rau, 1985), 색소류와 항산화 활성은 밀접한 상관성을 가지고 있는 것으로 추정된다. 본 실험에서도 별 불가사리 추출물의 항산화능이 아르르 불가사리보다 우수하였는데, 이것은 별 불가사리가 아르르 불가사리보다 total carotenoid 함량이 많은 것과 상관이 있을 것으로 추정된

Table 4. The yields of fractions obtained from methanol and acetone extract of starfishes by silica gel column chromatography II (400 mesh) (Unit : g/kg)

| Fraction | <i>Asterias amurensis</i> | <i>Asterina pectinifera</i> |
|----------|---------------------------|-----------------------------|
| 1 | 0.074 | 0.047 |
| 2 | 0.175 | 0.154 |
| 3 | 0.864 | 0.102 |
| 4 | 0.810 | 0.764 |
| 5 | 2.628 | 2.775 |
| 6 | 0.085 | 0.191 |
| 7 | 0.167 | 0.218 |
| 8 | 0.615 | 0.710 |
| 9 | 0.157 | 0.026 |
| 10-21 | - ¹ | - |
| Total | 5.577 | 4.988 |

¹- : Not detected.

Table 5. Antioxidant activities (EDA_{50} , mg/mL) of fractions separated from *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis* by HPLC compounds (Unit : mg/mL)

| Compound | Activity (EDA_{50} , mg/mL) ¹ |
|------------------------------|---|
| A ² | 8.94±0.23 ⁵ |
| B ³ | 15.59±0.50 |
| L-ascorbic acid ⁴ | 0.65 |

¹ EDA_{50} : Median dose, that dose that has an effect in 50% of antioxidant activity

²Mixed compounds (AP1, AP2 and AP3) separated from mixed fractions (4th, 5th) of *Asterina pectinifera* by HPLC.

³Compound (AA1) separated from 5th fraction of *Asterias amurensis* by HPLC.

⁴Reference; Cho et al. (2001)

⁵Mean value±SD (n=3).

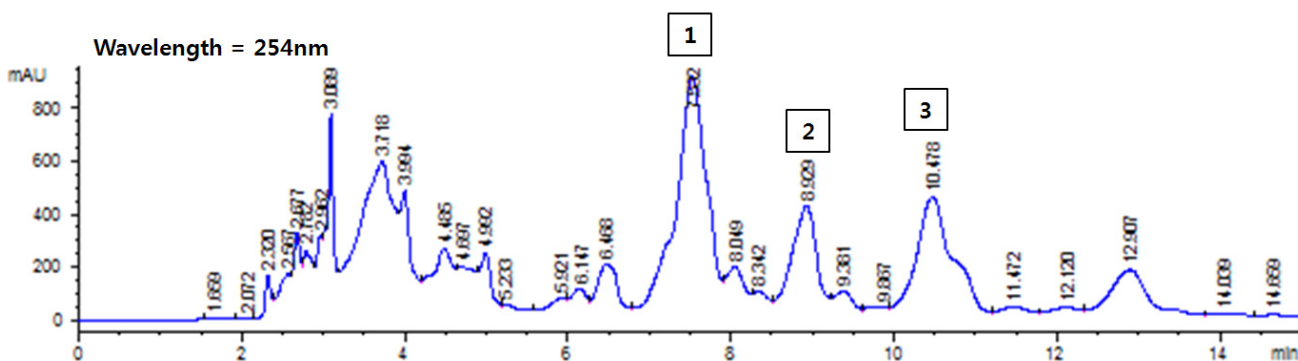


Fig. 2. HPLC rechromatogram of mixed (4th, 5th) fractions obtained from *Asterina pectinifera* by silica gel column chromatography II (400 mesh).

다(Jung, 2002). 세포의 노화방지와 관련이 깊은 항산화 효능을 가진 천연소재 개발은 기능성 화장품 분야에 매우 기여할 것으로 생각되며, 앞으로 이와 같은 생리기능성의 주체가 되는 물질의 규명에 관한 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 판단되었다.

용매추출 및 column chromatography에 의한 분획물의 미백 효능

별 불가사리와 아므르 불가사리의 methanol 및 acetone분획 (Fig. 1, Step 2) 각각으로부터 분취한 7분획에 대한 미백효능 (tyrosinase활성저해능, %)을 Table 6에 나타내었다. 별 불가사리의 추출물이 아므르 불가사리에 비해 tyrosinase활성저해능이 높았으며, 두 시료 모두 methanol 및 acetone추출물의 3번 분획물이 다른 분획에 비하여 가장 높은 저해율을 나타내었다. 별 불가사리에서는 acetone추출물(94.96%)이 methanol추출물(43.28%)에 비해 2.2배 정도 활성저해율이 높았으나, 아므르 불가사리에서는 오히려 methanol추출물(33.12%)이 acetone

추출물(3.58%)에 비해 효능이 9.3배로 더 높았다. 그러나 고부가가치성의 화장품 기본소재로서의 특성인 항균성 및 항산화능과 산업적으로 공정의 편리성을 고려하여 3-4번분획물을 취하였으며, silica gel column chromatography II (400 mesh)에서 다시 4-5번분획물(별 불가사리)과 5번분획물(아므르 불가사리)을 취하여 HPLC로 재 분취한 것의 tyrosinase활성저해능 (%)을 Table 7에 나타내었다. 별(A) 및 아므르 불가사리 추출물(B)의 미백효과는 각각 46.89%와 40.19%로 높은 tyrosinase활성저해능을 나타내었다. 피부미백성분으로 널리 이용되고 있는 hydroquinone, kojic acid, arbutin 등의 tyrosinase 활성저해능은 각각 99.4%, 87.5%, 67.8%로 보고되었으며(Ji et al., 2004), Kim and Lim (1999)은 tyrosinase 저해 활성이 매우 높은 kojic acid의 유도체를 새롭게 합성하여 화장품으로서의 이용 가능성을 검토하였다. 위의 결과들로 볼 때 별 불가사리와 아므르 불가사리 추출물의 미백효과가 기존 미백활성 성분들보다 우수하지는 못하지만 의약품이 아닌 천연 기능성 화장품으로 응용할 수 있을 것으로 본다.

Table 6. Tyrosinase inhibitory activity of fractions obtained from solvent extracts of starfishes by silica gel column chromatography I (200 mesh)

| Fraction | Inhibitory activity (%) | | | |
|----------|-----------------------------|----------------|---------------------------|-----------|
| | <i>Asterina pectinifera</i> | | <i>Asterias amurensis</i> | |
| | Methanol | Acetone | Methanol | Acetone |
| 1 | 2.52±0.02 ¹ | - ² | 3.98±0.03 | - |
| 2 | 8.92±0.06 | 2.49±0.01 | 2.08±0.03 | 5.10±0.01 |
| 3 | 43.28±0.07 | 94.96±0.08 | 33.12±0.07 | 3.58±0.02 |
| 4 | 2.05±0.03 | - | - | 3.45±0.05 |
| 5 | 1.93±0.01 | - | - | 3.39±0.02 |
| 6 | - | - | - | 3.08±0.01 |
| 7 | - | - | - | 1.59±0.01 |

¹Mean value±SD (n=3)

²- : Not detected.

Table 7. Tyrosinase inhibitory activity (TIA) of fractions separated from *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis* by HPLC compounds

| Compound | TIA (%) |
|---------------------------|-------------------------|
| A ¹ | 46.89±0.09 ⁴ |
| B ² | 40.19±0.05 |
| Kojic acid ³ | 87.5 |
| Hydroquinone ³ | 99.4 |
| Arbutin ³ | 67.8 |

¹Mixed compounds (AP1, AP2 and AP3) separated from mixed fractions (4th, 5th) of *Asterina pectinifera* by HPLC.

²Compound (AA1) separated from 5th fraction of *Asterias amurensis* by HPLC.

³Reference; Ji et al. (2004)

⁴Mean value±SD (n=3).

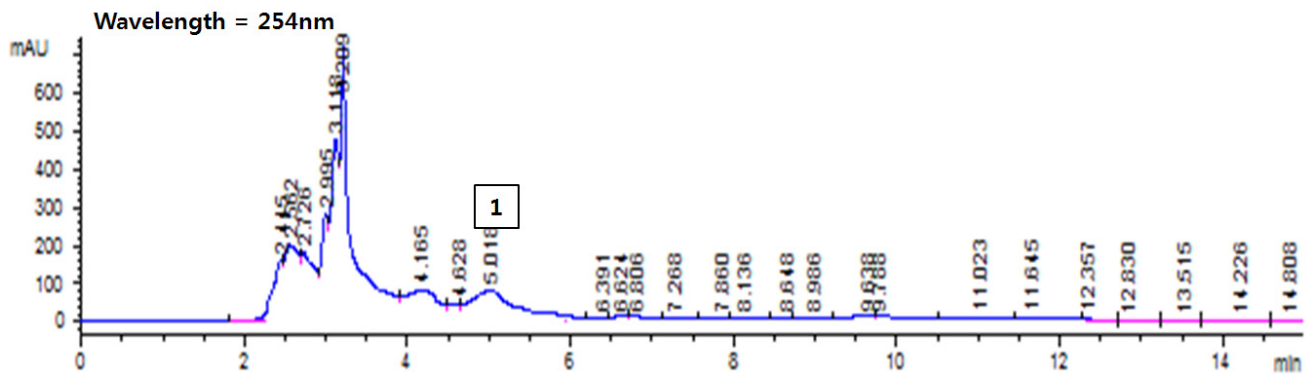


Fig. 3. HPLC rechromatogram of 5th fraction obtained from *Asterias amurensis* by silicagel column chromatographyII (400 mesh).

사 사

본 연구는 경상남도 생명공학기술개발과제(2002-3년) 연구비지원 및 2013년 창원대학교 하반기 국내파견 지원비로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 4617, 1199-1200.
- Chen QX and Kubo I. 2002. Kinetics of mushroom tyrosinase inhibition by quercetin. *J Agric Food Chem* 50, 4108-4112. <http://dx.doi.org/10.1021/jf011378z>.
- Cho SY, Han YB and Shin KH. 2001. Screening for antioxidant activity of edible plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30, 133-137.
- Cho SY, You BJ, Chang MH, Lee SJ, Sung NJ and Lee EH. 1994a. Screening for antimicrobial compounds in unused marine resources by the paper disk method. *Korean J Food Sci Technol* 26, 261-265.
- Cho SY, You BJ, Chang MH, Lee SJ, Sung NJ and Lee EH. 1994b. Screening for the antioxidants in unused marine resources by the polarographic method. *Korean J Food Sci Technol* 26, 417-421.
- Cho SY, Kang HJ, Joo DS, Jeon JK, Oh MH and Kim JS. 2002a. Separation and identification of nature antimicrobial agent from starfish. Paper presented at 47th Conference of Korean Soc Food Sci Nutr, Kangwon National University, Kangwon, Korea.
- Cho SY, Kang HJ, Joo DS, Jeon JK, Kim OS and Kim JS. 2002b. Separation and identification of nature antioxidative agent from starfish and sea urchin integument. Paper presented at 47th Conference of Korean Soc Food Sci Nutr, Kangwon National University, Kangwon, Korea.
- Choi DH. 1993. Studies on the screening and chemical properties of antifungal compound from *Asterina sp.*. MS Thesis. Dongguk University, Seoul, Korea.
- Choi DH, Shin S and Park IK. 1999a. Characterization of antimicrobial agents extracted from *Asterina pectinifera*. *International J Antimicrobial Agent* 11, 65-68.
- Choi SM, Kim MJ, Choi YH, Ahn HJ and Yun YP. 1998. Screening of the antibacterial activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Yakhak Hoeji* 42, 89-94.
- Choi SM, Kim CD, Lee MH, Choi YH, Rang MJ, Ahn HJ and Yun YP. 1999b. Screening of 5 α -reductase inhibition and comedolytic effects from natural products. *Yakhak Hoeji* 43, 342-350.
- Findlay JA, Agarwal VK and Mongarir YE. 1984. On the saponins of the starfish *Asterias vulgaris*. *J Nat Prod* 47, 113-116.
- Higashi H, Murayama S, Yanase M and Tabei K. 1955. Studies on utilization of worthless marine animals for feed-I. : Production of starfish solubles for feed. *Bull Japanese Soc Sci Fish* 21, 271-279.
- Ji HG, Choi JS, Lee SK, Cho YB, Pyo SS, Han CK, Kim JH, Joung KW, Yun SJ and Shin JJ. 2004. The study for efficacy, effect and stabilization of trichosanthes kirilowii root, prunella vulgaris leaf and clematis chinensis root as a new whitening ingredients. *J Soc Cosmet Scientists Korea* 30, 123-128.
- Jung YJ. 2002. Characterization of bioactive compounds obtained from starfishes. MS thesis. Changwon National University, Changwon, Korea.
- Kang KH, Kim JM and Oh ST. 2000. Predation of *Asteiras amurensis* and *Asterina pectinifera* on valuable bivalves at different water temperature. *Korean J Malacol* 16, 17-20.
- Kim JY and Lim SJ. 1999. Synthesis of novel kojic acid derivatives and their tyrosinase inhibitory activities. *Yakhak Hoeji* 43, 28-32.
- Kishimura H and Hayashi K. 1990. Free amino acids of starfish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56, 1693.
- Lee CK, Lee DS, Hwang GC, Song KC and Jang YS. 1989. Chemical components of starfish and their availability for fertilizer. Technical report of Fish Res Dev Agency 77, 57-74.
- Park HY. 2003. Development of industrialization technology with starfish. *Food Indust Nutr* 8, 18-22.
- Park SW, Kim TH and Oh HK. 1997. A Study on the development of the extermination gear for starfish, *Asterias amurensis* and its efficiency. *Bull Korean Fish Tech Soc* 33, 166-172.
- Rau W. 1985. Mechanism of photoregulation of carotenoid biosynthetic in plants. *Pure Appl Chem* 57, 777-784.
- Seo JK. 1997. Conformation and biological activity of Mastoparan B and its analogs: Isolation and characterization of the biological substances from Inshore Hagfish (*Eptatretus burgeri*) skin and starfish (*Asterina pectinifera*). MS Thesis. Pukyong National University, Busan, Korea.
- Song YH. 1992. Purification and Characterization of new Lectins from *Asterina pectinifera*. MS Thesis. Yeungnam University, Kyeongsan, Korea.