

구기자 종자 초임계유체 추출물의 화장품소재로서의 가능성 평가

김보애†

목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부
(2017년 7월 28일 접수: 2017년 8월 20일 수정: 2017년 9월 14일 채택)

A Study on the Possibility of Produced by Supercritical Fluid Extraction from *Lycii Fructus* Seed for Cosmetic Ingredients

Bo-Ae Kim†

Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea

(Received July 28, 2017; Revised August 20, 2017; Accepted September 14, 2017)

요약 : 본 연구는 구기자 종자를 초임계유체 추출한 후 *in vitro* 미백활성과 항균 실험을 실시하였으며, 추출물을 에멀션에 적용하여 안정성 평가를 수행하기 위해 pH, 점도, 에멀션 입자를 관찰하였다. 그 결과 미백활성의 경우 750 $\mu\text{g/mL}$ 에서 81.86 %의 미백 활성을 나타내었으며, 항균효과의 경우 *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* 균에서 항균효과가 나타났다. 또한 추출물을 함유한 에멀션 물리적 안정성 평가에서 점도와 pH가 28일 동안 큰 변화가 없었으며 유화물 입자 관찰 시 경시변화에 따른 합일과 분리현상이 확인되지 않았다. 이러한 결과는 화장품소재로서의 구기자 씨앗 추출물이 유용하게 활용될 수 있는 가능성을 가진 것으로 평가된다.

주제어 : 구기자, 항균, 미백, 초임계유체 추출, 에멀션

Abstract : The purpose of this study was to investigate the possibility of applying cosmetic material about extracted from *Lycii Fructus* seed supercritical fluid. This study was conducted to evaluate the anti-melanogenesis effect and antimicrobial activity about the extracts from *Lycii Fructus* seed. These researches studied for emulsion physical stability of pH, viscosity, particle size from emulsion containing *Lycii Fructus* seed extract. As a result, the supercritical fluid extract from *Lycii Fructus* seed significantly inhibited melanin synthesis by 81.86 % at the concentration 750 $\mu\text{g/mL}$. Antimicrobial effects of extract was determined against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, except by *Staphylococcus epidermidis*. The physical stability of viscosity and pH on the emulsion containing *Lycii Fructus* seed extract were stable for 28 days. Emulsion containing *Lycii Fructus* seed extract did not change particles at observation into optical

†Corresponding author
(E-mail: kba@mokwon.ac.kr)

microscope. These results suggest that extracts from *Lycii Fructus* seed may have value as the potential cosmetic formulation.

Keywords : *Lycii Fructus*, antibiotic activity, whitening effect, supercritical fluid extraction, emulsion

1. 서론

피부의 가장 큰 기능은 피부장벽 (skin barrier) 으로서의 역할이며 동시에 아름다움의 척도로서 미백, 주름 등 피부노화 (skin aging)에 대한 사회적인 관심이 크게 증가하고 있다. 여성의 사회 진출이 증가함에 따라 내외적 아름다움에 대한 소비영역이 넓어지고 있고 자연주의 제품을 사용하고자하는 소비 성향 또한 증가해 기능성이 뛰어나면서도 추출·정제방법에 따라 효능을 달리할 수 있는 장점을 갖는 천연소재를 이용한 화장품의 수요가 증가하고 있다[1-3]. 이러한 천연소재를 이용한 제품이 증가함에 따라 소비자들의 인식도 점차 전향되어 미백, 주름 개선 등의 효과를 나타내는 천연물을 함유한 화장품들도 다양하게 개발되고 있다[4]. 피부색은 멜라닌, 혈관분포와 혈색소, 각질층의 두께 및 카로틴 등 여러 가지에 의해 좌우되며 이 중 멜라닌이 주된 역할을 한다[5]. 사람의 피부색을 결정하는 멜라닌 색소는 자외선으로부터 피부를 보호하는 역할을 하지만 멜라닌 색소의 과잉생성은 기미, 주근깨, 피부반점 등을 유발하여 미용측면에서 좋지 못하다. 멜라닌(melanin)은 세포 내의 멜라닌소체(melanosome)이라는 소기관에서 단계적으로 합성되고 각질형성세포로 이동되어 자외선 등에 의한 피부의 노화나 일광각화증을 억제하여 피부를 보호하는 긍정적인 기능을 가지고 있다. 그러나 멜라닌 과잉생산 시 멜라닌 전구물질들에 의한 독성으로 세포사멸을 촉진하는 부정적인 기능을 동시에 나타내기도 한다[6-9]. 기존 화장품 분야에서는 미백성분으로서, 코직산(kojic acid), 알부틴(arbutin), 하이드로퀴논(hydroquinone), 비타민 C(vitamin C) 및 이들의 유도체가 사용되고 있다. 그러나 이런 물질들은 불안정하여 분해나 착색, 이취, 물질 자체의 안전성이 지적되고 있고 국가별로 물질마다 사용 허용과 기준이 상이하게 적용되는 등의 산업적인 문제점도 있다. 따라서 기존 미백제가 갖고 있는 여러 단점을 극복하고

자 최근에는 피부에 안전한 천연물을 이용한 미백제 개발에 많은 연구가 진행되고 있다[10].

구기자나무(*Lycii Fructus*)는 가지과의 다년생 낙엽관목으로 우리나라를 비롯하여 중국, 대만, 일본 등지에서 자생하거나 재배되어지고 있으며 현재 우리나라에서는 충청남도 청양군이 집산지이며 한방에서는 인삼 등과 함께 독성이 없는 120종의 상약군으로 분류되어 있다. 식품이나 화장품, 의약품계에서 많이 쓰이는 열매는 과피와 과육, 종자로 이루어져 있다. 과육은 수분이 대부분이며 종자는 황백색을 띠고 20~30개가 들어있다. 구기자는 독성이 없고 예부터 약용 또는 식용으로 쓰여 왔으며 강장, 동의보감에서 몸이 허약하여 생긴 병을 다스리며 근육과 뼈를 강화해 얼굴을 희게 만든다고 알려져 있다. 구기자에는 Carotene, Vitamin B, Vitamin B₂, Nicotinic acid, Vitamin C 등이 있고 Betaine, β -Sitosterol 등의 기능성 성분이 다량 함유되어 있으며 다당류와 플라보노이드를 함유하고 있어 그 약리작용이 매우 다양하다. 특히 구기자에는 항산화 및 항고혈압효과, 혈당강화효과가 보고가 다수이다[11-15]. 또한 구기자 및 구기엽 추출물은 피부의 색소 조절 효과에 대한 보고가 있었으며, 지질 조성 변화 및 collagen 합성 저하를 회복시키며, collagen 생합성 효과에 대한 연구에서 구기자의 효과가 가장 우수하며 물과 에탄올 등의 추출용매를 이용한 구기자 추출물의 경우 멜라닌 생성을 억제하고 collagen을 분해할 수 있는 효소의 활성저해에 효과가 있다고 보고된바 있다 [16,17]. 기존의 연구에서는 구기자 과실 및 잎을 이용한 약리활성검증은 다양하게 이루어져 제약 분야 및 화장품관련분야에서는 활발한 연구가 진행되었으나 구기자를 과피와 종자를 분리하여 종자를 이용한 연구결과는 아직 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 구기자 종자를 초임계유체 추출법을 이용하여 시료를 획득하고 미백, 항균 및 에멀션 안정성에 대한 다양한 실험을 통해 화장품 소재로서의 가능성을 평가하였으며 긍정적

인 결과를 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

충청남도 청양군에서 생산된 구기자를 (주)유니히브로부터 구입하여 과피를 제외한 종자만을 분리하여 실험하였다. 구기자 종자를 60 °C에서 열풍 건조하였으며 분쇄 후 0.5 mm mesh에 통과시킨 후 입자를 균일화하여 추출하였다. 본 연구에서는 구기자 종자에 초임계유체 추출법을 적용하였고, 주요용매로 이산화탄소를 사용하였다. 이산화탄소는 다른 유체와 달리 임계점이 낮고 용질과의 비반응성으로 활용가치가 높아 관련 연구 또한 증가하고 있다. 추출 조건은 시료 200 g을 고압 400 bar, 50 °C 온도 조건에서 보조용매인 EtOH 6 ml/min을 주입하여 추출하였으며 시료의 최종 수득율은 10.25 %이다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 세포 및 균주 배양

시료의 항균 활성 측정을 위해 피부상재균주인 *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 1917), *Staphylococcus aureus*(KCTC 1927), 병원균 *Candida albicans*(KCTC 7270) 대장균 *Escherichia coli*(KCTC 2571) 균주를 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korea)에서 구입하여 계대배양하며 사용하였다. 사용된 배지는 Tryptic soybean agar(TSA), Tryptic soybean broth(TSB), Potato dextrose agar(PDA), Potato dextrose broth(PDB)로 Difco사의 제품을 사용하였다. 또한 시료의 미백 활성을 측정하기 위해 사용된 세포는 B16/F10으로 한국 세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 분양받아 사용하였다. 미백 효과 측정에 사용된 시약 α -Melanocyte-stimulating hormone은 Sigma-ALDRICH chemical(St.Louis, MO, USA), 배양에 사용된 시약은 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin, trypsin 250, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL CO.(Grand Island, USA)에서 구입하여 사용하였다. DMEM에 10% FBS, 1000u/mL penicillin/streptomycin

을 혼합한 배지를 사용하였고, 37 °C, 5 % CO₂ 조건의 Incubator에서 배양하였다.

2.2.2. 피부상재균 생육저해력 측정

항균활성을 측정하기 위해 paper disc method를 이용하였다. 각 균주 1백금이량을 취하여 10 ml 액체배지에 접종하여 37 °C에서 18~24시간 동안 전 배양하여 사용하였다. 고체배지에 균주를 10⁷ cell/ml마리가 되도록 접종하여 멸균한 면봉을 이용하여 균일하게 도말하였다. 배지 위에 멸균 된 paper disc (8 mm, Advqutec, Tokoyo, Japan)를 시료 각 농도별로 45 μ l로 흡수시켰으며, 24시간 동안 균에 따라 적정 온도에서 배양한 후 disc 주변에 생성 되어진 생육저해력(clear zone, mm)의 직경으로 추출물의 항균활성 정도를 비교하였다.

2.2.3. Melanin 생합성 저해 측정

피부 흑색종 세포로부터 melanin 생합성 저해 측정은 Hosoi등[18]의 방법에 따라 측정하였다. DMEM 배지로 배양된 흑색종 세포주를 100mm culture dish에 2 \times 10⁶ cells/dish가 되게 분주하고 24시간 동안 배양 후 농도별 시료를 포함한 배지를 제조하여 첨가 후 2일째에 인산완충액(pH 7.4)으로 세척하였다. 0.25 M trypsin-EDTA 용액으로 획득한 세포를 2500 rpm으로 원심분리한 후 분리된 melanin을 인산완충액으로 세척한 뒤 ether : EtOH (1 : 3) 1 ml를 가하여 2회 원심분리 한 후 ether 1 ml로 세척 건조시켰다. 건조된 melanin에 1 N NaOH를 가하여 56 °C에서 1시간 반응시킨 후 분광광도계 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며 α -Melanocyte-stimulating hormone(α -MSH) 1 μ M을 대조군으로 사용하였다. Melanin 생합성 저해는 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2.2.4. 구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션 제조

본 실험에서는 Table 1 원료를 이용하여 에멀션을 제조하였다. 수상과 유상을 나누어 75~80 °C에서 가열하여 용해시킨 후, 용해된 유상에 구기자 종자 추출물 각 농도별로 함께 적용하여 Homo mixer (TK Auto homomixer Mark II, Tokushukikakogyo, Japan)를 이용하여 4500

Table 1. The experimental formulation of the emulsion containing *Lycii fructus* seed extracts

Ingredients	Contents (w/w)					
Cetostearyl Alcohol	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90	0.90
GlycerylMonostearate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Glyceryl Stearate	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
Polyglyceryl-3 MethylglucoseDistearate	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Propyl paraben	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Hydrogenated Polydecene	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
Capric/Capric Triglyceride	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Cetearylisononanoate	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Dimethicone	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Glycerin	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Betaine	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Lycii fructus</i> seed extract	0.00	0.01	0.05	0.10	0.50	1.00
Ethylenediaminetetraacetic acid tetrasodium salt	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
Methyl paraben	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
Triethylamine	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250
Cabomer-941	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065	0.065
Water	85.432	85.425	85.385	85.332	84.935	84.435

rpm으로 1분간 유화시켰다. Triethanolamine를 넣고 다시 3분간 유화한 후 28 °C이하로 냉각하여 본 실험에 이용하였다.

2.2.5. 추출물을 함유한 에멀션 안정성 평가

2.2.5.1. 온도 안정성 평가

구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션의 온도 안정성을 평가하였다. Multi-room incubator (JSMI-04CP 4 room chamber, JSR)에 4, 25, 45 °C의 온도에서 보관하여 물리적 특성에 대한 경시 변화를 관찰하였다.

2.2.5.2. pH 측정

pH측정은 Denver Instrument(Denver Instrument, UB-10 pH/mV meter)사의 pH meter를 이용하였으며, 시료는 25±1 °C 온도 하에서 3회 반복하여 측정하였다.

2.2.5.3. 점도측정

구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션의 점도 측정은 Brookfield Viscometer(Brookfield Engineering Laboratories 11 Commerce Blvd. Middleboro, MA 02346, Made in U.S.A)를 이용하여 측정하였다. 스피들(spindle) No.4(64)를 에멀션에 적용하여 30 rpm에서 1분간 점도를 3회 반복하여 측정하다.

2.2.5.4. 에멀션 입자 관찰

구기자 종자 추출물이 함유된 에멀션의 입자크기를 측정하기 위해 Particle size analyzer(MEJI Techno, Trinocular Polarizing microscope MI9300, Japan)사의 광학현미경을 이용하여 400 배율로 에멀션의 입자크기를 관찰하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Melanin 합성 저해율 결과

구기자 종자 추출물을 melanoma B16/F10세포에 1시간 전처리 후 α -MSH($1 \mu\text{M}$)를 처리하여 48시간 배양 한 후 melanin 생성량을 측정하였다. Fig. 1에서 보는 것과 같이 α -MSH를 단독으로 처리한 경우 melanin 생성량이 대조군에 비하여 18.93%가 뚜렷하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 구기자 종자 추출물을 250, 500, 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하였을 때 각각 98.36 ± 1.44 , 82.34 ± 1.20 , 82.48 ± 1.21 %로 대조군 대비 melanin 생성이 감소됨을 확인할 수 있었다. 다양한 피부 미백제가 개발되어 사용되고 있지만 피부자극, 세포독성에 대한 문제점이 보고되고 있어 미백효능을 나타내는 천연소재에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 피부의 구조와 기능적 측면으로 보았을 때 피부는 장벽 (skin barrier)으로서의 역할이 주된 것이라고 볼 수 있으며, 모근 측면의 피지선은 피부표면이 소수성의 성질을 나타내게 함으로써 비극성인 오일의 경우 친수성 물질보다 더욱 피부친화적이라 할 수 있다. 구기자 종자 추출물은 오일의 성상을 나타냄으로써 피부 미백효능에 더욱 효과적이라고 사료되며 이와 관련된 추가 실험 및 세포독성에 관한 추가 실험을 진행할 것이다.

3.2. 미생물 생육저해율 결과

구기자 종자 추출물에 대한 항균활성 정도를 측정하기 위해서 paper disc method를 이용하여 생육억제 활성을 검색하였다. 그 결과, 항균활성의 크기를 Table 2에 나타내었다. 구기자 종자 추출물은 *S. aureus*, *C. albicans*, *E. coli*에 대하

여 항균활성을 나타내었으며, *S. aureus*는 5, 10 g/mL 농도에서 10.00, 12.38 mm, *C. albicans*에서는 5, 10 g/mL에서 각각 10.53, 15.86 mm의 생육저해환을 나타내었고, *E. coli*에서는 10 g/mL 농도에서 9.33 mm 생육저해환을 나타내었다. 구기자 종자 추출물은 모든 농도에서 항균활성이 나타나진 않았지만 *S. aureus*, *C. albicans*, *E. coli*에서 특이적으로 항균력을 나타낸 것으로 보아 구기자 종자 추출물은 염증성 피부 혹은 문제성 피부 제품에 적용 가능할 것으로 사료된다.

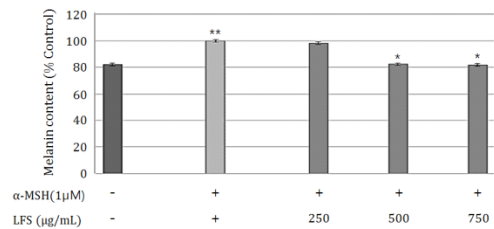


Fig. 1. Inhibitory effects of the extracts from *Lycii fructus* seed supercritical fluid on the melanin synthesis in B16/F10 melanoma cells. The cells were cultured in the presence of the extracts at concentration of 250, 500, 750 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Data were presented as them \pm S.D. **: $P < 0.01$ compared with negative control, *: $p < 0.05$ compared with positive control.

3.3. 일반적 보존 실험

3.3.1 온도(Incubation)에 따른 안정성

추출물을 함유한 에멀션의 저장 조건(4, 25,

Table 2. Antimicrobial activity of *Lycii fructus* seed supercritical fluid extracts on several microorganisms. Data were presented as them \pm S.D

Strains	Concentrations (g/mL)					
	0	1	2	3	5	10
<i>S. aureus</i>	- ^a	-	-	-	10.00 ± 1.10	12.38 ± 1.09^b
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	10.53 ± 0.73	15.86 ± 1.17
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	9.33 ± 0.24

a : No inhibition, b : Inhibition zone diameter (mm)

45°C)에 따른 안정성을 평가하기 위해서 육안으로 층분리 및 응집여부, 이취발생 여부 등을 검토하였다. 콜로이드 형태인 화장품의 경우 사용기간이 길기 때문에 저장기간에 따른 안정성을 평가하도록 되어있어[19], 추출물이 함유된 에멀션과 추출물이 함유되지 않은 에멀션 모두 28일 동안 관찰한 결과 크리밍, 응집과 같은 분리현상이 관찰되지 않았으며, 산화에 의한 특이취도 없었다.

3.3.2. pH 변화 관찰 결과

구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션과 추출물을 함유하지 않는 대조군을 28일 동안 25 °C incubator 에 보관하여 pH변화를 측정하였으며 Fig. 2에 나타내었다. 구기자 종자 추출물을 1.00, 0.05, 0.10, 0.05, 0.01% 농도로 함유한 에멀션의 pH는 6.24~6.62 사이로 pH변화가 낮았으며, 대조군의 pH도 6.75~7.58로 비슷한 분포를 나타내었다. 구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션과 추출물을 함유하지 않는 대조군의 pH를 28일 동안 측정된 결과 구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션 각각의 pH가 추출물 농도에 따라 수치상으로는 큰 변화를 나타내지 않음을 확인하였으며, pH 3 ~ 9로 화장품의 pH 범위를 제시한 식품의약품안전처 기준[19]에 적합한 것으로 확인되었다.

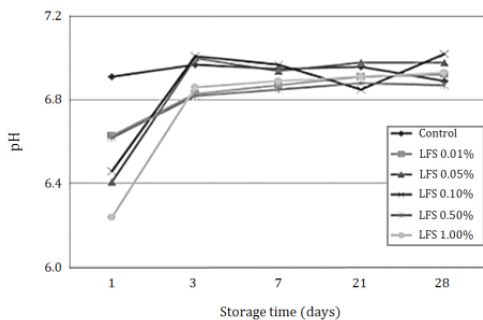


Fig. 2. pH change of the emulsion containing *Lycii fructus* seed (LFS) extracted with supercritical fluid and control emulsion for 28 days at 25 °C.

3.3.3. 추출물 함유에 따른 점도변화

구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션과 대조군을 25 °C Incubator에서 보관하며 점도를 28일

동안 측정하였다. 추출물을 함유한 에멀션을 제조한 직후 1일 후에 점도를 측정된 결과 추출물을 함유하지 않은 대조군의 점도는 4480 cPs로 실험군인 구기자 종자 추출물을 함유한 1.00, 0.05, 0.10, 0.05, 0.01 % 에멀션의 점도는 각 6860, 6395, 6395, 4003, 4753 cPs로 나타났으며 대조군과 비교하였을 때 추출물을 함유하는 농도가 높을수록 점도가 증가하는 것을 확인하였다. 점도를 측정하는 기간 동안 대조군의 에멀션은 약 4,600~5,400 cPs에 분포해 수치상의 큰 변화는 없었으며 28일이 지난 후에도 제조한 날과 비교하였을 때 구기자 종자 추출물을 함유한 시험군이 비슷한 분포로 점도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 일반적으로 화장품 에멀션 제형에 천연 추출물이 첨가물로 포함되는 경우 농도 의존적으로 점도가 감소하는 경우가 대부분이지만, 본 실험에 사용된 구기자 종자 추출물의 경우는 콜로이드 제형에 악영향을 주지 않고, 오히려 농도 의존적으로 에멀션의 점도를 증가시켰으므로 화장품 제형 안정성에 긍정적인 영향을 주는 것으로 판단된다.

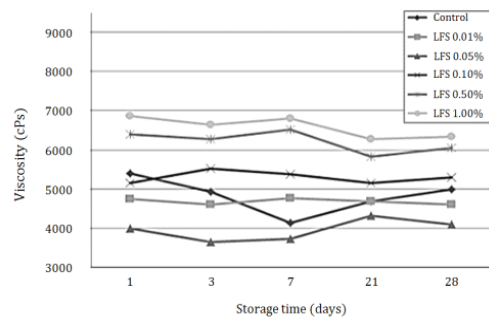
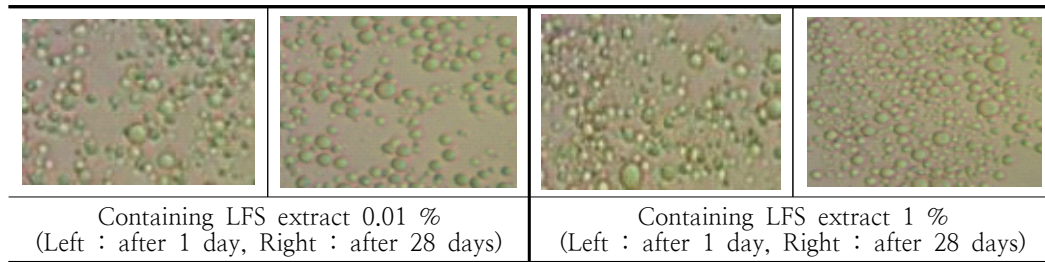


Fig. 3. Viscosity change of the emulsion containing *Lycii fructus* seed (LFS) extracts with supercritical fluid and control emulsion for 28 days at 25 °C.

3.3.4. 광학현미경을 이용한 에멀션 입자관찰 결과

일반적으로 식물유래 추출물들은 외부의 물리적인 조건에 민감하게 반응하는데, 화장품에 이를 포함할 경우 콜로이드 에멀션 입자간의 인력에 영향을 주게 되고 결국 입자로 안정화된 천연물이 유리되고, 난용성 물질이 재결정되어 비중에 따라 분리되므로, 새로운 천연물을 화장품에 활용할 경우 안정성 관찰이 필요하다 [20]. 구기자 종

Table 4. Microscopic aspect of the emulsion containing *Lycii Fructus* seed (LFS) supercritical flied extract 28 days after preparation ($\times 400$). Not changed the particle size and distribution of emulsions containing supercritical flied extract.



자 추출물을 함유한 에멀션과 대조군 에멀션을 관찰한 결과를 Table 4에 나타내었다. 대조군과 각 추출물을 농도별로 함유한 에멀션 모두 28일 동안 입자의 분산과 분리, 합일 등과 같은 현상이 없었으므로 안정함을 확인할 수 있었다.

4. 결론

일반적으로 구기자는 과실 부분을 식용으로 널리 사용하고 있으며 종자는 활용하지는 못하고 있다. 따라서, 본 연구에서는 식용 및 약용으로 널리 이용되어지고 있는 구기자를 종자와 과피로 분리하여 종자를 초임계유체 추출법을 적용하였으며, 이를 화장품 원료로서의 가능성을 확인하고자 하였다. 추출물의 유효성을 검증하기 위해 미백활성 효능과 항균효능을 평가하였으며, 구기자 종자 추출물을 농도별로 에멀션에 적용하여 다양한 안정성 실험을 진행하였다. 피부 흑색종인 B16/F10 세포를 이용하여 melanin 저해 활성을 측정한 결과 250, 500, 750 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 α -MSH를 단독으로 처리한 군 대비 각각 98.36, 82.34, 81.86 %로 미백 효능이 확인되었다. 구기자 종자 추출물의 항균 활성 효능에서도 피부상재균주인 *Staphylococcus epidermidis*를 제외하고, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* 세가지 균주에서 항균활성 효능이 확인되었으며 10 g/mL 농도에서 각각 12.38, 15.86, 9.33mm 생육저해환을 나타내었다. 안정성 평가를 위해 구기자 종자 초임계유체 추출물을 1.00, 0.50, 0.10, 0.05, 0.01 % 농도로 함유한 에멀션을 제조하였으며 4, 25, 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 28

일간 보관하였을 때 에멀션의 변색, 변취, 분리 등의 현상을 보이지 않았다. 또한 25 $^{\circ}\text{C}$ 에서 28일 동안 보관한 각 농도별 구기자 종자 추출물을 함유한 에멀션의 pH, 점도, 입자관찰시 유의적으로 큰 변화가 없었으며, 가장 높은 농도인 1.00 % 추출물을 함유한 에멀션에서도 안정성에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

이러한 결과는 구기자 종자 초임계유체 추출물은 에멀션 제형에 높은 농도로 적용이 가능해 피부미백효능을 향상시킬 수 있으며, 추출물 자체의 항균력은 화장품 방부시스템에 긍정적으로 작용할 수 있으므로 화장품 원료로서의 가능성을 보여준다고 할 수 있다.

References

1. D. Roosterman, T. G. S. W. Schneider, N. W. Bunnett, M. Steinhoff, Neuronal Control of Skin Function : The Skin as a Neuroimmunoendocrine. *Organ, Physiol Rev.* 86(4), 1309 (2006).
2. K. H. Kim, K. I. Ko, E. J. Kang, E. K. Yang, S. N. Park. A research trend of natural product on Well-Being Industry. *J. Soc. Cosnet. Scientists Korea.* 30(3), 329-343 (2004).
3. Korean Dermatological Association. Text of Dermatology. Soeul:Yeo moon gak. 2001:8-9, 402-12.
4. B. A. Paramonov, I. I. Turkovskii, I. L. Potokin, N. A. Yuriova, V. Y. Chebotarev.

- Photoprotective activity of melanin preparations in human skin exposed to UV irradiation: dependence on previous photoexposure. *Bull. Exp. Biol Med.* 134(4), 366–369 (2002).
5. H. B. Lee, H. B. Lee, C. Y. Lee, E. K. Kim. Trend of Depigmenting Research Based on Patent analysis, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea.* 33(4), 209–217 (2007).
 6. B. A. Paramonov, I. I. Turkovskii, I. L. Potokin, N. A. Yuriyova, V. Y. Chebotarev. Photoprotective activity of melanin preparations in human skin exposed to UV irradiation: dependence on previous photoexposure. *Bull. Exp. Biol Med.* 134(10), 426–429 (2002).
 7. Urabe K, Aroca P, Tsukamoto K, Mascagna D, Paulumbo A, Prata G, Hearing VJ, The inherent cytotoxicity of melanin precursors. *Biochim Biophys Acta.* 1221(3), 272–278 (1994).
 8. Weixiong L, Helene Z. H. Induced melanin reduces mutations and cell killing in mouse melanoma. *Phytochem Phyto Biol.* 65(3), 480–485 (1997).
 9. K. T. Lee, E. H Kim. The prospects and Recent trends of whitening product development. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* 2(3), 141–146 (2004).
 10. Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, Kikuchi M, Kubota Y. Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigm. Cell Res.* 16(6), 629–638 (2003).
 11. Y. J. Cho, S. S. Chun, W. S. Cha, J. H. Park, K. H. Lee, J. H. Kim, H. J. Kwon, S. J. Yoon, Antioxidative and Antihypertensive Effects of *Lycii fructus* Extracts. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 34(9), 1308~1313 (2005).
 12. J. H. Choi, S. Y. Park, J. H. Kim, M. Y. Jeong. Effects of *Lycii Extracts*(LFE) on Skin whitening and Elasticity using Melanoma cells. *The Journal of Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology* 27(1), 58–67 (2014).
 13. E. Y. Hwang, J. H. Hong, J. H. Choi, E. J. Lee, I. S. Lee, Study on Anti-obesity and Hypoglycemic Effect of *Lycium chinense Mill* Extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 38(11), 1528–1534 (2009).
 14. I. S. Joo, C. K. Sung, M. J. Oh, C. J. Kim, The Influence of *Lycii fructus* Extracts on the Growth and Physiology of Microorganism. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 26(4), 625~631 (1997).
 15. J. J. YOUNG. Comparison of Fermentation Characteristics of *Lycii Fruits* and Grapes. Korea University. (2005).
 16. J. H. Choi. Effects of *Lycii Fructus* Extracts on skin elasticity and whitening using B16F10 cell lines. Dept. of Oriental Medicine. Dongshin University. (2013).
 17. D. H. Kim, S. Y. Lee, N. K. Kim, B. K. Yoon, D. S. Jung, E. Y. Choi, S. R. Hong, J. Y. Yoon, M. H. Kang, J. Y. Lee. Moderating Effects of Skin Hyperpigmentation from *Lycii fructus* and *Lycii folium* Extracts. *J. Appl. Biol. Chem.* 54(4), 270–278 (2011).
 18. Hosoi J, Abe E, Suda T, Kuroki T. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res.* 45(4), 1474–1478 (1985).
 19. Cosmetics manufacturing and manufacturing (import) items, licensing and processing instructions. Korea Food and Drug Administration. KFDA notification (1999).
 20. Y. A. Jang, H. N. Kim, J. C. Yang, J. W. Lee, B. A. Kim, J. T. Lee. A study on the possibility of extracts from *Sparassis crispa* for cosmetic ingredients. *Journal of the Korean Oil Chemists' Society,* 32(4), 731–736 (2015).