

복합해조류 발효추출물의 항산화, 미백 활성

강 세 원 · 김 은 지 · 정 유 린 · 고 해 주[†]

월드코스텍, 지역주도형R&D
(2018년 8월 7일 접수, 2018년 9월 11일 수정, 2018년 9월 21일 채택)

The Anti-Oxidant and Whitening Activities of Seaweeds Mixture Fermentation Extracts

Se-Won Kang, Eun Ji Kim, Yu-Rin Jung, and Hae Ju Ko[†]

Research Institute, World Costec, Co. Ltd, 6-6 Nanosandan 5-ro, Nam-myeon, Jangseong-gun, Jeollanam-do 57248, Korea
(Received August 7, 2018; Revised September 11, 2018; Accepted September 21; 2018)

요약: 조류 소재에 관한 연구는 꾸준히 진행되고 있다. 본 연구에서는 미역, 다시마, 불등가사리 등 해조류를 혼합한 발효추출물의 항산화, 미백, 보습의 활성 실험을 진행하였다. 또한 유산균으로는 김치유산균 *Lactobacillus sakei* 균주를 이용하였다. 복합해조류 발효추출물의 생리활성 실험을 진행하였으며, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) 라디칼 소거능에서는 양성대조군 보다 높은 저해효능을 보였다. 미백효능 실험에서는 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA), mushroom tyrosinase 실험을 수행하였으며, 발효 전보다 발효 후의 미백활성이 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 한편, 해조류 소재의 유효성분인 fucose에 대한 HPLC분석을 수행하였으며, 용매조건에 대한 표준화 방법을 새로이 정립하였다. 이 연구는 복합해조류 추출물이 항산화, 미백 등 화장품 소재로서 가능성을 제안할 수 있다.

Abstract: Studies on seaweed-based materials have been progressing steadily day by day. In this experiment, we checked the anti-oxidant, whitening, and moisturizing activities of fermented extract from a mixture of *Undariapinnatifida*, *Saccharina japonica*, and *Gloiopeltis furcate*. Also, *Lactobacillus sakei* strains of kimchi were used as the lactic acid bacteria. The physiological status of the combined seaweed extracts was also investigated. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical scavenging results showed that the inhibitory effects of the combined seaweed extracts were higher than the positive control. Furthermore, 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) and Mushroom tyrosinase tests were conducted during the whitening efficacy experiment. Hence, it was confirmed that the whitening activity of fermented extracts was greater than the extracts without fermentation. HPLC analysis of fucose (an active ingredient of seaweed) was also performed and a standard method for solvent conditions was newly established. This study suggests that the composite of algae extract has potentials to be used as anti-oxidant and whitening agents in cosmetics.

Keywords: Seaweed extract, Fermentation, Anti-Oxidant, Skin Whitening, Fucose

1. 서 론

최근, 건강과 웰빙에 대한 관심이 깊어지면서 해조류 유래 기능성 소재에 대한 많은 관심이 기울여지고 있다. 해조류 유래 기능성 소재는 항 종양성, 항 바이러스성, 항 혈액응고 및 면역력 증강 등의 생리기능을

[†] 주 저자 (e-mail: lilyh3333@gmail.com)
call: 061)393-1447

갖는 것으로 알려져 있으며, 이러한 해조류의 특이성에 착안하여 새로운 생리활성 물질들이 탐색되고 있다. 또한 fucoidan은 피부에 좋은 여러 가지 화장품원료 개발이 활발해지면서, 화장품 보습제로 널리 사용되고 있는 히알루론산보다도 높은 보습력을 갖고 있는 fucoidan의 유용성에 대한 연구 및 활용이 점차 늘어가고 있는 추세이다[1-4].

해조류(seaweed)는 광합성 색소에 따라 갈조류, 녹조류, 홍조류로 나뉘며 해조류 생산은 주로 양식에 의해 이루어지고 있는데 대부분 수요는 아시아 지역을 중심으로 이루어져 전체 소비량의 83 ~ 90%를 차지하고 있다. 또한 한국의 경우 세계 4위의 생산량을 가지며 해조류에 대한 보다 적극적인 생리활성 연구 및 산업적 이용 연구가 필요하다[5,6].

해조류의 갈조류에서는 fucoidan의 생리활성이 우수한 다당이 함유되어 있다. 하지만 유효성분을 산업화하기 위하여 열수추출, 알칼리, 산 또는 효소 처리 등에 의하여 추출하는 공정방법들이 대부분이다. 하지만 비소화성 복합다당류로서 산이나 알칼리에 비교적 안정하고 특수한 미생물 효소에 의하지 않고서는 분해되기가 어려워 여러 가지 생체 활성물질의 변질 및 파괴 등을 수반하는 결과를 초래하거나 또는 효과적으로 추출해 내지 못하는 단점을 가지고 있다. 최근에는 이를 해결하기 위한 발효기술을 통한 연구가 진행되고 있다[7].

해조류의 갈조류는 김, 툇, 다시마, 미역, 불등가사리, 감태 등이 있으며, 이에 대한 다양한 연구가 진행이 되고 있으며 피부의 각질층에 natural moisturizing factor (NMF)이라는 수분 부유능이 존재하고 있으며, 유산균 배양 여액은 이 NMF의 구성 성분의 몇 가지를 함유하고 화장품으로 각질층의 보습력을 높일 수가 있다[8].

하지만 해조류에 대한 연구는 한 종에 대한 생리활성 평가가 진행되고 있고, 복합해조류에 대한 연구는 아직 미미한 상황이며, 또한 해조류의 fucoidan을 발효 분해하여 얻을 수 있는 fucose에 대한 HPLC 분석법의 표준화가 정립되어 있지 않은 실정이다.

본 연구에서는 미역, 다시마, 불등가사리 등의 복합해조류 발효추출물로부터 생리활성을 연구함으로써, 화장품소재로서의 가능성과 발효기법을 통해 분리하는 해조류의 유효성분인 fucose를 HPLC 분석 방법을 통해 표준화하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 연구에서 사용된 해조류 미역, 다시마, 불등가사리는 완도산으로 구입하여 추출을 수행하였다.

2.2. 기기 및 시약

본 실험을 수행하기 위한 항산화제 시약 DPPH (Sigma, USA), ABTS (Sigma, USA)에서 구입하였으며, 미백실험을 위한 시약 mushroom tyrosinase (Sigma, USA), L-tyrosine (Sigma, USA)에서 구입하였다. 보습활성을 측정하기 위해서 hyaluronic acid ELISA Kit (OKEH02527)를 구입하였으며, 흡광도 측정을 위해 ELISA reader (Bio tek, USA)을 이용하였고, 유효성분 분석을 위해서 HPLC는 agilent technologies (1200)와 ELSD detector alltech (3300)으로, Agilent technologies C18 column (250 × 4.6 mm, 5 μm)으로 분석을 수행하였다. Thin layer chromatography (F254)은 Merck (USA)에서 구입하여 실험을 수행하였으며, fucose 표준품은 미국약전 USP reference standard (USA)에서 구입하여 추출물과 비교 실험을 수행하였다.

2.3. 추출 및 발효조건

건조된 해조류 미역, 다시마, 불등가사리 10 : 80 : 10 비율로 혼합하여 80 °C에서 2 h 동안 3회 걸쳐 증류수 (1L)를 이용하여 고온 중탕하여 해조류 복합 추출물을 얻었고, 추출물은 김치연구소에서 분양받은 *Lactobacillus sakei* (ATCC 15521) 유산균으로 발효하였다. 유산균 배양에 따른 조건은 MRS Broth (MB cell, Korea) 액체배지에 전지분유 1%, 해조류추출물 2%, 그리고 유산균 1%, sucrose 1% 농도로 첨가하여 28 °C 배양기에 72 h 동안 발효하였다. 발효 후 동결건조(Ilshin BioBae, Korea)하여 해조류 발효추출물 건조 분말을 0.9 g의 수득률을 확인하였다.

2.4. 복합해조류 발효추출물의 항산화 효능 측정

2.4.1. DPPH Assay

항산화 효능을 알아보기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 본 실험은 보라색을 띠는 자유 라디칼인 DPPH 시약은 항산화 작용에 의해 라디칼이 소거되

어 노란색으로 변하는 원리를 이용하여 측정하는 방법이다[9]. 실험방법은 에탄올에 용해시킨 0.2 mM의 DPPH를 제조한다. 96-well plate에 측정하고자 하는 복합해조류 발효 전·후 추출물과 양성대조군 L-ascorbic acid (L-A)를 각각 농도별로 1,000, 500, 100, 50, 10 ($\mu\text{g/mL}$)을 100 μL 와 제조한 DPPH 용액 100 μL 를 암실에서 20 min 동안 반응시킨다. 반응 후에는 ELISA reader (Bio Tek, USA)에서 517 nm 흡광도를 측정한다. DPPH 라디칼 소거능을 확인하기 위한 계산식은 아래와 같다.

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = (C - A/C) \times 100$$

A: Sample 흡광도 측정 값

C: Control 흡광도 측정 값

2.4.2. ABTS⁺ Assay

ABTS 라디칼 소거능은 potassium persulfate와 반응하여 생성되는 청색을 띠는 청록색의 ABTS 라디칼이 항산화 물질을 함유하고 있는 추출물과 반응하여 청록색이 연한녹색으로 변하게 되는 원리를 적용한 측정 방법이다[10]. ABTS⁺ 라디칼 소거작용 측정은 7 mM ABTS와 2.4 mM K₂S₂O₈을 1 : 1로 혼합하여 암실에서 실온으로 24 h 동안 반응하였다. 반응 후 ABTS의 흡광도 값은 ± 0.7 이 되게 한다. 96-well plate에 측정하고자 하는 복합해조류 발효 전·후 추출물과 양성대조군 L-Ascorbic acid (L-A)를 각각 농도별로 1,000, 500, 100, 50, 10 ($\mu\text{g/mL}$)의 100 μL 와 제조한 ABTS 용액 100 μL 를 암실에서 20 min 동안 반응시킨다. 반응 후에는 ELISA reader에서 734 nm 측정한다. ABTS⁺ 라디칼 소거능을 확인하기 위한 계산식은 아래와 같다.

$$\text{ABTS}^+ \text{ radical activity (\%)} = (C - A/C) \times 100$$

A: Sample 흡광도 측정 값

C: Control 흡광도 측정 값

2.5. 복합해조류 발효추출물의 미백활성 측정

2.5.1. *In vitro* Tyrosinase Activity Assay

Tyrosinase 활성 기질은 tyrosine을 사용하였다. 1.5 mM의 tyrosine 기질과, 500 U/mL mushroom tyrosinase는 potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.5)에 녹여

제조하였다. 측정하고자 하는 복합해조류 발효 전·후 추출물을 각각 1,000, 500, 100, 50, 10 ($\mu\text{g/mL}$) 제조하여 tyrosinase와 반응시킨 후, 기질 tyrosine과 37 °C에서 20 min 동안 반응시켰다. 양성대조군 알부틴과 비교 실험을 진행하였다. 반응 후 ELISA reader에서 490 nm 흡광도를 측정하였다.

2.5.2. L-DOPA Assay

Tyrosinase의 의해 tyrosine이 dopaquinone으로 산화되면서 멜라닌세포가 활성화 된다. 이 과정에서 미백 저해 효능을 알아보기 위해 기질인 L-DOPA를 이용한 저해 활성 실험을 진행하였다. 10 mM의 L-DOPA기질은 potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 7.0) 녹여 제조하였고, 500U/mL mushroom tyrosinase는 potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.5)에 녹여 제조하였다. 측정하고자 하는 복합해조류 발효 전·후 추출물을 각각 농도별로 1,000, 500, 100, 50, 10 ($\mu\text{g/mL}$) 제조하여 tyrosinase와 반응시킨 후, 기질 L-DOPA와 37 °C에서 1 min 동안 반응시켰다. 양성대조군 알부틴과 비교 실험을 진행하였다. 반응 후 ELISA reader에서 457 nm 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Tyrosinase activity (\%)} = (1 - (B - B')/A) \times 100$$

A: 공시료액의 반응 후 흡광도 값

B: 시료액의 반응 후 흡광도 값

B': 무첨가 흡광도 값

2.6. Hyaluronic Acid 함량측정

2.6.1. 세포배양

각질형성세포에서 hyaluronic acid 함량을 측정하였다. HaCaT cell (한국세포주은행)을 6-well plate에 5×10^5 cells/well로 분주하여 24 h, 37 °C, 5%, CO₂조건으로 incubator에 배양하였다. 24 h 이후 분주한 배지를 제거하여 무첨가 배지로 교체하여 측정하고자 하는 복합해조류 발효 전·후 추출물을 각각 농도별로 1,000, 500, 100, 50, 10 ($\mu\text{g/mL}$)로 처리하여 incubator에 24 h 배양하였다. 배양 후 상등액은 hyaluronic acid Kit를 이용하여 ELISA reader를 통해 흡광도를 측정하였으며, hyaluronic acid 함량에 따른 검량선을 그려 함량을 계산하였다.

Table 1. HPLC Condition of the Mixed Seaweeds Fermented Extract and Standard

Condition of HPLC Analysis	
Detector	Elsd Alltech 3300
Column	Agilent Technologies C18
Injection	10 μ L (Sample 16 mg/Water 1 mL) => Fucose
Temperature	50 $^{\circ}$ C (Gas Flow ; 1.5 mL/min)
Solvent flow	0.5 mL/min
Solvent	A : ACN B : 10% MeOH => 15 min

2.7. 복합해조류 발효추출물의 세포 생존율 측정

2.7.1. RAW 264.7 Cell Viability

마우스의 대식세포주인 RAW 264.7 (한국세포주은행) 세포는 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin (P/S)을 함유한 DMEM (Gibco, USA) 배지에서 37 $^{\circ}$ C로 유지되는 5%, CO₂조건으로 배양하였다. 세포는 96-well plate에 well 당 5×10^4 cells/well의 세포주로 분주하였다.

2.7.2. B16F1 Cell Viability

마우스의 멜라노마세포주인 B16F1 (한국세포주은행) 세포는 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin (P/S)을 함유한 DMEM (Gibco, USA) 배지에서 37 $^{\circ}$ C로 유지되는 5%, CO₂조건으로 배양하였다. 세포는 96-well plate에 well 당 5×10^4 cells/well의 세포주로 분주하였다.

2.7.3. HaCaT Cell Viability

사람의 각질형성세포주인 HaCaT 세포는 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin (P/S)을 함유한 DMEM (Gibco, USA) 배지에서 37 $^{\circ}$ C로 유지되는 5%, CO₂조건으로 배양하였다. 세포는 96-well plate에 well 당 9×10^4 cells/well의 세포주로 분주하였다.

2.7.4. 세포 독성 측정

복합해조류 발효추출물의 세포독성을 확인하기 위하여 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay 방법을 수행하였다. 세포는 100 μ L씩 분주하고, 각 세포마다 측정하고자 하는 복합

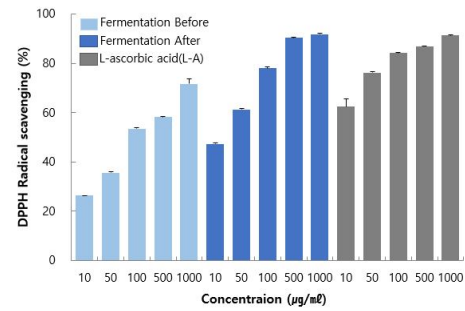


Figure 1. DPPH radical scavenging activity of seaweeds extract before and after fermentation. L-ascorbic acid (L-A) was used as a positive control. Result are expressed as mean \pm SD (n = 4).

해조류 발효 전·후 추출물을 각각 농도별로 1,000, 500, 100, 50, 10 (μ g/mL) 처리하여, 37 $^{\circ}$ C로 유지되는 5%, CO₂조건으로 24 h 배양하였다. 5 μ g/mL 농도로 제조한 MTT 용액을 첨가하여 2 h Incubator에 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well 당 DMSO (Sigma, U.S.A.) 첨가하여 실온에서 30 min 동안 반응시켰다. 반응 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 아래와 같은 식으로 나타내었다.

$$\text{Cell viability (\%)} = (A/C) \times 100$$

A: Sample 흡광도 측정 값

C: Control 흡광도 측정 값

2.8. 복합해조류 발효추출물의 유효성분 분석

2.8.1. TLC 및 HPLC를 이용한 성분 분석

Thin layer chromatography (TLC), 분석 시 사용한 전개 용매는 *n*-BuOH : ethyl acetate : water = 4 : 1 : 1 조건으로 유효성분인 fucose를 확인하였다.

High-performance liquid chromatography (HPLC)분석은 표준품 fucose을 10 mg/mL에 water로 전처리하고, 이동상의 용매 조성은 이동상 A는 아세톤니트릴 (ACN) 80%와 이동상 B 증류수에 메탄올 10%로 제조하여 20% 조건으로 20 min 동안 흘려준다. 자세한 HPLC 분리조건은 Table 1에 나타내었다.

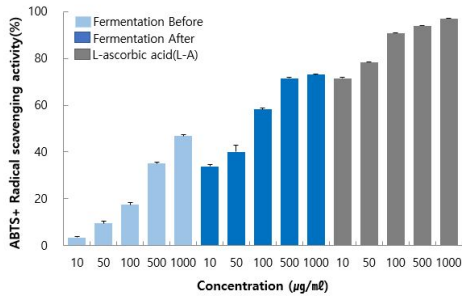


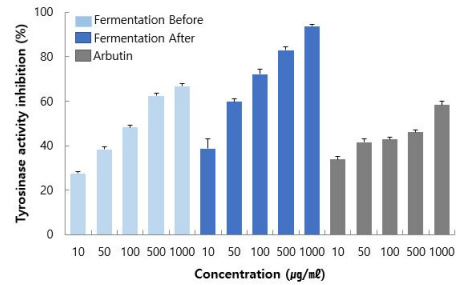
Figure 2. ABTS+ radical scavenging activity of seaweeds Fermentation extract before and after fermentation. L-ascorbic acid (L-A) was used as a positive control. Result are expressed as mean ± SD (n = 4).

3. 결과 및 고찰

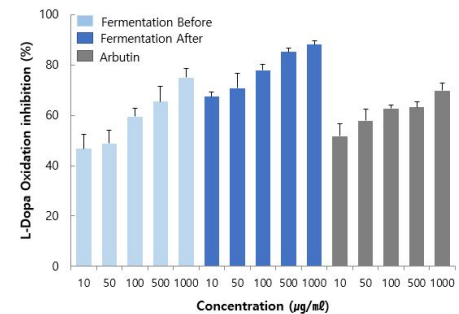
3.1. 복합해조류 발효추출물의 항산화 효능 측정

나이가 들어가면서 다양한 물리적, 화학적 환경에 의해 우리 피부는 노화가 진행이 된다. DPPH는 산화 방지물질로부터 전자 혹은 수소를 제공받으면 non-radical로 전환된다[11,12]. 따라서 본 실험에서는 항산화 활성 측정 방법 중 Blois의 방법을 따라 측정하였다 [13]. 실험결과 복합해조류 추출물 발효 전, 후에 대한 비교 실험을 그래프로 Figure 1에 나타내었으며, 발효 전 58% 저해 활성을 보였으며, 발효 후에는 90%의 저해 효능을 보였으며. 이로부터 발효 후 농도 의존적으로 저해활성이 증가하는 양상을 확인하였다. 또한 양성 대조군 L-ascorbic acid 500 µg/mL 86%, 복합해조류 발효 후는 90%의 저해 효율이 보였다. 이 결과를 토대로 복합해조류 발효추출물이 항산화 효능이 있는 것으로 확인하였다.

ABTS⁺도 항산화 활성을 알아보기 위해 수행하였다. 본 실험결과 복합해조류 추출물 발효 전, 후에 대한 비교 실험으로 그래프는 Figure 2에 나타냈으며, 또한 양성 대조군 L-ascorbic acid 500 µg/mL 94%이며, 복합해조류 추출물 발효 전은 35%, 복합해조류 발효 후는 71%의 저해 효율을 보였다. 이로써 발효 후 추출물이 농도 의존적으로 항산화 효능이 증가하는 양상을 나타냈다. 이 결과가 양성대조군 보다는 저해효율이 낮지만, 발효 전보다는 효능이 월등한 것을 확인할 수 있었으며, 이는 복합해조류 발효추출물이 항산화 효능이 있는 것으로 간주할 수 있다.



(A)

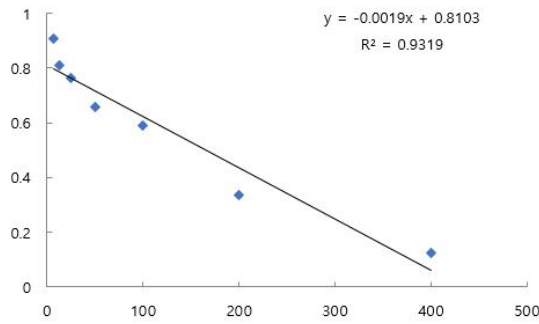


(B)

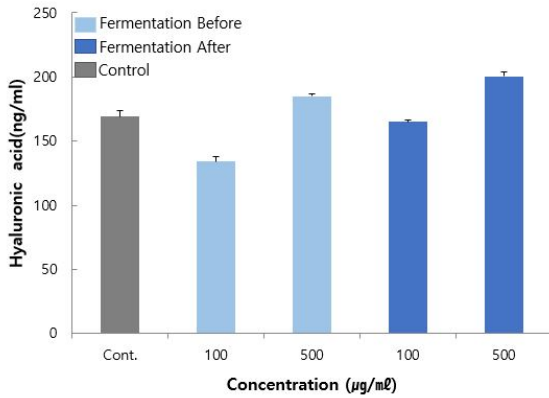
Figure 3. (A) Tyrosinase activity inhibition and (B) L-DOPA activity of mixed seaweeds extract before and after fermentation. Arbutin was used as a positive control. Result are expressed as mean ± SD (n = 4).

3.2. 복합해조류 발효추출물의 미백 효능 측정

Melanin 생성에 있어서 가장 중요한 역할을 하는 효소가 tyrosinase이며, melanosome 내에 tyrosine을 산화시켜 DOPA를 만들고, dopachrome을 만드는 DOPA oxidase로 작용하여 최종적으로 melanin polymer를 합성하게 된다. Tyrosinase 활성 억제 실험은 유용한 평가방법으로 인정되고 있다[14]. 미백효능에 관한 실험 결과 양성대조군 알부틴과 비교 실험을 진행하였으며, 복합해조류 발효추출물이 농도 의존적으로 양성대조군 보다 월등한 저해 활성이 나타난 것을 확인하였다. 또한 복합해조류 발효추출물의 농도 500 µg/mL에서 알부틴은 72% 활성을 나타냈으며, tyrosinase activity에서는 83%, L-Dopa activity에서는 85% 저해 활성을 보였다. 이 결과를 토대로 복합해조류 발효추출물이 알부틴을 대체할 수 있는 미백기능성 화장품 소재로서 활용될 수 있음을 확인하였다. 본 실험의 그래프는 Figure 3에 나타냈다.



(A)



(B)

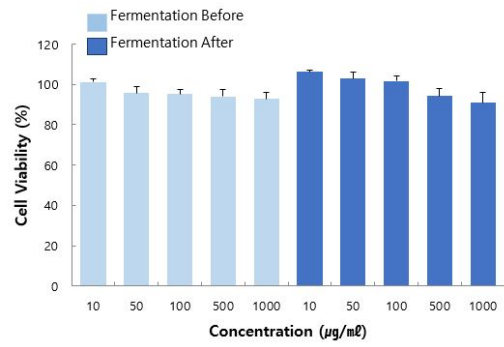
Figure 4. (A) Calibration curve. (B) Hyaluronic acid contents were plotted to determine the moisturizing effect of the combined fermented seaweeds extract. The coefficient of determination is $R^2 = 0.9319$. Result are presented means \pm SD of triplicate data (n = 4).

3.3. 복합해조류 발효추출물의 보습 효능 측정

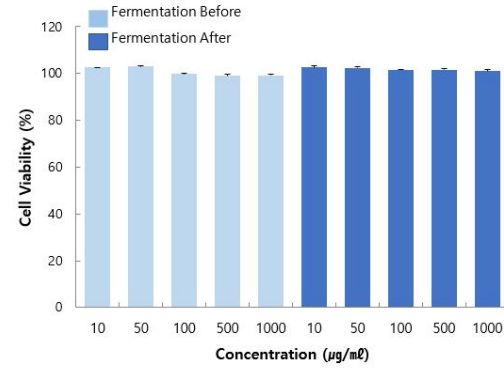
본 실험은 복합해조류 발효추출물의 보습 효능을 알아보기 위해 실험을 수행하였으며, 보습력은 hyaluronic acid 함량에 따른 검량선을 그려 Figure 4에 나타내었다. 복합해조류 발효추출물 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 발효 전 185%, 발효 후 200%로 발효 후의 보습함량이 증가하였고, 또한 복합해조류 발효추출물이 농도의 의존적으로 증가함에 따라 보습효과를 보인다고 해석할 수 있지만, 결정계수 값이 낮아서 이는 추후 보완할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

3.4. 복합해조류 발효추출물의 세포 생존율

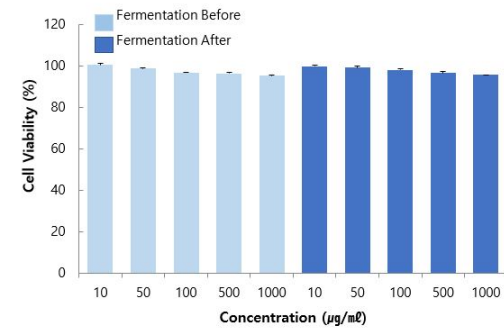
복합해조류 발효추출물로부터 항산화, 미백, 보습에 관한 실험을 토대로 세포 생존율을 확인하기 위해, 마



(A)



(B)



(C)

Figure 5. Cell viability of mixed seaweeds fermented extract on (A) RAW 264.7 cell, (B) B16F1 cell and (C) HaCaT cell. The data represents the means \pm SD (n = 5).

우스의 세포주인 대식세포 RAW 264.7 cell, 멜라노마 세포 B16F1 cell, 각질형성세포 HaCaT cell을 이용하여 MTT assay를 수행하였다. MTT assay에 대한 결과 그래프는 Figure 5에 나타내었다. 김치유산균 *L. sakei* 균주를 이용하여 발효 전과 후로 비교 실험을 진행하였으며, 추출물 농도 10, 50, 100, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 처리 시 감소하는 경향이 보였지만, 모든 세포 주에서는

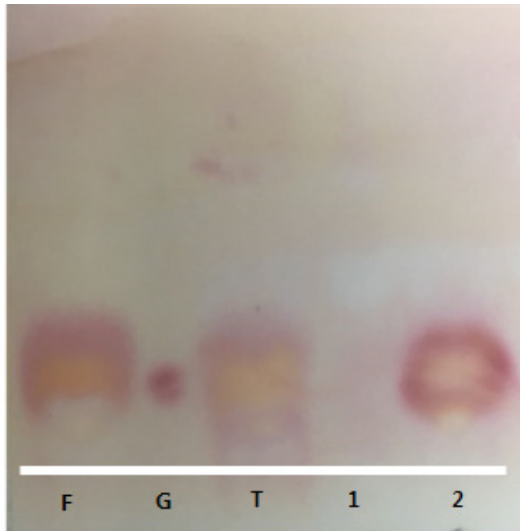
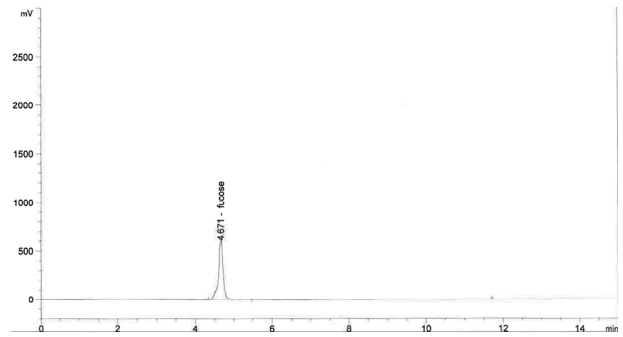


Figure 6. TLC chromatogram of mixed seaweeds extract before and after fermentation. The solvent composition is *n*-BuOH : acetic acid : H₂O = 4 : 1 : 1 (v/v) (F : fucose, G : gaba, T : Total, 1 : before fermentation, 2 : after fermentation).

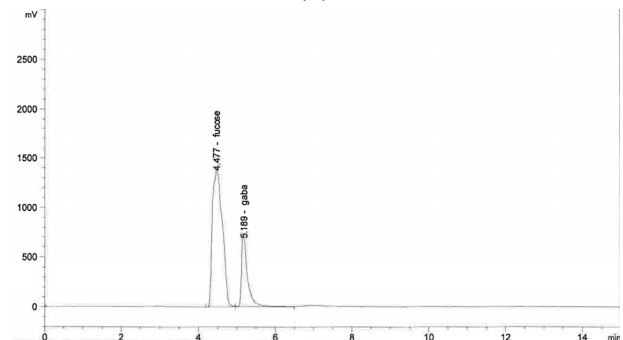
90% 이상의 세포 생존율을 확인할 수 있었다. 이를 통해서 복합해조류 발효 전과 발효 후 추출물은 세포독성이 없는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과 복합해조류는 화장품 소재로의 활용성을 제안할 수 있다.

3.5. 복합해조류 발효추출물의 유효성분 TLC 및 HPLC 분석

해조류의 fucoidan을 분해하여 추출되어 나오는 fucose 유효성분을 분석하기 위해 TLC, HPLC 실험을 수행하였다. TLC는 silica gel을 이용하여 표준품과 복합해조류 발효추출물의 chromatogram을 확인 하였으며, Figure 6에 나타내었다. 또한, HPLC는 경기과학진흥원에 분석을 의뢰하여 교차 실험을 진행하였으며, 표준품과 발효 후 추출물의 peak를 비교한 결과 retention time (RT)는 4.65 min으로 확인되었다. 경기과학진흥원에 의뢰한, 분석결과와 peak는 6.27 min으로 확인되었다. 교차 실험의 경우 RT값의 차이는 기기 차이에 따른 변화였으며, 이동상의 용매조건과 detection으로부터 정확한 peak 분석은 가능하다는 것을 확인하였다. HPLC의 분석 결과는 Figure 7에 나타내었다.



(A)



(B)

Figure 7. (A) Standard and (B) seaweeds extract after fermentation. In this experiment, HPLC was performed on the fermented extract of standard fucose and mixed seaweeds, and experiment was performed repeatedly for three times.

4. 결 론

본 실험은 세계 생산량 4위인 우리나라 해조류를 이용하여 화장품 소재로서의 활용가치를 확인하기 위해 연구를 진행하였으며, 미역, 다시마, 불등가사리 등의 혼합비로 연구를 수행하였다. 또한 발효 기법을 통해 해조류의 시너지를 부여하기 위해 김치 유산균인 *L. sakei*로 발효 추출하였다. 본 연구는 미백, 항산화, 보습 및 세포 생존율에 관한 활성 실험을 수행하였으며, 양성대조군은 화장품소재로 이용되고 있는 L-ascorbic acid, 알부틴으로 비교 실험을 하였다. 생리활성 결과 복합해조류 발효추출물은 500 µg/mL 농도에서 항산화, 미백효과가 농도 의존적으로 증가하고 있는 것을 확인하였다. 보습 효능에 관한 실험의 경우 R² 계수 값이 낮았으며, 배지로 배출되는 HA 합성에 대한 정량한 결과로 추후 hyaluronic acid synthase (HAS) 유전자 증폭 실험을 통한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 이 결과를 토대로 해조류의 유효성분인 fu-

cose를 확인하기 위해 TLC, HPLC 실험은 진행하였으며, 표준품과 비교하여 정성분석을 확인할 수 있었다. 이는 용매의 조성과 분석기기를 표준화할 수 있으며, 추후 정량 분석 또한 가능함을 보여주는 결과이다.

모든 결과를 통해서 미역, 다시마, 불등가사리의 복합해조류 발효추출물은 항산화, 미백 기능성 화장품 원료로서 상용화 가능성이 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgement

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 “지역특화산업육성사업”으로 수행된 연구결과이며, 이에 감사드립니다(과제번호-R0005794).

Reference

1. J. K. Lim, A review of the usability of fucoidan extracted from brown seaweed as a functional ingredient of cosmetics, *Kor. J. Aesthet. Cosmet.*, **12**(4), 447 (2014).
2. Y. S. Lee, D. S. Kim, B. H. Ryu, and S. H. Lee, Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **21**, 544 (1992).
3. H. Nakashima, Y. Kido, N. Kobayashi, Y. Motoki, M. Kaushal, and N. Yamamoto, Purification and characterization of an avian myeloblastosis and human immunodeficiency virus reverse transcriptase inhibitor sulfated polysaccharide extracted from sea algae, *Agents. Chemother.*, **31**, 1524 (1987).
4. M. Scot, G. M. Colin, J. David, L. Mills, and J. B. Brian, Estimation of meiobenthic nematode diversity by nonspecialists, *Marine Pollu. Bulletin*, **18**, 646 (1987)
5. N. Y. Lee, Antioxidant effect and tyrosinase inhibition activity of seaweeds ethanol extracts, **42**(12), 1893 (2013).
6. S. Y. Lee, J. W. Ahn, H. J. Hwang, and S. B. Lee, Seaweed biomass resources in Korea, *KSBB Journal*, **26**, 267 (2011).
7. H. S. Song, S. H. Eom, Y. M. Kang, J. D. Choi, and Y. M. Kim, Enhancement of the antioxidant and anti-inflammatory activity of *hizikia fusiforme* water extract by lactic acid bacteria fermentation, *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.*, **44**(2), 111 (2011).
8. T. J. Kang, Effectiveness and utilization of lactic acid bacteria, *Bio Wave*, **11**(7), 1 (2009).
9. M. H. Choi and H. J. Shin, Anti-oxidative and anti-mellogenesis effects of blueberry extract, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **13**(2), 261 (2015).
10. S. H. Lee and M. S. Lee. The research on anti-oxidative effect of Sasaquel paerensis extractum and assessment of cytotoxicity, *J. Korea Acad. Industr. Coop. Soc.*, **18**(3), 687 (2017).
11. B. W. Choi, B. H. Lee, K. J. Kang, E. S. Lee, and N. H. Lee, Screening of the tyrosinase inhibitory from marine algae and medicinal plants, *Kor. J. Pharmacogn*, **29**, 237 (1998).
12. Z. Diaconeasa, L. Leopold, D. Ruginã, H. Ayvaz, and C. Socaciu, Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin rich extracts from blueberry and blackcurrant juice, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 2352 (2015).
13. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **29**, 1199 (1958).
14. J. K. You, M. J. Chung, D. J. Kim, D. J. Seo, J. H. Park, T. W. Kim, and M. Choe, Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *paeoniasuffruticosa* water extract, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**(3), 292 (2009).