

화장품 소재연구를 위한 해조류의 발효 공정 확립

이충우, 김현아, 윤혜련, 전태영*
(주) 씨앤비코스메틱

Establishment of Seaweed Fermentation Process for Cosmetic Material Research

Chung-Woo Lee, Hyun-A Kim, Hye-Ryeon Yoon, and Tae-Young Jeon*
C&B Cosmetic Co. Ltd, 90, Waryong-ro 126 beon-gil, Seobu-myeon, Hongseong-gun, Chungcheongnam-do,
Republic of Korea

요약 본 연구에서는 감태, 파래, 서실, 대황, 청각, 불등가사리, 세모가사리, 참도박, 미역, 다시마 등 해조류의 발효 공정을 확립함으로써 해양 생물의 화장품 소재로의 사용 가능성에 대한 제안을 하고자 하였다. 해조류의 효과적인 발효를 위해 김치로부터 분리된 유산균인 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus sakei*) 균주를 선정하였고, 첨가제로 전지분유를 사용하였다. 해조류 분쇄물 2.0 % 와 전지분유 1.0 % 를 투입하고, 이후 40 ℃ 까지 방랭하여 준비 한 후 락토바실러스 사케이 유산균 1.0 % 를 접종 하였다. 발효물을 냉각하고 여과한 후 부틸렌글라이콜, 글리세린 등과 방부 역할을 할 수 있는 1, 2-헥산다이올 등을 첨가하여 혼합 후 제품을 완성하였다. 10 종의 해조류 중 감태, 청각, 미역, 다시마의 발효 효율이 좋음을 확인 할 수 있었다. 화장품에 적용 가능한 발효물의 함량을 결정 하였고, HET-CAM (The Hen's egg test-Chorioallantoic membrane) 법을 이용하여 원료의 안전성을 확인 하였다.

Abstract In this study, the possibility of using marine life for cosmetic materials was assessed by establishing a fermentation process of seaweed, such as *Ecklonia cava*, *Enteromorpha prolifera*, *Chondria crassicaulis*, *Eiseniacyclois*, *Codium fragile*, *Seaweed furcata*, *Gloiopeltis tenax*, *Grateloupia elliptica*, *Undaria pinnatifida*, and *Saccharina japonica*. *Lactobacillus sakei* isolated from Kimchi was used for effective fermentation and whole milk powder was used as an additive. 2.0 % of crushed seaweed and 1.0 % of whole milk powder were added and afterwards, 1.0 % *Lactobacillus sakei* was added after cooling to 40 °C. After cooling and filtering the fermented product, butylene glycol, glycerine, and 1,2-hexandiol, which have the effect of a preservative, were added to mix and complete the final product. Among the ten kinds of seaweeds, the process was found to be highly effective in the fermentation of *Ecklonia cava*, *Codium fragile*, *Undaria pinnatifida*, and *Saccharina japonica*. The amount of fermentable substances in cosmetics was determined and the safety of the raw material was verified using the HET-CAM (The Hen's egg test-Chorioallantoic membrane) test.

Keywords : Seaweed, *Lactobacillus*, Fermentation, Cosmetic, Safety

1. 서론

건강과 미용, 환경에 대한 관심 증가로 인하여 천연 자

원을 이용한 화장품 및 의약품에 대한 연구가 광범위하게 진행 되어지고 있다[1-2]. 특히 해양 생물의 다양성과 풍부함은 좋은 소재로서의 가능성과 가치가 있다는 판단

본 논문은 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 "경제협력권산업육성사업(과제번호-R0005794)"으로 수행되었음.

*Corresponding Author : Tae-Young Jeon(C&B Cosmetic Co. Ltd)

email: rnd03@cnbcos.com

Received July 3, 2019

Accepted September 6, 2019

Revised August 9, 2019

Published September 30, 2019

에 여러 가지 연구가 수행 되고 있다. 그 중에서도 해조류의 다양한 생리활성 물질들이 알려지면서 새로운 개발 자원으로서 잠재성이 인식되고 있으며[3-4], 해양생물자원으로서 해조류는 미래 차세대 에너지자원으로도 부상하고 있어 가장 자연 친화적이고 생산력이 뛰어난 바이오매스로 알려져 있기도 하다[5].

갈조류, 녹조류, 홍조류등 다수의 해조류는 피부 관련 생리활성을 나타내어 화장품이나 피부 의약품의 개발을 위한 소재로써 가치가 높다. 해조류 추출물은 피부 각질 제거, 보습, 항산화 등의 기능성 화장품으로 사용 중에 있으며 개발 가능성이 많은 소재이다[6-7].

또한 대황, 감태, 지층이 등 여러 종류의 해조류에서는 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해 활성의 우수한 연구가 진행 되어졌고[8], 대표적인 해조류인 김, 미역, 다시마 및 톳의 추출물을 이용하여 총 페놀함량, 항산화 활성 효과, 지질 산화 억제능력 및 tyrosinase 억제 활성 효과 분석 연구 등 해조류에 대한 활발한 연구가 진행 중이다[9].

본 연구에서는 여러 가지 해조류들을 이용한 발효 공정을 확립하였고, 해조류 발효물의 화장품 소재로써 안전성 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

해조류인 감태, 파래, 서실, 대황, 청각, 불등가사리, 세모가사리, 참도박, 미역, 다시마는 전남 완도군에 위치하고 있는 주식회사 청산 바다에서 구매하여 사용하였다. 해조류는 원물을 수거하여 이물질 및 겉에 묻어있는 염분을 제거하기 위해 12시간 동안 수세 및 탈염하였다. 이후 배수가 잘 되도록 걸여두어 수분 함량이 1.0 % 이하가 되도록 건조하여 분쇄하였다. 해조류의 수분 함량은 수분 측정기인 Sartorius Moisture analyzer MA37를 이용하여 확인하였다. 분쇄는 배양액이 탁해지고 필터가 안되는 문제가 발생하지 않도록 너무 곱지 않게 5 mm 이하가 되도록 분쇄 하였다. 사용 균주는 김치 유산균인 *Lactobacillus Sakei*와 호기성 유산균인 *Lactobacillus Acidophilus*를 사용하여 발효 하였으며, 전지분유(whole milk)는 서울우유에서 생산한 TTC 검사 음성제품을 사용하였다.

2.2 발효 조건

해조류 10종의 최적 발효 조건을 탐색하기 위해, 유산균 두 종의 배양을 통해 최적 생육을 확인 함으로써 발효 조건을 확립하였다. 해조류 함량은 0.1 %, 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 3.0 %로 하여 유산균 두 종에 대해 발효 및 생육을 확인하였으며, 확인방법으로 분광미터기인 UVIKON 933A를 이용하여 흡광도 값을 측정하여 평가하였다.

2.3 발효 첨가물

유산균의 발효 첨가물로써 전지분유(whole milk)와 설탕(sucrose)을 선택하였다. 전지분유는 유산균 생육에 유리한 첨가물로써, 화장품 원료로도 사용 되어지고 있다. 설탕은 미생물 배양 시에 주로 탄소원으로 사용되고 있으며 glucose 보다 저렴하여 산업에서 가장 많이 사용되는 첨가물이다[10].

전지분유(whole milk)는 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 3.0 %로 함량을 달리하여 유산균의 발효 및 생육을 확인하였으며, 확인방법으로는 분광 미터기인 UVIKON 933A를 이용하여 흡광도 값을 측정하여 평가하였다.

유산균의 발효 첨가물로써 설탕(sucrose)의 함량은 1.0 %, 2.0 %, 3.0 %로 함량을 달리하여 유산균의 발효 및 생육을 확인하였으며, 확인방법으로 분광 미터기인 UVIKON 933A를 이용하여 흡광도 값을 측정하여 평가하였다.

2.4 원료 안전성 평가

안자극 안전성 측면에서 인체의 눈에 접촉할 가능성이 있는 화장품 및 화장품 원료를 안자극 가능성 예측 평가법인 HET-CAM (Hen's egg test-Chorioallantoic membrane) test로 안전성을 확인하였다. HET-CAM test는 테스트 물질 적용 후 수정란의 용모요막(CAM : Chorioallantoic membrane)에 존재하는 혈관들의 거시적인 변화 (hyperemia, heamorrhage, coagulation) 등을 평가하는 방법으로 안자극을 평가함에 있어, 그 결과가 토끼를 이용한 안점막 자극 시험 결과와 상관관계가 높은 방법으로 평가되어 사용되었다[11].

2.5 제조 공정

해조류 분쇄물 2.0 % 와 전지분유 1.0 % 를 투입하고 잡균을 죽이기 위해 80 ℃ 로 2시간 동안 가열 살균하였다. 이후 40 ℃ 까지 방랭하여 준비 한 후, 원균 1.0 % 를 접종하였다. 발효는 각 해조류 마다 차이가 있어 감태와 파래, 청각은 30 ℃ 에서 4 일간 배양을 하고 불등가

사리, 세모가사리, 참도박, 미역, 다시마는 28 ℃ 에서 6 일간 배양하여 발효한 후, 유산균의 균 기능을 상실 시키기 위해 80 ℃ 에서 10분간 가열하였다. 이후 30 ℃ 까지 냉각한 뒤 여과를 하였다. 이후 방부 처리를 통해 제품을 완성하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 발효 미생물 선정

각 해조류를 *L.sakei*와 *L.acidophilus*로 배양한 결과, Fig. 1 과 같은 생육 그래프를 확인하였다. 해조류를 2.0 % 함유할 경우 72시간 기준 *L.sakei*로 발효한 감태는 1.398, 파래는 1.250, 서실은 1.098, 대항은 1.190, 청각은 1.398, 불등가사리는 0.927, 세모가사리는 0.927, 참도박은 0.695, 미역은 1.390, 다시마는 1.398 로 측정되었으며 *L.acidophilus*로 발효한 경우 감태는 0.495, 파래는 0.286, 서실은 0.487, 대항은 0.395, 청각은 0.690, 불등가사리는 0.207, 세모가사리는 0.207, 참도박은 0.153, 미역은 0.373, 다시마는 0.547로 측정되어 *L.sakei* 가 월등하게 높은 흡광도로 확인 되었으며, 이를 통해 김치 유산균의 배양 및 발효가 *L.acidophilus* 보다 우월 하였음을 확인 할 수 있었다.

또한 *L.sakei* 로 발효한 해조류 중 감태, 청각, 미역, 다시마 등의 발효가 양호함을 확인함으로써 화장품 소재로의 사용 가능성을 확인할 수 있었다.

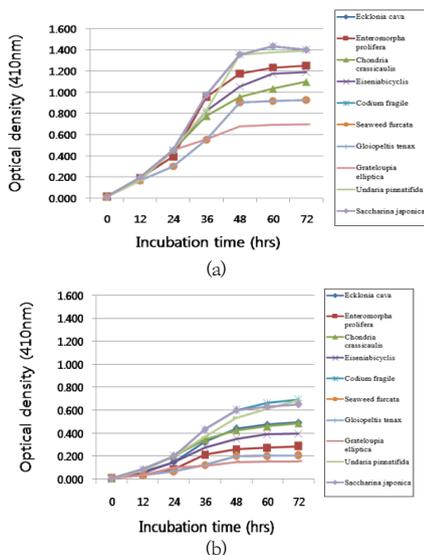


Fig. 1. Growth graph of fermentation microorganism (a) *L.sakei* growth graph (b) *L.acidophilus* growth graph

3.2 발효물 원물 함량 조건 확립

L.sakei 를 이용한 발효 조건 탐색과정에서 해조류의 함량에 따른 유산균의 생육을 확인한 결과, 감태의 경우 0.1 % 함유할 때 1.356, 0.5 %일 때 1.376, 1.0 % 일 때 1.386, 2.0 % 일 때 1.398, 3.0 % 일 때 0.998로 측정되어 3.0 % 이상 넣을 경우에는 유산균의 증식이 방해되는 것을 확인할 수 있었다. 청각의 경우 0.1 % 일 때 1.326, 0.5 % 일 때 1.356, 1.0 % 일 때 1.386, 2.0 % 일 때 1.398, 3.0 % 일 때 0.648로 2.0 % 를 함유하고 있을 때 가장 좋은 함유량으로 확인 되었다. 미역의 경우 0.1 % 일 경우 1.326, 0.5 % 일 경우 1.398, 1.0 % 의 경우 1.386, 2.0 % 일 경우 1.390, 3.0 % 일 경우 0.846 으로 측정되어 0.5 % 에서 1.0 % 를 함유할 경우 좋을 것으로 확인되었다. 다시마의 경우 0.1 % 일 경우 1.376, 0.5 % 일 경우 1.398, 1.0 % 일 경우 1.386, 2.0 % 의 경우 1.398, 3.0 % 에 경우 1.048로 다시마 3.0 % 는 다른 함량에 비해 낮아 결과적으로 해조류를 이용한 발효 시 0.5 %에서 2.0 % 범위 내에서 해조류를 함유하는 것이 바람직할 것으로 확인되었다.

3.3 첨가제 함량 조건 확립

전지분유(whole milk)는 첨가 조건에서 Fig. 2와 같이 0.5 % 보다는 높을수록 좋지만 2.0 % 가 넘어가면 분유의 특유 탁도로 인해 확인이 어려웠으며 3.0 % 가 넘어가면 발효되는 경우보다 산패되는 시료가 늘어났다. 그 결과, 최적 발효 조건으로는 해조류 2.0 % 를 함유하고 전지분유는 1.0 % 부터 2.0 % 미만으로 함유하는 것이 최적이라고 할 수 있다.

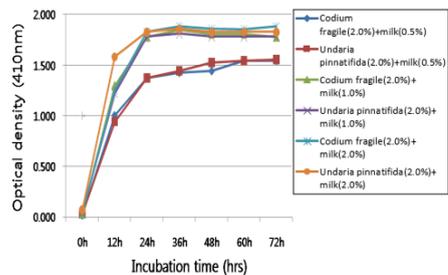


Fig. 2. Whole milk content change graph

발효시 첨가물으로써 다른 성분인 설탕(sucrose)의 함량에 따른 *L.sakei*의 생육을 비교한 결과 Fig. 3 과 같이 1.0 % 부터 3.0 % 까지 거의 차이를 안 보였으며 오히려 3.0 % 첨가된 시료에서 배양과정 중에 흰색의 결정이 생

성되어 유산균 발효에 좋지 않을 것으로 사료 되어 설탕은 첨가 하지 않는 것으로 결정하였다.

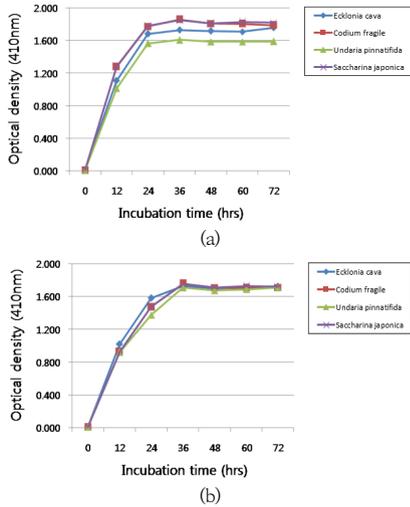


Fig. 3. Sucrose content change graph
(a) Sucrose 1.0 % (b) Sucrose 3.0 %

3.4 원료의 안전성 평가

Negative control로 0.05N NaOH를 처리하여 1분, 5분을 경과 하였을 때 약품의 자극으로 인해 출혈, 융해, 응고 현상들이 일어나 실험적으로 이상이 없음을 확인할 수 있었다. 자극 점수는 출혈 6점, 융해 9점, 응고 7점으로 자극 점수 22점이 확인 되었다. 하지만, 감태, 청각, 미역, 다시마 발효 추출물의 경우 Fig. 4 와 같이 별다른 병변이 없어 자극이 없는 것으로 확인 되었다.

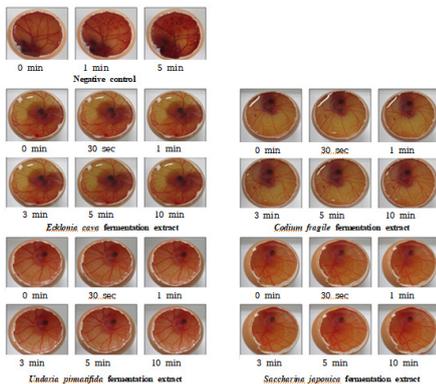


Fig. 4. The HET-CAM test of the fermentation extract

3.5 제조 공정 확립

해조류는 원물을 수거하여 이물질 및 겉에 묻어있는 염분을 제거하기 위해 12시간 동안 수세 및 탈염하였다. 이후 배수가 잘되도록 걸여두고 수분 함량이 1.0 % 이내가 되도록 건조하여 분쇄하였다. 분쇄는 너무 곱지 않게 5 mm 이하가 되도록만 분쇄를 하였다. 분쇄물 2.0 % 와 전지분유 1.0 % 를 투입하고 잡균을 죽이기 위해 80 °C 로 2시간 동안 가열 살균하였다. 이후 40 °C 까지 방랭하여 준비한 후, 원균 1.0 % 을 접종하였다.

발효는 각 해조류마다 차이가 있었다. 감태와 파래, 청각은 30 °C 에서 4일간 배양을 하고 볼등가사리, 세모가사리, 참도박, 미역, 다시마는 28 °C 에서 6일간 배양하여 발효한 후, 유산균의 균 기능을 상실시키기 위해 80 °C 에서 10분간 가열하였다. 이 후, 30 °C 까지 냉각한 뒤 여과를 하였다. 이 후 부틸렌글라이콜, 글리세린 등과 방부 역할을 할 수 있는 1,2-헥산다이올 등을 첨가하여 혼합 후 제품을 완성하였다.

3.6 발효 추출물의 가공적성 평가

가용화 제형의 경우 Fig. 5 에서 보는 바와 같이 감태 발효 추출물 0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 5.0 % 적용 시 0.5 % 에서 1.0 % 정도가 적당했으며, 청각은 0.5 % 에서 1.0 % 정도 함유되는 것이 적당하였다. 미역 발효 추출물은 1.0 % 적용은 진한 색감으로 거부감이 있을 것 이어서 0.5 % 정도가 적합할 것으로 보이며 다시마 발효 추출물은 1.0 % 까지는 적용이 가능할 것으로 보인다.

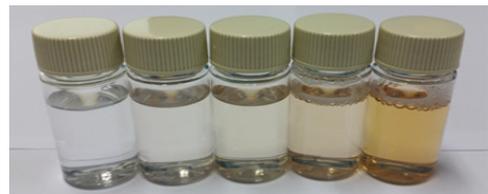


Fig. 5. Application of Solubilization formulation of *Ecklonia cava* fermentation extract
(From the left 0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 5.0 %)

유화 제형의 경우 Fig. 6 에서 보는 바와 같이 감태 발효 추출물 0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 5.0 % 적용 시 2.0 % 까지 가능하며, 청각 발효 추출물은 2.0 % 에서 5.0 % 까지도 적용이 가능할 것으로 보인다. 미역 발효 추출물은 2.0 % 혹은 3.0 % 까지도 적용이 가능한 것으로 확인되었다. 다시마 발효 추출물은 2.0 % 혹은 3.0 % 까지도 적용이 가능한 것으로 확인되었다.



Fig. 6. Application of emulsifier formulation of *Ecklonia cava* fermentation extract
(From the left 0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 2.0 %, 5.0 %)

4. 결론

본 연구는 국내 해양 생물을 화장품에 적용 가능한 천연물 소재로 개발하고 활용함으로써 유효성 및 안전성을 검증하고 가치를 확인하고자 하였다.

2.0 % 의 건조된 해조류 분쇄물과 전지분유 1.0 % 에 *L.sakei* 유산균을 접종하여 해조류 발효 추출물을 제조하였으며, 10종의 해조류 중 감태, 청각, 미역, 다시마의 발효 효율이 좋음을 확인 할 수 있었다.

해조 발효 추출물의 화장품 적용 함량을 결정하였고, 안전성 테스트 진행 결과 화장품 원료로서의 사용 가능성을 확인할 수 있었다.

References

- [1] Min Chio, Dong Il and Youn sook Shin, "Preparation of Lip Balm Utilizing Functionalities of Colorants Extracted from Marine Algae", *Textile Coloration and Finishing(J. Korean Soc. Dye. and Finish.)*, Vol. 26, No. 2, pp.124-130, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5764/TCF.2014.26.2.124>
- [2] Ji Hee Lim, Kwang Seon Jung, Jong sung Lee, Eunsun Jung, Dae Kyung Kim, Young soo Kim, Yong-woo Kim, and Deok hoon Park, "The Study on Antimicrobial and Antifungal Activity of the Wild Seaweeds of Jeju Island", *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.34, No.3, 201-207, 2008.
- [3] Seung-Je Yoon, Yeon-Sook Cho, Ju-Hyun Nam, Hyung-Ho Lee, Eliya Kim and Young-Ki Hong, "Effects of Several Seaweed Extracts on the Viability of Human Keratinocyte HaCaT cells", *J Kor Fish Soc*, 41(1), 68-72, 2008.
- [4] Ryo T, Hiroko IS, Kaeko H, Saburo H, Susumu H, "Concurrence of agaroid and carrageenan chains in funoran from the red seaweed *Gloiopeltis furcata* post et ruprecht", *Carbohydr Polym*, 35, 81-87, 1998.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(97\)00230-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(97)00230-0)
- [5] Jeong-gon Ryu, Strategies to Industrialize the Algae Bio-business and Policy Direction, Policy Research,

Korea Maritime Institute, Republic of Korea, pp. 4.

- [6] Jong-Heon Shin, A study on the Development of New Agents for Cosmetics and Skin Drugs from Marine Algae, R&D Project, Seoul National University, Republic of Korea, pp. 4.
- [7] Jin Kyung Lim, "A Review of the Usability of Fucoidan Extracted from Brown Seaweed as a Functional Ingredient of Cosmetics", *Kor.J.Aesthet. Cosmetol.*, Vol.12, No.4, 447-452, 2014.
- [8] Jin-Hak Kim, Hye-Min Kang, Shin-Ho Lee, Ju-young Lee, La-Uoung Park, "Antioxidant and α -glucosidase inhibition activity of seaweed extracts", *Kor. J. Food Preserv.* 22(2), 290-296, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2015.22.2.290>
- [9] Na Young Lee, "Antioxidant Effect and Tyrosinase Inhibition Activity of Seaweeds Ethanol Extracts". *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 42(12), 1893-1898, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.12.1893>
- [10] Tae Jin Kang, The Efficacy and Utility of Lactobacillus [Internet], *BioWave* Vol.11 No. 7, 2009, Available From:<https://bric.postech.ac.kr/webzine/>(accessed Jun. 3, 2019)
- [11] Sun-A Cho, Su-Sun An, Han-Kon Kim, Tae-Ryong Lee, "The use of HET-CAM test in evaluating the eye irritation potential of cosmetics and cosmetic ingredients", *Journal of Alternatives to Animal Experiments*, 2(2), 5-9, 2008.

이 총 우(Chung-Woo Lee)

[정회원]



- 2006년 2월 : 충북대학교 약학 대학원 약학과(약학박사)
- 2002년 4월 ~ 현재 : ㈜씨앤비코스메틱 대표

<관심분야>

화장품, 천연물, 항균제

김 현 아(Hyun-A Kim)

[정회원]



- 2014년 2월 : 가톨릭대학교 식품영양학과(학사)
- 2017년 12월 ~ 현재 : ㈜씨앤비코스메틱 연구원

<관심분야>
생활화학, 화장품

윤 혜 련(Hye-Ryeon Yoon)

[정회원]



- 2005년 2월 : 경희대학교 화학과(이학석사)
- 2004년 12월~2007년 6월 : 중외 제약 분석원
- 2008년 3월 ~ 2010년 1월 : 경희대식물대사연구센터 연구원

- 2015년 3월 ~ 2017년 2월 : 경희대 산학협력단 사원
- 2018년 3월 ~ 현재 : ㈜씨앤비코스메틱 연구원

<관심분야>
화학, 천연물, 화장품

전 태 영(Tae-Young Jeon)

[정회원]



- 2017년 8월 : 숭실대학교 화학공학(공학석사)
- 2017년 9월 ~ 현재 : ㈜씨앤비코스메틱 연구원

<관심분야>
화장품, 천연물