

*Lactobacillus plantarum*에 의한 흰 민들레 발효물의 항산화 및 광노화 억제 효과

홍지우¹, 박하영¹, 김준희¹, 염서희¹, 김진우^{1,2,3*}

¹선문대학교 식품과학과, ²선문대학교 차세대반도체기술연구소, ³FlexPro Biotechnology Co. Ltd.

Antioxidation and Anti-photoaging Effects of White *Taraxacum Coreanum* Extract by *Lactobacillus plantarum*

Ji Woo Hong¹, Ha Young Park¹, Jun Hee Kim¹, Yeom Suh Hee¹, Jin Woo Kim^{1,2,3*}

¹Department of Food Science, SunMoon University

²Center for Next-Generation Semiconductor Technology, SunMoon University

³FlexPro Biotechnology Co. Ltd

요약 본 연구는 김치로부터 β -glucosidase 생산하는 *Lactobacillus plantarum* SM4를 분리하여 흰 민들레 발효를 수행하고 미백과 주름개선 효과를 가지는 생리활성 평가를 위해 총 폴리페놀 함량, 플라보노이드 함량, 항산화 활성, 타이로시네이스 활성저해, 콜라게네이스 활성저해, 자외선 차단율을 분석하였다. 흰 민들레 발효물의 총 폴리페놀 함량이 41.8 ± 0.26 mg GAE/g DW로 열수추출물 21.4 ± 0.67 mg GAE/g DW에 비해 2배 가량 증가하였으며 항산화 활성은 $65.6 \pm 4.7\%$ 로 4배 증가하였다. 미백과 주름개선의 지표인 타이로시나아제 및 콜라게네이스 활성저해에 있어 흰 민들레 발효물이 $87.9 \pm 4.73\%$ 와 $66.7 \pm 3.48\%$ 로 열수추출물에 비해 각각 2.4배와 1.5배 증가한 결과를 보였다. 흰 민들레 발효물과 열수추출물의 자외선 차단 효과를 비교하였을 때, UVA(320 nm) 차단율이 각각 64.7%와 15.2%로 측정되어 흰 민들레 발효물이 열수추출물에 비해 더 높은 효과를 나타내어 김치로부터 분리한 *L. plantarum* SM4가 생산하는 β -glucosidase를 발효를 통해 피부 미백, 주름 방지, 자외선 차단 효과가 증진됨을 확인하였다.

Abstract *Lactobacillus plantarum* SM4, a strain producing β -glucosidase, was isolated from kimchi and fermented with white *Taraxacum coreanum* to enhance the production of bioactive compounds. The total polyphenol content(TPC), total flavonoid content(TFC), radical scavenging activity(RSA), tyrosinase inhibitory activities(TIA), and collagenase inhibitory activities(CIA) were measured to evaluate the skin whitening and anti-wrinkle effects of the fermented product. The TPC of fermented white *T. coreanum* was 41.8 ± 0.26 mg GAE/g DW, which was approximately two times higher than the hot-water extraction of 21.4 ± 0.67 mg GAE/g DW. RSA, an indicator of antioxidant activity, was $65.6 \pm 4.7\%$ in fermentation, which is four times higher than that of the hot-water extract. TAI and CAI, which are indicators of the whitening and anti-wrinkle effects, were $87.9 \pm 4.73\%$ and $66.7 \pm 3.48\%$, respectively, which were 2.4 and 1.5 times higher than those of hot-water extraction. When comparing the UVA(320 nm) protection effects of fermented and hot-water extraction, the fermented white *T. coreanum* showed higher protection with an absorption rate of 64.7% and 15.2%, respectively. The white *T. coreanum* fermented product showed higher bioactive properties and improved skin whitening, anti-wrinkle, and UV protection effects through the production of β -glucosidase from *L. plantarum* SM4.

Keywords : *Taraxacum Coreanum*, *Lactobacillus Plantarum* SM4, Antioxidant, Whitening, Anti-Wrinkle

*Corresponding Author : Jin Woo Kim(Sun Moon Univ.)

email: biochem.jk@gmail.com

Received January 21, 2021

Accepted April 2, 2021

Revised February 10, 2021

Published April 30, 2021

1. 서론

노화는 생물의 성장에 따라 신체기능이 퇴화하는 현상으로 세포 수준에서 분화와 증식이 감소하여 외부 자극에 대한 반응이 저하되고 항상성 유지 기작 약화로 외부 스트레스에 취약해지며 질병에 대한 감수성이 증가되어 외부 스트레스, 질병, 사망에 대한 감수성이 급격하게 증가하는 것을 말한다[1]. 호기성 대사과정을 가지는 생명체는 호흡을 통한 에너지 생산을 위해 산소가 필요하며, 흡수되는 산소의 2~3%는 완전 산화과정을 거치지 못하고 화학적으로 반응성이 높은 활성산소가 되며 이들을 반응성 산소물 또는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이라 칭한다[2]. 물리적, 화학적, 환경적 요인에 의해 활성산소종의 생산 증대 또는 제거 기작 약화에 의해 활성산소종의 증가가 발생할 경우 인체 구성성분인 지질, 단백질, DNA 변성 및 세포막의 파괴 등을 발생시켜 각종 퇴행성 질환과 심장병, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병, 암뿐만 아니라 피부염증과 기미 주근깨 및 주름과 같은 피부노화를 발생시킨다[3].

피부미용 측면에서 신규 노화억제 물질 발굴은 화장품 산업에서 큰 관심을 받고 있는데 내인성과 외인성 노화 모두 활성산소종에 의해 가속화된다고 알려져 있어 노화 억제를 위해 활성산소종 제거와 관련된 연구가 심도 있게 진행되고 있다[4]. 활성산소종에 의해 표피의 각질형성세포에서는 염증성 사이토카인의 분비가 증가하고, 진피의 섬유아세포에서는 콜라겐생성 유전자 발현이 억제되며 기저막 단백질분해효소(matrix metallo-proteinases, MMPs) 발현이 촉진되어 세포외 기질 단백질(extracellular matrix, ECM)의 주요 인자인 콜라겐이 분해되고 진피층 구조가 변형되어 노화가 발생된다[5-6]. 진피와 표피의 경계층 중 기저세포에 존재하는 멜라닌세포는 표피와 진피층에 침투한 UVA와 UVB에 의해 생합성 과정이 가속화된다고 알려져 있다[7]. 멜라닌은 자외선 노출에 의한 피부손상 방지를 위해 자외선 노출 시 생합성이 촉진되는데, 멜라닌 색소는 자외선을 차단하여 피부를 보호하는 역할을 하지만 멜라닌 색소가 과도하게 합성되면 기미, 검버섯, 피부반점 등의 색소침착의 원인이 되고, 멜라닌 전구물질의 독성으로 인해 흑색종을 비롯한 피부암을 유발하기도 한다[8]. 최근 화장품 업계에서는 가격 경쟁력과 제품 안정성이 우수한 butylated hydroxy toluene(BHT), butylated hydroxy anisol(BHA), propylene glycol(PG)와 같은 합성 항산화제를 사용하고 있으나 화학 합성물이라는 소비자의 거부감, 변이원성, 피부자극

및 인체 독성으로 합성 미백제를 대체하고자 안전성과 항산화 활성이 높은 천연 항산화 개발을 위해 노력하고 있다[9].

민들레(*Taraxacum coreanum*)는 국화와 민들레속에 속하는 여러해살이 풀로 뿌리, 잎, 꽃 등 식물 전체가 포공영이란 한약재로 사용되었으며 종창, 유방염, 인후염 및 맹장염 등에 약효가 있다고 알려져있다. 특히, 베타시스테롤, 펙틴, 이눌린 및 토코페롤 등의 성분을 포함하고 있어 항균, 항산화, 항혈액응고, 항당뇨와 항암 등에 효과가 있다고 보고되고 있다[10-11]. 흰 민들레는 우리나라 전역에서 자라는 재래종으로 플라보노이드 유도체인 퀘르세틴과 루테올린을 함유하고 있어 항산화 기능뿐 아니라 항염증 및 항알러지 효과를 가지고 피부탄력과 보습을 증대시키는 히알루론산을 분해하는 히알루로니다아제의 활성을 억제하여 주름방지 효과를 가진다[12].

최근 식품과 화장품업계를 중심으로한 유산균 관련 연구는 내산성과 내담즙성을 가지는 생균을 소장에 정착시켜 정장 작용을 증진시키는 것에서 유산균이 생산하는 다양한 효소에 의한 천연물의 효소전환 과정을 통해 다당체, 펩타이드, 핵산, 박테리옌 등의 유용물질을 활용하는 기술이 개발되고 있으며 유산균 자체의 사균체를 이용한 주름개선 효과, 여드름 완화, 피부보습효과를 가지는 화장품 소재 생산도 진행되고 있다[13-14]. 현재까지 흰 민들레 발효물을 이용한 스킨케어 제품에 항산화와 피부개선 효과에 대한 연구 및 제품의 과학적 근거가 부족한 실정으로 본 연구에서는 흰 민들레 발효를 통해 항산화, 미백과 주름방지 효과가 개선된 화장품 소재를 생산하고자 한다. 이를 위해, 전통 발효 식품인 김치에서 *L. plantarum* SM4을 분리하여 흰 민들레를 발효하고 항산화, 타이로시네이즈 저해와 콜라게네이즈 저해 활성 증진 효과를 평가하여 화장품 소재로서 사용 가능성을 평가하였다.

2. 실험 및 방법

2.1 실험 재료

흰 민들레는 부영한방약초(Dongdaemoon Gu, Seoul)에서 구입하여 2020년 8월에 구매하여 사용하였고 열풍 건조기(FC 49, Lab house, pocheon, Korea)를 사용하여 60°C로 수분함량의 변화가 없을 때까지 건조하여 실험에 사용하였다.

2.2 유산균 배양

흰 민들레 추출물 발효를 위한 균주를 김치로부터 분리하기 위해 Difco MRS media(BD Biosciences, Sparks, USA)를 사용하여 고체와 액체배지를 각각 제조하였다. MRS에 한천 2%(w/v)를 이용하여 평판배지를 제조한 후, 균주분리를 위하여 김치국물을 1/100으로 희석하여 0.1 mL을 MRS 평판배지에 도말하여 35°C 항온기에서 24시간 배양하였다. 평판배지에서 단일 콜로니를 확보하고 백금이를 이용하여 MRS 액체배지 10 mL에 접종하여 35°C 항온기에서 48시간 배양하였다.

2.3 조효소액 생산 및 효소 분해

유산균(*Lactobacillus plantarum* SM4)의 액체배양을 위해 MRS를 기본배지로 사용하였으며 1 M HCl과 1 M NaOH를 이용하여 배지의 초기 pH를 7로 조정하고 50 mL를 배양 플라스크에 분주하여 고압멸균기(SAC05060P, DaeHan Sci., Gangwon-do, Korea)에서 121°C로 15분간 멸균하였다. 멸균된 배지에 12시간 배양한 종균을 1%를 접종하여 진탕배양기에서 35°C에서 150 rpm으로 24시간 배양하였다. 조효소액 생산을 위해서 세포를 호모게나이저(HG-15A, DaeHan Sci., Gangwon-do, Korea)로 파쇄하고 원심분리하여 상등액을 회수하여 조효소액으로 사용하였다. 생산된 조효소액을 1 M HCl과 1 M NaOH로 pH를 7로 조정하고 건조된 흰 민들레 분말과 1:10의 고액비(w/v)로 혼합하여 48시간 효소분해를 진행하였다.

2.4 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 변형하여 측정하였다[15]. 흰 민들레 추출물 0.14 mL에 0.2 N Folin-Ciocalteu 시약 0.7 mL를 첨가하여 8분간 반응시켰다. 이후 7.5% Na₂CO₃용액 0.56 mL을 첨가하여 상온에서 1시간 반응시키고 분광광도계(Optizen 2120UV, KLab. Ltd., Daejeon, Korea)로 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흰 민들레 추출물의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 사용하여 표준 검량선을 작성하고 mg GAE(gallic acid equivalents)/g DW(dry weight)로 나타내었다.

2.5 플라보노이드 함량 측정

플라보노이드 함량은 Mussatto 등의 방법을 일부 변형하여 측정하였다[16]. 흰 민들레 추출물 0.5 mL에 0.1

M potassium acetate와 10% aluminum chloride 각 0.1 mL와 증류수 2.8 mL, 99.5% ethanol 1.5 mL을 순차적으로 첨가하여 상온에서 30분간 반응시킨 후 분광광도계로 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 플라보노이드 함량은 quercetin(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 하여 농도별로 표준 검량선을 작성 후 플라보노이드 함량을 mg QE(quercetin equivalents)/g DW(dry weight)로 나타내었다.

2.6 항산화 활성 측정

흰 민들레 추출물의 항산화 활성 측정은 유리 라디칼인 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼의 소거능법을 사용하였다[17]. DPPH(Sigma, St. Louis, MO, USA) 시약을 메탄올로 희석하여 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 1.0로 조정하여 DPPH 희석액을 제조하였다. 흰 민들레 추출물 0.25 mL에 희석한 DPPH 시약 1.25 mL를 가하여 암실에서 20분간 반응하고 원심분리하여 분광광도계로 517 nm에서 흡광도를 측정하고 대조군과 비교하여 아래와 같은 식을 이용해 백분율로 산출하였다.

$$RSA (%) = \left[1 - \frac{A}{B} \right] \times 100$$

A : 추출물 첨가구의 흡광도

B : 추출물 무첨가구의 흡광도

2.7 타이로시네이즈 활성저해 측정

타이로시네이즈 활성저해 측정은 Jo 등의 방법을 변형하여 사용하였다[18]. 완충용액으로 50 mM potassium phosphate(pH 6.5)를 사용하여 기질액 10 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA) 0.2 mL와 125 unit/mL 버섯 유래 타이로시네이즈(Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.2 mL과 흰 민들레 추출물 0.2 mL를 첨가하였다. 대조군에는 시료 대신 증류수를 0.2 mL 첨가하고 25°C에서 20분간 반응시켜 분광광도계로 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 타이로시네이즈 활성저해(%)은 아래의 식에 대입하여 백분율로 계산하였다.

$$TIA (%) = \left[1 - \frac{A}{B} \right] \times 100$$

A : 시료 무첨가구의 흡광도

B : 시료 첨가구의 흡광도

2.8 콜라게네이즈 활성저해 측정

콜라게네이즈 활성저해 측정은 Wunsh와 Heindrich[19]의 방법을 사용하였다. 완충용액은 0.1 M Tris-HCl buffer(pH 7.5)에 4-phenylazobenzyl oxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro- D-Arg(0.4 mg/mL)을 용해한 기질액 0.125 mL 및 흰 민들레 추출물 0.05 mL와 *Clostridium histolyticum* 유래 효소인 콜라게네이즈 (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 대조군에는 시료 대신 증류수를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 20% 구연산 0.5 mL를 가하여 반응을 정지시키고, ethyl acetate 1.5 mL를 첨가하여 상등액을 취해 분광광도계로 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. 콜라게네이즈 활성저해(%)은 아래의 식을 이용하여 계산하였다.

$$CIA (\%) = [1 - \frac{A}{B}] \times 100$$

A : 시료 첨가구의 흡광도

B : 시료 무첨가구의 흡광도

2.9 자외선 차단율 측정

흰 민들레 발효물의 자외선 차단율 평가를 위해 열수 추출물과 발효물의 상등액을 취하여 증류수와 에탄올로 50~100배 희석 후 분광광도계를 이용하여 자외선 파장 범위인 200~400 nm 흡수 스펙트럼을 측정하였다. UVA 흡광도 측정을 위해 320 nm에서 차단율을 비교하였다.

2.10 통계검증

본 연구에서 실험결과는 3회 반복 측정하여 평균 ± 표준편차(mean ± S.D.)로 나타내었고, 유의성 검증은 $P < 0.05$ 수준에서 Microsoft Excel Visual Basic®을 이용하여 *t*-test로 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 균주 분리 및 동정

흰 민들레 발효를 위한 균주는 김치로부터 분리하여 MRS 평판배지에서 배양하고 단일 콜로니 형태를 보이는 균주를 13개 선별하고 API ZYM kit(BioMerieux, Etoile, France)를 이용하여 β -glucosidase 외 18가지 효소 활성을 비교하였다(Table 1). 최대 β -glucosidase 활

성을 보이는 균주인 4번 균주를 흰 민들레 효소분해를 위한 균주로 선별하고 동정 및 계통학적 분류를 위하여 코스모진텍(Sungdong, Seoul, Korea)에 서열분석을 의뢰하여 BLASTN search와 CLUSTAL W 프로그램을 사용하여 해독된 균주의 염기서열과 서열 일치도가 높은 표준균주의 16S rRNA 유전자 염기서열을 비교하였다. 16S rRNA gene 영역은 2024 bp의 염기로 구성되어 있어 *L. plantarum*에 속하는 균주로 확인되어 최종적으로 *L. plantarum* SM4로 명명하였다.

Table 1. Determination of enzymatic activity of API ZYM kit.

Enzyme	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
Esterase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esterase Lipase	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Lipase	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
Leucine arylamidase	+	v	+	v	-	v	v	+	-	v	v	+	v
Valine arylamidase	-	+	+	v	-	v	v	+	-	+	v	+	v
Cystine arylamidase	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
Tripsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
al-chymotrypsin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid phosphatase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
α -galactosidase	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -glucuronidase	-	+	+	v	-	+	+	-	+	-	+	-	-
β -glucosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -glucosidase	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
β -glucosidase	-	+	v	v	-	-	-	-	+	-	-	-	-
N-acetyl- β -glucosaminidase	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -mannosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -fucosidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Symbols: (+) = positive; (-) = negative; (v) = very weak positive

3.2 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

흰 민들레 발효 및 열수추출물의 총 폴리페놀 함량 측정 결과 흰 민들레 열수추출물의 총 폴리페놀 함량은 21.4 ± 0.67 mg GAE/g DW였으며, 흰 민들레 발효물의 폴리페놀 함량은 40.9 ± 0.26 mg GAE/g DW로 확인되어 발효물의 폴리페놀 함량이 열수추출물보다 약 2배 증가함을 확인할 수 있었다(Table 2). 플라보노이드 함량 비교에 있어 열수추출물에서 5.05 ± 0.18 mg QE/g DW 인 반면 발효물에서 5.75 ± 0.27 mg QE/g DW로 측정되어 1.14배 증가된 결과를 확인하였다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량 모두 열수추출물에서도 높은 함량을 보였으나 발효를 통해 함량이 더욱 증가됨이 확인되었다. 이는 *L. plantarum* SM4에서 생산되는 당쇄 분해효소인 β -glucosidase에 의해 배당체로부터 당이 분리되어 비당체화 되었거나 다당류(헤미셀룰로오스와 셀룰로오스)와 결합되어 있던 폴리페놀성 물질이 다당의 분해에 의해 유리 형태로 전환되어 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량의 증가가 있었던 것으로 사료된다.

3.3 항산화 활성 측정

흰 민들레의 열수추출물과 발효물로부터 측정된 RSA를 Table 2에 나타내었으며 각각 16.3%와 65.6%로 나타나 발효물에서 4배 증가됨을 확인할 수 있었다. *L. plantarum* SM4 조효소액의 RSA를 측정하였을 때 $2.18 \pm 0.09\%$ 로 매우 낮아 흰 민들레 발효물의 높은 항산화 활성은 흰 민들레의 효소분해 결과물에 의한 것으로 확인되었다. 일반적으로 폴리페놀은 파이토케미칼의 일종으로 타닌, 카테킨, 플라보노이드와 같은 다양한 물질을 포함하며 강력한 항산화 효과를 나타낸다. 본 실험에서 흰 민들레 발효에 의한 항산화 활성 증가는 발효 시

생산되는 당쇄사슬 분해효소에 의해 유리형 폴리페놀과 플라보노이드의 증가에 따라 항산화 활성이 증가되었을 것으로 예상되며 주요 효과물질이 폴리페놀 또는 플라보노이드임을 유추할 수 있다. 이와 같은 결과는, 항산화 활성은 다양한 폴리페놀 중 특정한 성분에 크게 영향을 받으며 폴리페놀과 플라보노이드의 함량과 라디칼 소거능은 비례관계가 있다는 Kim 등의 연구내용과 합치하는 결과이다[20].

3.4 타이로시네이즈 활성저해

멜라닌은 피부와 모발에 분포하며 자외선을 흡수하여 피부와 모발을 보호하는 역할을 하지만 과도한 멜라닌은 색소 침착을 일으켜 기미와 주근깨 등을 유발하며 타이로시네이즈 활성저해를 통해 멜라닌 생성을 억제하여 색소 침착을 방지할 수 있다[21]. 미백 효과를 측정하기 위해 흰 민들레의 열수추출물과 발효물의 타이로시네이즈 활성저해를 비교한 결과, 발효물에서 $87.9 \pm 4.73\%$ 로 열수추출물에서 $37.1 \pm 1.22\%$ 에 비해 2.4배 증가한 것으로 확인되었다(Table 3). 흰 민들레의 열수추출물과 발효물에서 모두 타이로시네이즈 활성저해 기능이 확인되었다. 이와 유사한 결과로 Kim[22] 등은 *L. plantarum*를 이용한 발효에 있어 방풍 발효물의 타이로시네이즈 활성저해가 열수추출물에 비해 증가한다고 보고하였으며 Yoon[23] 등은 대마씨 추출물의 생리활성 증진에 있어 *L. plantarum*를 이용한 발효가 생리활성물질과 타이로시네이즈 활성저해에 효과가 있음을 밝혔다. 이를 통해 흰 민들레 효소분해에 의해 타이로시네이즈 활성 저해물질의 생산이 증가했다고 예상할 수 있어 흰 민들레 발효를 통해 타이로시네이즈 활성 억제를 증가시켜 천연 미백 활성 화장품 소재로 활용될 수 있음이 확인되었다.

3.5 콜라게네이즈 활성저해

흰 민들레의 열수추출물과 발효물의 콜라게네이즈 활성저해 효과를 비교한 결과 열수추출물과 발효물에서 각각 45.4 ± 1.51 와 $66.7 \pm 3.48\%$ 로 확인되어 발효물에 의한 저해효과가 1.5배 높게 나타났다(Table 3). *L. plantarum* SM4로부터 생산된 조효소액의 콜라게네이즈 활성저해는 4.4 ± 0.82 로 낮은 값을 보여 발효물의 높은 콜라게네이즈 활성저해는 *L. plantarum* SM4의 조효소액의 효과가 아닌 흰 민들레 분해물에 의한 것으로 확인되었다. 이는 양파껍질의 에틸아세테이트 분획층 및 비당쇄 분획물의 높은 항산화 활성에 의해 타이로시네이즈

Table 2. Comparison of TPC, TFC, and RSA from HWE and fermented *T. coreanum*.

Assay	Methods for producing bioactive substances		
	HWE	FER	SM4
TPC (mg GAE/g DW)	21.4 ± 0.67^1	41.8 ± 2.6^1	0.87 ± 0.071
TFC (mg QE/g DW)	5.05 ± 0.18^2	5.75 ± 0.27^2	0.04 ± 0.002
RSA(%)	16.3 ± 0.74^3	65.6 ± 4.7^3	2.18 ± 0.09

HWE = hot-water extraction; FER = fermented *T. coreanum* by *L. plantarum* SM4; SM4 = crude enzyme extract from *L. plantarum* SM4; Significance = ¹ $p < 0.001$, ² $p = 0.02$, ³ $p < 0.001$. Results of 3 repeated experiments (Mean \pm S.D.)

와 엘라스티네이즈 활성저해가 동시에 증가하여 세포보호 효과가 있다는 보고와 일치하는 결과이다[24]. 따라서 *L. plantarum* SM4를 이용한 효소분해물에 의한 흰 민들레의 비당체화와 주름개선 효과가 연관성이 있는 것으로 예상되며 흰 민들레 발효물이 피부의 탄력을 유지하는 주름 개선 기능성 화장품의 천연 소재로서 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 3. Comparison of TIA and CIA from HWE and fermented *T. coreanum*.

	Extraction methods (Mean ± S.D.)		
	HWE	FER	SM4
TIA(%)	37.1±1.22 ¹	87.9±4.73 ¹	12.4±1.76
CIA(%)	45.4±1.51 ²	66.7±3.48 ²	4.4±0.82

HWE = hot-water extraction; FER = fermented *T. coreanum* by *L. plantarum* SM4; SM4 = clude enzyme extract of *L. plantarum* SM4; Significance = ¹p<0.001, ²p=0.002. Results of 3 repeated experiments (Mean ± S.D.)

3.6 자외선 차단량 평가

현재 자외선 차단 효과를 가지는 천연물 성분으로 인삼 줄기세포 배양물, 석류, 대황, 황련, 마황과 같은 육상 식물 추출물과 애기풀가사리, 돌가사리, 감태, 애기마디 잘록과 같은 해조류를 이용한 다양한 소재가 개발되고 있다[25]. 본 연구에서 흰 민들레 열수추출물과 발효물의 자외선 차단 효과를 평가하기 위해 피부 진피층까지 투과하여 DNA 손상 및 활성산소종을 생성의 원인이 되는 자외선에 대해 열수추출물과 발효물의 UVA 차단효과를 비교하였다. UVA 영역대인 320 nm에서 차단효과 실험을 진행하였을 때, 화학합성 자외선 차단제인 DPD(Disodium Phenyl Dibenzimidazole)에서 97.6%의 높은 차단효과를 보였으며 열수추출물과 발효물에서는 각각 47.2%와 64.7% 차단율을 보여 흰 민들레 발효물이 차단효과가 1.4배 증가함을 보였다(Fig. 1). 이를 통해 흰 민들레 발효를 통해 UVA 차단효과가 증진되며 이를 자외선 차단 소재 생산에 사용이 가능함을 확인하였다. Im[26] 등의 연구에 의해 흰 민들레 추출물이 항산화, 항염증, 항균 및 미백 등의 효과가 있다고 보고되어 있으나 발효물의 자외선 차단 및 광노화 억제 대한 연구는 전무한 실정이다. 본 실험에서 흰 민들레 발효물은 자외선 차단을 통해 광노화 억제 효과가 있다고 사료되며, 추후 광노화 억제 효과 지표물질 분리, 발효와 효소전환 공정 최적화를 통해 폴리페놀 중에 자외선 차단에 주요 역할을 하는 목적물

질의 수율 증대를 진행할 필요성이 있을 것으로 판단된다.

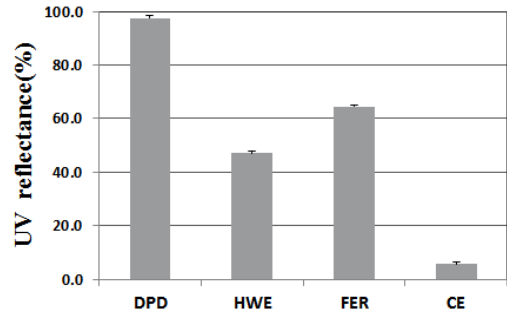


Fig. 1. Effects of HWE of *T. coreanum* and fermented *T. coreanum* by *L. plantarum* SM4 on ultraviolet absorption, DPD = Disodium Phenyl Dibenzimidazole 100 ppm; HWE = hot-water extraction of *T. coreanum*; FTE = fermented *T. coreanum* by *L. plantarum* SM4; CE = clude enzyme of *L. plantarum* SM4.

4. 결론

흰 민들레 추출물로부터 항산화, 미백, 주름방지와 자외선 차단 효과를 가지는 생리활성물질 생산을 위해 김치에서 분리한 유산균 균주를 이용하여 흰 민들레 발효를 수행하였다. 이를 위해, 김치 유래 균주인 *L. plantarum* SM4를 분리하고 발효를 통해 배당체 분해 효소인 β-glucosidase를 생산하여 흰 민들레 세포벽의 효소분해를 통해 생리활성물질 생산, 타이로시네이즈와 콜라게네이즈 활성저해와 UVA 차단효과 및 증진효과를 확인하였다. 흰 민들레 발효물의 생리활성을 평가하였을 때 TPC 41.8±2.6 mg GAE/g DW, TFC 5.75±0.27 mg QE/g DW와 RSA 65.6±4.7%로 확인되어 열수추출물에 비해 높은 경향을 보였다. 또한 타이로시네이즈와 콜라게네이즈 활성저해를 비교했을 때, 저해율이 각각 87.9±4.73%와 66.7±3.48%로 확인되었고 UVA 64.7% 차단 효과를 보여 흰 민들레 발효물이 자외선 차단을 통한 광노화 억제 효과를 가지는 화장품 소재로서 우수한 가능성을 보였다. 노화방지과 관련 된 모든 실험 지표에서 흰 민들레 발효물에서 유의적 효과가 확인되었다. 향후 *L. plantarum* SM4의 발효와 효소분해 조건최적화를 통해 안전성과 광노화 억제 효과가 높은 상업규모의 기능성 화장품 소재 생산이 가능할 것으로 판단된다.

References

- [1] E. J. Na, H. H. J, G. R. Kim, "Review of Recent Studies and Research Analysis for Anti-oxidant and Anti-aging Materials", *Korean Journal Aesthet Cosmetol*, vol. 14, no. 4, pp. 481-491, Dec. 2016
- [2] H. S. Shin, M. W. Kim, J. Song, J. S. Lee, Y. J. Ha, Y. H. Jeon, J. W. Kim, Y. J. Lee, S. N. Park, "Evaluation of Antioxidant, Cytoprotective and Antimicrobial Properties of *Polygoni multi flori Radix* Extract, Fractions and Its Major Constituent" *Journal of Korean Beauty Society*, vol. 44, no. 4, pp. 407-417, Dec. 2018
DOI: <http://dx.doi.org/10.15230/SCSK.2018.44.4.407>
- [3] S. B. Park, D. S. Lee, J. Y. Kang, J. M. Kim, S. K. Park, J. E. Kang, B. S. Kwon, S. H. Park, C. J. Lee, U. Lee, H. J. Heo, "Protective effect on neuronal cells of *Orostachys japonicus* A. Berger extract against reactive oxygen species-induced neuronal cytotoxicity and active compounds", *Korean Journal of Food Science and Technology*, vol. 49, no. 5, pp. 524-531, Oct. 2017
DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2017.49.5.524>
- [4] Y. M. Park, S. H. Park, M. Y. Cha, H. C. Kang, S. N. Park, "Comparison of Antioxidant and Matrix Metalloproteinases Inhibitory Effects of Sorbus commixta Twig Extracts before and after Fermentation with *Lactobacillus pentosus*", *Applied Chemistry for Engineering*, vol. 28, no. 6, pp. 696-704, Dec. 2017
DOI: <https://doi.org/10.14478/ace.2017.1093>
- [5] Y. M. Yoon, S. H. Bae, S. K. An., Y. B. Choe, K. J. Ahn, I. S. An, "Effects of Ultraviolet Radiation on the Skin and Skin Cell Signaling Pathways", *Korean Journal Aesthet Cosmetol*, Vol. 11, No. 3, pp. 417-426, Jun. 2013
- [6] H. J. Ko, G. B. Kim, D. H. Lee, G. S. Lee, H. B. Pyo, "The Effect of Hydrolyzed Jeju *Ulva pertusa* on the Proliferation and Type I Collagen Synthesis in Replicative Senescent Fibroblasts.", *Journal of the society of cosmetic scientists of Korea*, Vol. 39, No. 3, pp. 177-186 Sep. 2013
- [7] E. J. Kim, M. K. Shim, A. R. Jeong, A. J. Kim, "Anti-photoaging Effects of Fermented Soybean (Bio-Peptide®)", *Journal of Korean Beauty Society*, vol. 45, no. 1, pp. 27-36, Mar. 2019
DOI: <http://dx.doi.org/10.15230/SCSK.2019.45.1.27>
- [8] H. J. An, Y. K. Yoon, J. D. Lee, N. H. Jeong, "Synthesis and Biological Evaluation of Water-Soluble Oleanolic Acid Derivatives for use as Melanogenesis Inhibitors", *Applied Chemistry for Engineering*, vol. 31, no. 6, pp. 653-659, Dec. 2020
- [9] K. S. Jeong, "A Study on the Functional Characteristics of *Cuscuta australis* R.Brown", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, vol. 37, no. 4, pp. 906-914, Aug. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2020.37.4.906>
- [10] S. A. Shin, H. N. Lee, G. S. Choo, H. J. Kim, B. K. Park, B. S. Kim, J. Y. Jung, "Induction of Apoptosis in Human Cancer Cells with Extracts of *Taraxacum coreanum*, *Youngia sonchifolia* and *Ixeris dentate*", *Journal of food hygiene and safety*, vol. 31, no.1, pp. 51-58, 2016.
- [11] J. J. Lee, H. K. Oh, "Nutritional Composition and Antioxidative Activity of Different Parts of *Taraxacum coreanum* and *Taraxacum officinale*", *Journal of the Korean Society of Food Culture*, vol. 30, no. 3, pp. 362-369, 2015
- [12] J. S. Yoon, S. Y. Song, M. J. Cheong, D. S. Kim, H. H. Lee, "The Effect of the Hot Water Extract from *Taraxacum coreanum* Nakai on Hepatocarcinogenesis Induced by N-nitrosodiethylamine in Rats", *Korean Society of Pharmacognosy*, vol. 45, no. 1, pp. 62 -68, 2014
- [13] X. M. Lee, H. A. Lee, M. R. Kweon, E. S. Park, K. Y. Park, "Probiotic Effects of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Kimchi", *Korean Society of Food Science and Nutrition*, vol. 45, no. 1, pp. 1717-1724, Dec. 2016
- [14] J. A. Lee, S. M. Kang, "Antioxidant Characteristics of *Lactobacillus plantarum* heat-killing Acid Bacteria Isolated from Kkakdugi as Cosmetic Material", *Journal of Investigative Cosmetology*, vol. 26, no. 4, pp. 913-922, 2020
- [15] Y. S. Kim, O. J. Kwon, H. J. Suh, S. Park, "Antioxidant properties of brownish natural dyeing agents from medicinal plant", *The Korean Society of Food Preservation*, vol. 23, no. 3, pp. 387-392, 2016
- [16] J. W. Kim, J. S. Moon, T. B. Choe, "Comparison of Antioxidant Activity of Kenaf Extract and its Flavonoids", *Korean Journal Aesthet Cosmetol*, vol. 12, no. 2, pp. 203-210, Apr. 2014
- [17] J. M. Lee, P. S. Chang, J. H. Lee, "Comparison of Oxidative Stability for the Thermally-oxidized Vegetable Oils using a DPPH Method", *Korean Society of Food Science and Technology*, vol. 39, no. 2, pp. 133-137, Apr. 2007
- [18] C. Jo, J. H. Son, M. G. Shin, M. W. Byun, "Irradiation effects on color and functional properties of persimmon (*Diospyros kaki L. folium*) leaf extract and licorice (*Glycyrrhiza Uralensis Fischer*) root extract during storage", *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 67, no. 2, pp. 143-148, Jun. 2003
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0969-806X\(02\)00443-7](https://doi.org/10.1016/S0969-806X(02)00443-7)
- [19] E. Wünsch, H. G. Heidrich, "Zur quantitativen Bestimmung der Kollagenase", *Biological Chemistry*, vol. 333, pp. 149-151. 1963
DOI: <https://doi.org/10.1515/bchm2.1963.333.1.149>
- [20] E. J. Kim, J. Y. Choi, M. R. Yu, M. Y. Kim, S. H. Lee, B. H. Lee, "Total Polyphenols, Total Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of Korean Natural and Medicinal Plants", *Korean Society of Food Science and Technology*, vol. 44, no. 3, pp. 337-342,

2012

- [21] J. Y. Park, H. N. Lee, M. Y. Hu, J. H. Park, "Kojic Acid Derivatives, Have Tyrosinase Inhibitory Activity to Suppress the Production of Melanin in the Biosynthetic Pathway", *Journal of Life Science*, vol. 29, no. 7, pp. 755-761, 2019
DOI : <https://doi.org/10.5352/JLS.2019.29.7.755>
- [22] B. H. Kim, J. O. Jang, J. H. Lee, Y. E. Park, J. K. Kim, "Increased Anti-oxidative Activity and Whitening Effects of a *Saposhnikovia* Extract Following Bioconversion Fermentation using *Lactobacillus plantarum* BHN-LAB 33", *Journal of Life Science*, vol. 29, no.11, pp. 1208-1217, 2019
DOI : <https://doi.org/10.5352/JLS.2019.29.7.755>
- [23] Y. C. Yoon, B. H. Kim, J. K. Kim, J. H. Lee, Y. E. Park, G. S. Kwon, H. S. Hwang, J. B. Lee, "Verification of Biological Activities and Tyrosinase Inhibition of Ethanol Extracts from Hemp Seed(*Cannabis sativa* L.) Fermented with Lactic Acid Bacteria", *Journal of Life Science*, vol. 28, no.6, pp. 688-696, 2018
DOI : <https://doi.org/10.5352/JLS.2018.28.6.688>
- [24] J. E. Kim, A. R. Kim, M. J. Kim, S. N. Park, "Antibacterial, Antioxidative and Antiaging Effects of *Allium cepa* Peel Extracts", *Applied Chemistry for Engineering*, vol. 22, no. 2, pp. 178-184, Apr. 2011
- [25] Y. w. Seo, J. S. Yoo, "Screening for Antioxidizing and Tyrosinase-inhibitory Activities of the Extracts of Marine Algae from Bosan Coastal Area", *Ocean and Polar Research*, vol 25, no. 1, pp. 129-132, Mar. 2003
- [26] D. Y. Im, S. H. Kim, "A Study on the Possibility of the White Dandelion Extract As Cosmetic Material", *Journal of Korean Beauty Society*, vol. 17, no. 2, pp. 373-380, Apr. 2011

홍 지 우(Ji-Woo Hong)

[준회원]



• 2017년 3월 ~ 현재 : 선문대학교
식품과학과 학사과정 재학 중

<관심분야>

바이오, 항암, 생물, 화장품

박 하 영(Ha-Young Park)

[준회원]



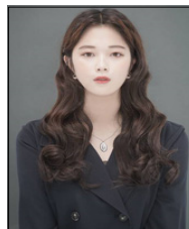
• 2019년 3월 ~ 현재 : 선문대학교
식품과학과 학사과정 재학 중

<관심분야>

바이오, 항암

김 준 희(Jun-Hee Kim)

[준회원]



• 2017년 3월 ~ 현재 : 선문대학교
식품과학과 학사과정 재학 중

<관심분야>

바이오, 항암, 유전, 건강기능성제품

염 서 희(Suh-Hee Yeom)

[준회원]



• 2018 3월 ~ 현재 : 선문대학교
식품과학과 학사과정 재학 중

<관심분야>

바이오, 항암

김 진 우(Jin-Woo Kim)

[정회원]



- 1997년 2월 : 인하대학교 생물공학과 (공학석사)
- 2000년 5월 : Colorado State Univ.(美) 화학공학과 (공학석사)
- 2004년 10 : McGill Univ. (캐) Biosystems Engineering (박사)
- 2015년 3월 ~ 현재 : 선문대학교 식품과학과 교수

〈관심분야〉

생물, 바이오