

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 품질과 열 안정성

김희진¹, 장애라^{2*}

¹농촌진흥청 국립축산과학원 가금연구소, ²강원대학교 동물생명과학대학 동물응용학과

A Study on the Quality and Heat Stability of the Cream Containing Purified Horse Oil and Horse Bone Hydrolysates

Hee-Jin Kim¹, Aera Jang^{2*}

¹Poultry Reserch Institute, National Institute of Animal Science, RDA

²Department of Applied Animal Science, Kangwon National University

요약 본 연구에서는 마유 및 효소분해물이 첨가된 크림의 품질과 열 안정성을 알아보기 위하여 실시하였다. 정제 마유는 각각 말의 복부와 목 부위의 지방을 사용하였으며, 말사골 효소 분해물은 판크레아틴으로 효소 분해하여 3 kDa 이하의 저분자를 사용하였다. 정제마유의 항산화(DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능) 및 Tyrosinase 저해 활성을 조사하였으며, 정제된 마유 및 말사골 효소분해물을 함유한 화장품 크림의 안정성을 평가하였다. 복부 및 목지방의 정제 마유의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 81.92와 52.20%를 나타내었으며, ABTS 라디칼 소거능은 각각 46.55와 36.78%를 나타내었다. Tyrosinase 저해 활성은 복부 및 목지방 정제 마유에서 각각 59.42, 37.60%를 나타내었다. 정제마유와 말사골 효소분해물이 함유된 크림의 pH, 점도, 색도, 상분리안정성, 호기성 세균, 진균, 관능평가를 온도 조건(4, 25, 40°C)을 다르게 하여 60일 동안 크림의 안정성을 분석하였다. 25°C와 40°C에서 보관하였을 때 모든 처리군의 pH는 1일보다 60일에서 유의적으로 감소하였다. 호기성 세균 및 진균의 모든 저장 일차에서 검출되지 않았으며, 관능평가에서도 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 따라서 정제마유와 말사골 효소분해물을 함유한 크림의 60일 저장기간 동안의 크림 안정성을 확인하였으나, 고온에서 장기 보관시 pH의 대한 안정성에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Abstract This study investigates the anti-oxidation and tyrosinase inhibition effects of abdominal (PA) and neck purified horse oil (PN). We further examine the stability of a cosmetic cream supplemented with purified horse oil and horse bone hydrolysates. DPPH radical scavenging activity of PA and PN were 81.92 and 52.20%, respectively, and the ABTS radical scavenging activity result was 46.55 and 36.78%, respectively. Tyrosinase inhibition activity was determined to be 59.42 and 37.60% in PA and PN, respectively. The pH, viscosity, color, phase separation stability, aerobic bacterial and fungal count, and sensory evaluation of the cream containing purified horse oil and horse bone peptide were performed at 3 different temperatures (4, 25, and 40°C) for 60 days. We observed that the pH of all treatment groups was significantly lower on day 60 than on day 1 at storage temperatures of 25°C and 40°C. No growth of aerobic bacteria and fungi was detected at all storage days, and neither were there any differences in color and phase separation in sensory evaluation. Our study confirmed the stability of the cream containing purified horse oil and horse bone peptide during the storage period. However, more studies are required to establish the stability of the pH during long-term storage at high temperatures.

Keywords : Horse Oil, Horse Bone, Hydrolysates, Stability, Cosmetic Cream, Tyrosinase

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ0162072022)의 연구과제로 수행되었음.

*Corresponding Author : Aera Jang(Kangwon National University)

email: ajang@kangwon.ac.kr

Received October 6, 2022

Revised November 14, 2022

Accepted December 7, 2022

Published December 31, 2022

1. 서론

인체에서 피부는 외부 노출로부터 보호하는 기능을 하고 있으며, 온도, 수분 등 내부의 항상성 유지에도 관여한다[1]. 하지만, 피부가 자외선에 노출되면 피부의 색소 침착, 홍반, 피부 주름, 피부암 등과 같은 피부에 부정적 영향을 미친다. 또한 소비자가 피부 미용에 대한 관심이 증가하면서, 피부 항산화, 피부 주름 생성 억제 및 피부 미백을 위한 크림, 로션, 토너 및 에센스와 같은 피부 관리 제품이 개발되었다[2].

자외선 노출로 인한 멜라닌 증가로 피부의 색이 갈색이나 검은색으로 변하는 증상인 과색소 침착의 치료로 일반적으로 의약품 또는 미백 화장품이 사용되고 있다. 또한 tyrosinase로 인하여 생성된 멜라닌의 경우 사람의 피부색을 결정하는 주요한 요소 중 하나로 알려져 있다. 멜라닌은 주로 tyrosinase의 작용으로 tyrosine을 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA)으로 산화시켜 멜라닌 세포에서 합성시킨다. Tyrosinase의 작용을 억제하면 결과적으로 멜라닌의 과잉생산을 억제할 수 있으며, tyrosinase 억제제는 피부 미백을 위해 사용되고 있으며, 미백 화장품 산업에서 매우 중요한 역할을 한다[3].

피부크림의 제조를 위해 사용되는 합성화합물들은 인체 세포막을 변형시켜 피부의 염증이나 노화를 촉진시키는 등 부정적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[4]. 따라서 최근 천연 물질에 대한 항산화, 주름 방지 및 미백 기능성을 가진 제품에 대한 관심이 높아지고 있다[5].

오일은 화장품 원료로 많이 사용되고 있으며, 오일 구성물질인 글리세롤은 한 분자에 3개의 수산기를 가지고 있어 친수성을 성질로 인하여 피부 보습제로 사용되고 있다[6]. 또한 오일의 구성 성분인 지방산 중 polyunsaturated fatty acids (PUFA)는 아토피와 같은 염증성 피부 질환에 치료효과가 있으며, linoleic acid 장벽기능을 향상시켜 피부 보호 효과가 있는 것으로 알려지고 있다[7]. 이러한 지방산들은 피부 개선을 위한 화장품 원료로 사용되고 있으며, 동물성 오일 및 식물성 오일은 피부 보습, 항산화 활성, 항균, 보습 효과를 위한 중요한 재료로 사용되고 있다[8,9]. 최근 동물성 오일을 사용하는 화장품 산업이 지난 몇 년 동안 크게 성장했으며[10], 또한 마유(말 오일)가 함유된 화장품은 한국, 중국, 일본 및 몽골과 같은 많은 아시아 국가에서 빠르게 소비가 증가하고 있다. 마유는 전통적으로 피부 탄력, 피부 수분 유지 및 항노화 작용을 하는 것으로 알려져 있으며, 마유의 지방산

구성은 사람의 피부 지방산 구성과 매우 유사하기 때문에 마유는 사람의 피부에 쉽게 흡수되는 장점이 있다[11]. 그 중 palmitoleic acid는 항균활성을 가지고 있으며, 피부 상처 및 화상 치유에 효과가 있다고 알려져 있다[11]. 마유는 식물성 오일에 특징인 높은 불포화 지방산 함량을 가지고 있으며, 식물성 오일과 동물성 오일의 중간 형태를 하고 있다[10]. 하지만, 마유에 대한 항산화 활성과 미백 효과에 대한 과학적 자료가 부족하다.

최근 화장품 제품으로 어류 및 돼지껍질에서 추출한 콜라겐을 사용하고 있으며, 특히 1- 5kDa 분자 크기를 가진 저분자 펩타이드 물질을 사용하고 있다[1]. 콜라겐 펩타이드를 섭취하면 수분 손실, 세포 이상 및 제 1형 콜라겐 감소와 같은 UV로 인한 피부 손상을 감소시킬 수 있으며, UVB가 조사된 Hairless mice 피부에 유발된 피부 주름 및 항염증 증상 등을 감소시키는 것으로 보고되었다[12]. Kim 등[13]의 연구에서는 효소 가수분해를 통하여 말 사골 추출물에서 분리된 3 kDa 미만 저분자 펩타이드에서 항산화 및 항주름 효과(Elastase and collagenase 억제 활성)가 나타났으며, 식품 및 화장품 산업에서 항산화제 및 주름 개선제로 사용 가능성이 있다고 보고하였다.

화장품 시장은 매우 빠르게 변화하고 새로운 화장품 개발 속도 또한 빨라지고 있으며, 화장품 보관에 따른 화장품의 안정성 문제 또한 중요하게 여겨지고 있다[14]. 화장품 시장이 발전함에 따라 화장품의 저장 안정성 및 품질평가는 중요하다. 재료 혼합 및 교반 작용 등 화장품 제조하는 과정들은 유화 상태를 매우 불안정하게 만들 수 있으며, 화장품의 미세 구조에 영향을 미쳐 화장품의 변색, 상분리 현상 등 안정성에 문제가 발생할 수 있다[15,16]. 또한 화장품의 온도 변화는 화장품의 형태가 물리적으로 변화할 수 있도록 하는 매개 변수이며, 일반적으로 시간이 지남에 따라 일부 성분들의 질량 및 함량 등이 변할 수 있다[16]. 따라서 화장품의 안정성 검사는 화장품의 사용기간 및 저장 방법을 설정하기 위하여 실시하고 있으며, 유분리 안정성 및 온도에 의한 제형을 변화를 검사하기 위하여 실시하고 있다[17,18]. 또한 높은 온도(40 °C)에서 단기간의 가혹조건으로 미생물학, 물리학, 화학적 안정성에 미치는 영향을 검사하고, 가혹 조건으로 인한 크림의 분해 작용 및 품질변화를 위해 안정성 검사를 실시하고 있다[19].

본 연구에서는 말 복부와 목 지방 정제 마유의 항산화 활성과 tyrosinase 저해 활성 효과를 분석하여 마유의 기능성 화장품 소재로써 활용가능성을 평가하였다. 또한

정제 마유 및 말 사골 저분자 효소분해물이 함유된 크림의 저장 온도에 따른 안정성을 분석하여 기능성 화장품 소재로서의 개발 가능성을 검토하기 위해 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 정제 마유 및 말 사골 저분자 효소분해물 제조

정제 마유는 Kim 등[11]의 방법과 동일하게 진행하였다. 말 북부 및 목 부위 지방을 각각 80 °C에서 5시간 동안 추출하였다. 추출된 오일에 0.15 % 인산을 첨가하여 85 °C에서 20분 동안 교반 한 뒤, 원심분리 하였다 (3,000 xg, 30분). 상층 오일에 NaOH를 1 %를 첨가하여 80 °C에서 20분 동안 교반 하였다. 교반 후 다시 3,000 xg에서 30분간 원심 분리하여 상층 오일을 회수 하였다. 오일에 증류수를 1:1로 가하여 30분동안 교반하여 총 3번 수세하였다. 수세가 끝난 오일은 2 % 산성백토(Daejung Chemical, Siheung, Korea)를 첨가하여 100~110 °C에서 교반 하면서 30분간 탈취하였다. 그 다음으로 오일은 여과지(5C Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Ltd, Tokyo, Japan)를 이용하여 감압 여과하여 산성백토를 제거하였다. 여과된 오일 내 존재하는 수분을 제거하기 위해 분별 깔대기를 이용하여 층분리하여 수분을 제거하고, 질소가스를 이용하여 남아 있는 산소 및 휘발성 물질을 제거하여 정제 마유를 제조 하였으며 본 실험에 사용하였다.

말 사골 저분자 효소분해물은 Kim 등[13]의 방법과 동일하게 진행하였다. 말 사골에 1 : 6 (v : v)의 비율로 물을 첨가하여 12시간 침수 시켜 핏물을 제거하였으며, 동일한 비율로 물을 첨가하여 8시간 동안 총 3회 90°C에서 열수 추출 하였다. 추출물을 동결건조 하여 Folch[20]의 방법으로 지방을 제거한 다음, 효소 판크레아틴 0.2 % (Bision Co., Sungnam, Gyeonggi, Korea)를 첨가하고, 4시간 동안 40 °C에서 효소분해하였다. 효소분해물의 효소 불활성화를 위해 80 °C에서 10분간 가열하였다. 3 kDa 이하의 저분자 물질로 분리하기 위해 원심 분리 여과(Amicon® Ultra-15 centrifugal filter units, Merck Millipore, Bedford, MA, USA)를 통하여 분리 하였으며, 동결건조 후 크림 제조에 사용하였다.

2.2 마유의 DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Blois[21]의 방법을 응용하여 측정하였으며, 정제 마유는 200 mg/mL의 농도로 사용

하였다. 정제 마유 0.6 mL에 0.2 mM 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)(in ethanol, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 0.3 mL과 혼합하여 실온 암소에서 30분간 반응시킨 뒤, 517 nm에서 흡광도(SpectraMax M2e, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식에 따라 계산하였다.

$$DPPH\ scavenging\ activity\ (\%) = 1 - (As - Ar) / Ac \times 100 \quad (1)$$

As : The absorbances of sample mixed with DPPH solution

Ar : The absorbances of the sample mixed with ethanol

Ac : The absorbances of DPPH solution

2.3 마유의 ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 Re 등[22]의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 정제 마유는 400 mg/mL의 농도로 사용하였다. 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액과 2.45 mM potassium persulphate 용액을 혼합하고, ABTS+ 라디칼을 만들기 위해 실온에서 16시간 동안 암소 반응시켰다. 라디칼이 생성된 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 0.700 ± 0.02 가 되도록 에탄올 (Daejung Chemical, Siheung, Korea)에 희석하여 사용하였다. 정제 마유는 400 mg/mL의 농도로 실험에 사용하였다. 정제 마유 50 μ L와 ABTS+ 용액 950 μ L를 혼합하여 30 °C 암실에서 30분간 반응시킨 뒤, 735 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 아래의 식에 따라 계산하였다.

$$ABTS\ scavenging\ activity\ (\%) = (1 - (As - Ar) / Ac) \times 100 \quad (2)$$

As : The absorbances of sample mixed with ABTS+ solution

Ar : The absorbances of the sample mixed with ethanol

Ac : The absorbances of ABTS+ solution

2.4 마유의 Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성 측정은 Pomerantz[23]의 방법을 이용하여 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 기

질로 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine(L-DOPA Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였으며, 효소는 tyrosinase(from mushroom, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다. 정제 마유는 dissolved in dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해하여 사용하였으며, 10 mg/mL의 농도로 사용하였다. 정제 마유 40 μ L, 0.1 M phosphate buffer(pH 6.8) 80 μ L, tyrosinase(100 units/mL) 40 μ L, 2.5 mM L-DOPA 40 μ L를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 30분 반응시킨 다음 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$Tyrosinase\ inhibition\ activity\ (\%) = (Ac - As) / Ac \times 100 \quad (3)$$

As : absorbance in the presence of the inhibitor

Ac : absorbance of the control reaction (full reaction)

2.5 정제 마유 및 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림제조

정제 마유 및 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 제조는 여러 번의 예비실험을 거쳐 표준화된 배합비 (Table 1)를 사용하였으며, 대조군으로 olive oil 첨가 크림, 대조군에 말 사골 효소분해물(HL) 첨가한 크림 (CONHL), 복부지방을 정제한 마유 크림(PA), PA에 말 사골 효소분해물을 첨가한 크림(PAHL), 목 지방을 정제한 마유 크림(PN), PN에 말 사골 효소분해물을 첨가한 크림(PNHL)을 처리군으로 하였다. 크림제조는 증류수와 오일을 각각 70 $^{\circ}$ C가 되도록 가운 하였으며, 오일에는 5

Table 1. Formulation of cosmetic cream containing purified horse oil(%)

	CON ¹⁾	CON HL	PA	PA HL	PN	PN HL
Olive oil	20	20	-	-	-	-
Horse oil	-	-	20	20	20	20
Olive wax	5	5	5	5	5	5
Cetyl alcohol	1	1	1	1	1	1
Vitamin E	1	1	1	1	1	1
Euro-napre	1	1	1	1	1	1
HL	0	0.5	0	0.5	0	0.5
Water	72	71.5	72	71.5	72	71.5
Total	100	100	100	100	100	100

¹⁾CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

% Olive wax와 1 % Cetyl alcohol(Whatsoap, Sungnam, Gyeonggi, Korea)을 첨가하여 용해시켰다. 가운 된(70 $^{\circ}$ C) 오일에 증류수를 서서히 첨가하면서, 교반기(PolyTron [®] PT-2500 E, Kinematica, Lucerne, Switzerland)를 사용하여 3,000 rpm에서 20 분간 실온에서 교반하여 유회시켰다. 유회된 크림이 40 $^{\circ}$ C로 냉각되었을 때, 항산화제(Vitamin E, Whatsoap, Sungnam, Gyeonggi, Korea)와 보존제(Euro-napre, Whatsoap, Sungnam, Gyeonggi, Korea)를 첨가하여 균일하게 혼합한 뒤 24시간 실온에서 숙성하여 제조하였다. 제조된 크림을 4, 25, 40 $^{\circ}$ C에서 1, 30, 60일 동안 저장하면서 실험하였다.

2.6 정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 이화학적 특성과 안정성

2.6.1 pH

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 pH는 크림 10 g에 증류수 90 mL 넣어 균질 하였다. 온도(25 \pm 2 $^{\circ}$ C)를 유지하면서 pH meter(Orion 230A, Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) 이용하여 크림의 pH를 측정하였다.

2.6.2 점도

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 점도는 Brookfield 점도계(Brookfield LV, Brookfield Engineering Laboratories., MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 크림은 유동적 점성 액체로서 T-bar spindle(NO. 64)을 사용하여, 20 rpm에서 1분 안정 후 20초 간격으로 2분간 점도를 측정하여 평균값으로 나타내었으며, 온도는 23 \pm 2 $^{\circ}$ C를 유지하였다.

2.6.3 색도

효소분해물 첨가 크림의 색도는 색차계(Colorimeter CR-300, Minolta Co., Osaka, Japan)를 이용하여 L*(Lightness, 명도), a*(Redness, 적색도), b*(Yellowness, 황색도)의 색채 값을 동일한 방법으로 6회 반복 측정하여 평균값을 나타내었다. 이때 표준색은 Y값이 93.60, x값이 0.3134, y값이 0.3194인 표준백판을 사용하여 표준화한 다음 측정하였다.

2.6.4 질량변화 및 유분리 안정성

정제 마유와 말 사골 저분자정제 마유와 말 사골 저분

자 효소분해물 첨가 크림을 숙성 후 질량을 측정한다. 다음 4, 25, 40 °C에서 보관하면서 1, 30, 60일 동안의 각각 크림의 질량을 측정하여 온도에 따른 크림의 질량변화를 측정하였다. 크림의 유분리 안정성 검사는 원심 분리(783 xg, 15분)하여 유분리가 일어나는 정도를 측정하여 안정성을 판단하였다.

2.6.5 호기성 세균 및 진균 수

미생물을 분석하기 위해 멸균백에 크림 5 g과 멸균수 45 mL를 첨가하고 stomacher(Bag Mixer 400; Interscience, Mourjou, France)를 이용하여 균질 하였다. 호기성 세균은 total plate count agar(MB cell, Seoul, Korea)를 사용하여 37 °C에서 48시간 배양한 후 300개 이하의 집락을 형성하는 배지만 계수하여 시료 1 g 당 log CFU(colony forming unit) 나타내었다. 진균은 측정용 potato dextrose agar(pH 3.5, 10 % Tartaric acid)(MB cell, Seoul, Korea)를 사용하여 25 °C에서 5일 동안 배양한 후 100개 이하의 집락을 형성하는 배지만 계수하여 시료 1 g당 log CFU로 나타내었다.

2.6.6 관능평가

탁도변화, 발림성 변화를 육안으로 관찰하여 3점 척도로 평가하였다(3, 변화 없음; 2, 미세한 변화; 1, 심한 변화; 0, 형태를 알아 볼 수 없음).

2.7 통계처리

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 온도에 따른 안정성을 알아보기 위하여 정해진 온도 조건(4, 25, 40 °C)에 제조된 크본 실험의 모든 결과는 SAS program(ver. 9.3 Statistics Analytical System)의 General Linear Model(GLM)방법을 이용하여 분산 분석하였다. 처리군의 평균값간의 비교를 위해 Turkey's range test를 이용하여 5 % 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 항산화 활성

산화로 인하여 여러 종류의 유해한 화합물을 형성되며, 특히 산화 생성물들은 DNA를 손상시키거나, 인체에

암을 유발하고 인체의 노화와 관계가 있다고 알려져 있다[24]. 또한 사람의 피부는 수면 부족, 불규칙한 식습관, 스트레스 등으로 인한 내적 요인과 미생물, 자외선, 대기 오염 등의 외적 요인으로 산화적 스트레스에 계속해서 노출되면서 피부의 노화가 진행되고 피부 질병 발생률이 높아진다고 알려져 있다[5]. 따라서 피부를 보호하고, 건강한 피부 상태를 유지하기 위해 화장품 성분에 대한 항산화 활성은 매우 중요하다. 부위별(복부, 목지방) 정제 마유의 항산화 활성 결과는 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Anti-oxidation activity and tyrosinase inhibition activity of purified horse abdominal and neck oil from Jeju cross breed

Activity(%)	Abdomen oil	Neck oil
DPPH radical-scavenging activities	81.92±0.412 ^a	52.20±1.535 ^b
ABTS radical-scavenging activities	46.55±0.280 ^a	36.78±0.979 ^b
Tyrosinase inhibition activity	59.42±0.153 ^a	37.60±3.119 ^b

Means ± standard error of means.

^{a-b}Means within same row with different superscript letters differ significantly at *p*<0.05.

DPPH 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼이 항산화 물질로부터 수소 또는 전자를 공여 받아 라디칼이 소거되면서 DPPH 라디칼 용액이 보라색이 탈색되는 정도를 평가하는 방법이며, 라디칼 소거활성이 높은 물질일수록 항산화 활성이 높은 것으로 알려져 있다[25]. DPPH 라디칼 소거활성 결과, 복부 지방을 사용한 정제 마유(200 mg/mL)에서 81.92 % 소거활성으로 목 지방을 사용한 정제 마유 보다 유의적으로 높은 소거활성을 보였다. Pérez gutierrez 등[26]의 연구에서는 속슬렛 장치를 이용하여 정제한 천수국(Tagetes erecta) essential oil(100 mg/mL)의 DPPH 라디칼 소거능은 57.3 % 활성을 보였다. Bennett 등[27]의 보고에 따르면, 콜롬비아 닭기름의 DPPH 활성은 농도가 126.1 mg/mL 일 때 50 % 소거 활성을 보였으며, 오리 오일은 109.9 mg/mL 일 때 50 % 소거 활성을 보였다.

ABTS 라디칼 소거능은 항산화 물질의 자유 라디칼 소거 활성을 평가하기 위한 방법으로 사용되고 있다. 복부 지방 정제 마유의 ABTS 소거 활성은 400 mg/mL 일 때 46.55 %로 목 지방의 마유 보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. 현재 마유에 관한 항산화 활성에 관련

된 자료는 부족하지만, 씨앗 오일이나 식물 오일에 관한 ABTS 소거 활성은 보고되고 있다. Yang 등[28]의 연구에서는 구상나무 잎과 나뭇가지를 증류하여 추출한 essential oil의 ABTS 측정 결과 0.1 g/mL에서 52.7 %의 소거 활성을 보였다. Bellik 등[29]은 수소 증류법을 사용하여 추출된 생강(*Zingiber officinale* Roscoe)의 essential oil(86.92 mg/mL)의 ABTS라디칼 소거 활성을 측정한 결과 약 41 % 소거 활성을 보였다고 보고하였다. Afoulous 등[30]의 연구에서는 무환자 나무(*Cedrelopsis grevei*)의 잎에서 추출한 essential oil의 ABTS라디칼 소거 활성을 110 mg/mL일 때 50 % 소거 활성을 나타낸다고 보고하였다.

3.2 Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase는 멜라닌 합성에서 중요하고 필수적인 역할을 한다. Tyrosinase는 L-tyrosine을 3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)로 변환시키며, L-DOPA를 산화시켜 도파크롬으로 전환 되어 최종적으로 멜라닌을 생성시킨다[31]. 따라서 tyrosinase는 멜라닌 색소 형성에 관여하며, tyrosinase 저해제는 피부의 과도한 색소 침착 치료뿐만 아니라 일반적인 피부 미백의 기능성 화장품에도 사용된다. 복부 지방과 목 지방 정제 마유의 tyrosinase 저해 효과는 Table 2에 나타내었다. 그 결과 복부 지방을 정제한 마유(10 mg/mL)에서 59.42 %로 목 지방을 정제한 마유(37.60 %)보다 유의적으로 높은 tyrosinase저해 활성을 보였다. Huang 등[31]의 연구에 따르면 증기를 이용하여 *Vitex negundo*에서 추출한 essential oil(25 mg/mL)의 tyrosinase 저해 효과는 27.28 %를 나타내었다. Kim 등[32]은 *Cryptomeria japonica*을 증기 증류 방법으로 essential oil을 추출하여 tyrosinase저해 활성을 측정한 결과 31.71 %의 저해 효과를 나타내었다. 항산화 활성과 tyrosinase 저해 활성을 분석한 결과, 복부 지방을 정제한 마유가 목 지방을 정제한 마유 보다 유의적으로 높은 효과를 나타내었다($p < 0.05$).

3.3 크림 안정성

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 pH 변화의 대한 결과는 Table 3에 나타내었다. 화장품의 pH는 최종 제품의 품질에 영향을 미칠 수 있으며, 크림의 최종 pH에 따라 화장품 형태에 악영향을 미치기 때문에 크림의 안정성을 판단하는데 있어 매우 중요한 지표이다[33]. 4 °C의 저장

온도에서 대조군은 30일차 보다 60일차에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타냈으며($p < 0.05$), CONHL, PNHL 처리군은 저장기간이 증가함에 따라 유의적으로 pH가 감소하였고($p < 0.05$), PA, PAHL, PN 처리군은 pH의 유의적인 변화를 보이지 않았다. 또한, 저장 1일차에 CONHL, PAHL, PNHL 처리군은 다른 처리군 보다 유의적으로 pH 높았으며($p < 0.05$), 말 사골 저분자 효소분해물을 pH에 영향을 미친것으로 사료된다. 25, 40 °C의 저장온도에서 모든 처리군은 저장기간이 증가함에 따라 pH가 유의적으로 낮아졌으며($p < 0.05$), 말 사골 저분자 효소분해물을 첨가한 처리구에서 높은 pH를 나타내었다.

pH는 4 °C에서 처리군의 pH 변화가 가장 적었으며, 40 °C의 pH 변화가 크게 나타났다. Kim과 Park [34]에 따르면, 4 °C에서 pH 변화는 거의 없었으며, 45 °C의 pH 변화는 크다고 보고하였으며 이는 본 실험 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 Choi 등[35]은 일반적인 사람의 피부 표면은 pH 4.5~6.5로 약산성과 중성에 맞추어져 있으나 피부가 알칼리성이 되면 저항력이 약해지고 세균의 번식에 의해 피부병 발생률이 높다고 보고하여 본 연구에서 사용된 정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 pH는 인체 피부에 부정적 영향이 미치지 않는다고 판단된다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 점도 변화의 대한 결과는 Table 4와 같다. 크림은 온도가 증가하면, 점도가 감소하는 경향을 보이나 크림의 점도가 감소하면, 잠재적으로 크림의 불안정성 가져와 저장 안정성에 중요한 지표로 사용되고 있다[36]. 모든 처리군은 4, 25, 40 °C의 저장온도에서 저장기간에 따른 유의적인 변화를 나타내지 않았다. Lim 등[37]은 편백나무 잎 추출물 함유 크림을 4, 25, 37, 45 °C, 태양광선의 조건으로 12주 동안 저장하였을 때, 모든 조건에서의 점도가 초기 값보다 감소하였다고 보고하였으나, 본 연구에서 사용된 정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 크림은 점도에 대한 안정성이 높은 것으로 사료된다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 밝기 (L^*) 변화의 결과는 Table 5에 나타내었다. 4 °C에서 PNHL 처리군은 저장기간이 경과함에 따라 밝기가 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). PA 처리군은 25 °C에서 저장 기간이 증가함에 따라 L^* 값은 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 40 °C 저장온도의 60일차에서 CON, PAHL, PNHL 처리군이 1일차 보다 유의적으로 밝기가 감소하였다($p < 0.05$).

Table 3. pH change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage(4, 25 and 40℃)

Storage Temperature(℃)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	5.93±0.015 ^{Bab}	6.05±0.022 ^{Aa}	5.82±0.017 ^{Bb}
	CONHL	6.23±0.012 ^{Aa}	6.13±0.027 ^{Aab}	6.06±0.040 ^{Ab}
	PA	5.58±0.012 ^{Da}	5.60±0.012 ^{Ba}	5.60±0.006 ^{Ca}
	PAHL	6.18±0.010 ^{Aa}	6.13±0.003 ^{Aa}	6.12±0.024 ^{Aa}
	PN	5.71±0.019 ^{Ca}	5.69±0.010 ^{Ba}	5.71±0.031 ^{BCa}
	PNHL	6.23±0.015 ^{Aa}	6.12±0.022 ^{Ab}	6.16±0.015 ^{Aab}
25	CON	5.93±0.032 ^{Ba}	6.05±0.019 ^{ABa}	4.92±0.021 ^{Cb}
	CONHL	6.23±0.012 ^{Aa}	6.21±0.006 ^{Aa}	5.49±0.022 ^{Ab}
	PA	5.58±0.012 ^{Da}	5.57±0.077 ^{Ca}	4.67±0.029 ^{Db}
	PAHL	6.18±0.010 ^{Aa}	6.03±0.038 ^{Bb}	5.34±0.024 ^{ABc}
	PN	5.71±0.019 ^{Ca}	5.73±0.009 ^{Ca}	5.31±0.040 ^{Bb}
	PNHL	6.23±0.015 ^{Aa}	6.11±0.009 ^{ABa}	5.43±0.060 ^{ABb}
40	CON	5.93±0.015 ^{Ba}	5.80±0.021 ^{Ba}	5.21±0.029 ^{Bb}
	CONHL	6.23±0.012 ^{Aa}	6.11±0.006 ^{Ab}	5.92±0.025 ^{Ac}
	PA	5.58±0.012 ^{Da}	4.75±0.031 ^{Eb}	4.16±0.029 ^{Dc}
	PAHL	6.18±0.010 ^{Aa}	5.50±0.018 ^{Cb}	4.80±0.058 ^{Cc}
	PN	5.71±0.019 ^{Ca}	4.91±0.023 ^{Db}	4.12±0.026 ^{Dc}
	PNHL	6.23±0.015 ^{Aa}	5.73±0.000 ^{Bb}	4.64±0.026 ^{Cc}

Means ± standard error.

^{A-E}Means within same column with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

^{a-c}Means within same row with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 4. Viscosity change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40℃)(cP)

Storage Temperature(℃)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	20348.6±53.52	19875.7±236.76	20198.6±197.75
	CONHL	20252.4±331.81	19752.4±164.01	19979.5±204.32
	PA	20467.6±265.47	19938.6±578.70	20666.7±298.34
	PAHL	20418.6±196.12	19985.7±167.19	20277.1±219.77
	PN	20345.7±447.98	20714.3±72.12	20634.8±197.07
	PNHL	20367.1±132.71	20424.3±216.87	20234.8±76.82
25	CON	20348.6±53.52	19738.1±497.35 ^{AB}	19374.3±25.384
	CONHL	20252.4±331.81	20134.3±238.27 ^{AB}	19381.4±425.91
	PA	20467.6±265.47	20288.6±30.10 ^A	19871.0±407.46
	PAHL	20418.6±196.12	19824.3±75.72 ^{AB}	19704.3±86.43
	PN	20345.7±447.98	20038.5±116.75 ^{AB}	20538.6±255.31
	PNHL	20367.1±132.71	19103.3±224.46 ^B	19221.4±325.72
40	CON	20348.6±53.52	19912.9±293.19	20201.4±258.43
	CONHL	20252.4±331.81	19524.3±421.53	18729.5±466.66
	PA	20467.6±265.47	20281.4±523.96	18790.5±687.90
	PAHL	20418.6±196.12	19510.0±113.28	19457.2±380.71
	PN	20345.7±447.98	20302.9±389.23	19730.0±339.79
	PNHL	20367.1±132.71	19787.2±92.34	19305.7±422.70

Means ± standard error.

^{A-B}Means within same column with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 5. Lightness(L*) change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C)

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time (days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	89.62±0.094 ^{AB}	88.76±0.430 ^{AB}	89.40±0.171 ^{AB}
	CONHL	88.35±0.403 ^{ABab}	87.68±0.220 ^{Bb}	88.76±0.146 ^{Ba}
	PA	88.37±0.379 ^{AB}	88.25±0.158 ^{AB}	89.27±0.316 ^{AB}
	PAHL	89.68±0.275 ^{ABa}	87.92±0.539 ^{ABb}	89.81±0.227 ^{Aa}
	PN	89.97±0.636 ^A	89.32±0.282 ^A	89.80±0.241 ^A
	PNHL	88.07±0.319 ^{Ba}	85.91±0.237 ^{Cb}	86.59±0.164 ^{Cb}
25	CON	89.62±0.094 ^{AB}	88.71±0.478 ^{AB}	89.11±0.122 ^B
	CONHL	88.35±0.403 ^{AB}	89.32±0.169 ^A	89.17±0.127 ^B
	PA	88.37±0.397 ^{ABb}	89.74±0.076 ^{Aa}	89.57±0.225 ^{Ba}
	PAHL	89.68±0.275 ^{AB}	88.94±0.242 ^A	89.26±0.218 ^B
	PN	89.97±0.636 ^A	89.78±0.538 ^A	90.94±0.210 ^A
	PNHL	88.07±0.319 ^{Bab}	87.36±0.278 ^{Bb}	88.99±0.200 ^{Ba}
40	CON	89.62±0.094 ^{ABa}	88.30±0.259 ^{ABb}	89.45±0.286 ^{ABb}
	CONHL	88.35±0.403 ^{ABab}	87.33±0.263 ^{BCb}	88.60±0.101 ^{Ba}
	PA	88.37±0.397 ^{ABb}	88.56±0.131 ^{Ab}	89.70±0.208 ^{Aa}
	PAHL	89.68±0.275 ^{ABa}	86.46±0.279 ^{Cb}	86.67±0.145 ^{Cb}
	PN	89.97±0.636 ^{Aa}	87.15±0.318 ^{Cb}	89.49±0.291 ^{ABa}
	PNHL	88.07±0.319 ^{Ba}	86.43±0.095 ^{Cb}	86.53±0.175 ^{Cb}

Means ± standard error.

^{A-C}Means within same column with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

^{a-b}Means within same row with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 6. Redness (a*) change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C)

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	-2.08±0.025 ^E	-2.08±0.020 ^D	-2.07±0.014 ^E
	CONHL	-1.86±0.021 ^{Db}	-1.78±0.014 ^{Ca}	-1.75±0.017 ^{Da}
	PA	-1.37±0.024 ^{Bb}	-1.27±0.022 ^{Ba}	-1.25±0.005 ^{BCa}
	PAHL	-1.42±0.008 ^{Bb}	-1.22±0.016 ^{Ba}	-1.21±0.017 ^{Ba}
	PN	-0.91±0.019 ^A	-0.94±0.040 ^A	-0.87±0.014 ^A
	PNHL	-1.56±0.026 ^{Cb}	-1.32±0.020 ^{Ba}	-1.30±0.010 ^{Ca}
25	CON	-2.08±0.025 ^{Eb}	-2.02±0.020 ^{Eab}	-1.96±0.022 ^{Ea}
	CONHL	-1.86±0.021 ^{Dc}	-1.74±0.015 ^{Db}	-1.62±0.010 ^{Da}
	PA	-1.37±0.024 ^{Bb}	-1.24±0.016 ^{Ba}	-1.16±0.032 ^{Ba}
	PAHL	-1.42±0.008 ^{Bb}	-1.40±0.026 ^{Cb}	-1.25±0.020 ^{Ca}
	PN	-0.91±0.019 ^{Ac}	-0.60±0.041 ^{Aa}	-0.74±0.010 ^{Ab}
	PNHL	-1.56±0.026 ^{Cc}	-1.14±0.042 ^{Ba}	-1.26±0.011 ^{Cb}
40	CON	-2.08±0.025 ^{Ec}	-1.87±0.024 ^{Eb}	-1.74±0.027 ^{Ca}
	CONHL	-1.86±0.021 ^{Db}	-1.70±0.016 ^{Da}	-1.73±0.008 ^{Ca}
	PA	-1.37±0.024 ^B	-1.35±0.031 ^{BC}	-1.36±0.015 ^B
	PAHL	-1.42±0.008 ^B	-1.49±0.037 ^C	-1.37±0.040 ^B
	PN	-0.91±0.019 ^{Aa}	-0.91±0.012 ^{Aa}	-1.02±0.008 ^{Ab}
	PNHL	-1.56±0.026 ^{Cb}	-1.33±0.062 ^{Ba}	-1.42±0.036 ^{Bab}

Means ± standard error.

^{A-E}Means within same column with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

^{a-c}Means within same row with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 7. Yellowness (b*) change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C)

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	4.53±0.025 ^{Cb}	4.82±0.098 ^{Da}	4.93±0.032 ^{Da}
	CONHL	11.26±0.194 ^A	11.12±0.029 ^A	11.49±0.148 ^A
	PA	2.34±0.051 ^{Da}	1.78±0.151 ^{Eb}	1.71±0.010 ^{Eb}
	PAHL	9.23±0.054 ^{Bb}	10.12±0.086 ^{Ba}	10.23±0.054 ^{Ba}
	PN	1.19±0.039 ^{Ea}	1.15±0.033 ^{Fa}	0.88±0.043 ^{Fb}
	PNHL	9.43±0.306 ^B	8.74±0.143 ^C	8.79±0.182 ^C
25	CON	4.53±0.025 ^{Ca}	4.17±0.029 ^{Cb}	4.20±0.065 ^{Cb}
	CONHL	11.26±0.194 ^{Aa}	10.57±0.116 ^{Ab}	10.19±0.159 ^{Ab}
	PA	2.34±0.051 ^{Da}	1.60±0.060 ^{Db}	1.19±0.022 ^{Dc}
	PAHL	9.23±0.054 ^{Bb}	9.95±0.064 ^{Ba}	9.97±0.082 ^{ABa}
	PN	1.19±0.039 ^{Ea}	1.20±0.146 ^{Da}	0.57±0.005 ^{Eb}
	PNHL	9.43±0.306 ^B	9.79±0.133 ^B	9.52±0.189 ^B
40	CON	4.53±0.025 ^{Ca}	4.26±0.060 ^{Bb}	4.27±0.082 ^{Cb}
	CONHL	11.26±0.194 ^A	11.03±0.138 ^A	10.93±0.061 ^B
	PA	2.34±0.051 ^{Da}	1.77±0.024 ^{Cb}	1.76±0.025 ^{Db}
	PAHL	9.23±0.054 ^{Bc}	11.16±0.237 ^{Ab}	12.82±0.279 ^{Aa}
	PN	1.19±0.039 ^{Ec}	1.45±0.017 ^{Cb}	1.63±0.047 ^{Da}
	PNHL	9.43±0.306 ^{Bc}	11.43±0.205 ^{Ab}	13.24±0.098 ^{Aa}

Means ± standard error.

^{A-E}Means within same column with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

^{a-c}Means within same row with different superscript letters differ significantly at $p<0.05$.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 8. Color change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C) in sensory evaluation

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
25	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
40	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	2.77±0.147
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	2.67±0.167
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	2.88±0.111
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	2.78±0.147
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	2.88±0.111
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	2.78±0.147

Means ± standard error.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 9. Aroma change of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C) in sensory evaluation

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
25	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
40	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	2.78±0.147
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	2.78±0.147
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	2.89±0.111
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	2.89±0.111
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	2.89±0.111
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	2.78±0.147

Means ± standard error.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 10. Score of phase separation of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C) in sensory evaluation

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
25	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
40	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000

Means ± standard error.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

Table 11. Spreadability of the cosmetic cream containing purified horse oil during storage (4, 25 and 40°C) in sensory evaluation

Storage Temperature(°C)	Treatments	Storage Time(days)		
		1	30	60
4	CON ¹⁾	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
25	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
40	CON	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	CONHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PA	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PAHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PN	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000
	PNHL	3.00±0.000	3.00±0.000	3.00±0.000

Means ± standard error.

¹⁾ CON, Olive oil; CONHL, Olive oil + Horse leg bone hydrolysates less than 3kDa (HL); PA, Purified horse abdomen oil; PAHL, Purified horse abdomen oil + HL; PN, Purified horse neck oil; PNHL, Purified horse neck oil + HL.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 적색도(a*) 변화의 결과는 Table 6에 나타내었다. 4 °C에서 적색도의 변화는 CON과 PN처리군은 모든 저장 일차에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나, CONHL, PA, PAHL, PNHL 처리군은 저장기간이 증가함에 따라 적색도가 유의적으로 증가하였다. 25 °C에서 CON, CONHL, PA, PAHL처리군은 저장 1일차보다 60일차에 적색도가 유의적으로 증가하였으며(p<0.05), 40 °C에서 CON, CONHL 처리군은 저장기간이 증가함에 따라 적색도는 증가하였다. 저장시간에 따른 크림의 적색도는 유의적으로 차이가 있었지만, 미세한 변화로 관능평가에서 시각에 따른 크림색의 변화는 관찰되지 않았다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 황색도(b*) 변화의 결과는 Table 7에 나타내었다. 4 °C에서 CONHL, PNHL 처리군은 저장 기간이 경과함에 따라 b*의 차이를 나타내지 않았으며, PAHL 처리군은 저장 기간이 경과함에 따라 황색도가 유의적으로 증가하였다(p<0.05). CON, PAHL은 저장 30일차에 황색도가 증가하였으며, PN 처리군에

서는 저장 60일차에 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 25 °C에서 CON, CONHL, PA, PN 처리군은 저장 기간이 경과함에 따라 황색도가 감소하였으며(p<0.05), PAHL처리군은 유의적으로 증가 하였다(p<0.05). 40 °C에서 CON, PA 처리군은 저장 기간이 경과함에 따라 황색도는 유의적으로 감소하였으며, PAHL, PN, PNHL 처리군은 저장 기간이 경과함에 따라 유의적으로 증가하였다(p<0.05). CONHL 처리군은 저장 기간의 경과에 따른 유의적인 차이는 없었다. 황색도는 모든 온도와 모든 저장 기간에서 말 사골 저분자 효소분해물의 고유의 색인 갈색으로 인해 말 사골 효소분해물 첨가 처리군인 CONHL, PAHL, PNHL에서 말 사골 효소분해물을 첨가하지 않은 처리군보다 유의적으로 b* 값이 높았다 (p<0.05). 이는 말 사골 저분자 효소분해물이 크림색에 영향을 미친것으로 사료된다. 온도별 저장 기간에 따른 크림의 황색도 변화에 유의적인 차이가 있지만 미세한 변화로 크림의 관능평가를 통한 크림의 변색은 나타나지 않았다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 원심분리를 이용하여 유향

액 상분리 안정성을 분석하였다(Data not shown). 그 결과 정제 마유 크림을 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 모든 처리군에서 유화액 분리가 발생하지 않았으며, 모든 처리군이 유화액 상분리에 안정하였다. 이 결과 정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물이 크림의 제형을 변형시키지 않았으며, 유화액의 분리가 일어나지 않아 안정성을 확인하였다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안의 질량 변화를 분석하였다(Data not shown). 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안 질량 변화는 CON, CONHL, PA, PAHL, PN, PNHL 처리군 모두 60일 저장 동안 크림의 질량 변화는 없었으나, 40 °C CONHL 처리군 60일차에서 0.1 g의 질량이 감소하였다. 4 °C와 25 °C 보다 높은 온도인 40 °C에서 수분증발로 인한 무게변화라고 사료되며, 수분증발 이외에 다른 물리적 변화는 관찰되지 않았다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안의 미생물학적 특성의 대하여 분석하였다(Data not shown). CON, CONHL, PA, PAHL, PN, PNHL 모든 처리군은 4, 25, 40 °C의 60일 저장기간 동안 일반 세균 및 진균 모두 검출되지 않았다. 식약처[19]에서 화장품의 미생물한도기준 및 시험방법 가이드라인에 의하면 총 호기성 세균수는 기타 화장품의 경우 1,000 개/g(mL) 이하로 명시되어 있으며, 진균의 경우 100 개/g(mL) 이하로 명시되어 있다. 본 실험에서 실시된 저장실험에서 모든 처리군이 미생물에 대한 안전성을 나타내었다.

정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 첨가 크림의 4, 25, 40 °C 저장기간 동안의 관능평가를 통한 안정성을 측정한 결과 1, 30, 60일차에 모든 처리군에서 저장기간에 따른 크림의 색상 변화의 유의적인 차이가 없어, 관능평가에 따른 크림의 색상변화는 없는 것으로 사료된다(Table 8). 또한 저장기간에 따른 향 변화를 관능평가한 결과 저장기간에 따른 유의적인 이가 없어(Table 9), 향의 변화는 관찰되지 않은 것으로 사료되며, 마유의 저장기간에 따른 산패취 및 특이취도 발생하지 않은 것으로 사료된다. 크림과 같은 화장품은 저장기간이 길어질수록 유화된 유분층과 수분층이 분리되는 현상을 가져오는 것으로 알려져 있으나, 본 연구 결과에서는 유분층과 수분층에 대한 상분리는 관찰되지 않아 60일 저장기간 동안 유화 안정성을 나타내었다(Table 10). 또한, 크림 내의 응집 현상도 관찰되지 않았다. 관능평가 요원이 크림을 발랐을 때 저장기간 동안 발림 정도의 차이를 분석

한 결과 발림성 또한 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Table 11). 특히 40 °C에서 60일차에도 정제 마유 및 말 사골 저분자 효소분해물의 특유의 냄새도 없었으며, 이는 저장기간 동안의 소비자에게 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다.

4. 결론

마유는 화장품 원료로서 항산화 기능과 미백의 효과를 보일 수 있으며, 복부 지방에서 정제된 마유가 목 지방 정제 마유 보다 효과적인 것으로 나타났으나, 정제 마유 모두 항산화 및 멜라닌 색소 형성에 관여하는 tyrosinase을 억제 하여 미백에 대한 기능성 크림의 제품화가 가능할 것으로 사료된다. 정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 함유 크림을 40°C 저장시 pH의 안정성을 위해 추가적인 연구가 필요하나, 4, 25°C에서는 정제 마유와 말 사골 저분자 효소분해물 함유 크림의 점도, 관능적 특성 (색도, 발림성, 유분리 안정성) 및 미생물학적 안전성을 확인하였다.

References

- [1] J. H. Yoo, J. K. Kim, H. J. Yang, K. M. Park, "Effects of egg shell membrane hydrolysates on UVB-radiation-induced Wrinkle formation in SKH-1 hairless mice", *Food Science of Animal Resources*, Vol.35, pp.58-70, 2015. DOI: <https://doi.org/110.5851/kosfa.2015.35.1.58>
- [2] R. K. Tripathi, V. J. Hearing, K. Urabe, P. Aroca, R. A. Spritz, "Mutational mapping of the catalytic activities of human tyrosinase", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.267 pp.23707-23712, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)35895-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)35895-2)
- [3] M. Shiino, Y. Watanabe, K. Umezawa, "Synthesis of N-substituted N-nitrosohydroxylamines as inhibitors of mushroom tyrosinase", *Bioorganic and Medicinal Chemistry* Vol.9, pp.1233-1240, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(01\)00003-7](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00003-7)
- [4] E. C. Gendler, "Topical treatment of the aging face" *Dermatologic Clinics*, Vol.15, pp.561-567, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0733-8635\(05\)70466-6](https://doi.org/10.1016/S0733-8635(05)70466-6)
- [5] M. J. Kim, S. P. Lee, J. H. Choi, S. H. Kwon, H. D. Kim, M. H. Bang, S. A. Yang, "Characteristics of fermented dropwort extract and vinegar using fermented dropwort extract and its protective effects on oxidative damage in rat glioma C6 cells", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.45,

- pp.350-355, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.3.350>
- [6] S. A. Cho, T. H. Kim, A. Sung, "Polymerization and characterization of ophthalmic polymer containing glycerol dimethacrylate with high wettability", *Journal of the Korean Chemical Society*, Vol.55, pp.283-289, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.5012/jkcs.2011.55.2.283>
- [7] E. Boelsma, H. F. Hendriks, L. Roza, "Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids" *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol.73, pp.853-864, 2001.
DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.5.853>
- [8] Y. H. Park, M. J. Cho, H. J. Kim, "Comparison of physicochemical characteristics of horse fat, lard, and beef-tallow" *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.51, pp.1-6, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2019.51.1.1>
- [9] J.B. Nielsen, "Natural oils affect the human skin integrity and the percutaneous penetration of benzoic acid dose-dependently", *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicolog*, Vol.98, pp.575-581, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2006.pto.388.x>
- [10] Y. S. Lee, J. H. Yoon, B. Kim, C. I. Park, W. K. Yoo, J. W. Cho, M. R. Kim, "Effects of horse oil on the DNCB-induced contact hypersensitivity in Balb/c mice", *The Korea Journal of Herbology*, Vol.28, pp.77-81, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.6116/kjh.2013.28.4.77>
- [11] H. J. Kim, D. Kim, N. Y. Kim, J. Kim, A. Jang, "Anti-wrinkle and anti-inflammatory effects of a combination of topically applied horse oil and dietary enzyme hydrolysates from horse bone", *Process Biochemistry*, Vol.90, pp.257-267, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1016/i.procbio.2019.11.010>
- [12] M. Tanaka, Y. I. Koyama, Y. Nomura, "Effects of collagen peptide ingestion on UV-B-induced skin damage", *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol.73(4), pp.930-932, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1271/bbb.80649>
- [13] D. Kim, H. J. Kim, H. S. Chae, N. G. Park, Y. B. Kim, A. Jang, "Anti-oxidation and anti-wrinkling effects of Jeju horse leg bone hydrolysates", *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* Vol.34, pp.844-851, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.6.844>
- [14] T. Tadros, P. Izquierdo, J. Esquena, C. Solans, "Formation and stability of nano-emulsions", *Advances in Colloid and Interface Science*, Vol.108, pp.303-318, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2003.10.023>
- [15] P. Fischer, A. Eugster, E. J. Windhab, M. Schuleit, "Predictive stress tests to study the influence of processing procedures on long term stability of supersaturated pharmaceutical o/w creams", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol.339, pp.189-196, 2007.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.iipharm.2007.03.013>
- [16] T. Guaratini, M. D. Gianeti, P. M. Campos, "Stability of cosmetic formulations containing esters of Vitamins E and A: chemical and physical aspects", *International Journal of Pharmaceutics*, Vol.327, pp.12-16, 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.iipharm.2006.07.015>
- [17] P. Thanasukarn, R. Pongsawatmanit, D.J. McClements, "Impact of fat and water crystallization on the stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate", *Colloids and Surfaces A*, Vol.246, pp.49-59, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2004.07.018>
- [18] G. L. Cramp, A. M. Docking, S. Ghosh, J. N. Coupland, "On the stability of oil-in-water emulsions to freezing", *Food Hydrocolloids*, Vol.18, pp.899-905, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.007>
- [19] Korea food and Drug administration(KFDA), Guidelines on Stability Testing of Cosmetic Product, 2011.
- [20] J. Folch, M. Lees, G. S. Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.226, pp.497-509, 1957.
- [21] M. S. Blois, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical", *Nature*, Vol.181, pp.1199-1200, 1958.
- [22] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Biology and Medicine*, Vol.26, pp.1231-1237, 1999.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- [23] S. H. Pomerantz, "Separation, purification, and properties of two tyrosinases from hamster melanoma", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.238, pp.2351-2357, 1963.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)67976-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)67976-7)
- [24] B. N. Ames, R. L. Saul, "Oxidative DNA damage, cancer and aging. Oxygen and human disease", *Annals of Internal Medicine*, Vol.107, pp.536-539, 1987.
- [25] M. Andres, M. Jose, D. Cruz, J. Franco, D. Manuel, S. Jorge, D. Herminia, J. Maria, J. Nunez, P. Carlos, "Natural antioxidants from residual sources", *Food Chemistry*, Vol.72, pp.145-171, 2001.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00223-5)
- [26] R. O. S. A. Pérez Gutierrez, H. Hernández Luna, S. Hernández Garrido, "Antioxidant activity of Tagetes erecta essential oil", *Journal of the Chilean Chemical Society*, Vol.51, pp.883-886, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072006000200010>
- [27] D. C. Bennett, W. E. Code, D. V. Godin, K. M. Cheng, "Comparison of the antioxidant properties of emu oil with other avian oils", *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Vol.48, pp.1345-1350, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1071/EA08134>
- [28] S. A. Yang, S. K. Jeon, E. J. Lee, N. K. Im, K. H. Jhee, S. P. Lee, I. S. Lee, "Radical scavenging activity of the

essential oil of silver fir (*Abies alba*)", *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, Vol.44, pp.253-259, 2009.

DOI: <https://doi.org/10.3164/jcfn.08-240>

- [29] Y. Bellik, "Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe", *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, Vol.4, pp.40-44, 2014.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60311-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60311-X)
- [30] S. Afoulous, H. Ferhout, E. G. Raelison, A. Valentin, B. Moukarzel, F. Couderc, J. Bouajila, "Chemical composition and anticancer, antiinflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei*", *Food and Chemical Toxicology*, Vol.56, pp.352-362, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.02.008>
- [31] H. C. Huang, T. Y. Chang, L. Z. Chang, H. F. Wang, K. H. Yih, W. Y. Hsieh, T. M. Chang, "Inhibition of melanogenesis versus antioxidant properties of essential oil extracted from leaves of *Vitex negundo* Linn and chemical composition analysis by GC-MS", *Molecules*, Vol.17, pp.3902-3916, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17043902>
- [32] S. H. Kim, S. Y. Lee, C. Y. Hong, K. S. Gwak, M. J. Park, D. Smith, I. G. Choi, "Whitening and antioxidant activities of bornyl acetate and nezukol fractionated from *Cryptomeria japonica* essential oil", *International Journal of Cosmetic Science*, Vol.35, pp.484-490, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1111/ics.12069>
- [33] J. L. Matousek, K. L. Campbell, I. Kakoma, P. F. Solter, D. J. Schaeffer, "Evaluation of the effect of pH on in vitro growth of *Malassezia pachydermatis*", *Canadian Journal of Veterinary Research*, Vol.67, pp.56-59, 2003.
- [34] J. Y. Kim, S. N. Park, "A study on the stability and moisturizing effect for the cream containing *Castanea crenata* leaf extract", *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol.35, pp.301-307, 2009.
- [35] S. J. Choi, S. Y. Kim, Y. J. Jeong, C. S. Ku, B. J. Ha, H. J. Chae, "Stability evaluation of the cosmetics containing lotus leaf extract", *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.26, pp.83-86, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.7841/ksbbi.2011.26.1.083>
- [36] T. Venter, L. T. Fox, M. Gerber, J. L. Du Preez, S. van Zyl, B. Boneschans, J. Du Plessis, "Physical stability and clinical efficacy of *Crocodylus niloticus* oil lotion", *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Vol.26, pp.521-529, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1016/i.bjrp.2016.03.011>
- [37] M. S. Lim, D. S. Lee, S. S. Kwon, S. N. Park, "Stability test for the cream containing *Chamaecyparis obtusa* leaf extract", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.29, pp.205-213, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2012.29.2.5>

김 희 진(Hee-Jin Kim)

[정회원]



- 2020년 8월 : 강원대학교 동물생명과학과 (농학박사)
- 2022년 8월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원

<관심분야>

동물성 식품, 가금학

장 애 라(Aera Jang)

[정회원]



- 2001년 2월 : 서울대학교 농생명공학부 (농학석사)
- 2004년 8월 : 서울대학교 농생명공학부 (농학박사)
- 2007년 ~ 2012년 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

• 2012년 ~ 현재 : 강원대학교 동물생명과학대학 동물응용과학과 교수

<관심분야>

동물성 식품의 품질 및 영양생리 기능, 식품화학, 식품안전관리