

九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物이 皮膚 老化에 미치는 影響

최재환, 황승진, 정수나, 이윤경, 진무현, 박선규, 이천구*

(주) LG생활건강기술연구원 화장품연구소

Anti-aging Effect on Skin with 9 Repetitive Steaming and Fermenting Process Herbal Composition Extract

Jae-Hwan Choi, Seung-Jin Hwang, Su-Na Jeong, Yun-Kyung Lee, Mu-Hyun Jin, Sun-Gyoo Park, Cheon-Koo Lee*

Cosmetic R&D Center, LG Household & Healthcare Ltd./Research Park

ABSTRACT

Objectives : We investigated the anti-aging effects on skin with 9 Repetitive steaming and fermenting herbal composition extract (FHE).

Methods : Herbal composition is comprised of *Panax Ginseng*, *Rehmannia glutinosa*, *Polygonum multiflorum* and *Polygonatum Sibiricum*. They steamed and fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus brevis* by turns at 9 times. We measured various effects related to skin aging such as scavenging activity against free radical, cell proliferation, collagen synthesis and toxicity of 9 repetitive steaming and fermenting herbal composition extract were evaluated and compared with herbal composition extract (HE).

Results : As the number of steaming and fermenting cycle increased free-radical scavenging activity were increased. But cell proliferating ratio was not increased when the number of steaming and fermenting cycle. The FHE could significantly increase the collagen synthetic ratio compared with HE treated group. And, FHE was showed no toxicity at all tested concentrations.

Conclusions : The results of our study propose that FHE has good anti-aging effects on skin.

Key words : Anti-aging, Herbal Composition, Steaming, Ferment, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus brevis*

서 론

사람의 피부는 노화가 진행됨에 따라 내적으로는 신진 대사를 조절하는 각종 호르몬의 분비가 감소하고, 면역세포 및 피부세포의 기능과 활성이 저하되어 생체에 필요한 면역 단백질 및 생체 구성 단백질들의 생합성이 줄어들게 되어 생기는 내인성노화(intrinsic aging)와, 외적으로는 각종 오염물질과 자외선에 의한 광노화(photo aging)에 의해, 주름증가, 탄력감소, 피부건조의 증가가 나타날 뿐만 아니라, 기미, 주근깨 및 검버섯 등이 증가하게 되어 피부외관의 아름다움이 점차 상실하게 된다^{1,2)}. 그러나 현대

에 이르러 젊고 아름다운, 이른바 동안의 외모를 중시하기 때문에 내적 인자뿐만 아니라 자외선, 스트레스 등의 외적인자에 의한 피부노화 현상을 예방 또는 해결하고자 하는 욕구가 크다.

韓醫學적 관점에서 피부의 상태는 외부 요인뿐만 아니라 인체의 각종 내부 요인에 의해 영향을 받게 되며 특히 五臟 중 肺와 관련이 깊다. 피부상태를 판별할 수 있는 대표적인 韓醫學적 診斷방법 중 望診은 神, 色, 態의 변화는 주요한 요소로서 관찰하며, 특히 피부와 관련된 色澤의 변화는 五臟의 氣血盛衰를 표현하는 중요 인자로 인식되어 왔다³⁾. 五臟을 구성하는 肝·心·脾·肺·腎의

* 교신저자 : 이천구, 대전시 유성구 장동 84 (주)LG생활건강 기술연구원 화장품연구소
· Tel : 042-860-8680 · E-mail : cklee@lgcare.com
· 접수 : 2009년 11월 19일 · 수정 : 2009년 12월 11일 · 채택 : 2009년 12월 21일

虛實 변화는 靑·赤·黃·白·黑으로 표현되는 五色에 영향을 끼쳐 診斷의 중요 요소로서 활용되고 있다⁴⁾.

九蒸九炮란 약재를 찹통이나 시루 속에 넣어 隔水하고 가열함으로써 水熱과 증기를 이용하여 약재를 蒸製하는 방법인 蒸製法을 9번 반복 시행하는 것으로 그 목적은 약성을 변화시켜 치료효과를 높이며, 혹은 가공이나 절편에 편리하도록 하고, 아울러 저장하기에도 편리하도록 하는 데 있으며, 대표적인 약재들로 人蔘·熟地黃·何首烏 및 黃精 등이 있다⁵⁾. 현재까지 九蒸九炮를 통한 약효 증강에 대한 연구를 보면 生地黃을 九蒸九炮하여 熟地黃으로 제조 시 당이 증가되고⁶⁾ 약성변화를 유도한 Rat의 치료 효능이 蒸數가 높아질수록 증가됨을 확인할 수 있었다⁷⁾. 그리고 人蔘을 九蒸九炮한 黑蔘의 Ginsenoside의 함량은 감소되나 Ginsenoside-Rg3의 함량이 증가되며, 또한 Streptozotocin-유도 당뇨병 모델 마우스의 혈당강화 효과도 유의성 있음이 밝혀졌으며⁸⁾, 黑蔘의 산성 다당체는 九蒸九炮 처리 시 초기에는 증가하나 5차 이후에는 감소하고 폐놀성 물질 중 maltol의 함량은 5, 7 및 9차가 진행될수록 소량 감소되는 것을 알 수 있었다. 그리고 DPPH를 이용한 항산화능, 과산화 저해능 분석 결과 7차 蒸炮까지는 증가하나 9차에는 감소하는 것으로 보고되는 등 다양한 특성이 밝혀지고 있다⁹⁾.

醱酵은 아주 오래 전 자연에서 찾아낸 우리에게 매우 유용한 친환경 가공기술로서 장류, 요구르트, 술 등의 식품에서 널리 사용되었을 뿐만 아니라 韓醫學에서도 韓藥의 효능을 변화시키거나 높이는 炮製法 중 하나인 醱酵法을 이용해 환자들을 치료하였다. 醱酵法이란 약물을 일정한 처리를 거친 후 일정한 온도와 습도의 조건하에서 곰팡이와 효소의 촉매 분해 작용에 의해 약물을 발효시키는 방법으로서, 韓藥에 따라 일정한 방법을 채용한 후 온도와 습도가 적합한 환경에서 발효를 진행한다. 이는 적당한 수분을 가지는 고체기질의 표면에 미생물을 직접 배양하는 방법인 현대 발효 공학의 고체 발효법(Solid culture fermentation) 및 각종 미생물을 혼합하여 발효하는 혼합 발효법(Mixed culture fermentation)과 유사한 방법이다. 고체 발효의 대표적인 예로는 된장·간장 등으로 양조식품에 많이 쓰이며 韓藥으로는 神麴·淡豆豉 등이 있다^{10,11)}.

최근 醱酵를 이용하여 韓藥의 효능을 높이거나 새로운 기전을 찾으려는 연구가 점점 늘어나고 있으며 특히 피부에 대한 醱酵 韓藥의 다양한 연구가 대폭 늘어나고 있다. 그 예로 배의 씨방 및 과피를 알코올 발효하면 피부 보습력이 증강되며, 桑支·桑白皮 및 桑葉 醱酵 藥液의 미백 효과 등 활발한 연구가 진행되고 있다^{12,13)}.

이렇듯 韓藥을 醱酵하면 그 효과가 높아짐에도 불구하고 어떤 균이 관여하는지 쉽게 알 수 없었고, 오염이 쉽게 되며, 효과의 재현성이 떨어지는 등의 단점이 있었으나, 최근 연구를 통하여 관여 미생물, 오염방지, 재현성 확보 이외에 작용기작에 대한 연구가 활발해져 점차 醱酵 韓藥의 실체를 밝히고 있다.

본 연구에서는 피부노화를 예방 혹은 치유할 수 있는 새로운 醱酵 韓方化粧品 원료를 발굴하고자, 炮製法 중 가장 대표적인 九蒸九炮 및 현대 발효공학 기술 중 고체 발효법과 혼합 발효법을 응용하여 人蔘·生地黃·何首烏 및 黃精을 酵母와 乳酸菌을 번갈아 찌고 고체 발효한 새로운 발효법을 개발하였고 이에 따른 九蒸九炮 발효를 통한 얻은 발효물에 대한 항산화, 세포활성, 콜라겐 생합성 효과 및 세포 독성 등 피부 효능 및 안전성을 살펴 본 결과 우수한 결과를 확인할 수 있었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재 및 균주

본 실험에서 사용된 人蔘(6년근, 충남 금산), 生地黃(충남 금산), 何首烏(경북 의성) 및 黃精(충남 금산) 등의 生藥材는 (주) 오비엠랩을 통하여 구입하였으며, 이를 세척하여 사용하였으며 실험에 사용된 균주인 *Saccharomyces cerevisiae* (KTCT1904)와 *Lactobacillus brevis* (KTCT3102)는 한국생명공학연구원에서 입수하여 사용하였다.

2) 시약 및 기기

실험에 사용된 시약으로 Procollagen Type I C-Peptide (PICP) EIA Kit는 TAKARA (Japan)사의 제품을 사용하였다. Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), streptomycin과 penicillin 등은 GibcoBRL (USA)사 제품을 사용하였으며, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT), trichloro acetic acid (TCA), potassium phosphate, sodium chloride and sodium phosphate 등은 Sigma Co (USA) 제품을 사용하였다. 그리고 Difco™ *Lactobacillus* MRS Broth, Difco™ YM Broth 및 Difco™ BD Agar 등은 BD (USA)사 제품을 사용하였다. 기타 일반 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 방법

1) 세포 배양

실험에 사용된 섬유아세포는 피부과의원에서 시술 후 얻어지는 포피를 이용하여 배양하였다. 얻어진 피부에서 지방층을 제거한 후 2~4 mm × 2~4 mm 크기의 절편으로 조각 낸 뒤, type I collagenase (0.1 w/v% in phosphate buffered saline, Gibco BRL, USA) 용액을 가하여 37°C에서 12시간 정치하였다. 이후 type I collagenase 용액을 제거한 뒤, 표피를 제거한 후 진피를 수술용 칼로 잘게 조각낸 후 DMEM 배지를 넣고, 75 cm² 티슈 플라스크에 정치하였다. 그리고 조각난 티슈에서 세포간 피부

조직 밖으로 배출되어 플라스크 안에서 자라면 이를 회수하여 실험에 사용하였다. 섬유아세포는 DMEM에 10% FBS, 1% penicillin, 1% streptomycin을 가하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다¹⁴⁾.

2) 균주 배양

Saccharomyces cerevisiae KTCT1904, *Lactobacillus brevis* KTCT3102 를 20% glycerol에 혼합하여 -72°C에 보관한다. *Saccharomyces cerevisiae* KTCT1904 1 mL stock을 YM agar 배지에서 도말평판법(Streak plate method)을 통해 계대배양한 후 약 0.1 mg 정도를 취하여 400 mL YM배지에 접종하여 30°C, 250 rpm 조건에서 48 시간 배양하였다. 그리고 *Lactobacillus brevis* KTCT3102 1 mL stock을 MRS agar 배지에서 도말평판법을 통해 계대배양한 후 약 0.1 mg 정도를 취하여 400 mL MRS 배지에 접종하여 30°C, 250 rpm 조건에서 24시간 배양하였다.

3) 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合물의 제조

人蔘·生地黃·何首烏 및 黃精을 1 mm 정도로 얇게 절편한 후 각각 10 g씩 유리 petri dish에 놓았다. 그 후 Autoclave를 이용한 고온 멸균법으로 약재 속에 들어있는 상재 균을 제거한 후, *Saccharomyces cerevisiae* 배양액을 약재에 10 mL 정도 넣고 30°C, 75 RH%에서 48시간 동안 발효하였다. 그 후 발효액을 전부 15 mL Falcon Tube에 덜고 이를 0.22 µm Filter (Millipore, USA)를 이용해 Filtration하여 발효물을 얻었다. 발효된 약재들을 Autoclave를 이용해 고온 멸균하고 *Lactobacillus brevis* 배양액을 약재에 10 mL를 넣고 30°C, 75 RH%에서 24시간 동안 발효하였다. 그 후 발효액을 전부 15 mL Falcon Tube에 덜고 이를 0.2 µm Filter를 이용해 Filtration하여 발효물을 얻었다. 이런 방식으로 약재를 Autoclave를 이용해 찌고 균주를 번갈아 가면서 고체 발효하는 과정을 총 9번에 걸쳐 실시하여 각 약재의 발효물을 얻은 후 동량으로 섞어 실험에 사용하였다.

4) 자유라디칼 소거능 평가

자유라디칼 소거능 평가 법은 Blois의 방법에 준하여 실시하였다¹⁵⁾. 각 시료를 96 well plate의 각 well에 100 µl씩 넣은 후 0.1 mM 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 용액을 100 µl씩 첨가한 다음 37°C에서 30분간 방치한 후 ELISA reader를 이용해 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험의 양성대조군으로 L-ascorbic acid를 처리하였다. 자유라디칼 소거능은 다음 공식으로 계산하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) [(AB-AT)/AB × 100, AB: absorbance of blank sample, AT: absorbance of tested extract.

5) 섬유아세포 증식능 평가

섬유아세포를 96 well plate에 well당 1 × 10⁴개로 분

주하고 24시간 동안 배양한 후, 1.0 µg/mL 농도로 각 시료들을 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 배양액을 흡입하여 제거한 다음 PBS로 1회 세척하고, MTT용액을 0.5 mg/ml의 농도로 well 당 100 µl씩 세포에 첨가하여, 4시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. 배양액을 흡입하여 제거한 다음 DMSO (dimethyl sulfoxide) 용액 200 µl을 첨가하고, shaker에서 10분간 흔들어 준 후 ELISA reader로 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다¹⁶⁾.

6) 콜라겐 생합성 증진능 평가(procollagen type I C-peptide enzyme immunoassay)

배양된 섬유아세포를 96 well plate에 1 × 10⁴ cells/well로 분주하여 배양한다. 24시간 후 세포들을 serum-free DMEM으로 3회 세척하고 각 시료들을 농도별로 녹인 serum-free DMEM용액으로 교환하고 24시간 배양한다. 배양액으로부터 새로 생성된 Procollagen type I C-peptide를 PICP EIA Kit를 이용하여 분광광도계를 이용해 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다¹⁷⁾.

7) 세포 생존율 평가

섬유아세포를 96 well plate에 well당 1 × 10⁴개로 분주하고 24시간 동안 배양한 후, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 및 10.0 µg/mL 농도로 각 시료들을 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 배양액을 흡입하여 제거한 다음 PBS로 1회 세척하고, MTT용액을 0.5 mg/ml의 농도로 well 당 100 µl씩 세포에 첨가하여, 4시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다. 배양액을 흡입하여 제거한 다음 DMSO (dimethyl sulfoxide) 용액 200 µl을 첨가하고, shaker에서 10분간 흔들어 준 후 ELISA reader로 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다¹⁶⁾. 세포 독성 평가는 다음과 같이 계산하였다. Cell viability (%) [AC/AT × 100, AC: absorbance of control, AT: absorbance of tested extract.

8) 통계처리

실험은 3회 이상 실시하여 그 평균값을 기초로 Mean ± S.D.로 나타내었으며, t-test를 시행하여 p<0.05인 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 자유라디칼 소거능 평가

九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物에 대하여 DPPH를 이용한 자유라디칼 소거능을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物을 0.25 w/v%에서 자유라디칼 소거능을 평가한 결과 4차 발효부터 서서히 증가되어 7차 발효 시 0.26, 9차 발효 시 0.08 등의 효과를 보였다. 이는 L-ascorbic acid와 유사한 자유라디칼 소거능을 보인 것으로, 발효 횟수가 증가할수록 자유라디칼 소거 효과도

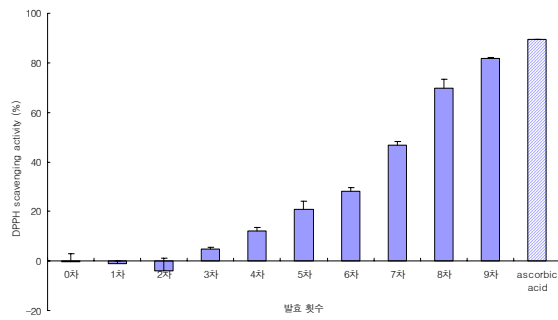


Fig. 1. Effects of 9 repetitive steaming and fermenting herbal composition extracts on free radical scavenging activity against DPPH for 30 min

The results represents the mean ± S.D. of 3 experiments.

점점 높은 경향을 나타내었다.

2. 섬유아세포 증식능에 미치는 영향

섬유아세포의 증식능에 미치는 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物的 발효 횟수 별 효과를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物를 1.0 w/v%에서 섬유아세포의 증식능을 평가한 결과 발효 횟수가 거듭될수록 높아졌으나, 3차 이후에는 경향성이 없었다. 5차 발효 시 34.5%, 7차 발효 시 33.8%의 섬유아세포 증식 효과를 보였으며 9차 발효 시 36.3%의 유의성 있는 섬유아세포 증식 효과를 보였을 뿐만 아니라 1% FBS보다 높은 섬유아세포 증식 효과를 보였다.

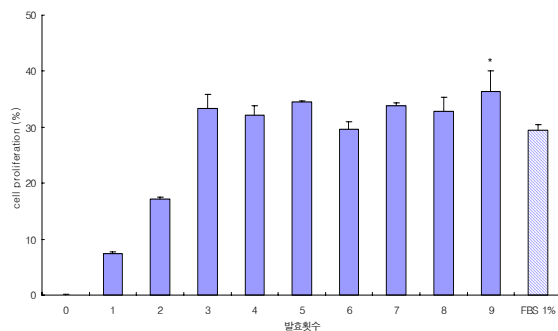


Fig. 2 9 Repetitive steaming and fermenting herbal composition extracts on human dermal fibroblast cell proliferation

The results represents the mean ± S.D. of 3 experiments (* : $p < 0.05$).

3. 콜라겐 생합성 증진효과

九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物的 콜라겐 생합성 증진효과를 실험해 본 결과는 Fig. 3과 같다. 발효하지 않은 혼합 추출물의 경우 0.01 및 0.1 w/v%의 농도에서 대조군보다 6.9~11.3% 정도의 콜라겐 생합성 촉진 효과를 보였고, 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物的 경우 0.01 및 0.1 w/v%의

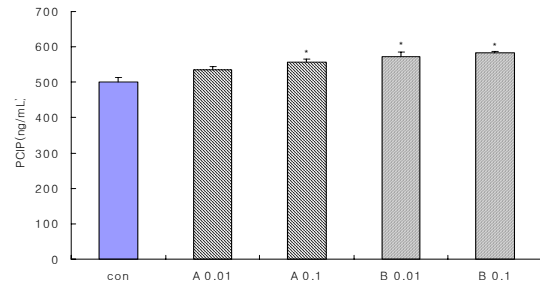


Fig. 3 Collagen synthesis (%) increased after 9 repetitive steaming and fermenting herbal composition extract compared with herbal composition extracts

The results represents the mean ± S.D. of 3 experiments (* : $p < 0.05$).

A: Herbal composition extract.

B: 9 Repetitive steaming and fermenting herbal composition extract.

농도에서 대조군보다 14.3~16.3% 정도의 대조군보다 높은 유의성 있는 콜라겐 생합성 촉진 효과를 보였으며 혼합 추출물에 비해서도 높은 효과를 보였다.

4. 세포독성 평가

九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物이 사람의 정상 섬유아세포의 세포독성을 확인하기 위해 MTT assay를 통해 Fig. 4에 그 결과를 나타내었다. 혈청이 첨가되지 않은 배지를 사용하여 배양하였을 때 세포독성이 나타나지 않아 사람의 정상 피부세포에 대한 활성 저해는 일어나지 않을 것으로 판단된다. 그리고 0.001~10.0 w/v% 농도의 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物은 사람의 정상 섬유아세포에 대해 독성이 나타나지 않아 매우 안전한 것으로 평가된다.

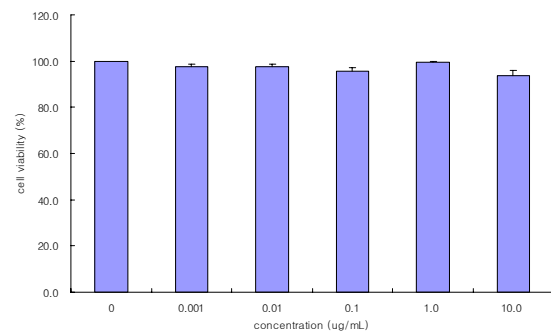


Fig 4 The effect of cell growth according to each concentration of 9 repetitive steaming and fermenting herbal composition extract in normal human dermal fibroblasts

The results represents the mean ± S.D. of 3 experiments using MTT assay against primarily cultured normal human dermal fibroblasts.

고찰 및 결론

人蔘은 五加科에 속한 多年生草本인 人蔘의 根으로 大補元氣, 補脾益氣, 生津止渴, 寧神益智 등의 효능이 있어

一切虛損, 自汗暴脫, 脈微慾絕, 脾氣虧虛, 肺虛喘促, 氣津兩傷의 消渴, 口渴, 驚悸, 健忘, 眩暈, 頭痛, 小兒慢驚, 久虛不復 등의 病증을 치료한다¹⁸⁾. 또한 人蔘의 성분 중 하나인 Ginsenoside Rg3는 노화로 인한 주름 개선 효과가 있다¹⁹⁾. 生地黃은 玄蔘科에 속한 多年生 草本인 지황 또는 중국의 회경지황의 신선한 塊根으로 黃酒를 고르게 뿌려 九蒸九炮한 것을 熟地黃이라 하여 補血滋陰, 補精益髓의 효능이 있어 月經不調, 崩漏, 肝腎陰虧, 消渴, 精血虧虛, 腎虛喘咳 등의 病증을 치료한다¹⁸⁾. 또한 生地黃은 항산화 및 콜라겐 생합성 및 분해 억제 효과가 있어 노화로 주름을 억제하는 데 효과가 있다²⁰⁾. 何首烏는 蓼科에 속한 多年生 草本인 何首烏의 塊根으로 黑豆과 黃酒를 이용하여 九蒸九炮 시 補肝腎, 益精血 등의 효능이 있어 頭暈眼花, 鬚髮早白, 腰痠脚軟, 遺精 등의 病증을 치료한다¹⁷⁾. 黃精은 百合科에 속한 多年生 草本인 죽대등굴레 및 동속 근연 식물의 根莖으로 酒蒸하여 쓰며 補中益氣, 滋陰潤肺, 生津止渴 등의 효능이 있어 脾胃虛弱, 病後虛損, 食慾不振, 筋骨衰弱, 風濕疼痛, 消渴 등의 病증을 치료한다¹⁸⁾. 그리고 何首烏 및 黃精은 항산화 및 미백 효과가 높아 노화와 멜라닌으로 인한 기미 등의 개선에 효과적이다²¹⁾. 따라서 이 4종의 韓藥材는 피부 노화 방지에 매우 효과적임을 알 수 있으나, 그 효능이 화학적으로 합성된 피부 효능 원료에 비해 못 미친다.

본 연구에서는 韓藥의 효능을 더욱 증진시키고자 炮製法 중 蒸製法과 현대 발효공학의 고체 발효법과 혼합 발효법을 결합한 九蒸九炮 발효법을 개발하였는데, 고체 발효는 일반 배지 대신 약재만을 그대로 발효키는 것으로 배지가 혼합되지 않은 고유한 발효된 한약만을 얻을 수 있는 장점이 있다. 또한 효모와 유산균을 혼합 발효 시 泥醉가 낮아지며 항균력이 증가하여 보존성이 높아지고, 다당류의 저분자화로 단당류 및 각종 아미노산들이 다량으로 나와 豐味 및 관능이 현저히 개선되는 등의 각종 이점이 있어 이들을 결합한 새로운 발효법을 개발하였다²²⁾.

본 연구에서는 人蔘·生地黃·何首烏 및 黃精을 배합하여 酵母의 일종인 *Saccharomyces cerevisiae* 및 乳酸菌의 일종인 *Lactobacillus brevis*를 발효 균주로 삼아 차례대로 9번 번갈아 찌고 고체 발효하는 과정을 통해 醱酵物을 얻었다. 수득한 醱酵物의 피부 노화에 대한 효능/효과를 규명하기 위해, 발효 전 韓藥 混合추출물 및 Ascorbic acid 등과 비교하여 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物의 자유라디칼 소거능 평가, 세포활성 및 독성 평가, 콜라겐 생합성 촉진효과 등을 측정하였다.

九蒸九炮 발효법에 사용한 균주인 *Saccharomyces cerevisiae*는 내열성이고, 비병원성 酵母의 일종으로 풍부한 단백질과 비타민 B군의 영양공급원 등 그 외 수많은 우리 몸에 매우 유용한 효능이 밝혀지고 있는 酵母이며²³⁾, 乳酸菌의 일종인 *Lactobacillus brevis*는 통상 혐기성으로 증식하는 그람 양성 세균으로 자연계에 널리 분포되어 있을 뿐 아니라, 인체 소화기관에서도 생육되고 있다. 또한

소화관 내에서 세균 증식을 억제하고 변비를 예방한다고 알려져 사람이나 동물의 프로바이오틱(probiotic)으로 이용 가치가 매우 높다²⁴⁾.

본 연구결과에 따르면, 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物의 경우 발효 횟수가 증가할수록 자유라디칼 소거능이 높아졌으며 특히 9차에는 기존의 Ascorbic acid와 유사한 효과가 있음을 증명함에 따라 노화방지에 우수한 물질임을 확인할 수 있었으며 세포독성도 적음을 확인하였다.

또한 배양한 섬유아세포에서 세포 증식능은 초기에는 단계적으로 높아지는 경향이 그 후에는 증진되지는 않았다. 하지만 9차 발효 시 1% FBS에 비해 유의성 있게 높은 세포 증식 효과를 보임에 따라, 노화된 피부세포의 활성화를 가져와 노화방지에 우수한 효능을 줄 수 있는 물질임을 확인할 수 있었으며 세포 활성능이 완화하여 피부 세포가 癌化될 가능성도 매우 희박하므로 피부에 독성이 매우 적으면서 더욱 친화적인 물질이 될 가능성을 확인할 수 있었다.

콜라겐 생합성을 증진시키는 효과는 韓藥 混合 추출물보다 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物이 더욱 우수한 효능을 보임에 따라 내인성 노화가 진행되면서 얇아지고 변성된 피부를 다시 재생시킬 수 있는 우수한 醱酵 韓藥 處方임을 확인할 수 있었다.

이상의 연구 결과를 종합해볼 때, 酵母와 乳酸菌을 이용해 9번 번갈아 고체 배양한 九蒸九炮 醱酵 韓藥 混合物은 추출물에 비해 피부에 대한 효능이 뛰어났으며, 기존 항산화제로 널리 쓰이던 Ascorbic acid와 비슷한 자유라디칼 소거능을 보였다. 또한 피부 안전성 또한 매우 우수하여 노화된 피부에 대한 효과를 더욱 극대화할 수 있는 醱酵 韓藥 化粧品 원료로서 매우 유용할 것으로 판단된다. 또한 향후 다른 韓方處方 및 적합한 발효미생물과의 조합을 통하여 더욱 우수한 효능을 갖는 원료를 개발할 수 있는 가능성을 열었다는 점에서 큰 의의를 가진다.

참고문헌

1. Gilchrest BA. Skin aging and photoaging: an overview. J Am Acad Dermatol. 1989 ; 21 : 610-13.
2. Bernstein EF, Chen YQ, Tamai K, Shepley KJ, Resnik KS, Zhang H, Tuan R, Mauviel A, Uitto J. Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. J Invest Dermatol. 1994 ; 103(2) : 182-6.
3. 宋兆友. 皮膚病中藥外用製劑. 北京 : 人民衛生出版社. 2000 : 5-6.
4. 原安徽中醫學院 編. 中醫臨床手冊. 서울 : 成輔社. 1983 : 4-5.
5. 葉定江, 長世臣 主編. 中藥炮製學. 北京 : 人民衛生出版社. 1997 : 71.

6. 권승로, 김효근, 함인혜, 이재준, 이제현, 홍선표, 김도훈, 최호영. 포제에 따른 숙지황의 당 성분 변화 연구. 대한본초학회지. 2007 ; 22(4) : 261-70.
7. 마진열, 하창수, 성현제, 지옥표. Cyclophosphamide 로 Rat에 유도된 악성빈혈에 대한 숙지황의 증(蒸)수에 따른 치료효능에 관한 연구. 생약학회지. 2000 ; 31(3) : 325-34.
8. 김성년, 강신정, 흑삼(구증구포인삼)이 혈당강하에 미치는 영향 및 증포별 Ginsenoside 조성 변화. 한국식품과학회지. 2009 ; 41(1) : 77-81.
9. 김도완, 이연진, 민진우, 김유진, 노영덕, 양덕춘. 인삼의 구증구포에 의한 산성다당체, 페놀성화합물의 변환 및 항산화능. 동의생리병리학회지. 2009 ; 23(1) : 121-6.
10. 안덕균, 김호철. 한약포제학 제2판. 서울 : 일지사. 2000 ; 86
11. 김영만, 심상국, 임무현. 최신 발효공학. 고양 : 유림문화사. 2000 ; 64.
12. 김형우, 김경윤, 김병주, 강수우, 도윤호, 남내이, 정현우, 최정식, 조수인. 배의 씨방 및 과피의 알콜 발효 추출물이 피부에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2009 ; 24(1) : 133-9.
13. 박수영, 김재수, 이봉효, 임성철, 이세나, 임강현, 임경민. 상지, 상백피, 상엽 약침액의 발효 및 열처리 후 미백 효능에 대한 연구. 대한침구학회지. 2009 ; 26(1) : 91-8.
14. 양은순, 홍란희, 강상모. 제니스테인에 의한 노화된 피부세포 활성화와 콜라겐 생성 효과 제니스테인에 의한 노화된 피부세포 활성화와 콜라겐 생성 효과. 한국미생물·생명공학학회지. 2007 ; 35(4) : 316-24.
15. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1199.
16. Seo JY, Lee JH, Kim NW, Her E, Chang SH, Ko NY, Yoo YH, Kim JW, Seo DW, Han JW, Kim YM, Choi WS. Effect of a fermented ginseng extract, BST204, on the expression of cyclooxygenase-2 in murine macrophages. Int Immunopharmacol. 2005 ; May 5(5) : 929-36.
17. Khadzhai IaI, Obolentseva GV, Prokopenko AP. On the relation between the structure and spasmolytic activity in a serkes of derivatives of coumarin and furocoumarins. Farmakol Toksikol. 1966 ; Mar-Apr 29(2) : 156-163.
18. 신민교. 임상본초학. 서울 : 영림사. 2002 : 188.
19. 정지현, 조병기. 인삼유래 Ginsenoside Rg3에 의한 항-주름 효과. 대한화장품학회지. 2004 ; 30(2) : 221-5.
20. 김인덕, 권륜희, 허예영, 정혜진, 강환열, 하배진. 한방원료의 초임계 추출을 이용한 항노화 및 주름개선 효과. 한국생물공학학회지. 2008 ; 23(6) : 529-34.
21. 김일출. 향수오, 황정 및 마황의 항산화성 및 미백효과. 한국유화학회지. 2008 ; 25(4) : 533-8.
22. 오철환, 오남순. Rice Sourdough를 첨가한 증편의 품질특성. 한국식품영양과학회지. 2009 ; 38(9) : 1215-21.
23. 김혜자, 양차범. Lactobacillus plantarum과 Saccharomyces cerevisiae의 상호작용이 채소발효음료에 미치는 영향. 韓國生活科學研究. 1994 ; 12 : 115-29.
24. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. Science. 1965 ; Feb 12 ; 147 : 747-8.