

오매 추출물들의 항산화 및 세포 활성

배유경*[†] · 최태부**

*안양과학대학 뷰티에스테틱과, **건국대학교 미생물공학과

Antioxidant and Cell Activity Using Extracts of Mume Fructus

Yu Kyung Bae*[†] and Tae Boo Choe**

*Department of Beauty Esthetic, Anyang Science University, Anyang 430-749, Korea.

**Department of Microbial Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea.

ABSTRACT : Mume fructus is the roasted fruits of *Prunus mume* and has been used as traditional chinese medicine. In this study, mume fructus extracts were prepared by three different methods including hot water extract (sample1), fermentation extract using *Lactobacillus* (Sample2-LP and sample-LA) and ethanol extract (sample3). Total polyphenol and flavonoid contents were improved by fermentation process, compared to water extract. Sample 3 showed the highest activity in DPPH radical scavenging. The cytotoxicity of the sample 2-LP was in the range of 83.3% cell viability at 300 $\mu\text{g/ml}$ concentration. Mume fructus extracts in a concentration-dependent manner inhibited melanogenesis and NO synthesis was inhibited. Specifically, the extracts fermented by *L. plantarum* (sample2-LP) showed higher anti-oxidant activity, anti-inflammatory and skin whitening activity than other extracts. It suggests that sample 2-LP could be potentially used as a resource of materials for functional cosmetics.

Key Words : Mume Fructus, Cosmeceutical Activity, Anti-oxidation, Fermentation

서 언

웰빙 문화의 확산으로 인해 화장품의 화학성분에 대한 이슈 화와 이에 대한 소비자 민감도가 증가하고 있으며, 고객과 사회의 요구에 부응하기 위해 화장품성분에 들어가는 유효성분도 화학물질이 아닌 식물 또는 동물의 천연 성분을 화장품성분으로 사용하고 있다. 따라서, 웰빙 열풍과 더불어 화장품 시장에서도 웰빙 트렌드를 반영한 기능성화장품과 자연주의 컨셉의 화장품, 유기농 화장품, 동양적인 한방 화장품, 발효 화장품 등에 대한 소비자 수요가 증가하여 높은 시장 성장률을 기록하고 있다. 화장품 원료개발에 있어서도 천연물 소재의 화장품 원료개발의 요구도가 높아지면서 천연 소재에 관한 연구가 주목을 받고 있다. 특히 민간에서 오랫동안 약재로 사용해 오던 식물들의 생리활성들이 피부과학적으로 입증되면서 유효성분을 농축하거나 분리해 화장품 등에 이용하고 있다.

최근 들어서 발효 기법은 새로운 패러다임을 형성하며 의약품과 건강보조 식품, 화장품 분야로까지 영역이 확대되고 있다 (Choi *et al.*, 2007). 특히 화장품 분야에서의 적용은 더욱 활발하여 각 브랜드마다 발효를 주제로 한 화장품이 개발되어

출시되고 있다. 한방 화장품 소재를 미생물 또는 효소를 이용하여 생물전환 시키는 경우 다양한 효과가 있다고 알려져 있으며, 발효한방화장품의 인기와 함께 국내에서 미생물의 효소 전환반응을 이용한 천연화장품 소재 개발과 관련된 많은 특허가 출원되거나 등록되고 있다.

한방과 민간요법에서 약재로 널리 이용하고 있는 한약재 중 하나인 매실 (*Prunus mume*)은 매화나무 (*Prunus mume* Siebole et Zuccarini)의 과실로 항균활성, 피로회복, 식욕증진 및 간 해독 등의 효과가 있다고 알려져 있다. 매실은 수확시기와 가공방법에 따라 이름과 용도가 다르며, 일반적으로 다음과 같이 분류한다. 열매가 녹색이고 과육이 단단하고 신맛이 강한 것은 청매 (靑梅), 청매를 찌서 말린 것은 금매 (金梅), 청매를 소금물에 절여 햇빛에 말린 것은 백매 (白梅), 청매의 껍질을 벗겨 연기에 그을려 검게 만든 것은 오매 (烏梅, Mume fructus), 색이 노랗고 향이 좋은 것을 황매 (黃梅)라고 한다 (Kim and Seo, 2007). 이 중 오매는 6월 중순에서 7월 초순에 탄 미숙한 청매의 껍질, 씨를 벗긴 뒤 짚불 연기에 그을린 후 햇빛에 말려 만들었으며 매실 만큼이나 다양한 생리활성을 나타내는 약재이다. 오매는 citric acid, malic acid,

[†]Corresponding author: (Phone) +82-2-450-3523 (E-mail) y-k-bae@ianyang.ac.kr

Received 2011 September 26 / 1st Revised 2011 October 17 / 2nd Revised 2011 October 20 / Accepted 2011 October 20

succinic acid, 탄수화물, triterpenoids, sitosterol 등의 성분을 함유한다. 오매 중의 citric acid는 궤의 4배나 되고 사과와 11~21배나 된다고 한다. 또한 살균작용과 간 기능 강화작용을 나타내는 amygdalin 등을 함유하고 있으며, 과육에는 비교적 높은 활성을 가지는 SOD가 함유되어 있다. 종자에는 amygdalin이 함유되어 있고, 오매의 과실에는 0.33% pectin이 함유되어 있는데 그 중 68~75%는 ester화 된 형태로 존재한다 (Park, 2006) 오매에 대한 선행연구로는 간디스토마에 대하여 살충활성 (Kwack *et al.*, 1984), 항산화 (Hwang *et al.*, 1988; Jeon *et al.*, 2010), 식중독 유발 세균에 대한 항균력 (Park *et al.*, 2001; Seo and Bae, 2002; Kim *et al.*, 2010), 항암효과 (Jung and Bae, 2002; Jeon *et al.*, 2010), 혈당강하효과 (Ko *et al.*, 2004)에 대한 연구들이 있다. 그러나 아직까지 오매를 활용한 화장품 소재로서의 기능성에 대한 구체적인 연구는 미흡한 상황이다.

본 연구에서는 주로 약재로 사용되었던 오매의 열수 추출물, 에탄올 추출물, 발효 공정을 적용한 추출물을 대상으로 하여 항산화 및 세포독성, 피부미백, 항염증 효능을 비교하여 오매를 활용한 화장품 원료 소재의 이용가치를 규명함으로써 산업적 응용 가능성을 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

오매는 경북 지역에서 생산 가공된 국내산을 구입하여 직경 1~1.5 cm 되는 것을 골라 이물질들을 제거하고 사용하였다.

2. 사용 시약 및 기기

실험에 사용된 시약은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl), BHT (Butylated Hydroxy Toluene), DNS (3,5-dinitrosalicylic acid), glucose, caffeic acid, quercetin, arbutin, pyrogallol, griess reagent, Tris-HCl buffer (tris [hydroxymethyl] amino-methane+EDTA), LPS (Lipopolysaccharide), aluminium nitrate, potassium acetate, sodium phosphate buffer, DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium), α -MSH (α -melanocyte stimulating hormone), L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanin), fetal bovine serum, penicillin, streptomycin, formaldehyde, NR desorb solution, theophylline, PBS (phosphate buffered saline solution)를 Sigma (USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 그 외의 기타 시약은 특급시약을 사용하였다. 실험에 사용된 기기는 microplate reader (Synergy-HT, BIO-TEK Instruments, USA), CO₂ incubator (MCO 175, Sanyo Electric Co., Japan), pH meter (Orion, 520A, USA), 냉동건조기 등을 사용하여 측정하였다.

3. 사용 균주 및 배양세포

발효 공정에 사용된 시험균주로는 유산균인 *Lactobacillus plantarum* (LP2, KCTC 3108), *Lactobacillus acidophilus* (LA, KCTC 3164)가 이용되었으며 한국세포주은행 (KCTC)으로부터 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 B16-F10 melanoma 세포와 RAW 264.7 세포 (rat macrophage)는 한국세포주은행에서 구입하였고 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin (100 IU/50 μ g/ml)을 첨가하여 37°C로 유지되는 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. B16-F10 melanoma 세포를 이용하여 세포내 멜라닌 생성 억제 실험을 수행하였고, RAW 264.7 세포를 이용하여 세포내 NO 생성을 측정하였다.

4. 시료 추출

1) 오매 열수 추출물 제조

오매 300 g을 믹서기로 교반 분쇄한 후 3 l의 증류수에 넣고 환류 가열기를 이용하여 3시간 동안 가열한 후 원심분리를 이용하여 상등액을 여과하고 같은 방법으로 2회 반복 여과하였다. 모든 여액을 Whatman No. 2 여과지로 여과시킨 후 멸균 필터지로 필터링 한 다음 이를 다시 동결 건조시켜 추출물을 얻었다 (sample 1).

2) 발효 공정을 적용한 오매 추출물 제조

오매 300 g을 믹서기로 교반 분쇄 후 3 l의 증류수에 넣고 autoclave한 후 MRS 배지에서 배양한 *Lactobacillus plantarum* (KCTC 3108)의 흡광도가 1 이상이 되었을 때 부피비로 10% (V/V) 접종하고 발효는 1 l 삼각플라스크를 이용하여 24시간 진탕 배양하였다. 발효가 끝나면 환류 가열기를 이용하여 3시간 동안 가열하고 원심분리를 이용하여 상등액을 여과하고 같은 방법으로 2회 반복 여과하였다. 모든 여액을 Whatman No. 2 여과지로 여과시킨 후 멸균 필터지로 필터링 한 다음 이를 다시 동결 건조시켜 오매 추출물을 얻었다 (sample 2-LP). 또한 유산균주를 *Lactobacillus plantarum* (KCTC 3108)에서 *Lactobacillus acidophilus* (KCTC 3164)로 바꾸어 위와 동일한 방법으로 발효 공정을 이용한 오매 추출물을 얻었다 (sample 2-LA).

3) 오매 에탄올 추출물 제조

오매 300 g을 3 l의 70% 에탄올에 넣고 상온에서 3일간 추출하고 증발 농축한 후 동결 건조시켜 추출물을 얻었다 (sample 3).

5. 항산화 활성 측정

1) 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis 방법을 수정하여

Folin-reagent가 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 정량하였다 (Gutfinger, 1981). 각 추출물 0.2 ml에 3차 증류수 5 ml를 가한 후 Folin-reagent 시약을 0.5 ml씩 차례로 가한 다음 실온에 3분간 방치한 후 2% Na₂CO₃용액 1 ml를 혼합하고 다시 실온에 1시간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 729 nm에서 흡광도를 측정하였다. 0-100 µg/ml 농도로 제조한 오매 추출물들의 총 폴리페놀 함량은 caffeic acid (Sigma, USA)를 표준물질로 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno 방법을 이용하여 측정하였다 (Moreno *et al.*, 2000). 각 추출물 0.5 ml 농도의 시료액에 10% aluminium nitrate 0.1 ml와 1 M potassium acetate 0.1 ml 및 ethanol 4.3 ml를 차례로 가하여 혼합하여 실온에서 40분간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 0-100 µg/ml 농도 범위로 제조한 오매 추출물들의 총플라보노이드 함량은 quercetin (Sigma USA)을 표준물질로 사용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였다.

2) Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

Marklund 등의 방법에 따라 과산화수소 (H₂O₂)로 전환 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다 (Marklund and Marklund, 1974). 각각의 오매 추출물들 0.2 ml에 tris-HCl 완충용액 (50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 첨가하고 실온에서 20분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 microplate reader를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료 첨가 및 무 첨가군 간의 흡광도 차이를 백분율로 표시하였다.

$$\text{SOD 유사활성 (\%)} = (A - B) / A \times 100$$

(A: 추출물 무첨가군의 흡광도)
(B: 추출물 첨가군의 흡광도)

3) 프리라디칼 소거능 측정

오매 추출물들의 항산화력을 알아보기 위한 방법으로 전자공여능을 비교하여, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH, Sigma, USA)에 대한 소거활성을 측정하였다 (Perez *et al.*, 2004). 에탄올에 녹인 100 µM DPPH 용액 180 µl와 오매 추출물들을 각각 20 µl씩 96 well plate에 첨가하고 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 FL 600 spectrofluorometer (Bio-Tek, U.S.A.)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거활성 (\%)} = 100 - \{(\text{첨가군 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도}) \times 100\}$$

6. 세포 활성 실험

1) Neutral Red (NR) assay를 이용한 세포 독성 측정

실험에서 사용된 오매 추출물의 세포독성을 알아보기 위하여 Neutral Red (NR) assay를 수행하였다 (Borenfreund and Puemer, 1985). 세포 주는 RAW 264.7세포를 사용하였으며, 96 well plate에 well 당 1 × 10⁴ 농도로 분주하여 24시간 부착하고 오매 추출물을 각각 10, 30, 50, 70, 100 µg/ml의 농도가 되도록 첨가한 후 48시간 동안 37°C에서 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양된 세포는 배양액을 NR solution (Sigma) 1%가 포함된 무혈청 배지로 교환하여 3시간 동안 배양한 뒤 48시간 후 배양 용액을 버리고 neutral red의 결정화 유무확인 후 formaldehyde 용액 10%가 들어간 PBS (phosphate buffered saline solution)를 이용하여 100 µl로 20분간 처리하여 세포를 고정화 시켰다. 여기에 NR desorb solution (1% glacial acetic acid, 49% ethanol, 50% distilled water)을 각 well에 100 µl씩 분주하고 세포내 neutral red를 추출하여 ELISA microplate reader (540 nm)로 측정하였다.

2) 멜라닌 생성 억제능 측정

B16-F10 melanoma 세포를 이용하여 멜라닌 생성 억제능을 측정하였다 (Lim *et al.*, 2003). 96 well plate에 B16-F10 세포를 1 × 10⁴ cells/well의 농도로 분주하고, 세포가 바닥에 부착할 수 있도록 24시간 동안 배양한 후 melanin 생성을 촉진하기 위하여 혈청 5%와 α-MSH 10 nM, theophylline 2 mM이 포함된 배지로 갈아준다. 이때 오매 추출물들을 각각 50, 100, 250, 300 µg/ml 농도로 처리하며 72시간 배양 후 배지를 제거하고 세포를 PBS로 세척하였다. 양성대조군으로 arbutin을 배양용 배지에 용해하여 사용하였으며 분비된 멜라닌의 양은 microplate reader를 이용하여 490 nm에서 측정하였고 멜라닌 생성량을 α-MSH 무처리군과 비교하여 백분율로 표시하였다.

3) Nitric Oxide (NO)생성 저해능 측정

오매 추출물의 NO 생성 저해능을 측정하기 위하여 Green 등의 (Green *et al.*, 1982) 방법에 따라 세포배양액 내 nitric oxide (NO) 양을 nitrite (NO₂⁻)와 nitrate (NO₃⁻)형태로 측정하였다. rat 유래 대식세포인 RAW 264.7 세포를 6 well plate에 well 당 1 × 10⁶로 분주하고 오매 추출물을 각각 10, 30, 50, 70, 100, 150, 200, 300 µg/ml의 농도로 가한 후 Lipopolysaccharide (LPS) 1 µg/ml을 첨가하여 세포를 자극하고 24시간 배양하였다. NO 생성량은 24시간 후 상등액을 모아 100 µg griess reagent로 10분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Table 1. Change of total polyphenol, total flavonoid, SOD-like activity and free radical scavenging activity of mume fructus extracts.

Sample	Total polyphenols (mg/ml)	Total flavonoids (mg/ml) [‡]	SOD-like activity (% of vitamin C)	Free radical scavenging activity (%) [‡]
Sample 1	3.84	0.05	46.3	100
Sample 2-LP	4.71	0.057	58.8	86.9
Sample 2-LA	4.94	0.097	45.2	114.3
Sample 3	4.71	0.088	53.3	122.5

LP: *Lactobacillus plantarum*, LA; *Lactobacillus acidophilus*

[‡]Sample 1 was regarded as 100%

결과 및 고찰

1. 항산화활성 측정 결과

폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가지며 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가지고 있다고 알려져 있다 (Lee *et al.*, 2006).

총 폴리페놀 함량은 caffeic acid를 표준물질로 사용한 표준곡선으로부터 환산한 결과 시료 1 ml 당 총 폴리페놀의 함량은 sample2-LA의 총 폴리페놀량이 4.94 mg/ml로 가장 높았으며 sample2-LP와 에탄올 추출물인 Sample 3의 총 폴리페놀량이 4.71 mg/ml로 동일했다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준물질로 사용한 표준곡선으로부터 환산한 결과 시료 1 ml 당 발효공정을 이용한 추출물인 sample2-LA의 총 폴리페놀량이 0.097 mg/μl로 가장 높았으며 에탄올 추출물인 sample 3의 총 폴리페놀량이 0.088 mg/μl로 두 번째로 높았다. 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량 모두 sample2-LA, 에탄올 추출물 순으로 높았다. Ha 등 (2010)은 유산균주를 이용하여 매자나무 수피 발효물의 총 폴리페놀 함량이 일반 매자나무 수피 추출물의 함량보다 약 30~40% 증가하였다고 보고하였고, Hong (2010)도 비 발효 녹차보다 발효녹차에서 총 폴리페놀량이 유의한 증가를 보고 하였으며, Park (2010)의 연구에서도 홍삼보다 발효 홍삼의 총 페놀성 화합물이 높다고 보고 하였다. 이는 발효과정 중 연화된 조직에서 각종 생리기능성 물질의 용출이 용이해지기 때문이라 생각되는데 본 연구에서도 열수 추출물의 폴리페놀 함량 3.84 mg/ml에 비해 유산균이 첨가된 발효 공정을 적용한 추출물들에서의 총 폴리페놀량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

DPPH를 이용한 프리라디칼 소거능 측정에서는 열수추출물인 sample 1을 100%로 간주했을 때 sample 3과 sample 2-LA에서 122.5%, 114.3%의 활성을 보였다. 본 실험에 사용된 오매 추출물들 중 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높았던 Sample2-LA와 Sample 3가 프리라디칼 소거능 측정에서

도 활성도가 높았다는 사실은 Park (2002)과 Lim 등 (2004)의 연구에서 프리라디칼 소거활성과 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 양의 상관관계를 나타낸다고 보고한 결과와도 일치하며, 오매 추출물 속의 총 폴리페놀 및 플라보노이드도 오매의 항산화 활성에 기여할 것으로 생각되었다.

오매 추출물들의 SOD 유사활성을 측정된 결과 발효공정 적용 추출물인 Sample 2-LP와 에탄올 추출물인 Sample 3에서 58.8%와 53.3%의 활성을 나타내는 반면, 열수 추출물인 Sample 1은 46.3%의 활성을 나타내어 열수 추출물보다는 발효공정을 이용한 추출물과 에탄올 추출물의 SOD유사활성이 더 높음을 알 수 있었다. 이는 Chung 등 (1998)의 연구에서 보고된 약용식물 60여종의 평균 34.8% 보다 높은 수치로 오매 추출물이 비교적 높은 항산화 활성 물질을 가지며 발효를 통해 활성 물질의 용출이 증진 될 수 있을 것으로 사료되며, 오매 추출물들의 항산화 활성 측정 결과는 Table 1에 비교하였다.

2. 세포 활성 실험 결과

1) NR (Neutral Red) assay를 이용한 세포 독성 측정

오매 추출물의 세포독성을 알아보기 위하여 RAW 264.7 세포에 오매 추출물들을 10, 30, 50, 70, 100, 150, 200, 300 μg/ml의 농도로 처리하여 독성에 의한 세포 생존률을 측정하였다. 5종의 오매 추출물들 모두 전체적으로 높은 생존률을 보였으며, 특히 300 μg/ml의 농도에서도 sample 1과 sample2-LP는 80%이상의 생존률을 보였다 (Fig. 1). 그 중에서 *Lactobacillus plantarum* (LP, KCTC 3108)으로 생물 전환한 Sample 2-LP는 모든 처리농도 (10, 30, 50, 70, 100, 150, 200 μg/ml)에서 100.78%, 98.62%, 98.23%, 98.23%, 96.27%, 96.27%, 92.93%로 세포 생존률이 안정적으로 나왔으며 300 μg/ml의 농도에서도 83.3%의 생존률로 세포 독성이 낮아 세포의 생존률에 크게 영향을 주지 않는다는 것을 알게 되었고 화장품 원료 개발 및 응용에 적합할 것으로 사료된다.

2) 멜라닌 생성 억제능 측정

오매 추출물의 멜라닌 생성 억제 효과를 확인하기 위하여

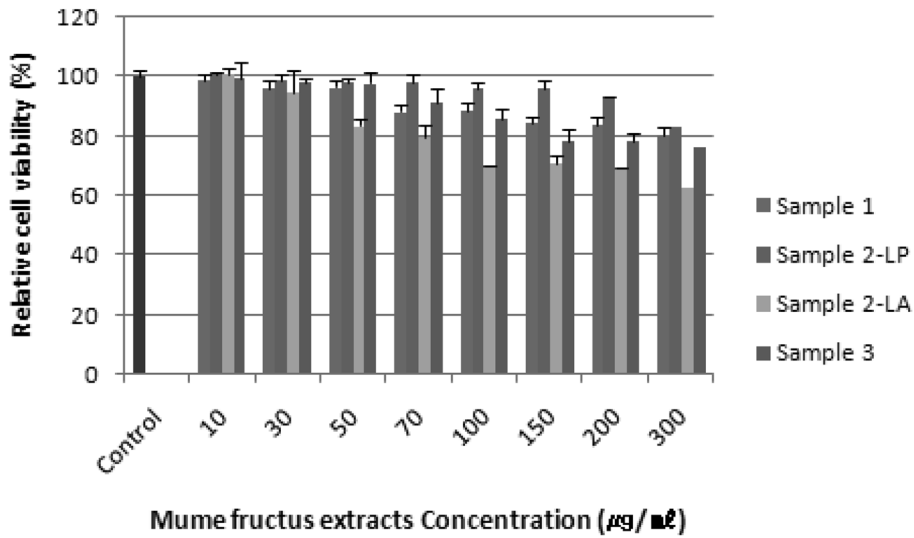


Fig. 1. Effect of mume fructus extracts on cytotoxicity determined using RAW 264.1 cells.

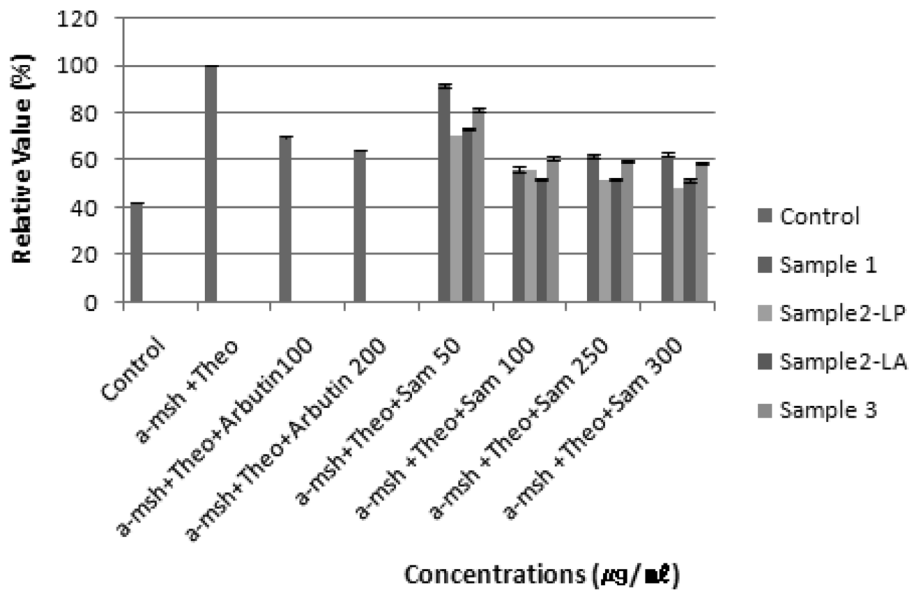


Fig. 2. Inhibitory effect of melanogenesis of mume fructus extracts in B16-F10 cells.

멜라닌세포가 생산하는 멜라닌 생성량을 비교하였다. B16-F10 세포에 α -MSH 10 nM과 theophylline 2 mM를 처리하여 멜라닌 생성을 유도하고 동시에 오매 추출물 50, 100, 250, 300 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 후 72시간 배양하고 상등액을 흡광도로 측정하였다. α -MSH 및 theophylline 처리군에서 생성된 멜라닌 양을 100%로 보았을 때 오매 추출물 처리군 모두에서 농도 의존적으로 멜라닌 생성저해 효과를 확인 할 수 있었다. 특히, Sample 2-LP 추출물 처리군은 추출물 농도 50, 100, 250, 300 $\mu\text{g/ml}$ 에서 각각 70.75%, 55.86%, 52.31, 48.14%로

감소하였으며, 추출물 농도 50 $\mu\text{g/ml}$ 이상에서 양성대조군으로 사용된 알부틴 100 $\mu\text{g/ml}$ 처리군 보다 우수한 멜라닌 생성 억제능을 보여 (Fig. 2) 오매 추출물의 미백효과를 일정 수준 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

3) Nitric Oxide (NO) 생성 저해능 측정 결과

최근 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO생성에 대한 오매 추출물들의 효과를 알아보기 위해 본 연구에서는 LPS로 활성화 시킨 RAW 264.7 대식세포를 사용 하였

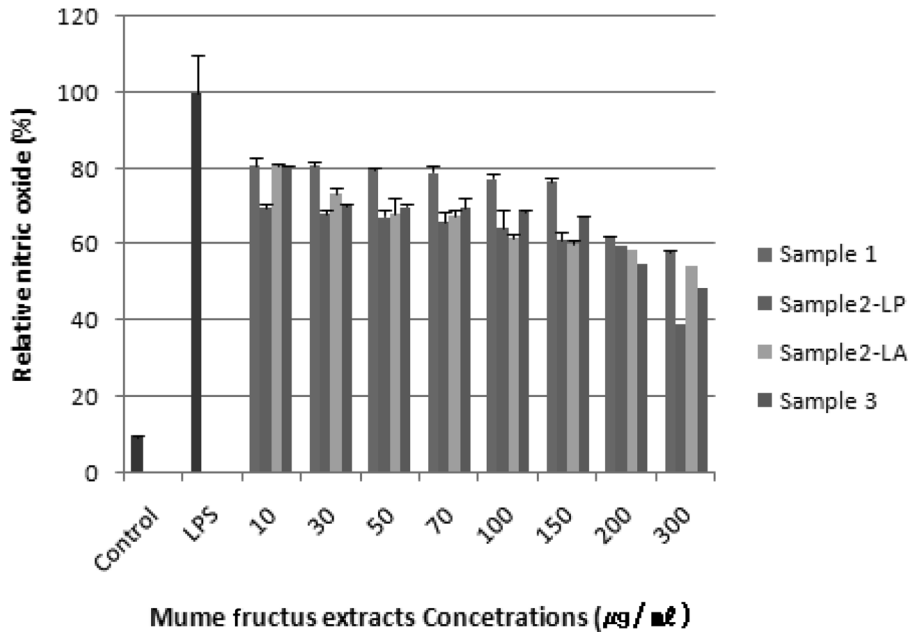


Fig 3. Inhibition of NO synthesis by mume fructus extracts in RAW 264.7 cells.

고, 자극에 의해 유도되는 NO 생성을 억제시키는 항염증 실험을 하였다. 그 결과 LPS 처리 시 아무 처리도 하지 않았을 때 보다 약 10배 이상의 NO가 증가됨을 확인하였고, 오매 추출물들이 LPS로 인한 NO생성을 농도 의존적으로 감소시킴을 확인하였다 (Fig. 3) 따라서, 오매 추출물들은 항염에 의한 손상을 효과적으로 저해할 것이라 생각된다. 특히 발효공정을 적용한 추출물인 sample 2-LP를 10 µg/ml 처리한 군에서는 LPS로 증가된 NO 생성량이 LPS 처리군에 비해 40% 이상의 감소율을 나타내었으며 300 µg/ml의 농도에서는 60% 이상의 NO 생성 저해를 일으키는 것을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 오매를 대상으로 하여 열수 추출 및 에탄올 추출, 발효 공정을 적용하여 추출한 결과 오매 추출물들은 세포독성을 나타내지 않으면서 항산화 및 피부미백, 항염증 효과 등을 가지는 것을 확인 할 수 있었다. Kim 등 (2009)은 생더덕과 발효더덕의 생리활성비교를 통해 발효에 따른 미생물의 영향으로 발효더덕의 유용성분의 용출이 증가되었다고 보고 하였는데 본 연구에서도 유산균주를 이용한 발효 공정을 적용한 추출물들이 열수 추출 시료 (sample 1)에 비해 항산화 및 세포 활성들이 증가한 것은 발효의 영향이라 사료된다. 특히 *Lactobacillus plantarum* (KCTC 3108)을 이용하여 발효 공정을 적용한 오매 추출물은 세포독성을 나타내지 않으면서도 피부 미백 효과와 항염증 효과가 우수해 기능성 화장품 소재로서의 활용 가능성을 기대할 수 있으며, 향후 미생물과 발효된 물질에 대한 연구가 더 이루어 져야 할 것이라 사료된다.

LITERATURE CITED

- Borenfreund and Puemer. (1985). Toxicity determined in vitro by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicology*. 24:119-124.
- Choi JH, Kim HM, Song YS, Park SG, Kim JJ and Lee CK. (2007). Physiological effects of the cosmetic product containing of saccharomyces fermented modified kyungohkgo extract on human skin. *The Korea Association of Herbology*. 22:227-232.
- Chung IM, Kim KH and Ahn JK. (1998). Screening of korean medicinal and food plants with antioxidant activity. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 6:311-322.
- Gutfinger T. (1981). Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 58:966-968.
- Ha JH, Seo YC, Choi WY, Kim JS, Kim HH, Ahn JH, Lee HY and Jeong MH. (2010). Enhancement of antioxidant activities of bark of herberis *Koreana palibin* by lactic acid fermentation. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 18:421-428.
- Hong YH. (2010). Development of cosmeceuticals using the enzymatic conversion of green tea extracts : focusing on anti-oxidant, anti-wrinkles and whitening effects. Ph.D thesis. Dong Duck Womens University. Seoul, Korea.
- Hwang HJ, An EM, Back NI, Jo JS and Kim HY. (1998). Isolation and characterization of antioxidative components from mume fructus. *Journal of Food Resources Development Institute*. 19:28-33.
- Hwang JY. (2005). Pharmacological effects of maesil(*Prunus mume*). *Food Science and Industry*. 38:112-119.
- Jeon YH, Kwon JE and Kim MR. (2010). Study on antioxidant and cytotoxic activities in ethanol extract from *Prunus mume*.

- Journal of the East Asian Society of Dietary Life. 20:751-758.
- Jung SE and Bae JH.** (2002). The effect of *Prunus mume* extracts on the growth of HepG2 and HeLa cell lines. The Korean Journal of Nutrition. 45:439-445.
- Kim SS, Ha JH, Jeong MH, Ahn JH, Yoon WB, Park SJ, Seong DH and Lee HY.** (2009). Comparison of biological activities of fermented *Codonopsis lanceolata* and fresh *Codonopsis lanceolata*. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:280-285.
- Kim YD and Seo KS.** (2007). *Prunus mume*'s bioactivity and effect of oriental medicine. Food Preservation and Processing Industry. 6:31-38.
- Ko BS, Park SK, Choe SB, Jun DW, Jang JS and Park SM.** (2004). Hypoglycemic effects of crude extracts of *Prunus mume*. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 33:951-957.
- Kwack YS, Ryu SH, Back BK, Lee JK and Ahn BZ.** (1985). The anthelmintic principle of "O-Mae", the roasted fruits of *Prunus mume*, against clonorchis sinensis. Journal of Pharmaceutical Sciences. 1:75-80.
- Lee SH, Park KW, Jang HG, Kim CY, Park YS, Kim TC and Heo BG.** (2006). Total phenol content, electron donating ability and tyrosinase inhibition activity of pear cut branch extract. Korean Journal of Horticultural Science & Technology. 24:338-341.
- Lim JD, Chang YY, Kim MJ, Song JY, Sun JL, Kim NY and Chung IM.** (2004). Comparison of SOD activity and phenolic contents in various Korean medicinal plants. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 12:191-202.
- Marklund S and Marklund G.** (1974). Involvement of superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry. 47:469-474.
- Park CE.** (2006). Inhibition of helicobacter pylori urease activity by mume fructus. Ph.D thesis. Kyung Hee University. Seoul, Korea.
- Park CG, Bang KH, Lee SE, Cha MS, Sung JS, Park HW and Seong NS.** (2001). Antibacterial activity from medicinal plant extracts on the staphylococcus aureus. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 9:251-258.
- Park HJ.** (2010). Study on the cosmeceuticals using enzyme-treated red ginseng extracts. Ph.D thesis. Dong Duck Womens University. Seoul, Korea.
- Park YS.** (2002). Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of medicinal herb extracts. Journal of the East Asian Society of Dietary Life. 12:23-31.
- Seo MH and Bae JH.** (2002). Effect of butanol extracts from *Prunus mume* on the growth of salmonella typhimurium. The Korean Journal Nutrition. 35:926-931.
- Sim SS.** (2003). Effects of citrus essential oils melanin production in B16 melanoma cell. Yakhak Hoeji. 47:25-30.