

쓴메밀 추출물의 미백 개선 효과

한 나 경[†] · 박 창 민 · 권 주 찬 · 정 민 석 · 최 종 완

(주)한국화장품제조 기술개발연구소
(2013년 12월 27일 접수, 2014년 1월 7일 수정, 2014년 2월 27일 채택)

Whitening Effect of *Fagopyrum tataricum* Extract

Na Kyeong Han[†], Chang Min Park, Ju Chan Kwon, Min Seok Joung, and Jong Wan Choi

R&D Center, Hankook Cosmetics MAFG Co., Ltd.,
74, Daeseong-ro 547 Beon-gil, Samseong-myeon, Eumseong-gun, Chungcheongbuk-do 369-834, Korea
(Received December 27, 2013; Revised January 7, 2014; Accepted February 27, 2014)

요약: 본 연구는 쓴메밀 추출물(FTE)의 미백 효과를 검증하기 위해 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, 타이로시나아제 활성 저해 효과 및 세포내 멜라닌 합성 억제 효과를 측정하였고, 단메밀 추출물(FEE)과 그 효능 비교를 하였다. 그 결과로 쓴메밀 추출물은 단메밀 추출물보다 항산화 효과 및 타이로시나아제 활성 저해, 세포내 멜라닌 합성 억제 효과가 높음을 확인하였다. 또한 인체 적용 실험에서 자외선 조사에 의한 인공 색소 침착을 유발한 후, 쓴메밀 추출물을 함유한 크림을 제조하여 도포하였고, 8주 경과 후 피부 밝기를 측정할 결과 통계적으로 유의한 수준의 피부 미백 효과를 나타내었다. 이러한 결과들로 쓴메밀 추출물은 미백 개선을 위한 화장품 소재로 이용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

Abstract: This study was performed to DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, tyrosinase inhibition activity and intracellular melanin synthesis inhibition to verify the whitening effect of *Fagopyrum tataricum* (bitter buckwheat) extract as contrasted with *Fagopyrum esculentum* (sweet buckwheat) extract. *F. tataricum* extract in consequence showed higher antioxidant activities, tyrosinase inhibition activity and melanin synthesis inhibition compared with *F. esculentum* extract. We investigated skin bright value during 8 weeks after induction of pigmentation in human skin from UV irradiation. In result, we obtained statistically a significant skin whitening effect from visual and mechanical evaluation. Accordingly, *F. tataricum* extract is expected to be high availability as functional cosmetic material for skin whitening.

Keywords: *Fagopyrum tataricum*, antioxidant, whitening, tyrosinase, melanin

1. 서 론

현대 사회는 외모가 하나의 사회적 경쟁력이라는 인식이 증가되고 있으며, 생명공학의 발전과 생활수준의 향상으로 인간의 평균 수명이 증가되어 고령화 사회로 접어들고 있다. 더불어 사람들의 아름다움에 대한 욕구가 강해졌고, 여성뿐만 아니라 남성들에게도 외모에 대

한 관심이 증가하고 있어 화장품 산업이 크게 확대되었을 뿐만 아니라 다각도로 연구가 진행되고 있다[1-4].

노화의 원인 중 대표적인 환경 요인이 자외선이다. 급속한 산업화에 따른 환경오염으로 인해 오존층이 파괴되어 자외선 조사량이 증가하고 있다. 피부는 자외선의 영향을 받기 쉬운 기관이다. 자외선을 받으면 피부에서 불규칙한 색소침착, 기미, 주근깨 등 색소질환을 유발되는데, 이와 같이 색소 침전이 증가하는 것은 자외선 흡수에 의한 피부 세포의 손상을 억제할 목적으로 멜라닌 생

[†] 주 저자 (e-mail: hnk0626@ihkcos.com)

성이 증가된 결과이다. 자외선에 장기간에 걸쳐 노출되면 피부노화가 촉진되고 피부암의 위험도 높아진다. 따라서 피부의 색소 침착 현상을 방지하기 위해서는 멜라닌 생성 과정의 일부분을 저해하여 멜라닌 생성을 감소시켜야 한다[5-8].

멜라닌(melanin)은 생물체에 널리 존재하는 페놀류의 고분자 천연 색소로 인체에서는 표피 기저층에 있는 멜라노사이트(melanocyte) 내의 멜라노솜(melanosome)에서 기질인 타이로신(tyrosine)의 연속적인 산화반응으로 합성된다. 이때 타이로시나아제(tyrosinase)라는 효소가 작용하여 도파(3,4-dihydroxyphenylalanine)를 거쳐 도파퀴논(phenylalanine-3,4-quinone)으로 산화되고, 이들은 효소의 작용 및 자동 산화반응에 의해 중간 대사산물(DOPA chrome, indole carboxylic acid, indole quinone)을 거쳐 최종적으로 멜라닌을 합성한다[9-11].

미백 기능성을 갖는 물질에 관한 연구는 멜라닌 합성 과정에 작용하는 효소인 타이로시나아제의 활성을 억제하는 수준에서 대부분 이루어져 왔으며, 아스코르브산(ascorbic acid), 코직산(kojic acid), 하이드로퀴논(hydroquinone), 알부틴(arbutin) 및 각종 식물 추출물 등이 사용되어 왔다. 이 중에서 아스코르브산은 쉽게 산화되어 파괴되는 단점 때문에 시간이 경과하면서 그 유효성분의 활성도가 떨어지는 문제점이 있고, 코직산과 하이드로퀴논은 성능이 좋은 반면 발암성 물질로 밝혀져 배합시 안전성 문제로 현재 화장품으로 사용하지 못하고 있다. 또한 알부틴은 고산 지대의 월굴나무에서 추출하거나 합성을 통하여 얻을 수 있으며 타이로시나아제에 대한 억제 능력이 검증되고 있지만, 알부틴 자체는 하이드로퀴논에 당이 붙어있는 상태로서 화장품에 적용시 당 분해 효소에 의해 당이 분리되어 하이드로퀴논에 의한 피부 자극이 유발되는 문제점이 있다[13-15].

최근 화장품 업계에서 기존의 미백 소재의 단점을 극복하기 위해 다양한 천연물을 활용한 원료 개발이 활발하게 이루어지고 있지만, 유효 농도 이상의 사용에는 안전성이나 변색의 우려가 있고, 그 효과가 명백하지 않다는 한계가 있다. 특히, 대부분의 식물 추출물들이 고농도에서만 유효한 타이로시나아제 활성 저해 효과를 나타낸다는 문제점을 보인다[16-18].

메밀 추출물은 기능성 화장품에 응용하기 위하여 항산화, 미백 및 주름 등의 효능을 측정하고 성분 분석 등이 진행된 연구 보고가 있으며, 쓴메밀 추출물은 건강식품

의 소재로 활용하는 연구 보고외에는 아직 화장품에 적용 소재로는 개발되지 않았다[19].

메밀(*Fagopyrum spp.*)은 우리나라에 전통 건강식품으로 오래전부터 사용하여 왔으며, 이전부터 높은 약리 작용을 가진 천연 작물로 알려져 있다. 메밀의 종(species)에는 재배종과 야생종을 포함하여 20여 종이 지구상에 분포하고 있고, 재배종에는 단메밀과 쓴메밀 두 종이 주류를 이루고 있다. 우리나라에 도입되어 일반적으로 재배 이용되는 것은 단메밀(sweet buckwheat)이며 일반메밀이라고 불리기도 하고, 학명은 *Fagopyrum esculentum*이다. 쓴메밀(bitter buckwheat)의 학명은 *Fagopyrum tartaricum*이며 타타리메밀 또는 달단메밀이라고도 불린다. 주요 재배지는 히말라야의 에베레스트 주변의 고산 지대로 인도북부, 네팔, 중국북부 등이며 생육기간이 짧고, 내한성이나 흡수력이 강하여 산간지방에서 재배가 용이하다. 쓴메밀은 단백질, 지방, 각종 미네랄 등 영양분이 풍부하여 건강식품의 소재로 우리나라의 강원도 일부 지역에서도 종자를 들여와 재배되고 있어 이를 원료로 한 가공식품의 개발이 활발히 이루어지고 있다.

메밀의 주요 성분으로 알려진 루틴(rutin)은 폴리페놀(poly phenol) 화합물로 케르세틴(querctetin)에 루티노사이드(rutinoside)가 결합된 물질이다. 강력한 항산화 효과와 삼투압 조절 능력을 통해 항염, 항암, 항당뇨 활성, 항혈전 효과 외에도 산화 스트레스에 대한 세포보호 효과 등이 보고 되고 있다[10]. 또한 칼콘(chalcone), 케르세틴(querctetin), 헤스페리딘(hesperidin)과 같이 비타민(vitamin) P 작용이 있어 비타민 C의 흡수와 기능을 돕는다. 쓴메밀은 이 루틴의 함량이 단메밀(27 mg%)에 비해 최소 12.2 배, 최대 20.8 배 높기(1,600 mg%) 때문에 다양한 연구가 시도되고 있지만 아직 미흡한 실정이다[21-22].

이에 본 연구에서는 쓴메밀 추출물의 피부 미백 소재로서의 효능을 확인하고자 단메밀과 쓴메밀의 추출물의 항산화 효과, 타이로시나아제 활성 저해 효과, 멜라닌 합성 억제 효과를 수행하여 비교·분석하였고, 추출물을 함유한 제형을 인체에 적용하여 화장품의 기능성 소재로 활용될 수 있음을 규명하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 시료의 제조

본 실험에서 사용한 단메밀과 쓴메밀은 강원도 평창

에 농촌진흥청 고령지 농업연구센터에서 제공받아 실험하였다. 분쇄된 단메밀 또는 쓴메밀 분말 10 g을 70% 에탄올과 1,3-부틸렌글리콜 7:3 (w/w) 비율의 혼합용매 300 g과 혼합하였다. 이 혼합물을 2주간 침적하여 숙성한 후, 여과지(5 C, 185 mm, ToyoroshiKaisha, Ltd., Japan)를 이용하여 여과한 후, 에탄올을 증발시켜 여액 상태로 수득하였다.

2.2. 시약 및 기기

세포배양을 위한 배지는 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM), Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS)는 WelGENE, 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS), penicillin streptomycin, 0.5% trypsin-EDTA는 Gibco, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium-bromide (MTT), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azion-bis (3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), potassium persulfate (과황산칼륨), tyrosianse from mushroom, melanocyte stimulating hormone (α -MSH), theophylline은 Sigma, L-tyrosine는 Junsei chemical Co. Ltd.로부터 구입하였고, 실험에 사용한 기기는 흡수분광광도계(UVmax, Molecular Devices, USA), 원심분리기, 항온기, 현미경, CO₂ incubator를 사용하였다.

2.3. 항산화 효과 측정

2.3.1. DPPH 라디칼 소거능

항산화 효과를 측정하기 위하여 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼을 이용하여 측정하였다. 메탄올과 증류수의 6 : 4(v/v) 혼합용매에 녹인 0.1 mM DPPH와 각각의 추출물을 2 : 1 비율로 균일하게 혼합한 다음 상온에서 약 1 h 반응시킨 후, 흡수분광광도계를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 메탄올을 첨가하였고, DPPH 라디칼 소거능의 정도는 다음과 같은 계산식에 따라 계산하였다.

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = [1 - (S / C)] \times 100$$

S : 추출물과 DPPH solution의 흡광도 값
 C : 메탄올과 DPPH solution의 흡광도 값

2.3.2. ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation

decolorization assay 방법에 의하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM 과황산칼륨을 증류수에 용해시키고 암실에서 24 h 동안 방치하여 ABTS 라디칼을 형성시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 0.70 ± 0.02가 되게 에탄올로 희석하였다. 희석된 용액 760 μ L와 증류수 200 μ L, 각각의 추출물 40 μ L를 혼합하여 흡광도를 측정하였다. 추출물 비침가군으로는 80% 메탄올을 사용하였고, ABTS 라디칼 소거능은 다음과 같은 계산식에 따라 계산하였다[23-25].

$$\text{ABTS scavenging activity (\%)} = [1 - (A / B)] \times 100$$

A : 추출물 첨가군의 흡광도 값
 B : 추출물 비침가군의 흡광도 값

2.4. Tyrosinase 활성 저해 효과 측정

멜라닌 합성에 필요한 타이로시나아제의 활성을 측정하여 미백효과를 측정하는 방법이다. 96 well plate에 대조군인 0.1 M 인산염완충액(phosphate buffer, pH 6.5)과 각각의 추출물 170 μ L, 1,000 U/mL 타이로시나아제 10 μ L를 넣고 37 °C에서 10 min 반응시켰다. 여기에 1.5 mM-tyrosine 20 μ L를 넣은 다음 37 °C에서 10 min 반응시킨 후, 바로 얼음 중에 5 min 방치한 후, 흡수분광광도계를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 타이로시나아제 활성 억제 정도는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition rate (\%)} = (100 - (A - A') / (B - B')) \times 100$$

A : 시료 반응 후의 흡광도
 B : 공시료 반응 후의 흡광도
 A' : 시료와 완충액의 흡광도
 B' : 공시료와 완충액의 흡광도

2.5. 세포배양

한국 세포주 은행에서 구입한 B16F10 마우스 멜라노마(mouse melanoma) 세포를 10% FBS, 1% penicillin streptomycin이 첨가된 DMEM에 배양하여 실험에 사용하였다. 각 세포는 10 cm 세포 배양접시에 10 mL의 배지로 37 °C, 5% CO₂ 배양기에서 세포가 70 ~ 80% 합류(confluency)가 되도록 배양하였다. 배지는 일주일에 두 번씩 갈아주고, 합류에 도달한 세포는 trypsin-EDTA를 사용하여 trypsinization한 후 계대 배양하여 유지하였다.

2.6. 세포독성 측정

세포독성 시험을 통해, 쓴메밀 추출물의 피부 안전성을 평가하였다. 배양된 B16F10 마우스 멜라노마 세포를 96 well plate에 각각 1×10^4 cells/well로 분주하고 24 h 배양하였다. 배양 후, 세포의 배지를 2% FBS가 첨가된 DMEM으로 교체하고, 쓴메밀과 단메밀 추출물을 각각 농도별로 배지에 희석하여 처리한 후 48 h 동안 CO₂ incubator에서 배양한다. 배양이 끝난 세포에, DPBS에 용해한 MTT stock 용액(5 mg/mL)을 배양 배지 부피에 최종적으로 1/10되게 첨가하여 37 °C에서 4 h 반응시킨다. 반응 후 배양 상등액을 제거하고 각각의 well에 DMSO 200 μ L를 첨가하여 생존 세포에서 생성된 MTT-formazan 결정체를 용해시킨 후 흡수분광광도계로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.7. 멜라닌 합성 억제 측정

B16F10 마우스 멜라노마 세포를 6 well plate에 2×10^4 cells/well씩 분주하고 37 °C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 24 h 배양하였다. 배양 후, 배지를 제거하고 10% FBS, 2 μ M α -MSH와 2 mM theophylline이 함유된 DMEM으로 교체 및 각각의 추출물을 첨가하여 세포가 well 바닥에 약 80% 이상 될 때까지 배양하였다. 배양 후, 배지를 제거한 다음 DPBS로 세척하고 trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 회수하였다. 회수된 세포를 5000 rpm으로 10 min 원심분리한 후 상등액을 제거하여 세포 pellet을 얻었다. 이 세포 pellet을 60 °C 항온기에서 24 h 건조시킨 후 1 N NaOH를 첨가하여 세포내의 멜라닌을 용해시켰다. 용해된 멜라닌을 흡수분광광도계를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Melanin synthesis inhibition rate (%) =

$$(100 - (A - A') / (B - B')) \times 100$$

A : 시료 반응 후의 흡광도

B : 공시료 반응 후의 흡광도

A' : 시료와 완충액의 흡광도

B' : 공시료와 완충액의 흡광도

2.8. 쓴메밀 추출물 함유 크림의 피부 미백 개선 효과

2.8.1. 육안평가

미백 개선 효과 육안 평가를 위하여 23명의 피검자를

대상으로 최소 홍반량(minimal erythema dose, MED)을 판정한 후에 인공 색소 침착을 위해 인공 자외선 방출기(Multi-port Solar simulator 601-300W Solar Light, USA)를 사용하여 2.5 MED 광량으로 1회에 걸쳐 광조사를 실시하였다. 시험부위의 피부 색상은 두 명의 전문의에 의해 이중 맹검법으로 평가되었다. 평가는 인공색소 침착 10일 경과 후(0 wk), 시료 도포 4주(4 wk), 6주(6 wk), 8주(8 wk) 경과 후에 하고, 색소 침착 정도를 8단계로 구분하여 평가하였다. 시험시료와 대조시료 간의 판정값 차이를 구하여 paired *t*-test를 통해 95% 신뢰구간에서 * *p* < 0.05로 유의성 여부를 확인하였다.

2.8.2. 기기적 평가

육안 평가 단계에서 인공자외선 방출기를 사용하여 2.5 MED 광량으로 광조사된 인공 색소 침착 부위의 피부미백효과 측정은 chromameter CR-400 (Minolta, Japan)을 이용하여 23명의 피검자를 대상으로 색소 침착된 부위의 L* value (채도인자) 변화를 측정하여 미백 개선 효과를 평가하였다. 평가는 자외선 조사 10일 경과 후(0 wk), 시료 도포 4주(4 wk), 6주(6 wk), 8주(8 wk) 경과 후에 측정하였다. 5회 측정 후 최대값과 최소값을 제외한 3회의 평균값을 구하였다. 시험시료와 대조시료 간의 측정값 차이를 구하여 paired *t*-test를 통해 95% 신뢰구간에서 * *p* < 0.05로 유의성 여부를 확인하였다.

2.9. 통계 분석

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5% 유의 수준에서 student's *t*-test로 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 항산화 효과 측정 결과

3.1.1. DPPH 라디칼 소거능

멜라닌 생성은 타이로신이 산화되는 과정이므로 항산화 효과가 있는 성분은 멜라닌 생성을 저해할 가능성이 있으므로 쓴메밀 추출물의 미백 효과 검증을 위해 항산화 효과를 먼저 측정하였다[17]. 항산화능 측정에는 DPPH radical 소거능 측정법을 많이 이용하는 데, DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼을 가지고 있

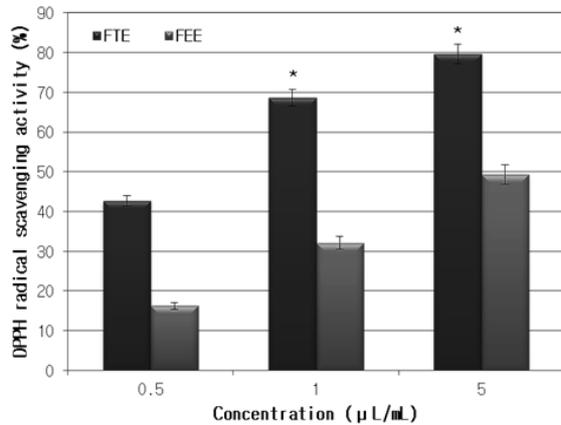


Figure 1. Scavenging effect of FTE on DPPH radical. Results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. (*, $p < 0.05$ versus control) (FTE : *Fagopyrum tataricum* extract, FEE : *Fagopyrum esculentum* extract)

는 화합물로서 항산화력이 있는 물질과 만나게 되면 환원 작용에 의해 라디칼이 소거되어 탈색되므로 이를 이용하여 항산화 효과를 측정하였다[26].

그 결과 쓴메밀과 단메밀 추출물 모두 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였으며, 추출물 농도 5 µL/mL에서 쓴메밀은 79.63%로 단메밀 49.30%인 것에 비해 높은 소거 활성을 나타냈다 (Figure 1).

3.1.2. ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능 측정법은 기본적으로 항산화물질의 수소 이온 공여능을 측정하는 항산화능 분석 방법이다. 과황산칼륨과의 반응에 의해 생성된 ABTS+ 자유 라디칼이 추출물속의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용하여 항산화 효과를 측정한다.

그 결과 두 추출물 모두 농도 의존적으로 ABTS 라디칼 소거능이 증가하였으며, 추출물 농도 5 µL/mL에서 쓴메밀은 91.52%이고 단메밀이 69.67%로 높은 라디칼 소거 활성을 나타냈다(Figure 2).

3.2. Tyrosinase 활성 저해 효과 측정 결과

타이로시나아제는 멜라닌 생성에 중요한 역할을 하는 효소로 기질인 타이로신이 타이로시나아제에 의해 산화되어 생성되는 멜라닌의 흡광도를 측정함으로써

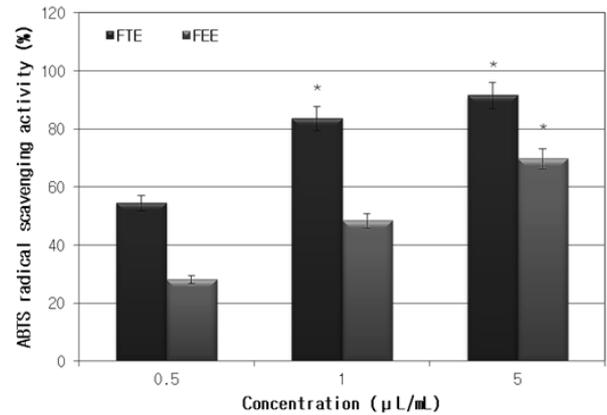


Figure 2. ABTS radical scavenging activity of FTE and FEE. The results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. (*, $p < 0.05$ versus control) (FTE : *Fagopyrum tataricum* extract, FEE : *Fagopyrum esculentum* extract)

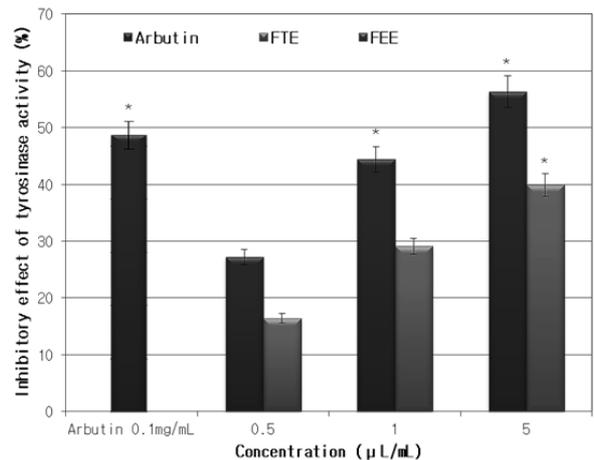


Figure 3. Inhibitory effect of FTE and FEE against tyrosinase. The results are expressed as mean ± S.D. of data obtained from three independent experiments. (*, $p < 0.05$ versus control) (FTE : *Fagopyrum tataricum* extract, FEE : *Fagopyrum esculentum* extract)

추출물의 타이로시나아제 억제 활성 효과를 검토하는 방법으로 미백 효과 연구에 사용되고 있다[12].

측정 결과 쓴메밀과 단메밀 추출물 모두 농도 의존적으로 타이로시나아제 활성 억제 효과가 증가하였다. 쓴메밀 추출물은 5 µL/mL 농도에서 저해율이 56.34%이고, 단메밀 추출물은 39.93%로 쓴메밀 추출물이 보다 효과가 높은 것으로 확인되었고, 기존의 미백 효과가 있다

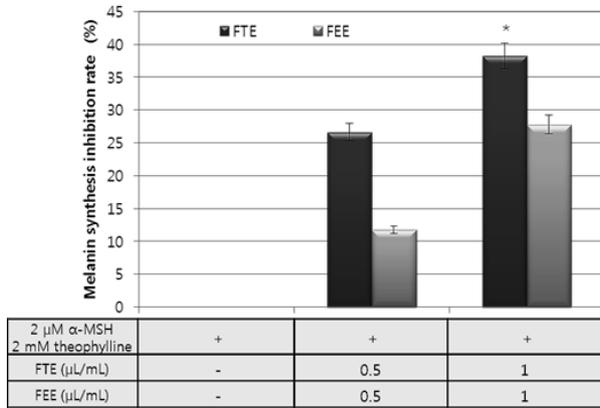


Figure 4. Inhibitory effect of FTE and FEE on B16F10 melanoma cell. The results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. (*, $p < 0.05$ versus control) (FTE : *Fagopyrum tataricum* extract, FEE : *Fagopyrum esculentum* extract)

고 알려진 알부틴과 유사한 효과가 나타났다(Figure 3).

3.3. 쓴메밀 추출물의 세포독성 측정 결과

쓴메밀 추출물의 *in vitro* 미백 효과를 평가하기 위하여, 일차적으로 세포 자극을 일으키지 않는 농도 범위를 MTT assay로 평가하였다. MTT assay는 생존 세포의 미토콘드리아 능력을 이용하는 검사법으로 탈수소 효소 작용에 의하여 노란색의 수용성 기질(MTT tetrazolium)이 청자색을 띠는 비수용성 MTT-formazan 결정체로 환원된다[20].

B16F10 마우스 멜라노마 세포에 대하여 농도 변화에 따른 세포의 생존율을 확인한 결과, 단메밀과 쓴메밀 추출물 모두 5 μ L/mL까지 95% 이상의 세포 생존율을 확인하였다.

3.4. 세포내 멜라닌 합성 억제 효과

타이로시나아제 활성 저해 효과가 있는 쓴메밀 추출물이 미백 개선 성분으로 검증하기 위해 B16F10 mouse melanoma 세포를 이용하여 멜라닌 합성 억제 효과를 측정하였다. 추출물의 농도를 최대 1 μ L/mL로 처리하고 세포를 수확하여 멜라닌 양을 측정하고, 쓴메밀 추출물은 38.24%이고 단메밀 추출물은 27.78%로 멜라닌 합성이 억제됨을 확인하고, 쓴메밀 추출물이 단메밀 추출물 보다 멜라닌 합성 억제 효과가 높은 것으로 확인되었다(Figure 4).

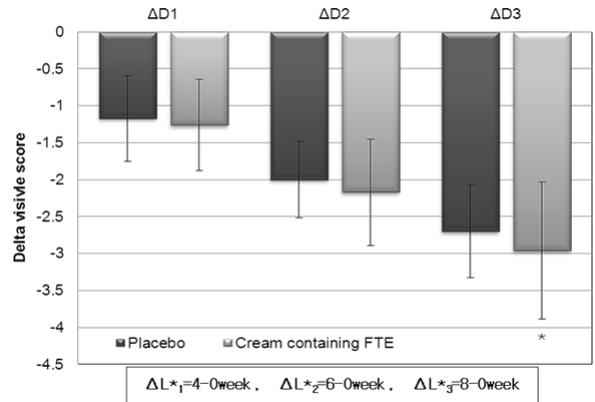


Figure 5. Improvement of whitening effect by visual evaluation after cream containing 2% FTE treatment. This test measured skin bright value during 8 weeks after induction of pigmentation in human skin from UV irradiation as described in Materials and Methods. Data presented are the mean \pm S.D. (*, $p < 0.05$ versus placebo) (FTE : *Fagopyrum tataricum* extract)

3.5. 쓴메밀 추출물을 함유한 크림의 육안 평가에 의한 미백 개선 효과

In vitro 실험에서 쓴메밀 추출물의 타이로시나아제 활성 저해 및 멜라닌 합성 억제 효과가 실제적으로 사람 피부의 미백 개선에 도움을 주는지 확인하기 위하여 쓴메밀 추출물을 2.0% 함유한 크림에 대하여 인체 적용 시험을 실시하였다. 자외선 조사에 의한 마지막 인공 색소 침착 10 day 경과 후, 시료 도포 4 wk, 6 wk, 8 wk 경과 후 시험자들을 대상으로 8단계로 구분하여 쓴메밀 추출물을 포함한 크림과 포함하지 않은 크림 (placebo) 간의 관정값 차이를 구하여 paired *t*-test를 통해 95% 신뢰구간에서 $p < 0.05$ 로 유의성 여부를 확인한 결과 통계학적으로 유의한 미백 효과를 나타내었다(Figure 5).

3.6. 쓴메밀 추출물을 함유한 크림의 기기적 평가에 의한 미백 개선 효과

육안 평가를 통하여 통계학적으로 유의한 쓴메밀 추출물의 미백 개선 효과 결과를 더욱 확인하기 위하여 기기적 평가를 육안 평가 방법과 동일하게 쓴메밀 추출물을 2.0% 함유한 크림에 대하여 실시하였다. 자외선 조사에 의한 마지막 인공 색소 침착 10 day 경과 후, 시료 도포 4 wk, 6 wk, 8 wk 경과 후 시험자들을 대상으로 chromameter CR-400을 이용하여 색소 침착

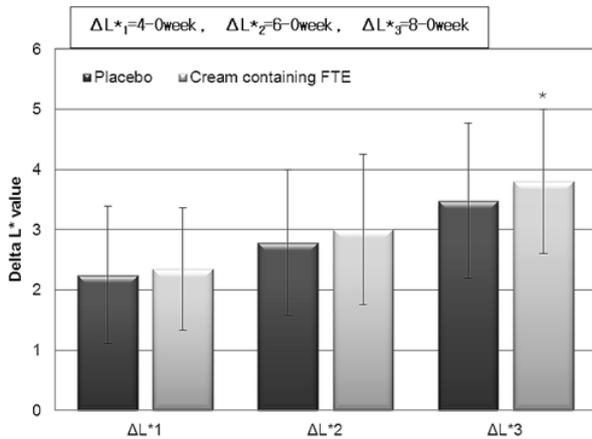


Figure 6. Improvement of whitening effect by mechanical evaluation after cream containing 2% FTE treatment. After 8 weeks, the cream showed statistically a significant whitening effect than placebo. Data presented are the mean \pm S.D. (*, $p < 0.05$ versus placebo). (FTE : *Fagopyrum tataricum* extract)

된 부위의 밝기 변화를 총 5회 측정하여 평균값을 얻었다. 결과는 쓴메밀 추출물을 포함한 크림과 포함하지 않은 크림(placebo) 간의 평균값 차이를 paired *t*-test를 통해 95% 신뢰구간에서 $p < 0.05$ 로 유의성 여부를 확인한 결과 쓴메밀 추출물을 포함한 화장품 도포 8주 후 통계학적으로 유의한 수준의 미백 효과를 나타내었다(Figure 6).

4. 결 론

본 연구에서는 쓴메밀 추출물을 화장품 기능성 소재로 활용하고자 그 효능·효과를 입증해 보였다. 항산화 효과, 타이로시나아제 활성 저해 효과, 멜라닌 합성 억제 효과를 수행해 본 결과 쓴메밀 추출물은 5 μ L/mL에서 79.63%로 비교군인 단메밀 추출물에 비해 높은 항산화 효과를 보여주었다. 또한 타이로시나아제 활성은 5 μ L/mL에서 56.34% 저해하였고, 세포내 멜라닌 합성을 1 μ L/mL에서 38.24% 억제시키므로 쓴메밀 추출물의 미백 효과를 확인하였다. 인체 적용 실험에서도 쓴메밀 추출물을 함유한 크림 사용시 피부 이상반응이 없고, 8주 후 피부 미백 효과에 도움을 주는 것으로 나타났다. 이상의 *in vitro* 및 인체 적용 실험 결과를 통해 쓴메밀 추출물은 단메밀 추출물보다 기능성 소재로서의 미백 효과가 우수함을 증명하였다.

Reference

1. J. K. Yoo, J. H. Lee, H. Y. Cho, and J. G. Ki, The effects of soybean protopectinase on melanin biosynthesis, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **42**(3), 355 (2013).
2. Y. G. Yu, M. S. Jeong, J. Y. Choe, and J. Y. Kim, A study on whitening effect of *Ephedra sinica* extract, *Korean J. Design Cult. Soc.*, **31**, 153 (2005).
3. E. Y. Hwang, D. H. Kim, J. Y. Hwang, H. J. Kim, T. S. Park, I. S. Lee, and J. H. Son, A Study on the depigmenting effect of *Carthamus tinctorius* seed, *Cyperus rotundus* and *Schizonepeta tenuifolia* extract, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**(1), 76 (2012).
4. M. J. Jeon, M. H. Kim, H. J. Jang, S. W. Lee, J. H. Kim, H. S. Kim, and S. H. Lee, Whitening effect of *Hizikia fusiformis* ethanol extract and its fraction, *J. Life Sci.*, **22**(7), 889 (2012).
5. S. Y. Seo, Screening of tyrosinase inhibitors from oriental herbs, *Kor. J. Plant Res.*, **14**, 32 (2001).
6. J. Y. Lee and B. J. An, Whitening and anti-wrinkling effects of fractions from *Prunus persica Flos*, *Korean J. Microbiol. Biotechnol.*, **40**(4), 364 (2012).
7. F. Solano, S. Briganti, M. Picardo, and G. Ghanem, Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects, *Pigment Cell Res.*, **19**, 550 (2006).
8. Y. J. Jeong, Kinetic analysis on tyrosinase inhibition activity whitening of agents, Master's Thesis Dissertation, Soongsil Univ., Seoul, Korea (2012).
9. J. Y. Choi, Protective effects of tartary buckwheat from recognition impairment through anti-inflammation and protection from neuronal cell, Master's Thesis Dissertation, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National Univ., Pusan, Korea (2013).
10. B. R. Yoon, B. J. Cho, H. k. Lee, D. J. Kim, S. K. Rhee, H. D. Hong, K. T. Kim, C. W. Cho, H. S. Choi, B. Y. Lee, and O. H. Lee, Antioxidant and anti-adipogenic effects of ethanolic extract from tartary and common buckwheat, *Korean J. Food Preserv.*, **19**(1), 123 (2012).

11. G. S. Chung, Physicochemical properties of common and tartary buckwheats, Master's Thesis Dissertation, Department of Food Science and Nutrition Dankook University, Cheonan, Korea (2006).
12. M. S. Ko, H. J. Lee, and M. J. Kang, Antioxidant activities and whitening effects of extract from *Hippophae rhamnoides* L., *J. East Asian Soc. Dietary Life*, **22**(6), 812 (2012).
13. J. Y. Hwang, T. S. Park, and J. H. Son, Whitening effect of extract and fractions from *Diospyros kaki caly*, *J. Life Sci.*, **23**(3), 383 (2013).
14. E. J. Seo, E. S. Hong, M. H. Choi, K. S. Kim, and S. J. Lee, The antioxidant and skin whitening effect of *Artemisia iwayomogi* extract, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **44**(1), 89 (2012).
15. D. H. Won, S. B. Han, J. P. Hwang, S. J. Kim, J. O. Park, and S. N. Park, Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of *Lindera obtusiloba* blume extract, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **38**(4), 297 (2012).
16. C. M. Park, J. Y. Bae, M. S. Joung, and J. W. Choi, Whitening effect of 3-O-cetyl-L-ascorbic acid, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **37**(1), 91 (2011).
17. K. M. Lee, E. C. Lee, S. C. Cho, and S. S. Moon, The antimelanogenic effects of compounds extracted from bamboo inner fil, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **34**(4), 287 (2008).
18. Y. H. Chang, J. S. Ryu, S. H. Lee, S. G. Park, H. D. Bhattarai, J. H. Yim, and M. H. Jin, Inhibition of melanogenesis by ramalin from the antarctic lichen *Ramalina terebrata*, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **38**(3), 247 (2012).
19. E. J. Seo, E. S. Hong, M. H. Choi, K. S. Kim, and S. J. Lee, Antioxidant and skin whitening effects of *Rhamnus yoshinoi* extract, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **42**(6), 750 (2010).
20. J. Y. Kim and S. N. Park, A study on application for cosmeceutical of *Fagopyrum esculentum* extracts, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **34**(2), 83 (2008).
21. S. J. Lee, Y. Y. Kwon, S. W. Cho, H. S. Kwon, and W. C. Shin, Effects of ehwa makgeolli containing oriental herbs on skin whitening and wrinkle, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **42**(4), 550 (2013).
22. H. Masaki, Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects, *J. Dermatol. Sci.*, **58**(2), 85 (2010).
23. M. Yaar and B. A. Gilchrest, Skin aging: postulated mechanisms and consequent changes in structure and function, *Clin. Geriatr. Med.*, **17**(4), 617 (2001).
24. G. U. Seo, S. Y. Choi, T. W. Kim, S. G. Ryu, J. H. Park, and S. C. Lee, Functional activities of makgeolli by-products as cosmetic materials, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **23**(4), 505 (2013).
25. R. E. Roberta, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, **26**, 1231 (1999).
26. I. S. Kwak, Comparison of different assays for evaluating antioxidant activity of polyphenols and tea extract, Master's Thesis Dissertation, Chonbuk National Univ., Jeonju, Korea (2008).