

화장품 소재 개발을 위한 미세조류 유래 오일의 광노화 억제 효과 연구

Study on Photo-aging Inhibition Effect of Microalgae-derived Oil for Cosmetic Material Development

박은경¹, 박상희¹, 윤상아¹, 김유선², 이우람², 김우중²

Eun-Kyung Park¹, Sang-Hee Park¹, Sang-A Yoon¹, You Sun Kim², Woo-Ram Lee², Woo-Jung Kim²

¹주식회사 아테나, 경기도 수원시, 16226

²주식회사 엘리트, 대한민국 경기도 성남시, 13590

¹Athena Co.,Ltd., 16226, Republic of Korea

²Ellead Co.,Ltd., 13590, Republic of Korea

(Received 30 November 2018, Revised 21 December 2018, Accepted 21 December 2018)

Abstract Ultraviolet (UV) radiation causes inflammation and matrix metalloproteinase (MMP) over-expression and extra cellular matrix depletion, leading to skin photo-aging such as wrinkle formation, dryness, and sagging. In this study, we demonstrated that pretreatment with the hexane extract of microalgae protects UVB mediated cell damages. The results of clinical study showed that Microalgal Oil treated group reduced wrinkle and improve elasticity. All these results suggest Microalgal Oil may be useful as new photo-aging cosmetics for protection against UV induced activity.

Keywords : Photo-aging, Microalgae, Anti-wrinkle, Oil, Cosmetic

서 론

최근 고령화 사회로의 변화에 따라 노화를 늦추거나 노화 증상을 완화하는 기술, 상품, 비즈니스에 해당하는 항노화 산업이 급속하게 발전 되고 있다. 항노화 산업은 ‘건강하고 행복한 생태’를 목적으로 하는 헬스케어산업의 한분야로 자리 잡았고, 노화에

방, 증상완화 등 임상적 효능을 추구하는 다양한 항노화 제품 및 서비스를 개발하여 항노화 시장 확대를 위해 여러 분야의 산업 성장이 이루어지고 있다.

항노화 제품의 세계시장은 식품(항산화, 면역조절, 항대사성질환, 심혈관질환예방, 노인성질환예방의 항노화 식품, 항노화 보조식품), 의약품(심혈관, 뇌신경질환, 암, 당뇨, 비만), 화장품(노화피부관리,

* Corresponding author
Phone: +82-31-888-6410 Fax: +82-31-888-6412
E-mail: athena@athenasc.co.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

모발관리, 기타 외모관리)으로 분류되고 있으며 이중 피부노화 과정을 지연시키고 방지하여 건강한 피부를 유지하기 위한 목적의 화장품 및 식품의 개발이 특히 활발하게 진행되고 있다[14].

피부노화는 내인적 노화와 광노화로 구분된다. 내인적 노화는 나이가 먹으며 나타나는 생물학적노화이고, 진피층이 위축되고 피하 지방층이 감소되면서 미세한 주름이 관찰된다. 이에 반해 광노화는 햇볕에 노출되는 부위에 일어나는 퇴행성 변화로 내인적 노화와 복합적으로 발생한다. 광노화를 발생시키는 주요 원인은 자외선이다. 자외선은 그 파장의 길이에 따라 UV-A, B, C로 나눌 수 있는데 이중 UVA는 피부에 대한 자극이 미약하여 UVB보다는 피부에 해가 적지만 오랫동안 노출될 경우 기미나 검버섯 등의 색소 침착이 일어나고 피부 노화를 심화시킬 뿐만 아니라 심한 경우 피부암까지 발생시킬 수 있다. 반면 UVB는 피부에 강한 자극을 일으켜 일광 화상이나 피부암을 일으킨다. 이와 같이 피부에 직접적인 영향을 주는 자외선은 피부의 표피와 진피층에 깊숙하게 투과하여 활성산소를 생성시키며 이렇게 내적, 외적인 요인으로 인하여 생체내에서 과잉의 활성산소가 생성되면 돌연변이, 염증, 세포살상, 발암 과 피부 노화 등이 나타나게 된다. 피부에서는 활성산소는 세포막을 공격하여 이를 산화시키게 되고 산화된 지질에 의해 세포막이 손상되어 정상적인 피부세포의 기능을 손실시키게 된다. 또한 피부의 효소적, 비효소적 항산화 방어체계의 균형을 깨트리게 되어 피부가 지속적인 산화상태에서 회복 되지 못하게 되면서 피부는 거칠고 윤기가 없어지게 되며 이러한 과정의 반복은 주름 유발을 야기하게 된다[13, 15].

고부가가치 산업 소재 개발 연구는 주로 육상식물과 미생물에 집중되어 있었으나 최근 육상자원에 비해 훨씬 많은 생물을 보유하고 있는 해양 자원에 대한 관심이 증가되고 있으며 육상생물의 고갈문제에 대한 대체방안으로 그 연구가 활발히 이루어지고 있다. 미세조류는 전세계적으로 약 25,000여종, 우리나라에는 약 1,300여종이 존재한다. 미세조류는 기초 과학 및 대체에너지, 먹이생물, 식품 및 의약품의 원료, 건강보고식품, 화장품 등 다양한 분야에 활용되고 있다. 미세조류는 chlorophyll, carotenoid 또는 phycobilins와 같은 색소를 함유하며 주로 광합성을

통해 세포 성장과 번식을 하는데, 그 종류나 수가 일반 미생물과 비교될 수 있을 정도로 다양하고 많다[7]. 이러한 미세조류는 육상식물보다 성장속도가 매우 빨라 대량생산의 산업화가 용이하고, 다양한 특성을 가진 생물로 자연 상태에서 vitamin, carotenoid, polysaccharides와 같은 다양한 유용물질이 체내에 상대적으로 풍부하게 존재하며, 부가가치가 높은 광합성 조류로 알려져 있다. 클로렐라나 스피롤리나는 건강보조식품으로 많은 회사에서 제품을 출시하고 있으며, 색소, 지방산, 항산화제, 항생물질 등의 유용물질을 추출하여 의약품의 원료로서 이용하고 있다. 최근 천연화장품 원료로서 미세조류가 노화방지에 탁월한 성능이 있다고 알려지면서 화장품 시장에서 큰 관심을 받고 있다. 이러한 미세조류의 중요성이 부각되면서 활발한 연구가 진행됨에 스피롤리나, 클로렐라, 아스타잔틴, 오메가 3 등에 대한 피부 영향에 대한 연구가 증가되고 있다[11].

이에 본 연구에서는 육상식물이 아닌 미세조류 유래의 지질 성분의 세포증식능에 대한 효능으로 광노화 억제 효과가 있는 미세조류를 선정하여 피부에 대한 임상평가를 수행하고, 피부탄력, 주름개선, 보습력 증가의 항노화 효능을 검증한 화장품 소재를 연구하고자 하였다.

재료 및 방법

미세조류 배양

본 연구를 위한 미세조류로는 *Chlorella vulgaris* (주대상), *Chlorella protothecoids* (한국생명공학연구원 생물자원센터, AG10002), *Ettlia texensis*, (한국생명공학연구원 생물자원센터, 12109BP), *Spirulina platensis* (한국해양과학기술원 해양시료도서관, LIMS-PS-0056), *Chlorella sp.* (한국생명공학연구원 생물자원센터, C-196)의 총 5종을 사용하였으며, BG-11 배지를[2] 이용, 고체배지에서 3회의 pure colonies 선별과정을 통해 순수배양하여 각 미세조류의 바이오매스를 획득하였다.

분양 받은 미세조류는 각 균주의 바이오매스 최적 생산을 목적으로 250ml 삼각플라스크에 BG-11 배지 150ml를 사용하였으며, 교반속도는 150~200rpm, 온도 범위 20~30°C, 광도 범위 100~1,500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 5~12일 동안 독립영양 배양하였고, 250ml 삼각플라스크에 YM 배지[1] 150ml를 사용하였으며, 교반속도는 150~200rpm, 온도 범

위 20~30°C에서 5~12일 동안 종속영양 배양하였다.

미세조류 유래 분획물 제조

미세조류 바이오매스는 배양이 완료된 후 원심분리하여 배지를 제거하고, 증류수로 분산시켜 3회 반복하여 잔류되어 있는 배지성분을 제거하고, 동결건조기나 드럼 드라이를 이용하여 수분함량 3% 미만으로 건조시킨다.

미세조류 건조물 40g에 70% ethanol 800g과 혼합하여 150rpm, 25°C, 24시간 교반 추출하여 1µm paper filter(Whatman/GE Healthcare Life Sciences, PA, USA)로 여과 후 감압농축기로 농축하였다.

70% ethanol 추출물을 그림 1과 같이 동량의 hexane, ethyl acetate, butanol 각각의 용매를 3회 반복 분획한 후 감압농축하여 각 용매별 Fraction을 수득하였다.

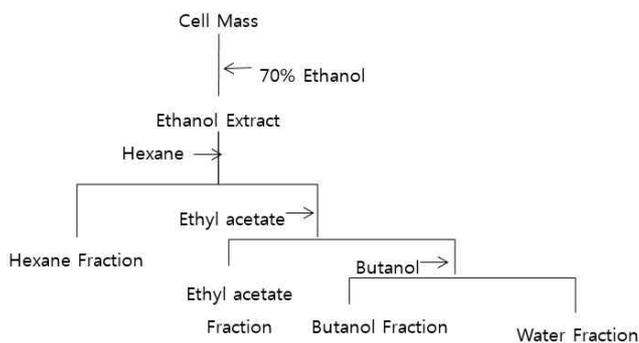


Figure 1. Cell mass extraction process

미세조류 오일 추출

미세조류 오일 추출은 종래의 추출방법으로서 Jan Lorenzen[12]에 기술된 초임계추출 방법에 따라 수행하였다.

세포주 배양

본 실험의 모든 세포주는 dulbecco's modified eagle medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), phosphate buffer solution (PBS), penicillin/streptomycin, 0.4% trypan blue stain 은 Gibco BRL Co. (USA)에서 구입하였다. 본 실험에 이용한 각 세포의 배양은 10% FBS과 1% penicillin/streptomycin (100 U/ml)을 첨가한 DMEM 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO₂ incubator에 적응시켜 배양하였다.

세포 생존율 측정

세포 생존율을 평가하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 계대 배양한 HDF, HaCaT 및 B16F10세포를 96-well plate에 각각 1×10⁴cells/ml로 분주하고 37°C, 5% 이산화

탄소를 포함하는 배양기내에서 24시간 동안 배양한 후 배양 media를 serum free media로 교체하였다. 이어서 각각의 시료를 농도별로 각 세포에 처리하였다. 24시간 동안 배양 후 MTT solution을 각 well에 넣고 차광상태에서 2시간 동안 반응시킨 다음 상등액을 제거하고, 생성된 formazan을 DMSO로 완전히 용해시켜 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ELISA assay를 이용한 콜라겐 합성능 분석

Procollagen Type I C-Peptide PIP EIA kit로 세포의 I형 collagen 검출을 하는 ELISA assay법을 이용하여 미세조류 시료에 대한 HDF 세포의 콜라겐 합성능을 평가하였다. Antibody-POD conjugate solution 100 µl를 취하여 Antibody coated microtiterplate 각 well에 넣은 다음 배양액을 각각 20 µl씩 넣고 37°C에서 3시간 배양하였다. 이후 각 well에서 배양액을 제거한 다음 1x PBS 400 µl로 4회 세척한 후 발색시약 100 µl를 넣고 상온에서 15분간 반응시켰다. 1N 황산 100 µl를 넣은 다음 450 nm에서 microplate reader를 사용하여 흡광도를 측정하였다.

자외선조사에 대한 세포 보호 평가

인간각질세포인 HaCaT 세포 또는 흑색종 세포 B16F10을 96 well plate에 분주하여 overnight 배양하였다. 세포 밀집도가 70% 정도 도달하였을 때 추출물을 다양한 농도로 6hr 전처리 하였으며 그 후 자외선을 조사하였다. 자외선 B 조사 세기는 20 mJ/cm²으로 자외선 A 조사 세기는 3 J/cm²으로 본 논문 실험에 전체적으로 고정하여 사용하였다. 자외선을 조사하기 전에 세포를 phosphate-buffered saline(PBS)로 1회 세척하여, 배양배지를 제거하였으며, 배양 plate 덮개를 제거한 상태로 자외선을 조사하였다. 이후, PBS는 즉시 성장배지로 교환한 후, 추가적으로 24 시간 배양하여 세포 생존율을 측정하였다.

임상 효능평가

눈가 주름 개선 효과에 대한 평가는 세명대학교 한방바이오산업 임상지원센터에서 실시하였다. 만 35세에서 50세까지의 피험자 5명을 대상으로 미세조류 유래 오일을 얼굴의 안면(눈가) 부위에 실시하였다.

주름 측정은 PRIMOS(Phaseshift Rapid In-vivo Measurement Of Skin)를 이용하여 눈가 부위를 측정하였고, 시험 부위에 대한 정확한 재현성을 위해 기

존 측정부위와 새로운 측정부위가 동일할 수 있도록 overlay 기능을 사용하여 측정하였다.

PRIMOS 분석 변수로는 Ra와 R3z를 선정하였다. Ra(Arithmetic roughness average)는 PRIMOS로 측정된 주름의 거칠기 단면 peak에 대한 산술 평균값이며 R3z(Base roughness depth)는 R3z1부터 R3z5까지 5가지의 단일 거칠기 깊이에 대한 산술 평균으로 나타낸다. 단위는 μm 이다.

눈가 주름 개선 효과에 대한 평가는 Cutometer(MPA 580, Courage and Khazaka Electronic Co., Germany)를 이용하여 눈가에서 3cm 떨어진 부위를 측정하였으며 탄력 평가의 측정계수는 arbitrary unit(A.U.)이다.

수분 개선에 대한 평가는 Corneometer(CM825, Courage and Khazaka Electronic Co., Germany)를 이용하여 안면 부위에 3회의 수분 측정을 하였으며, 3개의 값을 이용해 평균값을 구하였다. 측정은 제품 사용 전(0

주), 제품 사용 2주 후와 제품 사용 4주 후에 실시하였다.

결과 및 고찰

세포독성 및 증식효과

Human Dermal Fibroblast에 대한 미세조류 유래 용매 추출물에 대한 세포 독성 및 세포증식능을 확인하였다.

종속배양된 *Ettlia texensis*에 대한 hexane, ethyl acetate, butanol 분획물 10ppm에서 무처리 대조군 대비 21.98%, 21.35%, 39.43%의 높은 세포증식 증가능이 나타났으며 *Chlorella vulgaris* 물 분획층에서 100ppm에서 31.76%, *Chlorella protothecoides*의 ethyl acetate 분획물에서 32.40%, *Chlorella* sp. 의 hexane 분획물 10ppm에서 21.15% 으로 무처리 대조군 대비 세포증식 증가능이 나타났다(Fig 2).

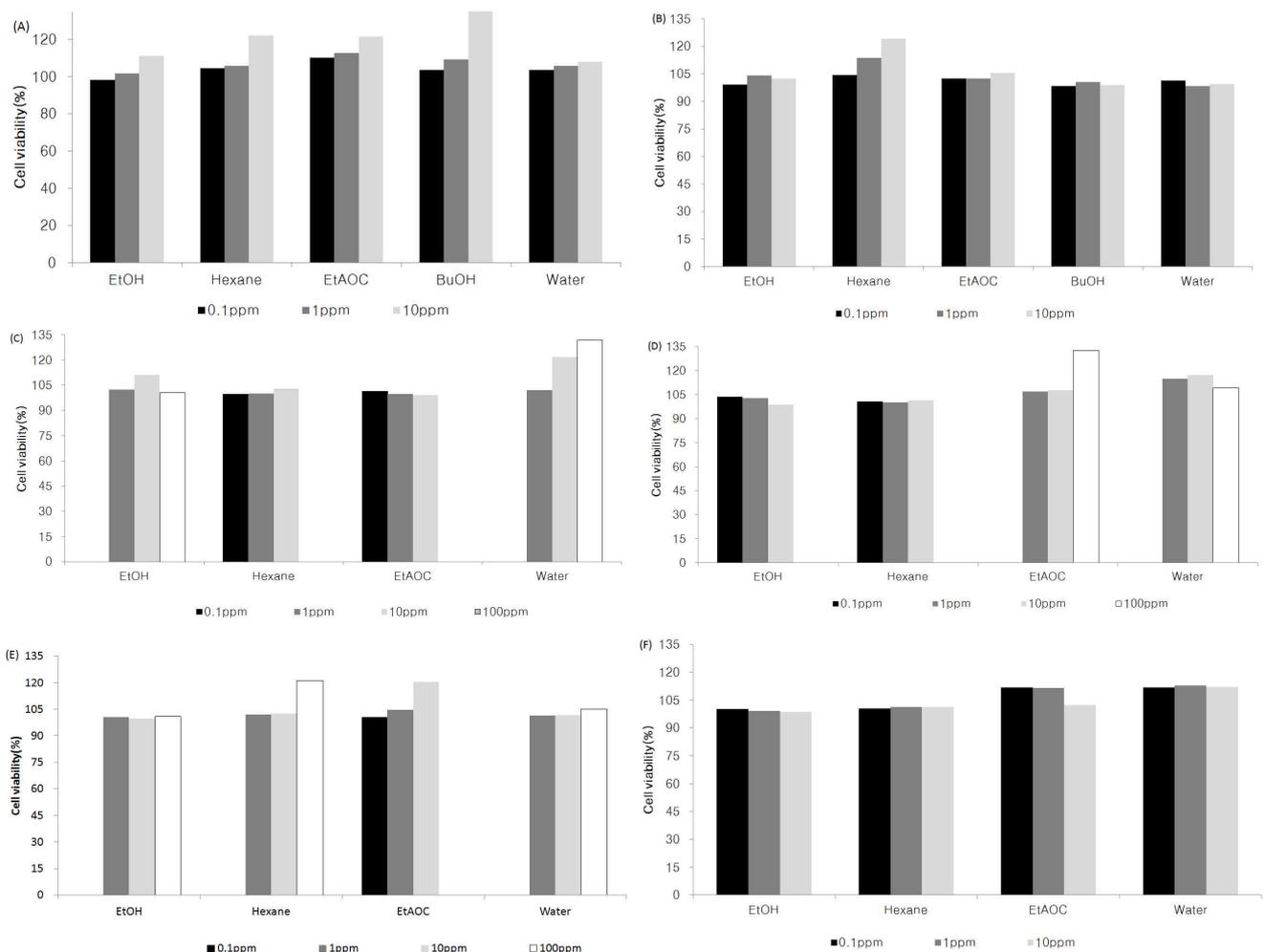


Figure 2. Cell viability of Microalgal fraction. (A) Heterotrophic cultured *Ettlia texensis* fractions. (B) Autotrophic cultured *Ettlia texensis* fractions. (C) *Chlorella vulgaris* fractions (D) *Chlorella protothecoides* fractions (E) *Chlorella* sp. fractions (F) *Spirulina platensis* fractions

미세조류 유래 비극성의 용매에 대한 추출 분획물에 대해 높은 Human Dermal Fibroblast에 대한 세포 증식 증가능이 확인됨에 해당 분획물에 대한 콜라겐 합성률을 확인한 결과 10ppm농도에서 중

속배양된 *Ettlia texensis*의 분획층에서 11.34%, *Chlorella sp.* 분획층에서 최고 12.65%, *Spirulina platensis* 분획층에서 11.40% 콜라겐 합성률이 확인되었다(Fig 3).

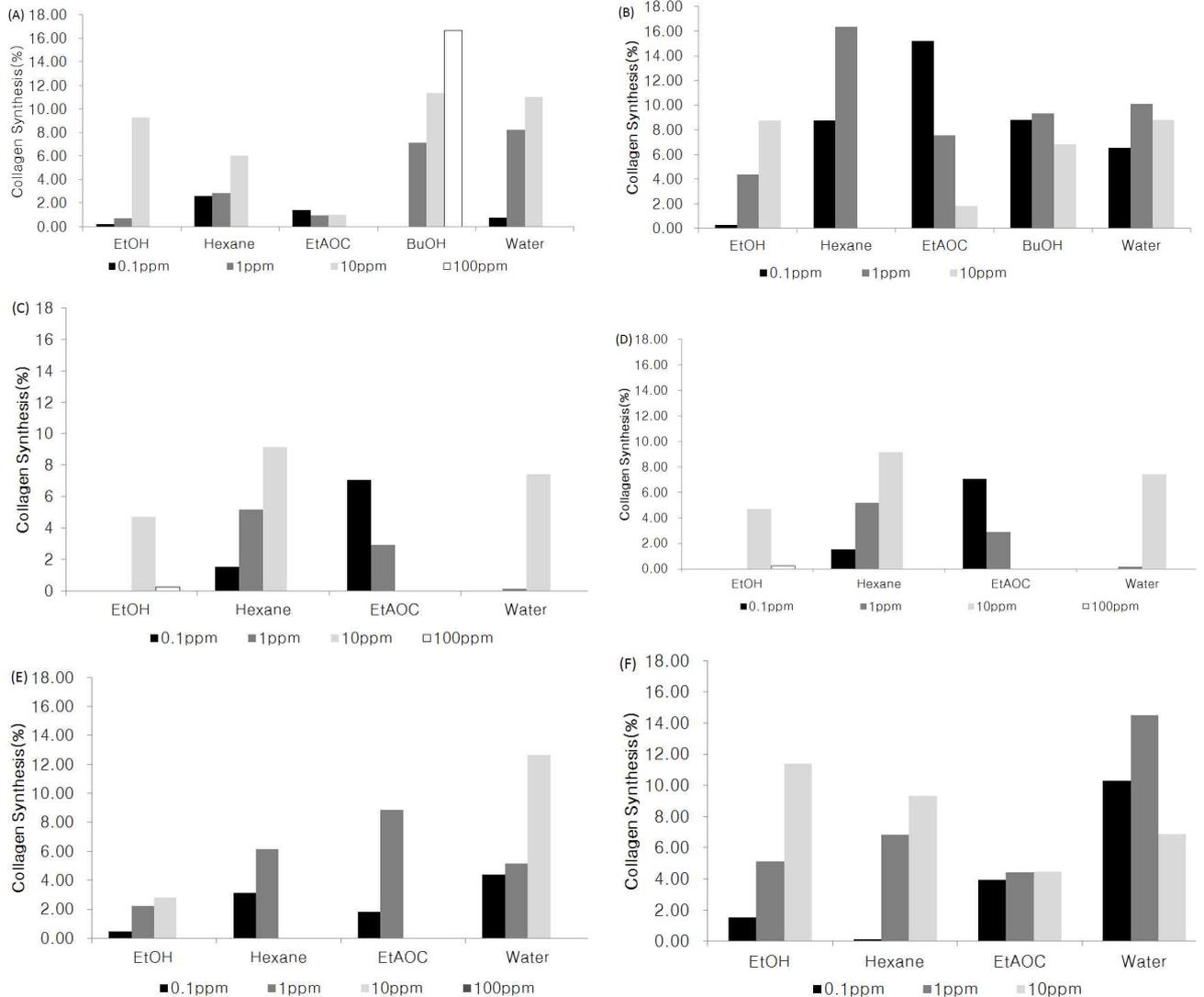


Figure 3. Collagen synthesis effect of Microalgae fractions. Collagen synthesis of Heterotrophic cultured *Ettlialia texensis* fractions. (B) Collagen synthesis of autotrophic cultured *Ettlialia texensis* fractions. (C) Collagen synthesis of *Chlorella vulgaris* fractions (D) Collagen synthesis of *Chlorella protothecoides* fractions (E) Collagen synthesis of *Chlorella sp.* fractions (F) Collagen synthesis of *Spirulina* fractions

Ettlialia texensis, *Chlorella sp.*, *Spirulina platensis* 유사한 콜라겐 합성률은 나타내었으나 *Ettlialia texensis*, *Chlorella sp.*에 대한 분획물이 *Spirulina platensis* 분획물 대비 Human Dermal fibroblast에 대한 세포 증식율이 높게 나타났다. 본 연구는 미세조류 유래의 광

노화 억제 오일을 개발하기 위한 연구로서 Table 1과 같은 종래의 연구를 기반으로 생산성을 고려하여 지질 함유량이 가장 높은 *Chlorella sp.* 유래의 오일에 대한 광노화 억제 효과를 확인함으로 화장품 소재로서의 개발 가능성을 검증하였다.

Table 1. Oil content of Microalgae

Species	Oil content (% dry weight)	Ref.
<i>Ettlia texentis</i>	20-50	10
<i>Chlorella vulagris</i>	14-40/56	8
<i>Chlorella protothecoides</i>	23/55	8
<i>Chlorella sp.</i>	57	8
<i>Spirulina platensis</i>	10.95	11

*Chlorella sp.*은 높은 지질함량을 나타내며 *Chlorella sp.* 유래 오일에 대한 세포 증식을 확인한 결과 10ppm의 낮은 농도에서도 50%의 세포증식 증가 효과를 나타내었다(Fig 4).

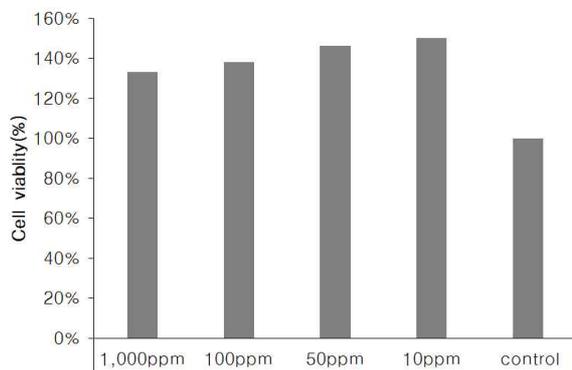


Figure 4. Cell Proliferation of *Chlorella sp.* Oil

자외선조사 세포 보호효과

Chlorella sp. 오일의 자외선에 의한 피부각질세포, 미백세포의 손상을 억제하는지 평가하였다. UVB는 20 mJ/cm², UVA는 3J/cm²의 세기로 자외선을 조사한 후 CCK-8을 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. *Chlorella sp.* 오일은 HaCaT 세포주에 대해 1 ppm 이상에서 UVB에 대해 26%의 세포 보호 효과를 나타내었다(Fig 5). UVA에 대해서도 B16F10세포주에서 100ppm이상에서 100% 이상의 세포생존율로서 세포 보호 효과를 확인하였다(Fig 6). 이러한 결과를 토대로 미세조류 유래 오일은 자외선에 대해 세포 보호 효능을 나타냄을 알 수 있다.

눈가 주름 개선 효과

Chlorella sp. 오일이 함유된 제형을 4주가 시험부위에 도포하여 주름 개선효과를 확인하였다. 눈가 주

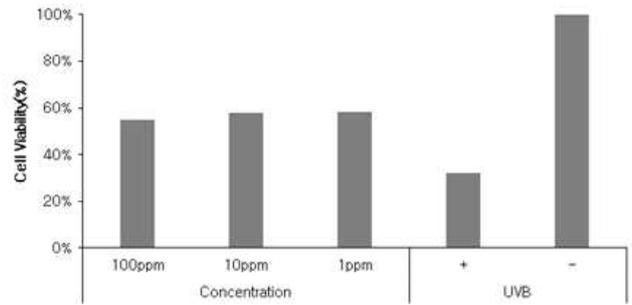


Figure 5. Cell viability of HaCaT cell treated with *Chlorella sp.* Oil and UVB. Cells were treated with *Chlorella sp.* Oil for 6 h, exposed to UVB (20 mJ/cm²) and cell viability were measured at 24 h incubation. Results were shown as mean ± SD (n = 3).

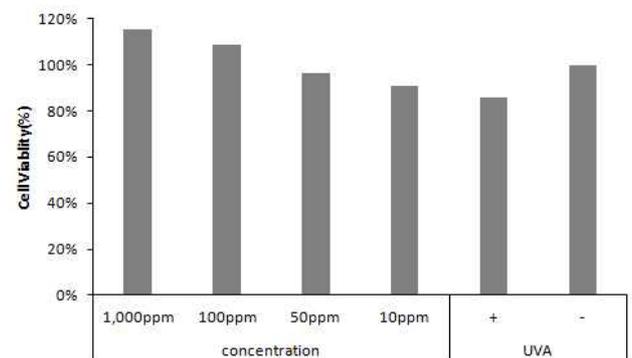


Figure 6. Cell viability of B16F10 cell treated with *Chlorella sp.* Oil and UVA. Cells were treated with *Chlorella sp.* Oil for 6 h, exposed to UVB (3J/cm²) and cell viability were measured at 24 h incubation. Results were shown as mean ± SD (n = 3).

름 변화 분석 결과, 제품 사용 전(0주) Ra는 13.780μm에서 제품 사용 2주 후 13.160 μm, 제품 사용 4주 후 13.440 μm로 주름에 변화가 있음을 확인할 수 있었으며, R3z는 제품 사용 전(0주) 30.780 μm에서 제품 사용 2주 후 29.740μm, 제품 사용 4주 후 28.940 μm로 주름에 변화가 있음을 확인할 수 있었다(Fig 7). 제품 사용 전(0주)과 비교하여 Ra, R3z 모두 제품 사용 2주 후와 제품 사용 4주 후 눈가 주름이 감소하는 것을 확인하였다. R3z값은 피부 표면의 거칠음을 의미하므로 주름의 깊이에 관련된 값이다 따라서 R3z 값이 통계적으로 유의하게 측정되었다는 것은 주름개선 효과가 있다는 것을 의미한다.

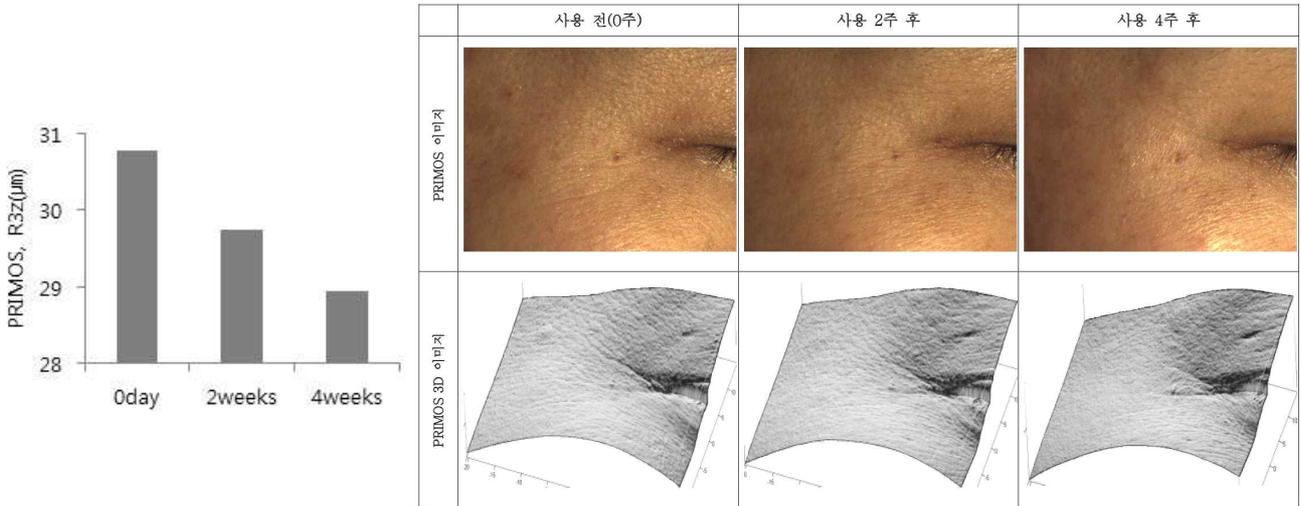


Figure 7. Wrinkle improvement effect. R3z : Base roughness depth

피부탄력 개선 효과

피부 탄력 측정 결과, R2는 시험 제품의 사용 전(0주) 0.6260 A.U.에서 제품 사용 2주 후 0.6880 A.U., 제품 사용 4주 후 0.7502 A.U.로 탄력에 변화가 있음을 확인할 수 있었다. 제품 사용 전(0주)과 비교하여 제품 사용 2주 후와 제품 사용 4주 후 탄력이 증가하는 것을 확인하였다(Fig 8).

시험 제품에 대한 피부 탄력 개선율(%)은 피부 탄력 변화량을 각각 구하여 제품 사용 전에 대한 탄력 개선율(%)을 산출하였다.

$$\text{탄력 개선율(\%)} = \frac{\text{사용 후 탄력 변화량 결과}}{\text{사용 전의 탄력 측정 결과}} \times 100$$

제품 사용 전(0주)과 비교하여 제품 사용 2주 후 10.32%, 제품 사용 4주 후 20.23%의 개선율을 포함으로 피부 탄력 개선에 대한 효과를 확인하였다.

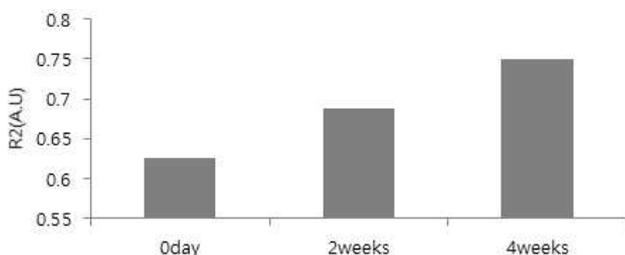


Figure 8. Improvement of skin elasticity after using test product (Unit:A.U.)

수분 개선 효과

Corneometer를 이용한 수분 측정 결과, 제품 사용

전(0주)과 비교하여 제품 사용 2주 후와 제품 사용 4주 후 수분이 증가하는 것을 확인하였다.

수분 측정 결과, 제품 사용 전(0주) 71.38 A.U.에서 제품 사용 2주 후 72.79 A.U., 제품 사용 4주 후 73.81 A.U.로 수분에 변화가 있음을 확인할 수 있었다. 또한 제품 사용 전(0주)과 비교하여 제품 사용 2주 후와 제품 사용 4주 후 수분이 증가하는 것을 확인하였다(Fig 9).

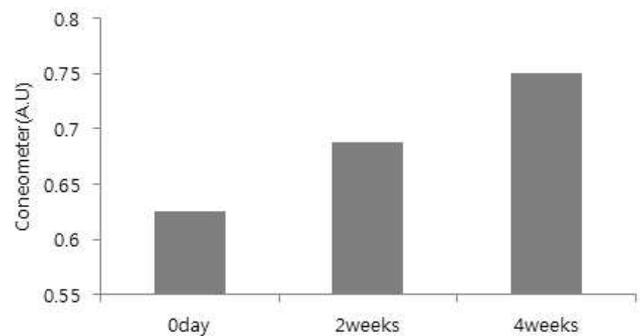


Figure 9. Increase skin moisture after using test product (Unit : A.U.)

결 론

최근 고부가가치 산업의 대표적 산업인 향장산업 분야에서 해양 자원에 대한 수요 및 관심이 증대됨에 따라 미세조류를 이용한 기능성 성분개발에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

본 연구에서는 미세조류 유래 오일의 피부에 대한

광노화 억제 효과를 알아보고자 *Chlorella vulgaris*, *Chlorella protothecoids*, *Ettlia texensis*, *Spirulina platensis*, *Chlorella* sp. 5종의 미세조류에 대한 다양한 용매 추출 분획물에서 Human Dermal Fibroblast에 대한 세포 증식능을 확인하였고, *Chlorella protothecoides*의 ehyl acetate 분획물, *Chlorella* sp. 의 hxane 분획물에서 높은 콜라겐 합성률을 확인하여 노화방지 소재로서 가능성을 확인하였다. 세포증식능과 콜라겐 합성률이 높은 분획성분이 포함된 *chlorella* sp. 오일은 지원자를 대상으로 한 4주간의 피부도포를 진행한 결과 주름개선, 피부탄력 증가, 피부 수분 증가 효과가 확인되었다. 이러한 연구를 토대로 *Chlorella* sp. 오일은 노화의 주범인 광노화를 억제하고 주름을 개선시키는 노화방지 기능성 소재로서 개발 가능성이 클 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 소재부품기술개발사업(과제번호:10067312)에 의한 것이며, 이에 감사드립니다.

References

- Andersen, R.A., Berges, J.A., Harrison, J P, Watanbe, M.M., in R A. Andrsen(ed). 2005. Algal culturing techniques, Burlington Elsevier San Digo and London, Academic Press, 429-532.
- Allen, M.M., Stanier, R.Y., 1968. Growth and division of some unicellular blue - green algae. *J. Gen. Microbiol.* **51**, 199 - 202.
- Chan Yoo, Gang-Guk Choi, Sun-Chang Kim, Hee-Mock Oh. *Ettlia* sp. 2013. YC001 showing high growth rate and lipid content under high CO₂. *Bioresource Technology* **127**, 482 - 488.
- Elizabeth J Johnson. 2014. Role of lutein and zeaxanthin in visual and cognitive function throughout the lifespan. *Nutrition Reviews*.
- Gallin JI, Snyderman R. 1999. Overview. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Gallin JI and Snyderman R (ed), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 1-34.
- Gouveia, L. and A. C. Oliveira. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 269-274.
- Hee-Mock Oh, Aeran Choi, Tae-Ick Mheen. 2003. High-Value Materials from Microalgae. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **31(2)**, 95-102.
- H. I. El-Shimi, Nahed K. Attia, S. T. El-Sheltawy, G. I. El-Diwani. 2013. Biodiesel Production from *Spirulina-Platensis* Microalgae by *In-Situ* Transesterification Process. *Journal of Sustainable Bioenergy Systems*, **3**, 224-233.
- Huang MH, Huang SS, Wang BS, Wu CH, Sheu MJ, Hou WC, Lin SS, Huang GJ. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Cardiospermum halicacabum* and its reference compounds *ex vivo* and *in vivo*. *J. Ethnopharmacol.*, **133**, 743-750.
- Jan Lorenzen, Nadine Igl, Marlene Tippelt, Andrea Stege, Farah Qoura, Ulrich Sohling, Thomas Brück. 2017. Extraction of microalgae derived lipids with supercritical carbon dioxide in an industrial relevant pilot plant. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **40(6)**, 911 - 918.
- Ki Bbeum Kim, Jeong-Ju Lee, Jin-A Heo, Dae-Hyun Cho, Hee-Sik Kim, Kwang Nyeon Kim, Soo Young Kim5, Kyu Joong Ahn, In-Sook An, Sungkwan An, Seunghee Bae. 2014, The Extract of *Chlorella vulgaris* Exerts Protective Effects Against Ultraviolet B Radiation-induced Damages in Human Dermal Fibroblasts. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, Vol. 12 No. 4, 479-486.
- Nam JH, Seo JT, Kim YH, Kim KD, Yoo DL, Lee JN, Hong SY, Kim SJ, Sohn HB, Kim HS, Kim BS, Lee KT, Park HJ. 2014. Inhibitory effects of extracts from *Smilacina japonica* on lipopolysaccharide induced nitric oxide and prostaglandin E2 production in RAW264.7 macrophages. *Korean J. Plant Biotechnol.* **41(4)**, 201-205.
- Seo JY, Choi HR, Rhie GE, Youn CS, Choi WW, Kim JA, Chung JH, Cho KH, Eun HC. 2001. The effect of retinoic acid and vitamin C on the expression of the procollagen a1 (I), tropoelastin, and MMP-1 in human dermal fibroblast. *Kor. J. Invest. Dermtaol* **8**, 23-28.
- Yaar M, Gilchrest BA. 1998. Aging versus photo aging: postulated mechanisms and effectors. *J. Investing Dermatol. Symp. P*, **3**, 47-51.
- Yaar M, Gilchrest BA. 2007. Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br. J. Dermatol.* **157**, 874-887.