

UVB 로부터 ROS를 유도한 제브라피쉬에 스피롤리나 에탄올 추출물의 항산화 및 보호효과에 관한 연구

장덕영^{1*} · 한영석² · 양재찬¹ · 김보애^{1†}

목원대학교 테크노과학대학 생의약화학부, (주)네오엔비즈 환경안전연구소
(2018년 5월 31일 접수: 2018년 6월 19일 수정: 2018년 6월 20일 채택)

Anti-oxidative and protective effects of *Arthrospira platensis* ethanol extracts on zebrafish ROS Induced by UVB Induction

Deok-Young Jang · Young-Seok Han · Jae-Chan Yang · Bo-Ae Kim[†]

¹Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729 Korea

²Institute of Environmental Protection and Safety, NeoEnBiz Co. Daewoo Technopark A-1306,
Dodangdong, Bucheon, Kyeonggido 420-806, Korea

(Received May 31, 2018; Revised June 19, 2018; Accepted June 20, 2018)

요약 : 스피롤리나는 지구상의 가장 오래된 조류중 하나이며 피코시아닌, 토코페롤, 베타카로틴을 함유하고 있어 노화를 방지한다고 보고된 바 있다. 본 연구에서는 재배방법이 다른 스피롤리나 에탄올추출물의 UVB로 유도된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 저해와 항산화효과를 확인하였다. 실내배양 스피롤리나 에탄올추출물(ICAE)과 야외배양 스피롤리나 에탄올추출물(OCAE) 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 DPPH 라디칼 소거능과 SOD 유사 활성을 측정하여 항산화효과를 확인하였다. UVB로 유도된 ROS의 저해 효과는 제브라피쉬 배아와 HaCaT 세포를 이용하여 확인하였다. ICAE와 OCAE 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml을 제브라피쉬 배아와 HaCaT 세포에 처리하고 UVB로 ROS를 유도하였고 DCFH-DA로 염색하여 세포내 ROS의 양을 검출하였다. 항산화효과를 측정한 결과 양성대조군인 ascorbic acid의 DPPH 라디칼 소거능은 73%, SOD 유사 활성은 86%로 나타났다. ICAE와 OCAE 1 mg/ml의 농도에서 각각 43, 57%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었고, 20, 19%의 SOD 유사 활성을 나타내어 양성대조군인 ascorbic acid 보다 낮았지만 유의적인 항산화효과가 있었다. UVB로 유도된 제브라피쉬 배아와 HaCaT 세포의 ROS가 음성대조군보다 증가하였고, ICAE와 OCAE 처리된 군은 농도 의존적으로 UVB만 조사된 양성대조군 보다 ROS가 감소하였다. 본 연구의 결과는 스피롤리나 에탄올추출물이 피부보호용 화장품 소재로 사용 가치가 있음을 시사한다.

주제어 : 스피롤리나, 활성산소종, UVB 조사, DCFH-DA, 항산화효과

[†]Corresponding author
(E-mail: kba@mokwon.ac.kr)

Abstract : *Arthrospira platensis* is one of the oldest algae in the world and has been reported to have anti-aging properties, including phycocyanin, tocopherol and beta-carotene. In this study, we tried to search protective activities against UVB-induced reactive oxygen species(ROS) of *Arthrospira platensis* under indoor cultivation ethanol extracts(ICAE) and outdoor cultivation ethanol extracts(OCAE). The anti-oxidative capacities were evaluated by DPPH radical scavenging activity and SOD-like activities at various concentrations(0.1, 0.5, 1 mg/ml) of ICAE and OCAE. Zebrafish embryos and HaCaT cells were exposed to UVB radiation and treated with various concentrations(0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml) of ICAE and OCAE. ROS levels of zebrafish and HaCaT cells were generated by UVB radiation. ROS levels were detected using a fluorescent microscope after DCFH-DA staining. The DPPH radical scavenging activity of ascorbic acid was 73% and SOD-like activity was 86% in the positive control group. ICAE and OCAE at 1mg/ml concentration showed 43, 57% DPPH radical scavenging activity and 20, 19% SOD-like activity. Anti-oxidative of ICAE and OCAE had lower effects than the positive control ascorbic acid but significant results. ROS of UVB-induced zebrafish embryos and HaCaT cells were higher than negative control. ICAE and OCAE treated group decreased ROS concentration dependently than UVB-induced positive control group. These results suggest that *Arthrospira platensis* ethanol extract may have usability value as a cosmetic material for skin protection.

Keywords : *Arthrospira platensis*, reactive oxygen species, ultraviolet B radiation, DCFH-DA, Anti-oxidative

1. 서론

최근 급격한 경제성장으로 인하여 현대인들의 경제수준이 상승함에 따라 피부미용에 대한 관심이 증가하였고, 특히 피부노화를 방지하여 건강한 피부를 유지하고자 하는 주름완화 및 개선을 위한 소재에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다 [1].

피부는 인체의 최외각 장기이며 표피, 진피, 피하조직으로 구성되어 있으며 외부환경으로부터 인체를 보호하는 역할을 한다. 피부노화는 연령의 증가, 스트레스로 인한 내인성 노화와 자외선, 매연, 기온, 습도 등의 원인이 되는 외인성 노화가 있다. 외인성 요인 중 피부에 가장 많은 영향을 미치는 요소는 자외선이다[2]. 자외선은 살균, 광전효과, 오존을 이용한 물의 정화 등 산업적으로 유익하게 사용되고 있다. 특히 자외선은 비타민 D의 합성에 필수적인 요소로서 골관절염, 다발성 경화증, 고혈압 등을 예방하며 인체에 비타민 D가 결핍될 경우 구루병, 골다공증, 근력약화, 고혈압, 심근경색 등의 질병이 발생하므로 피부를 자외선에 노출시켜 비타민 D를 합성할 필요성이 있다. 그러나 자외선에 장기간 노출 될 경우 색

소침착, 주름형성, 탄력저하 등과 같은 피부노화가 촉진되며 백내장, 피부암 등을 유발한다[3].

자외선은 파장에 따라 UVA(315-400nm), UVB(280-315nm), UVC(100-280nm)로 나눌 수 있다. 지표면에 도달하는 자외선은 대부분 UVA이며 UVB는 지구의 성층권에 존재하는 오존층에 흡수되어 1-10% 만 지표면에 도달하고 UVC는 오존층에 완전히 흡수되어 지표면에 도달하지 못 한다[4]. 그러나 최근 환경오염으로 인한 오존층의 파괴로 인해 지표면에 도달하는 UVB의 양이 증가하고 있어 UVB를 억제하는 소재의 연구가 진행되고 있다[5-7]. UVB는 높은 에너지로 인해 표피를 투과해 진피 상부까지 도달하여 DNA를 손상시키고 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 유발한다. ROS는 쌍을 이루지 않는 전자가 불안정한 상태로 되어 있는 산화제이다[8,9]. 적당량의 ROS는 생체 내에서 항균작용, 세포 성장에 도움을 주고 공격받는 세포를 보호한다. 인체는 catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, superoxide 등 ROS의 과다발생을 억제하는 효소를 가지고 있으며, ROS가 항산화 효소들의 작용범위를 초과하면 과산화지질을 형성하여 세포막을 손상시

키고, 유전자변형으로 인한 세포사멸을 유도한다 [10]. 또한 염증성 사이토카인의 분비를 촉진하여 matrix metalloproteinases(MMPs)의 합성을 증가시켜 콜라겐과 엘라스틴의 분해를 촉진해 결과적으로 ROS는 주름, 색소침착, 탈수, 피부의 색소상실 등의 피부노화와 백내장, 치매, 암 등의 다양한 질병의 원인이 된다[11-13].

삼면이 바다로 둘러싸인 한국은 다양한 해양자원을 활용하는데 유리하며 최근 산업에서 경제적 가치가 있는 해양자원이 적극 활용되고 있다. 특히 해조류는 식품, 제약, 화장품 등의 다양한 산업에 이용되고 있다[14]. 미세조류는 클로로필이나 카로테노이드 등의 색소를 함유하며 주로 광합성을 통해 세포 성장과 번식을 행하는 식물군으로 약 20,000여종이 있고, 크기는 1-1000 μm 로 단백질, 지방, 탄수화물이 풍부하다고 알려져 있으며, Kim의 연구에서 해양미세조류 에탄올추출물이 *S. aureus*, *E. coli*에서 항균효과가 있다고 고찰하였다[15]. 스피롤리나(*Arthrospira platensis*)는 지구상에서 오래된 조류의 하나로 단백질, 지방, 탄수화물, 다량의 무기질뿐만 아니라 피코시아닌, 토코페롤, 베타카로틴을 함유하고 있어 기능성 식품으로 이용되고 있다. 스피롤리나의 이름은 나선형의 모양의 생물이라는 어원에서 유래되었고 색은 청록색을 띠고 있으며, 길이 300-500 μm 직경 8 μm 인 다세포성 독립 영양 생물이다 [16]. 스피롤리나의 생리적인 기능으로는 항산화, 항암, 면역증진 등이 보고되어 있으며, 선행된 임상연구에 따르면 스피롤리나 함유 화장품이 피부톤, 색소 침착수, 눈꼬리 주름면적, 멜라닌, 홍반 감소 등의 피부개선에 효과가 있다고 고찰하였다 [17].

이처럼 스피롤리나가 주름과 피부개선에 효과가 있다는 것으로 미루어보아 UVB에 대한 보호 효과가 있을 것으로 사료되어 스피롤리나 에탄올 추출물의 피부보호용 화장품 원료로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 추출물 제조

실내배양 스피롤리나는 LED lamp를 이용하여 20 L 투명수조에서 배양하였으며 야외 배양 스피롤리나는 300 L 소형배양기와 10 t의 중형수조에서 배양하였다. 실내 및 야외배양 스피롤리나는

정제수로 세척하여 40 °C에서 24시간 건조하였고 pore size 100 μm 의 분쇄기를 이용하여 분쇄한 후 동결 건조하였다. 실험에 사용한 스피롤리나는 (주)네오엔비즈 환경안전연구소에서 제공하였으며 실내배양 스피롤리나와 야외배양 스피롤리나의 추출은 시료의 중량의 10배에 해당하는 95% 에탄올(ESWOURD, Korea)을 가하여 실온에서 24시간 교반하여 추출하였다. 각각의 추출물들은 감압여과장치로 여과하여 감압 농축(EYELAN-1110, EYELA, Korea)하였고 추출물의 수율은 실내배양 스피롤리나 에탄올추출물(ICAE) 22%, 야외배양 스피롤리나 에탄올추출물(OCAE) 17% 이었다.

2.2. DPPH radical scavenging

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)의 전자공여능(Electron donation abilities, EDA)은 Blois의 방법을 변형하여 항산화 효과를 측정하였다[18]. 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE를 각각 96-well plate에 50 μl 를 분주하고 0.2mM의 DPPH(Sigma-Aldrich, USA) 150 μl 를 첨가하여 28°C에서 30분간 교반하여 Microplate reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 492nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 ascorbic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하였다.

2.3. SOD-like activity

SOD 유사활성 평가는 SOD assay kit(DOJEN Bio, Korea)를 이용하여 실험하였다. 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICOE와 OCOE를 각각 96-well plate에 20 μl 를 분주하고 WST(Water soluble tetrazolium salt) 200 μl 를 첨가하였고 시료에는 Xantine Oxidase 20 μl 를 추가로 첨가한 후 37°C에서 20분간 교반하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

2.4. UVB에 의한 제브라피쉬의 ROS 측정

UVB가 조사된 제브라피쉬의 ROS를 측정하기 위해 46시간 배양한 제브라피쉬 배아에 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE를 처리하여 1시간 동안 배양한 뒤 50 mJ/cm² UVB(UV-X000, LAB24, Korea)로 조사하였고 20 μg 의 2', 7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA, Sigma-Aldrich, USA)를 첨가하여 1시간 동안 배양 후 Egg Water로 세척하여 형광

현미경(AM4115T-GFBW, Dino-Lite, Taipei)으로 관찰하였다[19].

2.5. 세포배양

각질형성세포인 HaCaT cell은 American type culture Collection(ATCC, USA)에서 구입하였고 배양을 위한 Dulbecco's modified Egel's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) 및 항생제 (penicillin/streptomycin)는 Gibco사 (Grand Island, NY, USA) 제품을 구입하여 사용하였다. DMEM에 10% FBS, 100 U/ml penicillin 을 혼합한 배지를 사용하였으며 37 °C, 5% CO₂ 조건의 incubator(MCL-20A, BioBiz, Korea)에서 배양하였다.

2.6. 세포 생존율 측정

HaCaT cell의 생존율을 측정하기 위한 실험은 WST-1(Water soluble tetrazolium salt-1) assay(DOJEN Bio, Korea)를 이용하였다. HaCaT cell을 96-well plate에 1×10⁴ cell/well 개수로 분주하여 24 시간 배양한 뒤 배지를 제거하고 PBS로 2회 세척한 뒤 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE를 각각 처리하고 24시간 동안 배양 후 WST-1 solution을 첨가하여 1 시간 동안 추가배양한 뒤 microplate reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.7. UVB에 의한 HaCaT 세포내 ROS 측정

HaCaT cell을 60Φ dish에 3 × 10⁴ cell/dish 개수로 분주하여 24시간 배양하였다. 24시간 배양배지를 제거하고 PBS로 2회 세척한 뒤 0.01, 0.05, 0.5, 0.1, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE를 각각 처리하여 1시간 배양한 뒤 PBS로 2회 세척하고 25 mJ/cm² UVB를 조사하였으며 20 μg의 DCFH-DA를 첨가하여 1시간 동안 추가로 배양하고 PBS로 2회 세척하여 형광 현미경으로 관찰하였다[20].

3. 결과 및 고찰

3.1. DPPH radical scavenging

DPPH radical scavenging assay는 항산화제가 안정한 자유라디칼인 DPPH[·]와 반응하여 DPPHH (1-diphenyl-2-picrylhydrazine)로 환원시키고, 흡광도를 감소시키는 원리를 이용하는 가장 널리

사용되는 항산화활성 측정법으로 특히 페놀과 같은 방향족화합물의 항산화활성의 측정에 이용된다[21]. 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE의 라디칼 소거 활성을 측정된 결과 0.1, 0.5 mg/ml의 농도에서는 ICAE와 OCAE 모두 미비한 라디칼 소거 활성이 측정되었으며 1 mg/ml의 농도에서는 각각 43, 57%의 라디칼 소거 활성을 나타내었다. ICAE와 OCAE 모두 양성대조군인 ascorbic acid의 라디칼 소거 활성인 73% 보다는 낮았지만 1 mg/ml의 농도에서 유의적인 항산화활성 효과가 있었다.

3.2. SOD-like activity

Superoxide dismutase(SOD)는 생체 내에서 Superoxide radical(O₂⁻)을 산소로 산화시켜주는 천연 항산화제로 알려져 있으며 활성 위치에 결합 되어있는 전이금속 이온의 종류에 따라 Cu/Zn-SOD, Fe-SOD, Mn-SOD 등의 metalloform으로 존재한다. 그러나 열에 매우 취약하고 pH의 영향을 많이 받아 불안정하다. 따라서 SOD와 유사한 활성을 가지면서 SOD의 단점을 보완한 WST(Water soluble tetrazolium salt)을 이용한 방법으로 SOD 유사 활성을 측정하였다[22]. 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE의 SOD 유사 활성을 측정된 결과 0.1, 0.5 mg/ml의 농도에서는 ICAE와 OCAE 모두 미비한 활성이 있었으며 1 mg/ml의 농도에서 각각 20, 19%의 활성이 측정되었고 양성대조군인 ascorbic acid의 활성인 86% 보다는 낮은 활성이 있었다.

3.3. UVB에 의한 제브라피쉬의 ROS 측정

UVB로 유도된 제브라피쉬의 ROS 측정은 DCFH-DA가 세포내로 투과된 후 아세틸기가 유리된 2',7'-dichlorofluorescein(DCFH)의 형태에서 ROS와 반응하여 형광물질을 생성하는 성질을 이용하였다[20]. 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE를 처리한 제브라피쉬 배아의 형광을 측정된 결과 ICAE와 OCAE 모두 UVB만 조사한 양성대조군보다는 농도 의존적으로 형광의 세기가 감소하는 것을 확인하였고 ICAE를 처리한 제브라피쉬 배아가 OCAE를 처리한 제브라피쉬 배아보다 형광의 세기가 감소하였다. 또한, 1 mg/ml 농도의 ICAE를 처리한 제브라피쉬 배아는 음성대조군과 유사한 형광의 세기가 나타나 UVB에 의한 ROS의 생성이 유의적으로 감소하였다.

3.4. 세포 생존율 측정

세포 생존율을 측정하기 위해 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml 농도의 ICAE와 OCAE를 HaCaT cell에 처리하여 24시간 배양하고 WST-1 assay로 세포 생존율을 확인하였다. 세포내 미토콘드리아 전자전달계에 존재하는 탈수소효소에 의해 WST-1으로부터 발색을 띠는 formazan이 생성되어 세포 생존율이 높을수록 흡광도가 증가하는 원리를 이용하였다[23]. 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 농도에서 ICAE의 세포 생존율은 각각 105, 106, 100, 93, 90% 이었으며 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 농도에서 OCAE의 세포 생존율은 각각 106, 107, 103, 60, 67% 이었다. OCAE 0.5 mg/ml의 농도에서 세포의 생존율은 60%로 가장 낮았으며 ICAE와 OCAE 모두 0.01, 0.05, 0.1 mg/ml의 농도에서 세포 생존율이 증가하였다.

3.5. UVB에 의한 HaCaT 세포내 ROS 측정

UVB에 의해 손상된 HaCaT cell의 ROS와 반응하여 생성된 DCFH-DA 형광의 세기를 측정하였다. ICAE 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 농도에서 형광의 세기는 각각 110, 121, 110, 105, 102% 이었으며, OCAE 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 농도에서 형광의 세기는 각각 138, 198, 109, 133, 118% 이었다. ICAE와 OCAE 모두 UVB만 조사한 양성대조군보다는 농도 의존적으로 형광의 세기가 감소하였으며, ICAE가 OCAE보다 형광의 세기를 감소시키는 것을 관찰하였다. 특히 ICAE 1 mg/ml의 농도에서의 형광의 세기는 음성대조군과 유사한 수치가 나타나 UVB에 의한 ROS의 생성이 유의적으로 감소하였다.

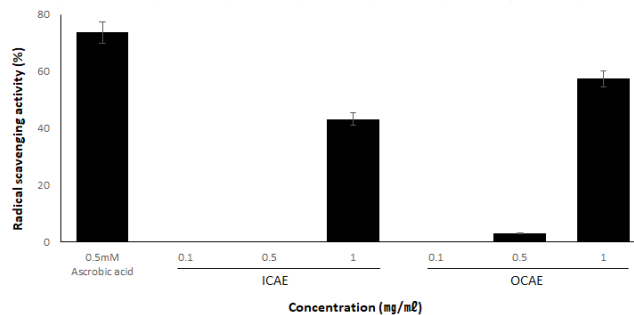


Fig. 1. The DPPH radical scavenging activity of *Arthrospira platensis* under various cultivation. The radical scavenging activity of ICAE and OCAE at 1 mg/ml concentration were 43, 57% respectively. The data is expressed as percentage of radical scavenging activity and represent the means.

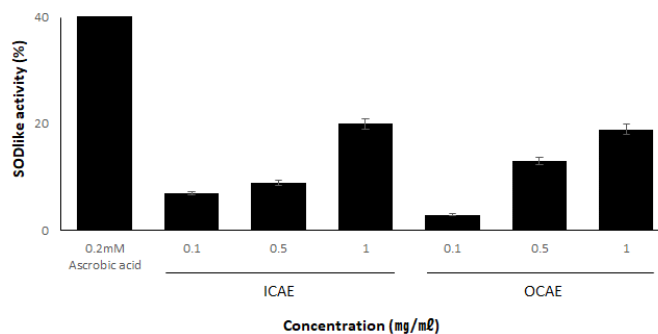


Fig. 2. The SOD-like activity of *Arthrospira platensis* under various cultivation. The activity of ICAE and OCAE at 1 mg/ml concentration were 23, 22% respectively. The data is expressed as percentage of SOD-like activity and represent the means.

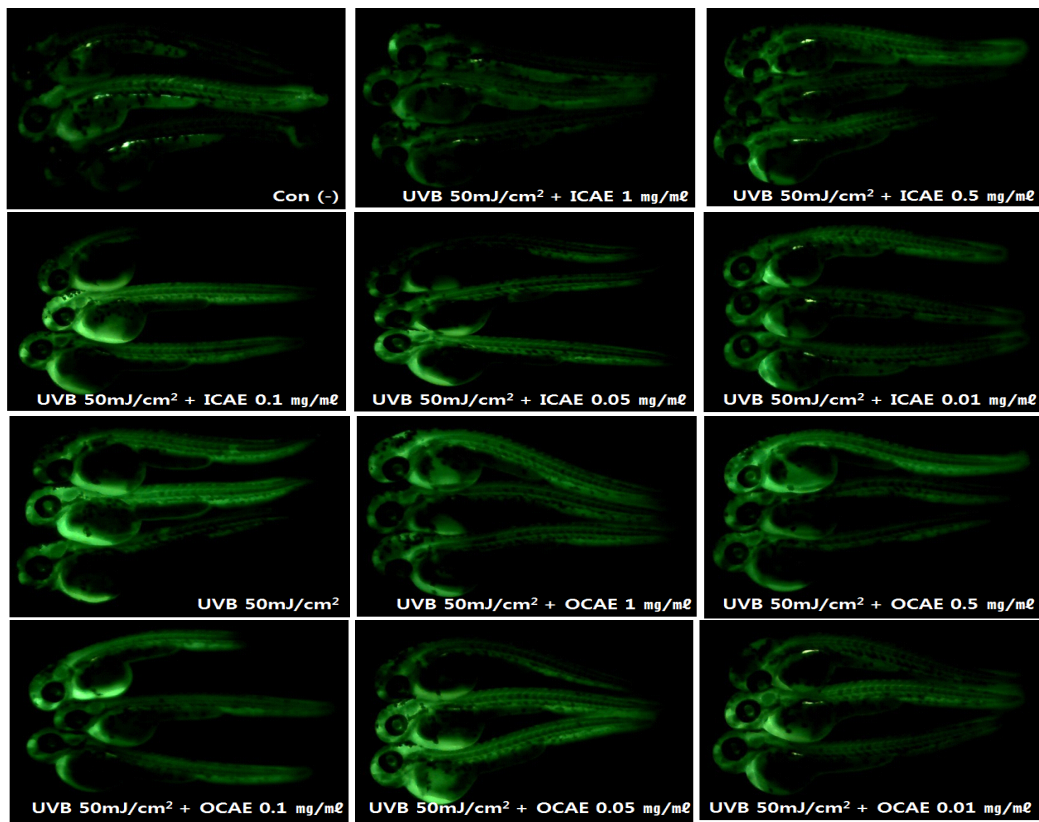


Fig. 3. Protective effect of ICAE and OCAE against UVB-induced ROS generation in zebrafish. Zebrafish embryo were exposed to UVB(50 mJ/cm²) and treated with various concentrations(0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/mL) ICAE and OCAE. After incubation, zebrafish embryos were stained with DCFH-DA and intracellular ROS were detected by fluorescence microscopy. Significantly different from only UVB-exposed zebrafish embryo.

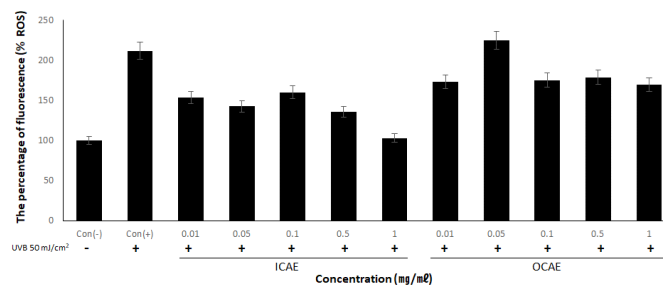


Fig. 4. Intra zebrafish embryo antioxidant activity of *Arthrospira platensis* ethanol extracts under various cultivation. Intra zebrafish embryo ROS levels generated by UVB radiation were detected using a fluorometer microscope after DCFH-DA staining. As a result, both ICAE and OCAE decreased fluorescence intensity in a dose-dependent manner compared to the positive control group only irradiated with UVB. The data is expressed as percentage cell viability and represent the means.

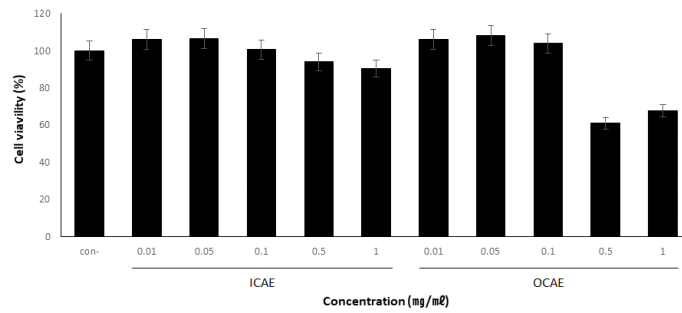


Fig. 5. Cell viability was measured by a water-soluble tetrazolium salt assay. HaCaT cells were seeded at 1×10^4 cell/well in 96-well microplates and incubated for 24 h. OCAE at 0.5 mg/ml concentration of cell viability was the lowest at 60%. ICAE and OCAE increased cell viability at 0.01, 0.05, 0.1 mg/ml concentration.

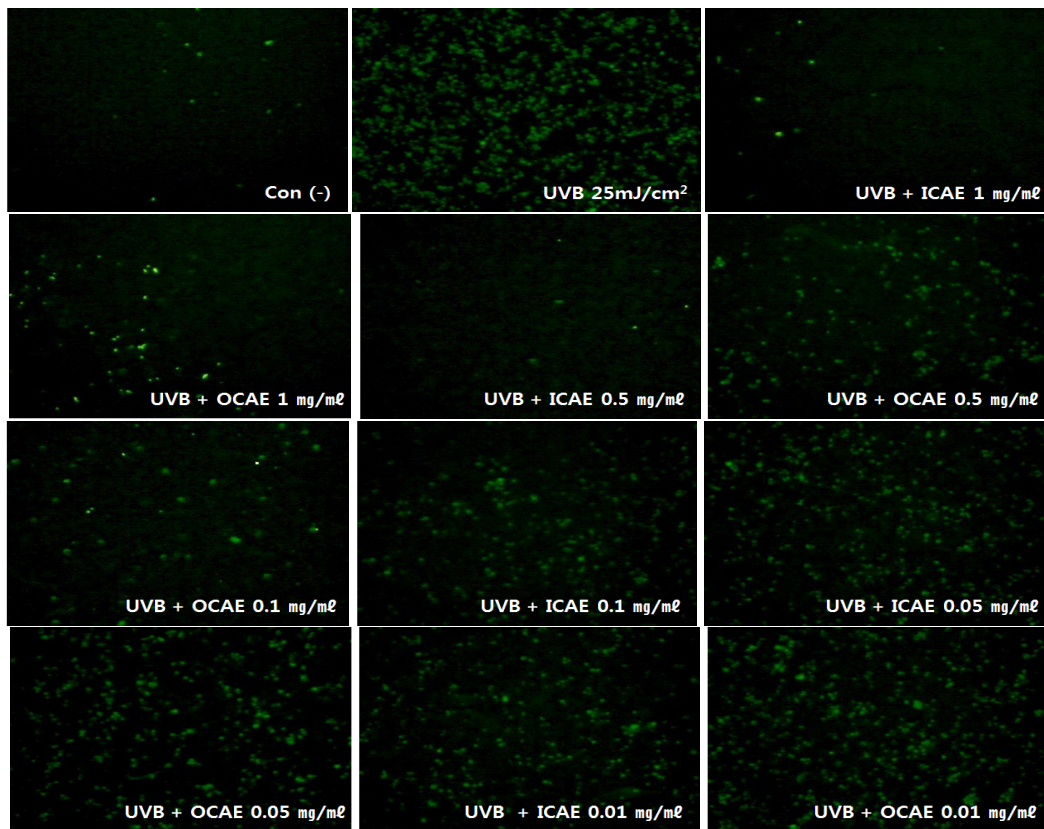


Fig. 6. Protective effect of ICAE and OCAE against UVB-induced ROS generation in HaCaT cell. HaCaT cell were exposed to UVB(25 mJ/cm²) and treated with various concentrations(0. 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml) ICAE and OCAE. After incubation, Intracellular ROS levels generated by UVB radiation were detected using a fluorescence microscopy after DCFH-DA staining. Significantly different from only UVB-exposed HaCaT cell.

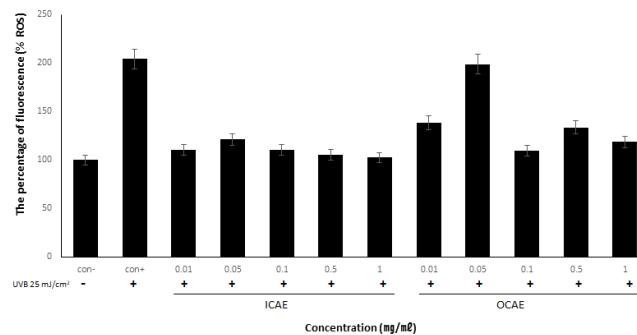


Fig. 7. Intracellular antioxidant activity of *Arthrospira platensis* ethanol extracts under various cultivation. Intracellular ROS levels generated by UVB radiation were detected using a fluorometer microscope after DCFH-DA staining. As a result, both ICAE and OCAE decreased fluorescence intensity in a dose-dependent manner compared to the positive control group only irradiated with UVB. The data is expressed as percentage cell viability and represent the means.

4. 결론

본 연구에서는 재배방법이 다른 미세조류 스피룰리나 에탄올추출물에 대한 항산화 활성과 UVB에 의한 손상을 예방하는 효능에 대해 연구하여 다음과 같은 결과를 확인하였다.

1. 항산화 활성 (DPPH radical scavenging activity, SOD-like activity)에서는 농도 의존적으로 높은 활성을 나타내었고 실내배양 스피룰리나 에탄올추출물과 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물의 항산화 활성은 유사한 수치를 나타내었다. 한편, 대조군인 ascorbic acid 보다 낮은 항산화 활성을 나타내었다.
2. 실내배양 및 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물이 UVB에 의한 제브라피쉬 배아의 ROS의 생성이 농도 의존적으로 감소하는 효과를 확인하였고 실내배양 스피룰리나 에탄올추출물이 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물보다 ROS의 생성을 감소시키는 효과를 확인하였다.
3. HaCaT 세포에 실내배양 및 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물을 처리하여 WST-1 assay를 통해 세포의 생존율을 확인한 결과 실내배양 스피룰리나 에탄올추출물의 세포 생존율은 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 mg/ml의 농도에서 90% 이상의 높은 생존율을 보였으나 야외배양 스피

룰리나 에탄올추출물의 세포 생존율은 0.5, 1 mg/ml의 농도에서 60, 67%로 상대적으로 낮은 생존율을 보였다. 한편, 실내배양 및 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물 모두 0.01 mg/ml 이하의 농도에서는 세포 생존율이 증가하는 것을 확인하였다.

4. UVB에 의한 손상으로부터 HaCaT 세포의 실내배양 및 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물의 세포보호 효과를 확인한 결과 실내배양 및 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물이 UVB에 의해 손상된 세포내 ROS의 생성이 농도 의존적으로 감소하는 효과를 확인하였고 실내배양 스피룰리나 에탄올추출물이 야외배양 스피룰리나 에탄올추출물보다 ROS의 생성을 감소시키는 효과를 확인하였다.

본 연구의 결과는 실내배양 스피룰리나 에탄올추출물이 자외선에 대한 피부보호용 화장품 소재로서의 활용 가능성이 높다고 사료된다.

감사의 글

“이 논문은 2017년 해양수산부 재원으로 한국 해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(해양 미세조류를 이용한 유기미네랄 강화 건강개선 기능성 소재 개발)”

References

1. K. J. Park, S. H. Park, J. K. Kim, "Anti-wrinkle Activity of *Acnthonanax senticosus* Extract in ultraviolet B (UVB)-induced Photoaging", *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.39, No.1 pp. 42-46, (2010).
2. D. S. Kim, B. K. Jeon, N. Y. Lim, Y. J. Mun, Y. E. Lee, W. H. Woo, "Ethanol Extract of *Dioscorea batatas* Stimulates Procollagen Production and Reduces UVB-induced MMPs Activity in Skin", *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*, Vol.27, No.2 pp. 183-188, (2013).
3. M. K. kwak, J. H. Kim, "The Radiative Characteristics of EUV-B over the Korean Peninsula and Exposure Time for Synthesizing Adequate Vitamin D, Atmosphere", *Korean Meteorological Society*, Vol.21 No.1 pp. 123-130, (2011).
4. J. Kim, S. S. Park, N. Y. Cho, W. G. Kim, H. K. Cho, "Recent Variations of UV Irradiance at Seoul 2004-2010", *Atmosphere. Korean Meteorological Society*, Vol.21, No.4 pp. 429-438, (2011).
5. J. W. Yang, C. S. Kwak, "Inhibitory effect of *Aralia elata* ethanol extract against skin damage in UVB-exposed human keratinocytes and human dermal fibroblasts", *J. Nutr Health*, Vol.49, No.6 pp. 429-436, (2016).
6. Y. S. Jeong, H. K. Jung, J. H. Hong, "Protective Effect of Mulberry and *Lithospermum erythrorhizon* Extracts on Anti-aging against Photodamage", *J. Korea Soc Food Sci Nutr*, Vol.42 No.11 pp. 1744-1752, (2013).
7. T. Y. Kim, S. A. Jang, Y. B. Chae, J. P. Bak, "Antioxidant and Protective Effects of *Leonurus sibiricus* L. Extract on ultraviolet B (UVB)-induced Damage in Human Keratinocytes", *Korean J. Plant Res*, Vol.29, No.1 pp. 011-019, (2016).
8. H. C. Park, T. K. Jung, K. S. Yoon, "Antioxidative Activity of Extract of *Cornus walteri* Wanger Leaves in Human Dermal Fibroblast Irradiated by UVB", *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.29, No.6 pp. 432-436, (2014).
9. M. C. Oh, K. C. Kim, C. I. Ko, Y. S. Ahn, J. W. Hyun, "Peptides-derived from Scales of *Branchiostegus japonicus* Inhibit ultraviolet B-induced Oxidative Damage and Photo-aging in Skin Cells", *Journal of Life Science*, Vol.25, No.3 pp. 269-275, (2015).
10. Y. S. Kim, J. W. Hwang, W. B. Shin, J. S. Park, "Antioxidant Activity and Protective Effect of Extracts from *Vitis vinifera* Root on t-BHP Induced Oxidative Stress in Chang Cells", *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.47, No.2 pp. 136-142, (2018).
11. O. K. Kim, D. E. Nam, M. J. Lee, N. G. Kang, J. Y. Lim, J. M. Lee, "Protective Effects of Green Tea Seed extract against UVB-irradiated Human Skin Fibroblasts", *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.43, No.1 pp. 1-8, (2014).
12. C. Maria, W. Birgit, B. Giorgia, V. C. G. Carla, S. Hermann, J. D. Pidder, "Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging", *Biogerontology*, Vol.18, No.4 pp. 499-516, (2017).
13. S. Y. Kim, D. K. Ahn, S. K. Park, J. Y. Lee, W. G. Kim, Y. C. Sim, S. J. Lee, "Protective Effects of Jaummi-dan(Ciyinmei-dan) against Skin Photoaging in Hairless Mouse Model and UVB-induced Damage in Human Fibroblasts", *J. Korean Oriental Med*, Vol.23, No.3 pp. 43-53, (2002).
14. S. Y. Lee, B. A. Kim, D. C. Shin, K. S. Park, J. C. Yang, "A Study of Antimicrobial Effect of *Zostera marina* Extracts", *J. of Korean Oil Chemists Soc*, Vol.33 No.2 pp. 225-231, (2016).

15. Y. J. Kim, S. C. Ha, D. U. Kim, I. S. Shin, "Antibacterial activity of ethanol extracts from marine micro-algae", *Korean J. Food Sci Technol*, Vol.49, No.4 pp. 390-395, (2017).
16. M. J. In, "Optimization of Proteolytic Enzyme Treatment for the Production of Spirulina Extract", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.9, No.2 pp. 550-555, (2008).
17. S. J. Jung, H. J. Lee, S. H. Li, "A Study on the effect of spirulina-containing Cosmetics Using Micro-Needle", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.18, No.6 pp. 269-276, (2017).
18. P. Molyneux, "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity", *J. Sci Technol*, Vol.26, No.2 pp. 211-219, (2004).
19. G. Maria, F. Virginia, A. B. Lidia, R. M. Ivan, S. Gonzalez, "In vivo UVB-photoprotective activity of extracts form commercial marine macroalgae", *Food and Chemical Toxicology*, Vol.50, pp. 1109-1117, (2012).
20. T. Y. Kim, J. P. Bak, "Antioxidant and protective effects of Gagam-Danguieumja on ultraviolet B-induced damage in human keratinocytes", *J. Physiol & Pathol Korean Med*, Vol.29, No.6 pp. 457-484, (2015).
21. S. J. Kim, D. G. Kim, J. B. Park, T. K. Lee, Phenolic Content, "DPPH Radical Scavenging, and Tyrosinase Inhibitory Activities of Ecklonia cava Extracted with the Ultrasonic Wave Method", *Journal of Life Science*, Vol.23, No.7 pp. 913-918, (2013).
22. H. D. Hong, N. G. Kang, S. S. Kim, "Superoxide Dismutase-like activity of Apple Juice Mixed with Some Fruits and Vegetables", *Korean J. Food Sci. Technol*, Vol.30, No.6 pp. 1484-1487, (1998).
23. A. V. Peskin, C. C. Winterbourn, "A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt(WST-1)", *Clinica Chimica Acta*, Vol.293, No.1-2 pp. 157-166, (2000).