

파프리카 발효즙의 화장품 소재개발 연구

배수정[†] · 송민현 · 오정영 · 배준태 · 김진화 · 이근수

(주)잇츠한불 기술연구원

(2018년 3월 14일 접수, 2018년 5월 8일 수정, 2018년 5월 10일 채택)

Development of Cosmetic Ingredient by Fermented Paprika Juice

Soo Jung Bae[†], Min Hyeon Song, Jung Young Oh, Jun Tae Bae,
Jin Hwa Kim, and Geun Soo Lee

R&D Center, IT'S HANBUL, 634, Eonju-ro, Gangnam-gu, Seoul 06101, Korea

(Received March 14, 2018; Revised May 8, 2018; Accepted May 10, 2018)

요약: 본 연구에서는 천연물 화장품 원료의 유기용매 추출법과 미생물을 이용한 발효법의 장단점을 보완하기 위해, 생(生) 천연물에 미생물을 이용한 발효를 통해 과즙을 만드는 새로운 제조법으로 화장품 소재를 개발하였다. 천연물은 다양한 색상과 비타민이 풍부한 것으로 알려진 파프리카 중 두 가지 색상(빨간색, 녹색)을 선정하였고, 발효에 사용된 미생물로서 당분해 효소능이 있는 유산균(*Lactobacillus plantarum*)을 이용해 파프리카에 접종하여 발효하였다. 먼저 고압으로 착즙한 파프리카 생즙 2종과 유산균으로 발효한 발효즙 2종의 생리활성 변화를 확인해 보았다. 총 페놀함량과 총 플라보노이드 함량 측정 실험 결과, 파프리카 생즙보다 발효즙에서 모두 함량이 높았으며 특히 빨간색 파프리카 발효즙에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 프리라디칼 소거효과와 지질과산화 억제효과 역시 파프리카 생즙에 비해 발효즙에서 우수한 항산화 효과가 나타났으며, 그중 빨간색 파프리카 발효즙의 효과가 가장 높았다. 항산화 효과가 높은 빨간색 파프리카 발효즙을 이용해 MMP-1 발현 실험을 한 결과 농도 의존적으로 MMP-1 mRNA와 MMP-1 단백질의 발현을 억제하였다. 노화에 따른 glycation (당화현상) 실험의 경우, 파프리카 발효즙에서 상대적으로 anti-glycation 효과로 최종 당화산물(advanced glycation end-products, AGEs) 생성 억제 활성이 높아 항산화효과와 밀접한 연관성을 나타내었다. 또한, 세포노화 지표물질인 senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal) 활성을 사람 섬유아세포(HDF)를 이용하여 실험한 결과, 파프리카 발효즙을 처리하였을 때 노화에 의해 염색된 세포의 수가 감소하여 세포의 senescence를 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 결론적으로, 파프리카는 생즙보다 유산균을 이용한 발효즙이 항산화 효과와 항노화 효능이 우수했으며, 그중 빨간색 파프리카 발효즙이 가장 우수한 항산화와 항노화 효능을 가져 이를 이용한 항산화 및 항노화의 천연 신소재로 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

Abstract: In this study, cosmetic materials were developed using a new method of making juice through the fermentation of raw natural materials with microorganisms in order to supplement the advantages and disadvantages of an organic solvent extraction method and a microbial fermentation method. The natural products were selected from two colors (red, green) of paprika known to be rich in various colors and vitamins. The microorganisms used for fermentation were fermented by inoculating paprika with lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum*) having sugar-hydrolyzed ability. First, we investigated the changes of physiologically active substances of two kinds of paprika juice and two kinds of fermented paprika juice. Total phenols content and total flavonoids content were higher in the fermented paprika juice than in the paprika juice, and especially in the fermented red paprika juice. Free radical scavenging effect and lipid peroxidation inhibitory effect were also showed an excellent antioxidative effect on paprika fermented juice, among

[†] 주 저자 (e-mail: bsj0910@itshantul.com)
call: 02)3450-0216

which the effect of red paprika fermentation juice was the highest. The expression of MMP-1 in fermented red paprika juice with high antioxidant activity was inhibited by concentration-dependent expression of MMP-1 mRNA and MMP-1 protein. In the glycation experiments with aging, the anti-glycation effect of fermented paprika juice was highly inhibited by the production of advanced glycation end-products (AGEs), which was closely related to the antioxidant effect. In addition, the activity of senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal), an indicator of cell senescence, was measured using human dermal fibroblast (HDF). The results showed that the cell senescence was inhibited when the cells were treated with fermented paprika juice. In conclusion, fermented paprika juice using lactic acid bacteria showed better antioxidative and anti-aging effects than paprika juice. Among them, fermented red paprika juice has the best antioxidant and anti-aging effect and can be applied as natural new material of antioxidant and anti-aging.

Keywords: *Paprika, fermentation, anti-glycation, antioxidant, anti-aging*

1. 서론

기존의 천연물 화장품 조성물을 제조하는 방법인 추출법과 미생물 발효법이 아닌 다른 색다른 방법으로 시료를 제조하고, 천연물이 가진 본연의 특성을 모두 나타내고자 생즙이라는 방법을 선별하였다. 즙은 동의보감에서 사용되는 치료를 목적으로 하는 제조법 중 하나로써, 과일과 채소에 함유된 모든 영양소뿐만 아니라 함유된 효소를 사용할 수 있게 되어 섭취 시 신진대사가 활발해져 비만예방 및 체질개선을 할 수 있다[1].

과일 및 채소류 중 수분함량이 90%이며, 다양한 색상과 비타민이 풍부한 것으로 알려진 파프리카는 고추 속에 있는 외래종이다. 고추(*Capsicum*) 속에는 *Capsicum annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, 그리고 *C. pubescens*가 있으며, 파프리카는 이 중 고추(*annuum*)에 속하는 식물로 학명은 *Capsicum annuum* L.이다[2]. 이러한 파프리카는 외래종임에도 불구하고, 시설에서 재배하는 방법으로 2006년에 28,145톤, 2012년에는 50,642톤에서 2013년에는 62,622톤으로 2006년보다 약 2.2배 생산량이 증가하였다[3]. 처음에는 종자를 모두 수입하였으나, 수요가 늘어남에 따라 2007년부터는 정부에서 파프리카 사업단이 구성되어, 현재 다양한 파프리카 종자를 개발하여 종자 수입비용을 절감하고 있는 추세이다. 고추 속에 속하는 것들은 대부분이 항산화 기능을 하는 것으로 잘 알려져 있으며, carotenoid, capsaicinoid, phenolics 화합물, 플라보노이드 등이 그 기능을 하는 주요 인자로 알려져 왔다. 이 인자들 중 capsaicin은 항염증 효능의 주된 lipophillic alkaloid로, 고추 속 중 *baccatum*이 항염증에 효과적이라는 연구도 있다[4]. 파프리카는 capsanthin과 capsorubin로 인해 빨

간색, 주황색, 노란색, 녹색, 보라색 등 다양한 색상으로 존재한다. 빨간색은 lycopene, 주황색은 carotenoids, 노란색은 carotene, 녹색 파프리카는 ascorbic acid가 다른 파프리카들이 비해 함량이 많다[5]. 이처럼 색상별 함량비가 다르지만, 비타민 A와 비타민 C 함량이 다른 과일이나 채소에 비해 2배에서 최대 10배 이르고, 필수 아미노산의 함량도 풍부할 뿐만 아니라 포만감을 주어 다이어트 채소로 수요가 증가하고 있다[6].

미생물을 이용한 발효법은 우리나라에서는 특히 친근한 발효 식품 제조법으로, 그 예로는 김치, 된장, 간장 등이 있다. 이 방법은 식품 뿐 아니라, 현재에는 EM 균을 이용한 발효사료나 균에서 유래한 효소제, 항생제 및 항균제, 생물농약 등 다양한 분야에서 사용되고 있는 보편적인 방법이다. 이러한 미생물 중 생육 시 산을 배출하여 위의 산성조건에서도 생존이 가능하며 항암물질과 Bacteriocin을 생성하는 것으로 알려진 유산균을 이용한 발효법을 선별하였다[7]. 이러한 유산균을 이용한 발효 물은 화장품에서 피부미용의 목적으로 익히 사용되고 있다.

본 연구에서는 통상적인 발효 추출물 제조법과 다르게 과일 및 채소 내 모든 유용성분들을 이용할 수 있는 즙을 짜는 방법으로, 미생물 무처리한 생즙과 미생물을 처리한 발효즙을 비교하여 항산화 및 피부세포 노화를 개선시킬 수 있는 효능이 있는지 알아보았다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 실험재료 및 기기

실험에 이용한 파프리카는 경상남도 진주에서 생산한 빨간색과 녹색을 각각 구매하여, 고압으로 즙을 짜

서 400 mesh로 걸러낸 샘플을 생즙시료로 하였다.

발효에 사용된 유산균은 김치에서 분리된 유산균 (*Lactobacillus plantarum*, L. P)을 MRS 배지(Lactobacilli MRS broth, difco) 50 mL에 접종하여 37 °C, 150 rpm으로 24 h 배양한 것을 사용하였다. 배양된 유산균을 과프리카 빨간색과 녹색에 접종하여 37 °C, 150 rpm으로 5일 간 발효 후, 고압으로 즙을 짜내어 400 mesh로 걸러낸 샘플을 과프리카 발효즙 시료로 사용하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 총 폴리페놀 함량

시료 0.2 mL에 물 1.8 mL와 2 N Folin-ciocalteu phenol reagent 0.2 mL를 혼합한 뒤 실온에서 3 min 반응시킨 후, 7% Na₂CO₃ 0.4 mL와 물 1.4 mL를 추가하여 1 h 동안 실온에서 반응시킨다. 푸른색 혼합물이 생성되면 UV-VIS spectrophotometer (Evolution 201, Thermo scientific, USA) 765 nm에서 측정한다. 지표물질로는 Gallic acid를 사용하여 10, 100, 125, 250, 500, 1000 ppm을 765 nm에서 측정된 값으로 표준곡선을 작성 한 뒤, 시료들의 값을 대입하였다. Control로는 물 0.2 mL를 사용하였다.

2.2.2. 총 플라보노이드 함량

시료 1.5 mL에 2% AlCl₃·6H₂O 1.5 mL를 혼합하여 상온에서 10 min 반응시킨 후, UV-VIS spectrophotometer (Evolution 201, Thermo scientific, USA) 367 nm에서 측정한다. 지표물질로는 Quercetin을 사용하여 27, 81, 242, 725 ppm을 367 nm에서 측정된 값으로 표준곡선을 작성한 뒤, 시료들의 값을 대입하였다. Control로는 물 0.2 mL를 사용하였다.

2.2.3. DPPH에 의한 프리라디칼 소거 효과

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Aldrich, USA)를 이용하여 시료들의 자유라디칼 소거효과를 측정하는 Blois법을 활용하여 항산화 실험을 하였다[8]. 동일한 양의 시료와 함께 0.1 mM DPPH methanol 용액을 첨가하여 vortex mixer로 혼합한 후 실온에서 10 min 반응시킨다. 반응이 완료된 후 spectrophotometer를 이용하여 565 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.4. 지질과산화 억제 효과

40 mM phosphate buffer (pH 7.4)에 Linoleic acid (2.85 mg/mL)와 Tween 20 (2.85 mg/mL)을 혼합하여 반응기질로 사용하였다. 과산화 유도는 기질용액과 시료를 혼합하여 80 °C에서 120 rpm으로 7 h 반응시켰다. 과 산화된 시료에 산화정지를 위해 3.6% BHA와 600 μL TBA-TCA 용액(thiobarbituric acid, 15% trichloroacetic acid, 0.25 N HCl)을 혼합하여 boiling water bath에서 30 min 반응 후 냉각해 0.6 mL chloroform을 첨가하여 3000 rpm에서 5 min 원심 분리한 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하여 지질과산화 억제효과를 측정하였다[9].

2.2.5. 세포 배양

신생아의 표피조직에서 분리한 human dermal fibroblast (HDF)는 Modern Tissue Technology (MTT, Korea)로부터 구입하여, DMEM/F12 (3 : 1) 배지에 10% FBS (fetal bovine serum), 1% penicillin-streptomycin을 첨가하여 37 °C, 5% CO₂ 조건하에 배양하였다. 배양액을 trypsinization으로 계대 배양한 뒤 4-8 세대 세포를 실험에 이용하였다.

2.2.6. 세포 생존율 측정

MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] 정량은 Mosmann의 방법을 변형하여 실시하였다[10]. HDF를 2 × 10⁴ cells/well 농도로 96-well plate의 well에 각 시료들을 첨가 후 CO₂ 배양기에서 24 h 배양하였다. 각 well에서 배지들을 제거하고 MTT solution (5 mg/mL in PBS)을 첨가하였다. 37 °C에서 2 h 반응시킨 후 MTT solution을 제거하고 각 well에 100 μL의 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 첨가하여 15 - 20 min plate shaker로 흔들어 준 후 microplate reader (Model ELX 800, BIO-TEK Instruments Inc, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.7. UVA 조사 및 시료의 처리

HDF을 1.5 × 10⁵ cells/mL의 농도로 35 mm dish에 약 80%의 confluency에 도달할 때까지 배양한다. UV조사 전에 배양배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum을 제거한 후 PBS 상태에서 6.3 J/cm² UVA (UVA F15T8BLB, Sankyo Denki, Japan)를 조사하였다. UVA

조사 후 배양배지는 FBS를 첨가하지 않은 DMEM/F12 (3 : 1) 배지에 각 시료들을 투여하여 24 h 배양하였다.

2.2.8. MMP-1 발현저해 측정(ELISA법)

HDF에 UVA를 조사 후 시료를 처리하여 24 h 배양한 배지를 96 well plate에 분주하여 4 °C에서 overnight 하여 coating하였다. PBS-T (phosphate buffered saline + 0.05% Tween 20)로 3번 세척하고 3% BSA (bovine serum albumin)/PBS로 37 °C, 2 h 동안 blocking한 후 monoclonal anti-MMP-1 (mouse)을 1 : 1000으로 blocking solution (3% BSA)에 희석하여 150 μ L씩 첨가하고 37 °C, 2 h 반응시켰다. Anti-mouse IgG alkaline phosphatase conjugate를 1 : 1000으로 blocking solution에 희석하여 150 μ L씩 분주하고 37 °C, 90 min 반응시킨 후 PBS-T로 세척한 다음 diethanolamine buffer에 1 mg/mL pNPP (p-nitrophenyl phosphate)를 포함한 기질용액 150 μ L를 첨가하여 실온에서 30 min 반응시켰다. 3 N NaOH 50 μ L를 첨가하여 반응을 완전히 중지시킨 후 microplate reader를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.9. RNA 분리 및 RT-PCR

Total RNA추출은 RNeasy mini kit (Qiagen, Maryland, Germany)을 이용하였다. cDNA합성은 1 μ g의 total RNA를 oligo (dT)15 primer, dNTP (0.5 μ M), 1 unit RNase inhibitor 그리고 4 unit Omniscript reverse transcriptase (Qiagen, Hilden, Germany)로 37 °C에서 60 min, 93 °C에서 5 min heating 시켜 반응을 중지시켰다. Polymerase Chain Reaction (PCR)은 cDNA로부터 MMP-1, GAPDH를 증폭하기 위하여 1 μ L cDNA, 0.5 μ M의 5'과 3'primer, 10 X buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 0.1% Triton X-100), 200 μ M dNTP, 25 mM MgCl₂, 2.5 unit *Taq* polymerase (Qiagen, Hilden, Germany)를 섞고 distilled water로 전체를 25 μ L로 맞추어 다음 PCR을 실시하였다. PCR 후 시료들을 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 MMP-1과 GAPDH 유전자의 발현을 확인하였다.

2.2.10. Collagen Glycation Assay (Glyceraldehyde)

당의 카르노닐기와 단백질의 아미노기와 결합한 최종당화산물(AGEs)의 생성을 억제하는 효과인 anti-gly-

cation을 확인하는 시험을 진행하였고, 이는 최종당화산물의 단백질 교차결합 부분 일부는 형광을 띄어 반응물의 생성 정도를 형광도로 측정할 수 있다. 5 mL의 neutralizing solution을 첨가한 50 μ L의 the collagen solution을 96 well black plate에 분주하여 37 °C에서 18 - 24 h 동안 고습도배양기로 배양한다. 양성대조군인 20 mM aminoguanidine solution을 sample dilution buffer로 희석하고, 각 시료들은 sample dilution buffer로 희석하고 0.22 μ M로 필터한 뒤 well에 각각 40 μ L 분주한다. 10 μ L 500 mM glyceraldehyde solution을 마지막으로 각 well에 첨가하여 혼합한다. fluorescent microplate reader로 370 nm와 440 nm로 바로 측정한다. 37 °C에서 24 h 동안 고습도배양기에 배양 후, 다시 흡광도를 측정하여 배양 전과 후의 형광값을 비교하여 anti-glycation 효과를 확인한다.

2.2.11. Cell Senescence (SA beta-galactosidase)

세포 노화 측정의 바이오마커인 β -galactosidase를 이용한 염색방법인 SA- β -gal assay를 통해 측정하였고, 이를 위해 senescence detection kit (sigma, USA)를 사용하였다. HDF를 60 mm culture dish에 접종하여 24 h 동안 배양하여 안정화하여 시료를 처리한 후 24 h 배양하였다. 배양된 세포는 배지를 제거하고 1 mL PBS로 1회 세척 후 0.5 mL fixing solution을 첨가하여 상온에서 15 min 방치하여 고정화하였다. 고정된 세포는 1 mL PBS로 2번 세척한 후 staining solution mix (staining solution 470 μ L, staining supplement 5 μ L, 20 mg/mL X-gal in dimethylformamide 25 μ L)를 0.5 mL씩 첨가하고 37 °C에서 24 h 동안 염색을 하였다. 염색된 세포는 1 mL PBS로 세척 후 1 mL 70% glycerol을 넣고 광학현미경(Olympus, Japan)으로 염색된 세포 수를 측정하였다. 염색된 세포의 측정은 각 plate의 동일한 5곳을 위치하여 사진을 촬영한 후, 전체 세포의 수와 염색된 세포의 수를 계수하여 시행하였다.

2.3. 자료 분석 및 통계처리

각 시료별 평균 표준편차(Standard deviation, S.D)로 표기하였고, 실험데이터는 대조군과 샘플처리 그룹 간 Student' t-test법을 이용하여 처리하였다. 통계적 유의성은 p value가 0.05 미만인 것으로 판정하였다.

Table 1. Total Polyphenols and Flavonoids Contents for Treatments Results are the mean ± S.D. of triplicate samples. RP ; Red paprika juice, FRP; Fermented red paprika juice, GP; Green paprika juice, FGP; Fermented green paprika juice

Treatment	Total Polyphenols content (μg/mL)	Total Flavonoids content (μg/mL)
RP	290 ± 12.3	317 ± 8.95
FRP	541 ± 11.2	801 ± 13.5
GP	224 ± 11.45	239 ± 7.24
FGP	484 ± 10.87	755 ± 11.74

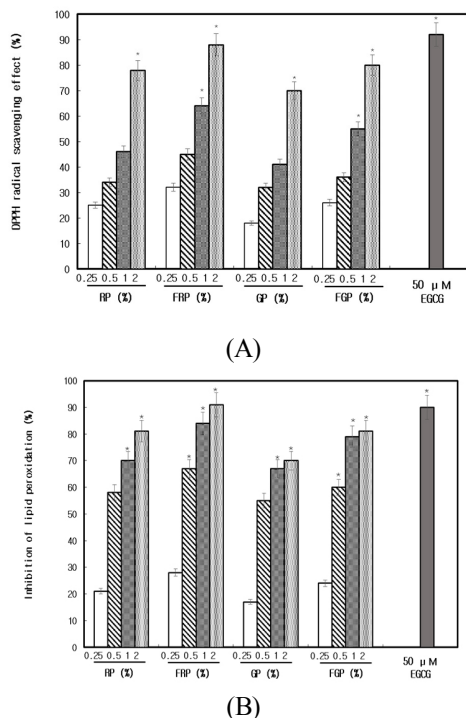


Figure 1. Antioxidant activity for 4 paprika juices. (A) DPPH radical scavenging effect ; EGCG was used as a positive control, (B) lipid peroxidation inhibition ; EGCG was used as a positive control. Results are the mean ± S.D. of triplicate samples. **p* < 0.05 compared with control group. RP ; Red paprika juice, FRP; Fermented red paprika juice, GP; Green paprika juice, FGP; Fermented green paprika juice.

3. 결과 및 고찰

3.1. 시료 내 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 변화

항산화능과 생리활성에 영향을 미치는 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하여 파프리카를 이용한 생즙과 발효즙의 차이를 확인하였다. 총 폴리페놀 함

량 측정 결과, 파프리카 생즙 2종과 발효즙 2종 모두 발효즙에서 높은 수치를 나타냈으며, 그중 빨간색 파프리카 발효즙의 폴리페놀과 플라보노이드 총 함량이 541, 801 μg/mL로 가장 높은 함량을 나타냈다. 파프리카 생즙과 발효즙을 비교 시 총 폴리페놀 함량에서는 빨간색 파프리카 발효즙이 생즙보다 1.8배 높았고, 녹색 파프리카 발효즙은 생즙보다 2.1배 높은 수치를 나타내었다. 총 플라보노이드 함량에서는 빨간색 파프리카 발효즙이 생즙보다 2.5배 증가하였고, 녹색 파프리카 역시 발효즙이 생즙보다 3.2배 증가하였다(Table 1). 이 결과들로 보아 파프리카 생즙보다는 발효즙에서 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 성분이 증가함을 알 수 있었다.

3.2. 프리라디칼 소거효과와 지질과산화 억제효과

DPPH radical은 반응 시 청남색의 색차를 비색 정량하여 시료가 갖는 free radical의 능력을 측정할 수 있다. 본 실험에서는 파프리카를 이용한 생즙과 발효즙의 항산화 효과를 알아보기 위해 DPPH 실험법을 이용하였다. 양성대조군으로는 항산화 효과가 알려진 EGCG를 사용하였다. 그 결과, 생즙 2종보다 발효즙 2종에서 프리라디칼 소거효과가 높았으며, 특히 빨간색 파프리카 발효즙이 2% 농도에서 90% 정도의 프리라디칼 소거효과가 나타났으며 통계적으로 유의한 차이가 나타났다.

지질은 체내에서 발생하는 프리라디칼의 공격을 받아 과산화물들을 형성하여 여러 가지 만성질환을 초래한다. 이러한 지질의 과산화억제를 측정하기 위해 linoleic acid를 이용한 실험을 통해 파프리카 생즙 2종과 파프리카 발효즙 2종의 지질과산화 억제효과를 측정하였다(Figure 1). 그 결과, 파프리카 생즙보다는 발효즙에서 지질과산화 억제율이 높았으며, 발효즙 중 빨간색 파프리카 발효즙 2% 농도에서는 90% 이상의 지질

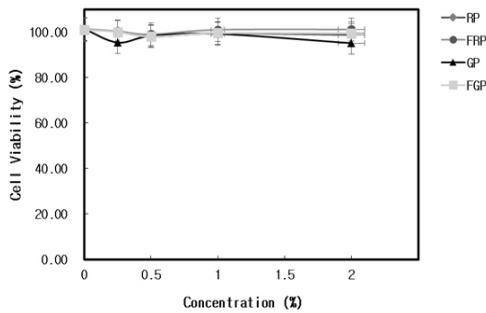


Figure 2. Cell viability of 4 paprika juices under the 4 concentration. Results are the mean ± S.D. of triplicate samples. RP ; Red paprika juice, FRP; Fermented red paprika juice, GP; Green paprika juice, FGP; Fermented green paprika juice.

과산화 억제효과를 보였다. 이 결과는 통계적으로 유의한 차이가 나타났다.

3.3. 세포독성 평가

시료의 세포독성 측정과 더불어 실험에 사용될 농도 범위 결정을 위해 HDF를 이용한 MTT assay를 시행하였다. HDF에서 파프리카 생즙 2종과 파프리카 발효즙 2종의 세포독성을 확인한 결과, 시료 모두 2%의 농도로 처리 시 HDF의 생존에 영향이 없는 것으로 확인되었지만(Figure 2), 자외선 조사조건에서는 2%의 농도에서 섬유아세포에 영향을 나타내어 이후 실험에서는 섬유아세포에 영향을 미치지 않는 1%의 농도부터 실험을 진행하였다(data not shown).

3.4. MMP-1 발현저해 효과

UVA에 의해 세포에서 JNK/p38 활성도가 증가하고 전사인자인 activator protein-1 (AP-1)의 신호전달경로를 통해 MMP-1 발현을 증가시켜 피부에서 교원질의 결핍을 초래하여 피부 광노화 연구에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. MMP-1의 발현에 항산화실험결과 가장 높은 수치를 나타낸 빨간색 파프리카 발효즙이 미치는 영향을 알아보기로 하자 HDF에 6.3 J/cm² UVA를 조사하고 각 시료를 첨가하여 24 h 배양한 후 MMP-1 발현저해 효과를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용해 흡광도를 측정하였다. 그 결과 빨간색 파프리카 발효즙은 농도 의존적으로 MMP-1 발현저해 효과를 나타내었으며, 1%의 농도로 처리 시

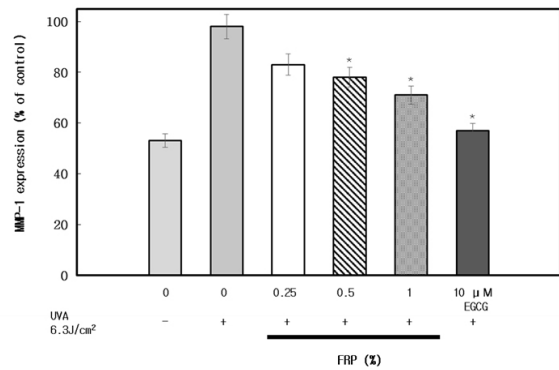


Figure 3. The effect of fermented red paprika juice on the production of MMP-1 by the irradiated human dermal fibroblast. The cells were treated with various concentration of the extract for 24 h. The results were expressed as the average of triplicate samples with S.D. **p* < 0.05 compared with control group.

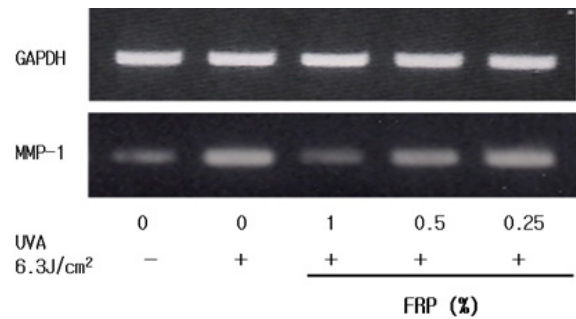


Figure 4. The effect of fermented red paprika juice on MMP-1 mRNA expression in human dermal fibroblast irradiated with UVA. Fibroblast cultures were treated with various concentration of fermented red paprika juice 24 h. Total RNA extracted from human dermal fibroblast was analyzed by RT-PCR.

MMP-1 발현저해 효과는 29%를 나타냈으며, 양성대조군인 EGCG는 10 μM에서 43%의 MMP-1 발현저해 효과를 나타내었다(Figure 3). 빨간색 파프리카 발효즙이 HDF에서 UVA에 의해 발현되는 MMP-1 mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 RT-PCR을 한 결과, 단백질 발현결과와 동일하게 농도 의존적으로 MMP-1 mRNA 발현을 저해하는 것으로 나타났다(Figure 4).

3.5. Glycation 억제 효과

파프리카 생즙과 발효즙이 노화 관련 단백질 변성에 대한 영향을 확인하기 위해 실험을 진행하였다. 본 실험은 glycation이 되면 형광물질이 형성되는데, 이 형광

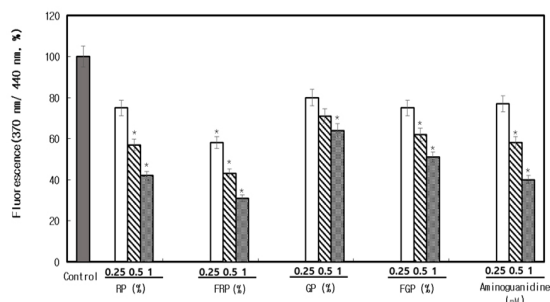


Figure 5. Anti-glycation effects of 4 paprika juices on glyceraldehyde derived AGE formation. Collagen gel was incubated with glyceraldehydes in the absence (control) and presence of various concentrations from 4 paprika juices and aminoguanidine for 24 h, respectively. Aminoguanidine was used as a positive control. Fluorescence of samples was measured at Ex 370 nm and Em 440 nm. Results were expressed as the average of triple determinations with S.D. **p* < 0.05 compared with control group. RP ; Red paprika juice, FRP; Fermented red paprika juice, GP; Green paprika juice, FGP; Fermented green paprika juice.

물질을 배양 24 h 배양 전후를 측정하여 glycation 정도를 평가하는 실험법으로 실험의 신뢰도를 위해 양성대조군으로 Aminoguanidine을 사용하였다. 그 결과, 파프리카 생즙보다 발효즙에서 최종 당화산물(advanced glycation end-products, AGEs) 생성 억제 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Figure 5).

3.6. Senescence Associated β-Galactosidase 활성 측정결과

파프리카의 생즙과 발효즙이 세포노화에 미치는 영향을 확인하기 위해 SA-β-galactosidase assay를 실시하였다. UVA를 조사 시 노화세포의 비율이 42% 정도 증가하였으며, 사멸된 세포도 관찰되어 UVA가 HDF의 생존을 억제함이 확인되었다. 시료 처리 시 노화세포의 비율이 농도 의존적으로 감소하였고, 파프리카의 생즙과 발효즙 모두 UVA로 인한 세포성장 억제로부터 HDF를 보호함을 확인하였다. 그중 빨간색 파프리카 발효즙이 가장 높은 감소율을 보였다(Figure 6).

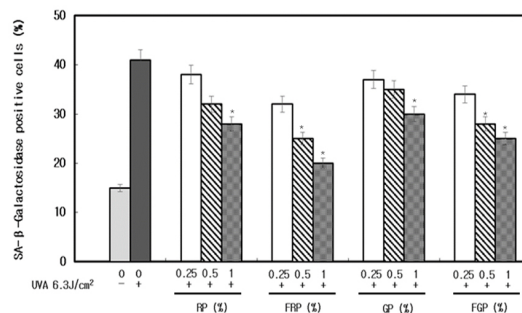


Figure 6. Senescent cells were measured by HDF retreated with 4 paprika juices and indicated by percentage of decrease in comparison with that of UVA-irradiated HDF a control. The values are mean ± S.D. **p* < 0.05 compared with control group. RP ; Red paprika juice, FRP; Fermented red paprika juice, GP; Green paprika juice, FGP; Fermented green paprika juice.

4. 결론

통상의 발효 물 제조방식이 아닌 새로운 원료 제조방법인 즙을 짜는 방식을 사용하여 파프리카 생즙과 유산균을 이용한 발효즙의 항산화 및 항노화 효능을 비교하였다. 그 결과, 파프리카 생즙보다 유산균을 접종하여 발효한 파프리카 발효즙이 유의 있게 항산화와 항노화 효과가 높게 나타났다. 파프리카 발효즙 중에서는 빨간색 파프리카를 이용한 발효즙에서 총 페놀 함량, 총 플라보노이드 함량이 높았고, 자유라디칼 소거능과 지질 과산화 억제효과도 가장 높게 나타났다. 뿐만 아니라, 빨간색 파프리카 발효즙은 노화와 연관된 당화생성 억제활성과 MMP-1 발현 억제효과, β-galactosidase활성 억제효과가 가장 높은 것으로 나타났다.

결론적으로, 파프리카 생즙보다는 발효즙이 유의 있게 항산화와 항노화 효능이 우수하게 나타났고, 항산화와 항노화 효능에서 가장 높은 효능을 나타낸 빨간색 파프리카 발효즙은 항산화와 항노화의 화장품 원료로 다양하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgement

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 경제협력권산업육성사업으로 수행된 연구 결과입니다(R0002894).

References

1. T. Tsurumi, 1 day 1 juice diet, ed. K. M. Lee, 18, *Login*, Seoul (2014).
2. 2013 Greenhouse Status of Vegetables and Vegetables Production, 77, *Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs*, Sejong city (2014).
3. A. R. Zimmer, B. Leonardi, D. Miron, E. Schapoval, J. R. Oliveira, and G. Gosmann, Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: from traditional use to scientific approach, *J. Ethnopharmacol.*, **139**(1), 228 (2012).
4. Safety evaluation of certain food additives, 60, 85, *WHO*, Geneva (2009).
5. J. S. Kim, J. Y. Ahn, T. Y. Ha, H. C. Rhee, and S. N. Kim, Comparison of phytochemical and antioxidant activities in different color stages and varieties of paprika harvested in Korea, *Korean J. Food sci. Technol.*, **43**(5), 564 (2011).
6. W. S. Cha, H. B. Kim, T. H. Lee, J. Y. Kim, K. R. Kim, and H. J. Shin, Nutritional analysis and cosmetic application of *Capsicum annuum* var. *ngulosum* Mill. extracts, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **258** (2011).
7. D. B. Diep, L. S. Hvarstein, and I. F. Nes, Characterization of the locus responsible for the bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum* C11, *J. Bacteriol.*, **178**(15), 4472 (1996).
8. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
9. A. M. Romero, M. M. Doval, M. A. Sturla, and M. A. Judis, Antioxidant properties of polyphenol-containing extract from soybean fermented with *Saccharomyces cerevisia*, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **106**, 424 (2004).
10. T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assay, *J. Immunol. Methods*, **65**, 55 (1983).