

FOOD & CHEMISTRY

# Antioxidant effects and tyrosinase and elastase inhibitory activities of mountain ginseng adventitious roots extracts at different ethanol concentrations

Hyun Min Ko<sup>1</sup>, Tae Kil Eom<sup>2</sup>, Kyeoung Cheol Kim<sup>1</sup>, Chul Joong Kim<sup>3</sup>, Jae Geun Lee<sup>3</sup>, Ju-Sung Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Major in Plant Resource and Environment, SARI, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

<sup>2</sup>Subtropical/Tropical Organism Gene Bank, SARI, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

<sup>3</sup>Hwajinbiocosmetics, Hongcheon 25142, Korea

\*Corresponding author: [aha2011@jejunu.ac.kr](mailto:aha2011@jejunu.ac.kr)

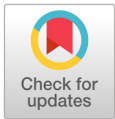
## Abstract

To use mountain ginseng adventitious roots (MGAR), which is superior in functionality compared to ginseng, and to mass produce raw materials as a functional cosmetic material, the antioxidant and cosmeceutical activities of the extracts of MGAR at different ethanol concentrations (0, 20, 40, 60 and 80%) were compared and analyzed. At first, different ethanol concentrations were compared to determine the best solvent for the extraction of phenolic compounds from MGAR. An 80% ethanol extract with 10.07 mg of gallic acid equivalents/g sample and 0.94 mg of quercetin equivalents/g sample was the best solvent in the extraction of phenolic compounds. However, the 60% ethanol extract had the highest antioxidant activity, evident by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, Trolox equivalent antioxidant capacity (35.01 mM Trolox/g sample) and ferric reducing antioxidant power (460.94 mM FeSO<sub>4</sub>/g sample). However, the inhibitory activities of the 80% ethanol extract from the MGAR against tyrosinase and elastase were higher than those of the other extracts. The results of this study show that the extract of MGAR can be used as an easily accessible source of natural antioxidant and as a possible cosmetic ingredient in the cosmeceutical industry. However, the components responsible for the antioxidant and cosmeceutical activities of the MGAR extracts are currently unclear. Therefore, it is suggested that further studies should be carried out to isolate and identify the antioxidant and cosmeceutical components in MGAR.

**Keyword:** cosmeceutical, DPPH radical scavenging, ferric reducing antioxidant power, total phenol, trolox equivalent antioxidant capacity

## Introduction

피부는 신체의 1차 방어기관으로 태양광에 포함된 자외선에 노출이 되거나 과도한 자외선에 의한 광 노화가 발생하여 피부 탄력 감소 및 주름증가 그리고 멜라닌 생성이 증가하게 된다(Ichihashi et al., 2003). 피부노화의 과정은 자외선에 노출된 피부세포에서 활성산소가 증가되고, 증가된 활성산소에 의해서 피부탄력 유지에 필수적인 역할을 하는 collagen 및 elastin을 분해하는



### OPEN ACCESS

**Citation:** Ko HM, Eom TK, Kim KC, Kim CJ, Lee JG, Kim JS. Antioxidant effects and tyrosinase and elastase inhibitory activities of mountain ginseng adventitious roots extracts at different ethanol concentrations. Korean Journal of Agricultural Science. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20180034>

**DOI:** <https://doi.org/10.7744/kjoas.20180034>

**Received:** January 15, 2018

**Revised:** May 3, 2018

**Accepted:** May 23, 2018

**Copyright:** © 2018 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

collagenase, elastase 발현을 증가시킨다(Pillai et al., 2005). 또한 활성산소는 피부세포에서 색소 형성에 관여하는 melanocyte를 자극하여 피부 색소 형성에 중요한 역할을 하는 tyrosinase 발현을 증가시켜 멜라닌합성을 증가시킨다(Gilchrest et al., 1996). 이에, 항산화활성이 우수하면서 동시에 이들 효소들의 발현 및 활성을 억제하는 물질들이 기능성 화장품 원료로 각광을 받고 있다. 그 중에서 천연에서 추출한 물질들이 합성소재에 비하여 피부에 주는 자극이 적어 천연물을 활용한 기능성 향장소재로서의 연구개발이 꾸준히 진행되고 있다.

산삼은 인삼보다 성장속도가 느려 상품가치가 높은 산삼으로 재배하기 위해서는 인삼재배 기간보다 2-3배 정도 더 소요된다(Yoo et al., 2003; Park and Park, 2007). 하지만 산삼의 경우 재배인삼보다 약효가 뛰어나다는 것이 많은 연구를 통해 밝혀지면서 인삼보다 고가에 거래되고 있으나(Ahn et al., 2007), 생산량이 적어 기능성 원료로 사용하기에는 많은 제약이 따르고 있다(Mizuno et al., 1994). 최근 들어 이러한 산삼재배 기술의 단점을 극복하고 산삼을 대량생산하기 위하여 식물 조직배양법을 사용하여 대량생산을 하고 있다. 야생에서 채취한 산삼에서 조직세포를 분리 후 식물성 호르몬을 처리하여 모근과 동일한 유전형질을 가지는 캘러스를 유도하고 이를 배양기에서 배양근 형태로 배양하는 방법이 많이 이용되고 있다(Choi and Jeong, 2003). 생물반응기를 통한 산삼배양근은 짧은 기간에 수확이 가능하며, 일정 시설만 갖추면 연중 대량생산 및 안정적인 원료공급이 가능하고, 이러한 산삼배양근의 생리기능성은 일반 산삼과 동일하며 다양한 약리효과를 가진다(Shin, 2001). 또한 초고압 증숙처리 및 발효 공정에 의해 저분자화 진세노사이드 함량 증진과 생리활성이 증가된 연구도 보고되고 있다(Choi et al., 2012; Kim et al., 2016).

식품가공 소재로서 활용가능성 탐색을 위한 산삼배양근 추출물의 항산화와 관련된 연구는(Kim et al., 2010; Park et al., 2012) 등으로 70% 에탄올 추출물이 증류수 추출물보다 항산화 효과가 있다고 알려져 있다. 또한 산삼배양근 추출물은 항암효과가 있다고 보고되었으며(Lee, 2010) 산삼부정근 추출물은 미백효과가 있다고 보고되어 있다(Yoo et al., 2004). 하지만 항산화활성 탐색을 위한 에탄올 농도별 산삼배양근 추출물의 연구는 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 인삼보다 기능성이 뛰어나면서 원료의 대량생산이 가능한 산삼배양근을 기능성 향장소재로 사용하기 위한 기초자료로써 에탄올 농도를 달리한 산삼배양근 추출물의 항산화활성 및 향장효과를 비교분석하였다.

## Materials and Methods

### 시료의 제조

본 실험에 사용한 산삼배양근은 (주)화진바이오킴코스메틱 (Hwajinbiocosmetics Co, Ltd., Hongcheon, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 건조된 산삼배양근은 분쇄기를 이용하여 0.5 mm로 분쇄하였다. 0.5 mm체로 걸러진 시료는 0, 20, 40, 60 그리고 80% 에탄올을 중량의 10배로 첨가하여 환류냉각 추출기로 70°C에서 180분간 추출하고 여과하였다. 여과한 추출물들을 감압농축기(Hel-VAP Precision, Heidolph, Germany)로 농축시킨 다음 동결건조하여 실험에 사용하였다.

### 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

산삼배양근 추출물의 페놀성 화합물 함량은 Cho et al. (2017)의 방법을 변형하여 측정하였다. 샘플 20  $\mu$ L에 증류수 700  $\mu$ L와 Folin-Ciocalteu 시약 100  $\mu$ L를 혼합하여 2시간 반응시킨 후 20% sodium carbonate를 100  $\mu$ L씩 가하였다. 반응액은 1시간 방치한 후 i-Mark microplate reader (168-1135, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 샘플의 흡광도는 gallic acid로 작성한 표준검량곡선을 이용하여 GAE (gallic acid equivalent)로 나타내었다.

산삼배양근 추출물의 플라보노이드 함량은 Kim et al. (2012)의 방법을 응용하여 측정하였다. 샘플 100  $\mu$ L에 에탄올

300  $\mu\text{L}$ 를 넣고 10% aluminum nitrate 20  $\mu\text{L}$ 와 1 M potassium acetate 20  $\mu\text{L}$ 를 가하였다. 반응액은 증류수 560  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 희석한 뒤 1시간 반응시킨다. 이후 microplate reader를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 표준물질인 quercetin을 이용하여 작성된 표준검량곡선으로 계산하여 QE (quercetin equivalent)로 나타내었다.

### 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 소거능 측정

인공적으로 합성된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)은 전자가 부족한 형태일 경우 보라색을 나타내지만, 항산화 물질로부터 전자를 제공받으면 자외/가시광선 영역에서 흡수파장이 변하여 노란색을 띤다. DPPH radical 소거활성은 이와 같은 원리로 추출물에 대한 radical 소거 정도를 확인할 수 있다. 산삼추출물의 DPPH radical 소거능은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 샘플의 DPPH radical 소거활성을 측정하기 위해 샘플 40  $\mu\text{L}$ 와 0.15 mM DPPH 용액 160  $\mu\text{L}$ 를 혼합하였으며 암실에서 30분간 반응시켰다. 이후 microplate reader를 사용해 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산식은 DPPH radical scavenging activity(%) =  $[1 - (\text{O.D of the sample} - \text{O.D of the blank}) / \text{O.D of the control}] \times 100$ 으로 나타내었다.

### 2,2-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid) 소거능 측정

2,2-azinobis-(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)와 과산화물을 암소에 방치하면 화학반응에 의하여 ABTS radical이 생성된다. ABTS radical은 항산화물질의 활성 -OH기에 의해 환원되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는데 이를 흡광도 값으로 나타내어 추출물의 항산화활성을 측정하는 방법이다. ABTS radical은 DPPH radical과 마찬가지로 항산화활성 측정에 많이 사용되는 실험방법으로 신속하게 측정할 수 있다.

ABTS 소거능 측정은 Zulueta et al. (2009)의 방법을 변형하여 측정하였다. ABTS를 7 mM 농도로 용해시킨 뒤, 2.45 mM potassium persulfate를 넣고 암실에서 16시간동안 방치하여 ABTS radical을 생성시킨다. 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이  $0.70 \pm 0.02$ 가 되도록 증류수로 희석하였다. 샘플 50  $\mu\text{L}$ 와 radical화된 ABTS 1 mL를 가하여 3분간 방치 후 UV-spectrometer (UV-1800, Shimadzu, Japan)를 이용해 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 standard curve로 사용하여 검량곡선을 작성하고 시료 1 g당 Trolox 농도(mM TE/g)로 나타내었다.

### Ferric reducing antioxidant power 측정

철 이온은 산화, 환원 반응을 통하여 인체에서 reactive oxygen species (ROS)의 생성에 관여하며, fenton 반응을 통하여 hydroxyl radical을 생성한다고 보고되었으며 환원력을 측정하는 Ferric reducing antioxidant power (FRAP)법을 통하여 샘플의 항산화력을 알아볼 수 있다. Ferric tripyridyltriazine [Fe(III)-TPTZ] 복합체가 산화제로 사용되며, 항산화 물질에 의해 ferrous tripyridyltriazine [Fe(II)-TPTZ]로 환원되는 원리를 이용한다. 흡광도의 변화는 항산화물질이 전자를 공여하는 환원능력과 직접적인 관련이 있으며, radical 소거방식의 항산화 측정법과는 다른 메커니즘의 항산화 활성 측정법이다. FRAP은 Benzie and Strain (1996)법을 변형하여 측정하였다. 10 mM 2,4,6-tripyridyls-triazine (TPTZ)와 20 mM  $\text{FeCl}_3$ , 0.3 M sodium acetate buffer (pH 3.6)를 1 : 1 : 10의 비율로 혼합하여 사용하였다. FRAP working solution을 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 샘플 50  $\mu\text{L}$ 와 FRAP working solution 150  $\mu\text{L}$ 를 넣고, 37°C에서 15분간 반응시킨 다음 microplate reader를 이용해 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.  $\text{FeSO}_4$ 를 이용해 standard curve로 사용하였으며 시료 1 g당  $\text{FeSO}_4$  환원력(mM  $\text{FeSO}_4/\text{g}$ )으로 나타내었다.

### Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성은 Yoon et al. (2009)의 방법을 변형하였다. Tyrosine을 기질로 사용하였으며 tyrosinase에 의해

서 생성된 도파크롬의 양을 측정하였다. 증류수와 1 mM L-tyrosine, 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5)를 9 : 10 : 10의 비율로 혼합한 혼합액 170  $\mu$ L에 샘플 10  $\mu$ L와 1000 unit/mL 버섯 유래 tyrosinase 20  $\mu$ L을 가하고 37°C에서 15분간 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성은 *N*-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide를 이용하여 측정하였다 (Yang et al., 2016). 샘플 20  $\mu$ L에 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0) 120  $\mu$ L를 가한 다음 elastase (1 unit/mL) 10  $\mu$ L와 elastase 기질인 *N*-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide 50  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 microplate reader를 사용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 통계분석

본 연구는 3회 반복 실험하였고 실험 결과는 평균 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며, 각 실험군의 통계처리는 SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, ver. 18.0, IBM, NY, USA)를 사용하여 분산분석을 실시하였다. 유의적 차이가 있는 항목에는 Tukey의 다중범위검정(Tukey multiple range test, TMRT)을 사용하여 통계학적 유의성을 분석하였다( $p < 0.05$ ).

## Results and Discussion

### 산삼배양근 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 방향족 벤젠고리에 히드록시 그룹을 가진 화합물들을 총칭하며 플라보노이드, 타닌, 안토시아닌 및 페놀산 등으로 분류가능하다. 이러한 페놀성 화합물들은 벤젠고리의 히드록시 그룹에 의하여 항산화, 항암, 항염증 등의 다양한 생리활성을 가지는 식물체 특유의 2차 대사산물이다(Manach et al., 2004). 에탄올 농도를 달리하여 산삼배양근을 추출한 결과 총 페놀성 화합물의 함량은 Table 1과 같다. 증류수를 이용하여 추출하였을 경우 추출물 1 g 당 6.71 mg 함유되어 있었으며 에탄올의 농도가 증가할수록 증가하는 경향을 보이거나 40, 60, 80% 에탄올 추출물의 경우 각각 9.85, 10.07, 10.07 mg GAE/g으로 추출물간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이는 Lee et al. (2004)이 연구한 식물의 증류수 추출 대비 에탄올 추출에서 총 페놀 함량이 높다는 결과와 일치하였다.

플라보노이드는 식물체에 함유된 C6-C3-C6의 기본 탄소골격을 갖고 있는 페놀성 화합물을 총칭하며 일반적으로 당과 결합한 형태인 배당체로 존재한다. 주로 채소류와 식물의 꽃, 뿌리, 줄기, 씨앗 등의 부위에 분포하며 강력한 항산화, 항암 및 항염증 효과를 가진다(Heim et al., 2002). 산삼배양근 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Table 1과 같다. 증류수 추출

**Table 1.** Total phenol and flavonoid contents according to concentrations of ethanol from mountain ginseng adventitious roots.

Extracts	Total phenol (mg GAE/g)	Total flavonoid (mg QE/g)
Distilled water	6.71 $\pm$ 0.41c	0.38 $\pm$ 0.03c
20% EtOH	8.73 $\pm$ 0.50b	0.86 $\pm$ 0.11b
40% EtOH	9.85 $\pm$ 0.38a	0.89 $\pm$ 0.02b
60% EtOH	10.07 $\pm$ 0.31a	0.83 $\pm$ 0.04b
80% EtOH	10.07 $\pm$ 0.41a	0.94 $\pm$ 0.06a

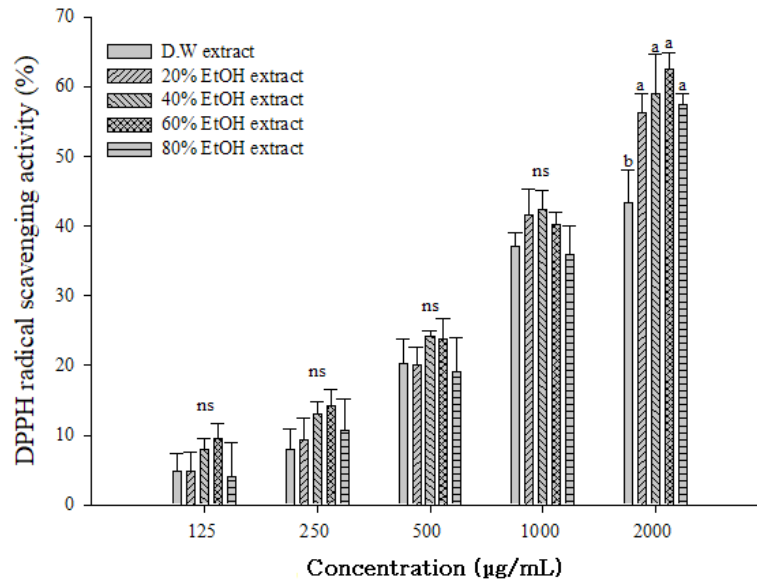
GAE, gallic acid equivalent; QE, quercetin equivalent.

a - c: Means with different letters in the same column are significantly different at Tukey multiple range test ( $p < 0.05$ ).

물이 0.38 mg quercetin equivalent/g (mg QE/g)으로 가장 낮았으며, 다음으로 20% 에탄올(0.86 mg QE/g), 40% 에탄올(0.89 mg QE/g), 60% 에탄올 (0.83 mg QE/g) 추출물이 각각 유의적인 차이가 없었으며 80% 에탄올(0.94 mg QE/g) 추출물에서 가장 많은 플라보노이드 함량을 보였다.

### 산삼배양근 추출물의 항산화활성

산삼배양근 추출물의 DPPH radical 소거활성은 Fig. 1에 나타내었다. 모든 추출물에서 농도 의존적으로 DPPH radical 소거활성이 증가하는 경향을 보였으나, 각 샘플간 통계적으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. Park and Park (2007)의 DPPH radical 소거활성은 산삼배양근 추출물에 함유되어 있는 총 페놀 함량과 비례하는 결과를 나타내었으며, 페놀성 화합물에 존재하는 히드록시 그룹들이 불안정한 radical에 전자를 제공하여 radical을 안정화시킨다는 선행 연구 결과와 일치하였다. 또한 Park et al. (2012)이 연구한 산삼배양근 70% 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성과 비교한 결과 본 연구에서 보다 높은 소거활성을 나타내었고, Yang and Choe (2011) 연구결과에서는 증류수 추출 대비 70%



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging activity according to concentrations of ethanol from mountain ginseng adventitious roots. \*Means with different letters (a, b) in the same concentration are significantly different at TMRT ( $p < 0.05$ ). ns, not significant; DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; TMRT, Tukey multiple range test.

**Table 2.** ABTS radical scavenging activity (TEAC) and FRAP according to concentrations of ethanol from mountain ginseng adventitious roots.

Extracts	TEAC (mM Trolox/g) <sup>y</sup>	FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> /g) <sup>z</sup>
Distilled water	21.42 ± 2.22b	143.64 ± 14.29c
20% EtOH	32.53 ± 3.01a	321.30 ± 33.76b
40% EtOH	36.53 ± 3.64a	452.40 ± 3.22a
60% EtOH	35.01 ± 3.31a	460.94 ± 22.57a
80% EtOH	30.10 ± 0.82a	415.68 ± 18.16a

TEAC, trolox equivalent antioxidant capacity; FRAP, Ferric reducing antioxidant power.

<sup>y</sup>mM Trolox/g : mM trolox equivalent per sample 1 g.

<sup>z</sup>mM FeSO<sub>4</sub>/g : mM ferrous sulfate equivalent per sample 1 g.

a - c: Means with different letters in the same column are significantly different at Tukey multiple range test ( $p < 0.05$ ).

에탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성이 높게 나타났다.

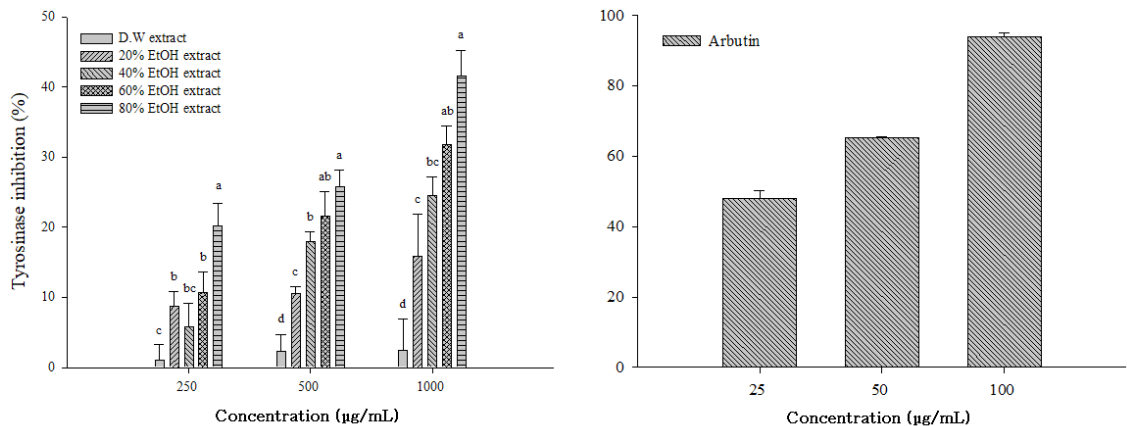
에탄올 농도별 산삼배양근 추출물의 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 값은 Table 2와 같다. 추출물의 TEAC 값은 21.42 - 36.53 mM Trolox/g 범위로 나타났다. 증류수 추출물(21.42 mM Trolox equivalent (TE)/g)의 TEAC 값은 가장 낮았으며 다른 에탄올 추출물(30.10 - 36.53 mM Trolox/g)에서는 서로 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 80% 에탄올 추출물에서는 TEAC 평균값이 감소하는 경향을 보였다. 산삼배양근 70% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 항산화 특성을 비교하는 연구에서 폴리페놀 함량은 70% 에탄올 추출물에서 더 높은 함량을 나타냈으며 항산화 활성 또한 높다고 보고하였다(Kim et al., 2010).

산삼배양근 추출물의 환원력은 Table 2와 같다. FRAP의 결과값은 DPPH, TEAC와 유사한 경향을 나타내었다. 에탄올 농도의 증가와 더불어 FRAP 값(143.64 - 460.94 mM FeSO<sub>4</sub>/g)도 증가하였으며 40% 에탄올 추출물(452.40 mM FeSO<sub>4</sub>/g)과 60% 에탄올 추출물(460.94 mM FeSO<sub>4</sub>/g)에서 가장 높게 나타났다. 이를 통하여 산삼배양근 추출물은 체내에서 라디칼 생성에 관여하는 철 이온을 비활성형의 철 이온으로 환원시켜 라디칼 생성을 억제할 수 있을 거라고 판단된다. 또한 환원력은 추출물의 페놀성 화합물들 중에 이온함량과 관련이 있으며 이는 플라보노이드 계열의 화합물인 히드록시 및 카보닐 그룹들과 Fe 이온들이 수소결합을 형성하려는 성질이 강하며, 이러한 수소결합을 통한 전자제공으로 강력한 환원력을 가진다(Saha et al., 2013).

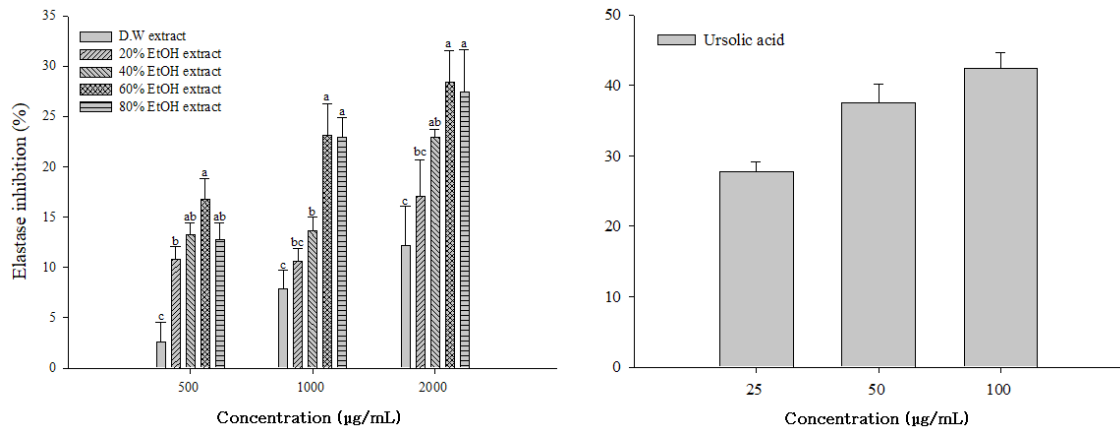
총 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량은 에탄올 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으나 항산화 활성은 80% 에탄올 추출물에서 다소 감소하는 경향을 보였는데, 이는 페놀성 화합물의 다양한 종류와 구조적인 차이로 인해 다른 경향을 나타낸 것으로 생각된다(Lee et al., 2008).

## 산삼배양근 추출물의 항장효과

산삼배양근 추출물의 미백 기능성 소재로서의 활용가능성을 측정하기 위하여 피부에서 멜라닌 생합성에 크게 관여하는 tyrosinase에 대한 산삼배양근 추출물의 저해활성을 측정하였다. 멜라닌합성 저해능을 평가하기 위해 L-tyrosine을 기질로 사용하여 490 nm에서 도파크롬의 형성을 확인하였다. 산삼배양근 추출물의 tyrosinase 저해활성은 Fig. 2에 나타내었다. 산삼배양근 추출물의 tyrosinase 저해활성은 농도 의존적으로 증가하는 경향이 나타났다. 또한 항산화활성과는 다르게 에탄올 농도가 증가할수록 저해활성도 조금씩 증가하는 경향을 나타내었다. 대조구로 사용된 arbutin과 비교하



**Fig. 2.** Tyrosinase inhibitory activity according to concentrations of ethanol from mountain ginseng adventitious roots. \*Means with different letters (a - d) in the same concentration are significantly different at TMRT ( $p < 0.05$ ). TMRT, Tukey multiple range test.



**Fig. 3.** Elastase inhibitory activity according to concentrations of ethanol from mountain ginseng adventitious roots. \*Means with different letters (a - c) in the same concentration are significantly different at TMRT ( $p < 0.05$ ). TMRT, Tukey multiple range test.

였을 때 산삼배양근 추출물에서 상대적으로 활성이 낮게 나타났다. 그러나 80% 에탄올 추출물의 경우 1000 µg/mL 농도에서 41.55% 저해활성이 나타났으며 이는 arbutin 25 µg/mL 농도의 활성인 48.01% 수준과 비슷한 저해활성을 가진 것으로 확인되었다. Tyrosinase는 페놀성 히드록시 그룹을 가지는 아미노산인 tyrosine을 산화시키는 효소로, tyrosinase에 의해서 산화되어진 levodopa 및 dopaquinone이 멜라닌합성의 전구체로 쓰인다(Yamaguchi et al., 2007). 이에 페놀성 히드록시 그룹을 가지는 대표적인 화합물인 플라보노이드 화합물은 tyrosinase 효소반응에서 기질인 tyrosine과 경쟁적으로 반응에 참가하여 효소반응을 저해하거나, tyrosinase 효소활성에 필요한 금속인 Cu이온과 결합하여 효소의 구조를 변형시켜 효소활성을 저해한다(Chang, 2009). Yoo et al. (2004)은 산삼부정근 70% 에탄올 및 1,3-butylene glycol 혼합용매 추출물의 tyrosinase 저해활성 연구에서 부정근 농축액(1% 농도)에서 35% 저해활성을 나타내었다고 보고하였으며, Kang et al. (2016)은 산양삼 추출물의 tyrosinase 저해활성에서 에탄올 추출물의 경우 본 연구와 유사한 30% 저해활성을 나타낸다고 보고하였다.

Elastase는 피부조직을 구성하는 collagen과 더불어 피부 탄력유지에 크게 관여하는 단백질인 elastin을 분해하는 단백질 분해효소이다. 피부의 진피조직 속에는 collagen과 elastin이 그물망 구조를 형성하면서 피부의 탄력성을 유지시켜 주는데, 자외선과 같은 인자들에 의해 발현된 elastase에 의하여 elastin의 그물망 구조가 깨지게 되면 피부가 처지고 주름이 생기며 외인성 피부노화가 발생하게 된다. 그러므로 피부노화의 주 원인중 하나인 elastase의 활성을 저해시킴으로써 피부노화를 억제할 수 있다(Imokawa, 2009). 산삼배양근 추출물의 elastase 저해활성은 Fig. 3과 같다. 산삼배양근 추출물의 elastase 저해활성은 tyrosinase 저해활성과 유사한 양상을 나타내었다. 모든 추출물이 농도 의존적으로 저해활성을 나타내었으나 추출물 2000 µg/mL 농도에서 40% 이상의 저해활성은 확인되지 않았다. 또한 용매로 사용된 에탄올 농도가 증가할수록 저해활성이 증가하였다. 대조구로 사용된 ursolic acid에서는 25 µg/mL 농도에서 27.77%의 저해활성이 나타났고 이는 60% 에탄올 추출물(28.36%)과 80% 에탄올 추출물(27.44%) 2000 µg/mL 농도에서 확인된 저해활성과 유사한 수준이었다. Elastase는 피부결합 단백질인 elastin을 분해하는 효소로, 효소의 활성에 금속이온이 중요한 역할을 한다. 또한 다양한 페놀성 화합물들이 효소의 활성에 크게 관여하는 금속이온과 결합하여 효소활성을 저해시킨다(Siedle et al., 2007). Lee et al. (1999)은 150 여종의 약용식물 추출물의 elastase 저해활성에 대한 연구결과에서 페놀

성 화합물 함량이 높으면서, 항산화 활성이 높은 추출물일수록 elastase 저해활성이 높다고 하였다.

## Conclusion

에탄올 농도별 산삼배양근 추출물의 생리활성을 비교한 결과, 항산화활성을 확인하기 위해 실시한 DPPH radical 소거능, TEAC 및 FRAP 측정에서 60% 에탄올 추출물이 가장 높은 항산화활성을 보여주었다. 피부 미백효과 및 주름 개선 효과를 확인하기 위하여 측정한 tyrosinase 및 elastase 저해활성 측정결과 80% 에탄올 추출물이 실험농도 범위에서 높은 저해활성을 나타내었다. 따라서 이러한 결과는 산삼배양근을 60 - 80% 에탄올로 추출하였을 때 기능성 천연 향장소재로서의 이용 가치가 높을 것으로 기대된다.

## Acknowledgements

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 경제협력권산업 육성사업(R0004026)으로 수행된 연구 결과입니다.

## References

- Ahn YM, Park HS, Kwon KR. 2007. Anti-cancer anti-oxidant efficacies of wild ginseng and cultivated wild ginseng of Korea and China. *Korean Journal of pharmacopuncture* 10:5-16. [in Korean].
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 39:70-76.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Chang TS. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Science* 10:2440-2475.
- Cho S, Lee J, Kim YM, Jung YS, Kim HB, Cho EJ, Lee S. 2017. Chemical composition of different parts of ramie (*Boehmeria nivea*). *Korean Journal of Agricultural Science* 44:95-103. [in Korean]
- Choi WY, Lee CG, Seo YC, Song CH, Lim HW, Lee HY. 2012. Effect of high pressure and steaming extraction processes on ginsenosides Rg3 and Rh2 contents of cultured-root in wild ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 20:270-276. [in Korean]
- Choi YE, Jeong JH. 2003. Recent progress of ginseng biotechnology and progress toward food application. *Food Industry and Nutrition* 8:24-29. [in Korean]
- Gilchrest BA, Park HY, Eller MS, Yaar M. 1996. Mechanisms of ultraviolet light induced pigmentation. *Photochemistry and Photobiology* 63:1-10.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidant: Chemistry, metabolism and structure activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13:572-584.
- Ichihashi M, Ueda M, Budiyo A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T. 2003. UV-induced skin damage. *Toxicology* 189:21-39.
- Imokawa G. 2009. Mechanism of UVB-induced wrinkling of skin: Paracrine cytokine linkage between keratinocytes and fibroblasts leading to the stimulation of elastase. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* 14:36-43.
- Kang KM, Lee JY, Kim MU, Lee SH. 2016. Effects of quality characteristics and antioxidant activity of



- Korean cultivated wild ginseng extract. *Journal of Korean Society Food Science and Nutrition* 45:1740-1746. [in Korean]
- Kim CJ, Seong ES, Yoo JH, Lee JG, Kim NJ, Choi SK, Lim JD, Yu CY. 2016. Biological activity of *Panax ginseng* CA Meyer culture roots fermented with microorganisms. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 24:191-197. [in Korean]
- Kim EJ, Choi JY, Yu M, Kim MY, Lee S, Lee BH. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean Journal of Food Science and Technology* 44:337-342. [in Korean]
- Kim JW, Lee SH, No HK, Hong JH, Youn KS. 2010. Antioxidant properties of cultured wild ginseng root extracts. *The Korean Society of Food Preservation* 17:861-866. [in Korean]
- Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 37:405-409.
- Lee KK, Kim JH, Cho JJ, Choi JD. 1999. Inhibitory effects of 150 plant extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. *International Journal of Cosmetic Science* 21:71-82.
- Lee MS. 2010. Cisplatin and extract of tissue cultured mountain ginseng-induced apoptosis in human cervical cancer cells. *Korean Journal of Microscopy* 40:133-138. [in Korean]
- Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK, Seong NS. 2004. Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. japonica N. and *Hemipteleae davidii* P. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 12:321-327. [in Korean]
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747.
- Mizuno M, Yamada J, Terai H, Kozukue N, Lee YS, Tsuchida H. 1994. Differences in immunomodulating effects between wild and cultured *Panax ginseng*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 200:1672-1678.
- Park H, Park AK. 2007. Research on mountain ginseng. *Korean Society of Ginseng* 12:311-320. [in Korean]
- Park SJ, Yoo SM, Kim YE. 2012. Nutritional characteristics and screening of biological activity of cultured wild ginseng roots. *Korean Journal of Food and Nutrition* 25:729-736. [in Korean]
- Pillai S, Oresajo C, Hayward J. 2005. Ultraviolet radiation and skin aging: Roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation induced matrix degradation – a review. *International Journal of Cosmetic Science* 27:17-34.
- Saha AK, Rahman MR, Shahriar M, Saha SK, Azad NA, Das S. 2013. Screening of six ayurvedic medicinal plant extracts for antioxidant and cytotoxic activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2:181-188.
- Shin MH. 2001. Study of mountain ginseng adventitious culture and application. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea* 27:45-56. [in Korean]
- Siedle B, Hrenn A, Merfort I. 2007. Natural compounds as inhibitors of human neutrophil elastase. *Planta Medica* 73:401-420.
- Yamaguchi Y, Brenner M, Hearing VJ. 2007. The regulation of skin pigmentation. *Journal of Biological Chemistry* 282:27557-27561.
- Yang SJ, Choe TB. 2011. Antioxidant activity and whitening effect of *Forsythia fructus* extracts. *Korean*

- Journal of Medicinal Crop Science 19:472-477. [in Korean]
- Yang WT, Kim KS, Kwon YS, Kim DH, Kim DH. 2016. Whitening and anti-aging of *Cistanche deserticola* extract. Journal of Plant Biotechnology 43:492-499. [in Korean]
- Yoo BS, Chang MS, Byun SY. 2003. Characterization of cell cultures and ginsenoside production by cultured ginseng and wild mountain ginseng. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering 18:133-139. [in Korean]
- Yoo YG, Joung MS, Lee YH, Choi JW, Kim JH, Paek KY. 2004. A study on the effect of mountain ginseng adventitious roots extract. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea 30:377-383. [in Korean]
- Yoon NY, Eom TK, Kim MM, Kim SK. 2009. Inhibitory effect of phlorotannins isolated from *Ecklonia cava* on mushroom tyrosinase activity and melanin formation in mouse B16F10 melanoma cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57:4124-4129.
- Zulueta A, Esteve MJ, Frigola A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chemistry 114:310-316.