

## 진생베리 발효추출물의 화장품 약리활성

김일출<sup>†</sup>

중부대학교 바이오융합학부 바이오화장품전공, 교수  
(2020년 2월 2일 접수: 2019년 2월 19일 수정: 2020년 2월 20일 채택)

### Study on Cosmeceutical Activities from Fermented Ginseng Berry Extracts

Il-Chool Kim<sup>†</sup>

<sup>†</sup>*Division of Intergrated Biotechnology, Depart of BioCosmatic Science, Joongbu University, Geumsan, Chungnam 312-702, Korea*  
(Received February 2, 2020; Revised February 19, 2020; Accepted February 20, 2020)

**요약 :** 진생베리는 진세노사이드 Re을 다량함유하고 있고 항염, 항암, 혈당강하 및 미백효과가 있다. 본 연구에서는 *Rhizopus Oligosporus* 균주를 이용하여 진생베리 발효공정을 확립하였으며 진생베리 발효물에 대한 화장품 약리활성을 분석하였다. 발효에 의한 인삼 베리 추출물의 전자 공여 능력은 1,000  $\mu$ g/mL 농도에서 81 %를 나타냈다. ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능 1,000  $\mu$ g/mL 농도에서 100.2% 효과를 나타내었다. 피부 미백과 관련된 티로시나 아제 억제 효과는 1,000  $\mu$ g /mL 농도에서 57%였다. 피부 주름과 관련된 엘라스타제 억제효과는 1,000  $\mu$ g/mL 농도에서 47%였다. 또한, 콜라게나제 억제 효과는 1,000  $\mu$ g/mL 농도에서 33%였다. 이상의 결과로부터 진생베리 발효물이 항염과 미백, 주름개선 효능을 가진다고 판단된다. 따라서 진생베리 발효물이 항우 항염 및 항노화 화장품 원료로서의 이용 가능성이 매우 높을 것으로 판단된다.

**주제어 :** 진생베리, 발효공정, 화장품 약리활성, 미백, 주름개선

**Abstract :** Ginseng berry contains a large amount of Ginsenoside Re and has anti-inflammatory, anticancer, hypoglycemic and whitening effects. In this study, *Rhizopus Oligosporus* strain was used to establish ginseng berry fermentation process and cosmetic pharmacological activity of ginseng berry fermented product was analyzed.. The electron donating ability of ginseng berry extract by fermentation shown 81% at 1,000  $\mu$ g/mL concentration. The ABTS<sup>+</sup> radical scavenging ability of shown 100.2% at 1,000  $\mu$ g/mL concentration. The tyrosinase inhibitory effect which is related to skin-whitening, was 57% at the concentration of 1,000  $\mu$ g/mL. The elastase inhibitory effect which is related to skin-wrinkle, was 47% at 1,000  $\mu$ g/mL concentration. Also, the collagenase inhibition effect was 33% at 1,000  $\mu$ g/mL concentration. From these results, ginseng berry extracts by fermentation is considered to have anti-inflammatory, anti-wrinkle effect and whitening effect.

---

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: ickim@joongbu.ac.kr)

Therefore, ginseng berry fermented product is expected to be very useful as an anti-inflammatory and anti-aging cosmetic raw material.

*Keywords : Ginseng berry, Fermentation process, Cosmetic pharmacological activity, Whitening effect, Anti-wrinkle effect*

## 1. 서론

지속적인 경제성장과 생활수준의 향상은 사회 전반에 웰빙에 대한 관심을 증폭시키고 있다. 하지만 경제 성장에 따른 부작용의 다변화로 인해 스트레스와 식생활 불균형은 다양한 질병들을 초래하고 있는 추세이다[1]. 특히, 산업화에 따른 공해물질 배출량의 증가, 지구 온난화와 관련된 기후 변화, 미세먼지 및 황사 노출의 증가 등의 원인으로 인해 인체를 보호하는 방어막 기능을 하는 피부는 면역반응과 관련된 염증 반응이 빈번하게 일어난다. 피부에 발생하는 피부 손상에 의한 염증 발생은 표피층 혹은 진피층 상부에 상처 치유 과정에 관련된 세포의 생리학적 기능이 원활하지 못할 경우 피부질환의 악화 뿐 아니라 병리적인 문제까지 유발할 수 있다[2-4]. 따라서 현대인은 합성 화학품의 안전성 및 내성으로 인해 천연제품 및 건강기능식품을 통하여 이를 예방하고 관리하고자 하는 욕구가 증대하고 있다. 이에 다양한 식물체로부터 생리활성 물질을 탐색하고 분리하는 연구가 활발하게 진행되고 있다[5,6]. 천연물의 생리활성 물질은 합성 화학품과는 달리 인체에 나타나는 독성문제에 대한 우려가 상대적으로 적고, 무엇보다 다양한 약리활성을 동시에 나타낼 수 있다는 장점으로 인해 약리효능이 검증된 천연물은 각종 식품 및 제약소재로 활용하고 있다. 인간을 비롯한 생물체들은 대사과정 중에서 peroxy radical, superoxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide 등과 같은 활성산소종(ROS)을 생성하게 되며 이들의 지속적인 생성 및 과발현은 조직세포의 노화를 초래하고 뇌혈관 질환을 유발하는 등 심각한 질병을 일으킬 수 있다[7-9]. 따라서 이러한 ROS를 제거하는 데 관여하는 항산화제에 관심이 집중되어 산화 억제 효과가 뛰어나며 안전하면서 경제적인 항산화제를 천연물로부터 탐색하려는 연구가 전 세계적으로 진행 중이다. 안전성 및

기능성이 보장된 천연 항산화제로는 quercetin, kaempferol, naringin과 같은 플라보노이드류, catechin과 같은 탄닌류, chlorogenic acid, gallic acid, caffeic acid 등의 페놀산, vanillin, curcumin 같은 향신료 및 비타민 C, 비타민 E 등의 비타민류 등이 보고되었다[10]. 일반적으로 천연물에 존재하는 생리활성 물질은 대부분 페놀성 화합물로 항산화 및 항균효과를 가지고 있다. 즉, 식물체는 다양한 형태의 항산화 물질을 함유하고 있으며 그 중에서 페놀성 물질은 항산화성을 가진 대표적인 물질로 알려져 있다. 이들로부터 분리된 천연 항산화 물질들은 각종 피부 개선, 노화관련 질환 예방에 대하여 유익한 작용을 할 것으로 알려져 있다[11-12].

진생베리는 3년 이상의 인삼에서 볼 수 있는 인삼의 열매로 예로부터 피부 개선에 도움을 주는 것으로 알려져 왔으나 일년 중 여름인 7월 중순쯤 열매가 맺기 시작하여 4일에서 7일 정도가 지나면 저절로 떨어져 수확 후 하루 안에 시들어 버리는 특성으로 보관하기 어려운 단점이 있다. 하지만 인삼의 지표 성분인 진세노사이드가 인삼의 뿌리보다 열매에 4-6배 이상, 그 중 진세노사이드 Re가 가장 높은 함량을 가지고 있는 것으로 알려져 있고 그 외의 비타민, 칼슘, 아연, 무기질 등 천연 성분들이 풍부하게 함유하고 있어 항당뇨, 성기능 개선, 피부개선, 혈행개선 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[13-15]. 일반적으로 약리활성이 우수하고 부작용이 적은 기능성 소재를 발굴하기 위한 방안으로 전통적으로 사용해 온 약용식물을 탐색하는 일은 매우 중요한 첫 걸음이 될 수 있다. 민간에서 경험적으로 사용해 왔던 약용식물의 약리효과는 항산화 효과로 설명되기도 하며 일상생활 속에서 섭취하는 과·채류보다 약용식물의 항산화 효과가 더 우수하다고 보고된 바 있다. 따라서 진생베리의 경우 기존의 여러 가지 효능이 검증되어 인체에 대한 독성 문제에 대한 우려가 적고 무엇보다 다양한 약리활성을 동시에 나타낼 수 있어 복합 기능성 소재로

서 활용가치가 매우 높은 것으로 판단된다. 생물 전환기술은 새로운 신생물 제품을 생산하거나, 기존 화학합성 공정에 의해 합성 및 생산되고 있는 기존 화학제품을 신생물 제품으로 대체하고자 하는 기술로 생물산업의 꽃이라 할 수 있다. 한방 및 곡물 소재에 생물전환기술을 적용함으로써 미세한 분자 구조를 가진 입자의 생성, 생리활성·영양성분의 증가, 발효물의 안전성·보존성 및 안정성의 증가 등 다양한 장점을 얻을 수 있다[16]. 본 실험에서는 *Rhizopus Oligosporus* 균주를 사용해 진생베리 착즙액을 발효하여 진생베리 발효액에 대한 화장품 약리활성을 검증하여 기초자료로 제시 하고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 공시 재료 및 발효과정

본 실험에 사용한 진생베리는 충남 금산에서 2019년 7월에 수확한 진생베리 착즙액을 구입하여 사용하였다. 진생베리 열수추출을 위해서 진생베리 착즙액 중량의 1.5 배수의 정제수를 넣고 90°C에서 7시간 추출하였으며 추출 후 남은 진생베리 대두박은 재차 동일한 조건하에서 추출공정을 수행하여 일차 진생베리 추출물과 혼합하여 사용하였다. 진생베리 1차 추출물과 대두박에서 추출한 추출물은 불순물을 제거한 후 혼합하여 농축기를 이용하여 최종 농축액이 55 ° Brix가 될 때 까지 농축하여 실험에 사용하였다. 이 때 농축기의 공정 조건인 압력은 650 mmHg, 온도는 65°C를 유지하였다. *Rhizopus Oligosporus* 균주를 이용한 진생베리 농축액의 발효공정은 쌀, 콩을 1:1의 비율로 혼합하여 90°C에서 12시간 추출한 후 0.45 μm 필터로 여과된 배지액에 진생베리 농축액(55 ° Brix)을 총 배지액의 5%를 첨가하여 21°C에서 45 min 멸균하였다. 멸균된 배지액에 *Rhizopus Oligosporus* 균주를 접종하여 29°C, 0.2기압에서 24시간 배양하여 발효액을 제조하였다. 한편, 진생베리 발효액은 다양한 소재로서의 응용 범위를 넓히기 위해 고형성분 20% 까지 예비농축을 한 후 동결건조하여 분말화 하여 실험에 사용하였다.

### 2.2. 진생베리 발효추출물의 생리활성 분석

#### 2.2.1. Polyphenol 및 flavonoid 함량

각 시료의 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하기 위해 동결 건조된 시료 1 g에 50 mL의 75% 에탄올을 가하고 18시간 동안 교반하여 추출한 후 Whatman paper로 여과하고 75% 에탄올로 50 mL까지 맞춘 후 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 Singleton 등[17]의 방법에 따라 75% 에탄올 추출 검액 400 μL에 50 μL의 Foline-Ciocalteau 10 μL의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 넣고 실온에 1시간 방치 한 후 spectrophotometer로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 시약으로는 tannic acid를 사용하였다. 총 플라보노이드 함량측정은 Davis법[18]을 변형한 방법에 따라 에탄올 추출검액의 400 μL에 90% diethylene glycol 4 mL을 첨가하고 다시 1 N NaOH를 40 μL을 넣고 37°C 항온수조에서 1시간 동안 incubation한 후 spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin을 사용하였다.

#### 2.2.2. 전자공여능 측정

항산화능을 측정하기 위한 전자공여능(EDA: electron donating abilities)은 Blois의 방법을 변형하여 시행하였다[19]. 에탄올에 용해한 0.2 mM DPPH용액 60 μL와 농도 별로 조절된 시료용액 120 μL을 96 well plate에 넣어 실온에서 15분 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

전자공여능(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 2.2.3. Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund의 방법[20]을 변형하여 측정하였다. 농도별 시료용액을 20 μL에 Tris-HCl 완충용액(50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.5) 130 μL와 pyrogallol (7.2 mM) 20 μL를 취하여 혼합한 후 37°C에서 10분간 반응시킨 후 산화된 pyrogallol양을 microplate reader를 이용하여 흡광도 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도감소율로 나타내었다.

SOD 유사활성능(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 2.2.4. ABTs<sup>+</sup> cation radical scavenging activity assay 측정

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS<sup>+</sup> cation decolorization assay방법[21]에 의하여 측정하였다. 7 mM 2,2-azino-bis-(3-ethyl-benthiazoline-6-sulfonic acid)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온에서 24시간 동안 방치하여 ABTS<sup>+</sup>를 형성시킨다. 이후 ethanol로 희석하여 ABTS<sup>+</sup> 100  $\mu$ L에 시료 100  $\mu$ L를 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTs<sup>+</sup> 소거능(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 2.2.5. Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등의 방법에 따라 측정하였다[22]. 반응구는 67 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) 80  $\mu$ L에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 40  $\mu$ L 및 시료용액 40  $\mu$ L의 혼합액에 200 U/mL mushroom tyrosinase 40  $\mu$ L을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 492 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

저해율(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 2.2.6. Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성 측정은 Cannell 등의 방법 [23]에 따라 측정하였다. 기질로서 N-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide (Sigma, U.S.A)를 사용하여 37°C에서 30분간 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 445 nm에서 측정하였다. 즉, 각 시험용액을 일정 농도가 되도록 조제하여 40  $\mu$ L씩 96-well plate에 취하고, 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 porcine

pancreas elastase (2.5 U/mL) (Sigma, U.S.A)용액 40  $\mu$ L을 가한 후 기질로 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide (0.5 mg/mL)을 80  $\mu$ L 첨가하여 30분간 반응시켜 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 445 nm에서 측정하였다. Elastase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

저해율(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 2.2.7. Collagenase 저해활성 측정

Collagenase 저해활성 측정은 Wünsch E와 Heindrich HG 의 방법에 따라 측정하였다[24]. 즉 반응구는 0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl<sub>2</sub>를 첨가하여, 0.3 mg/mL의 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (Sigma, U.S.A)를 녹인 기질액 125  $\mu$ L 및 시료용액 50  $\mu$ L의 혼합액에 0.2 mg/mL의 collagenase (Sigma, U.S.A) 75  $\mu$ L을 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 6% citric acid 250  $\mu$ L을 넣어 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 mL을 첨가하여 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. Collagenase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

저해율(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 2.2.8. Astringent 활성 측정

Astringent 활성 측정은 Lee 등의 방법 [25]에 따라 측정하였다. 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질인 hemoglobin을 사용하여, 원심분리관에 각각의 시료용액과 hemoglobin 용액을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 1,500 rpm에서 3분간 원심분리한 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. Astringent 활성 측정은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Astringent 활성능(%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

### 2.3. 통계처리

모든 실험결과는 3회 반복실험의 평균±표준편차로 나타내었고, 유의성 검증은 SPSS(Ver. 12, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다 ( $p < 0.05$ ).

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물인 폴리페놀 화합물은 flavonoid, catechin, tannin류로 크게 구분 된다. 특히, 페놀성 화합물들은 전자공여능이 있어 높은 항산화 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이러한 페놀성 물질은 식품의 고유한 색을 부여하고, 떫은맛과 쓴맛의 주체로 식물성 식품의 고유한 맛에도 깊이 관여한다. 진생베리 착즙액, 추출액과 발효 후 진생베리 발효물에 대한 총 폴리페놀 화합물 및 플라노노이드 함량을 비교하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 총 페놀성 화합물의 함량은 tannic acid를 대표 지표 물질로 하여 분석하였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 진생베리의 착즙액 및 추출액의 총 폴리페놀 함량은 각각  $81.66 \pm 6.39$  mg/mL,  $82.60 \pm 2.06$  mg/mL이었고 발효 후 진생베리 발

효물은  $123.60 \sim 114.83$  mg/mL으로 발효 전과 비교 할 때 40.7~51.3%가 증가 하였다. 수삼 및 홍삼에서 항산화 활성 증가는 Maillard 반응 생성물인 것으로 여겨지는데 이는 인삼의 열처리 과정 중에 이러한 물질 중의 하나인 maltol이 생성되는 phenolic compounds가 풍부하면서 강한 free radical scavenging활성을 가진 것으로 보고된 적이 있다[26]. 한편, 가공처리에 따른 진생베리의 플라보노이드 함량은 착즙액 및 추출액이  $60.31 \pm 2.65$ ,  $52.18 \pm 2.05$  mg/mL 으로 분석되었으나 발효물은 발효공정 시간에 관계없이 평균  $35.66$  mg/mL로 약 49.87%가 감소됨을 보였다.

### 3.2. 전자공여능 측정

비교적 간단하게 대량으로 항산화 활성을 측정하는 방법인 DPPH 라디칼(radical) 소거 활성법은 라디칼을 갖는 물질 중에서 비교적 안정한 화합물로 항산화 활성을 갖는 물질을 만나면 항산화 활성물질이 DPPH의 라디칼을 소거시켜 탈색되어지고 이에 따른 변화를 흡광도로 측정하여 항산화 활성을 알 수 있다. 일반적으로 전자공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로 이용되고 있다[27]. 본 실험에서 진생베리 발효물 중 22시간 발효공정을 거친 FGB3 시료를 취하여 각 농도에 따른 전자공여능 측정

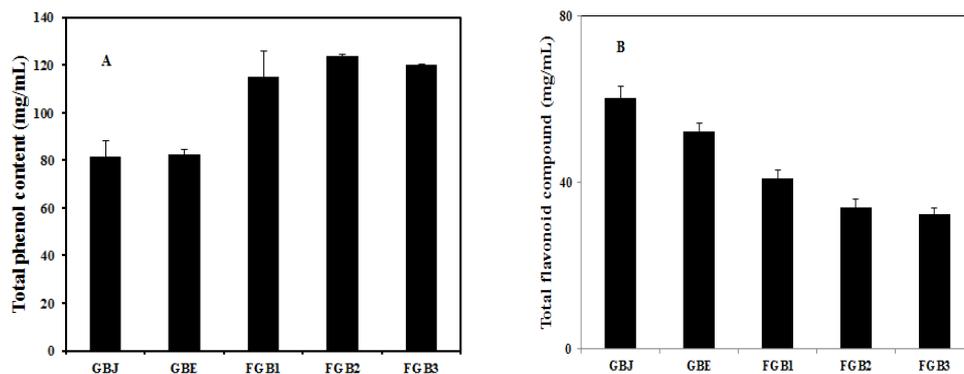


Fig. 1. Amounts of total phenol compounds(A) and total flavonoid compounds (B) of ginseng berry with different processing. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

GBJ:Ginsengberry juice, GBE: Ginsengberry extract, FGB1: Fermented Ginsengberry (8hours fermentation), FGB2:Fermented Ginsengberry(12 hours fermentation), FGB3: Fermented Ginsengberry(22 hours fermentation),

을 분석하여 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2와 같이 진생베리 발효액의 농도가 증가할수록 전자공여능 활성은 점진적으로 증가하였으며 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$  일때 전자공여능은  $80.29 \pm 0.41\%$ 의 높은 활성을 나타내었다. 이는 합성 항산화제인 0.1% BHA 보다 17.53% 정도 가량 낮은 수치를 나타내었다.

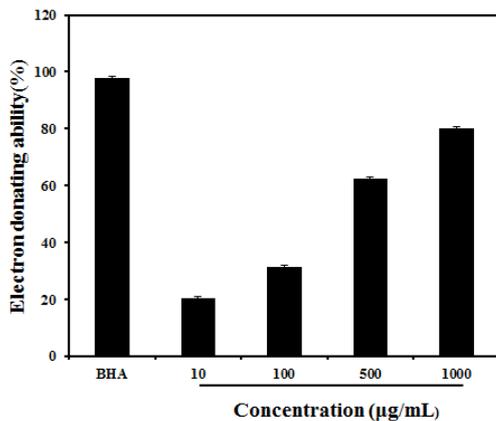


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity of ginseng berry extracts by fermentation. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

### 3.3. SOD 유사활성 측정 결과

피부 노화에 중요한 영향인자는 비정상적으로 생성량이 증가하는 활성 산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)과 자유라디칼(Free radical)로서 이는 자외선의 영향 때문이다. SOD(Superoxide Dismutase)는 Superoxide anion을 산소와 과산화 수소로 전환시키는 반응을 촉매 하는 중요한 항산화 효소로서 Xanthine oxidase에 의해 발생한 Superoxide anion이 사용된 물질에 의해 제거된 비율을 분석함으로써 항산화 효능을 평가하게 된다. 즉 효소의 활성이 높아지면 일반적으로 항산화능이 높다고 볼 수 있다. 진생베리 발효물의 SOD 유사활성능을 측정한 결과(Fig. 3) 10, 100, 500, 1000  $\mu\text{g/mL}$ 에서  $98.63 \pm 1.41$ ,  $99.54 \pm 0.53$ ,  $107.18 \pm 4.59$ ,  $116.75 \pm 5.50$ 로 모든 농도에서 90% 이상의 소거능을 나타내었는데 이는 진

생베리 발효물의 PPD 계열의 진세노사이드 성분이 SOD 유사활성능에 영향을 주는 것으로 사료되어진다.

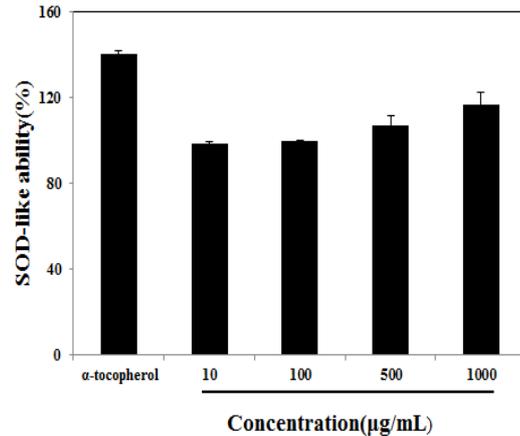


Fig. 3. SOD-like ability of ginseng berry extracts by fermentation. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

### 3.4. ABTs<sup>+</sup> cation radical scavenging activity

진생베리 발효물의 각 농도에 따른 ABTs<sup>+</sup> 라디칼 소거활성을 측정하여 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 ABTs<sup>+</sup> 라디칼 소거활성은 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으며, 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 약  $100.14 \pm 0.77\%$ 의 높은 활성을 나타내었다. 이는 대조군인 0.1% BHT( $108.19 \pm 6.51\%$ )와 거의 유사한 소거활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 진생베리 발효추출물의 농도 10, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 각 ABTs<sup>+</sup> 라디칼 소거활성능은 각각  $17.96 \pm 0.06$ ,  $43.40 \pm 0.69$ ,  $90.4 \pm 0.54$ ,  $100.14 \pm 0.78\%$ 로 나타났으며 전반적으로 진생베리 발효물의 농도가 50  $\mu\text{g/mL}$ 이상에서 90% 이상의 ABTs<sup>+</sup> 소거활성능을 나타내고 있어 진생베리 발효물의 높은 소거 활성능을 알 수 있었다. 일반적으로 DPPH 및 ABTs<sup>+</sup> 라디칼의 소거활성 수준에서 차이가 나는 이유는 항산화 물질의 종류에 따른 라디칼 제거기작, 기질의 결합 정도, 추출물 내 극성 및 비극성 물질의 구성차이에 기인하는 것으로 판단된다[28].

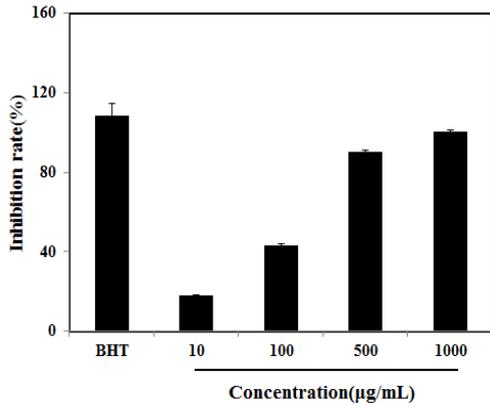


Fig. 4. ABTs<sup>+</sup> cation radical scavenging activity of ginseng berry extracts by fermentation. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

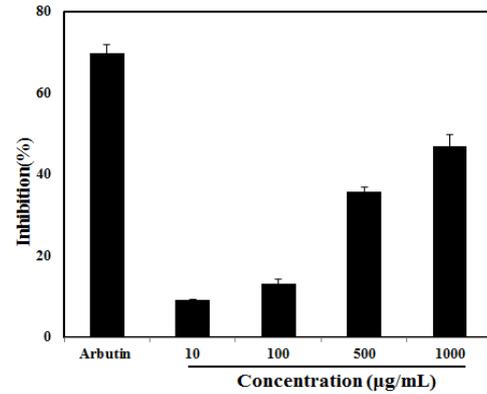


Fig. 5. Inhibition rate of extracts from fermented ginseng berry on tyrosinase. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

### 3.5. Tyrosinase 저해활성능

Tyrosinase는 polyphenol oxidase의 일종으로 Cu<sup>2+</sup>를 함유한 효소로서 melanin이라는 색소의 생합성에 관여한다. 이는 자외선, 건조, 극한 온도 등에 대한 피부의 저항력을 높여 주지만, 과도한 melanin 생성은 피부에 기미, 주근깨, 검버섯 등과 같은 색소 침착을 일으키고, 피부 노화를 촉진시킨다. 따라서 tyrosinase저해 활성은 생물의 갈변화 현상에 관련된 매우 중요한 인자의 하나이다[29]. Fig. 5에서 보는 바와 같이 진생베리 발효물의 농도에 따라 tyrosinase의 저해활성능은 증가함을 보였으며 농도 500 µg/mL 이상일 때 tyrosinase 저해활성능은 100 µg/mL 보다 약 62.9% 이상 증가함을 보였다.

### 3.6. Elastase 저해활성

진생베리 발효액의 elastase억제 효과를 각각 10, 100, 500, 1,000 µg/mL의 농도에서 양성 대조군인 urosonic acid와 비교한 결과 농도 의존적으로 elastase를 억제하였으나 그 정도는 다소 미미하였다(Fig. 6). 진생베리 발효액 농도 10, 100, 500, 1000 µg/mL에서 elastase 저해 활성은 각각 24.48 $\pm$ 0.57, 26.30 $\pm$ 1.03, 34.66 $\pm$ 1.98, 47.11 $\pm$ 1.23%로 나타났다.

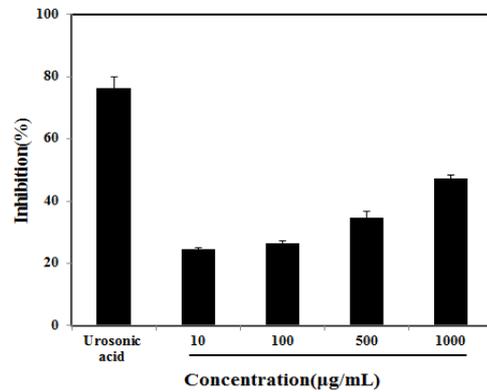


Fig. 6. Inhibition rate of extracts from fermented ginseng berry on elastase. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

### 3.7. Collagenase 저해활성

세포외 기질의 주요 구성 성분인 collagen은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로서 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포접착의 지탱, 세포 분할과 분화의 유도 등 다양한 기능을 하고 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 collagen은 연령뿐만 아니라 자외선 조사에 의한 광노화에 의해 감소하며, 이는 곧 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다. 대조군으로 사용된 retinyl acetate의 경우 0.1% 농도에서 collagenase 저해활성이

96.46±3.82% 인데 반해 진생베리 발효물은 최고 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 33.44±1.80%로 대조군에 비해 65% 이상 collagenase 저해역제가 낮은 것으로 나타났다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 진생베리 발효물의 각 농도 10, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 collagenase 저해 활성은 1.92±0.30, 4.55±0.61, 15.01±1.25, 33.44±1.80%이었다.

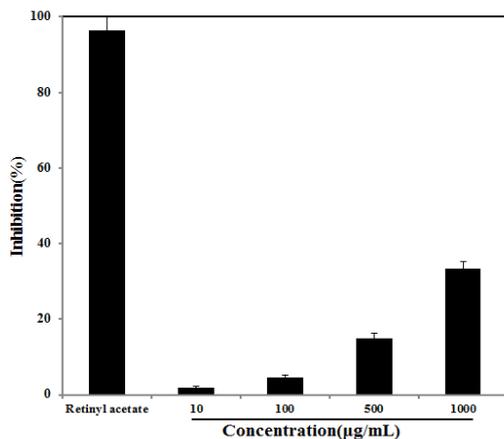


Fig. 7. Inhibition rate of extracts from fermented ginseng berry on collagenase. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

### 3.8. Astringent 활성

수렴작용의 원리는 피부 단백질의 고분자 flavonoids가 결합되어 가교결합을 형성하여 피부가 수축되는 현상을 수렴작용이라고 한다. 수렴작용에는 외용 작용에 의해서 피부와 점막의 표면에 난용성의 피막을 형성하고 그 결과 국소를 보호하거나 조직을 조밀하게 하여 세포막의 투과성을 감소시키는 효과가 있다고 할 수 있다. 수렴제는 피부와 점막 혈관 등을 수축시키는 작용이 있고, 세포간극 및 림프간극을 가로막아 점액의 분비를 억제시키는 효과가 있다. 이외 수렴제는 단백질과 결합하는 성질을 가지기 때문에 일반적으로 헤모글로빈의 단백질이 추출물과 결합하는 정도에 따라 수렴효과 정도를 판단할 수 있다 [30]. Fig. 8에서 보는 바와 같이 대조군으로 사용된 tannic acid(0.1%)의 astringent 활성도는 96.90±3.31%였으며 진생베리 발효물은 10, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 각 농도에서 16.31±0.58, 18.61±0.62, 22.23±1.77, 32.26±

1.99%로 나타났다. 즉, 진생베리 발효물의 농도가 증가 할수록 astringent 활성은 증가하는 경향을 나타냈으나 다소 미미한 활성도를 나타냄을 알 수 있었다.

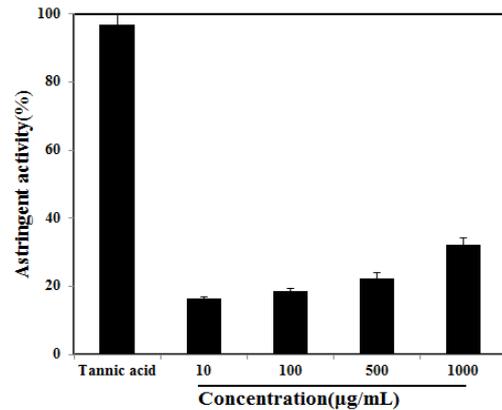


Fig. 8. Inhibition rate of extracts from fermented ginseng berry on astringent. Each values represents mean  $\pm$ SD of three individual experiments.

## 4. 결론

진세노사이드 Re를 다량 함유하고 있는 진생베리는 항염, 항암, 혈당 저하 및 미백 효과 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 이에 본 실험에서는 *Rhizopus Oligosporus* 균주를 이용하여 진생베리를 발효시킨 진생베리 발효물에 대한 화장품으로서의 약리활성을 분석하였다. 진생베리 발효물의 총 폴리페놀 함량은 진생베리 착즙액 및 추출액에 비해 40 %이상 증가함을 알 수 있었다. 진생베리 발효물의 전자공여능은 발효물의 농도가 증가 할수록 전자공여능 활성은 증가하였으며 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$  일때 전자공여능은 80.29±0.41%의 높은 활성을 나타내었다. 진생베리 발효물의 SOD 유사활성능은 모든 농도에서 90%이상의 소거능을 나타내었는데 이는 진생베리 발효물의 PPD 계열의 진세노사이드 성분이 SOD 유사활성능에 영향을 주는 것으로 판단된다. 진생베리 발효물의 각 농도에 따른 ABTs<sup>+</sup> 라디칼 소거활성은 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 농도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 약 100.14±0.77%의 높은 활성을 나타내었

다. 이는 대조군인 0.1% BHT( $108.19 \pm 6.51\%$ )와 거의 유사한 소거활성을 나타내고 있었다. 진생베리 발효물의 농도에 따른 tyrosinase의 저해활성능, elastase억제 효과는 대조군인 arbutin, urosonic acid에 비해 다소 낮은 효과를 나타내었으나 농도 500  $\mu\text{g/mL}$  이상이 범위에서는 대조군과 거의 유사한 효능을 나타내었다. 진생베리 발효물의 collagenase 저해활성 및 astringent 활성은 대조군의 동일 농도에서 각각 50%이하의 효능이 있는 것으로 분석되었다.

### 감사의 글

이 논문은 2019년도 중부대학교 학술연구비 지원에 의하여 이루어진 것임

### References

1. S. H. You, "Antioxidant Activity and Whitening activity of Psidium guajava leaf extract", *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol.34, No.2, pp. 296-304, (2017).
2. J. Kruk, E. Duchnik, "Oxidative stress and skin diseases: possible role of physical activity", *Asian Pac J Cancer Prev.* Vol.15, No.2, pp. 561-568, (2014).
3. J. K. Hong, "A study on skin aging caused by free-radical and on efficacy of antioxidant vitamins", *Kor J Aesthet Cosmetol.*, Vol.7. No.2, pp. 51-62, (2009).
4. G. Imokawa, "Mechanism of UVB-induced wrinkling of the skin: paracrine cytokine linkage between keratinocytes and fibroblasts leading to the stimulation of elastase", *J Invest Dermatol Symp Proc.*, Vol.14, No.1, pp. 36-43, (2009).
5. M. Cho, J. S. Lee, S. Lee, Y. K. Son, C. H. Bae, J. Yeo, "Antioxidant activity of 11 species in Korean native forest plant Korean", *J Food Nutr.*, Vol.24, No.6, pp. 1098-1106, (2015).
6. S. I. Choi, J. S. Lee, S. Lee, H. J. Lee, B. J. Kim, J. Yeo, "Antioxidant and anti-aging effects of extracts from leaves of *Castanea crenata* Siebold & Zucc. in human dermal fibroblast", *J Food Hyg Saf.*, Vol.32, No.2, pp. 243-248, (2017).
7. C. P. Prakash, U. Garima N. S. Brahma, B. Harikesh, "Antioxidant and free radical-scavenging activities of seeds and agri-wastes of some varieties of soybean (*Glycine max*)". *Food Chem.*, Vol.104, No.2, pp. 783-790, (2007).
8. J. C. Lee, H. R. Kim, Y. S. Jang, "Antioxidant Property of an Ethanol Extract of the Stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten", *J Agric Food Chem.*, Vol.50, No.22, pp. 6490-6496, (2002).
9. Y. S. Lee, E. J. Joo, N. W. Kim, "Polyphenol contents and antioxidant activity of *Lepista nuda*", *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, Vol.35, No.10, pp. 1309-1314, (2006).
10. S. Y. Choe, K. H. Yang, "Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA)", *Korean J Food Sci Technol.*, Vol.14, No.3, pp. 283-288, (1982).
11. E. Gonzalez-Burgos, M. P. Gomez-Serranillos, "Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity", *Curr. Med. Chem.*, Vol.19, No.31, pp. 5319-5341, (2012).
12. Y. B. Soo, J. S. Song, H. I. Moon, Y. H. Kim, "Effects of achyranthoside C dimethyl ester on heme oxygenase-1 expression and NO production", *J. Life Sci.*, Vol.25, No.9, pp. 976-983, (2015).
13. H. S. Choi, S. Kim, M. J. Kim, M. S. Kim, J. W. Kim, C. W. Park, S. W. OH, "Efficacy and safety of Panax ginseng berry extract on glycemic control: A 12-wk randomized, double-blind, and placebo-controlled clinical trial", *J. of Ginseng Research*, Vol.42, No. 1, pp. 90-97, (2018).
14. Y. D. Choi, C. W. Park, J. Jang, S. H. Kim, H. Y. Jeon, W. G. Kim, W. S. Chung, "Effects of Korean ginseng berry

- extract on sexual function in men with erectile dysfunction: a multicenter, placebo-controlled, double-blind clinical study", *International journal of impotence research*, Vol.25, No.2, pp. 45-50, (2013).
- 15 M. H. Kim, J. Lee, S. Jung, J. W. Kim, J. H. Shin, H. J. Lee, "The involvement of ginseng berry extract in blood flow via regulation of blood coagulation in rats fed a high-fat diet", *J. of Ginseng Research*, Vol.4, No.2, pp. 120-126, (2017).
  - 16 C. Olivia, C. Rolando, G. Lorna, S. R. Amina, "Assessing the effect of pretreatments on the structure and functionality of microbial communities for the bioconversion of microalgae to biogas", *Front Microbiol.*, Vol.9, No.26, pp. 1388-1399, (2018).
  - 17 V. L. Singleton, J. A. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents", *Am J. of Enology and Viticulture*, Vol.16, No.1, pp. 144-158, (1965).
  - 18 W. B. Davis, "Determination of flavonones in citrus fruits". *Anal Chem.*, Vol.19, No.7, pp. 476-478, (1947).
  - 19 M. S. Blois, "Antioxidant determination by the use of a stable free radical", *Nature*, Vol.181, pp. 1199-1200, (1958).
  - 20 S. Marklund, G. Marklund, "Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase", *Eur J Biochem.*, Vol.47, No.3, pp. 469-474, (1974).
  - 21 R. Roberta, R. Nicoletta, P. Anna, P. Ananth, Y. Min, R. E. Catherine, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Biol Med.*, Vol.26, No.9-10, pp. 1231-1237, (1999).
  - 22 A. Yagi, T. Kanbara, N. Morinobu, "The effect of tyrosinase inhibition for aloe". *Planta Medica.*, Vol.52, No.6, pp. 517-519, (1986).
  - 23 R. J. P. Cannell, S. J. Kellan, A. M. Owsianski, J. M. Walker, "Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors" *Planta Medica.*, Vol.54, No.1, pp. 10-14, (1988).
  - 24 E. Wünsch, H. G. Heindrich, "Zur quantitativen bestimmung der kollagenase", *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie.*, Vol.333, No.1, pp. 149-151, (1963).
  - 25 Y. S. Lim, M. J. Bae, S. H. Lee, "Antimicrobial effects of Pinus densiflora Sieb. et Zucc. ethanol extract on Listeria monocytogenes", *J. Korean Soc Food Sci Nutr.*, Vol.31, No.2, pp. 333-337, (2002).
  - 26 K. Y. Nam, "The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (Panax ginseng C. A. Meyer)", *J. Ginseng Research*, Vol.29, No.1, pp. 1-18, (2005).
  - 27 Y. S. Kim, S. J. Lee, J. W. Hwang, E. H. Kim, P. J. Park, B. T. Jeon, "Antioxidant activity and protective effects of extracts from Helianthus tuberosus L. leaves on t-BHP induced oxidative stress in Chang cells", *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, Vol.40, No.11, pp. 1525-1531, (2011).
  - 28 C. S. Kwak, H. I. Choi, "In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of ethanol extract and sequential fractions of flowers of prunus persica in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages", *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, Vol.40, No.10, pp. 1439-1449, (2015).
  - 29 V. J. Hearing, O. Moro, F. Peng, "Activation of the cyclic AMP pathway by  $\alpha$ -melanotropin mediates the rest of human melanocytes to ultraviolet B radiation", *Cancer Research*, Vol.58, No.1, pp. 47-54, (1998).
  - 30 N. Tsuj, S. Moriwaki, Y. Suzuki, Y. Takema, G. Imokawa, "The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity", *Photochem Photobiol.*, Vol.74, No.2, pp. 283-290, (2001).