

## Pupal Drone Extracts for Anti-wrinkle and Skin-lightening Materials

Jung-Eun Kim<sup>1</sup>, Do-Ik Kim<sup>1</sup>, Hui-Yeon Koo<sup>1</sup>, Hyeon-Jin Kim<sup>1</sup>, Seong-Yeon Kim<sup>1</sup>, Yoo-Beom Lee<sup>1</sup>, Jae-Hak Moon<sup>2</sup> and Yong-Soo Choi<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Jeon-nam Agricultural Research & Extension Services, Insect & Sericultural Research Institute, Jeonnam 57214, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science & Technology, Cheon-nam National University, Gwangju 61186, Korea

<sup>3</sup>Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Science, R.D.A. Wanju-Gun, Iseo-myeon 55365, Korea

Received January 10, 2020 / Revised March 15, 2020 / Accepted May 18, 2020

In this study, we created pupal stage extracts of *Apis mellifera* L. drones for use in cosmetic materials. The effect of the drone pupae extract (DPE) on HDF cells was assessed for analysis of anti-wrinkle activity by collagen or collagenase gene expression, and the skin-lightening effect was studied by in vitro tyrosinase inhibition and B16F10 melanoma assay; the two cells were found to be non-cellular when the concentration of DPE was 100 µg/ml. Albutin concentration (positive control) in the whitening test was set at a capacity of 100 µg/ml and m-melanocyte stimulating hormone (α-MSH). A melanin-producing induction material was set at a concentration of 100 nM, and the expression of collagen type I and MMP1 collagenase was measured using HDF cells. MMP1 expression was seen to reduce in a concentration-dependent manner in treatment with DPE. Inhibiting melanin generation with B16F12 cells indicated a tendency to decrease in the DPE treatment group. Both L-Tyrosine and L-DOPA as DPE were used in an in vitro tyrosinase induction test to demonstrate the effects of tyrosinase suppression on concentrations. The higher the concentration of DPE, the greater the wrinkle reduction and whitening effect. In conclusion, it was found that DPE is an effective smoothing and whitening material by increasing collagen generation and inhibiting collagenase expression and reducing melanin production.

**Key words** : Anti-wrinkles, drone, drone pupa extract, honey bee, skin-lighting

### 서 론

꿀벌은 전 세계적으로 분포된 곤충으로써 우리나라에서는 동양종 꿀벌(*Apis cerana*)과 서양종 꿀벌(*Apis mellifera*)이 사육되고 있다. 국내 양봉농가의 수는 24,629 농가로써 약 238만 봉군을 사육하고 있으며 연간 매출액은 5,527억원 정도이다. 이 중에서 대부분의 생산물은 서양종꿀벌에서 생산된 벌꿀, 화분, 로열젤리 등이 차지하고 있다. 반면에 동양종 꿀벌을 사육하여 생산된 소득의 대부분이 꿀에서 얻어지는 것으로 꿀을 제외하고는 프로폴리스, 로열젤리, 화분 등과 같이 서양종꿀벌에서 생산되는 다양한 양봉산물을 생산하거나 가공하는 것이 어렵다. 그러나 서양종 꿀벌도 5,527억의 소득 중에서도 약 60% 이상이 벌꿀 생산에 의존하고 있다는 약점을 가지고 있어서 새로운 부가가치를 창출할 수 있는 양봉 산물의 개발에 대한 양봉농가의 요구가 절실하다. 양봉산물 중에서 향균,

항산화 등의 기능성을 가지고 있는 것으로는 로열젤리, 프로폴리스가 많이 알려져 있으며 이들의 기능성은 이미 많은 임상적, 역사적으로 입증되어 있으나 수벌의 경우 양봉산물을 생산하는데 활동을 하지 않고 여왕벌과의 번식용으로만 이용되어 자연적으로 발생하는 수벌 및 번데기는 폐기처분되고 있다[11]. 최근 국내에서는 아까시 나무의 노쇠와 질병으로 인한 꿀의 흉작이 반복되고 있으며 양봉농가의 소득이 급감하여 양봉농가는 다양한 양봉산물의 개발을 요구하고 있다. 따라서 국내 연구진들은 양봉농가의 신소득원을 확보하여 농가소득 감소 문제를 해결하기 위하여 수벌번데기의 식용화에 관한 연구가 진행되었다[3, 9]. 그러나 수벌번데기를 생산하여도 회수에 많은 어려움이 있으며 이러한 불편을 개선하고자 수벌번데기 생산방법을 개선한 연구도 수행되었다[14]. 수벌번데기는 양봉산물에 포함되지 못하고 혐오식품으로 분류되어 그 식용화 가치가 올바르게 평가 받은 사례가 없었으나 중국의 경우에는 예부터 수벌번데기를 먹는 풍습이 있었으며 상품화되어 시판되고 있다. 전 세계적으로 수벌번데기는 꿀벌응애(*varroa mite*)를 친환경적으로 방제하고자 꿀벌응애 유인포살을 목적으로 이용되어 왔다[13]. 반면에 식품으로 이용가능성을 연구한 사례로 중국 최고의 의서로 불리는 <신농본초경>을 비롯하여 <도경초본>, <영표록> 등에서 수벌의 약리 작용 및 영양적 가치를 평가한 것이 있다. 국내에서도 수벌번데

#### \*Corresponding author

Tel : +82-63-238-2889, Fax : +82-+82-63-238-3832

E-mail : beechoi@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

기의 영양학적 가치에 대한 연구 결과로 동결건조물의 단백질 함량이 43~47%이고[3, 4], 식품으로써 요구되는 필수 3대영양소를 고르게 가지고 있는 등 서양종꿀벌 수벌번데기의 화학적 조성 및 영양학적 평가 결과 환자식으로의 이용 가능성을 보고한 바도 있다[2-4, 6, 7, 9-11, 14]. 우리나라에서 수벌번데기를 식품원료로 사용하여 가공용 소시지를 제조하여 각종 식품의 원료 및 첨가물로의 이용 가치를 구명하기도 하였다[8]. 이와 같이 곤충을 식품으로의 이용 가능성은 매우 높다[5]. 이와 더불어 수벌번데기가 식품원료로써 사용되기 위해서 안전성에 대한 연구 결과로 식중독 세균, 및 곰팡이 독소에 대한 안전성 평가 결과, 장출혈성대장균(*Enterohemorrhage Escherichia coli*)을 비롯한 각종 유해 미생물은 검출되지 않아서 식품원료로써의 사용이 가능한 것으로 확인되었으며[10], 수벌번데기를 식품으로 섭취하여도 알러지 발생이 되지 않는다는 장점도 확인되었다[6]. 따라서 식품원료로써 우수한 가치를 가지고 있는 수벌번데기의 이용 범위를 확대하고자 본 연구는 수벌번데기를 이용한 미용제품 원료로의 가능성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료준비

전라남도 곤충잡업연구소에서 사육중인 서양종꿀벌을 이용하여 16~20일령 사이의 수벌번데기를 2016년 4월부터 9월 초까지 생산하여 동결건조 하였으며 가정용 분쇄기를 이용하여 분쇄하였다. 분쇄된 수벌번데기 시료 5 g에 50% EtOH 100 ml을 가한 후 실온에서 3,000 rpm으로 shaking 하여 overnight 추출하였으며 추출액은 NO.2 여과지로 여과한 여액을 회전감압농축기를 사용하여 농축시킨 후 다시 동결건조하여 실험에 사용하였다.

### In vitro tyrosinase inhibition assay

동결건조된 수벌번데기 추출물은 dimethyl sulfoxide를 부형제로 하여 5, 10 및 20 mg/ml의 농도로 용해하여 조제하였다. L-tyrosine substrate 를 사용한 tyrosinase저해 반응은 0.1 M sodium phosphate buffer (pH6.8) 220  $\mu$ l에 2 mM L-tyrosine (Sigma aldrich, Lot. No BCBP3212V) 40  $\mu$ l 및 시험물질 용액 30  $\mu$ l의 혼합액에 650 U/ml tyrosinase 10  $\mu$ l를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후 신속히 ice에서 5분간 방치하여 반응을 중지시키고 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. L-DOPA substrate를 사용한 tyrosinase저해 반응은 0.1 M sodium phosphate buffer (pH6.8) 200  $\mu$ l에 5 mM L-DOPA (Sigma aldrich, Lot. No SLBP0312V) 100  $\mu$ l 및 시험물질 용액 50  $\mu$ l의 혼합액에 1,000 U/ml tyrosinase 50  $\mu$ l를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후 신속히 ice에서 5분간 방치하여 반응을 중지시키고 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosi-

nase inhibition rate는 다음과 같은 식으로 산출하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition rate (\%)} = 1 - \frac{(B-C)}{(A-D)} \times 100$$

A : 효소만 첨가된 용액, B : 효소와 시료가 모두 첨가  
C : 시료만 첨가, D : 효소와 시료 모두 무첨가

### 세포배양

HDF 및 B16F10 (mouse melanoma cell)은 ATCC (ATCC, USA)를 통해 구입하였으며 10 % Fetal bovine serum (Gibco, BRL, Life technologies CO. USA) 및 Antibiotics (Gibco, BRL, Life technologies CO. USA)가 포함된 DMEM 배지(Gibco, BRL, Life technologies CO. USA)에 3일에 한 번씩 계대배양하였다. 세포는 5%의 CO<sub>2</sub>가 유지되는 37°C incubator에서 배양하여 사용하였다.

### 세포독성시험

동결건조 한 수벌번데기추출물은 dimethyl sulfoxide를 부형제로 하여 20 mg/ml의 농도로 용해하고, DMEM 배지를 첨가하여 12.5, 25, 50, 100, 200 및 400  $\mu$ g/ml의 농도로 조제하여 사용하였다. 96-well plate에 HDF 세포는 8x10<sup>3</sup> cells/well, B16F10 세포는 1x10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 seeding하고 24시간 배양하였다. 시험물질을 농도 별로 처리하고 24시간 배양 후에 CCK-8 (Dojindo, Japan) 10  $\mu$ l를 첨가하여 37°C incubator에서 1시간 추가 배양하였다. Microplate reader (PerkinElmer, Victor TMx3, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 무처리군의 세포 생존률 대비 각 농도별 세포생존률을 구하였다.

### Collagen I 및 MMP1 발현량 측정

동결건조한 수벌번데기추출물은 dimethyl sulfoxide를 부형제로 하여 20 mg/ml의 농도로 용해하고, DMEM 배지를 첨가하여 4, 20 및 100  $\mu$ g/ml의 농도로 조제하여 사용하였다. 용매대조군은 DMEM 배지에 DMSO를 0.5 %의 농도로 조제하여 사용하였다. 100 mm plate에 HDF 세포를 1.5x10<sup>6</sup> cells/plate의 농도로 seeding하고 24시간 배양하였다. 배양 배지를 제거하고 PBS 1 ml/well을 첨가한 후 UVB 200 mJ/cm<sup>2</sup>을 조사하였다. PBS를 제거하고 시험물질이 농도 별로 포함된 배양 배지를 처리하고 24시간 배양 후에 세포를 수거하였다. 세포는 easy-BLUE™ Total RNA Extraction Kit (iNtRON Biotechnology, Korea)의 메뉴얼에 따라 total RNA를 추출하였다. 추출된 total RNA는 Spectrophotometer (UV-2450, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 260 nm 및 280 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. RT-qPCR은 iTaq™ Universal SYBR® Green One-Step kit (BIO-RAD)를 사용하여 Real time PCR machine (Chromo4, BIO-RAD, CA, U.S.A.)을 이용하여 Collagen I 유전자 발현량을 비교하기 위하여 Forward primer 5'-AGGGCC

AAGACGAAGACATC-3'과 Reverse primer 5'- AGATCAC GTCATCGCACAACA -3'를 사용하였으며, *MMP1* 유전자 발현량을 비교하기 위하여 Forward primer 5'-TCTGACGTTGA TCCAGAGAGCAG-3'을 사용하고 control로는 Forward primer 5'-AGAGCTACGAGCTGCCTGAC-3'과 Reverse primer 5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'을 사용하여 10 min. at 50°C, polymerase activation and DNA denaturation: 1 min. at 95°C, amplification (denaturation: 15 sec. at 95°C, annealing and extension: 30 sec. at 60°C, 40 cycle)의 조건으로 Real time PCR을 수행하였다. Real Time 결과는  $\beta$ -actin의 C(t)값으로 보정하여 음성대조군 대비 유전자 발현량을 상대 정량하였다.

**멜라닌 생성량 측정시험**

6 well plate에 B16F10세포를  $5 \times 10^4$  cells/well의 농도로 seeding하고 24시간 배양하였다.  $\alpha$ -MSH 및 시험물질을 농도 별로 처리하고 48시간 후에 배지를 제거하고 PBS로 세포를 세척하였다. RIPA buffer를 첨가하여 세포막을 깨뜨리고 12,000 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 protein을 추출하였다. BCA kit를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질 정량하였다. cell pellet은 1N NaOH (10% DMSO)를 500  $\mu$ l 첨가하여 70°C에 20분간 반응시켜 세포 내 멜라닌을 용출하였다. 용출된 멜라닌은 405 nm에서 흡광도(PerkinElmer, Victor <sup>TM</sup>x3, USA)를 측정하였으며, 멜라닌 표준품(Sigma aldrich)으로 얻은 표준 검량선을 이용하여 각각의 멜라닌 양을 산출하였고 total protein 값으로 보정하였다.

**통계처리**

실험에서 얻어진 모든 자료들은 평균과 표준 오차로 나타내었으며 SPSS (SPSS Version 20.0 Inc. U.S.A.)를 사용하여 검정

하였다. One-way analysis of variance (ANOVA)를 실시(유의 수준: 0.05)한 결과, 유의성이 관찰되면 control group에 대한 각 시험 군간의 유의성을 확인하기 위해 Dunnett's t-test의 다중 검정을 실시하였다(유의수준: 단측 0.05). *In vitro* tyrosinase inhibition assay 결과는 시험구 간 차이 유무를 확인하기 위해 Duncan's multiple range test를 실시하였다(유의수준: 양측 0.05).

**결과 및 고찰**

***In vitro* tyrosinase inhibition 효과**

*Tyrosinase*는 멜라닌 생성 경로에서 중요하게 작용하는 효소이기 때문에 이 효소의 활성을 저해할 수 있는 것을 피부미백 제품의 소재로 활용할 수 있다. 수벌번데기추출물의 *tyrosinase* 활성 억제 여부를 확인하기 위해 용매대조군의 *tyrosinase* 저해활성을 0%의 값으로 하였고 5, 10 및 20 mg/ml의 농도로 조제 된 수벌번데기 추출물을 처리하였다. 그 결과 수벌번데기 추출물의 농도에 따라 L-Tyrosine substrate에 대한 *tyrosinase* 저해활성은 각각 40.7, 62.5 및 83.8%를 나타내었고, L-DOPA substrate에 대한 저해활성은 각각 53.4, 57.7 및 61.9%를 나타내었으며, 각각의 결과는 통계학적으로 유의하게 증가되었다(Fig. 1A, Fig. 1B). 따라서 수벌번데기 추출물의 *in vitro* tyrosinase inhibition 시험 결과 농도의존적으로 미백 효과가 있음을 확인하였다. 코직산, 비타민 유도체, 알부틴 및 BHT (dibutylated hydroxytoluene) 등은 우수한 항산화활성과 미백효과를 나타내는 것으로 알려져 있으나 안전성에 문제점이 있어 사용량을 규제하고 있으며[15] 이에 따라 화장품 업계에서는 pheolic acid, flavonoids, carotenoid 등과 같은 천연물질과 각종 식물로부터 추출한 농축물을 미백제 및 항산화제로 개발이 활발히 이루어 지고 있다. 본 연구결과에서도 수

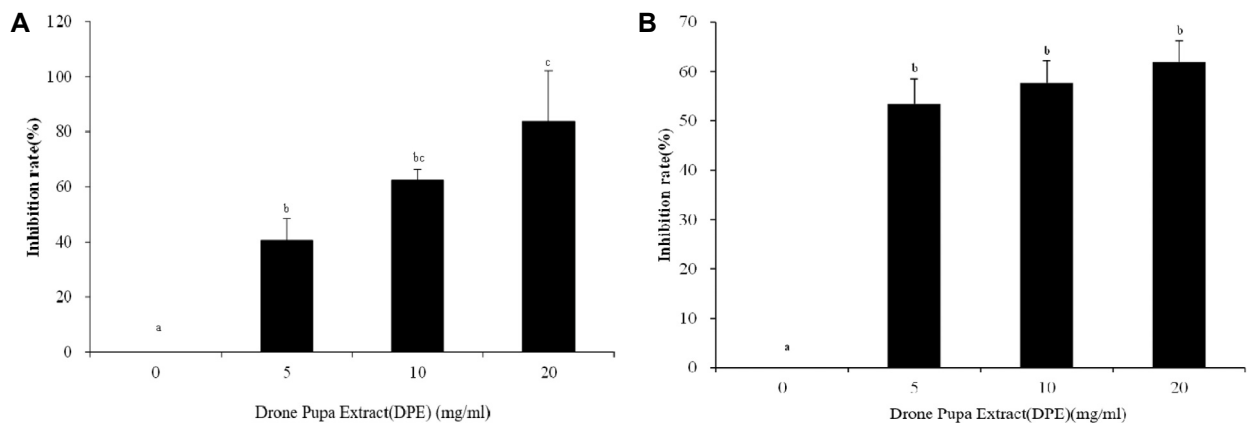


Fig. 1. Inhibition rate of drone pupa extracts on (A) Tyrosin substrate inhibition and (B) L-DOPA substrate inhibition activity. Transcriptional expression profiles of tyrosinase in response to drone pupa extract (DPE) in the HDF cells. Each point represents the mean + S.E (n=3). After 24 hr, total RNA was isolated from the cells at 0, 5, 10, 20 concentration post treatment. *tyrosinase* transcripts were analyzed using RT-PCR. The bars represent the means  $\pm$  SD. Significant differences are indicated with  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

벌번데기 또한 합성화학물질에 비해 그 효과는 낮으나 미백소재의 사용 가능성이 있음을 시사하였다.

**세포독성시험**

수벌번데기 추출물의 세포 독성을 시험하기 위하여 dimethyl sulfoxide를 부형제로 하여 20 mg/ml 농도로 수벌번데기 추출물을 용해하고, DMEM 배지를 첨가하여 12.5, 25, 50, 100, 200 및 400 µg/ml의 농도로 조제하여 HDF cell 세포독성 여부 시험을 하였다. Control HDF cell의 세포생존률이 100%일 때 용매대조군의 HDF cell 생존률은 평균 105.1%로 용매는 세포의 생존에 영향을 미치지 않았다. 따라서 수벌번데기 추출물이 100 µg/ml 이하에서는 세포독성을 나타내지 않았다. 그러나 200 µg/ml에서 70.2%, 400 µg/ml에서 38.5%의 HDF cell 생존률을 나타냈다(Fig. 2A). 또한 B16F10 cell의 경우에는 무처리 control의 세포생존률이 100%일 때 용매대조군의 세포생존률은 92.3%로 나타나 세포 생존에 큰 영향을

미치지 않는 것으로 판단하였다(Fig. 2B). 수벌번데기 추출물 100 µg/ml 처리군에서는 89.9%의 세포 생존률을 나타내어 용매대조군과도 차이를 나타내지 않았다. 그러나 B16F10 cell의 경우에도 200 µg/ml에서 80.2%, 400 µg/ml에서 48.3%의 세포 생존률을 나타내어 실용화 가능한 농도로써 수벌번데기 추출물은 100 µg/ml를 최고 농도로 설정하여 시험에 사용하였다.

**Collagen type I, MMP1 발현량 측정**

수벌번데기 추출물을 처리한 HDF cell에 의해 생성된 collagen type I 및 MMP1의 발현량을 RT-qPCR로 측정하고 용매대조군을 기준으로 상대 정량한 결과, 용매대조군의 collagen type I의 발현량을 1로 설정하였을 때 UVB만 처리한 대조군의 collagen type I의 발현량은 평균 0.6으로 용매대조군과 비교시 통계적으로 유의하게 감소하여, UVB 조사에 의한 collagen type I의 발현량이 감소된 것을 확인하였다. 대조군에서 감소된 collagen type I의 발현량은 수벌번데기 추출

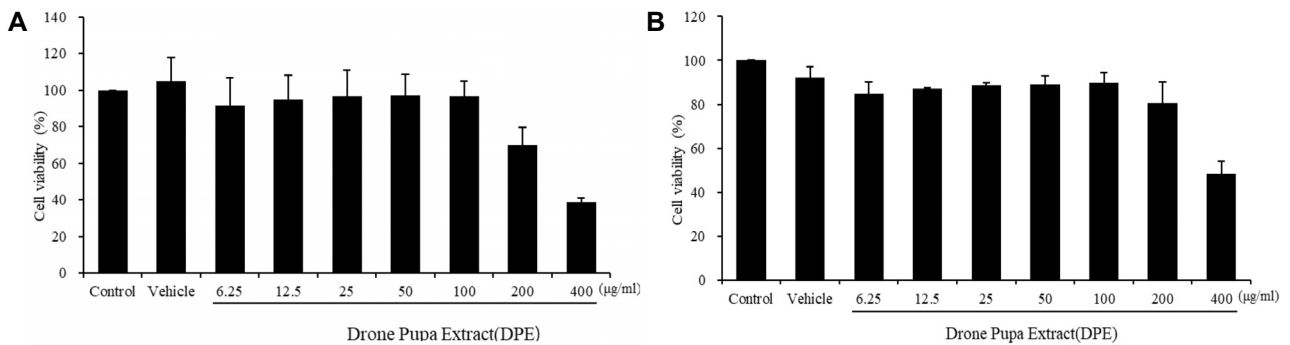


Fig. 2. Cytotoxicity of drone pupa extracts on (A) HDF ( $8 \times 10^3$  cells/well) and (B) B16F10 ( $1 \times 10^4$  cells/well) (B) Cells (n=3). Different concentration of DPE were treated for 24 hr in  $8 \times 10^3$  cells/well HDF and  $1 \times 10^4$  cells/well B16F10 cells. Control means normal control group (media). Vehicle means vehicle group (0.5% DMSO).

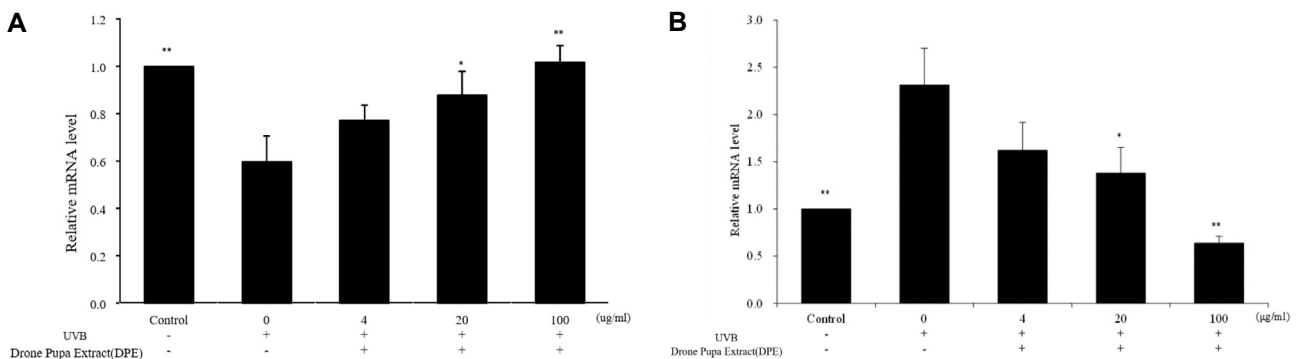


Fig. 3. Effect of drone pupa extract (DPE) on (A) the expression of collagen type I and (B) MMP1 mRNA in HDF cell. HDF cells were treated with indicated concentration of DPE (n=3). After 24 hr, total RNA was isolated from the cells at 0, 4, 20, 100 (µg/ml) concentration post treatment. collagen type I and MMP 1 transcripts were analyzed using RT-PCR. Control: Normal control group (vehicle), Drone Pupa Extract (DPE) 0: UVB only group, Drone Pupa Extract (DPE) 4: UVB + Drone Pupa Extract (DPE) 4 µg/ml treated group, Drone Pupa Extract (DPE) 20: UVB + Drone Pupa Extract (DPE) 20 µg/ml treated group, Drone Pupa Extract (DPE) 100: UVB + Drone Pupa Extract (DPE) 100 µg/ml treated group. The bars represent the means ± SD. Significant differences are indicated with one asterisk at  $p < 0.05$  and with two asterisks at  $p < 0.01$  by Dunnett's t-test.

물 처리군에서 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 20 및 40 µg/ml 처리군에서 통계학적인 유의성( $p < 0.05$  및  $p < 0.01$ )을 나타내었다(Fig. 3A). 그리고 용매대조군의 MMP1의 발현량을 1로 설정하였을 때 UVB만 처리한 대조군의 MMP1의 발현량은 평균 2.31로 용매대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가하여, UVB 조사에 의하여 MMP1의 발현량이 증가된 것을 확인하였으며 대조군에서 감소된 MMP1의 발현량은 수벌번데기 추출물 처리군에서 농도 의존적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 20 및 40 µg/ml 처리군에서 통계학적인 유의성( $p < 0.05$  및  $p < 0.01$ )을 나타내었다(Fig. 3B). 결론적으로 시험물질 수벌번데기추출물은 collagen 생성을 증가시키고 collagen 분해 효소인 MMP1의 발현을 억제함으로써 주름 개선에 효과가 있는 것으로 판단된다.

**Melanin 생성 억제 효과**

수벌번데기 추출물의 melanin 생성 억제 시험을 위하여 B16 F10 cell에 α-MSH를 처리하여 세포에서 melanin 생성을 증가시키고, 수벌번데기 추출물을 농도별로 처리하여 세포 내 생성되는 melanin의 양을 측정 한 결과, 용매대조군의 melanin 생성량을 1로 나타내었을 때 α-MSH만 처리한 대조군의 세포 내 melanin 생성량은 2.67로 용매대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 증가되어, α-MSH에 의해 세포 내 melanin 생성이

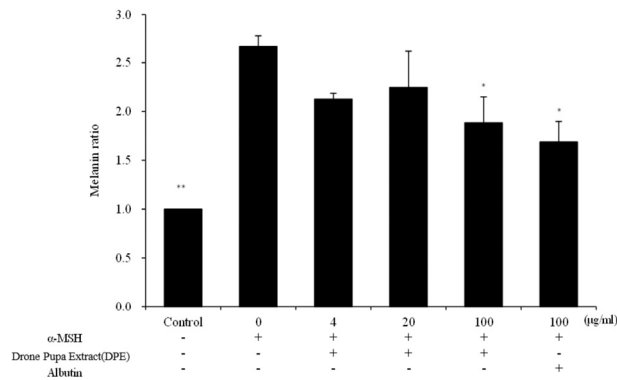


Fig. 4. Effect of drone pupa extract (DPE) on the expression of Melanin in B16F10 cell. B16F10 cells were treated with indicated concentration of DPF (n=3). After 48 hr, protein was harvested from the cells at 0, 4, 20, 100 (µg/ml) concentration of DPE and 100 (µg/ml) albutin post treatment. Melanin concentrations were analyzed using BCA kit. Control: Normal control group (vehicle) Drone Pupa Extract (DPE) 0: α-MSH only group Drone Pupa Extract (DPE) 4: α-MSH + Drone Pupa Extract (DPE) 4 µg/ml treated group Drone Pupa Extract(DPE) 20: α-MSH + Drone Pupa Extract (DPE) 20 µg/ml treated group Drone Pupa Extract(DPE) 100: α-MSH+ Drone Pupa Extract (DPE) 100 µg/ml treated group. The bars represent the means ± SD. Significant differences are indicated with one asterisk at  $p < 0.05$  and with two asterisks at  $p < 0.01$  by Dunnett’s t-test.

증가되는 것을 확인하였고 대조군에서 증가된 melanin 양은 모든 시험물질 투여군에서 감소하는 경향을 나타내었으며, 100 µg/ml 처리군에서 통계적으로 유의하게 감소되었다(Fig. 4). 따라서 수벌번데기는 피부 속 melanin 색소 생성을 억제하여 미백효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.

**The Conflict of Interest Statement**

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

**References**

1. Apimondia. 1975. The hive products: food health and beauty. *Proc. of Intern. Sympto. on Apitherapy. Apimondia publishing house, Bucharest, Romania.* 154.
2. Burgett, M. 1990. Bakuti-a Nepalese culinary preparation of giant honeybee brood. *The Food Inse. Newslet.* **3**, 1-2.
3. Choi, Y. S., Lee, M. L., Lee, M. Y., Kim, H. K., Lee, K. G., Yeo, J. H. and Woo, S. O. 2009. Management for high quality drone products. *Kor. J. Api.* **24**, 1-7.
4. Dietz, A. 1975. Nutrition of the adult honeybee. In: *The hive and honeybee. Dadt. Sons, Hami.* **11**, 125-156.
5. FAO. 2013. Edible Forest Insects. Human bite back. Rome.
6. Hocking, B. and Matsumura, F. 1960. Bee brood as food. *Bee World* **5**, 113-120.
7. J, Stoevesandt. and Trautmann, A. 2018. Freshly squeezed: anaphylaxis caused by drone larvae juice. *Eur. Ann. Allergy Clin. Immunol.* **5**, 232-234.
8. Kang, S. M., Maeng, A. R., Seong, P. N., Kim, J. H., Cho, S. H., Kim, Y. S. and Choi, Y. S. Effect of drone pupa meal added as replacement of sodium, nitrate and vitamin C on physico-chemical quality characteristics of emulsion-type sausage. *Kor. J. Food Nutr.* **6**, 802-810.
9. Kim, J. E., Kim, S. G., Kang, S. J. and Kim, Y. H. 2016. Physico-chemical characteristics of drone pupa and major pollens. *The 31st Conferences of the Api. Soci. Kor. Sympto.* 142.
10. Kim, S. G., Woo, S. O., Jang, H. R., Choi, H. M., Moon, H. J. and Han, S. M. 2018. Safety investigation on foodborne pathogens and mycotoxins in honeybee drone pupas. *J. Food Hyg. Saf.* **5**, 399-403.
11. Kim, S. G., Woo, S. O., Bang, K. W., Jang, H. R. and Han, S. M. 2018. Chemical composition of drone pupa of *Apis mellifera* and its nutritional evaluation. *J. Apicul.* **33**, 17-23.
12. Mark, D. F. 2005. Nutrient composition of bee brood and its potential as human food. *Ecol. Food Nutr.* **4**, 257-270.
13. Rosenkranz, P., Aumeier, P. and Ziegelmann, B. 2010. Biology and control of Varroa destructor. *J. Invertebr. Pathol.* **103 Suppl1**, S96-119.
14. Theones, S. C. and Schmidt, J. O. 1990. A rapid, effective method of non-destructively removing honeybee larvae from combs. *Amer. Bee J.* **130**, 817.
15. Waldrop, M. 1980. Firm takes new approach to food additives. *Chem. Eng. News* **55**, 22-27.

## 초록 : 수벌번데기 추출물의 주름개선 및 미백효과 구명

김정은<sup>1</sup> · 김도익<sup>1</sup> · 구희연<sup>1</sup> · 김현진<sup>1</sup> · 김성연<sup>1</sup> · 이유범<sup>1</sup> · 문제학<sup>2</sup> · 최용수<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>전라남도 농업기술원 곤충잡업연구소, <sup>2</sup>전남대학교 식품공학과, <sup>3</sup>국립농업과학원 잠사양봉소재과)

본 연구에서는 시험물질인 수벌번데기추출물의 *in vitro* 주름개선, 미백 및 보습 효능 평가를 검정하였다. 수벌번데기추출물의 미백효과 시험을 위하여 *in vitro* tyrosinase inhibition 시험을 하였다. 이를 위하여 기질로 L-Tyrosine 및 L-DOPA를 사용하였을 때 모두 농도의존적으로 tyrosinase 억제 효능을 보여서 미백효과를 가지고 있는 것을 확인하였다. 그리고 수벌번데기 추출물의 주름개선 효과 및 보습효과를 구명하기 위하여 HDF, B16F10 cell을 사용하였다. 추출물의 이들 세포에 미치는 세포독성시험을 실시한 후 시험물질의 투여 용량을 설정하였다. 그 결과 두 세포 모두 독성을 나타내지 않는 100 µg/ml를 최고 농도로 설정하고, 공비 1/5로 20 및 4 µg/ml를 시험농도로 설정하였다. HDF cell을 이용하여 collagen type I 및 MMP1의 발현량을 측정된 결과 UVB 조사로 감소된 collagen type I의 양은 시험물질 처리로 인하여 농도 의존적으로 증가되었다. UVB 조사로 증가된 collagen 분해효소인 MMP1의 발현은 시험물질 처리로 인하여 농도 의존적으로 감소하였다. B16F12 cell을 이용한 melanin 생성 억제 시험 결과, 시험물질 처리군에서 감소하는 경향을 나타내었다. 결론적으로 시험물질인 수벌번데기추출물은 collagen 생성을 증가시키고 collagen 분해 효소인 MMP1의 발현을 억제함으로써 주름 개선에 효과가 있으며, melanin 생성을 억제하여 피부미백에도 효과가 있을 것으로 판단된다.