쌀겨오일의 안티폴루션 화장품 소재로써의 응용

강 해 란', '·정 소 영'·허 효 진''·차 병 선''·Sofia Brito''· 이 소 민'· 여 혜 림''·유 경 완'·곽 준 수'·곽 병 문'''·이 미 기'''', #·빈 범 호'''', #

*아주대학교 응용생명공학과, 석사과정 학생
***아주대학교 응용생명공학과, 박사과정 학생
****세명대학교 화장품뷰티생명공학부, 교수
*****경기도경제과학진흥원
******아주대학교 응용생명공학과, 교수
(2021년 8월 27일 접수, 2021년 9월 13일 수정, 2021년 9월 28일 채택)

Application of Oryza sativa (Rice) Bran Oil as an Anti-pollution Cosmetic Material

Hae-Ran Kang^{1,†}, So Young Jung¹, Hyojin Heo¹, Byungsun Cha¹, Sofia Brito¹, So Min Lee¹, Hye Lim Yeo¹, Kyung Wan Yoo¹, Jun Soo Kwak¹, Byeong-Mun Kwak², Mi-Gi Lee^{3,††}, and Bum-Ho Bin^{1,††}

¹Department of Applied Biotechnology, Ajou University, 206, World cup-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16499, Korea

²School of Cosmetic Science and Beauty Biotechnology, Semyung University

³GBSA, Gyeonggido Business and Science Accelerator

(Received August 27, 2021; Revised September 13, 2021; Accepted September 28, 2021)

요 약: 미세먼지와 초미세먼지는 일반적으로 사람 머리카락의 두께에 비하여 각각 1/6 ~ 1/7, 1/20 ~ 1/30 정도로 매우 작은 부유성 먼지를 뜻하며, 다양한 종류의 중금속 이온이 내포되어 있다. 호흡뿐 아니라 피부의 모공 틈새를 통해서 유입된 미세먼지는 체내 조직과 피부 건강에 문제를 유발할 수 있기 때문에 유입을 막거나 깨끗이 씻어내어 제거해야 한다. 본 연구를 통해 Oryza sativa (Rice) bran oil (OSBO, 쌀겨오일)을 이용하면 중금속 이온을 흡착하여 제거할 수 있을 것이라는 가능성을 확인하였다. 또한, 세포독성 실험을 통해 세포 생존율이 곡물 유래 성분과 비교했을 때에도 월등히 높아 외부 자극원에 대한 세포 보호 효과를 기대할 수 있다. COL1A1 mRNA의 발현량이 높아짐을 확인하였고, 이에 따라 미세먼지 속 중금속 이온에 의해 손실된 수분으로 유발될수 있는 주름을 완화할 수 있을 것으로 사료된다. 이러한 실험 결과를 바탕으로 최종적으로 중금속 제거를 위한 워시-오프 제형의 OSBO 함유 화장품을 제시하고자 하였다.

Abstract: Particulate matter and ultra-particle matters generally refer to very small floating dust, such as 1/6 to 1/7 and 1/20 to 1/30, respectively, compared to the thickness of human hair, and contain various types of heavy metal ions. In addition to breathing, particle matters (PM) that flows in through the gaps in the pores of the skin can induce health problems in the body's tissues and skin, so it must be removed by blocking the inflow or by washing. Through this study, we confirmed the possibility that heavy metal ions can be adsorbed and removed by using *Oryza sativa* (Rice) bran oil (OSBO). In addition, the cell viability is much higher than that of grain-derived components through cytotoxicity experiments, and the cytoprotective effect of an external stimulus source can be expected. It was confirmed that the expression amount

† 주 저자 (e-mail: gofks211@ajou.ac.kr)

call: 032-219-2618

of COL1A1 mRNA increased, and accordingly, it was believed that wrinkles that might be caused by moisture lost by heavy metal ions in fine dust could be alleviated. Based on the results of these experiments, we tried to present a cosmetics containing OSBO, which is a wash-off formulation, in order to finally remove heavy metals.

Keywords: Oryza sativa (Rice) bran oil, particulate matter, adsorbation of heavy metal ions, anti-pollution cosmetic material, natural material

1. 서 론

미세먼지(particulate matter, PM)은 PM_{10} 및 $PM_{2.5}$ 를 지칭하며 입자 사이즈에 따라 PM_{10} 는 직경이 $10~\mu m$ 이하인 부유성 먼지를, $PM_{2.5}$ 는 직경이 $2.5~\mu m$ 이하인 먼지를 뜻하여 분류된다. 일반적으로 사람 머리카락 두께와 비교하면 PM_{10} 는 $1/6 \sim 1/7$, $PM_{2.5}$ 는 $1/20 \sim 1/30$ 정도로 매우 작다. 주로 호흡을 통해 체내 유입이 많이 이뤄지는데, 콧속의 점막 또는 코털을 통해 걸러지지 않은 미세먼지가 폐포로 그대로 들어오고 혈관을 통해 온몸으로 퍼지게 되어 이차적인 문제를 일으킨다. 최근 코로나19 발병으로 인해 마스크 착용이 일반화되면서 호흡을 통한 미세먼지 유입을 일정 부분 막아주긴 하지만, 피부의 모공 틈새를 통해서 유입된 미세먼지에 의해서도 피부와 체내 건강에 문제를 유발할 수 있다.

세계보건기구(World Health Organization, WHO)가 2018 년 공표한 대기 환경의 질과 건강에 관한 fact sheet에 따르면 고농도의 작은 입자(PM₁₀ 및 PM_{2.5})에 대한 노출과 시간 경과에 따른 사망률 증가 사이에는 밀접하고 정량적인 관계가 있다. 그뿐 아니라 대기 오염에 대한 노출도와 피부질환 발생 여부에 대해서도 연관성을 찾아볼 수 있다[1]. 해가 거듭될수록 환경과 건강에 대한 논란이 커지는 만큼 우리나라에서도 미세먼지에 대한 언급과 이슈가 높아지고 있다.

미세먼지와 결합되어 있는 중금속(Pb, Cd 등)은 피부의 모공을 통해 단백질과 결합하거나 피부 세포간지질의 산화 스트레스를 유발하여 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 만들어낸다[2,3]. 또한, 활성산소는 전염증 사이토 카인의 분비를 야기하며 콜라겐 분해 효소인 matrix metalloproteinase (MMPs) MMP-1, MMP-2, MMP-9 등을 증가시킨다[4]. 결과적으로 공기 중의 오염 물질 즉, 미세먼지의 상승이 피부 노화, 수분 손실, 염증성 피부 질환(여드름, 아토피 피부염, 습진 등) 뿐만 아니라 모발 손상을 야기하게 된다[5,6]. 이에 따라 화장품 업계에서는 내부 및 외부적 요인에 의해 민감해진 피부와 모발을 개선하기 위

해 자극도가 낮거나 완화해 줄 수 있는 성분을 사용하여 대응하고 있으며, 자연스럽게 식물 유래 성분에 대한 수요 가 하나의 트렌드로 자리 잡았다.

본 연구에서 검토하고자 하는 Oryza sativa (Rice) bran oil (OSBO, 쌀겨오일)의 원재료는 현미를 깎아 정백미로 만들 때 생성되는 쌀겨이며, 현미는 왕겨만을 제거하고 쌀눈과 외강층(겉미강, 속미강)이 남아 있도록 도정한 쌀을 뜻한다. 쌀겨에 함유되어 있는 피탄산(phytic acid, PA)은 콩류, 나무의 열매, 곡류의 외피에 많이 분포되어 있는 천연식물 항산화제로, 수용액 상태에서 음이온을 형성해 중금속(Cu, Pb, Cd 등) 이온과 결합하는 금속이온 봉쇄 효과가 있다고 알려져 있다[7].

본 연구에서는 OSBO에 의한 중금속 흡착 가능성뿐만 아니라 OSBO의 세포 생존능, 단백질 발현량 등을 곡물 유래 시료와 비교하여 실험하여 화장품 안티 폴루션 소재로서의 가능성을 검토하고자 하였다. 최종적으로 미세먼지에의해 두피 및 모발에 잔존할 수 있는 중금속을 흡착, 제거하면서도 항산화 효과를 기대할 수 있는 워시-오프 제형의화장료를 제조하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 재료

OSBO 외 비교 실험한 시료는 아래 표와 같다(Table 1). 실험에 사용된 시료는 충북 제천시의 연실영농조합/충북약 초영농조합(Korea)에서 구매하였다. 모든 원료는 수분 5%

Table 1. Information of Test Samples

Name	Abbreviation
Oryza sativa (Rice) bran oil	OSBO
Sorghum bicolor ethanol extract	SBEE
Coix lacryma-jobi ma-yuen shell ethanol extract	CMEE
Polygonatum sibiricum rhizome ethanol extract	PSREE

미만으로 건조해 사용하였고 추출하기 전에 $800 \sim 1,000$ μ m 사이즈로 파쇄하여 이전 논문에서 보여준 방식으로 추출하였다[8,9].

2.2. OSBO의 중금속 흡착능 검토

OSBO의 중금속 성분에 대한 흡착 여부를 검토하기 위하여 농도별 중금속 수용액과 OSBO를 1:1 비율로 혼합시킨 후 수용액 내의 중금속 함유량과 OSBO를 혼합하지않은 중금속 수용액 내의 중금속 함유량을 비교하였다. 카드늄과 납 수용액을 농도별(0, 20, 100 µg/mL)로 제조하고 SenSafe® water metals check kit (Industrial Test System, USA)에 30 s 침적시킨 후 건조해 check kit의 색상 변화를 대조군으로 설정하였다. 대조군으로 설정한 농도별 카드늄과 납 수용액과 OSBO를 1:1 비율로 5 min 교반하여 반응시킨 후 원심분리하여 수용액 상과 오일상을 분리하였다. 하단부의 수용액을 SenSafe® water metals check kit에 30 s 침적시킨 후 건조해 색상 변화를 실험군으로 설정하였다. 실험 결과는 육안 테스트와 Image J 프로그램을 통해 중금속 수용액의 농도별 color intensity의 평균값을 산출하여 그래프화 하였다.

2.3. 세포배양

실험에는 이전 논문에 기재한 내용처럼 마우스로부터 분리해낸 skin fibroblast 세포를 사용하였다[10]. Fetal bovine serum (FBS, Gibco, USA) 10%, penicillin/streptomycin (Welgene, Korea)을 1%를 첨가한 DMEM/high glucose (Lonza, Switzerland) 배지를 사용하여 37 ℃, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

2.4. 세포 생존능(Cell Viability) 측정

시료의 세포 생존 능력을 평가하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay 실험을 수 행하였다. 실험에서 사용된 skin fibroblast 세포는 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin을 첨가한 DMEM 배지를 사용하여 5% CO₂, 37 [°]C 배양기에서 배양하였다. 세포독성은 MTT를 이용하여 측정하였다[11].

Skin fibroblast 세포를 1 × 10⁴ cells/well 농도로 96 well plate에 분주한 후 37 ℃, 5% CO₂ 배양기에서 24 h 배양 하였다. 세포 배양에 사용된 배지를 제거하고, 100% 조성의 시료를 ethanol과 PBS, DMEM 배지를 사용하여 최종 25 ~ 1,000 μg/mL 농도 기준으로 희석하여 각 well 내첨가하고 대조군에는 DMEM 배지를 첨가한 후 다시 24 h

동안 배양하였다. 그 후에 5 mg/mL 농도의 MTT 시약을 well 당 20 μ L씩 첨가한 다음 37 $^{\circ}$ C, 5% $^{\circ}$ CO₂ 배양기에서 4 h 동안 반응시킨 후, 환원된 MTT formazan 결정을 DMSO 200 μ L에 용해시켰다. 흡광도는 분광 광도계 (SpectraMAX 190, Molecular Devices, USA)로 540 nm 파장에서 측정하였다. 이후 각각의 세포 독성은 세포 생존율(%)로 표시하였다.

2.5. Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR) 시료의 항염증 관련 유전자의 mRNA 발현 수준을 평가하고자 qPCR을 진행하였다. skin fibroblast 세포를 1 × 10⁵ cells/well 농도로 6 well plate에 분주한 후 37 °C, 5% CO₂ 배양기에서 24 h 배양하였다. 100 ng/mL 농도의 시료를 24 h 처리한 후, TRIzol을 이용하여 mRNA를 isolation 하였다. 추출된 mRNA 농도를 biophotometer (Hamburg-Eppendorf, Germany)로 측정하고, Accu Power® RocketScript™ Cycle RT PreMix & Master Mix (Bioneer, Korea)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. mRNA 발현양을 측정하기 위해서 cDNA, primer (forward/reverse), QGreen™ SybrGreen Master Mix를 MicroAmp Fast Reaction Tubes (Applid Biosstems, Gemany)에 분주한 뒤, AriaMix real-time PCR system (Agilent Technologies, USA)로 진행하였다. qPCR에 사용된 primer sequence는 이래의 표와 같다(Table 2).

Table 2. Sequence of Primers

Primer		Sequence $(5' \rightarrow 3')$
COL1A1 -	Forward	AACAGTCGCTTCACCTACAG
	Reverse	GAGGTCTTGGTGGTTTTGTA
IL-6 -	Forward	TGGCAATTCTGATTGTATGA
	Reverse	GTTTGGTAGCATCCATCATT
GAPDH -	Forward	CATTGACCTCAACTACATGGT
	Reverse	ATTTGATGTTAGTGGGGTCTC

2.6. OSBO 함유 화장료 제조

OSBO를 0.1% 함유하고, OSBO 성분에 의해 흡착된 중 금속을 제거할 수 있도록 워시-오프 제형을 고안하였다. 이 제형은 부틸렌글라이콜과 변성알코올에 양이온 계면활성제를 열을 가해 용해시키고(phase A) OSBO와 착향제 및 방부제를 가용화제와 분산하여 혼합한 후(phase B) 수상 (phase C)을 첨가하여 완전히 분산하여 제조하였다. 제형에 대한 조성은 아래 도표에 표기하였다(Table 3).

Table 3. Composition of Cosmetic Product Containing OSBO

Ingredients	Phase	Contents (%)
Butylene glycol	A	45.000
Myristyl alcohol		7.960
Steartrimonium chloride		1.320
Propylene glycol		0.880
Palmitamidopropyltrimonium chloride		0.300
Cetyl alcohol		0.032
Lauryl alcohol		0.008
Alcohol denat	В	31.065
PEG-60 hydrogenated castor oil		0.700
Phenoxyethanol		0.500
Fragrance		0.500
Oryza sativa (Rice) bran oil		0.100
Water	C	10.765
Cetrimonium chloride		0.870

2.7. OSBO 함유 화장료의 중금속 흡착능 검토

OSBO를 0.1% 함유한 화장료의 사용 유무에 따른 수상의 중금속 함유량을 비교하여 중금속 성분 흡착 여부를 검토하고자 하였다. 상단에서 제조한 화장료의 경우 과량의물과 섞이면 부틸렌글라이콜과 변성알코올에 용해되어있던 양이온계면활성제에 의해 액상에서 크림상으로 변하는 제형으로, 중금속 수용액과 혼합한 후 분리한 수상의 중금속 농도를 비교하여 제형이 중금속 성분을 흡착할 수 있는지를 판단하고자 하였다.

대조군은 1,000 μ g/mL 농도의 중금속(Pb, Cd, Pb+Cd) 수용액을 제조하여 SenSafe® water metals check kit에 30 s 침적시킨 후 건조해 check kit의 색상을 관찰하였다. 실험군은 1,000 μ g/mL 농도의 중금속 수용액과 OSBO 함유 화장료를 1:1 비율로 혼합시킨 후 원심분리하여 액상과 크림상을 분리하였다. 하단부의 수용액을 SenSafe® water metals check kit에 30 s 침적시킨 후 건조해 check kit의 색상을 관찰하였다. 실험 결과는 육안 테스트와 Image J 프로그램을통해 중금속 수용액의 color intensity의 평균값을 산출하여그래프화 하였다.

2.8. OSBO 함유 화장료의 안정도 검토

화장료를 사용기한 내에서 안정적으로 사용할 수 있는 지 검토하기 위하여 안정성 테스트를 진행하였다. 제조한 OSBO 0.1% 함유 화장료를 여과하여 동일한 용기에 일정 량을 담아 1 즉, 1 달, 2 달 간격으로 실온(25 $^{\circ}$ C), 저온(4 $^{\circ}$ C), 고온(37 $^{\circ}$ C, 50 $^{\circ}$ C) 조건에서 변색, 변취, 분리 등의 안정도 변화를 관찰하였다.

2.9. Statistical Analysis

본 연구에서 3 회 이상 반복 실험으로부터 얻은 결과는 평균 \pm 표준오차로 나타내었다. 통계적 유의성은 student's t-test를 사용하여 p < 0.05의 신뢰수준에서 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 중금속 흡착능

OSBO의 중금속 흡착능을 검토하기 위해 대기 오염 물질인 미세먼지에 다량 함유되어 있는 카드늄과 납 성분을 이용하였고, 각 농도별(0, 20, 100 µg/mL)로 중금속 수용액을 제조하였다. 수용액에 SenSafe® water metals check kit를 침적시킨 후 완전히 건조하면 키트의 노란색 부분의 색상이 변화하였고, 중금속 수용액의 농도가 높을수록 진한 노란색에서 보랏빛이 섞여 점차 진해지는 것을 볼 수 있었다. 따라서 대조군에 비하여 실험군의 check kit 색상이 연하면 연할수록 중금속 이온을 OSBO가 흡착하지 못한 것으로 판단하였다.

실험 결과를 보면 중금속이 함유되지 않은 정제수(중금 속 수용액 0 $\mu g/\text{mL}$)에 SenSafe® water metals check kit를 침 적시킨 결과와 정제수와 OSBO를 혼합시킨 후 수용액 층을 분리하여 check kit를 침적시킨 결과에서는 색상 변화가 흡사했으며, 중금속 이온을 함유한 용액을 이용한 실험 결과를 통해 대조군에 비하여 실험군의 check kit 색상이 대체적으로 연한 것을 육안으로 확인하였다(Figure 1A).

중금속 수용액 종류별로 각 농도 기준에서의 SenSafe[®] water metals check kit 색상 변화를 Image J 프로그램으로 산출하여 평균값을 계산하여 비교한 결과, 중금속 수용액 종류별 0 µg/mL 조건에서의 color intensity를 100으로 설정하여 비교하면 실험군의 값이 유사하거나 낮았다(Figure IB). 이러한 실험 결과를 바탕으로 OSBO가 중금속 이온 성분을 흡착할 수 있으며, Pb 이온보다는 Cd 이온에 대한 흡착 효과가 좋다는 것을 시사한다.

3.2. 세포 생존능(Cell Viability)

MTT assay는 serial dilution을 통해 농도에 따른 세포

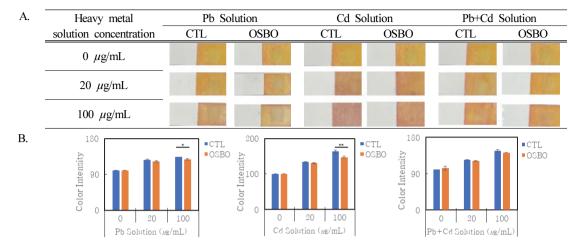


Figure 1. Heavy metal adsorption capacity test results. As a result of comparing the color intensity using the heavy metal solution, it can be known that OSBO adsorbs heavy metal ions. (A) Comparison results by concentration of heavy metal solution. (B) Comparison of Image J calculated values by type and concentration of heavy metal solution. CTL means control, it was not treated with OSBO. The results are presented as the mean \pm SD of the experiment (N = 3), p < 0.05, p < 0.05, p < 0.01, p < 0.005, compared to CTL.



Figure 2. MTT Assay results by OSBO concentration in skin fibroblast cell. Cells were treated with OSBO (*Oryza sativa* (Rice) bran oil) for 24 h, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂. (A) Treated concentration of OSBO is 0, 25, 50, 100 ng/mL. (B) Treated concentration of OSBO is 0, 10, 100, 1,000 ng/mL. CTL means control, it was not treated with OSBO. The results are presented as the mean \pm SD of the experiment (N = 3), p < 0.05, p < 0.05, p < 0.01, p < 0.005, compared to CTL.

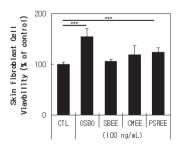


Figure 3. MTT assay results by 100 ng/mL of OSBO and grain-derived components in skin fibroblast cell. Cells were treated with OSBO (*Oryza sativa* (Rice) bran oil), SBEE (*Sorghum bicolor* ethanol extract), CMEE (*Coix lacryma-jobi Ma-yuen shell* ethanol extract), PSREE (*Polygonatum sibiricum* rhizome ethanol extract) for 24 h, 37 °C, 5% CO₂. CTL means control, it was not treated with any samples. The results are presented as the mean \pm SD of the experiment (N = 3), p < 0.05, p < 0.01, p < 0.01, p < 0.005, compared to CTL.

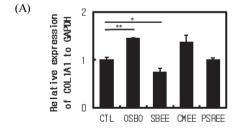
생존율을 검토한 결과, 10 ng/mL 농도의 OSBO 적용 시 0 ng/mL 농도 기준의 CTL 그룹의 세포 생존율과 유사하였다. 그 외의 농도 기준의 세포 생존율을 보면 농도 의존성 증식 능력 향상을 보여주었으며 1,000 ng/mL 기준에서는 CTL보다 세포 생존율이 높으나 100 ng/mL 기준보다 낮아졌다. 따라서 세포 증식 효능이 가장 좋은 100 ng/mL 기준의 OSBO 시료를 이용하여하기 세포 실험을 진행하고자하였다.

OSBO가 곡물에서 유래한 성분임을 감안하여 다양한 곡물 유래 성분과 비교하여 세포 생존율을 검토하고자 하였으며, OSBO의 세포 증식 효능이 가장 좋았던 100 ng/mL 농도 기준으로 MIT assay를 통해 비교 실험하였다. 실험결과를 보면, 다른 곡물 유래 성분(SBEE, CMEE, PSREE)에 비하여 OSBO에 의한 세포 생존율이 월등히 높다는 것을 확인할 수 있었다(Figure 3). 이를 통해 OSBO가 외부자극이나 독성 성분으로부터 세포를 보호할 수 있다는 가능성을 보여준다.

3.3. qPCR을 통한 mRNA 발현량 비교

Skin fibroblast 세포에 시료를 처리하지 않고 RT-qPCR을 진행한 결과를 대조군으로 설정하고 각 100 ng/mL 농도의 시료(OSBO, SBEE, CMEE, PSREE)를 세포에 24 h 처리한 후 RT-qPCR 진행한 결과를 실험군으로 설정하였다.

각 시료와 비교하면 OSBO와 CMEE 처리 시 대조군에 비하여 COLIAI mRNA 발현량이 유독 높은 것을 확인할 수 있었다. IL-6 mRNA 발현량 차이 비교 시에는 OSBO와 SBEE를 세포에 24 h 처리했을 때 대조군에 비하여 감소함 을 확인할 수 있었다(Figure 4). 이에 따라 OSBO는 미세먼



지 속 중금속 이온에 의해 손실된 수분으로 유발될 수 있는 주름을 완화할 수 있는 소재로 응용할 수 있는 가능성을 가진다[12,13].

3.4. OSBO 0.1% 함유 화장료 중금속 흡착능

OSBO의 중금속 흡착능을 화장품 제형에서도 응용할 수 있는지 검토하기 위해서 중금속 이온을 고농도로 함유한수용액의 제조한 화장료 사용 전후의 중금속 함유량 변화를 관찰하고자 하였다. 제조한 화장료의 경우 부틸렌글라이콜과 변성알코올에 양이온 계면활성제를 용해시킨 제형으로, 물과 접촉하게 될 경우 액상이었던 외관이 크림화되면서 겔을 형성한다. 따라서, 제형과 중금속 수용액을 혼합시킨 후 원심분리하여 수상과 크림상을 분리였다. 그 이후 수상의 중금속 이온에 대한 SenSafe® water metals check kit의 색 변화를 관찰하여 화장료 사용 전보다 사용 후의키트 색상이 연해질수록 중금속 이온을 OSBO가 함유된 제형이 흡착한 것으로 판단하였다.

실험 결과를 보면 화장료를 적용하지 않은 $1,000~\mu g/mL$ 농도의 중금속 수용액에 SenSafe® water metals check kit를 침적시킨 결과(CTL)보다 동일 농도의 중금속 수용액과 제형을 혼합시킨 후 수용액 층을 분리하여 check kit를 침적시킨 결과 키트의 색상이 연한 것을 육안으로 확인할 수있었다. check kit 색상 변화를 Image J로 산출하여 평균값을 계산하여 비교한 결과에서도 대조군 대비 실험군에서 color intensity가 낮은 것을 확인할 수 있었다.

이러한 실험 결과를 바탕으로 OSBO는 성분 자체로도 중 금속 이온 성분을 흡착할 수 있으며, 워시-오프 제형에 적용 할 경우 중금속 이온 제거에 더 효과적인 것으로 사료된다.

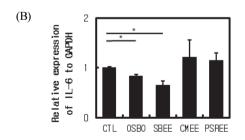


Figure 4. Comparion results for mRNA expression level through qPCR in skin fibroblast cell. (A) The result of relative expression amount of COL1A1 to GAPDH. (B) The result of relative expression amount of IL-6 to GAPDH. Cells were treated with OSBO (Oryza sativa (Rice) bran oil), SBEE (Sorghum bicolor ethanol extract), CMEE (Coix lacryma-jobi Ma-yuen shell ethanol extract), PSREE (Polygonatum sibiricum rhizome ethanol extract) for 24 h, 37 °C, 5% CO₂. CTL means control, it was not treated with any samples. OSBO induces COL1A1 expression and reduces IL-6 expression in skin fibroblast cell. The results are presented as the mean \pm SD of the experiment (N = 3), $^*p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.005$, compared to CTL.

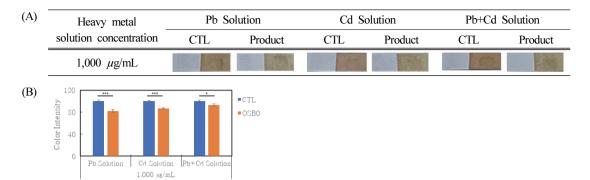


Figure 5. Heavy metal adsorption capacity test results in formulations. As a result of comparing the color intensity using the heavy metal solution, it can be known that cosmetic product containing 0.1% OSBO adsorbs heavy metal ions. (A) Comparison results before and after using cosmetic product containing 0.1% OSBO. (B) Comparison of Image J calculated values. The results are presented as the mean \pm SD of the experiment (N=3), p < 0.05, p < 0.01, p < 0.01, p < 0.005, compared to CTL.

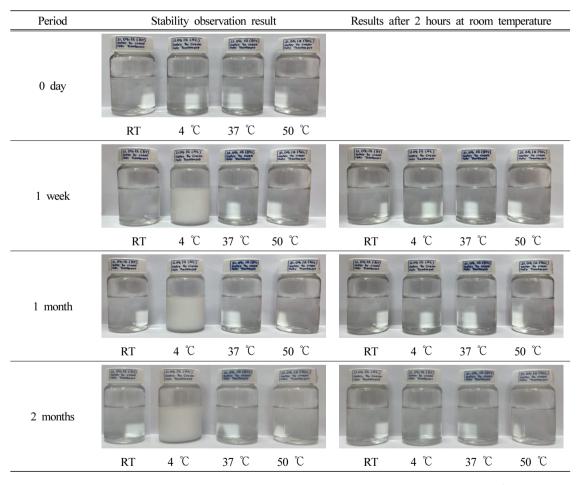


Figure 6. The stability of cosmetic product containing 0.1% of OSBO over time. Except for freezing at 4 $^{\circ}$ C, it was stable up to 2 months as a result of observing mainly odor, discoloration and precipitation immediately after production, 1 week, 1 month and 2 months later. Due to the characteristics of the product, it is frozen under the condition of 4 $^{\circ}$ C, but it returns to its original state when left at room temperature (RT) for 2 h.

3.5. OSBO 0.1% 함유 화장료 안정도

이전의 실험을 통해 OSBO가 중금속을 흡착할 수 있음을 확인하였다(Figure 1, 5). 화장품 산업에 실질적으로 적용할 수 있도록 제형화를 통한 효과 검토 외에도 안정성 또한 유지될 수 있는지 검토하고자 하였다.

제형은 OSBO가 중금속을 흡착한 후 제거될 수 있도록 워시-오프(wash-off) 제형으로 고안하였으며, 보습제와 변성알코올에 양이온 계면활성제를 용해시킨 베이스를 사용했기 때문에 마사지를 하면서 열감을 부여할 수 있고 씻어낸 후 컨디셔닝 효과까지 줄 수 있다. 제형 특성상 저온(4℃ 이하)에서 동결되는 현상이 있으나 실온에 2 h 정도 방치하면 원상 복귀되며 사용감에 영향을 주지 않으므로 저온(4℃ 이하)에서 동결된 후 회복되지 않거나 고온 조건에서 변색 또는 변취, 분리 등이 발생하는지를 기준으로 안정성을 검토하였다.

안정도를 검토한 결과, 제형 특성상 발견했던 저온 동결 및 2 h 실온 방치 후 원상 복귀됨을 제외하고 저온($4 ^{\circ}\text{C}$), 실온(room temperature), 고온($37 ^{\circ}\text{C}$, $50 ^{\circ}\text{C}$)에서 2 달 동안양호함을 확인할 수 있었다(Figure 6).

4. 결 론

급격한 산업화를 여러 차례 겪은 현대 사회에서는 시간에 대한 절감 효과에 대한 수요가 높다. 따라서 현대인들의 니즈를 충족시키기 위하여 화장품 업계에서는 미용 전문숍에 방문하지 않더라도 피부 및 모발을 관리할 수 있도록홈 케어 제품을, 여러 제품을 사용하지 않고 최소한의 제품으로 높은 개선 효과를 느낄 수 있도록 스캅-케어(skip-care, all-in-one) 제품을 개발하고 있다.

또한, 이전에는 봄철에만 잠깐 나타났던 미세먼지가 4 계절 내내 현대인들을 위협하고 있어 미세먼지로 인해 손 상된 피부 장벽을 회복하기 위한 스킨케어 제품뿐 아니라 피부 또는 모발에 잔존할 수 있는 미세먼지 속 중금속 성분을 제거하는 세정 제품에 대한 수요가 높다.

본 연구를 통해 OSBO로 인한 세포 보호와 콜라겐 유전자 발현 증대를 확인할 수 있었다. 미세먼지 속 다량 함유되어 있다고 알려진 카드늄과 납 성분의 OSBO에 의한 제거 능력 또한 원자재뿐 아니라 OSBO가 함유된 제형에서도 SenSafe® water metals check kit 색상 관찰을 통해 옅볼수 있었다. 이를 응용한다면 화장료 사용으로 인한 두피및 모발 케어 등의 효과를 부여함과 동시에 OSBO 함유로

초래되는 미세먼지에 의한 중금속 잔존에 대한 우려를 낮출 수 있는 다기능성 안타-폴루션 화장료 제조가 가능할 것으로 기대된다.

References

- M. Szyszkowicz, T. Kousha, and G. Valacchi, Ambient air pollution and emergency department visits for skin conditions, *Glob. Dermatol*, 3, 323 (2016).
- X. Zheng, X. Huo, Y. Zhang, Q. Wang, Y. Zhang, and X. Xu, Cardiovascular endothelial inflammation by chronic coexposure to lead (Pb) and polycyclic aromatic hydrocarbons from preschool children in an e-waste recycling area, *Environ pollut*, 246, 587 (2019).
- L. Bao and S. Honglian, Arsenite induces endothelial cell permeability increase through a reactive oxygen species vascular endothelial growth factor pathway, *Chem. Res. Toxicol.*, 23(11), 1726 (2010).
- K. E. Kim, D. Cho, and H. J. Park, Air pollution and skin diseases: Adverse effects of airborne particulate matter on various skin diseases, *Life Sci.*, 152, 126 (2016).
- E. Araviiskaia, E. Berardesca, T. Bieber, G. Gontijo, M. S. Viera, L. Marrot, and B. Dreno, The impact of airborne pollution on skin, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 33(8), 1496 (2019).
- M. S. Jun, M. H. Kwack, M. K. Kim, J. C. Kim, and Y. K. Sung, Particulate matters induce apoptosis in human hair follicular keratinocytes, *Ann. Dermatol.*, 32(5), 388 (2020).
- M. B. Ali, F. Wang, R. Boukherroub, and M. Xia, High performance of phytic acid-functionalized spherical polyphenylglycine particles for removal of heavy metal ions, *Applied Surface Science*, 518, 146206 (2020).
- H. T. Kim, T. J. Kim, E. H. Kim, and B. M. Kwak, Anti-oxidant and anti-aging effect of extracts from seed of *Camellia japonica* L. by supercritical fluid extraction, *J. Korean Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.*, 33(4), 32 (2020).
- T. J. Kim, B. M. Kwank, and H. T. Kim, Studies on skin anti-aging efficacy of hydrolysate from *Phellinus*

- igniarius, J. Korean Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol., **34**(2), 1 (2021).
- 10. C. S. Hill, Transcriptional control by the SMADs, *Cold Spring Harb. Perspect Biol.*, **8**(10), a022079 (2016).
- 11. T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods*, **65**(1-2), 55 (1983).
- S. H. Jeon and D. H. Yi, Effects of alliin on cellular protection, up-regulation of collagen and down-regulation of MMP1 in human dermal fibroblasts, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, 12(2), 249 (2014).
- 13. J. H. Shim. Anti-aging effect of brazilin in UVA-irradiated dermal fibroblasts, *Asian J. Beauty Cosmetol.*, **14**(3), 249 (2016).