

알코올 발효 부산물(타피오카·겉보리 주정박) 활용한 생리활성 및 기능성 소재연구

Study on Bioactive Materials Using By-Products of Alcohol Fermentation (Tapioca-Unhulled Barley Dried Distiller's Grains)

정은정*

Eun-Jeong Jeong*

〈Abstract〉

In this study, the bioactive activities (antioxidant activity, whitening activity, and anti-wrinkle effect) of dried tapioca-unhulled barley grain residue (TUDDG) obtained after alcohol fermentation, were measured. In the case of DPPH radical scavenging activity, the 50% ethanol extract of TUDDG showed the highest level of about 83% at the concentration of 100 mg/ml, and the ABTS radical scavenging activity was also about 98% of the 50% ethanol extract of TUDDG even at the concentration of 10 mg/mL. In the case of mushroom tyrosinase inhibitory activity, the 50% ethanol extract of TUDDG showed the highest activity at 100 mg/ml concentration of 37%. As a result of collagenase activity inhibition and elastase analysis, the 50% ethanol extract of TUDDG showed high activity with 4.2 mg/mL (IC_{50}) and 26.1 mg/mL (IC_{50}), respectively. Therefore, considering the physiological activity as well as the extraction efficiency of physiologically active substances, the 50% ethanol extract of TUDDG is judged to be highly effective.

Keywords : Antioxidant Activity, Whitening Activity, Anti-wrinkle Effect

* 장신대학교 식품영양학과
E-mail: flavor97@naver.com

* Dept. of Food Science and Nutrition, Changshin University

1. 서론

COVID-19 장기화로 소비자들의 소비패턴에 변화가 나타났다. 세균, 바이러스, 환경 등의 문제가 거론되면서 기업의 사회적 책임과 함께 “가치 소비”가 확산되고 있고 이에 따른 영향으로 친환경 제품에 대한 소비문화가 정착되면서 이와 관련된 제품의 수요가 증가되고 있다[1-3]. 화장품 시장의 경우 COVID-19로 인한 장시간 마스크 착용 때문에 건강에 대한 관심과 환경 문제에 대한 우려가 커졌고 친환경, 식물성, 업사이클링 등 클린 뷰티(clean beauty)에 대한 관심이 높아지고 있다 [1]. 이에 따라 관련 시장이 매년 10%이상 성장할 것으로 기대되고 있고 관련 화장품 소재에 대한 관심이 높아지고 있다[1].

주정은 전분 또는 당분이 함유된 물료 또는 당분이 함유된 물료를 발효시켜 알코올분 85도 이상으로 증류한 것을 말하며, 제조 방법에 따라 음용 가능한 발효·정제주정과 공업용인 합성주정으로 구분된다[4]. 발효주정은 곡류(쌀, 보리, 옥수수 등)나 서류(고구마, 타피오카 등) 등 각종 농산물을 당화한 후 미생물을 이용한 알코올발효를 통해 생산되며, 소주나 리큐트 등 각종 주류 제조에 주로 사용되고 있다[5]. 또한 발효주정 일부는 주정의 친화성과 용해성 특성을 활용하여 식료품, 음료, 의약품, 화장품 등으로 다양하게 사용된다[5]. 반면 합성주정은 석유 원유에서 얻어진 에틸렌(ethylene)을 원료로 하여 생산된 공업용 주정으로, 음용 시에는 인체에 유해한 것으로 알려져 있어 식용 이외의 제한적인 용도에만 사용되고 있다[5]. 과거 우리나라의 주정 생산은 원료 수급 불안정으로 인해 생산이 부진하였지만 1900년대 초반에 당밀 수입이 원활해지면서 활발하게 성장하였다[5]. 외환위기 상황에서는 당밀을 대체한 곡류(쌀, 보리, 밀, 옥수수), 서류(고구마), 섬유질 원료(농산폐기물, 펄프폐액)를

사용한 주정 생산 방식으로 변화되었고, 1970년대에 주정 수요가 증가하면서 타피오카칩과 같은 대체 원료가 도입되며 주정 생산량에 변화가 나타났다[3]. 타피오카(*Manihot esculenta Crantz*)는 열대지방에서 생산되는 근피식물의 다년생 작물로서 cassava, manioc, mandioca 또는 yuca 등의 여러 이름으로 불리는데[6], 세계적으로는 타피오카보다는 카사바(cassava)라는 명칭으로 더 많이 불리우고 있다. 타피오카는 품종과 생산지에 따라 일반성분의 차이가 있겠지만 건물량 기준으로 조단백질 2.1~3.6%, 조지방 0.3~1.4%, 조섬유 1.7~6.1%, 조회분 1.0~3.1%, 가용무질소물(nitrogen-free extract) 83.1~94.2%(80% 전분, 20% 당분)로 전분 이용성이 높은 원료이다 [7]. 타피오카 가용무질소물(nitrogen free extract, NFE)의 전분은 아밀로즈(amylose)와 아밀로펙틴(amylopectin)으로 구성되어 있고, 당분은 자당으로 알려져 있다. 타피오카는 남미 원주민들이 식용으로 이용하던 것이 아프리카를 거쳐 동남아로 전파된 것으로 경제적이고 안정적이어서 주정의 원료로 80% 활용되고 있다[8].

한편 국내에서는 농가 보호를 위하여 발효주정 원료로 보리(*Hordeum vulgare* L.)가 이용되고 있다[9]. 보리는 벼목 벼과 보리속에 속하는 식물로, 우리나라 식생활에서 쌀과 더불어 활용도가 높은 작물이다[8]. 보리 생산량의 많은 부분이 소주 생산을 위한 전분 원료로 이용되고 있으며, 정맥, 엿기름, 또는 제국원료, 면류 등으로도 이용되고 있다[10]. 보리의 종류는 숙성됨에 따라 보리알이 겉껍질과 잘 분리가 되지 않는 겉보리와 보리알이 겉껍질과 잘 분리가 되는 쌀보리로 나눌 수 있다. 일반적으로 겉보리는 발효주정 원료, 엿기름이나 보리차용으로 소비되고 있고, 쌀보리는 보리쌀로 이용하거나 제빵, 제면 등에 활용하고 있다[8]. 또한 보리는 β -glucan과 같은 수용성 식이섬유, 불포화 지방산 및 피트산(phytic acid) 등 생리활성 성분[11]을 함유하고 있어 혈중지질 및 혈당 저하

[12], 대장암[13] 등에 효과가 보고되면서 생리활성 소재로서 활용성을 보이고 있다.

발효주정은 원료(타피오카, 쌀보리, 쌀, 옥수수 등)를 분쇄하여 증자한 후 당화과정을 거친다. 당화는 효소나 당화미생물을 이용하여 당을 분해하여 포도당을 만드는 과정으로 효모를 이용한 알코올 발효를 통해 10% 정도의 알코올을 생성하게 된다 [14]. 이후 증류 과정에서 불순물을 제거하고 순도가 높은 알코올을 농축하여 발효주정을 생산해 낼 수 있다[14]. 이때 원료의 증류 과정에서 알코올 생성과 동시에 증류부산물인 주정박이 생성이 된다. 주정박은 증류 후 잔여물을 원심분리하여 거른 고형물(wet distiller's grains, WDG)인 주정생박과 증류 후잔여물 원심분리를 통해 배출된 액상물질인 주정농축액(condensed distiller's solubles, CDS)으로 이루어져 있다. 이 주정생박을 건조시킨 것을 주정건조박(dried distillers' grains, DDG)이라고 한다. 주정건조박과 주정농축액을 건조시켜 혼합한 것을 주정건조혼합박(dried distiller's grains with solubles, DDGS)이라 한다. 발효주정 제조 시 부산물은 원료대비 약 17%로 연간 약 38만 톤의 부산물이 발생되고 있고[14], 이를 이용할 수 있는 실용적인 대안이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 타피오카와 겉보리를 원료로 하여 만든 알코올 발효 부산물인 발효주정박 생산 시 생성되는 부산물의 생리활성을 측정하여 피부의 산화를 억제할 수 있는 친환경 소재의 생리활성 물질 개발을 위한 기초자료를 제시하고자 한다.

2. 실험재료 및 실험방법

2.1 실험재료

본 실험에 사용한 발효주정박은 일산실업(주)에

서 제공(2020년 3월)받아 실험에 사용하였다. 발효주정박은 타피오카와 겉보리를 5:1로 혼합된 원료로 주정발효를 행한 후 획득된 곡물잔여물을 분리하여 건조한 주정박(tapioca-unhulled barley dried distiller's grains, TUDDG)이다. 본 연구에서 TUDDG의 유기성분을 추출하기 위하여 95% ethanol과 50% ethanol을 이용해 추출물을 획득하여 실험에 사용하였다.

2.1.1 95% Ethanol TUDDG(tapioca-unhulled barley dried distiller's grains, TUDDG) 추출물 제조

먼저 원형 수기에 용매의 10%인 15 g의 TUDDG를 계량한 후, 95% Ethanol 150 ml에 15 g의 TUDDG를 넣고 입구를 막는다. 수욕조에 80 °C, 4시간동안 환류 추출한다. 3 μm filter paper를 이용하여 여과한 후, 100 ml를 취하여 진공 농축하였다. 농축액을 -88°C, 5일 동안 동결 건조 후 동결건조물을 회수하였다. 95% Ethanol로 추출한 TUDDG 동결건조물을 증류수에 녹여서 실험시료로 사용하였다(TUDDG 동결건조물의 수율 10.0%).

2.1.2 50% Ethanol TUDDG 추출물 제조

50% Ethanol 150 ml의 10%인 15 g의 TUDDG를 계량한 후, 50% ethanol 150 ml에 15 g의 TUDDG를 넣고 입구를 막는다. 수욕조에 90 °C, 4시간동안 환류 추출한다. 3 μm filter paper를 이용하여 여과한 후, 100 ml를 취하여 진공 농축하였다. 농축액을 -88°C, 5일 동안 동결 건조 후 동결건조물을 회수하였다. 50% Ethanol로 추출한 T5 동결건조물을 증류수에 녹여서 실험시료로 사용하였다(TUDDG 동결건조물의 수율 12.7%).

2.2 실험방법

2.2.1 항산화 활성

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhy- drazy l)는 자색을 띠는 radical로서, 항산화 물질에 의해 전자를 받아 노란색으로 변색되는 성질을 가지고 있다 [15]. 즉 전자공여능을 측정 할 수 있는 방법으로 시료의 항산화력을 보여줄 수 있는 실험이다. 본 연구는 Yoshida 등의 방법[16]에 따라 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 96well plate에 control에는 추출물을 추출한 용매를 100 μ L, 시험군 100 μ L 씩 각각 넣는다. 모든 well에 100 μ L씩 넣고 50 μ L의 DPPH (0.5 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhy- drazyl(DPPH)/ethanol) 용액을 가하여 혼합한다. 25°C의 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도(VICTOR X3™, PerkinElmer, US)를 측정한다. 용매만을 첨가한 대조구에 대한 추출물의 DPPH radical 소거능을 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radical 소거능(\%)} = \frac{(1 - \text{시료 첨가시의 흡광도})}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

ABTS radical 소거활성은 Re 등의 방법[17]을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM potassium persulfate 88 μ L를 섞은 후 상온에서 16 시간 암실보관 후 414 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 PBS로 희석하였다. 조제된 희석용액 190 μ L와 시료 10 μ L를 혼합한 후 상온에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도(VICTOR X3™, PerkinElmer, US)를 측정하였고 대조구에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다.

ABTS radical 소거활성(%)

$$= \frac{(\text{대조구 흡광도} - \text{시료 첨가시의 흡광도})}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

2.2.2 미백활성 측정

식품의약품안전처의 미백 기능성 화장품 시험법 [18]에 따라 mushroom tyrosinase 저해 활성을 측정하였다. 완충액 500 μ L에 기질액 500 μ L, 물 450 μ L 및 검액 50 μ L를 넣어 섞고, 효소액을 50 μ L를 넣어 흔들어 섞어 37°C에서 10분간 반응시키고 곧 얼음 중에 5분간 방치한 다음, 완충액 500 μ L, 물 950 μ L 및 ethanol 50 μ L를 넣어 검액과 같은 방법으로 조작하여 얻은 액을 대조액으로 하여 파장 475 nm에서 흡광도 B를 측정하였다(VICTOR X3™, PerkinElmer, US). 따로 검액 대신 ethanol 50 μ L을 가지고 검액과 같은 방법으로 조작하여 얻은 액을 공시험액으로 하여 그 흡광도 A를 측정하며, 효소액 대신 물 50 μ L를 넣어 검액과 같은 방법으로 조작하여 얻은 액을 색보정액으로 하여 그 흡광도 C를 측정하고 다음 식에 따라 mushroom tyrosinase 저해 활성(%)을 구하였다. 양성대조군으로는 arbutin을 사용하여 그 결과를 비교하였다.

$$\text{Tyrosinase 저해활성 (\%)} = \frac{A - (B - C)}{A} \times 100$$

- A: 공시험액의 반응 후의 흡광도
- B: 검액에서 얻은 흡광도
- C: 색보정액에서 얻은 흡광도

2.2.3 주름개선 효과 측정

Collagenase 저해활성은 EnzCheck® Gelatinase/Collagenase assay kit(Invitrogen, USA)를 사용하였다. 즉 1 mg DQ collagen vial에 1.0 mL의 water를 가해 DQ collagen stock solution (1

mg/mL)을 제조했다. 10xreaction buffer 2 mL에 water 18 mL를 가해 reaction buffer를 희석했다. 다음으로 collagenase 효소 시약을 제조하였다. Working solution으로 최종 농도가 0.2 U/mL이 되도록 reaction buffer로 희석했다. 시료를 96well plate에 50 μ L씩 triple로 준비한다. DQ collagen 20 μ L와 sample blank에는 reaction buffer 30 μ L, sample에는 working solution 30 μ L를 시료에 가하고, 빛을 차단한 상태로 실온에서 1~2 시간 동안 방치한 후 형광 강도 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 535 nm에서 ELISA plate reader (VICTOR X3™, PerkinElmer, US)로 측정하였다.

$$\text{Collagenase 저해활성(\%)} = 100 - \frac{b - b'}{a - a'} \times 100$$

- a: 공시료액의 반응 후의 흡광도
- b: 시료액의 반응 후의 흡광도
- a',b': 콜라게나제 대신 원충액으로 대체하여 측정된 흡광도

Elastase 저해활성은 EnzCheck® Elastase Assay Kit(Invitrogen, USA)를 사용하였다. 1 mg DQ elastin vial에 0.5 mL의 DW를 가해 DQ elastin stock solution (1 mg/mL)을 제조했다. 10 x reaction buffer 2 mL에 DDW 18 mL를 가해 reaction buffer를 희석했다. 다음으로 elastase vial에 1 x reaction buffer를 0.5 mL 가하여 100 U/mL로 제조하였다. 효소의 working solution으로 최종 농도가 0.1~0.2 U/mL이 되도록 1 x reaction buffer로 희석했다. 시료를 96well plate에 50 μ L씩 triple로 진행하였다. 시료를 넣은 후 elastase 효소 100 μ L를 control과 Test sample에 처리하고 나머지 control blank와 sample blank에는 DW를 처리하였다. 잘 섞어준 뒤 DQ elastin 50 μ L를 모든 well에 가하였다. 빛을 차단한 상태로 실온에서 1 시간

반응 후 강도 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 535 nm에서 ELISA plate reader (VICTOR X3™, PerkinElmer, US)로 형광강도를 측정하였다.

$$\text{Elastase 저해활성(\%)} = 100 - \frac{b - b'}{a - a'} \times 100$$

- a: 공시료액의 반응 후의 흡광도
- b: 시료액의 반응 후의 흡광도
- a',b': 엘라스타제 대신 원충액으로 대체하여 측정된 흡광도

2.3 통계학적 분석

자료의 분석은 Minitab 17(Mini-Tab 17, Minitab Inc., State College, PA, USA)을 사용하였다. 모든 실험은 3회 반복실험을 통하여 평균값으로 나타내었으며 대조군에 대한 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 타피오카 겉보리 혼합주정박 추출물 (Tapioca-unhulled barley dried distiller's grains, TUDDG) 항산화 효과

호흡을 통한 대사과정에서 발생하는 활성산소 (reactive oxygen species, ROS)는 세포구성 성분인 단백질, 지질, DNA 등에 영향을 미쳐 암, 뇌졸중, 심장질환, 면역질환 등 각종 질병 및 노화를 일으키는 것으로 알려져 있다[19]. 특히 피부노화의 주된 원인 물질로 알려져 있는 활성산소는 자외선, 흡연, 공해 및 세균 감염 등에 의해 주로 생성되어 피부세포의 지질산화, 세포간질의 성분을 분해시키는 단백질 분해효소 활성, 피부탄

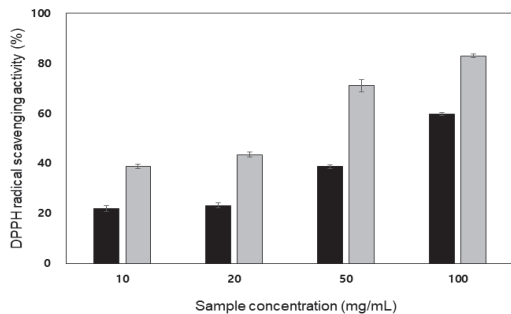


Fig. 1 DPPH radical scavenging activity of extracts from tapioca-unhulledbarley dried distiller's grains. Each value resents mean±SD of triplicate measurements of analyzed sample (■: 95% ethanol extract, □: 50% ethanol extract)

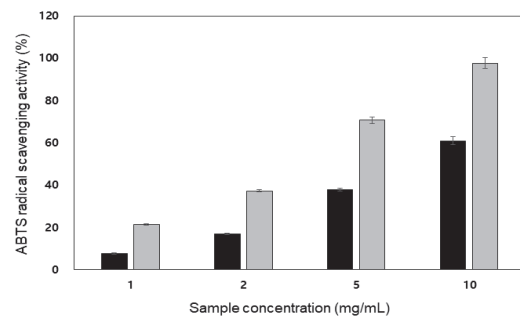


Fig. 2 ABTS radical scavenging activity of extracts from tapioca-unhulledbarley dried distiller's grains. Each value resents mean±SD of triplicate measurements of analyzed sample (■: 95% ethanol extract, □: 50% ethanol extract)

성에 관여하는 콜라겐과 엘라스틴 구조붕괴, 멜라닌 생성반응 등을 유도하여 피부의 노화를 촉진시킨다[19]. 따라서 본 연구는 TUDDG의 항산화 활성을 측정하여 피부노화 및 피부보호를 위한 생리활성 가능성을 제시하고자 한다. ethanol 농도별 TUDDG의 DPPH 라디칼 소거능은 Fig. 1과 같다. 95% ethanol 추출구에서는 10 mg/mL에서 21.9%, 20 mg/mL에서 23.2%, 50 mg/mL에서 38.7%, 100 mg/mL에서 59.7%로 활성을 나타내었고 50% ethanol 추출구에서는 10 mg/mL에서 38.9%, 20 mg/mL에서 43.5%, 50 mg/mL에서 60.9%, 100 mg/mL에서 80.1%로 나타났다. 들깨박 및 탈지들깨박 추출물의 DPPH 소거활성 보고 [20]에 따르면 400 ug/mL에서 각각 77.5%, 77.0%이었고 홍삼박의 경우는 1 mg/mL의 농도에서 24.0%[21]로 TUDDG보다는 높은 활성을 나타내었다.

TUDDG의 ABTS 라디칼 소거능 분석결과는 Fig. 2와 같다. 95% ethanol 추출구에서는 1 mg/mL에서 7.7%, 2 mg/mL에서 16.92%, 5 mg/mL에서 37.97%, 10 mg/mL에서 61.0%로 활성을 나타내었고 50% ethanol 추출구에서는 1

mg/mL에서 21.5%, 2 mg/mL에서 37.3%, 5 mg/mL에서 70.8%, 10 mg/mL에서 97.7%로 95% ethanol 추출구보다 높은 라디칼 소거능을 나타내었다. DPPH는 주로 소수성 시료의 활성을 나타내는데 적합한 반면 ABTS 라디칼 소거능은 극성과 비극성 용매에 용해되는 시료에 활용할 수 있다[19]. TUDDG가 상대적으로 낮은 농도에서 라디칼 활성억제를 보이는 것으로 보아 TUDDG의 항산화능은 소수성물질 보다 친수성물질에서 유래되는 것으로 보여진다. TUDDG의 ethanol 농도별 추출 수율은 95%의 경우 10.0%, 50%의 경우 12.7%로 ethanol의 농도가 높아짐에 따라 가용성 고형분이 낮아졌다는 감초 ethanol 추출물 보고[22]에서와 같이 생리활성물질의 추출효율뿐 아니라 경제적인 측면에서도 50% ethanol로 추출하는 것이 효율적이라 판단된다.

3.2 타피오카 겉보리 혼합주정박 추출물 (Tapioca-unhulled barley dried distiller's grains, TUDDG) 미백활성

미백(skin whitening)효과는 얼굴색을 밝고 화

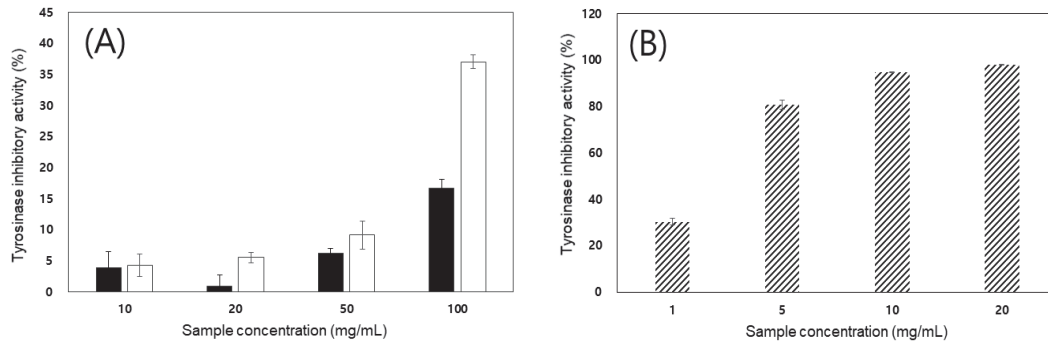


Fig. 3 Tyrosinase inhibitory activity of extracts from tapioca-unhulled barley dried distiller's grains(A) and arbutin(B). Each value represents mean \pm SD of triplicate measurements of analyzed sample (■: 95% ethanol extract, □: 50% ethanol extract, ▨: arbutin)

사하게 할 수 있는 기능활성으로 일반적으로 피부에 존재하는 멜라닌(melanin)에 의해 결정된다[23]. 미백효과는 멜라닌 합성을 억제하거나 피부에서 각질형성 세포에 멜라닌 전달을 저해시켜 피부를 색을 밝게 할 수 있는 활성을 말한다[23]. Tyrosinase는 멜라닌 생합성 경로에서 초기속도 결정단계에 관여하는 효소로 tyrosinase 억제를 통해 미백효과를 제시할 수 있다. 본 연구는 TUDDG의 tyrosinase 활성 억제효과를 측정하기 위하여 mushroom tyrosinase에 의한 L-tyrosine의 산화 정도를 측정하여 분석결과를 Fig. 3에 나타내었다. 95% ethanol 추출구에서는 10 mg/mL에서 3.9%, 20 mg/mL에서 0.9%, 50 mg/mL에서 6.3%, 100 mg/mL에서 16.7%로 활성을 나타내었고 50%

ethanol 추출구에서는 10 mg/mL에서 4.2%, 20 mg/mL에서 5.5%, 50 mg/mL에서 9.2%, 100 mg/mL에서 37.0%로 나타났다. Tyrosinase 억제효과를 알아보기 위한 대조군 arbutin은 구조적으로 tyrosin과 유사하여 경쟁적 저해제로 알려진 물질이다[24]. 본 연구에서 arbutin의 활성은 1 mg/mL에서 30.3%의 저해활성력을 나타냈다. 본 연구에서 50% ethanol 추출구 100 mg/mL농도에

서 37% 저해활성으로 대조군에 비하여 낮은 활성을 가지지만 추출물들의 농도가 증가됨에 따라 억제활성도가 증가하는 것으로 나타나므로 발효주정 부산물 활용도를 높여 사용하면 산업폐기물인 TUDDG의 고부가가치성 생리활성물질로 가치가 있다고 본다.

3.3 타피오카 겉보리 혼합주정박 추출물 (Tapioca-unhulled barley dried distiller's grains, TUDDG) 주름개선 효과

피부의 탄력 섬유인 collagen과 elastin은 망상구조로 피부층의 진피를 지지하고 있는 단백질이다. 피부주름의 원인으로 콜라겐(피부교원질)의 결핍을 들 수 있다[25]. 진피층의 90%가 collagen으로 피부구조와 탄력을 유지하는 역할을 하고 있어서 콜라겐 생성의 감소는 진피층의 함몰을 야기하여 주름생성의 원인이 된다[25]. 따라서 본 연구는 TUDDG 추출물의 콜라겐의 분해 효소활성의 억제능력을 실험하여 피부 주름개선 효과를 나타내었다. TUDDG의 collagenase 억제 효과 분석 결과는 Fig. 4와 같다. 95% ethanol 추출구에서는

3 mg/mL에서 6.5%, 4 mg/mL에서 10.1%, 5 mg/mL에서 10.4%, 6 mg/mL에서 16.9%로 활성을 나타내었고 50% ethanol 추출구에서는 3 mg/mL에서 14.9%, 4 mg/mL에서 42.7%, 5 mg/mL에서 75.5%, 6 mg/mL에서 96.0%로 높은 활성을 나타내었다. 대조군 epigallocatechin gallate (EGCG)의 경우 1~10 μ g/mL 농도변화에 따라 collagenase 억제 효과가 37.8~87.5%였다.

TUDDG의 95% 에탄올 추출물과 50% 에탄올 추출물의 IC₅₀은 각각 6.3 mg/mL, 4.2 mg/mL였고 EGCG는 IC₅₀ 1.1 μ g/mL로 EGCG 비하여

TUDDG ethanol 추출물은 collagenase 저해 활성이 낮게 나타났다. 섬유아세포에서 기인한 elastase는 피부탄성섬유의 뒤틀림에 원인이 되는 효소로 elastase는 피부의 탄력섬유를 감소시켜 주름형성을 야기한다[26]. TUDDG의 elastase 활성억제 분석결과는 Fig. 5와 같다. 95% ethanol 추출구에서는 10 mg/mL에서 8.2%, 20 mg/mL에서 11.5%, 50 mg/mL에서 25.9%, 100 mg/mL에서 86.2%로 활성을 나타내었고 50% ethanol 추출구에서는 10 mg/mL에서 17.3%, 20 mg/mL에서 27.8%, 50 mg/mL에서 90.7%, 100 mg/mL에서 98.9%로

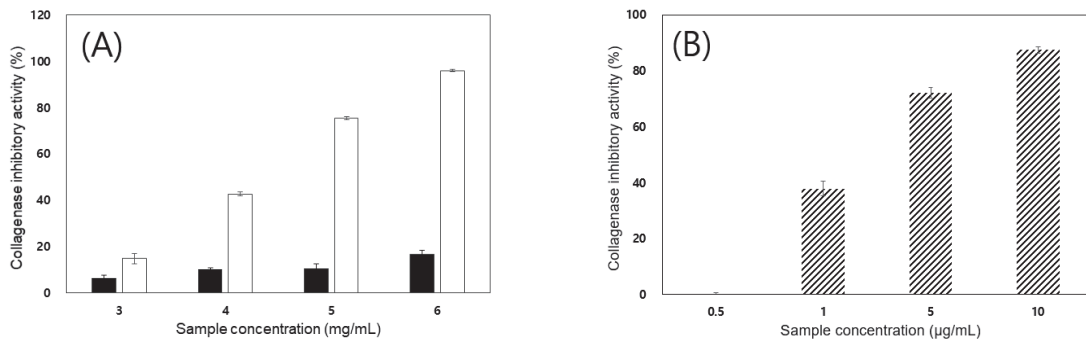


Fig. 4 Collagenase inhibitory activity of extracts from tapioca-unhulled barley dried distiller's grains(A) and EGCG (B). Each value resents mean \pm SD of triplicate measurements of analyzed sample (■: 95% ethanol extract, □: 50% ethanol extract, ▨: EGCG)

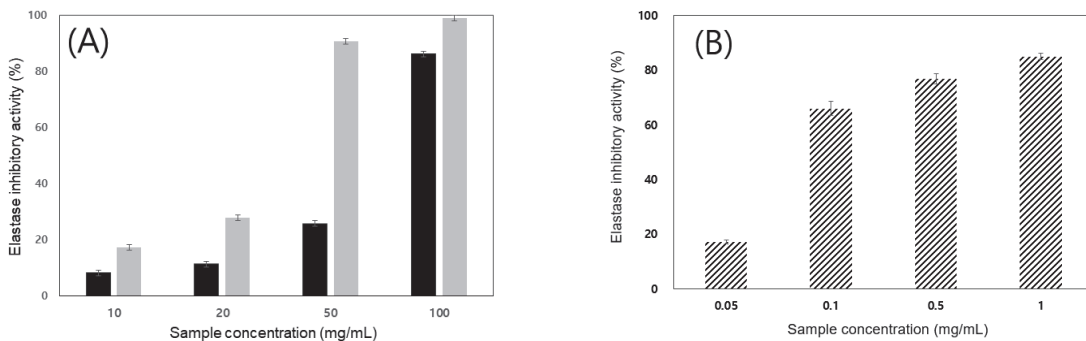


Fig. 5 Elastase inhibitory activity of extracts from tapioca-unhulled barley dried distiller's grains(A) and EGCG (B). Each value resents mean \pm SD of triplicate emeasurements of analyzed sample (■: 95% ethanol extract, □: 50% ethanol extract, ▨: EGCG)

나타났다. 50% ethanol 추출물은 친수성 및 소수성 물질에 대한 추출효율이 높아 생리활성이 대체적으로 높은 것으로 사료된다. 대조군 EGCG의 elastase 활성억제력은 경우 0.05~1 mg/mL 농도 변화에 따라 17.1~85.0%로 활성억제력을 나타내었다. TUDDG의 95% 에탄올 추출물과 50% 에탄올 추출물의 IC₅₀은 각각 70.1 mg/mL, 26.1 mg/mL였고 EGCG는 IC₅₀ 78.0 μg/mL이었다. 본 연구의 95% ethanol 추출물은 100 mg/mL 농도에서 86%, 50% ethanol 추출물은 50 mg/mL에서 90%를 억제효과로 대조군에 비하여 낮은 활성을 나타내었지만 각 추출물의 농도에 비례하여 collagenase 및 elastase 억제활성을 나타내므로 TUDDG의 ethanol 추출물의 주름개선활성을 확인할 수 있었다. 화장품 시장에서 천연 및 유기농 퍼스널 케어 제품에 대한 선호도 증가에 따라 식물 유래 추출물을 활용한 제품들이 각광을 받고 있고 관련 제품개발이 활발하게 이뤄지고 있지만 천연 원료로서의 희소성과 수급불안정성은 제품개발에 한계를 드러낸다. 반면 본 연구의 TUDDG는 대조군에 비해 낮은 기능활성을 나타내지만 천연 원료 및 친환경소재로서 원료공급과 가격 안정성으로 차별화된 제품을 생산할 수 있을 것으로 판단된다.

4. 결론

본 연구는 주정발효 후 획득된 타피오카 겔보리 곡물잔여물을 분리하여 건조한 주정박(TUDDG)의 생리활성(항산화 활성, 미백활성 및 주름개선효과)을 측정하여 친환경 소재의 생리기능 활성물질 개발을 위한 기초자를 제시하고자 하였다. DPPH 라디칼 소거능의 경우 TUDDG의 50% ethanol 추출물이 100 mg/mL 농도에서 약

83%로 가장 높게 나타났고 ABTS 라디칼 소거능은 또한 TUDDG의 50% ethanol 추출물이 10 mg/mL 농도에서도 약 98 %의 라디칼 소거능을 보였다. Mushroom tyrosinase 저해 활성의 경우 TUDDG의 50% ethanol 추출물이 100 mg/mL 농도에서 37%로 가장 높은 활성이 나타났다. Collagenase 활성저해능과 elastase 분석 결과 TUDDG의 50% ethanol 추출물이 각각 IC₅₀ 4.2 mg/mL, IC₅₀ 26.1 mg/mL로 높은 활성을 나타내었다. 따라서 생리활성물질의 추출효율뿐만 아니라 생리활성 측면을 고려하여 본다면 TUDDG의 50% ethanol 추출물이 효과가 뛰어난 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2022학년도 창신대학교 교내연구비에 의해 연구되었음(창신-2022-049).

참고문헌

- [1] Kim, D.S., Kim, B., Kim, J.Y., Lee, H.I., Yoon, N.R., "Analysis of the current status of the Clean Beauty market and suggestions for directions", *FDC Legal research*, 16(2), pp. 159-165, (2021).
- [2] Kim, B.A., "Development and application of material for natural product residue using cosmetic conversions technology: Focused on study of emulsion stability using coffee residue oil ", *Culture and Convergence*, 39(2), pp. 177-202, (2017).
- [3] Jang, M. A., Lee, J. M., "Research on domestic and international industrial trends of functional cosmetics", *Korean Applied Science and Technology*, 38(2), pp. 618-627, (2021).

- [4] National Law Information Center Portal (<http://law.go.kr>), Liquor tax administration regulations (Data search date; 2022.12.12.).
- [5] Cho, J.S., "Fermentation and production of alcohol", *Liquor industry*, 5(2), pp. 21-36, (1985).
- [6] Kim, I. S., Joo, D. S., Kim, D. S., Kim, J. D., "Food and health & morphology and functional properties of corn, potato and tapioca starches", Seoul, Shin Kwang Mun Hwa sa. pp. 144-145, (2007).
- [7] Vogt, H., "The use of Tapioca meal in poultry rations", *World's Poul. Sci J*, 22(2), p. 113, (1966).
- [8] Jeong, Y. J., Baek, C. H., Woo, K. J., Woo, S. M., Lee, O. S., Ha, Y. D., "Alcohol fermentation characteristics of tapioca using raw starch enzyme", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 31(3), pp. 405-410, (2002).
- [9] Cha, H.G., "Supply and demand of raw materials for alcohol and future prospects", *Liquor industry*, 16(2), pp. 47-55, (1996).
- [10] Rural Development Administration Portal(<http://rda.go.kr>), Uses of barley by type (Data search date; 2022.11.30.).
- [11] Cho, C.H., "Skin absorption rate analysis of ginseng saponin and whitening & antioxidant activity of ginsenoside Rh21", Ms.D. Seoul National university of Science & Technology. pp. 4-7, (2020).
- [12] Lee, J. S., Lee, J. S., Yang, C. B., Shin, H. K., "Blood glucose response to some cereals and determination of their glycemic index to rice as standard food", *The Korean journal of nutrition*, 30(10), pp. 1170-1179, (1997).
- [13] Riccardi, G., Rivellese, A. A., Giacco, R., "Role of glycemic index and glycemic load in the healthy state, in prediabetes, and in diabetes", *Am J Clin Nur*, 87(1), pp. 269-274, (2008).
- [14] Park, G.G., Ahn, G.C., Kim, I.Y., Gurk, H.J., "A report on the development of Korean beef fiber compound feed manufacturing technology through characterization of mainstream processed by-products and enhancement of feed value", *Rural Development Administration*, pp. 5-8, (2015).
- [15] Chung, H.J., "Comparative study of antioxidant activity of imported tropical and subtropical fruits", *Korean J Food Preser*, 22(4), pp. 577-584, (2015).
- [16] Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y., Okuda, T., "Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and favonoids: V. Radical-scavenging extracts of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical", *Chem Pharm Bull*, 37(7), pp. 1919-1921. (1989).
- [17] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), pp. 1231-1237, (1999).
- [18] Ministry of Food and Drug Safety, "Functional cosmetics test method", pp. 1-22. (2020).
- [19] Park, S.N., "Skin aging and antioxidants", *Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 23(1), pp. 75-132, (1997).
- [20] Bae, S.Y., "Evaluation of Perilla cake for food and cosmetic efficacy as a functional ingredient", Ms.D. Andong University, p. 54, (2019).
- [21] Han, J.H., "Experimental study on antioxidant and antibacterial activity of natural by-products", Ph.D. Hoseo University, pp. 94-104, (2020).
- [22] Kim, S.J., Kweon, D.H., Lee, J.H., "Investigation of antioxidative activity and stability of ethanol extracts of Licorice Root (*Glycyrrhiza glabra*)". *Korean J Food Sci Technol*, 35(4), 584-588, (2006).
- [23] Kim, E.H., "A study of whitening cosmetics from natural products", *Asian J Beauty Cosmetol*, 4(2), p. 196, (2006).
- [24] Jang, H. I., "Study for whitening activity of mixture of arbutin and oil soluble licorice extract", *Korean Applied Science and Technology*,

- 36(2), pp. 635-644, (2019).
- [25] Kang, G.S., Kim, I.D., Kwon, L.H., Heo, Y.Y., Oh, S.H., Kim, M.A., Jeong, H.J., Kang, H.Y., Ha, B.J., “The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract”, *Journal of life science*, 17(8), pp. 1147-1151, (2007).
- [26] Oh, M.H., Lee, J.E., Kim, S.Y., Kim, S.Y., Park, K.C., Yun, H.Y., Baek, K.J., Kwon, N.S., Kim, D.S., “Screening system establishment for potential anti-wrinkle agents using human fibroblast elastase”, *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 35(1), pp. 19-25, (2009).

(접수: 2022.12.12. 수정: 2023.01.18. 게재확장: 2023.01.25.)