

초청강연 논문 VI

발효유와 피부건강

허 철 성 박사

((주) 한국야쿠르트 중앙연구소)

발효유와 피부건강

허철성 박사
중앙연구소
(주)한국아쿠르트

머리말

산업화시대에서 현재에 이르기까지 경제적인 풍요의 기준의 변화는 건강에 대한 인류의 기대치 증가와 아름다움에 대한 욕구 증가로 대표되어져 왔다. 이러한 경제적인 풍요의 동반자인 과학기술의 발달로 인간은 다양한 욕구를 충족시켜왔다. 그러나 이러한 욕구의 충족과정에서 이루어지지 못한 것들 중의 하나가 아름다움에 대한 욕구이며 선천적인 요인을 많이 가지고 있는 피부의 건강은 아름다움의 기본 요건이 되어왔으나 아직까지 많은 부분이 해결되지 못한 채 숙제로 남아있다.

피부의 건강에 대한 요인은 다양하게 존재하는데 그 요인과 현상을 크게 몇 가지로 분류하면 다음과 같다.

- 연령의 증가에 따른 피하조직의 노화 및 퇴화
- 외부적 요인에 의한 피부색의 변화
- 생리적인 요인에 의한 피하조직의 염증

이러한 피부의 노화, 건조, 색소변화, 생리적 염증, 피하지방조직 등의 문제를 해결하기 위해 다양한 소재의 개발과 그 기능성들이 밝히고자 많은 연구들이 진행되고 있다. 최근에는 위생학적으로 안전하고 그 기능성과 안정성이 밝혀진 유산균을 피부건강에 이용하고자 시도들이 최근에 많이 이루어지고 있다.

본 연구에서는 피부의 구조와 구성성분, 노화에 대한 가설, 피부건강에 효과를 가지는 천연·화학소재들과 유산균에 의한 피부건강 증진효과에 대해서 알아보려고 한다.

1. 피부의 구조와 구성성분

피부의 구조(Fig. 1)는 위로부터 표피, 진피, 피하조직으로 구성되어있다. 피부의 두께는 신체부위, 연령, 성별, 영양상태에 따라 다르지만 평균 2~2.2mm이고 피하조직을 빼면 1.4mm가 된다. 일반적으로 남자는 피부조직이 두껍고 여자는 피하조직이 두껍다.

1) 표피(Epidermis)

표피는 육안으로 볼 수 있는 가장 외층의 층으로 혈관이 존재하지 않으며 두께 0.07~0.12mm로 화장품과 관련된 부분이다. 피부는 각화세포가 변형되는 모양에 따라 기저층, 가시층, 과립층, 투명층, 각질층으로 구성되어 있다. 이 중에서 새로운 표피가 만들어지는 곳은 주로 기저층이며 연속해서 생성된 세포에 의해 외부로 밀려나가고 결국은 각화되어 떨어져나가게 된다. 각질층을 구성하고 있는 세포의 성분은 케라틴이라는 단백질로, 외부의 영향으로부터 몸을 보호하는 역할을 수행한다.

표피와 진피의 경계는 물결모양으로 되어있어 표피가 진피를 향해 돌기상으로 파고드는 부분이 있다. 이것을 표피돌기라고 하며 연령에 따라 이 경계가 평평해져 피부노화의 한 예하고 보아진다. 표피에는 피부색소인 멜라닌을 만드는 색소세포가 존재하며 피부의 색을 결정하는 것은 색소세포의 수에 의한 것이 아니라 색소세포의 멜라닌 생성 능력에 따라 좌우된다.

표피의 가장 외측인 각질층은 수분함량이 15~20%가 적당하며 수분함량에 따라 피부의 건조도가 달라지게 된다. 각질층은 무핵세포로서 각질화가 순조롭지 않은 경우 각질층이 두꺼워지고 미세한 각질조각이 떨어지는 현상이 나타나게 된다. 각질화가 잘 진행되기 위해서는 동물성 단백질 및 비타민 A와 C를 요구하게 된다.

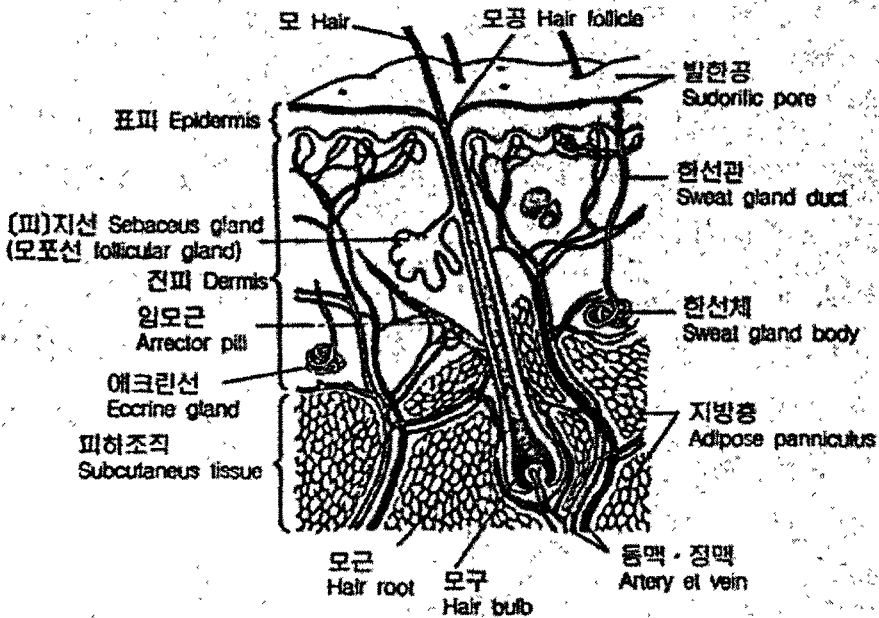


그림 1. 피부의 단면구조와 명칭

2) 진피

표피의 바로 아래에 위치하며 피부 밑 지방층과 연결되는 불규칙성 치밀 아교섬유 결합조직(Dense irregular collagenous connective tissue)으로 두께는 0.5~4mm 정도로 표피의 약 10~40배의 두꺼운 층으로 원래의 피부형태라고 할 수 있는 부분이다. 진피층은 경계가 확실하지 않지만 구조상 두 층으로 나누어지는데 표면쪽 돌기부분의 유두층(Papilla layer)과 피하조직쪽에 가까운 망상층(Reticular layer)으로 구성되어 있다. 진피층은 피부의 탄력과 관계하며 모세혈과 림프관, 신경 등이 복잡하게 연결되어 있다. 진피를 구성하는 세포들은 대식세포, 지방세포, 섬유모세포, 색소보유세포 등으로 구성되어 있다.

이러한 섬유들의 성분은 아교섬유와 세망섬유, 및 탄력섬유로 피밀하고 불규칙한 그물모양으로 배치되어 있다.

진피의 무형질은 아교섬유와 탄력섬유 그리고 피부의 부속기들이 공간을 채우고 있으며 피부의 3가지 기본적인 Glycosaminoglycan은 히아론산(Hyaluronic acid), 황산덜마탄(Dermatan sulfate), 그리고 황산콘드로이틴(Chondroitin sulfate)인데 이 3가지 기본요소는 부위에 따라 구성비가 다르다.

진피조직의 대표적인 구성성분을 살펴보면 다음과 같다.

- 아교(교원)섬유

인체조직에 가장 대표적인 결합조직섬유로서 굵기 1~2 μ m 정도로 흔히 다발을 형성하고 있으며, 분자량 30만, 길이 30nm의 길쭉한 막대모양을 하고 있다. 굵기와 길이의 비는 1:200으로 콜라겐 특유의 구조적 특성은 세가닥의 나선구조에 있다. 원섬유질(Collagen)이라는 단백질로 구성된 굵은섬유는 진피에 장력을 제공하여 기계적 외력이나 생리적 및 화학적 자극에 대한 강한 저항력을 가지고 있다. 그러나 이러한 아교섬유도 노화됨에 따라 섬유가 늘어나 그 기능이 저하된다. 이러한 콜라겐은 네 가지 유형이 생명체에 존재하는데 뼈나 피부에 존재하는 type I, 연골의 type II, 혈관벽의 type III, 신장의 사구체막의 type IV가 존재한다. 이러한 콜라겐의 인장력 저하가 피부의 노화와 관련을 가지지만 콜라겐의 생성이 너무 과다한 경우에는 기존 세포의 성장을 저하하기 때문에 오히려 피부의 노화를 유발하기도 한다.

- 탄력섬유(Elastic fiber)

인장력이 1.5배에 이르며 황색을 띠고있어 황섬유(Yellow fiber)라고 불린다. 물에 넣어 가열하여도 젤라틴이 되지 않고 각종 시약에 대하여 저항력이 강하다. 탄력섬유는 아교섬유에 비하여 짧고 가늘며 탄력성이 있어 피부에 탄력성을 주는 역할을 한다. 탄력섬유는 연령이 30~40세로 많아짐에 따라 점점 파괴되어 그 효능이 저하되는데 이는 탄력소(Elastin)의 파괴를 의미한다.

3) 피하조직

피부밑조직은 진피와 근육, 골격사이에 있는 부분으로 피부에 속하지 아니한다. 이 조직은 피부의 기계적 유동성과 깊은 관계가 있다. 피부 밑조직층은 지방세포 또는 지방조직이 잘 발달해 있는데 이 지방조직의 분포 및 두께는 신체의 영양상태, 부위, 성별 및 연령에 따라 매우 다양하다. 피부 밑조직은 여성호르몬과 밀접한 관계를 가지고 있어 여성의 신체선에 부드러움을 준다.

2. 노화(Aging)

피부의 노화에 관한 학설은 크게 5가지로 정리된다

첫째, DNA의 어딘가에 짜 넣어진 프로그램에 따라 진행된다는 프로그램설

둘째, 외부요인 및 내부적요인에 의한 DNA의 오작동 또는 DNA 손상설

셋째, 세포내 단백질간의 결합으로인한 세포기능저하설(Crosslink 설)

넷째, 유해산소와 같은 Free radical에 의한 세포기능저하설(Free radical 설)

이중 현재 노화에 관한 원인으로 가장 많이 인정받고 있는 크로스 링크설과 프리라디칼설을 살펴보면 다음과 같다.

크로스링크설은 콜라겐의 생성현상을 노화의 원인으로 보는 것이다. 노령화에 따라 피부 연골, 혈관벽

의 조직이 탄력성과 유연성이 저하되는 현상을 두고 결합조직의 노화라 하는데 이는 결합 조직내의 단백질 구성비의 변화에서 유래된다. 노령화에 따라 엘라스틴이 줄어들고 콜라겐의 함량이 늘어나는 현상이 주된 요인이며 연골조직의 경우 프로테오글리칸의 합수능력이 저하되어 조직의 노화를 유발시키는 것으로 알려져 있다. 장기조직 내에서 콜라겐 함량이 증가되는 것은 조직의 경화를 유발시켜 세포간의 영양물 이동, 노폐물 배출, 화학물질 및 정보물질의 전달의 저하 요인이 된다. 이러한 콜라겐의 생성이 가장 많이 일어나는 경우는 연령의 증가에 따라 많이 발생하고 연령의 증가에 따라 콜라겐 섬유간의 크로스링크가 가속화, 견고화되어 조직의 노화로 진행되는 것으로 “노화의 크로스링크설”이라고 한다.

프리라디칼에 의한 노화설은 가장 많은 사람의 인정을 받고 있는 학설로서 이는 분자내에 존재하는 전자의 양이 균형을 잃었을 때 분자가 매우 불안정한 상태로 존재하는데 이를 프리라디칼이라 한다. 이러한 분자들 중 우리신체에 치명적인 영향을 미치는 것은 전자수가 정상이 아닌 산소분자이다. 산소분자는 전자각에서 전자 배열의 특수성 때문에 부분환원(Univalent reduction), 혹은 전자각에서의 전자의 재배치 등으로 반응성이 높은 산소산물로 변화되는데 이들을 통칭하여 반응성 산소물(Reactive oxygen species), 활성산소(Active oxygen), 유해산소(Toxic oxygen) 혹은 산소라디칼(Oxygen radicals)이라고 일컫는다. 이들의 높은 반응성은 세포의 주요성분인 지질, 단백질, 다당류 및 핵산을 파괴하여 세포의 기능저하를 초래한다. 물론 이러한 유해산소들은 대사과정중에 대부분 제거되지만 특수한 상황에서 생성이 급격히 증가하거나 산소 라디칼을 제거하는 방어체계가 유실되면 Oxidative stress가 유발되어 세포기능이 저하되어 노화로 진행된다는 설이 프리라디칼설이다.

생체 환경중에서 피부에 가장 많은 프리라디칼 생성요인으로는 자외선을 들 수 있다. 자외선은 피부에 존재하는 핵산, 아미노산, 멜라닌 그리고 다양한 Chromophore들에게 전기적인 신호를 유발시키고 그 결과로 다양한 프리라디칼이 생성될 수 있는 조건을 형성하게 한다. 자외선은 이러한 이유로 피부노화에 매우 중요한 역할을 하는데 그 파장의 범위에 따라 UV-A, B, C로 구분되고 가장 짧은 파장인 UV-C(290nm이하)는 지표에 흡수되고 UV-A(320~400nm)와 UV-B(290~320nm)가 피부 노화의 주요 원인으로 알려지고 있다. 이중 피부의 침투력이 100배 정도 우수한 UV-A가 가장 유력한 피부노화원인으로 인정되고 있다.

이러한 자외선은 생체내에 존재하는 유리산소 분자와 상호작용을 하여 Superoxide anion radical을 만들 수 있으며 superoxide anion radical은 여러 가지 반응경로를 거쳐서 Singlet oxygen, 수산화기, 또는 과산화수소와 같은 유해활성 산소류를 생성하며 이들의 불안정한 전자특성으로 생체성분과 비특이적인 반응을 일으키게 된다. 또한 Superradical은 Monocyte, Neutrophil, Macrophage, Mast cell들이 이질분자(foreign particle)이나 면역복합체(Immune complex)들과의 반응과정 중에 과량 생산되어, 다양한 유해활성 산소류를 생성한다. 이러한 유해활성 산소종들은 핵산, 지질, 단백질, 탄수화물 등과 반응하여 조직에 직접적인 상해를 유발하고, Peroxy radical이나 과산화물 등을 반응산물로 생성하여 이차적인 연쇄반응을 일으키게 되어 조직 손상은 이미 알려진 것처럼 더욱 증폭되고 광범위하게 일어나는 것을 노화라고 하고 있다.

3. 피부기능 개선 소재

1) 피부색(미백용) 소재

: 멜라닌이 표피내에서 이상증가하여 생긴 질환인 간반이나 성반 등의 색소이상증의 발증원인에 대

하여는 자외선, 여성호르몬, 유전적 요인등의 관여가 지적되고 있으나 확증된 것은 없고 멜라닌의 생성을 억제하는 소재가 주로 사용되고 있다. 멜라닌 생성 및 대사기전은 melanocyte 내에서의 멜라닌 생성억제, 생성 멜라닌의 환원, 표피내의 멜라닌 배설촉진, melanocyte에 대한 선택적 독성이 생각되어진다.

- Albutin (Hydroquinone- β -D-glucopyranocide)

: 멜라닌 생성의 주기전인 효소의 tyrosinase에 대한 활성저해, 생합성 저해, hydroquinone으로의 분해로 기능이 확인되었다.

- Kojic acid

: γ -pyrone 화합물로 aspergillus 속이나 penicillium 속등의 사상균의 발효액중에서 생산되며 된장, 술 등의 색이나 맛의 중요인자이다. 작용기전은 tyrosinase의 보결분자인 구리와 chelate에 의한 것으로 추정된다.

- Vitamin C 및 그 유도체

: 비타민 C는 Ascorbic acid라고도 하며 약용화장품에 있어서 가장 대표적인 멜라닌 생성억제제로서 가장 오래전부터 사용되어 왔다. 그 작용은 환원작용에 의한 것으로 tyrosine으로부터 멜라닌을 생성하는 tyrosinase 반응에 있어서 멜라닌 중간체인 dopaquinone을 환원하여 멜라닌 생성을 억제하는 작용과 진한색의 멜라닌을 환원하여 옅은색의 환원형 멜라닌으로 하는 작용이 있다.

비타민 C는 안전성은 높으나 안정성이 나쁘므로 제제의 안정화를 목적으로 유도체가 많이 합성되었다. 주로 비타민 C 인산에스테르(Hg 염)이 수용액중의 안정화를 목적으로 개발되어 생체조직에서 순수한 비타민 C로 유리되는 것을 목적으로 한다.

2) 보습제(Humectants)

: 각질층에 존재하는 친수성 흡수물질로 천연보습인자(NMF:natural moisturizing factor), 라 불려지는 물질들의 활성 및 증량에 관련하는 소재들이 주로 사용된다. 보습에 주로 관연하는 인자로는 NMF 물질(아미노산류, 피로리딘 카본산), 세포사이의 지질, 진피내의 뮤코다당류등이 있다.

화장품에 사용되는 주된 보습인자로는 글리세린, 프로필렌글리콜, 1,3-부틸렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 솔비톨, 젯산나트륨, 히아론산 나트륨 등이 있다

3) 자외선 흡수제(Ultraviolet absorbers)

: 자외선 파장 290~400nm의 자외선 전역을 흡수할 수 있는 소재로서 벤조페놀유도체, 파라아미노 안식향산유도체, 파라에톡시계피산 유도체, 살리실산 유도체가 있으며 효과 측정법은 사람을 이용해 SPF(sun protection factor)를 측정한다.

4) 산화방지제

: 피부의 산화작용은 라디칼을 형성하는 요인으로 유지의 자동산화와 산소의 산화로 나타난다. 산화의 억제를 유발시킬수 있는 소재로는 토크페롤(tocopherol)류, BHT (butylhydroxytoluene), BHA(butylhydroxyanisol), 몰식자산(gallic acid) 에스테르류, NDGA (nordihydroguaiaretic) acid 등이 있다.

5) 기타(비타민류, 호르몬류, 아미노산류, 천연물 유래 약제)

: 피부의 영양성분 부족으로 나타나는 현상을 비타민류를 이용한 첨가효과로 확인하거나 난포호르몬과 부신피질호르몬 종류, 아미노산류를 이용한 수화성 제공, 피부생리활성을 제공하기 위한 알로에, 인삼, 플라보노이드류 등과 다양한 한약재가 사용되고 있다.

4. 발효유의 피부 개선효과

유산균은 당을 기질로 해서 유산을 생성하는 균으로서 인간의 건강유지에 큰 도움을 주고 있는 유익한 균으로 잘 알려져 있으며, 또한 이러한 유산균을 이용하여 특히 우유를 발효시킨 발효유(Fermented milk)를 식품으로 사용하는 것 뿐이 아닌 피부건강을 개선할 수 있는 효과를 가지고 있다. 인체의 피부 세포에서 피부의 습윤상태를 조절하는 자연보습인자(NMF)라는 물질에는 아미노산(40%), PCA(피로리딘카본산, 12%), 젖산염(12%), 요소, 암모니아, 무기염류, 당류등으로 구성되어있다. 이러한 구성성분은 피부의 외부조건에 의해 상당히 다양한 조성으로 변화하면서 피부의 상태를 결정하게 된다.

유산균을 이용한 발효액은 상기의 자연보습인자의 구성과 유사한 조성을 가지는 것이 일반적이다. 이러한 이유로 최근에 피부건강에 대한 영양 및 보습효과를 나타내는 제품들에 유산균 발효에 의해 생성되는 유산, 유당, 아미노산, 환원성 염류 및 프로테오스펙틴 등의 성분에 의하여 유용한 기능성을 나타내는 것으로 보고되고 있다. 이러한 이유로 유산균 배양물은 피부 건강에 효과가 있다는 전제로 많은 실험들이 진행되고 있다.

유산균 발효에 의한 유산균 배양물이나 유산균이 생산하는 세포외다당류의 효능중에서 보습과 미백, 프리라디칼 생성 억제, 피부세포의 collagen 생성촉진등의 기능을 기존에 사용되고 있는 피부개선 제제와 비교하여 알아보았다.

▶ 유산균 배양물에 의한 피부 개선 효과

피부 천연보습인자(NMF)중의 하나인 아미노산 생성이 우수한 유산균주(*S. thermophilus* KY9003)를 포함한 mixed culture를 혼합배양하여 제조된 BCLS 유산균배양물의 아미노산(Fig. 2), 유기산, 펩타이드, 비타민류 등과 같은 유용 성분들이 피부건강에 미치는 효과를 검증하고자 하였다.

BCLS 유산균 배양물의 피부개선효과는 free radical scavenging activity, 미백효과, 보습력, 각질층의 turn over 속도로 측정하였다. 세포노화를 촉진하는 free radical의 scavenging activity는 BCLS 유산균 배양물이 상업적으로 화장품원료로 이용되고 있는 spilon-L, 키위 추출물보다는 양호하였으나 대추추출물이나 BHT(butylated hydroxy toluene) 보다는 낮게 나타났다. *S. bikiniensis*의 melanin 생성억제 및 tyrosinase 활성억제를 통해 본 유산균 배양물의 미백효과는 유의적인 결과를 나타내지 않았다.

피부 보습력은 BCLS 유산균 배양물이 spilon-L, 오이추출물 보다 매우 우수하였는데, 이는 배양물내에 함유된 아미노산 및 유기산 등과 같은 유용성분들의 효과로 생각되어진다(Fig. 5)

피부각질층의 turn over 속도는 유산균 배양물이 spilon-L, 두충잎 추출물 보다 촉진시키는 결과를 나타내어 거칠고 노화된 피부의 재생효과를 기대할 수 있을 것으로 사료되었다(Fig. 6).

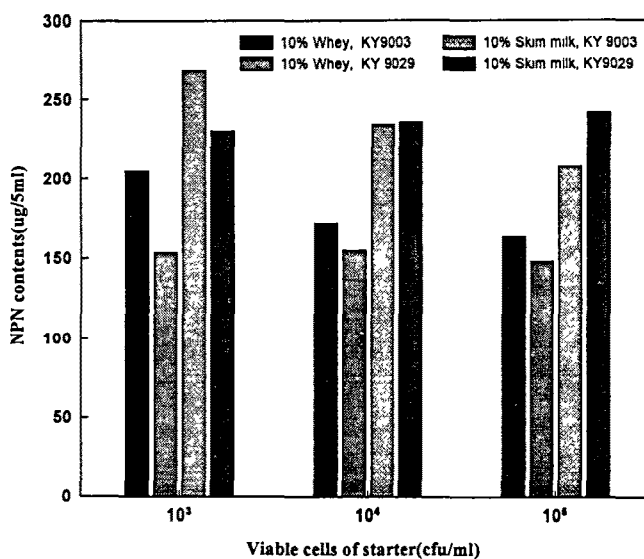


Fig 2. The comparison of NPN contents in skim milk(10%) and whey(10%) fermented by *S. thermophilus*(KY 9003, KY9029).

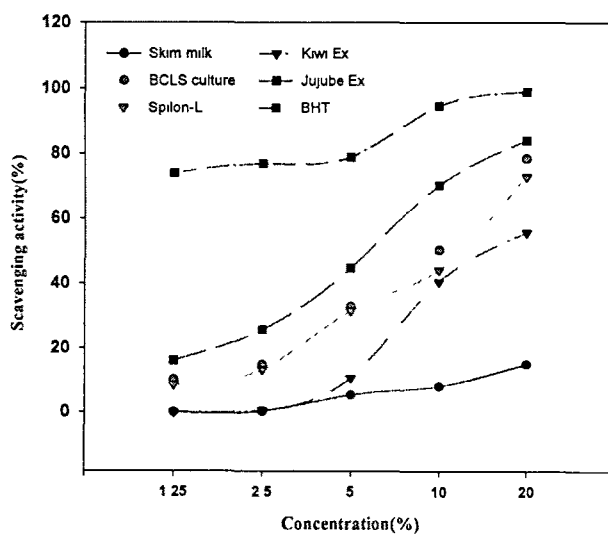


Fig 3. Scavenging effects of BCLS culture on DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radicals.
 Mixture : 0.1mM DPPH + sample
 Reaction : 37OC, 30min.
 Detection : O.D. (516nm)

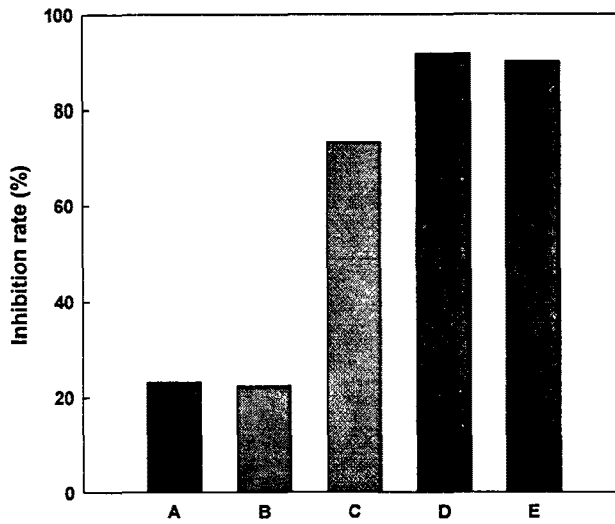


Fig 4. Inhibition of tyrosinase activity by BCLS culture.

A : BCLS culture B : Spilon -L C : Lemon Ex.

D : Kojic acid E : Albutin

Mixture : 0.1M PBS + sample + L-tyrosine + tyrosinase

Reaction : 37OC, 30min.

Detection : O.D. (475nm)

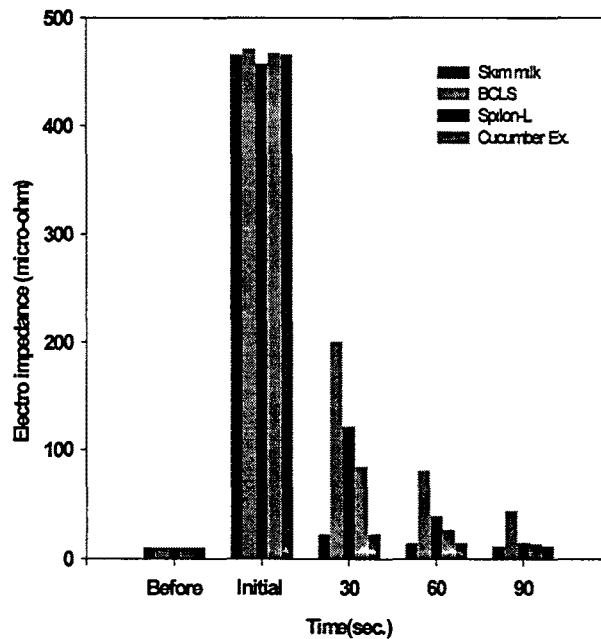


Fig 5. Effects of BCLS culture on moisturizing of skin by the measurement of electro-impedance.

* Sample application on the skin : 1mg/cm²

* Apparatus : Skicon-200

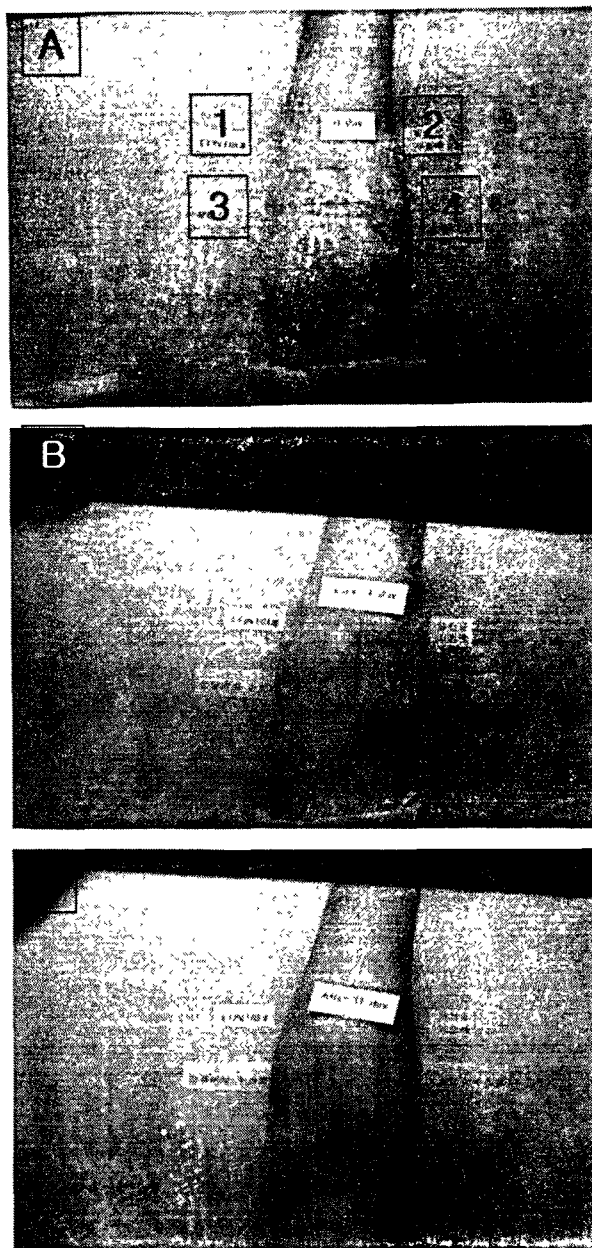


Fig 6. Turn over rate of stratum corneum by BCLS culture.

A : 0 day B : 7 days C : 14 days

1 : 10% skim milk 2 : BCLS culture

3 : Sylon-L 4 : *Eucommia ulmoides* oil

▶ 비피더스균 세포의 다당류의 피부 개선효과

발효에 사용되는 유산균들은 대사과정중에 탄수화물의 일종인 다당류를 생산하는데 이는 시뮴의 교화제, 현탁액의 안정제, 화장품의 보습제, 폐수처리시의 침전제, 생분해성 천연소재 등으로 사용되고 있다. *Bifidobacterium longum* HS90은 고점도의 점성물질을 생산하는 균주로서, 그 점성물질은 산성의 세포외다당류(EPS)이다. Bifidoabacteria는 장내에 서식하고 있는 미생물로서, 현재는 건강에 대한 유용성이 인식되어 발효유에 probiotics로 많이 첨가되고 있는 균이다. 따라서 Bifidobacteria에서 분비되는 EPS를 화장품의 보습제로 사용할 경우, 그 안전성이 다른 어떤 미생물에서 생산되는 다당류보다 높다고 할 수 있다.

따라서 *B. longum* HS90이 생산하는 EPS의 보습효과와 fibroblast cell에 의한 collagen의 생산에 있어서의 촉진효과를 sodium hyaluronate등의 보습제와 비교하여, *B. longum* HS90이 생산하는 EPS의 생체내에서의 기능성을 살펴 보았다.

1. EPS의 보습력

농도가 0.5%인 EPS와 기존의 다양한 보습제를 사용하여 보습력을 측정한 결과, 144 시간이 지난 후의 보습력은 EPS가 79%, sodium hyaluronate가 68%, betaine인 77%, chitin이 78%로서, *longum* HS90이 생산하는 EPS와 betaine, chitin이 비슷하게 높았으나, sodium hyaluronate는 다른 보습제보다 보습력이 다소 낮았다(Fig. 7).

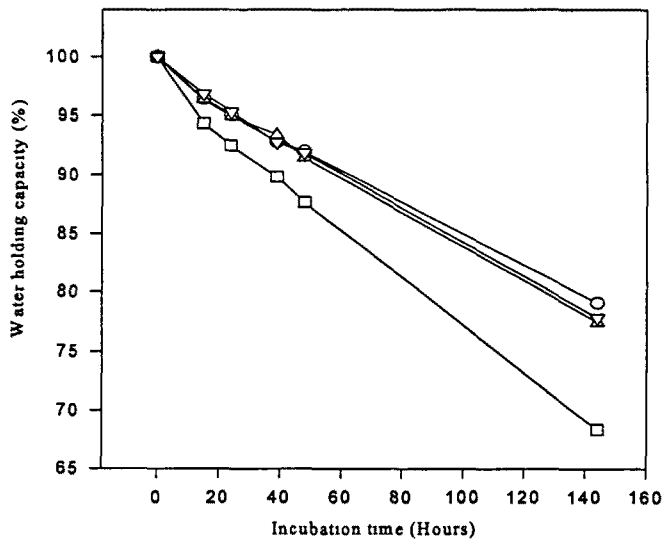


Fig 7. Comparison of water holding capacity of various humectants

2. collagen 생합성에 미치는 효과

일반적으로 보습력이 우수한 보습제는 fibroblast에 의한 collagen 생합성도 촉진하는 것으로 알려졌다. 따라서 기존의 보습제와 EPS의 fibroblast에 의한 collagen 생합성 촉진 효과를 비교하여 보았다 (Fig. 8). EPS의 경우 대체로 100mg 까지 농도가 증가할수록 collagen 생산의 촉진 효과도 증가하는 것으로 나타났다. Sodium hyaluronate의 경우에는 10mg 부터는 collagen 생산 촉진 효과가 증가하지 않았다. 또한 EPS의 경우 collagen 생산 촉진 효과가 sodium hyaluronate에 비하여 오랫동안 지속되었다. 이와 같은 실험 결과는 EPS가 화장품의 보습효과와 피부재생 및 보호효과를 위한 새로운 기능성 소재로서의 가능성을 보여 준다.

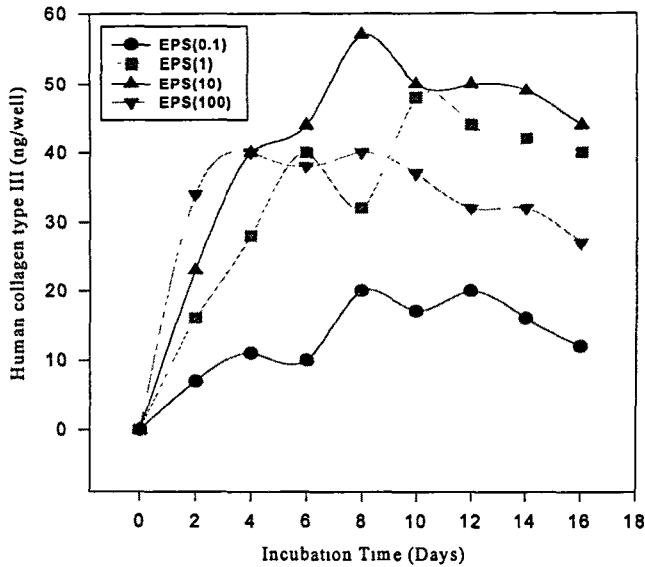


Fig 8. Effect of EPS from B.longum HS 90 on production of human collagen type III