

## 발효된 미강의 항산화 효과 및 미백 효과

채 가 연 · 권 룬 희 · 장 민 우 · 김 민 정 · 하 배 진<sup>†</sup>

신라대학교 일반대학원 생명공학과  
(2011년 3월 15일 접수, 2011년 5월 16일 수정, 2011년 6월 17일 채택)

### Whitening and Antioxidative Effect of Rice Bran Fermented by *Bacillus subtilis*

Ga Yeon Chae, Ryun Hee Kwon, Min Woo Jang, Min Jung Kim, and Bae Jin Ha<sup>†</sup>

Department of Biotechnology, College of Medical Life Science, Silla University, SAN 1-1,  
Gwaebub-dong, Sasang-gu, Busan 614-735, Korea

(Received March 15, 2011; Revised May 16, 2011; Accepted June 17, 2011)

**요약:** 이 연구에서는 천연 항산화소재와 미백소재 개발을 위하여 미강을 *Bacillus subtilis*에 접종하여 40 °C에서 36 h 동안 발효한 미강추출(RFB)과 80 % ethanol을 이용한 미강추출물(RB)을 사용하여 연구하였다. 추출물의 free radical 소거활성, superoxide radical 소거활성, hydroxyl radical 소거활성은 농도 100 µL/mL에서 가장 큰 활성을 나타내었고 리놀산을 이용한 지질과산화 억제 활성 또한 농도 100 µL/mL에서 가장 큰 활성을 나타내었고, RB에 비하여 RFB의 더 높은 항산화 능력을 확인하였다. Mushroom tyrosinase의 활성 저해효과는 100 µL/mL 농도에서 mushroom tyrosinase의 활성을 80 % 저해하였으며 이는 vitamin C에 비해 더 높은 활성을 나타내었다. 그러므로 우리는 미강 발효추출물이 우수한 항산화와 미백 효능을 갖는 화장품 소재로서 개발 가능성이 클 것으로 기대된다.

**Abstract:** In this study, we investigated rice bran fermented by *Bacillus subtilis* (RFB) at 40 °C for 36 h to develop a new natural antioxidant and whitening agent for new natural cosmetics. RFB showed reactive oxygen species (ROS) scavenging activities in 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, superoxide radical scavenging activities and hydroxyl radical scavenging activities at a concentration of 100 µL/mL. DPPH, superoxide radical scavenging activities and hydroxyl radical scavenging activities were higher in the RFB than in the RB. Inhibitory activity on auto-oxidation of linoleic acid is also highest at a concentration of 100 µL/mL. RFB showed the higher inhibitory activity than RB in auto-oxidation. RFB reduced intracellular tyrosinase activity about 80 % at a concentration of 100 µL/mL. Therefore, we suggest that RFB could be used as a useful antioxidant and whitening agent.

**Keywords:** rice bran, fermentation, antioxidant, whitening, tyrosinase

### 1. 서 론

최근 전 세계적으로 건강이나 피부 미용에 대한 관심이 증대되면서 노화에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[1]. 피부 노화는 나이가 들어감에 따라 피부의 구조적 변화와 생리적인 기능이 감소하는 내인성 노화(intrinsic aging)와 오랜 시간 자외선 노출로 인해 일어나는 임상

적 또는 조직학적인 피부변화가 일어나는 광노화로 나눌 수 있다[2,3]. 광노화 현상은 자외선의 노출을 피하면 예방할 수 있는 피부현상이다. 내인성 노화는 햇빛에 노출되지 않은 피부에서 주로 관찰된다. 임상적 특징은 비교적 경미하며 잔주름, 피부 건조증 탄력감소 등을 들 수 있다. 그러나 광노화의 임상적 특징은 내인성 노화에 비하여 심하고 일찍부터 관찰된다. 내인성 노화에 비하여 굵고 깊은 주름이 발생하며 일광흑자(solar lentigo) 등의 색소침착이 증가한다. 피부가 매우 거칠고 건조해지며

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: bjha@silla.ac.kr)

탄력성이 감소하여 심한 경우 피부가 처지게 된다[4]. 이에 피부노화와 관련한 다양한 기능성 소재 탐색이 진행되고 있는데, 특히 천연 식물자원을 이용한 안전성과 효과가 뛰어난 항산화제를 개발하고자 하는 연구가 시도되고 있다[5].

미강(rice bran)이란 현미에서 정백미로 도정하는 과정에서 생기는 과피, 종피, 호분층 등의 분쇄혼합물을 말하며 미강의 구성성분은 단백질 12 ~ 16 %, 지방 16 ~ 22 %, 섬유소 8 ~ 12 %이다. 그 밖에도 비타민 A를 비롯하여 B, B<sub>6</sub>, 철분, 인 등 다양한 영양소들이 함유되어 있다. 따라서 미강은 정백미의 부산물이지만 영양에 관해서는 상당히 우수한 재료인 셈이다. 미강의 섬유소는 혈중 콜레스테롤을 낮추며 또한 장내 비피더스균을 증가시켜 장내 세균의 발란스를 유지시켜 주는 기능을 가지고 있다[6]. 식생활의 다양화와 고급화로 인한 쌀 소비량 감소로 과잉 생산의 문제, 식품의 기호성 증진을 위해 과거보다 더욱 정교해지는 곡류의 도정 과정으로 인해 미강의 발생량은 계속 증가될 것으로 예측되고 있어 미강을 이용한 새로운 연구 개발이 지속적으로 이루어지고 있다[7,8]. 최근 쌀겨 추출물의 변이원성 억제 효과[9], 간암 세포주와 자궁경부암 세포주에 대한 항암 활성[10], 혈중 콜레스테롤 저하 효과[11], 항산화 효과[12, 13], 혈압 상승 억제 효과[14,15] 및 염증 반응 억제 활성[16] 등 다양한 생리적 기능에 대한 연구가 보고되어 왔다. 또한 미강은 건강식품으로서의 인식이 새로워지면서 이들을 이용한 많은 가공 및 건강보조식품에 대한 연구가 진행되고 있어 일본의 경우 피부 보습효과를 주목적으로 미강을 미생물 발효시킨 발효액을 화장품 및 입욕제[17]에 이용하고 있다. 미백 화장품 개발 소재로 이용되고 있는 약용식물 추출물 자체가 멜라닌 세포에 대해 독성작용을 나타내는 경우가 종종 있어 이를 경감시키는 연구의 일환으로 미생물 또는 버섯균사체로 발효시킨 발효액으로 멜라닌 세포 독성 경감, 멜라닌색소 감소 및 tyrosinase활성 저해 등의 효과를 증가시킨 연구 결과들이 보고되고 있다[18,19].

발효는 가장 오래된 역사를 가진 생물학의 기술로 산업전반에 걸친 기술개발이 현재에도 이루어지고 있으며, 특히 식품에서의 기술개발이 주류를 이루고 있으며 의약품의 경우 미생물에서 생산되는 약물흡수촉진성분인 지질당체, 인지질, 지질단백질복합체 등의 미생물유래성분이 약물의 생체흡수를 개선하여 생체약리효과를 더욱 증진시킬 수 있다고 보고되어져 있다. 발효물질은 천연물질 고분자를 생전환시켜 저분자 물질의 구조로 분해되어

체내 흡수율을 높일 뿐 아니라 생체 이용률이 증가해 효과가 빠른 장점을 가지고 있으며 화장품의 경우도 최근 발효기법이 도입되어 기존 성분의 효능을 증가시키고 피부흡수율을 높인다고 보고되어 있다. 또 기존의 화장품에 포함된 영양소에 비해 다량의 영양소로 증대되어 풍부한 영양분을 공급할 뿐만 아니라 새로운 물질의 변화로 인해 피부 영양의 최적의 원료로 이용될 수 있으며 일반 화장품의 생 상태의 원료가 아닌 소화물질로서 피부의 안정과 독소 제거에 탁월하다.

이에 본 연구에서는 쌀의 도정 부산물인 미강의 발효 추출물을 이용해 항산화능과 미백과 관련있는 mushroom tyrosinase활성 저해 효과를 측정함으로써 미백 효과를 가진 화장품 소재를 개발하고자 한다.

## 2. 재료 및 실험 방법

### 2.1. 미강의 발효

본 실험에서 사용한 미강은 부산 사상 홈플러스에서 구입하여 사용하였다. *Bacillus subtilis*는 균주은행에서 구입하였다. 미강 20 g에 멸균수 200 mL을 혼합하여 *Bacillus subtilis*를 600 nm 흡광도가 1.0일 때 1 %를 접종하여 40 °C에서 36 h 동안 고체발효하였다. 미강발효 시료에 80 % ethanol을 4 h 동안 침지 후 상등액을 채취하여 40 °C에서 농축시킨 미강발효추출물(RFB)과 미강 20 g에 80 % ethanol을 4 h 동안 침지 후 상등액을 채취하여 40 °C에서 농축하여 발효시키지 않은 미강 추출물(RB)을 실험에 사용하였다.

### 2.2. 항산화 효과

#### 2.2.1. Free Radical 소거효과 측정

프리라디칼 소거활성 실험은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, USA)을 사용하는 방법으로 [20] 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 0.5 mL에 시료 각각의 농도를 메탄올에 녹여 혼합하고, 37 °C에서 10 min간 반응시킨 후 UVIKON-XS (Bio-Tek instruments)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2.2.2. Superoxide Radical 소거효과

2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) 1 mM 50  $\mu$ L와 esterase (600 unit/mL) 50  $\mu$ L를 혼합한 뒤 37 °C에서 20 min 간 반응시켜 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH) solution을 만든 후 DCF측정법을 사

용하여서 평가하였다[21]. 96 well plate에 농도별 각 시료 10  $\mu$ L를 넣고 50 mM 칼륨인산완충용액 130  $\mu$ L를 넣은 뒤 20 mM menadion 10  $\mu$ L와 칼륨인산완충용액으로 100배 희석한 DCFH solution 50  $\mu$ L를 넣고 5 min간 섞어준다. Synergy HT로 485/530 nm에서 fluorescence를 5 min 간격으로 30 min간 측정하였다.

### 2.2.3. Hydroxyl Radical 소거효과

DCFDA (1 mM) 50  $\mu$ L와 esterase (600 unit/mL) 50  $\mu$ L를 혼합한 뒤 37  $^{\circ}$ C에서 20 min간 반응시켜 DCFH solution을 만들어 DCF 측정법을 이용하여 실시하였다[20]. 96 well plate에 농도별 각 시료 10  $\mu$ L를 넣고 10 mM FeSO<sub>4</sub> 540  $\mu$ L와 1.35 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 mL를 섞은 혼합액을 190  $\mu$ L씩 넣어준다. 100배 희석한 DCFH solution 50  $\mu$ L를 넣고 5 min간 섞어준다. Synergy HT로 485/530 nm에서 fluorescence를 10 min 간격으로 40 min간 측정하였다.

### 2.3. 지질과산화 억제효과 측정

자동산화가 잘되는 물질인 리놀산을 이용하여 자동산화를 억제하는 정도를 실험한 것으로 10 mM 리놀산 용액[22]과 시료를 첨가한 후 4  $^{\circ}$ C에서 24 h 방치하였다. 상기의 혼합액에 75 % 에탄올을 첨가하여 교반한 후 40 % 티오시안산암모늄용액과 20 mM 염화 제 1철을 첨가하여 3 min간 방치한 후 발색시켜 UVIKON-XS로 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.4. Tyrosinase 활성 저해능

효소활성 측정에는 96 well plate에 각 시료 15  $\mu$ L를 넣고 0.1 M 인산완충용액(pH 6.86) 150  $\mu$ L과 1.5 mM L-티로신 용액 25  $\mu$ L와 2,380 unit/mL mushroom tyrosinase 7  $\mu$ L를 각각 넣어 UVIKON-XS로 490 nm에서 흡광도를 측정한 후 30  $^{\circ}$ C에서 10 min 반응 후 UVIKON-XS로 490 nm에서 흡광도를 측정하였고 대조군에는 시료를 넣지 않은 96 well plate에 0.05 M 인산완충 용액(pH 6.86) 150  $\mu$ L과 1.5 mM L-티로신 용액 25  $\mu$ L와 2,380 unit/mL와 mushroom tyrosinase 7  $\mu$ L를 각각 넣어 UVIKON-XS로 490 nm에서 흡광도를 측정한 후 30  $^{\circ}$ C에서 10 min 반응 효소활성 저해능은 반응 시간에 변화된 초기 흡광도의 변화 값을 측정하였고 tyrosinase 활성 저해능은 다음과 같이 계산하였다.

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

- A = 저해제를 넣은 것의 반응 전 흡광도;
- B = 저해제를 넣은 것의 반응 후 흡광도;
- C = 저해제를 넣지 않은 것의 반응 전 흡광도;
- D = 저해제를 넣지 않은 것의 반응 후 흡광도

### 2.5. 통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS를 이용한 one-way ANOVA로 검정하였으며, 사후 검증은 Dumcan's post-hoc test를 실시하였다. RFB군과 RB군의 차이에 대한 유의성은 *t*-test로 검증하였고, 유의성은  $p < 0.05$ 로 하였다.

## 3. 결과 및 고찰

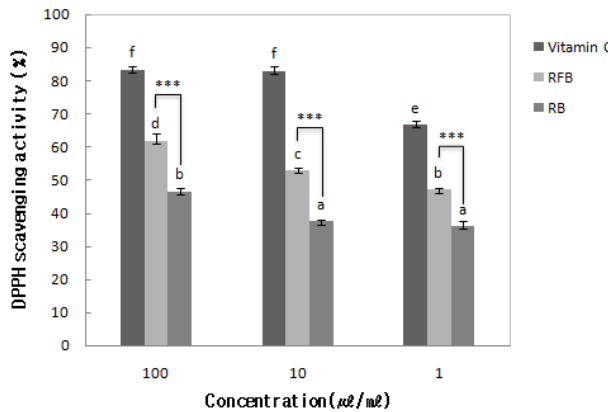
### 3.1. 항산화효과

#### 3.1.1. Free Radical 소거효과 측정

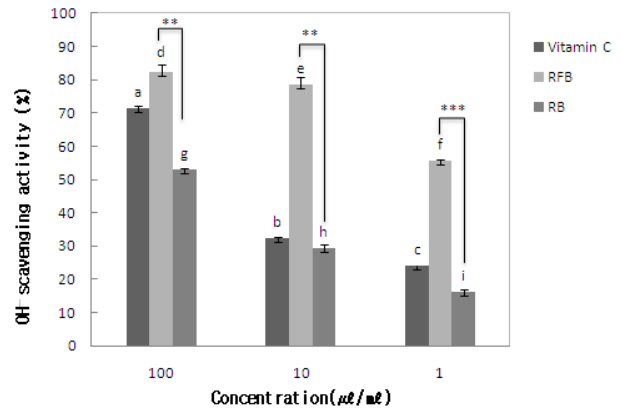
DPPH는 화합물 내 질소 중심의 radical로 radical 전자의 비편재화에 의해 안정한 구조의 radical로 존재한다. DPPH는 517 nm에서 최대 흡수를 나타내며, 환원되면 517 nm에서 흡수가 없어진다. 따라서 DPPH의 환원정도는 환원제의 환원력에 달려있다[23-25]. DPPH결과는 Figure 1에 나타내었으며 RFB는 100 > 10 > 1  $\mu$ L/mL 순으로 각각 61, 53, 47 %의 농도 의존적인 자유라디칼 소거 활성을 보였다. RB와 RFB는 모든 농도에서 자유라디칼 소거 활성의 유의적인 차이를 보였으나 표준물질로 사용된 vitamin C보다는 다소 소거능이 떨어지는 것으로 나타났다.

#### 3.1.2. Superoxide Radical 소거효과 측정

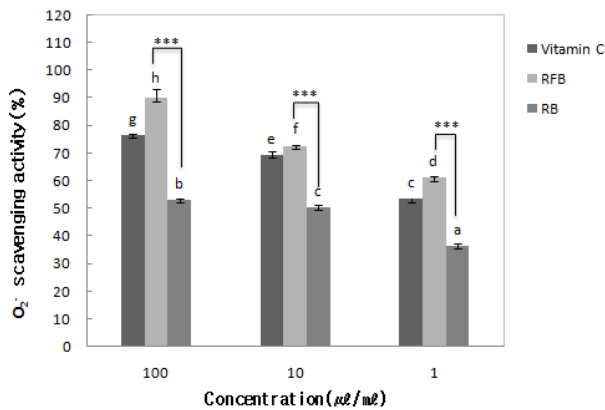
활성산소는 생물학적 반응에서 세포내 효소 또는 대부분의 전자 운반과정에서 만들어지며 안정되지 못하여 강한 활성을 가진다. 활성산소는 분자나 이온과 다르게 1개 이상의 짝 없는 전자를 갖는 화학물질로서 여러 가지 물질대사를 영위하는데 이용되지만 자외선, 생화학적 반응 등으로 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>,  $\cdot$ O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OH $\cdot$ , hydrogen peroxide 등 free radical의 생산이 과잉되면 생체에 대하여 독성을 나타내어 여러 가지 질환의 발생기전에 관여한다고 한다[26-30]. Superoxide radical 소거 실험 결과는 Figure 2과 같다. RFB는 100 > 10 > 1  $\mu$ L/mL 순으로 각각 89, 72, 61 %의 농도 의존적인 superoxide radical 소거 활성을 보였으며 RFB는 같은 농도의 표준물질인 vitamin C와 RB에 비하여 각각의 동일농도에서 가장 높은 superoxide radical 소



**Figure 1.** Scavenging effects of non fermented rice bran extract and fermented rice bran extract on free radical. Vitamin C was used as a positive control. RFB : rice bran fermented by *Bacillus subtilis* extract, RB : rice bran non-fermented extract. \*\*\*p < 0.001, in two-sided student's t-test. a, b, c, d, e, f are different group by one-way ANOVA with post-hoc test.



**Figure 3.** Scavenging effects of non fermented rice bran extract and fermented rice bran extract on OH<sup>-</sup>. Vitamin C was used as a positive control. OH<sup>-</sup> : hydroxyl radical, RFB : rice bran fermented by *Bacillus subtilis* extract, RB : rice bran non-fermented extract. \*\*\*p < 0.001, \*\*p < 0.01 in two-sided student's t-test. a, b, c, d, e, f, g, h, i are different group by one-way ANOVA with post-hoc test.



**Figure 2.** Scavenging effects of non fermented rice bran extract and fermented rice bran extract on O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Vitamin C was used as a positive control. O<sub>2</sub><sup>-</sup> : superoxide radical, RFB : rice bran fermented by *Bacillus subtilis* extract, RB : rice bran non-fermented extract. \*\*\*p < 0.001, in two-sided student's t-test. a, b, c, d, e, f, g, h are different group by one-way ANOVA with post-hoc test.

거 활성을 나타내어 발효과정을 통해 RB보다 항산화 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 이는 Eom 등[31]이 보고한 발효에 의한 증가된 superoxide radical 소거 활성의 연구결과와 유사하였다.

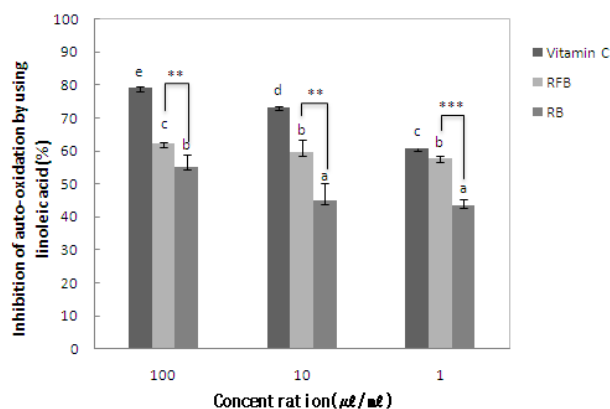
3.1.3. Hydroxyl Radical 소거효과 측정

Hydroxyl radical은 활성산소 라디칼 중에서 화학적으

로 가장 반응성이 크며 지질산화를 개시하고 DNA손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고, 생체의 대사 과정에서 생성되는 지질의 과산화물이나 과산화수소가 Fe<sup>2+</sup>나 Cu<sup>2+</sup> 이온의 존재 하에서 생성되며 가장 독성이 강한 free radical이다[32]. Hydroxyl radical 소거 실험 결과는 Figure 3과 같다. RFB는 100 > 10 > 1 μL/mL 순으로 각각 82, 78, 55 %의 우수한 hydroxyl radical 소거효과를 나타내며, 표준물질 vitamin C와 RB에 비하여 매우 높은 항산화 능력을 보였다. 표준물질 vitamin C의 농도가 100 μL/mL일 때 RFB에서 이보다 더 낮은 농도 10 μL/mL에서 7 % 더 높은 hydroxyl radical 소거효과를 나타내었으며 다른 라디칼 소거활성에 비해 강한 hydroxyl radical 소거효과를 보였다.

3.2. 지질과산화 억제효과

인지질의 구성성분인 linoleic acid는 free radical과 결합하여 hydroperoxide로 산화되는데, free radical에 의하여 산화된 linoleic acid는 DNA 손상에 강력한 영향을 미치므로 체내 지질과산화를 방지하는 것은 노화 및 질병 예방에 매우 중요하다[33]. 또한 리놀산은 티로시나제의 활성력을 줄이고 멜라노솜 내의 멜라닌 고분자의 형성을 막아 멜라닌 생성을 막아주는 것으로 알려져 있지만 자동 산화되기 쉽다[34]. 리놀산이 자동 산화가 쉽게 된다는 점을 감안하여 항산화 물질의 효능을 이용하여 자동 산화를 억제하는 정도의 실험 결과는 Figure 4와 같다.

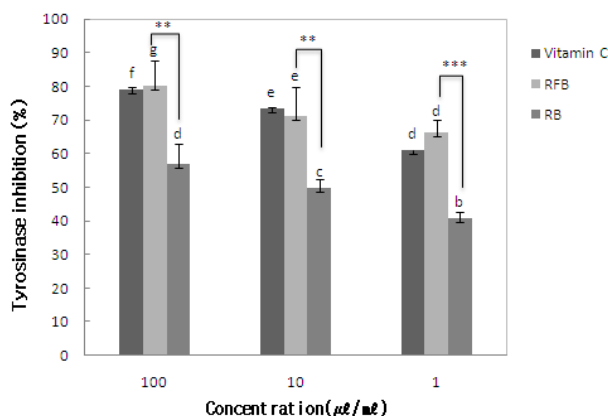


**Figure 4.** Inhibitory effects of non fermented rice bran extract and fermented rice bran extract on linoleic acid auto-oxidation. Vitamin C was used as a positive control. RFB : rice bran fermented by *Bacillus subtilis* extract, RB : rice bran non-fermented extract. \*\*\* p < 0.001, \*\* p < 0.01, in two-sided student's *t*-test. a, b, c, d, e are different group by one-way ANOVA with post-hoc test.

RFB는 100 > 10 > 1 μL/mL 순으로 각각 62, 59, 57 %의 농도 의존적인 지질과산화 억제효과가 나타났다. 리놀산 자동 산화 억제 효과는 다른 라디칼 소거 활성에 비해 표준물질 vitamin C와의 소거활성이 큰 차이를 나타내지 않았으나 RB에서 다른 라디칼 소거 활성에 비해 리놀산 자동 산화 억제에서 더 높은 활성을 나타내는데, 이는 Jeon 등[35]이 보고한 미강의 알콜 추출물의 높은 미백 활성에 리놀산 자동 산화 억제가 기인하는 것으로 여겨진다. RFB는 동일농도의 표준물질 vitamin C와 RB를 비교하였을 때 발효를 통한 추출물이 더 높은 리놀산 자동 산화 억제효과를 가지는 것을 확인할 수 있다.

### 3.3. Tyrosinase 활성 저해능

Tyrosinase는 tyrosine을 기질로 하여 dopaquinone을 생성시키며, 생성된 dopaquinone은 아미노산 혹은 단백질 중합반응에 의해 멜라닌(melanin)이 합성된다[36]. 과도한 멜라닌생성은 색소침착으로 이어지고 피부 노화를 촉진시키며, 피부암 유발의 원인이 되기도 한다. 이렇게 생성된 멜라닌은 쉽게 파괴 또는 분해가 어려워 이를 억제하기 위한 방법의 일환으로 tyrosinase의 활성을 저해하는 방법이 있다[37]. 현재까지 천연물로부터 분리된 tyrosinase활성 억제물질의 대표적인 화합물로는 phenolic compound, flavonoid, arbutin, glycolic acid, kojic acid, ferulic acid, isoflavonoids 등이 알려져 있다[38,39]. Tyrosinase 활성 저해능은 Figure 5와 같이 RFB는 100



**Figure 5.** Inhibitory effects of non fermented rice bran extract and fermented rice bran extract on tyrosinase. Vitamin C was used as a positive control. RFB : rice bran fermented by *Bacillus subtilis* extract, RB : rice bran non-fermented extract. \*\*\* p < 0.001, \*\* p < 0.01, in two-sided student's *t*-test. a, b, c, d, e, f, g, h, I, j are different group by one-way ANOVA with post-hoc test.

> 10 > 1 μL/mL 순으로 각각 80, 71, 66 %의 농도 의존적인 tyrosinase 활성 저해효과가 나타났다. 100, 1 μL/mL의 농도에서 표준물질 vitamin C보다 더 높은 tyrosinase 활성 저해효과가 나타났다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 대부분이 가축사료로 이용되고 있는 농산부산물인 미강을 이용한 부가가치가 높은 화장품 원료를 개발하기 위하여 *Bacillus subtilis*를 이용한 발효공법에 의한 미강 발효추출물의 항산화 효과, 지질 과산화 억제효과와 tyrosinase 활성저해효과를 확인하였다. 실험결과 *Bacillus subtilis*를 이용하여 발효시킨 미강발효추출물의 항산화 활성 측정 시 표준물질 vitamin C와 비교하여 DPPH 소거에서의 효과는 확연히 높은 효과를 나타내지 않았지만 발효를 하지 않은 미강추출물과 비교 시에는 더 높은 소거활성을 나타내었다. 그리고 superoxide radical, hydroxyl radical 소거작용의 경우 표준물질 vitamin C보다 더 우수한 항산화능을 확인할 수 있었으며 미강추출물과의 유의적인 차이를 확인할 수 있었다. 또한 linoleic acid를 이용한 지방산산화 억제 활성 측정 실험 결과에서도 발효에 의한 지방산 산화억제활성이 증가됨을 확인할 수 있었다. 미백효과의 경우 멜라닌 생성에 관여하는 mushroom tyrosinase 활성 저해능의 효과를 통하여 확인하였는데 미강의 발효추출물의 mush-

room tyrosinase 활성 저해능 측정 시 100, 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$  농도에서 표준물질 vitamin C 보다 뛰어난 mushroom tyrosinase 활성 저해능이 나타나 것으로 미백효과를 확인할 수 있었으며 미강추출물과 미강발효추출물의 유의적인 차이가 나타났다. 이러한 결과로부터 미강이 발효에 의해 항산화 및 미백 효과의 증진을 확인하였다. 이를 기초로 하여 미강의 발효추출물을 이용 시 항산화 활성과 미백 효능에 우수한 화장품의 소재로서 이용이 될 수 있다고 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. E. J. Kim, S. Y. Ahn, G. W. Nam, H. K. Lee, S. J. Moon, Y. M. Kim, M. S. Oh, and N. S. Kim, The anti-aging effect of the cosmetic products containing the needles of red pine on human skin, *J. Kor. Herbology*, **21**, 25 (2006).
2. J. Y. Seo, Skin aging from phenotype to mechanism, *J. Kor. Invest. Dermatol.*, **8**, 187 (2001).
3. J. H. Chung, V. N. Hanft, and S. Kang, Aging and photoaging, *J. American Acad. Dermatol.*, **49**, 69 (2003).
4. J. H. Chung, Generation mechanism and cause of wrinkle, *J. Soc. Cosmet. scientists Korea*, **29**, 1 (2003).
5. A. K. Lim, Y. J. Jung, K. S. Kim, Y. H. Kim, J. H. Kwak, J. H. Hong, H. Y. Kim, and D. I. Kim, Skin UVB photo aging effect from extract of fermented *Reynoutria elliptica*, *J. Kor. Society of Food Science and Nutrition*, **39**(3), 369 (2010).
6. H. S. Kim and H. G. Kang, Rice bran fermented by *Lactobacillus* sp., *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, **23**, 93 (2000).
7. S. K. Oh, D. J. Kim, A. R. Chun, M. R. Yoon, K. J. Kim, J. S. Lee, H. C. Hong, and Y. K. Kim, Antioxidant compounds and antioxidant activities of ethanol extracts from milling by-products of rice cultivars, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **39**, 624 (2010).
8. S. G. Hong, Development of immunostimulation materials from rice bran, *Food industry and Nutrition.*, **10**, 42 (2005).
9. S. H. Nam and M. Y. Kang, *In vitro* inhibitory effect of colored rice bran extracts carcinogenicity, *Agric Chem. Biotechnol.*, **40**, 307 (1997).
10. H. I. Choi, E. J. Ye, S. J. Kim, M. J. Bae, S. T. Yee, E. J. Park, and E. M. Park, Anticancer (*in vitro*) and antiallergy effects of rice bran extracts, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**, 1297 (2006).
11. T. S. Kahlon, F. I. Chow, R. N. Sayre, and A. A. Betschart, Related articles cholesterol-lowering in hamsters fed rice bran at various levels, defatted rice bran and rice bran oil, *J. Nutr.*, **122**, 513 (1992).
12. T. Osawa, R. Narashima, S. Kawakishi, M. Namaki, and T. Tashiro, Antioxidative defense system in rice hull against damage caused by oxygen radicals, *Agric Biol. Chem.*, **49**, 3085 (1985).
13. P. Lai, K. Y. Li, S. Lu, and H. H. Chen, Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from *Japonica* rice bran, *Food Chem.*, **117**, 538 (2009).
14. G. Muramoto and S. Kawamura, Rice protein and anti-hypertensive peptide (angiotensin converting enzyme inhibitor) from rice, *Nippon Shokuhin Kougyo*, **34**, 18 (1991).
15. K. Y. Lee, J. H. Kim, J. R. Son, and J. S. Lee, Detection and extraction condition of physiological functional compounds from bran of Heugjinju rice (*Oryza sativa L.*), *J. Korean postharvest Sci. Technol.*, **8**, 296 (2001).
16. S. P. Choi, M. Y. Kang, and S. H. Nam, Inhibitory activity of the extracts from the pigmented rice brans on inflammatory reactions, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **47**, 222 (2004).
17. Y. S. Kim, Functionality of fermented rice bran and its utilization, Korea Food Research Institute, (2003).
18. R. Bentley, Preparation and analysis of kojic acid, *Meth. Enzymol.*, **3**, 238 (1957).
19. J. Cabanes, S. Chazarra, and F. Garcia-Carmona, Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase, *J. Pharm Pharmacol.*, **46**, 982 (1994).
20. Y. Fugita, I. Urea, Y. Morimoto, M. Nakajima, C. Hatano, and T. Okuda, Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids, *Yakugaku Zasshi.*, **108**, 129 (1998).

21. H. S. Kang, H. Y. Chung, K. H. Son, S. S. Kang, and J. S. Choi, Scavenging effect of Korean medicinal plant on the peroxynitrite and total ROS, *Natural Product Sciences*, **9**, 73 (2003).
22. K. S. Kang, I. D. Kim, R. H. Kwon, Y. Y. Hea, S. h. Oh, M. A. Kim, H. J. Jung, H. Y. Kang, and B. J. Ha, The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract, *Journal of Life Science*, **17**, 1147 (2007).
23. H. J. Lee, DPPH radical scavenging effect and *in vitro* lipid peroxidation inhibition by portulaca oleraceae, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.*, **18**, 165 (2003).
24. Y. K. Kim, Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts, *Toxicol.*, **172**, 149 (2002).
25. L. F. Wang, A theoretical investigation on DPPH radical scavenging mechanism of edaravone, *Bioorganic & Med. Chem. Let.*, **13**, 3789 (2003).
26. G. B. Bulkley, The role of oxygen free radicals in human disease processes, *J. American Society of Plastic Surgeons*, **94**, 407 (1983).
27. C. E. Cross, B. Halliwell, and E. T. Borish, Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med.*, **107**, 526 (1987).
28. T. L. Dormandy, An approach to free radicals, *The Lancet.*, **2**, 1010 (1983).
29. B. Halliwell, Oxidants and human disease: some new concepts, *J. FASEB*, **1**, 358 (1987).
30. B. J. Halliwell and M. C. Gutteridge, Free radicals in biology and medicine, *Oxford Clarendon Press.*, **2**, 267 (1989).
31. S. H. Eom, B. J. Lee, and Y. M. Kim, Effect of yeast fermentation on the antioxidant and anti-inflammatory activity of sea tangle water extract, *Kor. J. Fish Aquat. Sci.*, **43**, 117 (2010).
32. J. S. Hyon, S. M. Kang, S. W. Han, M. C. Kang, M. C. Oh, C. K. Oh, D. W. Kim, Y. J. Jeon, and S. H. Kim, Flavonoid component changes and antioxidant activities of fermented citrus grandis osbeck peel, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **38**, 1310 (2009).
33. T. M. C. M. de Kok, I. Zwingman, E. J. Moonen, P. A. E. L. Schilderman, H. J. M. M. Haenen, and J. C. S. Kleinjans, Analysis of oxidative DNA damage after human dietary supplementation with linoleic acid, *Food Chem. Toxicol.*, **41**, 351 (2003).
34. K. S. Kang, I. D. Kim, R. H. Kwon, Y. Y. Heo, S. H. Oh, M. A. Kim, H. J. Jung, H. Y. Kang, and B. J. Ha, The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract, *Journal of Life Science*, **27**, 114 (2007).
35. S. B. Jeon, J. A. Jeon, and B. G. Jeong, Anti-oxidative activities and tyrosinase inhibition ability of rice bran ethanol extract, *Journal of The Korean Society of Cosmetology*, **16**, 602 (2010).
36. H. T. Lee, J. H. Kim, and S. S. Lee, Comparison of biological activity between soybean pastes adding sword bean and general soybean pastes, *J. Fd. Hyg. Safety.*, **24**, 94 (2009).
37. H. J. Lee, J. R. Do, J. H. Kwon, and H. K. Kim, Physiological activities of cucurbita moschata Duch. extracts with different extraction conditions, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **39**(2), 165 (2010).
38. J. Cabanes, S. Chazarra, and F. Garcia-Carmona, Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase, *J. Pharm Pharmacol.*, **46**, 982 (1994).
39. S. W. Jung, N. K. Lee, S. J. Kim, and D. S. Han, Screening of tyrosinase inhibitor from plants, *J. Food Sci. Technol. Korean*, **27**, 891 (1995).