

증숙 횡수에 따른 천마 추출물의 피부 생리 활성 평가

이아름^{1#}, 김건형², 권오준³, 김수현¹, 김경조¹, 노성수^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 삼도봉 천마 농장, 3 : 경북지역사업평가단

Evaluation of Dermal Bioactive Properties of the Gastrodiae Rhizoma Extract by Steaming Times

AhReum Lee^{1#}, GeonHyeong Kim², OJun Kwon³, SooHyun Kim¹,
KyeongJo Kim¹, Seong-Soo Roh^{1*}

1 : College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Republic of Korea

2 : Samdobong Cheonma Farm, Gimcheon-si, Republic of Korea

3 : Gyeongbuk Institute for Regional Program Evaluation, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Gastrodiae Rhizoma extract (GE) is possess the various bioactive compounds such as gastrodin, vanilyl alcohol and *p*-hydroxybenzyl alcohol. Various processing methods such as steaming have been widely applied to ease ingestion and enhance the therapeutic effects of plant materials including GE in East-Asia area. The aim of this study was to evaluate the dermal bioactive properties of GE.

Methods : First, total phenol, total flavonoid, gastrodin and ergothionein contents of GE were measured. In order to evaluate the dermal bioactive properties of steamed GE compared with not-steamed GE, tyrosinase, collagenase and elastase inhibitory activity were tested. Furthermore, the anti-oxidant activity of GE assessed based on DPPH and ABTS radical scavenging assay.

Results : In results, total phenol and total flavonoid contents were increased when 9 times steamed compared to not-steamed GE. Also, GE increased gastrodin contents, in proportion to the number of steaming times and ergothioneine content was abolished in the steaming state. The DPPH radical scavenging activity of GE increased by steaming, but the ABTS radical scavenging activity was not related to the steaming process. In addition, the tyrosinase inhibitory activity was increased as the number of steaming times of GE increased. Collagenase was most inhibited by 4 times steamed GE, and elastase was inhibited by 8 times steamed GE.

Conclusion : In conclusion, these results suggest that steamed GE extract has the potential as a cosmetic material which possess anti-oxidant and whitening activities than not steamed GE.

Key words : Gastrodiae Rhizoma extract, steaming times, dermal bioactive properties, anti-melanogenesis, anti-wrinkle

I. 서 론

피부는 인체 내의 가장 큰 기관으로서 자외선, 독성물질,

기계적인 손상과 같은 외부 환경으로부터 인체를 보호하는 기능을 한다¹⁻²⁾. 피부에 영향을 미치는 외부 환경들 가운데, 대표적으로 해로운 인자인 자외선은 오늘날 오존층 파괴와 현대인

*Corresponding author : Seong-Soo Roh, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2296 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : ddede@dhu.ac.kr

#First author : Ah Reum Lee, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2258 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : rmi2222@naver.com

· Received : 11 December 2017 · Revised : 20 December 2017 · Accepted : 15 January 2018

들의 사회활동 증가로 인하여 지속적으로 노출량이 증가하고 있으며 색소침착, 탄력저하, 주름 등과 같은 다양한 피부 건강 문제를 일으킨다³⁾. 따라서 최근에는 미백, 주름개선과 같은 기능을 가진 의약품 및 화장품에 대한 관심이 증가되고 있으며 그에 따라 피부 생리 활성 성분을 가진 천연물에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다⁴⁾.

천마(天麻, *Gastrodia Rhizoma*)는 난초과(Orchidaceae)에 속하는 식물로서 여러해살이 풀인 천마의 덩이 줄기를 건조한 것으로 참나무의 버섯균(*Armillaria* ssp.)과 편리공생을 통하여 자라는 기생식물이다⁵⁻⁶⁾. 또한 천마는 가스트로딘(gastrodin), 에르고티오네인(ergothioneine), 파라-하이드록시벤질 알코올(p-hydroxybenzyl alcohol), 바닐린(vanillin) 등의 성분을 함유하고 있으며⁷⁻⁹⁾, 고혈압, 치매, 중풍, 뇌 신경 세포의 허혈 손상 등에 개선효과가 있는 것으로 보고된 바 있다¹⁰⁻¹²⁾.

천마는 단단하기 때문에 절단하여 섭취하기가 어려울 뿐 아니라 가공하지 않고 씹어먹을 경우 혀와 인후를 자극한다는 부작용이 있어 다양한 가공방법이 개발되었는데, 현재는 최소 1회 증숙 과정을 거친 천마가 시중에 유통되고 있다¹³⁻¹⁴⁾.

천마는 증숙 과정에서 주요 성분들이 변화하고 다양한 생리 활성이 증가된다는 보고가 충분히 있으나, 증숙 횟수에 따른 피부 개선 효능 변화에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 천마를 증숙 횟수를 달리하여 미백, 항산화, 항주름 효능과 같은 피부 활성을 평가하고자 하였고 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, gallic acid, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, diethylene glycol, sodium hydroxide, naringin, 3, 4 Dihydroxy-L-phenyl-alanine (L-DOPA), elastase from porcine pancreas, collagenase from *Clostridium histolyticum*, (S)-2-Amino-3-(4-hydroxyphenyl)propionic acid, L-ascorbic acid, mushroom tyrosinase, sodium carbonate, N-(3-[2-Furyl] Acryloyl)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA), N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide는 Sigma Aldrich (St Luis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 천마 추출물 제조

본 실험에서 사용한 천마는 경상북도 김천시에서 채취한 것을 증숙 횟수 (1-9회)를 달리하여 실험에 사용하였다. 증숙은 무압식 스팀증숙기 (ACE Machinery, Seoul, Korea)를 사용하여 증숙 온도 90℃에서 2시간씩 물로 증숙 하였고, 건조는

통풍이 잘 되는 그늘에서 건조 하였다. 증숙한 천마를 건조 후 분쇄하여 얻은 파우더에 10배수의 증류수를 넣어 100℃에서 1시간 가열하여 추출물을 얻었다. 이를 거름종이 (Whatman No. 2, GE healthcare, Arlington Heights, IL, USA)를 사용하여 여과한 뒤, 여과액을 항량된 용기에 넣어 40℃의 수온에서 회전진공증발기 (rotary vacuum evaporator) (JP/N-1000X, Sunileyela Co., Ltd., Gyeonggido, Korea)를 사용하여 감압농축 후 동결건조하고 -20℃에 보관하여 사용하였다.

3. 천마 추출물 성분 분석

1) 총 페놀 함량 측정

천마 추출물의 총 페놀 함량 측정은 Folin-Denis법을 참고하여 측정하였다. 시료 20 μ l 에 증류수 1.58 ml, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μ l를 혼합하여 실온에서 1분간 반응시킨 후 300 μ l 의 20% Na₂CO₃를 첨가하였다. 20℃에서 2시간 후 UV spectrophotometer (Infinite M200, Tecan, Salzburg, Austria)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질 갈산을 사용하여 표준 검량선을 구하고, 천마 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였다¹⁷⁾.

2) 총 플라보노이드 함량 측정

증숙 천마 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Lister 등의 방법에 의해 구하였다¹⁸⁾. 1 ml의 diethylene glycol과 시료추출물 100 μ l 및 1 N NaOH 10 μ l를 잘 혼합시켜 37℃의 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 나린진을 사용하였으며, 표준 검량선을 구하여 증숙 천마 추출물의 플라보노이드 함량을 구하였다.

3) 가스트로딘 함량 분석

천마의 증숙 시간별 가스트로딘 함량 분석은 액체 크로마토그래프를 이용하여 분석하였다. 가스트로딘 표준 용액을 이용하여 표준 검량선을 작성한 후 6회 반복 주입하여 시스템 재현성을 확인하였다. 이동상은 A : 포름산용액, B : 포름산, 아세토니트릴 혼합액을 gradient로 사용하여 용매 비율기로 유속 1.0 ml/min에서 10 μ l을 주입하였다. 검출기는 UV (270 nm)를 사용하였다.

4) 에르고티오네인 함량 분석

천마의 증숙 시간별 에르고티오네인 함량 변화를 분석하였다. HPLC 분석에 사용한 이동상은 A : 물 (water)와 B : 아세토나이트릴 (aceto-nitrile)을 gradient로 사용하여 용매 비율기로 유속 1.0 ml/min에서 run time은 35min으로 총 50 ml을 주입하였다. 검출기는 UV (254nm)를 사용하였으며 standard 물질은 에르고티오네인을 사용하였다.

4. 항산화 활성 평가

1) DPPH 라디칼 소거 활성 측정

DPPH 라디칼 소거 활성 측정은 Blosis 등의 방법에 의하여

측정되었다¹⁵⁾. DPPH 라디칼 소거 활성 측정은 시료 중에 포함된 항산화 물질의 양을 측정하는데 사용되는 대표적인 실험 방법이다. 일정농도의 시료 100 μ l과 60 μ M DPPH 용액을 100 μ l 넣고 혼합한 후, 실온에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 UV spectrophotometer (UV1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 사용하여 측정 후, 라디칼 소거능을 계산하여 산출하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데, 필요한 시료의 양을 IC₅₀ (50% inhibition concentration)으로 하여 나타내었으며 대조군으로는 L-ascorbic acid를 사용하였다.

2) ABTS 라디칼 소거 활성 측정

천마 추출물의 증숙 횡수에 따른 항산화 효과를 평가하기 위하여 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM Potassium persulfate를 증류수에 녹인 다음 12 시간동안 차광하여 반응시킨 후, 이 반응액을 734 nm에서 ethanol을 이용하여 희석하여 흡광도 0.70 ± 0.02로 보정하였다. ABTS 용액 95 μ l에 시료 5 μ l를 첨가하고 15분 동안 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다¹⁶⁾

5. 미백 효능 평가

증숙 천마 추출물을 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8)에 녹여 70 μ l이 되게 하고 33 unit/ml 티로시나아제를 30 μ l 넣었다. 용액에 12 mM L-DOPA를 100 μ l 넣고 37°C에서 4분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 양성대조군은 kojic acid를 사용하였다¹⁹⁾.

6. 주름 개선 효능 평가

1) 콜라게나아제 억제 활성 평가

콜라게나아제 억제 활성 평가는 Van Wart & Steinbrink (1981) 방법에 따라 실험하였다²⁰⁾. 50 mM tricine buffer (pH 7.5, 10 mM CaCl₂, 400 mM NaCl)에 시료를 녹인 후 2 units/ml 농도의 콜라게나아제를 혼합하여 100 μ l이 되게 한다. 혼합한 용액을 15분간 방치한 후에 기질인 2 mM FALGPA를 50 μ l 넣은 후 즉시 345 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) 엘라스타아제 억제 활성 평가

100 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0 at 25°C)에 일정 농도의 시료를 녹여 170 μ l가 되게 한다. 1 mg/ml 농도의 N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide을 20 μ l 넣어준 후 실온에서 5분간 방치한다. 0.25 units/ml 농도의 엘라스타아제를 10 μ l 넣어준 후에 410nm에서 흡광도를 측정하여 엘라스타아제 저해 활성을 평가한다²¹⁾.

7. 통계분석

데이터는 평균±표준편차로 표현하였으며, SPSS (Version 22.0, IBM, Armonk, NY, USA)을 사용하여 one-way analysis

of variance (ANOVA) test를 실시한 후 Student's t-test방법에 의하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다 (**p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001).

III. 결 과

1. 성분 함량 분석 결과

1) 총 페놀 함량 분석 결과

증숙 횡수를 달리한 천마의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 동결건조 천마는 18.21±0.06 mg/g의 함량을 나타내었고 증숙하지 않은 천마는 23.28±0.07 mg/g의 함량을 나타내었다. 증숙 횡수에 비례하지는 않았으나 9회 증숙한 천마의 총 페놀 함량은 44.05±0.11 mg/g으로 나타나 증숙하지 않은 천마와 비교하였을 때 증가한 총 페놀 함량을 나타내었다 (Table 1).

2) 총 플라보노이드 함량 분석 결과

증숙 천마의 총 플라보노이드 함량 또한 table 1에 나타내었다. 증숙하지 않은 천마는 2.23±0.07 mg/g의 함량을 나타내었으나 9회 증숙하였을 때 4.45±0.50 mg/g의 함량을 나타내어 9회 증숙하였을 때 총 플라보노이드함량이 약 2배 증가함을 확인하였다.

Table 1. Total phenol and total flavonoids contents of Gastrodiae Rhizoma extract with various steaming times.

No.	Sample	Total phenol contents (mg/g)	Total flavonoids contents (mg/g)
1	FGE	18.21±0.06	2.23±0.07
2	GE0	23.28±0.07	3.12±0.08
3	GE1	20.24±0.06	3.26±0.05
4	GE2	19.10±0.10	1.96±0.05
5	GE3	31.67±0.16	2.29±0.04
6	GE4	40.12±0.03	2.84±0.06
7	GE5	31.85±0.22	2.60±0.04
8	GE6	34.63±0.23	2.67±0.09
9	GE7	39.24±0.29	2.84±0.02
10	GE8	24.55±0.29	3.97±0.19
11	GE9	44.05±0.11	4.45±0.50

FGE : freeze-dried Gastrodiae Rhizoma extract, GE1-GE9 : Gastrodiae Rhizoma by steaming-drying 1-9 times.

3) 가스트로딘 함량 분석 결과

증숙 횡수를 달리한 천마의 가스트로딘 함량을 측정된 결과, 동결건조 천마와 증숙하지 않은 천마에서는 가스트로딘이 검출되지 않았다. 그러나 1회 증숙한 천마에서는 0.24 %의 가스트로딘 함량이 나타났고, 9회 증숙한 천마에서는 1.36 %의 함량을 나타내었으며 결과적으로 천마는 증숙 횡수에 비례하는 가스트로딘 함량 증가를 나타내었다 (Table 2).

Table 2. Gastrodin contents in Gastrodiae Rhizoma extract with various steaming times.

No.	Sample	Gastrodin contents (%)	No.	Sample	Gastrodin contents (%)
1	FGE	ND	7	GE5	0.82
2	GE0	ND	8	GE6	0.81
3	GE1	0.24	9	GE7	0.96
4	GE2	0.40	10	GE8	1.17
5	GE3	0.57	11	GE9	1.36
6	GE4	0.68			

FGE : freeze-dried Gastrodiae Rhizoma extract,
 GE1-GE9 : Gastrodiae Rhizoma by steaming-drying 1-9 times.
 ND : not detected

4) 에르고티오네인 함량 분석 결과

표준 물질인 에르고티오네인은 retention time 22,616, 22,504 min에서 검출되었으며 (Fig. 1), 동결천마 및 증숙하지 않은 천마에서는 에르고티오네인이 미량 검출되었다. 2회 증숙 천마에서는 유사성분이 검출되었으나, 에르고티오네인 성분이라 확신할 수 없었으며 그 외의 증숙 천마에서는 에르고티오네인이 전혀 검출되지 않았다 (Fig. 2.)

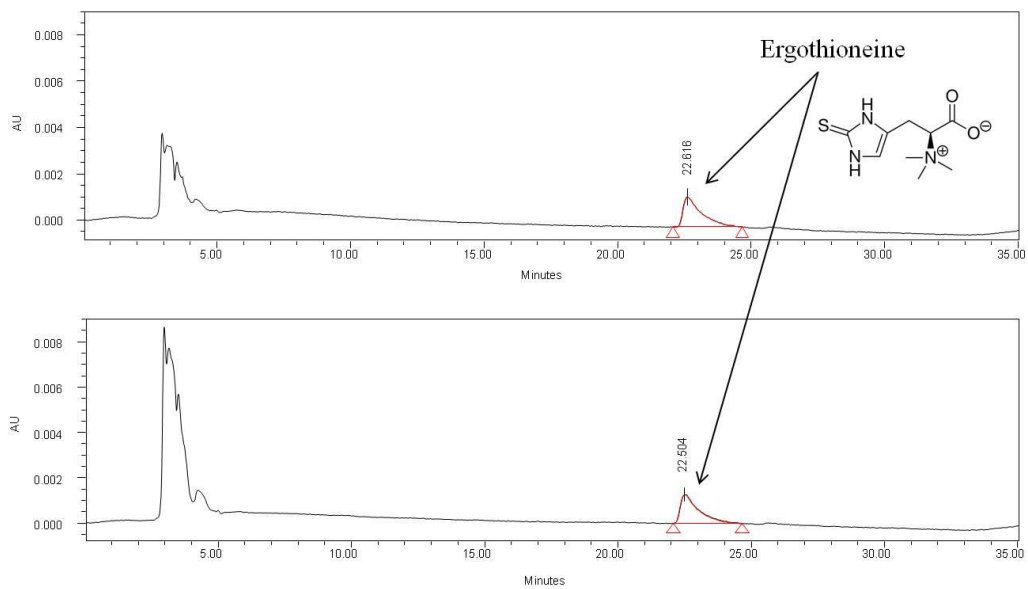
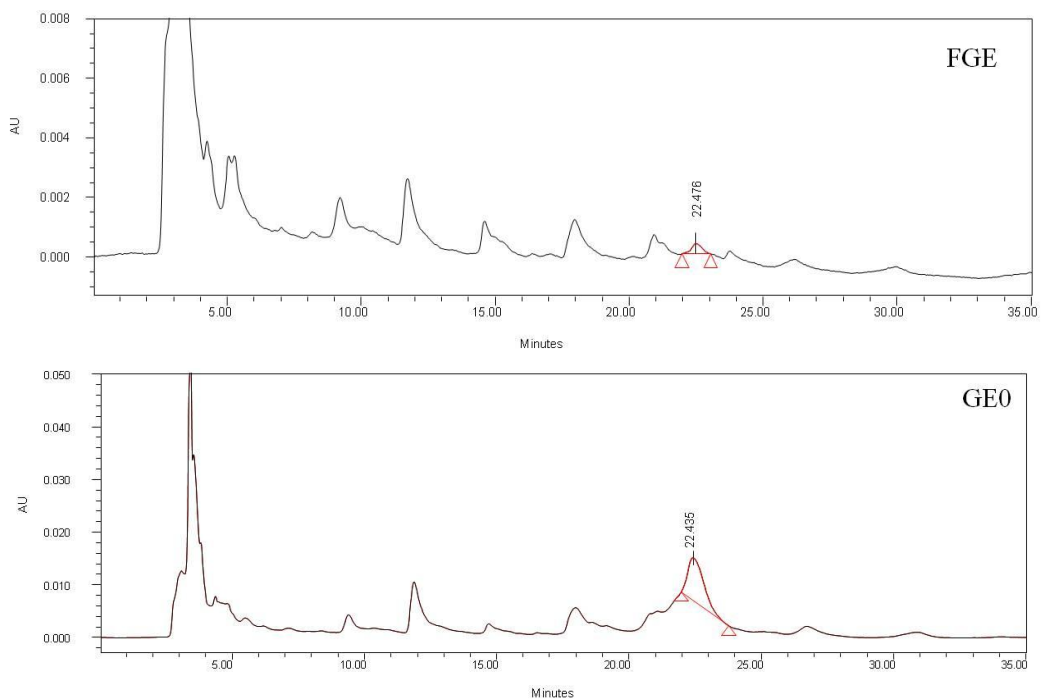
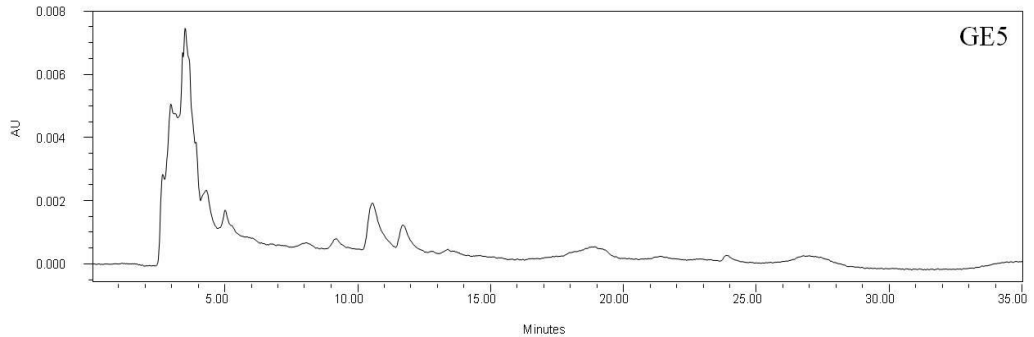
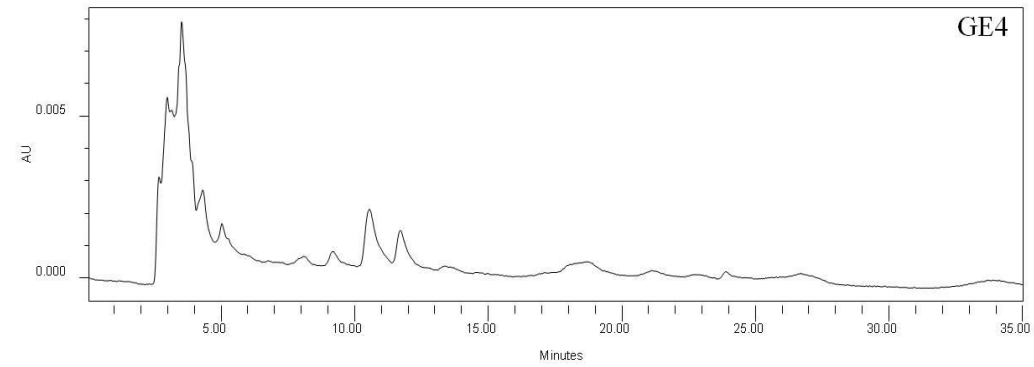
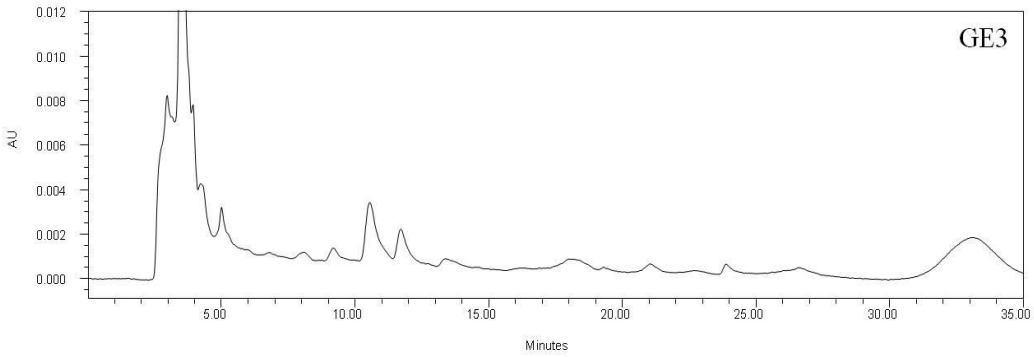
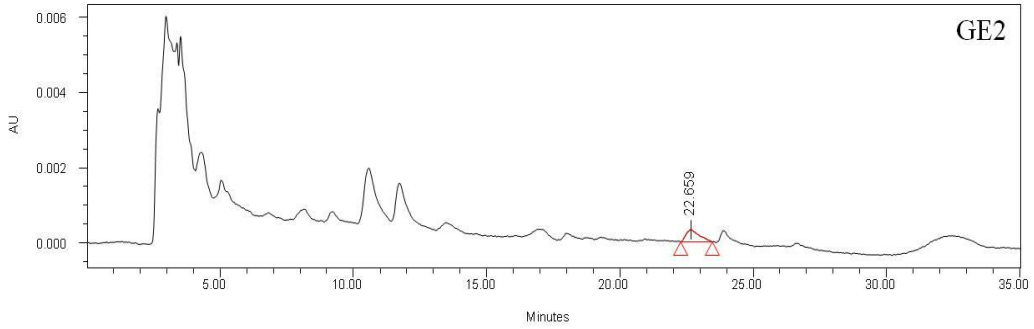
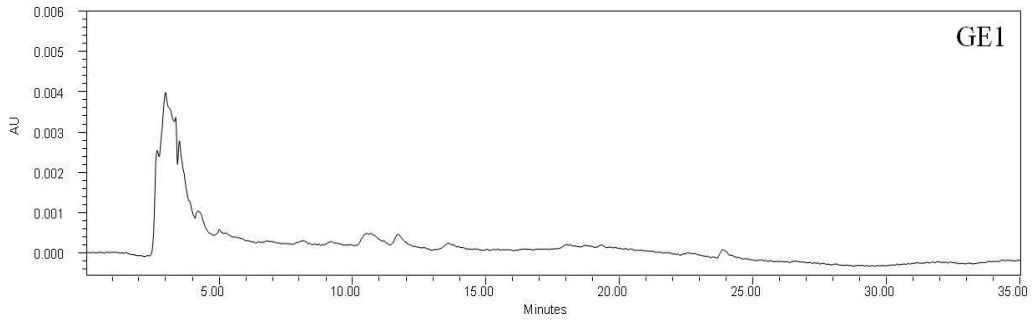


Fig. 1. HPLC chromatogram of ergothioneine.





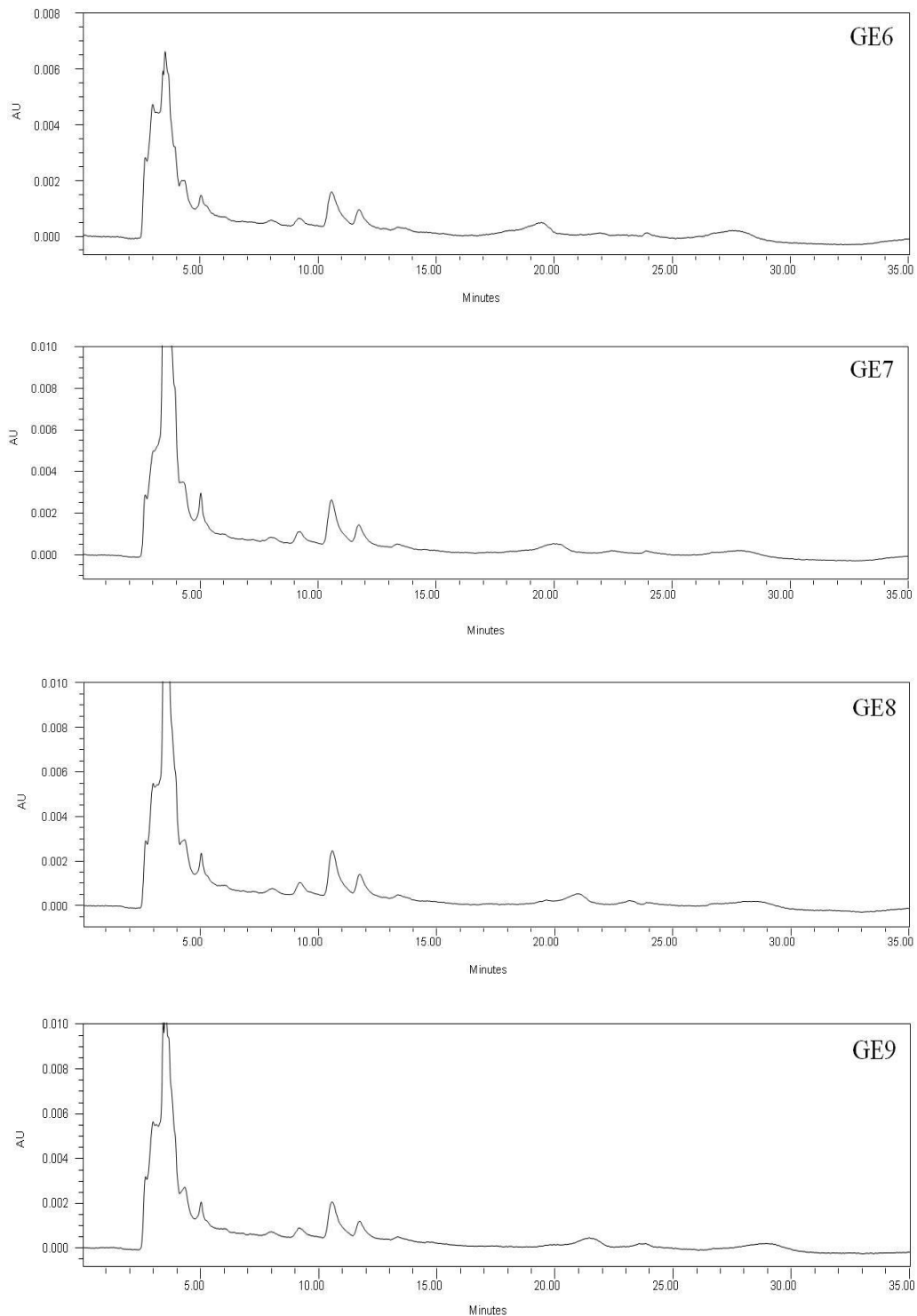


Fig. 2. HPLC chromatogram of *Gastodiae Rhizoma* with various steaming times
 FGE : Freeze-dried *Gastodiae Rhizoma* extract, GE1-GE9 : *Gastodiae Rhizoma* by steaming-drying 1-9 times.

2. 항산화 활성 평가

증숙 횟수에 따른 천마 추출물의 항산화 활성 변화를 평가하기 위하여 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 측정하였다. 1-9회 증숙한 천마 추출물의 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 비교하였을 때 증숙 횟수에 비례하게 항산화

활성이 증가하는 것을 확인하였다. 반면에 증숙하지 않은 천마 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 1 mg/ml 의 농도에서 $70.03 \pm 2.62\%$ 의 소거능을 보였고 9회 증숙한 천마는 $69.87 \pm 8.01\%$ 의 유사한 라디칼 소거능이 나타나 DPPH 라디칼 소거능과 전혀 다른 결과를 나타내었다.

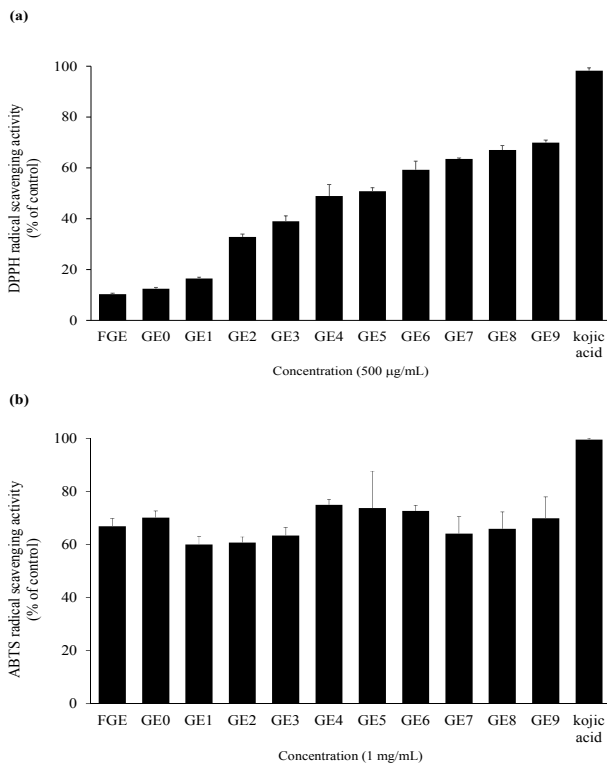


Fig 3. DPPH and ABTS radical scavenging activity of Gastrodiae Rhizoma with various steaming times. FGE : freeze-dried Gastrodiae Rhizoma extract, GE1-GE9 : Gastrodiae Rhizoma by steaming-drying 1-9 times.

3. 티로시나아제 억제 활성

증숙 천마 추출물의 미백활성을 평가하기 위하여 버섯에서 유래한 티로시나아제에 기질로 L-DOPA를 사용하여 일정한 농도 (1 mg/mL)에서 티로시나아제 억제활성을 평가하였다. 양성 대조군인 kojic acid의 L-DOPA 산화 저해 활성은 98.08 ± 0.32 %라는 높은 억제 활성을 보였고 동결건조한 천마 추출물과 증숙하지 않은 천마 추출물, 1회, 2회 증숙한 천마 추출물 모두에서 티로시나아제 억제 활성이 나타나지 않았다. 반면, 5회-9회 증숙한 천마는 증숙 횡수에 비례하게 티로시나아제 억제 활성이 나타났다.

4. 콜라게나아제 억제 효과

콜라게나아제 억제 활성은 동결 건조 천마 (28.29 ± 0.55)와 증숙하지 않은 천마 (28.98 ± 0.27)은 유사한 효과를 나타내었고 4회 증숙 천마 (48.53 ± 0.46)에서 가장 큰 활성을 나타내었으나 9회 증숙한 천마 (21.75 ± 1.92)에서는 다소 감소된 활성을 나타내었다.

5. 엘라스타아제 억제 효과

엘라스타아제 억제 활성은 동결 건조 천마 (7.53 ± 0.03)에 비교하였을 때, 8회 증숙한 천마 (36.02 ± 1.78)에서는 4배가 넘는 억제 활성을 나타내었고, 증숙 횡수에 비례하게 엘라스타아제를 억제하였다. 그러나 9회 증숙한 천마 (10.78 ± 0.18)에서는 다소 감소된 엘라스타아제 억제 활성을 나타내었다.

Table 3. Inhibitory effects of steamed Gastrodiae Rhizoma extract against mushroom tyrosinase.

No.	Sample (1 mg/mL)	Tyrosinase inhibitory activity (%)
1	FGE	ND
2	GE0	ND
3	GE1	ND
4	GE2	ND
5	GE3	19.11 ± 0.50
6	GE4	19.36 ± 2.36
7	GE5	27.46 ± 2.09
8	GE6	30.41 ± 1.74
9	GE7	31.90 ± 1.17
10	GE8	40.70 ± 1.63
11	GE9	44.41 ± 0.45
12	kojic acid	98.08 ± 0.32

FGE : freeze-dried Gastrodiae Rhizoma extract, GE1-GE9 : Gastrodiae Rhizoma by steaming-drying 1-9 times.

Table 4. Collagenase and elastase inhibitory activity of Gastrodiae Rhizoma with various steaming times.

No.	Sample (1 mg/mL)	Collagenase inhibitory activity	Elastase inhibitory activity
1	FGE	28.29 ± 0.55	7.53 ± 0.03
2	GE0	28.98 ± 0.27	11.76 ± 0.41
3	GE1	38.75 ± 0.63	10.12 ± 0.59
4	GE2	37.25 ± 0.99	10.59 ± 1.74
5	GE3	34.89 ± 0.60	13.25 ± 0.34
6	GE4	48.53 ± 0.46	18.63 ± 0.28
7	GE5	24.78 ± 0.62	19.63 ± 0.55
8	GE6	40.17 ± 0.35	29.91 ± 0.02
9	GE7	45.76 ± 0.94	27.82 ± 0.76
10	GE8	15.31 ± 0.93	36.02 ± 1.78
11	GE9	21.75 ± 1.92	10.78 ± 0.18

FGE : freeze-dried Gastrodiae Rhizoma extract, GE1-GE9 : Gastrodiae Rhizoma by steaming-drying 1-9 times.

IV. 고 찰

본 연구에서는 증숙 횡수를 달리한 천마 추출물의 미백, 항산화, 항주름 효과를 비교 검증하고자 하였다. 먼저 증숙 천마의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 총 페놀 함량은 동결 건조 천마 (18.21 ± 0.06 mg/g)가 가장 낮게 나타났고 4회 증숙 천마 (40.12 ± 0.03 mg/g)가 가장 높게 나타났다. 총 플라보노이드 함량은 2회 증숙 천마 (1.96 ± 0.05 mg/g)가 가장 낮게 나타났고, 9회 증숙 천마 (4.45 ± 0.50 mg/g)가 가장 높은 함량을 나타내었다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 증숙 횡수와 비례하지 않는 증감을 보였지만 동결 건조 천마와 비교해 보았을 때, 천마는 증숙 과정을 거치면서 총 페놀 함량이 증가하는 것으로 나타났다.

천마의 가스트로딘 함량을 살펴 본 결과, 증숙 횟수에 비례하게 증가하는 가스트로딘 함량을 확인할 수 있었다. 가스트로딘은 천마의 주요 활성 성분으로서 항염증, 항산화, 면역력 증강 효과가 있는 것으로 알려져 있으며²²⁻²⁴⁾, 건조하면 그 성분이 감소하지만 증숙 후 건조하면 그 함량이 증가한다고 보고되어 있다. 이는 가열하면 가스트로딘 분해 효소가 불활성화되어 분해되지 않기 때문에 증숙 과정을 거치면 가스트로딘 함량이 증가하는 것이다¹³⁾.

천마에 함유된 유효성분인 에르고티오네인은 인체 내 라디칼을 제거하거나 항산화 효소의 활성을 증가시키는 강력한 항산화 효과와 세포 보호, 항염증 효과가 있는 것으로 보고되었다²⁵⁻²⁷⁾. 에르고티오네인은 보통 버섯에서 많이 검출되는데, 천마에 함유된 에르고티오네인은 공생하고 있는 뽕나무 버섯에 의해 합성되어 천마에 축적된다²⁸⁻²⁹⁾. 본 실험에서는 천마를 증숙하지 않았을 때, 에르고티오네인이 검출되었으나 증숙과정을 거친 천마는 에르고티오네인이 검출되지 않았다.

증숙 횟수에 따른 천마의 항산화 효능을 검증하기 위하여 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 확인하였다. 그 결과, DPPH 라디칼은 증숙 횟수와 비례하게 소거능이 증가하였으며 ABTS는 증숙 횟수와 관계없는 소거능을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 항산화 효과를 검증할 수 있는 대표적인 실험법으로서 자유라디칼 소거능을 나타낸다. ABTS 라디칼 소거능은 양이온 라디칼로서 기질의 특징과 반응물과의 결합정도 다르기 때문에 추출물의 특성에 따라 소거능이 다르게 나타날 수도 있다³⁰⁾. 따라서 증숙 천마 추출물은 자유라디칼 소거능이 더 뛰어난 것으로 사료되며 이 결과는 이전의 연구 결과와 일치한다¹³⁾.

버섯 티로시나아제 억제 활성은 천마의 증숙 횟수와 비례하게 증가하는 것으로 나타났다. 이전 보고에 따르면 천마의 성분인 파라-하이드록시벤질 알코올은 티로시나아제 활성을 저해하는 탁월한 효능이 밝혀져 있으며³¹⁾, 가스트로딘 또한 티로시나아제 억제 활성을 가지고 있는 것으로 보고 되어져 있다. 따라서 증숙 과정을 통한 천마의 주요 성분 증가가 티로시나아제 억제 활성을 개선 시킨 것으로 보여진다.

피부 탄력을 결정하는 진피층의 콜라겐과 엘라스틴은 각각 콜라게나아제와 엘라스타아제에 의하여 분해되어 피부의 그물망 구조 결합을 끊어지게 함으로서 주름 생성의 주요 원인이 된다. 본 실험에서 증숙한 천마는 콜라게나아제와 엘라스타아제를 증숙 횟수에 비례하게 저해하지는 않았으나, 동결 건조 천마 및 증숙하지 않은 천마와 비교하였을 때, 증숙 과정을 거친 천마가 증가된 억제 활성을 나타내었다.

이러한 실험결과를 종합하여 보았을 때 천마는 증숙 횟수와 비례하게 가스트로딘 함량이 증가하였으나 에르고티오네인 함량은 증숙 과정에서 손실되는 것을 확인하였으며 티로시나아제 억제 활성은 증숙 횟수와 비례하게 증가하는 것으로 보아 가스트로딘을 포함한 천마의 성분 함량의 증가가 영향을 미치는 것으로 사료된다. 총 폐쇄 및 플라보노이드 함량은 증숙 횟수에 비례하진 않았지만 9회 증숙하였을 때 가장 높은 함량을 나타내었고, 콜라게나아제, 엘라스타아제 역시 증숙 횟수에 비례하진 않지만 각각 4회 증숙 천마, 8회 증숙 천마가 높은 억제 활성을 나타내었다.

V. 결 론

증숙 횟수를 달리한 천마 추출물의 미백, 항산화, 항주름 효능을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 천마는 증숙 횟수에 비례하게 가스트로딘이 증가하고, 에르고티오네인은 천마에서는 검출되었으나 증숙하였을 때는 검출되지 않았다.
2. 천마는 증숙 횟수에 비례하게 DPPH 라디칼 소거능이 증가하나, ABTS 라디칼 소거능에서는 증숙 횟수에 비례하지 않은 라디칼 소거능을 나타내었다.
3. 천마는 증숙 횟수에 비례하는 티로시나아제 억제 활성을 나타내었다.

이상의 결과들로 천마는 증숙하지 않았을 때와 비교하여 증숙하였을 때 더 높은 미백, 항산화, 항주름 효과를 가지고 있어 건강기능식품 및 기능성 화장품소재로서의 활용가능성이 높다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2016년 중소기업청 산학연 첫걸음 기술개발사업 연구과제 (C0453559)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Viña J, Borrás C, Miquel J. Theories of ageing. *IUBMB Life*. 2007 ; 59 : 249-54.
2. Jang YA. Efficacy of a cosmetic material from complex extracts of *Vaccinium* spp., *Phellinus linteus*, *Castanea crenata*, and *Cimicifuga heracleifolia*. *Asian J Beauty Cosmetol*. 2017 ; 15(3) : 281-90.
3. Yu HA, Kim CD. Applicability of *Lindera obtusiloba* Flower Extracts as Cosmetic Ingredients. *Asian J Beauty Cosmetol*. 2017 ; 15(2) : 132-44.
4. Lee AR, Kim GN, Kim HO, Song WJ, Roh SS. Antioxidant activity and melanin inhibitory effects of Yambean (*Pachyrhizus erosus*) extract. *Kor. J. Herbology*. 2017 ; 32(2) : 57-64.
5. Park JP, Lee SI, Jeong JK. A study on functional components, antioxidant activity of *Gastrodiae Rhizoma* and *Gastrodiae Elata* floral axis. *Kor. J. Herbology*. 2015 ; 3(1) : 19-24.
6. Doh ES, Yoo JH, Kil KJ. Antioxidant activity and component change of steaming-drying and fermented *Gastrodiae Rhizoma*. *Kor. J. Herbology*. 2015 ; 30(1) : 11-18.
7. Lee JM, Kim IH, Kim SH. Optimal steaming condition

- of *Gastrodia elata* Blume (chunma) using response surface methodology. *J Kor Soc Appl Biol Chem*, 2003 ; 46(2) : 107-12.
8. Taguchi H, Yosioka I, Yamasaki K, Kim IH. Studies on the constituents of *Gastrodia elata* Blume. *Chem Pharm Bull*, 1981 ; 29(1) : 55-62.
 9. Zhou J, Pu X, Tang Y, Tsungren Y. The chemistry of *G. elata* Blume. *Acta Botanica Yunnanica*, 1983 ; 5 : 443-8.
 10. Park JP, Chu HN, Kim JS, Kim KO, Lee SI, Jeong JK. A study of functional components antioxidant activity and sensory characteristics of *Gastrodiae Rhizoma* by steaming-drying cycles. *Kor. J. Herbology*, 2014 ; 29(6) : 55-62.
 11. Lee JY, Ku JS, Lee DE, Shin JW, Kim SJ, Sohn NW. Effects of *Gastrodiae Rhizoma* on brain edema and aquaporin expressions following intracerebral hemorrhage in rats. *Kor. J. Herbology*, 2010 ; 25(4) : 85-93.
 12. Jung TY, Suh SI, Lee H, Kim IS, Kim HJ, Yoo HS, Lee SR. Protective effects of several components of *Gastrodia elata* on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates. *Phytother Res*, 2007 ; 21(10) : 960-4.
 13. Lee AR, Kwon OJ, Noh JS, Roh SS. Protective effects of *Gastrodia elata* extract by steaming time on acute gastritis. *Korean J. Food Sci. Technol*, 2016 ; 48(6) : 597-603.
 14. Ahn DK, Kim HC. Hanyakpojaehak. Iljung Publishing House, Seoul, Korea, 2000 ; 285-287.
 15. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958 ; 181(4617) : 1199-1200.
 16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 1999 ; 26(9) : 1231-37.
 17. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagent. *Journal of biological chemistry*, 1912 ; 12(2) : 239-43.
 18. Lister CE, Lancaster JE, Sutton KH, Walker JR. Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. *Journal of the science of food and agriculture*, 1994 ; 64(2) : 155-61.
 19. Nerya O, Musa R, Khatib S, Tamir S, Vaya J. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and numbers. *Phytochemistry*, 65: 1389-1395, 2004.
 20. Van Wart HE, Steinbrink DR. A continuous spectrophotometric assay for *Clostridium histolyticum* collagenase. *Anal. Biochem.*, 1981 ; 113(2) : 356-65.
 21. James AEK, Timothy DW, Gordon L. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry*, 1996 ; 35(28) : 9090-6.
 22. Lin JH, Liu YC, Hau JP, Wen KC, Parisiens B and C from rhizomes of *Gastrodia elata*. *Phytochemistry*, 1996 ; 42(2) : 549-51.
 23. Hayashi J, Sekine T, Deguchi S, Lin Q, Horie S, Tsuchiya S, Yano S, Watanabe K, Ikegami F. Phenolic compounds from *Gastrodia* rhizome and relaxant effects of related compounds on isolated smooth muscle preparation. *Phytochemistry*, 2002 ; 59(5) : 513-19.
 24. Yun HS, Pyo MK, Park KM. Isolation of 3-O-(4'-hydroxybenzyl)- β -sitosterol and 4-[4'-(4"-hydroxybenzyloxy)benzyloxy] benzyl methyl ether from fresh tubers of *Gastrodia elata*. *Arch. Pharm. Res*, 1998 ; 21(3) : 357-60.
 25. Franzoni F, Colognato R, Galeeta F. An in vitro study on free radical scavenging capacity of ergothioneine, comparison with reduced glutathione, ruic acid and trolox. *Biomed Pharmacother*, 2006 ; 60(8) : 453-7
 26. Martin KR. The bioactive agent ergothioneine, a key component of dietary mushrooms, inhibits monocyte binding to endothelial cells characteristics of early cardiovascular disease. *J Med Food*, 2010 ; 13(6) : 1340-6.
 27. Ito T, Kto M, Tsuchida H, Harada E, Niwa T, Osawa T. Ergothioneine as an anti-oxidative and anti-inflammatory component in several edible mushrooms. *Food Sci Technol Res*, 2011 ; 17(2) : 103-10.
 28. Ey J, Schoming E, Tauber D. Dietary sources and antioxidant effect of ergothioneine. *J Am Chem Soc*, 2007 ; 55(16) : 6466-74.
 29. Kim MH, Kim JG, Choi JH. Antioxidant activity and changes in major functional components of fermented *gastrodia elata* Blume. *Korean J. Food & Nutr*, 2014 ; 27(4) : 684-91
 30. Shin SL, Lee CH. Antioxidant effects of the methanol extracts obtained from aerial part and rhizomes of ferns native to Korea. *Korean J. Plant Res*, 2010 ; 23(1) : 38-46.
 31. Liu, Szu-Hsiu, I-Horng Pan, and I-Ming Chu. Inhibitory effect of p-hydroxybenzyl alcohol on tyrosinase activity and melanogenesis. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2007 ; 30(6) : 1135-9.