

## 비건(Vegan)인증 화장품 원료 7종 혼합추출물의 항산화능 및 미백효과 연구

최인정<sup>†</sup>

meeth 기업부설연구소, 연구원  
(2022년 1월 26일 접수: 2022년 2월 22일 수정: 2022년 2월 24일 채택)

### The Antioxidant Capacity and Whitening Effects of the Extract from the Mixture of 7 Different Vegan Cosmetic Ingredients

In-Jeong Choi<sup>†</sup>

Researcher, meeth R&D institute

(Received January 26, 2022; Revised February 22, 2022; Accepted February 24, 2022)

**요약** : 본 연구에서는 비건 인증(Vegan) 화장품 원료 7종 혼합추출물의 항산화능 및 미백효과를 확인하였다. 라디칼 소거능으로서 DPPH, ABTS, FRAP 실험, 항산화 물질 측정으로서 폴리페놀과 플라보노이드 함량 측정을 실시하였다. DPPH 실험에서는 105.74 mg ascorbic acid / g의 항산화능을 나타내었으며, ABTS 실험에서는 85.31 mg ascorbic acid / g의 항산화능을 나타내었다. FRAP에서는 7종 혼합추출물의 1 mg이 ascorbic acid 198.01±5.50  $\mu$ g의 환원력을 보였다. 폴리페놀 함량은 30.19±0.75 mg/g으로 나타났으며, 플라보노이드 함량은 9.12±0.36 mg/g으로 나타났다. 한편 세포실험에서는 세포 독성과 미백활성을 알아보았다. 세포독성의 경우 20% 이하의 세포 독성을 보였으며, 100  $\mu$ g/mL 농도에서 34.70±2.97%의 멜라닌 생성 억제능을 보여 7종 혼합추출물의 기능성 화장품 원료로서의 가능성을 확인하였다.

**주제어** : 항산화, 화장품, 비건 화장품, 비건 뷰티, 미백

**Abstract** : This study attempted to investigate the antioxidant capacity and whitening effects of the extract from the mixture of 7 different vegan cosmetic ingredients. To examine radical scavenging capacity, DPPH, ABTS and FRAP assays were performed. In addition, polyphenol and flavonoid concentrations were measured to check antioxidant substances. Specifically, in a DPPH test, 105.74 mg ascorbic acid/g antioxidant capacity was observed. In an ABTS assay, 85.31 mg ascorbic acid/g antioxidant capacity was found. Lastly, in an FRAP assay, 1mg of the extract revealed ascorbic acid 198.01±5.50  $\mu$ g reducing power. Polyphenol and flavonoid concentrations were 30.19±0.75 mg/g and 9.12±0.36 mg/g respectively. In a cell-based assay, cytotoxicity and whitening activity were examined. In terms of cytotoxicity, '20% or less' was observed. Furthermore, the inhibition of melanin

---

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: injeong7810@gmail.com)

synthesis was '34.70±2.97%' at 100 µg/mL, confirming the possibility of the extract from the mixture of 7 different substances as a cosmetic ingredient.

*Keywords* : Antioxidant activity, Cosmetics, Vegan Cosmetic, Vegan Beauty, Whitening

## 1. 서론

최근 사회적인 요구에 부응하듯 화장품 제조 과정 중 동물실험 및 동물성 원료를 사용하지 않는 비건뷰티(vegan beauty)가 증가하고 있다. 비거니즘(veganism)은 인류의 건강뿐 아니라 지구상의 고통 받는 동물을 줄이기 위한 동물해방, 환경오염, 온난화 현상으로 인한 기후 변화 등 생태 환경을 파괴하는 것을 멈추기 위한 행동이다<sup>1)</sup>. 실제로 무분별한 동물성 원료 사용은 생태계를 파괴시키는 요인으로 문제시 되었고, 이미 유럽연합(EU)은 화장품지침 전문을 통해 화장품의 원료 또는 원료의 배합과정 및 완성된 화장품의 안전성 평가를 시행해야 할 경우 86/609/EEC (동물실험보호를 규정한 지침)를 적용해야 한다고 규정하였다<sup>2) 3)</sup>.

이러한 움직임은 세계 각국으로 확대되어 국내에서도 화장품법 15조 2항에 따라 동물실험을 실시한 화장품의 유통·판매를 법적으로 금지시켰으며, 현재 국내 기업들도 뷰티 시장 변화의 흐름을 반영하여 동물성 원료 대신 자연 유래 친환경 성분만을 사용하여 화장품을 연구·개발·생산하는데 동참하고 있다<sup>4)</sup>. 아모레퍼시픽의 경우 2008년부터 화장품의 원료뿐 아니라 완제품에 대한 동물실험을 금지하기 시작하여 2013년부터는 협력업체에도 같은 방침을 적용하였다. 또한 LG생활건강도 2012년부터 전 제품에 대한 동물실험을 중단하였으며, 세포배양 독성평가법 또는 면역세포 배양 평가법 등으로 이를 대체하고 있다<sup>5)</sup>. 이처럼 점차적으로 비건뷰티 제품을 개발하는 활동이 활발해지며 소비자들 또한 친환경적이면서 좋은 성분이 함유되어 있는 비건원료 화장품에 대한 관심과 수요가 크게 증가하고 있는 것이 현실이다<sup>6)</sup>.

2019년 4월 Industry Reports(인더스트리 리포트)에 따르면 전 세계 비건 원료를 사용한 화장품 시장 규모를 2018년에서 2023년까지의 기간 동안 7.1%의 연평균 성장률을 기록 할 것으로 예상하였으며, 또 다른 글로벌 시장조사기관인

Statista(스태티스타)도 역시 2020년 150억 달러(약 17조원)에서 2025년에는 약 41% 증가한 200억 달러(약 24조원)에 이를 것으로 전망한 바 있다. 또한 미국의 Data Bridge(데이터 브릿지) 시장조사에서도 2020년 4월 기준으로 2027년까지 236억 6000만 달러의 규모 가치를 예상하고, 6.25%의 성장률을 전망하여 비건뷰티는 필수가 되고 있다<sup>7)</sup>.

전 세계적으로 비건화장품의 시장이 크게 성장하고 있음에도 아직 비건 화장품 원료에 대한 연구는 미비하다. 그러나 화학성분의 인체에 대한 부작용이 대두됨에 따라 국내 원료업체들도 비건 소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 연구개발을 통해 일부 천연 원료들의 비건인증을 획득하고 있다. 이에 본 연구에서는 비건 인증 원료의 기능성 화장품 원료로서 사용 가능성을 검증하고자 항산화능 측정 및 멜라닌 측정을 통해 미백 효과를 확인하고자 한다.

항산화능이란 다른 분자와 반응하기 쉬운 free radical을 제거하는 성질이다. 대표적인 free radical로는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)가 있으며 이들은 세포의 노화에 소거능을 통해 측정한다<sup>8)</sup>. 우리의 인체는 대사작용 및 면역작용에 의해 ROS가 생성되며, 생성된 ROS를 조절하기 위해 superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase 등과 같은 항산화 효소를 통한 효소적 항산화 기전과 ascorbic acid, tocopherol 등 비효소적 항산화 기전을 통해 조절하는 시스템이 이용된다<sup>9)10)</sup>. 그러나 여러 가지 요인들에 의해 산화촉진물질(prooxidant)과 산화억제물질(antioxidant)에 불균형이 생기면 산화스트레스(oxidative stress)가 유발되고, 항산화 방어막이 파괴되어 피부 질환 및 노화를 초래하게 된다<sup>11)</sup>. 현재 산화적 스트레스에 의한 세포 구성 성분의 산화적 손상을 지연시키거나 억제하는 물질인 항산화 물질을 다양한 천연소재에서 찾고자 하는 노력이 많이 시도되고 있으며<sup>12)</sup>, 이들이 가지는 항산화 특성을 이용한 기능성소재의 개발에 대한 연구가 꾸준히 진행되어지고 있다<sup>13)</sup>.

또한, 건강한 피부와 관련하여 항산화와 함께 중요도가 높아지는 분야 중 하나가 미백이다. 1999년에 화장품법이 약사법으로부터 독립 제정 되고, 2000년 7월 1일 그 시행이 확정된 이후 안정적이고 효과적인 미백 소재를 발견하고자 하는 연구가 현재까지 활발히 진행되고 있기 때문이다. 그 결과 멜라닌 생성과 제어 메커니즘 연구는 진보를 이루었고, 이러한 연구 성과를 기초로 약용 식물이나 천연물에서 이와 관련된 활성을 가진 소재를 찾으려는 각종 연구가 이어지고 있다<sup>14)</sup>. 그 중에서 피부에 부작용이 나타나는 합성물질보다 비교적 안전성이 뛰어난 천연 추출물을 이용한 기능성 화장품 개발이 요구 되고 있다. 천연 추출물에서 미백 효과를 나타내는 대표적인 성분은 polyphenol이 있다<sup>15)</sup>. Polyphenol은 생물 전반에서 발견되는 물질로서 일반적으로 항산화능을 나타내며, 항산화능은 멜라닌 생성의 주요 기전 중 하나인 tyrosinase가 tyrosine의 산화를 촉진하는 과정을 방지하여 피부 미백효과를 나타낸다<sup>16)17)</sup>.

따라서 본 연구에서는 비건 인증 화장품 원료인 Geranium maculatum Extract(와일드제라늄 추출물), Oenothera biennis Flower Extract(달맞이꽃추출물), Diospyros kaki Leaf Extract(감나무잎추출물), Dandelion (Taraxacum officinale) Leaf Extract(서양민들레잎추출물), Eclipta prostrata Extract(한련초추출물), Salix alba Bark Extract(흰버드나무껍질추출물), Scutellaria baicalensis Root Extract(황금추출물)의 7가지 혼합추출물의 항산화 및 미백효과를 연구하여 기능성화장품 원료로서 활용가능성을 확인하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 추출물

본 실험에 사용한 비건 인증 화장품 원료인 7가지 추출물은 G. maculatum Extract, O. biennis Flower Extract, D. kaki Leaf Extract, Dandelion (T. officinale) Leaf Extract, E. prostrata Extract, S. alba Bark Extract, S. baicalensis Root Extract는 제조하였으며, 정제수와 원물은 1%의 비율로 80°C 열수추출 방식을 통해 추출하여 제조하였다. 추출은 한국비건인증원의 기준에 따라 동물성 원료의 교차오염이 일어나지 않도록 비건 화장품 원료를 생산하는 (주)J2KBIO에서 실시하였다.

항산화능 실험 및 세포 실험을 위해 동결건조를 통해 추출물의 건조중량을 측정하였으며, 얻어진 추출물은 증류수로 1 mg/mL 농도로 재용해시킨 뒤 동일 비율로 혼합하였다. 혼합 추출물은 syringe filter (PVDF, 0.2  $\mu$ m)를 통해 균 및 불용물을 제거하였다.

### 2.2. DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH assay는 DPPH의 라디칼 활성이 항산화제에 의해 소거되면 원래의 520 nm 파장의 빛에 대한 흡광도가 감소하는 것을 이용하는 방법이다<sup>18)</sup>. DPPH 용액을 만들기 위해 70% ethanol을 용매로, DPPH를 1%(w/v)가 되도록 녹인 뒤 filter paper를 이용해 불용된 DPPH를 제거하였다. 이 후 용액의 520 nm 흡광도가 1.00이 되도록 70% ethanol로 다시 희석하여 DPPH 용액으로 사용하였다. 500  $\mu$ g/mL를 기준으로 2 배씩 희석하여 만들어진 다양한 농도의 7가지 추출물 1.0 mL와 DPPH 용액 1.0 mL를 혼합 후 30 분간 반응시켰다. 그 후 520 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 추출물 및 환원된 DPPH 용액의 흡광도를 측정하여 실험결과에서 제외했다. DPPH 실험결과는 ascorbic acid의 IC<sub>50</sub>를 측정 후 비교하여 항산화능을 평가하였다.

### 2.3. ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS assay는 ABTS의 라디칼 활성이 항산화제에 의해 소거되면 원래의 740 nm 파장의 빛에 대한 흡광도가 감소하는 것을 이용하는 방법이다<sup>19)</sup>. ABTS 용액은 발색 되지 않은 7 mM ABTS 용액에 2.45 mM potassium persulfate를 녹여 12 시간 동안 발색반응을 진행 시켰다. 이 후 발색이 끝난 ABTS 용액의 740 nm에서의 흡광도를 측정하여 흡광도가 0.7이 되도록 희석하여 사용하였다. 500  $\mu$ g/mL를 기준으로 2 배씩 희석하여 만들어진 다양한 농도의 7가지 추출물 1.0 mL와 ABTS 용액 1.0 mL를 혼합 후 30 분간 반응시킨 후 740 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 추출물 및 환원된 ABTS 용액의 흡광도를 측정하여 실험결과에서 제외했다. ABTS 실험결과는 ascorbic acid의 IC<sub>50</sub>를 측정 후 비교하여 항산화능을 평가하였다.

### 2.4. FRAP 측정

실험에는 0.5 mg/mL 농도로 희석한 7가지 추출물을 사용하였다. 7가지 추출물 2.5 mL과 0.2 M 인산염 완충용액 (pH 6.6) 2.5 mL를 혼합하여 일정한 pH가 나타나도록 한 뒤, 10% 페리시

안화 칼륨용액 2.5 ml를 주입하여 50°C에서 20 분 동안 반응시켰다. 이 후 반응이 끝난 시료는 10% trichloroacetic acid 2.5 ml를 넣은 뒤 원심 분리(3000 × G, 15 min)하여 침전물을 제거하였으며, 침전물이 제거된 용액 1 mL와 0.1% ferric chloride 용액 0.2 mL를 혼합시켰다. 그 후 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력을 평가하였다.

FRAP은 ascorbic acid를 기준으로 standard curve를 작성하여 측정하였다.

### 2.5. 폴리페놀 함량 분석

폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu reagent를 이용한 방법에 따라 실시하였다. 7가지 추출물 1.0 mL와 증류수로 10 배 희석된 Folin-Ciocalteu reagent 시약 0.1 mL를 반응시킨 후 5 분 동안 실온에서 방치한 후 CaCO<sub>3</sub> (5%, w/v) 1.0 mL를 주입하였다. 그 후 반응을 위해 30 분간 방치 후 760 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 폴리페놀 농도는 gallic acid를 기준으로 standard curve를 이용해 환산하였다.

### 2.6. 플라보노이드 함량 분석

플라보노이드 함량 측정은 플라보노이드와 알루미늄 이온의 결합에 따른 발색 반응 차이를 통해 측정하였다. 7가지 추출물 1.0 mL에 NaNO<sub>2</sub> (5%, w/v) 0.3 mL를 주입한 뒤 5 분 동안 실온에서 방치한 후 AlCl<sub>3</sub> (2%, w/v) 0.5 mL를 주입한 후 반응이 일어날 수 있도록 6 분간 방치하였다. 마지막으로 1 M NaOH 0.5 mL를 주입하여 중화시킨 뒤 510 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 플라보노이드 농도는 quercetin을 기준으로 standard curve를 이용해 환산하였다.

### 2.7. 세포 배양

세포 독성 실험에는 B16F10 melanoma cell을 사용하였다. 세포 배양 배지로는 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, GE healthcare, USA)를 사용하였으며, FBS (fetal bovine serum, Sigma, USA) 5%와 항생물질로서 Penicillin-Streptomycin (100X) (Sigma, USA)를 첨가하여 제조하였다. Melanin 생성 유도 물질로는  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH, Sigma, USA)을 사용하였다. 추출물은 DMSO에 용해시켜 처리하였다.

### 2.8. 세포 독성 측정

세포 독성의 측정 방법으로는 MTT assay를 실시하였다. 먼저 배양된 B16F10을 96 well plate에 well 당  $5 \times 10^4$  cell을 주입하여 24 시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 100  $\mu$ g/mL를 기준으로 2 배 다단희석을 통해 6.25-100  $\mu$ g/mL 농도로 희석한 7가지 추출물을 처리하여 48 시간 동안 배양하였다. 2차 배양 후 상층 배양액을 제거하고 MTT 용액(5 mg/mL)를 가해준 뒤 온도 37°C, CO<sub>2</sub> 농도 5%의 환경에서 MTT를 결정이 생성되도록 하였다. 각 well에 생성된 결정은 DMSO로 녹여 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

### 2.9. 멜라닌 생성 측정

먼저 배양된 B16F10을 96 well plate에 well 당  $5 \times 10^4$  cell을 주입하여 24 시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 100  $\mu$ g/mL를 기준으로 2 배 다단희석을 통해 6.25-100  $\mu$ g/mL 농도로 희석한 7가지 추출물과  $\alpha$ -MSH 100 nM을 처리하여 72 시간 동안 배양하였다. 배양 후 1N NaOH 0.1  $\mu$ L 처리 후 1시간 동안 방치하여 멜라닌을 용해시킨 후 405nm 흡광도를 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. DPPH 라디칼 소거능

측정 전 비교를 위해 ascorbic acid의 EC<sub>50</sub>의 항산화 수치를 측정하였으며, 각 농도를 2.5-40  $\mu$ g/mL 범위로 반응시켜 얻어진 ascorbic acid의 EC<sub>50</sub> 수치는 17.44  $\mu$ g/mL였다.

7가지 혼합추출물을 31.25-500  $\mu$ g/mL로 희석하여 실험을 진행한 결과는 Fig.1과 같다. 농도 31.25  $\mu$ g/mL 에서 16.88 $\pm$ 3.42%, 62.5  $\mu$ g/mL 에서 33.99 $\pm$ 2.95%, 125  $\mu$ g/mL 에서 57.13 $\pm$ 0.62%, 250  $\mu$ g/mL 에서 89.94 $\pm$ 2.13%, 500  $\mu$ g/mL 에서 96.43 $\pm$ 1.40%의 DPPH 라디칼 소거능을 보였다. 실험결과 EC<sub>50</sub>을 통해 비교 확인한 결과 ascorbic acid는 17.44  $\mu$ g/mL, 본 추출물은 105.74  $\mu$ g/mL로 나타나 7가지 혼합추출물이 ascorbic acid가 라디칼 소거능을 100%로 보았을 때 약 16.50%의 항산화능이 있음을 확인하였다.

본 혼합추출물의 원료 중 하나인 서양민들레 추출물의 DPPH 라디칼 소거능과 비교할 경우 서양민들레 열수 추출물의 EC<sub>50</sub>은 176.99  $\mu$

g/mL로 7가지 혼합추출물의 항산화능이 약 1.67배 강한 것으로 나타났다<sup>20)</sup>. 한편 그라비올라 잎 추출물에 대한 연구의 결과를 기반으로 EC<sub>50</sub>을 계산한 결과 추출물의 EC<sub>50</sub>은 875.98  $\mu$ g/mL로 나타나 7가지 혼합추출물의 항산화능이 약 8.28배 강한 것으로 나타났다<sup>21)</sup>.

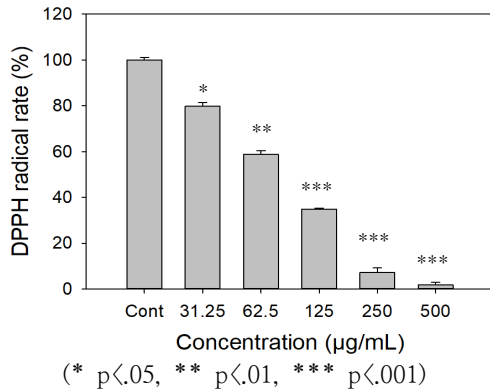


Fig. 1. DPPH radical rate of 7 complex extracts.

### 3.2. ABTS 라디칼 소거능

측정 전 비교를 위해 ascorbic acid의 EC<sub>50</sub>의 항산화 수치를 측정하였으며, 각 농도를 2.5-40  $\mu$ g/mL 범위로 반응시켜 얻어진 ascorbic acid의 EC<sub>50</sub> 수치는 9.11  $\mu$ g/mL였다.

7가지 혼합추출물을 31.25-500  $\mu$ g/mL로 희석하여 실험을 진행한 결과는 Fig. 2와 같다. 31.25  $\mu$ g/mL 에서 20.21 $\pm$ 1.54%, 62.5  $\mu$ g/mL 에서 41.22 $\pm$ 1.58%, 125  $\mu$ g/mL 에서 65.28 $\pm$ 0.50%, 250  $\mu$ g/mL 에서 92.78 $\pm$ 2203%, 500  $\mu$ g/mL 에서 99.21 $\pm$ 1.14%의 ABTS 라디칼 소거능이 보였다. 실험결과를 IC<sub>50</sub>을 통해 비교 확인한 결과 ascorbic acid 는 9.11  $\mu$ g/mL, 본 추출물은 85.31  $\mu$ g/mL로 나타나 7가지 혼합 추출물이 ascorbic acid가 라디칼 소거능을 100%로 보았을 때 약 10.68%의 항산화능이 있음을 확인하였다.

*Spiraea prunifolia* 뿌리 열수추출물과 해당 결과를 비교할 경우 *Spiraea prunifolia* 뿌리 열수 추출물의 EC<sub>50</sub>은 124.0  $\mu$ g/mL로 7가지 혼합추출물의 항산화능이 약 1.45배 강한 것으로 나타났다<sup>22)</sup>.

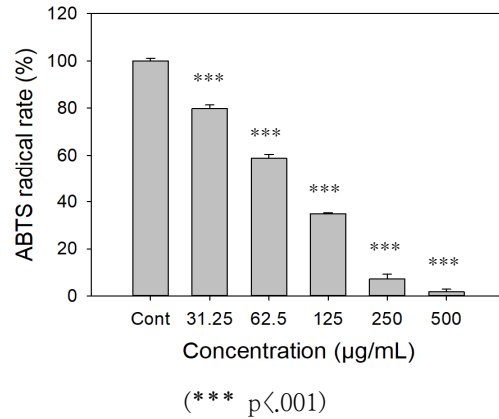


Fig. 2. ABTS radical rate of 7 complex extracts.

### 3.3. FRAP & 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

Table 1은 FRAP 활성 및 폴리페놀, 플라보노이드 함량 측정 결과이다.

7가지 추출물과 ascorbic acid의 철 이온에 대한 환원력인 FRAP을 측정하여 비교하였다. 7가지 추출물의 FRAP 측정 결과, 7가지 추출물의 1 mg의 FRAP은 ascorbic acid 198.01 $\pm$ 5.50  $\mu$ g의 FRAP과 같음을 알 수 있었다. 폴리페놀의 경우 30.19 $\pm$ 0.75  $\mu$ g/mg으로 나타났으며, 플라보노이드의 경우 9.12 $\pm$ 0.36  $\mu$ g/mg으로 나타났다.

상항버섯 추출물과 폴리페놀과 플라보노이드 농도를 비교할 경우 상항버섯 열수 추출물의 폴리페놀은 16.33  $\mu$ g/mg으로 7가지 혼합추출물의 폴리페놀의 함량이 약 1.8배 높은 것으로 나타났다<sup>23)</sup>. 한편 플라보노이드 함량을 비교할 경우 상항버섯 열수 추출물의 플라보노이드는 4.50  $\mu$ g/mg으로 7가지 혼합추출물의 플라보노이드의 함량이 약 2.0배 높은 것으로 나타났다.

### 3.4. 세포 독성

7가지 추출물이 세포에 미치는 독성을 평가하기 위해서 MTT assay를 이용한 세포 생존율을 측정하였다. 7가지 추출물은 배지에서 최종 농도가 6.25-100  $\mu$ g/mL가 되도록 배합하여 배양을 진행하였다.

Table 1. FRAP and polyphenol, flavonoid concentration of 7 complex extracts

Method	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )	S.D
FRAP	198.01	5.50
TPC	30.19	0.75
TFC	9.12	0.36

Table 2. Cytotoxicity of 7 complex extracts on B16F10

Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Cell survival rate (%)	S.D
Cont	100.00	0.95
6.25	99.23	1.64
12.5	97.16*	0.63
25	94.00**	1.08
50	92.32**	0.88
100	90.06*	2.83

(\*  $p < .05$ , \*\*  $p < .01$ )

실험 결과는 Table 2와 같으며 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $90.06 \pm 2.83\%$ , 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $92.32 \pm 0.88\%$ , 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $94.00 \pm 1.08\%$ , 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $97.16 \pm 0.63\%$ , 6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $99.23 \pm 1.64\%$ 의 세포 생존률이 나타났다.

대조군과 student's t test를 통해 비교한 결과 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 부터 유의미한 세포독성을 보였다. 하지만 ISO 10993-5 및 식품의약품안전처 고시 제2014-115호의 기준에서 20% 이상의 세포 독성을 나타내었을 때 독성이 있는 것으로 간주하며, 이러한 기준으로는 모든 실험 농도에서 세포 독성이 나타나지 않은 것으로 나타났다.

### 3.5. 미백 활성

7가지 추출물이 멜라닌 생성에 미치는 영향을 평가하기 위해서 B16F10의 멜라닌 생성량을 측정하였다. 7가지 추출물은 배지에서의 최종농도가 6.25-100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 가 되도록 배합하여 배양을 진행하였다.

실험 결과는 Table 3과 같으며 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $34.70 \pm 2.97\%$ , 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $33.88 \pm 4.95\%$ , 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $32.73 \pm 6.89\%$ , 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $27.30 \pm 6.25\%$ ,

6.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $23.36 \pm 4.19\%$ 의 멜라닌 생성 억제 효과가 나타났다. 한편 비교를 위해 arbutin 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 실험을 실시하였으며  $30.69 \pm 4.34\%$ 의 효과가 나타났다.

상황버섯 추출물과 미백활성을 비교할 경우 열수 추출물에서 양쪽 최대 30% 이상의 미백효과를 내었으나 저농도 조건인 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서의 결과를 비교했을 때, 상황버섯의 경우 21.46%의 미백효과를 보인 데 비해, 7가지 추출물의 경우 32.73%의 미백효과를 보여 약 1.5배 더 높은 미백효과를 보였다<sup>23)</sup>.

한편 개별 추출물에 대한 예비 실험 결과 중 가장 높은 황금 열수 추출물의 경우 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $28.31 \pm 1.57\%$ 의 미백효과를 보였으며, 이는 황금 열수 추출물의 항산화와 멜라닌생성 저해 효과에 대한 선행논문에서 농도에 따라 최대 29%의 멜라닌 생성 억제효과를 보인 것과 유사하다<sup>24)</sup>. 한편 본 혼합 추출물은 황금 열수 추출물에 비해 약 6.39% 높은 효과를 보였으며, 혼합 추출물의 경우 황금 추출물의 비율이 낮음에도 황금추출물보다 높은 효과를 보여 상승효과가 나타난 것으로 생각된다.

Table 3. Melanin production rate of 7 complex extracts on B16F10

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Melanin production rate(%)	S.D
Cont	100.00	4.67
6.25	76.64**	4.19
12.5	72.70**	6.25
25	67.27**	6.89
50	66.12**	4.95
100	65.30**	2.97

(\*\*  $p < .01$ )

#### 4. 결론

본 연구는 비건 인증 화장품 원료인 *G. maculatum* Extract, *O. biennis* Flower Extract, *D. kaki* Leaf Extract, Dandelion (*T. officinale*) Leaf Extract, *E. prostrata* Extract, *S. alba* Bark Extract, *S. baicalensis* Root Extract의 혼합 추출물의 기능성 화장품 원료로서 활용가능성을 확인하고자 항산화 실험과 미백 실험, 세포독성 실험을 실시하였다.

항산화 실험에는 5 종의 라디칼 소거능 실험과 2종의 미백 실험을 실시하였다. DPPH 실험에서는  $105.74 \mu\text{g/mL}$ 의  $EC_{50}$ 을 나타내었으며, ABTS 실험에서는  $85.31 \mu\text{g/mL}$ 의  $EC_{50}$ 을 나타내었다.

항산화 실험에는 5 종의 라디칼 소거능 실험과 2종의 미백 실험을 실시하였다. DPPH 실험에서는  $105.74 \mu\text{g/mL}$ 의  $EC_{50}$ 을 나타내었으며, ABTS 실험에서는  $85.31 \mu\text{g/mL}$ 의  $EC_{50}$ 을 나타내었다.

7가지 추출물의 철 이온에 대한 환원력인 FRAP을 측정된 결과, 7가지 추출물의 1 mg의 FRAP은 ascorbic acid  $198.01 \pm 5.50 \mu\text{g}$ 의 FRAP과 같음을 알 수 있었다. 폴리페놀의 경우  $30.19 \pm 0.75 \mu\text{g/mg}$ 으로 나타났으며, 플라보노이드의 경우  $9.12 \pm 0.36 \mu\text{g/mg}$ 으로 나타났다.

미백에 대한 세포실험결과 연구에 사용된 농도 범위에서 80% 이상의 세포 생존율을 보였으며, 본 추출물이 세포독성이 없음을 확인하였다. 이미 시중에서 사용되고 있는 미백 활성을 띠는 상황 버섯 열수 추출물과 비교하여 약 1.5배 높은 미백효과를 보여 화장품 시장에서 사용 가능한 수준의 미백 활성을 확인할 수 있었다.

#### References

1. T. Leenaert. How to create a vegan world: a pragmatic approach. NY: Lantern Books. (2017).
2. OJ 1993 L151/32, Council Directive 93/35/EEC of 14 June 1993 amending for the sixth time Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products.
3. H. S. Lee, J. K. Kim. "A Study on the Animal Welfare and the Protection for Experimental Animals in EU : Focusing on the Prohibition Regulation from Animal Testing of Cosmetics in EU". *Chosun Law Journal*, Vol. 25, No. 2, pp. 207-235, (2018)
4. Y. H. Lee. "Study of integrated brand communication in clean beauty cosmetics". *Journal of the Korea Convergence Society*, Vol. 12, No. 4, pp. 161-169, (2021)
5. J. I. Hwang, K. R. Kim. "A study on the relationship between vegan beauty and the beauty industry". *Journal of Digital Convergence*, Vol. 19, No. 1, pp. 45-49, (2021)
6. Y. J. Heo. "A Study on Development of Vegan Cosmetics Matching Convergence Service Application for Changes in beauty Consumer Market". *The Korean Society Science & Art*, Vol. 39, No. 3, pp. 505-517, (2021)

7. E. H. Park, I. H. Lee. "The Effect of Consumer Decision Type on the Consumption Value of Vegan Cosmetics". *Journal of the Korean society of cosmetology*, Vol. 27, No. 2, pp. 442-454, (2021)
8. K. B. Beckman & B. N. Ames. "The free radical theory of aging matures". *Physiological reviews*, Vol. 78, No. 2, pp. 547-581. (1998)
9. G. Bartosz. "Non-enzymatic antioxidant capacity assays: limitations of use in biomedicine". *Free radical research*, Vol. 44, No. 7, pp. 711-720. (2010)
10. A. Bafana, S. Dutt, S. Kumar & P. S. "Ahuja. Superoxide dismutase: an industrial perspective". *Critical reviews in biotechnology*, Vol. 31, No. 1, pp. 65-76. (2011)
11. K. S. KO. A "Study on the Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Scutellaria baicalensis Extracts". *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art*, Vol. 14, No. 2, pp. 233-243, (2013)
12. Y. J. Moon, C. D. Kim. "Antioxidant, antiinflammatory and antimicrobial activity of Sophora flavescens ethanol and hydrothermal extracts". *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art*, Vol. 18, No. 1, pp. 91-103, (2017)
13. K. C. Min, J. W. Jhoo. "Antioxidant Activity and Inhibitory Effect of Taraxacum officinale Extracts on Nitric Oxide Production". *Korean journal of food science and technology*, Vol. 45, No. 2, pp. 206-212, (2013)
14. Y. H. Shin, H. I. Jang. "A Study on the Effect of Whitening and Wrinkle Enhancement of Torilis japonica" (Houtt.) DC. (Sasangja), Angelica tenuissima Nakai (Gobon), Cimicifuga heracleifolia Kom. (Seungma), Aconitum pseudolaeve Nakai (Jinbeom) Ethanol Extracts. *Journal of the Korea Soc. Beauty and Art*, Vol. 17, No. 3, pp. 107-118, (2016)
15. T. S. Chang. "An updated review of tyrosinase inhibitors". *International journal of molecular sciences*, Vol. 10, No. 6, pp. 2440-2475. (2009)
16. Y. X. Wang, W. C. Su, Q. Wang, Y. F. Lin, Y. Zhou, L. F. Lin & Y. Shi. "Antityrosinase and antioxidant activities of guanidine compounds and effect of guanylthiourea on melanogenesis". *Process Biochemistry*, Vol. 85, pp. 84-96. (2019)
17. J. P. Ebanks, R. R. Wickett & R. E. Boissy. "Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and fall of complexion coloration". *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 10, No. 9, pp. 4066-4087. (2009)
18. M. S. Blois. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical". *Nature*, Vol. 181, No. 4617, pp. 1199-1200. (1958)
19. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang & C. Rice-Evans. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, Vol. 26, No. 9-10, pp. 1231-1237. (1999)
20. K. C. Min, J. W. Jhoo. "Antioxidant Activity and Inhibitory Effect of Taraxacum officinale Extracts on Nitric Oxide Production". *Korean journal of food science and technology*, Vol. 45, No. 2, pp. 206-212, (2013)
21. E. H. Jo, I. H. Kim, J. H. Lee. "Antioxidant and Skin Whitening Effect of Graviola (Annona muricata) Leaf Extracts". *Applied Chemistry for Engineering*, Vol. 28, No. 2, pp. 198-205, (2017)
22. M. O. Sim, H. J. Lee, J. H. Jang, H. E. Lee, H. K. Jung, T. M. Kim, J. h. No, J. y. Jung, D. E. Jung, H. W. Cho. "Anti-inflammatory and Antioxidant Effects of Spiraea prunifolia Sieb. et Zucc. var. simpliciflora Nakai in RAW 264.7 Cells". *Korean journal of plant resources*, Vol. 30, No. 4, pp. 335-342. (2017)
23. K. H. Im, S. A. Baek, J. Choi & T. S. Lee. "Antioxidant, anti-melanogenic and anti-wrinkle effects of Phellinus vaninii". *Mycobiology*. Vol. 47, No. 4, pp. 494-505. (2019)
24. N, Y, Kim. Effect of "Antioxidation and Inhibition of Melanogenesis from Scutellaria Baicalensis Extract". *Asian journal Beauty Cosmetol*. Vol. 12, No. 1, pp. 41-4. (2014)