

꽃송이버섯 추출물의 화장품소재로서의 가능성 평가

장영아¹ · 김한나² · 양재찬² · 이지원¹ · 김보애^{2†} · 이진태^{1,†}

¹대구한의대학교 바이오산업융합학부 화장품약리학과

²목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부

(2015년 11월 13일 접수; 2015년 12월 7일 수정; 2015년 12월 7일 채택)

A study on the possibility of extracts from *Sparassis crispa* for cosmetic ingredients

Young-Ah Jang¹ · Han-Na Kim² · Jae-Chan Yang²
Ji-Won Lee¹ · Bo-Ae Kim² · Jin-Tae Lee¹

¹Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea

²Faculty of Bio Industry Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University,
Gyungsan, 712-749, Korea

(Received November 13, 2015; Revised December 7, 2015; Accepted December 7, 2015)

요약 : 본 연구는 꽃송이버섯 추출물의 화장품소재로서 활용 가능성을 확인하는 것을 목적으로 한다. 꽃송이버섯 에탄올 추출물의 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* 균주로부터 항균효능을 확인하였으며 항산화효과 및 염증관련인자인 NO저해율을 확인하였다. 또한 꽃송이버섯 에탄올 추출물을 함유한 에멀션 제형의 물리적 안정성을 평가하기 위해 pH, 점도, 에멀션 입자를 관찰하였다. 그 결과 paper disc 실험의 경우 *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 균주로부터 항균효능을 나타내었으며, 에멀션 제형 평가의 경우 안정한 점도와 pH를 나타내었다. 현미경으로 유화물 입자 관찰 시 추출물의 유무와 상관없이 제형 분리 현상은 확인되지 않았다. 이러한 결과는 꽃송이버섯 추출물의 화장품 소재로서의 가치를 제안할 수 있다.

주제어 : 꽃송이버섯, 항산화, 항염, 에멀션 안정성

Abstract : We conducted this study to investigate possibilities of applying cosmetic material about extracts from *Sparassis crispa*. The extracts of *Sparassis crispa* conducted a antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* by the paper disc method and antioxidative effect and Nitric oxide production inhibitory activity were performed in Raw 264.7 cells. Also, we evaluated of pH, viscosity, particle observation stability of emulsion that are applied of extracts from *Sparassis crispa*. The antimicrobial activity showed by

[†]Corresponding author

(E-mail: kosmetics@hanmail.net, kba@mokwon.ac.kr)

the paper disc method against *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. The physical stability were stable of pH, viscosity in emulsion included extracts from *Sparassis crispa*. Emulsion containing *Sparassis crispa* extracts did not change particles into optical microscope. These results suggest that extracts from *Sparassis crispa* may have value as the potential cosmetic formulations.

Keywords : *Sparassis crispa*, Ethanol extracts, Antiaging, Antioxidant, Emulsion stability

1. 서론

최근 식물유래 천연 성분에 대한 인식이 높아짐에 따라 생리활성물질을 다량으로 함유하고 있고 인체에 부작용이 적은 천연물에 대한 연구가 활발해지고 있으며, 특히 부작용 낮은 천연물을 이용한 의약품 및 화장품에 대한 연구가 웰빙(well-being) 열풍과 함께 산업적 선호도가 증가하는 추세이다. 천연물 중에서도 각종 영양소를 함유하고 있는 기능성 버섯은 다양한 질병을 위한 약용과 식용의 경계에 있다. 기존 연구에서는 다양한 항산화 및 항암효과, 항염효과[1-4]가 뛰어나다고 알려져 있으나 식용 외에 버섯이 적용될 수 있는 다양한 응용 분야에서의 연구는 아직 미비한 실정이다.

본 연구에 이용된 꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 민주름버섯목, 꽃송이버섯과에 속하는 버섯으로[5] 자실체가 10~25cm 크기의 꽃양배추 모양을 하고 있으며 전체적으로 담황색 또는 흰색을 띠고 있다. 한국, 일본, 중국, 유럽, 북아메리카, 호주 등에 분포되어 있으며, 일부는 줄기에서, 일부는 고사목에서도 발생하고 침입경로와 생육여건이 다양하며 낙엽송이나 잣나무로 구성된 침엽수에서 발생된다고 알려져 있다[6]. 꽃송이버섯은 식이섬유가 풍부하고[7], 꽃송이버섯의 성분인 β -glucan이 40%이상 함유되어 있다고 알려지면서 재배량도 증가하고 있다[8]. 또한 꽃송이버섯은 필수아미노산과 비타민E, 비타민C가 다른 버섯에 비하여 높게 함유하고 있음을 여러 연구를 통해 확인되었다[9]. 꽃송이버섯은 TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α)의 분비와 관련되는 항암효과에 대한 다양한 연구결과가 보고되고 있다[4]. 에탄올로 추출한 꽃송이버섯 추출물은 염증유발인자인 iNOS (inducible nitric oxide synthase)와 COX-2 (Cyclooxygenase-2)의 염증성 반응을 억제하는 것으로 알려져 있다[3]. 이러한 효능으로 꽃송이버섯을 활용한 환,

액상 등 건강기능식품이 주를 이루며 꽃송이버섯 추출물을 부 원료로 함유한 홍삼과 발효유등의 가공식품을 제조하여 시판하였다. 그러나 국내의 꽃송이버섯 이용기술은 제약이나 식품 분야에서만 활용되어지고 있으며, 화장품 분야에서는 활용이 저조한 실정이다.

현재 바이오 및 화장품산업은 사람의 감성과 함께 실제 피부에서의 작용과 변화를 나타내는 분야로 자리 잡고 있으며, 실제 사용자의 피부상태를 개선시켜주는 적극적인 산업으로 변화하고 있다.

따라서 본 연구에서는 생리 활성 바이오 소재인 꽃송이버섯을 에탄올 추출하여 추출물의 항산화, 항염 효능을 시험 후, 이를 화장품 에멀션 제형에 적용하여 안정성을 평가하고 추출물의 화장품 소재로서의 가능성을 검증하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 재료

본 실험에서 사용한 꽃송이버섯은 국립산림과학원(Korea Forest Research Institute)에서 2008년에 구입하였으며, 4°C에서 보관하여 사용하였다.

2.1.2. 시료 추출

분쇄한 시료 100g에 70% 에탄올 2L을 가하여 실온에서 12시간 진탕 후, 여과지로 여과한 여과액은 55°C에서 감압 농축한 후 동결 건조하여 -20°C에서 보관하여 실험에 사용하였다.

2.2 실험방법

2.2.1. 세포 배양

Raw 264.7을 한국 세포주 은행(KCLB,

Korea)에서 구입하여 사용하였다. 시약은 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin, trypsin 250, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL CO.(Grand Island, USA) 및 Haemacytometer(Mariefeld, Germany)에서 구입하여 사용하였다. 세포는 10% FBS, 1% penicillin(100U/ml)/streptomycin(100µg/ml)을 첨가한 DMEM 배지를 이용하여, 37° C, 5% CO₂가 함유한 조건에서 배양하였다. 세포배양 배지는 2일마다 새로운 배지로 갈아 실험에 적용하였다.

2.2.2. 균주 배양

시료의 항균 활성 측정을 위해 피부상재균주인 *Staphylococcus epidermidis*(KCTC 1917, *S.epidermidis*), *Staphylococcus aureus*(KCTC 1927, *S.aureus*) 병원균 *Candida albicans*(KCTC 7270, *Candida.a*) 대장균 *Escherichia coli*(KCTC 2571, *E.coli*) 균주를 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC, Korea)에서 구입하여 계대배양하며 사용하였다. 사용된 배지는 Tryptic soybean agar(TSA), Tryptic soybean broth(TSB), Potato dextrose agar(PDA), Potato dextrose broth(PDB, Difco, USA)를 사용하였다.

2.2.3. 미생물 생육저해환 측정

추출물의 항균력 측정을 하기 위해 Paper disc method을 이용하였다. 각 균주 1백금이량을 액체배지에 접종하여 37°C에서 24시간동안 3회 계대배양하여 활성화시킨 균주를 다시 0.1ml을 새로운 액체배지에 접종하여 배양하여 실험하였다. Pour-plate method에 따라 배지가 분주된 배양 접시에 균일하게 섞은 후 실온에서 균핵 미리 만들어진 고체배지에 1개당 균주를 10⁷cell/ml이 되도록 접종하여 멸균한 면봉으로 균일하게 도말하였다. 배지 위에 멸균 된 paper disc(8mm, Advqtec, Tokoyo, Japan)를 시료수에 맞게 올리고 밀착시킨 후 꽃송이버섯 추출물을 각각 Polyethylene glycol에 용해하여 각 농도별로 45µl로 흡수시켰다. 대조군은 꽃송이버섯 추출물 용매로 이용 되어진 Polyethylene glycol을 실험군과 동일한 방법으로 흡수시켰다. 37°C에서 24시간동안 배양한 후 Disc 주변에 생성 되어진 생육저해환(clear zone(mm))의 직경을 측정하여 각 추출물의 항균활성 정도를 비교 분석하였다.

2.2.4. DPPH radical scavenging activity 측정

추출물의 DPPH radical activity (EDA: electron donating ability)은 Blois의 방법[10]을 응용하여 측정하였다. 각 시료용액 100 µL에 0.2 mM의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 50 µL 가하고 차광 상태에서 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 517 nm에서 Microplate reader(Emax plus, Molecular Devices, USA)로 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2.2.5. Nitric oxide radical 저해활성 측정

RAW 264.7 세포주로부터 생성되는 NO (Nitric oxide)의 양은 세포 배양액 중에 존재하는 nitrite and nitrate로서 측정하였다[11]. Nitrite에 대한 nitrate로 환원된 후의 안전한 형태인 griess reagent(Sigma, USA)를 사용하였으며, 6 well plate에 2×10⁶개의 cell을 confluence가 80% 일 때, PBS로 2번 washing한 후에 무혈청 배지를 사용하여 12시간 이상 배양시킨 후 lipopolysacchride(LPS) 10ug/ml을 반응시켰다. 2시간 후에 RAW 264.7 세포에 50, 100, 500, 1000ug/ml로 농도별로 처리하여 실험하였다. 대조군은 Butylated hydroxyanisole(BHA)와 비교 실험하였다. NO 생성량은 24시간 후에 supernatant를 모아 griess reagent로 10분간 반응시킨 후에 540nm에서 흡광도로 측정하였다. LPS만 첨가한 군에서 생성된 NO의 양을 100%로 하여 시료가 첨가된 경우에 측정된 흡광도를 환산하여 표기하였다.

2.2.6. 꽃송이버섯 추출물 함유한 에멀션 제조

본 실험에서는 Table 1의 처방으로 에멀션을 제조하였다. 수상과 유상을 계량하여 75~80°C에서 가열하여 용해시킨 후, Homo mixer (TK Auto homomixer Mark II, Tokushukikakogyo, Japan)을 이용하여 4,500rpm으로 1분간 유화시켜 Triethanolamine(T.E.A)를 넣고 다시 3분간 유화하였다. 그 후, 꽃송이버섯 추출물을 가하여 다시 2분간 유화한 후, 28°C까지 냉각시킨 에멀션을 실험에 이용하였다.

2.2.7. 꽃송이버섯 추출물을 함유한 화장품의 안정성 평가

온도에 따른 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀

션의 안정성을 평가하기 위해 4, 25, 45° C의 온도에서 Multi-room incubator(JSMI-04CP 4room chamber, JSR) 보관하여 물리화학적 특성에 대한 경시적 변화를 평가하였다. 25° C에서 14일 동안 변취 및 변색을 관찰함으로써 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션의 전체적인 안정성 시험법을 적용하여 종합 평가하였다[12].

2.2.7.1. pH 측정

pH측정은 Denver Instrument(Denver Instrument, UB-10 pH/mV meter)사의 pH meter를 이용하여, 25±1°C에서 측정하였으며 측정하기 전에 유리전극을 미리 표준용액에 담구어 두고 측정하였다. 3회 반복하여 측정하였으며 시료는 25° C에 보관 중인 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션과 대조군 에멀션을 실험에 이용하였다.

2.2.7.2. 점도측정

꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션과 대조군 에멀션의 점도 측정은 Brookfield Viscometer (Brookfield Engineering Laboratories 11 Commerce Bivd. Middleboro. MA 02346, USA) 를 이용하여 측정하였다. 스피들(spindle) No.4(64)을 에멀션에 적용하여 30rpm에서 2분간 점도를 4회 반복하여 측정하였으며 시료는 25° C에서 일정기간 보관 중인 에멀션을 실험에 이용되었다[13].

2.2.7.3. 입자크기측정

꽃송이버섯 추출물이 함유된 에멀션의 입자크기를 측정하기 위해 25° C에서 보관한 에멀션을 Particle size analyzer(MEJI Techno, Trinocular Polarizing microscope MI9300, Japan)사의 광학 현미경을 이용하여 ×400로 에멀션의 입자를 관찰하였다[14].

Table 1. Formulation of emulsion containing *Sparassis crispa* extracts

Component	Content(w/w)	
	Sample emulsion	Control emulsion
D.W	Up to 100.00	Up to 100.00
Cetostearyl Alcohol	0.900	0.900
GlycerylMonostearate	1.000	1.000
Glyceryl Stearate	0.800	0.800
Polyglyceryl-3 MethylglucoseDistearate	1.500	1.500
Propyl paraben	0.050	0.050
Hydrogenated Polydecene	4.500	4.500
Caprylic/Capric Triglyceride	2.000	2.000
CetearylIsononanoate	2.000	2.000
Dimethicone	0.300	0.300
Glycerin	3.000	3.000
<i>Sparassis crispa</i> extracts	0.150	0.000
Polyglycol	4.850	0.000
Ethylenediaminetetraacetic acid tetrasodium salt	0.025	0.025
Methyl paraben	0.200	0.200
Triethylamine	0.150	0.150
Cabomer-941	0.130	0.130
Water	60.750	70.750

3. 결과 및 고찰

3.1. 항산화능 측정

3.1.1. 전자공여능 확인

DPPH는 안정한 라디칼을 가지고 있는 화합물로서 항산화 능력을 가진 물질과 만나면 라디칼이 소거되는 비교적 간단한 방법을 이용하여 피부에서 노화를 억제하는 척도로 측정이 가능한 항산화 측정법이며[15], 항산화 활성을 갖는 물질과 반응하면 진보라색의 DPPH 색이 점점 옅어져 흡광도가 감소하게 되므로 흡광도의 감소를 측정함으로써 라디칼의 소거 활성을 쉽게 측정할 수 있다. 각 농도별로 꽃송이버섯 에탄올 추출물 시료와 BHA의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 아래 Fig. 1로 나타내었다. 꽃송이버섯 추출물 50, 100, 500, 1000, 5000 µg/ml 농도에서 처리하였을 때, 5000µg/ml 농도에서 63.33% 소거활성을 보였다, 대조군으로 사용한 BHA도 같은 농도에서 95.41% 정도의 항산화능을 나타내었으며, 낮은 농도인 50µg/ml 일 때에 라디칼 소거능 11.24%로 5000µg/ml 농도일 때 63.33%로 나타나 약 6배에 가까운 항산화능을 나타내었다. 항산화 물질로 잘 알려진 BHA보다는 낮은 항산화능을 나타내었지만 천연 항산화제로서 항산화능이 우수함을 확인할 수 있었다.

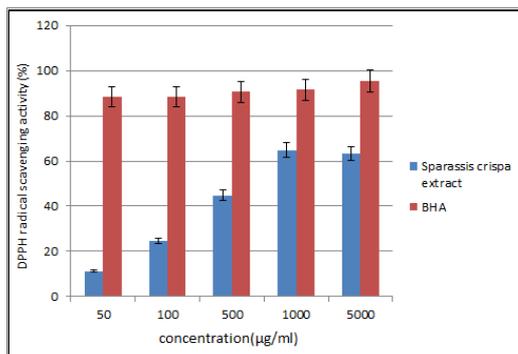


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity(%) of dependent on concentration from extracts of *Sparassis crispa*.

3.2.2. NO 저해율

활성 질소종 중 하나이며, 염증 반응의 중요한 작용인자로 알려져 있는 NO 생성저해에 대한 꽃

송이 버섯 추출물의 효과를 대식세포인 RAW 264.7 cell을 이용하여 조사한 결과는 아래 Fig. 2와 같다. 추출물의 효과를 알아보기 위해 NO 생성을 유도한 후 50, 100, 500, 1000, 5000µg/ml의 농도로 추출물을 처리하였다. 그 결과, 꽃송이 버섯 농도가 증가할수록 유도되어진 대식세포의 NO생성은 감소하였으며 최대 농도인 5000µg/ml에서는 꽃송이버섯 추출물을 처리함으로 50.00%로 현저히 감소되었다. 대조군인 BHA에 비하여 22.00%정도 낮게 나타났지만 50.00% 이상 NO생성이 감소되었으므로 꽃송이버섯 추출물이 염증반응과 밀접한 관련이 있음을 확인할 수 있었다.

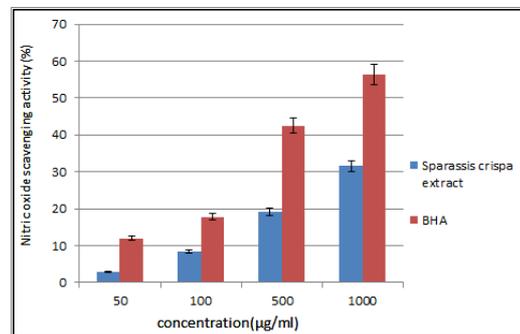


Fig. 2. The effects of *Sparassis crispa* extracts on nitric oxide production in RAW 264.7 cells. The cells were pre-incubated for 24 hour with *Sparassis crispa* extracts at the concentrations ranging from 50 µg/ml to 1000 µg/ml, and then stimulated for 24 hour with 10 µg/ml of LPS.

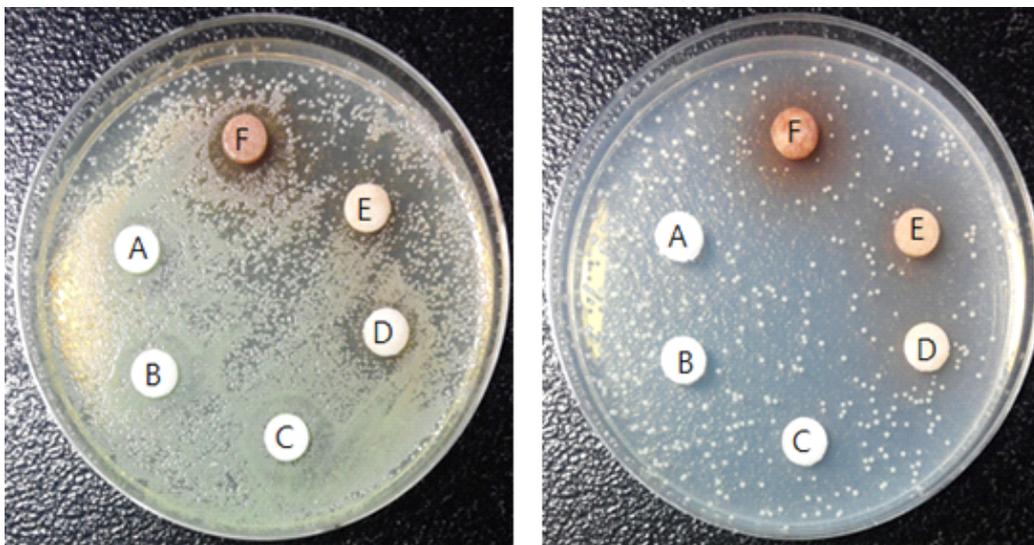
3.2. 항균 효과 측정

3.2.1. 생육저해환 확인

꽃송이버섯 추출물에 대한 항균활성 정도를 측정하기 위해서 paper disc법을 이용하여 생육억제 활성을 검색하였다. 그 결과, 항균활성의 크기 및 결과를 Table 2와 Fig. 3에 나타내었다. 꽃송이버섯 추출물은 그람양성균인 *S.aureus* 균에 대하여 항균활성을 나타내었으며, 5.0, 10.0, 20.0% 농도에서 각각 15.3, 14.0, 13.0mm의 생육저해를 나타내었다. 마찬가지로 *Candida.a* 균주에서도 마찬가지로 위와 같은 농도에서 각 16.5,

Table 2. Antimicrobial activity of *Sparassis crispa* extracts on several microorganisms. a : No inhibition, b : Inhibition zone diameter (mm)

Strains	Concentrations (%)					
	0.0	0.1	1.0	5.0	10.0	20.0
<i>S. aureus</i>	— ^a	—	—	15.3±3.2	14.0±5.2	13.0±1.7 ^b
<i>S. epidermidis</i>	—	—	—	—	—	—
<i>Candida.a</i>	—	—	—	16.5± 0.7	11.5± 2.1	11.0± 1.4
<i>E. coli</i>	—	—	—	—	—	—

Fig. 3. Antimicrobial activities of various extracts of *Sparassis crispa* against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* at the concentration. A: Propylene glycol, B: *Sparassis crispa* extracts 0.1%, C: *Sparassis crispa* extracts 1.0%, D: *Sparassis crispa* extracts 5.0%, E: *Sparassis crispa* extracts 10.0%, F: *Sparassis crispa* extracts 20.0%

11.5, 11.0mm 생육저해환을 나타내었다. 꽃송이버섯 추출물은 비교적 높은 항균력을 보였으며 4가지의 균주 중 피부상재균인 *S.aureus* 와 진균 *Candida.a* 균에서 우수한 항균활성을 나타냈다. 따라서 꽃송이버섯 추출물은 문제성 피부 제품에 적용 가능할 것으로 사료된다.

3.3. 일반적 보존 실험

3.3.1. 온도(Incubator)에 따른 안정성

추출물을 함유한 에멀션의 저장 조건(4, 25, 45° C)에 따른 안정성을 평가하기 위해서 육안으로 층분리 및 응집여부, 이취발생 여부 등을 검

토하였으며, 추출물이 함유된 3가지 에멀션과 추출물이 함유되지 않은 에멀션 모두 14일 동안 관찰한 결과 크리밍, 응집과 같은 분리현상이 관찰되지 않았으며, 산화에 의한 특이취도 없었다.

3.3.2. pH 변화

꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션과 추출물을 함유하지 않는 에멀션을 14일 동안 25°C에 보관하며 pH변화를 측정하였다. 추출물을 함유한 에멀션의 pH측정결과는 아래 Fig. 4에 나타내었다. 상온에서 보관한 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션의 pH 6.63~6.84로 pH변화가 거의 없었

으며, 꽃송이버섯 추출물을 함유하지 않은 대조군의 pH 6.84~6.98로 비슷한 분포를 나타내었다. 그 변화가 전체적으로 대조군과 비슷한 양상을 나타나며 수치상으로는 큰 변화를 나타내지 않아 추출물은 에멀션의 pH에서는 높은 안정성을 나타냄으로 사료된다.

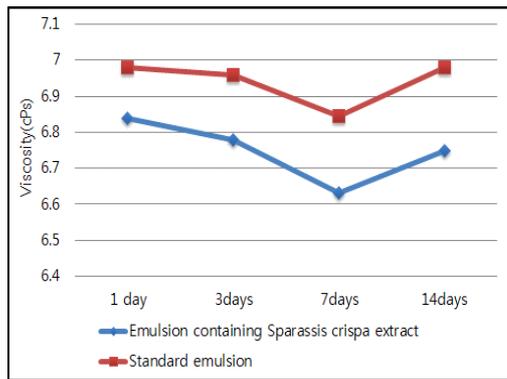


Fig. 4. pH change of the emulsion containing extracts from *Sparassis crispa* for 14days at 25° C.

3.3.3. 점도 변화

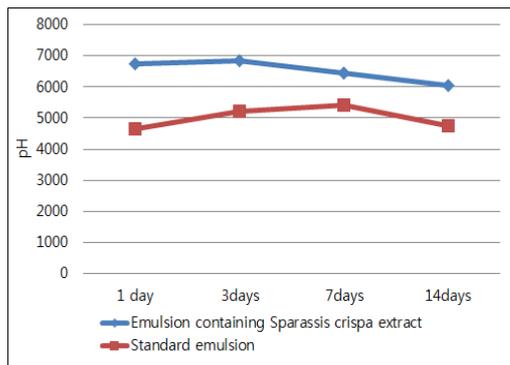


Fig. 5. Viscosity change of the emulsion containing extracts from *Sparassis crispa* for 14days at 25° C.

꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션과 대조군 에멀션을 25°C에서 점도를 14일 동안 측정하였다. 추출물을 함유한 에멀션을 제조한 직후 1일 후에 점도를 측정한 결과 추출물을 함유하지 않은 대조군의 점도는 4,650cPs로 나타내었다. 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션의 점도는

6,730cPs로 대조군보다 점도가 약 20.80%가 낮게 나타내었지만 점도를 측정하는 기간 동안 대조군의 에멀션은 약 4,600~5,400cPs에 분포해 수치상의 큰 변화는 없었으며 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션의 경우 약 6,000~6,800cPs 사이에 분포하여 큰 변화는 없음을 Fig. 5를 통해 나타내었다. 그러나 점도의 경우 고온에서 에멀션 제형 중 수상의 계면장력이 감소하면서 안정성이 낮아지는 것을 고려하여 추후 장기간 연구가 필요할 것으로 사료된다.

3.3.4. 입자관찰

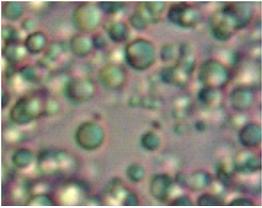
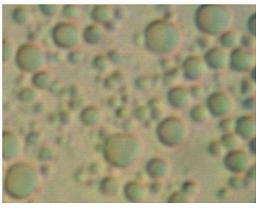
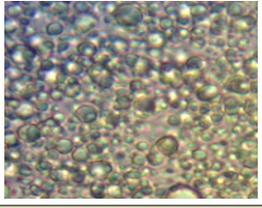
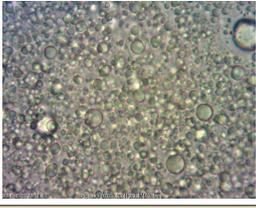
열, 빛, 공기 등에 민감한 추출물들은 입자간의 강한 인력으로 인해 입자 및 그 입자에 안정화된 약리 물질들이 유리되고, 난용성 물질이 재결정되어 석출되고, 열이나 공기에 의해 산화되므로 제형에 영향을 끼칠 수 있으므로 다양한 관점에서의 안정성 관찰이 필요하다. 꽃송이버섯 추출물을 함유한 에멀션과 대조군 에멀션을 관찰한 결과를 Table 3에 나타내었다. 추출물을 함유한 에멀션의 점도는 대조군보다 낮은 수치를 보였으나 측정 14일 동안 그 변화 정도는 입자의 분산과 분리, 합일 등과 같은 현상이 육안으로 나타나지 않았으며 이와 같은 결과는 추출물이 제형 안정성에 영향을 끼치지 않은 것으로 확인되었다.

4. 결론

본 연구는 꽃송이버섯 에탄올 추출물의 항산화 및 항염 효능을 조사하였다. 또한 추출물을 에멀션에 함유하여 안정성을 평가하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 꽃송이버섯 에탄올 추출물은 Raw 264.7cell에서 DPPH radical scavenging activity는 농도 의존적으로 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.
2. 염증유발인자인 NO를 유발하여 꽃송이버섯 에탄올 추출물을 처리하여 최대 농도인 5000ug/ml에서 약 50% 염증감소를 확인하였다.
3. 추출물이 함유된 에멀션의 제형 안정성 평가인 pH 측정, 점도 측정, 입자크기 관찰에서 14일 동안 에멀션의 안정성에 영향을 끼치지 않는 것으로 나타났다.

Table 3. Microscopic aspect of the emulsion containing extracts from *Sparassis crispa* (X400). (14 days after preparation). Not changed the particle size and distribution of emulsion containing extracts from *Sparassis crispa*

1 day after preparation	14 days after preparation
	
Control emulsion	
	
Emulsion containing extracts from <i>Sparassis crispa</i>	

References

1. Y. Qi, X. Zhao, Y. I. Lim, K. Y. Park, Antioxidant and Anticancer Effects of Edible and Medicinal Mushrooms, *J. Kor. Food Nutr. Sci.*, 42(5), 655~662 (2013).
2. Y. K. Rhee, M. J. Han, S. Y. Park, D. H. Kim, In vitro and in vivo Antitumor Activity of the Fruit Body of *Phellinus linteus*, *J. Kor. Food Nutr. Sci., TECHNOL.* Vol. 32, No. 2, pp. 477~480 (2000).
3. W. S. Choi, P. G. Shin, Y. Y. Bok, N. H. Jun, G. D. Kim, Anti-inflammatory effects of *Sparassis crispa* extracts, *J. of mushroom science and production*, Vol. No 1, 45-51, 2013.
4. I.K Kim, Y.C. Yun, Y.C. Shin, J.Y. Yoo, Effect of *sparassis crispa* extracts on immune cell activation and tumor growth inhibition, *J. of Life Science* 2013 Vol. 23, No.8, 984-988.
5. P. M. Kirk, P. F. Cannon, J. C. David, J. A. Stalpers, Dictionary of the Fungi, ninth edition, CAB International, 2001.
6. D. S. Oh, J. M. Park, H. Park, K. H. Ka, W. J. Chun, Site Characteristics and Vegetation Structure of the Habitat of Cauliflower Mushroom (*Sparassis crispa*), *Kor. J. Mycol*, 37(1) : 33-40 (2009).
7. C. W. Lim, K. K. Kang, Y. B. Yoo, B. H. Kim, S. H. Bae, Dietary Fiber and β -Glucan Contents of *Sparassis crispa* Fruit Fermented with *Lactobacillus brevis* and *Monascus pilosus*, *J. Kor. Food Nutr. Sci.*, 41(12), 1740~1746 (2012).
8. K. A. Hon, Q. Zeyu, H. Mamiko, Y. Kyosuke, K. Takashi, Effects of medicinal mushroom (*Sparassis crispa*) on wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats, *The American Journal of Surgery* Vol. 197 No. 4 503~509.
9. H.J. Shin, D. S. Oh, H. D. Lee, H. B. Kang, C. W. Lee, W. S. Cha, Analysis of

- Mineral, Amino Acid and Vitamin Contents of Fruiting Body of *Sparassis crispa*, *Journal of life science* Vol. 17, No, 9, 1290-1293, 2007.
10. Blois MS., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* Vol. 181 No. 4617 0025-0836 SCI(E).
 11. Ding AH, Nathan CF, StuehrDJ, Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol.* 1988;141(7):2407-2412.
 12. J. Y. Kim, S. N. Park, A Study on the Stability and Moisturizing Effect for the Cream Containing Castanea crenata Leaf Extract. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea.* Vol. 35, No. 4, December 301-307, 2009.
 13. C. K. Zhoh, K. Y. Lee, D. N. Kim, The Influences of Fatty Alcohol and Fatty Acid on Rheological Properties of O/W Emulsion. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea.* Vol. 35, No. 2, June, 103-110, 2009.
 14. J. Y. Oh, C. G. Han, C. K. Zhoh, A study on the formation region, droplet size and stability of O/W microemulsion. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea.* Vol. 21, 22-48, 1995.
 15. C. K. Sen, Oxidative and antioxidants in exercise, *J. Appl Physiol.* 79(3), 675(1995).