

박사학위논문

화장품 소재로서 고열처리 전복껍질
추출물의 지루성 피부 개선 효과

2026년

한 성 대 학 교 대 학 원

미 디 어 디 자 인 학 과

뷰티디자인매니지먼트전공

김 규 량

박사학위논문
지도교수 권오혁

화장품 소재로서 고열처리 전복껍질
추출물의 지루성 피부 개선 효과

Seborrheic Skin-Improving Effects of
High-Temperature-Processed Abalone Shell Extract
as a Cosmetic Ingredient

2025년 12월 일

한성대학교 대학원

미디어디자인학과

뷰티디자인매니지먼트전공

김 규 량

박사 학위 논문
지도교수 권오혁

화장품 소재로서 고열처리 전복껍질
추출물의 지루성 피부 개선 효과

Seborrheic Skin-Improving Effects of
High-Temperature-Processed Abalone Shell Extract
as a Cosmetic Ingredient

위 논문을 뷰티디자인학 박사학위 논문으로 제출함

2025년 12월 일

한 성 대 학 교 대 학 원

미 디 어 디 자 인 학 과

뷰티디자인매니지먼트전공

김 규 량

김규랑의 뷰티디자인학 박사학위 논문을 인준함

2025년 12월 일

심사위원장 전 종 찬 (인)

심 사 위 원 한 혜 련 (인)

심 사 위 원 이 종 숙 (인)

심 사 위 원 최 에 스 더 (인)

심 사 위 원 권 오 혁 (인)

국 문 초 록

화장품 소재로서 고열처리 전복껍질 추출물의 지루성 피부 개선 효과

한 성 대 학 교 대 학 원
미 디 어 디 자 인 학 과
뷰티디자인매니지먼트전공
김 규 량

현재 다양한 재료들이 그 효능을 인정받아 기능성 화장품의 원료로 활용되고 있다. 전복껍질 유래 성분 역시 기능성 소재로서 잠재성이 보고된 바 있으나, 이를 실제 화장품 제형에 적용하여 인체 효능을 검증한 연구는 매우 제한적이며, 제품 개발 또한 초기 단계에 머물러 있다. 이에 본 연구는 고열처리 전복껍질 추출물(H300)의 지루성 피부 개선 효과를 확인하고, 재료 분석과 세포 기전 분석을 통해 그 과학적 근거를 검토함으로써 화장품 소재로서의 활용 가능성을 평가하고자 하였다. 지루성 피부 경향을 보이는 20대 남성을 대상으로 2주간 H300 또는 비가열 추출물(NH300)을 1일 2회 도포하는 인체 적용 시험을 실시한 결과, H300 도포군에서는 피부 수분 증가, 피지 감소, 홍반 완화, 염증 감소 등 지루성 피부와 연관된 주요 피부 지표가 NH300 대비 더 빠르고 일관되게 개선되었다. ROI 및 확대 촬영 분석에서도 H300은 모공, 각질, 색소 균질성, 민감도 등 육안적 지표에서 뚜렷한 개선 경향을 보였으며, 주관적 만족도 역시

H300에서 더 높게 나타났다.

이러한 임상 결과는 세포 기반 기전 연구에서 확인된 결과들과 일치하였다. 각질세포에서는 H300이 스트레스 조건에서 세포사멸과 염증 신호를 억제하고 항산화 능력을 회복시켰으며, sebocyte에서는 HSL, perilipin, AMPK, PKA를 중심으로 하는 지질 합성 조절 경로가 안정화되며 피지 합성을 억제하였다. 대식세포에서는 M1 염증성 분극이 억제되고 M2 항염증 분극이 촉진되는 양상을 보여, H300이 피부 면역 미세환경 조절에도 관여함을 확인할 수 있었다.

한편 고열처리 공정이 전복껍질의 결정 구조와 칼슘 방출 특성에 미치는 영향을 규명하기 위해 재료분석을 실시하였다. 재료 분석 결과, 고열처리 공정은 전복껍질의 결정 구조를 마늘형에서 다면체 미세입자로 재편성하고, 방해석(calcite) 중심의 고결정 구조로 전환시켜 Ca^{2+} 방출량을 크게 증가시키며 이후 안정적인 용출을 유지하는 특성을 나타냈다. 이는 각질세포 분화, 장벽 형성, 염증 신호 조절 등에 관여할 수 있는 지속적인 칼슘 공급 기전의 기반으로 작용할 가능성이 높다.

이와 같이 고열처리 전복껍질 추출물(H300)은 임상적으로 지루성 피부 상태를 개선하는 효과를 보였고, 이는 세포 수준의 항염, 피지 조절 및 장벽 관련 기전과 재료학적 특성이 복합적으로 작용한 결과로 해석된다.

전복껍질 기반 화장품 개발 및 인체 효능 검증이 매우 제한적인 상황에서, 본 연구는 고열처리 전복껍질의 구조 변화, 기전 가능성, 인체 효능을 통합적으로 제시하였다는 점에서 학문적·산업적 가치가 크다. 본 연구는 H300이 지루성 및 지성 피부를 겨냥한 기능성 화장품 소재로 활용될 수 있음을 제시하며, 향후 다양한 피부 유형과 장기적 적용을 고려한 확장 연구가 필요함을 시사한다.

【주요어】 전복껍질 추출물, 고열처리, 지루성 피부, 피지 조절, 칼슘 방출, 기능성 화장품 소재

목 차

I. 서 론	1
1.1 연구 배경과 필요성	1
1.2 지루성 피부의 병태생리	3
1.2.1 피지선 활성화와 피지 과다	4
1.2.2 각질세포 신호와 면역 상호작용	4
1.3 고열처리 전복껍질 추출물(H300)의 과학적 근거	6
1.4 선행연구 동향과 한계	7
1.5 연구의 목적	9
II. 재료 및 방법	10
2.1 실험재료	10
2.1.1 전복껍질 원료	10
2.1.2 시약	11
2.1.3 세포주 및 세포배양	11
2.2 측정기기 및 조건	12
2.2.1 피부 측정기기 및 조건	12
2.2.2 시료 측정기기 및 조건	12
2.3 실험방법	13
2.3.1 인체 피부적용 평가	13
2.3.2 세포 기반 실험(<i>in vitro</i>)	15
2.3.2.1 세포배양	15
2.3.2.2 세포 처리 농도 결정	16
2.3.2.3 H300 노출 KCM을 이용한 세포 처리	17
2.3.3 전복껍질 고열처리 및 추출	19
2.3.4 추출액 코팅 및 물질 구조 분석	19
2.3.5 칼슘 방출 측정	20
2.3.6 통계분석	20
2.4 연구의 윤리적 고려	21

III. 연구 결과	22
3.1 추출물 피부적용 시험 결과 분석	22
3.1.1 추출물의 임상 평가 결과 - 피부 수분 및 유분	22
3.1.2 추출물의 주관적 증상 및 피부 만족도 평가 결과	26
3.1.3 추출물에 의한 안면 ROI 육안 평가	28
3.1.4 추출물에 의한 안면 피부 확대 사진 분석	33
3.2 <i>In vitro</i> 에서 H300의 세포 기반 기능 평가	45
3.2.1 각질세포 염증 억제 효과	45
3.2.2 Sebocyte 지질합성 억제 효과	48
3.2.3 Macrophage 염증 억제 효과	50
3.3 고열처리에 따른 구조 및 칼슘 방출 특성 분석	52
3.3.1 고열처리에 따른 구조 변화 분석	52
3.3.2 추출물의 칼슘 방출 특성 분석	54
3.3.3 세포 처리 농도 및 추출물 특성 분석	56
IV. 결론	58
4.1 연구의 결론	58
4.2 연구의 한계점 및 제언	59
참고 문헌	61
부록	66
ABSTRACT	69

List of Table

Table 1. Composition of the H300 essence	15
Table 2. Composition of the NH300 essence	15
Table 3. Changes in skin hydration over 14 days	23
Table 4. Fold-change in hydration (H300 relative to NH300)	23
Table 5. Changes in skin oil over 14 days	25
Table 6. Fold-change in skin oil (H300 relative to NH300)	25
Table 7. Changes in symptom scores	27
Table 8. Fold-change in symptom improvement (H300 relative to NH300)	27

List of Figures

Figures 1.	Abalone shell raw material and powders	10
Figures 2.	NH300 and H300 essences	14
Figures 3.	Changes in skin hydration after topical application of H300 and NH300 over 14 days	23
Figures 4.	Changes in facial sebum after topical application of H300 and NH300 over 14 days	25
Figures 5.	Changes in symptom scores after topical application of H300 and NH300 over 14 days	26
Figures 6a.	Serial ROI photographs during H300 application	30
Figures 6b.	Serial ROI photographs during NH300 application	32
Figures 7a.	Serial close-up facial images during H300 application (S01)	34
Figures 7b.	Serial close-up facial images during H300 application (S02)	35
Figures 7c.	Serial close-up facial images during H300 application (S03)	36
Figures 7d.	Serial close-up facial images during H300 application (S04)	37
Figures 7e.	Serial close-up facial images during H300 application (S05)	38
Figures 8a.	Serial close-up facial images during NH300 application (S06)	40
Figures 8b.	Serial close-up facial images during NH300 application (S07)	41
Figures 8c.	Serial close-up facial images during NH300 application (S08)	42
Figures 8d.	Serial close-up facial images during NH300 application (S09)	43
Figures 8e.	Serial close-up facial images during NH300 application	

(S10)	44
Figures 9. Anti-apoptotic and proliferative effects of H300 on keratinocytes	47
Figures 10. Regulatory effects of H300-conditioned medium on sebocyte lipid synthesis	49
Figures 11. Regulatory effects of H300-conditioned medium on macrophage polarization	51
Figures 12. Crystallographic Changes of Abalone Shell Induced by High-Temperature Treatment	53
Figures 13. Calcium release as a function of extract concentration and time	55
Figures 14. Cytotoxicity of NH300, H300, and LPS + TNF- α across cell types	57

I. 서론

1.1 연구 배경과 필요성

현대 사회에서는 미세먼지 증가, 도시화에 따른 열 환경 변화, 디지털 기기 노출의 장기화로 인해 피부 장벽이 지속적으로 스트레스를 받는 것으로 알려져 있다(Bocheva et al., 2023). 대기오염 물질은 각질층 지질 구성과 단백질 발현에 변화를 일으켜 산화 스트레스와 염증 반응을 촉진하며, 이는 만성적인 홍반, 피지 증가, 민감성 악화 등 다양한 염증성 피부 증상으로 이어질 수 있다(Manisalidis et al., 2020; Gu et al., 2024). 이러한 환경적 스트레스는 선천적인 피지 분비 특성과 결합하여 특히 피지선이 밀집된 안면 부위에서 지루성 피부 경향을 더욱 두드러지게 만든다(Schwartz et al., 2013; Borda & Wikramanayake, 2015).

또한 코로나19 팬데믹 이후 장시간 마스크 착용이 일상화된 것도 다른 주요 요인으로 지적된다. 장시간의 마스크 사용은 안면 피부의 온도와 습도, 피지 분비를 동시에 증가시키고 마찰을 유발하여 지루성 피부 및 여드름성 병변을 악화시키는 것으로 보고되었다(Damiani et al., 2021; Rathi et al., 2022). 국내 연구에서도 마스크 착용이 피지량 증가와 장벽 기능 저하를 유발하며 지루성 및 민감성 피부의 불편을 크게 높인다는 보고가 제시된 바 있다(김민정·유채목, 2020; 배성은, 2021). 이러한 변화는 일시적 유분 증가를 넘어 장벽 손상과 미세 염증이 반복되는 피부 문제를 사회적 및 보건학적 이슈로 확장시키고 있다.

한편, 전 세계 화장품 시장은 지속적인 성장을 이어가고 있으며, 2023년 약 2천 9백억 달러에서 2030년 약 4천 4백억 달러 규모로 확대될 것으로 전망된다(Grand View Research, 2024). 특히 스킨케어 시장은 장벽 강화, 항염, 피지 조절, 민감성 개선 등 복합 기능을 가진 제품이 높은 성장세를 보이고 있다(Fonseca et al., 2023). 국내 K-뷰티 산업 역시 성장세를 보이고 있으며, 2023년 화장품 수출액은 약 84억 9천만 달러를 기

록했고 2024년 1분기에는 전년 대비 20% 이상 증가하여 역대 최고치를 기록하였다(코트라, 2024). 이러한 흐름 속에서 지루성 및 지성 피부 관리를 위한 기능성 화장품 수요는 국내외에서 꾸준히 확대되고 있다.

최근에는 지루성 피부 완화를 위한 기능성 원료 개발이 활발히 이루어지고 있다. 국제 화장품원료집(ICID)과 국내 시장 보고서에 따르면 니아신아마이드, LHA, 징크 PCA, 살리실산, 셀텔라아시아티카 추출물, 그린티, 병풀, 프로바이오틱스 유래 성분 등이 피지 조절과 염증 완화를 위한 대표적 성분으로 사용되고 있으며(대한피부과학회, 2022; 한국피부과학연구소, 2023), 항염 및 항산화 펩타이드와 미생물군 균형을 조절하는 마이크로바이옴 기반 원료도 차세대 기능성 원료로 주목받고 있다(Chularojanamontri et al., 2022; Clark et al., 2023). 이러한 흐름은 지루성 피부가 단순 피지 과다가 아닌 장벽 이상, 미생물 변화, 피지 산화, 염증 반응 등이 복합적으로 얽힌 피부 상태라는 최신 병태생리 이해와도 맞닿아 있어 다기능성 원료 개발의 필요성을 뒷받침한다.

이와 더불어 화장품 산업에서는 친환경 및 지속가능성을 고려한 해양 유래 기능성 소재 연구가 증가하는 추세이다. 해양 천연물 및 부산물은 항산화, 항염, 장벽 보호 등 다양한 생리활성을 갖는 것으로 보고되었고(Siahaan et al., 2022; Papadopoulou et al., 2025), 부산물을 고부가가치 기능성 소재로 전환하려는 움직임도 강화되고 있다(Rotter et al., 2024). 전복은 아시아 지역에서 식재료로 널리 사용되며, 가공 과정에서 다량의 껍질과 내장이 부산물로 발생한다. 전복 부산물의 성분은 항염, 항산화, 자외선 손상 보호 등의 활성을 나타내는 것으로 보고되었으며(Kim et al., 2024), 국내에서도 전복 추출물을 함유하는 화장품 조성물 및 이의 제조 방법에 대한 특허가 제시된 바 있다(김경호, 2011).

그러나 기존 연구는 전복 부산물의 성분 분석 및 세포 기반 항염 및 항산화 효과에 집중된 경우가 많고, 전복껍질은 CaCO_3 기반 폐각으로, 열처리 공정을 통해 결정 구조와 Ca^{2+} 방출 특성이 변화한다는 재료 및 기전학적 근거가 보고되면서 고열처리를 통해 기능성이 향상된 화장품 소재로 개발할 수 있는 가능성이 제기되어 왔다. 그럼에도 이러한 고열처리 전

복겹질의 잠재적 효능은 주로 세포 수준 또는 재료 분석에 머물러 있으며, 이를 실제 화장품 제형에 적용하여 지루성 피부에서의 개선 효과를 인체 시험으로 검증한 연구는 매우 제한적이다(Siahaan et al., 2022; Kim et al., 2024). 특히 피지선이 발달한 젊은 성인을 대상으로 한 수분, 유분, 홍반, 육안적 변화, 사용 만족도 등 임상 지표를 체계적으로 측정하고, 이를 세포 기전 및 물질 특성과 연계하여 분석한 연구는 거의 보고되지 않았다.

본 연구에서는 고열처리 전복껍질 추출물을 화장품 제형에 적용하여 지루성 피부에서 나타나는 다양한 피부 지표 변화를 인체 시험을 통해 평가하고, 이어서 세포 기반 기능 평가와 물질 구조 및 칼슘 이온 방출 특성 분석을 통해 그 작용 특성을 규명하고자 한다. 이를 통해 고열처리 전복껍질 추출물이 지루성 피부 완화를 위한 기능성 화장품 소재 후보로서의 가능성을 제시하고, 더 나아가 전복껍질이라는 해양 부산물의 고부가가치화와 지속 가능한 K-뷰티 산업 발전에 기여할 수 있는 연구적 근거를 마련하고자 한다.

1.2 지루성 피부의 병태생리

지루성 피부는 피지선이 풍부한 부위에서 나타나기 쉬운 특성을 보이며, 피지 분비의 양적 변화와 질적 변화, 피부 미생물, 선천 및 후천 면역 반응, 장벽 기능 이상 등이 복합적으로 작용해 다양한 임상 양상이 나타나는 것으로 이해되고 있다(차재훈 외, 2006; Borda & Wikramanayake, 2015; Schwartz et al., 2013). 단일 원인보다는 여러 요인이 상호작용하여 지루성 피부 경향을 강화하며, 특히 피지의 산화와 미생물 환경, 각질 세포와 면역세포 간의 상호작용이 핵심적인 병태생리적 요소로 제시된다(Borda & Wikramanayake, 2015; Schwartz et al., 2013; Jourdain et al., 2016).

1.2.1 피지선 활성화와 피지 과다

지루성 피부는 피지선 밀도가 높은 두피, 미간, 콧방울 주변, 턱선 등에서 주로 두드러지며, 이는 피지선 활성화와 지루성 피부에서 관찰되는 여러 증상 간의 밀접한 관련을 시사한다(Borda & Wikramanayake, 2015; Schwartz et al., 2013). 사춘기 이후 안드로겐 증가와 함께 피지선의 크기와 분비 활성화는 증가하고, 스쿠알렌, 왁스 에스터, 트라이글리세라이드, 유리지방산 등 피지 구성 성분 비율의 변화는 피부 표면의 pH, 각질 탈락 주기, 피부 미생물 군집 구성에 영향을 미친다고 보고된다(Schwartz et al., 2013; 김아름 외, 2012).

지루성 피부 경향을 보이는 사람들은 피지 분비량이 일반인보다 높은 경우가 많으며, 특히 스쿠알렌 과산화와 같은 지질 산화가 두드러지는 것이 특징적이다(Schwartz et al., 2013; Jourdain et al., 2016; Borda & Wikramanayake, 2015). 산화된 피지는 *Malassezia*의 성장과 지질분해효소 활성을 촉진하는 환경을 만들고, 그 결과 생성된 분해산물은 표피 감각 신경 말단과 각질세포를 자극하여 작열감, 불편감, 가려움, 국소 염증 반응을 유발할 수 있다.

또한 피지가 과다한 상태에서는 모낭구 주변 각질이 두꺼워지고 피지, 각질, 미생물이 혼합된 미세한 마개가 형성되기 쉬워진다. 이러한 미세 폐쇄는 국소의 통기성 저하와 염증 매개물질 축적을 초래하며 활성산소가 잔류하기 쉬운 환경을 만들고, 임상적으로 홍반, 인설, 피지성 광택, 미세구진 등 지루성 피부의 전형적인 양상으로 이어진다(Borda & Wikramanayake, 2015; Schwartz et al., 2013).

1.2.2 각질세포 신호와 면역 상호작용

지루성 피부와 지루성 피부염의 병태생리에는 피지선뿐 아니라 각질세포, 선천 면역세포, 피부 미생물 간의 상호작용이 중요한 역할을 한다. *Malassezia*는 피지 성분을 기질로 삼아 성장하는 효모형 진균으로, 피지

선이 많은 부위의 표피와 모낭구 주변에 풍부하게 존재한다. *Malassezia* 자체는 공생 미생물의 하나이지만, 피지 조성 변화와 장벽 약화, 면역 반응 변동이 겹치는 상황에서는 지질분해효소와 대사산물을 통해 염증성 환경을 강화하는 인자로 작용할 수 있다(차재훈 외, 2006; Borda & Wikramanayake, 2015; Piacentini et al., 2025).

각질세포는 단순한 구조 세포가 아니라 다양한 패턴 인식 수용체를 통해 미생물 구성과 환경 변화를 감지하고, 사이토카인과 케모카인 분비를 조절하는 능동적인 면역 조절자로 간주된다. *Malassezia* 관련 성분이나 산화된 지질이 각질세포의 수용체를 자극하면 IL 1 α , IL 6, TNF α , IL 8 과 같은 염증 매개물질 분비가 증가하고, 주변 혈관과 감각 신경을 통해 홍반과 작열감, 가려움이 유발되는 것으로 보고된다. 이 과정에는 NF κ B 와 MAPKs p38, ERK, JNK 등 대표적인 염증 신호 경로가 관여한다 (Borda & Wikramanayake, 2015; Piacentini et al., 2025).

표피와 진피에 존재하는 선천 면역세포와 적응 면역세포는 이러한 각질세포 신호를 매개로 활성화되며, Th1, Th17, Th22와 같은 염증성 T세포 반응이 국소적으로 증가하는 양상이 보고되어 있다(Piacentini et al., 2025; Navarro Triviño et al., 2025).

각질층의 지질 구성과 칼슘 농도 분포, 세포 간 지질 구조가 불안정해지면 피부 장벽 기능이 저하되고 수분 유지 능력이 감소하며, 그 결과 외부 자극과 미생물 성분이 더 쉽게 침투하게 된다(Tu et al., 2004; Bikle, 2012). 이러한 장벽 이상은 다시 염증 반응을 강화하여 피지 과다, 지질 산화, *Malassezia* 증식, 각질세포와 면역세포 활성화, 장벽 손상으로 이어지는 악순환을 형성한다. 지루성 피부는 이처럼 피지선 활성화, 미생물 구성, 각질세포 신호, 면역 반응과 장벽 기능 이상 사이의 복합적인 상호작용이 연속적으로 이어지는 스펙트럼 위에서 이해될 수 있다(Schwartz et al., 2013; Borda & Wikramanayake, 2015; Piacentini et al., 2025).

1.3 고열처리 전복껍질 추출물(H300)의 과학적 근거

전복껍질은 탄산칼슘(CaCO_3)을 주성분으로 하며, 진주층과 단백질 기반 유기 기질이 결합된 복합 구조를 이룬다. 진주층은 규칙적으로 배열된 아라고나이트(aragonite) 판과 유기 기질이 층상으로 적층된 구조를 가지며, 이러한 미세구조는 세포 부착과 이동을 촉진하고 조직 재생에 유리한 생체재료적 특성을 나타내는 것으로 보고되고 있다(Agarwal et al., 2014; Zeng et al., 2024). 이러한 구조적 및 생물학적 특성은 전복껍질 유래 소재가 각질세포의 분화, 장벽 형성 및 회복 과정에 긍정적으로 작용할 수 있는 잠재성을 지닌다는 근거가 된다.

또한 전복껍질 또는 전복 유래 추출물은 피부 염증과 관련된 주요 신호 경로에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 선행연구에서는 전복 유래 성분이 MAPKs, PI3K/Akt, NF- κ B 등 염증 매개 신호를 감소시키고 염증성 사이토카인 생성을 억제하는 결과가 제시되었으며(Kuanpradit et al., 2017; Kim et al., 2024), 이는 전복 유래 소재가 지루성 피부와 같이 염증 반응이 반복적으로 활성화되는 피부 환경에서 조절 인자로 작용할 가능성을 시사한다.

고열처리는 CaCO_3 기반 패각 소재의 결정 구조와 물성을 변화시키는 핵심 공정으로, 결정상 전환, 표면 형태 변화, 미세 기공 증가, 이온 방출 패턴 변화 등을 단계적으로 유도한다. 패각 기반 CaCO_3 는 약 250-350 °C 범위에서 아라고나이트(aragonite)에서 방해석(calcite) 결정상으로 안정적으로 전환되며(Yoshioka et al., 1985; Thompson et al., 2000), 400 °C 이상에서는 CaCO_3 이 산화칼슘(CaO)으로 분해(calcination)되어 구조 안정성과 생체적합성이 감소하는 것으로 보고된다(Goodwin & Lindberg, 2015; Rodriguez-Navarro et al., 2009). 이러한 문헌적 근거를 바탕으로 할 때, 300 °C는 CaCO_3 결정상 변화가 안정적으로 일어나면서도 과열 분해 없이 기능적 구조를 유지할 수 있는 가장 실용적이고 과학적으로 타당한 온도대임을 의미한다.

이에 따라 본 연구에서 사용한 고열처리 추출물(H300)은 결정 재편성

과 표면 활성 증가, Ca^{2+} 방출량 증가 등 열처리 공정에 의한 기능 향상을 기대할 수 있으며, 이는 동일한 조건에서 열처리를 하지 않은 전복껍질 추출물(NH300)과 비교하였을 때 반응성 및 피부 적용 효과에서 차이를 보일 가능성을 뒷받침한다. 실제로 일부 세포 기반 연구에서는 H300이 산화 스트레스 완화, 염증 매개 신호 억제 및 지질합성 인자 조절에 긍정적으로 작용하는 경향이 보고된 바 있다. 다만 이러한 결과는 주로 세포 수준에 머물러 있으며, 고열처리에 따른 결정 구조 변화와 Ca^{2+} 방출 특성의 차이가 인체 피부, 특히 지성 및 지루성 피부에서 어떤 임상적 차이를 유도하는지에 대한 근거는 제한적이다.

따라서 본 연구는 고열처리 공정에 의해 변화된 전복껍질의 결정 구조와 이온 방출 특성이 세포 생물학적 반응과 실제 인체 피부 지표에 어떤 영향을 미치는지를 통합적으로 검토하여, H300의 기능성 화장품 소재로서의 활용 가능성을 과학적으로 제시하고자 하였다.

1.4 선행연구 동향과 한계

해양 부산물을 화장품에 활용하려는 연구는 최근 몇 년 사이 꾸준히 증가하고 있다. 여러 논문에서는 어류 가공 과정에서 발생하는 뼈와 껍질, 내장 등 부산물이 콜라겐, 키틴, 펩타이드와 같은 생리활성 물질을 함유하고 있어 항노화, 항주름, 장벽 보호 기능을 갖는 원료로 활용될 수 있음을 제시하고 있다(최재욱·박재희, 2020; Siahaan et al., 2022; Pratama et al., 2022). 이러한 연구들은 해양 부산물을 저부가가치 폐기물에서 지속 가능한 블루 코스메틱스 소재로 전환할 수 있는 가능성을 보여준다는 점에서 의미가 있다.

또한 전복과 전복 부산물의 피부 효능에 대한 연구도 점차 축적되고 있다. 여러 연구는 전복 내장 추출물이 인간 진피섬유아세포와 각질형성세포에서 MAPK, PI3K/Akt, NF- κ B 경로를 조절하여 항염, 항산화 및 기질 단백질 합성 촉진 효과를 나타낸다는 결과를 보고하였다(Kuanpradit et al., 2017; Kim et al., 2024). 또한 전복 유래 콜라겐 펩타이드가 HaCaT

세포의 이동과 재생 관련 지표를 촉진할 수 있다는 보고도 확인된다 (Thaweekitphathanaphakdee et al., 2019). 이와 같이 전복 부산물은 주로 단백질 및 펩타이드 기반 기능성 소재로 검토되어 왔다.

한편 전복껍질과 같은 탄산칼슘 기반 소재에 관한 연구는 주로 열처리 공정에 따른 결정 구조 변화와 표면 거칠기, 미세 기공 형성, 이온 방출 특성을 중심으로 이루어져 있다(Yoshioka et al., 1985; Thompson et al., 2000). 그러나 이러한 연구들은 재료학적 분석에 집중되어 있어, 열처리 전복껍질 추출물이 피부 세포 또는 인체 피부에서 어떠한 생물학적 반응을 유도하는지까지 연결한 연구는 거의 보고되지 않았다. 특히 고열처리 공정에 따른 구조 변화가 피부 장벽, 염증 신호, 피지 조절과 같은 피부 지표와 어떻게 연계되는지에 대한 자료는 매우 제한적이다.

더 나아가 지루성 피부 관리와 관련해서는 살리실산, 아연, 항진균제, 식물 추출물 등을 활용해 피지량, 홍반, 각질 개선을 평가하는 임상 연구들이 보고되고 있다(Ge et al., 2025; Lozada et al., 2025; Sadati et al., 2024). 국내에서도 피지성 피부 및 지루성 피부 개선을 위한 소재 및 임상 연구가 일부 보고되어 있지만(김아름 외, 2012; 이보미, 2014), 해양 부산물 특히 전복껍질 유래 소재를 지루성 피부에 적용한 연구는 아직 확인되지 않는다.

따라서 선행연구는 해양 부산물과 전복 유래 성분이 항염, 항산화, 장벽 보호, 재생 촉진 등 다양한 면에서 기능성 화장품 소재로 활용될 수 있음을 보여준다. 그럼에도 불구하고 고열처리 전복껍질 추출물처럼 공정 특성이 명확한 무기질 기반 소재의 경우, 구조 변화와 Ca^{2+} 방출 특성을 피부 세포 반응 및 인체 피부 지표와 연계하여 평가한 연구는 매우 부족하다. 특히 지성 및 지루 경향 안면 피부를 대상으로 H300, NH300, 위약을 비교한 인체적용시험은 국내외에서 보고된 바가 없다. 따라서 고열처리에 따른 공정 차이가 세포 수준의 기전 변화와 지루성 피부의 임상 지표 개선으로 어떻게 이어지는지를 통합적으로 검증하는 연구가 필요하며, 본 연구는 이러한 공백을 보완하기 위해 수행되었다.

1.5 연구의 목적

본 연구의 목적은 화장품 소재로서 고열처리 전복껍질 추출물 H300이 지루성 피부를 가진 사람의 피부 상태를 실제로 얼마나 개선할 수 있는지 평가하고, 그 과정에서 어떤 기전적 특성이 관여하는지를 규명하는 데 있다. 이를 위해 다음과 같은 세부 목적을 설정하였다.

첫째, H300을 함유한 화장품 제형을 지성 및 지루 경향 안면 피부에 일정 기간 적용하고 수분과 유분, 홍반과 육안 피부 상태, 사용 만족도 등의 지표 변화를 비교함으로써 지루성 피부 개선 효과를 임상적으로 평가하고자 한다. 이때 열처리를 하지 않은 전복껍질 추출물 NH300과 유효 성분을 포함하지 않은 위약 제형을 함께 비교함으로써 H300의 효과를 상대적으로 검증하고자 한다.

둘째, H300이 각질세포와 피지 관련 세포, 대식세포 등 피부와 연관된 세포에서 염증 매개 인자와 피지 합성, 장벽 관련 표지 인자에 미치는 영향을 분석함으로써 인체 적용 시험에서 관찰된 지표 변화가 어떠한 세포 수준 기전과 연결되는지를 확인하고자 한다. 이를 통해 H300이 지루성 피부에서 염증과 피지 불균형, 장벽 기능 이상을 완화하는 데 기여할 수 있는 기전적 근거를 제시하고자 한다.

셋째, 전복껍질에 고열처리 공정을 적용했을 때 나타나는 결정 구조 변화와 표면 특성, 칼슘 이온 방출 특성을 열처리를 하지 않은 전복껍질과 비교하고, 이러한 물성 차이가 세포 반응성과 임상 지표 변화와 어떠한 관련성을 갖는지 탐색하고자 한다. 이를 통해 공정 조건과 피부 효능 사이의 연계를 확인하고, 기능성 화장품 소재로서 H300의 공정 설계 방향을 도출하고자 한다.

따라서 본 연구는 고열처리 전복껍질 추출물 H300의 임상적 효능과 기전, 공정 특성을 통합적으로 평가함으로써 지루성 피부 관리를 위한 기능성 화장품 소재 후보로서의 가능성을 제시하고, 나아가 전복껍질이라는 해양 부산물의 고부가가치 자원화와 지속 가능한 뷰티 산업 발전에 기초 자료를 제공하고자 한다.

II. 재료 및 방법

2.1 실험재료

2.1.1 전복껍질 원료

본 연구의 전복껍질 원료는 전라남도 완도산 참전복(*Haliotis discus hannai*) 패각을 수거하여 이물 제거 및 정제수 세척, 60 °C, 24 h 건조 후 분쇄 및 체분급($\leq 75 \mu\text{m}$)하였다. 전처리 분말은 비가열 대조(NH300)로 사용하고, 일부는 300 °C, 30 min 공기 분위기에서 열처리하여 H300으로 사용하였다.

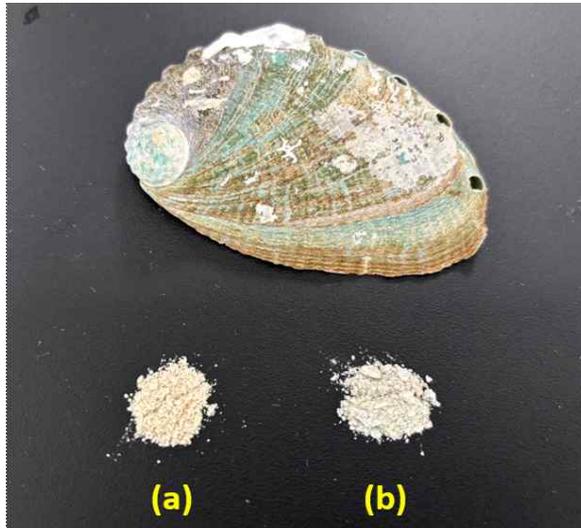


Figure 1. Abalone shell raw material and powders. Top: *Haliotis discus hannai* shell. Bottom: (a) heated powder (300 °C, 30 min; precursor to H300) and (b) non-heated powder (precursor to NH300). Both powders were sieved to $\leq 75 \mu\text{m}$.

2.1.2 시약

분석 및 일반용 시약은 정제수, 에탄올(분석용), PBS, HBSS, 0.1 M HCl/NaOH(pH 조절), NaCl, EDTA를 사용하였다. 갈습 정량(방출 시험 및 원료 QC)에는 Ca^{2+} 표준용액(1,000 mg/L, ICP 등급)과 질산(초순도 급, 희석용)을 사용하였다. 세포배양에는 DMEM(고포도당) 또는 DMEM/F-12(1:1), RPMI-1640, FBS(heat-inactivated), penicillin-streptomycin, L-glutamine, Trypsin-EDTA를 사용하였고, 각질세포, 지선세포 및 대식세포 염증 유도를 위해 LPS(lipopolysaccharide)+TNF α 10ng/mL 를 사용하였다. 지표 분석에는 DCFH-DA(ROS), WST-1(세포 생존), Oil Red O(지질 염색), TNF- α 및 IL-6 ELISA 키트(정량)를 사용하였다. 모든 시약은 제조사 권장 보관조건을 따랐으며, 최초 사용 시 본문에 제품명, 제조사, 국가를 명시하였다(예: DMEM, Gibco, USA; ELISA kit; R&D Systems, USA; DCFH-DA, Sigma-Aldrich, USA).

2.1.3 세포주 및 세포배양

각질세포(keratinocyte, HaCaT)는 DMEM(고포도당) + 10% FBS + 1% penicillin/streptomycin에서 37 °C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였다. 세보사이트(sebocyte, SZ95)는 DMEM + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin에서 37 °C, 5% CO₂로 배양하였다. 대식세포(macrophage, THP-1 유래)는 RPMI-1640 + 10% FBS + 1% penicillin-streptomycin에서 배양하였다. 모든 세포주는 정기적으로 마이코플라스마 음성을 확인하였고, 동일한 배양기, 배지 로트 및 세포 밀도 범위를 유지하여 실험 간 변동을 최소화하였다.

2.2 측정기기 및 조건

2.2.1 피부측정 기기 및 조건

인체 적용 시험에서 피부 지표의 변화를 정량적으로 평가하기 위해 표면 촬영 기기 APM PRO 100과 유·수분 측정 기기 RBX-916을 사용하였다. 모든 측정은 동일한 조사자가 동일한 조건을 유지한 상태에서 시행하여 재현성을 확보하였다.

피부 표면 이미징은 APM PRO 100(Aram Huvis, Korea)을 사용하여 도포 전과 도포 후 동일한 측정부위(region of interest, ROI)를 촬영하였다. 촬영 모드는 NL, PL, UV, WL을 포함하였으며, 확대 배율은 $\times 30$ 으로 고정하였다. 촬영된 이미지는 ARM PRO v1.1.4 소프트웨어를 이용하여 분석하였다. 분석 항목은 홍반, 피지, 모공 및 민감도 지표 등을 포함하였으며, 각 지표는 동일한 촬영 조건을 유지한 상태에서 도포 전후 변화량으로 평가하였다.

피부 수분과 유분은 RBX-916(Ningbo, China)을 사용하여 측정하였다. 이 기기는 각질층의 수분 함유량과 표면 유분량을 정량화하는 용량성(capacitance) 및 지질 센서 기반 방식으로 동작한다. 측정 시 피험자는 세안 후 약 20분 동안 실내 환경에 적응하도록 하여 피부 상태를 안정화하였다. 실험실 온도는 22 ± 2 °C, 상대습도는 40-60% 범위를 유지하였다. 각 시점에서 동일한 ROI를 3회 반복 측정하였으며, 평균값을 대표값으로 사용하였다.

피험자의 체온, 호흡, 움직임 등 외부 요인이 측정에 영향을 주지 않도록 측정 전 충분한 안내를 제공하였다.

2.2.2 시료 측정기기 및 조건

전복껍질 원료와 열처리 후 추출물의 구조, 형태, 조성 분석은 다음과 같은 기기 및 조건으로 수행하였다. 모든 기기, 소프트웨어 버전, 로트 정

보는 실험 시점별로 기록하고 보관하였다.

전복껍질 표면 코팅 샘플의 미세구조 관찰은 형광현미경 ECLIPSE Ti2(Nikon Corporation, Tokyo, Japan)을 사용하였다. 코팅된 4well plate 는 우선 $\times 100$ 배율로 관찰한 뒤, 주요 부위를 최대 $\times 2000$ 배율까지 확대하여 NIS-Elements BR 5.11.00 소프트웨어로 분석하였다.

결정상 분석은 X선 회절기 D8 Advance(Bruker)를 이용하였다. Cu K α ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) 광원을 사용하였으며, 동작 조건은 40 kV/30 mA로 설정하였다. 측정 범위는 $2\theta = 10\text{-}80^\circ$, 스텝 크기는 0.02° , dwell time은 0.5 s로 설정하였다. 얻어진 회절 패턴은 Rietveld 정량 해석(TOPAS)을 통해 aragonite와 calcite 비율을 산출하였다. 회절 패턴의 상 동정은 Profex Waterfall Plot Module v5.6.0을 이용하여 분석하였다.

2.3 실험방법

2.3.1 인체 피부적용 평가

고열처리 전복껍질 추출물 H300을 함유한 에센스형 시험 제형이 지성 및 지루 경향 안면 피부에서 피부 수분과 유분, 홍반과 육안 피부 상태, 사용 만족도에 미치는 영향을 평가하기 위해 인체 피부적용 시험을 실시하였다. 연구대상자는 지성 및 지루 경향을 보이는 20대 성인 남성으로 구성하였다. 이 연령대의 남성은 남성호르몬과 피지선 활성이 상대적으로 높아 지성 피부와 지루성 피부와 관련된 증상이 흔히 관찰되므로, 본 연구의 핵심 지표 변화가 잘 포착될 것으로 판단하였다.

평가군은 총 23명으로 구성된 세 군으로 배정하였다. H300군 10명, NH300군 10명, 위약군 3명으로 구성하였다. 본 연구는 탐색적 인체 피부적용 시험으로, 고열처리 전복껍질 추출물(H300)과 비고열처리 추출물(NH300)의 효능 비교를 1차 평가목표로 설정하여 두 활성군에 표본을 우선 배분하였으며, 위약군은 시간 경과에 따른 자연 변화와 기초제형 도포에 따른 영향을 보정하기 위한 참고군으로 최소 인원인 3명만을 배정하

였다. 각 군은 동일한 시험 제형을 사용하되 유효 성분만 다르게 설정하였다. 시험 제형은 전복껍질 추출물 H300 또는 NH300을 1 mg/mL 농도로 포함하고, 글리세린 10%와 PBS를 기초제형(vehicle)으로 사용한 에센스형 제형이다. 위약군은 동일한 기초제형(vehicle)을 사용하되 전복껍질 추출물을 포함하지 않은 제형으로 제조하였다. 제형 간 차이는 유효 성분인 H300과 NH300의 포함 여부에 한정되도록 설계하였다.

모든 시료는 동일한 기초 제형과 동일한 용기를 사용하였고, 라벨에 부여된 코드만으로 구분하였다. 연구자와 피험자 모두에게 배정 정보는 공개하지 않았으며, 무작위로 배정하였다. 시료 배합 비율과 세부 조성, 외관 특성은 Table 1과 Table 2 및 Figure 2에 제시하였다.

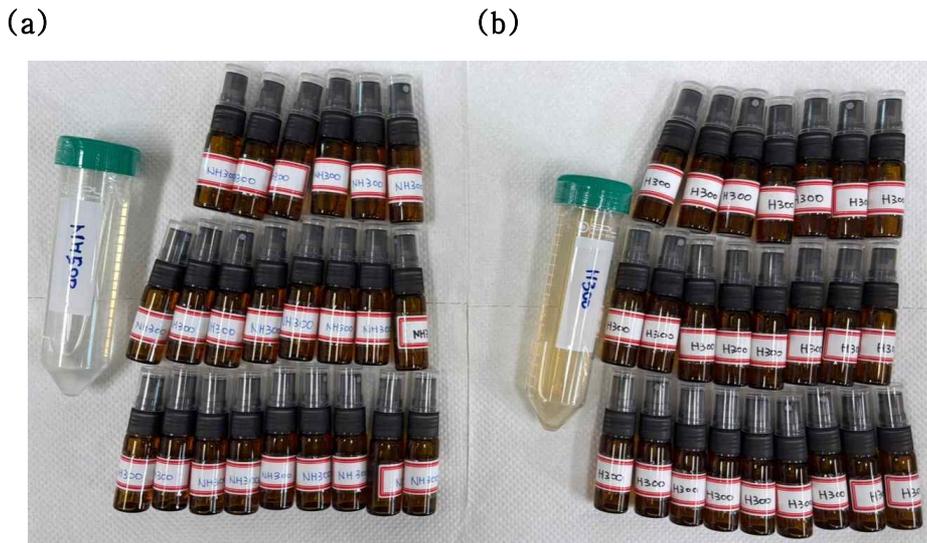


Figure 2. NH300 and H300 essences. (a) NH300 (non-heated, 1 mg/mL), (b) H300 (heat-processed, 1 mg/mL); Identical packaging and vehicle (glycerin in PBS). Placebo not shown.

Table 1. Composition of the H300 essence

Components	Amount
H300	1 mg/mL
Glycerin	10 mL
PBS (phosphate-buffered saline)	Up to 100 mL

Table 2. Composition of the NH300 essence

Components	Amount
NH300	1 mg/mL
Glycerin	10 mL
PBS (phosphate-buffered saline)	Up to 100 mL

인체 적용 평가는 한성대학교 생명윤리위원회 승인을 받은 연구계획서와 설명문, 동의서 양식을 준수하여 진행하였다. 연구대상자는 선정 기준과 제외 기준에 따라 선별한 뒤, 연구의 목적과 내용, 시험 기간과 측정 항목, 예상되는 이득과 불편, 참여 중단과 철회 권한을 충분히 설명받고 자발적으로 서면 동의한 경우에만 시험에 포함하였다. 자료 수집과 분석 과정에서는 연구대상자의 개인정보 보호와 비밀 보장을 우선하였으며, 개별 피험자 정보는 연구 코드로 대체하여 익명화하였다. 이상반응이 발생할 경우 보고와 중지 절차를 사전에 규정하였고, 연구자료의 보관과 폐기는 관련 법령과 기관 지침을 따르도록 계획하였다.

2.3.2 세포 기반 실험(*in vitro*)

2.3.2.1 세포배양

인간 각질형성세포주 HaCaT(HaCaT keratinocyte; CLS Cell Lines Service GmbH, Eppelheim, Germany)는 고폠토당 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM, 4.5 g/L glucose; Gibco, Thermo Fisher

Scientific, Waltham, MA, USA)에 열불활성 fetal bovine serum(10%, FBS; Gibco)과 penicillin-streptomycin(1%; Gibco)을 첨가한 배지에서 배양하였다. 세포는 37 °C, 5% CO₂, 가습 조건의 인큐베이터(Heracell VIOS 160i; Thermo Fisher Scientific)에서 유지하였다. 70-80%의 세포 밀도에 도달하면 0.05% trypsin-EDTA(Gibco)로 분리하고 PBS(pH 7.4; Gibco)로 세척한 후 계대 배양하였다. 모든 세포 취급 과정은 Class II 생물안전작업대(1300 Series A2; Thermo Fisher Scientific)에서 무균 조건을 유지하며 수행하였다.

인간 지선세포(human sebocytes; ScienCell Research Laboratories, Carlsbad, CA, USA)는 Sebocyte Medium(ScienCell)에 Sebocyte Growth Supplement(1%; ScienCell), 열불활성 FBS(10%; Gibco), penicillin-streptomycin(1%; Gibco)을 첨가한 배지에서 배양하였다. 세포는 37 °C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 유지하였으며, 필요 시 부착성 향상을 위해 collagen type I 코팅 플레이트(rat tail collagen I; Corning, Corning, NY, USA)를 사용하였다.

인간 단구 유래 THP-1 세포주(ATCC TIB-202; American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)는 RPMI-1640(Gibco)에 열불활성 FBS(10%; Gibco)와 penicillin-streptomycin(1%; Gibco)을 첨가한 배지에서 부유 배양하였다. 세포는 37 °C, 5% CO₂ 인큐베이터에서 유지하였으며, 이후 대식세포로의 염증유도를 위한 lipopolysaccharide(LPS)는 후술하는 조건에 따라 적용하였다.

2.3.2.2 세포 처리 농도 결정

NH300과 H300의 세포 처리 농도는 각 세포주에서의 세포 생존율을 기준으로 설정하였다. HaCaT 세포에는 NH300 또는 H300을 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2, 5 mg/mL 농도로 24 h 처리하였다. 처리 후 Annexin V-FITC 및 propidium iodide(PI) apoptosis 검출 키트(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 염색하였으며, 염색된 세포는 유세포분

석기(FACSCalibur; BD Biosciences, San Jose, CA, USA)로 측정하였다. 획득된 데이터는 FlowJo v10.10(FlowJo LLC, Ashland, OR, USA) 소프트웨어로 분석하였다. 이 분석을 바탕으로 세포 생존율이 유지되는 농도 범위를 확인하고, 이후 모든 세포 실험에서 사용할 NH300과 H300의 작업 농도를 선정하였다.

염증 유도에 사용한 LPS(lipopolysaccharide, Escherichia coli O111:B4; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 TNF- α 는 1:1 비율로 혼합하여 각 세포주에 1, 5, 10, 15, 20, 30 ng/mL 농도로 24 h 처리하였다. 처리 후 세포 생존율과 형태 변화를 관찰하여, 과도한 세포 손상 없이 염증 자극이 부여되는 농도 범위를 검토하였다. 본 연구의 세포 실험에서는 이 범위 내에서 설정한 농도를 LPS+TNF- α 혼합 처리 농도로 사용하였다.

H300 또는 NH300에 노출된 각질세포의 조건배양액(keratinocyte conditioned medium, KCM)의 처리 농도는 희석 배율에 따른 세포 생존율 변화를 기준으로 결정하였다. KCM을 0, 100, 200, 400, 800, 1,000 μ g/mL로 희석하여 sebocyte와 macrophage에 24 h 처리한 뒤 세포 생존율을 측정하고, 농도와 반응의 관계를 분석하였다. 이러한 예비 실험 결과를 토대로, 이후 실험에서는 세포 생존율이 유지되는 범위 내에서 선정된 농도를 KCM의 작업 농도로 사용하였다.

2.3.2.3 H300 노출 KCM을 이용한 세포 처리

H300에 노출된 각질세포의 조건배양액이 지선세포와 대식세포의 기능에 미치는 영향을 확인하기 위해 keratinocyte-conditioned medium(KCM)을 이용한 간접 처리 실험을 수행하였다. 지선세포(sebocyte)는 여섯 가지 조건 하에서 24 h 처리하였다. 조건은 control-conditioned medium(C_CM), LPS+TNF- α 혼합 조건배양액(S_CM), 비열처리 전복껍질 추출액에 노출된 각질세포 조건배양액(NH300_CM), 고열처리 전복껍질 추출액에 노출된 조건배양액

(H300_CM), S와 NH300 조건배양액의 혼합(S+NH300_CM), S와 H300 조건배양액의 혼합(S+H300_CM)이다.

처리 후 세포는 PBS(pH7.4)로 세척하고 2% paraformaldehyde(PFA)로 고정하였다. 이후 Oil Red O 용액(Sigma-Aldrich)을 이용하여 세포 내 지방 방울을 염색하였다. 염색된 시료는 ECLIPSE Ti2 현미경(Nikon Corporation, Tokyo, Japan)으로 관찰하였으며, 획득한 이미지는 NIS-Elements BR 5.11.00(Nikon Corporation) 소프트웨어로 분석하여 지질 축적 정도를 정량화하였다.

동일 조건에서 지질대사 관련 단백질을 확인하기 위해 형광면역염색을 수행하였다. 지선세포는 2% PFA로 고정한 후 0.02% Tween 20 용액으로 세척하고, phospho-hormone-sensitive lipase(p-HSL, APC-conjugated; Cell Signaling Technology), perilipin(FITC-conjugated; MyBioSource), 핵 염색용 DAPI(Thermo Fisher Scientific)를 순차적으로 처리하였다. 염색된 세포는 ECLIPSE Ti2 형광현미경으로 관찰하였고, 형광 강도는 NIS-Elements BR 소프트웨어로 정량하였다. PKA 신호전달의 변화를 확인하기 위해 추가로 FITC-anti-phospho-PKA-RII(Ser96) antibody(Sigma-Aldrich)를 사용하여 염색한 뒤, 유세포분석기(FACSCalibur; BD Biosciences, San Jose, CA, USA)로 분석하였다. 획득한 데이터는 FlowJo v10.1.0(FlowJo LLC, Ashland, OR, USA)으로 처리하였다.

대식세포 실험은 THP-1 유래 macrophage를 동일한 여섯 조건(C_CM, S_CM, NH300_CM, H300_CM, S+NH300_CM, S+H300_CM)으로 24 h 처리하여 수행하였다. 처리 후 세포는 2% PFA로 고정하고 PBS로 세척하였다. M1/M2 표현형 관련 변화를 확인하기 위해 CD86(FITC-conjugated; Thermo Fisher Scientific), CD80(APC-conjugated; BioLegend), CD206(FITC-conjugated; Thermo Fisher Scientific) 항체를 순차적으로 처리하였다. 염색된 세포는 FACSCalibur로 측정하였고, 분석은 FlowJo v10.1.0을 사용하여 M1/M2 관련 표지자의 발현 패턴을 비교하였다.

2.3.3 전복껍질 고열처리 및 추출

전라남도 완도산 참전복(*Haliotis discus hannai*) 패각 100 g을 증류수로 3회 세척한 뒤 열풍건조기에서 60 °C, 24 h 건조하였다. 건조된 시료는 분쇄기(SHMF 3000S; Hanil, Seoul, Korea)를 사용하여 분쇄하고, 120 mesh 체를 통과하도록 분급하였다. 전처리 분말 일부는 비가열 대조군(NH300)으로 사용하였고, 나머지는 오븐(KO-A21HL; Kitchenart, Seoul, Korea)을 이용하여 공기 분위기에서 300 °C, 30 min 고열처리하여 H300 원료로 사용하였다.

NH300과 H300 분말 각각 10 g에 50% 에탄올(Sigma-Aldrich)을 가하여 총 부피를 1 L로 맞춘 후, 초음파 기기(SD-D200H, Seoul, Korea)를 사용하여 40 kHz에서 2 h 처리하여 추출하였다. 추출액은 여과지로 1차 여과한 뒤 로터리 증발기로 농축하고, 4,500 rpm에서 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 회수액은 0.22 µm 여과지(Sartorius, Göttingen, Germany)로 여과한 뒤 후속 실험에 사용하였다.

2.3.4 추출액 코팅 및 물질 구조 분석

H300 또는 NH300 추출액의 코팅 조건은 다음과 같이 설정하였다. 멸균된 4-well cell culture plate(#30004; SPL Life Sciences Co., Ltd., Pocheon-si, Gyeonggi-do, Korea)에 H300 또는 NH300 추출액을 0.22 µm polyethersulfone(PES) 시린지 필터(Sartorius, Göttingen, Germany)로 멸균 여과한 후, High(1 mg/mL), Medium(5 mg/mL), Low(10 mg/mL)의 세 농도로 well당 300 µL씩 분주하였다. 각 well의 바닥면(2.0 cm²/well)을 균일하게 적신 뒤, 상온의 Class II biological safety cabinet(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 내에서 용매가 완전히 증발할 때까지 건조하여 추출액이 고르게 코팅되도록 하였다. 이후 잔류 용매와 비특이적 흡착을 최소화하기 위해 멸균 PBS(Gibco; Thermo Fisher Scientific)로 2회 짧게 린스하고 약 10 min 공기 건조한 다음, 완

전배지를 첨가해 30 min 동안 컨디셔닝한 후 세포 실험에 사용하였다. 대조군으로는 추출액을 코팅하지 않은 플레이트와 동일 용량의 PBS만 도포한 군을 포함하였다.

코팅된 추출물에 의해 형성된 결정 구조는 형광현미경 ECLIPSE Ti2(Nikon Corporation, Tokyo, Japan)를 이용하여 관찰하였다. 획득한 이미지는 NIS-Elements BR 5.11.00(Nikon Corporation) 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 두 추출물의 결정상 변화를 보다 정량적으로 평가하기 위해 X선 회절(X-ray diffraction, XRD) 분석을 수행하였다. XRD는 Cu K α 방사선($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$)을 장착한 X선 회절계 D8 Advance(Bruker, Karlsruhe, Germany)를 사용하였고, 동작 조건은 40 kV, 40 mA로 설정하였다. 측정 범위는 $2\theta = 20\text{-}60^\circ$, step size는 0.02° , scan speed는 $2^\circ/\text{min}$ 으로 설정하였다. 얻어진 회절 패턴은 EVA 소프트웨어(Bruker)를 사용하여 상(phase)을 동정하고, NH300과 H300 간 결정 구조 차이를 비교하였다.

2.3.5 칼슘 방출 측정

NH300 또는 H300 추출액으로 코팅된 4-well 플레이트(SPL Life Sciences)에 PBS(Gibco)를 well당 $300 \mu\text{L}$ 씩 가하고, 코팅하지 않은 플레이트를 대조군으로 포함하였다. 0, 0.5, 1, 1.5 h에서 상층액을 회수하여 Ca^{2+} 농도를 형광 지시약 Fluo-3 AM(Sigma-Aldrich)과 반응시킨 후 microplate reader(AMR-100; Allsheng, Hangzhou, China)로 형광 강도를 측정하였다. 측정값은 무코팅 블랭크를 기준으로 보정하여 최종 Ca^{2+} 방출량을 산출하였다.

2.3.6 통계분석

모든 실험자료는 GraphPad Prism 7(GraphPad Software, San Diego, CA, USA)을 사용하여 분석하였다. 자료는 평균 \pm 표준편차 또는 평균 \pm

표준오차로 제시하였으며, 모든 통계 검정은 양측 검정으로 수행하였다. 집단 간 비교에는 자료 구조에 따라 일원분산분석(one-way ANOVA) 또는 이원분산분석(two-way ANOVA)을 사용하였다. 사후 검정은 비교 목적에 따라 Tukey(모든 쌍 비교), Dunnett(대조군 대비 비교), Sidak(이원분산분석의 단순 효과 비교)을 적용하였다. 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였으며, $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ 을 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.

2.4 연구의 윤리적 고려

본 인체 피부적용 시험은 한성대학교 생명윤리위원회(Institutional Review Board, IRB)의 심의를 거쳐 승인(승인번호 70094841-202509-HR-001-01, 심의일자 2025.08.28.~09.03.)을 받은 후 수행하였다. 위원회는 본 연구를 화장품 제형을 활용해 안면 피부의 홍반 지수, 수분도, 탄력도 등을 비침습적으로 측정하는 최소위험 연구로 판정하였으며, 승인 유효기간은 2025년 9월 3일부터 2026년 9월 2일까지로 정하였다.

인체 적용 평가는 위원회가 승인한 연구계획서와 설명문·동의서 양식을 준수하여 진행하였으며, 연구대상자는 지성 및 지루 경향을 보이는 20대 성인 남성으로 선정·제외 기준에 따라 선별한 뒤 연구 목적과 절차, 예상되는 이득과 불편, 참여 중단 및 철회 권한을 충분히 설명하고 서면 동의를 받은 후 시험에 포함하였다.

자료 수집과 분석 과정에서는 연구대상자의 개인정보 보호와 비밀보장을 우선하여 연구코드로 익명화하고 동의서와 원자료를 분리 보관하였으며, 중대한 이상반응 발생 시 연구 중지 또는 조기 종료 후 즉시 생명윤리위원회에 보고하도록 하였고, 수집된 연구자료는 「생명윤리 및 안전에 관한 법률」과 한성대학교 생명윤리위원회 지침에 따라 연구 종료 후 3년간 보관 후 폐기하도록 계획하였다.

Ⅲ. 연구 결과

3.1 추출물 피부적용 테스트 분석

3.1.1 추출물의 임상 평가 결과 - 피부 수분 및 유분

추출물 도포에 따른 안면 피부의 수분 및 유분 변화를 14일 동안 평가하였다. H300 군과 NH300 군 모두 동일한 조건에서 1일 2회, 총 14일간 추출물을 도포하였으며, 기저선(baseline), 7일, 14일 시점에서 유·수분 측정 기기를 이용해 값을 기록하였다.

피부 수분 변화는 Figure 3 및 Table 3, Table 4에 제시하였다. 기저선에서 H300 군과 NH300 군의 수분 함량은 각각 22.0%와 21.8%로 두 군 간 차이가 거의 없었다. H300 군은 도포 7일째에 27.6%로 증가하여 기저선 대비 5.6%p 상승하였고, 14일째에는 31.2%로 총 9.2%p 증가하여 시간 경과에 따라 유의한 수분 개선을 보였다($p < 0.001$). NH300 군 역시 7일째와 14일째에 각각 24.2%, 26.2%로 증가하여 기저선 대비 4.4%p 상승하였으나, 증가 폭은 H300 군에 비해 작았다($p < 0.001$, Table 3).

NH300을 기준으로 한 상대 효과를 분석한 결과, H300 군의 수분 증가는 7일째 약 1.27배, 14일째 약 1.50배까지 커졌으며, 두 시점 모두에서 H300 군의 fold-change가 NH300 군보다 유의하게 높게 나타났다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Table 4). 이는 동일 조건에서 H300 추출물이 NH300보다 더 빠르고 큰 수분 증가 효과를 나타낸다는 것을 의미한다.

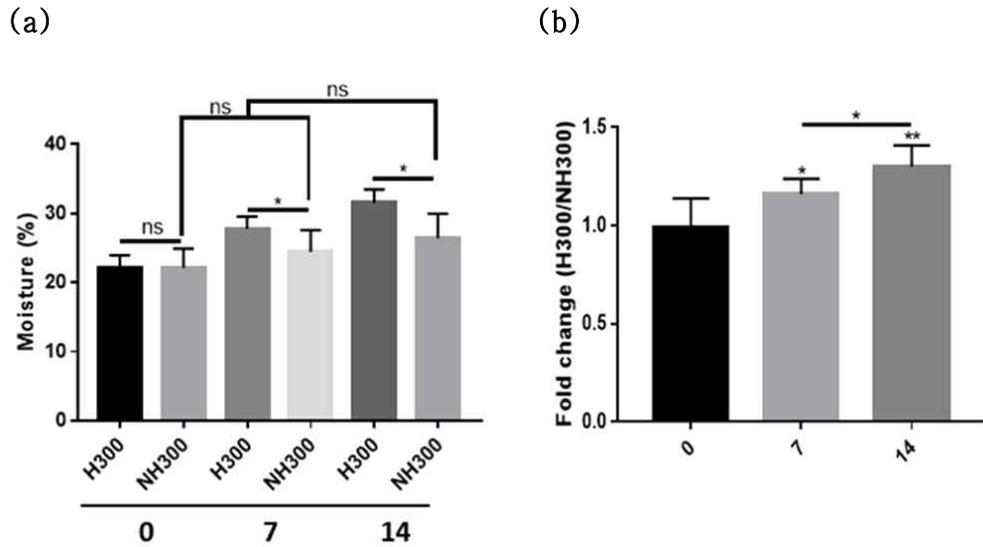


Figure 3. Changes in skin hydration after topical application of H300 and NH300 over 14 days.

(a) Mean moisture (%) at baseline, Day 7, and Day 14. (b) Fold-change in hydration of H300 relative to NH300 at each time point. Data are presented as mean \pm SEM (n = 10 per group). ns, not significant; * p <0.05, ** p <0.01.

Table 3. Changes in skin hydration over 14 days

Group	Δ 0-7	Δ 7-14	Δ 0-14	p (0-14)
H300	5.6	3.6	9.2	<0.001
NH300	2.4	2.0	4.4	<0.001

Table 4. Fold-change in hydration (H300 relative to NH300)

Day	Fold change (H300/NH300)	Significance
0	1.00	ns
7	1.27	* p <0.05
14	1.50	** p <0.01

피부 유분 변화는 Figure 4 및 Table 5, Table 6에 정리하였다. 기저선에서 H300 군과 NH300 군의 유분 함량은 각각 50.7%와 49.4%로 측정되어 두 군 간 차이가 크지 않았다. H300 군은 도포 7일째에 42.9%로 감소하여 기저선 대비 7.8%p 감소하였고, 14일째에는 37.6%로 총 13.1%p 감소하여 유의한 피지 감소를 보였다($p < 0.001$). NH300 군에서는 7일째와 14일째에 각각 46.1%, 42.8%로 측정되어 기저선 대비 6.6%p 감소하였으나, 감소 폭은 H300 군보다 완만하였다($p < 0.001$, Table 5). NH300 대비 상대 변화를 살펴보면, H300 군의 유분 함량은 7일째 약 0.86배, 14일째 약 0.71배 수준으로 감소하여 두 시점 모두에서 NH300 군보다 유의하게 낮았다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Table 6). 이러한 결과는 H300 추출물이 NH300에 비해 피지 분비를 더 효과적으로 억제하여, 지성 및 지루성 피부에서 유분 부담을 완화하는 데 유리하게 작용할 수 있음을 시사한다.

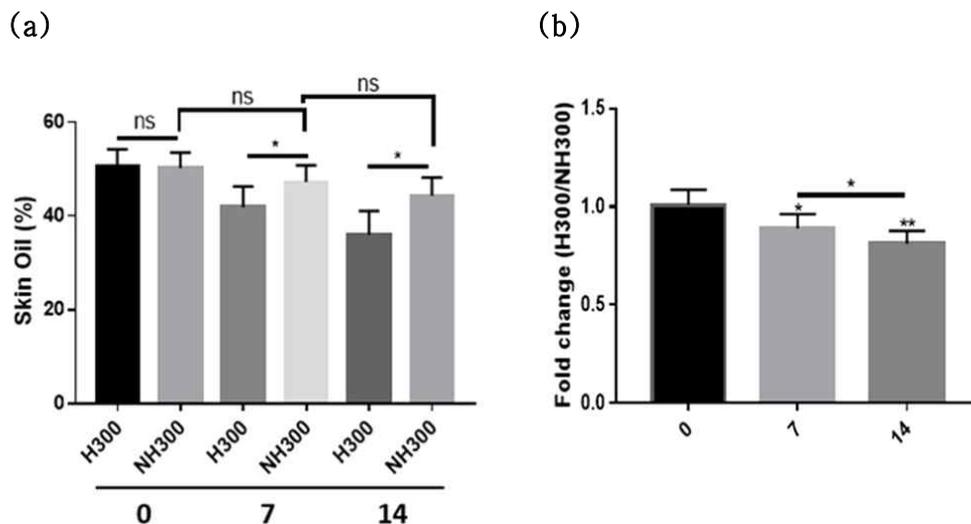


Figure 4. Changes in facial sebum after topical application of H300 and NH300 over 14 days.

(a) Mean skin oil (%) at baseline, Day 7, and Day 14. (b) Fold-change in skin oil of H300 relative to NH300 at each time point. Data are presented as mean \pm SEM (n = 10 per group). ns, not significant; * p <0.05, ** p <0.01.

Table 5. Changes in skin oil over 14 days

Group	Δ 0-7	Δ 7-14	Δ 0-14	p (0-14)
H300	-7.8	-5.3	-13.1	<0.001
NH300	-3.3	-3.3	-6.6	<0.001

Table 6. Fold-change in skin oil (H300 relative to NH300)

Day	Fold change (H300/NH300)	Significance
0	1.00	ns
7	~0.86	* p <0.05
14	~0.71	** p <0.01

3.1.2 추출물의 주관적 증상 및 피부 만족도 평가 결과

지루성 피부와 관련된 주관적 증상 및 피부 만족도 변화를 확인하기 위하여, 염증 자각 증상(I), 피지 관련 불편감(S), 전반적인 피부 만족도(SF)에 대한 설문 평가를 실시하였다. 각 항목은 사용 전과 14일 사용 후에 동일한 문항으로 평가하였으며, 결과는 Figure 5와 Table 7, Table 8에 제시하였다

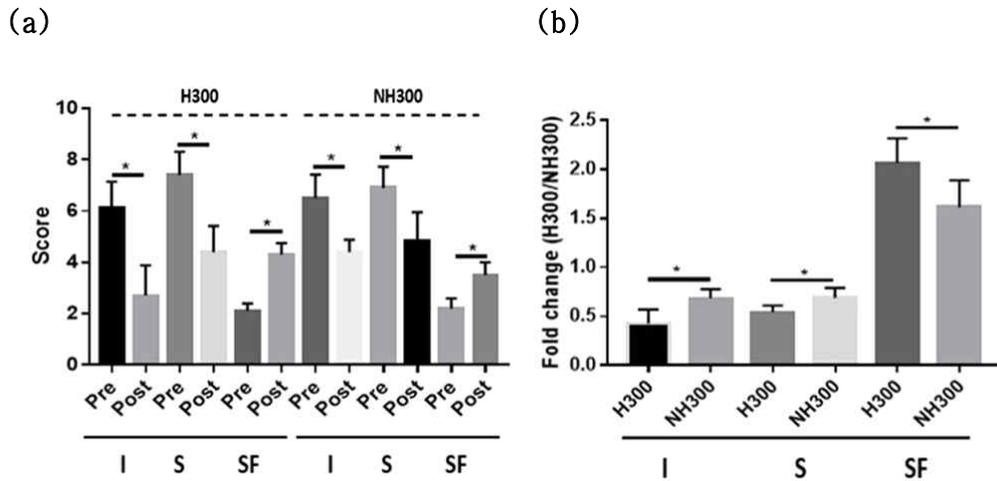


Figure 5. Changes in symptom scores after topical application of H300 and NH300 over 14 days.

(a) Pre-post changes in inflammation (I), sebum-related symptoms (S), and overall skin satisfaction (SF) in each group.

(b) Fold-change in symptom improvement of H300 relative to NH300. Data are presented as mean \pm SEM (n = 10 per group).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Table 7. Changes in symptom scores

Outcome	Group	Δ (Post-Pre)	p (Pre vs Post)
I (Inflammation)	H300	-3.40 ± 0.22	<0.001
	NH300	-1.90 ± 0.18	<0.001
	Placebo	-1.00 ± 0.00	ns
S (Sebum symptoms)	H300	-3.00 ± 0.26	<0.001
	NH300	-2.10 ± 0.18	<0.001
	Placebo	-1.33 ± 0.33	ns
SF (Satisfaction)	H300	2.20 ± 0.13	<0.001
	NH300	1.30 ± 0.15	<0.001
	Placebo	0.67 ± 0.33	ns

Table 8. Fold-change in symptom improvement (H300 relative to NH300)

Outcome	H300 Δ	NH300 Δ	Fold-change (H300/NH300)	p (Between groups)
I	-3.40	-1.90	1.79×	0.0001
S	-3.00	-2.10	1.43×	0.0113
SF	2.20	1.30	1.69×	0.0003

염증 점수(I)는 H300 군에서 사용 전 6.1점에서 사용 후 2.7점으로 3.4점 감소하여 유의한 개선을 보였으며($p<0.001$), NH300 군에서는 6.3점에서 4.4점으로 1.9점 감소하였다($p<0.001$). 피지 관련 불편감(S) 역시 H300 군에서 7.4점에서 4.4점으로 3.0점 감소하여 NH300 군(6.9점에서 4.8점, 2.1점 감소)보다 개선 폭이 더 컸으며($p<0.001$), 위약군에서는 감소 폭이 작고 통계적으로 유의하지 않았다(Table 7).

전반적인 피부 만족도(SF)의 경우 H300 군은 2.1점에서 4.3점으로 2.2점 증가하여, NH300 군의 1.3점 증가보다 개선 폭이 크게 나타났고 ($p<0.001$), 위약군에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다.

두 군의 개선량을 직접 비교한 fold-change 분석에서도 H300 군의 우수성이 확인되었다(Table 8). H300 군의 증상 개선 효과는 염증 점수에서 NH300 군 대비 약 1.79배, 피지 관련 증상에서 약 1.43배, 피부 만족도에서 약 1.69배 높게 나타났으며, 모든 항목에서 두 군 간 차이는 통계적으로 유의하였다($p<0.05$ 또는 $p<0.01$). 이는 H300 추출물이 객관적인 유·수분 지표뿐만 아니라 피험자가 체감하는 염증 및 피지 불편감, 피부 만족도 측면에서도 NH300보다 더 높은 임상적 유용성을 가진다는 것을 뒷받침한다.

3.1.3 추출물에 의한 안면 ROI 육안 평가

추출물 도포에 따른 안면 염증 변화를 확인하기 위해 피험자가 스스로 지정한 안면 측정부위(region of interest, ROI)를 대상으로 표준화된 안면 촬영을 실시하였다. 모든 피험자는 시험 시작일부터 2주간 매일 아침과 저녁 세안 후 해당 ROI에만 시험 에센스를 1일 2회 규정량으로 도포하였으며, 그 외 기초 화장품 사용은 최소화하도록 안내받았다. 촬영은 스마트폰 후면 카메라를 이용하여 일정한 거리, 각도, 조명 조건을 유지한 상태에서 기저선(Visit 1, D0), 도포 1주 후(Visit 2, D7±2), 도포 2주 후(Visit 3, D14±2)에 각각 시행하였다. Figure 6a에는 H300 도포군 S01-S05, Figure 6b에는 NH300 도포군 S06-S10의 대표적인 ROI 연속 사진이 제시되어 있다.

H300 도포군의 기저선 사진에서는 볼, 입가, 이마 등 피지선이 밀집된 부위에 발적을 동반한 구진과 모낭 주위 홍반이 뚜렷하게 관찰되었다. 그러나 2주간 1일 2회 H300을 지속적으로 도포한 결과, 도포 1주 시점부터 염증성 구진의 직경과 용기 정도가 감소하고 병변 주변 홍반의 채도가 눈에 띄게 낮아지는 경향이 나타났다. 도포 2주 시점에서는 병변 중심부의

경계가 흐려지고 정상 피부와의 명도 차이가 줄어들었으며, 일부 피험자에서는 모공 주변의 피지 광택이 완화되어 피부 표면이 보다 균질하고 매트한 인상을 보였다.

또한 2주 차 후반으로 갈수록 병변 주변의 잔홍반이 점차 줄어들고 피부 전반의 색조 균일도가 향상되었으며, 피부 표면의 미세 요철과 불규칙한 윤곽도 완만해져 모공 부위의 텍스처가 정돈되었다. 일부 피험자에서는 염증 후 색소침착으로 이어질 수 있던 붉은 기운이 빠르게 감소해 회복 속도 또한 향상된 양상도 나타났다. 이러한 변화는 피지 조절을 넘어 염증 완화와 장벽 안정화가 함께 이루어진 결과로, H300이 지루성 피부의 복합적인 문제를 다각도로 개선할 수 있는 기능성 소재임을 시사한다.

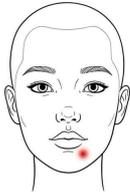
Subject / Extract	ROI	Visit 1 (Baseline, D0)	Visit 2 (Week 1, D7 ± 2)	Visit 3 (Week 2, D14 ± 2)
S01 M/21y /H300				
S02 M/21y /H300				
S03 M/26y /H300				
S04 M/21y /H300				
S05 M/21y /H300				

Figure 6a. Serial ROI photographs at baseline, Week 1, and Week 2 during H300-only application under standardized imaging.

NH300 도포군 역시 동일한 조건으로 2주간 1일 2회 도포를 시행하였으며, 경과에 따라 국소 홍반과 색조 불균일이 부분적으로 완화되는 모습이 관찰되었다. 다만 기저선과 1주 시점 사진을 비교했을 때 염증성 구진의 직경이나 용기 감소는 제한적이었고, 모낭 주위 발적의 채도 또한 크게 변화하지 않아 초기 개선 속도가 느린 경향을 보였다. 도포 2주 시점에서도 병변의 경계가 뚜렷하게 남아 있는 사례가 많았으며, 홍반의 범위도 H300 도포군에 비해 좁은 범위에서만 감소하는 양상을 보였다. 피부 표면의 피지 광택 역시 지속적으로 관찰되어 전반적인 피부 톤이 반들거리거나 번들거리는 모습이 남아 있었고, 모공 주위의 거친 요철 또한 상당수 피험자에서 유의미하게 개선되지 않았다.

일부 피험자에서는 색조 불균일이 약간 완화되는 모습이 있었으나, 병변 주변의 붉은 테두리가 완전히 사라지지 않아 지루성 병변 회복 속도가 더디게 진행되는 특징을 보였다. 또한 염증 후 색소침착으로 이어질 수 있는 붉은 잔흔이 장기간 남아 있는 사례도 확인되어 NH300 단독 도포만으로는 항염 및 진정 효과가 충분히 발휘되지 않은 것으로 판단된다. 이러한 변화는 NH300이 피부 자극을 일시적으로 완화할 수는 있으나 피지 과다, 모낭염, 미세 염증이 복합적으로 얹힌 지루성 피부 특성을 근본적으로 안정화시키는 데에는 한계가 있음을 보여준다.

안면 ROI의 연속 사진을 기반으로 한 육안적 분석 결과, 동일한 2주간 1일 2회 도포 조건임에도 H300 도포군은 염증성 구진의 크기와 발적, 피지광택, 모공 텍스처 등에서 NH300 대비 더 빠르고 뚜렷한 개선을 나타냈다. 이는 앞서 제시한 수분 및 유분 지표, 홍반 감소, 주관적 만족도 결과와 일관되며, H300이 고열처리를 통해 기능이 강화된 화장품 소재로서 지루성 피부 상태를 완화하는 데 더욱 효과적임을 뒷받침하는 육안적 근거로 해석된다.

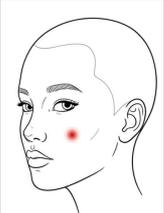
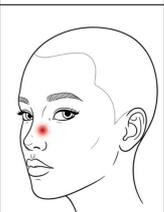
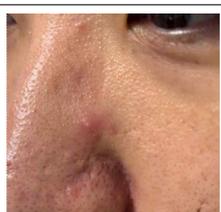
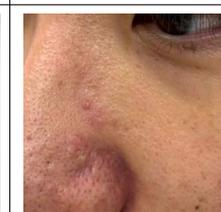
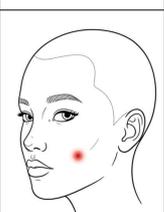
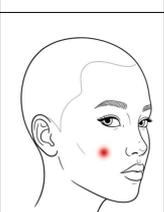
Subject / Extract	ROI	Visit 1 (Baseline, D0)	Visit 2 (Week 1, D7 ± 2)	Visit 3 (Week 2, D14 ± 2)
S06 M/20y/ NH300				
S07 M/20y/ NH300				
S08 M/27y/ NH300				
S09 M/20y/ NH300				
S10 M/25y/ NH300				

Figure 6b. Serial ROI photographs at baseline, Week 1, and Week 2 during NH300-only application under standardized imaging.

3.1.4 추출물에 의한 안면 확대 사진 분석

추출물 도포에 따른 안면 미세 피부 상태의 변화를 세밀하게 확인하기 위해 선정된 측정부위를 대상으로 모공(pore), 멜라닌(melanin), 민감도(sensitivity) 분석 모드의 확대 피부 사진을 촬영하였다. 확대 촬영은 앞선 인체 시험과 동일한 도포 조건 아래에서 2주간 1일 2회 도포를 시행하면서 기저선 Visit 1, 도포 1주차 Visit 2, 도포 2주차 Visit 3에 각각 진행하였다. 촬영과 분석에는 Aram Huvis APM PRO 100 기기와 ARM PRO v1.1.4 소프트웨어를 사용하여 조명과 배율을 일정하게 유지하였다. Figure 7a-e에는 H300 도포군 S01-S05, Figure 8a-e에는 NH300 도포군 S06-S10의 대표적인 확대 피부 사진을 모드별로 제시하였다.

H300 도포군의 모공 모드 사진에서는 기저선에서 관찰되던 모공 주변의 거친 각질 무늬와 불균일한 붉은 기가 도포 1주차부터 서서히 완화되는 양상이 나타났다. 2주차에는 모공 부위의 윤곽이 덜 도드라져 보이고 주변 피부결이 비교적 매끈하고 균일하게 관찰되어 전체적인 표면 거칠기가 줄어든 인상을 주었다. 멜라닌 모드에서는 기저선에서 중심부 색조가 뚜렷하게 강조되던 부위가 시간 경과에 따라 점차 가장자리가 흐려지고 명도가 조금씩 올라가면서 주변 피부색과의 대비가 감소하였다. 민감도 모드에서도 초기에는 강하게 나타나던 붉은 반응이 1주차 이후 점차 줄어들었으며, 2주차에는 붉은 범위와 강도가 전반적으로 축소되어 자극 반응이 완화된 모습을 보였다.

확대 촬영에서 확인된 이러한 변화는 도포 기간이 경과함에 따라 모공 주변의 미세 요철과 색조 불균일성이 단계적으로 개선되었음을 보여주며, 인체 적용 시험에서 관찰된 피지 감소와 홍반 완화 결과와도 일치하였다. 세 가지 분석 모드에서의 동시 개선은 H300이 특정 단일 지표가 아니라 피부 상태 전반에 영향을 미쳤음을 시사한다. 이러한 확대 사진 분석 결과는 H300이 지루성 피부에서 나타나는 모공 확대, 색조 불균일, 민감 반응 등의 문제를 다면적으로 완화할 수 있음을 뒷받침하는 근거로 해석된다.

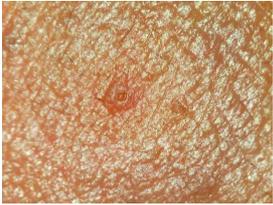
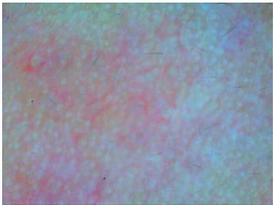
Subject	S01 / M / 21y _ H300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 7a. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during H300 application in Subject S01. All images were acquired from the same facial ROI using APM PRO 100 ($\times 30$) and analyzed with ARM PRO v1.1.4.

S01(Figure 7a). 모공 모드에서는 기저선에 비해 모공 주변의 붉은 기와 거친 각질 무늬가 감소하였으며, 표면 요철도 전반적으로 부드럽게 정돈된 모습이 관찰되었다. 멜라닌 모드에서는 중심부 색소의 강도가 완화되고 경계가 흐려지는 경향을 보였으며, 민감도 모드에서는 국소적인 홍반 신호가 시간 경과에 따라 감소하는 양상이 관찰되었다.

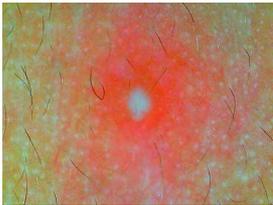
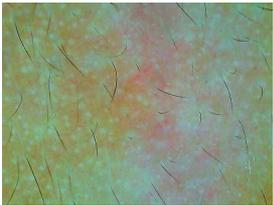
Subject	S02 / M / 21y _ H300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 7b. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during H300 application in Subject S02. Same imaging conditions as in Figure 7a.

S02(Figure 7b). 멜라닌 모드에서는 기저선에서 뚜렷하게 관찰되던 중심부 색조가 1주차부터 점차 완화되었으며, 2주차에는 색소 경계가 부드러워지고 명도 차이가 감소하여 전반적인 색조 균일도가 향상된 모습이 관찰되었다. 민감도 모드에서는 초기 국소적인 홍반 신호가 시간 경과에 따라 감소하는 양상을 보였으며, 모공 모드에서는 표면 요철과 거친 질감이 점진적으로 완화되는 경향이 관찰되었다.

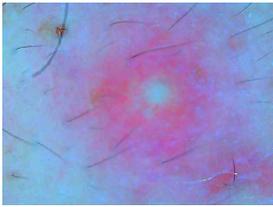
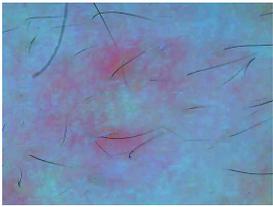
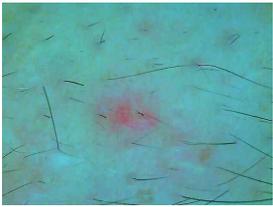
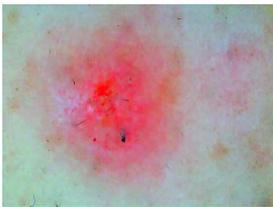
Subject	S03 / M / 21y _ H300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 7c. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during H300 application in Subject S03. Same imaging conditions as in Figure 7a.

S03(Figure 7c). 민감도 모드에서는 기저선에서 강하게 관찰되던 중심부 홍반이 1주차부터 점차 완화되었으며, 2주차에는 붉은 범위와 강도가 전반적으로 감소하여 자극 반응이 완화된 모습이 관찰되었다. 멜라닌 모드에서는 중심부 색조의 강도가 점진적으로 낮아지고 경계가 흐려지는 경향을 보였으며, 모공 모드에서도 병변 주변의 발적과 표면 거칠기가 함께 감소하는 양상이 관찰되었다.

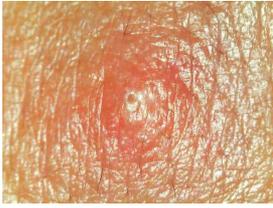
Subject	S04 / M / 21y _ H300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 7d. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during H300 application in Subject S04. Same imaging conditions as in Figure 7a.

S04(Figure 7d). 모공 모드에서는 기저선에서 관찰되던 발적과 요철이 1주차부터 점차 완화되었으며, 2주차에는 표면 결이 보다 고르게 정돈된 모습이 관찰되었다. 멜라닌 및 민감도 모드에서도 중심부 붉은 기와 색조 대비가 시간 경과에 따라 감소하여 전반적인 피부 색조 균일도가 향상되는 양상이 관찰되었다.

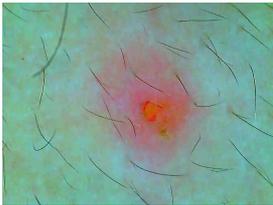
Subject	S05 / M / 27y _ H300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 7e. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during H300 application in Subject S05. Same imaging conditions as in Figure 7a.

S05(Figure 7e). 멜라닌 모드에서는 기저선에서 관찰되던 중심부 색소 농도가 1주차 이후 점차 완화되면서 경계가 부드러워졌으며, 2주차에는 주변 피부와의 색조 대비가 감소하여 전반적인 톤 균일도가 향상된 모습이 관찰되었다. 민감도 모드에서는 국소 홍반의 강도와 범위가 시간 경과에 따라 감소하는 경향을 보였고, 모공 모드에서도 표면 거칠기와 요철이 점진적으로 완화되는 양상이 관찰되었다.

NH300 도포군에서도 모공, 멜라닌, 민감도 모드에서 일정 수준의 변화가 관찰되었다. 모공 모드에서는 각질 무늬가 부분적으로 정돈되고 붉은기가 약간 줄어드는 경향을 보였으나, 모공 주변 윤곽의 변화 정도는 H300 도포군에 비해 상대적으로 작았다. 멜라닌 모드에서는 중심부 색조가 다소 열리는 양상이 있었지만, 경계가 부드러워지는 정도와 밝기 차이가 감소 폭은 H300 도포군만큼 뚜렷하지 않았다. 민감도 모드에서도 붉은기가 서서히 줄어드는 모습은 확인되었으나, 감소 속도와 범위가 제한적이어서 명확한 진정 효과로 해석하기에는 다소 부족한 양상이었다. 전반적으로 NH300 도포군에서는 지루성 피부 특유의 모공 확대, 색조 불균일, 국소 홍반이 완만하게 완화되는 경향만 관찰되었고, 모드별 개선 정도 역시 국소적 변화에 머무르는 양상을 보였다. 이러한 결과는 NH300이 기본적인 피부 진정과 각질 정돈에는 일정 부분 기여할 수 있으나, H300과 같은 수준의 복합적인 피부 상태 개선 효과를 제공하지는 못함을 시사하며, 고열처리 공정이 전복겹질 추출물의 기능성을 강화하는 데 중요한 역할을 했음을 간접적으로 뒷받침한다.

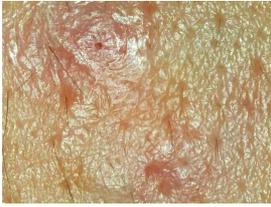
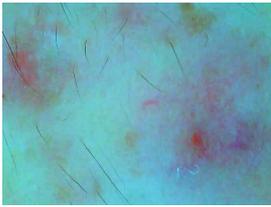
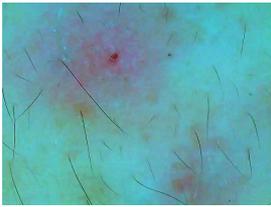
Subject	S06 / M / 20y _ NH300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 8a. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during NH300 application in Subject S06. Images were acquired from the same facial ROI using APM PRO 100 ($\times 30$) and analyzed with ARM PRO v1.1.4.

S06(Figure 8a). 모공 모드에서는 병변 부위의 발적과 각질이 부분적으로 완화되는 양상을 보였으나, 모공 윤곽과 표면 거칠기는 전반적으로 뚜렷하게 유지되었다. 멜라닌 모드에서는 중심부 색조의 변화가 제한적으로 관찰되었으며, 민감도 모드에서도 국소적인 홍반 신호가 다소 완화되었으나 범위와 강도의 변화는 제한적이어서 전반적인 진정 효과는 뚜렷하지 않은 양상이 관찰되었다.

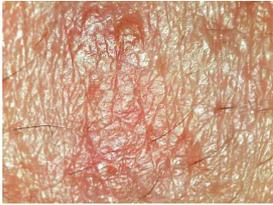
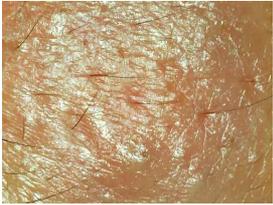
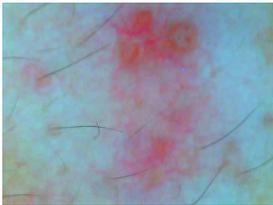
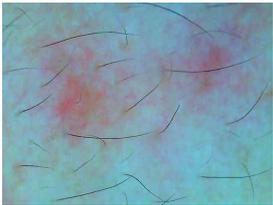
Subject	S07 / M / 20y _ NH300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 8b. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during NH300 application in Subject S07. Same imaging conditions as in Figure 8a.

S07(Figure 8b). 멜라닌 모드에서는 기저선 대비 중심부 색조가 다소 완화되는 양상을 보였으나 색소 경계의 흐림과 대비 감소는 제한적으로 관찰되었다. 민감도 모드에서도 국소적인 홍반 신호가 일부 완화되었으나 변화 범위가 작아 전반적인 진정 효과는 뚜렷하지 않았으며, 모공 모드에서는 표면 거칠기와 모공 윤곽이 전반적으로 유지되는 양상이 관찰되었다.

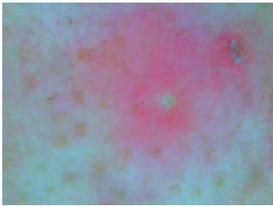
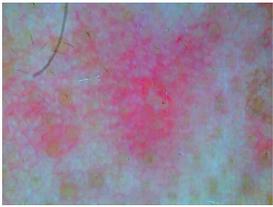
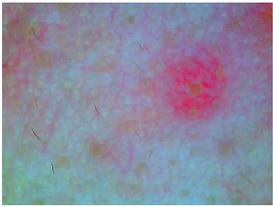
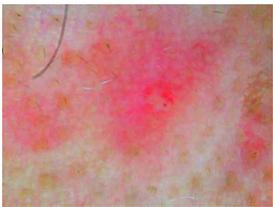
Subject	S08 / M / 27y _ NH300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 8c. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during NH300 application in Subject S08. Same imaging conditions as in Figure 8a.

S08(Figure 8c). 모공 모드에서는 염증성 구진 주변의 붉은 기가 시간 경과에 따라 일부 변동을 보였으나, 전반적인 발적과 모공 윤곽의 뚜렷한 완화는 관찰되지 않았다. 멜라닌 및 민감도 모드에서도 중심부 색조와 홍반 신호가 기저선 대비 뚜렷하게 감소하지 않아 전반적인 개선 폭은 제한적인 양상이 관찰되었다.

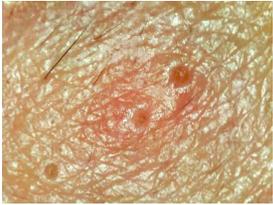
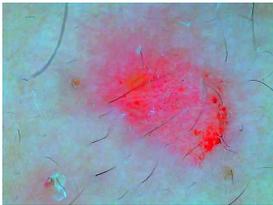
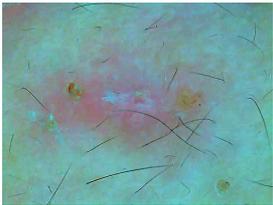
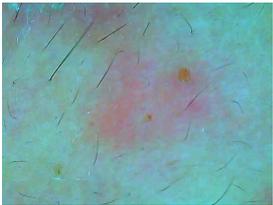
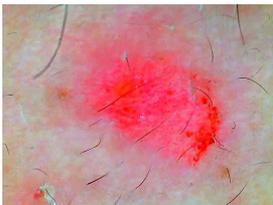
Subject	S09 / M / 20y _ NH300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 8d. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during NH300 application in Subject S09. Same imaging conditions as in Figure 8a.

S09(Figure 8d). 모공 모드에서는 기저선에서 관찰되던 강한 발적이 1주차 이후 일부 완화되는 양상을 보였으나, 2주차에도 병변 윤곽과 중심부 붉은 기가 비교적 뚜렷하게 유지되었다. 멜라닌 및 민감도 모드에서는 중심부 색조와 홍반 신호가 부분적으로 감소하였으나 전반적인 색조 불균일과 발적이 여전히 관찰되어 개선 정도는 제한적인 양상을 보였다.

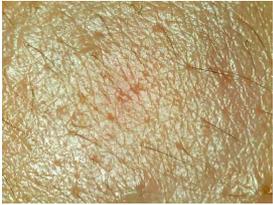
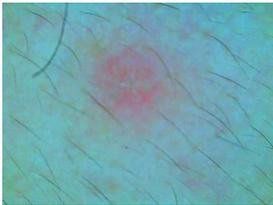
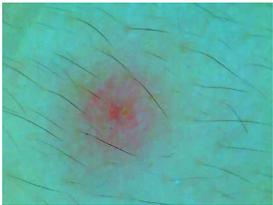
Subject	S10 / M / 25y _ NH300		
	Visit 1	Visit 2	Visit 3
Pore			
Melanin			
Sensitivity			

Figure 8e. Serial close-up facial images of pore, melanin, and sensitivity modes at baseline (Visit 1), Week 1 (Visit 2), and Week 2 (Visit 3) during NH300 application in Subject S10. Same imaging conditions as in Figure 8a.

S10(Figure 8e). 모공 모드에서는 기저선 대비 병변 중심부가 1주차 이후 다소 완화되는 양상을 보였으나, 병변 윤곽과 주변 붉은 기는 비교적 뚜렷하게 유지되었다. 멜라닌 및 민감도 모드에서도 색조 대비와 홍반 강도가 점진적으로 감소하는 경향은 관찰되었으나 변화 폭이 작아 전반적인 개선 정도는 제한적인 양상이 관찰되었다.

확대 피부 이미지 분석을 종합적으로 고려할 때, H300 도포군은 NH300 도포군에 비해 모공 주변의 피부결, 색소 농도, 국소 홍반 반응이 더 빠르고 명확하게 개선되는 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 이전의 ROI 육안 평가와 수분·유분·임상 지표에서 확인된 염증 완화 및 색조 균일도 향상과 흐름이 일관되며, 고열처리 전복껍질 추출물 H300이 지루성 피부의 미세 구조적 개선에 기여할 수 있음을 뒷받침한다.

3.2 *In vitro*에서 H300의 세포 기반 기능 평가

인체 적용 시험에서 H300 제형은 지루성 피부에서 수분 증가와 유분 감소, 홍반과 염증 관련 자각 증상의 완화 등 전반적인 임상 개선 효과를 보였다. 이러한 변화가 세포 수준에서 어떤 기전과 연계되는지를 규명하기 위해, 피부 장벽 유지와 염증 조절에 핵심적인 역할을 하는 각질세포, 피지 합성과 지질 대사를 조절하는 sebocyte, 그리고 피부 면역 반응과 미세 염증 환경 형성에 관여하는 대식세포를 대상으로 *in vitro* 실험을 수행하였다. 세포 실험은 인체 시험에서 관찰된 개선 양상을 분자적 수준에서 설명하기 위한 보조 자료로 설계되었으며, 특히 H300이 비가열 추출물 (NH300) 대비 어떤 기능적 우위를 나타내는지 확인하는 데 중점을 두었다. 또한 세포 종류별로 반응 특성이 상이하다는 점을 고려하여, H300의 작용이 단일 세포 수준의 변화를 넘어 피부 전반의 상태 개선과 어떻게 연결되는지 통합적으로 해석하고자 하였다. 이를 통해 임상에서 관찰된 개선 효과가 단순 결과가 아니라 H300의 구조적 특성 변화와 기전 조절 능력에 의해 나타난 것인지 검증하는 것이 본 *in vitro* 실험의 목적이다.

3.2.1 각질세포 염증 억제 효과

각질세포는 표피 장벽을 구성하는 주요 세포로, 외부 자극에 의해 쉽게 손상되며 염증 반응을 유발할 수 있다. 이에 따라 먼저 스트레스 조건에서 각질세포의 세포사멸 경향과 산화 스트레스 관련 지표 변화를 확인하였다. 스트레스 자극 S를 가했을 때 세포사멸 억제 인자인 BCL2 발현이 대조군 대비 약 2.82배 감소하고, 반대로 세포사멸을 유도하는 caspase-3는 약 7.5배 증가하여 세포 생존성이 급격히 저하되는 양상이 관찰되었다 (Figure 9a,b). 이는 외부 자극에 의해 각질세포의 보호 기전이 붕괴되고, 장벽 기능 약화로 이어질 가능성이 높다는 것을 의미한다.

H300 처리군에서는 BCL2 발현이 대조군 대비 약 4배 증가하고, caspase-3는 대조군 수준에 가깝게 억제되어 스트레스 조건에서도 세포

사멸이 효과적으로 완화되었다(Figure 9a,b). H300과 NH300을 비교했을 때 BCL2는 H300에서 약 2.4배 높았고, caspase-3는 2.78배 낮아, 고온 처리된 전복껍질 추출물의 구조적 변화가 세포 보호 능력을 강화한 것으로 해석된다. 이러한 결과는 H300이 세포 수준에서 장벽 회복에 유리한 방향으로 작용할 수 있음을 보여준다.

항산화 기능 분석에서도 동일한 경향이 나타났다. 스트레스 조건에서 H300은 NH300 대비 활성산소(ROS) 생성량을 약 2.1배 감소시켰고, 산화 스트레스 조절과 관련된 MAOB 발현도 약 1.93배 낮추었다(Figure 9c,d). 활성산소는 각질세포 손상과 염증 증가의 주요 요인이므로, ROS와 MAOB 감소는 H300이 세포 내 산화적 부담을 완화하여 장벽 회복과 염증 감소에 기여함을 의미한다.

또한 H300 처리군에서는 세포 형태가 스트레스 조건에서 흔히 관찰되는 수축·파편화 양상을 보이지 않았으며, 세포막이 비교적 안정적으로 유지되는 경향을 보였다. 이는 H300이 단순히 특정 단백질 발현만 조절하는 것이 아니라, 세포 전체의 생존 환경을 보호하는 다면적 작용을 하고 있음을 시사한다.

종합하면 H300은 스트레스에 의해 유도되는 세포사멸 신호를 억제하고 항산화 방어 작용을 강화함으로써 각질세포의 손상을 완화하였다. 이러한 변화는 인체 시험에서 관찰된 홍반 감소, 민감도 완화, 장벽 상태 개선과 일관된 방향성을 보이며, H300이 지루성 피부의 미세 염증 환경 조절에 기여했음을 뒷받침하는 기전적 근거로 해석된다.

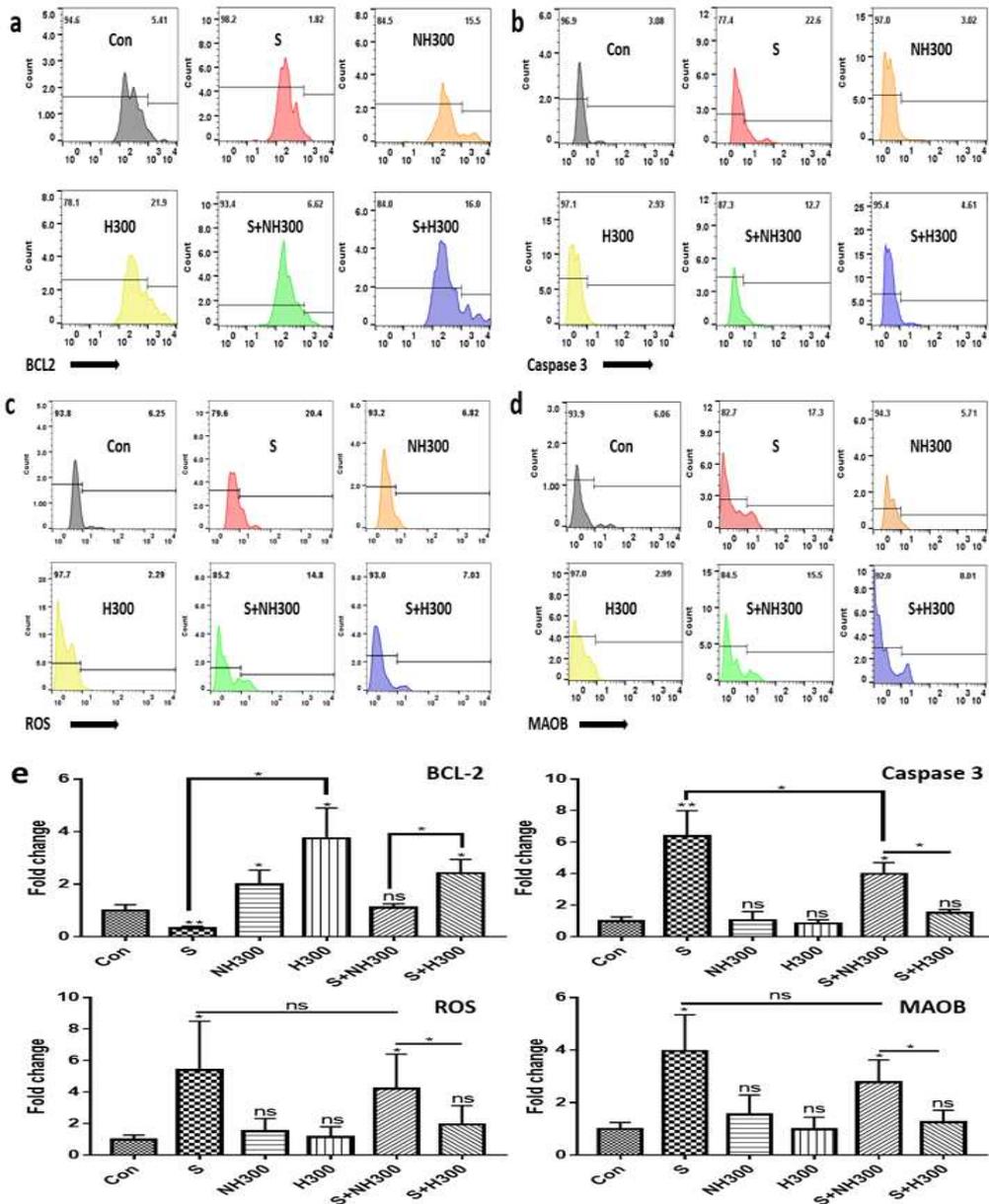


Figure 9. Anti-apoptotic and proliferative effects of H300 on keratinocytes. (a, b) Histograms showing the expression of apoptosis-related markers in keratinocytes under each condition. (c, d) Histograms showing the antioxidant effects of keratinocytes under each condition. Con, control; S, LPS + TNF- α ; NH300, non-heated abalone shell extract; H300, heated abalone shell extract; ns, not significant ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$)

3.2.2 Sebocyte 지질합성 억제 효과

다양한 조건에서 sebocyte를 처리한 뒤 지질을 염색해 비교한 결과, 염증 스트레스에 노출된 군에서는 지질 염색의 강도가 뚜렷하게 증가하였다. 반면 NH300과 H300을 각각 처리한 군에서는 대조군과 유사한 수준의 지질 염색 양상을 보여, 단독 처리 시에는 과도한 지질 축적이 유발되지 않았다(Figure 10a). 주목할 점은 염증 스트레스가 가해진 조건에서도 NH300과 H300을 함께 처리한 군에서 지질 합성이 스트레스 단독군에 비해 현저히 감소했다는 것이다. 특히 H300군은 NH300군보다 염색 강도가 더 낮게 나타나, 스트레스 상황에서 지질 축적 억제 효과가 더 크다는 것을 시사하였다(Figure 10a).

이어서 지질 대사를 조절하는 핵심 단백질 HSL, perilipin, AMPK의 발현을 면역세포화학 immunocytochemistry 으로 확인하였다. 염증 스트레스 조건에서는 세 단백질의 발현이 전반적으로 크게 감소하였으나(Figure 10b), H300 처리군에서는 대조군 대비 세 단백질의 발현이 뚜렷하게 증가하였다. NH300 처리군에서도 일정 수준의 회복이 관찰되었지만, H300 처리군에서 증가 폭이 더 컸다(Figure 10b). 또한 H300은 스트레스가 가해진 상황에서도 HSL과 perilipin의 발현을 대조군과 유사한 수준으로 유지시킨 반면, NH300은 동일 조건에서 발현 감소를 완전히 보정하지 못해 스트레스에 대한 보호 효과가 H300보다 약한 것으로 나타났다(Figure 10c).

이러한 차이를 보다 명확히 하기 위해 HSL과 perilipin 활성화에 중요한 역할을 하는 PKA protein kinase A 발현을 유세포 분석법으로 평가하였다. 그 결과 염증 스트레스에 노출된 sebocyte의 PKA 발현은 대조군에 비해 약 2.43배 감소한 반면, H300 처리군에서는 약 2.14배 증가하였다(Figure 10c). 특히 스트레스 조건을 기준으로 비교했을 때 H300 병용군의 PKA 발현은 스트레스 단독군보다 약 4.58배 높았고, NH300 병용군에 비해서도 약 35% 이상 높은 수준을 보여 H300이 PKA-HSL-perilipin 축을 통한 지질 합성 조절에 더 우수하게 작용함을 시사하였다(Figure 10c).

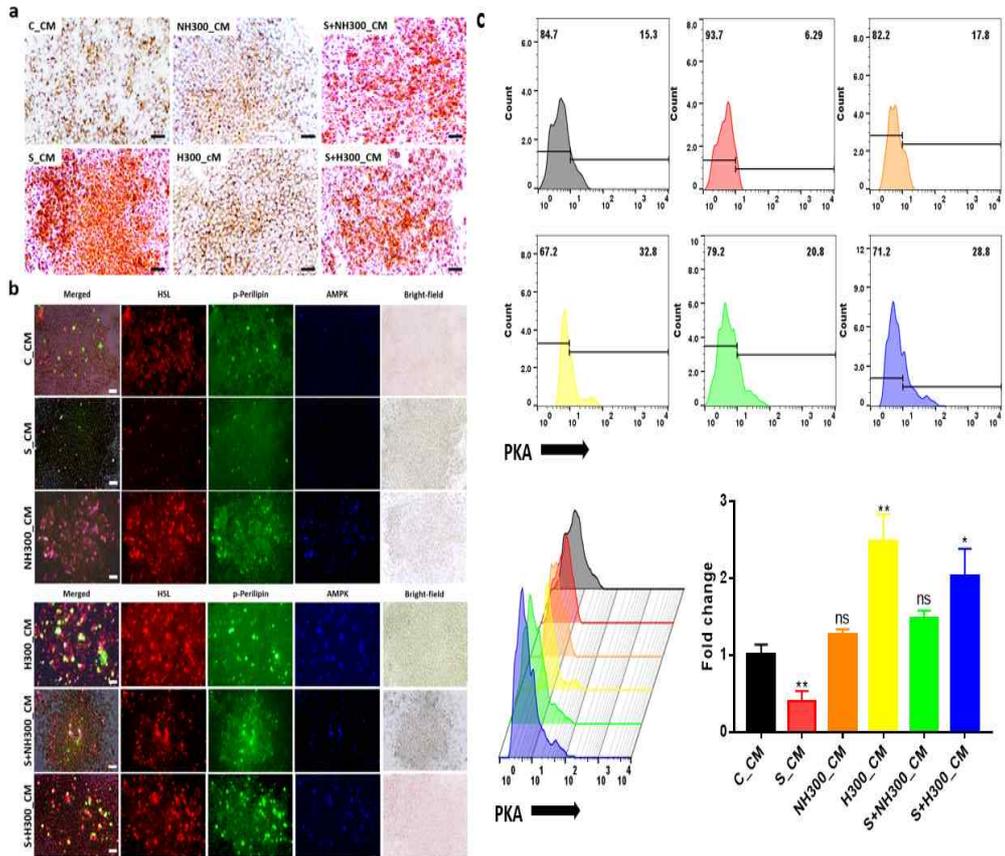


Figure 10. Regulatory effects of H300 on lipid synthesis in sebocytes (a) Oil Red O staining images showing lipid synthesis in sebocytes under each condition. (b) Immunofluorescence staining results showing the expression of key proteins involved in lipid synthesis regulation under each condition. (c) Flow cytometric analysis of the expression of PKA (protein kinase A), a key upstream regulator of lipid synthesis signaling. C_CM, control-conditioned medium; S_CM, LPS + TNF- α -conditioned medium; NH300-conditioned medium, culture medium from keratinocytes exposed to non-heated abalone shell extract; H300-conditioned medium, culture medium from keratinocytes exposed to heated abalone shell extract; ns, not significant ($*p < 0.05$, $**p < 0.01$).

3.2.3 Macrophage 염증 억제 효과

다양한 조건에서 처리된 각질세포 배양액을 이용하여 대식세포의 분극 양상을 분석한 결과, 염증 반응을 촉진하는 M1 형질은 감소하고 항염증성 M2 형질은 증가하는 양상이 확인되었다(Figure 11).

먼저 염증 스트레스가 가해진 조건(S_CM)에서는 M1 마커 중 하나인 CD80의 발현이 대조군 대비 약 2배 증가하여, 초기 염증 반응이 강하게 유도된 것으로 나타났다(Figure 11a,b). CD86의 발현은 비교적 큰 변화가 없었으나, 전반적으로 스트레스 조건이 M1 극화를 촉진하는 방향으로 작용하였다. 이러한 경향은 t-SNE 분석에서도 유사하게 나타나, 스트레스 조건에서 세포군이 M1 클러스터로 뚜렷하게 이동하는 양상이 확인되었다(Figure 11c).

반면 H300_CM에서는 M1 극화가 효과적으로 억제되었다. H300은 스트레스 조건(S+H300_CM)에서도 CD80 발현 증가를 크게 완화시켰으며, NH300 대비 감소 폭이 더 컸다(Figure 11a,b). 즉 H300은 스트레스 환경에서도 M1 활성화를 효과적으로 조절하는 능력이 더 우수한 것으로 나타났다.

M2 극화와 관련된 CD206 발현을 분석한 결과에서도 H300의 효과가 두드러졌다. H300_CM 조건에서 CD206 발현은 대조군 대비 약 2.64배 증가하였으며(Figure 11d), 스트레스가 존재함에도 불구하고 M2 극화를 유지 또는 강화시키는 양상을 보였다. NH300도 일정 수준의 증가를 보였으나, H300의 증가 폭에 비해서는 낮았다.

이러한 결과를 종합하면 H300은 염증성 M1 극화를 효과적으로 억제하는 동시에 항염증성 M2 극화를 촉진하여 대식세포의 분극 균형을 조절하는 것으로 나타났다. 이는 인체 시험에서 관찰된 홍반 완화 및 지루성 피부의 염증 감소 경향과도 일치하는 기전적 기반으로 해석할 수 있다.

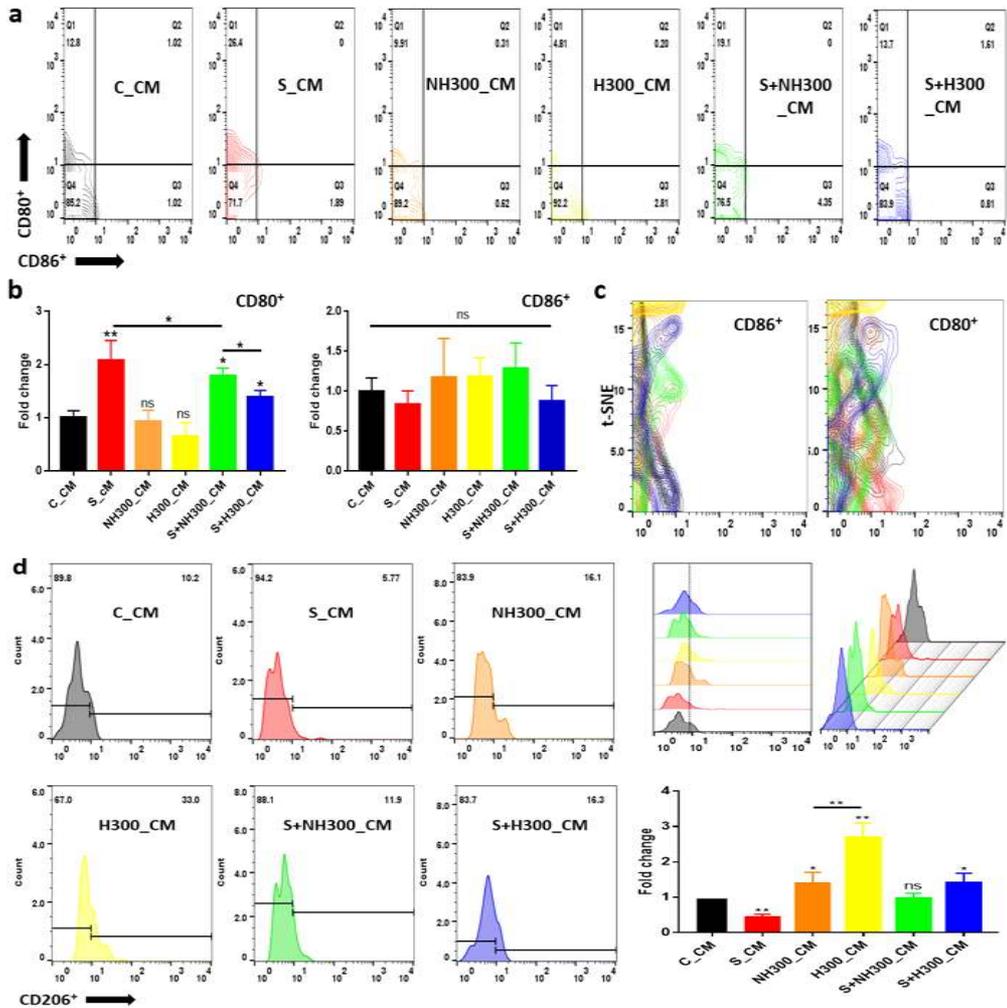


Figure 11. Regulatory effects of H300 on macrophage polarization

(a, b) Histograms and quantitative analyses of M1 polarization markers (CD80 and CD86) in macrophages under each condition. (c) t-SNE analysis showing cell similarity based on CD80 and CD86 marker expression.

(d) Histogram and quantitative analysis of the M2 polarization marker (CD206) in macrophages under each condition. C_CM, control-conditioned medium; S_CM, LPS + TNF- α -conditioned medium; NH300-conditioned medium, culture medium from keratinocytes exposed to non-heated abalone shell extract; H300-conditioned medium, culture medium from keratinocytes exposed to heated abalone shell extract; ns, not significant ($p < 0.05$, $**p < 0.01$).

3.3 고열처리에 따른 구조 및 칼슘 방출 특성 분석

3.3.1 고열처리에 따른 구조 변화 분석

300 °C에서 30분간 고열처리한 전복껍질 시료 H300의 재료 특성을 분석한 결과, 형태와 표면 구조, 결정성 및 상 조성에서 비열처리 시료 NH300과 뚜렷한 차이가 관찰되었다(Figure 12a).

광학 관찰 결과 NH300은 길이가 대략 5 μm 에서 30 μm 범위인 바늘 모양 결정이 많이 분포하고, 불규칙하고 뾰족한 미세 입자가 다수 관찰되었다. 반면 H300은 약 0.5 μm 에서 4 μm 크기의 비교적 크고 매끄러운 다면체 결정이 주로 관찰되었으며, 입자 크기와 형태가 상대적으로 균질한 양상을 보였다(Figure 12a). 이러한 차이는 열처리 과정에서 부분 용융과 재결정화가 일어나면서 표면 결함 노출과 미세 구조 재편성이 일어났음을 시사한다.

X선 회절 분석에서도 열처리에 따른 결정 구조 변화가 확인되었다. NH300은 피크 폭이 넓고 강도가 낮아 전반적으로 결정성이 낮고 상이 부분적으로 혼재된 양상을 보였다. 이에 비해 H300은 피크가 날카롭고 강도가 증가하였으며, 방해석 calcite 특성 피크가 더 선명하게 나타나 열처리에 의해 CaCO_3 구조가 방해석 중심으로 재편성되었음을 보여주었다(Figure 12b).

이러한 구조적 변화는 이후 단계에서 관찰된 칼슘 방출과 세포 반응, 인체 지표 변화와 직접적으로 연관될 수 있다. 다면체 미세 입자와 표면 결함 증가는 실질 접촉 면적을 넓혀 용출 반응을 촉진할 수 있고, 방해석 우세화와 결정성 증가는 수용 환경에서 보다 완만하면서도 지속적인 Ca^{2+} 방출 거동을 뒷받침하는 것으로 알려져 있다. 따라서 H300이 피부 표면에도포되었을 때 이러한 Ca^{2+} 방출이 각질세포 분화와 장벽 관련 단백질 발현, 피지선 세포 대사, 대식세포 염증 신호 조절 등에 저장도이지만 연속적인 자극으로 작용할 가능성이 있다.

요약하면 300 °C 열처리는 전복껍질 시료의 형태와 결정 구조를 동시

에 변화시켜 다면체 미세 입자와 방해석 중심의 고결정성을 특징으로 하는 H300을 형성하였다. 이와 같은 물리 화학적 특성은 이후 칼슘 방출 실험에서 확인된 용출 양상과 세포 및 인체 지표의 개선과 연계되는 재료학적 근거로 해석될 수 있다.

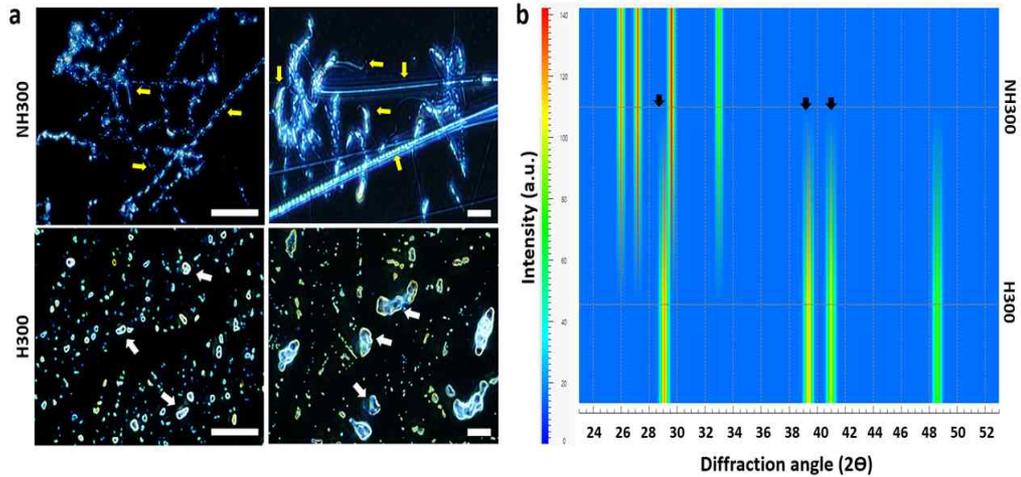


Figure 12. Crystallographic Changes of Abalone Shell Induced by High-Temperature Treatment.

a) Representative bright field images of abalone shell powder before (NH300) and after heat treatment at 300 °C (H300). H300 shows smooth-surfaced polyhedral crystals (white arrows) with low particle density, while NH300 displays elongated, needle-like structures (yellow arrows) with increased surface roughness and a greater amount of fine, irregular debris. Scale bars = 10 μm. (b) XRD patterns of untreated abalone shell powder (NH300) and heat-treated sample at 300 °C (H300). The intense peaks (arrows) in H300 indicate enhanced crystallinity and calcite phase transformation compared to the untreated control.

3.3.2 추출물의 칼슘 방출 특성 분석

세포배양 플레이트의 바닥을 NH300 비가열 시료 또는 H300 고열처리 시료로 코팅한 뒤 증류수를 가하고, 경과 시간에 따른 용액 중 Ca^{2+} 농도 변화를 형광 칼슘 지시약 Fluo 3 AM으로 측정하였다. 코팅 농도는 고농도(H) 1 mg/mL, 중간 농도(M) 5 mg/mL, 저농도(L) 10 mg/mL로 설정하였으며, 무코팅 플레이트를 블랭크로 보정하였다. 이러한 실험 설정은 고열처리에 의해 변화한 전복껍질의 표면 구조와 결정학적 특성이 실제 수용 환경에서 어떤 용출 패턴을 보이는지 확인하기 위한 것이다. 특히 Ca^{2+} 는 각질세포 분화와 표피 장벽 조절에 직접적으로 관여하는 신호 인자로 알려져 있어, 초기 방출 속도와 유지되는 농도 변화는 소재의 기능성을 평가하는 데 중요한 지표가 된다.

NH300에서는 시간 0, 0.5, 1, 1.5시간 및 농도에 따른 Ca^{2+} 방출량 변화가 전반적으로 크지 않았고, 통계적으로도 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 즉 비가열 전복껍질 시료는 실험 조건에서 Ca^{2+} 를 빠르게 용출시키는 경향이 뚜렷하지 않았으며, 이는 NH300이 결정 구조적으로도 비교적 조밀한 표면을 유지하고 있어 수용 환경에서의 이온 확산이 제한된 상태를 시사한다.

반면 H300에서는 0.5시간 시점부터 0시간 대비 Ca^{2+} 방출량이 급격히 증가하여 약 12배 수준까지 상승하였고, 이후 1시간과 1.5시간에서는 유사한 수준을 유지하는 양상을 보였다(Figure 13). 이는 고열처리 과정에서 바늘형 구조가 다면체 미세입자로 재구성되고, 방해석(calcite) 중심의 고결정 구조가 형성되면서 표면적 증가 및 결정 결함(dissolution-prone defect)이 발생해 초기 용출을 촉진한 결과로 해석된다. 또한 0.5시간 시점에서 고농도 H로 코팅한 경우가 중간 농도 M와 저농도 L보다 Ca^{2+} 방출량이 유의하게 높아, 코팅 농도가 증가할수록 초기 용출량이 커지는 농도 의존적 경향이 확인되었다.

이러한 결과는 고열처리 공정이 소재의 표면 활성도와 용해 특성을 크게 향상시키며, 실사용 조건에서 짧은 시간 안에 Ca^{2+} 농도 구배를 형성해

각질세포 분화와 장벽 회복 신호를 유도할 가능성을 뒷받침한다. 초기 방출 이후 일정 수준의 농도가 유지된다는 점은, H300이 단기적 자극뿐 아니라 지속적인 세포 신호 조절에도 영향을 줄 수 있는 안정적 칼슘 공급 원임을 시사한다. 이러한 칼슘 방출 특성의 변화는 인체 시험에서 관찰된 장벽 안정화, 민감도 감소, 홍반 완화 경향과도 일관된 방향을 보여, H300의 임상 개선 효과를 설명하는 중요한 재료학적 근거가 된다.

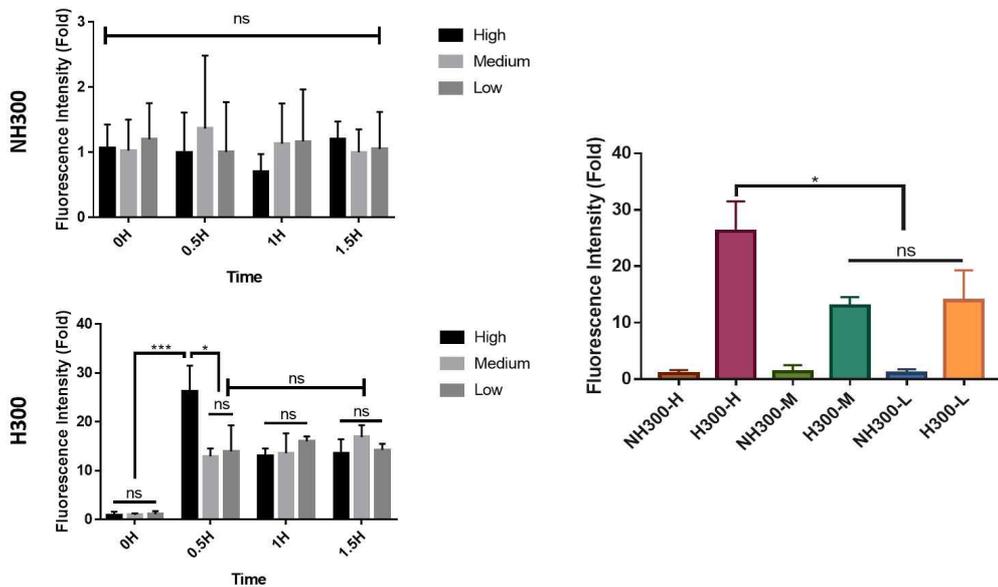


Figure 13. Calcium release as a function of extract concentration and time. Calcium release was measured by ELISA, using an uncoated blank as the reference, for NH300 and H300 extracts at different concentrations (High, 1 mg/mL; Medium, 5 mg/mL; Low, 10 mg/mL), ns; not significant ($*p < 0.05$, $***p < 0.001$).

3.3.3 세포 처리 농도 및 추출물 특성 분석

각 물질의 세포 처리 농도와 CC₅₀(cytotoxicity concentration 50)을 결정하기 위해, 농도별 세포 생존율 변화를 정량적으로 평가하였다. 이는 이후 진행되는 염증 조절, 지질 대사 분석, 신호 단백질 발현 측정 등에서 독성에 의해 유발되는 비특이적 변화와 실제 소재 효과를 명확히 구분하기 위함이다. 먼저 각질세포에 NH300과 H300을 0.1에서 5 mg/mL까지 24시간 처리한 결과, 두 추출물 모두에서 세포 생존율이 약 50% 수준으로 감소하는 농도는 약 1 mg/mL로 나타났다(Figure 14). 이러한 결과에 따라 이후 세포 기반 실험에서는 세포 독성을 최소화하면서도 물질의 생리활성을 평가할 수 있는 농도로 CC₅₀ 1 mg/mL를 공통 처리 농도로 설정하였다.

염증 반응 유도를 위해 사용한 LPS와 TNF- α 는 1:1 비율로 혼합하여 각질세포, 지선세포, 대식세포에 각각 1-30 ng/mL 농도 범위로 처리하였다. 처리 농도에 따른 생존율 분석 결과, 세포 생존율이 50% 수준으로 감소하는 농도는 20 ng/mL로 확인되었다. 염증 신호를 안정적으로 유도하면서도 세포 손상과 스트레스 반응을 최소화하기 위해, 생존율이 약 90% 수준을 유지하는 3 ng/mL를 이후 실험의 최종 염증 유도 농도로 결정하였다. 이 농도 조건은 과도한 세포 사멸 없이 염증성 사이토카인과 단백질 발현 변화를 관찰할 수 있어, NH300과 H300의 항염 기능을 보다 정밀하게 비교하는 데 적합하다.

또한 NH300 또는 H300에 노출된 각질세포가 주변 환경에 미치는 영향을 평가하기 위해, 각질세포 배양상(KCM)의 안전한 처리 농도를 별도로 검토하였다. 이는 각질세포가 분비하는 신호 인자가 sebocyte와 macrophage의 지질 대사 및 면역 반응에 어떤 영향을 미치는지를 확인하기 위한 실험 설계이다. 다양한 농도로 KCM을 처리한 결과, sebocyte와 macrophage의 세포 생존율이 약 90% 수준을 유지하는 농도는 300 μ g/mL로 나타났으며, 이 농도가 이후의 지질 합성 조절 및 염증성 분극 분석에서 최적의 조건으로 활용되었다(Figure 14).

이와 같은 농도 검증 과정은 NH300과 H300의 기능적 차이를 정확하게 평가하기 위한 필수 절차로, 세포 독성 요인을 배제하고 고열처리에 의해 강화된 생물학적 특성이 실제 세포 기능 조절에 미치는 영향을 명확히 해석할 수 있는 기반을 제공한다.

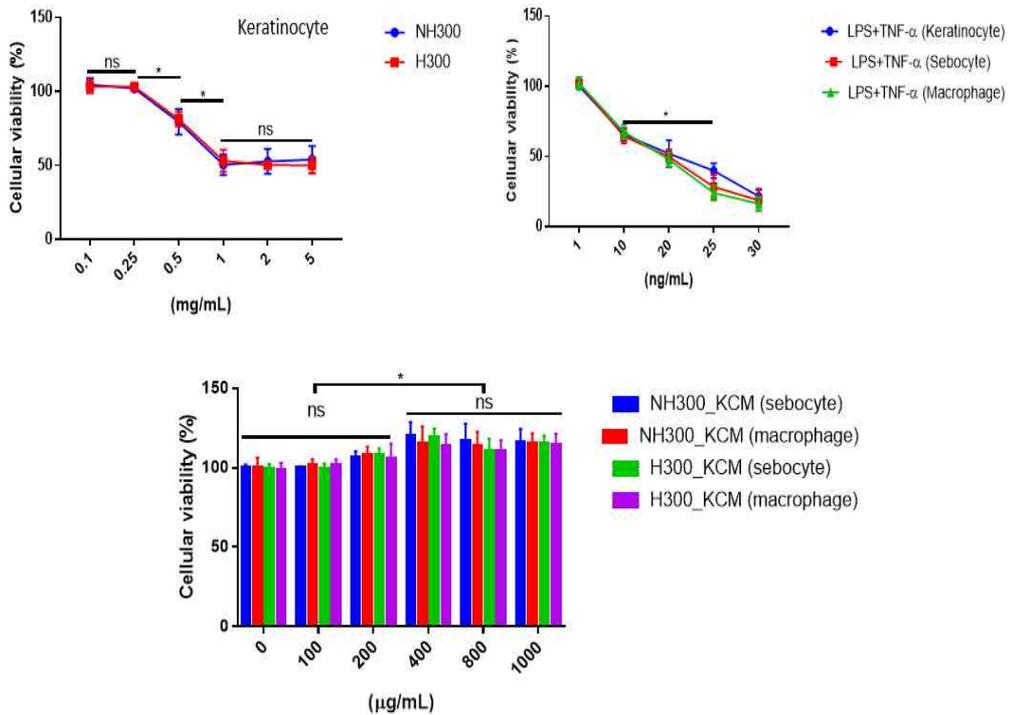


Figure 14. Cytotoxicity of NH300 (non-heat-processed abalone shell extract), H300 (heat-processed abalone shell extract), and LPS+TNF- α across cell types., ns; not significant, KCM; keratinocyte conditioned medium (* $p < 0.05$)

IV. 결 론

4.1 연구의 결론

현대인의 생활환경은 대기오염, 온도와 습도의 변화, 심리적 스트레스 등 다양한 요인에 의해 피부 항상성을 지속적으로 위협하고 있으며, 이러한 환경적 스트레스는 일시적인 불편감을 넘어 피부 장벽 손상과 미세 염증의 반복을 초래하여 만성적인 피부 문제로 이어지고 있다. 특히 피지선이 발달한 부위에서 나타나는 지루성 피부는 과다 피지와 만성 염증 반응이 동반되어 심미적뿐만 아니라 심리적 부담을 가중시키므로, 안전하면서도 일상적으로 사용할 수 있는 기능성 화장품 소재의 개발이 요구되고 있다. 본 연구는 고열처리 전복껍질 추출물(H300)이 지루성 피부의 임상적 개선에 기여할 수 있는지 평가하고, 그 기전을 재료 분석과 세포 실험 결과를 통해 함께 확인하고자 연구를 수행하였다.

연구 내용 및 방법은 다음과 같다. 재료 분석에서 고열처리 공정이 전복껍질의 결정 구조와 Ca^{2+} 방출 특성에 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 세포 실험에서는 H300이 지루성 피부와 관련된 염증 반응과 지질 대사, 장벽 관련 인자에 미치는 변화를 평가하고자 하였다. 인체 피부 적용 시험에서는 지루성 피부를 가진 성인 참여자 23명을 H300군, NH300군, 위약군으로 배정하여 2주간 시험 제형을 단독 도포하도록 하고, 피부 수분과 유분, 홍반 지표 및 자가 만족도를 측정을 통해 피부 변화를 분석하였다.

주요 연구 결과는 다음과 같다. 첫째, 재료 분석에서 고열처리 전복껍질은 결정 구조가 바늘형에서 다면체 미세입자로 재편성되고 방해석(calcite) 중심 구조로 전환되면서 Ca^{2+} 방출량이 증가하고, 시간 경과에 따라 비교적 안정적인 용출 양상을 보여 지루성 피부 관리에 활용 가능한 칼슘 공급원으로서의 잠재력을 확인하였다. 둘째, 세포 실험에서는 H300이 염증 관련 인자의 발현을 감소시키고, 피지 합성과 관련된 지질 축적을

조절하며, 장벽 형성과 관련된 표지자들을 개선시키는 방향으로 작용하여 지루성 피부의 만성 염증과 피지 불균형을 완화할 수 있는 기전적 가능성을 보여주었다. 셋째, 인체 피부적용 시험에서 H300군은 NH300군과 위약군에 비해 2주 후 피부 수분과 유분 균형, 홍반 및 자가 평가에서 전반적으로 더 나은 개선 경향을 나타내어, 고열처리 전복껍질 추출물이 지루성 피부 특성을 완화하는 데 도움을 줄 수 있음을 시사하였다.

이상의 결과를 종합할 때, 고열처리 전복껍질 추출물(H300)은 재료학적 특성 변화와 세포 수준의 기전, 인체 피부적용 결과를 통해 지루성 피부 개선 기능성 화장품 소재로서의 활용 가능성을 제시한다.

특히 전복껍질 유래 피부 개선 소재는 아직 제품 개발과 임상 검증 사례가 거의 없는 분야로, 본 연구는 고열처리 공정을 적용한 전복껍질 추출물의 구조적 변화, 기전적 가능성, 인체 효능을 통합적으로 제시한 선행 연구라는 점에서 학문적·산업적 차별성을 갖는다.

4.2 연구의 한계점 및 제언

본 연구는 고열처리 전복껍질 추출물(H300)의 지루성 피부 개선 효과를 인체 적용 시험 중심으로 검증하고, 구조 분석 및 세포 실험을 통해 그 기전을 보조적으로 제시했다는 점에서 의미가 크다. 그러나 다음과 같은 한계가 존재하며, 향후 연구를 통해 보완될 필요가 있다.

첫째, 본 연구의 인체 적용 시험은 2주간의 단기 적용을 기준으로 수행되었다. 지루성 피부는 계절 변화, 생활습관, 스트레스 등 다양한 요인에 의해 변동성이 큰 피부 상태이므로, 보다 장기간의 도포 연구와 추적 관찰이 필요하다. 특히 피지 분비나 염증성 병변은 주기적 변동이 존재하므로, 4주 이상 장기 적용 시험을 통해 개선 지속성 및 재발 억제 효과를 확인할 필요가 있다.

둘째, 본 연구는 20대 남성이라는 비교적 균질한 피험자군을 대상으로 하였기 때문에 연령대, 성별, 피부 타입에 따른 차이를 평가하기 어렵다는

한계가 있다. 지루성 피부는 호르몬·유전적 영향이 큰 만큼, 중·장년층, 여성, 심한 민감 지성 피부 등 다양한 집단에서 적용 가능성을 검토할 필요가 있다.

셋째, H300의 열처리 조건은 300 °C, 30 min로 고정하여 분석하였으나, 실제 산업 응용에서는 온도·시간·전처리 방식·입도 등 공정 조건에 따라 물성 변화 폭이 크게 달라질 수 있다. 따라서 제조 공정의 최적화 및 반복 제조 시의 물성 재현성 확보가 후속 연구에서 중요한 과제가 될 것이다.

넷째, *In vitro* 실험은 H300의 기전적 가능성을 제시하는 보조 자료로 활용되었으나, 세포·조직 수준이 실제 인체 환경을 완전히 대변하지는 못한다. Ca²⁺ 농도 구배, 피지선-표피-면역세포 간 교차신호, 미생물 변화 등 지루성 피부의 다층 구조적 특성을 반영한 3D 피부 모델 또는 피부 마이크로바이옴 기반 분석이 추가된다면 H300의 기전적 이해가 더욱 명확해질 것이다.

마지막으로, 전복껍질 유래 소재는 천연물 기반 원료로서 원재료의 지역·계절·환경적 편차가 존재할 수 있다. 따라서 원재료의 표준화, 성분 편차 관리, 장기 안전성 검증 등 화장품 소재 개발에 필요한 규격화 과정이 추가적으로 요구된다.

이상의 한계점에도 불구하고, 본 연구는 고열처리 전복껍질 추출물(H300)이 지루성 피부 개선을 위한 기능성 화장품 소재로 활용 가능하다는 임상적·기전적 근거를 종합적으로 제시하였다. 향후 연구에서는 보다 다양한 피부 조건에서의 적용성과 공정 최적화를 통해 H300의 학문적·산업적 활용성을 확대할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. 국내문헌

- 김경호. (2011). 전복추출물을 함유하는 화장품 조성물 및 이의 제조방법. 대한민국 특허 제10-1027447호.
- 김민정, 유채목. (2020). 장기간 마스크 착용이 피부미용행동에 미치는 영향 연구: COVID-19 대유행 기간을 중심으로. 『한국인체미용예술학회지』, 21(3), 17-35.
- 김아름, 김수나, 이현기, 전병배, 박원석. (2012). 각질형세포와 피지선세포 공배양을 통한 지루성 피부염 억제 소재 연구. 『대한화장품학회지』, 38(4), 311-319.
- 김은주. (2022). 간호대학생 수면의 질 영향요인: 우울, 수면 전 스마트폰 사용행태, 학업 성적을 중심으로. 『한국콘텐츠학회논문지』, 22(8), 640-647.
- 대한피부과학회. (2022). 『지성·지루성 피부 관리 및 기능성 원료 동향』. 대한피부과학회 학술자료집.
- 박영숙, 류화라, 재갈성아. (2006). 젊은 여성에서 영양상태와 피부지성화의 관련성. 『대한지역사회영양학회지』, 11(5), 587-597.
- 배성은. (2021). 코로나19로 인한 마스크 착용이 성인들의 피부상태 및 피부관리 행태에 미치는 영향. 대구한의대학교 한방산업대학원 석사학위논문.
- 이보미. (2014). 피지관리 및 모공개선용 화장료의 안전성 및 인체 효능 평가. 건국대학교 대학원 박사학위논문.
- 이상은. (2018). Skin barrier and calcium. 『Annals of Dermatology』, 30(3), 265-275.
- 이수진, 정혜경. (2021). 코로나19 마스크 착용이 피부 상태에 미치는 영향. 『대한화장품학회지』, 47(3), 201-210.
- 차재훈, 남혜정, 김윤범, 김희정, 박외숙, 김규석. (2006). 지루성 피부염

- 의 최신 지견. 『대한한방안ibi인후피부과학회지』, 19(3), 118-133.
- 최재욱, 박재희. (2020). 해양 부산물의 기능성 화장품 적용 가능성. 『대한화장품학회지』, 46(4), 333-345.
- 코트라(KOTRA). (2024). 『2024년 1분기 한국 화장품 수출 동향』. 서울: 대한무역투자진흥공사.
- 한국피부과학연구소. (2023). 『기능성 화장품 소재 트렌드 보고서』. 한국 피부과학연구소.
- 해양수산부. (2022). 『수산부산물 재활용 촉진에 관한 법률 시행에 관한 안내』. 해양수산부 보도자료(2022-06-30).

2. 국외문헌

- Agarwal, R., Dominguez, J. X., Krishnamurthy, S., & Aparicio, C. (2014). Surface modification of nacre for improved biological performance. *Materials Science and Engineering C*, 39, 78-85.
- Bikle, D. D., Xie, Z., & Tu, C. L. (2012). Calcium regulation of keratinocyte differentiation. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 7(4), 461-472.
- Bocheva, G., Slominski, R. M., & Slominski, A. T. (2023). Environmental air pollutants affecting skin functions with systemic implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), 10502.
- Borda, L. J., & Wikramanayake, T. C. (2015). Seborrheic dermatitis and dandruff: A comprehensive review. *Journal of Clinical and Investigative Dermatology*, 3(2), 10.
- Fonseca, S., Amaral, M. N., Pinto Reis, C., & Custódio, L. (2023). Marine natural products as innovative cosmetic ingredients. *Marine Drugs*, 21(3), 170.
- Ge, L., et al. (2025). Clinical evaluation of sebum and redness reduction using salicylic-based formulations. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 24(1), 55-63.
- Goodwin, A. L., & Lindberg, F. (2015). Calcite decomposition and microstructural transitions during thermal processing of CaCO₃-based biomaterials. *Journal of the American Ceramic Society*, 98(4), 1352-1360.
- Grand View Research. (2024). *Cosmetics Market Size, Share & Trends Analysis Report, 2024-2030*. Grand View Research.
- Jourdain, R., et al. (2016). Exploration of scalp surface lipids reveals squalene peroxide as a potential actor in dandruff condition.

Archives of Dermatological Research, 308(3), 153-163.

- Kim, E. A., et al. (2024). Abalone viscera extract attenuates UVB-induced skin inflammation by regulating MAPKs and NF- κ B pathways. *Foods*, 13(18), 2902.
- Kuanpradit, C., et al. (2017). Anti-photoaging activity of abalone viscera extract via suppression of MAPK/NF- κ B signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1466.
- Lozada, M., et al. (2025). Zinc-based treatment for seborrheic skin: A randomized clinical study. *Dermatology and Therapy*, 35(2), 122-134.
- Navarro Triviño, F. J., Velasco Amador, J. P., & Rivera Ruiz, I. (2025). Seborrheic dermatitis revisited: Pathophysiology, diagnosis, and emerging therapies. *Biomedicines*, 13(10), 2458.
- Papadopoulou, A., Katsamenis, O. L., & Papandreou, M.-A. (2025). Marine-derived bioactive compounds as cosmetic ingredients for skin health: A review. *Marine Drugs*, 23(1), 15.
- Piacentini, F., et al. (2025). Seborrheic dermatitis: Exploring the complex interplay with *Malassezia*. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(6), 2650.
- Pratama, R., et al. (2022). Marine by-products as potential cosmetic ingredients. *Journal of Applied Phycology*, 34, 1123-1136.
- Rodríguez-Navarro, C., Ruiz-Agudo, E., Luque, A., Rodríguez-Navarro, A. B., & Ortega-Huertas, M. (2009). Thermal decomposition of calcite: Mechanisms of formation and textural evolution of CaO nanocrystals. *American Mineralogist*, 94(4), 578-593.
- Rotter, A., et al. (2024). Marine by-products as a source of bioactive compounds for cosmeceutical applications: A circular economy perspective. *Marine Drugs*, 22(4), 215.

- Sadati, S., et al. (2024). Evaluation of antifungal botanical agents for seborrheic dermatitis. *Mycoses*, 67(1), 45-57.
- Schwartz, J. R., et al. (2013). A comprehensive pathophysiology of dandruff and seborrheic dermatitis. *Acta Dermato-Venereologica*, 93(2), 131-137.
- Siahaan, E. A., Widodo, N., & Kim, H.-R. (2022). Potential cosmetic active ingredients derived from marine by-products. *Marine Drugs*, 20(12), 734.
- Thaweekitphathanaphakdee, N., et al. (2019). Abalone collagen peptide promotes keratinocyte migration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 476-485.
- Thompson, J. B., et al. (2000). Structural transitions in heat-treated calcium carbonate bioceramics. *Journal of Materials Science*, 35(15), 3791-3799.
- Tu, C. L., Oda, Y., Komuves, L., & Bikle, D. D. (2004). The role of the calcium-sensing receptor in epidermal differentiation. *Cell Calcium*, 35(3), 265-273.
- Yoshioka, S., Kitahara, S., & Yamamoto, T. (1985). Thermal stability and phase transition of aragonite and calcite in mollusk shells. *Journal of Crystal Growth*, 74(1), 139-146.
- Zeng, L., Wang, X., & Li, Q. (2024). Nacre-inspired biomaterials for skin regeneration: Structural and functional advances. *Bioactive Materials*, 29, 123-139.

부 록

【서식 50-1】

심의결과 통보서

2025년 8월 28일에 접수된 신속심의 신청 건에 대하여 생명윤리위원회에서 심의하여 다음과 같이 결정하였음을 통지합니다.

접수번호	202509-HR-001-01					
연구과제명	고열처리한 전복껍질 추출물의 염증 완화 효과					
버전정보	연구계획서			증례기록서		동의서
	ver.1.0			-		ver.1.0
연구책임자	성명	김규량	소속	뷰티디자인매니지먼트	직위	박사과정
심의일자	2025.08.28.~09.03.		심의절차	<input type="checkbox"/> 정규심의 <input checked="" type="checkbox"/> 신속심의		
심의 관련 회의의 차수	-					
심의위원회	한성대학교 생명윤리위원회					
심의종류	<input checked="" type="checkbox"/> 신규심의 <input type="checkbox"/> 재심의 <input type="checkbox"/> 변경심의 <input type="checkbox"/> 지속심의 <input type="checkbox"/> 기타()					
심의결과	<input checked="" type="checkbox"/> 승인 <input type="checkbox"/> 수정후승인 <input type="checkbox"/> 수정후신속심의 <input type="checkbox"/> 수정후정규심의					
	<input type="checkbox"/> 반려 <input type="checkbox"/> 중지 <input type="checkbox"/> 조기종료					
	<input type="checkbox"/> 그 밖에 위원회가 심의를 거쳐 필요하다고 판단한 조치(주의, 경고, 교육이수의무부과 등)					
서면동의면제 가능 여부	<input checked="" type="checkbox"/> 해당없음 <input type="checkbox"/> 가능 <input type="checkbox"/> 불가능					
위험수준 판단결과	<input checked="" type="checkbox"/> 최소위험 : 최소 위험 이하 <input type="checkbox"/> 중도위험 : 최소 위험 이상 <input type="checkbox"/> 고도위험 : 높은 위험					
연구예정기간	생명윤리위원회 승인일 ~ 2025년 11월 30일					
승인일자	최종 승인 후 결정	승인 유효기간	2025. 09. 03.~ 2026. 09.02. ※ 승인유효기간은 최대 1년까지임			
		지속심의 주기	<input checked="" type="checkbox"/> 해당없음 <input type="checkbox"/> 면제 <input type="checkbox"/> ()개월마다			
승인번호	70094841-202509-HR-001-01					
심의의견 및 권고사항	<ul style="list-style-type: none">본 연구는 화장품 제형을 활용하여 피부의 홍반 지수, 수분도, 탄력도 등을 측정하는 과정에서 최소 수준의 위험만을 수반하며, 예상되는 부작용도 경미한 피부 자극이나 가려움 정도에 그칠 것으로 판단됨연구 설계 상 사전 평가, 중재, 사후 평가 및 분석이 적절히 이루어져 있으며, 연구 대상자 선정 및 관리에 충분한 주의가 기울여진 것으로 확인됨화장품의 효과를 규명하기 위한 연구로서 비침습적 시술행위로 인체에 미치는 영향이 크지 않다고 판단됨 → 상기 연구과제의 제출 서류에 대해 심의한 결과 '승인'으로 결정함 ※ 【붙임 1】 연구자 준수사항을 참고하여 연구를 수행하기를 권고함					

발급일자: 2025년 9월 3일

한성대학교 생명윤리위원회 위원장 (인)



연구참여자 설문지 (사용전)

응답자 식별코드	번호	
설문 시기	<input checked="" type="checkbox"/> 사용전(0주) <input type="checkbox"/> 사용후(2주)	
측정 부위	<input type="checkbox"/> 볼 <input type="checkbox"/> 이마 <input type="checkbox"/> 턱 <input type="checkbox"/> 기타()	
작성일시	2025년 월 일 / 시 분	

기본 정보			
연 령	만	세	성 별 <input type="checkbox"/> 여성 <input type="checkbox"/> 남성
피부 타입(자기평가)	<input type="checkbox"/> 건성 <input type="checkbox"/> 중성 <input type="checkbox"/> 지성 <input type="checkbox"/> 복합성 <input type="checkbox"/> 민감성		
최근 4주 내 피부 시술/치료	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음(종류:)		
전복/패류 및 화장품 성분 알레르기	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음()		

A. 염증 전반(홍반·가려움·따가움 포함) 정도										
전혀없음 (0)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	아주심함 (10)
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B. 피지 전반(번들거림, 유분 포함) 정도										
전혀없음 (0)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	아주심함 (10)
<input type="checkbox"/>										

C. 전반적 피부 상태에 만족도				
전혀 아니다 (1)	아니다 (2)	보통이다 (3)	그렇다 (4)	매우 그렇다 (5)
<input type="checkbox"/>				

D. 전반적인 피부 상태				
매우 악화 (1)	악화 (2)	변화 없음 (3)	호전 (4)	많이 호전 (5)
<input type="checkbox"/>				

- 본 설문은 연구 목적 외에는 사용되지 않으며, 익명화되어 분석됩니다.
- 불편감이 있거나 중단을 원하시면 언제든지 말씀해 주세요. 중단해도 불이익은 없습니다.

연구참여자 설문지 (사용후)

응답자 식별코드	번호	
설문 시기	<input type="checkbox"/> 사용전(0주) <input checked="" type="checkbox"/> 사용후(2주)	
측정 부위	<input type="checkbox"/> 볼 <input type="checkbox"/> 이마 <input type="checkbox"/> 턱 <input type="checkbox"/> 기타()	
작성일시	2025년 월 일 / 시 분	

기본 정보			
연 령	만	세	성 별 <input type="checkbox"/> 여성 <input type="checkbox"/> 남성
피부 타입(자기평가)	<input type="checkbox"/> 건성 <input type="checkbox"/> 중성 <input type="checkbox"/> 지성 <input type="checkbox"/> 복합성 <input type="checkbox"/> 민감성		
최근 4주 내 피부 시술/치료	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음(종류:)		
전복/패류 및 화장품 성분 알레르기	<input type="checkbox"/> 없음 <input type="checkbox"/> 있음()		

A. 염증 전반(홍반·가려움·따가움 포함) 정도										
전혀없음 (0)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	아주심함 (10)
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

B. 피지 전반(번들거림, 유분 포함) 정도										
전혀없음 (0)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	아주심함 (10)
<input type="checkbox"/>										

C. 전반적 피부 상태에 만족도				
전혀 아니다 (1)	아니다 (2)	보통이다 (3)	그렇다 (4)	매우 그렇다 (5)
<input type="checkbox"/>				

D. 전반적인 피부 상태				
매우 악화 (1)	악화 (2)	변화 없음 (3)	호전 (4)	많이 호전 (5)
<input type="checkbox"/>				

E. (사용 중) 자극 / 트러블이 있었나요?	
예	아니오
<input type="checkbox"/> 증상: / 발생일: / 지속기간:	<input type="checkbox"/>

- 본 설문은 연구 목적 외에는 사용되지 않으며, 익명화되어 분석됩니다.
- 불편감이 있거나 중단을 원하시면 언제든지 말씀해 주세요. 중단해도 불이익은 없습니다.

ABSTRACT

Seborrheic Skin-Improving Effects of High-Temperature-Processed Abalone Shell Extract as a Cosmetic Ingredient

Kim, Gyu Rang

Major in Beauty Design Management

Dept. of Media Design

The Graduate School

Hansung University

This study evaluated the skin-improving and sebum-regulating efficacy of a high-temperature-processed abalone shell extract (H300) and assessed its potential as a functional cosmetic ingredient through integrated material characterization, cellular mechanistic studies, and a human application test. Although abalone shell-derived materials have attracted interest as potential bioactive ingredients, no cosmetic products utilizing abalone shell extracts have been commercialized, and human efficacy data remain extremely limited. A two-week clinical study was conducted in male participants in their twenties who exhibited tendencies toward seborrheic skin, during which H300 or a non-heated extract (NH300) was applied twice daily. Compared with NH300, the H300-treated group showed faster

and more consistent improvements in key parameters associated with seborrheic skin, including increased hydration, reduced sebum secretion, attenuated erythema, and diminished inflammatory signs. Region-of-interest and high-magnification imaging analyses also demonstrated improvements in pore appearance, keratin accumulation, color homogeneity, and skin sensitivity, with higher subjective satisfaction in the H300 group.

Cell-based mechanistic studies were consistent with these clinical findings. In keratinocytes, H300 inhibited stress-induced apoptosis and inflammatory signaling while restoring antioxidant capacity. In sebocytes, H300 modulated lipid-metabolic pathways centered on hormone-sensitive lipase, perilipin, AMPK, and PKA, ultimately suppressing lipid synthesis. In macrophages, H300 reduced pro-inflammatory M1 polarization and enhanced anti-inflammatory M2 polarization, suggesting a regulatory effect on the cutaneous immune microenvironment.

Material characterization revealed that high-temperature processing transformed the crystalline architecture of abalone shell from needle-like structures into polyhedral microcrystals and produced a calcite-dominant, highly ordered phase with substantially increased and sustained Ca^{2+} release. This enhanced calcium release may contribute to keratinocyte differentiation, epidermal barrier formation, and the modulation of inflammatory responses.

Overall, H300 produced clinically meaningful improvements in seborrheic skin, supported by mechanistic and material-level evidence. Given that abalone shell-based cosmetic ingredients have not yet been commercialized and human efficacy studies are scarce, this study provides foundational evidence for H300 as a promising functional ingredient for seborrheic and oily skin and underscores the

need for further long-term and diversified investigations.

【Key words】 high-temperature-processed abalone shell extract; H300; calcium release; seborrheic skin; sebum regulation; skin hydration; anti-inflammatory activity; functional cosmetic ingredient