

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국



(43) 국제공개일
2012년 1월 19일 (19.01.2012)

PCT

(10) 국제공개번호
WO 2012/008776 A2

- (51) 국제특허분류:
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2011/005191
- (22) 국제출원일: 2011년 7월 14일 (14.07.2011)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2010-0067781 2010년 7월 14일 (14.07.2010) KR
10-2010-0067780 2010년 7월 14일 (14.07.2010) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여):
(주)아모레퍼시픽 (AMOREPACIFIC CORPORATION) [KR/KR]; 서울 용산구 한강로 2가 181번지,
140-777 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 권순상 (KWON, Sun Sang) [KR/KR]; 경기도 용인시 수지구 상현 1동 성원
쌍떼빌 3차 228동 1204호, 448-519 Gyeonggi-do

(KR). 이진영 (LEE, Jin Young) [KR/KR]; 경기도 용인
시 기흥구 공세동 탑실마을대주피오레 1단지아파트
109동 2103호, 446-783 Gyeonggi-do (KR). 정한순
(CHUNG, Han Sun) [KR/KR]; 서울 관악구 청룡동
1560-62 풍림아이원 201동 902호, 151-058 Seoul
(KR). 김소연 (KIM, So Yeon) [KR/KR]; 경기도 용인
시 기흥구 보정동 동아솔레시티아파트 112동 802호,
446-940 Gyeonggi-do (KR). 안성준 (AN, Sung Jun)
[KR/KR]; 경기도 부천시 소사구 범박동 현대홈타운
아파트 603동 1201호, 422-756 Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 윤동열 (YOON, Dong Yol); 서울 금천구 가산
동 505-18번지 에이스하이엔드타워 5차 3층 윤동
열 합동 특허 법률 사무소, 153-803 Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의
국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,

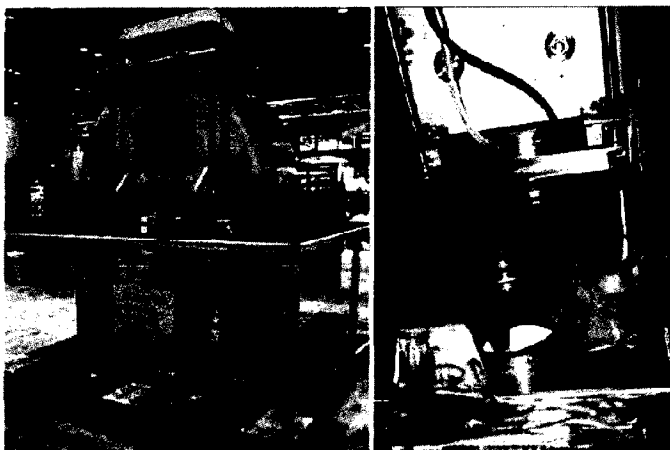
[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR PREPARING BROUSSONETIA KAZINOKI EXTRACTS, BROUSSONETIA KAZINOKI EXTRACTS PREPARED BY THE METHOD, AND COSMETIC COMPOSITION COMPRISING THE EXTRACTS

(54) 발명의 명칭 : 닥나무 추출물을 제조하는 방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물

도면

【도 1】



fermentation strain or a predetermined amount of salt, and extracting the fermented Broussonetia kazinoki or extracts thereof using a solvent, to thereby prevent the propagation of various bacteria such as putrefactive bacteria, colon bacteria and anaerobic bacteria, which are harmful to the human body, remove offensive odors, and improve skin-whitening, anti-aging, anti-wrinkle, skin-moisturizing, and skin-elasticity-enhancing effects as compared to conventional extracts. The present invention also relates to fermented extracts prepared by the method, and to a cosmetic composition comprising the fermented extracts.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]

WO 2012/008776 A2



OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) **지정국** (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서 없이 공개하며 보고서 접수 후 이를 별도 공개함 (규칙 48.2(g))

본 발명은 닥나무 추출물의 제조방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 닥나무 또는 그 추출물을 초고압, 초임계 또는 오일추출법으로 추출함으로써 유효성분을 증대시켜 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과를 높이는 닥나무 추출물의 제조방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 닥나무 또는 그 추출물의 발효방법, 그 발효 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 닥나무 또는 그 추출 물을 자연발효시키거나, 발효균주 또는 일정량의 소금을 첨가하여 발효시킨 후 이 를 용매로 추출함으로써 인체에 유해한 부패균, 대장균 및 혐기성 세균 등의 잡균 의 번식을 막고 악취 등을 없애고 기존의 추출물 보다 미백, 항노화, 항주름, 보습 또는 탄력 개선 효과를 높이는 닥나무 또는 그 추출물의 발효방법, 그 발효 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

【명세서】**【발명의 명칭】**

닥나무 추출물을 제조하는 방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물

【기술분야】

본 발명은 닥나무 추출물의 제조방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 닥나무 또는 그 추출물을 초고압, 초임계 또는 오일추출법으로 추출함으로써 유효성분을 증대시켜 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

또한, 본 발명은 닥나무 또는 그 추출물을 자연발효 또는 발효 균주나 일정량의 소금을 첨가하여 발효시킨 후 이를 용매로 추출함으로써 인체에 유해한 부패균, 대장균 및 혐기성 세균 등의 잡균의 번식을 막고 악취 등을 제거하는 발효방법에 관한 것이다.

그리고 이로써 기존의 추출물보다 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과를 높이는 닥나무 추출물의 제조방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물, 또는 닥나무 또는 그 추출물의 발효방법, 그 발효 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

【배경기술】

본 발명은 닥나무 추출물의 제조방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는 닥나무 또는 그 추출물을 초고압, 초임계 또는 오일추출법으로 추출함으로써 유효성분을 증대시켜 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

또한, 본 발명은 닥나무 또는 그 추출물을 자연발효 또는 발효 균주나 일정량의 소금을 첨가하여 발효시킨 후 이를 용매로 추출함으로써 인체에 유해한 부패균, 대장균 및 혐기성 세균 등의 잡균의 번식을 막고 악취 등을 제거하는 발효방법에 관한 것이다.

그리고 이로써 기존의 추출물보다 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과를 높이는 닥나무 추출물의 제조방법, 그에 의해 제조된 닥나무 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물, 또는 닥나무 또는 그 추출물의 발효방법, 그 발효 추출물 및 이를 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

【발명의 상세한 설명】**【기술적 과제】**

본 발명자들은 닥나무 추출물 내 유효성분의 함량을 높이기 위한 방안을 연구한 결과, 초고압, 초임계 또는 오일 추출법으로 닥나무를 추출할 경우 및 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과가 우수함을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다. 또한, 닥나무 또는 그 추출물을 자연발효시키거나, 발효 균주 또는 일정량의 소금을 첨가하여 발효시킨 후 이를 용매로 추출한 닥나무 발효 추출물도 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과가 우수함을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

따라서, 본 발명의 목적은 닥나무 추출물 내 유효성분의 함량을 높이기 위한 닥나무 추출물의 제조방법을 제공하는 것 및 상기 방법으로 제조한 닥나무 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

또한, 본 발명의 목적은 닥나무 추출물 내 유효성분의 함량을 높이기 위한 닥나무 또는 그 추출물의 발효방법 및 그 발효 추출물을 제공하는 것이다.

【기술적 해결방법】

상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명에서는 닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 및 열매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 초고압, 초임계 또는 오일 추출법으로 추출하는 단계를 포함하는 닥나무 추출물의 제조방법 및 상기 방법으로 제조한 닥나무 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다.

또한, 본 발명에서는 닥나무 또는 그 추출물을 자연발효, 균발효 또는 염장 발효시키는 발효방법 및 상기 방법으로 얻은 닥나무 발효 추출물을 제공한다.

【유리한 효과】

본 발명에 의한 방법으로 추출된 닥나무 추출물은 유효성분의 증대로 인해 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과가 우수하였다.

또한, 본 발명에 의한 방법으로 발효된 닥나무 발효 추출물도 유효성분의 증대로 인해 미백, 항노화, 항주름, 보습 및 탄력 개선 효과가 우수하였으며, 염장 발효 추출물의 경우 인체에 유해한 대장균 또는 혐기성 세균 등에 의한 부패 및 오염을 방지할 수 있었다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명에서 사용한 초고압기의 단면도이다.

도 2는 본 발명에서 사용한 초고압기의 사진이다.

도 3은 소금이 유해 미생물의 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 대장균(*Escherichia coli* ATCC 8739), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) 및 황색포도상 구균(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) 배양 시 천일염을 용액을 도말

한 후 저해환 생성 여부를 확인한 결과를 보여준다.

【발명의 실시를 위한 최선의 형태】

본 발명은 초고압, 초임계 또는 오일 추출법으로 닥나무 추출물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

이하 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

본 발명은 초고압, 초임계 또는 오일 추출법으로 닥나무 추출물을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 본 발명에 의한 추출방법은 닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 및 열매 중 적어도 하나를 물 또는 C1 내지 C5의 저급 알코올을 첨가하여 10~90℃에서 4~24시간 동안 유효성분을 추출하는 단계; 및 상기 추출물을 초고압, 초임계 또는 오일 추출법으로 가공하는 단계를 포함할 수 있으며, 상기 초고압, 초임계 또는 오일 추출법은 상기 추출 단계와 동시 또는 순차적으로 진행될 수 있고, 저급 알코올을 이용한 추출 과정은 생략할 수도 있다.

본 발명의 일 실시예에서 초고압 기술을 이용하여 닥나무 추출물을 제조할 수 있다. 예를 들면 닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 또는 열매를 20~50℃에서 50~300 Mpa의 압력으로 10~20분간 초고압 처리하여 추출할 수 있으며, 바람직하게는 25~35℃에서 70 내지 200 Mpa의 압력으로 10분 내지 15분간 초고압 처리한다.

본 발명의 일 실시예에서는 도 1 및 도 2에 도시된 구성을 갖는 초고압기를 사용하여 초고압 처리할 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 도 1에서 상기 초고압기는 실린더(cylinder) 부위, 실린더부의 피가압물을 담은 프로세싱 챔버(Processing Chamber), 가압 피스톤(Pressuring Piston), 실린더 외부의 온도를 조절하는 물 순화 재킷(Water circulation jacket) 및 오일 펌프 등으로 구성되며, 랩 스케일(Lab scale)에서는 HHP의 최대압력(max. pressure)이 600 Mpa이고 작용 부피(Working volume)가 0.6 ℓ 정도이며, 산업적으로 상용 가능한 정도는 파일럿-스케일(Pilot-scale) UHP 설비(35 L)로서 최대압력이 2,000 Mpa이고 작용 부피가 35 ℓ 까지 가능하다.

또한 본 발명의 일 실시예에서는 초임계 기술을 이용하여 닥나무 추출물을 제조할 수 있다. 이때, 초임계 유체로는 이산화탄소, 질소, 아산화질소, 메탄, 에틸렌, 프로판 및 프로필렌 등을 사용할 수 있으며, 바람직하게는 초임계 이산화탄소를 사용하는 것이 좋다. 초임계 유체 중 이산화탄소는 그 임계 압력이 73.8 bar이고 임계 온도가 31.1℃로 낮아 일반적으로 초임계 조건을 만들기가 쉽고, 이산화

탄소 자체에 독성이 없으며 비용이 저렴하기 때문이다.

상기 초임계 추출 조건은 20~40℃, 70~200 bar의 압력 하에서 초임계 유체를 가하여 추출하는 것이 바람직하다. 추출온도가 20℃ 이상일 때 추출효율이 증대되며, 40℃를 초과하면 추출효율은 높지만 그 이하와 비교하여 추출효율의 증대가 없다. 또한, 기압이 70 bar 이상일 때 추출효율이 증대되며, 200 bar를 초과하면 그 이하의 기압일 때와 비교하여 추출효율의 증대가 없다.

본 발명의 일 실시예에서는 오일추출법을 통해 닥나무 추출물을 제조할 수 있다. 예를 들면, 닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 또는 열매에 콩기름, 참기름 등의 식물유를 첨가하여 40~70℃, 2~10 bar 압력에서 2~12시간 동안 추출할 수 있다.

또한, 본 발명은 상기 방법에 의한 제조된 닥나무 추출물을 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~90 중량%, 바람직하게는 0.001~50 중량%로 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 또한 본 발명에 의한 화장료 조성물은 미백, 항노화, 항주름, 보습 또는 탄력 개선용임을 특징으로 한다.

한편, 나아가 본 발명은 닥나무 추출물 내 유효성분의 함량을 높이기 위하여 닥나무 또는 그 추출물을 발효시키는 방법에 관한 것이다.

본 발명에서는 닥나무 또는 그 추출물을 당업계에 잘 알려진 통상적인 방법으로 발효시킬 수 있다. 이때, 닥나무 추출물은 당업계에 잘 알려진 방법으로 물 또는 에탄올로 추출하여 제조할 수 있다. 예를 들면, 닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 또는 열매에 물 또는 에탄올을 첨가하여 10~90℃에서 4~24시간 동안 추출하여 제조할 수 있고, 바람직하게는 물을 사용할 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

이하, 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

본 발명은 닥나무 또는 그 추출물을 자연발효시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 일 실시예에서 상기 닥나무 또는 그 추출물은 당 성분과 혼합하여 용기 등의 용기에 담아 인위적인 조작 없이 자연 발효시켜 제조할 수 있다. 이때, 사용 가능한 당 성분은 특별히 한정되지 않으며, 예를 들면, 자당, 자일리톨, 올리고당, 식이섬유, 에리스리톨, 포도당 또는 과당 등이 사용될 수 있다. 상기 당 성분은 전체 발효물 총 중량에 대하여 1 내지 10 중량%로 혼합되는 것이 바람직하고, 햇별이

잘 드는 사계절의 자연환경에서 30일 내지 6년, 바람직하게는 6개월 이상 발효시킨다.

또한 본 발명은 닥나무 또는 그 추출물을 균발효시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 일 실시예에서 상기 닥나무 또는 그 추출물은 효모균, 버섯균, 유산균, 누룩균 또는 바실러스속균(고초균) 등 당업계에 잘 알려져 있는 유용한 발효 균주를 접종하여 10~60℃에서 18시간 내지 100일 정도 발효시킬 수 있다. 이때, 닥나무에 직접 발효 균주를 접종하여 발효시킨 후 이를 다시 물 또는 에탄올 등으로 추출할 수도 있고, 기존 닥나무 추출물에 발효 균주를 접종하여 발효물을 얻을 수도 있다.

본 발명에서 사용하는 효모균은 사카로마이세스(*Saccharomyces sp.*), 스킴조사카로마이세스(*Schizosaccharomyces sp.*), 토룰로프시스(*Torulopsis sp.*), 로도톨라(*Rhodotorula sp.*) 또는 칸디다(*Candida sp.*) 등을 들 수 있으며, 버섯균은 식용으로 가능한 버섯균이라면 어느 것이나 가능하나, 바람직하게는 차가버섯(*Inonotus-obliquus*), 동충하초균류(*Cordyceps sinensis*, *Paecilomyces japonica*), 송이버섯(*Tricholomamatsutake*), 상황버섯(*Phellinus linteus*) 또는 영지버섯(*Ganoderma lucidum*) 등을 사용할 수 있다. 또한 유산균은 락토바실러스(*Lactobacillus sp.*), 스트렙토코쿠스(*Streptococcus sp.*), 류코노스톡(*Leuconostoc sp.*) 또는 비피도박테리아(*Bifidobacteria sp.*) 등을 들 수 있으며, 누룩균은 라이조푸스(*Rhizopus*), 우사미(*Usami*) 및 오리재(*Oryzae*), 아스퍼질러스 오리재(*Aspergillus oryzae*) 또는 아스퍼질러스 소재(*Aspergillus sojae*) 등을 들 수 있고, 바실러스속균(고초균)은 바실러스 리체니포르미스(*Bacillus licheniformis*) F1017, 바실러스 리체니포르미스(*Bacillus licheniformis*) F1232, 바실러스 리체니포르미스(*Bacillus licheniformis*) F1267, 바실러스 리체니포르미스(*Bacillus licheniformis*) F1268, 바실러스 리체니포르미스(*Bacillus licheniformis*) F1200, 바실러스 푸미루스(*Bacillus pumilus*) F1337, 바실러스 소노렌시스(*Bacillus sonorensis*) F1005, 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) F1236 또는 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) F1279 등을 들 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

본 발명의 일 실시예에서 효모를 사용하여 발효시킬 경우, 닥나무 또는 그 추출물이 함유된 기본 배지에 일정한 농도(약 10^5 내지 10^7 cell/mL)로 효모를 접종하여 pH 5.5~6.5, 온도 25~50℃, 통기량 0.05~0.5 VVM의 조건을 유지하면서 배

양한 후, 이 발효액을 원심분리하여 고분자 침전물과 효모균체를 제거함으로써 닥나무 발효 추출물을 수득할 수 있다. 배양 시간은 24 내지 120 시간이 바람직하다.

또한, 본 발명의 일 실시예에서 버섯균을 사용하여 발효시킬 경우, 닥나무 또는 그 추출물에 버섯균을 접종하여 온도 18~25℃, 습도 60~80%의 조건을 유지하면서 배양한 후, 물이나 탄소수 1~4의 무수 또는 함수 저급 알코올(예를 들어, 메탄올, 에탄올, 프로판올 및 부탄올 등), 상기 저급 알코올과 물의 혼합 용매, 아세톤, 에틸아세테이트, 클로로포름, 1,3-부틸렌글리콜, 헥산 또는 디에틸에테르 중 1종 이상을 이용하고, 50~100℃, 1~5시간 동안 가열하여 감압 농축하여 닥나무 발효 추출물을 수득할 수 있다. 배양 시간은 1일 내지 100일이 바람직하다.

또한, 본 발명의 일 실시예에서 유산균을 사용하여 발효시킬 경우, 닥나무 또는 그 추출물이 함유된 기본 배지에 일정한 농도(약 10^5 내지 10^7 cell/mL)로 유산균을 접종하여 pH 6.5~7.5, 온도 25~50℃, 통기량 1VVM의 조건을 유지하면서 배양한 후, 이 발효액을 원심분리하여 고분자 침전물과 유산균체가 제거된 닥나무 발효 추출물을 수득할 수 있다. 배양 시간은 24 내지 120 시간이 바람직하다.

또한, 본 발명의 일 실시예에서 누룩균을 사용하여 발효시킬 경우, 닥나무 또는 그 추출물에 누룩균을 접종하여 온도 15~45℃의 조건을 유지하면서 배양한 후, 이 발효액을 원심분리하여 고분자 침전물과 누룩균체가 제거된 닥나무 발효 추출물을 수득할 수 있다. 배양 시간은 18 내지 120 시간이 바람직하다.

또한, 본 발명의 일 실시예에서 바실러스속균을 사용하여 발효시킬 경우, 닥나무 또는 그 추출물이 함유된 기본 배지에 일정한 농도(약 10^5 내지 10^7 cell/mL)로 바실러스속균을 접종하여 온도 10~60℃의 조건을 유지하면서 배양한 후, 이 발효액을 원심분리하여 pH 5.5~8.5, 고분자 침전물과 바실러스균체가 제거된 닥나무 발효 추출물을 수득할 수 있다. 배양 시간은 24 내지 96 시간이 바람직하다.

또한 본 발명은 닥나무 또는 그 추출물을 염장 발효시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 일 실시예에서 상기 닥나무 또는 그 추출물은 1) 닥나무 또는 그 추출물에 일정량의 소금을 첨가하여 장기 숙성 발효시키는 단계; 및 2) 상기 염장 발효물을 물 또는 유기용매로 추출하여 발효 추출물을 수득하는 단계;를 포함하는 염장 발효 방법에 관한 것이다.

상기 1) 단계에서, 염장에 사용되는 소금으로는 정제된 고순도 염화나트륨, 천일염, 암염 및 죽염 등이 바람직하며, 소금의 농도는 전체 발효물에 대하여 10~30 중량%가 바람직하다. 소금의 함량이 10 중량% 미만에서는 기대하는 효과를 발휘

하기가 어렵고, 30 중량%를 초과하면 효과의 변화가 미미하다.

본 발명의 발효공정은 4 내지 40℃ 사이에서 충분한 발효가 일어날 수 있도록 30일에서 1년 정도, 바람직하게는 6개월 내지 1년 정도가 발효시키는 것이 좋다. 4℃ 미만에서는 유용 미생물의 성장이 잘 되지 않고 40℃를 초과할 경우 미생물의 성장이 너무 과하게 일어나 닥나무 또는 그 추출물의 성능에 영향을 미칠 수 있다.

상기 2) 단계에서 사용하는 추출 용매로는 정제수, 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄 및 헥산으로 이루어진 그룹에서 선택된 1종을 단독으로 또는 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 이때, 추출온도는 10 내지 80℃가 바람직하며, 6시간 내지 24시간 동안 추출할 수 있다. 상기 추출온도 및 추출시간을 벗어나면 추출 효율이 떨어지거나 성분의 변화가 생길 수 있다.

본 발명에서는 상기 2) 단계 이후 당업계에 알려진 통상적인 방법으로 상온에서 냉침, 가열 및 여과하여 얻어진 액상물 또는 추가로 용매를 증발, 분무건조 또는 동결건조하여 닥나무의 염장 발효 추출물의 제조할 수 있다.

또한 본 발명은 상기 방법에 의한 제조된 닥나무 발효 추출물을 조성물 총 중량에 대하여 0.0001~90 중량%, 바람직하게는 0.001~50 중량%로 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 또한 본 발명에 의한 화장료 조성물은 미백, 항노화, 항주름, 보습 또는 탄력 개선용임을 특징으로 한다.

【발명의 실시를 위한 형태】

이하, 본 발명의 내용을 실시예 및 시험예를 통하여 보다 구체적으로 설명한다. 이들 실시예는 본 발명의 내용을 이해하기 위해 제시되는 것일 뿐 본 발명의 권리범위가 이들 실시예로 한정되는 것은 아니고, 당업계에서 통상적으로 주지된 변형, 치환 및 삽입 등을 수행할 수 있으며, 이에 대한 것도 본 발명의 범위에 포함된다.

[실시예 1] 초고압 추출물 제조

닥나무 줄기 및 뿌리 1 kg을 깨끗한 물로 씻어 건조시킨 다음 초고압 기계를 세팅하여 초고압 처리를 준비한 후 프로세싱 챔버 부위에 물을 채운 다음 상기에서 준비한 닥나무를 진공팩에 포장한 후 초고압기를 이용하여 50 Mpa 이상의 압력 및 50℃ 이하의 온도에서 1분 이상 처리한 후 실온에서 냉각시킨 후 건조기에서 건조하여 닥나무 추출물을 얻었다.

[실시에 2] 초임계 추출물 제조

닥나무 줄기 및 뿌리 1 kg을 깨끗한 물로 씻어 건조시킨 후 초임계 추출조에 투입한 다음 고압용 기체펌프를 이용하여 추출조에 이산화탄소를 공급하여 압력이 75 bar에 달하면 이산화탄소의 공급을 중단하였다. 온도 제어기를 이용하여 추출조 외부를 감싸고 있는 열선을 통해 추출조 내부의 온도를 2℃/min 속도로 40℃까지 승온하였다. 추출조의 출구에 부착된 압력조절기를 이용하여 이산화탄소를 일부 배출하면서 추출조의 온도와 압력을 34℃, 74 bar로 30분간 유지하였다. 그런 다음 고압용 기체펌프를 재가동하여 2 L/min의 유량으로 이산화탄소를 추출조에 연속적으로 공급하였다. 동시에 출구 쪽에 부착된 압력조절기를 이용하여 추출물을 방출시키며 추출조의 온도와 압력을 34℃ 74 bar로 일정하게 유지하였다. 압력조절기의 온도를 40℃로 유지하면서 압력조절기를 통하여 방출된 방출물은 압력 및 온도강화로 인하여 이산화탄소가 고체 드라이아이스로 전이되었다. 방출된 추출물은 상압으로 감압하여 이산화탄소를 대기로 방출시키고, 닥나무 추출물은 포집기 내로 회수하였다. 위의 과정을 4시간 동안 수행하여 닥나무 추출물을 얻었다.

[실시에 3] 오일 추출물 제조

닥나무 줄기 및 뿌리 1 kg을 깨끗한 물로 씻어 건조시킨 다음 콩기름 10 ℓ에 넣고 냉각콘덴서가 달린 추출기에서 50℃, 2~4 bar 압력에서 4시간 추출한 후 여과지로 여과하였다. 이 추출물을 냉각콘덴서가 달린 증류장치에서 70℃로 감압농축하여 닥나무 오일 추출물을 얻었다.

[비교예 1]

닥나무 줄기 및 뿌리 1 kg을 깨끗한 물로 씻어 건조시킨 다음 물 10 ℓ에 넣고 냉각콘덴서가 달린 추출기에서 5시간 끓여서 추출한 후 300 메쉬 여과포로 여과하고, 5~15℃에서 5일간 방치하여 숙성시킨 후 와트만 2번 여과지로 여과하였다. 이 추출물을 냉각콘덴서가 달린 증류장치에서 80℃로 감압농축하여 71.3 g(건조중량)을 얻었다.

[실시에 4]

비교예 1에서 제조한 닥나무 추출물을 실시에 1과 동일한 방법으로 초고압처리하였다.

[실시에 5]

비교예 1에서 제조한 닥나무 추출물을 실시예 2와 동일한 방법으로 초임계 추출하였다.

[실시에 6]

비교예 1에서 제조한 닥나무 추출물을 실시예 3과 동일한 방법으로 오일 추출하였다.

[시험예 1] 티로시나제 저해 효과

티로시나제 효소는 버섯류(Mushroom)로부터 추출된 것으로 시그마(SIGMA)사의 것을 사용하였다. 먼저 기질인 티로신을 증류수에 용해시켜 0.3 mg/ml의 용액으로 만들고 그 용액을 1.0 ml씩 시험관에 넣은 다음, 여기에 포타슘-포스페이트 완충용액(0.1 mol 농도, pH 6.8) 1.0 ml 및 증류수 0.7 ml를 첨가하였다.

실시에 1~6 및 비교예 1의 추출물을 에탄올 용액에 적당농도로 혼합하여 준비한 각 추출물 시료액 0.2 ml를 반응액에 넣은 다음 37℃ 항온조에서 10분 동안 반응시켰다. 이때 대조군은 각 추출물 대신 용매만을 0.2 ml 넣은 것으로 준비하였고, 양성대조군으로는 아스코르브산을 사용하였다. 이 반응액에 2500 유닛/ml의 티로시나제 용액 0.1 ml씩을 넣고 다시 37℃ 항온조에서 10분 동안 반응시켰다. 이 반응액이 든 시험관을 얼음물속에 넣어서 급냉시켜 반응을 중지시키고 광전분광분석계로 파장 475 nm에서의 흡광도를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다. 각 추출물의 티로시나제 저해 효과는 하기 수학적 식 1로 산출하였다.

【수학적 식 1】

$$\text{티로시나제 저해율(\%)} = 100 - (\text{각 추출물의 반응 흡광도} / \text{대조군의 반응흡광도} \times 100)$$

【표 1】

시험물질	티로시나제 저해율(%)
대조군(무첨가)	0
아스코르브산	52
실시에 1	45
실시에 2	42
실시에 3	38
실시에 4	66
실시에 5	69
실시에 6	54
비교예 1	32

상기 표 상1의 결과에서, 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 실시예 1~6의 닥나무 추출물의 티로시나제 억제율이 높아 미백 효과가 우수함을 알 수 있었다.

[시험예 2] B16/F10 멜라노마 세포를 이용한 멜라닌 생성 억제능 평가

실시예 1~6, 비교예 1 및 코지산을 각각 0.001 중량%로 함유한 시료를 시험물질로 하여 일정 농도로 B16/F10 멜라노마 세포(한국세포주은행)의 배양액에 첨가하여 3일간 배양한 후 배양액을 제거하고 PBS로 세척하고 1N NaOH로 세포를 녹여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시험물질을 첨가하지 않은 세포를 대조군으로 하여 대조군에서의 멜라닌 함량과 비교하여 각 시험물질의 멜라닌 생성 저해 정도를 측정하였다. 수학식 2에 따라 멜라닌 생성 억제율을 계산하여 그 결과를 표 2에 나타내었다.

【수학식 2】

$$\text{멜라닌 생성 억제율(\%)} = 100 - \left(\frac{\text{각 시험물질의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100 \right)$$

【표 2】

시험물질	멜라닌 생성 저해율(%)
대조군(무첨가)	0
코지산	53
실시예 1	56
실시예 2	52
실시예 3	58
실시예 4	67
실시예 5	69
실시예 6	54
비교예 1	41

상기 표 2의 결과에서, 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 실시예 1~6의 닥나무 추출물의 멜라닌 생성 억제율이 높아 미백 효과가 우수함을 알 수 있었다.

[실시예 7] 닥나무 자연 발효 추출물 제조

세척한 닥나무 줄기 및 뿌리 1 kg을 올리고당 50 g과 혼합하여 용기에 넣고, 용기가 가득차면 위에서 압을 가하여 누르지 않고 자연 상태로 용기의 뚜껑을 덮고 6개월간 자연 발효시켰다. 발효가 끝난 후, 발효된 원료를 여과 형질로 걸러내어

찌꺼기를 제거함으로써 닥나무 자연 발효 추출물을 얻었다.

[실시에 8] 효모를 이용한 닥나무 발효 추출물

상기 비교예 1의 닥나무 추출 분말을 1.5 ℓ의 정제수에 5 중량%가 되도록 첨가하여 탄소원, 질소원, 인삼염, 무기염류 및 미량영양성분 등을 기본 조성으로 하고, 수산화나트륨을 이용하여 적절한 pH 5.5~6.5로 맞추었다. 상기 닥나무 추출 분말이 함유된 배양 배지에 사카로마이세스(*Saccharomyces sp.*)를 10^6 cell/mL로 접종하고, pH 5.5~6.5, 온도 25~35℃, 통기량 0.5 VVM의 조건을 유지하면서 72시간 동안 배양하였다.

상기 발효액을 1.000×g에서 30분간 원심분리하여 고분자 침전물과 효모 군체가 제거된 최종 닥나무 발효 추출물을 얻었다.

[실시에 9] 버섯균을 이용한 닥나무 발효 추출물

상기 비교예 1의 닥나무 추출 분말에 동충하초균류(*Paecilomyces japonica*)를 5 중량%로 첨가하고, 18~25℃, 습도 60~70%에서 60일간 발효시킨 후 건조시킨 다음, 이를 분쇄하여 얻어진 분쇄물 100 g씩을 80% 메탄올 3 ℓ에 각각 넣고 냉각 콘덴서가 달린 환류추출기에서 3시간 끓여 추출하였다. 그 다음 100 메쉬 여과포로 여과한 후 잔사를 같은 방법으로 1회 더 추출하였다. 각각의 추출액을 합하여 상온에서 와트만 2번 여과지로 여과하여 불용성 물질을 제거한 후, 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 60℃로 감압농축한 후 동결건조하여 최종 닥나무 발효 추출물을 얻었다.

[실시에 10] 유산균을 이용한 닥나무 발효 추출물

상기 비교예 1의 닥나무 추출 분말을 1.5 ℓ의 정제수에 5 중량%가 되도록 첨가하여 탄소원, 질소원, 인삼염, 무기염류, 미량영양성분 등을 기본 조성으로 하고, 수산화나트륨을 이용하여 적절한 pH 5.5~6.5로 맞추었다. 상기 닥나무 추출 분말이 함유된 배양 배지에 락토바실러스(*Lactobacillus sp.*)를 10^6 cell/mL로 접종하고, pH 6.5~7.5, 온도 35~38℃, 통기량 1 VVM의 조건을 유지하면서 72시간 동안 배양하였다.

상기 발효액을 1.000×g에서 30분간 원심분리하여 고분자 침전물과 유산균 군체가 제거된 최종 닥나무 발효 추출물을 얻었다.

[실시에 11] 누룩균을 이용한 닥나무 발효 추출물

상기 비교예 1의 닥나무 추출 분말에 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*)를 5 중량%로 첨가하고, 25℃에서 48시간 동안 발효시킨 후 건조시킨 다음, 이를 분쇄하여 얻어진 분쇄물 100 g씩을 80% 메탄올 3 ℓ에 각각 넣고 냉각콘덴서가 달린 환류추출기에서 3시간 끓여 추출하였다. 그 다음 100 메쉬 여과포로 여과한 후 잔사를 같은 방법으로 1회 더 추출하였다. 각각의 추출액을 합하여 상온에서 와트만 2번 여과지로 여과하여 불용성 물질을 제거한 후, 냉각 콘덴서가 달린 증류장치에서 60℃로 감압농축한 후 동결건조하여 최종 닥나무 발효 추출물을 얻었다.

[실시에 12] 바실러스균을 이용한 닥나무 발효 추출물

상기 비교예 1의 닥나무 추출 분말을 1.5 ℓ의 정제수에 5 중량%가 되도록 첨가하여 탄소원, 질소원, 인삼염, 무기염류 및 미량영양성분 등을 기본 조성으로 하고, 수산화나트륨을 이용하여 적절한 pH 5.5~6.5로 맞추었다. 상기 닥나무 추출 분말이 함유된 배양 배지에 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*) F1279를 접종하고, 45℃에서 72시간 동안 배양하였다.

상기 발효액을 1,000×g에서 30분간 원심분리하여 고분자 침전물과 바실러스 균체가 제거된 최종 닥나무 발효 추출물을 얻었다.

[실시에 13] 닥나무 염장 발효 추출물 제조

닥나무 줄기 및 뿌리 1 kg을 깨끗한 물로 씻어 건조시킨 후 10 중량% 농도의 소금 용액에 혼합한 다음 용기에 담아 준비하고 4℃에서 약 30일간 발효시킨 후 여기에 80% 에탄올 수용액 5 ℓ를 넣고, 3회 환류 추출한 다음, 15℃에서 1일간 침적시켰다. 그 후, 여과포 여과와 원심분리를 통해 잔사와 여액을 분리하고, 분리된 여액을 감압농축하여 얻은 추출물을 물에 현탁한 다음, 에테르 1 ℓ로 5회 추출하여 색소를 제거하고, 수층을 1-부탄올 500 ml로 3회 추출하였다. 이로부터 얻은 총 1-부탄올층을 감압농축하여 1-부탄올 추출물을 얻고, 이를 소량의 메탄올에 녹인 후, 대량의 에틸아세테이트에 추가하여 생성된 침전물을 건조함으로써, 닥나무의 염장 발효 추출물 50.3 g을 수득하였다.

[시험예 3] 티로시나제 저해 효과

티로시나제 효소는 버섯류(Mushroom)로부터 추출된 것으로 시그마(SIGMA)사의 것을 사용하였다. 먼저 기질인 티로신을 증류수에 용해시켜 0.3 mg/ml의 용액으

로 만들고 그 용액을 1.0 ml씩 시험관에 넣은 다음, 여기에 포타슘-포스페이트 완충용액(0.1 mol 농도, pH 6.8) 1.0 ml 및 증류수 0.7 ml를 첨가하였다.

실시에 7~13 및 비교예 1의 추출물을 에탄올 용액에 적당농도로 혼합하여 준비한 각 추출물 시료액 0.2 ml를 반응액에 넣은 다음 37℃ 항온조에서 10분 동안 반응시켰다. 이때 대조군은 각 추출물 대신 용매만을 0.2 ml 넣은 것으로 준비하였고, 양성대조군으로는 아스코르브산을 사용하였다. 이 반응액에 2500 유닛/ml의 티로시나제 용액 0.1 ml씩을 넣고 다시 37℃ 항온조에서 10분 동안 반응시켰다. 이 반응액이 든 시험관을 얼음물속에 넣어서 급냉시켜 반응을 중지시키고 광전분광분석계로 파장 475 nm에서의 흡광도를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다. 각 추출물의 티로시나제 저해 효과는 상기 수학식 1로 산출하였다.

【표 3】

시험물질	티로시나제 저해율(%)
대조군(무첨가)	0
아스코르브산	52
실시에 7	45
실시에 8	62
실시에 9	58
실시에 10	51
실시에 11	57
실시에 12	45
실시에 13	61
비교예 1	38

상기 표 3의 결과에서, 본 발명에 의한 닥나무 발효 추출물인 실시에 7~13의 티로시나제 억제율이 높아 미백 효과가 우수함을 알 수 있었다.

[시험예 4] B16/F10 멜라노마 세포를 이용한 멜라닌 생성 억제능 평가

실시에 7~13, 비교예 1 및 코지산을 각각 0.001 중량%로 함유한 시료를 시험물질로 하여 일정 농도로 B16/F10 멜라노마 세포(한국세포주은행)의 배양액에 첨가하여 3일간 배양한 후 배양액을 제거하고 PBS로 세척하고 1N NaOH로 세포를 녹여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시험물질을 첨가하지 않은 세포를 대조군으로 하여 대조군에서의 멜라닌 함량과 비교하여 각 시험물질의 멜라닌 생성 저해 정도를 측정하였다. 상기 수학식 2에 따라 멜라닌 생성 억제율을 계산하여 그 결과를 표 4에 나타내었다.

【표 4】

시험물질	멜라닌 생성 저해율(%)
대조군(무첨가)	0
코지산	44
실시예 7	50
실시예 8	61
실시예 9	57
실시예 10	47
실시예 11	49
실시예 12	39
실시예 13	47
비교예 1	35

상기 표 4의 결과에서, 본 발명에 의한 닥나무 발효 추출물인 실시예 7~13의 멜라닌 생성 억제율이 높아 미백 효과가 우수함을 알 수 있었다.

[시험예 5] 유해 세균 생성 저해 실험

배지(Letheen Agar)를 샤알레에 1차 부어 굳힌 후 전배양시킨 대장균(*Escherichia coli* ATCC 8739), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) 및 황색포도상 구균(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538)을 전배양시키고 이 시험균을 40℃ 정도가 되도록 조절한 배지(Letheen Agar)에 최종적으로 균의 양이 10^5 마리/g이 되도록 희석하여 1차 배지 위에 부어 굳혔다. 멸균된 종이 디스크(paper disk)에 10%, 20% 및 30%의 천일염 용액을 0.02 ml 정도 주입하여 균이 도말된 배지에 얹고 상온에서 24시간 동안 용액이 충분히 확산되게 한 다음 각 32℃에서 최적시간 동안 배양한 후 샤알레에 나타나는 저해환 생성 여부를 확인하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

도 3의 결과로부터, 소금이 유해 미생물의 성장을 저해하는 것을 확인하였다.

[제형예 1~13 및 비교제형예 1~2]

하기 표 5 내지 7의 구성에 따라 통상적인 방법으로 제형예 1~13 및 비교제형예 1~2의 영양크림을 제조하였다(단위: 중량%).

【표 5】

배합성분	제형예 1	제형예 2	제형예 3	제형예 4	제형예 5	제형예 6
실시에 1	0.5	-	-	-	-	-
실시에 2	-	0.5	-	-	-	-
실시에 3	-	-	0.5	-	-	-
실시에 4	-	-	-	0.5	-	-
실시에 5	-	-	-	-	0.5	-
실시에 6	-	-	-	-	-	0.5
밀납	10	10	10	10	10	10
폴리솔베이트60	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
피이지 60 경화피마 자유	2	2	2	2	2	2
솔비탄세스퀴올레이 트	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
유동파라핀	10	10	10	10	10	10
스쿠알란	5	5	5	5	5	5
카프릴릭/카프릭트리 글리세라이드(Estasa n: Unigema(제조사))	5	5	5	5	5	5
글리세린	5	5	5	5	5	5
부틸렌글리콜	3	3	3	3	3	3
프로필렌글리콜	3	3	3	3	3	3
트리에탄올아민	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
방부제, 색소 및 향 료	적량	적량	적량	적량	적량	적량
정제수	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량

【표 6】

배합성분	제형예 7	제형예 8	제형예 9	제형예1 0	제형예1 1	제형예1 2	제형예1 3
실시예 7	0.5	-	-	-	-	-	-
실시예 8	-	0.5	-	-	-	-	-
실시예 9	-	-	0.5	-	-	-	-
실시예 10	-	-	-	0.5	-	-	-
실시예 11	-	-	-	-	0.5	-	-
실시예 12	-	-	-	-	-	0.5	-
실시예 13	-	-	-	-	-	-	0.5
밀납	10	10	10	10	10	10	10
폴리솔베이트60	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
피이지 60 경화피마 자유	2	2	2	2	2	2	2
솔비탄세스퀴올레이 트	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
유동파라핀	10	10	10	10	10	10	10
스쿠알란	5	5	5	5	5	5	5
카프릴릭/카프릭트리 글리세라이드(Estasa n: Uniqema(제조사))	5	5	5	5	5	5	5
글리세린	5	5	5	5	5	5	5
부틸렌글리콜	3	3	3	3	3	3	3
프로필렌글리콜	3	3	3	3	3	3	3
트리에탄올아민	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
방부제, 색소 및 향 료	적량	적량	적량	적량	적량	적량	적량
정제수	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량	잔량

【표 7】

배합성분	비교제형예 1	비교제형예 2
비교예 1	-	0.5
밀납	10	10
폴리솔베이트 60	1.5	1.5
피이지 60 경화피마자유	2	2
솔비탄세스퀴올레이트	0.5	0.5
유동파라핀	10	10
스쿠알란	5	5
카프릴릭/카프릭트리글리세라이드(Estasan: Uniqema(제조사))	5	5
글리세린	5	5
부틸렌글리콜	3	3
프로필렌글리콜	3	3
트리에탄올아민	0.2	0.2
방부제, 색소 및 향료	적량	적량
정제수	잔량	잔량

[시험예 6] 본 발명에 의한 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 닥나무 추출물의 피부 보습 효과

본 발명에 의한 닥나무 추출물이 피부 보습력 증가에 미치는 효과를 측정하기 위하여, 피부 건조증을 나타내는 40~50대의 성인 남녀 160명을 8개조로 나누어 각 조에 제형예 1~6 및 비교제형예 1~2를 매일 2회씩 4주간 안면에 도포하였다. 도포 개시 전과, 도포 후 1주, 2주, 4주 경과한 시점 및 도포를 중지한 2주 경과(총 6주 경과) 후에 항온, 항습 조건(24℃, 상대습도 40%)에서 코니오미터로 피부 수분량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 8에 나타내었다. 코니오미터는 표피의 전기전도도 값을 측정하여 피부에 존재하는 수분량을 측정하는 피부 수분 측정기이다. 시험결과는 시험개시 직전에 측정한 코니오미터 값을 기준으로 하여 일정기간 처치한 후의 측정값의 증가분을 백분율로 표시한 것이다.

【표 8】

시험물질	수분증가율(%)			
	1주 경과	2주 경과	4주 경과	6주 경과
제형예 1	32	36	38	30
제형예 2	33	37	37	29
제형예 3	30	37	40	30
제형예 4	31	40	42	32
제형예 5	31	39	40	31
제형예 6	32	36	38	29
비교제형예 1	30	32	32	15
비교제형예 2	32	35	38	26

상기 표 8의 결과에서, 본 발명에 의한 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 실시예 1~6의 닥나무 추출물을 포함하는 제형예 1~6의 피부 수분 증가율이 우수함을 확인할 수 있었다. 또한, 제형예 1~6의 영양크림의 도포를 중지한 후에도 피부 수분을 측정한 수치가 도포 후 1주와 유사하게 나타나, 실시예를 도포하지 않아도 일정 기간 동안 피부 수분이 지속적으로 유지됨을 알 수 있었다.

[시험예 7] 본 발명에 의한 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 닥나무 추출물의 피부 주름 개선 효과

본 발명에 의한 닥나무 추출물이 피부 주름 개선에 미치는 효과를 측정하기 위하여, 30~50세의 안면주름이 있는 시험대상자 160명을 대상으로 피부 주름 개선 효과를 비교 평가하였다.

크림 사용 이전의 안면 양쪽부의 피부 상태를 측정해 놓은 다음 각 시험대상자들에게 제형예 1~6 및 비교제형예 1~2의 크림을 3개월간 사용하도록 한 후 동일 부위를 재측정하여 피부 주름의 변화량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 9에 나타내었다. 24℃, 상대습도 40%의 항온항습실에서 눈꼬리 부위의 주름을 레플리카(replica)로 떼서 비시오메타 시스템(Visiometer system; C+K사)으로 피부 주름을 측정하였다. 피부 주름의 변화량은 하기 수학적 식 3에 따라 계산하였다.

【수학적 식 3】

$$\text{변화량}(\Delta\%) = \frac{(T_{di} - T_{do})}{T_{do}} \times 100$$

상기 수학적 식 3에서, "T_{di}"는 D90에서의 측정부위 값이며, "T_{do}"는 D0에서의 측정부위 값이다.

【표 9】

시험물질	피부 주름 변화량(%)
제형예 1	19
제형예 2	17
제형예 3	16
제형예 4	22
제형예 5	20
제형예 6	18
비교제형예 1	2
비교제형예 2	12

상기 표 9의 결과에서, 본 발명에 의한 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 실시예 1~6의 닥나무 추출물을 포함하는 제형예 1~6의 피부 주름 개선 효과가 우수함을 확인할 수 있었다.

[시험예 8] 본 발명에 의한 초고압, 초임계 및 오일 추출법을 거쳐 제조한 닥나무 추출물의 피부 탄력 향상 효능 확인

피부 탄력 향상 효능 확인을 위하여 제형예 1~6 및 비교제형예 1~2의 크림을 30~40대 여성 160명을 대상으로 20명을 1조로 하여 8개 조로 나누어 측정하였다. 실험 방법은 다음과 같다.

각 조에 제형예 1~6 및 비교제형예 1~2의 크림을 각각 나누어 주고 매일 1회씩 12주간 안면에 도포하게 한 후, 피부탄력측정기(Cutometer SEM 575, C+K Electronic Co., Germany)를 이용하여 피부탄력을 측정하였다. 그 결과는 하기 표 10에 나타내었다. 표 10의 결과값은 Cutometer SEM 575의 ΔR8(R8(왼쪽)-R8(오른

쪽)) 값으로 기재하였는데, R8 값은 피부 점탄성(viscoelasticity)의 성질을 나타낸다.

【표 10】

시험물질	피부탄력효과
제형예 1	0.37
제형예 2	0.38
제형예 3	0.35
제형예 4	0.42
제형예 5	0.41
제형예 6	0.37
비교제형예 1	0.12
비교제형예 2	0.32

상기 표 10의 결과를 보면, 본 발명에 의한 추출 과정을 거쳐 제조한 실시예 1~6의 닥나무 추출물을 포함하는 제형예 1~6의 피부 탄력 개선 효과가 우수함을 확인할 수 있었다.

따라서, 본 발명의 닥나무 추출물을 함유하는 화장품 조성물은 피부 탄력 향상에 매우 효과적임을 확인할 수 있다.

[시험예 9] 본 발명에 의한 닥나무 발효 추출물의 피부 보습 효과

본 발명에 의한 닥나무 발효 추출물이 피부 보습력 증가에 미치는 효과를 측정하기 위하여, 피부 건조증을 나타내는 40~50대의 성인 남녀 180명을 9개 조로 나누어 각 조에 제형예 7~13 및 비교제형예 1~2를 매일 2회씩 4주간 안면에 도포하였다. 도포 개시 전과, 도포 후 1주, 2주, 4주 경과한 시점 및 도포를 중지한 2주 경과(총 6주 경과) 후에 항온, 항습 조건(24℃, 상대습도 40%)에서 코니오미터로 피부 수분량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 11에 나타내었다. 코니오미터는 표피의 전기전도도 값을 측정하여 피부에 존재하는 수분량을 측정하는 피부 수분 측정기이다. 시험결과는 시험개시 직전에 측정한 코니오미터 값을 기준으로 하여 일정기간 처치한 후의 측정값의 증가분을 백분율로 표시한 것이다.

【표 11】

시험물질	수분 증가율(%)			
	1주 경과	2주 경과	4주 경과	6주 경과
제형예 7	33	41	42	31
제형예 8	32	40	42	30
제형예 9	33	39	40	29
제형예 10	30	36	38	30
제형예 11	31	37	37	32
제형예 12	31	37	40	31
제형예 13	32	38	38	29
비교제형예 1	30	32	32	15
비교제형예 2	32	35	38	26

상기 표 11의 결과에서, 본 발명에 의한 발효과정을 거쳐 제조한 실시예 7~13의 닥나무 발효 추출물을 포함하는 제형예 7~13의 피부 수분 증가율이 우수함을 확인할 수 있었다. 또한, 제형예 7~13의 영양크림의 도포를 중지한 후에도 피부 수분을 측정 한 수치가 도포 후 1주와 유사하게 나타나, 실시예를 도포하지 않아도 일정 기간 동안 피부 수분이 지속적으로 유지됨을 알 수 있었다.

[시험예 10] 본 발명에 의한 닥나무 발효 추출물의 피부 주름 개선 효과

본 발명에 의한 닥나무 발효 추출물이 피부 주름 개선에 미치는 효과를 측정하기 위하여, 30~50세의 안면주름이 있는 시험대상자 90명을 대상으로 피부 주름 개선 효과를 비교 평가하였다.

크림 사용 이전의 안면 양쪽부의 피부 상태를 측정해 놓은 다음 각 시험대상자들에게 제형예 7~13 및 비교제형예 1~2의 크림을 3개월간 사용하도록 한 후 동일 부위를 재측정하여 피부 주름의 변화량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 12에 나타내었다. 24℃, 상대습도 40%의 항온항습실에서 눈꼬리 부위의 주름을 레플리카(replica)로 떼서 비시오테타 시스템(Visiometer system; C+K사)으로 피부 주름을 측정하였다. 피부 주름의 변화량은 상기 수학식 3에 따라 계산하였다.

【표 12】

시험물질	피부 주름 변화량(%)
제형예 7	15
제형예 8	20
제형예 9	17
제형예 10	17
제형예 11	18
제형예 12	16
제형예 13	17
비교제형예 1	2
비교제형예 2	12

상기 표 12의 결과에서, 본 발명에 의한 발효 과정을 거쳐 제조한 실시예 7~13의 닥나무 발효 추출물을 포함하는 제형예 7~13의 피부 주름 개선 효과가 우수함을 확인할 수 있었다.

[시험예 11] 피부 탄력 향상 효능 확인

피부 탄력 향상 효능 확인을 위하여 제형예 7~13 및 비교제형예 1~2의 크림을 30~40대 여성 180명을 대상으로 20명을 1조로 하여 9개 조로 나누어 측정하였다. 실험 방법은 다음과 같다.

각 조에 제형예 7~13 및 비교제형예 1~2의 크림을 각각 나누어 주고 매일 1회씩 12주간 안면에 도포하게 한 후, 피부탄력측정기(Cutometer SEM 575, C+K Electronic Co., Germany)를 이용하여 피부탄력을 측정하였다. 그 결과는 하기 표 13에 나타내었다. 표 13의 결과값은 Cutometer SEM 575의 $\Delta R8(R8(\text{왼쪽})-R8(\text{오른쪽}))$ 값으로 기재하였는데, R8 값은 피부 점탄성(viscoelasticity)의 성질을 나타낸다.

【표 13】

시험물질	피부 탄력 효과
제형예 7	0.42
제형예 8	0.14
제형예 9	0.37
제형예 10	0.37
제형예 11	0.40
제형예 12	0.35
제형예 13	0.36
비교제형예 1	0.12
비교제형예 2	0.32

상기 표 13의 결과를 보면, 본 발명에 의한 발효 과정을 거쳐 제조한 실시예 7~13의 닥나무 발효 추출물을 포함하는 제형예 7~13의 피부 탄력 개선 효과가 우수함을 확인할 수 있었다.

따라서, 본 발명의 닥나무 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물은 피부 탄력 향상에 매우 효과적임을 확인할 수 있다.

【청구의 범위】**【청구항 1】**

닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 및 열매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 초고압, 초임계 또는 오일 추출법으로 추출하는 단계를 포함하는 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 2】

제 1항에 있어서,

상기 닥나무의 뿌리, 줄기, 잎, 꽃 및 열매로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 물 또는 C1 내지 C5의 저급 알코올을 이용하여 유효성분을 추출하는 단계를 더 포함하는 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 3】

제 2 항에 있어서,

상기 저급 알코올을 이용한 추출 과정은 초고압, 초임계 또는 오일 추출과 동시에 또는 순차적으로 진행되는 것인 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 4】

제 1항에 있어서,

상기 초고압 추출법은 70 내지 200 Mpa의 압력으로 1분 내지 15분간 처리하는 것인 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 5】

제 1항에 있어서,

상기 초임계 추출법은 20~40℃, 70~200 bar의 압력 하에서 처리하는 것인 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 6】

제 5항에 있어서,

상기 초임계 유체는 이산화탄소, 질소, 아산화질소, 메탄, 에틸렌, 프로판 또는 프로필렌인 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 7】

제 1항에 있어서,

상기 오일 추출법은 식물유를 첨가하여 40~70℃, 2~10 압력에서 2~12시간 동안 처리하는 것인 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 8】

제 7항에 있어서,

상기 식물유는 콩기름 또는 참기름인 닥나무 추출물의 제조방법.

【청구항 9】

제 1항 내지 제 8항 중 어느 하나의 항에 따라 제조된 닥나무 추출물을 포함하는 화장료 조성물.

【청구항 10】

제 9항에 있어서,

상기 조성물은 미백, 항노화, 항주름, 보습 또는 탄력 개선용인 화장료 조성물.

【청구항 11】

닥나무 또는 그 추출물을 자연발효, 균발효 또는 혐장발효시키는 발효방법.

【청구항 12】

제 11항에 있어서,

상기 자연발효는 닥나무 또는 그 추출물을 당 성분과 혼합하여 발효시키는 것인 발효방법.

【청구항 13】

제 11항에 있어서,

상기 당 성분은 자당, 자일리톨, 올리고당, 식이섬유, 에리스리톨, 포도당 및 과당으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 발효방법.

【청구항 14】

제 11항에 있어서,

상기 균발효는 닥나무 또는 그 추출물에 발효 균주를 접종하여 10~60℃에서 18시간 내지 100일간 발효시키는 것인 발효방법.

【청구항 15】

제 14항에 있어서,

상기 발효 균주는 효모균, 버섯균, 유산균, 누룩균 및 바실러스속균(고초균)으로 이루어진 군에서 선택된 것인 발효방법.

【청구항 16】

제 11항에 있어서, 상기 혐장발효는

- 1) 닥나무 또는 그 추출물에 소금을 첨가하여 장기 숙성 발효시키는 단계; 및
- 2) 상기 혐장 발효물을 물 또는 유기용매로 추출하여 발효 추출물을 수득하는 단계;

를 포함하는 것인 발효방법.

【청구항 17】

제 16항에 있어서,

상기 1) 단계에서 사용하는 소금은 고순도 염화나트륨, 천일염, 암염 및 죽염으로 이루어진 군에서 선택된 것인 발효방법.

【청구항 18】

제 16항에 있어서,

상기 1) 단계에서 소금의 사용량은 발효물 총 중량에 대하여 10~30 중량%인 발효방법.

【청구항 19】

제 16항에 있어서,

상기 2) 단계에서 사용하는 유기용매는 메탄올, 에탄올, 글리세린, 에틸아세테이트, 부틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 디클로로메탄 및 헥산으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 발효방법.

【청구항 20】

제 16항에 있어서,

상기 1) 단계의 발효 공정은 4~40℃에서 30일 내지 1년간 발효시키는 것인 발효방법.

【청구항 21】

제 11항 내지 제 20항 중 어느 한 항에 의한 발효방법으로 제조된 닥나무 발효 추출물.

【청구항 22】

제 21항에 따른 닥나무 발효 추출물을 포함하는 화장료 조성물.

【청구항 23】

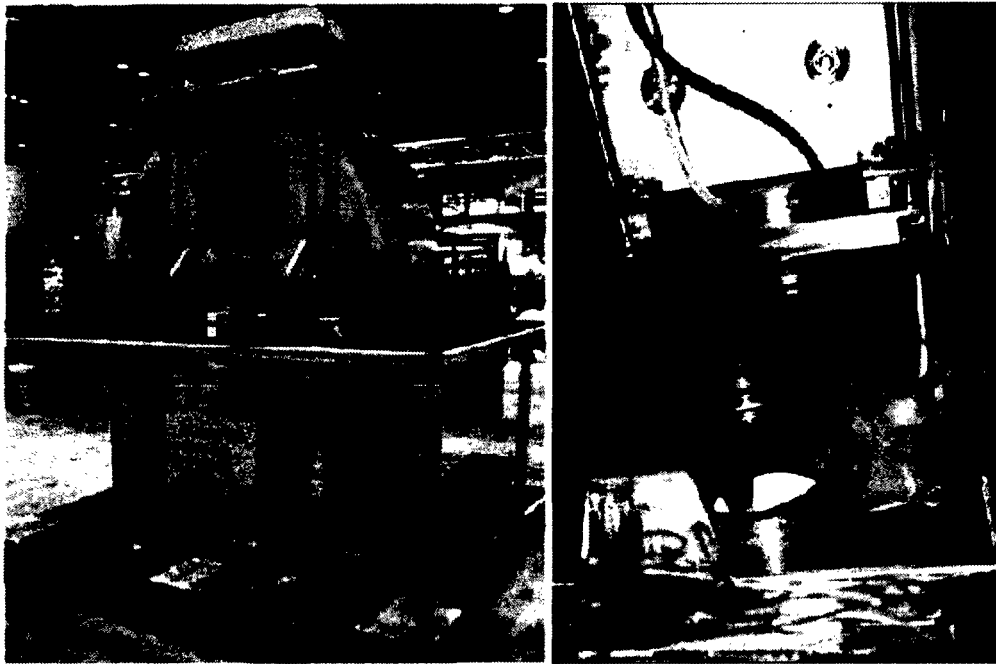
제 22항에 있어서,

상기 조성물은 미백, 향노화, 향주름, 보습 또는 탄력 개선용인 화장료 조성물.

1/2

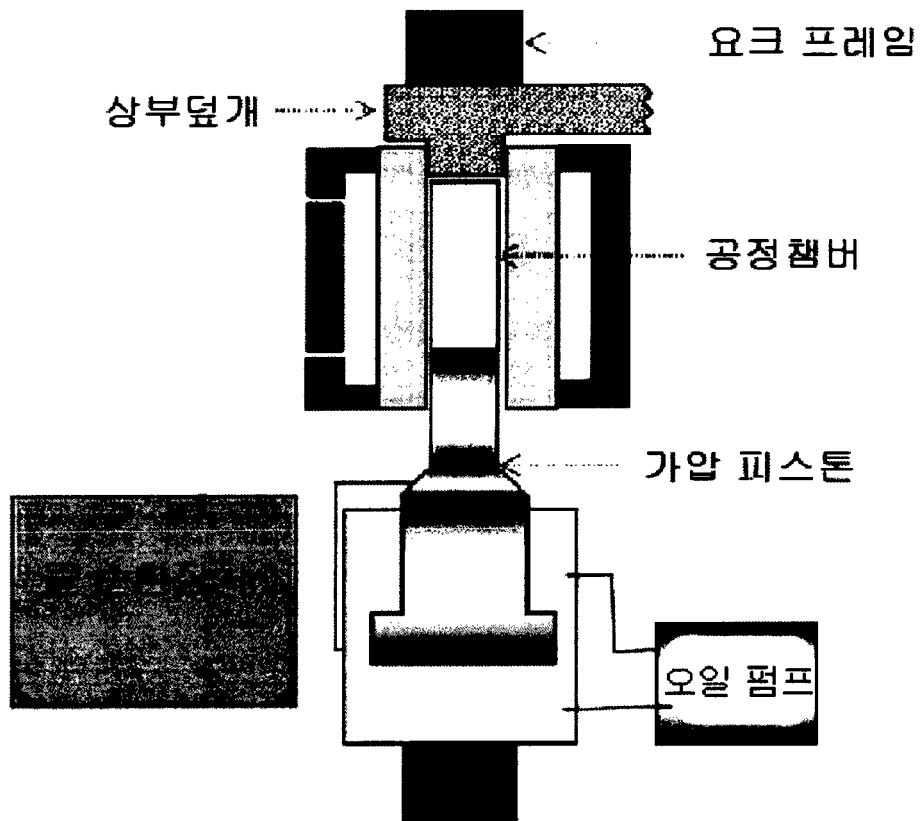
도면

【도 1】



2/2

【도 2】



【도 3】

