(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0087408
(43) 공개일자 2012년08월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 1/02 (2006.01) *A61K 8/97* (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-0008576
(22) 출원일자 2011년01월28일
심사청구일자 2011년01월28일

(71) 출원인
조선대학교산학협력단
광주광역시 동구 서석동 375 조선대학교 내
(72) 발명자
신현재
광주광역시 남구 봉선중앙로 46, 삼익@ 107동 1304호 (봉선동)
오득실
광주광역시 남구 봉선로37번길 13-2 (주월동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
허수준

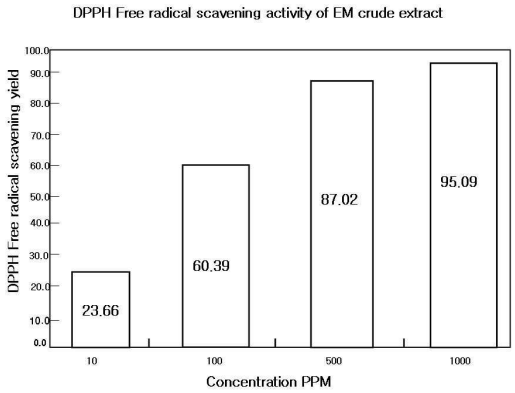
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **항산화 활성을 가지는 꽃송이버섯 발효 추출물 및 이를 함유하는 화장료 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 꽃송이 버섯 발효 추출물을 유효성분으로 하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 본 발명에 따른 꽃송이 버섯 발효 추출물은 다양한 항산화능을 증가시키고, 피부주름개선 효과가 우수하며, 피부 안전성 및 경시적인 안정성이 우수함으로, 피부를 건강하게 유지하기 위한 화장료 조성물에 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

이태호

충청남도 계룡시 엄사면 번영3길 91, 109동 1004호 (대동황토방아파트)

민정환

대전광역시 서구 둔산로 201, 국화아파트 105동 1208호 (둔산동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	S110910L020100
부처명	산림청
연구사업명	산림과학기술개발사업
연구과제명	기능성버섯류(꽃송이버섯과 표고를 중신으로)를 이용한 건강증진식품 개발 및 산업화
주관기관	조선대학교 산학협력단
연구기간	2009.03.01 ~ 2013.02.01

특허청구의 범위

청구항 1

꽃송이 버섯 자실체를 발효액으로 발효하여 추출한 꽃송이 버섯 발효 추출물.

청구항 2

제1항에 있어서

상기 발효액은 유산균 (Lactobacillus), 효모 (Yeast), 광합성 세균 (Photosynthetic bacteria), 방선균류 (Actinomycetes) 등으로 구성되는 것을 특징으로 하는 꽃송이 버섯 발효 추출물.

청구항 3

제2항에 있어서

상기 발효액을 구성하는 유산균 (Lactobacillus), 효모 (Yeast), 광합성 세균 (Photosynthetic bacteria), 방선균류 (Actinomycetes)는 *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Streptoccus lactis, Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis, Rhodopseudomonas palustrus, Rhodobacter spaeroides, Streptomyces albus, Streptomyces griseus, Aspergillus oryzae, Mucor hiemalis* 등의 종에서 1 내지 5 종이 선택되어지는 것을 특징으로 한 꽃송이 버섯 발효 추출물.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 하나의 항에 있어서,

상기 발효액을 구성하는 발효 미생물들의 개체수가 각각의 종별로 1.0×10^4 cfu/mL 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 꽃송이 버섯 발효 추출물.

청구항 5

꽃송이 버섯 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서

상기 화장료 조성물은 화장료 조성물 총중량에 대하여 제1항의 꽃송이 버섯 발효 추출물이 0.0001~20.0000 중량% 함유되는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서

상기 화장료 조성물은 그 제형이 유연화장수 (스킨 토너), 수렴화장수, 영양화장수 (로션), 영양크림, 맛사지크림, 에센스, 겔, 팩, 파우더, 피부외용연고, 첩포제, 현탁액, 에멀젼, 스프레이, 또는 미용액인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서

상기 화장료 조성물은 미백, 주름 개선 및 자외선 차단 등과 같은 기능성 화장료 조성물인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 9

꽃송이 버섯 자실체를 발효액에 넣고 실온에서 2~5일간 발효시키는 단계와;

상기 발효된 꽃송이 버섯 자실체를 여과하고, 회전진공증발기 (rotary evaporator)로 완전히 농축하여 달콤한 향을 가지는 갈색의 시럽을 수득하는 단계와;

상기 수득된 갈색 시럽에 60~80 % 에탄올 수용액을 첨가하는 단계와;

상기 에탄올 수용액이 첨가된 갈색 시럽을 회전진공증발기 (rotary evaporator)로 농축하는 단계와;

상기 농축된 갈색 시럽을 고압멸균기 (Autoclave)로 멸균하는 단계로 구성된 꽃송이 버섯 발효 추출물을 제조하는 방법

청구항 10

제 9항에 있어서,

상기 발효액은 유산균 (Lactobacillus), 효모 (Yeast), 광합성 세균 (Photosynthetic bacteria), 방선균류 (Actinomycetes) 등으로 구성되는 것을 특징으로 하는 꽃송이 버섯 발효 추출물을 제조하는 방법.

청구항 11

제10항에 있어서

상기 발효액을 구성하는 유산균 (Lactobacillus), 효모 (Yeast), 광합성 세균 (Photosynthetic bacteria), 방선균류 (Actinomycetes)는 *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Streptoccus lactis, Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis, Rhodopseudomonas palustrus, Rhodobacter spaeroides, Streptomyces albus, Streptomyces griseus, Aspergillus oryzae, Mucor hiemalis* 등의 종에서 1 내지 5 종이 선택되어지는 것을 특징으로 한 꽃송이 버섯 발효 추출물을 제조하는 방법.

청구항 12

제 9항 내지 제 11항 중 어느 하나의 항에 있어서,

상기 발효액을 구성하는 발효 미생물들의 개체수가 각각의 종별로 1.0×10^4 cfu/mL 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 꽃송이 버섯 발효 추출물을 제조하는 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 항산화 활성을 가지는 화장료 조성물에 관한 것으로, 보다 자세하게는 꽃송이 버섯 발효 추출물의 항산화 활성을 이용하여 화장료 조성물을 제공하여 피부에 안전하고 제형의 안정성이 우수한 항산화 및 항노화 효능을 가지는 피부외용제형의 화장료 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 오늘날 버섯의 종류는 적어도 10,000여 종이 있는 것으로 알려져 있고 그 중 약 600여 종이 식용이다. 중국약용진균이라는 서적에는 약용으로 사용되는 버섯이 117종이라고 기술되어 있기도 하다. 이 서적에는 동충하초, 영지 등 예로부터 약용으로 사용되어 온 버섯뿐만 아니라 목이, 팽이, 시메지 등 식용버섯의 효능이 기록되어 있다. 이는 버섯이 단백질과 무기물 등의 풍부한 영양과, 독특한 향기를 함유하고 있어 기호식품 및 건강식품으로 활용 가능성이 매우 높으며 특히 항암제 및 항생제 등으로서 기능이 발견되어 이에 대한 관심이 증가하고 있다.

[0003] 특히, 꽃송이 버섯은 야생 상태로 채집되다가 1997년 일본의 사이타마현 고등학교 교사인 후쿠시마가 처음으로 톱밥병재배법을 개발하여 본격적으로 재배에 대한 연구가 시작되었다. 이후 1999년 이후 대량 재배에 대한 연구가 결실을 맺어 2000년대 들어 본격적인 상업적 생산 및 제품 개발이 활발하게 진행되고 있다. 이러한 꽃송이 버섯이 전세계적으로 관심과 주목을 받는 것은 자실체 100 g 당 43.6 g의 베타-글루칸 (β-glucan)이 함유되어 있는 것으로 알려지면서 그 기능성을 인정받았기 때문이다. 이는 약용 버섯으로 일반화된 신령버섯보다 3배 이상의 베타-글루칸을 함유하고 있는 것으로 국내에서는 극히 일부 업체에서만 취급하고 있는 희귀한 버섯 중의

한 종류이다.

[0004] 꽃송이 버섯과 관련한 특허 기술은 KR1020050082982, KR1020080091706, KR20050104961, KR1020020024560, KR1020020058355, 및 KR1020070035261호 등에 소개되어 있지만 대부분 꽃송이 버섯 재배와 관련된 특허 기술이며, 본 발명과 유사하게 꽃송이 버섯의 생리 활성을 이용한 발명은 지금까지 보고된 바가 없었다.

[0005] 일반적으로 인체의 노화와 관련한 주요 이론은 활성산소에 의한 세포 손상에 기인한다는 활성산소설, DNA에 내재된 생체 정보에 의한 생체시계설, 그리고 텔로미어 (telomere)에 의한 DNA 복제의 제한과 세포 사멸에 의한 텔로미어설 등이 가장 설득력 있게 학계에서 논의되고 있지만, 아직까지 명확하게 규명되어 있지 않은 상태이다. 이에 현재까지도 많은 연구자들이 다양한 실험 결과를 근거로 다양한 관점에서 노화의 근본적인 원인을 규명하기 위하여 노력하고 있으며, 이러한 노화에 대한 다양한 연구들은 궁극적으로 생명을 연장하고 질병을 치유하기 위한 목적을 가지고 있다. 이렇게 다양한 노화와 관련된 이론들 중에 가장 설득력 있게 논의되는 것은 활성 산소에 의한 세포 손상이 노화의 한 원인이라는 활성산소설이 가장 설득력 있게 연구자들에게 논의되고 있다.

[0006] 활성산소설과 연관지어 피부의 노화 현상은 주름과 같은 물리적인 변화로 관찰할 수 있으며, 이러한 노화 현상은 활성 산소에 의한 피부 내 세포의 손상에 기인하는 것으로 여겨진다. 즉, 피부가 NOx 또는 SOx 등과 같은 대기 오염 물질, 또는 자외선 등에 노출되어 체내의 산화적 스트레스 (oxidative stress)가 증가되고, 이러한 산화적 스트레스 환경에 지속적으로 노출되었을 경우 체내의 라디칼 (radical) 증가로 인한 여러 가지 생화학적 반응이 유발되어 피부 조직이 파괴되어 피부 주름을 유발할 수 있는 것이다. 다시 말하면 피부가 자외선과 같은 산화적 스트레스에 노출되면 콜라겐 (collagen)과 엘라스틴 (elastin)을 분해하는 효소인 콜라게나아제 (collagenase) 및 엘라스타아제 (elastase)의 발현이 촉진되고, 이러한 원인으로 피부 조직을 구성하는 콜라겐과 엘라스틴이 분해되어 피부 조직의 일정 부위가 침하되는 현상, 즉 피부 주름을 유발한다는 것이다. 따라서 많은 연구자들은 이러한 산화적 스트레스를 감소시키는 항산화제와 관련된 연구, 그리고 피부 조직의 콜라겐이나 엘라스틴 생합성을 증진시키는 연구에 집중하고 있으며, 다양한 물질들이 연구되어 보고되고 있는 실정이다.

[0007] 피부 노화와 관련 있는 주요 라디칼 성분들은 대부분 활성산소종 (reactive oxygen species; ROS)으로, 주로 수퍼옥사이드 라디칼 (super oxide radical), 과산화수소 (H_2O_2), 하이드록시 라디칼 (hydroxy radical), 또는 단일한 상태의 산소 (singlet oxygen) 등이 있다. 이러한 활성산소종들은 암, 조직 손상, 노화 등의 주원인으로 생각되고 있으며, 예를 들어 세포를 구성하는 막지질의 과산화는 피부 구성 세포막의 과산화와 진피 구성 단백질들의 변형이 피부 노화와 가장 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다.

[0008] 지금까지 알려진 피부 항산화 성분들은 피부의 보습력 향상, 다양한 활성산소종에 대한 항산화 활성, 피부 섬유아세포의 증식 촉진, 콜라게나아제와 엘라스타아제의 발현 억제, 그리고 콜라겐 및 엘라스틴 생합성 촉진 등의 기대효과를 가지고 개발되거나 연구되고 있는 실정이다. 상기한 기술과 같이, 자유라디칼형 산소 또는 활성산소종은 피부 노화와 관련성이 매우 크기 때문에 종래에는 화장료에 수퍼옥사이드 디스뮤타아제 (superoxide dismutase), 비타민 E 및 그 유도체, 비타민 C 및 그 유도체, 또는 플라보노이드 (flavonoid) 등을 배합함으로써 피부 노화를 방지하고자 하는 노력이 많이 있었으나, 화장료에 상기 성분들을 배합하는 경우 안전성 (safety) 및 안정성 (stability) 등이 좋지 못하여 실질적인 효과를 기대하기 어려웠다. 또한, 합성 항산화제 성분인 BHT (buylated hydroxytoluene) 및 BHA (buylated hydroxyannisole) 등은 강력한 항산화 활성을 가지지만, BHT를 50 ㎎/㎏/day 이상 섭취시 암이 유발된다는 연구 보고와 이러한 합성 항산화제에 대한 소비자들의 거부감이 가장 큰 단점으로 지적되고 있는 실정이다.

[0009] 이에, 항산화 활성을 갖는 물질을 식품 등의 천연소재에서 찾고자 하는 많은 연구가 다양하게 수행되었지만 대부분이 기대에 미치지 못하는 항산화능을 갖고 있었으며, 따라서 이러한 종래 기술의 문제점을 해결하기 위해 항산화 활성이 우수한 성분의 개발에 대한 필요성은 계속하여 절실하게 요구되고 있는 실정이다.

[0010] 한편, 미생물이 가지고 있는 효소를 활용하여 유기물을 분해시키는 과정을 발효라고 하며, 이러한 발효는 부패와 비슷한 과정으로 진행되지만 분해 결과물이 우리의 생활에 유용하게 사용되면 발효라 하고, 악취가 나거나 유해하면 부패라고 구분하는 것이 일반적인 발효와 부패의 차이점이라 할 수 있을 것이다. 따라서, 천연물을 미생물을 이용하여 발효시키면 천연물의 독성이 감소하거나, 저분자화되어 소화가 용이하거나, 또는 피부에 도포시 경피 흡수 등이 용이하게 되어 생체 이용률이 향상되는 것이 일반적인 발효 기술의 특징이다. 또한 천연물들이 그 자체로도 생리 활성을 나타낼 수 있지만 발효를 통해 그 효과가 더욱 향상되거나 미생물의 대사에 의해 해로운 성분이 만들어져 기존 천연물에 없었던 새로운 생리 활성이 나타날 수도 있다.

[0011] 이에 본 발명에서는 꽃송이 버섯을 대상으로 발효과정을 거친 꽃송이 버섯 발효 추출물의 항산화 활성과 이를 함유하는 화장료 조성물에 대한 효능과 효과를 실험적으로 검증하여 본 발명을 완성하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0012] (특허문헌 0001) KR 20050082982 10

(특허문헌 0002) KR 20080091706 10

(특허문헌 0003) KR 20050104961 10

(특허문헌 0004) KR 20020024560 10

(특허문헌 0005) KR 20020058355 10

(특허문헌 0006) KR 20070035261 10

(특허문헌 0007) KR 20090133010 10

비특허문헌

[0013] (비특허문헌 0001) O. K. Chun, D. O. Kim, C. Y. Lee, "Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums", J. Agric. Food Chem. 2003, 51, pp.8067~8072

(비특허문헌 0002) Basu S., Hazra B. "Evaluation of nitic oxide scavenging activity, in vitro and ex vivo, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases" Phytother. Res. 2006, 20, pp.869~900

(비특허문헌 0003) Hazra B., Biswas S., Mandal N. "Antioxidant and free radical scavenging activity of Spondias pinnata" BMC Complementary and Alternative Medicine 2008, 8(63), doi:10.1186/1472-6882-8-63

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명은 기존의 화장료 산업 분야에 일반적으로 이용되고 있는 항산화 성분들의 안전성 및 안정성을 보완하고, 개선할 수 있는 새로운 물질을 제공하는 것으로서, 보다 상세하게는 식용으로 사용되는 꽃송이 버섯의 항산화 활성이 발효 과정을 통하여 증가는 것을 이용하여 인체 사용에 안전하고 안정성이 우수한 화장료 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 상기한 과제를 해결하기 위하여

[0016] 본 발명은 꽃송이 버섯 자실체를 발효액으로 발효하여 추출한 꽃송이 버섯 발효 추출물을 과제 해결을 위한 수단으로 제공한다.

[0017] 상기한 과제를 보다 효과적으로 해결하기 위하여 본 발명은 상기 발효액으로 유산균 (Lactobacillus), 효모 (Yeast), 광합성 세균 (Photosynthetic bacteria), 방선균류 (Actinomycetes) 등으로 구성되는 것을 특징으로 한 꽃송이 버섯 발효 추출물을 과제 해결을 위한 수단으로 제공한다.

[0018] 또한 본 발명은 꽃송이 버섯 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 통해 상기한 과제를 해결하고자 하며,

[0019] 상기 화장료 조성물은 화장료 조성물 총중량에 대하여 꽃송이 버섯 발효 추출물이 0.0001~20.0000 중량% 함유되는 것을 특징으로 한다.

발명의 효과

[0020] 본 발명에 따른 항산화 활성을 갖는 꽃송이 버섯 발효 추출물과 이를 함유하는 화장료 조성물은 피부에 안전하면서도 항노화 및 항산화 효과가 우수하고 그 효과의 지속성 또한 매우 뛰어나다.

도면의 간단한 설명

[0021] 제1도는 꽃송이 버섯 발효 추출물의 DPPH 소거 활성이다.

제2도는 꽃송이 버섯 발효 추출물의 수퍼옥사이드 라디칼 소거 활성이다.

제3도는 꽃송이 버섯 발효 추출물의 니트릭 옥사이드 라디칼 소거 활성이다.

제4도는 꽃송이 버섯 발효 추출물의 하이드록시 라디칼 소거 활성이다.

제5도는 꽃송이 버섯 발효 추출물 함유 화장료 조성물 사용에 따른 주름 개선 효과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 상기한 기술적 과제들을 해결하기 위하여 본 발명은 꽃송이 버섯을 유산균, 효모, 또는 광합성 세균을 이용하여 발효하였으며, 이를 추출한 꽃송이 버섯 발효 추출물을 유효 성분으로 포함하는 것을 특징으로 하는 항산화 활성을 가지는 화장료 조성물을 제공하는 것을 주요 내용으로 한다.

[0023] 이하 상세한 구체적인 발명의 예를 들어 본 발명의 항산화 활성을 갖는 꽃송이버섯 발효 추출물과 이를 함유한 화장료 조성물에 대하여 상세하게 설명하고자 한다. 하지만 이하 기술하는 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제시하는 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 내용이 한정되거나 국한되는 것은 아니다.

[0024] 꽃송이 버섯 발효 추출물을 제조하기 위하여 꽃송이 버섯 자실체를 발효액에 담아 실온에서 발효시킨다. 이 때 사용되는 발효액은 유산균 (Lactobacillus), 효모 (Yeast), 광합성 세균 (Photosynthetic bacteria), 방선균류 (Actinomycetes) 등으로 구성되며, 바람직하게는 상기 발효액은 *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Streptoccus lactis, Saccharomyces cerevisiae, Candida utilis, Rhodopseudomonas palustrus, Rhodobacter spaeroides, Streptomyces albus, Streptomyces griseus, Aspergillus oryzae, Mucor hiemalis* 등의 종에서 1 내지 5 종이 선택되어진다. 발효액을 구성하는 발효 미생물들의 개체수는 각각의 균별로 1.0×10^4 cfu/mL 이상을 포함한다.

[0025] 본원발명에서 사용된 꽃송이 버섯 자실체는 꽃송이 버섯 균사로부터 단목 재배 또는 톱밥 재배 등의 통상적인 버섯류의 재배에 사용되는 방법으로 재배된 자실체를 의미한다. 이렇게 발효된 꽃송이 버섯 발효물을 여과한 다음 회전진공증발기 (rotary evaporator)로 완전히 농축하면 갈색의 시럽 (syrup)을 얻는다. 여기에 에탄올 수용액을 첨가하고 완전히 농축하여 멸균하면 갈색 시럽 성상의 꽃송이 버섯 발효 추출물을 얻을 수 있다.

[0026] <실시예 1. 꽃송이 버섯 발효 추출물의 제조>

[0027] 꽃송이 버섯 자실체 4 Kg을 효모 4.1×10^4 cfu/mL, 유산균 7.0×10^6 cfu/mL 및 광합성세균 1.2×10^6 cfu/mL이 함유된 발효액 18 L에 담아 실온에서 3일간 발효시켰다. 이렇게 발효된 꽃송이 버섯 발효물을 여과한 다음 회전진공증발기 (rotary evaporator)로 완전히 농축하여 달콤한 향을 가지는 갈색의 시럽 (syrup) 약 500 g을 얻었다. 여기에 70 % 에탄올 수용액을 첨가한 다음 다시 회전진공증발기 (rotary evaporator)로 완전히 농축하고, 이것을 고압멸균기 (Autoclave)로 멸균하여 갈색 시럽 성상의 꽃송이 버섯 발효 추출물 430 g을 얻었다.

[0028] <실시예 2. 꽃송이 버섯 발효 추출물 함유 화장료 조성물 제조>

[0029] 실시예 1에서 얻어진 꽃송이 버섯 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물을 다음과 같이 제조하였다.

표 1

[0030] 제제예 1. 가용화 제형

원료명	함량 (중량 %)		비고
	제제예 1	비교 제제예 1	
부틸렌글라이콜	7.00	7.00	
글리세린	4.00	4.00	
올리브오일피이지-7에스터스	2.00	2.00	
판테놀	1.00	1.00	
세테아릴올리베이트	0.50	0.50	
소르비탄올리베이트	0.50	0.50	
디메치콘	0.50	0.50	
소듐카보머	0.30	0.30	
소듐하이알루로닉애씨드	0.03	0.03	
알란토인	0.10	0.10	
기타 첨가물	3.00	3.00	
식물 추출물	3.00	3.00	
꽃송이 버섯 발효 추출물	1.00	-	
보존제	적량	적량	
조합향료	적량	적량	
정제수	잔량	잔량	

[0031] 상기한 제제예 1 및 비교 제제예 1은 각각의 성분들을 정확하게 저울로 평량한 후 75 ℃로 가온 용해 한 다음 균일하게 혼합한다. 모든 성분들이 완전히 용해되어 균일하게 혼합되면 실온까지 냉각하여 제제예 1 및 비교 제제예 1을 완성한다.

표 2

[0032] 제제예 2. 유화 제형

원료명	함량 (중량 %)		비고
	제제예 2	비교 제제예 2	
부틸렌글라이콜	5.00	5.00	
글리세린	4.00	4.00	
마카다미아씨오일	4.00	4.00	
디메치콘	3.00	3.00	
세테아릴올리베이트	1.50	1.50	
소르비탄올리베이트	1.50	1.50	
판테놀	1.00	1.00	
사이클로펜타실록산	0.50	0.50	
사이클로헥사실록산	0.50	0.50	
세테아릴아코올	0.50	0.50	
토코페릴아세테이트	0.40	0.40	
세틸팔미테이트	0.40	0.40	
소르비탄팔미테이트	0.30	0.30	
소르비탄올리베이트	0.30	0.30	
소듐카보머	0.20	0.20	
기타 첨가물	3.00	3.00	
식물 추출물	3.00	3.00	
꽃송이 버섯 발효 추출물	1.00	-	
보존제	적량	적량	
조합향료	적량	적량	
정제수	잔량	잔량	

[0033] 제제예 2의 구성 성분들을 수용성 성분과 지용성 성분으로 구분하여 평량 한 후 각각을 75 ℃로 가온하여 용해한다. 두 성분들이 완전히 용해된 다음 수용성 성분에 지용성 성분의 혼합물을 첨가하면서 3,000 rpm으로 유화하고 유화 입자가 균질화가 이루어지면 실온까지 냉각하여 제제예 2 및 비교 제제예 2를 완성한다.

[0034] 상기한 제제예 1과 제제예 2의 구성 성분들은 제형의 안정성 및 기호성을 고려하여 추가적인 성분들이 배합될 수 있거나 해당 구성 성분이 제외될 수 있으며, 본 발명의 이해를 돕고자 제시하는 화장료 조성물의 한 예로 제시하고자 하는 것이다. 본 발명의 실시예 2에 제시한 화장료 조성물은 일반적인 화장료에 배합되는 보통의 성분을 필요한 만큼 적용 배합한 것으로서, 본 발명에 따른 꽃송이 버섯 발효 추출물을 함유하는 화장료 조성물의 유상 성분 함량은 유화 능력의 보강 및 경제성 등을 고려하여 선택되며, 유상 성분으로서 주로 사용될 수 있는 오일로는 식물성 오일, 광물성 오일, 실리콘유 및 합성유 중에서 선택된 하나 이상을 사용할 수 있다. 이 외에 유화 능력을 보강하기 위하여 계면활성제, 고급알콜 등을 0.1 내지 5 중량% 첨가할 수 있다. 이러한 계면 활성제로는 비이온 계면활성제, 인지질 등과 같은 통상적인 계면활성제를 사용할 수 있으며, 고급 알콜로는 탄소수가 12 내지 20인 알콜을 단독으로 또는 1종 이상 혼합하여 사용할 수 있다. 또한 화장료 조성물에 있어서, 수상 성분은 수상의 점도 또는 경도를 조절하기 위하여 카보머, 잔탄검, 벤토나이트 등과 같은 1종 이상의 점증제를 0.001 내지 5 중량% 더 첨가할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물에는 필요에 따라 알부틴, 아데노신, 비타민 등의 생리 활성 성분과 자외선 차단제, 산화 방지제, 보존제, 향료, 착색제, pH 조절제 등 통상적인 화장품에서 사용되는 성분을 더 첨가할 수 있다.

[0035] 또한, 제제예 1 및 제제예 2의 비교제제예 1과 비교제제예 2는 꽃송이 버섯 발효 추출물이 제형에 줄 수 있는 물리/화학적인 영향을 비교 판단하기 위하여 제조하였다.

[0036] 본 발명의 화장료 조성물은 피부를 통해 흡수되는 제품으로, 유연화장수 (스킨 토너), 수렴화장수, 영양화장수 (로션), 영양크림, 맛사지크림, 에센스, 겔, 팩, 파우더, 피부외용연고, 첩포제, 현탁액, 에멀젼, 스프레이, 또는 미용액 등의 통상의 화장료 형태로 제조될 수 있으며, 이들 각 제형에 적합하고 당업계에 주지된 각종의 통상적인 담체와 첨가제를 포함할 수 있다.

[0037] <실험예 1. 꽃송이 버섯 발효 추출물의 항산화 활성>

[0038] 실시예 1의 꽃송이 버섯 발효 추출물을 이용하여 다음과 같은 항산화 활성 실험을 실시하였다.

[0039] 1. DPPH 항산화능 측정

[0040] 본 발명에 따른 실시예 1의 꽃송이 버섯 발효 추출물의 항산화능을 알아보기 위하여 DPPH법을 이용한 하기의 실험을 수행하였다. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)법은 산화/환원의 조건 환경에 따라 색을 띄는 라디칼(radical)로 시료의 라디칼 제거능력을 흡광도 측정을 통해 직접 확인할 수 있는 일반적인 시험 방법이다. 상기 실시예 1에서 제조한 꽃송이 버섯 발효 추출물을 농도별 (10, 100, 500, 1,000 ppm)로 적당한 용매에 녹인 후, 이 용액 100 ㎕ 시료에 100 μM의 DPPH 용액 900 ㎕를 섞어주었다. 조심해서 잘 섞은 후 상온에서 10분간 방치한 다음 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 공시험액 (blank)으로는 증류수 또는 용매를 사용하였으며, 비교군으로는 시료를 넣지 않고 DPPH와 증류수 또는 용매로만 구성된 것을 사용하였다. 측정된 흡광도로부터 하기 수학식 1로 계산하여 자유라디칼소거활성 (Free radical scavenging activity)을 결정하였다. 결과는 도 1에 나타내었다.

[0041] (수학식 1)

[0042] 자유라디칼소거활성 (%) = [1-(시료의 흡광도/비교군의 흡광도)] × 100

[0043] 도 1에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 꽃송이 버섯 발효 추출물은 농도에 따라 유의성 있게 DPPH에 의한 항산화능이 증가하였다. 또한 꽃송이 버섯 발효 추출물의 DPPH 자유라디칼 소거 활성의 IC_{50}은 71 ppm으로 확인되어 꽃송이 버섯 발효 추출물이 여러 가지 화합물들이 혼합되어 있는 혼합물이라는 점을 감안하면 꽃송이 버섯 발효 추출물의 DPPH 자유라디칼소거활성이 매우 우수함을 알 수 있다.

[0044] 2. 수퍼옥사이드 (Superoxide) 라디칼 소거 활성

[0045] 실시예 1의 꽃송이 버섯 발효 추출물의 수퍼옥사이드 라디칼 소거 활성은 Chun *et al*. (O. K. Chun, D. O. Kim, C. Y. Lee, "Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums", *J. Agric. Food Chem*. 2003, **51**, pp.8067~8072)의 방법에 따라 수행하였다. 꽃송이 버섯 발효 추출물을 농도별로 시료를 만들고 Chun *et al*.의 방법을 따라 수퍼옥사이드 라디칼 소거 활성을 측정하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0046] 도 2에 나타난 바와 같이 꽃송이 버섯 발효 추출물의 수퍼옥사이드 라디칼 소거 활성은 농도에 비례하면서 유의적으로 증가하였으며, IC_{50}는 약 550 ppm 이었다.

[0047] 3. 니트릭 옥사이드 (Nitric oxide) 라디칼 소거 활성

[0048] 꽃송이 버섯 발효 추출물의 니트릭 옥사이드 라디칼 소거 활성을 확인하기 위하여 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[0049] 실시예 1의 꽃송이 버섯 발효 추출물을 농도별로 준비한 다음 Basu S.와 Hazra B. (Basu S., Hazra B. "Evaluation of nitic oxide scavenging activity, in vitro and ex vivo, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases" *Phytother. Res.* 2006, **20**, pp.869~900)의 방법에 준하여 실험을 수행하였다. 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0050] 도 3에 나타난 바와 같이 꽃송이 버섯 발효 추출물의 니트릭 옥사이드 라디칼 소거 활성은 농도에 비례하면서 증가하는 것으로 확인 되었으며, 그 IC_{50}는 약 350 ppm 이었다.

[0051] 4. 하이드록시 (Hydroxy) 라디칼 소거 활성

[0052] 실시예 1의 꽃송이 버섯 발효 추출물의 하이드록시 라디컬 소거 활성을 확인하기 위하여 하기의 실험을 수행하였다.

[0053] 실시예 1의 꽃송이 버섯 발효 추출물을 농도별로 준비한 다음 Hazra *et al.* (Hazra B., Biswas S., Mandal N. "Antioxidant and free radical scavenging activity of Spondias pinnata" *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2008, **8**(63), doi:10.1186/1472-6882-8-63)의 실험 방법에 준하여 하이드록시 라디칼 소거 활성을 측정하였고, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0054] 도 4에 나타났듯이 꽃송이 버섯 발효 추출물의 하이드록시 라디칼 소거 활성은 농도에 비례적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 그 IC_{50}는 약 2,500 ppm 이었다.

[0055] 이상의 항산화 실험 결과들로부터 얻을 수 있는 결론은 꽃송이 버섯 발효 추출물이 천연물이라는 특성과 여러 가지 화합물들이 혼합되어 있는 혼합물이라는 점, 그리고 지금까지 보고되었던 꽃송이 버섯 추출물의 항산화 활성보다 약 10배 정도 높은 항산화 활성을 가진다는 점에서 꽃송이 버섯 발효 추출물은 항산화 활성이 매우 우수하고 산업적인 이용 가능성이 매우 높다고 할 수 있다.

[0056] <실험예 2. 꽃송이 버섯 발효 추출물 함유 화장료 조성물의 피부 주름 개선 효과>

[0057] 실시예 2의 제제예 1과 제제예 2를 이용하여 다음과 같이 피부 주름 개선 효과를 측정하였다.

[0058] 실시예 2의 제제예 1 및 제제예 2를 이용하여 30 내지 40대 여성 5명을 대상으로 종래 사용하고 있는 화장료의 사용을 중단하고, 제제예 1 및 제제예 2의 화장료 조성물을 하루에 2회씩 아침과 취침 전에 사용하도록 하였다. 상기 주름 개선 효과의 확인은 상기한 제제예를 사용하기 전과 사용 후 4주 경과 시점에서의 비교로 평가하였다. 보다 상세하게는, 피시험자들에게 실리콘 접착제 (Provil, Germany)를 이용하여 replica를 사용 전과 후에 각각 제작하였으며, 이렇게 제작된 replica를 컴퓨터 영상 분석 프로그램인 Image-Pro Plus (Adept Electronic Solution Pty Ltd., USA)를 이용하여 분석하였다. 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0059] 도 5에 나타난 바와 같이, 제제예 1과 제제예 2를 사용한 경우 주름의 깊이와 높이가 모두 줄어들고 매끄러워짐을 확인할 수 있었으며, 주름의 최대 감소율은 약 30 %였으며, 평균 감소율은 약 16 %로 확인되었다. 상기한 실험 결과로부터 꽃송이 버섯 발효 추출물을 함유한 화장료 조성물은 주름 개선 및 예방에 매우 탁월한 효과를 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

[0060] <실험예 3. 꽃송이 버섯 발효 추출물 함유 화장료 조성물의 안전성 실험>

[0061] 본 발명에 따른 실시예 2의 제제예 1 및 제제예 2의 화장료 조성물에 대하여 안전성 여부를 확인하기 위하여 하기와 같이 Haye's Test Chamber를 이용하여 상박의 피부 첩포 시험 (patch test)을 실시하였다. 단, 건선, 습진, 여드름, 기타 피부 알러지 등의 경험이 있거나 임신, 수유모 또는 피임제, 항히스타민제 등을 복용하는 사람은 본 실험에서 제외하였다. 실험부위를 알콜로 닦아낸 뒤 건조시키고 상기 제제예 1과 제제예 2의 화장료 조성물을 각각 15 ㎍씩 챔버 (chamber)에 적하시킨 뒤, 실험 부위인 상박 부위에 얹어 고정하였다. 첩포 시간은

24시간 동안 도포하고 첩포를 제거한 후 마킹 펜 (marking pen)으로 시험부위를 표시하여 각각 24시간 후에 시험 부위를 관찰하여 알러지의 발생 유무를 육안으로 확인하였다. 그 결과 제제예 1과 제제예 2 모두 피부에 자극이 없는 매우 안전한 화장료 조성물임을 확인할 수 있었다.

[0062] <실험예 4. 꽃송이 버섯 발효 추출물 함유 화장료 조성물의 안정성 실험>

[0063] 본 발명에 따른 실시예 2의 제제예 2를 대상으로 경시적 안정성을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0064] 상기한 실시예 2의 제제예 2 화장료 조성물을 0 ℃, 25 ℃, 40 ℃, 순환 (cycle) 항온기에 보관하면서 1주일 단위로 열 안정성을 하기의 평가 기준으로 평가하였으며, 그 결과는 하기 표에 나타내었다.

표 3

[0065] ※ 평가기준 (○ : 양호, △ : 불안정, × : 분리)

보관조건 / 기간	0 ℃		25 ℃		40 ℃		순환항온기	
	제제예 2	비교제제예 2	제제예 2	비교제제예 2	제제예 2	비교제제예 2	제제예 2	비교제제예 2
1주	○	○	○	○	○	○	○	○
2주	○	○	○	○	○	○	○	○
3주	○	○	○	○	○	○	○	○
4주	○	○	○	○	○	○	○	○
6주	○	○	○	○	○	○	○	○
10주	○	○	○	○	○	○	○	○
12주	○	○	○	○	○	○	○	○

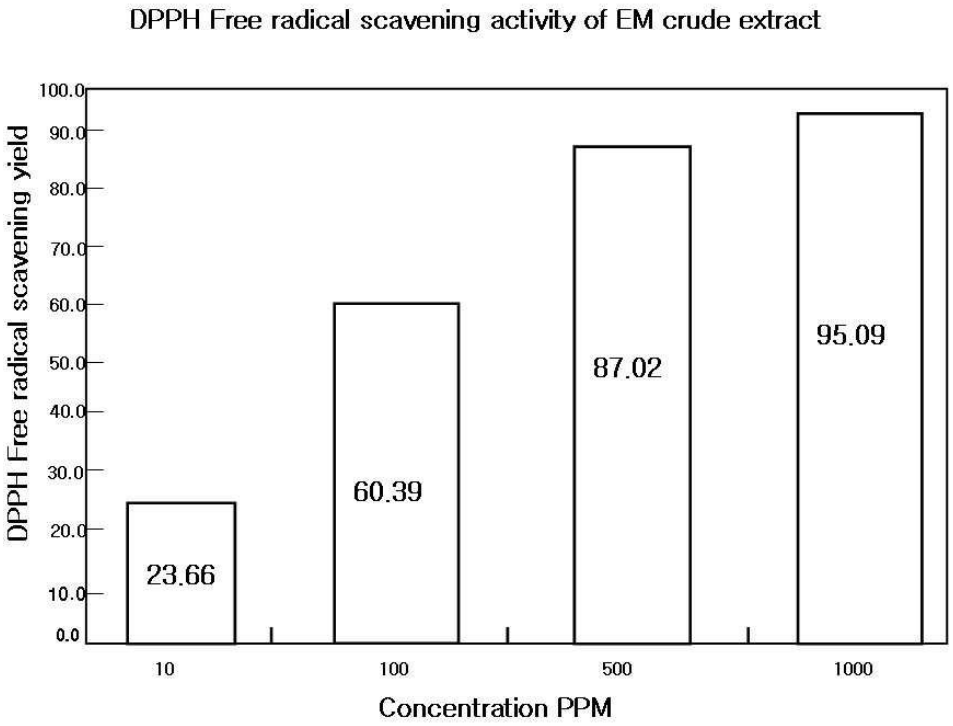
[0066] 상기 표에 나타난 바와 같이 본 발명에 따른 제제예 2와 비교제제예 2의 화장료 조성물은 전반적으로 열안정성이 우수한 것으로 확인되었다. 또한 꽃송이 버섯 발효 추출물이 화장료 조성물 제형의 안정도에 영향을 주지 않는 것으로 확인되어 꽃송이 버섯 발효 추출물을 적용한 화장료 조성물의 물리적 성질은 매우 안정적인 적으로 평가할 수 있다.

산업상 이용가능성

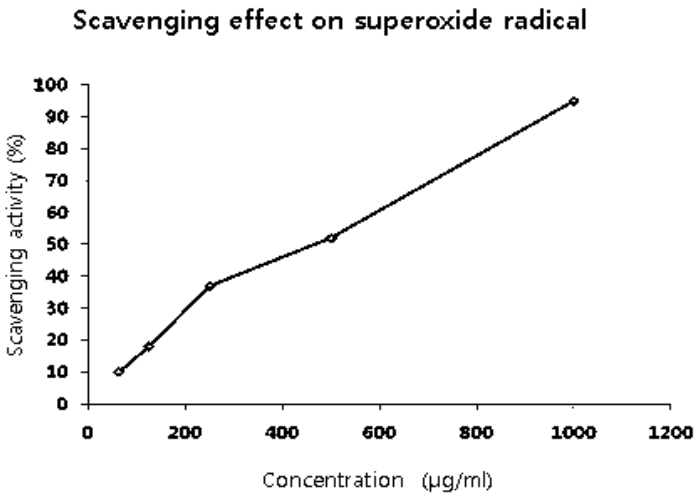
[0067] 본 발명에 따른 꽃송이 버섯 발효 추출물은 항산화 활성이 우수한 안전하고 안정적인 화장료 조성물의 제공이 가능하여 화장품 산업 분야로의 이용이 가능하고, 식품 및 의약 산업으로의 응용도 가능하여 그 산업적 이용 가능성은 매우 크다고 할 수 있다. 또한 화장료 조성물로의 적용 가능성은 화장료 조성물의 가용화 제형과 유화 제형에 모두 안정적으로 적용이 가능하여 화장료 조성물을 이용한 화장품 산업 분야로의 산업적 이용 가능성이 매우 크다고 할 수 있다.

도면

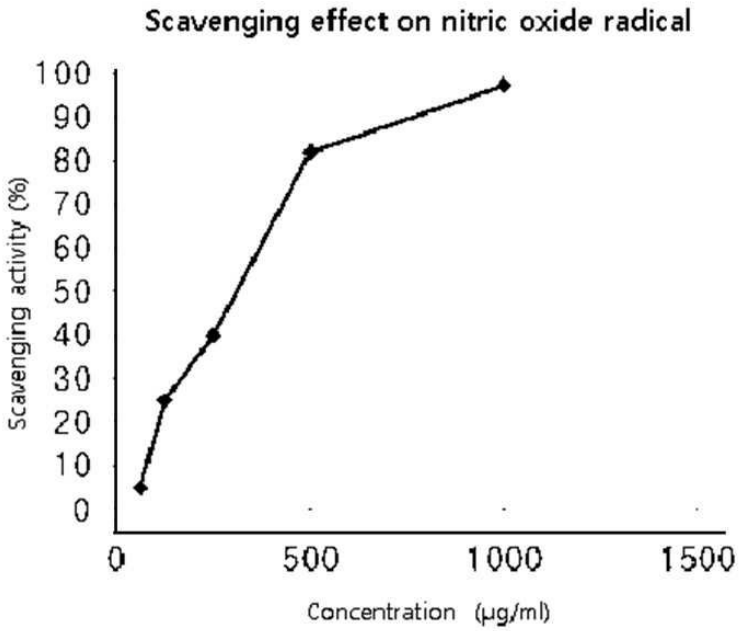
도면1


DPPH Free radical scavening activity of EM crude extract
DPPH Free radical scavening yield
100.0
90.0
80.0
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
23.66
60.39
87.02
95.09
10
100
500
1000
Concentration PPM

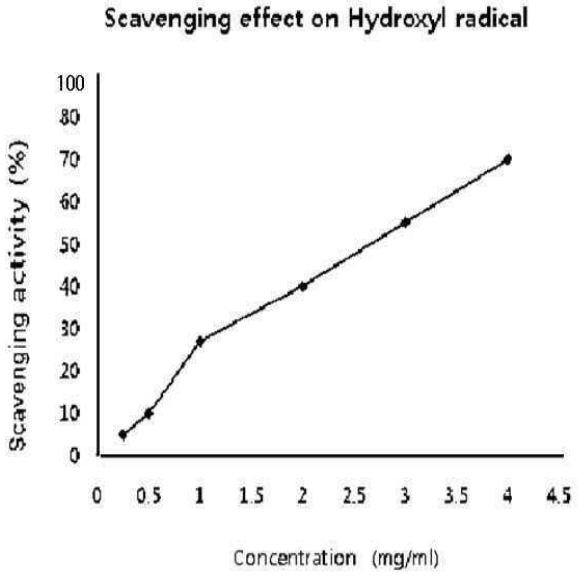
도면2


Scavenging effect on superoxide radical
Scavenging activity (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
200
400
600
800
1000
1200
Concentration (μg/ml)

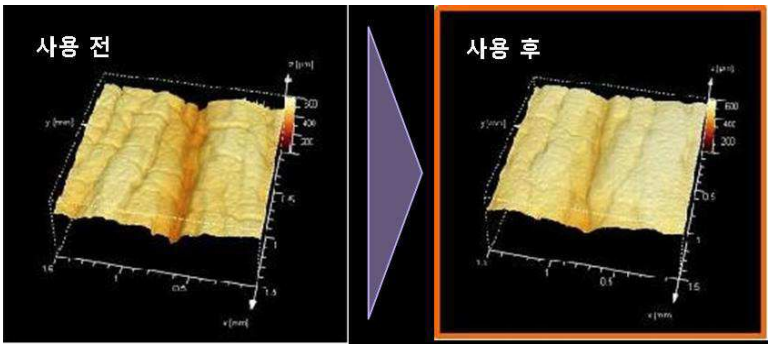
도면3


Scavenging effect on nitric oxide radical
Scavenging activity (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
500
1000
1500
Concentration (μg/ml)

도면4


Scavenging effect on Hydroxyl radical
Scavenging activity (%)
100
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
3.5
4
4.5
Concentration (mg/ml)

도면5


사용 전
사용 후