



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0014979

(43) 공개일자 2016년02월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/97 (2006.01) A61K 8/99 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2014-0097267

(22) 출원일자 2014년07월30일

심사청구일자 2014년07월30일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

임승택

서울특별시 도봉구 해동로 32 106-303(창동, 서울가든아파트)

신혜영

대구광역시 달서구 조암남로 132 106동 305호 (대천동, 월배힐스테이트아파트)

권민정

서울특별시 성북구 안암로 145 고려대학교 자연계 생명과학대학독지캠퍼스 635A호(안암동5가)

(74) 대리인

특허법인충현

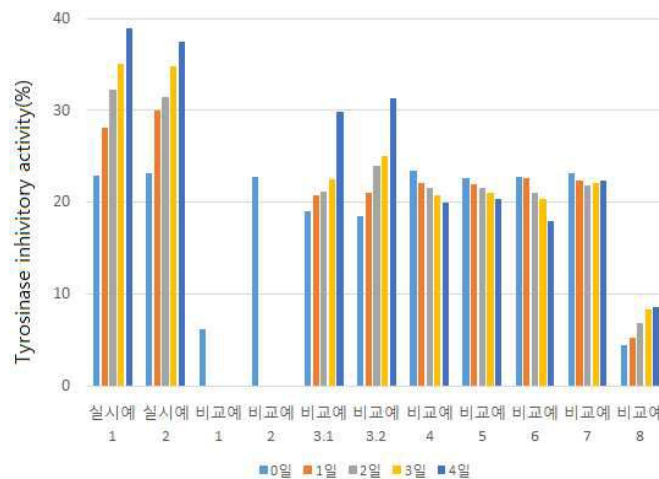
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 유색미 미강 발효물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 유색미 미강을 산성이온수에 소킹한 뒤 진균을 접종하여 발효시키는 단계를 포함하여 제조된 유색미 미강 발효물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 제조방법에 의해 제조된 유색미 미강 발효물은 페놀산과 플라보노이드의 함량이 높고, 발효과정을 통해 생성된 다양한 생리활성 물질을 함유하면서도 피부에 자극이 없으면서도, 피부 미백 활성, 주름 개선 활성, 항산화 활성 및 피부 노화 방지 특성을 나타낸다. 따라서 본 발명에 따른 유색미 미강 발효물은 피부미백, 주름개선, 항산화 및 피부노화 방지용 화장료 조성물에 이용될 수 있다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 S2108305

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 중소기업기술정보진흥원

연구사업명 창업성장기술개발

연구과제명 미강 (현미 및 흑미)으로부터 기능성과 미용 활성이 증진된 고부가 향장 소재 개발 및 제
품화

기 여 율 1/1

주관기관 (주)케이미강

연구기간 2013.10.01 ~ 2014.09.30

특허청구의 범위

청구항 1

유색미 미강을 산성이온수로 처리하는 단계; 및

산성이온수 처리된 유색미 미강에 진균을 접종하여 발효시키는 유색미 미강 발효물 제조 단계;를 포함하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 진균은 아스퍼질러스 속 곰팡이 균주인 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 진균은 아스퍼질러스 아와모리 또는 아스퍼질러스 오리제인 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 4

제1항에 있어서,

유색미 미강 100 중량부에 대하여 산성이온수 15 내지 50 중량부로 6 내지 24시간 동안 접촉시켜 처리하는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 발효는 유색미 미강 100 중량부에 대하여 진균 1 내지 20 중량부를 접종하여 20 내지 35 °C에서 2 내지 5일간 배양하는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 유색미 미강 발효물을 물, 저급 알콜 수용액 및 아세톤 수용액으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 용매로 추출하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 유색미 미강 발효물 1 중량부에 대하여 20 내지 80 부피%의 저급 알콜 수용액 또는 20 내지 80 부피%의 아세톤 수용액을 1 내지 30 중량부로 혼합하여 20 내지 60 °C에서 2 내지 24 시간 동안 교반하여 추출하는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 교반 전에 초음파 또는 마이크로파 또는 초음파와 마이크로파를 병용하여 조사하는 전처리 단계를 더 수행하는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 초음파 조사는 15 내지 25 kHz 및 500 내지 800 watt로 2 내지 30분간 조사되며,

상기 마이크로파 조사는 2000 내지 3000 MHz 및 50 내지 400 watt로 5 내지 60초간 조사되는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 유색미 미강 발효물은 피부 미백, 피부 주름 개선, 항산화 및 항노화로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상에 활성을 나타내는 것을 특징으로 하는 유색미 미강 발효물의 제조방법.

청구항 11

유색미 미강 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 미용 기능성 화장료 조성물로서, 상기 유색미 미강 발효물은 산성이온수로 처리된 후 아스퍼질러스 속 균주로 발효시킨 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 피부 미용 기능성은 피부 미백 활성, 주름 개선, 항산화 및 항노화로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 화장료는 스킨, 유액, 에센스, 로션, 미용액, 바디로션, 바디젤, 바디에센스, 바디세정제, 클렌징폼, 클렌징크림, 클렌징 젤, 팩, 마사지크림, 마사지젤, 영양크림, 수면크림 및 수분크림으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 제형인 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 14

제11항에 있어서,

상기 화장료 조성물은 물, 유분, 계면활성제, 보습제, 점증제, 방향제, 보존제, 중화제, 에몰리언트제, 피부보호제 및 피부컨디셔닝제로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 또는 2종 이상을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

명세서

기술분야

[0001]

본 발명은 유색미 미강 발효물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 화장품 조성물에 관한 것으로, 보다 구체적으로 유색 현미의 도정 과정에서 발생하는 유색미 미강을 발효시켜 기능성 화장품의 소재나 의약품 소재로 응용될 수 있는 항산화, 주름개선 및 미백 활성이 우수한 유색미 미강 발효물을 제조하는 방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 미백 활성 화장품 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002]

한국인의 주식으로 이용되고 있는 쌀에는 단백질, 필수 지방산, 필수 아미노산, 식이섬유, 비타민 및 미네랄이 풍부하게 들어있다. 특히, 쌀에 함유된 비타민으로는 마이오이노시톨, 콜린, 나이아신 등의 비타민 B와 항산화 물질로 알려진 토코페롤(비타민 E)이 있으며, 그 이외에도 감마-오리자놀, GABA, 세라마이드, 사이토스테롤 및 피탄산 등의 성분이 함유되어 있다. 특히, 흑미에는 알파-, 베타- 및 감마-토코페롤과 안토시아닌단계 색소 성분이 풍부하여 항염, 항산화, 항균 및 항암 등의 다양한 생리활성이 보고되고 있다. 그러나 이들 성분의 대부분은 쌀의 배아, 호분 층 및 과피를 포함하는 미강 층에 분포되어 있어, 이러한 우수한 영양적, 효능적 가치에도 불구하고 쌀 도정의 부산물로 간주되고 있으며 그 이용이 제한적인 것이 현실이다.

[0003]

미강은 예로부터 미용 효과가 탁월하여 우리 조상들이 자주 사용하여 왔다. 미강을 면이나 명주 천으로 만든 주

머니에 넣어 피부를 문지르면 피부가 깨끗해지고 매끄러워지며, 미강으로 팩을 하면 얼굴의 기미 제거에 도움이 된다고 알려져 있으나, 피부에 홍반을 일으키는 문제가 있다. 이에 대한민국 공개특허 제10-2014-007647호에서는 속미강으로부터 추출된 분말을 유효성분으로 포함하여 독성이 없으며, 항염, 주름개선 효과를 가진 화장품 조성물에 관한 특징을 개시하고 있으며, 한국 공개특허 제10-2014-0013529호에서는 미강으로부터 추출된 피틴산이 항산화 및 미백활성 효과를 가져 이를 기능성 화장품의 유효성분으로 이용하는 특징을 개시하고 있고, 대한민국 등록특허 제1134502호에서는 탈지 미강의 산추출액으로부터 피틴산을 제조하는 방법에 관한 특징을 개시하고 있으며, 상기 방법으로 얻어진 피틴산을 화장품 소재로 이용할 수 있음을 개시하고 있다. 한편, 대한민국 공개특허 제2013-0106128호에서는 흑미의 배아, 미강 추출물을 이용하여 보습용 화장품 조성물을 제조하는 방법에 관한 특징을 개시하고 있다. 그러나 상기와 같은 발명은 여전히 피부에 자극을 일으켜 홍반이나 염증이 발생하는 등 해결해야 할 문제점을 내포하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 본 발명이 해결하고자 하는 첫 번째 과제는 페놀산 및 플라보노이드 함량이 높고, 피부 자극이 없는 유색미 미강 발효물의 제조방법을 제공하는 것이다.

[0005] 본 발명이 해결하고자 하는 두 번째 과제는 상기 제조방법으로 제조된 유색미 미강 발효물을 유효성분으로 하는 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 상기한 목적을 달성하기 위하여 본 발명은 유색미 미강을 산성이온수로 처리하는 단계; 및 산성이온수 처리된 유색미 미강에 진균을 접종하여 발효시키는 유색미 미강 발효물 제조 단계;를 포함하는 유색미 미강 발효물의 제조방법을 제공한다.

[0007] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 진균은 아스퍼질러스 속 곰팡이 균주일 수 있으며, 바람직하게는 아스퍼질러스 오리제(*Aspergillus oryzae*) 또는 아스퍼질러스 아와모리(*Aspergillus awamori*)일 수 있다.

[0008] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 이온수 처리 단계는 유색미 미강 100 중량부에 대하여 산성이온수 15 내지 50 중량부로 6 내지 24시간 동안 처리함으로써 수행될 수 있다.

[0009] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 발효는 유색미 미강 100 중량부에 대하여 진균 1 내지 20 중량부가 되도록 접종하여 20 내지 35 ℃에서 2 내지 5일간 배양하는 것일 수 있다.

[0010] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 유색미 미강 발효물의 제조방법은 상기 유색미 미강 발효물을 물, 저급 알콜 수용액 및 아세톤 수용액으로 이루어진 균 중에서 선택되는 어느 하나의 용매로 추출하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0011] 상기 추출은 유색미 미강 발효물 1 중량부에 대하여 20 내지 80 부피%의 저급 알콜 수용액 또는 아세톤 수용액을 1 내지 30 중량부로 혼합하여 20 내지 60 ℃에서 2 내지 24 시간 동안 교반함으로써 수행될 수 있다.

[0012] 또한, 상기 교반 전에 초음파 또는 마이크로파를 조사하는 전처리 단계를 더 수행할 수 있으며, 초음파와 마이크로파를 병용하여 전처리할 수도 있다.

[0013] 상기 초음파 조사는 15 내지 25 kHz 및 500 내지 800 watt로 2 내지 30분간 조사되며,

[0014] 상기 마이크로파 조사는 2000 내지 3000 MHz 및 50 내지 400 watt로 5 내지 60초간 조사되는 것일 수 있다.

[0015] 상기 제조방법에 따라 제조된 유색미 미강 발효물은 피부 미백, 피부 주름 개선, 항산화 및 항노화로 이루어진 균 중에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상에 활성을 나타낸다.

[0016] 한편, 본 발명은 상기 제조방법으로 제조된 유색미 미강 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 미용 기능성 화장품 조성물을 제공한다.

[0017] 본 발명에 있어서 상기 유색미 미강 발효물은 아스퍼질러스 속 균주로 발효시킨 것일 수 있으며, 상기 아스퍼질러스 속 균주는 아스퍼질러스 아와모리 또는 아스퍼질러스 오리제인 것이 바람직하다.

[0018] 또한, 본 발명에 있어서 상기 유색미 미강 발효물은 산성이온수로 처리된 후 아스퍼질러스 속 균주로 발효시킨

것일 수 있다.

[0019] 상기 피부 미용 기능성은 구체적으로 피부 미백 활성, 주름 개선, 항산화 및 항노화로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상일 수 있다.

[0020] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 화장료 조성물은 물, 유분, 계면활성제, 보습제, 점증제, 방향제, 보존제, 중화제, 에멀리언트제, 피부보호제 및 피부컨디셔닝제로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 또는 2종 이상을 더 포함할 수 있다.

[0021] 본 발명의 일 구현예에 의하면, 상기 화장료는 스킨, 유액, 에센스, 로션, 미용액, 바디로션, 바디젤, 바디에센스, 바디세정제, 클렌징폼, 클렌징크림, 클렌징 겔, 팩, 마사지크림, 마사지젤, 영양크림, 수면크림 및 수분크림 중에서 선택된 어느 하나의 제형일 수 있다.

발명의 효과

[0022] 본 발명에 따른 제조방법에 의해 제조된 유색미 미강 발효물은 페놀산과 플라보노이드의 함량이 높고, 발효과정을 통해 생성된 다양한 생리활성 물질을 함유하면서도 피부에 자극이 없으며, 피부 미백 활성, 주름 개선 활성, 항산화 활성 및 피부 노화 방지 특성을 나타낸다. 따라서 상기한 유색미 미강 발효물을 유효성분으로 함유하는 조성물은 미백, 주름개선, 항산화 및 피부 노화방지 등의 기능성을 요구하는 피부미용제품 또는 화장료의 조성물로 유용하게 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 유색미 미강 발효물의 항산화 효과를 평가한 그래프이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 유색미 미강 발효물의 티로시나제 효소 활성 저해능을 평가한 그래프이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 유색미 미강 발효물의 엘라스타아제 효소 활성 저해능을 평가한 그래프이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예 및 비교예에 따른 유색미 미강 발효물 중의 안토시아닌 함량을 평가한 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

[0025] 본 발명의 일 측면에 따르면, 본 발명은 유색미 미강을 산성이온수로 처리하는 단계; 및 산성이온수 처리된 유색미 미강에 진균을 접종하여 발효시키는 유색미 미강 발효물 제조 단계;를 포함하는 유색미 미강 발효물의 제조방법을 제공한다.

[0026] 본 발명에 있어서, '미강'이란 쌀을 도정하는 과정에서 생기는 과피, 종피, 호분층 등의 분쇄혼합물을 의미하며, 상기 '유색미'란 적색, 갈색, 흑색 또는 녹색을 나타내는 쌀이며, 바람직하게는 적미, 갈색미 또는 흑미일 수 있고, 가장 바람직하게는 흑미일 수 있다.

[0027] 본 발명에 있어서, 상기 유색미 미강은 구체적으로 흑진주벼, 신명흑찰, 조생흑찰, 신토 및 신평흑찰로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나 또는 둘 이상을 도정하여 수득한 분쇄혼합물일 수 있다.

[0028] 상기 유색미 미강은 오리자놀(oryzanol), 피틴산(phytic acid), 페루릭산(ferulic acid), 헤미셀룰로오스(hemicelluloses), 토크페롤(tocopherol), 옥타코사놀(Octacosanol) 및 안토시아닌(anthocyanin)을 함유할 수 있다.

[0029] 상기 유색미 미강을 얻기 위하여 도정하는 방법으로는 특별히 제한은 없으며, 예를 들어, 수직형 연삭식 또는 마찰식 도정기를 이용하여 0.5 내지 5 분간 도정하여 수득한 것일 수 있다.

[0030] 종래의 균주를 이용한 미강 발효에는 발효 전에 정제수 또는 멸균수를 이용하여 고온 또는/및 고압처리 과정을 필요로 하였다. 또한, 발효를 통해 기존 물질의 저분자화와 새로운 인체 생리활성 물질이 생성될 수 있다고 보고된 바는 있으나, 일반적으로 산성조건 등과 같은 제한된 발효조건에서는 균주의 생장 조건이 적합하지 않다고 알려져 있다.

[0031] 본 발명에서는 산성이온수를 이용하여 이온수 처리된 유색미 미강을 발효에 이용하여 페루릭 산을 비롯한 페놀

산의 함량이 높고, DPPH 라디칼 소거능, 티로시나아제 활성 저해능 및 엘라스타아제 활성 저해능이 우수한 유색미 미강 발효물을 제조하는 방법을 제공한다.

- [0032] 본 발명에 있어서, 상기 산성이온수 처리 단계는 유색미 미강 100 중량부에 대하여 산성이온수 15 내지 50 중량부로 6 내지 24시간 동안 접촉시켜 처리하는 것이 바람직한데, 구체적으로 유색미 미강 100 중량부에 대하여 산성이온수 15 내지 50 중량부로, 6 내지 24시간 동안 처리하는 것일 수 있다.
- [0033] 또한, 상기 산성이온수 처리는 4 내지 30℃에서 수행될 수 있으며, 암조건에서 수행될 수도 있다.
- [0034] 상기 산성이온수를 유색미 미강에 접촉시키는 방법은 제한이 없으며, 예를 들어, 산성이온수를 유색미 미강에 고르게 스프레이 하거나, 현탁하거나, 침치하는 방법일 수 있다.
- [0035] 본 발명에 의하면, 유색미 미강을 산성이온수로 처리하면 정제수나 멸균수를 이용한 고온 또는/및 고압처리에 비하여 처리과정이 간단하고 경제적으로 유색미 미강을 멸균할 수 있다. 또한 상기 산성이온수 처리는 단단한 흑미강 조직을 헤리시킴으로써 폐놀산이 용이하게 용출되게 할 수 있으며, 균주에 의한 발효 효율 및 속도를 향상시킬 수 있고, 폐놀산의 함량 및 생리활성 물질의 함량을 증가시킬 수 있어 바람직하다.
- [0036] 본 발명에 의하면, 상기 진균은 아스퍼질러스 속 곰팡이 균주일 수 있는데, 바람직하게는 아스퍼질러스 오리제 (*Aspergillus oryzae*) 또는 아스퍼질러스 아와모리(*Aspergillus awamori*)일 수 있다.
- [0037] 특히, 아스퍼질러스 속 곰팡이 균주로 발효하면 페루릭 산 및 폐놀산의 함량이 높고, DPPH 라디칼 소거능, 티로시나아제 활성 저해능 및 엘라스타아제 활성 저해능이 우수한 유색미 미강 발효물을 제조할 수 있어 바람직하다.
- [0038] 본 발명에 의하면, 상기 산성이온수는 pH가 3.0 내지 5.5일 수 있다.
- [0039] 상기 산성이온수를 이용하여 유색미 미강 발효물을 제조하는 경우, 정제수를 이용하여 고온 고압처리를 한 경우보다 페루릭산 및 폐놀산의 함량이 높고, DPPH 라디칼 소거능, 티로시나아제 활성 저해능 및 엘라스타아제 활성 저해능이 우수한 것을 확인하였다.
- [0040] 또한, 상기 발효는 유색미 미강 100 중량부에 대하여 진균 1 내지 20 중량부가 되도록 접종하여 20 내지 35 ℃에서 2 내지 5일간 배양하는 것일 수 있다.
- [0041] 다음으로, 상기 유색미 미강 발효물을 물, 저급 알콜 수용액 및 아세톤 수용액으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 용매로 추출하는 단계를 더 포함하여 유색미 미강 발효물을 제조할 수 있다.
- [0042] 상기 추출은 구체적으로 상기 유색미 미강 발효물 1 중량부에 대하여 20 내지 80 부피%의 저급 알콜 수용액 또는 20 내지 80 부피%의 아세톤 수용액을 1 내지 30 중량부로 혼합하여 20 내지 60 ℃에서 2 내지 24 시간 동안 교반하여 추출하는 것일 수 있는데, 상기 용매는 좀 더 바람직하게는 50 내지 70 부피%의 저급 알콜 수용액 또는 30 내지 50 부피%의 아세톤 수용액일 수 있다. 상기 범위의 용매를 사용하여 추출된 추출물이 항산화, 미백 및 주름개선 활성이 좀 더 우수하였다.
- [0043] 한편, 상기 저급 알콜은 탄소수 1 내지 4의 알콜을 의미는 것으로, 구체적으로 메탄올, 에탄올, 프로판올, 부탄올 및 이소프로필 알콜일 수 있고, 바람직하게는 에탄올 또는 이소프로필 알콜일 수 있다.
- [0044] 상기 교반은 20 내지 60 ℃에서 2 내지 24 시간 동안 수행될 수 있는데, 교반 온도가 상기 범위 미만이면 피부미용에 유용한 물질의 추출 수율이 낮아지면서도 온도를 낮추기 위한 장비가 필요하므로 경제적이지 않으며, 교반 온도가 상기 범위를 초과하면 피부미용에 유용한 물질이 파괴되거나, 피부 미백, 주름 개선 등에 관여하지 않는 물질이 높은 함량으로 함께 추출될 수 있어 기능성이 저하된 추출물이 제조될 수 있어 바람직하지 않다.
- [0045] 본 발명에 의하면, 상기 교반 전에 초음파 또는 마이크로파를 조사하는 전처리 단계를 더 수행할 수 있으며, 초음파와 마이크로파를 병용하여 조사하는 것도 무방하다. 상기 발효물에 초음파 또는/및 마이크로파를 조사하는 경우 그렇지 않은 경우에 비하여 항산화, 피부미백, 주름 개선 등의 피부미용 기능성이 향상된 추출물을 얻을 수 있어 바람직하다. 특히, 알콜 또는 아세톤의 함량이 낮은 용매를 이용하여 추출 시에도 피부 미용 기능성 성분의 추출이 용이하므로 바람직하다.
- [0046] 상기 초음파 조사는 15 내지 25 kHz 및 500 내지 800 watt로 2 내지 30분간 조사될 수 있으며, 상기 마이크로파 조사는 2000 내지 3000 MHz 및 50 내지 400 watt로 5 내지 60초간 조사되는 것 일 수 있다.
- [0047] 초음파 또는 마이크로파의 조사에너지 및 조사시간이 상기 범위 미만이면 조사에 의한 효과가 미미하며, 상기

범위를 초과하면 폐놀산의 구조가 항산화, 피부 미백 또는 주름 개선 등에 효과적이지 않은 구조로 변질된 추출물이 얻어질 수 있으므로 바람직하지 않다.

[0048] 한편, 유색미 미강 발효물은 통상의 여과 방법 또는 장치를 이용하여 불순물을 제거할 수 있으며, 예를 들어 원심분리 방법을 이용하거나 마이크로 필터를 이용하여 여과하여 불순물이 제거된 추출물을 얻을 수 있다.

[0049] 본 발명에 의하면 상기 마이크로 필터는 0.3 내지 0.8 μm 필터일 수 있다.

[0050] 한편, 본 발명은 유색미 미강 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 미용 기능성 화장료 조성물을 제공한다.

[0051] 상기 유색미 미강 발효물은 유색미 미강을 산성이온수로 처리하는 단계; 산성이온수 처리된 유색미 미강에 진균을 접종하여 발효시키는 유색미 미강 발효물 제조 단계; 및 상기 유색미 미강 발효물을 물, 저급 알콜 수용액 및 아세톤 수용액으로 이루어진 군 중에서 선택되는 어느 하나의 용매로 추출하는 단계;를 포함하여 수행함으로써 제조될 수 있으며, 상기 산성이온수 처리조건, 발효조건 및 추출조건은 앞서 제시한 바와 같다.

[0052] 본 발명에 의하면, 상기 유색미 미강 발효물은 DPPH 라디칼 소거능에 효과적이어서 항산화 효과 또는 항노화에 효과적이며, 티로시나제 효소 활성 저해 및 엘라스타아제 효소 활성 저해가 우수하여 이를 유효성분으로 함유하는 화장료 조성물은 노화방지, 항산화, 미백활성 또는 주름 개선을 목적으로 유용하게 이용될 수 있다.

[0053] 본 발명에 의하면 상기 조성물에서 상기 유색미 미강 발효물의 함량은 전체 화장료 조성물 총 중량에 대하여 0.01 내지 30 중량%로 함유될 수 있으며, 바람직하게는 0.03 내지 10 중량%로 함유될 수 있다. 상기 유색미 미강 발효물의 함량이 상기 범위 미만인 경우에는 유색미 미강 발효물에 의한 효과를 기대하기 어려우며, 상기 범위를 초과하는 경우에는 함량의 증가에 따른 효과의 증가가 미미하며, 제형의 안정성이 저하되는 문제가 있다.

[0054] 본 발명에 따른 화장료는 공지된 바의 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어 스킨, 유액, 에센스, 로션, 바디로션, 바디젤, 바디에센스, 바디세정제, 클렌징폼, 클렌징크림, 클렌징 젤, 팩, 마사지크림, 마사지젤, 영양크림, 수면크림 및 수분크림으로 이루어진 군 중에서 선택되는 제형일 수 있다.

[0055] 또한 각 제형의 화장료 조성물에 있어서 상기 유색미 미강 발효물 외에 다른 성분들을 사용목적 또는 제형의 특징에 따라 임의로 선정하여 배합할 수 있으며, 그 제형의 제제화에 필요에 따라 효과를 떨어뜨리지 않는 범위에서 첨가물을 더 포함할 수 있다.

[0056] 상기 첨가물은 물, 유분, 계면활성제, 보습제, 점증제, 방향제, 보존제, 중화제, 에몰리언트제, 피부보호제, 피부쿠티디서닝제, 방부제, 산화방지제, 자유 라디칼 파괴제, 불투명화제, 안정화제, 살균제, 산화 안정화제, 실리콘, 소포제, 비타민, 곤충 기피제, 중합제, 추진제, 염기성화제, 산성화제, 착색제, 안료 및 충전제로 이루어진 군 중에서 선택되는 1종 또는 2종 이상일 수 있다.

[0057] 이하, 바람직한 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진자에게 자명할 것이다.

[0058] 실시예

[0059] 제조예 1.

[0060] 마찰식 도정기를 이용하여 흑현미를 도정하여 흑미강 및 도정흑미로 분리하였다. 도정에 이용된 흑미 품종으로는 흑진주벼, 조생흑찰, 흑향미, 신토 및 신평흑찰을 이용하였으며, 얻어진 흑미강 및 도정흑미의 함량은 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

품종	흑미강(%)	도정흑미(%)
흑진주벼	16.78	83.22
조생흑찰	20.52	79.48
흑향미	25.56	74.44
신토	18.20	81.80
신평흑찰	18.48	81.52

- [0062] 도정으로 얻어진 흑미강을 분쇄기를 이용하여 분쇄하여 혼합한 뒤, 체눈크기 300 μm 의 체를 통과시켜 분말화 하였다.
- [0063] 실시예 1.
- [0064] 가. 배양
- [0065] 제조에 1에서 제조된 흑미강 1 kg에 수분함량이 30%가 되도록 산성이온수를 스프레이하여 15 시간 동안 소킹(soaking)하였다. 이후, 소킹된 흑미강을 유리 용기에 투입하고, 상부에 아스퍼질러스 아와모리를 50 g 접종하여 28 $^{\circ}\text{C}$ 에서 7일간 배양하여 발효시켰다.
- [0066] 나. 추출
- [0067] 발효된 흑미강과 50 부피% 에탄올 수용액을 1:20의 중량비로 혼합하여 상온에서 12 시간 동안 추출하고, 0.45 μm 필터로 여과하여 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0068] 실시예 2.
- [0069] 진균로 아스퍼질러스 아와모리 대신에 아스퍼질러스 오리재를 이용한 것을 제외하고는 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0070] 실시예 3.
- [0071] 추출용매로 50% 에탄올 수용액 대신에 40% 아세톤 수용액을 이용한 것을 제외하고는 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0072] 실시예 4.
- [0073] 추출용매로 50% 에탄올 수용액 대신에 40% 아세톤 수용액을 이용한 것과, 진균로 아스퍼질러스 아와모리 대신에 아스퍼질러스 오리재를 이용한 것을 제외하고는 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0074] 실시예 5.
- [0075] 추출 시, 교반하기 전 각각 5분, 15분, 30분, 45분, 60분 및 120분간 초음파를 조사하는 과정을 더 포함하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0076] 실시예 6.
- [0077] 추출 시, 교반하기 전 각각 0, 10, 30, 50, 120 및 150 초간 마이크로파를 조사하는 과정을 더 포함하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0078] 실시예 7.
- [0079] 추출시, 교반하기 전 발효물에 마이크로 파를 조사한 뒤, 초음파를 조사하는 과정을 더 포함하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다. 조사 조건은 하기 표 9에 개시되어 있다.

- [0080] 비교예 1.
- [0081] 이온수 처리 단계 및 발효 단계를 수행하지 않은 흑미강과 50 부피% 에탄올 수용액을 1:20의 중량비로 혼합하여 상온에서 12 시간 동안 추출하고, 0.45 μ m필터로 여과하여 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0082] 비교예 2.
- [0083] 산성이온수로 소킹하되, 발효과정을 거치지 않은 흑미강과 50 부피% 에탄올 수용액을 1:20의 중량비로 혼합하여 상온에서 12 시간 동안 추출하고, 0.45 μ m필터로 여과하여 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0084] 비교예 3.
- [0085] 비교예 3.1. 아스퍼질러스 아와모리
- [0086] 산성이온수 대신에 증류수를 이용하여 소킹한 뒤, 오토클레이브를 이용하여 고압살균한 것을 제외하고는 실시예 1(아스퍼질러스 아와모리 이용)의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0087] 비교예 3.2. 아스퍼질러스 오리재
- [0088] 산성이온수 대신에 증류수를 이용하여 소킹한 뒤, 오토클레이브를 이용하여 고압살균한 것을 제외하고는 실시예 2(아스퍼질러스 오리재 이용)의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0089] 비교예 4.
- [0090] 아스퍼질러스 오리재 대신에 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*)를 사용하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0091] 비교예 5.
- [0092] 아스퍼질러스 오리재 대신에 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*)을 사용하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0093] 비교예 6.
- [0094] 아스퍼질러스 오리재 대신에 스트렙토코코스 써모필루스(*Streptococcus Thermophilus*)를 사용하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0095] 비교예 7.
- [0096] 아스퍼질러스 오리재 대신에 사카로마이세스 세레비지에(*Saccharomyces cerevisiae*)를 사용하여 실시예 1의 방법으로 발효 흑미강 추출물을 제조하였다.
- [0097] 비교예 8.
- [0098] 유색미 미강 대신에 현미를 도정하여 얻은 미강을 이용하여 실시예 1의 방법으로 발효 미강 추출물을 제조하였다.
- [0099] 시험예

[0100]

가. 총 페놀 함량 측정

[0101]

추출물 중의 총 페놀 화합물(phenolics) 함량은 Folin-Ciocalteu법에 따라 측정하였다. 농도가 1000 ppm인 흑미강 추출물 200 μ l에 Folin-Ciocalteu reagent 800 μ l을 가하여 교반한 뒤, 10분 후에 10% Na₂CO₃ 용액 2ml을 추가하였다. 그 후, 90분간 암실에서 반응시킨 후 765 nm에서 UV-Vis spectrometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 μ g Gallic acid equivalents(GAE)/g 흑미강 으로 나타내었다.

[0102]

나. 페놀산 함량 측정

[0103]

총 페놀화합물 중의 페놀산(phenolic acid) 함량을 HPLC(High performance liquid chromatography)를 이용하여 측정하였다. 총 페놀산 함량은 μ g/g 흑미강 으로 나타내었다.

[0104]

다. 페루릭산 함량 측정

[0105]

총 페놀산 중의 페루릭산(Ferulic acid) 함량을 HPLC(High performance liquid chromatography)를 이용하여 측정하였다. 페루릭산은 페놀산의 일종으로 화장품에 첨가되었을 때 비타민C 등의 물질을 안정화시켜주고 피부 미백 활성을 가진다고 보고된 물질이다. 총 페루릭산 함량은 μ g/g 흑미강으로 나타내었다.

[0106]

시험예 1. 성분분석

[0107]

시험예 1.1. 이온수 처리 및 발효에 따른 총 페놀화합물 함량

[0108]

이온수 처리 및 발효에 따른 총 페놀화합물 함량 변화를 확인하였으며 이를 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0109]

구분	발효일(μ g)				
	0	1	3	4	5
실시예 1	19025.1	15590.4	18112.5	19262.3	20211.5
실시예 2	19101.4	16160.8	18263.1	19331.4	20123.8
비교예 1	22531.5	-	-	-	-
비교예 2	19214.0	-	-	-	-
비교예3.1	11480.9	10970.4	12011.1	13013.5	15844.4
비교예3.2	11481.4	10485.6	12551.3	14051.6	13882.4

[0110]

표 2의 비교예 1 및 3을 참고로 하면, 오토클레이브를 이용한 멸균 처리는 흑미강이 보유한 총 페놀화합물을 절반 가까이 파괴하는 요인으로 작용하였다. 한편, 산성이온수로 처리한 비교예 2에서도 일부 페놀화합물이 파괴되는 것으로 확인되었으나, 오토클레이브보다는 손실되는 정도가 매우 적었으며, 멸균효과가 있었다.

[0111]

한편, 실시예 및 비교예에서 모두 발효되는 과정에서 시간이 지남에 따라 유용성 물질이 생성되어 총 페놀화합물의 함량이 증가하는 것을 확인하였다.

[0112]

시험예 1.2. 진균의 종류에 따른 총 페놀산 함량 비교

[0113]

총 페놀화합물 중의 페놀산 함량을 확인하기 위하여 발효 일수에 따른 흑미강 추출물의 총 페놀산 함량 변화를 측정하였으며 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0114]

구분	발효일(μ g)					
	0	1	3	4	5	7
실시예 1	1445.6	1377.3	2199.7	2229.6	2209.7	852.3
실시예 2	1449.1	1534.8	1953.1	2153.6	1725.0	821.3
비교예 1	664.7	-	-	-	-	-

비교예 2	1445.6	-	-	-	-	-
비교예 3.1	425.8	420.1	26.9	943.1	956.8	875.15
비교예 3.2	415.5	404.6	775.1	924.6	943.1	612.2
비교예 4	1446.8	1421.5	1394.5	1348.1	1288.4	1128.5
비교예 5	1447.9	1395.9	1355.9	1250.0	1115.4	1085.1
비교예 6	1449.7	1407.5	1305.4	1294.4	1212.5	1101.0
비교예 7	1488.4	1449.4	1645.1	1798.1	1764.1	865.4
비교예 8	351.1	328.4	512.4	534.1	540.4	426.1

[0115] 표 3에 나타난 바와 같이, 실시예 1 및 2는 발효 시간이 증가함에 따라 총 페놀화합물의 감소에도 불구하고 페놀산의 함량은 증가된 것을 확인하였다.

[0116] 아스퍼질러스 속 균주는 산성이온수로 처리된 환경의 흑미강 발효에 우수한 효과를 나타내었는데, 발효 시간이 2 내지 5일에서 페놀산의 함량이 우수하였으며, 발효 시간이 5일을 초과하는 경우 과도한 발효에 의해 유용성분이 분해되면서 오히려 페놀산이 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 종래의 발효방법에 따른 비교예 3.1 및 3.2에서도 발효 시간이 증가함에 따라 페놀산이 증가하였는데, 산성이온수 처리에 비하여 낮은 증가효율을 나타내었다.

[0117] 반면, 비교예 4 내지 6의 락토바실러스 람노시스, 비피도막테리움 롱검 및 스트렙토코코스 써모필루스는 생육이 좋지 않아 발효 효과가 거의 없었으며, 비교예 7의 사카로마이세스 세레비지에는 발효에 따라 페놀산의 함량이 증가되기는 하였으나 아스퍼질러스 속 균주에 비해 현저히 낮은 효능을 나타내었다.

[0118] 시험예 1.3. 페놀산 분석

[0119] 실시예 1 및 2에 따른 추출물의 성분 분석을 수행하였으며 하기 표 3 및 4에 나타내었다. 표 4은 실시예 1의 추출물에 대한 페놀산 분석이며, 표 5는 실시예 2의 추출물에 대한 페놀산 분석이다.

표 4

[0120]

구분	control	배양일(μg)					
		0	1	3	4	5	7
Gallic acid	3.53	2.1	1.4	12.6	7.1	11.1	1.5
Protocatechuic acid	480.8	1028.2	943.9	1122.9	1660.6	1141.4	498.6
OH-Benzoic acid	1.56	19.5	17.9	53.5	20.2	53.2	40.5
Vanilic acid	139.49	301.5	271.2	353.5	462.0	396.3	188.4
Syringic acid	3.49	17.6	12.0	16.3	9.5	17.3	33.9
t-Cinnamic acid	0.16	0.0	0.3	0.1	0.4	0.1	0.4
Chlorogenic acid	0.09	1.2	0.7	0.4	4.5	0.8	10.5
Caffeic acid	0.97	3.7	2.8	17.2	3.6	18.3	5.5
p-Coumaric acid	11.21	18.5	16.5	56.9	23.0	51.9	20.9
Ferulic acid	12.83	46.4	107.1	566.5	380.2	503.2	50.3
Sinapic acid	0.60	0.3	3.9	n.d.	0.7	16.1	1.6
합계	664.73	1439.5	1377.3	2199.7	2229.6	2209.7	852.3

표 5

[0121]

구분	control	배양일(μg)					
		0	1	3	4	5	7
Gallic acid	3.53	1.5	2.4	46.2	8.6	10.0	48.5
Protocatechuic acid	480.8	1055.4	1045.9	1225.2	579.6	1129.6	477.1
OH-Benzoic acid	1.56	15.0	23.0	51.4	21.8	21.5	48.0
Vanilic acid	139.49	299.5	289.1	118.8	445.3	280.1	74.5
Syringic acid	3.49	12.0	11.6	28.2	10.9	10.0	28.3
t-Cinnamic acid	0.16	0.5	0.3	0.1	0.4	0.0	0.2
Chlorogenic acid	0.09	0.1	0.0	1.1	5.4	0.1	5.9
Caffeic acid	0.97	3.8	4.2	11.3	5.7	4.6	12.2

p-Coumaric acid	11.21	19.0	22.0	44.9	18.1	28.7	14.9
Ferulic acid	12.83	50.2	130.7	412.8	410.0	270.3	69.1
Sinapic acid	0.60	0.4	5.4	13.1	13.8	n.d.	42.7
합계	664.73	1457.3	1534.8	1953.1	2153.6	1725.0	821.3

[0122] 표 4 및 5에 나타낸 바와 같이, 아스퍼질러스 속 균주를 이용하여 발효를 하는 경우 페루릭산의 함량을 크게 증가시킬 수 있었는데 특히, 아스퍼질러스 아와모리로 발효하는 경우 발효 전에 비하여 3일 차에 약 45배 가량을 증가시킬 수 있었으며, 아스퍼질러스 오리재를 이용한 경우 3일 차에 약 32배를 증가시킬 수 있었다.

[0123] 시험예 1.4. 안토시아닌 함량 측정

[0124] 발효추출물의 경우 비교예 1 및 2의 추출물보다 옅은 보라색을 나타내었다. 이에, 안토시아닌의 지표로 cyanidin-3-glucoside의 함량을 HPLC로 측정하였으며, 상기 결과를 도 1에 나타내었다.

[0125] 비교예 1의 안토시아닌 함량은 11973.4 $\mu\text{g/g}$ 이었으며, 이를 오토클레이브 처리한 비교예 3.1 및 3.2의 안토시아닌은 약 150배 이상 감소되어 오토클레이브 처리가 안토시아닌을 파괴하는 것으로 예상되었다. 한편, 발효 과정 역시 안토시아닌의 일부를 파괴하는 것을 확인하였다. 반면, 산성이온수만 처리한 비교예 2의 안토시아닌의 경우는 안토시아닌이 대부분 보존되는 것을 확인하였다.

[0126] 시험예 2. 피부 기능성 평가

[0127] 실시예 및 비교예의 발효물을 50 부피% 에탄올 수용액으로 추출하여 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 활성저해 및 엘라스타아제 활성 저해능을 평가하였다.

[0128] 시험예 2.1. 항산화 활성

[0129] 항산화 활성은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능을 이용하여 측정하였다. DPPH는 시그마사(Sigma Co., Ltd, 미국)에서 구입하여 사용하였다. 농도가 250 ppm인 실시예 및 비교예의 추출물 500 μl 에 0.2mM 표준 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액을 가하여 혼합 후, 30분간 암실에서 반응시킨 뒤 UV-Vis spectrometer를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이를 하기 도 2에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 mM Trolox equivalent/g으로 나타내었다.

[0130] 도 2를 참고로 하면, 산성이온수를 이용하여 소킹을 하는 경우 항산화 활성이 더 증가되는 것을 확인할 수 있는데, 이는 이온수 처리에 의해 단단했던 흑미강 조직이 생겨져서 페놀산이 더 많이 용출되는 것에 기인한다. 한편 오토클레이브를 이용한 고압 살균 후에는 열에 의해 섬유와의 결합 또는 섬유 내 결합이 끊겨 페놀산의 용출이 증가되었으며, 발효 과정에서 유용성 물질이 생성되어 항산화 활성이 증가된 것으로 확인되었다.

[0131] 실시예 2.2. 미백 활성

[0132] 미백 활성 효과는 티로시나제 효소 활성 저해능을 통해 평가하였다. 포스페이트 버퍼 2 ml, 농도가 1000 ppm인 실시예 및 비교예의 추출물 100 μl , 농도가 1500 unit/ml인 티로시나제 효소 100 μl 를 첨가하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 반응시킨 후 기질로서 5 mM L-DOPA(Sigma Co., Ltd, 한국) 100 μl 를 첨가하여 10분간 반응시킨 후 UV-visible spectrometer를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군의 흡광도를 Ab_{control} 이라 하고 흑미강 추출물의 흡광도를 Ab_{sample} 로 하여 하기 수학적 식 1에 따라 계산하였으며, 이를 도 3에 나타내었다.

[0133] [수학적 식 1]

[0134]
$$\text{티로시나제 저해율 (\%)} = \frac{(1 - Ab_{\text{sample}})}{Ab_{\text{control}}} \times 100$$

[0135] 도 3을 참고로 하면, 발효 과정이 진행될수록 티로시나제 효소 활성 저해능이 증가하였는데, 이는 용출된 페놀산의 증가와 비슷한 경향을 나타낸다.

[0136] 실시예 2.3. 주름 개선

[0137] 주름 개선 효과는 엘라스타아제 효소 활성 저해능을 통해 평가하였다. Tris-HCl buffer(pH 8.0)를 이용하여 제조된 농도가 1000 ppm인 실시예 및 비교예의 추출물 500 μ l에 50 mM(500 μ g/ml) L-Succ-Ala-Ala-Ala-p-니트로아닐라이드 200 μ l와 2.5 U/ml 엘라스타아제(Sigma Co., Lt+d, 미국) 효소 500 μ l를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시킨 후 UV-visible spectrometer를 이용하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군의 흡광도를 Ab control이라 하고 흑미강 추출물의 흡광도를 Ab sample로 하여 하기 수학적 식 2에 따라 계산하였으며, 이를 도 4에 나타내었다.

[0138] [수학적 식 2]

[0139]
$$\text{엘라스타아제 저해율 (\%)} = \frac{(1 - \text{Ab}_{\text{sample}})}{\text{Ab}_{\text{control}}} \times 100$$

[0140] 도 4를 참고로 하면, 무처리 흑미강에 비하여 산성이온수로 처리 시 엘라스타아제 효소 활성에 관여하는 물질이 일부 파괴되었으나, 발효 과정을 통해 엘라스타아제 효소 활성을 저해하는 물질이 생성된 것을 확인할 수 있다. 한편, 비교예 7의 균주는 향산화 활성은 증가시키나 티로시나제 효소 및 엘라스타아제 효소의 활성 저해능은 증가시키지 않는 것으로 나타났다.

[0141] 시험예 3. 추출 용매 및 방법에 따른 함량

[0142] 시험예 3.1. 추출 용매에 따른 효과

[0143] 아스퍼질러스 아와모리로 3일 발효한 발효물을 이용하여 추출용매에 대한 추출 효능을 확인하였으며, 하기 표 6에 나타내었다. 추출은 25 $^{\circ}$ C(실온)에서 12시간 동안 수행하였다.

표 6

[0144]

구분	온도	총 페놀산	DPPH 라디칼 소거능	Tyrosinase 활성저해(%)	Elastase 활성저해(%)
물	100%	2014.6	6.32	30.6	33.7
에탄올 수용액	20%	2078.9	6.34	31.0	35.8
	50%	2229.6	6.42	35.1	38.7
	80%	2201.4	6.39	33.1	38.4
	99%	2090.6	6.24	31.4	36.8
아세톤 수용액	20%	2011.5	6.30	30.4	36.0
	40%	2348.1	6.51	36.6	38.9
	60%	2310.1	6.48	36.3	38.7
	80%	2107.5	6.39	31.4	37.4

[0145] 표 6에 나타난 바와 같이, 에탄올 수용액의 경우 유기용매가 50 부피%로 함유되는 것이, 아세톤의 경우 유기용매가 40 부피%로 함유되는 구간에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 활성저해 및 엘라스타아제 활성저해 효과가 나타내었다.

[0146] 한편, 아스퍼질러스 오리제로 3일 발효한 발효물 역시 아스퍼질러스 아와모리로 발효한 경우와 동일하게 에탄올 수용액 50 부피% 및 아세톤 수용액 40% 구간에서 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 활성저해 및 엘라스타아제 활성저해 효과를 보여주었는데, 에탄올 수용액 50 부피%에서 각각 6.44%, 36.4% 및 38.9%를 나타내었으며, 아세톤 수용액 40 부피%에서 각각 6.52%, 36.7% 및 39.1%를 나타내었다.

[0147] 시험예 3.2. 초음파 처리에 따른 효과

[0148] 아스퍼질러스 아와모리로 3일 발효한 발효물을 이용하여 추출 시 초음파 처리 및 초음파 조사시간에 의한 효과를 측정하였다. 초음파 추출기(SEEC-SONIC II, UL-Tech, Korea)를 사용하여 25 °C, 20 kHz, 750 watt 및 20 amplitude 조건에서 초음파를 발생시켜 처리하였으며, 온도를 일정하게 유지하기 위하여 순환식 항온 수조를 연결하여 사용하였다. 초음파는 각각 0, 5, 15, 30, 45 및 60 분간 조사한 뒤 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 활성저해 및 엘라스타아제 활성 저해능을 평가하였다.

표 7

[0149]

조사시간	0 초	5	15	30	45	60	120
DPPH 라디칼 소거능	6.42	6.42	6.44	6.51	6.45	6.43	6.24
Tyrosinase 활성저해(%)	35.1	35.2	35.8	37.2	36.4	35.7	33.9
Elastase 활성저해(%)	38.7	38.7	39.1	39.5	39.3	38.9	38.1

[0150]

표 7에 의하면, 초음파 조사시간이 30분 이내에서는 추출물의 티로시나제 및 엘라스타아제 활성 저해능이 향상되었으나 초음파 조사가 30분을 초과하면 오히려 추출물의 활성 저해능이 감소하는 것을 확인하였다. 한편, 아스퍼질러스 오리제로 3일간 발효한 발효물에서도 이와 동일한 경향을 나타내는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과를 통해 초음파 조사가 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 저해활성 및 엘라스타아제 저해활성이 향상된 추출물을 제조하는데 효과를 나타내는 것을 확인하였으며, 특히 초음파 조사시간이 30 분인 것이 더욱 우수한 추출물을 얻을 수 있음을 확인하였다.

[0151] 시험예 3.3. 마이크로파 처리에 따른 효과

[0152] 아스퍼질러스 아와모리로 3일 발효한 발효물을 이용하여 추출 시 마이크로파 처리 및 마이크로파 조사시간에 의한 효과를 측정하였다. 마이크로파 처리는 2,450MHz 주파수의 실험실용 상압형 추출장치(Microdigest unit, Prolabo, Fontenay-sous-Bois cedex, France)를 이용하여 programmable power(max. 250W)를 이용하였으며, 온도를 일정하게 유지하기 위하여 순환식 항온 수조를 연결하여 사용하였다. 마이크로파는 각각 0, 10, 30, 50, 120 및 150 초간 조사한 뒤 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 활성저해 및 엘라스타아제 활성 저해능을 평가하였다.

표 8

[0153]

조사시간	0 초	10	30	50	120	150
DPPH 라디칼 소거능	6.42	6.47	6.51	6.62	6.53	6.29
Tyrosinase 활성저해(%)	35.1	35.6	36.2	37.5	36.8	31.8
Elastase 활성저해(%)	38.7	38.8	39.4	39.6	39.1	38.4

[0154]

표 8에 의하면, 마이크로파를 조사하여 전처리하는 경우 50초 이내에서는 추출물의 티로시나제 및 엘라스타아제 활성 저해능이 향상되었으나 마이크로파 조사가 50초를 초과하면 오히려 추출물의 활성 저해능이 감소하는 것을 확인하였다. 한편, 아스퍼질러스 오리제로 3일간 발효한 발효물에서도 이와 동일한 경향을 나타내는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과를 통해 마이크로파 조사가 DPPH 라디칼 소거능, 티로시나제 저해활성 및 엘라스타아제 저해활성이 향상된 추출물을 제조하는데 효과를 나타내는 것을 확인하였으며, 특히 조사시간이 50초인 것이 더욱 우수한 추출물을 얻을 수 있음을 확인하였다.

[0155] 시험예 3.4. 초음파 및 마이크로파 처리

[0156] 시험예 3.2 및 시험예 3.3에 따른 방법으로 아스퍼질러스 아와모리로 3일간 발효한 발효물에 마이크로파 20초 조사 후 초음파 15분 조사(실시에 7.1), 마이크로파 35초 조사 후 초음파 20분 조사(실시에 7.2), 마이크로파 50초 조사 후 초음파 30분 조사(실시에 7.3)하여 티로시나제 활성 저해 및 엘라스타아제 활성저해 능을 평가하였다.

표 9

[0157]

구분	실시예 7.1	실시예 7.2	실시예 7.3
마이크로파 조사(초)	20	35	50
초음파 조사(분)	15	20	30
Tyrosinase 활성저해(%)	36.4	37.9	36.1
Elastase 활성저해(%)	39.7	39.9	38.7

[0158]

한편, 초음파와 마이크로파를 같이 병용하여 처리하는 경우에는 각각 처리하는 경우에 저해능이 우수하였던 범위로 각각 조사한 실시예 7.3보다 초음파 및 마이크로파 조사시간이 더 적은 범위로 조사한 실시예 7.2에서 티로시나제 및 엘라스타아제 활성 저해능이 더 우수하였다.

[0159]

제조예 1. 스킨의 제조

[0160]

유색미 미강을 함유한 화장료 중 스킨의 제조예를 표 10에 나타내었다.

표 10

[0161]

구분	원료	함량(중량%)
1	실시예 1 또는 2	2
2	글리세린	2.1
3	부틸렌 글리콜	2.0
4	프로필렌글리콜	2.0
5	판테놀	0.2
6	비즈왁스	0.8
7	에탄올	10
8	향료	미량
9	방부제	미량
10	정제수	잔량

[0162]

제조예 2. 로션의 제조

[0163]

유색미 미강을 함유한 화장료 중 로션의 제조예를 표 11에 나타내었다.

표 11

[0164]

구분	원료	함량(중량%)
1	실시예 1 또는 2	2
2	시토스테롤	1.7
3	세라마이드	0.5
4	글리세린	5.0
5	토코페릴아세테이트	0.2
6	포도씨오일	2.5
7	잔탄검	0.3
8	향료	미량
9	방부제	미량
10	정제수	잔량

[0165]

제조예 3. 크림의 제조

[0166]

유색미 미강을 함유한 화장료 중 크림의 제조예를 표 12에 나타내었다.

표 12

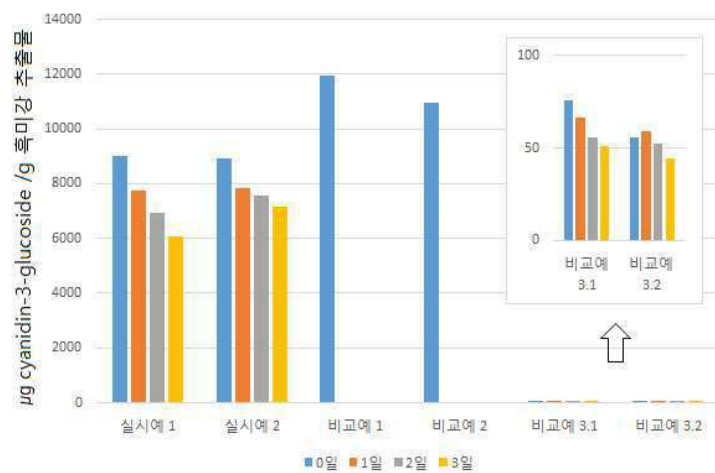
[0167]

구분	원료	함량(중량%)
1	실시예 1 또는 2	3

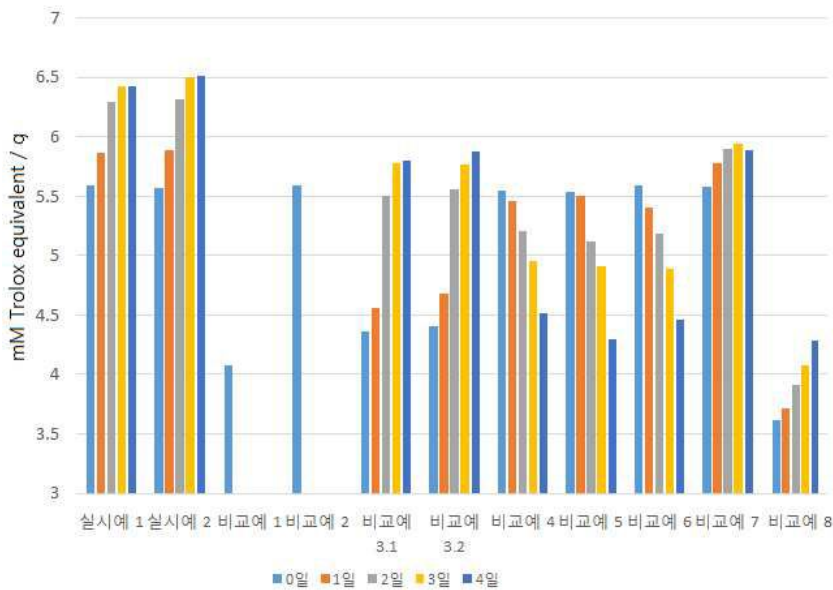
2	세라마이드	0.5
3	토코페릴아세테이트	0.2
4	글리세린	15.0
5	세티아릴알콜	2.0
6	우레아	0.5
7	트리에탄올아민	0.5
8	향료	미량
9	방부제	미량
10	정제수	잔량

도면

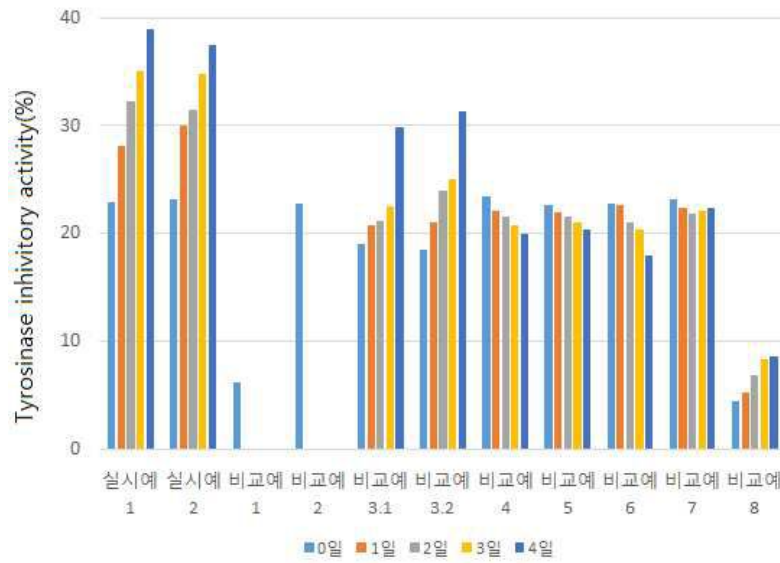
도면1



도면2



도면3



도면4

