

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3684205号  
(P3684205)

(45) 発行日 平成17年8月17日(2005.8.17)

(24) 登録日 平成17年6月3日(2005.6.3)

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>C 1 2 N 1/20  
A 6 1 K 7/00  
A 6 1 K 7/48

F I

C 1 2 N 1/20 A  
A 6 1 K 7/00 K  
A 6 1 K 7/48

請求項の数 7 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2002-101182 (P2002-101182)	(73) 特許権者	502074644
(22) 出願日	平成14年4月3日(2002.4.3)		鄭 明俊
(65) 公開番号	特開2003-259860 (P2003-259860A)		大韓民国ソウル市瑞草區瑞草洞1326番
(43) 公開日	平成15年9月16日(2003.9.16)		地 サムスン セオチョー ガーデン ス
審査請求日	平成14年4月3日(2002.4.3)		ウィート 1-1502
(31) 優先権主張番号	2002-012017	(74) 代理人	100064012
(32) 優先日	平成14年3月6日(2002.3.6)		弁理士 浜田 治雄
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)	(72) 発明者	鄭 明俊
微生物の受託番号	KCTC 10180BP		大韓民国ソウル市瑞草區瑞草洞1326番
			地 サムスン セオチョー ガーデン ス
		(72) 発明者	▲チョー▼ 永宰
			大韓民国京畿道金浦市場基洞1342番地
			チョンソン ヒュンダイ アパートメン
			ト 203-1901號
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ラクトコッカス・ラクチスCBT-19及びこれを利用した抗菌培養液の分離濃縮物の製造方法並びにこれを包含する化粧料組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

プロピオニバクテリウム・アクネス(Propionibacterium acnes)の生育を特異的に抑制できる乳酸菌株ラクトコッカス・ラクチス(Lactococcus lactis)CBT-19(KCTC10180BP)。

【請求項2】

3～5重量%のブドウ糖、0.5～1重量%の酵母抽出物、1～1.5重量%の肉エキス、0.5～1重量%の蛋白加水分解物及び0.01～0.1重量%のイオン成分を水に溶解させて、嫌氣的醗酵器で殺菌して製造した培養液に、プロピオニバクテリウム・アクネス(Propionibacterium acnes)の生育を特異的に抑制できる乳酸菌株ラクトコッカス・ラクチスCBT-19(KCTC10180BP)を接種して乳酸菌を培養する工程と、

高速遠心分離または限外濾過を介して前記乳酸菌培養液から菌体を除去する工程と、前記菌体が除去された培養余液を分画分子量10,000の限外濾過膜に通過させ、前記透過液を再び分画分子量1,000のナノメートル膜に通過させて、前記培養余液を濃縮させる工程と、

前記濃縮液に無菌水を連続的に加え、その結果物をさらに分画分子量1,000のナノメートル膜に通過させながら乳酸を除去することにより、分子量1,000～10,000の範囲のpHが中性を示す抗菌物質の分離濃縮物を製造する工程と、を含むことを特徴とする乳酸菌培養液の分離濃縮物の製造方法。

【請求項3】

前記イオン成分は、クエン酸アンモニウム（アンモニウム・シトレート）、酢酸ナトリウム（ソジウム・アセテート）、リン酸二カリウム（ジボタシウム・ホスフェート）、硫酸マグネシウム（マグネシウム・サルフェート）、硫酸マンガン（マンガン・サルフェート）、塩化ナトリウム（ソジウム・クロライド）よりなるグループから選択された少なくとも一つ以上の物質であることを特徴とする請求項2に記載の乳酸菌培養液の分離濃縮物の製造方法。

【請求項4】

前記抗菌物質の分離濃縮物を製造する工程を実施した後、製造された分離濃縮物に凍結乾燥工程又は噴射式流動層乾燥工程をさらに実施することを特徴とする請求項2又は3に記載の乳酸菌培養液の分離濃縮物の製造方法。

10

【請求項5】

プロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)の生育を特異的に抑制できる乳酸菌株ラクトコッカス・ラクチスCBT-19 (KCTC10180BP)から製造された乳酸菌培養液の分離濃縮物を、0.01重量%以上の濃度または10 Au/g以上の抗菌活性を有するように含むことを特徴とする化粧料組成物。

【請求項6】

前記化粧料組成物が、油中水型乳化剤、水中油型乳化剤、透明スキン、懸濁スキン、ジェル剤のいずれかの形態であることを特徴とする請求項5に記載の化粧料組成物。

【請求項7】

前記化粧料組成物が、ヒアルロン酸ナトリウム（ソジウムヒアルロン酸(*Sodium hyaluronic acid*))、ラクトフェリン (*Lactoferrin*)、血清蛋白質(*Serum protein*)、パンテチン(*Pantethine*)、サリチル酸(*Salicylic acid*)、トリクロサン(*Triclosan*)よりなるグループから選択された少なくとも一つ以上の物質をさらに含むことを特徴とする請求項5又は6に記載の化粧料組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明はニキビの原因菌に対する抗菌機能を有する乳酸菌株であるラクトコッカス・ラクチスCBT-19及びこれを利用した抗菌培養液の分離濃縮物の製造方法並びにこの分離濃縮物を包含する化粧料組成物に関するもので、より詳細には、ニキビの原因菌になるプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)の生育を特異的に阻害できて、ニキビの原因菌に対する抗菌機能を有するラクトコッカス・ラクチスCBT-19及びこれを利用した抗菌培養液の分離濃縮物の製造方法並びにこれを包含する化粧料組成物に関するものである。

30

【0002】

【従来の技術】

従来から、乳酸菌培養液等は化粧品に適用されてきたが、その適用方法は、菌体及び不溶性成分を除去した乳酸菌培養液を主に利用するものであった。このような乳酸菌培養液には主要成分として乳酸、乳糖、アミノ酸、リン酸塩等が含まれている。これらの成分は皮膚の角質成分に親和的に作用し、皮膚の抗酸化作用、保湿作用、pH調節作用及び皮膚細菌叢の調節作用等ができるので、化粧品に有用に利用されている。従って、色々な乳酸菌培養液がその成分によって、多様な種類の化粧品用素材として開発されてきた。特に、色々な乳酸菌の中でもストレプトコッカス・サーモフィルス菌(*Streptococcus thermophilus*)、ラクトバシラス(*Lactobacillus*)及びビフィドバクテリウム(*Bifidobacterium*)属に属する微生物の中で、保湿効果、活性酸素除去効果及び免疫復活機能を有する乳酸菌培養液が化粧品に主に適用されてきた。但し、継続的な研究の結果、適用される微生物の範囲は次第に広がっている。

40

【0003】

前記従来の技術による化粧品用乳酸菌の培養方法及びこれを利用した化粧料組成物の製造方法に関してもう少し詳しく説明すると、次の通りである。

50

## 【0004】

従来の技術による乳酸菌培養液を利用した化粧品組成物の製造工程は、化粧品用乳酸菌の培養に続き、菌体の分離を行い、更に培養余液またはその乾燥物の製造の後、化粧品組成物の製造を行う工程からなる。

## 【0005】

これら製造工程に示されるように、乳酸菌培養液を利用した化粧品組成物を製造するためには、まず、適切な乳酸菌を選択してこれを培養する必要がある。ここで、従来技術においては、このような乳酸菌の培養は一般的にペプトン類、肉エキス、酵母抽出物、ブドウ糖及び無機イオンが組み合わされた醗酵培地を利用して嫌気性醗酵器（装置）内で行われた後に、その培養液から菌体を分離していた。なお、前記分離工程は遠心分離機または限外濾過器を利用して行われることが好ましく、このような方法により菌体が分離された乳酸菌培養液の乾燥粉末化状態、あるいは、液体状態で化粧品成分、増粘剤、乳化剤等と混合して化粧品組成物を製造していた。

10

## 【0006】

一方、炎症性のニキビ疾患に関連する臨床的治療法において、テトラサイクリン(tetracycline)、シンダマイシン(cindamycin)、エリスロマイシン(erythromycin)等の抗生物質が主に利用されてきた。しかしながら、このような抗生物質を長期間投与する場合、ニキビの原因菌が抗生物質に対して耐性を持つようになり、治療効果が低減するという問題点があった。ニキビ誘発菌のプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)は、その人工的な培養が困難であるので、これらの薬剤に対する感受性実験が根拠の弱いものになり、よって適切な薬剤を選定するのが困難であった。しかも、前記薬剤は全てが抗生物質であるので、化粧品としての利用が不可能であるという問題点があった。

20

## 【0007】

このように、従来の技術において、乳酸菌培養液の化粧品への利用は、その培養液に含まれている色々な成分によって保湿効果、免疫復活機能、活性酸素除去機能、有機酸等による静菌作用(Bacteriostatic action)等の付随的な効果を上げるためのものに限られ、特定菌株の生育を阻害することでニキビ等の皮膚疾患を治療するための適用はなかった。このために、ニキビ等の皮膚疾患は、その治療のために主に抗生物質を利用してきたが、抗生物質は過剰投与による耐性の発生、化粧品には適用できないという限界等の問題点が多かった。このような従来技術の問題点によって、抗菌微生物の培養液を適用するとニキビ等の皮膚疾患を誘発する原因菌の生育を阻害する可能性があり、副作用なくニキビ等の皮膚疾患を根本的に治療できる機能性化粧品の開発が切実に要求されてきた。

30

## 【0008】

特に、このような抗菌微生物の培養液は耐性等の副作用がなく、抗生物質に比べて日常生活で使われる化粧品に比較的容易に適用できるので、ニキビ等の治療において、その効用が大きい。また、このような効能を持つことができる乳酸菌株、その培養液分離濃縮液の製造方法及びこれを利用した化粧品組成物の必要性は更に大きいといえる。

## 【0009】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明は前述の問題点を解決するためになされたもので、ニキビの原因菌であるプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)を選択的に死滅させることができ、ニキビ原因菌の生育を特異的に抑制できる乳酸菌株および、本発明に係る菌株の培養液分離濃縮物の製造方法及び、このような分離濃縮物を含有することでニキビ予防及び治療効果を備えた化粧品組成物を提供することにその目的がある。

40

## 【0010】

## 【課題を解決するための手段】

本発明は前述の目的を達成するために、ニキビの原因菌であるプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)の生育を特異的に抑制でき、寄託番号KCTC10180BPとして寄託されているラクトコッカス・ラクチスCBT-19からなる乳酸菌株を提供する。

## 【0011】

50

また、本発明は 3 ~ 5 重量%のブドウ糖、0.5 ~ 1 重量%の酵母抽出物、1 ~ 1.5 重量%の肉エキス、0.5 ~ 1 重量%の蛋白加水分解物及び0.01 ~ 0.1 重量%のイオン成分を水に溶解させて、嫌氣的醗酵器で殺菌して製造した培養液に、プロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)の生育を特異的に抑制でき、寄託番号KCTC10180BPとして寄託されているラクトコッカス・ラクチスCBT-19からなる乳酸菌株を接種して乳酸菌を培養し抗菌物質を発生させる工程と、高速遠心分離または限外濾過により前記乳酸菌培養液から菌体を除去する工程と、

前記菌体が除去された培養余液を分画分子量10,000の限外濾過膜に通過させ、前記透過液を再び分画分子量1,000のナノメートル膜に通過させて、前記培養余液を濃縮させる工程と、

前記濃縮液に無菌水を連続的に加え、その結果物をさらに分画分子量1,000のナノメートル膜に通過させながら乳酸を除去することにより、分子量1,000 ~ 10,000の範囲のpHが中性を示す抗菌物質の分離濃縮物を製造する工程とを含むことを特徴とする乳酸菌培養液の分離濃縮物の製造方法を提供する。

#### 【0012】

前記本発明に係る分離濃縮物の製造方法において、前記イオン成分は、クエン酸アンモニウム(アンモニウム・シトレート)、酢酸ナトリウム(ソジウム・アセテート)、リン酸二カリウム(ジポタシウム・ホスフェート)、硫酸マグネシウム(マグネシウム・サルフェート)、硫酸マンガン(マンガン・サルフェート)、塩化ナトリウム(ソジウム・クロライド)よりなるグループから選択された少なくとも一つ以上の物質であることが好ましい。

#### 【0013】

また、前記本発明に係る分離濃縮物の製造方法は、前記抗菌物質の分離濃縮物を製造する工程を実施した後、製造された分離濃縮物に凍結乾燥工程又は噴射式流動層乾燥工程をさらに実施することもできる。これによって、製造された分離濃縮物の貯蔵安全性を向上させることができる。

#### 【0014】

また、本発明は前記の方法で製造された乳酸菌培養液の分離濃縮物を、0.01重量%以上の濃度または10Au/g以上の抗菌活性を有するように含むことを特徴とする化粧料組成物を提供する。このような化粧料組成物はニキビの原因菌の生育を抑制でき、このような組成物を利用して化粧品を製造することによって、ニキビに対する治療効果を上げるようになるものである。

#### 【0015】

前記本発明に係る組成物において、前記組成物は、適用される化粧品の種類に適合するように油中水型乳化剤、水中油型乳化剤、透明スキン、懸濁スキン、ジェル剤等で製造されることができ、有害細菌に対する静菌作用、美白、保湿、抗酸化効果を表す補助成分としては、ヒアルロン酸ナトリウム(ソジウムヒアルロン酸(*Sodium hyaluronic acid*))、ラクトフェリン(Lactoferrin)、血清蛋白質(Serum protein)、パンテチン(Pantethine)、サリチル酸(Salicylic acid)、トリクロサン(Triclosan)等をさらに含むことができる。

#### 【0016】

#### 【発明の実施の形態】

以下、添付した図面を参照して本発明に係る乳酸菌株、培養液分離濃縮物の製造方法及びこの濃縮物を含む化粧料組成物に関してより詳細に説明する。

#### 【0017】

前述のように、本発明はニキビの原因菌に特異的な阻害活性を持つ新規の乳酸菌株の開発、前記菌株に対する最適の培養培地及び培養工程の構成、前記培養(発酵)を通じて形成された培養液から、抗菌活性を有した培養液分離濃縮物を製造する方法、前記分離濃縮物を含んでおり、化粧料の組成に容易な液剤または水溶性粉末状態の組成物と、これを利用して製造される多様な剤形の化粧料に関するものである。

#### 【0018】

本発明に使われる乳酸菌株は、ラクトコッカス・ラクチスと同定されるラクトコッカス・ラクチスCBT-19乳酸球菌であり、ニキビの原因菌で知られたプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)に対して特異的な阻害活性を発揮する物質を生産する。前記菌株に対する最適な培養培地及び培養条件は、ニキビの原因菌に対する生育抑制物質が大量に生産されるように構成されている。また、抗菌物質の分離濃縮過程は遠心分離または限外濾過による菌体及び不溶性成分の除去、分子量分画法を利用した抗菌活性分画の捕集及び濃縮並びに有機酸除去の工程からなる。乾燥粉体化工程は濃縮液を殺菌後、水溶性賦形剤を利用した噴射式流動層乾燥または凍結乾燥によって行われる。

【0019】

このような工程で得られた乳酸菌の培養分画乾燥物は、乳化剤及びその他の化粧品原料等と混合して柔軟化粧水、栄養化粧水、エッセンス、クリーム、ローション、メイクアップ、色調化粧品等のあらゆる化粧品剤形の化粧料として製造されることができる。

10

【0020】

前述のような、本発明に係る菌株、分離濃縮液の製造方法及びこの濃縮液を含む化粧料組成物に関して詳細に説明すると次の通りである。

【0021】

1) 菌株の選抜 (図1の工程101)

ラクトコッカス・ラクチスを嫌氣的に培養し、培養液から菌体を分離した乳酸菌培養余液に対して、指示菌としてプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)を半流動性培地で培養しながら生育阻止領域試験を実施した。試験の結果、800 Au/ml以上の抗菌活性を発揮する乳酸菌種を選別して、選別された菌株をラクトコッカス・ラクチスCBT-19と命名し、これをブダペスト条約による国際寄託機関に寄託して、寄託番号(KCTC10180BP)が付与された。

20

【0022】

2) 菌株の特性調査

前述のような方法で製造された乳酸菌株ラクトコッカス・ラクチスCBT-19に関連する生理学的、生化学的特性等を調べ下記の表1、2に示し、前記菌株の電子顕微鏡写真を図2に表示した。

【0023】

【表1】

30

表1. ラクトコッカス・ラクチスCBT-19菌の酵素活性試験

基質	反応/酵素	結果 4時間/ 24時間
ピルビン酸 (pyruvate)	アセトイン生成 (acetoin)	+
馬尿酸	加水分解	-
エスクリン	$\beta$ ・グルコシダーゼ	+
ピロリドニル-2-ナフチルアミド	ピロリドニル・アリールアミダーゼ	+
6-プロモ-2-ナフチル $\alpha$ -ジ-ガラクトピラノシド	$\alpha$ ・ガラクトシダーゼ	-
$\beta$ -ジ-グルクロン酸	$\beta$ ・グルクロニダーゼ	-
2-ナフチル- $\beta$ -ジ-ガラクトピラノシド	$\beta$ ・ガラクトシダーゼ	-
2-ナフチルホスフェート (2-naftil phosphate)	アルカリ・ホスファターゼ	-
L-ロイシン-2-ナフチルアミド	ロイシン・アリールアミダーゼ (leucine arylamidase)	-
アルギニン	アルギニン・ジヒドロラーゼ	+
リボース (ribose)	酸生成	+
L-アラビノーズ	酸生成	+
マンニトール	酸生成	+
ソルビトール	酸生成	-
ラクトース	酸生成	+
トレハロース (trehalose)	酸生成	+
イヌリン	酸生成	-
ラフィノース	酸生成	+
澱粉	酸生成	弱い
グリコーゲン	酸生成	

10

20

30

【 0 0 2 4 】

【 表 2 】

表2. ラクトコッカス・ラクチスCBT-19菌の糖資化能試験(糖利用性能力試験:糖をエネルギー源として利用できるかどうかの可否とその程度を調べた試験)

	基質	結果
1	グリセロール	弱い
2	エリトリトール	-
3	D-アラビノース	-
4	L-アラビノース	+
5	リボース	+
6	D-キシロース(Xylose)	-
7	L-キシロース	-
8	アドニトール	-
9	ベータメチル-D-キシロシド( $\beta$ methyl-D-xyloside)	-
10	ガラクトース	+
11	グルコース	+
12	フルクトース	+
13	マンノース	+
14	ソルボース	-
15	ラムノース	-
16	ズルシトール	-
17	イノシトール(inositol)	-
18	マンニトール(mannitol)	弱い
19	ソルビトール	-
20	アルファ-メチル-D-マンノシド	-
21	アルファ-メチル-D-グルコシド(glucoside)	-
22	N-アセチルグルコサミン	+
23	アミグダリン	弱い
24	アルブチン	+
25	エスクリン	+
26	サリシン	+
27	セロピオース	+
28	マルトース	+
29	ラクトース(lactose)	弱い
30	メリピオース(melibiose)	+
31	スクロース	+
32	トレハロース(trehalose)	弱い
33	イヌリン	-
34	メレジトース	-
35	ラフィノース	+
36	澱粉	-
37	グリコーゲン	-
38	キシリトール	-
39	ゲンチオピオース	弱い
40	D-ツラノース	-
41	D-リキソース	-
42	D-タガトース	-
43	D-フコース	-
44	L-フコース	-
45	D-アラビトール	-
46	L-ビトール(bitol)	-
47	グルコネート	-
48	2-ケトグルコネート	+
49	5-ケトグルコネート	-

### 【0025】

#### 3) 抗菌活性物質の製造(図1の工程102)

前述のように、本発明に使われた乳酸菌株はラクトコッカス・ラクチスCBT-19であり、これはラクトコッカス・ラクチスを嫌氣的に培養した後、得られた乳酸菌培養余液に対して指示菌としてプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)を使用し

10

20

30

40

50

て、半流動性培地で生育阻止領域試験を実施することによって、800 Au/ml以上の抗菌活性を発揮する乳酸菌を選別して製造されたものである。前記菌株による抗菌物質生産は3～5重量%のブドウ糖、0.5～1重量%の酵母抽出物、1～1.5重量%の肉エキス、0.5～1重量%の蛋白加水分解物及び0.01～0.1重量%のクエン酸アンモニウム（アンモニウム・シトレート）、酢酸ナトリウム（ソジウム・アセテート）、リン酸二カリウム（ジポタシウム・ホスフェート）、硫酸マグネシウム（マグネシウム・サルフェート）、硫酸マンガン（マンガン・サルフェート）または塩化ナトリウム（ソジウム・クロライド）等のイオン成分を水に溶解させて製造された培養用培地に前記本発明に係る菌株を接種し、酸素が除去された嫌気性条件で16時間培養（発酵）することにより行われる。該培養工程の経時変化を図3に示したが、16時間経過時、ニキビの原因菌のプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)に対して最大1600 Au/mlの阻害活性を示す抗菌活性物質が生産された。

10

## 【0026】

## 4) 培養液の分離濃縮及び乳酸の除去（図1の工程103 - 106）

前述のような方法で培養工程を経た後、前記培養液は15,000 rpm以上の高速遠心分離機または菌体分離用限外濾過器により菌体と培養余液に分離される。菌体が分離された培養余液は分画分子量10,000の限外濾過膜(Ultrafiltration membrane)で1次濾過し、1次濾過した透過液に対して分画分子量1,000のナノメートル膜(Nanometer membrane)にて分離、濃縮し分子量1,000～10,000間の活性分画のみを捕集して濃縮し、前記濃縮液に対しては5倍量の無菌水を連続的に加えて、pHが6.0以上になるまでダイアフィルトレーション(Diafiltration)することにより、乳酸成分を完全除去した後、有機酸が除去された最終濃縮液の体積を培養原液に対比して1/10の体積に調節する。培養液から抗菌物質を分離捕集し、乳酸を除去する工程での抗菌活性物質の経時変化は表3に、最終濃縮物の抗菌活性観察写真は図4に示した。

20

## 【0027】

## 【表3】

表3. ラクトコッカス・ラクチスCBT-19の培養による抗菌物質濃縮物製造時の工程別抗菌活性の経時変化

工程	抗菌活性	
16時間培養原液	1,600 Au/ml	
菌体除去培養余液	1,600 Au/ml	
分画分子量10,000 Dalton 限外濾過(Hydrosart cassette)	濃縮液	1,600 Au/ml
	透過液	1,600 Au/ml
分画分子量1,000 Dalton 限外濾過(Hydrosulfone)	濃縮液	16,000 Au/ml
	透過液	0 Au/ml
乳酸除去ダイアフィルトレーション 限外濾過(Hydrosulfone)	濃縮液	16,000 Au/ml
	透過液	0 Au/ml

30

40

## 【0028】

## 5) 乾燥粉体化（図1の工程107）

前述した濃縮液に対して1～10重量%の乳糖、マルトデキストリン、マンニトール、脱脂粉乳を混合して溶解させ、80の温度条件で攪拌しながら30分間の熱処理を2回行い、その他の雑菌及び乳酸菌等を殺菌して凍結乾燥器に投入して乾燥させる。あるいは、噴射式流動層乾燥器で乾燥し粉碎して粉末を製造する。場合によって、抗菌活性物質の濃縮液を化粧品原料として直接使用するが、この場合には乾燥粉体化工程を省略できる。

50

## 【 0 0 2 9 】

## 8)化粧料の製造(図1の工程108)

前記抗菌物質濃縮液を原料に含んだ化粧料の剤形に関して、特別に限定されることはない。本発明に係る化粧料の剤形には具体的に柔軟化粧水、栄養化粧水、エッセンス、クリーム、ローション、メーキャップ、色調化粧品等の全ての化粧品剤形が可能であり、各剤形の化粧料製造において増粘剤、防腐剤、香料、着色料等の一般的な原料成分は化粧料の製造方法、剤形、使用目的等によって適切に選択して配合できる。化粧料の製造時、本発明の本質成分である抗菌物質濃縮物は、全体組成物に対して0.01%以上の濃度または10Au/g以上の抗菌活性を維持するように配合して、追加的にその他の有害細菌に対する静菌作用、美白、保湿、抗酸化効果を表す補助成分として、ヒアルロン酸ナトリウム(ソジウムヒアルロン酸(Sodium hyaluronic acid))、ラクトフェリン(Lactoferrin)、血清蛋白質(Serum protein)、パンテチン(Pantethine)、サリチル酸(Salicylic acid)、トリクロサン(Triclosan)等を単独または混合して化粧料を製造する。

10

## 【 0 0 3 0 】

## [実施例1]

ラクトコッカス・ラクチスCBT-19菌によるニキビの原因菌を阻害する濃縮培養液及び濃縮乾燥物の製造

ブドウ糖2.5kg、肉エキス5kg、酵母抽出物2.5kg、カゼイン・ペプトン2.5kg、ソイ・ペプトン2.5kg、クエン酸アンモニウム(アンモニウム・シトレート)0.25kg、酢酸ナトリウム(ソジウム・アセテート)0.25kg、硫酸マグネシウム(マグネシウム・サルフェート)0.05kg、硫酸マンガン(マンガン・サルフェート)0.05kgを水500Lに添加して溶解させ、800L容量の嫌気性醗酵器に移送して121で15分間殺菌し、予め培養した種菌10Lを接種して20時間培養した。培養液を60L/Hrの流速で連続式遠心分離機に移送させながら菌体を除去し、培養余液を分画分子量10,000の限外濾過器フィルターに通過させて透過液を回収し、再び分画分子量1,000のナノメートルフィルターに通過させて分子量1,000~10,000間の抗菌物質濃縮液を50L獲得した。濃縮液に対して更に5倍量の無菌水を連続的に加えて、分画分子量1,000のナノメートルフィルターに通過させて透過液と濃縮液を再分離した。この工程で残存有機酸、色素、不溶性成分等が完全に除去され、ニキビの原因菌に対して抗菌活性をもった分子量1,000~10,000間の抗菌物質分画が選択的に分離濃縮された。分離濃縮された抗菌物質捕集液は最終体積を培養原液の1/10程度に濃縮し、ニキビの原因菌に対する抗菌活性もまた10倍に濃縮された。抗菌物質の分離濃縮液に対して5~50重量%範囲のマンニトール、乳糖等の水溶性賦形剤を用いて凍結乾燥または噴射式流動層乾燥により水溶性粉末化した。この時、抗菌活性は最終粉末の場合、1,600~16,000Au/gになるように稀釈比を調整した。

20

30

## 【 0 0 3 1 】

## [実施例2]乃至[実施例5]

乳酸菌培養液の濃縮乾燥物を含有する一般化粧水の製造

## 【 0 0 3 2 】

## 【表4】

40

表4. [実施例2]乃至[実施例5]の組成割合

原料	精製水100に対する組成割合(重量比)			
	実施例2	実施例3	実施例4	実施例5
1)精製水	100.0	100.0	100.0	100.0
2)グリセリン	10.0	10.0	10.0	10.0
3)ヒアルロン酸ナトリウム	5.0	5.0	5.0	5.0
4)緑茶抽出物	1.0	1.0	1.0	1.0
5)ラクトパッド (1,000~2000Au/g)	5.0	5.0	5.0	5.0
6)エタノール	10	10	10	10
7)サリチル酸	-	0.5	-	0.5
8)トリクロサン	-	-	0.3	0.3
9)硬化ひまし油	0.5	0.5	0.5	0.5
10)防腐剤	適量	適量	適量	適量
11)香料	適量	適量	適量	適量

10

## 【0033】

20

原料1)~5)を混合して均質に溶解させた。別の容器で原料6)~11)を40以下の温度で加熱しながら混合して溶解させた後、先に製造された1)~5)原料溶液に徐々に投入し、アジミキサー(Agi-mixer)で均質化させて化粧水を製造した。この時、ニキビの原因菌であるプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)を含む皮膚有害細菌に対する抗菌作用に関連した活性を示す分離濃縮物としての5)ラクトパッド(Lactopad)を主成分とし、同じく活性を示す補助成分としての7)サリチル酸(Salicylic acid)及び8)トリクロサン(Triclosan)を単独、または同時に一定の濃度で混合して化粧水を製造した。

## 【0034】

[実施例6]乃至[実施例9]  
抗菌物質の濃縮乾燥物を含有する栄養化粧水の製造

30

## 【0035】

## 【表5】

表5. [実施例6]乃至[実施例9]による組成割合

原料	精製水100に対する組成割合(重量比)			
	実施例6	実施例7	実施例8	実施例9
1)セトステアリルアルコール	1.7	1.7	1.7	1.7
2)ポリソルベート	1.2	1.2	1.2	1.2
3)ソルピタンステアリル酸	0.5	0.5	0.5	0.5
4)ステアリル酸	0.5	0.5	0.5	0.5
5)トリグリセライド	3.0	3.0	3.0	3.0
6)メチル-エチルヘキサノエート(methyl-ethyl hexanoate)	4.0	4.0	4.0	4.0
7)メチルパラベン	0.2	0.2	0.2	0.2
8)プロピルパラベン	0.1	0.1	0.1	0.1
9)サイクロメチコン	3.0	3.0	3.0	3.0
10)精製水	100.0	100.0	100.0	100.0
11)グリセリン	5.0	5.0	5.0	5.0
12)ラクトパッド(1,000~2,000 AU/g)	-	0.5	-	5.0
13)サリチル酸	-	0.5	-	0.5
14)トリクロサン	-	-	0.3	0.3
15)香料	適量	適量	適量	適量
16)増粘剤	1.0	1.0	1.0	1.0

10

20

## 【0036】

原料1)~9)を混合し加熱して65~70 まで温度を上昇させて溶解した。別の容器で原料10)~11)を混合して溶解させ加熱して65~70 まで温度を上昇させ、先に製造した溶液に徐々に投入しながらホモミキサー(homo-mixer)で均質化させてエマルジョンを形成した。この形成されたエマルジョン溶液に対して原料12)~16)を順次に混合して粘性のあるエマルジョンを製造した。この時、一般化粧水の製造と同様にニキビの原因菌のプロピオニバクテリウム・アクネス(*Propionibacterium acnes*)を含む皮膚有害細菌に対する抗菌作用に関連した活性成分の主成分である5)ラクトパッド(Lactopad)に対し、補助成分として7)サリチル酸(Salicylic acid)及び8)トリクロサン(Triclosan)を単独、または同時に一定の濃度で混合して栄養化粧水を製造した。

30

## 【0037】

以上の[実施例2]乃至[実施例9]によって作られた化粧料組成物は各々室温、5、37、そして45 で一ヶ月以上保存し、製品中の層分離現象を比較測定したが、皆安定で層分離等の現象もなく、抗菌活性もそのまま維持された。ラクトパッド(LACTOPAD)を使用した化粧料組成物の剤形の安定性及び臨床資料を表6及び表7に示す。

40

## 【0038】

## 【表6】

表6. 乳酸菌培養濃縮液を含有した化粧品組成物の剤形安定性

化粧品		経過日					
		0	10	20	30	40	50
ローション	層分離	無し	無し	無し	無し	無し	無し
	抗菌活性 (Au/g)	100	100	100	100	100	100
	色合い	白	白	白	白	白	白
クリーム	層分離	無し	無し	無し	無し	無し	無し
	抗菌活性 (Au/g)	100	100	100	100	100	100
	色合い	白	白	白	白	白	白
エッセンス	層分離	無し	無し	無し	無し	無し	無し
	抗菌活性 (Au/g)	100	100	100	100	100	100
	色合い	白	白	白	白	白	白

【0039】

【表7】

表7. 乳酸菌培養濃縮液を含有した化粧品組成物の臨床試験

化粧品	項目	非常に改善	少し改善	変化無し	悪くなる
ローション (抗菌活性 100 Au/g包含)	弾力性	4	6	8	2
	保湿性	8	8	4	0
	ニキビ改善	10	4	4	1
	美白効果	6	6	7	1
	皮膚新鮮度	8	8	2	2

(成人女性20人に対して二日間隔で15日間処理)

【0040】

このように、本発明のニキビの原因菌に対する抗菌機能を有する乳酸菌培養液の分離濃縮物の製造方法及びその濃縮物の組成物は、ニキビの予防及び治療効果を持つ機能性製品の使用上の効率性を極大化する。

【0041】

【発明の効果】

本発明のニキビの原因菌に対する抗菌機能を有する新規の乳酸菌株及び前記菌株の培養液分離濃縮物の製造方法並びにこの濃縮物を含む化粧品組成物は、ニキビの原因菌であるプロピオニバクテリウム・アクネス(Propionibacterium acnes)に対して特異的な阻害活性機能を持っており、皮膚に棲息するニキビの原因菌及び有害細菌に対して抗菌作用を発揮してニキビ疾患を治療・予防する。また、本水溶性抗菌成分の分離濃縮物は化粧品の組成に適合した物性であるから柔軟化粧水、栄養化粧水、エッセンス、クリーム、ローション、メイクアップ、色調化粧品等の全ての化粧品類として製造でき、使用者の使用上効率性を極大化する非常に優れた発明である。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る菌株のラクトコッカス・ラクチスCBT-19の培養液分離濃縮物を製造し、前記濃縮物を含む化粧品組成物を製造する工程を示した工程図である。

【図2】ラクトコッカス・ラクチスCBT-19の電子顕微鏡観察写真である。

【図3】ラクトコッカス・ラクチスCBT-19と抗菌物質との培養経時変化を表すグラフである。

【図4】ラクトコッカス・ラクチスCBT-19培養液分離濃縮液のニキビの原因菌である

10

20

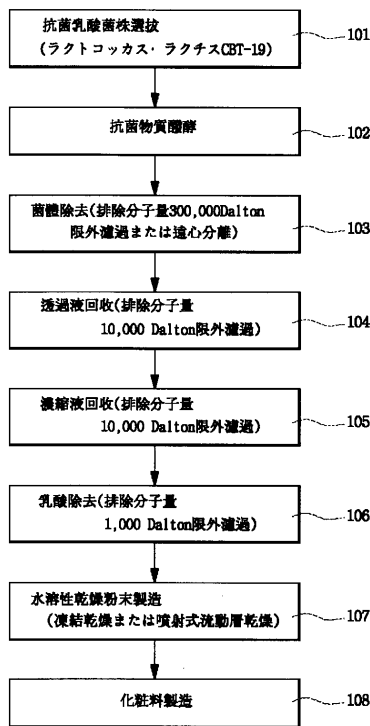
30

40

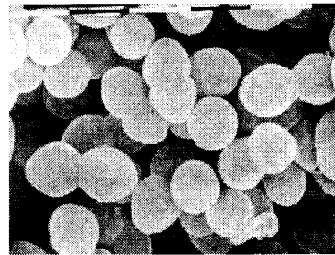
50

ロピオニバクテリウム・アクネス (Propionibacteriumacnes)に対する生育阻止領域の観察写真である。

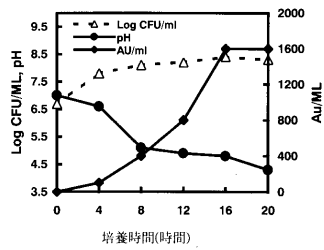
【 図 1 】



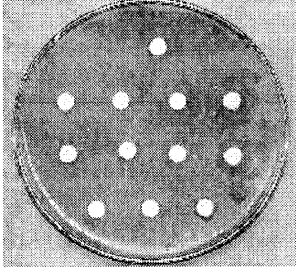
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



---

フロントページの続き

(72)発明者 金 水東

大韓民国ソウル市永登浦區新吉洞4934番地 サムスン アパートメント 105-1603號

(72)発明者 洪 運杓

大韓民国京畿道金浦市通津面馬松里 ヒュンダイ アパートメント 101-401號

審査官 上條 肇

(56)参考文献 国際公開第00/23471(WO, A1)

特開2001-190272(JP, A)

特開2000-236873(JP, A)

特開平11-239476(JP, A)

特開平11-103854(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)

C12N 1/20

JSTPlus