



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0056747
(43) 공개일자 2017년05월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/97 (2017.01) A23L 1/30 (2006.01)
A61K 8/02 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/97 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)

(21) 출원번호 10-2015-0159410

(22) 출원일자 2015년11월13일

심사청구일자 2015년11월13일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

임승택

서울특별시 도봉구 해동로 32 106-303(창동, 서울가든아파트)

김성민

서울특별시 서초구 잠원로 127 114동 603호 (잠원동, 신반포한신아파트)

권민정

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 자연계 생명과학대학 녹지캠퍼스 635A호(안암동5가)

(74) 대리인

정은열

전체 청구항 수 : 총 13 항

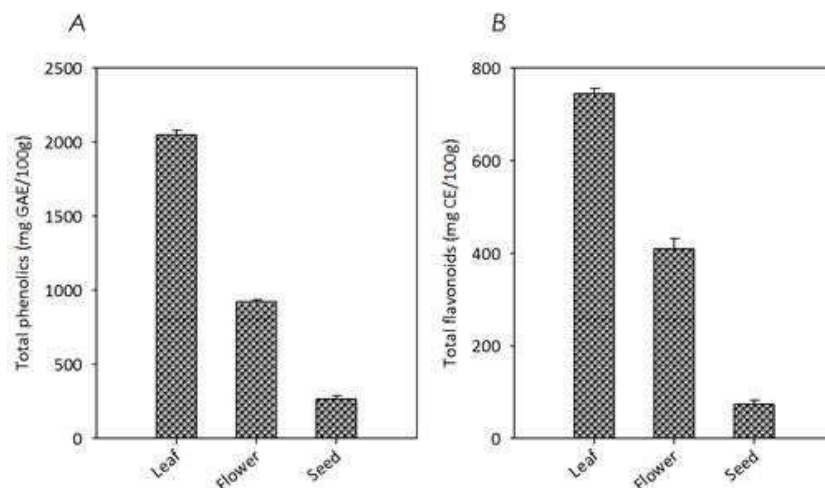
(54) 발명의 명칭 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물 및 아마란스 잎 추출물의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물 및 아마란스 잎 추출물의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물을 함유하는 조성물에는 다량의 플라보노이드 및 페놀산 성분이 함유되어 있어, 항산화, 피부 미백, 주름 예방 및 개선 효과가 매우 우수하다. 또한, 본 발명의 조성물은 천연물 유래의 물질이어서 독성이 없으며, 인체에 적용하여도 부작용을 유발하지 않아 화장품, 식품 조성물 등으로 널리 활용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 8/02 (2013.01)
A61Q 19/02 (2013.01)
A61Q 19/08 (2013.01)
A23V 2002/00 (2013.01)
A23V 2200/318 (2013.01)
A61K 2800/82 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0232555

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 한국산학연합회

연구사업명 14년 산학협력 기술개발사업 (도약 R&D)

연구과제명 아마란스 부산물 (stems, leaves, flowers)을 이용한 기능성 미용 신소재 개발 및 제품화

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교산학협력단

연구기간 2014.10.01 ~ 2015.09.30

명세서

청구범위

청구항 1

아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 아마란스 잎 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출용매로 추출된 것을 특징으로 하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 아마란스 잎 추출물은 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 40 중량% 함유되는 것을 특징으로 하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제 함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 이루어지는 군에서 선택된 제형을 갖는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 5

아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 식품 조성물.

청구항 6

(a) 아마란스 잎 분말에 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출용매를 첨가 후 교반하여 아마란스 잎 추출액을 제조하는 단계; 및

(b) 상기 아마란스 잎 추출액을 여과하여 불순물을 제거하는 단계;를 포함하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 (a) 단계의 교반은 10 내지 120 °C의 온도에서 0.5 내지 12 시간 동안 수행되는 것을 특징으로 하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 8

제6항에 있어서,

상기 (a) 단계의 교반 시 상기 추출용매 100 중량부에 대하여 NaOH 및 KOH 중에서 선택되는 염기를 0.1 내지 16 중량부 첨가하는 것을 특징으로 하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 9

제6항에 있어서,

상기 (a) 단계의 교반 시 상기 추출용매 100 중량부에 대하여 HCl 및 CH_3COOH 중에서 선택되는 산을 0.1 내지 16 중량부 첨가하는 것을 특징으로 하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 10

제6항에 있어서,

상기 (a) 단계 전에 상기 아마란스 잎 분말을 셀룰레이즈 (cellulase), 펙티네이즈 (pectinase), 헤미셀룰레이즈 (hemicellulase), 아라비네이즈 (arabinase), 베타-글루카네이즈 (β -glucanase), 자일라네이즈 (xylanase), 아밀레이즈 (amylase), 아밀로글루코시다이즈 (amylglucosidase)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 가수분해 효소로 처리하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 11

제6항에 있어서,

상기 (a) 단계의 교반 시 초음파 조사하는 것을 특징으로 하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 초음파 조사는 15 내지 25 kHz 및 500 내지 800 watt로 10분 내지 90분 동안 수행되는 것을 특징으로 하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

청구항 13

제6항에 있어서,

상기 (b) 단계를 통해 불순물이 제거된 아마란스 잎 추출액을 농축하는 단계;를 포함하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물 및 아마란스 잎 추출물의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 피부 노화는 크게 내적 요인에 의한 노화와 외적 요인에 의한 노화로 나눌 수 있으며 그 요인에 따라 피부의 구조적, 기능적 변화를 초래한다. 피부는 외부 환경에 항상 노출되어 있으므로 노화에 따른 피부 변화의 많은 부분이 자외선과 같은 외부의 영향을 받는다. 노화가 진행함에 따라 피부는 건조해지고 피부색이 어두워지며 탄력을 잃어 주름이 발생하게 된다.

[0003] 노화의 주된 원인 중 하나인 활성산소 (oxygen free radical)는 산소가 필요한 대사과정에서 불가피하게 발생한다. 활성산소는 매우 불안정한 상태로 존재하게 되므로 체내의 조직을 공격하여 세포를 산화시키고 손상시켜 노화를 유발한다.

[0004] 활성산소는 체내의 단백질을 산화시키거나 세포막의 지질을 산화시키게 되면서 인체 기능이 저하되고 DNA를 손상시켜 돌연변이나 암을 유발하는 원인이 될 수도 있다. 또한 피부에 탄력을 주는 콜라겐 (collagen)과 피부 섬유질을 공격하여 피부 노화가 진행되어 피부가 처지고 늘어져 주름이 생기게 된다.

[0005] 체내에는 SOD (Superoxide Dismutase)처럼 과잉 활성 산소를 제거하는 방어 효소 시스템이 있는데 20대까지는 인체의 항산화 효소의 방어시스템이 활발하여 신체를 건강하게 지켜나가는데 무리가 없으나 이후 점차 나이가 들어감에 따라 급속히 항산화 효소의 기능이 약화되면서 인체는 활성산소에 더욱 쉽게 노출되며 노화의 진행이 가속화되므로, 안티에이징을 위해 활성산소의 적절한 제거가 필요하다.

- [0006] 노화에 의해 나타나는 조직적인 변화로는 피부의 각 구조별로 차이가 있겠으나 일반적으로 표피의 두께가 얇아지고 표피와 진피의 경계부가 편평해지며 탄력섬유의 수도 감소하게 되어 주름이 생기게 된다.
- [0007] 또한, 피부의 주름형성은 근본적으로 나이가 들거나 자외선의 영향으로 피부의 노화가 진행됨으로써 진피층의 콜라겐과 엘라스틴의 변화에 관련한다. 피부의 콜라겐(collagen)과 엘라스틴(Elastin)이 줄어들게 되면 피부의 탄력이 감소하게 되어 결국 주름이 형성되게 된다.
- [0008] 인체에서의 멜라닌은 아민, 유리기, 금속이온 등과 같은 세포 독성 물질에 대한 보호 기능을 수행하지만 과잉 생산 시에는 기미, 주근깨 등의 색소 침착을 형성하고 피부노화를 촉진한다.
- [0009] 멜라닌(melanin)은 자연계에 널리 분포하는 페놀류의 고분자 물질로 검은 색소와 단백질의 복합체다. 멜라닌은 멜라노사이트(melanocyte) 내에서 티로신(tyrosine)이라는 아미노산으로부터 출발하여 도파(DOPA)가 생성되었다가, 다시 산화하여 도파퀴논(DOPA-quinone)이 생성되는 단계에서 산화효소인 티로시나아제(tyrosinase)가 관여한다. 그 후 자동산화 반응을 거치면서 흑갈색의 멜라닌을 만들어낸다. 때문에 화이트닝 화장품은 티로시나아제의 효소활성 저해를 통해 멜라닌 생성을 억제함으로써 화이트닝 효과를 기대할 수 있다.
- [0010] 한편, 아마란스(Amaranth)는 비름과(Amaranthus spp. L.)에 속하는 일년생 유사화곡류(pseudo-cereal)로서, 쌀, 자엽 식물(Lee 등 1996a)에 속하며, 다른 곡류에 비해 불포화 지방산의 함량이 높고, 주 지방산은 리놀렌산으로 구성되어 있다. 포함된 단백질 15-16%중에는 lysine과 황 함유 아미노산이 풍부하다고 보고되어 있으며(Lee 등 1996a), 국내에서는 관상용으로 강원 일부지역에서 재배되고 있고, 독특한 맛과 영양가치가 높아, 종실 부분은 국수, 비스킷 등의 식품개발에 이용되고 있다(Choi HS 2011; Kim & Ryoo 2002).
- [0011] 이러한 아마란스의 생리적 연구는 주로 아마란스 종실(seed)과 관련된 것으로 간과 혈액 내의 총 콜레스테롤, 중성지질과 LDL-콜레스테롤의 수준을 낮춰주고, apo-lipoprotein A와 HDL-콜레스테롤 수준을 높여주며, 콜레스테롤 합성에 관여하는 HMG-CoA reductase 억제 효과(Caselato-Sousa & Amaya-Farfan 2012, Qureshi 등 1996)와 소아 지방변증(coeliac disease) 환자의 gluten-free 식사요법에 이용되는 것으로 보고되어 있다(George 등 2013). 또한 아마란스 종자 메탄올 추출물에서는 위암과 대장암 증식 억제 효과(Lee 등 1996b)가 알려져 있다.
- [0012] 그러나 아마란스 종실이 아닌 아마란스 잎 등의 부산물은 채소 형태로 소량 소비되고 있을 뿐, 대부분은 특별한 활용 없이 버려지고 있는 실정이며, 아마란스 잎의 효능에 대한 연구는 미미한 실정이다.
- [0013] 관련 선행기술로서 대한민국 등록특허 제10-1345156호에서 아마란스 종자 추출물을 함유하는 두피 상태 개선용 화장품 조성물을 개시하고 있으며, 대한민국 공개특허 제10-2014-0097718호에서는 아마란스 지상부 및 종실 추출물을 함유하는 연중효과를 갖는 건강식품 조성물을 개시하고 있으나, 앞서 언급한 바와 같이 아마란스 잎의 효능을 이용한 기술은 개시되어 있지 않다.
- [0014] 이에, 본 발명자들은 아마란스 잎의 효능에 대한 연구를 하던 중, 아마란스 잎이 뛰어난 항산화 효과, 피부미백 및 주름개선 효과가 있음을 확인하여 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0015] 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위해 도출된 것으로서, 본 발명에서는 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물을 제공하고자 한다.
- [0016] 또한, 본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 식품 조성물을 제공하고자 한다.
- [0017] 또한, 본 발명은 항산화, 피부 미백 및 주름 개선 효과가 있는 아마란스 잎 추출물의 제조방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0018] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물을 제공한다.
- [0019] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 아마란스 잎 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어

도 어느 하나의 추출용매로 추출된 것일 수 있다.

- [0020] 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면, 상기 아마란스 잎 추출물은 조성물의 총 중량에 대하여 0.01 내지 40 중량 % 함유될 수 있다.
- [0021] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 상기 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제 함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 이루어지는 군에서 선택된 제형을 가질 수 있다.
- [0022] 또한, 본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0023] 또한, 본 발명은 (a) 아마란스 잎 분말에 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출용매를 첨가 후 교반하여 아마란스 잎 추출액을 제조하는 단계; (b) 상기 아마란스 잎 추출액을 여과하여 불순물을 제거하는 단계; 및 (c) 상기 불순물이 제거된 아마란스 잎 추출액을 농축하는 단계;를 포함하는 아마란스 잎 추출물의 제조방법을 제공한다.
- [0024] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 (a) 단계의 교반은 10 내지 120 °C의 온도에서 0.5 내지 12 시간 동안 수행될 수 있다.
- [0025] 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면, 상기 (a) 단계의 교반 시 상기 추출용매 100 중량부에 대하여 NaOH 및 KOH 중에서 선택되는 염기를 0.1 내지 16 중량부 첨가할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 상기 (a) 단계의 교반 시 상기 추출용매 100 중량부에 대하여 HCl 및 CH₃COOH 중에서 선택되는 산을 0.1 내지 16 중량부 첨가할 수 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 상기 (a) 단계 전에 상기 아마란스 잎 분말을 셀룰레이즈 (cellulase), 펙티네이즈 (pectinase), 헤미셀룰레이즈 (hemicellulase), 아라비네이즈 (arabinase), 베타-글루카네이즈 (β-glucanase), 자일라네이즈 (xylanase), 아밀레이즈 (amylase), 아밀로글루코시다이즈 (amylglucosidase)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 가수분해 효소로 처리하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 상기 (a) 단계의 교반 시 초음파를 조사할 수 있다. 이때 상기 초음파 조사는 15 내지 25 kHz 및 500 내지 800 watt로 10분 내지 90분 동안 수행될 수 있다.

발명의 효과

- [0029] 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물을 함유하는 조성물에는 다량의 플라보노이드 및 페놀산 성분이 함유되어 있어, 향산화, 피부 미백, 주름 예방 및 개선 효과가 매우 우수하다.
- [0030] 또한, 본 발명의 조성물은 천연물 유래의 물질이어서 독성이 없으며, 인체에 적용하여도 부작용을 유발하지 않아 화장품, 식품 조성물 등으로 널리 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 아마란스 부위(잎, 꽃, 종실)에 따른 추출물의 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 나타낸 그래프이다.
- 도 2는 아마란스 부위(잎, 꽃, 종실)에 따른 추출물의 향산화 활성(DPPH 라디칼 소거능)을 나타낸 그래프이다.
- 도 3은 아마란스 부위(잎, 꽃, 종실)에 따른 추출물의 티로시나제 효소 활성 저해능을 나타낸 그래프이다.
- 도 4는 아마란스 부위(잎, 꽃, 종실)에 따른 추출물의 티로시나제 효소 활성 저해능을 시간에 따른 흡광도 값의 변화로 나타낸 그래프이다.
- 도 5는 아마란스 부위(잎, 꽃, 종실)에 따른 추출물의 엘라스타제 효소 활성 저해능을 나타낸 그래프이다.
- 도 6은 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물 제조시, 용매 및 추출온도에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 나타낸 그래프이다.
- 도 7은 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물 제조시, 염기 및 산 첨가량에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량

을 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물 제조시, 가수분해 효소 처리에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.
- [0033] 본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장료 조성물을 제공한다.
- [0034] 이때, 상기 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌 글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출용매로 추출하여 제조되며, 물, 탄소수 1 내지 4의 무수알코올 또는 함수알코올, 및 이들의 혼합물 중에서 선택된 용매로 추출되는 것이 더욱 바람직하다. 이때, 상기 탄소수 1 내지 4의 알코올은 메탄올, 에탄올, n-프로판올, iso-프로판올, n-부탄올, tert-부탄올 등이 있다. 이들 추출용매 중 함수 에탄올 또는 메탄올이 가장 바람직하며, 함유된 에탄올 또는 메탄올의 양은 30 내지 90 부피%인 것이 바람직하여, 40 내지 70 부피%인 것이 더욱 바람직하다.
- [0035] 또한, 본 발명의 화장료 조성물에서 아마란스 잎 추출물은 화장료 조성물의 총 중량에 대하여 분말형태 또는 액상형태로 0.01 내지 40 중량% 함유될 수 있으며, 바람직하게는 화장료 조성물 총 중량에 대하여 분말형태 또는 액상형태로 0.1 내지 10 중량% 함유될 수 있다.
- [0036] 본 발명의 화장료 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 젤, 로션, 파우더, 비누, 계면 활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션, 패취 및 스프레이로 구성된 군으로부터 선택되는 제형으로 제조할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0037] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1 종 이상 추가로 포함할 수 있으며, 통상의 성분으로 예를 들면 유분, 물, 계면 활성제, 보습제, 저급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 방부제, 향료 등을 적절히 배합할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0038] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.
- [0039] 본 발명의 제형이 연고, 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는, 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 전분, 트라칸트, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크, 산화 아연 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0040] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리마이드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0041] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제 등이 이용될 수 있으며, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일 등이 이용될 수 있고, 특히, 목화씨 오일, 땅콩 오일, 옥수수 배종 오일, 올리브 오일, 피마자 오일 및 참깨 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0042] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는, 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타하이드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라칸트 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0043] 본 발명의 제형이 비누인 경우에는, 담체 성분으로서 지방산의 알칼리 금속 염, 지방산 헤미에스테르 염, 지방

산 단백질 히드롤리제이트, 이세티오네이트, 라놀린 유도체, 지방족 알코올, 식물성 유, 글리세롤, 당 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

- [0044] 또한, 본 발명은 아마란스 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 식품 조성물을 제공한다.
- [0045] 이때, 아마란스 잎의 추출용매, 함량에 관한 사항은 상기 화장료 조성물에서 설명한 것과 동일하다.
- [0046] 본 발명의 상기 식품 조성물은 특별히 제한되지 아니하며, 건강 기능 식품 조성물을 포함한다.
- [0047] 본 발명의 상기 건강 기능 식품 조성물을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 조성물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다.
- [0048] 상기 식품의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 비제한적인 예로는 육류, 소세지, 빵, 초콜릿, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.
- [0049] 본 발명의 상기 건강 기능 식품 조성물이 음료 조성물인 경우, 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비제한적인 예로 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드; 말토스, 수크로오스와 같은 디사카라이드; 텍스트린, 사이클로텍스트린과 같은 천연 감미제; 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 들 수 있다. 상기 첨가되는 추가 성분의 비율은 당업자의 선택에 의해 적절하게 결정될 수 있다.
- [0050] 상기 외에 본 발명의 건강 기능 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알코올, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 건강 기능 식품 조성물은 천연 과일 주스, 과일 음료 또는 야채 음료 등의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 사용되거나 2 이상을 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가물의 비율 또한 당업자에 의해 적절히 선택될 수 있다.
- [0051] 또한 본 발명은 상기 화장료 조성물 및 식품 조성물의 원료로서, 향산화, 피부미백 및 주름개선 효과가 뛰어난 아마란스 잎 추출물의 제조방법을 제공하는바, 상기 제조방법은 하기의 단계를 포함하여 구성된다.
- [0052] (a) 아마란스 잎 분말에 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출용매를 첨가 후 교반하여 아마란스 잎 추출액을 제조하는 단계; (b) 상기 아마란스 잎 추출액을 여과하여 불순물을 제거하는 단계; 및 (c) 상기 불순물이 제거된 아마란스 잎 추출액을 농축하는 단계.
- [0053] 이때, 상기 추출용매는 이때, 상기 탄소수 1 내지 4의 알코올은 메탄올, 에탄올, n-프로판올, iso-프로판올, n-부탄올, tert-부탄올 등이 있다. 또한, 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 상기 추출용매 중 물, 함수 에탄올 또는 함수 메탄올을 이용하는 것이 더욱 바람직하며, 상기 함수 에탄올 또는 함수 에탄올에 함유된 에탄올 또는 메탄올의 양은 30 내지 90 부피%인 것이 바람직하며, 40 내지 70 부피%인 것이 더욱 바람직하다.
- [0054] 상기 (a) 단계의 교반은 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 10 내지 120 ℃의 온도에서 0.5 내지 12 시간 동안 수행되는 것이 바람직하다.
- [0055] 또한, 추출물의 총 페놀류 성분의 함량을 증가시켜 향산화, 피부미백 및 주름개선 능력을 향상시키기 위해, 상기 (a) 단계의 교반 시 상기 추출용매 100 중량부에 대하여 NaOH 및 KOH 중에서 선택되는 염기 또는 HCl 및 CH₃COOH 중에서 선택되는 산을 0.1 내지 16 중량부 첨가할 수 있다. 이때, 염기 함량이 상기 범위 미만이면 아마란스 잎 추출물 중의 총 페놀류 성분의 함량이 증가되는 정도가 미미하며, 염기 함량이 상기 범위를 초과하면 유효 물질이 가수분해되어 미용 활성이 낮아질 수 있어 바람직하지 않다.
- [0056] 또한, 추출물의 총 페놀류 성분의 함량을 증가시켜 향산화, 피부미백 및 주름개선 능력을 향상시키기 위해, 상기 (a) 단계 전에 상기 아마란스 잎 분말을 셀룰레이즈 (cellulase), 펙티네이즈 (pectinase), 헤미셀룰레이즈 (hemicellulase), 아라비네이즈 (arabinase), 베타-글루카네이즈 (β-glucanase), 자일라네이즈 (xylanase), 아밀레이즈 (amylase), 아밀로글루코시데이즈 (amylglucosidase)로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 가수분해 효소로 처리하는 단계;를 포함할 수 있다.
- [0057] 또한, 추출물의 총 페놀류 성분의 함량을 증가시켜 향산화, 피부미백 및 주름개선 능력을 향상시키기 위해, 상

기 (a) 단계의 교반 시 초음파를 조사할 수 있다. 이때 상기 초음파 조사는 15 내지 25 kHz 및 500 내지 800 watt로 10분 내지 90분 동안 수행되는 것이 바람직하다.

[0058] 상기 (a) 단계를 통해 제조한 아마란스 잎 추출액은 상기 (b) 단계의 여과과정을 통해 불순물을 제거하여 사용하는 것이 바람직하다. 이때, 상기 불순물의 제거는 통상의 여과장치를 이용할 수 있으며, 원심분리를 통해 침전을 형성하여 불순물을 제거할 수도 있다.

[0059] 다음으로 본 발명에 따른 제조방법은 아마란스 잎 추출액의 유효성분의 함량을 더욱 증가시키기 위하여, 상기 (b) 단계를 통해 불순물이 제거된 아마란스 잎 추출액을 농축하는 단계;를 더 포함할 수 있다.

[0060] 이하에서는 바람직한 실시예 등을 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 등은 본 발명의 범위를 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.

[0061] 제조예 1

[0062] 2014년 경기도 파주시에서 재배되는 아마란스 품종 *Amaranth A. cruentus*을 아마란헬쓰로부터 공급받았고, 공급받은 아마란스 잎을 흐르는 물에 깨끗이 세척한 다음 drying oven (50 °C)에서 24시간 건조시켜 수분 함량이 6% 이하가 되게한 후 분쇄기로 분쇄하여 아마란스 잎 분말을 제조하였다.

[0063] 제조예 2

[0064] 2014년 경기도 파주시에서 재배되는 아마란스 품종 *Amaranth A. cruentus*을 아마란헬쓰로부터 공급받았고, 공급받은 아마란스 꽃을 흐르는 물에 깨끗이 세척한 다음 drying oven (50 °C)에서 24시간 건조시켜 수분 함량이 6% 이하가 되게한 후 분쇄기로 분쇄하고 아마란스 꽃 분말을 제조하였다.

[0065] 제조예 3

[0066] 2014년 경기도 파주시에서 재배되는 아마란스 품종 *Amaranth A. cruentus*을 아마란헬쓰로부터 공급받았고, 공급받은 아마란스 종실을 흐르는 물에 깨끗이 세척한 다음 drying oven (50 °C)에서 24시간 건조시켜 수분 함량이 6% 이하가 되게한 후 분쇄기로 분쇄하여 아마란스 종실 분말을 제조하였다.

[0067] 실시예 1

[0068] 물 100 g에 상기 제조예 1에 따른 아마란스 분말 4 g을 첨가하여 60 °C에서 2시간 동안 교반하여 아마란스 분말 추출액을 제조한 후, 여과하여 불순물을 제거하고 여액을 감압 농축하여 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

[0069] 실시예 2

[0070] 추출용매로 물 대신에 각각 농도 30%(실시예 2.1), 50%(실시예 2.2), 80%(실시예 2.3) 및 100%(실시예 2.4)인 에탄올 수용액을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

[0071] 실시예 3

[0072] 추출용매로 물 대신에 각각 농도 30%(실시예 3.1), 50%(실시예 3.2), 80%(실시예 3.3) 및 100%(실시예 3.4)인 메탄올 수용액을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

[0073] 실시예 4

[0074] 추출용매로 물 대신에 각각 0.5 mole(실시예 4.1), 1 mole(실시예 4.2), 2 mole(실시예 4.3), 4 mole(실시예 4.4) NaOH 수용액을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

[0075] 실시예 5

[0076] 추출용매로 물 대신에 각각 0.5 mole(실시예 5.1), 1 mole(실시예 5.2), 2 mole(실시예 5.3), 4 mole(실시예 5.4) HCl 수용액을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

[0077] 실시예 6

[0078] 제조예 1의 아마란스 잎 분말에 하기 표 1의 산업용 가수분해 효소를 처리한 후 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

표 1

[0079]

구분	Enzyme	Main activity	Source	Optimum condition	
				pH	Temp (°C)
실시예 6.1	Celluclast	Cellulase	<i>Trichoderma reesei</i>	4.5-6.0	50-60
실시예 6.2	Ultraflo L	Beta-glucanase	<i>Humicola insolens</i>	4.0-6.0	40-60
실시예 6.3	Viscozyme	Xylanase, cellulast, hemicellulase, feruloyl esterase, β -glucanase, arabinase	<i>Aspergillus aculeatus</i>	3.5-5.5	25-55
실시예 6.4	Pectinex Ultra SP-L	Polygalacturonase	<i>Aspergillus aculeatus</i>	3.0-5.0	10-60
실시예 6.5	Novozym 33095	Pectin lyase	<i>Aspergillus aculeatus</i> <i>Aspergillus niger</i>	3.5-4.2	25-40
실시예 6.6	Pentopan	Xylanase	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	5.0-6.0	50

[0080]

구체적으로, 아마란스 잎 분말 2 g에 상기 표 1의 최적 pH에 해당하는 인산염 완충 용액 (50 mM) 15 ml을 가하여 현탁 후, 각 효소를 가하여 50 °C에서 4 내지 12 시간 가수분해를 수행하였다. 이때 효소는 셀룰라스트 (celluclast, 실시예 6.1), 울트라플로 (ultraflo L, 실시예 6.2), 비스코자임 (viscozyme, 실시예 6.3), 펙티넥스 (Pectinex, 실시예 6.4), 노보자임 (novozyme, 실시예 6.5), 펜토판 (pentopan, 실시예 6.6)의 6 가지 효소를 사용하였으며, 이들을 각각 50 μ l씩 가하여 아마란스 잎 가수분해 추출물을 제조하였다. 그 후 곧바로 끓는 물에서 10 분간 가열처리하여 효소 활성을 제거하고 15 ml의 에탄올을 추가로 첨가한 후 50 °C의 항온 수조에서 2 시간 동안 추출한 후 냉각하였다. 냉각 후, 3,500 rpm, 4 °C에서 15 분간 원심 분리하여 그 상정액을 수득 및 농축하였다. 대조군으로는 효소 처리를 하지 않고 그 외에는 상기 방법과 동일하게 하여 아마란스 잎 현탁액 (효소 처리 없음, 대조군 1)을 제조하였다.

[0081]

실시예 7

[0082]

아마란스 잎에 추출용매로 50% 에탄올 수용액을 용매로 아마란스 잎 분말과 추출 용매를 1:30의 중량비로 혼합하여 60 °C에서 각각 10분, 20분, 30분, 40분, 50분, 60분, 70분, 80분, 90 분간 초음파를 조사하여 아마란스 잎 추출물을 제조하였다.

[0083]

비교예 1

[0084]

아마란스 잎 분말 대신에 상기 제조예 2에 따른 아마란스 꽃 분말을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 2.2와 동일한 방법을 사용하여 아마란스 꽃 추출물을 제조하였다.

[0085]

비교예 2

[0086]

아마란스 잎 분말 대신에 상기 제조예 3에 따른 아마란스 종실 분말을 사용한 것을 제외하고는 상기 실시예 2.2와 동일한 방법을 사용하여 아마란스 종실 추출물을 제조하였다.

[0087]

시험예

[0088]

가. 총 페놀류 함량

[0089]

아마란스 추출물의 총 페놀 함량은 Folin & Ciocalteu법에 따라 측정하였다. 농도가 1000 ppm인 아마란스 추출물 200 μ l에 Folin & Ciocalteu reagent 800 μ l 을 가하고, 10분 후에 7.5% Na₂CO₃ 용액 2 ml을 추가하였다. 그 후, 90 분간 암실에서 반응시킨 후 765 nm에서 UV-Vis spectrometer를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 mg Gallic acid equivalents(GAE)/100g 아마란스 추출물 (Amaranth extract)로 나타내었다.

[0090]

나. 총 플라보노이드 함량

[0091]

아마란스 추출물의 총 플라보노이드 함량은 aluminium chloride colometric assay (Zhishen J et al. 1999)를 통해 측정하였다. 농도가 1000 ppm인 아마란스 잎 추출물 0.5 ml 에 5% NaNO₂ 75 μ l와 증류수 1 ml을 가한 뒤 5 분간 반응시켰다. 그 후, 10% AlCl₃ 시약 150 μ l를 가하고 실온에서 6분간 추가 반응시킨 뒤 1M NaOH 500 μ l와 증류수 275 μ l를 추가하여 최종 2.5 ml으로 맞춘 후 상온에서 15분간 반응시켰다. 반응종료 후 UV-Vis spectrometer를 사용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 아마란스 추출물 대신 methanol용액을 이

용하여 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 (+)-catechin hydrate (Sigma Co., USA)의 농도를 10-50 /이 되도록 하여 구하였고 이를 이용하여 플라보노이드 함량을 구하였다. 총 플라보노이드 함량은 mg catechin equivalents(CE)/100g 아마란스 추출물(Amaranth extract)로 나타내었다.

[0092] 다. 항산화 활성 (DPPH 라디칼 소거능)

[0093] 항산화력을 나타내는 DPPH 라디칼 소거 능력 특징은 Cheng 등(Cheng LM, Cheng PCK, Ooi VEC. Antioxidant activity and total polyphenolics of edible mushroom extracts. Food chem. 2003;81:249-255.)의 방법을 변형하여 실행하였다. 구체적으로, 농도가 1000 ppm인 아마란스 추출물 500 μ l에 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 시약 (6×10^{-5} mol/L in Ethanol) 500 μ l를 가하여 30 분간 암실에서 반응시킨 뒤 UV-Vis spectrometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화력은 mg Trolox equivalent(TE)/g 아마란스 추출물(Amaranth extract)으로 나타내었다.

[0094] 라. 티로시나제 (tyrosinase) 활성 억제능

[0095] 멜라닌은 동식물과 미생물계에 널리 존재하는 고분자 색소로, 페놀류의 효소 반응 및 산화와 중합 등 여러 단계를 거쳐 합성된다. 기미, 주근깨 등 피부에 생기는 색소 침착은 포피 내에서의 멜라닌 색소 증가에 기인한다. 멜라닌의 주된 생성 과정에서 결정적으로 중요한 핵심 효소는 티로시나제로, 미백 화장품의 원료 개발에 있어서 티로시나제의 활성 억제 능력은 매우 중요하다.

[0096] 티로시나제 활성 억제는 Mason와 Peterson (Mason HS, Peterson EW, Melanoproteins I. Reactions between enzyme-generated quinones and amino acids. Biochem Biophys Acta. 1965;111:134-146.)의 방법을 이용하여 측정하였다. 구체적으로, 0.1 M의 potassium phosphate buffer (pH 6.8) 70 μ l에 1000 ppm의 아마란스 추출물 20 μ l와 mushroom tyrosinase 용액 30 μ l를 가하고 30 $^{\circ}$ C에서 5 분간 반응시켰다. 반응 후 dimethylsulfoxide (DMSO) 용액 100 μ l를 가하고 492 nm에서 15 분 동안 1분 간격으로 흡광도를 측정하였으며, 10 분 동안 티로시나제 활성 억제 능력은 하기 [식 1]에 따라 계산하였다.

[0097] [식 1]

[0098] 티로시나제 활성 억제능 (%) = [(A-B)-(C-D)]/(A-B) X 100

[0099] A; with tyrosinase but without sample

[0100] B; without sample and tyrosinase

[0101] C; with sample and tyrosinase

[0102] D; with sample but without tyrosinase

[0103] 마. 엘라스타제 (elastase) 활성 억제능

[0104] 엘라스타제는 주름 생성 및 피부 탄력과 관련이 있다. 엘라스타제의 활성 억제는 James 등 (James AEK, Timothy DW, Gordon L. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bonice pancreatic trypsin inhibitor. Biochem.1996;35:9090-9096.)의 방법을 이용하여 측정하였다. 0.2 M의 Tris-HCl buffer (pH 8.0)와 10 μ g/ml의 porcine pancreatic elastase (PPE) type (Sigma-Aldrich., ST. Louis, USA)을 각각 0.5 ml를 가하여 혼합한 후 25 $^{\circ}$ C에서 20 분간 반응시켰다. 반응 후 0.8 mM의 N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (Suc-Ala-Ala-Ala-pNA, Bachem Feinchemikalien AG., Budendorf, Switzerland)을 1.0 ml를 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 반응시킨 후 214 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 엘라스타제 활성 억제능은 하기 [식 2]에 따라 계산하였다.

[0105] [식 2]

[0106] 엘라스타제 활성 억제 능력 (%) = (A-B)/A X 100

[0107] A; with elastase but without sample

[0108] B; with sample and elastase

[0109] 시험예 1: 아마란스 부위별 총 페놀류 및 플라보노이드 함량

[0110] 아마란스 부위별 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 확인하기 위하여, 실시예 2.2, 비교예 1, 2에 따른 아마란

스 추출물에 대하여 상술한 시험방법 가. 나.를 이용하여 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 2 및 도 1에 나타내었다.

표 2

	실시예 2.2	비교예 1	비교예 2
총 페놀류 함량 (mg GAE/100 g 아마란스 추출물)	2048.73	920.33	266.81
총 플라보노이드 함량 (mg CE/100 g 아마란스 추출물)	744.39	409.81	74.56

측정 결과, 상기 표 2 및 하기 도 1에 나타난 바와 같이, 다양한 아마란스 부위 중 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물(실시예 2.2)의 총 페놀류 함량 및 플라보노이드 함량이 아마란스 꽃 추출물(비교예 1) 및 아마란스 종실 추출물(비교예 2)에 비해 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었다.

시험예 2: 아마란스 부위별 항산화 활성 (DPPH 라디칼 소거능)

아마란스 부위별 항산화 활성 (DPPH 라디칼 소거능)을 확인하기 위하여, 실시예 2.2, 비교예 1, 2에 따른 아마란스 추출물에 대하여 상술한 시험방법 다. 를 이용하여 항산화 활성 (DPPH 라디칼 소거능)을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 3 및 도 2에 나타내었다.

표 3

	실시예 2.2	비교예 1	비교예 2
DPPH 라디칼 소거능 (mg TE/g 아마란스 추출물)	200.81	121.18	62.95

측정 결과, 상기 표 3 및 하기 도 2에 나타난 바와 같이, 다양한 아마란스 부위 중 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물(실시예 2.2)의 DPPH 라디칼 소거능이 아마란스 꽃 추출물(비교예 1) 및 아마란스 종실 추출물(비교예 2)에 비해 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었다.

시험예 3: 아마란스 부위별 피부 기능성 미용 활성 (티로시나제 활성 억제능)

아마란스 부위별 미백 효능을 확인하기 위해 실시예 2.2, 비교예 1, 2에 따른 아마란스 추출물에 대하여 상술한 시험방법 라. 를 이용하여 티로시나제 (tyrosinase) 효소 활성 저해능을 측정하였고, 그 결과를 하기 표 4, 도 3, 및 도 4에 나타내었다.

표 4

	실시예 2.2	비교예 1	비교예 2
티로시나제 저해능 (%)	33.15	24.03	9.39

측정 결과, 상기 표 4 및 하기 도 3, 4에 나타난 바와 같이, 다양한 아마란스 부위 중 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물(실시예 2.2)의 티로시나제 저해 활성이 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었다. 특히, 아마란스 종실을 이용하여 추출한 비교예 2의 추출물에 비해 4 배 이상의 미백 활성을 나타내는바, 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물이 우수한 미백 기능을 가진 화장품 및 식품 조성물로 사용될 수 있음을 확인하였다.

시험예 4: 아마란스 부위별 피부 기능성 미용 활성 (엘라스타제 활성 억제능)

아마란스 부위별 주름 개선 효능을 확인하기 위해 실시예 2.2, 비교예 1, 2에 따른 아마란스 추출물에 대하여 상술한 시험방법 마. 를 이용하여 엘라스타제 (elastase) 효소 활성 저해능을 측정하였고, 그 결과를 하기 표 5 및 도 5에 나타내었다.

표 5

	실시예 2.2	비교예 1	비교예 2
엘라스타제 저해능 (%)	19.11	15.34	9.23

[0124] 측정 결과, 상기 표 5 및 하기 도 5에 나타난 바와 같이, 다양한 아마란스 부위 중 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물(실시예 2.2)의 엘라스타제 저해 활성이 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물이 효과적인 주름예방 및 개선용 화장료 및 식품 조성물로 사용될 수 있음을 확인하였다.

[0125] **시험예 5: 아마란스 잎의 용매에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량**

[0126] 추출 용매에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 확인하기 위하여, 실시예 1, 실시예 2.1 내지 2.4, 실시예 3.1 내지 3.4에 따른 아마란스 잎 추출물에 대하여 상술한 시험방법 가. 나.를 이용하여 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 6 및 도 6에 나타내었다.

표 6

구분		총 페놀류 함량 (mg GAE/ 100 g 아마란스 잎)	총 플라보노이드 함량 (mg CE 100 g 아마란스 잎)
실시예1		1435.88	300.51
실시예 2	실시예 2.1	1222.19	600.12
	실시예 2.2	2048.73	744.39
	실시예 2.3	1532.84	668.34
	실시예 2.4	1451.17	652.34
실시예 3	실시예 3.1	1211.23	600.23
	실시예 3.2	1909.14	693.67
	실시예 3.3	1651.17	719.93
	실시예 3.4	1543.45	601.23

[0128] 측정 결과, 상기 표 6 및 하기 도 6에 나타난 바와 같이, 총 페놀류 및 플라보노이드 함량은 50% 에탄올과 50% 메탄올을 추출용매로 사용하였을 때, 가장 높은 것을 확인하였다.

[0129] **시험예 6: 아마란스 잎의 추출온도에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량**

[0130] 추출(교반) 온도에 따른 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 확인하기 위하여, 실시예 1, 실시예 2.2, 2.3 및 실시예 3.2 내지 3.3에 따른 아마란스 잎 추출물에 대하여 상술한 시험방법 가. 나.를 이용하여 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 알코올을 추출용매로 사용한 경우 알코올의 끓는 점을 고려하여 90 ℃에서는 측정하지 않았으며, 그 결과를 하기 표 7, 표 8, 및 도 6에 나타내었다.

표 7

구분		실시예 1	실시예 2		실시예 3	
			실시예 2.2	실시예 2.3	실시예 3.2	실시예 3.3
총페놀류 함량	25 ℃	1022.33	1403.29	1271.23	1355.82	1222.23
	60 ℃	1435.88	2048.73	1532.84	1909.14	1651.17
	90 ℃	1702.23	-	-	-	-

표 8

구분		실시예 1	실시예 2		실시예 3	
			실시예 2.2	실시예 2.3	실시예 3.2	실시예 3.3
총 플라보노이 드 함량	25 ℃	259.01	600.32	583.92	638.62	600.74
	60 ℃	300.51	744.39	668.34	693.67	719.93
	90 ℃	375.07	-	-	-	-

[0133] 측정 결과, 상기 표 7 내지 표 8에 나타난 바와 같이, 추출용매에 관계없이 추출 온도가 높아짐에 따라 총 페놀류 및 플라보노이드 함량이 증가하는 경향을 보이는 것을 확인하였다. 또한, 총 페놀류 및 플라보노이드 함량 모두 50% 에탄올 수용액을 용매로 60 ℃에서 추출 시(실시예 2.2) 추출물 내 유용 성분의 함량이 가장 높은 것

을 확인하였다.

시험예 7: 염기 첨가량에 따른 총 페놀류 함량

염기 첨가량 및 추출 온도에 따른 총 페놀류 함량을 확인하기 위하여, 실시예 1, 실시예 4.1 내지 4.4에 따른 아마란스 잎 추출물에 대하여 상술한 시험방법 가. 나.를 이용하여 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 9 및 도 7에 나타내었다.

표 9

구분		실시예 1 (물)	실시예 4.1 (0.5M-NaOH)	실시예 4.2 (1M-NaOH)	실시예 4.3 (2M-NaOH)	실시예 4.4 (4M-NaOH)
총페놀류 함량	25 °C	1022.09	1284.76	1302.09	1403.58	1473.43
	60 °C	1398.90	1637.51	1783.50	1781.54	1922.27
	120 °C	1834.34	2557.08	2569.57	2636.97	3254.35

측정 결과, 상기 표 9 및 하기 도 7에 나타낸 바와 같이, 염기를 첨가한 실시예 4.1, 4.2, 4.3, 및 4.4는 염기를 첨가하지 않은 실시예 1과 비교하여 추출물의 총 페놀류 함량이 증가함을 확인하였다. 또한, 추출 온도가 증가함에 따라 추출물의 총 페놀류 함량이 증가되는 경향을 보이는 것을 확인하였다. 이를 통해, 추출물 제조시, 염기의 첨가 및 추출온도의 상승은 모두 아마란스 잎에 존재하는 유용성 성분의 함량을 향상시키는데 효과적임을 확인하였다.

시험예 8: 산 첨가량에 따른 총 페놀류 함량

산 첨가량 및 추출 온도에 따른 총 페놀류 함량을 확인하기 위하여, 실시예 1, 실시예 5.1 내지 5.4에 따른 아마란스 잎 추출물에 대하여 상술한 시험방법 가. 나.를 이용하여 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 10 및 도 7에 나타내었다.

표 10

구분		실시예 1 (물)	실시예 5.1 (0.5M-HCl)	실시예 5.2 (1M-HCl)	실시예 5.3 (2M-HCl)	실시예 5.4 (4M-HCl)
총페놀류 함량	25 °C	1022.09	1017.94	1033.70	1026.23	1028.72
	60 °C	1398.90	1547.91	1588.65	1631.64	1425.71
	120 °C	1834.34	2180.14	2715.19	3023.40	1957.71

측정 결과, 상기 표 10 및 하기 도 7에 나타낸 바와 같이, 산을 첨가한 실시예 5.1, 5.2, 5.3, 및 5.4는 산을 첨가하지 않은 실시예 1과 비교하여 추출물의 총 페놀류 함량이 증가함을 확인하였다. 또한, 추출 온도가 증가함에 따라 추출물의 총 페놀류 함량이 증가되는 경향을 보이는 것을 확인하였다. 이를 통해, 추출물 제조시, 산의 첨가 및 추출온도의 상승은 모두 아마란스 잎에 존재하는 유용성 성분의 함량을 향상시키는데 효과적임을 확인하였다.

시험예 9: 효소 첨가에 따른 총 페놀류 함량

가수분해 효소 처리 및 처리 시간에 따른 총 페놀류 함량을 확인하기 위하여, 실시예 6.1 내지 6.6에 따른 아마란스 잎 추출물에 대하여 상술한 시험방법 가. 나.를 이용하여 총 페놀류 및 플라보노이드 함량을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 11 및 도 8에 나타내었다. 대조군으로 효소 첨가를 제외하고는 동일한 방법으로 추출한 추출액(효소처리 없음, 대조군)을 제조하여 함께 측정하였다.

표 11

구분	효소 처리 시간	
	4시간	12시간

총페놀류 함량	대조군(No-enzyme)	1558.63	1745.4
	실시예 6.1 (Celluclast)	1703.78	1641.62
	실시예 6.2 (Ultraflo L)	1749.86	1542.26
	실시예 6.3 (Viscozyme)	802.93	910.79
	실시예 6.4 (Pectinex)	791.41	800.39
	실시예 6.5 (Novozyme)	913.52	802.6
	실시예 6.6 (Pentopan)	2535.51	2867.05

[0145] 측정 결과 상기 표 11 및 하기 도 8에 나타난 바와 같이, 가수 분해 효소 처리시 실시예 6.3-6.5를 제외하고는 대조군에 비해 총 페놀류 함량이 높은 것을 확인하였으며, 특히, 가수분해 효소로서, 펜토판 (pentopan, 실시예 6.6)을 사용한 경우 아마란스 잎 추출액의 유용성 성분의 함량이 현저히 증가됨을 확인하였다.

[0146] **시험예 10: 초음파 조사에 따른 총 페놀류 함량**

[0147] 초음파 조사 및 조사 시간에 따른 총 페놀류 함량을 확인하기 위하여, 실시예 7에 따른 아마란스 잎 추출물 추출 시 초음파 조사 시간에 의한 효과를 측정하였다. 초음파 추출기 (SEEC-SONIC II, UL-Tech, Korea)를 사용하여 60 °C, 20 kHz 및 750 watt 조건에서 초음파를 발생시켜 처리하였으며, 온도를 일정하게 유지하기 위하여 순환식 항온 수조를 연결하여 사용하였다. 초음파는 각각 10분, 20분, 30분, 40분, 50분, 60분, 70분, 80분, 90 분간 조사하여 추출한 뒤, 실시예 1의 추출물과 총 페놀류 함량을 비교하였으며, 그 결과를 하기 표 12에 나타내었다.

표 12

[0148]

	실시예 1	실시예 7								
초음파 시간(분)	-	10	20	30	40	50	60	70	80	90
총페놀류 함량	2048.7	2443.5	2578.5	2740.5	3010.5	2673.0	2605.5	2565.0	2578.5	2511.1

[0149] 측정 결과, 상기 표 12에 나타난 바와 같이, 아마란스 잎 추출물 제조시 초음파를 함께 조사하면, 추출물의 총 페놀류 함량이 증가함을 확인하였으며, 특히 초음파 조사 시간이 40분인 경우 총 페놀류 함량이 현저히 증가함을 확인하였다.

[0150] **시험예 11: 각 추출 조건에 따른 아마란스 잎 추출물의 미백 효능**

[0151] 실시예 1 내지 7의 각 추출 조건 중 총 페놀함량 및 플라보노이드 함량이 높은 아마란스 잎 추출물들의 미백 효능을 확인하기 위해 티로시나제 (tyrosinase) 효소 활성 저해능을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 13에 나타내었다.

표 13

[0152]

구분	추출온도(°C)	티로시나제 억제능 (%)
실시예 1	90	20.33
실시예 2.2	25	25.34
실시예 2.2	60	30.82
실시예 3.2	25	20.81
실시예 3.2	60	27.11
실시예 4.4	120	46.99
실시예 5.3	120	35.12
실시예 6.6	50	41.23
실시예 7(40분)	60	40.23

[0153] 측정 결과, 상기 표 13에 나타난 바와 같이, 물, 알코올을 추출용매로 사용한 경우뿐만 아니라, 염기 첨가, 산 첨가, 효소 추출, 및 초음파 조사를 이용한 본 발명에 따른 추출방법을 이용하여 아마란스 잎 추출물 제조시, 티로시나제 효소 저해능(화이트닝 효과)이 높은 추출물을 수득할 수 있음을 확인하였는바, 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물이 효과적인 미백 기능성 화장품 및 식품 조성물로 적용 가능함을 확인하였다.

[0154] **시험예 12: 각 추출 조건에 따른 아마란스 잎 추출물의 주름 개선 및 예방 효능**

[0155] 실시예 1 내지 7의 각 추출 조건 중 총 페놀함량 및 플라보노이드 함량이 높은 아마란스 잎 추출물들의 주름 개선 및 예방 효능을 확인하기 위해 엘라스타제 (elastase) 효소 활성 저해능을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 14에 나타내었다.

표 14

[0156]

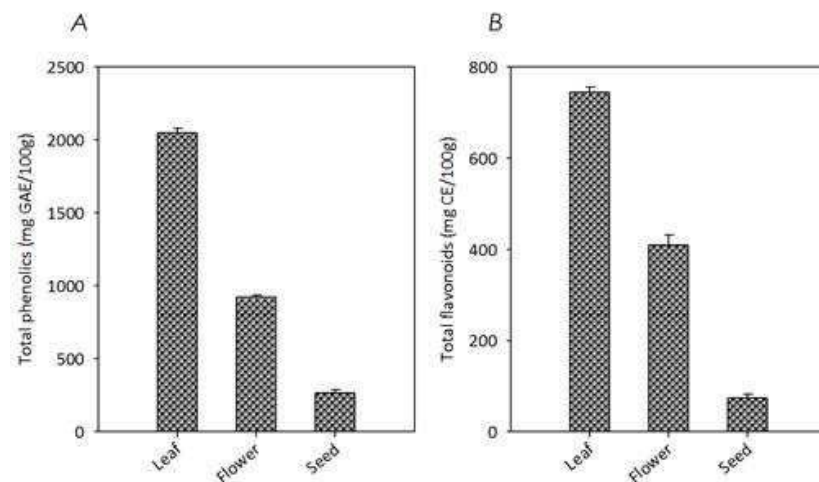
구분	추출온도(℃)	엘라스타제 억제능 (%)
실시예 1	90	15.55
실시예 2.2	25	17.23
실시예 2.2	60	19.11
실시예 3.2	25	12.22
실시예 3.2	60	18.54
실시예 4.4	120	33.23
실시예 5.3	120	28.11
실시예 6.6	50	30.12
실시예 7(40분)	60	34.81

[0157]

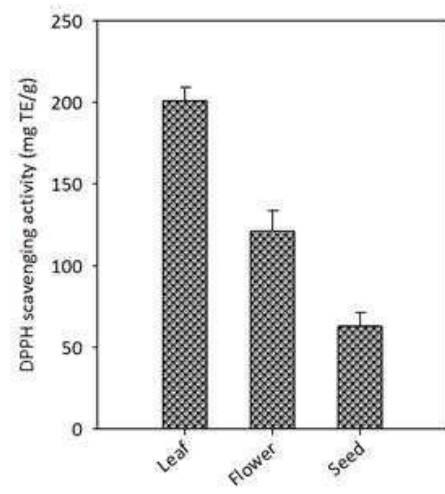
측정 결과, 상기 표 14에 나타난 바와 같이, 물, 알코올을 추출용매로 사용한 경우뿐만 아니라, 염기 첨가, 산 첨가, 효소 추출, 및 초음파 조사를 이용한 본 발명에 따른 추출방법을 이용하여 아마란스 잎 추출물 제조시, 엘라스타제 효소 저해능이 우수한 추출물을 수득할 수 있음을 확인하였는바, 본 발명에 따른 아마란스 잎 추출물이 효과적인 주름 개선 및 예방 기능성 화장료 및 식품 조성물로 적용 가능함을 확인하였다.

도면

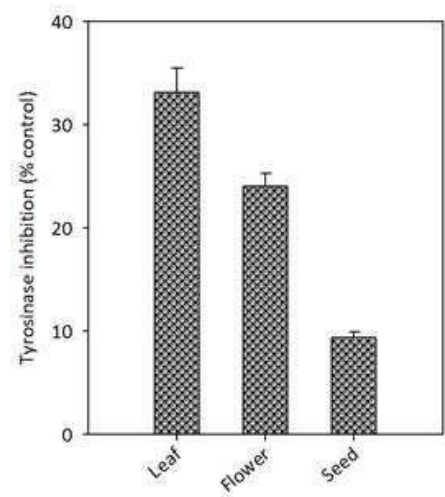
도면1



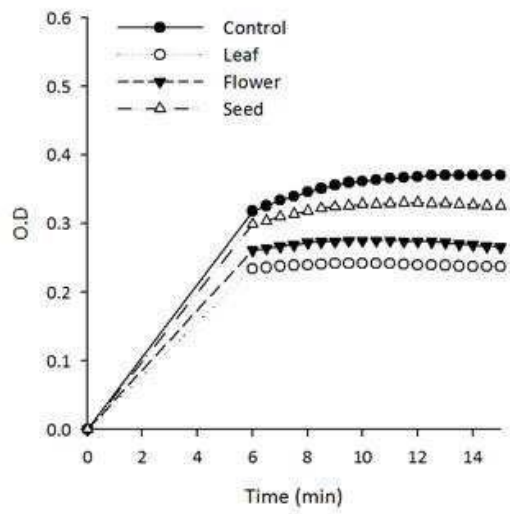
도면2



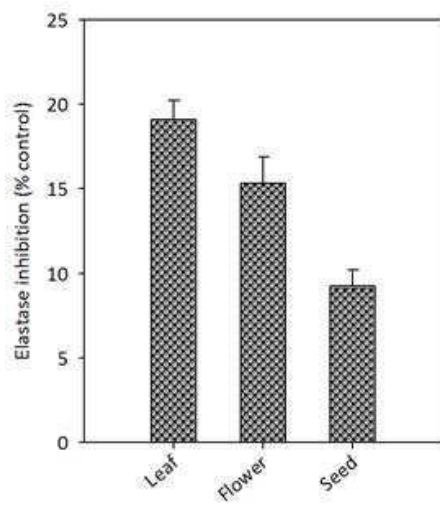
도면3



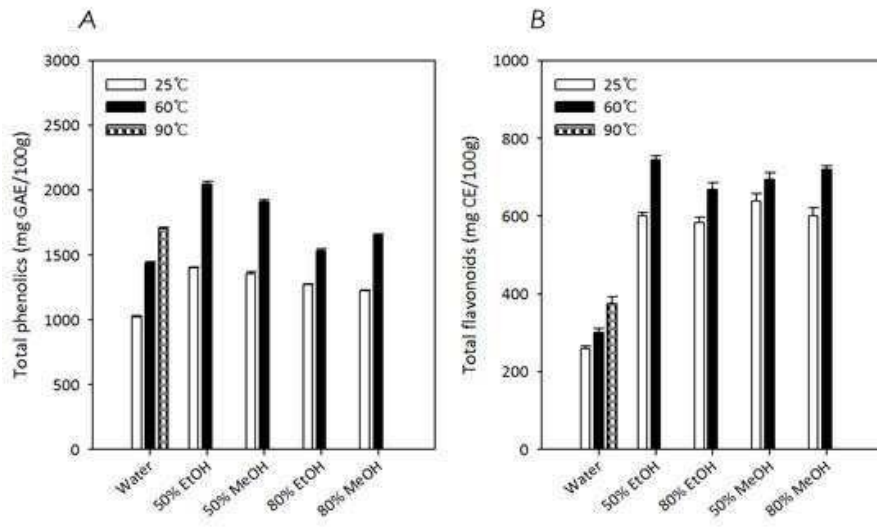
도면4



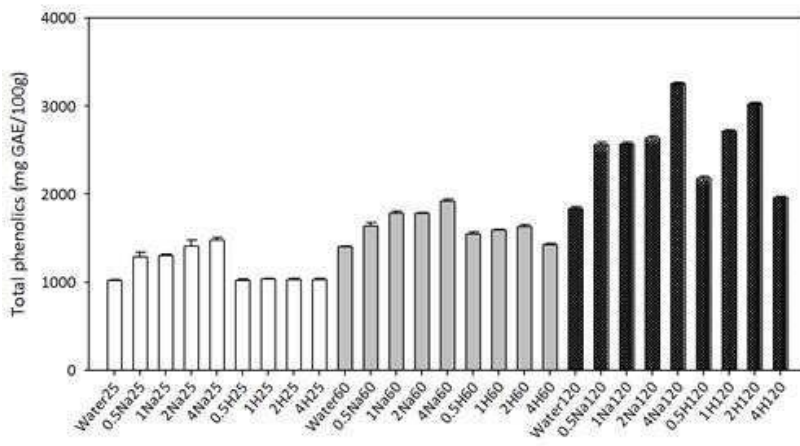
도면5



도면6



도면7



도면8

