



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년05월26일
(11) 등록번호 10-2810446
(24) 등록일자 2025년05월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) A61K 36/488 (2006.01)
A61K 36/49 (2006.01) A61K 36/52 (2006.01)
A61K 36/60 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01) A61Q 5/00 (2006.01)
A61Q 7/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61K 36/488 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2023-0122616

(22) 출원일자 2023년09월14일

심사청구일자 2023년09월14일

(65) 공개번호 10-2025-0040140

(43) 공개일자 2025년03월24일

(56) 선행기술조사문헌

KR1020230121661 A*

KR102493443 B1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

주식회사 잇츠한불

서울특별시 강남구 학동로 311 (논현동)

(72) 발명자

권순우

충청북도 음성군 삼성면 대성로547번길 62

이근수

충청북도 음성군 삼성면 대성로547번길 62

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

리엔텍특허법인

전체 청구항 수 : 총 13 항

심사관 : 조혜인

(54) 발명의 명칭 천연 공용 용매로 추출한 추출물의 복합 유산균 발효물을 포함하는 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 천연 공용 용매로 추출한 추출물의 복합 유산균 발효물을 포함하는 화장료 조성물에 관한 것으로, 일양상에 따른 발효물, 또는 이의 발효숙성물은 천연 공용 용매의 특성상 활용이 제한적인 한계를 극복함과 동시에, 천연 공용 용매 추출물의 피부 생리활성물질 추출 효율을 증대시킬 수 있으며, 항산화 활성, 항염 활성, 항균 활성, 모유두세포 증식능 등이 우수하므로 피부 상태 개선용 화장이나 헤어 케어용 화장품으로 유용하게 사용될 수 있다.

(52) CPC특허분류

- A61K 36/49 (2013.01)
- A61K 36/52 (2013.01)
- A61Q 19/00 (2013.01)
- A61Q 19/007 (2013.01)
- A61Q 19/008 (2013.01)
- A61Q 19/08 (2013.01)
- A61Q 5/00 (2013.01)
- A61Q 5/006 (2013.01)
- A61Q 7/00 (2019.01)

최수련

충청북도 음성군 삼성면 대성로547번길 62

(72) 발명자

김진화

충청북도 음성군 삼성면 대성로547번길 62

오정영

충청북도 음성군 삼성면 대성로547번길 62

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1345370811
과제번호	2021RIS-001
부처명	교육부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	지자체대학협력기반지역혁신사업
연구과제명	지자체대학협력기반지역혁신사업(충북지역혁신플랫폼)
과제수행기관명	(충북지역혁신플랫폼)충북대학교
연구기간	2023.04.01 ~ 2024.02.29

명세서

청구범위

청구항 1

천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 화장품 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하고,

상기 피부 상태 개선은 항산화, 피부 염증 개선, 피부 보습 증진, 피부 주름 개선, 피부 탄력 개선, 여드름 개선, 또는 피지 분비 개선이고,

상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 칩, 및 호두로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이고,

상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주는 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주 및 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus sakei*) AMP 5104 균주인 것인, 피부 상태 개선용 화장품 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 아미노산 또는 이의 유도체는 베타인, 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루타민, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소로이신, 라이신, 로이신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판, 및 티로신로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것인, 화장품 조성물.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 유기산은 구연산, 락트산, 말산, 말레산, 피루브산, 푸마르산, 석신산, 아세트산, 아코니트산, 타르트산, 아스코르브산, 말론산, 옥살산, 글루쿠론산, 뉴라민산, 시알산, 시킵산, 피트산, 갈락투론산, 이두론산, 히알루론산, 하이드록시시트르산, 및 락톤 유도체로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나인 것인, 화장품 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 아미노산 또는 이의 유도체 및 유기산은 1:0.001 내지 10의 중량비로 혼합된 것인, 화장품 조성물.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 상기 천연 공용 용매는 pH가 2 내지 3인 것인, 화장품 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 발효물은 상기 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 숙성시킨 발효숙성물인 것

인, 화장료 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 모발 및 두피 상태 개선용 화장료 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하고,

상기 모발 및 두피 상태 개선은 향산화, 모발 탄력 개선, 모발 윤기 개선, 두피 탄력 개선, 두피 보습 증진, 비듬 개선, 및 탈모 예방 또는 개선이고,

상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 칩, 및 호두로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상이고,

상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주는 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주 및 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus sakei*) AMP 5104 균주인 것인, 모발 및 두피 상태 개선용 화장료 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환 예방 또는 치료용 피부외용제 조성물로서 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하고,

상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 칩, 및 호두로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상이고,

상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주는 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주 및 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus sakei*) AMP 5104 균주인 것인, 피부 염증 질환 예방 또는 치료용 피부외용제 조성물.

청구항 16

천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하고,

상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 칩, 및 호두로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상이고,

상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주는 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주 및 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus sakei*) AMP 5104 균주인 것인, 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 17

청구항 16에 있어서, 상기 피부 염증 질환은 아토피 피부염, 접촉성 피부염, 습진성 피부염, 광선피부염, 지루 피부염, 포진성피부염, 두드러기, 건선, 약발진, 및 여드름으로 이루어진 균에서 선택된 어느 하나인 것인, 약학적 조성물.

청구항 18

천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨

가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하고,

상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 쉼, 및 호두로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이고,

상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus* sp.) 균주는 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토시스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주 및 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus sakei*) AMP 5104 균주인 것인, 탈모 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물.

청구항 19

천연물에 천연 공용 용매를 첨가하고 추출 및 여과하여 천연물 추출물을 수득하는 단계; 및

상기 수득된 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속(*Lactobacillus* sp.) 균주 배양액을 첨가하고 발효시켜 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 단계;를 포함하는, 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 방법으로서,

상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산이고,

상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 쉼, 및 호두로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상이고,

상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus* sp.) 균주는 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토시스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주 및 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus sakei*) AMP 5104 균주인 것인, 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 방법.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 상기 방법은 상기 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 빛이 차단된 30 내지 40 °C에서 7일 내지 100일 동안 숙성시켜 발효숙성물을 제조하는 단계;를 더 포함하는 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 천연 공용 용매로 추출한 추출물의 복합 유산균 발효물을 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 천연물로부터 유용성분을 추출하기 위한 용매로 유기 용매가 일반적으로 사용된다. 유기용매는 값이 싸고 추출 효율이 좋다는 장점이 있으나, 환경 오염의 문제를 야기하고, 인체에 유해하여 잔류 용매에 대한 우려 때문에 제품 선호도가 감소되는 문제점이 있다. 이에 유기용매의 대안으로 두 종류의 성분이 혼합되어 각 성분보다 더 낮은 녹는점을 갖는 공용 혼합물인 공용용매(eutectic solvent)가 제시되고 있다. 그러나, 공용용매를 구성하는 성분으로 화장품에 사용할 수 없는 성분(예컨대, 염화콜린(Choline chloride) 등)들이 다수 포함되어 있으며, 일부 화장품에 사용가능한 성분의 경우에도 유기산 등의 성분이 필수적으로 사용되어야 함에 따라 추출물에서의 pH가 2~3이 되어 제형 안정성이 저하되거나 피부를 자극할 가능성이 있다. 이로 인해, 공용용매 추출물의 활용이 극히 제한적이었으며, 별도의 후속 공정을 통한 중화과정이 필요한 경우가 많아 경제성 및 범용성이 떨어진다는 문제가 있었다.

[0003] 한편, 한국 전통발효식품인 김치에는 항산화, 항노화, 항비만, 항돌연변이, 항염, 항균, 항알러지, 면역증진 효과와 같은 다양한 기능성이 있음이 알려져 있다. 이러한 이로온 효과는 김치 내의 영양성분과 유산균의 발효산물에서 유래되며, 유산균을 이용하는 연구 및 이를 이용한 프로바이오틱스 및 건강식품 등이 다양하게 출시되고 있다. 프로바이오틱스(probiotics)란 살아있는 상태로 체내에 들어가서 면역 및 다양한 기능성을 주어 건강에 도움을 주는 유익한 미생물을 말한다. 프로바이오틱스 뿐만 아니라 그 대사산물인 포스트바이오틱스(postbiotics)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 (한국공개특허 10-2022-0149935), 기질을 달리한 프로바이오틱스 배양을 통해 다양한 산물을 얻을 수 있다.

[0004] 이에, 본 발명자들은 유기용매에 비해 친환경적이고 안전한 이점이 있음에도, 용매 특성상 추출물이 산성을 띠

고 농축 및 건조가 불가하여 활용이 제한적인 천연 공용 용매 추출물의 상용성 개선을 위해, 한국 전통발효식품인 김치에서 분리된 유산균을 내산성 균주로 이용하여 천연물의 효소 및 유산균 대사체의 활용 효율을 높일 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 일 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 화장료 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 상태 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0006] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 모발 및 두피 상태 개선용 화장료 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 모발 및 두피 상태 개선용 화장료 조성물을 제공하는 것이다.
- [0007] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 피부외용제 조성물로서 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 상태 개선용 피부외용제 조성물을 제공하는 것이다.
- [0008] 또 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0009] 또 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 탈모 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 또 다른 양상은 천연물에 천연 공용 용매를 첨가하고 추출 및 여과하여 천연물 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 수득된 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속(*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하고 발효시켜 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 단계;를 포함하는, 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 방법으로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산인 것인, 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0011] 일 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 화장료 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 상태 개선용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0012] 용어 “공용 용매 (Eutectic solvent)”는 두 종류의 성분이 혼합되어 각 성분보다 더 낮은 녹는점을 나타내는 공용 혼합물인 용매를 의미한다. 일 구체예에 있어서, 상기 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산의 공용 혼합물인 천연 공용 용매일 수 있다.
- [0013] 상기 아미노산 또는 이의 유도체는 베타인, 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루타민, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소로이신, 라이신, 로이신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판, 및 티로신로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0014] 상기 유기산은 구연산, 락트산, 말산, 말레산, 피루브산, 푸마르산, 석신산, 아세트산, 아코니트산, 타르트산, 아스코르브산, 말론산, 옥살산, 글루쿠론산, 뉴라민산, 시알산, 시킵산, 피트산, 갈락투론산, 이두론산, 히알루론산, 하이드록시시트르산, 및 락톤 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

- [0015] 상기 아미노산 또는 이의 유도체 및 유기산은 1:0.001 내지 10의 중량비로 혼합될 수 있다. 일 구체예에 있어서, 상기 천연 공용 용매는 베타인 및 구연산의 혼합물일 수 있다. 상기 베타인 및 구연산은 1:0.001 내지 10의 중량비로 혼합될 수 있다. 상기 베타인 및 구연산은 예를 들어, 1:0.001 내지 10, 1:0.001 내지 8, 1: 0.05 내지 7, 1:0.05 내지 5, 1:0.01 내지 10, 1:0.01 내지 6, 1:0.1 내지 4, 1:0.1 내지 3, 1:1 내지 10, 1:1 내지 4, 1:1 내지 2, 또는 1:1의 중량비로 혼합될 수 있다. 이때, 상기 베타인 및 구연산의 혼합 중량비가 상기 범위 미만이거나 또는 상기 범위를 초과하는 경우, 베타인 및 구연산이 침전되거나, 공용 용매가 현탁해지거나 또는 변색되는 문제점이 있다.
- [0016] 상기 천연 공용 용매는 pH가 2 내지 3일 수 있다. 일반적으로 베타인 및 구연산을 혼합하는 경우, 구연산으로 인해 pH 2 내지 3의 산성 용액이 제조된다. 이러한 산성 용매로 추출한 추출물은 산도가 높아 피부 자극을 유발하거나 피부 손상을 유발할 수 있으며, 일반적인 유기 용매나 물과 달리 공용 용매는 용매 특성상 농축 및 건조가 불가능하여 추출물을 바로 피부에 적용하기 어렵다는 한계가 있다. 산성 상태의 천연 공용 용매 추출물에 내산성 균주인 유산균 2종을 배양하면 사용이 제한적인 산성의 천연 공용 용매 추출물을 활용할 수 있으며, 배양물의 발효과정에서 천연물의 효소를 이용할 수 있다.
- [0017] 상기 천연물은 무화과, 밤꽃, 칩, 호두, 권백, 흑미, 혈갈, 검은콩, 능소화, 설련, 마가목, 화분, 물개구리밥, 향나무, 봉미초, 금낭화, 겨우살이, 들나물, 정금, 상항버섯, 토마토, 어성초, 진피, 및 모란으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있으며, 예를 들어, 무화과, 밤꽃, 칩, 호두, 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0018] 상기 천연물 추출물은 건조된 천연물을 세절한 후 천연 공용 용매를 천연물 무게의 2배 내지 20배를 첨가하여 추출하는 것일 수 있다. 추출 온도는 30℃ 내지 100℃에서 수행되는 것일 수 있다. 추출 시간은 1시간 내지 10시간 동안 수행되는 것일 수 있다. 추출 방법은 냉침, 초음파 추출 또는 환류 냉각 추출 방법 등을 이용할 수 있다. 추출 횟수는 1회 내지 5회 반복 추출하는 것일 수 있다. 상기 추출은 식물체 잔사 및 추출액을 여과 등의 알려진 방법에 의하여 분리할 수 있다.
- [0019] 상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액은 식물체 잔사(고형분)를 제거하고 회수한 추출액에 첨가될 수 있다.
- [0020] 일 예로서, 상기 2종 이상의 락토바실러스 속 균주 배양액은 글루코스 20중량%, 완두콩 펩톤 10중량%, 효모 추출물 10중량%, 마그네슘 설페이트 2중량% 및 망간 설페이트 2중량%로 포함하는 배지에 2종 이상의 락토바실러스 속 균주를 접종하여 4시간 내지 72시간 동안 배양한 액일 수 있다. 상기 배양액은 균주를 배지에 배양하여 영양분을 섭취하고 물질대사를 통해 생겨난 부산물이 포함된 배지일 수 있다.
- [0021] 상기 균주 배양액은 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*), 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus Sakei*), 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*), 및 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*)로 이루어진 군에서 선택된 2종 이상의 균주를 함유하는 것일 수 있으나, 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) 및 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus Sakei*)를 함유하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0022] 상기 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) 균주는 공지된 균주인 기탁번호 KCTC 13322 BP로 기탁된 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 균주일 수 있다,
- [0023] 상기 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus Sakei*) 균주는 공지된 균주인 기탁번호 KCTC 14319 BP로 기탁된 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus Sakei*) AMP 5104 균주일 수 있다.
- [0024] 상기 균주를 적절하게 복합 선택 사용하여 천연물 천연 공용 용매 추출물의 유산균 복합 발효물을 제조할 경우, 유용한 생리활성 물질의 함량이 증진될 뿐만 아니라, 세포 독성이 감소하여 안전하며, 항산화 활성, 여드름균 또는 비듬균에 대한 항균 활성, 항염 활성 등이 현저하게 증진된 발효물로 제조할 수 있다.
- [0025] 용어 "발효(fermentation)"는 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용하여 유기물을 분해시키는 과정 중 부패 반응이 아닌 것을 의미한다. 발효 반응과 부패 반응은 비슷한 과정에 의해 진행되지만, 분해 결과 유용한 물질이 만들어지면 발효라고 하고 악취가 나거나 유해한 물질이 만들어지면 부패라고 한다. "발효물"은 상기 발효를 통해 생산되는 모든 물질을 의미한다.
- [0026] 상기 발효는 30 내지 40℃, 예를 들어, 35 내지 37℃에서 1일 내지 4일 동안 발효시키는 것일 수 있다. 발효 온도가 상기 범위를 초과하거나 미만인 경우에는 발효가 진행되지 않거나 균주가 활성을 잃어버려 발효가 진행되지 않을 수 있다.

- [0027] 상기 발효물은 상기 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 후 여과시켜 균체를 제거한 것일 수 있다.
- [0028] 일 구체예에 있어서, 상기 발효물은 상기 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 숙성시킨 발효숙성물일 수 있다.
- [0029] 용어 “숙성(aging)”은 발효와 달리 외부의 미생물을 이용함이 없이 일정한 시간, 온도 등의 조건에서 그대로 두어 스스로 분자구조를 작게 분해하는 과정을 의미할 수 있다. 용어 “발효숙성물”은 미생물을 이용한 발효 이후에, 균체를 제거한 발효물을 2차적으로 숙성한 발효물을 지칭한다. 일 예로서, 상기 숙성은 빛이 차단된 30 내지 40 ℃, 예를 들어, 30 내지 35 ℃, 30 내지 37 ℃, 35 내지 40 ℃, 또는 37 내지 40 ℃에서 7일 내지 100일, 예를 들어, 7일 내지 50일, 7일 내지 30일, 7일 내지 10일, 10일 내지 100일, 10일 내지 50일, 10일 내지 30일, 30일 내지 100일, 30일 내지 50일, 또는 50일 내지 100일 동안 수행되는 것일 수 있다. 숙성 온도가 상기 범위 미만으로 너무 낮거나 상기 범위를 초과하여 너무 높을 경우, 발효물 내의 효소반응을 기대할 수 없어 유효성분의 생성이 미흡하여 피부 상태 개선 효능이 부족할 수 있다. 또한, 숙성 기간이 상기 범위 미만으로 너무 짧을 경우, 충분한 효소반응이 일어나기 어려울 수 있으며, 상기 범위를 초과하여 너무 길 경우, 미생물 오염, 변색, 변취 등의 문제가 발생할 수 있다.
- [0030] 일 실시예에서, 발효 후 장기 숙성 과정을 거친 발효숙성물은 발효물에 비해 유용한 생리활성 물질의 함량이 현저하게 증가될 뿐만 아니라, 항산화, 항균, 보습 개선, 주름 개선, 탄력 개선, 탈모방지 및 욱모, 모발 개선 등의 효과가 현저하게 향상되는 것을 확인하였다.
- [0031] 일 구체예에 있어서, 상기 피부 상태 개선은 피부 노화 억제 또는 개선, 피부 염증 개선, 피부 보습 증진, 피부 주름 개선, 피부 탄력 개선, 여드름 개선, 또는 피지 분비의 억제 또는 개선일 수 있다.
- [0032] 용어 "피부 노화 억제 또는 개선"은 노화를 야기하는 원인을 불문하고 피부의 노화를 억제 또는 지연시키는 것을 의미한다. 상기 노화는 광노화일 수 있다. 용어 "광노화(Photoaging)"는 외부 환경적인 요인에 의해 유발되는 현상으로, 가장 대표적인 인자로는 자외선이 있다. 자외선은 단백질 분해효소의 활성화와 기질단백질의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합 등의 생체 구성 성분들의 손상을 가져오고, 이러한 메커니즘의 반복은 외관상으로도 확인한 피부 노화를 초래하게 된다. 상기 노화는 활성산소에 의한 노화일 수 있다. 상기 "활성산소"는 정상적인 대사 과정, 자외선, 살충제와 같은 유해 독성, 담배 연기, 대기 오염 등에 의해 생성된다. 활성산소는 피부 세포 및 조직 손상을 주도하여 피부 항산화 방어망을 파괴함으로써 지질 과산화, 단백질 산화, 세포간질 성분을 파괴시키는 단백질 분해효소의 활성화, 탄력 섬유인 콜라겐과 엘라스틴의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합, 히알루론산 사슬의 절단, 멜라닌 생성반응 촉진, DNA 산화와 같은 생체 구성 성분들의 손상을 야기한다.
- [0033] 용어 "피부 염증 개선"은 용어 "피부 염증 억제 또는 완화"와 혼용될 수 있으며, 면역 반응이 완화되어 TNF- α 발현이 억제되는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0034] 용어 "피부 보습 증진"은 피부 수분을 유지하거나 수분 손실을 방지하는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0035] 용어 "피부 주름"은 피부가 쇠하여 생긴 잔줄로서, 예를 들면 피부가 접히는 것일 수 있으며, 유전자에 의한 원인, 피부 진피에 존재하는 콜라겐과 엘라스틴의 감소, 외부환경 등에 의해 유발될 수 있다. 용어 "피부 주름 개선"이란 주름과 관련된 인자의 발현을 억제하여 주름을 방지 또는 개선하거나, 콜라겐 총량을 증가시키는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0036] 용어 “피부 탄력 개선”은 피부의 점탄성 특성을 향상시키는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0037] 용어 “여드름 개선”은 여드름 균에 대한 항균 작용을 통해 여드름 균의 성장을 억제하는 모든 작용을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물은 여드름 원인균인 큐티박테리움 아크네(Cutibacterium acnes) 균주의 성장을 억제하는 것일 수 있다.
- [0038] 용어 “피지 분비 개선”은 과다 분비된 피지의 양을 감소시키는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0039] 용어 "개선"이란 상태의 완화 또는 치료와 관련된 파라미터, 예를 들면 증상의 정도를 적어도 감소시키는 모든 행위를 의미할 수 있다.
- [0040] 상기 피부 상태 개선용 화장료 조성물은 화장수(스킨로션), 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양 로션, 마사지크림, 영양 크림, 모이스처 크림, 아이크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양 에센스, 아이 에센스, 팩, 바디로션, 바디 크림, 현탁액, 젤, 분말, 페이스트, 마스크팩 또는 시트 또는 에어로졸 조성물을 포함하는 제형으로 제조될 수 있다. 이러한 제형의 조성물은 당해 분야에서 통상적인 방

법에 따라 제조될 수 있다.

- [0041] 상기 화장료 조성물에 포함되는 성분은 유효성분으로서 상기 조성물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들을 포함할 수 있으며, 예를 들면, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제 및 담체를 포함할 수 있다.
- [0042] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 모발 및 두피 상태 개선용 화장료 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 모발 및 두피 상태 개선용 화장료 조성물을 제공한다. 상기 화장료 조성물에 있어서, 천연 공용 용매, 천연물, 추출, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산 등에 대해서는 상술한 바와 같다.
- [0043] 일 구체예에 있어서, 상기 모발 및 두피 상태 개선은 모발 탄력 개선, 모발 윤기 개선, 두피 탄력 개선, 두피 보습 증진, 비듬 개선, 탈모 예방 또는 개선, 및 발모 또는 육모 촉진으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.
- [0044] 용어 “모발 탄력 개선”은 모발의 점탄성 특성을 향상시키는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0045] 용어 “모발 윤기 개선”은 모발의 광택을 향상시키는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0046] 용어 “두피 탄력 개선”은 두피의 점탄성 특성을 향상시키는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0047] 용어 “두피 보습 증진”은 두피의 수분을 유지하거나 수분 손실을 방지하는 모든 작용을 의미할 수 있다.
- [0048] 용어 “비듬 개선”은 비듬 균에 대한 항균 작용을 통해 비듬 균의 성장을 억제하는 모든 작용을 의미할 수 있다. 예를 들어, 상기 조성물은 비듬 원인균인 말라세지아 레스트릭타(*Malassezia restricta*) 균주의 성장을 억제하는 것일 수 있다.
- [0049] 용어 "탈모(Alopecia)"는 두피로부터 모발이 탈락하는 현상 또는 모발이 성기거나 가늘어지는 상태를 의미하며, "탈모 예방, 치료, 또는 개선"은 새로운 모발의 생성을 촉진할 뿐만 아니라 기존 모발이 건강하게 자라도록 하는 것을 의미한다.
- [0050] 상기 탈모는 예를 들어, 안드로겐성 탈모증(Androgenic alopecia), 원형 탈모증(Alopecia Areata), 유전성 안드로겐 탈모증(Androgenetic Alopecia), 휴지기 탈모증(Telogen Effluvium), 외상성 탈모증, 발모벽(Trichotillomania), 압박성 탈모증(Pressure Alopecia), 성장기 탈모증, 비강성 탈모증, 매독성 탈모증(Alopecia Syphilitic), 지루 탈모증(Alopecia Seborrheica), 증후성 탈모증, 반흔성 탈모증, 선천성 탈모증 등일 수 있다.
- [0051] 용어 "발모"는 두피에서 모발이 나는 것을 의미하고, "육모"는 모발의 길이가 길어지는 것(즉, 모발 성장)을 의미하며 당업계에서 이용하는 또 다른 용어인 "양모"와 동일한 의미로 사용된다.
- [0052] 상기 조성물은 외인성 또는 내인성 요인에 유발되는 탈모 개선에 효과적이다. 상기 외인성 요인은 여러 가지 외부 요인으로서, 예를 들어, 자외선 등이 있고, 상기 내인성 요인은 시간의 흐름에 의해 발생하는 요인으로 텔로미어에 의한 모유두세포의 세포사와 세포 기능 저하에 따른 산화 스트레스 등을 포함할 수 있다.
- [0053] 용어 "발모 또는 육모 촉진"은 모발의 생성 및 성장을 촉진하여 궁극적으로 전체 모발에서 성장기 모발의 비중을 증가시키는 것을 의미한다. 또한, 상기 발모 또는 육모 촉진은 성장기 모발의 비중이 감소함에 따라 유발되는 탈모를 억제하는 것을 의미한다.
- [0054] 일 구체예에 따른 화장료 조성물은 당해 기술분야에서 통상적으로 제조되는 제형으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 헤어토닉, 헤어컨디셔너, 헤어에센스, 헤어로션, 헤어영양로션, 헤어샴푸, 헤어린스, 헤어트리트먼트, 헤어크림, 헤어영양크림, 헤어모이스처크림, 헤어맛사지크림, 헤어왁스, 헤어 에어로졸, 헤어팩, 헤어영양팩, 헤어비누, 헤어클렌징폼, 머릿기름, 모발건조제, 모발보존처리제, 모발염색제, 모발용 웨이브제, 모발탈색제, 헤어겔, 헤어글레이즈, 헤어드레싱어, 헤어래커, 헤어모이스처라이저, 헤어무스 및 헤어스프레이 등의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0055] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 피부외용제 조성물로서 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 상태 개선용 피부외용제 조성물

을 제공한다. 상기 피부 외용제 조성물에 있어서, 천연 공용 용매, 천연물, 추출, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 피부 상태 개선, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산 등에 대해서는 상술한 바와 같다.

[0056] 상기 피부외용제는 크림, 겔, 연고, 피부 유화제, 피부 현탁액, 경피전달성 패치, 약물 함유 붕대, 로션, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 피부외용제는 통상 화장품이나 의약품 등의 피부외용제에 사용되는 성분, 예를 들면 수성성분, 유성성분, 분말성분, 알코올류, 보습제, 증점제, 자외선흡수제, 미백제, 방부제, 산화방지제, 계면활성제, 향료, 색제, 각종 피부 영양제, 또는 이들의 조합과 필요에 따라서 적절하게 배합될 수 있다. 상기 피부 외용제는, 에데트산이나트륨, 에데트산삼나트륨, 시트르산나트륨, 폴리인산나트륨, 메타인산나트륨, 글루콘산 등의 금속붕쇄제, 카페인, 탄닌, 벨라파밀, 감초추출물, 글라블리딘, 칼린의 과실의 열수추출물, 각종생약, 아세트산토코페롤, 글리틸리틴산, 트라넥삼산 및 그 유도체 또는 그 염등의 약제, 비타민 C, 아스코르브산인산마그네슘, 아스코르브산글루코시드, 알부틴, 코지산, 글루코스, 프룩토스, 트레할로스 등의 당류등도 적절하게 배합할 수 있다.

[0057] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 상태 개선용 건강기능식품 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 상태 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다. 상기 건강기능식품 조성물에 있어서, 천연 공용 용매, 천연물, 추출, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 피부 상태 개선, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산 등에 대해서는 상술한 바와 같다.

[0058] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 모발 및 두피 상태 개선용 건강기능식품 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 모발 및 두피 상태 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다. 상기 화장품 조성물에 있어서, 천연 공용 용매, 천연물, 추출, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산 등에 대해서는 상술한 바와 같다.

[0059] 상기 건강기능식품 조성물은 상기 발효물 단독 또는 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합양은 사용 목적 (예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 식품 또는 음료의 제조시에 본 명세서의 조성물은 원료에 대하여 15 중량부 이하의 양으로 첨가될 수 있다. 상기 건강기능식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 건강기능식품의 종류 중 음료 조성물은 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상기 천연 탄수화물은 포도당, 과당과 같은 모노사카라이드, 말토스, 슈크로스과 같은 디사카라이드, 및 텍스트린, 사이클로덱스트린과 같은 폴리사카라이드, 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 감미제로서는 타우마틴, 스테비아 추출물과 같은 천연 감미제나, 사카린, 아스파르탐과 같은 합성 감미제 등을 사용할 수 있다. 상기 건강식품 조성물은 또한 영양제, 비타민, 전해질, 풍미제, 착색제, 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제, 또는 그 조합을 함유할 수 있다. 상기 건강기능식품 조성물은 또한, 천연 과일주스, 과일주스 음료, 야채 음료의 제조를 위한 과육, 또는 그 조합을 함유할 수 있다.

[0060] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 피부 염증 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다. 상기 약학적 조성물에 있어서, 천연 공용 용매, 천연물, 추출, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산 등에 대해서는 상술한 바와 같다.

[0061] 상기 "피부 염증 질환"은 아토피 피부염, 접촉성 피부염, 습진성 피부염, 광선피부염, 지루피부염, 포진성피부염, 두드러기, 건선, 약발진, 및 여드름으로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다.

[0062] 용어 "예방"은 상기 조성물을 약학적 유효량으로 투여하여 질환을 사전에 방지하거나 발생 가능성 또는 발생 빈도를 낮추는 것을 포괄적으로 의미할 수 있다. 예를 들어, 질환이 발생할 가능성이 있는 환자 또는 발병한 적이 있는 환자에게서 발병 확률을 낮추거나, 재발 확률을 낮추는 것일 수 있다. 상기 "약학적 유효량"은 질환의 종류, 환자의 연령, 체중, 건강, 성별, 환자의 약물에 대한 민감도, 투여 경로, 투여 방법, 투여 횟수, 치료 기간, 배합, 또는 동시 사용되는 약물 등 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 통상의 기술자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0063] 용어 "치료"는 상기 조성물을 약학적 유효량으로 투여하여 질환을 개선시키는 것을 포괄적으로 의미할 수 있고,

자연 치유에 비하여 단축된 시간에 질환의 증상이 완화 또는 치유되는 것을 제공하는 것일 수 있으며, 질환으로 인한 한가지 증상 또는 대부분의 증상을 개선시키는 것일 수 있다. 상기 약학적 유효량에 대해서는 상술한 바와 같다.

- [0064] 상기 약학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 희석제 또는 담체를 추가적으로 포함할 수 있다. 상기 희석제는 유당, 옥수수 전분, 대두유, 미정질 셀룰로오스, 또는 만니톨, 활택제로는 스테아린산 마그네슘, 탈크, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 담체는 부형제, 붕해제, 결합제, 활택제, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 부형제는 미결정 셀룰로오스, 유당, 저치환도 히드록시셀룰로오스, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 붕해제는 카르복시메틸셀룰로오스 칼슘, 전분글리콜산 나트륨, 무수인산일수소 칼슘, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 결합제는 폴리비닐피롤리돈, 저치환도 히드록시프로필셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 또는 그 조합일 수 있다. 상기 활택제는 스테아린산 마그네슘, 이산화규소, 탈크, 또는 그 조합일 수 있다.
- [0065] 상기 약학적 조성물은 경구 또는 비경구 투여 제형으로 제형화될 수 있다. 경구 투여 제형은 과립제, 산제, 액제, 정제, 캡셀제, 건조시럽제, 또는 그 조합일 수 있다. 비경구 투여 제형은 주사제 또는 경피 경로를 통한 투여일 수 있다.
- [0066] 다른 양상은 천연 공용 용매로 추출한 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하여 발효시킨 발효물을 유효성분으로 포함하는 탈모 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산을 포함하는 것인, 탈모 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진용 약학적 조성물을 제공한다. 상기 약학적 조성물에 있어서, 천연 공용 용매, 천연물, 추출, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산, 예방, 치료, 약학적 조성물, 탈모, 발모 또는 육모 촉진 등에 대해서는 상술한 바와 같다.
- [0067] 상기 발효물은 조성물 총 중량에 대하여 0.001 중량% 내지 80 중량%, 예를 들면, 0.01 중량% 내지 60 중량%, 0.01 중량% 내지 40 중량%, 0.01 중량% 내지 30 중량%, 0.01 중량% 내지 20 중량%, 0.01 중량% 내지 10 중량%, 0.01 중량% 내지 5 중량%, 0.05 중량% 내지 60 중량%, 0.05 중량% 내지 40 중량%, 0.05 중량% 내지 30 중량%, 0.05 중량% 내지 20 중량%, 0.05 중량% 내지 10 중량%, 0.05 중량% 내지 5 중량%, 0.1 중량% 내지 60 중량%, 0.1 중량% 내지 40 중량%, 0.1 중량% 내지 30 중량%, 0.1 중량% 내지 20 중량%, 0.1 중량% 내지 10 중량%, 또는 0.1 중량% 내지 5 중량%로 포함될 수 있다.
- [0068] 용어, "유효성분으로 포함"은 상기에서 언급한 효과를 나타낼 수 있는 정도로 본 명세서의 발효물이 첨가되는 것을 의미하고, 약물전달 및 안정화 등을 위하여 다양한 성분을 부성분으로 첨가하여 다양한 형태로 포뮬레이션 (formulation)되는 것을 포함하는 의미이다.
- [0069] 또한, 다른 양상은 유효한 양의 상기 발효물 또는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 피부 염증 질환을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법에 있어서, 발효물, 약학적 조성물, 피부 염증 질환, 예방, 치료에 대해서는 전술한 바와 같다.
- [0070] 용어 "투여하는"은 용어 "도입하는", "이식하는"과 상호교환적으로 사용될 수 있으며, 일 구체예에 따른 조성물의 원하는 부위로의 적어도 부분적 국소화를 초래하는 방법 또는 경로에 의한 개체 내로의 일 구체예에 따른 추출물 또는 조성물의 배치를 의미할 수 있다.
- [0071] 투여는 당업계에 알려진 방법에 의하여 투여될 수 있다. 투여는 예를 들면, 정맥내, 근육내, 경구, 경피 (transdermal), 점막, 코안 (intranasal), 기관내 (intratracheal) 또는 피하 투여와 같은 경로로, 임의의 수단에 의하여 개체로 직접적으로 투여될 수 있다. 상기 투여는 전신적으로 또는 국부적으로 투여될 수 있다.
- [0072] 상기 개체는 포유동물, 예를 들면, 사람, 소, 말, 돼지, 개, 양, 염소, 또는 고양이일 수 있다. 상기 개체는 피부 염증 억제 효과를 필요로 하는 개체일 수 있다.
- [0073] 상기 투여는 일 구체예에 따른 조성물을 개체당 일당 0.1 mg 내지 1,000 mg, 예를 들면, 0.1 mg 내지 500 mg, 0.1 mg 내지 100 mg, 0.1 mg 내지 50 mg, 0.1 mg 내지 25 mg, 1 mg 내지 1,000 mg, 1 mg 내지 500 mg, 1 mg 내지 100 mg, 1 mg 내지 50 mg, 1 mg 내지 25 mg, 5 mg 내지 1,000 mg, 5 mg 내지 500 mg, 5 mg 내지 100 mg, 5 mg 내지 50 mg, 5 mg 내지 25 mg, 10 mg 내지 1,000 mg, 10 mg 내지 500 mg, 10 mg 내지 100 mg, 10 mg 내지 50 mg, 또는 10 mg 내지 25 mg을 투여하는 것일 수 있다. 다만, 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성별, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방될 수 있고, 당업자라면 이러한 요인들을 고려하여 투여량을 적절히 조절할 수 있다. 투여 횟수는 1일 1회 또는 임상적으로 용인가능한 부작용의 범위 내에서 2회 이상이 가능하고, 투여 부위에 대해서도 1개소

또는 2개소 이상에 투여할 수 있으며, 매일 또는 2 내지 5일 간격으로 총 투여 일수는 한번 치료 시 1일에서 30일까지 투여될 수 있다. 필요한 경우, 적정 시기 이후에 동일한 치료를 반복할 수 있다. 인간 이외의 동물에 대해서도, kg당 인간과 동일한 투여량으로 하거나, 또는 예를 들면 목적의 동물과 인간과의 기관(심장 등)의 용적비(예를 들면, 평균값) 등으로 상기의 투여량을 환산한 양을 투여할 수 있다.

[0074] 또한, 다른 양상은 유효한 양의 상기 발효물 또는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는 탈모를 예방 또는 치료, 또는 발모 또는 육모를 촉진하는 방법을 제공한다. 상기 방법에 있어서, 발효물, 약학적 조성물, 개체, 투여, 탈모, 예방, 치료, 발모, 육모 등에 대해서는 전술한 바와 같다.

[0075] 또 다른 양상은 천연물에 천연 공용 용매를 첨가하고 추출 및 여과하여 천연물 추출물을 수득하는 단계; 및 상기 수득된 천연물 추출물에 2종 이상의 락토바실러스 속(*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액을 첨가하고 발효시켜 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 단계;를 포함하는, 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 방법으로서, 상기 천연 공용 용매는 아미노산 또는 이의 유도체, 및 유기산인 것인, 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하는 방법을 제공한다. 상기 방법에 있어서, 천연물, 천연 공용 용매, 추출, 추출물, 락토바실러스 속 균주 배양액, 발효, 아미노산 또는 이의 유도체, 유기산 등에 대해서는 전술한 바와 같다.

[0076] 일 구체예에 있어서, 상기 2종 이상의 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주 배양액은 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*), 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus Sakei*), 락토바실러스 브레비스 (*Lactobacillus brevis*), 및 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*)로 이루어진 군에서 선택된 2종 이상의 균주를 함유하는 것일 수 있으나, 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) 및 락토바실러스 사케이 (*Lactobacillus Sakei*)를 함유하는 것이 바람직할 수 있으며, 구체적으로, 락토바실러스 펜토서스 (*Lactobacillus pentosus*) HB-8023 (기탁번호: KCTC 13322 BP) 균주 및 기 락토바실러스 사케이(*Lactobacillus Sakei*) AMP 5104 (기탁번호: KCTC 14319 BP)를 함유하는 것일 수 있다.

[0077] 일 구체예에 있어서, 상기 방법은 상기 천연물 추출물의 복합 유산균 발효물을 빛이 차단된 30 내지 40 °C에서 7일 내지 100일 동안 숙성시켜 발효숙성물을 제조하는 단계;를 더 포함할 수 있다. 상기 발효물은 숙성 과정을 거침으로써 천연물의 효소 및 유산균 대사체의 활용 효율이 증진되는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0078] 일 양상에 따른 천연 공용 용매 추출물을 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 균주를 이용하여 발효시킨 발효물, 또는 이의 발효숙성물은 천연 공용 용매의 특성상 활용이 제한적인 한계를 극복함과 동시에, 천연 공용 용매 추출물의 피부 생리활성물질 추출 효율을 증대시킬 수 있으며, 항산화 활성, 항염 활성, 항균 활성, 모유두 세포 증식능 등이 우수하므로 피부 상태 개선용 화장이나 헤어 케어용 화장품으로 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0079] 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명한다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0080] [제조예]

[0081] 제조예 1. 아미노산 및 유기산을 포함하는 천연 공용 용매의 제조

[0082] 아미노산으로서 베타인(betaine) 및 유기산으로서 구연산(citric acid)를 포함하는 천연 공용 용매를 제조하였다. 구체적으로, 베타인과 구연산을 동일한 함량으로 혼합한 후, 60~100 °C에서 150 rpm으로 2시간 동안 교반하여 pH 2~3인 천연 공용 용매를 제조하였다.

[0083] [실시예]

[0084] 실시예 1. 호두열매 껍질 천연 공용 용매 추출물의 제조

[0085] 호두 열매 껍질(Walnut husk)의 천연 공용 용매 추출물을 제조하였다. 구체적으로, 건조 및 분쇄한 호두 열매 껍질을 10 wt%로 제조예 1의 천연 공용 용매에 넣어준 후 30°C 내지 100°C에서 6시간 동안 추출하였다. 이후, 와트만(Whatman) #5 여과지로 여과하여 호두 열매 껍질 천연 공용 용매 추출물을 제조하였다.

[0086] 실시예 2. 밤꽃 천연 공용 용매 추출물의 제조

[0087] 밤꽃(Chestnut flower)을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 밤꽃 공용 용매 추출

물을 제조하였다.

[0088] **실시예 3. 쑤 뿌리 천연 공용 용매 추출물의 제조**

[0089] 쑤 뿌리(Pueraria root)를 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 쑤 뿌리 공용 용매 추출물을 제조하였다.

[0090] **실시예 4. 무화과 열매 천연 공용 용매 추출물의 제조**

[0091] 무화과 열매(Ficus carica fruit)를 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 무화과 열매 공용 용매 추출물을 제조하였다.

[0092] **실시예 5. 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리, 무화과 열매 혼합물의 천연 공용 용매 추출물의 제조**

[0093] 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리, 무화과 열매를 각각 2.5 wt%씩 동일한 함량 (총 10 wt%)으로 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리 및 무화과 열매 혼합물의 천연 공용 용매 추출물을 제조하였다.

[0094] **실시예 6. 호두열매 껍질 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물 제조**

[0095] 락토바실러스 펜토시스 HB-8023(Lactobacillus pentosus; KCTC 13322 BP) 및 락토바실러스 사케이 AMP 5104(Lactobacillus sakei; KCTC 14319 BP)를 글루코스는 20중량%, 완두콩 펩톤은 10중량%, 효모 추출물은 10중량%, 마그네슘 설페이트는 2중량% 및 망간 설페이트는 2중량%로 포함하는 배지에 접종하였다. 이 후 상기 실시예 1에서 제조된 호두열매 껍질 천연 공용 용매 추출물 10중량%를 넣어주고 37℃에서 2일간 배양 후 균체를 제거한 배양물로부터 호두열매 껍질 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0096] **실시예 7. 밤꽃 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물 제조**

[0097] 상기 실시예 2에서 제조된 밤꽃 천연 공용 용매 추출물을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 6과 동일한 방법으로 밤꽃 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0098] **실시예 8. 쑤 뿌리 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물 제조**

[0099] 상기 실시예 3에서 제조된 쑤 뿌리 천연 공용 용매 추출물을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 6과 동일한 방법으로 쑤 뿌리 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0100] **실시예 9. 무화과 열매 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물 제조**

[0101] 상기 실시예 4에서 제조된 무화과 열매 천연 공용 용매 추출물을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 6과 동일한 방법으로 무화과 열매 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0102] **실시예 10. 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리, 무화과 열매 혼합물 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물 제조**

[0103] 상기 실시예 5에서 제조된 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리, 무화과 열매 혼합물의 천연 공용 용매 추출물을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 6과 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리, 무화과 열매 혼합물 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0104] **실시예 11. 복합 유산균 발효숙성물 제조**

[0105] 상기 실시예 10에서 제조된 호두열매 껍질, 밤꽃, 쑤 뿌리, 무화과 열매 혼합물 천연 공용 용매 추출물의 복합 유산균 발효물을 빚이 차단된 30 ~ 40℃에서 7 ~ 100일간 반응시켜 숙성물을 제조하였다.

[0106] **[비교예]**

[0107] **비교예 1. 호두열매 껍질 에탄올 추출물의 제조**

[0108] 추출 용매로서 70%(v/v) 에탄올을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 호두열매 껍질 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0109] **비교예 2. 밤꽃 에탄올 추출물의 제조**

[0110] 추출 용매로서 70%(v/v) 에탄올을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 밤꽃 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0111] **비교예 3. 칩 뿌리 에탄올 추출물의 제조**

[0112] 추출 용매로서 70%(v/v) 에탄올을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 칩 뿌리 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0113] **비교예 4. 무화과 열매 에탄올 추출물의 제조**

[0114] 추출 용매로서 70%(v/v) 에탄올을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 4와 동일한 방법으로 무화과 열매 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0115] **비교예 5. 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합물의 에탄올 추출물의 제조**

[0116] 추출용매로서 70%(v/v) 에탄올을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 실시예 5와 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리 및 무화과 열매 혼합물의 에탄올 추출물을 제조하였다.

[0117] **비교예 6. 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 펜토서스 HB-8023 발효물 제조**

[0118] 락토바실러스 펜토서스 HB-8023(*Lactobacillus pentosus*; KCTC 13322 BP)을 글루코스는 20중량%, 완두콩 펩톤은 10중량%, 효모 추출물은 10중량%, 마그네슘 설페이트는 2중량% 및 망간 설페이트는 2중량% 포함하는 배지에 접종하였다. 이후, 상기 실시예 5에서 제조된 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합물의 천연 공용 용매 추출물 10 중량%을 넣어주고 37℃에서 2일간 배양 후 균체를 제거한 배양물로부터 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 펜토서스 HB-8023 발효물을 제조하였다.

[0119] **비교예 7. 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 사케이 AMP 5104 발효물 제조**

[0120] 발효 균주로서 락토바실러스 사케이 AMP 5104(*Lactobacillus sakei*; KCTC 14319 BP)를 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 비교예 6과 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 사케이 AMP 5104 발효물을 제조하였다.

[0121] **비교예 8. 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 펜토서스 JCM 발효물 제조**

[0122] 발효 균주로서 락토바실러스 펜토서스 JCM을 사용하였다는 점을 제외하고는 상기 비교예 6과 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 펜토서스 JCM 발효물을 제조하였다.

[0123] **비교예 9. 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용용매 추출물의 락토바실러스 펜토서스 HB-8023 및 락토바실러스 펜토서스 JCM 복합 유산균 발효물 제조**

[0124] 발효 균주로서 락토바실러스 펜토서스 HB-8023(*Lactobacillus pentosus*; KCTC 13322 BP) 및 락토바실러스 펜토서스 JCM의 복합 유산균을 사용하였다는 점을 제외하고는, 상기 비교예 6과 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 펜토서스 HB-8023 및 락토바실러스 펜토서스 JCM 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0125] **비교예 10. 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용용매 추출물의 락토바실러스 사케이 AMP 5104 및 락토바실러스 펜토서스 JCM 복합 유산균 발효물 제조**

[0126] 발효 균주로서 락토바실러스 사케이 AMP 5104(*Lactobacillus sakei*; KCTC 14319 BP) 및 락토바실러스 펜토서스 JCM의 복합 유산균을 사용하였다는 점을 제외하고는, 상기 비교예 6과 동일한 방법으로 호두열매 껍질, 밤꽃, 칩 뿌리, 무화과 열매 혼합 천연 공용 용매 추출물의 락토바실러스 사케이 AMP 5104 및 락토바실러스 펜토서스 JCM 복합 유산균 발효물을 제조하였다.

[0127] **[실험예]**

[0128] **실험예 1. 활성 성분 함량 확인**

[0129] 일 구체예에 따른 천연 공용 용매 추출물의 발효물 및 발효숙성물에 포함된 페놀 및 플라보노이드의 함량을 확인하였다. 구체적으로, 증류수 10 ml에 상기 실시예 1~11 및 비교예 1~10을 적절한 농도로 희석하여 각각 1ml씩 첨가한 후, 2ml의 Folin-Ciocalteu phenol reagent(Sigma)를 첨가하여 혼합하였다. 이후, 실온에서 5분 동안

반응시킨 뒤, 20% 소듐 카보네이트(Sodium Carbonate) 2ml를 첨가하여 상온에서 1시간 동안 추가로 반응시켰다. 680nm에서 흡광도를 측정하여 총 페놀 함량을 측정하였다. 지표 물질로 갈릭산(gallic acid)를 사용하였다.

[0130] 다음으로, 상기 실시예 1~11 및 비교예 1~10 각각 1.5ml과 동량의 메탄올에 용해된 2% AlCl₃H₂O를 혼합한 뒤, 상온에서 10분 동안 반응시켰다. 이후, 367 nm에서 흡광도를 측정하여 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 지표 물질로 카테킨(catechin)을 사용하였다.

표 1

	총 폴리페놀 함량 (mg/kg of powder)	총 플라보노이드 함량 (mg/kg of powder)
실시예 1	139.7	52.4
실시예 2	143.2	48.3
실시예 3	190.3	63.2
실시예 4	141.5	45.3
실시예 5	193.4	50.5
실시예 6	164.7	98.1
실시예 7	198.2	81.6
실시예 8	187.7	78.4
실시예 9	166.8	80.7
실시예 10	214.7	94.1
실시예 11	254.1	101.4
비교예 1	238.7	79.4
비교예 2	168.6	46.5
비교예 3	184.1	76.7
비교예 4	142.8	74.3
비교예 5	194.5	83.6
비교예 6	209.4	88.3
비교예 7	201.7	78.1
비교예 8	179.4	61.5
비교예 9	198.7	74.5
비교예 10	196.0	70.6

[0132] 그 결과, 표 1에 나타난 바와 같이, 실시예 6~10의 유산균 복합 발효물은 실시예 1~5의 천연 공용 용매 추출물과 비교하여 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 증가되는 것으로 나타났는 바, 본 발명의 균주 조합을 이용한 복합 발효에 의해 천연 공용 용매 추출물의 활성 성분 함량을 증진시킬 수 있음을 확인하였다. 또한, 실시예 10의 유산균 복합 발효물은 발효 균주를 달리한 비교예 6~10에 비해서도 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 훨씬 더 높은 것으로 나타났는 바, 본 발명의 균주 조합을 이용한 복합 발효가 천연 공용 용매 추출물의 활성성분을 증대시키는데 매우 효과적이라는 것을 확인하였다.

[0133] 더 나아가, 실시예 10의 유산균 복합 발효물을 추가로 숙성한 실시예 11의 숙성물의 경우, 천연 공용 용매 추출물인 실시예 1~5, 유산균 복합 발효물인 실시예 6~10 및 대조군인 비교예 1~10과 비교하여 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 현저하게 높은 것으로 나타났는 바, 일 구체예에 따른 숙성 과정을 통해 추출 대상의 활성 성분을 극대화할 수 있음을 확인하였다.

[0134] **실험예 2. 세포독성 확인**

[0135] 일 구체예에 따른 천연 공용 용매 추출물의 발효물 및 발효숙성물의 피부 세포에 대한 세포 독성을 확인하였다. 구체적으로, 96-웰 플레이트에 DMEM에 10% FBS가 첨가된 세포 배양 배지에 희석된 섬유아세포(fibroblast)를 1x10⁵ cells/mL개씩 넣고 24시간 동안 부착시켰다. 이후, 실시예 1~11 및 비교예 1~10을 적절한 농도로 희석하여 각 웰에 각각 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 24시간 경과 후, 배지를 제거하고 각 웰 당 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 용액 (2.5mg/ml)이 함유된 세포배양 배지 200 μ l를 넣은 후 2시간 동안 37 $^{\circ}$ C, CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배지를 제거하고 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 100 μ l씩 넣어주었다. 5분간 진탕하여 세포를 용해시킨 후, 마이크로플레이트 판독기에서 565nm 흡광도를 측정하였다. 하기 수학적 식 1에 의해 세포생존율(%)을 정하였으며, 세포의 생존에 영향을 미치지 않는 시료의 농도를 결정하여

그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

- [0136] [수학식 1]
- [0137] 세포생존율(%)=[(St-Bo)/(Bt-Bo)]x100
- [0138] Bo: 세포배양배지만을 발색 반응한 웰의 565 nm에서의 흡광도
- [0139] Bt: 시료를 처리하지 않고 발색 반응한 웰의 565 nm에서의 흡광도
- [0140] St: 시료를 처리하고 발색 반응한 웰의 565 nm에서의 흡광도

표 2

	100% 세포 생존 농도
실시예 1	0.5%
실시예 2	1%
실시예 3	0.5%
실시예 4	1%
실시예 5	1%
실시예 6	2%
실시예 7	2%
실시예 8	2%
실시예 9	2%
실시예 10	2%
실시예 11	2%
비교예 1	0.5%
비교예 2	1%
비교예 3	0.25%
비교예 4	1%
비교예 5	1%
비교예 6	2%
비교예 7	1%
비교예 8	1%
비교예 9	1%
비교예 10	1%

[0142] 그 결과, 표 2에 나타난 바와 같이, 비교예 1~10과 비교하여 실시예 6~11에서 100% 세포 생존 농도가 5배 내지 40배 이상 높은 것을 확인할 수 있었다. 특히, 본 발명에 따른 유산균을 활용한 발효 및 숙성 과정을 통해 세포 독성이 감소하는 경향 확인할 수 있었다.

[0143] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 피부 자극의 유발 가능성이 작고, 유용 농도의 범위가 넓은 바, 안전하고 효율적인 조성물로 사용할 수 있다.

[0144] **실험예 3. 항산화 활성 확인**

[0145] NBT(Nitro Blue Tetrazolium) 법을 이용하여 일 구체예에 따른 천연 공용 용매 추출물의 발효물 및 발효숙성물의 항산화 활성을 확인하였다. 구체적으로, 바이엘 병에 0.05M의 Na₂CO₃ 2.4ml, 3mM의 잔틴 용액 0.1ml, 3mM의 EDTA 용액 0.1ml, BSA 용액 0.1ml 및 0.72mM의 NBT 용액 0.1ml를 가하고 상기 실시예 1~11 및 비교예 1~10을 적절한 농도로 희석하여 각각 첨가한 후 25 °C에서 10 분 동안 방치하였다. 이후, 잔틴옥시다제 용액 0.1 ml를 첨가하여 빠르게 교반한 뒤, 25 °C에서 20 분 동안 배양하고, 6 mM의 CuCl₂용액 0.1 ml을 가하여 반응을 정지킨 후, 560 nm에서의 흡광도(St)를 측정하였다. 음성대조군으로는 상기 실시예 및 비교예의 추출물 대신 증류수(Bt)를 사용하였다. 시료 용액의 블랭크(Blank)는 반응 효소인 잔틴옥시다제 용액 대신 증류수(Bo)를 사용하였으며, 측정 결과를 하기 수학식 2에 의하여 산출하였다. 양성대조군으로 BHT(Butylated hydroxytoluene)를 사용하였다.

- [0146] [수학식 2]
- [0147] 활성산소 소거율(%) = [1-(St-So)/(Bt-Bo)]x100

- [0148] St: 시료용액의 효소 반응 후의 560nm에서의 흡광도
- [0149] Bt: 공시험용액의 효소 반응 후의 560nm에서의 흡광도
- [0150] So: 효소 무첨가 시료용액의 효소 반응 전의 560nm에서의 흡광도
- [0151] Bo: 효소 무첨가 공시험용액의 효소 반응 전의 560nm에서의 흡광도

표 3

	활성산소 소거율(항산화 효과, %)
[0152] 양성대조군	89.47
실시예 1	62.17
실시예 2	58.17
실시예 3	75.47
실시예 4	60.24
실시예 5	70.36
실시예 6	66.61
실시예 7	68.52
실시예 8	83.17
실시예 9	67.10
실시예 10	91.48
실시예 11	94.50
비교예 1	74.18
비교예 2	63.44
비교예 3	69.50
비교예 4	54.11
비교예 5	70.89
비교예 6	90.55
비교예 7	84.16
비교예 8	71.10
비교예 9	84.16
비교예 10	83.54

[0153] 그 결과, 표 3에 나타낸 바와 같이, 실시예 6~10의 유산균 복합 발효물은 실시예 1~5의 천연 공용 용매 추출물과 비교하여 활성산소 소거율이 증가되는 것으로 나타났는 바, 본 발명의 균주 조합을 이용한 복합 발효에 의해 천연 공용 용매 추출물의 항산화 활성을 증진시킬 수 있음을 확인하였다. 이러한 실시예 6~10의 유산균 복합 발효물은 에탄올 추출물인 비교예 1~5에 비해서도 활성산소 소거율이 높은 경향성을 나타내었으며, 그 중에서도 실시예 10의 활성산소 소거율이 특히 높은 것을 확인할 수 있었다. 또한, 실시예 10의 유산균 복합 발효물은 발효 균주를 달리한 비교예 6~10에 비해서도 활성산소 소거율이 높은 것으로 나타났는 바, 본 발명의 균주 조합을 이용한 복합 발효가 천연 공용 용매 추출물의 항산화 활성을 증대시키는데 매우 효과적이라는 것을 확인하였다.

[0154] 더 나아가, 실시예 10의 유산균 복합 발효물을 추가로 숙성한 실시예 11의 숙성물의 경우, 천연 공용 용매 추출물인 실시예 1~5, 유산균 복합 발효물인 실시예 6~10 및 대조군인 비교예 1~10에 비해 활성산소 소거율이 가장 높은 것으로 나타났는 바, 일 구체예에 따른 숙성 과정을 통해 항산화 활성을 극대화할 수 있음을 확인하였다.

[0155] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 항산화 활성이 우수한 바, 노화 예방 또는 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0156] **실험예 4. 항균력 확인**

[0157] 상기 실험예 1~3의 결과에 따라, 이하의 실험예에서는 안전성과 효능이 특히우수한 것으로 확인된 혼합물 천연 공용 용매 추출물의 발효물(이하, 혼합 발효물)인 실시예 10과 이를 숙성한 발효숙성물(이하, 혼합 발효숙성물)인 실시예 11을 이용하여 활성 실험을 수행하였으며, 비교군으로 혼합 유기용매 추출물인 비교예 1~5를 사용하였다.

[0158] 여드름균 및 비듬균에 대한 항균력을 확인하기 위한 페이퍼 디스크 테스트(paper disc test)를 실시하였다. 구체적으로, 여드름 발생원인인 피부 상재균 큐티박테리움 아크네(Cutibacterium acnes) 및 비듬 발생원인인 말라

세지아 레스트릭타(Malassezia restricta)를 각각 전용 배지에 배양하였다. 항균활성 측정을 위해 여드름균 및 비듬균을 10^6 cfu/mL로 배지에 도말 후 실시예 10, 실시예 11 및 비교예 1~5를 각각 $100 \mu\text{l}$ 씩 떨어뜨린 필터지를 올려 배양한 후 32°C 에서 5일간 배양하였다. 페이퍼 디스크 주변에 생긴 균 성장 저지 영역을 관찰하고 저지환의 크기를 측정함으로써 항균력을 평가하였으며 그 결과를 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

[0159]

	균 성장 저지환의 크기 (mm)	
	여드름균	비듬균
실시예 10	16	12
실시예 11	21	15
비교예 1	14	11
비교예 2	9	8
비교예 3	15	10
비교예 4	9	8
비교예 5	11	9

[0160]

그 결과, 표 4에 나타난 바와 같이, 혼합 발효물인 실시예 10의 균 성장저지환의 크기는 유기용매 추출물인 비교예 1~5에 비해 큰 것으로 확인되었으며, 특히, 혼합 발효숙성물인 실시예 11의 경우, 여드름균 성장저지환의 크기는 21 mm, 비듬균 성장저지환의 크기는 15mm로 여드름 균과 비듬균에 대한 항균력이 가장 우수한 것을 확인하였다.

[0161]

따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 여드름균 및 비듬균에 대한 항균력이 우수한 바, 여드름 개선 및 두피 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0162]

실험예 5. 염증완화 효과 확인

[0163]

일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물의 염증 완화 효과를 확인하였다. 구체적으로 마크로파지(Raw 264.7 mouse cell)를 96-웰 시험 플레이트에 2×10^6 cells/ml 개씩 넣고, 상기 실시예 10, 실시예 11 및 비교예 1~5를 세포독성이 나타나지 않는 농도로 처리하여 24시간 동안 37°C CO_2 배양기에서 배양하였다. 배양 후, 상층액을 취하여 TNF- α 발현 억제율을 ELISA법을 이용하여 측정함으로써 염증완화 효과를 평가하였으며, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

[0164]

	TNF- α 발현 억제율 (%)
실시예 10	59.5
실시예 11	65.4
비교예 1	40.2
비교예 2	25.7
비교예 3	35.4
비교예 4	23.1
비교예 5	39.6

[0165]

그 결과, 표 5에 나타난 바와 같이, 혼합 발효물인 실시예 10은 유기용매 추출물인 비교예 1~5에 비해 높은 TNF- α 발현 억제율을 나타내었으며, 특히, 혼합 발효숙성물인 실시예 11은 가장 높은 TNF- α 발현 억제율을 나타내는 것을 확인하였다.

[0166]

따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 염증성 사이토카인의 발현을 억제 효과가 우수한 바, 염증 질환의 예방, 개선 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

[0167]

실험예 6. 피부 주름 및 보습 효과 확인

[0168]

일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물의 피부 주름 및 보습 개선 활성을 확인하였다. 구체적으로, DMEM/F-12(3:1)배지에 10% 우태아혈청(FBS)을 첨가하여 인간 진피섬유아세포(Modern Tissue Technology, Korea)를 1×10^4 cell/cm² 농도로 배양하였다. 70~80% 정도 자라면 1:3의 비율로 분주하여 계대 배양하였고,

3-4차 계대배양된 세포를 실험에 이용하였다. 상기 섬유아세포를 48 웰 플레이트(well plate)에 90% 이상 배양한 후 세포독성이 나타나지 않는 농도로 상기 실시예 10, 11 및 비교예 1~5를 가하고, 24시간 후에 배지 중에 유리된 프로콜라겐의 양을 프로콜라겐타입-1C-펩타이드 EIA 키트(procollagen type-1 Cpeptide EIA kit)(MK101, Takara, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다. 양성대조군으로 아스코르브산을 사용하였다.

표 6

[0169]

	타입 1 프로콜라겐 생성율 (%)
양성대조군	63.7
실시예 10	52.4
실시예 11	61.5
비교예 1	12.5
비교예 2	32.2
비교예 3	21.4
비교예 4	23.8
비교예 5	31.5

[0170]

그 결과, 표 6에 나타낸 바와 같이, 혼합 발효물인 실시예 10은 유기용매 추출물인 비교예 1~5에 비해 프로콜라겐 생성율이 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 특히, 혼합 발효숙성물인 실시예 11은 프로콜라겐 생성율이 가장 높은 것으로 나타났다.

[0171]

따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 피부 주름 및 보습 예방 또는 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0172]

실험예 7. 모유두세포(HHDP, human hair dermal papilla cell) 세포 활성 확인

[0173]

일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물의 두피 모유두세포에 대한 세포 활성을 확인하였다. 구체적으로, 96-웰 플레이트에 DMEM에 10% FBS가 첨가된 세포 배양 배지에 희석된 두피 모유두세포(human hair papilla cell)를 5×10^4 cells/mL개씩 넣고 24시간 동안 배양하였다. 이후, FBS가 첨가되지 않은 DMEM 배지로 교환하고 실시예 10, 실시예 11 및 비교예 1~5를 적절한 농도로 희석하여 각 웰에 각각 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 24시간 경과 후, 배지를 제거하고 각 웰 당 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 용액 (2.5mg/ml)이 함유된 세포배양 배지 200 μ l를 넣은 후 2시간 동안 37 $^{\circ}$ C, CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배지를 제거하고 DMSO(Dimethyl sulfoxide)를 100 μ l씩 넣어주었다. 5분간 진탕하여 세포를 용해시킨 후, 마이크로플레이트 판독기에서 565nm 흡광도를 측정하였다. 하기 수학적 식 3에 의해 세포증식율(%)을 확인하였으며 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

[0174]

[수학적 식 3]

[0175]

$$\text{세포증식율(\%)} = [(St-Bo)/(Bt-Bo)] \times 100$$

[0176]

Bo: 세포배양배지만을 발색 반응한 웰의 565 nm에서의 흡광도

[0177]

Bt: 시료를 처리하지 않고 발색 반응한 웰의 565 nm에서의 흡광도

[0178]

St: 시료를 처리하고 발색 반응한 웰의 565 nm에서의 흡광도

표 7

[0179]

	모유두세포 증식율(%)
실시예 10	110.5
실시예 11	134.7
비교예 1	105.6
비교예 2	93.2
비교예 3	108.7
비교예 4	102.1
비교예 5	99.8

[0180] 그 결과, 표 7에 나타난 바와 같이, 혼합 발효물인 실시예 10은 유기용매 추출물인 비교예 1~5에 비해 모유두세포 증식율이 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 특히, 혼합 발효숙성물인 실시예 11은 모유두세포 증식율이 134.7%로 가장 높은 것을 확인하였다.

[0181] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 모유두세포의 증식을 촉진하는 바, 탈모의 예방, 개선 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진에 유용하게 사용될 수 있다.

[0182] **실험예 8. 모유두세포 콜라겐 합성 확인**

[0183] 일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물의 두피 모유두세포에 대한 콜라겐 생성 촉진 효과를 확인하였다. 구체적으로, DMEM/F-12(3:1)배지에 10% 우태아혈청(FBS)을 첨가하여 두피 모유두세포(human hair dermal papilla cell)를 1×10^4 cell/cm² 농도로 배양하였다. 70~80% 정도 자라면 1:3의 비율로 분주하여 계대 배양하였고, 3~4차 계대배양된 세포를 실험에 이용하였다. 상기 두피 모유두세포를 48 웰 플레이트(well plate)에 90% 이상 배양한 후 세포독성이 나타나지 않는 농도로 상기 실시예 10, 실시예 11 및 비교예 1~5를 가하고, 24시간 후에 배지 중에 유리된 프로 콜라겐의 양을 프로콜라겐타입-1C-펩타이드 EIA 키트(procollagen type-1 Cpeptide EIA kit)(MK101, Takara, Japan)를 사용하여 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 8에 나타내었다. 양성대조군으로 아스코르브산을 사용하였다.

표 8

	타입 1 프로콜라겐 생성율(%)
양성대조군	59.7
실시예 10	47.1
실시예 11	55.4
비교예 1	28.5
비교예 2	37.5
비교예 3	39.5
비교예 4	23.6
비교예 5	36.5

[0184] 그 결과 표 8에 나타난 바와 같이, 혼합 발효물인 실시예 10은 유기용매 추출물인 비교예 1~5에 비해 프로콜라겐 생성율이 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 특히, 혼합 발효숙성물인 실시예 11은 프로콜라겐 생성율이 가장 높은 것을 확인하였다.

[0185] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 두피의 탄력 및 보습 예방 또는 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0186] **실험예 9. 여드름 및 피지 개선 또는 탈모 예방 또는 개선 효과 확인**

[0187] 일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물의 여드름 및 피지, 또는 탈모의 예방 또는 개선 효과를 확인하였다. 구체적으로 마이크로플레이트 홀(microplate hole)마다 3H(트리튬)으로 방사선 표지(radiolabelling)된 테스토스테론 0.1 μ Ci 및 상기 실시예 10, 실시예 11 및 비교예 1~5를 첨가한 후 섬유아 세포를 10,000개의 세포가 들어가도록 접종하여 배양하였다. 24시간 배양한 후, 상등액을 얻고 에틸아세테이트(ethyl acetate)-사이클로헥산(cyclohexane)(1:1) 추출용매 1ml로 스테로이드(steroids)를 얻었다. 상기 스테로이드를 박막크로마토그래피판에 올려놓고 클로로포름/메탄을 혼합액(98/2 (v/v))로 전개시켰다. 테스토스테론과 디하이드로테스토스테론(Dihydrotestosterone, DHT)에 해당하는 점의 방사활성을 텐시토미터를 이용하여 측정하여 전환율을 계산하고, 그 결과를 음성대조군과 비교하여 하기 수학적 식 4에 의하여 5 알파-환원효소 저해율을 평가하였으며, 그 결과를 하기 표 9에 나타내었다.

[0188] [수학적 식 4]

[0189] $5\alpha\text{-환원효소 저해율}(\%) = (A-B)/A \times 100$

[0190] A: 시료 미첨가시, 테스토스테론에서 디하이드로테스토스테론으로의 전환율

[0191] B: 시료 첨가시, 테스토스테론에서 디하이드로테스토스테론으로의 전환율

표 9

[0193]

	5 알파-환원효소 저해율(%)
실시예 10	51.7
실시예 11	63.5
비교예 1	46.9
비교예 2	28.5
비교예 3	37.2
비교예 4	34.1
비교예 5	40.4

[0194]

그 결과, 표 9에 나타난 바와 같이, 혼합 발효물인 실시예 10은 유기용매 추출물인 비교예 1~5에 비해 5알파-환원효소 저해율이 유의하게 높은 것으로 나타났으며, 특히, 혼합 발효숙성물인 실시예 11은 5알파-환원효소 저해율이 가장 높은 것으로 나타났다.

[0195]

따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 5알파-환원효소에 의한 디하이드로테스토스테론의 전환을 억제하는 바, 여드름 및 피지 예방 또는 개선뿐만 아니라, 탈모의 예방, 개선 또는 치료, 또는 발모 또는 육모 촉진에 유용하게 사용될 수 있다.

[0196]

실험예 10. 피부 탄력 개선 효과 확인

[0197]

일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물을 포함하는 화장료 조성물의 피부 탄력 개선 효과를 확인하였다. 먼저 하기 표 10의 성분 및 함량을 포함하는 크림 제형의 화장료 조성물을 제조하였다. 구체적으로, 하기 표 10의 B상을 가열하여 70℃에서 보관한 뒤, A상을 가하여 예비 유향하였다. 이후, 호모믹서로 균일하게 균일화하여 유향한뒤, 서서히 냉각하여 화장료 조성물을 제조하였다. 본 명세서에서 다른 언급이 없는 한 함량은 중량% 이다.

[0198]

20~35세의 여성 20명에게 제형예 1, 2 및 비교 제형예 1을 각각 1일 2회씩 2개월 동안 사용하게 하였다. 이후, 피부탄력측정기 (cutometer SEM 575, C+K Electric Co., Germany)를 이용하여 제형예 1, 2 및 비교 제형예 1을 사용하기 전과 후의 탄력을 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 11에 나타내었다. 측정값은 Cutometer SEM 575의 R7 값으로 기재하였으며, 상기 R7값은 피부의 점탄성(viscoelasticity)을 나타낸다.

표 10

[0199]

		제형예 1	제형예 2	비교 제형예 1
A	스테아릴 알코올	8	8	8
	스테아린산	2	2	2
	스테라린산 콜레스테롤	2	2	2
	스쿠알란	4	4	4
	2-옥틸도데실알콜	6	6	6
	폴리옥시에틸렌(25몰부가)알코올에스테르	3	3	3
	글리세릴모노스테아린산아스테르	2	2	2
B	실시예 10	1	-	-
	실시예 11	-	1	-
	비교예 5	-	-	1
	프로필렌글리콜	5	5	5
	정제수	잔량		

표 11

[0200]

	피부 점탄성
제형예 1	0.25
제형예 2	0.37
비교 제형예 1	0.15

[0201]

그 결과, 표 11에 나타난 바와 같이, 제형예 1은 비교 제형예 1에 비해 피부 점탄성이 증가한 것으로 나타났으

며, 특히, 제형에 2는 피부 점탄성이 현저하게 증가한 것을 확인하였다.

[0202] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 피부 탄력 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0203] **실험예 11. 피부 주름 개선 효과 확인**

[0204] 일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물을 포함하는 화장료 조성물의 피부 주름 개선 효과를 확인하였다. 구체적으로, 상기 실험예 10의 제형에 1, 2, 및 비교 제형에 1을 동일한 대상자에게 동일한 방법으로 사용하게 하였다. 이후, 실리콘 재질의 모사판(replica)을 제작한 뒤, 화상분석기인 비지오미터 (visiometer: SV60, C+K Electronic Co., Germany)를 이용하여 상기 제형에 1, 2 및 비교 제형에 1을 사용한 후의 피부 주름 상태를 측정하였으며, 그 결과를 하기 표 12에 나타내었다. 측정 값은 2개월 사용 후의 각각의 파라미터(parameter) 값에서 사용 전 파라미터 값을 뺀 뒤 평균으로 나타내었으며, 측정 값이 음수가 나올수록 주름 개선 효과가 높음을 의미한다.

표 12

[0205]

	R1	R2	R3	R4	R5
제형에 1	-0.23	-0.18	-0.12	-0.11	-0.04
제형에 2	-0.23	-0.20	-0.14	-0.15	-0.06
비교 제형에 1	-0.15	-0.11	-0.06	-0.08	-0.02

[0206] R1: 주름 등고선의 최고치와 최저치의 차이 값 R2: 주름 등고선을 임의로 5칸씩 나눈 후 그 중 R1값 들의 평균

[0207] R3: 5개씩 나눈 R1값 중 최고치

[0208] R4: 주름 등고선의 기선(baseline)에서 각각의 꼭대기와 계곡의 값을 뺀 평균값

[0209] R5: 주름 등고선의 기선에서 각각의 주름 윤곽을 뺀 값의 평균값

[0210] 그 결과, 표 12에 나타낸 바와 같이, 제형에 1은 비교 제형에 1에 비해 피부 주름 상태를 나타내는 파라미터 값이 유의하게 낮은 것으로 나타났으며, 특히, 제형에 2는 피부 주름 상태를 나타내는 파라미터 값이 가장 낮은 것을 확인하였다.

[0211] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 피부 주름 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0212] **실험예 12. 피지 개선 효과 확인**

[0213] 일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물을 포함하는 화장료 조성물의 피부 주름 개선 효과를 확인하였다. 구체적으로, 상기 실험예 10의 제형에 1, 2, 및 비교 제형에 1을 동일한 방법으로 사용하게 하였다. 이후, 복수의 숙련자에 의하여 객관적 육안 관찰과 피험자에 의한 주관적 육안 관찰을 실시하여 피지 개선 효능 정도를 하기의 등급에 따라 평가하였으며, 그 결과를 하기 표 13에 나타내었다.

표 13

[0214]

실험제품	숙련자의 객관적 평가	피검자의 주관적 평가
제형에 1	2.7	2.3
제형에 2	3.0	3.0
비교 제형에 1	2.0	2.5

[0215] (평가 등급: -3: 매우 악화, -2: 악화, -1: 약간 악화, 0: 변화 없음, 1: 약간 개선, 2: 개선, 3: 매우 개선)

[0216] 그 결과, 표13에 나타낸 바와 같이, 제형에 1은 비교 제형에 1에 비해 피지 개선 효과가 우수한 것으로 나타났으며, 특히, 제형에 2는 피지 개선 효과가 현저하게 향상된 것을 확인하였다.

[0217] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 피지 개선에 유용하게 사용될 수 있다.

[0218] **실험예 13. 모발 탄력, 윤기 개선 효과**

[0219] 일 구체예에 따른 혼합 발효물 및 혼합 발효숙성물을 포함하는 화장료 조성물의 모발 탄력 및 윤기 개선 효과를 확인하였다. 먼저 하기 표 14의 성분 및 함량을 포함하는 샴푸 제형의 화장료 조성물을 제조하였다. 구체적으로, 하기 표 14의 A상을 가열하여 80℃에서 균일하게 혼합한 뒤, 40℃ 이하로 서서히 냉각하며 B상을 가하여 화장료 조성물을 제조하였다. 본 명세서에서 다른 언급이 없는 한 함량은 중량% 이다.

[0220] 20~35세의 여성 30명에게 제형예 3, 4 및 비교 제형예 2를 각각 1일 2회씩 30일 동안 사용하게 하였다. 이후, 모발 탄력 및 윤기 개선 정도를 묻는 설문을 통하여 효능 정도를 하기의 등급에 따라 평가하였으며, 그 결과를 하기 표 15에 나타내었다.

표 14

		제형예 3	제형예 4	비교 제형예 2
A	소듐라우레스설페이트	25	25	25
	암모늄라우릴설페이트	20	20	20
	코카미도프로필베타인	5	5	5
	코카마이드엠펜이에이	2	2	2
	글리세린	5	5	5
	폴리쿼터늄-10	1	1	1
B	실시에 10	1	1	1
	실시에 11	-	1	-
	비교예 5	-	-	1
	다이소듐이디티에이	1	1	1
	시트릭에씨드	1	1	1
	소듐클로라이드	1	1	1
	1,2-헥산다이올	1	1	1
	정제수	잔량		

표 15

실험제품	모발 탄력 개선 평가	모발 윤기 개선 평가
제형예 3	2.13	1.97
제형예 4	2.67	2.88
비교 제형예 2	2.04	1.34

[0223] (평가 등급: -3: 매우 미흡, -2: 미흡, -1: 약간 미흡, 0: 변화 없음, 1: 약간 개선, 2: 개선, 3: 매우 개선)

[0224] 그 결과, 표 15에 나타난 바와 같이, 제형예 3은 비교 제형예 2에 비해 모발 탄력 및 윤기 개선 효과가 우수한 것으로 나타났으며, 특히, 제형예 4는 모발 탄력 및 윤기 개선 효과가 현저하게 향상된 것을 확인하였다.

[0225] 따라서, 일 구체예에 따른 균주 조합을 이용한 발효물 및 발효숙성물은 모발 탄력 및 윤기 개선 효과가 우수한 바, 모발 개선에 유용하게 사용될 수 있다.