

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0071425
(43) 공개일자 2023년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 8/9789 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/02 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 8/9789 (2017.08)

A61Q 19/00 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0157622

(22) 출원일자 2021년11월16일

심사청구일자 2021년11월16일

(71) 출원인

(주)에프앤씨바이오랩

서울특별시 성북구 고려대로22길 6-7, 자연캠퍼스
생명과학관 동관 403호 (안암동5가)

(72) 발명자

임승택

서울특별시 도봉구 해동로 32, 106동 303호

이서희

서울특별시 성북구 고려대로22길 6-7, 403호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

정은열, 김태훈

전체 청구항 수 : 총 9 항

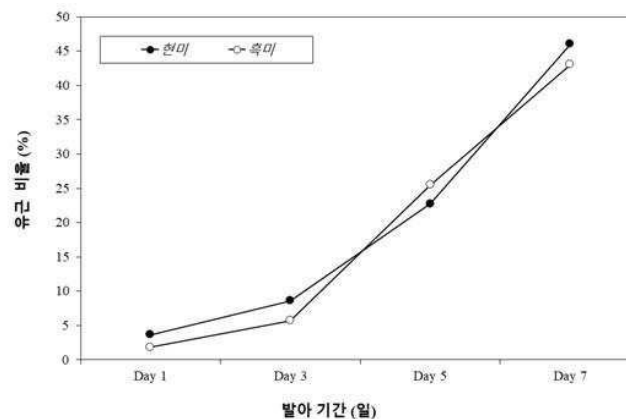
(54) 발명의 명칭 현미 또는 유색미의 유근 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 현미 또는 유색미의 유근 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물에 관한 것이다.

본 발명에 따른 현미 또는 유색미의 유근 추출물 또는 이의 분획물을 이용하면 항산화 활성, 피부 미백, 주름 개선 효과가 현저히 향상된 화장품 조성물을 제공할 수 있다.

대표도 - 도1



	Day1	Day 3	Day 5	Day 7
현미 유근 비율(%)	3.65	8.60	22.75	46.02
흑미 유근 비율(%)	1.04	5.70	25.49	43.05

(52) CPC특허분류

A61Q 19/02 (2013.01)

A61Q 19/08 (2013.01)

A61K 2800/522 (2013.01)

(72) 발명자

조동화

서울특별시 성북구 회기로 11-3, 2층 2호

오수진

제주특별자치도 서귀포시 안덕면 한창로 104

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10471365

과제번호 R2117541

부처명 중소벤처기업부

과제관리(전문)기관명 창업진흥원

연구사업명 2021년 초기창업패키지 창업기업(실험실)

연구과제명 미백 및 주름 개선 발효 미강 및 보너 화장품 제조

기 여 율 1/1

과제수행기관명 고려대학교

연구기간 2021.07.01 ~ 2022.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

현미 또는 유색미의 유근(radicle) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유근은 상기 현미 또는 유색미가 발아되어 1 내지 7일 동안 성장된 것인, 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 유근은 0.1 내지 5 cm로 성장된 것인, 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 유색미는 홍진주(Oryza sativa L. Hongjinju), 흑진주(Oryza sativa L. Heukjinju) 및 흑광(Oryza sativa L. Heugkwang)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 품종인, 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 현미 또는 유색미의 유근 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출 용매로 추출된 것인, 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 추출 용매는 주정, 에탄올 또는 메탄올인, 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 추출 용매의 농도는 60 내지 100 부피%인, 향산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 분획물은 상기 현미 또는 유색미의 유근 추출물을 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 및 이들의 혼합용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 분획하여 수득된 것을 특징으로 하는 화장품 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 조성물은 용액, 외용 연고, 크림, 폼, 영양 화장수, 유연 화장수, 팩, 유연수, 유액, 메이크업 베이스, 에

센스, 비누, 액체 세정료, 입욕제, 선 스크린 크림, 선 오일, 헤파액, 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 화장품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 현미 또는 유색미의 유근 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물에 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 섬유유질을 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, 쌀은 국내에서 주식으로 이용되고 있는 대표적인 곡류 중 하나로서, 국내에서는 일반미와 함께 유색미 품종들이 다양하게 생산 및 유통되고 있다. 쌀의 미강과 배아는 페놀산, 플라보노이드, 안토시아닌, 프로안토시아닌, 토코페롤, 토코트리엔올, γ -오리자놀, 피트산 등과 같은 다양한 생리 활성 물질을 함유하고 있는 것으로 보고되고 있으며, 이들 활성 성분 대부분은 공통적으로 항산화 활성, 미백 활성, 주름 개선 효과를 가지고 있는 것으로 알려져 있으나, 이들 함량이 매우 적어 추출물의 활성이 낮기 때문에 화장료로 이용되기 힘들다는 단점이 있다.

[0011] 또한, 유근 (radicle, 幼根)은 발아 초기 (pre-germination)에 나타나는 어린 뿌리로서, 발아 (germination)가 진행됨에 따라 형성되는 뿌리 (root)나 싹 (sprout, shoot, plumule)과 구분하여 정의될 수 있으나, 현재까지 유근의 생리활성에 대한 연구는 드문 실정이며, 특히 쌀 유근의 화장료 조성물로서의 이용가능성에 대해서는 보고된 바 없다.

[0012] 진술한 기술적 배경하에서 본 발명자들은 발아가 가능한 현미 및 유색미로부터 성장한 유근의 추출물이 항산화 효과, 피부 미백 및 주름개선 효과를 현저히 향상시키는 능력이 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0013] 본 발명의 목적은 현미 또는 유색미의 유근(radicle) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, 현미 또는 유색미의 유근(radicle) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명에 따르면, 상기 유근은 상기 현미 또는 유색미가 발아되어 1 내지 7일 동안 성장된 것일 수 있다.

[0016] 본 발명에 따르면, 상기 유근은 0.1 내지 5 cm로 성장된 것일 수 있다.

[0017] 본 발명에 따르면, 상기 유색미는 홍진주(Oryza sativa L. Hongjinju), 흑진주(Oryza sativa L. Heukjinju) 및 흑광(Oryza sativa L. Heugkwang)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 이상의 품종일 수 있다.

[0018] 본 발명에 따르면, 상기 현미 또는 유색미의 유근 추출물은 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나의 추출 용매로 추출된 것일 수 있다.

[0019] 본 발명에 따르면, 상기 추출 용매는 주정, 에탄올 또는 메탄올일 수 있다. 이때, 상기 추출 용매의 농도는 60 내지 100 부피%일 수 있다.

[0020] 본 발명에 따르면, 상기 분획물은 상기 현미 또는 유색미의 유근 추출물을 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 및 이들의 혼합용매로 구성되는 군으로부터 선택되는 용매로 분획하여 수득된 것일 수 있다.

[0021] 본 발명에 따르면, 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.

발명의 효과

[0022] 본 발명에 따른 현미 또는 유색미의 유근 추출물 또는 이의 분획물을 이용하면 항산화 활성, 피부 미백, 주름 개선 효과가 현저히 향상된 화장품 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0023] 도 1은 현미와 유색미 유근의 성장일수에 따른, 배유(albumen, 胚乳)에 대한 유근의 건조 중량비(%)를 측정된 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0024] 다른 식으로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어들은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 숙련된 전문가에 의해서 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 일반적으로, 본 명세서에서 사용된 명명법은 본 기술 분야에서 잘 알려져 있고 통상적으로 사용되는 것이다.

[0026] 본 발명은 현미 또는 유색미의 유근(radicle) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 포함하는 항산화, 피부 미백 및 주름 개선용 복합 기능성 화장품 조성물을 제공한다.

[0027] 이때, 상기 유근은 상기 현미 또는 상기 유색미가 발아되어 1 내지 7일 동안 성장된 것이 바람직하다. 상기 성장 기간이 상기 하한치 미만이면 유근 수득률이 미미할 수 있으며, 상기 상한치를 초과하면 유근 내 활성 물질이 감소하며, 유근 외에 싹이 출아될 수 있다는 문제가 있다. 또한, 상기 유근은 상기 기간 동안 0.1 내지 5 cm

의 길이로 성장된 것이 바람직하다. 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 상기 기간 동안 0.1 내지 5 cm의 길이로 성장된 현미 또는 유색미 유근의 추출물은 총 페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능(DPPH radical scavenging activity, DPPH), 항산화 활성, 티로시나아제 활성 저해능, DOPA 산화 반응 전해율 및 엘라스타아제 활성 저해능 등이 현저히 향상될 수 있다.

[0028] 또한, 상기 유색미의 품종은 홍진주(*Oryza sativa* L. Hongjinju), 흑진주(*Oryza sativa* L. Heukjinju) 및 흑광(*Oryza sativa* L. Heugkwang)으로 이루어진 군에서 선택되는 것이 바람직하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0029] 또한, 상기 현미 또는 유색미의 유근을 추출시 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 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 추출 용매 중 주정, 에탄올 또는 메탄올이 가장 바람직하며, 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 상기 추출 용매의 농도는 30 내지 100 부피% 인 것이 바람직하며, 60 내지 100 부피%인 것이 더욱 바람직하다.

[0030] 또한 상기 분획물은 여러 다양한 구성 성분들을 포함하는 혼합물로부터 특정 성분 또는 특정 성분 그룹을 분리 하기 위하여 분획을 수행하여 얻어진 결과물을 의미하며, 상기 분획물을 얻는 분획 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 수행될 수 있다. 상기 분획 방법의 비제한적인 예로는, 상기 현미 또는 유색미의 유근을 추출하여 얻은 추출물에 소정의 용매를 처리하여 상기 추출물로부터 분획물을 수득할 수 있다.

[0031] 본 발명에서 상기 분획물을 얻는 데에 사용되는 분획 용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 분획 용매의 비제한적인 예로는 물, 에탄올 및 부탄올을 비롯한 알코올 등의 극성 용매; 헥산(hexane), 에틸 아세테이트(ethyl acetate), 아세톤(acetone), 클로로포름(chloroform) 등의 비극성 용매 등을 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합하여 사용될 수 있다.

[0032] 또한, 본 발명의 조성물에서 상기 현미 또는 유색미의 유근 추출물은 화장료 조성물의 총 중량에 대하여 분말 형태 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.

[0033] 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.

[0034] 본 발명의 상기 화장료 조성물은 일반 피부 화장료에 배합되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체를 1종 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.

[0035] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.

[0036] 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.

[0037] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리이미드 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 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0038] 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 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0039] 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 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0040] 본 발명의 제형이 비누인 경우에는, 담체 성분으로서 지방산의 알칼리 금속염, 지방산 헤미에스테르 염, 지방산 단백질 히드롤리제이트, 이세티오네이트, 라놀린 유도체, 지방족 알코올, 식물성 유, 글리세롤, 당 등이 이용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.

[0042] 또한, 본 발명에서는 현미 또는 유색미의 유근의 추출 시 추출 조건을 최적화함으로써 특정 활성 성분이 강화됨으로써 항산화능, 피부 미백 및 주름 개선 효과가 우수하며 피부 자극이 없는 현미 또는 유색미 유근 추출물의 제조방법을 제공한다.

[0043] 본 발명에 따른 현미 또는 유색미 유근 추출물의 제조방법은, (a) 현미 또는 유색미를 물에 침지시키는 단계; (b) 상기 침지된 현미 또는 유색미를 발아시켜 유근을 생장시키는 단계; (c) 상기 생장된 유근을 분리 및 건조시키는 단계; 및 (d) 상기 분리 및 건조된 상기 유근을 추출하는 단계;를 포함한다.

[0044] 본 발명에서 상기 (a) 단계는 현미 또는 유색미를 물에 침지시키는 단계이다. 이때, 상기 현미 또는 유색미 1 중량부에 대하여 상기 물을 1 내지 10 중량부로 4 내지 35℃ 온도 조건에서 3시간 내지 24시간 동안 침지시키는 것이 바람직하다. 물의 함량이 상기 하한치 미만일 경우, 상기 현미 또는 유색미에 물이 잘 흡수되지 않는다는 문제가 있고, 물의 함량이 상기 상한치를 초과할 경우 사용되는 물의 양이 너무 많아 경제적이지 못하다는 단점이 있다. 또한, 상기 침지 온도가 상기 하한치 미만일 경우 상기 현미 또는 유색미가 냉해를 입어 유근의 생장에 부정적인 영향을 줄 수 있으며, 상기 상한치를 초과하면 미생물이 증식하여 이취를 발생시킬 수 있다는 문제가 있다. 또한, 상기 물에는 유근 생장에 도움이 되거나, 유근 속 기능성 물질의 생성에 도움을 주는 다양한 물질이 첨가될 수 있으며, 이온수 또는 항미생물제가 첨가될 경우 미생물의 오염 및 생장이 억제될 수 있다.

[0045] 다음으로, 상기 (b)단계는 상기 침지된 현미 또는 유색미를 발아시켜 유근을 생장시키는 단계이다. 이때, 상기 침지된 현미 또는 유색미를 20 내지 35℃ 온도 조건에서 1 내지 7일 동안 유근을 생장시키는 것이 바람직하다. 이때, 상기 온도가 하한치 미만이면 유근의 생장이 억제될 수 있으며, 상기 상한치를 초과하면 미생물의 증식 및 이취가 발생할 수 있다. 또한, 상기 생장 기간이 상기 하한치 미만이면 유근 수득률이 미미할 수 있으며, 상기 상한치를 초과하면 유근 내 활성 물질이 감소하며, 유근 외에 싹이 출아될 수 있다는 문제가 있다.

[0046] 다음으로, 상기 (c) 단계는 상기 생장된 유근을 분리 및 건조시키는 단계이다. 이때, 상기 생장된 유근을 분리 후, 열풍 건조, 진공 건조 또는 동결 건조 방법을 통해 건조시킬 수 있으며, 동결 건조시키는 것이 가장 바람직할 수 있다.

[0047] 다음으로, 상기 (d) 단계는 상기 분리 및 건조된 상기 유근을 추출하는 단계이다. 이때, 상기 추출에 사용되는 용매는 물, 탄소수 1 내지 4의 무수 또는 함수알코올, 에틸아세테이트, 아세톤, 글리세린, 에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜 및 부틸렌글리콜로 이루어진 군에서 선택된 적어도 어느 하나일 수 있으며, 물, 탄소수 1 내지 4의 무수알코올 또는 함수알코올, 및 이들의 혼합물 중에서 선택되는 것이 더욱 바람직할 수 있다. 또한, 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, 상기 추출 용매의 농도는 30 내지 100 부피%인 것이 바람직하며, 60 내지 100 부피%인 것이 더욱 바람직하다. 또한, 상기 추출은 4 내지 70℃ 온도조건에서 3 내지 12 시간 동안 수행하는 것이 바람직하다.

[0049] [실시예]

[0050] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지 않는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물

에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0052] 실시예 1 : 현미 및 유색미 유근의 제조

[0053] 현미 및 유색미의 유근은 아래의 방법에 따라 제조하였다.

[0054] (1) 침지: 현미 및 유색미를 중량대비 5배의 증류수에 첨가하고, 30℃, 12시간 조건에서 침지하였다.

[0055] (2) 유근 생장: 습기가 풍부한 배양기(30℃)에서 1-7일 동안 유근을 생장시켰다.

[0056] (3) 분획화 및 건조: 커터 (cutter)를 이용하여 현미 및 유색미의 유근을 분리했으며, 분리된 유근의 길이를 측정하였다. 이후, 유근 및 유근을 제거하고 남은 배유(미강층 포함)를 50℃에서 열풍건조하고, 각각의 무게를 측정함으로써 생장 일수에 따른 배유에 대한 유근의 건조 중량비(%)를 계산하였다.

[0058] 1-1 : 생장 일수에 따른 현미 및 유색미 유근의 길이 측정

[0059] 생장 일수 (1, 3, 5, 7일)에 따라 현미 및 유색미의 유근을 수집하였다. 수집된 유근 100개의 길이를 측정하여 평균값을 계산하였으며, 그 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

유근 생장 일(day)	유근 길이 (cm)	
	현미	유색미
1	0.27	0.20
3	1.33	1.23
5	3.53	3.20
7	4.33	4.17

[0061] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 현미와 유색미의 유근을 생장시켰을 때, 1일차에는 0.20 내지 0.27cm, 3일차는 1.23 내지 1.33cm, 5일차 3.20 내지 3.53cm, 7일차 4.17 내지 4.33cm의 유근을 얻었다. 유근의 길이는 모든 생장 일에서 유색미보다 현미가 길었으며, 이는 유색미가 가지는 견고한 미강 및 이의 색소 성분이 수분 흡수를 방해하기 때문으로 판단된다.

[0063] 1-2 : 생장 일수에 따른 현미 및 유색미 유근의 건조 중량비

[0064] 분획화한 유근과 유근을 제거하고 남은 배유를 50℃ 오븐에서 건조하고 이의 건조중량을 비율로 나타냈으며, 그 결과를 도 1에 나타내었다.

[0065] 도 1에 나타난 바와 같이, 유근의 건조 중량 비율(%)은 유근 생장일이 증가함에 따라 꾸준히 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 유근의 생장과 함께, 배유 부분의 전분질이 알파-아밀레이스, 베타-아밀레이스 등의 전분 분해효소에 의해 분해되었기 때문으로 판단된다 (Daszkowska-Golec A, 2011).

[0066] 실시예 1-1과 실시예 1-2의 결과를 통해, 생장 일수가 길어질수록 유근의 길이 및 중량비가 꾸준히 증가하는 것을 확인하였다. 상업적 활용에 있어 유근의 수득률은 매우 중요한 요소 중 하나이기 때문에, 유근의 수득률 기준으로는 생장 일수가 길어지는 것이 바람직할 수 있지만, 생장 일수가 길어짐에 따라 유근(幼根)뿐만 아니라 싹(sprout, bud)이 출아됨을 관찰할 수 있었는데, 생장 일수는 싹 및 잔뿌리가 출아되지 않는 기간이 바람직하며, 구체적으로는 발아되어 1 내지 7일 동안 생장시키는 것이 바람직함을 확인할 수 있었다.

[0068] 실시예 2 : 현미 유근 추출물의 제조 및 활성 평가

[0069] 현미 유근 추출물은 아래의 방법으로 제조하였다.

[0070] (1) 침지: 현미를 중량대비 5배의 증류수에 첨가하고, 30℃, 12시간 조건에서 침지하였다.

[0071] (2) 유근 생장: 습기가 풍부한 배양기(30℃)에서 1-7일 동안 유근을 성장시켰다.

[0072] (3) 분획화 및 건조: 커터 (cutter)를 이용하여 현미에서 유근을 분리했으며, 분획화된 유근 및 유근을 제거하고 남은 배유를 50℃에서 열풍건조하였다. 건조된 유근은 분쇄기 및 막자사발을 이용하여 분말화하였다.

[0073] (4) 추출물 제조: 분말화된 유근을 1:10 (w/v)의 비율로 증류수 또는 70% 주정과 혼합해주고, 35℃ 조건에서 3 시간 동안 추출하였다. 원심분리를 이용하여 여과하는 단계를 2회 반복하고 상등액(액체 추출물)을 수집하였다. 수집된 액상 추출물은 회전식 증발 증류기를 이용하여 용매를 날리고, 동결건조하여 분말화된 고상 추출물을 수득하였다.

[0075] 2-1 : 현미 유근 추출물의 총 페놀 함량 평가

[0076] 현미 유근 추출물의 총 페놀 함량(total phenolic content, TPC)을 발아 현미 및 유근을 제거하고 남은 배유와 비교하였다. 총 페놀 함량은 Ainsworth and Gillespie의 방법(2007)을 변형하여 측정하였다. 구체적으로는 100 μ l의 고체 추출물 희석액을 200 μ l의 10% (v/v) Folin-Ciocalteu 시약 및 800 μ l의 750mM Na₂CO₃과 함께 혼합하여 주고, 이어서 혼합물을 실온에서 2시간 동안 발색 반응을 진행하였다. 총 페놀 함량은 발색정도를 분광 광도계 (765nm 흡광도)를 사용하여 측정하고 gallic acid 표준 곡선의 회귀 방정식을 사용하여 계산하였으며, 측정 결과는 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

[0077]

TPC (mg GAE/ 100g solid)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			59.2	103.3	111.5	148.4
유근을 제거한 배유				18.8	29.4	41.9	54.9
현미		20.3	20.7	27.8	30.5	57.6	68.9
유근	증류수			68.1	132.9	109.9	95.7
유근을 제거한 배유				25.5	32.0	42.0	49.8
현미		28.0	23.1	28.6	39.9	51.1	68.1

[0078] 상기 표 2에 나타난 바와 같이, 현미에서 가장 잘 알려진 기능성 성분 그룹 중 하나인 페놀 화합물의 함량은 유근 생장 일수가 증가함에 따라 유근, 유근을 제거한 배유, 현미 모두에서 증가하는 것을 확인하였다.

[0079] 다만, 본 발명에 따른 현미 유근 추출물의 총 페놀 함량이 유근을 제거한 배유 및 현미(발아현미) 보다 월등히 높은 총 페놀 함량을 나타내었다. 구체적으로는 추출용매로 70% 에탄올을 사용한 유근 추출물 및 추출 용매로 증류수를 사용한 유근 추출물 모두 각각 생장 1일차부터 생장 7일차까지 59.2 내지 148.4mg GAE/100g solid, 68.1 내지 109.9mg GAE/100g solid로 총 페놀 함량이 현저히 향상되었으며, 특히 생장 7일차 70% 에탄올을 이용한 유근 추출물의 총 페놀 화합물 함량은 148.4mg GAE/100g solid로 동일한 조건에서 추출된 일반 현미 (20.3mg GAE/100g solid) 및 생장 7일차 발아 현미 (68.9mg GAE/100g solid)보다 각각 731% 및 215% 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과를 통해, 발아 후 단기간 성장된 유근이 현미 및 발아현미보다 현저히 향상된 생리활성을 가진다는 것을 확인하였다.

[0081] 2-2 : 현미 유근 추출물의 항산화 활성 평가

[0082] 현미 유근 추출물의 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거 활성(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity) 측정을 통해 관찰하였다. 구체적으로, 500 μ l의 현미 유근 고체 추출물 희석액을 0.2mM DPPH 용액과 혼합하고 암실 조건에서 30분 동안 발색반응을 진행했으며, 이후 발색 정도를 분광 광도계 (흡광도, 517nm)를 이용하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용했으며, DPPH 라디칼 소거 활성의 백분율은 하기 [식 1]을 사용하여 계산하였고, 그 결과는 하기 표 3에 나타내었다.

[0083] [식 1]

[0084] DPPH 라디칼 소거능 (%) = (1 - (샘플의 흡광도/공란의 흡광도)) × 100

표 3

[0085]

DPPH 라디칼 소거능 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			21.8	47.8	35.5	32.6
유근을 제거한 배유				11.2	12.9	14.0	14.3
현미		11.9	12.2	21.4	25.2	23.4	20.0
유근	증류수			9.6	42.8	14.5	4.5
유근을 제거한 배유				14.0	10.4	11.3	13.7
현미		9.9	11.7	9.7	23.2	13.9	7.4

[0086] 상기 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 현미 유근 추출물의 항산화 활성이 유근을 제거한 배유 및 현미 대비 현저히 향상되는 경향을 보임을 확인하였다. 구체적으로, 생장 3일차 유근의 항산화 활성이 현미 대비 약 4배 증가한 것과 대조적으로 유근을 제거한 배유의 항산화 활성은 상대적으로 증가하지 않았다. 또한, 생장 일수에 따른 발아현미의 항산화 활성도 유근과 비슷한 경향을 보였으나, 항산화 활성이 가장 높았던 생장 3일차를 기준으로 발아현미의 항산화 활성은 유근의 절반 수준임을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해, 생장에 따른 항산화 물질의 증가가 유근에서 선택적으로 이루어진다는 것을 확인하였다.

[0088] 2-3 : 현미 유근 추출물의 주름 개선 효과

[0089] 현미 유근 추출물의 주름 개선 능력을 엘라스타제 억제 활성(Elastase inhibition activity) 측정을 통해 평가하였다. 구체적으로, 30 μ l의 고상 추출물 희석액을 100 μ l의 2mM Tris-buffer (pH 8.0) 및 10 μ l의 엘라스타제 (1.1U/ml)와 혼합한 다음, 상기 혼합물을 37℃ 조건에서 10분간 정지(定置)한 후, 40 μ l의 0.554mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (SANA)를 기질로 첨가하였다. 기질이 첨가된 혼합물을 37℃ 조건에서 15분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 410nm에서 흡광도를 측정하였다. 엘라스타제 억제 활성(%)은 하기 [식 2]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 올레놀산(Oleanolic acid) 0.2 mg/ml(70.77%)를 사용하였으며, 그 결과는 하기 표 4에 나타내었다.

[0090] [식 2]

[0091] 엘라스타제 억제 활성(%) = ((A-B)-(C-D))/((A-B)) * 100

[0092] A = 엘라스타제가 포함된 공시료

[0093] B = 엘라스타제가 포함되지 않은 공시료

[0094] C = 엘라스타제가 포함된 시료

[0095] D = 엘라스타제가 포함되지 않은 시료

표 4

[0097]

엘라스타제 억제 활성 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			84.1	32.6	30.2	33.5
유근을 제거한 배유				32.1	22.9	28.4	23.4
현미		43.7	36.0	37.3	32.1	30.6	29.8

유근	증류수			12.2	15.7	11.7	16.1
유근을 제거한 배유				12.0	10.0	8.5	13.1
현미		11.7	11.1	12.0	10.4	9.1	14.0

[0098] 상기 표 4에 나타난 바와 같이, 모든 시료군에서 70% 에탄올 추출물의 엘라스타제 억제 활성이 증류수 추출물보다 월등히 우수하였다. 또한, 증류수 추출물에서는 생장 일수에 따른 엘라스타제 억제 활성의 변화가 거의 없는 반면, 70% 에탄올 추출물에서는 활성의 변화가 컸다. 이는 엘라스타제 억제 활성을 가진 물질이 증류수가 아닌 70% 에탄올에 선택적으로 용해됨을 의미한다. 또한, 70% 에탄올 추출물에서 일반 현미의 엘라스타제 억제 활성은 43.7%였으나, 생장 1일차 유근의 엘라스타제 억제 활성은 84.1%로 약 두 배 증가하였다. 하지만 생장 일수가 증가함에 따라 유근의 엘라스타제 억제 활성은 감소하였는데, 이는 생장 초기 유근에서 엘라스타제 억제 활성을 갖는 이차 대사산물(secondary metabolite)이 생산되고, 생장이 진행됨에 따라 이들이 사라졌기 때문으로 판단된다. 이와 대조적으로 유근을 제외한 배유 및 발아현미의 엘라스타제 억제 활성은 생장 일수가 증가함에 따라 꾸준히 감소했는데, 이는 배유 미강층에 존재하는 엘라스타제 억제 활성 유효성분들이 점차 산화 및 파괴되었기 때문으로 판단된다.

[0099] 비록 유근의 엘라스타제 억제활성은 생장 1일차까지 증가 후 점차 감소했음에도 불구하고, 유근의 70% 에탄올 추출물의 억제 활성은 현미, 발아현미, 그리고 유근을 제거한 배유 추출물보다 월등히 높았다. 특히 1일차 유근 추출물의 엘라스타제 억제 활성은 일반 현미 및 1일차 발아현미와 비교했을 때 약 2배 이상 높은 활성을 보였다. 이러한 결과를 통해, 본 발명에 따른 유근 및 유근 추출물이 보통의 현미 및 발아현미와 이들의 추출물보다 현저히 향상된 주름 개선 효과를 가짐을 확인하였다.

[0101] 2-4 : 현미 유근 추출물의 피부 미백 효과

[0102] 현미 유근 추출물의 피부 미백 효과는 티로시나제의 DOPA 산화반응 저해 시험 및 티로시나제 억제 활성 측정을 통한 멜라닌 생성 저해 시험을 통해 평가하였다.

[0103] 2-4-1 : 체외 DOPA 산화반응 저해시험 (*In vitro* DOPA oxidation inhibition assay)

[0104] 먼저, 40 μ l의 고체 추출물 희석액을 0.1M 인산염완충액(pH 6.8) 80 μ l의 50 mM potassium phosphate buffer (P-buffer, pH 6.5) 및 40 μ l의 티로시나제 (250 U/ml)와 함께 혼합하였다. 상기 혼합물을 37 $^{\circ}$ C 조건에서 10분 동안 정치한 다음, 40 μ l의 0.85mM L-3,4-디하이드록시 페닐알라닌(L-DOPA)을 첨가하였다. L-DOPA를 첨가한 혼합물을 37 $^{\circ}$ C 조건에서 5분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였다. DOPA 산화반응 저해율은 하기 [식 3]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 코지산 (Kojic acid)을 사용하였으며, 그 결과를 하기 표 5에 나타내었다.

[0105] [식 3]

[0106] DOPA 산화반응 저해율(%) = ((A-B)-(C-D))/((A-B)) * 100

[0107] A = 티로시나제가 포함된 공시료

[0108] B = 티로시나제가 포함되지 않은 공시료

[0109] C = 티로시나제가 포함된 시료

[0110] D = 티로시나제가 포함되지 않은 시료

표 5

[0111]

DOPA 산화 반응 저해율 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			15.0	13.2	10.3	10.5
유근을 제거한 배유				6.0	6.4	5.1	5.1
현미		7.4	6.9	7.3	6.7	6.9	7.0

유근	증류수			17.6	9.1	4.2	12.1
유근을 제거한 배유				5.0	3.9	4.2	4.0
현미		6.5	4.7	6.2	4.3	4.2	6.6

[0112] 상기 표 5에 나타난 바와 같이, 증류수로 추출한 생장 1일차 유근의 DOPA 산화 반응 저해율은 17.6%로 가장 높은 활성을 보였으며, 이는 일반현미 (6.5%) 및 생장 1일차 현미(6.2%)보다 두 배 이상 높았다. 하지만 주름 개선 효과 결과와 유사하게 유근의 생장 일수가 증가함에 따라 DOPA 산화 반응 저해율은 감소하는 경향을 나타내었다.

[0113] 또한, 70% 에탄올 추출물과 증류수 추출물은 모두 유사한 효과를 나타내었는데, 이는 유근 및 현미에서 DOPA 산화 반응 저해 활성을 가진 물질이 증류수 및 70% 에탄올 모두에 잘 용해될 수 있음을 의미한다. 또한, 유근을 제거한 배유의 DOPA 산화 반응 저해 활성은 생장 일수에 따라 크게 변화하지 않는 것으로 나타났다.

[0114] 결론적으로, 본 발명에 따른 현미 유근 추출물의 DOPA 산화 반응 저해 활성은 추출 용매의 종류에 상관없이, 유근을 제거한 배유, 현미 및 발아현미 대비 현저히 향상되는 경향을 보였으며, 특히 생장 1 내지 3일차 유근 추출물의 DOPA 산화 반응 저해 활성이 가장 우수함을 확인하였다.

[0116] 2-4-2 : 티로시나제 억제 활성 (Tyrosinase inhibition assay)

[0117] 먼저, 20 μ l의 고체 추출물 희석액을 0.1M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 100 μ l와 머쉬룸 티로시나제액 (1500 U/mL) 20 μ l과 함께 혼합하고, 해당 혼합액을 37 $^{\circ}$ C 조건에서 10분 동안 정치하였다. 그 후, 혼합액에 1.5mM L-타이로신 (L-tyrosine)액 40 μ l을 첨가하고 37 $^{\circ}$ C 조건에서 10분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였다. 티로시나제 억제 활성(%)은 하기 [식 4]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 코지산 (Kojic acid)를 사용하였으며, 그 결과는 하기 표 6에 나타내었다.

[0118] [식 4]

[0119] 티로시나제 활성저해율 (%) = ((A-B)-(C-D))/((A-B)) * 100

[0120] A = 티로시나제가 포함된 공시료

[0121] B = 티로시나제가 포함되지 않은 공시료

[0122] C = 티로시나제가 포함된 시료

[0123] D = 티로시나제가 포함되지 않은 시료

표 6

티로시나제 활성 저해율 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			9.0	18.4	10.0	10.5
유근을 제거한 배유				6.6	7.3	7.3	7.0
현미		5.4	6.8	6.7	8.2	9.6	8.5
유근	증류수			10.6	4.9	2.1	3.9
유근을 제거한 배유				2.6	1.9	1.5	0.2
현미		1.5	1.0	2.8	2.1	1.6	1.3

[0125] 상기 표 6에 나타난 바와 같이, 70% 에탄올로 추출한 생장 3일차 유근 추출물의 티로시나제 활성 저해율은 18.4%로 일반 현미(5.4%) 및 생장 3일차 현미(8.2%)의 추출물과 비교하여 각각 3.4배, 2.2배 높은 것으로 나타났으며, 이러한 결과는 유근 추출물이 현미 및 발아현미 추출물보다 뛰어난 미백효과를 가지고 있음을 의미한다. 비록 1일차 유근의 증류수 추출물은 3일차 유근의 에탄올 추출물보다 티로시나제 활성 저해율이 낮았으나, 이 또한 다른 시료(현미, 발아현미, 유근을 제거한 배유)의 70% 에탄올 추출물 및 증류수 추출물과 비교

해서는 현저히 향상된 저해율을 나타내었다.

[0127] 2-5 : 현미 유근 추출물의 유리 페놀산 분석

[0128] 현미 유근의 70% 에탄올 추출물의 유리 페놀산 함량을 UV 검출기와 Capcell-pak C18 column (4.6 mm id × 250 mm length, 5 μm)을 장착한 HPLC UltiMate 3000 system (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI)을 사용하여 분석하였으며, 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다. 이동상으로는 trifluoroacetic acid/water solution (A, 0.02%)와 trifluoroacetic acid/methanol solution (B, 0.02%)가 사용되었으며, 분석에 사용된 용매 기울기는 다음과 같다: 0-30 min, 0-15% B; 30-45 min, 15-25% B; 45-60 min, 25-50% B; 60-65 min, 50-100% B; 65-67.5 min, 100% B; 67.5-70 min, 100-0% B; 70-75 min, 0% B.

표 7

[0129]

시료	유근 생장 일수	유리 페놀산 함량 (mg/ 100g solid)		
		<i>p</i> -Coumaric acid	Ferulic acid	Sinapic acid
유근을 제거하고 남은 배유	0 (일반 현미)	0.025	0.108	0.056
	1	0.026	0.104	0.058
	3	0.025	0.111	0.059
	5	0.031	0.115	0.073
	7	0.039	0.142	0.127
유근	1	0.493	2.331	2.587
	3	1.646	9.597	2.512
	5	1.555	2.626	3.022
	7	0.998	2.308	2.338

[0130] 유리 페놀산은 식물에 존재하는 대표적인 항산화, 주름개선, 미백효과 활성을 가진 화합물로 잘 알려져 있다 (Maity et al., 2011; Mykherjee et al., 2011). 유근 및 유근을 제거하고 남은 배유에 존재하는 주된 유리 페놀산은 ferulic acid, *p*-coumaric acid, sinapic acid로 알려져 있으며, 본 분석에서도 동일한 결과를 보였다.

[0131] 상기 표 7에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 현미 유근 추출물의 유리 페놀산 함량은 유근을 제거한 배유 대비 현저히 향상되는 것으로 나타났다. 특히 70% 에탄올로 추출한 생장 3일차 및 5일차 유근 추출물의 유리 페놀산 함량이 현저히 향상되었으며, 특히 생장 3일차 유근 추출물의 ferulic acid는 9.597mg/100g로 일반 현미 (0.108mg/100g)의 약 88배에 해당하는 함량을 보임을 확인하였다.

[0133] 실시예 3 : 유색미 유근 추출물의 제조 및 활성 평가

[0134] 유색미의 유근 추출물은 아래의 방법으로 제조하였다.

[0135] (1) 침지: 유색미를 중량대비 5배의 증류수에 첨가하고, 30℃, 12시간 조건에서 침지하였다.

[0136] (2) 유근 생장: 습기가 풍부한 배양기(30℃)에서 1-7일 동안 유근을 생장시켰다.

[0137] (3) 분획화 및 건조: 커터 (cutter)를 이용하여 유색미에서 유근을 분리했으며, 분획화된 유근 및 유근을 제거하고 남은 배유를 50℃에서 열풍건조하였다. 건조된 유근은 분쇄기 및 막자사발을 이용하여 분말화하였다.

[0138] (4) 추출물 제조: 분말화된 유근을 1:10 (w/v)의 비율로 증류수 또는 70% 에탄올과 혼합해주고, 35℃ 조건에서 3시간 동안 추출하였다. 원심분리를 이용하여 여과하는 단계를 2회 반복하고 상등액(액체 추출물)을 수집하였다. 수집된 액체 추출물은 회전식 증발 증류기를 이용하여 용매를 날리고, 동결건조하여 분말화된 고체 추출물을 수득하였다.

[0140] 3-1 : 유색미 유근 추출물의 총 페놀 함량

[0141] 유색미 유근 추출물의 총 페놀 함량(total phenolic content)을 발아 유색미 및 유근을 제거하고 남은 배유와 비교하였다. 총 페놀 함량은 Ainsworth and Gillespie의 방법(2007)을 변형하여 측정하였다. 구체적으로는 100

μl 의 고체 추출물 희석액을 200 μl 의 10% (v/v) Folin-Ciocalteu 시약 및 800 μl 의 750mM Na_2CO_3 과 함께 혼합하여 주고, 이어서 혼합물을 실온에서 2시간 동안 발색 반응을 진행하였다. 총 페놀 함량은 발색정도를 분광 광도계 (765nm 흡광도)를 사용하여 측정하고 gallic acid 표준 곡선의 회귀 방정식을 사용하여 계산하였다. 측정 결과는 하기 표 8에 나타내었다.

표 8

TPC (mg GAE/ 100g solid)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			163.2	121.0	127.6	137.2
유근을 제거한 배유				93.2	72.9	65.3	67.7
유색미		100.4	95.7	105.3	99.0	92.0	93.3
유근	증류수			110.9	119.7	110.4	118.9
유근을 제거한 배유				56.1	38.7	54.5	64.6
유색미		86.0	72.2	59.9	45.3	59.0	62.6

상기 표 8에 나타난 바와 같이, 유색미 유근 추출물의 총 페놀 화합물 함량은 유근을 제거한 배유 및 유색미 대비 월등히 높은 함량을 나타내었다. 구체적으로는 추출 용매로 70% 에탄올을 사용한 유근 추출물 및 추출 용매로 증류수를 사용한 유근 추출물 모두 각각 121.0 내지 163.2mg GAE/100g solid, 110.4 내지 119.7mg GAE/100g solid로 총 페놀 화합물 함량이 현저히 향상되었으며, 특히 생장 7일차 70% 에탄올을 이용한 유색미 유근 추출물의 총 페놀 화합물 함량은 163.2mg GAE/100g solid로, 동일한 조건에서 추출된 일반 유색미(100.4mg GAE/100g solid) 및 3일차 발아 유색미(105.3mg GAE/ 100g solid) 보다 약 60% 높은 것을 확인할 수 있었다.

3-2 : 유색미 유근 추출물의 항산화 활성

유색미 유근 추출물의 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거 활성(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity) 측정을 통해 관찰하였다. 구체적으로, 500 μl 의 유색미 유근 고체 추출물 희석액을 0.2 mM DPPH 용액과 혼합하고 암실 조건에서 30분 동안 발색반응을 진행했으며, 이후 발색 정도를 분광 광도계 (흡광도, 517nm)를 이용하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용했으며, DPPH 라디칼 소거 활성의 백분율은 실시예 2-2의 [식 1]을 사용하여 계산하였고, 그 결과는 하기 표 9에 나타내었다.

표 9

DPPH 라디칼 소거능 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			72.5	42.1	40.1	37.5
유근을 제거한 배유				43.3	26.7	22.4	19.0
유색미		53.4	50.7	46.3	32.4	21.9	24.6
유근	증류수			41.2	11.2	1.0	3.6
유근을 제거한 배유				18.7	10.4	5.6	0.7
유색미		38.9	39.6	19.0	10.5	4.7	1.6

상기 표 9에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 유색미 유근 추출물의 항산화 활성이 유근을 제거한 배유 및 현미 대비 현저히 향상되는 경향을 보임을 확인하였다. 구체적으로, 70% 에탄올 및 증류수로 추출한 유근 추출물은 생장 1일 차에서 가장 높은 항산화 활성을 보였으며, 이후 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 경향은 유색미 및 유근을 제거한 배유에서도 유사하였지만, 유근 추출물의 항산화 활성이 다른 두 시료군보다 뛰어났다. 생장 일수 증가에 따른 배유에서의 항산화 활성 감소는 폴리페놀 계열의 색소 성분(안토시아닌)의 용출 및 파괴에

기인하며, 이와 대조적으로 유근에서의 항산화 활성 감소는 생장 초기 유근에서 생성된 유리 페놀산이 생장 후기에 유근 세포벽을 구성하는 탄수화물 (주로 arabinoxylan)과 결합하기 때문이다.

[0150] 3-3 : 유색미 유근 추출물의 주름 개선 효과

[0151] 유색미 유근 추출물의 주름 개선 효과는 엘라스타제 억제 활성(Elastase inhibition activity) 측정을 통해 평가하였다. 구체적으로, 30 μ l의 고상 추출물 희석액을 100 μ l의 2mM Tris-buffer (pH 8.0) 및 10 μ l의 엘라스타제 (1.1U / ml)과 함께 혼합하여 주고, 이어서 혼합물을 37℃ 조건에서 10분간 정치(定置)한 다음 40 μ l의 0.554mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (SANA)를 기질로 첨가하였다. 기질이 첨가된 혼합물을 37℃ 조건에서 15분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 엘라스타제 억제 활성(%)은 실시예2-3의 [식 2]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 올레놀산(Oleanolic acid) (0.2 mg/ml)를 사용하였으며, 그 결과는 하기 표 10에 나타내었다.

표 10

[0152]

엘라스타제 억제 활성 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7
유근	70% 에탄올			64.2	76.8	26.4	26.1
유근을 제거한 배유				34.0	32.1	12.5	12.0
유색미		44.2	42.9	39.1	33.9	19.3	16.2
유근	증류수			23.2	36.2	28.5	29.2
유근을 제거한 배유				16.4	14.0	11.6	11.4
유색미		26.8	10.1	16.6	14.8	16.6	16.7

[0153] 상기 표 10에 나타난 바와 같이, 70% 에탄올로 추출한 생장 1일 및 3일차 유근 추출물의 엘라스타제 억제 활성은 각각 64.2%, 76.8%였으며, 이는 유색미 및 발아 유색미와 비교하여 월등히 우수하였다. 활성 정도에는 차이가 있으나 증류수로 추출한 경우에도 유사한 결과를 보였다. 다만 유근의 70% 에탄올 추출물이 증류수 추출물보다 높은 주름개선 효과를 보였으며, 이런 경향은 실시예 2-3의 결과와도 유사하였다. 이런 결과를 통해, 유근 내 주름 개선 활성 화합물이 물보다는 알코올과 같은 유기 용매에 잘 용해된다는 것을 확인하였다. 또한, 1 내지 3일차의 어린 유근의 주름 개선 효과는 5 내지 7일차의 긴 뿌리에 비해 뛰어났으며, 이를 통해, 단시간 생장시켜 얻은 짧은 유근이 상대적으로 다량의 주름개선 활성물질을 함유하고 있음을 확인하였다.

[0155] 3-4 : 유색미 유근 추출물의 피부 미백 효과

[0156] 유색미 유근 추출물의 피부 미백 효과는 티로시나제의 DOPA 산화반응 저해 시험을 통해 평가하였다. 구체적으로, 40 μ l의 고체 추출물 희석액을 0.1M 인산염완충액(pH 6.8) 80 μ l의 50 mM potassium phosphate buffer (P-buffer, pH 6.5) 및 40 μ l의 티로시나아제 (250 U/ml)와 함께 혼합하였다. 해당 혼합물을 37℃ 조건에서 10 분 동안 정치한 다음, 40 μ l의 0.85mM L-3,4-디하이드록시 페닐알라닌(L-DOPA)을 첨가하였다. L-DOPA를 첨가한 혼합물을 37℃ 조건에서 5분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. DOPA 산화반응 저해율은 실시예 2-4-1의 [식 3]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 코지산 (Kojic acid)을 사용하였으며, 그 결과는 하기 표 11에 나타내었다.

표 11

[0157]

DOPA 산화 반응 저해율 (%)							
시료		유근 생장 일수 (day)					
시료	추출용매	무처리	침지	1	3	5	7

유근	70% 에탄올			42.5	22.1	20.1	17.5
유근을 제거한 배유				21.3	26.7	12.4	9.0
유색미		23.4	20.7	23.3	26.4	11.9	8.6
유근	증류수			39.2	11.2	1.0	3.6
유근을 제거한 배유				18.7	10.4	5.6	0.7
유색미		28.9	29.6	19.0	10.5	4.7	1.6

[0158] 상기 표 11에 나타난 바와 같이, 본 발명에 따른 유색미 유근 추출물의 DOPA 산화 반응 저해율이 유근을 제거한 배유 및 유색미 대비 현저히 향상되는 경향을 보임을 확인하였다. 또한, 생장 1일차 유근의 70% 에탄올 추출물과 증류수 추출물의 DOPA 산화 반응 저해율은 각각 42.5%, 39.2%였으며, 이는 각 추출군에서 가장 높은 저해율이었다. 유근의 DOPA 산화 반응 저해율은 생장 일수가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보였으며, 이는 1 내지 3 일차의 어린 유근이 5 내지 7일차의 긴 뿌리에 비해 피부 미백 활성이 뛰어남을 의미한다.

[0159] 한편, 실시예 2-4-1에서 현미 유근의 DOPA 산화 반응 저해율은 에탄올 추출물보다 증류수 추출물이 높았는데, 이는 유색미 결과와 상반된다. 이로 미뤄보아 유색미 및 현미 유근에 존재하는 DOPA 산화 반응 저해물질의 종류 및 그 양이 서로 상이하며, 이는 유근 생장에서 나타나는 2차 대사 경로가 일부 다르기 때문으로 판단된다.

[0161] 실시예 4 : 추출 용매에 따른 유근 추출물의 활성

[0162] 추출 용매에 따른 유근 추출물의 항산화, 주름개선 및 피부 미백 활성을 비교하기 위해서 상기 실시예 (실시예 2, 실시예3)에서 높은 활성을 보인 생장 3일차 유색미 유근을 다양한 용매(증류수, 70% 에탄올, 70% 주정, 70% 메탄올, 100% 메탄올, 아세톤, 에틸아세테이트)로 추출하였다. 그리고 추출용매에 따른 추출물의 항산화 및 주름개선, 미백 활성을 비교함으로써 유근 추출물 제조에 적합한 용매를 선택하고, 대량 추출 공정의 확립 가능성을 확인하였다.

[0164] 4-1 : 유근의 추출 용매별 총 페놀 함량

[0165] 추출 용매 변화에 따른 유근 추출물의 총 페놀산 함량을 분석하기 위해, 먼저, 100 μ l의 고체 추출물 희석액을 200 μ l의 10% (v/v) Folin-Ciocalteu 시약 및 800 μ l의 750mM Na₂CO₃과 함께 혼합하여 주고, 이어서 혼합물을 실온에서 2시간 동안 발색 반응을 진행하였다. 총 페놀 함량은 발색정도를 분광 광도계 (765nm 흡광도)를 사용하여 측정하고 gallic acid 표준 곡선의 회귀 방정식을 사용하여 계산하였으며, 측정 결과는 하기 표 12에 나타내었다.

표 12

TPC (mg GAE/ 100g solid)	
추출 용매	유색미의 유근 (생장 3일차)
증류수	119.7
70% 에탄올	121.0
70% 주정	113.7
70% 메탄올	110.1
100% 메탄올	84.4
아세톤	53.2
에틸아세테이트	40.5

[0167] 상기 표 12에서 나타난 바와 같이, 증류수, 70% 에탄올, 70% 주정, 70% 메탄올, 100% 메탄올로 추출한 유근 추출물의 총 페놀 화합물의 함량이 아세톤, 에틸아세테이트에 비해 높은 것으로 나타났으며, 특히 70% 에탄올로 추출한 유근의 총 페놀산 함량은 121.0mg GAE/ 100g solid로 다른 용매 추출물에 비해 가장 높은 것으로 확인되었다. 또한, 비록 추출 용매에 따른 유근 추출물의 총 페놀 화합물 함량은 다소 차이가 있었지만, 모든 용매에서 효과적으로 페놀 화합물이 추출될 수 있음을 확인하였다.

[0169] 4-2 : 유근의 추출 용매별 항산화 활성

[0170] 추출 용매에 따른 유색미 유근 추출물의 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거 활성 측정을 통해 관찰하였다. 먼저, 500 μ l의 고체 추출물 희석액을 0.2 mM DPPH 용액과 혼합하고 암실 조건에서 30분 동안 발색반응을 진행했으며, 이후 발색 정도를 분광 광도계 (흡광도, 517nm)를 이용하여 측정하였다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용했으며, DPPH 라디칼 소거 활성의 백분율은 실시예 2-2의 [식 1]에 따라 계산하였고, 그 결과는 하기 표 13에 나타내었다.

표 13

[0171]

DPPH 라디칼 소거능 (%)	
추출 용제	유색미의 유근 (생장 3일차)
증류수	11.2
70% 에탄올	42.1
70% 주정	42.2
70% 메탄올	47.8
100% 메탄올	37.0
아세톤	21.6
에틸아세테이트	21.8

[0172] 상기 표 13에서 나타난 바와 같이, 70% 에탄올, 70% 주정, 70% 메탄올, 100% 메탄올로 추출한 유근 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 증류수, 아세톤, 에틸아세테이트에 비해 높은 것으로 나타났으며, 특히 70% 메탄올로 추출한 유색미 유근 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 47.8%로 가장 우수함을 확인하였다.

[0174] 4-3 : 유근의 추출 용매별 주름 개선

[0175] 추출 용매에 따른 유근의 주름 개선 능력을 엘라스타제 억제 활성(Elastase inhibition activity) 측정을 통해 평가하였다. 구체적으로, 30 μ l의 고체 추출물 희석액을 100 μ l의 2mM Tris-buffer (pH 8.0) 및 10 μ l의 엘라스타제 (1.1 U/ml)과 함께 혼합하여 주고, 이어서 혼합물을 37 $^{\circ}$ C 조건에서 10분간 정치(定置)한 다음 40 μ l의 0.554mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (SANA)를 기질로 첨가하였다. 기질이 첨가된 혼합물을 37 $^{\circ}$ C 조건에서 15분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 엘라스타제 억제활성(%)는 실시예 2-3의 [식 2]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 올레놀산(Oleonic acid) (0.2 mg/ml)을 사용하였으며, 그 결과는 하기 표 14에 나타내었다.

표 14

[0176]

엘라스타제 억제 활성 (%)	
추출 용제	유색미의 유근 (생장 3일차)
증류수	36.2
70% 에탄올	76.8
70% 주정	81.8
70% 메탄올	59.8
100% 메탄올	96.4
아세톤	22.9
에틸아세테이트	32.4

[0177] 상기 표 14에 나타난 바와 같이, 70% 에탄올, 70% 주정, 70% 메탄올, 100% 메탄올로 추출한 유근 추출물의 엘라스타제 억제 활성이 증류수, 아세톤, 에틸아세테이트에 비해 높은 것으로 나타났으며, 특히 100% 메탄올로 추출한 유색미 유근 추출물의 엘라스타제 억제 활성은 96.4%로 가장 우수함을 확인하였다.

[0179] 4-4 : 유근의 추출 용매별 피부 미백 효과

[0180] 추출 용매에 따른 유색미 유근 추출물의 피부 미백 효과는 티로시나제의 DOPA 산화반응 저해 시험을 통해 평가하였다. 구체적으로, 40 μ l의 고체 추출물 희석액을 0.1M 인산염완충액(pH 6.8) 80 μ l의 50 mM potassium phosphate buffer (P-buffer, pH 6.5) 및 40 μ l의 티로시나제 (250 U/ml)와 함께 혼합하였다. 해당 혼합물을 37℃ 조건에서 10분 동안 정치한 다음, 40 μ l의 0.85mM L-3,4-디하이드록시 페닐알라닌(L-DOPA)을 첨가하였다. L-DOPA를 첨가한 혼합물을 37℃ 조건에서 5분 동안 반응시킨 후, 마이크로 플레이트 분광 광도계를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. DOPA 산화반응 저해율은 실시예 2-4-1의 [식 3]에 따라 계산하였고, 양성대조군으로는 코지산(Kojic acid)을 사용하였으며, 그 결과를 하기 표 15에 나타내었다.

표 15

[0181]

추출 용제	DOPA 산화 반응 저해율 (%)
증류수	11.2
70% 에탄올	22.1
70% 주정	26.2
70% 메탄올	42.5
100% 메탄올	54.2
아세톤	19.0
에틸아세테이트	22.1

[0182]

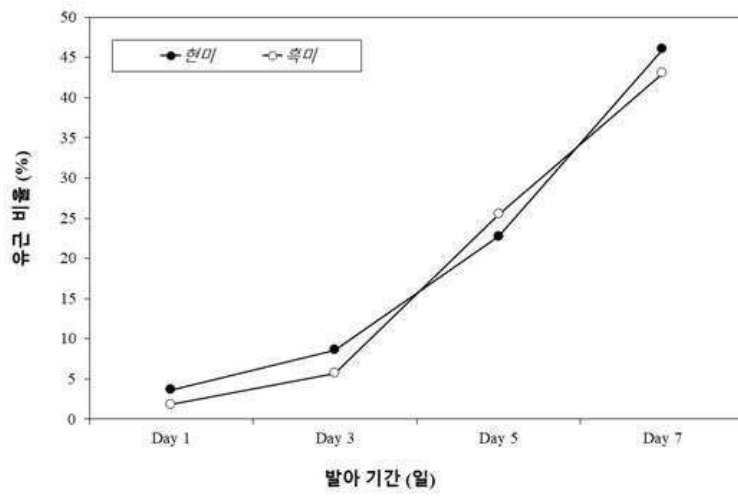
상기 표 15에 나타난 바와 같이, 70% 에탄올, 70% 주정, 70% 메탄올, 100% 메탄올, 아세톤, 에틸아세테이트로 추출한 유근 추출물의 DOPA 산화 반응 저해율이 증류수에 비해 높은 것으로 나타났으며, 특히 100% 메탄올 및 70% 메탄올 추출물의 DOPA 산화 반응 저해율은 각각 54.2%, 42.5%로 가장 우수함을 확인하였다.

[0184]

이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시형태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



	Day1	Day 3	Day 5	Day 7
현미 유근 비율(%)	3.65	8.60	22.75	46.02
흑미 유근 비율(%)	1.84	5.70	25.49	43.05