



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0104158
(43) 공개일자 2020년09월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A61Q 19/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-0022756
(22) 출원일자 2019년02월26일
심사청구일자 2019년02월26일

(71) 출원인
주식회사 아미코스메틱
서울시 마포구 양화로 19, 지상3층, 지상5층 (합
정동)
농업회사법인 만나씨이에이 주식회사
충청북도 진천군 이월면 진광로 702-10
(72) 발명자
이경록
서울특별시 용산구 이촌로88길 3, 1809호 (이
촌동, 점보아파트)
김경민
제주특별자치도 제주시 남성로26길 18, 201호(삼
도이동, 상우주택)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 하나

전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 아쿠아포닉스 재배기술을 이용한 병풀 추출물을 포함하는 화장료 조성물

(57) 요약

본 발명은 아쿠아포닉스 재배를 통해 생육된 병풀 추출물을 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 상기 화장료 조성물은 항산화, 미백 또는 항염 효과를 나타낼 수 있다.

(52) CPC특허분류

A61Q 19/02 (2013.01)

A61K 2800/522 (2013.01)

A61K 2800/805 (2013.01)

(72) 발명자

김정환

제주특별자치도 제주시 연사길 89-7, 110동 301호
(오라이동, 벽강하이본빌)

김수영

제주특별자치도 제주시 남녕로8길 10, 503호(연동,
정한맨션)

강지미

제주특별자치도 제주시 애월읍 하광로 266

신소영

제주특별자치도 제주시 독짓골8길 53-11, 5층 601
호(이도이동, 라성빌라)

명세서

청구범위

청구항 1

아쿠아포닉스 재배를 통해 생육된 병풀(*Centella asiatica*) 추출물을 포함하는 항산화용 화장품 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 병풀은 24 ~ 27 °C 에서 재배되는 것인, 항산화용 화장품 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 병풀은 3 ~ 4개월 동안 재배되는 것인, 항산화용 화장품 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 추출물은 물, C₁ 내지 C₄의 무수 또는 저급 알코올, 상기 물과 저급 알코올의 혼합 용매, 아세톤, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 클로로포름으로 이루어진 군에서 선택되는 1 종 이상의 용매로 추출하여 수득한 화장료 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 병풀 추출물은 조성물 총 중량에 대해 0.0001 ~ 30 중량%로 포함되는 것인, 화장료 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 화장료 조성물은 미백 또는 항염 용도를 추가로 포함하는 것인, 화장료 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 아쿠아포닉스 재배를 통해 생육된 병풀 추출물을 포함하는 화장료 조성물에 관한 것이다. 상기 화장료 조성물은 항산화, 미백 또는 항염 효과를 나타낼 수 있다.

배경 기술

[0002] 피부는 신체의 외부에 덮고 있는 하나의 막으로 여러 가지 외부의 자극, 장애, 건조 등의 환경요소로부터 신체를 보호해 주는 다양한 생리적 기능을 수행하여 내부 장기와 그 밖의 체내 기관을 보호 조절하는 역할을 한다.

[0003] 그러나, 나이가 들어감에 따라 내적으로는 신진 대사를 조절하는 각종 호르몬의 분비가 감소하고, 면역 세포의 기능과 세포들의 활성이 저하되게 된다. 또한, 외적으로는 오존층 파괴로 인하여 태양 광선에 자외선 함량이 증가하게 되고, 환경 오염이 더욱 심화됨에 따라 자유 라디칼 및 활성 유해 산소 등이 증가함으로써 생기는 과도한 물리적, 화학적 자극 및 스트레스 등은 피부의 정상기능 저하, 멜라닌 침착에 의한 기미, 주근깨 등의 생성 및 피부 노화현상을 촉진하여 피부를 손상시키게 된다.

[0004] 이러한 내적, 외적 요인에 의한 피부노화 및 손상을 방지하여 보다 건강하고 아름다운 피부를 유지하기 위하여 각종 동물, 식물, 미생물 등으로부터 얻어진 생리 활성 물질들을 화장품에 부가하여 사용함으로써 피부의 고유 기능을 유지시키고 피부 세포를 활성화시켜 피부 신진대사를 촉진하여 피부 건강을 유지하고자 하는 노력이 계

속되고 있으며, 이에 따른 화장품, 피부 외용제 등이 개발되고 있다.

- [0005] 그러나, 이들 물질은 피부 적용시 자극, 홍반, 발적 등의 안전성 문제로 사용량의 제한이 있거나, 효과가 미미하여 실질적으로 피부 기능 개선 효과를 기대기 어려웠다. 따라서, 기존의 피부 외용제 조성물 보다 생체에 안전하고 효과가 높은 새로운 피부 외용제 조성물의 개발이 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

- [0006] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1370075호
(특허문헌 0002) 한국등록특허 제10-1551748호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명의 목적은 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀(*Centella asiatica*) 추출물을 포함하는 항산화용 화장품 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0008] 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명의 일 측면은 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀(*Centella asiatica*) 추출물을 포함하는 항산화용 화장품 조성물에 관한 것이다.
- [0009] 본 발명에서, “병풀(*Centella asiatica*)”은 남아시아에서 주로 서식하는 다년생 포복성 약용식물로서, 우리나라에서는 제주도 및 중남부 지역 저습지에 군생한다. 원줄기는 옆으로 뻗고, 뿌리가 내리는 마디 근처에 2개의 퇴화된 비늘 모양의 잎이 있으며, 잎은 마디에서 밀생하고, 신장형이며, 지름은 2 내지 5cm이고, 표면은 광택이 나며, 가장 자리에 둔한 톱니가 있고, 잎자루의 길이는 4 내지 20cm이다. 병풀의 주요성분으로는 madecassoside, madecassic acid, asiaticoside, asiatic acid 등이 있다. 이들 성분은 피부상처나 만성태양 등의 치료에 사용되어 왔으며, 항균력이 좋고 피부 질환, 향류마티스 관절염 등에도 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다.
- [0010] 본 발명에서, “아쿠아포닉스(aquaponics)”는 양어를 의미하는 아쿠아컬처(acuaculture)와 식물의 수경재배를 의미하는 하이드로포닉스(hydroponics)를 합친 말로서, 어류의 배설물을 식물의 영양분으로 사용하고, 식물의 생물학적 작용에 의해 자연정화된 물을 어류의 양식에 사용하는 인공 식물재배의 한 방식이다. 어류의 배설물은 인간 또는 다른 동물과 다르게 암모니아 또는 암모늄이 주성분을 이루고 있으며, 이러한 어류의 배설물, 암모니아 또는 암모늄이 포함된 어류의 생육수를 별도의 박테리아 배양 탱크로 통과시키면서 박테리아의 분해 작용에 의해 암모니아 또는 암모늄을 질산염으로 변환시킨다. 상기와 같이 변환된 질산염이 포함된 어류의 생육수를 작물에 공급하고, 작물이 생육수 내의 질산염을 양분으로 섭취하여 자라나게 되며, 남은 생육수는 다시 어류에 돌아가는 순환을 반복한다.
- [0011] 구체적으로, 상기 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득되는 병풀은 24 ~ 27 °C 에서 재배되는 것일 수 있으며, 3 ~ 4 개월 동안 재배될 수 있다. 본 발명 일 실시예에서는 상기 온도 및 기간에서 생육된 병풀을 수득하여 추출물을 제조하였으며, 상기 추출물의 효과가 일반 재배법에 의해 수확된 병풀의 추출물에 비해 현저히 우수한 항산화, 미백 또는 항염 효과를 나타냄을 확인하였다.
- [0012] 본 발명의 “추출물”은 병풀의 추출 처리에 의하여 얻어지는 추출액, 상기 추출액들의 희석액이나 농축액, 상기 추출액을 건조하여 얻어지는 건조물, 상기 추출액의 조제물이나 정제물, 또는 이들의 혼합물 등, 추출액 자체 및 추출액을 이용하여 형성 가능한 모든 제형의 추출물을 포함한다.
- [0013] 본 발명의 상기 추출물은, 상기 병풀의 천연, 잡종 또는 변종 식물로부터 추출될 수 있고, 식물 조직 배양물로부터도 추출이 가능하다.
- [0014] 본 발명의 추출물을 추출하는 방법은 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용하는 방법에 따라 추출할 수 있다. 상기 추출 방법의 비제한적인 예로는, 열수 추출법, 초음파 추출법, 여과법, 환류 추

출법 등을 들 수 있으며, 이들은 단독으로 수행되거나 2 종 이상의 방법을 병용하여 수행될 수 있다.

- [0015] 본 발명에서 사용되는 추출용매의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 공지된 임의의 용매를 사용할 수 있다. 상기 추출 용매의 비제한적인 예로는 물, C₁ 내지 C₄의 무수 또는 저급 알코올, 상기 물과 저급 알코올의 혼합 용매, 아세톤, 1,3-부틸렌글리콜, 에틸아세테이트, 클로로포름으로 이루어진 군에서 선택되는 1 종 이상으로, 단독으로 2종 이상 혼합하여 사용할 수 있다.
- [0016] 본 발명에서 추출 용매로 더욱 구체적으로는 물(또는 증류수)을 사용할 수 있다. 상기 용매를 사용하여 병풀을 1 회 이상 추출하여 용매 추출물을 제조할 수 있으며, 상기 용매 추출물을 감압 증류한 후 동결건조 또는 분무 건조하여 얻은 건조 추출물을 제조할 수 있다. 본 발명의 구체적인 일 실시예에서는 아쿠아포닉스 재배에 의해 수득된 병풀을 물(또는 증류수)을 용매로 사용하여 병풀 추출물을 제조하였다(실시예 1).
- [0017] 본 발명에서 열 추출 또는 냉침 추출한 추출물은 부유하는 고체 입자를 제거하기 위해 여과, 예를 들어 나일론 등을 이용해 입자를 걸러내거나 냉동여과법 등을 이용해 여과한 후, 그대로 사용하거나 이를 동결건조, 열풍건조, 분무건조 등을 이용해 건조시켜 사용할 수 있다.
- [0018] 본 발명에서, “항산화”란, 산화를 억제하는 작용을 의미하는 것으로, 인체는 산화촉진물질과 산화억제물질이 균형을 이루고 있으나, 여러 가지 요인들로 인하여 이러한 균형 상태를 잃고 산화를 촉진하는 방향으로 기울게 되면, 생체 내에 산화적 스트레스(oxidative stress)가 유발되어 세포손상 및 병리적 질환을 유발하게 된다. 이러한 산화적 스트레스의 직접적 원인이 되는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 화학적으로 불안정하고 반응성이 높아 DNA, 단백질, 지질 및 탄수화물과 같은 여러 생체물질과 쉽게 반응할 수 있으며, 생체 내 고분자들을 공격하여 세포와 조직에 비가역적인 손상을 일으키거나 돌연변이, 세포독성 및 암 등을 초래하게 되고, 노화의 직접적인 원인이 되기도 한다. 이러한 활성 산소종을 제거하거나 감소시킴으로써 항산화 효과를 얻어 노화를 방지하고 건강을 유지할 수 있게 된다.
- [0019] 본 발명 일 실시예에서는 자유라디칼(free radical) 소거활성을 측정하여 항산화 효과를 확인하였으며, 특히 아쿠아포닉스 재배법을 통해 수득된 병풀 추출물의 경우 일반 재배를 통해 병풀 추출물에 비해 뛰어난 항산화 효과를 나타내는 것을 확인하였다(표 1 및 표 2).
- [0020] 구체적으로, 본 발명의 화장료 조성물은 미백 또는 항염 용도를 추가로 포함할 수 있다.
- [0021] 본 발명에서, “미백”이란, 피부를 하얗게 하는 것을 의미하며 멜라닌의 과도한 합성이나, 티로시나아제 효소의 활성, 멜라닌의 생성 등으로 인한 기미, 주근깨 등의 다양한 색소 침착을 완화 또는 개선하는 것을 말하며, 상기 미백효과를 통해 피부톤 또는 안색이 개선될 수 있다.
- [0022] 본 발명에서, “피부 안색” 및 “피부톤”은 피부가 나타내는 색상 또는 톤을 말하며, 안색이 어둡거나 피부톤이 칙칙한 것으로 느껴지는 경우 화장 만족도가 저하되기도 한다. “피부 안색 개선” 및 “피부톤 개선”은 피부의 밝기 수치를 증가시킴으로써 피부 밝기가 밝아져 화장 만족도가 증가되거나, 화장을 하지 않더라도 밝아진 피부톤을 나타낼 수 있는 모든 경우를 포함한다.
- [0023] 본 발명 일 실시예에서는 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물 또는 상기 추출물을 포함하는 화장료 조성물을 도포한 경우, 우수한 티로시나아제 저해 활성(표3) 및 멜라닌 생합성 저해 활성(표 4)을 나타냄으로써 현저히 우수한 미백 효과 또는 피부 안색 개선 효과를 나타낼 수 있음을 확인하였는 바, 미백 용도, 전체적인 피부 안색 및 피부톤 개선 용도로 활용될 수 있음을 확인하였다.
- [0024] 본 발명에서, “항염”이란, 염증을 억제하는 것을 말하며, 상기 염증은 어떤 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로, 조직 변질, 순환 장애와 삼출, 조직 증식의 세가지를 병발하는 복잡한 병변을 말한다.
- [0025] 염증 반응은 외부 자극에 대한 생체조직의 방어반응 일환으로 물리적 작용이나 유해물질, 화학적 자극, 세균감염 등에 의한 손상을 재생하려는 기전이다. 지속적인 염증 반응은 오히려 점막 손상을 유발하고 피부 조직의 손상, 염증 및 피부 트러블을 촉진한다.
- [0026] 대식세포는 면역반응에서 매우 중요한 역할을 하며 일산화질소, 프로스타글란딘, 면역 단백질인 염증성사이토카인을 포함한 다양한 염증 매개물질을 조절한다. 이 중 일산화질소는 박테리아를 죽이거나 종양을 제거하는 등 중요한 역할을 하지만 병인에 의한 과도한 일산화질소 생성은 염증을 유발시키며 이러한 염증 유발은 피부 트러블을 일으킨다.
- [0027] 즉, 대식세포의 일산화질소 생성이 억제되면, 피부 염증을 예방, 완화, 개선 및 치료하며, 염증 반응에 의한 피

부 트러블을 예방, 완화, 개선 및 치료할 수 있다.

- [0028] 본 발명 일 실시예에서는 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물을 처리한 경우 일반 재배를 통해 수득한 병풀 추출물에 비해 일산화질소 생성이 현저히 감소됨을 확인하였으며(표 5), 염증 매개인자인 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 생성 억제 활성 역시 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물 처리한 경우 현저히 우수함을 확인하였다(표 6).
- [0029] 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.
- [0030] 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.
- [0031] 본 발명의 화장료 조성물에 포함되는 화장품학적으로 허용 가능한 담체는 화장료 조성물의 제형에 따라 다양하다.
- [0032] 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.
- [0033] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는, 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록사이드, 칼슘 실케이트, 폴리아미드 파우더 등이 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로하드카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진제를 포함할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 이들은 단독으로 사용되거나 2 종 이상 혼합되어 사용될 수 있다.
- [0034] 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.
- [0035] 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.
- [0036] 구체적으로, 상기와 같은 화장료 조성물에 있어서 상기 병풀 추출물은 화장료 조성물 총 중량에 대해 0.0001중량% 내지 30.0중량% 포함될 수 있다. 더욱 구체적으로는 0.005중량% 내지 20중량%로 포함될 수 있다. 상기 범위 내에서 우수한 향산화, 미백 또는 항염 효과가 나타나는 이점이 있으며, 조성물의 제형이 안정화되는 이점이 있다.

발명의 효과

- [0037] 본 발명의 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물을 포함하는 화장료 조성물은 향산화, 미백 또는 항염 효과가 우수하다.
- [0038] 또한, 본 발명의 조성물은 천연물 유래의 물질이어서 독성이 없으며, 인체에 적용하여도 부작용을 유발하지 않아 화장료 조성물로의 활용도가 높다. 특히, 본 발명에서 사용하는 모든 원료는 EWG(Environmental Working Group) 등급상 1등급에 해당하는 것으로, 안전성이 우수한 것이 입증되었다.
- [0039] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0040] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명이 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[0041] 실시예 1. 아쿠아포닉스 재배를 통해 생육된 병풀 추출물(아쿠아포닉스 병풀 추출물)의 제조

[0042] 1-1. 아쿠아포닉스 재배법을 이용한 병풀 재배

[0043] 어류 양식 수조가 포함된 아쿠아포닉스 시스템을 이용하여 삼백초를 재배하였다. 구체적으로, 어류를 생육하면서 발생하는 질산염이 삼백초에 공급될 수 있도록 한 시스템을 이용하였으며 암모니아가 포함된 생육수가 박테리아 배양 탱크를 통과하면서 박테리아의 작용에 의해 질산염으로 변환되도록 하였다. 상기 아쿠아포닉스 재배를 이용하여 24 ~ 27 °C 에서 3 ~ 4개월 동안 재배 후 병풀을 수확하였다.

[0044] 1-2. 병풀 추출물의 제조

[0045] 상기 수확된 병풀 건조 중량 100g을 플라스크에 넣고 추출용매(증류수) 1,000g으로 3일간 냉침하여 추출하였다. 냉침된 추출물을 0.2µm의 기공 크기를 가진 필터로 여과하여 병풀 추출물을 제조하였다.

[0046] 비교예 1. 일반 재배를 통해 생육된 병풀의 추출물(일반 병풀 추출물) 제조

[0047] 당업계에서 통상적으로 이용하는 재배법을 이용하여 병풀을 재배한 후 수확하였다. 이후 상기 1-2와 동일한 추출법을 이용하여 일반 재배에 의해 수득된 병풀의 추출물을 제조하였다.

[0048] 실험예 1. 항산화 효과 확인

[0049] 1-1. DPPH 소거활성 확인

[0050] 실시예 1 및 비교예 1의 항산화능을 확인하였다. 항산화능 평가는 자유라디칼(free radical) 소거활성을 측정하기 위하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)을 이용하였다. 구체적으로, 4.0×10^{-4} M DPPH 용액 2.4mL에 실시예 1 및 비교예 1추출물을 각각 0.6mL 첨가 후 볼텍스 믹서로 10 초간 진탕하고 상온에서 30분간 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 흡광도의 감소 비율로서 항산화 활성도를 나타내었다. 이때, 흡광도 감소 비율을 결정하기 위한 대조군으로는 항산화제인 아스코르브산을 사용하였으며, 시료와 동일한 함량을 첨가하여 동일한 방법으로 측정하였다. 이후 하기 식 1에 따라 DPPH소거 활성을 계산하였다.

[0051] [식 1]

[0052] DPPH 소거 활성(%) = [1 - (실시예 또는 비교예 시료처리군의 흡광도/ 시료 무처리군의 흡광도)] X 100

표 1

시료	DPPH 소거(%)	항산화능 비교(%)
아스코르브산	31	100
실시예 1	68	219
비교예 1	42	135

[0054] 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 실시예 1 및 비교예 1 은 모두 DPPH 소거 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 그러나, 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득된 실시예 1의 경우, 비교예 1 에 비해 뛰어난 항산화 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

[0055] 1-2. ABTS⁺ 라디칼 소거활성 확인

[0056] ABTS⁺[2,2'-Azino-bis(3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid)] 라디칼 소거활성은 수소공여 항산화제(hydrogen-donating antioxidants)와 연쇄절단형 항산화제(chainbreaking antioxidants) 모두를 측정할 수 있으며 수용상(aqueous phase)과 유기상(organic phase) 모두에 적용 가능한 측정방법이다.

[0057] 7 mM ABTS 용액에 과황화칼륨(potassium persulfate)이 2.45 mM 이 되도록 혼합한 후 암소에서 약 24시간 반응시키고ABTS⁺ solution을 시료와 혼합하여 암소에서 6분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 추출물 시료 처리군과 무처리군을 비교하여 상기 식 1을 이용한 계산을 통해 라디칼의 소거활성을 백분율(%)로

나타내었으며, 양성대조군으로 BHT를 사용하였다(표 2).

표 2

시료	ABTS ⁺ 소거(%)	항산화능 비교(%)
BHT	11	100
실시예 1	21	190
비교예 1	16	145

상기 표 2에 나타난 바와 같이, 실시예 1 및 비교예 1 은 모두 ABTS⁺ 라디칼 소거활성을 나타냄을 알 수 있었다. 그러나, 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득된 실시예 1의 경우, 비교예 1 에 비해 뛰어난 항산화 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

실험예 2. 미백 개선 효과 확인

2-1. 티로시나아제(Tyrosinase) 저해 활성 확인

아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물의 미백 개선 효과를 확인하기 위하여 멜라닌을 형성하는데 효소로 쓰이는 티로시나아제의 저해 활성을 확인하였다.

구체적으로, corning flat 96 웰(well) 플레이트에 0.1 M 인산버퍼(Phosphate buffer, pH 6.5)를 110 μ l 첨가 후 250mM 티로시나아제 10 μ l 첨가하고, 실시예 1및 비교예 1 시료를 각각30 μ l 씩 첨가한 후, 기질인 1.5mM L-tyrosine 20 μ l를 첨가하여 37℃ 인큐베이터에서 20분간 반응시켰다. 이후, 분광분석기(Fluorescent microplate reader)를 이용하여 490nm 에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로 알부틴(Sigma, USA)을 정제수에 녹여서 사용하였다. 티로시나아제 저해 활성은 하기의 식을 이용하여 계산하였으며, 그 결과를 표 3에 나타내었다.

[식 2]

티로시나아제 저해 활성(%) = [1 - (실시예 또는 비교예 시료 처리군의 흡광도/ 시료 무처리군의 흡광도)] X 100

표 3

티로시나아제 저해활성(%)					
농도(ug/ml)	0	50	100	250	500
실시예 1	0	7.1	21.56	48.14	71.81
비교예 1	0	4.1	13.7	23.6	55.35
알부틴	0	2.25	10.11	25.12	51.23

상기 표 3에 나타난 바와 같이, 실시예 1 적용시 비교예 1 또는 양성 대조군에 비해 현저히 우수한 티로시나아제 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 특히, 처리 농도 50 내지 500 ug/ml 전체에서 실시예 1의 티로시나아제 저해 활성이 전체적으로 높이 나타났는 바, 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물의 미백 효과가 우수함을 확인하였다.

2-2. 멜라닌 생합성 저해 활성 확인

멜라닌 생합성 저해 측정은 DMEM 배지로 배양된 멜라노마 세포를 100mm culture dish에 2 $\times$ 10⁶ cell/dish가 되도록 분주하고 24시간 배양 후 실시예 1및 비교예 1 시료를 농도별로 2mL 씩 첨가하였다. 48시간 후에 인산완충액(pH 7.4)으로 세척하였다. 그 다음 0.25M trypsin EDTA 용액으로 세포를 탈착한 후 수확한 세포를 1 $\times$ 10⁶ 세포 당 1mL의 5% TCA로 처리하고, 2,500rpm으로 2회 원심분리한 후 분리된 멜라닌을 인산완충액으로 세척한 뒤에 테르:에탄올(ether:ethanol) (1:3) 1mL를 가하여 2회 원심분리한 후 ether 1mL로 세척 건조시켰다. 건조된 멜라닌에 1N NaOH를 1mL 가하여 80℃에서 1시간 반응시킨 후 분광 광도계 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 생합성 저해는 하기 식 3을 이용하여 시료 처리군과 무처리군의 흡광도를 이용하여 저해율(%)을 측정하였으며 그 결과를 표 4에 나타내었다. 양성 대조군으로 알부틴(Sigma, USA)을 정제수에 녹여서 사용하였다.

[식 3]

[0071] 멜라닌 생합성 저해 활성(%) = [1 - (실시에 또는 비교예 시료 처리군의 흡광도/ 시료 무처리군의 흡광도)] X 100

표 4

[0072]

멜라닌 생합성 저해활성(%)					
농도(ug/ml)	0	50	100	250	500
실시에 1	0	15.1	42.25	79.3	97.1
비교예 1	0	9.26	30.12	58.36	72.5
알부틴	0	11.31	31.79	69.25	80.3

[0073]

상기 표 4에 나타난 바와 같이, 실시에 1 적용시 비교예 1 또는 양성 대조군에 비해 현저히 우수한 멜라닌 생합성 저해 활성을 나타내는 것으로 확인되었다. 특히, 처리 농도 50 내지 500 ug/ml 전체에서 실시에 1의 멜라닌 생합성 저해 활성이 전체적으로 높이 나타났는 바, 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물의 미백 효과가 우수함을 확인하였다.

[0074]

실험예 3. 항염증 활성 평가

[0075]

LPS 로 RAW 264.7 cell을 자극한 경우(LPS(+)), 그렇지 않은 경우(LPS(-))를 각각 대조군으로 하여 항염증 효과를 확인하였다.

[0076]

3-1. 일산화질소(NO) 생성 억제 확인

[0077]

NO생성량 측정은 세포 배양액 내의 nitrite 농도를 그리스 시약(Griess reagent)을 이용하였다. RAW 264.7세포를 12 웰 플레이트에 세포수가 1×10^5 cells/well이 되도록 분주하고 80% confluence로 배양하였다. 그 후 실시에 1 및 비교예 1의 추출물을 각각 처리하고, LPS(100 ng/mL)로 24시간 동안 NO 생성을 유도한 뒤 배양 상등액과 그리스 시약을 1:1로 혼합하여 ELISA reader를 사용하여 540 nm에서 NO 생성량을 측정하였다. Sodium Nitrite(NaNO_2)를 사용하여 standard curve를 작성한 후 NO 측정에 사용하였다. NO 생성량을 백분율로 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

[0078]

	시료 구분	시료 처리 농도 (ug/ml)	NO 생성량(%)
LPS(-)	-	0	23
LPS(+)	-	0	100
	실시에 1	50	89
		100	73
		250	41
		500	28
	비교예 1	50	90
		100	81
		250	65
		500	43
	2-amino-4-picoline (양성 대조군)	10uM	29.3

[0079]

상기 표 5에 나타난 바와 같이, 실시에 1을 처리한 경우 비교예 1을 처리한 경우에 비하여 NO 생성이 감소됨을 확인하였다. 이로부터 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물의 염증 억제 활성이 우수함을 확인하였다.

[0080]

3-2. 세포 배양액 내의 사이토카인(cytokine) 측정

[0081]

실시에 및 비교예 1 추출물의 처리에 따른 염증성 매개인자인 사이토카인의 저해 활성을 평가하였다. 구체적으로, RAW 264.7 세포를 1×10^6 cells/mL의 농도로 조정된 뒤 96 웰(well) 플레이트에 200 μL 씩 분주하고 배양기에서 안정화시킨 다음, 12시간 후 배양배지를 제거하고 새로운 배지 160 μL 에 분주한 뒤 5 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 실시에 1 및 비교예 1 시료를 각각 20 μL 씩 첨가하여 30분 동안 반응시켰다. 음성 대조군으로, 상기 시료 대신 증류수를 처리하였다.

[0082] 이후 1 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 LPS를 20 μL 처리하여 24시간 동안 재배양시키고, 상등액으로부터 유리되는 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β 및 interleukin-6(IL-6)의 함량을 ELISA법(BD Bioscience, East Rutherford, NJ, USA) 또는 Griess reagent를 이용하여 측정하였다. 양성 대조군의 경우, 상기 시료를 처리하지 않고 LPS만 처리하였다. 이후 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 생성량을 백분율로 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

	시료 구분	시료 처리 농도 ($\mu\text{g/mL}$)	TNF- α (%)	IL-6(%)	IL-1 β (%)
LPS(-)	-	0	11.1	10.5	7.3
LPS(+)	-	0	100	100	100
	실시예 1	50	86.6	71.2	65.1
		100	61.4	54.0	37.9
		250	31.3	25.0	11.1
		500	24.7	10.3	5.3
	비교예 1	50	90.5	89.8	87.6
		100	72.3	61.5	56.2
		250	41.1	34.8	35.4
		500	30.9	15.2	10.1
	덱사메타손 (양성 대조군)	20 μM	84.6	66.6	9.0

[0084] 상기 표 6에 나타난 바와 같이, 실시예 1을 처리한 경우 비교예 1을 처리한 경우에 비하여 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 생성 억제 효과가 우수함을 확인하였으며, 이로부터 아쿠아포닉스 재배를 통해 수득한 병풀 추출물의 염증 억제 활성이 우수함을 확인하였다.

[0085] **제조예 1. 본 발명의 아쿠아포닉스 재배 병풀 추출물을 함유하는 에센스 제조**

[0086] 하기의 표 7과 같이 에센스 제형의 화장료 조성물을 제조하였다(단위: 중량%).

표 7

원료명	함량(중량%)
세테아릴알코올	2
세테아릴글루코사이드	1
호호바씨오일	5
실리카	0.5
글리세린	10
아쿠아포닉스 재배 병풀 추출물	5
정제수	To 100

[0088] **제조예 2. 본 발명의 혼합물을 함유하는 크림 제조**

[0089] 하기의 표 8과 같이 크림 제형의 화장료 조성물을 제조하였다(단위: 중량%).

표 8

[0090]

조성물	함량(중량%)
아쿠아포닉스 재배 병풀 추출물	5
스테아린산	15
에탄올	1
수산화칼륨	0.7
글리세린	5
프로필렌글리콜	3
방부제	적량
향	적량
정제수	to 100

[0092]

전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[0093]

본 발명의 범위는 후술하는 청구범위에 의하여 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

[0094]

본 발명은 제주국제자유도시개발센터가 지원하는 2018년 제주첨단과학기술단지 BT기업 원료작물 재배연구 지원 사업의 수행 결과이다.