



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년03월25일
(11) 등록번호 10-1370990
(24) 등록일자 2014년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0023754
(22) 출원일자 2012년03월08일
심사청구일자 2012년03월08일
(65) 공개번호 10-2013-0102712
(43) 공개일자 2013년09월23일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020090087223 A

(73) 특허권자
주식회사 유로코스텍
충청남도 홍성군 서부면 와룡로126번길 90
(72) 발명자
이충우
경기도 화성시 동탄중앙로 200, 메타폴리스
D-6402 (반송동)
양수옥
경기 안산시 상록구 반석로 8, 17동 407호 (본오
동, 한양아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태동

전체 청구항 수 : 총 4 항

심사관 : 서대중

(54) 발명의 명칭 **따나카 발효 추출물을 이용한 열노화 방지 및 피부 개선 조성물**

(57) 요약

본 발명은 따나카(Thanakha) 발효추출물의 유효성분을 함유하는, 피부 개선 및 열노화방지용 화장품 조성물에 관한 것으로, 보다 자세하게는 따나카의 발효추출물 및 그것의 유효성분을 함유하는 모공수축 작용 및 피지분비억제를 통한 피부개선효과, 피부냉각효과, 미백, 열노화 방지 효과를 가지는 조성물에 관한 것이다. 따나카 발효추출물 및 이의 유효성분을 함유하는 화장품 조성물은 피부 자극 유발 가능성이 현저하게 낮으며, 화장품 제형에 미치는 영향 또한 매우 적다.

[색 인 어]

따나카 발효추출물, 모공수축 작용, 피지분비억제, 피부냉각효과, 미백, 열노화 방지

(72) 발명자

유병국

경기 수원시 권선구 정조로413번길 43, 나동 201호
(장지동, 건일빌라)

강영기

충청남도 예산군 예산읍 벚꽃로 175-17

김미애

충청남도 태안군 태안읍 송암로 30-5

특허청구의 범위

청구항 1

따나카(Thanakha, 학명: *Limonia Acidissima*) 발효추출물을 함유한 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 따나카 발효추출물의 건조 중량을 기준으로 조성물 전체에 대해 0.001 내지 95 중량% 를 함유하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 2항에 있어서, 따나카 추출물에 고초균, 유산균 및 효모를 통한 발효공정으로 발효시킨 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 4

제 1항 또는 2항에 있어서, 따나카 발효추출물을 특징으로 하는 상기 발효추출물 또는 추출 후 감압농축 및 동결건조된 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 따나카 발효 추출물 및 그것의 유효성분을 함유하는 열 노화 방지용 조성물에 관한 것으로, 보다 자세하게는, 모공수축 작용 및 피지분비억제를 통한 피부개선, 피부 냉각효과에 의한 붉은기 완화, 미백, 열에 의한 피부노화 방지 및 개선 효과가 있는 화장료 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 피부노화는 크게 내인성 노화와 광노화로 나눌 수 있다. 내인성 노화는 세월이 흘러감에 따라 피할 수 없는 노화현상을 말하며, 광노화는 태양광, 추위, 바람, 환경오염물 등과 같은 환경적 요소에 의해 오랫동안 노출된 얼굴, 손등, 목뒤 등의 피부에서 관찰되는 노화현상을 말한다. 광노화 현상은 내인성 노화에 비해 거친주름, 색소침착, 피부탄력 손실, 피부암 등과 깊은 연관이 있지만, 자외선의 노출을 피하면 이를 예방할 수 있다. 최근에는 태양에너지의 60% 를 구성하고 있는 적외선이 피부온도를 증가시켜 피부노화를 촉진시키는 환경인자들 중 하나임이 밝혀지면서, 자외선뿐 아니라 적외선으로 인한 열노화도 피부 노화에 상당히 위협적이 되었다.

[0003] 이산화탄소 온실가스 배출량과 오존량 증가 등으로 인한 기온변화 현상에 의해 피부의 온도가 상승하여 이른바 피부 온난화상태가 되면, 콜라겐이 줄어들면서 진피층이 손상되고 그 결과 피부가 칙칙하게 변하고 피부탄력이 저하되면서 주름이 생성된다. 피부 온도가 상승하면 자연방어기제로써, 피부세포내 열수용체가 증가하고, 발생된 열이 혈액성분을 제외한 피부내 진액을 마르게 한다. 이는 피부로의 영양전달을 어렵게 하고 피부 건조를 가속화하여 노화를 촉진시킨다. 또한, 자외선은 진피의 윗부분까지만 투과하지만, 적외선(heat) 중 근적외선(Infrared A, 파장범위 760~1440nm)의 65% 근적외선은 피부의 피하조직층까지 깊숙이 전달될 수 있다. 따라서, 반복적으로 열에너지에 노출된 경우 피부온도를 상승시키고 피부에 깊은 주름살을 생성하게 되어 노화현상이 진

행된다.

- [0004] 파나카(Thanakha, 학명: *Limonia Acidissima*)는 미얀마, 태국, 히말라야 산맥, 인도 등의 지역에서 자라지만, 그 수량이 매우 적고 미얀마 슈에보, 버꾸루, 산 지역 등이 주요 서식지로 알려져 있다. 파나카 나무는 강우량이 풍부한 곳에서 잘 자라며, 건조하고 바위가 많은 토질과 모래와 홍토가 섞여있는 곳에서 번식력이 우수하며, 나무의 재질은 돌과 같이 딱딱하지만 껍질은 얇으며 부드러운 특징을 가지고 있다. 파나카 나무의 지름이 3인치 정도 자라는 데에는 토양과 기후조건에 따라 3년에서 10년 정도의 기간이 소요되며, 화장품이나 의약품으로 이용하려면 최소 10년 이상 자란 나무야만이 그 가치로서 인정받을 수 있다.
- [0005] 파나카(Thanakha)는 무더운 기후의 지역적 특색을 띄고 있으며 미얀마인들이 전통적으로 사용해온 미용 필수품으로써, 주민들의 삶과 아주 밀접하게 연결되어 있으며 본래 동남아시아와 버마에서 처음 전해졌다. 미얀마인들은 약 2000년 전부터 파나카 나무를 화장과 민간치료요법에 사용해왔으며, 두꺼운 하얀 반죽은 행사가 있을 때 화장용으로 사용되었고, 평상시에는 햇빛으로부터 피부를 보호하기 위해 발랐다. 파나카 나무를 이용한 전통 화장법을 통해 몸에 오는 더위를 줄여주어 무더운 기후 환경에서 열병을 예방해주고, 벌레 등에 물리는 것을 방지해주며, 강한 태양열로부터 피부를 보호해주는 우수한 효과를 가지고 있다고 믿어 왔다. 파나카 나무를 이용하는 화장법이 그들의 아름다움을 유지하는데 큰 도움이 되었으며, 화장품 외에도 의약품으로도 많이 이용되어져 왔다. 미얀마인들은 파나카 나무껍질 부분을 물과 함께 잘 갈아서 얼굴뿐만 아니라 외부 햇빛에 노출되는 피부 전신에도 파나카 순수 파우더를 즐겨 바르고 있다. 파나카는 피부를 청량감 있고 시원하게 하는 냉각효과와 더운 나라 기후 특성에 맞게 땀구멍을 수축시키는 모공수축 효과가 우수하고, 피부를 부드럽게 유지해주는 역할과 여드름, 주근깨, 잡티제거의 피부트러블 회복 효능도 뛰어나다. 전통적으로 전해오는 민간요법에 의하면 피부 미용 효과뿐만 아니라 생체 내 혈류를 맑게 해주는 효과가 있고, 천연두, 홍역, 간질, 말라리아, 열병 등에 탁월한 효능을 지닌다. 파나카 나무의 열매는 강장제로 많이 이용되고, 천연두 치료 및 해독제 역할을 하며, 잇은 심장병과 감기에 효과가 있고, 뿌리는 복통에 효능이 있다.
- [0006] 서양에서는 클라란스 연구원들이 최초로 파나카 가루에 관심을 보이면서, 피부를 부드럽고 청결감 있게 한다는 발견과 함께 처음으로 파나카 가루를 스킨케어에 사용했고, *Limonia Acidissima*, Woodapple 이라는 이름으로 알려져 있다.
- [0007] 오늘날 극심한 기후변동으로 강한 자외선과 태양열로 인한 피부온도 상승을 차단할수 있는 소재 연구가 그동안 소극적이었던 것을 감안했을 때, 본 발명의 파나카 나무는 열노화 방지 및 개선 효과가 있는 탁월한 조성물이 될 수 있다. 여러 가지 우수한 효능을 가지고 있는 파나카 나무를 어디서나 손쉽게 이용할 수 있도록 파나카가 가지고 있는 유효 성분을 현대과학과 접목시켜 각종 의약품 소재 및 화장품료로서 그 영역을 확대시킬 필요가 있으며, 마스크 팩, 자외선 차단제(산란제 및 흡수제), 세안제, 파우더, 스킨, 파운데이션, BB크림, 로션, 향수 등으로 다양하게 제품화 할 수 있다.
- [0008] 파나카에 대한 특허로는 파나카 나무 추출물을 함유하는 모공수축용 화장료 조성물에 관한 국내특허와 파나카의 자외선 방어, 여드름, 땀띠 등의 피부병에 관한 해외특허가 유일할 정도로 아직 도입 단계이고, 현재까지 발효공정을 통해 유효성분을 극대화 시킬 수 있는 파나카의 발효추출물에 관한 연구는 없는 실정이다.
- [0009] 발효는 미생물이 자신이 가지고 있는 효소를 이용해 유기물을 분해 또는 합성시키는 과정을 의미하며, 대표적인 발효 미생물로는 고초균, 유산균, 누룩균, 효모, 곰팡이, 초산균 등이 있다. 발효액 추출물은 다른 어떠한 용매를 사용하지 않고, 발효와 숙성과정을 거쳐 천연소재가 함유하고 있는 당성분을 알콜로 변화시키고, 천연소재 속에 들어있는 플라보노이드, 비타민C, 비타민P, 아미노산, 카테킨 등의 유효성분에 대한 추출효율을 높임으로써, 천연소재의 효능을 높이고, 안전성 문제를 해결하기 위한 시도에 있어서 중요한 의미를 갖는다. 고초균, 유산균 및 효모 등의 발효공정에 의해 흡수가 용이한 저분자 물질로의 전환, 불안정하거나 불활성인 형태에서 활성 형태로 전환되는 과정에서 천연소재의 효능을 극대화 시킬 뿐 아니라 추출된 이후에 발생할 수 있는 자극적이거나 독성이 나타날 수 있는 천연소재를 안정화 시키거나 독성을 줄임으로써, 효과적으로 안정한 유도체로 전환시킬 수 있다.
- [0010] 이에 본 발명은 파나카 발효추출물이 가지는 생리활성물질 탐색하고, 발효공정을 통한 파나카 발효추출물의 유효성분의 함량을 증진시킨 화장료 조성물에 관한 것으로서, 파나카 발효추출물 및 이를 유효성분으로 함유하는 모공수축 작용 및 피지분비억제를 통한 피부개선효과, 피부냉각효과, 미백, 열노화 방지 및 개선용 화장료 조성물을 개발하게 되었다.

대한민국 공개특허공보 제2009-0087223호, 발명의 명칭; 타나까 나무 추출물을 함유하는 모공 수축용 화장료 조

성물.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0011] 본 발명의 목적은 파나카(*Thanakha*) 발효추출물 및 이를 유효성분으로 함유하는 열 노화 방지 및 개선용의 피부 개선 조성물을 제공하는 것으로서, 고초균, 유산균, 효모 중 하나 또는 둘 이상을 통한 발효공정에 의한 발효추출물 및 이를 유효성분으로 함유하는 피부의 열 노화 개선 및 완화용 조성물 개발에 있다. 보다 상세하게는 여러 혼합균주를 활용한 발효공정을 이용하여, 파나카의 발효추출물의 효능을 극대화시킬 뿐 아니라 안정화시키거나 독성을 줄임으로써, 모공수축 작용 및 피지분비억제를 통한 피부개선효과, 피부냉각효과, 미백, 열노화 방지 및 개선용 화장품 조성물 제공을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

- [0012] 본 발명에 따른 파나카 추출의 방법은, 발효 과정을 수반하지 않은 파나카 일반추출법과 고초균, 유산균, 효모를 혼합한 발효과정을 거친 파나카 발효추출법을 사용하였다. 추출방법은 (a) 파나카에 80℃로 가온된 물을 혼합한 후, 교반하는 단계; (b) 상온까지 자연 냉각시키는 단계를 포함한다. 상기 방법으로 얻어진 파나카 일반추출물은 발효공정을 통하여 파나카 발효추출물을 취득할 수 있다. 보다 자세하게, 발효방법은 고초균, 유산균, 효모를 이용하여 파나카를 혼합 발효시키는 공정을 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 방법으로 얻어진 발효물은 숙성하는 단계를 거칠 수 있으며, 이로부터 얻은 발효물 또는 그 발효물을 다시 일부 또는 전부 감압농축 및 동결건조하여 얻은 농축물, 또는 발효물 및 농축액 중에 함유되고 있는 주 효과를 발휘하는 화학물질 그 자체를 포함한다.
- [0013] 상기의 발효공정은 고초균, 유산균, 효모를 혼합 발효한 것을 특징으로 한다. 배양액을 pH 4.0-5.0 내지 5.0-7.5로 조정하고, 미리 배양된 고초균, 유산균, 효모를 각각 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL 농도가 되도록 첨가한 후, 25℃ 내지 50℃ 온도에서 18시간 내지 120시간 배양하였다.
- [0014] 본 발명에 따른 화장품 조성물은 상기의 추출물 및 발효물 외에 본 발명이 목적으로 하는 주 효과를 손상시키지 않고 주 효과에 상승효과를 줄 수 있는 다른 성분 등을 함유하는 것도 무방하다. 상기 파나카 추출물 및 발효추출물은 조성물 전체에 대하여 동결건조 중량 기준 0.001 내지 95 중량%로 조성물에 존재할 수 있다. 이하 본 발명을 하기 위해 실시예와 비교예 및 실험예를 통하여 상세하게 설명하나, 이는 본 발명의 이해를 돕기 위하여 제시된 것일 뿐, 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서는 파나카 추출물 및 발효추출물을 함유하는 조성물의 모공수축 작용 및 피지분비억제를 통한 피부개선효과, 피부냉각효과, 미백, 열노화 방지 및 개선 효과를 확인하였으며, 피지분비 억제 및 모공수축 평가, 티로시나아제 활성 저해 및 멜라닌 생합성 억제 실험, 피부 온도 하강 효과(냉감 효과) 실험, 인체 피부 자극시험 평가를 통해 목적을 달성하였다.

발명의 효과

- [0015] 상기 설명과 같이, 본 발명에 따른 파나카 발효추출물은 파나카에 고초균, 유산균, 효모를 혼합한 발효 방법을 이용한다는 특징이 있으며, 이는 활성 유효성분을 파괴하지 않으면서, 잡균에 의한 오염 및 좋지 않은 발효취를 효과적으로 줄일 수 있다. 상기 방법으로 제조된 파나카 발효추출물을 함유한 화장품 조성물은 모공수축 작용 및 피지분비억제를 통한 피부개선효과, 피부냉각효과, 미백, 열노화 방지 및 개선 효과가 우수한 것으로 확인되어 열에 의한 피부노화 방지 및 개선, 피지분비 억제 및 피부 모공수축 작용을 목적으로 하는 화장품 분야 등에서 다양하게 활용이 가능하다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] <실시예 1> 파나카 혼합 발효추출물의 제조
- [0017] 파나카나무를 정제수로 세척한 뒤 건조시켜 분말화한 후, 파나카 분말에 10배 양의 80℃ 증류수를 혼합 및 교반하여 용해한 후, 얻어진 추출물을 상온까지 자연 냉각시킨다. 배양액 pH를 4.0-5.0 내지 5.0-7.5로 조정하고, 미리 배양된 고초균, 유산균, 효모를 각각 $10^7 \sim 10^8$ CFU/mL 농도가 되도록 첨가한 후, 25℃ 내지 50℃ 온도에서 18시간 내지 120시간 배양하였다. 발효를 종료하기 위해 80℃에서 10분간 열을 가하여 고초균, 유산균, 효모의 기능상실을 유도하였다. 원심분리기를 이용하여 침전물을 제거하고 상등액을 채취하거나, 여과된 상등액을 사용

하였다.

[0018] <비교예 1> 파나카 일반추출물의 제조

[0019] 대조군으로 사용된 파나카 일반추출물은 발효 공정 없이 동일한 추출 공정을 통해 수득하였다. 즉, 파나카를 정제수로 세척한 뒤 건조시켜 분말화한 후, 파나카 파우더 10배 양의 80℃ 증류수를 혼합 및 교반하여 용해한 후, 얻어진 추출물을 상온까지 자연 냉각시킨다. 원심분리기를 이용하여 침전물을 제거하고 상등액을 채취하거나 여과된 상등액을 파나카 일반추출물로 사용하였다.

[0020] <실험예 1> 항산화 활성

[0021] 파나카 발효추출물의 항산화 활성을 측정하기 위하여, DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) 라디칼 소거능을 사용하였다.

[0022] 500 μ M DPPH(2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) 용액을 에칠 알콜에 녹여 여과한 후 즉시 사용하였다. 제조된 DPPH 용액과 시료 용액을 1:1로 혼합하여 격렬하게 섞은 후, 상온 암소에 20 분간 방치하였다. Microplate reader (Chromate, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정한 후, 하기 수학적 식 1를 통해 DPPH 라디칼 제거율(%)을 산출하였다. 이때 라디칼을 제거하는 양성 대조군(positive control)으로 1 mM의 아스코르브산(ascorbic acid)을 사용하였다.

[0023] 표 1 에 나타난 바와 같이 발효과정을 거친 실시예 1의 경우 발효과정을 거치지 않은 비교예 1의 일반추출물 보다 항산화능이 높음을 알 수 있었다.

[0024] 수학적 식 1

[0025] DPPH 라디칼 제거율(scavenging, %) = $(A - B) / A \times 100$

[0026] 상기 식에서, A는 공시험액에서 얻은 흡광도이고, B는 검액에서 얻은 흡광도임

표 1

[0027] 파나카 일반추출물 및 발효추출물의 항산화 활성

시료명	처리농도(%)	항산화효과(%)
실시예 1	0.5	80
비교예 1	0.5	65
Ascorbic acid	0.5	82

[0028] <실험예 2> 티로시나아제 활성 저해 평가

[0029] 본 실험에서 기질로 인산나트륨 완충액 (pH 6.8)에 용해한 1.5 mM 티로신(Sigma, USA) 30 μ l를 사용하였다. 상기 발명의 시료는 0.05M 인산나트륨 완충용액 (pH 6.8)으로 희석하여 농도(0.5%, 1.0%)별로 제조하여 사용하였다. 티로신 30 μ l에 시료를 200 μ l씩 첨가하고, 티로시나아제 20 μ l를 첨가한 후 37℃에서 20분 동안 반응시킨 다음, 492nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0030] 수학적 식 2

[0031] 활성 저해도(%) = $[1 - \text{비교군 흡광도} / \text{대조군 흡광도}] \times 100$

[0032] 상기 수학적 식 2 에 의하여 티로시나아제의 활성 저해도 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2

[0033]

따나카 일반추출물 및 발효추출물의 티로시나아제 활성 저해 측정

시험 물질농도 (%)	멜라닌 생성 억제율 (%)
따나카 발효추출물 0.5%	69
따나카 발효추출물 1.0%	87
따나카 추출물 0.5%	35
따나카 추출물 1.0%	56

[0034]

<실험예 3> 멜라닌 생합성 억제 실험

[0035]

B-16 세포(쥐 멜라노마 세포, 한국세포주은행)를 6-Well Plate에 1×10^5 cell/well이 되도록 접종한 후에 24시간 배양하였다. 각 Well에 실시예 1과 비교예 1 각각을 0.5%, 1% 처리하고 4일간 배양 후, 각 Well의 배양액을 원심분리 하였다. 분리된 세포를 DMSO(디옥실선풀사이드)에 용해한 1N NaOH 용액 500ul로 용해하여 10분간 85℃ 항온조(Water Bath)에서 가열하였다. 수거한 상등액을 492nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 결과는 표 3 에 기재하였다.

⚡ 3

[0036]

멜라닌 생합성 억제 평가

시험 물질농도 (%)	멜라닌 생성 억제율 (%)
파나카 발효추출액 0.5%	50.2
파나카 발효추출액 1.0%	88.5
파나카 추출액 0.5%	34.5
파나카 추출액 1.0%	67.9

[0037]

상기 표 3에 나타난 결과와 같이, 따나카 발효추출물(실시예 1)이 따나카 일반추출물에 비해 멜라닌 생성을 억제 효과가 우수함을 확인하였다.

[0038]

<실험예 4> 모공수축 효능 평가

[0039]

4-1. 모공수축 효과 I

[0040]

상기 실시예 1과 비교예 1에서 제조한 파나카 발효추출물과 파나카 일반추출물에 대하여 보빈(bovine) 헤모글로빈 단백질을 이용하여 모공수축 효과를 실시하였다. PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)를 헤모글로빈과 1:1로 혼합한 용액(1mg/ml)을 제조하고, 이 용액과 시료를 농도별로 완충용액에 희석한 두 액을 1:1로 30초간 진탕 혼합한 후 30분 동안 방치하였으며, 상등액을 채취하여 407 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이때 반응액 중에 함유시킨 시료의 최종농도는 0.1%, 1%, 2%, 5% 로 조정하였으며, 대조군으로는 시료 대신 시료 용매를 사용하였다. 헤모글로빈의 침전량을 측정하여 수축효과를 평가하였으며, 그 결과는 표 4에 나타내었다. 탁도가 높을수록, 헤모글로빈의 침전(%)이 높을수록 모공수축 효과가 우수하다는 것이다.

丑 4

[0041]

헤모글로빈 단백질을 이용한 모공수축 효과

반응액에 함유된 시료의 최종농도(%)	헤모글로빈의 침전(%)	
	실시예 1	비교예 1
0	0.4	
0.1	23.5	18.5
1	56.3	41.8
2	75.4	64.5
5	88.1	75.6

[0042]

상기 표 4의 결과로부터 알 수 있듯이 떠나카 발효추출물의 농도가 증가할수록 헤모글로빈의 침전이 증가하는

것을 알 수 있다. 따라서, 단백질 응고효과를 통하여 파나카 일반추출물에 비해 파나카 발효추출물의 모공수축 효과가 뛰어난을 알 수 있다.

[0043] 4-2. 모공수축 효과 II

[0044] 피부를 대신할 단백질로서 알부민을 사용하여 모공수축 효과를 실시하였다. 0.3%알부민을 50mM 구연산 완충용액 (pH 4.5)에 용해한 후, 0.3% 알부민 2ml에 각각의 시료 1ml을 가하였고, 대조군은 시료대신 시료 용매 1ml을 가하였다. 5분 동안 교반후, 650 nm에서 흡광도를 측정하였고, 그 결과는 표 5에 나타내었다. 흡광도의 값 높을수록 모공수축 기능이 우수하다는 것을 나타내는 것이다.

표 5

알부민 단백질을 이용한 모공수축 효과

반응액에 함유된 시료의 최종농도(%)	흡광도	
	실시에 1	비교예 1
0	0.007	
0.1	0.7	0.5
1	1.2	1.0
2	1.8	1.3
5	2.8	1.9

[0046] <실험예 5> 에멀전 베이스 제조

[0047] 위 실시예 1 및 비교예 1과 같이 파나카 발효추출물과 파나카 일반추출물을 함유한 화장료를 포함한 에멀전 베이스를 제조하였다. 본 실험에 사용된 화장료는 유화형 화장액 형태이고, 그 조성은 표에 나타낸 바와 같다. 우선 표에 기록되어 있는 파나카 발효추출물 및 파나카 일반추출물과 기타 함량을 중량별로 첨가한 후 (가)상을 가열하여 90℃로 유지하고 정제수(30%)를 90까지 가열한 후 (가)수상 중에 천천히 첨가하여 호모믹서로 균일하게 유화한다. 그 후 실온까지 냉각하고 남은 (나)상의 정제수를 첨가하고 균일하게 교반하여 화장액을 제조하였다.

표 6

에멀전 베이스 제조

구분	성분	중량%
가	파나카 발효추출물 및 파나카 일반추출물	20
	글리세린	3.00
	디소듐이디티에이	0.02
	폴리글리세릴-3-메틸글루코스 디스테아레이트	1.5
	세테아릴알코올	0.5
	카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	7.0
	폴리아크릴아마이드 & C13-14이소파라핀 & 라우레스-7	0.60
	방부제	적량
나	정제수	to 100

[0049] <실험예 6> 피지분비 억제효능

[0050] 본 발명에 따른 피지분비 억제효능에 대한 검사를 측정하기 위하여, 지성 피부의 건강한 10~30대 피험자 30명을 대상으로 각 10명씩 3그룹으로 나누어, 실험예 5에서 제조된 화장액을 이용하여 아침과 저녁에 1일 2회씩 얼굴에 도포하게 한 후, 피부 유분 측정기(Sebum meter C+K electronic GmbH, Germany)를 이용하여 피부의 피지 분비량을 측정하였다. 이때, 대조군은 파나카 발효추출물 및 파나카 일반추출물을 함유하지 않은 실험예 5의 화장액을 의미한다. 실험은 25℃, 상대습도 45%의 항온 항습 조건에서 이루어졌다. 지성피부의 경우 측정값이 220 μ g/cm² 이상이고, 정상피부는 100~200 μ g/cm² 이다. 표 7에서 알 수 있듯이, 실시예 1 및 비교예 1에서 피지 억제효과가 우수하게 나타났으며, 실시예에서 그 효과는 더욱 우수한 것으로 확인되었다.

표 7

[0051] 피지분지 억제효과

시료명	경과일수(지성피부 평균 : 220ug/cm ²)			
	도포전	도포 10일 후	도포 20일 후	도포 30일 후
대조군	242	240	239	241
실시예 1	242	215	198	186
비교예 1	241	227	223	214

[0052] <실험예 7> 피부온도 하강 효과 실험(냉감효과)

[0053] 7-1. 냉각효과 측정 I

[0054] 본 발명의 따나카 발효추출물 및 따나카 일반추출물 성분이 갖는 냉각효과를 직접적으로 측정하기 위해, 따나카 발효추출물 및 따나카 일반추출물과 물이 8:2(v/v)로 혼합된 수용액에 온도계를 이용하여 시간에 따른 온도변화를 측정하는 실험을 수행하였다. 대조군으로는 물을 사용하였다. 이때, 각 마스크 시트에 증류수 30ml(온도: 22℃)를 뿌려준 후 시간에 따른 온도변화를 측정하였으며, 주위 환경의 영향을 최소화하기 위해 온도계로 측정하는 부분은 알루미늄 호일과 단열 스티로폼을 사용하여 외부와 차단을 시켜주었다. 그 결과 따나카 발효추출물이 따나카 일반추출물에 비해 온도 냉각효과가 탁월함을 알 수 있었다.

[0055] 대조군의 경우 10분 정도 결과 후에 실온의 90% 수준으로 온도가 회복되는 모습을 보였으나, 본 발명에 의한 실시예 1 및 비교예 1은 실온으로 회복되는데 약 30분 이상의 시간이 걸림을 확인할 수 있었으며, 최저 온도가 좀 더 오래 유지되었고 그 후 서서히 실온 수준으로 온도가 상승하였다. 이를 통해 따나카 발효추출물은 피부의 열을 완화시키고 시원함 및 진정효과를 충분히 제공할 수 있음이 확인되었다.

표 8

[0056] 냉각효과 측정

시간	온도		
	실시예 1	비교예 2	대조군
0분(실험전)	22	22	22
0.5분(30초)	18	18	21.5
1분	17	17	21.5
2분	16.5	17	21
3분	15.5	16.5	20.5
5분	15	16	20
7분	15	16	20
10분	15.4	16.7	20.5
15분	16	17.5	21
20분	17	18.2	21.7
30분	19	20	22

[0057] 7-2. 피부냉각효과 측정 II

[0058] 본 발명에 따른 피부냉각 효과에 대한 검사를 측정하기 위하여, 건강한 10~30대 피험자 30명을 대상으로, 실험예 5에서 제조된 화장액을 이용하여 얼굴에 고르게 얼굴에 도포하게한 후, 15분 후 피부온도 냉감효과를 온도계(Thermometer, Courage+khazaka electronic GmbH, Germany)를 이용하여 측정하였다.

표 9

[0059] 피부온도 하강 효과 측정

시료명	사용 전, 후 비교 값	
	사용 전	사용 후
실시 예 1	32.7	31.0
비교 예 1	32.8	31.8

[0060] <실험예 8> 인체 피부 자극시험 평가

[0061] 본 발명에 따른 화장품의 안전도를 평가하기 위해 인체 피부 자극시험 평가를 실시하였다. 시험평가는 인체의 피부 1차 자극 시험으로서 첩포시험(패치테스트)으로 판별하였다. 연구대상은 건강한 10~30대 피험자 30명을 대상으로 CTFA 가이드 라인(The Cosmetic Toiletry and Frangrance association, Safety testing guidelines)에 따라 실시하였다. 실험예 6 에서 제조된 화장액을 각각을 1g씩 적하 시킨 후, 시험 부위인 좌측 상완 내측에 첩포검사를 실시하였다. 첩포는 24시간 도포하며 첩포를 제거한 후는 마킹 펜(marking pen)으로 시험부위를 표시하며 24시간 간격으로 24시간, 48시간, 72시간 후에 각 시험 부위의 염증 및 피부반응을 관찰하여 국제 접촉 피부염 연구회(International Contact Dermatitis Research Group; ICDRG)의 규정에 따라 판정하도록 하였다(표 10, 11). 최종 판독 결과는 모두 음성반응을 보여 피부 안전성이 우수한 것으로 나타났다(표 12).

표 10

[0062] 피부 안전성 판독의 판정기준

반응	가중치	판정의 기준
-	0	무반응
±	0.5	희미한 홍반
+	1	경계가 뚜렷하나 약한 홍반, 부종 및 구진 형성
++	2	뚜렷한 홍반, 구진 및 수포 형성
+++	3	대수포 형성

표 11

[0063] 피부 반응도에 따른 평가 기준(계산값)

시험물질 (Sample)	판정기준			
	0.0~0.9	1.0~2.9	3.0~4.9	5.0이상
	무자극	경자극	중자극	강자극

표 12

[0064] 1차 자극 실험 결과

	실시예 1	비교 예 1
적용 농도(%)	as is	as is
의양성 반응(±)	-	-
약양성 반응(+)	-	-
접촉성 피부염 유발확률(%)	0.00	0.00

[0065] (-:무자극)

[0066] [수학식 3]

[0067] $\Sigma(\text{grade} \times \text{No. of responses})$

[0068] 피부반응도 = ----- x 100

[0069] 3(Maximum grade x n(No. of total subjects))

【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 4 첫째줄

【변경전】

상기 발효물

【변경후】

상기 발효추출물