



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년05월10일
(11) 등록번호 10-2249711
(24) 등록일자 2021년05월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 8/9789 (2017.01) A23L 29/00 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01) A61Q 19/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 8/9789 (2017.08)
A23L 29/06 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2018-0126646
(22) 출원일자 2018년10월23일
심사청구일자 2019년03월29일
(65) 공개번호 10-2020-0045748
(43) 공개일자 2020년05월06일
(56) 선행기술조사문헌
KR1020130079220 A*
KR1020150060004 A*
KR1020180008289 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
(주)아모레퍼시픽
서울특별시 용산구 한강대로 100(한강로2가)
(72) 발명자
이은정
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원
남기백
경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽기술연구원
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영철, 임희택, 김 순 영

전체 청구항 수 : 총 21 항

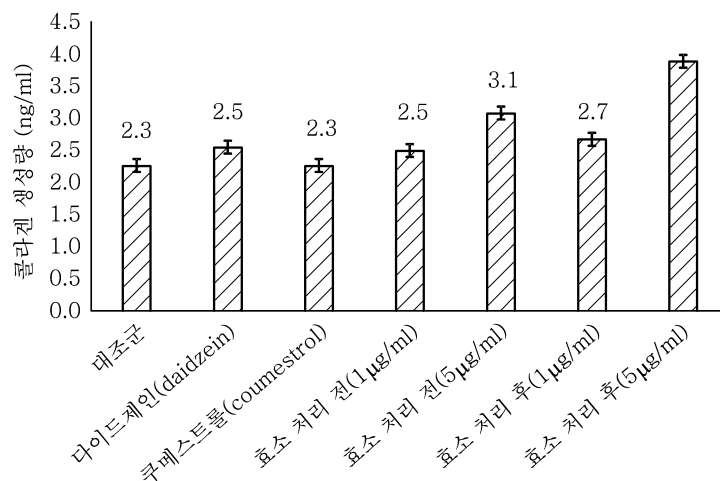
심사관 : 강신건

(54) 발명의 명칭 **콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물**

(57) 요약

본 발명은 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물로서, 상기 효소 처리 추출물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가한 것인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물을 개시한다. 구체적으로, 본 발명에 따른 조성물은, 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소를 처리하여 얻어진 쿠메스트롤을 고함량으로 함유하는 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하여 우수한 피부 탄력 증진 또는 피부 주름 개선 효과를 나타낼 수 있다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A23L 33/105 (2016.08)

A61Q 19/08 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/318 (2013.01)

A61K 2800/85 (2013.01)

(72) 발명자

강영규

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽
기술연구원

김동현

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽
기술연구원

김용진

경기도 용인시 기흥구 용구대로 1920 아모레퍼시픽
기술연구원

명세서

청구범위

청구항 1

콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물로서,

상기 효소 처리 추출물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가한 것이며, 상기 효소 처리 추출물 내 쿠메스트롤의 함량은 상기 효소 처리 추출물 1g 대비 20 내지 200mg인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 효소는 펙티나아제(pectinase) 또는 폴리갈락투로나제(polygalacturonase)인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 미생물은 아스페질러스 아쿨레아투스(*Aspergillus aculeatus*)인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 효소의 첨가량은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 100중량부 대비 0.8 내지 8중량부인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 효소의 첨가량은 효소 활성을 기준으로 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 1g 대비 2000 내지 5000 units인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 효소 처리 추출물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가하여 얻어진 반응물을 40 내지 50℃ 및 60 내지 100rpm의 조건에서 38 내지 58시간 동안 유지시킨 후 원심분리하여 회수된 침전물인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 콩과 식물은 대두, 납작콩, 서리태, 서목태, 흑태, 청태, 황태, 울타리콩, 적두, 거두 또는 신화콩 중에서 선택된 어느 하나인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물은,

상기 콩과 식물 배양근을 물, C1 내지 C6의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 혼합물의 알코올 농도는 60 내지 100%(w/v)인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 저급 알코올은 에탄올인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 12

제9항에 있어서,

상기 추출 시간은 20 내지 28시간인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물은,

콩과 식물 배양근을 생물반응기 내의 배지에 위치시켜 상기 생물반응기 내에서 공기공급량을 일정하게 유지하며 증식시킨 배양근의 추출물인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 생물반응기는 벌브형 기포 생물반응기(bulb type bubble bioreactor)인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 배지 내 질산암모늄(NH_4NO_3)의 농도는 650 내지 1500 mg/L이고, 염화칼슘($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)의 농도는 175 내지 400 mg/L이며, 황산마그네슘($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)의 농도는 145 내지 320 mg/L이고, 인산칼륨(KH_2PO_4)의 농도는 65 내지 150 mg/L이며, 질산칼륨(KNO_3)의 농도는 750 내지 1500 mg/L인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 배지는 IBA(indole-3-butyric acid) 및 탄소원이 첨가된 것인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 17

제13항에 있어서,

상기 배지는 MS 배지(Murashige and Skoog medium)인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 18

제13항에 있어서,

상기 배양근을 배지에 위치시킬 때의 배지 pH는 4.8 내지 6.8이며, 상기 배양근의 접종 밀도는 2 내지 6g/L인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 19

제13항에 있어서,

상기 증식은 19 내지 25℃의 암조건에서 3 내지 5주간 실시하는 것인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 20

제13항에 있어서,

상기 공기공급량은 0.05 내지 0.4vvm(air volume/culture volume per min)인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서,

상기 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물은 상기 조성물 전체 중량 대비 0.1 내지 100 μg/ml의 양으로 함유되는, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

청구항 22

제1항에 있어서,

상기 조성물은 화장료 조성물 또는 식품 조성물인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 처리를 함으로써 쿠메스트롤의 함량이 크게 증가되어 우수한 피부 탄력 증진 또는 피부 주름 개선 효과를 나타낼 수 있는 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 사람의 피부 변화 중 가장 대표적인 변화는 노화에 의한 피부 기능 저하 및 시각적 아름다움의 감소이다. 피부 노화의 결과 나타나는 최종적인 피부 외관에서의 현상은 주름의 형성, 피부 탄력 저하, 노인성 반점 형성 등이 있으며, 주름 형성, 탄력 저하가 가장 대표적인 현상으로 받아들여지고 있다.

[0003] 최근 피부 주름 생성, 탄력 저하 원인에 관한 생리학적인 연구도 많이 이루어지고 있으며, 이를 방지하기 위하여 보습제에 의한 각질층의 수분 유지, 자외선 또는 환경으로부터 피부의 보호, 새로운 세포 활성 촉진 등의 방법이 응용되고 있다.

[0004] 일반적으로 피부 노화 억제를 목적으로 이용되는 효소, 지용성 및 수용성 항산화제, 라디칼 소거제 등은 피부 노화에 따른 주름 형성, 탄력 저하를 억제하는 예방 효과가 있으며, 최근 항노화 물질로 각광받는 비타민 A, 알파 하이드록시산 등은 진피 내 콜라겐 합성 증진을 통해 생성된 주름을 완화시키고 탄력을 증진시키는 치유 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 이들 항산화제, 라디칼 소거제, 비타민 A, 알파 하이드록시산 등은 화장료 배합시 안정성 및 피부 안정성 등이 좋지 못하다는 한계가 있다.

[0005] 이에 최근 화장품 분야에서는 이러한 문제점을 해소하기 위해 천연물질을 이용한 화장품 제조가 각광받고 있다.

[0006] 한편, 쿠메스트롤(coumestrol)은 식물성 에스트로겐 중에서 현재까지 가장 강력한 것으로 알려져 있는 물질로서 주로 콩과(leguminosae), 국화과(compositae) 식물의 씨앗, 뿌리 그리고 잎에서 발견되는 물질로써 이소플라보노이드(isoflavonoid)의 일종으로 일반적으로는 쿠메스탄(coumestan) 계열 화합물로 분류되고 있다. 쿠메스트롤

은 식물이 외상을 입었을 때 상처 부위에 짙은 농도로 분비되어 항산화, 항염 및 항독소 작용을 통해 항균, 항진균 및 항바이러스 작용을 하여 감염을 방지하는 역할을 하는 것이 알려지면서 주목을 받았던 물질이다. 이러한 현상은 다양한 박테리아 및 곰팡이류, 바이러스 등의 감염이 쿠메스트롤을 포함한 다양한 방향족 화합물(aromatic compounds)의 합성을 유도하기 때문이다. 이러한 쿠메스트롤의 항생 작용의 근원은 항산화제로서의 화학적 기본 골격인 페놀성 구조를 보유하고 있어 프리 라디칼성(free radicals) 산화제의 유입을 억제하여 생체 내 과산화 화합물 생성을 저지하기 때문으로 알려지고 있다. 또한 다양한 천연 쿠메스탄 계열의 유도체들 중에서 오직 쿠메스트롤만이 에스트로겐 효과를 갖고 있는 것으로 알려지고 있다.

[0007] 그러나, 쿠메스트롤은 일부 식물체에 극미량으로 존재하므로 현재 상용되는 천연 쿠메스트롤은 고가로 시판되고 있다. 이러한 이유로 합성을 통해 쿠메스트롤을 얻으려는 연구가 간헐적으로 시도되어 왔으나 여러 개의 방향족 고리가 융합되어 있는 다소 복잡한 화학 구조 때문에 손쉬운 합성법 개발에 대한 접근법이 소개되지 않고 있으며, 비록 몇 가지의 합성법이 보고되고 있으나 각 합성법들은 다양한 문제점을 내포하고 있어 상용화에 많은 어려움이 따르고 있다. 또한 최근에 화학적 합성법에 의해 생산한 성분 보다는 천연에서 생산한 성분이 안전성 측면에서 좋은 이미지를 가지고 있기 때문에 천연 물질에서 대량으로 생산 할 수 있는 방법에 대한 연구가 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-1502687호
 (특허문헌 0002) 대한민국 등록특허공보 제10-0706279호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 일 측면은, 쿠메스트롤의 함량이 증가된 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0010] 본 발명의 일 측면은, 쿠메스트롤을 고함량으로 함유하는 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0011] 상기한 목적을 달성하기 위하여, 본 발명의 일 실시예는 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물로서, 상기 효소 처리 추출물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가한 것인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 의한 조성물은 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소를 처리하여 얻어진 쿠메스트롤을 고함량으로 함유하는 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하여 우수한 피부 탄력 증진 또는 피부 주름 개선 효과를 나타낼 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 효소 반응 전후의 콩 배양근 추출물 내의 쿠메스트린과 쿠메스트롤을 HPLC 크로마토그램으로 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 효소 반응 전후의 콩 배양근 추출물의 콜라겐 생성량 측정 결과를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 명세서에서, 엑스플랜테이션(explantation)이란, 외식(外植) 또는 체외배양이라고도 하고, 주로 동식물 개체

의 일부를 분리하여 체외에서 배양하는 기술이다. 주로 일정 기간에 걸쳐 체외에서 생존하며 차차 어떤 발생적 변화가 보일 정도로 시간을 두고 배양을 하는 것을 포함한다. 일반적인 조직배양(組織培養)도 체외배양의 한 방법이다. 또한, 본 발명의 일 측면에 따른 기내 배양도 체외배양에 포함되며, 무균배양 혹은 식물 줄기세포 배양 등으로도 불릴 수 있다.

[0015] 본 명세서에서 엑스플랜테이션 기술은, 원형질체, 세포, 조직, 기관, 배, 종자, 배양근 및 식물체의 일부를 포함하는 균에서 선택된 하나 이상을 적출하여 기내(in-vitro)에서 영양분이 함유되어 있는 배양 배지 등의 인공 배양 기구를 이용하여 무균적으로 배양함으로써 캘러스(callus)나 단세포 집단을 유기 또는 완전한 기능을 가진 식물체로 재생시키는 것을 포함한다.

[0016] 본 명세서에서 “효소 제제(enzyme preparation)”란, 단일 또는 여러 종류의 활성 효소와 부형제, 첨가제 등을 포함하는 제제로서, 시판되는 것은 물론 연구실에서 임의 제조한 것일 수도 있다. 본 명세서 내의 효소 제제의 일 예는, 아스퍼질러스 아쿨레아투스(*Aspergillus aculeatus*)로부터 유래한 펙티나아제(pectinase) 일종인 폴리갈락투로나제(polygalacturonase)를 포함하는 효소 제제로서, 바람직하게는 펙티넥스 울트라 SP-L(Pectinex Ultra SP-L, Novozyme사, 덴마크)일 수 있다.

[0018] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명은 일 측면에서, 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물로서, 상기 효소 처리 추출물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가한 것인, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물일 수 있다.

[0020] 일 구현 예로서, 상기 콩과 식물은 콩일 수 있다. 다른 구현 예로서, 상기 콩은 대두, 납작콩, 서리태, 서목태, 흑태, 청태, 황태, 울타리콩, 강낭콩, 얼룩강낭콩, 적두, 거두, 신화콩 및 콩나물콩 중 선택되는 하나 이상일 수 있고, 바람직하게는 대두, 납작콩, 서리태, 서목태, 흑태, 청태, 황태, 울타리콩, 적두, 거두 및 신화콩 중 선택되는 하나 이상일 수 있다. 상기 콩의 품종은 제한이 없으나, 일 측면에서 장류 및 두부용, 나물용, 밥밑용 또는 풋콩용 품종일 수 있다. 장류 및 두부용 품종으로는, 대풍(Daepung, 품종보호출원 출원-2003-152), 호강(Hojang, 품종보호출원 출원-2003-155), 장원(Jangwon, 품종보호출원 출원-2001-34), 대황(품종보호출원 출원-2000-19), 소담(Sodamkong, 품종보호출원 출원-1999-19), 송학(품종보호출원 출원-1999-22), 대원(Daewonkong, 품종명칭등록번호 제01-0003-38호), 진품(Jinpumkong, 품종보호출원 출원-1998-204), 단백(Danbaegkong, 품종보호출원 출원-1998-201), 두유(Duyoukong, 품종보호출원 출원-1998-151), 신팔달(Shinpaldaikong, 품종보호출원 출원-1998-199), 태광(Taekwangkong, 품종보호출원 출원-1998-198), 만리(Mallikong, 품종명칭등록번호 제01-0003-11호), 장수(Jangsukong, 품종명칭등록번호 제01-0003-9호), 무한(Muhankong, 품종명칭등록번호 제01-0003-7호), 백운(Baegunkong, 품종보호출원 출원-1998-193), 새알(Saealkong, 품종보호출원 출원-1998-143), 황금(품종명칭등록번호 제01-0003-1호) 및 장엽(품종명칭등록번호 제01-0003-41호) 등이 있다. 나물용 품종으로는, 신화(Shinhwa, 품종명칭등록번호 제01-0003-134호), 소원(Sowon, 품종보호출원 출원-2000-16), 안평(Anpyeong, 품종보호출원 출원-2003-151), 서남(Sunam, 품종보호출원 출원-2003-153), 다채(Dachae, 품종보호출원 출원-2003-148), 소록(품종보호출원 출원-2002-116), 소호(Sohokong, 품종보호출원 출원-2001-36), 소명(Somyeongkong, 품종보호출원 출원-1998-18), 다원(품종보호출원 출원-1998-209), 풍산나물(Pungsannamul, 품종보호출원 출원-1998-140), 익산나물(Iksannamul, 품종보호출원 출원-1998-139), 소백나물(품종명칭등록번호 제01-0003-31호), 광안(Kwangankong, 품종보호출원 출원-1998-202), 단엽 및 은하(Eunhakong, 품종명칭등록번호 제01-0003-6호) 등이 있다. 밥밑용 품종으로는, 청자(Cheongjakong, 품종보호출원 출원-2001-38), 흑청(Heugcheong, 품종보호출원 출원-2000-27), 갈미(품종보호출원 출원-2000-25), 선혹(Seonheukkong, 품종보호출원 출원-1999-20), 검정콩 및 일품검정콩(품종보호출원 출원-1998-158) 등이 있다. 또한, 풋콩용 품종으로는, 다울(Daol, 품종보호출원 출원-2003-149), 신록(품종보호출원 출원-2001-35), 새을, 검정을, 석량풋콩, 화엄풋콩(품종명칭등록번호 제01-0003-21호) 및 큰을 등이 있다. 본 발명의 다른 일 측면에서, 콩은 발아가 가능하고 병충해에 강한 품종인 것이 바람직하다. 그와 같은 콩으로는, 예를 들어 신화, 소원, 안평, 서남, 다채, 소록, 소호, 소명, 다원, 풍산나물, 익산나물, 소백나물, 광안, 단엽 및 은하 등이 있다. 그러나 본 발명의 일 측면에 따른 콩이 상기 콩 품종에 한정되는 것은 아니다.

[0021] 본 발명의 일 측면에 따른 납작콩은 납떼기콩, 납데기콩, 납쪄레기콩, 납드레콩 등으로 다양하게 불린다.

[0022] 일 구현 예로서, 상기 효소는 펙티나아제(pectinase) 또는 폴리갈락투로나제(polygalacturonase)일 수 있다.

[0023] 다른 구현 예로서, 상기 효소는 상기 효소를 포함하는 효소 제제의 형태로 첨가될 수 있으며, 이때 상기 효소

제제 내 효소의 양은 효소 제제 총 중량을 기준으로 0.5 내지 10중량%일 수 있다.

- [0024] 또한, 일 구현 예로서, 상기 미생물은 아스퍼질러스 아클레아투스(*Aspergillus aculeatus*)일 수 있다. 상기 효소 또는 효소 제제는 상기 아스퍼질러스 아클레아투스에서 유래된 것이기 때문에, 상기 미생물을 이용한 처리 또는 발효를 통해 상기 효소 또는 효소 제제를 사용한 것과 같은 효과를 얻을 수 있다.
- [0025] 일 구현 예로서, 상기 효소의 첨가량은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 100중량부 대비 0.8 내지 8중량부일 수 있다. 예를 들어, 상기 효소의 첨가량은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 100중량부 대비 0.8중량부 이상, 0.9중량부 이상, 1중량부 이상, 1.2중량부 이상, 1.5중량부 이상, 2중량부 이상, 2.5중량부 이상, 3중량부 이상, 3.5중량부 이상, 4중량부 이상, 4.5중량부 이상, 5중량부 이상, 5.5중량부 이상, 6중량부 이상, 6.5중량부 이상, 7중량부 이상 또는 7.5중량부 이상일 수 있고, 8중량부 이하, 7.5중량부 이하, 7중량부 이하, 6.5중량부 이하, 6중량부 이하, 5.5중량부 이하, 5중량부 이하, 4.5중량부 이하, 4중량부 이하, 3.5중량부 이하, 3중량부 이하, 2.5중량부 이하, 2중량부 이하, 1.8중량부 이하, 1.5중량부 이하, 1.2중량부 이하 또는 1중량부 이하일 수 있다.
- [0026] 다른 구현 예로서, 상기 효소 제제의 첨가량은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 전체 중량 대비 50중량% 이상, 60중량% 이상, 70중량% 이상, 80중량% 이상, 90중량% 이상, 100중량% 이상 또는 110중량% 이상일 수 있고, 120중량% 이하, 110중량% 이하, 100중량% 이하, 90중량% 이하, 80중량% 이하, 70중량% 이하 또는 60중량% 이하일 수 있다. 바람직하게는, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 전체 중량 대비 90 내지 110중량%일 수 있다.
- [0027] 일 구현 예로서, 상기 효소 제제의 효소는 식물 조직에서 펙틴을 분해하는 효소일 수 있다. 구체적으로, 상기 효소 제제는 아스퍼질러스 아클레아투스(*Aspergillus aculeatus*)로부터 유래한 펙티나아제(pectinase) 일종인 폴리갈락투로나제(polygalacturonase)를 효소로서 포함하는 것일 수 있으며, 다른 구현 예로서, 상기 효소 제제는 효소로서 펙틴트랜셀리미나제(pectintransesterase), 펙티네스터라제(pectinesterase), 헤미셀룰라제(hemicellulase) 및 셀룰라제(cellulases)를 더 포함하는 것일 수 있다. 또 다른 구현 예에서, 상기 효소 제제는 pectinex ultra SPL(노보자임사, 덴마크)일 수 있다.
- [0028] 일 구현 예로서, 상기 효소 제제 내에 포함된 폴리갈락투로나제의 양은 상기 효소 제제 총 중량을 기준으로 0.1 중량% 이상, 0.5 중량% 이상, 0.8 중량% 이상, 1 중량% 이상, 1.2 중량% 이상, 1.4 중량% 이상, 1.6 중량% 이상, 1.8 중량% 이상, 2 중량% 이상, 2.2 중량% 이상, 2.6 중량% 이상, 2.8 중량% 이상, 3 중량% 이상, 3.2 중량% 이상, 3.4 중량% 이상, 3.6 중량% 이상, 3.8 중량% 이상, 4 중량% 이상, 4.2 중량% 이상, 4.4 중량% 이상, 4.6 중량% 이상, 4.8 중량% 이상, 5 중량% 이상, 5.2 중량% 이상, 5.4 중량% 이상, 5.6 중량% 이상, 6 중량% 이상, 6.5 중량% 이상 또는 7 중량% 이상일 수 있고, 8 중량% 이하, 7.5 중량% 이하, 7 중량% 이하, 6.5 중량% 이하, 6 중량% 이하, 5.8 중량% 이하, 5.6 중량% 이하, 5.4 중량% 이하, 5.2 중량% 이하, 5 중량% 이하, 4.8 중량% 이하, 4.6 중량% 이하, 4.4 중량% 이하, 4.2 중량% 이하, 4 중량% 이하, 3.8 중량% 이하, 3.6 중량% 이하, 3.4 중량% 이하, 3.2 중량% 이하, 3 중량% 이하, 2.8 중량% 이하, 2.6 중량% 이하, 2.4 중량% 이하, 2.2 중량% 이하, 2 중량% 이하, 1.8 중량% 이하, 1.6 중량% 이하, 1.4 중량% 이하, 1.2 중량% 이하, 1 중량% 이하, 0.8 중량% 이하, 0.6 중량% 이하, 0.4 중량% 이하 또는 0.2 중량% 이하일 수 있다. 상기 효소 제제 내의 폴리갈락투로나제의 바람직한 양은 1 내지 5 중량%일 수 있다.
- [0029] 일 구현 예로서, 상기 효소 제제 내에 포함된 폴리갈락투로나제의 양은 효소 활성(Enzymatic Activity) 기준으로 2000units/mL 이상, 2200units/mL 이상, 2400units/mL 이상, 2600units/mL 이상, 2800units/mL 이상, 3000units/mL 이상, 3200units/mL 이상, 3400units/mL 이상, 3600units/mL 이상, 3800 units/mL 이상, 4000units/mL 이상, 4200units/mL 이상, 4400units/mL 이상, 4600units/mL 이상 또는 4800units/mL 이상일 수 있다. 또한, 상기 양은 5000units/mL 이하, 4800units/mL 이하, 4600units/mL 이하, 4400units/mL 이하, 4200units/mL 이하, 4000units/mL 이하, 3800units/mL 이하, 3600units/mL 이하, 3400units/mL 이하, 3200units/mL 이하, 3000units/mL 이하, 2500units/mL 이하 또는 2400units/mL 이하일 수 있다. 바람직하게는 상기 효소 제제 내에 포함된 폴리갈락투로나제의 양이 3800 units/mL 이상일 수 있다.
- [0030] 일 구현 예로서, 상기 효소의 첨가량은 효소 활성을 기준으로 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 1g 대비 2000 내지 5000 units일 수 있다. 예를 들어, 상기 효소의 첨가량은 효소 활성을 기준으로 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 1g 대비 2000units 이상, 2200units 이상, 2400units 이상, 2600units 이상, 2800units 이상, 3000units 이상, 3200units 이상, 3400units 이상, 3600units 이상, 3800 units 이상, 4000units 이상, 4200units 이상, 4400units 이상, 4600units 이상 또는 4800units 이상일 수 있고, 5000units 이하, 4800units 이하, 4600units 이하, 4400units 이하, 4200units 이하, 4000units 이하, 3800units 이하, 3600units 이하, 3400units 이하,

3200units 이하, 3000units 이하, 2500units 이하 또는 2400units 이하일 수 있다. 바람직하게는 또한, 상기 첨가량은 효소 활성을 기준으로 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 1g 대비 3500 내지 4200 units일 수 있다.

- [0031] 일 측면에서, 상기 효소 또는 효소 제제의 기능 및 역할은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물 내 쿠메스트린으로부터 당을 제거함으로써 쿠메스트린이 쿠메스트롤로 전환될 수 있도록 하는 것이며, 콩과 식물 배양근의 품질을 균일하게 유지하며 대량 생산하는 엑스플랜테이션 방법과 이러한 효소 제제의 기술적 특징을 접목함으로써, 쿠메스트롤의 수율이 현저히 향상되면서도 균일하게 유지될 수 있는 것이다.
- [0032] 일 구현 예로서, 상기 효소 처리 추출물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가하여 얻어진 반응물을 40 내지 50℃ 및 60 내지 100rpm의 조건에서 38 내지 58시간 동안 유지시킨 후 원심분리하여 회수된 침전물일 수 있다. 일 측면에서, 상기 온도는 40℃ 이상, 42℃ 이상, 44℃ 이상, 46℃ 이상 또는 48℃ 이상일 수 있고, 50℃ 이하, 48℃ 이하, 46℃ 이하, 44℃ 이하 또는 42℃ 이하일 수 있다. 일 측면에서 상기 rpm은 60 이상, 70 이상, 80 이상, 90 이상 또는 95 이상일 수 있고, 100 이하, 95 이하, 90 이하, 85 이하, 80 이하, 75 이하 또는 65 이하일 수 있다. 일 측면에서 상기 시간은 38시간 이상, 40시간 이상, 42시간 이상, 44시간 이상, 46시간 이상, 48시간 이상, 50시간 이상, 52시간 이상, 54시간 이상 또는 56시간 이상일 수 있고, 58시간 이하, 56시간 이하, 54시간 이하, 52시간 이하, 50시간 이하, 48시간 이하, 46시간 이하, 44시간 이하, 42시간 이하 또는 40시간 이하일 수 있다.
- [0033] 일 구현 예로서, 상기 반응물은 상기 콩과 식물 배양근의 추출물에 효소 또는 미생물을 첨가한 결과물에 증류수를 가하여 얻어진 것일 수 있으며, 그 농도가 0.5 중량% 이상, 1 중량% 이상, 1.5 중량% 이상, 2 중량% 이상, 2.5 중량% 이상, 3 중량% 이상, 5 중량% 이상 또는 8 중량% 이상일 수 있고, 10 중량% 이하, 8 중량% 이하, 5 중량% 이하, 3 중량% 이하, 2.5 중량% 이하, 2 중량% 이하, 1.5 중량% 이하, 1 중량% 이하 또는 0.8 중량% 이하일 수 있다.
- [0034] 일 구현 예로서, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물은, 상기 콩과 식물 배양근을 물, C1 내지 C6의 저급 알코올, 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것일 수 있다.
- [0035] 일 구현 예로서, 상기 혼합물의 알코올 농도는 60 내지 100%(w/v)일 수 있다. 예를 들어, 상기 알코올 농도는 60%(w/v)이상, 70%(w/v)이상, 75%(w/v)이상, 80%(w/v)이상, 85%(w/v)이상, 90%(w/v)이상, 또는 95%(w/v)이상일 수 있고, 100%(w/v)이하, 95%(w/v)이하, 90%(w/v)이하, 85%(w/v)이하, 80%(w/v)이하, 75%(w/v)이하, 70%(w/v)이하, 또는 65%(w/v)이하일 수 있다.
- [0036] 다른 구현 예로서, 상기 저급 알코올은 에탄올일 수 있다.
- [0037] 다른 구현 예로서, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물은 상기 콩과 식물 배양근을 건조시킨 후 건조된 배양근에 상기 용매를 이용하여 추출한 것일 수 있다.
- [0038] 보다 구체적으로, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물은 상기 배양근을 건조시킨 배양근:추출용매의 중량비율을 1:10 내지 1:70으로 하여 추출한 것일 수 있다. 예를 들어, 상기 중량비율은 1:10이상, 1:15이상, 1:20이상, 1:25이상, 1:30이상, 1:35이상, 1:40이상, 1:45이상, 1:50이상, 1:55이상, 1:60이상 또는 1:65이상일 수 있다. 또한 상기 중량비율은 1:70이하, 1:65이하, 1:60이하, 1:58이하, 1:55이하, 1:52이하, 1:50이하, 1:48이하, 1:45이하, 1:42이하, 1:40이하, 1:38이하, 1:36이하, 1:35이하, 1:30이하, 1:25이하, 1:20이하 또는 1:15이하일 수 있다.
- [0039] 일 구현 예로서, 상기 추출 시간은 20 내지 28시간 일 수 있다. 구체적으로, 상기 추출 시간은 20시간 이상, 22시간 이상, 24시간 이상, 25시간 이상, 또는 26시간 이상일 수 있고, 28시간 이하, 26시간 이하, 25시간 이하, 24시간 이하, 22시간 이하, 또는 21시간 이하일 수 있다.
- [0040] 일 구현 예로서, 상기 콩과 식물 배양근의 추출물은, 콩과 식물 배양근을 생물반응기 내의 배지에 위치시켜 상기 생물반응기 내에서 공기공급량을 일정하게 유지하며 증식시킨 배양근의 추출물일 수 있다.
- [0041] 일 구현 예로서, 상기 생물반응기는 스태드 탱크 리액터(Stirred Tank Reactor), 버블 컬럼 리액터(Bubble Column Reactor), 에어 리프트 리액터(Air Lift Reactor), 플루다이즈드 베드 리액터(Fludized Bed Reactor), 픽스트/팩트 베드 리액터(Fixed/Packed Bed Reactor), 또는 타워 퍼멘터(Tower Fermenter)일 수 있고, 바람직하게는 벌브형 기포 생물반응기(Bulb Type bubble bioreactor)일 수 있다.
- [0042] 일 구현 예로서, 상기 배지 내 질산암모늄(NH₄NO₃)의 농도는 650 mg/L 이상, 660 mg/L 이상, 700mg/L 이상,

740mg/L 이상, 760mg/L 이상, 800mg/L 이상, 825mg/L 이상, 850mg/L 이상, 900mg/L 이상, 1000mg/L 이상, 1200mg/L 이상 또는 1400mg/L 이상일 수 있고, 1500mg/L 이하, 1400mg/L 이하, 1200mg/L 이하, 1000mg/L 이하, 990mg/L 이하, 900mg/L 이하, 850mg/L 이하, 825mg/L 이하, 800mg/L 이하, 760mg/L 이하, 740mg/L 이하, 700mg/L 이하 또는 660mg/L 이하일 수 있다.

[0043] 일 구현 예로서, 상기 배지 내 염화칼슘($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)의 농도는 175mg/L 이상, 176mg/L 이상, 190mg/L 이상, 200mg/L 이상, 220mg/L 이상, 240mg/L 이상, 260mg/L 이상, 264mg/L 이상, 270mg/L 이상, 280mg/L 이상, 300mg/L 이상, 350mg/L 이상 또는 380mg/L 이상일 수 있고, 400mg/L 이하, 380mg/L 이하, 350mg/L 이하, 300mg/L 이하, 280mg/L 이하, 270mg/L 이하, 264mg/L 이하, 260mg/L 이하, 240mg/L 이하, 220mg/L 이하, 200mg/L 이하, 190mg/L 이하 또는 176mg/L 이하일 수 있다.

[0044] 일 구현 예로서, 상기 배지 내 황산마그네슘($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)의 농도는 145mg/L 이상, 148mg/L 이상, 150mg/L 이상, 160mg/L 이상, 180mg/L 이상, 185mg/L 이상, 190mg/L 이상, 200mg/L 이상, 215mg/L 이상, 222mg/L 이상, 240mg/L 이상, 280mg/L 이상 또는 300mg/L 이상일 수 있고, 320mg/L 이하, 300mg/L 이하, 280mg/L 이하, 240mg/L 이하, 222mg/L 이하, 215mg/L 이하, 200mg/L 이하, 190mg/L 이하, 185mg/L 이하, 180mg/L 이하, 160mg/L 이하, 150mg/L 이하 또는 148mg/L 이하일 수 있다.

[0045] 일 구현 예로서, 상기 배지 내 인산칼륨(KH_2PO_4)의 농도는 65 mg/L 이상, 68mg/L 이상, 70mg/L 이상, 75mg/L 이상, 80mg/L 이상, 85mg/L 이상, 90mg/L 이상, 95mg/L 이상, 100mg/L 이상, 102mg/L 이상, 120mg/L 이상 또는 140mg/L 이상일 수 있고, 150 mg/L 이하, 140mg/L 이하, 120mg/L 이하, 110mg/L 이하, 102mg/L 이하, 100mg/L 이하, 95mg/L 이하, 90mg/L 이하, 85mg/L 이하, 80mg/L 이하, 75mg/L 이하, 70mg/L 이하 또는 68mg/L 이하일 수 있다.

[0046] 일 구현 예로서, 상기 배지 내 질산칼륨(KNO_3)의 농도는 750mg/L 이상, 760mg/L 이상, 800mg/L 이상, 850mg/L 이상, 900mg/L 이상, 950mg/L 이상, 1000mg/L 이상, 1140mg/L 이상, 120mg/L 이상 또는 1400mg/L 이상일 수 있고, 1500mg/L 이하, 1400mg/L 이하, 1300mg/L 이하, 1140mg/L 이하, 1000mg/L 이하, 980mg/L 이하, 950mg/L 이하, 900mg/L 이하, 850mg/L 이하, 800mg/L 이하 또는 760mg/L 이하일 수 있다.

[0047] 다른 구현 예로서, 상기 배지는 IBA(indole-3-butyric acid) 및 탄소원이 첨가된 것일 수 있다. 이때 상기 탄소원은 포도당, 프럭토스, 만노스, 리보스, 아라비노스, 자일로스, 갈락토스, 수크로스, 셀로비오스, 트레할로스, 락토스, 라피노스, 아밀로스, 스타치, 소르비톨, 만니톨, 및 글리세롤로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다.

[0048] 일 구현 예로서, 상기 배지는 MS 배지(Murashige and Skoog medium)일 수 있다. 일 측면에서, 상기 배지 내 성분의 종류는 MS 배지 내 성분의 종류와 동일하고, 상기 성분의 농도는 MS 배지 내 성분 농도의 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 또는 58% 이상일 수 있고, 60% 이하, 55% 이하, 50% 이하, 또는 45% 이하일 수 있다.

[0049] 일 구현 예로서, 상기 배양균을 배지에 위치시킬 때의 배지 pH는 4.8 내지 6.8일 수 있다. 구체적으로, 상기 pH는 4.8이상, 5이상, 5.2이상, 5.4이상, 5.6이상, 5.8이상, 6.0이상, 6.2이상, 6.4이상, 또는 6.6이상일 수 있다. 또한, 상기 pH는 6.8이하, 6.6이하, 6.4이하, 6.2이하, 6.0이하, 5.8이하, 5.6이하, 5.4이하, 5.2이하, 5.0이하일 수 있다.

[0050] 일 구현 예로서, 상기 배양균을 배지에 위치시킬 때 상기 배양균의 접종 밀도는 2 내지 6 g/L일 수 있다. 구체적으로, 상기 밀도는 2g/L이상, 3g/L이상, 4g/L이상, 또는 5g/L이상일 수 있다. 또한, 상기 밀도는 6g/L이하, 5g/L이하, 4g/L이하, 또는 3g/L이하일 수 있다.

[0051] 일 구현 예로서, 상기 증식은 19 내지 25℃의 암조건에서 3 내지 5주간 실시하는 것일 수 있다. 구체적으로, 상기 온도는 19℃이상, 20℃이상, 21℃이상, 22℃이상, 23℃이상, 또는 24℃이상일 수 있다. 또한, 상기 온도는 25℃이하, 24℃이하, 23℃이하, 22℃이하, 21℃이하, 또는 20℃이하일 수 있다. 또한 상기 증식 기간은 3주 이상 또는 4주 이상 실시하는 것일 수 있으며, 또한, 5주 이하 또는 4주 이하 실시하는 것일 수 있다.

[0052] 일 구현 예로서, 상기 공기공급량은 0.05 내지 0.4 vvm(air volume/culture volume per min)일 수 있다. 구체적으로, 상기 생물반응기 내에서 일정하게 유지되는 공기공급량은 0.05vvm이상, 0.08vvm이상, 0.1vvm이상, 0.12vvm이상, 0.14vvm이상, 0.16vvm이상, 0.18vvm이상, 0.2vvm이상, 0.22vvm이상, 0.24vvm이상, 0.26vvm이상, 0.28vvm이상, 0.3vvm이상, 0.32vvm이상, 0.34vvm이상, 0.36vvm이상, 또는 0.38vvm 이상 일 수 있다. 또한, 상

기 공기공급량은 0.4vvm이하, 0.38vvm이하, 0.36vvm이하, 0.34vvm이하, 0.32vvm이하, 0.3vvm이하, 0.28vvm이하, 0.26vvm이하, 0.24vvm이하, 0.22vvm이하, 0.2vvm이하, 0.18vvm이하, 0.16vvm이하, 0.14vvm이하, 0.12vvm이하, 0.1vvm이하, 0.08vvm이하, 또는 0.06vvm이하일 수 있다.

- [0053] 상기와 같이 본 발명의 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물은 성장촉진제나 비료, 농약 등의 사용 없이 친환경 경적이고도 균일하게 대량으로 수득된 콩과식물 배양조직을 이용하여, 친환경적이고도 균일한 효과를 발휘할 수 있다.
- [0054] 일 구현 예로서, 상기 효소 처리 추출물 내 쿠메스트롤의 함량은 상기 효소 처리 추출물 1g 대비 20 내지 200mg 일 수 있다. 예를 들어, 상기 함량은 상기 효소 처리 추출물 1g 대비 20mg 이상, 40mg 이상, 60mg 이상, 80mg 이상, 100mg 이상, 110mg 이상, 120mg 이상, 130mg 이상, 140mg 이상, 142mg 이상, 143mg 이상, 144mg 이상, 144.27mg 이상, 145mg 이상, 145.5mg 이상, 146mg 이상, 146.4mg 이상, 147mg 이상, 147.5mg 이상, 148mg 이상, 148.5mg 이상, 148.53mg 이상, 149mg 이상, 150mg 이상, 155mg 이상, 160mg 이상, 170mg 이상, 180mg 이상 또는 190mg 이상일 수 있고, 200mg 이하, 190mg 이하, 180 mg 이하, 170mg 이하, 160mg 이하, 155mg 이하, 150mg 이하, 149mg 이하, 148.6mg 이하, 148.53mg 이하, 148.5mg 이하, 148mg 이하, 147.5mg 이하, 147mg 이하, 146.4mg 이하, 146mg 이하, 145.5mg 이하, 145mg 이하, 144.5mg 이하, 144.27mg 이하, 144mg 이하, 143mg 이하, 142mg 이하, 140mg 이하, 130mg 이하, 120mg 이하, 110mg 이하, 100mg 이하, 80mg 이하, 60mg 이하 또는 40mg 이하일 수 있다. 바람직하게는, 상기 쿠메스트롤의 함량은 상기 효소 처리 추출물 1g 대비 140 내지 150 mg일 수 있다. 상기 함량은 노지에서 재배한 일반 콩 뿌리 추출물에 효소 제거 처리를 하지 않은 경우 (추출물 1g 당 1.7 내지 1.9 mg 이하)에 비해, 약 100배에 가깝도록 현저하게 증가된 함량이다. 또한, 통상의 MS 배지(Murashige and Skoog medium)를 사용한 경우보다 약 3배 이상 높은 함량이기도 하다.
- [0055] 일 구현 예로서, 상기 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물은 상기 조성물 전체 중량 대비 0.1 내지 100 µg/ml의 양으로 함유될 수 있다. 구체적으로, 상기 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물은 상기 조성물 전체 중량 대비 0.1 µg/ml 이상, 0.5 µg/ml 이상, 1 µg/ml 이상, 5 µg/ml 이상, 10 µg/ml 이상, 15 µg/ml 이상, 20 µg/ml 이상, 25 µg/ml 이상, 30 µg/ml 이상, 35 µg/ml 이상, 40 µg/ml 이상, 45 µg/ml 이상, 50 µg/ml 이상, 55 µg/ml 이상, 60 µg/ml 이상, 65 µg/ml 이상, 70 µg/ml 이상, 75 µg/ml 이상, 80 µg/ml 이상, 85 µg/ml 이상, 90 µg/ml 이상 또는 95 µg/ml 이상일 수 있으며, 또한, 100 µg/ml 이하, 95 µg/ml 이하, 90 µg/ml 이하, 85 µg/ml 이하, 80 µg/ml 이하, 75 µg/ml 이하, 70 µg/ml 이하, 65 µg/ml 이하, 60 µg/ml 이하, 55 µg/ml 이하, 50 µg/ml 이하, 45 µg/ml 이하, 40 µg/ml 이하, 35 µg/ml 이하, 30 µg/ml 이하, 25 µg/ml 이하, 20 µg/ml 이하, 15 µg/ml 이하, 10 µg/ml 이하, 5 µg/ml 이하, 1 µg/ml 이하 또는 0.5 µg/ml 이하일 수 있다. 바람직하게는 1 내지 10 µg/ml의 양으로 함유될 수 있다.
- [0056] 일 구현 예로서, 상기 조성물은 화장료 조성물일 수 있으며, 상기 화장료 조성물의 제형은 특별히 한정되지 않고, 목적하는 바에 따라 적절히 선택할 수 있다. 예를 들어, 스킨로션, 스킨소프너, 스킨토너, 아스트린젠트, 로션, 밀크로션, 모이스처 로션, 영양로션, 마사지크림, 영양크림, 모이스처크림, 핸드크림, 파운데이션, 에센스, 영양에센스, 팩, 비누, 클렌징폼, 클렌징로션, 클렌징크림, 바디로션 및 바디클린저로 이루어진 군으로부터 선택된 어느 하나 이상의 제형으로 제조될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0057] 본 발명에 따른 화장료 조성물의 제형에 따라 일반적으로 사용되는 담체 성분이 추가로 포함될 수 있으며, 상기 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물 이외에 기능성 첨가물 및 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분이 추가로 포함될 수 있다. 상기 기능성 첨가물로는 수용성 비타민, 유용성 비타민, 고분자 펩티드, 고분자 다당, 스펅고 지질 및 해초 엑기스로 이루어진 군에서 선택된 성분을 포함할 수 있다.
- [0058] 본 발명에 다른 화장료 조성물에는 또한, 상기 기능성 첨가물과 더불어 필요에 따라 일반적인 화장료 조성물에 포함되는 성분을 배합해도 된다. 이외에 포함되는 배합 성분으로는 유지 성분, 보습제, 에몰리엔트제, 계면활성제, 유기 및 무기 안료, 유기 분체, 자외선 흡수제, 방부제, 살균제, 산화 방지제, 식물 추출물, pH 조정제, 알콜, 색소, 향료, 혈행 촉진제, 냉감제, 제한(制汗)제, 정제수 등을 들 수 있다.
- [0059] 상기 성분의 배합량은 특별히 제한되지 않으나, 본 발명의 목적 및 효과를 손상시키지 않는 범위 내에서 당업자가 용이하게 선정 가능하다.
- [0060] 일 구현 예로서, 상기 조성물은 식품 조성물일 수 있으며, 상기 식품 조성물의 제형은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들어, 정제, 과립제, 환제, 분말제, 드링크제와 같은 액제, 캐러멜, 젤, 바, 티백 등으로 제형화될 수 있다. 각 제형의 식품 조성물은 유효 성분 이외에 해당 분야에서 통상적으로 사용되는 성분들을 제형 또는 사용

목적에 따라 당업계의 통상의 기술자가 어려움 없이 적의 선정하여 배합할 수 있으며, 다른 원료와 동시에 적용할 경우 상승 효과가 일어날 수 있다. 또한 상기 식품은 건강기능식품일 수도 있다.

- [0061] 상기 조성물은 단순 섭취, 음용, 주사 투여, 스프레이 투여 또는 스퀴즈 투여 등 다양한 방법으로 투여될 수 있다.
- [0062] 본 발명의 일 측면에 따른 식품 조성물에 있어서, 상기 유효 성분의 투여량 결정은 당업계의 통상의 기술자의 수준 내에 있으며, 투여하고자 하는 대상의 연령, 건강 상태, 합병증 등 다양한 요인에 따라 달라질 수 있다.
- [0063] 본 발명의 일 측면에 따른 식품 조성물은, 예를 들어, 주잉껌, 캐러멜 제품, 캔디류, 빙과류, 과자류 등의 각종 식품류, 청량 음료, 미네랄 워터, 알코올 음료 등의 음료 제품, 비타민이나 미네랄 등을 포함한 건강기능식품 제품일 수 있다.
- [0064] 상기 외에, 본 발명의 일 측면에 따른 식품 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 포함할 수 있다. 그 밖에 본 발명의 일 측면에 따른 식품 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 포함할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않으나 본 발명의 일 측면에 따른 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 60 중량부의 범위에서 포함되는 것이 일반적이다.
- [0066] 본 발명은 다른 측면에서, (1) 콩과 식물 배양근을 생물반응기 내의 배지에 위치시켜 상기 생물반응기 내에서 공기공급량을 일정하게 유지하며 증식시키는 단계; (2) 상기 (1) 단계를 거친 배양근으로부터 추출물을 얻는 단계; 및 (3) 상기 추출물에 효소 제제, 효소 또는 이를 생산하는 미생물을 첨가하는 단계를 포함하는, 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물의 제조방법에 관한 것일 수 있다.
- [0067] 일 구현 예로서, 상기 방법은 (1) 단계 이전에 배지 내에서 콩과 식물을 발아시키는 단계를 포함할 수 있다. 다른 구현 예로서, 상기 방법은 (1) 단계 이전에 콩과 식물의 식물체로부터 콩과 식물 배양근을 유도하는 단계도 포함할 수 있다.
- [0068] 한편, 상기 방법의 단계 (1) 내지 (3)의 주요 구성에 관한 내용은 위에서 본 발명의 콩과 식물 배양근의 효소 처리 추출물을 유효 성분으로 함유하는 피부 탄력 증진용 또는 피부 주름 개선용 조성물에 대하여 상세히 설명한 바와 동일하므로, 이하 생략한다.
- [0070] 이하, 본 발명의 내용을 실시예 및 시험예를 통하여 보다 구체적으로 설명한다. 그러나, 이러한 실시예 및 시험예는 본 발명의 내용을 이해하기 위해 제시되는 것일 뿐, 본 발명의 권리범위가 이러한 실시예 및 시험예로 한정되는 것은 아니고, 당업계에서 통상적으로 주지된 변형, 치환 및 삽입 등을 수행할 수 있으며, 이에 대한 것도 본 발명의 범위에 포함된다.
- [0071] [실시예 1] 콩 종자발아 및 기내 식물체 유도
- [0072] 신화콩 종자를 2중량% 차아염소산나트륨(Sodium Hypochlorite) 수용액으로 20분간 표면을 살균한 뒤 멸균수로 3회 세척하였다. 그 후 수크로오스 30g/L가 첨가된 0.5 MS 배지(Murashige and Skoog Medium, Haarlem, 네덜란드)를 이용하여 기내에서 25±1℃가 유지되는 명조건으로 2주간 식물체를 유도하였다.
- [0073] [실시예 2] 콩 배양근 유도 및 증식
- [0074] 기내에서 발아된 식물체의 유근으로부터 IBA(indole-3-butyric acid, Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, 독일)와 NAA(Naphthalene Acetic Acid; Duchefa, 네덜란드)가 각각 4mg/L, 수크로오스 30g/L가 첨가된 1MS 배지에서 배양근을 유도하였으며, 기타 배양조건은 22±1℃가 유지되는 암조건으로 2주간 유지하였다. 그 뒤, 공기 용적이 3L인 벌브형(Bulb Type) 생물반응기(시중에서 일반적으로 입수 가능) 내에서 IBA(indole-3-butyric acid, Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, 독일) 4mg/L, 수크로스 30g/L가 첨가된 2L의 0.5 MS 배지(Murashige and Skoog medium, Duchefa, 네덜란드)를 이용하여 배양근을 4주간 증식시켰다. 상기 0.5MS 배지는 배지에 사용되는 무기질 등 원료의 농도를 통상의 MS 배지의 1/2로 하여 제조한 배지를 말한다. 이때 배지는 1N NaOH를 이용하여 pH 5.8로 조정 후 121℃, 1.2 기압에서 35분 간 멸균한 것을 사용하였으며, 배양은 상기 배양근을 1-1.5cm로 절단하여 생체중을 기준으로 4g/L 집중밀도로 상기 배지에 접종한 후 22±1℃가 유지되는 암조건에서 실시하였다. 공기공급량은 배양 전 기간 동안 에어플로우 미터(air flow meters, RMA series; Dwyer Instruments, Inc., 미국)를 이용하여 0.1vvm(air volume/culture volume per min)으로 일정하게

조절하였으며, 생물반응기 내부로 공급하는 공기는 일정한 온도 유지를 위하여 압축공기를 응축시킬 수 있는 공기응축기와 불순물을 제거할 수 있는 필터 및 공기 건조기 등을 순차적으로 통과시킨 후 기름을 사용하지 않는 공기 압축기를 이용하여 생물반응기 내부로 공급하였다.

[실시예 3] 추출물 제조 및 효소 처리

1. 추출물 제조

상기 실시예 1 및 2에 따라 수득하여 건조시킨 콩 배양근을 80%(w/v) 에탄올 수용액에 배양근:에탄올 수용액 중량비율이 1:30이 되도록 침지하여 상온에서 24시간 추출하였다. 추출액은 여과지를 이용하여 여과한 다음 용매를 증발 건조시켜 분말 형태의 추출물을 수득하였다.

2. 효소 처리

상기 실시예 3의 1.에서 수득한 콩 배양근 추출물 분말과 같은 중량의 액상 펙티나아제(pectinase) 효소 제제(pectinex ultra SP-L, 노보자임, 덴마크)를 상기 추출물 분말에 처리한 후, 증류수를 이용하여 2중량% 농도(효소제제와 추출물 분말의 혼합물 2중량% 및 증류수98%)로 반응물을 제조하였다(상기 효소 제제는 펙티나아제로서 폴리갈락투로나제를 1 내지 5중량% 포함하는 것이고, 효소 활성 기준으로 폴리갈락투로나제를 3800units/mL 이상 포함하는 것이다). 상기 반응물은 45℃, 80rpm 조건에서 48시간 동안 유지하여 반응시킨 후 원심분리기를 이용하여 침전물을 회수하였다. 회수한 침전물, 즉, 콩 배양근의 효소 처리 추출물은 동결 건조시켜 분말화하였다.

[실험예 1] 쿠메스트롤 분석 시험

콩 배양근 추출물 내 쿠메스트롤 함량은 효소 처리 전(상기 실시예 3의 1.의 추출물), 후(상기 실시예 3의 2.의 침전물) 추출물을 0.45µm Filter로 여과한 다음 UV detector가 장착된 High Performance Liquid Chromatography(HPLC)에 10µL씩 주입하며 분석하였다. 컬럼은 Mightysil RP-18 GP 250-4.6 (5 µm, KANTO CHEMICALS, JAPAN)을 사용하였으며, 추출물 내 쿠메스트롤 함량은 342nm 파장에서 측정하였다. 측정 결과는 하기 표 1 및 도 1에 나타내었다.

하기 표 1은 효소 처리 전후의 콩 배양근 추출물 내 쿠메스트롤 함량을 비교한 것이다. 표 1에서 추출 수율이라는 콩 배양근 투입 중량 대비 상기 실시예 3의 1.에 의한 추출물의 중량, 그리고 콩 배양근 투입 중량 대비 상기 실시예 3의 2.에 의한 침전물의 중량을 각각 백분율(%)로 나타낸 것이다.

표 1

	추출 수율(%)	추출물 내 쿠메스트롤 함량 (mg/g)
효소 처리 전	33.7±0.04	1.8±0.10
효소 처리 후	5.6±0.20	146.4±2.13

또한, 도 1은 효소 반응 전후의 콩 배양근 추출물 내 쿠메스트린과 쿠메스트롤에 대해 HPLC 크로마토그램으로 확인한 결과를 나타낸 것이다.

상기 표 1 및 도 1의 결과로부터, 효소 처리에 의해 추출물 내 쿠메스트린의 당이 제거되어 쿠메스트롤로 전환됨을 알 수 있고, 쿠메스트롤로 변환되는 양이 기존의 방법에 의한 양보다 현저하게 증가하였음을 확인할 수 있었다. 아울러, 생물반응기를 사용할 경우, 노지나 야외에서 재배한 통상의 콩(종자, 식물체 유래) 추출물과는 달리, 연중 균일한 품질의 콩 배양근 추출물을 생산할 수 있으므로, 그러한 익스플랜테이션 기술을 효소 반응과 접목시키면, 이러한 고함량의 쿠메스트롤을 함유하는 콩 배양근 추출물을 균일하고도 지속적으로 생산할 수 있음을 알 수 있다.

[실험예 2] 콜라겐 생성량 측정 시험

효소 처리 전후의 콩 배양근 추출물의 콜라겐(collagen-I) 생성량을 측정하기 위하여 Procollagen Type I C-peptide(PIP) ELISA 키트를 이용하여 각 시료의 콜라겐 생성량을 측정하였다.

구체적으로, 정상 인간 섬유아세포(normal human dermal fibroblast, HDF)(한국세포주은행에서 구입)를 40mm Petri plate에 1x10⁴ cells/well 농도로 분주한 다음 37℃에서 24시간동안 배양하였다. 이후 상기 세포에 각각 다이드제인(daidzein), 쿠메스트롤(coumestrol), 효소 처리 전 콩 배양근 추출물(실시예 3의 1.의 추출물) 각각

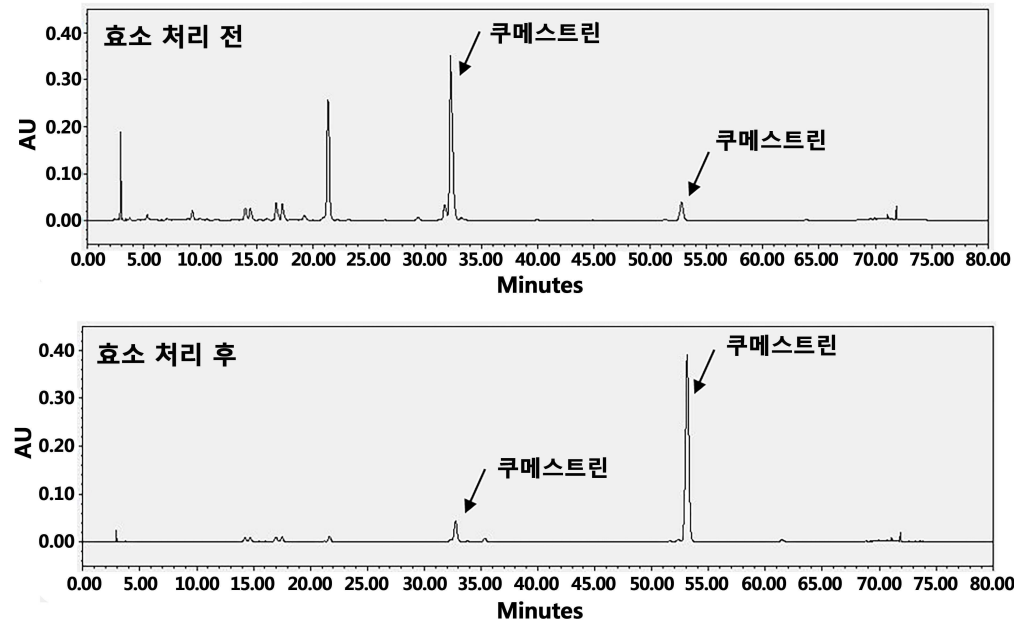
1 µg/ml 및 5 µg/ml, 효소 처리 후 콩 배양근 추출물(실시예 3의 2.의 침전물) 각각 1 µg/ml 및 5 µg/ml를 처리하고 37°C에서 72시간동안 배양한 후 각각 상등액을 수집하고 Procollagen Type I C-peptide(PIP) ELISA 키트 (Takara 社)를 사용하여 콜라겐-1 생성량을 측정하였다. 그 결과는 도 2에 나타내었다.

[0089] 도 2의 결과로부터, 효소 처리 전 콩 배양근 추출물의 콜라겐 생성량(1 µg/ml 및 5 µg/ml에서 각각 2.5ng/ml 및 3.1ng/ml)은 미처리 대조군(2.3ng/ml), 이소플라본의 일종인 다이드제인(2.5ng/ml) 및 쿠메스트롤(2.3ng/ml)에 비하여 높거나 동등한 수준인 것으로 나타났다. 반면, 본 발명에 따른 효소 처리 후 콩 배양근 추출물(1 µg/ml 및 5 µg/ml에서 각각 2.7ng/ml 및 3.9ng/ml)의 경우, 대조군(미처리), 이소플라본의 일종인 다이드제인 및 쿠메스트롤 뿐만 아니라, 효소 처리 전 콩 배양근 추출물에 비해서도 콜라겐 생성량이 높게 측정된 것을 확인할 수 있었다.

[0090] 즉, 본 발명에 따른 조성물의 유효성분인 실시예 3의 2.의 침전물(콩 배양근의 효소 처리 추출물)의 경우, 쿠메스트롤을 고함량으로 함유하여 우수한 콜라겐 생성 효과를 나타내고, 이에 따라 피부 탄력을 증진시키고 피부 주름을 예방 또는 개선시키는 효과를 가진다.

도면

도면1



도면2

