



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0046830
(43) 공개일자 2008년05월28일

(51) Int. Cl.

A61K 8/97 (2006.01) A61Q 19/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2006-0116341

(22) 출원일자 2006년11월23일

심사청구일자 없음

(71) 출원인

주식회사 코씨드바이오팜

충북 청주시 흥덕구 복대동 2380 1F

(72) 발명자

박성민

충북 청원군 오창면 각리 중앙하이츠아파트 206동 1701호

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 바실러스 속 미생물을 이용하여 배양한 흑 마늘 발효액을함유하는 화장품 조성물

(57) 요약

본 발명은 마늘을 숙성시켜 만든 흑마늘을 바실러스속 균주를 이용하여 배양한 배양액을 함유하는 주름 개선 화장품 조성물에 관한 것이다. 흑마늘 발효액은 콜라겐등의 피부 세포 단백질의 합성을 촉진 시켜 주며, 콜라겐 분해 효소의 생성을 억제해줌으로써 노화로 인해 발생하는 피부 주름 개선 효능을 가지고 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

흑마늘 발효액을 함유하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 2

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 일반 마늘을 숙성시켜 만든 흑마늘 가루를 바실러스속 균주를 이용하여 배양한 후 이 여과액을 이용하여 만든 흑마늘 발효액을 함유하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 3

청구항 1에 있어서, 흑마늘 발효액은 화장료의 건조 중량에 대하여 0.0001-20.0%(w/w)를 함유하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물

청구항 4

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 Type I 콜라겐의 생합성을 촉진해주는 것을 특징으로 하는 주름 개선 화장료 조성물

청구항 5

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 콜라겐을 분해하는 특징을 가지고 있는 콜라겐 분해효소(MMP-1)의 생합성을 저해하는 특징을 가지고 있는 주름 개선 화장료 조성물

청구항 6

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 멜라닌 생성을 억제해주는 특징을 가지고 있는 미백 화장료 조성물

청구항 7

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 피부 세포 자극을 완화해주는 것을 특징으로 하는 자극 완화 화장료 조성물

청구항 8

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 피부 장벽 손상을 회복시켜주는 특징을 가지고 있는 화장료 조성물

청구항 9

제 1항에 있어서, 흑마늘 발효액은 항염증 효과를 가지고 있는 화장료 조성물

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <1> 본 발명은 마늘을 숙성시켜 만든 흑마늘을 바실러스 속 미생물을 이용하여 만든 흑마늘 발효액을 만들고 이를 화장료에 함유시켜 줌으로써 노화로 인해 생성되는 여러 가지 피부 트러블을 효과적으로 개선시킬 수 있는 화장료 조성물을 제공하는데 있다.
- <2> 피부는 우리 몸으로부터 수분이 증발되는 것을 막아주며 외부로부터 유해성분이 침입하는 것을 막아주는 역할을 한다. 이러한 이유로 피부는 항상 외부 자극으로부터 노출되어 다양한 방어 능력을 가지고 있어야 한다. 최근 들어, 대부분의 화장품 회사들이 피부 트러블과 관련된 연구들을 많이 수행하면서 이와 관련된 제품들을 많이 개발되고 있다. 사람은 나이가 들면서 피부노화가 일어나게 되는데 그 대표적인 증상이 주름(Wrinkle)이다. 주름이 생기는 대표적인 원인은 피부의 진피에서 매트릭스를 형성하는 콜라겐이 분해 되어서 제 역할을 하지 못

할 때 생성되게 된다. 콜라겐은 노화가 진행됨에 따라 생성이 저하되기도 하나, 자외선등의 외부 자극에 의해 생성 및 활성이 촉진되는 콜라겐 분해 효소(Matrix Metallo Proteinase, MMP-1)의 활성도가 높아지면서 콜라겐이 쉽게 분해 되어 주름 생성이 증가되는 임상 보고들도 많다. 따라서 최근에는 주름 생성을 억제하기 위한 화장품들이 콜라겐 생성을 촉진하는 제품들도 많이 있지만, MMP-1의 생성을 저해한다든지, 활성을 억제하여 줌으로써 근본적으로 생성되는 콜라겐의 분해를 억제하는 제품들도 많이 개발되고 있다. 주로 피부에서는 MMP-1, MMP-2, MMP-9외에 여러 가지 효소들이 작용을 하는데 콜라겐 분해와 관련되어서 가장 근본적으로 작용하게 되는 효소는 MMP-1이다. 일반적으로 콜라겐 합성을 촉진하는 종래의 물질로는 레티노이드(RE36068), TGF-β (Transforming growth factor), 베틀린산(JP8-208424) 등이 있으며, MMP-1의 생성을 억제하는 물질로는 TGF-β (Transforming growth factor)가 대표적으로 알려져 있다. 피부 노화로 인한 트러블에는 또한 색소 침착과 피부 장벽 기능의 저하로 인해 외부 자극에 의해 피부 세포들이 쉽게 손상되고, 피부 보습력이 떨어지는 특징을 가지고 있다. 따라서 노화로 인한 피부 손상을 회복하기 위해서는 이러한 다양한 효과를 갖는 물질을 사용하는 것이 이상적이다. 그러나 대부분의 원료들이 1-2가지의 효과만 가지고 있으며 하나의 원료가 다양한 효과를 갖는 경우는 매우 드물다. 본 발명은 바실러스속(Bacillus sp.) 미생물을 이용하여 흑 마늘을 첨가하여 배양하여 생산된 흑 마늘 발효액을 함유하는 화장품 조성물에 관한 것이다. 종래부터 마늘은 항균작용을 하며, 그 외에도 항혈전작용, 항암작용, 콜레스테롤의 저하 및 노화방지, 항산화 작용이 있음이 알려져 있다. 마늘은 그 분말이 자극성이 있으며 그대로 피부에 이용하기가 어려운 문제점들이 이미 많이 알려져 있다. 화장품에서는 마늘을 이용하여 물과 알코올을 이용하여 추출하여 사용하는 것에 대한 방법은 이미 제안되었다. 마늘 분말이나 물로 추출한 추출물을 함유하는 화장비누(특히 1996-4496호), 화장품 조성물용 마늘 추출물(특히 제 2002-191726호). 그러나 이러한 추출물들은 마늘의 자극 성분이 그대로 이용될 수 있어서 피부에 자극을 줄 수 있는 가능성이 매우 많다.

- <3> 다른 한편, 최근 들어서는 청국장 및 낫도(natto)라는 대표적인 발효 식품에 이용되는 고초균에 의한 발효 산물을 이용하여 생산한 발효액을 이용하여 화장품 조성물을 제공하는 경우가 있다. 이러한 발효액은 미생물에 의해 자극성분들이 분해되거나 다른물질로 전환됨으로써 피부 자극이 저하되는 장점들이 있으며 미생물에 의한 발효 산물들이 또한 피부에 좋은 영향을 줌으로써 많이 이용되고 있다.
- <4> 본 발명은 자극성이 강한 마늘을 오랜 기간 숙성시켜서 만든 흑 마늘을 잘게 분쇄하여 가루로 만든 다음 이 물질을 Bacillus 속 미생물을 이용하여 배양함으로써 만들어진 배양액을 이용하여 화장료를 제공하는데 있다. 본 발명에 이용된 배양액은 피부 개선을 위한 다양한 효과들이 있는 것으로 확인 되었다. 흑 마늘 배양액은 콜라겐 합성 효과가 우수하며, 콜라겐 분해 효소의 생성을 억제해주는 특징을 가지고 있으며 멜라닌 합성 억제 효과도 우수하다. 이외에도 흑마늘 배양액은 피부 자극을 완화해 주며, 피부 장벽 손상을 회복시켜 주는 다양한 특징들을 가지고 있다.
- <5> 본 발명은 노화로 인해 손상된 다양한 피부 트러블들을 해결하기 위하여 흑마늘 배양액을 사용하여 화장품 조성물을 제공하고자 하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

- <6> 본 발명에서는 흑마늘 분말을 이용하여 바실러스속 미생물을 이용하여 발효액을 만든 후 이 유효성분을 이용하여 피부 노화로 인해 발생하는 피부의 문제점을 효과적으로 개선하고자 하였다. 먼저, 주름 생성을 억제하기 위한 방법으로 일반적으로 콜라겐 합성을 촉진해줌으로써 주름생성을 억제하거나, 콜라겐 분해효소의 생성 또는 활성을 억제해줌으로써 주름생성을 억제하는 등의 방법이 있다. 또한, 피부 색소 침착을 억제하기 위하여 멜라닌 합성을 저해해 주며, 피부 장벽 손상을 억제하고자 하였다.
- <7> 본 발명에 이용되는 흑마늘 발효액은 콜라겐 합성 효과 뿐만 아니라 콜라겐 분해 효소의 생성을 억제하는 효과와 동시에 색소 침착을 억제해 주며, 피부 자극을 완화해주는 다양한 특징을 가지고 있다. 따라서, 본 발명은 흑마늘 발효액을 화장품에 첨가함으로써 노화로 인해 발생하는 피부 손상에 대해 매우 우수한 효과를 보여주는 화장품 조성물에 대한 것이다.

발명의 구성 및 작용

- <8> 본 발명은 흑마늘을 이용하여 바실러스속 균주를 이용하여 만든 발효액을 이용한 화장품 조성물에 관한 것이다. 흑마늘은 일정한 온도와 습도에서 약 1개월간 숙성시켜서 만든 마늘로서 처음에는 갈색으로 변했다가 최종적으로는 검정색으로 변하게 된다. 본 발명에서는 일반 흰색의 마늘을 일정한 온도와 습도에서 약 1달간 숙성시켜서

만든 흑마늘을 사용하였다.

- <9> 또한, 흑마늘 발효액을 만들기 위하여 바실러스속 균주를 사용하였다. 바실러스 균주는 그람양성의 미생물이며, 내생포자 형성이 가능하고, 장간균(rod shape)의 형태를 가지고 있다. 본 발명에서는 호기적 또는 통성 혐기적인 조건에서 생육이 가능하도록 하였으며 생육조건으로는 마늘 분말을 미세하게 만든 후(300메쉬를 이용하여 만들) 이 가루를 통상적인 미생물 배양액에 10g/1L를 첨가하였다. 발효조건은 약 37도에서 생육하게 하였으며, pH는 5-7에서 생육하게 하였다.
- <10> 본 발명에서 사용한 흑마늘 발효액은 다음과 같이 하여 얻었다. 위와 같은 조건으로 배양한 후 발효조에서 약 7일간 배양 하였다. 배양 후 배양액을 얻은 후 이 액을 0.25uM의 여과지를 이용하여 여과하였다. 이 여액은 다시 10일간 저온 숙성 시킨 후 여과하여 본 발명에 사용되어졌으며 사용하기 전에 최종 고형분의 농도를 10g/L가 되게 유지하였다
- <11> 제조된 흑마늘 발효액은 통상적인 기초 화장료, 다시 말하면 유연 화장수(스킨), 영양화장수(밀크로션), 영양크림, 맞사지 크림, 옛센스, 팩등에 첨가되어 사용되는데 이때 첨가량은 그 건조 중량에 대하여 0.0001~20중량%, 바람직하게는 0.001~10중량%를 화장료에 첨가한다. 이때 흑마늘 발효액은0.0001%미만일 때는 그 효과가 나타나기 어렵고 20% 이상 일 때는 피부에 자극을 유발할 가능성이 높으며 제형의 안정화에도 큰 영향을 미칠 수 있다.
- <12> 아래의 실시예 및 실험예 들은 본 발명의 내용을 설명하나, 본 발명의 내용이 이에 한정되는 것은 아니다.
- <13> 실시예 1. 흑마늘 발효액 제조
- <14> 정제수로 세척하고 건조한 흑마늘을 분말화 한 후 300메시를 이용하여 미세하게 만들었다. 이것을 10g/L되게 Bacillus 속 균주 배양액에 첨가하였다. 여기에 탄소원으로 포도당을 첨가하였으며, 펩톤과 NaCl을 추가로 첨가하여 배양하였다. 배양은 5L 발효조를 이용하여 7일간, 37도, pH 5-7로 유지하며 배양하였다. 배양 후 배양액을 원심분리하여 배양균을 1차 제거 한 후 0.25uM 여과지를 이용하여 최종여과 하였다. 이렇게 얻은 여과액을 다시 4도의 저온 창고에서 약 10일간 숙성시킨 후 이액을 다시 0.25uM의 여과기를 이용하여 여과하여 본 발명에 사용하였다. 본 발명에 사용된 이 발효액은 최종농도가 1g/100mL가 되게 유지하여 사용하였다.
- <15>
- <16> 실험예 1. 흑마늘 발효액의 MMP-1 생성 억제 효과
- <17> 상기 실시예에서 얻은 시료를 이용하여 본 실험을 실시하였는데 실험은 다음과 같이 진행되었다. 먼저, 인체 정상 섬유아세포를 48-웰 마이크로 플레이트(Nunc, 덴마크)의 각 웰에 1×10^6 세포가 되도록 접종하고, DMEM 배지(Sigma, 미합중국)에서 37℃에서 24시간 동안 배양하였다. 이어, 흑마늘 발효액의 농도를 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0%로 하여 혈청이 없는 DMEM 배지로 교체한 실험과, 흑마늘 발효액이 포함되지 않은 혈청이 없는 DMEM 배지로 교체한 대조군을 48시간 동안 추가로 배양하였다. 배양 후, 각 웰의 상층액을 모아 MMP-1 분석 키트(Amersham, 미합중국)를 이용하여 새로 합성된 MMP-1의 양을 측정된 뒤, MMP-1의 양은 ng/ml 환산하였다. 양성 대조군으로 TGF-β (10ng/ml, Roche, 미합중국)을 사용하였으며 MMP-1 생성 억제율은 하기식에 따라 구하였으며 결과는 표 1에 나타내었다.
- <18> MMP-1 생성 억제율(%) = [1-(실험군의 MMP-1 양/대조군의 MMP-1양)] × 100
- <19> [표 1] 흑 마늘 발효액의 MMP-1 생성 억제 효과
- <20>

시험 물질(흑마늘 발효액,%)	MMP-1 생성 억제율(%)
양성 대조군(TGF-β :10 ng/ml)	68.5
0.1	12.5
0.5	28.8
1.0	57.3
2.0	68.2
5.0	65.5
- <21> 실험예 2. 흑마늘 배양액의 콜라겐 합성 증진 효과

<22> 인체 정상 섬유아세포를 48-웰 마이크로 플레이트의 각 웰에 1×10^6 세포가 되도록 접종하고, DMEM 배지에서 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 이어, 흑마늘 배양액의 최종농도를 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0%로 하여 혈청이 없는 DMEM 배지로 교체한 실험군과 흑마늘 배양액이 포함되지 않은 혈청이 없는 DMEM 배지로 교체한 대조군을 24시간 동안 추가로 배양하였다. 배양 후, 각 웰의 상층액을 모아 프로콜라겐 (procollagen) 타입 I C-펩타이드 (PICP) 양을 키트 (Takara, 일본)를 이용하여 새로 합성된 콜라겐 양을 측정하였다. PICP 양은 ng/ml 환산하였으며, 양성대조군으로 역시 TGF-β를 사용하였다. 콜라겐 생합성 증가율은 하기식에 의해 구하였으며 결과는 표 2에 나타나 있다.

<23> 콜라겐 생성 증가율(%) = [(시험군 콜라겐 양/대조군 콜라겐 양) - 1] × 100

<24> [표 2] 흑마늘 배양액의 콜라겐 합성 증진 효과

시험 물질(흑마늘 발효액,%)	콜라겐 생성 증가율 (%)
양성 대조군(TGF-β:10 ng/ml)	71.5
0.1	10.6
0.5	20.5
1.0	33.6
2.0	52.6
5.0	48.9

<26> 이상의 실험예에서 흑마늘 발효액은 콜라겐 합성을 촉진해주는 효과와 동시에 콜라겐 분해의 특징을 가지고 있는 MMP-1의 생합성을 억제해주는 효과를 가지고 있는 특징을 가지고 있다.

<27> 실험예 3. 흑마늘 배양액의 멜라닌 생성 저해 실험 (멜라닌 분석법)

<28> B-16 세포 (쥐 멜라노마 세포, 한국세포주은행)를 12-웰 플레이트 (well plate)에 10^4 cell/well이 되도록 접종한 후에 하루 동안 배양하였다. 각 웰에 위 실험예에서 얻은 흑 마늘 배양액을 실시예 1에서와 같이 만든 후 흑마늘 배양액을 농도별로 처리하고 3-4일 동안 배양한 후 각 웰의 배양액중 상층액을 버리고 멜라닌 세포만 원심 분리하여 얻었다. 분리된 세포는 디메틸설폭사이드 (DMSO)에 용해한 1N NaOH 용액 500 μl로 용해하여 10분간 90°C 수욕 (water bath)에서 가열하였다. 이를 다시 원심분리하고 490nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 흑마늘 배양액을 처리하지 않은 것을 사용하였다.

<29> 멜라닌 생성 저해도는 하기 수학적식에 따라 계산하였으며, 그 결과는 표 3에 나타내었다.

<30> 저해도(%) = [1 - 비교군흡광도(O.D.490)/대조군흡광도(O.D.490)] × 100

<31> [표 3] 흑마늘 배양액의 멜라닌 생성 억제 효과

흑마늘 발효액(%)	멜라닌 생성 억제율 (%)
0.1	5.6
0.5	12.5
1.0	32.6
2.0	62.6
5.0	78.9

<33> 실험예 4. 흑마늘 배양액의 락트산에 의한 세포자극 완화 효과 시험

<34> 인간 피부 세포인 섬유아세포(한국 세포주 은행, 대한민국)를 T-75 플라스크(Falcon, 미합중국)에서 80% 정도 성장할 때까지 배양하였다. 이것을 다시 96-웰 플레이트(Falcon, 미합중국)에 3×10^4 cells/well이 되게 옮겨 24시간 배양하였다. 배양 후 현미경을 통해 세포가 완전히 부착되어 잘 자라는지 여부를 확인하고 피부세포 자극원으로 락트산을 이용하여 실험을 진행하였다. 이때 락트산은 0.2%를 사용하였다. 즉, 96웰의 각각에 0.2% 락트산이 함유된 DMEM(시그마, 미합중국) 배지를 200μl씩 첨가하고 실시예 1에서 만든 흑마늘 배양액을 이용하여 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0%(v/v)로 조절하여 첨가하였다. 이때 대조군에는 락트산 및 흑마늘배양액을 첨가하지 않았으며 비교군으로는 락트산만 첨가하였다. 시험물질을 첨가하고 12시간 경과 후 세포의 생존율을 비교하기 위하여 MTT(시그마, 미합중국) 솔루션(3mg/ml)을 첨가하여 세포 생존율을 ELISA READER(Molecular Devices, 미

합중국)를 이용하여 570nm에서 흡광도를 측정하고 하기 수학적식에 따라 세포 생존율(%)을 계산하였으며 실험 결과는 하기 표 4에 기재하였다.

<35> 세포 생존율=[(대조군 흡광도-시험물질 흡광도)/대조군 흡광도]× 100

<36> [표 4] 흑마늘 배양액의 세포 자극 완화 효과

<37>

흑마늘 배양액 농도(%)	세포 생존율(%)
0.0(락트산 첨가 안함)	98.5
0.0%(락트산 0.2%)	0.0
0.1(락트산 0.2%)	10.5
0.5(락트산 0.2%)	15.7
1.0(락트산 0.2%)	25.9
2.0(락트산 0.2%)	55.4
5.0(락트산 0.2%)	67.9

<38> 실험예 5. 흑마늘 발효액의 항염증 효과 평가법-Carrageenan foot edema

<39> 실시예 1에서 얻은 흑마늘 발효액을 각각 10-100mg/kg을 쥐의 복강으로 투여한 후 1시간 뒤 0.1% 카라기난 용액 0.5ml를 실험 동물의 뒷 발바닥에 주입하여 염증을 유발했다. 카라기난 주입 직후와 주입 후 4시간 뒤의 쥐의 발부피의 변화를 측정하여 하기 표 5에 나타내었다

<40> % 억제율 = (1-ΔV 처리군/ΔV 대조군)× 100 [ΔV : 발 부피의 변화]

<41> [표 5] 흑마늘 발효액의 항염증 효과

<42>

흑마늘 발효액 투여량(mg)	% 억제율
10	10.5
20	29.8
50	56.4
100	75.8

<43> 처방예 1. 유연화장수

<44> 흑마늘 발효액을 함유한 화장료중 유연화장수의 처방예는 다음과 같다.

<45>

<46>

성 분	함량(%)
흑마늘 발효액	0.5
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
알란토인	0.1
DL-판테놀	0.3
이.디.티.에이-2NA	0.02
벤조페논-9	0.04
소듐 히아루로네이트	5.0
니콜 HCO 60	0.4
메틸 파라벤	0.2
향,	0.01
증류수	잔량
합 계	100

<47> 처방예 2. 영양화장수

<48> 흑마늘 발효액을 함유한 화장료중 영양화장수의 처방에는 다음과 같다

<49>

성분	함량(단위:중량%)
흑마늘 발효액	2.0
글리세릴 스테아레이트SE	1.5
스테아릴 알콜	1.5
라놀린	1.5
폴리솔베이트 60	1.3
솔비탄스테아레이트	0.5
경화식물유	1.0
광물유	5.0
스쿠알란	3.0
트리옥타노인	2.0
디메치콘	0.8
초산토코페롤	0.5
카르복시비닐폴리머	0.12
글리세린	5.0
1,3-부틸렌글리콜	3.0
소듐히아루로네이트	5.0
트리 에탄올아민	0.12
메틸파라벤	0.2
향	0.02
증류수	잔량
합계	100

<50> 처방예 3. 영양크림

<51> 흑마늘 발효액을 함유한 화장료중 영양크림의 처방에는 다음과 같다.

<52>

성분	함량(단위:중량%)
흑마늘 발효액	3.0
친유형 모노스테아린산글리세린	2.0
세테아릴알콜	2.2
스테아린산	1.5
밀납	1.0
폴리솔베이트 60	1.5
솔비탄스테아레이트	0.6
경화식물유	1.0
스쿠알란	3.0
광물유	5.0
트리옥타노인	5.0
디메치콘	1.0
소듐마그네슘실리케이트	0.1
글리세린	5.0
베타인	3.0
트리에타올아민	1.0
소듐히아루로네이트	4.0
메틸파라벤	0.2
향	0.05
증류수	잔량
합계	100

<53> 실험예 6. 흑마늘 발효액을 함유한 화장료의 주름 개선 효과 평가

<54> 본 발명의 화장료의 주름 개선 효과를 실제 사용 테스트를 통하여 평가 하였다. 처방예 3의 흑마늘 발효액을 각각 3%(v/v)를 함유하고 있는 영양 크림과 처방예 3에서 흑마늘 발효액을 정제수로 대체한 크림을 사용하였다. 20명의 여성을 대상으로 얼굴의 한쪽 면에는 실험군을 다른쪽 면에는 대조군을 사용하여 6주 후의 주름 개선 효과를 Skin visiometer(C+K, 독일)를 이용하여 주름의 깊이를 평가하여 주름 개선 정도를 평가하였다. 이 평가를 토대로 한 주름 개선 효과 결과는 하기의 표에 나타낸 바와 같다.

<55> [표 6] 흑마늘 발효액을 함유한 영양크림의 주름 개선 효과(기기평가)

<56>

	주름 개선 효과			유효율(%)	
	우수	약간	없음		
	처방예 3의 크림	13	3	4	80.0
비교예의 크림	1	1	18	10.0	

<57> 실험 결과에 의하면 흑마늘 발효액을 함유한 본 발명품은 비교예에 비하여 높은 주름개선 효과를 보여주었으며, 본 화장료를 피부에 도포한 대부분의 피검자들에게서 피부 자극을 관찰할 수 없었다.

<58> 실험예 7. 흑마늘 배양액의 피부 장벽 손상 회복 효과

<59> 상기 처방예 3에서 제조한 크림과 처방예 3에서 흑마늘 배양액을 첨가하지 않은 크림을 비교 처방예라 하여 피부 장벽 손상 회복 정도를 평가하기 위하여, 헤어리스 마우스를 이용하여 다음과 같은 방법으로 실험하였다. 먼저 헤어리스 마우스를 그룹별로 분류하여 1, 2그룹 각각 10마리씩을 선정하여 5일간 순화 시킨다. 6일째 되는 날 테이프 스트리핑 방법을 이용하여 헤어리스 마우스의 피부 장벽 기능을 제거시킨다. 이후 1그룹에는 처방예 3의 제품(흑마늘 배양액 3%함유)을, 2그룹에서는 비교 처방예 3(흑마늘 배양액을 함유하지 않은 제품)을 1일 2회 발라 주면서 1주일간 피부 장벽의 회복 정도를 육안 및 기기분석을 통하여 평가한다. 기기분석은 TEWA meter(Corneometer CM820, Conrage + Khazaka사, 독일)를 이용하여 TEWL(TransEpidermalWaterLoss) 값을 측정하여 비교하였다.

<60> [표 7] 육안 평가에 의한 피부 장벽 개선정도

<61>

구 분	피부장벽 개선정도				
			이주 좋음	좋음	효과 없음
	처방예 3	7	3	-	
비교처방예 3	1	1	8		

<62> [표 8] TEWA meter를 이용한 경피 수분 손실율(%)

<63>

구 분	경피수분손실율(%)		
		0 일	7일째
	처방예 3	43.5	5.8
비교처방예 3	44.3	28.5	

발명의 효과

<64> 본 발명은 흑마늘 발효액을 이용하여 노화로 인해 발생하는 피부 손상을 효과적으로 개선해 줌으로써 피부 노화를 방지하는 효과에 관한 것이다. 흑마늘 발효액은 콜라겐 합성을 촉진해주며, 자외선등에 의해 생성이 증가되는 콜라겐 분해 효소(MMP-1)의 생합성을 효과적으로 억제하여 주는 특징을 가지고 있다 또한, 흑마늘 발효액은 멜라닌 합성을 억제하며, 피부 장벽의 손상을 억제해주는 특징을 가지고 있다. 이외에도 항염증 효과를 가지고 있으며, 피부 세포 자극을 완화해주는 특징을 가지고 있다. 결론적으로 본 발명은 흑마늘 발효액을 함유한 화장료 조성물로서 노화로 인해 발생하는 피부손상을 개선해주고 피부를 건강하게 해주는 특징을 가지고 있다.