

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

농생명산업기술개발사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003883-01

허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성

2022. 03. 31.

주관연구기관 / (주)하이솔
협동연구기관 / 남원시화장품산업지원센터
우석대학교산학협력단
(주)더가든오브내추럴솔루션
전북농업기술원허브산채시험장

농 립 축 산 식 품 부
농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성”(개발
기간 : 2017.04. ~ 2021.12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 03. 31.

주관연구기관명 : ㈜하이솔(박이경)

협동연구기관명 : 남원시화장품산업지원센터(이환주)

우석대학교 산학협력단(오석홍)

㈜더가든오브내추럴솔루션(장문식, 장두진)

전북농업기술원허브산채시험장(박경숙)

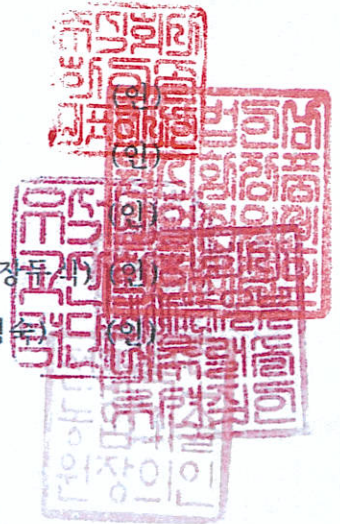
주관연구책임자 : 김 광 상

협동연구책임자 : 황 지 영

임 재 윤

차 준 석

안 송 희



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

최종보고서							보안등급				
							일반[v], 보안[]				
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	사업명		농생명산업기술개발				
전문기관명	농림식품기술기획평가원			내역사업명			-				
공고번호	-			총괄연구개발 식별번호	-		-				
				연구개발과제번호	317024-5						
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0206	40%	LA0905	30%	100321	30%				
	농림식품과학기술분류	AA0202	100%		%		%				
총괄연구개발명	국문	허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성									
	영문	Development of advanced functional materials and products for herbal beauty industry									
연구개발과제명	국문	허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성									
	영문	Development of advanced functional materials and products for herbal beauty industry									
주관연구개발기관	기관명	㈜하이슬			사업자등록번호	407-81-26215					
	주소	(우)55717 전북 남원시 운봉읍 바래봉길 247-9			법인등록번호	211311-0008430					
연구책임자	성명	김광상			직위	연구소장					
	연락처	직장전화	-			휴대전화	-				
		전자우편	-			국가연구자번호	-				
연구개발기간	전체		2017. 04. 21 - 2021. 12. 31(4년 9개월)								
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				합계		연구개발비 외 지원금	
		현금	현물	현금	현물	지방자치단체	기타()	현금	현물		합계
총계	1,400,000	51,700	465,300	150,000				1,601,700	465,300	2,067,000	지자체
1년차	200,000	7,700	69,300	30,000				237,700	69,300	307,000	지자체
2년차	300,000	11,000	99,000	30,000				341,000	99,000	440,000	지자체
3년차	300,000	11,000	99,000	30,000				341,000	99,000	440,000	지자체
4년차	300,000	11,000	99,000	30,000				341,000	99,000	440,000	지자체
5년차	300,000	11,000	99,000	30,000				341,000	99,000	440,000	지자체
공동연구개발기관 등	기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고					
						역할	기관유형				
공동연구개발기관	(재)남원시화장품산업지원센터	황지영	선임연구원	-	-	공동	지자체				
	우석대학교 산학협력단	임재문	교수	-	-	공동	대학				
	(주)더가름오브 내추럴솔루션	차준석	연구소장	-	-	공동	중소기업				
	전북농업기술원허브신채시험장	인승재	연구사	-	-	공동	공립연				
연구개발담당자 실무담당자	성명	김민숙			직위	책임연구원					
	연락처	직장전화	-			휴대전화	-				
		전자우편	-			국가연구자번호	-				

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재 처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

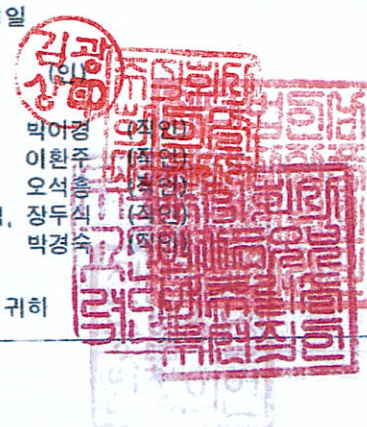
2022년 03월 31일

연구책임자: 김 광 상

주관연구개발기관의 장: 박어경
공동연구개발기관의 장: 이환주

장문식, 장두식, 박경숙

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



< 요약 문 >

사업명		농생명산업기술개발			총괄연구개발 식별번호		-
내역사업명		-			연구개발과제번호		317024-5
기술 분 류	국가과학기술 표준분류	LB0206	40%	LA0905	30%	L00321	30%
	농림식품 과학기술분류	AA0202	100%		%		%
총괄연구개발명		허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성					
연구개발과제명		허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성					
전체 연구개발기간		2017. 04. 21 - 2021. 12. 31					
총 연구개발비		총 2,067,000 천원 (정부지원연구개발비: 1,400,000 천원, 기관부담연구개발비 : 517,000 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 150,000 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[√]			기술성숙도		-
연구개발과제 유형		-					
연구개발과제 특성		-					
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성					
	전체 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 남원 허브 특화자원의 소재개발 및 자원화 <ul style="list-style-type: none"> • 허브 특화자원의 원료표준화 및 제조공정표준화 • 허브 특화자원의 효능평가 • 허브특화자원의 지표물질 탐색 및 밸리데이션 • 허브 특화자원의 소재자원화 ○ 남원 허브 특화자원의 소재산업화 및 사업화 <ul style="list-style-type: none"> • 허브특화자원 원료의 안전성, 안정성 평가 • 허브특화자원 원료 제조공정표준화 및 기준규격확립 • 허브특화자원을 이용한 화장품 원료 제품 개발 • 허브특화자원 원료를 이용한 제품의 제조공정도 제형 및 제제연구 • 허브특화자원 원료를 이용한 제품의 제조공정도 개발 • 허브특화자원 원료를 이용한 시제품 및 디자인 개발 • 허브특화자원 원료를 이용한 시제품의 안정성 및 안정성 평가 • 허브특화자원 원료를 이용한 제품 개발 및 상품화 • 허브특화자원을 이용한 마케팅 및 네트워킹 구축 ○ 재배정밀화 (재배 및 번식기술) <ul style="list-style-type: none"> • 허브특화자원의 고품질생산연구 • 허브특화자원의 번식기술개발 • 허브특화자원의 재배기술개발 • 허브특화자원의 임간재배연구 					

	주요내용		목표	달성							
	연구개발성과	- 원료표준화 및 제조공정표준화		4건	4건						
- 생리활성탐색 및 기전연구		6건	19건								
- 이화학적특성연구		10건	11건								
- 지표(유효) 성분 탐색 및 설정		10건	10건								
- 지표(유효) 성분 분석 및 밸리데이션 확립		10건	10건								
- 복합물에 대한 지표(유효)성분 표준시험법확립		5건	5건								
- 화장품원료 등재		4건	10건								
- 라이브러리 구축		10건	10건								
- 화장품 원료 안전성 및 안정성 평가		6건	8건								
- 화장품 원료 제조공정표준화 및 기준규격확립		6건	8건								
- 화장품원료 제품개발		6건	8건								
- 화장품 제품개발		9건	9건								
- 화장품 제조공정도 개발		9건	9건								
- 화장품 제형 및 제제연구		9건	9건								
- 화장품 시제품 개발		9건	9건								
- 화장품의 디자인 개발		5건	6건								
- 화장품 제품의 안전성 및 안정성평가		18건	18건								
- 화장품 제품개발 및 상품화		9건	9건								
- 마케팅 전략 수립 및 인프라 구축		9건	9건								
- 국내외 전시회 참가		13건	13건								
- 고품질생산연구		1건	3건								
- 번식기술개발		1건	2건								
- 재배기술개발		1건	1건								
- 임간재배연구		1건	4건								
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	○ 지역특화품목에 대한 바이오기술 접목으로 지역산업의 기술고도화										
	○ 에코 트렌드 및 나고야의정서 대응 천연허브 유래 소재를 통한 화장품 산업기술 확보										
	○ 기능성화장품개발을 통한 뷰티 중심 기술 개발										
	○ 생물자원 주권 중심 기술확대 및 시장확대 시 국내외 법적분쟁에 대한 기술사용권 조기확보										
	○ 지리산 천연허브 대량재배생산기술 확보에 따른 천연물 공급기술 확보										
	○ 천연물 소재의 바이오활성 중심 유효품목 발굴과 산업화기술력 확보										
	○ 허브원료공급기지화를 위한 품목발굴, 소재화, 원료표준화, 제품개발 등 기술 패키지화 가능										
	○ 기술패키지화에 따른 재배, 연구, 가공 등 산업기술개발 및 활용시스템 구축										
	○ 향후 지리산 천연허브 소재은행을 위한 기초기반사업										
	○ 품목 대량재배 등 재배정밀화 기술개발에 따른 재배농가 기술보급 및 공유 확산										
	○ 지리산 천연허브 소재 및 산업화기술개발에 따른 관련 바이오산업 기술파급										
	○ 천연허브 중심 화장품 개발기술의 지역 관련 기업 보급 확산										
	○ 허브재배산업, 허브관광산업, 허브가공산업 등의 바이오뷰티산업으로 통합시너지										
	○ 허브재배산업의 다품종·소량생산 중심의 국내 유일의 바이오뷰티원료재배산업으로 전환										
	연구개발성과의 비공개여부 및 사유	-									
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허 (등록)	보고서 원문	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
	7	7					생명 정보	생물 자원			정보
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호		
	-										
국문핵심어 (5개 이내)	허브		기능성 화장품		천연화장품		남원-지리산		바이오뷰티		
영문핵심어 (5개 이내)	Herbs		Functional		Natural cosmetics		Namwon and Mt. Jiri		Bio-beauty		

< 목 차 >

I. 연구개발과제의 개요-----	5p
II. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용-----	55p
III. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도-----	466p
IV. 목표 미달 시 원인분석-----	489p
V. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도-----	491p
VI. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획-----	495p

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발의 필요성

가. 연구개발의 개요

1) 연구개발 목표

○ Core1(혁신). 전북 농생명산업 기반 남원 원예허브산업의 바이오뷰티산업으로 커스터마이징

○ 현재

- 허브재배 : 92농가 10개 영농법인에서 20여개 허브품목을 53.2ha면적으로 연간 200톤 재배생산
- 허브가공 : 32개사에서 연간 499억원 매출과 298명 고용
- 화장품기업 : 7개사에서 연간 42억원 매출과 178명 고용

○ 문제

- 허브특화품목 다양성 한계 : 기존 단일특화품목으로는 다양한 소비자요구와 시장트렌드를 선도할 수 없는 현재 상황에서 바이오뷰티산업시장을 선도할 기존 허브품목 포함 지리산자생허브를 이용한 다품종/소량형 시스템형 전략산업으로 전환 필요

- 단순허브가공 등 저부가가치형 산업 : 기존 허브제품은 재배물을 단순가공한 다류 및 향장, 위생용품에 국한되어 하이테크를 이용한 고부가가치형 산업으로 전환 필요

- 시장선도제품 부재 : 허브 특유의 유기산, 플라보노이드, 폴리페놀, 오일 및 비타민 등 유효성분등을 이용한 바이오생리활성 효능 기반 시장 트렌드제품의 개발과 제조생산 필요

○ 미래

- 허브특화품목재배 : 에코 트렌드를 지향하는 천연바이오뷰티산업 원료공급기지로서의 재배산업
- 기능성 소재기반 원료집중화 : 지리산자생허브의 바이오활성 기능성 뷰티소재발굴 및 소재화
- 바이오뷰티산업 고도화 : 재배·가공·연구·유통판매 전분야에 이르는 바이오뷰티산업 생태계 구축

○ Core2(기술). 천연허브의 바이오생리활성 에코 트렌드 소재화로 기능성화장품 개발

○ 현재

- 허브재배기술 : 개별농가의 주관적 판단에 의한 관행농법에 의지한 농업생산형태
- 허브가공기술 : 식품으로서 단순 세척, 절단제품 및 일부 부원료사용
- 화장품기술 : 원료의 단순 추출 및 하이드로졸 수준의 원료화

○ 문제

- 허브재배기술 : 유효성분 함량이 담보된 우수품질 원료 재배 한계
- 허브가공기술 : 에코 트렌드를 선도할 수 없는 평이한 가공기술
- 화장품기술 : 큐레이션 트렌드를 선도할 수 없는 평이한 기술

○ 미래

- 허브재배기술 : 바이오뷰티산업 원료로서 바이오활성 유효성분이 다량 함유된 정밀허브재배기술 확보
- 허브가공기술 : 다양한 효능 기반 허브소재를 이용한 이너뷰티식품개발기술 확보
- 화장품기술 : 생리활성 기반 허브소재를 이용한 기능성화장품개발기술 확보

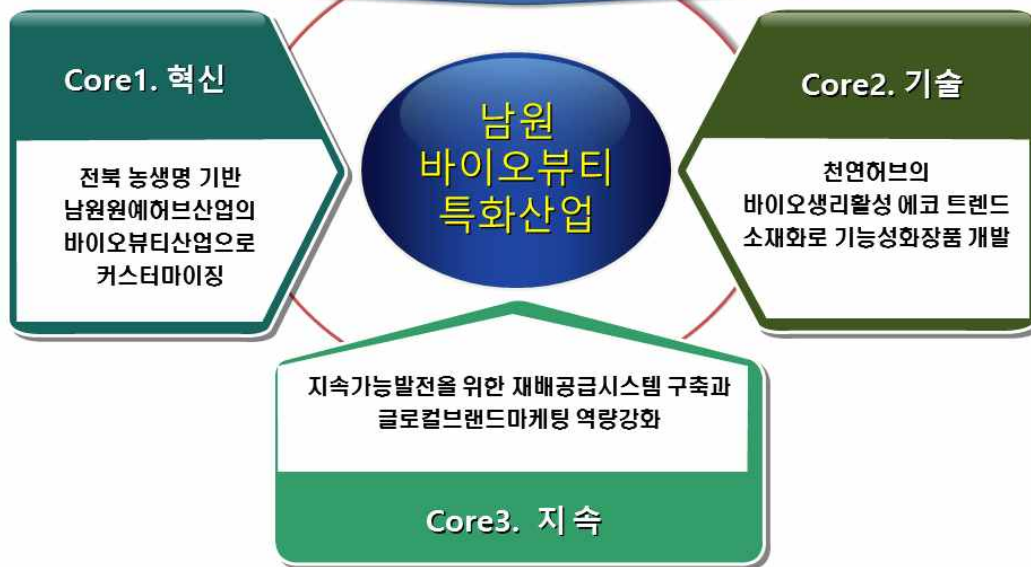
○ Core3(지속). 지속가능발전을 위한 재배공급시스템 구축과 글로벌브랜드마케팅 역량 강화

○ 현재 : 단순 가공산업원료 공급중심의 재배산업과 개별 기업의 개별마케팅

○ 문제 : 바이오뷰티산업 활성화를 위한 다품종소량생산중심의 재배정밀화 및 시장브랜드화 미흡

○ 미래 : 지리산 천연물 이용 바이오뷰티소재 중심의 소재원료 기반 시장선도제품생산 및 수출전략화

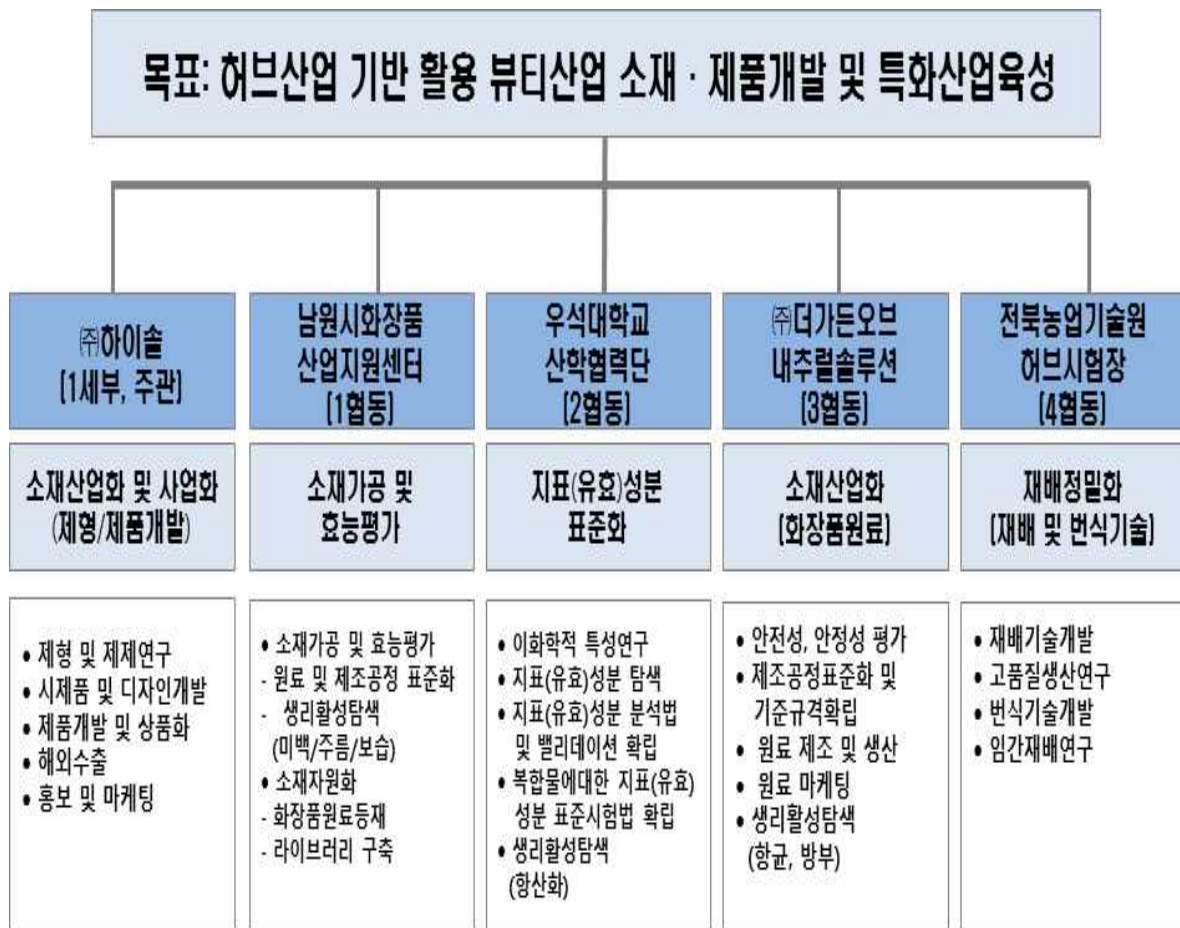
허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성



2) 연구개발 내용

- 남원 바이오뷰티특화산업육성을 위한 산·학·연·관 컨소시엄 구축
- 소재개발 및 자원화: (재)남원시화장품산업지원센터
- 소재성분표준화: 우석대학교 산학협력단
- 소재원료표준화 및 산업화: (주)더가든오브내추럴솔루션
- 제품 산업화 및 사업화:(주)하이솔
- 재배기술: 전북농업기술원 허브시험장
- 바이오뷰티허브산업 연구개발대상 10종 선정
- 서양허브 3종(라벤더, 캐모마일, 레몬그라스), 동양허브 5종(와송, 흰민들레, 자소엽, 감국, 구절초), 자원식물 2종(곤달비, 찔레)
- 기능성 선정: 향산화, 미백, 주름, 보습, 항균, 방부
- 남원허브 이용 바이오뷰티산업 소재개발 및 자원화
- 허브 특화자원의 원료표준화 및 제조공정표준화
- 허브 특화자원의 효능평가
- 허브 특화자원의 지표물질 탐색 및 밸리데이션
- 허브 특화자원의 소재자원화
- 남원허브 바이오활성 효능기반 산업화 및 사업화
- 허브특화자원 원료 제조공정표준화 및 기준규격확립
- 허브특화자원 이용한 화장품 원료 제품 개발
- 허브특화자원을 이용한 화장품 개발
- 허브특화 제품의 마케팅 및 네트워크 구축
- 지속가능한 남원 바이오뷰티특화산업 발전을 위한 허브정밀생산체계 확립 및 사업화
- 허브특화자원의 고품질생산연구
- 허브특화자원의 번식기술개발
- 허브특화자원의 재배기술개발
- 허브특화자원의 임간재배연구

3) 각 기관별 연구개발 내용



1-2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

(1) 국내 기술 수준 및 시장 현황

1) 기술현황

○ 화장품 산업특징

- **고부가가치 창출 산업** : 화장품산업은 여타 제조업 전체와 비교하면 수익구조가 높은 산업임.
- **피부특성 . 생활문화 의존성이 강한 내부중심 산업** : 피부특성 및 화장습관의 차이에 따라 초기에는 내수중심 산업으로 성장하다가 소득수준이 높은 선진국으로 갈수록 주요 수출 산업으로 부상하는 추세를 보임.
- **원 . 부재료의 수입 의존도가 높음** : 세계적으로 화장품 원료 제조회사가 많고 또 그 규모가 크고 화장품 원료 수요가 제한적이기 때문에 상대적으로 원 . 부재료 수입 의존도가 높음.
- **다품종 소량 생산체제** : 화장품은 시호성과 유행성이 강하기 때문에 제품의 사양이 다양하여 다품종 소량생산체제를 가짐.
- **다양한 유통구조** : 화장품 유통은 화장품 전문점, 백화점, 방문판매, 통신판매, 다단계 판매 등 다양한 유통구조를 가짐.
- **기술집약적 . 환경 친화적 녹색성장 산업** : 화장품산업은 의학, 생물학 등 최근 및 향후에 더욱 발전할 수 있는 BT, NT, IT 등의 새로운 기술들이 총망라되어 응용될 수 있는 기술집약적 산업임. 또한 에너지 소비가 낮고 오염물질 배출이 거의 없는 녹색산업으로 고부가가치 창출산업임.

○ 기능성화장품 산업동향

○ 천연허브 유래 천연유기농 기능성화장품 관심증가

천연/기능성 화장품 시장 확대로 기존 합성 화학원료 대비 고부가가치 사업인 천연물/기능성 소재에 주목할 필요가 있음. 전 세계적으로 화장품 안전성에 대한 요구가 증가하면서 천연 및 유기농 화장품의 관심도 증가하고 있음.

○ 천연화장품시장 부상

로레알그룹이 2006년 천연 화장품 업체인 'The Body Shop'과 'Sanoflore' 를 인수하는 등 천연화장품이 틈새시장에서 중심시장으로 부상하고 있는 추세. 시장 형성기에는 백화점 등 프리미엄 채널을 통해 판매되는 고가 라인으로 통용되어 왔으나, 최근 원브랜드샵 등 매스 채널을 통해 중저가 천연화장품 컨셉으로(이니스프리, 네이처리퍼블릭, 더페이스샵 등) 대량 출시되면서 시장 파이가 커지고 있는 점도 주목.

○ 바이오테크 기반 화장품 확대

천연화장품 시장 확대와 바이오테크의 발전이 접목되면서 기능성 화장품 카테고리가 확대되고 있음. 2000년대 중반까지 합성 화학물을 원료로 하는 기능성 화장품 출시가 봇물을 이루면서 국내 기능성 화장품 시장을 이끌.

○ 바이오테크 기반 기능성화장품소재 개발

최근 바이오 기술의 발달로 자연환경 악화와 외부 유해환경 인자들로부터 인체 고유의 보호기능과 항상성을 유지시켜 주는 자연유래 천연성분이 기능성 화장품 소재로 각광받고 있음. 멜라닌 생성을 억제하는 합성 화학물인 하이드로퀴논이 미백화장품의 주 원료로 사용되었으나, 발암물질로 지정돼 알부틴(월굴나무 추출물), 닥나무 추출물 등 천연소재로 대체되는 등 주요 기능성 화장품의 핵심원료들이 천연추출물 또는 천연유래성분으로 바뀌고 있는 추세. 이러한 기능성 천연추출물 또는 천연유래 화합물로 고향균, 항노화, 항산화 및 미백작용을 갖는 환경/인간 친화적인 화장품 천연 소재를 개발해 적용하는 기술이 필요한 시점이고, 이러한 소재 트렌드를 따라가는 업체를 주목할 필요가 있음.

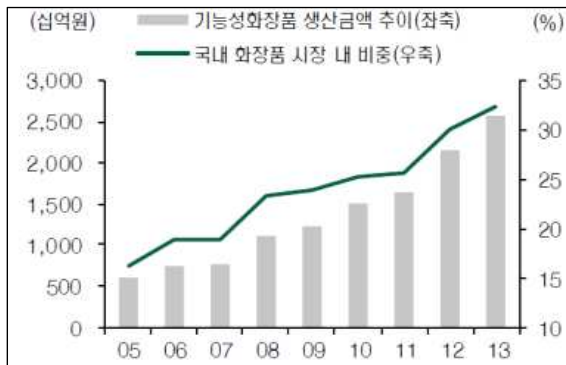
○ 안전성과 유효성 중심 기능성화장품

기능성 화장품은 한국과 일본에서만 통용되는 용어로 미국과 유럽시장에서는 코스메슈티컬 내 카테고리로 정의되고 있음. 기능성 화장품은 화장품과 의약품의 중간적인 성격을 갖는 제품으로, 안전성을 우선시하는 일반 화장품에 비해 기능성 화장품은 안정성 이외에도 유효성에 초점을 두고 있음. 국내 기능성 화장품 시장은 2000년 7월 화장품법 시행 이후 매년 급성장해 왔으며, 기능성 화장품 심사 및 보고는 2005년 1,957개 품목에서 2013년 22,840개로 급증함. 생산금액 역시 2005년 6,000억원 규모에서 2013년 2조 5,600억원으로 국내 화장품 생산금액 내 약 32%의 비중을 차지하고 있음.

○ 고기능성화장품 코스메슈티컬

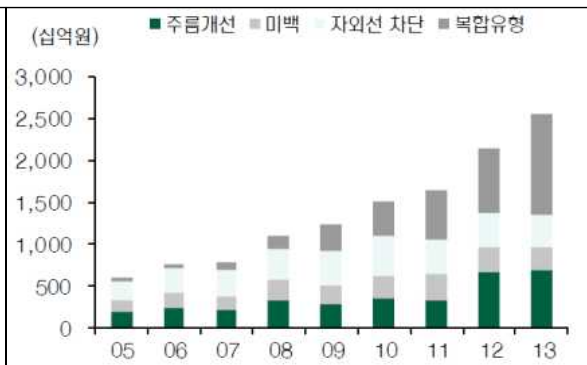
유럽과 미국을 중심으로 치유개념이 도입된 고기능성 화장품인 코스메슈티컬(Cosmeceutical)이 1990년대 중반 연평균 20% 이상 성장하면서 글로벌 화장품업체들의 연구개발 능력이 비약적으로 발전(안티에이징, 필러, 자외선차단, 미백, 여드름 치료 등). 국내 시장 또한 2000년대 중반부터 본격적으로 기능성 화장품 개발이 시작돼 현재 국내 화장품 기술개발 수준은 선진국 대비 약 80% 수준으로 올라온 것으로 평가됨. 이러한 기능성 화장품의 지속적인 발전으로 소비자들의 관심이 집중되고 있으며, 생활 수준의 향상, 노령화 사회 가속화로 고성장세가 당분간 지속될 것으로 전망.

<국내 기능성화장품생산금액 및 비중추이>



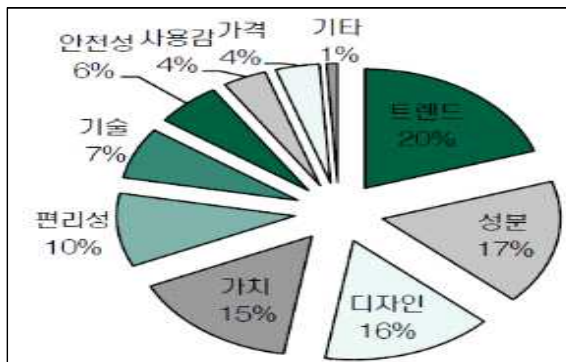
자료: 식약청, 현대증권

<기능성화장품의 유형 및 생산금액>



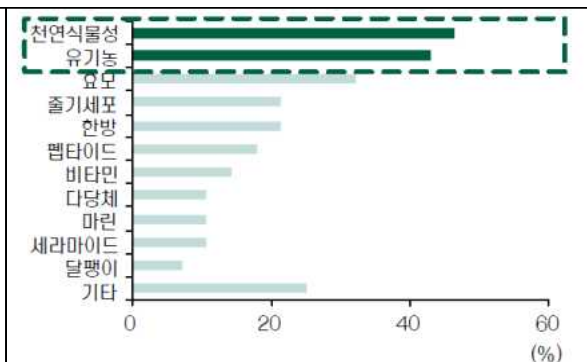
자료: 식약청, 현대증권

<화장품 기획 시 중점사항>



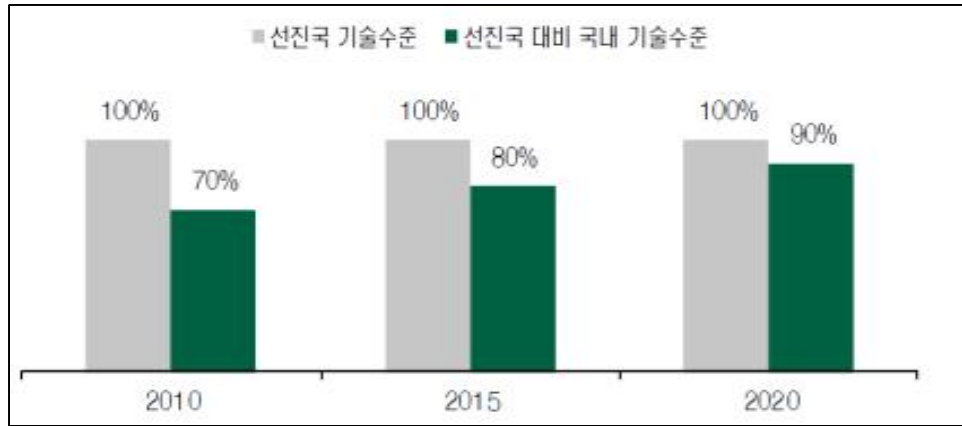
자료: CMN, 현대증권

<향후 주목받을 성분트렌드>



자료: CMN, 현대증권

<기술수준 선진국대비 90%로 역량강화>



자료: 한국의약품수출입협회, 대한화장품협회, 현대증권

○ 천연화장품소재 시장 동향

○ 자연유래 천연성분의 기능성화장품소재 각광

바이오 기술의 발달로 외부 유해환경 인자들로부터 인체 고유의 보호기능과 항상성을 유지시켜 주는 자연유래 천연성분이 기능성 화장품 소재로 각광받고 있는데 특히, 이전에는 멜라닌 생성을 억제하는 합성 화학물인 하이드로퀴논이 미백화장품의 주 원료로 사용되었으나 발암물질로 지정된 후 알부틴(월굴나무 추출물), 닥나무 추출물 등 천연소재로 대체되는 등 주요 기능성 화장품의 핵심원료들이 천연추출물 또는 천연유래성분으로 바뀌고 있는 추세임.

<미백기능성 화장품 기능성 주요 성분>

원료명	특징	함량
닥나무 추출물	천연추출물, 친수성	2%
알부틴	천연추출물, 친수성	2~5%
유용성 감초 추출물	천연추출물, 친유성	0.05%
알파-비사보롤	천연추출물, 친유성	0.50%
에칠아스코르빌에텔	합성, 친수성	1~2%
아스코빌글루코사이드	합성, 친수성	2%
나이아신아마이드	합성, 친수성	2~5%
아스코빌테트라이소팔미테이트	합성, 친유성	2%

자료: 식약처, 현대증권

2) 시장현황

○ 국내 화장품 시장동향

○ 2014년 전년대비 총 생산 12.5%성장, 최근 5년간 시장규모 연평균 6.7% 성장

2014년 국내 화장품산업 총생산규모는 8조 9,704억원으로 전년대비 12.5% 증가했고, 이 수치는 최근 5년 연평균 증가율인 10.5%를 웃도는 것으로 국내외에서 모두 양호한 성적을 거둔 결과로 분석됨. 그리고 화장품 수출은 해마다 빠른 속도로 증가하여 2014년 1조 8,959억원으로 전년대비 34.2% 증가했으며, 수입(1조 1,033억원)도 전년대비 3.7% 증가하였고, 화장품 생산 및 수출입 현황 자료를 이용하여 산출한 2014년 우리나라 화장품 산업 시장규모(생산+수입-수출)는 8조 1,778억원으로 전년대비 7.3% 증가. 화장품산업 시장규모는 계속 증가하고 있으며 연평균(2010-14) 6.7% 증가한 것으로 나타남.

표 국내화장품시장규모

(단위: 백만원, %)

구분	2010	2011	2012	2013	2014	YoY	CAGR ('10-'14)
시장규모	6,308,416	6,589,797	7,022,077	7,624,181	8,177,819	7.3	6.7
(백만달러)	5,456	5,947	6,231	6,962	7,765	-	-
생산	6,014,551	6,385,617	7,122,666	7,972,072	8,970,370	12.5	10.5
(백만달러)	5,202	5,763	6,321	7,280	8,517	-	-
수출	690,211	891,478	1,202,383	1,412,229	1,895,872	34.2	28.7
(백만달러)	597	805	1,067	1,290	1,800	-	-
수입	984,076	1,095,658	1,101,795	1,064,338	1,103,320	3.7	2.9
(백만달러)	851	989	978	972	1,048	-	-
무역수지	-293,865	-204,180	100,588	347,891	792,551	-	-
(백만달러)	-254	-184	89	318	753	-	-

주: 1. 시장규모는 생산-수출+수입

2. 수출입에 대한 환율적용은 한국은행의 연도별 기준환율을 사용함

자료: 대한화장품협회, 화장품생산실적, 각연도/한국의약품수출입협회, Facts & Survey Report, 각연도

○ 기초화장품 생산규모 전체생산에서 56.8% 차지

2014년 국내 화장품 생산규모는 8조 9,704억원으로 전년대비 12.5% 증가함. 화장품 유형별로는 기초 화장 용 제품류가 5조 929억원(56.8%)으로 선두를 지킨 가운데, 색조화장용 제품류가 1조 4,264억원(15.9%)으로 2 위를 기록. 그다음으로 두발용제품류 1조 3,047억원(14.5%), 인체 세정용 제품류 6,447억원(7.2%)으로 그 뒤를 이음. 연평균 증가율(2010-14)이 가장 큰 유형은 채취 방지용 제품류로 59.3% 증가했으며, 그 다음은 인체세정 용 제품류(26.4%), 색조 화장용 제품류(16.6%), 손발톱용 제품류(15.3%) 순.

표 화장품 유형별 생산실적 추이

(단위: 백만원, %)

구분	2010	2011	2012	2013	2014		CAGR ('10-'14)
					생산금액	YoY	
기초화장품	3,523,646	3,911,631	4,301,178	4,517,967	5,092,904	12.7	9.6
색조화장품	771,563	746,558	888,251	1,120,155	1,426,407	27.3	16.6
두발용	926,745	977,185	1,055,465	1,222,683	1,304,703	6.7	8.9
인체세정용	252,189	262,613	465,864	606,977	644,718	6.2	26.4
눈화장용	157,816	164,238	144,533	163,858	208,827	27.4	7.3
면도용	203,168	130,351	100,595	179,642	123,747	-31.1	-11.7
손발톱용	33,002	36,636	50,766	64,134	58,327	-9.1	15.3
영·유아용	71,787	70,217	56,800	48,143	55,183	14.6	-6.4
방향용	33,030	42,725	22,301	23,930	27,306	14.1	-4.6
두발염색용	33,891	36,203	14,446	16,800	20,526	22.2	-11.8
목욕용채취방지	7,225	5,547	19,249	4,810	4,572	-4.9	-10.8
채취방지용	489	1,715	3,217	2,972	3,150	6.0	59.3
합계	6,014,551	6,385,617	7,122,665	7,972,072	8,970,370	12.5	10.5

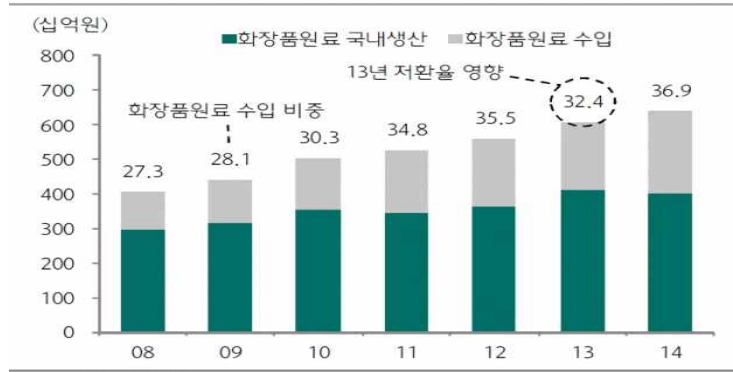
자료: 대한화장품협회, 화장품생산실적, 각연도

○ 화장품 원료 산업동향

○ 천연물 자원 활용 화장품원료산업

국내 화장품 원료 시장은 09년 4,000억원 규모를 넘어선 이후 13년 약 6,320억원으로 화장품 시장과 동반 성장함(CAGR +11.2%). 국내 화장품 산업의 특성상, 화장품 시장 대비 원료 시장규모가 미미하나, 제2의 성장 기를 구가하고 있는 전방산업의 호황으로 원료 시장이 동반 구조적인 성장기에 있다는 것에 주목 할 필요가 있음. 특히 나고야 의정서 발효로 국내 생물자원확보가 시급해짐에 따라 R&D 능력이 풍부한 국내 화장품회사들이 주목받고 있음.

<국내 화장품 원료 생산 및 수입금액 추이>



자료 : 식약처, 하나대투증권

○ 천연화장품 산업동향

○ 국내 천연화장품 시장은 전체화장품시장의 17.5%

국내 천연화장품 시장규모는 2012년 약 2조 3,375억 원으로 추정되며, 이는 전체 화장품 시장의 약 17.5%의 비율임. 전체 화장품 제조/판매 업체 중 천연화장품을 제조/판매하는 업체의 비율은 약 25.1%임. 전 세계 천연 화장품 시장규모를 토대로 연평균 성장률(9.0%)을 도출한 후 이를 국내 천연화장품 시장에 대입했을 때, 2013년 약 2조 5,479억 원, 2014년 약 2조 7,772억 원, 2015년 약 3조 271억 원의 시장규모를 형성.

표 국내 천연화장품 시장규모

(단위: 억 원)

구분	2012	2013	2014	2015
국내천연화장품 시장규모	2조 3,375억 원	2조 5,479억 원	2조 7,772억 원	3조 271억 원

자료: 2013 천연화장품 산업동향보고서

○ 천연화장품 소재시장

○ 국내 시장은 7% 성장

국내 2014년 천연화장품 소재시장은 4,751억 원 규모였으나 2017년 7%의 성장률로 시장규모가 성장할 것으로 예측된 바 있음.

표 천연 화장품 소재 시장현황 및 전망

(단위: 억 원)

구분	2012	2013	2014	2015	2016	2017	성장률(%)
국내시장	4,150	4,440	4,751	5,084	5,440	5,821	7.00%

자료: 2014 중소기업기술로드맵 전략보고서

○ 국내 천연화장품원료의 해외의존성 : 국내 주요 화장품업체들은 주원료를 해외 원료업체에서 조달하여 현재까지 해외 생물자원 이용과 관련한 특허분쟁이 없으나 관련 로열티로 연간 약 1조 5천억 원 해외에 지불.

○ 나고야의정서 발효로 최대 연간 3,822억원 비용 발생예상 : 환경부 조사 보고서에 따르면 2014년 국내 화장품산업 시장규모 8조 2,297억 원 추산 시 생물자원이용비율 100%, 이익 공유비율 0.1~5% 가정 시 나고야의정서 발효관련 비용을 연간 약 2,758억 원~3,822억 원 추산.

○ 국내 천연화장품 원료화 시도 : 국내 화장품 원료화 성공 사례로는 코리아나 화장품에서 개발한 '천녀목란'(함박꽃나무)을 들 수 있으며 피부 세포 재생 효과 입증으로 프랑스 업체인 크리스찬 디올과 겔랑에 수출된 바 있음.

며 충남보령의 보령머드는 2007년 미국 수출 성공 후 미국, 중국, 싱가포르 등에 수출.

○ **국내 지역특산소재 이용 글로벌원료화 필요** : 국내 지역별로 지역특산소재들이 화장품 원료로 개발되고 있으나 알프스의 에델바이스, 프랑스 해송에서 분리된 picnogenol과 같은 대표적인 글로벌원료로 부각되기에는 체계적인 연구와 마케팅 부족한 실정임.

표 지역 특산소재 화장품원료개발 현황

지역	활용소재
제주도	감귤(껍질), 개민들레, 유채, 손바닥선인장, 문주란, 감태 등
충남 보령	갯벌
강원 고성, 속초, 강릉, 경북, 울진, 울릉도	해양심층수, 천녀목란
충북 제천	황기, 옥죽
전북 고창	복분자
충북 충주	수안보온천수
전남 신안	갯벌
경남 통영	동백기름
전북 남원	허브
전남 장흥	편백나무추출물(피톤치드)
전남 여수	동백
전남 나주	신선초
강원 정선	농 특산물
전남 광양	매실
충남 정양	고추, 구기자

자료 : 화장품 신문, 2006년 3월 27일 6)국내 유기농 화장품 발전 방안

○ **화장품산업은 브랜드산업** : 화장품산업은 과학적 효능 이외에도 국가 브랜드가 강하게 작용하는 산업이므로 특산물의 체계적인 연구 외에도 지방자치구 및 더 나아가 국가적 차원의 활발하고 효과적인 마케팅 필요한 실정임.

3) 경쟁기관현황

○ 차별화

○ 지역별 비교분석(4P분석)

지역	Product	Price	Place	Promotion
경기	- 허브문화관광서비스 - DIY제품, 기념품	- 정규시장가격과 분리	- 관광농원	- 문화관광행사
강원	- 허브문화관광서비스 - DIY제품, 기념품	- 정규시장가격과 분리	- 관광농원	- 문화관광행사
제주	- 허브문화관광서비스 - 허브원료 - DIY제품, 기념품 - 허브이용향장, 화장품	- 정규시장가격	- 관광농원 - 제조업체 - 판매업체	- 원료재배 - 기술개발 - 기업유치
전북 (남원)	- 허브문화관광서비스 - 허브원료 - DIY제품, 기념품 - 허브이용향장, 화장품	- 정규시장가격	- 관광농원 - 제조업체 - 판매업체	- 원료재배 - 기술개발 - 기업유치

○ 기존사업과의 차별성

- 제주지역을 제외한 국내 기존 허브산업은 관광산업의 일환으로 진행되어 기술개발 및 기업유치 등 허브산업으로의 추진이라 볼 수 없음.
- 남원의 허브산업을 이용한 본 연구는 기술개발 등을 통한 고부가가치형 지역 성장동력산업으로 육성하기 위한 혁신사업임.
- 분야별 차별성

분야	목표	시스템	결과물	지속성
내용	- 농생명산업에서 바이오 뷰티산업으로 전환 (단순농업에서 바이오기술을 이용한 지속가능형 미래산업으로 지역산업 전환)	- 기술개발시스템 (남원·지리산권 농생명소재 이용 향산화·미백·주름·보습·항균·방부 등 시장수요기능성 소재화 및 제품화) - 사업화시스템 (특정분야 향산화·미백·주름·보습·항균·방부 등 바이오생리활성기능 목표부합 대상 천연물발굴, 소재화·제품화 및 농가재배, 가공 및 판매연계형 사업화) - 지속가능시스템 (기업 사업화수요접수, 기술개발, 농가재배, 제조, 마케팅 등 재배·가공·판매, 기술개발 연속프로세서구축)	- 지역 내 사업화 가능한 (대량재배,기능성) 천연물 - 천연물 대량재배기술 - 소재화기술 - 원료화기술 - 제품화기술 - 시장선도 기능성 화장품	- 특화품목확대 (다품종, 소량생산 중심의 시장과 산업체수요형 대응, 향후 재배자원에서 지리산 자생식물 대상으로 특화품목 확대) - 기술개발 (천연물 이용 산업화를 위한 원료화 및 제품화기술 중심 확대) - 재배기반 (산업수요형 품목재배 및 다품종소량생산 중심의 계약재배실시, 계약재배 및 계약재배지원 펀딩과 지원 시설 확충) - 유통판매 (기업의 산업수요 대응 필수연계)

○ 지속가능성

○ 기술

- 천연물 확대 : 1차적으로 남원·지리산권 지역특화자원의 연구를 수행하고, 향후 지리산 자생식물에 대한 사용부위별 바이오활성 탐색 및 미국·중국 등 화장품원료 등재로 원료화 및 대상품목 확대계획.
- 천연물 활용기술(재배,가공) : 자생 포함 천연물의 산업화를 위한 대량 재배생산가능한 재배기술개발과 천연물 가공수율, 천연물 향과 색 등 단위조작성기술, 천연물 제품의 안전성(방부,보존), 천연물 제품가공기술(유화)개발예정.
- 기능성제품 : 기능성화장품 개발을 통한 시장선도제품 개발로 지속가능성 향상.

○ 시스템

- 천연물 인증 : 원산지증명, 천연원료 스택 및 위해성규명, 천연물 바이오활성규명 등 인증시스템 도입.

○ 계약재배

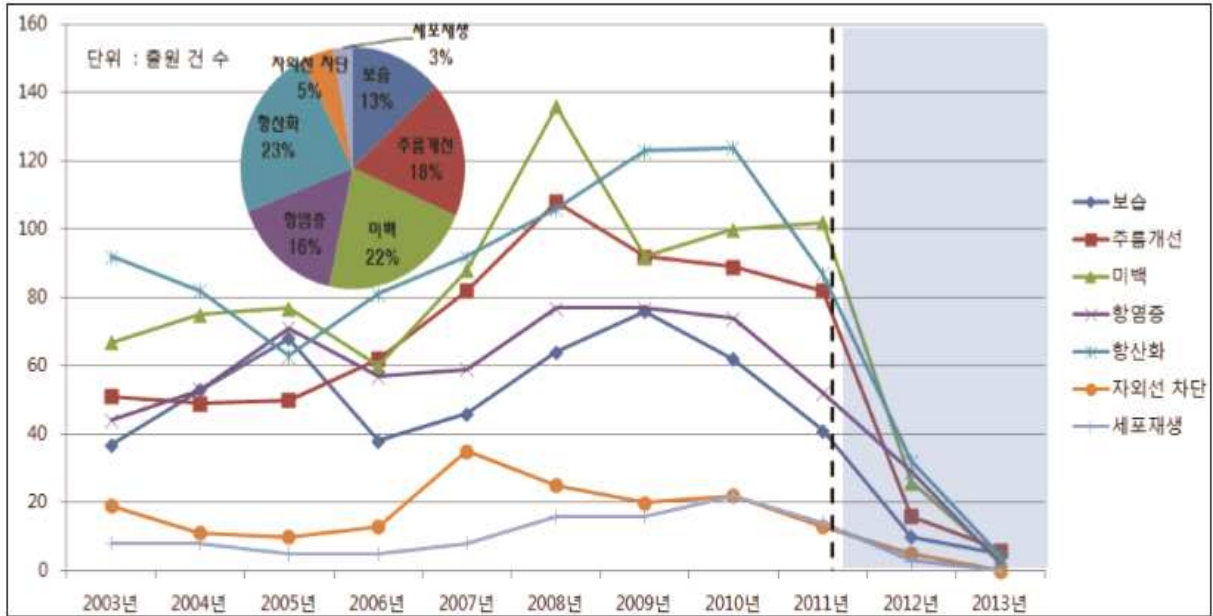
- 지원시스템 : 기업 및 재배농가 간 계약재배 이행을 위한 계약시스템도입, 재배물 및 원료물의 1차 가공시설 및 장기저장시설 구축, 계약재배시장가격보정기금조성 검토.

4) 지식재산권현황

○ 천연화장품 기능별 특허 향산, 미백, 주름개선

천연화장품 관련 특허 출원 동향을 세부기능별로 살펴보면, 향산화와 관련된 특허 출원 점유율(23%) 이 가장 높고 미백(22%), 주름개선(18%) 등도 상대적으로 높은 점유율을 기록함.

<기능성별/연도별 특허출원 동향>



자료 : 2013 천연화장품산업동향보고서, 농업기술실용화재단

5) 표준화현황

○ 남원 허브기반 바이오뷰티허브산업품목 10종에 대한 기술현황

허브식물은 다양한 약리작용을 하는 기능성 성분들이 다양하게 함유되어 있으며, 이러한 성분에는 단독으로 작용하기도 하고 함유된 성분들의 상호작용에 의해 약리작용을 통한 효능이 나타나게 됨.

○ 허브식물의 기능성성분

허브식물의 대표적인 기능성성분은 쿠마린(coumarin)계열, 플라보노이드(flavonoid)계열, 폴리페놀(polyphenol)계열, 프탈라이드(phthalide)계열, 스테롤(sterol)계열, 오일(oil), 사포닌(saponin)계열, 비타민(vitamin)류, 점액성분등이 포함되어 있음.

○ 기능성성분의 유효성

쿠마린계열은 항암, 항종양, 항고혈압, 항염, 살균 효과가 있다고 알려져 있고 천식치료에 효과가 있는 것으로 알려져 있고, 플라보노이드 및 폴리페놀 계열은 항산화, 항균, 항암, 항바이러스, 활성을 지니며 독성은 거의 나타나지 않는 것으로 보고되고 있음. 프탈라이드계열은 천궁 및 당귀에 많이 포함되어 있는 물질로 곤충에 대한 살충 및 항균기능을 가지고 있으며, 스테롤계열은 콩, 견과류 등에 많이 포함되어 있는 물질로 항암, 고지혈증치료, 다이어트효과, 항염증, 항산화 작용등의 기능을 가지고 있음. 또한, 허브식물에 포함된 각종 정유(오일) 성분은 진정작용, 외분비작용, 항균, 방부 및 산화방지 작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 각종 비타민이 함유되어 있어 생체의 여러 신진대사작용에 많은 도움을 주는 것으로 보고되어 있음.

○ 바이오뷰티허브산업 연구개발 대상 10종의 화장품원료등재 현황

번호	이름	학명	사용부위	발효	INCI * 등재	중국 수출
1	라벤더	Lavandula angustifolia Mill.	꽃, 꽃/잎/줄기수, 꽃/잎/줄기오일, 꽃/잎/줄기,꽃수,꽃오일,꽃왁스,꽃밀납, 꽃, 전초오일, 켈러스추출물, 잎, 잎세포, 피토플라센타	바실러스/모나스커스(썩), 모나스커스(꽃)	0	0
2	캐모마일	Anthemis nobilis L.	꽃, 꽃오일, 꽃수	-	0	0
3	레몬그라스	Cymbopogon citratus	전초, 꽃수, 잎, 잎오일, 잎(산화)	-	0	0

번호	이름	학명	사용부위	발효	INCI * 등재	중국 수출
4	와송	Orostachys japonica (Maxim.) A. Berger	전초, 캐러스(배양액, 추출물)	-	O	X
5	흰민들레	Taraxacum coreanum Nakai	-	-	X	X
6	곤달비	Ligularia stenocephala (Maxim.) Matsum. & Koidz.	-	-	X	X
7	자소엽	Perilla frutescens var. acuta (Odash.) Kudo	캐러스, 전초, 꽃, 꽃오일, 잎, 잎오일, 잎수, 씨	-	O	O
8	감국	Chrysanthemum indicum L.	캐러스, 꽃, 꽃/잎/줄기, 전초, 꽃수	-	O	O
9	구절초	Dendranthema zawadskii var. latilobum (Maxim.) Kitam.	전초	-	O	O
10	찔레	Rosa multiflora Thunb.	약스(꽃), 밀납(꽃), 열매, 뿌리, 씨오일	-	O	O

* INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients): 국제화장품성분명

- 연구개발 대상 품목은 위에서 보고되지 않은 성분 이외에도 알려져 있지 않은 많은 기능성 물질이 포함되어 있어 추가적인 기능성물질과 그 효능에 대한 규명이 필요함. 또한, 화장품 소재로 산업적으로 이용하기 위해서는 품질관리를 목적으로 원료의 기준규격 중 지표성분을 설정하는 것이 필요하며 화장품 소재로 활용하기 위한 체계적인 기능성평가(항산화, 미백, 주름, 보습, 향균, 방부 등)가 연구는 이루어지지 않고 있음.

(2) 국외 기술 수준 및 시장 현황

1) 기술현황

○ 천연화장품기술 현황

○ **건강한 삶과 친환경경영 요구로 천연화장품 등장** : 천연화장품(유기농화장품포함) 시장은 1990년대 영국의 'The body shop'이 등장한 이후 본격적으로 시장이 형성되었으며 2000년대 들어 건강한 삶을 추구하는 성향과 친환경 경영에 대한 요구가 강화되면서 해외 브랜드의 국내 시장진출 본격화. 로레알그룹이 2006년 천연화장품 업체인 'The Body Shop'과 'Sanoflore' 를 인수하는 등 천연화장품이 틈새시장에서 중심시장으로 부상하고 있는 추세.

○ **천연화장품에 대한 사회적요구** : 천연화장품에 대한 중요성과 수요 증대는 전 세계적 트렌드로 소비자들은 화장품 제조뿐 아니라 유통과정, 동물 임상실험 금지 등 기업윤리와 환경적 책임운동을 기업에 요구하고 기업에 서는 이를 마케팅요소에 반영하는 움직임 확대.

○ 주요기능별 천연물 소재 연구 동향

- 천연물 중심의 기능성 화장품 연구동향을 파악하기 위해 출원공개 된 한국, 일본, 중국, 유럽 및 미국의 특허를 분석한 결과 현재까지 기능성 화장품 원료로 사용되는 천연물 주요 소재는 Angelica속, Panax속, Camellia속, Aloe속 등으로 나타남.

순위	미백	보습	복합	자외선	주름	클렌징
1	Angelica속	Angelica속	Panax속	Camellia속	Angelica속	Aloe속
2	Panax속	Aloe속	Angelica속	Aloe속	Panax속	Saponaria속
3	Scutellaria속	Panax속	Centella속	Panax속	Ganoderma속	Panax속
4	Citrus속	Astragalus속	Citrus속	Scutellaria속	Cordyceps속	Cryptomeria속
5	Camellia속	Bacillus속	Aiphanes속	Rosmarinus속	Centella속	Magnolia속
6	Bacillus속	Saponaria속	Auricularia속	Citrus속	Ginkgo속	Solanum속
7	Mammillaria속	Ganoderma속	Tremella속	Vitis속	Scutellaria속	Bacillus속
8	Brassica속	Tremella속	Camellia속	Angelica속	Aloe속	Camellia속
9	Morus속	Ginkgo속	Bacillus속	Achillea속	Tremella속	Citrus속
10	Achillea속	Glycine속	Glycine속	Saccharomyces속	Saccharomyces속	Actinidia속
11	Cordyceps속	Pleurotus속	Scutellaria속	Helianthus속	Auricularia속	Brassica속
12	Bletilla속	Solanum속	Ganoderma속	Perilla속	Aiphanes속	Vitis속
13	Aloe속	Phaseolus속	Rosmarinus속	Rubus속	Salvia속	Hordeum속
14	Ganoderma속	Citrus속	Salvia속	Curcuma속	Phellinus속	Bupleurum속
15	Rosa속	Salvia속	Achillea속	Sorghum속	Camellia속	Centella속

자료 : 농림수산식품교육문화정보원

- 주요 기능별 천연물 소재 연구(특허 등) 동향 등을 분석하여 특허장벽이 높은 천연물소재(다출원 소재)를 피해 연구하는 등 연구기획 단계부터 체계적으로 계획을 세워야 할 필요가 있음.

2) 시장현황

○ 세계화장품시장 동향

○ 세계화장품시장 4%대 지속성장

Datamonitor 자료에 의하면 2014년 세계 화장품 시장규모(mkt. value)는 2,598억 달러로 전년대비 4.3% 증가함. 이는 향후에도 지속되어 2019년 3,300억 달러로 꾸준한 증가세를 보일 것으로 전망.

<연도별 세계화장품시장>



주 : 1. Datamonitor 자료를 이용하여 우리나라 화장품 유형 위주로 자료를 분석함

2. 2015년 이후 연도의 시장규모는 Datamonitor에서 추정된 값임

자료 : Datamonitor Personal Care Market Data, 2015(Oct)

○ 아시아/중동지역의 시장성장세

2014년 세계 화장품 시장규모는 2,598억 달러로 전년대비 4.3% 증가하였으며, 지역별 시장규모는 전년대비 2.9% 증가한 유럽이 962억 달러로 가장 크며, 이어서 아시아/태평양 833억 달러, 북미/중남미 733억 달러 순임. 한편 중동 및 아프리카는 70억 달러로 세계시장에서 2.7%를 차지했으나, 연평균 6.2% 증가로 미루어 볼

때 향후 전망은 밝을 것으로 기대.

표 지역별 화장품 시장규모

(단위: 백만달러, %)

지역	2010	2011	2012	2013	2014		CAGR (‘10-’14)
					시장규모	YoY	
유럽	86,901	89,094	91,255	93,466	96,152	2.9	2.6
아시아/태평양	67,713	71,156	74,864	78,803	83,313	5.7	5.3
북미/중남미	61,789	64,819	67,348	70,189	73,340	4.5	4.4
중동/아프리카	5,474	5,828	6,191	6,575	6,968	6.0	6.2
합계	221,878	230,896	239,658	249,034	259,772	4.3	4.0

주: 1. Datamonitor의 자료를 이용하여 우리나라 화장품유형위주로 자료를 분석함

2. YoY는 전년대비 증가율이며, CAGR은 연평균증가율(compound annual growth rate)을 의미함

자료: Datamonitor Personal Care Maret Data, 2015(Oct)

○ 중국 세계 2대시장으로 성장, 한국은 10위권시장

국가별로 보면 미국이 388억 달러로 전체 시장에서 14.9%를 차지했고, 그 다음은 중국 267억 달러, 일본 235억 달러, 독일 155억 달러 순으로 나타남. 한편 우리나라의 2014년 화장품산업 시장규모는 74억 달러로 러시아에 이어 10위에 올라 있으며 전 세계 시장의 2.9%를 차지함.

○ 중국, 인도 등 신흥시장의 10% 이상의 성장세 가속

전통적 화장품 강국 미국, 일본, 독일, 프랑스 등이 여전히 높은 시장점유율을 보이고 있으나 중국, 브라질, 인도, 러시아 등 BRICs의 성장률이 전 세계 평균성장률을 크게 상회하고, 앞으로도 지속적인 성장이 예상되어 향후 국가별 판도는 크게 변할 것으로 예상됨.

<주요 권역별 화장품시장 규모>

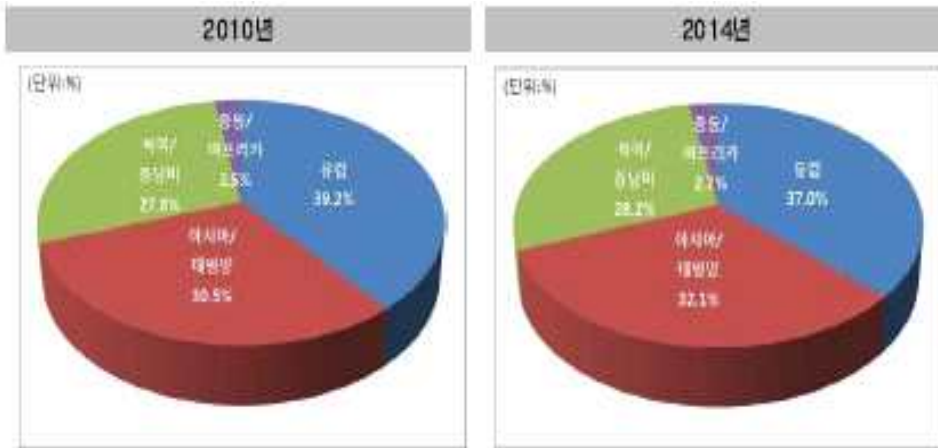


표 주요국의 화장품시장규모

(단위: 백만달러, %)

순위	국가명	2012		2013		2014		YoY
		시장규모	점유율	시장규모	점유율	시장규모	점유율	
1	미국	37,107	15.5	37,957	15.2	38,773	14.9	2.1
2	중국	22,219	9.3	24,289	9.8	26,742	10.3	10.1
3	일본	23,033	9.6	23,277	9.3	23,464	9.0	0.8
4	독일	14,820	6.2	15,135	6.1	15,497	6.0	2.4
5	브라질	13,179	5.5	14,084	5.7	15,229	5.9	8.1
6	프랑스	13,754	5.7	13,982	5.6	14,252	5.5	1.9
7	영국	11,249	4.7	11,582	4.7	11,969	4.6	3.3
8	이탈리아	10,089	4.2	10,208	4.1	10,414	4.0	2.0
9	러시아	7,255	3.0	7,669	3.1	8,111	3.1	5.8
10	한국	6,831	2.9	7,102	2.9	7,427	2.9	4.6
11	스페인	6,735	2.8	6,777	2.7	6,859	2.6	1.2

순위	국가명	2012		2013		2014		YoY
		시장규모	점유율	시장규모	점유율	시장규모	점유율	
12	인도	5,380	2.2	6,021	2.5	6,749	2.6	12.1
13	멕시코	5,880	2.5	6,154	2.4	6,475	2.5	5.2
14	캐나다	5,476	2.3	5,622	2.3	5,802	2.2	3.2
15	호주	3,955	1.7	4,105	1.6	4,209	1.6	2.5
합계(47개국)		239,658	100.0	249,034	100.0	259,772	100.0	4.3

자료: Datamonitor Personal Care Market Data, 2015(Oct)

○ 천연화장품시장 동향

○ 2012년 세계시장 전년대비 7.2% 성장, 전체화장품 증가율보다 3.1% 높음

2012년 천연화장품 세계 시장규모는 98억 달러로 전년대비 7.2% 증가했으며, 이는 전체화장품 시장증가율(4.1%)보다 3.1%p 높은 수준이고, 전체화장품 시장에서 천연화장품 시장비중은 2008년 3.4%에서 2012년 3.8%로 0.4%p 증가함. 이는 향후에도 지속되어 2015년 127억 달러로 꾸준한 증가세를 보임.

표 연도별 천연화장품 시장규모

(단위: 억달러, %)

구분		2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
전체화장품시장(A)	시장규모	2,216	2,296	2,384	2,482	2,584	2,696	2,817	2,947
	증가율	4.1	3.6	3.9	4.1	4.1	4.4	4.5	4.6
천연화장품시장(B)	시장규모	75	79	84	91	98	107	117	127
	증가율	10.8	4.7	6.9	8.1	7.2	9.2	9.4	8.6
비중		3.4	3.4	3.5	3.7	3.8	4.0	4.1	4.3

자료: Datamonitor Personal Care Market Data, 2013 (Nov)

Organic Monitor, 2013

<연도별 천연화장품 시장 증가율>



자료: Datamonitor Personal Care Market Data, 2012

Organic Monitor, 2013

○ 지역별 시장규모는 북미, 유럽, 그 외 국가 순, 국가별로는 미국, 독일, 프랑스 순임

2012년 천연화장품의 지역별 시장규모는 북미지역이 57억 달러로 가장 컸으며, 그 다음으로는 유럽 33억 달러, 그 외 국가 8억 달러 순임. 그 외 국가(Rest-of-the-World)는 시장규모는 작았으나 매년 14% 이상 성장하고 있는 것으로 미루어 볼 때 향후 시장 전망은 밝을 것으로 기대됨. 국가별로 살펴보면(2010년 기준) 가장 큰 시장을 형성한 미국이 47억달러로 전체 시장에서 55.6%의 비중을 차지했고, 그 다음은 독일 12억달러, 프랑스 4억 달러 순으로 나타남.

지역별 천연화장품 시장규모

(단위: 억달러)

구분		2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
전체화장품 시장	전체	2,177	2,253	2,337	2,428	2,526	2,634	2,750	2,876
	유럽	826	847	867	890	914	939	939	992
	미국	603	624	647	676	702	732	762	795
	아시아-태평양	693	723	760	795	838	887	943	1,004
	아프리카&중동	55	59	63	67	72	76	80	85
천연화장품 시장	전체	75	79	84	91	98	107	117	127
	유럽	22	25	28	30	33	37	40	44
	북미	48	49	51	54	57	61	66	71
	그 외 국가	5	5	6	7	8	9	11	12

자료: Datamonitor Personal Care Market Data, 2012

Organic Monitor, 2013

표 천연화장품 국가별시장규모

(단위: 억달러, %)

구분	미국	독일	프랑스	캐나다	이탈리아	영국	그외국가	전체
시장규모	46.9	11.5	4.1	3.9	3.5	2.8	11.7	84.4
비중	55.6	13.6	4.9	4.6	4.2	3.3	13.9	100.0

자료: Organic Monitor, 2013

○ 유형별 시장현황은 Skin care, Hair care, Colour cosmetics 순

천연화장품 중 Skin care 시장이 54.9%의 점유율로 가장 큰 시장을 형성했고, 그 다음으로 헤어케어와 색조 화장품이 각각 26.2%, 11.3%의 점유율을 보이며 그 뒤를 이음.

표 천연화장품 국가별시장규모

(단위: 억달러, %)

구분	스킨케어	헤어케어	구강케어	색조	그외	전체
시장규모	46.3	22.1	3.4	9.6	3.0	84.4
비중	54.9	26.2	4.0	11.3	3.6	100.0

자료: Organic Monitor, 2013

○ 천연화장품 소재시장

○ 2017년 세계 천연화장품 소재시장은 6.5%성장: 2014년 천연화장품 소재시장은 세계시장의 경우 171억 달러이며 2017년까지 6.5% 성장이 예상됨.

표 천연 화장품 소재 시장현황 및 전망

(단위: 백만달러)

구분	2012	2013	2014	2015	2016	2017	성장률(%)
세계시장	15,000	16,000	17,100	18,200	19,300	20,555	6.50%

자료: 2014 중소기업기술로드맵 전략보고서

4) 지식재산권현황(국내·외 비교)

○ 천연화장품 소재특허

천연화장품 소재를 대상으로 한 특허 7,492건에 대한 각 국가의 연도별 출원 동향을 살펴보면, 미국은 2011년까지 증가하다가 2012년 감소하는 양상을 보이고, 그 외의 국가들은 매년 비슷한 출원 양을 유지하는 양상을 보이고 있으며, 미국이 가장 많은 특허를 보유함.

<천연화장품 소재의 국가연도별 출원 동향>



○ 기능성별 특허동향

기능성별로 특허출원의 증가율과 점유율을 살펴보면, 전 세계적으로 보습, 항염증, 주름개선, 미백 기능의 특허출원 증가율과 점유율이 상대적으로 높게 나타남. 국가별로 살펴보면, 미국은 보습과 주름개선 기능의 특허출원 증가율과 점유율이 상대적으로 높게 나타났고, 한국은 세포재생과 자외선 차단 기능을 제외한 대부분의 기능(보습, 항염증, 주름개선, 미백, 항산화)의 특허출원 증가율과 점유율이 높게 나타남. 유럽은 자외선 차단과 항염증 기능의 특허출원 증가율과 점유율이 상대적으로 높게 나타났으며, 일본은 전반적으로 모든 기능의 특허출원 증가율과 점유율이 낮게 나타남.

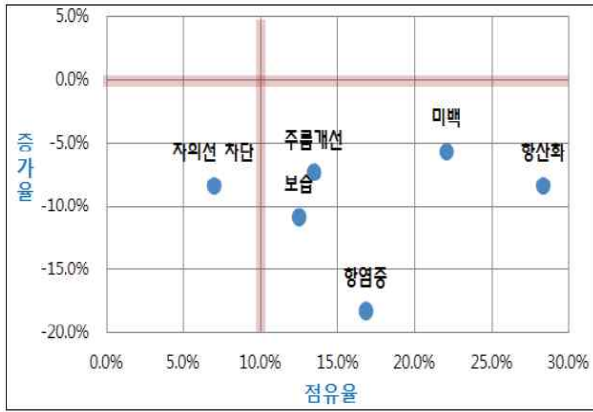
<세계>



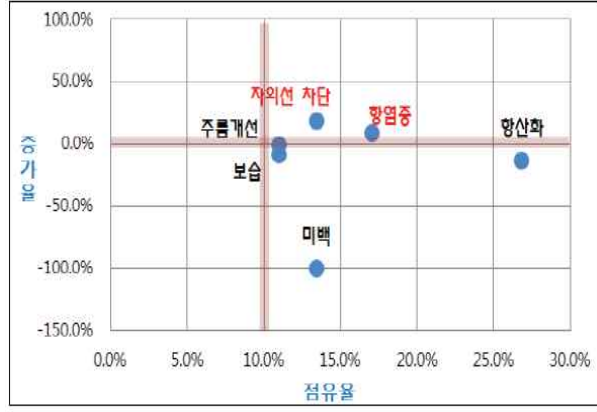
<미국>



<일본>



<유럽>



<한국>



자료: 2013 천연화장품 산업동향보고서

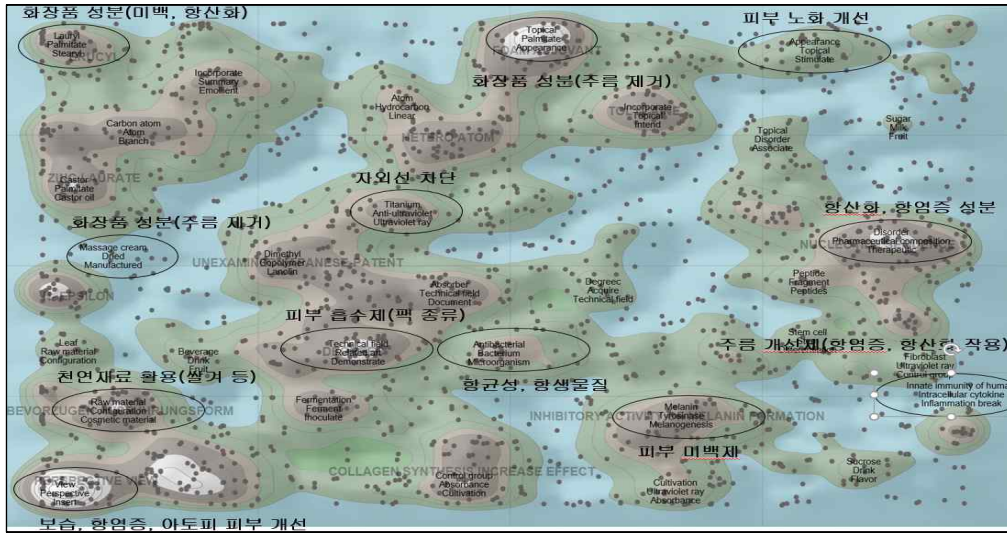
- 천연화장품 소재성분분야 특허분석 : 천연소재와 관련 있는 플라보노이드(Flavonoid), 폴리페놀 (Polyphenol) 성분과 화장품(Cosmetic)에 대한 미국, 유럽, 일본 및 한국 특허 분석 시 910건의 결과가 검색됨.

<성분분야 특허 등고선>



- 천연화장품 기능성분야 특허분석 : 화장품성분의 기능과 관련하여 미백, 주름, 자외선, 항산화, 아토피, 탈모, 향균, 방부, 보습, 탄력의 키워드를 대상으로 한 미국, 유럽, 일본 및 한국 특허 분석 시 19,206건의 검색 결과 도출.

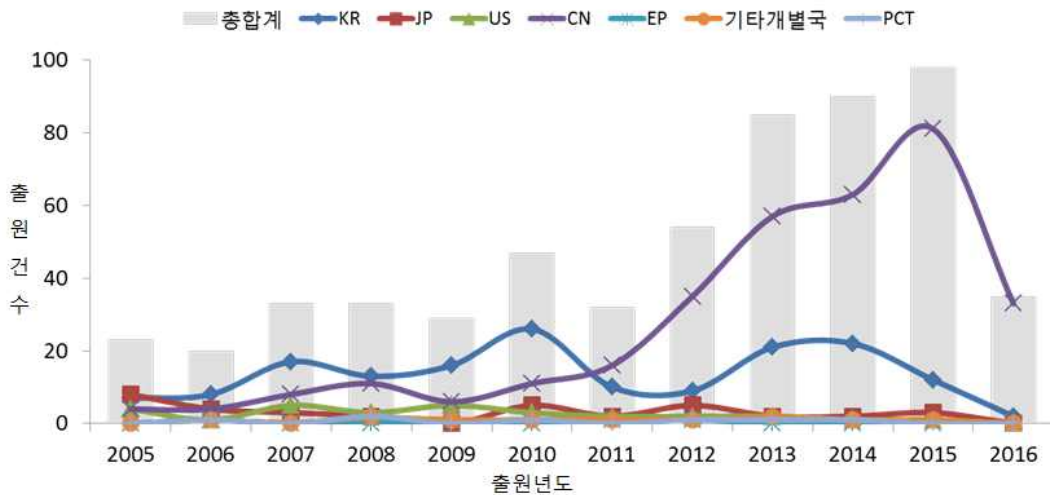
<기능성분야 특허 등고선>



○ 허브이용 기능성 화장품 기술개발 현황

○ 연도별 국가별 특허 출원동향

<연도별 국가별 특허 출원동향>



- 허브를 이용한 기능성 화장품 관련 특허 출원동향을 살펴보면, 2010년 이후로 증가세를 나타냄. 그러나, 이는 대부분 중국의 특허 출원활동에 의한 것으로 전 기술분야에서 활발한 특허활동을 보이고 있는 중국의 정책이 반영된 결과라 볼 수 있음.

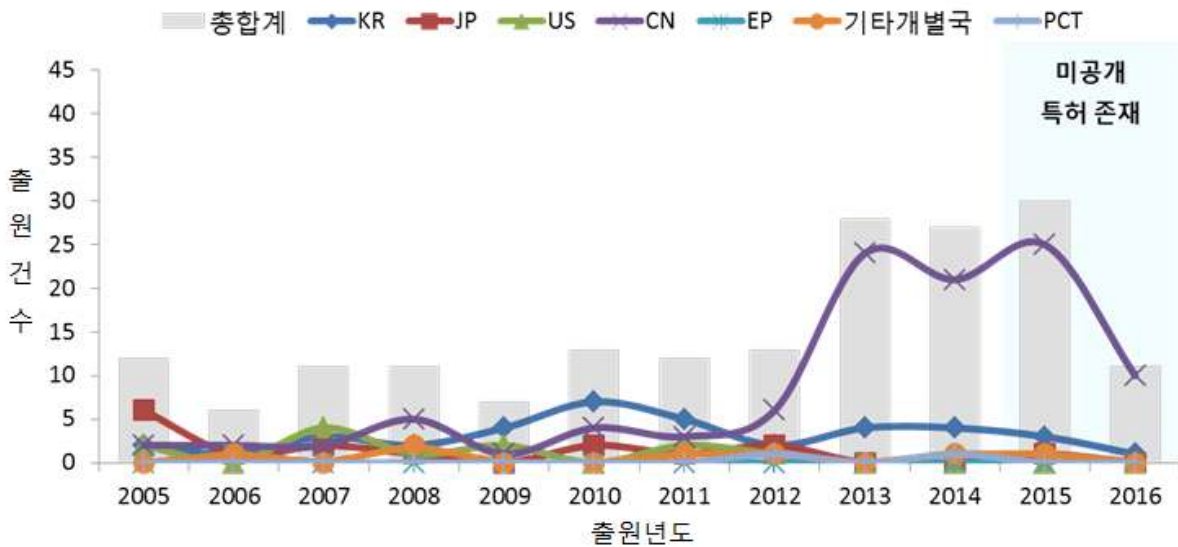
- 중국을 제외한 시장국 중 한국의 특허출원활동이 두드러지나 활발한 활동을 보이지는 않으며, 그 외 국가들 또한 10건 미만의 특허를 출원하고 있는 것으로 보임.

○ 허브소재별 기능성 화장품 기술개발 현황

○ 라벤더

□ 연도별 국가별 특허 출원동향

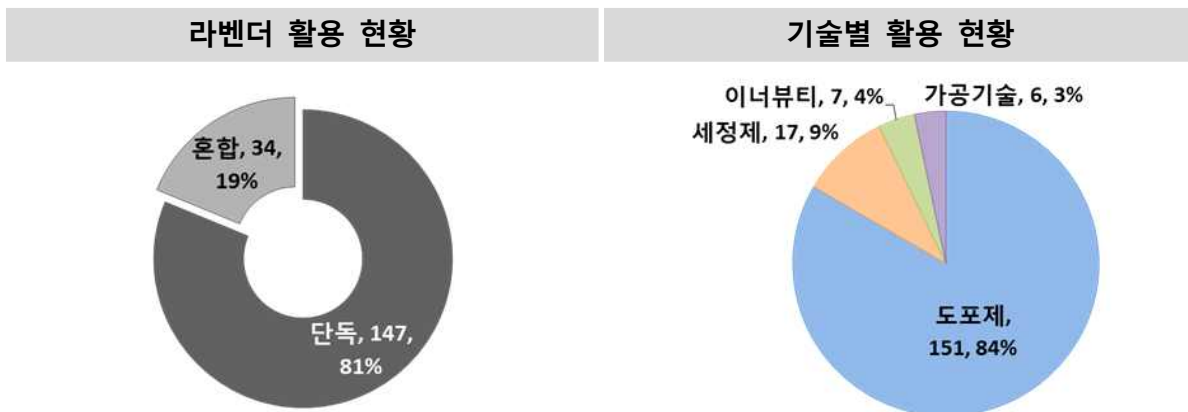
<라벤더 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



○ 라벤더를 소재로 한 제품개발 현황을 살펴보면, 대부분의 국가에서 10건 미만의 특허활동이 진행되었으며, 최근 중국에 의한 특허활동이 급증한 것으로 나타남.

□ 라벤더 소재 활용 현황

<라벤더 소재 활용 현황>



○ 라벤더 소재 기술은 80% 이상이 단독으로 사용된 것으로 보이며, 기타 허브들과의 혼합 적용이 적은 것으로 분석됨.

○ 라벤더를 소재로 이용한 기술은 대부분 도포제 형태의 제품제조기술(17.9%)에 관한 것이며, 뒤이어 세정제(9%), 이너뷰티(4%) 및 가공기술(3%) 순으로 나타남.

<라벤더 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
18	45	3	4	35	33	42	11	4	5	23

- 라벤더 소재는 보습 및 항염 기능성 분야에 많은 기술개발이 진행되고 있었으며, 그 외 미백 및 주름개선, 심신안정, 항산화 등의 기능성 분야 순으로 특허기술이 집중되어 있는 것으로 나타남.
- 특히, 도포제 형태의 항염 및 보습 기능성 기술분야에 가장 많은 기술개발이 이루어진 것으로 보임.

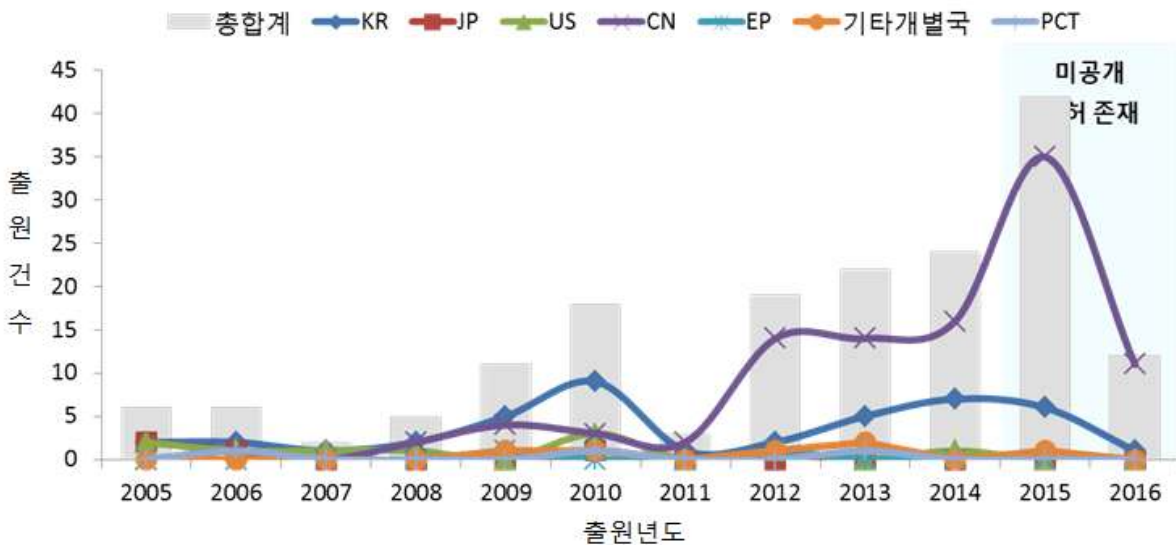
<라벤더 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	17	38	3	3	28	28	38	8	4	3	21
세정제	1	7			5	4	3	3		1	1
이너 뷰티			5	1	2	1	1			1	1

○ 캐모마일

□ 연도별 국가별 특허 출원동향

<캐모마일 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



- 캐모마일을 소재로 한 기술개발 현황을 살펴보면, 2010년 한국의 8건의 특허출원 이후 중국의 특허활동 급증이 두드러짐.
- 그러나, 최근에도 한국은 꾸준한 연구를 진행하고 있는 것으로 분석됨.

□ 캐모마일 소재 활용 현황

<캐모마일 소재 활용 현황>



- 캐모마일 소재 기술은 약 75%가 단독 소재로 연구되었으며, 기타 허브들과의 혼합적용이 25% 수준으로 타 허브들에 비해 낮은 것으로 분석됨.
- 캐모마일을 소재로 이용한 기술은 88% 이상이 도포제 형태의 기술개발에 관한 것이며, 뒤이어, 세정제(7%) 및 이너뷰티(5%) 순으로 나타남.

<캐모마일 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
16	45	2	2	44	20	45	11	3	8	7

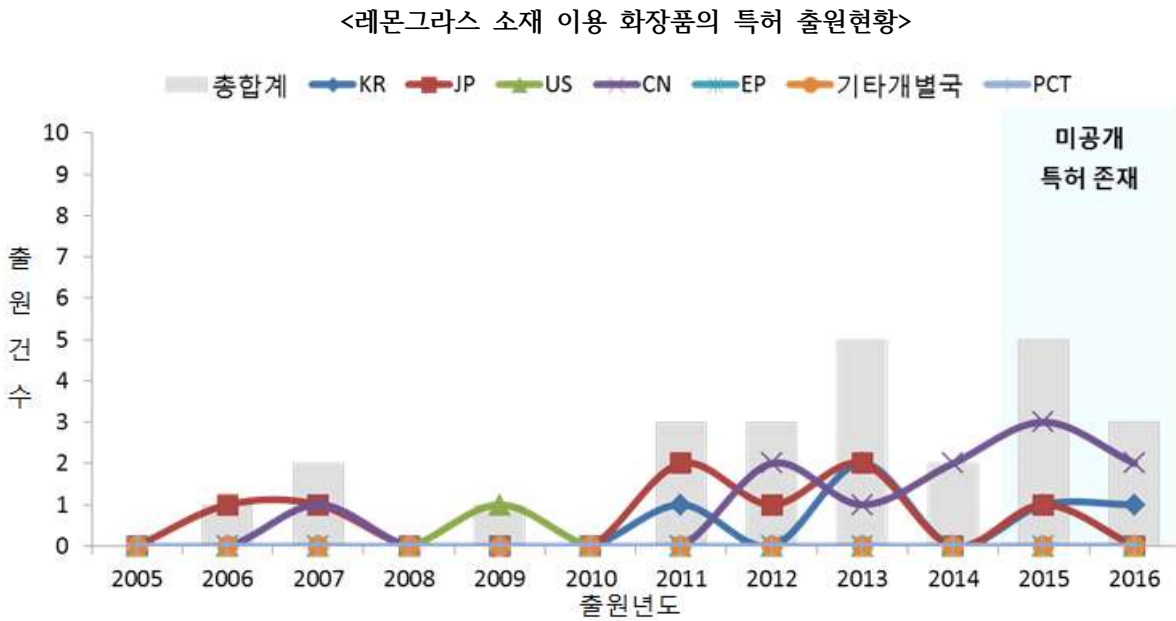
- 캐모마일은 항염 및 보습, 미백 기능성 분야에 가장 많은 기술개발이 이루어진 것으로 분석되었으며, 특히, 도포제 형태의 미백 기술분야에 기술이 집중되어 있는 것으로 분석됨.
- 세정제 형태에는 보습 및 모발보호를 위한 기술개발이, 이너뷰티 형태에는 항산화 및 보습을 위한 기술개발이 이루어진 것으로 분석됨.

<캐모마일 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	11	37	2	2	43	20	41	7	3	7	6
세정제	1	6			1		2	4			
이너뷰티	4	2					2			1	1

○ 레몬그라스

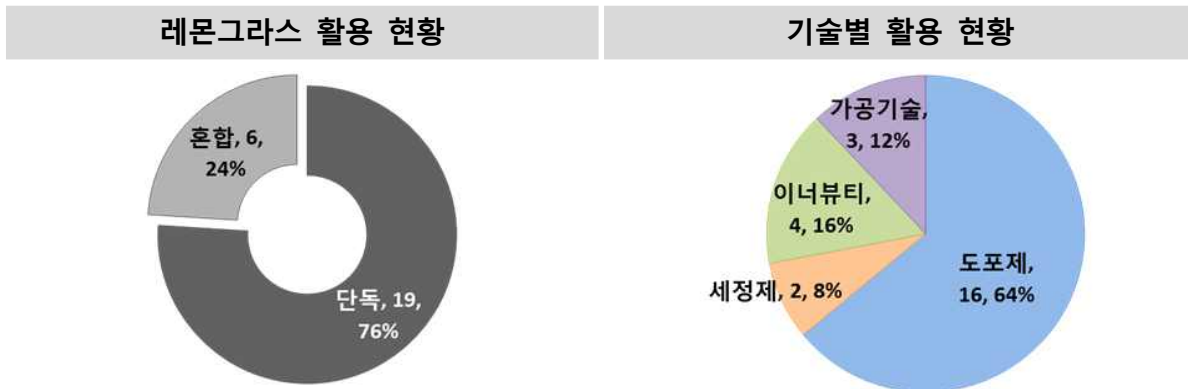
□ 연도별 국가별 특허 출원동향



○ 레몬그라스를 소재로 한 기술개발 현황을 살펴보면, 매우 저조한 수준의 기술개발이 진행되고 있으나, 일본 및 중국의 특허활동이 매해 2건 수준으로 진행되고 있는 것으로 보임.

□ 레몬그라스 소재 활용 현황

<레몬그라스 소재 활용 현황>



○ 레몬그라스 소재 기술은 25건 중 19건이 단독 소재로서 연구된 것으로 나타났으며, 혼합기술은 약 6% 수준에 머물고 있음.

○ 타 허브들과 유사하게 대부분 도포제 형태의 제품 개발에 집중되어 있었으나, 이너뷰티 제품에 관련된 기술개발이 16%로 나타났으며, 뒤이어, 가공기술 12% 및 세정제 8% 순으로 나타남.

<레몬그라스 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
3	2	1	25	5	6	6	2	25	1	2

- 레몬그라스 소재는 슬리밍 및 자외선 차단 기능성 분야에 가장 많은 기술개발이 이루어졌음.
- 특히, 도포제 형태의 슬리밍 및 자외선 차단 기능성 분야에 집중되어 있었으며, 이너뷰티 형태 및 레몬그라스 가공기술에서도 상기 기능성 분야에서 활발한 기술개발이 진행된 것으로 분석됨.

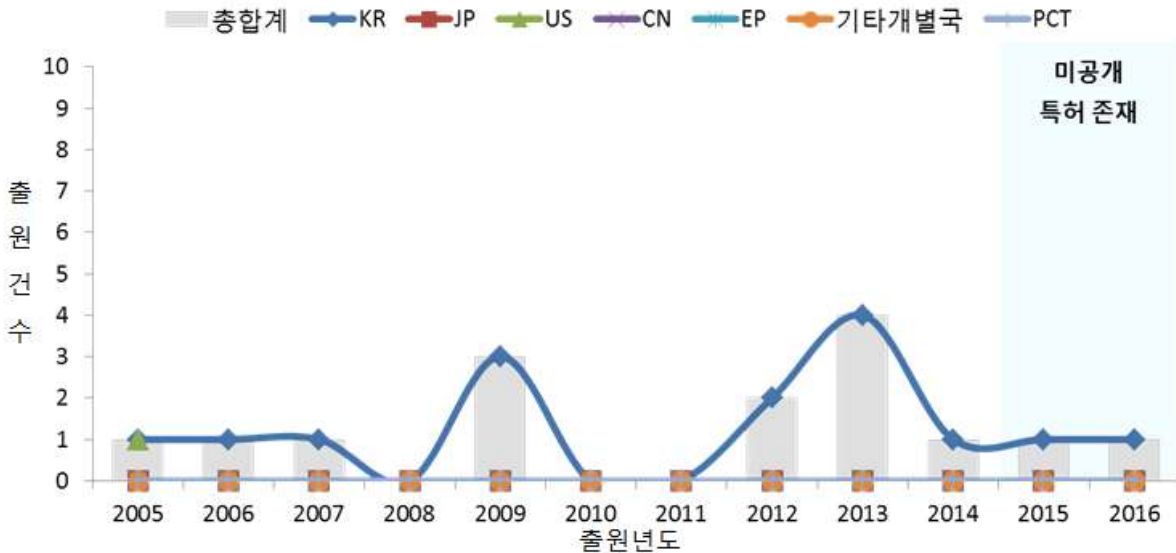
<레몬그라스 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	1	2	1	16	3	6	5	2	16	1	1
세정제	1			2			1		2		
이너뷰티	1			4	2				4		1
가공기술				3					3		

○ 와송

□ 연도별 국가별 특허 출원동향

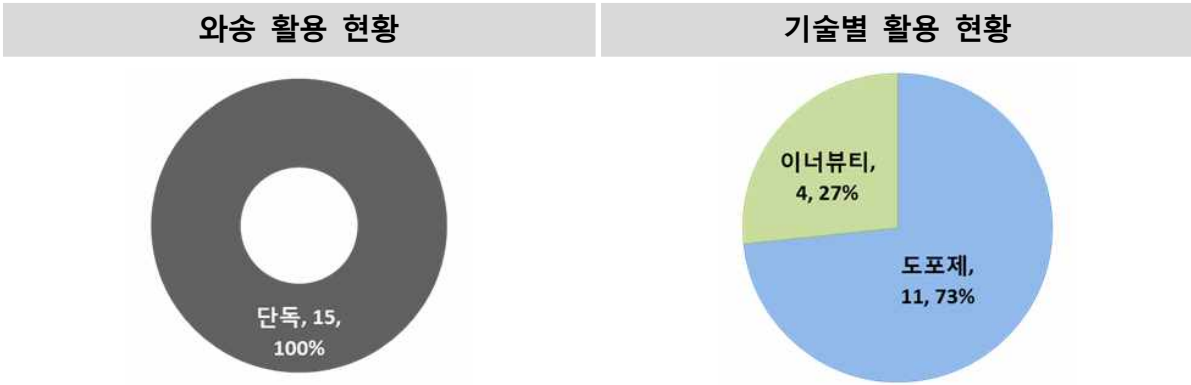
<와송 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



- 와송과 관련한 특허기술은 국내에서 주도하고 있는 것으로 분석됨.
- 2005년 미국의 특허활동이 1건 있을 뿐 타 시장국의 특허활동은 이루어지지 않음.

□ 와송 소재 활용 현황

<와송 소재 활용 현황>



- 와송 소재를 활용한 기술개발은 모두 단독의 효과에 관한 것임.
- 도포제 및 이너뷰티 형태로 각각 73% 및 27%의 수준으로 기술개발이 이루어짐.

<와송 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
3	5	0	0	0	4	6	2	0	0	0

- 와송을 이용한 화장품의 기능성 분야는 항염, 보습 및 주름개선 효과에 치중되어 있었음.
- 특히, 도포제 형태의 항염 및 보습효과에 집중되어 있었으며, 이너뷰티 형태의 기술의 경우, 항산화 기능분야에 집중되어 있었음.

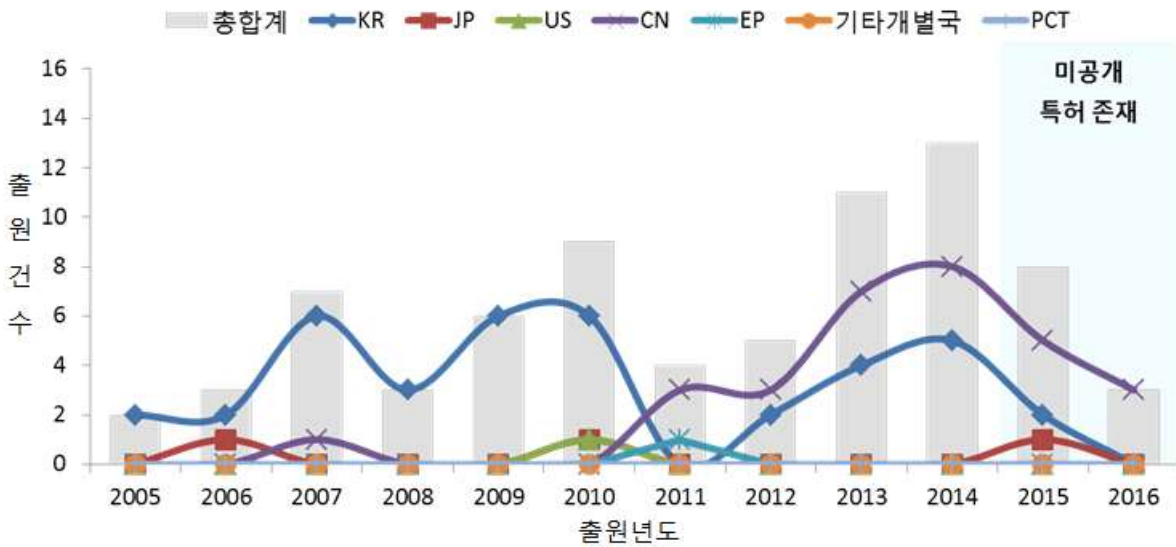
<와송 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제		5				3	6	2			
세정제											
이너뷰티	3					1					

○ 민들레

□ 연도별 국가별 특허 출원동향

<민들레 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



○ 민들레를 소재로 한 화장품 기술 관련 특허출원 동향을 살펴보면, 2000년대 중반부터 한국의 특허출원이 우세하였고, 2010년 이후 중국의 특허활동이 증가하고 있는 것으로 나타남.

□ 민들레 소재 활용 현황

<민들레 소재 활용 현황>



○ 민들레 소재의 기술개발은 82% 수준이 단독으로 연구되었으며, 그 외 18%는 타 허브와의 혼합연구가 진행된 것으로 분석됨.

○ 또한, 출원특허의 74%가 도포제 형태로 연구되었고 뒤이어 이너뷰티(19%) 및 세정제(7%) 순으로 나타남.

<민들레 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
17	12	3	4	13	12	23	2	2	1	3

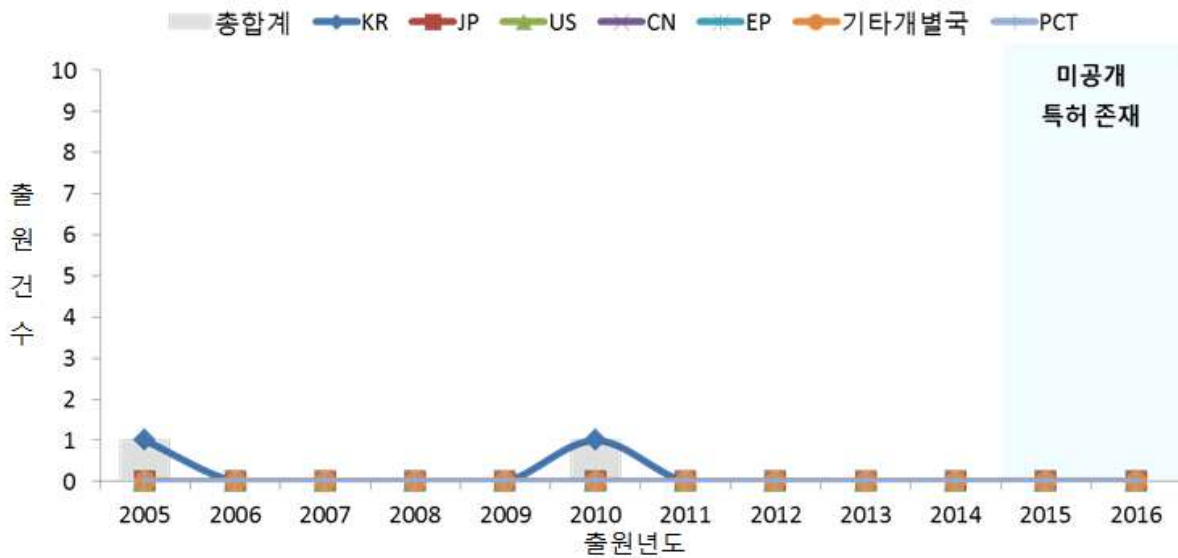
- 민들레를 이용한 화장품의 기능성 분야는 항염효과에 집중되어 있었음.
- 도포제 형태의 항염, 미백, 보습 및 주름개선에 집중되어 있었으며, 이너뷰티의 경우 항산화 기능성 분야에 많은 기술이 개발되어 있었음.

<민들레 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	7	12	3	3	13	10	20	1	2	1	2
세정제						1	1	1			1
이너뷰티	10			1		1	2				

- 곤달비
 - 연도별 국가별 특허 출원동향

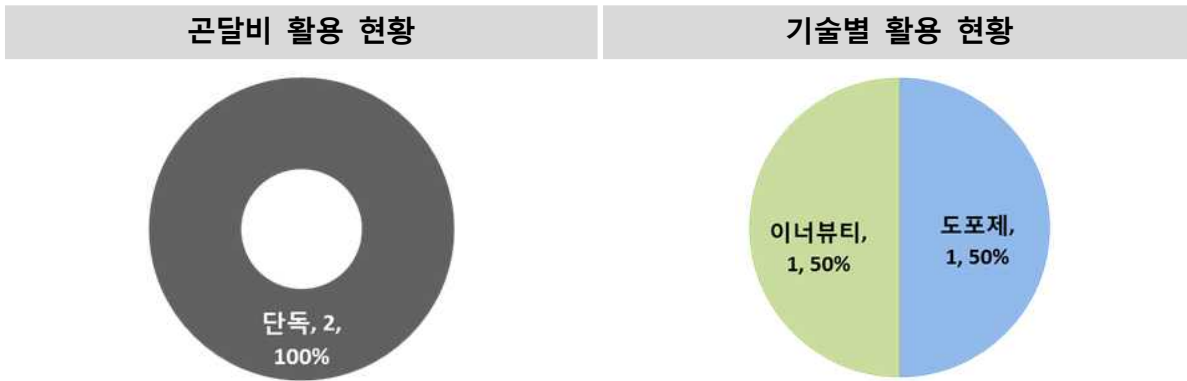
<곤달비 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



- 곤달비를 소재로 이용한 화장품 관련 기술은 국내에서 2005년 및 2010년에 각 1건씩 출원된 것으로 나타남.

□ 곤달비 소재 활용 현황

<곤달비 소재 활용 현황>



- 곤달비는 단독으로만 연구된 것으로 보임.
- 도포제 및 이너뷰티 형태의 기술에 각 1건씩 기술개발이 이루어졌음.

<곤달비 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0

- 곤달비 소재는 슬리밍, 미백 및 항염 기능성 분야에 각 1건씩 기술 개발이 진행된 것으로 분석됨.

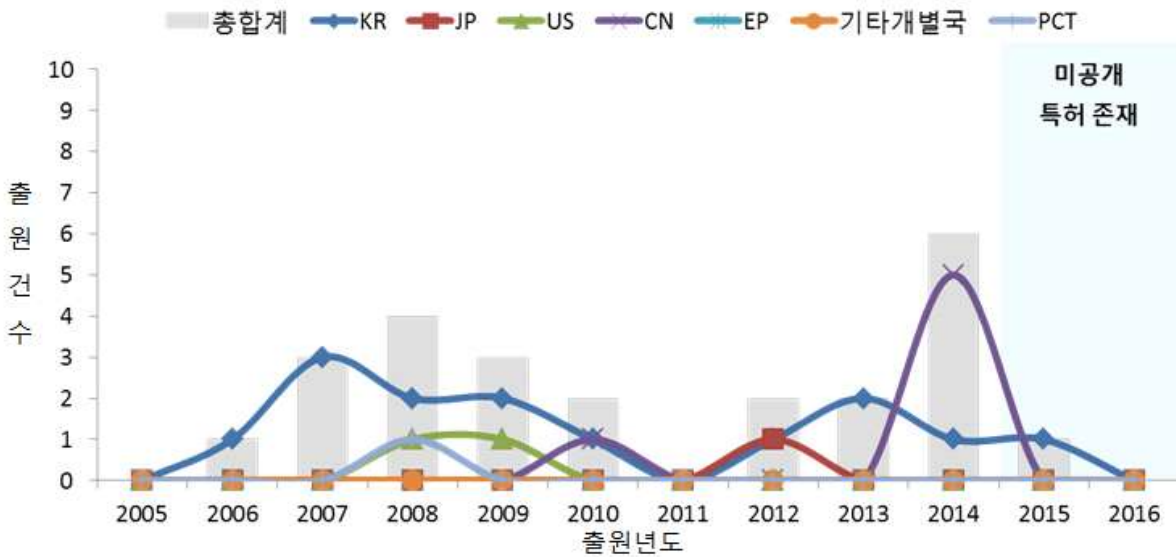
<곤달비 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제					1		1				
세정제											
이너뷰티				1							

○ 소엽

□ 연도별 국가별 특허 출원동향

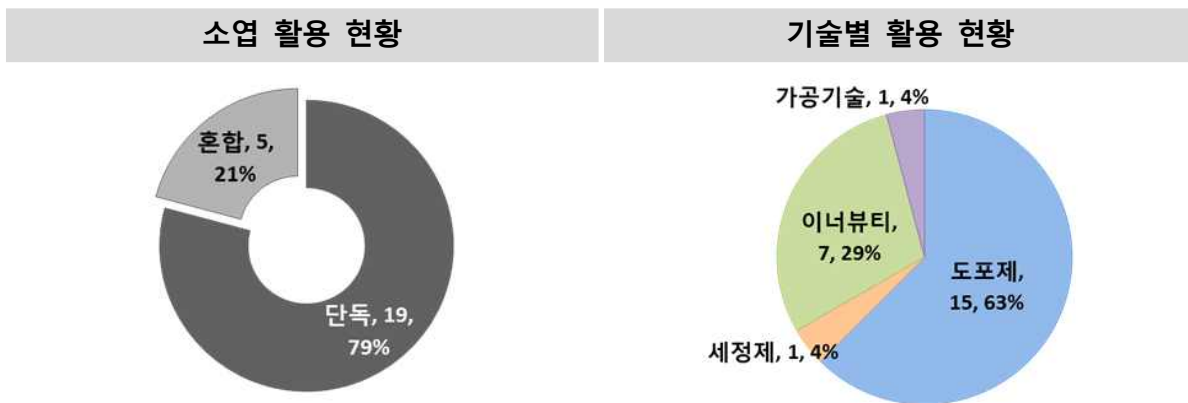
<소엽 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



○ 소엽을 이용한 화장품 관련 기술개발은 저조한 편이나, 한국에서 비교적 많은 기술을 보유하고 있으며, 평균 2건의 특허출원이 진행되고 있는 것으로 나타남.

□ 소엽 소재 활용 현황

<소엽 소재 활용 현황>



○ 소엽 관련 화장품 기술은 총 24건의 특허 중 약 80%에 해당하는 19건의 특허가 소엽 단독의 연구기술에 대한 것이며, 그 외 5건은 타 허브들과의 혼합물 연구에 관한 기술임.

○ 한편, 도포제 형태의 기술개발이 63%로 가장 높은 점유율을 보였으며, 뒤이어 이너뷰티(29%), 가공기술 및 세정제(각 4%) 순으로 나타남.

<소엽 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
7	5	0	1	5	1	5	3	1	0	1

○ 소엽을 소재로 활용한 기술의 기능성 분야는 항산화 기술에 가장 많은 연구가 이루어진 것으로 분석되었으며, 그 외 보습, 미백, 항염 기능성 분야에 많은 연구가 진행된 것으로 분석됨.

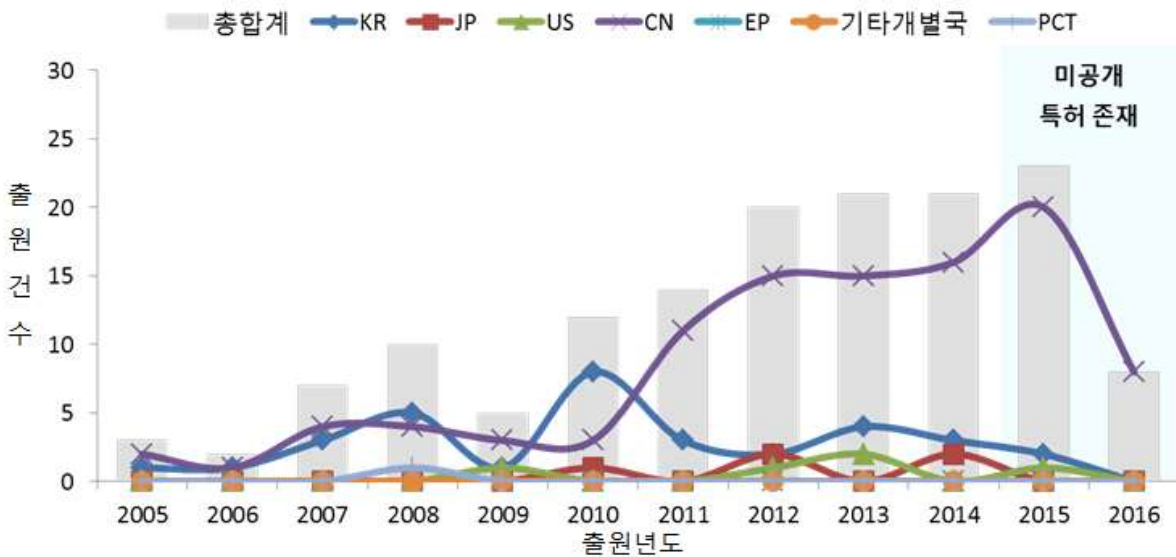
<소엽 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	2	5			5	1	5	2	1		1
세정제								1			
이너뷰티	4			3							

○ 감국

□ 연도별 국가별 특허 출원동향

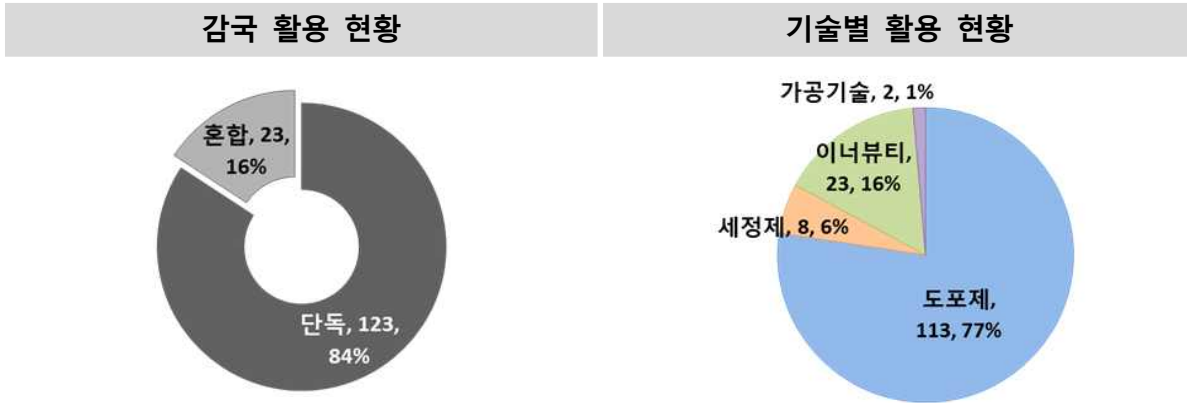
<감국 소재 이용 화장품의 특허 출원현황>



○ 감국(*Chrysanthemum indicum* L. 또는 *Chrysanthemum* sp. 로 표현된 국화)에 대한 화장품 기술분야는 2000년대 후반까지 한국 및 중국에 의한 특허활동이 우세하다 2010년 이후로 중국의 특허활동이 급격하게 증가하고 있음.

□ 감국 소재 활용 현황

<감국 소재 활용 현황>



- 감국을 이용한 기술개발은 84%에 해당하는 123건이 모두 단독 소재 연구에 의한 것임.
- 형태 기술별 활용 현황을 살펴보면, 77%에 해당하는 기술이 도포제 형태를 보이고 있으며, 뒤이어 이너뷰티(16%), 세정제(6%) 및 가공기술(1%) 순으로 나타남.

<감국 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
18	24	7	9	34	22	26	17	6	3	7

- 감국은 미백 기능성 분야에 가장 많은 기술이 개발된 것으로 분석됨.
- 특히, 도포제 형태의 미백 기능성 분야에 기술개발이 집중되어 있었으며, 그 외 도포제 형태의 항염 및 보습 기능성 분야에 기술개발이 활발한 것으로 분석됨.
- 이너뷰티 형태 기술의 경우, 항산화 기능성 분야에 가장 많은 기술이 개발되었고, 뒤이어 슬리밍 기능성, 항염 기능성 분야 등으로 나타남.

<감국 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	10	21	5	4	32	20	24	15	6	3	5
세정제		2	2					2			
이너뷰티	8	1		5	2	2	4				2

- 구절초
- 구절초 소재기술은 90%가 복합소재로 연구되었으며, 단독 소재 기술은 10% 수준임.
- 구절초를 이용한 기술은 90%가 도포제 형태의 기술이며, 10%가 이너뷰티 기술임.
- 구절초를 소재로 활용한 기술의 기능성 분야는 항산화 기술에 가장 많은 연구가 이루어진 것으로

분석되었으며, 그 외 모발보호, 미백, 항균, 보습 기능성 분야에 많은 연구가 진행된 것으로 분석됨.

<구절초 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
8	1	2	0	2	0	0	4	0	0	0

<구절초 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	7	1	2	0	2	0	0	4	0	0	0
세정제											
이너뷰티	1										

○ **절레**

- 절레 소재기술은 70%가 복합소재로 연구되었으며, 단독 소재 기술은 30% 수준임.
- 절레 소재기술은 77%가 도포제 형태의 기술개발에 관한 것이며, 뒤이어 세정제(8%) 및 이너뷰티(15%) 순으로 나타남.
- 절레를 소재로 활용한 기술의 기능성 분야는 항산화에 가장 많은 연구가 진행되고 있고, 그 외 모발보호, 미백효과가 있음.
- 도포제 형태의 경우, 보습, 항염 기능성분야에 이너뷰티 형태 기술의 경우, 항산화 기능성 분야에 가장 많은 연구가 되어 있음.

<절레 소재 활용 기능성 화장품의 효능 현황>

항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
6	2	0	0	2	0	2	4	0	0	0

<절레 소재 이용 기술별 효능별 특허 출원현황>

	항산화	보습	항균	슬리밍	미백	주름개선	항염	모발보호	자외선	피부재생	심신안정
도포제	4	1	0	0	2	0	1	4	0	0	0
세정제		1					1				
이너뷰티	2										

○ **주요 권리권자의 등록특허 현황**

- 총 125건의 주요 특허 중 현재 등록된 특허는 총 38건(한국 26건, 미국 7건, 일본 3건, 유럽 1건, 중국 1건) 이 있으며, 출원인별 소재 현황 및 기능성 관련 보유기술 현황은 다음과 같음.

표 주요특허 권리권자 및 출원국 현황

출원국	중국	유럽	일본	한국	미국	등록 건수
권리권자						
(주)아모레퍼시픽			1	4	1	6
(주)LG생활건강				4		4
배정빈				2		2
(주)엘에스화장품				1		1
(주)제주사랑농수산				1		1
(주)코리아나화장품				1		1
BokePharmaceuticalCo.,Ltd.,Guangxi	1					1
COTY GERMANY		1				1
Coty Prestige Lancaster Group GmbH					1	1
Fischer Pharmaceuticals Ltd.					1	1
KAO CORP					1	1
LION CORP			1			1
MOLECULAR PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY LABORATORY INC			1			1
NICHIREI KK					1	1
Sequent Scientific Limited					1	1
SHISEIDO CO., LTD.					1	1
바이오스펙트럼(주)				1		1
박상홍				1		1
보령메디앙스(주)				1		1
영농조합법인 이노플랜트				1		1
이병일				1		1
전남과학대학교				1		1
정의수				1		1
제주대학교				1		1
주식회사바이오에프디엔씨				1		1
창원대학교				1		1
콜마비앤에이치(주)				1		1
한국원자력연구원				1		1
한국콜마홀딩스(주)				1		1

○ ㈜아모레퍼시픽은 한국 4건, 일본과 미국에 각각 1건씩 등록 기술을 보유, ㈜LG생활건강은 한국에 4건(심신 안정의 등록 기술을 보유, 배정빈氏은 한국에 2건의 기술을 보유하고 있으며, 기능성별로는 ㈜아모레퍼시픽은 보습, 주름개선, 피부재생 향염 기능, ㈜LG생활건강은 심신안정, 자외선 차단, 향염 기능, 배정빈氏은 모발보호, 보습, 주름개선 기능을 보유하고 있음.

표 주요특허 권리권자 및 기능성 보유기술 현황

*기능별 중복 허용

기능성 권리권자	모발 보호	미백	보습	슬리밍	심신 안정	자외선 차단	주름 개선	피부 재생	항균	항산화	항염
(주)아모레퍼시픽			2				1	1			2
(주)LG생활건강					2	1					1
배정빈	1		1				1				
(주)엘에스화장품	1										
(주)제주사랑농수산		1									
(주)코리아나화장품			1								
BokePharmaceutical Co.,Ltd.,Guangxi											1
COTY GERMANY						1					
Coty Prestige Lancaster Group GmbH			1								
F i s c h e r Pharmaceuticals Ltd.	1										
KAO CORP					1						
LION CORP	1										
MOLECULAR PHYSIOLOGICAL CHEMISTRY LABORATORY INC					1						
NICHIREI KK			1								
Sequent Scientific Limited										1	
SHISEIDO CO., LTD.					1						
바이오스펙트럼(주)							1				
박상홍											1
보령메디앙스(주)		1							1	1	
영농조합법인 이노플랜트			1				1				1
이병일				1							
전남과학대학교			1								1
정의수											1
제주대학교 주식회사								1			
바이오에프디엔씨											1
창원대학교										1	
콜마비앤에이치(주)											1
한국원자력연구원									1		
한국콜마홀딩스(주)		1								1	

1-3. 연구개발의 중요성

(1) 기술적·산업적·지역적 측면

○ 기술적 필요성

○ 남원·지리산권 허브는 천연화장품이라는 화장품 산업과의 연계를 통하여 알프스의 에델바이스, 프랑스 해송에서 분리된 picnogenol과 같은 대표적인 천연원료와 같이 고부가가치화 될 수 있는 화장품소재로서의 기술적 가치가 충분함.

○ 남원·지리산권 허브 천연화장품 소재화를 통하여 천연물의 한계로 지적 받고 있는 생육지의 기후나 토양 환경, 산지나 수확시기에 따른 품질 차이, 가공에 따른 품질 차이 등의 규격화로 일정한 품질의 화장품 소재화 시 관내 및 타지역 화장품 기업의 허브 활용 증대 가능함.

○ 산업적 필요성

○ 남원·지리산권 허브는 재배 및 채취를 통해 오랜 기간 고품질의 향과 품질로 인정받으며 식용, 미용, 약 용 등 다양하게 활용되어 왔으나 단순가공을 통한 나물류, 차류 등의 저부가가치 제품으로 유통되고 있어 자원 식물로서의 부가가치를 인정받고 있지 못한 실정임.

○ 남원·지리산권 허브는 남원 지역 내 천연비누, DIY 화장품원료, 방향제 등의 식용 외 용도로 꾸준히 활용 되고 있으나 부가가치가 높은 화장품완제품 소재로 적극적으로 활용되지 못하고 있음.

○ 관내 화장품기업 및 향장관련 업소의 규격화된 남원·지리산권 소재 공급에 대한 수요가 도출되고 있어 허브 를 취급하는 기존 재배단계, 1차 단순원료가공업체의 고부가가치 화장품산업으로의 전환 계기 마련이 필요함.

○ 국내 화장품산업에서 수출 비중이 확대되면서 K-Beauty를 대표할 수 있는 제2, 제3의 설화수를 개발하 기 위한 화장품 기업들의 차별화된 천연소재 개발이 강화되고 있으며 나고야의정서가 발효로 국산 화장품원료 에 대한 화장품 기업들의 의존도가 높아짐에 따른 남원·지리산권 허브에 대한 선제적 화장품소재화 및 제품화 로 지역기업 사업화 활성화지원 필요

○ 지역적 필요성

○ 2005년 이후 남원·지리산권 허브 재배 및 경관관광 중심의 허브산업에서 기능성 소재개발 및 시장선도 제품개발을 통한 남원·지리산허브 천연화장품산업으로 고도화 및 고부가가치화 필요

○ 국내 유일의 소재원료 기반형 천연화장품 특화산업 집중육성을 통해 지속가능한 지역 신성장동력 발굴 및 관련 천연화장품 기업집적화 동기 필요

○ 남원·지리산권 허브를 이용한 소재개발 및 제품화, 재배기술, 천연화장품제조생산 활성화 및 글로벌브랜 드마케팅 활성화를 통해 지역 내 산업화 요인 활성화 필요

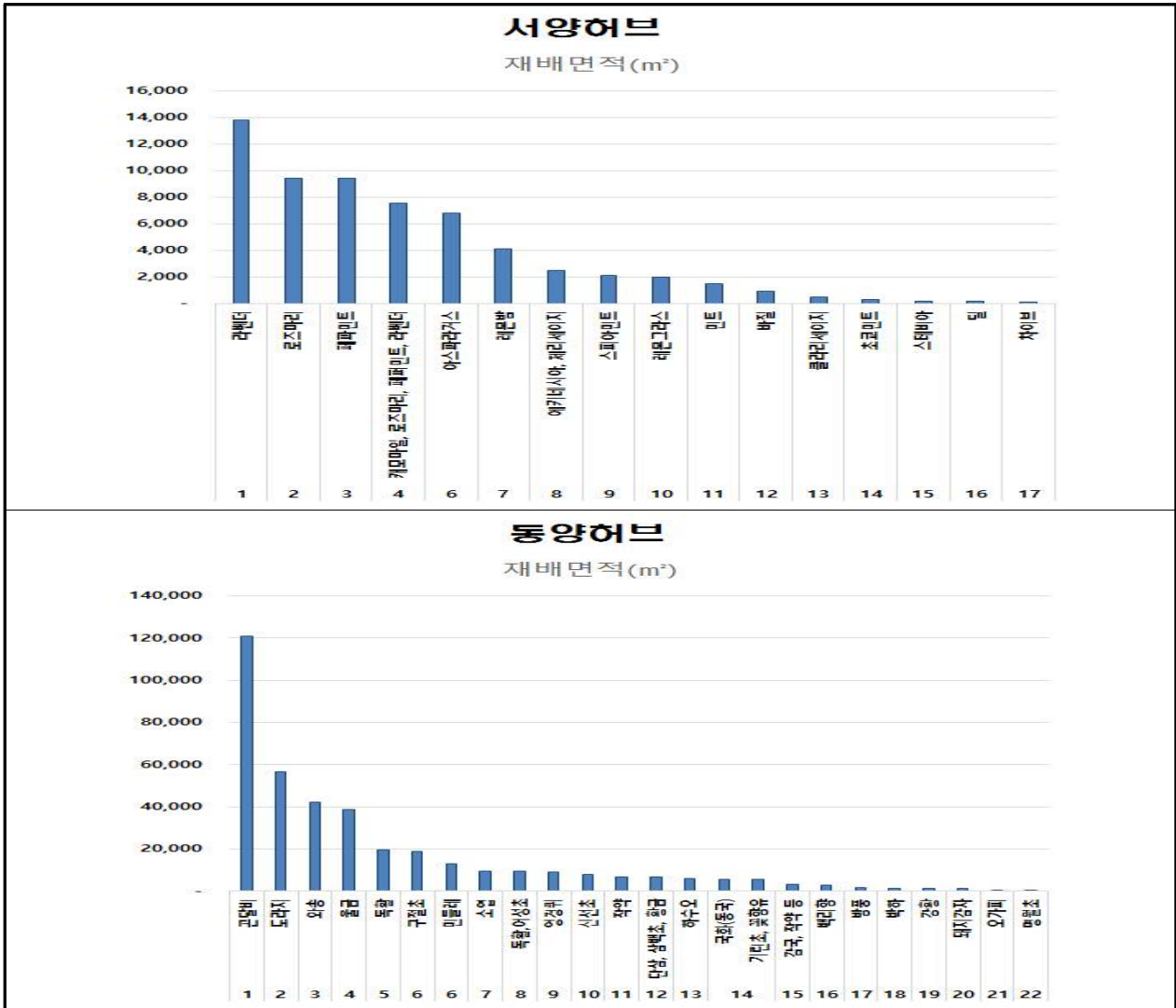
○ 남원 허브산업 기반 바이오뷰티특화산업

○ 허브재배

- 허브생산규모

연도	생산면적 (ha)	생산량 (톤)	생산농가수 (자생·약용허브)	[전국대비 생산면적 비중]	비고
2013	30(18)	126(58)	89(35)	95(15)	서양허브, 자생·약용허브 포함
2014	41.7(35)	146(120)	80(68)	95(20)	서양허브, 자생·약용허브 포함
2015	53.2(40)	200(165)	92(74)	95(23)	서양허브, 자생·약용허브 포함

- 허브재배현황(바이오뷰티특화품목 포함)



○ 허브가공

- 허브관련 업체 수 및 매출액

연도	가공업체수 (개소수)	연관상품 판매액(억원)	연관사업 업체수(개소수)	연관사업 매출액(억원)
2013	6(1)	319.48	28	416.2
2014	6	357.72	29	466.09
2015	6	375.8	32	499.2

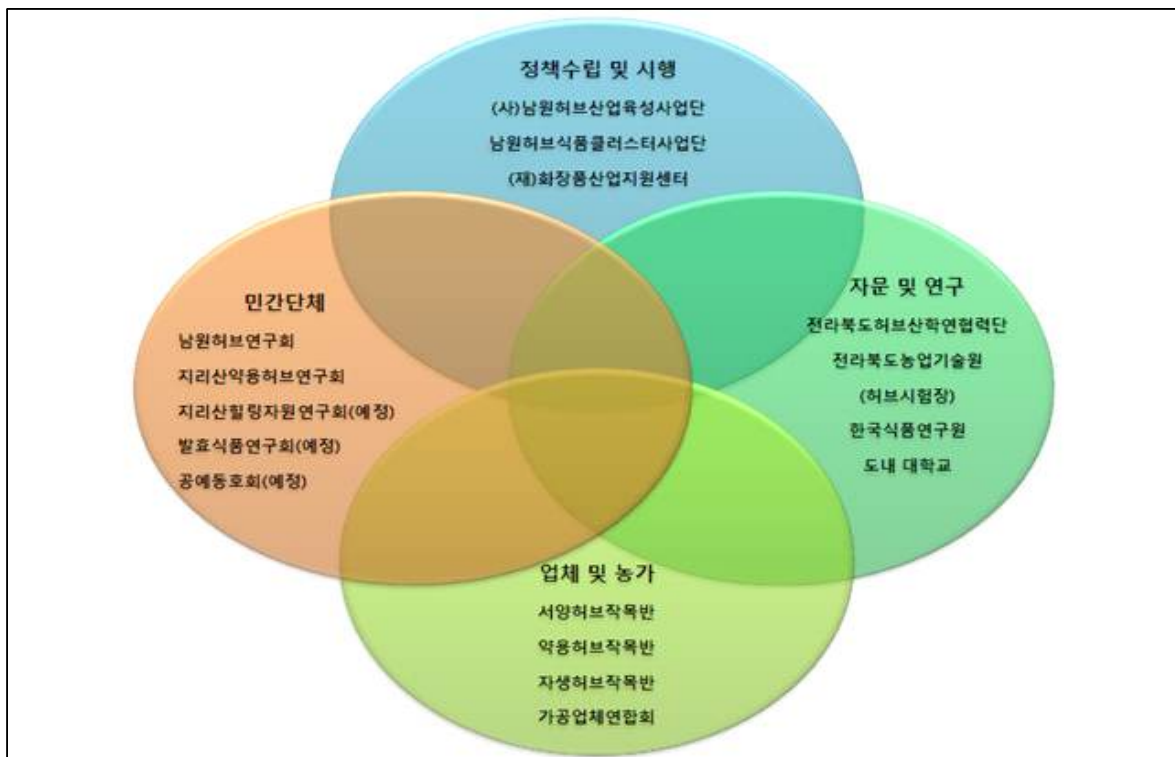
- 허브관련 업체 및 생산품목

기업명	대표자	생산제품	매출액 (백만원)	고용 인원	설립일	인증현황
그린웨이브	안도근	허브차	35	1	2008. 5	유기가공
허브식품	최태주	허브차	50	1	2009. 1	유기가공
지리산맑은물(영)	소영진	허브목	210	5	2005. 5	유기가공
그린허브(영)운봉주조	최규창	허브막걸리	650	3	2003. 2	유기가공
(주)참본	양선기	발효주	900	10	2002. 4	유기가공
헤스	허은선	허브차	45	2	2004. 6	유기가공
지리산남원허브(영)	김영광	허브막걸리	900	8	2002. 10	유기가공
지리산두류실	조용섭	허브청국장완	80	1	2006. 7	유기가공
우중물산	방동현	허브차	962	6	2000. 10	유기가공
(유)미와미	이완희	허브액상차	3,255	15	2003. 5	유기가공

기업명	대표자	생산제품	매출액 (백만원)	고용 인원	설립일	인증현황
선호발효식품(영)	최선호	허브액상차	150	1	2007. 1	유기가공
춘향골바래봉목마을	박명숙	허브목	400	4	2004. 3	유기가공
(주)지엠에프	김호수	허브만두	35,150	187	2007. 5	HACCP
착한가게	문효진	흰민들레차	200	2	2014. 10	유기가공
(주)NEST남원	김재윤	허브차		1	2012. 4	유기가공
신영식품	정연자	허브빵	30	4	2013. 2	유기가공
동근힘	원유훈	프롭	80	2	2008. 5	유기가공
희망씨앗농장(영)	정영학	허브산양유	400	2	2010. 9	유기가공
창흥물산	이기만	허브차	2,550	2	2006. 4	유기가공
(주)허브미	한상의	허브차	400	2	2008. 10	유기가공
허브킹덤(영)	최동임	허브차	50	1	2009. 2	유기가공
새청뜰식품	정현덕	허브김부각	211	3	2008. 11	유기가공
(주)하이솔	박이경	허브화장품	1,132	11	2013. 3	유기가공
지리산처럼(영)	정정은	허브비누	450	2	2012. 8	유기가공
허브랜드	오경태	허브체험	35	2	2006. 11	유기가공
지리산두레팜	김희수	허브체험	200	5	2010. 5	유기가공
지리산똥판지와 허브	곽채훈	똥판지차	305	3	2009. 2	HACCP
(유)지리산웰빙식품	노상택	허브체험	30	4	2009. 4	유기가공
지리산향치골백연작목반	차점숙	연잎차	30	1	2011. 4	유기가공
고원농산(영)	오재석	허브소시지	850	4	2012. 4	HACCP
(주)남원허브	김정	허브차	180	2	2013. 10	유기가공
(주)바리상프	이영일	허브차		1	2013. 7	유기가공
합계			49,920	298		

○ 허브밸리조성(지리산웰빙허브산업특구 지정)

- 자생식물환경공원 : 115,910 m²
- 허브테마파크 : 108,680 m²
- 허브가공단지 : 44,813 m²
- 허브경관농업지구 : 431,741 m²
- 남원허브산업클러스터





○ 남원·지리산권 자생식물 특징

- 산업배경 : 2014년 나고야 의정서 발효 이후, 각국의 천연물 자원의 무기화가 추진 중에 있으며 이를 극복하기 위하여 국내 천연 자원을 단순 수집에서 탈피하여 산업 고도화 전략이 절실하며, 남원허브산업은 중장기 발전방안에서 제시되고 있는 토종 및 약용허브를 중심으로 하는 유기농업생산과 원료가공산업을 통해 화장품 및 식품산업을 통합하고 고부가가치화하는 육성전략을 갖고 있음.

- 식생자연환경

• 남원 및 지리산 지역은 허브특구로 지정되어 있으며, 지리적, 기후 조건에서 다른지역에 비해 허브재배가 유리한 조건을 갖추고 있으며, 지리적으로는 청정지역이미지를 보유하고 있고, 기후적으로 분지에 해당하면서 기온차가 심해 타 지역에 비해 식물의 2차 대사산물의 생성에 있어 좋은 조건을 갖추고 있기 때문에 허브재배에 최적으로 알려져 있음.

• 준고냉지에 속하며 허브특화단지인 남원 운봉지역은 표고가 500m, 년 평균기온은 11.6°C로 평야부보다 1.5°C 낮아 여름철 고온기 작물생산에 유리하며, 특히 주변 지리산은 온대림과 난대림이 분포하여 한반도 생육식물의 30%인 1,300여종의 식물이 서식하고 있으며, 우리나라 자생 고등식물 4,000여종의 10%인 400여종의 희귀종이 자생하는 자원의 천연보호림.

• 준고냉지에서 자생허브식물을 재배시 분지수 및 측지수가 평야부보다 많아져 수량도 높고, 허브의 원료가 되는 정유의 품질이 우수함.

(2) 지역의 연구 인프라 및 기술적 측면

○ 전라북도

○ 전북 농생명 기반 바이오산업 구조



○ 남원 허브산업 기반 바이오뷰티산업 인프라

○ 정책인프라

- 특구지정 : “지리산웰빙허브산업특구” 지정
- 전담조직 운영



○ 산업인프라



□ SWOT 분석

S	강 점	W	약 점
<ul style="list-style-type: none"> ○ 지리산 1800종의 천연허브 보고 ○ 허브산업기반구축과 화장품산업 기반 활용 ○ 바이오뷰티소재원료특화산업육성의 차별성 		<ul style="list-style-type: none"> ○ 중소기업 중심의 지역산업 ○ 유효성분 함량이 높은 고품질정밀재배 미흡 ○ 전후방산업의 연계협력시스템 미약 	
O	기 회	T	위 험
<ul style="list-style-type: none"> ○ 허브재배기반을 활용한 원료산업 ○ 바이오기술 이용한 기능성제품시장 성장 ○ 나고야의정서 대응 미래소재원료시장개척 		<ul style="list-style-type: none"> ○ 사업역량기업 부재 ○ 지속적 기술고도화 추진력 유동성 ○ 다품종·소량생산 중심의 품목확대 유동성 	



<p style="color: #0056b3; font-weight: bold;">SO전략</p> <p style="font-weight: bold;">[강점과 기회요인의 시너지 효과]</p>	<p style="color: #0056b3; font-weight: bold;">ST전략</p> <p style="font-weight: bold;">[강점으로 위협요인 극복]</p>
<ul style="list-style-type: none"> ○ 농산물특화산업에서 바이오뷰티특화산업으로 전환 ○ 지리산 천연허브의 소재화/산업화 ○ 국내 최초 나고야의정서 대응 생물자원특화산업화 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산업기반 이용 역량기업 파트너쉽 ○ 지속적 R&D 및 비R&D 투자 ○ 다품종·소량생산 중심 재배품목 단계적 확대
<p style="color: #0056b3; font-weight: bold;">WO전략</p> <p style="font-weight: bold;">[약점을 극복하고 기회요인 활용]</p>	<p style="color: #0056b3; font-weight: bold;">WT전략</p> <p style="font-weight: bold;">[약점을 최소화하고 위협요인 극복]</p>
<ul style="list-style-type: none"> ○ 바이오기술 중심의 중소기업기술산업화 ○ 재배,소재개발,제품화 분야 기술력 확보/누적 ○ 재배,연구,가공,유통판매 분야 패키지화 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 중소기업 육성으로 선도기업화 ○ 지속적 기술개발을 통한 산업화기술 고도화 ○ 다품종·소량 재배가공으로 시장선도 및 시장변화 대응

(3) 지자체의 해당품목 육성대책

○ 전라북도

○ 전북 농생명 기반 원예허브 육성 및 바이오산업 육성

- 산업육성비전

비 전	산업·기술 융복합으로 동북아시아 농생명 허브 육성																						
목 표	종자·식품·농자재·새만금 4대 혁신클러스터 거점 조성																						
	농생명 Agro-Belt 조성		농생명 창조 생태계 조성																				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>2014년</th> <th>2019년</th> <th>2022년</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>종사자수</td> <td>29,413 명</td> <td>30,987명</td> <td>33,532명</td> </tr> <tr> <td>신규고용</td> <td>561명</td> <td>2,360명</td> <td>2,545명</td> </tr> <tr> <td>생산액</td> <td>745백억원</td> <td>993백억원</td> <td>1,186백억원</td> </tr> <tr> <td>부가가치액</td> <td>538백억원</td> <td>647백억원</td> <td>737백억원</td> </tr> </tbody> </table>	구분	2014년	2019년	2022년	종사자수	29,413 명	30,987명	33,532명	신규고용	561명	2,360명	2,545명	생산액	745백억원	993백억원	1,186백억원	부가가치액	538백억원	647백억원	737백억원		
구분	2014년	2019년	2022년																				
종사자수	29,413 명	30,987명	33,532명																				
신규고용	561명	2,360명	2,545명																				
생산액	745백억원	993백억원	1,186백억원																				
부가가치액	538백억원	647백억원	737백억원																				
추 진 략	종자산업 메카조성 <ul style="list-style-type: none"> • 민간육종연구단지 기반 조성 • 새만금 첨단농업 생산단지 조성 • 국립간척지농업 연구소 설립 	글로벌 농식품 클러스터 <ul style="list-style-type: none"> • 국가식품클러스터 활성화 • 농식품 공동물류 센터 구축 • 농식품수출 전용 단지 조성 	ICT융합농자재 클러스터 <ul style="list-style-type: none"> • ICT 융합 스마트팜 확산 • 첨단농자재산업육성 • 농기계 IoT 첨단 산업클러스터 	농생명 융복합 생태계 조성 <ul style="list-style-type: none"> • 천연물소재 상용화 (지리산권 허브산업 육성 및 바이오원료산업육성) • 미생물 융복합 산업 육성 • 지역특화형 전통 문화 산업 조성 																			
	산업혁신 기반	민간육종 연구단지조성 	국가식품 클러스터조성 	전북연구개발특구 	미생물융복합 R&D 기반조성 																		
새만금농업단지 		정읍첨단산업단지 	전주혁신도시 이전 공공기관(6개) 	지리산허브밸리 바이오산업육성 																			
중 점 추진방향	<ul style="list-style-type: none"> ▶ 세계적 농생명과학연구단지(Green Valley) 조성 ▶ 농생명 산업 관련 최대 연구기관 및 인력을 보유하며 국내 최고의 농생명 R&D 역량을 확보에 따른 농생명 전후방 산업과 연계 기업 유치 및 창업 활성화 ▶ 민간육종단지(김제), 농생명 혁신도시 조성(전주·완주), 국가식품클러스터(익산), 새만금 개발 등을 통해 종자, 생산, 연구, 가공, 수출에 이르는 농생명 Agro-Belt 조성 ▶ 전북창조경제혁신센터를 통해 창업기업 및 사업화 지원을 통한 선도기업육성 ▶ 전북연구개발특구 지정에 따른 농생명 혁신도시이전 기관 6개, 지역특화연구소 22개 등 연계를 통한 R&D 사업화 촉진을 통한 기업 육성 및 고용 창출 ▶ 지리산권 천연허브 유래 바이오뷰티소재 및 원료산업 육성 																						

- 원예허브산업 육성계획

- 육성계획실행조직 : 전라북도농업기술원 약용자원연구소 남원허브시험장
- 육성계획지원조직 : 전라북도 허브산학협력단
- 육성계획

① 서양허브의 정착화, 자생 및 약용허브 발굴 재배 및 체험관광 6차 산업화

- 서양허브는 남원지역에서 한정되어 재배되고 있으며, 향장산업으로 주 가공법을 한정하기 위하여 기존농가를 한정하고, 조직체를 구성하여 허브 재배 면적과 농가수익이 증대되도록 유도하고자 함
- 서양허브의 정착화 주요 작물은 라벤더, 로즈마리, 바질, 민트류, 캐모마일 등으로 한정하여 재배를 확대하고자 함.
- 남원시 원예허브과, 전라북도 농업기술원 허브시험장, 남원농업기술센터, 남원허브육성사업단, 남원 시화장품사업지원센터, 허브 친환경 선도농가, 친환경 인증업체와 함께 친환경재배인증 소개 및 유도하고자 함.
- 친환경인증 시 필요한 서류 작성 요령 및 인증절차에 대한 단계별 지도
- 친환경재배 인증을 통한 고품질 허브생산으로 농가소득 증대 사례 소개
- 식용허브는 친환경인증이 어려울 수 있으므로 GAP도 검토하여 실시함
- GAP는 이제 시작 단계이므로 연구 추진에 따라 좋은 자료가 될 것으로 기대함
- 친환경허브생산의 경우 약 20% 이상 농가소득이 증가될 것으로 기대함

② 허브재배농가의 조직화 및 선도 농가의 집중 육성을 위한 컨설팅 실시

- 허브재배기반 구축과 각종 지원제도를 받기 위해 허브재배농가의 조직 및 집단화를 하고자 함
- 선도농가 및 농가조직체를 대상으로 규모와 품종에 맞는 허브사업단의 재배 분과, 가공분과, 관광유 통분과의 맞춤형 컨설팅을 실시하여 집중 육성하고자 함
- 농업의 생산 가공 유통 등을 끊임없이 개발 개선 혁신하여 높은 부가가치를 창출하고 나아가 농업, 농촌의 변화를 주도하는 농업인으로 선진지 견학 및 네트워크 구축 등을 통한 지식농업의 확산으로 육성하며, 각 종 지원제도의 우선 지원을 통해 농가의 참여를 높이고자 함.
- 허브재배 농가들을 대상으로 조직화 한 후 SNS(페이스북, 트위터, 밴드 등)에서 네트워크를 조직하 여 협력단의 전문기술위원과 농가를 실시간으로 연결하도록 함.
- 서양허브 재배농가 관련 작목반, 협동조합, 영농조합, 연구회 등의 설립을 적극 권장하고 조직할 수 있도록 유도하고자 함
- 적정 생산량의 유지 및 계약재배를 통한 안정적인 소비처 제공
- 2010년 이후 허브재배농가가 급격히 감소한 이유는 허브가공업체의 공급과잉에 따른 허브구매 포기에서 발단이 됨.
- 컨설팅을 통해 허브가공업체와 연계하여 계약재배를 통해 허브작목별로 적절한 생산량을 예측하여 농가의 안정적인 재배를 유도하고자 함
- 연중 생산 및 운영체계의 구축 및 6차 산업화
- 서양허브의 경우 체험 및 관광산업으로 연계하기 위해서는 연중 재배가 중요하기 때문에 연중생산 이 가능한 품종을 선정하고 집중적으로 재배할 수 있는 체계를 마련하고자 함.
- 지자체와 허브시험장과 연계하여 연중 생산 및 운영체계를 구축하고자 함.

③ 자생 및 약용허브 발굴과 재배확대 및 지역별 특성화 실시, 자생 및 약용허브 발굴과 농가 재배 확대

- 전라북도 동남부권(무주, 진안, 장수, 임실, 남원 지역)에서 서식하고 있는 자생허브에서 개발 가능 성이 높은 품종을 발굴 및 육성하여 농가에 보급하는 전략품종으로 선정함.
- 전략 품종의 허브는 시범포를 운영하여 효율적인 재배방법을 표준화하고, 지역 전략 자생허브의 기 능성 분석을 통해 우수성을 확인하고, 재배 농가에 재배법 및 품종의 우수성에 대한 시험결과를 제 공하여 재배를 확대하도록 함.
- 임실 및 남원 지역은 초석잠, 영경귀 등의 재배면적이 증가하고 있어, 컨설팅을 통해 이 품종을 집중적으로 육성하고 재배면적을 확대하고자 함.

- 2016년에는 아이스프랜트를 남원 운봉 지역에 도입하여 시범포 재배를 실시하고자 함.(약 1ha)
- 현재 지리산 자생허브인 와송, 꽃향유, 백리향, 돼지감자, 곤달비, 기린초, 평의비름, 생강나무, 지리 오갈피 등을 농가소득을 높일 수 있는 전략 작물로 개발 중에 있으며, 품종 별 재배 환경에 맞는 지역을 선정하여 집중화를 통해 재배면적 확대하고자 함.

④ 지역별 특성화 실시

- 지리산 권역과 덕유산 권역으로 구분하여 지역에 맞는 자생허브와 약용허브 재배를 특성화시키고 집중 육성하고자 함.
- 현재 농가에서 재배되고 있는 약용허브 품종으로는 작약, 금전초, 유근피, 당귀, 백지, 방풍, 독활, 천궁, 황금, 강황, 영경귀 등이 있으나 이러한 약용허브들이 지역특성에 맞게 재배되지 않고 여러 지역에서 무작위로 재배되고 있는 실정으로 향후 컨설팅을 실시하여 지역별로 집중화나 전문화를 통한 재배면적 확대 및 농가의 소득을 증가시키도록 계획함.
- 약용허브의 경우 기존의 재배농가를 지역별, 품종별로 조직체를 조직하여 집중적인 컨설팅을 실시하여 가공 및 관광 사업을 연계할 수 있도록 실시하고자 함.

⑤ 허브농가, 가공업체 및 체험 관광업체의 부가가치 향상방안

허브재배농가

- 허브 재배농가의 허브 재배지에 대하여 친환경 인증을 받을 수 있도록 지속적인 컨설팅을 실시함.
- 허브의 재배 방법 및 표준화 지도, 병충해 관리 및 사후처리, 수확방법의 적정시기에 대하여 지속적으로 컨설팅을 실시함
- 각종 국가 지원사업(농업기술센터, 각 지자체 농정과 등)에 적극 참여하여 각종 보조금을 신청할 수 있도록 지속적으로 컨설팅을 실시함.

허브가공업체

- 자생 및 약용허브의 유효성분이 검증됨으로 가공업체에서 요구하는 제품개발을 위하여 기술위원들의 역량을 발휘하여 컨설팅
- 각종 국가 지원사업(농진청, 중기청, 생물진흥원 등)에 적극 참여하여 제품개발 컨설팅

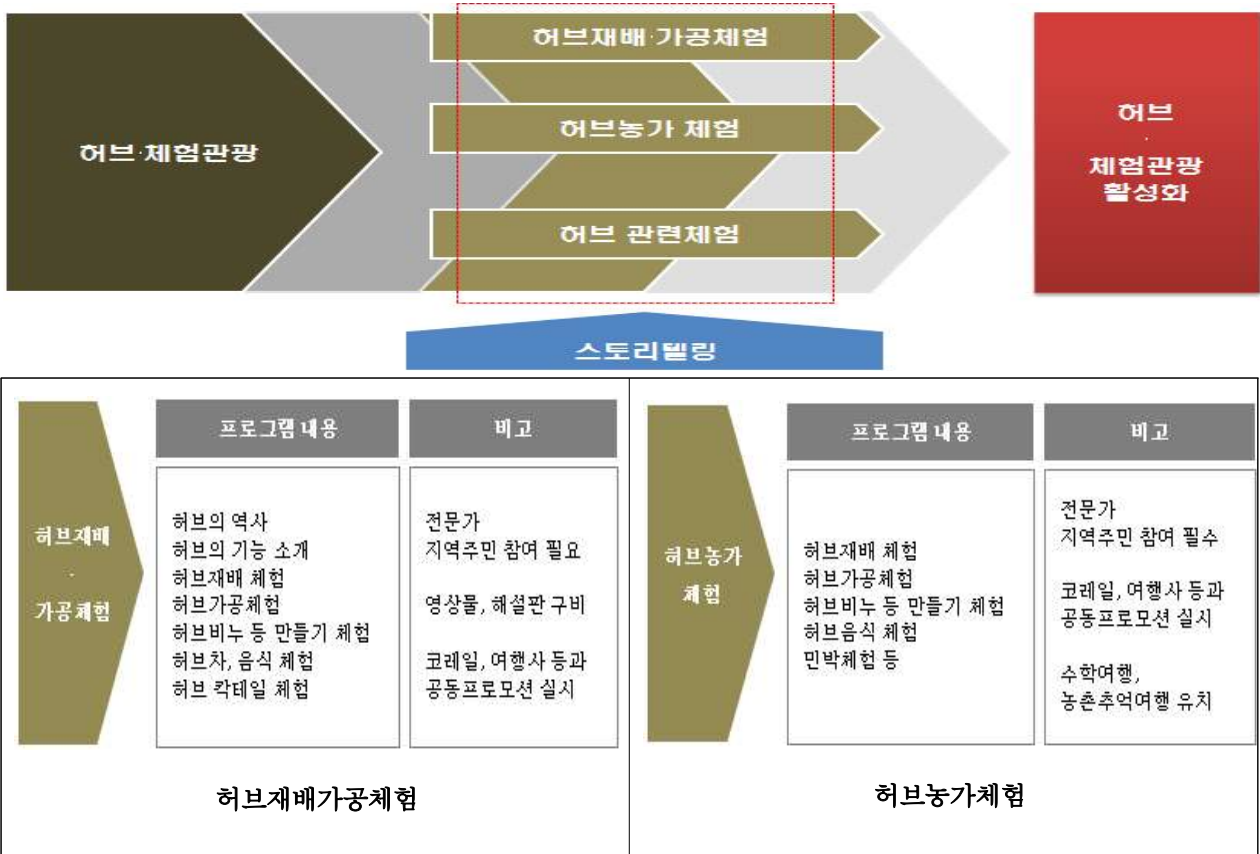
허브체험 및 관광업체

- 허브재배농가 중심의 허브체험프로그램 개발 노력 : 허브재배농가의 허브 체험프로그램을 개발하도록 지원하고자 함. 특히 곤달비 작목반을 중심으로 체험관광의 성공모델을 정립하고 이를 타 허브 작목반으로 전파하고자 함.
- 현재 허브종합체험관광시설을 중심으로 집중적인 컨설팅을 통해 허브체험과 관광을 활성화할 수 있는 방안을 강구할 계획임. 또한 허브재배농가와 연계 가능성을 확대하고자 함.
- 2016년 허브체험공간인 허브종합도피아관의 완성 후 본격적인 체험활동이 이루어질 것으로 기대됨. 특히 잠재 허브수요자인 유치원생이나 초등학교 저학년층을 중심으로 현장학습을 유치할 계획임
- 덕유산권역과 지리산권역 탐방객을 위한 허브관련 체험 및 관광 프로그램 제작
- 공무원연수원을 통한 공무원 허브체험 직접 실시(년 7회 이상)
- 남원시 체험협회와 연계한 각종 축제에 보조적으로 참여 허브체험

⑥ 허브 유통체계의 개선 방안

- 허브식품의 소비확대를 위한 다양한 사용처(향장품, 신선허브, 건기식, 차류, 주류 등)의 개발이 필수적임. 따라서 유통회사의 섭외, 카톡이나, 밴드를 통한 온라인 홍보, 단체급식용 식재료가 필요한 공공기관이나 대기업, 군(軍),병원, 학교 등과 외식업체 등을 활용할 계획임.
- 특히 허브 재배농가의 블로그 제작을 지원함으로써 농가의 자발적인 유통체계 구축이 이루어지도록 할 계획임.
- 허브재배농가, 가공업체 및 유통업체, 체험관광업체 간의 네트워크로 유기적인 관계를 구축할 계획이며 현재 허브재배농가의 취약점으로 거론되는 제품개발 및 포장디자인 지원사업의 연계 및 컨설팅을 집중하도록 할 계획임.

⑦ 허브관광활성



⑧ 전라북도 허브산학협력도



⑨ 사업추진전략



○ 남원시

○ 허브산업육성

- 남원 지리산웰빙허브산업특구지정 및 육성
- 사업추진방향

◇ 허브산업을 농업중심에서 탈피 치유, 힐링, 체험, 관광산업으로 육성

- 치유와 힐링 건강사업으로 녹색환경과 지역경제 활성화 도모
- 생태·문화, 관광 자원과 허브테마와 연계한 생태공간 조성

◇ 허브를 주요산업으로 성장할 수 있는 기반미련

정 책 목 표

- ◇ 지리산 허브밸리 산업특구의 청정자연 환경을 활용
 - 중심건물인 허브복합토피아관 건립 및 아로마테라피관 유치
 - 허브체험농원 및 체험시설 조성, 허브경관 농업지구 조성
 - 4계절 축제 도입 및 종합적인 관광체험 단지로 조성
- ◇ 건강과 휴식, 치유, 레저 등을 접목한 힐링센터로 조성
- ◇ 허브관련 산업 동반 성장 추진



추진 과제

허브복합토피아관 건립

- 허브밸리중심건물건립
- 아로마테라피관 유치
- 휴식,치유,뷰티,힐링도입

4계절 축제 도입

- 봄 철쭉제
- 여름 물놀이 축제
- 가을 자생국화축제
- 겨울 눈꽃축제

허브산업육성 소득향

- 허브재배농가 활성화
- 허브가공업체 육성
- 허브의 원료 산업화추진
- 허브 관광자원화

- 특구위치 : 남원시 운봉읍 용산리 266-14번지 일원
- 허브밸리 특구 지정 면적

총 계	자생식물 환경공원	허브밸리(허브테마파크)		허브농업지구	
		허브 밸리	허브제품 가공단지	농업지구	체험농원
720,907㎡ (218,073평)	130,504㎡ (39,477평)	155,568㎡(47,060평)		434,835㎡ (131,536평)	
		110,755㎡ (33,504평)	44,813㎡ (13,556평)	377,740㎡ (114,265평)	57,095㎡ (17,271평)

- 연도별 투자계획

구 분	총사업비 (백만원)	연차별 투자계획					
		2010	2011	2012	2013	2014	2015이후
소 계	20,216	814	2,000	2,400	3,000	5,500	6,502
국 비	6,905		1,000	1,200	1,500	1,750	1,455
지방비	13,311	814	1,000	1,200	1,500	3,750	5,047
민 자	0					투자계획에	따름

- 시설별 투자

구 분	사 업 내 용	소 요 액 (백만원)	비 고
계		20,216	
허브복합토피아관 신축	○ 건축연면적 6,483㎡(1,961평) (본건물 3,366㎡, 허브식물원 3,117㎡)	10,500	
허브 식물원 조경 및 인테리어	○ 허브식물원(3,117㎡) 조경 및 허브식물 식재 ○ 허브전시판매장, 허브꽃집, 허브체험관, 상설공연장 등	4,500	
조 경	○ 자생식물 환경공원 조경 ○ 허브 테마공원 조경	5,216	
민 자 유 치	○ 관광호텔, 목욕탕, 식당, 스파 아로마테라피, 전시판매, 공원조성 등	투자계획에 따름	

- 육성계획

① 민자유치 및 재배,가공,관광 활성화

- 사업개요

- 사업명 : 지리산웰빙허브산업특구 활용 수익사업을 위한 민간투자사업
- 투자위치 : 전라북도 남원시 운봉읍 용산리 268-12번지일대
- 유치면적 : 15,431㎡
- 사업시설 : 아로마테라피관(스파테라피 및 테라피체험실), 숙박시설등
- 허용되는 건축시설 : 아로마테라피관의 숙박시설은 관광진흥법에 따른 관광숙박시설로 지정하고 일반숙박 시설 중 펜션에 한하여 허용하고, 근린생활시설내 안마시술소 제외
- 건폐율 : 60%이하
- 용적율 : 200%이하 (4층이하)

② 허브재배농가 육성계획

- 허브농업의 소득화(평당 1만원, 300만원/10a) : 단기 → 대중화 작목, 장기→ 고기능성작목 입식유도
- 허브농업의 자립체계 구축 : 가공업체와 계약재배 유도
- 허브농산물 유통체계 확립
- 재배면적 확대 : 300ha(서양허브에서 지리산 재생 허브 재배 유도)
- 단지별, 품목별 체험관광체계 구축

③ 허브재배농가 육성방향

- 허브작목반 구성 : 신선허브작목반, 건조허브작목반, 약용허브작목반, 허브분화작목반
- 허브재배농가 지원 : 수요에 따른 재배면적 조절과 계약재배, 허브 원료가공 시설 구축
- 재배단지화 : 친환경유기농재배단지 조성각종 품질인증 확보
- 허브농산물 마케팅 및 유통 지원 : 쌈채, 사우나, 허브차
- 허브조경사업 지원 : 허브식물의 조경활용 방안 수립, 분화농가 육성과 분화시장 개척
- 허브농산물 수요 창출 : 신제품 개발(발효, 김치, 콩나물, 절임류, 퇴비, 사료)

④ 허브가공업체 육성계획

허브가공업체 육성목표

- 선도 허브가공업체 육성 : 대표제품 상품화
- 신제품 개발을 통한 허브의 고부가가치화
- 식품을 통한 허브의 대중화
- 가공 활성화를 통한 허브원료 수요 창출

허브가공업체 육성 방향

- 신제품 개발 : 엑기스, 허브차, 김치, 콩나물, 절임류, 허브비빔밥, 요리술, 식초, 소스
- 개발 신제품의 상품화 : 유통 및 마케팅 전략 수립, 신제품 생산설비 지원 및 유통, 마케팅 체계 구축

⑤ 허브밸리방문객유치활성화계획

현재 허브밸리를 찾는 관광객 수 : 현재 연 35만명

⇒ 허브밸리 조성사업 완료 후 70만명 확대

⇒ 입장료 징수를 통한 기본 운영비 및 재투자 사업비 마련

※ 현재 관광객수 35만명 × 입장료 4,000원 = 1,400백만원 수입가능

허브관련 체험관광시설 입장료 : 최저 4,000원 ~ 10,000원까지 징수

- 복합토피아관 및 아로마테라피관을 건강과 유식, 치유와 레저, 헬스를 접목한 힐링센터화 추진
- 4계절 축제 도입 : 봄 철쭉제, 여름 허브를 가미한 물놀이 축제, 가을 들국화 축제, 겨울 눈꽃축제
- 경관지구 조성 : 테마가 있는 경관을 조성하여 다시 찾을 수 있는 꺼리를 제공하고 수확한 허브를 가공하여 상품화 추진(허브 DIY제품 생산)
- 주변 자연경관을 활용한 모객 : 바래봉, 덕두봉, 고리봉, 정령치 만복대등을 활용한 등반대회, 겨울 등반 활성화 등 추진
- 백두대간 생태공원, 국악의 성지, 지리산 둘레길 등과 연계한 관광상품 및 운영프로그램을 개발보급

○ 친환경화장품산업육성

- 남원친환경화장품클러스터 조성

- 위치 : 전북 남원시 노암동 바이오뷰티산업단지 내
- 사업기간 : 2009년 ~ 2017년
- 총사업비 : 181억원(국비 65, 도비 53.5, 시비 62.5)

총사업비	기 투자	'16년	'17년
18,100백만원	11,100백만원	2,000백만원	5,000백만원

• 사업내용

단위사업명		사업기간	사 업 비	사 업 내 용
1단계	화장품 집적화단지 조성	'09 ~'13	50억 원 (국10, 도20, 시20)	•기반시설 및 단지조성(완료)
2단계	화장품 산업 기반 구축	'14 ~'15	61억 원 (국20, 도18.5, 시22.5)	•CGMP생산시설 구축(완료)
3단계	화장품산업 6차 산업화	'16 ~'17	70억 원 (국35, 도15, 시20)	•글로벌 코스메틱컨버전스센터 건립 (기업지원, 전시체험판매, 홍보실포함)

① 바이오뷰티산업단지 조성(화장품, 식품)



지리산 천연허브 기능성소재원료공급기지화

- 지리산 천연허브 680종 바이오생리활성 탐색 및 소재개발
- 개발소재 기반 국내외 화장품 및 이너뷰티(건강기능식품 포함)원료공급기업 비즈니스 협력체계구축
- 개발특화품목 중심 재배농가 조직화 및 공급시스템 구축
- 재배농가 재배물 인증시스템 구축(원산지, 친환경, 유효성분 함유)
- 재배농가 및 원료공급사 간 계약재배시스템 구축 및 지원시스템 구축(기금운용, 시설운용)
 - 이너뷰티산업육성
 - 이너뷰티산업 활성화사업(80억원 사업비 확보완료)
 - 이너뷰티공동상품화 사업(이너뷰티GMP공장구축, 이너뷰티창업지원사업) : 43억원
 - 이너뷰티컨버전스센터 사업(전시홍보, 판매, 네트워크) : 19억원
 - 이너뷰티산업활성화를 위한 농촌활력기반사업(이너뷰티 신소농조성사업, 마을연계형사업) : 12억원
 - 바이오뷰티산업 메카이미지구축사업(이너뷰티축제개최, 헬스타운연계사업) : 6억원
 - 육성조직구성 및 운용
 - 전라북도 의회 : 허브약용작물육성위원회 구성 및 운용(위원장 : 전라북도 산업경제위원장)
 - 전라북도 : 바이오산업육성위원회 구성 및 운용(위원장 : 전라북도 정무부지사)
 - 남원시 : 남원시화장품산업진흥위원회(위원장 : 남원시 부시장)

II. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1-1. 1차년도

가. (주)하이솔(제1세부, 주관)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2017)	남원지역 특화자원을 이용한 제품 개발 및 사업화	올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 제조공정도 개발	○ 제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토 ○ 제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립	- 라인별 제형 타입에 따른 천 연 원료 검토 - 3종 제품에 적합한 천연향 조향 - 3종 제품 베이스 샘플
		올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 제형 및 제제 개발	○ 최종산물에 대한 제형연구	- 올스킨 제품 베이스 제형 대 비 소재 첨가 제형의 안정성 변화값 : pH, 점도
		마케팅 인프라 구축 (중국, 베트남)	○ 해외시장 조사 및 기술동향 조사 ○ 진출전략 수립	- 제품환경 및 산업환경 분석 - 마케팅 전략 수립
		국내 전시회 및 네트워킹	○ 국외 전시회	- 코스모프로프 참가
		디자인 개발	○ 디자인 출원	- 4건의 디자인 출원 - 2건의 디자인 등록

1) 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 제조공정도 개발

○ 제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토

○ 클렌징폼

- 피부 완충능이 약한 민감성 피부에도 자극이 없는 씻어내는 타입의 클렌징폼 원료를 검토함.
- Water, Carbomer, Allantoin, Disodium EDTA, Glycerine, Butylene Glycol, 1,2 Hexanediol, Decyl glucoside, Coco- Betaine, ETHANOL, Sodium Chloride, Tetrahydroxy- propyl Ethylenediamine, Natural aroma

○ 올인원 에센스

- 에센스의 주요 효과인 보습, 피부보호, 영양공급을 바탕으로 시원한 느낌을 주는 투명한 외관의 젤타입 에센스 원료를 검토함.
- Water, Carbomer, Tetrahydroxypropyl Ethylenediamine, Xanthan Gum, Allantoin, Disodium EDTA, Niacinamide, Propanediol, Butylene Glycol, Glycerine, Sodium Hyaluronate, 1,2Hexanediol, Hydrolyzed Collagen, ETHANOL, Natural aroma, Adenosine

○ 수면팩

- 세안 후 소실된 천연보호막을 보충하여 피부에 촉촉함을 주고 외부의 자극으로부터 피부를 보호하기 위해 사용하는 것을 목표로 함. 자기전 사용하는 수면팩(night cream)으로 피부의 모이스처 밸런스를 일정하게 유지시켜주고 유분, 수분, 보습제를 공급해 피부의 보습, 유연기능을 갖게하는 원료를 검토함.
- LavandulaAngustifolia (Lavender) FlowerWater, Aloe Barbadosensis Leaf Juice Water, Allantoin, Disodium EDTA, Niacinamide, Propanediol, Butylene Glycol, Glycerine, Sodium Hyaluronate, 1,2 Hexanediol, Shea Butter, Caprylic / CapricTriglyceride, Tocopherol, Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil, Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil, Oenothera biennis (EveningPrimrose) Oil, Glyceryl Stearate, Cetearyloilvate, Cetyl alcohol, Natural aroma, Adenosine

○ 제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립

○ 천연향 조향

- 시간의 흐름에 따라 단계적으로 향을 내는 탑노트(top note), 미들노트(middle note), 베이스노트(base note)를 제품라인에 따라 적합한 천연 향료를 사용하여 제조함.
- 클렌징폼 : 산뜻한 향으로 촉촉하게 젖은 새벽 숲 향, 이슬 맺힌 새벽 숲 향을 모티브로 함.
- 올인원 에센스 : 로즈향 구성으로 풍부한 로즈향과 함께 클라리세이지 구성으로 피지 조절, 피부 진정 효과 기능을 갖게 함.
- 수면팩 : 라벤더의 깔끔하고 청결한 편안한 향취와 일랑일랑의 플로럴 발삼의 스파이쉬한 향취로 수면 전 기분좋은 상태를 유지시키고, 긴장·분노·불안 상태를 완화시켜주는 효과를 갖게 함.



<클렌징폼 조향 샘플>



<올인원 에센스 조향 샘플>



<수면팩 조향 샘플>

○ 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 제조공정도 개발



제품명	클렌징폼				
코드	원료명	#1	#2	#3	위해등급
Phase A					
A01	Water				1
A02	Carbomer				1
A04	Allantoin				1
A05	Disodium EDTA				1
Phase B					
B01	Glycerine				2
B02	Butylene Glycol				1
B03	1,2 Hexanediol				1
Phase C					
C01	Decyl glucoside				1
	코코베타인				1
Phase D					
D01	ETHANOL				2
D02	EXT				1
D03	Natural aroma				1
D04	Sodium Chloride				1
D05	Tetrahydroxypropyl Ethylenediamine				2
total		100.0	100.0	100.0	

제품명	올인원 에센스				
코드	원료명	#1	#2	#3	위해등급
Phase A					
A01	Water				1
A02	Carbomer				1
A03	Xanthan Gum				1
A05	Allantoin				1
A06	Disodium EDTA				1
Phase B					
B01	Niacinamide				1
B02	Propanediol				1
B03	Butylene Glycol				1
B04	Glycerine				2
B05	Sodium Hyaluronate(1%)				1
B06	1,2 Hexanediol				1
Phase C					
C01	Hydrolyzed Collagen(1%)				1
C02	ETHANOL				2
C03	EXT				1
C04	Natural aroma				1
C05	Adenosine				1
C06	Tetrahydroxypropyl Ethylenediamine				2
total		100.0	100.0	100.0	

제품명	수면팩				
코드	원료명	#1	#2	#3	위해등급
Phase A					
A01	Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower Water				1
A02	Aloe Barbadensis Leaf Juice Water GEL				1
A03	Allantoin				1
A04	Disodium EDTA				1
Phase B					
B01	Niacinamide				1
B02	Propanediol				1
B03	Butylene Glycol				1
B04	Glycerine				2
B05	Sodium Hyaluronate				1
B06	1,2 Hexanediol				1
Phase C					
C01	Shea Butter				1
C02	Caprylic/Capric Triglyceride				1
C03	Simmondsia Chinensis (Jojoba) Seed Oil				1
C04	Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil				1
C05	Oenothera Biennis (Evening Primrose) Oil				1
C06	TOCOPHEROL				1
C07	Glyceryl Stearate				1
C08	CETEARYL OLIVATE				1
C09	Cetyl Alcohol				1
Phase D					
D01	EXT				1
D02	Natural aroma				1
D03	Adenosine				1
total		100.0	100.0	100.0	

<클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩 1차 샘플 및 제조공정도>

○ 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩) 1차 샘플 품평회

- 품평회는 잘 훈련된 연구원을 대상으로 실시하였고, 1차 샘플(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 평가를 실시함. 평가 방법에 대한 간단한 교육을 실시한 후 품평회 표를 만들어 각각의 샘플에 대한 외관, 향, 사용감, 세정력에 대한 평가를 5점 척도법으로 실시함. 1점은 매우 나쁘거나 낮음 (extremetly bad or slight), 5점은 매우 좋거나 강함(extremely good or much)으로 표시함.

<1차 샘플(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩) 품평 결과>

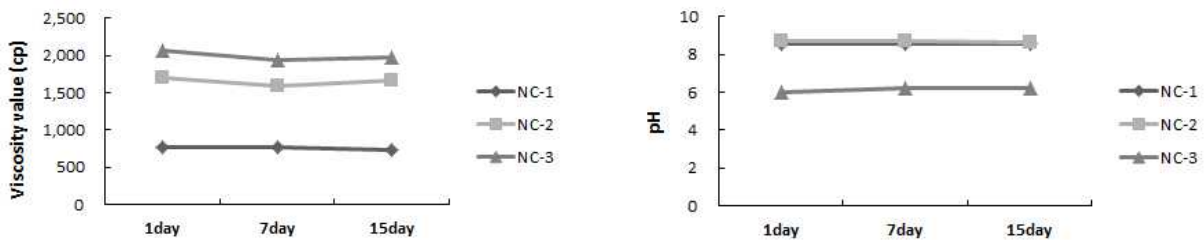
항목	NC			NE			NG		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
외관	2.75 ±0.48	2.50 ±0.29	3.25 ±0.48	2.75 ±0.48	3.25 ±0.48	2.50 ±0.29	3.25 ±0.25	3.50 ±0.29	2.50 ±0.29
향	3.25 ±0.25	2.75 ±0.25	3.50 ±0.29	3.50 ±0.29	3.50 ±0.65	2.75 ±0.48	2.75 ±0.48	3.00 ±0.41	2.25 ±0.25
사용감	2.50 ±0.29	2.50 ±0.29	3.00 ±0.00	2.50 ±0.29	3.50 ±0.29	2.50 ±0.29	2.75 ±0.48	3.50 ±0.29	3.00 ±0.41
세정력	2.25 ±0.25	2.00 ±0.41	3.50 ±0.29	-	-	-	-	-	-

- 그 결과, 전체적인 만족도에 있어서 클렌징폼(NC)은 NC-3의 샘플이 가장 큰 만족도를 나타내었고 그 다음은 NC-1, NC-2 순으로 평가됨. 올인원 에센스(NE)는 NE-2의 샘플이 가장 큰 만족도를 나타내었고 NE-1, NE-3 순으로 평가되었으며, 수면팩(NG) 역시 NG-2의 샘플의 만족도가 가장 높았으며 NG-1, NG-3으로 평가됨.

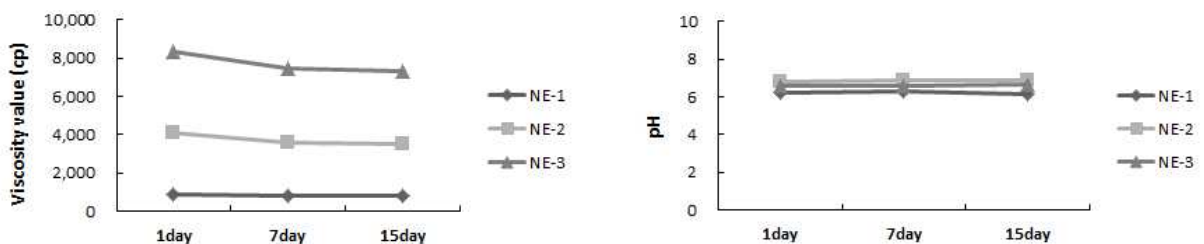
○ 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩) 1차 샘플 안정성 시험

제품 따라 천연 성분의 화장품 원료를 사용함으로써 일어나는 물성 변화 문제를 해결하기 위해 기간별 색상, 향, 점도, pH 등 제제의 물리·화학적 성질을 평가하며 비율을 확립함.

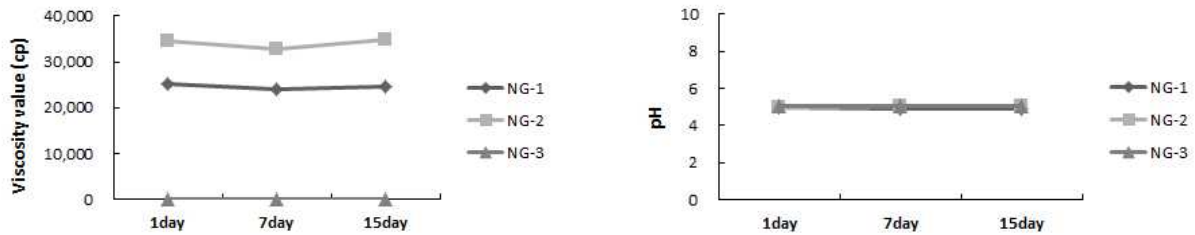
- 샘플 : 클렌징폼(NC-1, NC-2, NC-3), 올인원 에센스(NE-1, NE-2, NE-3), 수면팩(NG-1, NG-2, NG-3)
- 측정조건 : 직사광선이 없는 25 ± 2°C의 실온에서 약 2주간 방치함.
- pH 변화 측정 : 제품 1 g을 증류수 15 ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리한 다음 pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter (OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 25 ± 1°C에서 측정함.
- 점도 변화 측정 : Brookfield Viscometer(DVE VISCOMETER, DVEERTJ0)를 이용하여 각 제형에 따라 클렌징폼 및 에센스는 Spindle 05, 60 rpm에서 1분간, 수면팩은 Spindle07, 10 rpm에서 1분간 3회 반복하여 측정함.
- 통계 처리 : 모든 실험은 3회 반복하였으며 실험결과는 SPSS version 24를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준오차를 구하였음.



<1차 클렌징폼 샘플의 점도 및 pH 변화>



<1차 올인원 에센스 샘플의 점도 및 pH 변화>



<1차 수면팩 샘플의 점도 및 pH 변화>

- 클렌징폼 : 샘플(NC-1, NC-2, NC-3) 모두 점도나 pH 면에서 안정한 것을 확인하였으나, NC-1과 NC-2의 경우 pH가 알칼리성으로 피부 완충능이 약한 민감성 피부에 부적합하다고 판단됨.
- 샘플(NE-1, NE-2, NE-3) 모두 pH 면에서 안정한 것을 확인하였으나, NE-1의 경우 기간 의존적으로 점도가 감소하는 경향을 보였음.
- 수면팩 : 샘플(NG-1, NG-2, NG-3) 모두 pH 면에서 안정한 것을 확인하였으나, NG-3의 경우 점도가 높아 측정이 되지 않았음.
- 따라서, 1차 샘플의 품평 및 안정성 시험 결과 전체적 만족도와 안정성을 고려하여 클렌징폼은 NC-3, 올인원 에센스는 NE-2, 수면팩은 NG-2를 최종 선정하여 원료를 첨가한 제형 안정성 시험에 이용하였음.

2) 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 제형 및 제제 개발

○ 최종산물에 대한 제형 연구

선택된 제형을 바탕으로 협동기관의 효능 평가 결과 선정된 4종 허브자원인 짚레(RM), 와송(OJ), 자소엽(PF), 레몬그라스(CC)를 비율별로 첨가하여 제형 안정성에 미치는 영향을 확인함.

○ 40% BG 허브자원 pH 측정

- 허브자원(㈜더가든오브내추럴솔루션에서 제공받은)이 가지고 있는 pH가 각각의 클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩의 제형에 미치는 영향을 알기 위해 pH를 확인하였음. 제품 1 ml을 증류수 15ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리한 다음 pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter (OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 25 ± 1°C에서 측정함.



<40% BG 짚레, 와송, 자소엽, 레몬그라스의 pH>

- 그 결과 40% BG 짚레, 와송, 자소엽, 레몬그라스 모두 만들고자 하는 제품의 제형에 영향을 미치지 않을 정도의 pH를 확인하였음.

○ 허브자원 4종을 첨가하여 제작한 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스, 수면팩)의 안정성 시험



<2차 클렌징폼 샘플>

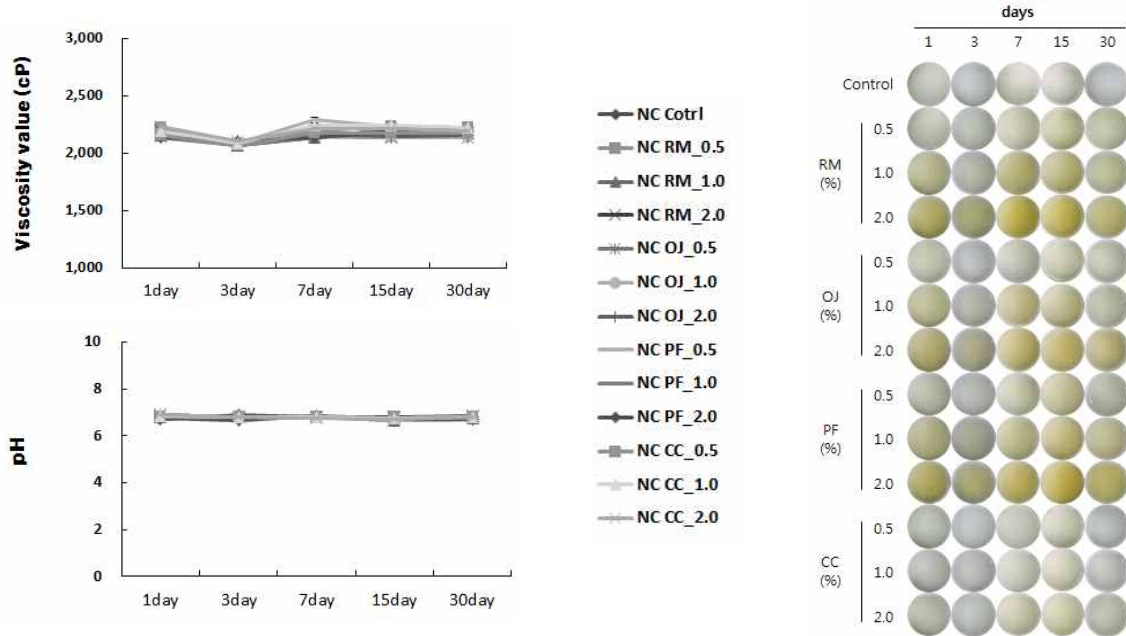


<2차 올인원 에센스 샘플>



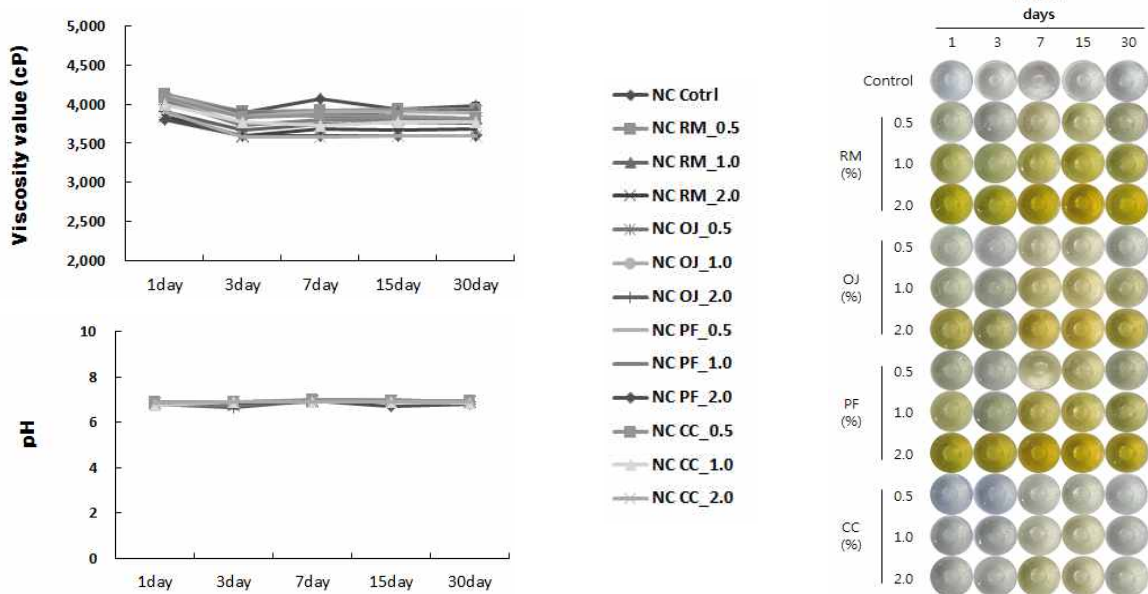
<2차 수면팩 샘플>

- 샘플 : 0.5, 1.0, 2.0% 쥘레(RM), 와송(OJ), 자소엽(PF), 레몬그라스(CC)를 함유한 클렌징폼(NC), 올인원에센스(NE), 수면팩(NG)
- 측정조건 : 직사광선이 없는 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 실온에서 약 한달간 방치함.
- pH 변화 측정 : 제품 1 g을 증류수 15 ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리한 다음 pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter (OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 측정함.
- 점도 변화 측정 : Brookfield Viscometer (DVE VISCOMETER, DVEERTJ0)를 이용하여 각 제형에 따라 클렌징폼 및 에센스는 Spindle 05, 60 rpm에서 1분간, 수면팩은 Spindle07, 10 rpm에서 1분간 3회 반복하여 측정함.
- 통계 처리 : 모든 실험은 3회 반복하였으며 실험결과는 SPSS version 24를 이용하여 각 실험군마다 평균과 표준오차를 구하였음.



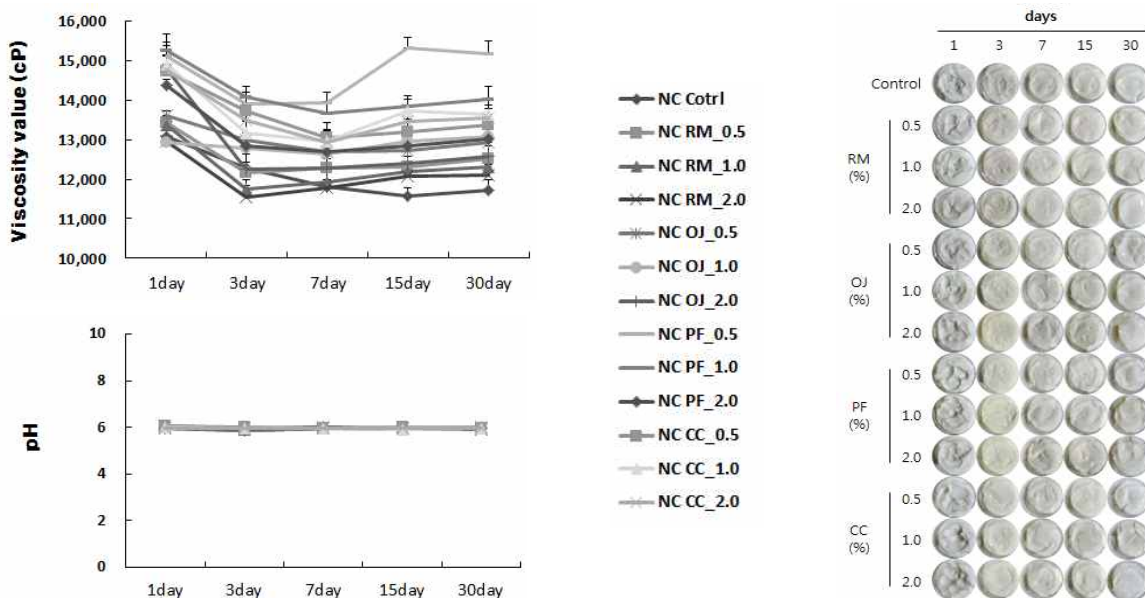
<0.5, 1.0, 2.0% 쥘레, 와송, 자소엽, 레몬그라스를 함유한 클렌징폼의 점도 및 pH 변화>

- 클렌징폼 안정성 시험 결과 : 점도 측정 결과, 30일 간 0.5~2.0% 허브자원이 함유된 클렌징폼 모두 대조군에 비해 큰 오차가 없는 것을 확인함. 쥘레, 자소엽, 레몬그라스의 경우 0.5, 1.0% 함유 하였을 때, 대조군에 비해 점도가 증가하는 경향을 보였으며 이 외에는 함유 농도가 높을수록 점도가 감소하는 경향을 보였음. pH의 경우 기간과 소재의 함유량에 관계없이 일정하게 유지되었음. 제형의 색상의 경우 소재의 함량이 높을수록 황색을 나타내었으며, 특히 쥘레, 와송, 자소엽의 경우 제형 색상 변화량이 높은 것으로 보임.



<0.5, 1.0, 2.0% 찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스를 함유한 올인원 에센스의 점도 및 pH 변화>

- 올인원 에센스 안정성 시험 결과 : 점도 측정 결과, 30일 간 0.5~2.0% 허브자원이 함유된 에센스 중 찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스는 대조군에 비해 농도 의존적으로 감소하는 것을 타나냄. pH의 경우 기간과 소재의 함유량에 관계없이 일정하게 유지되었음. 제형의 색상의 경우 소재의 함량이 높을수록 황색을 나타내었으며, 특히 찔레, 와송, 자소엽의 경우 제형 색상 변화량이 높은 것으로 보임.



<0.5, 1.0, 2.0% 찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스를 함유한 수면팩의 점도 및 pH 변화>

- 수면팩 안정성 시험 결과 : 점도 측정 결과, 30일 간 0.5~2.0% 허브자원이 함유된 수면팩 모두 대조군에 비해 증가하는 것을 확인함. 허브자원간에 있어서는 자소엽, 레몬그라스, 와송, 찔레 순이었으며 함량에 있어서는 농도가 높을수록 점도가 감소하는 경향을 보였음. pH의 경우 기간과 허브자원의 함유량에 관계없이 일정하게 유지되었음. 제형의 색상의 경우 허브자원의 함량이 높을수록 황색을 나타내었으나, 제형의 특성 상 외관으로 큰 차이는 없었음.
- 이상 40% BG 허브자원을 첨가한 제형의 안정성 시험 결과 pH는 허브자원의 함량과 제형에 관계없이 안정한 것을 확인하였으나, 점도와 색상에 있어서 영향 받는 것을 확인함. 이 후 2차년도에는 협동기관의 허브자원 효능 평가 결과와 제형의 점도 및 색상을 고려하여 허브자원의 비율을 선정하고 시제품 제작을 위한 연구를 하고자 함.

3) 마케팅 인프라 구축(중국, 베트남)

○ 해외시장 조사 및 기술동향 조사

국가별 문헌 자료, 인터넷, 해외 주한 외국 공관 등 유관기관, 전문조사대행기관, 자체 시장 조사 등 활용 가능한 방법을 통해 다양한 데이터 수집 후 전문인력의 체계적 분석을 수행함. 또한 객관적 기준, 가격, 품질, 디자인, 마케팅 활동에 따른 경쟁사 및 경쟁제품 대비 수출제품의 SWOT분석을 실시함.

○ 제품 환경 분석

- 세계 화장품 시장 동향 분석

(단위 : 백만 달러, %)

순위	국가명	2012년		2013년		2014년		YoY
		시장규모	증가율	시장규모	증가율	시장규모	증가율	
1	미국	37,107	15.5	37,957	15.2	38,773	14.9	2.1
2	중국	22,219	9.3	24,289	9.8	26,742	10.3	10.1
3	일본	23,033	9.6	23,277	9.3	23,464	9.0	0.8
4	독일	14,820	6.2	15,135	6.1	15,497	6.0	2.4
5	브라질	13,179	5.5	14,084	5.7	15,229	5.9	8.1
6	프랑스	13,754	5.7	13,982	5.6	14,252	5.5	1.9
7	영국	11,249	4.7	11,582	4.7	11,969	4.6	3.3
8	이탈리아	10,089	4.2	10,208	4.1	10,414	4.0	2
9	러시아	7,255	3.0	7,669	3.1	8,111	3.1	5.8
10	한국	6,831	2.9	7,102	2.9	7,427	2.9	4.6
11	스페인	6,735	2.8	6,777	2.7	6,859	2.6	1.2
12	인도	5,380	2.2	6,021	2.5	6,749	2.6	12.1
13	멕시코	5,880	2.5	6,154	2.4	6,475	2.5	5.2
14	캐나다	5,476	2.3	5,622	2.3	5,802	2.2	3.2
15	호주	3,995	1.7	4,105	1.6	4,209	1.6	2.5
합계(47개국)		239,658	100.0	249,034	100.0	259,772	100.0	4.3

- 기능성 화장품 소재의 STEEP Model을 통한 거시 환경 분석

구분	촉진요인	저해요인
사회 (Society)	<ul style="list-style-type: none"> -기능성 화장품 소재에 대한 시장, 고객 선호도 증가 -성형열풍을 비롯한 확실하고 안전한 피부질환/피부 재생효과에 대한 니즈 증가 -한류효과에 따른 한국 화장품의 해외 수요 증가 	<ul style="list-style-type: none"> -FTA 등 유통시장 완전개방에 따른 다국적 선진기업들의 시장점유율 증가 -피부효능 기능성소재와 가장 밀접한 생명공학 기술에 대한 소비자 인식과 이해력 부족
기술 (Technology)	<ul style="list-style-type: none"> -복합 기능성 소재 및 고부가가치성에 따른 기능성 신규 원료의 개발 활성화 -생명공학, 바이오공정, 효능평가기술 발전 	<ul style="list-style-type: none"> -복합 기능성 소재 및 신규 소재 개발에 대한 기술의존도가 높아 기술 진입장벽 존재 -효능물질의 전달이 어려운 피부, 생물학적 연구 및 그 전달체에 관련된 전반적 연구가 미흡
경제 (Economy)	<ul style="list-style-type: none"> -중국 요우커 등의 한국화장품인기로 제품 소비 증가세 -다양한 화장품 카테고리 및 브랜드에 따른 저가/고가 시장 양분화 	<ul style="list-style-type: none"> -화장품시장의 확대에 비해 중국소비자들을 제외하면 제한적인 고객층 -단일 기능성 소재 제품의 시장성 감소 가속화
생태/환경 (Ecology / Environment)	<ul style="list-style-type: none"> -친환경 원재료에 대한 가치·인식 상승 -화학제품에 대한 인체 유해성 논란 -동물실험반대, 공정무역, 생물다양성 등의 환경 문제에 대한 사회적 가치를 실현하는 기업들의 시장진입 및 점유율 증가 	<ul style="list-style-type: none"> -나고야의정서 발효에 의한 생물자원 제공에 따른 보상이 발생하여 국내 자생소재 기반의 기능성 소재개발 필요에 따른 개발 비용 부담 증가 -친환경 원재료(신소재) 개발 정책 미흡 -다국적 화학기업들의 화학기반 다기능 신소재(원재료) 개발 가속화
정책 (Policy)	<ul style="list-style-type: none"> -나고야의정서 발효에 의한 생물자원 제공에 따른 보상이 발생하여 국내 자생소재 기반의 기능성 소재개발 필요성 증대 -향후 화장품의 높은 성장을 예측하여 국가적인 화장품 소재개발 연구의 지원 및 확대 	<ul style="list-style-type: none"> -유전자 조작식물의 화장품 소재로서의 활용에 대한 국가적 제약 -새로운 원료등록을 위한 관련 인허가의 복잡성과 제약 -신소재 개발을 위한 정책이 미흡한 상태 -인체 및 동물 유래 줄기세포 배양 화장품 개발의 규제 강화

○ 산업환경분석

- (※)하이솔의 산업 내 기회를 예측하고 경쟁제약을 통제하기 위한 5Forces 분석을 실시하여 동종 산업 내 기업과의 차별화를 위한 전략적 방향을 제시하고자 함.
- 5-Forces Model을 활용한 경쟁 환경 분석



<기능성 화장품 산업의 5-Forces 분석>

○ 진출 전략 수립

기업의 맞춤형 마케팅 전략 수립을 위해 기업 내부 역량 분석 및 경쟁사 분석을 통해 벤치마킹 전략 및 해외 마케팅 업무 수행 전략을 수립함.

○ 지역별 진출 전략 수립

- 스킨케어 화장품의 시장규모, 시장점유율, 시장성장률을 고려하여 중국, 베트남을 진출대상 국가로 선정함.

<아시아 주요 10개국 스킨케어 화장품 시장규모, 시장점유율, 시장성장률>

국가명	시장규모(백만 달러)	시장점유율(%)	시장성장률(%)
중국	13,813.24	11.78	25.96
일본	8,015.47	0.06	32.62
인도	1,122.48	21.28	14.44
대만	1,584.17	5.03	28.25
태국	123.73	1.50	6.12
베트남	106.49	19.04	18.48
필리핀	516.53	5.47	23.00
말레이시아	435.16	9.25	28.25
싱가포르	275.90	5.56	28.87
인도네시아	298.45	6.40	14.17

※ 자료 : Datamonitor

- 국가별 유통구조 및 선호상품이 상이하므로 개별 국가의 특성에 맞는 전략의 수립이 중요함.
- 유통채널별(화장품 전문소매점, 화장품 독립소매점, 멀티숍, 온라인) 판촉을 위한 마케팅 전략 수립하는 것이 중요함.
- 한류의 영향으로 인한 아시아 내의 한국 화장품의 선호도가 지속적으로 상승하고 있으므로 한류를 활용한 마케팅을 적극 시도하는 것이 바람직함.
- 고기능, 다기능 프리미엄시장 및 시니어층 및 유아 등 신규시장 진입을 위한 제품 구성 전략이 필요함.

○ 중국 화장품 시장 진출 전략

- 보습, 피부재생, 미백 안티에이징 등 관련 제품 및 마스크팩 제품들의 인기가 높으므로, 기능 개발 및 품질 유지에 대한 전략 수립이 필요불가결한 성공전략임.
- 온라인 및 모바일 판매가 급증하고 있으므로 이를 위한 유통 전략 수립이 필요함.
- 글로벌 친환경 화장품 브랜드가 중국 시장에서 철수함에 따른 반사적 이익을 기대할 수 있으며, 한방을 기초로 한 제품의 인기가 상승하고 있어 천연 원료를 기반으로 한 다기능 화장품의 시장 확대를 시도할 수 있는 기회임.
- 특히 온라인을 통한 구매가 급증하고 있으므로 중국인이 선호하는 알리바바, 바이두 등의 e- Commerce 시장 진출전략 수립 및 웹개발 및 모바일 어플리케이션 제작, 배송채널 확보 등 이에 대한 대비가 필요함.

○ 베트남 화장품 시장 진출 전략

- 프리미엄 브랜드와 저가형 제품 시장이 양적으로 확대되고 있는 현재 시장 상황을 고려하여 제품의 라인업을 구성하는 것이 필요하며, 상표 등록 등 가짜 상품의 판매에 대한 대응 전략의 수립이 필요함.
- 한-베트남 FTA에 따라 관세 인하로 인해 가격 경쟁에서 우위를 점할 수 있으므로, 원가계획 등에 대한 체계적인 전략 수립이 필요함.

4) 국내외 전시회 및 네트워킹

○ 2017 COSMOPROF (2017.11.15.~11.17)

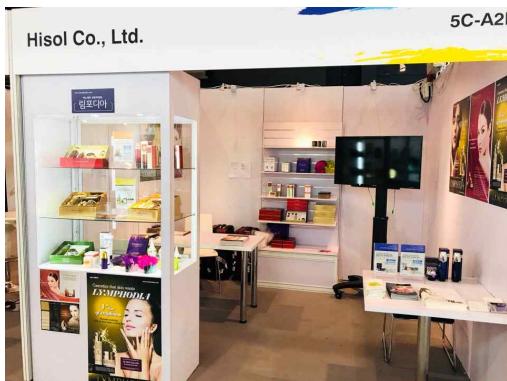
세계 최고의 화장품산업 관련 전시회인 COSMOPROF에 참가하여 신규 수요처 발굴, 기업-제품에 대한 홍보 확대 및 수출액 증진을 도모하였음.

COSMOPROF
SIA HONG KONG
太區美容展

Organiser - Cosmoprof Asia Ltd

JBM Bologna Fiere

SEE YOU NEXT YEAR
NOVEMBER 2017
HONG KONG
14TH - 16TH
ASIAWORLD-EXP
15TH - 17TH
HONG KONG CONVENTION & EXHIBITION CENTRE
A NEW WORLD FOR BEAU
BOLOGNA LAS VEGAS HONG KONG



5) 디자인 개발

○ 디자인 출원

제품 판매 및 유통을 원활하게 하기 위해 내용물 보호와 고객의 구매의욕 증대를 위한 포장지 및 용기 디자인 출원을 완료함.

○ 클렌징폼(포장지)

**관인생략
출원번호통지서**

출원일자 2017.11.10
특기사항 공개선형(무)참조번호(2)
출원번호 30-2017-0052451(출원번호 1-1-2017-1115359-52)
출원인명칭 주식회사 하이솔(1-2015-060251-7)
대리인성명 최규환(9-2005-001504-0)

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원된 무와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동분할 납입명수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
후보부사번호: 0332(가과과) - 출수번호
3. 귀사의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고려번호 정보변경(광청), 청정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
후보부사번호: 0332(가과과) > 관원사(다우코드) > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원인 명세서 또는 도면의 보장이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내 출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내 출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
후보부사번호: http://www.kipo.go.kr/특허/특허/특허/PCT/마드리드
후보부사번호: http://www.kipo.go.kr/특허/특허/특허/실용신안/6개월 이내
중국 국특허청 신청의 선출원일 기준은 무리내의 무리내국특허청 시, 출원일이 미공개상태이면, 무리내로부터 16개월 이내의 무리내국특허청(관외특허청)에서(PCT/SB39)를 제출하거나 무리내에 무리내국특허청을 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 일부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
후 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 출원인이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용(가압)이 명확하게 순계하지 않은 경우, 특허법 제42조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동별된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

【출원번호】 30-2017-0052451
【디자인의 대상이 되는 물품】 화장품 포장상자
【제출할 자료명】 국가연구개발사업 사서표기 관련 정보제공서
【제출이유】 디자인출원 제2017-0052451호는 농림축산식품부의 지원을 받아 농생명산업기술개발사업을 통해 수행된 과제인 허브산업 기반 활동 뷰티산업 소재·제품개발 및 특허산업 육성 을 통해 발생한 성과입니다.
【취지】 위와 같이 특허청장(특허심판원장, 심판장)에게 제출합니다.

【도면 1.1】



5-5

○ 클렌징폼(용기)

**관인생략
출원번호통지서**

출원일자 2017.11.21
특기사항 공개선형(무)참조번호(1)
출원번호 30-2017-0054347(출원번호 1-1-2017-1157363-19)
출원인명칭 주식회사 하이솔(1-2015-060251-7)
대리인성명 최규환(9-2005-001504-0)

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원된 무와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동분할 납입명수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
후보부사번호: 0332(가과과) - 출수번호
3. 귀사의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고려번호 정보변경(광청), 청정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
후보부사번호: 0332(가과과) > 관원사(다우코드) > 특허법 시행규칙 별지 제5호 서식
4. 특허(실용신안등록)출원인 명세서 또는 도면의 보장이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내 출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내 출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
후보부사번호: http://www.kipo.go.kr/특허/특허/특허/PCT/마드리드
후보부사번호: http://www.kipo.go.kr/특허/특허/특허/실용신안/12개월, 상표(디자인)은 6개월 이내
중국 국특허청 신청의 선출원일 기준은 무리내의 무리내국특허청 시, 출원일이 미공개상태이면, 무리내로부터 16개월 이내의 무리내국특허청(관외특허청)에서(PCT/SB39)를 제출하거나 무리내에 무리내국특허청을 제출하여야 합니다.
6. 본 출원사실을 일부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
후 특허출원 10-2010-0000000, 상표등록출원 40-2010-0000000
7. 출원인이 직무수행과정에서 개발한 발명을 사용(가압)이 명확하게 순계하지 않은 경우, 특허법 제42조에 따라 심사단계에서 특허거절결정되거나 특허법 제133조에 따라 등록이후에 특허무효사유가 될 수 있습니다.
8. 기타 심사 절차에 관한 사항은 동별된 안내서를 참조하시기 바랍니다.

【출원번호】 30-2017-0054347
【디자인의 대상이 되는 물품】 화장품 용기
【제출할 자료명】 국가연구개발사업 사서표기 관련 정보제공서
【제출이유】 디자인출원 제2017-0054347호는 농림축산식품부의 지원을 받아 농생명산업기술개발사업을 통해 수행된 과제인 허브산업 기반 활동 뷰티산업 소재·제품개발 및 특허산업 육성을 통해 발생한 성과입니다.
【취지】 위와 같이 특허청장(특허심판원장, 심판장)에게 제출합니다.

【디자인의 창작내용의 요점】

“화장품 용기”의 형상과 모양의 결합은 디자인 창작 내용의 요점으로 함.

【도면 1.1】



12-5

나. (재)남원시화장품산업지원센터(제1협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2017)	남원지역 특화자원의 소재개발 및 효능평가	소재가공 및 효능 평가	○ 원재료표준화 : 부위, 수확시기, 재배지역	- 부위 : 꽃, 전초 - 수확시기 : 4, 5, 7, 8, 10월 - 재배지역 : 남원 - 생육환경: 파종, 정식, 개화, 채종, 삼목시기 등
			○ 추출조건 및 제조공정표준화 (bench scale)	- 추출규모 : bench scale - 추출용매 : 물, 50% 에탄올 - 추출온도 : 물 100°C, 에탄올 80°C - 추출시간 : 4시간 - 표준화 조건 : 수율, 색도
			○ 생리활성탐색(미백, 주름, 보습)	- 미백 : 세포독성, 티로시나제 활성, 멜라닌 생성능 - 주름 : 세포독성, 콜라겐나아제 활성, 엘라스타아제 활성 - 보습 : 세포독성, 히알루론산 분비능

1) 소재가공 및 효능 평가

○ 원료 표준화 : 사용부위, 수확시기, 재배지역, 생육환경

본 연구에 사용된 허브자원 10종은 표 과 같이 전북 남원시 일대에서 재배한 원재료 상태의 건조물 또는 생물을 이용하였음. 생물로 구입한 원물은 40°C에서 72시간이상 식품건조기(LD9013, L'EQUIP, Seoul, Korea)를 이용하여 건조하고 추출하였음. 또한, 허브 10종의 파종, 정식, 개화, 채취, 채종 및 삼목시기 등 생육환경에 대한 정보는 아래 표와 같음.

<허브자원 10종의 사용부위, 재배지역, 채취시기>

NO.	품목	사용부위	재배지역	형태	채취시기
1	라벤더	전초	전북 남원시 운봉읍	건조물	7월
2	레몬그라스	전초	전북 남원시 이백면	건조물	10월
3	캐모마일	꽃	전북 남원시 운봉읍	건조물	5월
4	와송	전초	전북 남원시 송동면	건조물	10월
5	자소엽	전초	전북 남원시 주천면	건조물	8월
6	흰민들레	전초	전북 남원시 운봉읍	건조물	4월
7	곤달비	전초	전북 남원시 주천면	생물	5월
8	감국	꽃	전북 남원시 이백면	건조물	10월
9	구절초	전초	전북 남원시 산내면	건조물	10월
10	찔레	전초	전북 남원시 송동면	건조물	5월

<허브자원 10종의 생육환경>

NO.	품목	파종시기	정식시기	개화시기	수확시기	채종시기	삼목시기	생육형태
1	라벤더	2~3월	3~4월	6월	7월	8월	전년도 10월 당해연도 3월	다년생
2	레몬그라스	2~3월	3~4월	-	10월	-	-	단년생
3	캐모마일	2~3월	3~4월	5월	5월초	7월 중순	-	다년생
4	와송	2~3월	3~4월	9~10월	10월초	11월 초순	-	단년생
5	자소엽	2~3월	3~4월	9월	8월초	10월 중순	-	단년생
6	흰민들레	2~3월	3~4월	4월	4월	7~8월	-	다년생
7	곤달비	2~3월	4월	8월	5월	10월 중순	-	다년생
8	감국	2~3월	3~4월	10월	10월 중순	11월	전년도 10월 당해연도 3월	다년생
9	구절초	2~3월	3~4월	10월	10월 중순	11월	당해연도 3월	다년생
10	짚레	2~3월	4월	4월말~5월초	5월 중순	10월	당해연도 3월	다년생



[라벤더]



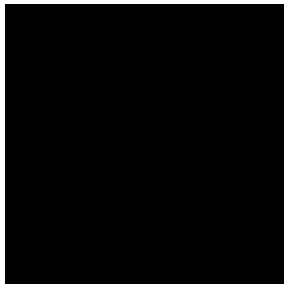
[레몬그라스]



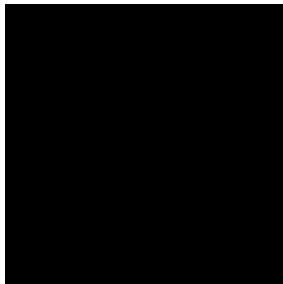
[캐모마일]



[와송]



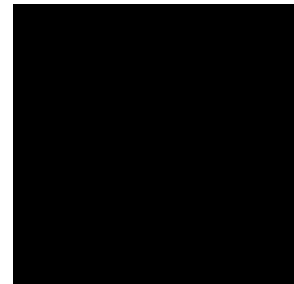
[자소엽]



[흰민들레]



[곤달비]



[감국]



[구절초]



[짚레]

<허브자원 10종 이미지>

○ 추출조건 및 제조공정 표준화(bench scale)

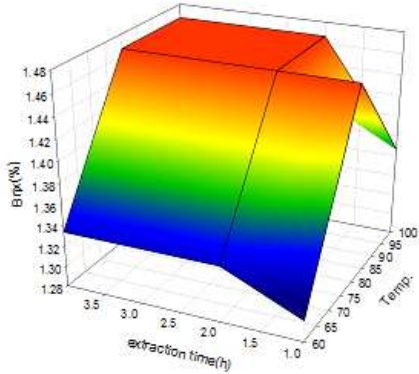
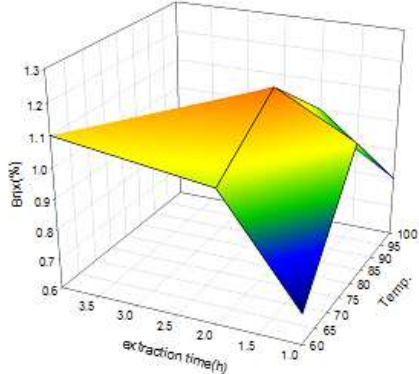
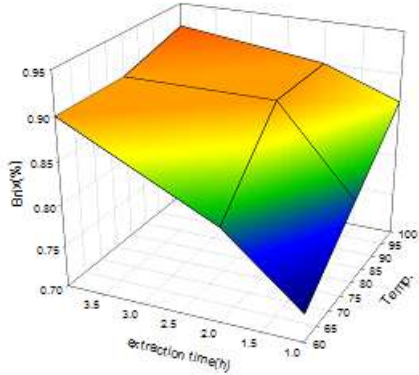
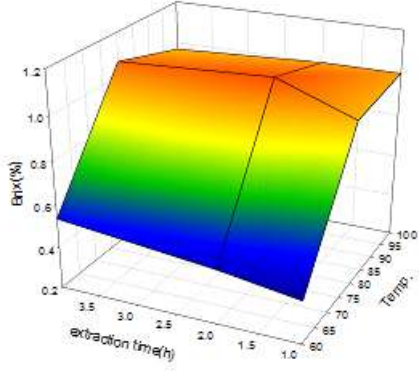
○ 추출물 제조

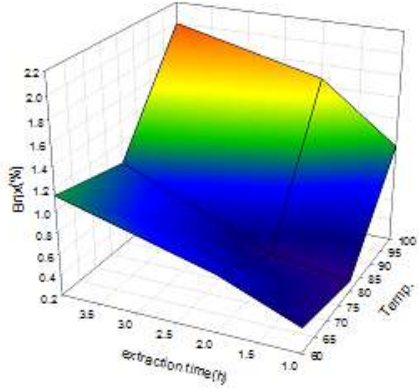
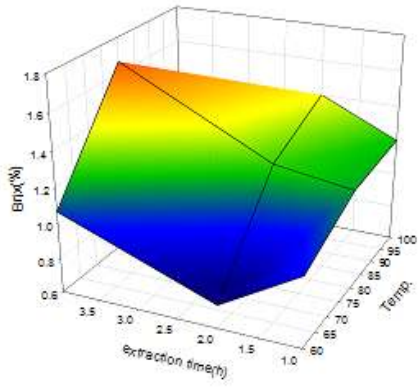
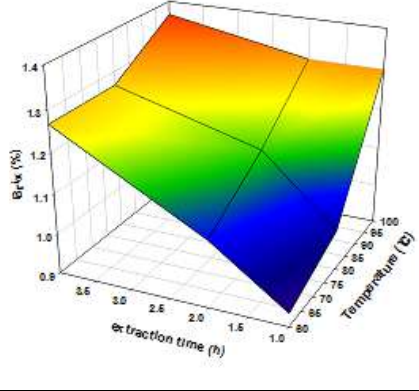
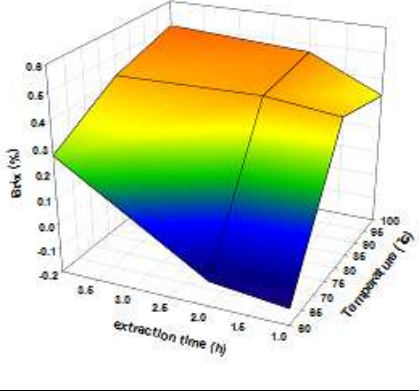
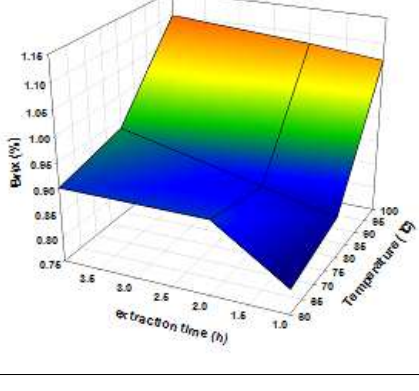
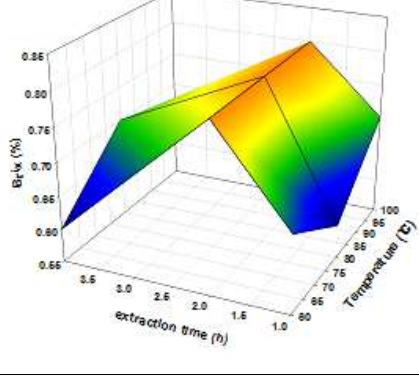
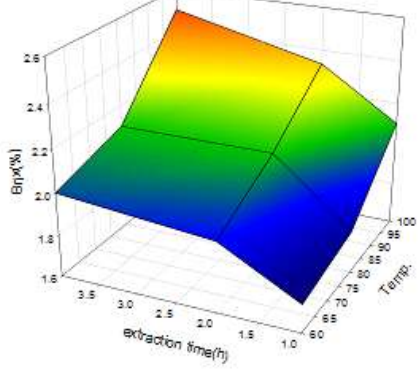
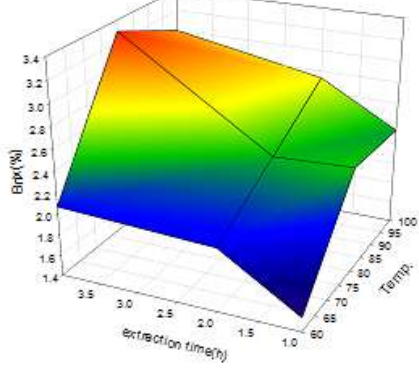
- 건조된 허브자원 10종은 분쇄기(HMF-3600TG, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 분쇄한 후 100 g을 정량하여 추출용매 (물, 50% 에탄올)를 20배수 첨가하고, 가열하면서 환류 추출하였음. 추출물은 부직포를 이용하여 1차 여과하고, 종이여과지(Whatman NO.3, Whatman NO.5)를 이용하여 2차 여과하였음. 여과된 추출물은 감압농축기(R-100, BUCHI, Flawil, Switzerland)를 이용하여 50°C에서 농축하고, 동결건조기(MCFD8508, ILSHIN, Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 동결 건조하여 효능 평가용 시료로 사용하였음.

○ 최적 추출조건 확립

- 10종 허브 추출물의 최적추출조건을 확립하기 위해 추출온도(60, 80, 100°C)와 추출시간(1, 2, 4시간)에 따른 색도(Brix %)의 변화를 디지털 당도계(PAL-3, ATAGO, Tokyo, Japan)로 측정하였음. 각 추출조건에 따라 환류 추출하고 추출 후 여과하여 색도(Brix %)를 측정하였으며, 반응표면분석법(RSM)을 통해 최적 추출온도와 최적 추출시간을 확립하였음. 그 결과 허브 10종에 대한 추출조건은 50% 에탄올 추출물은 80°C(라벤더, 레몬그라스, 캐모마일, 흰민들레)와 물 추출물은 100°C(구절초, 와송, 찔레, 감국)에서 4시간 추출시 가장 높은 색도 (Brix %)를 보였음. 최종적으로 최적추출조건은 물은 100°C, 50% 에탄올은 80°C, 각각 4시간을 원재료의 제조공정표준화 공정으로 선택함.

<허브자원 10종의 최적 추출조건>

항목	물 추출물	50% 에탄올 추출물
라벤더		
레몬그라스		
캐모마일		

		
와송		
자소엽		
흰민들레		
곤달비		

감국		
구절초		
찹레		

○ 추출 수율

- 최적 추출조건 (물은 100°C, 50% 에탄올은 80°C, 4시간 추출)으로 추출된 10종의 추출물을 여과 및 농축하여 동결 건조하였고, 추출수율은 건조 원물기준으로 산출하였음. 그 결과 10종의 추출물 중 라벤더, 곤달비, 찔레를 제외한 7종은 에탄올 추출물보다 물 추출물에서 높은 추출수율을 보였으며, 평균 추출수율은 물 추출물과 50% 에탄올 추출물 각각 19.3%와 17.3%의 추출수율을 보였음. 특히, 물 추출물의 경우 감국과 캐모마일 추출물에서 34.8%와 28.5%로 가장 높은 추출 수율을 보였음. 이는 감국과 캐모마일에 수용성 성분의 함량이 다량 함유되어 있을 것으로 생각됨. 또한, 50% 에탄올 추출물에서는 찔레(26.9%), 곤달비(21.9%), 감국(20.6%), 캐모마일(19.5%) 순으로 높은 추출 수율을 보였음.



<허브자원 10종의 추출수율>

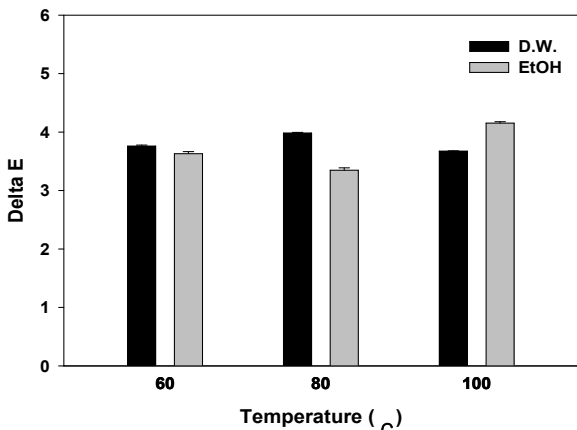
○ 색도 분석

- 건조원물기준 5% 함량으로 추출온도(60, 80, 100°C)에 따라 4시간동안 추출한 10종의 허브 추출물 색도 측정은 색차계(CR-400, Konica Minolta, Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 명도를 나타내는 L*값(lightness), 적색도를 나타내는 a*값(redness), 황색도를 나타내는 b*값(yellowness)를 측정하였으며, 측정값을 통해 ΔE (total color differences: 총 색차)를 다음과 같이 계산하였음.

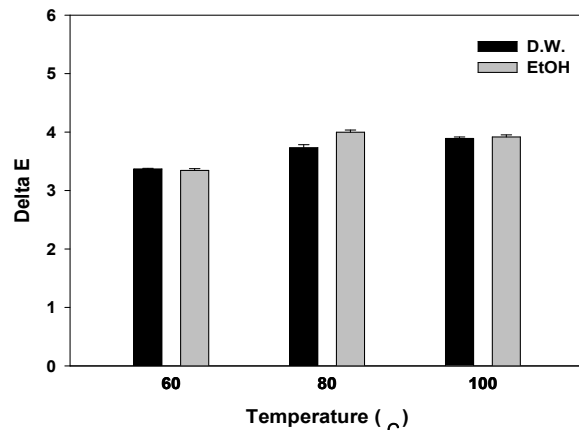
$$\Delta E = \sqrt{(L_{sa} - L_{st})^2 + (a_{sa} - a_{st})^2 + (b_{sa} - b_{st})^2}, \quad sa: \text{sample}, st: \text{standard}$$

- 그 결과 추출온도가 높을수록 총 색차(ΔE)가 높아지는 경향을 보였음. 특히, 찔레 물 추출물에서 100°C 추출한 경우 가장 높은 9.71의 색차값을 보였으며, 그 외 추출물에서는 2.0~5.0의 총 색차값을 보였음.

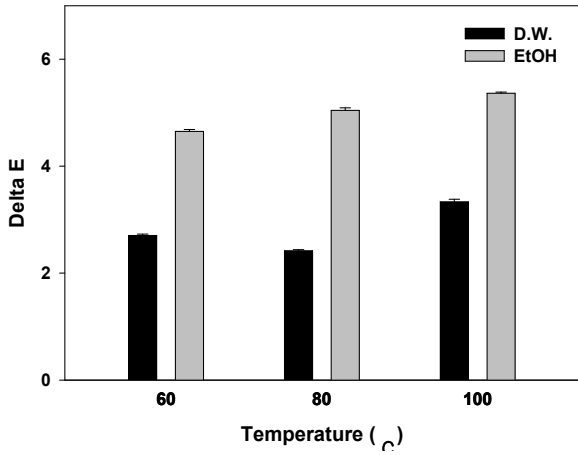
[라벤더]



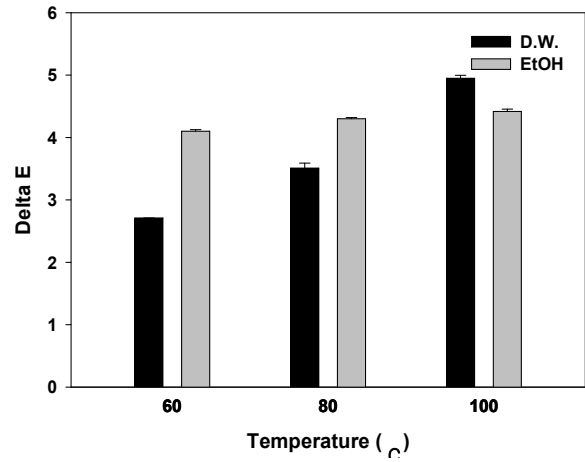
[레몬그라스]



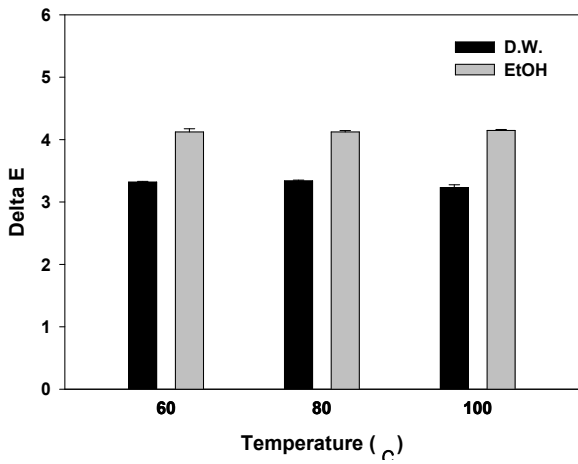
[캐모마일]



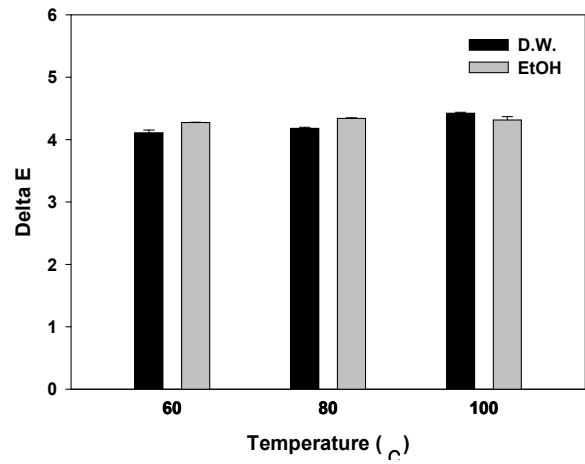
[와송]



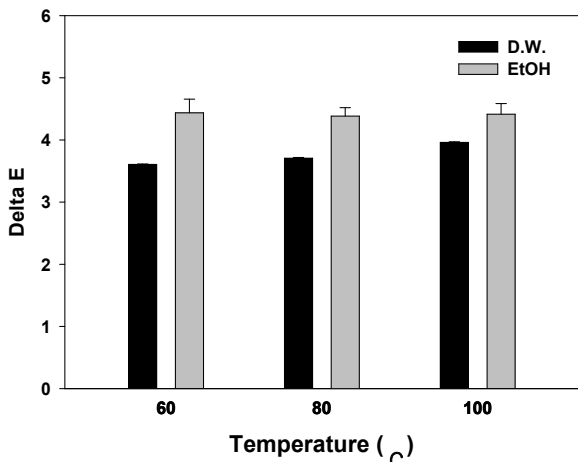
[자소엽]



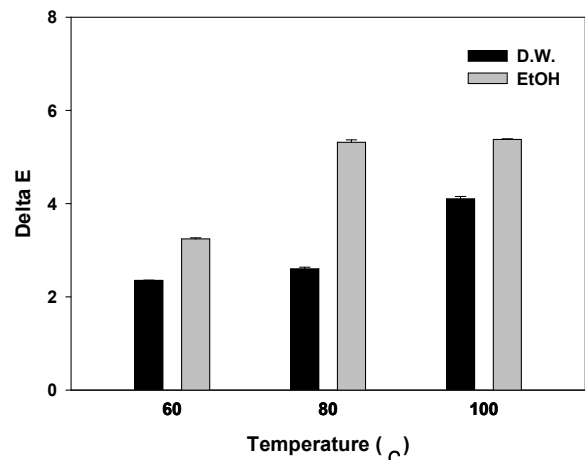
[흰민들레]



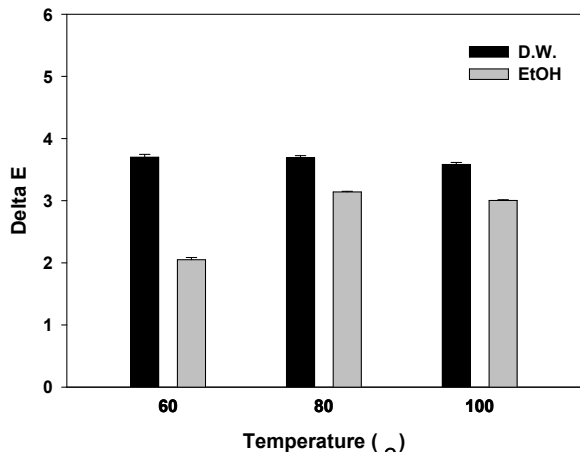
[곤달비]



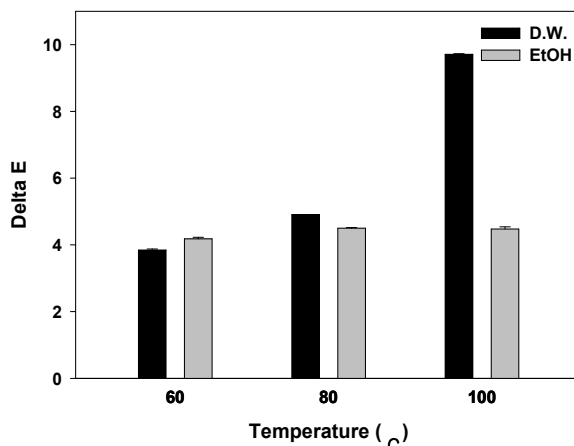
[감국]



[구절초]



[질레]



<허브자원 10종의 추출 온도별 총 색차값(n=3)>

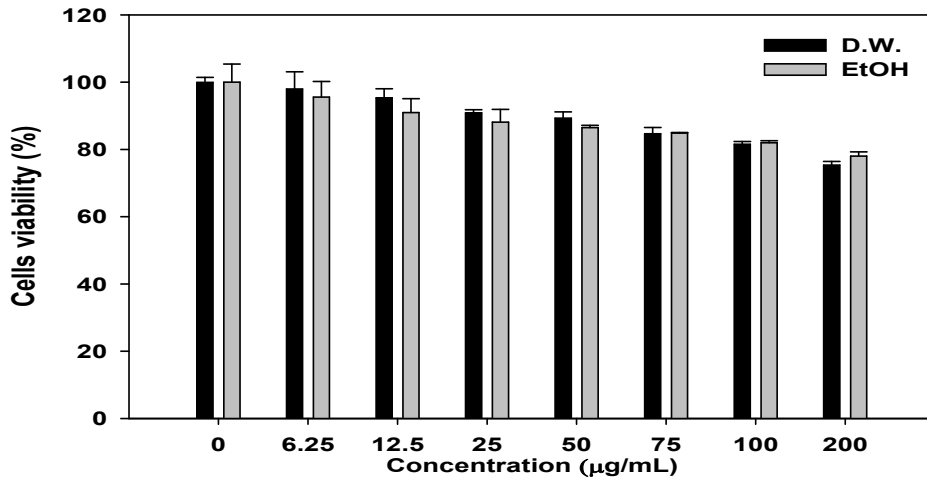
○ 생리활성탐색(미백, 주름, 보습)

○ 미백 효능

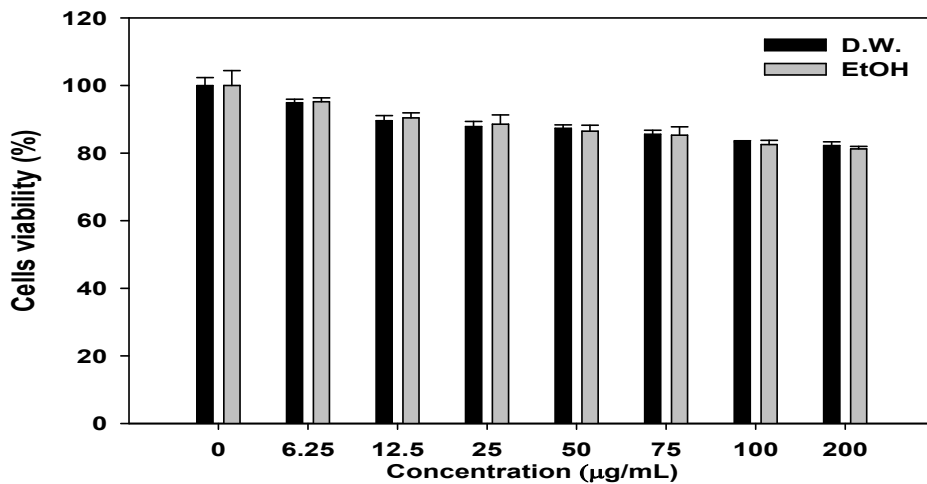
- 세포배양 : 본 실험에 사용된 멜라노마 세포주인 B16F10 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하였음.
- 세포독성 측정 : 허브자원 10종에 대한 세포독성을 확인하기 위해 96 well plate에 5×10⁴ cells/mL로 분주한 후 24 시간 동안 배양하고, 시료를 처리한 뒤 72시간 뒤에 methyl thiazolyldiphenyl tetrazolium (MTT) assay를 실행하였음. 세포독성 측정에는 cell viability assay kit (EZ-Cytox, Dogen, Seoul, Korea)를 이용하였고, 모든 well에 MTT 용액 10 μL를 가해주고 다시 37°C, 5% CO₂에서 4시간 배양한 뒤 흡광도 측정을 위해 1분 정도 부드럽게 shaking을 한 뒤 microplate reader (Tecan, Seestrasse, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 티로시나제 활성 측정 : 허브자원 10종에 대한 티로시나제 활성을 확인하기 위해 6 well plate에 1×10⁵ cells/mL로 분주한 후 24시간 동안 배양하고, 시료를 1시간 전처리 후 200 nM α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH; Sigma, Saint Louis, MO, USA)를 72시간 처리하였음. 세포는 phosphate buffer saline (PBS; Welgene, Daegu, Korea)로 세포를 수확한 후 원심분리 (3,000 rpm, 10분, 4°C) 하였음. PBS는 버리고 200 μL radioimmunoprecipitation assay buffer로 세포를 분해한 후 원심분리 (13,000 rpm, 20분, 4°C) 하였음. 티로시나제 활성은 50 mM PBS (pH 6.8), 5 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine와 50 μg 상층액을 37°C에서 15분간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 멜라닌 생성량 측정 : 허브자원 10종에 대한 멜라닌 생성량을 확인하기 위해 6 well plate에 1×10⁵ cells/mL로 분주한 후 24시간 동안 배양하고, 시료를 1시간 전처리 후 200 nM α-MSH를 72시간 처리하였음. 세포내 멜라닌 생성량은 PBS로 세포를 수확한 후 원심분리 (3,000 rpm, 10분, 20°C)하였음. 상층액은 버리고 펠렛 상태에 10% dimethyl sulfoxide가 함유된 1 N NaOH 용액 200 μL를 첨가한 후 60°C에서 30분간 중탕하고 펠렛을 용해시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 통계학적 분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준오차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 p < 0.05 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

○ 미백 효능 측정 결과

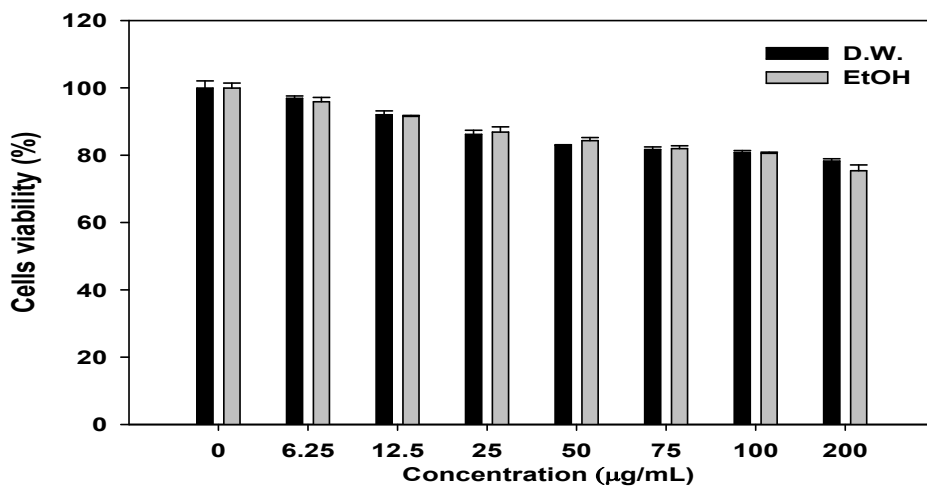
- 세포독성 검사 : 허브자원 10종의 세포독성을 확인하기 위하여 6.25~200 µg/mL의 농도로 72시간 처리한 후 세포독성을 측정한 결과, 라벤더, 캐모마일, 자소엽, 곤달비, 감국, 구절초 물과 에탄올 추출물, 흰민들레와 찔레 물 추출물 농도 200 µg/mL에서 80%의 세포생존율을 나타냈음.



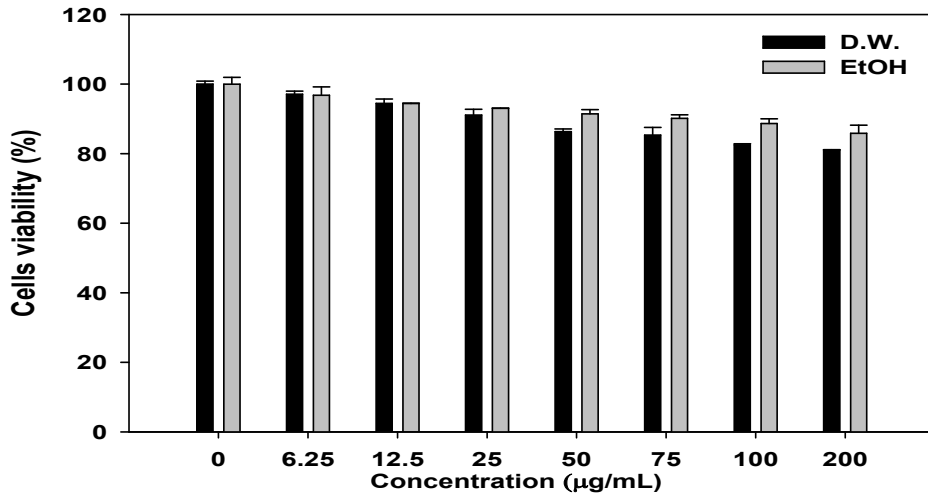
<멜라노마 세포주에서 라벤더 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



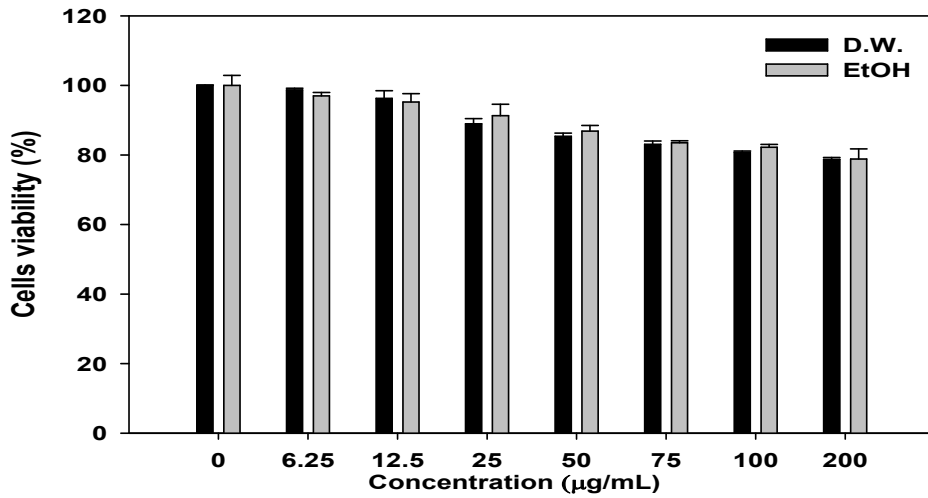
<멜라노마 세포주에서 레몬그라스 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



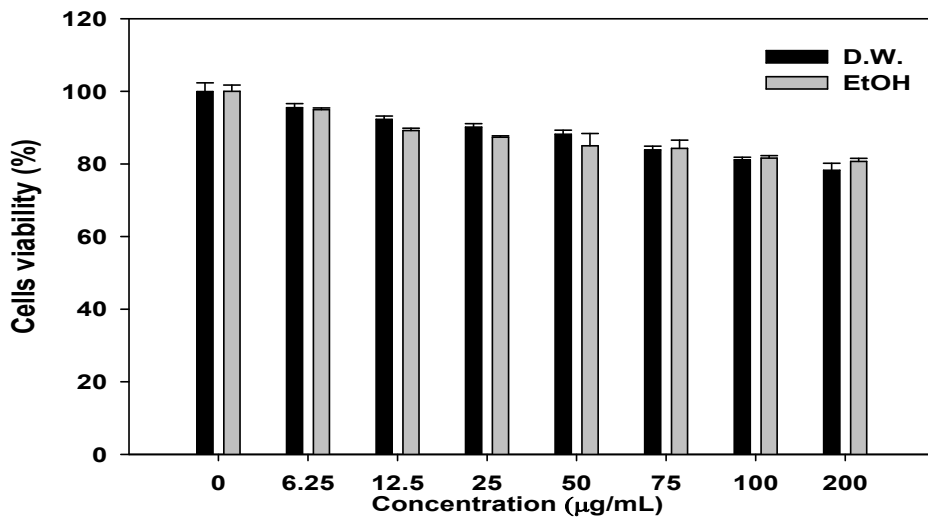
<멜라노마 세포주에서 캐모마일 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



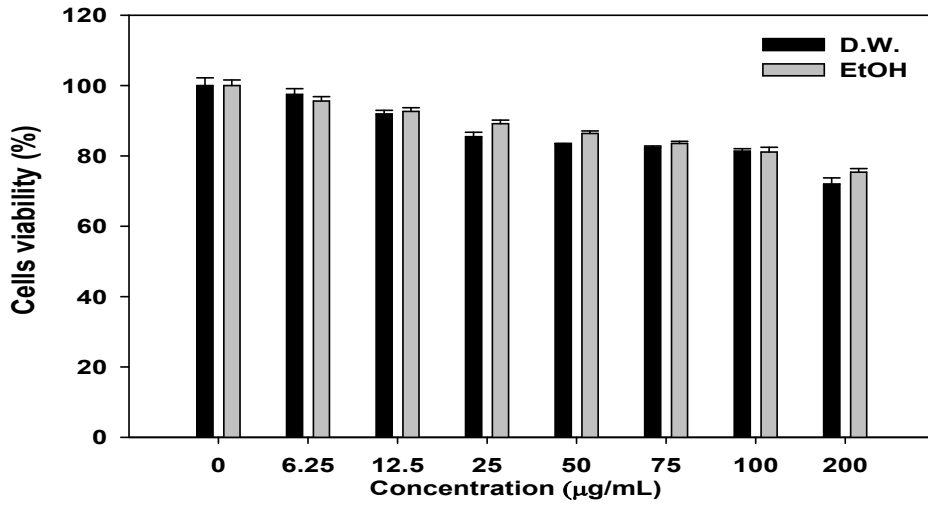
<멜라노마 세포주에서 와송 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



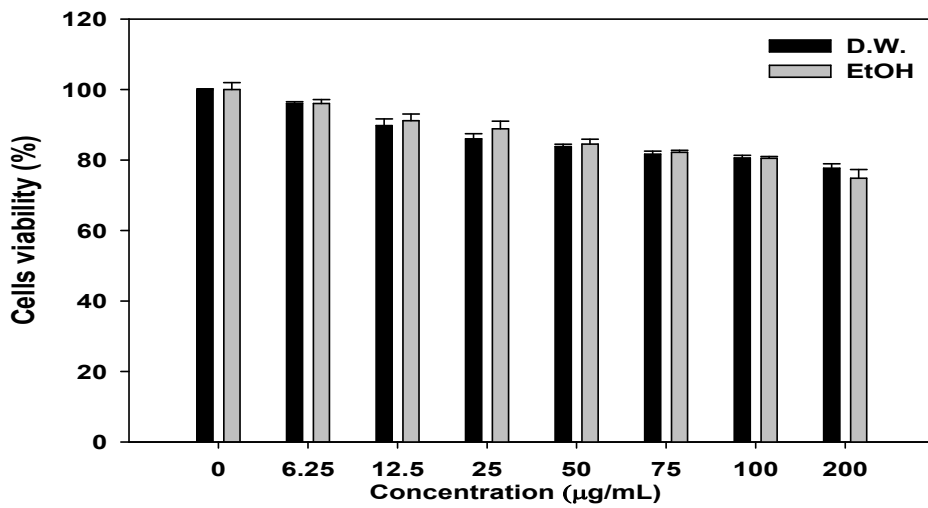
<멜라노마 세포주에서 자소엽 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



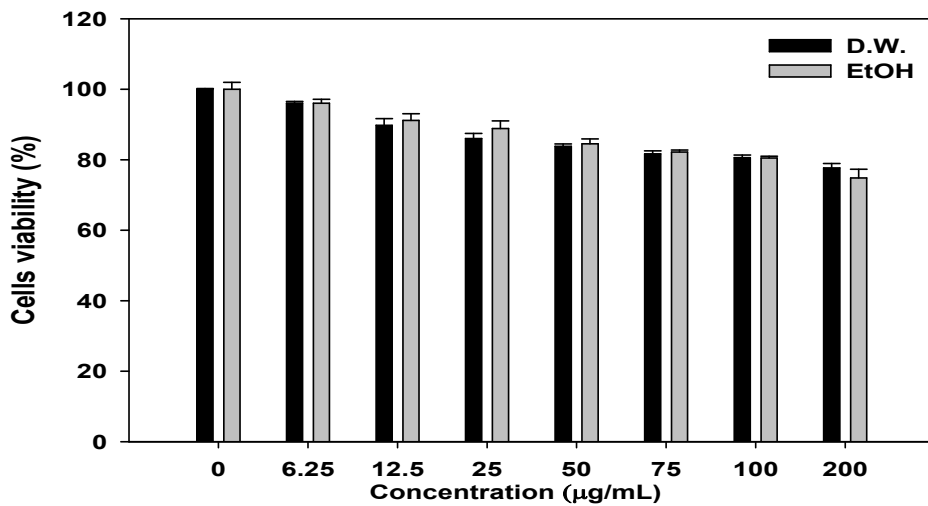
<멜라노마 세포주에서 흰민들레 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



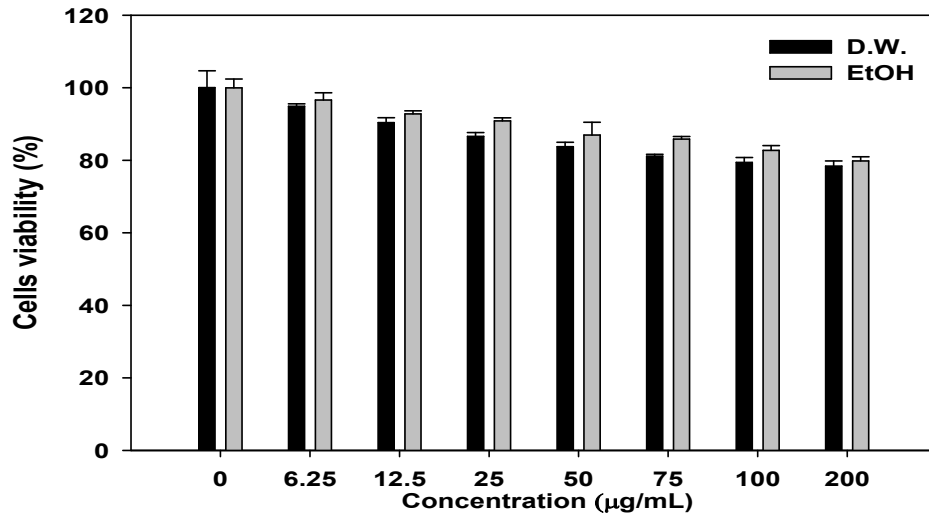
<멜라노마 세포주에서 곤달비 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<멜라노마 세포주에서 감국 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<멜라노마 세포주에서 구절초 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<멜라노마 세포주에서 찔레 추출물의 세포독성 측정(n=3)>

- 티로시나제 활성 측정 : 허브자원 10종에 대한 티로시나제 활성 억제능을 확인하기 위하여 각각의 시료를 100 µg/mL 농도로 1시간 전처리하고 α-MSH를 72시간 처리한 후 세포내의 티로시나제 활성 억제능을 측정한 결과, 양성대조군인 rucinol은 α-MSH에 의해 증가된 멜라닌 양 대비 57%의 감소효과를 보였으며, 허브10종 중 찔레 에탄올과 물 추출물, 와송 에탄올 추출물이 각각 59%, 52%, 27%의 티로시나제 활성 저해율을 나타냈음. 결론적으로 찔레 에탄올 추출물이 가장 강력한 티로시나제 활성 저해율을 보였음.

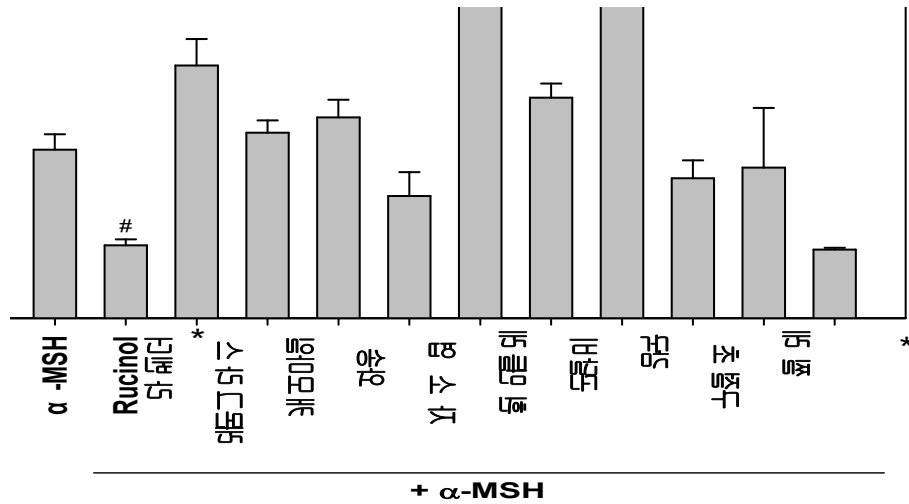
#

*

*

<멜라노마 세포주에서 허브자원 10종 물 추출물의 티로시나제 활성(n=3)>

$p < 0.05$, 대조군 비해 유의성이 있는 것으로 판정, * $p < 0.05$, α-MSH 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<멜라노마 세포주에서 허브자원 10종 에탄올 추출물의 티로시나제 활성(n=3)>

$p < 0.05$, 대조군 비해 유의성이 있는 것으로 판정, * $p < 0.05$, α-MSH 비해 유의성이 있는 것으로 판정

- 멜라닌 생성량 측정 : 허브자원 10종에 대한 멜라닌 생성 억제능을 확인하기 위하여 각각의 시료를 100 µg/mL 농도로 1시간 전처리하고 α-MSH를 72시간 처리한 후 세포내의 멜라닌 생성 억제능을 측정한 결과, 양성대조군인 rucinol은 α-MSH에 의해 증가된 멜라닌 양 대비 67%의 감소효과를 보였으며, 허브10종 중 찔레 물과 에탄올 추출물, 구절초 에탄올과 물 추출물, 감국, 와송, 자소엽, 레몬그라스, 케모마일 물 추출물은 각각 68%, 66%, 31%, 30%, 28%, 23%, 21%, 21%, 18%의 멜라닌 생성 저해율을 나타냈음. 결론적으로 찔레 에탄올 추출물이 가장 강력한 멜라닌 생성 저해율을 보였음.

#

* * * *

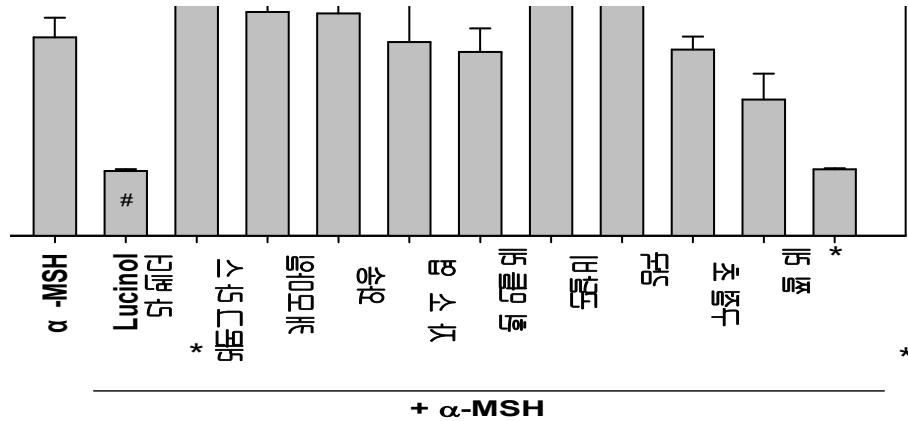
* *

*

*

<멜라노마 세포주에서 허브자원 10종 에탄올 추출물의 멜라닌 생성량(n=3)>

$p < 0.05$, 대조군 비해 유의성이 있는 것으로 판정 * $p < 0.05$, α-MSH 비해 유의성이 있는 것으로 판정



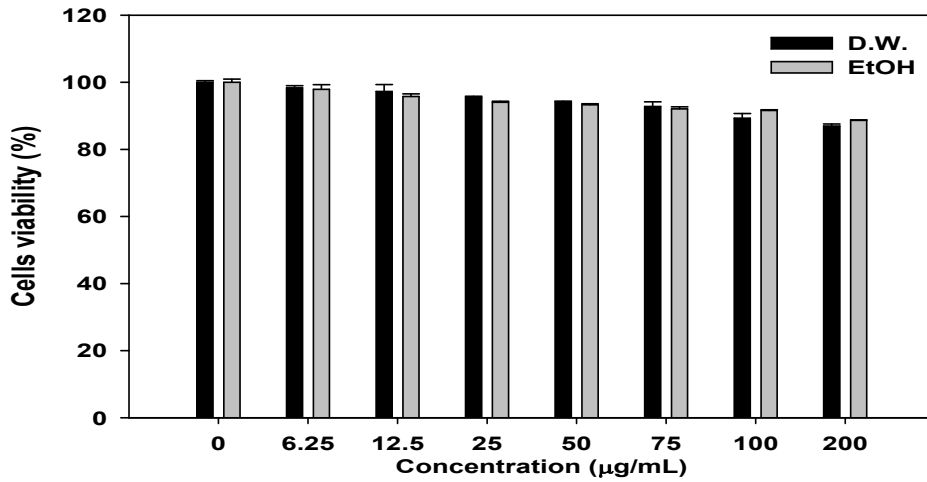
<멜라노마 세포주에서 허브자원 10종 에탄올 추출물의 멜라닌 생성량(n=3)># $p < 0.05$, 대조군 비해 유의성이 있는 것으로 판정 * $p < 0.05$, α-MSH 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 주름 효능

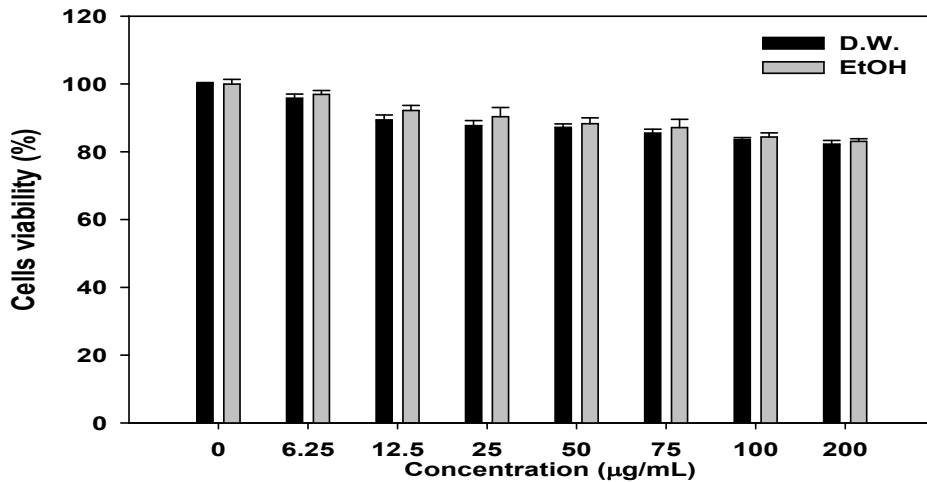
- 세포배양 : 본 실험에 사용된 섬유아 세포주인 HT-1080 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 RPMI1640 (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하였음.
- 세포독성 측정 : 허브자원 10종에 대한 세포독성을 확인하기 위해 96 well plate에 5×10⁴ cells/mL로 분주한 후 24 시간 동안 배양하고, 시료를 처리한 뒤 24시간 뒤에 methyl thiazolyldiphenyl tetrazolium (MTT) assay를 실행하였음. 세포독성 측정에는 cell viability assay kit (EZ-Cytox, Dogen, Seoul, Korea)를 이용하였고, 모든 well에 MTT 용액 10 μL를 가해주고 다시 37°C, 5% CO₂에서 4시간 배양한 뒤 흡광도 측정을 위해 1분 정도 부드럽게 shaking을 한 뒤 microplate reader (Tecan, Seestrasse, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 콜라겐나아제 활성 측정 : 허브자원 10종에 대한 콜라겐나아제 활성 억제능을 측정하기 위해 96 well plate에 1×10⁴ cells/0.1 mL로 분주한 후 24시간 동안 배양하고, serum free RPMI1640 배지로 2번 세척한 후 serum free RPMI1640 배지로 교체하고 시료를 24시간 처리하였음. 24시간 후에 media를 걷어내고 원심분리 (10,000 xg, 5분, 4°C)하고 상층으로 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 수행할 때 까지 -20°C에서 보관하였음. ELISA는 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) ELISA (R&D systems DY901B, Minneapolis, MN, USA)를 이용하였으며 제조사에서 제공한 방법에 의해 측정하였음.
- 엘라스타아제 활성 측정 : 허브자원 10종에 대한 엘라스타아제 활성 억제능을 확인하기 위해 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0)에 0.5 mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide를 제조한 용액 200 μL를 첨가하고, 농도에 따른 추출물 시료 20 μL와 0.625 Unit/mL elastase 효소 용액 10 μL를 넣어 25°C에서 10분간 반응시킨 뒤 410 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 통계학적 분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준오차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

○ 주름 효능 측정 결과

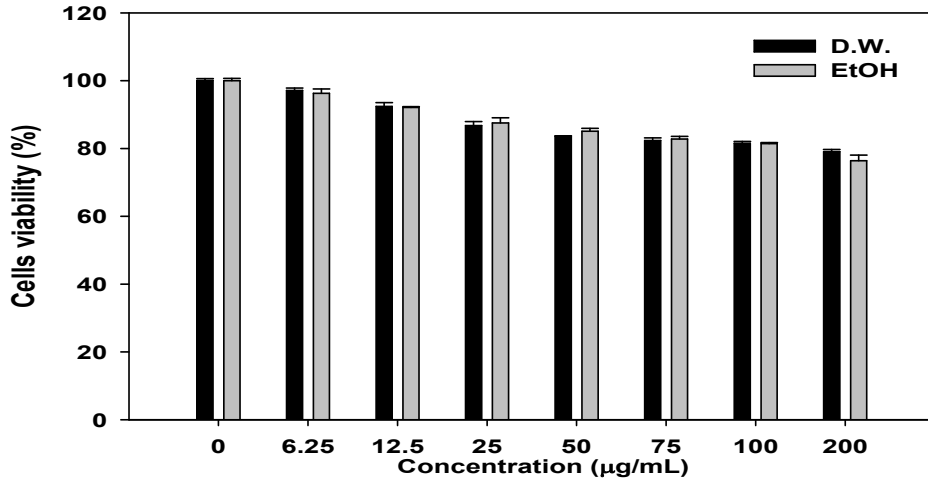
- 세포독성 검사 : 허브자원 10종의 세포독성을 확인하기 위하여 6.25~200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 24시간 처리한 후 세포독성을 측정한 결과, 캐모마일, 자소엽, 곤달비, 감국, 구절초 물 및 에탄올 추출물, 흰민들레와 짚레 물 추출물 농도 200 $\mu\text{g/mL}$ 에서 80%의 세포생존율을 나타냈음.



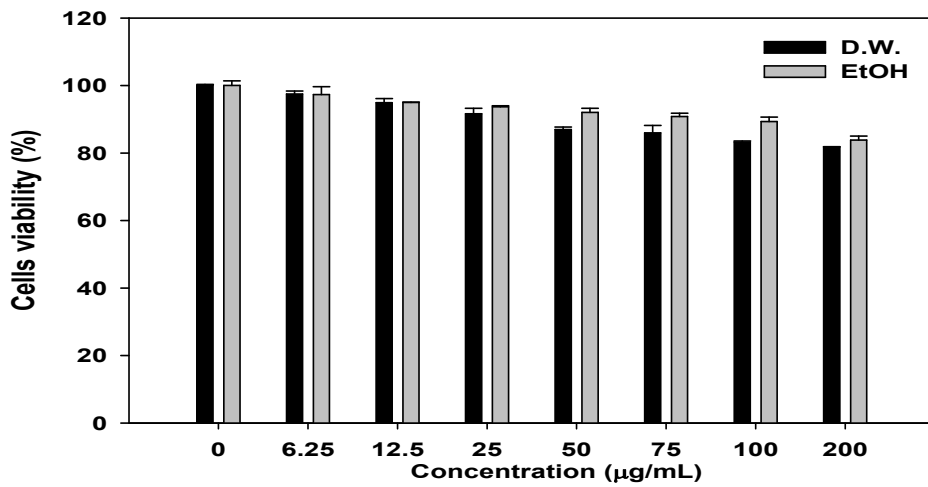
<섬유아 세포주에서 라벤더 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



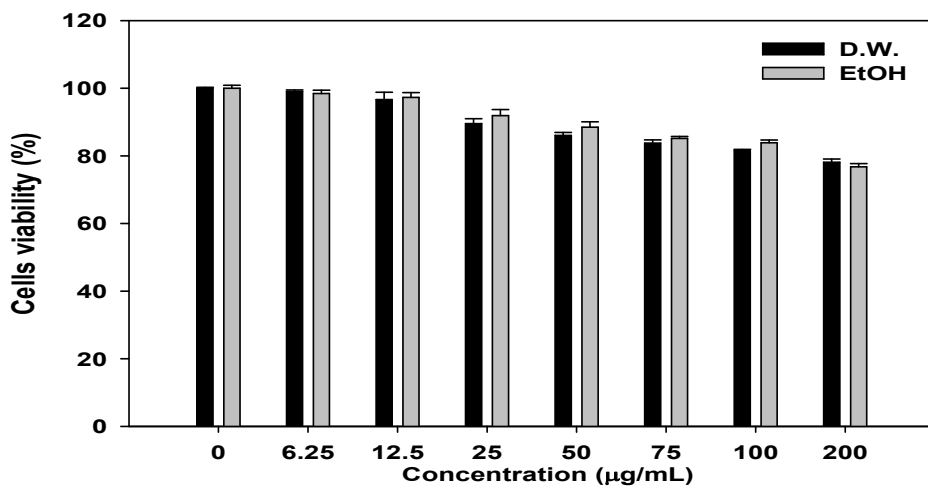
<섬유아 세포주에서 레몬그라스 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



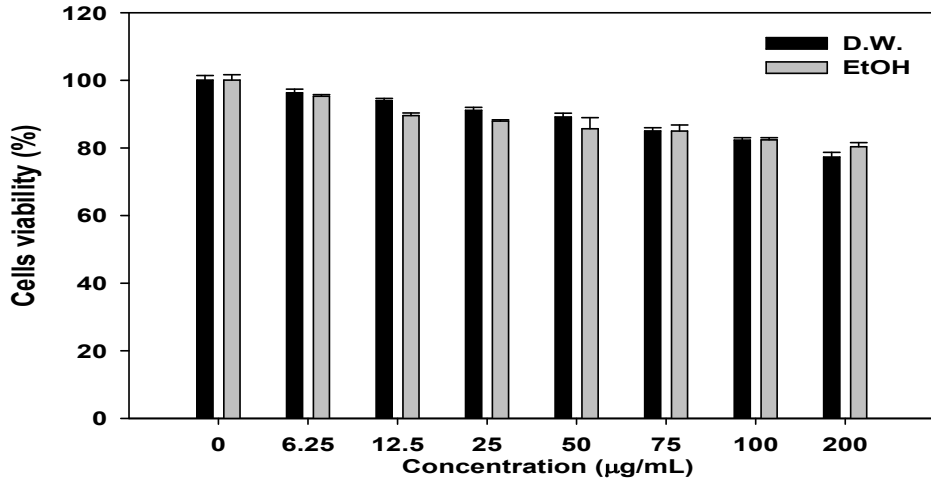
<섬유아 세포주에서 캐모마일 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



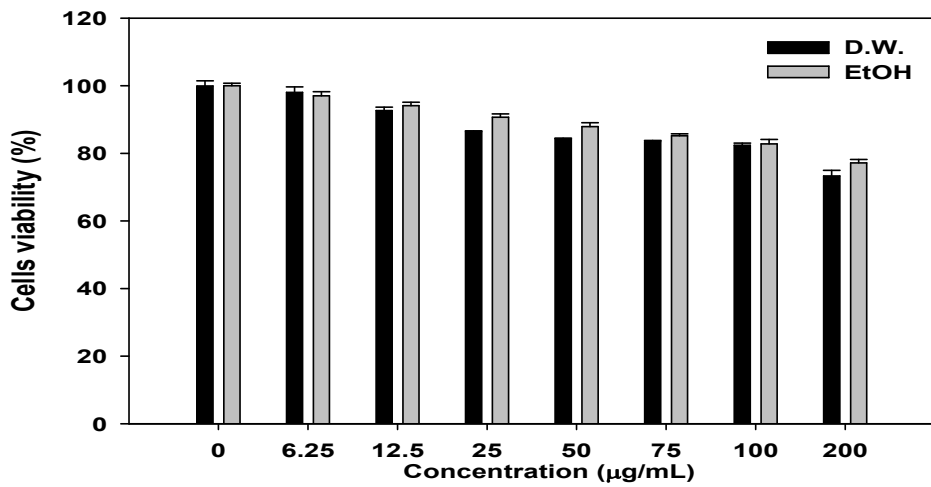
<섬유아 세포주에서 와송 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



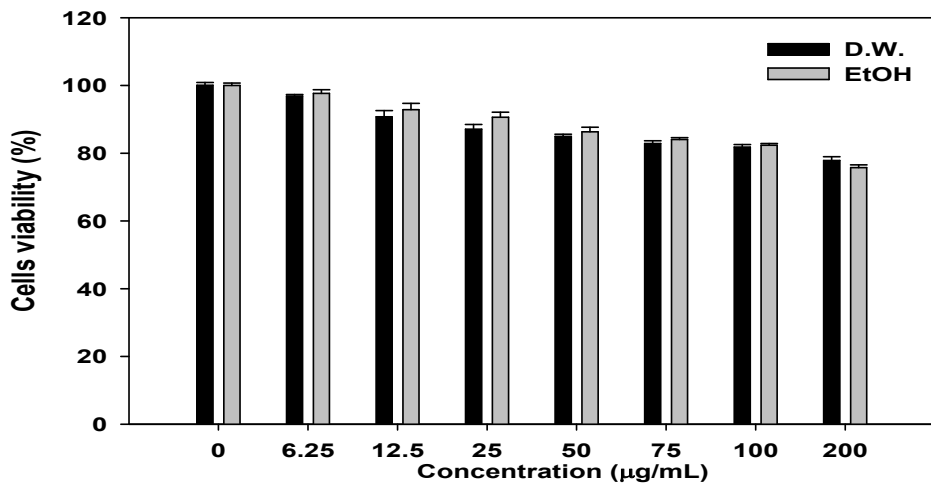
<섬유아 세포주에서 자소엽 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



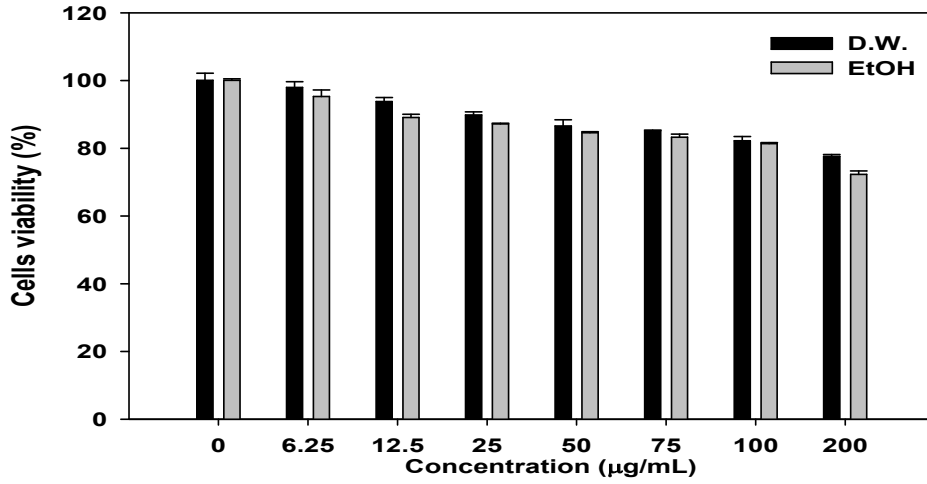
<섬유아 세포주에서 흰민들레 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



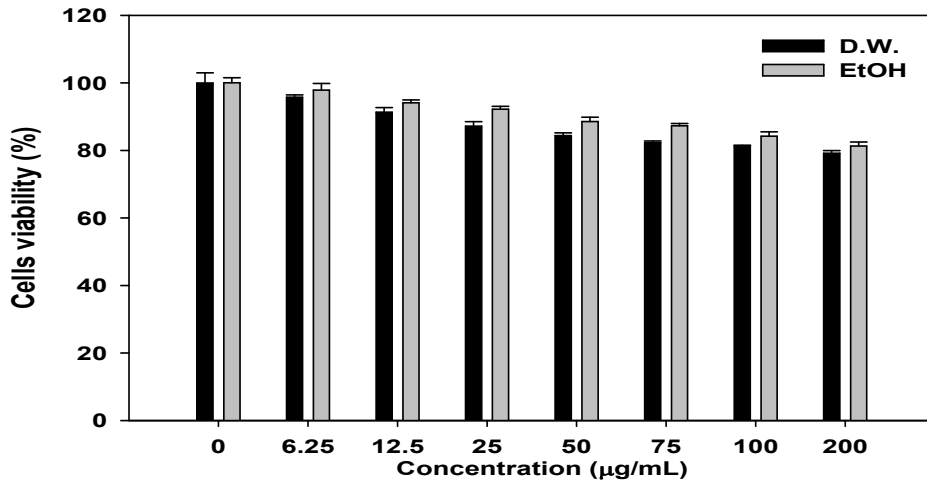
<섬유아 세포주에서 곤달비 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<섬유아 세포주에서 감국 추출물의 세포독성 측정(n=3)>

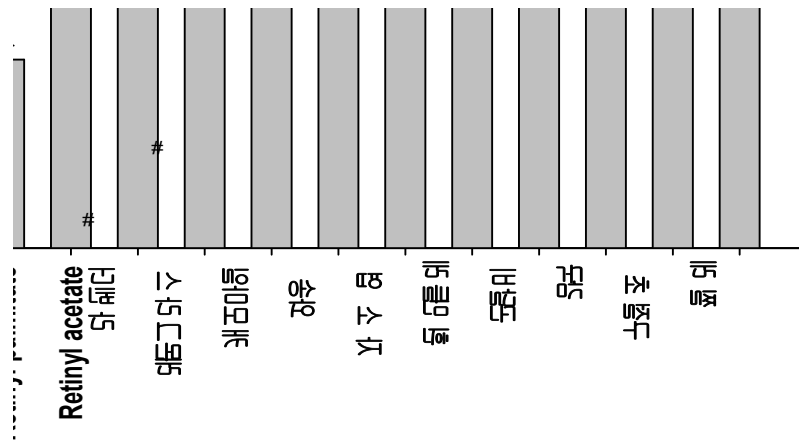


<섬유아 세포주에서 구절초 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<섬유아 세포주에서 찔레 추출물의 세포독성 측정(n=3)>

- 콜라겐나아제 생성량 측정 : 허브자원 10종에 대한 콜라겐나아제 생성 억제능을 확인하기 위하여 각각의 시료를 100 µg/mL 농도로 24시간 처리한 후 세포내의 콜라겐나아제 생성 억제능을 측정한 결과, 양성대조군인 retinyl palmitate와 retinyl acetate는 대조군 대비 52%, 32%의 감소효과를 보였으나, 허브자원 10종에 대한 콜라겐나아제 생성 저해율은 영향이 없었음.



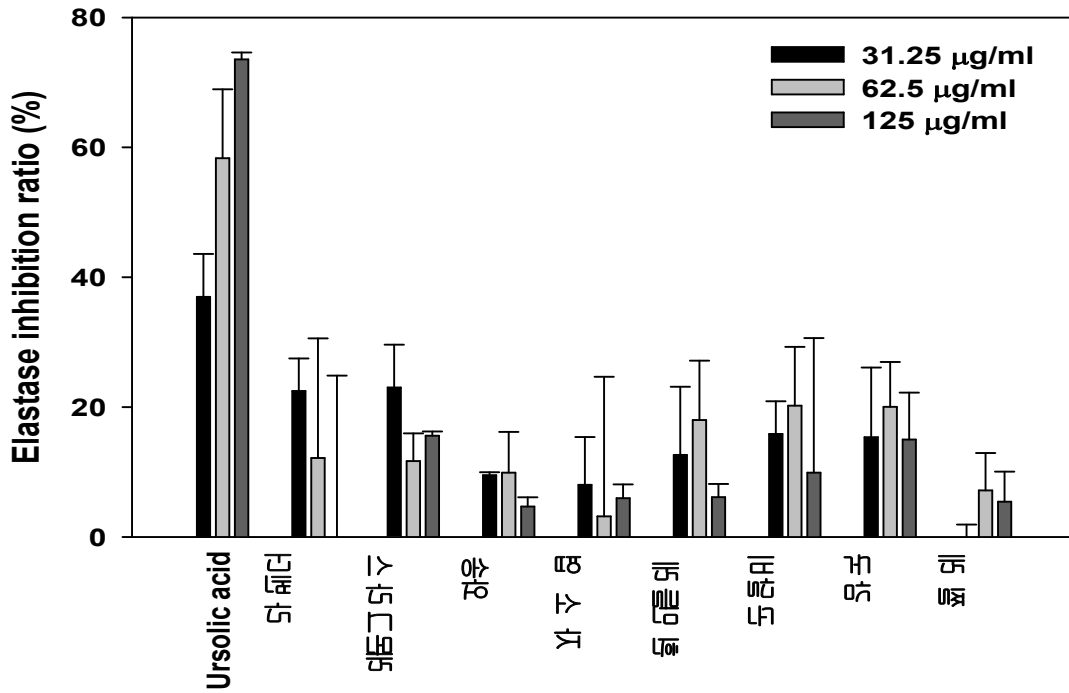
<섬유아 세포주에서 허브자원 10종 물 추출물의 콜라겐나아제 생성량(n=3)>
 $p < 0.05$, 대조군 비해 유의성이 있는 것으로 판정

#

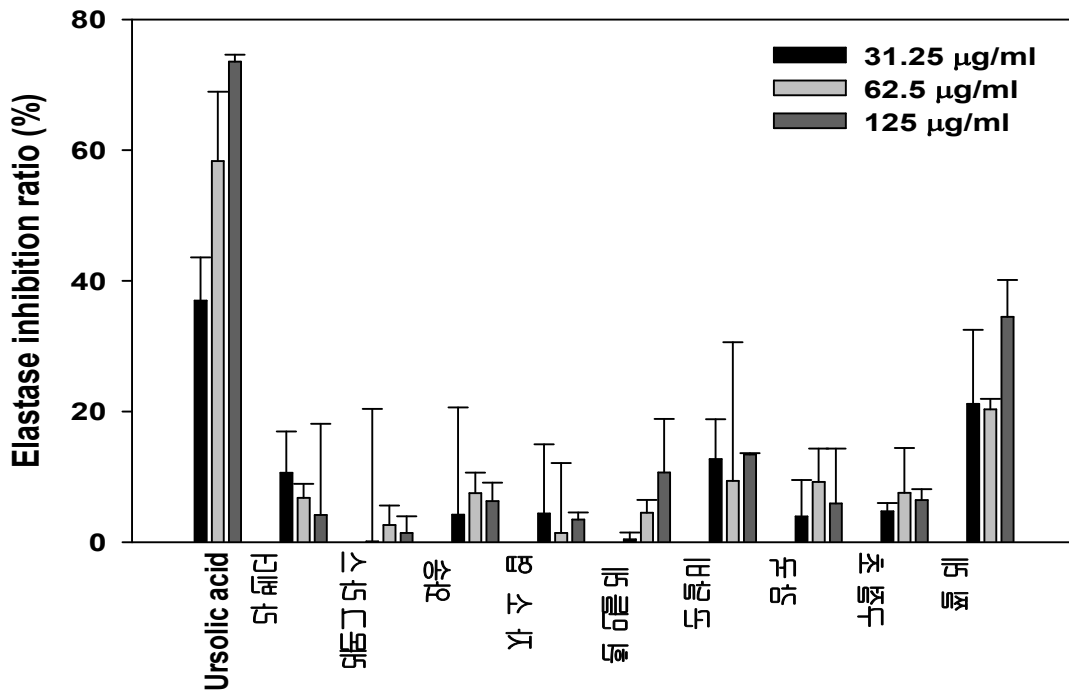
#

<섬유아 세포주에서 허브자원 10종 에탄올 추출물의 콜라겐나아제 생성량(n=3)>
 $p < 0.05$, 대조군 비해 유의성이 있는 것으로 판정

- 엘라스타아제 억제 활성 측정 : 허브자원 10종에 대한 엘라스타아제 억제 활성을 확인하기 위하여 엘라스타아제 기질, 효소, 시료를 반응시킨 후 측정된 결과, 125 µg/mL 농도에서 양성대조군인 ursolic acid는 약 75%의 엘라스타아제 억제 활성을 보였으며, 찔레 에탄올 추출물은 약 37% 엘라스타아제 억제 활성을 보였음.



<허브자원 10종 분 추출물의 엘라스타아제 억제 활성(n=3)>



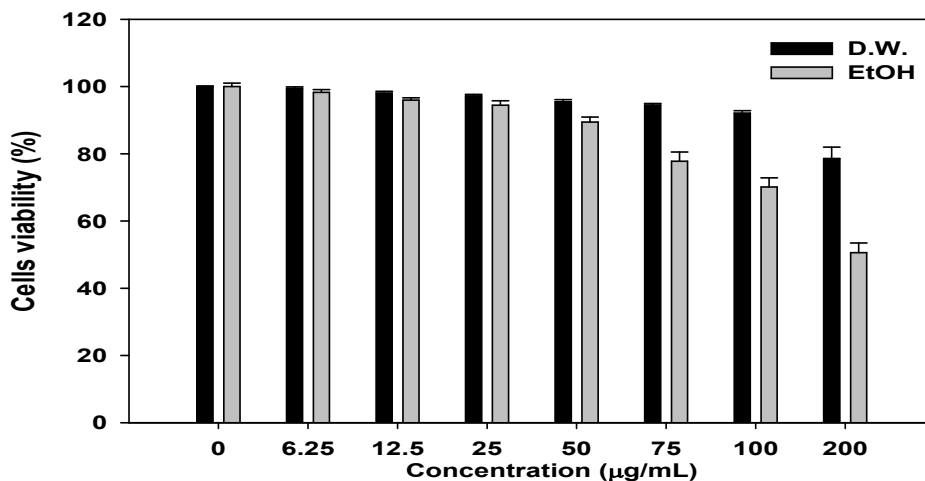
<허브자원 10종 에탄올 추출물의 엘라스타아제 억제 활성(n=3)>

○ 보습 효능

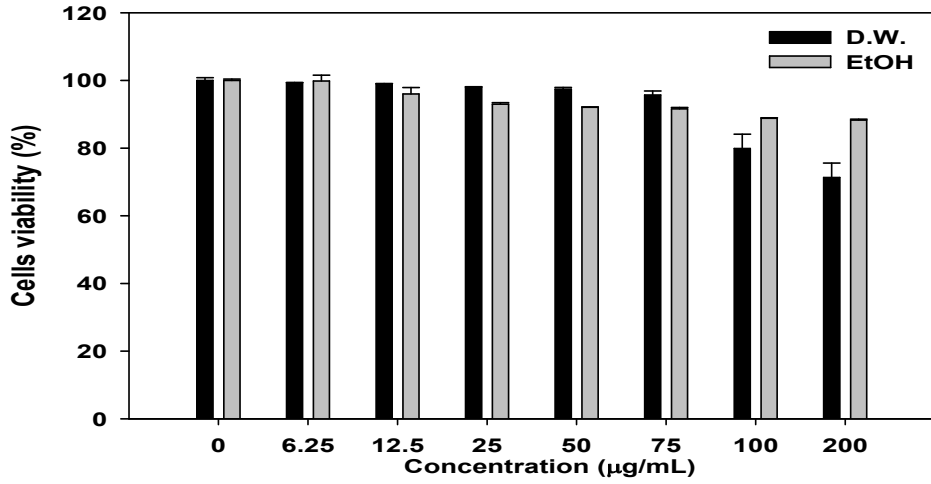
- 세포배양 : 본 실험에 사용된 피부각질 세포주인 HaCaT 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하였음.
- 세포독성 : 허브자원 10종에 대한 세포독성을 확인하기 위해 96 well plate에 5×10⁴ cells/mL로 분주한 후 24시간 동안 배양하고, 시료를 처리한 뒤 48시간 뒤에 MTT assay를 실행하였음. 세포독성 측정에는 cell viability assay kit (EZ-Cytox, Dogen, Seoul, Korea)를 이용하였고, 모든 well에 MTT 용액 10 μL를 가해주고 다시 37°C, 5% CO₂에서 4시간 배양한 뒤 흡광도 측정을 위해 1분 정도 부드럽게 shaking을 한 뒤 microplate reader (Tecan, Seestrasse, Männedorf, Switzerland)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 히알루론산 생성능 측정 : 허브자원 10종에 대한 히알루론산 분비능을 측정하기 위해 6 well plate에 2×10⁵ cells/mL로 분주한 후 24시간 동안 배양하고, serum free DMEM (High) 배지로 2번 세척한 후 serum free DMEM (High) 배지로 교체하고 시료를 48시간 처리하였음. 48시간 후에 350 μL의 media를 걷어내었고 15,000 xg에서 5분간 원심분리하고 상층액을 걷어내어 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 수행할 때 까지 -20°C에서 보관하였음. ELISA는 hyaluronic acid (HA) sandwich ELISA kit (echelon, Salt Lake City, UT, USA)를 이용하였으며 제조사에서 제공한 방법에 의해 진행하였음.
- 통계학적 분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준오차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 Graph Pad Instat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 *p* < 0.05 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

○ 보습 효능 측정 결과

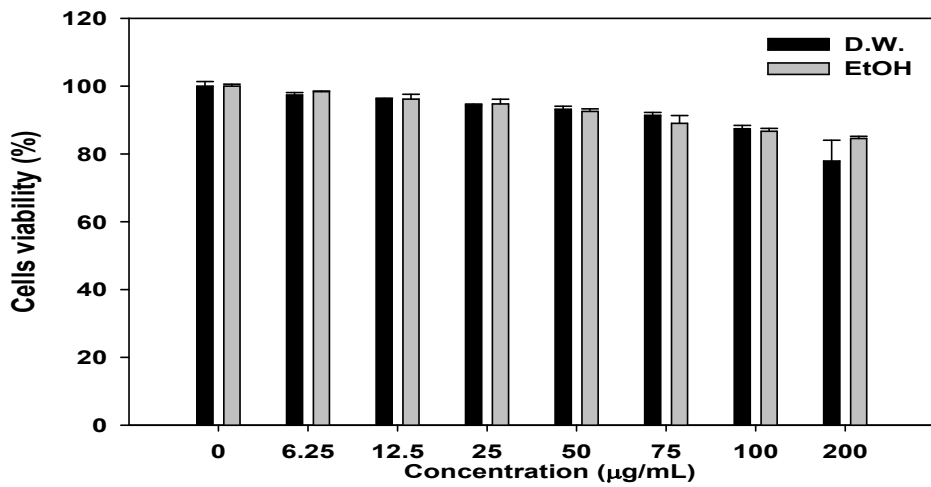
- 세포독성 : 허브자원 10종에 대한 세포독성을 확인하기 위하여 6.25~200 μg/mL의 농도로 48시간 처리한 후 세포독성을 측정한 결과, 라벤더, 레몬그라스, 캐모마일, 흰민들레 물 추출물, 자소엽, 곤달비 물 및 에탄올추출물, 감국, 구절초, 찔레 에탄올 추출물 농도 200 μg/mL, 레몬그라스와 찔레 물 추출물 농도 100 μg/mL, 라벤더와 와송 에탄올 추출물 농도 75 μg/mL에서 80%의 세포생존율을 나타냈음.



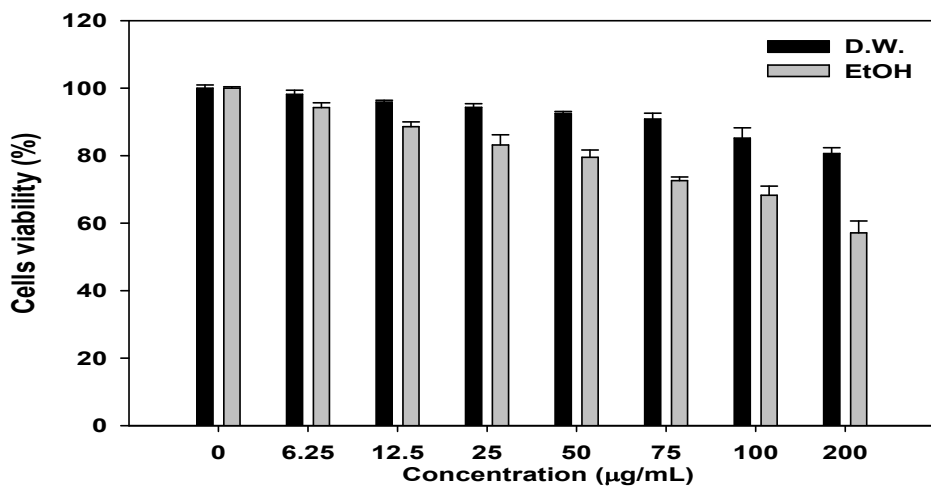
<피부각질 세포주에서 라벤더 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



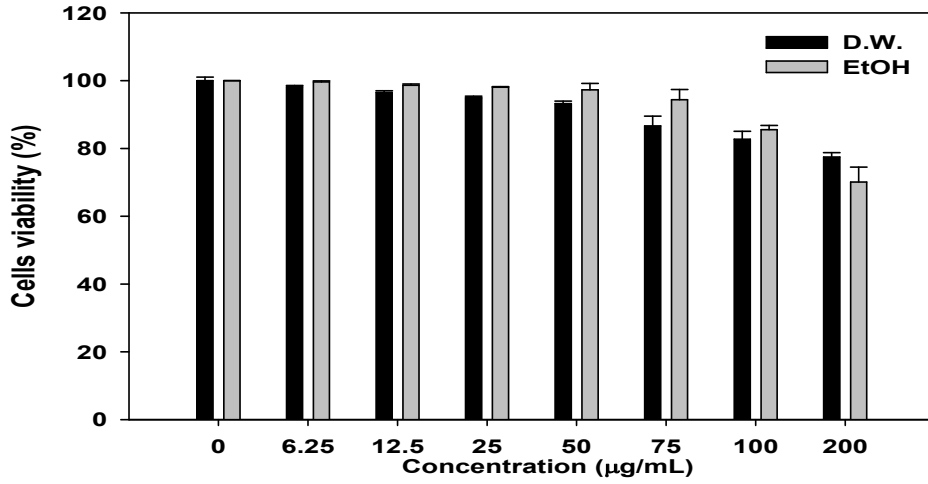
<피부각질 세포주에서 레몬그라스 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



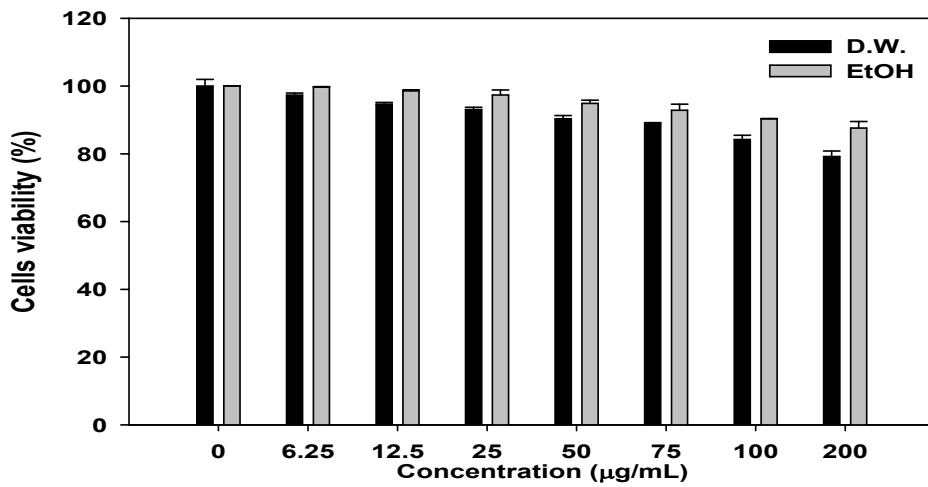
<피부각질 세포주에서 캐모마일 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



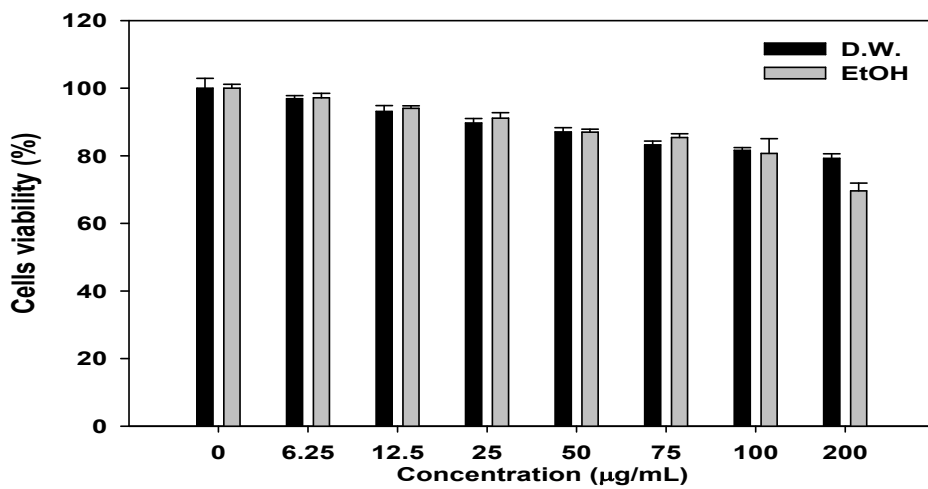
<피부각질 세포주에서 와송 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



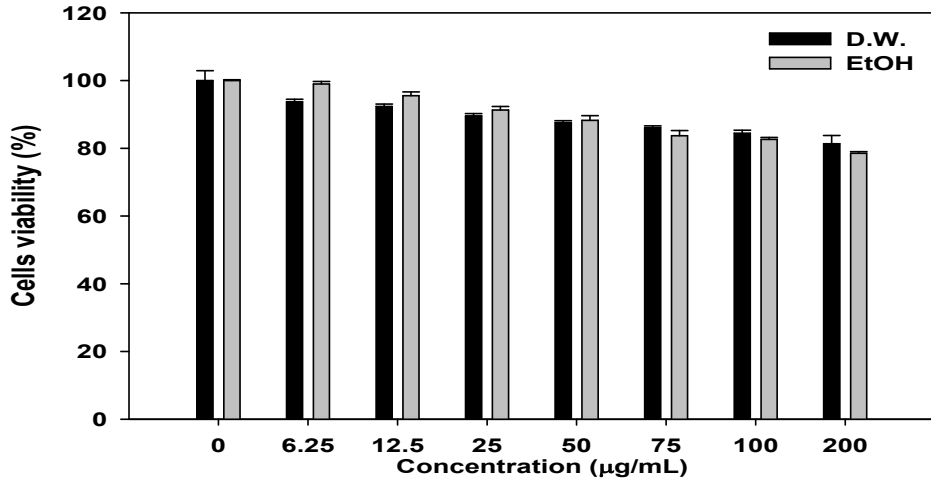
<피부각질 세포주에서 자소엽 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



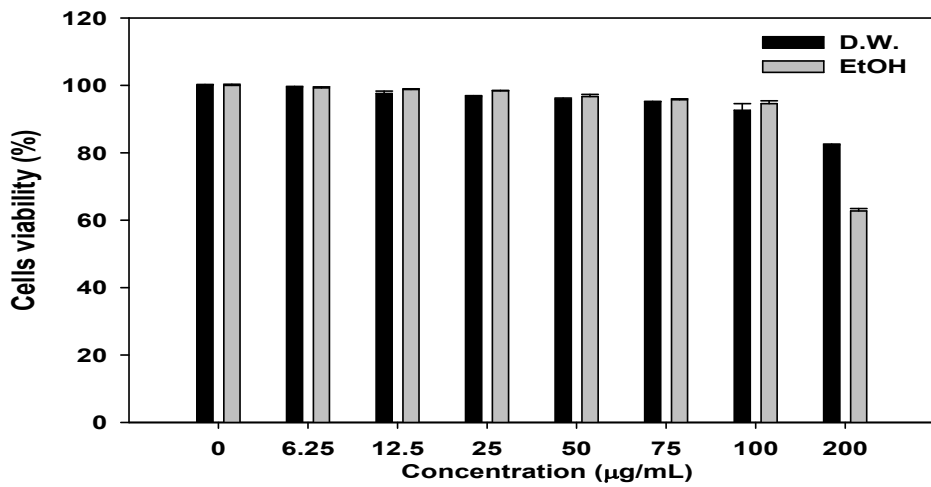
<피부각질 세포주에서 현민들레 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



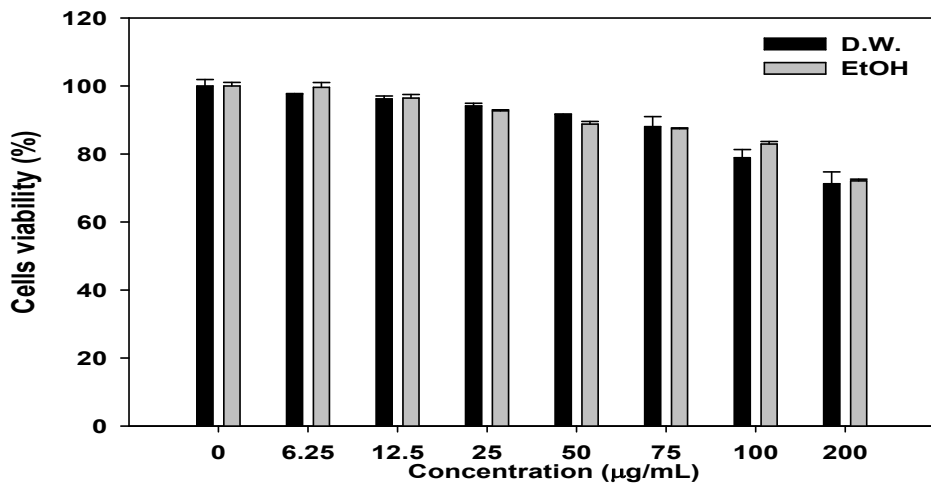
<피부각질 세포주에서 곤달비 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<피부각질 세포주에서 감국 추출물의 세포독성 측정(n=3)>



<피부각질 세포주에서 구절초 추출물의 세포독성 측정(n=3)>

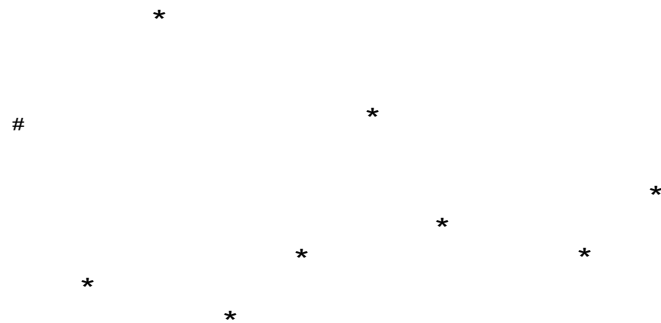


<피부각질 세포주에서 찔레 추출물의 세포독성 측정(n=3)>

- 히알루론산 생성능 측정 : 허브자원 10종에 대한 히알루론산 생성능을 확인하기 위하여 각각의 시료를 50 µg/mL 농도로 시료를 48시간 처리한 후 히알루론산 생성능을 측정한 결과, 양성대조군인 retinoic acid (RA)는 대조군에 비해 히알루론산 생성량이 6.7배 증가하였고, 라벤더, 레몬그라스, 캐모마일, 찔레, 구절초, 흰민들레, 자소엽, 곤달비, 감국 물 추출물은 대조군에 비해 각각 5.1배, 5.1배, 3.8배, 3.8배, 3.5배, 3.2배, 3.0배, 2.7배, 2.4배의 히알루론산 생성능이 증가하였고, 레몬그라스, 자소엽, 구절초, 흰민들레, 와송, 감국, 라벤더, 캐모마일 에탄올 추출물은 대조군에 비해 각각 8.5배, 6.1배, 5.4배, 4.8배, 4.1배, 3.8배, 3.2배, 2.7배의 히알루론산 생성능이 증가율을 나타냈음. 결론적으로 레몬그라스, 자소엽, 구절초 에탄올 추출물이 가장 강력한 히알루론산 생성 증가율을 보였음.



<피부각질 세포주에서 허브자원 10종 물 추출물의 히알루론산 생성능(n=3)>
[#]*p* < 0.05, **p* < 0.05, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부각질 세포주에서 허브자원 10종 에탄올 추출물의 히알루론산 생성능(n=3)>
[#]*p* < 0.05, **p* < 0.05, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

다. 우석대학교 산학협력단(제2협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2017)	남원지역 특화자원의 지표성분 표준화 및 밸류체인	지표(유효) 성분 표준화	○ 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량	- 허브자원 10종의 추출물 20 종에 대한 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량
			○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 탐색 및 설정	- 문헌검색 및 HPLC 분석에 의한 허브자원 10종의 지표성분 탐색 및 설정
			○ 지표(유효)성분 분석법 확립	- 허브자원 10종 추출물중 HP - LC 분석법 및 LC-MS 분석법 10건 확립
			○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 method validation	- 지표성분의 method validation 1건 수행 중
		○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 정량	- HPLC 및 LC-MS에 의한 허브 자원 10종의 지표성분 정량	
생리활성탐색 (항산화)	○ 생리활성탐색(항산화)	- 허브자원 10종의 추출물 20 종에 대한 DPPH 저해 활성 분석		

1) 지표(유효)성분 표준화

○ 이화학적 특성 : 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량

○ 총 폴리페놀 함량(TPC)

- 추출물을 1 mg/mL 농도로 stock solution을 제조한 후 적절한 농도로 재조정된 용액 0.1 mL에 7% Na₂CO₃ 용액 2 mL를 혼합하고 3분 후, 1 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent를 0.1 mL 첨가한 혼합 용액을 실온에서 30분 동안 반응함.
- 반응액을 UV/Vis spectrophotometer로 725 nm에서 흡광도를 측정함.

*표준물질은 Tannic acid를 사용하여 검량선을 구함(Tannic acid는 70% MeOH에 녹인 10 mg/mL 농도의 stock solution을 희석하여 사용).

<허브자원 10종의 총 폴리페놀 함량>

Sample Name	Total Polyphenol content (mg/g)	
	Water extract	50% Ethanol extract
라벤더	18.21±9.02	36.79±8.09
레몬그라스	ND	49.07±7.54
캐모마일	ND	38.52±6.83
와송	1.05±0.29	35.94±3.87
자소엽	10.15±0.86	28.88±2.7
흰민들레	ND	ND
곤달비	ND	3.03±1.22
감국	30.9±13.070	134.02±19.48
구절초	89.89±6.34	148.00±28.23
쥘레	555.16±14.23	554.39±60.77

- 결과 : 허브자원 10종의 물 추출물 및 50% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과 쥘레는 물 추출물 및 50% 에탄올 추출물에서 각각 555.16 ± 14.23 mg/g, 554.39 ± 60.77 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였고, 전체적으로 물 추출물 보다 50% 에탄올 추출물에서 높은 함량을 보였음.

- 총 플라보노이드 함량(TFC)
- Sample을 50% MeOH을 사용하여 200배 희석 (total volume: 10 μ L)
- diethylene glycol 100 μ L를 넣고 혼합한 후 1N NaOH 10 μ L를 넣음
- 37°C water bath에서 1시간 방치
- 96well Plate에 100 μ L씩 옮긴 후 420 nm 측정
- *표준물질은 Quercetin을 사용하여 검량선을 구함.

<허브자원 10종의 총 플라보노이드 함량>

Sample Name	Total Flavonoid content (mg/g)	
	Water extract	50% Ethanol extract
라벤더	ND	33.41±25.90
레몬그라스	130.60±55.35	463.83±53.65
캐모마일	136.89±37.46	492.05±63.14
와송	25.84±0.0020	172.76±0.0035
자소엽	67.64±0.0700	135.32±0.0015
흰민들레	27.63±0.0035	58.05±0.002
곤달비	26.04±0.0015	74.15±0.0065
감국	92.67±40.22	269.00±53.85
구절초	446.84±43.19	616.84±72.71
쥬레	481.53±64.20	806.74±71.74

- 허브자원 10종의 물 추출물 및 50% 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과 쥬레는 물 추출물 및 50% 에탄올 추출물에서 각각 481.5 ± 64.20 mg/g, 806.74 ± 71.74 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였고, 구절초는 각각 446.84 ± 43.19 mg/g, 616.84 ± 72.71 mg/g의 함량을 보였음. 전체적으로 물 추출물 보다는 50% 에탄올 추출물에서 높은 함량을 보였음.

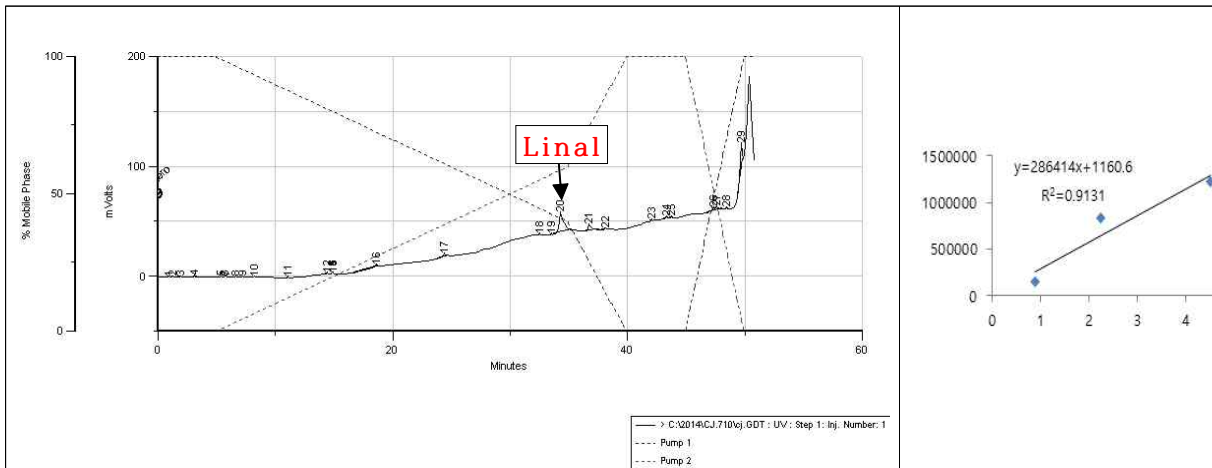
○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 탐색 및 설정

- HPLC 분석에 의한 지표(유효)성분 탐색 및 설정
- 문헌조사를 통해 예측하여 선정된 지표성분을 탐색 후 Linalool, Rutin, Chologenic acid, *p*-coumaric acid, Epicatechin gallate, Gallic acid, Syringic acid, Neo-chlorogenic acid, Rosmarinic acid, Myricetin, Quercitrin, Astragalol 등을 분석하였으며 아래 표와 같이 Myricetin을 제외한 각각의 표준 검량선을 구할 수 있었음.

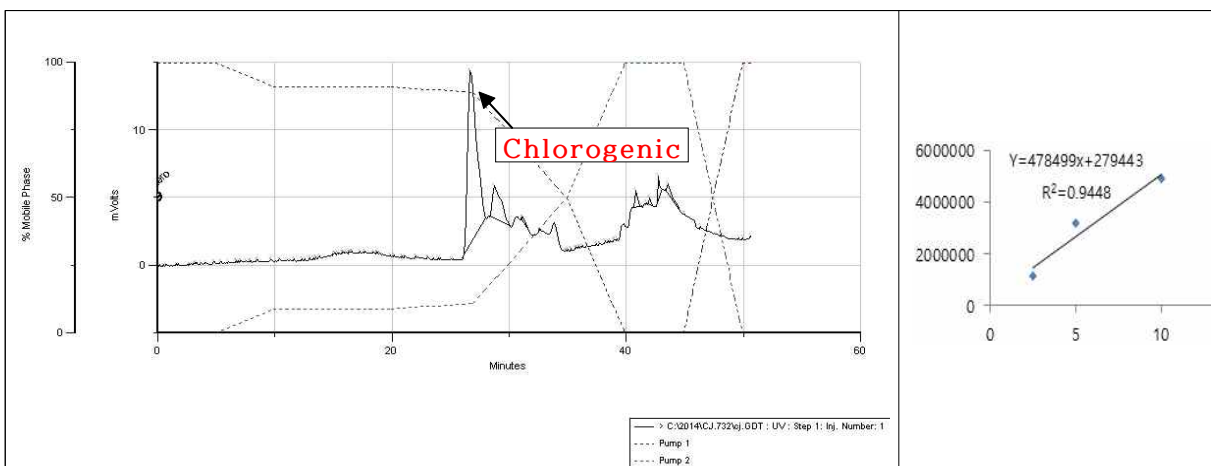
<HPLC 분석에 의한 지표성분 표준물질 분석>

Expected Compound	Equation	R ²
Linalool	Y=286414x+1160.6	0.913
Chlorogenic acid	Y=478499x+279443	0.944
p-coumaric acid	Y=2635.3x-11140	0.997
Rutin	Y=909581x-4e+06	0.912
Epicatechin gallate	Y=2e+06x-2e+06	0.978
Rosemarinic acid	Y=348014x-140468	0.9884
Syringic acid	Y=578.16x-26075	0.973
Neo-chlorogenic acid	Y=151823x-681554	0.996
Myricetin	ND	ND
Quercitrin	Y=31045x+1E+06	0.935
Astragalin	Y=1087.2x-27091	0.997

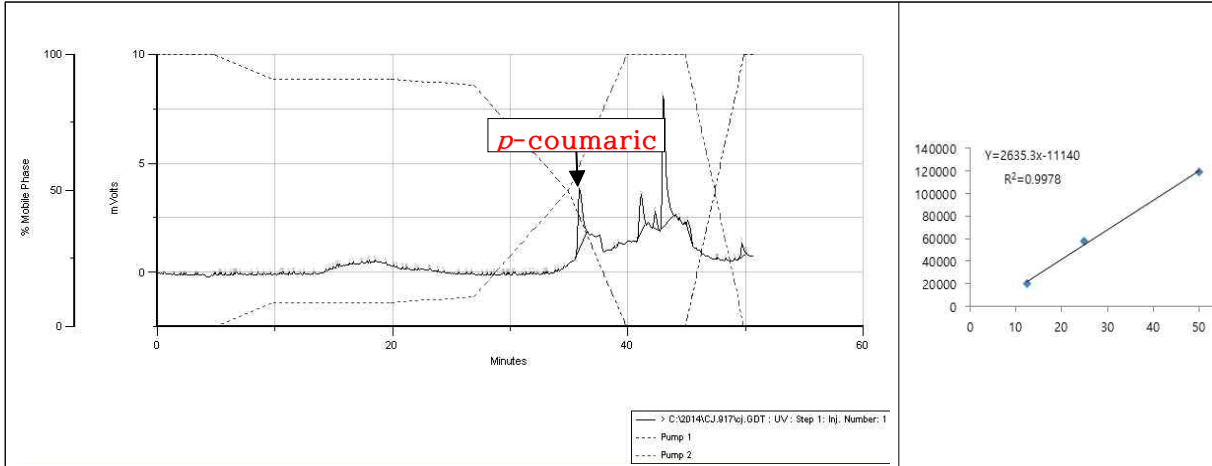
- 표준물질 : Linalool



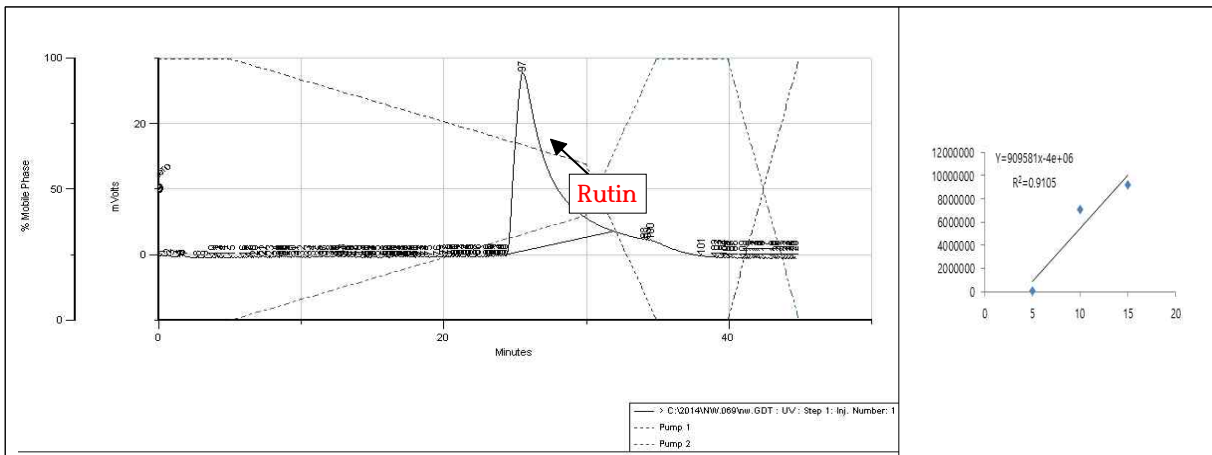
- 표준물질 : Chlorogenic acid



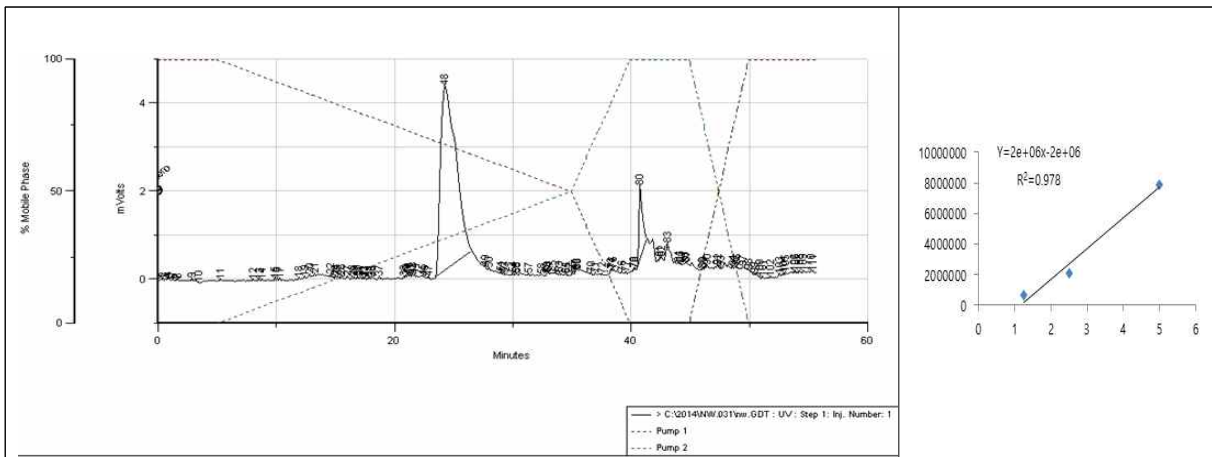
- 표준물질 : *p*-coumaric acid



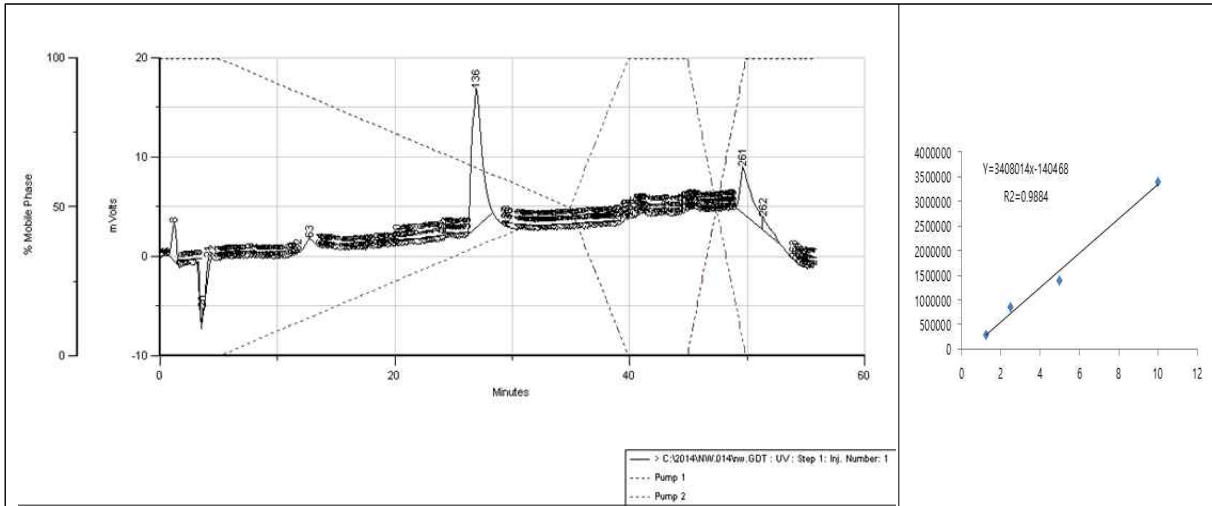
- 표준물질 : Rutin



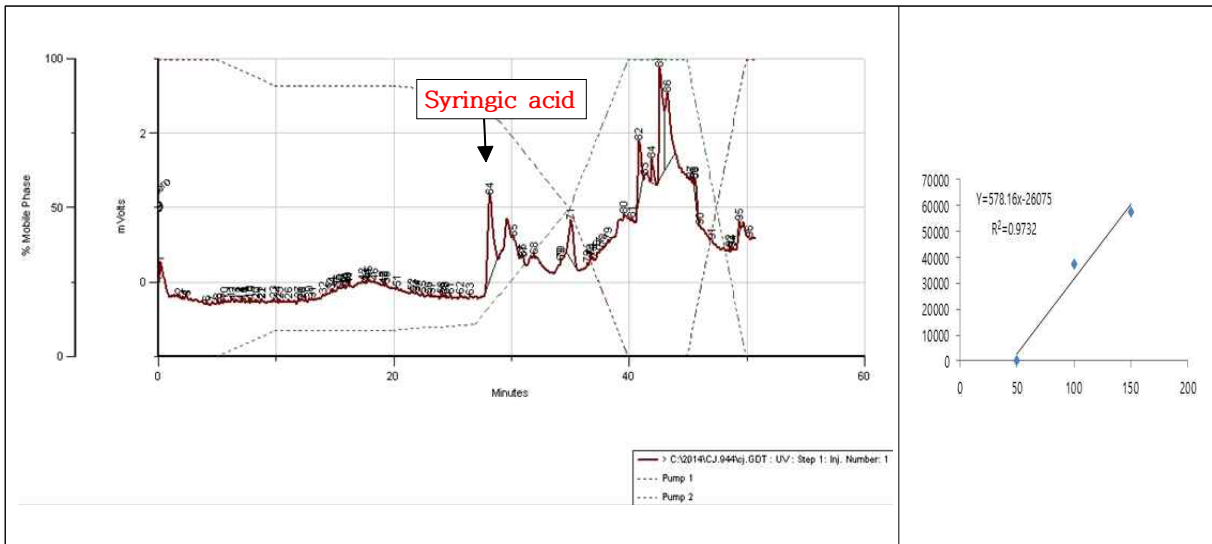
- 표준물질 : Epicatechin gallate



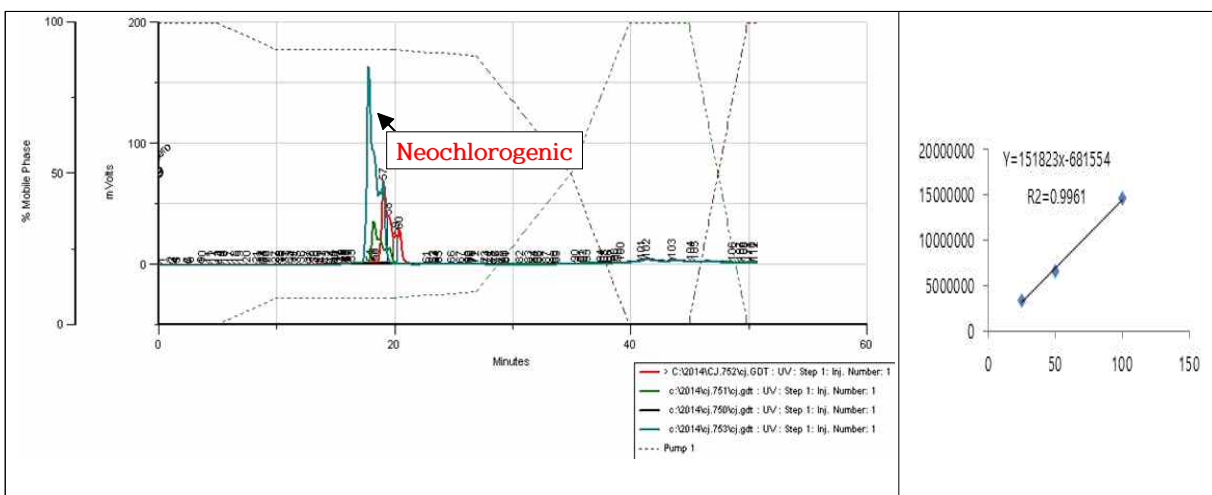
- 표준물질 : Rosmarinic acid



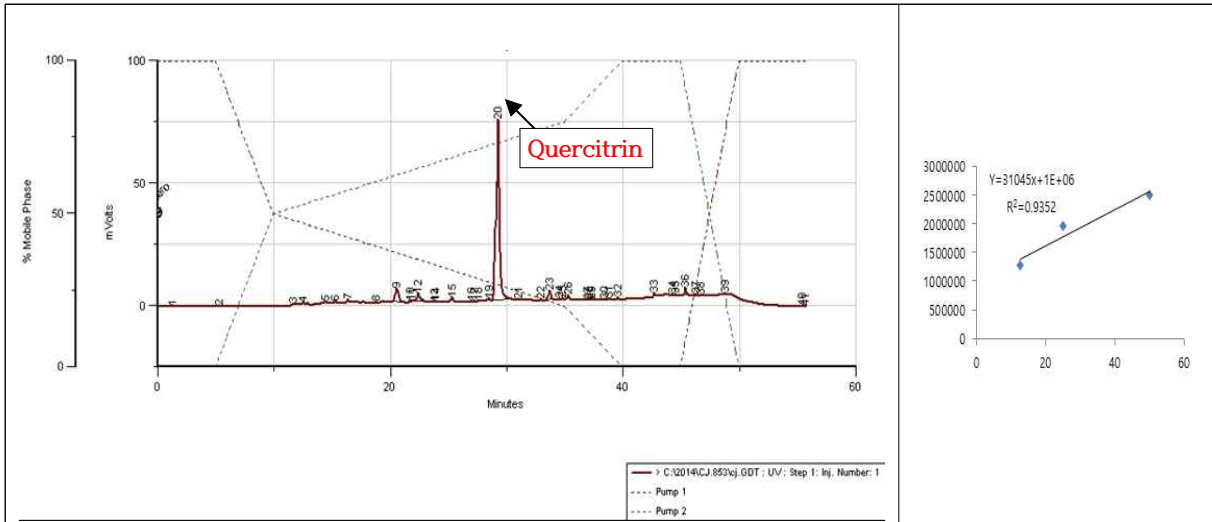
- 표준물질 : Syringic acid



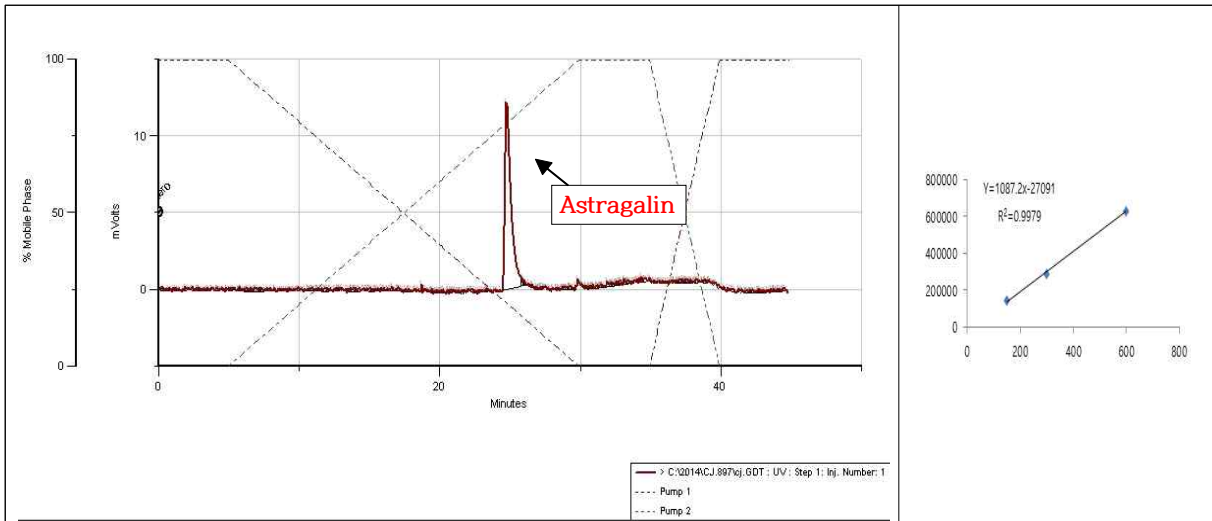
- 표준물질 : Neochlorogenic acid



- 표준물질 : Quercitrin



- 표준물질 : Astragalin



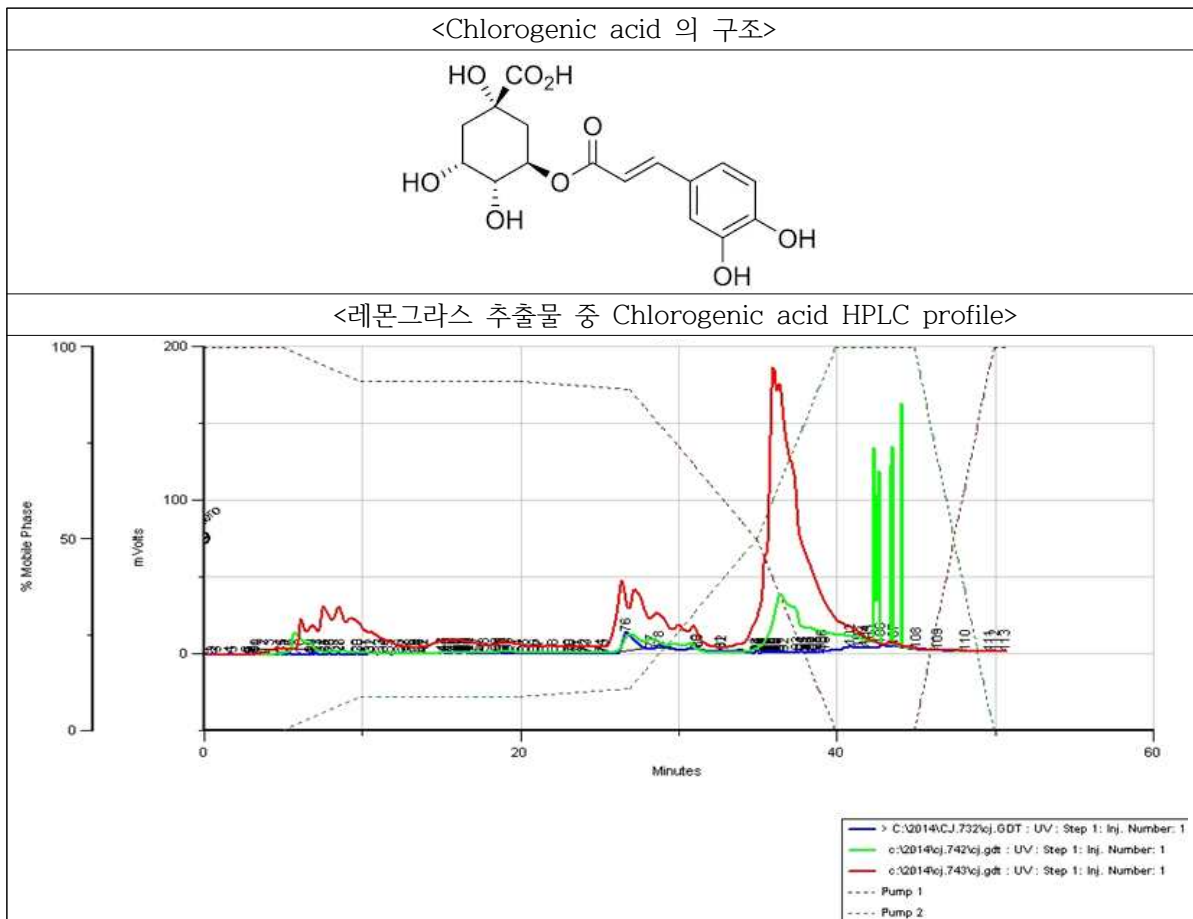
- HPLC에 의해 허브자원 10종의 50% 에탄올 추출물을 분석하여 그 지표성분의 함량을 확인한 결과, 아래 표와 같이 레몬그라스, 자소엽, 곤달비, 구절초, 찔레 추출물에서 각각 그 지표성분인 Chologenic acid, Rosmarinic acid, Chologenic acid, Quercitrin, Astragaline을 확인할 수 있었음.

<허브자원 10종의 50% 에탄올 추출물의 지표성분 탐색 및 5종 추출물의 지표성분 설정>

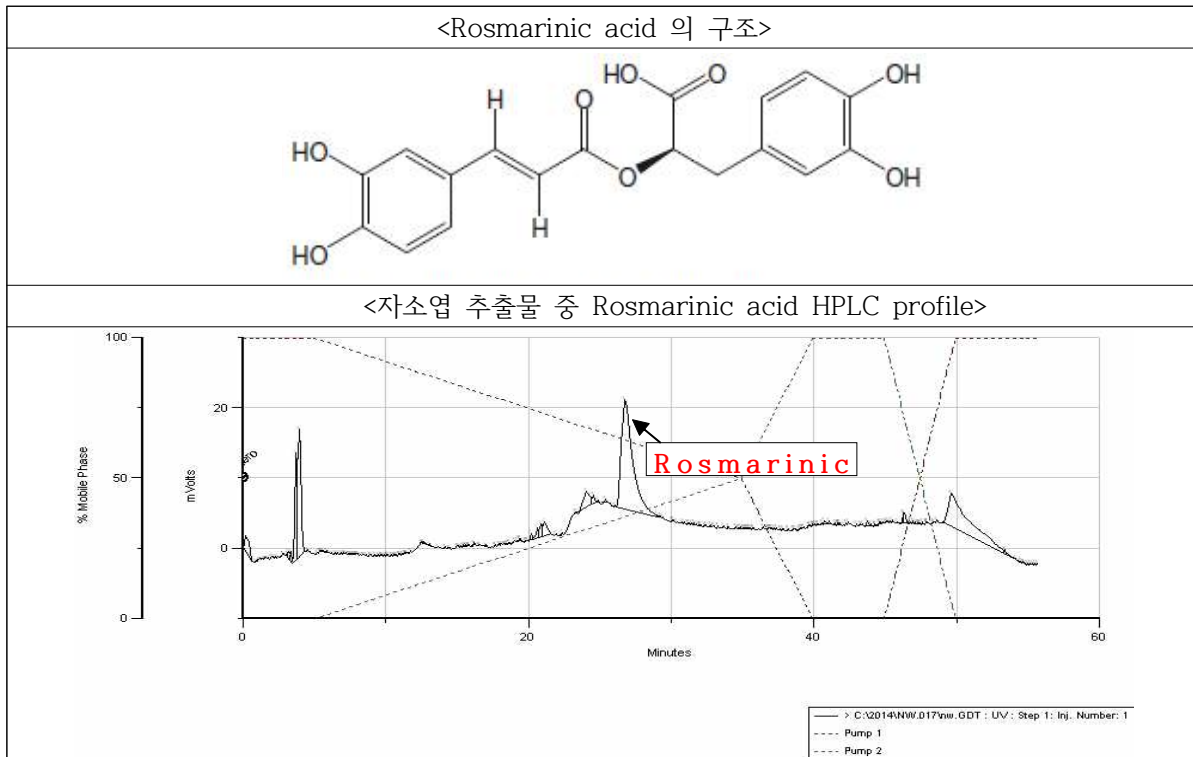
Sample name	Expected Compound	Contents(mg/g)
라벤더	Linalool	ND
레몬그라스	Chlorogenic acid	5.24
	p-coumaric acid	ND
캐모마일	Rutin	ND
와송	Epicatechin gallate	ND
자소엽	Rosemarinic acid	45.99
흰민들레	Syringic acid	ND
곤달비	Chlorogenic acid	5.87
	Neo-chlorogenic acid	ND
감국	Myricetin	ND
구절초	Quercetrin	27.16
찔레	Astragalin	28.2

- 문헌조사에 의해 감국의 지표성분으로 예측하여 선정된 Myricetin의 표준품 분석을 수행하였으나 표준 검량선을 얻을 수 없었음. 다른 지표성분 또는 다른 분석법을 검토할 필요가 있음.
- 감국을 비롯하여 HPLC 분석을 통해 그 지표성분을 설정하지 못한 다른 소재 5종의 50% 에탄올 추출물에 대해서는 LC-MS 분석을 통하여 그 지표성분을 설정하고자 하였음.

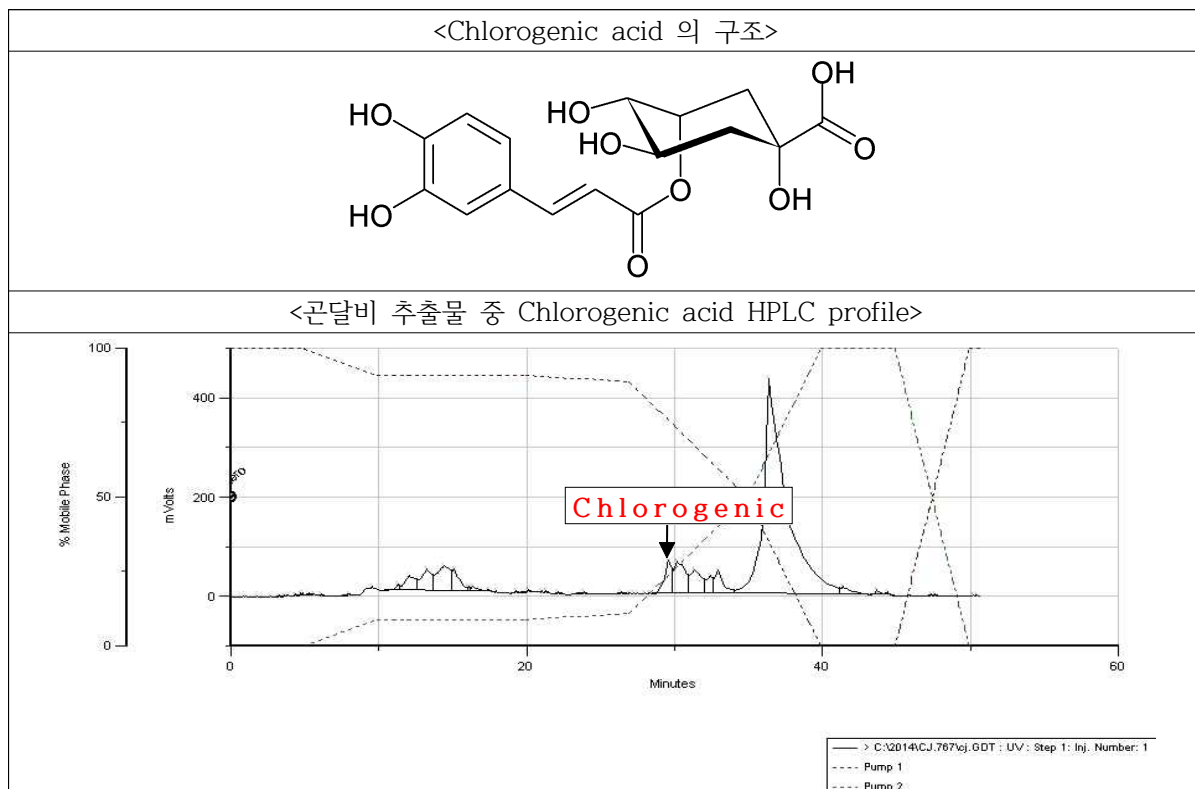
- 레몬그라스 추출물의 지표성분 Chlorogenic acid 구조와 HPLC profile



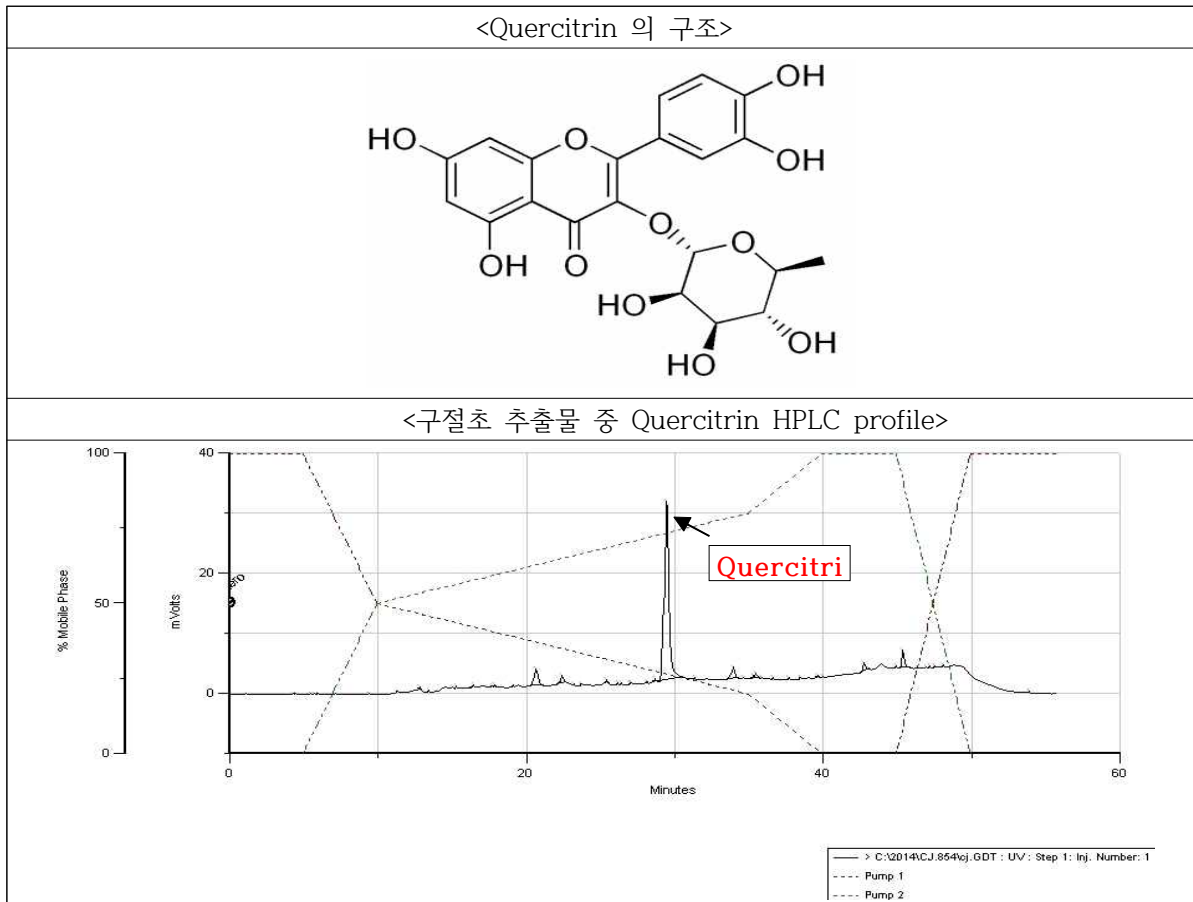
- 자소엽 추출물의 지표성분 Rosmarinic acid 구조와 HPLC profile



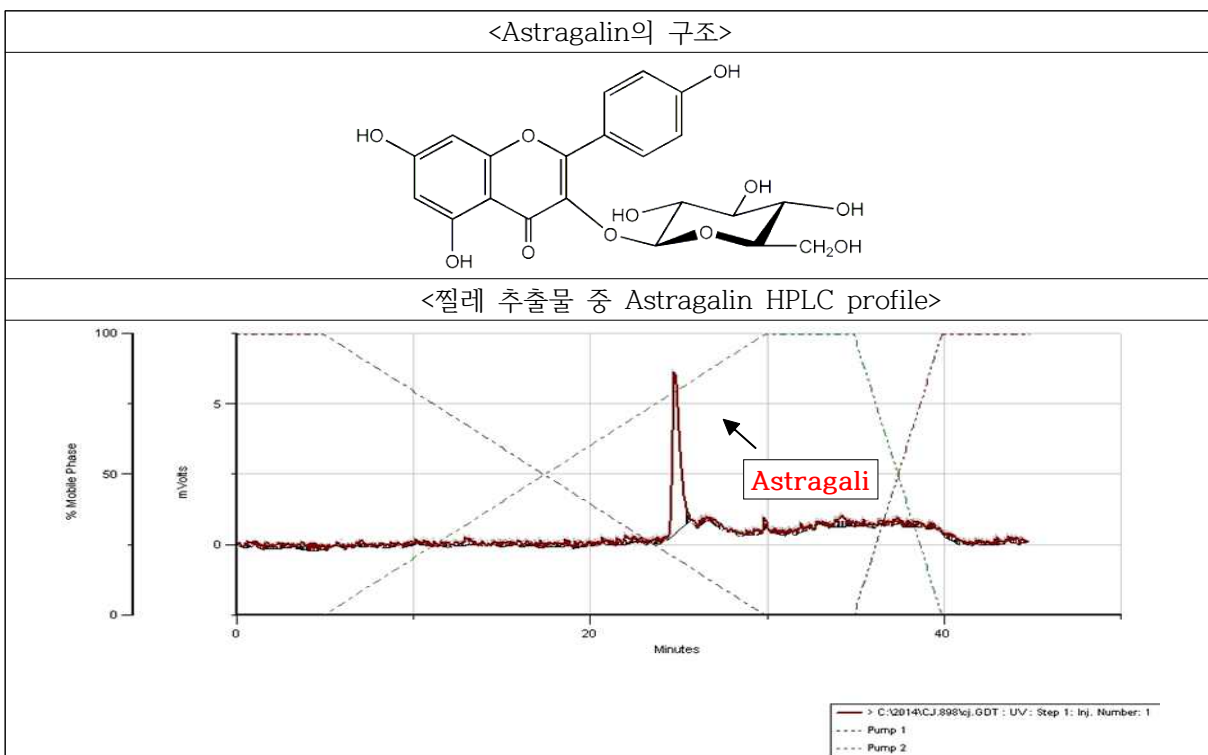
- 곤달비 추출물의 지표성분 Chlorogenic acid 구조와 HPLC profile



- 구절초 추출물의 지표성분 Quercitrin 구조와 HPLC profile



- 찔레 추출물의 지표성분 Astragalin 구조와 HPLC profile



- LC-MS 분석에 의한 지표(유효)성분 탐색 및 설정
- 먼저 지표성분으로 예측하여 선정한 표준 물질 Rosmarinic acid, Chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, Astragalín, Epicatechin gallate, Quercitrin, Luteolin, Syringic acid, Rutin, Myricetin 등을 분석하였으며 아래 표와 같이 각각의 표준 검량선을 구할 수 있었음.

< LC-MS 분석에 의한 예측 지표성분 표준물질 분석 >

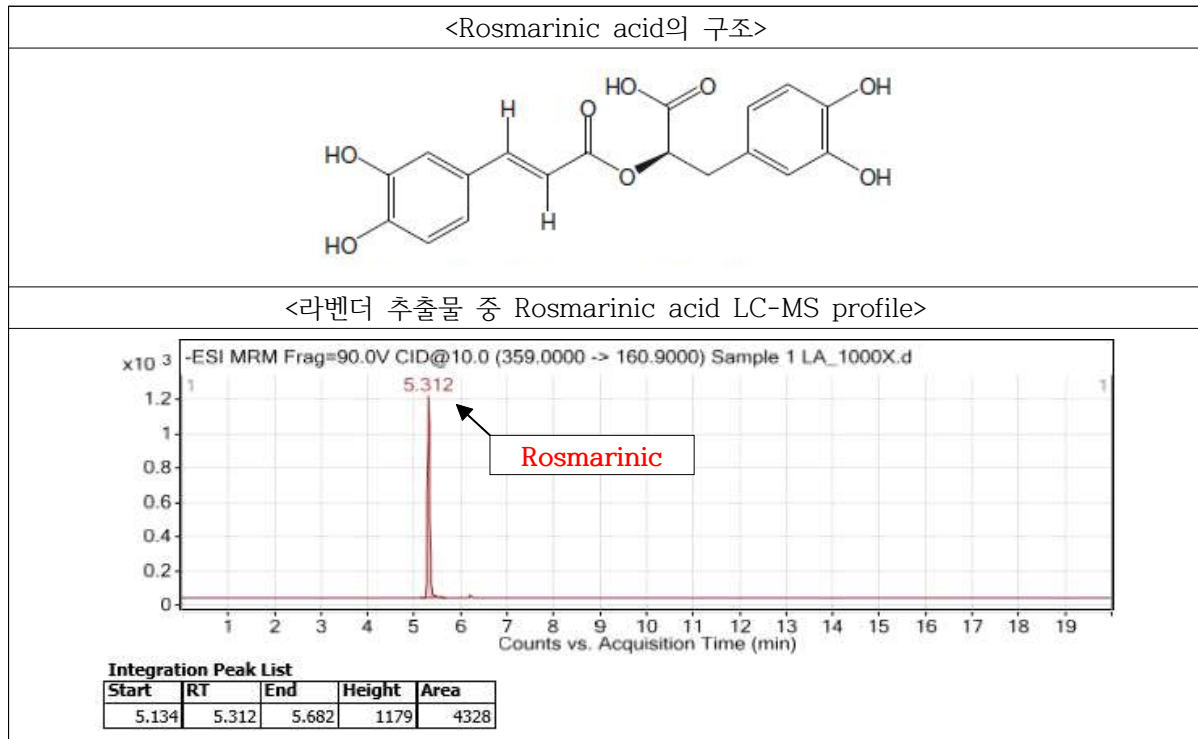
Expected compound	Equation	R ²
Rosmarinic acid	Y=6.9481x+49.926	0.999
Chologenic acid	Y=10.591x+41.268	0.999
<i>p</i> -coumaric acid	Y=34.743x+466.83	0.998
Astragalín	Y=1.6012x+326.65	0.997
Epicatechin gallate	Y=0.2306x+38.908	0.998
Quercitrin	Y=1.3736x+23.44	0.999
Luteolin	Y=5.2349x+117	0.998
Syringic acid	Y=2.9281x+3.9444	1.000
Rutin	Y=0.7611x+111.97	0.998
Myricetin	Y=2.6282x+5.5556	1.000

- 한편, Linalool, Gallic acid, Neo-chlorogenic acid, Apigenin-7-glucoside 등은 가용화 되지 않아 분석을 수행할 수 없었음.
- LC-MS에 의해 허브자원 10종의 50% 에탄올 추출물을 분석하여 그 지표성분의 함량을 확인한 결과, 아래 표와 같이 Rosmarinic acid, Chologenic acid, *p*-coumaric acid, Astragalín, Quercitrin, Epicatechin gallate, Luteolin, Chologenic acid, Syringic acid, Rutin 등을 확인할 수 있었음.
- 감국의 지표성분으로 예측하여 선정한 Myricetin의 경우, LC-MS에 의해 표준물질 분석은 성공적으로 수행되었으나 감국에서는 검출할 수 없었음.

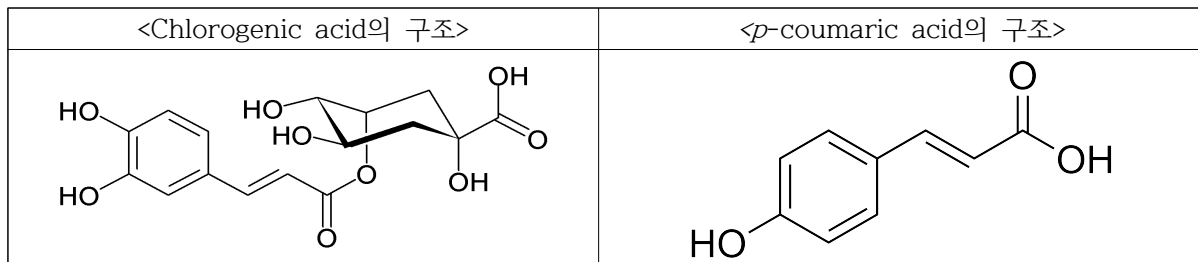
< LC-MS 분석에 의한 허브자원 10종의 50% EtOH 추출물의 지표성분 탐색 및 설정 >

No.	Sample Name	Detected Compound	Contents (mg/g)	No.	Sample Name	Detected Compound	Contents (mg/g)
1	라벤더	Rosmarinic acid	6.157	7	곤달비	Chologenic acid	4.842
2	레몬그라스	Chologenic acid	5.147			Rutin	1.343
		<i>p</i> -coumaric acid	0.175	8	감국	Astragalín	0.093
3	캐모마일	Chologenic acid	4.533			Chologenic acid	10.622
4	와송	Epicatechin gallate,	0.709			Luteolin	0.452
		Astragalín	1.525	9	구절초	Chologenic acid	6.180
		Quercitrin	1.780			Rutin	7.205
5	자소엽	Rosmarinic acid	22.640			Quercitrin	0.230
6	흰민들레	<i>p</i> -coumaric acid	0.024	10	찔레	Astragalín	40.865
		Luteolin	0.129				
		Syringic acid	0.032				

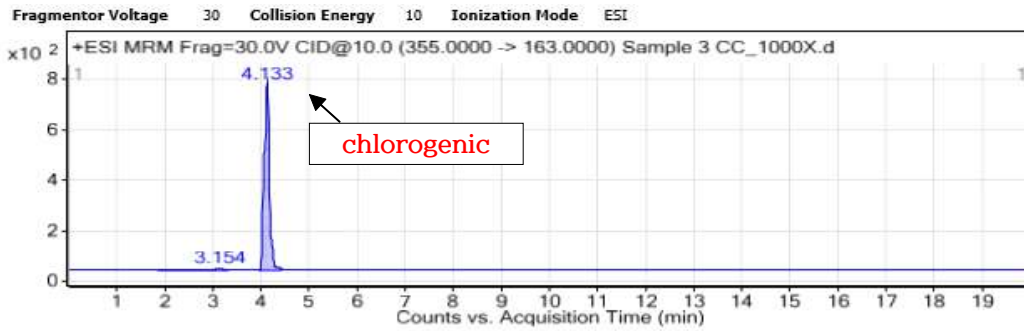
- 라벤더 추출물의 지표성분 Rosmarinic acid 구조와 LC-MS profile



- 레몬그라스 추출물의 지표성분 Chlorogenic acid, *p*-coumaric acid 구조와 LC-MS profile



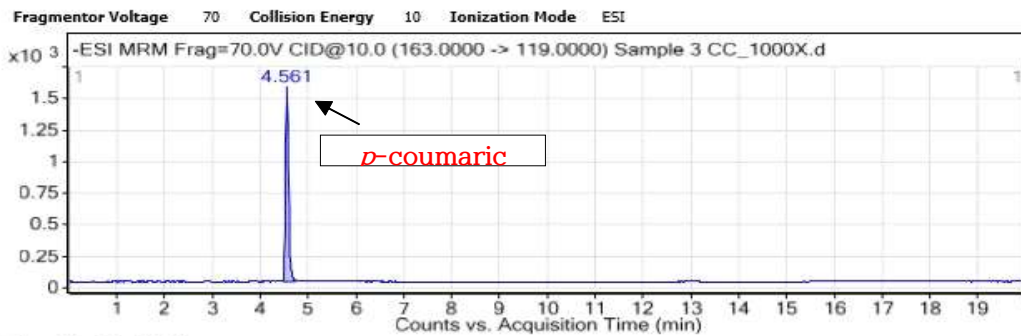
<레몬그라스 추출물 중 Chlorogenic acid LC-MS profile>



Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
1.864	3.154	3.33	7	158
3.951	4.133	4.42	742	5492

<레몬그라스 추출물 중 p-coumaric acid LC-MS profile>

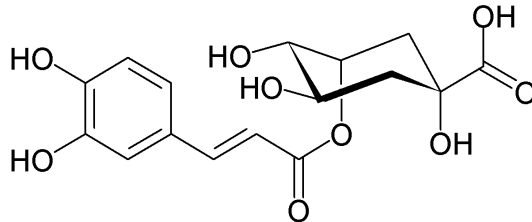


Integration Peak List

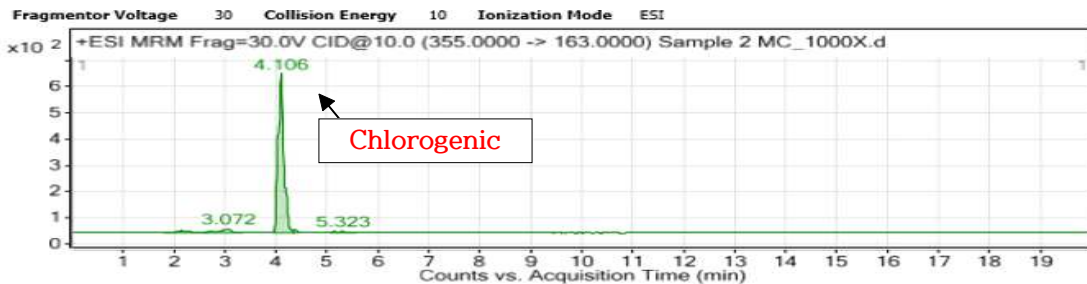
Start	RT	End	Height	Area
4.468	4.561	4.712	1543	6555

- 캐모마일 추출물의 지표성분 Chlorogenic acid 구조와 LC-MS profile

<Chlorogenic acid 의 구조>

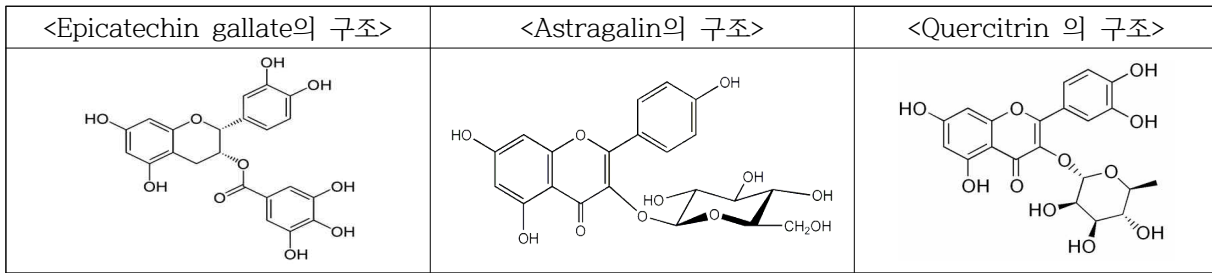


<캐모마일 추출물 중 Chlorogenic acid LC-MS profile>

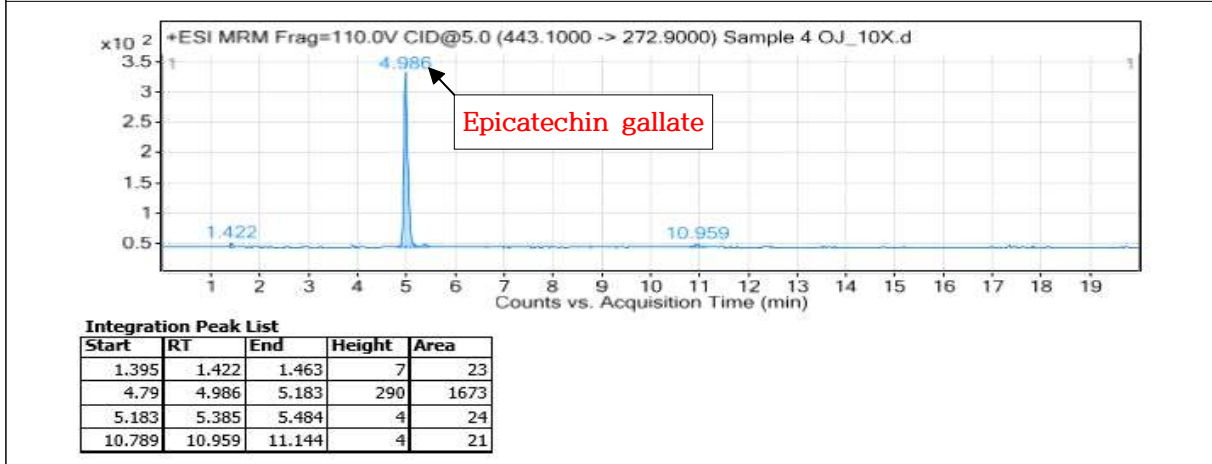


Start	RT	End	Height	Area
1.782	2.147	2.607	7	160
2.607	3.072	3.35	14	214
3.941	4.106	4.338	609	4842
4.338	4.376	4.44	11	53
5.042	5.323	5.591	5	50

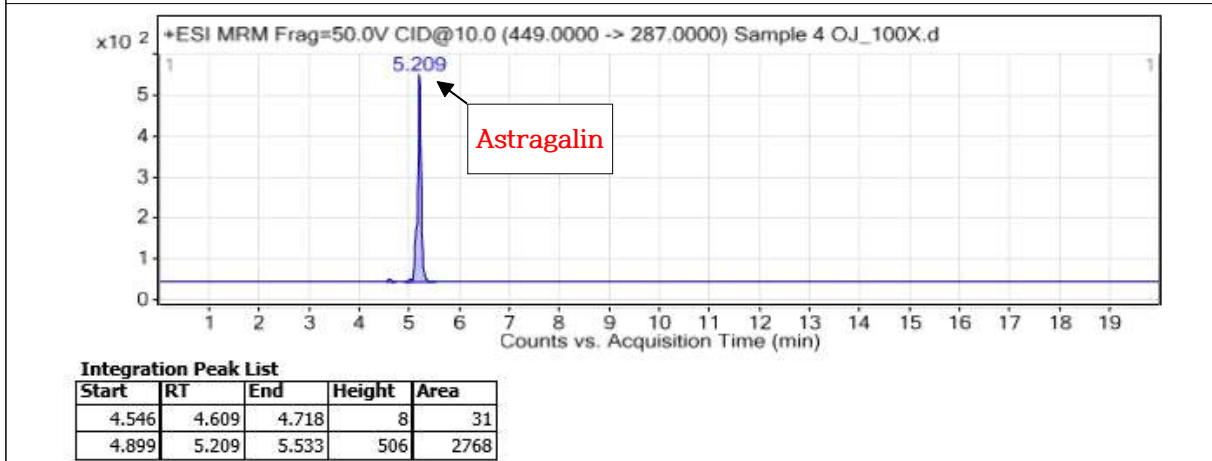
- 와송 추출물의 지표성분 Epicatechin gallate, Astragalin, Quercitrin 구조와 LC-MS profile



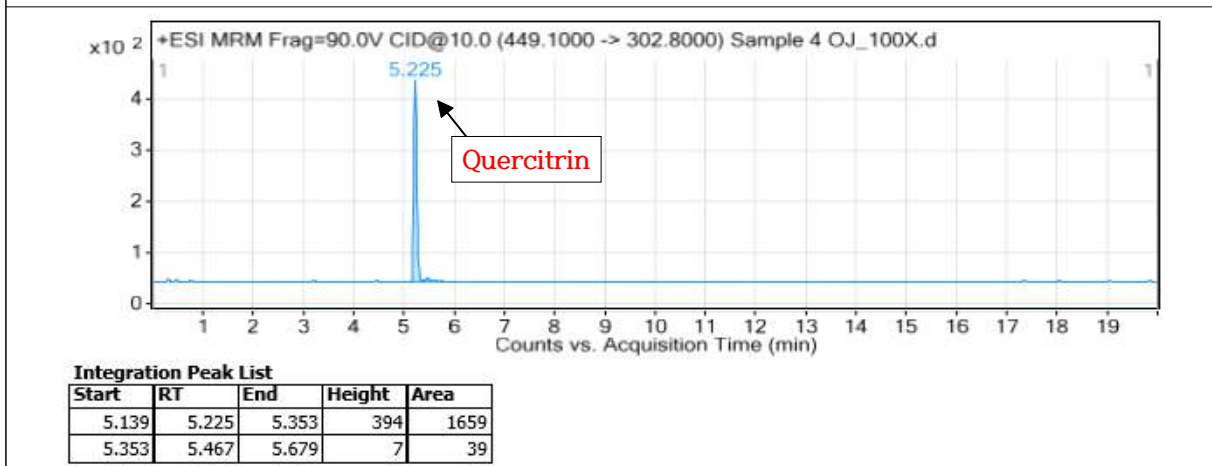
<와송 추출물 중 Epicatechin gallate LC-MS profile>



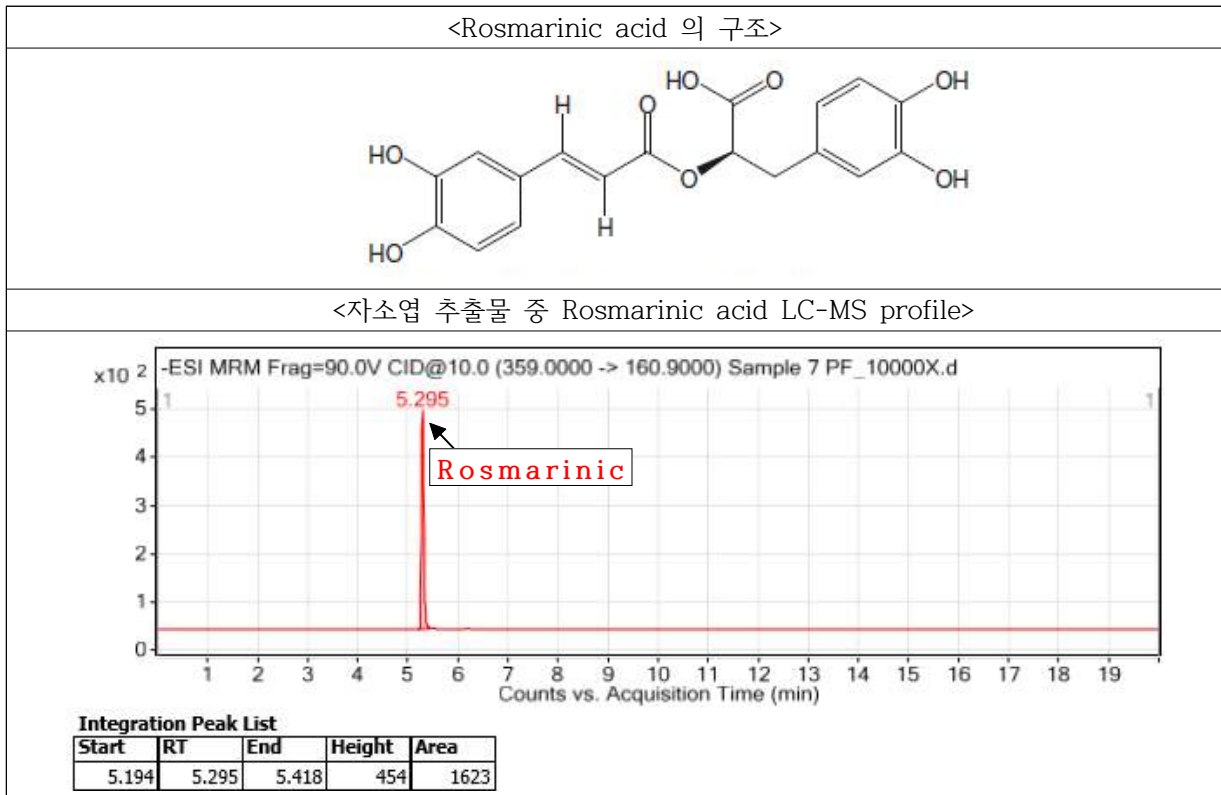
<와송 추출물 중 Astragalin LC-MS profile>



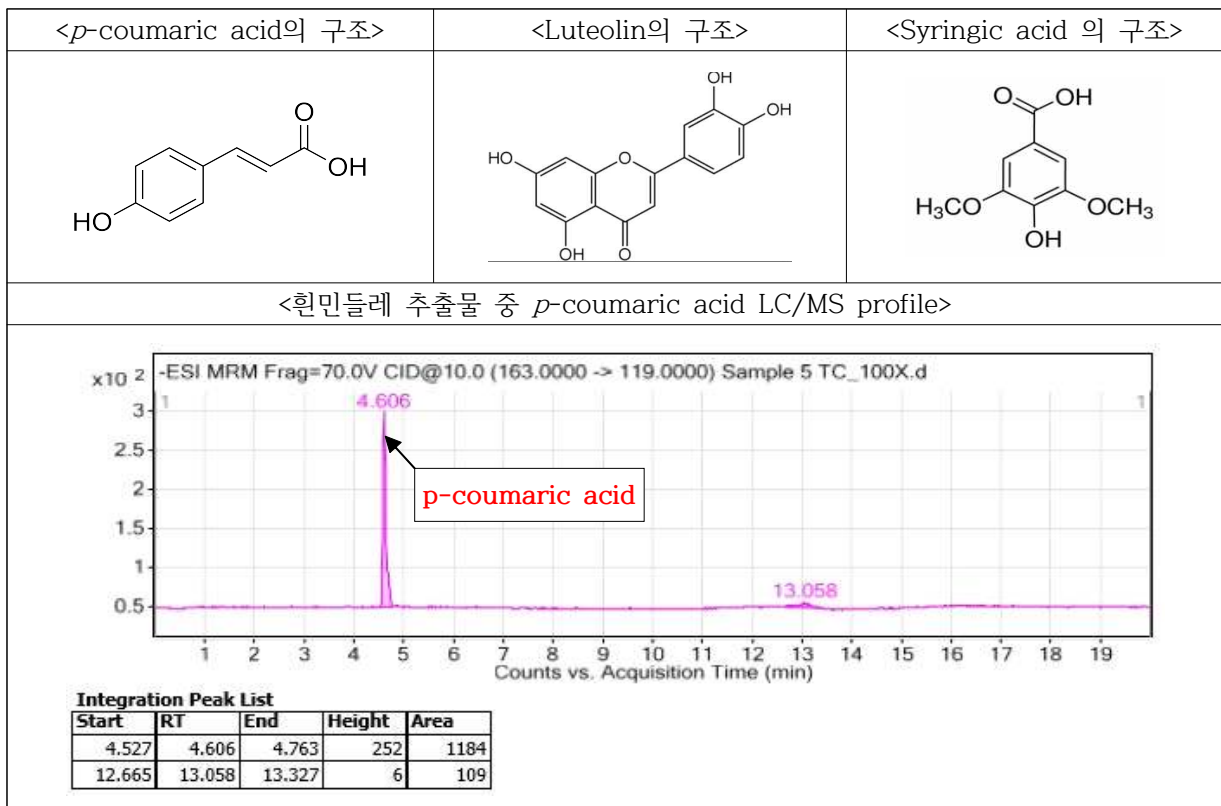
<와송 추출물 중 Quercitrin LC-MS profile>



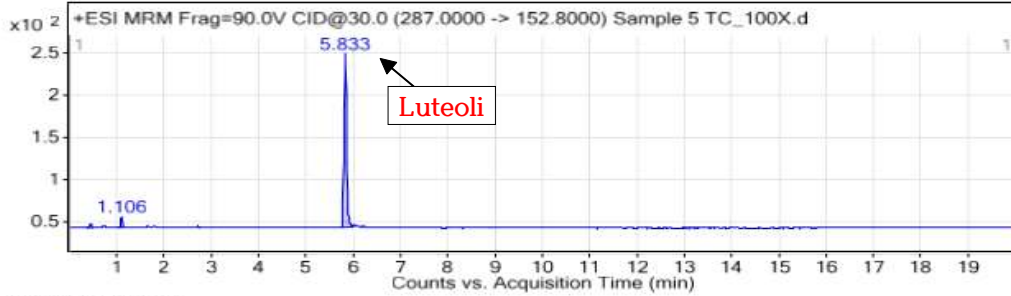
- 자소엽 추출물의 지표성분 Rosmarinic acid 구조와 LC-MS profile



- 흰민들레 추출물의 지표성분 *p*-coumaric acid, Luteolin, Syringic acid 구조와 LC/MS profile



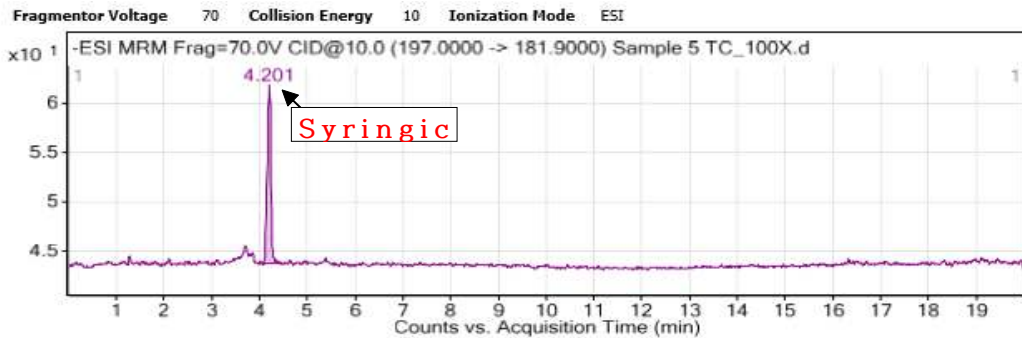
<흰민들레 추출물 중 Luteolin LC/MS profile>



Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
0.353	0.46	0.496	4	13
1.025	1.106	1.137	11	30
5.771	5.833	5.995	206	793

<흰민들레 추출물 중 Syringic acid LC/MS profile>

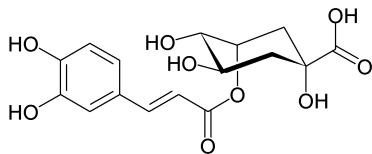


Integration Peak List

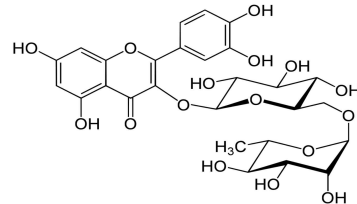
Start	RT	End	Height	Area
4.097	4.201	4.413	18	98

- 곤달비 추출물의 지표성분 Chlorogenic acid, Rutin 구조와 LC-MS profile

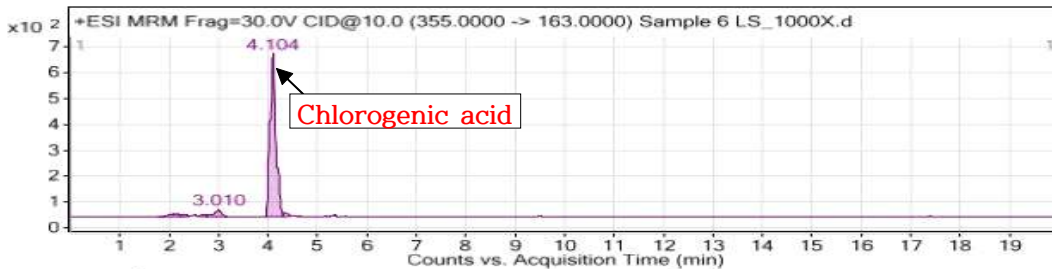
<Chlorogenic acid의 구조>



<Rutin 의 구조>



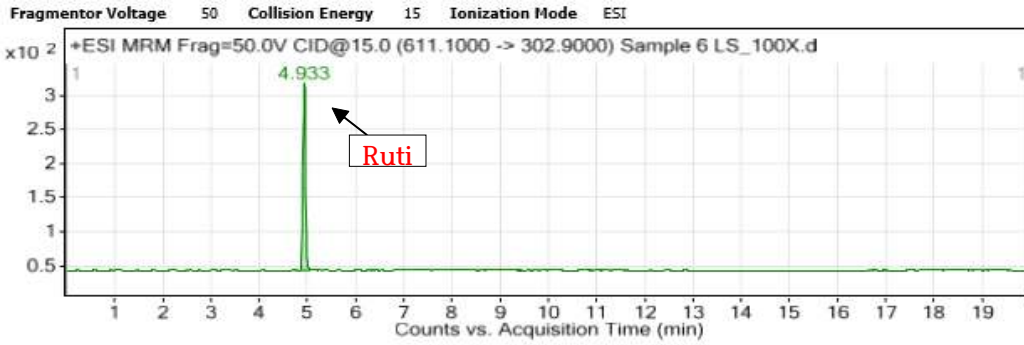
<곤달비 추출물 중 Chlorogenic acid LC-MS profile>



Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
1.762	2.183	2.232	10	152
2.232	2.282	2.394	7	55
2.576	2.712	2.752	8	57
2.752	3.01	3.167	25	280
3.931	4.104	4.297	633	5169
4.297	4.33	4.45	15	99

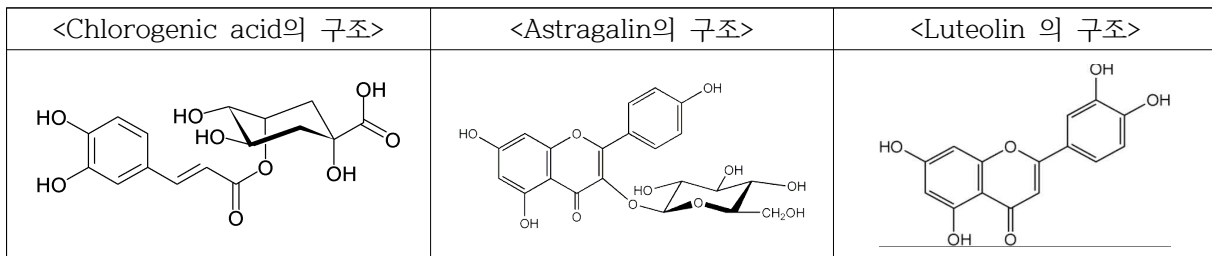
<곤달비 추출물 중 Rutin LC-MS profile>



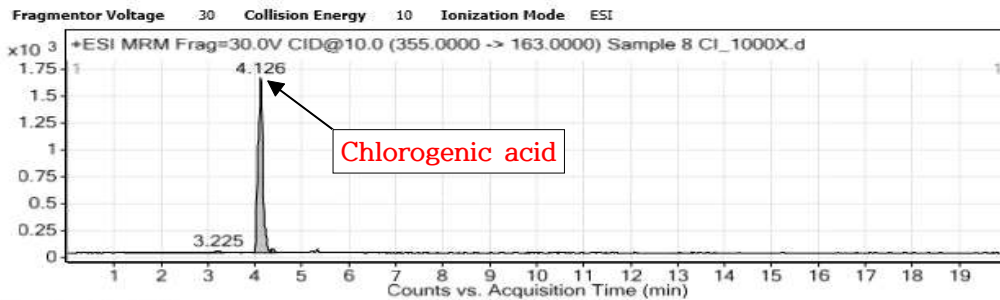
Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
4.861	4.933	5.037	276	1134

- 감국 추출물의 지표성분 Chlorogenic acid, Astragalin, Luteolin 구조와 LC-MS profile



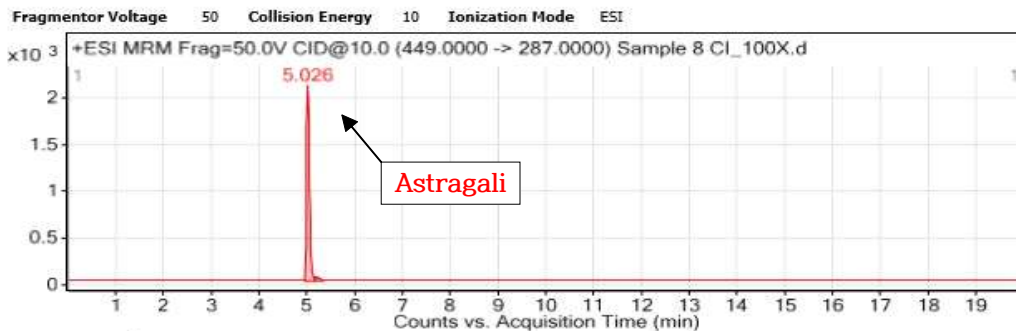
<감국 추출물 중 Chlorogenic acid LC-MS profile>



Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
1.202	3.225	3.35	13	379
3.933	4.126	4.328	1634	11291
4.328	4.374	4.522	32	174

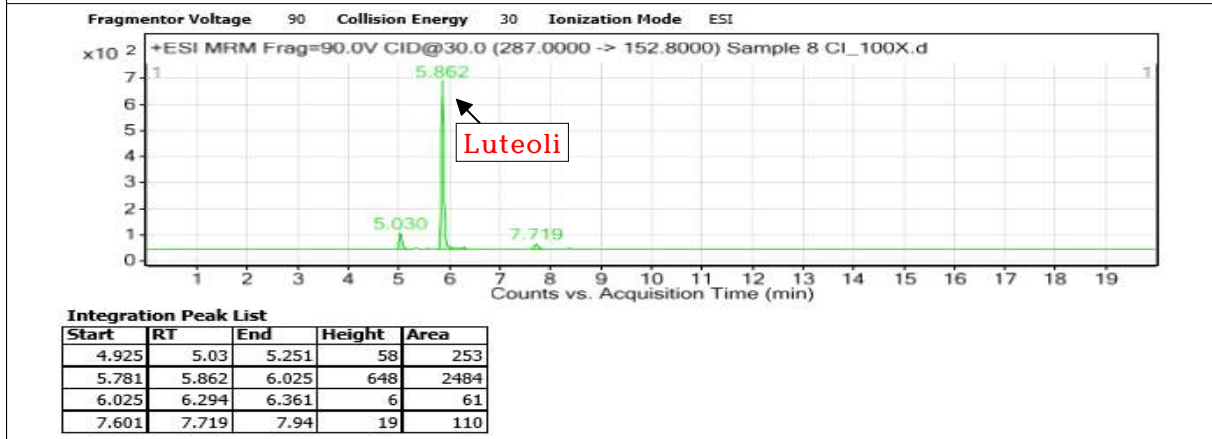
<감국 추출물 중 Astragalin 의 LC-MS profile>



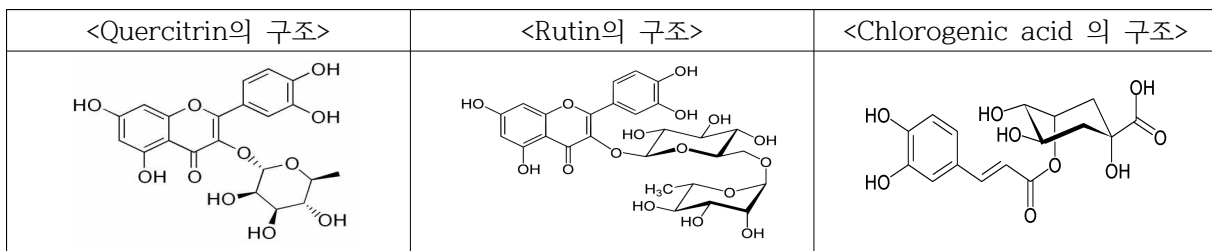
Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
4.939	5.026	5.166	2089	9215
5.166	5.2	5.343	36	258

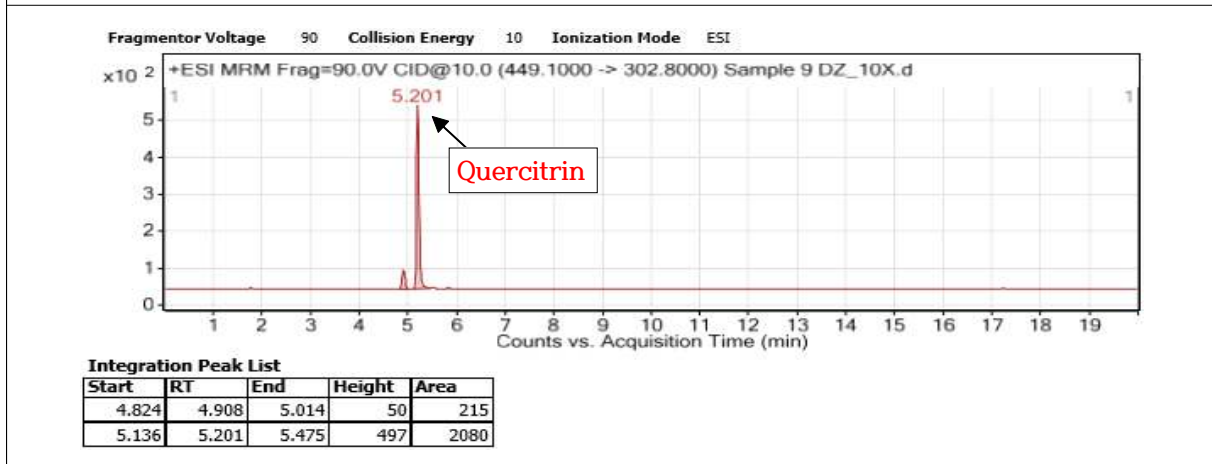
<감국 추출물 중 Luteolin 의 LC-MS profile>



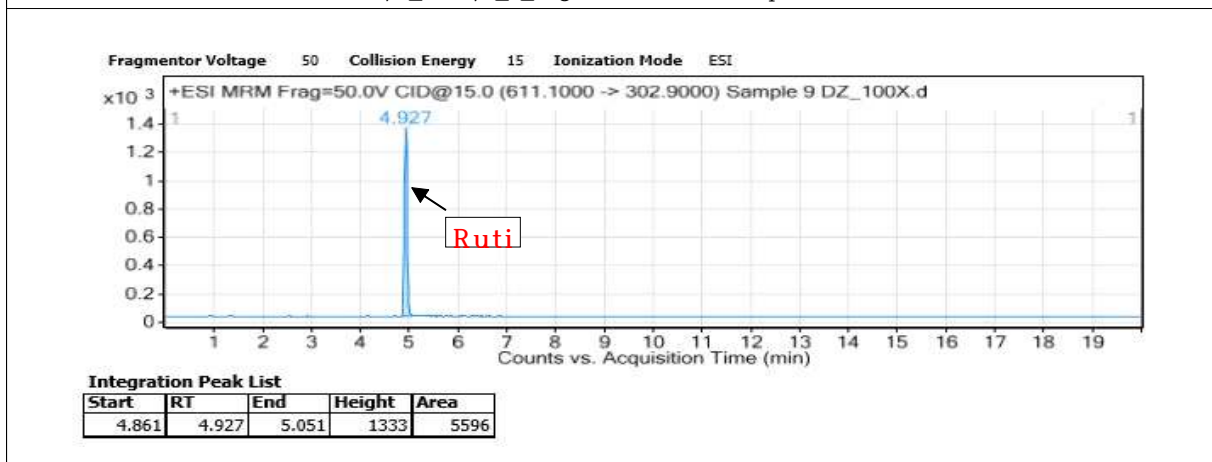
- 구절초 추출물의 지표성분 Quercitrin, Rutin, Chlorogenic acid 구조와 LC-MS profile



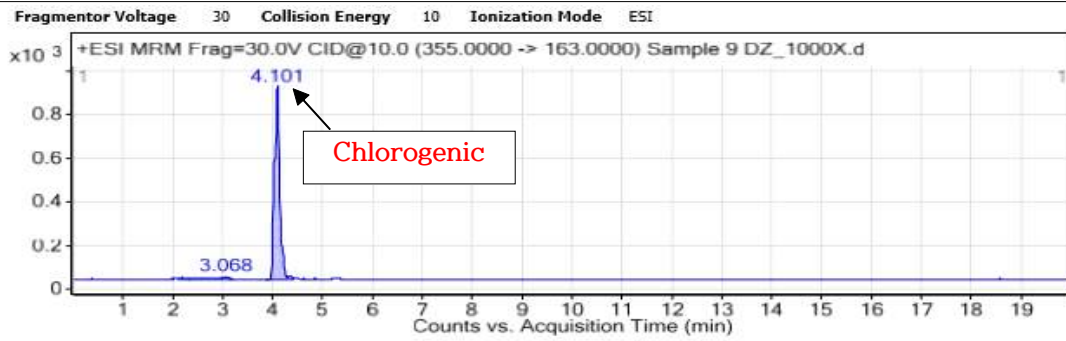
<구절초 추출물 중 Quercitrin HPLC profile>



<구절초 추출물 중 Rutin LC-MS profile>



<구절초 추출물 중 Chlorogenic acid LC-MS profile>

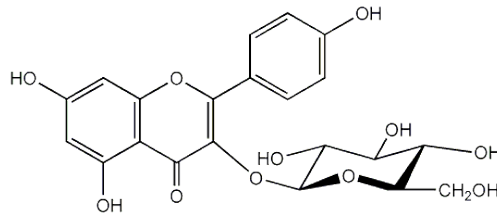


Integration Peak List

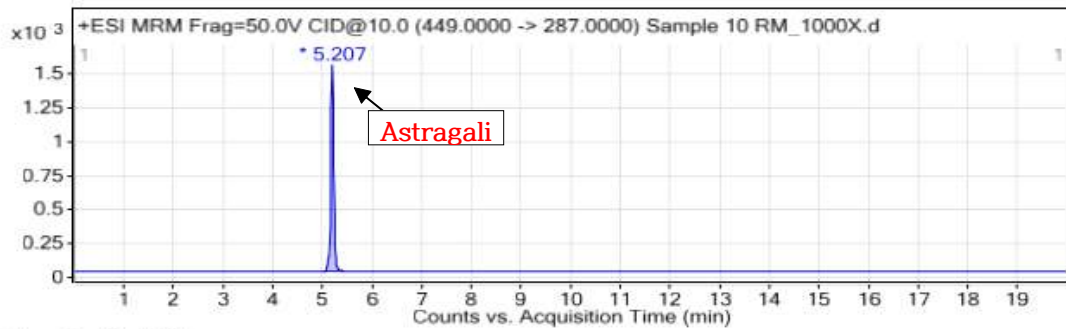
Start	RT	End	Height	Area
2.098	2.184	2.335	7	68
2.335	3.068	3.208	12	216
3.854	4.101	4.41	888	6587

- 찔레 추출물의 지표성분 Astragalin 구조와 LC-MS profile

<Astragalin 의 구조>



<찔레 추출물 중 Astragalin LC-MC profile>



Integration Peak List

Start	RT	End	Height	Area
5.017	5.207	5.424	1518	6870

○ 지표(유효)성분 분석법 확립

○ HPLC에 의한 분석조건 확립

- HPLC system : GILSON 306 Pump, GILSON UV/Vis-151 Detector.
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

- Linalool 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	DW
Pump 2	MeCN
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	37°C
UV detector	220nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-10	50	50
10-30	60	40
30-35	100	0
35-40	100	0
40-45	0	100

- Chlorogenic acid, Neochlorogenic acid, *p*-coumaric acid, Syringic acid 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	0.1% TFA + DW
Pump 2	0.1% TFA + MeCN
Flow rate	0.8ml / min
Column oven temp.	40°C
UV detector	280nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-10	9	91
10-20	9	91
20-27	11	89
27-35	50	50
35-40	100	0
40-45	100	0
45-50	0	100

- Rutin 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	0.1% acetic acid +DW
Pump 2	0.1% acetic acid +MeCN
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	35°C
UV detector	335 nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-30	40	60
30-35	100	0
35-40	100	0
40-45	0	100

- Epicatechin gallate 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	0.1% Formic acid +DW
Pump 2	0.1% Formic acid +MeCN
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	40°C
UV detector	280 nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-35	50	50
35-40	100	0
40-45	100	0
45-50	0	100
50-55	0	100

- Rosmarinic acid 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	0.1% Formic acid +DW
Pump 2	0.1% Formic acid +MeCN
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	40°C
UV detector	329 nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-35	50	50
35-40	100	0
40-45	100	0
45-50	0	100
50-55	0	100

- Quercitrin 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	0.1% acetic acid +DW
Pump 2	0.1% acetic acid +MeCN
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	40°C
UV detector	258nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-35	50	50
35-40	80	20
40-45	100	0
45-50	100	0
50-55	0	100

- Astragalin 분석조건

Analytical condition	
Pump 1	0.1% acetic acid +DW
Pump 2	0.1% acetic acid +MeOH
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	35°C
UV detector	350nm
Injection volume	10µl

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-5	0	100
5-30	100	0
30-35	100	0
35-40	0	100
45	STOP	

○ LC/MS 에 의한 분석조건 확립

- LC-MS system : Agilent 6410B Triple Quad MS
- Column : C18
- Scan type : MRM
- Ion Mode : ESI

- Rosmarinic acid, Chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, Astragalín, Epicatechin gallate, Quercitrín, Luteolín, Syringic acid, Rutín and Myricetin 분석조건

Parameter	Value (+)	Value (-)	Analytical condition		Gradient Program		
			Pump 1	0.1% FA + DW	Time (min)	MeCN (%)	DW (%)
Gas Temp. (°C)	300	300	Pump 2	0.1% FA + MeCN	0	5	95
Gas Flow (l/min)	11	11	Flow rate	0.5 ml / min	1	5	95
Nebulizer (psi)	15	15	Column oven temperature	30°C	10	100	0
Capillary (V)	4000	4000	UV detector	280 nm	11	100	0
			Injection volume	5 µl	14	5	95
					20	5	95

○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 method validation

○ 찔레 에탄올 추출물 Astragalín 밸리데이션

항목	평가 방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 검출시간 (Retention time), peak purity 검토	<ul style="list-style-type: none"> • Sample Name : Astragalín • 검출시간 : 24.7 min • Peak purity : 95%
직선성 (Linearity)	표준물질에 대한 3개 농도에서 직선성 확인	<ul style="list-style-type: none"> • 목적농도의 150 ng/ml, 300 ng/ml, 600 ng/ml 에서 직선성 확인 • R² : 0.9979
	시료에 대한 3개 농도에서 직선성 확인	<ul style="list-style-type: none"> • 찔레 에탄올 추출물에 대해 3개 농도로 분석 중에 있음
정밀성 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 1종의 기기로 반복 재현성, 일간, 기기간, 시험자간, 정밀성 평가	<ul style="list-style-type: none"> • 반복 재현성 확인 중
정확성 (Accuracy)	시료 중 3개 농도로 표준물질 첨가하여 회수를 검토	<ul style="list-style-type: none"> • 찔레 에탄올 추출물에 표준물질 Astragalín을 3개 농도로 첨가하여 분석중
검출한계	3.3*α/s (α: y절편 표준편차, S: 기울기)	<ul style="list-style-type: none"> • 검출한계 : >150 ng/10 µl
정량한계	10*α/s	<ul style="list-style-type: none"> • 정량한계 : 150 ng/10 µl
범위 (Range)	직선성, 정확도, 정밀도 고려 후 설정	<ul style="list-style-type: none"> • 시험용액

○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 정량

○ HPLC 분석에 의한 정량

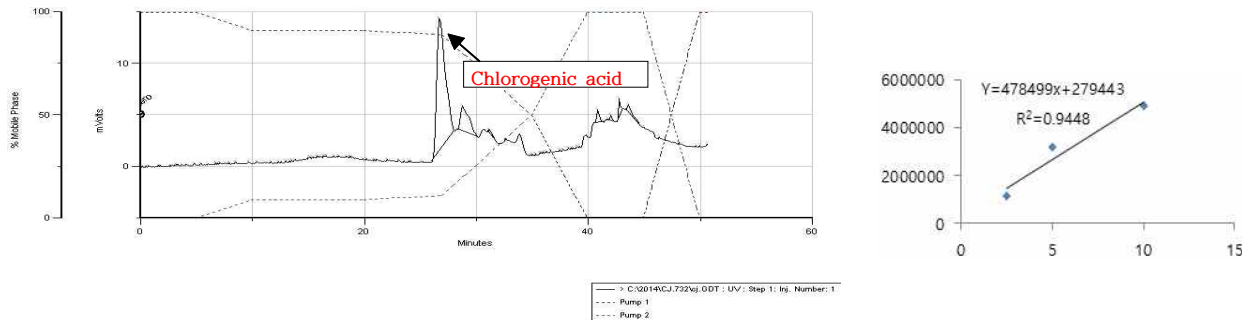
- HPLC을 이용하여 허브자원 10종의 50% 에탄올 추출물의 지표성분 함량을 확인한 결과, 아래 표와 같이 예측 지표성분이 정량 분석된 소재는 5종이었음.
- 레몬그라스 추출물의 경우 Chlorogenic acid가 5.24 mg/g, 곤달비 추출물은 Chlorogenic acid가 5.87 mg/g, 자소엽 추출물은 Rosmarinic acid가 45.99 mg/g, 구절초 추출물은 Quercitrín이 27.16 mg/g, 찔레 추출물은 Astragalín이 28.2 mg/g 함유 되어 있는 것을 확인할 수 있었음.

<허브자원 5종 50% 에탄올 추출물의 선정 지표성분 정량결과>

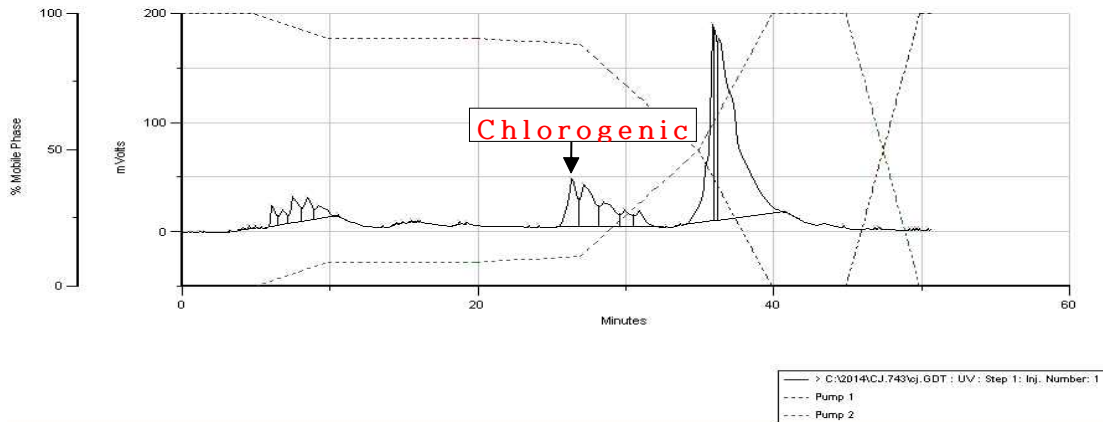
No.	Sample Name	Detected Compound	Equation	R ²	Contents(mg/g)
1	레몬그라스	Chlorogenic acid	Y=478499x+279443	0.9448	5.24
2	자소엽	Rosemarinic acid	Y=348014x-140468	0.9884	5.87
3	곤달비	Chlorogenic acid	Y=478499x+279443	0.9448	45.99
4	구절초	Quercitrin	Y=31045x+1E+06	0.9352	27.16
5	쥘레	Astragalin	Y=1087.2x-27091	0.9979	28.2

○ 레몬그라스

- 표준물질 : Chlorogenic acid

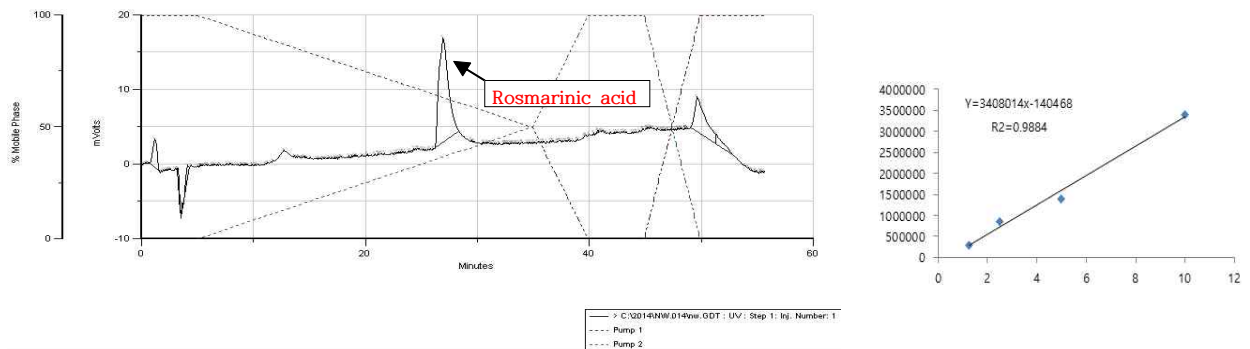


- 레몬그라스 추출물

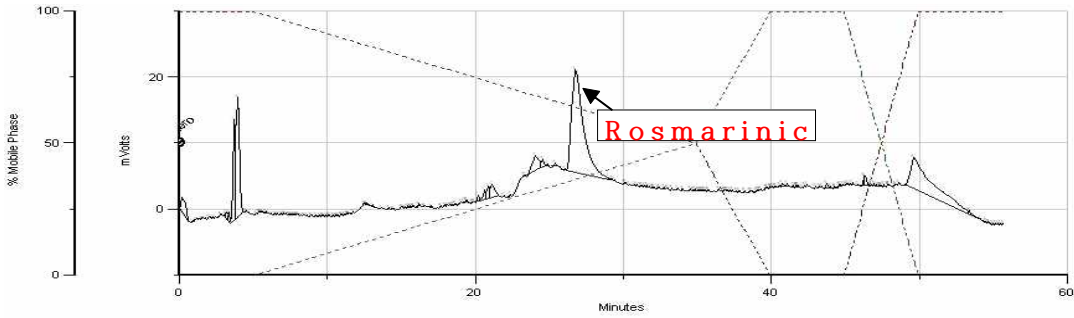


○ 자소엽

- 표준물질 : Rosmarinic acid



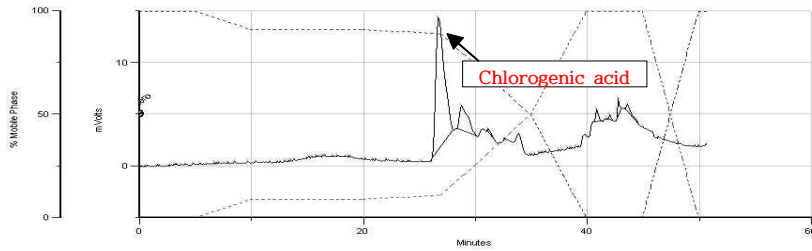
- 자소엽 추출물



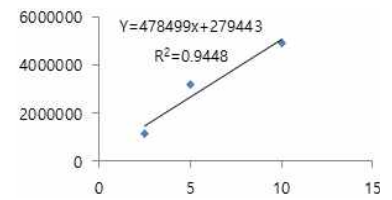
C:\2014\NW.017\uv.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 Pump 1
 Pump 2

○ 곤달비

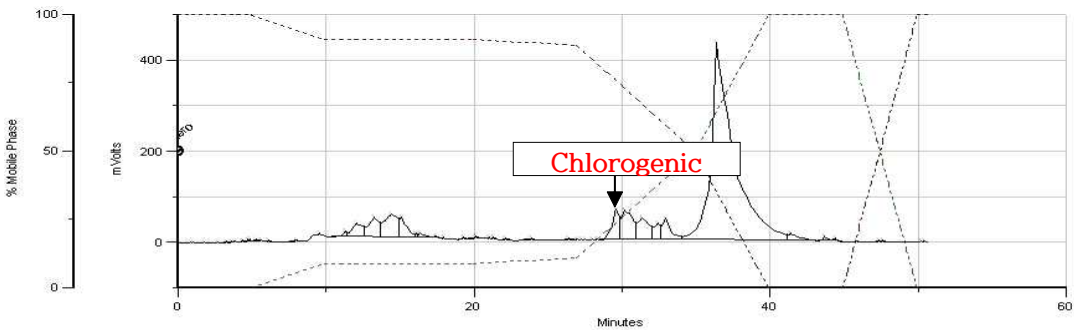
- 표준물질 : Chlorogenic acid



C:\2014\CJ.722\uv.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 Pump 1
 Pump 2



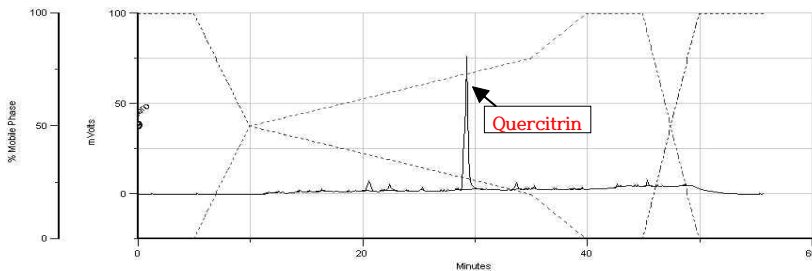
- 곤달비 추출물



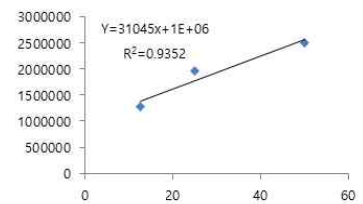
C:\2014\CJ.767\uv.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 Pump 1
 Pump 2

○ 구절초

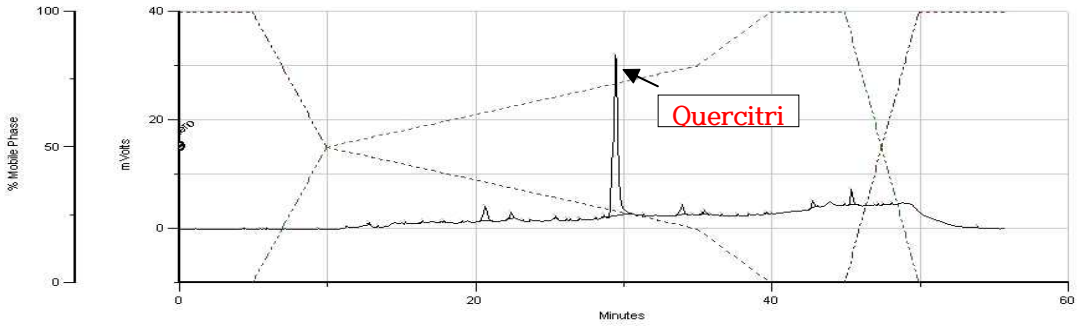
- 표준물질 : Quercitrin



C:\2014\CJ.853\uv.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 Pump 1
 Pump 2



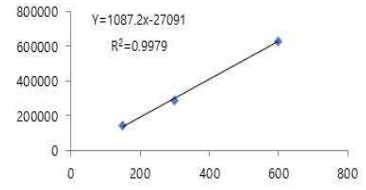
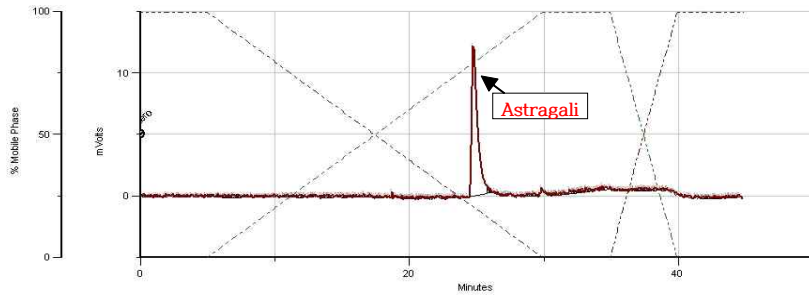
- 구절초 추출물



> C:\2014\CJ.854\kj.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 --- Pump 1
 --- Pump 2

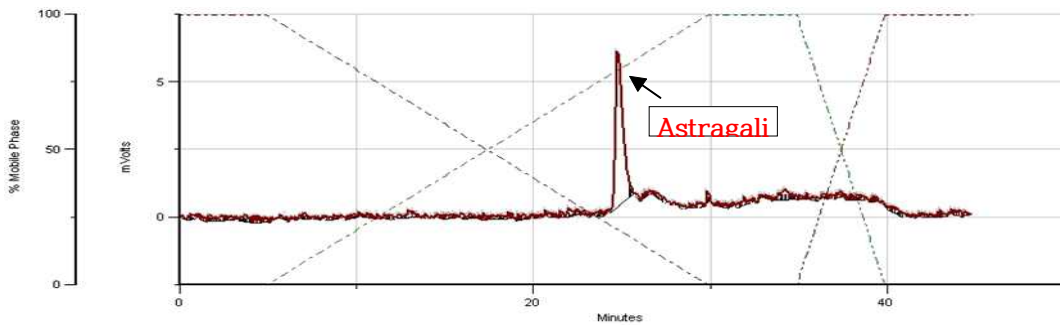
○ 찔레

- 표준물질 : Astragalin



> C:\2014\CJ.897\kj.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 --- Pump 1
 --- Pump 2

- 찔레 추출물



> C:\2014\CJ.898\kj.GDT : UV : Step 1: Inj. Number: 1
 --- Pump 1
 --- Pump 2

2) LC/MS 분석에 의한 정량

○ 허브자원 10종의 50% 에탄올 추출물의 주요성분 LC-MS MRM 분석

- HPLC에 의해 허브자원 10종의 50% 에탄올 추출물 중 5종을 분석할 수 있었고, 나머지 5종을 포함 허브 자원 10종 모두에 대한 지표성분의 정량분석을 위해 LC-MS 분석을 수행한 결과, 아래 표와 같이 허브자원 10종의 지표성분 함량을 정할 수 있었음.

<허브자원 10종의 50% EtOH 추출물의 주요성분 LC-MS MRM 분석>

Standard compound	sample(mg/g)									
	라벤더	레몬 그라스	캐모 마일	와송	자소엽	흰민 들레	곤달비	감국	구절초	찔레
Astragalin	0.16	ND	0.112	1.525	0.184	0.007	0.106	0.093	0.489	40.865
Chologenic acid	0.0002	5.147	4.533	0.001	0.022	0.089	4.842	10.622	6.180	0.473
Epicatechin gallate	ND	ND	ND	0.709	ND	ND	ND	ND	ND	0.034
Luteolin	0.121	0.008	0.018	ND	0.033	0.129	ND	0.452	0.009	0.009
Myricetin	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.007	0.001
<i>p</i> -coumaric acid	0.03	0.175	0.038	0.03	0.071	0.024	0.031	0.006	0.065	0.031
Quercitrin	ND	ND	ND	1.780	ND	ND	ND	ND	0.230	0.073
Rosmarinic acid	6.157	0.003	0.009	0.001	22.640	0.0004	ND	0.025	0.006	0.005
Rutin	ND	ND	0.019	0.041	ND	ND	1.343	ND	7.205	0.830
Syringic acid	0.009	0.035	0.005	0.037	0.029	0.032	ND	0.001	0.054	0.009

(*n.d- not detected)

- 라벤더의 경우 Rosmarinic acid를 지표성분으로 설정함.
- 레몬그라스의 경우 chlorogenic acid, *p*-coumaric acid이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 chlorogenic acid를 지표성분으로 설정함.
- 캐모마일의 경우 chlorogenic acid, astragalin이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 chlorogenic acid를 지표성분으로 설정함.
- 와송의 경우 astragalin, Epicatechin gallate, Quercitrin이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 Quercitrin, astragalin를 지표성분으로 설정함.
- 자소엽의 경우 Rosmarinic acid를 지표성분으로 설정함.
- 흰민들레의 경우 luteolin, *p*-coumaric acid, syringic acid이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 luteolin를 지표성분으로 설정함.
- 곤달비의 경우 chlorogenic acid, Rutin이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 chlorogenic acid를 지표성분으로 설정함.
- 감국의 경우 chlorogenic acid, astragalin, luteolin이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 chlorogenic acid를 지표성분으로 설정함.
- 구절초의 경우 chlorogenic acid, Quercitrin, Rutin이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 Rutin를 지표성분으로 설정함.
- 찔레의 경우 Astragalin, Rutin이 검출되었음. 이 중 함량이 가장 높은 Astragalin를 지표성분으로 설정함.
- 구절초의 HPLC 결과로부터는 quercitrin의 함량이 27.16 mg/g 이었으나, LC-MS 결과로부터는 quercitrin의 함량이 0.23 mg/g 으로 두 분석결과에 오차가 큰 것을 확인함.

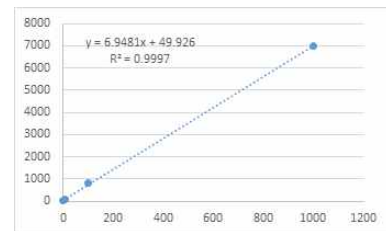
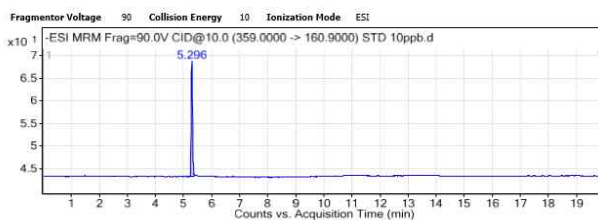
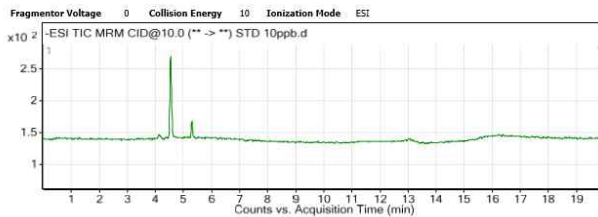
<허브자원 10종 50% 에탄올 추출물의 지표성분 정량결과 >

No.	Sample Name	Detected Compound	Equation	R ²	Contents (mg/g)
1	라벤더	Rosmarinic acid	Y=6.9481x+49.926	0.999	6.157
2	레몬그라스	Chologenic acid	Y=10.591x+41.268	0.999	5.147
		p-coumaric acid	Y=34.743x+466.83	0.998	0.175
3	캐모마일	Chologenic acid	Y=10.591x+41.268	0.999	4.533
4	와송	Astragalin	Y=1.6012x+326.65	0.997	1.525
		Epicatechin gallate	Y=0.2306x+38.908	0.998	0.709
		Quercitrin	Y=1.3736x+23.44	0.999	1.780
5	자소엽	Rosmarinic acid	Y=6.9481x+49.926	0.999	22.640
6	흰민들레	p-coumaric acid	Y=34.743x+466.83	0.998	0.024
		Luteolin	Y=5.2349x+117	0.998	0.129
		Syringic acid	Y=2.9281x+3.9444	1	0.032
7	곤달비	Chologenic acid	Y=10.591x+41.268	0.999	4.842
		Rutin	Y=0.7611x+111.97	0.998	1.343
8	감국	Astragalin	Y=1.6012x+326.65	0.997	0.093
		Chologenic acid	Y=10.591x+41.268	0.999	10.622
		Luteolin	Y=5.2349x+117	0.998	0.452
9	구절초	Chologenic acid	Y=10.591x+41.268	0.999	6.180
		Rutin	Y=0.7611x+111.97	0.998	7.205
		Quercitrin	Y=1.3736x+23.44	0.999	0.230
10	쥘레	Astragalin	Y=1.6012x+326.65	0.997	40.865

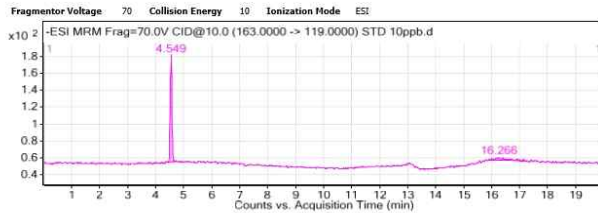
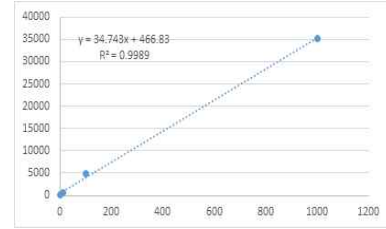
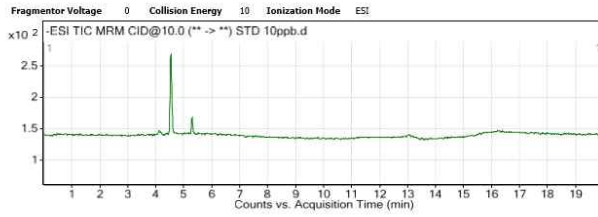
○ LC/MS Profile 과 표준 정량 곡선

○ 표준물질

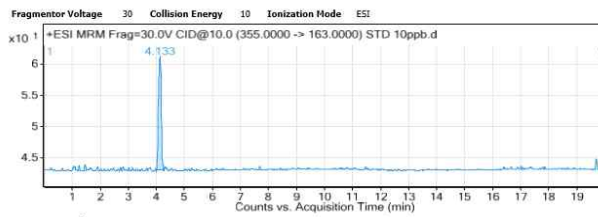
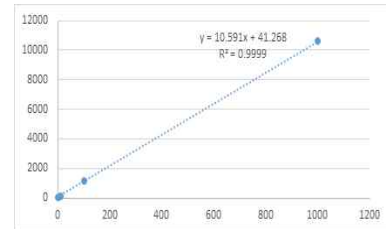
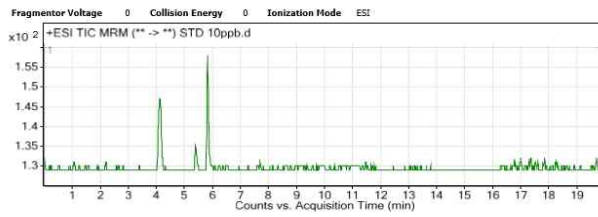
- Rosmarinic acid



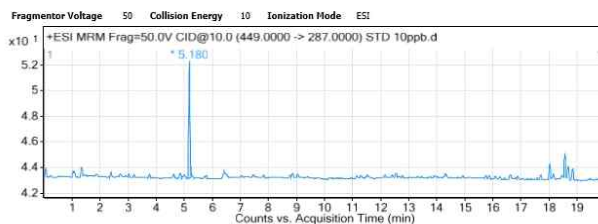
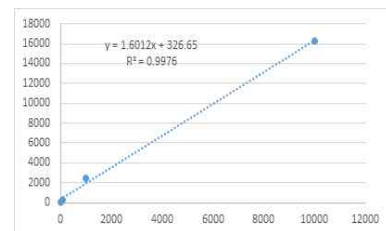
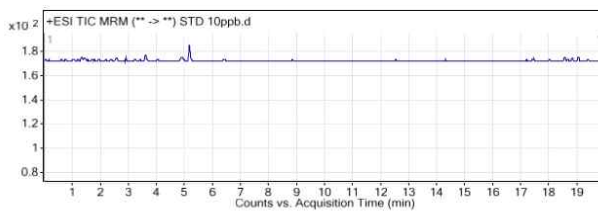
- *p*-coumaric acid



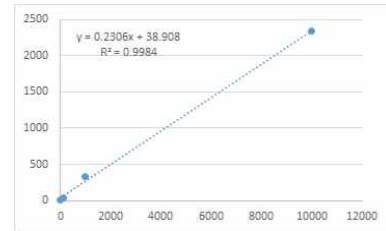
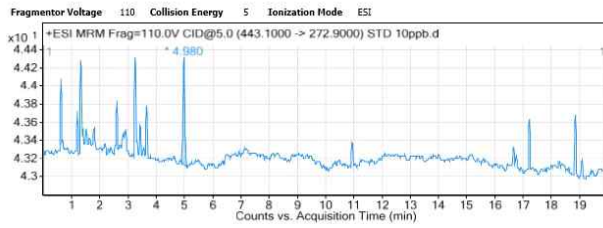
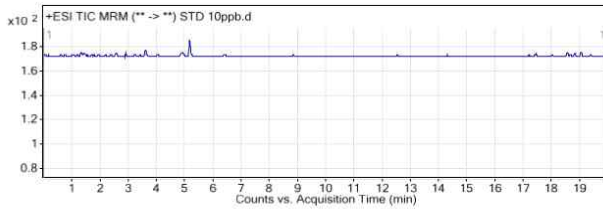
- Chlorogenic acid



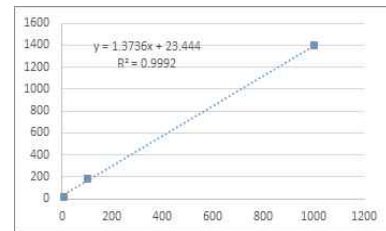
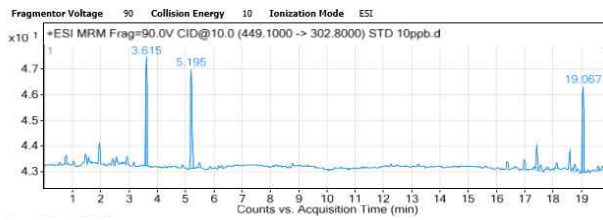
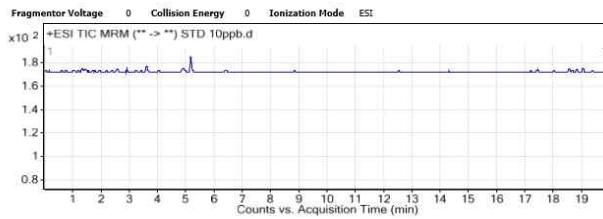
- Astragaln



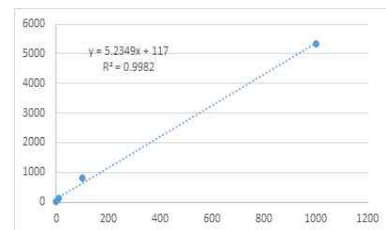
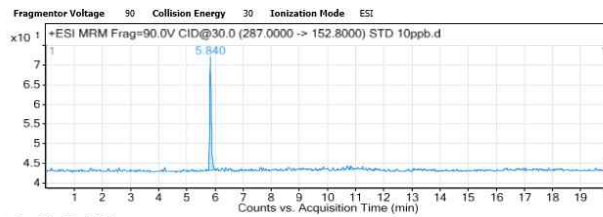
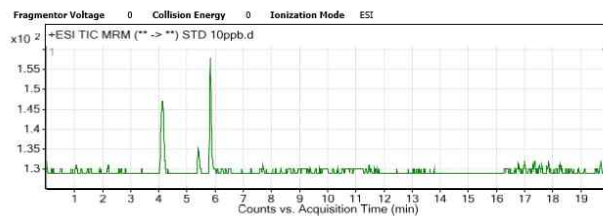
- Epicatechin gallate



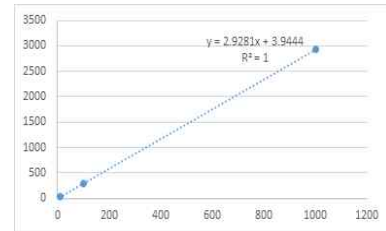
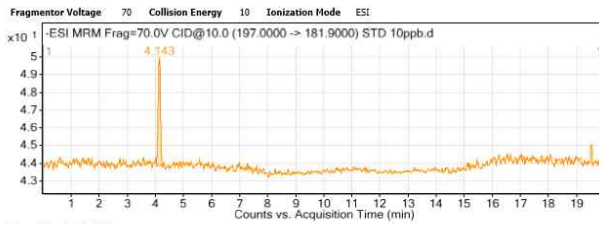
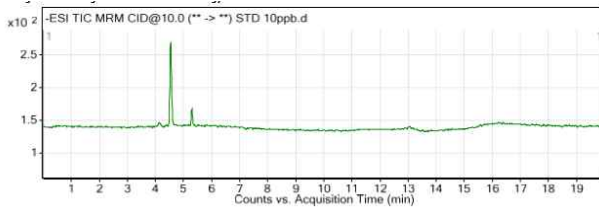
- Quercitrin



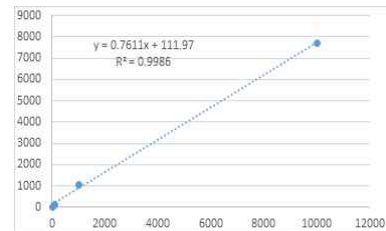
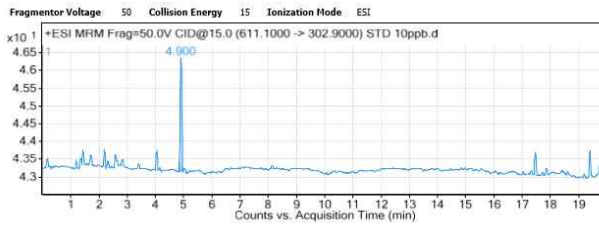
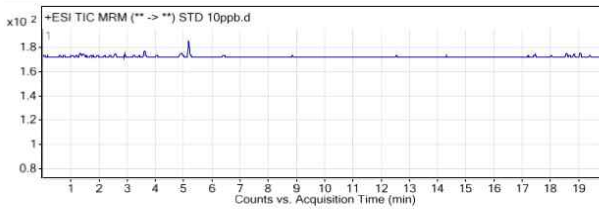
- Luteolin



- syringic acid

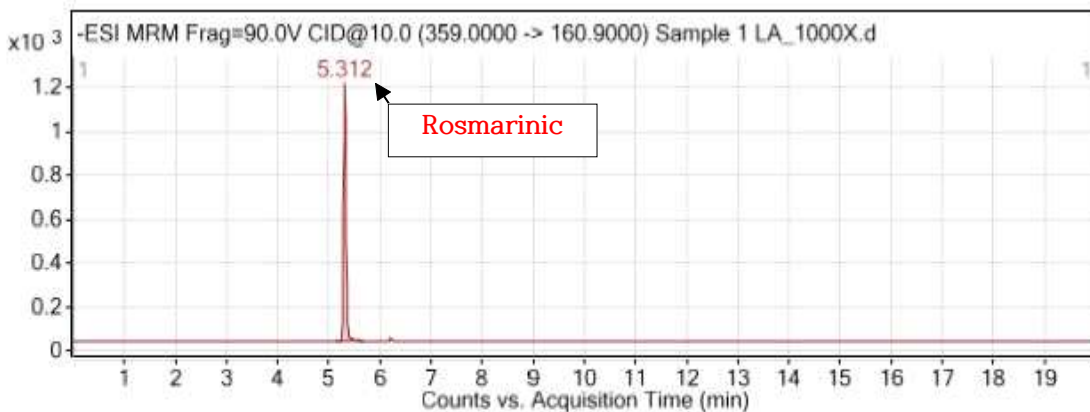


- Rutin

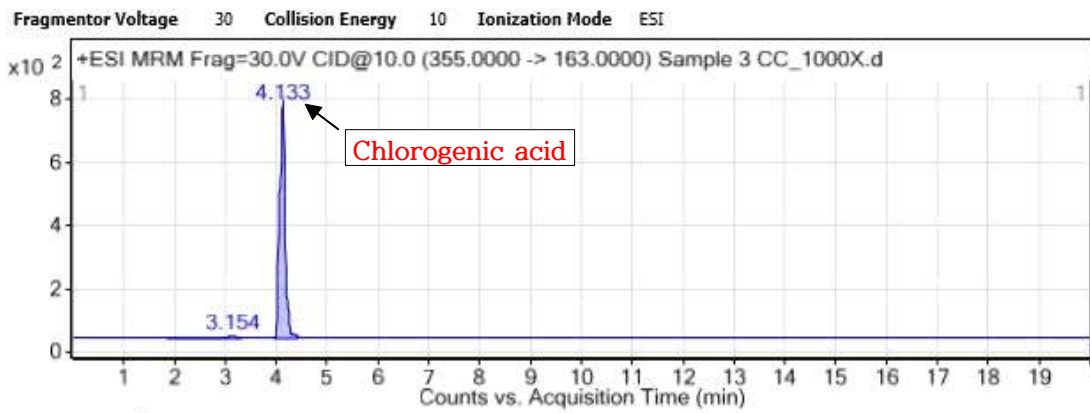
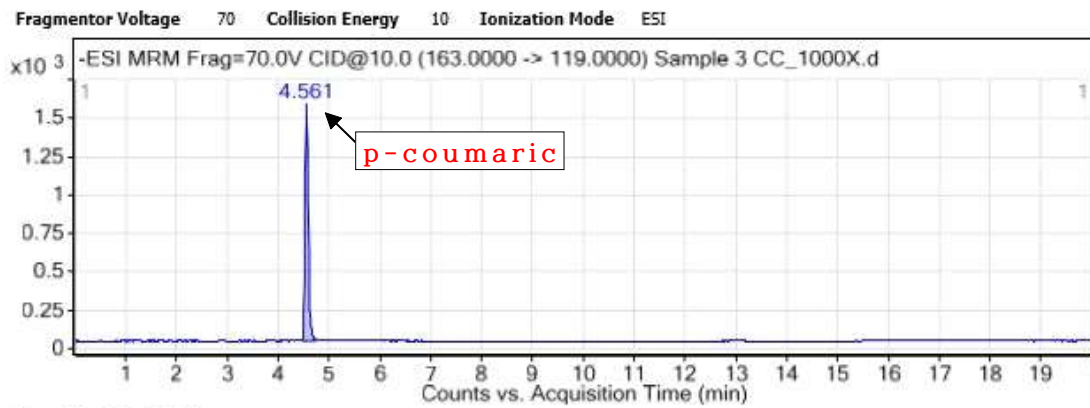


o 라벤더 추출물

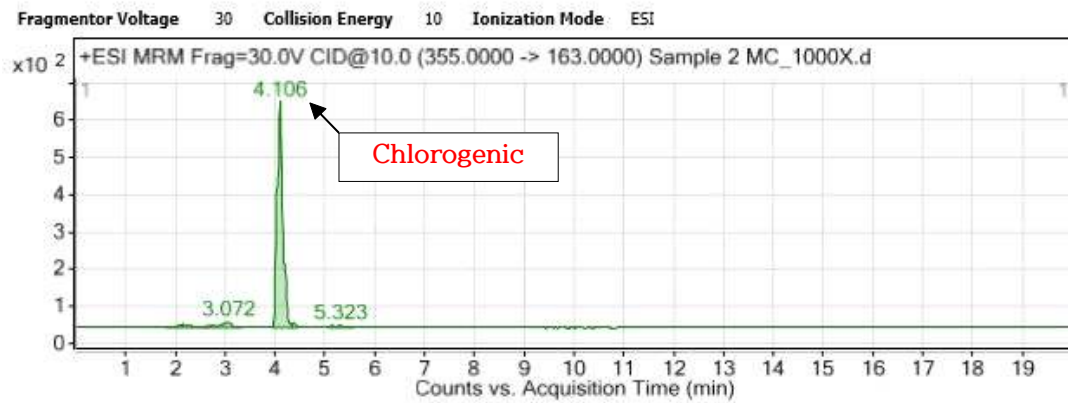
- Rosmarinic acid



- 레몬그라스 추출물
- *p*-coumaric acid, Chlorogenic acid

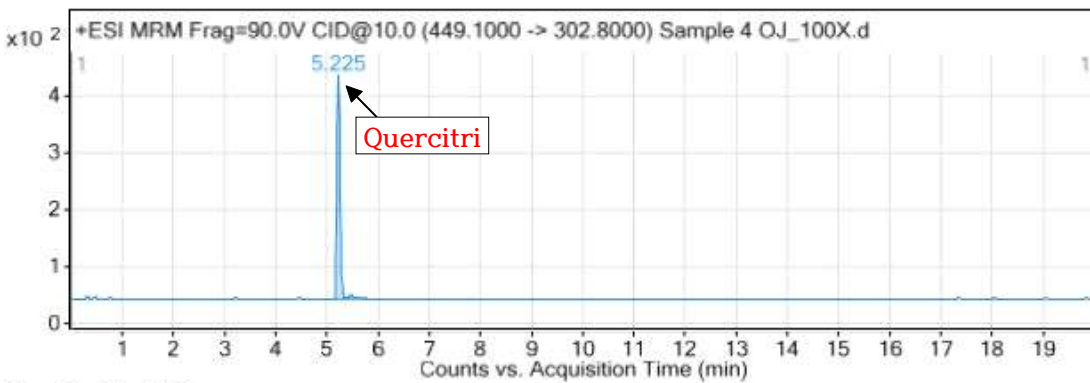
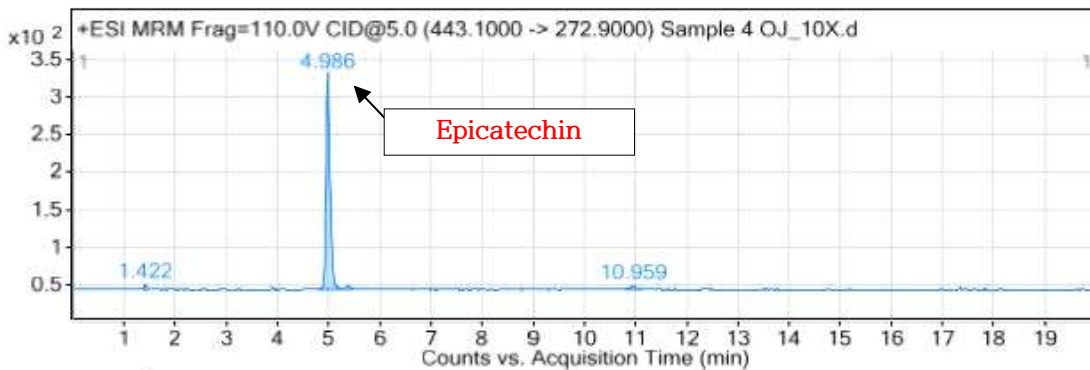
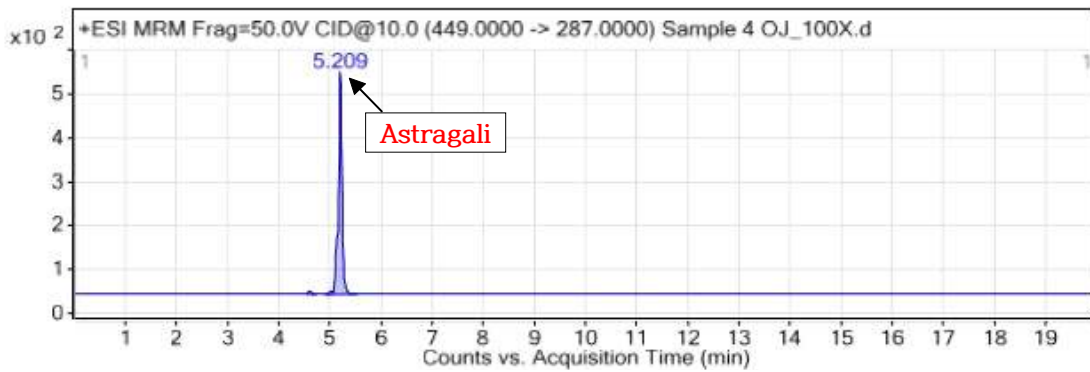


- 캐모마일 추출물
- Chlorogenic acid



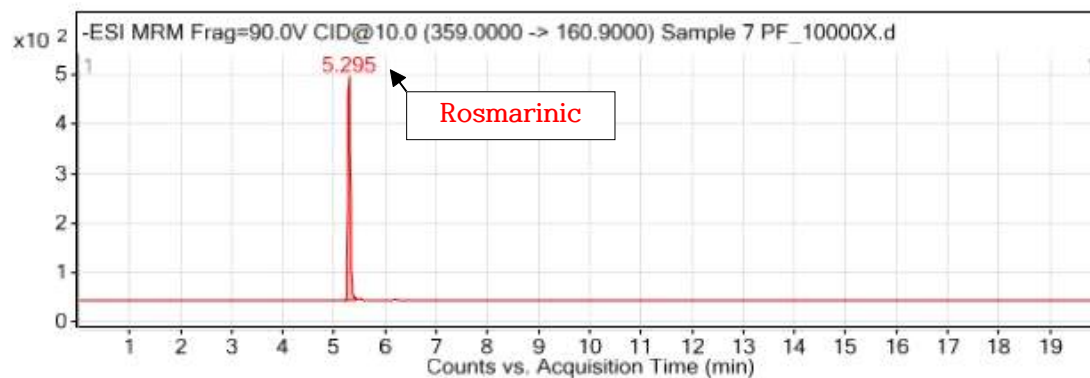
○ 와송 추출물

- Astragalin, Epicatechin gallate, Quercitrin

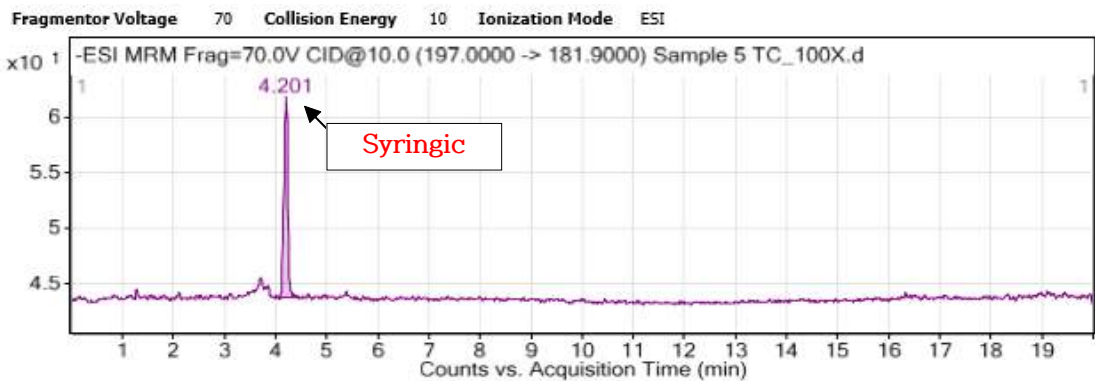
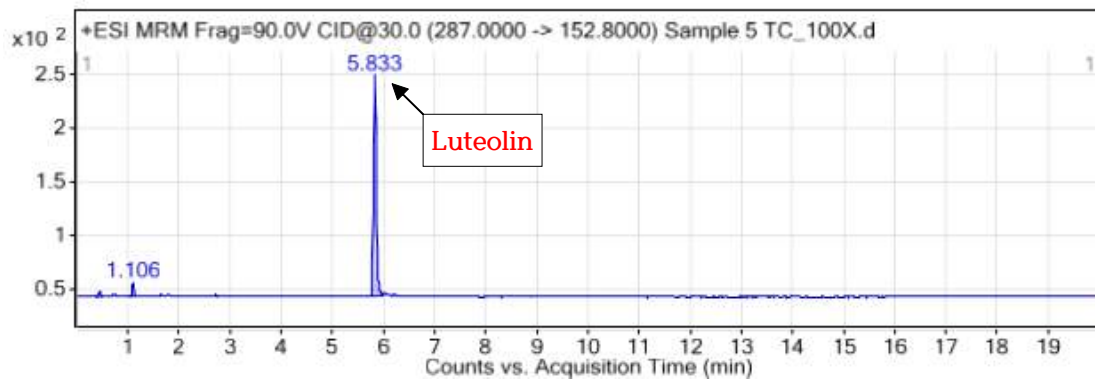
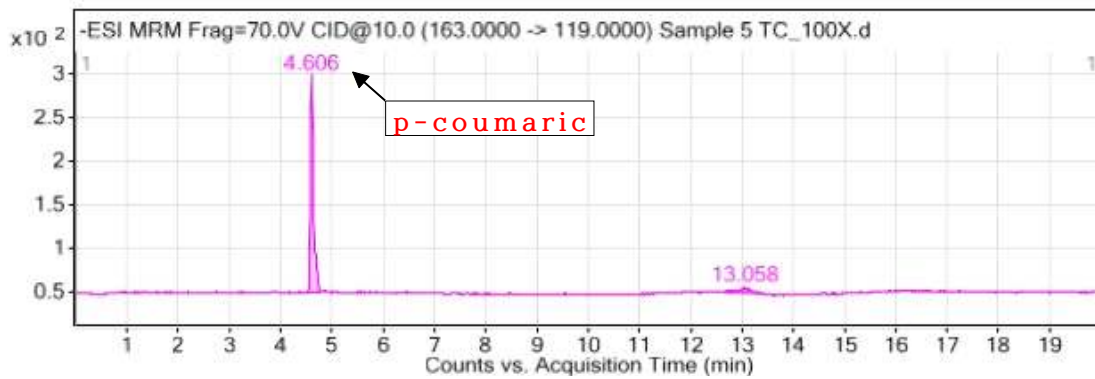


○ 자소엽 추출물

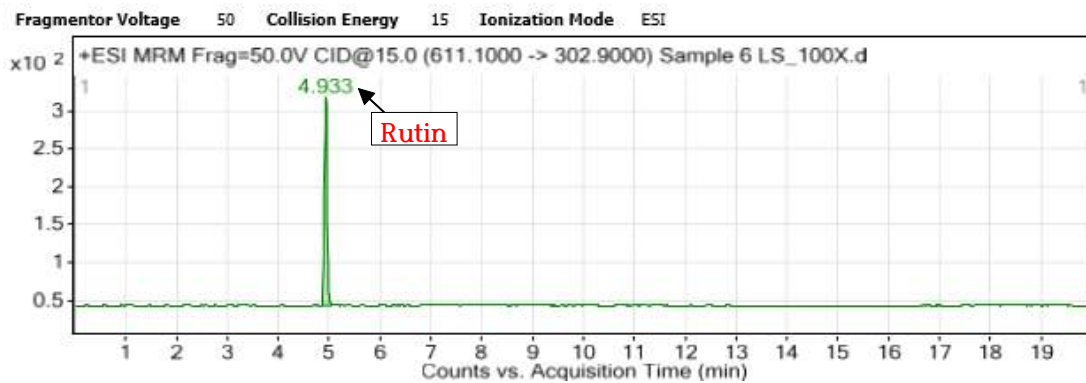
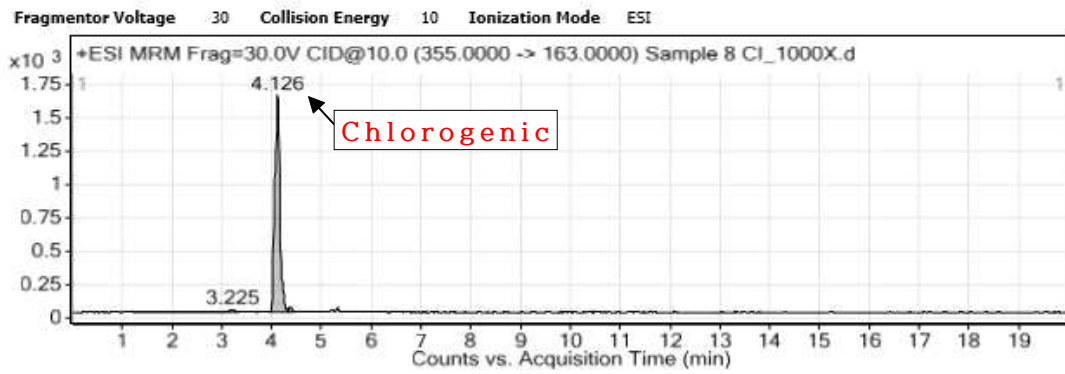
- Rosmarinic acid



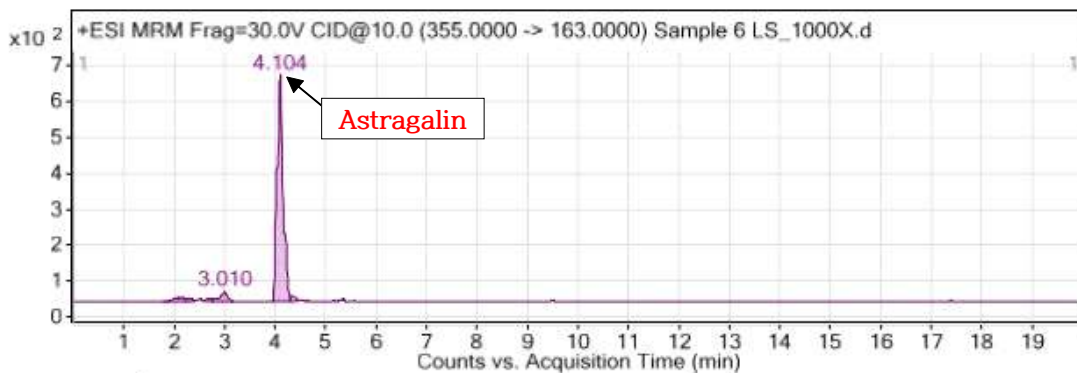
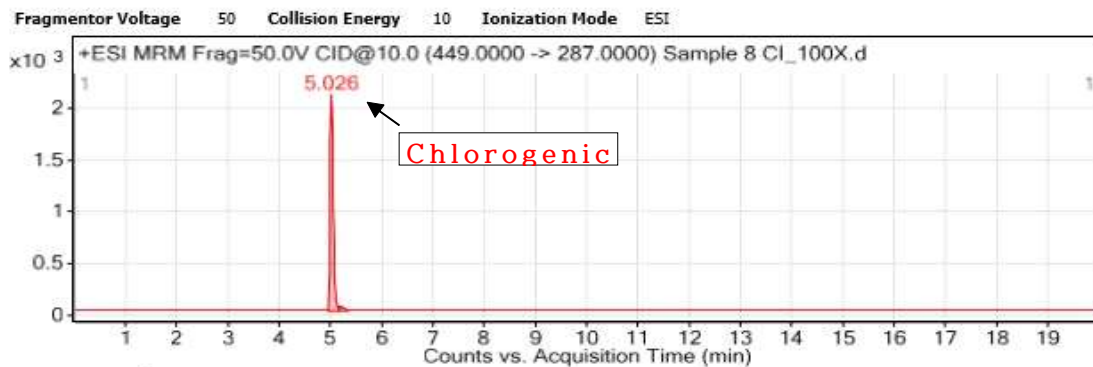
- 흰민들레 추출물
- *p*-coumaric acid, Luteolin, syringic acid

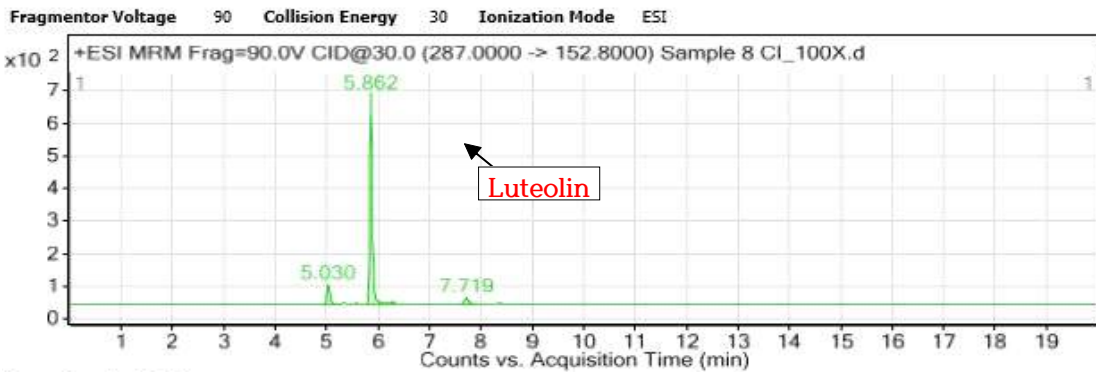


- 곤달비 추출물
- Chlorogenic acid, Rutin



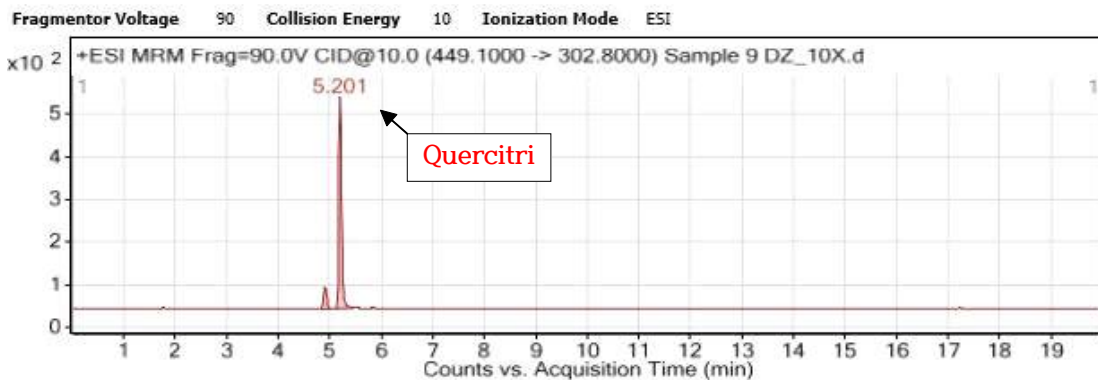
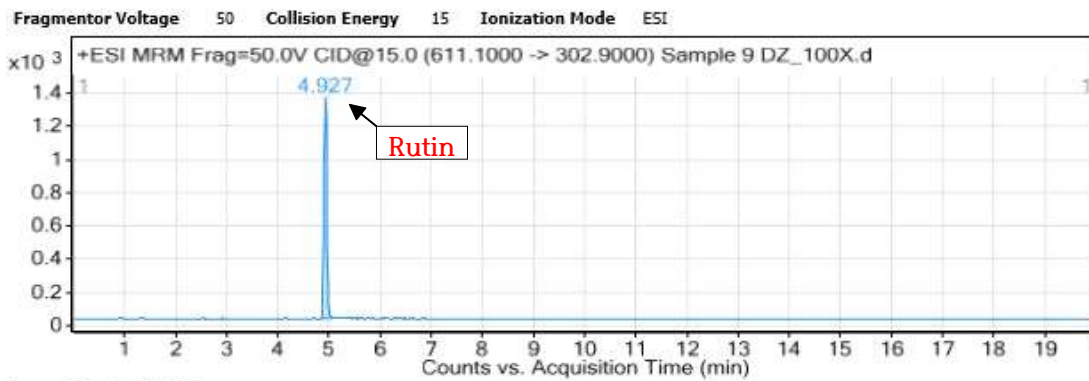
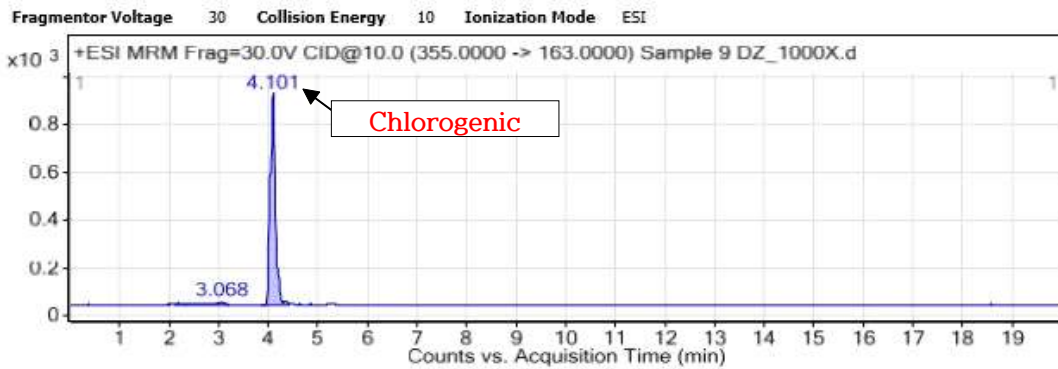
- 감국
- Chlorogenic acid, Astragalin, Luteolin



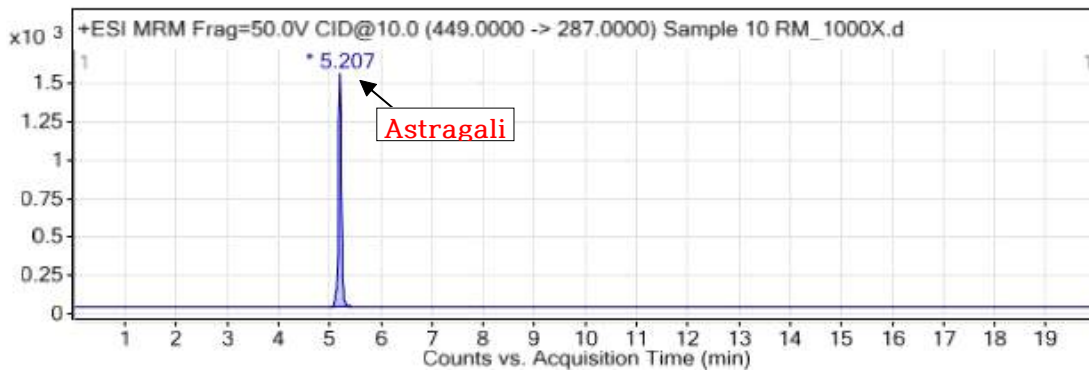


○ 구절초

- Chlorogenic acid, Rutin, Quercitrin



- 찔레
- Astragalin



3) 생리활성탐색(항산화)

○ DPPH 저해 활성

- L-ascorbic acid (vitamin C)를 positive control로 하여 시료의 항산화 활성 확인
- positive control인 Vit. C를 차광튜브에 4개 농도로 조제한 후 96well plate에 시료와 함께 2.5 μl씩 추가 하였음. 그 다음 희석한 DPPH(90% EtOH 14 ml + DPPH 850 μl)를 247.5 μl씩 추가하고 시료의 색값을 보정하기 위한 EtOH 247.5 μl를 첨가한 후 20 min 차광하고 517 nm에서 측정하였음.

Sample name	IC ₅₀ Value (μg/ml)	
	Water extract	50% EtOH extract
라벤더	42.97	74.35
레몬그라스	77.05	44.88
캐모마일	75.71	36.79
와송	13.41	42.35
자소엽	13.66	49.32
흰민들레	75.31	107.7
곤달비	93.18	110.67
감국	158.64	119.61
구절초	132.95	113.59
찔레	62.61	39.42

- 그 결과 와송, 자소엽, 라벤더 물 추출물과 캐모마일, 찔레, 와송, 레몬그라스 및 자소엽 50% 에탄올 추출물에서 강한 DPPH 소거활성을 나타내어 항산화 활성을 보임.

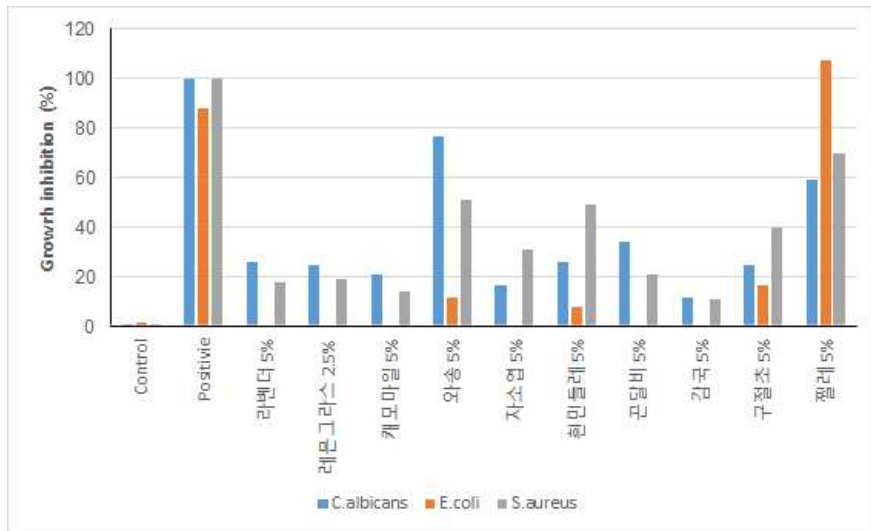
라. (주)더가든오브내추럴솔루션(제3협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2017)	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	○ MIC, Clear zone assay	- 허브자원 10종 항균력 탐색 - 찹레를 이용한 항균원료 개발
		안전성, 안정성 평가	○ 세포독성평가 ○ 제조공정표준화	- 효능 원료의 세포독성을 평가하여 안전성 기초 data 확보 - 제형조건, 물리적 환경변화에 따른 변화가 없음을 확인
		제조공정표준화	○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화 (pilot scale)	- 추출조건별 지표물질 함량 비교하여 공정 최적화

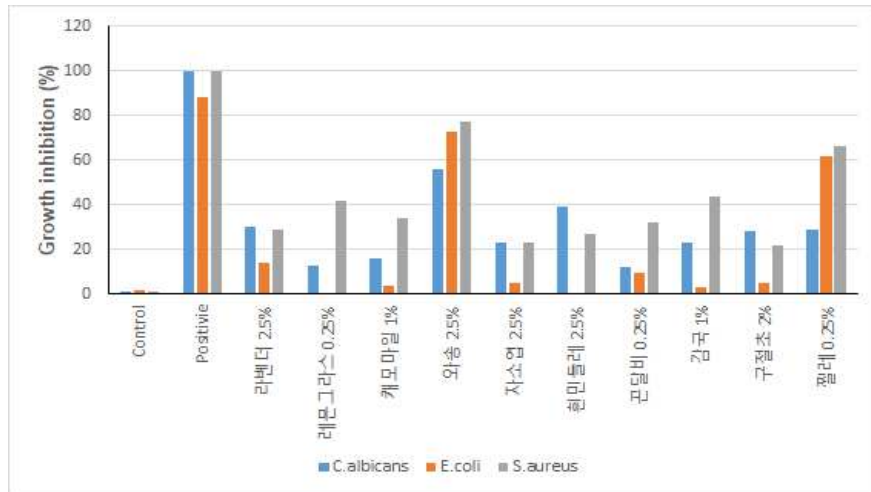
1) 생리활성탐색(항균, 방부)

○ 항균력 평가

- 피부 상재균 3종을 대상으로 남원 허브 10종의 물, 50% 에탄올 추출물이 가진 항균력을 측정
 - Bacteria: Gram positive (*S. aureus*), Gram negative (*E. coli*)
 - Fungi: *C. albicans*
- 항균력 측정 : 허브자원 10종에 대한 항균력을 확인하기 위하여 피부 상재균 3종을 대상으로 항균력을 측정한 결과, 양성대조군인 tetracycline, ketoconazole은 *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*에 각각 100%, 88%, 100%의 성장 저해율을 보였으며, 허브10종 중 찹레 물 추출물은 5% 처리 시 70%, 100%, 59%의 성장 저해율을 나타냈음. 와송 에탄올 추출물은 2.5% 처리 시 77%, 73%, 56%의 성장 저해율과 찹레 에탄올 추출물은 0.25% 처리 시 66%, 62%, 29%의 성장 저해율을 보였음.

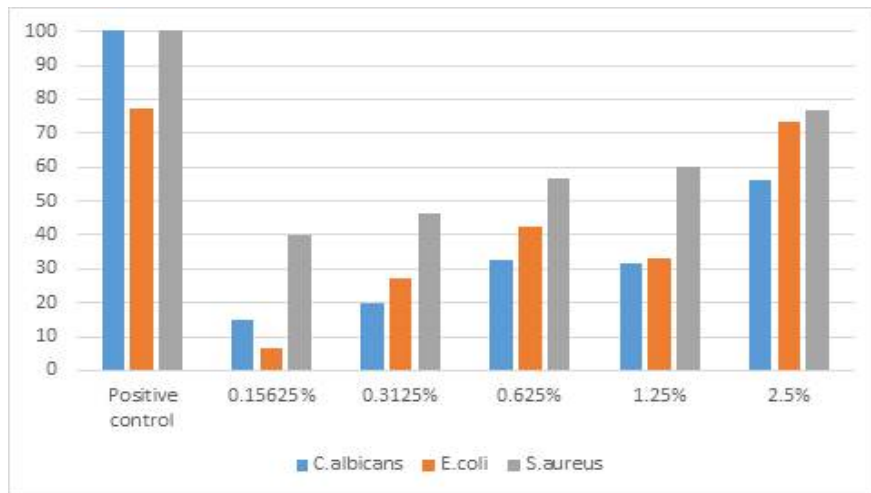


<허브자원 10종의 물 추출물의 항균력>

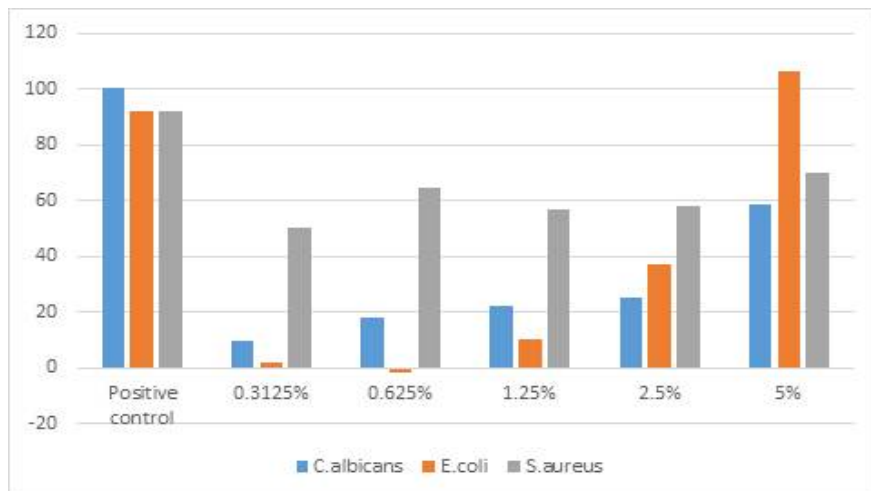


<허브자원 10종의 에탄올 추출물의 항균력>

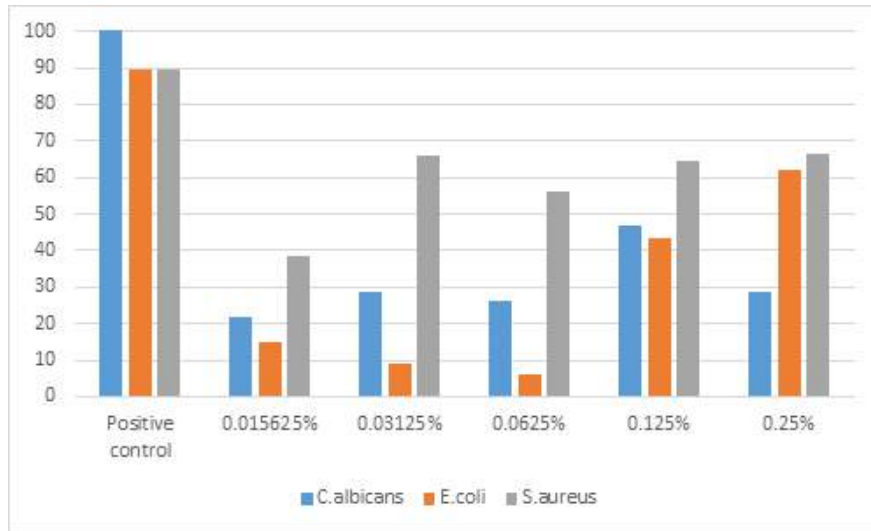
- 대부분 허브자원에서 항균효과를 관찰했으나 그 중 와송 50% 에탄올 추출물, 쥘레 물 및 50% 에탄올에서 상대적으로 강한 항균력을 보였음.



<와송 50% 에탄올 추출물의 항균력>

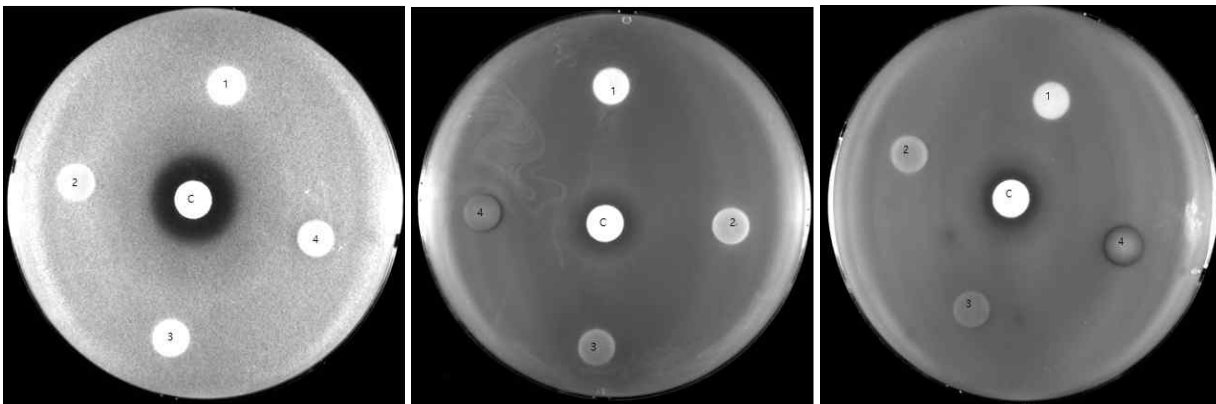


<쥘레 물 추출물의 항균력>



<짚레 50% 에탄올 추출물의 항균력>

○ 피부상재균을 고체배지에 배양하며 상기 결과를 검증



Purpose	Name	Mark	<i>C. albicans</i> (Clearzone: mm)	Purpose	Name	Mark	<i>E. coli</i> (Clearzone: mm)	Purpose	Name	Mark	<i>S. aureus</i> (Clearzone: mm)
Sample	와송 열수 1%	1	-	Sample	와송 열수 1%	1	-	Sample	와송 열수 1%	1	-
Sample	와송 에탄올 1%	2	-	Sample	와송 에탄올 1%	2	-	Sample	와송 에탄올 1%	2	-
Sample	짚레 열수 1%	3	-	Sample	짚레 열수 1%	3	-	Sample	짚레 열수 1%	3	-
Sample	짚레 에탄올 1%	4	-	Sample	짚레 에탄올 1%	4	10	Sample	짚레 에탄올 1%	4	11
Positive Control	Ketoconazole 0.25%	C	16	Positive Control	Tetracycline 125 µg/ml	C	11	Positive Control	Tetracycline 12.5 µg/ml	C	13

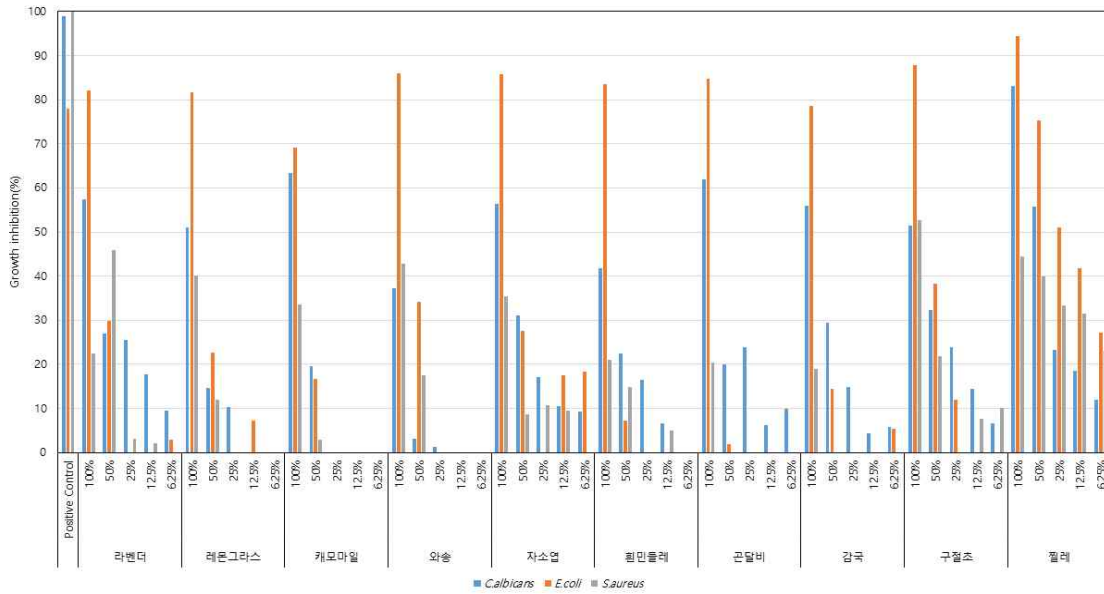
<*C. albicans* 고체배지에서
와송, 짚레 추출물의 항균력>

<*E. coli* 고체배지에서
와송, 짚레 추출물의 항균력>

<*S. aureus* 고체배지에서
와송, 짚레 추출물의 항균력>

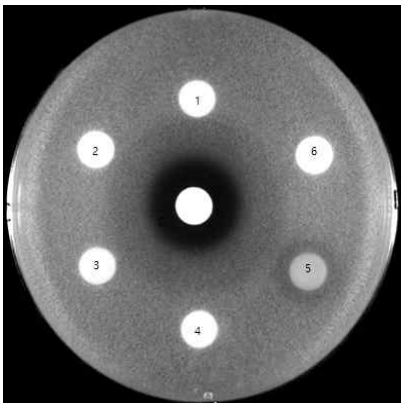
- 고체배지에서는 짚레 에탄올 추출물만 세균에 대한 항균력을 보였고, 나머지 시료들은 항균력을 보이지 않았음.

- 허브자원 10종을 40% 1,3-butylene glycol (40% BG)에 추출한 샘플의 항균력 측정
- 40% BG 허브자원 10종의 항균력 측정 결과 찔레 추출물에서 유의한 항균력을 확인하였고 라벤더, 레몬그라스, 자소엽 및 구절초에서는 미약한 항균력을 관찰하였음.



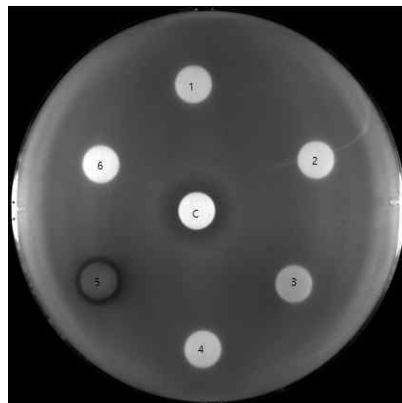
<40% BG 추출물의 항균력>

- 피부상재균을 고체배지에 배양하며 상기 결과를 검증



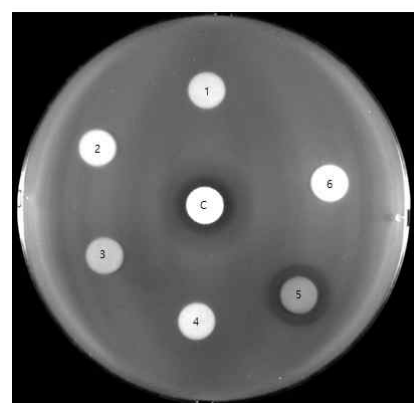
Purpose	Name	Mark	<i>C. albicans</i> (Clearzone: mm)
Sample	라벤더	1	-
Sample	레몬그라스	2	-
Sample	자소엽	3	-
Sample	구절초	4	-
Sample	찔레	5	Semi-toxic
Sample	BG40	6	-
Positive Control	Ketoconazole 0.25%	C	18

<*C. albicans* 고체배지에서 40% BG 허브자원의 항균력>



Purpose	Name	Mark	<i>E. coli</i> (Clearzone: mm)
Sample	라벤더	1	-
Sample	레몬그라스	2	-
Sample	자소엽	3	-
Sample	구절초	4	-
Sample	찔레	5	11
Sample	BG40	6	-
Positive Control	Tetracycline 125 µg/ml	C	12

<*E. coli* 고체배지에서 40% BG 허브자원의 항균력>



Purpose	Name	Mark	<i>S. aureus</i> (Clearzone: mm)
Sample	라벤더	1	-
Sample	레몬그라스	2	-
Sample	자소엽	3	-
Sample	구절초	4	-
Sample	찔레	5	12
Sample	BG40	6	-
Positive Control	Tetracycline 12.5 µg/ml	C	12

<*S. aureus* 고체배지에서 40% BG 허브자원의 항균력>

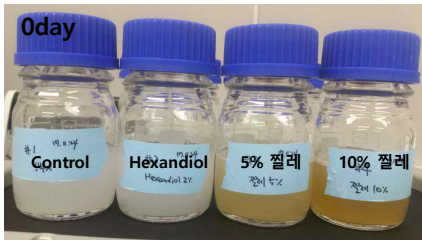
- 상기 결과와 같이 찔레 추출물에서 유의한 항균력을 관찰하였음.
- 모든 결과를 종합하여 허브자원 10종 중 찔레를 항균, 방부원료의 후보로 최종 결정하였음.

○ 방부력 평가

- 항균활성을 보인 40% BG 찌레를 이용하여 방부력 시험(CTFA 가이드라인)
- 사용균주는 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*를 사용하였으며, 방부력 시험을 위해 수분젤크림을 아래 표와 같이 4군으로 나누어 제조함. 추출물 및 방부제가 들어있지 않는 대조구, 40% BG 찌레를 5%와 10% 첨가한 실험군, 2% 1,2-Hexandiol을 첨가한 양성대조구로 나누어 실험하였음. 화장품 제형에 초기 투입한 균수는 *E. coli* (2.8×10^7 cfu/mL), *S. aureus* (1.0×10^6 cfu/mL), *C. albicans* (2.5×10^5 cfu/mL)이었으며, 7일 경과 후 petrifilm 건조배지에 도말하여 균수를 측정하였음.

<방부력 시험용 화장품(수분젤크림)제조>

상	원료	대조구	실험구(5%)	실험구(10%)	양성대조구
A	D.W.	74.2	69.2	64.2	72.2
	Glycerin	5.0	5.0	5.0	5.0
	EtOH	2.0	2.0	2.0	2.0
	DPG	5.0	5.0	5.0	5.0
B	Carbomer CG(2%)	10.0	10.0	10.0	10.0
C	DC 200 100cs	2.0	2.0	2.0	2.0
D	TEA(10%)	1.8	1.8	1.8	1.8
E	1,2-hexandiol	0.0	0.0	0.0	2.0
	40% BG 찌레 추출물	0.0	5.0	10.0	0.0



7day

14day

Control Hexandiol 5% 찌레 10% 찌레 Control Hexandiol 5% 찌레 10% 찌레

<5%, 10% 찌레 추출물을 첨가 후 14일 경과한 수분젤크림 제형>

S.aureus

10^5 10^1 10^1 10^1

E.coli

10^4 10^1 10^1 10^3

C.albicans

10^3 10^1 10^1 10^1

<petrifilm 건조배지를 이용한 찌레의 7일 방부력 시험 결과>

S.aureus

10^4 10^1 10^1 10^1

E.coli

10^4 10^1 10^1 10^1

C.albicans

10^3 10^1  10^1

<petrifilm 건조배지를 이용한 찌레의 14일 방부력 시험 결과>

- 측정 결과, 7일 경과 후 *S. aureus*의 경우는 1,2-hexandiol 처리구, 5% 찌레추출물 및 10% 찌레추출물에서 모두 불검출되어 100% 방부력을 보임. *E. coli*의 경우 2% 1,2-hexandiol 첨가구에서 불검출되어 100% 방부력을 보였으며, 5% 찌레 추출물과 10% 찌레 추출물 처리구의 대장균수는 2.9×10^4 cfu/mL와 6.0×10^3 cfu/mL로 나타나 각각 99.89%와 99.98%의 방부력을 보임. *C. albicans*의 경우 2% 1,2-hexandiol 첨가구에서 불검출되어 100% 방부력을 보임. 5% 찌레추출물에서는 8×10^1 cfu/mL으로 나타나 99.9%의 방부력으로 보였으며, 10% 찌레 추출물에서는 불검출되어 100% 방부력을 보임.
- 또한, 14일 경과 후 균수를 측정한 결과 *S. aureus*의 경우 1,2-hexandiol 처리구, 5% 찌레추출물 및 10% 찌레추출물에서 불검출되어 100% 방부력을 보임. *E. coli*의 경우 2% 1,2-hexandiol 첨가구에서 불검출되어 100% 방부력을 보였으며, 5% 찌레 추출물과 10% 찌레 추출물 처리구의 대장균수는 3.0×10^2 cfu/mL와 불검출로 나타나 각각 99.99%와 100%의 방부력을 보임. *C. albicans*의 경우 2% 1,2-hexandiol 첨가구에서 불검출되어 100% 방부력을 보임. 5% 찌레 추출물에서는 1.0×10^2 cfu/mL으로 나타나 99.9%의 방부력으로 보였으며, 10% 찌레 추출물에서는 불검출되어 100% 방부력을 보임.
- 결과적으로 CTFA가이드라인(세균 : 접종 후 7일 이내 접종균 99.9% 이상 감소해야 하며, 시험기간 동안 증식이 없어야 함, 효모, 곰팡이 : 접종 7일 이내 최소 90% 이상 균수가 감소해야 하며 시험기간 동안 증식하지 않아야 함)기준에 따라 14일까지 방부력 테스트한 결과 5% 찌레 추출물과 10% 찌레 추출물에서 높은 방부활성을 보였으며, 현재 방부제로도 사용하고 있는 1,2-hexandiol과 비교한 결과 유사한 방부력을 보임.

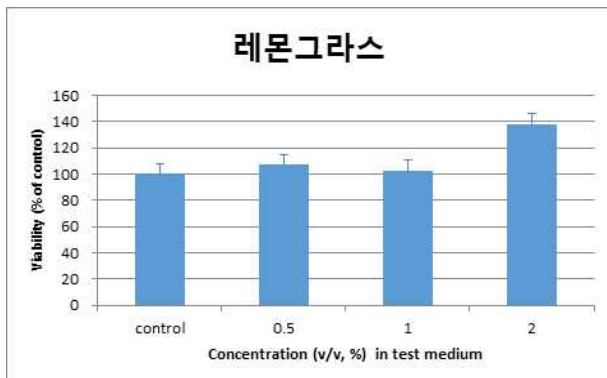
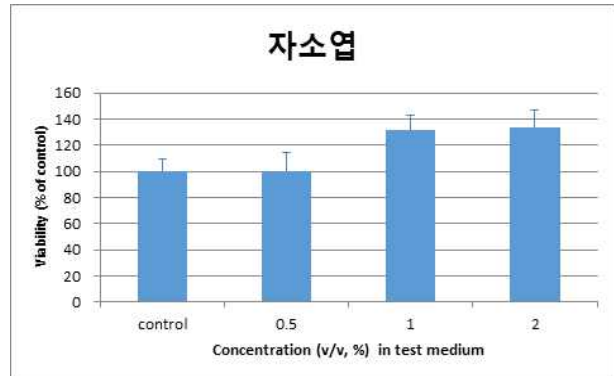
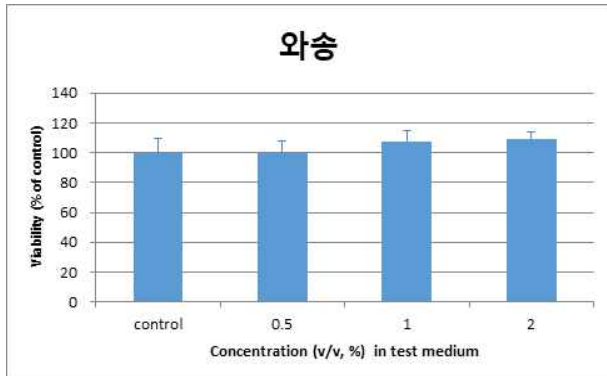
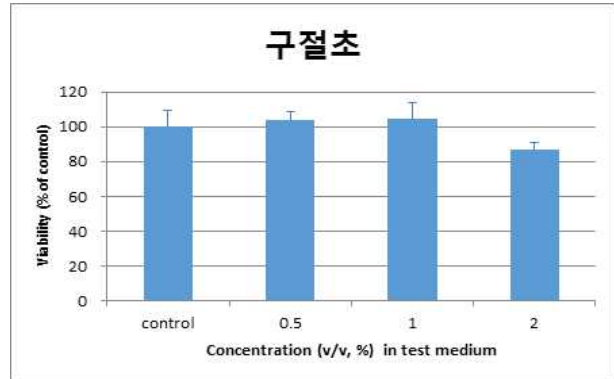
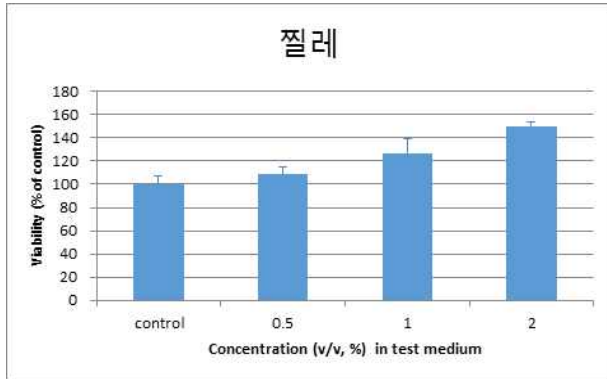
2) 안전성, 안정성 평가

허브자원 10종의 향산화, 보습, 미백, 주름, 항균 및 방부 생리활성탐색 결과 효능이 확인된 5종(찐레, 구절초, 와송, 자소엽, 레몬그라스)의 안전성 및 안정성을 평가함.

○ 안전성 평가

○ 세포독성

- 효능을 보인 추출물들의 인간 피부세포(HDFn cells)에 대한 독성 여부를 측정함.



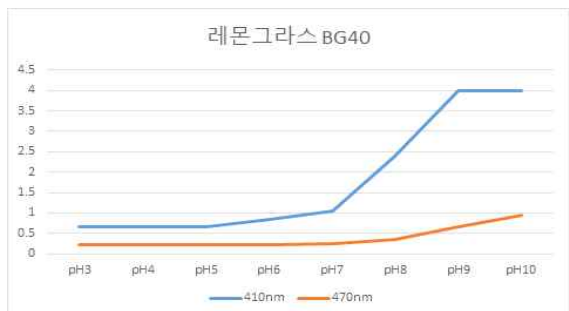
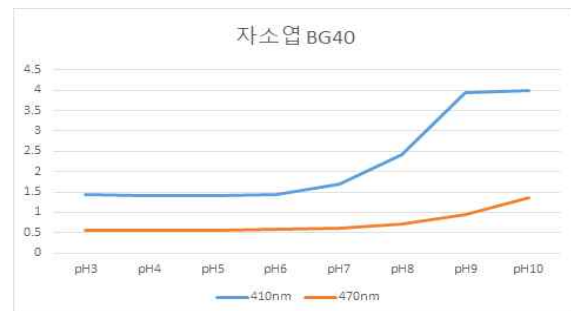
<40% BG 찐레, 와송, 자소엽, 레몬그라스의 세포독성 결과>

- 시험 결과 찐레, 와송, 자소엽, 레몬그라스 모든 샘플에서 세포독성을 관찰할 수 없었음.
- 구절초의 경우 약간의 독성이 보이지만, 최고농도에서만 유의하지 않은 수준임.

○ 안정성 평가

원료 샘플들을 대상으로 pH, 열, UV에 의해 추출물의 성상이 바뀌는지 안정성을 평가함.

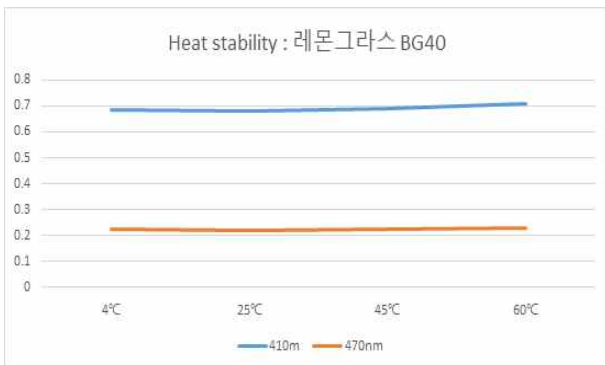
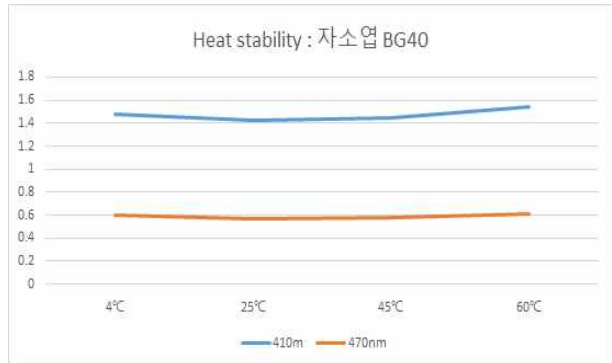
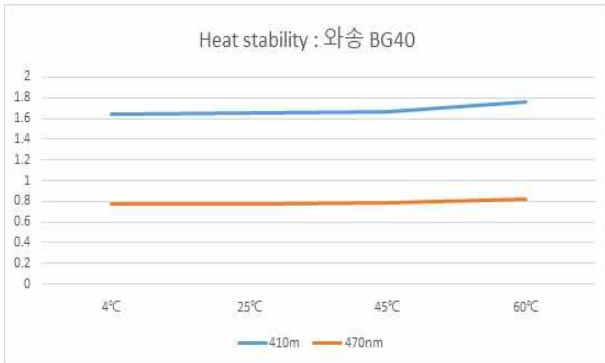
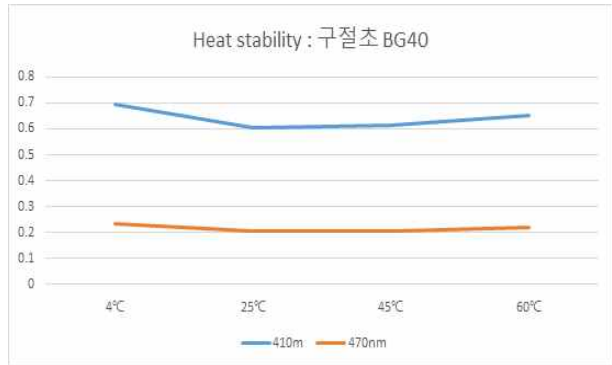
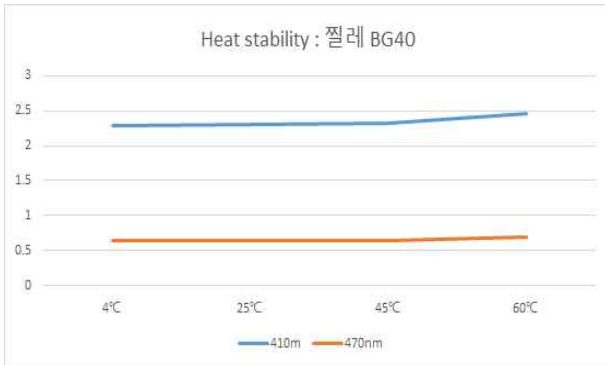
○ pH 안정성



<40% BG 짚레, 구절초, 와송, 자소엽, 레몬그라스의 pH에 의한 안정성>

- 대부분의 추출물들이 pH 4 - 7 사이에 일정한 성상을 유지하나, 짚레 추출물의 경우 pH에 따른 성상 변화가 두드러졌음. 제형에 적용하기 전 고려해야 함.

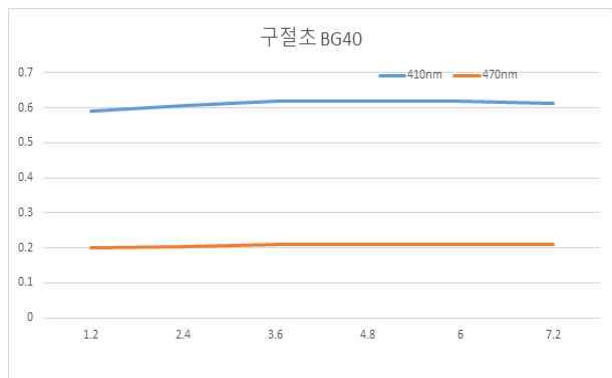
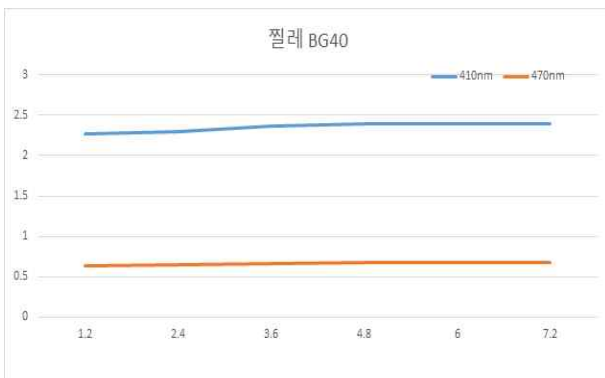
○ 열 안정성

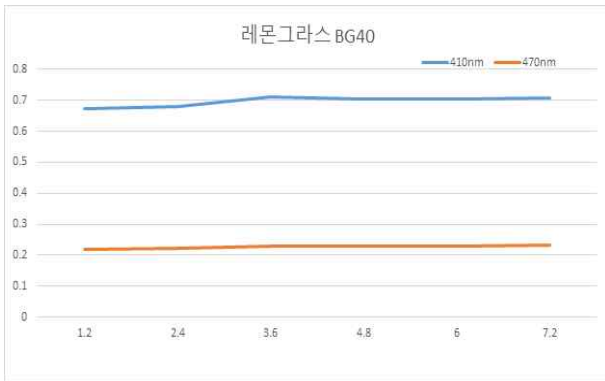
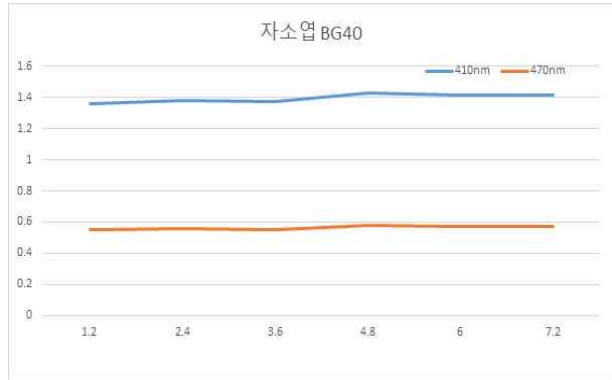
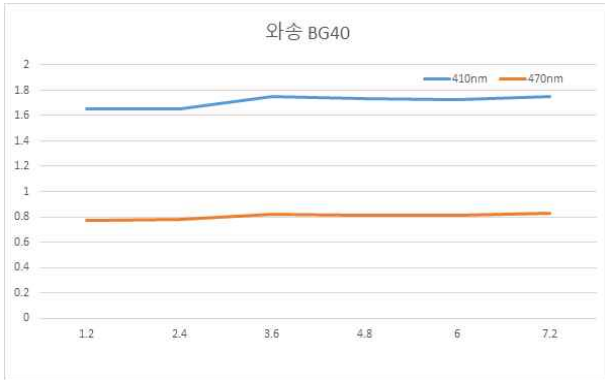


<40% BG 찹레, 구절초, 와송, 자소엽, 레몬그라스의 열에 의한 안정성>

- 모든 추출물들이 우수한 열 안정성을 보였음. 대부분의 추출물이 투입되는 제형 조건에서 문제를 일으키지 않을 것으로 결론내릴 수 있었음.

○ 광 안정성





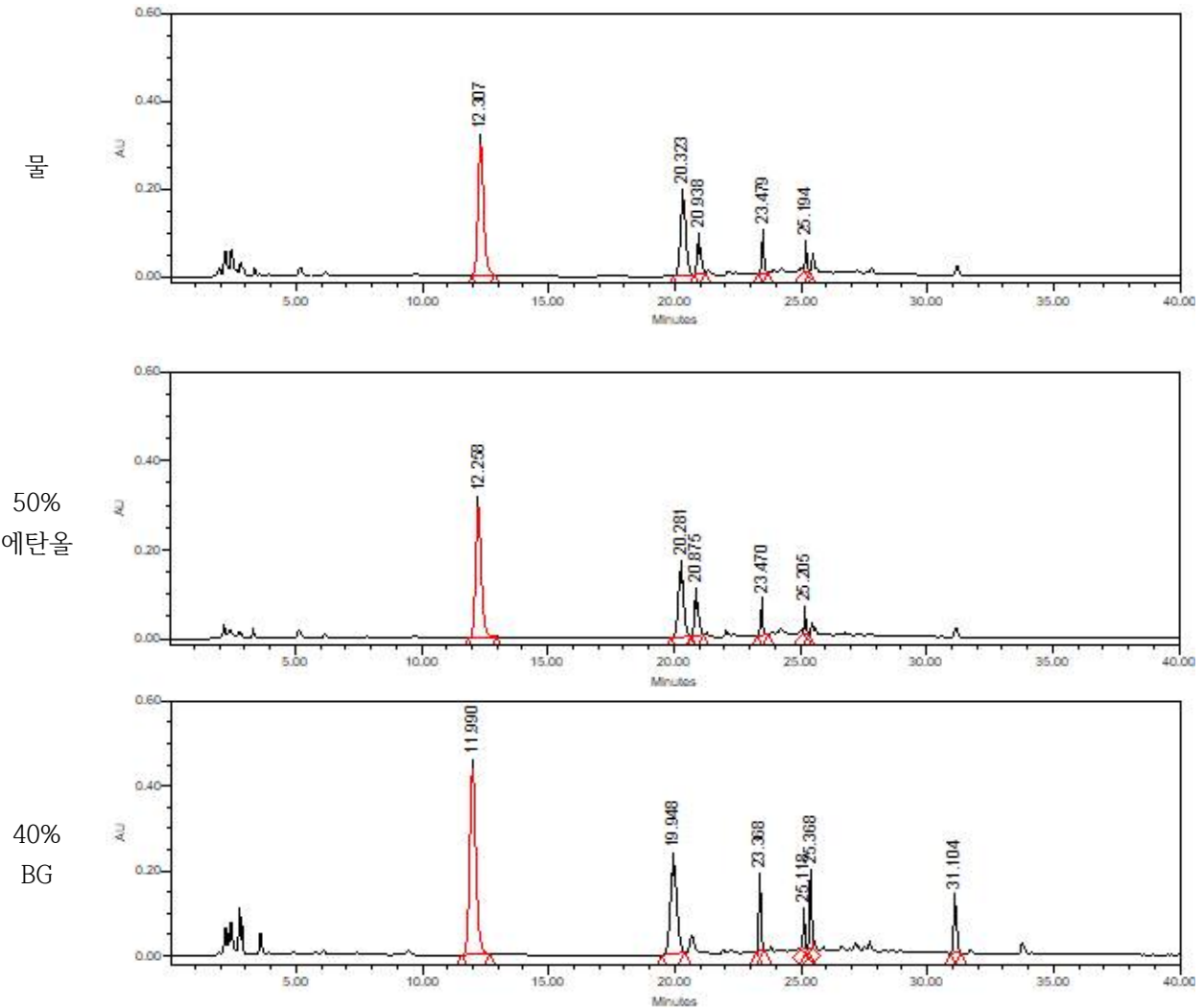
<40% BG 찢레, 와송, 자소엽, 레몬그라스의 UVB에 의한 안정성>

- UVB를 1.2 - 7.2 J/cm² 조사했을 때, 모든 추출물이 성상의 변화를 보이지 않았음. 가혹조건에서의 시험으로 장기간 보관 시 빛에 의한 추출물의 변화가 미미할 것이라는 결론을 내릴 수 있었음.

3) 제조공정 표준화

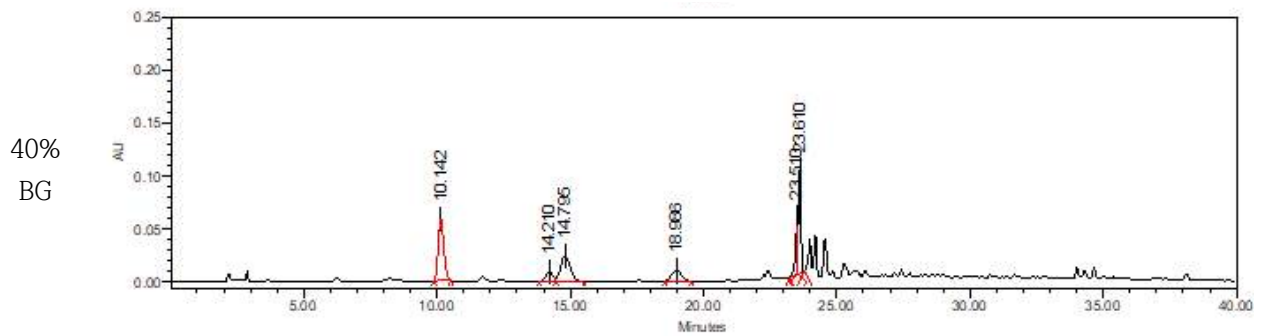
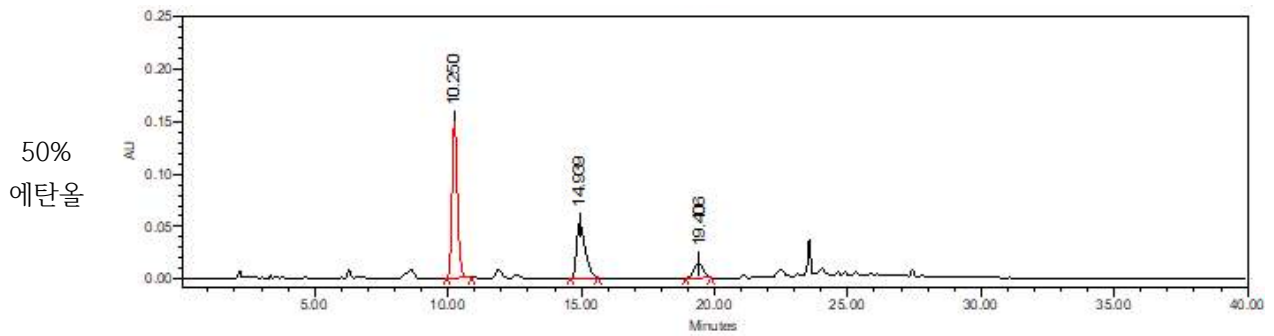
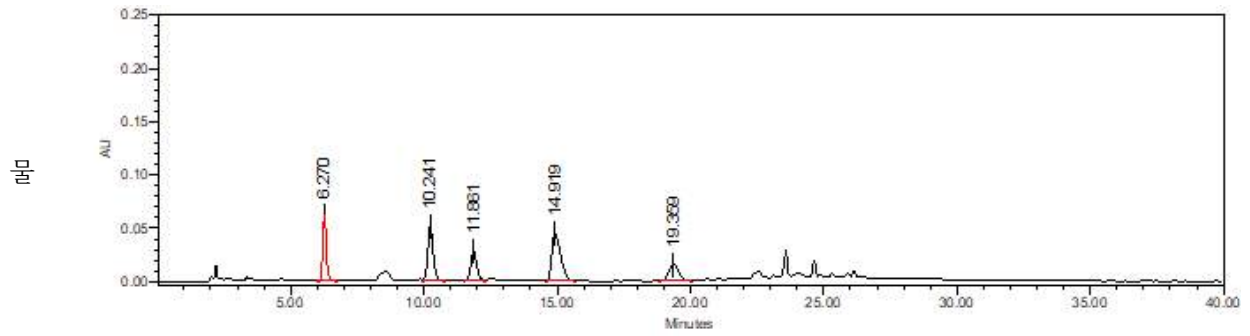
○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화(pilot scale)

- 허브자원 10종의 물, 50% 에탄올 및 40% BG로 제조한 원료 샘플의 지표 함량을 비교



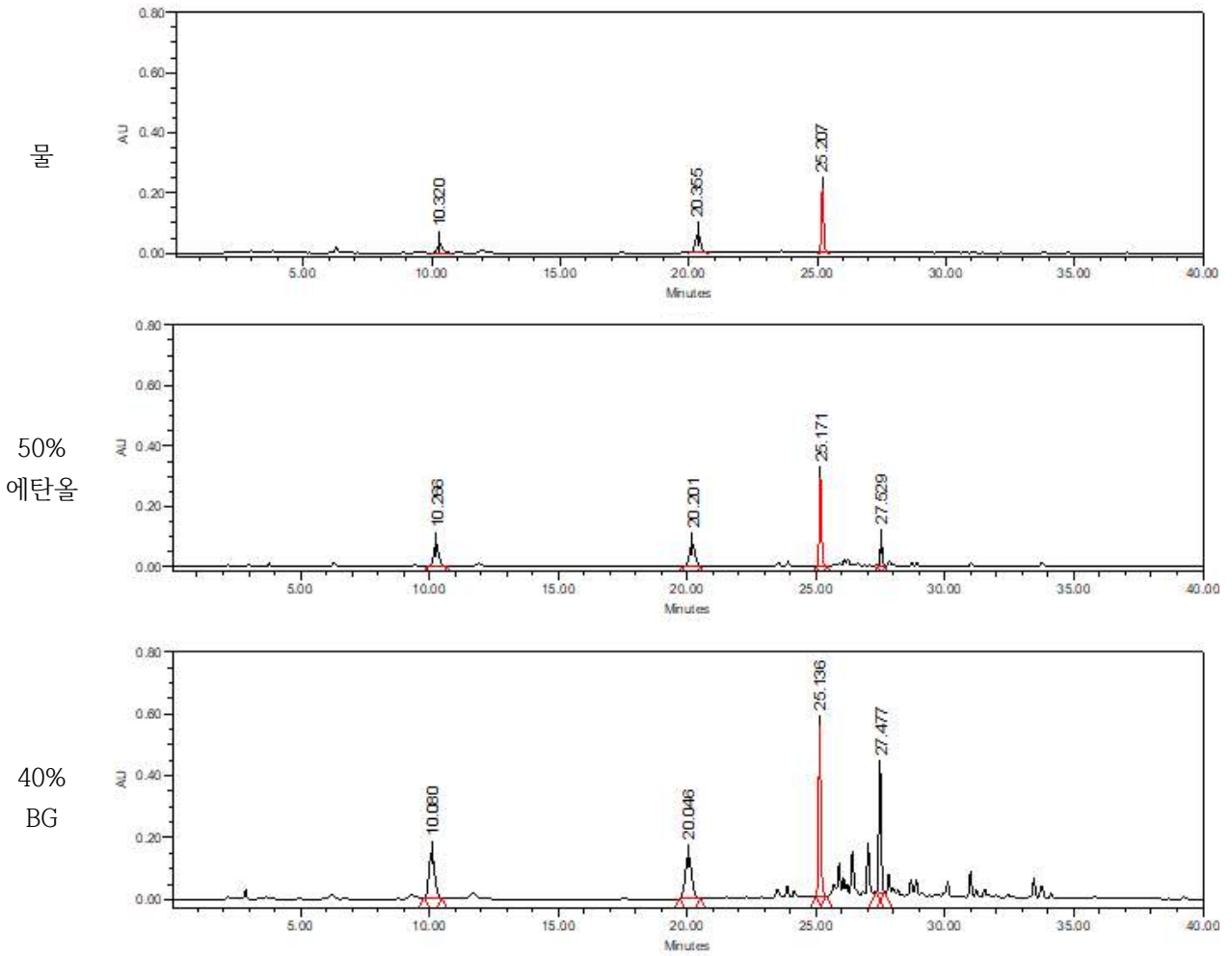
<라벤더 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 라벤더: 적색으로 표시한 main peak 물질의 함량이 40% BG에서 상대적으로 높고, 전체적인 chromatogram의 차이가 없어, 제조 공정을 40% BG 추출법으로 확정할 수 있었음.



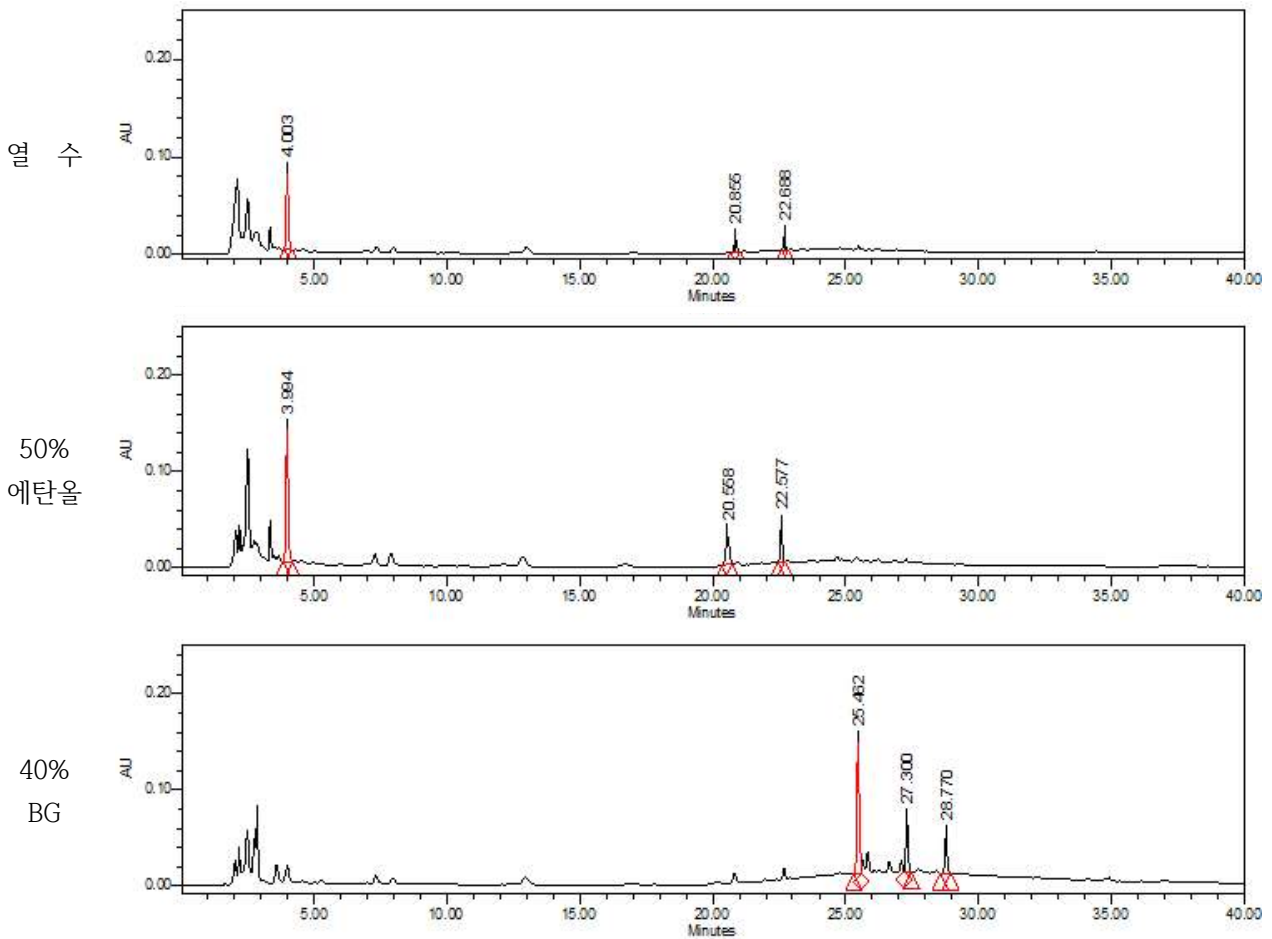
<레몬그라스 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 레몬그라스: 적색으로 표시한 chlorogenic acid의 함량이 50% 에탄올 추출물에서 상대적으로 높고, 전체적인 chromatogram의 차이가 큼. 효능 평가 결과에 따라 추출공정을 정해함.



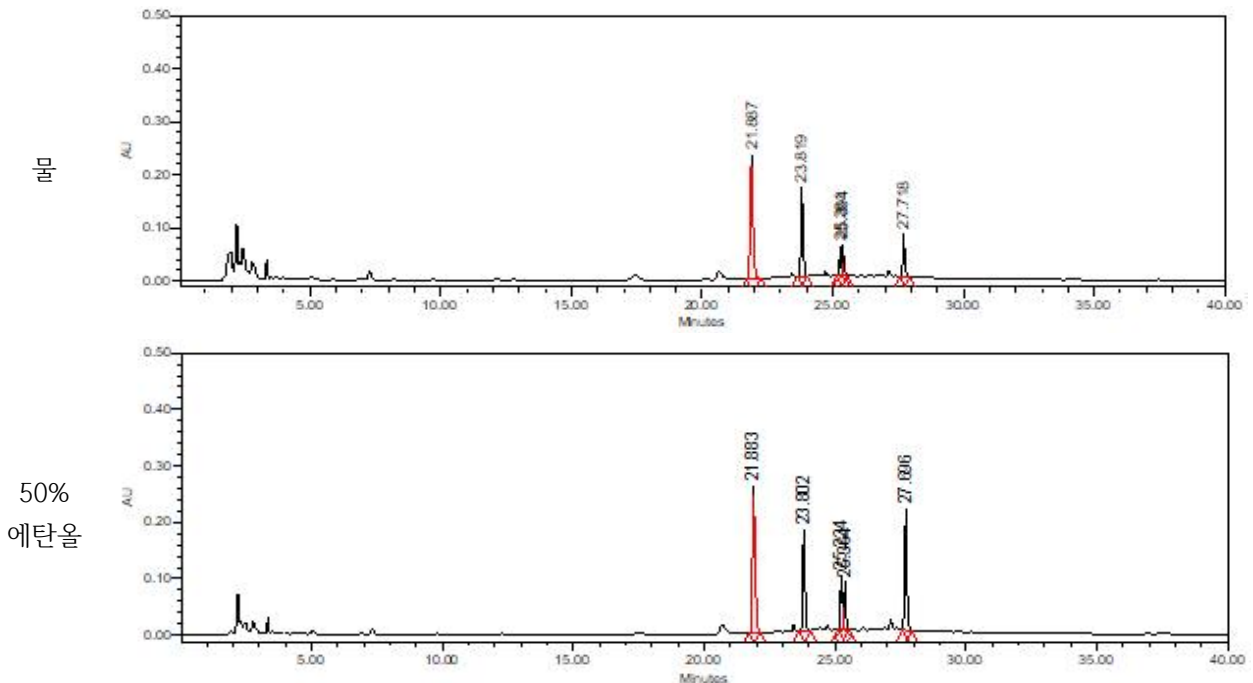
<캐모마일 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 캐모마일: 40% BG에서 지표물질의 함량이 가장 높아, 제조 공정을 40% BG 추출법으로 확정함.

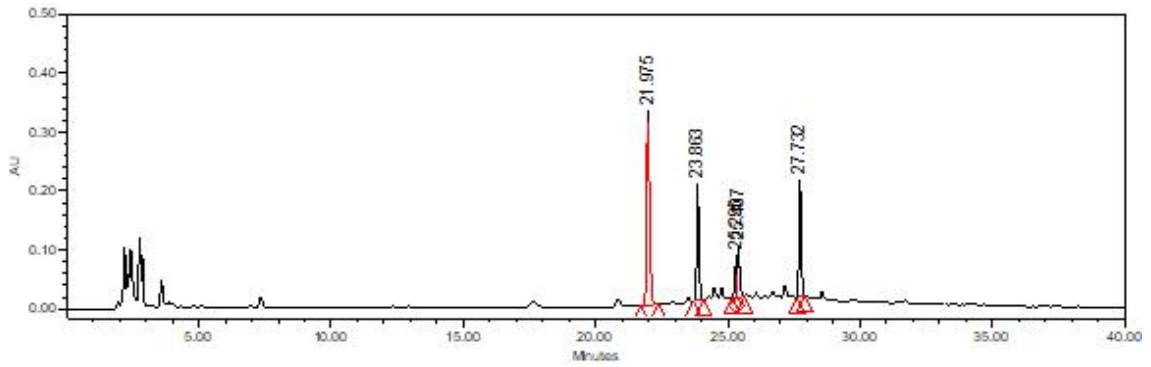


<와송 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 와송: 40% BG에서 추출되는 물질들의 pattern이 크게 달라, 효능 평가 결과에 따라 추출공정을 정해야 함.



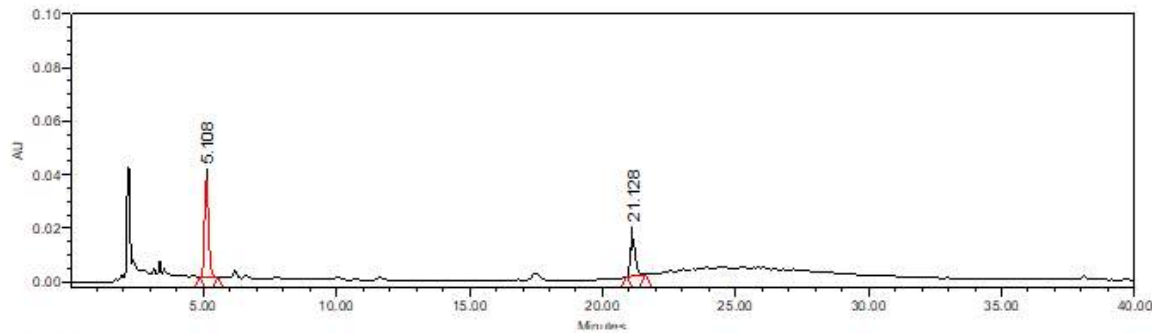
40%
BG



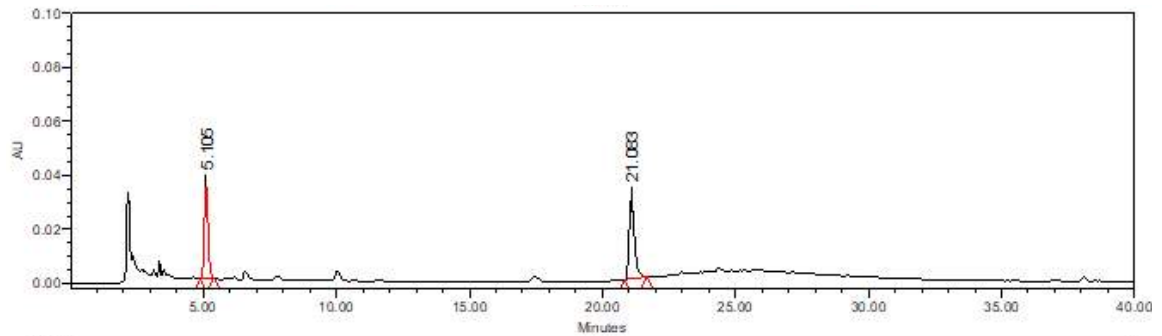
<자소엽 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 자소엽: 40% BG에서 지표물질의 함량이 가장 높아, 제조 공정을 40% BG 추출법으로 확정함.

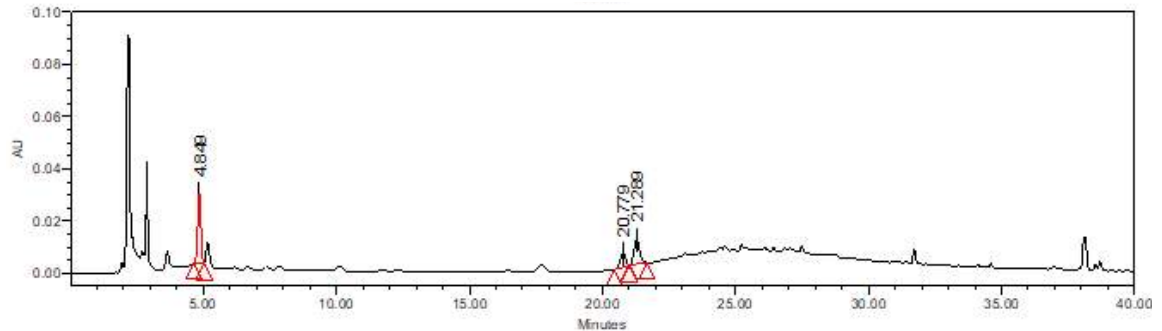
라미



50%
에탄올

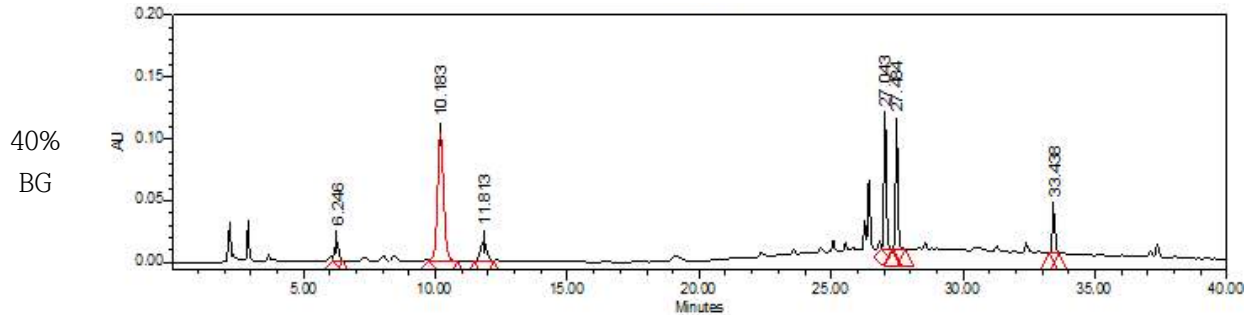
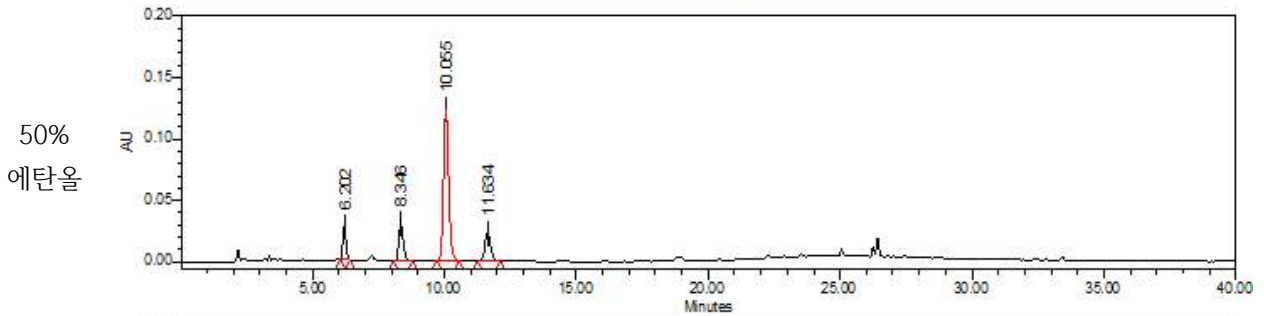
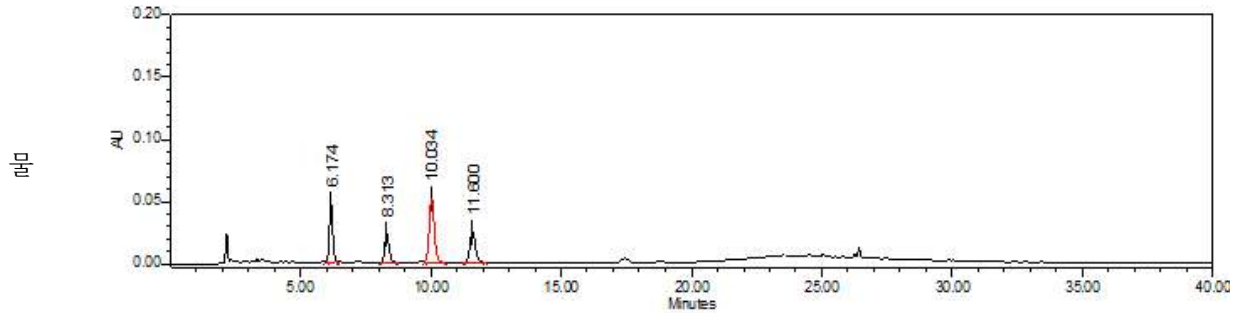


40%
BG



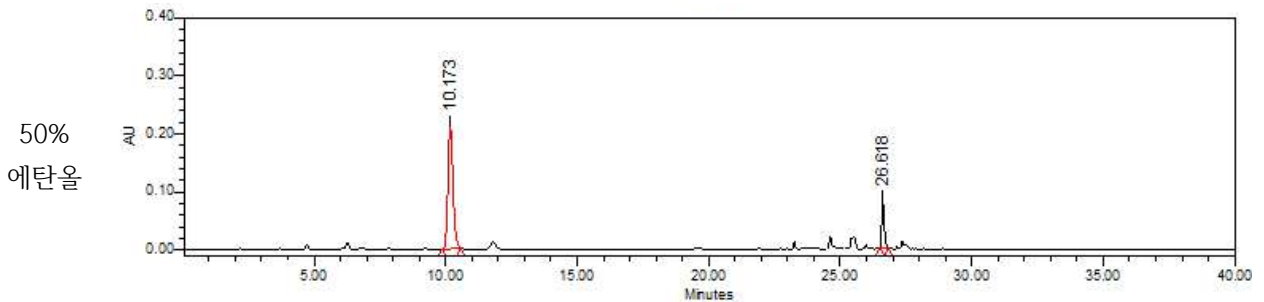
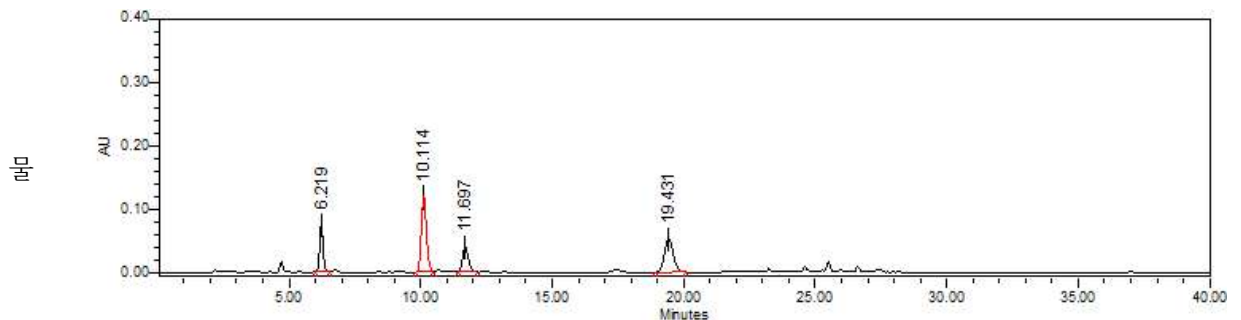
<흰민들레 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

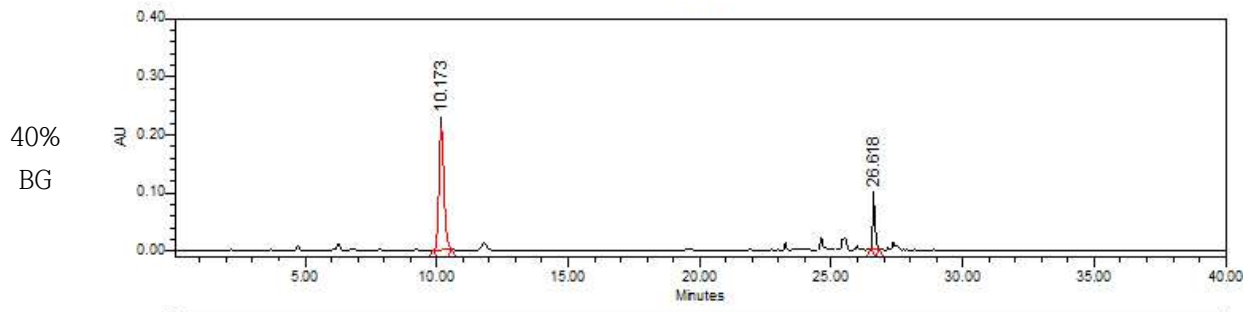
- 흰민들레: 추출물마다 지표물질의 함량이 다르지 않아, 효능 평가에서 차이가 없다면 제조 공정을 40% BG 추출법으로 확정할 수 있음.



<곤달비 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

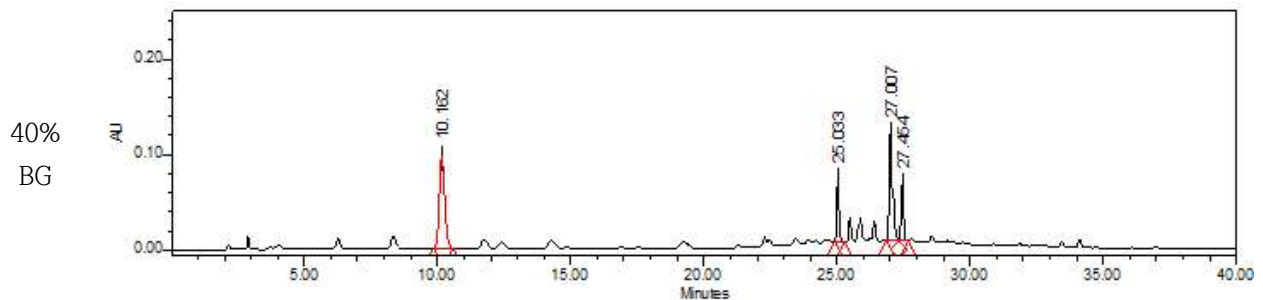
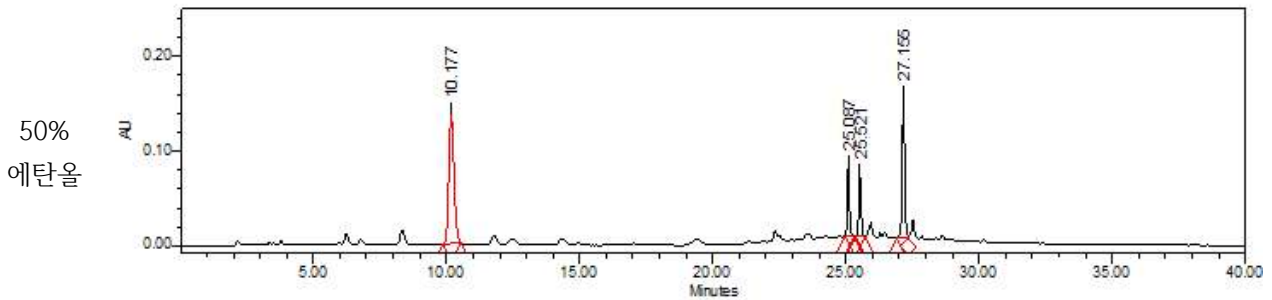
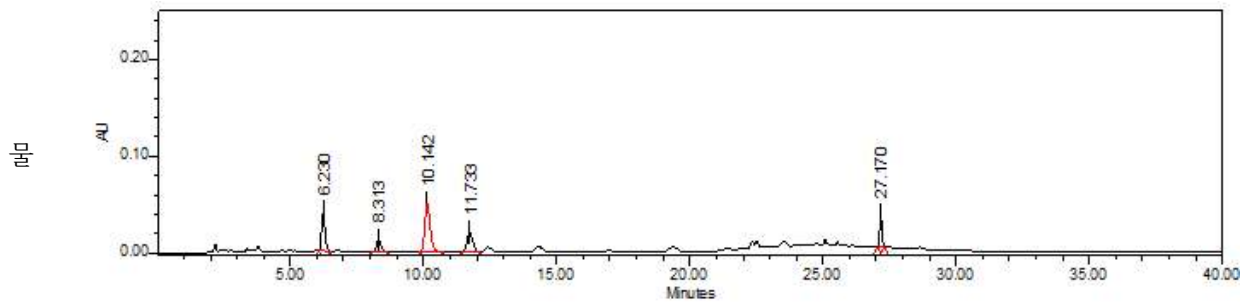
- 곤달비: 물과 50% 에탄올에 비해 40% BG 추출물의 chlorogenic acid 함량이 낮지 않고, 오히려 다른 물질의 함량이 유의하게 증가하므로 제조 공정을 확정할 수 있음.





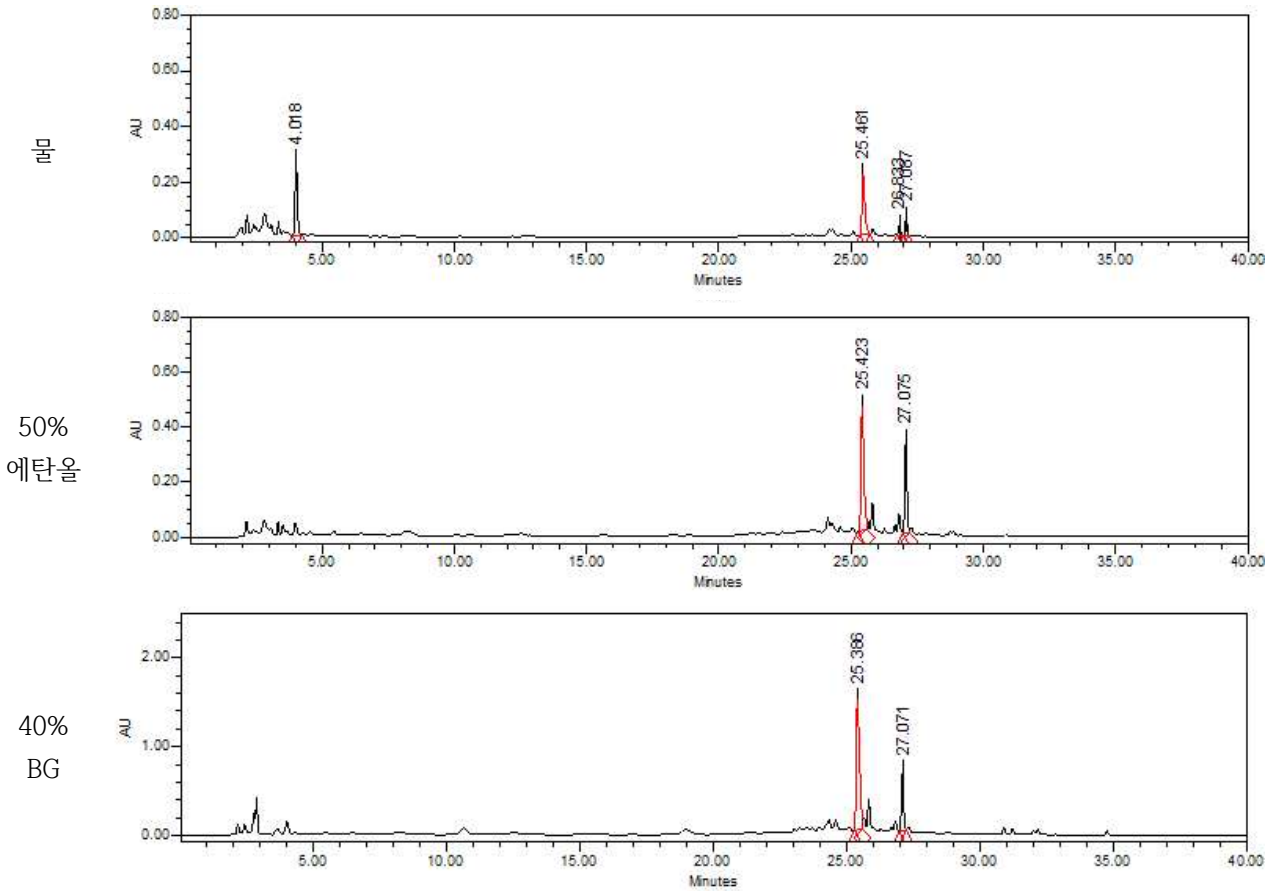
<감국 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 감국: 물과 50% 에탄올에 비해 40% BG 추출물에서 chlorogenic acid (10분 peak) 외 다른 물질의 함량이 유의하게 증가함. 세 용매에 따라 chromatogram의 차이가 확연하여, 효능 평가 결과에 따라 제조 공정을 정해야함.



<구절초 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 구절초: 50% 에탄올 추출물과 40% BG 추출물에서 거의 동일한 결과를 얻을 수 있었음. 물 추출물에서만 관찰되는 효능이 있다면, 제조 공정을 수정해야함.

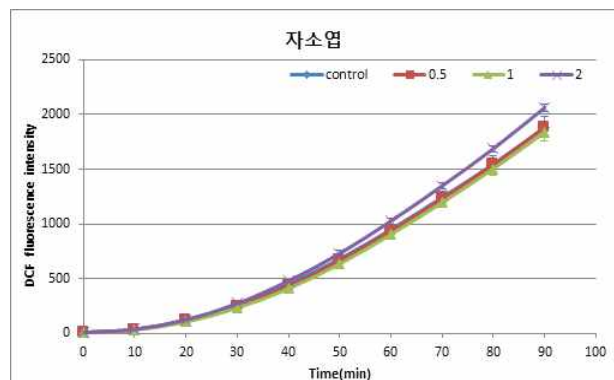
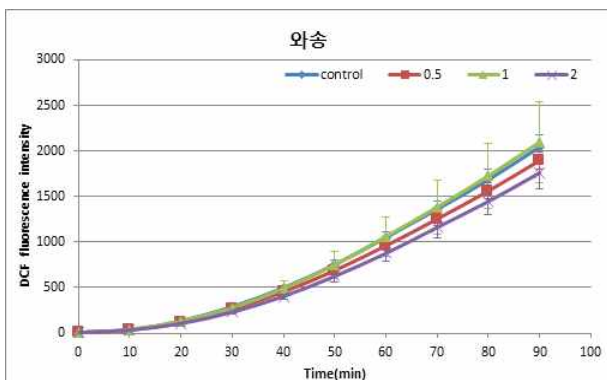


<절레 물, 50% 에탄올 및 40% BG 추출물의 지표 함량 비교>

- 절레: 물과 50% 에탄올에 비해 40% BG 추출물에서 지표 물질의 함량이 크게 증가함. 항균실험에서 모든 시료가 효능을 보였지만, 40% BG 추출물의 효능이 가장 뛰어났던 것을 뒷받침해주는 결과로, 25, 27분 peak의 물질들이 활성물질일 가능성이 높아 해당 물질들의 동정이 중요하며 추후 안정성의 지표로도 활용 할 수 있음.

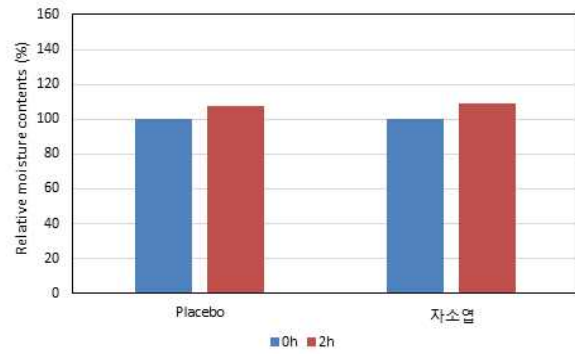
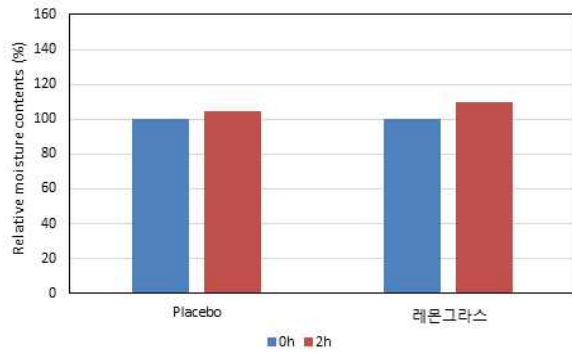
○ 효능 기준 제조공정 최적화(pilot scale)

○ 물과 50% 에탄올 추출물로 확인된 효능을 40% BG 추출물에서 추출조건에 따른 효능확인



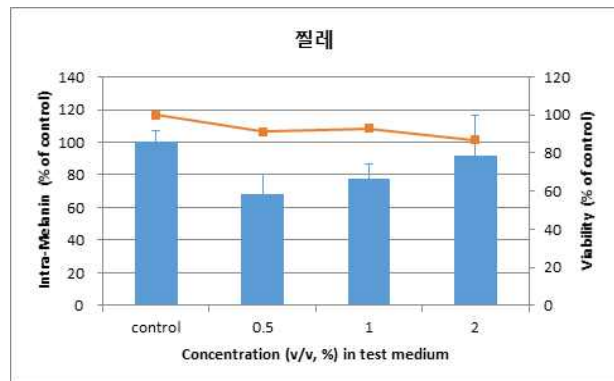
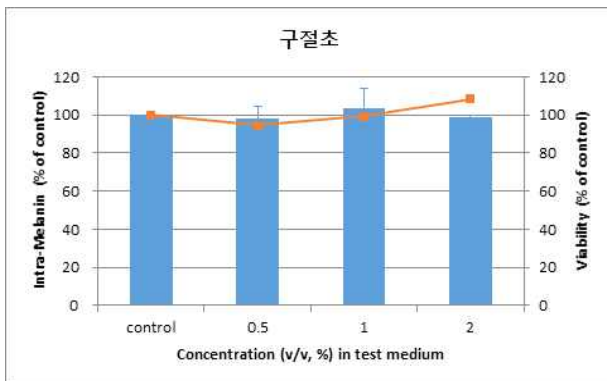
<40% BG 와송 및 자소엽의 항산화능 시험>

- 두 추출물 모두 다소의 항산화능을 세포 실험으로 확인할 수 있었음. 와송의 경우, 지표물질의 pattern이 40% BG에서 다르게 보였으나 항산화능은 긍정적으로 보이고, 안전성과 안정성 시험 결과도 좋아, 40% BG 추출로 공정을 확정해도 좋을 것이라는 결론을 내릴 수 있음.



<40% BG 레몬그라스 및 자소엽의 보습 효과 측정>

- 두 추출물 모두 placebo 이상의 보습력을 보였음. 레몬그라스는 추출 용매에 따른 지표물질 pattern의 차이가 다소 있었으나, 효능 결과로 볼 때 40% BG 추출공정이 긍정적이라는 결론을 내릴 수 있음.



<40% BG 구절초 및 찔레의 미백 효과 측정>

- 찔레 추출물은 미백 효능을 보이거나, 생쥐의 melanoma 세포에 약한 독성을 보여 반복 실험에 의한 확인이 필요함. 항균 방부 효능, 지표물질 함량 분석과 더불어 찔레 추출물은 40% BG 추출법이 가장 좋은 공정으로 보임. 그러나, 구절초 추출물은 미백 효능을 전혀 확인할 수 없었음. 따라서, 미백 효능을 얻을 수 있는 추출 공정을 수립해야 하며, 지표분석 결과로 볼 때 물 추출물을 농축한 후 40% BG 제품으로 제조하면 효능 원료로 가능할 것이라 판단됨.

마. 전북농업기술원 허브시험장(제4협동)

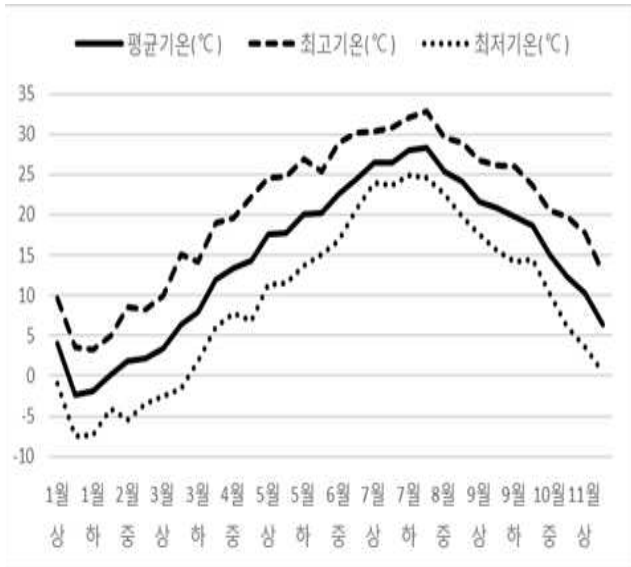
구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1차 년도 (2017)	남원지역특화 자원의 허브 생산기술 개발	허브자원 시범포 조성 기본생리 연구	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작목 : 허브자원 10종 ○ 처리내용 : 서양허브(3종) 라벤더 등, 동양허브(5종) 자소엽 등, 자원식물(2종) 짚레 등 ○ 재배면적 : 330m² (작목당 33m²), 노지재배 ○ 조사내용 : 기본생육 (출현, 개화), 수량성 등 	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종 시범포 조성 - 허브자원 10종 지상부, 지하부 생육특성 조사 - 허브자원 10종 이용부위별 향기성분 정성분석

1) 허브자원 시범포 조성

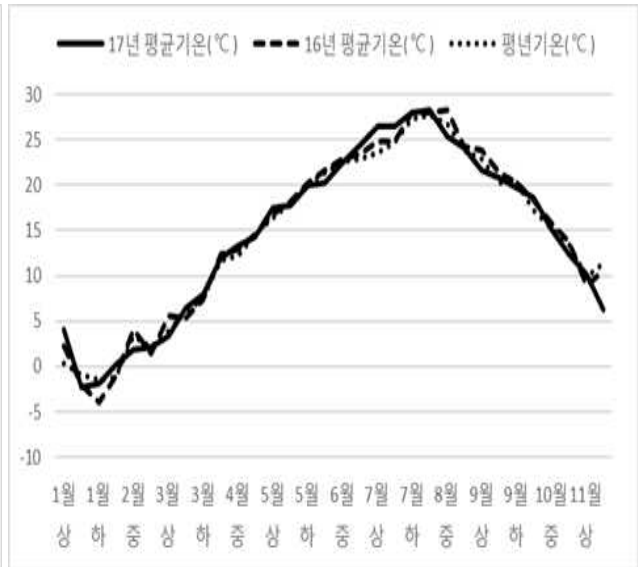
○ 연구수행 내용

- 시험작목 : 허브자원 10종
- 처리내용 : 서양허브(라벤더 등 3종), 동양허브(자소엽 등 5종), 자원식물(짚레 등 2종)
- 재배면적 : 330 m²(작목당 33 m²), 노지재배
- 조사내용 : 기본생육(출현, 개화), 수량성 등

○ 남원 운봉읍 기상조건(기온, 습도, 강수량)



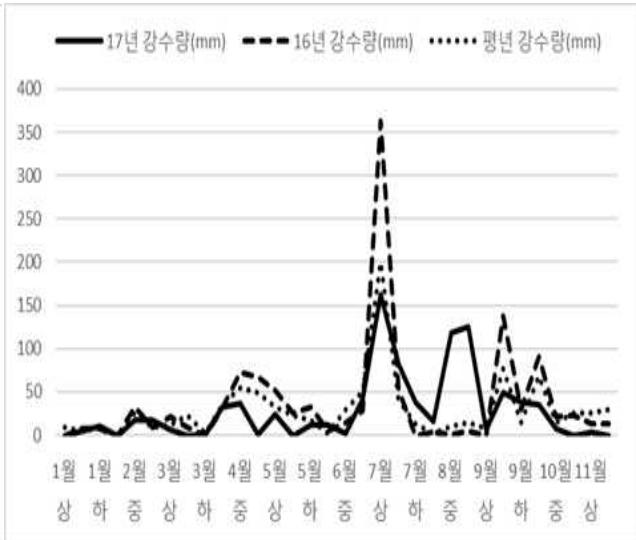
<2017년 월별 기온(°C)>



<평년, 전년 대비 2017년 평균기온(°C)>



<2017년 월별 대기습도(%)>



<2017년 월별 강수량(mm)>

- 전시포장은 남원 운봉지역에 조성하였으며, '17년 1~11월까지 기상조건을 조사한 결과 연평균기온은 12.9°C, 연평균대기습도는 75.4%, 연평균 강수량은 27.8 mm였음.
- 평년 대비 2017년 평균기온과 총강수량의 편차('17년-평년)는 각각 0.2°C, 32 mm로 차이가 크게 나타나지 않았으나, 전년 대비 비교해본 결과 평균기온과 총강수량의 편차('17년-전년)는 각각 -0.2°C, 267 mm를 나타내 강수량에서 차이를 보였음.

○ 남원지역 허브자원(10종) 정식시기 및 초기 생육 특성

구 분	파종시기	출현시기	정식시기	초장 (cm)	초폭 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)
라벤더	-	-	5월 하순	26.4	13.7	3.4	0.5	1.9
레몬그라스	5월 중순	5월 하순	6월 하순	18.4	6.4	16.3	1.7	2.1
캐모마일	4월 하순	5월 중순	5월 하순	8.1	10.4	-	-	3.8
와송	-	-	5월 하순	2.6	7.7	3.9	0.8	-
자소엽	-	-	6월 중순	10.7	4.2	2.5	2.0	1.3
흰민들레	5월 중순	5월 하순	6월 하순	3.6	6.1	5.6	2.5	-
곤달비	-	-	6월 중순	22.9	7.4	5.2	7.4	2.4
감국	-	-	5월 하순	43.2	7.4	5.6	5.3	2.1
구절초	5월 중순 (삼목)	-	6월 하순	8.7	5.2	5.1	4.8	2.3
쫄레	-	-	5월 하순	38.2	7.7	2.6	1.4	3.4

- 자원별 정식시기는 5월 하순~6월 하순경이며 감국(함양), 산구절초는 삼목, 캐모마일, 레몬그라스, 흰민들레는 육묘, 라벤더, 자소엽, 쫄레, 감국(남원 이백면), 와송, 곤달비는 종묘를 구입하여 정식하였음.

○ 남원지역 허브자원(10종) 시범포 조성사진



<라벤더>



<레몬그라스>



<캐모마일>



<와송>



<자소엽>



<흰민들레>



<곤달비>



<감국>



<구절초>



<짚레>

2) 허브자원 10종 지상부, 지하부 생육특성 조사

○ 남원지역 허브자원(10종) 지상부 생육특성

구 분	초장 (cm)	초폭 (cm)	경직경 (mm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	분지수 (개/주)	지상부생체중 (g/주)
라벤더	58.0	47.3	3.7	5.0	38.2	16.0	186.2
캐모마일	39.1	28.0	3.5	-	-	1.8	42.8
레몬그라스	179.1	58.0	5.9	103.5	1.9	68.3	1187.3
자소엽	97.3	58.2	11.1	11.9	9.2	2.0	435.5
흰민들레	21.0	27.3	-	19.0	5.0	-	80.7
곤달비	20.6	18.8	2.9	6.6	10.6	10.7	34.2
감국	85.3	68.1	9.0	5.9	4.8	1.7	573.3
구절초 (개화○)	25.7	27.5	7.9	7.8	7.0	1.3	105.0
구절초 (개화×)	13.8	26.2	8.4	7.2	6.5	1.2	85.4
썰레	79.4	100.1	11.0	4.0	1.8	12.8	233.5

구 분	초장 (cm)	초폭 상 (cm)	초폭 하 (cm)	경직경 (mm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	지상부생체중 (g/주)
와송	33.5	3.8	14.4	8.2	6.9	1.9	160.8

- 레몬그라스, 캐모마일, 와송, 자소엽, 흰민들레, 감국, 산구절초, 썰레는 지상부 생육이 양호하였고 구절초의 경우 개화 여부에 따라 초장이 약 12 cm 정도의 차이가 발생하였음.
- 라벤더는 5월 하순 정식 후 7월까지의 생육이 양호하였으나 잦은 강우로 인해 지상부 26% 정도 고사함.
- 곤달비는 반음지성 작물로 차광을 해줬으나 낮은 터널재배로 인해 고온기에 잎이 타들어가는 양상을 보였음.



<라벤더 정상개체>



<라벤더 고사주>



<곤달비 정상개체>



<곤달비 엽소현상>

○ 남원지역 허브자원(10종) 지상부·지하부 생육사진



<라벤더>



<레몬그라스>



<캐모마일>



<와송>



<자소엽>



<흰민들레>



<곤달비>



<감국>



<구절초>



<짚레>

○ 남원지역 허브자원(10종) 지하부 생육 및 개화특성

구 분	근장 (cm)	근직 경 (mm)	근폭 (cm)	지하 부생 체중 (g/주)	개화시 (월/일)	개화 율 (%)	개화 일수 (일)	화경 장 (cm)	화경 직경 (mm)	꽃직 경 (mm)	착화수 (개/주)
레몬 그라스	32.3	1.3	34.4	191.0	-	-	-	-	-	-	-
캐모마일	19.8	2.5	14.2	1.8	6/23	91	38	5.1	0.6	11.9	113.4
흰민들레	23.5	7.3	21.5	94.7	7/24	89	67	38.4	4.6	31.4	13.2
곤달비	24.3	2.2	18.6	45.5	-	-	-	-	-	-	-
감국	30.3	2.8	186.5	79.3	9/25	82	104	5.9	1.3	28.5	170.6
구절초 (개화○)	39.8	2.8	36.4	175.2	9/18	26	69	9.8	2.4	51.2	77.2
구절초 (개화×)	16.7	3.3	25.2	24.3	-	-	-	-	-	-	-
쫄레	52.2	5.9	45.2	112.8	-	-	-	-	-	-	-

구 분	근장 (cm)	근직 경 (mm)	근폭 (cm)	지하 부생 체중 (g/주)	개화시 (월/일)	개화 율 (%)	개화 일수 (일)	화뢰 장 (cm)	화뢰 직경 (mm)	꽃직 경 (mm)	화뢰수 (개/주)
라벤더	18.3	3.9	18.9	68.3	6/7	89	16	43.3	6.3	1.8	18
와송	11.6	1.2	9.6	3.9	10/12	82	145	27.6	3.3	3.4	2.7
자소엽	27.4	4.9	25.8	61.2	9/7	97	86	7.4	3.3	2.1	32.6

【참고자료】남원지역 허브자원 10종 개화시기

라벤더	레몬그라스	캐모마일	와송	자소엽	흰민들레	곤달비	감국	구절초	쫄레
6~9월	8~9월	6~9월	8~9월	8~9월	4~6월	8~9월	9~11월	9~11월	5~6월

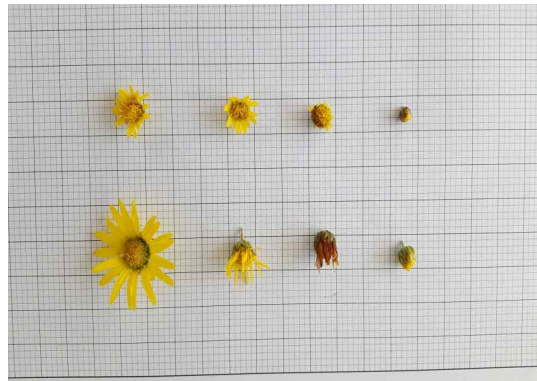
- 개화한 자원은 라벤더, 캐모마일, 와송, 자소엽, 흰민들레, 감국, 구절초이며 개화하지 않은 자원은 레몬 그라스, 곤달비, 쫄레임.

- 개화양상을 살펴보면 라벤더는 정식 후 바로 6월부터 개화를 시작하였으며 9월 하순까지 지속적으로 화경이 형성되었으며, 흰민들레는 7월 하순~9월상순까지 지속적으로 개화가 이루어졌음.
- 캐모마일은 6월 하순경부터 개화를 시작하였고 7월 하순경부터 지상부가 고사하기 시작해 8월 상순경에 모든 개체가 고사했고 9월 중순경부터 지상부가 다시 출현하여 개화를 시작하였음.
- 와송, 자소엽, 감국은 각각 10월 상순, 9월 중순, 9월 상순경에 개화를 시작하였고 개화율도 82~97%로 양호하였음.
- 구절초는 9월 중순경부터 개화를 시작했으나 개화율이 26%로 낮았는데 이는 늦은 삽목으로 인한 생육일수 부족으로 판단됨.
- 레몬그라스는 화분과에 속하는 작물이기 때문에 생육은 왕성하였으나 재배환경(인도, 태국 등 자생)으로 인해 개화하지 않은 것으로 판단됨.
- 쫄레는 정식시기와 개화시기(5월)가 겹쳐서 개화하지 않은 것으로 보이며, 곤달비는 실생번식 한 종묘여서 1년차에는 전혀 개화하지 않은 것으로 판단됨.
- 자소엽, 레몬그라스, 와송의 경우 생육이 양호하였으나 포장 생육기간이 약 5개월 정도로 짧았고 대부분의 작물이 다년생이어서 기본적인 생육양상을 파악하기 위해서 2018년 재조사하여 보완할 계획임.

○ 남원지역 허브자원 개화기 사진

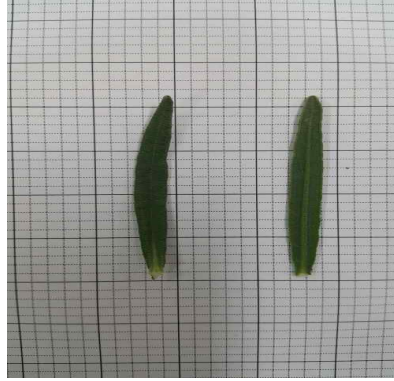


<흰민들레>



<감국>

○ 남원지역 허브자원 개화기 사진



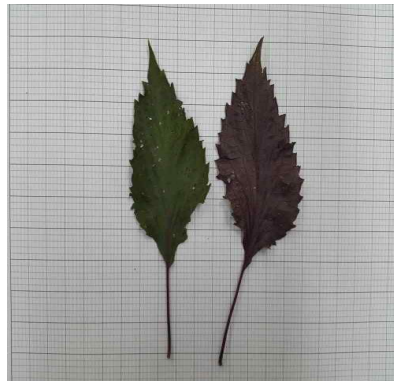
<라벤더>



<캐모마일>



<와송>



<자소엽>

[남원지역 허브자원 생산 및 건조 수율]

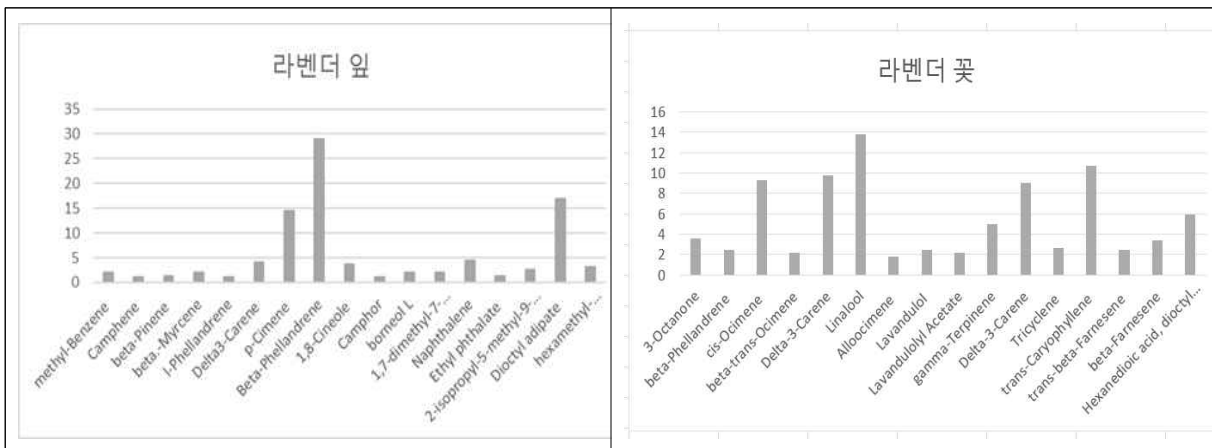
품목	단위면적당 수확량 (kg/평)(생물기준)	건조수율(%)	단위면적당 생산량 (kg/평)(건조기준)
라벤더	5	37.2	1.36
레몬그라스	0.33	27.33	0.82
캐모마일	1.1	29	0.2
와송	11.97	6.54	0.74
자소엽	6.51	23.04	1.5
흰민들레	2.35	12.9	0.3
곤달비	2.82	-	-
감국	1.82	30.77	0.56
산구절초	0.65	27.69	0.18
절레꽃	-	27.6	-

3) 허브자원 10종 이용부위별 향기성분 정성분석

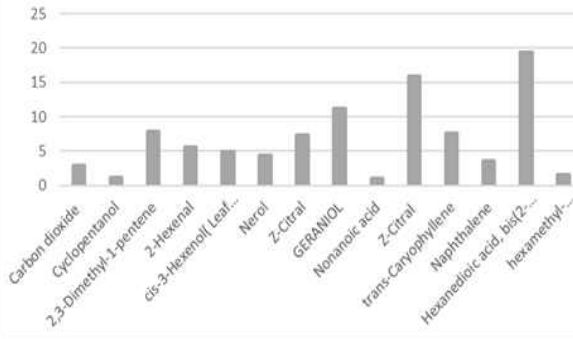
○ 남원지역 허브자원(10종) 이용부위별 향기성분 분석

- 남원지역 허브자원 10종의 이용부위(꽃, 잎, 줄기)를 생체(흰민들레 건조)로 채취하여, GC/MS를 이용하여 향기성분을 분석하였음. 향기성분을 분석하기 위한 방법은 SPME(고체상 미량추출)법으로 하였고, GC 분석 조건과 오토샘플러 조건은 아래와 같이 설정하였음.

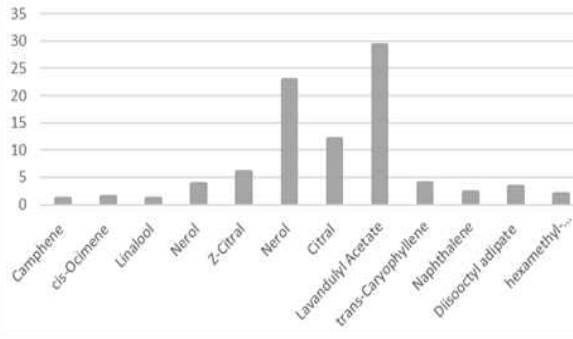
GC/MS 조건	Auto Sampler 조건
Column(Agilent, 122-5532UI) Length 30m, Diam, 0.25mm, Film 0.25µm Fixed phase polyethylene glycol Oven temp. 40°C ~ 240°C, 3°C/min Inlet Temp. 250°C Carrier gas helium Flow 1mL/min Split ratio 1:10 Analysis library : wiley7n.1	Incubation temp. 60°C Incubation time 3min Agitator speed 250rpm Agitator time 60sec Extration time 10min Desorption time 120sec.



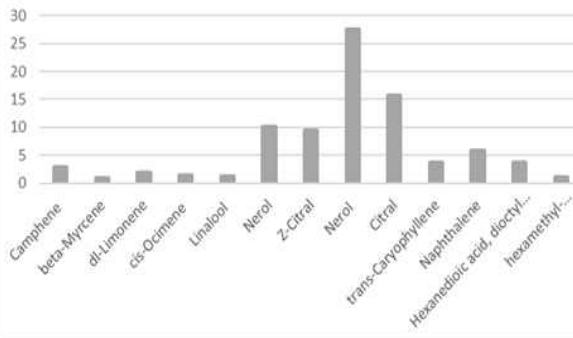
레몬그라스(상)



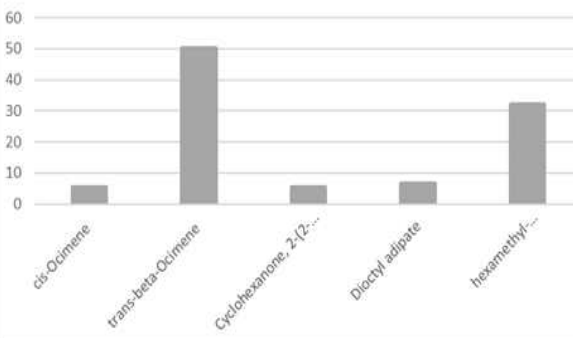
레몬그라스(중)



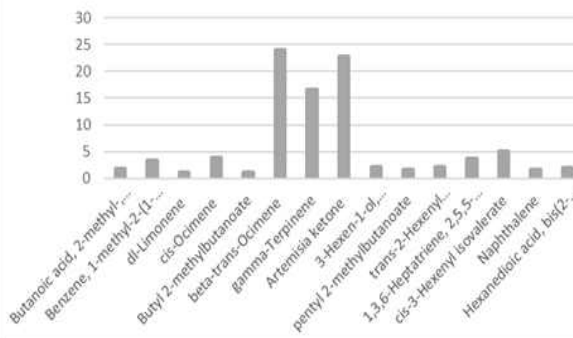
레몬그라스(하)



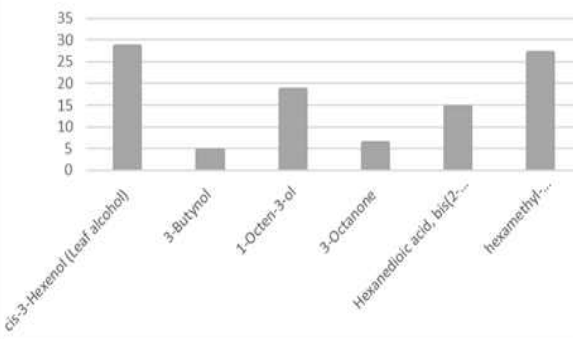
캐모마일 잎



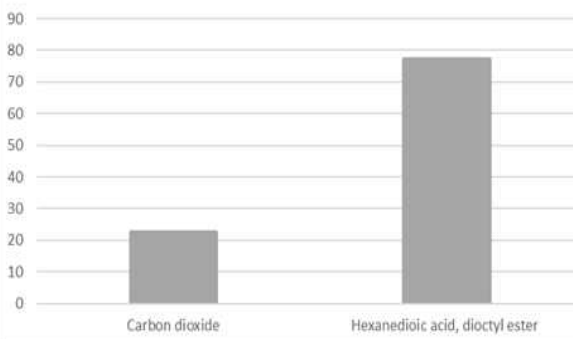
캐모마일 꽃

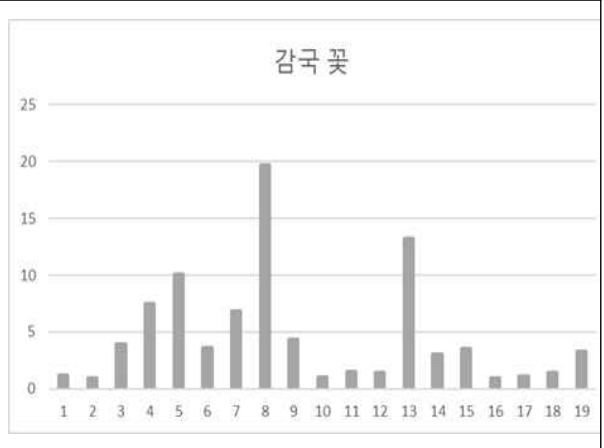
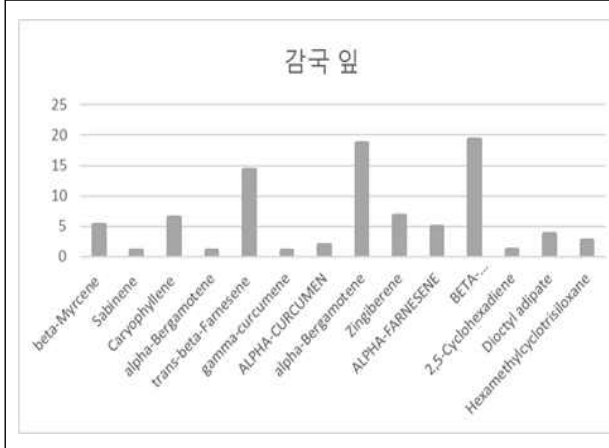
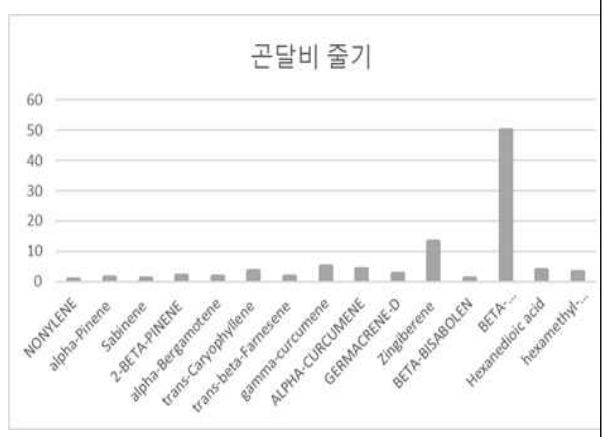
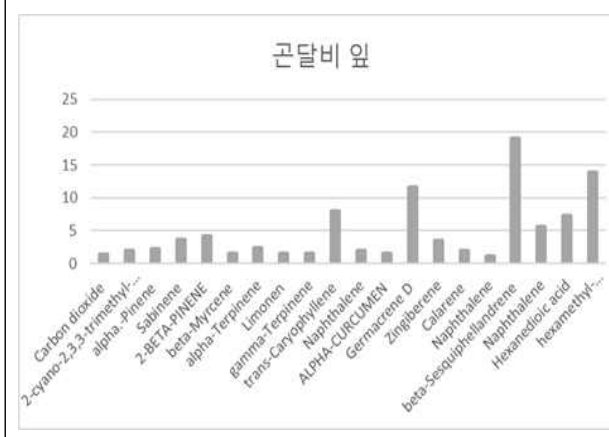
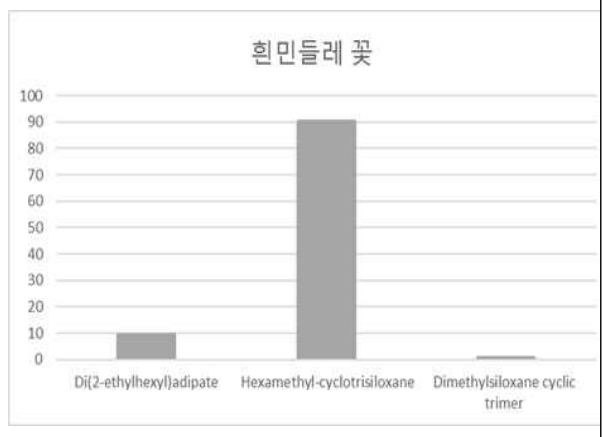
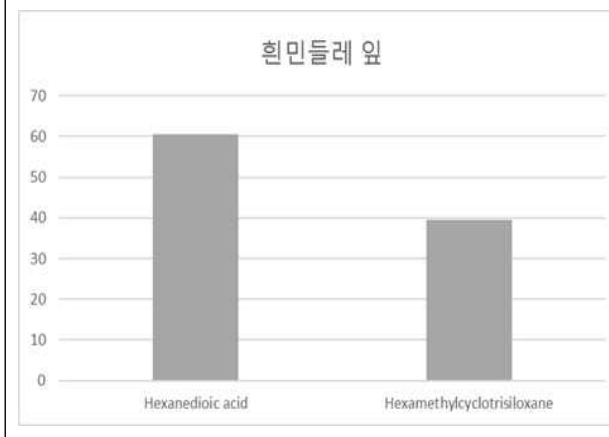
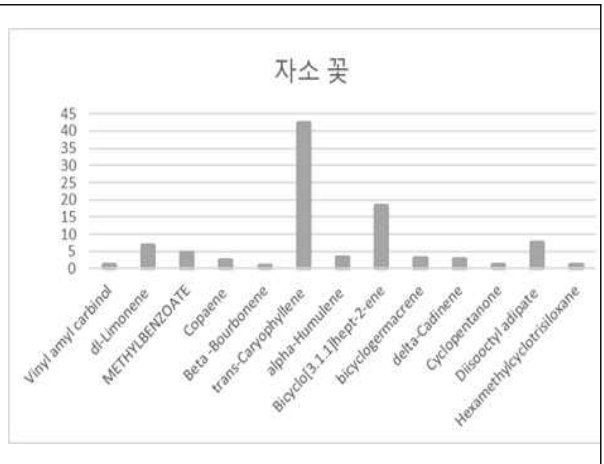
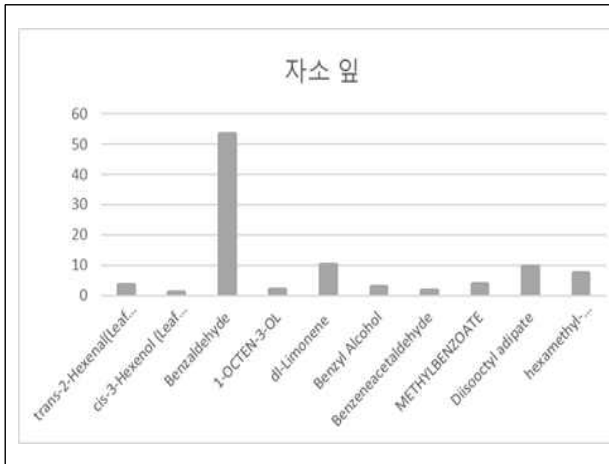


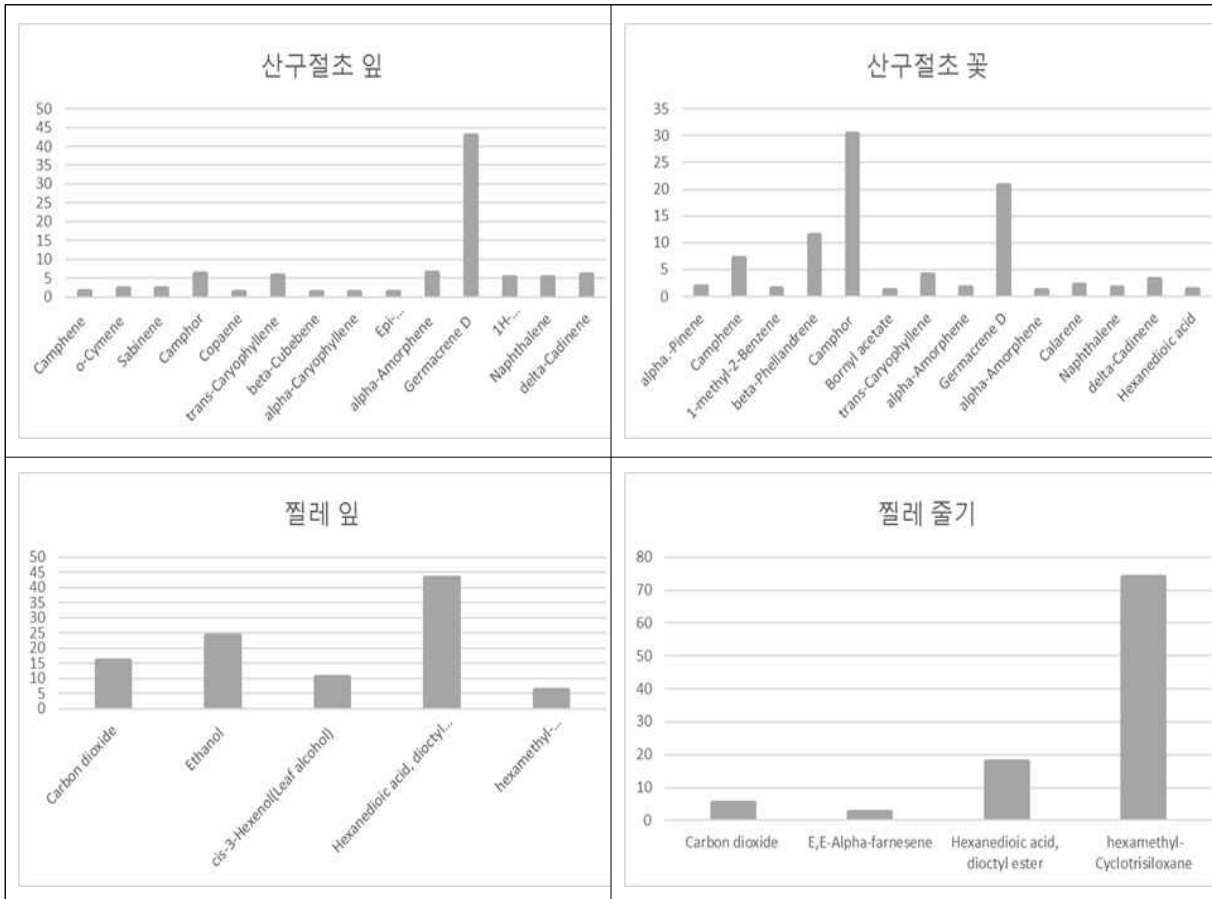
와송 잎



와송 꽃







- 개화한 자원의 향기성분을 조사한 결과, 잎보다는 꽃에서 향기성분이 다양하게 검출되었으며 와송의 경우는 이와 다르게 꽃보다는 잎에서 다양하게 향기성분이 검출되었음.
- 자원 중 9종은 생체 시료를 채취하여 10월에 측정하였으나 흰민들레의 경우 9월 중순경에 개화가 종료되어서 건조 시료를 이용하여 분석하였음.
- 레몬그라스의 경우 초장이 150~180 cm 정도로 길어서 3등분하여 시료를 분석한 결과 Nerol 성분의 Area (%)가 각각 4.4%, 22.8%, 27.5%로 지제부로 갈수록 증가하는 경향을 보였음.

【이용부위별 주요 향기성분】

라벤더	꽃 : Linalool, trans-Caryophyllene, 잎 : beta-phellandrene
레몬그라스	상단 : Z-citral, 중단 : Lavandulyl acetate, Nerol, 하단 : Nerol, Citral
캐모마일	꽃 : beta-trans-Ocimene, Artemisia Ketone 잎 : beta-trans-Ocimene
와송	꽃 : dioctyl ester-Hexanedioic acid, 잎 : cis-3-Hexenol<=Leaf alcohol>
자소엽	꽃 : trans-Caryophyllene, 잎 : Benzaldehyde
흰민들레	꽃 : hexamethyl-Cyclotrisiloxane, 잎 : Hexanedioic acid
곤달비	잎 : β-Sesquiphellandrene, hexamethyl-Cyclotrisiloxane, 줄기 : β-Sesquiphellandrene
감국	꽃 : Sabinene, Piperitone, 잎 : α-Bergamotene, β-Sesquiphellandrenel
구절초	꽃 : Camphor, Germacrene D, 잎 : Germacrene D
찔레	잎 : dioctyl ester-Hexanedioic acid, 줄기 : hexamethyl-cyclotrisiloxane

2. 2차 년도

2-1. 2차년도 수행 과정 및 수행 내용

가. (주)하이솔(제1세부, 주관)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2018)	남원지역 특화 자원을 이용한 제품 개발 및 사업화	시제품 개발(올스킨)	○ 제형연구를 통해 결정된 제형으로 클렌징폼, 수면팩, 올인원 에센스 시제품 개발	- 3가지 시제품의 처방 확정, 제조공정도 확립
		안전성 평가(올스킨)	○ 시제품의 patch test	- 자체 첩포시험 안전성 확인 - 전문임상기관 안전성 확인
		안정성 평가(올스킨)	○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가	- 3가지 제품의 대량생산에서 조건별 안정성 확인
		제품 개발(올스킨)	○ 제품 개발 및 품목 보고	- 림포디아 부스팅 매직 오투 버블폼 - 림포디아 매직 슬라이딩마스크 - 림포디아 옴므 핸섬 올인원
		국내 전시회 및 네트워킹	○ 국내외 전시회 참가	- 2018 G-FAIR KOREA - 2018 방콕 한국우수상품전 - 2018 COSMOPROF
			○ 홍보물 제작	- 영문 홍보물 제작
디자인 개발	○ 디자인 출원 ○ 디자인 등록	- 2건의 디자인 출원 - 4건의 디자인 등록		

1) 시제품 개발(올스킨)

1차년도 결과 효능평가지표성분 조사로 선별된 쥘레, 와송, 자소엽, 레몬그라스 4종과 마케팅 컨셉 소재로 흰민들레, 감국, 산구절초 3종을 이용하여 클렌징, 슬라이딩팩, 에센스 제형에 적용하였음.

○ 처방 확정

- 림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼

Hisol COSMETICS		INGREDIENT TABLE				
NO	ICID Name	성분의 한글명	원료의 역할 목적	작성자	검표	승인
1	Water	정제수	Solvents			
2	Sodium Lauryl Sulfate	소듐라우릴설페이트	Surfactants			
3	Disodium Cocamphodiacetate	디소듐코코암포디아세테이트	Surfactants			
4	Hexylene Glycol	헥실렌글라이콜	Skin-Conditioning Agent			
5	Cocamidopropyl Betaine	코카미도프로필베틴	Surfactants			
6	Methyl Perfluorobutyl Ether	메틸퍼플루오로부틸에터	Skin-Conditioning Agent			
7	Methyl Perfluorobutyl Ether	메틸퍼플루오로부틸에터	Skin-Conditioning Agent			
8	Cocamide DEA	코카미드디에이	Surfactants			
9	Cornus Officinalis Fruit Extract	산수유열매추출물	Skin-Conditioning Agent			
10	Carbomer	카보머	Viscosity Agents			
11	Coptis Japonica Root Extract	황근추출물	Skin-Conditioning Agent			
12	Phellodendron Amurense Bark Extract	황백추출물	Skin-Conditioning Agent			
13	Scutellaria Baicalensis Root Extract	황금추출물	Skin-Conditioning Agent			
14	Sciadophytis Verticillata Root Extract	갈승푸리추출물	Skin-Conditioning Agent			
15	Phenoxyethanol	피녹시에탄올	Preservatives			
16	Ubiquinone	유비퀴논	Skin-Conditioning Agent			
17	Hedera Helix (Ivy) Extract	서양송악추출물	Skin-Conditioning Agent			
18	Morus Alba Bark Extract	상백피추출물	Skin-Conditioning Agent			
19	Saponaria Officinalis Extract	비누풀추출물	Skin-Conditioning Agent			
20	Centella Asiatica Extract	민들레추출물	Skin-Conditioning Agent			
21	Psoralea Corylifolia Fruit Extract	보골지열매추출물	Skin-Conditioning Agent			
22	Vitis Vinifera (Grape) Fruit Extract	포도추출물	Skin-Conditioning Agent			
23	Prunus Armeniaca (Apricot) Fruit Extract	살구추출물	Skin-Conditioning Agent			
24	Beta-Glucan	베타-글루칸	Skin-Conditioning Agent			
25	Cucumis Sativus (Cucumber) Extract	오이추출물	Skin-Conditioning Agent			
26	Perilla Frutescens Leaf Extract	소엽잎추출물	Skin-Conditioning Agent			
27	Chrysanthemum Sibiricum Extract	구절초추출물	Skin-Conditioning Agent			
28	Rosa Multiflora Fruit Extract	황라꽃열매추출물	Skin-Conditioning Agent			
29	Chamomilla Recutita (Matricaria) Extract	캐모마일추출물	Skin-Conditioning Agent			
30	Cymbopogon Citratus Extract	레몬그라스추출물	Skin-Conditioning Agent			
31	Orostachys Japonica Extract	바위솔추출물	Skin-Conditioning Agent			
32	Citrus Junos Fruit Water	유자수	Skin-Conditioning Agent			
33	Hydrolyzed Collagen	하이드롤라이즈콜라겐	Skin-Conditioning Agent			
34	Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower Water	라벤더꽃수	Skin-Conditioning Agent			
35	Fragrance	향료	Fragrance			

<매직 오투 버블폼 성분표>

- 클렌징 사용의 가장 큰 목적으로 각질과 노폐물 제거에 있음. 일반적으로 피부 각질층은 피부내부의 수분 증발을 막거나 외부 이물질의 침입을 막는 장벽의 역할을 한다. 피부 노화와 외부 환경으로 턴오버 현상이 불안정 하게 되고 불안전 각질층이 형성됨.
- 그 결과, 푸석거리는 느낌을 주는 불안전 각질층이 형성됨. 이로 인해 피부는 충분한 영양소인 산소를 필요로 하게 되며, 피부는 재생 능력이 약해지게 됨. 산소운반 기능을 화장품에 응용하기 위해 메칠퍼플루오로부틸 에텔, 메칠퍼플루오로이소부틸에텔을와 같은 불소 화합물 이용한 피부에 산소 전달을 통해 피부호흡을 활성화시킴으로써, 피부로도 깨끗한 산소를 흡입하여 나쁜 노폐물 가스를 배출시키고 피부 신진대사 과정을 도와 피부노화를 방지하여 여드름 등의 피부 질환을 예방할 뿐만 아니라 피부를 신속하게 회복시킴. 1차년도 개발 소재 중 효능이 뛰어난 성분을 함유하여 피부의 복합적인 문제 해결을 도움.

○ 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크

Hisol COSMETICS		INGREDIENT TABLE	
회사명: 림포디아 제품명: 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크 *These ingredients are listed in ICID.		작성자	검토
NO	ICID Name	성분의 한글명	함료의 배합 목적
1	Water	정제수	Solvents
2	Lavandula Angustifolia (Lavender) Water	라벤더수	Skin-Conditioning Agent
3	Butylene Glycol	부틸렌글리콜	Humectants
4	Cornus Officinalis Fruit Extract	인진주추출물	Skin-Conditioning Agent
5	Cymbopogon Citratus Extract	레몬그라스추출물	Skin-Conditioning Agent
6	Cyclomethicone	사이클로메치콘	Skin-Conditioning Agent
7	Hydrogenated C6-14 Olefin Polymers	하이드로제네이트드 C6-14올레핀올리머	Viscosity Agents
8	Glycerin	글리세린	Humectants
9	Niacinamide	나이아신아마이드	Skin-Conditioning Agent
10	1,2-Hexanediol	1,2-헥산디올	Skin-Conditioning Agent
11	Arginine	알지닌	pH Adjusters
12	Cetearyl Alcohol	세테아릴알코올	Surfactants
13	Dimethicone	디메치콘	Skin-Conditioning Agent
14	Glyceryl Stearate	글리세릴스테아레이트	Surfactants
15	Polysorbate 60	폴리소르베이트 60	Surfactants
16	PEG-100 Stearate	피이저-100스테아레이트	Surfactants
17	Beta-Glucan	베타-글루칸	Skin-Conditioning Agent
18	Sodium Hyaluronate	소듐하이알루로네이트	Humectants
19	Zanthoxylum Alatum Fruit Extract	개산초열매추출물	Skin-Conditioning Agent
20	Pulsatilla Koreana Extract	활리꽃추출물	Skin-Conditioning Agent
21	Ulna Barbatula (Lichen) Extract	어스니아추출물	Skin-Conditioning Agent
22	Carbomer	카보머	Viscosity Agents
23	Sorbitan Sesquiolate	소르비탄세스퀴올레이트	Skin-Conditioning Agent
24	Tocopheryl Acetate	토코페릴아세테이트	Antioxidants
25	Xanthan Gum	잔탄검	Viscosity Agents
26	Hedera Helix (Ivy) Extract	서양용악추출물	Skin-Conditioning Agent
27	Eucalyptus Globulus Leaf Oil	유칼립투스잎오일	Skin-Conditioning Agent
28	Lavandula Angustifolia (Lavender) Oil	라벤더오일	Skin-Conditioning Agent
29	Mentha Piperita (Peppermint) Oil	페퍼민트오일	Skin-Conditioning Agent
30	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Oil	로즈마리잎오일	Skin-Conditioning Agent
31	Caprylic Acid	카프릴릭애드	Surfactants
32	Capric Triglyceride	카프릭트리글리세라이드	Surfactants
33	Prunus Armeniaca (Apricot) Fruit	살구	Skin-Conditioning Agent
34	Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil	스위트아몬드 오일	Skin-Conditioning Agent
35	Jjoba Oil	호호바오일	Skin-Conditioning Agent
36	Daucus Carota Sativa (Carrot) Seed Oil	당근씨오일	Skin-Conditioning Agent
37	Pollen Extract	꽃분추출물	Skin-Conditioning Agent
38	Aronia Arbutifolia Extract	아로니아추출물	Skin-Conditioning Agent
39	Rosa Centifolia Flower Water	서양장미꽃수	Skin-Conditioning Agent
40	Ganoderma Lucidum (Mushroom) Extract	영지추출물	Skin-Conditioning Agent
41	Cucumis Sativus (Cucumber) Extract	오이추출물	Skin-Conditioning Agent
42	Aloe Barbadensis Leaf	알로에추출물	Skin-Conditioning Agent
43	Anthemis Nobilis Flower Oil	캐모마일꽃오일	Skin-Conditioning Agent
44	Adenosine	아데노신	Skin-Conditioning Agent
45	Perilla Frutescens Leaf Extract	소엽잎추출물	Skin-Conditioning Agent
46	Chrysanthemum Sibiricum Extract	구절초추출물	Skin-Conditioning Agent
47	Rosa Multiflora Fruit Extract	말라꽃열매추출물	Skin-Conditioning Agent
48	Orostachys Japonica Extract	벼취추출물	Skin-Conditioning Agent
49	Fragrance	향료	Fragrance

<슬리핑마스크 성분표>

- 에몰리엔트 로션의 목적과 기능은 피부의 보습과 유연 작용에 있어 사용감에 맞는 제형을 선택하였음. 성분 배합 목적에 있어 보습제와 피부 흡수력을 돕고 유연 효과가 있는 피부 컨디셔닝제를 포함하였음. 1차년도 개발 소재 중 효능이 뛰어난 성분을 함유하여 효과를 더욱 크게 하였음. 팩의 주요기능으로 보습작용과 청정작용 혈행 촉진 작용이 있는데 보습작용을 중점으로 하였고 씻어내지 않는 데일리, 오버나이트 사용이 가능하게 하였음.

○ 림포디아 옴므 핸섬 올인원

Hisol COSMETICS		INGREDIENT TABLE		
회사명: 림포디아 제품명: 림포디아 옴므 핸섬 올인원 *These ingredients are listed in ICID		작성자	검표	승인
NO	ICID Name	성분의 한글명	원료의 역할 목적	
1	Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower/Leaf/Stem Water	라벤더꽃/잎/줄기수	Skin-Conditioning Agent	
2	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf/Stem Water	로즈마리잎/줄기수	Skin-Conditioning Agent	
3	Water	정제수	Solvents	
4	Sodium Hyaluronate	소듐하이알루로네이트	Humectants	
5	Ethylhexylglycerin	에틸헥실글리세린	Skin-Conditioning Agent	
6	Glycerin	글리세린	Humectants	
7	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜	Humectants	
8	Cetyl Ethylhexanoate	세틸에틸헥사노에이트	Skin-Conditioning Agent	
9	Cyclomethicone	사이클로메치콘	Skin-Conditioning Agent	
10	Acer Nokoense Bark Extract	당쟁이덩굴나무껍질추출물	Skin-Conditioning Agent	
11	Taraxacum Coreanum Extract	황인동라주추출물	Skin-Conditioning Agent	
12	Caprylic/Capric Triglyceride	카프릴릭/카프릭트리글리세라이드	Surfactants	
13	Alcohol	에탄올	Skin-Conditioning Agent	
14	Niacinamide	나이아신아마이드	Skin-Conditioning Agent	
15	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올	Skin-Conditioning Agent	
16	Betaine	베타인	Humectants	
17	Mannan	만난	Humectants	
18	Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearate	폴리글리세릴-3메틸글루코스테아레이트	Surfactants	
19	Centella Asiatica Extract	연꽃추출물	Skin-Conditioning Agent	
20	Glyceryl Polymethacrylate	글리세릴폴리메타크릴레이트	Film Formers	
21	Propylene Glycol	프로필렌글라이콜	Skin-Conditioning Agent	
22	Cetearyl Alcohol	세테아릴알코올	Surfactants	
23	Dimethicone Copolyol	디메치콘코폴리올	Surfactants	
24	Glyceryl Stearate	글리세릴스테아레이트	Surfactants	
25	PEG-100 Stearate	피이치-100스테아레이트	Surfactants	
26	Dimethicone	디메치콘	Skin-Conditioning Agent	
27	Polycrylate-13	폴리아크릴레이트-13	Film Formers	
28	Polyisobutene	폴리이소부텐	Film Formers	
29	Polyisobutene 20	폴리이소부텐20	Surfactants	
30	Zanthoxylum Piperitum Fruit Extract	조피나무열매추출물	Skin-Conditioning Agent	
31	Pulsatilla Koreana Extract	활피꽃추출물	Skin-Conditioning Agent	
32	Usnea Barbata (Lichen) Extract	우스니아주추출물	Skin-Conditioning Agent	
33	Glycyrrhiza Glabra (Licorice) Root Extract	광주추출물	Skin-Conditioning Agent	
34	Camellia Sinensis Leaf Extract	녹차추출물	Skin-Conditioning Agent	
35	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Extract	로즈마리잎추출물	Skin-Conditioning Agent	
36	Chamomilla Recutita (Matricaria) Extract	캐모마일추출물	Skin-Conditioning Agent	
37	Scutellaria Baicalensis Root Extract	황귀추출물	Skin-Conditioning Agent	
38	Polygonum Cuspidatum Extract	초창근추출물	Skin-Conditioning Agent	
39	Opuntia Coccinifera	백년초추출물	Skin-Conditioning Agent	
40	Malt Extract	맥아추출물	Skin-Conditioning Agent	
41	Rosa Multiflora Extract	길래꽃추출물	Skin-Conditioning Agent	
42	Stearic acid	스테아릭에이트	Skin-Conditioning Agent	
43	Chrysanthemum Zawadski Extract	산구절초추출물	Skin-Conditioning Agent	
44	Orostachys Japonica Extract	배취물추출물	Skin-Conditioning Agent	
45	Cymbopogon Citratus Extract	레몬그라스추출물	Skin-Conditioning Agent	
46	Chrysanthemum indicum Extract	강국추출물	Skin-Conditioning Agent	
47	Perilla Frutescens Extract	소엽추출물	Skin-Conditioning Agent	
48	Tocopheryl Acetate	토코페릴아세테이트	Skin-Conditioning Agent	
49	Hydrolyzed Collagen	하이드롤라이즈드콜라겐	Skin-Conditioning Agent	
50	Adenosine	아데노신	Skin-Conditioning Agent	
51	Disodium EDTA	디소듐이디티에이	Chelating Agents	
52	Gardenia Florida Fruit Extract	자차추출물	Skin-Conditioning Agent	
53	Fragrance	향료	Fragrance	

<옴므 핸섬 올인원 성분표>

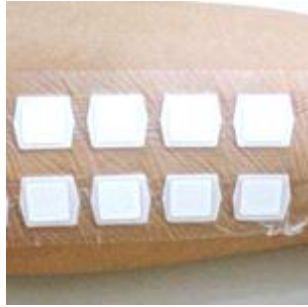
- 기초 화장품의 분류는 사용 단계로 크게 스킨, 에센스, 로션이 있음. 단계마다 다른 제품을 발라야 했던 기존 화장품의 틀을 깨고 하나의 제품을 가지고도 피부 손상과 수분케어, 주름 미백 개선까지 모두 가능하게 함. 피부 보습막을 형성할 수 있도록 Film Formers를 사용하여 가볍고 넓게 퍼발라져 피부 유연을 돕고 보습 유지력을 강화함. 1차년도 개발 소재 중 효능이 뛰어난 성분을 함유하여 그 효능을 더 높였고 산뜻한 플러팅 향으로 스트레스 완화와 문제성 피부의 완화 효과를 함유함.

○ 제조공정도 확립

o/w emulsion 타입은 사용감이 가볍고 퍼 바를수록 보습력이 느껴지는 제형으로 올인원 시제품 3종에 해당됨. oil 과 수상의 첨가방법, 첨가속도, 각상의 온도, 혼합 후 냉각 속도 등이 최종 유탕액의 입자 크기 분포, 점도, 안정성에 영향을 줌. 테스트를 통해 시제품의 처방 제조 공정도를 확정함.



[첩포전]



[패치 24시간]



[패치 제거 10분 경과]

<시제품 패치 테스트 결과>

A,A' : 증류수 B,B' : 클렌징 폼 C,C' : 수면팩 D,D' : 올인원 에센스

○ 결과

- 시험자 모두에서 홍반 및 부종 등 피부 자극은 보이지 않았으며 정상 피부 소견을 보였음. 따라서 3가지 개발 시제품에 대해 첩포시험으로 피부자극에 대한 안정성을 확인하였음.

○ 전문 화장품임상연구 지원센터

IP-6660-A SMC-181029-6470

(주)하이솔

"림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼 외 2종"의

피부 첩포 안전성 평가

인체적용시험 결과보고서

2018년 10월 29일

IP-6660-A SMC-181029-6470

II. 요약문

목적	"림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼 외 2종"의 피부 첩포에 대한 안전성 첩포시험 연구
시 표	시험 지표 : 림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼, 림포디아 부스팀 매직 슬리핑 마스크, 림포디아 옴즈 핸섬 올인원
시험 방법	시험 도구 : Finn chamber를 이용한 24시간 피부 첩포(패치테스트)
시험 기간	시작일: 2018년 10월 22일 / 종료일: 2018년 10월 25일
시험 기구	세정제와 소독제, 패치 테이프, 첩포 테이프, 첩포 테이프, 첩포 테이프
시험 부위	등 부위
시험 인원	30명
피 피 자	(주)하이솔
연구 수행자	세정제와 소독제, 패치 테이프, 첩포 테이프, 첩포 테이프
연구 책임자	김 용 민
평가 방법	국제 표준성 피부염 첩포에서 제시되는 평가 기준에 따른 피부자극 평가
주요성 결과	(주)하이솔에서 의뢰한 "림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼, 림포디아 부스팀 매직 슬리핑 마스크, 림포디아 옴즈 핸섬 올인원"의 피부 첩포 안전성 인체적용시험 수행 결과, 피부자극도 (Mean score) 평가에 따라 무 자극 배출에 해당할 수 있음.
연구 관리번호	IP-6660-A
보고서 관리번호	SMC-181029-6470
시험 관리번호	"림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼": 18-SA1212 "림포디아 부스팀 매직 슬리핑 마스크": 18-SA1213 "림포디아 옴즈 핸섬 올인원": 18-SA1214
보고서 작성일	2018년 10월 29일

4

시험 결과, "림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼"은 첩지 제거 후 30분, 24시간, 48시간 모두에서 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 피부 첩포시험(Patch Test)의 관찰기준에 따라 "림포디아 부스팀 매직 오뚜 버블 폼"은 무자극으로 판정되었다.

시험 결과, "림포디아 부스팀 매직 슬리핑 마스크"는 첩지 제거 후 30분, 24시간, 48시간 모두에서 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 피부 첩포시험(Patch Test)의 관찰기준에 따라 "림포디아 부스팀 매직 슬리핑 마스크"는 무자극으로 판정되었다.

IP-6660-A SMC-181029-6470

시험 결과, "림포디아 옴즈 핸섬 올인원"은 첩지 제거 후 30분, 24시간, 48시간 모두에서 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 피부 첩포시험(Patch Test)의 관찰기준에 따라 "림포디아 옴즈 핸섬 올인원"은 무자극으로 판정되었다.

<전문임상기관 성적서>

3) 안정성 평가(울스킨)

○ pH, 점도 변화 측정

○ 제품

- 림포디아 매직 슬리핑마스크(HSF-PFE-001), 림포디아 옴즈 핸섬 올인원(HSF-SSE-001)을 이용하여 안정성을 측정함.

○ pH 변화 측정

- 제품의 pH는 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치 시킨 후, 제품 1g을 증류수 15ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리하였음. 그 다음 pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter(OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 측정함. 시료는 25±1°C에서 실험에 이용하였음.

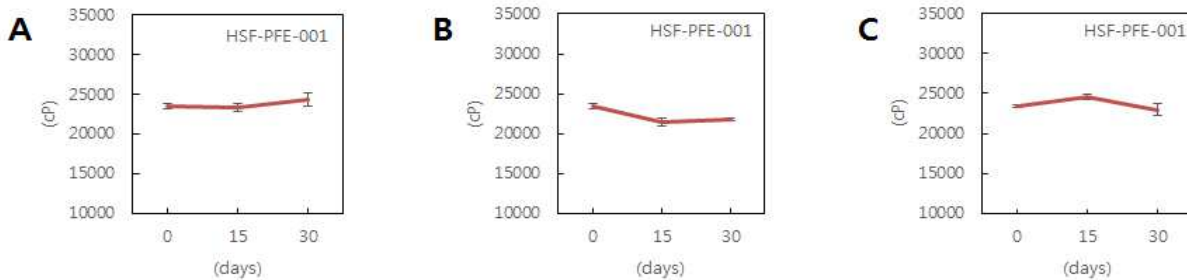
○ 점도

- 제품의 점도 측정은 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치 시킨 후 이용하였음. Brookfield Viscometer(DVE VISCOMETER, DVEERTJ0)를 이용하여 측정함. 각 실험군에 따라 HSF-PFE-001은 Spindle S06, 30rpm에서 10초간, HSF-SSE-001은 Spindle S64, 20rpm에서 10초간 점도를 3회 반복하여 측정하였음.



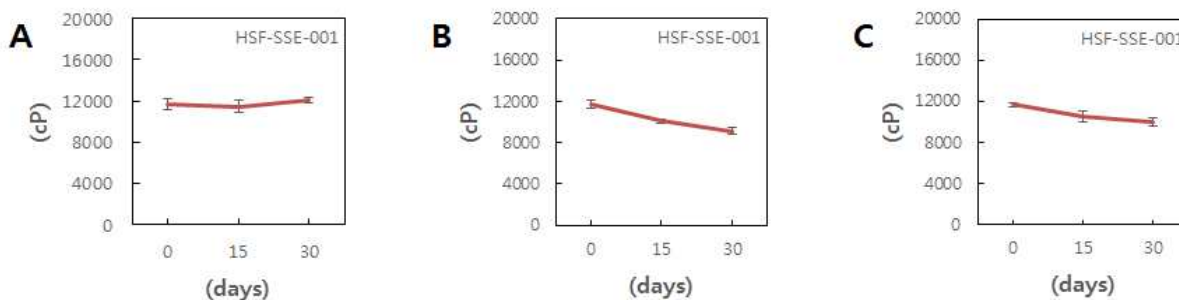
○ 결과

- 화장품이 노출될 수 있는 환경에서 안정성을 평가하기 위해 온도편차 (5, 40°C) 및 온도순환 (-15 → 40 → -15 → 40°C...) 조건으로 각 제품을 30일 동안 보관하였음. 실험 기간 동안 0, 15, 30일 총 3회 제품의 pH와 점도를 측정해 물리화학적 특성을 파악함으로써 안정성을 종합함. 그 결과는 아래 나열한 그림과 같으며 점도는 온도순환 및 40°C 조건에서 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었음. pH와 외관에 있어서도 유의적인 차이는 확인할 수 없었음.



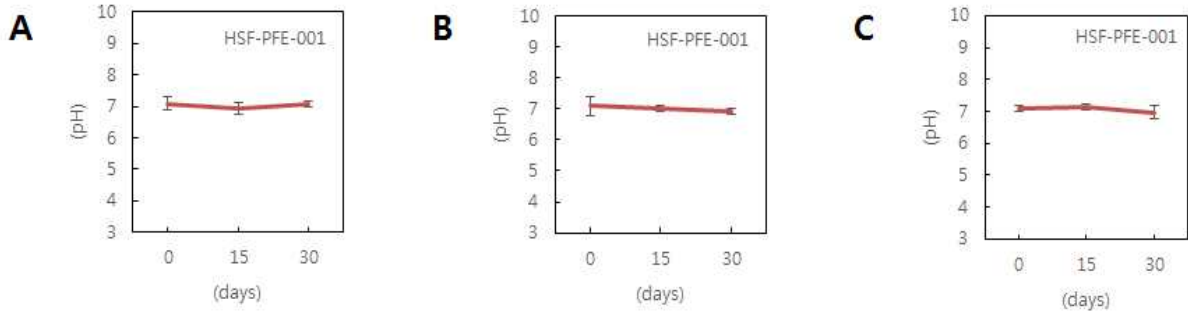
<30일 간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 점도 변화>

A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



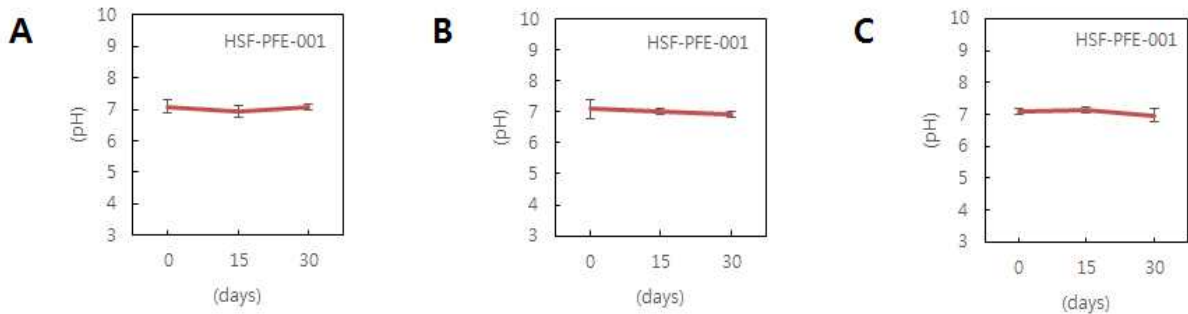
<30일 간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 점도 변화>

A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



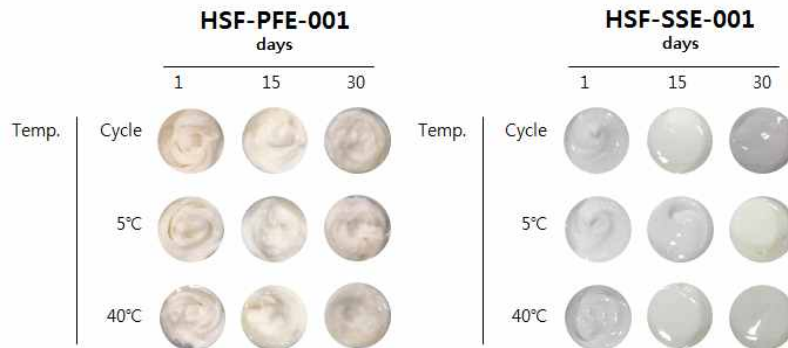
<30일 간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 pH 변화>

A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



<30일 간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 pH 변화>

A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



<30일 간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001, HSF-SSE-001의 색상 변화>

○ 개발 제품의 미생물 한도시험

○ 제품

- 림포디아 매직 슬리핑마스크(HSF-PFE-001), 림포디아 옴므 핸섬 올인원(HSF-SSE-001)을 이용하여 미생물 한도시험을 확인함.

○ 일반미생물 시험

- 총 생균수(세균) : 증류수로 10배 희석한 제품 1 ml을 채취하여 petri dish에 넣고, 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균힌 후 35°C의 Incubater에서 48시간 이상 배양함.

- 총 생균수(진균) : 증류수로 10배 희석한 제품 1ml을 채취하여 petri dish에 넣고 그 위에 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균현 후 35°C의 Incubator에서 120시간 이상 배양함.

○ 특수미생물 시험

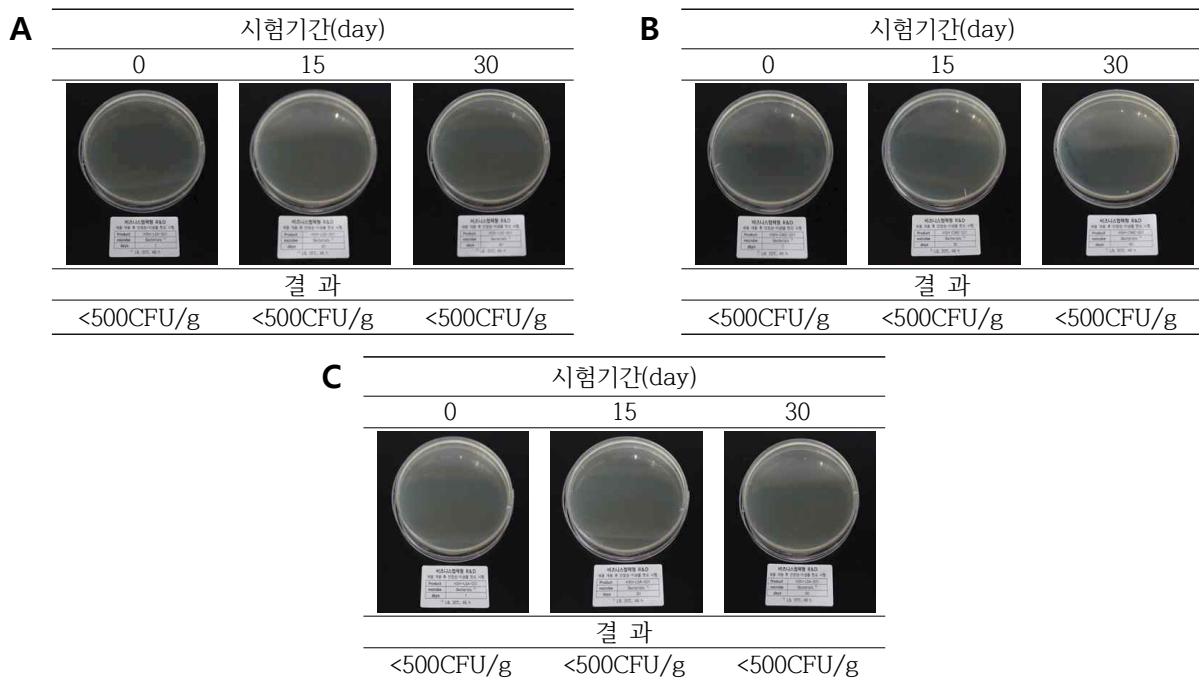
- 대장균 : Lactose broth에 10배 희석한 제품을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Mac-Conkey agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.

- 녹농균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제품을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Cetrimide agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.

- 황색포도상구균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제품을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양 한 후 Baird parker agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.

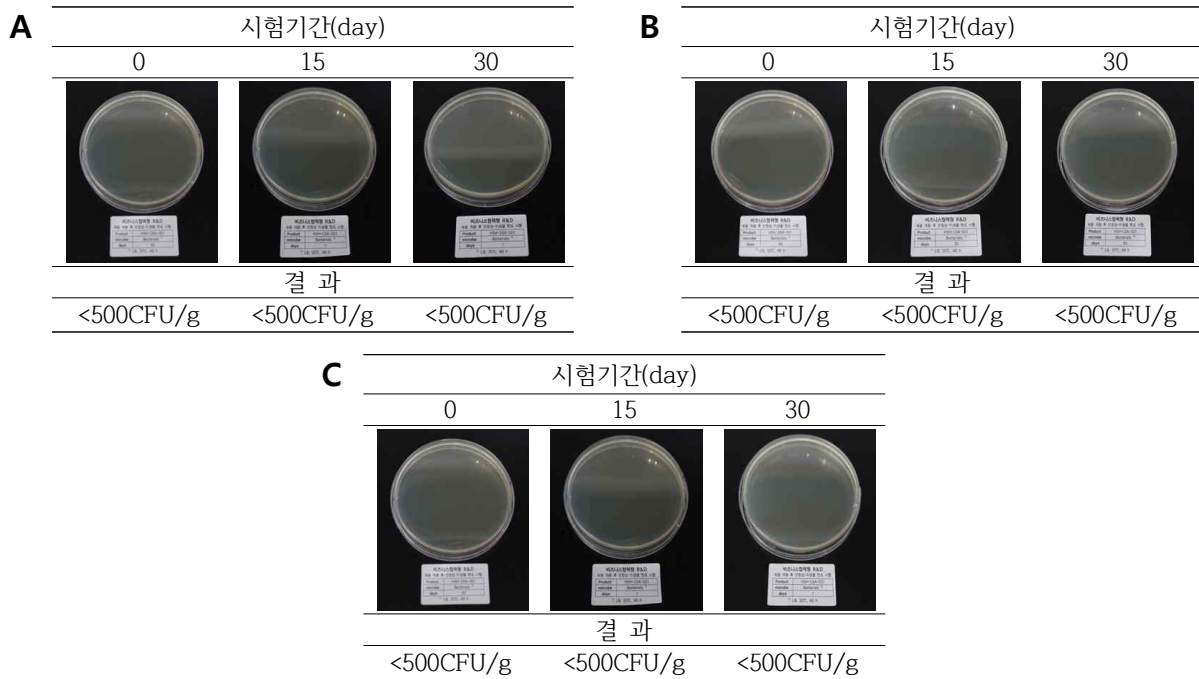
○ 미생물 한도시험 결과

- 실험 기간 동안 0, 15, 30일 총 3회 제품의 미생물 한도시험을 진행하여 안정성을 확인함. 그 결과는 아래 나열한 그림과 같으며, 림포디아 매직 슬리핑마스크(HSF-PFE-001), 림포디아 옴므 핸섬 올인원(HSF-SSE-001) 모두 총생균수(세균, 진균)에서 500 CFU/g 이하로 확인되었으며, 특수미생물(대장균, 녹농균, 황색포도상구균)에서 집락이 확인되지 않아 온도편차 및 순환조건에서 안정한 것으로 확인됨.

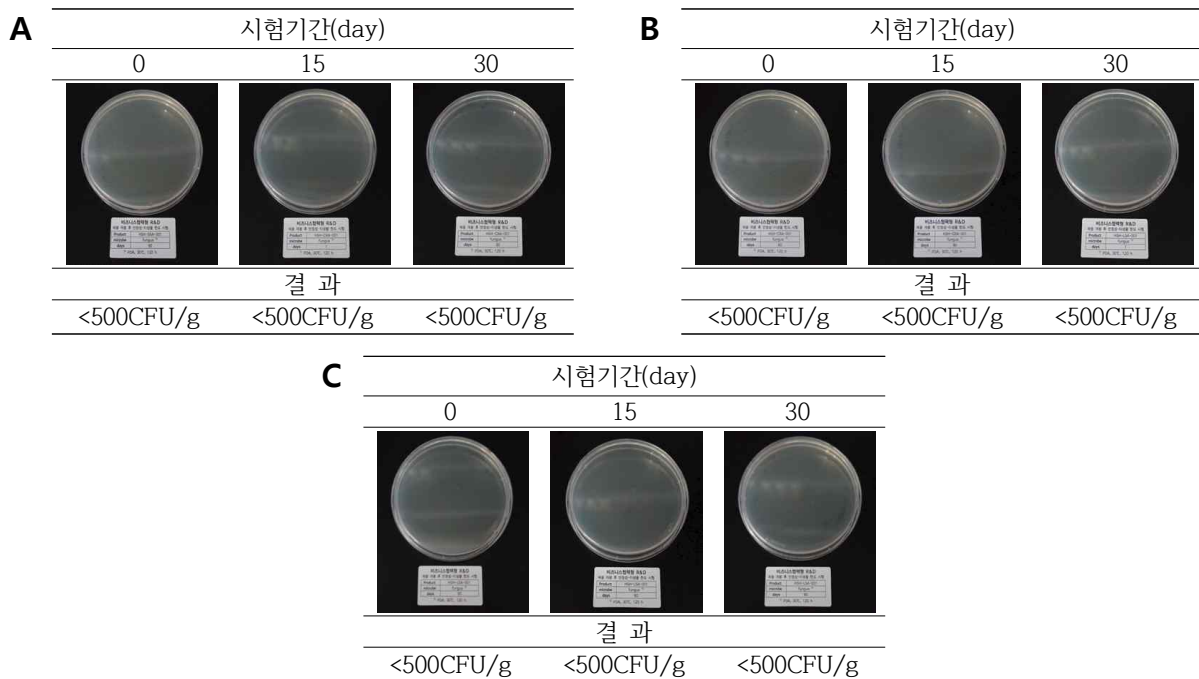


<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 미생물 한도 시험_총생균수(세균)>

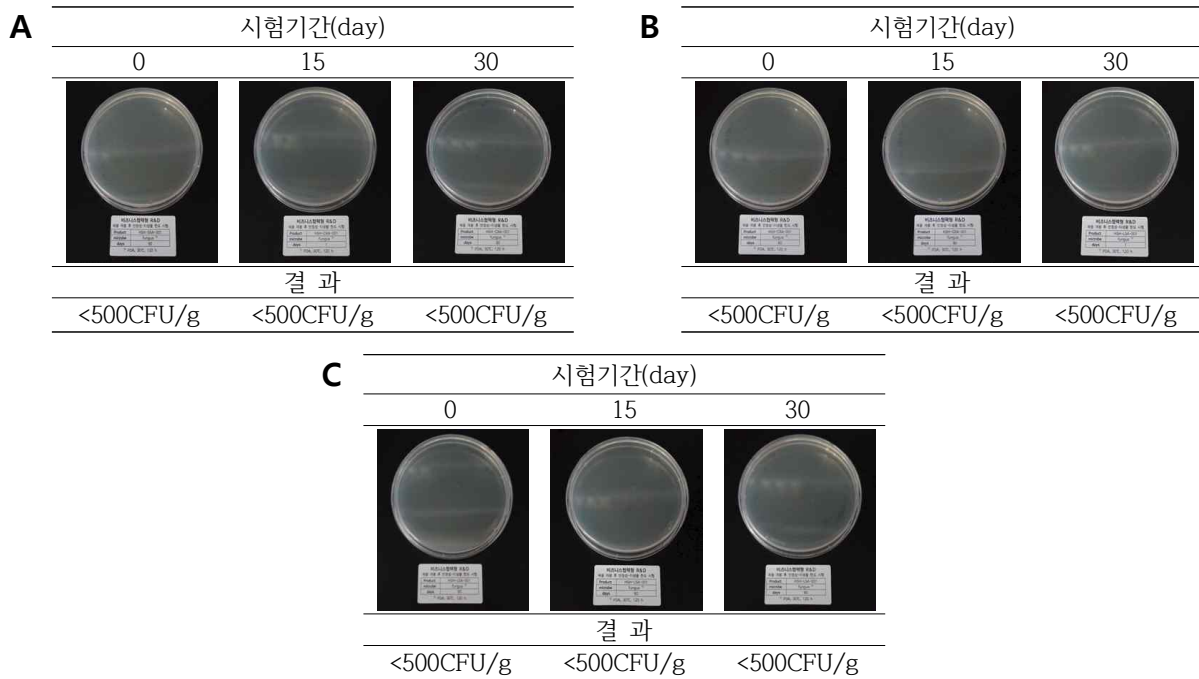
A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 미생물 한도 시험_총생균수(세균)>
A : 5℃, B : 40℃, C : 온도순환

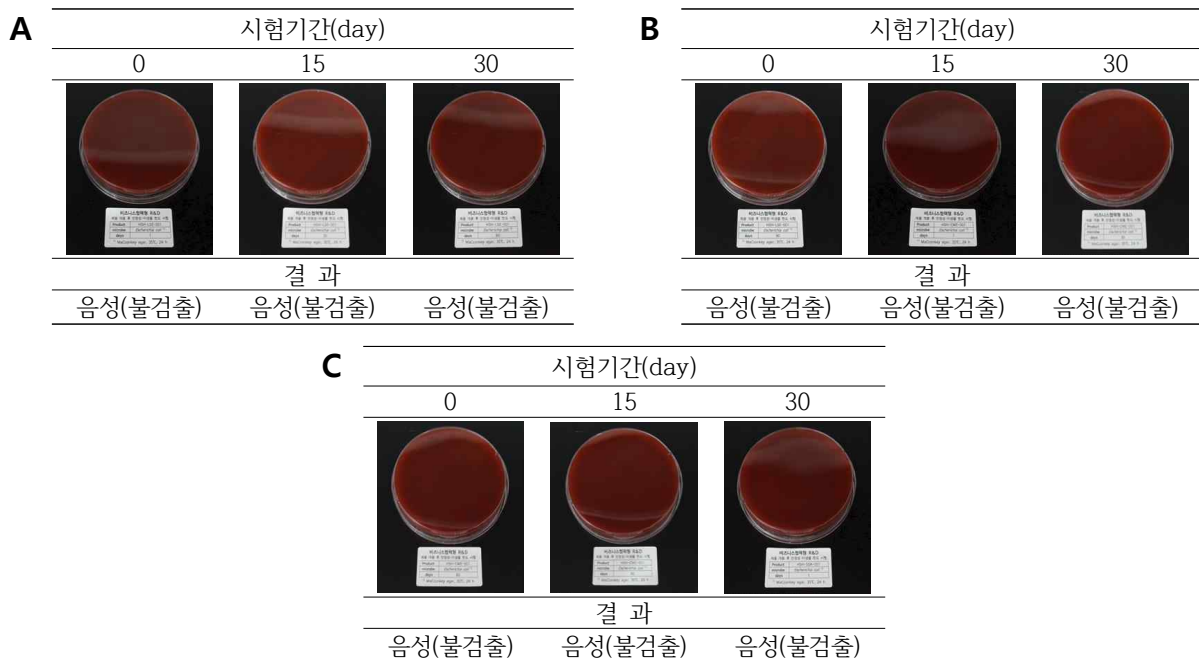


<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 미생물 한도 시험_총생균수(진균)>
A : 5℃, B : 40℃, C : 온도순환



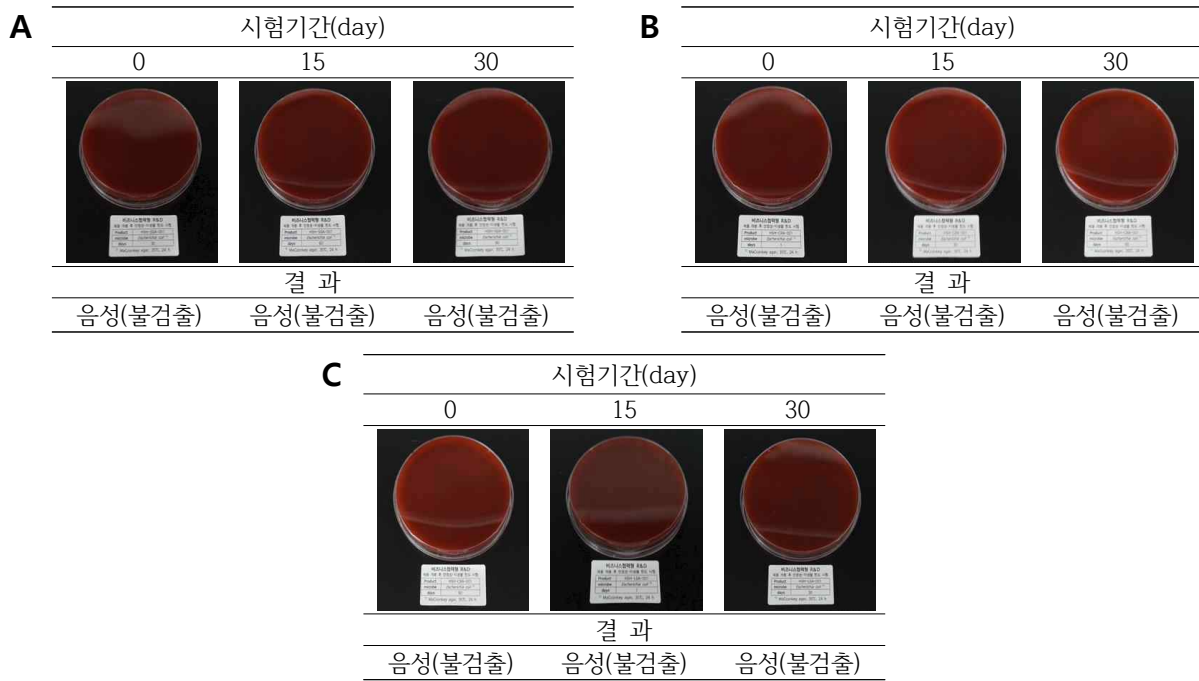
<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 미생물 한도 시험_총생균수(진균)>

A : 5℃, B : 40℃, C : 온도순환



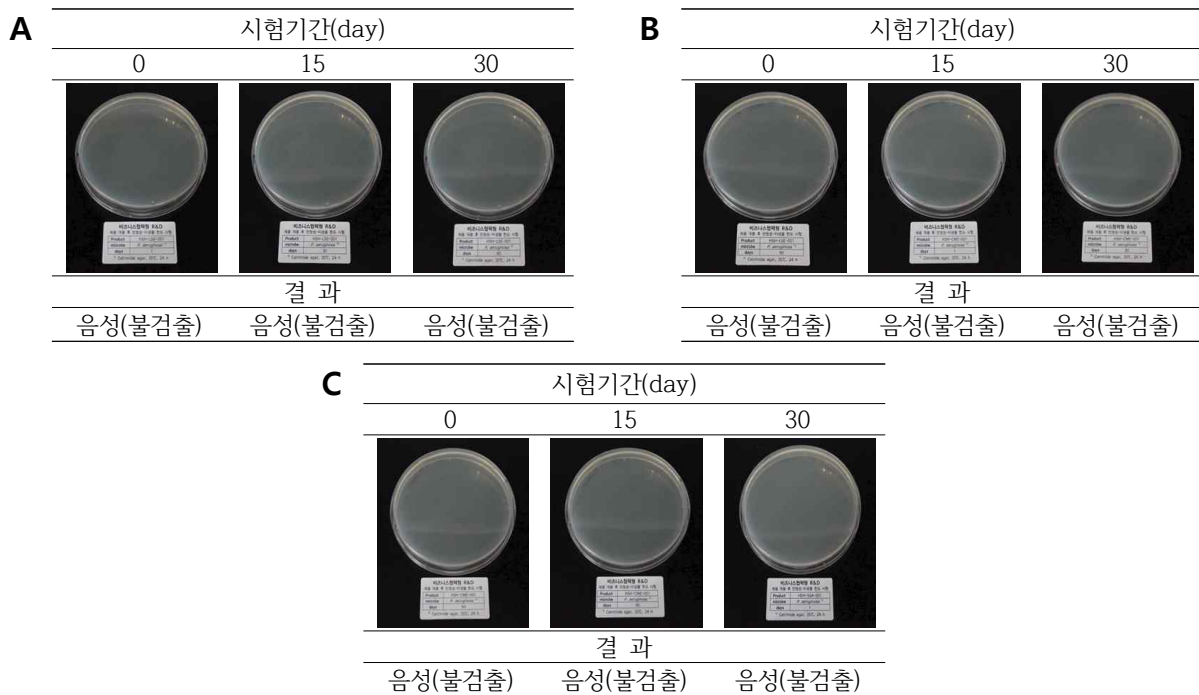
<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 특수미생물 한도 시험_대장균>

A : 5℃, B : 40℃, C : 온도순환



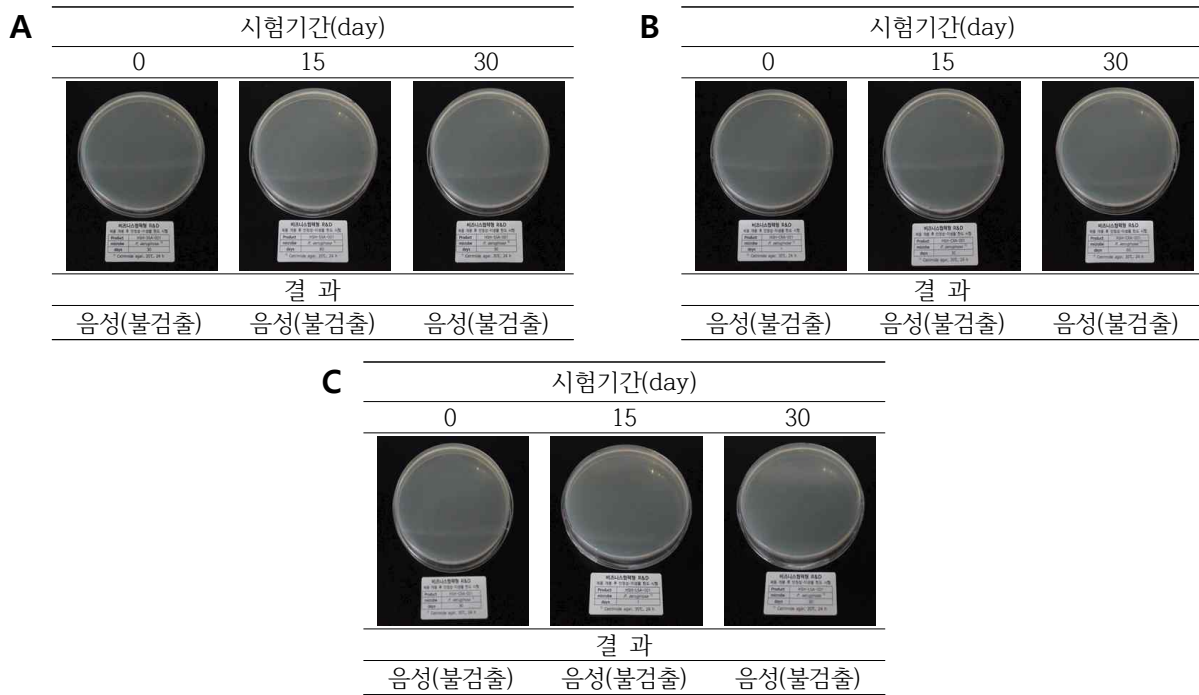
<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 특수미생물 한도 시험_대장균>

A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환

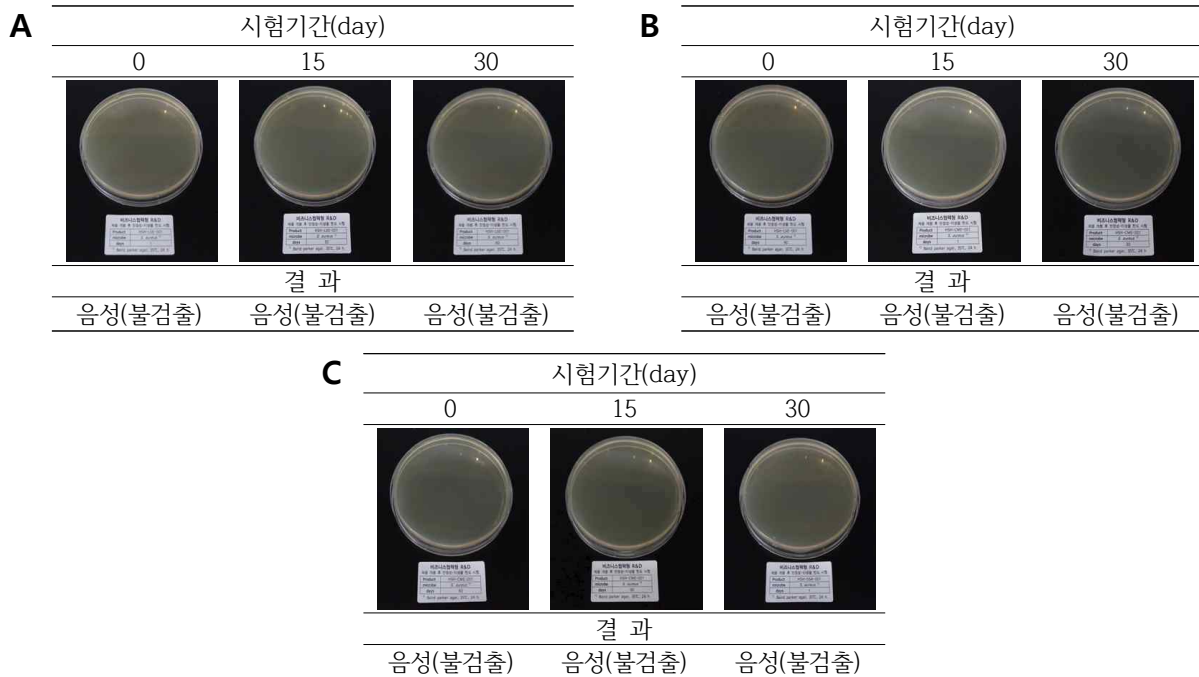


<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 특수미생물 한도 시험_녹농균>

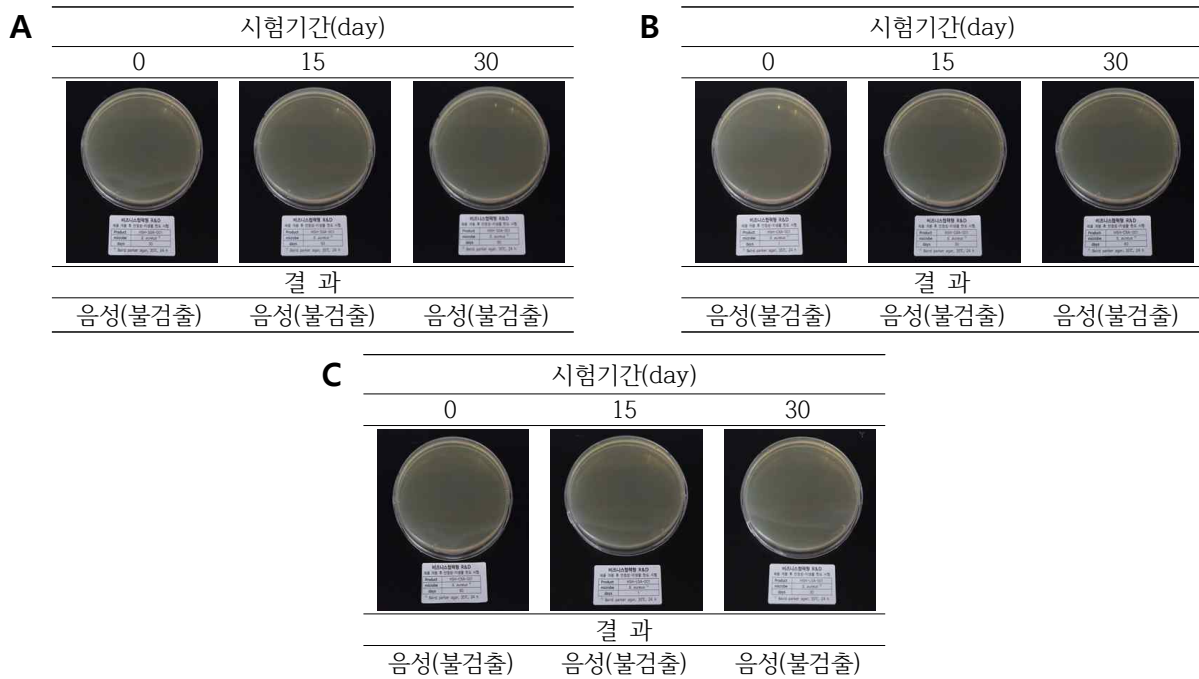
A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 특수미생물 한도 시험_녹농균>
A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-PFE-001의 특수미생물 한도 시험_황색포도상구균>
A : 5°C, B : 40°C, C : 온도순환



<30일간 온도편차, 온도순환 조건에서 HSF-SSE-001의 특수미생물 한도 시험_황색포도상구균>

A : 5℃, B : 40℃, C : 온도순환

4) 제품 개발(올스킨)

○ 림포디아 부스팅 매직 오투 버블폼



< 제품표준서 >

개발	개발			
	연구원	산업연구원	대표이사	
제품명	림포디아부스팅매직오투버블폼			
성상	물무알알크림			
유형 분류	기초화장품류 - 물화장품	분류번호	카10	
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)년월일	13년 04월 22일	
작성년월일	2018년 03월 13일	제조단위	300kg, 500kg	
용법·용량	물방울 물기가 없는 상태에서 2-3회 원형한 양을 얼굴, 목 근처에 바르고 1-2초 후 버블이 형성되고 가볍게 마사지를 한 후 손가락 끝으로 가볍게 문지르면 거품이 풍부하게 형성됩니다. 1-2분 정도 부드럽고 촉촉하게 마사지를 한 다음, 미온수로 깨끗이 헹구어줍니다. 별도의 물티슈를 사용하지 않습니다. 용량: 120ml			
효능·효과	분리분출 발생되는 산소 거품이 마사지를 하는 동안 자극없이 모공 속 노폐물을 제거하여 산소 공급을 돕습니다.			
사용상주의사항	화장품법 시행규칙 제13조 제3항[별표2.] "화장품의 유형별 사용상 주의사항"에 따른다.			
포장단위	자사포장 단위			
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 (1~40℃) 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년			
기준 및 시험방법	화장품시험규격 일반화장품 기준에 의거한다.			
별첨	1. 원료 약품 및 그 분량과 원료기준 2. 제조방법 및 공정 3. 제품규격 4. 제품 시험 및 방법 5. 사용상의 주의사항 6. 격일 중의 주의사항			
개정 사항				
개정년월일	개정 사항	개정 이유	제조관리책임자	품질관리자

5) 국내 전시회 및 네트워킹

○ 국내 전시회

○ 2018 G-FAIR KOREA (2018.10.24~10.27)

- FTA 체결지역 중심 선별된 해외 유력바이어 750개사 900명 규모로, 해외바이어와 일대일 맞춤형 비즈니스 상담으로 개발제품의 해외 시장 개척을 도모함.

KOREA SOURCING FAIR, SINCE 1999
2018G-FAIR KOREA

대한민국 우수 중소기업을 모십니다.

대한민국 최대규모의 중소기업 전문전시회인 'G-FAIR KOREA'가 한층 더 전문화되고 다원적인 모습으로 여태를 맞이합니다.

올해의 기획특별전은 '2018 G-FAIR KOREA'는 더 넓은 범위의 다양한 정보를 제공하고, 국내외에서 산업에 있어 초창기 유력바이어가 참여하는 국내 최대 중소기업 인연발견회가 될 것입니다.

1. 행사개요

일 정 2018 G-FAIR KOREA (대한민국우수중기업전시회)
기 간 2018. 10. 24(수) ~ 27(토)
장 소 KINTEX 제1전시장
규 모 1,000개사 1,100만㎡
주 최 경기도, 한국중소기업지원센터협의회
주 관 경기도경제과학진흥원, KOTRA
후 원 산업통상자원부, 중소벤처기업부, OKGA

행사장 특이사항
- 국내외 바이어
- 국내 중소기업 1,000개사
- 국내외 바이어 750개사
- 국내외 중소기업 1,100만㎡

다원적인 전시회 개최
- 해외 바이어 초청
- 국내 중소기업 1,000개사
- 국내외 바이어 750개사
- 국내외 중소기업 1,100만㎡

국내서 전시회 개최
- 170여개 중소기업 300여개사
- 1,100만㎡ 전시면적
- 400여개 부스

글로벌 비즈니스 전용 전시회
- 바이어 초청
- 글로벌 바이어 초청
- 글로벌 바이어 초청

more than goods

2018 G-FAIR KOREA

More than goods

2018. 10. 24 [WED] ~ 27 [SAT]
KINTEX 1st Exhibition Hall

2018 G-FAIR KOREA How to Find Us

Event Schedule

1. Dates: October 23 (Wed) to October 27 (Sat) 10:00 - 18:00
2. Venue: KINTEX 1st Exhibition Hall, 1588 Seongnam-dong, Seongnam-si, Gyeonggi-do, Korea
3. Booth: 1000 booths
4. Visitors: 900+ international buyers, 1000+ domestic buyers
5. Exhibitors: 1000+ domestic companies, 750+ international companies

Exhibitor Name	Product Category	Contact Information
1.101	Beauty	1.101
1.102	Beauty	1.102
1.103	Beauty	1.103
1.104	Beauty	1.104
1.105	Beauty	1.105
1.106	Beauty	1.106
1.107	Beauty	1.107
1.108	Beauty	1.108
1.109	Beauty	1.109
1.110	Beauty	1.110



○ 국외 전시회

○ 2018 방콕 한국우수상품전 (2018.10.03.~10.05)

- 2018 방콕 한국우수상품전에 참가하여 인도차이나반도 중심에 위치한 동남아 핵심시장 중 하나인 태국의 신규 수요처 발굴을 도모하고, 기업·개발제품에 대한 홍보를 하였음.



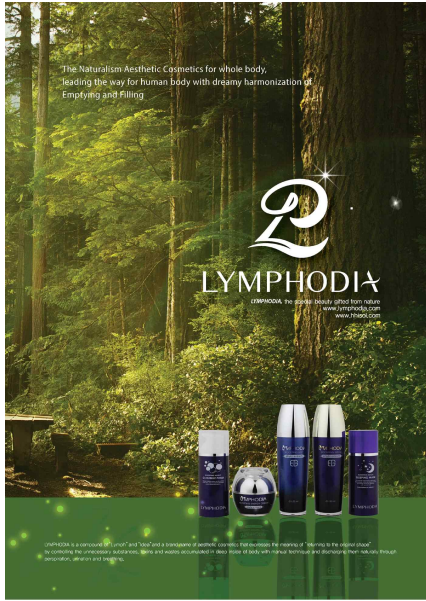
○ 2018 COSMOPROF (2018.11.14.~11.16)

- 세계 최고의 향장산업 관련 전시회 COSMOPROF에 참가하여 기업·제품에 대한 홍보 확대 및 수출액 증진을 도모하고자 함.



○ 홍보물 제작

- 개발 제품의 원활한 국외 홍보·수출을 위해 영문 홍보물을 제작함.



FOR MEN LINE
For Men line optimized for men's skin

Homme handsome All in One VOL/CODE 120ml / ₩58,000
Efficacies: Skin calming, sebum control, water balance control, sebum management, nutrition, skin care money, moisture supply effects in 4 in 1 cream (Toner + Lotion + Essence + Cream)
Instruction: After cleansing, put an appropriate amount and spread smoothly along your skin texture, and tap to absorb it. Apply once more to the skin's problematic zone.

BOOSTING LINE
Boosting Line that combines Emptying and Filling Line, Lymphodia Cosmetic Products can be easily managed at home.

Boosting magic sleeping mask VOL/CODE 120ml / ₩98,000
Main ingredients: Genoderma lucidum extract, Rose extract, Cucumber extract, Aloe extract, Cetylalcohol extract, Aronia extract, Rhodiola extract, Orostachys japonicus extract.
Efficacies: The natural moisturizing function protects the skin from moistureless, adjusts oil balance. When nutrition absorption active night, special care adds to the radiance and elasticity of the skin during sleep.
Instruction: After the evening cleanse, apply spread the appropriate amount on the skin texture from the inside of the face to the outside in the last step of skin care. Apply to face, neck, shoulders, and arms/legs with overall circulation and V-line. After sleeping without cleansing, wash the next morning with water. (1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35) (36) (37) (38) (39) (40) (41) (42) (43) (44) (45) (46) (47) (48) (49) (50) (51) (52) (53) (54) (55) (56) (57) (58) (59) (60) (61) (62) (63) (64) (65) (66) (67) (68) (69) (70) (71) (72) (73) (74) (75) (76) (77) (78) (79) (80) (81) (82) (83) (84) (85) (86) (87) (88) (89) (90) (91) (92) (93) (94) (95) (96) (97) (98) (99) (100)

Boosting magic o2 bubble foam VOL/CODE 120ml / ₩68,000
Main ingredients: Lavender, Rosemary, Lemon grass, Oenothera biennis, Houttuynia Cordata, Licorice, Green tea, Chamomile, Ivy vine.
Efficacies: Natural botanical extracts make skin clear and transparent, Oxygen bubbles are generated and supply oxygen while removing the waste matter from the pores without causing irritation during its massaging.
Instruction: Boosting Magic O2 Bubble Foam → Boosting Hair Shampoo (1) → Skin Boosting Body Bath Foam → Boosting Mist → Boosting Serum → Multi Skin → Boosting Energy → Boosting Magic Blemish Balm

6) 디자인 개발

○ 디자인 등록

○ 1차년도 개발 디자인(용기 및 포장지) 출원에 대한 등록을 완료함.

디자인등록증
CERTIFICATE OF DESIGN REGISTRATION

등록 제 30-0971479 호
Registration Number 제 30-2017-0054347 호
출원번호 Application Number 2017년 11월 21일
출원일 Filing Date 2018년 08월 30일
등록일 Registration Date
등록의 구분 심사 등록
Type of Registration (EXAMINED REGISTRATION)
물품류 Class 제09류
디자인의 대상이 되는 물품 Product 화장품 용기
디자인권자 Owner 주식회사 하이솔(211311-*****)
전라북도 남원시 운봉읍 비래봉길 247-9 0
창작자 Creator 등록사항란에 기재

위의 디자인은 「디자인보호법」에 따라 디자인등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
This is to certify that, in accordance with the Design Protection Act, a design has been registered at the Korean Intellectual Property Office.

2018년 08월 30일
특허청장
COMMISSIONER
KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
성근모
Korean Intellectual Property Office

디자인등록증
CERTIFICATE OF DESIGN REGISTRATION

등록 제 30-0971481 호
Registration Number 제 30-2017-0054348 호
출원번호 Application Number 2017년 11월 21일
출원일 Filing Date 2018년 08월 30일
등록일 Registration Date
등록의 구분 심사 등록
Type of Registration (EXAMINED REGISTRATION)
물품류 Class 제09류
디자인의 대상이 되는 물품 Product 화장품 용기
디자인권자 Owner 주식회사 하이솔(211311-*****)
전라북도 남원시 운봉읍 비래봉길 247-9 0
창작자 Creator 등록사항란에 기재

위의 디자인은 「디자인보호법」에 따라 디자인등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
This is to certify that, in accordance with the Design Protection Act, a design has been registered at the Korean Intellectual Property Office.

2018년 08월 30일
특허청장
COMMISSIONER
KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
성근모
Korean Intellectual Property Office



○ 디자인 출원

- 제품 판매 및 유통을 원활하게 하기 위해 내용물 보호와 고객의 구매의욕 증대를 위한 포장지 및 용기 디자인 출원을 완료함.

- 화장품 용기

관인생략

출원번호통지서

출원일자: 2018.09.27
 출원번호: 30-2018-0044802 (출원번호 1-1-2018-0952730-54)
 출원인명칭: 주식회사 하이솔(1-2015-060251-7)
 대리인성명: 최규환(9-2005-001504-0)

특 허 청 장

<< 안내 >>

- 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.
- 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통보된 납입일수중에 성함, 납부지번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 은행에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호: 0131(이코카드) + 출원번호
- 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(당첨), 출원신고서]을 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허포털(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스(다보로드) > 특허민원사항규칙 별지 제3호 서식
- 특허(실용신안등록)출원된 명세서 또는 도면의 내용이 필요할 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.
- 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 지도 안내: <http://www.kipo.go.kr>-특허/아양-PCT/마드리드
 ※ 우선권 인정기간: 특허-실용신안 12개월, 상표-디자인은 6개월 이내
 ※ 국제출원신청의 제출가능 기한은 우리나라에 우선권청구할 경우, 출원인이 외국계생태이민, 우선권유망 16개월 이내의 외국특허상징등이 [전자특허출원서비스(PTO-SB39)]를 제출하거나 우리나라에 우선권 청구서를 제출하여야 합니다.
- 본 출원사실을 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허번호: 10-2018-0000000, 상표등록번호: 40-2016-0000000

【제출할 자료명】 국가연구개발사업 사사표기 관련 정보제출서

【제출이유】 디자인출원 제2018-0044802호는 농림축산식품부의 지원을 받아 농생명산업기술개발사업을 통해 수행된 과제인 허브산업 기반 활동 뷰티산업 소재·제품개발 및 특허산업 육성 등을 통해 달성된 성과입니다.



- 화장품 포장상자

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2018.09.27
 출원인명칭 공계신청(주) 창조번호(2)
 출원번호 30-2018-0044803 (접수번호 1-1-2018-0952737-73)
 출원인명칭 주식회사 하이솔(1-2015-060251-7)
 대리인명칭 최규현(9-2005-001504-0)

특허청장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 통해 확인하실 수 있습니다.

2. 출원여부 또는 수수료는 접수일로부터 다음날까지 등록된 납입영수증에 설명, 납부지번호 등을 기재하여 가까운 우체국 또는 문함에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부지번호 : 0131(이코리드) + 접수번호

3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허 고지번호 정보변경(공통), 출원신고서]를 제출하여 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 ※ 특허위(patent.go.kr) 접속 > 민원서비스정보로 > 특허법 시행규칙 별지 제3호 서식

4. 특허(실용신안 등) 출원은 명세서 또는 도면의 보장이 필요한 경우, 등록결정 이전 또는 의견서 제출기간 이내에 출원서에 최초로 첨부된 명세서 또는 도면에 기재된 사항의 범위 안에서 보정할 수 있습니다.

5. 외국으로 출원하고자 하는 경우 PCT 제도(특허-실용신안)나 마드리드 제도(상표)를 이용할 수 있습니다. 국내 출원일을 외국에서 인정받고자 하는 경우에는 국내출원일로부터 일정한 기간 내에 외국에 출원하여야 우선권을 인정받을 수 있습니다.
 ※ 서지도 안내 : <http://www.kipo.go.kr> 특허마당.PCT/마드리드
 ※ 무역협상청의 신청을 받도록 하되, 상표-디자인은 4개월 이내 무역협상청의 신청을 받도록 하되, 유선등록청장실, 신청인이 피공개상대이면, 우선일로부터 16개월 이내 이 국특허청장실 [전자제고용허가서(PTOSB39)]를 제출하거나 유선등록청장실로 신청서를 제출하여야 합니다.

6. 본 출원사실은 외부에 표시하고자 하는 경우에는 아래와 같이 하여야 하며, 이를 위반할 경우 관련법령에 따라 처벌을 받을 수 있습니다.
 ※ 특허출원 10-2018-0000000, 상표등록출원 40-2018-0000000

【제출할 자료명】 국가연구개발사업 사사표기 관련 정보제출서

【제출이유】 디자인출원 제2018-0044803호는 농림축산식품부의 지원을 받아 농생명산업기술개발사업을 통해 수행된 과제인 허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재, 제품개발 및 특허산업 육성을 통해 발생한 성과입니다.



나. (재)남원시화장품산업지원센터(제1협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2018)	남원지역 특화자원의 소재개발 및 효능평가	소재가공 및 효능 평가	○ 추출조건 및 제조공정표준화	- 사용부위: 전초, 꽃 - 수확시기: 4, 5, 7, 9, 10월 - 재배지역: 남원시 일대 - 생육환경: 파종, 정식, 개화, 채종시기 - 추출규모: pilot scale - 추출용매: 50% 에탄올 - 추출시간: 4시간 - 기준규격: FT-IR - 기능성분: 19종 폴리페놀 동시분석
			○ 기능성평가(미백, 주름, 보습)	- 항산화, 미백, 주름 상관관계분석 - 미백(짚레, 산구절초), 주름(짚레,와송),보습(레몬그라스, 자소엽) 기전연구
		소재자원화	○ 화장품원료 등재	- 국제화장품원료등재(흰민들레, 짚레꽃, 곤달비, 와송 추출물, 자소엽수, 감국수)

1) 소재가공 및 효능 평가

○ 소재가공 및 효능평가

○ 추출조건 및 제조공정표준화

- 원료표준화 : 2차년도에 본 연구에서 사용된 허브자원 10종에 대해 아래 표와 같이 사용부위, 재배지역, 형태 및 생육환경(파종, 정식, 개화, 채취, 채종시기)을 표준화하였음.

<허브자원 10종의 사용부위, 재배지역, 채취시기>

NO.	품목	사용부위	재배지역	형태	채취시기
1	라벤더	전초	전북 남원시 운봉읍	건조물	7월
2	레몬그라스	전초	전북 남원시 이백면	건조물	10월
3	캐모마일	꽃	전북 남원시 운봉읍	건조물	5월
4	와송	전초	전북 남원시 송동면	건조물	10월
5	자소엽	전초	전북 남원시 주천면	건조물	8월
6	흰민들레	전초	전북 남원시 운봉읍	건조물	4월
7	곤달비	전초	전북 남원시 주천면	건조물	5월
8	감국	꽃	전북 남원시 운봉읍	건조물	10월
9	산구절초	전초	전북 남원시 운봉읍	건조물	10월
10	짚레	전초	전북 남원시 송동면	건조물	5월

<허브자원 10종의 생육환경>

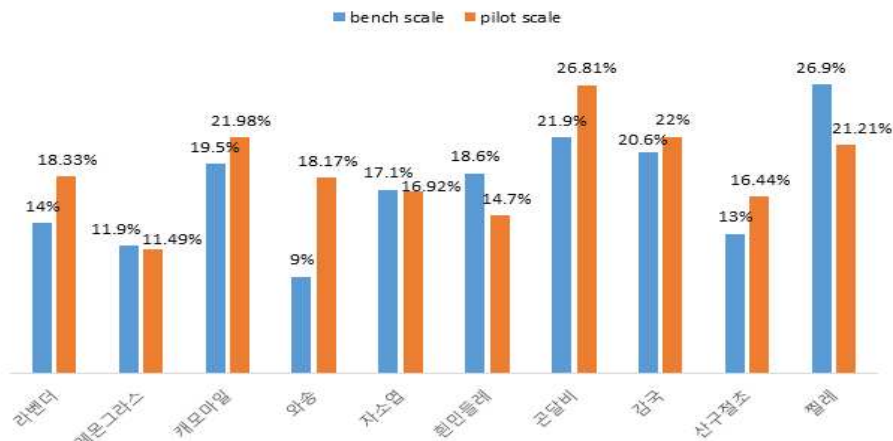
NO.	품목	파종시기	정식시기	개화시기	수확시기	채종시기	생육형태
1	라벤더	-	-	6월 하순	7월 초순	8월 초순	다년생
2	레몬그라스	-	5월 중순	-	10월 초순	-	단년생
3	캐모마일	-	-	4월 하순	5월 초순	6월 중순	다년생
4	와송	-	5월 중순	10월 초순	10월 초순	11월 중순	단년생
5	자소엽	3월 하순	5월 중순	8월 초순	8월 중순	10월 초순	단년생
6	흰민들레	-	-	4월 초순 8월 하순	4월 하순 9월 중순	4월 하순 9월 중순	다년생
7	곤달비	-	-	8월 초순	3월 하순~ 5월 중순	8월 하순	다년생
8	감국	-	-	10월 초순	10월 중순	11월 하순	다년생
9	산구절초	-	6월 중순	9월 하순	10월 초순	11월 초순	다년생
10	짚레	-	-	5월 초순	5월 중순	10월 하순	다년생

- 제조공정표준화(pilot scale)

Pilot scale로 추출하기 위해 건조된 허브자원을 직각절단기(Daesung, Jeonju, Korea)를 이용하여 절단한 후 2kg을 정량하여 50% 에탄올을 20배수인 40L를 첨가하였으며(5% 추출물 제조), 대용량 추출기(KS-220, Gyungseo, Incheon, Korea)를 사용하여 가열하면서 pilot scale로 추출하였음. 추출조건은 1차년도에 bench scale에서 확립한 최적 추출조건인 80°C에서 4시간으로 진행하였고, 추출물은 부식포를 사용하여 여과 후 저온농축기(COSMOS-660, Gyungseo, Incheon, Korea)로 농축 후 동결건조기(LP10, ILSHIN, Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 동결 건조하였음.

- 추출 수율(pilot scale)

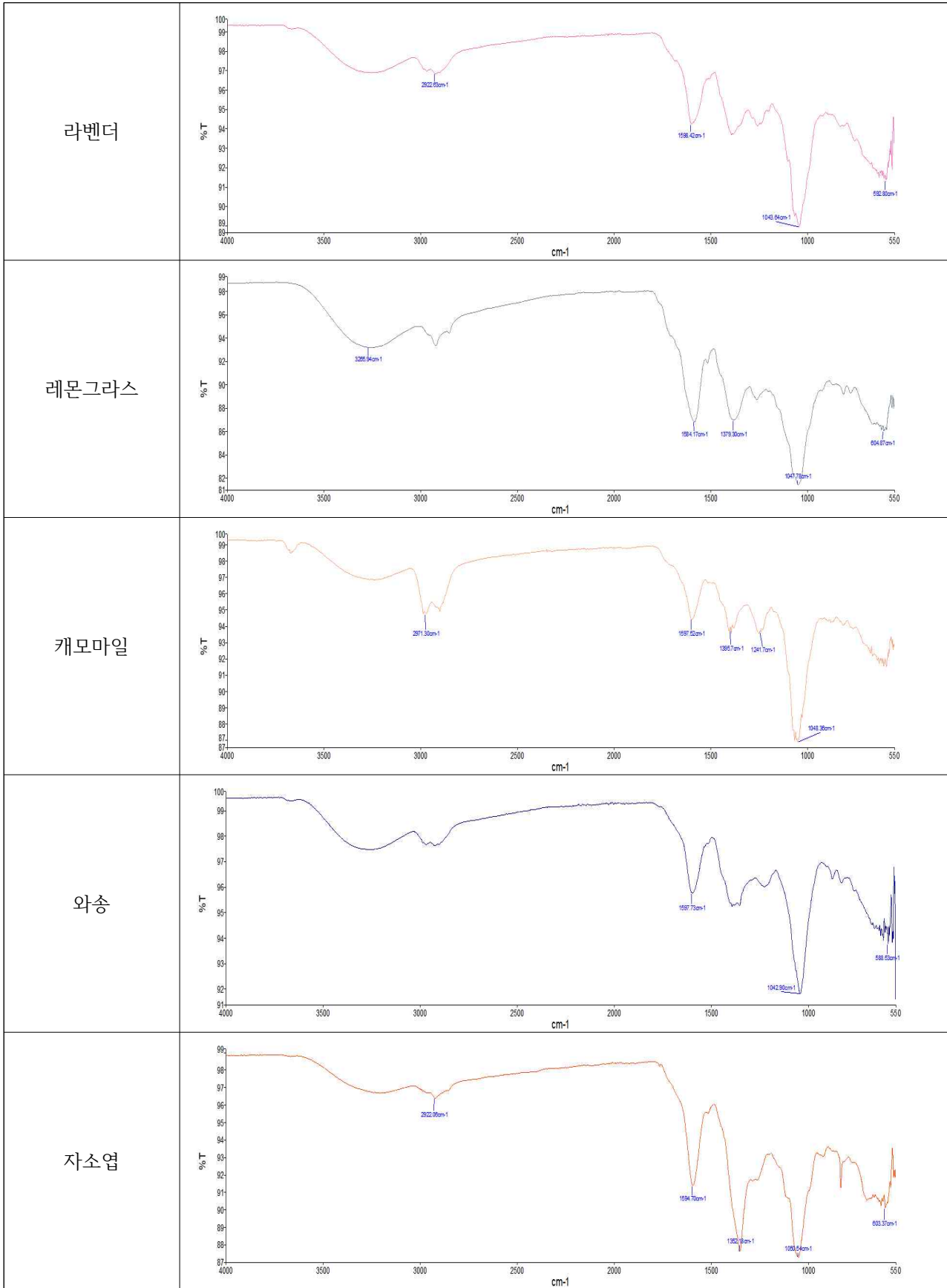
2차년도에는 허브자원 10종에 대해 pilot scale(원물 : 2kg, 용매 : 50% 에탄올 40L)로 최적 추출조건(80°C, 4시간 추출)을 진행하였음. 추출 수율은 건조 원물을 기준으로 동결 건조 후 추출물의 무게를 통해 산출함. 대부분의 추출물은 bench scale에서의 추출 수율과 많은 차이를 보이지 않았으나 와송의 경우는 2배 가까이 차이를 보였는데 이는 이전 bench scale에서 와송의 물 추출물 수율이 17.2%였던 것으로 보아 bench scale에서 적은 양을 추출 하여 농축, 동결건조에서의 유실량이 많아 상대적으로 오차가 많이 발생한 것으로 생각됨.

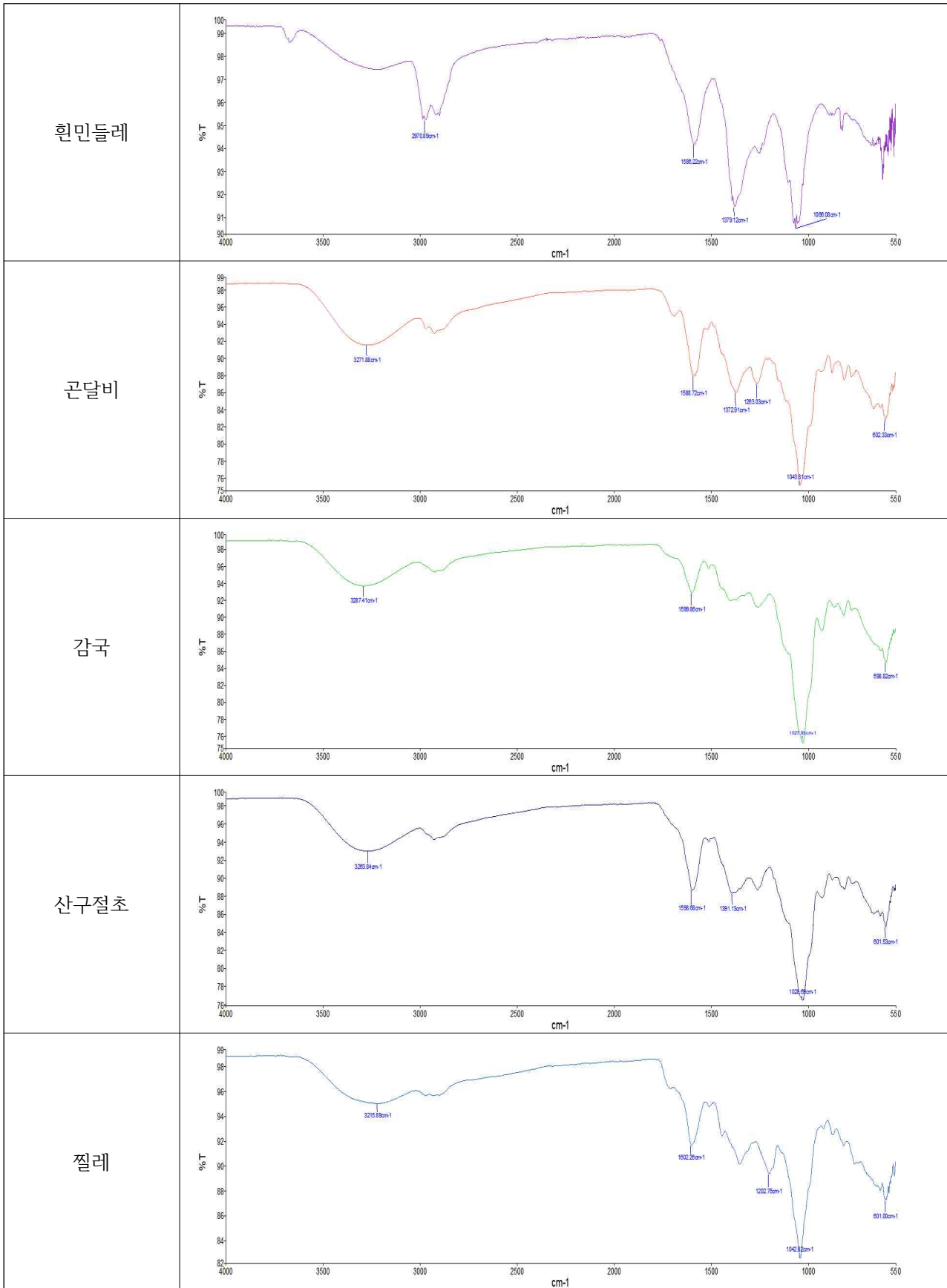


<허브자원 10종에 대한 추출 수율>

- 기준규격 및 품질관리(FT-IR)

허브자원의 10종에 대한 기준 규격 및 품질관리를 위해 적외선분광광도계(SPECTRUM TWO, Perkin Elmer, MA, USA)를 사용하여 분석하였음. 허브자원 10종을 에탄올에서 최적 추출조건으로 추출, 농축 후 동결 건조 된 시료를 막자사발을 이용하여 균일하게 분쇄 후 측정하였음.





<허브자원 10종에 대한 적외선분광광도계 분석>

- 허브자원 10종의 기능성분 HPLC 동시분석

허브 자원 10종에 대한 폴리페놀 기능성분 함량을 동시 분석하기 위해 HPLC (Alliance e2695, Waters, MA, USA.)를 이용하여 19종 폴리페놀에 대한 동시분석을 실시하였음. 분석 조건은 HPLC 컬럼은 Shim-pack VP-ODS (4.6mm I.D.×250mm L., Shimadzu, Tokyo, Japan)을 사용하여 컬럼 온도 40°C에서 이동상 A는 0.1% formic acid를 HPLC용 water에 제조하고, 이동상 B는 0.1% formic acid를 HPLC용 acetonitrile에 제조하여 분당 0.8 mL로 흘려주었음. 이 때 PDA detector를 사용하여 280 nm의 파장에 분석하였음. 분석에 이용된 시료는 10μl씩 주입하여 분석하였고, 이동상의 gradient condition은 다음 표와 같이 진행하였음.

<이동상의 gradient condition>

Time (min)	A Conc. (%)	B Conc. (%)
2	100	0
45	50	50
50	5	95
55	5	95
55.1	100	0
70	STOP	

문헌조사를 통해 분석하고자 하는 폴리페놀 19종에 대한 기능 성분들에 대한 물질과 효능, 기능을 다음 표와 같이 정리하였음.

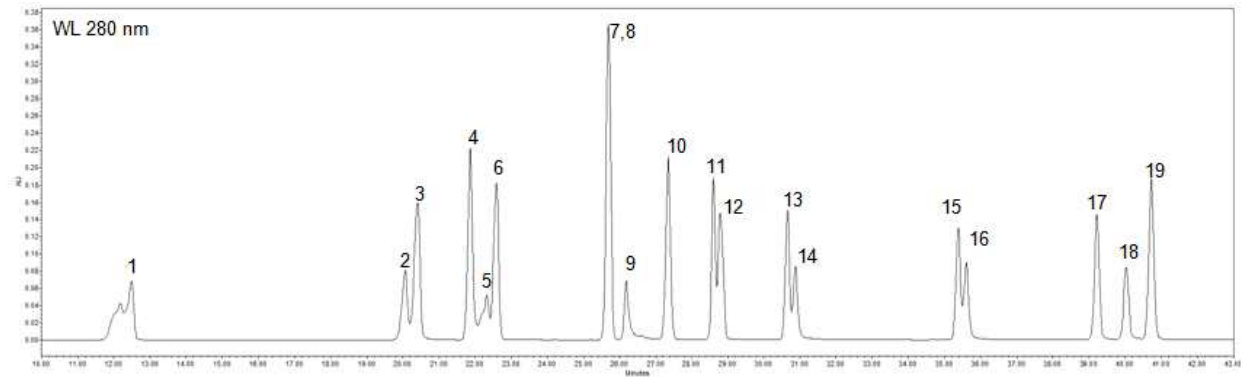
<19종 폴리페놀 기능 성분>

No.	Compound	Function	비고
1	Gallic acid	항산화, 미백, 주름, 보습, 항염증, 항균	
2	Chlorogenic acid	항산화, 미백, 주름, 보습, 항염증, 항균	
3	Methyl gallate	항산화, 미백, 항염증, 항균	
4	Caffeic acid	항산화, 주름, 보습, 항염증, 항균	
5	EGCG	항산화, 미백, 주름, 보습, 항염증, 항균	
6	Syringic acid	항산화, 항염증, 항균	
7	p-Coumaric acid	항산화, 미백, 주름, 보습, 항염증, 항균	
8	Rutin	항산화, 미백, 주름, 항염증, 항균	
9	Ellagic acid	항산화, 미백, 주름, 항염증, 항균	
10	Ferulic acid	항산화, 미백, 주름, 보습, 항염증, 항균	
11	Astragalin	항산화, 항염증	
12	Quercitrin	항산화, 항염증	
13	Rosmarinic acid	항산화, 미백*, 보습, 항염증, 항균	- 낮은 농도 유도, 높은 농도 억제
14	Myricetin	항산화, 미백*, 주름, 항염증	

15	Luteolin	항산화, 미백*, 주름, 항염증, 항균	
16	Quercetin	항산화, 미백*, 보습, 항염증, 항균	- 낮은 농도 유도, 높은 농도 억제 - 장기간 처치시 억제
17	Apigenin	항산화, 주름, 항염증, 항균	- 미백유도(4-OH-type-flavonoid)
18	Kaempferol	항산화, 미백*, 주름, 보습, 항염증, 항균	- 미백유도(4-OH-type-flavonoid)
19	Hesperetin	항산화, 미백*, 주름, 항염증, 항균	

* 미백 억제 또는 유도

기능 성분 표준물질 19종 동시 다분석에 대한 결과는 다음과 같은 시간과 파장이 분석되었고, 이에 따른 표준물질들을 농도별로 분석하여 밸리데이션 한 결과 다음과 같은 직선성을 확인하였음.



<표준물질 19종 동시 다분석 HPLC 그래프>

<표준물질 19종 HPLC 동시 다분석 결과>

NO.	Compound	R.T. (min)	λ_{max} (nm)	NO	Compound	R.T. (min)	λ_{max} (nm)
1	Gallic acid	12.491	271	11	Astragalin	28.610	347, 265
2	Chlorogenic acid	20.062	325, 217	12	Quercitrin hydrate	28.798	348, 255
3	Methylgallate	20.401	272	13	Rosmarinic acid	30.659	329
4	Caffeic acid	21.862	323, 217	14	Myricetin	30.877	363, 253
5	EGCG	22.323	274	15	Luteolin	35.384	348, 253
6	Syringic acid	22.584	274	16	Quercetin	35.606	363, 255
7	<i>p</i> -Coumaric acid	25.686	210, 226	17	Apigenin	39.220	336, 267
8	Rutin	25.686	354, 255	18	Kaempferol	40.032	363, 265
9	Ellagic acid	26.174	363, 253	19	Hesperetin	40.730	287
10	Ferulic acid	27.359	323, 217				

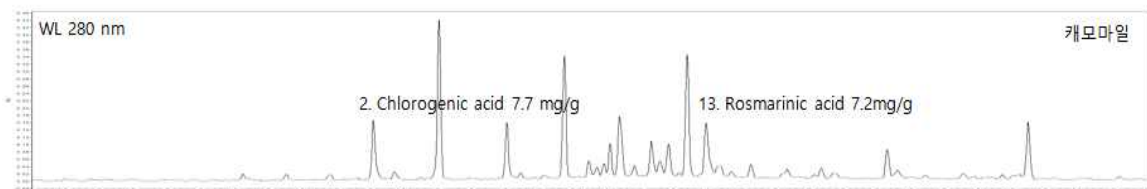
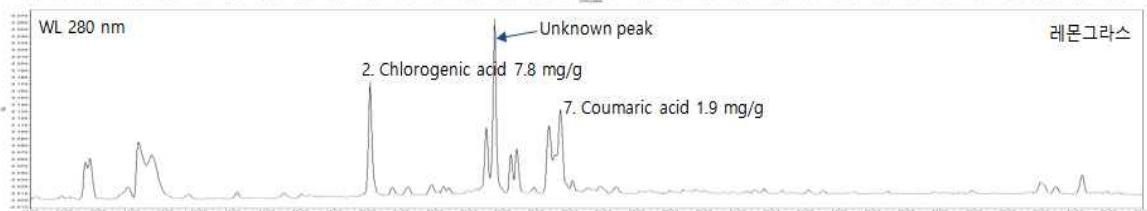
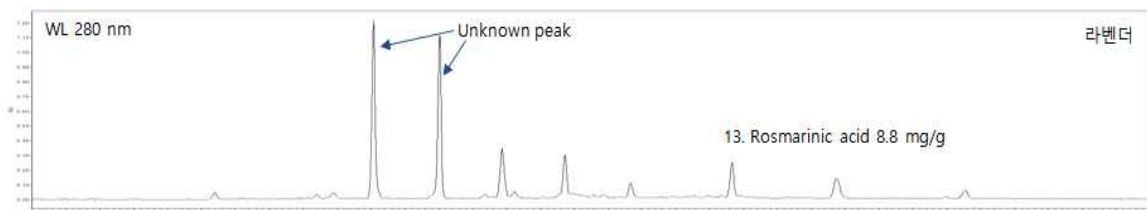
<표준물질 19종의 HPLC 밸리데이션>

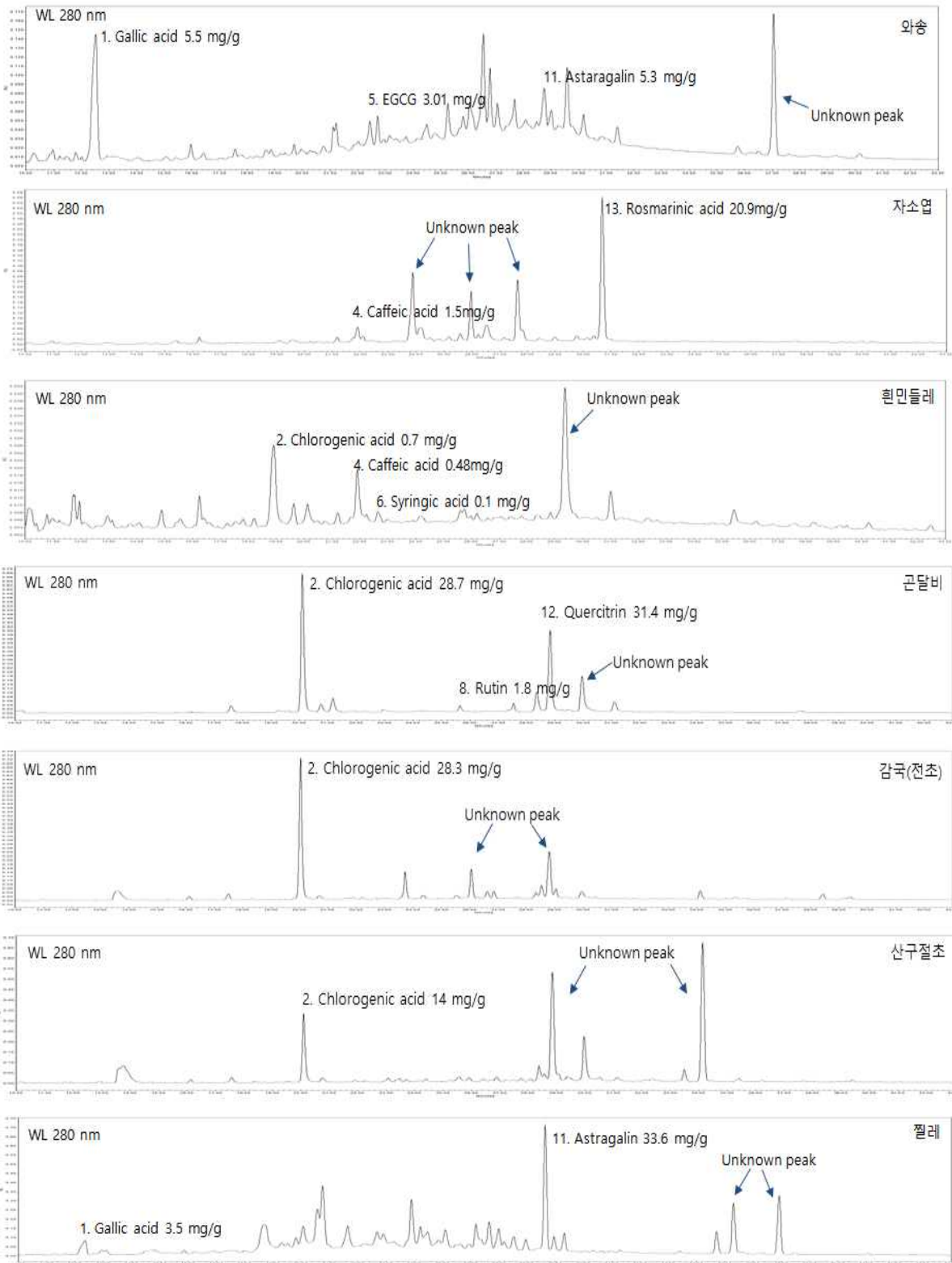
NO	Compound	Equation	R ²	NO	Compound	Equation	R ²
1	Gallic acid	y=24517x-52378	1	11	Astragalin	y=16303x+80172	0.9997
2	Chlorogenic acid	y=18353x-62843	1	12	Quercitrin hydrate	y=10982x-138981	0.9989
3	Methylgallate	y=32886x+879934	0.9962	13	Rosmarinic acid	y=21909x+37424	1
4	Caffeic acid	y=34951x+1E+06	0.9952	14	Myricetin	y=16174x+28823	1
5	EGCG	y=16025x-24621	1	15	Luteolin	y=23307x+290921	0.999
6	Syringic acid	y=31377x+1E+06	0.9956	16	Quercetin	y=16668x-164315	0.9995
7	<i>p</i> -Coumaric acid	y=60023x+1E+06	0.9951	17	Apigenin	y=27337x+848.72	1
8	Rutin	y=10834x+96865	0.9999	18	Kaempferol	y=17478x-75194	1
9	Ellagic acid	y=17776x-38139	0.998	19	Hesperetin	y=32005x+1E+06	0.9975
10	Ferulic acid	y=33514x+1E+06	0.995				

위와 같은 표준물질 분석 방법을 활용하여 허브자원 10종에 대한 기능 성분 동시 다분석에 대한 결과는 다음과 같음. 라벤더에서 rosmarinic acid 8.8 mg/g이 분석되었고, 레몬그라스에서 chlorogenic acid가 7.8 mg/g, coumaric acid가 1.9 mg/g, 캐모마일에서는 chlorogenic acid가 7.7 mg/g, rosmarinic acid가 7.2 mg/g, 와송은 gallic acid가 5.5 mg/g, caffeic acid가 3.01 mg/g, astragalin이 5.3 mg/g 함유되었고, 자소엽은 caffeic acid가 1.5 mg/g, rosmarinic acid가 20.9 mg/g, 흰민들레는 chlorogenic acid가 0.7 mg/g, caffeic acid가 0.48 mg/g, Syringic acid가 0.1 mg/g, 곤달비는 chlorogenic acid가 28.7 mg/g, rutin이 1.8 mg/g, quercitrin hydrate가 31.4 mg/g를 함유하였으며, 감국은 chlorogenic acid를 28.3 mg/g, 산구절초는 chlorogenic acid를 14 mg/g, 짚레는 gallic acid 3.5 mg/g과 astragalin을 33.6 mg/g을 함유하고 있었음.

<허브자원 10종의 기능성분 분석 결과>

표준물질 (단위: mg/g)	라벤더	레몬 그라스	캐모마일	와송	자소엽	흰민들레	곤달비	감국	산구절초	쨌레
Gallic acid	-	-	-	5.5	-	-	-	-	-	3.5
Chlorogenic acid	-	7.8	7.7	-	-	0.7	28.7	28.3	14	-
Caffeic acid	-	-	-	-	1.5	0.48	-	-	-	-
EGCG	-	-	-	3.01	-	-	-	-	-	-
Syringic acid	-	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-
Coumaric acid	-	1.9	-	-	-	-	-	-	-	-
Rutin	-	-	-	-	-	-	1.8	-	-	-
Ellagic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ferulic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Astragalin	-	-	-	5.3	-	-	-	-	-	33.6
Quercitrin hydrate	-	-	-	-	-	-	31.4	-	-	-
Rosmarinic acid	8.8	-	7.2	-	20.9	-	-	-	-	-
Myricetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Luteolin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quercetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apigenin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kaempferol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hesperetin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-





<허브자원 10종에 대한 HPLC 기능성분 분석 그래프>

- 채취 지역별 기능성분 비교

감국, 산구절초, 레몬그라스 3종의 소재에 대해 채취지역별로 기능 성분 비교를 해 본 결과, 감국의 경우는 같은 지리산권의 경남 거창(고도 : 455m)의 감국과 남원 운봉 허브시험장(고도 : 509m)에 식재한 감국의 기능 성분 함량을 비교하였을 때 경남 거창의 감국은 chlorogenic acid가 15.8 mg/g이 함유되어있었으나 남원시 운봉의 감국은 chlorogenic acid가 25.9 mg/g가 함유되어 약 10 mg/g 정도가 높았으며, 산구절초의 경우 또한 같은 지리산권인 경남 산청(고도 : 알수없음)과 허브시험장(고도 : 509m)에 식재된 자원을 비교하였을 때 chlorogenic acid가 경남 산청은 12.7 mg/g, 남원 운봉은 14 mg/g으로 더 높은 함량을 보였음. 레몬그라스의 경우는 남원산의 소재로 고도만 다르게 남원시 이백면(고도 : 112m)과 허브시험장(고도 : 509m)을 비교하였을 때 chlorogenic acid는 이백면에서 11.1 mg/g, 운봉읍에서 7.8 mg/g 함유하고 있었고, *p*-Coumaric acid는 이백면에서 2.1 mg/g, 운봉읍에서 1.9 mg/g 함유하고 있어서 이백면에서가 운봉보다 조금 기능성분의 함량이 높게 나타났는데 이는 레몬그라스가 벼과의 열대식물로서 높은 지대보다는 낮은 지대에서 성장이 좋아 기능성분 함량이 조금 더 높았을 것으로 생각됨.

<채취지역별 기능성분 분석>

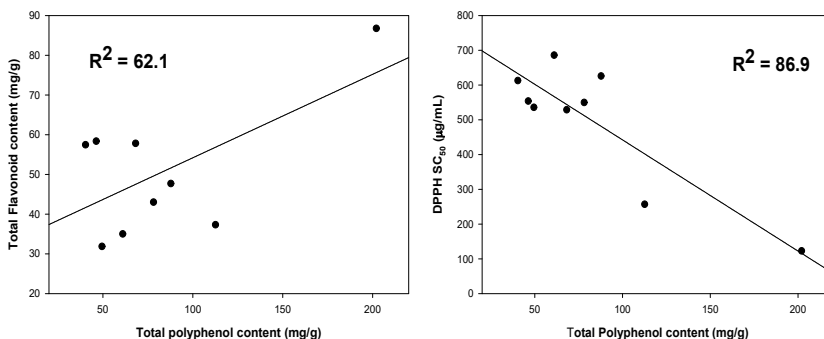
소재	채취지역	기능성분
감국	경남 거창군	Chlorogenic acid 15.8 mg/g
	남원시 운봉읍	Chlorogenic acid 25.9 mg/g
산구절초	경남 산청군	Chlorogenic acid 12.7 mg/g
	남원시 운봉읍	Chlorogenic acid 14 mg/g
레몬그라스	남원시 이백면	Chlorogenic acid 11.1 mg/g <i>p</i> -Coumaric acid 2.1 mg/g
	남원시 운봉읍	Chlorogenic acid 7.8 mg/g <i>p</i> -Coumaric acid 1.9 mg/g

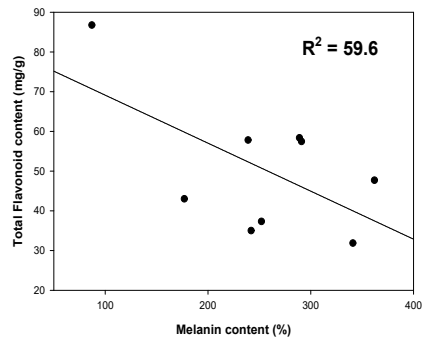
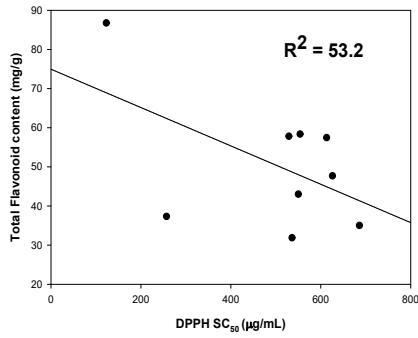
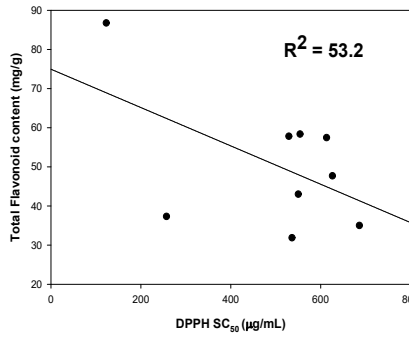
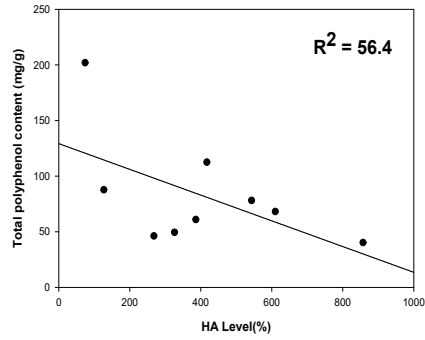
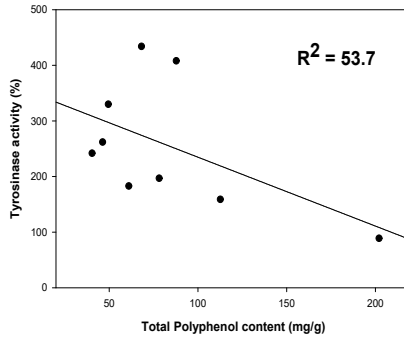
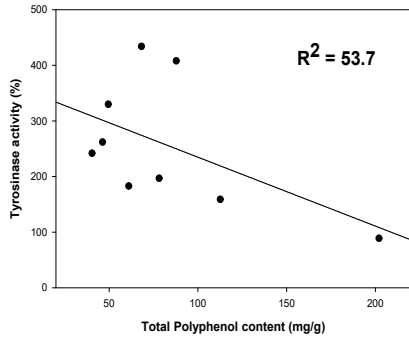
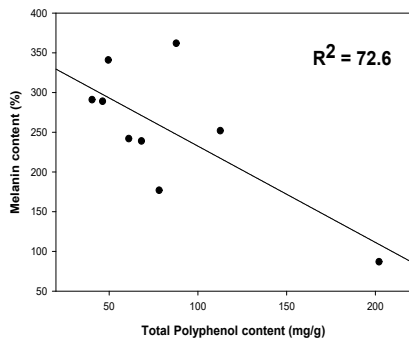
○ 효능평가

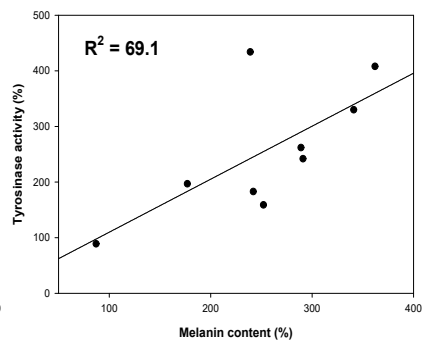
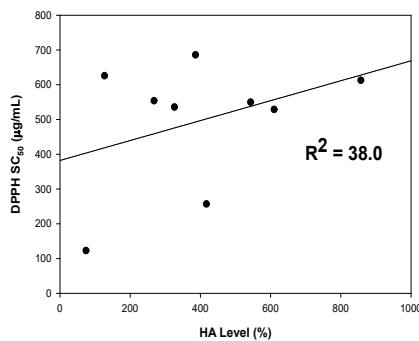
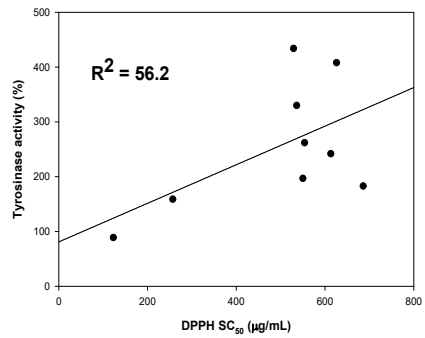
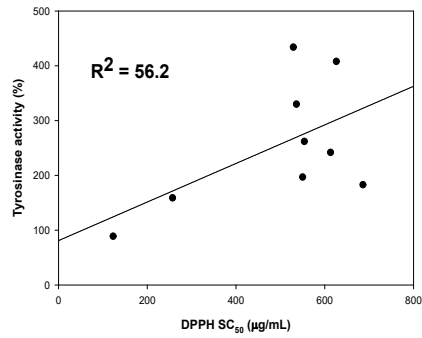
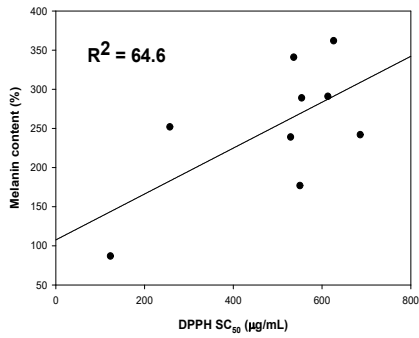
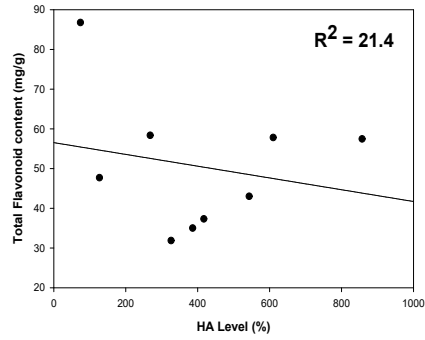
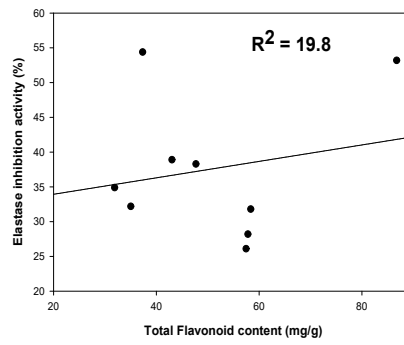
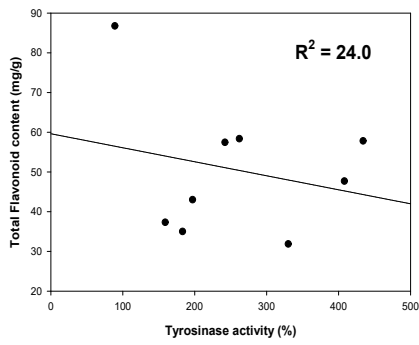
○ 효능평가 상관관계

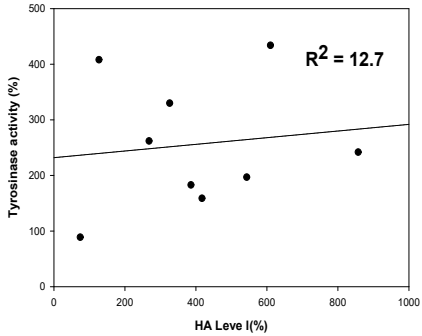
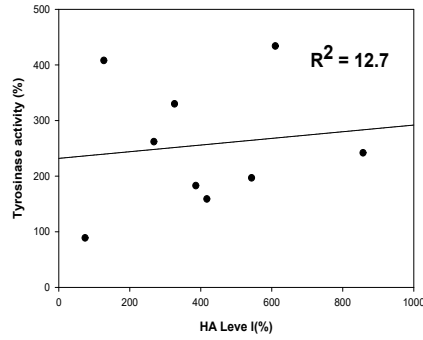
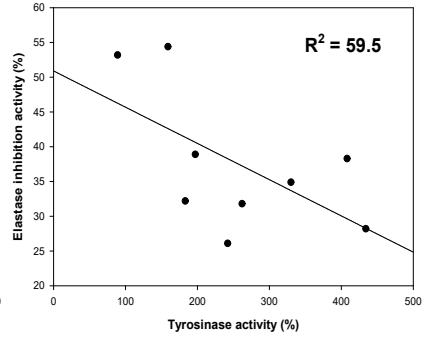
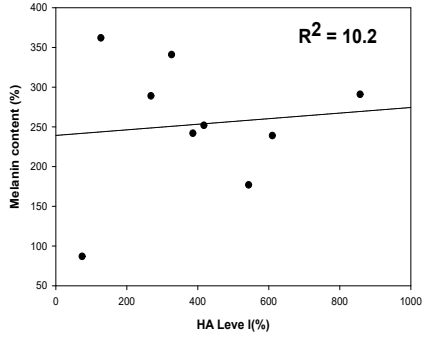
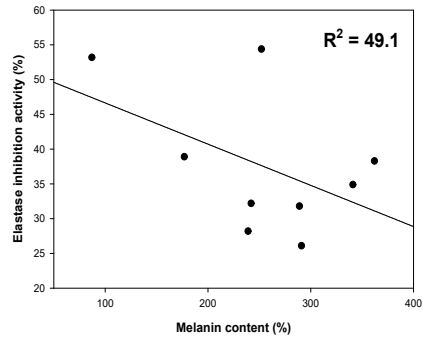
- 항산화-미백-주름-보습의 상관관계분석

1차년도 연구결과를 바탕으로 항산화, 미백, 주름, 보습의 상관관계를 알아보기 위하여 항산화 지표인 총 폴리페놀 및 총플라보노이드 함량, DPPH억제능(SC50기준), 미백 지표인 mleanin 합성능과 tyrosinase 활성능, 주름지표인 elastase 활성억제능, 보습지표인 hyaluronic acid (HA) 분비능 값을 기준으로 Sigma plot software program(version 13; Systat Software, Chicago, IL, USA)을 이용하여 비선형 회귀분석(nonlinear regression)방법으로 상관관계분석을 실시하였음. 분석결과는 아래와 같으며 항산화 능력과 미백과 주름의 상관관계가 높은 것(60% 이상기준)으로 나타났으며 특히 항산화 지표중 폴리페놀과 DPPH 항목이 미백과 주름의 상관관계가 높은 것으로 분석되었음.









<항산화-미백-주름-보습 상관관계그래프>

<항산화-미백-주름-보습 상관관계(R² 결정계수)>

기능성	항목	폴리페놀	플라보노이드	DPPH	Melanin	Tyrosinase	Elastase
항산화	폴리페놀	-					
	플라보노이드	62.1	-				
	DPPH	86.9	53.2	-			
미백	Melanin	72.6	59.6	64.6	-		
	Tyrosinase	53.7	24	56.2	69.1	-	
주름	Elastase	83.9	19.8	85.8	49.1	59.5	-
보습	HA release	56.4	21.4	38	10.2	12.7	55.6

○ 미백기전연구

- 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용된 멜라노마 세포주인 B16F10 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하였음.

- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR

1차년도 연구결과에서 미백에 우수한 효과를 보인 찔레와 산구절초 에탄올 추출물이 멜라노마 세포인 B16F10 세포에서 미백기전에 관련된 유전자를 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6 well plate에 5×10^5 cells/well과 1×10^5 cells/well로 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 phenol-red free 배지로 교환한 후 찔레와 산구절초 에탄올 추출물 시료를 1시간 전처리 후 200 nM α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH; Sigma, Saint Louis, MO, USA)를 각각 12, 72시간 처리하였음. 찔레와 산구절초를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였음. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였음. 이어 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 μ L를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼다. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였음. 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹였음. RNA 농도(1 OD=40 μ g/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 μ M과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 μ L의 용액에서 총 RNA 1 μ g으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cycler 2.0(Roche)에서 증폭하였음. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward / Reverse	Sequences(5'-->3')	CDS	Location		Size (bp)
Tyrosinase	D00440.1	Mouse	F	GGGATGAGAACTTCACTGTTCCATA	62-1663	741	765	158
			R	TGATCTGCTACAAATGATCTGCC		898	876	
TRP-1	BC076598.1	Mouse	F	TTCTCCCTTCTTACTGGAATTT	273-1886	1002	1024	152
			R	TCCAAGGATTCACAGACCAC		1153	1134	
TRP-2	AF111107.1	Mouse	F	CAGAAACAGTTTGTAGCACATCC	390-3608	1875	1897	161
			R	GCCAGCCAGTAGCCAAT		2035	2019	
MITF	BC108976.2	Mouse	F	CTCCTGTCCAGCCAACC	103-1362	618	634	152
			R	GGTCGTTTATGTTAAATCTTCTTCTCG		769	742	
β-actin	NM_007393.5	Mouse	F	CGGCCAGGTCATCACTATT	110-1237	841	859	153
			R	GCATAGAGGTCTTTACGGATGTC		993	971	

<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
Tyrosinase	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
TRP-1					
TRP-2					
MITF					
β-actin					40

- 통계분석

모든 분석 자료는 평균±표준오차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

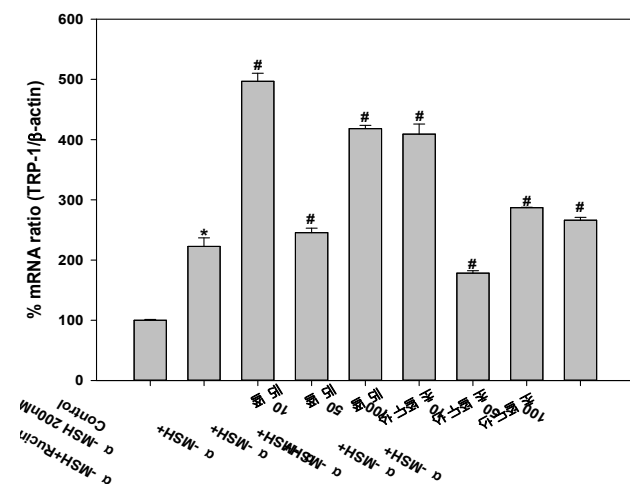
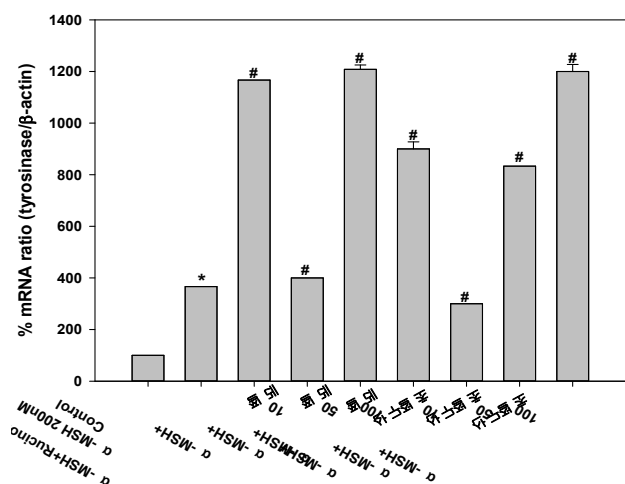
- 미백기전연구결과

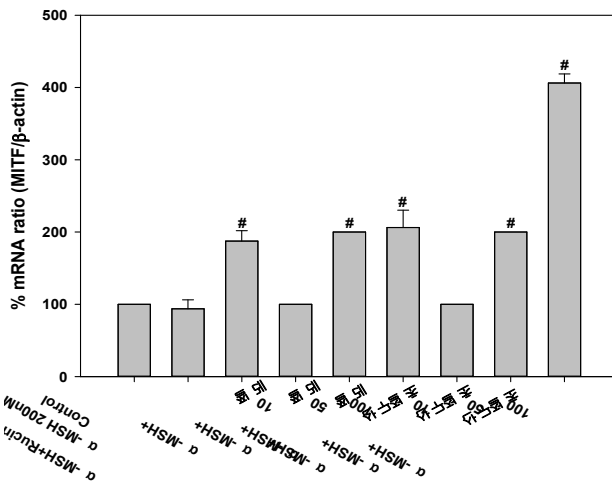
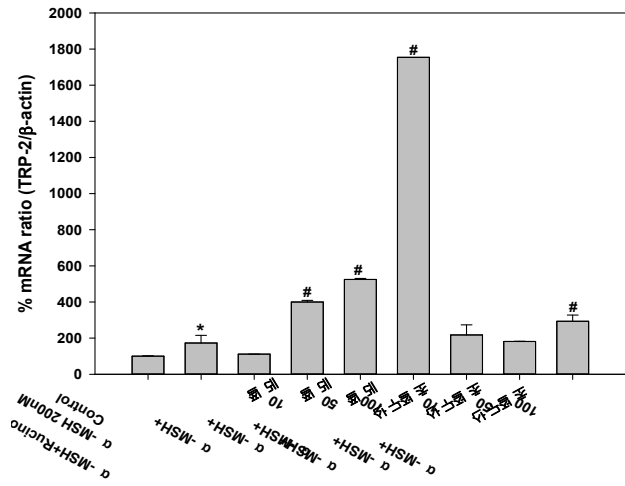
짚레와 산구절초 에탄올 추출물의 미백기전에 미치는 영향을 알아보기 위하여 멜라노마 세포인 B16F10 세포에서 실험을 실시함. 주요 미백에 관련된 유전자는 tyrosinase, tyrosinase-related protein 1 (TRP-1), TRP-2, melanogenesis associated transcription factor (MITF)로 알려져 있다. Melanogenesis를 유도하기 위해 α-MSH를 사용하였으며 이를 억제하기 위한 양성대조군으로 rucinol (4-n-Butylresorcinol, BR)을 사용하였으며 짚레와 산구절초 에탄올 추출물은 시간별(72시간, 12시간)로 각각 10, 50, 100 µg/ml과 25, 50, 100 µg/ml 농도로 처리하였음. 1차적으로 1차년도 연구결과에서 짚레와 산구절초 에탄올 추출물이 α-MSH로 유도된 멜라닌 합성을 72시간에서 억제한 결과를 보였으므로 72 시간을 기준으로 미백기전 관한 유전자를 발현을 조사하였음. 조사 결과, 미백 유도제인 α-MSH에 의해 미백관련 유전자인 tyrosinase, TRP-1, TRP-2 mRNA의 발현이 각각 3.7배, 2.2배, 1.7배 증가하였고, MITF mRNA의 발현은 변화를 보이지 않았음. 양성대조군이자 미백억제제로 알려진 rucinol 처리에 의해 TRP-2 mRNA를 제외하고 tyrosinase, TRP-1, MITF mRNA의 발현이 각각 3.2배, 2.2배, 2배 증가하였음. 그리고 짚레와 산구절초 에탄올 추출물 모두 저농도에서보다 고농도에서 tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF mRNA의 발현이 증가함을 알 수 있었음. 이러한 결과는 rucinol, 짚레와 산구절초 에탄올 추출물 모두 멜라닌 합성은 억제하지만, 억제된 멜라닌합성을 feedback하기 위해 phosphate extracellular signal-regulated kinase (p-ERK)가 활성화된다고 알려져 있으므로, 이에 따라 미백조절에 관련된 유전자의 발현이 증가된 것으로 생각됨.

2차적으로 미백에 관련된 세포내 신호전달이 좀 더 짧은 시간에 일어나는지 확인하기 위하여, α-MSH 처치 후 melanogenesis를 유도한 후 양성대조군과 짚레와 산구절초 에탄올 추출물을 12시간 처리한 후 미백관련 유전자의 발현을 조사한 결과, α-MSH로 멜라닌 합성을 유도한 그룹에서는 tyrosinase, TRP-1,

TRP-2, MITF mRNA의 발현이 각각 5.0배, 2.6배, 2.4배, 3.4배 증가하였음. 그리고 양성대조군인 rucinol를 처리한 그룹에서도 tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF mRNA의 발현이 각각 1.6배, 1.5배, 1.6배, 1.5배 증가하였다. 이는 rucinol의 강력한 멜라닌 합성 억제로 효과로 p-ERK에 의한 feedback system에 의한 것으로 판단됨.

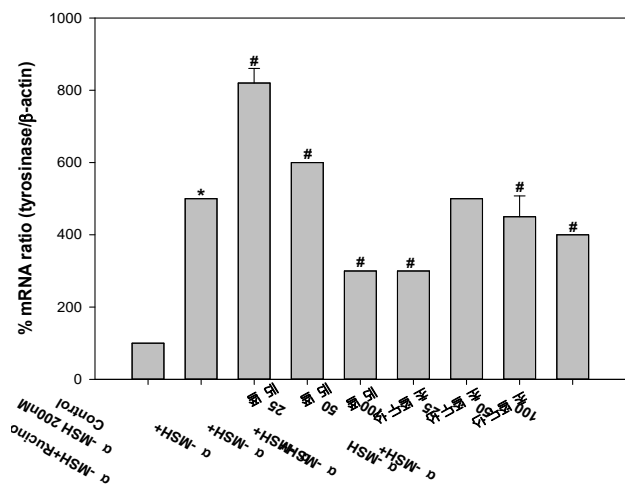
그러나 찔레 에탄올 추출물 처리한 그룹에서는 저농도에서보다 고농도에서 tyrosinase, TRP-1, TRP-2 mRNA의 발현이 감소하였으며, 산구절초 에탄올 처리 그룹에서도 저농도에서보다 고농도에서 tyrosinase, TRP-1 mRNA의 발현이 감소함을 확인할 수 있었음. 찔레와 산구절초를 비교할 경우 산구절초보다 찔레의 melanogenesis 억제효과가 우수한 것으로 나타남. 찔레와 산구절초를 비교할 경우 산구절초보다 찔레의 melanogenesis 억제효과가 우수한 것으로 조사되었고, 이러한 결과는 1차년도와 결과에서 찔레 에탄올 추출물은 멜라닌합성과 티로시나제 활성을 모두 억제했지만 산구절초 에탄올 추출물을 티로시나제의 활성을 억제하지 못하였지만 멜라닌 합성은 억제한 결과와 기전연구와의 상관관계가 일치함을 확인할 수 있었음.

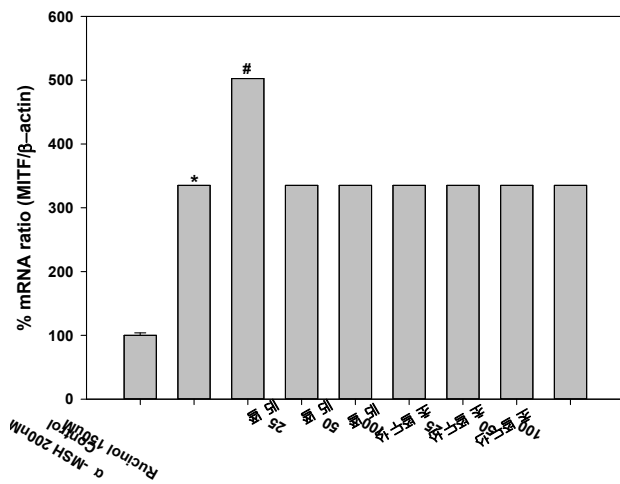
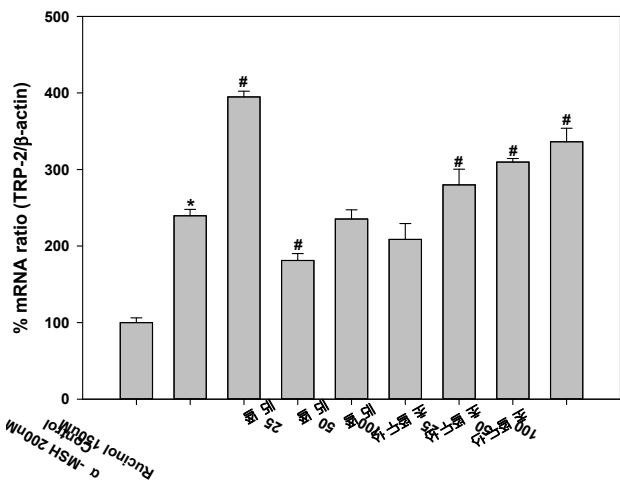
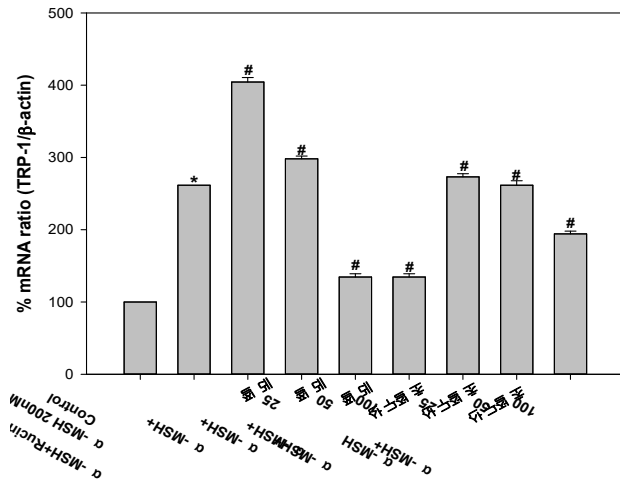




<멜라노마 세포에서 찔레와 산구절초 에탄올 추출물의 미백 유전자에 미치는 영향(72시간)>

* $p < 0.05$ control vs α -MSH, # $p < 0.05$ α -MSH vs sample





<멜라노마 세포에서 쥘레와 산구절초 에탄올 추출물의 미백 유전자에 미치는 영향(12시간)>

* $p < 0.05$ control vs α-MSH, # $p < 0.05$ α-MSH vs sample

○ 주름기전연구

- 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용된 섬유아 세포주인 HS 27 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 RPMI1640 (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하였음.

- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR

1차년도 연구결과에서 주름에 우수한 효과를 보인 찔레와 와송 에탄올 추출물이 피부 섬유아세포인 HS 27 세포에서 주름 기전에 관련된 유전자를 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6well plate에 1×10⁶ cells/well 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 serum free 배지로 교환한 후 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물 시료를 처리한 후 Ultraviolet (UV) spectrolinker XL-100 (Spectronics Corp., Westbury, NY, USA) 이용하여 UVB(312 nm)를 조사한 후 24시간동안 배양하였음. 찔레와 와송을 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였음. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였음. 이어 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 µL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였음. 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹였음. RNA 농도(1 OD=40 µg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 µM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 µL의 용액에서 총 RNA 1 µg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cyclor 2.0(Roche)에서 증폭하였음. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cyclor Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward / Reverse	Sequences(5'-->3')	CDS	Location		Size (bp)
MMP-1	NM_002421.3	human	F	AGGAAATCTTGCTCATGCTT	144-1553	677	696	164
			R	CGATATCAGTAGAATGGGAGAGTC		840	817	
MMP-13	NM_002427.3	human	F	TGTTTCTATCTACACCTACACCG	30-1445	748	771	150
			R	GGGATAAGGAAGGGTCACATT		897	877	
COLA1	NM_000088.3	human	F	CTGGTCTTCCAGGGCCTAA	127-4521	2333	2351	157
			R	CCGCTGGGACCACTTTC		2489	2472	
PCLOCE	AB008549.1	human	F	TGACCTGGAGCCGGACA	57-1406	671	687	151
			R	GAAGTGGACGAGGAGTTCATTC		821	800	
β-actin	NM_001101.4	human	F	CACGTGCCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTACGCACGATTTTC		831	811	

<Real-time RT-PCR conditions>

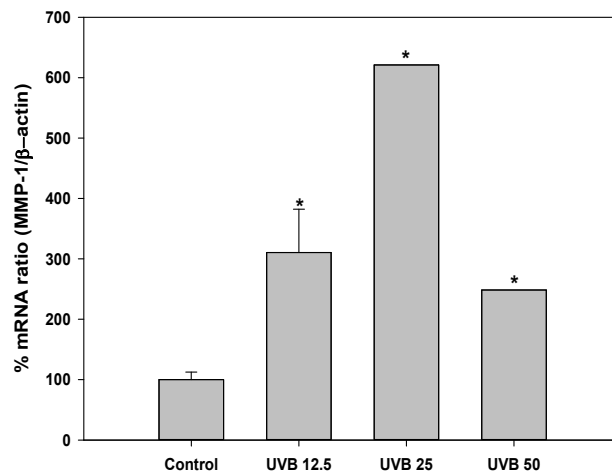
Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
MMP-1	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
MMP-13					
COLA1					
PCLOCE					
β-actin					40

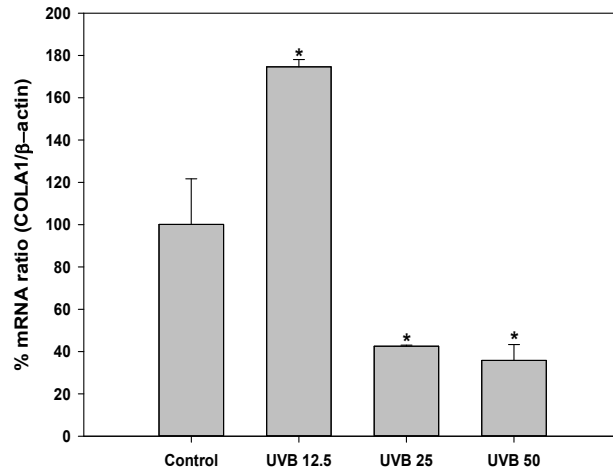
- 통계분석

모든 분석 자료는 평균±표준오차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad Instat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 p < 0.05 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

- 주름기전연구결과

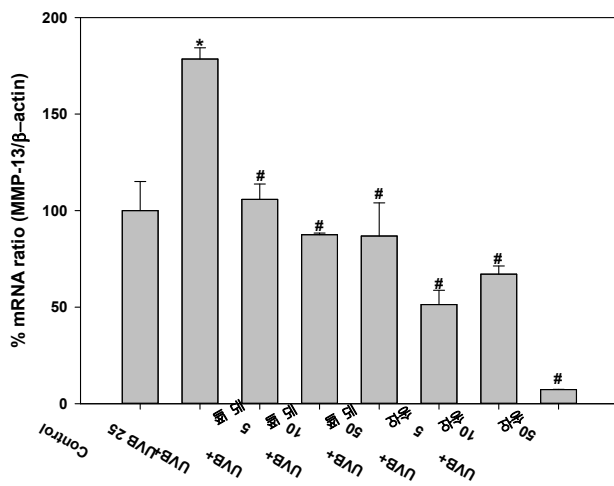
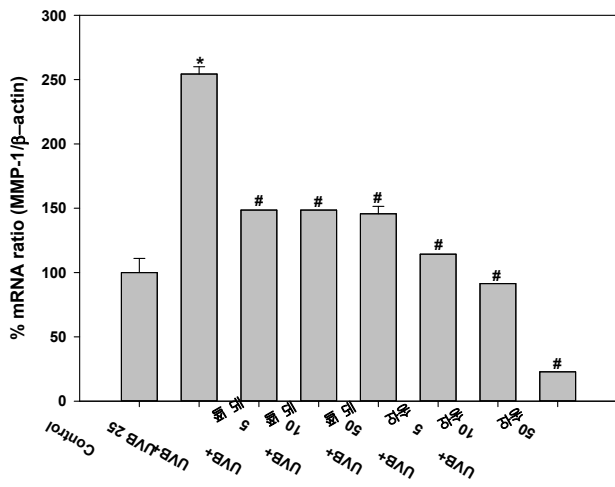
쥘레와 와송 에탄올 추출물의 UVB에 의한 피부주름에 미치는 영향을 알아보기 위하여 피부섬유아세포인 HS27 세포에서 실험을 실시하였음. 먼저 UVB를 HS 27세포에 0, 12.5, 25, 50 mJ/cm²의 선량별로 조사하여 콜라겐분해 유전자인 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)과 procollagen으로 알려진 collagen, type I, alpha 1 (COLA1) mRNA의 발현을 조사한 결과, MMP-1 mRNA의 발현은 UVB 12.5, 25, 50 mJ/cm²의 선량에서 control과 비교하였을 때 각각 3.1배, 6.2배, 2.5배 증가하였고, COLA1 mRNA의 발현은 control과 비교하였을 때 UVB 12.5 mJ/cm²에서는 1.7배 증가하였지만 25, 50 mJ/cm²의 선량에서는 각각 58%, 64% 감소하였음. 이러한 결과를 바탕으로 쥘레와 와송 에탄올 추출물의 주름기전을 알아보기 위하여 UVB 선량은 25 mJ/cm²으로 선택하였음. 쥘레와 와송 에탄올 추출물의 주름에 미치는 영향을 알아보기 위하여 UVB 25 mJ/cm²으로 선량으로 조사한 후 콜라겐분해효소인 MMP-1과 MMP-13 mRNA의 발현과 콜라겐 생성유전자인 COLA1과 procollagen C-endopeptidase enhancer 1 (PCLOCE) mRNA의 발현을 조사하였음. 피부섬유아세포에 UVB 25mJ/cm² 선량으로 조사하였을 때 MMP-1과 MMP-13 mRNA의 발현이 control과 비교하였을 때 각각 2.5배, 1.8배 증가하였으며, COLA1과 PCLOCE mRNA의 발현은 각각 37%, 15% 감소하였음. 그리고 UVB를 조사한 후 쥘레 에탄올 추출물을 5, 10, 50 µg/ml로 처리하였을 때 콜라겐분해효소인 MMP-1의 발현은 각각 42%, 42%, 43% 감소하였고, MMP-13의 발현도 각각 59%, 49%, 49% 감소하였지만 농도별로 큰 차이를 보이지는 않았음. 반면에 와송 에탄올 추출물의 경우 MMP-1과 MMP-13의 발현이 농도 의존적으로 감소됨을 확인할 수 있었는데, MMP-1의 발현은 농도별로 각각 55%, 64%, 91% 감소하였고 MMP-13 발현 역시 와송 에탄올 추출물 농도별 처리에 의해 각각 71%, 62%, 96% 감소함을 확인할 수 있었음. 또한, UVB를 조사한 후 쥘레 에탄올 추출물 처리하였을 때 콜라겐 생성유전자인 COLA1 mRNA의 발현은 10, 50 µg/ml 농도에서 각각 1.2배, 2.5배 증가하였지만 PCLOCE mRNA의 발현은 각각 1.1배, 1.1배로 큰 증가폭을 보이지 않았음. 그러나 와송 에탄올 추출물을 처리한 경우에는 10, 50 µg/ml 농도에서 COLA1 mRNA의 발현은 각각 61%, 92% 감소하였고, PCLOCE mRNA의 발현도 각각 57%, 48% 감소됨을 확인할 수 있었음. 결론적으로 쥘레 에탄올 추출물은 UVB에 의한 분해된 콜라겐 생성능을 증가시키지만 와송 에탄올 추출물은 콜라겐분해 억제능을 감소시킴을 확인할 수 있었음.

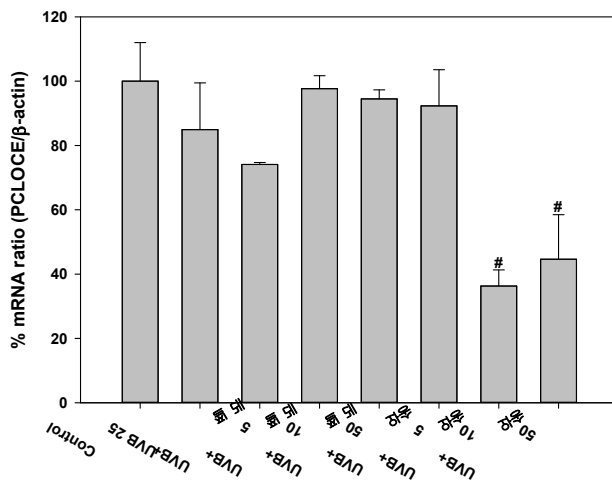
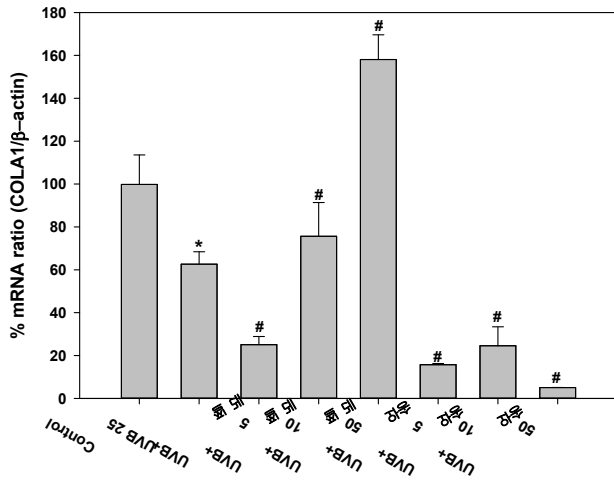




<피부섬유아세포에서 UVB 조사에 의한 MMP-1과 COLA1 mRNA의 발현>

* $P < 0.05$ control vs sample





<피부섬유아세포에서 찔레와 와송 에탄올 추출물의 주름 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$ control vs UVB, # $p < 0.05$ UVB vs sample

○ 보습기전연구

- 세포주 및 세포배양

본 실험에 사용된 피부각질 세포주인 HaCaT 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포배양기에서 배양하였음.

- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR

1차년도 연구결과에서 보습에 우수한 효과를 보인 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물이 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 보습과 피부장벽 기전에 관련된 유전자를 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6well plate에 6×10⁵ cells/well 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 serum free 배지로 교환한 후 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물 시료를 처리한 후 48시간동안 배양하였음. 레몬그라스와 자소엽을 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였음. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였음. 이어 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 μL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였음. 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹였음. RNA 농도(1 OD=40 μg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction

buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 μM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 μL의 용액에서 총 RNA 1 μg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cyclor 2.0(Roche)에서 증폭하였음. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cyclor Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward / Reverse	Sequences(5'-->3')	CDS	Location		Size (bp)
HAS1	NM_001523.3	human	F	GTGCGGGTACTGGACGA	60-1796	810	826	172
			R	GACCGCTGATGCAGGATACA		981	962	
HAS2	NM_005328.2	human	F	GCAGTGTAAAGATATTGGATGGC	539-2197	1305	1326	151
			R	CCCATAAATTCTTGATTGTACCAATCTTC		1455	1427	
HAS3	AF234839.1	human	F	TGTCCAGATCCTCAACAAGTACGA	157-1818	888	911	157
			R	CTGGAGGAGGCTGTTGC		1044	1028	
Filaggrin	AH002947.2	human	F	GGCTAAGTGAAAGACTTGAAGAGA	2586-4929	3751	3774	157
			R	AATAGACTATCAGTGGTGTCATAGG		3907	3883	
AQP3	NM_004925	human	F	TGCAATCTGGCACTTCGC	104-982	478	495	156
			R	GCCAGCACACACAGATAA		633	615	
Loricrin	NM_000427.2	human	F	CTGCTTCTCCTCCGGTG	55-993	390	406	151
			R	TCCGTAGCTCTGGCACT		540	524	
Involucrin	AH002845.2	human	F	GGCAGCTGAAGTACCTGGAA	964-2721	1805	1824	169
			R	TCCAGCTGCTCCAGTTG		1973	1957	
β-actin	NM_001101.4	human	F	CACTGTGCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTCACGCACGATTTTC		831	811	

<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
HAS1	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
HAS2					
HAS3					
Filaggrin					
AQP3					
Loricrin	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	62°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
Involucrin	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	64°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
β-actin	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	40

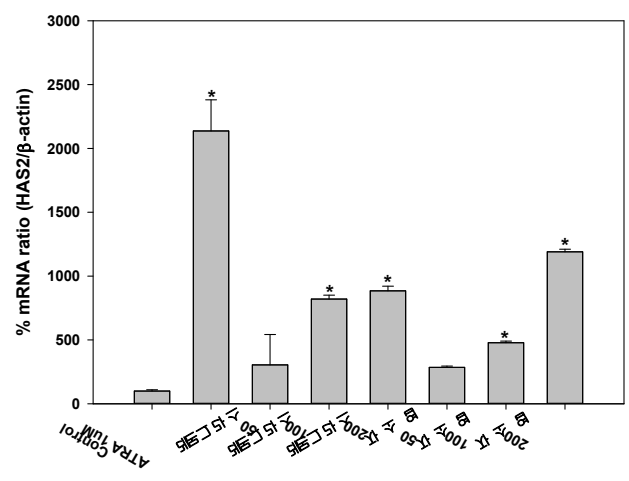
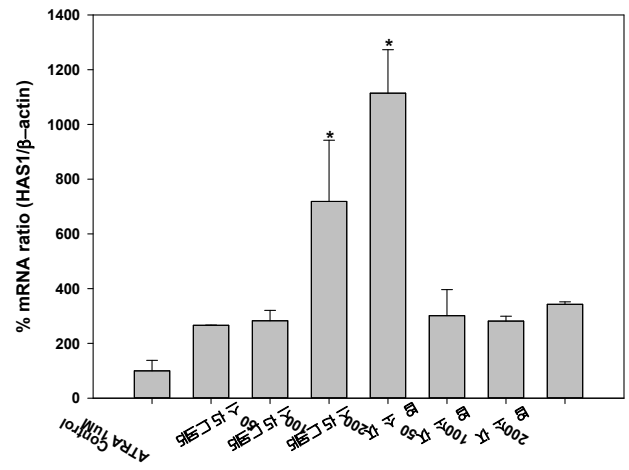
- 통계분석

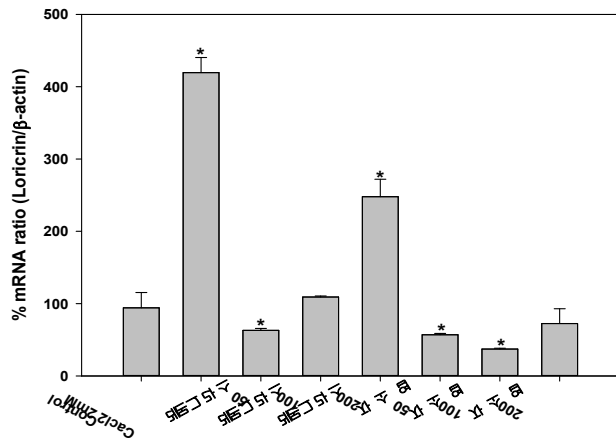
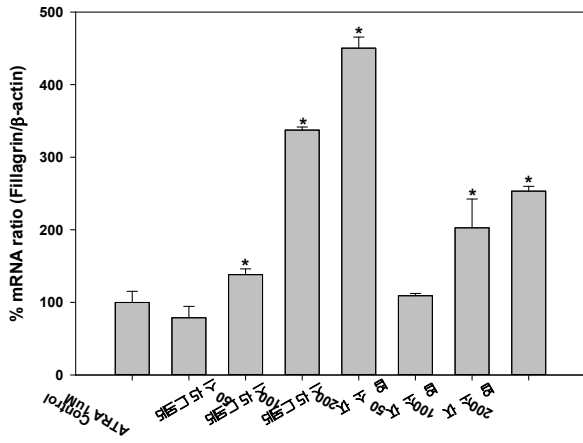
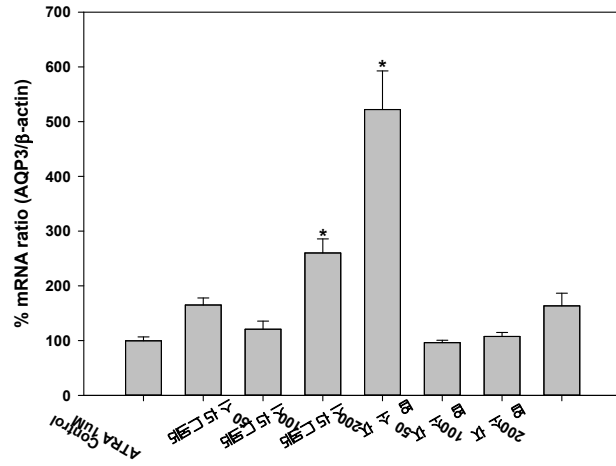
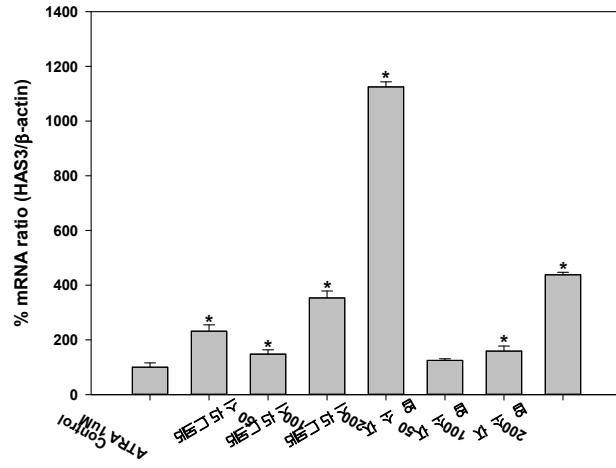
모든 분석 자료는 평균±표준오차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

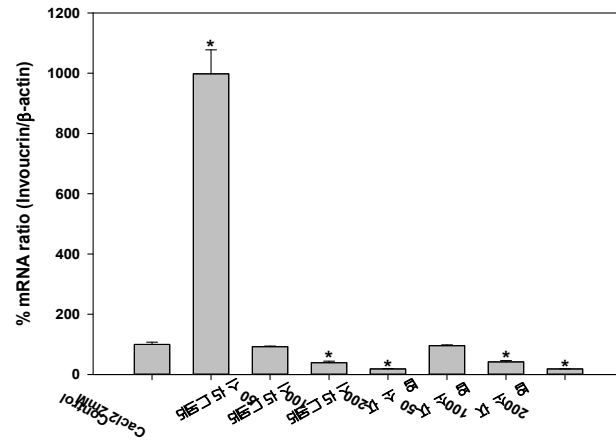
- 보습기전연구결과

레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물의 피부보습 및 피부장벽에 미치는 영향을 알아보기 위하여 피부각질 세포인 HaCaT 세포에서 실험을 실시하였음. 피부보습에 관련된 유전자는 hyaluronan synthase 1 (HAS1), HAS2, HAS3, aquaporin 3 (AQP3), filaggrin과 피부장벽에 관련된 유전자는 loricrin과 involucrin 유전자의 발현을 조사하였음. 피부보습에 관련된 양성대조군으로 히알루론산(hyaluronic acid, HA)을 생성하는 all-trans retinoic acid (ATRA)를 사용하였으며 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물은 50, 100, 200 μg/ml 농도로 테스트하였음. 실험결과 양성대조군인 ATRA는 control과 비교하였을

때 HAS1, HAS2, HAS3, AQP3 mRNA의 발현을 각각 2.7배, 21.4배, 2.3배, 1.7배 증가시켰으며 filaggrin은 큰 변화를 보이지 않았음. 그리고 레몬그라스와 에탄올 추출물을 처리한 경우에는 HAS1, HAS3, AQP3, filaggrin mRNA의 발현이 농도의존적으로 증가하였음. 또한, 자소엽 에탄올 추출물 처리에 의해 HAS2, HAS3, filaggrin 발현이 농도 의존적으로 증가하였음. 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물을 비교한 경우 레몬그라스가 자소엽보다 훨씬 많은 피부보습에 관련된 유전자를 증가시킴을 알 수 있었음. 피부장벽에 관련된 유전자를 조사하기 위하여 양성대조군으로 2mM CaCl₂를 사용하였으며 레몬그라스와 자소엽의 에탄올 추출물은 50, 100, 200 µg/ml 농도로 테스트한 결과, 양성대조군인 CaCl₂는 loricrin과 involucrin mRNA의 발현을 각각 4.2배, 10배 증가시켰다. 그리고 레몬그라스 에탄올 추출물은 피부장벽을 보호하는 유전자인 loricrin mRNA의 발현을 증가시켰지만 자소엽 추출물은 변화를 보이지 않았음. 그리고 involucrin mRNA의 발현은 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물 처리에 의해 농도 의존적으로 감소함을 확인할 수 있었음. 결론적으로 피부장벽보호 효과에 있어서도 레몬그라스가 자소엽에 비해 좀 더 우수한 효과를 나타내었음.







<피부각질세포에서 레몬그라스와 자소엽 에탄올 추출물의 보습 및 피부장벽 유전자에 미치는 영향>
 * $p < 0.05$ control vs sample

2) 소재자원화

○ 화장품원료등재

○ 국제화장품원료등재

- 남원지역특화 자원 중 국제화장품원료사전(INCI, International Nomenclature Cosmetic Ingredient)에 등재되어 있지 않는 2종(흰민들레, 곤달비), 추출물 형태가 등록되어 있지 않은 2종(자소엽수, 감국수) 및 사용부위가 등록되어 있지 않는 1종(와송) 총 6종을 미국화장품협회(PCPC, Personal Care Products Council) 국제화장품원료사전 목록에 등재한 리스트는 아래 표와 같으며 지역자원의 우수성과 홍보를 위해 trade name은 Namwon-Jirinsan 명칭을 사용하였음.

<미국화장품 협회 국제화장품원료등재 리스트>

번호	품명	사용부위	Trade name	INCI name	Function
1	흰민들레	전초	Namwon-Jirisan Taraxacum Coreanum extract (NCN)	Taraxacum Coreanum extract;	Antioxidant, Antimicrobial, Skin conditioning-miscellaneous
2	찔레꽃	전초	Namwon-Jirisan Rosa Multiflora extract (NCN)	Rosa Multiflora extract	Antioxidant, Hair conditioning, Skin protecting, Skin conditioning-Humectant
3	곤달비	전초	Namwon-Jirisan Ligularia Stenocephala extract (NCN)	Ligularia Stenocephala extract	Antioxidant, Antimicrobial, Skin conditioning-miscellaneous
4	자소엽수	전초	Namwon-Jirisan Perilla Frutescens water (NCN)	Perilla Frutescens water	Antioxidant, Skin conditioning-Humectant
5	감국수	전초	Namwon-Jirisan Chrysanthemum Indicum water (NCN)	Chrysanthemum Indicum water	Antioxidant, Skin conditioning-Humectant
6	와송	꽃/잎 줄기	Namwon-Jirisan Orostachys Japonica Flower/Leaf/Stem Extract (NCN)	Orostachys Japonica Flower/Leaf/Stem extract	Antioxidant Skin conditioning-Humectant

[흰민들레전초추출물]



January 16, 2018

Application No. 2-08-2017-6812

Submitted By: Dr. Tae-Bum Lee, 43 Simyo-gil, Namwon-si, Jeollabuk-do, 55801, Republic of Korea

Manufactured By: Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, 43, Simyo-gil, Namwon-Si, Jeollabuk-do, Republic of Korea, 55801, KOREA (SOUTH)

Trade Name: Namwon-Jirisan Taraxacum Coreanum extract (NCN)

Assigned INCI Name: Water (and) Butylene Glycol (and) Taraxacum Coreanum Extract

[찔레꽃전초추출물]



September 18, 2017

Application No. 2-08-2017-6813

Submitted By: Dr. Tae-Bum Lee, 43 Simyo-gil, Namwon-si, Jeollabuk-do, 55801, Republic of Korea

Manufactured By: Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, 43, Simyo-gil, Namwon-Si, Jeollabuk-do, Republic of Korea, 55801, KOREA (SOUTH)

Trade Name: Namwon-Jirisan Rosa Multiflora extract (NCN)

Assigned INCI Name: Water (and) Butylene Glycol (and) Rosa Multiflora Extract

[곤달비전초추출물]



October 2, 2017

Application No. 2-08-2017-6811

Submitted By: Dr. Tae-Bum Lee, 43 Simyo-gil, Namwon-si, Jeollabuk-do, 55801, Republic of Korea

Manufactured By: Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, 43, Simyo-gil, Namwon-Si, Jeollabuk-do, Republic of Korea, 55801, KOREA (SOUTH)

Trade Name: Namwon-Jirisan Ligularia Stenocephala extract (NCN)

Assigned INCI Name: Water (and) Butylene Glycol (and) Ligularia Stenocephala Extract

[자소엽전초추수]



July 10, 2018

Application No. 2-07-2018-8116

Submitted By: Dr. Tae-Bum Lee, 43, Simyo-gil, Jeollabuk-do, Namwon-si, 55801, Republic of Korea

Manufactured By: Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, 43, Simyo-gil, Jeollabuk-do, Namwon-si, 55801, KOREA (SOUTH)

Trade Name: Namwon-Jirisan Perilla Frutescens water(NCN)

Assigned INCI Name: Water (and) Butylene Glycol (and) 1,2-Hexanediol (and) Perilla Frutescens Extract

[감국전초추수]



July 10, 2018

Application No. 2-07-2018-8118

Submitted By: Dr. Tae-Bum Lee, 43, Simyo-gil, Jeollabuk-do, Namwon-si, 55801, Republic of Korea

Manufactured By: Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, 43, Simyo-gil, Jeollabuk-do, Namwon-si, 55801, KOREA (SOUTH)

Trade Name: Namwon-Jirisan Chrysanthemum Indicum water(NCN)

Assigned INCI Name: Water (and) Butylene Glycol (and) 1,2-Hexanediol (and) Chrysanthemum Indicum Extract

[와송꽃/잎/줄기추출물]



July 12, 2018

Application No. 2-07-2018-8119

Submitted By: Dr. Tae-Bum Lee, 43, Simyo-gil, Jeollabuk-do, Namwon-si, 55801, Republic of Korea

Manufactured By: Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, 43, Simyo-gil, Jeollabuk-do, Namwon-si, 55801, KOREA (SOUTH)

Trade Name: Namwon-Jirisan Orostachys Japonica Flower/Leaf/stem extract(NCN)

Assigned INCI Name: Water (and) Butylene Glycol (and) Orostachys Japonica Flower/Leaf/Stem Extract

<미국화장품 협회 국제화장품원료등재 리스트>

다. 우석대학교 산학협력단(제2협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2018)	남원지역 특화자원의 지표성분 표준화 및 벨리데이션	지표(유효)성분 표준화	○ 지표(유효)성분 동시 다분석 가능성 검토	- 동시다분석(isocratic분리법) 가능성 검토 : 산구절초, 자소엽, 찔레
			○ 최종 조합물에 대한 지표(유효) 성분 표준시험법 확립	- 동시다분석(gradient cromato graphy 분리법) 표준 시험법 확립 - 조합물1 : 산구절초, 자소엽, 찔레 - 조합물2 : 산구절초, 와송, 자소엽, 찔레, 흰민들레
			○ 최종 조합물에 대한 method validation	- Astragalin, Rosmarinic acid, Chlorogenic acid의 analysis method vlication 진행 : 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 재현성 확인
			○ 최종 조합물 지표(유효)성분 정량	- 찔레, Astragalin : 20.000 mg/g - 산구절초, Chlorogenic acid : 1.0134~1.0354 mg/g - 자소엽, Rosmarinic acid : 0.4444~0.4447 mg/g
		기능성(항산화) 평가	○ 기능성(항산화) 평가	- DPPH 라디칼 소거능 : 산구절 초, 자소엽, 찔레 BG40 추출물 에서 항산화 기능 확인

1) 지표(유효)성분 표준화

1) 지표(유효)성분 표준화

○ 지표 성분 동시 다분석 가능성 검토

○ 허브자원 10종의 추출 용매별 총 플라보노이드, 총 폴리페놀 분석을 통한 조합물 선정

- 허브자원 10종의 추출 용매별 이화학적 특성 및 생리활성 기능성을 평가해보고 우수한 소재를 선별하여 우선적으로 동시 다분석 하고자 각 허브자원의 BG40 추출물의 총 플라보노이드 함량, 총 폴리페놀 함량을 정량하였음. 그 결과, 산구절초, 자소엽과 찔레 3종의 허브를 선정하였음. 3종의 허브는 지표성분의 함유량이 많고, 그 검출시간이 각기 달라 동시 다분석에 적합하여 우선적으로 동시 다분석을 실시하여 향후 조합물의 동시 다분석 가능성을 검토하였음.
- 더불어 국내자생하는 허브로서 화장품원료에 등재된 흰민들레와, 콜라겐분해 억제 활성을 가지는 와송을 더하여 화장품 조합물의 또 다른 후보로 제안하고자 함(조합물2).

Total Flavonoid Content (mg/g extract)		Total polyphenol content (mg/g extract)	
Sample name	BG40 extract	Sample name	BG40 extract
산구절초	128.74±53.35	산구절초	ND
자소엽	170.87±35.69	자소엽	30.92±15.41
짚레	297.89±53.57	짚레	183.36±12.75
라벤더	125.17±79.16	라벤더	ND
캐모마일	206.02±42.37	캐모마일	ND
레몬그라스	360.40±33.41	레몬그라스	ND
감국	309.16±12.6	감국	ND
와송	299.19±62.33	와송	0.27±7.99
곤달비	157.12±73.03	곤달비	ND
흰민들레	74.12±76.99	흰민들레	ND

<10종 허브의 총 플라보노이드 함량>

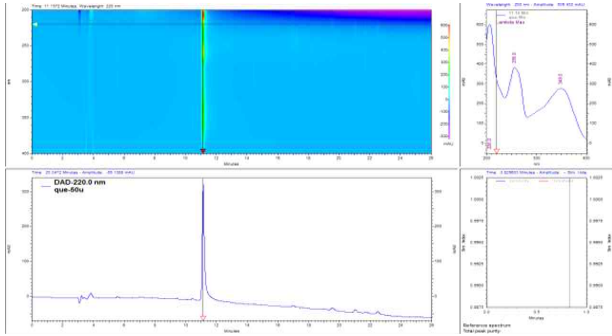
- 지표(유효)성분 동시 다분석 가능성 검토
- 산구절초와 자소엽, 짚레 3종의 지표성분인 Quercitrin, Astragaln, Rosmarinic acid의 동시 다분석 가능성을 검토하기 위하여 isocratic 분리방법을 사용하여 지표성분 표준품을 먼저 분석한 뒤 짚레, 자소엽, 산구절초 추출물의 혼합물의 동시 다분석하여 검출시간을 비교한 뒤 동시 다분석을 위한 분석조건을 알아보고자 하였음.
- Device information: Hitachi Chromaster, DAD detector.
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

<동시다분석 Mobile phase information>

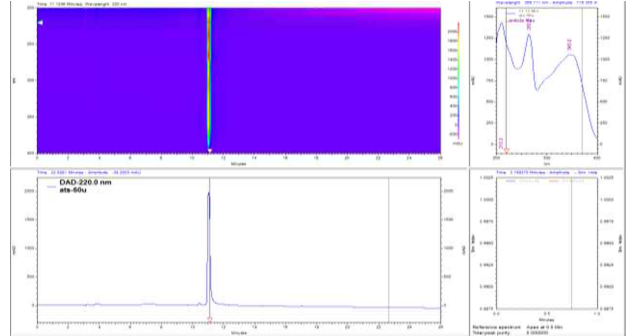
isocratic method	
Pump A	Distiled Water
Pump B	Acetonitrile
Flow rate	1 ml/min ⁻¹
Colum oven temperature	40 °C
Wavelength	330nm
Injection volume	10 µl

<동시다분석 Analysis program information>

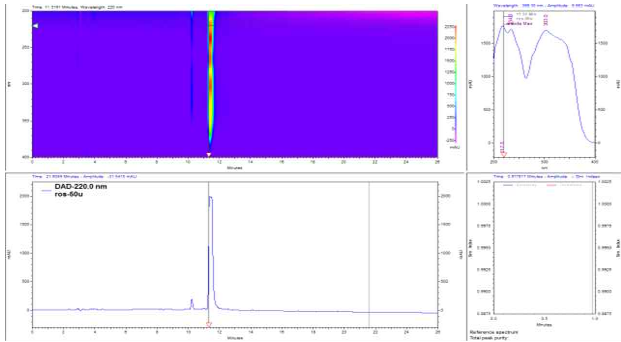
Time	Pump A	Pump B
0	85	15
40	0	100
50	STOP	



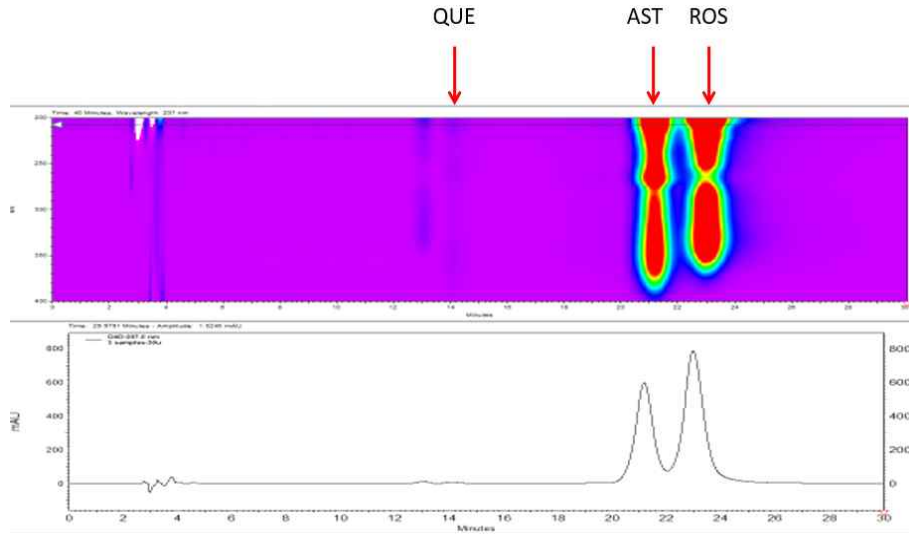
<Quercirtin 표준품 분석>



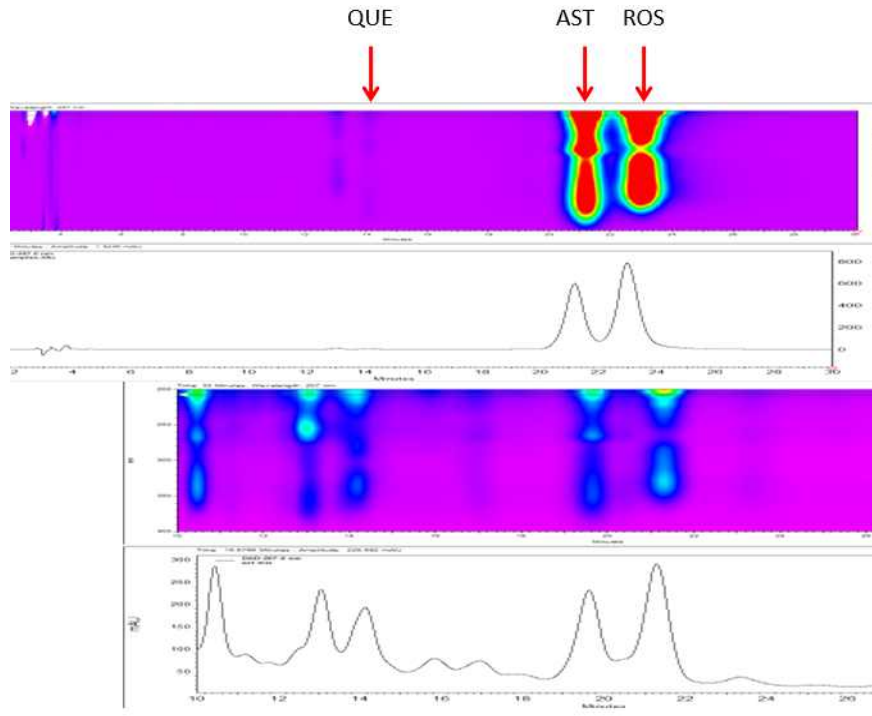
<Astragalin 표준품 분석>



<Rosmarinic acid 표준품 분석>



<표준품 동시 다분석>



<산구절초, 찔레, 자소엽 혼합물 Simultaneous analysis>

- 산구절초와 찔레, 자소엽 3종의 추출물 혼합물을 isocratic 분리법을 사용하여 동시 다분석한 결과, 검출된 peak의 검출시간을 지표성분 표준품의 standard peak 검출 시간과의 일치여부를 평가해보았음. 그 결과, 각 허브자원의 지표성분을 특정하여 분석할 수 있음을 확인하였음. 산구절초의 경우 지표성분으로 설정하였던 quercitrin의 함량이 낮아 자소엽과 찔레와의 동시 다분석 진행시 상대적으로 검출이 어려워 고농도의 추출물을 사용해야 하는 문제점이 있음. isocratic 분리법이 아닌 다른 gradient chromatography 분리법을 사용한 동시 다분석 진행시 산구절초의 다른 지표성분인 chlorogenic acid를 사용하여 검출하기로 함.

Simultaneous analysis (Integrated chromatogram, 200 to 400 nm)		
Compound	Retention time (min)	Max λ (nm)
Quercitrin	13.047	330
산구절초	14.253	
Astragalin	21.173	
찔레	21.020	
Rosmarinic acid	22.973	
자소엽	23.267	

○ 최종 조합물의 지표(유효) 성분 분석

- Gradient chromatography 분리법을 사용한 동시 다분석
- 산구절초와 찔레, 자소엽 3종의 지표성분인 chlorogenic acid, astragalin, rosmarinic acid의 표준품의 혼합물을 동시 다분석한 뒤, 같은 분석 방법으로 산구절초, 찔레, 자소엽의 추출물 혼합물을 동시 다분석 하여 검출 시간을 비교, 허브자원에 포함된 지표성분을 동시에 분리, 검출할 수 있는 조건을 알아보고자 하였음.

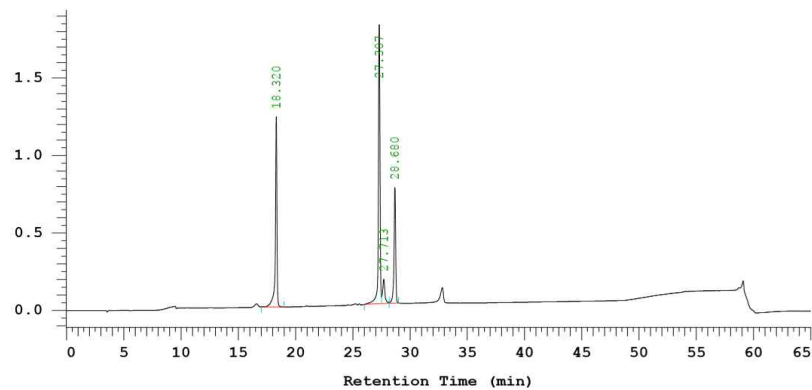
- Device information: Hitachi Chromaster, DAD detector.
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

<동시다분석 Mobile phase information>

Pump A	0.1% Formic acid + Distiled Water
Pump B	0.1% Formic acid + Acetonitrile
Flow rate	1 ml/min ⁻¹
Colum oven temperature	40 °C
Wavelenth	Integrated chromatogram 200 to 400 nm
Injection volume	30 µl

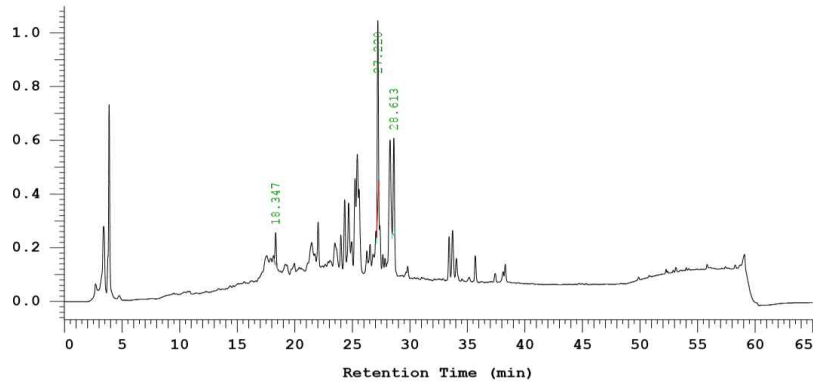
<동시 다분석 Gradient program>

Time (min)	Pump A (%)	Pump B (%)
1.5	100	0
45	50	50
50	5	95
55	5	95
55.1	100	0
65	100	0



No.	RT	Name	Area
1	18.320	Chlorogenic acid	5493290
2	27.307	Astragalin	8423918
4	28.680	Rosmarinic acid	3400031

<지표성분 표준품의 Simultaneous analysis>



No.	RT	Name	Area
1	18.347	Chlorogenic acid	380096
2	27.220	Astragalalin	1816721
3	28.613	Rosmarinic acid	1107798

<허브3종의 Simultaneous analysis>

- gradient chromatography 분리법을 사용한 동시 다분석 결과 산구절초, 찔레, 자소엽 추출물의 혼합물의 검출된 unknown peak의 검출시간과 지표성분 표준품의 standard peak 검출시간과의 일치여부를 평가함. 그 결과, 허브자원 3종의 지표성분을 특정하여 동시 분석할 수 있음을 확인함.

○ 최종 조합물의 지표(유효) 성분 분석

○ Gradient chromatography 분리법을 사용한 동시 다분석

- 산구절초, 와송, 자소엽, 찔레, 흰민들레 5종의 허브자원을 gradient chromatography 분리법을 사용하여 동시 다분석 하였음. 각 허브자원의 지표성분의 표준품의 혼합물을 동시 다분석한 뒤, 같은 분석 방법으로 허브자원 5종의 추출물의 혼합물을 동시 다분석하여 peak 검출시간의 일치도를 비교, 허브자원에 포함된 지표성분을 동시에 분리, 검출할 수 있는 조건을 알아보려고 하였음.

- Device information: Hitachi Chromaster, DAD detector.

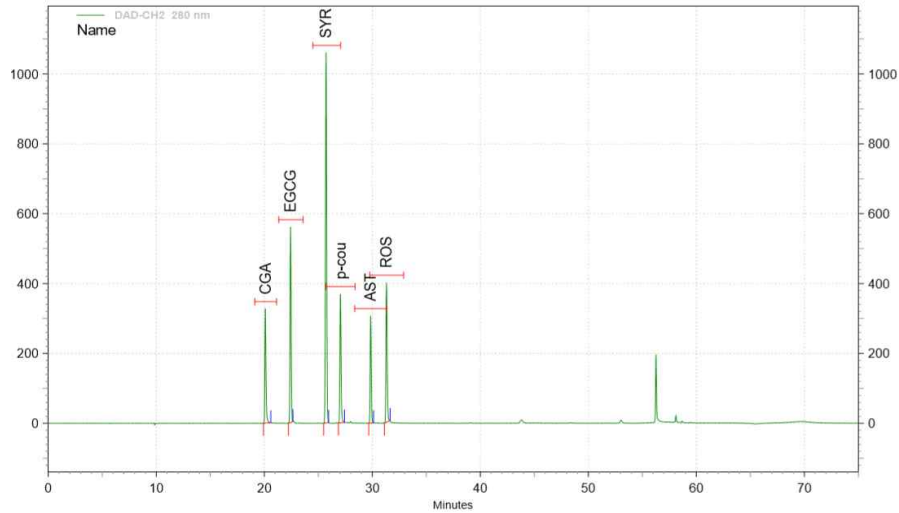
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

<동시다분석 Mobile phase information>

Pump A	0.1% Formic acid + DW
Pump B	0.1% Formic acid + MeCN
Flow rate	1 ml/min ⁻¹
Colum oven temperature	40 °C
Wavelength	Integrated chromatogram 200 to 400 nm
Injection volume	30 µl

<동시 다분석 Gradient program>

Time (min)	Pump A (%)	Pump B (%)
2	100	0
50	40	60
55	0	100
60	0	100
65	100	0
75	100	0

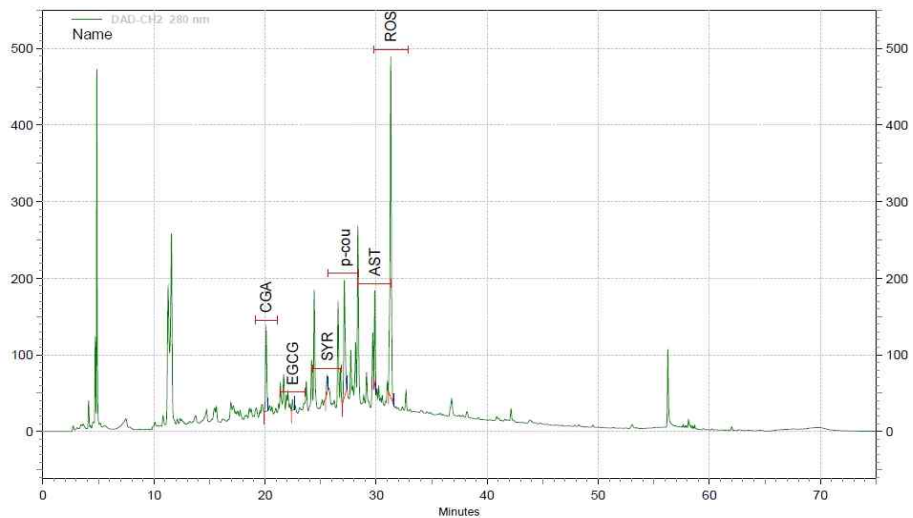


DAD-CH2 280 nm
Results

Peak Number	Name	Retention Time	Area	Height
1	CGA	20.100	9508806	1307566
2	EGCG	22.433	15786718	2238798
3	SYR	25.720	32854032	4240225
4	p-cou	27.047	10848213	1475502
5	AST	29.847	8279207	1226124
6	ROS	31.313	11968294	1600350

Totals			89245270	12088565
--------	--	--	----------	----------

<지표성분 표준품의 Simultaneous analysis>



DAD-CH2 280 nm Results				
Peak Number	Name	Retention Time	Area	Height
1	CGA	20.093	3286738	439461
2	EGCG	22.467	357595	55331
3	SYR	25.580	612475	91715
4	p-cou	27.133	5184920	610386
5	AST	29.873	2768274	490748
6	ROS	31.313	15207527	1780027
Totals			27417529	3467668

<허브5종의 Simultaneous analysis>

- 산구절초, 와송, 자소엽, 찔레, 흰민들레 추출물의 혼합물의 분석결과 검출된 peak의 검출시간을 각 허브자원의 지표성분 표준품의 standard peak의 검출시간과의 일치 여부를 평가한 결과, 허브자원 5종의 지표성분을 특정하여 동시 분석할 수 있음을 확인하였음.

○ 최종 조합물에 대한 method validation

○ Astragalin의 분석 Method validation

찔레와 와송의 지표성분인 Astragalin의 분석 방법에 대한 validation을 진행했음.

- 요약

Sample name	Compound	Retention time (min)	Contents (mg/g)	Accuracy (%)
찔레	Astragalin	24.31	20	115.89
와송			3.3	124.29

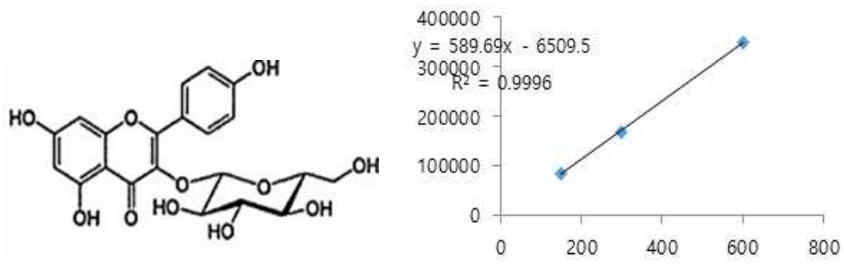
- Device information : GILSON 306 Pump, GILSON UV/Vis-151 Detector.
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

<Mobile phase information>

Pump A	0.1% Acetic acid + DW
Pump B	0.1% Acetic acid + MeCN
Flow rate	1.0 ml/min
Colum oven temperature	35°C
Wavelength	350 nm
Injection volume	10 µl

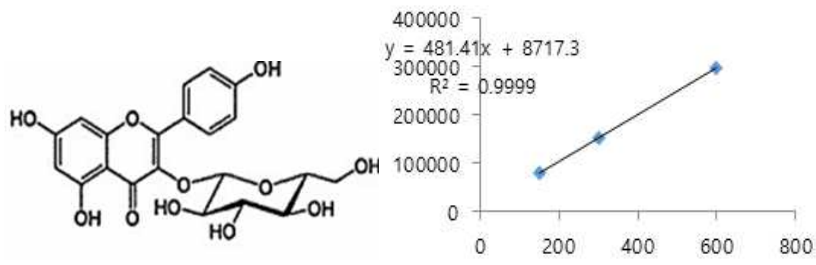
<Gradient program>

Time (min)	Pump A (%)	Pump B (%)
0-5	100	0
5-30	0	100
30-35	0	100
35-40	100	0
45	STOP	



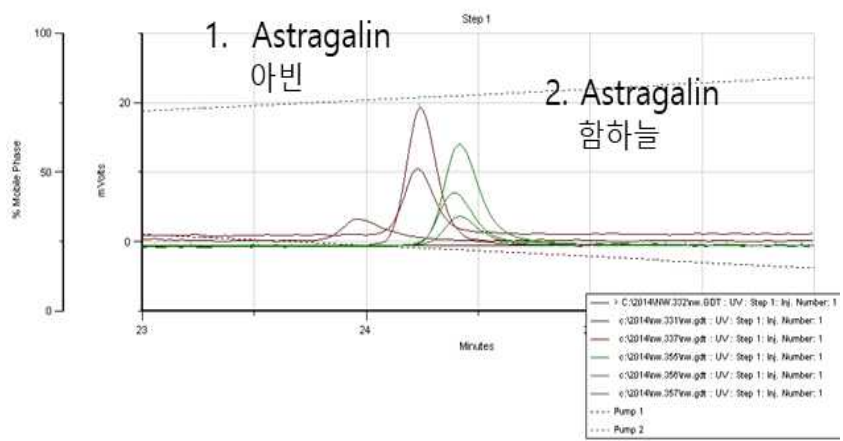
Compound	Equation	R ²	Analyst
Astragalin	Y=589.69x-6509.5	0.9996	아빈

<Astragalin 표준품에 대한 직선성 및 시험자간 analysis Method 정밀성 평가>

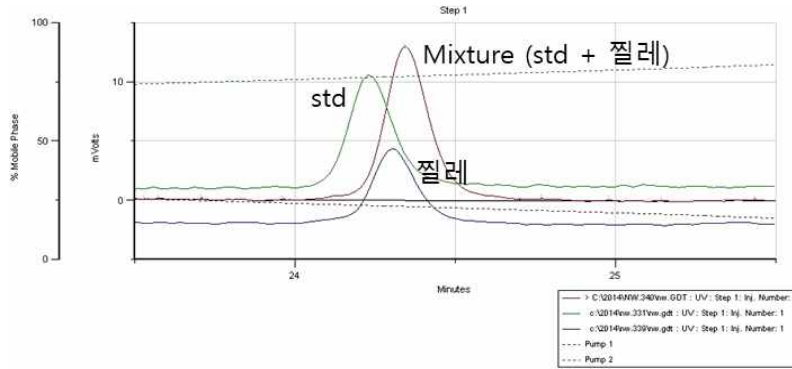


Compound	Equation	R ²	Analyst
Astragalin	Y=481.41x+8717.3	0.9999	하늘

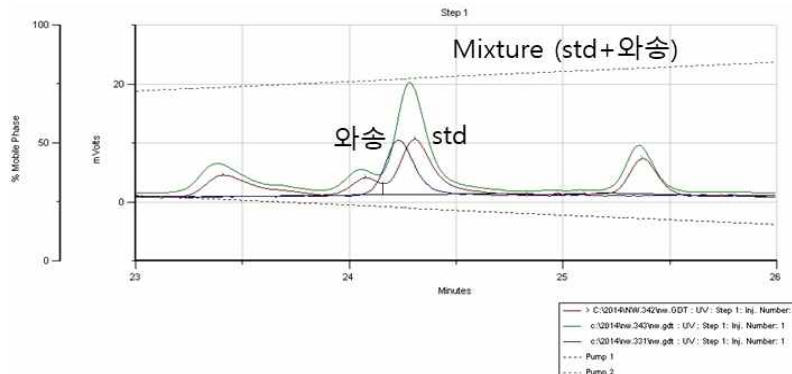
<Astragalin 표준품에 대한 직선성 및 시험자간 analysis Method 정밀성 평가>



<Astragalin 표준품의 시험자간 반복재현성 평가>



<placebo추출물과 Astragalin 표준품 분석결과 및 내부표준법을 통한 placebo의 회수를 평가>



<와송추출물과 Astragalin 표준품 분석결과 및 내부표준법을 통한 와송의 회수를 평가>

- Astragalin 에 대한 분석 Method validation을 실시한 결과, 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 재현성이 확인 되었으며, 세부적인 결과는 아래와 같음.

항목	평가방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 검출시간(Retention time), spectrum, peak purity 검토	<ul style="list-style-type: none"> 검출 시간 : 약 24~25분 spectrum: λ_{max} 약 350nm 표준용액과 시험용액이 일치 peak purity: 시험용액 중 Astragalin peak가 3points 일치, 단일물질로 확인됨.
직선성 (Linearity)	표준물질의 3개 농도에서 직선성 확인	<ul style="list-style-type: none"> 목적농도 150 ng/ml, 300 ng/ml, 600 ng/ml에서 직선성 확인 R^2 : 0.9999
정밀성 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 1종의 기기로 반복재현성, 일간, 기기간, 시험자간 정밀성 평가	<ul style="list-style-type: none"> placebo의 지표성분 함량 : 20 mg/g 와송의 지표성분 함량 : 3.3 mg/g
정확성 (Accuracy)	내부표준법을 실시하여 회수율 및 injection accuracy 확인	<ul style="list-style-type: none"> 검출된 표준물질농도: 150 ng/ml, 300 ng/ml, 600 ng/ml - placebo RSD(%) : 124.29% - 와송 RSD(%) : 115.89%
검출한계 (Detection limit)	$3.3 \cdot \delta / S$ (δ : y절편 표준편차, S: 기울기)	<ul style="list-style-type: none"> 검출한계: > 150 ng
정량한계 (Quantitation limit)	$10 \cdot \delta / S$	<ul style="list-style-type: none"> 정량한계 : 150 ng
범위 (Range)	직선성, 정확도, 정밀도 고려 후 설정	<ul style="list-style-type: none"> 시험용액 - placebo : >10μg/ml - 와송 : >100μg/ml

- 찔레, 와송 추출물 중 Astragalin 의 retention time과 peak 분리도 확인을 위하여 표준물질과 허브자원 추출물을 분석하여 검출된 peak를 확인하였음. 표준용액과 찔레, 와송의 추출물 시험용액에서 약 24분대에 peak가 검출되어 동일한 물질임을 확인하였음. 시험용액에서 주변 peak와의 분리가 완전히 이루어짐을 확인하여 특이성을 확인할 수 있었음. 표준물질을 농도별로 희석하여 분석한 결과로 직선성을 평가하여 Astragalin의 검출농도 약 600 ng/ml를 목적농도 100%로 설정하여 25.0~1000.0% 범위에서 3회 반복 분석하여 R²는 0.9999 이상으로 표준물질에 대한 직선성을 확인하였음. 검출한계 및 정량한계 값은 직선성 확인을 위해 얻은 측정값을 이용하여 liner regression equation을 계산하였으며, 이때 3회 반복하여 얻은 값을 각각 계산하여, LOD (Limit of Detection)는 3.3 x SD/S, LOQ (Limit of Quantification)는 10 x SD/S(SD는 Y절편의 표준편차, S는 기울기의 평균)로 값을 계산함. Astragalin은 150 ng의 검출한계를, 150 ng 의 정량한계를 나타냄. 함량 분석시 정밀성 시험을 위해 분석자 및 분석일자를 달리하여 분석을 진행하였으며, 결과는 시료를 6회 반복 전 처리한 후 실험하여 측정치를 비교하였고, 3일간 두명의 시험자가 분석을 실시하였음. 반복 정밀성을 확인하기 위해 한번 진행시 각각 6번의 분석을 진행하였음. 찔레, 와송의 추출물중 Astragalin의 정확성을 측정하기 위해 이미 농도를 알고 있는 표준용액을 넣어 (내부표준법) 회수율을 구함으로써 정확성을 확인함. 함량을 정량하기 위한 분석법의 정량 범위는 직선성과 정밀도, 정확성을 고려하여 설정하였음.

○ Rosmarinic acid의 분석 Method validation

자소엽의 지표성분인 Rosmarinic acid의 분석방법에 대한 validation을 진행하였음.

- 요약

Sample name	Compound	Retention time (min)	Contents(mg/g)	Accuracy (%)
자소엽	Rosmarinic acid	26.72	0.4774	90~101.096

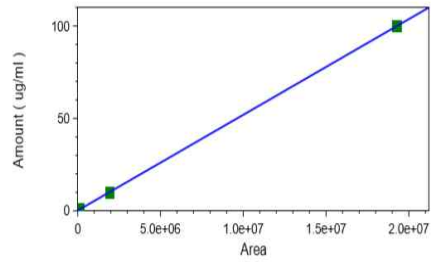
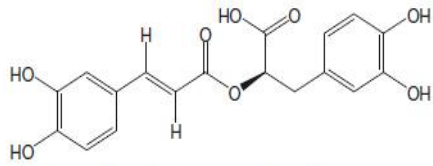
- Device information : Hitachi chromaster, DAD detector.
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

<Mobile phase information>

Pump A	0.1% Formic acid + DW
Pump B	0.1% Formic acid + MeCN
Flow rate	1 ml/min ⁻¹
Colum oven temperature	40 °C
Wavelenth	Integrated chromatogram 200 to 400 nm
Injection volume	20 µl

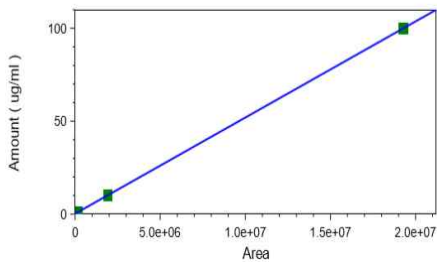
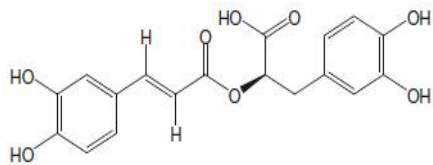
<Gradient program>

Time (min)	Pump A (%)	Pump B (%)
1.5	100	0
45	50	50
50	5	95
55	5	95
55.1	100	0
65	100	0



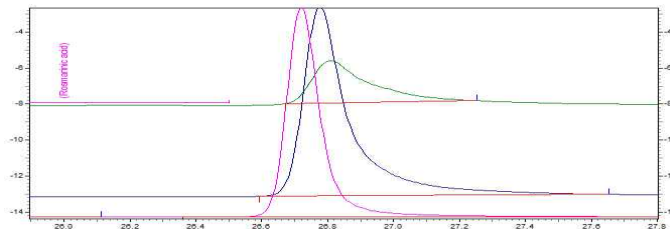
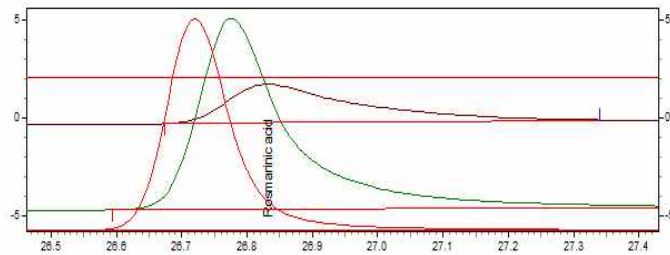
Compound	Equation	R ²	Analyst
Rosmarinic acid	Y=9998.9x-54839	1	하늘

<Rosmarinic acid 표준품에 대한 직선성 및 시험자간 Analysis method 정밀성 평가>



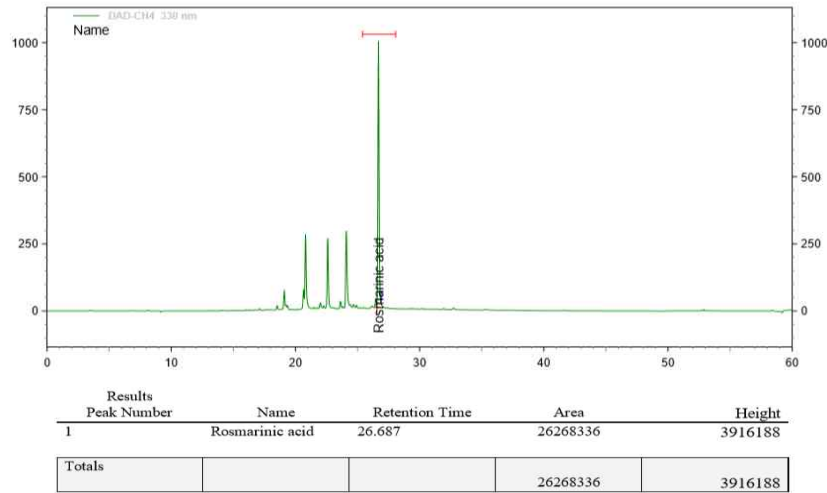
Compound	Equation	R ²	Analyst
Rosmarinic acid	Y=9662.4x-39072	1	아빈

<Rosmarinic acid 표준품에 대한 직선성 및 시험자간 Analysis method 정밀성 평가>



Peak Number	Name	Retention Time	Area	Height
1	Rosmarinic acid	26.720	19762347	2681134
Totals			19762347	2681134

<Rosmarinic acid 표준품에 대한 시험자간 반복 재현성 평가>



<내부표준법을 통한 자소엽 추출물의 분석결과>

- Rosmarinic acid 에 대한 분석 Method validation을 실시한 결과, 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 재현성이 확인 되었으며, 세부적인 결과는 아래와 같음.

항목	평가방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 검출시간(Retention time), spectrum, peak purity 검토	<ul style="list-style-type: none"> Retention time : 26.72 min Spectrum (λ max) : 330nm Peak purity : 3point 일치 확인, 단일물질로 확인
직선성 (Linearity)	표준물질의 3개 농도에서 직선성 확인	<ul style="list-style-type: none"> 목적농도 20~2000ng에서 직선성 확인 R^2: 1.000
정밀성 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 1종의 기기로 반복재현성, 일간, 기기간, 시험자간 정밀성 평가	<ul style="list-style-type: none"> 자소엽의 함량 : 0.4774~0.4777 mg/g RSD (%) : 0.031 %
정확성 (Accuracy)	내부표준법을 실시하여 회수율 및 injection accuracy 확인	<ul style="list-style-type: none"> 검출된 표준물질농도: 18~1999.79 ng ROS : 90.0299~101.0965 %
검출한계 (Detection limit)	$3.3 \cdot \delta / S$ (δ : y절편 표준편차, S: 기울기)	<ul style="list-style-type: none"> LOD : 9.81 ng
정량한계 (Quantitation limit)	$10 \cdot \delta / S$	<ul style="list-style-type: none"> LOQ : 29.71 ng
범위 (Range)	직선성, 정확도, 정밀도 고려 후 설정	<ul style="list-style-type: none"> Analysis range : 20~2,000 ng

- 자소엽 추출물 중 Rosmarinic acid의 retention time과 peak 분리도 확인을 위하여 표준물질과 허브자원 추출물을 분석하여 검출된 peak를 확인하였음. 표준용액과 자소엽 추출물 시험용액에서 약 26.7분대에 peak가 검출되어 동일한 물질임을 확인하였음. 시험용액에서 주변 peak와의 분리가 완전히 이루어짐을 확인하여 특이성을 확인할 수 있었음. 표준물질을 농도별로 희석하여 분석한 결과로 직선성을 평가하여 rosmarinic acid의 검출농도 약 2,000 ng/ml를 목적농도 100%로 설정하여 25.0~1000.0% 범위에서 3회 반복 분석하여 R^2 는 1로 표준물질에 대한 직선성을 확인하였음. 검출한계 및 정량한계 값은 직선성 확인을 위해 얻은 측정값을 이용하여 liner regression equation을 계산하였으며, 이때 3회 반복하여 얻은 값을 각각 계산하여, LOD(Limit of Detection)는 $3.3 \times SD/S$, LOQ (Limit of Quantification)는 $10 \times SD/S$ (SD는 Y절편의 표준편차, S는 기울기의 평균)로 값을 계산함. rosmarinic acid는 9.81 ng의 검출한계를, 29.71 ng 의 정량한계를 나타냄. 함량 분석시 정밀성 시험을 위해 분석자 및 분석일자를 달리하여 분석을 진행하였으며, 결과는 시료를 6회 반복 전 처리한 후 실험하여 측정치를 비교하였고, 3일간 두명의 시험자

가 분석을 실시하였음. 반복 정밀성을 확인하기 위해 한번 진행시 각각 6번의 분석을 진행하였음. 자소엽의 추출물중 rosmarinic acid의 정확성을 측정하기 위해 이미 농도를 알고 있는 표준용액을 넣어 (내부표준법) 회수율을 구함으로써 정확성을 확인함. 함량을 정량하기 위한 분석법의 정량 범위는 직선성과 정밀도, 정확성을 고려하여 설정하였음.

○ Chlorogenic acid의 분석 Method validation

산구절초의 지표성분인 Chlorogenic acid의 분석방법에 대한 validation을 진행하였음.

- 요약

Sample name	Compound	Retention time (min)	Contents(mg/g)	Accuracy (%)
산구절초	Chlorogenic acid	23.833	1.0134~1.0354	58.09~104.61

- Device information : Hitachi chromaster, DAD detector.

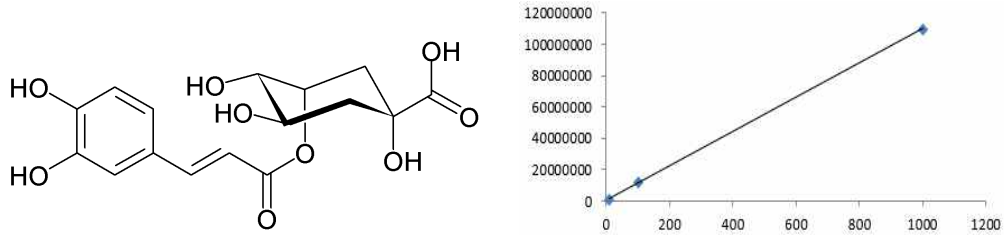
- Column : YMC-Pack ODS-AM, C18 250 x 4.6 mm I.D.

<Mobile phase information>

Pump A	0.1% Formic acid + DW
Pump B	0.1% Formic acid + MeCN
Flow rate	1 ml/min ⁻¹
Colum oven temperature	40 °C
Wavelength	Integrated chromatogram 200 to 400 nm
Injection volume	10 µl

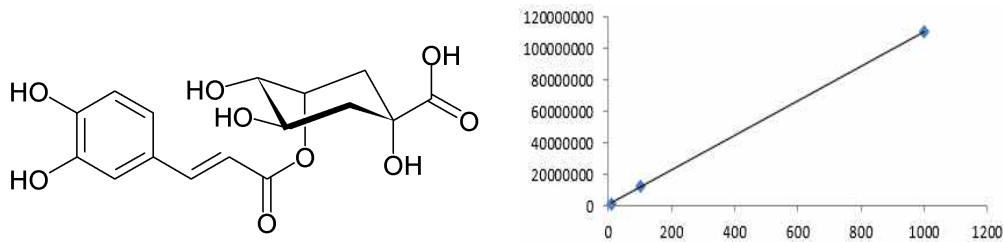
<Gradient program>

Time (min)	Pump A (%)	Pump B (%)
0-5	100	0
5-10	91	9
10-20	91	9
20-27	89	11
27-35	50	50
35-40	0	100
40-45	0	100
45-50	100	0
50-55	100	0



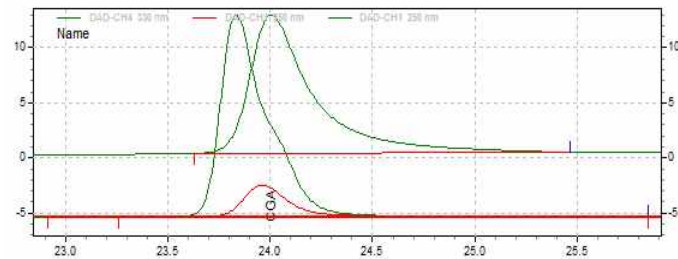
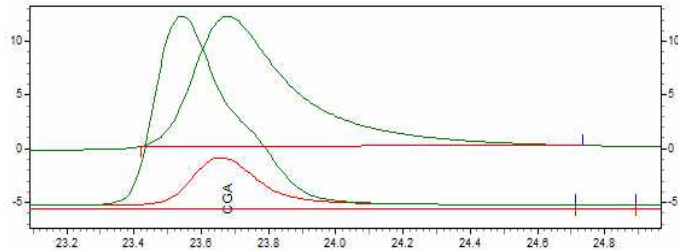
Compound	Equation	R ²	Analyst
Chlorogenic acid	Y=109316x+372048	0.9999	하늘

<Chlorogenic acid 표준품에 대한 직선성 및 시험자간 Analysis method 정밀성 평가>



Compound	Equation	R ²	Analyst
Chlorogenic acid	Y=110318x+510566	0.9999	아빈

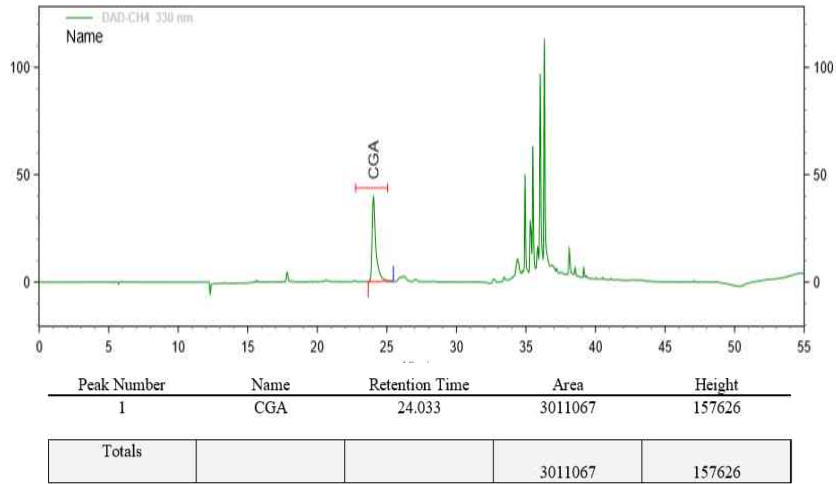
<Chlorogenic acid 표준품에 대한 직선성 및 시험자간 Analysis method 정밀성 평가>



Peak Number	Name	Retention Time	Area	Area %	Height
1	CGA	23.833	110088226	100.00	6381815

Totals			110088226	100.00	6381815
--------	--	--	-----------	--------	---------

<Chlorogenic acid 표준품의 시험자간 반복 재현성 평가>



<내부표준법을 통한 산구절초 추출물의 회수율 평가>

- Chlorogenic acid 에 대한 분석 Method validation을 실시한 결과, 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 재현성이 확인 되었으며, 세부적인 결과는 아래와 같음.

항목	평가방법	설정값
특이성 (Specificity)	HPLC 분석시 검출시간(Retention time), spectrum, peak purity 검토	<ul style="list-style-type: none"> Retention time : 23.833 min Spectrum (λ max) : 330nm Peak purity : 3point 일치 확인, 단일물질로 확인
직선성 (Linearity)	표준물질의 3개 농도에서 직선성 확인	<ul style="list-style-type: none"> 목적농도 10~1000ng에서 직선성 확인 R^2:0.9999
정밀성 (Precision)	3일간 2명의 시험자가 1종의 기기로 반복재현성, 일간, 기기간, 시험자간 정밀성 평가	<ul style="list-style-type: none"> 산구절초의 함량 : 1.0134~1.0354 mg/g RSD (%) : 1.07%
정확성 (Accuracy)	내부표준법을 실시하여 회수율 및 injection accuracy 확인	<ul style="list-style-type: none"> 검출된 표준물질농도:5.8~ 999.58 ng ROS : 58.09~104.61 %
검출한계 (Detection limit)	$3.3 \cdot \delta / S$ (δ :y절편 표준편차, S:기울기)	<ul style="list-style-type: none"> LOD : 20.6 ng
정량한계 (Quantitation limit)	$10 \cdot \delta / S$	<ul style="list-style-type: none"> LOQ : 62.44 ng
범위 (Range)	직선성, 정확도, 정밀도 고려 후 설정	<ul style="list-style-type: none"> Analysis range : 10~1000ng

- 산구절초 추출물 중 chlorogenic acid의 retention time과 peak 분리도 확인을 위하여 표준물질과 허브자원 추출물을 분석하여 검출된 peak를 확인하였음. 표준용액과 자소엽 추출물 시험용액에서 약 23.8분대에 peak가 검출되어 동일한 물질임을 확인하였음. 시험용액에서 주변 peak와의 분리가 완전히 이루어짐을 확인하여 특이성을 확인할 수 있었음. 표준물질을 농도별로 희석하여 분석한 결과로 직선성을 평가하여 chlorogenic acid의 검출농도 약 1,000 ng/ml를 목적농도 100%로 설정하여 25.0~1,000.0% 범위에서 3회 반복 분석하여 R^2 는 약 0.9999 이상으로 표준물질에 대한 직선성을 확인하였음. 검출한계 및 정량한계 값은 직선성 확인을 위해 얻은 측정값을 이용하여 liner regression equation을 계산하였으며, 이때 3회 반복하여 얻은 값을 각각 계산하여, LOD(Limit of Detection)는 $3.3 \times SD/S$, LOQ(Limit of Quantification)는 $10 \times SD/S$ (SD는 Y절편의 표준편차, S는 기울기의 평균)로 값을 계산함. chlorogenic acid는 20.6 ng의 검출한계를, 62.44 ng 의 정량한계를 나타냄. 함량 분석시 정밀성 시험을 위해 분석자 및 분석일자를 달리하여 분석을 진행하였으며, 결과는 시료를 6회 반복 전 처리한 후 실험하여 측정치를 비교하였고, 3일간 두명의 시험자가 분석을 실시하였음. 반복 정밀성을 확인하기 위해 한번 진행시 각각 6번

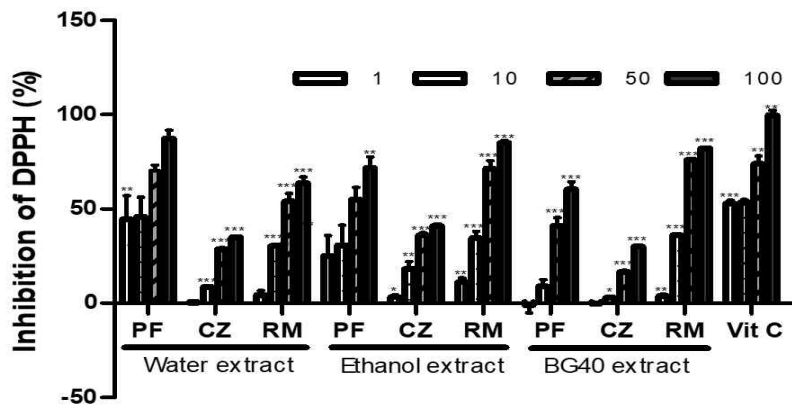
의 분석을 진행하였음. 산구절초의 추출물중 chlorogenic acid의 정확성을 측정하기 위해 이미 농도를 알고 있는 표준용액을 넣어 (내부표준법) 회수율을 구함으로써 정확성을 확인함. 함량을 정량하기 위한 분석법의 정량 범위는 직선성과 정밀도, 정확성을 고려하여 설정하였음.

2) 기능성(항산화) 평가

○ 기능성(항산화) 평가

○ DPPH radical scavenging activity

- 동시 다분석을 진행한 산구절초, 자소엽, 찔레의 추출 용매별 생리활성의 변화를 보고자 각 소재의 열수 추출물, 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 비교하여 평가하였음. Vitamin C는 양성대조군으로 사용하였음.



Sample name	Water extract	Ethanol extract	BG40 extract
산구절초	132.95	113.59	162.76
자소엽	13.66	49.32	76.95
찔레	62.61	39.42	40.77

(PF:자소엽, CZ:구절초, RM: 찔레)

<산구절초, 자소엽, 찔레 3종의 추출용매별 DPPH 소거능>

- 자소엽은 열수 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 농도 의존성을 보이며 증가하였으며, 에탄올 추출물, BG40 추출물 보다 활성이 뛰어났음. 찔레는 BG40추출물과 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 비슷한 수준이며 농도 의존적으로 증가하였고, 열수 추출물 보다 항산화능이 좋았음. 구절초는 DPPH 라디칼 소거능을 보이지 않았음. 결과적으로 자소엽은 열수 추출을 하는 경우가 항산화능 면에서 기능적으로 우수하고, 찔레의 경우는 BG40 추출을 하는 경우가 에탄올 추출하는 경우와 그 기능이 같은 수준임을 확인했음. 이는 찔레를 화장품 소재의 추출에 많이 쓰이는 BG40 추출법을 사용하여 추출한 뒤 화장품 소재로 활용하기에 용이함을 의미함.

라. (주)더가든오브내추럴솔루션(제3협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2018)	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	안전성, 안정성 평가	○ 인체 피부 자극성 평가	- 찔레, 자소엽, 레몬그라스, 산구절초, 감국 추출물의 인체 피부 자극성을 평가 - 무자극 판정
			○ 물리적 요인에 따른 지표물질 안정성 평가	- 7종 생산품 내의 지표물질 안정성 확인
		제조공정 표준화 및 기준규격 확립(plant scale)	○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화	- 제조공정 최적화 7종
			○ 지표 함량 기준 품질관리 확립	- 품질관리 강화 : 잔류농약 검사, 알러지 유발물질 검사
국내외 전시회 및 네트워킹	○ 국내외 전시회 참가	- In-cosmeticsKorea 2018 - In-cosmetics Asia 2018		

1) 안전성, 안정성 평가

○ 인체 피부 자극성 평가

○ 화장품에 의한 자극 유발이 소비자들에 의해 각인되고 큰 이슈가 되면서, 보다 안전한 천연화장품 개발이 필요하게 되었음. 따라서, 본 과제의 결과물인 천연화장품원료부터 인체 피부 자극성에 대한 정확한 평가가 필요함.

○ 국내 임상기관들 중 화장품에 대한 평가력으로 호평을 받는 (주)엘리드에 의뢰하여, 안정성 평가 인체적용 시험을 실시하였음.

- 본 실험은 24시간 폐쇄접포 시험으로서, 성인 남녀 33명을 선정(탈락예수 10% 이내 고려)하여, 대상자의 등 부위에 시료를 적용하고 24시간 후 제거하였음.

- 첩포 제거 30분, 24시간, 48시간 경과 후 시험부위를 관찰하여 5-point scale (홍반 및 가피, 부종)을 기준으로 피부 반응을 관찰하였음.

- 식품의약품안전처 고시 제2017-42호 기능성화장품 심사에 관한 규정, PCPC Safety Evaluation Guidelines 및 Draize Dermal Irritation Scoring System과 EPA Standard Evaluation Procedure Dermal Classification System의 기준에 준하여 평가하였음.

- 평가 대상은 남원찔레추출물, 남원자소엽추출물, 남원산구절초추출물, 남원감국추출물, 남원레몬그라스추출물 등 5종이며, 선정한 이유는 중국수출이 가능하여 현재 시장에서 즉각적인 반향을 불러올 수 있는 원료들이기 때문임.

○ 실험 결과

- 5종의 추출물 모두 위에 기술한 여러 기준에 부합하는 무자극 제품 판정을 받았음. 즉, 모든 제품이 화장품에 적용했을 때 인체 피부의 자극을 유도할 가능성이 보이지 않았음. 또한, 시험기간 내 예상 또는 수반될 수 있는 피부 반응 이외의 특별한 이상반응도 없었음.

[레몬그라스]

연구결과 요약서	
연구제목	Shimadzu(당)원료제조공정품질의 지속성으로 인한 안정성 평가 인체적용 시험에 관한 연구
보고번호	EL-1807264131845-01
의뢰기관	주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 장기포도 보급기 사업개발부팀 (12-24(7)당량)
발주기관	이비엔피오
발주기간	장기포도 보급기 운영부 황재승팀 325.7톤 및 80톤 2018년 09월 13일 ~ 2018년 09월 19일
시험명 (시험 관측번호)	시험명: 41: Shimadzu(당)원료제조공정품질 (04-1807264131845-01)
연구방법	24시간 계속투입 시험 1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 1시간 시료를 추출하여 24시간 후 측정 3. 이물질의 함량: 일부 시료 300g, 24시간, 48시간 경과 후 5point scale (혼합 및 가시, 투광을 기준으로 2차 분류를 진행) 4. 이물질량 및 평가: 이물질(당량여유 10% 이상) 2017-42로 기능성시험을 실시하여 관련 규정, PCPC Safety Evaluation Guidelines 및 DDMs Demol Intention Sorting System/의 EPA Standard Evaluation Procedure Demol Classification System/의 기준에 준하여 평가 5. 조류 미생량 측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 2. 시험결과 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
연구결과	1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 3. 이물질량 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
보고서 발행일	2018년 09월 19일
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민

[감국]

연구결과 요약서	
연구제목	Shimadzu(당)원료제조공정품질의 지속성으로 인한 안정성 평가 인체적용 시험에 관한 연구
보고번호	EL-1807264131845-01
의뢰기관	주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 장기포도 보급기 사업개발부팀 (12-24(7)당량)
발주기관	이비엔피오
발주기간	장기포도 보급기 운영부 황재승팀 325.7톤 및 80톤 2018년 09월 13일 ~ 2018년 09월 19일
시험명 (시험 관측번호)	시험명: 41: Shimadzu(당)원료제조공정품질 (04-1807264131845-01)
연구방법	24시간 계속투입 시험 1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 1시간 시료를 추출하여 24시간 후 측정 3. 이물질의 함량: 일부 시료 300g, 24시간, 48시간 경과 후 5point scale (혼합 및 가시, 투광을 기준으로 2차 분류를 진행) 4. 이물질량 및 평가: 이물질(당량여유 10% 이상) 2017-42로 기능성시험을 실시하여 관련 규정, PCPC Safety Evaluation Guidelines 및 DDMs Demol Intention Sorting System/의 EPA Standard Evaluation Procedure Demol Classification System/의 기준에 준하여 평가 5. 조류 미생량 측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 2. 시험결과 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
연구결과	1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 3. 이물질량 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
보고서 발행일	2018년 09월 19일
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민

[산구절초]

연구결과 요약서	
연구제목	Shimadzu(당)원료제조공정품질의 지속성으로 인한 안정성 평가 인체적용 시험에 관한 연구
보고번호	EL-1807264131845-01
의뢰기관	주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 장기포도 보급기 사업개발부팀 (12-24(7)당량)
발주기관	이비엔피오
발주기간	장기포도 보급기 운영부 황재승팀 325.7톤 및 80톤 2018년 09월 13일 ~ 2018년 09월 19일
시험명 (시험 관측번호)	시험명: 41: Shimadzu(당)원료제조공정품질 (04-1807264131845-01)
연구방법	24시간 계속투입 시험 1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 1시간 시료를 추출하여 24시간 후 측정 3. 이물질의 함량: 일부 시료 300g, 24시간, 48시간 경과 후 5point scale (혼합 및 가시, 투광을 기준으로 2차 분류를 진행) 4. 이물질량 및 평가: 이물질(당량여유 10% 이상) 2017-42로 기능성시험을 실시하여 관련 규정, PCPC Safety Evaluation Guidelines 및 DDMs Demol Intention Sorting System/의 EPA Standard Evaluation Procedure Demol Classification System/의 기준에 준하여 평가 5. 조류 미생량 측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 2. 시험결과 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
연구결과	1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 3. 이물질량 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
보고서 발행일	2018년 09월 19일
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민

[자소엽]

연구결과 요약서	
연구제목	Shimadzu(당)원료제조공정품질의 지속성으로 인한 안정성 평가 인체적용 시험에 관한 연구
보고번호	EL-1807264131845-01
의뢰기관	주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 장기포도 보급기 사업개발부팀 (12-24(7)당량)
발주기관	이비엔피오
발주기간	장기포도 보급기 운영부 황재승팀 325.7톤 및 80톤 2018년 09월 13일 ~ 2018년 09월 19일
시험명 (시험 관측번호)	시험명: 41: Shimadzu(당)원료제조공정품질 (04-1807264131845-01)
연구방법	24시간 계속투입 시험 1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 1시간 시료를 추출하여 24시간 후 측정 3. 이물질의 함량: 일부 시료 300g, 24시간, 48시간 경과 후 5point scale (혼합 및 가시, 투광을 기준으로 2차 분류를 진행) 4. 이물질량 및 평가: 이물질(당량여유 10% 이상) 2017-42로 기능성시험을 실시하여 관련 규정, PCPC Safety Evaluation Guidelines 및 DDMs Demol Intention Sorting System/의 EPA Standard Evaluation Procedure Demol Classification System/의 기준에 준하여 평가 5. 조류 미생량 측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 2. 시험결과 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
연구결과	1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 3. 이물질량 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
보고서 발행일	2018년 09월 19일
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민

[찜질레]

연구결과 요약서	
연구제목	Shimadzu(당)원료제조공정품질의 지속성으로 인한 안정성 평가 인체적용 시험에 관한 연구
보고번호	EL-1807264131845-01
의뢰기관	주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 장기포도 보급기 사업개발부팀 (12-24(7)당량)
발주기관	이비엔피오
발주기간	장기포도 보급기 운영부 황재승팀 325.7톤 및 80톤 2018년 09월 13일 ~ 2018년 09월 19일
시험명 (시험 관측번호)	시험명: 41: Shimadzu(당)원료제조공정품질 (04-1807264131845-01)
연구방법	24시간 계속투입 시험 1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 1시간 시료를 추출하여 24시간 후 측정 3. 이물질의 함량: 일부 시료 300g, 24시간, 48시간 경과 후 5point scale (혼합 및 가시, 투광을 기준으로 2차 분류를 진행) 4. 이물질량 및 평가: 이물질(당량여유 10% 이상) 2017-42로 기능성시험을 실시하여 관련 규정, PCPC Safety Evaluation Guidelines 및 DDMs Demol Intention Sorting System/의 EPA Standard Evaluation Procedure Demol Classification System/의 기준에 준하여 평가 5. 조류 미생량 측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 2. 시험결과 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
연구결과	1. 일부 시료는 장입 용량 33톤을 투입(당량여유 10% 이상 고려) 2. 밀도측정: 일부 시료는 장입 후 12시간 시료 채취, 평균 46.53±6.72% 3. 이물질량 주식회사 자카르타프루마세유통주식회사 지점인 Shimadzu(당)원료제조공정(시험명: 41)은 조류 미생량에 우려는 것으로 판단됩니다. 또한 본 시험은 평가 기간 동안 평가 결과에서 예상되는 수질량 수치는 조류 미생량 이외의 특별한 이상현상을 나타내지 않습니다.
보고서 발행일	2018년 09월 19일
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
검토 담당	박승우 / 김민서 / 박영민
연구 책임자	박승우 / 김민서 / 박영민

<인체적용 시험 보고서>

○ 물리적 요인에 따른 지표물질 안정성 평가

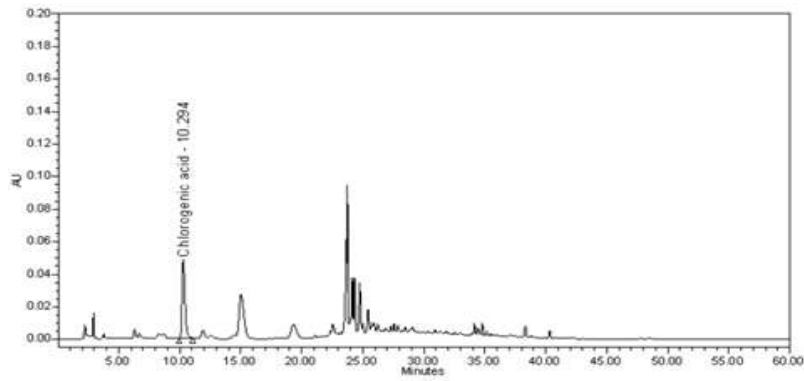
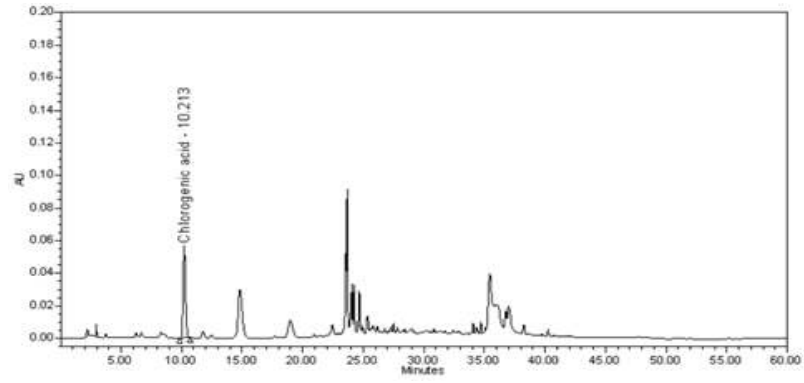
다음에 기술할, 최적화한 제조 공정으로 7종의 시제품을 제작하고, 이들에 대한 지표물질 안정성을 평가 하였음.

○ 시제품 항목

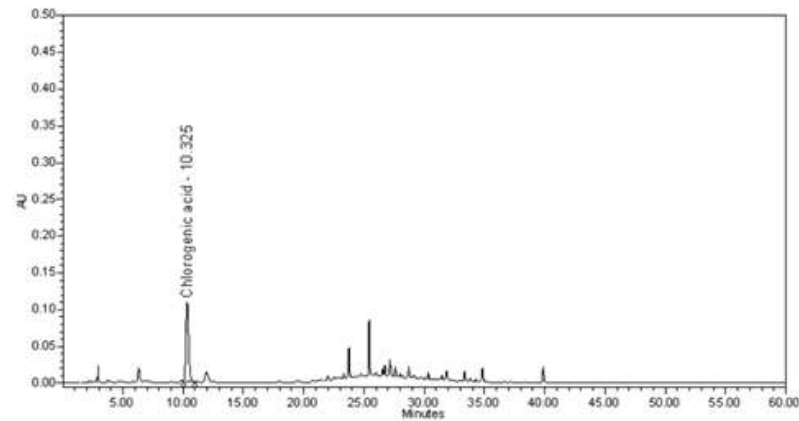
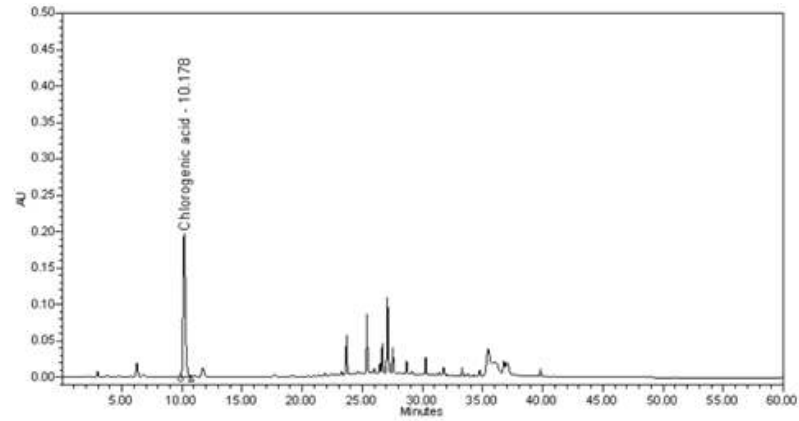
- 레몬그라스, 감국, 산구절초, 와송, 자소엽, 찜질레, 흰민들레추출물

○ 보관 및 평가 방법

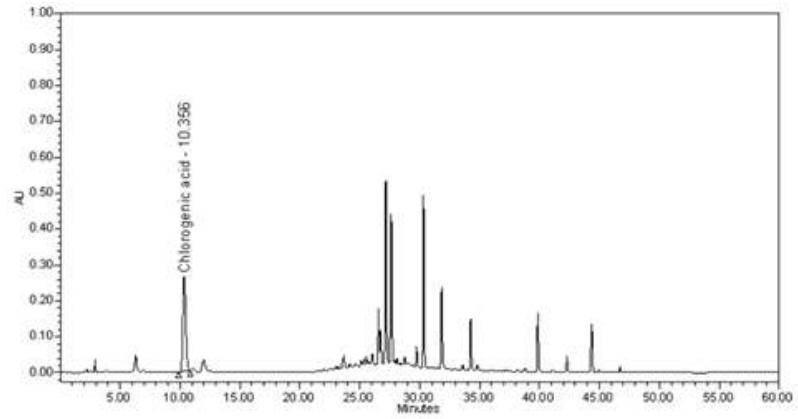
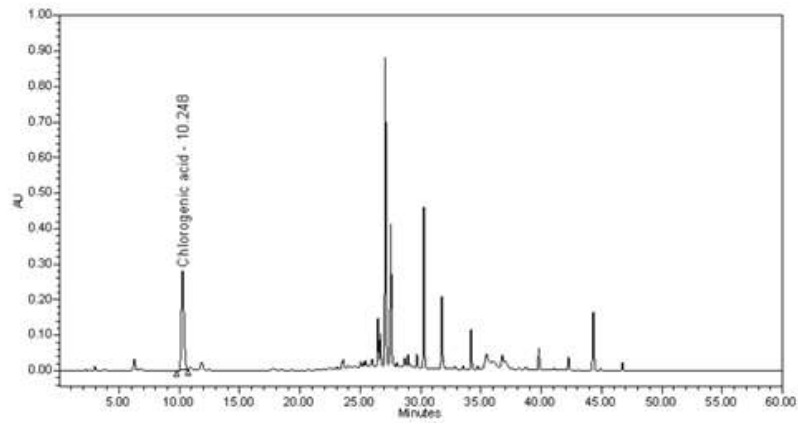
- 각 시생산품은 불투명 용기에 담아, 일반적인 창고 조건에서 보관하였음. 시생산 시점과 3개월 경과한 후 HPLC profile 및 지표물질 정량을 통해 안정성을 평가하였음.



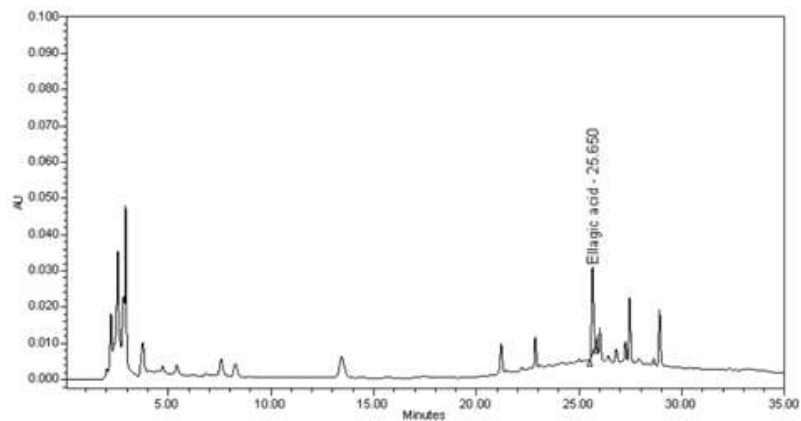
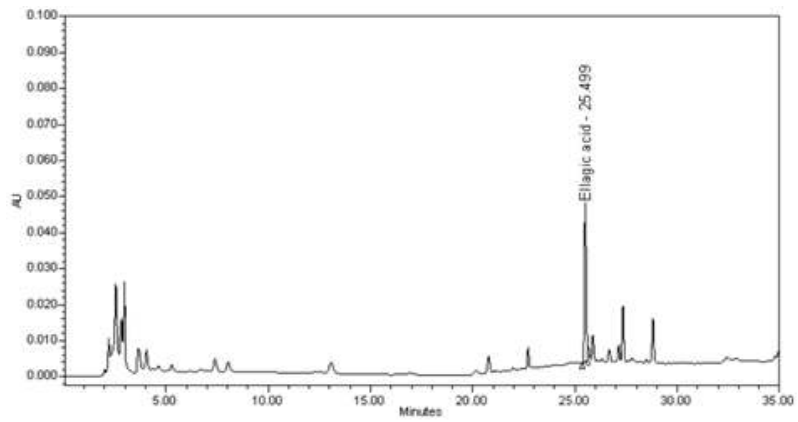
<남원레몬그라스추출물의 지표물질 변화 확인>



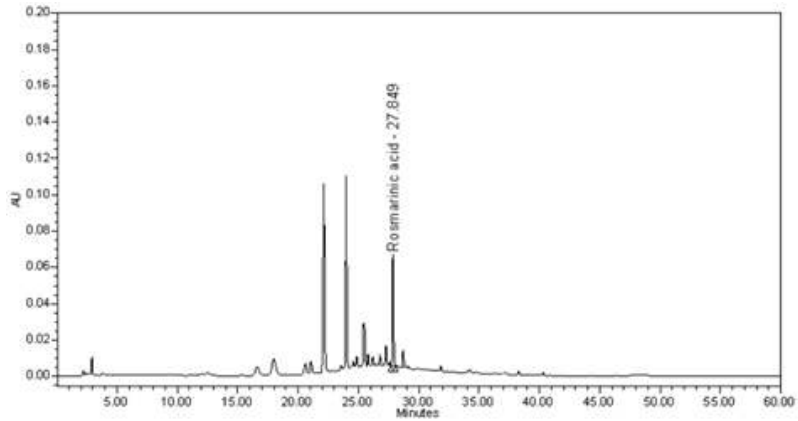
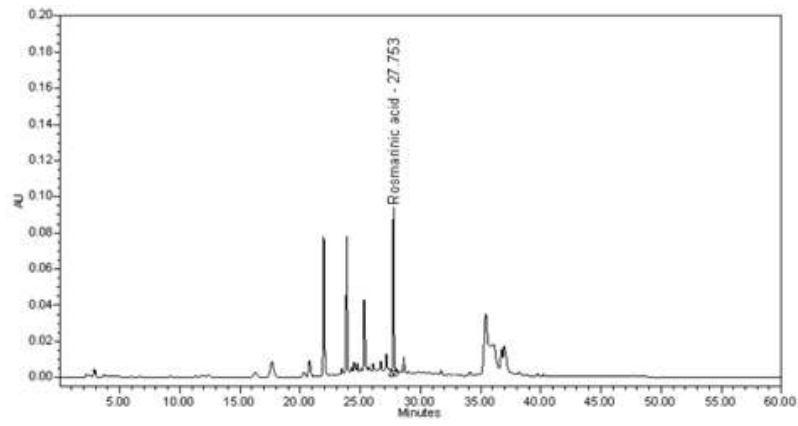
<남원감국추출물의 지표물질 변화 확인>



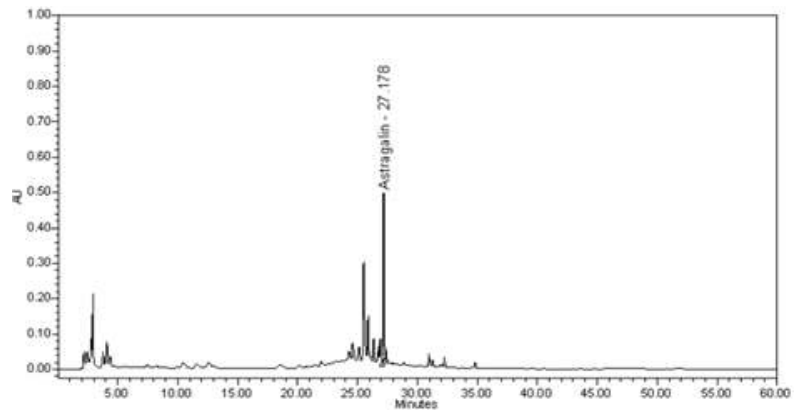
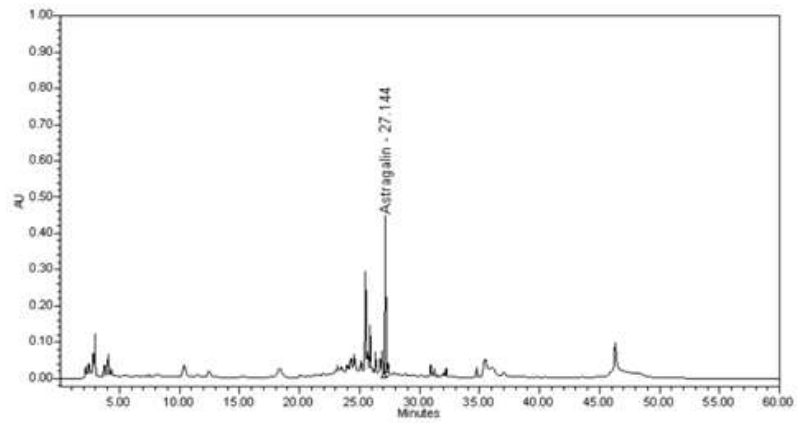
<남원산구절초추출물의 지표물질 변화 확인>



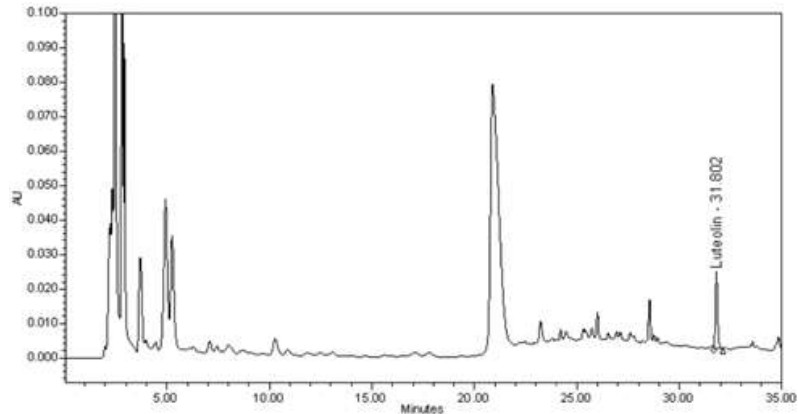
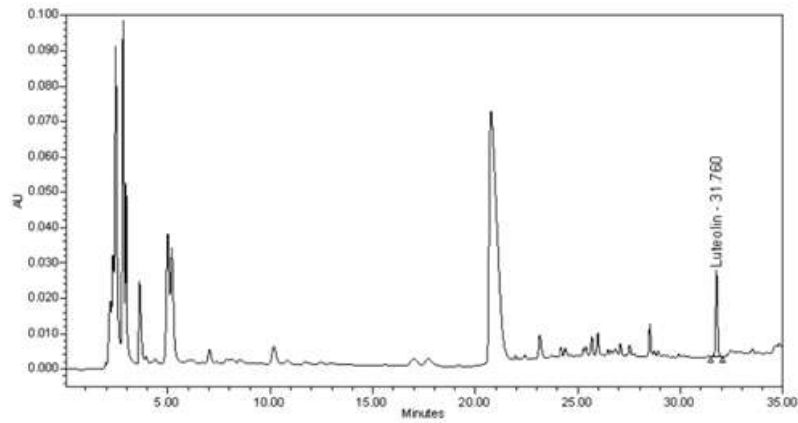
<남원와송추출물의 지표물질 변화 확인>



<남원자소엽추출물의 지표물질 변화 확인>



<남원절레추출물의 지표물질 변화 확인>



<남원흰민들레추출물의 지표물질 변화 확인>

- 지표물질 외 약간의 변화가 보이나, 추출물의 품질을 변화시킬 정도의 변화는 관찰되지 않았음. 따라서, 제품의 안정성을 높이 평가할 수 있었음.
- HPLC profile로부터 정량한 각 지표물질의 함량 변화는 다음과 같음.

<각 추출물의 지표물질 변화>

추출물	지표성분	3개월 후 잔량(%)
남원레몬그라스추출물	chlorogenic acid	99.0
남원감국추출물	chlorogenic acid	63.8
남원산구절초추출물	chlorogenic acid	109.4
남원와송추출물	ellagic acid	60.4
남원자소엽추출물	rosmarinic acid	73.9
남원찔레추출물	astragalín	116.5
남원흰민들레추출물	luteolin	100.5

- 이들 중 남원산구절초추출물과 남원찔레추출물의 지표물질은 각각 chlorogenic acid 150 ppm, astragalín 100 ppm 정도로, 제품의 규격에 포함하여 경쟁력을 높일 수 있음. 천연화장품 원료에 대한 수요가 증가하면서, 좀더 표준화되고 안정성이 확인된 원료를 선호하고 있으며, 두 제품은 그러한 시장의 변화에 맞춰 강점을 보일 수 있음.

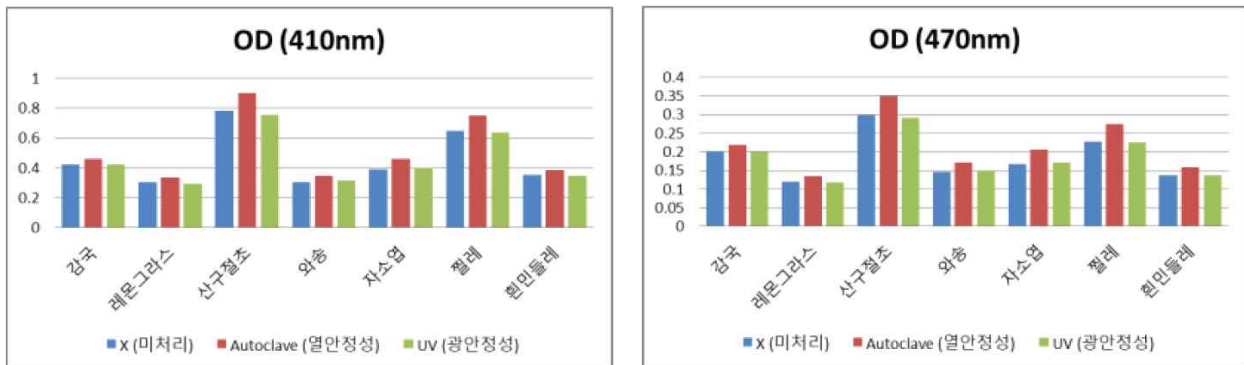
2) 제조공정 표준화 및 기준규격확립(plant sclae)

○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화

○ 가혹시험(짧은 기간 동안 특정 물리적 변화 처리)

화장품 원료의 보관 조건에서 가장 큰 물리적 환경요인으로 온도와 빛을 들 수 있으며, 그중 강한 열과 강한 자외선에 의해 원료의 품질이 영향을 받을 수 있음. 이러한 변화를 가혹 조건으로 겪게 한 후 제품의 변화에 대한 사전정보는 점점 더 많은 화장품 회사들이 원료 공급처에 요구하는 기초 데이터에 해당함.

- 이에, 7종의 시생산품을 대상으로 열(121°C, 15분)과 자외선(UVB, 2 J/cm²)을 처리한 후 성상의 변화를 관찰함. 실험자의 관능평가 뿐 아니라 410, 470 nm의 흡광도를 측정하여 세밀한 변화를 관찰하였음.
- 그 결과 7종 모두 거의 변화가 없는, 높은 안정성을 보였음.



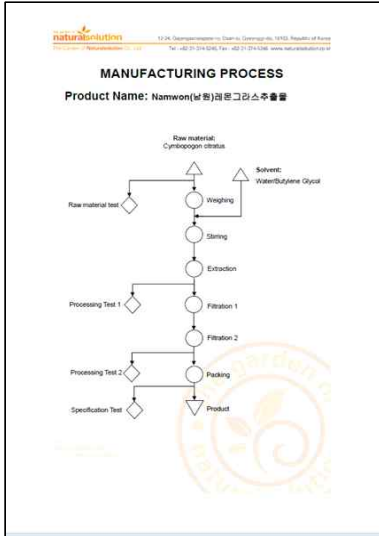
<가혹조건에서 추출물의 성상 변화 관찰>

○ 제조 공정 최적화

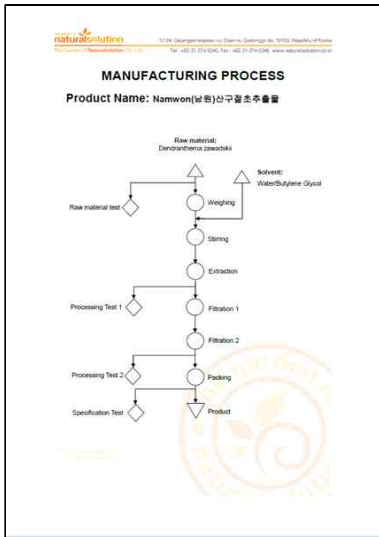
1차년도 연구결과를 종합하여 남원지역 자원식물 7종(감국, 레몬그라스, 산구절초, 와송, 자소엽, 찔레, 흰민들레)의 추출물 제조공정을 표준화하고, 시생산을 통해 검증하였음.

- 원물은 남원시화장품산업지원센터에서 세척, 건조를 거쳤으며, 필요한 경우 최소한의 파쇄를 거쳐 추출하였음. 원물을 분쇄할수록 용매와 접촉하는 표면적이 늘어나는데, 많은 경우 지표물질보다 독성물질이나 침전 유발 물질의 함량이 높아져 품질을 저해하는 결과를 낳음.
- ISO16128: Guidelines on technical definitions and criteria for natural and organic cosmetic ingredients를 비롯하여 글로벌 화장품 기업들이 천연화장품 원료 공급사에 요구하는 것은, 되도록 공정을 단순화하고 화학 공정을 최대한 배제하는 것임. 결국, 좋은 원료를 찾고, 유효 성분 추출을 도울 수 있는 전처리를 거쳐 최적의 추출조건으로 제품을 만들어야 경쟁력을 갖출 수 있는 시장 상황이라 할 수 있음.
- 이에 따라 가장 천연성(naturality)을 보존할 수 있도록 아래와 같은 공정으로 7종의 시제품을 생산하였음.

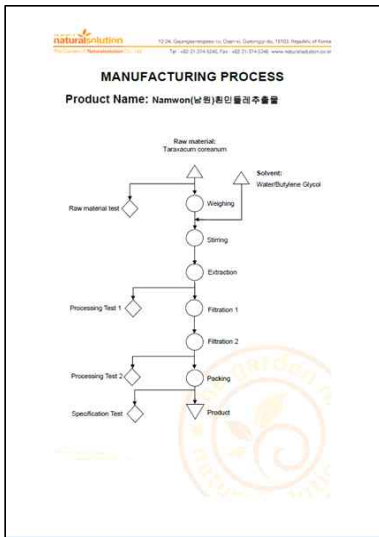
[레몬그라스]



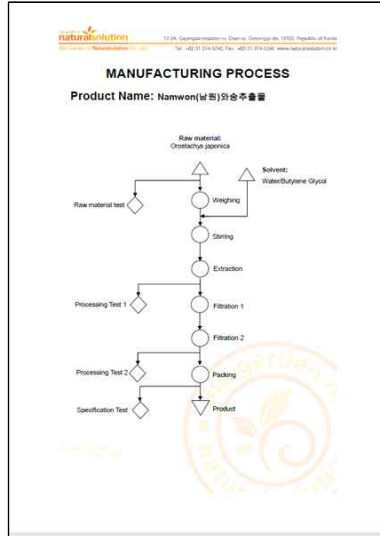
[산구절초]



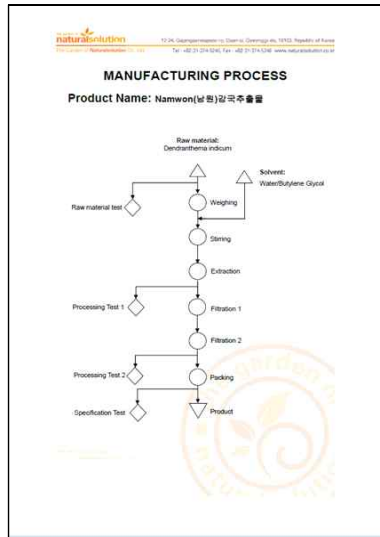
[흰민들레]



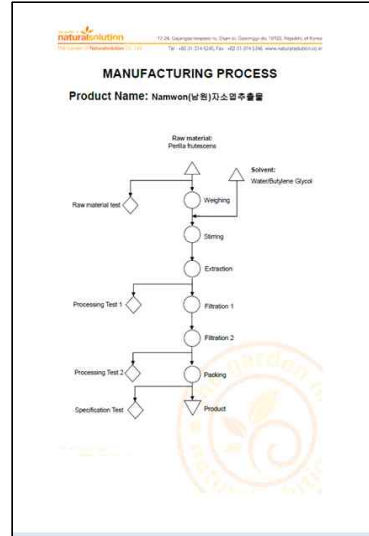
[와송]



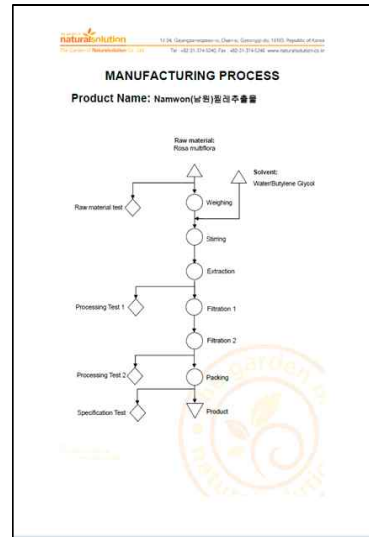
[감국]



[자소엽]



[찔레]

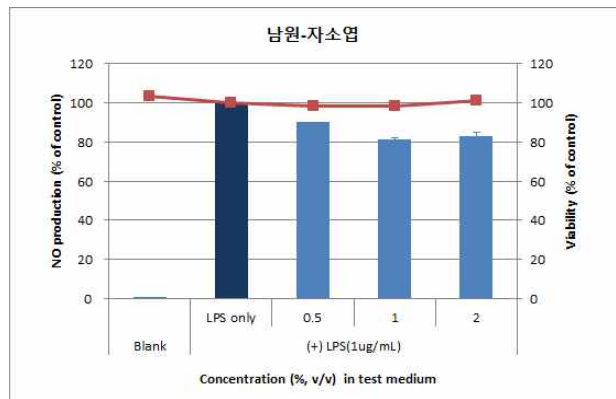
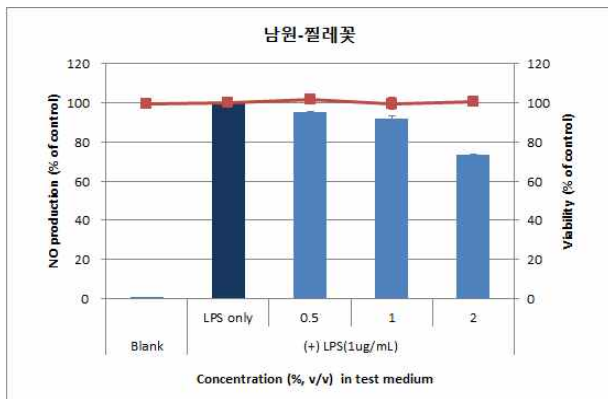
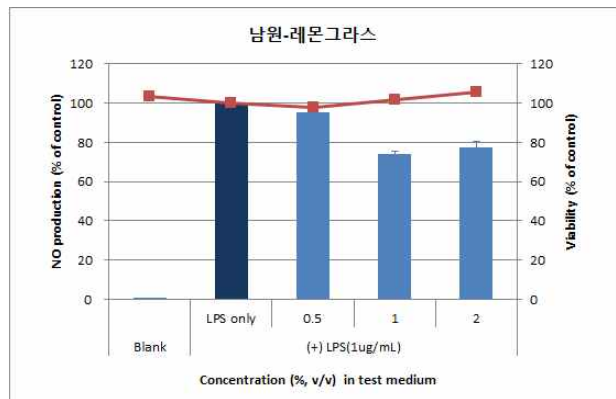
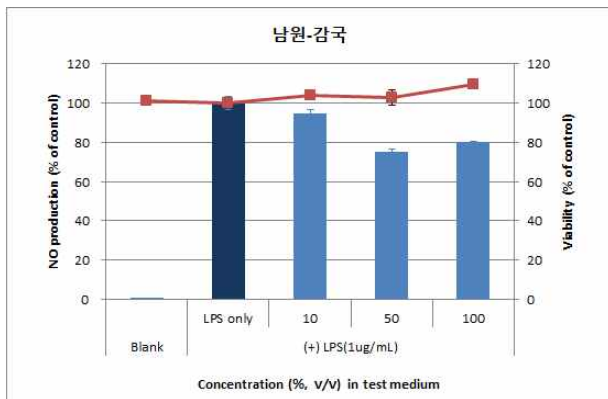
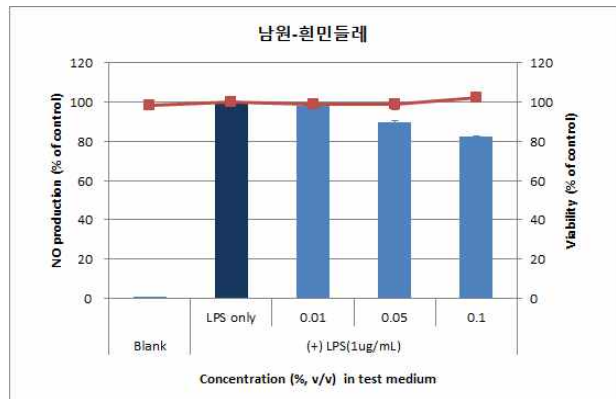
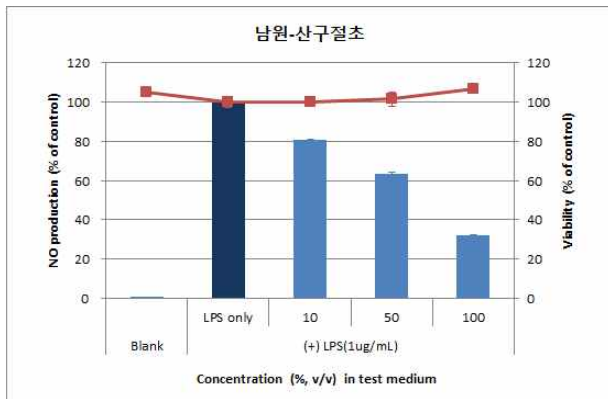


<7종의 시제품의 제조흐름도>

- 위에 기술한 바와 같이, 시생산품들의 지표물질 분석과 안전성, 안정성 검증을 통해 제조공정을 최적화하였음.

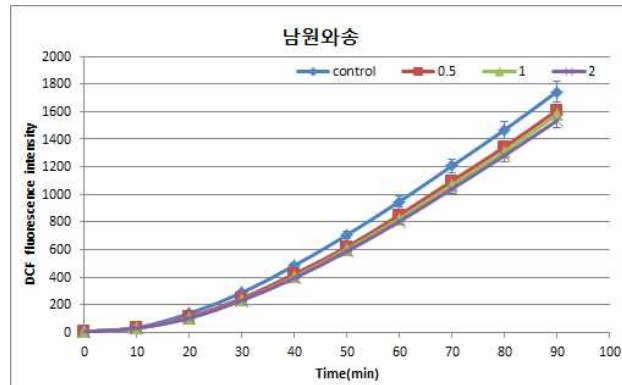
○ 시제품의 세포효능 재실험

- 대식세포주 Raw 264.7을 이용한 NO 생성 저해율 측정
아래와 같이 추출물들의 항염 효능을 확인할 수 있었음.



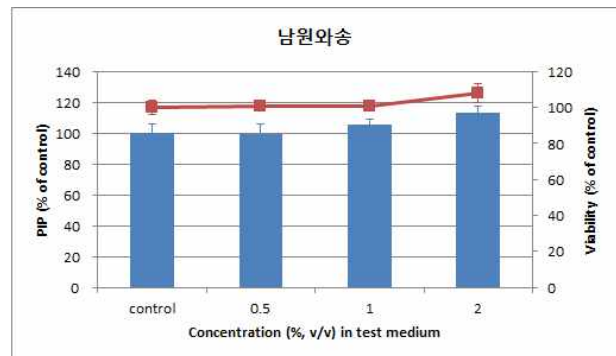
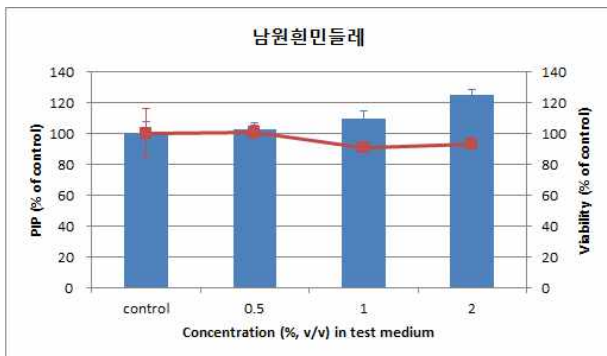
<추출물들의 항염효능>

- 진피세포 normal human dermal fibroblast를 이용한 항산화능 측정
아래와 같이 남원와송추출물의 항산화 효능을 확인할 수 있었음.



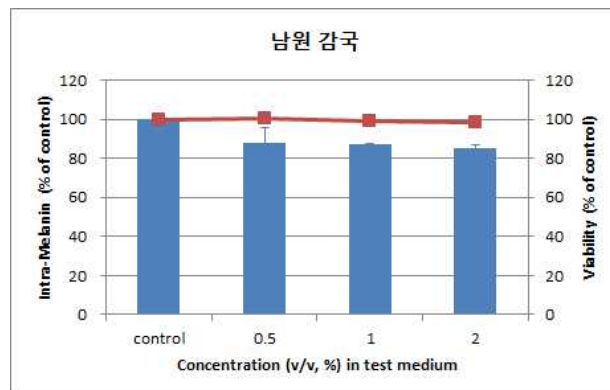
<남원와송추출물의 항산화효능>

- 진피세포 normal human dermal fibroblast를 이용한 콜라겐 전구체 PIP 생성 측정
아래와 같이 남원흰민들레추출물과 남원와송추출물의 항주름효능을 확인할 수 있었음.



<추출물들의 항주름효능>

- 흑생종 세포인 B16F1을 이용한 멜라닌 생성 저해능 측정
아래와 같이 남원감국추출물의 미백효능을 확인할 수 있었음.



<남원감국추출물들의 미백효능>

- 상기의 결과를 통해 pilot scale로 생산한 제품에서도 효능원료로서의 장점을 유지하고 있다는 것을 확인하였고, 제조공정을 확립할 수 있었음.
- 남원산구절초추출물의 경우, 6개월 정도의 장기 보관에 따른 침전이 발견되었고, 이를 해결할 수 있는 공정 개선 연구가 진행 중임. 이번 연차 내에 결과를 확인하기 어려워 후속 연구가 필요함.

○ 품질 관리 확립

- 제조공정을 확립하고 시제품을 협동기관들과 공유하여 효능, 지표물질, 제형 적용성 등을 검증하였으며 물질 안전서류와 성적서를 발행하여 제품의 품질 관리를 확립하였음.

- MSDS

[레몬그라스]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제 목 명 Namoon(삼원)레몬그라스추출물
 나. 제형의 종류 용도도 사용상의 제한, 저장법, 필요조건 사용 할 것.
 다. 제조자 / 공급자 / 유통업자 정보
 공급 회사명 (주)이노비오(주)서울특별시
 주 소 경기도 오산시 가림산업로 12-24
 정보제공서비스 또는 긴급 연락 전화 번호 031) 374-5246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류, 피부 부식성/과부 자극성 구분 2
 나. 액상/고체분류 포함인 경우 표지 부착
 - 그림문자

· 인후에 결고
 · 유해 위험 분류 H315 피부에 자극을 일으킴
 · 액상/고체분류
 - 예방
 P264 취급 후에는 취급 부위를 잘 씻어 줌으로써
 P280 보호장갑 보호의복 안전보호구 착용하십시오.
 P302+P352 피부에 묻으면 다량히 물로 씻으십시오.
 - 대응
 P332+P313 피부 자극이 생기면 의학적인 조치조언을 구하십시오.
 P362+P364 오염된 의복은 벗고 다시 사용 전 세탁하십시오.
 - 저장 보관
 - 폐기 처리방법
 다. 유해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성, 자료없음

3. 구성성분의 명칭 및 함유량

페이지 1 / 8

[와송]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제 목 명 Namoon(삼원)와송추출물
 나. 제형의 종류 용도도 사용상의 제한, 저장법, 필요조건 사용 할 것.
 다. 제조자 / 공급자 / 유통업자 정보
 공급 회사명 (주)이노비오(주)서울특별시
 주 소 경기도 오산시 가림산업로 12-24
 정보제공서비스 또는 긴급 연락 전화 번호 031) 374-5246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류, 피부 부식성/과부 자극성 구분 2
 나. 액상/고체분류 포함인 경우 표지 부착
 - 그림문자

· 인후에 결고
 · 유해 위험 분류 H315 피부에 자극을 일으킴
 · 액상/고체분류
 - 예방
 P264 취급 후에는 취급 부위를 잘 씻어 줌으로써
 P280 보호장갑 보호의복 안전보호구 착용하십시오.
 P302+P352 피부에 묻으면 다량히 물로 씻으십시오.
 - 대응
 P332+P313 피부 자극이 생기면 의학적인 조치조언을 구하십시오.
 P362+P364 오염된 의복은 벗고 다시 사용 전 세탁하십시오.
 - 저장 보관
 - 폐기 처리방법
 다. 유해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성, 자료없음

3. 구성성분의 명칭 및 함유량

페이지 1 / 8

[자소엽]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제 목 명 Namoon(삼원)자소엽추출물
 나. 제형의 종류 용도도 사용상의 제한, 저장법, 필요조건 사용 할 것.
 다. 제조자 / 공급자 / 유통업자 정보
 공급 회사명 (주)이노비오(주)서울특별시
 주 소 경기도 오산시 가림산업로 12-24
 정보제공서비스 또는 긴급 연락 전화 번호 031) 374-5246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류, 피부 부식성/과부 자극성 구분 2
 나. 액상/고체분류 포함인 경우 표지 부착
 - 그림문자

· 인후에 결고
 · 유해 위험 분류 H315 피부에 자극을 일으킴
 · 액상/고체분류
 - 예방
 P264 취급 후에는 취급 부위를 잘 씻어 줌으로써
 P280 보호장갑 보호의복 안전보호구 착용하십시오.
 P302+P352 피부에 묻으면 다량히 물로 씻으십시오.
 - 대응
 P332+P313 피부 자극이 생기면 의학적인 조치조언을 구하십시오.
 P362+P364 오염된 의복은 벗고 다시 사용 전 세탁하십시오.
 - 저장 보관
 - 폐기 처리방법
 다. 유해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성, 자료없음

3. 구성성분의 명칭 및 함유량

페이지 1 / 8

[산구절초]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제 목 명 Namoon(삼원)산구절초추출물
 나. 제형의 종류 용도도 사용상의 제한, 저장법, 필요조건 사용 할 것.
 다. 제조자 / 공급자 / 유통업자 정보
 공급 회사명 (주)이노비오(주)서울특별시
 주 소 경기도 오산시 가림산업로 12-24
 정보제공서비스 또는 긴급 연락 전화 번호 031) 374-5246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류, 피부 부식성/과부 자극성 구분 2
 나. 액상/고체분류 포함인 경우 표지 부착
 - 그림문자

· 인후에 결고
 · 유해 위험 분류 H315 피부에 자극을 일으킴
 · 액상/고체분류
 - 예방
 P264 취급 후에는 취급 부위를 잘 씻어 줌으로써
 P280 보호장갑 보호의복 안전보호구 착용하십시오.
 P302+P352 피부에 묻으면 다량히 물로 씻으십시오.
 - 대응
 P332+P313 피부 자극이 생기면 의학적인 조치조언을 구하십시오.
 P362+P364 오염된 의복은 벗고 다시 사용 전 세탁하십시오.
 - 저장 보관
 - 폐기 처리방법
 다. 유해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성, 자료없음

3. 구성성분의 명칭 및 함유량

페이지 1 / 8

[감국]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제 목 명 Namoon(삼원)감국추출물
 나. 제형의 종류 용도도 사용상의 제한, 저장법, 필요조건 사용 할 것.
 다. 제조자 / 공급자 / 유통업자 정보
 공급 회사명 (주)이노비오(주)서울특별시
 주 소 경기도 오산시 가림산업로 12-24
 정보제공서비스 또는 긴급 연락 전화 번호 031) 374-5246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류, 피부 부식성/과부 자극성 구분 2
 나. 액상/고체분류 포함인 경우 표지 부착
 - 그림문자

· 인후에 결고
 · 유해 위험 분류 H315 피부에 자극을 일으킴
 · 액상/고체분류
 - 예방
 P264 취급 후에는 취급 부위를 잘 씻어 줌으로써
 P280 보호장갑 보호의복 안전보호구 착용하십시오.
 P302+P352 피부에 묻으면 다량히 물로 씻으십시오.
 - 대응
 P332+P313 피부 자극이 생기면 의학적인 조치조언을 구하십시오.
 P362+P364 오염된 의복은 벗고 다시 사용 전 세탁하십시오.
 - 저장 보관
 - 폐기 처리방법
 다. 유해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성, 자료없음

3. 구성성분의 명칭 및 함유량

페이지 1 / 8

[썰레]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제 목 명 Namoon(삼원)썰레추출물
 나. 제형의 종류 용도도 사용상의 제한, 저장법, 필요조건 사용 할 것.
 다. 제조자 / 공급자 / 유통업자 정보
 공급 회사명 (주)이노비오(주)서울특별시
 주 소 경기도 오산시 가림산업로 12-24
 정보제공서비스 또는 긴급 연락 전화 번호 031) 374-5246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류, 피부 부식성/과부 자극성 구분 2
 나. 액상/고체분류 포함인 경우 표지 부착
 - 그림문자

· 인후에 결고
 · 유해 위험 분류 H315 피부에 자극을 일으킴
 · 액상/고체분류
 - 예방
 P264 취급 후에는 취급 부위를 잘 씻어 줌으로써
 P280 보호장갑 보호의복 안전보호구 착용하십시오.
 P302+P352 피부에 묻으면 다량히 물로 씻으십시오.
 - 대응
 P332+P313 피부 자극이 생기면 의학적인 조치조언을 구하십시오.
 P362+P364 오염된 의복은 벗고 다시 사용 전 세탁하십시오.
 - 저장 보관
 - 폐기 처리방법
 다. 유해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성, 자료없음

3. 구성성분의 명칭 및 함유량

페이지 1 / 8

[흰민들레]

MATERIAL SAFETY DATA SHEET
(물질 안전 보건 자료)

1. 제품과 제조회사에 관한 정보
 가. 제품명 : Namwon/남원/흰민들레추출물
 나. 제조사 : 한국지식산업연구원
 다. 제조자 : 한국지식산업연구원
 주 소 : 경기도 오산시 가성산업서로 12-34
 정보제공서비스 또는 긴급 전화 번호: 031) 374-9246

2. 위해 위험성
 가. 유해성 위험성 분류 : 피부 부식성/염 자극성 구분 2
 나. 위험도/위험성 : 조발염, 알레르기, 피부 자극
 - 그림문자

! (Hazard symbol)

- 신호어 : 경고
 - 유해 : 유해 문구 H315 : 피부에 자극을 일으킴
 - 예방 조치문구
 - 예방 : P264 취급 후에는 손을 철저히 씻으시오.
 P303-P361-P353 : 피부에 묻으면 대량히 씻으시오.
 - 대용 : P332-P313 : 피부 자극이 있거나 심각한 피부 자극은 흐린 물로 씻어내십시오.
 P302-P352 : 피부에 묻으면 대량히 씻으시오.
 - 저장 : 실온
 - 폐기 : 자원순환
 다. 위해 위험성 분류기준에 포함되지 않는 기타 유해 위험성 : 자원순환

3. 구성성분의 명칭 및 함유량
 페이지 1 / 8

<7종 시제품의 MSDS>

- COA

[레몬그라스]

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Namwon/남원/레몬그라스추출물
 INCI Name/한글한성명명: Citronellolipon Citrus Extract/레몬그라스추출물
 Lot No.: S-CIE-NW-170518
 제조일자: 2018.05.17 유통기한: 2020.05.16

Test Item	Specification	Result
Appearance	Brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 - 1.04	1.020
pH Value	4.0 - 7.0	5.91
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark: 보관조건 적사광선을 피할 것, 실온 보관
 이 용액은 무알부제용임

Approved by Researcher J.S. LEE
 Research Center

[와송]

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Namwon/남원/와송추출물
 INCI Name/한글한성명명: Citronellolipon Citrus Extract/와송추출물
 Lot No.: S-CIE-NW-170518
 제조일자: 2018.05.17 유통기한: 2020.05.16

Test Item	Specification	Result
Appearance	Brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 - 1.04	1.020
pH Value	5.0 - 8.0	6.65
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark: 보관조건 적사광선을 피할 것, 실온 보관
 이 용액은 무알부제용임

Approved by Researcher J.S. LEE
 Research Center

[자소엽]

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Namwon/남원/자소엽추출물
 INCI Name/한글한성명명: Herba Rosmarini Extract/자소엽추출물
 Lot No.: S-PRE-NW-170518
 제조일자: 2018.05.17 유통기한: 2020.05.16

Test Item	Specification	Result
Appearance	Dark brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 - 1.04	1.020
pH Value	4.0 - 7.0	6.18
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark: 보관조건 적사광선을 피할 것, 실온 보관
 이 용액은 무알부제용임

Approved by Researcher J.S. LEE
 Research Center

[산구절초]

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Namwon/남원/산구절초추출물
 INCI Name/한글한성명명: Chrysanthemum Doubilii Extract/산구절초추출물
 Lot No.: S-CIE-NW-170518
 제조일자: 2018.05.17 유통기한: 2020.05.16

Test Item	Specification	Result
Appearance	Dark brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 - 1.04	1.020
pH Value	4.0 - 7.0	5.91
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark: 보관조건 적사광선을 피할 것, 실온 보관
 이 용액은 무알부제용임

Approved by Researcher J.S. LEE
 Research Center

[감국]

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Namwon/남원/감국추출물
 INCI Name/한글한성명명: Chrysanthemum Indicum Extract/감국추출물
 Lot No.: S-CIE-NW-170518
 제조일자: 2018.05.17 유통기한: 2020.05.16

Test Item	Specification	Result
Appearance	Brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 - 1.04	1.020
pH Value	4.0 - 7.0	5.96
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark: 보관조건 적사광선을 피할 것, 실온 보관
 이 용액은 무알부제용임

Approved by Researcher J.S. LEE
 Research Center

[쥘레]

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name: Namwon/남원/쥘레추출물
 INCI Name/한글한성명명: Herba Mullaiba Extract/쥘레추출물
 Lot No.: S-RM-NW-170518
 제조일자: 2018.05.17 유통기한: 2020.05.16

Test Item	Specification	Result
Appearance	Dark brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 - 1.04	1.020
pH Value	4.0 - 7.0	5.68
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark: 보관조건 적사광선을 피할 것, 실온 보관
 이 용액은 무알부제용임

Approved by Researcher J.S. LEE
 Research Center

[흰민들레]

 <small>19033 경희대 조식농업연구소 (농업생명과학부)</small> <small>19033-274-1240, Fax: 1903-274-5240 www.naturalsolution.com</small>		
CERTIFICATE OF ANALYSIS		
Product Name	Namseon(남원)흰민들레추출물	
INCI Name/상품명	Taraxacum Cosmeum Extract / 흰민들레추출물	
Lot No.	S-PC-E-ANW-170518	
제조일자	2018.05.17	
유통기한	2020.05.18	
Test Item	Specification	Result
Appearance	Brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.99 ~ 1.04	1.000
pH Value	5.0 ~ 8.0	6.95
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Asenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected
Remark	○ 표검토인: 직사광선을 피할 것, 실온 보관 ○ 이 검출은 우량추출물임	
<small>Approved by Researcher J.S. LEE</small> <small>Research Center</small>  		
<small>RENO_160303</small>		

<7종 시제품의 COA>

○ 잔류농약 검사

제품의 이화학적 특성 뿐 아니라, 갈수록 높아지는 화장품 원료에 대한 시장 기준을 만족시키기 위하여, 잔류농약을 검사하였음. 시제품 7종 중 중국수출이 가능하여 시장의 즉각적인 요구가 있는 5종을 대상으로 잔류농약 320종의 유무를 검사하였음.

[레몬그라스]

시험성적서	
발급번호: 잔류농약-2018-247호	
발주처	성원(남원)의 곁주머니 (명동) 시업사용번호 다나방코스메추출물부서 131-86-28077 주소 전라남도 031-374-5240 경기도 오산시 가림안정서로 12-24
접수일자	2018/09/14
시험명	Namseon(남원)레몬그라스추출물
검사목적	잔류농약 320종
검사결과	검출성분 검출치(mg/kg) 비고 N.D. - 불검출치: 0.005mg/kg
발주처인명 황재선 2018년 09월 20일 분석처인명 김재현 2018년 09월 20일 비고 기타 2018년 09월 20일	
순천향대학교 산학협력단장 순남 사신서 성명순 순남성로2 순천향대학교 산학협력단장 김재현(인)	
TEL: 041-530-1562, 4760 / FAX: 041-530-3028 / Webpage: www.sch.ac.kr	
* 기타 참고사항 본 시험성적서는 제품용 시료에 한하여, 발급 전년도 종료 후 50% 범위 범위 사용될 수 있습니다.	

[자소엽]

시험성적서	
발급번호: 잔류농약-2018-248호	
발주처	성원(남원)의 곁주머니 (명동) 시업사용번호 다나방코스메추출물부서 131-86-28077 주소 전라남도 031-374-5240 경기도 오산시 가림안정서로 12-24
접수일자	2018/09/14
시험명	Namseon(남원)자소엽추출물
검사목적	잔류농약 320종
검사결과	검출성분 검출치(mg/kg) 비고 N.D. - 불검출치: 0.005mg/kg
발주처인명 황재선 2018년 09월 20일 분석처인명 김재현 2018년 09월 20일 비고 기타 2018년 09월 20일	
순천향대학교 산학협력단장 순남 사신서 성명순 순남성로2 순천향대학교 산학협력단장 김재현(인)	
TEL: 041-530-1562, 4760 / FAX: 041-530-3028 / Webpage: www.sch.ac.kr	
* 기타 참고사항 본 시험성적서는 제품용 시료에 한하여, 발급 전년도 종료 후 50% 범위 범위 사용될 수 있습니다.	

[감귤]

시험성적서	
발급번호: 잔류농약-2018-248호	
발주처	성원(남원)의 곁주머니 (명동) 시업사용번호 다나방코스메추출물부서 131-86-28077 주소 전라남도 031-374-5240 경기도 오산시 가림안정서로 12-24
접수일자	2018/09/14
시험명	Namseon(남원)감귤추출물
검사목적	잔류농약 320종
검사결과	검출성분 검출치(mg/kg) 비고 N.D. - 불검출치: 0.005mg/kg
발주처인명 황재선 2018년 09월 20일 분석처인명 김재현 2018년 09월 20일 비고 기타 2018년 09월 20일	
순천향대학교 산학협력단장 순남 사신서 성명순 순남성로2 순천향대학교 산학협력단장 김재현(인)	
TEL: 041-530-1562, 4760 / FAX: 041-530-3028 / Webpage: www.sch.ac.kr	
* 기타 참고사항 본 시험성적서는 제품용 시료에 한하여, 발급 전년도 종료 후 50% 범위 범위 사용될 수 있습니다.	

[산구절초]

SOON CHUN KANG UNIVERSITY			
시험성적서			
발급번호: 잔류농약-2018-246호			
시험일자	2018.09.14	합수번호	20180914-001
시험장	Namwon(남원)산구절초추출물	시험시료번호	131-09-20077
시험품목	잔류농약	시험번호	031-274-0240
시험결과	검출량 %D	비고	허용한계 0.00mg/kg
2018년 09월 20일			
순천향대학교 산학협력단장			
순남 새안기 신성별 순천향로22 순천향대학교 산학협력단장			
TEL: 0541-530-3562 / FAX: 0541-530-3058 / E-mail: shc@scu.ac.kr			
* 기타 참고사항			
본 시험성적서는 제출한 시료에 한하며, 영구기간 종료 및 중증 혐의 발견 등으로 사용할 수 없습니다.			

[짚레]

SOON CHUN KANG UNIVERSITY			
시험성적서			
발급번호: 잔류농약-2018-246호			
시험일자	2018.09.14	합수번호	20180914-001
시험장	Namwon(남원)짚레추출물	시험시료번호	131-09-20077
시험품목	잔류농약	시험번호	031-274-0240
시험결과	검출량 %D	비고	허용한계 0.00mg/kg
2018년 09월 20일			
순천향대학교 산학협력단장			
순남 새안기 신성별 순천향로22 순천향대학교 산학협력단장			
TEL: 0541-530-3562 / FAX: 0541-530-3058 / E-mail: shc@scu.ac.kr			
* 기타 참고사항			
본 시험성적서는 제출한 시료에 한하며, 영구기간 종료 및 중증 혐의 발견 등으로 사용할 수 없습니다.			

<5종 시제품의 잔류농약 시험성적서>

- 시험결과 시제품 5종 모두에서 잔류농약이 검출되지 않았으며, 제품 경쟁력을 높이는 데 효과적이라 할 수 있음.
- o 알려지 유발물질 분석
 - 많은 글로벌 화장품 기업들은 천연화장품 원료가 복합물질이기 때문에 점점 관리 기준을 높이고 있고, 최근 들어 식물추출물이 포함할 수 있는 알려지 유발물질의 유무를 검증하라는 요구가 많아지고 있음.
- 위 5종들 중 기술한 바와 같이 공정개선 연구가 진행중인 산구절초를 제외한 4종에 대해 26가지 알려지 유발물질을 분석하였음.

[자소엽]

[감국]

TEST REPORT

KOTTI No. | 82181806100626
주 소 | (주)가온오브나추출물추진
발 행 일 | 2018.10.16

발급번호	82181806100626
제품명	자소엽
제출명	Namwon(남원)자소엽추출물
시험품	자소엽
발급업체명	(주)가온오브나추출물추진
주요검체명 (수용액이 포함)	-
시험결과	다른 항목 미검출

제 목 | 담당자 | 기밀책임자
발 행 | 김주환 | 김영민

KOTTI 시험연구원장

No.	시험항목	단위	검출한계	시험결과	시험방법
1	antol cinnamal		10 µg/ml	검출안됨	
2	antol/cinnamyl alcohol		25 µg/ml	검출안됨	
3	benzyl alcohol		10 µg/ml	검출안됨	
4	benzyl cinnamate		25 µg/ml	검출안됨	
5	cinnamyl alcohol		10 µg/ml	검출안됨	
6	cinnamal		10 µg/ml	검출안됨	
7	cinnel		25 µg/ml	검출안됨	
8	coumarin		10 µg/ml	검출안됨	
9	eugenol		25 µg/ml	검출안됨	
10	geraniol		10 µg/ml	검출안됨	
11	hydroxy-cinnamal		25 µg/ml	검출안됨	
12	hydroxy-methylphenylacetylacetone/acetophenone		50 µg/ml	검출안됨	
13	isoeugenol		25 µg/ml	검출안됨	
14	menthyl alcohol		10 µg/ml	검출안됨	
15	benzyl benzoate		25 µg/ml	검출안됨	
16	benzyl cinnamate		25 µg/ml	검출안됨	
17	cinnamyl		10 µg/ml	검출안됨	
18	linalool		25 µg/ml	검출안됨	
19	linalyl cinnamylacetate		10 µg/ml	검출안됨	
20	linalyl cinnamyl methyl propionate		10 µg/ml	검출안됨	
21	linaloolone		10 µg/ml	검출안됨	
22	linalool		10 µg/ml	검출안됨	
23	menthyl heptanoic acid/acetate		10 µg/ml	검출안됨	
24	2-methyl-2-butyl-3-methylbutanoate/2-cyclohexyl-2-methylpropanoate/2-cyclohexyl-2-methylpropanoate		10 µg/ml	검출안됨	
25	octyl-2-ethylhexanoate		10 µg/ml	검출안됨	
26	isomyl acetate/cinnamylacetate		100 µg/ml	검출안됨	

TEST REPORT

KOTTI No. | 82181806100629
주 소 | (주)가온오브나추출물추진
발 행 일 | 2018.10.16

발급번호	25804204
제품명	감국
제출명	Namwon(남원)감국추출물
시험품	감국
발급업체명	(주)가온오브나추출물추진
주요검체명 (수용액이 포함)	-
시험결과	다른 항목 미검출

제 목 | 담당자 | 기밀책임자
발 행 | 김주환 | 김영민

KOTTI 시험연구원장

No.	시험항목	단위	검출한계	시험결과	시험방법
1	antol cinnamal		10 µg/ml	검출안됨	
2	antol/cinnamyl alcohol		25 µg/ml	검출안됨	
3	benzyl alcohol		10 µg/ml	검출안됨	
4	benzyl cinnamate		25 µg/ml	검출안됨	
5	cinnamyl alcohol		10 µg/ml	검출안됨	
6	cinnamal		10 µg/ml	검출안됨	
7	cinnel		25 µg/ml	검출안됨	
8	coumarin		10 µg/ml	검출안됨	
9	eugenol		25 µg/ml	검출안됨	
10	geraniol		10 µg/ml	검출안됨	
11	hydroxy-cinnamal		25 µg/ml	검출안됨	
12	hydroxy-methylphenylacetylacetone/acetophenone		50 µg/ml	검출안됨	
13	isoeugenol		25 µg/ml	검출안됨	
14	menthyl alcohol		10 µg/ml	검출안됨	
15	benzyl benzoate		25 µg/ml	검출안됨	
16	benzyl cinnamate		25 µg/ml	검출안됨	
17	cinnamyl		10 µg/ml	검출안됨	
18	linalool		25 µg/ml	검출안됨	
19	linalyl cinnamylacetate		10 µg/ml	검출안됨	
20	linalyl cinnamyl methyl propionate		10 µg/ml	검출안됨	
21	linaloolone		10 µg/ml	검출안됨	
22	linalool		10 µg/ml	검출안됨	
23	menthyl heptanoic acid/acetate		10 µg/ml	검출안됨	
24	2-methyl-2-butyl-3-methylbutanoate/2-cyclohexyl-2-methylpropanoate/2-cyclohexyl-2-methylpropanoate		10 µg/ml	검출안됨	
25	octyl-2-ethylhexanoate		10 µg/ml	검출안됨	
26	isomyl acetate/cinnamylacetate		100 µg/ml	검출안됨	

[절레]

[레몬그라스]

TEST REPORT

KOTIT No. | 22191009100927
 주 소 | (주)더가든오브내추럴솔루션
 발 소 일 | 2019.09.26

발급번호	2724100218
제품명	외투분
소재명	Hamum(남원) 원료 추출물
시험품	1. Hamum(1)
발급일	19년 9월 26일
시험목적	대용 제산기 검교

핵심 인출분, 외투분, Hamum(남원) 원료 추출물, 대용 제산기 검교
 KOTIT 시험연구원장

No.	시험항목	단위	검출한계	시험결과	시험방법
1	antyl cinnamal		10 미만	검출안됨	EU.022 2017
2	antyl cinnamyl alcohol		25 미만	검출안됨	
3	antyl acetate		10 미만	검출안됨	
4	antyl salicylate		25 미만	검출안됨	
5	cinnamyl alcohol		10 미만	검출안됨	
6	cinnamal		10 미만	검출안됨	
7	cinnel		25 미만	검출안됨	
8	coumarin		10 미만	검출안됨	
9	isopentyl		25 미만	검출안됨	
10	geranyl		10 미만	검출안됨	
11	hydroxy-chromene		10 미만	검출안됨	
12	hydroxy-methyl-piperonyl-cyclohexenone		25 미만	검출안됨	
13	isoeugenol		50 미만	검출안됨	
14	antyl acetate		10 미만	검출안됨	
15	antyl benzoate		25 미만	검출안됨	
16	antyl cinnamate		25 미만	검출안됨	
17	caproic acid		10 미만	검출안됨	
18	terpineol		25 미만	검출안됨	
19	antyl cinnamate/oxide		검출안됨		
20	ethylbutyl phanyl methyl propionyl		검출안됨		
21	cinnamone		10 미만	검출안됨	
22	isopentyl		25 미만	검출안됨	
23	methyl isobutyl carboxylate		검출안됨		
24	hydroxy-methyl-piperonyl-cyclohexenone		25 미만	검출안됨	
25	antyl cinnamate		100 미만	검출안됨	

TEST REPORT

KOTIT No. | 22191009100928
 주 소 | (주)더가든오브내추럴솔루션
 발 소 일 | 2019.09.26

발급번호	2724100219
제품명	외투분
소재명	Hamum(남원) 레몬그라스 추출물
시험품	1. Hamum(1)
발급일	19년 9월 26일
시험목적	대용 제산기 검교

핵심 인출분, 외투분, Hamum(남원) 레몬그라스 추출물, 대용 제산기 검교
 KOTIT 시험연구원장

No.	시험항목	단위	검출한계	시험결과	시험방법
1	antyl cinnamal		10 미만	검출안됨	EU.022 2017
2	antyl cinnamyl alcohol		25 미만	검출안됨	
3	antyl acetate		10 미만	검출안됨	
4	antyl salicylate		25 미만	검출안됨	
5	cinnamyl alcohol		10 미만	검출안됨	
6	cinnamal		10 미만	검출안됨	
7	cinnel		25 미만	검출안됨	
8	coumarin		10 미만	검출안됨	
9	isopentyl		25 미만	검출안됨	
10	geranyl		10 미만	검출안됨	
11	hydroxy-chromene		10 미만	검출안됨	
12	hydroxy-methyl-piperonyl-cyclohexenone		25 미만	검출안됨	
13	isoeugenol		50 미만	검출안됨	
14	antyl acetate		10 미만	검출안됨	
15	antyl benzoate		25 미만	검출안됨	
16	antyl cinnamate		25 미만	검출안됨	
17	chromone		10 미만	검출안됨	
18	terpineol		25 미만	검출안됨	
19	antyl cinnamate/oxide		검출안됨		
20	ethylbutyl phanyl methyl propionyl		검출안됨		
21	cinnamone		10 미만	검출안됨	
22	isopentyl		25 미만	검출안됨	
23	methyl isobutyl carboxylate		검출안됨		
24	hydroxy-methyl-piperonyl-cyclohexenone		25 미만	검출안됨	
25	antyl cinnamate		100 미만	검출안됨	

<4종 시제품의 알러지 유발물질 시험성적서>

○ 제품 기준규격서

- 이와 같은 과정을 토대로, 4가지 제품의 기준규격을 확립하여 제품화하였습니다.

naturalsolution | (주)더가든오브내추럴솔루션

SPECIFICATION

Product Name: Namum(남원) 외투분 추출물
 Product Code: S-RMS-NW
 INCI Name: 알콜알코올 추출물
 Rosa Multiflora Extract, 플라보노이드 추출물

Test Item	Specification
Appearance	Dark brown liquid
Specific Gravity	0.98 - 1.04
pH Value	4.0 - 7.0
Antipalin	≤ 50 ppm
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 2 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/mL

보관조건: 실온, 보존기간: -
 포장단위: 25kg, 200kg/PE

naturalsolution | (주)더가든오브내추럴솔루션

SPECIFICATION

Product Name: Namum(남원) 외투분 추출물
 Product Code: S-PE-NW
 INCI Name: 알콜알코올 추출물
 Perilla Frutescens Extract, 외투분 추출물

Test Item	Specification
Appearance	Dark brown liquid
Specific Gravity	0.98 - 1.04
pH Value	4.0 - 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 2 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/mL

보관조건: 실온, 보존기간: -
 포장단위: 25kg, 200kg/PE

naturalsolution | (주)더가든오브내추럴솔루션

SPECIFICATION

Product Name: Namum(남원) 외투분 추출물
 Product Code: S-CE-NW
 INCI Name: 알콜알코올 추출물
 Chrysanthemum indicum Extract, 외투분 추출물

Test Item	Specification
Appearance	Brown liquid
Specific Gravity	0.98 - 1.04
pH Value	4.0 - 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 2 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/mL

보관조건: 실온, 보존기간: -
 포장단위: 25kg, 200kg/PE

naturalsolution | (주)더가든오브내추럴솔루션

SPECIFICATION

Product Name: Namum(남원) 레몬그라스 추출물
 Product Code: S-OCE-NW
 INCI Name: 알콜알코올 추출물
 Cymbopogon Citratus Extract, 레몬그라스 추출물

Test Item	Specification
Appearance	Brown liquid
Specific Gravity	0.98 - 1.04
pH Value	4.0 - 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 2 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/mL

보관조건: 실온, 보존기간: -
 포장단위: 25kg, 200kg/PE

(주)더가든오브내추럴솔루션

(주)더가든오브내추럴솔루션

(주)더가든오브내추럴솔루션

(주)더가든오브내추럴솔루션

<기준규격확립>

- 현재, 국내외의 영업망을 통해 고객사들에 소개하고 있으며, 글로벌 기업 한 곳과의 프로젝트에 포함시켜 논의를 이어가는 중입니다. 특히, 남원절레추출물의 경우 좋은 효능과 지표물질 규격화(위 그림에서 빨간 상자)를 내세워 해외고객사에 적극 홍보합니다.

3) 국내외 전시회 및 네트워킹

○ 국외 전시회 참가

○ In-cosmetics Korea 2018 (2018.06.13. ~06.15)

6월 13-15일, 서울 삼성동 무역센터 전시장에서 열린 In-cosmetics Korea 2018의 자사 부스에서 본 과제에 대해 홍보하였음. 당시 안전성과 안정성 평가 중이던 제품 샘플들을 부스에 전시하고, 과제의 의의와 진행상황을 설명하는 digital information을 방문자들에게 설명하였음.



<In-cosmetics Korea 2018 전시회 참가>

- 전시회를 통해 본 과제를 알렸던 고객사들 중 한 곳과 현재 논의 중이며, 글로벌 10위 내의 큰 기업으로 좋은 결과가 예상됨.

○ In-cosmetics Asia 2018 (2018.10.30. ~ 11.01)

- 10월 30일-11월 1일, 태국 방콕에서 열린 In-cosmetics Asia 2018의 자사 부스에서 본 과제에 대해 홍보하였음. 자사 부스에서 시제품 5종을 전시하고 자사와 새로운 파트너인 남원과 남원의 식물들, 시제품의 효능을 digital information으로 방문자들에게 설명하였음.



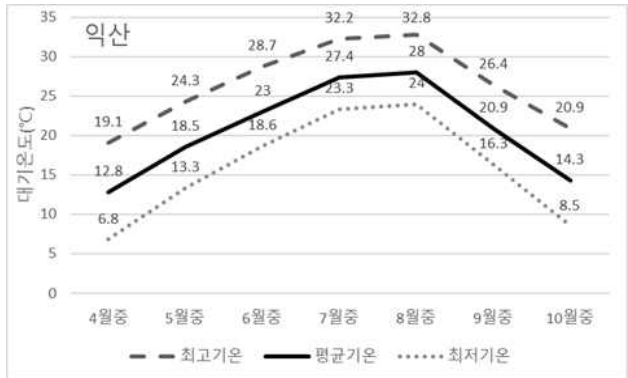
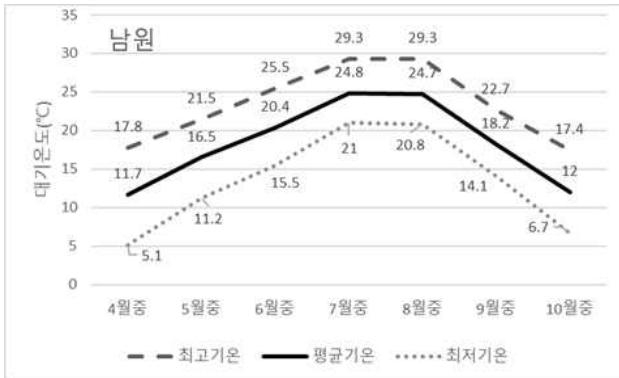
<In-cosmetics Asia 2018 전시회 참가>

마. 전북농업기술원 허브시험장(제4협동)

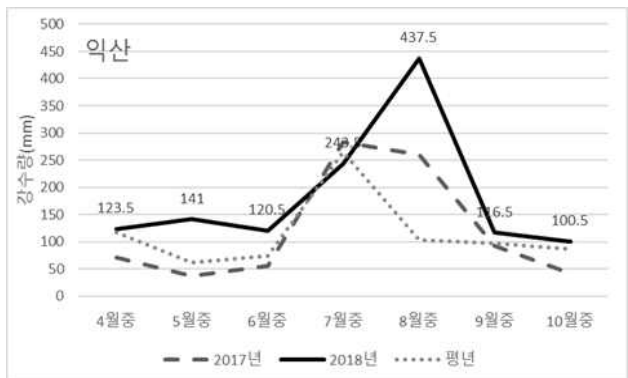
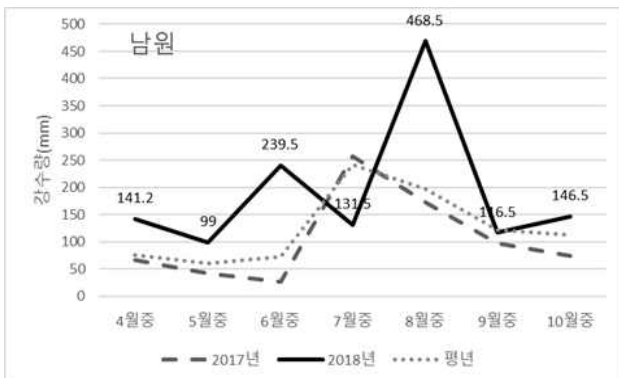
구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
2차 년도 (2018)	남원지역 특화자원의 허브생산 기술 개발	허브 고품질 생산을 위한 적정 수확시기 설정	○ 지역별 광합성 특성	-지역별(6~10월) 와송 등 4종의 광합성 속도 측정
			○ 지역별 생육특성 및 수확시기	-지역별 와송 등 4종에 대한 수 확시기(수량, 지상부 생체중 기준) 설정
			○ 지역별 방향성분 분석	-지역별 와송 등 4종의 방향성분 (GC/MS, SPME) 분석
			○ 지역별 기능성 및 지표성분 검정	-지역별 와송 등 4종에 대한 수 확시기별 기능성 (폴리페놀 등) 및 HPLC 지표성분 분석

1) 허브 고품질 생산을 위한 적정 수확시기 설정

○ 지역별 기상조건(기온, 습도, 강수량)



<2018년 최고, 평균, 최저 기온(°C)>



<2018년 월별 강수량(mm)>

- 남원, 익산 지역의 기상('18년 5~9월)을 비교한 결과 남원지역 평균기온 16.5~24.8°C의 범위를 보였으며 익산지역 평균기온은 18.5~28.0°C의 범위를 보였고 평균기온 기준 지역별 온도편차는 2.0~3.3°C 차이를 보여 익산지역이 높게 나타났고 전년 동기(1.5~2.3°C)에 비해 0.5~1°C 정도 상승하였음.
- 남원, 익산 지역의 강수량('18년 5~9월)을 비교한 결과 동기간 강수량 합계는 남원 1201.5mm, 익산 1159.5mm를 나타내 남원지역에서 42mm정도 많았으며 특히 생육 초기인 6월에는 남원 239.5mm, 익산 120.5mm를 나타내 남원지역 강수량이 더 높게 나타났음. 월별 강수량을 비교한 결과 5~6월에 남원, 익산 모두 평년대비 높았고 7월의 경우 평년대비 남원은 낮았고 익산은 비슷한 경향을 보였으나 8월에 두 지역 모두 평년 대비 200mm이상 높게 나타났음.

○ 지역별 토양화학성 비교

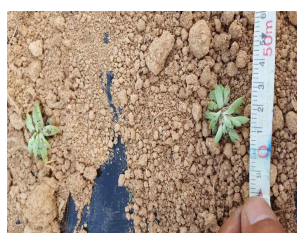
구분	pH (1:5)	EC (dS/m)	P ₂ O ₅ (mg/kg)	OM (g/kg)	Ex-cation(cmol ⁺ /kg)		
					Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺
남원	7.5	0.3	215.3	20.0	4.8	1.1	0.48
익산	6.2	0.9	352.7	20.8	5.2	1.2	0.7

○ 토양화학성을 분석한 결과, pH는 남원에서 높게 나타났으며 EC와 P₂O₅은 익산에서 높게 나타났음. 유기물, 양이온농도 역시 익산에서 약간 높은 경향으로 나타나 남원 대비 익산 지역에서 토양 양분조건이 양호한 것으로 판단됨.

○ 묘소질 특성

구분	초장 (cm)	초폭 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	줄기수
와송	3.1±0.3	3.6±0.5	2.4±0.3	0.2±0.0	2.5±0.2	1.0±0.0
자소엽	6.3±1.2	4.1±0.2	3.5±0.3	2.8±0.2	1.5±0.2	1.0±0.0
레몬그라스	29.4±3.6	22.0±2.2	18.9±3.2	0.8±0.0	3.5±0.3	2.0±1.0
짚레	91.4±15.2	97.0±15.9	2.6±0.4	1.5±0.2	8.3±1.1	11.3±0.6

○ 와송, 자소엽은 각각 2017년 12월, 5월에 파종하여 육묘하여 5월 하순에 정식하였고 레몬그라스는 3월 상순에 파종하였으나 출현율 및 묘 생육속도가 저조하여 2년생 묘를 분주하여 사용하였고 짚레는 2017년 정식한 3년생을 사용하였으며 익산 시험포장에 4월 상순에 이식하였음.



<와송 정식>



<자소엽 정식>

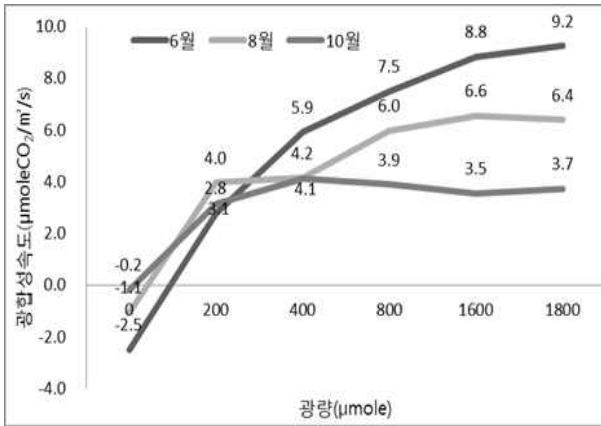


<레몬그라스 정식>

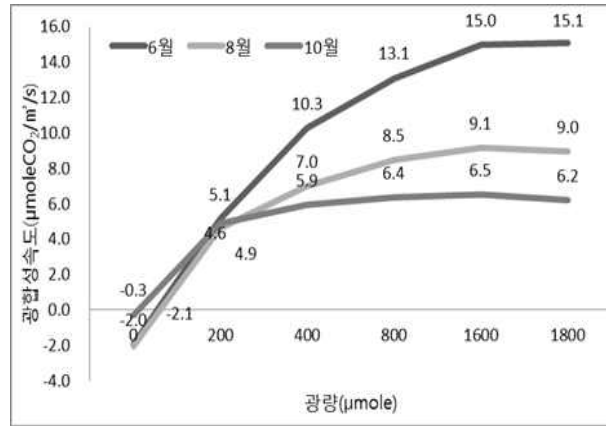


<짚레 정식>

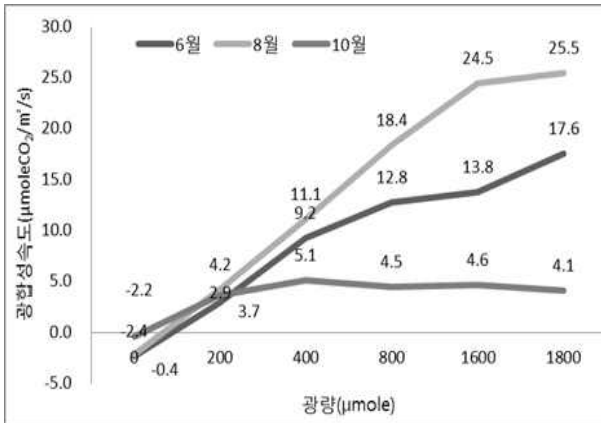
○ 지역별 광합성 속도(6월~10월)



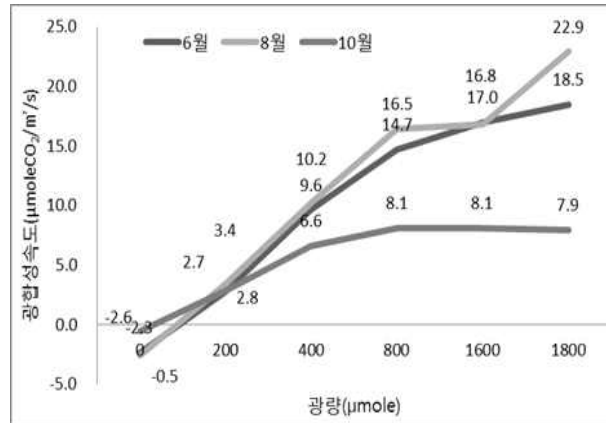
<남원지역 자소엽 광합성속도(6~10월)>



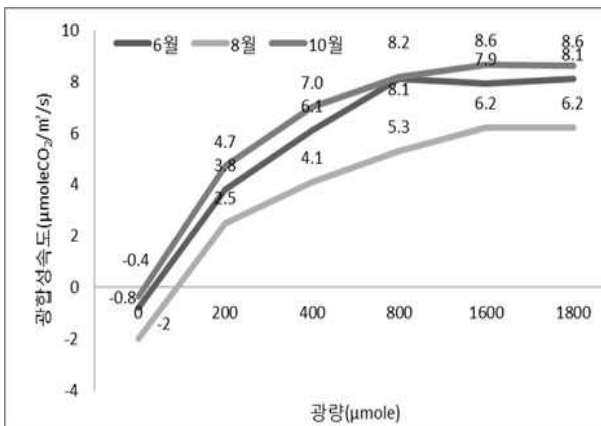
<익산지역 자소엽 광합성속도(6~10월)>



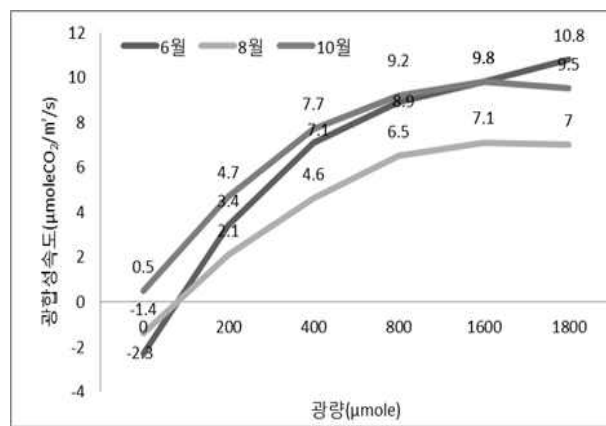
<남원지역 레몬그라스 광합성속도(6~10월)>



<익산지역 레몬그라스 광합성속도(6~10월)>



<남원지역 짚레 광합성속도(6~10월)>



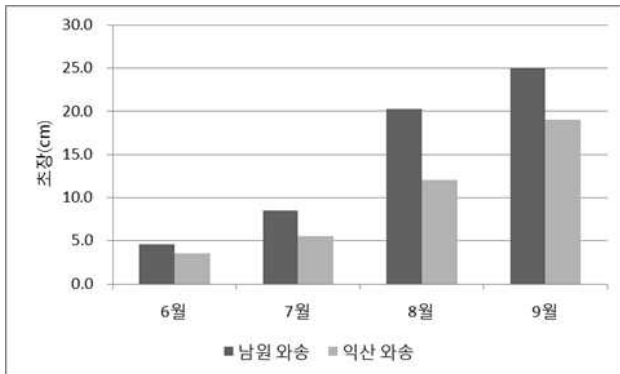
<익산지역 짚레 광합성속도(6~10월)>

- 휴대용 광합성측정기인 LCpro+(ADC, UK)를 이용하여 측정이 어려운 와송을 제외한 자소엽, 레몬그라스, 짚레의 광합성을 조사한 결과, 광합성 속도는 자소엽이 6월, 레몬그라스는 8월, 짚레는 8월에 가장 높은 경향치를 보였음. 지역별로 비교해보면 자소엽은 익산에서 높은 광합성속도를 보였으며 광보화점은 696~1,392 μmole 범위에 분포하였으며 광보상점은 대부분 174 μmole 이하에 존재하였음.

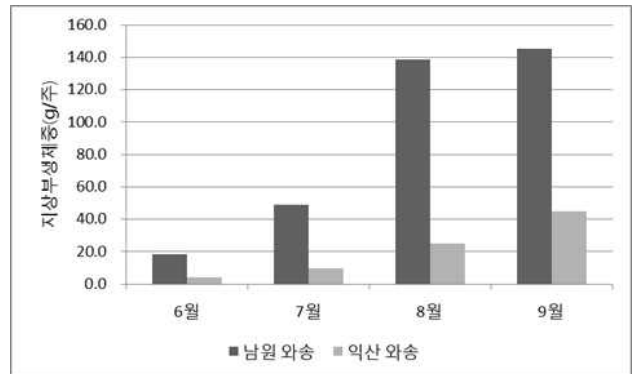
○ 지역별 지상부 생육특성

○ 와송 지상부 생육특성

구분		초장 (cm)	초폭 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽두께 (mm)	경직경 (mm)	지상부 생체중 (g/주)
남원	6월	4.6±0.7	6.5±0.8	3.2±0.7	0.8±0.1	3.6±0.4	5.0±1.0	18.6±7.2
	7월	8.5±2.0	9.0±2.2	4.8±1.4	1.4±0.3	5.0±1.0	6.5±1.7	49.1±21.8
	8월	20.3±5.1	14.4±5.4	5.5±1.5	1.5±0.4	4.7±0.9	7.2±1.7	138.9±69.6
	9월	25.0±4.6	15.8±3.4	6.1±1.4	1.6±0.4	4.5±0.7	7.8±1.9	145.1±74.4
익산	6월	3.5±0.3	4.2±0.5	2.6±0.5	0.5±0.1	2.8±0.4	4.5±1.3	4.3±2.1
	7월	5.5±1.2	5.4±1.2	3.4±1.8	0.8±0.2	3.1±0.7	4.4±1.1	9.8±4.8
	8월	12.0±3.8	7.8±2.6	3.2±1.1	0.7±0.3	3.6±0.8	4.6±1.2	25.0±13.2
	9월	19.0±5.7	8.7±2.6	3.8±0.9	0.9±0.3	3.9±0.8	4.1±0.9	44.8±24.3



<지역별 와송 초장(5~9월)>

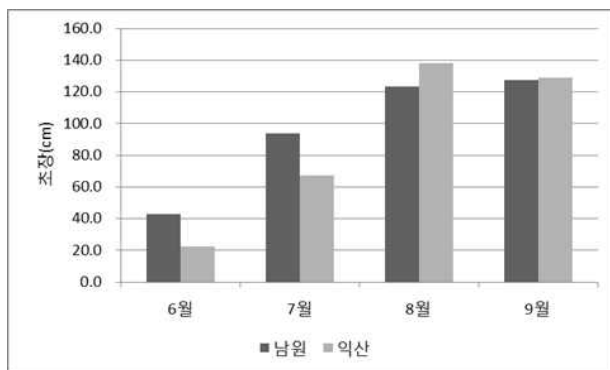


<지역별 와송 지상부 생체중(5~9월)>

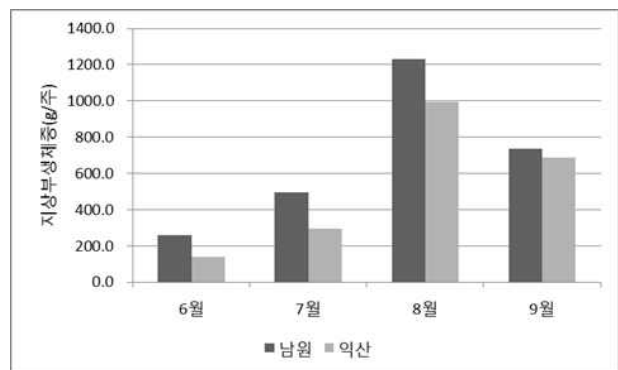
- 지역별 와송의 생육을 조사한 결과 초장의 경우 6월까지 비슷한 경향을 보였으나 7월이후 남원에서 3~8cm 더 높았고 생체중의 경우 정식이후 6월부터 차이를 보여 남원에서 훨씬 더 양호하였음. 토양 양분 조건이 더 유리했던 익산지역에서 생육이 불량한 이유는 익산지역은 식양토~식질토, 남원지역은 양토~사양토이어서 천근성 작물인 와송이 생육하기에는 남원이 더 유리했을 것으로 판단되며 추후 토성, 용적밀도 등 토양물리성에 대한 분석을 추진할 예정임.
- 지역별 지상부 생체중의 변화를 비교한 결과 남원과 익산에서 모두 9월이 생체중이 가장 높게 나타났으며, 각각 1560.2kg/10a, 481.7kg/10a를 나타내었음.

○ 자소엽 시기별 생육특성

구분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	줄기수 (개/주)	마디수 (개/주)	지상부 생체중 (g/주)
남원	6월	43.0±2.0	13.1±1.1	9.8±1.0	7.5±1.7	3.8±1.5	8.9±1.7	257.9±124.1
	7월	94.0±8.6	13.0±1.0	9.6±1.1	19.4±2.2	1.3±0.5	13.5±1.3	494.2±246.9
	8월	123.6±9.9	10.4±1.2	7.5±1.0	22.8±5.1	1.8±0.8	19.5±2.7	1228.9±449.9
	9월	127.6±9.6	5.6±1.1	4.1±0.9	24.7±5.6	1.5±0.5	17.7±3.7	735.0±131.8
익산	6월	22.6±4.0	9.9±1.9	7.3±0.8	5.1±1.2	1.5±0.8	6.8±1.5	136.4±83.9
	7월	67.4±17.2	11.2±1.1	8.1±0.9	13.5±4.3	1.4±0.6	10.2±1.5	295.2±200.6
	8월	138.0±22.5	9.9±1.0	7.2±0.8	25.7±7.2	1.2±0.4	17.7±3.6	993.0±381.5
	9월	129.0±13.3	5.5±1.0	3.5±1.0	22.3±6.8	2.0±0.9	18.0±3.3	689.2±129.1



<지역별 자소엽 초장(5~9월)>

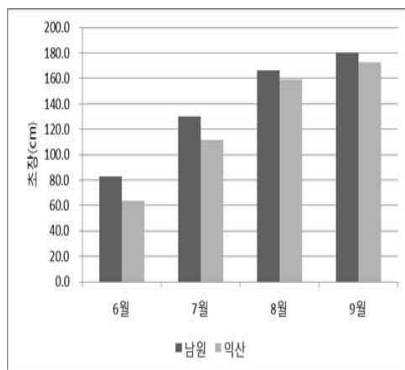


<지역별 자소엽 지상부 생체중(5~9월)>

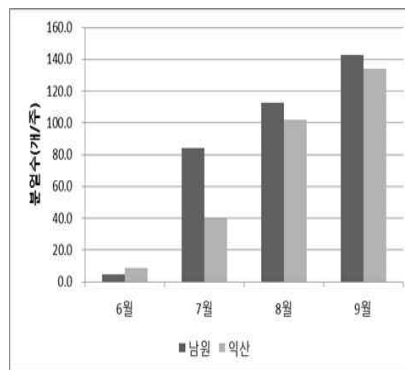
- 지역별 자소엽의 생육을 조사한 결과 초장의 경우 남원지역에서 7월까지 높았으나 8월 이후는 익산에서 더 높았고 생체중의 경우 정식이후 6월부터 차이를 보여 남원에서 더 양호하였으나 9월 이후는 비슷한 양상을 보였음.
- 지역별 지상부 생체중의 변화를 비교한 결과 남원과 익산에서 모두 8월이 생체중이 가장 높게 나타났으며, 각각 4388.9kg/10a, 3546.4kg/10a를 나타내었음.

○ 레몬그라스 시기별 생육특성

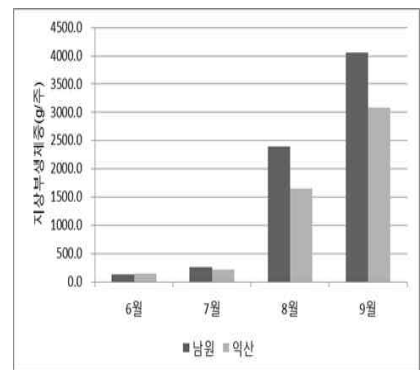
구분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	분얼수 (개/주)	지상부 생체중 (g/주)
남원	6월	82.9±9.8	53.0±12.6	1.3±0.2	3.5±0.2	4.5±1.6	124.4±51.3
	7월	129.8±4.7	96.2±4.8	2.0±0.2	16.3±1.8	84.2±27.0	257.3±98.4
	8월	166.6±22.0	108.5±13.8	2.1±0.3	13.9±4.3	112.6±30.0	2395.6±518.7
	9월	180.2±13.2	134.5±10.2	2.2±0.3	14.9±3.3	142.6±22.2	4055.1±1009.6
익산	6월	63.5±10.9	52.3±8.4	1.2±0.2	5.2±1.7	8.8±4.0	137.6±68.4
	7월	111.8±14.3	105.9±15.0	2.1±0.5	5.6±1.0	40.0±26.0	215.3±84.2
	8월	159.3±27.3	120.9±16.4	1.4±0.4	9.0±1.9	102.1±30.2	1652.3±874.6
	9월	172.8±20.7	139.3±17.5	1.7±0.3	8.9±2.0	133.9±42.2	3085.7±1491.6



<지역별 초장(5~9월)>



<지역별 분얼수(5~9월)>

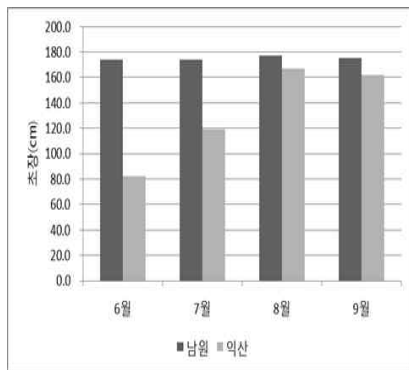


<지역별 지상부 생체중(5~9월)>

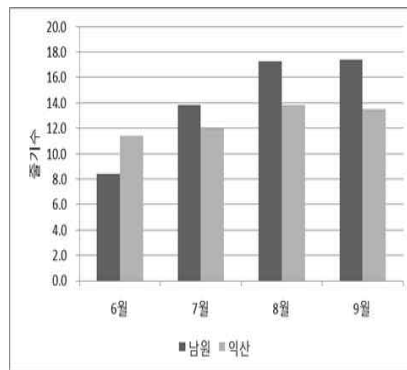
- 지역별 레몬그라스의 생육을 조사한 결과 초장의 경우 남원지역에서 전반적으로 더 높은 경향이었고 분얼 양상도 비슷한 경향을 보였으나 특히 7월에는 익산보다 2배 이상 높게 나타났음. 생체중의 경우 정식이후 7월까지는 비슷한 경향을 보였으나 8월이후는 남원에서 주당 743~970g 정도의 차이를 보여 남원에서 더 양호하였음.
- 지역별 지상부 생체중의 변화를 비교한 결과 남원과 익산에서 모두 9월이 생체중이 가장 높게 나타났으며, 각각 4827.5kg/10a, 3673.4kg/10a를 나타내었음.

○ 찔레 시기별 생육특성

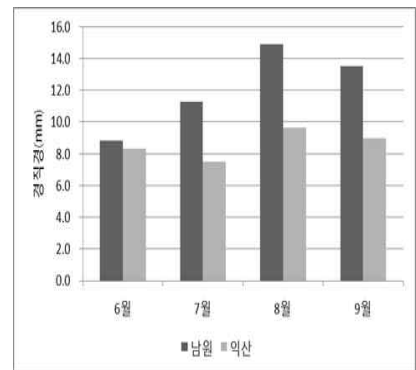
구분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	줄기수 (개/주)	꽃 생체중 (g/주)
남원	6월	173.8±11.2	6.5±1.0	3.0±0.4	8.8±2.1	8.4±1.1	32.7±3.4
	7월	173.7±21.4	4.1±0.4	2.4±0.5	11.3±1.6	13.8±4.1	-
	8월	177.2±16.9	4.0±0.7	2.3±0.3	14.9±1.8	17.3±2.3	-
	9월	175.0±19.4	4.0±0.8	2.1±0.2	13.5±2.7	17.4±2.0	-
익산	6월	82.5±18.1	2.8±0.6	1.4±0.4	8.3±1.2	11.4±2.7	17.8±3.5
	7월	119.0±15.3	3.6±0.8	1.8±0.3	7.5±0.9	12.0±3.7	-
	8월	166.7±15.3	4.3±0.3	2.1±0.5	9.6±1.5	13.8±2.9	-
	9월	162.1±16.9	4.3±0.5	2.0±0.5	9.0±1.0	13.5±2.3	-



<지역별 초장(5~9월)>



<지역별 줄기수(5~9월)>



<지역별 경직경(5~9월)>

- 지역별 찔레의 생육을 조사한 결과 초장의 경우 7월까지의 남원지역에서 전반적으로 더 높은 경향이었으나 이후 비슷한 양상을 보여 4월에 익산에 이식한 것으로 인한 영향으로 생각되며 줄기수는 6월에 익산에서 더 높았으나 7월 이후는 남원에서 더 높은 경향을 보였음.
- 지역별 찔레꽃의 생체중을 조사한 결과 남원과 익산에서 모두 5월 상순에 개화를 시작하였고 5월 하순에 남원과 익산에서 각각 38.9kg/10a, 21.2kg/10a를 나타내어 남원에서 높게 나타났음.

○ 지역별 개화시기 및 지하부 생육특성

구 분		개화시 (월/일)	개화율 (%)	근장 (cm)	근직경 (mm)	지하부 생체중 (g/주)
와송	남원	9/28	89	10.7±3.4	1.2±0.2	5.4±2.5
	익산	9/20	81	7.6±3.9	0.8±0.1	1.4±0.9
자소엽	남원	8/20	98	40.2±8.0	8.4±2.8	139.4±86.0
	익산	8/13	97	30.6±3.7	9.1±3.2	119.5±67.2
레몬 그라스	남원	-	-	30.4±4.4	1.4±0.2	1131.0±340.4
	익산	-	-	17.2±2.6	1.3±0.2	789.7±430.8
짚레	남원	5/14	95	67.8±12.6	11.9±1.4	218.3±64.7
	익산	5/10	91	49.3±13.1	9.6±1.5	149.2±23.8

- 지역별 개화시기를 조사한 결과 짚레는 5월 중순, 자소엽은 8월 중순, 와송은 9월 하순이었으며 지역별로는 익산에서 개화가 약간 빠른 경향이었고 레몬그라스는 개화하지 않았음. 지하부 생육을 조사한 결과 근장, 근직경, 지하부 생체중 모두 남원지역에서 양호한 결과를 보였음.



<남원 와송>



<익산 와송>



<자소엽(좌:남원, 우:익산)>

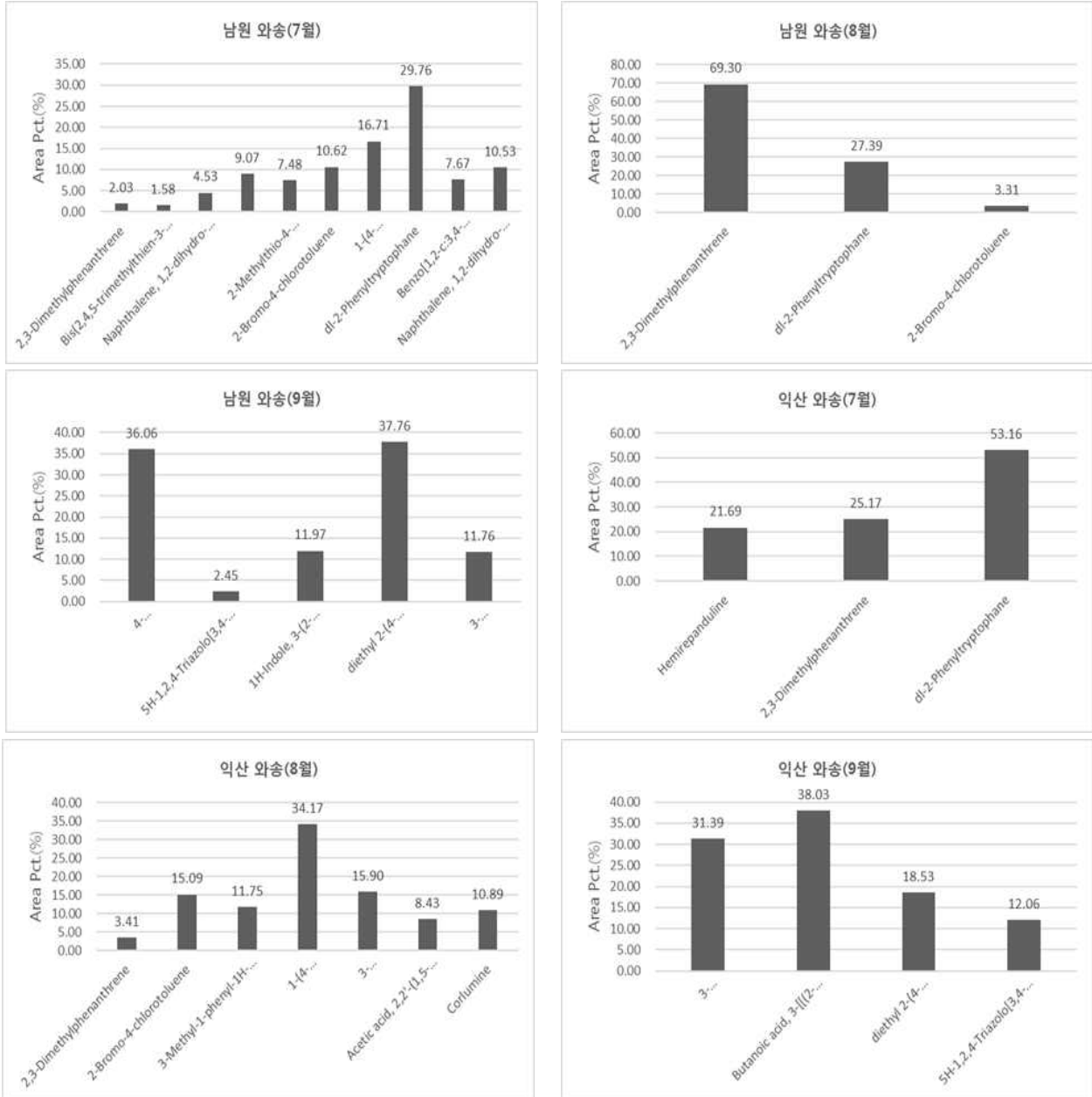


<레몬그라스(좌:남원, 우:익산)>

○ 지역별 방향성분 분석

○ 남원, 익산 지역의 와송, 자소엽, 레몬그라스 3종의 시료를(짚레의 경우 5월에 채취한 꽃을 건조하여 분석함) 7~9월 동안 월 1회 채취하여, GC/MS를 이용하여 향기성분을 분석하였음. 향기성분을 분석하기 위한 방법은 SPME(고체상 미량추출)법으로 하였고, GC 분석 조건과 오토샘플러 조건은 아래와 같이 설정하였음.

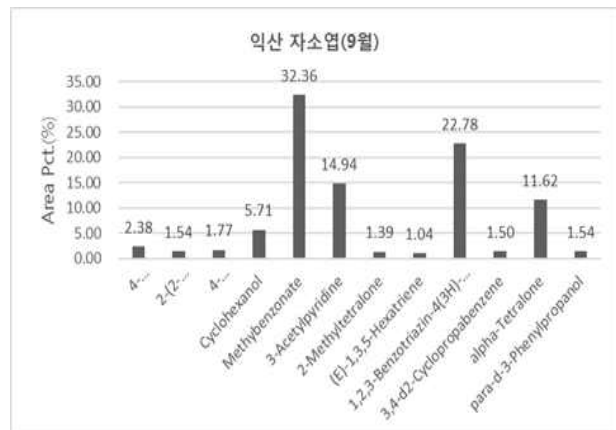
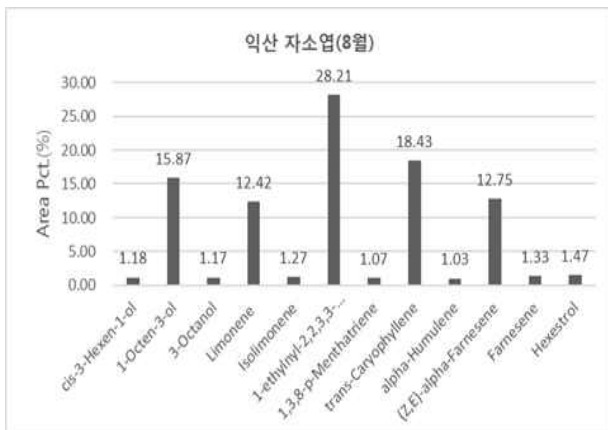
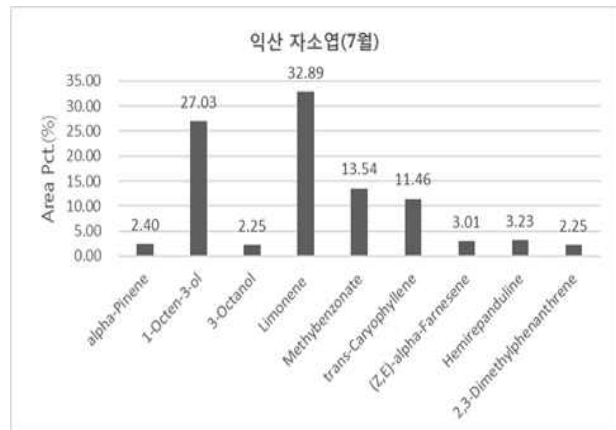
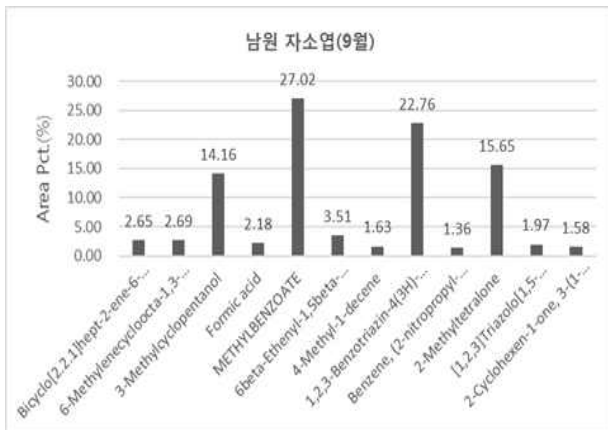
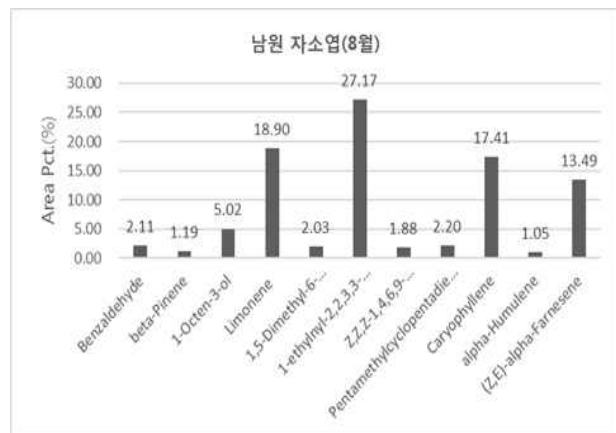
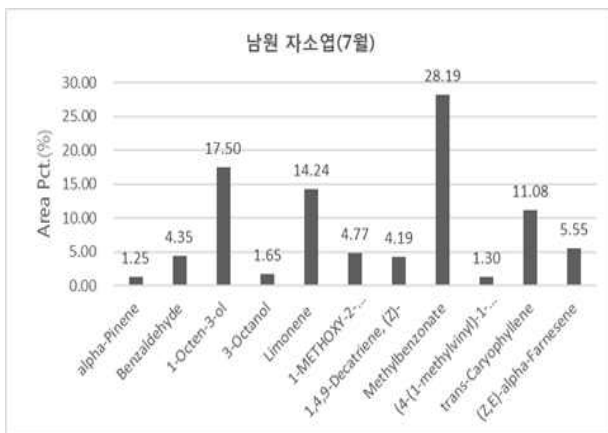
○ 와송 지역별 방향성분(7월~9월)



- 남원 와송의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 7월 주요성분은 dl-2-Phenyltryptophane (29.76%), 1-(4-Methoxyphenyl)imidazole-2-thione(16.71%), 2-Bromo-4-chlorotoluene(10.62%), 8월 주요성분은 2,3-Dimethylphenanthrene(69.30%), dl-2-Phenyltryptophane(27.39%), 2-Bromo-4-chlorotoluene(3.31%) 9월 주요성분은 diethyl 2-(4-(dimethylamino)phenyl)malonate(37.76%), 4-Methyl-2-(4-(dimethylamino)phenyl)malonate(36.6%), 1H-Indole, 3-(2-methoxyethyl)-2-phenyl- (11.97%) 순으로 나타났음.

- 익산 와송의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 7월 주요성분은 dl-2-Phenyltryptophane (53.16%),2,3-Dimethylphenanthrene(25.17%),Hemirepanduline(21.69%),8월 주요성분은1-(4-Methoxyphenyl)imidazoline-2-thione(34.17%),3-Cycloheptapyrazolecarboxylicacid, 1,4,5,6-tetrahydro-,ethylester(15.90%),2-Bromo-4-chlorotoluene(15.09%)9월 주요성분은Butanoic acid,3-[[[(2-chloro-1,1,2-trifluoroethyl)thio]methoxyamino]-3-methyl(38.03%), 3-Cycloheptapyrazolecarboxylicacid,1,4,5,6-tetrahydro-,ethylester(31.39%),diethyl 2-(4-(dimethyl-lamino)phenyl)malonate(18.53%)순으로 나타났음.

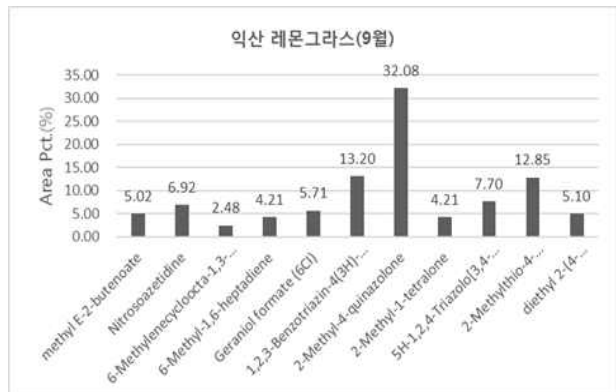
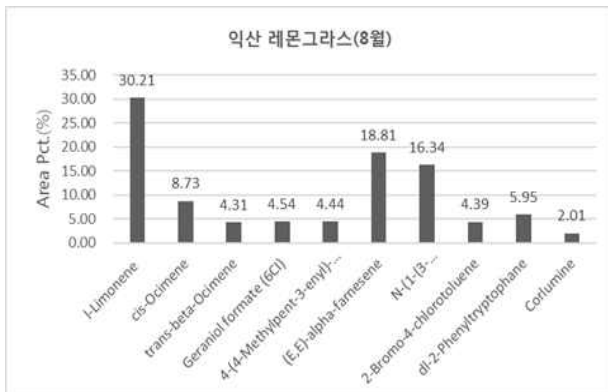
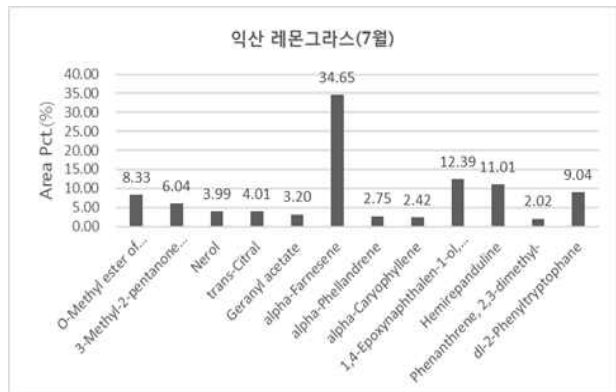
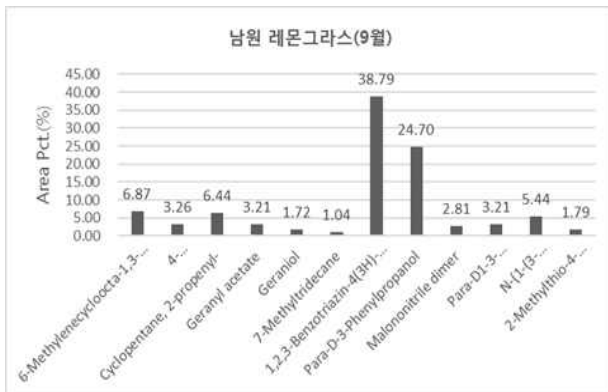
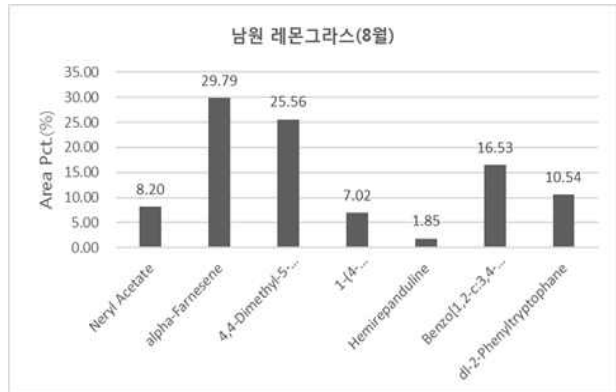
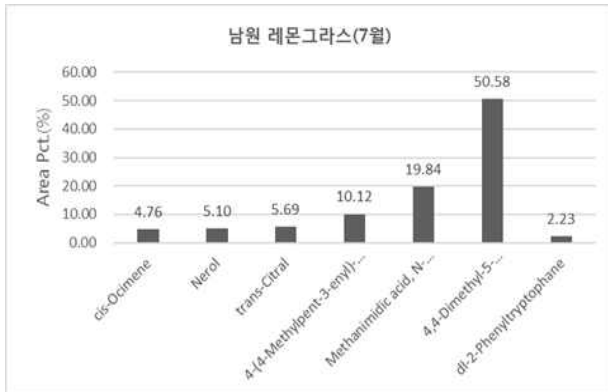
○ 자소엽 지역별 방향성분(7월~9월)



- 남원 자소엽의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 7월 주요성분은 Methylbenzonate(28.19%), 1-Octen-3-ol(17.50%),dl-Limonene(10.62%),8월 주요성분은1-ethylnyl-2,2,3,3-tetramethylcyclopropane(27.17%), dl-Limonene(18.90%), Caryophyllene(17.41%) 9월 주요성분은 Methylbenzonate(27.02%),1,2,3-Benzotriazin-4(3H)-one,3-methoxy-(22.76%),2-Methyltetralone (15.65%)순으로 나타났음.

- 익산 자소엽의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 7월 주요성분은 dl-Limonene (32.89%), 1-Octen-3-ol(27.03%),Methybenzionate(13.54%),8월주요성분은1-ethylnyl-2,2,3,3-tetramethylcyclopropane(28.21%),trans-Caryophyllene(18.43%),1-Octen-3-ol(15.87%)9월주요성분은Methylbenzionate(32.36%),1,2,3-Benzotriazin-4(3H)-one,3-methoxy-(22.78%),3-Acetylpyridine(14.94%)순으로 나타났음.

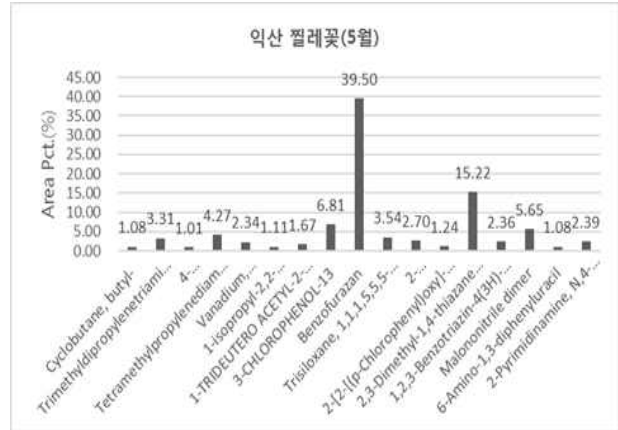
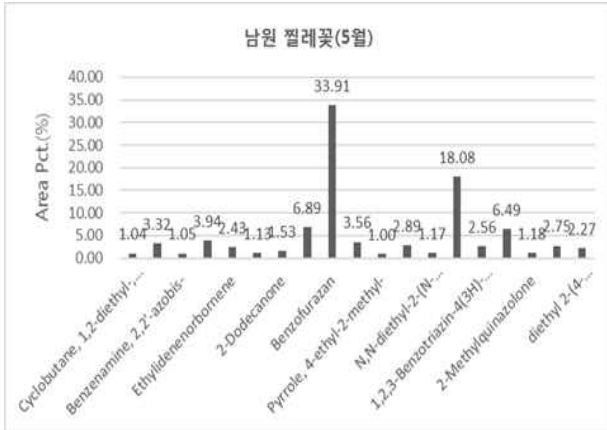
○ 레몬그라스 지역별 방향성분(7월~9월)



- 남원 레몬그라스의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 7월 주요성분은 4,4-Dimethyl-5-dimethylamino-1-cyclohexene-1,2-dicarbonitrile(50.58%), Methanimidic acid, N-phenyl-,2-propenylester(19.84%), 4-(4-Methylpent-3-enyl)-3,6-dihydro-1,2-dithiin(10.12%), 8월 주요성분은 alpha-Farnesene(29.79%),4,4-Dimethyl-5-dimethylamino-1-cyclohexene-1,2-dicarbonitrile (25.56%), Benzo[1,2-c:3,4-c']diisothiazole, 5-methyl-(16.53%) 9월 주요성분은 1,2,3-Benzotriazin-4(3H)-one,3-methoxy-(38.79%),Para-D-3-Phenylpropanol(24.70%),6-Methylenecycloocta-1,3-diene(6.87%)순으로 나타났음.

- 익산 레몬그라스의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 7월 주요성분은 alpha-Farnesene (34.65%), 1,4-Epoxynaphthalen-1-ol,1,4-dihydro-,acetate(12.39%),Hemirepanduline(11.01%), 8월 주요성분은 1-Limonene(30.21%), (E,E)-alpha-farnesene(18.81%), N-(1-(3-Methylphenyl) Cyclohexyl)Methlamine(16.34%) 9월 주요성분은 2-Methyl-4-quinazolone(32.08%), 1,2,3-Benzotriazin-4(3H)-one, 3-methoxy-(13.20%), 2-Methylthio-4-phenylthiophene(12.85%)순으로 나타났음.

○ 짚레 지역별 방향성분(5월)



- 남원 짚레의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 5월 주요성분은 Benzofurazan(33.91%), 2,3-Dimethyl-1,4-thiazane S,S-dioxide(18.08%), Para-D1-3-Phenylnitropropane(6.89%) 순으로 나타났음.
- 익산 짚레의 방향성분을 분석한 결과, 피크면적 기준 5월 주요성분은 Benzofurazan(39.50%), 2,3-Dimethyl-1,4-thiazane S,S-dioxide(15.22%), 3-CHLOROPHENOL-13(6.81%)순으로 나타났음.

○ 기능성 검정 및 지표성분 분석

○ 작목별 총폴리페놀함량, 총플라보노이드함량, 라디컬소거능 분석방법

- 총 폴리페놀함량측정(TPC) 분석방법 : 농도별로 제조한 검체 80μl에 1N 농도의 Folin 시약을 20 μl 첨가하고 5분간 방치하여 안정화 시킨 다음 2% Na2CO3 100μl를 첨가한 뒤 30분 동안 반응을 시킨 후 ABS 750 nm에서 측정함(Standard : Tannic acid).
- 총 플라보노이드함량측정(TFC) : 농도별로 제조한 검체 10μl에 Diethylene glycol 시약을 100μl 첨가한 다음 1N NaOH 10μl를 첨가한 뒤 37°C에서 1시간 동안 반응을 시킨 후 ABS 420 nm에서 측정함(Standard : Kaempferol).
- DPPH 라디컬 소거능 측정 : 농도별로 제조한 검체 100μl에 에탄올을 100μl 첨가하고 다음으로 200 μM 농도의 DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 시약을 400 μl를 첨가한 뒤 상온에서 차광하여 30분 동안 반응을 시킨 후 ABS 517nm에서 측정함(양성대조군: Ascorbic acid SC50 = 35.29 μg/mL).

<작목별 총폴리페놀함량, 총플라보노이드함량, 라디컬소거능 비교>

구 분		총폴리페놀함량 (mg/g)	총플라보노이드함량 (mg/g)	DPPH (SC ₅₀ , µg/mL)
와송	남원	86.05	22.93	225.26
	익산	121.62	25.36	147.2
자소엽	남원	83.15	77.14	259.04
	익산	136.34	145.82	131.77
레몬 그라스	남원	28.49	33.06	878.25
	익산	41.28	57.08	616.35
찔레꽃	남원	121.48	105.65	106.77
	익산	160.39	91.09	92.5

- 와송, 자소엽, 레몬그라스의 지상부와 찔레꽃의 지역별 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량, 라디칼 소거능을 비교한 결과, 전반적으로 남원보다 익산지역에서 더 높은 경향을 보였으며 찔레꽃의 총 플라보노이드 함량은 남원에서 높게 나타남. 생육양상이나 생체중이 남원 지역에서 높게 나타났음에도 불구하고 기능성에 있어 상대적으로 낮게 나타남. 이는 평야지인 익산지역의 높은 대기온도와 광량 그리고 식질토에 가까운 불리한 토성이 작물이 생육하는데 스트레스 요인이 되어 상대적으로 생육은 저조하나 기능성은 높게 나타난 것으로 판단됨.

○ 기능성 검정 및 지표성분 분석

○ HPLC 지표성분 분석

- HPLC 지표성분 분석조건

1. Column : Shim-pack VP-ODS (4.6mm I.D. × 250mm L., Shimadzu, Japan)
2. Column Temp. : 40°C
3. Detection : 280nm
4. Flow rate : 0.8mL/min
5. Injection volume : 10µL
6. Mobile phase : (A) 0.1% Formic acid/D.W.
(B) 0.1% Formic acid/ACN

7. Mobile phase Gradient

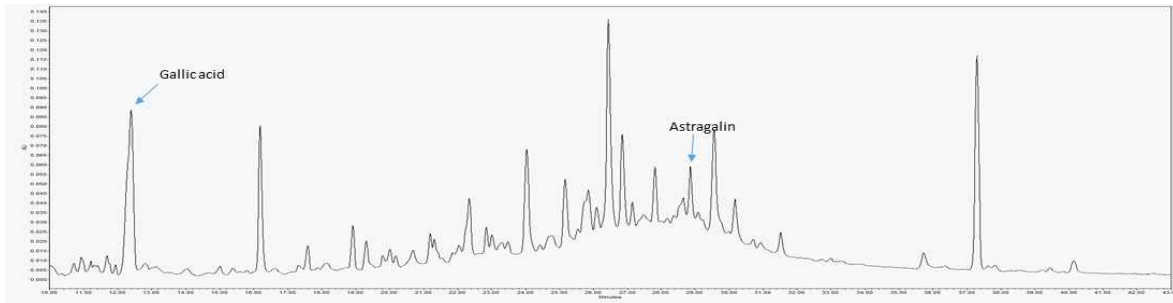
Time (min)	A Conc. (%)	B Conc. (%)
2	100	0
45	50	50
50	5	95
55	5	95
55.1	100	0
70	STOP	

<작목별 HPLC 지표성분 비교>

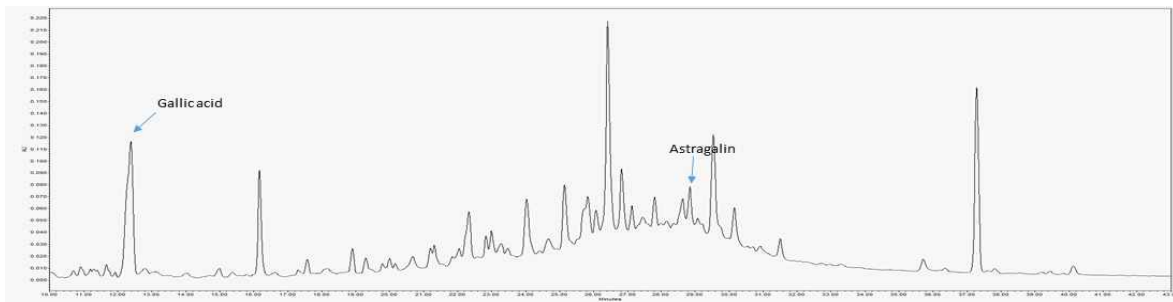
지표성분		Gallic acid(mg/g)	Astragalin(mg/g)
와송	남원	3.5	2.6
	익산	4.6	3.9
쫄레	남원	3.2	21.6
	익산	5.4	28.4

지표성분		Caffeic acid(mg/g)	Rosmarinic acid(mg/g)
자소엽	남원	2.5	33.6
	익산	2.7	49.7

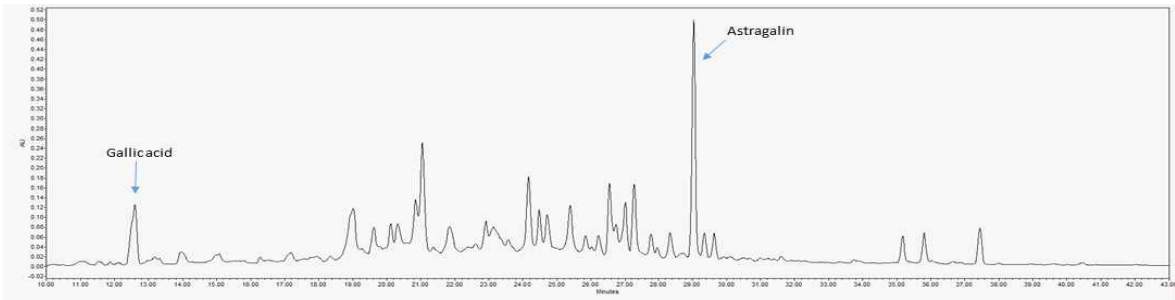
지표성분		Chlorogenic acid(mg/g)
레몬 그라스	남원	5.8
	익산	8.7



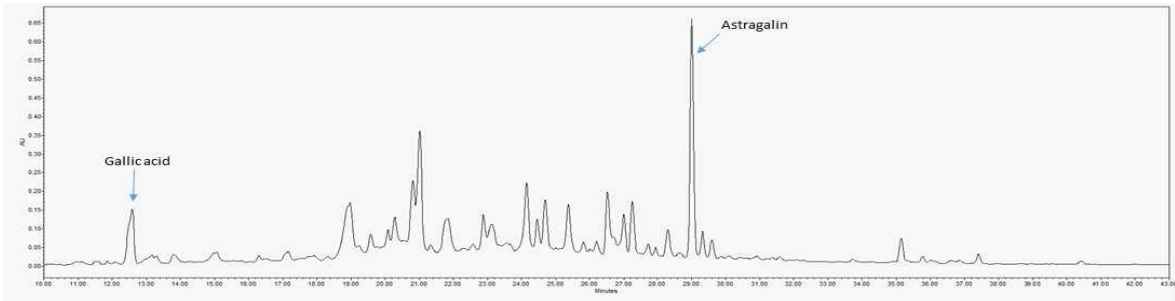
<남원 와송>



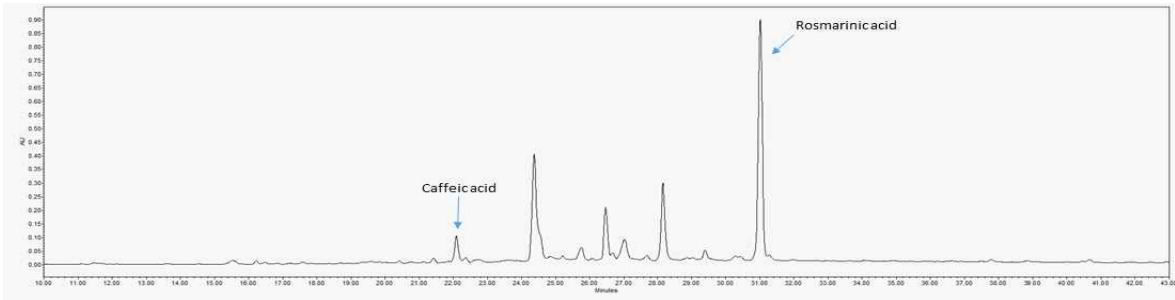
<익산 와송>



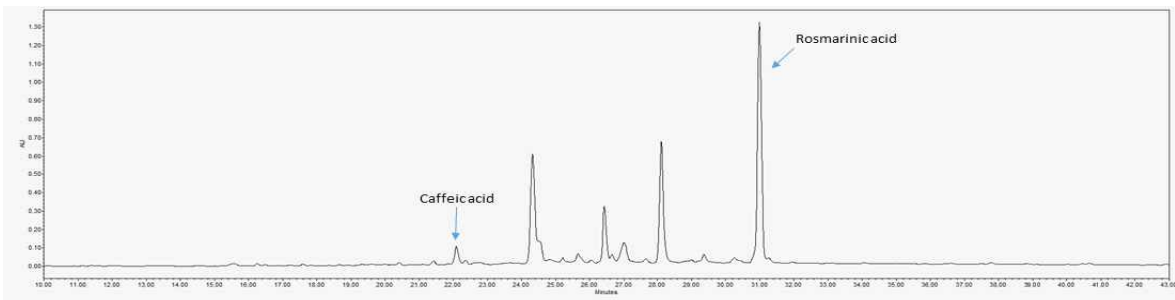
<남원 찜레>



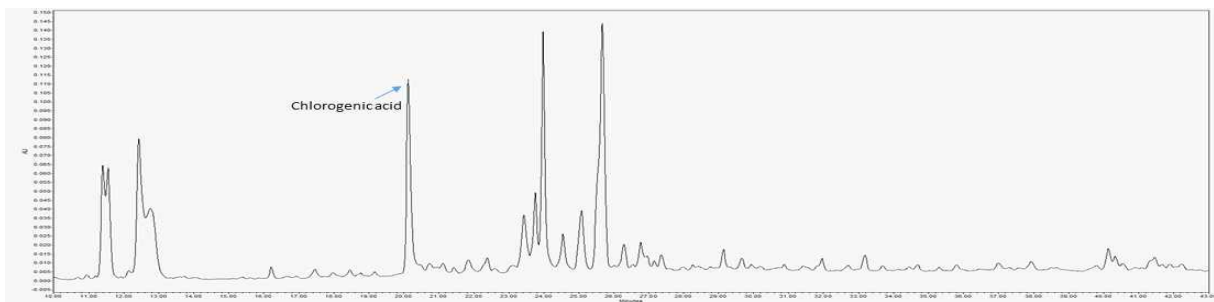
<익산 찜레>



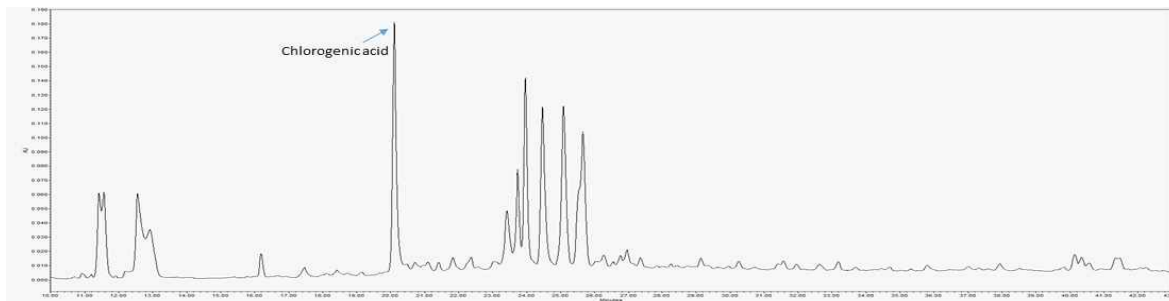
<남원 자소엽>



<익산 자소엽>



<남원 레몬그라스>



<익산 레몬그라스>

- 지표성분 19종에 대한 HPLC 분석을 시행한 결과 와송과 찔레는 Gallic acid, Astragaloside는 Caffeic acid, Rosmarinic acid 레몬그라스는 Chlorogenic acid가 각각 검출되었음. 각 지표성분의 함량을 지역 별로 비교해봤을 때 모든 작목에서 익산지역이 높게 나타났으며 이는 앞서 설명한 바와 같이 평야지인 익산 지역의 높은 대기온도와 광량 그리고 식질토에 가까운 불리한 토성이 작물이 생육하는데 스트레스 요인이 되어 상대적으로 생육은 저조하나 지표성분 함량은 높게 나타난 것으로 판단됨.

3. 3차 년도

3-1. 3차년도 수행 과정 및 수행 내용

가. (주)하이솔(제1세부, 주관)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2019)	남원지역 특화자원을 이용한 제품 개발 및 사업화	하이틴 제품의 제조공정도 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토 ○ 제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립 	<ul style="list-style-type: none"> - 포뮬라 구성 설정 - 원료의 비율 및 제조공정 투입 순서 확인 - 제형의 안정성 및 사용감 테스트
		하이틴 제품의 제형의 제형 및 제제 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 최종 산물에 대한 제형 연구 	<ul style="list-style-type: none"> - 소재를 첨가한 제형의 안정성 평가
		글로벌 마케팅 인프라 구축	<ul style="list-style-type: none"> ○ 카달로그/E 카달로그 개발 ○ 국내외 뷰티관련 세미나, 컨퍼런스 등 행사참여 	<ul style="list-style-type: none"> - E 카달로그 개발 - 2019 in cosmetics Korea
		마케팅	<ul style="list-style-type: none"> ○ 바이럴 마케팅 및 온라인 홍보 	<ul style="list-style-type: none"> - 소셜미디어·온라인 홍보 상시진행
		국내 전시회 및 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 전시회 참가 ○ 홍보물 제작 	<ul style="list-style-type: none"> - 2019 비엠티 베트남 미용 전시회 - 영문 홍보물 제작

1) 하이틴 제품의 제조공정도 개발

○ 제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토

○ 포뮬라 구성 설정 : 스킨(HSF-LLE-001)

- 피부를 청결하게 하고 수분과 보습 성분을 보급하여 피부를 건강하게 유지시키는 스킨케어의 1 단계로 정하고 투명한 수용액의 수용성액상 가용화 타입으로 처방함.
- 각질층에 수분, 보습 성분을 공급할 뿐만 아니라 피부에 긴장감을 주어 과도한 피지나 발汗을 억제하고 피부를 정상적으로 유지하기 위한 스킨으로서 사용 감촉도 산뜻한 것이 특징임.
- 허브수, 금속이온방지제, 보습제, 첨가제(기능), 피부컨디셔닝제, 천연방부대체제, 가용화제, 향료로 설정함.

○ 포뮬라 구성 설정 : 로션(HSF-LSE-001)

- 피부의 신진대사를 활발하게 하여 피부의 생리활성을 촉진하여 각종 피부 스트레스로부터 예방하고 개선하는 스킨케어의 2단계로 정하고 약간의 점조성이 있는 탁한 수용액의 가용화 타입으로 처방함.
- 각질층에 수분, 보습 성분을 공급하여 피부를 유연하고 윤기가 있으며 부드럽고 촉촉하게 만들어 주면서 외부 스트레스로 인해 상한 피부결을 개선하는 것이 특징임.
- 허브수, 점증제, 금속이온방지제, 보습제, 첨가제(기능), 피부컨디셔닝제, 가용화제, 천연방부대체제, 향료로 설정함.

○ 포뮬라 구성 설정 : CC크림(OMC-CME-001)

- 피부를 외부의 자극으로부터 보호하며 피부의 색이나 질감을 바꾸고 결점을 커버해주는 베이스 메이크업 기능과 피부를 지키고 보습과 같은 스킨케어 요소를 도입한 Water in Oil(W/O) 타입으로 처방함.
- 모공을 막지 않는 편안한 사용감과 보송하게 마무리되는 실키 광택이 얼굴에 입체감을 주고 시간이 지나도 각질 부각이 없는 보습이 특징임.
- 실리카와 마이가 함유로 사용 후 산뜻함을 조절하였고 촉촉함이 남아 있도록 보호막 형성의 특징을 갖는 왁스류와 실리콘 등을 선택하여 피부에 보습을 부여하면서 광택을 나타내는 것이 특징임.
- 허브수, 정제수, 폴리올, 계면활성제, 실리콘, 왁스류, 유화제, 방부제, 점증제, 산도조절제, 금속이온방지제, 분말제, 컬러제, 첨가제, 향료로 설정함

○ 제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립

- 원료의 비율 및 제조 공정 투입 순서 확인: 스킨(HSF-LLE-001)
- 허브수와 보습 성분, 피부 컨디셔닝제를 80% 이상 함유함.
- 투명 액상 수성 원료계로 구성 되어 있고 표준 단위 공정은 가열, 용해, 혼합, 냉각 과정이 있음.

단위 공정	표준 공정 순서	조 건
가열 용해 혼합 냉각	1. A 수상의 원료를 칭량하여 투입 교반	온도 : 상온
		시간 : 5±2(분)
		속도: 2000rpm (Agi)
	2. B 수상의 원료를 50도로 가열한 수에 용해	온도:50°C
		시간 : 10±2 (분)
		속도: 2000rpm (Agi)
	3. A상과 B상을 혼합	온도 : 30°C이하
		시간: 5±2(분)
		속도: 2000rpm (Agi)
	4. C 상의 첨가제를 칭량하여 투입 혼합	온도 : 상온
		시간: 5±2(분)
		속도: 2000rpm (Agi)

○ 원료의 비율 및 제조 공정 투입 순서 확인: 로션(HSF-LSE-001)

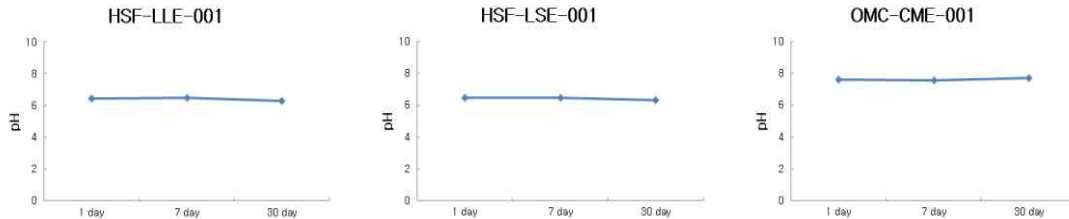
- 글리세린, 히아루론산, 프로필렌글라이콜 등의 보습 성분이 약 25% 이상 함유되고 산뜻한느낌이 더해지도록 에탄올을 2%이내로 함유함.
- 수성원료·고분자 화합물·계면활성제로 구성 되어 있고 표준 단위 공정은 가열, 용해, 혼합, 냉각 과정이 있음.

단위 공정	표준 공정 순서	조 건
가열 용해 혼합 냉각	1. A 수상의 원료를 칭량하여 투입 교반	온도 : 70±5°C
		시간 : 20±2(분)
		속도: 2500rpm (Agi)
	2. B 수상의 원료를 별도 용기에 칭량하여 추가 투입	온도: 70±5°C
		시간 : 10±2 (분)
		속도: 2500rpm (Agi)
	3. 냉각 후 C상을 별도 용기에 칭량하여 서서히 투입	온도 : 50°C이하
		시간: 10±2(분)
		속도: 2500rpm (Agi)
	4. D상과 E상을 차례로 칭량하여 완전 용해 후 투입	온도 : 40°C이하 투입 냉각
		시간: 10±2(분) 반복
		속도: 2500rpm (Agi)

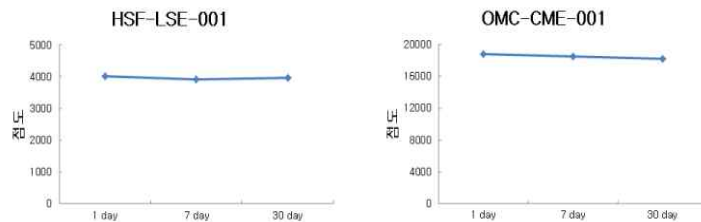
- 원료의 비율 및 제조 공정 투입 순서 확인: CC크림(OMC-CME-001)
- 유상에 왁스류와 실리콘계 성분 비율이 52% 이내로 사용하고 나머지 함량은 보습제, 실리카와 다공성 분말, 칼러제 등으로 함유함.
- 유성원료·계면활성제·색재계로 구성되어 있고 가열, 용해, 혼합, 분산, 냉각 과정이 있음.

단위 공정	표준 공정 순서	조 건
가열 용해 혼합 분산 냉각	1. A 유상의 원료를 칭량하여 투입 교반	온도 : 70±5°C
		시간 : 20±2(분)
		속도: 3000rpm (Homo)
	2. B 수상의 원료를 칭량하여 A상에 투입 교반	온도: 10±5°C
		시간 : 10±2 (분)
		속도: 3000rpm (Homo)
	3. C상을 별도의 용기에 칭량하여 교반하면서 서서히 투입	온도 : 50°C이하
		시간: 10±2(분)
		속도: 3000rpm (Homo)
	4. D 상을 칭량하여 고루 분산 되게 서서히 투입 후 충분히 교반	온도 : 40°C이하 투입 냉각
		시간: 20±2(분)
		속도: 3000rpm (Homo)

- 제형의 안정성 및 사용감 테스트
- 스킨(HSF-LLE-001)의 성상은 흐르는 액상으로 외상은 투명하며, 로션(HSF-LSE-001)의 성상은 점조성을 띠는 매우 묽은 타입의 스킨 에센스형이며 외상은 투명함. CC크림(OMC-CME-001)의 성상은 크림상으로 외상은 흰색을 띰.



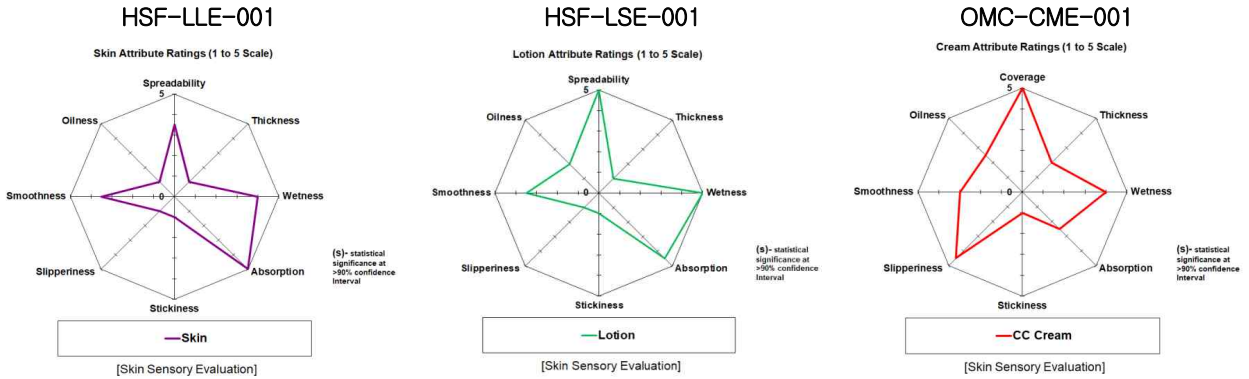
<스킨, 로션, CC크림의 pH 변화>



<로션, CC크림의 점도 변화 >

- 사용감 테스트는 품목별 표준화된 평가 항목을 설정하여 5점 척도법으로 실시함. 1점은 매우 나쁘거나 낮음 (extremetly bad or slight). 5점은 매우 좋거나 강함(extremely good or much)으로 표시하고 방사형 차트화 하였음.
- HSF-LLE-001 제형은 퍼짐성(Spreadability), 무거움(Thickness), 보습력(Wetness), 흡수력(Absorption), 끈적임(Stickiness), 매끄러움(Slipperiness), 부드러움(Smoothness), 유분감(Oilness) 항목으로 진행하였으며 퍼짐성, 보습력, 흡수력, 부드러움에서 높은 점수를 확인하였음.
- HSF-LSE-001 제형은 퍼짐성(Spreadability), 무거움(Thickness), 보습력(Wetness), 흡수력(Absorption), 끈적임(Stickiness), 매끄러움(Slipperiness), 부드러움(Smoothness), 유분감(Oilness) 항목으로 진행하였으며 퍼짐성, 보습력, 흡수력, 부드러움에서 높은 점수를 확인하였음.

- OMC-CME-001 제형은 커버력(Coverage), 무거움(Thickness), 보습력(Wetness), 흡수력(Absorption), 끈적임(Stickiness), 매끄러움(Slipperiness), 부드러움(Smoothness), 유분감(Oiliness) 항목으로 진행하였으며 커버력, 보습력, 매끄러움에서 높은 점수를 확인하였음.



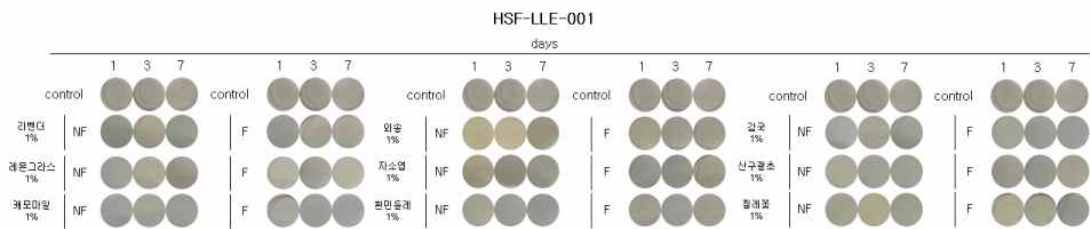
<하이틴 1차 제형의 사용감 테스트 방사척도>

2) 하이틴 제품의 제형 및 제제 개발

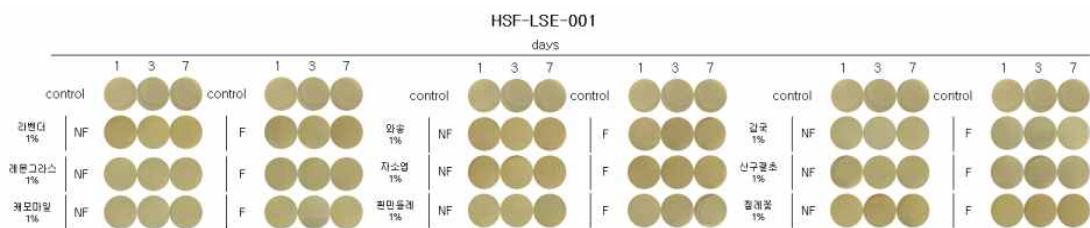
○ 최종산물에 대한 제형연구

- 허브자원을 첨가한 제형의 안정성 평가

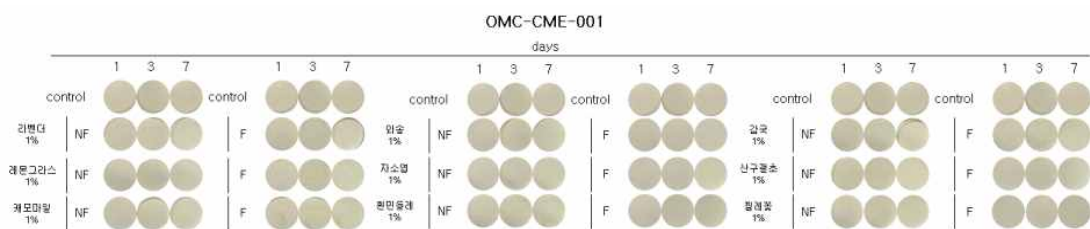
- 남원시화장품산업지원센터에서 공급한 남원 허브 9종의 발효 전후 샘플을 각각 제형에 적용하였을 때 일정 기간별 (1day, 3day, 7day) 제형의 색상, 향, 점도, pH의 변화를 확인함.
- 색상 변화 검토



<발효 전후 샘플을 적용한 스킨의 색상 변화>



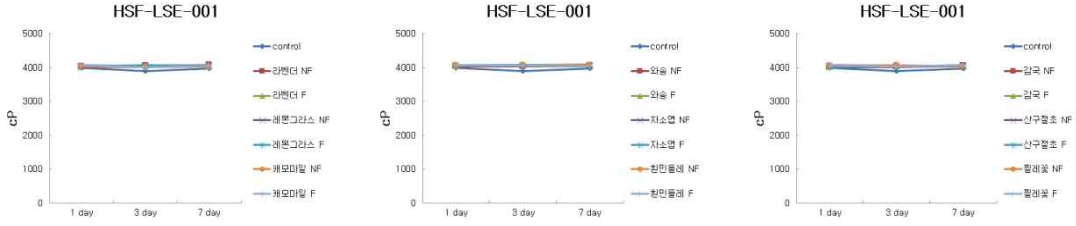
<발효 전후 샘플을 적용한 로션의 색상 변화>



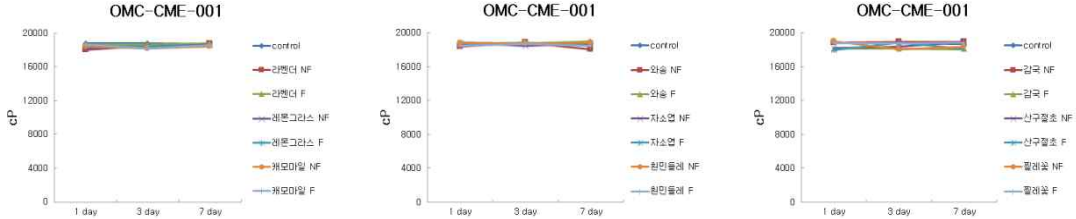
<발효 전후 샘플을 적용한 CC크림의 색상 변화>

*NF : 발효 전, F : 발효 후

- 점도 변화 검토



<발효 전후 샘플을 적용한 로션의 점도 변화>



<발효 전후 샘플을 적용한 CC크림의 점도 변화>

*NF : 발효 전, F : 발효 후

- pH 변화 검토

<발효 전후 샘플을 적용한 제형의 pH 변화>

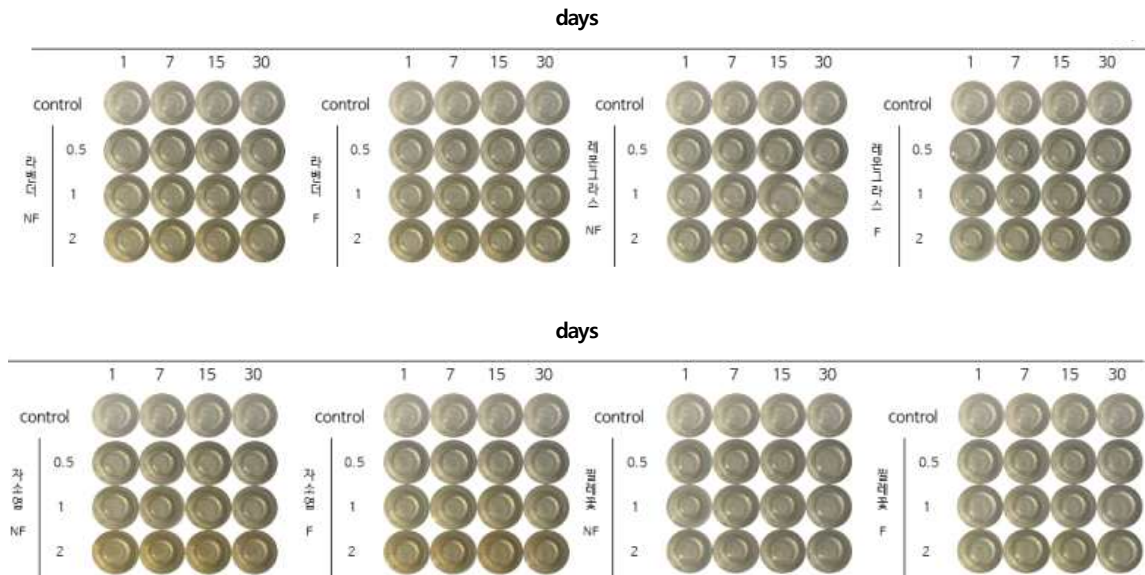
품 목		스킨			로션			CC크림		
		1 day	3 day	7 day	1 day	3 day	7 day	1 day	3 day	7 day
control		6.42	6.50	6.60	6.42	6.50	6.60	7.48	7.50	7.61
라벤더	발효 전	6.30	6.40	6.90	6.38	6.43	6.91	7.38	7.41	7.98
	발효 후	6.30	6.10	6.60	6.30	6.41	6.66	7.59	7.48	7.66
레몬그라스	발효 전	6.60	6.50	6.93	6.60	6.50	6.93	7.65	7.52	7.93
	발효 후	6.48	6.48	6.44	6.58	6.59	6.54	7.82	7.88	7.84
캐모마일	발효 전	6.51	6.57	6.59	6.51	6.87	6.59	7.51	7.87	7.59
	발효 후	6.35	6.49	6.68	6.35	6.69	6.68	7.69	7.89	7.68
와송	발효 전	6.68	6.45	6.90	6.68	6.45	6.90	7.68	7.45	7.91
	발효 후	6.49	6.52	6.48	6.50	6.55	6.48	7.91	7.52	7.88
자소엽	발효 전	6.80	6.53	6.3	6.55	6.78	6.39	7.66	7.54	7.93
	발효 후	6.46	6.20	6.65	6.81	6.51	6.65	7.83	7.88	7.84
흰민들레	발효 전	6.43	6.48	6.50	6.43	6.48	6.50	7.51	7.87	7.59
	발효 후	6.46	6.50	6.30	6.60	6.50	6.30	7.65	7.89	7.68
감국	발효 전	6.50	6.59	6.48	6.35	6.89	6.68	7.68	7.45	7.95
	발효 후	6.55	6.47	6.39	6.68	6.45	6.90	7.90	7.92	7.88
산구절초	발효 전	6.81	6.51	6.65	6.90	6.52	6.88	7.34	7.10	7.65
	발효 후	6.38	6.45	6.35	6.80	6.53	6.30	7.62	7.50	7.93
쫄레꽃	발효 전	6.53	6.28	6.57	6.60	6.20	6.65	7.88	7.88	7.84
	발효 후	6.48	6.49	6.48	6.43	6.48	6.50	7.51	7.57	7.59

- 남원허브 9종 발효 전후 샘플을 각각 제형에 적용하였을 때 제형의 색상, 향, pH, 점도에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 확인되었으나, 발효물(전)에 비하여 발효물(후)을 적용하였을 때 색상의 변화량에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타남.

o 최종 선정된 허브자원 발효물을 첨가한 제형의 안정성 평가

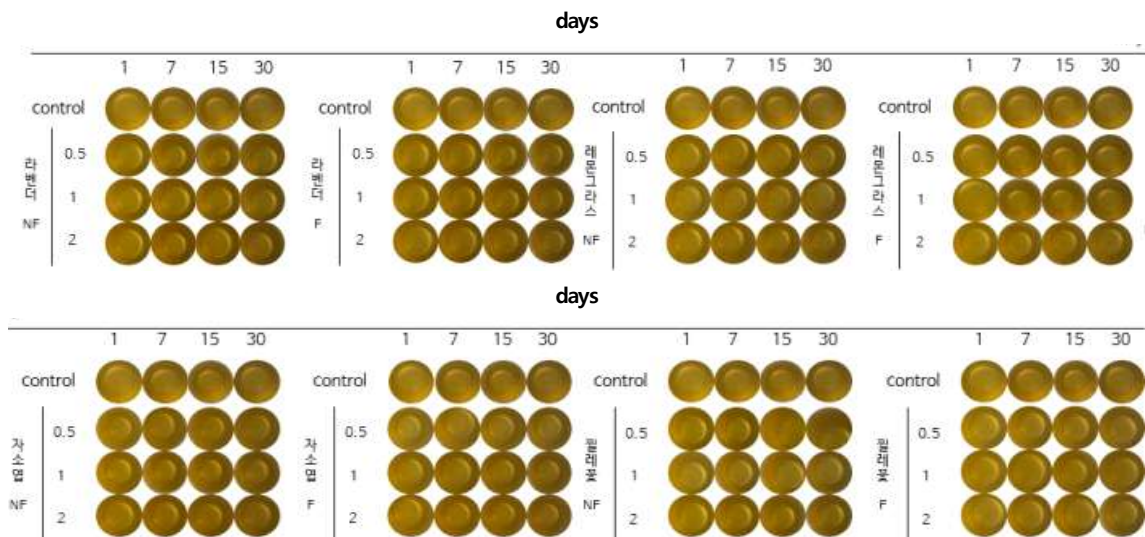
- 최종 선정된 허브 자원 발효물을 각각 제형에 적용하였을 때 일정 기간별 (1day, 7day, 15day, 30day) 제형의 색상, 향, 점도, pH에 영향이 없는 적정 함량을 확인함.

- 색상 변화 검토



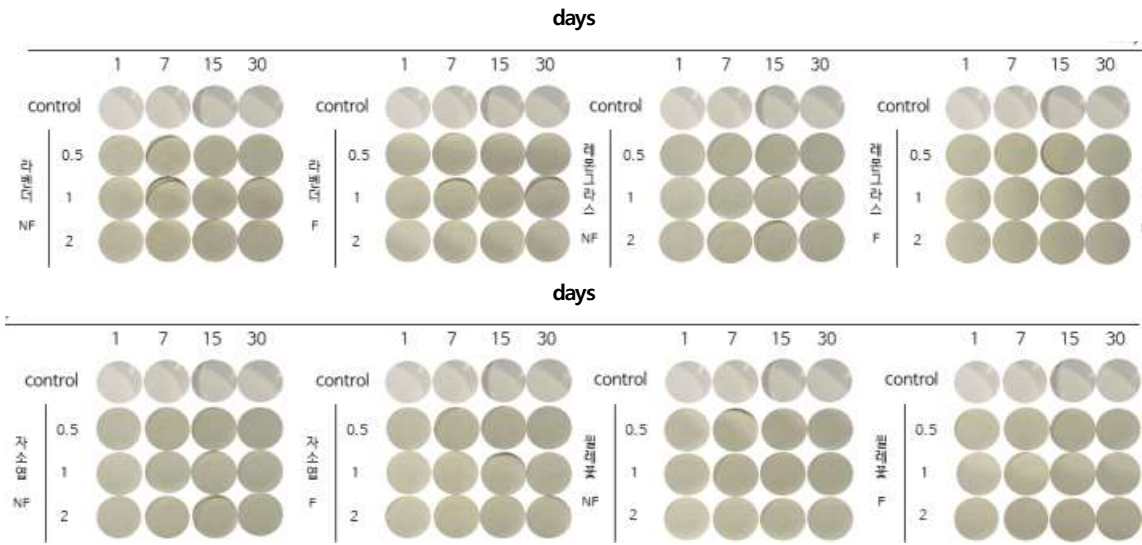
<발효물을 적용한 스킨의 색상 변화>

*NF : 발효 전, F : 발효 후



<발효물을 적용한 로션의 색상 변화>

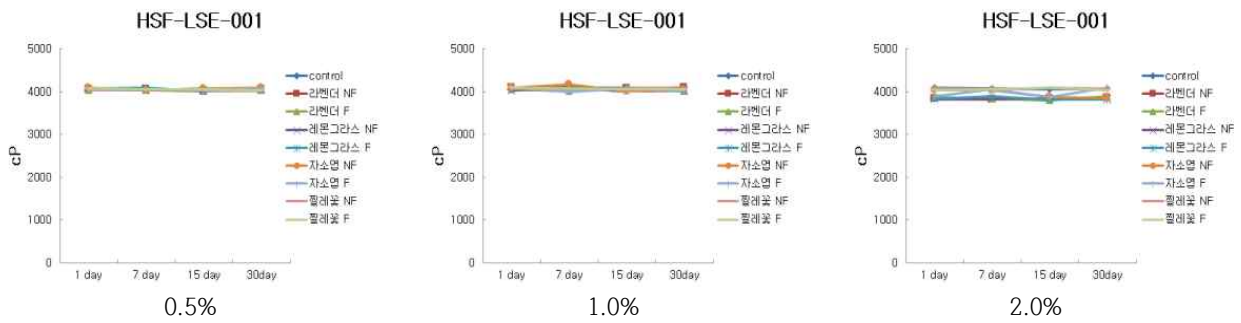
*NF : 발효 전, F : 발효 후



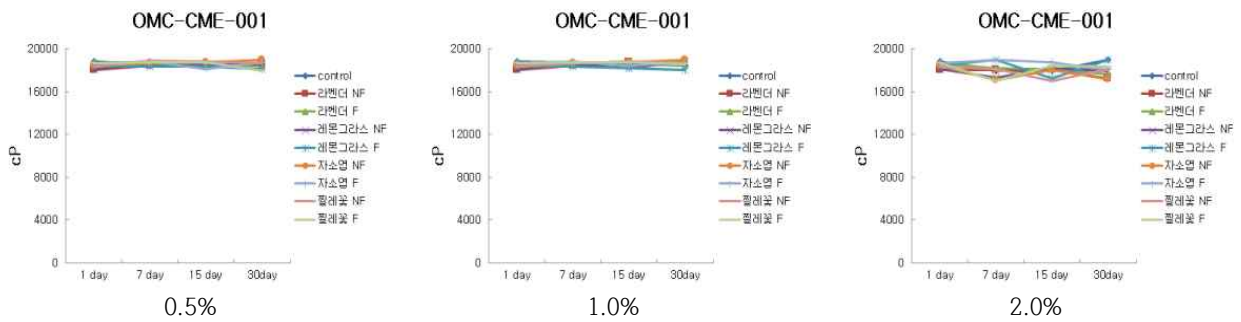
<발효물을 적용한 스킨의 정상 변화>

*NF : 발효 전, F : 발효 후

- 점도 변화 검토



<발효물을 적용한 로션의 점도 변화>



<발효물을 적용한 CC크림의 점도 변화>

*NF : 발효 전, F : 발효 후

- pH 변화 검토

<발효물을 0.5% 적용한 스킨의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		6.48	6.52	6.45	6.47
라벤더	발효 전	6.68	6.45	6.53	6.6
	발효 후	6.59	6.52	6.55	6.47
레몬그라스	발효 전	6.52	6.53	6.51	6.61
	발효 후	6.66	6.41	6.48	6.50
자소엽	발효 전	6.43	6.48	6.49	6.53
	발효 후	6.67	6.58	6.32	6.48
찔레꽃	발효 전	6.59	6.56	6.48	6.59
	발효 후	6.55	6.48	6.39	6.68

<발효물을 1.0% 적용한 스킨의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		6.35	6.48	6.40	6.65
라벤더	발효 전	6.46	6.45	6.48	6.51
	발효 후	6.48	6.52	6.52	6.35
레몬그라스	발효 전	6.59	6.53	6.63	6.48
	발효 후	6.41	6.55	6.47	6.39
자소엽	발효 전	6.48	6.54	6.61	6.51
	발효 후	6.52	6.35	6.38	6.45
찔레꽃	발효 전	6.53	6.69	6.53	6.58
	발효 후	6.55	6.68	6.66	6.59

<발효물을 2.0% 적용한 스킨의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		6.81	6.51	6.89	6.68
라벤더	발효 전	6.38	6.45	6.45	6.98
	발효 후	6.53	6.28	6.52	6.88
레몬그라스	발효 전	6.82	6.53	6.34	6.32
	발효 후	6.61	6.46	6.65	6.65
자소엽	발효 전	6.43	6.48	6.52	6.51
	발효 후	6.68	6.50	6.39	6.37
짚레꽃	발효 전	6.28	6.57	6.89	6.48
	발효 후	6.49	6.48	6.78	6.39

<발효물을 0.5% 적용한 로션의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		6.53	6.55	6.61	6.59
라벤더	발효 전	6.80	6.88	6.97	6.76
	발효 후	6.86	6.98	7.25	7.17
레몬그라스	발효 전	6.92	7.15	6.81	6.95
	발효 후	6.68	6.54	6.59	6.63
자소엽	발효 전	6.98	6.89	6.75	6.85
	발효 후	6.89	6.58	6.72	6.67
짚레꽃	발효 전	6.77	6.88	6.99	6.88
	발효 후	6.82	6.92	6.83	6.91

<발효물을 1.0% 적용한 로션의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		6.48	6.52	6.52	6.54
라벤더	발효 전	6.53	6.50	6.65	6.68
	발효 후	6.36	6.68	6.45	6.49
레몬그라스	발효 전	6.64	6.59	6.62	6.58
	발효 후	6.53	6.48	6.42	6.52
자소엽	발효 전	6.51	6.58	6.53	6.64
	발효 후	6.35	6.43	6.34	6.34
짚레꽃	발효 전	6.68	6.81	6.88	6.68
	발효 후	6.63	6.51	6.58	6.59

<발효물을 2.0% 적용한 로션의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		6.81	6.95	6.95	7.08
라벤더	발효 전	6.59	6.63	6.68	6.34
	발효 후	6.71	6.85	6.96	6.89
레몬그라스	발효 전	6.74	6.67	6.89	6.07
	발효 후	6.99	6.88	6.97	6.76
자소엽	발효 전	6.83	6.98	6.61	6.28
	발효 후	6.78	6.39	6.83	6.88
짚레꽃	발효 전	6.51	6.65	6.51	6.30
	발효 후	6.48	6.58	6.35	6.89

<발효물을 0.5% 적용한 CC크림의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		7.59	7.58	7.67	7.64
라벤더	발효 전	7.63	7.54	7.59	7.69
	발효 후	7.56	7.61	7.74	7.57
레몬그라스	발효 전	7.62	7.50	7.63	7.63
	발효 후	7.81	7.88	7.84	7.82
자소엽	발효 전	7.51	7.87	7.59	7.91
	발효 후	7.72	7.89	7.68	7.7
짚레꽃	발효 전	7.68	7.65	7.69	7.62
	발효 후	7.98	7.85	7.88	7.83

<발효물을 1.0% 적용한 CC크림의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		7.64	7.65	7.53	7.59
라벤더	발효 전	7.82	7.86	7.88	7.84
	발효 후	7.54	7.51	7.49	7.59
레몬그라스	발효 전	7.67	7.53	7.69	7.68
	발효 후	7.85	7.68	7.85	7.91
자소엽	발효 전	7.51	7.66	7.62	7.68
	발효 후	7.49	7.68	7.45	7.55
짚레꽃	발효 전	7.68	7.67	7.52	7.59
	발효 후	7.49	7.36	7.41	7.62

<발효물을 2.0% 적용한 CC크림의 pH 변화>

품 목		1 day	7 day	15 day	30 day
control		7.44	7.59	7.52	7.67
라벤더	발효 전	7.89	7.68	7.54	7.59
	발효 후	7.45	7.84	7.68	7.64
레몬그라스	발효 전	7.89	7.59	7.55	7.19
	발효 후	7.54	7.68	7.88	7.22
자소엽	발효 전	7.33	7.91	7.87	7.59
	발효 후	7.38	7.45	7.24	7.25
짚레꽃	발효 전	7.59	7.52	7.88	7.21
	발효 후	7.88	7.50	7.93	7.59

- 선택된 4종의 허브자원 라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 짚레꽃의 발효물(전, 후) 0.5%, 1%, 2%를 각각 제형에 적용하였을 때 발효물(후)가 발효물(전)에 비해 제형의 색상 변화에 영향을 많이 미치지 않는 것으로 나타남. 발효물의 함유량이 높아질수록 pH, 점도의 변화량 또한 높아지는 것을 확인함. 제형의 색상, 향, pH, 점도에 영향을 주지 않는 발효물의 함유량은 1%이내인 것으로 확인함.

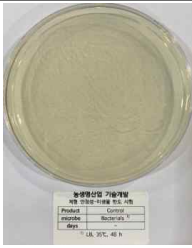
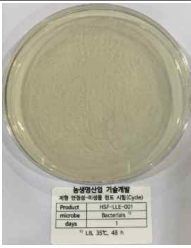
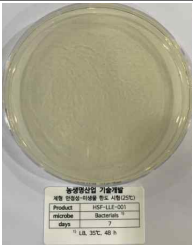
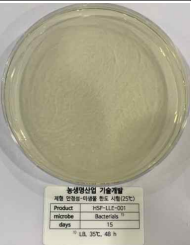
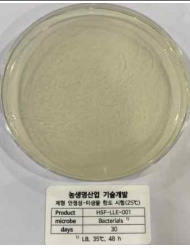








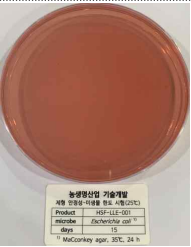

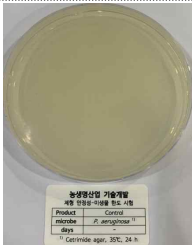
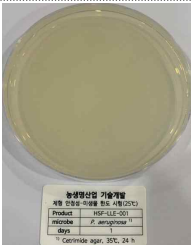

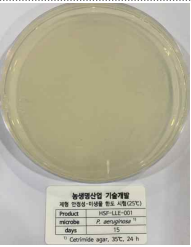
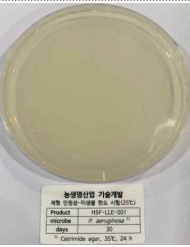
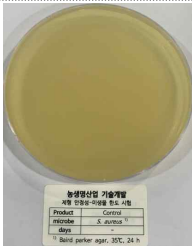
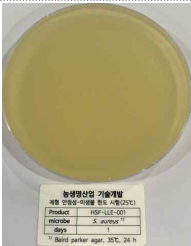
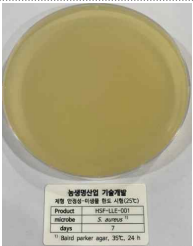

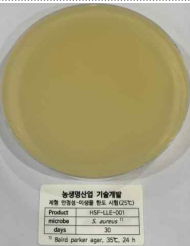
○ 개발 제형의 미생물 한도시험

- 총 생균수(세균) : 0.9% NaCl로 10배 희석한 제형 1 ml을 채취하여 petri dish에 넣고, 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균인 후 35°C의 Incubater에서 48시간 이상 배양함.
- 총 생균수(진균) : 0.9% NaCl로 희석한 제형 1ml을 채취하여 petri dish에 넣고 그 위에 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균인 후 30°C의 Incubater에서 120시간 이상 배양함.
- 대장균 : Lactose broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 MacConkey agar에 획선도말하여 35°C의 Incubater에서 24시간 배양함.
- 녹농균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Cetrimide agar에 획선도말하여 35°C의 Incubater에서 24시간 배양함.
- 황색포도상구균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Baird parker agar에 획선도말하여 35°C의 Incubater에서 24시간 배양함.





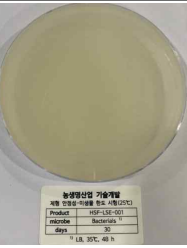






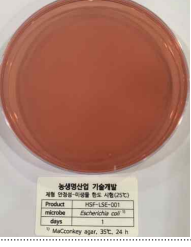



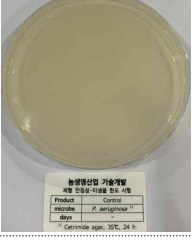
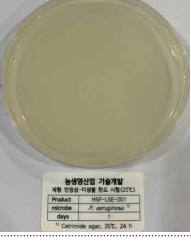
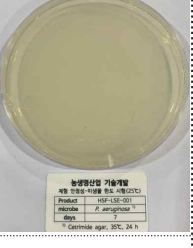
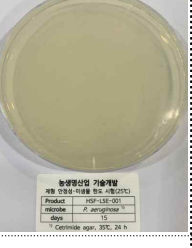
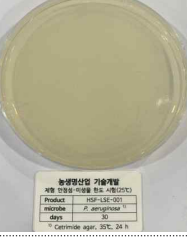
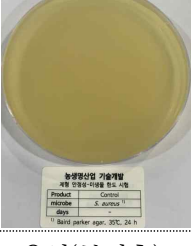


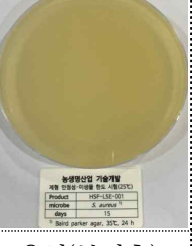

○ 제형의 미생물 한도시험 결과

- 1, 7, 15, 30일 총 4회 제형의 미생물 한도시험을 진행하여 안정성을 확인함. 그 결과는 아래 나열한 그림과 같으며, 스킨(HSF-LLE-001), 로션(HSF-LSE-001), CC크림(OMC-CME-001) 제형 모두 총생균수(세균, 진균)에서 500 CFU/g 이하로 확인함. 또한 특수미생물(대장균, 녹농균, 황색포도상구균)에서 집락이 확인되지 않아 제형이 안전한 것으로 확인됨.













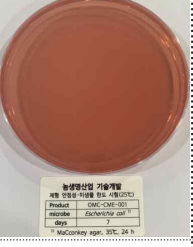
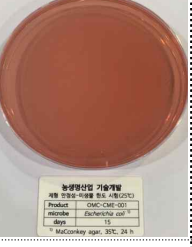

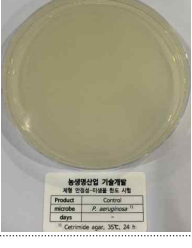
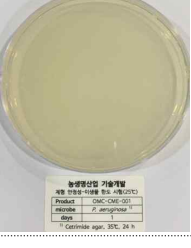
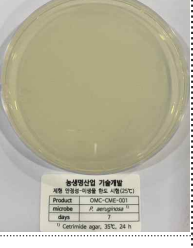
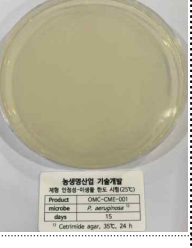
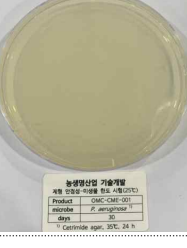
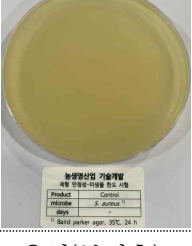


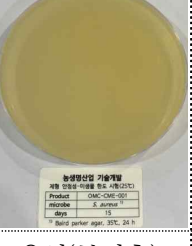
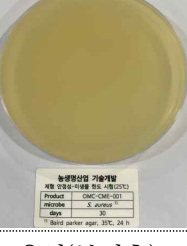
< 1, 7, 15, 30일간 스킨 제형(HSF-LLE-001)의 미생물 한도 시험>

구 분	결 과				
	Control	1일차	7일차	15일차	30일차
총생균수 (Bacterials)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (Fungus)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (E. coli)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
황색포도상구균 (S. aureus)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

< 1, 7, 15, 30일간 로션 제형(HSF-LSE-001)의 미생물 한도 시험>

구 분	결 과				
	Control	1일차	7일차	15일차	30일차
총생균수 (Bacterials)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (Fungus)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (E. coli)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
황색포도상구균 (S. aureus)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

< 1, 7, 15, 30일간 CC크림 제형(OMC-CME-001)의 미생물 한도 시험>

구 분	결 과				
	Control	1일차	7일차	15일차	30일차
총생균수 (Bacterials)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (Fungus)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (E. coli)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
황색포도상구균 (S. aureus)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

3) 글로벌마케팅 인프라 구축

○ E 카달로그 개발

- 개발 브랜드 및 제품 안내책자로 “Lymphodia Shopping Book” E카달로그를 제작
<http://lymphodia.co.kr/ebook/type2>



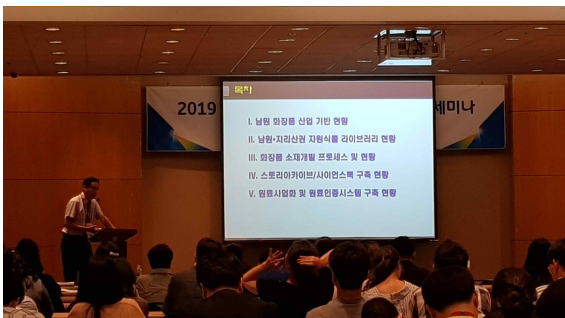
○ 국내외 뷰티관련 세미나, 컨퍼런스 등 행사참여

- 2019 in-cosmetics korea (Seoul·Coex·17-19 June 2020)

- 화장품 원료 규제 동향 및 과학·기술 세미나에 참가하여 “남원·지리산권 자원식물을 활용한 화장품 소재 개발 프로세스”를 주제로 행사에 참여함.

in-cosmetics[®]
korea

Seoul • 26-28 June 2019



4) 마케팅

○ 바이럴 마케팅 및 온라인 홍보

○ 바이럴 마케팅

- 네이버 블로그 마케팅

디톡 화장품 림포디아 부스팅 매직 오두 버블 폼 2018.02.03
 화장피부인데 림포디아 부스팅 매직 오두 버블 폼 사용하고 깨끗해진 얼굴 밝아지고 당감
 없어 아주 맘에 들어요~!! 집안화장이시라면 2차세안제로 사용하세요....
 새로 시작 blog.naver.com/790hee/221200242622

메스트래브아이엘 림포디아 부스팅 매직 오두버블폼 2019.07.20
 해요~♥ 아분따 구매하러 가라 ↓↓↓↓ 림포디아 부스팅 매직 오두 버블폼 120ml 버블버
 블 거품으로 모공속 노폐물과 각질, 보습까지 아낌없이 챙겨줘 lymphodia.co.kr
 주부생활의 여왕... blog.naver.com/estellekim/221590303036 블로그 내 검색

디톡 화장품 림포디아 슬리핑 마스크팩 나도이제 피부미인~ 2018.01.12
 #디톡화장품 #림포디아 디톡 화장품 림포디아 슬리핑 마스크팩 여쁜피부로... 부스팅 매직
 슬리핑 마스크팩 용량120g 가격:99,000원 불필요하게 쌓인 각질이나...
 영아랑하니네 달콤한... blog.naver.com/pkyl225/221183889418

천연화장품 림포디아 :: 슬리핑 마스크 2014.03.18
 천연화장품 림포디아 :: 슬리핑 마스크 안녕하세요! 윤민님! *~* 림포디아와... 이게 보습
 은 확실하. 바르기만 하면 장영인 림포디아 슬리핑 마스크가 제격이네요...
 윤앤퀵 WORLD blog.naver.com/o_luxp/70186936308 블로그 내 검색

남자화장품추천 림포디아 옴므한센솔인원 2018.10.29
 남자화장품추천 림포디아 옴므한센솔인원 저희집 남자의 피부를 위해 선택한... 건강한 옴
 牡한센솔인원 문제성 피부 진정에 효과적인 자연유래 추출물들이...
 ♡~ 만무아 & 잘마... blog.naver.com/twjdfldkd74/221385470027 블로그 내 검색

요즘은 솔인원 로션이 대체 / 림포디아 옴므 한센 솔인원 2018.11.15
 남자의 솔인원 로션. 림포디아 옴므 한센 솔인원을 만나보았다. 나같이 스킨 바르고... 림
 포디아 옴므 한센 솔인원은 내 피부에 딱인 제품이다라. 건조하고, 푸석하고...
 별걸 다하는 연구소 blog.naver.com/abc_bridge/22139395068

림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크 리뷰
REVIEW

“다른님의 뷰티 블로그의 후기
 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크 리뷰
 안녕하세요! 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크 리뷰입니다.
 저는 피부가 건조하고 민감한 편입니다. 특히 겨울에는 피부가 더욱 건조해지고
 각질이 많이 쌓이게 됩니다. 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크를 사용해보고
 보니 정말 피부가 좋아졌습니다. 특히 밤에 사용하면 아침에 일어나면 피부가
 훨씬 촉촉하고 부드러워집니다. 정말 피부미인들에게 추천하고 싶은 제품
 같습니다. 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 정말 피부미인들에게
 추천하고 싶은 제품입니다. 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 정말
 피부미인들에게 추천하고 싶은 제품입니다.

“후이영님의 뷰티 블로그의 후기
 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크 리뷰
 안녕하세요! 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크 리뷰입니다.
 저는 피부가 건조하고 민감한 편입니다. 특히 겨울에는 피부가 더욱 건조해지고
 각질이 많이 쌓이게 됩니다. 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크를 사용해보고
 보니 정말 피부가 좋아졌습니다. 특히 밤에 사용하면 아침에 일어나면 피부가
 훨씬 촉촉하고 부드러워집니다. 정말 피부미인들에게 추천하고 싶은 제품
 같습니다. 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 정말 피부미인들에게
 추천하고 싶은 제품입니다. 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 정말
 피부미인들에게 추천하고 싶은 제품입니다.

올인원인 디톡화 림포디아 매직 버블 폼을 통해 피부결을 개선하는데 도움을 주고 있는 거를
 아요
 이후 림포디아의 부스팅 매직 슬리핑 마스크(옴므)까지 구매하게 되어서
 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크(옴므)까지 구매하게 되어서
 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크(옴므)까지 구매하게 되어서

- 인스타 마케팅

lymphodiashop ...
 좋아요 11개
 lymphodiashop

k7eom · 팔로우 ...
 좋아요 171명
 림포디아에서 어떤 세로 나온 #신제품 #홍남현영원
 림포디아 옴므 한센 솔인원... 다 보기

lymphodiashop · 팔로우 ...
 좋아요 45개
 lymphodiashop
 림포디아 #신제품... 다 보기

yesinmokpo · 팔로우 ...
 좋아요 47개
 yesinmokpo 옴므 화장품 테스트 영상! 1
 무언가... 다 보기

yumihera · 팔로우 ...
 좋아요 19개
 yumihera lymphodiashop 옴므 부스팅 매직 림포디아 부
 스팅 매직 슬리핑 마스크 120ml 용량... 다 보기

lymphodiashop · 팔로우 ...
 좋아요 32개
 lymphodiashop
 림포디아 옴므 한센 솔인원... 다 보기

hyo_jing · 팔로우 ...
 좋아요 77개
 hyo_jing 림포디아 옴므 한센 솔인원... 다 보기

166cm47kg · 팔로우 ...
 좋아요 54개
 166cm47kg
 자기 전에 슬리핑 마스크... 다 보기

lymphodiashop ...
 좋아요 110개
 lymphodiashop [lymphodia_Cosmetic]
 옴므 부스팅 매직 슬리핑 마스크... 다 보기

yong_412 · 팔로우 ...
 좋아요 11개
 yong_412 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크... 다 보기



- Youtube 마케팅

o 온라인 홍보

- 온라인 홍보 뉴스카드 제작

5) 국외 전시회 및 네트워킹

○ 국외 전시회 참가

○ 2019 비엠티뷰티 베트남 미용 전시회(호치민 사이공 엑시비전&컨벤션 센터, 08.22-08.24)

- 동남아시아 시장 진출을 위한 바이어간의 네트워킹 형성으로 개발제품 시연, 제품 수출 정보 공유 및 상담을 통해 현지인들의 요구를 파악하고 기업과 개발제품에 대한 홍보 진행



나. (재)남원시화장품산업지원센터(제1협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2019)	남원지역 특화자원의 소재개발 및 효능평가	소재가공 및 효능 평가	○ 발효균주 선발(효모, 유산균)	- 효모 5종, 유산균 5종 균주 테스트 - 원료함량: 2% - 추출용매 및 시간: 물, 4시간 - 발효접종: 4%(10 ⁷ CFU/ml) - 발효시간: 24, 48시간 - 항산화효능평가(DPPH, 폴리페놀) - 유산균 487 선정
			○ 발효조건 최적화 연구	- 추출용매, 추출시간, 발효접종 균수 배양시간, 발효 후 공정 등 제조공정표준화 - 원료함량: 5% - 추출용매 및 시간: 물, 4시간 - 발효접종: 5%(10 ⁷ CFU/ml) - 발효시간: 24시간
			○ 발효 전후 생리활성탐색 (미백, 주름, 보습)	- 발효 전후 시료 효능평가 - 미백: L-DOPA, Tyrosinase 활성 : 발효전후 차이 없음 - 주름: Elastase, MMP-1 activity : 찔레 발효 후 우수 - 보습: 히알루론산 생성유전자(HAS-1, -2, -3) : 찔레, 레몬그라스, 산구절초 발효 후 우수
			○ 발효 전후 관능성 평가	- 발효 전후 용해도 평가: 라벤더, 레몬그라스, 감국, 캐모마일, 와송, 찔레 발효 후 용해도 증가 - 발효 전후 색도비교 : 라벤더, 와송, 자소엽, 찔레 발효 후 명도 및 채도 증가 : 레몬그라스, 감국 발효 후 명도 증가

1) 소재가공 및 효능 평가

○ 발효균주 선발(효모, 유산균)

○ 시료추출

- 추출방법 : 허브 3종(레몬그라스, 라벤더, 캐모마일) 건조물 20 g에 물 1 L를 넣고 환류냉각장치를 부착한 히팅 맨틀을 이용하여 100°C에서 2시간 동안 가열 추출하였고, 이것을 2회 반복하였음. 추출물은 종이여과지(ADVANTEC No. 2, Adventec Toyo Kaisha, Tokyo, Japan)를 이용 1차 여과하고, 2차로 0.22 µm filter로 여과한 뒤 감압농축(R-100, BUCHI, Flawil, Switzerland) 후 동결건조기를 이용하여(MCFD8508, ILSHIN, Gyeonggi-do, Korea) 농축한 시료를 동결건조 하였음.

○ 천연소재발효에 사용한 균주정보

- 사용균주 : 균주의 경우 순창발효미생물산업진흥원에서 분양을 받았으며, 유산균의 경우 생물전환 활성 균주 5종을 대상으로 하였고, 효모의 경우 일반적으로 식품 원료로 많이 사용되는 균주 5종을 선발하였음.

<발효에 사용한 유산균 5종 및 효모 5종>

SC Number	Strain (species)	SC Number	Strain (species)
SCML379	<i>Lactobacillus brevis</i>	SCML31	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SCML380	<i>Lactobacillus brevis</i>	SCML32	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SCML447	<i>Lactobacillus brevis</i>	SCML33	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SCML507	<i>Lactobacillus sakei</i>	SCML34	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SCML467	<i>Lactobacillus brevis</i>	SCML138	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>

○ 발효 조건확립

- 발효공정 : MRS agar plate에 배양한 선발 균주 10종을 Lactobacilli MRS broth (BD Difco) 4 mL에 하나의 콜로니를 각각 접종하여 30°C에서 18시간 전 배양하였음. 전 배양한 균주배양액을 Lactobacilli MRS broth 4 mL에 각 균주를 4%(1.0 x 10⁷ CFU/mL, OD₆₀₀ = 0.8-1.0)씩 접종하여 30°C에서 24시간 분 배양하였음. 배양상등액을 원심분리(13,000 rpm, 4°C, 30분) 및 세척(DW)을 2회 반복하여 균체로부터 배지 성분을 제거한 후 균체를 각 천연소재 열수추출물 4ml에 4%씩 균주를 접종하여 30°C에서 48시간 배양하면서 24시간 단위로 배양액을 회수하였음.

○ 항산화 효능 분석

- 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay : DPPH법에 의한 전자 공여능의 측정은 Blois 방법에 따라 측정, 각 시료 용액 20 µL에 100 µM로 에탄올에 희석한 DPPH 용액 180 µL을 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 microplate reader를 이용해 517 nm에서 흡광도를 측정하였음. 전자공여능은 시료용액의 첨가 균과 무첨가균의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었음.

$$\% \text{ Inhibition} = [1 - (\text{Abs}/\text{Abc})] \times 100$$

Abs : Absorbance of DPPH solution with sample at 517nm

Abc : Absorbance of DPPH solution without sample at 517nm

- 폴리페놀함량 측정 : 폴리페놀 함량은 건강기능식품 플랫폼의 항산화 시험관내 및 세포실험법 중의 총 페놀 함량 측정(977-978)법을 이용하여 분석하였고, 표준 검량선은 Gallic acid (Sigma, 27645)을 이용하여 작성하여, 표준곡선을 통해 시료 중의 총 폴리페놀 함량을 분석하였음.
- 항산화 측정결과 : 발효 후에 비해 항산화 활성이 다소 증가하기는 하지만 유의적인 증가는 보이지 않았으며, 3종의 허브소재에 대한 유산균 5종과 효모 각 5종 평균 항산화능(DPPH, 폴리페놀)을 비교하였을 때 유산균 467번의 항산화능력이 가장 높았으므로 10종의 균주 중 유산균 467을 선택하였음. 그리고 24시간과 48시간 배양에 따른 항산화 활성 변화는 크지 않았으며, 오히려 48시간 배양 시 항산화 활성 감소 경향을 보이므로 24시간 발효 조건을 확정하였음.

<항산화 활성 측정결과>

시료	DPPH Inhibition(%)										
	대조군	유산균						효모			
		379	380	447	507	467	31	32	33	34	138
레몬그라스	65.8	71.1	70.6	71.1	71.6	71.3	69.8	70.8	70.8	70.6	72.3
24시간 라벤더	62.7	69.5	69.8	69.7	70.1	70.3	67.5	68.0	67.6	67.7	69.6
캐모마일	69.8	72.3	71.9	72.3	73.0	73.8	73.6	72.6	73.6	73.5	74.2
레몬그라스	65.8	70.6	69.9	70.8	71.3	69.9	69.5	69.2	69.8	69.2	69.1
48시간 라벤더	62.7	68.5	68.6	67.7	68.2	68.5	65.3	64.7	65.2	65.8	65.7
캐모마일	69.8	71.8	71.7	71.1	71.3	72.2	72.0	71.3	71.9	72.0	71.9

시료	총폴리페놀함량(µg/mg)										
	대조군	유산균						효모			
		379	380	447	507	467	31	32	33	34	138
레몬그라스	191.9	187.4	183.3	193.2	196.4	194.2	183.5	177.0	185.5	182.2	186.0
24시간 라벤더	391.3	406.7	423.7	405.7	402.1	416.3	414.5	411.2	397.3	390.7	400.1
캐모마일	489.1	490.4	495.9	482.3	490.5	489.4	482.4	469.0	475.4	470.2	473.4
레몬그라스	191.9	191.4	190.9	194.4	194.7	191.6	190.2	182.8	182.2	181.2	185.2
48시간 라벤더	391.3	403.9	398.9	406.1	407.2	385.9	395.9	396.7	389.2	379.0	319.7
캐모마일	489.1	494.6	484.5	471.3	477.8	478.0	470.1	451.3	480.0	470.7	448.6

○ 발효조건 최적화 연구

○ 발효조건 확립

- 허브 9종의 건조물 100 g에 물 2 L를 넣고 환류냉각장치를 부착한 히팅 맨틀을 이용하여 100°C에서 4시간 동안 가열 추출하였음. 추출물은 부직포를 이용하여 1차 여과하고, 종이여과지(Whatman No 4, Whatman No 3, Whatman No 5)를 이용하여 순차적으로 2차 여과한 후 여과된 추출물은 감압농축기를 이용하여 50°C에서 농축하고, 동결건조기를 이용하여 동결 건조하여 발효 전 추출물을 제조하였음. 그리고 발효추출물을 제조하기 위하여 선별 유산균(*Lactobacillus brevis* SCLM467)은 MRS agar plate에서 자란 single colony로부터 5 mL MRS broth에서 30°C에서 24시간 배양한 후 이를 400 mL MRS broth에 1% (v/v)로 접종 후 30°C에서 150 rpm으로 24시간 진탕 배양하였음. 유산균 배양액은 3000rpm, 30분 원심분리하여 균체만 회수한 후 OD₆₀₀=0.5가 되도록 부유하여 허브 9종에 각 5% (v/v)씩 접종한 후 30°C, 160rpm에서 24시간동안 배양한 후 균체를 제거하기 위하여 9,000rpm에서 40분 동안 원심분리한 후 상층액을 분리하여 121°C, 5분간 멸균한 다음 감압농축한 후 동결건조하여 발효 추출물을 제조하였음. 또한, 유산균의 성장 여부를 판단하기 위해 0시간, 24시간 단위로 MRS agar plate에 배양하여 생균수를 확인하였는데 발효 전과 비교하였을 때 모든 시료에서 생균수가 증가하였으며, 가장 많이 증가한 순으로 산구절초, 찔레, 라벤더, 감국, 흰민들레, 캐모마일, 레몬그라스, 자소엽, 와송 순이었음.

<발효 전후 생균수 측정>

품목	시간	생균수(Log CFU/ml)
라벤더	0	7.21
	24	9.59
레몬그라스	0	7.23
	24	8.58
케모마일	0	7.19
	24	8.89
와송	0	7.25
	24	8.19
자소엽	0	7.24
	24	8.58
흰민들레	0	7.17
	24	8.9
감국	0	7.29
	24	9.31
산구절초	0	7.21
	24	9.89
질레꽃	0	7.18
	24	9.7



<발효 전후 동결건조 시료>

- 발효전후 추출수율 : 허브 소재 9종의 발효 전후 시료 18종에 대한 추출수율은 건조원물기준으로 산출하였음. 그 결과 추출 전에는 13.6%~38.1%까지 다양한 추출수율을 나타내었으며, 감국, 흰민들레, 캐모마일 소재가 30% 이상의 추출수율을 보였다. 발효 전과 발효 후에 비교하였을 때는 감국과 찔레꽃을 제외하고는 미미하게 수율이 증가하였지만 유의한 증가를 보이지 않았음.

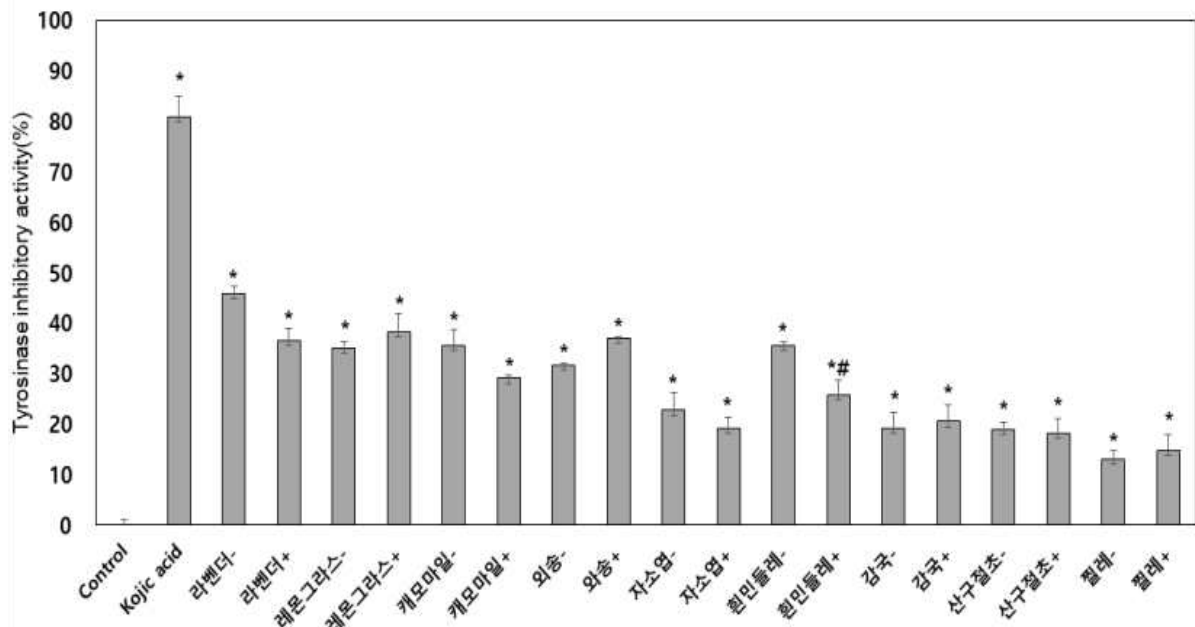
<발효전후 추출수율>

품목명	발효 전 수율(%)	발효 후 수율(%)
라벤더	21.7	23.4
레몬그래스	13.6	14.5
캐모마일	31.2	33.3
와송	16.2	17.3
자소엽	15.7	18.1
흰민들레	35.1	36.1
감국	38.1	37.7
산구절초	20.8	21.5
찔레꽃	28	25.9

○ 발효전후 생리활성 탐색(미백, 주름, 보습)

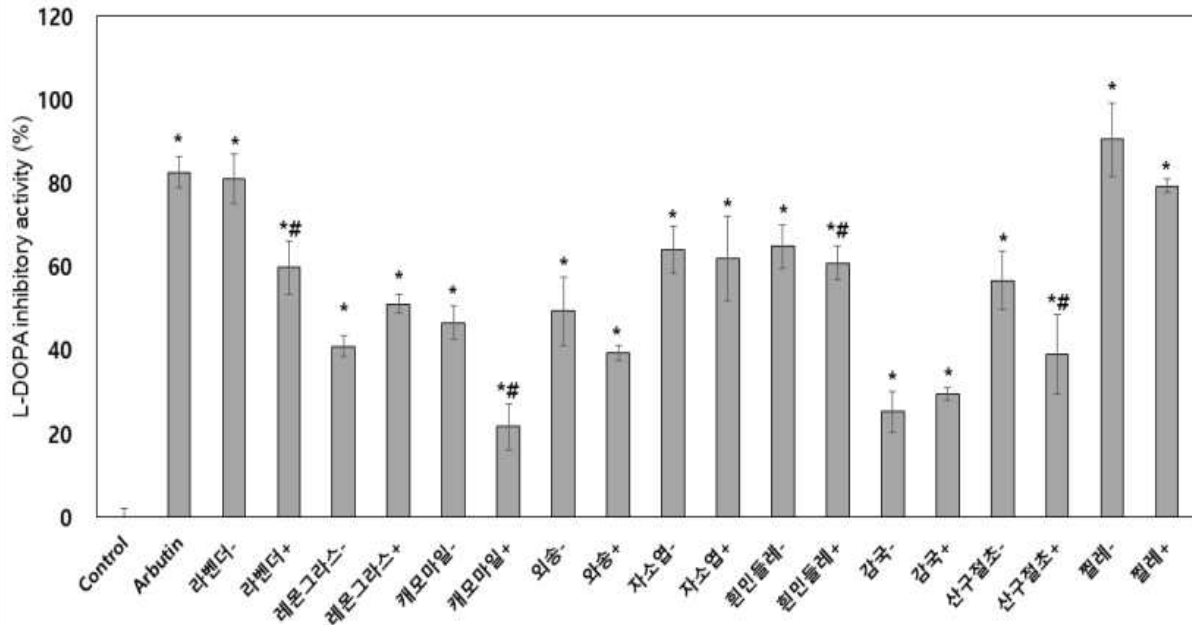
○ 미백효능

- Tyrosinase 활성측정 : 티로시나아제 억제능을 측정하기 위해 96well plate에 0.1 M Phosphate Buffer (pH 6.8) 100 μ L에 시료 40 μ L와 mushroom tyrosinase (1,700 unit/mL) 40 μ L를 첨가한 혼합액을 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1.5 mM L-tyrosine 80 μ L를 넣고 37°C에서 10분간 반응 후 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 측정하였음.
- L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 활성측정 : L-DOPA 활성 억제능을 측정하기 위하여 1.5 mL tube에 0.1M Phosphate Buffer (pH7.0) 850 μ L에 시료 50 μ L와 mushroom tyrosinase (1,500unit/mL) 50 μ L를 첨가한 혼합액을 37°C에서 6분간 반응시키고 0.06 mM L-DOPA 50 μ L 넣고 37°C에서 1분 동안 반응 후 ELISA reader를 이용하여 475 nm에서 측정하였음.
- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균 \pm 표준편차 (Mean \pm SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.
- 미백 연구결과 : 허브소재 9종의 발효 전후 추출물 18종에 대한 tyrosinase와 L-DOPA 저해 활성을 측정하기 위하여 양성대조군으로 각각 kojic acid와 arbutin을 100 μ g/mL의 농도로 사용하였고, 시료는 500 μ g/mL의 농도로 tyrosinase와 L-DOPA 저해 활성을 측정하였음. 멜라닌세포에서 멜라닌 생성 과정의 첫 단계는 멜라노솜 안에서 tyrosine이 tyrosinase 효소에 의해 L-DOPA, DOPA quinone, DOPA chrome으로 전환되는 반응임. 그 다음으로 티로시나제 관련 단백질 1과 2에 의해(tyrosinase related protein-1,-2, TRP-1, -2) 멜라닌 합성이 이루어지며, 최종적으로 멜라닌을 포함한 멜라노솜이 인접한 각질형성세포로 전달됨. Tyrosinase 활성의 경우, 양성대조군인 kojic acid는 81%의 tyrosinase 억제율을 보였으며, 발효 전 시료에서 라벤더, 흰민들레, 캐모마일, 레몬그라스, 와송, 자소엽 소재가 대조군에 비해 20% 이상의 tyrosinase 저해 활성을 나타내었으며 각각 46%, 36%, 36%, 35%, 32%, 23%의 억제율을 보였음. 그리고 발효 전후를 비교한 결과에서는 모든 시료에서 발효 후에 유의미한 증가를 나타내지 못하였음. 또한, L-DOPA 억제율 측정된 결과, 양성대조군인 arbutin는 83%의 L-DOPA 억제율을 보였으며, 발효 전 시료에서 쥘레, 라벤더, 흰민들레, 자소엽, 산구절초, 와송, 캐모마일, 레몬그라스 소재가 대조군에 비해 40% 이상의 L-DOPA 저해 활성을 나타내었으며 각각 90%, 81%, 65%, 64%, 57%, 49%, 47%, 41%의 억제율을 보였음. 또한, 발효 전후를 비교한 결과에서는 레몬그라스 추출물만이 발효 전보다 발효 후에 1.3배 높은 L-DOPA 억제율을 보였으나 통계적으로 유의한 결과는 나타내지 못함.



<발효 전후 시료 18종의 tyrosinase 활성억제>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정
 # $p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



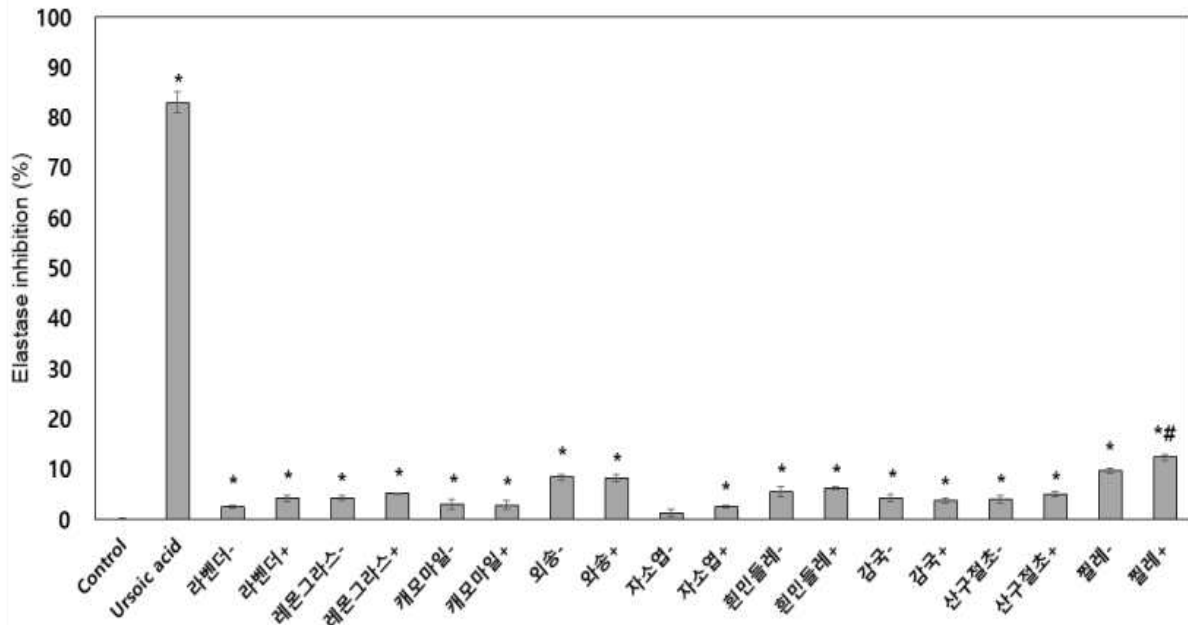
<발효 전후 시료 18종의 L-DOPA 활성억제>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정
 # $p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 주름효능

- Elastase 활성측정 : Elastase 활성 억제능을 확인하기 위해 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 200 μ L에 elastase (0.5 unit/ml) 100 μ L와 시료 50 μ L를 넣은 혼합물을 실온에서 2분간 대기한 후 2 mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide 200 μ L를 첨가하고 25°C에서 10분간 mix하여 반응시킨 뒤 410 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 섬유아세포주인 HS27 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 콜라겐분해효소 활성측정 : 콜라겐분해효소 (matrix metalloproteinase-1, MMP-1) 활성 억제능을 측정하기 위해 섬유아세포주인 HS27 세포를 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후 24시간 동안 배양하였음. 배양한 세포는 serum free DMEM 배지로 2번 세척 후 serum free DMEM 배지로 교체한 뒤 시료를 48시간 처리하였음. 48시간 뒤 배지를 수거하여 원심분리(10,000 xg, 5분, 4°C)하고 상층액을 -70°C에서 보관 후 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 수행하였음. ELISA는 시료를 1/40으로 희석한 후 MMP-1 ELISA (R&D systems DY901B, Minneapolis, MN, USA)를 이용하였으며 제조사에서 제공한 방법에 의해 측정하였음.
- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

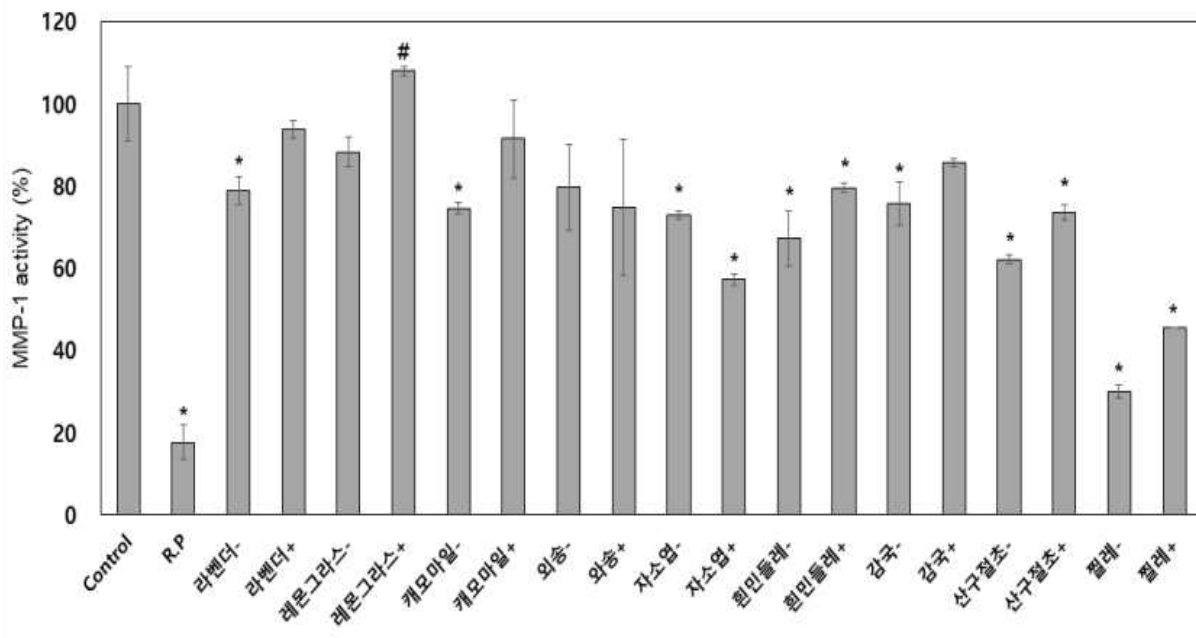
- 주름 연구결과 : 허브소재 9종의 발효 전후 추출물 18종의 elastase 저해 활성을 측정하기 위하여 양성대조군은 ursolic acid 100 µg/mL의 농도로 사용하였고, 시료는 500 µg/mL의 농도로 elastase 저해 활성을 측정하였음. 그 결과, 발효 전 시료에서 찔레 추출물만이 대조군에 비해 10%의 elastase 저해 활성을 나타내었으며, 나머지 시료는 10% 이하의 저해율을 나타내었음. 또한 발효 전후를 비교한 결과에서는 찔레 추출물만이 발효 후에 elastase 저해활성이 약간 증가하였음. 또한, 허브소재 9종의 발효 전후 추출물 18종의 콜라겐 분해효소 억제능을 확인하기 위하여 피부 섬유아세포인 HS27세포에서 MMP-1의 활성을 조사하였다. 양성대조군인 retinyl palmitate와 발효 전후 시료는 100 µg/mL의 농도로 48시간 동안 처리하였음. MMP-1은 interstitial collagenase로 피부 노화 과정에서 진피의 collagen 분해에 중요한 역할을 한다고 알려져 있음. 실험결과, 양성대조군은 82%의 MMP-1 억제율을 보였으며, 발효 전 시료에서 찔레, 산구절초, 흰민들레, 자소엽, 캐모마일, 감국, 라벤더 소재가 대조군에 비해 20% 이상의 MMP-1 활성 억제율을 나타내었으며 각각 70%, 38%,33%, 29%, 25%, 24%, 21%의 억제율을 보였음. 그리고 발효전후를 비교한 결과에서는 자소엽 추출물만이 발효전보다 발효 후에 1.6배 높은 MMP-1 활성 억제율을 보였으나 통계적인 유의한 결과는 나타내지 못함.



<발효 전후 시료 18종의 elastase 저해활성>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

$p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부섬유아세포에서 발효 전후 시료 18종의 MMP-1 활성>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

$p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 보습효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 피부각질 세포주인 HaCaT 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR : 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 보습인자인 히알루론산 생성에 관련된 유전자에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6well plate에 8×10⁵ cells/well 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 serum free 배지로 교환한 후 발효 전 후 추출물 시료를 처리한 후 48시간동안 배양하였음. 시료를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였다. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였으며, 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 µL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였고, 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹인 다음, RNA 농도(1 OD =40 µg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 µM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 µL의 용액에서 총 RNA 1 µg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cycler 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

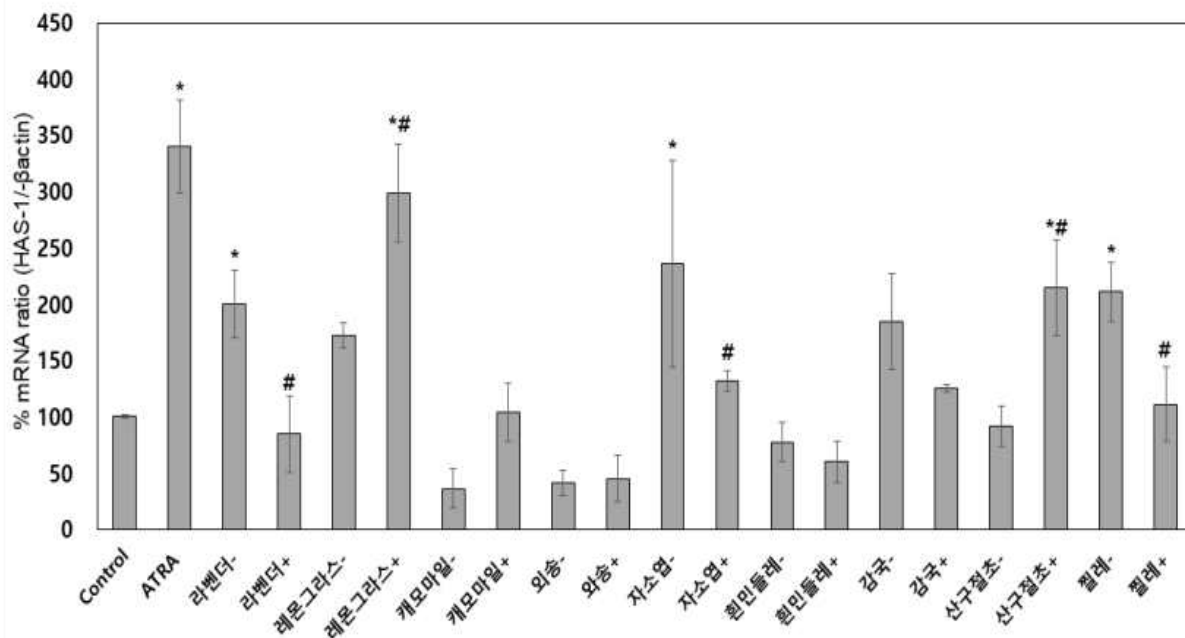
Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward / Reverse	Sequences(5'-->3')	CDS	Location		Size (bp)
HAS1	NM_001523.3	human	F	GTGCGGGTACTGGACGA	60-1796	810	826	172
			R	GACCGCTGATGCAGGATACA		981	962	
HAS2	NM_005328.2	human	F	GCAGTGTAAGATATTGGATGGC	539-2197	1305	1326	151
			R	CCCATAAAATTCTTGATTGTACCAATCTTC		1455	1427	
HAS3	AF234839.1	human	F	TGTCCAGATCCTCAACAAGTACGA	157-1818	888	911	157
			R	CTGGAGGAGGCTGTTGC		1044	1028	
β-actin	NM_001101.4	human	F	CACTGTGCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTCACGCACGATTTC		831	811	

<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
HAS1	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
HAS2					
HAS3					
β-actin					40

- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

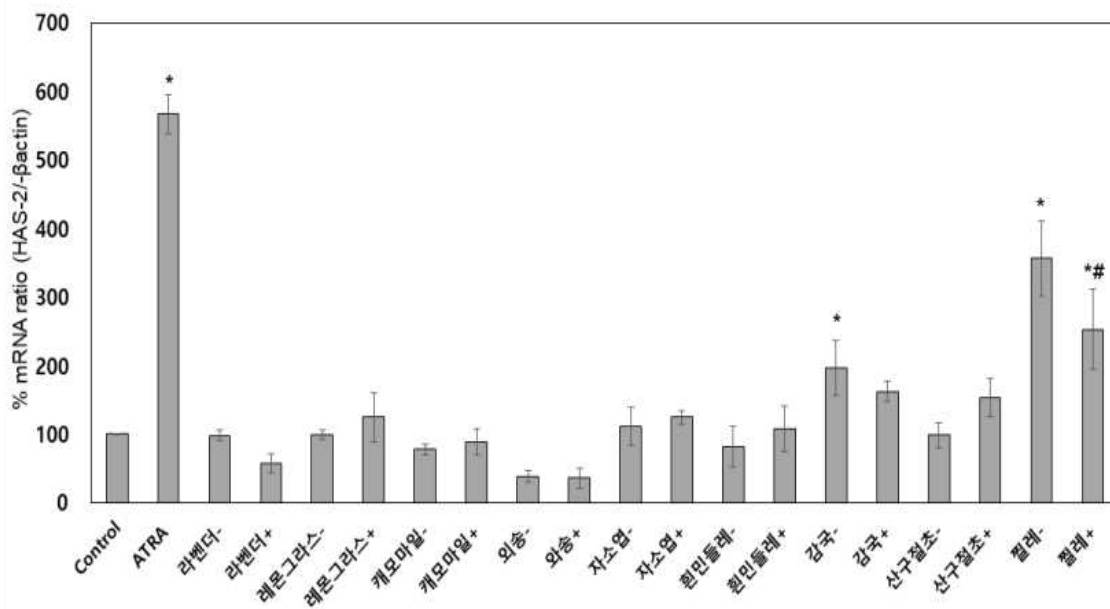
- 보습 연구결과 : 허브소재 9종의 발효 전후 추출물 18종의 피부보습에 미치는 영향을 확인하기 위하여 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 히알루론산 합성효소(hyaluronan synthase, HAS)의 mRNA의 발현을 조사 하였음. 양성대조군으로 히알루론산(hyaluronic acid, HA)을 생성하는 all-trans retinoic acid (ATRA)를 2 μM 사용하였으며 발효 전후 추출물은 100 μg/mL 농도로 48시간 동안 처리한 후 HAS-1, HAS-2, HAS-3 mRNA의 발현을 측정하였음. 피부보습을 유지하는 히알루론산은 표피의 기저층과 유극층에서 활발한 합성이 일어나고 HAS에 의해 생성이 되는데 HAS1과 HAS2는 fibroblast에서 HAS3는 keratinocyte에서 과발현된다고 알려져 있음. 그리고 HAS2와 HAS3는 히알루론산 합성에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있음. 그 결과, 양성대조군인 ATRA는 대조군에 비해 HAS-1, HAS-2, HAS-3 mRNA의 발현을 각각 3.4배, 5.7배, 1.7배 증가시켰음. HAS-1 mRNA의 발현은 발효 전 시료에서 자소엽, 찔레, 라벤더, 감국, 레몬그라스 추출물이 대조군에 비해 각각 2.4배, 2.1배, 2.0배, 1.8배, 1.7배 증가하였음. 발효 전후를 비교한 결과에서는 산구절초와 레몬그라스 추출물만이 발효 전과 비교하였을 때 발효 후에 각각 2.3배, 1.7배 증가하였음. 그리고 HAS-2 mRNA의 발현의 경우, 발효 전 시료에서 찔레, 감국 추출물이 대조군에 비해 각각 3.6배, 2.0배 증가하였음. 발효 전후를 비교한 결과에서는 산구절초 추출물만이 발효 후에 1.6배 증가하였지만 통계적인 유의미한 결과는 나타내지 못하였음. 마지막으로 HAS-3 mRNA의 경우, 자소엽, 찔레, 흰민들레, 라벤더, 감국 추출물이 대조군에 비해 각각 1.8배, 1.7배, 1.6배, 1.2배, 1.2배 증가하였다. 발효 전후를 비교한 결과에서는 찔레 추출물만이 발효 전과 비교하였을 때 발효 후에 1.4배 증가하였음. 결과적으로 발효 전보다 발효 후에 더 높은 보습활성을 나타내는 소재는 산구절초, 레몬그라스, 찔레였음.



<피부각질세포에서 발효 전후 시료 18종의 HAS-1 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

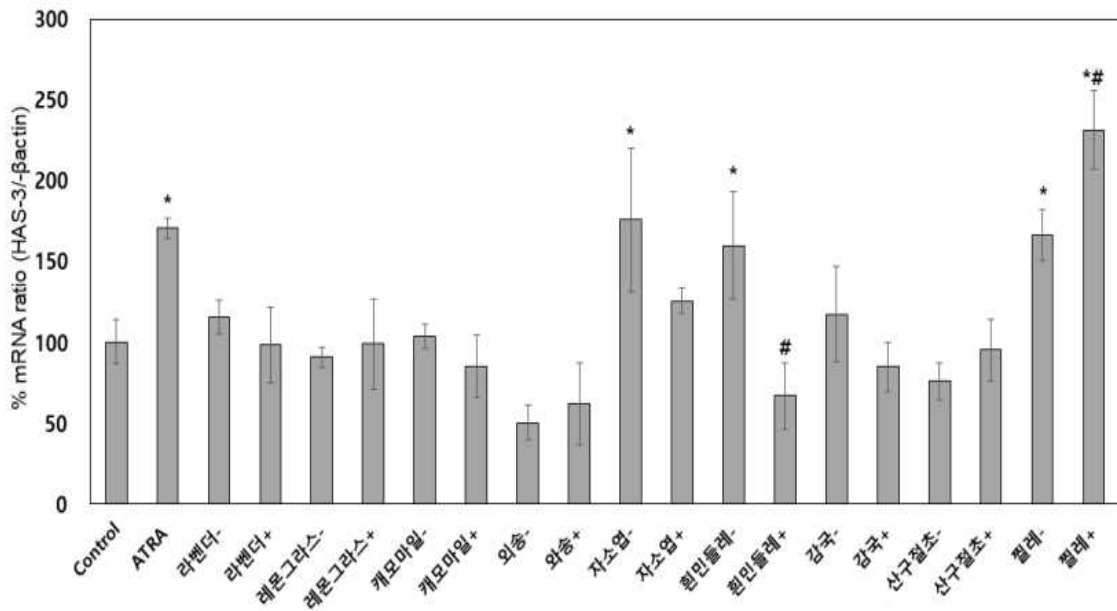
$p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부각질세포에서 발효 전후 시료 18종의 HAS-2 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

$p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부각질세포에서 발효 전후 시료 18종의 HAS-3 유전자에 미치는 영향>

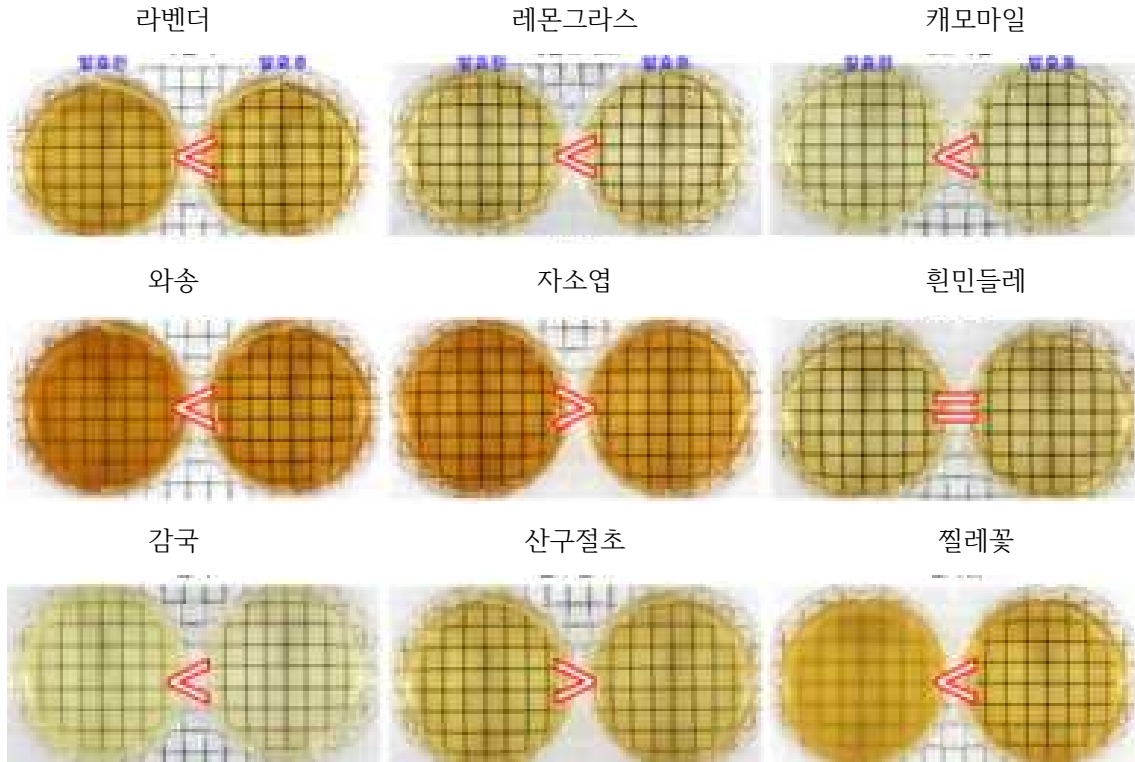
* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

$p < 0.05$, 발효 전 시료에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 발효전후 관능성 평가

○ 용해도 측정

- 측정방법 및 결과 : 허브소재 9종의 발효 전후 시료 18종 동결건조 파우더를 25 mg/mL로 희석한 후 격자형 petri dish에 옮긴 후 용해도를 관찰하였음. 그 결과, 발효 후에 용해도가 증가한 품목은 라벤더, 레몬그라스, 감국, 캐모마일, 와송이었으며 이 중 발효 후 용해도가 많이 개선된 품목은 짚레, 와송, 라벤더였으며 발효 후보다 발효 전에 용해도가 증가한 품목은 자소엽, 산구절초였으며 발효 전후에 용해도가 변화가 없는 품목은 흰민들레였음. 이는 발효 과정중에 유산균에 의해 당 성분들이 분해되면서 용해도가 개선되었을 것으로 사료됨.

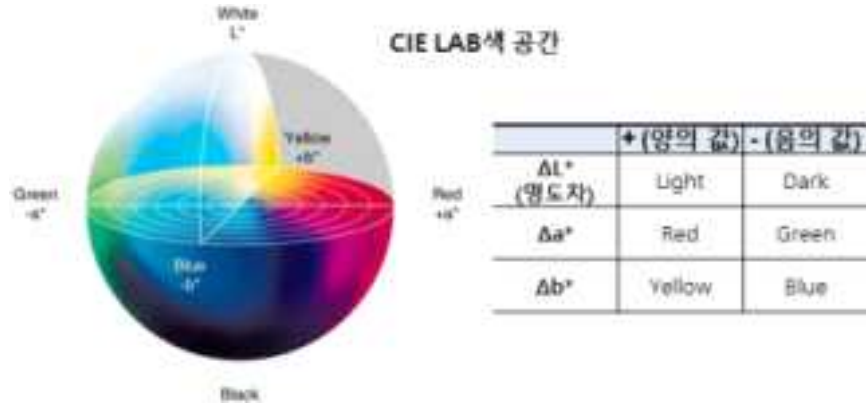


<발효 전후 용해도 평가>

○ 색도 측정

- 측정방법 : 허브소재 9종의 발효 전후 시료 18종 동결건조 파우더를 25 mg/mL로 희석한 후 색도를 색차계 (CM-5, Minolta Co., Osaka, Japan)로 10mm cell을 이용하여 측정하였으며 명도를 나타내는 L값 (lightness), 적색도를 나타내는 a값(redness), 황색도를 나타내는 b값(yellowness)를 측정하였으며, 측정 값을 통해 ΔE (total color differences; 총 색차)를 다음과 같이 계산하였음.

$$\Delta E = \sqrt{(L_{\text{발효후}} - L_{\text{발효전}})^2 + (a_{\text{발효후}} - a_{\text{발효전}})^2 + (b_{\text{발효후}} - b_{\text{발효전}})^2}$$



< L*a*b 색 좌표 >

- 색도 및 색차변화 결과 : 발효 후에 명도가 높아진 품목은 많이 증가한 순으로 찐레, 와송, 라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 감국으로 각각 명도값(L)이 8.9배, 8.8배, 6.9배, 4.5배, 4.6배, 3.1배 증가하였으며, 채도가 높아진 품목은 증가한 순으로 와송, 찐레, 자소엽, 라벤더로 각각 채도값(b)이 14.7배, 12.9배, 6.6배, 5.9배 증가하였음. 그리고 모든 시료에서 발효 전과 발효 후 색차값이 큰 변화를 보였는데 변화가 큰 순으로 와송, 찐레, 라벤더, 자소엽, 감국, 레몬그라스, 산구절초, 캐모마일, 흰민들레순으로 색차값의 변화를 보였음. 이는 발효 시 유산균 미생물에 의해 추출물이 분해되면서 색도 중 명도와 채도(황색도)에 영향을 미쳤을 것으로 사료됨.

<발효 전후 시료의 색도 및 색차>

품목		L	a	b	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE^*ab
라벤더	발효전	38.91	27.39	63.37	6.91	-1.05	5.88	9.13
	발효후	45.82	26.33	68.25				
레몬그라스	발효전	61.33	19.68	72.7	4.48	-2.19	-1.85	5.31
	발효후	65.8	17.49	70.85				
캐모마일	발효전	76.82	4.89	64.75	0.04	1.23	-1.29	1.78
	발효후	76.86	6.12	63.46				
와송	발효전	22.1	32.7	37.58	8.82	1.6	14.67	17.19
	발효후	30.91	34.31	52.25				
자소엽	발효전	30.39	35.61	51.36	4.6	-0.46	6.55	8.02
	발효후	35	35.16	57.91				
흰민들레	발효전	54.73	18.62	66.15	-0.5	0.26	-1.07	1.21
	발효후	54.24	18.88	65.08				
감국	발효전	77.09	4.61	65.16	3.08	-0.02	-5.42	6.24
	발효후	80.17	4.58	59.73				
산구절초	발효전	55.11	22.87	74.03	-1.23	-0.7	-3.12	3.43
	발효후	53.88	22.17	70.9				
찐레	발효전	33	28.2	54.72	8.92	1.71	12.82	15.72
	발효후	41.92	29.91	69.55				

다. 우석대학교 산학협력단(제2협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2019)	남원지역 특화자원의 지표성분 표준화 및 밸리데이션	지표(유효)성분 정량 및 발효조건 최적화	○ 발효 전후 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량비교	- 발효 전후 기능성 소재의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 비교, 발효 유용성 검정
			○ 발효 전후 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량	- 발효 전후 기능성 소재의 지표(유효) 성분 비교정량
			○ 기능성 소재 3종의 지표(유효)성분 비교정량, 밸리데이션	- 기능성 소재 3종(곤달비, 와송, 라벤더)의 분석조건 확립 및 동시다분석 밸리데이션 진행
		기능성 평가 및 발효조건 최적화	○ 발효 전후 생리활성탐색(항산화)	- 발효 전후 시료 항산화 활성 - 발효 공정(BG) 시료 항산화 활성

1) 지표(유효)성분 정량 및 발효조건 최적화

○ 발효 전후 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량비교

○ 총 폴리페놀

- 측정방법 및 결과 : Folin-Denis 방법을 응용하여 발효 전후 시료 9종의 총 폴리페놀함량을 비교 정량하였음. 폴리페놀의 표준 곡선은 tannin acid를 이용하여 그 함량을 계산하였음. 실험결과 발효 전과 비교하면 발효 후 폴리페놀의 함량이 크게 변화하지 않았음(data not shown)을 볼 수 있었음.

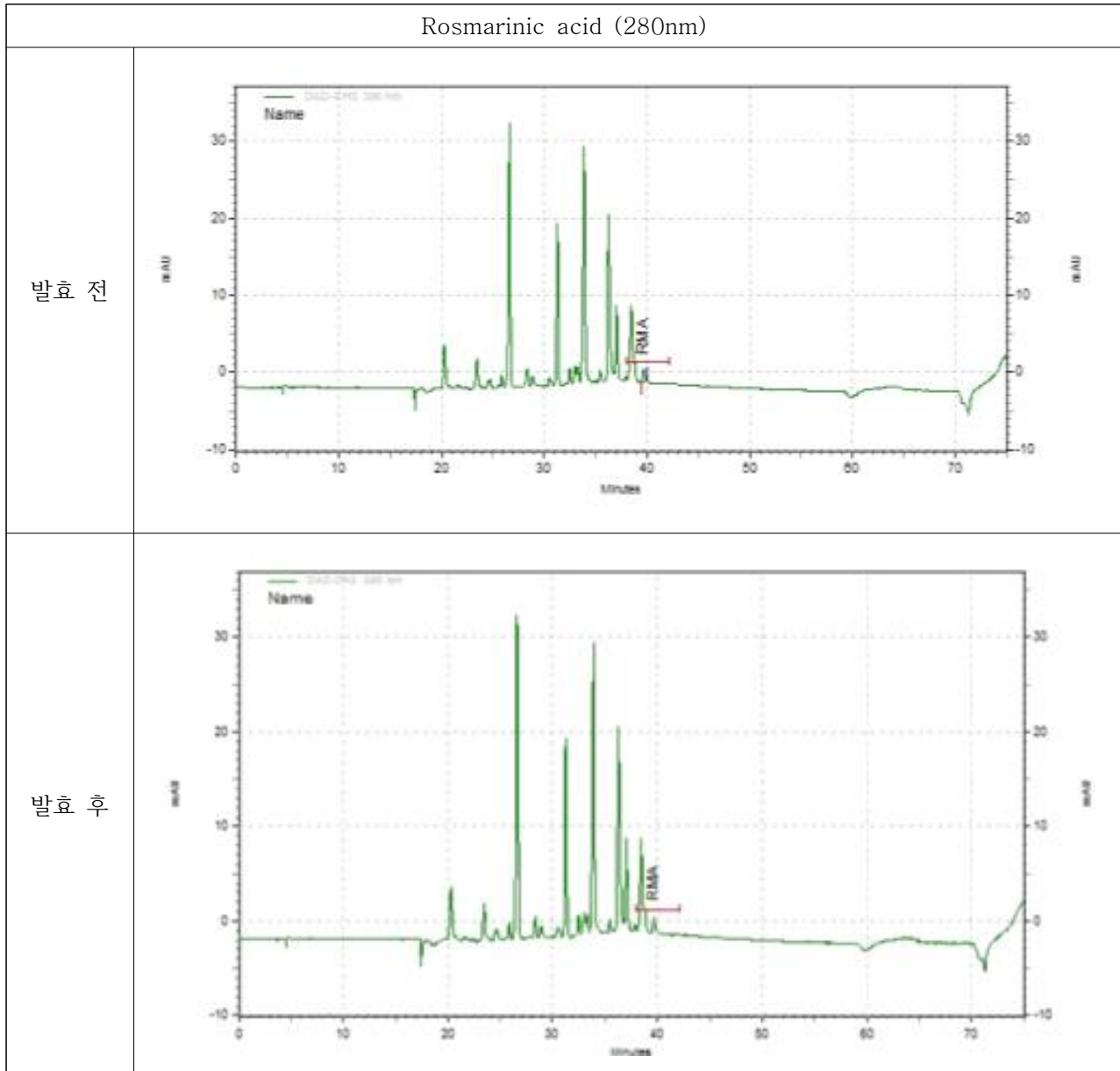
○ 총 플라보노이드

- 측정방법 및 결과 : 발효 전후 시료 9종의 총 플라보노이드 함량을 비교 정량하였음. 플라보노이드의 표준 곡선은 quercetin을 이용하여 함량을 계산하였음. 실험결과 발효 전과 후를 비교하였을 때 플라보노이드 함량은 발효 전후 차이를 보이지 않거나, 발효 후 감소, 발효 후 증가하는 경향으로 나눌 수 있었음. 발효 후 함량이 증가하는 소재는 라벤더, 캐모마일, 자소엽, 흰민들레이며, 플라보노이드 함량이 가장 많았던 소재는 찔레꽃임.

<Total Flavonoid contents>

품목		mg/g	증감	품목		mg/g	증감
라벤더	발효전	25.3	▲	흰민들레	발효전	99.6	▲
	발효후	49.9			발효후	111.9	
레몬그라스	발효전	62.7	▼	감국	발효전	45.8	▼
	발효후	56.6			발효후	40.7	
캐모마일	발효전	102.2	▲	산구절초	발효전	140.7	▼
	발효후	118.1			발효후	95.5	
와송	발효전	14.5	=	찔레	발효전	193.5	▲
	발효후	14.5			발효후	194.0	
자소엽	발효전	107.8	▲				
	발효후	115.5					

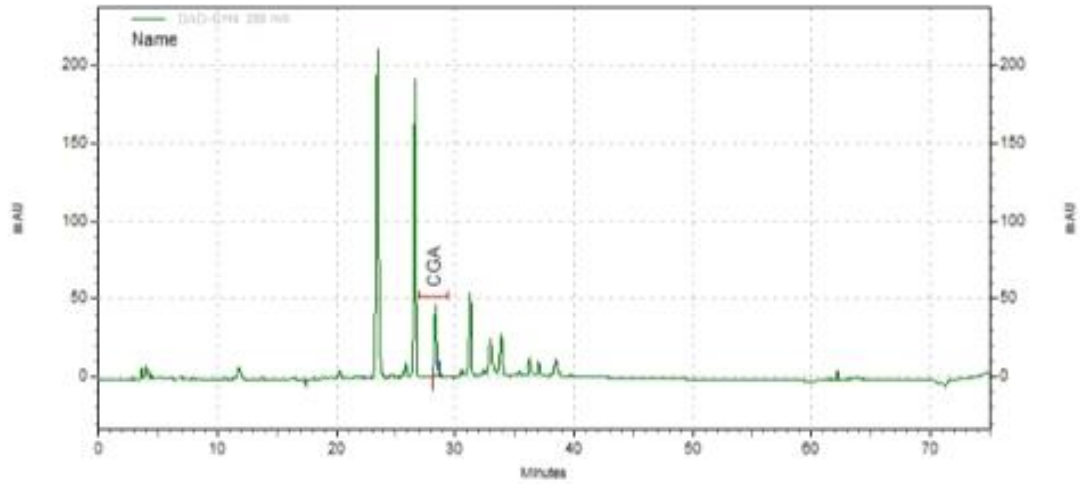
- 발효 전후 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량
- 라벤더의 발효 전후 지표 성분의 변화



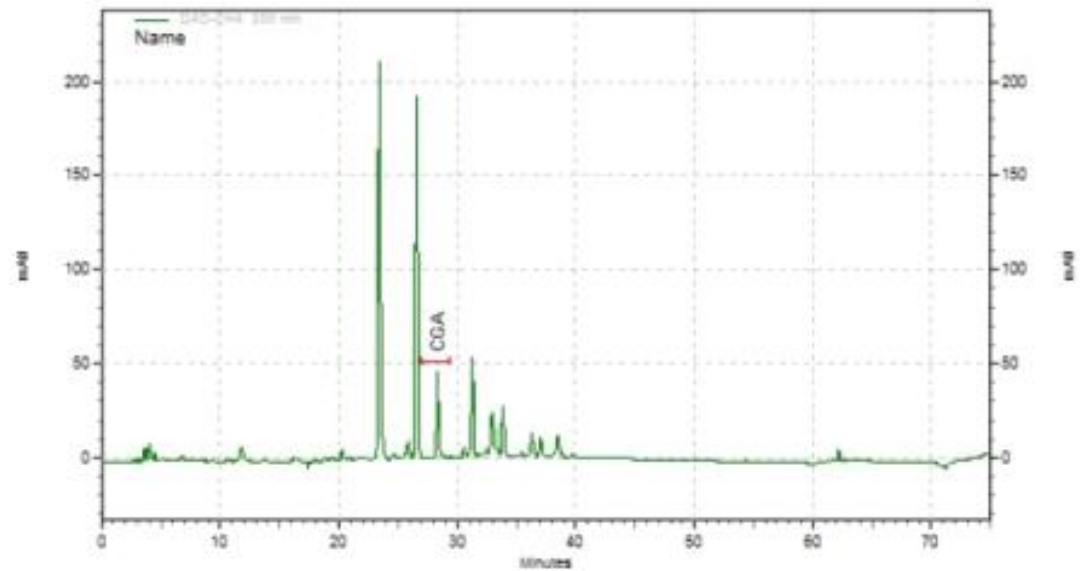
- 선행 결과에서 LC/MS 분석을 통한 라벤더의 지표(유효) 성분을 rosmarinic acid (RMA)로 설정하였음. 발효 전/후의 RMA의 함량을 정량하였을 때 발효 전 0.15 µg/g, 발효 후 0.15 µg/g으로 함량은 변하지 않았음.

Chlorogenic acid (350nm)

발효 전

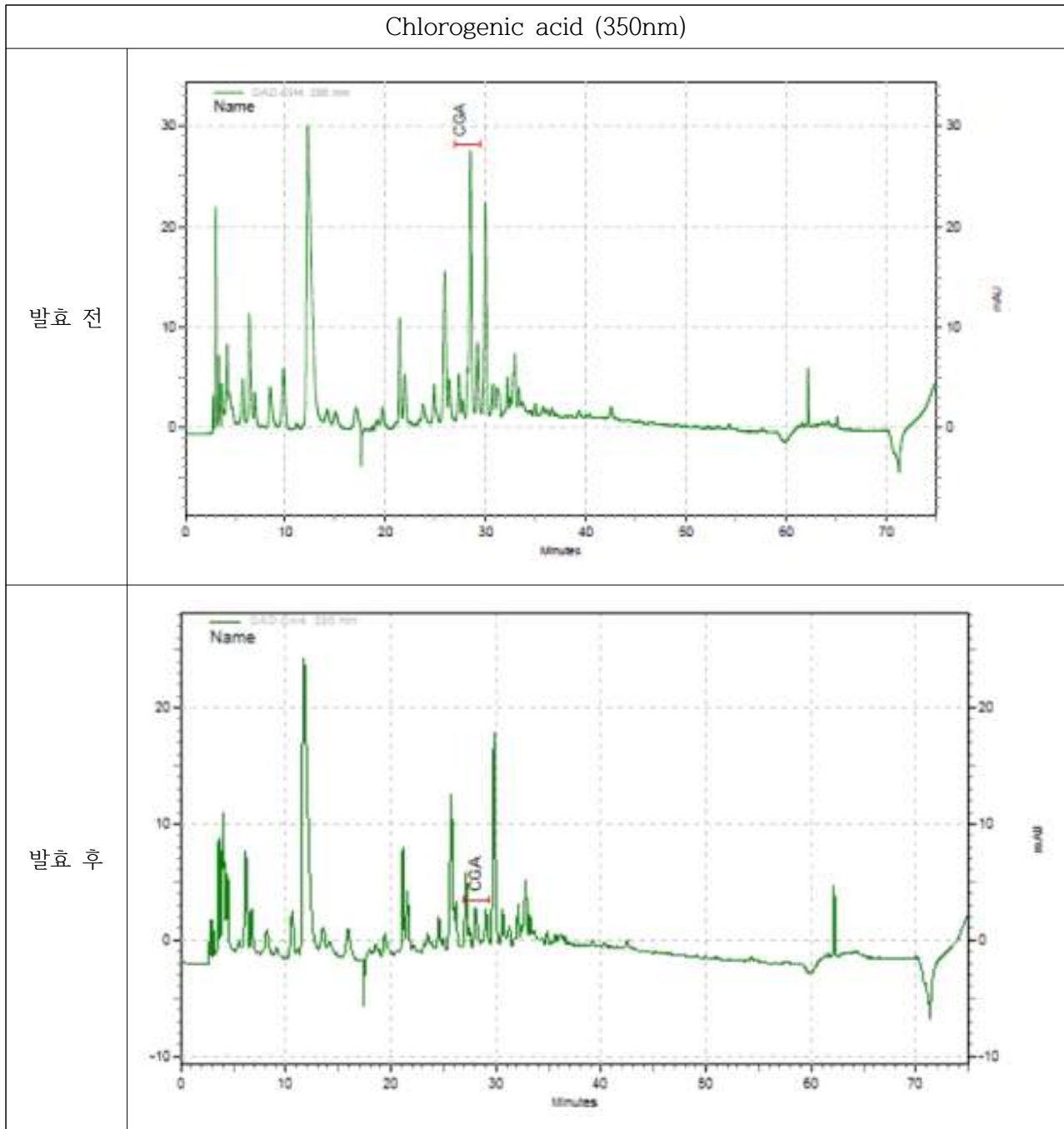


발효 후



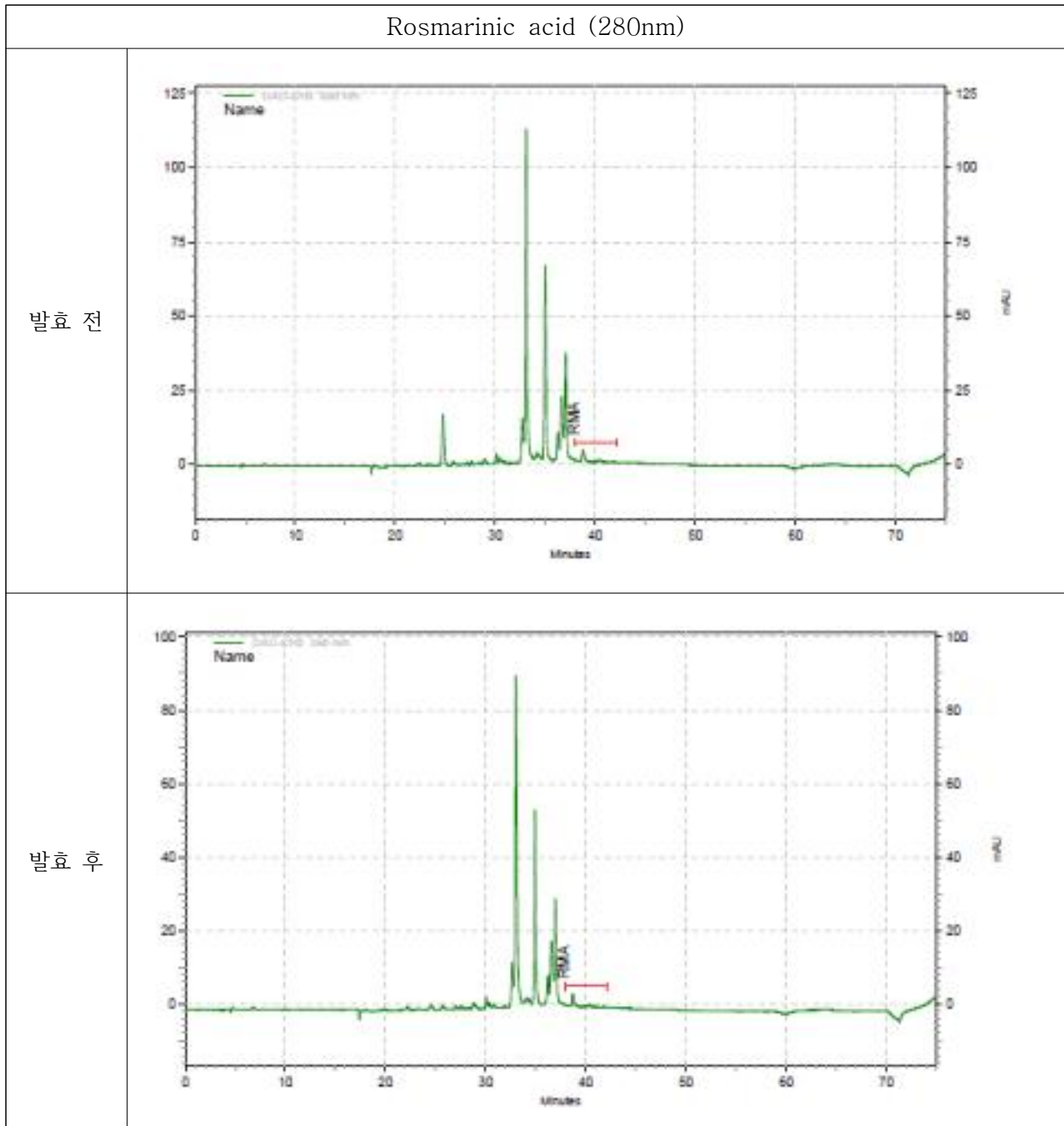
- 라벤더의 또 다른 지표성분으로서 chlorogenic acid(CGА)를 정량하였음. 발효 전 5.30 $\mu\text{g/g}$, 발효 후 4.53 $\mu\text{g/g}$ 로 발효 후 함량이 15% 감소하였음.

○ 레몬그라스의 발효 전후 지표 성분의 변화



- 선행연구 결과에서 LC/MS 분석을 통한 레몬그라스의 지표(유효) 성분을 chlorogenic acid(CGA) 로 설정하였음. 발효 전/후의 CGA의 함량을 정량하였을 때 발효 전 3.06 $\mu\text{g/g}$, 발효 후 0.38 $\mu\text{g/g}$ 로 발효 후 약 88% 정도 감소하였음.

○ 자소엽의 발효 전후 지표 성분의 변화



- 선행연구 결과에서 LC/MS 분석을 통한 자소엽의 지표(유효) 성분을 Rosmarinic acid(RMA) 로 설정하였음. 발효 전/후의 RMA의 함량을 정량하였을 때 발효 전 0.44 $\mu\text{g/g}$, 발효 후 0.36 $\mu\text{g/g}$ 로 발효 후 약 18% 정도 감소하였음.

○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량, 밸리데이션

○ 기능성 소재 3종의 분석 조건 확립

- 분석조건

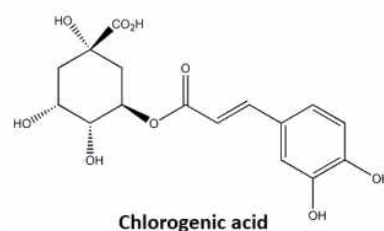
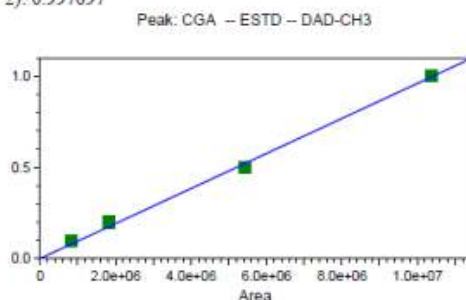
Analysis condition	
PUMP A	0.1% + formic acid + DW
PUMP B	0.1% + formic acid + MeCN
Flow rate	1.0 mL/min
column oven temperature	40°C
UV detector	DAD(213, 326, 329nm)

Time (min)	Pump A	Pump B
0-10	100	0
10-55	60	40
55-60	0	100
60-65	0	100
65-70	100	0
70-75	100	0

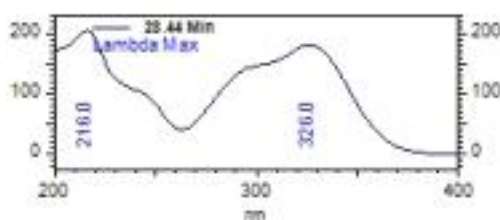
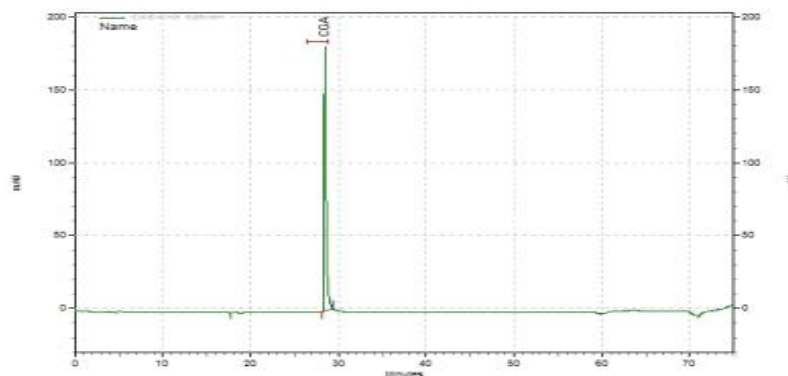
○ 지표 성분 표준품의 calibration

- Chlorogenic acid (CGA)

CGA (DAD-CH3)
 Average RF: 1.03882e-007 RF StDev: 1.19604e-008 RF %RSD: 11.5135
 Scaling: None LSQ Weighting: None Force Through Zero: On
 Replicate Mode: Replace
 Fit Type: Linear
 $y = 9.59211e-008x + 0.000000$
 Goodness of fit (r^2): 0.997097



<Chlorogenic acid의 standard curve>

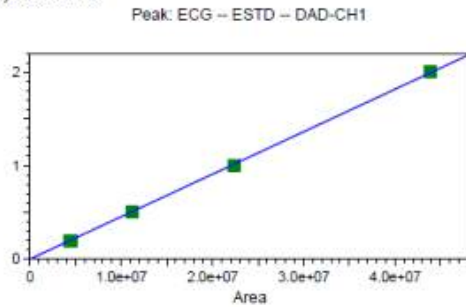


Retention time: 28.440 Min
 Peak name: CGA
 Lambda max: 216.0, 326.0
 Lambda mix: 398.0, 263.0

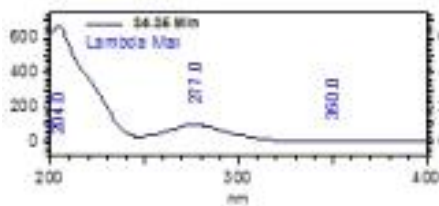
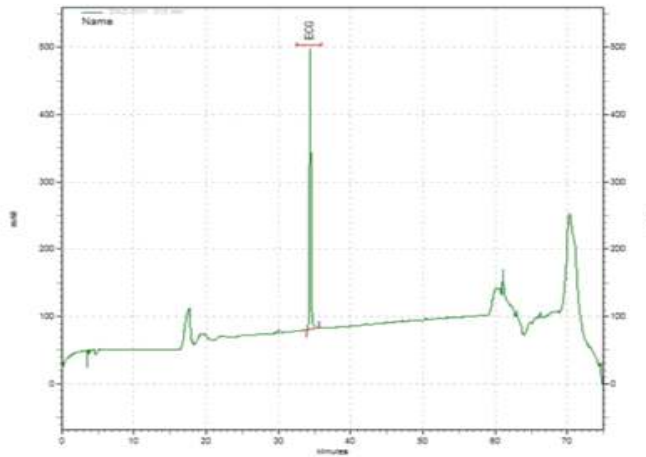
<Chlorogenic acid의 크로마토그램과 UV spectrum 분석>

- Epicatechin gallate (ECG)

ECG (DAD-CH1)
 Average RF: 4.49549e-008 RF StDev: 4.53934e-010 RF %RSD: 1.00975
 Scaling: None LSQ Weighting: None Force Through Zero: On
 Replicate Mode: Replace
 Fit Type: Linear
 $y = 4.53870e-008x + 0.000000$
 Goodness of fit (r^2): 0.999770



<Epicatechin gallate의 standard curve>

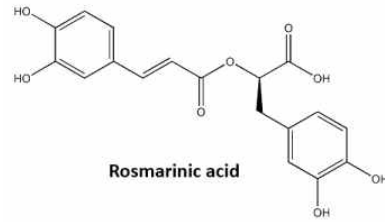
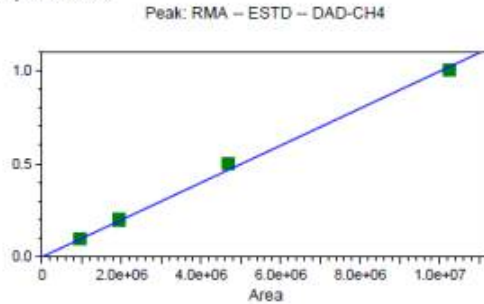


Retention time: 34.353 Min
 Peak name: ECG
 Lambda max: 204.0, 277.0, 350.0
 Lambda min: 339.0, 354.0, 247.0

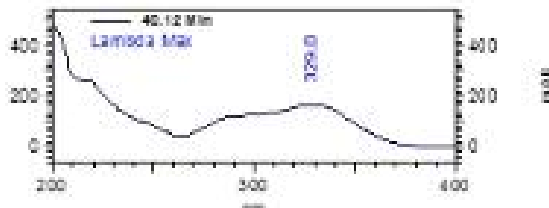
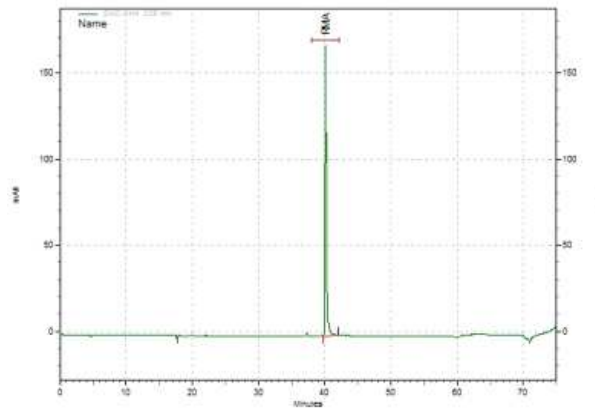
<Epicatechin gallate의 크로마토그램과 UV spectrum 분석>

- Rosmarinic acid (RMA)

RMA (DAD-CH4)
 Average RF: 1.02819e-007 RF StDev: 3.90627e-009 RF %RSD: 3.79917
 Scaling: None LSQ Weighting: None Force Through Zero: On
 Replicate Mode: Replace
 Fit Type: Linear
 $y = 9.94355e-008x + 0.000000$
 Goodness of fit (r^2): 0.996686



<Rosmarinic acid의 standard curve>



Retention time: 40.120 Min
 Peak name: RMA
 Lambda max: 329.0
 Lambda min: 264.0

<Rosmarinic acid의 크로마토그램과 UV spectrum 분석>

o HPLC calibration data

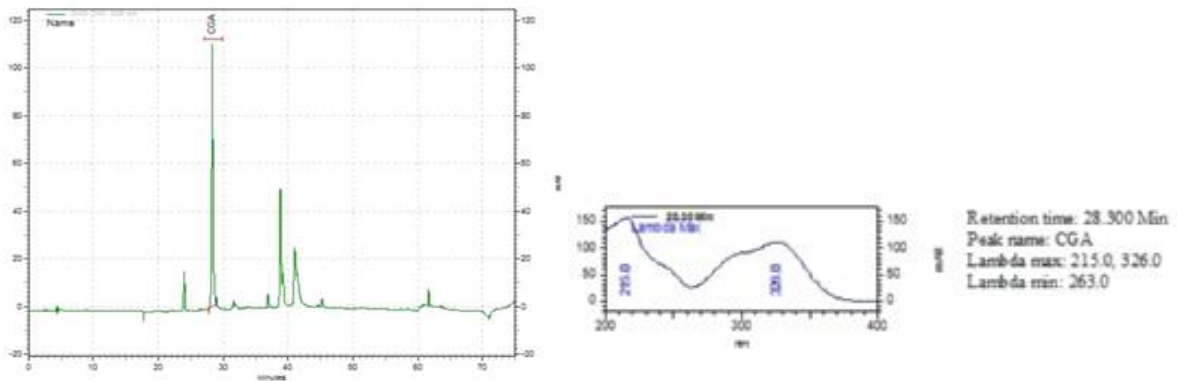
compound	Linear range (µg/ml)	t _R (min)	Equation	Linearity (R ²)	LOD (µg/ml)	LOQ (µg/ml)
Chlorogenic acid	0.1-1	28.47	$y = 9.59211e-008x + 0.000000$	0.997097	0.008254	0.025013
Epicatechin gallate	0.2-2	34.35	$y = 4.53870e-008x + 0.000000$	0.999770	0.003267	0.0099
Rosmarinic acid	0.1-1	40.14	$y = 9.94355e-008x + 0.000000$	0.996686	0.00201	0.00609

○ 지표 성분 회수율 분석

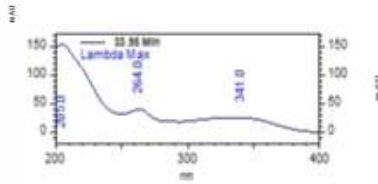
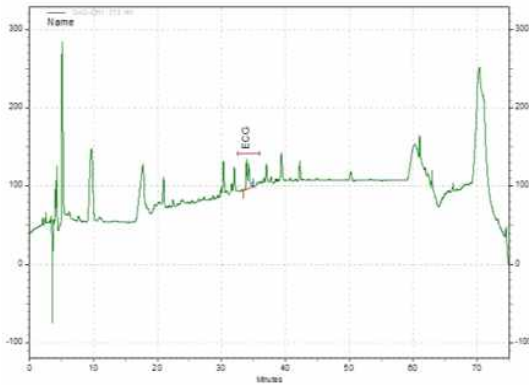
Compound	Spiked conc. (µg/ml)	Detected conc. (µg/ml)	Recovery (%)	RSD (%)
Chlorogenic acid	0.2	0.24	117.52	0.46
	0.5	0.61	121.74	0.07
	1	1.18	117.78	0.16
Epicatechin gallate	0.2	0.19	94.40	0.51
	0.5	0.54	108.06	0.28
	1	0.96	96.39	0.98
Rosmarinic acid	0.2	0.19	97.05	0.47
	0.5	0.47	94.10	0.22
	1	0.94	93.79	0.45

○ 기능성 소재의 유효성분 함량 정성 및 정량
(Analysis of the contents of compounds in Extract)

	Retention time (min)	area	contents (µg/mg)
<i>Ligularia stenocephala</i> (LS) Chlorogenic acid	28.26	7291498	13.99(1.4%)
<i>Orostachys japonica</i> (OJ) Epicatechin gallate	34.50	2976582	8.28(0.8%)
<i>Lavandula stoechas</i> (LV) Rosmarinic acid	40.03	4223232	8.40(0.8%)

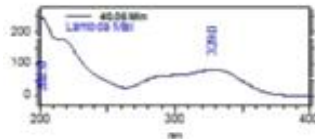
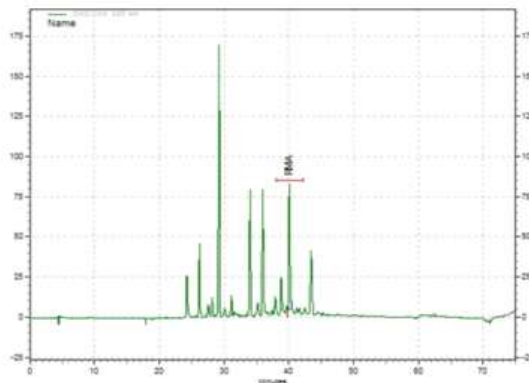


<곤달비 추출물 내의 Epicatechin gallate 크로마토그램과 UV spectrum 분석>



Retention time: 33.947 Min
 Peak name: ECG
 Lambda max: 205.0, 264.0, 341.0
 Lambda min: 295.0, 350.0

<와송 추출물 내의 Chlorogenic acid 크로마토그램과 UV spectrum 분석>



Retention time: 40.053 Min
 Peak name: RMA
 Lambda max: 202.0, 329.0
 Lambda min: 263.0

<라벤더 추출물 내의 rosmarinic acid 크로마토그램과 UV spectrum 분석>

○ 기능성 소재의 정확성 및 정밀성

(Accuracy and precision data for the quantitative determination of the three compounds)

Compound	Intra-day (n=3)		Inter-day (n=3)	
	Accuracy (%)	Precision (RSD %)	Accuracy (%)	Precision (RSD %)
Chlorogenic acid	107.06	1.77	110.39	1.09
Epicatechin gallate	112.25	1.42	114.03	0.72
Rosmarinic acid	92.24	0.8	89.94	1.42

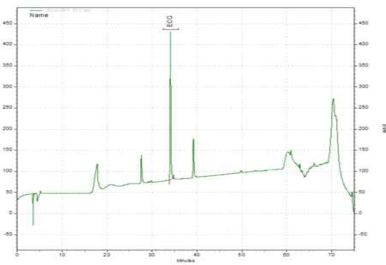
* range : 80~150% (±20)

○ 기능성 소재의 동시 분석조건의 확립

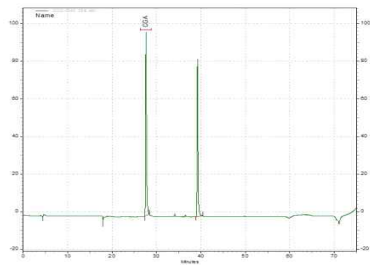
- 천연물 3종의 지표 성분인 Chlorogenic acid, Epicatechin gallate, Rosmarinic acid를 분석대상으로 0.1% formic acid가 함유된 water와 acetonitrile의 기울기 조건을 확립하여 동시분석 하였음. 3가지 지표 성분인 Chlorogenic acid는 326 nm, Epicatechin gallate는 213 nm, Rosmarinic acid는 329 nm에서 높은 흡광도를 나타내어 DAD 검출 파장은 213, 326, 329 nm에서 검출하였음. 3가지 지표 성분들이 각각 28.17분, 39.46분, 33.69분에 모두 검출되는 것을 확인하였음.

○ 특이성(Specificity)

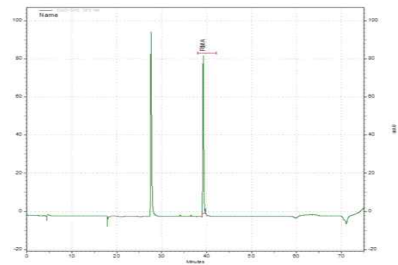
- 추출물과 복합물의 크로마토그램과 표준품의 크로마토그램을 서로 비교하였을 때, 추출물의 크로마토그램 중의 peak는 표준물질들의 retention time과 정확히 일치하였고, UV 흡광도를 비교하였을 때 서로 일치하므로 추출물 중에는 선정된 지표 성분인 Chlorogenic acid, Epicatechin gallate, Rosmarinic acid가 존재한다는 것을 알 수 있음.



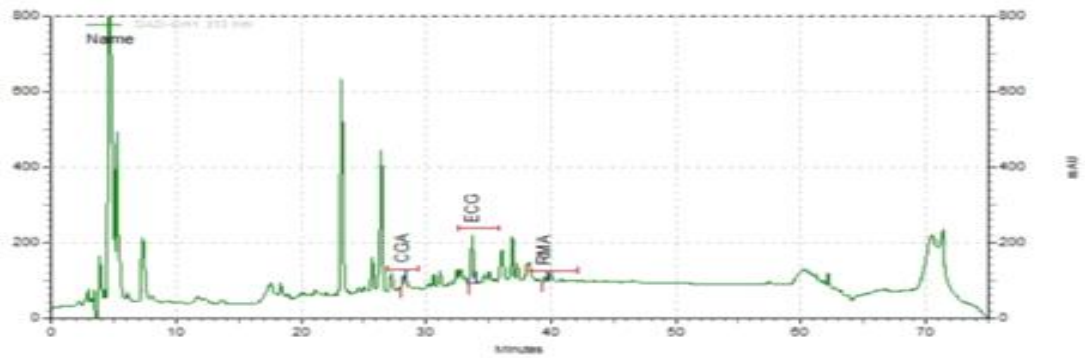
Chlorogenic acid



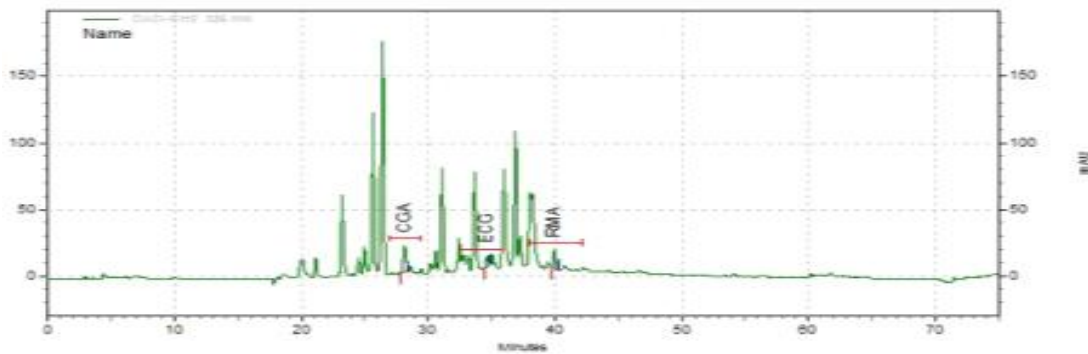
Epicatechin gallate



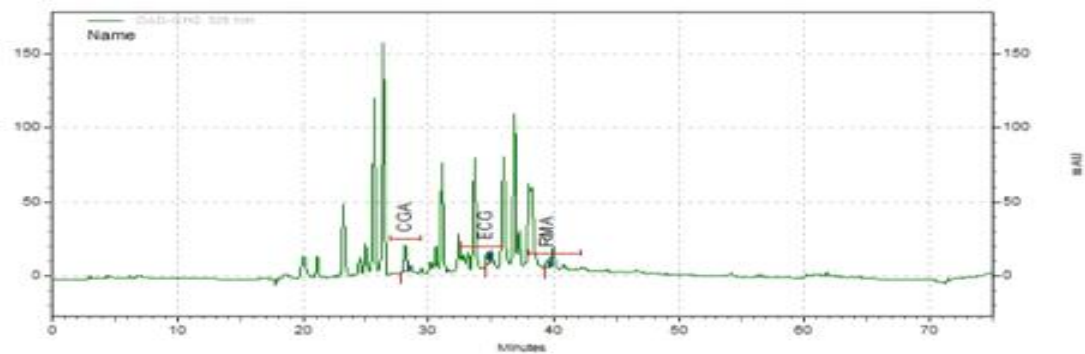
Rosmarinic acid



<213 nm>



<326 nm>

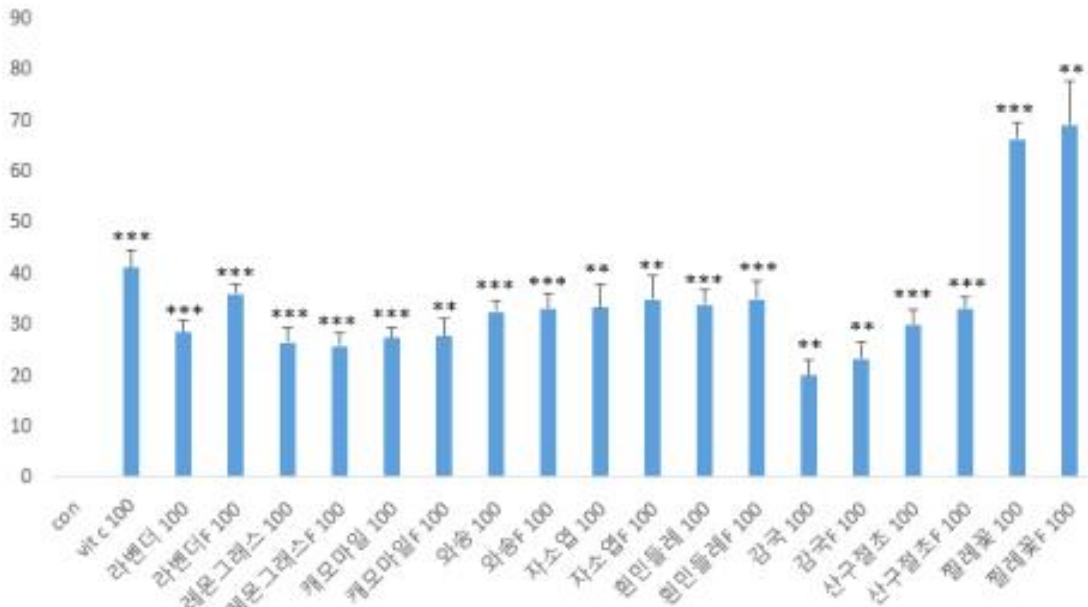


<329 nm>

2) 기능성 평가 및 발효조건 최적화

○ 발효 전후 생리활성탐색(항산화)

○ 발효 전후의 항산화 활성 비교



<발효 전후 소재 6종의 농도별 DPPH 라디칼 소거능>

(**p<0.01, ***p<0.001 between treated and control by one way ANOVA)

- 발효 전과 24시간 발효 후 기능성 소재의 항산화 활성을 DPPH 라디칼 소거능 시험법을 통해 비교하였음. 소재 자체의 항산화 활성은 찔레에서 가장 우수하였음. 발효 전후의 항산화 활성을 비교하였을 때, 라벤더 발효 전(28.20±2.3)/발효 후(35.72±1.9), 감국 발효 전(19.79±3.0)/발효 후(23.13±3.2), 산구절초 발효전 (29.73±3.0)/발효 후(32.96±2.4), 찔레꽃 발효 전(66.06±3.2)/발효 후(68.84±8.7)로 발효 후 활성이 증가하였음.

라. (주)더가든오브내추럴솔루션(제3협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2019)	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	발효 공정 연구	○ 소재화에 적절한 발효 조건 연구	- 발효샘플 분석을 통한 소재 선정 - 액체 발효물, 고체 발효 추출물 제조 공정 설계
		발효 전후 생리활성 탐색(방부/항균)	○ 발효 전후 생리활성탐색 (방부/항균)	- 발효 전후 항산화, 미백, 주름, 보습 효과 - 발효 전후 항균 효과

1) 발효 공정 연구

○ 발효를 통해 상품성을 높일 수 있는 원물 선정

○ 유효성분 분석

- 남원시화장품산업지원센터에서 공급한 남원허브 9종의 전후 샘플을 대상으로 분석 실시

표준물질	감국			라벤더			레몬그라스		
	전	후	후/전	전	후	후/전	전	후	후/전
Apigenin	1.85	1.42	0.77	5.27	1.72	0.33	0.62	0.38	0.61
Caffeic acid	239.80	54.76	0.23	560.78	59.81	0.11	327.46	209.47	0.64
p-coumaric acid	15.37	3.29	0.21	81.41	3.34	0.04	1286.85	51.48	0.04
Gallic acid	0.85	2.22	2.61	2.13	2.51	1.18	2.50	2.44	0.98
Isoquercitrin	85.17	81.72	0.96	2.02	69.19	34.25	0.28	0.21	0.98
Kaempferol	0.48	0.57	1.19	0.38	0.52	1.37	-	-	-
Luteolin	48.37	48.02	0.99	40.02	43.62	1.09	3.80	2.09	0.55
Quercetin	4.55	6.17	1.36	0.27	5.71	21.15	-	-	-
Salicylic acid	26.50	28.77	1.09	81.86	27.78	0.34	5.20	5.39	1.04
Syringic acid	3.86	4.82	1.25	4.14	4.37	1.06	-	-	-
Chlorogenic acid	3493.20	3214.39	0.92	-	-	-	-	-	-
Rosmarinic acid	-	-	-	1882.56	-	0	-	-	-
Ferulic acid	-	-	-	-	-	-	290.22	31.74	0.11
Catechin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	3,920	3,446.15	-	2,660.84	218.57	-	1,916.93	303.2	-

표준물질	산구절초			와송			자소엽		
	전	후	후/전	전	후	후/전	전	후	후/전
Apigenin	39.43	34.30	0.87	0.12	0.24	2.00	6.31	33.6	5.32
Caffeic acid	197.26	132.57	0.67	87.05	78.96	0.91	1979.85	80.8	0.04
p-coumaric acid	44.07	58.21	1.32	168.62	142.91	0.85	209.77	22.03	0.11
Gallic acid	8.63	19.94	2.31	4981.83	5814.17	1.17	5.54	7.78	1.4
Isoquercitrin	321.07	250.24	0.78	181.60	217.21	1.20	10.07	13.51	1.34
Kaempferol	6.18	4.49	0.73	0.94	2.53	2.69	-	-	

Luteolin	216.24	161.30	0.75	0.32	0.48	1.50	14.68	119.34	8.13
Quercetin	100.57	81.18	0.81	0.01	0.12	12.00	0.76	3.5	4.61
Salicylic acid	57.81	65.68	1.14	3.06	5.67	1.85	54.52	67.32	1.23
Syringic acid	66.81	82.58	1.24	27.09	32.51	1.20	-	-	-
Chlorogenic acid	4113.36	3058.45	0.74	-	-	-	-	-	-
Rosmarinic acid	-	-	-	-	-	-	5150.27	4904.26	0.95
Ferulic acid	-	-	-	-	-	-	32.86	-	-
Catechin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Total	5,171.43	3,948.94	-	5,450.64	6,294.8	-	7,464.63	5,252.14	-

표준물질	찔레꽃			캐모마일			흰민들레		
	전	후	후/전	전	후	후/전	전	후	후/전
Apigenin	1.53	1.95	1.27	14.98	24.67	1.65	1.12	0.75	0.67
Caffeic acid	41.03	46.63	1.14	108.7	24.79	0.23	660.03	360.79	0.55
<i>p</i> -coumaric acid	81.11	89.45	1.1	10.24	0.55	0.05	39.64	4.3	0.11
Gallic acid	18990.27	17621.86	0.93	1.28	2.2	1.72	5.13	6.29	1.23
Isoquercitrin	190.4	187.57	0.99	95.19	91.5	0.96	14.54	13.25	0.91
Kaempferol	83.74	123.13	1.47	-	-	-	-	-	-
Luteolin	6.74	6.35	0.94	20.24	18.7	0.92	56.59	49.49	0.87
Quercetin	55.58	74.9	1.35	11.5	13.53	1.18	1.85	1.47	0.79
Salicylic acid	263.41	260.29	0.99	12.79	15.49	1.21	2.91	3.74	1.29
Syringic acid	-	-	-	-	-	-	1.16	1.57	1.35
Chlorogenic acid	747.61	654.89	0.88	4228.07	3583.46	0.85	331.61	274.73	0.83
Rosmarinic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ferulic acid	-	-	-	-	-	-	18.23	-	-
Catechin	1057.07	837.48	0.79	-	-	-	-	-	-
Total	21,518.5	19,904.5	-	4,502.99	3,774.89	-	1,132.81	716.38	-

- Agilent 1290 Infinity II와 Sciex Qtrap 4500을 이용한 LC-MS/MS 로 다성분 동시분석을 하였으며, Phenomenex Kinetex Polar C18 column을 사용하고, 5% acetonitrile에 0.1% acetic acid를 이동상으로 사용하였음.
- 발효 전후를 비교했을 때, 자소엽에서 apigenin, luteolin, quercetin의 함량이 현저히 증가된 것을 알 수 있었음. 또한, 라벤더의 isoquercitrin과 quercetin 함량도 발효 공정을 통해 증가시킬 수 있었음. 화장품 원료의 가치를 더해주는 성분 증가로 발효 공정이 상품성을 높일 수 있다고 결론지었음.

○ 소재화에 적절한 발효 조건 연구

- 위 결과를 바탕으로 자소엽과 라벤더 추출물에 발효공정을 추가한 공정을 설계하였음.
- 각 원물 100 g을 2 L의 정제수에 100°C, 4시간 동안 추출하여 추출물을 얻음. 거름천으로 거른 후 121°C, 15분 습식멸균을 실시함.
- 남원시화장품산업지원센터의 선행연구를 통해 우수균주로 선발한 *Lactobacillus brevis* 의 seed 배양을, 배지로 사용하는 추출물에 5%가 되도록 접종함. 30°C에서 24시간 배양한 후, 습식멸균하고 0.45 μm와 0.22 μm로 순차 여과하였음.
- 기존 연구에서 우수한 상품성을 보였던 찔레꽃과 레몬그라스에 고체발효 공정을 적용 시험하였음. 원물 각 100 g을 습식멸균한 후, *Lactobacillus brevis* 의 seed 배양을 무게 대비 10% 접종하여 30°C에서 24시간 발효하였음. 습식멸균으로 발효를 중단한 후, 40% 1,3-butylene glycol (BG)에 60°C, 24시간 추출한다. 0.45 μm와 0.22 μm로 순차 여과한 추출물을 얻어 실험에 사용하였음.



<액체발효물 제조 공정>

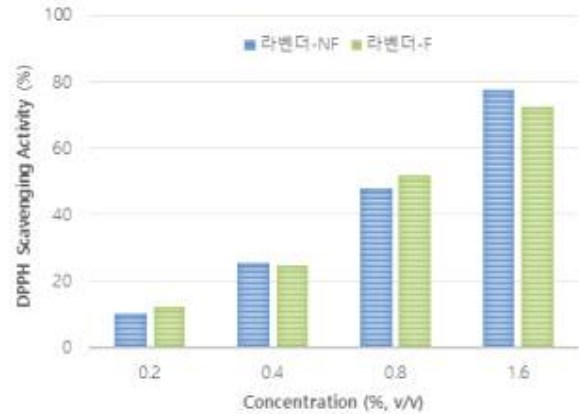
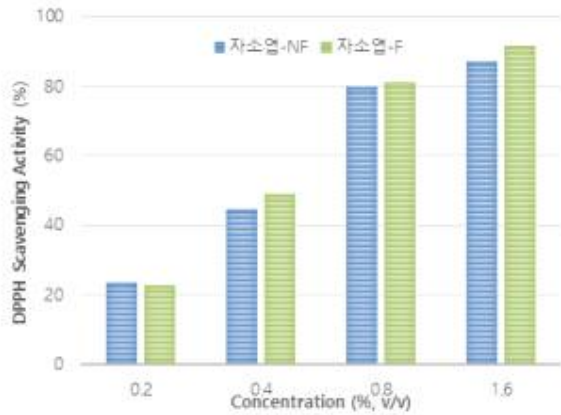


<고체발효추출물 제조 공정>

2) 발효 전후 생리활성탐색

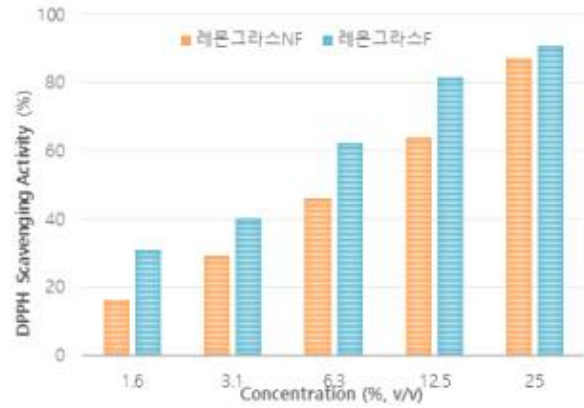
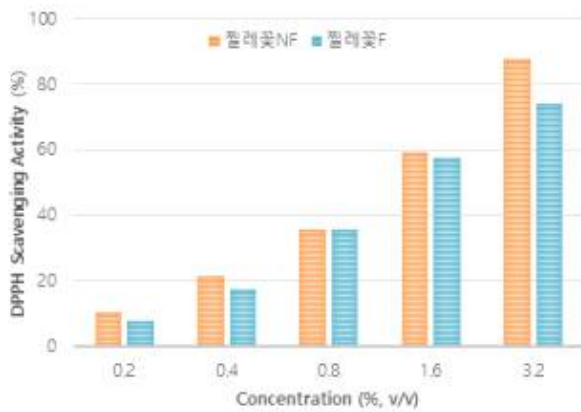
○ 발효 전후 항산화 효과(DPPH scavenging assay) 비교

○ 액체 발효물



<액체발효물의 발효 전후 항산화 활성 비교>

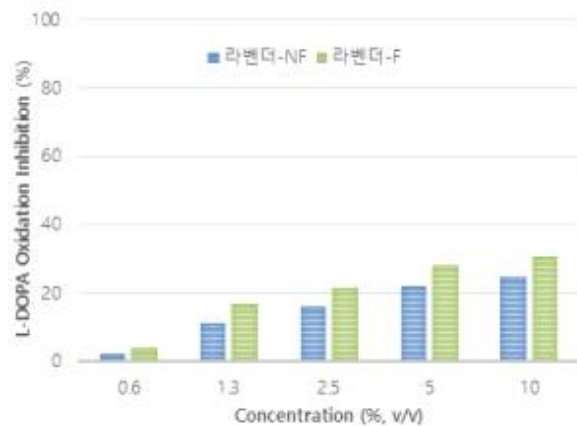
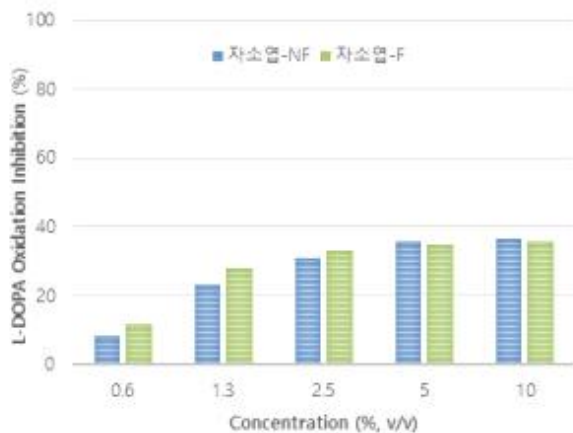
○ 고체 발효물



<고체발효추출물의 발효 전후 항산화 활성 비교>

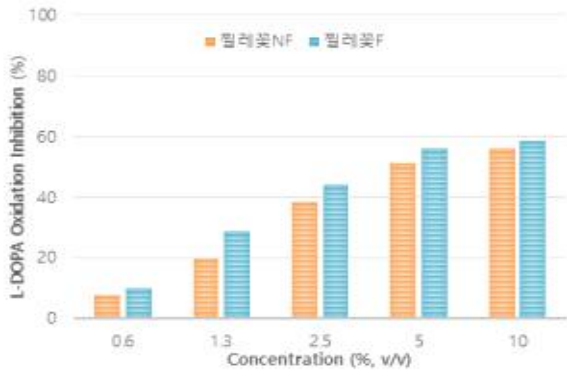
○ 발효 전후 미백 효과(L-DOPA oxidation inhibition assay) 비교

○ 액체 발효물



<액체발효물의 발효 전후 미백 활성 비교>

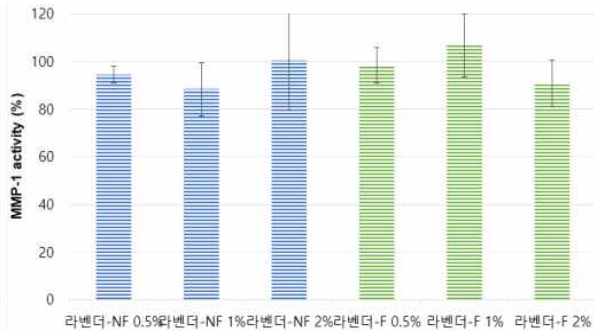
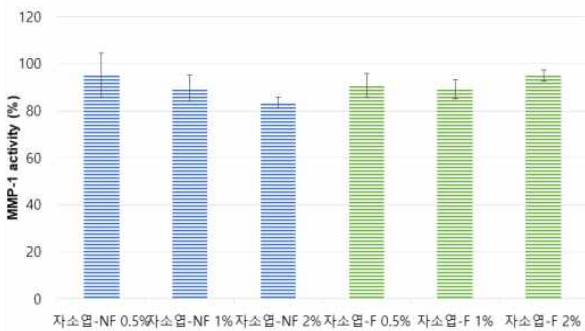
○ 고체 발효물



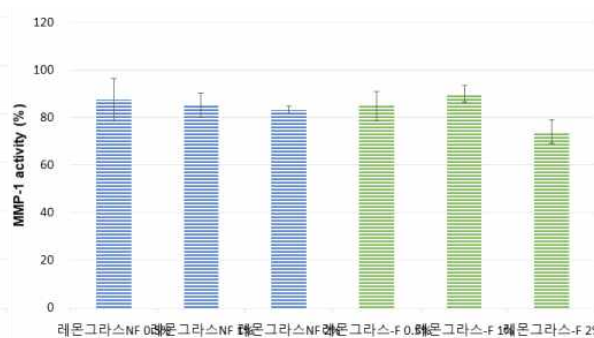
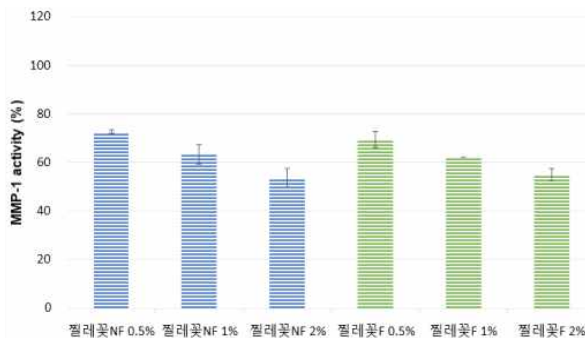
<고체발효추출물의 발효 전후 미백 활성 비교>

- 발효공정을 추가함으로써 얻을 수 있는 항산화, 미백 효과의 향상은 크지 않았지만, 라벤더 액체발효물과 찔레꽃 고체발효추출물에서 미백 효과, 레몬그라스 고체발효추출물에서 항산화 효과의 향상을 관찰할 수 있었음.
- 레몬그라스 고체발효추출물에서는 오히려 미백 효과의 감소를 관찰하였다. 발효를 통해 구성물질의 변화를 유도할 때 항상 효능의 향상만을 기대할 수는 없고, 화장품 원료로서 갖는 다른 장점(향, 색, 질감 등)에 대해서도 다양한 평가가 필요함.

○ 발효 전후 주름 효과(MMP-1 activity) 비교



<피부섬유아세포에서 액체발효물의 발효 전후 주름활성 비교>

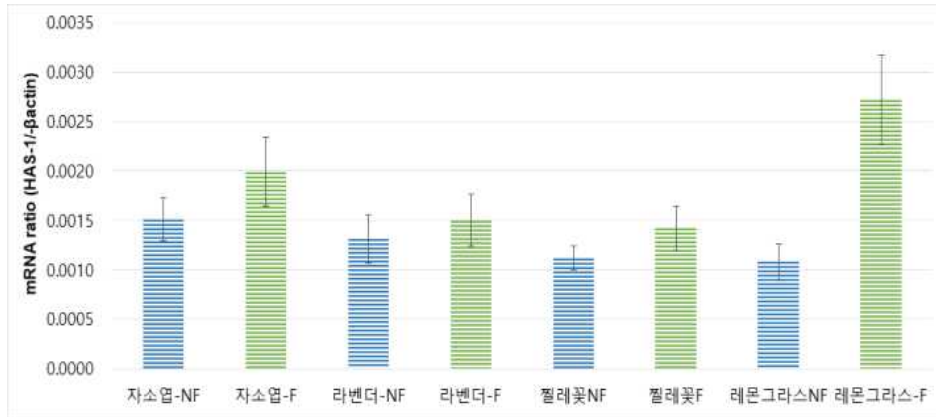


<피부섬유아세포에서 고체발효추출물의 발효 전후 주름활성 비교>

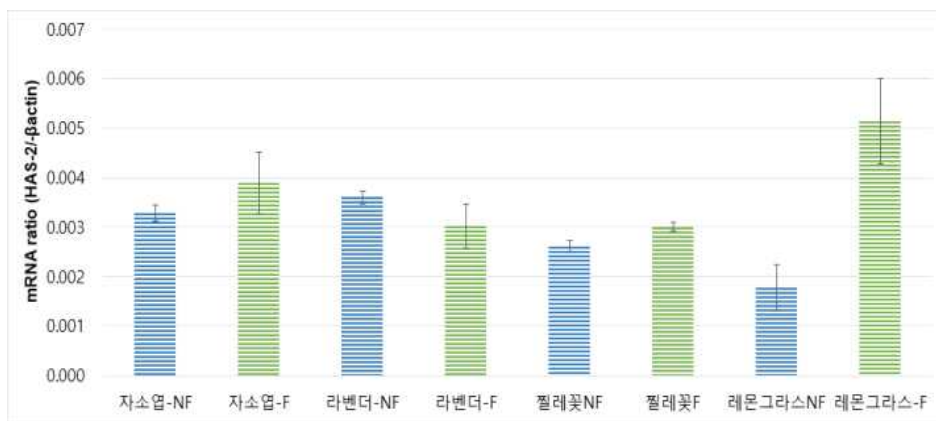
- 액체발효물과 고체발효추출물을 피부섬유아세포(HS27)에 48시간동안 처리하여 발효전후 주름개선 효과를 비교하였음. 발효공정을 추가함으로써 액체발효물과 고체발효추출물에서 발효전후에 MMP-1 activity는 큰 차이를 보이지 않았지만, 2%의 라벤더발효물과 레몬그라스발효추출물에서 미미한 감소효과를 나타내었음.

○ 발효 전후 보습 효과(HAS mRNA 발현) 비교

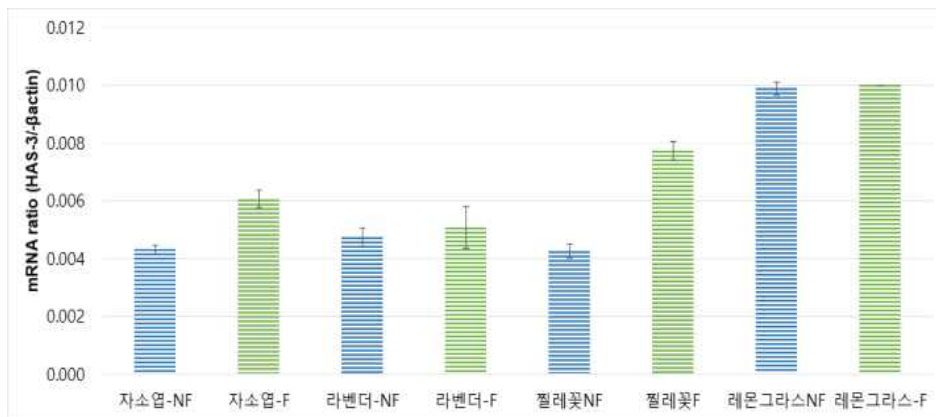
○ 액체발효물(자소엽, 라벤더) 및 고체발효물(찔레꽃, 레몬그라스)



<피부각질세포에서 액체발효물과 고체발효추출물의 HAS-1 유전자에 미치는 영향>



<피부각질세포에서 액체발효물과 고체발효추출물의 HAS-2 유전자에 미치는 영향>



<피부각질세포에서 액체발효물과 고체발효추출물의 HAS-3 유전자에 미치는 영향>

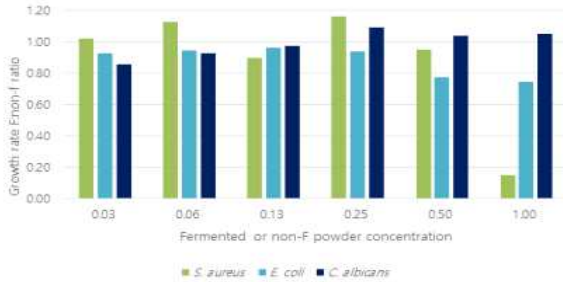
- 2% 액체발효물과 고체발효추출물을 피부각질세포(HaCaT)에 48시간동안 처리하여 발효전후 보습개선 효과를 비교하였음. 발효공정을 추가함으로써 자소엽액체발효물에서 HAS-1, HAS-2, HAS-3 mRNA의 발현이 증가하였지만 라벤더액체발효물은 큰 차이를 보이지 않았음.
- 레몬그라스 고체발효물추출물에서 발효 후에 HAS-1, HAS-2 mRNA가 증가하였으며, 찔레꽃 고체발효물추출물에서는 HAS-3 mRNA의 발현이 증가함.

○ 항균 효과

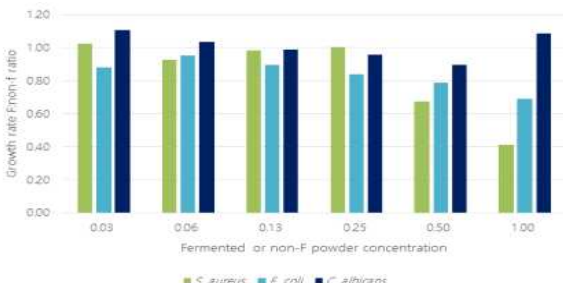
○ 측정방법

- 피부 상재균 3종을 대상으로 항균 효과를 시험하였다. 그람 양성 세균인 *Staphylococcus aureus*, 그람 음성 세균인 *Escherichia coli*, 그리고 진균인 *Candida albicans*를 사용하였고, 양성대조군으로 세균에는 tetracycline, 진균에는 ketoconazole을 사용하였음.

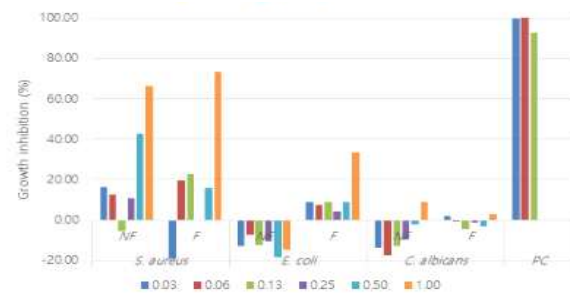
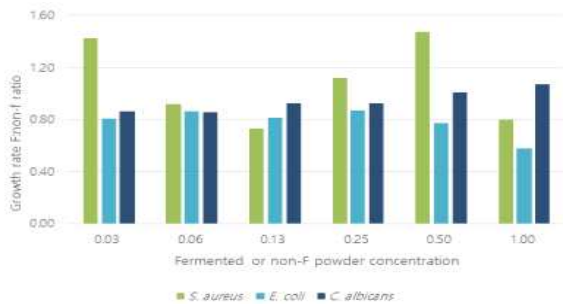
○ 남원허브 9종 발효 전후 샘플 항균력 평가 (남원시화장품산업지원센터 공급)



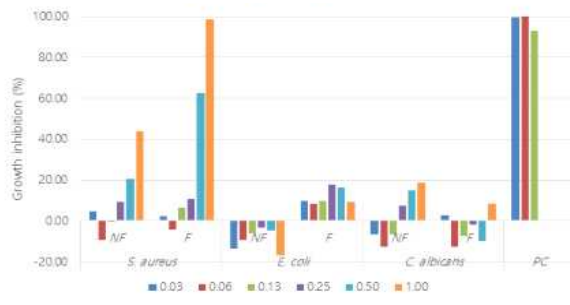
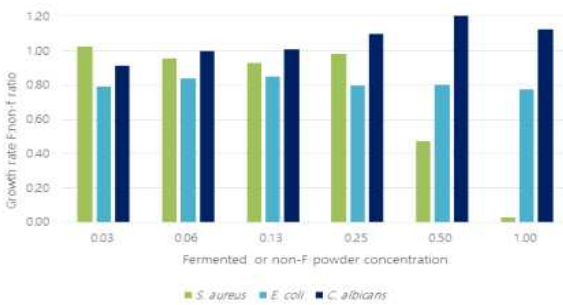
<감국의 발효 전후 항균 효과 비교>



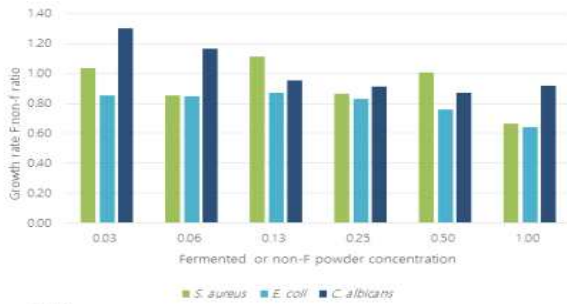
<라벤더의 발효 전후 항균 효과 비교>



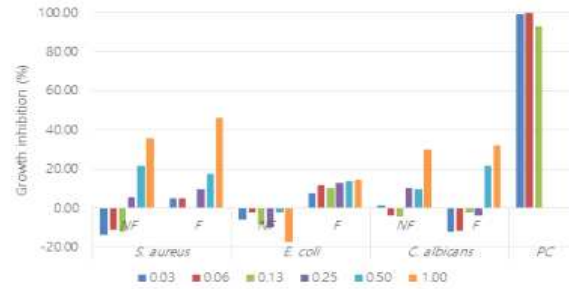
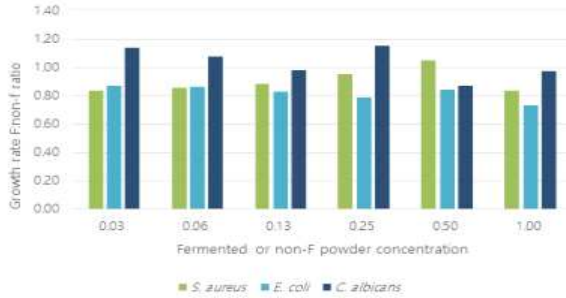
<산구절초의 발효 전후 항균 효과 비교>



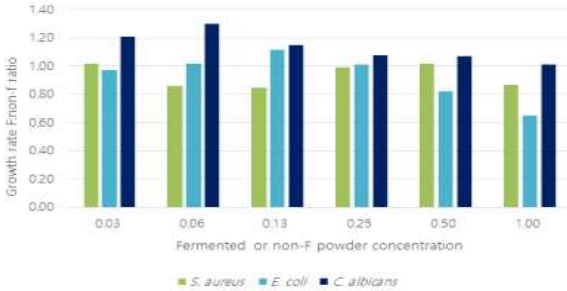
<레몬그라스의 발효 전후 항균 효과 비교>



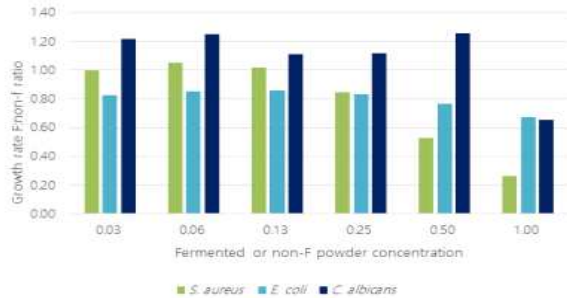
<와송의 발효 전후 항균 효과 비교>



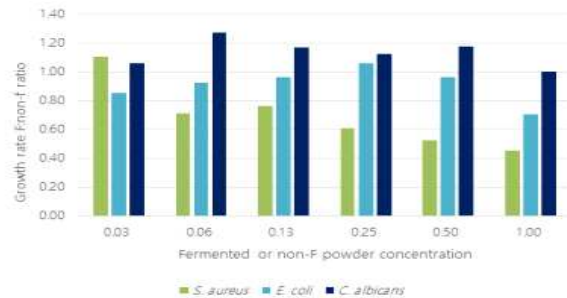
<자소엽의 발효 전후 항균 효과 비교>



<짚레의 발효 전후 항균 효과 비교>



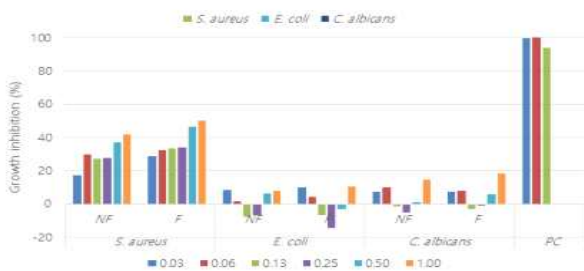
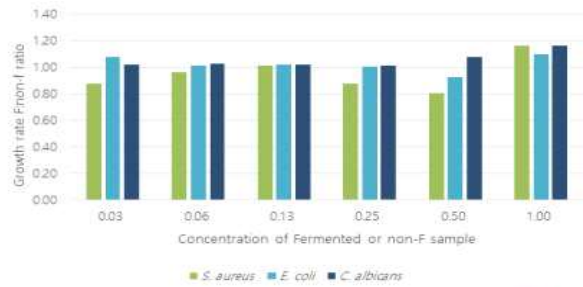
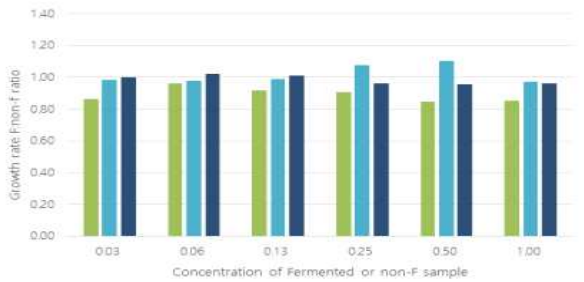
<개모마일의 발효 전후 항균 효과 비교>



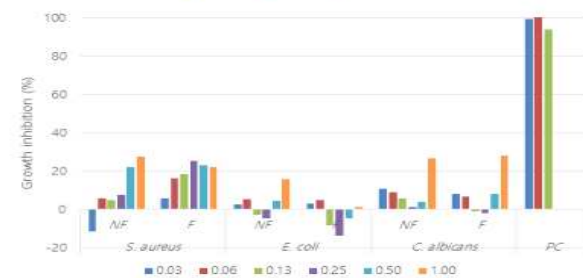
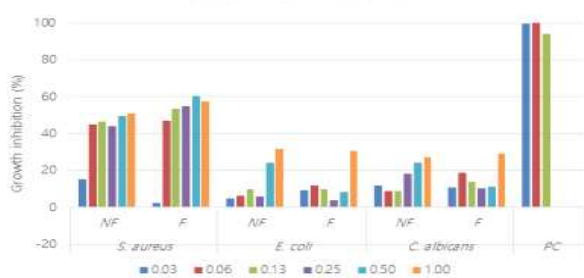
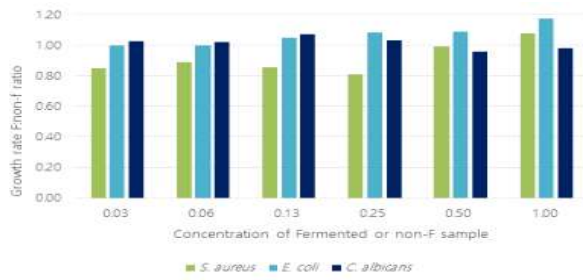
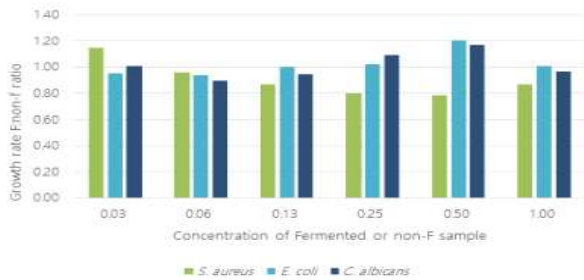
<흰민들레의 발효 전후 항균 효과 비교>

- 감국, 라벤더, 레몬그라스, 개모마일, 흰민들레의 발효 파우더 1% 처리시 대조군(발효 전) 대비 그람 양성 세균에 대한 항균력이 좋아지는 것을 관찰하였음. 와송의 경우 발효 전후 모두 진균에 대한 항균력을 보였으며, 발효 후 미미한 차이를 보일 뿐 큰 차이는 없었음.

○ 액체 • 고체 발효 공정을 적용한 시료의 항균력 평가



<자소엽, 라벤더 액체발효물의 항균 효과>



<찔레꽃, 레몬그라스 고체발효추출물의 항균 효과>

- 남원시화장품산업지원센터의 발효물 파우더를 분석했을 때와 마찬가지로, 네 가지 발효공정 결과물 모두 그람양성세균에 대한 항균 효과를 보였고, 자소엽 액체발효물과 찔레꽃 고체발효추출물에서 발효에 의한 미미한 향상을 관찰하였음.
- 찔레꽃 고체발효추출물의 경우, 전년도에 관찰한 추출물의 항균효과를 그대로 유지하고 있어, 발효에 의해 다른 장점(향, 색, 질감 등)을 보일 경우 상품성이 높아지는 효과를 얻을 것으로 기대됨.

○ 액체발효물과 고체발효추출물의 활성물질 분석

○ 유효성분 분석

- 위에서 정립한 발효 조건을 이용하여 제작한 라벤더와 자소엽의 액체발효물, 그리고 찔레꽃과 레몬그라스의 고체발효추출물들을 분석하였음. 발효 전후 유효성분의 상대적인 함량은 아래 표와 같음.

<액체발효물 유효성분 분석>

표준물질	라벤더			자소엽		
	전	후	후/전	전	후	후/전
Apigenin	0.046	0.196	4.261	0.246	0.614	2.496
Caffeic acid	6.003	2.687	0.448	25.678	1.414	0.055
<i>p</i> -coumaric acid	0.726	0.644	0.887	2.119	0.556	0.262
Ferulic acid	.	.	.	0.293	0.326	1.113
Gallic acid
Hamamelitannin
Isoquercitrin	.	.	.	0.427	0.416	0.974
Kaempferol
Luteolin	0.457	0.652	1.427	0.646	1.506	2.331
Quercetin
Rosmarinic acid	28.142	24.323	0.864	63.831	56.800	0.890
Salicylic acid	1.072	1.142	1.065	0.480	0.551	1.148
Catechin
Syringic acid	.	.	.	4.933	4.845	0.982
Chlorogenic acid
Phloroglucinol
Shikonin
Curcumin
Galangin
Glycyrrhizin
Naringin
Total	36.446	29.644	-	98.653	67.028	-

- 라벤더의 경우 luteolin의 양이 발효에 의해 증가하였고, 자소엽 액체발효물에서는 apigenin과 luteolin의 증가를 확인할 수 있었음.

<액체발효물 유효성분 분석>

표준물질	찔레꽃			레몬그라스		
	전	후	후/전	전	후	후/전
Apigenin	0.042	0.029	0.690	.	.	.
Caffeic acid	0.156	0.241	1.545	0.690	1.498	2.171
<i>p</i> -coumaric acid
Ferulic acid	.	.	.	0.908	1.012	1.115
Gallic acid	93.666	104.785	1.119	.	0.142	
Hamamelitannin
Isoquercitrin	16.431	16.648	1.013	0.011	0.012	1.091
Kaempferol	2.376	2.203	0.927	0.054	0.047	0.870
Luteolin	0.088	0.069	0.784	0.121	0.111	0.917
Quercetin	0.867	0.960	1.107	.	.	.
Rosmarinic acid
Salicylic acid	1.280	1.372	1.072	0.007	0.019	2.714
Catechin	4.877	3.284	0.673	0.313	0.330	1.054
Syringic acid
Chlorogenic acid	1.406	2.717	1.932	17.602	22.646	1.287
Phloroglucinol
Shikonin
Curcumin
Galangin
Glycyrrhizin
Naringin
Total	121.189	132.308	-	19.706	25.817	-

- 찔레꽃 고체발효추출물에서 caffeic acid와 chlorogenic acid가 발효에 의해 증가하였고, 레몬그라스의 경우 caffeic acid, 그리고 미량이지만 salicylic acid의 증가를 확인하였음. 추출비율과 발효 공정을 조정한다면 효능에 영향을 미치고, 상품성을 높일 수 있는 수준까지 가능할 것으로 판단하였음.

마. 전북농업기술원 허브시험장(제4협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
3차 년도 (2019)	남원지역 특화자원의 허브생산 기술 개발	와송 잡초경감을 위한 피복자재 선발 (생력화재배)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 와송 ○ 처리방법 : 멀칭비닐(관행), 멀칭비닐+왕겨, 멀칭비닐+뽕짚, 멀칭비닐+차광망 ○ 조사항목 : 잡초발생양상, 활착률, 수량성, 경제성 등 	- 시험처리에 따른 생육특성과 잡초 발생 양상 조사
		허브 병해충 방제를 위한 유기농자재 선발(고품질생산)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 와송, 자소엽, 레몬그라스, 찔레 ○ 처리방법 : 님추출물, 제충국추출물 등 ○ 조사항목 : 병해충발생양상, 방제가, 생육특성 등 	- 병해충 발생여부 조사와 유기농 자재 처리에 따른 약해발생여부 조사

1) 와송 잡초경감을 위한 피복자재 선발(생력화재배)

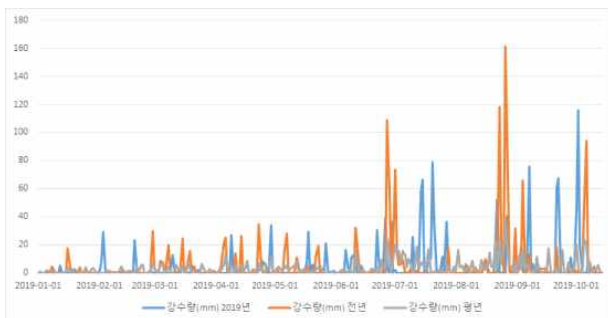
○ 연구개발 수행지역 기상조건(기온, 습도, 강수량)



<2019년 연간 기온(°C)>



<2019년 연간 습도(%)>



<2019년 연간 강수량(mm)>

- 남원지역특화자원의 허브생산기술 개발 연구는 전라북도 남원시 운봉읍에 위치한 허브산채시험장에서 수행하였으며, 2019년 5월부터 10월까지 기상조건을 조사한 결과 연평균 기온은 19.8°C, 연평균 습도는 78%, 연평균 강수량은 194.0mm였음.
- 평년(5년기준) 대비 2019년 5월부터 10월까지 평균기온 편차('19년-평년)는 0.1~1.2°C 범위로 큰 차이를 나타내지 않았으나, 7월 강수량은 352.5mm로 평년 대비 편차 160mm, 전년 대비 편차 221mm였고, 8월 강수량은 134.5mm로 평년 대비 편차 -106.8mm, 전년대비 편차 -334mm였으며, 9월 강수량은 256.5mm로 평년 대비 편차 136.6mm, 전년 대비 편차 140mm로 월별 강수량에 있어 차이를 보였음.

○ 잡초경감 피복자재 선발시험을 위한 처리구 조성

- 전라북도 남원시 운봉읍에 위치한 허브산채시험장 내 시험연구수행을 위한 포장을 조성함. 와송 잡초경감을 위한 피복자재로 왕겨, 벗짚, 차광망을 선택하였고, 시험처리구별 피복자재를 처리한 후 멀칭비닐을 덧씌워 멀칭비닐만 처리한 구역을 대조구로 두고 왕겨+멀칭비닐, 벗짚+멀칭비닐, 차광망+멀칭비닐 처리구를 둠.
- 시험처리에 사용한 차광망은 75% 차광망을 사용하였으며, 처리구가 충분히 피복될 수 있도록 왕겨와 벗짚은 10a당 각 1,000kg씩 처리함.

○ 바위솔(와송) 묘소질 특성

초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	엽두께(mm)	줄기수
3.0±1.2	3.9±0.8	0.5±0.2	2.5±0.3	1.0±0.0

- 바위솔을 4월 파종하였으나 출현율 및 묘 생육속도가 저조하여 익산지역 농가에서 종묘를 구입하여 5월 상순에 정식하였음.

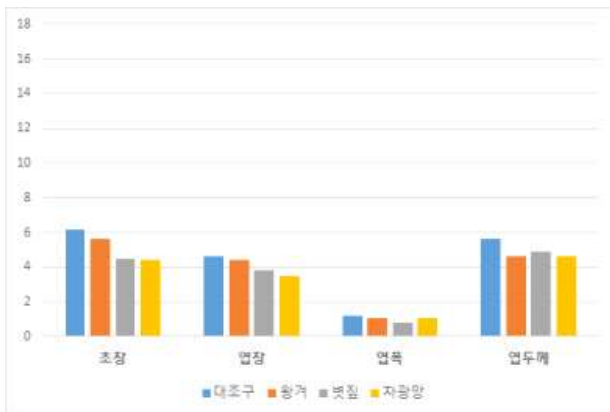
○ 시험처리구별 바위솔 생육특성 및 활착률(조사일: 6.25.)

구 분	초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	엽두께(mm)	활착률
대 조 구	6.2±0.7	4.6±0.3	1.2±0.4	5.6±1.1	97%
왕겨처리구	5.6±0.6	4.4±0.6	1.1±0.3	4.6±0.7	95%
벗짚처리구	4.5±0.4	3.8±0.7	0.8±0.2	4.9±0.8	88%
차광망처리구	4.4±0.5	3.5±0.9	1.1±0.2	4.6±0.3	95%

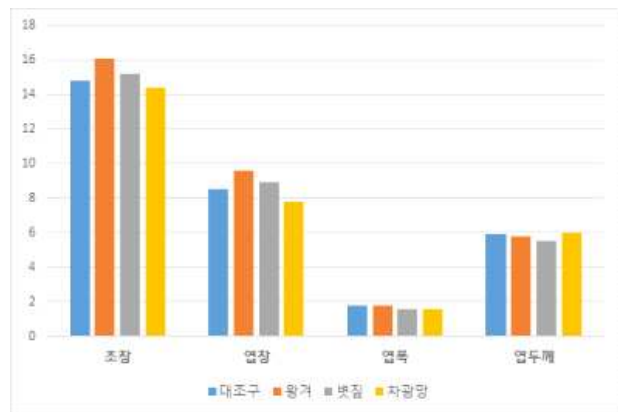
- 시험처리구별 초기 생육특성 조사결과 피복자재별 생육특성에 유의미한 차이를 나타내지 않음에 따라 피복자재별 특성이 초기 바위솔 생육에 미치는 영향은 적은 것으로 판단됨.
- 바위솔 정식 후 활착률을 조사한 결과 피복자재 시험처리구가 대조구 대비 저조한 양상을 보였고, 벗짚 처리구의 활착률이 상대적으로 저조한 결과를 나타냄.
- 피복자재와 바위솔 초기 생존 간 상관관계가 나타나지 않음. 정식의 편의와 초기 활착률을 고려하여 시험처리에 75% 차광망을 선택하였으나 오차범위내 대조구 대비 활착률이 낮게 나타남.

○ 처리구별 바위솔 생육특성 및 잡초발생량

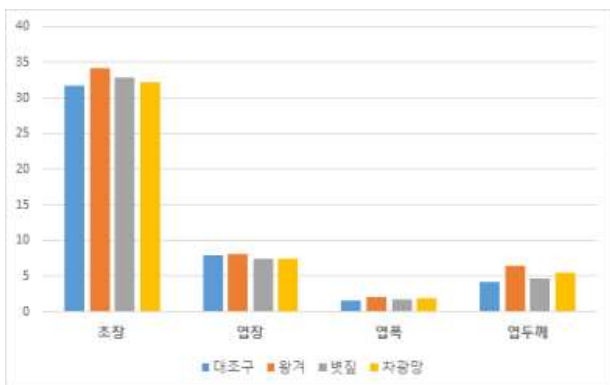
구 분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽두께 (mm)	잡초발생량 (kg/m ²)
7.21	대조구	14.8±2.2	8.5±0.7	1.8±0.3	5.9±0.7	7.2
	왕겨	16.1±1.0	9.6±0.8	1.8±0.3	5.8±1.0	6.9
	벼짚	15.2±1.6	8.9±1.4	1.6±0.3	5.5±0.9	8.4
	차광망	14.4±0.5	7.8±1.4	1.6±0.2	6.0±1.1	6.2
9.10.	대조구	31.7±3.2	7.9±1.6	1.6±0.2	4.2±0.5	1.36
	왕겨	34.1±1.7	8.1±0.7	2.0±0.4	6.5±1.1	0.52
	벼짚	32.9±3.1	7.4±1.1	1.7±0.4	4.7±0.4	0.95
	차광망	32.2±2.9	7.4±0.8	1.8±0.5	5.5±1.4	0.32
10.11.	대조구	33.7±7.9	6.9±2.3	1.1±0.4	3.4±0.6	0.57
	왕겨	33.7±4.3	6.0±1.4	1.6±0.3	4.3±0.9	0.21
	벼짚	32.6±5.5	5.9±2.2	1.2±0.4	3.7±1.1	0.47
	차광망	32.1±4.3	6.4±0.4	1.3±0.2	4.1±0.5	0.17



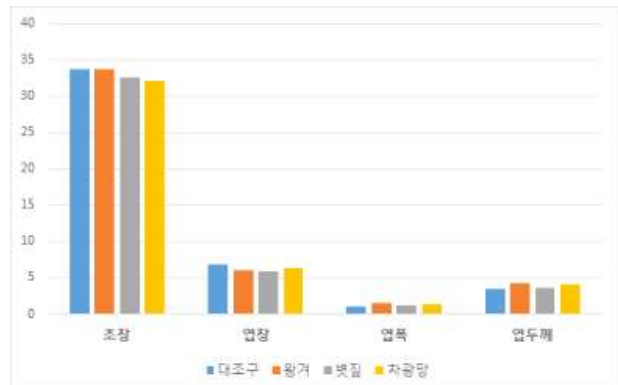
<바위솔 생육특성(6월)>



<바위솔 생육특성(7월)>



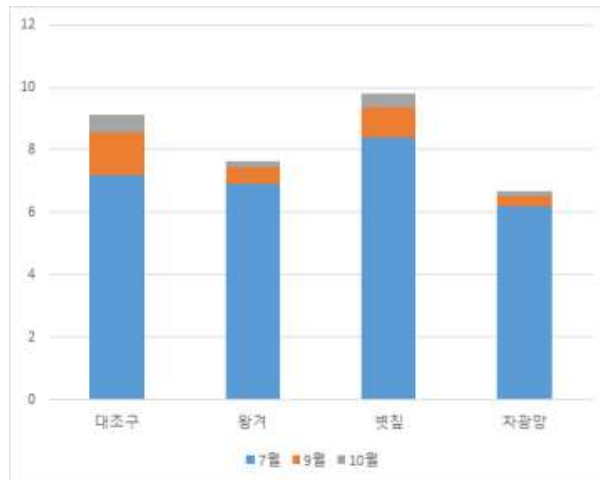
<바위솔 생육특성(9월)>



<바위솔 생육특성(10월)>

- 시험처리구별 바위솔 생육 조사는 6월, 7월, 9월, 10월 네 차례 수행하였으며, 피복자재 처리구별 바위솔 생육 간 유의미한 차이는 나타나지 않음. 다만 대조구 대비 왕겨숯 처리구의 생육이 다소 우수한 것으로 보임.

- 바위솔 생육을 조사한 결과 6월부터 9월 상순까지 생육이 증가하는 경향을 보이다가 개화가 시작되는 9월 중순 이후 엽이 퇴화하는 경향을 보임에 따라 바위솔의 잎을 이용하기 위해 생산하는 경우 9월이 수확 적기로 판단됨. 다만, 바위솔 꽃대를 이용한 생산을 위해서는 생체중 및 기능성분 함유량의 변화 등 추가적인 연구를 통해 적정 수확시기를 설정할 필요가 있을 것으로 판단됨.
- 바위솔 정식 후 5월 하순에 잡초 출현하였고, 5월 하순 최초 잡초 출현 이후 7월까지 단위 면적(3.3㎡)당 잡초발생량은 대조구 23.8kg, 왕겨 처리구 22.8kg, 벗짚 처리구 27.7kg, 차광망 처리구 20.5kg으로 조사됨. 대조구 대비 왕겨숯과 차광망 처리시 대조구 대비 각각 4%와 14% 잡초경감 효과가 있는 것으로 나타남에 반해 벗짚 처리시 대조구 대비 16%잡초발생이 증가하는 결과를 보임. 이러한 결과가 나타나는 원인은 시험 처리구 토양 및 벗짚 내에 잔여하고 있는 잡초 종자가 교란변수로 작용한 결과로 판단됨.

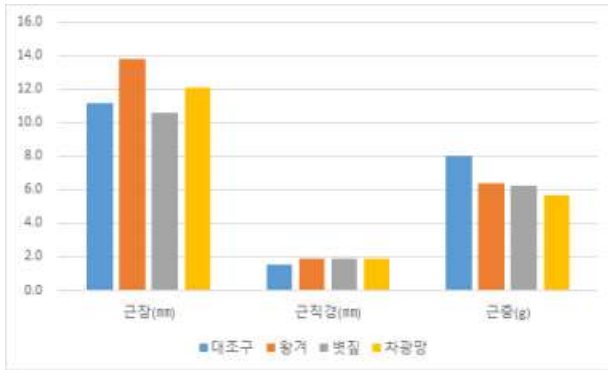


<시험처리구별 잡초발생량>

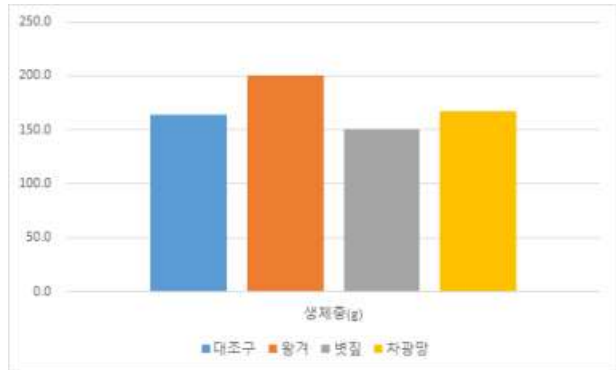
- 대조구 대비 왕겨와 차광망 처리구의 잡초 발생량은 각각 16%, 27% 감소한 결과를 나타낸 반면, 벗짚 처리구의 잡초 발생량은 대조구 대비 7%증가한 결과를 나타냄.
- 벗짚 처리구의 잡초발생량이 상대적으로 많고, 편차가 크지 않지만, 벗짚 처리구 바위솔 생육상태가 다른 처리구 생육에 비하여 저조한 원인은 벗짚이 다른 피복자재에 비하여 큰 단위면적을 가지고 있어 바위솔의 뿌리 활착을 방해하고, 뿌리가 발달하지 못한 바위솔에 비해 상대적으로 뿌리가 발달한 잡(초)종이 우세한 결과로 보임.
- 우세 잡초 형태



○ 시험처리구별 바위솔 지하부 생육특성 및 생체중



<처리구별 바위솔 지하부 생육특성>



<처리구별 바위솔 생체중(g)>

- 바위솔 지하부 생육특성을 비교해본 결과 처리구별 유의미한 차이를 찾아볼 수 없었음. 생체중은 왕겨처리구가 다소 양호한 결과를 보임. 처리구별 수량성은 왕겨처리구가 다소 양호한 결과를 나타내었으나 추후 처리별 경제성분석을 통해 보완할 계획임.

2) 허브 병해충 방제를 위한 유기농자재 선발(고품질 생산)

○ 유기농자재 선발 시험처리

- 시험처리 대상 작물은 레몬그라스, 찔레, 와송, 자소엽을 선정하였음. 찔레와 와송은 모종을 구입하여 4월 하순 정식 하였으며, 레몬그라스와 자소엽은 4월 하순 파종하여 5월 상순 정식하였음.
- 허브 병해충 방제를 위한 유기농자재선발을 위하여 무처리구간을 대조구로 하여 님추출물, 담배잎추출물, 제충국추출물, 데리스추출물의 처리구를 조성하였음. 정식 후 6월 중순까지 병해충 발생이 없어 유기농 자재는 1차 생육조사(6.17.) 후 6월 하순(6.24.) 처리가 이루어졌으며, 각각의 처리는 자재별 권장 희석량을 적용하여 님추출물과 담배잎추출물은 500배 희석기준을 적용하고, 제충국추출물과 데리스추출물은 1,000배 희석기준을 적용하여 경엽을 중심으로 식물체에 충분히 살포하였음. 6월 24일 처리 후 26일과 27일 이틀에 걸친 강수(누적 강수량 42mm)로 7월 상순(7.2.) 2차 시험처리 하였음.

○ 처리구 생육특성

○ 레몬그라스 시기별 생육특성

구 분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	NBI	Chl	Flav	Anth
6월	대 조 구	87.1 (±10.4)	67.4 (±11.1)	1.8 (±0.1)	9.9 (±0.4)	19.6 (±2.0)	37.0 (±4.5)	1.82 (±0.09)	0.09 (±0.02)
	님 추 출 물	91.6 (±12.2)	75.1 (±7.4)	1.8 (±0.0)	9.4 (±0.7)	20.7 (±3.3)	37.3 (±5.9)	1.82 (±0.25)	0.10 (±0.01)
	담배잎추출물	92.6 (±8.3)	75.9 (±5.9)	1.7 (±0.1)	7.5 (±2.2)	19.2 (±2.6)	23.0 (±10.4)	1.33 (±0.50)	0.09 (±0.02)
	제충국추출물	72.5 (±10.0)	50.2 (±6.2)	1.3 (±0.1)	7.1 (±1.3)	15.9 (±2.4)	26.5 (±3.1)	1.71 (±0.32)	0.10 (±0.01)
	데리스추출물	80.9 (±4.0)	62.6 (±3.1)	1.7 (±0.4)	8.6 (±1.7)	19.3 (±6.3)	27.7 (±7.1)	1.49 (±0.20)	0.11 (±0.02)
8월	대 조 구	151.0 (±5.8)	113.0 (±6.8)	2.5 (±0.3)	9.2 (±0.2)	27.6 (±6.1)	38.3 (±4.6)	1.44 (±0.25)	0.05 (±0.01)
	님 추 출 물	137.2 (±9.8)	98.8 (±2.2)	2.1 (±0.6)	8.4 (±0.9)	22.9 (±4.5)	39.1 (±4.2)	1.74 (±0.18)	0.05 (±0.02)
	담배잎추출물	151.0 (±5.8)	113.0 (±6.8)	2.5 (±0.3)	9.2 (±0.2)	27.6 (±6.1)	38.3 (±4.6)	1.44 (±0.25)	0.05 (±0.01)
	제충국추출물	132.2 (±8.4)	104.2 (±19.1)	1.7 (±0.3)	8.6 (±1.3)	22.3 (±2.3)	40.2 (±5.4)	1.75 (±0.09)	0.05 (±0.02)
	데리스추출물	136.6 (±2.9)	102.8 (±9.2)	2.2 (±0.5)	11.9 (±3.3)	33.2 (±14.7)	46.6 (±2.8)	1.58 (±0.41)	0.04 (±0.01)

○ 찔레 시기별 생육특성

구 분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	NBI	Chl	Flav	Anth
6월	대 조 구	31.1 (±8.2)	2.0 (±0.0)	0.8 (±0.0)	5.2 (±0.6)	16.5 (±1.7)	25.3 (±2.0)	1.54 (±0.06)	0.11 (±0.01)
	님 추 출 물	25.2 (±3.0)	1.7 (±0.2)	0.9 (±0.0)	7.4 (±1.7)	15.8 (±2.9)	24.6 (±7.0)	1.52 (±0.19)	0.09 (±0.03)
	담배잎추출물	36.1 (±9.4)	2.0 (±0.1)	1.0 (±0.1)	7.6 (±1.4)	15.0 (±3.1)	24.2 (±7.4)	1.57 (±0.27)	0.11 (±0.04)
	제충국추출물	28.0 (±7.1)	2.0 (±0.0)	0.9 (±0.1)	5.5 (±0.8)	21.0 (±3.2)	33.5 (±0.5)	1.63 (±0.21)	0.07 (±0.01)
	데리스추출물	27.4 (±2.9)	2.5 (±0.3)	1.2 (±0.1)	5.2 (±0.6)	15.0 (±2.9)	25.5 (±2.8)	1.73 (±0.19)	0.12 (±0.04)
8월	대 조 구	90.1 (±30.0)	2.1 (±0.3)	1.0 (±0.1)	6.7 (±1.3)	17.7 (±1.3)	28.6 (±3.8)	1.49 (±0.26)	0.04 (±0.01)
	님 추 출 물	76.0 (±15.5)	2.2 (±0.2)	0.9 (±0.1)	8.3 (±0.9)	17.8 (±1.7)	29.6 (±4.9)	1.45 (±0.54)	0.03 (±0.00)
	담배잎추출물	80.9 (±16.5)	2.0 (±0.2)	0.9 (±0.1)	5.3 (±2.8)	19.7 (±3.7)	26.6 (±4.2)	1.41 (±0.35)	0.05 (±0.02)
	제충국추출물	103.1 (±19.3)	2.2 (±0.2)	1.1 (±0.1)	8.0 (±1.4)	20.3 (±1.6)	31.7 (±3.4)	1.72 (±0.10)	0.05 (±0.01)
	데리스추출물	88.1 (±22.9)	2.1 (±0.3)	1.0 (±0.1)	6.8 (±1.1)	19.5 (±2.6)	29.5 (±2.1)	1.53 (±0.15)	0.04 (±0.02)

○ 와송 시기별 생육특성

구 분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽두께 (mm)	NBI	Chl	Flav	Anth
8 월	대 조 구	14.8 (±2.2)	8.5 (±0.7)	1.8 (±0.3)	5.9 (±0.7)	-	-	-	-
	님 추 출 물	14.4 (±0.5)	7.8 (±1.4)	1.6 (±0.2)	6.0 (±1.1)	-	-	-	-
	담배잎추출물	16.0 (±2.5)	8.1 (±0.8)	1.8 (±0.5)	5.7 (±0.9)	-	-	-	-
	제충국추출물	15.0 (±2.2)	9.9 (±1.2)	2.0 (±0.2)	6.9 (±1.0)	-	-	-	-
	데리스추출물	15.2 (±1.6)	8.9 (±1.4)	1.6 (±0.3)	5.5 (±0.9)	-	-	-	-
10 월	대 조 구	34.4 (±4.8)	7.0 (±1.1)	1.3 (±0.4)	3.4 (±0.9)	-	-	-	-
	님 추 출 물	29.2 (±8.4)	4.7 (±1.8)	1.3 (±0.4)	3.7 (±1.0)	-	-	-	-
	담배잎추출물	36.6 (±5.1)	6.6 (±2.1)	1.3 (±0.4)	3.3 (±1.4)	-	-	-	-
	제충국추출물	29.8 (±8.3)	5.6 (±1.1)	1.4 (±0.3)	3.6 (±1.1)	-	-	-	-
	데리스추출물	33.4 (±5.0)	8.1 (±2.4)	1.3 (±0.3)	3.5 (±0.9)	-	-	-	-

○ 자소엽 시기별 생육특성

구 분		초장 (cm)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	경직경 (mm)	NBI	Chl	Flav	Anth
6월	대 조 구	15.4 (±3.0)	11.5 (±0.8)	8.5 (±0.4)	4.9 (±1.0)	16.3 (±10.1)	24.7 (±1.1)	1.10 (±0.04)	0.57 (±0.03)
	님 추 출 물	13.8 (±0.2)	9.6 (±0.4)	8.0 (±0.4)	4.1 (±0.5)	21.9 (±3.1)	24.9 (±3.3)	1.14 (±0.02)	0.53 (±0.05)
	담배잎추출물	17.0 (±2.1)	11.5 (±0.5)	8.7 (±0.5)	4.6 (±0.5)	21.2 (±1.9)	23.0 (±1.7)	1.09 (±0.03)	0.66 (±0.07)
	제충국추출물	9.7 (±2.0)	8.0 (±1.3)	5.5 (±0.3)	3.3 (±0.4)	19.9 (±1.1)	22.2 (±1.3)	1.11 (±0.01)	0.68 (±0.07)
	데리스추출물	7.8 (±2.1)	6.7 (±0.6)	4.9 (±0.9)	3.0 (±0.5)	18.8 (±2.1)	22.8 (±1.3)	1.22 (±0.08)	0.70 (±0.10)
8월	대 조 구	80.3 (±2.2)	12.6 (±1.2)	8.7 (±0.2)	21.3 (±1.5)	15.9 (±3.0)	17.5 (±1.8)	1.16 (±0.10)	0.78 (±0.09)
	님 추 출 물	77.1 (±7.7)	12.5 (±1.4)	9.5 (±1.6)	18.6 (±3.1)	33.2 (±15.4)	30.6 (±10.0)	0.99 (±0.19)	0.70 (±0.18)
	담배잎추출물	67.5 (±10.3)	12.6 (±1.7)	9.5 (±1.7)	16.8 (±3.7)	20.6 (±8.0)	25.1 (±10.5)	1.21 (±0.11)	0.65 (±0.18)
	제충국추출물	64.4 (±9.6)	12.9 (±0.8)	10.4 (±1.7)	12.7 (±3.0)	17.8 (±3.8)	19.4 (±2.0)	1.12 (±0.17)	0.74 (±0.19)
	데리스추출물	52.9 (±5.3)	14.4 (±1.1)	9.8 (±1.4)	11.6 (±2.3)	22.7 (±12.9)	25.8 (±12.8)	1.17 (±0.11)	0.66 (±0.22)

- 시기별 레몬그라스, 찔레, 바위솔, 자소엽의 생육특성을 조사해 본 결과 처리구별 유의미한 생육차이가 나타나지 않았고, 약해 시험결과에서도 약해가 나타나지 않았음. 유기농자재와 시험작목의 생육 간 유의미한 상관관계가 도출되지 않음.

○ 병해충 발생양상

- 병해충 발생 여부는 매주 월요일과 수요일을 기준으로 수시로 관찰하여 조사함. 정식 후 5월부터 9월에 걸쳐 연중 수시로 관찰하여 조사한 결과 찔레(9월 상순 진딧물 발생)를 제외한 시험대상 작목에 병해충 발생하지 않음.
- 찔레에 발생한 진딧물에 대하여 생충수를 조사하였으며, 유기농 자재 처리 직전 및 처리 후 3일 간격으로 2회 조사하였음. 피해조사는 20엽 규모로 하였으며, 생충률(%)로 약효를 표시하였음.(생충률(%)=(처리후 밀도/처리전밀도)×100)

구 분	처리전 평균 생충수	처리후 평균 생충수	생충률(%)
님추출물	2.25 (±1.7)	0.70 (±0.7)	27.5
담배잎추출물	2.00 (±1.5)	0.45 (±0.5)	22.5
제충국추출물	2.95 (±1.7)	1.40 (±0.8)	47.5
데리스추출물	2.45 (±1.5)	1.10 (±0.7)	44.9

- 진딧물 발생에 따라 시험처리 한 후 생충률 조사결과 담배잎추출물의 생충률이 22.5%(방제가 77.5%)로 살충효과가 가장 높았음. 개체별 진딧물 발생 양상이 상이하게 나타남. 이는 진딧물 발생 전 유기농 자재 살포에 따른 예방효과가 있었을 것으로 판단됨. 추후 진딧물 발생 전과 후의 살포시기에 따른 해충 예방 및 방제 효과에 대한 보완연구 추진을 고려하고 있음.

○ 약해 여부 조사

○ 약해 검증 시험방법(유식물에 의한 약해시험법에 준하여 시험)

- 시험식물은 시험포장 3.3㎡에서 재배하였으며, 약해시험을 위한 약제 처리 전에 관수하고, 약제 처리후 3일 간은 관수를 금하였으며, 희석제는 살포액(사용량의 2배량)을 소형 분무기로 경엽에 약제가 흐르지 않을 정도로 충분히 뿌려 처리하였음.
- 약해 시험기간은 10일로 하였으며, 약해조사는 약제 처리 후 다음 날부터 3일 간격으로 ①반점 및 반문의 유무 ②황변 또는 엽소여부 ③경엽의 위조여부 ④경엽의 고사여부 ⑤낙엽여부 ⑥기타 생육상태를 수시로 관찰하여 조사하였음.
- 약해조사 판정기준은 약해 증상에 따라 약해 정도를 0에서 5까지 여섯 단계로 나누어 아래와 같이 설정하였음.

약해 정도	약해 증상	판정기준
0	육안으로 약해가 인정되지 않음	약해없음
1	아주 가벼운 약해로서 작은 약반이 약간 인정됨	
2	처리된 잎이 적은 부분에 약해가 인정됨	약해있음
3	처리된 잎의 50% 정도 약해가 인정됨	
4	상당한 피해를 받고 있으나 아직 건전한 부분이 남아있음	
5	심한 약해를 받고 고사 상태임	

- 약해 여부 조사를 위해 처리구별 식물체 3점을 대상으로 2019년 8월 19일 유기농 자재(님추출물, 담배잎추출물, 제충국추출물, 데리스추출물)를 살포하였으나 이틀 후인 21일과 22일 강수(누적 강수량 72.5mm)로 8월 29일 2차 살포 하였고, 2차 살포 후 3일 후인 9월 1일부터 12일 사이 강수(누적 강수량 112.5mm)로 9월 16일 3차 살포하여 9월 17일부터 26일까지 10일간 4번(17, 20, 23, 26일)의 조사가 이루어짐.
- 와송은 꽃대가 올라오기 전 시험처리를 위하여 온실에서 별도 포트 재배를 통하여 7월 중순 약해 여부 조사를 하였음.
- 약제 처리는 표준 사용량의 2배량으로 처리함. 님추출물 250배, 담배잎추출물 250배, 제충국추출물 500배, 데리스추출물 500배 희석함. 님추출물과 담배잎추출물은 각각 물 1ℓ에 4mℓ 희석 후 살포하였고, 제충국추출물과 데리스추출물은 각각 물 1ℓ에 2mℓ 희석 후 살포하였음.

○ 님추출물 약해 조사결과(약해 정도)

구 분	레몬그라스	찐레	와송	자소엽
9. 17.	0	0	0	0
9. 20.	0	0	0	0
9. 23.	0	0	0	0
9. 26.	0	0	0	0
최종결과	약해 없음(약해시험 중 특이사항 없음)			

○ 담배잎추출물 약해 조사결과(약해 정도)

구 분	레몬그라스	찐레	와송	자소엽
9. 17.	0	0	0	0
9. 20.	0	0	0	0
9. 23.	0	0	0	0
9. 26.	0	0	0	0
최종결과	약해 없음(약해시험 중 특이사항 없음)			

○ 제충국추출물 약해 조사결과(약해 정도)

구 분	레몬그라스	찐레	와송	자소엽
9. 17.	0	0	0	0
9. 20.	0	0	0	0
9. 23.	0	0	0	0
9. 26.	0	0	0	0
최종결과	약해 없음(약해시험 중 특이사항 없음)			

○ 데리스추출물 약해 조사결과(약해 정도)

구 분	레몬그라스	짚레	와송	자소엽
9. 17.	0	0	0	0
9. 20.	0	0	0	0
9. 23.	0	0	0	0
9. 26.	0	0	0	0
최종결과	약해 없음			

- 데리스추출물 살포 후 약해 조사결과 식물체에 약해가 나타나지는 않았으나 다른 약제 처리구에 비하여 개화된 짚레, 와송, 자소엽 식물체에 벌의 활동이 다소 줄어든 경향을 볼 수 있었음. 추후 데리스추출물이 벌 등 유익한 개체에 미치는 영향과 관련한 연구가 필요한 것으로 보임.
- 약해시험법에 준한 약해시험결과 각각의 유기농자재 처리에 따른 약해 발생 없음.

4. 4차 년도

4-1. 4차년도 수행 과정 및 수행 내용

가. (주)하이솔(제1세부, 주관)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
4차 년도 (2020)	남원지역 특화자원을 이용한 제품 개발 및 사업화	하이틴 시제품 개발	○ 제형연구를 통해 결정된 제형 으로 스킨, 로션, CC크림의 시 제품 개발 : 포뮬라 확정	- 스킨, 로션, CC크림 시제품의 처방을 확정하여 제조공정도 확립
			○ 기존 제품과의 사용감 테스트 : 성능평가	- 기존 제품(발효물 무첨가)과 시제품(발효물 첨가)의 피부 개선능 비교
		하이틴 시제품 안전성 평가	○ 시제품의 patch test	- 자체 첩포시험 안전성 확인 - 전문임상기관 안전성 확인
		하이틴 시제품 안정성 평가	○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가	- 3가지 시제품의 대량생산에서 건별(온도 편차, 온도순환) 안정성 확인
		하이틴 제품 개발	○ 제품 개발 및 품목 보고	- 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스 - 에스테마인 톡톡 스킨에센스 - 에스테마인 톡톡 컨드롤크림
		실버 제품의 제조공정도 개발	○ 향취 제거 및 마스크를 위한 첨가제 검토 ○ 향취 제거 및 마스크를 위한 원료의 비율 확립	- 향취제거 및 마스크에 적합한 향료 검토 및 비율 확립 - 포뮬라 구성 설정 - 원료의 비율 및 제조공정 투입 순서 확인
		글로벌 마케팅 인프라 구축	○ 홍보물 제작 : 해외마케팅 및 전 시용 영문 카탈로그, 동영상 제작	- 개발 브랜드 및 제품에 대한 영문 카탈로그를 제작 - 영문 홈에스테틱 동영상 제작
		마케팅 시행	○ 동영상 홍보	- 국내 홈에스테틱 관련 홍보 동영상 제작
		국내외 전시회 및 네트워킹	○ 국내외 전시회 참가	- 코로나 비상사태로 계획하던 전시회/박람회 취소되어 위기대응 온라인 화상 수출설명회 참가
○ 홍보물 제작	- 베트남어 카탈로그 제작			

1) 하이틴 시제품 개발

3차년도 결과 효능평가.지표성분 조사로 선별된 발효물 4종(자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스)을 (주)더가든오브내추럴솔루션으로부터 제공 받아 스킨, 로션, CC크림 제형에 적용하였음.

○ 처방 확정

○ 스킨 HSF-LLE-001

- 성장이 촉진되는 청소년기에는 신진대사가 가장 활발하며 호르몬의 분비가 급증하여 신체와 생리적인 변화가 두드러짐. 호르몬의 분비 불균형으로 피지 생산량이 증가하여 피지가 모공을 막고 각질층이 두터워지면서 피부가 칙칙해 보이게 될 뿐 아니라, 피지 배출 또한 원활하게 이루어지지 못하여 여드름, 뽀루지와 같은 피부 트러블이 발생함.
- 이처럼 신체와 피부에서 왕성한 호르몬 변화가 일어나는 청소년들의 피부 특성과 개선 포인트를 파악하여 피부에 수분과 보습 성분을 공급하고 이와 더불어 피부에 긴장감을 주어 과도한 피지 분비를 억제하고 피부 트러블로 인해 착색된 피부톤을 밝게 개선하도록 함.

회사명: 히솔 코스메틱스 제품명: 스킨 HSF-LLE-001 *These ingredients are listed in ICID			작성자	검토	승인
NO	ICID Name	성분의 한글명			
1	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Flower/Leaf/Stem Water	로즈마리꽃/잎/줄기수			
2	Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower/Leaf/Stem Water	라벤더꽃/잎/줄기수			
3	Citrus Junos Fruit Water	유자수			
4	Glycerin	글리세린			
5	Sodium Hyaluronate	소듐하이알루로네이트			
6	Propylene Glycol	프로필렌글라이콜			
7	Houttuynia Cordata Extract	약모밀추출물			
8	Niacinamide	나이아신아마이드			
9	Alcohol	에탄올			
10	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올			
11	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil	피이지-40하이드로제네이티드캐스톡오일			
12	Ubiquinone	유비퀴논			
13	Ceramide NP	세라미드엔피			
14	Lecithin	레시틴			
15	Centella Asiatica Extract	벵골추출물			
16	Glycyrrhiza Uralensis (Licorice) Root Extract	감초뿌리추출물			
17	Camellia Sinensis Seed Extract	녹차추출물			
18	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Extract	로즈마리잎추출물			
19	Chamomilla Recutita (Matricaria) Extract	마트리카리아추출물			
20	Scutellaria Baicalensis Root Extract	황금추출물			
21	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜			
22	Polygonum Cuspidatum Extract	호장근추출물			
23	Carbomer	카보머			
24	Triethanolamine	트라이에탄올아민			
25	Tocopheryl Acetate	토코페릴아세테이트			
26	Rosa Centifolia Flower Water	프로방스장미꽃수			
27	Chrysanthemum Zawadskii Extract	산구절초추출물			
28	Perilla Frutescens Leaf Extract	소엽잎추출물			
29	Cymbopogon Citratus Extract	레몬그라스추출물			
30	Rosa Multiflora Fruit Extract	뽕새꽃추출물			
31	Cornus Officinalis Fruit Extract	산수유열매추출물			
32	Thymus Quinquecostatus Extract	백리향추출물			
33	Chrysanthemum Boreale Flower Extract	산국꽃추출물			
34	Adenosine	아데노신			
35	Nelumbo Nucifera Callus Culture Extract	연꽃캘러스배양추출물			
36	Zanthoxylum Piperitum Fruit Extract	초피나무열매추출물			
37	Pulsatilla Koreana Extract	할미꽃추출물			
38	Usnea Barbata (Lichen) Extract	우스니아추출물			
39	Disodium EDTA	다이소듐이디티에이			
40	Fragrance	향료			

<HSF-LLE-001 성분표>

○ 로션 HSF-LSE-001


- 피부가 상대적으로 연약한 청소년기에는 고기능성 제품보다는 수분, 보습라인으로 집중하는 것이 핵심으로 제품 개발시 저자극 천연 유래성분을 처방하여 피부를 부드럽고 촉촉하게 감싸주는 가볍고 부드러운 사용감을 가지도록 함.
- 스트레스와 피부 트러블로 거칠어진 피부에 에너지를 부여하여 피부의 유수분 밸런스 조절과 기초 장벽 회복을 도와 청소년기 피부의 복합적인 문제 해결을 도움.

Hisol COSMETICS		INGREDIENT TABLE		
회사명: 히솔이스 제품명: 로션 HSF-LSE-001 *These ingredients are listed in ICID		작성자	검토	승인
NO	ICID Name	성분의 한글명		
1	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Flower/Leaf/Stem Water	로즈마리잎/줄기수		
2	Anthemis Nobilis Flower Water	캐모마일꽃수		
3	Cyclomethicone	사이클로메치콘		
4	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜		
5	Squalane	스쿠알란		
6	Sodium Hyaluronate	소듐하이알루로네이트		
7	Ethylhexylglycerin	에틸헥실글리세린		
8	Ubiquinone	유비퀴논		
9	Ceramide NP	세라미이드엔피		
10	Lecithin	레시틴		
11	Trehalose	트레할로스		
12	Niacinamide	니아시나미이드		
13	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올		
14	Stearyl Alcohol	스테아릴알코올		
15	Glyceryl Stearate	글리세릴스테아레이트		
16	Dimethicone	디메치콘		
17	Polyacrylate-13	폴리아크릴레이트-13		
18	Polysorbate 20	폴리소르베이트20		
19	Ascorbic Acid	아스코빅에씨드		
20	PEG-100 Stearate	피이시-100스테아레이트		
21	Polyacrylate-60	폴리소르베이트60		
22	Sorbitan Sesquioliate	소르비탄세스퀴올리이트		
23	Tocopheryl Acetate	토코페릴아세테이트		
24	Glyceryl Linoleate	글리세릴리놀레이트		
25	Zanthoxylum Piperitum Fruit Extract	초피나무열매추출물		
26	Pulsatilla Koreana Extract	알미꽃추출물		
27	Usnea Barbata (Lichen) Extract	우스니마추출물		
28	Chrysanthemum Zawadskii Extract	상구열초추출물		
29	Perilla Frutescens Leaf Extract	소염잎추출물		
30	Cymbopogon Citratus Extract	레몬그라스추출물		
31	Camellia Sinensis Seed Extract	녹차추출물		
32	Centella Asiatica Extract	명물추출물		
33	Nelumbo Nucifera Extract	연꽃추출물		
34	Aloe Barbadensis Leaf Extract	알로에베라잎추출물		
35	Cornus Officinalis Fruit Extract	산수유추출물		
36	Chrysanthemum Boreale Flower Extract	산국추출물		
37	Schisandra Chinensis Fruit Extract	오미자추출물		
38	Ulmus Campestris (Elm) Bark Extract	당느릅나무껍질추출물		
39	Broussonetia Extract	딕나무뿌리추출물		
40	Vaccinium Oldhami Fruit Extract	징글나무열매추출물		
41	Portulaca Oleracea Extract	쇠비름추출물		
42	Thymus Quinquecostatus Extract	핵리왕추출물		
43	Rosa Multiflora Fruit Extract	말레꽃추출물		
44	Rosa Centifolia Flower Water	프코발스장미꽃수		
45	Adenosine	아데노신		
46	Nelumbo Nucifera Callus Culture Extract	연꽃캘러스배양추출물		
47	Fragrance	향료		

<HSF-LSE-001 성분표>

○ CC크림 OMC-CME-001

- 대다수의 청소년들이 여드름과 어두운 피부톤 등으로 고민하고 있으며 이를 해결하기 위해 화장품 사용이 점차 증가하고 있음. 자극이 심한 성인용 베이스 화장품보다는 천연 유래성분을 이용해 자극을 줄이고 보습감있고 부드러운 필름막을 형성하여 피부 결점을 자연스럽게 커버해주는 베이스 제품을 개발해 피부 고민 해결을 도움.

 INGREDIENT TABLE			작성자	검토	승인
회사명: 히솔이소 제품명: CC크림 OMC-CME-001 *These ingredients are listed in ICID					
NO	ICID Name	성분의 한글명			
1		코즈마리알/글리수			
2	Titanium Dioxide	티타늄디옥사이드			
3	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜			
4	Dimethicone	다이메티콘			
5	Cyclopentasiloxane	사이클로펜타실록세인			
6	Ethylhexyl Methoxycinnamate	에틸헥실메톡시신나메이트			
7	Isononyl Isononanoate	아이소노닐아이소노노에이트			
8	Cetyl Ethylhexanoate	세틸에틸헥사노에이트			
9	Cetyl PEG/PPG 10/1 Dimethicone	세틸피이지/피피지 10/1다이메티콘			
10	Ceresin	세레스인			
11	Cetyl Dimethicone	세틸다이메티콘			
12	Glycerin	글리세린			
13	Cydohexasiloxane	사이클로헥사실록세인			
14	Silica	실리카			
15	Sodium Chloride	소듐클로라이드			
16	Aloe Barbadosensis Leaf Juice	알로에베라잎즙			
17	Stearyl Dimethicone	스테아릴다이메티콘			
18	Lauric acid	라우릭에씨드			
19	Stearic Acid	스테아릭에씨드			
20	Silica Dimethyl Silylate	실리카다이메틸실릴레이트			
21	Aluminum Hydroxide	알루미늄하이드록사이드			
22	Octadecane	옥타데칸			
23	Dimethicone/Vinyl Dimethicone Crosspolymer	다이메티콘/비닐다이메티콘크로스폴리머			
24	ethylcellulose	에틸셀룰로오스			
25	PEG 10 Dimethicone polymer	피이지 10다이메티콘크로스폴리머			
26	Allantoin	알란토인			
27	Phenoxyethanol	페녹시에탄올			
28	Triethoxysilane	트리아에톡시카프릴실레인			
29	Corn Starch	옥수수전분			
30	Chrysanthemum Zawadskii Extract	산구질초추출물			
31	Perilla Frutescens Leaf Extract	소염잎추출물			
32	Cymbopogon Schoenanthus Extract	레몬그라스추출물			
33	Lavandula Angustifolia (Lavender) Extract	라벤더추출물			
34	Rosa Multiflora Flower Extract	찔레꽃추출물			
35	Ziziphus Jujuba Fruit Extract	대추추출물			
36	Salix Alba (Willow) Bark Extract	원버드나무껍질추출물			
37	Hamamelis Virginiana (Witch Hazel) Bark Water	버지니아황년화수			
38	Biotinyl Hexapeptide-2 Amide	바이오틴노일헥사펩타이드 2아마이드			
39	Disodium EDTA	다이소듐이디티에이			
40	1,2-Hexanediol	1,2-헥산디올			
41	Polyglyceryl-10 Stearate	폴리글리세릴 10스테아레이트			
42	BHT	비에이치티			
43	Ethylhexylglycerin	에틸헥실글리세린			
44	Iron Oxide Yellow	황색산화철			
45	Iron Oxide Red	적색산화철			
46	Iron Oxide Black	흑색산화철			
47	Fragrance	향료			

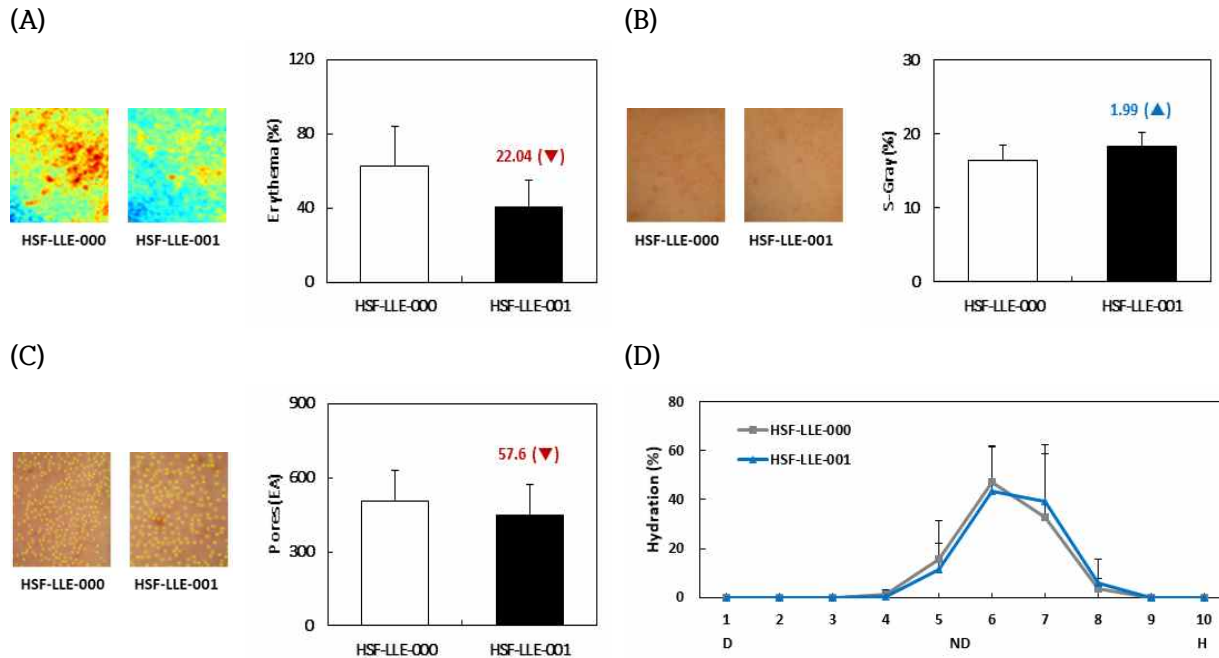
<OMC-CME-001 성분표>

분석영상	교차편광영상(CPI)			평형편광영상 (PPI)	UV영상
	에리즈마	피부톤	모공	주름/탄력*	
스킨	○	○	○	/	○
로션	○	○	○		○
CC크림	○	○	×		○

*일회성 시험으로 장기간 관찰이 필요한 주름/탄력 부분은 측정하지 않음.

○ 시험결과

- 스킨(HSF-LLE-001) : 민감도(22.04%, ▼), 피부톤(1.99%, ▲), 모공개수(57.60, ▼), 수분도(Moisturizing, ▲)에 있어서 모두 개선되었음. 특히 민감도 및 모공개수가 눈에 띄게 감소하고 수분도의 보습레벨이 눈에 띄게 증가함.

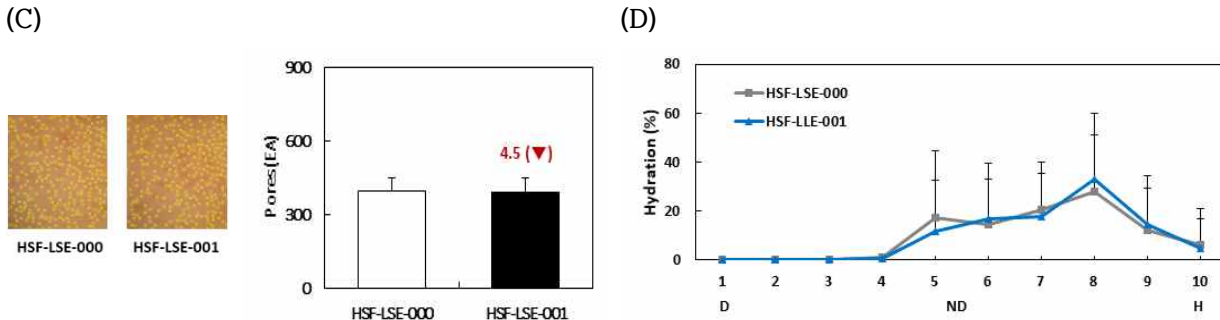
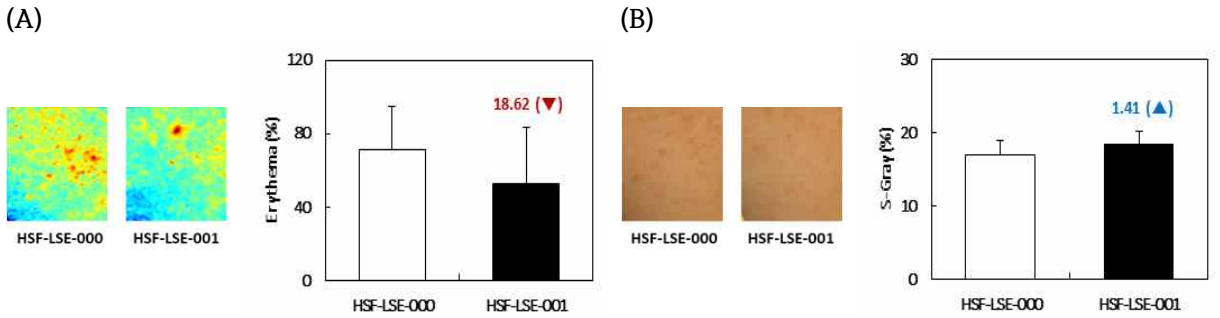


<스킨(HSF-LLE-001)의 발효물 무/첨가에 따른 성능평가>

(A) 민감도 (B) 피부톤 (C) 모공개수 (D) 수분도

HSF-LLE-000 : 발효물 무첨가 스킨, HSF-LLE-001 : 발효물 첨가 스킨

- 로션(HSF-LSE-001) : 민감도(18.62%, ▼), 피부톤(1.41%, ▲), 모공개수(4.50, ▼)에 있어서 모두 개선되었음.

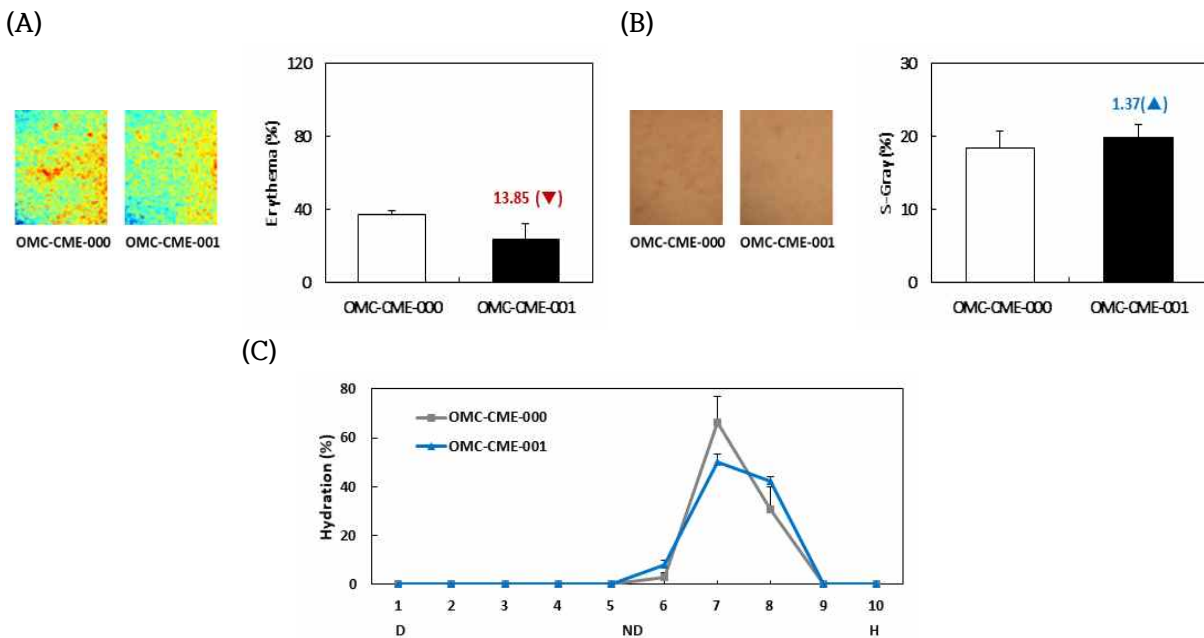


<로션(HSF-LSE-001)의 발효물 무/첨가에 따른 성능평가>

(A) 민감도 (B) 피부톤 (C) 모공개수 (D) 수분도

HSF-LSE-000 : 발효물 무첨가 로션, HSF-LSE-001 : 발효물 첨가 로션

- CC크림(HSF-LLE-001) : 민감도(13.85%,▼), 피부톤(1.37%,▲), 수분도(Moisturizing,▲)에 있어서 모두 개선되었음. 특히 수분도의 보습레벨이 눈에 띄게 증가함.



<CC크림(OMC-CME-001)의 발효물 무/첨가에 따른 성능평가>

(A) 민감도 (B) 피부톤 (C) 수분도

OMC-CME-000 : 발효물 무첨가 스킨, OMC-CME-001 : 발효물 첨가 스킨

- 따라서 개발된 발효물을 첨가한 시제품 3종 모두 민감도, 피부톤, 모공개수, 수분도에 있어서 개선에 도움을 주는 것으로 사료됨.

2) 하이틴 시제품 안정성 평가

○ 시제품의 patch test

○ 자체 첩포시험 실험방법

- 실험실 연구원 20대 여성 2명, 30대 여성 3명, 50대 남성 1명을 대상으로 개발된 시제품(스킨, 로션, CC 크림)의 피부 자극 시험을 위해 첩포시험을 실시함.
- 각각의 시제품을 10%로 희석하여 20 μ l를 첩포용 테이프에 도포하여 겨드랑이 안쪽 5cm 부위에 밀착하여 6시간 후에 제거하였음. 판독은 테이프를 제거한 후 30분이 경과한 후에 국제접촉피부염 연구원 (International Contact Dermatitis Research Group, ICDRG)에서 실시한 방법에 준하여 판독하였음. 반응의 판정은 정상 피부소견을 보인 경우 음성(-)으로, 경미한 홍반이 생기는 경우는 +, 홍반과 함께 부종 혹은 소수포 형성을 동반하는 경우 ++, 심한 반응을 보여 홍반과 함께 대수포 혹은 궤양을 형성한 경우 +++로 판정함.

<Interpretation criteria of patch test suggested by ICDRG>

Grade	Interpretation
-	No reaction
+	Weak positive reaction ; erythema, infiltration, possibly papules
++	Strong positive reaction ; erythema, infiltration, papules, vesicles
+++	Extreme positive reaction ; bullous reaction

○ 자체 첩포시험 결과

- 자체 첩포시험 결과 실험자 모두에서 홍반 및 부종 등의 피부 자극은 보이지 않았으며 정상 피부의 소견을 보임. 따라서 3가지 개발 시제품에 대해 첩포시험을 통하여 피부자극에 대한 안전성을 확보함.




<시제품 패치 테스트 결과>

○ 전문 화장품임상연구 지원센터 결과

20-1027-A S14C-201924-4922

(주)하이솔
"에스테마인 퓌복 스킨에센스, 에스테마인
톡톡 킷트볼 크림"의
피부 철포 안전성 평가
인체적용시험 결과보고서

2020년 08월 28일




한방바이오산업 임상지원센터
The First Institute for the Best of Korean Cosmetics Research University

20-7027-A S14C-201924-4922

표. 요약문

특 제	"에스테마인 퓌복 스킨에센스, 에스테마인 퓌복 킷트볼 크림"의 피부 철포 안전성 평가 결과 보고서
시 료	에스테마인 퓌복 스킨에센스, 에스테마인 퓌복 킷트볼 크림
시험 방법	시험 방법 : Plus chamber를 이용한 24시간 피부 철포(체표열통)
시험 기간	시험일: 2020년 08월 18일 / 종료일: 2020년 08월 21일
시험 목적	세정제와 피부안정제인 알라미놀의 사용 가능여부 확인
시험 방법	안 무회
시험 인원	20명
최 회 과	1주/비어
임무 수행자	세정제와 피부안정제인 알라미놀의 사용 가능여부 확인
임무 책임자	안 무 회
평가 방법	각제 적용을 피할 때와 피하지는 평가하는 평가 기준에 따른 피부과피 평가
중요성 결과	1주/비어에 의하면 "에스테마인 퓌복 스킨에센스, 에스테마인 퓌복 킷트볼 크림"의 피부 철포 안전성 인체적용시험 수행 결과, 피부과피(Plus chamber) 평가에 따라 평가가 성공가능 수치를 알 수 있었다.
연구 번호	20-7027-A
보고서 번호	S14C-201924-4922
자료 번호	"에스테마인 퓌복 스킨에센스" 20-641124
자료 번호	"에스테마인 퓌복 킷트볼 크림" 20-641125
보고서 작성일	2020년 08월 28일



한방바이오산업 임상지원센터

20-1027-A S14C-201924-4922

VI. 결론 및 결론

본 시험은 1주/비어에 의하면 "에스테마인 퓌복 스킨에센스, 에스테마인 퓌복 킷트볼 크림"에 대한 피부 철포 안전성 평가에 대한 인체적용시험이다.


1주/비어에 의하면 "에스테마인 퓌복 스킨에센스, 에스테마인 퓌복 킷트볼 크림"을 24시간 동안 피부에 철포하여, 철포를 평가하고 20시간, 24시간, 48시간이 경과한 후에 시험부위에서 나타난 피부반응을 국제연구그룹 연구회 (International Cosmetics Research Group) 2018(2)회 판정기준에 따라 평가결과를 판독하였고, 피부 철포시험 (Patch Test) 결과 판정결과에 따라 평가 가능여부(Allowance)를 판독하였다.

시험자는 인 20에서 20까지 성인 남녀 20명을 대상으로 시험을 수행하였으며, 결과 요약은 다음과 같다.

시험은 2020년 08월 18일부터 2020년 08월 21일 동안 진행되었으며, 시험대상은 총 4회 (시험 시작일, 평가제거일, 평가제거 후 24시간, 48시간) 동안 진행되었다.

시험 결과, "에스테마인 퓌복 스킨에센스"는 피부 철포 후 20시간, 24시간, 48시간 모두에서 피부과피가 없었다. 또한 피부반응은 0.00으로 피부 철포 시험(Patch Test) 결과 판정기준에 따라 "에스테마인 퓌복 스킨에센스"는 사용가능으로 판정되었다.

시험 결과, "에스테마인 퓌복 킷트볼 크림"은 피부 철포 후 20시간, 24시간, 48시간 모두에서 피부과피가 없었다. 또한 피부반응은 0.00으로 피부 철포 시험(Patch Test) 결과 판정기준에 따라 "에스테마인 퓌복 킷트볼 크림"은 사용가능으로 판정되었다.




한방바이오산업 임상지원센터

20-1027-A S14C-201924-4922

(주)하이솔
"뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"의
피부 철포 안전성 평가
인체적용시험 결과보고서

2020년 08월 28일




한방바이오산업 임상지원센터
The First Institute for the Best of Korean Cosmetics Research University

20-7027-A S14C-201924-4922

표. 요약문

특 제	"뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"의 피부 철포에 대한 인체적용 시험 결과 보고서
시 료	뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스
시험 방법	시험 방법 : Plus chamber를 이용한 24시간 피부 철포(체표열통)
시험 기간	시험일: 2020년 08월 18일 / 종료일: 2020년 08월 21일
시험 목적	세정제와 피부안정제인 알라미놀의 사용 가능여부 확인
시험 방법	안 무회
시험 인원	20명
최 회 과	1주/비어
임무 수행자	세정제와 피부안정제인 알라미놀의 사용 가능여부 확인
임무 책임자	안 무 회
평가 방법	각제 적용을 피할 때와 피하지는 평가하는 평가 기준에 따른 피부과피 평가
중요성 결과	1주/비어에 의하면 "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"의 피부 철포 안전성 인체적용시험 수행 결과, 피부과피(Plus chamber) 평가에 따라 평가가 성공가능 수치를 알 수 있었다.
연구 번호	20-7027-A
보고서 번호	S14C-201924-4922
자료 번호	"뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스" 20-641124
자료 번호	"뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스" 20-641124
보고서 작성일	2020년 08월 28일



한방바이오산업 임상지원센터

20-1027-A S14C-201924-4922

VI. 결론 및 결론

본 시험은 1주/비어에 의하면 "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"에 대한 피부 철포 안전성 평가에 대한 인체적용시험이다.


1주/비어에 의하면 "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"를 24시간 동안 피부에 철포하여, 철포를 평가하고 20시간, 24시간, 48시간이 경과한 후에 시험부위에서 나타난 피부반응을 국제연구그룹 연구회 (International Cosmetics Research Group) 2018(2)회 판정기준에 따라 평가결과를 판독하였고, 피부 철포시험 (Patch Test) 결과 판정결과에 따라 평가 가능여부(Allowance)를 판독하였다.

시험자는 인 20에서 20까지 성인 남녀 20명을 대상으로 시험을 수행하였으며, 결과 요약은 다음과 같다.

시험은 2020년 08월 18일부터 2020년 08월 21일 동안 진행되었으며, 시험대상은 총 4회 (시험 시작일, 평가제거일, 평가제거 후 24시간, 48시간) 동안 진행되었다.

시험 결과, "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"는 피부 철포 후 20시간, 24시간, 48시간 모두에서 피부과피가 없었다. 또한 피부반응은 0.00으로 피부 철포 시험(Patch Test) 결과 판정기준에 따라 "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"는 사용가능으로 판정되었다.

시험 결과, "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"는 피부 철포 후 20시간, 24시간, 48시간 모두에서 피부과피가 없었다. 또한 피부반응은 0.00으로 피부 철포 시험(Patch Test) 결과 판정기준에 따라 "뮌포디아 부스럼 매직 킷트볼 베이스"는 사용가능으로 판정되었다.



한방바이오산업 임상지원센터

<전문임상기관 성적서>

3) 하이틴 시제품 안정성 평가

○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가

○ pH, 점도 변화 측정

- 하이틴 시제품 스킨(HSF-LLE-001), 로션(HSF-LSE-001), CC크림(OMC-CME-001)을 이용하여 안정성을 측정함.
- 시제품의 pH는 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치시킨 후, 시제품 1g을 증류수 15ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리함. pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter (OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 측정함. 시료 측정은 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 진행함.
- 제품의 점도 측정은 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치시킨 후 이용함. Brookfield Viscometer(DVE VISCOMETER, DVERV)를 이용하여 측정함.



1 day



7 day



15 day



30 day

<HSF-LLE-001>



1 day



7 day



15 day



30 day

<HSF-LSE-001>



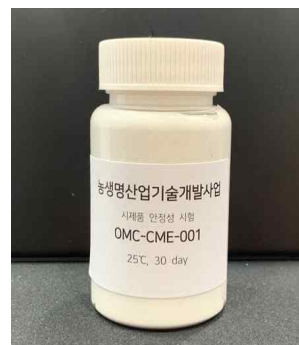
1 day



7 day



15 day



30 day

<OMC-CME-001>

○ 결과

- 화장품이 노출될 수 있는 환경에서 안정성을 평가하기 위해 온도 편차 (5, 45°C) 및 온도 순환 (-15 → 40 → -15 → 40°C ...) 조건으로 각 제품을 30일 동안 보관하였음. 실험 기간 동안 1, 15, 30일 총 3회 제품의 pH와 점도를 측정해 물리화학적 특성을 파악함으로써 안정성을 종합함. 그 결과는 아래 나열한 표와 같음.
- 스킨(HSF-LLE-001)의 경우 pH와 점도, 외관에 있어서 유의적인 차이는 확인할 수 없었음. 로션(HSF-LSE-001)과 CC크림(OMC-CME-001)의 경우 각각 15일차 Cycle과 45°C에서 점도 변화가 나타났음.

pH					점도				
측정 조건	1 day	7 day	15 day	30 day	측정 조건	1 day	7 day	15 day	30 day
5°C	6.37	6.50	6.43	6.98	5°C	620.0	624.47	555.53	584.43
25°C	6.52	6.26	6.19	6.50	25°C	639.97	634.47	562.23	584.47
45°C	6.17	6.12	6.10	7.04	45°C	560.0	562.23	471.13	477.77
Cycle	5.94	5.99	6.02	6.74	Cycle	566.7	615.53	557.77	575.53
자연광	6.00	5.96	5.97	6.71	자연광	613.3	617.77	555.57	562.23

<30일간 HSF-LLE-001의 pH 및 점도 변화>

pH					점도				
측정 조건	1 day	7 day	15 day	30 day	측정 조건	1 day	7 day	15 day	30 day
5°C	5.51	5.81	5.70	-	5°C	27,730	26,400	26,270	-
25°C	5.95	5.71	5.60	5.85	25°C	26,400	26,930	26,800	26,710
45°C	5.46	5.59	5.48	-	45°C	27,200	27,597	27,467	-
Cycle	5.56	5.57	5.46	-	Cycle	26,270	25,507	15,377*	-
자연광	5.39	5.48	5.37	-	자연광	26,400	26,483	26,353	-

<30일간 HSF-LSE-001의 pH 및 점도 변화>

*점도변화가 확인된 15일차 이후 로션(HSF-LSE-001)과 CC크림(OMC-CME-001)은 25°C만 측정함.

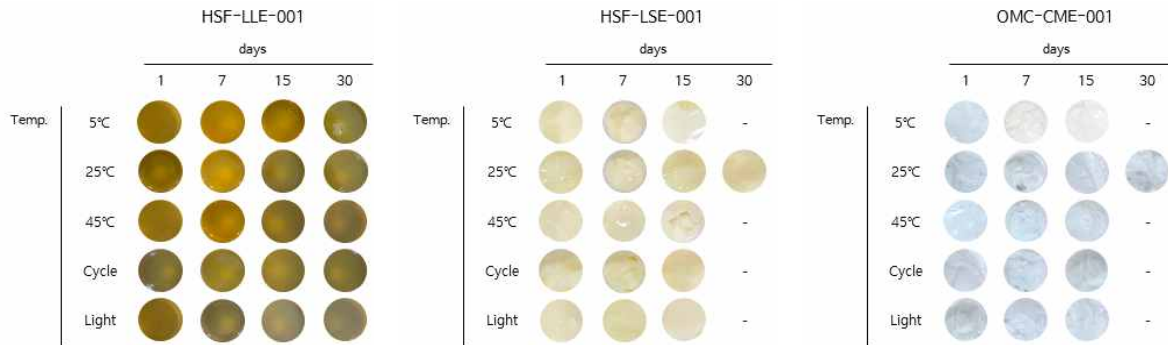
pH

점도

측정 조건	1 day	7 day	15 day	30 day	측정 조건	1 day	7 day	15 day	30 day
5°C	5.84	5.50	5.65	-	5°C	32,270	31,953	31,953	-
25°C	6.25	5.47	6.22	6.10	25°C	31,870	31,870	31,867	31,643
45°C	5.89	5.47	5.17	-	45°C	31,600	33,007	51,067*	-
Cycle	5.45	5.60	5.30	-	Cycle	34,800	35,953	35,953	-
자연광	6.28	6.18	5.88	-	자연광	32,140	32,710	32,710	-

<30일간 OMC-CME-001의 pH 및 점도 변화>

*점도변화가 확인된 15일차 이후 로션(HSF-LSE-001)과 CC크림(OMC-CME-001)은 25°C만 측정함.



<30일간 시제품의 색상 변화>

*점도변화가 확인된 15일차 이후 로션(HSF-LSE-001)과 CC크림(OMC-CME-001)은 25°C만 측정함.

○ 개발 제품의 미생물 한도시험

○ 실험 방법

- 총 생균수(세균) : 0.9% NaCl와 tween-80로 10배 희석한 제형 1 ml을 채취하여 petri dish에 넣고, 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균힌 후 35°C의 Incubator에서 48시간 이상 배양함.
- 총 생균수(진균) : 0.9% NaCl와 tween-80로 희석한 제형 1ml을 채취하여 petri dish에 넣고 그 위에 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균힌 후 30°C의 Incubator에서 120시간 이상 배양함.
- 대장균 : Lactose broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 MacConkey agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.
- 녹농균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Cetrimide agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.
- 황색포도상구균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Baird parker agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.

○ 결과

- 1, 7, 15, 30일 총 4회 제형의 미생물 한도시험을 진행하여 안정성을 확인함. 그 결과는 아래 나열한 표 및 그림과 같으며, 스킨(HSF-LLE-001), 로션(HSF-LSE-001), CC크림(OMC-CME-001) 시제품 모두 총 생균수(세균, 진균)에서 500 CFU/g 이하로 확인됨. 또한 특수미생물(대장균, 녹농균, 황색포도상구균) 검출시험에서 집락이 확인되지 않아 시제품이 30일간 가속 및 가혹 조건에서 안정한 것으로 확인됨.

<HSF-LLE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (5 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSF-LLE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSF-LLE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (45 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성


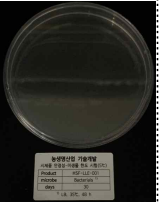

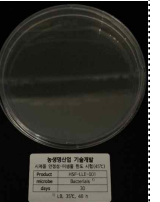
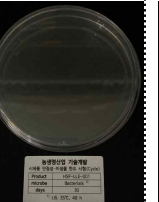
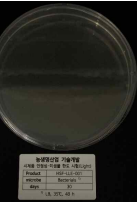

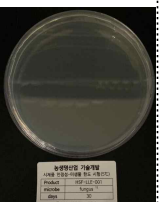

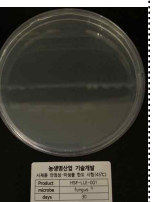

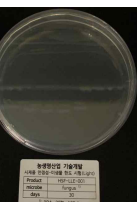
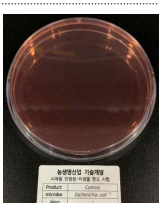
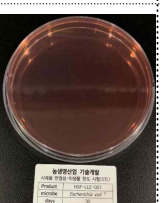
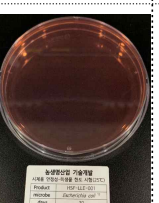
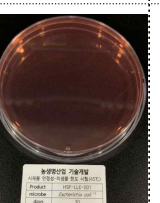
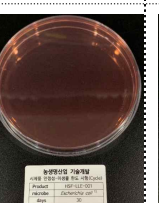
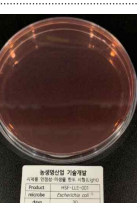

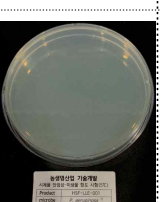

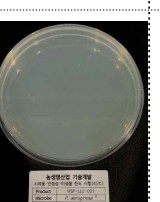
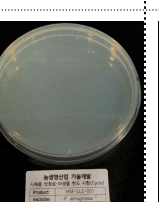

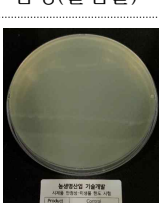
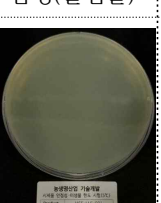
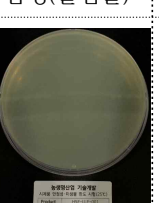
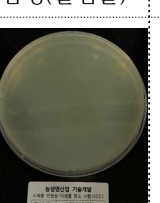
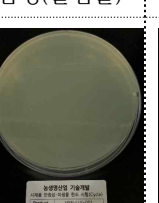
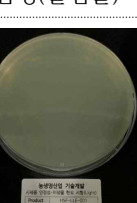
<HSF-LLE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 온도순환(Cycle)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSF-LLE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 자연광 노출(Light)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<30일간 시제품 HSF-LLE-001의 미생물 한도 시험>

구분	결 과					
	Control	5°C	25°C	45°C	Cycle	Ligth
총생균수 (<i>Bacterials</i>)						
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (<i>Fungi</i>)						
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (<i>E. coli</i>)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (<i>P. aeruginosa</i>)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
황색 포도상구균 (<i>S. aureus</i>)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

<HSF-LSE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (5 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSF-LSE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSF-LSE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (45 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성


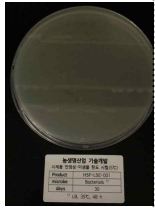
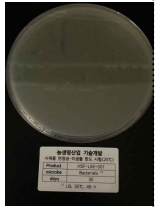
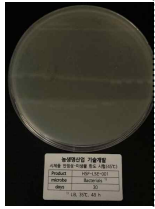
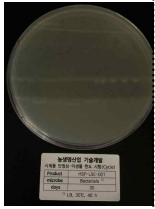
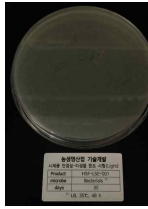
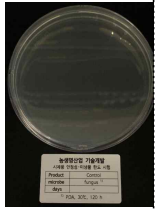
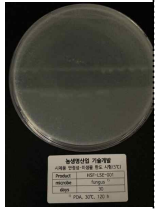

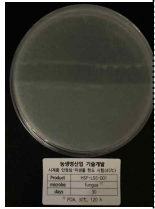

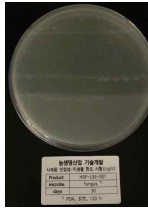
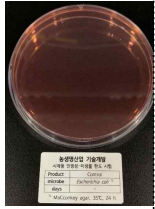
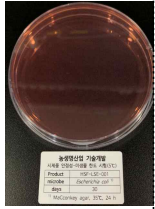
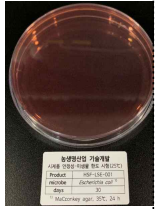






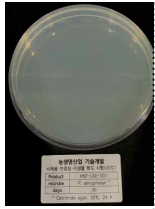





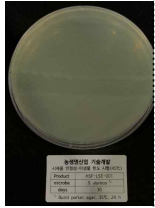
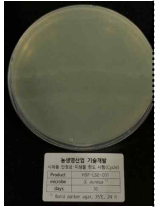

<HSF-LSE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 온도순환(Cycle)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSF-LSE-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 자연광 노출(Light)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<30일간 시제품 HSF-LSE-001의 미생물 한도 시험>

구분	결 과					
	Control	5°C	25°C	45°C	Cycle	Ligth
총생균수 (Bacterials)						
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (Fungi)						
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (E. coli)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (P.aeruginosa)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
황색 포도상구균 (S. aureus)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

<OMG-CME-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (5 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<OMG-CME-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<OMG-CME-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (45 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성





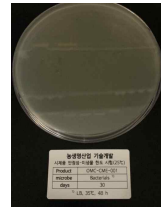







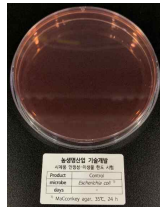
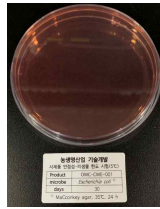

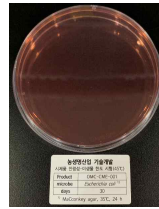

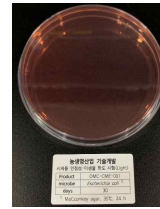








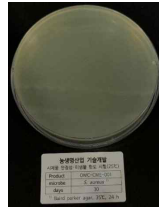



<OMG-CME-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 온도순환(Cycle)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<OMG-CME-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 자연광 노출(Light)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<30일간 시제품(OMG-CME-001)의 미생물 한도 시험>

구분	결 과					
	Control	5°C	25°C	45°C	Cycle	Lighth
총생균수 (Bacterials)						
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (Fungi)						
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (E. coli)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
황색 포도상구균 (S. aureus)						
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

4) 하이틴 제품 개발

○ 제품 개발 및 품목 보고

○ 에스테마인 톡톡 스킨에센스

- 제품표준서



<div style="text-align: center;"> < 제품표준서 > <table border="1" style="margin: 10px auto; width: 150px;"> <tr> <td rowspan="2" style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: mixed;">결재</td> <td>연구원</td> <td>선임연구원</td> <td colspan="2">대표이사</td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td colspan="2"> </td> </tr> </table> </div>					결재	연구원	선임연구원	대표이사					
결재	연구원	선임연구원	대표이사										
제품명	에스테마인톡톡스킨에센스												
성상	노란색유액												
유형 분류	기능성화장품류-스킨(주름,미백)	분류번호	카1										
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)년월일	13년 04월 22일										
작성년월일	2020년 01월 03일	제조단위	300kg, 500kg										
용법-용량	본품 적당량을 펴핑하여 얼굴에 고루 펴 발라 줍니다. 50ml												
효능-효과	하이슬 지리산 하이드로수화 프로방스장미꽃수가 만나 피부 진정과 활력을 높여주고 여성초, 병풍 등이 만나 피부스트레스 완화에 효과적입니다.												
사용상주의사항	화장품법 시행규칙 제13조 제3항[별표2.] "화장품의 유형별 사용상 주의사항"에 따른다.												
포장단위	자사포장 단위												
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 (1~40℃) 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년												
기준 및 시험방법	화장품시험규칙 일반화장품 기준에 의거한다.												
별첨	1. 원료 약품 및 그 분량과 원료기준 2. 제조방법 및 공정 3. 제품규격 4. 제품 시험 및 방법 5. 사용상의 주의사항 6. 작업 중의 주의사항												
계 정 사 항													
계정년월일	계 정 사 항	계 정 이 유	제조관리책임자	품질관리자									

○ 에스테마인 톡톡 컨트롤크림

- 제품표준서



<div style="text-align: center;"> < 제품표준서 > <table border="1" style="margin: 10px auto; width: 150px;"> <tr> <td rowspan="2" style="writing-mode: vertical-rl; text-orientation: mixed;">결재</td> <td>연구원</td> <td>선임연구원</td> <td colspan="2">대표이사</td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td colspan="2"> </td> </tr> </table> </div>					결재	연구원	선임연구원	대표이사					
결재	연구원	선임연구원	대표이사										
제품명	에스테마인톡톡컨트롤크림												
성상	흰색크림												
유형 분류	기능성화장품류 - 크림(미백, 주름)	분류번호	카8										
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)년월일	13년 04월 22일										
작성년월일	2012년 1월 02일	제조단위	300kg, 500kg										
용법-용량	본품 적당량을 펴핑하여 얼굴에 고루 펴 발라 줍니다. 50ml												
효능-효과	하이슬 지리산 하이드로수화 비타민C,E,F가 함유되어 생기 있게 피부 탄을 쉽게 개선하고 연골젤라스와 프로방스 장미꽃수가 보습막을 형성하여 피부를 보호하여 줍니다.												
사용상주의사항	화장품법 시행규칙 제13조 제3항[별표2.] "화장품의 유형별 사용상 주의사항"에 따른다.												
포장단위	자사포장 단위												
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 (1~40℃) 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년												
기준 및 시험방법	화장품시험규칙 일반화장품 기준에 의거한다.												
별첨	1. 원료 약품 및 그 분량과 원료기준 2. 제조방법 및 공정 3. 제품규격 4. 제품 시험 및 방법 5. 사용상의 주의사항 6. 작업 중의 주의사항												
계 정 사 항													
계정년월일	계 정 사 항	계 정 이 유	제조관리책임자	품질관리자									

○ 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스

- 제품표준서



〈 제품표준서 〉				
결재	연구원	선임연구원	대표이사	
제품명	림포디아부스팅매직컨트롤베이스			
성상	흰색크림			
유형 분류	색조화장품류 - 메이크업베이스	분류번호	사4	
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)년월일	13년 04월 22일	
작성년월일	2020년 4월 6일	제조단위	300kg, 500kg	
용법 용량	스킨케어 마지막 단계에서 적당량을 덜어 얼굴 전체에 골고루 발라줍니다. 60ml			
효능·효과	가벼운 사용감으로 자연스러운 깨끗한 피부 연출을 도와주며, 다크닝 없는 화사한 피부 유지에 도움을 줍니다.			
사용상주의사항	화장품법 시행규칙 제13조 제3항 [별표2.] "화장품의 유통별 사용상 주의사항"에 따른다.			
포장단위	자사포장 단위			
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 (1~40℃) 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년			
기준 및 시험방법	화장품시행규칙 일반화장품 기준에 의거한다.			
별첨	1. 원료 약품 및 그 분량과 원료기준 2. 제조방법 및 공정 3. 제품규격 4. 제품 시험 및 방법 5. 사용상의 주의사항 6. 작업 중의 주의사항			
개정 사항				
개정년월일	개정 사항	개정 이유	제조관리책임자	품질관리자

5) 실버 제품의 제조공정도 개발

3차년도 결과 효능평가.지표성분 조사로 선별된 발효물 4종(자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스)을 (주)더가든오브내추럴솔루션으로부터 제공 받았음. 또한, 4종 배합비의 효능 결과로 선정된 처리구 V (찔레 40%)로 배합한 뒤, 실버 제품의 제조공정도 개발에 활용함.

○ 향취 제거 및 마스크를 위한 첨가제 검토

○ 향료 검토

- 신체 노화에 따라 신진대사 기능이 떨어지면서 체내에 노폐물이 쌓이게 됨. 이때 피지에 포함된 지방산이 산화되고 2-노넬알(nonenal)이란 물질이 생기면서 흔히 가령취(加齡臭)라 하는 특유의 냄새가 나게 됨. 노넬알은 주로 피지샘을 통해 체외로 배출되기 때문에 세안, 목욕 등을 통해 가령취를 예방할 수 있음.
- 자몽, 오렌지, 레몬 등 가벼운 느낌의 시트러스 계열의 향료를 사용해 상쾌함, 청량감이 느껴지게 하는 것과 더불어 노년기 우울감을 해소하고 활력을 더해주는 다운에이징 효과를 갖게 함.
- 수면팩의 경우 활기차고 상쾌한 느낌의 시트러스 계열의 향보다는 은은한 커피 향을 첨가해 마음을 편안하고 안락하게 만들어주며, 하루의 스트레스와 불안감을 완화시키는 효과를 갖게 함.

○ 포뮬라 구성 설정 : 클렌징폼 (HSF-CRA-003)

- 풍성한 거품과 촉촉한 보습감을 가지면서 음이온 계면활성제를 첨가하여 강력한 세정력과 안정적인 폼 구조를 가지도록 처방함.
- 피지와 메이크업료, 먼지, 때, 땀 등으로 오염된 피부를 청결하게 하고 피부의 각질을 정돈할 뿐 아니라, 세안 후에도 당김 없이 수분과 영양을 공급하여 생기 있고 건강한 피부를 유지하게 하는 것이 특징임.
- 금속이온봉쇄제, 보습제, 피부컨디셔닝제, 계면활성제, 유화안정제, 첨가제(기능), 천연방부대체제, 향료로 설정함.

- 포뮬라 구성 설정 : 바스폼 (HSB-CRA-001)
 - 피부에 순한 천연 추출물의 영양분과 유효성분으로 피부 보습막을 형성하여 자체 수분 보유력을 높이고 민감성 피부에도 자극이 없고 청량한 느낌의 투명한 젤 타입으로 처방함.
 - 조밀한 고밀도 거품을 형성하여 모공 속 노폐물까지 말끔하게 흡착하며 pH 밸런싱을 도와 고민 피부를 케어하고 음이온 계면활성제 함유로 강력한 세정력이 특징임.
 - 허브수, 금속이온봉쇄제, 점증제, 정전기방지제, 계면활성제, 피부컨디셔닝제, 보습제, 첨가제(기능), 천연 방부대체제, 향료로 설정함.
- 포뮬라 구성 설정 : 올인원크림-페이스용 (HSF-SSE-001)
 - 외부 자극으로 손상된 피부 장벽과 탄력을 강화하고 빠르게 흡수되어 오랜 시간 보습력 제공이 가능한 가벼운 로션타입으로 처방함.
 - 피부 진정과 함께 피부결, 피부톤, 유수분 밸런스까지 멀티 케어가 가능한 것이 특징임.
 - 허브수, 보습제, 첨가제(기능), 피부컨디셔닝제, 천연방부대체제, 금속이온봉쇄제, 향료로 설정함.
- 포뮬라 구성 설정 : 올인원크림-바디용 (HSB-SSA-002)
 - 피부 면역 체계를 보조하며 피부 건강을 유지할 수 있고 끈적임이 적어 데일리케어 가능한 가벼운 로션타입으로 처방함.
 - 건조함으로 가렵고 거칠어진 부위를 촉촉하게 진정시키며 충분한 수분감으로 오랜시간 보습력을 유지하게 하는 것이 특징임.
 - 허브수, 점증제, 금속이온봉쇄제, 보습제, 첨가제(기능), 유화제, 피부컨디셔닝제, 천연방부대체제, 향료로 설정함.
- 포뮬라 구성 설정 : 수면팩 (HSB-PFA-001)
 - 고르게 퍼 발리면서 자는 동안 흘러내리지 않도록 꿀처럼 쫄쫄하게 밀착되는 부드러운 젤 타입으로 처방함.
 - 온열감을 내는 팩으로 들뜬 피부를 진정시키고 모공 속 노폐물 정리로 피부 결을 매끈하게 정돈하며 글리세린 베이스로 부드럽고 촉촉하며 마르지 않는 것이 특징임.
 - 보습제, 피부컨디셔닝제, 점증제, 스크럽제, 첨가제(기능), 착색제로 설정함.
- 향취 제거 및 마스크를 위한 원료의 비율 확립
 - 향료 비율 확립
 - 가령취를 제거하면서 개발된 라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 쥘레의 발효물 향을 마스크하기 위한 향료 비율을 확인함.
 - 클렌징폼 (HSF-CRA-003) : 싱그럽고 순수한 오렌지향으로 마무리는 포근하고 무겁지 않은 느낌을 모티브로 하고 향료의 비율은 0.5%로 설정함.
 - 바스폼 (HSB-CRA-001) : 하루의 스트레스를 풀어주는 상큼하고 상쾌한 자몽향, 레몬향을 첨가하여 밝고 산뜻한 느낌을 모티브로 하고 향료의 비율은 각각 1.1%, 0.4%로 설정함.
 - 올인원크림-페이스용 (HSF-SSE-001) : 상큼한 활력을 부여하는 레몬향을 첨가하여 상쾌하고 발랄한 느낌을 모티브로 하고 향료의 비율은 0.8%로 설정함.
 - 올인원크림-바디용 (HSB-SSA-002) : 환한 봄을 연상케 하는 감귤류의 향을 첨가하여 신선하고 활기찬 느낌을 모티브로 하고 향료의 비율은 0.2%로 설정함.
 - 수면팩 (HSB-PFA-001) : 불안감을 해소하고 안정감을 느낄 수 있는 안락한 느낌의 은은한 커피향을 첨가하여 편안하고 따뜻한 느낌을 모티브로 하고 향료의 비율은 0.1%로 설정함.
 - 실버 제품(클렌징폼, 바스폼, 올인원크림, 수면팩)의 제조공정도 개발

제품명	클렌징폼 HSF-CRA-003					단위/공급	
코드	원료명	#1	#2	#3			
Phase A							
A01	정제수					용매	
A02	KOH 95%						
Phase B							
B01	EDTA-2Na					혼합	
B02	글리세린						
B03	PG						
B04	알란토인						
B05	PG 6000						
Phase C							
C01	GS					용매	
C02	미리스틱 에씨드						
C03	라우릭 에씨드					혼합	
C04	스테아릭 에씨드						
C05	GMS 205						
C06	트윈 60						
Phase D							
D01	MCA					냉각 혼합	
Phase E							
E01	비타민 E						
E02	여성초						
E03	남원필레콜발효물-F						
E04	남원레몬그라스발효물-F						
E05	남원라벤더발효물-F						
E06	남원자스열발효물-F						
E07	비삼						
E08	유로나를						
Phase F							
F01	정제수					혼합	
F02	구연산						
Phase G							
G01	SKIN CARE D42158 (오렌지향)						
	to be	100	100	100			
	각업 시 지정 및 각업종 업종사향					특 인	

제품명	바스폼 HSB-CRA-001					단위/공급	
코드	원료명	#1	#2	#3			
Phase A							
A01	카피하이드록수					용매	
A02	레올리 하이드록수						
A03	폴리리 하이드록수						
A04	EDTA-2Na						
A05	Guarquat C130KC						
A06	PQ-10					혼합	
Phase B							
B01	Isellux LO-CLR-8B					냉각 혼합	
B02	PCG						
Phase C							
C01	Pureact WS Conc					냉각 혼합	
Phase D							
D01	Purecat I-76C						
Phase E							
E01	트루케어C107						
E02	EM305-C						
E03	그가릴타이드						
E04	알란토인						
E05	판테놀						
E06	글리세린						
E07	카르빌글라이콜						
E08	1,2-헥산디올						
Phase F							
F01	정제수					냉각 혼합	
F02	MG DOE 120KC						
Phase G							
G01	시트릭에씨드					혼합	
G02	수용시트레이트						
Phase H							
H01	MIR:Tein NPNF						
H02	코이스틴						
H03	아르카추출물						
H04	향국추출물						
H05	남원필레콜발효물-F						
H06	남원레몬그라스발효물-F						
H07	남원라벤더발효물-F						
H08	남원자스열발효물-F						
H09	여성초추출물						
H10	삼백초추출물						
H11	치자추출물 L						
H12	아스타르틴(수용액)						
H13	E2-Naturocide(M)						
Phase I							
I01	차오향						
I02	A25355에르향						
I03	Total	100	100	100		특 인	
	각업 시 지정 및 각업종 업종사향						

<클렌징폼, 바스폼 1차 제조공정도>

제품명	올인원크림 HSF-SSE-001					단위/공급
코드	원료명	#1	#2	#3		
Phase A						
A01	정제수					용매
A02	트루케어C107					
A03	히아루론산 1%					
A04	글리세린					
Phase B						
B01	1-3BIS					혼합
B02	CEH					
B03	DC345					
B04	MCT					
B05	달걀이 단백질추출물					
Phase C						
C01	에탄올					용매
C02	나이아신아미드					
C03	1,2-헥산디올					
C04	천연콜레추출물					
C05	아미노산					
C06	아미노산					
C07	테고케어 450					
C08	아미노산					
Phase D						
D01	비올추출물					냉각 혼합
D02	트루케어					
D03	바퀴벌추출물					
D04	리세린					
D05	동해추출물					
D06	제스알추출물					
Phase E						
E01	DC2501					혼합
E02	아라셀 168					
E03	DC200					
E04	세피콜릭스					
E05	프로나를					
E06	비삼					
E07	포이스틴					
F01	구글추출물					
F02	레몬그라스추출물					
F03	향국추출물					
F04	향국					
F05	스타아황아세롤					
F06	오메가105					
F07	비하필레					
F08	그가릴타이드					
Phase G						
G01	아미노산					혼합
G02	EDTA-2Na					
G03	치자추출물 R					
G04	여성초					
G05	향					
G06	향					
Total		100	100	100		특 인
	각업 시 지정 및 각업종 업종사향					

제품명	올인원 크림 HSB-SSA-002					단위/공급	
코드	원료명	#1	#2	#3			
Phase A							
A01	호즈마리하이드로수					용매	
A02	리벤다 하이드로수						
A03	카보머 941						
Phase B							
B01	EDTA-2Na					혼합	
B02	PG						
B03	글리세린						
B04	히아루론산 0.5%						
B05	위치하젤수						
B06	알로에 EXT						
B07	1,2헥산디올						
Phase C							
C01	TEA					냉각 혼합	
Phase D							
D01	stearic acid						
D02	lanette o						
D03	쉐어버터						
D04	GMS105						
D05	Tegocare 450						
D06	Arl-165						
D07	CEH						
D08	MCT						
D09	DC345						
D10	DC200						
Phase E							
E01	남원필레콜발효물-F					혼합	
E02	비삼						
E03	치즈기 추출물						
E04	향국추출물						
E05	남원라벤더발효물-F						
E06	남원레몬그라스발효물-F						
E07	남원자스열발효물-F						
E08	삼백초						
E09	여성초						
E10	모이스틴						
E11	E2-Naturocide(M)						
E12	향(CITRUS HERBAL D42866)임모르헨						
Total		100	100	100		특 인	
	각업 시 지정 및 각업종 업종사향						

<올인원크림 페이스/바디 1차 제조공정도>

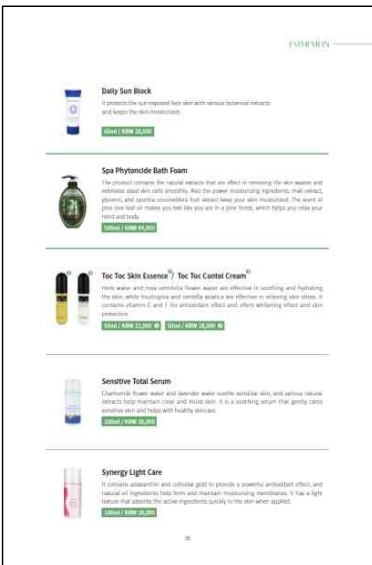
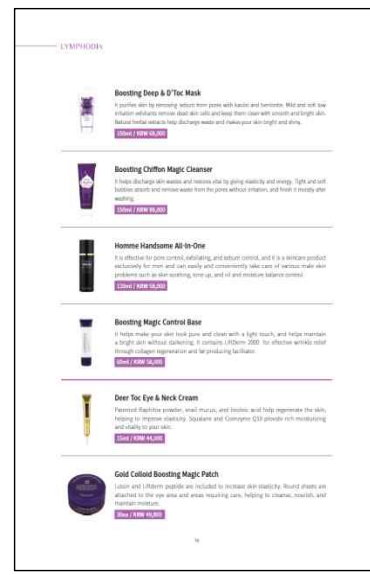
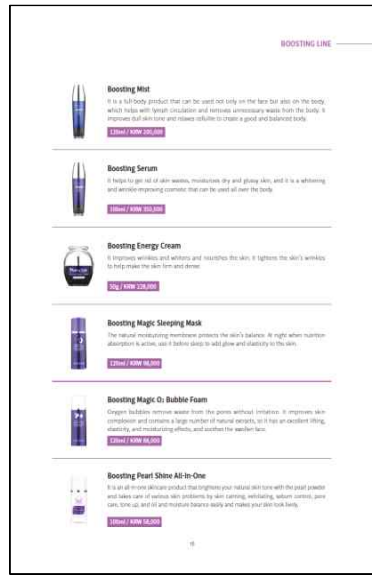
제품명	수면팩 OMB-PFA-001				
코트	원료명	#1	#2	#3	단위공정
Phase A					
A01	Water				용해
A02	1,2-Hexanediol				
A03	Glycerin				
A04	Sodium Hyaluronate				
A05	Butylene Glycol				
Phase B					
B01	Bentonite				혼합
B02	Isopropyl				
B03	Juglans Regia (Walnut) Shell Powder				
B04	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Powder				
B05	Coffea Arabica (Coffee) Seed Powder				
Phase C					
C01	Honey Extract				혼합
C02	Ethylhexylglycerin				
C03	단원질라놀리드 올-F				
C04	단원리놀리드 올-F				
C05	단원리놀리드 올-F				
C06	단원자소일알콜 올-F				
C07	Phenoxyethanol				
C08	Trehalocaprylylsilane				
C09	Oil 77499				
C10	Oil 77490				
C11	Oil 77491				
Total		100	100	100	총 인
<small>작업 시작전 및 작업을 종결시작</small>					

<수면팩 1차 제조공정도>

6) 글로벌마케팅 인프라 구축

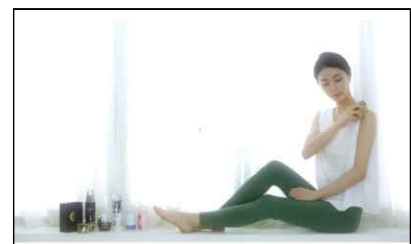
○ 홍보물 제작 : 해외마케팅 및 전시용 영문 카탈로그

- 개발 브랜드 및 제품에 대한 영문 카탈로그를 제작함.



○ 홍보물 제작 : 동영상 제작

- 전문 에스테틱 지식과 경험없이 할 수 있는 홈에스테틱 상표를 런칭함으로써 해외 마케팅을 위한 관련 동영상을 제작함.



7) 마케팅 실행

- 동영상 홍보(티저광고 및 프로젝트 영상)
- 국내 홈에스테틱 관련 홍보 동영상 제작
- 홈에스테틱 런칭으로 가맹점 모집 프로젝트 진행



8) 국내외 전시회 및 네트워킹

- 국내외 전시회 참가
- 코로나 비상사태로 계획해둔 전시회/박람회 취소→위기대응 온라인 화상 수출설명회 진행
- 바이어의 즉발적인 니즈에 대응한 실시간 수출 상담 채널 구축
- 코로나19 비상대책으로 실시한 온라인 화상 수출상담회에 참가하여 과제 개발제품을 소개함으로써 시장진출 및 제품 홍보에 도모함.



온라인 화상 수출상담회(베트남, 2020.03.25.)

제품	림포디아 (부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원)
시제품	에스테마인 (톡톡 스킨에센스, 톡톡 컨트롤크림)

내용	No.	1	2	3	
	회사명	AMISU Co., Ltd.	Blooming Co., Ltd.	Lab Society	
	담당자	Nguyen Thi Phuong Thao	Miss Vissup Chonsawat	Mr.Nichapon Saetang	
	직책	CEO	Oversea Assistant	Managing Director	
	이메일	-	-	-	
	상담 내용	대표미팅에서 방문 판매 등을 위한 럭셔리 제품을 원했으나 이번에 참석한 직원은 기능성 화장품 보다는 가볍게 유통 가능한 클렌징이나 아이크림 제품을 원함. 부스팅 매직 오투 버블폼 카탈로그와 회사소개서 송부함.	사전에 제품 사용 전후 비교 사진이나 테스트 결과 정보를 위해 옴므 핸섬 올인원 제품 자료 준비함. 테스트 결과에 만족했으며 자료 요청함. 이 외에 카탈로그에서 부스팅 라인에도 관심을 가져 해당 자료와 제품 소개 송부함.	바이어가 매장 수 확장하여 취급 제품군을 큰 폭으로 늘린 상태임. 그러나 저가형 제품 위주의 드러그 스토어 형태 판매방식이라 우리 제품 가격대가 부담스럽다고 함. 신규 출시예정인 에스테마인 소개하고 신제품 출시하면 해당 정보 지속적으로 업데이트하기로 함.	
온라인 화상 수출상담회(러시아, 2020.06.25.)					
제품	림포디아 (부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원)				
시제품	에스테마인 (톡톡 스킨에센스, 톡톡 컨트롤크림)				
내용	No.	1	2	3	
	회사명	Oracle B&H LLC	PKG(Pacific Korea group) LLC	Clever LLC	
	담당자	Lemesh Elena	Malygina Olesya	Park Mikhail	
	직책	Director	Regional manager	CEO	
	이메일	-	-	-	
	상담 내용	제품에 관심을 가지며 회사 소개와 영문 사이트주소 전달하기로 함.	부스팅 라인 제품에 관심을 가지고 있으며 럭셔리 라인에 대한 고객 수요가 있다고 함. 영문 사이트, 부스팅 제품 전성분, 회사 소개 ppt, 영문 카탈로그 송부하기로 함.	하이솔 제품에 큰 관심 보이지 않음. 가격표와 영문 카탈로그 보내줄 것을 요청 함.	
	No.	4	5		
	회사명	Ros-Resourse, LCC / Guerrison	Esta Group		
	담당자	Ouliya for beauty	Stepanove Tatyana		
	직책	Director	Director		
	이메일	-	-		
	상담 내용	영문 카탈로그와 회사소개, 제품 내용 요청함	영문 카탈로그와 회사소개, 제품 내용 요청함		
	온라인 화상 수출상담회(인도네시아, 2020.07.09.)				
	제품	림포디아 (부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원)			
시제품	에스테마인 (톡톡 스킨에센스, 톡톡 컨트롤크림)				

나. (재)남원시화장품산업지원센터(제1협동)

구분 (연도)	세부 과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
4차 년도 (2020)	남원지역 특화자원의 소재개발 및 효능평가	소재가공 및 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> 추출 및 발효공정 표준화 (pilot scale) 	<ul style="list-style-type: none"> 우수소재 4종(자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스) 원료함량: 5% 추출용매 및 시간: 물, 4시간 발효접종: 5%(10⁷ CFU/ml) 발효시간: 24시간
			<ul style="list-style-type: none"> 발효소재 배합비 최적화연구 	<ul style="list-style-type: none"> 우수소재 4종(자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스) 대상 배합비 구성
		<ul style="list-style-type: none"> 다기능 소재의 기능성 평가 (미백, 주름, 보습) 	<ul style="list-style-type: none"> 배합 전후 시료 효능평가 미백 <ul style="list-style-type: none"> 멜라닌 합성 억제능, Tyrosinase 활성 억제능 : 배합후 차이 없음 주름 <ul style="list-style-type: none"> 콜라겐분해효소억제능 : 처리구 V (찔레 40%)에서 우수한 효능 보임. Elastase : 배합후 차이 없음 보습 <ul style="list-style-type: none"> 히알루론산생성유전자 (HAS-2) : 처리구 V (찔레 40%)에서 우수한 효능 보임. 	
	소재자원화	<ul style="list-style-type: none"> 화장품원료 등재 및 라이브러리 구축 	<ul style="list-style-type: none"> 라벤더엑상발효물, 자소엽엑상발효물 화장품 원료등재 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 라이브러리 구축 	

1) 소재가공 및 효능평가

○ 추출 및 발효공정 표준화(pilot scale)

○ 추출물 및 발효추출물 제조

- 전년도 (재)남원시화장품산업지원센터와 (주)더가든오브내추럴솔루션의 선행연구를 통해 선별된 우수소재 허브에 대해서 추출 및 발효공정 표준화를 위해 공정을 반복 수행하였음. 전년도 선정된 자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스 4종의 우수소재 건조물 100 g에 물 2 L를 넣고 환류냉각장치를 부착한 히팅 맨틀을 이용하여 100°C 에서 4 시간 동안 가열 추출하였음. 추출물은 부직포를 이용하여 1차 여과하고, 종이여과지(Whatman No 4, Whatman No 3, Whatman No 5)를 이용하여 순차적으로 2차 여과한 후 여과된 추출물은 감압농축기를 이용하여 50°C에서 농축하고, 동결건조기를 이용하여 동결 건조하여 발효 전 추출물을 제조하였음. 또한 발효추출물을 제조하기 위하여 전년도 선행연구로부터 선별된 유산균 (*Lactobacillus brevis*)은 MRS agar plate에서 자란 single colony로부터 20 mL MRS broth에서 30°C에서 24시간 배양한 후 이를 2 L MRS broth에 1% (v/v)로 접종 후 30°C에서 150 rpm으로 24시간 진탕 배양하였음. 유산균 배양액은 3000rpm, 30분 원심분리하여 균체만 회수한 후 OD₆₀₀=0.5가 되도록 부유하여 자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스 4종에 각 5% (v/v)씩 접종한 후 30°C, 160rpm에서 24시간동안 배양한 후 균체를 제거하기 위하여 9,000rpm에서 40분 동안 원심분리한 후 상층액을 분리하여 121°C, 5분간 멸균한 다음 감압농축한 후 동결건조하여 발효 추출물을 제조하였음. 또한, 유산균의 성장 여부를 판단하기 위해 0시간, 24시간 단위로 MRS agar plate에 배양하여 생균수를 확인한 결과, 전년도 선행연구의 결과와 크게 다르지 않았음.

<발효 후 생균수 측정>

품목	시간	생균수 (Log CFU/ml)
자소엽	0	7.19
	24	9.05
라벤더	0	7.29
	24	9.13
짚레꽃	0	7.26
	24	9.27
레몬그라스	0	7.21
	24	8.77

- 발효전후 추출수율 : 우수소재 4종의 발효 전후 시료 8종에 대한 추출수율은 건조원물기준으로 산출하였음. 그 결과 추출 전에는 11.3% ~ 21.8%까지 다양한 추출수율을 나타내었으며 전년도 결과와 큰 차이를 보이지 않았음. 발효 전과 발효 후에 비교하였을 때는 짚레꽃을 제외하고는 미미하게 수율이 증가하였지만 유의한 증가를 보이지 않았음.

<발효전후 추출수율>

품목명	발효 전 수율(%)	발효 후 수율(%)
자소엽	11.3	12.7
라벤더	19.4	22.6
짚레꽃	21.8	19.1
레몬그라스	12.7	12.9

○ 발효소재 배합비 최적화 연구

○ 우수소재 4종 배합비 최적화

- 선행연구를 통해 선별된 우수소재인 4종 발효물 자소엽, 라벤더, 짚레꽃, 레몬그라스를 (주)더가든오브내추럴 솔루션으로 부터 제공받아 발효소재의 배합비 최적화 연구를 진행하였음. 해당 발효물은 기존 발효물 대비 추가공정(고체 및 액체발효)을 더해 향산화 및 미백효과의 상승을 나타냈으며, Pilot scale에서 안전성과 안정성을 확인한 제품화를 앞둔 시료임. 또한 해당 발효공정을 더욱 발전시켜 지표물질 및 여러 화장품적 효능의 상승을 도모할 수 있으므로 해당 발효물을 사용하여 배합비 최적화 연구를 수행하였음. 발효소재 배합비 최적화 연구는 아래 표의 조성비로 구성된 4종의 발효 조성물과 각각의 발효물을 대조구로 하여 미백효능, 주름개선효능, 보습효능을 통해 최적의 배합비를 확인하였음.

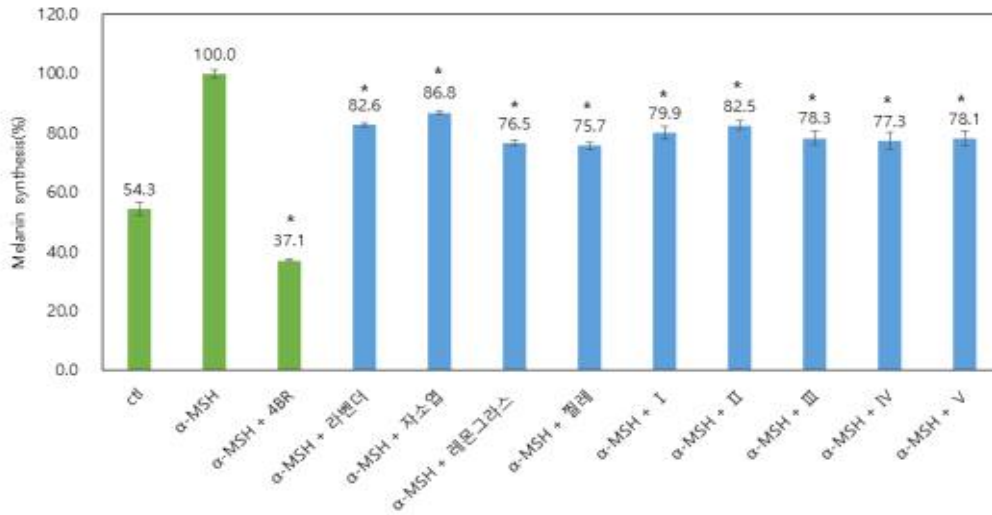
<발효 우수소재 4종 배합비>

품목	대조구				처리구				
	라벤더	자소엽	레몬그라스	짚레	처리구 I 각 발효물 25%	처리구 II 라벤더 40%	처리구 III 자소엽 40%	처리구 IV 레몬그라스 40%	처리구 V 짚레꽃 40%
라벤더 (액체발효)	100	0	0	0	25	40	20	20	20
자소엽 (액체발효)	0	100	0	0	25	20	40	20	20
레몬그라스 (고체발효)	0	0	100	0	25	20	20	40	20
짚레 (고체발효)	0	0	0	100	25	20	20	20	40
합계	100	100	100	100	100	100	100	100	100

○ 다기능 소재의 기능성 평가(미백, 주름, 보습)

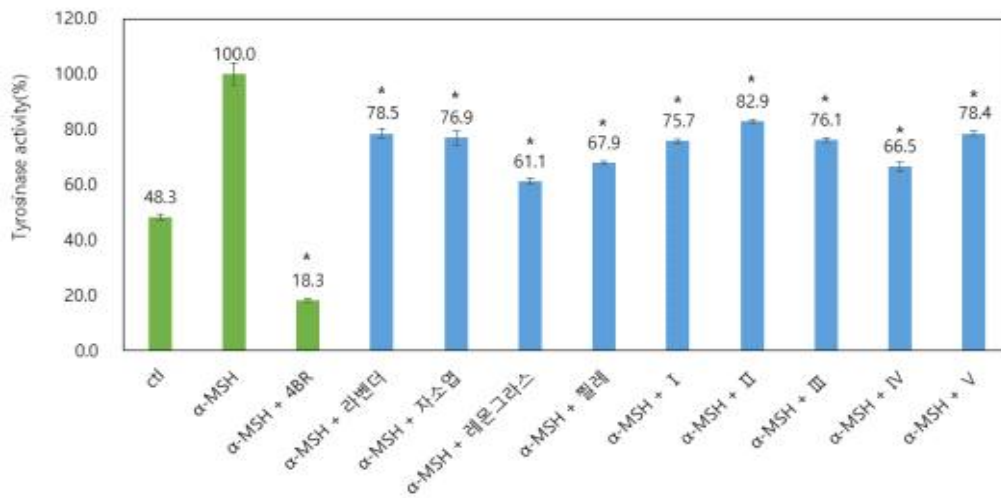
○ 미백효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 마우스 흑색종세포주인 B16F10 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 멜라닌 합성 억제능 측정 : B16F10 세포를 6 well plate에 1 × 10⁵ cells로 분주한 후 24 시간 동안 배양하고, phenol-red free 배지로 교환한 후 시료를 100 µg/ml의 농도로 1 시간 전처리 후 200 nM α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA)를 72 시간 동안 처리하였다. 세포내 멜라닌 생성량은 PBS로 세포를 수확한 후 13,000 rpm에서 10 분 동안 원심분리 한 후, 상층액은 버리고 세포 pellet 상태에 10% dimethyl sulfoxide가 함유된 1 N NaOH 용액 120 µl를 첨가한 후 60°C 에서 30 분간 중탕하고 pellet을 용해시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 rucinol (4-n-butylresorcinol, 4BR, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) 150 µM를 사용하였다.
- Tyrosinase 활성 억제능 측정 : B16F10 세포를 6 well plate에 1 × 10⁵ cells로 분주한 후 24 시간 동안 배양하고, phenol-red free 배지로 교환한 후 시료를 100 µg/ml의 농도로 1 시간 전처리 다음 200 nM α-MSH를 72 시간 동안 처리하였다. 세포를 PBS로 수확한 후 13,000 rpm에서 10 분 동안 원심분리 한 다음 상층액을 제거한 후 세포 pellet에 1% Triton X-100이 함유된 PBS 용액 150 µl를 첨가한 후 vortex 한 다음 -70°C에 얼렸다가 녹인 후 13,000 rpm에서 10 분 동안 원심분리 하였다. 다시 상층액 80 µl에 5 mM L-DOPA 20 µl를 첨가한 후 37°C에서 1 시간 동안 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로 rucinol (4-n-butylresorcinol, 4BR, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) 150 µM를 사용하였다.
- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.
- 미백 연구결과 : 발효우수소재 4종 조성물의 멜라닌 합성 억제능과 Tyrosinase 활성 억제능을 측정하기 위하여 양성대조군으로 rucinol을 200 nM의 농도로 사용하였고, 대조구 및 발효 조성물의 경우에는 2%의 농도로 72 시간동안 처리하였다. 멜라닌세포에서 멜라닌 생성 과정의 첫 단계는 멜라노솜 안에서 tyrosine이 tyrosinase 효소에 의해 L-DOPA, DOPA quinone, DOPA chrome으로 전환되는 반응임. 그 다음으로 티로시나제 관련 단백질 1과 2에 의해(tyrosinase related protein-1,-2, TRP-1, -2) 멜라닌 합성이 이루어지며, 최종적으로 멜라닌을 포함한 멜라노솜이 인접한 각질형성세포로 전달됨. 멜라닌 합성 억제능의 경우, Melanogenesis를 유도하는 α-MSH 처리구의 경우 대조구에 비해 멜라닌 합성이 약 1.8 배의 증가하였음. α-MSH와 대조구를 처리한 경우, 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각, 17%, 13%, 23%, 24%의 억제율을 나타냈음. 한편 처리구 I (각 발효물 25%)는 20%, 처리구 II (라벤더 40%)는 18%, 처리구 III (자소엽 40%)는 22%, 처리구 IV (레몬그라스 40%)는 23%, 처리구 V (찔레꽃 40%)는 22%의 억제율을 나타냈음. 발효조성물과 각 대조구를 비교했을 때에는 유의미한 억제율의 증가를 나타내진 못하였음. Tyrosinase 활성 억제능의 경우, α-MSH 처리구가 대조구에 비해 멜라닌 합성이 약 2.1 배의 증가하였음. α-MSH와 대조구를 처리한 경우, 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각, 21%, 23%, 39%, 32%의 억제율을 나타냈음. 한편 처리구 I (각 발효물 25%)는 24%, 처리구 II (라벤더 40%)는 17%, 처리구 III (자소엽40%)는 24%, 처리구 IV (레몬그라스 40%)는 33%, 처리구 V (찔레꽃 40%)는 22%의 억제율을 나타냈음. 레몬그라스 발효물 단독 처리시 멜라닌합성억제 23%, Tyrosinase 합성억제 39%로 우수한 결과를 나타내었지만, 발효조성물에서 기존 발효물단독처리구보다 더 뛰어난 억제능을 보이진 않았음.



<마우스 흑색종세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 멜라닌합성억제>

* $p < 0.05$, α-MSH 처리군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

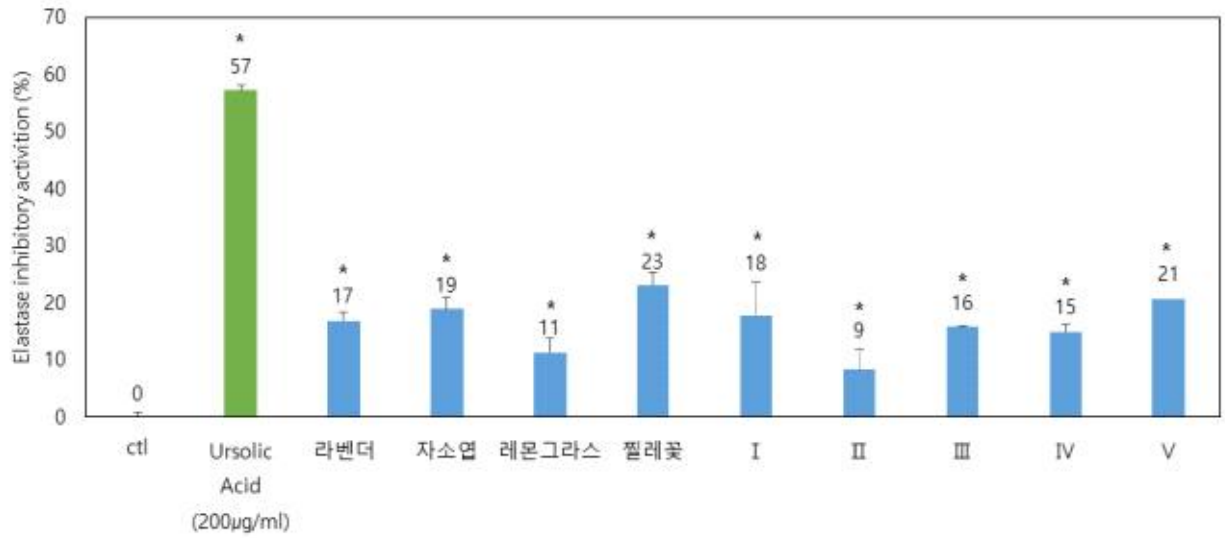


<마우스 흑색종세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 Tyrosinase합성억제>

* $p < 0.05$, α-MSH 처리군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

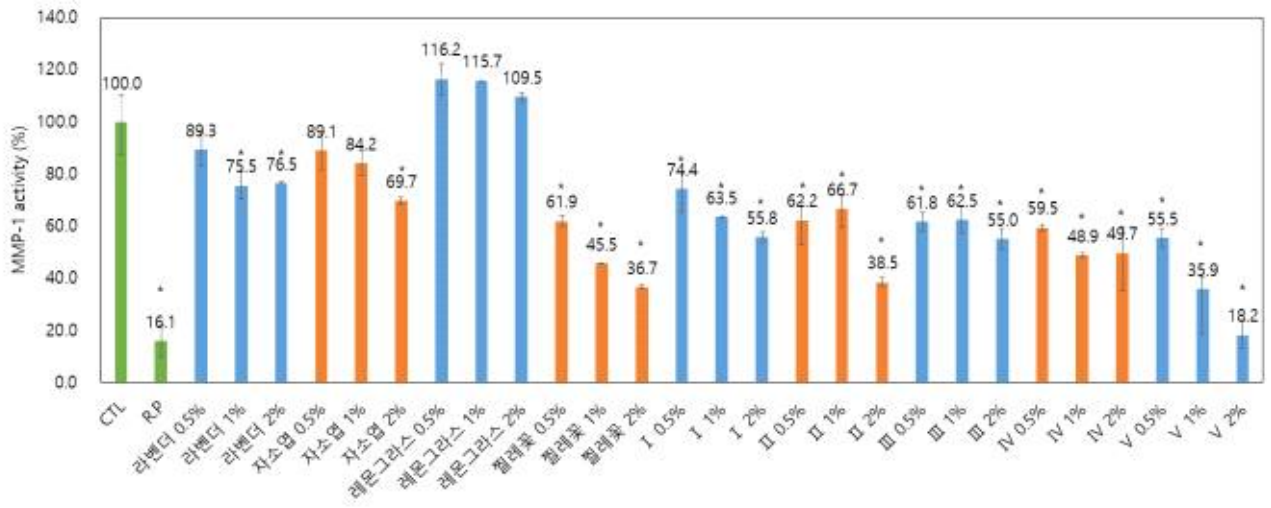
○ 주름개선효능

- Elastase 활성측정 : Elastase 활성 억제능을 확인하기 위해 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 200 μ L에 elastase (0.5 unit/ml) 100 μ L와 시료 50 μ L를 넣은 혼합물을 실온에서 2분간 대기한 후 2 mM N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide 200 μ L를 첨가하고 25°C에서 10분간 mix하여 반응시킨 뒤 410 nm에서 흡광도를 측정하였음.
- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 섬유아세포주인 HS27 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 콜라겐분해효소 활성측정 : 콜라겐분해효소 (matrix metalloproteinase-1, MMP-1) 활성 억제능을 측정하기 위해 섬유아세포주인 HS27 세포를 24 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주한 후 24시간 동안 배양하였음. 배양한 세포는 serum free DMEM 배지로 2번 세척 후 serum free DMEM 배지로 교체한 뒤 시료를 48시간 처리하였음. 48시간 뒤 배지를 수거하여 원심분리(10,000 xg, 5분, 4°C)하고 상층액을 -70°C에서 보관 후 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 수행하였음. ELISA는 시료를 1/40으로 희석한 후 MMP-1 ELISA (R&D systems DY901B, Minneapolis, MN, USA)를 이용하였으며 제조사에서 제공한 방법에 의해 측정하였음.
- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.
- 주름개선 연구결과 : 발효우수수재 4종 조성물의 elastase 저해 활성을 측정하기 위하여 양성대조군은 ursolic acid 100 μ g/mL의 농도로 사용하였고, 시료는 50%의 농도로 elastase 저해 활성을 측정하였음. 그 결과, 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각, 17%, 19%, 11%, 23%의 elastase 저해 활성을 나타내었음. 한편 처리구 I (각 발효물 25%)는 18%, 처리구 II (라벤더 40%)는 9%, 처리구 III (자소엽 40%)는 16%, 처리구 IV (레몬그라스 40%)는 15%, 처리구 V (찔레꽃 40%)는 21%의 억제율을 나타냈음. 찔레꽃 발효물 단독 처리시 23%로 우수한 결과를 나타내었지만, 발효조성물과 발효물단독처리구를 비교했을 때에는 유의미한 억제율의 증가를 나타내진 못하였음. 또한 발효우수수재 4종 조성물의 콜라겐 분해효소 억제능을 확인하기 위하여 피부 섬유아세포인 HS27세포에서 MMP-1의 활성을 조사하였다. 양성대조군인 retinyl palmitate는 100 μ g/mL의 농도, 대조구 및 발효 조성물의 경우에는 0.5%, 1%, 2%의 농도로 48시간 동안 처리하였음. MMP-1은 interstitial collagenase로 피부 노화 과정에서 진피의 collagen 분해에 중요한 역할을 한다고 알려져 있음. 실험결과, 양성대조군은 약 83%의 MMP-1 활성 억제율을 보였으며 대조구와 처리구 모두 농도의존적으로 억제율이 증가하는 경향을 나타내었음. 2% 농도에서 레몬그라스를 제외한 라벤더, 자소엽, 찔레꽃 발효물에서 20% 이상의 MMP-1 활성 억제율을 나타내었으며 각각 23%, 30%, 63%의 억제율을 나타냈음. 한편, 처리구 I (각 발효물 25%)는 44%, 처리구 II (라벤더 40%)는 61%, 처리구 III (자소엽 40%)는 45%, 처리구 IV (레몬그라스 40%)는 50%, 처리구 V (찔레꽃 40%)는 81%의 억제율을 나타내었음. 처리구 II, III, IV, V에서 각각의 발효물단독처리구에 비해 38%, 14%, 59%, 18% 가량 증가한 우수한 억제율을 나타내었음. 배합 전후를 비교한 결과에서는 배합 전과 비교하였을 때 모든 처리구에서 콜라겐분해효소억제능이 증가하였으며 특히, 처리구 V(찔레꽃 40%)에서 가장 우수한 효과를 나타내었음. 결과적으로 배합 전보다 배합 후 가장 높은 주름개선시너지효과를 나타내는 소재는 찔레꽃 이었음.



<발효우수소재 4종 조성물의 elastase 저해 활성>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부섬유아세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 MMP-1 활성>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 보습효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 피부각질 세포주인 HaCaT 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR : 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 보습인자인 히알루론산 생성에 관련된 유전자에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6well plate에 8×10⁵ cells/well 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 serum free 배지로 교환한 후 발효 전 후 추출물 시료를 처리한 후 48시간동안 배양하였음. 시료를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였다. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였으며, 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 µL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였고, 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹인 다음, RNA 농도(1 OD =40 µg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 µM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 µL의 용액에서 총 RNA 1 µg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cycler 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

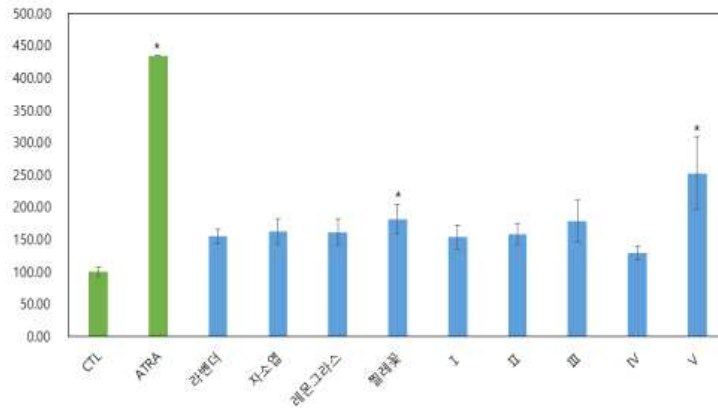
Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward / Reverse	Sequences(5'→3')	CDS	Location		Size (bp)
HAS2	NM_005328.2	human	F	GCAGTGTAAGATATTGGATGGC	539-2197	1305	1326	151
			R	CCCATAAATTCTTGATTGTACCAATCTTC		1455	1427	
HAS3	AF234839.1	human	F	TGTCCAGATCCTCAACAAGTACGA	157-1818	888	911	157
			R	CTGGAGGAGGCTGTTGC		1044	1028	
β-actin	NM_001101.4	human	F	CACTGTGCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTCCACGCACGATTTC		831	811	

<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
HAS2	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
HAS3					
β-actin					40

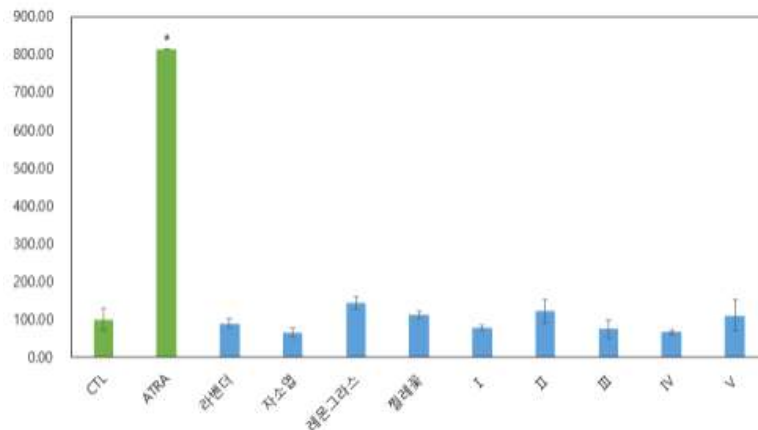
- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

- 보습 연구결과 : 발효우수소재 4종 조성물의 피부보습에 미치는 영향을 확인하기 위하여 피부각질세포인 HaCaT 세포에서 히알루론산 합성효소(hyaluronan synthase, HAS)의 mRNA의 발현을 조사하였음. 양성대조군으로 히알루론산(hyaluronic acid, HA)을 생성하는 all-trans retinoic acid (ATRA)를 2 μ M 사용하였으며 발효 전후 추출물은 100 μ g/mL 농도로 48시간 동안 처리한 후 HAS-2, HAS-3 mRNA의 발현을 측정하였음. 피부보습을 유지하는 히알루론산은 표피의 기저층과 유극층에서 활발한 합성이 일어나고 HAS에 의해 생성이 되는데 HAS2는 fibroblast에서 HAS3는 keratinocyte에서 과발현된다고 알려져 있음. 그리고 HAS2와 HAS3는 히알루론산 합성에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있음. 그 결과, 양성대조군인 ATRA는 대조군에 비해 HAS-2, HAS-3 mRNA의 발현을 각각 4.4배, 8.1배 증가시켰음. HAS-2 mRNA의 발현은 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각, 1.5배, 1.6배, 1.6배, 1.8배 증가하였음. 한편, 처리구 I (각 발효물 25%)는 1.5배, 처리구 II (라벤더 40%)는 1.5배, 처리구 III (자소엽 40%)는 1.8배, 처리구 IV (레몬그라스 40%)는 1.3배, 처리구 V (찔레꽃 40%)는 2.5배 발현이 증가하였음. 처리구 II, III, V에서 각각의 발효물단독처리구에 비해 2%, 9%, 39% 가량 증가한 발현량을 나타내었지만 나머지 처리구에서는 유의미한 발현량의 증가를 나타내지 못하였음. 마지막으로 HAS-3 mRNA의 경우, 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각, 0.9배, 0.7배, 1.4배, 1.1배 증가하였음. 한편, 처리구 I (각 발효물 25%)는 0.8배, 처리구 II (라벤더 40%)는 1.2배, 처리구 III (자소엽 40%)는 0.7배, 처리구 IV (레몬그라스 40%)는 0.6배, 처리구 V (찔레꽃 40%)는 1.1배 발현이 증가하였음. 처리구 II, III에서 각각의 발효물단독처리구에 비해 36%, 14% 가량 증가한 발현량을 나타내었지만 나머지 처리구에서는 유의미한 발현량의 증가를 나타내지 못하였음. 배합 전후를 비교한 결과에서는 찔레꽃 발효물만이 배합 전과 비교하였을 때 배합 후 [처리구 V(찔레꽃 40%)] 에 약 40% 가량 증가하였음. 결과적으로 배합 전보다 배합 후에 더 높은 보습활성시너지효과를 나타내는 소재는 찔레꽃 이었음.



<피부각질세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 HAS-2 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부각질세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 HAS-3 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

2) 소재 자원화

○ 화장품 원료 등재 및 라이브러리 구축

○ 화장품원료 등재

- 선행연구를 통해 선별된 우수소재인 2종 발효물 중 라벤더엑상발효물과 자소엽엑상발효물의 원료 등재를 완료함.

<International Nomenclature Committee Information>	
Ingredient	-Vegetable
Trade Name	-Lactobacillus/Lavandula Angustifolia flower/Leaf/Stem Ferment Filtrate (NCN)
Suggested INCI Name	-Lactobacillus/Lavandula Angustifolia Flower/Leaf/Stem Ferment Filtrate
CAS Number	-Pentylene Glycol 3% (natural), 5343-92-0 -1,2-Hexanediol, 6920-22-5
Genus and Species of Plant	-Lavandula Angustifolia, Flower/Leaf/Stem
Identity of Material Fermented	-None
Process after Fermentation	-Filtrate
Composition Statement	-Lactobacillus/Lavandula Angustifolia Flower/Leaf/Stem Ferment Filtrate 95%, Pentylene Glycol 3% (natural), 1,2-Hexanediol 2%
Manufacturing Method	1. The fermentation of the flowers, leaves, and stems of Lavandula Angustifolia using Lactobacillus brevis 2. Sterilization 3. Filtration with membrane filter(0.45µm)
Function:	-Antioxidants: Skin-Conditioning Agents - Miscellaneous: Antimicrobial Agents



February 13, 2020

Application No. 1-10-2019-9979

Submitted By:

Dr. Tae-Bum Lee
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
Republic of Korea

Manufactured By:

Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
KOREA (SOUTH)

Trade Name:

Lactobacillus/Lavandula Angustifolia flower/Leaf/Stem Ferment Filtrate (NCN)

Assigned INCI Name:

Lactobacillus/Lavandula Angustifolia Flower/Leaf/Stem Ferment Filtrate and Pentylene Glycol and 1,2-Hexanediol

<라벤더엑상발효물의 ICID 등재>

<International Nomenclature Committee Information>

Ingredient	-Vegetable
Trade Name	-Lactobacillus/Perilla Frutescens Leaf Ferment Filtrate (NCN)
Suggested INCI Name	-Lactobacillus/Perilla Frutescens Leaf Ferment Filtrate
CAS Number	-Pentylene Glycol 3% (natural), 5343-92-0 -1,2-Hexanediol 6920-22-5
Genus and Species of Plant	-Perilla Frutescens, Leaf
Identity of Material Fermented	-None
Process after Fermentation	-Filtrate
Composition Statement	-Lactobacillus/Perilla Frutescens Leaf Ferment Filtrate 95%, Pentylene Glycol 3% (natural), 1,2-Hexanediol 2%
Manufacturing Method	1. The fermentation of the leaves of Perilla Frutescens using Lactobacillus brevis 2. Sterilization 3. Filtration with membrane filter(0.45µm)
Function:	-Skin-Conditioning Agents - Miscellaneous



February 13, 2020

Application No. 1-10-2019-9980

Submitted By:

Dr. Tae-Bum Lee
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
Republic of Korea

Manufactured By:

Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
KOREA (SOUTH)

Trade Name:

Lactobacillus/Perilla Frutescens Leaf Ferment Filtrate (NCN)

Assigned INCI Name:

Lactobacillus/Perilla Frutescens Leaf Ferment Filtrate and Pentylene Glycol and 1,2-Hexanediol

<자

소염액상발효물의 ICID 등재>

○ 라이브러리 구축

- 남원 허브 특화자원의 원료표준화 및 소재자원화 기반 조성과 화장품소재 확보를 통한 홍보기반 마련을 위해 라이브러리 구축을 진행하였음. 남원 허브 10종 중 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 4종의 라이브러리 구축을 완료하였음.
- 코드번호는 (재)남원시화장품산업지원센터의 남원·지리산권 자원식물 리스트내에 수록된 품목의 번호와 라이브러리 구축 품목 순으로 부여하였음.

<남원허브특화자원 라이브러리구축>

품목	코드	학명	효능부위	원물 채취지역	추출물 (원료명 국문, INCI)	종자 (채종시기, 채종지역)	사진 (원물, BG추출물, 종자)
라벤더	NCN0287-AP-0001	<i>Lavandula angustifolia</i> 'Munstead'	전초	남원시 운봉읍	라벤더추출물, Lavandula Angustifolia (Lavender) Extract	2019.12.19., 남원시 운봉읍	
자소엽	NCN0507-AP-0002	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> (Thunb.) Kudô	전초	남원시 주천면	소엽추출물, Perilla Frutescens Extract	2019.10.25., 남원시 운봉읍	
레몬그라스	NCN0288-AP-0003	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf.	전초	남원시 이백면	레몬그라스추출물, Cymbopogon Citratus Extract	-	
찔레꽃	NCN0749-FL/TW-0004	<i>Rosa multiflora</i> Thunb.	전초	남원시 송동면	찔레꽃추출물, Rosa Multiflora Extract	-	

다. 우석대학교 산학협력단(제2협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
4차 년도 (2020)	남원지역 특화자원의 지표성분 표준화 및 밸리데이션	지표(유효)성분 정량 및 발효소재 배합비 최적화 연구	○ 발효소재 배합 전후 총폴리페 놀, 총플라보노이드 함량비교	- 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드는 함량은 배합 후 처리구5(찐레꽃 40%)에서 가장 우수
		기능성(항산화) 평가 및 발효소재 배합비 최적화	○ 발효소재 배합 전후 기능성 소재의 지표(유효)성분 정량	- 발효소재 배합 전후 기능성 소재의 지표성분 비교 정량
		기능성(항산화) 평가 및 발효소재 배합비 최적화	○ 발효소재 배합 전후 기능성 비교	- 배합 후 처리구5에서 우수한 항산화 활성을 나타냄
		기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량, 밸리데이션	○ 기능성 소재 2종의 분석 조건 확립	- 기능성 소재 2종(감국, 레몬그라스)의 분석조건 확립 및 동시다분석 밸리데이션 진행

1) 지표(유효)성분 정량 및 발효소재 배합비 최적화 연구

○ 발효소재 배합

- 선행연구(3차년도)를 통해 선별된 우수소재인 4종 발효물(자소엽, 라벤더, 찐레, 레몬그라스)를 ㈜더가든오브 내추럴솔루션으로부터 제공 받았음. 발효 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찐레)의 배합비는 남원시 화장품센터의 4종 배합비를 참고하여 각 소재를 비율에 맞춰 배합한 뒤, speed vacuum으로 건조한 다음, 실험농도에 맞춰 DW로 희석한 뒤 실험에 사용하였음.

○ 발효소재 배합 전후 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량 비교

○ 총 폴리페놀 함량 비교

- 측정방법: Folin-Denis 방법을 응용하여 발효 우수소재 4종의 배합 전후 총 폴리페놀 함량을 측정하였음. 시료와 Folin-Denis reagent를 넣고 혼합한 뒤, 5분간 실온에서 반응시킨다. 그다음 7.5% sodium carbonate를 넣고 혼합한 뒤, 차광 후 실온에서 1시간 반응시킨 다음 700nm에서 흡광도를 측정하였다. Tannic acid를 사용하여 표준 곡선을 그린 다음, 그 함량을 계산하였다. 모든 결과는 3회 반복 후 평균 및 표준오차를 구하여 나타내었음.
- 결과: 배합 전 폴리페놀의 함량은 찐레꽃(RMF) > 레몬그라스(CCF) > 라벤더(LVF) > 자소엽(PFF)의 순서로 측정되었음. 찐레꽃의 경우 우수소재 4종에서 가장 우수한 폴리페놀의 함량을 나타내었으며 레몬그라스의 약 1.86배, 라벤더의 약 6배, 자소엽의 약 8배로 높은 함량을 나타내었음. 배합 후에는 처리구5(찐레꽃 40%)에서 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었으며, 처리구5(찐레꽃 40%) > 처리구1(각 추출물 25%) > 처리구 4(레몬그라스 40%) = 처리구2(라벤더 40%) > 처리구3(자소엽 40%)의 순서로 함량이 측정되었음.

<Total polyphenol contents>

품목	mg/g
라벤더	37.83±0.48
자소엽	27.83±0.24
레몬그라스	121.64±4.76
짚레꽃	226.64±6.48
처리구1 (각 발효물 25%)	214.02±6.67
처리구2 (라벤더 40%)	191.64±1.09
처리구3 (자소엽 40%)	179.98±2.03
처리구4 (레몬그라스 40%)	192.36±7.03
처리구5 (짚레 40%)	267.83±4.99

○ 총 플라보노이드 함량 비교

- 측정방법: 희석한 시료와 Diethylene glycol을 가하여 잘 혼합한 후, 1N NaOH를 더하여 잘 혼합함. 37°C에서 30분동안 반응시킨 뒤, 420nm에서 흡광도를 측정함. Quercetin을 사용하여 표준 곡선을 그린 다음, 그 함량을 계산 하였음. 모든 결과는 3회 반복 후 평균 및 표준오차를 구하여 나타내었음.
- 결과: 배합 전 플라보노이드의 함량은 짚레꽃(RMF) > 레몬그라스(CCF)의 순서로 측정되었으며, 라벤더와 자소엽에서는 그 함량을 측정할 수 없었음.
- 배합 후 플라보노이드의 함량은 처리구5(짚레꽃 40%)에서 가장 높았으며, 처리구5(짚레꽃 40%) > 처리구1 (각 추출물 25%) = 처리구 4(레몬그라스 40%) > 처리구3(자소엽 40%) > 처리구2(라벤더 40%) 순서로 함량이 측정되었음.

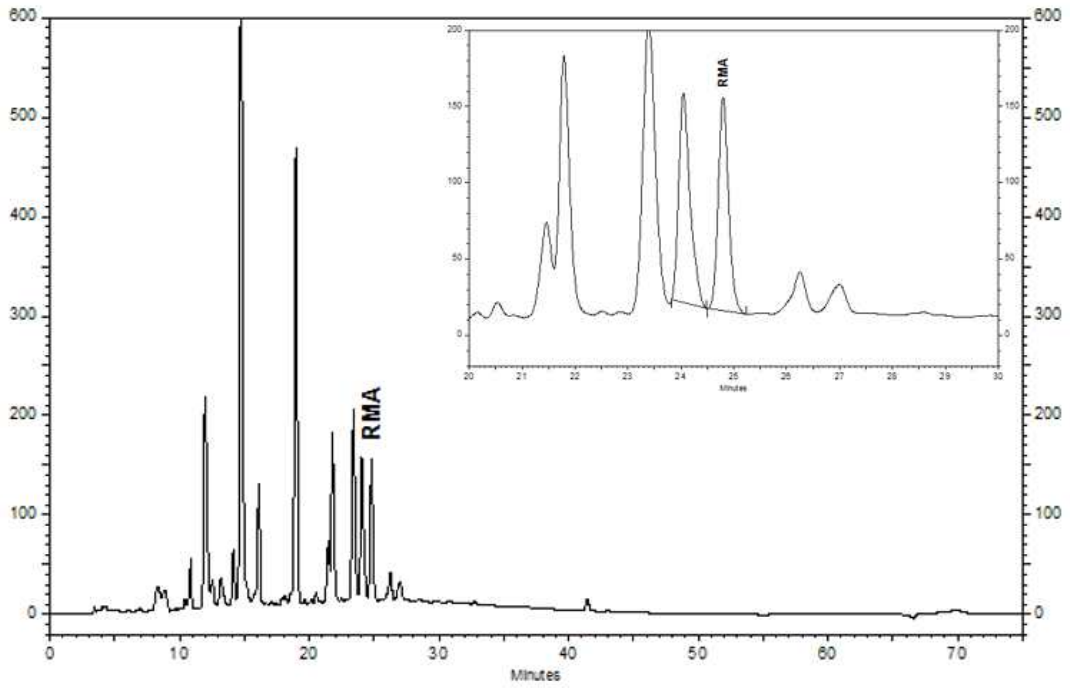
<Total flavonoid contents>

품목	mg/g
라벤더	N.D
자소엽	N.D
레몬그라스	17.23±0.49
짚레꽃	25.21±0.26
처리구1 (각 발효물 25%)	22.69±0.52
처리구2 (라벤더 40%)	17.93±0.23
처리구3 (자소엽 40%)	20.62±0.43
처리구4 (레몬그라스 40%)	22.20±0.20
처리구5 (짚레 40%)	27.47±0.48

○ 발효 소재 배합 전후 기능성 소재의 지표(유효) 성분 정량

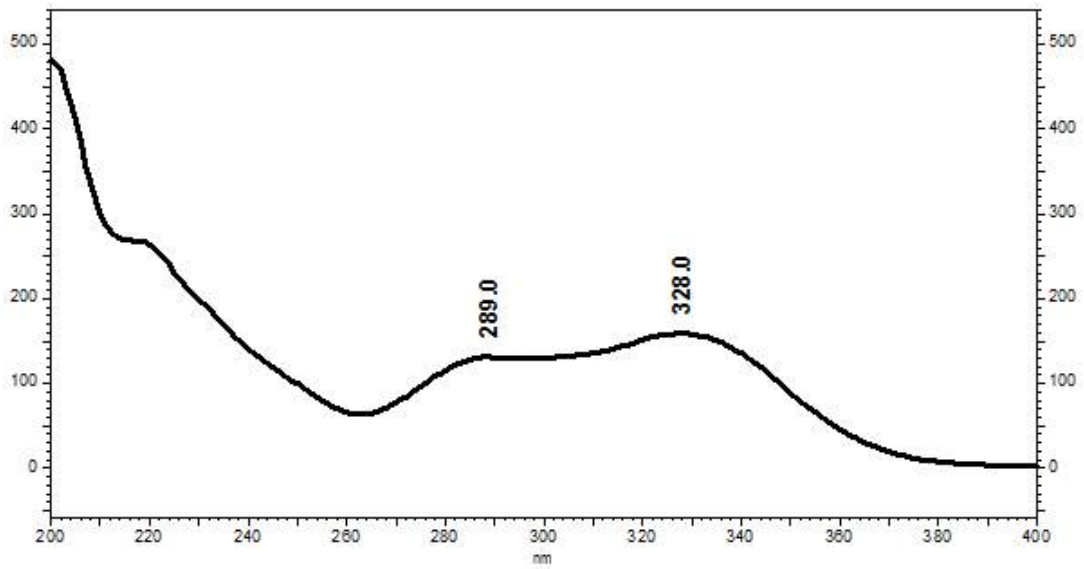
- 내추럴솔루션에서 제공받은 발효 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 짚레꽃)의 지표(유효)성분의 함량을 정량하였음.
- 발효 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 짚레)의 배합비는 남원시 화장품센터의 4종 배합비를 참고 하여 각 소재를 비율에 맞춰 배합한 뒤, speed vacuum으로 건조한 다음, 실험농도에 맞춰 DW로 희석한 뒤 실험에 사용하였음.
- 라벤더(LVF) 발효물의 지표 성분
 - 밸리데이션 결과를 바탕으로 라벤더의 지표(유효) 성분을 rosmarinic acid로 선정하였으며, retention time 은 26.68분에 검출되었다. 함량은 0.08%로 정량되었다.

Rosmaric acid (330nm)



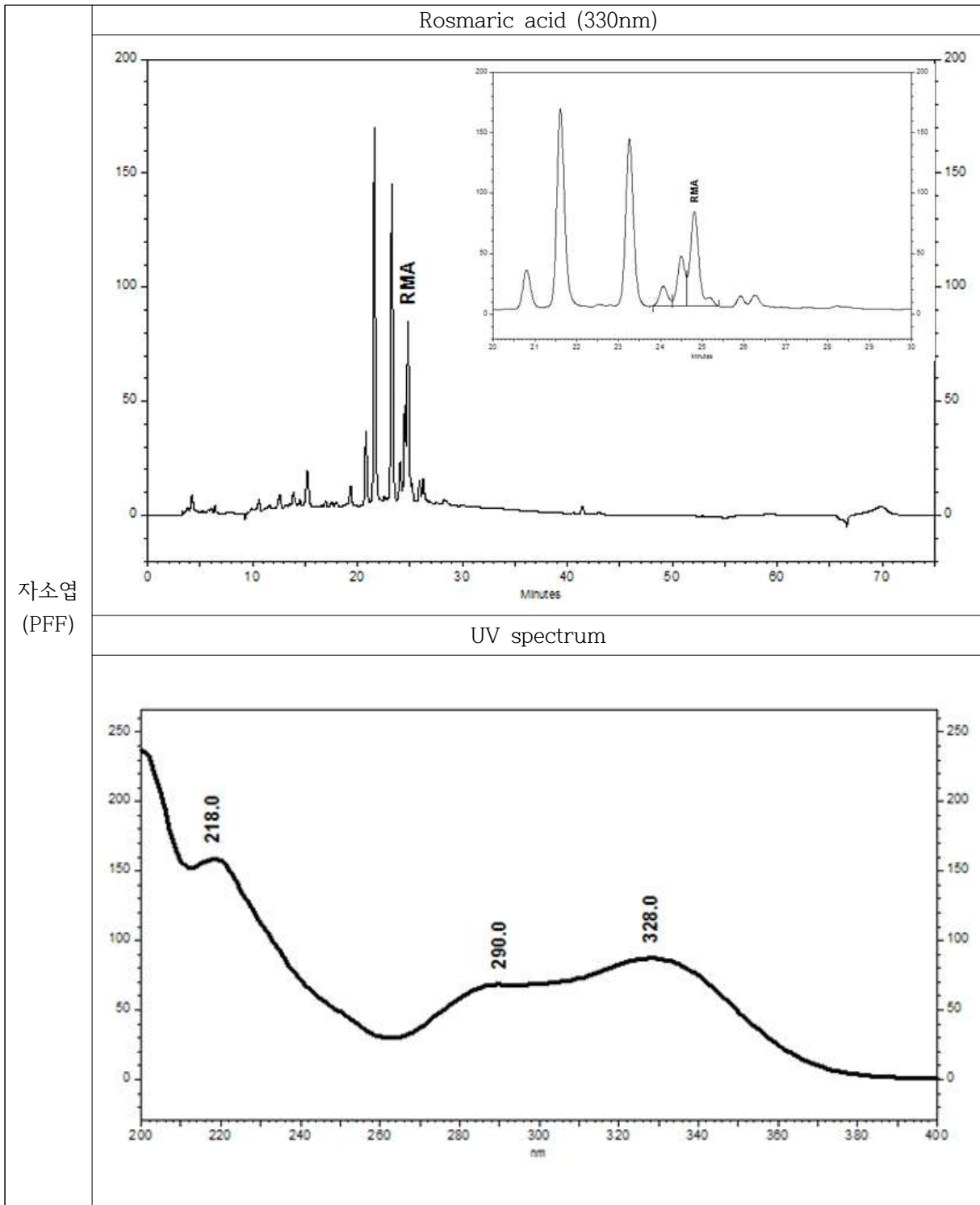
라벤더
(LVF)

UV spectrum



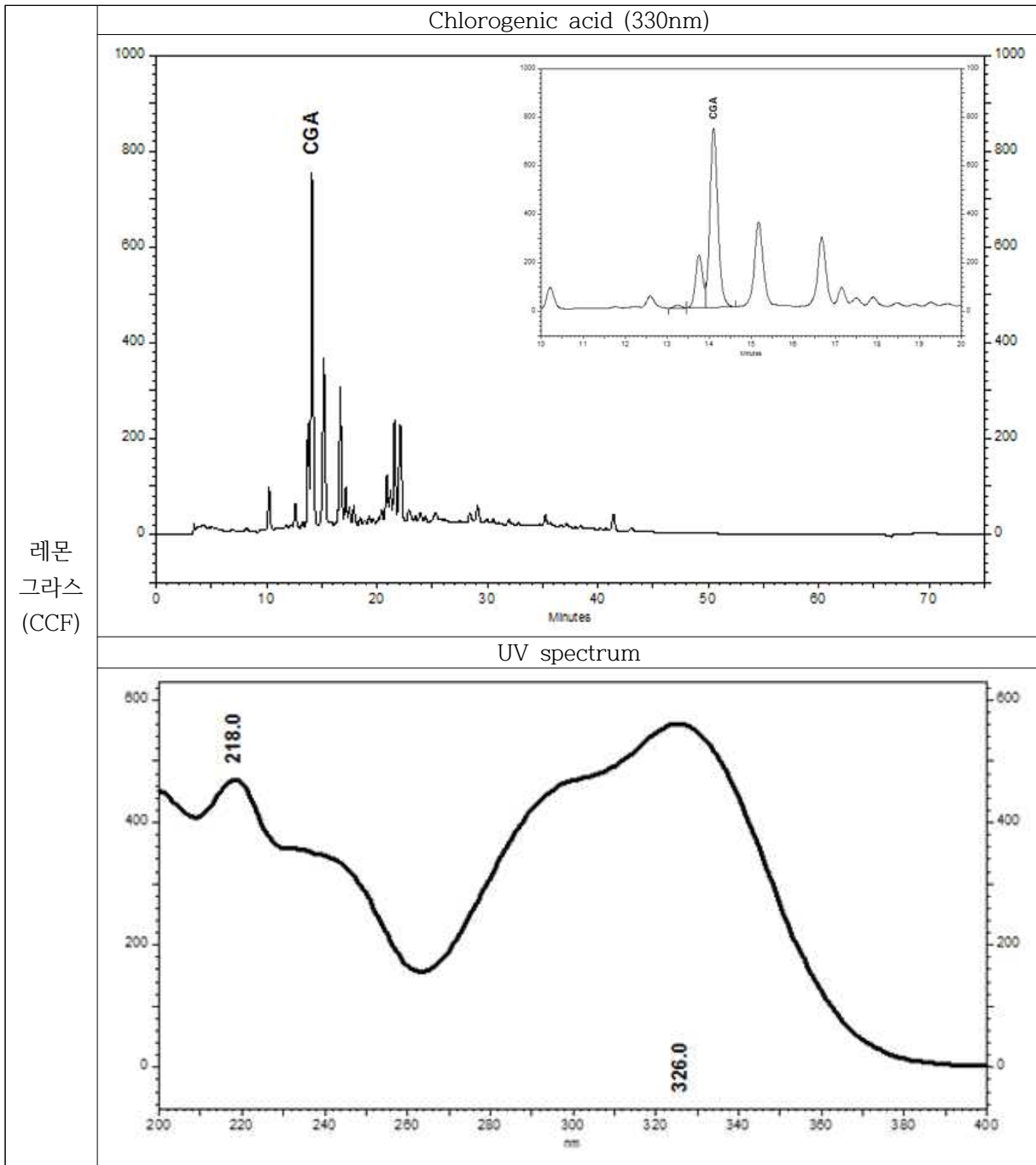
○ 자소엽(LVF) 발효물의 지표 성분

- 밸리데이션 결과를 바탕으로 자소엽의 지표(유효) 성분을 rosmarinic acid로 선정하였으며, retention time 은 24.7분에 검출되었음. 함량은 1.40ug/g로 정량되었음.



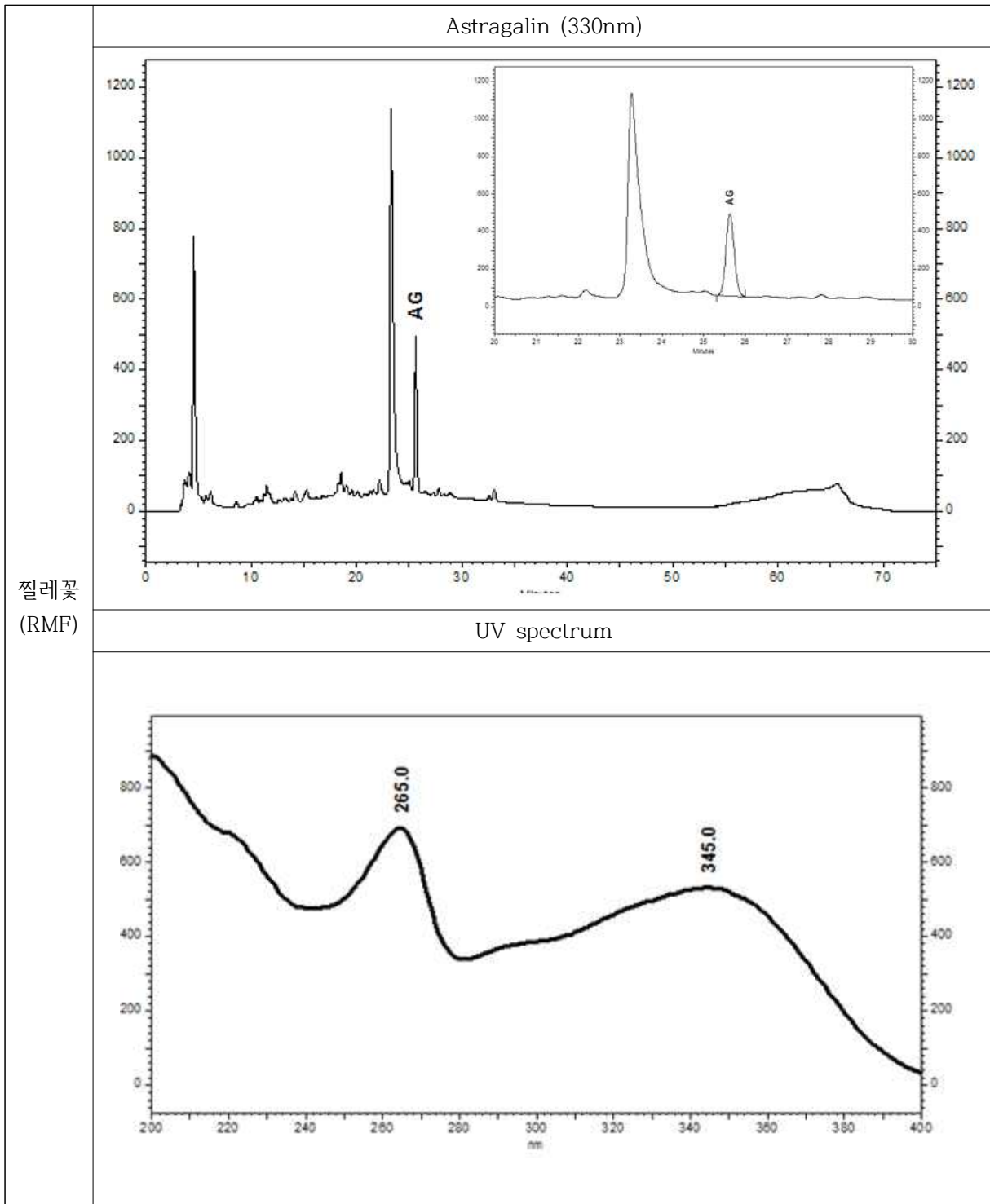
○ 레몬그라스(CCF) 발효물의 지표 성분

- 선행 연구결과(문헌조사)를 통해 Chlorogenic acid(CGA)를 레몬그라스의 지표성분으로 설정하였음. 발효물에서 Chlorogenic acid는 retention time 14.1분에 검출되었으며, 함량은 12.94ug/g으로 정량되었음.



○ 찔레꽃(RMF) 발효물의 지표 성분

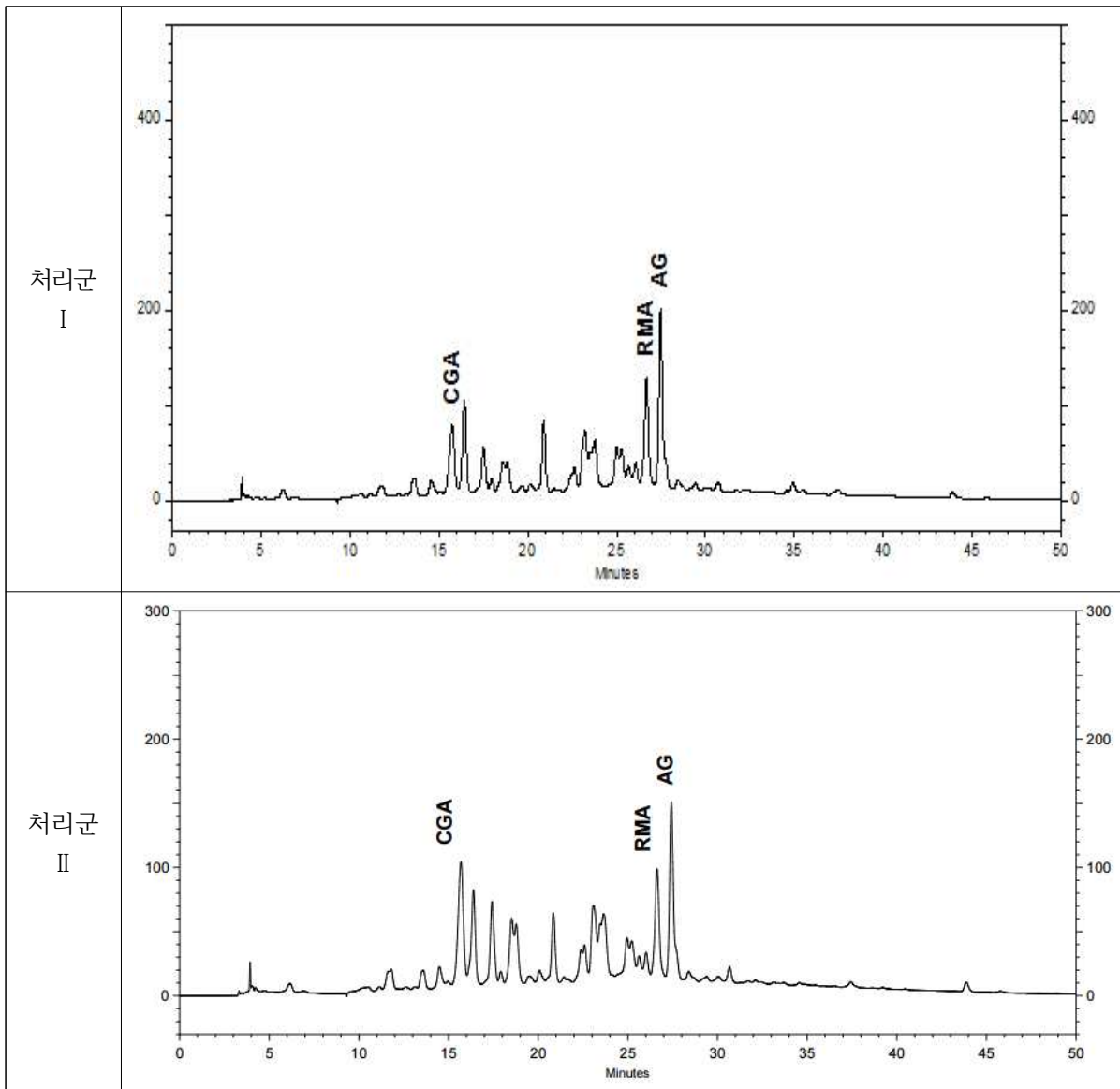
- LC/MS결과 및 지표성분 밸리데이션 결과를 바탕으로 찔레꽃의 지표(유효) 성분을 astragalin으로 설정하였으며, retention time은 25.5분에 검출되었다. 함량은 9.24ug/g로 정량되었음.



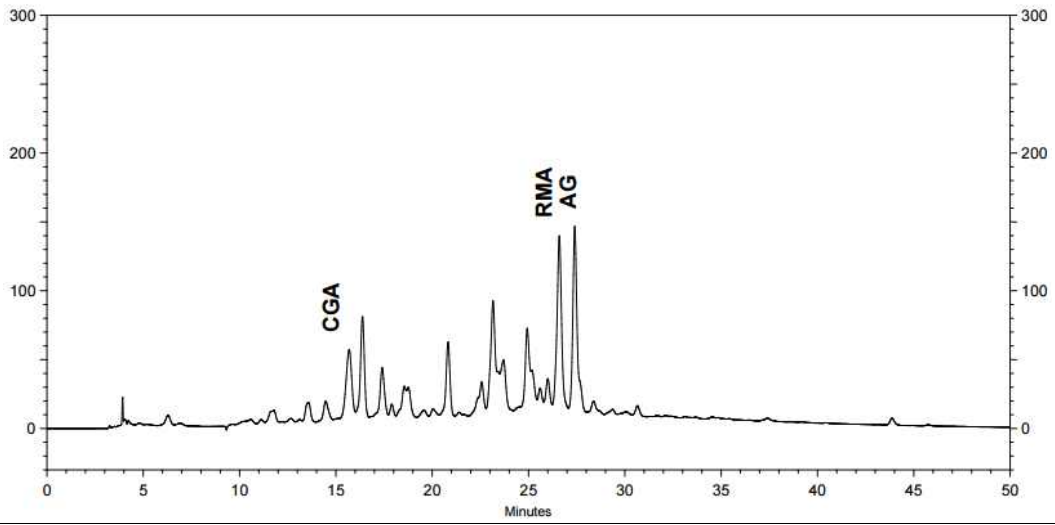
○ 발효 소재 배합 후 지표(유효) 성분 정량

품명	배합비	<i>p</i> -coumaric acid	Rosmaric acid	Astragalgin
처리군 1	각 추출물 25%	0.07	0.22	0.03
처리군 2	라벤더 40%	0.05 (▼)	0.23 (▲)	0.03 (-)
처리군 3	자소엽 40%	0.04 (▼)	0.25 (▲)	0.02 (▼)
처리군 4	레몬그라스 40%	0.10 (▲)	0.17 (▼)	0.02 (▼)
처리군 5	썰레꽃 40%	0.05 (▼)	0.18 (▼)	0.02 (▼)

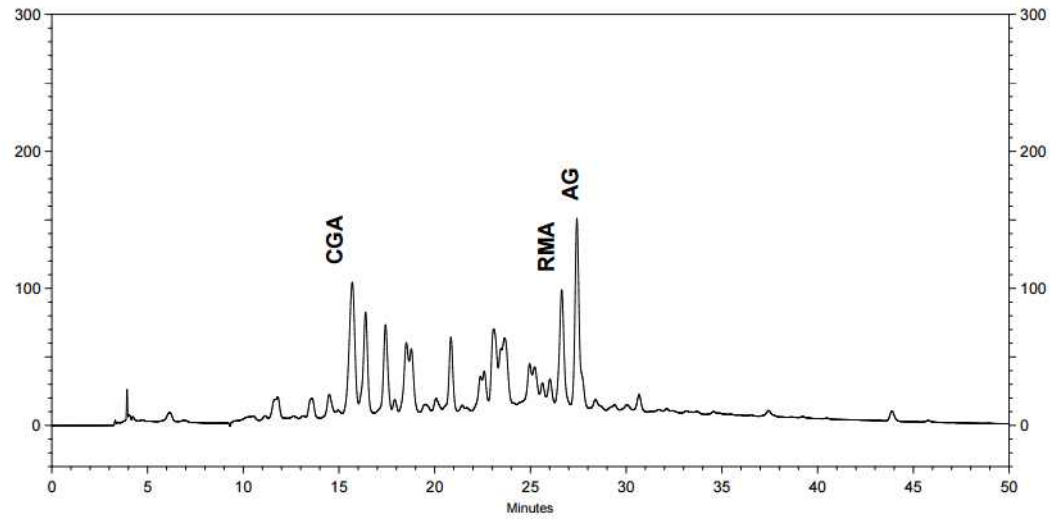
- 분석결과 처리군 1(각 추출물 1:1:1:1 비율)을 기준으로 하여 처리군 2-5를 비교하였을 때, 처리군 2(라벤더 40%)에서는 rosmaric acid의 함량이 각각 1.04% 증가하였으며, 처리군 3(자소엽 40%)에서는 rosmaric acid의 함량이 1.08% 증가하였음. 처리군 4(레몬그라스 40%)에서는 *p*-coumaric acid의 함량이 1.4% 증가하였으며, 처리군 5(썰레꽃 40%)에서는 증가하는 성분은 없었으나 지표(유효) 성분의 함량이 고르게 분포하였음. 라벤더와 자소엽의 지표성분이 rosmaric acid이고, 레몬그라스의 지표성분이 *p*-coumaric acid인 것을 고려하면 예측 가능한 결과임.



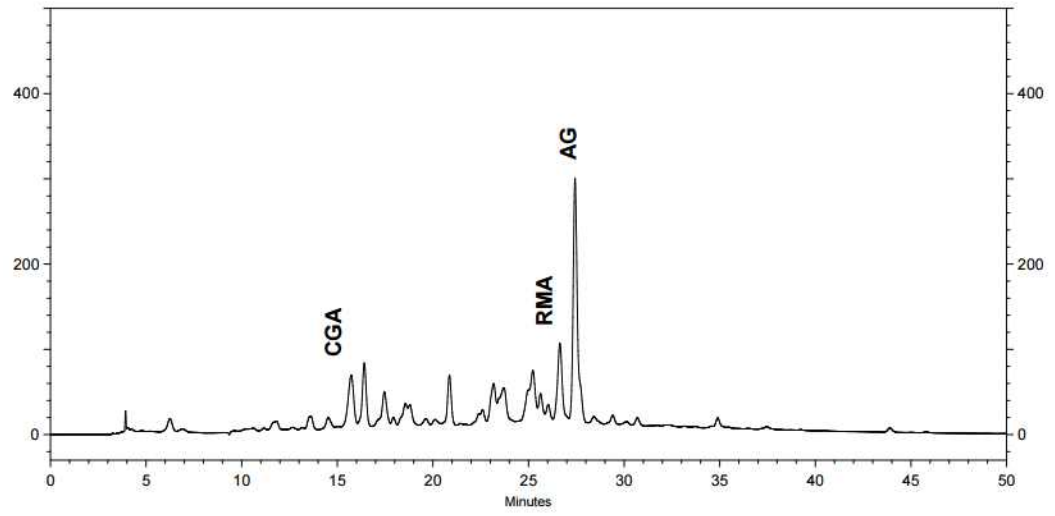
처리군
III



처리군
IV



처리군
V



2) 기능성(항산화) 평가 및 발효 소재 배합비 최적화

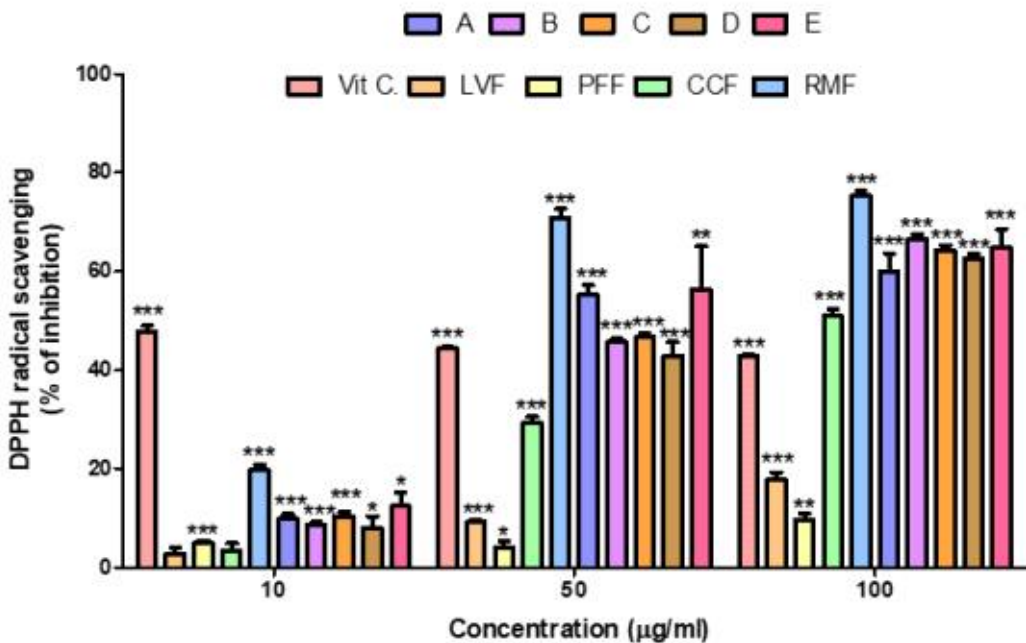
○ 발효 소재 배합 전후 기능성 비교

○ 측정방법

- DPPH라디칼 소거능 각 농도별로 희석한 시료 2.5 μ l에 DPPH 10 μ M 247.5 μ l를 넣은 뒤, 차광 후 20분간 실온에서 반응시킨다. 그다음 517nm에서 흡광도를 측정함. 음성대조군을 100%로 하여 그 저해율을 %로 나타내었고, 양성대조군은 L-ascorbic acid(Vit C)를 사용하였음.

○ 결과

- 발효 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃)의 배합 전 항산화 활성을 평가했을 때, 찔레꽃에서 RC₅₀ 44.45 μ g/ml로 가장 우수한 항산화 활성을 나타내었음.
- 찔레꽃 > 레몬그라스 > 라벤더 > 자소엽의 순서로 나타났으며, 라벤더와 자소엽은 항산화 활성을 나타내지 않았음.
- 배합 후 항산화 활성을 평가했을 때, 처리군5(찔레꽃 40%)에서 62.92 μ g/ml로 가장 우수한 항산화 활성을 나타내었다. 처리군5(찔레꽃 40%) > 처리군2(라벤더 40%) = 처리군1(각 추출물 25%) > 처리군3(자소엽 40%) > 처리군4(레몬그라스 40%)의 순서로 나타났음.



<RC₅₀ value of DPPH scavenging activity>

Vit C.; L-ascorbic acid, LVF; 라벤더, PFF; 자소엽, CCF; 레몬그라스, RMF; 찔레꽃,

A; 처리군1(각 추출물 25%), B; 처리군2(라벤더 40%), C; 처리군3(자소엽 40%),

D; 처리군4(레몬그라스 40%), E; 처리군5(찔레꽃 40%)

품목	RC 50(μg/ml)
라벤더	294.39
자소엽	756.15
레몬그라스	95.4
찔레꽃	44.45
처리군1 (각 발효물 25%)	68.76
처리군2 (라벤더 40%)	68.57
처리군3 (자소엽 40%)	69.53
처리군4 (레몬그라스 40%)	73.63
처리군5 (찔레 40%)	62.92

3) 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량, 밸리데이션

○ 기능성 소재 2종의 분석 조건 확립

○ 분석조건

Analysis condition	
PUMP A	0.1% + formic acid + DW
PUMP B	0.1% + formic acid + MeCN
Flow rate	1.0 ml/min
column oven temperature	40°C
UV detector	DAD(213, 326, 329nm)

Time(min)	Pump A	Pump B
0-10	100	0
10-55	60	40
55-60	0	100
60-65	0	100
65-70	100	0
70-75	100	0

○ 지표(유효)성분 표준품의 표준 검량선

- 선행연구 결과인 LC/MS분석 및 문헌조사를 통하여 지표성분으로 예상되는 표준품을 HPLC 분석을 통하여 각 지표 성분들의 표준 검량선을 구하였음. Table에 나타낸 바와 같이, 검량선의 상관계수는 (R_2)=0.9994 이상이었으며 직선성을 나타내었음.
- 직선성(Linearity), 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) : Chlorogenic acid는 0.1-100 µg/ml의 농도에서 상관계수(R^2)=0.9995의 직선성을 나타내었음. 한계(LOD)는 6.50 ng/ml, 정량 한계는(LOQ)는 19.49 ng/ml임.

<HPLC calibration data for chlorogenic acid>

compound	Linear range (µg/ml)	tR (min)	Equation	Linearity (R^2)	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
Chlorogenic acid	0.1-100	15.8	$y=3.94944e-007x - 0.756796$	0.9995	6.50	19.49

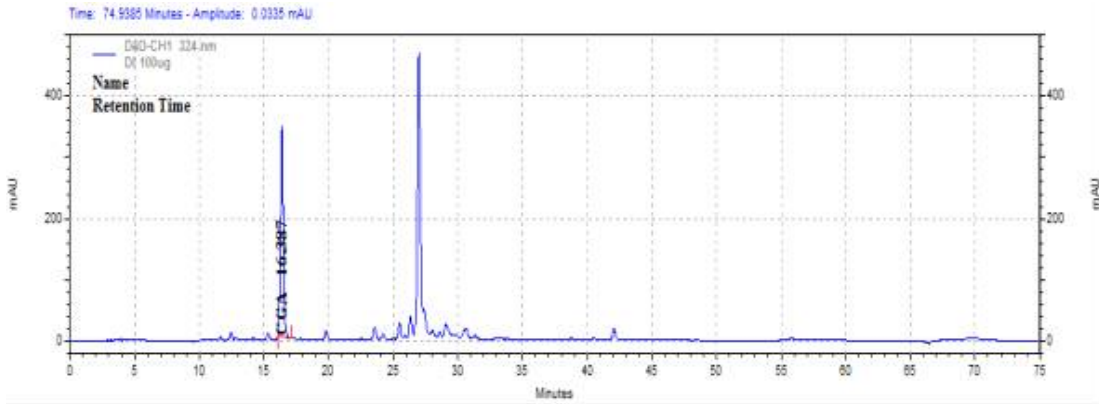
○ 지표(유효)성분의 함량분석

- 감국 추출물에서 chlorogenic acid의 함량은 0.81mg/g이었고, retention time 16.2분에 검출되었음. 레몬 그라스 추출물에서 chlorogenic acid의 함량은 0.64mg/g이었으며 retention time 16.2분에 검출되었음.

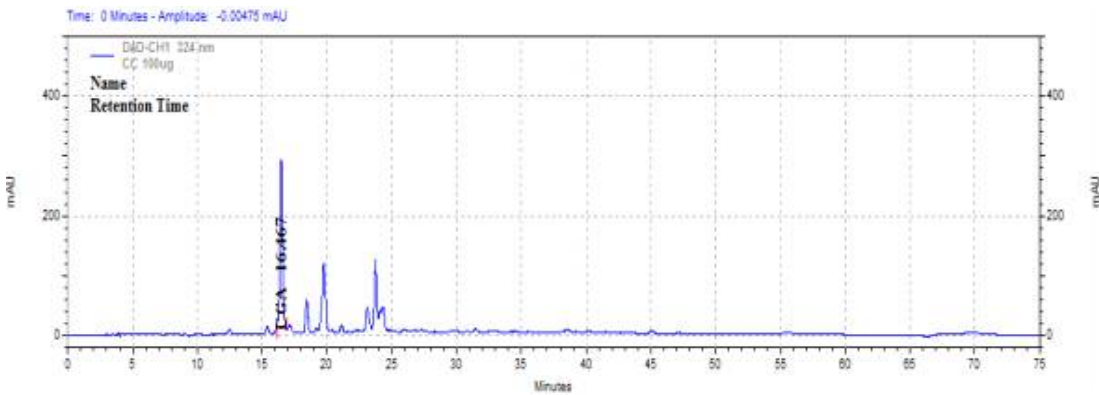
<Analysis of the content of compounds in extracts>

	Retention time(min)	area	contents (mg/g)
Chlorogenic acid (DI)	16.2	20802086	0.81
Chlorogenic acid (CC)	16.2	16936539	0.64

<HPLC profile of maker compound from the 50% EtOH extract of DI.>



<HPLC profile of maker compound from the 50% EtOH extract of CC.>



- 동시 분석의 전제 조건에서는 동시 분석하려는 소재들의 지표 성분이 겹치지 않아야 하지만, 지표 성분의 기준은 함량이 높은 것을 선택하는 것이 바람직하여 감국과 레몬그라스의 지표 성분을 가장 많은 함량을 차지한 chlorogenic acid로 선정하였음.

○ 기능성 소재의 동시 분석조건 확립

- 회수율 : 추출물에 지표 성분 표준물질의 서로 다른 3가지의 농도로 첨가한 후 측정된 회수율을 분석한 결과를 Table 4. 에 나타내었음. 추출물에 표준물질의 농도를 각각 1, 1.5, 2 µg/ml이 되도록 첨가하였을 때, 각 회수율(%)과 정확성(RSD%)는 아래의 표와 같이 확인되었음.

<Recovery levels of the chlorogenic acid>

Compound	Spiked conc. (µg/ml)	Detected conc. (µg/ml)	Recovery (%)	RSD (%)
chlorogenic acid	1	1.05±0.007	104.51	0.16
	1.5	1.70±0.001	113.23	0.05
	2	2.09±0.003	104.52	0.18

- 정확성(Accuracy) 및 정밀성(Precision): 정밀성을 측정한 일내(intra-day)와 일간(inter-day)의 시험결과, 일내(intra-day)와 일간(inter-day) 정확성을 측정한 결과, 일내는 chlorogenic acid 112.33%, 정확성은 0.1%을 나타내었으며, 일간은 112.49%, 정확성은 0.17%로 식약처 가이드라인 기준치인 상대표준편차 5% 이내를 만족하였음.

<Accuracy and precision data for the quantitative determination
of the two compounds>

Compound	Intra-day (n=3) (*first day)		Inter-day (n=3) (*all day)	
	Accuracy (%)	Precision (RSD %)	Accuracy (%)	Precision (RSD %)
Chlorogenic acid	112.33	0.1	112.49	0.17

*80~120% ($\pm 20\%$)

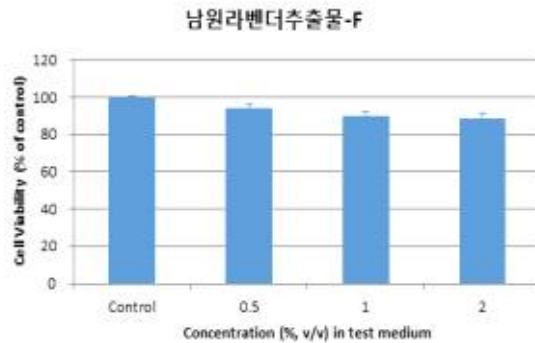
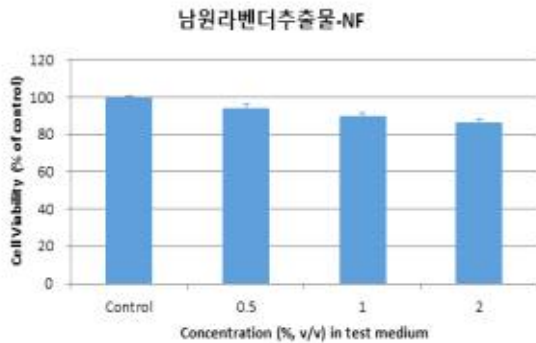
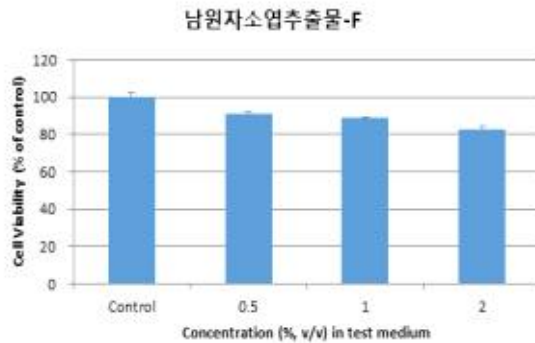
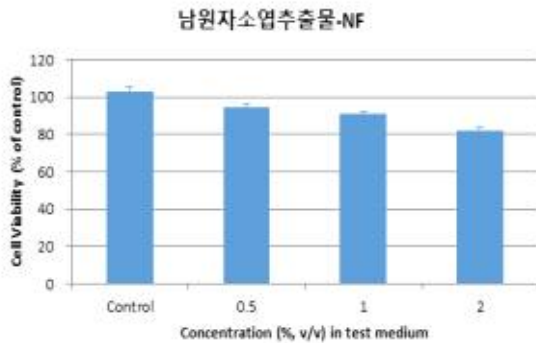
라. (주)더가든오브내추럴솔루션(제3협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
4차 년도 (2020)	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	안전성, 안정성 평가(pilot scale)	○ 안전성, 안정성 평가(pilot scale)	- 제품 안정성 및 세포 독성 시험
		원료의 제조공정표준화 (pilot scale)	○ 지표함량기준 제조공정표준화 (pilot scale)	- 발효공정 다변화에 의한 지표물질 분석 - 효능 검증을 통한 제조공정 최적화
		국내외 전시회 및 네트워킹	○ 국내외 전시회 참가	- 코로나로 인해 모든 원료 전시회/박람회가 취소되어, 고객사별 홍보를 진행함.

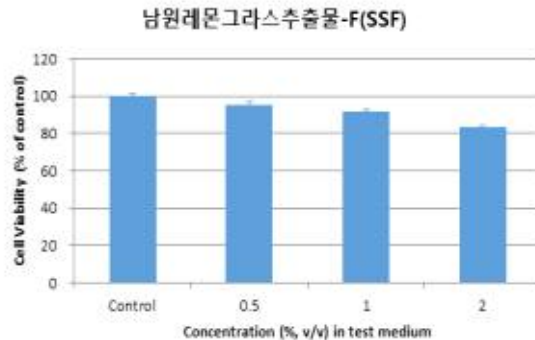
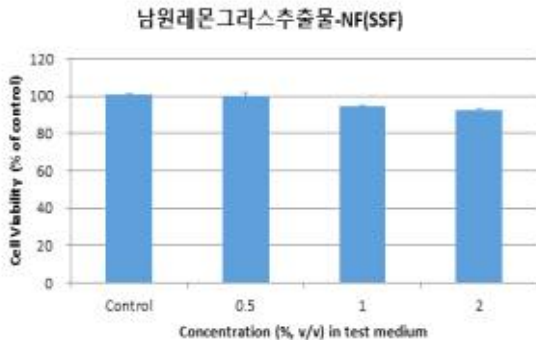
1) 안전성, 안정성 평가(pilot scale)

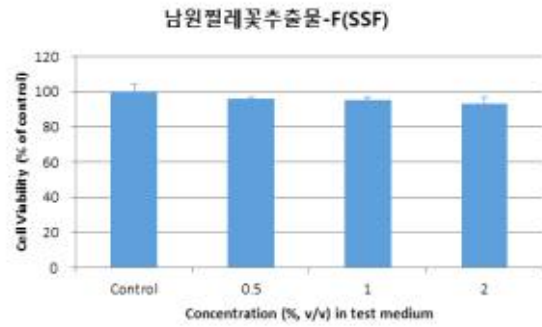
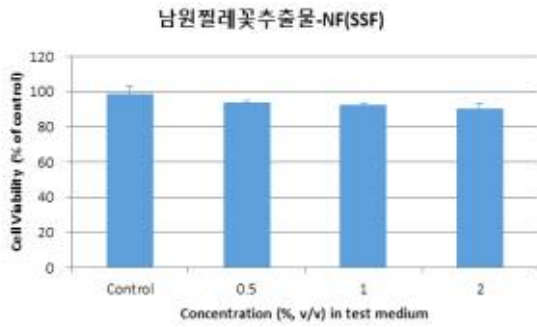
○ 발효를 적용한 허브추출물 4종의 안전성을 확인

- 인간진피세포(human dermal fibroblast neonatal, HDFn)에 시료를 처리하고, 세포독성시험 kit (CCK-8)을 사용하여 아래와 같은 결과를 얻음.



<액체발효물의 세포독성 결과>



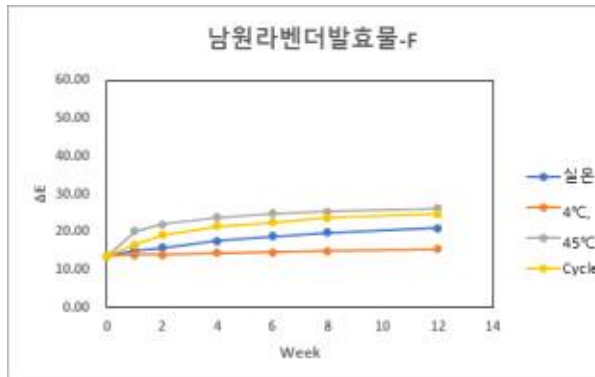
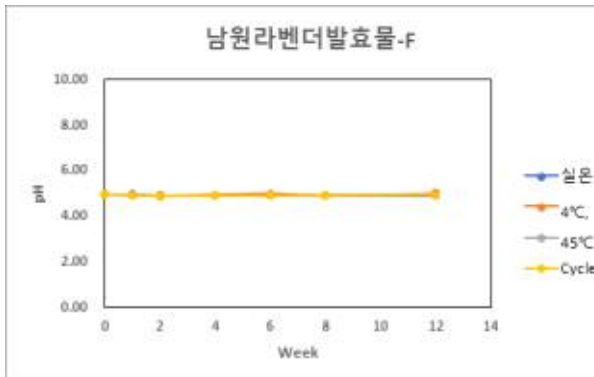
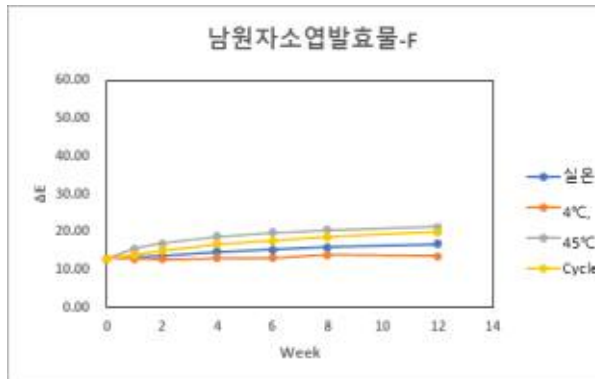
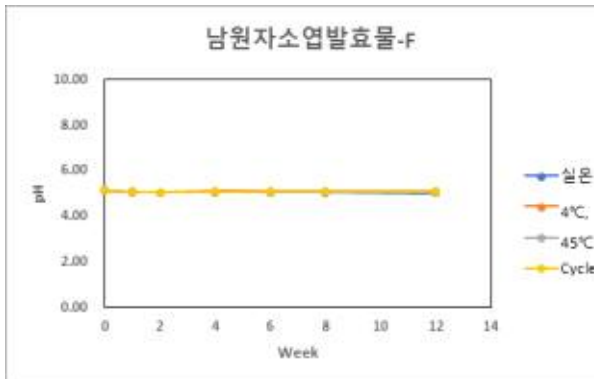


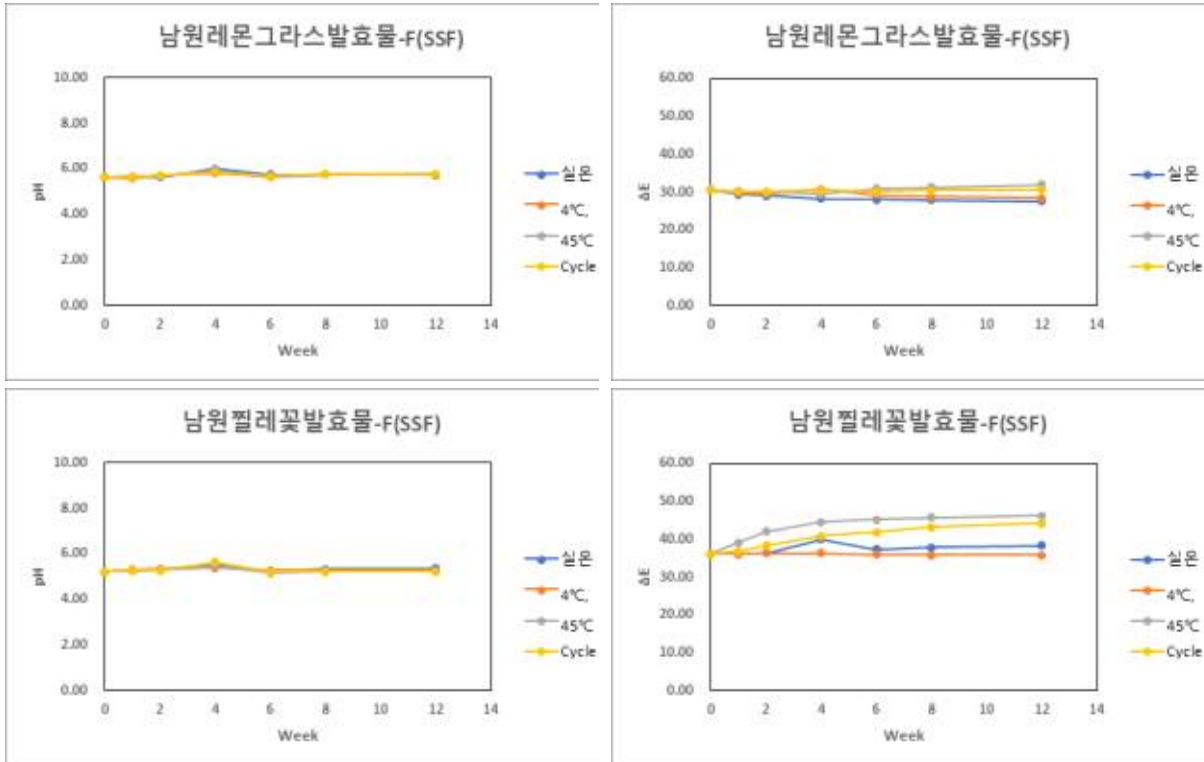
<고체 발효물의 세포독성 결과>

- 모든 시료에서 발효에 의한 세포독성의 변화가 보이지 않았다. 최대농도인 2% 처리군들이 약 20%의 세포 독성을 보였으나, 이는 일반적인 허브추출물들에서 흔히 보이는 결과이며, 대부분의 경우 완제품의 임상을 통한 독성여부 판단과 별개였던 바, 4종의 시료 모두 세포독성이 없다고 결론지을 수 있음.

○ 발효를 적용한 허브추출물 4종의 장기 보관 안정성 확인

- 많은 허브추출물들이 장기 보관 과정에서 침전을 만들거나 pH의 변화를 보이는 등 품질 변화함. 이에, 전년도에 연구한 공정의 결과물이 장기 안정성을 담보할 수 있는지 알아보고, 품질을 저해하는 현상이 발생하는 경우, pilot scale에서 공정 변경을 통해 해결하고자 함.
- Pilot scale로 생산한 시료를 대상으로 저온, 실온, 고온, 순환 조건에서 pH와 색차계 값의 변화를 관찰





<Pilot scale로 생산한 발효물의 안정성>

- 일부 시료에서 단기간의 변화가 가혹조건에서 보이지만, 일반적인 허브추출물들의 특성과 유사한 수준이며, 완제품의 품질을 변화시킬 정도는 아닌 것으로 보임. 가혹조건에서 4주 이내에 침전을 보이는 경우가 많으나, 이 시료들은 침전을 보이지 않아 안정성에 문제가 없는 것으로 결론지음.

○ 남원소재를 활용한 발효제품 출시

- Pilot scale에서 안전성과 안정성을 확인한 발효물 중 널리 알려진 라벤더와 레몬그라스를 우선 제품화함. 남원라벤더발효물-F와 남원레몬그라스발효물-F(SSF)는 각각 액상발효와 고상발효를 이용하여, 남원 소재가 갖는 천연화장품원료로서의 가치를 높인 제품임. 우수한 향산화 효과와 미백 효과를 보이며, 특히 발효를 통해 그람양성세균에 대한 우수한 항균력을 보임.



SPECIFICATION

Product Name	남원라벤더발효물-F
Product Code	3-LAET-NV1
INCI Name/한국안전명명	Lavandula Angustifolia (Lavender) Extract, 과산화수소물, Lactobacillus Ferment, 락토비실러스발효물, Pentylene Glycol, 펜틸렌글리콜이물, 1,2-Hexanediol, 1,2-헥산다이올

Test Item	Specification
Appearance	Yellow and Brown Liquid
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04
pH Value	4.0 ~ 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 3 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/ml

보존조건	실온	Preservative	-
포장단위	20kg, 200kg/ PE		

- 이 제품의 시험방법은 따로 규정한 것 이상에 대하여는 대한약품 총회, 제약총회 및 일반 시험법에 준함 것임
- *Pentylene Glycol in this product is naturally sourced

(주)더가든오브내추럴솔루션



SPECIFICATION

Product Name	남원레몬그라스발효물-F(SSF)
Product Code	3-CCF-01
INCI Name/한국안전명명	Cymbopogon Citratus Extract, 레몬그라스추출물, Lactobacillus Ferment, 락토비실러스발효물

Test Item	Specification
Appearance	Brown ~ dark brown liquid
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04
pH Value	4.0 ~ 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 3 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/ml

보존조건	실온	Preservative	-
포장단위	20kg, 200kg/ PE		

- 이 제품의 시험방법은 따로 규정한 것 이상에 대하여는 대한약품 총회, 제약총회 및 일반 시험법에 준함 것임

(주)더가든오브내추럴솔루션



<발효 제품 2종의 기준규격>

Product Name: 남원라벤더발효물-F



(최종 5 kg)

Product Name: 남원레몬그라스발효물-F(SSF)



(최종 5 kg)

<라벤더, 레몬그라스의 pilot scale 제조공정도>

2) 원료의 제조공정표준화(pilot scale)

○ 지표함량기준 제조공정 표준화(pilot scale)

○ 발효공정 다변화 심화연구

- 전년도에 2종의 액체발효, 2종의 고체발효 조건을 연구하여 4종의 공정을 제안했으나, 지표물질의 함량을 더욱 높이거나, 화장품 최신 트렌드에 맞는 공정을 적용하여 제품의 경쟁력을 높일 수 있음.
- 최근, 발효 화장품의 수가 폭발적으로 증가하면서, 미생물을 단순 배양한 제품보다 특색을 가진 공정이 적용된 제품이 소비자의 선택을 받고 있음. 장기 발효를 통해 pH를 자연적으로 낮출 수 있으며, 이러한 변화가 지표물질의 추출효율을 변화시킬 것으로 기대함. 또한, 최근 식초를 첨가하거나 초산발효를 유도하여 발효 화장품의 차별화를 꾀하는 시도가 많아지고 있음. 음식으로 섭취한 허브의 유효성분이 인체에 흡수되는 과정도, 위에서 산에 의한 변화를 겪은 후 장내 미생물의 분해가 이루어지므로, 화장품을 통해 직접 피부 세포에 전달되기 전 유사한 과정을 거치는 것이 소비자들의 공감을 사기에 유리함.
- 위와 같이 허브추출물에 적용하는 발효 공정을 발전시켜, 고체발효와 액체발효의 장점을 동시에 가지면서, pH 변화로 지표물질 함량과 효능을 높이는 연구를 진행함.



<발효공정의 다변화>

- 4종의 발효제품 중 지역특화소재 발굴에 부합하는 자소엽과 찔레꽃을 대상으로 발효 공정 심화연구를 실시함. 기존 고체발효, 액체발효 조건에서 발효기간을 3일로 늘리거나(3D로 표시), 초산(AA로 표시) 또는 레몬즙(Lemon으로 표시)을 처리하여 낮은 pH조건에서 발효공정을 실시함.
- 발효공정 다변화에 의한 지표물질 분석
- 새로 얻은 발효물 시료들을 기존 조건 발효 전/후 시료와 비교하며, phenolic compounds 동시 LC-MS/MS 분석을 실시함. Agilent 1290 Infinity II와 Sciex Qtrap 4500을 이용한 다성분 동시분석에, Phenomenex Kinetex Polar C18 column을 사용하고, 5% acetonitrile에 0.1% acetic acid를 이동상으로 사용하였음.

<남원자소엽발효물 공정연구 시료의 분석 결과(단위: µg/ml)>

분석물질	발효 전	발효 후	3D	AA	Lemon
Apigenin	0.04	0.03	0.15	0.11	0.07
Caffeic acid	5.76	1.14	1.23	1.27	0.99
Chlorogenic acid	-	-	0.05	0.07	0.14
Ferulic acid	0.09	0.03	0.12	0.09	0.11
Gallic acid	-	-	-	-	0.03
Hesperidin	-	-	-	-	1.09
Isoquercitrin	0.09	0.03	0.07	0.09	0.06
Luteolin	0.01	0.01	0.04	0.04	0.02
p-Coumaric acid	0.36	0.08	0.11	0.08	0.07
Protocatechuic acid	1.63	0.57	2.09	1.69	1.23
Rosmarinic acid	16.60	4.46	15.90	15.80	12.90
Rutin	-	-	-	-	0.05
Salicylic acid	0.19	0.08	0.29	0.26	0.24

<남원찜레발효물 공정연구 시료의 분석 결과(단위: µg/ml)>

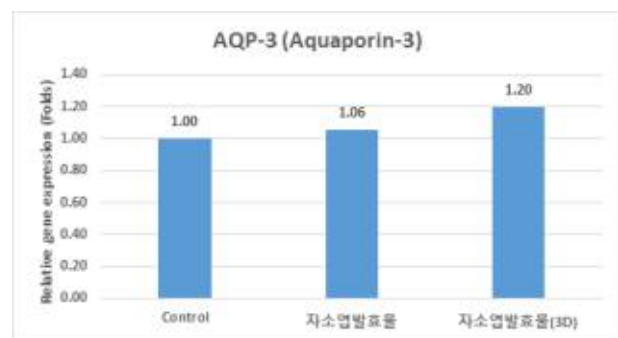
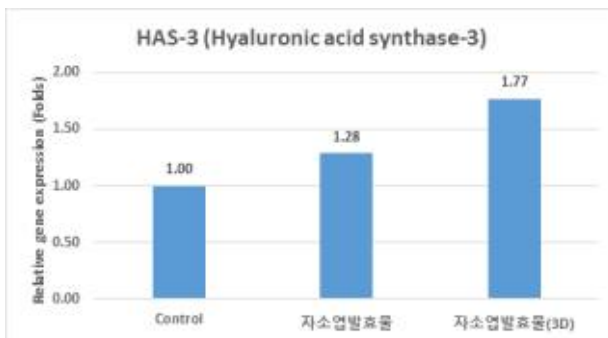
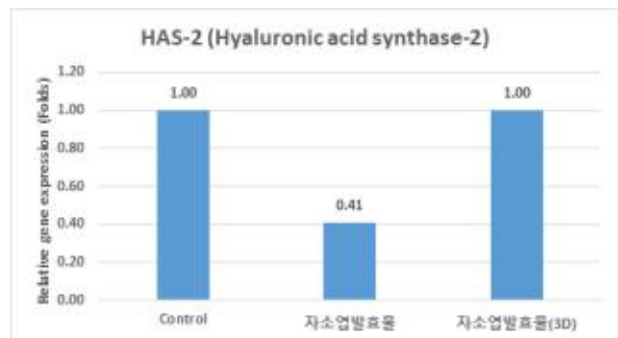
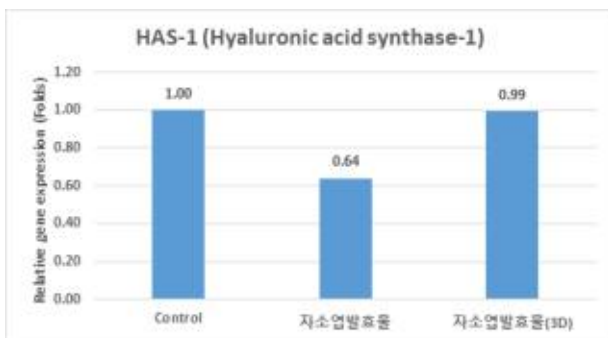
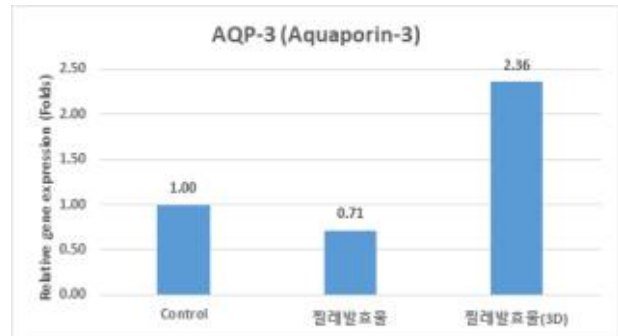
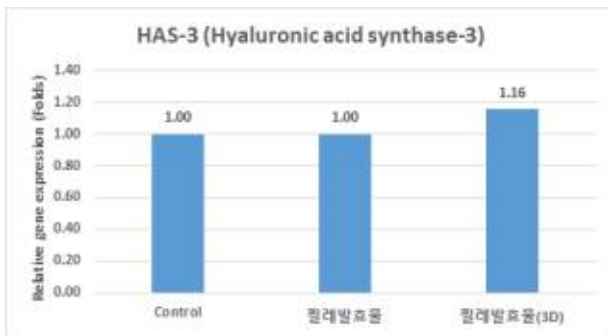
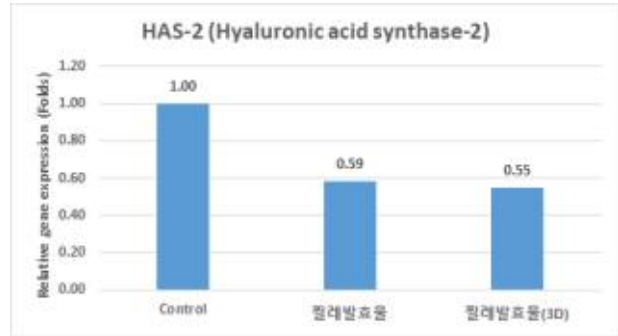
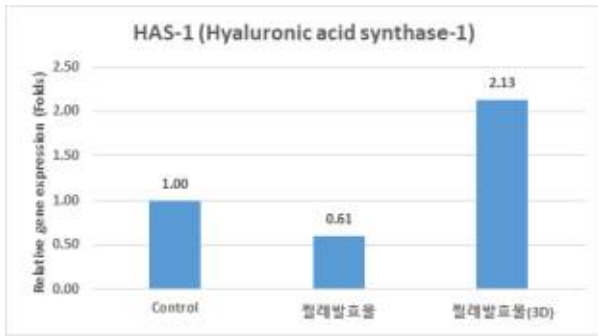
분석물질	발효 전	발효 후	3D	AA	Lemon
Apigenin	0.03	-	0.02	0.02	0.03
Caffeic acid	0.16	0.05	0.12	0.13	0.12
Catechin	6.00	2.47	6.31	8.02	7.89
Chlorogenic acid	2.31	0.61	2.04	2.52	2.82
Epicatechin	1.70	0.82	1.96	1.56	1.43
Ferulic acid	0.05	0.03	0.11	0.12	0.14
Gallic acid	85.15	15.69	20.62	26.24	25.50
Hamamelitannin	0.19	0.11	0.31	0.17	0.17
Hesperidin	-	-	-	0.44	1.09
Isoquercitrin	14.70	5.55	14.59	15.47	15.52
Kaemperol	0.78	0.29	0.86	0.96	1.09
p-Coumaric acid	0.24	0.17	0.60	0.63	0.59
Phlorizin	0.17	0.06	0.16	0.18	0.18
Protocatechuic acid	1.08	0.11	0.43	0.51	0.52
Quercetin	0.05	0.02	0.07	0.08	0.09
Rutin	1.90	0.88	2.24	2.83	2.87
Salicylic acid	1.36	0.48	1.27	1.46	1.39

- 자소엽 발효시료의 경우, 장기발효나 산처리 발효에서 apigenin과 luteolin이 증가했지만 미미한 수준이며, caffeic acid와 p-coumaric acid은 미미하게 감소. 상대적으로 함량이 높은 rosmarinic acid의 경우 기존 발효 후 시료보다, 산을 처리하거나 장기간 발효한 시료에서 높은 함량을 보임. 지난 해 남원시화장품 산업지원센터의 시료와 본 실험실에서 lab scale로 제작한 시료 간에도 물질 변화량의 차이가 있었으며, pilot scale로 제작한 시료에서도 지표물질 함량이 또 다르게 확인된다는 것을 알 수 있음. 따라서, 단일물질을 지표로 설정하는 것이 적절하지 않음.
- 찜레 시료에서, rutin의 미미한 증가 외에 긍정적인 결과를 얻지 못했음. 찜레 시료도 자소엽과 마찬가지로 다양한 물질들이 장기 발효(3D), 초산(AA) 및 레몬즙 처리 시 기존 발효 후 시료보다 증가 하였고, 장기간 발효한 시료에서 가장 높은 함량을 보였으므로, 장기발효(3D)을 pilot scale 발효공정으로 선정하였음.
- 장기 발효(3D) 시료와 발효전 시료를 비교 했을 때 비슷한 수준이어서 발효를 통해 관찰 가능한 지표물질의 함량이 증가 했다고 볼 수는 없음. 따라서, 현재 많은 천연 원료들에서 단일물질보다 집합체로 지표물질을 설정하고 있으므로, 본 연구에서도 집합체인 총 폴리페놀과 총 플라보노이드를 pilot scale로 제작한 시료의 지표물질로 선정하고, 그 함량을 측정하였음.
- 그 결과, 발효 전보다 장기발효(3D)시 집합체인 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 증가 하였으므로 차년도 plant scale 공정 확립과 안정성 시험의 기준으로 활용할 수 있음.

<발효 전/후 지표물질 함량의 변화(단위:µg/ml)>

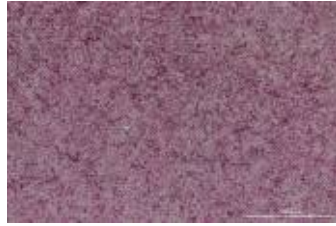
시료	Total polyphenol	Total flavonoid
남원자소엽(발효 전)	95.4	145.3
남원자소엽(발효 1일)	45.3	58.6
남원자소엽(발효 3일)	102.5	141.2
남원찜레(발효 전)	556.8	514.0
남원찜레(발효 1일)	185.5	221.0
남원찜레(발효 3일)	562.5	537.2

- 즉, 발효공정으로 인해 오히려 추출효율이 낮아지는 제품은 발효기간을 늘려서 차이를 회복할 수도 있다고 볼 수 있고, 단일물질이 아닌 총폴리페놀이나 총플라보노이드 함량을 기준으로 잡는 것이 타당하다 할 수 있음. 현재 많은 천연원료들에서 단일물질보다 집합체의 함량을 기준으로 설정하고 있음. 차년도의 Plant scale 공정확립과 안정성 시험의 기준으로 위 결과를 활용하고자 함.
 - o 효능 검증을 통한 제조공정 최적화
- 생리활성 증진을 다양한 활성에서 확인하기 위해 세포효능실험을 실시함. 피부보습에 중요한 인자들인 Hyaluronic Acid Synthase (HAS)-1, 2, 3와 Aquaporin-3 (AQP-3)의 인간정상진피세포(HDF-n)내 발현에 각 발효물들이 영향을 미치는지 조사함. 인간 정상진피세포(HDF-n)에서 각 발효물을 처리하여 피부 보습에 중요한 인자인 Hyaluronic Acid Synthase (HAS)-1, 2, 3와 Aquaporin-3 (AQP-3)의 발현을 측정함.
- 그 결과, 찜레 장기 발효물은 보습효능에 중요한 HAS-1과 AQP-3 발현이 증가하였고, 자소엽 발효물도 3일 발효가 HAS-3 발현을 증가시켰음. 특히, 찜레발효물의 보습효과가 장기발효로 증진되는 것을 확인함.

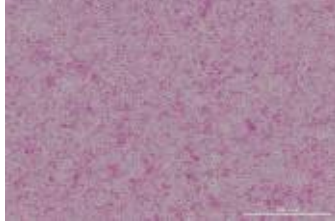


<기(존) 조건 발효 및 장기발효(3D)의 보습 효과 비교>

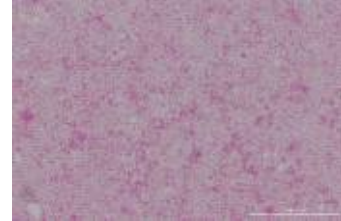
- 찔레발효물은 전년도 lab scale에서 보였던 부분적인 보습효능이 pilot scale에서 재현되지 않았지만, 장기 발효로 공정을 수정하여 더 큰 효과를 볼 수 있었고, 자소엽발효물 역시 lab scale에서 미미했던 효능을 장기발효로 증진시킨 결과임.
- 합성된 멜라닌이 각질세포(Keratinocyte)로 이동하는 것을 확인하기 위해서, 각 발효물을 처리하고 각질세포를 붉은색으로 염색하여 멜라닌 축적을 확인함. 그 결과 발효물 처리시 멜라닌 이동이 크게 감소하는 것을 관찰하였고, 향후 제품의 미백효능을 보여주는 참고자료로 활용할 수 있음.



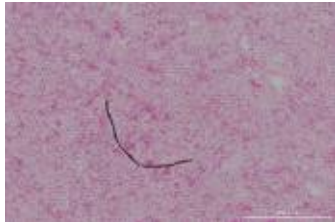
대조군



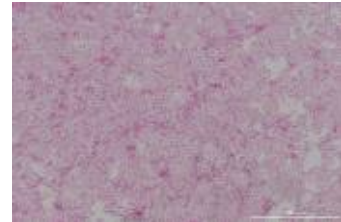
자소엽발효물



자소엽발효물(3D)



찐레발효물



찐레발효물(3D)

<기(존)조건 발효 및 장기발효(3D)>의 미백효능 비교

3) 국내외 전시회 및 네트워킹

○ 국내외 전시회 참가

- 2020년 하반기 국내외 원료 전시회/박람회를 통해 홍보할 예정이었으나, 코로나로 인해 모든 원료 전시회/박람회가 취소되어, 고객사별 홍보를 진행함.
- 그 중 글로벌화장품기업 L사의 신규 브랜드 개발에 본 연구의 결과물을 소개하였으며, 이를 바탕으로 지역 소재로 발굴한 천연물들을 20여개 선정하고, 각각의 장점을 부각시키는 동시에 천연화장품으로서 장점을 극대화하는 프로젝트에 참여함. 본 과제에서 제품화한 결과를 포함하여 남원 소재 4종이 선정되었으며, 과제 결과물인 남원감국추출물은 약간의 수정을 통해 적용하기로 함.

○ 네트워킹

- 2020년 한국미생물-생명공학회 정기학술대회(온라인)에 참여하여, Development of Natural Cosmetic Ingredients with Mt. Jiri Herbs Fermented for Enhanced Skin Care Efficacies라는 제목으로 연구성과를 포스터 발표함.

Development of Natural Cosmetic Ingredients with Mt. Jiri Herbs Fermented for Enhanced Skin Care Efficacies

Jesung Lee¹, Yesol Yoo², Gi-Yeon Han³, Ji Young Hwang², Kwang-sang Kim³, Joon-seok Cha^{1*}

¹Research Center, The Garden of Natural Solution Co. Ltd., Osan-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea

²Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon, Namwon-si, Jeollabuk-do, 55801, Republic of Korea

³Hyosil Co. Ltd., Namwon-si, Jeollabuk-do, 55717, Republic of Korea

Abstract

Namwon boasts great biodiversity across various altitudes of Mt. Jiri, and produces 70 percent of domestic herbs. In order to take advantage of its excellent natural resources and assist the local farmers, we tried to develop unique natural ingredients for cosmetics using Namwon herbs. Previously, 9 plant species were picked and evaluated. We selected *Larrea tridentata*, *Perilla frutescens*, *Cymbopogon citratus*, and *Rosa multiflora* for this study, applying fermentation into the extraction process. DPPH scavenging, 1-DOPA oxidation inhibition, and MMP-1 activity assays were performed to check antioxidant, skin brightening and anti-wrinkle efficacies, respectively. In addition, the mRNA level of H43 gene was measured as an indicator of moisturizing effect. The overall results confirmed enhanced efficacies of the extracts by fermentation process. Furthermore, anti-microbial activities were monitored on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*, which showed that all 4 fermented extracts had anti-bacterial effect on *S. aureus*, and among them, the *R. multiflora* extract showed the highest level of growth inhibition. Next, we analyzed 2D polyphenols, simultaneously by using LC-MS/MS, to identify any change in the compound profiles during the fermentation. We found out that luteolin (*L. tridentata* and *C. citratus*), apigenin (*P. frutescens*) and rosmarinic acid (*R. multiflora*) were increased in the fermented extracts. These results demonstrated the enhanced quality of Namwon herbs extracts with the application of fermentation, in terms of efficacy and the content of active compounds. Given that the cosmetics consumers' growing demand of natural ingredients and the application of bioprocess, these can be unique and valuable local products representing what beautiful Mt. Jiri has to offer to the market. Further study on the fermentation processes will tell how to maximize the cosmetics efficacies of the products.

Fermentation Process



Figure 1. Liquid fermentation process(A) and solid fermentation process(B) of Namwon herbs.

Results



Figure 2. Comparison of anti-oxidation activity before and after fermentation.

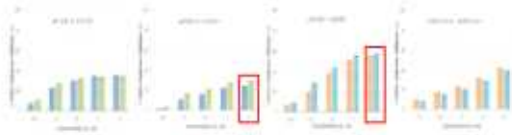


Figure 3. Comparison of 1-DOPA oxidation inhibition activity before and after fermentation.

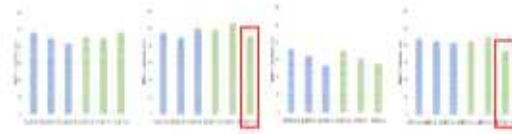


Figure 4. Comparison of MMP-1 activity before and after fermentation.



Figure 5. Comparison of H43, H432 and H433 gene expression before and after fermentation.



Figure 6. Anti-microbial effect of *L. tridentata* and *P. frutescens* extracts before and after fermentation.

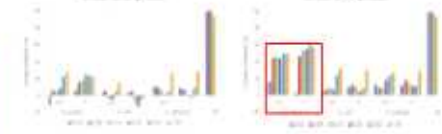


Figure 7. Anti-bacterial effect of *C. citratus* and *R. multiflora* extracts before and after fermentation.



Figure 8. Compound analysis before and after fermentation. (A) *L. tridentata*, (B) *P. frutescens*, (C) *C. citratus*, (D) *R. multiflora*.

Conclusion

We found out that luteolin (*L. tridentata* and *C. citratus*), apigenin (*P. frutescens*) and rosmarinic acid (*R. multiflora*) were increased in the fermented extracts.

We demonstrated the enhanced anti-oxidation, skin brightening, anti-wrinkle, moisturizing, and anti-microbial effects in the fermented extracts.

These results confirmed the enhanced quality of Namwon herbs extracts with the application of fermentation, in terms of efficacy and the content of active compounds.

Further study on the fermentation processes will tell how to maximize the cosmetics efficacies of the products.

Acknowledgement

This work was supported by Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry (PFET) through Agri-Bio Industry Technology Development Program, funded by Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs(MAFRA)(3170265-62006).

마. 전북농업기술원 허브산채시험장(제4협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
4차 년도 (2020)	남원지역 특화자원의 허브생산 기술개발	허브 고품질 생산을 위한 유기농자재 선발	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 자소엽, 라벤더 ○ 처리방법 : 무처리, 키토산, 규산염 등 ○ 조사항목 : 생육특성, 수량성, 지표성분 등 	<ul style="list-style-type: none"> - 자재 처리별 작물의 생육특성 및 수량성 조사 - 작물의 처리구별 항산화성 및 지표성분 분석

1) 허브 고품질 생산을 위한 유기농자재 선발

○ 유기농 자재 선발을 위한 처리구 조성 및 자재 처리

○ 처리구 포장 조성

- 자소엽은 3월 10일 105공 포트에 파종 육묘한 종묘를 5월 4일 노지 포장에 주간 간격 50cm로 한 줄로 식재 하였음.

- 라벤더는 기존 하우스 포장에 조성되어 있는 5년생 잉글리시 품종을 시험재료로 활용하였음.

○ 유기농 자재 처리

- 규산염(성분량 20%), 키토산(성분량 5%)가 함유된 자재를 각각 500배, 1,000배 희석하여 6월 21일, 8월 3일, 8월 23일 총 3회에 걸쳐 압축 분무기를 이용해 작물이 흠뻑 적셔지도록 살포하였으며, 무처리구는 물을 살포하였음.

○ 자소엽 생육 특성 및 수량성

○ 초기 생육특성

(조사일: 7월 9일)

구분	초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	SPAD
무처리	67.5±2.2z	11.5±1.1	10.2±0.9	42.9±1.7
규산염 500배	67.8±2.5	11.8±0.7	11.0±1.0	45.0±2.5
규산염 1,000배	67.1±3.6	11.7±0.9	10.7±0.7	44.6±3.3
키토산 500배	65.2±3.4	11.7±0.9	10.8±0.9	46.9±3.8
키토산 1,000배	65.0±3.3	11.4±0.9	10.4±0.8	46.6±2.8

^z평균±표준편차

- 생육 초기의 초장은 무처리구, 규산염 처리구가 타 처리구에 비해 컸으나 유의성은 없었음.

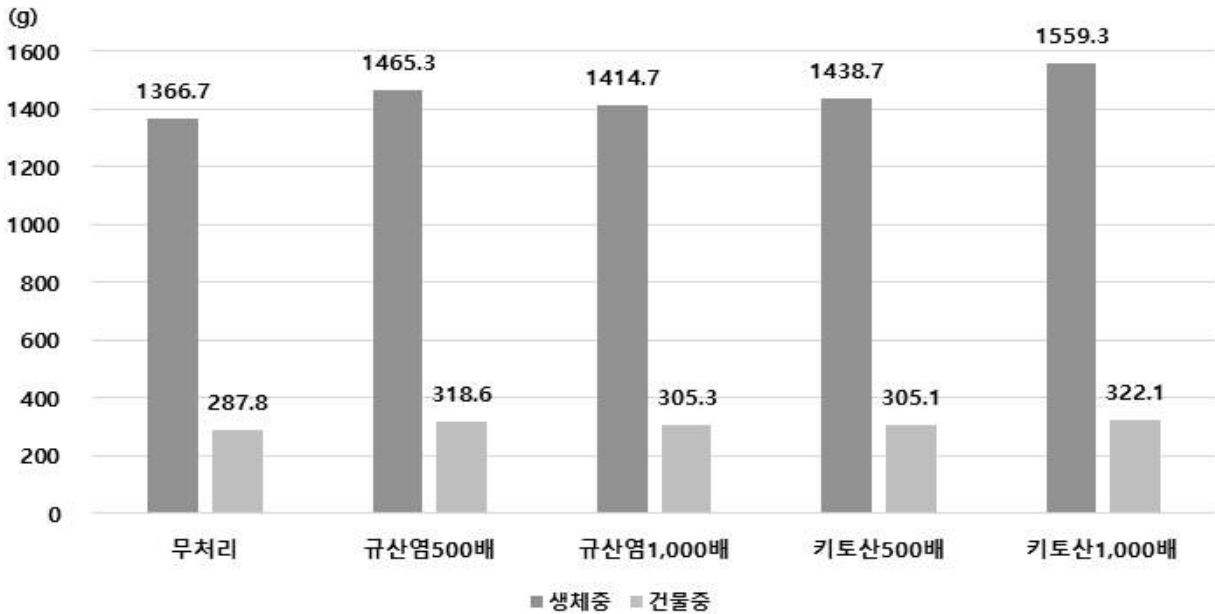
○ 후기 생육특성 및 수량성

구분	초장(cm)	초폭(cm)	SPAD	생체중(g/주)	건물중(g/주)
무처리	120.0 ^{NS}	57.8 ^{NS}	42.5abz	1366.7 ^{NS}	287.8 ^{NS}
규산염 500배	120.3	58.5	42.3b	1465.3	318.6
규산염 1,000배	116.7	55.4	44.1ab	1414.7	305.3
키토산 500배	116.5	57.6	43.4ab	1438.7	305.1
키토산 1,000배	119.7	57.4	45.8a	1559.3	322.1

^zDMRT(<0.05)

* 생육특성 조사일: 9. 15. / 수확일: 9. 24. / 건조방법: 45°C, 72시간 열풍건조

- 초장과 초폭은 유의성은 없었으나 무처리, 규산염 500배, 키토산 1,000배 처리에서 대체로 높았으며, SPAD는 키토산 1,000배가 가장 양호하였음.



<자소엽 수량성 비교>

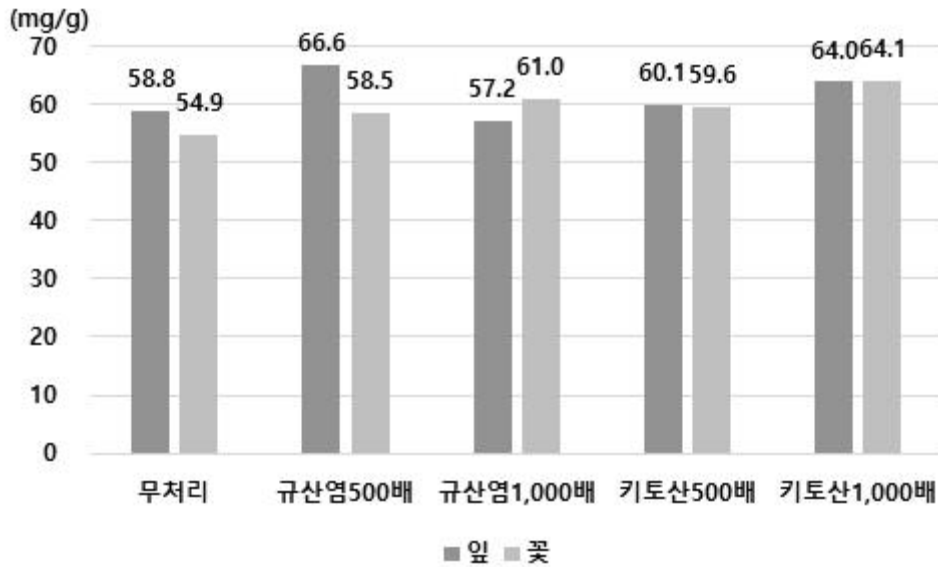
- 수량성은 유의한 차이는 아니지만 모든 자재 처리구가 무처리구보다 많아 지상부 생체중은 무처리 대비 규산염 500배는 7.2%, 1,000배는 3.5%, 키토산 500배는 5.3%, 키토산 1,000배는 14.1% 많았음. 건물중은 무처리 대비 규산염 500배는 10.7%, 1,000배는 6.1%, 키토산 500배는 6.0%, 1,000배는 11.9%로 키토산 1,000배 처리가 수량성이 가장 좋았음.

○ 자소엽 항산화성 분석

2차년도 연구결과에 따르면 항산화 능력은 미백과 주름의 상관관계가 높은 것으로 나타났으며, 특히 폴리페놀 함량이 미백과 주름의 상관관계가 높은 것으로 분석되었음. 이를 바탕으로 유기자재 처리에 따른 자소엽의 항산화성 분석을 하였음.

○ 총 폴리페놀 함량

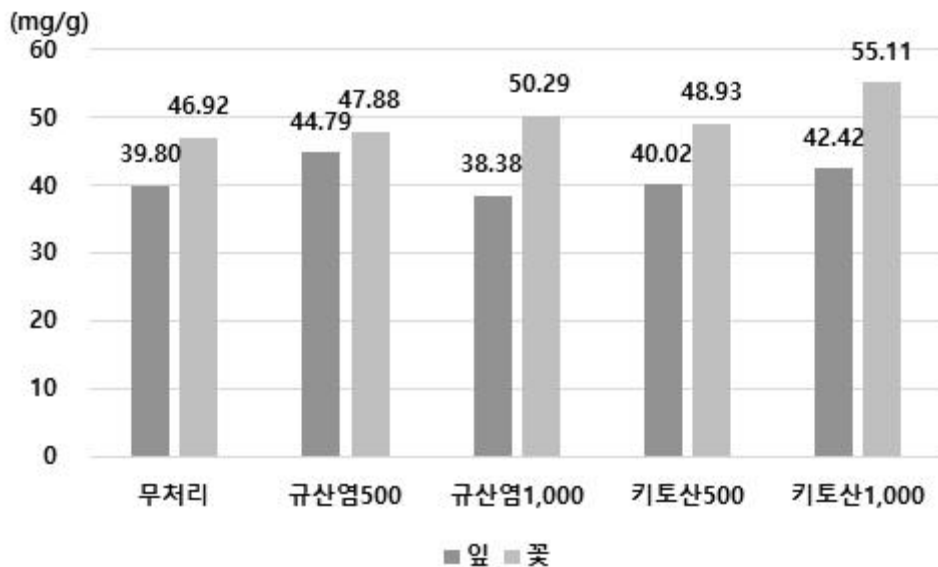
- 재료는 잎과 꽃으로 분리하여 수확하여 동결건조 후 분쇄하였음. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 비색법으로 시료 1g에 80% methanol 25mL를 넣어 강하게 볼텍싱 후 초음파 추출 60분, 상온 10분 방치, 원심분리(4,000rpm, 10분)하여 상층액을 2회 취하여 총 50mL로 정용하였음. 추출물 20μL에 2% sodium carbonate 용액 200μL을 가하고 5분간 반응 후 50% Folin-Ciocalteu's 시약 20μL를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시켰음. 반응액은 ELISA microplate reader(Epoch2, Biotek, Winooski, USA)를 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정하였고, 별도로 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하고 mg/g로 표시하였음.
- 총 폴리페놀 함량은 꽃보다 잎에서 더 높은 수치로 나타났으며, 잎의 폴리페놀 함량은 규산염 500배 처리에서 가장 많았고 규산염 1,000배 처리에서 가장 낮았음.
- 꽃은 자재 처리구가 무처리구에 비해 폴리페놀 함량이 많았으며, 키토산 1,000배 처리에서 가장 양호하였음.



<자소엽 잎과 꽃의 총 폴리페놀 함량>

○ 총 플라보노이드 함량

- 총 플라보노이드 함량은 80% methanol 추출물 20 μ l에 diethylene glycol 200 μ l를 가하여 혼합하고 이어서 1N NaOH 용액 20 μ l를 가한 다음 30 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응하고 Elisa reader를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정하였으며, 공시험 용액으로는 시료 추출액 대신 80% MeOH 20 μ l를 사용하였다. Total flavonoid 함량은 rutin을 사용하여 얻어진 검량곡선을 이용하여 정량하여 mg/g으로 표시하였음.



<자소엽 잎과 꽃의 총 플라보노이드 함량>

- 총 플라보노이드 함량은 꽃이 잎보다 높았으며, 잎은 규산염 500배 처리, 꽃은 키토산 1,000배 처리에서 가장 함량이 많았음.

○ FRAP(철환원 항산화력) 활성

- FRAP 활성은 300mM sodium acetate buffer(pH 3.6), 10mM TPTZ와 40mM HCl을 함유하는 용액, 20mM FeCl₃·6H₂O 용액을 준비하였음. FRAP 용액은 25mL sodium acetate buffer, 2.5mL TPTZ 용액 2.5mL FeCl₃·6H₂O 용액을 사용 직전에 10:1:1 비율로 혼합하여 조제 하였음. 이어서 시료 추출액 150μL와 FRAP 용액 2,850μL를 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시킨 후 593nm에서 생성물(ferrous tripyridyltriazine)의 흡광도를 측정하였음. 결과값은 표준물질인 trolox를 이용하여 표준 검량선에 대입하여 계산하였음.

- 처리별 FRAP 활성

(단위: μg/g)

구분	자소엽 잎	자소엽 꽃
무처리	58.8	54.9
규산염 500배	66.6	58.5
규산염 1,000배	57.2	61.0
키토산 500배	60.1	59.6
키토산 1,000배	64.0	64.1

- FRAP 활성은 잎의 경우 규산염 500배 처리에서 가장 높았으며, 규산염 500배 처리를 제외한 나머지 처리에서 잎보다 꽃에서의 활성이 다소 높은 것으로 나타났음.

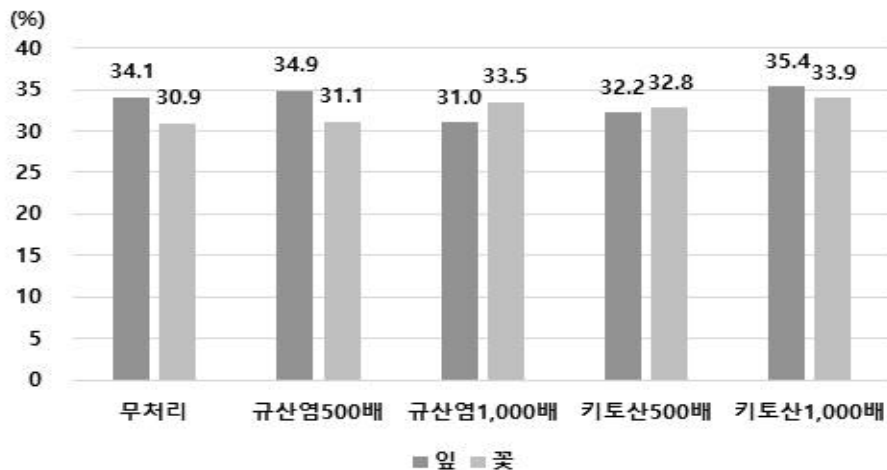
- 꽃의 FRAP 활성은 키토산 1,000배, 규산염 1,000배, 키토산 500배, 규산염 500배, 무처리 순으로 낮았으나 처리 간의 차이는 크지 않았음.

○ ABTS⁺ 라디칼 저해활성

- ABTS⁺ 라디칼 저해활성은 ABTS 7mM 용액과 potassium persulfate 245mM의 용액을 조제한 다음 두 용액을 동량으로 혼합하여 실온의 암소에서 24시간 반응시킨 후 734nm에서 흡광도를 측정하여 값이 0.70±0.02이 되도록 희석하였음. 희석된 ABTS 용액 3,000μL에 추출물 30μL를 첨가한 후 혼합하여 30°C에서 20분간 반응시켜 734nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조는 합성 항산화제 BHT(butylated hydroxytoluene)를 0~500μg/mL 농도로 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 측정하였음.

- 자소엽 잎의 ABTS⁺ 라디칼 저해 활성은 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, FARP 활성과 같은 경향을 보였음. 규산염 500배 처리에서 활성이 가장 높았음

- 꽃의 경우 무처리에 비하여 자재 처리가 높았으며, 500배보다 1,000배 처리에서 약간 높은 저해 활성을 보였음.



<자소엽 잎과 꽃의 ABTS⁺ 라디칼 저해 활성>

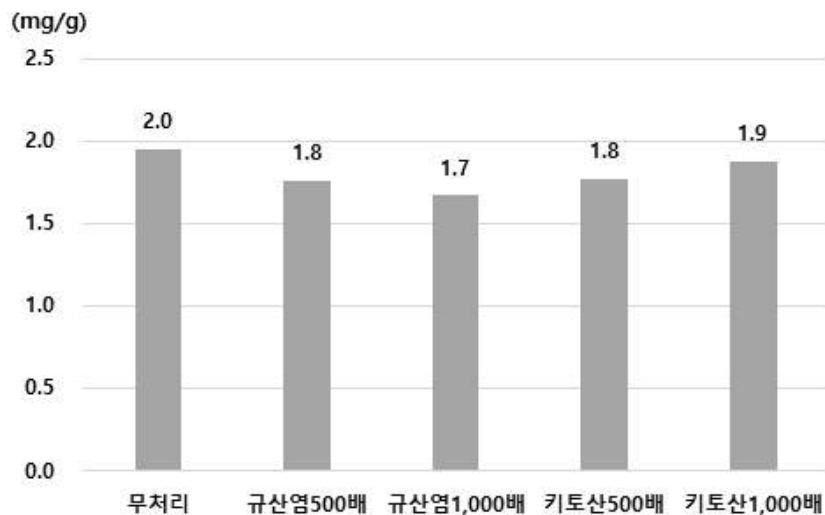
○ 자소엽 지표성분 분석

2차년도에 와송, 라벤더, 자소엽 등 허브자원 10종을 대상으로 19종의 폴리페놀 성분 분석을 실시한 결과 항산화, 보습, 항염증, 항균 작용 등의 기능을 가진 caffeic acid와 rosmarinic acid를 자소엽이 함유하고 있었음. 이를 기초로 유기자재 농도처리에 따른 자소엽 지표성분의 함량을 분석하였음.

- 시료 50g을 정량하여 50% 에탄올 10배수를 첨가하여 환류추출장치로 80°C에서 4시간 추출 및 여과하여 농축한 후 동결건조하여 실험에 사용함. 지표성분의 함량을 분석하기 위하여 caffeic acid, rosmarinic acid 표준물질을 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 ACQUITY UPLC H-Class system(Water Crop., Milford, MA, USA)을 이용함. 분석에 사용된 각각의 추출물 100 mg을 정밀하게 달아 증류수 1 mL로 현탁액을 조제한 다음, 0.45 µm syringe filter로 여과한 것을 분석함.

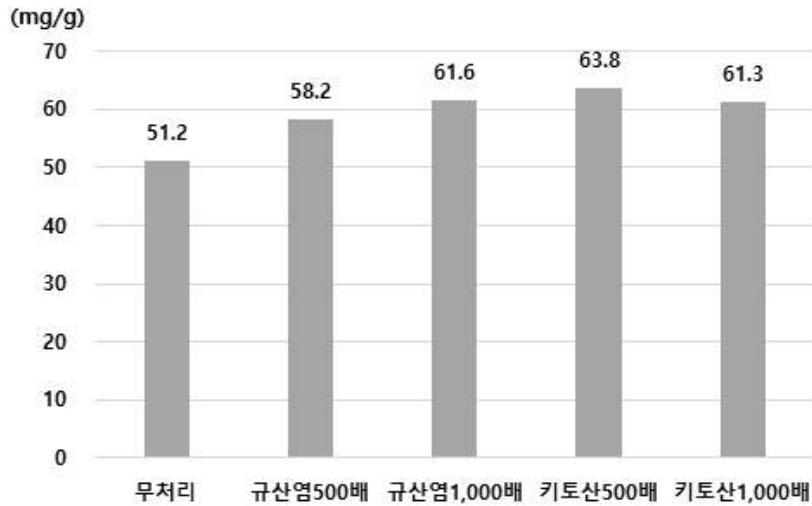
- HPLC 지표성분 분석조건

Items	Conditions		
System	ACQUITY H-class (waters)		
Column	Shiseido capcellpak C18 UG (5 µm, 250 × 4.6 mm)		
Column temperature	25°C		
Flow rate	1 mL/min		
Injection vol.	10 µL		
Wavelength	280 nm	caffeic acid, rosmarinic acid	
Gradient condition	Time (min)	A (%)	B (%)
	0	95	5
	10	80	20
	15	70	30
	20	60	40
	25	10	90
	30	10	90
	32	95	5
	40	95	5
Mobile phase	A: 0.2 M ortho-phosphoric acid, pH 1.57		
	B: 20% 50 mM ammonium dihydrogen phosphate, pH 2.6 in 80% acetonitrile		



<자소엽 전초의 caffeic acid 함량>

- caffeic acid 함량은 무처리에서 가장 많았으나 처리별로 큰 차이는 보이지 않았으며, 유기자재를 처리의 경우에는 키토산 1,000배 처리가 양호하였음. 한편 caffeic acid 함량은 rosmarinic acid에 비해 매우 적었음.



<자소엽 전초의 rosmarinic acid 함량>

- rosmarinic acid 함량은 유기자재 처리가 무처리보다 월등히 많았으며, 그중 키토산 500배 처리에서 함량이 가장 많았음. 추출 수율은 건물중 대비 무처리 13.3%, 규산염 1,000배 15.7%, 키토산 500배 14.7%로, 주당 rosmarinic acid 함유량을 확인하면 무처리 1.96g, 규산염 1,000배 2.95g, 키토산 500배 2.86g로 무처리보다 다소 많았음.
- 분석 결과, 자소엽의 유기자재 처리, 특히 키토산 처리가 무처리보다 항산화 활성과 지표성분인 rosmarinic acid 함량이 대체로 우수하였음. 차년도에 처리별 식물체 생산성을 구명하고 경제성 있는 유기자재 및 농도를 선발하고자 함.

○ 라벤더 생육 특성 및 수량성

구분	초장(cm)	초폭(cm)	신초길이(cm)	생체중(g/주)	건물중(g/주)
무처리	27.4b ^z	61.3 ^{NS}	8.0 ^{NS}	190.0	49.8
규산염 500배	31.5ab	67.5	8.5	236.6	64.1
규산염 1,000배	27.8b	56.9	8.8	289.4	80.8
키토산 500배	34.8a	64.5	10.3	350.6	95.8
키토산 1,000배	32.0ab	60.9	10.3	268.4	80.0

zDMRT(<0.05)

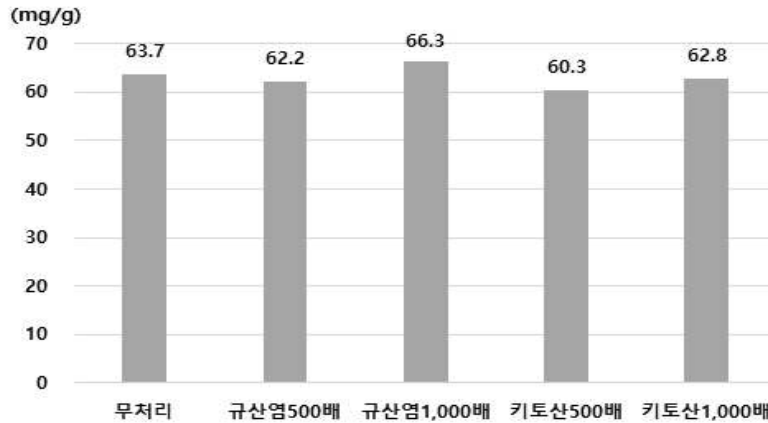
- * 생육특성 조사일: 9. 11. / 수확일: 10. 8. / 건조방법: 45°C, 72시간 열풍건조
- 라벤더의 초장은 무처리에 비해 자재 처리한 경우가 다소 큰 값을 가지는 경향이였으며, 키토산 500배 처리가 가장 컸음. 초폭과 신초 길이는 처리 간 유의한 차이는 없었으나, 신초 길이는 자재 처리한 경우가 무처리에 비해 다소 큰 경향이 있었음.
- 생체중과 건물중은 유기자재 처리가 무처리보다 무거웠으며, 특히 키토산 500배 처리에서 가장 양호하였음.

○ 라벤더 항산화성 분석

2차년도 연구결과에 따르면 항산화 능력은 미백과 주름의 상관관계가 높은 것으로 나타났으며, 특히 폴리페놀 함량이 미백과 주름의 상관관계가 높은 것으로 분석되었음. 이를 바탕으로 유기자재 처리에 따른 라벤더의 항산화성을 분석하였음.

○ 총 폴리페놀 함량

- (분석방법) 본 실험을 진행하기 위하여 각각의 시료 50g을 정량하여 50% 에탄올 10배수를 첨가하여 환류추출장치로 80°C에서 4시간 추출 및 여과하여 농축한 후 동결건조하여 실험에 사용하였음. 총 폴리페놀 함량은 각각의 추출물을 10mg/10mL 농도로 제조한 용액 1mL에 증류수 7.5mL와 folin-ciocalteau's phenol reagent 0.5mL, 35% Na₂CO₃(sodium carbonate, Sigma Chemical Co.) 1mL를 가한 후 실온 암조건에서 1시간 동안 정치한 후, 760nm에서 비색정량 하였음. 이때 tannic acid(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 폴리페놀 함량을 구하였음.

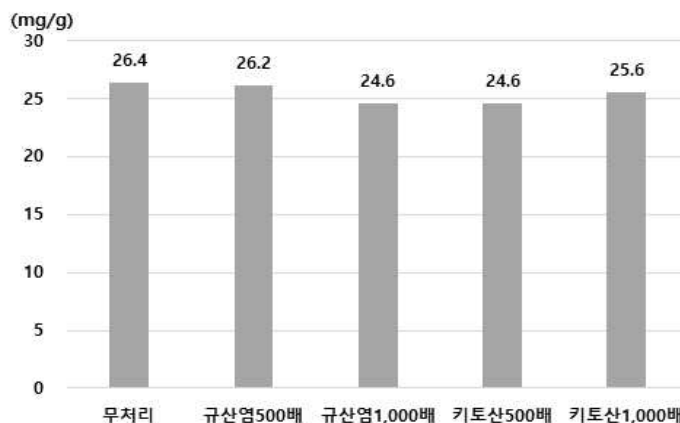


<라벤더의 총 폴리페놀 함량>

- 총 폴리페놀 함량은 규산염 1,000배 처리가 가장 높았으며, 나머지 자재 처리는 무처리보다 약간 낮은 경향이 있었음. 추출수율은 거물중 대비 무처리 22.3%, 규산염 1,000배 21.0%로 주당 폴리페놀 함량은 무처리 0.71g, 규산염 1,000배 처리 1.13g으로 환산되었음.

○ 총 플라보노이드 함량

- (분석방법) 총 플라보노이드 함량은 시료 10mg/10mL 농도로 제조한 용액에 diethylene glycol 2mL, 1N-NaOH 0.02mL를 가한 다음 37°C 항온수조에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer(UV-2450, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정하였음. 이때 총 플라보노이드 함량은 rutin(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 표준물질로 사용하여 검량곡선을 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였음.

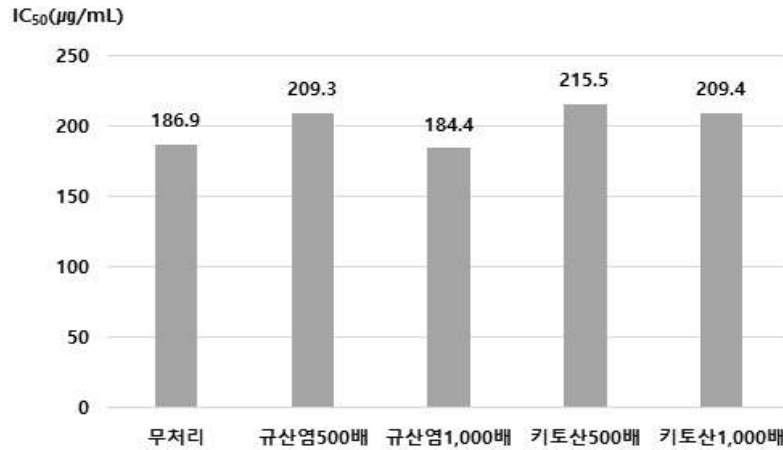


<라벤더의 총 플라보노이드 함량>

- 총 플라보노이드 함량은 무처리가 유기자재 처리보다 약간 많았으나 처리별 큰 차이는 없었고, 유기자재 처리 중에서는 규산염 500배가 다소 우수하였음

○ DPPH 라디칼 소거능 측정

- (분석방법) 추출물의 산화방지 활성을 측정하기 위하여 각각의 추출물 100 μ L에 에탄올 200 μ L를 가하고 2×10^{-4} M DPPH용액 300 μ L를 가한 후 교반하였고, 실온에서 30분간 반응시키고 ELISA (Synergy HT, Biotec, Washington DC, USA)를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조구는 시료 대신에 에탄올을 첨가하여 실험하였음.



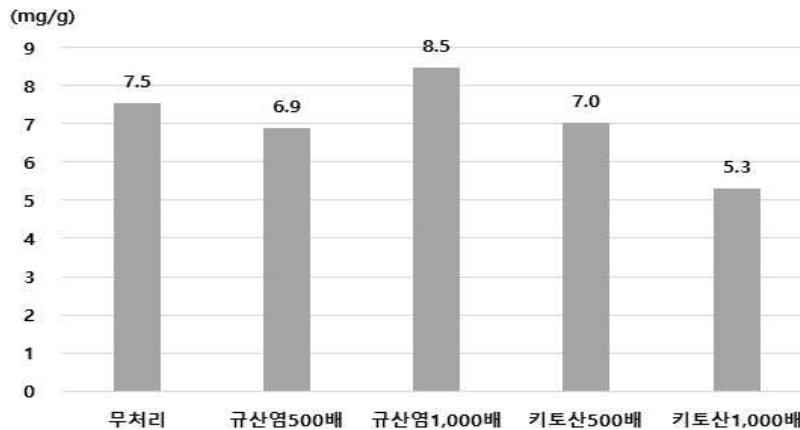
<라벤더의 DPPH 라디칼 소거능>

- DPPH 라디칼이 50% 소거할 수 있는 IC₅₀ 값은 타 처리에 비해 무처리와 규산염 1,000배 처리가 낮아 라디칼 소거활성이 크다는 것을 확인할 수 있었음.

○ 라벤더 지표성분 분석

2차년도 와송, 라벤더, 자소엽 등 허브자원 10종을 19종의 폴리페놀 성분 분석을 실시한 결과 향산화, 미백, 보습, 항염증, 항균 등에 효능을 가진 rosmarinic acid를 라벤더의 지표성분으로 설정하였음. 이를 바탕으로 유기자재 종류 및 농도별 라벤더의 지표성분을 분석하였음.

- 실험방법은 자소엽의 지표성분 분석방법과 동일하였음



<라벤더의 rosmarinic acid 함량>

- 라벤더의 지표성분인 rosmarinic acid 함량은 총 폴리페놀 함량, DPPH 라디칼 소거능과 같이 동일하게 규산염 1,000배 처리에서 가장 많았으며, 나머지 처리는 무처리보다 오히려 낮은 경향이었음.
- 차년도에는 개화기에 수확을 하지 못해 생체수량이 다소 감소되는 문제점을 보완하고, 라벤더의 향장 원료인 꽃과 신초의 수량을 향상시킬 수 있는 전정방법 구명을 통해 원료가 보다 안정적으로 생산될 수 있도록 하고자 함.
- 또한 농가 현장에서 라벤더를 수확하는 시기에 맞춰 유기 자재의 처리 시기를 조절하여 유기자재 처리효과 및 경제성 분석을 통해 최종 결론을 도출하고자 함.

5. 5차 년도

5-1. 5차년도 수행 과정 및 수행 내용

가. (주)하이솔(제1세부, 주관)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
5차 년도 (2021)	남원지역 특화자원을 이용한 제품 개발 및 사업화	실버 제품의 제형 및 제제 개발	○ 최종 산물에 대한 제형 연구	- 소재를 첨가한 제형의 안정성 평가
		실버 시제품 및 제품 개발	○ 제형연구를 통해 결정된 제형으로 바스폼, 바디 로션, 수면팩의 시제품 개발	- 바스폼, 바디에센스, 마스크팩 시제품의 처방을 확정하여 제조공정도 확립
		실버 시제품 안전성 평가	○ 시제품의 patch test	- 자체 첩포시험 안전성 확인
		실버 시제품 안정성 평가	○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가	- 3가지 시제품의 대량생산에서 건별 (온도 편차, 온도순환) 안정성 확인
		실버 제품 개발	○ 제품 개발 및 품목 보고	- 림포디아 커피&레몬밤 스킨 스파 밸런스 바스폼 - 림포디아 하이드로 바디 에센스 - 림포디아 부스팅 히팅 마스크
		국제 교류행사 진행	○ 양국 연합을 통한 제품 개발 및 생산 추진	- 한중이 연합하여 신제품 개발 및 판매
			○ 수출입 관련 상호 연계협력 사항 발굴, 추진	- 림포테라피을 극대화 시킬 수 있는 제품 사용방법 및 판매 전략 협력
		마케팅 시행	○ 온라인 이벤트 활용	- 시기별 및 문제성 피부별 온라인이벤트
국내외 전시회 및 네트워킹	○ 국내외 전시회 참가	- 코로나 19 장기화로 온라인 화상 수출설명회 참가		
	○ 홍보물 제작	- 영문 루틴별 제품 사용법 동영상 제작		

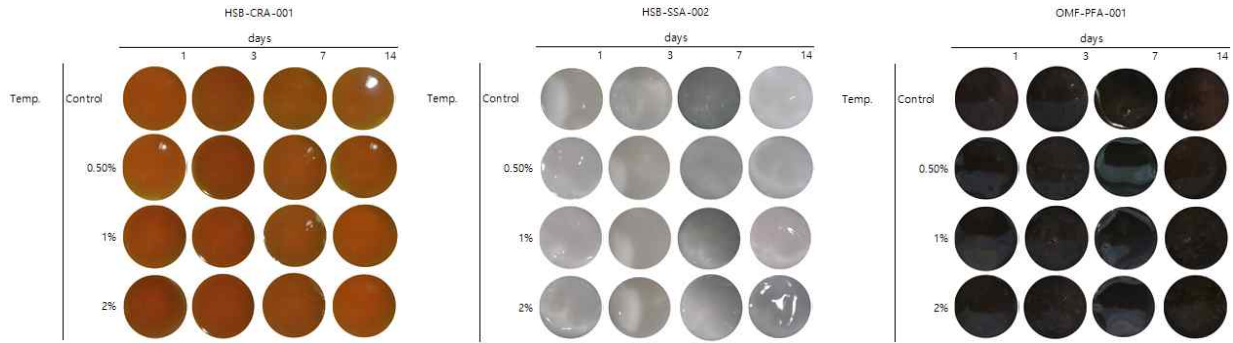
1) 실버 제품의 제형 및 제제 개발

○ 최종산물에 대한 제형연구

○ 허브자원을 첨가한 제형의 안정성 평가

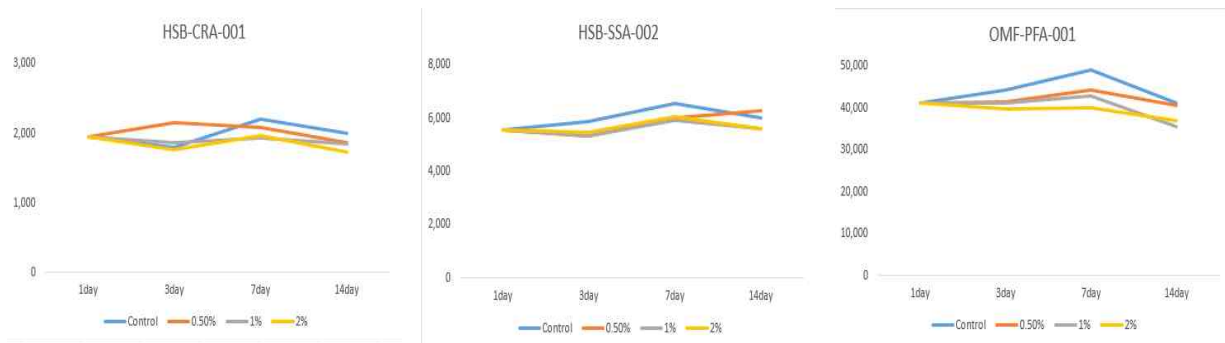
- Plant scale로 생산한 네가지 발효물(남원 자소엽 발효물, 남원 라벤더 발효물, 남원 찔레 발효물, 남원 레몬그라스 발효물)을 (주)더가든오브내추럴솔루션으로부터 제공받아 바스폼, 바디 에센스, 마스크팩 제형에 적용하였을 때 일정 기간별 (1day, 3day, 7day, 14day) 제형의 색상, 향, 점도, pH의 변화를 확인함.
- 제형의 pH는 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치시킨 후, 시제품 1g을 증류수 15ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리함. pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter (OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 측정함. 시료 측정은 25±1°C에서 진행함.
- 제품의 점도 측정은 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치시킨 후 이용함. Brookfield Viscometer(DVE VISCOMETER, DVERV)를 이용하여 측정함.

- 성장 변화 검토



<발효물을 적용한 바스폼, 바디 에센스, 마스크팩 제형의 성장 변화>

- 점도 변화 검토



<발효물을 적용한 바스폼, 바디 에센스, 마스크팩 제형의 점도 변화>

- pH 변화 검토

<발효물을 적용한 바스폼, 바디 에센스, 마스크팩 제형의 pH 변화>

품 목	바스폼				에센스				마스크팩			
	1 day	3 day	7 day	14 day	1 day	3 day	7 day	14 day	1 day	3 day	7 day	14 day
control	7.28	7.19	7.28	7.29	6.59	6.54	6.45	6.44	5.53	5.53	5.51	5.56
0.5%	7.21	7.26	7.3	7.29	6.48	6.5	6.54	6.58	5.58	5.54	5.41	5.51
1.0%	7.25	7.21	7.29	7.28	6.51	6.56	6.58	6.65	5.51	5.47	5.39	5.4
2.0%	7.26	7.27	7.28	7.3	6.6	6.55	6.54	6.56	5.54	5.42	5.38	5.37

- 발효물을 각각 제형에 적용하였을 때 제형의 성장, 향, pH, 점도에 큰 영향을 주지 않는 것으로 확인함.

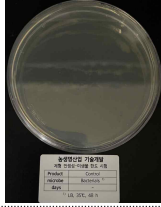
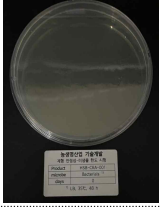
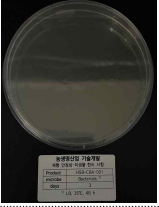
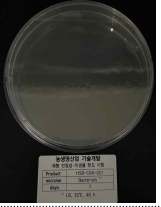
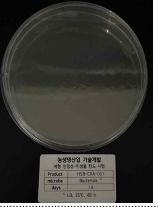
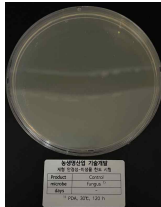
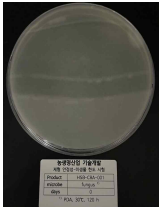
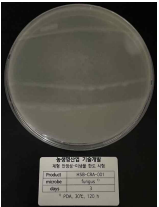
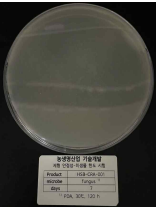
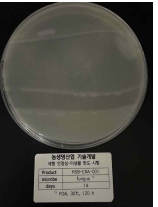
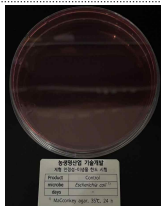
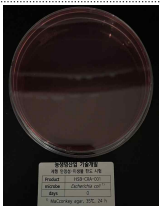
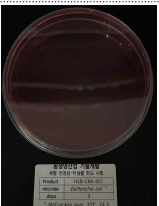
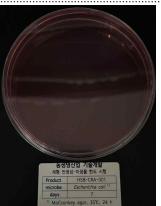
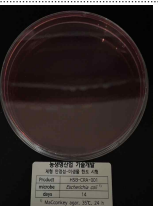
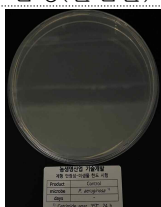
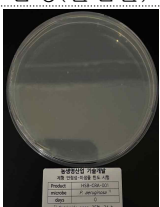
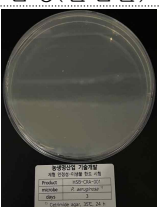
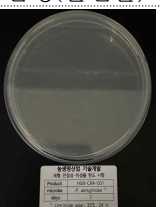
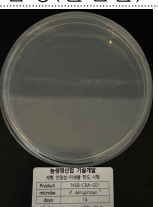

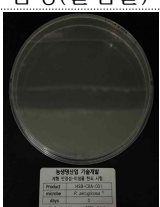
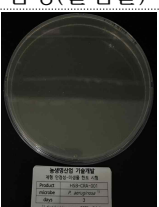
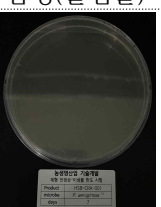
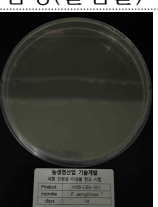
○ 제형의 미생물 안정성 평가

- 총 생균수(세균) : 0.9% NaCl와 tween-80로 10배 희석한 제형 1 ml을 채취하여 petri dish에 넣고, 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 굳힌 후 35°C의 Incubator에서 48시간 이상 배양함.
- 총 생균수(진균) : 0.9% NaCl와 tween-80로 희석한 제형 1ml을 채취하여 petri dish에 넣고 그 위에 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 굳힌 후 30°C의 Incubator에서 120시간 이상 배양함.
- 대장균 : Lactose broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 MacConkey agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.
- 녹농균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Cetrimide agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.
- 황색포도상구균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Baird parker agar에 획선도말하여 35°C의 Incubator에서 24시간 배양함.
- 0, 3, 7, 14일 상온에서 총 4회 제형의 미생물 한도시험을 진행하여 안정성을 확인함. 그 결과는 아래 나열한 표 및 그림과 같으며, 바스폼, 바디 에센스, 마스크팩 제형 모두 총 생균수(세균, 진균)에서 0 CFU/g으로 확인됨. 또한 특수미생물(대장균, 녹농균, 황색포도상구균) 검출시험에서 집락이 확인되지 않아 개발제형 모두 미생물에서 안정한 것으로 확인됨.

<바스폼 제형의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	0일	3일	7일	14일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

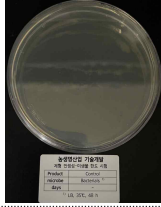
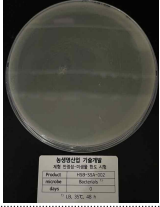
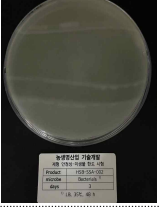
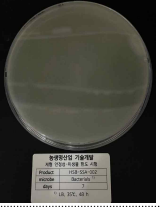

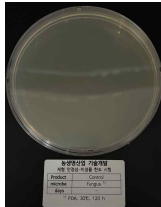
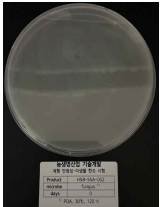

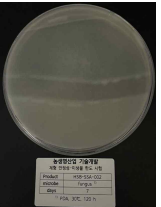
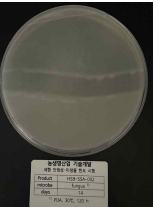
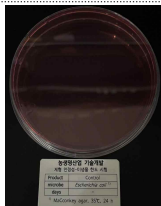
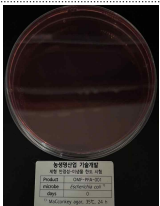
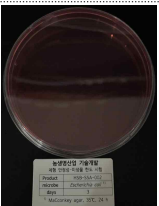
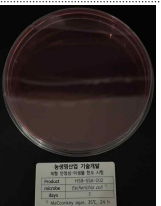
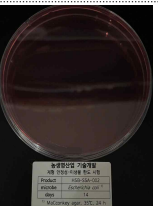
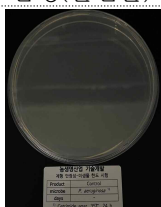
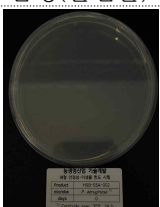
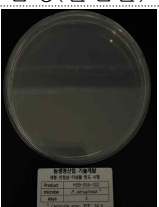
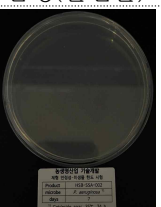
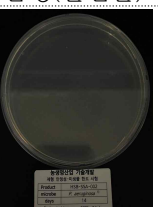

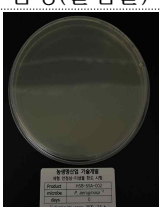
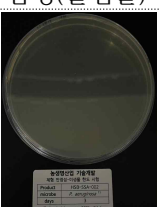
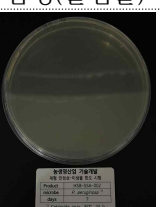
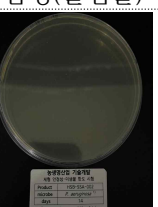
<2주간 바스폼 제형의 미생물 한도 시험>

구분	결 과				
	Control	0일	3일	7일	14일
총생균수 (<i>Bacterials</i>)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (<i>Fungi</i>)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (<i>E. coli</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (<i>P. aeruginosa</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
항색포도상구균 (<i>S. aureus</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

<바다 에센스 제형의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	0일	3일	7일	14일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

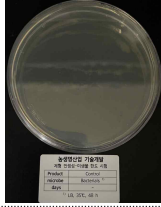
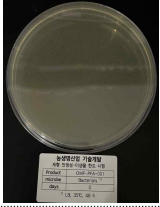
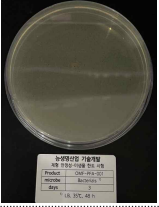

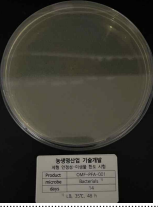
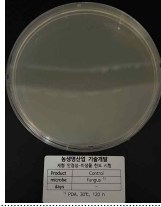
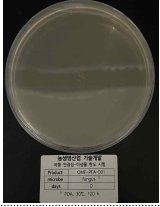
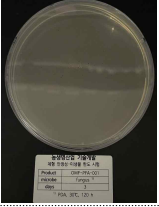
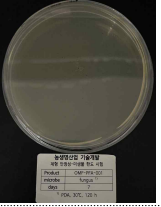

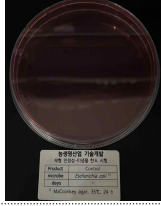
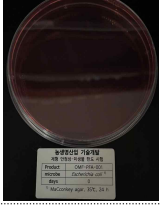
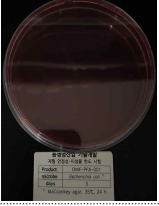
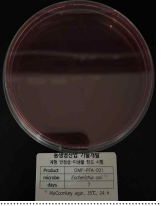
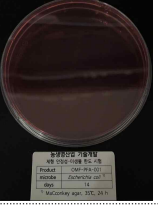
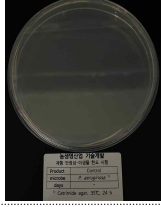

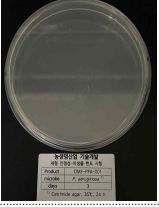
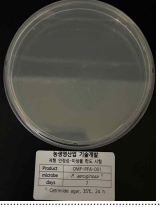
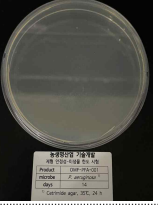
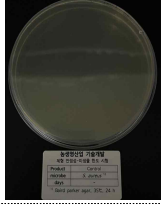
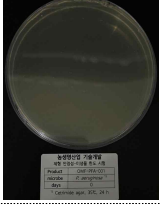
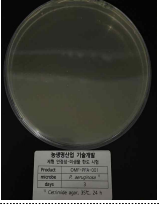
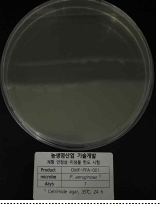
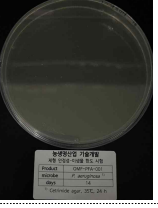
<2주간 바다 에센스 제형의 미생물 한도 시험>

구분	결 과				
	Control	0일	3일	7일	14일
총생균수 (<i>Bacterials</i>)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (<i>Fungi</i>)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (<i>E. coli</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (<i>P. aeruginosa</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
항색포도상구균 (<i>S. aureus</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

<마스크팩 제형의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	0일	3일	7일	14일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<2주간 마스크팩 제형의 미생물 한도 시험>


구분	결 과				
	Control	0일	3일	7일	14일
총생균수 (<i>Bacterials</i>)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
총생균수 (<i>Fungi</i>)					
	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g	0 CFU/g
대장균 (<i>E. coli</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
녹농균 (<i>P. aeruginosa</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)
항색포도상구균 (<i>S. aureus</i>)					
	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)	음성(불검출)

2) 실버 시제품 및 제품개발

○ 제형연구를 통해 결정된 제형으로 바스폼, 바다 에센스, 마스크팩의 시제품개발

○ 바스폼 HSB-CRA-001

- 피부에 순한 천연 추출물의 영양분과 유효성분으로 피부 보습막을 형성하여 자체 수분 보유력을 높이고 민감성 피부에도 자극이 없고 청량한 느낌의 투명한 젤 타입으로 조밀한 고밀도 거품을 형성하며 촉촉한 보습감을 가지도록 함.

		INGREDIENT TABLE		
회사명: ㈜중여승 제품명: 바스폼 HSB-CRA-001 *These ingredients are listed in ICID		작성자	검토	승인
NO	ICID Name	성분의 한글명		
1	Water	정제수		
2	Coffea Arabica (Coffee) Seed Extract	커피콩추출물		
3	Potassium Cocoyl Glycinate	포타슘코코일글리시네이트		
4	Sodium Methyl Cocoyl Taurate	소듐메틸코코일타우레이트		
5	odium Lauroyl Methyl Isethionate	소듐라우로일메틸이세티오네이트		
6	Melissa Officinalis Flower/Leaf/Stem Water	레몬밤꽃/잎/줄기수		
7	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Flower/Leaf/Stem Water	로즈마리꽃/잎/줄기수		
8	Sodium Cocoyl Isethionate	소듐코코일이세티오네이트		
9	Polyquaternium-7	폴리쿼터늄-7		
10	Amodimethicone	아모다이메티콘		
11	C12-14 Sec-Parath-7	C12-14Sec-파레스-7		
12	Glycerin	글리세린		
13	Methyl Glucose Dioleate	피이지-120메틸글루코스티올리메이트		
14	Panthenol	판테놀		
15	Buthylene Glycol	부틸렌글라이콜		
16	Opuntia Tuna Fruit Extract	프리글리머어열매추출물		
17	Malt Extract	맥아추출물		
18	Allantoin	알란토인		
19	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올		
20	Zanthoxylum Piperitum Fruit Extract	초피나무열매추출물		
21	Pulsatilla Koreana Extract	할미꽃추출물		
22	Usnea Barbata (Lichen) Extract	우스니아추출물		
23	Sodium Citrate	소듐시트레이트		
24	Guar Hydroxypropyltrimonium Chloride	구아하이드록시프로필트리모늄클로라이드		
25	Polyquaternium-10	폴리쿼터늄-10		
26	Caprylyl Glycol	카프릴릴글라이콜		
27	Hydrolyzed Milk Protein	하이드롤라이즈드밀크프로테인		
28	Citric Acid	시트릭에씨드		
29	Equisetum Arvense Extract	쇠뜨기추출물		
30	Chrysanthellum Indicum Extract	크리산텔룸인디쿰추출물		
31	Perilla Frutescens Leaf Extract	소엽잎추출물		
32	Houttuymia Cordata Extract	약모밀추출물		
33	Saururus Chinensis Extract	삼백초추출물		
34	Ditsodium EDTA	다이소듐이디티에이		
35	Gardenia Florida Extract	지자추출물		
36	Squalane	스쿠알란		
37	Astaxanthin	아스타잔틴		
38	Fragrance	향료		

<HSB-CRA-001 성분표>

○ 바다 에센스 HSB-SSA-002


- 피부 면역 체계를 보조하며 피부 건강을 유지할 수 있고 끈적임이 적어 데일리케어가 가능한 가벼운 로션 타입으로 거칠어진 부위를 촉촉하게 진정시키며 충분한 수분감으로 오랜 시간 보습력을 유지하는 것이 특징임.

Hisol COSMETICS		INGREDIENT TABLE	
회사명 : 海島 이스 제품명 : 바다 에센스 HSB-SSA-002 *These ingredients are listed in ICID		작성차	검토
			승인
NO	ICID Name	성분의 한글명	
1	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf/Stem Water	로즈마리잎/줄기수	
2	Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower/Leaf/Stem Water	라벤더꽃/잎/줄기수	
3	Sodium Hyaluronate	소듐하이알루로네이트	
4	Cetyl Ethylhexanoate	세틸에틸헥사노에이트	
5	Propylene Glycol	프로필렌글라이콜	
6	Glycerin	글리세린	
7	Caprylic/Capric Triglyceride	카프릴릭/카프릭트라이글리세라이드	
8	Cyclomethicone	사이클로메티콘	
9	Aloe Ferox Leaf Extract	케이스알로에잎수출물	
10	Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearate	폴리글리세릴-3메틸글루코오스다이스테아레이트	
11	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올	
12	Dimethicone	다이메티콘	
13	Glyceryl Stearate	글리세릴스테아레이트	
14	PEG-100 Stearate	피이시-100스테아레이트	
15	Pentylene Glycol	펜틸렌글라이콜	
16	Caprylyl Glycol	카프릴릴글라이콜	
17	Prunus Mume Fruit Extract	매실수출물	
18	Lonicera Japonica (Honeysuckle) Flower Extract	인동영금꽃수출물	
19	Scutellaria Baicalensis Root Extract	황금수출물	
20	Hamamelis Virginiana (Witch Hazel) Water	버시니아홍넝화수	
21	Butyrospermum Parkii (Shea) Butter	시아버터	
22	Glyceryl Stearate	글리세릴스테아레이트	
23	Cetearyl Alcohol	세테아릴알코올	
24	Houttuynia Cordata Extract	약오일수출물	
25	Water	경채수	
26	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜	
27	Glycerin	글리세린	
28	Opuntia Tuna Fruit Extract	프리틀리테어열매수출물	
29	Malt Extract	맥아수출물	
30	Stearic acid	스테아릭에시드	
31	Rosa Multiflora Extract	말개꽃수출물	
32	Centella Asiatica Extract	병풀수출물	
33	Licorice Root Extract	감초뿌리수출물	
34	Camellia Sinensis Leaf Extract	녹차수출물	
35	Rosemary Leaf Extract	로즈마리잎수출물	
36	Matricaria Extract	마트리카리아수출물	
37	Scutellaria Baicalensis Root Extract	황금수출물	
38	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜	
39	Polygonum Cuspidatum Root Extract	호장근수출물	
40	Equisetum Arvense Extract	쇠뜨기수출물	
41	Chrysanthellum Indicum Extract	크리산텔룸 인디쿰수출물	
42	Perilla Frutescens Leaf Extract	소엽잎수출물	
43	Saururus Chinensis Extract	삼백초수출물	
44	Carbomer	카보머	
45	Triethanolamine	트리아에탄올아민	
46	Sodium EDTA	다이소듐이디티에이	
47	Fragrance	향료	

<HSB-SSA-002 성분표>

○ 마스크팩 OMF-PFA-002

- 온열감을 내는 바디 전용 마스크팩 으로 들뜬 피부를 진정시키고 모공 속 노폐물 정리로 피부 결을 매끈하게 정돈하며 불안감을 해소하고 안정감을 느낄 수 있는 안락한 느낌의 은은한 커피향을 첨가하여 편안하고 따뜻한 느낌을 가지도록 함.

 INGREDIENT TABLE			작성자	검토	승인
회사명: 히라이솔 제품명: 마스크팩 OMF-PFA-001 *These ingredients are listed in ICID					
NO	ICID Name	성분의 한글명			
1	Glycerin	글리세린			
2	Bentonite	벤토나이트			
3	Kaolin	카올린			
4	Juglans Regia (Walnut) Shell Powder	호두나무열매껍질가루			
5	1,2-Hexanediol	1,2-헥산다이올			
6	Water	정제수			
7	Carbomer	카보머			
8	Rosmarinus Officinalis (Rosemary) Leaf Powder	로즈마리잎가루			
9	Coffea Arabica (Coffee) Seed Powder	커피콩가루			
10	Triethoxycaprylylsilane	트라이에톡시카프릴실레인			
11	Lavandula Angustifolia (Lavender) Flower Extract	라벤더꽃추출물			
12	Cymbopogon Citratus Extract	레몬그라스추출물			
13	Rosa Multiflora Extract	찔레꽃추출물			
14	Perilla Frutescens Leaf Extract	소엽잎추출물			
15	Cornus Officinalis Fruit Extract	산수유열매추출물			
16	EiSholtzia Splendens Extract	꽃향유추출물			
17	Rosmarinus officinalis (Rosemary) Leaf Oil	로즈마리잎오일			
18	Lavandula Angustifolia (Lavender) Oil	라벤더오일			
19	Citrus Junos Seed Oil	유자씨오일			
20	Honey Extract	꿀추출물			
21	Sodium Hyaluronate	소듐하이알루로네이트			
22	Butylene Glycol	부틸렌글라이콜			
23	Ethylhexylglycerin	에틸헥실글리세린			
24	Phenoxyethanol	페녹시에탄올			
25	CI 77499	흑색산화철			
26	CI 77492	황색산화철			
27	CI 77491	적색산화철			
28	Fragrance	향료			

<OMF-PFA-001 성분표>

3) 실버 시제품 안전성 평가

○ 시제품의 patch test

- 실험실 연구원 20대 여성 2명, 20대 남성 1명, 30대 여성 2명, 50대 남성 1명을 대상으로 개발된 시제품(바스폼, 바디 에센스, 마스크팩)의 피부 자극 시험을 위해 첩포시험을 실시함.
- 각각의 시제품을 10%로 희석하여 20 μ l를 첩포용 테이프에 도포하여 겨드랑이 안쪽 5cm 부위에 밀착하여 6시간 후에 제거하였음. 판독은 테이프를 제거한 후 30분이 경과한 후에 국제접촉피부염 연구원(International Contact Dermatitis Research Group, IDCDG)에서 실시한 방법에 준하여 판독하였음. 반응의 판정은 정상 피부소견을 보인 경우 음성(-)으로, 경미한 홍반이 생기는 경우는 +, 홍반과 함께 부종 혹은 소수포 형성을 동반하는 경우 ++, 심한 반응을 보여 홍반과 함께 대수포 혹은 궤양을 형성한 경우 +++로 판정함.

Interpretation criteria of patch test suggested by ICDRG

Grade	Interpretation
-	No reaction
+	Weak positive reaction ; erythema, infiltration, possibly papules
++	Strong positive reaction ; erythema, infiltration, papules, vesicles
+++	Extreme positive reaction ; bullous reaction

○ 결과

- 자체 첩포시험 결과 실험자 모두에서 홍반 및 부종 등의 피부 자극은 보이지 않았으며 정상피부의 소견을 보임. 따라서 3가지 개발 시제품에 대해 첩포시험을 통하여 피부자극에 대한 안전성을 확보함.



<시제품 패치 테스트 결과>

4) 실버 시제품 안정성 평가

○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가

○ pH, 점도 변화 측정

- 실버 시제품 바스폼(HSB-CRA-001), 바디 에센스(HSB-SSA-002), 마스크팩(OMF-PFA -001)을 이용하여 안정성을 측정함.
- 시제품의 pH는 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치시킨 후, 시제품 1g을 증류수 15ml로 희석하여 1시간 동안 Sonicator로 처리함. pH 표준용액으로 보정이 완료된 pH meter (OHAUS, STARTER3100)를 사용하여 측정함. 시료 측정은 25±1°C에서 진행함.
- 제품의 점도 측정은 각 저장조건의 제품을 실온에 3시간 방치시킨 후 이용함. Brookfield Viscometer(DVE VISCOMETER, DVERV)를 이용하여 측정함.



0 day

3 day

7 day

14 day

30day

<HSB-CRA-001>



0 day

3 day

7 day

14 day

30day

<HSB-SSA-001>



0 day

3 day

7 day

14 day

30day

<OMF-PFA-001>

○ 결과

- 화장품이 노출될 수 있는 환경에서 안정성을 평가하기 위해 온도 편차 (5, 45°C) 및 온도 순환 (-15 → 40 → -15 → 40°C ...) 조건으로 각 제품을 30일 동안 보관하였음. 실험 기간 동안 0, 3, 7, 14, 30일 총 5회 제품의 pH와 점도를 측정해 물리화학적 특성을 파악함으로써 안정성을 종합함. 그 결과는 아래 나열한 표와 같음.
- 바스폼(HSB-CRA-001)과 마스크팩(OMF-PFA-001)의 경우 각각 pH와 점도, 외관에 있어서 유의적인 차이를 확인할 수 없었음. 바디 로션(HSB-SSA-002)의 경우 7일차 45°C에서 점도 변화가 나타났음.

pH

점도

측정 조건	0 day	3 day	7 day	14 day	30 day
5°C	7.35	7.28	7.30	7.24	7.26
25°C	7.28	7.27	7.31	7.27	7.23
45°C	7.20	7.27	7.28	7.21	7.16
Cycle	7.13	7.27	7.27	7.24	7.20
자연광	7.31	7.28	7.29	7.27	7.22

측정 조건	0 day	3 day	7 day	14 day	30 day
5°C	1,230	1,266	1,333	1,200	1,200
25°C	1,120	800	800	933	733
45°C	980	733	933	933	1,067
Cycle	1,010	1,200	1,200	1,333	1,000
자연광	1,100	733	800	866	666

<30일간 HSB-CRA-001의 pH 및 점도 변화>

pH

점도

측정 조건	0 day	3 day	7 day	14 day	30 day
5°C	6.24	6.8	6.87	-	-
25°C	6.59	6.65	6.62	6.65	6.5
45°C	6.37	6.61	6.61*	-	-
Cycle	6.48	6.61	6.61	-	-
자연광	6.51	6.58	6.6	-	-

측정 조건	0 day	3 day	7 day	14 day	30 day
5°C	5,430	5,400	5,467	-	-
25°C	5,567	4,866	5,200	5,200	5,000
45°C	5,450	4,533	3,200*	-	-
Cycle	5,820	6,266	6,533	-	-
자연광	5,630	5,200	4,866	-	-

<30일간 HSB-SSA-002의 pH 및 점도 변화>

*점도변화가 확인된 7일차 이후 바다 에센스(HSB-SSA-002)은 25°C만 측정함.

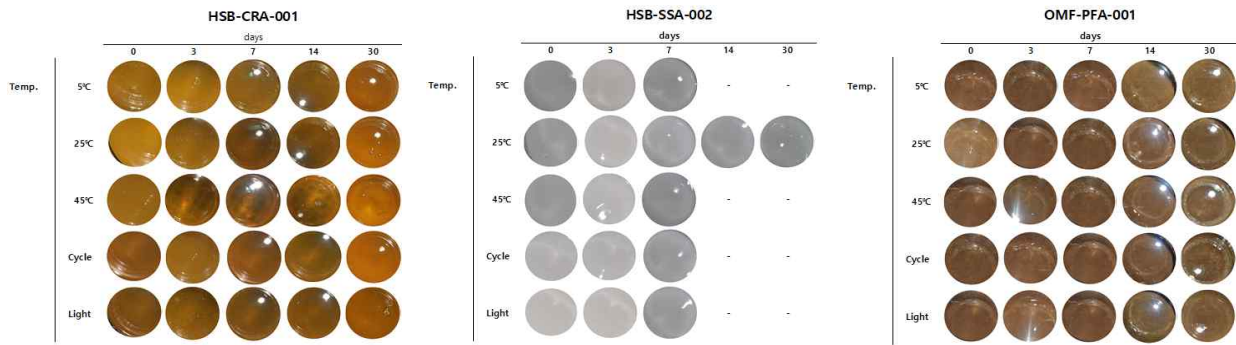
pH

점도

측정 조건	0 day	3 day	7 day	14 day	30 day
5°C	5.49	5.6	5.51	5.72	5.52
25°C	5.53	5.34	5.45	5.44	5.41
45°C	5.47	5.43	5.43	5.5	5.45
Cycle	5.51	5.46	5.44	5.37	5.46
자연광	5.5	5.44	5.4	5.38	5.43

측정 조건	0 day	3 day	7 day	14 day	30 day
5°C	26,200	22,600	24,465	25,730	23,330
25°C	26,130	20,730	23,800	21,600	21,000
45°C	25,980	22,135	22,000	21,470	21,200
Cycle	25,550	24,935	24,930	27,360	23,400
자연광	26,100	25,865	26,930	25,870	24,600

<30일간 OMF-PFA-001의 pH 및 점도 변화>



<30일간 시제품의 색상 변화>

○ 개발된 시제품의 미생물 한도시험

- 총 생균수(세균) : 0.9% NaCl와 tween-80로 10배 희석한 제형 1 ml을 채취하여 petri dish에 넣고, 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균힌 후 35°C의 Incubater에서 48시간 이상 배양함.
- 총 생균수(진균) : 0.9% NaCl와 tween-80로 희석한 제형 1ml을 채취하여 petri dish에 넣고 그 위에 멸균 후 45°C로 식힌 시험용 배지 15 ml을 넣어 잘 혼합한 다음 균힌 후 30°C의 Incubater에서 120시간 이상 배양함.
- 대장균 : Lactose broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 MacConkey agar에 획선도말하여 35°C의 Incubater에서 24시간 배양함.
- 녹농균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Cetrimide agar에 획선도말하여 35°C의 Incubater에서 24시간 배양함.
- 황색포도상구균 : Tryptic soy broth에 10배 희석한 제형을 35°C의 Incubator에서 18-24시간 배양한 후 Baird parker agar에 획선도말하여 35°C의 Incubater에서 24시간 배양함.

○ 시제품의 미생물 한도시험 결과

- 1, 7, 15, 30일 가속 및 가혹 조건에서 총 4회 제형의 미생물 한도시험을 진행하여 안정성을 확인함. 그 결과는 아래 나열한 표 및 그림과 같으며, 커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼 (HSB-CRA-001), 하이드로 바디에센스(HSB-SSA-002), 부스팅 히팅마스크(OMF-PFA-001) 제품 모두 총 생균수(세균, 진균)에서 500 CFU/g 이하로 확인됨. 또한 특수미생물(대장균, 녹농균, 황색포도상구균) 검출시험에서 집락이 확인되지 않아 시제품이 30일간 가속 및 가혹 조건에서 안정한 것으로 확인됨.

<HSB-CRA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (5 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSB-CRA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSB-CRA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (45 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

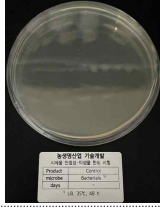
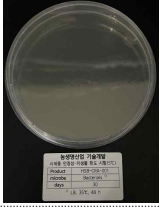
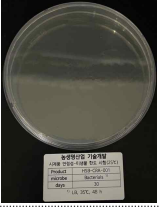
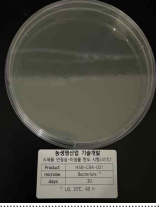
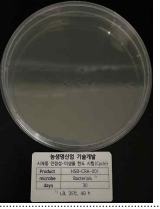


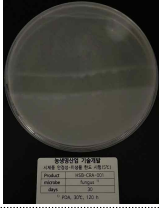


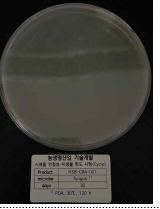
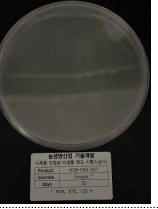
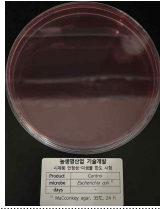



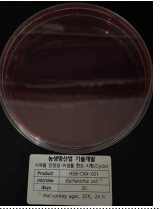
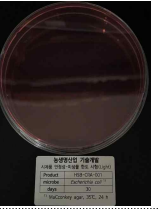

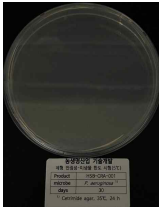


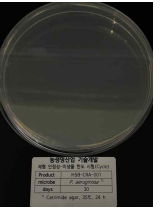
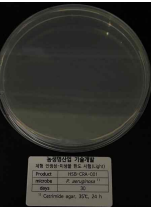





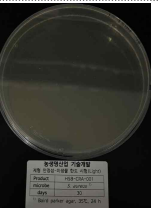
<HSB-CRA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 온도순환(Cycle)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSB-CRA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 자연광 노출(Light)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
항색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<30일간 시제품 HSB-CRA-001의 미생물 한도 시험>

구분	결 과					
	Control	5°C	25°C	45°C	Cycle	Ligth
총생균수 (Bacterials)	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g
총생균수 (Fungi)	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g
대장균 (E. coli)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)
항색포도상구균 (S. aureus)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)

<HSB-SSA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (5 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSB-SSA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSB-SSA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (45 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

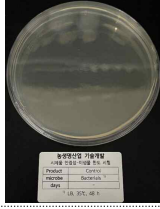



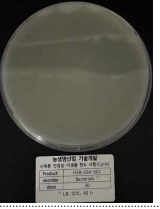


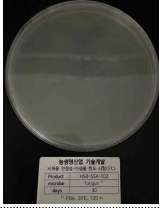

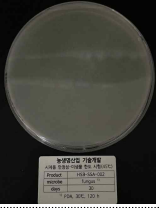
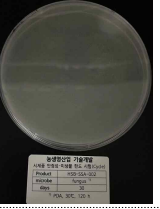

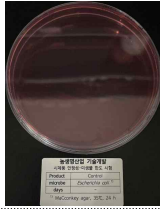









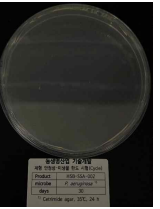


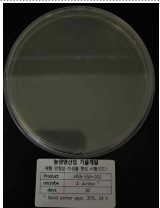




<HSB-SSA-0011의 미생물 한도시험_보관조건 : 온도순환(Cycle)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<HSB-SSA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 자연광 노출(Light)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<30일간 시제품 HSB-SSA-001의 미생물 한도 시험>

구분	결 과					
	Control	5°C	25°C	45°C	Cycle	Ligth
총생균수 (Bacterials)	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g
총생균수 (Fungi)	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g
대장균 (E. coli)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)
항색포도상구균 (S. aureus)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)

<OMF-PFA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (5 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<OMF-PFA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (25 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<OMF-PFA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : (45 ± 2)°C>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

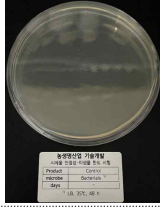
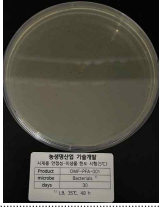

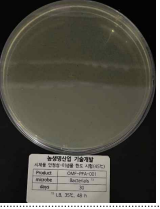



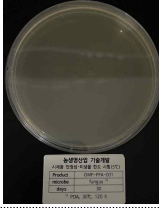
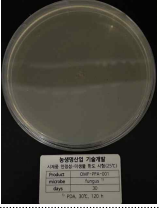



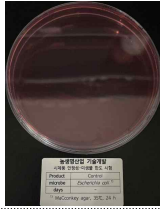


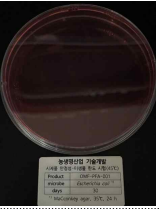




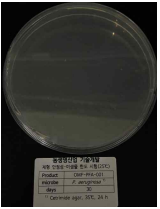

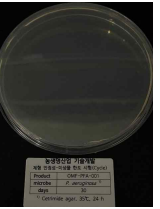
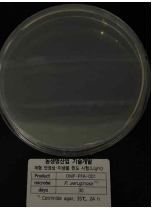



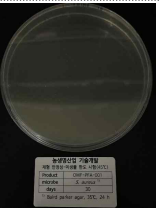
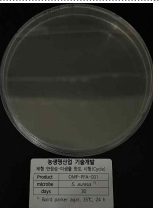

<OMF-PFA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 온도순환(Cycle)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<OMF-PFA-001의 미생물 한도시험_보관조건 : 자연광 노출(Light)>

항 목	단위	1일	7일	15일	30일
총생균수(<i>Bacterials</i>)	CFU/g	0	0	0	0
총생균수(<i>Fungi</i>)	CFU/g	0	0	0	0
대장균(<i>E. coli</i>)	-	음성	음성	음성	음성
녹농균(<i>P. aeruginosa</i>)	-	음성	음성	음성	음성
황색포도상구균(<i>S. aureus</i>)	-	음성	음성	음성	음성

<30일간 시제품 OMF-PFA-001의 미생물 한도 시험>

구분	결 과					
	Control	5°C	25°C	45°C	Cycle	Ligth
총생균수 (Bacterials)	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g
총생균수 (Fungi)	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g	 0 CFU/g
대장균 (E. coli)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)
녹농균 (P. aeruginosa)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)
항색포도상구균 (S. aureus)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)	 음성(불검출)

5) 실버 제품 개발

○ 제품 개발 및 품목 보고

- 커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼

- 제품표준서



Hisol Cosmetics		제품표준서		문서번호
				개정일자
				페이지
				1/10

1. 제품 표준

제품명	림포디아 커피레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼	기능성	
제품 유형	인체세정용 제품류	분류번호	다2
유형 분류	바디클렌저	분류번호	다2
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)년월일	13년 04월 22일
작성년월일	2021년 03 월 15 일	생산 단위	kg
사용 방법	적당량을 욕조에 스프레이하여 물이 거품을 낸 후 전신에 마사지 하듯 문지르고 물로 깨끗이 씻어 냅니다.		
용량	300ml		
효능·효과	지리산 레몬밤, 로즈마리 허이드로수가 피부를 맑고 촉촉하게 해주며, 커피추출물이 탄력있고 윤기나는 피부 관리에 도움을 줍니다.		
사용상주의사항	화장품법 시행규칙 제13조 제3항(별표2)'화장품의 유통별 사용상 주의사항'에 따른다. 1. 화장품용 사용함에 있어 다음과 같이 이상이 있을 경우에는 사용을 중지할 것이며, 계속 사용하면 증상을 악화시키므로 피부과 전문의 등에게 상담하십시오. 1) 사용 중 붉은 반점, 부어 오름, 가려움증, 자국 등의 이상이 있을 경우 2) 적용 부위가 의사관선에 의해 휘와 같은 이상이 있을 경우 2. 상처가 있는 곳 또는 습진 및 피부염 등의 이상이 있는 부위에는 사용하지 마십시오. 3. 보관 및 취급상의 주의사항 1) 사용 후에는 반드시 마개를 닫아 두십시오 2) 유소아의 손에 닿지 않는 곳에 보관하십시오 3) 고온 내지 저온의 장소 및 일광이 닿는 곳에 보관하지 마십시오.		
포장단위	지사포장 단위		
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년		

◆목적

번호	목적
1	제품 표준
2	제정 및 개정사항
3	표시 기재 사항
4	성분 및 규격
5	원료 성분 분량 및 제조공정도

< 주식회사 하이슬 >

- 하이드로 바디 에센스

- 제품표준서



Hisol Cosmetics		제품표준서		문서번호
				개정일자
				페이지
				1/11

1. 제품 표준

제품명	림포디아 하이드로 바디 에센스	기능성	
제품 유형	기초화장용 제품류	분류번호	카5
유형 분류	바디에센스	분류번호	카5
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)년월일	13년 04월 22일
작성년월일	2021년 04 월 09 일	생산 단위	kg
사용 방법	바디 클렌징 후에 물기가 약간 남아 있을 때 적당량을 펴막하여 고루 펴 바릅니다.		
용량	300ml		
효능·효과	백지아토피염, 알로에, 시어벤티 함유로 건조하고 거친 피부에 건강한 유수분 보유막을 형성하여 피부 본연의 수분 보유력을 유지 시켜 줍니다.		
사용상주의사항	화장품법 시행규칙 제13조 제3항(별표2)'화장품의 유통별 사용상 주의사항'에 따른다. 1. 화장품용 사용함에 있어 다음과 같이 이상이 있을 경우에는 사용을 중지할 것이며, 계속 사용하면 증상을 악화시키므로 피부과 전문의 등에게 상담하십시오. 1) 사용 중 붉은 반점, 부어 오름, 가려움증, 자국 등의 이상이 있을 경우 2) 적용 부위가 의사관선에 의해 휘와 같은 이상이 있을 경우 2. 상처가 있는 곳 또는 습진 및 피부염 등의 이상이 있는 부위에는 사용하지 마십시오. 3. 보관 및 취급상의 주의사항 1) 사용 후에는 반드시 마개를 닫아 두십시오 2) 유소아의 손에 닿지 않는 곳에 보관하십시오 3) 고온 내지 저온의 장소 및 일광이 닿는 곳에 보관하지 마십시오.		
포장단위	자사포장 단위		
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년		

◆목적

번호	목적
1	제품 표준
2	제정 및 개정사항
3	표시 기재 사항
4	성분 및 규격
5	원료 성분 분량 및 제조공정도

< 주식회사 하이슬 >

○ 부스팅 히팅 마스크

- 제품표준서



Hisol COSMETICS		제품표준서		문서번호
				개정일자
				페이지
				1/9

1. 제품 표준

제품명	림포디아 부스팅 히팅 마스크	기능성	
제품 유형	기초화장품 제품류		
유형 분류	마스크	분류번호	키6
제조업등록번호	광주 제 1350호	등록(허가)연월일	13년 04월 22일
작성년월일	2021년 04월 06일	생산 단위	kg
사용 방법	적당량을 얼굴, 문제부위에 골고루 펴 바르고 10-15분 후 물기있는 손으로 마사지하며 헹어내 줍니다.		
용량	200ml		
효능 효과	따뜻한 온열감으로 모공을 열어주고 커피가루와 로즈마리잎가루가 모공 속 노폐물 정리와 스크럽 효과를 부여하여 매끄러운 피부결 관리에 도움을 줍니다.		
사용상주의사항	화장법 시행규칙 제13조 제3항(별표2)「화장품의 유통법 사용상 주의사항」에 따른다. 1. 화장품 사용법에 있어 다음과 같이 이상이 있을 경우에는 사용을 중지할 것이며, 계속 사용하면 증상을 악화시키므로 피부과 전문의 등에게 상담하십시오. 1) 사용 중 붉은 반점, 부어 오름, 가려움증, 자국 등의 이상이 있을 경우 2) 적용 부위가 적사공선에 의해 위와 같은 이상이 있을 경우 2. 상처가 있는 곳 또는 습진 및 피부열 등의 미상이 있는 부위에는 사용하지 마십시오. 3. 보관 및 취급상의 주의사항 1) 사용 후에는 반드시 마개를 닫아 두십시오 2) 유소아의 손에 닿지 않는 곳에 보관하십시오. 3) 고온 내지 저온의 장소 및 일광이 닿는 곳에 보관하지 마십시오.		
포장단위	자사포장 단위		
저장방법 및 사용(유효)기간	기밀용기, 실온보관 사용기간 : 제작일로부터 24개월 개봉 후 1년		

◆목적

번호	목적
1	제품 표준
2	제정 및 개정사항
3	표시 기재 사항
4	성분 및 규격
5	원료 성분 분량 및 제조공정도

< 주식회사 히이솔 >

6) 국제 교류행사 진행

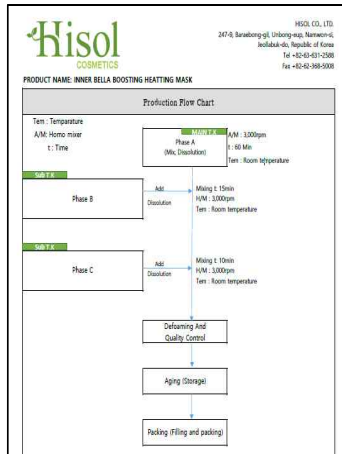
○ 양국 연합을 통한 제품 개발 및 생산 추진

○ 한중 연합을 통한 신제품 개발 및 판매

- 코로나19 장기화로 국제 교류 행사는 연기되었음.

- 한중 연합으로 신규 제품을 개발하여 (주)하이솔에서 생산 및 수출하였고, 중국 KC이너벨라에서 판매중임.

순서	원료명	INCI Name	순서	원료명	INCI Name
1	물	Aqua	11	아미노산	Amino Acids
2	글리세린	Glycerin	12	아미노산	Amino Acids
3	아미노산	Amino Acids	13	아미노산	Amino Acids
4	아미노산	Amino Acids	14	아미노산	Amino Acids
5	아미노산	Amino Acids	15	아미노산	Amino Acids
6	아미노산	Amino Acids	16	아미노산	Amino Acids
7	아미노산	Amino Acids	17	아미노산	Amino Acids
8	아미노산	Amino Acids	18	아미노산	Amino Acids
9	아미노산	Amino Acids	19	아미노산	Amino Acids
10	아미노산	Amino Acids	20	아미노산	Amino Acids



의화획득원료·기계구매확인서	
1. 구매처명: (주)히이솔	2. 구매처명: (주)히이솔
3. 구매처명: (주)히이솔	4. 구매처명: (주)히이솔
5. 구매처명: (주)히이솔	6. 구매처명: (주)히이솔
7. 구매처명: (주)히이솔	8. 구매처명: (주)히이솔
9. 구매처명: (주)히이솔	10. 구매처명: (주)히이솔
11. 구매처명: (주)히이솔	12. 구매처명: (주)히이솔
13. 구매처명: (주)히이솔	14. 구매처명: (주)히이솔
15. 구매처명: (주)히이솔	16. 구매처명: (주)히이솔
17. 구매처명: (주)히이솔	18. 구매처명: (주)히이솔
19. 구매처명: (주)히이솔	20. 구매처명: (주)히이솔
21. 구매처명: (주)히이솔	22. 구매처명: (주)히이솔
23. 구매처명: (주)히이솔	24. 구매처명: (주)히이솔
25. 구매처명: (주)히이솔	26. 구매처명: (주)히이솔
27. 구매처명: (주)히이솔	28. 구매처명: (주)히이솔
29. 구매처명: (주)히이솔	30. 구매처명: (주)히이솔
31. 구매처명: (주)히이솔	32. 구매처명: (주)히이솔
33. 구매처명: (주)히이솔	34. 구매처명: (주)히이솔
35. 구매처명: (주)히이솔	36. 구매처명: (주)히이솔
37. 구매처명: (주)히이솔	38. 구매처명: (주)히이솔
39. 구매처명: (주)히이솔	40. 구매처명: (주)히이솔
41. 구매처명: (주)히이솔	42. 구매처명: (주)히이솔
43. 구매처명: (주)히이솔	44. 구매처명: (주)히이솔
45. 구매처명: (주)히이솔	46. 구매처명: (주)히이솔
47. 구매처명: (주)히이솔	48. 구매처명: (주)히이솔
49. 구매처명: (주)히이솔	50. 구매처명: (주)히이솔
51. 구매처명: (주)히이솔	52. 구매처명: (주)히이솔
53. 구매처명: (주)히이솔	54. 구매처명: (주)히이솔
55. 구매처명: (주)히이솔	56. 구매처명: (주)히이솔
57. 구매처명: (주)히이솔	58. 구매처명: (주)히이솔
59. 구매처명: (주)히이솔	60. 구매처명: (주)히이솔
61. 구매처명: (주)히이솔	62. 구매처명: (주)히이솔
63. 구매처명: (주)히이솔	64. 구매처명: (주)히이솔
65. 구매처명: (주)히이솔	66. 구매처명: (주)히이솔
67. 구매처명: (주)히이솔	68. 구매처명: (주)히이솔
69. 구매처명: (주)히이솔	70. 구매처명: (주)히이솔
71. 구매처명: (주)히이솔	72. 구매처명: (주)히이솔
73. 구매처명: (주)히이솔	74. 구매처명: (주)히이솔
75. 구매처명: (주)히이솔	76. 구매처명: (주)히이솔
77. 구매처명: (주)히이솔	78. 구매처명: (주)히이솔
79. 구매처명: (주)히이솔	80. 구매처명: (주)히이솔
81. 구매처명: (주)히이솔	82. 구매처명: (주)히이솔
83. 구매처명: (주)히이솔	84. 구매처명: (주)히이솔
85. 구매처명: (주)히이솔	86. 구매처명: (주)히이솔
87. 구매처명: (주)히이솔	88. 구매처명: (주)히이솔
89. 구매처명: (주)히이솔	90. 구매처명: (주)히이솔
91. 구매처명: (주)히이솔	92. 구매처명: (주)히이솔
93. 구매처명: (주)히이솔	94. 구매처명: (주)히이솔
95. 구매처명: (주)히이솔	96. 구매처명: (주)히이솔
97. 구매처명: (주)히이솔	98. 구매처명: (주)히이솔
99. 구매처명: (주)히이솔	100. 구매처명: (주)히이솔



- 수출입 관련 상호 연계협력 사항 발굴, 추진
- 림포테라피 에스테틱 기술 연계
- 림포테라피의 효과를 극대화 시킬 수 있는 에스테틱 기술 및 경영 방식에 대해 협력



- 7) 마케팅 실행
- 온라인 이벤트 활용
- 시기별 및 문제성 피부별 온라인 이벤트
- 각 계절의 피부 문제에 대한 해결 방안 및 관련 제품 이벤트

까글까글한 각질로 덮혀버린,
숨은 피부 찾기

할인
Week 12.06 - 12.12 **50% SALE**
Mission.
건조한 날씨 속에서 살아남기
림포디아 부스팅 팩 3종으로
저자극 피부관리하세요!

1. 부스팅 매직 슬리핑 마스크

장시간 마스크 착용으로 인해 스트레스 받은 피부 회복을 도와주는 저자극 진정 마스크!
 잠자는 동안 보습력이 피부의 수분이 날아가지 않게 보습해 주고, 유수분 밸런스를 맞춰 피부의 윤기를 더해 줍니다.

코로나-19로 인한
S.O.S 스트레스!
진정케어 이벤트

혈관이 비치지 않는 탄탄한 피부!
홍조를 지우는
홈 에스테틱

몸 여드름
줄이기 위한
생활 루틴

페이스 라인 UP!
부스팅 쉬폰 매직 클렌저
20% 할인 EVENT!


계절 맞춤 추천 제품
부스팅 쉬폰 매직 클렌저
20% 할인
 기간 : 2021년 1월 한 달간

1. 피부 순환사로 과잉각질 각질로 폐기해 주어 민감하고 붉어지는 피부로 개량합니다.
 2. 보습기능이 추가되어 촉촉함을 제공하고 끈적임 없이 마무리를 만들어 줍니다.
 3. 세안 후에는 촉촉한 장미 보습력이 피부를 감싸고 유휴자극을 차단 시킵니다.
 4. 모공의 크기를 줄여주는 효과로 피부의 수분과 영양을 지켜줍니다.

연보타빛 강력한 세척기

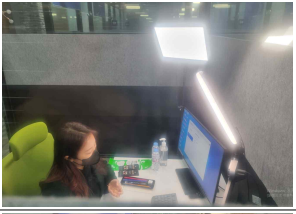
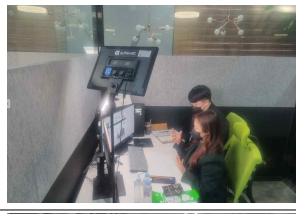
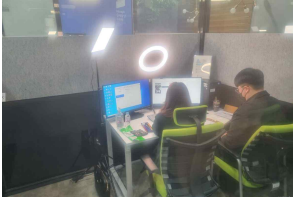
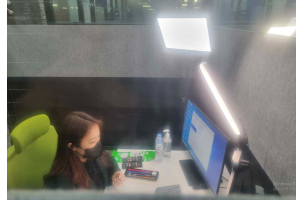
- 8) 국내외 전시회 및 네트워킹
- 국내외 전시회 참가
 - 코로나 19의 장기화로 인해 온라인 수출상담회 참석
 - 바이어의 니즈에 대응한 실시간 수출 상담 채널 구축하여 과제 개발 제품을 소개함으로써 시장 진출 및 제품 홍보를 도모함

온라인 수출상담회(베트남, 2021.06.01)	
제품	림포디아 (부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원, 부스팅 매직 컨트롤 베이스, 부스팅 히팅 마스크), 에스테마인(톡톡 스킨에센스, 톡톡 컨트롤크림)
시제품	커피&레몬밤 시키니 스파 밸런스 바스폼, 하이드로바디에센스, 부스팅 히팅 마스크

내용	No.	1	2
	회사명	KORIKART Co., Ltd.	KTE Co., Ltd.
	담당자	Mr. Naveen	Ms. Nuna
	직책	Director	Oversea Assistant
	이메일	-	-
	상담 내용	영문 카탈로그와 회사소개, 제품 내용 요청함	영문 카탈로그와 회사소개, 제품 내용 요청함
	No.	3	서울야외경매관리사업, 해외판 글로벌파트너사업 매칭데이 운영계획 □ 개 요 ○ 일 시 : 2021. 6. 1(화), 15:00 - 17:00* 행사 시작 15분 전 도착 ○ 장 소 : 전라북도청상업진흥원 드림스퀘어(본관 1층) ○ 참석대상 : 다투스 등 11개사(글로벌파트너사업 참여업체) ○ 상담 매칭테이블 - 베트남 : 1-5명 푸스, 인도 : 6-10명 푸스  ○ 문 의 처 : 기업성장팀 김승훈, 김현이 담당(063-711-2079, 2072)
	회사명	MSD Society	
	담당자	Mr. Soni	
	직책	Managing Director	
이메일	-		
상담 내용	영문 카탈로그와 회사소개, 제품 내용 요청함		

온라인 수출상담회(일본, 2021.12.09.)

제품	림포디아 (부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원, 부스팅 매직 컨트롤 베이스, 부스팅 히팅 마스크), 에스테마인(톡톡 스킨에센스, 톡톡 컨트롤크림), 커피&레몬밤 시키니 스파 밸런스 바스폼, 하이드로바디에센스
----	--

내용	No.	1	일본·미국 온라인 수출상담회 참여업체 모집 1. 사업개요 ○ 행사일정 : 2021. 12. 9(목) 15:00 - 16:00(일제면 30분간) ○ 모집대상 : 본사 혹은 공영소매점이 50개 위치한 중소·중견기업 ○ 운영장소 : 일라노스경제발전진흥원 상담실(주목 빌딩 1층) 사무실 ○ 운영방법 : 온라인 화상회의 프로그램(ZOOM) 활용 ○ 모집규모 : 4개사 정도 ○ 지원내용 : 바이어 발굴 지원, 물역 지원, 사후관리 등 2. 바이어 정보 ○ 일본(관동권) : SanA Corporation(이승종) / 무역업 ○ 미국(화성권) : Kichop(Arma Lee) / 한국계급 취급 온라인몰 운영 3. 신청방법 ○ 신청기간 : 12. 7(화)~익일 상담확정 및 시간 문자안내 예정) ○ 신청방법 : 이메일 접수(담당자 확인전화 필수) ○ 문 의 처 : 기업성장팀(일본부) : kbr@kbsa.kr / 063-711-2041 4. 기타사항 ○ 본 상담회에 참여업체는 상담 및 계약실적 등 진흥원이 추후 요청하는 자료에 대해 성실의 제출해야 함 ○ 외국어 카탈로그가 없을 시, 상품 소개자료(불인칭)는 이거지를 활용하여 영문으로 제출 * 소재사 영문개정이 어려운 경우, 외국어동반역 지원사업 활용 2021. 12. 08. 전라북도경제통상진흥원 장
	회사명	SanA Corporation	
	담당자	이승종	
	직책	CEO	
	국가	일본	
상담 내용	부스팅 및 에스테마인 제품에 관심을 가짐. 특히, 림포테라피에 대해 흥미를 보여, 대표님과 미팅을 요청하였지만, 무산되어 관련 자료만 송부함.		
사진			
			

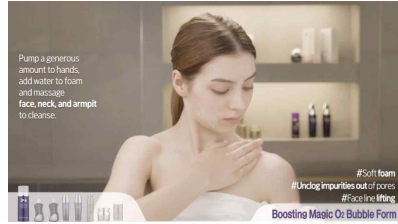
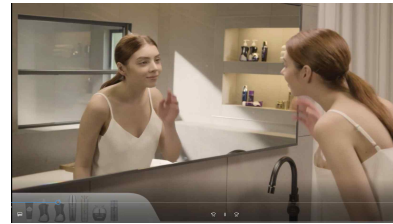
○ 홍보물 제작 : 동영상 제작

- 해외 마케팅을 위한 루틴별 제품 홍보 및 사용법 안내 동영상 제작

Morning
Care
Routine



Night
Care
Routine



나. (재)남원시화장품산업지원센터(제1협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과																			
5차 년도 (2021)	남원지역 특화자원의 소재개발 및 효능평가	소재가공 및 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> 발효소재 바이오리포좀 조건확립 	<ul style="list-style-type: none"> 리포좀 적용소재 : 발효우수수재 4종(자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스) 리포좀 안정성조건 사전 실험 <table border="1"> <thead> <tr> <th>Sample</th> <th>추출물함량(%)</th> <th>Lecithin함량(%)</th> <th>제조공정</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>발효자소엽</td> <td>100</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>1안</td> <td rowspan="4">10</td> <td>6.75</td> <td rowspan="2">수상 및 포집물질 동시 첨가</td> </tr> <tr> <td>2안</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>3안</td> <td>6.75</td> <td rowspan="2">20% 수상 후 첨 가</td> </tr> <tr> <td>4안</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> pH : 처리구별 큰 차이 없음 가속가속 : 육안상 제형 차이 없음 제타포텐셜 : 3안 절대값 높음 입도분석 : 1,3,4안 적정 값 발효소재 바이오리포좀 조건 확립 : 추출물 함량 10%, Lecithin 함량 6.75%, (20% 수상 후 추출물첨가) 우수발효소재 4종 바이오리포좀화 : 라벤더, 찔레, 자소엽, 레몬그라스 	Sample	추출물함량(%)	Lecithin함량(%)	제조공정	발효자소엽	100	-	-	1안	10	6.75	수상 및 포집물질 동시 첨가	2안	5	3안	6.75	20% 수상 후 첨 가	4안	5
			Sample	추출물함량(%)	Lecithin함량(%)	제조공정																	
		발효자소엽	100	-	-																		
1안	10	6.75	수상 및 포집물질 동시 첨가																				
2안		5																					
3안		6.75	20% 수상 후 첨 가																				
4안		5																					
<ul style="list-style-type: none"> 생리활성기전연구 (미백, 주름, 보습) 	<ul style="list-style-type: none"> 우수발효소재 4종 (라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃) 대상 기전연구 미백 <ul style="list-style-type: none"> 라벤더 : TRP-1 발현억제 자소엽 : TRP-1 발현억제 레몬그라스 : TRP-1, TRP-2발현억제 찔레꽃 : TRP-1, TRP-2발현억제 주름개선 <ul style="list-style-type: none"> 라벤더 : COLA1 발현증가 자소엽 : COLA1, ELASTIN 발현증가 / MMP-9, MMP-13 발현억제 레몬그라스 : ELASTIN 발현증가, MMP-9 발현억제 찔레꽃 : COLA1, ELASTIN 발현증가 / MMP-9 발현억제 보습 <ul style="list-style-type: none"> 라벤더 : HAS-2 발현증가 자소엽 : HAS-2 발현증가 레몬그라스 : HAS-2, HAS-3 발현증가 찔레꽃 : HAS-2 발현증가 피부장벽 <ul style="list-style-type: none"> 라벤더 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 자소엽 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 레몬그라스 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 찔레꽃 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 																						
소재지원화	<ul style="list-style-type: none"> 화장품원료 등재 및 라이브러리 구축 	<ul style="list-style-type: none"> 레몬그라스고상발효물, 찔레꽃고상발효물 화장품 원료등재 캐모마일, 바위솔, 흰민들레, 감국, 산구절초 라이브러리 구축 																					

1) 소재가공 및 효능평가

○ 발효소재 바이오리포좀 조건확립 : 막안전성 최적화(물리적, 화학적조건)

○ 발효소재 리포좀 조건 실험(선행실험)

- 리포좀 구성 조건 실험(발효자소엽 원료 사전 실험 수행)

리포좀 구성(안)			
Sample	추출물 함량(%)	Lecithin 함량(%)	제조공정
발효자소엽	100	-	-
1안	10	6.75	수상 및 포집물질 동시 첨가
2안		5	
3안		6.75	20% 수상 후 첨가
4안		5	



리포솜 구성별 제형 (발효자소엽 1안~4안)

- 리포솜 조건별 저장 안정성 테스트

리포솜 안정성		
Sample	pH	
	0일차	30일차
발효자소엽	5.04	
1안	5.73	5.63
2안	5.70	5.55
3안	5.74	5.74
4안	5.68	5.58

리포솜 안정성		
Sample	0일차	30일차
25°C		
45°C		

○ 리포솜 조건별 분산안정성 테스트

- 제타포텐셜

·입자 (*콜로이드) 가 분산 상태를 유지하는 힘.

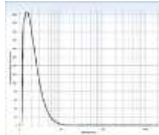
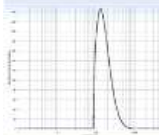
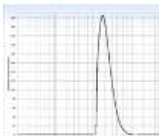
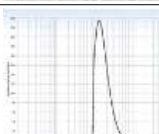
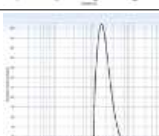
·절대 값이 클수록 콜로이드 입자간의 반발력이 커져 콜로이드 상태가 안정적임.

(*콜로이드 입자 : 1 nm~1 um 정도의 미립자가 액체 중에 응집하거나 침전하지 않고 분산된 상태. 일반적으로 음전하를 띰. 콜로이드로 존재하기 위해 콜로이드 간 반발력 존재)

- 리포솜 조건별 제타포텐셜 결과

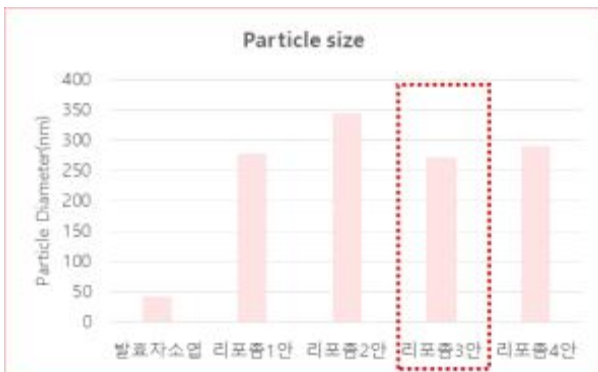
Zeta potential	
Sample	Zeta Potential (mV)
발효자소엽	- 7.86
1안	- 25.62
2안	- 42.97
3안	- 44.95
4안	- 41.04

- 리포솜 조건별 입도분석

Zeta potential		
Sample	Ave.Diameter(nm)	Volume Distribution
발효자소엽	41.5	
1안	277.8	
2안	343.2	
3안	271.8	
4안	290.0	

- 리포솜 조건 선정

- 적정 입자크기, 높은 제타포텐셜 값에 따라 리포솜 조건 3안으로 진행
- 효능증대를 위해 추출물 함량 50% 상향하여 우수발효소재 리포솜화 진행



<리포솜 조건 선정>

○ 발효소재 리포좀 최적화 실험(본실험)

- 리포좀 최적화 구성 조건

리포좀 구성(안)				
Sample		추출물 함량(%)	Lecithin 함량(%)	제조공정
라벤더	추출물	100	-	-
	10% 리포좀	10%	6.75	20% 수상 후 첨가
	50% 리포좀	50%		
자소엽	추출물	100	-	-
	10% 리포좀	10%	6.75	20% 수상 후 첨가
	50% 리포좀	50%		
레몬그라스	추출물	100	-	-
	10% 리포좀	10%	6.75	20% 수상 후 첨가
	50% 리포좀	50%		
찔레꽃	추출물	100	-	-
	10% 리포좀	10%	6.75	20% 수상 후 첨가
	50% 리포좀	50%		

- 리포좀 최적화 조건별 저장 안정성 테스트

리포좀 안정성				
Sample	추출물 함량	pH		발효추출물
		0일차	30일차	
라벤더	10%	5.51	5.45	4.82
	50%	5.23	5.20	
자소엽	10%	5.74	5.55	5.04
	50%	5.31	5.27	
레몬그라스	10%	5.95	5.78	5.54
	50%	5.77	5.72	
찔레꽃	10%	5.88	5.69	5.08
	50%	5.52	5.54	

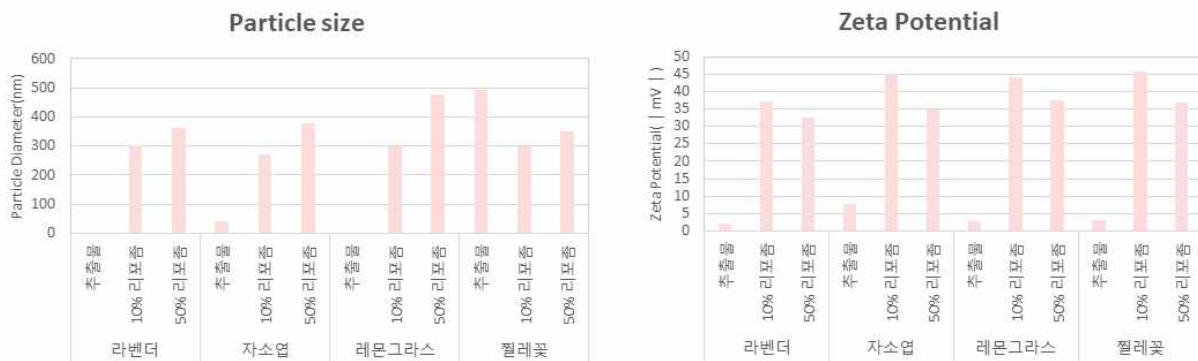
리포좀 안정성			
Sample			
		0일차	30일차
라벤더	10% 리포좀		
	50% 리포좀		
자소엽	10% 리포좀		
	50% 리포좀		
레몬그라스	10% 리포좀		
	50% 리포좀		

- 리포솜 최적화 조건별 분산안정성 테스트

Particle size & Zeta potential			
Sample	추출물 함량	Ave.Diameter(nm)	Zeta potential (mV)
라벤더	추출물	-	-2.06
	10% 리포솜	300.5	-37.06
	50% 리포솜	361.8	-32.43
자소엽	추출물	41.5	-7.86
	10% 리포솜	271.8	-44.95
	50% 리포솜	378.0	-34.89
레몬그라스	추출물	-	-2.86
	10% 리포솜	299.3	-44.13
	50% 리포솜	477.4	-37.58
썰레꽃	추출물	493.8	-3.08
	10% 리포솜	299.2	-45.87
	50% 리포솜	350.1	-36.72

- 리포솜 최적화 조건 선정

- 추출물 함량 증대에 따른 리포솜 입자크기 및 분산 안정성 미미한 차이 확인
- 추출물 함량별 리포솜 저장 안정성 모두 적합
- 효능증대를 위해 추출물 함량 50% 리포솜 조건으로 선정



<리포솜 최적화 조건 선정(추출물 함량 차이 비교)>

○ 생리활성기전연구(미백, 주름, 보습, 피부장벽)

○ 미백효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 마우스 흑색종세포주인 B16F10 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR : 마우스 흑색종세포주인 B16F10 세포에서 미백 관련 유전자에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6 well plate에 1 × 10⁵ cells로 분주한 후 24 시간 동안 배양하고, phenol-red free 배지로 교환한 후 시료를 100 µg/ml의 농도로 1 시간 전처리 후 200 nM α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA)를 72 시간 동안 처리하였다. 72 시간 뒤 시료를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였다. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였으며, 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 µL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음.

차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였고, 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹인 다음, RNA 농도 (1 OD =40 µg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 µM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 µL의 용액에서 총 RNA 1 µg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cycler 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward/Reverse	Sequences(5'→3')	CDS	Location		Size (bp)
Tyrosinase	D00440.1	Mouse	F	GGGATGAGAACTTCACTGTTCCATA	62-1663	741	765	158
			R	TGATCTGCTACAAATGATCTGCC		898	876	
TRP-1	BC076598.1	Mouse	F	TTCTCCCTTCCCTTACTGGAATTT	273-1886	1002	1024	152
			R	TCCAAGGATTCACAGACCAC		1153	1134	
TRP-2	AF111107.1	Mouse	F	CAGAAACAGTTTGTAGCACATCC	390-3608	1875	1897	161
			R	GCCAGCCAGTAGCCAAT		2035	2019	
MITF	BC108976.2	Mouse	F	CTCCTGTCCAGCCAACC	103-1362	618	634	152
			R	GGTCGTTTATGTTAAATCTTCTTCTTCG		769	742	
β-actin	NM_007393.5	Mouse	F	CGGCCAGGTCATCACTATT	110-1237	841	859	153
			R	GCATAGAGGTCTTTACGGATGTC		993	971	

<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
Tyrosinase	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
TRP-1					
TRP-2					
MITF					
β-actin					40

- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.

- 미백기전 연구결과 : 발효우주소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃)의 미백효과를 확인하기 위하여 마우스 흑색종세포인 B16F10 세포에서 멜라닌 합성에 관여하는 인자들의 기전연구를 수행하였음. 양성대조군으로는 rucinol을 200 nM의 농도로 사용하였으며, 발효우주소재 4종은 2%의 농도로 72시간동안 처리한 후, Tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MITF mRNA의 발현을 측정하였음. 멜라닌세포에서 멜라닌 생성 과정의 첫 단계는 멜라노솜 안에서 tyrosine이 tyrosinase 효소에 의해 L-DOPA, DOPA quinone, DOPA chrome으로 전환되는 반응임. 그 다음으로 티로시나제 관련 단백질 1과 2에 의해(tyrosinase related protein-1,-2, TRP-1, -2) 멜라닌 합성이 이루어지며, 최종적으로 멜라닌을 포함한 멜라노솜이 인접한 각질형성세포로 전달됨. 또한, 주요한 세포 내 신호전달 경로는 cyclic monophosphate/protein kinase A(cAMP/PKA) 경로로서, cAMP는 PKA, cAMP responsive element binding protein 1(CREB1)을 경유하여 Microphthalmia-associated transcription factor(MITF)의 발현을 촉진한다. MITF는 멜라닌 합성 과정에서 중요한 전사 조절 인자로 tyrosinase, TRP-1와 TRP-2의 전사를 촉진하는 것으로 알려져 있음.

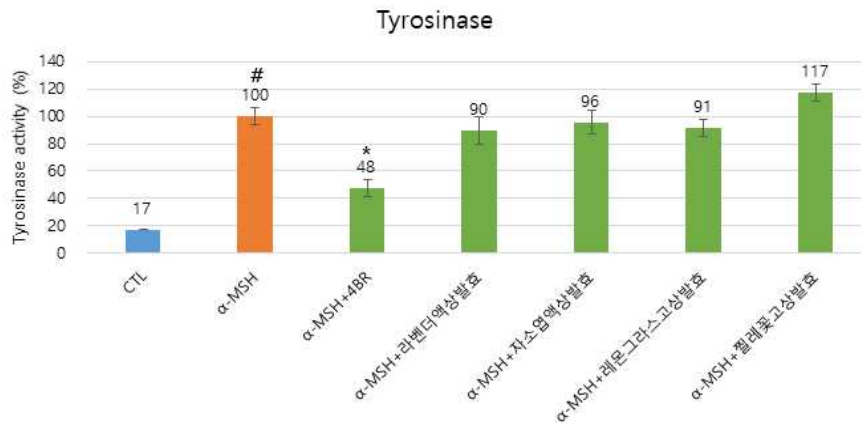
·Tyrosinase 발현량의 경우, Melanogenesis를 유도하는 α -MSH 처리구는 대조구에 비해 멜라닌 합성이 약 5.8 배의 증가하였으며, α -MSH와 양성대조군인 rucinol을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 52%의 억제율을 나타냈음. α -MSH와 각 발효물을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스 발효물에서 각각 10%, 4%, 9%의 억제율을 나타내어 유의미한 억제율의 증가를 나타내진 못하였음.

·TRP-1 발현량의 경우, α -MSH 처리구는 대조구에 비해 멜라닌 합성이 약 7.7 배의 증가하였으며, α -MSH와 양성대조군인 rucinol을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 66%의 억제율을 나타냈음. α -MSH와 각 발효물을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 54%, 46%, 52%, 66%의 억제율을 나타내어 유의미한 억제율의 증가를 나타내었음.

·TRP-2 발현량의 경우, α -MSH 처리구는 대조구에 비해 멜라닌 합성이 약 2.1 배의 증가하였으며, α -MSH와 양성대조군인 rucinol을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 48%의 억제율을 나타냈음. α -MSH와 각 발효물을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 17%, 55%, 53%의 억제율을 나타내어 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 유의미한 억제율의 증가를 나타내었음.

·MITF 발현량의 경우, α -MSH 처리구는 대조구에 비해 멜라닌 합성이 약 2.1 배의 증가하였으며, α -MSH와 양성대조군인 rucinol을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 32%의 억제율을 나타냈음. α -MSH와 각 발효물을 처리한 경우 α -MSH 처리구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스 발효물에서 각각 22%, 28%, 21%의 억제율을 나타내어 유의미한 억제율의 증가를 나타내진 못하였음.

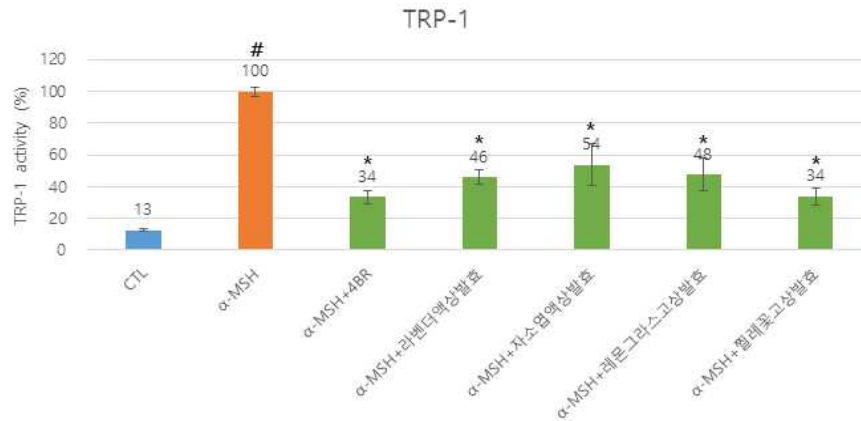
·결과적으로 라벤더엑상발효물과 자소엽엑상발효물은 TRP-1 발현억제, 레몬그라스고상발효물과 찔레꽃고상발효물은 TRP-1과 TRP-2 발현억제를 하였음. 이들 유전자의 발현억제는 멜라닌 합성 신호전달 체계에서 주요한 티로시나제 관련 단백질의 발현을 억제시키므로 멜라닌 합성을 낮추는 미백 효과가 있을 것으로 기대됨.



<마우스 흑생종세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 Tyrosinase 유전자에 미치는 영향>

$p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

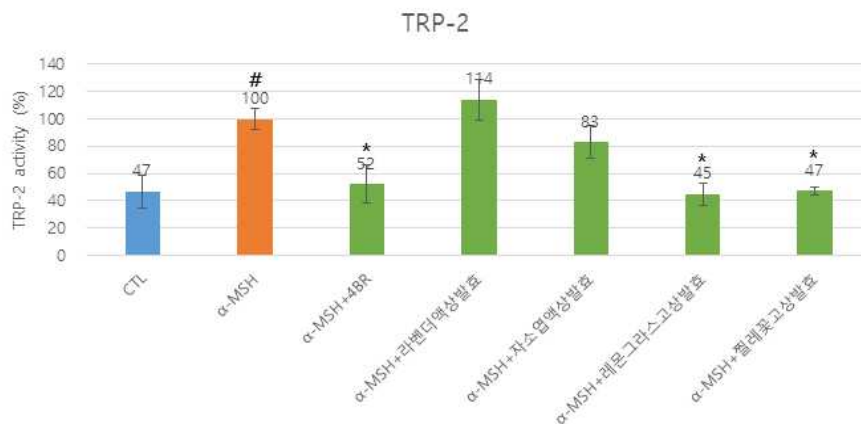
* $p < 0.05$, α-MSH 처리구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<마우스 흑생종세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 TRP-1 유전자에 미치는 영향>

$p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

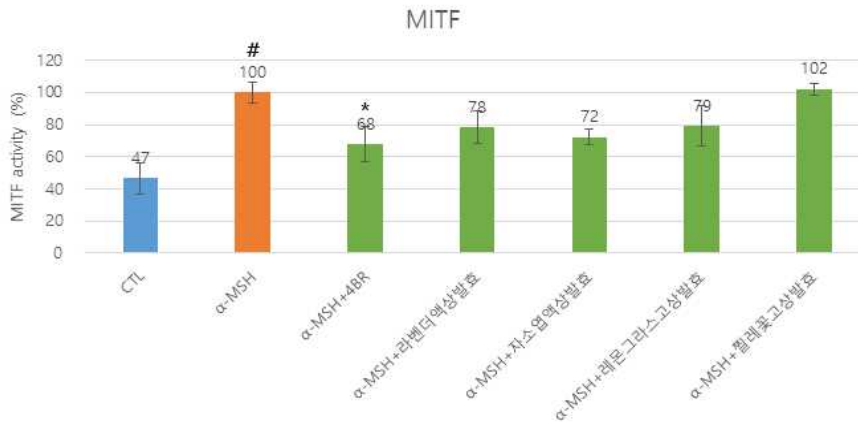
* $p < 0.05$, α-MSH 처리구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<마우스 흑생종세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 TRP-2 유전자에 미치는 영향>

$p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

* $p < 0.05$, α-MSH 처리구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<마우스 흑생종세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 MITF 유전자에 미치는 영향>

$p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

* $p < 0.05$, α-MSH 처리구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 주름개선효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 섬유아세포주인 HS27 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR : 섬유아세포주인 HS27 세포에서 주름개선 관련 유전자에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6 well plate에 8×10^5 cells로 분주한 후 24시간 동안 배양하였음. 배양한 세포는 serum free DMEM 배지로 2번 세척 후 serum free DMEM 배지로 교체한 뒤 시료를 48 시간 처리하였음. 48 시간 뒤 시료를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였다. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였으며, 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 μL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였고, 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹인 다음, RNA 농도(1 OD =40 μg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 μM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 μL의 용액에서 총 RNA 1 μg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cycler 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

<PCR primers for real-time RT-PCR>

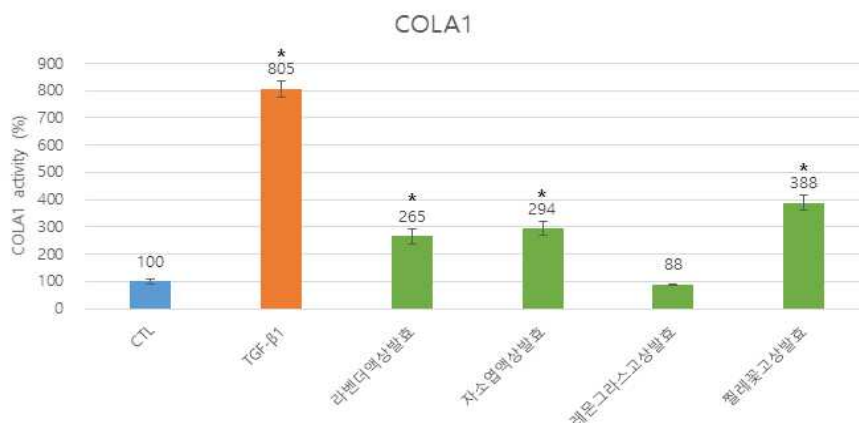
Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward/Reverse	Sequences(5'→3')	CDS	Location		Size (bp)
COLA1	NM_000088.3	Human	F	CTGGTCTTCCAGGCCTAA	127-4521	2333	2351	157
			R	CCGCTGGGACCACTTTCA		2489	2472	
PCLOCE	AB008549.1	Human	F	TGACCTGGAGCCGGACA	57-1406	671	687	151
			R	GAACTGGACGAGGAGTTCATTC		821	800	
Elastin	BC065566.1	Human	F	GGTGTGTCCACCAAGCA	321-2007	1086	1104	156
			R	GCGACTCCAGGGATACC		1241	1225	
MMP-9	NM_004994.3	Human	F	CATTCATCTTCCAAGCCAATC	20-2143	891	912	201
			R	ACTCCTTACCCAGGAAAGTG		1091	1072	
MMP-13	NM_002427.3	Human	F	TGTTTCTATCTACACCTACACCG	30-1445	748	771	150
			R	GGGATAAGGAAGGTTCACATT		897	877	
β-actin	NM_0011101.4	Human	F	CACTGTGCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTCACGCACGATTTTC		831	811	

<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
COLA1	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
PCLOCE					
MMP-9					
MMP-13					
β-actin					40

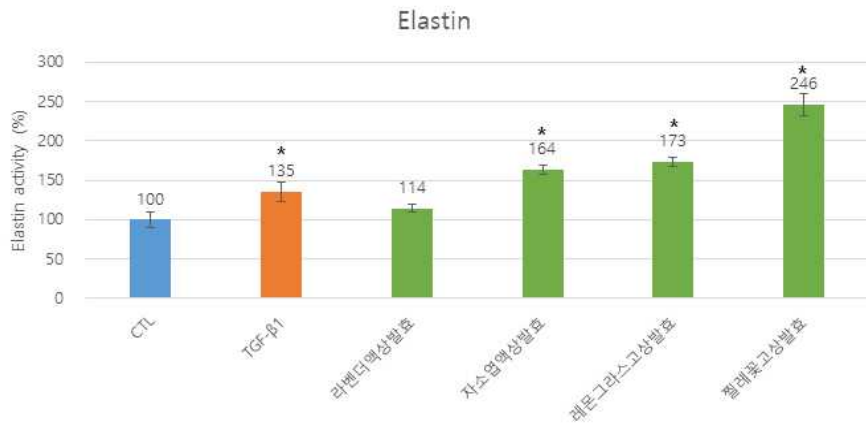
- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad Instat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.
- 주름개선 기전 연구결과 : 발효우수수재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 짚레꽃)의 주름개선효과를 확인하기 위하여 섬유아세포인 HS27 세포에서 콜라겐 합성 및 분해에 관여하는 인자들의 기전연구를 수행하였음. 콜라겐합성관련 유전자 기전연구에서는 양성대조군으로 TGF-beta1을 10 ng/ml의 농도로 사용하였으며, 발효우수수재 4 종은 2%의 농도로 48 시간동안 처리한 후, COLA1, PCLOCE mRNA의 발현을 측정하였음. 피부가 노화하거나 자외선에 노출되면 피부섬유아세포 (fibroblast)에서 콜라겐(collagen)과 엘라스틴(elastin)이감소하게 돼 피부의 주름을 형성하고 피부탄력의 저하를 일으키는 물론 다양한 염증을 유발시켜 피부를 손상시킨다. 콜라겐은 피부 탄력과 보습 유지에 중요한 역할을 하는 물질로 알려져있음. 콜라겐분해관련 유전자 기전연구에서는 양성대조군으로 Retinyl palmitate를 100 µg/ml의 농도로 사용하였으며, 발효우수수재 4종은 2%의 농도로 72시간동안 처리한 후, MMP-9, MMP-13 mRNA의 발현을 측정하였음. 피부에는 콜라겐을 분해하는 많은 콜라겐분해효소(collagenase)가 존재하는데, 정상 피부에서 콜라겐분해효소는 필요 이상의 콜라겐이 만들어졌을 때 과다한 콜라겐을 분해하거나, 콜라겐섬유가 손상을 받아 정상이 아닐 경우 경우에 작동하여 손상된 콜라겐섬유를 분해하여 정상으로 유지하기 위한 역할을 하고 있다. 노화나자외선 노출에 의해 콜라겐이 분해되는데, 여러 콜라겐분해효소 중 가장 중요한 역할을 하는 것이 매트릭스 메탈로프로테아제 (matrix metalloproteinases, MMPs) 효소로 알려져 있음.

- COLA1 발현량의 경우, 양성대조군인 TGF-beta1 처리구는 대조구에 비해 약 8.0배 증가시켰음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 라벤더, 자소엽, 찔레꽃 발효물에서 각각 2.7배, 2.9배, 3.9배 증가되어 유의미한 발현량의 증가를 나타내었음.
- Elastin 발현량의 경우, 양성대조군인 TGF-beta1 처리구는 대조구에 비해 약 1.4배 증가시켰음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 1.1배, 1.6배, 1.7배, 2.5배 증가되어 자소엽, 찔레꽃 발효물에서 유의미한 발현량의 증가를 나타내었음.
- MMP-9 발현량의 경우, 양성대조군인 Retinyl palmitate 처리구는 대조구에 비해 약 96% 억제율을 나타냈음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 14%, 37%, 72%, 27% 억제되어 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 유의미한 발현량의 억제율을 나타내었음.
- MMP-13 발현량의 경우, 양성대조군인 Retinyl palmitate 처리구는 대조구에 비해 약 91% 억제율을 나타냈음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 레몬그라스 발효물에서 각각 30% 억제되어 유의미한 발현량의 억제율을 나타내었음.
- PCLOCE 발현량의 경우, 양성대조군인 TGF-beta1 처리구는 대조구에 비해 약 2.6배 증가시켰으나 각 발효물에서 유의미한 발현량의 증가를 나타내진 못하였음.
- MMP-1, MMP-3의 경우 양성대조군인 Retinyl palmitate 처리구는 대조구에 비해 각각 약 60%, 26% 억제율을 나타냈으나, 각 발효물에서 유의미한 억제율을 나타내지 않았음.
- 결과적으로 라벤더엑상발효물은 COLA1 발현증가, 자소엽엑상발효물은 COLA1, ELASTIN 발현증가 및 MMP-9, MMP-13 발현억제, 레몬그라스고상발효물 Elastin 발현증가 및 MMP-9 발현억제, 찔레꽃고상발효물은 COLA1, Elastin 발현증가 및 MMP-9 발현억제를 하였음. 콜라겐합성관련 유전자 및 엘라스틴 유전자의 발현증가와 콜라겐분해효소 발현억제는 콜라겐의 분해방지 및 콜라겐, 엘라스틴의 생성량을 증가시켜 피부 탄력과 보습, 생체염증방어에 중요한 역할로 피부주름개선의 효과가 기대됨.



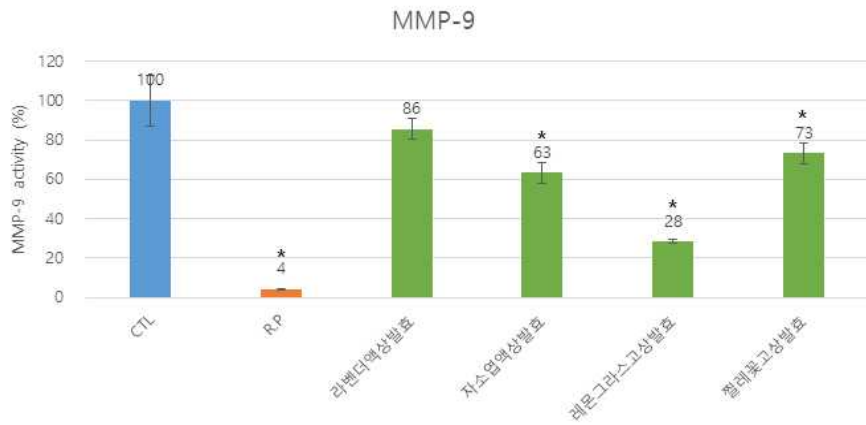
<섬유아세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 COLA1 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



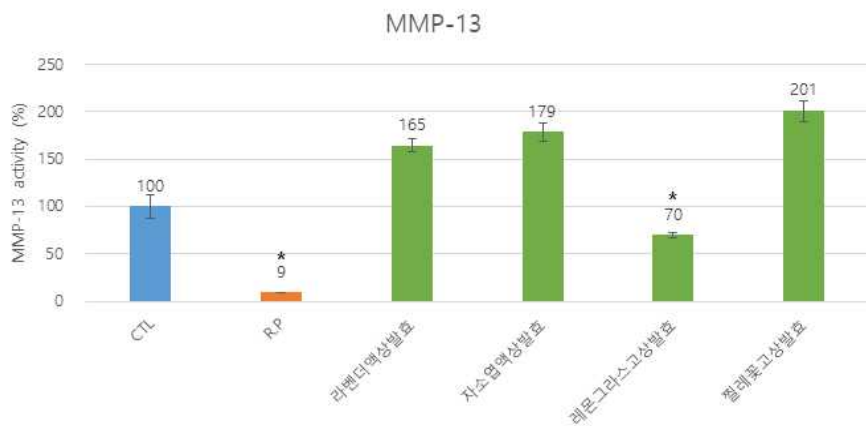
<섬유아세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 Elastin 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<섬유아세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 Elastin 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<섬유아세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 Elastin 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조구에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 보습효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 피부각질 세포주인 HaCaT 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR : 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 보습인자인 히알루론산 생성에 관련된 유전자에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6 well plate에 8×10⁵ cells/well 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 serum free 배지로 교환한 후 발효 전 후 추출물 시료를 처리한 후 48 시간동안 배양하였음. 48 시간 뒤 시료를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였다. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였으며, 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 µL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였고, 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹인 다음, RNA 농도(1 OD =40 µg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 µM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 µL의 용액에서 총 RNA 1 µg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cycler 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cycler Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

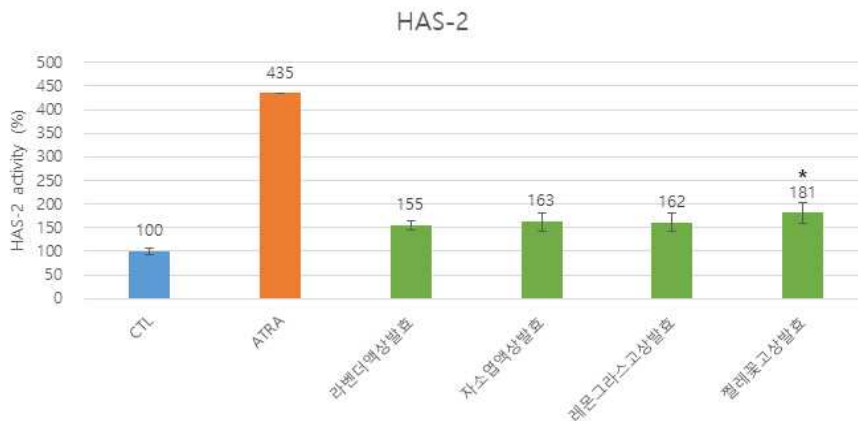
<PCR primers for real-time RT-PCR>

Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward/Reverse	Sequences(5'→3')	CDS	Location		Size (bp)
HAS2	NM_005328.2	human	F	GCAGTGTAAGATATTGGATGGC	539-2197	1305	1326	151
			R	CCCATAAAATTCCTGATTGTACCAATCTTC		1455	1427	
HAS3	AF234839.1	human	F	TGTCCAGATCCTCAACAAGTACGA	157-1818	888	911	157
			R	CTGGAGGAGGCTGTTGC		1044	1028	
β-actin	NM_001101.4	human	F	CACTGTGCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTACGCACGATTTC		831	811	

<Real-time RT-PCR conditions>

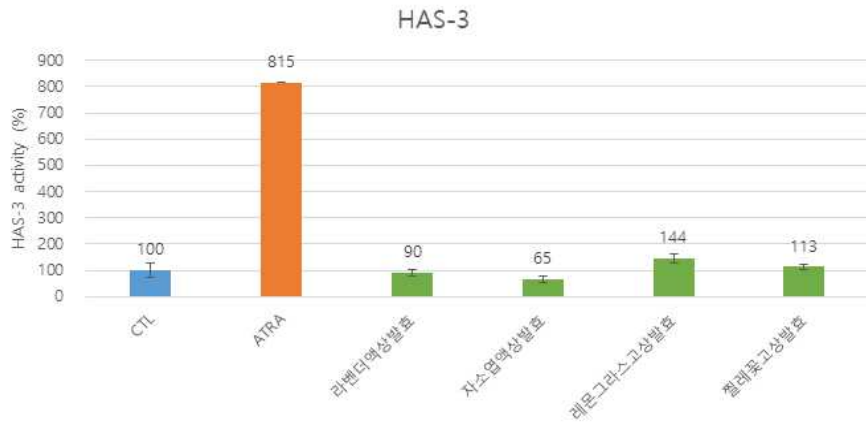
Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
HAS2	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
HAS3					
β-actin					40

- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad InStat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.
- 보습 연구결과 : 발효우수소재 4종 조성물의 피부보습에 미치는 영향을 확인하기 위하여 피부각질 세포인 HaCaT 세포에서 히알루론산 합성효소(hyaluronan synthase, HAS)의 mRNA의 발현을 조사하였음. 양성대조군으로 히알루론산(hyaluronic acid, HA)을 생성하는 all-trans retinoic acid (ATRA)를 2 μM 사용하였으며 발효우수소재 4 종은 2%의 농도로 48 시간동안 처리한 후, HAS-2, HAS-3 mRNA의 발현을 측정하였음. 피부보습을 유지하는 히알루론산은 표피의 기저층과 유극층에서 활발한 합성이 일어나고 HAS에 의해 생성이 되는데 HAS-2는 fibroblast에서 HAS3는 keratinocyte에서 과발현된다고 알려져 있음. 그리고 HAS-2와 HAS-3는 히알루론산 합성에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있음.
 - HAS-2 발현량의 경우, 양성대조군인 ATRA 처리구는 대조구에 비해 약 4.4배 증가시켰음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 1.6배, 1.6배, 1.6배, 1.8배 증가되어 찔레꽃 발효물에서 유의미한 발현량의 증가를 나타내었음.
 - HAS-3 발현량의 경우, 양성대조군인 ATRA 처리구는 대조구에 비해 약 8.1배 증가시켰음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 1.4배, 1.1배 증가되었지만, 유의미한 발현량의 증가를 나타내지 않았음.
 - 결과적으로 레몬그라스고상발효물과 찔레꽃고상발효물은 HAS-2, HAS-3의 발현증가를 나타내어 히알루론산 합성 및 생성을 높이는 결과로 보습효과가 기대됨.



<피부각질세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 HAS-2 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부각질세포에서 발효우수소재 4종 조성물의 HAS-3 유전자에 미치는 영향>

* $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

○ 피부장벽효능

- 세포주 및 세포배양 : 본 실험에 사용된 피부각질 세포주인 HaCaT 세포는 heat inactivation 10% fetal bovine serum (Merck, MA, USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 함유된 DMEM (High glucose, Welgene, Daegu, Korea)를 사용하였으며 5% CO₂, 37°C 세포 배양기에서 배양하였음.
- 유전자발현분석을 위한 RNA 분리 및 real-time PCR : 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 피부장벽에 관련된 유전자에 영향을 미치는지 조사하기 위하여 6 well plate에 8×10⁵ cells/well 분주하고 24시간 배양하였음. 24시간 뒤에 serum free 배지로 교환한 후 발효 전 후 추출물 시료를 처리한 후 48 시간동안 배양하였음. 48 시간 뒤 시료를 처리한 세포에서 RNA를 추출하기 위해 total RNA extraction reagent인 tri reagent (RNAiso PLUS, Takara, Otsu, Japan)를 이용하였다. Tri reagent 1 mL을 세포에 넣은 후 15초 동안 vortex하였으며, 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 chloroform 200 µL를 넣고 20초간 vortex한 후 원심 분리한 다음 상층액을 새로운 튜브에 옮겼음. 차가운 isopropanol 동량을 넣고 상온에서 10분 동안 방치하였고, 이를 다시 15,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 RNA 침전물을 얻었음. RNA 침전물을 75% ethanol로 씻은 후, 침전물을 수 분간 실온에서 건조시켜 0.1% diethyl pyrocarbonate (DEPC) water에 녹인 다음, RNA 농도(1 OD =40 µg/mL)는 Evolution 260 Bio UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific, CA, USA)를 이용하여 260 nm에서 측정하였음. First strand cDNA을 1x reverse transcriptase reaction buffer (Roche, Mannheim, Germany), 20 U RNase inhibitor (Roche), 1 mM each dNTP, oligo (dT)₁₈ 2.5 µM과 reverse transcriptase (Roche) 10 U가 함유된 20 µL의 용액에서 총 RNA 1 µg으로부터 합성하였음. 합성한 cDNA를 멸균된 3차증류수로 5배 희석한 후 실시간 PCR 은 Fast Start DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche)을 이용하여 Light Cyclor 2.0 (Roche)에서 증폭하였다. 사용한 primer와 PCR 조건은 아래 표와 같으며 유전자의 정량분석은 Light Cyclor Software 4.0 (Roche)을 이용하였음.

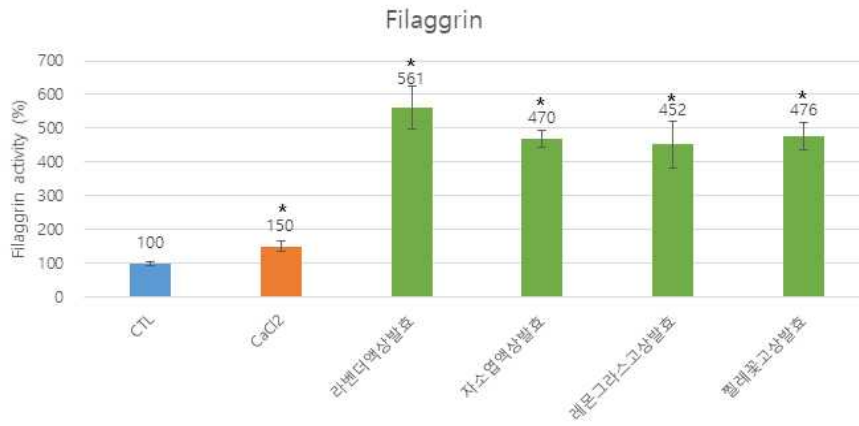
<PCR primers for real-time RT-PCR>

Gene	NCBI Reference Sequence	Species	Forward/Reverse	Sequences(5'→3')	CDS	Location		Size (bp)
Filaggrin	AH002947.2	human	F	GGCTAAGTCAAAGACTTGAAGAGA	2586-4929	3751	3774	157
			R	AATAGACTATCAGTGGTGTCATAGG		3907	3883	
Involucrin	AH002845.2	human	F	GGCAGCTGAAGTACCTGGAA	964-2721	1805	1824	169
			R	TCCAGCTGCTCCAGTTG		1973	1957	
β-actin	NM_001101.4	human	F	CACTGTGCCCATCTACG	193-1320	675	691	157
			R	CTTAATGTCACGCACGATTC		831	811	

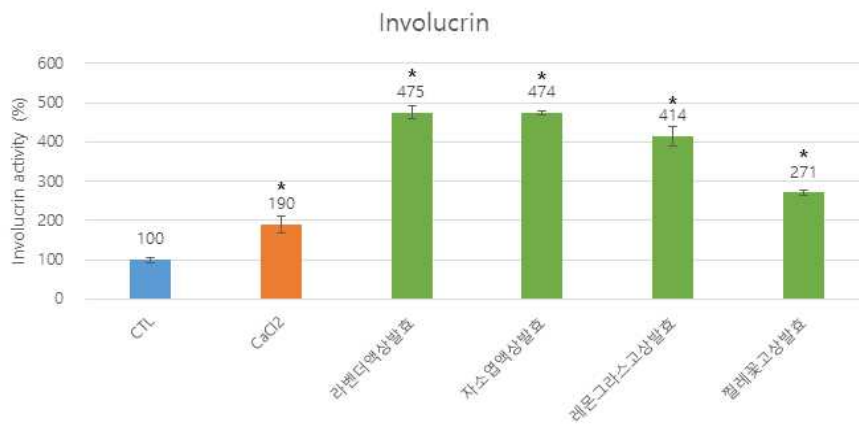
<Real-time RT-PCR conditions>

Gene	Hot start	Denaturation	Annealing	Extension	Cycles
Filaggrin	95°C, 10 min	95°C, 15 sec	60°C, 10 sec	72°C, 10 sec	45
Involucrin			64°C, 10 sec		
β-actin			60°C, 10 sec		40

- 통계분석 : 모든 분석 자료는 평균±표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며 실험결과는 GraphPad Instat (La Jolla, CA, USA)를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였고 통계적인 분석은 one-way analysis of variance with tukey-kramer multiple comparisons test 방법을 이용하였음.
- 피부장벽 연구결과 : 발효우수수재 4종 조성물의 피부장벽에 미치는 영향을 확인하기 위하여 피부 각질세포인 HaCaT 세포에서 피부장벽관련인자인 filaggrin과 involucrin의 mRNA의 발현을 조사하였음. 양성대조군으로 히알루론산(hyaluronic acid, HA)을 생성하는 Calcium chloride (CaCl₂)를 2 mM 사용하였으며 발효우수수재 4 종은 2%의 농도로 48 시간동안 처리한 후, filaggrin과 involucrin mRNA의 발현을 측정하였음. 피부보호를 위한 피부의 장벽기능은 각질 층 구조체를 통해서 나타나며 각질형성세포의 분화가 시작되면서 involucrin, filaggrin 등의 피부 장벽과 관련된 유전자들의 발현이 증가하고 이들이 결합하여 각질층의 피부장벽기능의 가장 중요한 기능을 담당하는 각질세포막을 형성함. 또한 피부장벽의 손상이 일어나게 되면 피부 내 표피의 칼슘이온농도의 변화와 지질합성 및 층판소체분비의 증가, 지질이중막 형성으로 손상을 회복하게 되지만, 피부장벽 기능이 떨어지게 되면 피부 건조증으로 이어지게 되며 아토피와 같은 질환으로 유발될 확률이 높아짐.
 - Filaggrin 발현량의 경우, 양성대조군인 CaCl₂ 처리구는 대조구에 비해 약 1.5배 증가시켰음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 5.6배, 4.7배, 4.5배, 4.7배 증가되어 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 유의미한 발현량의 증가를 나타내었음.
 - Involucrin 발현량의 경우, 양성대조군인 CaCl₂ 처리구는 대조구에 비해 약 1.9배 증가시켰음. 각 발효물을 처리한 경우 대조구에 비해 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 각각 4.7배, 4.7배, 4.1배, 2.7배 증가되어 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 발효물에서 유의미한 발현량의 증가를 나타내었음.
 - 결과적으로 라벤더엑상발효물, 자소엽엑상발효물, 레몬그라스고상발효물과 찔레꽃고상발효물은 filaggrin, involucrin의 발현증가를 나타내어 각질층의 각질세포막을 형성하는 결과로 피부장벽 효과가 기대됨.



<피부각질세포에서 발효우주소재 4종 조성물의 Filaggrin 유전자에 미치는 영향>
 * $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정



<피부각질세포에서 발효우주소재 4종 조성물의 Involucrin 유전자에 미치는 영향>
 * $p < 0.05$, 대조군에 비해 유의성이 있는 것으로 판정

2) 소재 자원화

○ 화장품 원료 등재 및 라이브러리 구축

○ 화장품원료 등재

- 선행연구를 통해 선별된 우수소재인 2종 발효물 중 찔레꽃고상발효물과 레몬그라스고상발효물의 원료 등재 진행중.

<International Nomenclature Committee Information>	
Ingredient	-Vegetable
Trade Name	-Lactobacillus/Cymbopogon Citratus Leaf Ferment Extract (NCN)
Suggested INCI Name	-Lactobacillus/Cymbopogon Citratus Leaf Ferment Extract
CAS Number	-1,3-Butylene Glycol 107-88-0
Genus and Species of Plant	-Cymbopogon Citratus, Leaf
Identity of Material Fermented	-None
Process after Fermentation	-Filtrate
Composition Statement	-Lactobacillus/Cymbopogon Citratus Leaf Ferment Extract 5%, BG 40%, water to 100%
Manufacturing Method	1. The fermentation of the leaves of Cymbopogon Citratus using <i>Lactobacillus brevis</i> 2. Sterilization 3. Sample was extracted with solvent 4. Filtration with membrane filter(0.45µm)
Function	-Antimicrobial, Skin conditioning-Humectant



May 25, 2021

Application No. 1-04-2021-12117

Submitted By:

Mrs. Jihyo Kim
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
Republic of Korea

Manufactured By:

Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
KOREA (SOUTH)

Trade Name:

Lactobacillus/Cymbopogon Citratus Leaf Ferment Extract (NCN)

Assigned INCI Name:

Water (and) Butylene Glycol (and) Lactobacillus/Cymbopogon Citratus Leaf Ferment Extract Filtrate

<레몬그라스고상발효물 ICID 등재>

<International Nomenclature Committee Information>

Ingredient	-Vegetable
Trade Name	-Lactobacillus/Rosa Multiflora Flower Ferment Extract (NCN)
Suggested INCI Name	-Lactobacillus/Rosa Multiflora Flower Ferment Extract
CAS Number	-1,3-Butylene Glycol 107-88-0
Genus and Species of Plant	-Rosa Multiflora, Flower
Identity of Material Fermented	-None
Process after Fermentation	-Filtrate
Composition Statement	-Lactobacillus/Rosa Multiflora Flower Ferment Extract 2%, BG 40%, water to 100%
Manufacturing Method	1. The fermentation of the flowers of Rosa Multiflora using <i>Lactobacillus brevis</i> 2. Sterilization 3. Sample was extracted with solvent 4. Filtration with membrane filter(0.45µm)
Function	-Antioxidant, Skin conditioning-Humectant



May 25, 2021

Application No. 1-04-2021-12116

Submitted By:

Mrs. Jihyo Kim
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
Republic of Korea

Manufactured By:

Institute of Natural Cosmetic Industry for Namwon
43, Simyo-gil, Jeollabuk-do
Namwon-si, 55801
KOREA (SOUTH)

Trade Name:

Lactobacillus/Rosa Multiflora Flower Ferment Extract (NCN)

Assigned INCI Name:

Water (and) Butylene Glycol (and) Lactobacillus/Rosa Multiflora Flower Ferment Extract Filtrate

<췍레꽃고상발효물의 ICID 등재>

○ 라이브러리 구축

- 남원 허브 특화자원의 원료표준화 및 소재자원화 기반 조성과 화장품소재 확보를 통한 홍보기반 마련을 위해 라이브러리 구축을 진행하였음. 남원 허브 중 4차년도에 구축한 라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃 4종 외 캐모마일, 바위솔, 흰민들레, 감국, 산구절초의 라이브러리 구축을 완료하였음.
- 코드번호는 (재)남원시화장품산업지원센터의 남원·지리산권 자원식물 리스트내에 수록된 품목의 번호와 라이브러리 구축 품목 순으로 부여하였음.

<남원허브특화자원 라이브러리구축>

품목	코드	학명	효능 부위	원물 채취지역	추출물 (원료명 국문, INCI)	종자 (채종시기, 채종지역)	사진 (원물, BG추출물, 종자)
캐모마일	NCN0800-FL-0005	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	꽃	남원시 운봉읍	마트리카리아꽃 추출물, Chamomilla Recutita (matricaria) Flower Extract	2021.5, 남원시 운봉읍	
바위솔	NCN0351-AP-0006	<i>Orostachys japonica</i> (Maxim.) A.Berger	전초	남원시 송동면	바위솔추출, Orostachys Japonica Extract	2021.10, 남원시 운봉읍	
흰민들레	NCN0901-AP-0007	<i>Taraxacum coreanum</i> Nakai	전초	남원시 운봉읍	흰민들레추출물, Taraxacum Coreanum Extract	2021.4, 남원시 운봉읍	
곤달비	NCN0080-AP-0008	<i>Ligularia stenocephala</i> (Maxim.) Matsum. & Koidz	전초	남원시 주천면	곤달비추출물, Ligularia stenocephala Extract	2021.5 남원시 주천면	
감국	NCN0027-FL-0009	<i>Dendranthema indicum</i> (L.) Des Moul.	꽃	남원시 운봉읍	감국추출물, Chrysanthellum Indicum Flower Extract	2021.10, 남원시 운봉읍	
산구절초	NCN0441-AP-0010	<i>Dendranthema zawadskii</i> (Herbich) Tzvelev	전초	남원시 운봉읍	산구절초추출, Chrysanthemum Zawadskii Extract	2021.10, 남원시 운봉읍	

다. 우석대학교 산학협력단(제2협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
5차 년도 (2021)	남원지역 특화자원의 지표성분 표준화 및 밸리데이션	지표(유효)성분 정량 및 발효소재 바이오포솜 조건 최적화	○ 기능성(항산화) 평가 및 발효소재 바이오포솜 조건 최적화	- 발효소재 바이오포솜에서 발효소재보다 지표성분의 함량이 증가하였음.(단, 라벤더의 리포솜 제형에서 rosmarinic acid 불검출) - 라벤더(rosmarinic acid): N.D - 자소엽(rosmarinic acid): 6.04µg/g - 레몬그라스(chlorogenic acid): 7.07µg/g - 찔레꽃(astragalín): 33.43µg/g
		기능성(항산화) 평가 및 발효소재 바이오포솜 조건 최적화	○ 발효소재 바이오포 솜 조건에 따른 기능성 (항산화) 비교	- 바이오포솜보다 발효소재에서 더 좋은 활성을 나타내었음. - 바이오포솜에서 DPPH 라디칼 소거능 활성: 찔레꽃>레몬그라스>자소엽>라벤더 - 발효소재에서 DPPH 라디칼소거능 활성: 찔레꽃>자소엽>레몬그라스>라벤더
		생리활성기전연구	○ 항산화	- 처리구 V는 Xanthin oxidase 효소를 농도 의존적으로 강하게 억제(IC50: 39.66±2.92µg/mL). - Raw264.7세포주에서 처리구 V의 세포독성평가 : 세포독성 없음 - SOD 활성 평가: LPS 처리 대비 처리구 V(100µg/mL)에서 SOD 활성 증가 (76.9%) - ROS 형광이미지 분석: 농도 의존적으로 ROS 활성 억제, 100µg/mL에서 8.0%로 양성대 조균(4-BHA)와 동등한 활성을 나타냄. - 처리구 V NO억제 활성평가: 억제활성 없음.

1) 지표(유효)성분 정량 및 발효소재 바이오포솜 조건 최적화

○ 발효소재 바이오포솜 조건에 따른 지표(유효) 성분 비교정량

○ 발효소재 바이오포솜의 전처리

- (재)남원시화장품센터에서 제공받은 발효소재 바이오포솜의 지표 성분 정량을 위해 시료 전처리를 하였음. Diethyl ether를 사용하여 리포솜시료 : Diethyl ether = 1 : 2의 비율로 섞어 정치하는 방법으로 리포솜화를 제거하였음. 분석에는 분리된 아래층을 사용하였음.

○ 발효소재 바이오포솜의 분석조건

- 분석조건: 분석조건은 gradient program을 사용하여 다음과 같이 분석하였음. (표 크기 수정했음)

Analytical condition		Gradient Program		
		Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
Pump 1	0.1%formic acid+DW	0-2	0	100
Pump 2	0.1%formic acid+MeCN	2-50	40	60
Flow rate	1ml / min	50-55	100	0
Column oven temp.	40°C	55-60	100	0
UV detector	DAD(225, 237, 248, 324nm)	60-65	0	100
		65-70	0	100

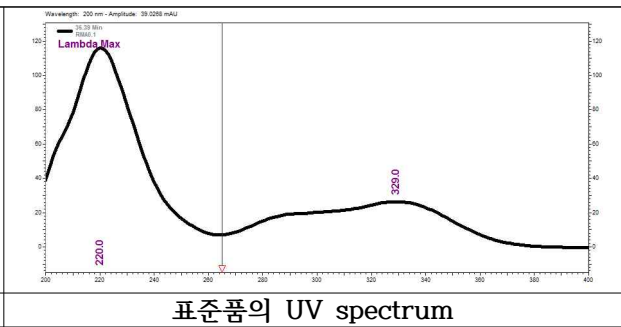
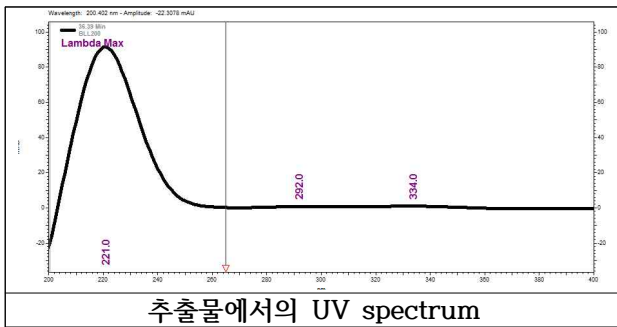
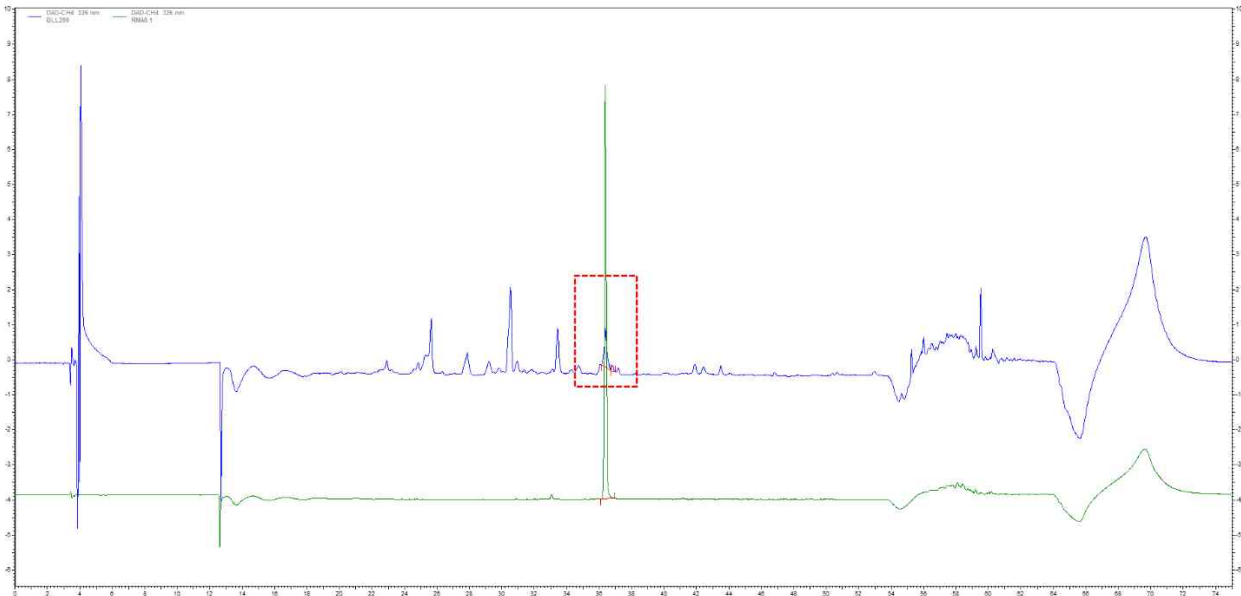
- 각 소재의 지표성분은 선행연구 결과를 바탕으로 라벤더는 rosmarinic acid, 자소엽은 rosmarinic acid, 레몬그라스는 chlorogenic acid, 찔레꽃은 astragalín으로 선정하였음.

- 발효소재와 발효소재 바이오포솜의 지표성분의 함량을 비교하였을 때, 자소엽과 찔레꽃은 바이오포솜에서 각 지표성분의 함량이 증가하는 것을 확인하였음.

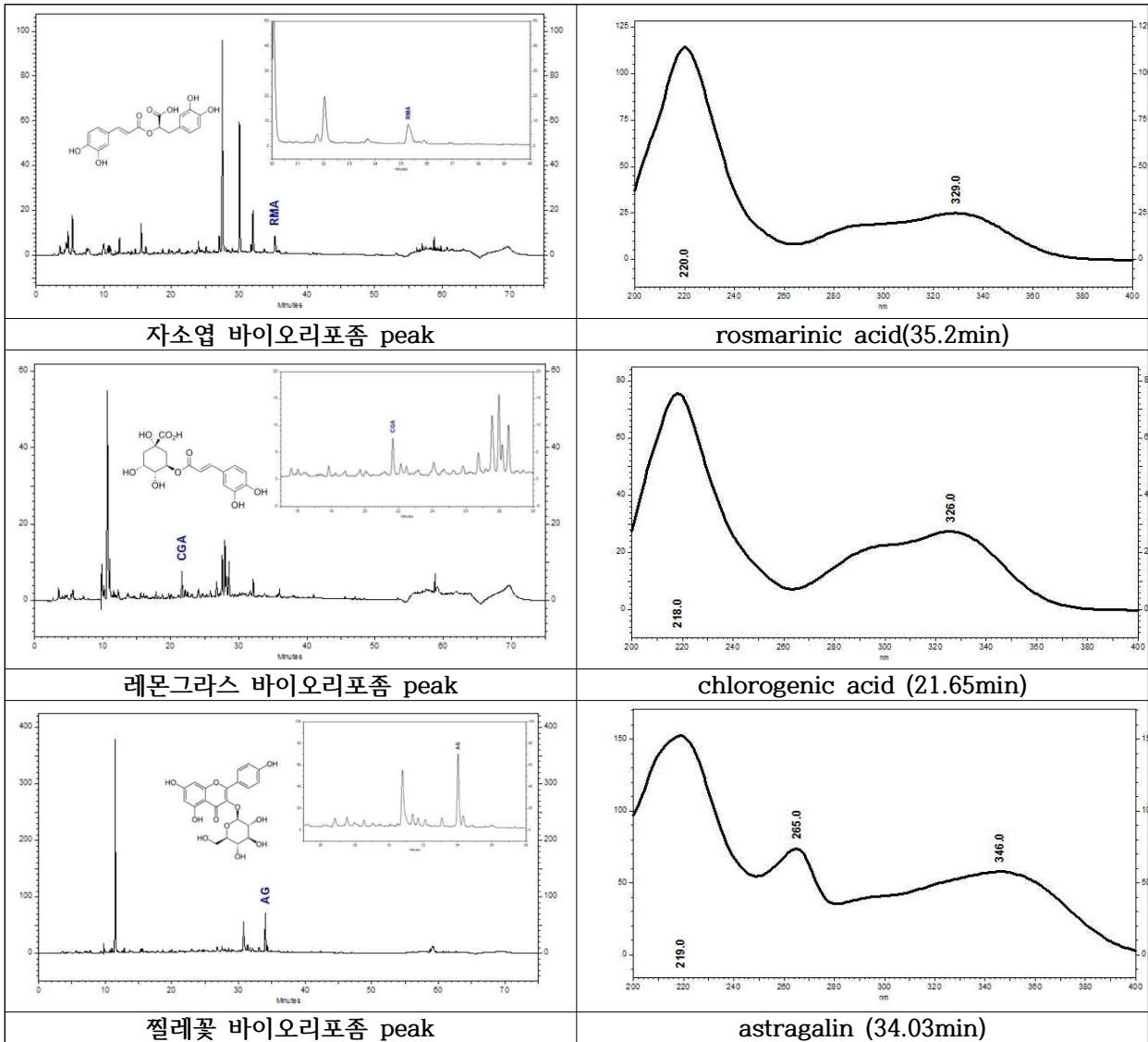
- 단, 라벤더 발효소재 바이오포솜에서는 rosmarinic acid를 검출할 수 없었음. 바이오포솜에서 리포솜을

제거하는 시료 전처리 과정에서 Diethyl ether를 사용하였는데, 성분이 ether 층으로 가는 넘어갔다기보다는 제형을 만드는 과정을 포함하여 전처리 과정 중에 어떤 요인에 의해 소실 된 것으로 생각되어짐.

-아래의 HPLC peak에서 표준품(green)과 바이오표준의 peak를 merge하였을 때 표시한 부분이 rosmarinic acid로 예상되는 부분임. 그러나, 해당 부분의 UV spectrum을 비교하였을 때, 표준품의 UV spectrum과 다른 것을 확인할 수 있었음.



소재	발효 소재 바이오표준 (µg/g)	발효 소재 (µg/g)	증감
라벤더(rosmarinic acid)	N.D	2.32	▼
자소엽(rosmarinic acid)	6.04	1.40	▲
레몬그라스(chlorogenic acid)	7.07	12.94	▼
찔레꽃(astagalgin)	33.43	9.24	▲



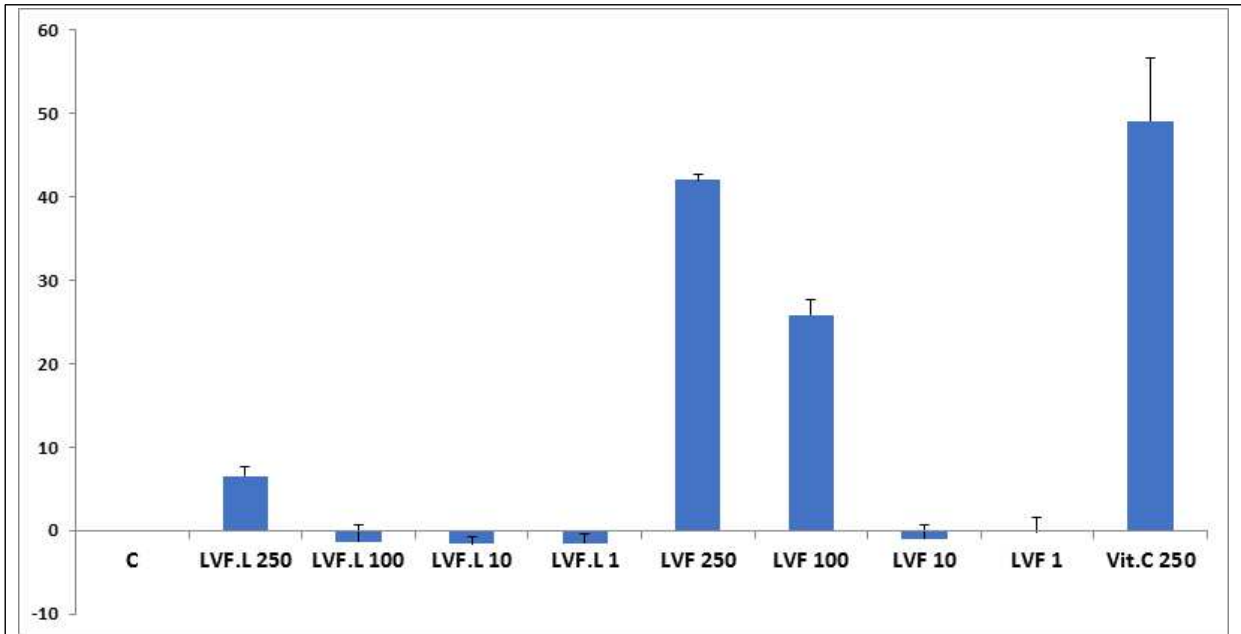
2) 기능성(항산화) 평가 및 발효소재 바이오표존 조건 최적화

○ 발효소재 바이오표존 조건에 따른 기능성(항산화) 비교

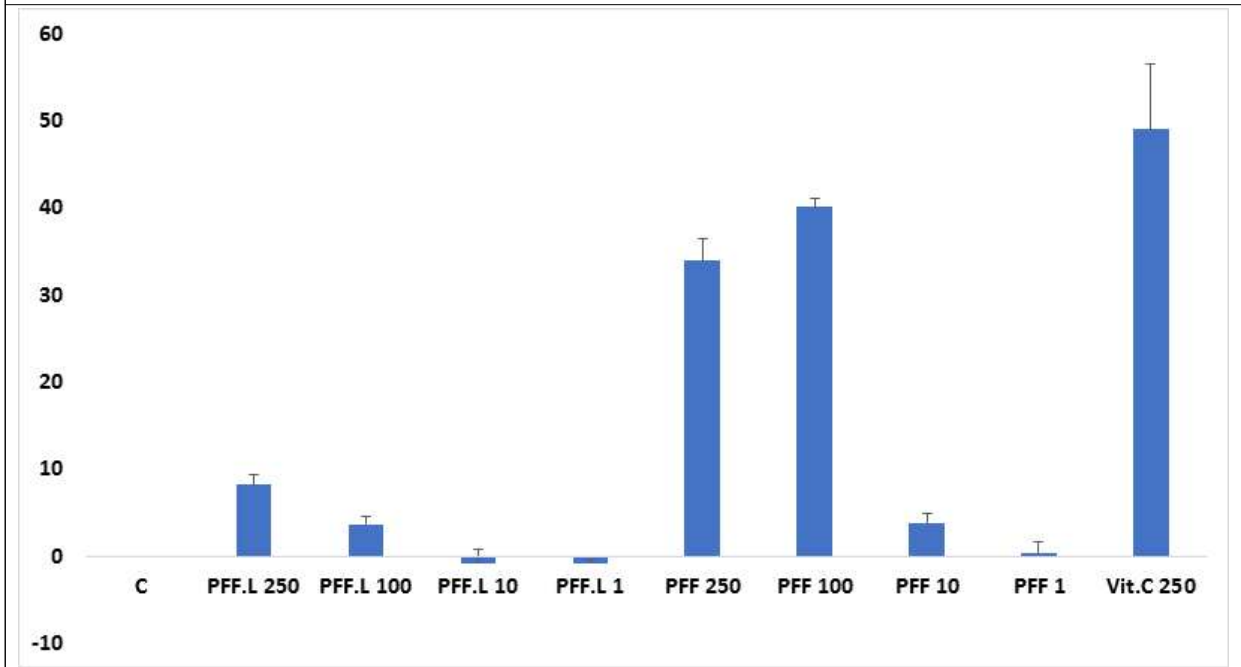
○ 발효소재와 발효소재 바이오표존의 DPPH 라디칼소거능 활성 비교

- (재)남원시화장품센터와 내추럴솔루션에서 제공받은 발효소재와 발효소재 바이오표존은 분석 전 용매를 건조시킨 뒤 DMSO에 일정한 농도로 녹여 실험에 사용하였음. 각 소재의 항산화 활성을 DPPH 라디칼소거능 활성을 통하여 비교 분석하였음.

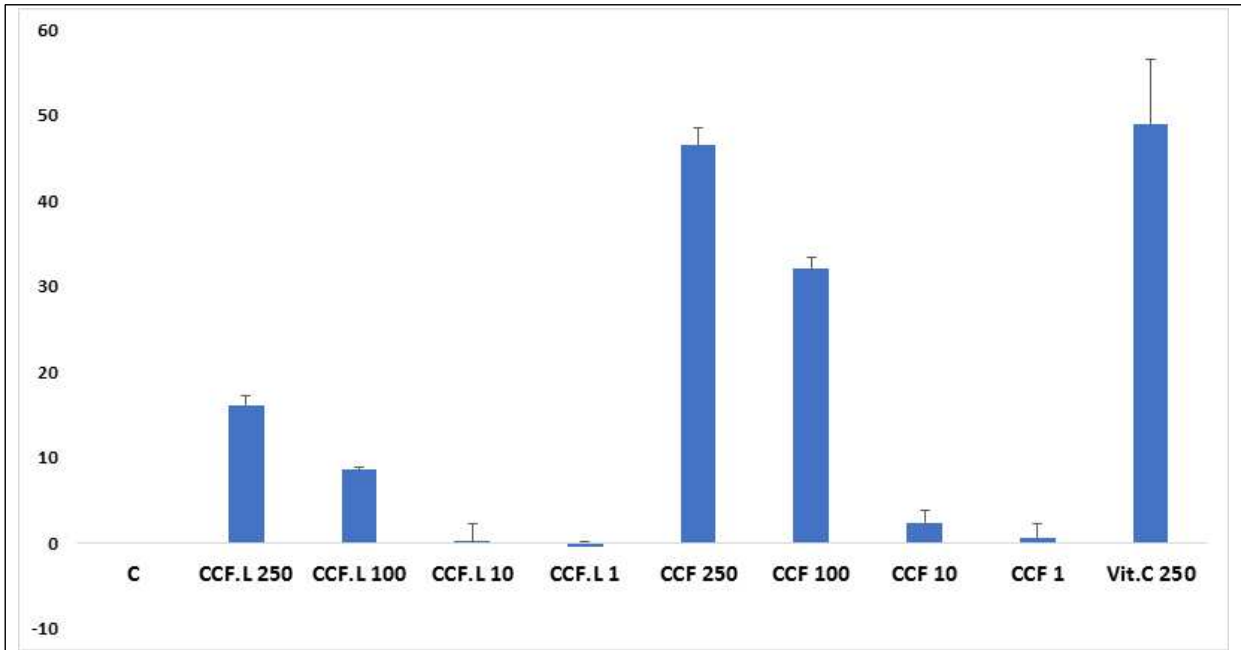
- 분석 결과, 바이오표존에 비해 발효소재에서 우수한 DPPH 라디칼소거능을 나타내었음. 바이오표존에서는 쥘레꽃 > 레몬그라스 > 자소엽 > 라벤더 순으로 활성을 나타내었으며, 발효소재에서는 쥘레꽃 > 자소엽 > 레몬그라스 > 라벤더 순으로 활성을 나타내었음. 선행연구 결과와 같이 항산화 활성은 쥘레꽃에서 가장 우수하였음.



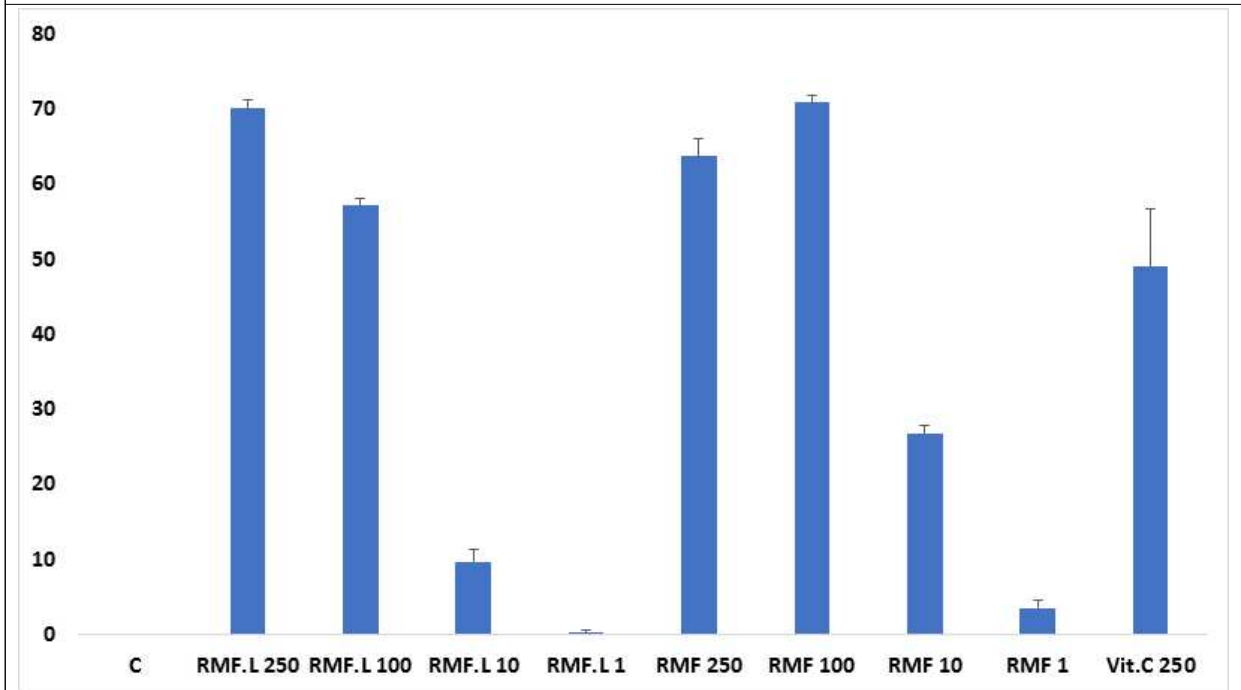
라벤더 발효소재(LVF), 라벤더 발효소재 바이오포좀(LVF.L)



자소엽 발효소재(PFF), 자소엽 발효소재 바이오포좀(PFF.L)



레몬그라스 발효소재(CCF), 레몬그라스 발효소재 바이오표종(CCF.L)



찔레꽃 발효소재(RMF), 찔레꽃 발효소재 바이오표종(RMF.L)

3) 생리활성기전연구(항산화)

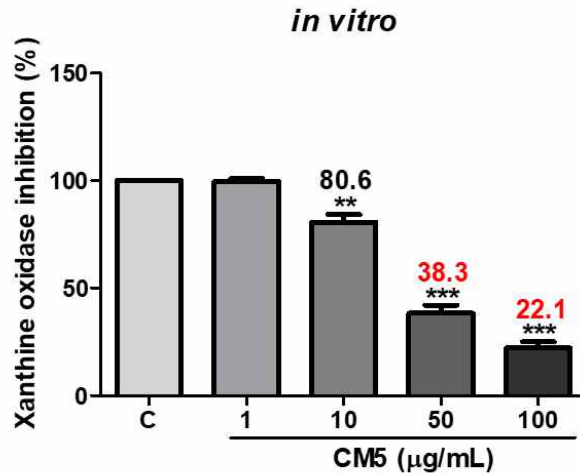
-전년도 연구결과 우수소재 4종 배합비 구성에서 처리구V에서 가장 우수한 DPPH라디칼 소거능 활성을 나타내었음. 이를 바탕으로 Raw264.7세포주에서 처리구V(CM5로 명명)의 항산화 생리활성 기전연구(Nitric oxide, xanthin oxidase(XO), superoxide dismutase(SOD), reactive oxygen species(ROS)활성 평가를 수행하였음.

○ Raw264.7 세포주 배양

-Raw264.7 세포주는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Korea)에서 구매하여 사용하였음. 소대아혈청(Fetal bovine serum; FBS), penicillin streptomycin(P/S), L-glutamine이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)을 Raw264.7 세포주는 5% CO₂, 37°C의 조건의 인큐베이터에서 배양하였음.

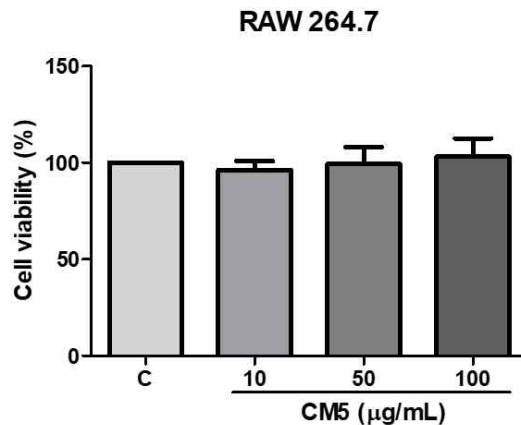
○ 처리구V(CM5)의 xanthin oxidase 효소 활성 평가

- xanthin oxidase는 활성 산소종을 생성하는 효소의 일종인 xanthin oxidoreductase의 한 형태임. 단순 시료의 xanthin oxidase의 활성을 확인하기 위하여 cell을 사용하지 않고 dilution buffer를 사용한 시료를 실험에 사용하였음. 시료 CM5를 최종농도가 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되도록 dilution buffer를 사용하여 희석하고, 각 시약은 사용 전 미리 37 $^{\circ}\text{C}$ 항온수조에서 충분히 warm-up한 뒤 사용해야 함. 각각의 시료와 시약을 분량에 맞추어 넣은 후, 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 차광하여 반응시킨 다음 450nm에서 흡광도를 측정하였음. DMSO를 음성대조군(C)로 하여 처리구V의 xanthin oxidase 저해 활성을 백분율로 나타내었음. 그 결과, 처리구V는 농도의존적으로 xanthin oxidase를 저해하였으며, 50% 저해 활성을 나타내는 농도는 $39.66 \pm 2.92 \mu\text{g}/\text{mL}$ 임.



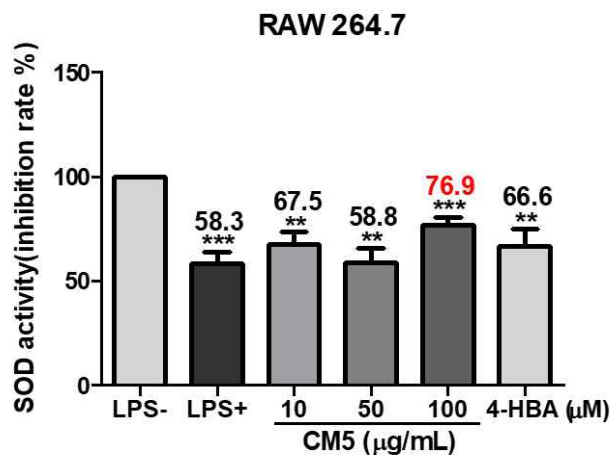
○ 처리구V(CM5)의 세포독성 평가

-EZ-CYTOX 키트를 사용하여 CM5의 Raw264.7세포주에 대한 세포독성을 확인하였음. 96well plate에 세포를 배양한 다음, 처리구V를 각각 10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 18시간 처리하였음. water soluble tetrazolium 용액 10 μL 를 첨가하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 배양한 후, 450nm에서 흡광도를 측정하였음. DMSO처리군(C)을 기준으로 하여 백분율로 나타내었음. 실험결과 처리구V는 Raw264.7세포주에 대하여 세포독성이 확인되지 않았음.



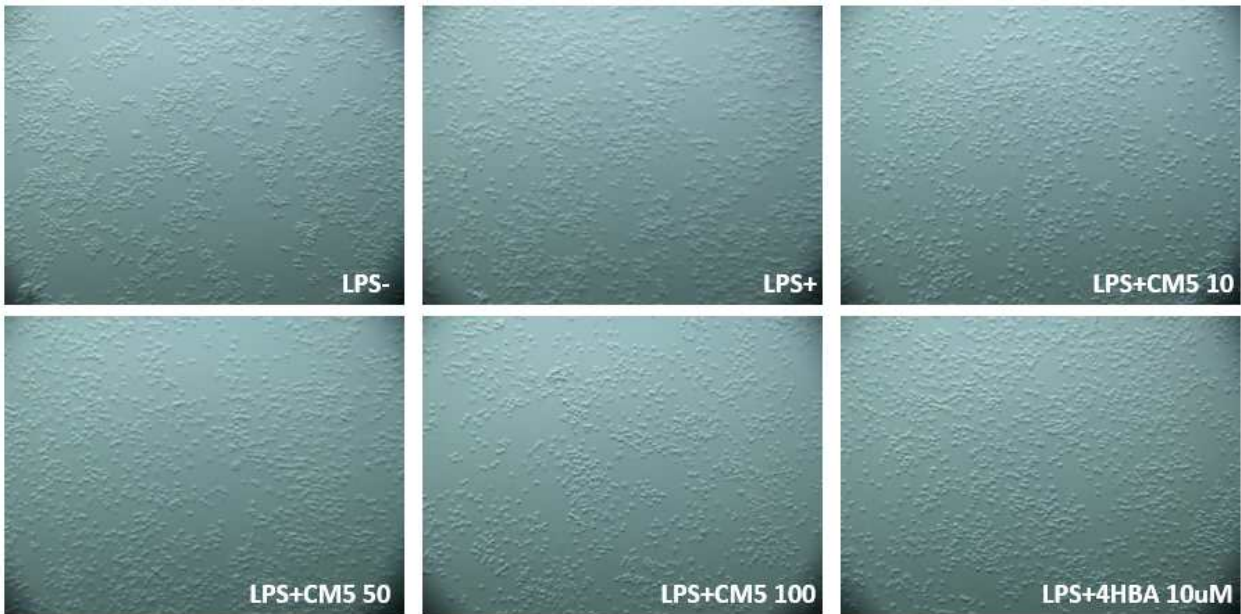
○ 처리구V(CM5)의 SOD 효소 활성 평가

- SOD효소활성을 측정하기 위해 Raw264.7 세포주를 6well plate에 배양하였음. 약물처리 전 LPS(1µg/mL)를 1시간 전 처리 한 뒤, LPS와 함께 처리구V를 각각 10, 50, 100µg/mL이 되도록 처리한 다음 18시간 배양하였음. 세포 배양액은 PMSF 존재 하에 회수하여 NO 활성을 평가하기 위한 시료로 사용하였으며, 세포는 Cold-PBS로 2회 세척 한 다음 protease inhibitor를 첨가한 TNE buffer[Tris-HCl(pH 7.5) 50mM, NaCl 140nM, EDTA 5mM, 0.5% NP40]를 사용하여 세포 시료를 얻었음. 얻어진 세포는 vortex를 강하게 1분씩 하고 초음파 분쇄를 30초간 한 뒤, 4°C에서 30분간 rotation하고, 10분간 10,000 rpm으로 원심분리하여 얻어진 세포 상층액을 시료로 사용하였음. 분석 전 단백질 정량을 하여 단백질 농도를 25µg이 되도록 일정하게 맞추는 다음 실험하였음. SOD효소활성 평가는 위의 xanthin oxidase효소 활성 평가와 동일한 방법으로 수행되었으며, 양성대조군은 4-hydroxybenzoic acid(4-HBA)를 사용하였음. LPS를 처리하지 않은 군을(LPS-)를 기준으로 하여 각 효소 활성을 백분율로 나타내었음. LPS만 처리한 군(LPS+)과 각 처리군을 비교하였을 때, 농도 의존적이지는 않으나 SOD 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었고 특히 100µg/mL의 농도에서 76.9%로 양성대조군으로 사용한 4-HBA보다 더 우수한 효소 활성을 나타내었음.

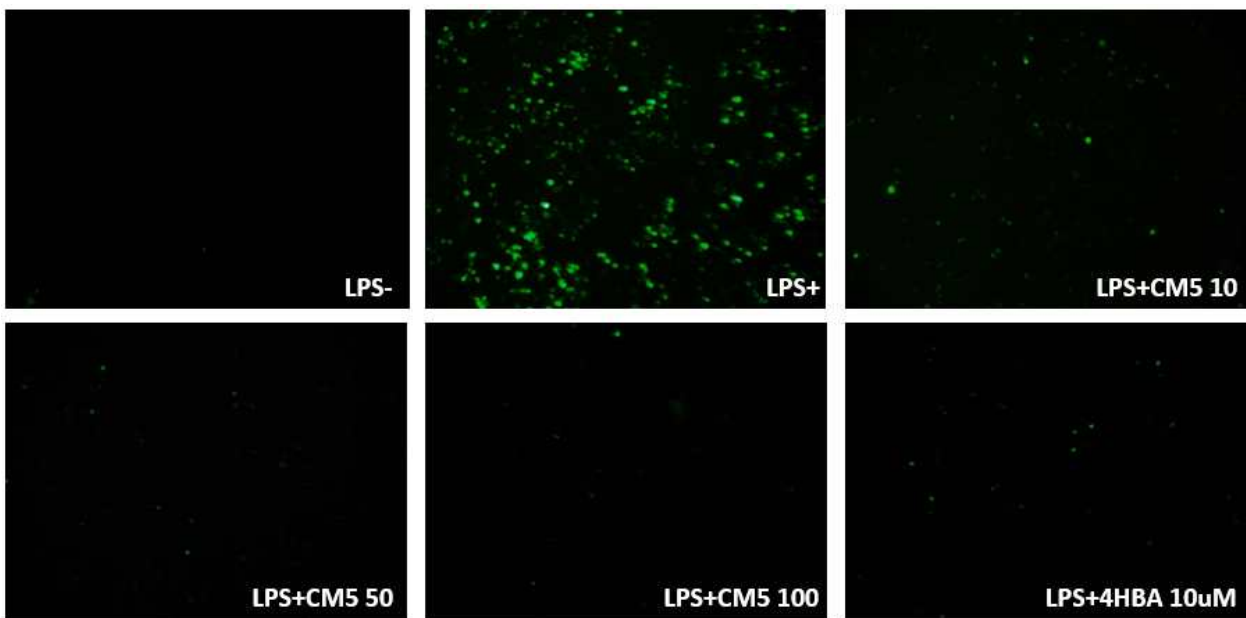


○ 처리구V(CM5)의 세포 내 활성산소종(ROS) 소거 활성 평가

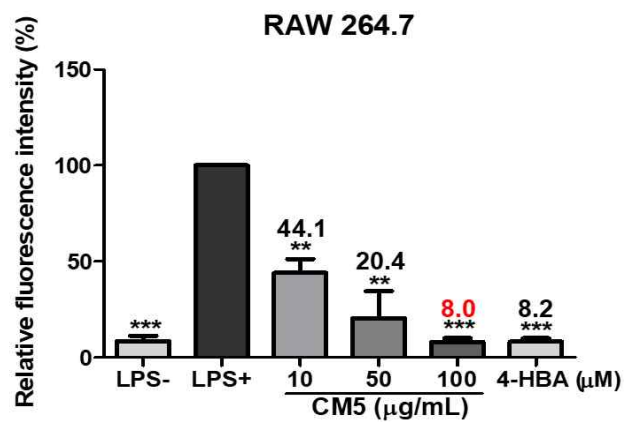
- 세포 내 ROS는 2'-7'-dichlorogluoescin diacetate(DCFH-DA)방법을 이용하여 측정하였음. 6well plate에 Raw264.7 세포주를 배양한 뒤, 약물처리 전 LPS(1µg/mL)을 미리 1시간 처리한 다음 처리구V와 함께 18시간 처리하였음. 약물 처리한 각 plate는 warm-PBS로 2회 세척한 다음, 최종농도 10µM이 되도록 희석한 DCFH-DA를 1mL씩 넣고 차광하여 30분간 37°C 인큐베이터에서 배양함. 그 다음 다시 warm-PBS로 2회 세척 한 다음 새로운 PBS를 1mL씩 넣어주고 형광현미경으로 형광 발현도를 측정하여 이미지로 나타내었음. 발현량은 Image J 프로그램을 사용하여 정량한 뒤, 이미지와 함께 그래프로 나타내었음.



<그림. 각 처리군의 Raw264.7 세포주의 이미지>



<그림. 각 처리군의 형광 발현도 이미지>

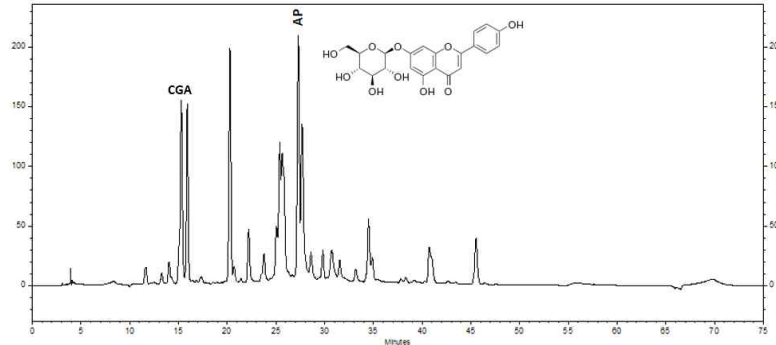


4) 지표성분 밸리데이션

○ 기능성 소재 2종(캐모마일, 흰민들레)의 분석조건 확립

○ 캐모마일의 분석조건 확립

-선행 문헌조사에서 캐모마일의 지표 성분으로 예상되는 성분을 Quercetin, apigenin-7-O-glucoside, rutin 을 선택하였으며, 선행연구에서 chlorogenic acid로 지표 성분을 선정하였음. 분석 결과, 캐모마일에서 chlorogenic acid보다 apigenin-7-O-glucoside의 함량이 더 많은 것으로 확인이 되어, 지표 성분으로 apigenin-7-O-glucoside를 최종 선택하였음.



○ 캐모마일의 분석조건 확립

-분석조건은 gradient 프로그램을 이용하여 분석하였음.

Analytical condition	
Pump 1	0.1%formic acid+DW
Pump 2	0.1%formic acid+MeCN
Flow rate	1ml / min
Column oven temp.	40°C
UV detector	DAD(225, 237, 248, 324nm)

Gradient Program		
Time (min)	MeCN(%)	DW(%)
0-2	0	100
2-50	40	60
50-55	100	0
55-60	100	0
60-65	0	100
65-70	0	100

- 직선성(Linearity), 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ): apigenin-7-O-glucoside는 0.1-50 μ g/mL의 농도에서 상관계수(R²)=0.9843으로 직선성을 나타내었음. 검출한계는 7.60 ng/ml, 정량한계는 23.04 μ g/mL임.

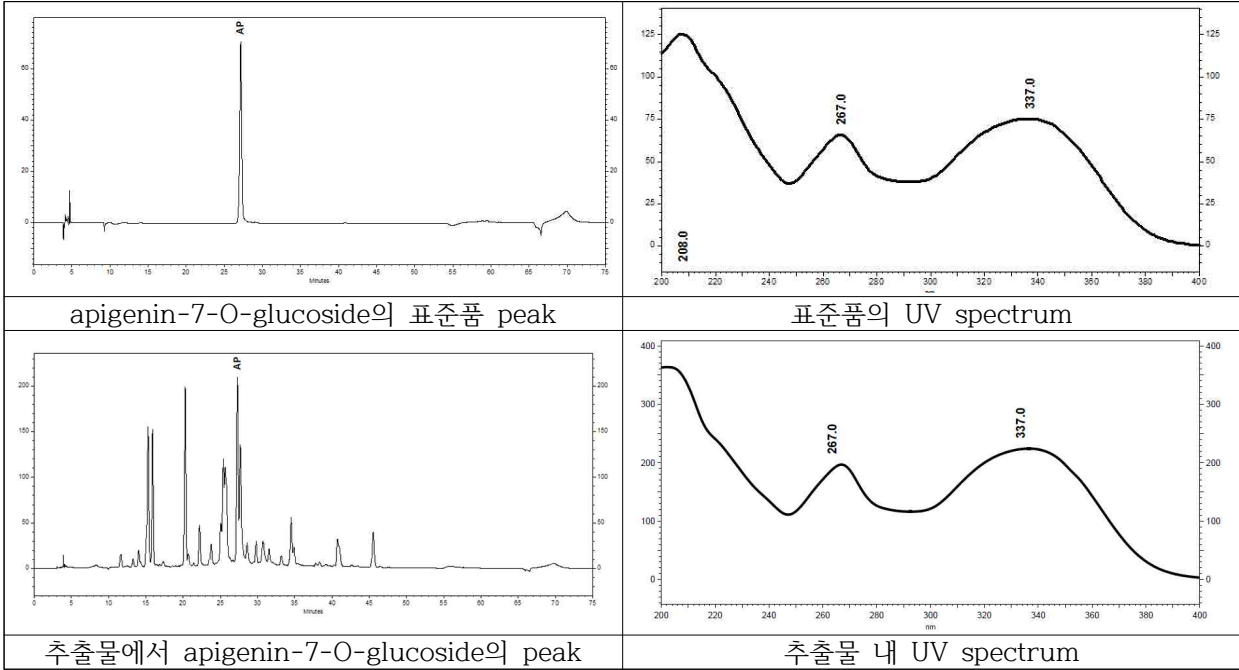
-검출시간은 27.29min에서 검출되었으며, 함량은 170.4 μ g/g으로 정량되었음.

compound	Linear range (μ g/mL)	t _R (min)	Equation	Linearity (R ²)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Apigenin-7-O-glucoside	0.1-50	27.1	y = 1.64215e-007x - 1.73776	0.9843	7.60	23.04

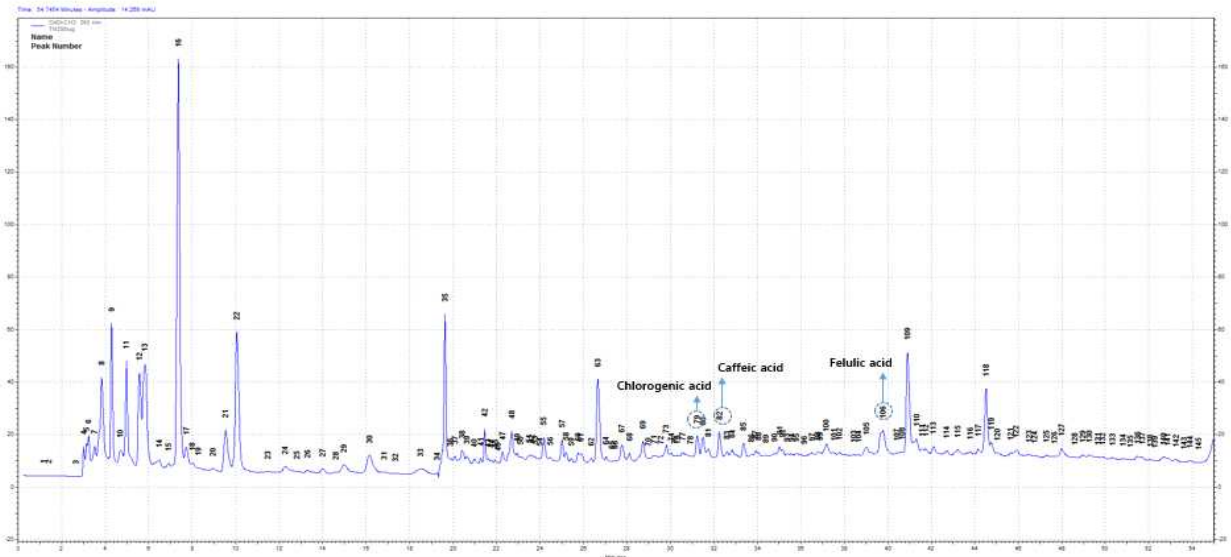
- 회수율(recovery), 정확성(accuracy), 정밀성(precision)은 다음과 같음.

Compound	Spiked conc. (μ g/mL)	Detected conc. (μ g/mL)	Recovery (%)	RSD (%)
Apigenin-7-O-glucoside	1	1.10 \pm 0.01	110.29	0.01
	1.5	1.70 \pm 0.50	113.40	0.46
	2	2.17 \pm 0.46	108.30	0.49

Compound	Intra-day (n=3) (*first day)		Inter-day (n=3) (*all day)	
	Accuracy (%)	Precision (RSD %)	Accuracy (%)	Precision (RSD %)
Apigenin-7-O-glucoside	108.48	0.05	107.39	0.06



○ 흰민들레의 분석조건 확립



-선행 문헌조사에서 흰민들레의 지표 성분으로 예상되는 성분을 gallic acid, syringic acid로 선택하였으며, 선행연구에서 luteolin을 지표 성분으로 선정하였음. 흰민들레에서 gallic acid, syringic acid, luteolin, chlorogenic acid, caffeic acid, felucic acid, rosmarinic acid를 분석한 결과 chlorogenic acid, caffeic acid, felucic acid를 확인하였으며 그 중, chlorogenic acid를 지표성분으로 선택하고 분석하였음.

- 직선성(Linearity), 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ): chlorogenic acid 는 0.1-5µg/mL의 농도에서 상관계수 (R²)=0.9997로 직선성을 나타내었음. 검출한계는 16.79 ng/ml, 정량한계는 50.38µg/mL임.

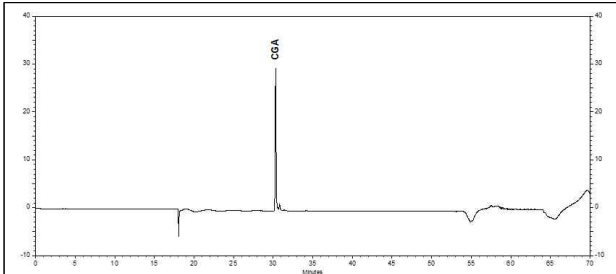
-검출시간은 30.6min에서 검출되었으며, 함량은 2.8ug/g으로 정량되었음.

compound	Linear range (µg/mL)	t _R (min)	Equation	Linearity (R ²)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
chlorogenic acid	0.1-5	30.6	y = 1.01389e-007x - 0.0210542	0.999780	16.79	50.38

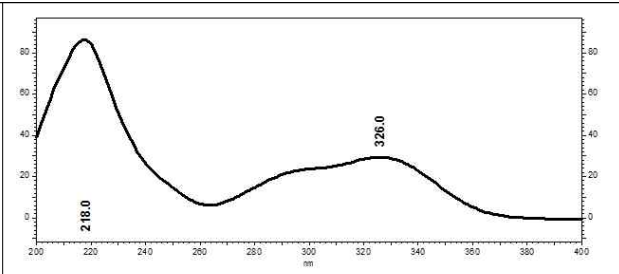
- 회수율(recovery), 정확성(accuracy), 정밀성(precision)은 다음과 같음.

Compound	Spiked conc. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Detected conc. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Recovery (%)	RSD (%)
chlorogenic acid	1	0.8 ± 0.002	81.21	0.46
	1.5	1.45 ± 0.005	96.67	0.07
	2	2.10 ± 0.001	105.00	0.16

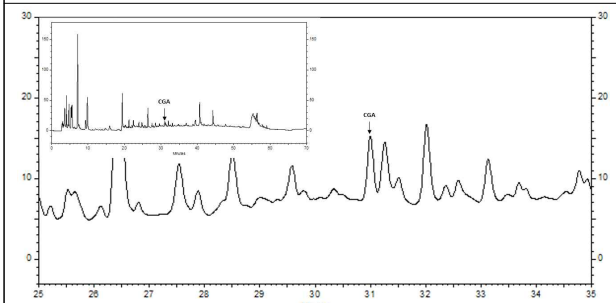
Compound	Intra-day (n=3) (*first day)		Inter-day (n=3) (*all day)	
	Accuracy (%)	Precision (RSD %)	Accuracy (%)	Precision (RSD %)
chlorogenic acid	112.33	0.1	112.49	0.17



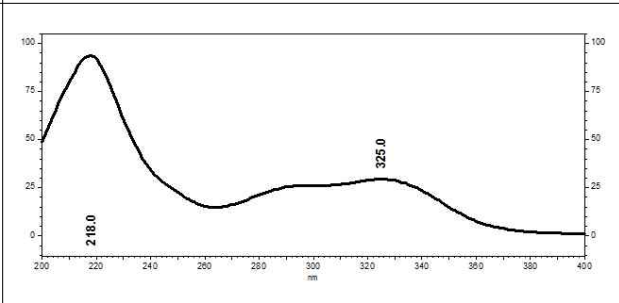
chlorogenic acid의 표준품 peak



표준품의 UV spectrum



추출물에서 chlorogenic acid의 peak



추출물 내 UV spectrum

라. (주)더가든오브내추럴솔루션(제3협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
5차 년도 (2021)	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	안전성, 안정성 평가	○ 인체 피부 자극성 평가	- 남원레몬그라스발효물과 남원자소엽발효물의 인체적용시험을 통해 피부에 자극이 없음을 확인
			○ 물리적 요인에 따른 지표 물질 안정성 평가	- 액체, 고체발효물들의 지표물질함량이 12주간 유지되는 것을 확인
		제조공정 표준화 및 기준규격확립 (plant scale)	○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화	- Plant scale의 제조공정을 최적화함
			○ 지표 함량 기준 품질관리 확립	- 품질관리기준을 확립하고, 추가 제품화 2건 달성
국내외 전시회 참가	○ 국내외 전시회 및 네트워킹	- in-cosmetics Korea 2021에 참가하여 남원소재를 활용한 원료 홍보		

1) 안전성, 안정성 평가

○ 인체 피부 자극성 평가

○ 남원레몬그라스발효물과 남원자소엽발효물의 인체적용시험

- 전년도 연구를 통해 네 가지 발표원료 모두 세포독성이 없음을 확인하였음. 이미 제품화한 남원레몬그라스발효물과 금년도에 제품화한 남원자소엽발효물의 인체적용시험을 통해 피부 자극성 유무를 평가함.

- 순천향대학교 프로바이오틱스·마이크로바이옴융합연구센터(PMC) 피부 인체적용시험 연구소에서 23-56세 여성 23명(평균나이 39.17세)를 대상으로 4주간, 1일 2회(아침, 저녁) 세안 후 스킨케어 마지막 단계에서 적당량(100원 동전 크기)를 얼굴 전체에 펴 바른 후, 피부 자극 유무, 피부 마이크로바이옴 변화, 보습효과 측정

- 시험번호 각 S21005-01(남원자소엽발효물, IRB 관리번호 202105-SB-055-04), S21005-02(남원레몬그라스발효물, IRB 관리번호 202105-SB-056-04)

표 2. 연구대상자 기본 정보

등록 연구대상자(명)	23
최종 완료 연구대상자(명)	23
평균 연령	39.17 ± 9.75
성별	여

2.5 피부 이상반응 평가

2.5.1 연구대상자에 의한 설문평가

시료 사용 후 연구대상자가 이상반응여부에 대해 주관적인 정도를 평가한 결과 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.

2.5.2 연구자에 의한 평가

연구대상자 육안평가 결과 시험기간 동안 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.

표 3. 연구대상자 연령 분포

	20대	30대	40대	50대
명 (%)	6 (26.09)	3 (13.04)	12 (52.17)	2 (8.70)

<남원레몬그라스발효물 로션의 피부 이상반응 평가>

표 2. 연구대상자 기본 정보

등록 연구대상자(명)	23
중도 탈락 연구대상자(명)	1
최종 완료 연구대상자(명)	22
평균 연령	39.00 ± 11.57
성별	여

총 23명의 연구대상자가 시험에 참여하였으며 19번 연구대상자는 개인적 사유로 중도 탈락하였다.

표 3. 연구대상자 연령 분포

	20대	40대	50대
명 (%)	7 (31.82)	11 (50.00)	4 (18.18)

<남원자소염발효물 로션의 피부 이상반응 평가>

- 두 시료 모두 전문가의 평가, 피험자의 자기 평가에서 이상반응을 전혀 보이지 않음

2.5 피부 이상반응 평가

2.5.1 연구대상자에 의한 설문평가

시료 사용 후 연구대상자가 이상반응여부에 대해 주관적인 정도를 평가한 결과 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.

2.5.2 연구자에 의한 평가

연구대상자 육안평가 결과 시험기간 동안 피부 이상반응은 관찰되지 않았다.

2.4 피부 마이크로바이옴 변화 분석 결과

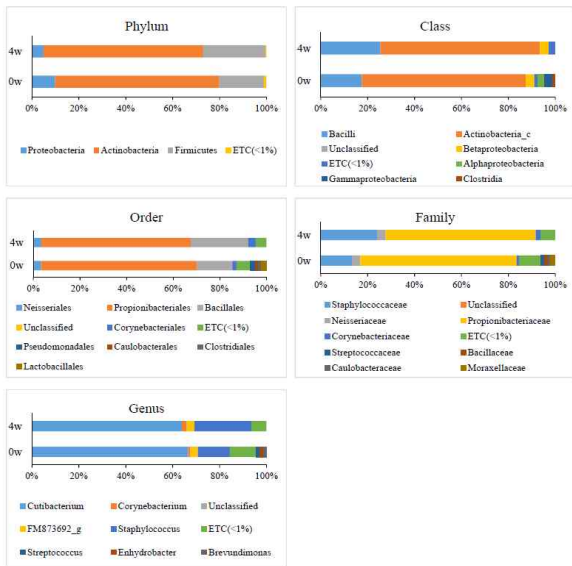


그림 5. 피부 마이크로바이옴 16S 유전자 기반 메타지노믹스 분석 결과 <남원레몬그라스발효물 로션 적용 전후 피부 마이크로바이옴 변화>

2.4 피부 마이크로바이옴 변화 분석 결과

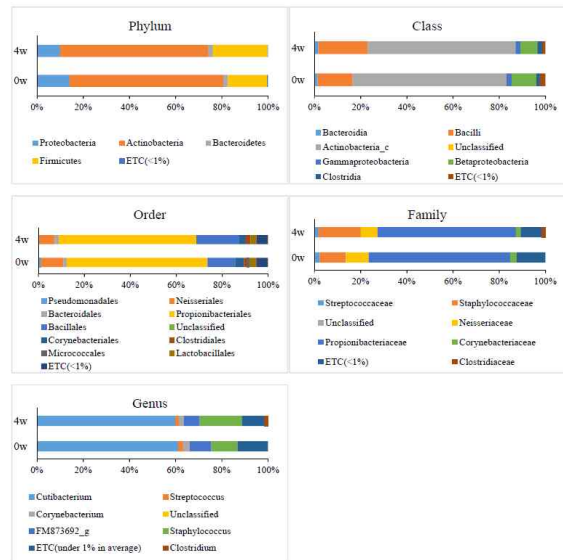


그림 5. 피부 마이크로바이옴 16S 유전자 기반 메타지노믹스 분석 결과 <남원자소염발효물 로션 적용 전후 피부 마이크로바이옴 변화>

- 두 시료 모두 피부마이크로바이옴에 유의한 변화를 일으키지 않음

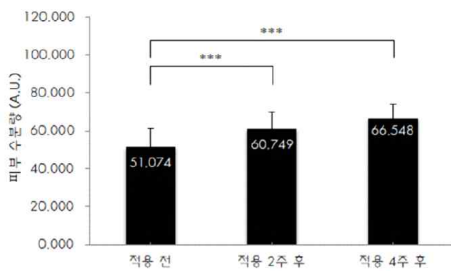


그림 4. 피부 수분량 측정 결과(A.U.)

*Probability p (Wilcoxon signed rank test, Significant: ***p<.001, p=Holm-Bonferroni Method adjusted p-value)

<남원레몬그라스발효물 로션의 보습력>

- 두 시료 모두 적용 2주, 4주후 유의한 보습효과를 보임

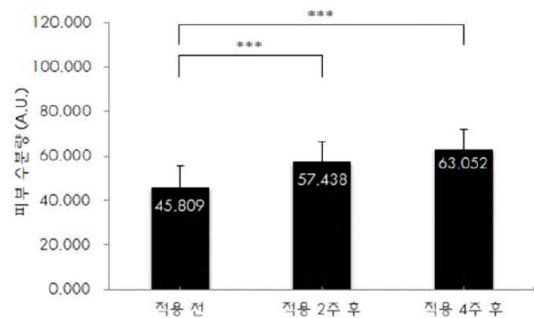


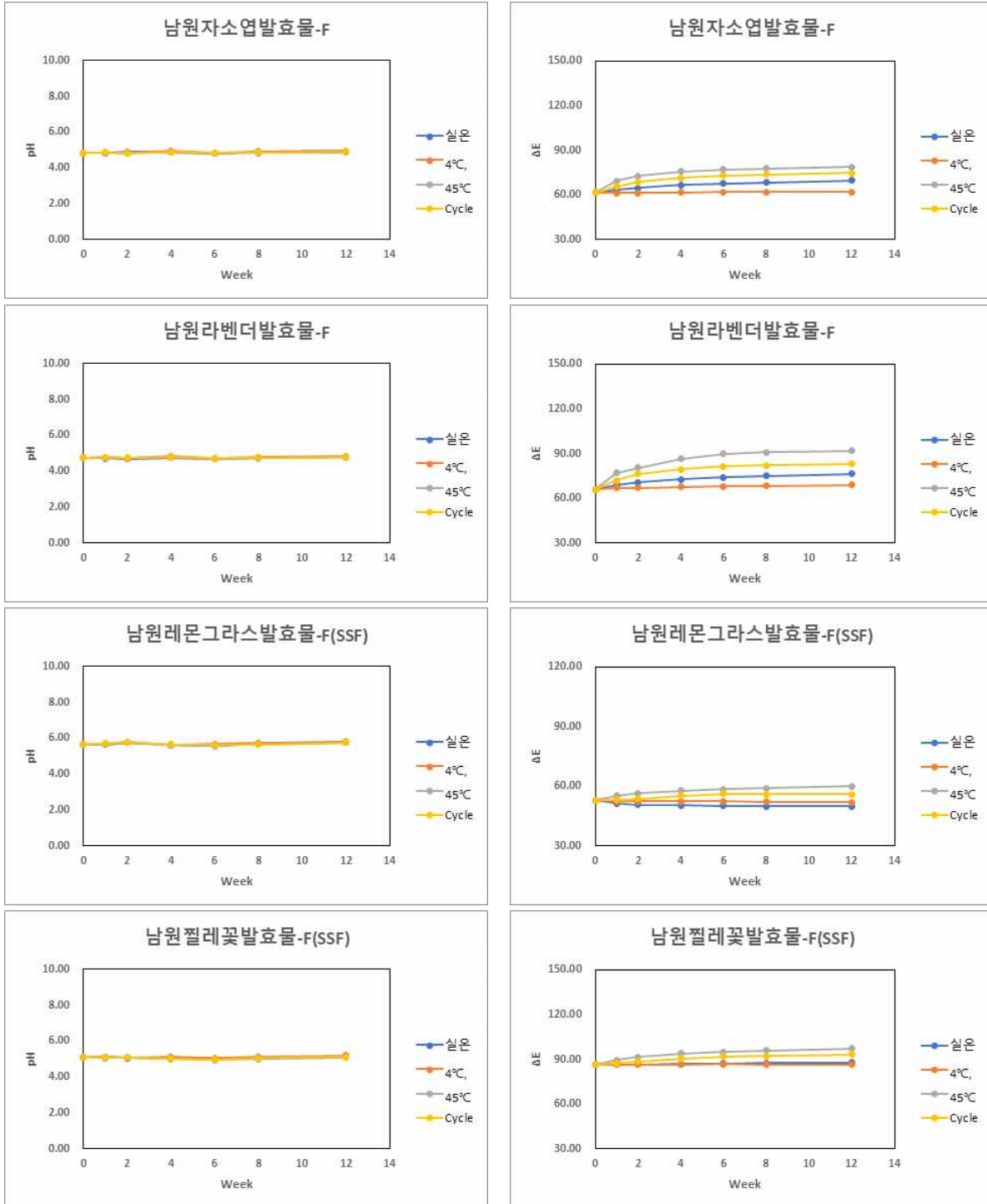
그림 4. 피부 수분량 측정 결과(A.U.)

*Probability p (Repeated measures ANOVA with Contrast test, Significant: ***p<.001)

<남원자소염발효물 로션의 보습력>

- 이상의 결과를 통해 각 액체발효와 고체발효 기술을 적용한 남원자소엽발효물과 남원레몬그라스 발효물 모두 피부 자극성을 띄지 않음을 확인. 전년도에 확인한 세포독성 평가결과와 동일한 결론을 내릴 수 있으며, 본 연구를 통해 개발한 발효공정이 인체에 무해하다는 것을 확인함.

- 물리적 요인에 따른 지표물질 안정성 평가
- 네 가지 발효물의 장기안정성시험을 실시함



<Plant scale로 생산한 발효물의 장기안정성>

- 전년도에 pilot scale에서 확인한 것처럼, plant scale로 생산한 발효물들도 12주간 안정한 결과를 보임. 고체발효를 적용한 남원레몬그라스발효물, 남원쥘레꽃발효물은 pilot scale보다 plant scale로 생산한 시료가 더 안정한 결과를 보여, 생산공정이 더 많은 원물에 최적화됐음을 알 수 있음.
- 총폴리페놀과 총플라보노이드 함량 측정

	총폴리페놀함량(μg/mL)		총플라보노이드함량(μg/mL)	
남원라벤더발효물	368.2	299.6	134.5	213.4
남원자소엽발효물	329.3	344.6	188.7	254.8
남원레몬그라스발효물	94.7	169.1	283.6	311.5
남원쥘레꽃발효물	788.0	793.1	743.7	693.6

- 전년도에 지표물질로 설정한 총폴리페놀과 총플라보노이드 함량이 12주 실온 보관 전후로 대부분 유지되거나 속성을 통해 증가하는 결과를 보임.
- 남원라벤더발효물은 총폴리페놀함량이 80% 정도이나 총플라보노이드함량은 160% 수준으로 상호 보완적으로 제품 안정성 지표 역할을 함.

2) 제조공정표준화 및 기준규격확립(plant scale)

- 지표 함량 기준 제조공정 최적화
- 발효공정 최적화

- 전년도 pilot scale로 확인한 장기발효(3D) 조건을 적용하여 지표물질인 총폴리페놀과 총플라보노이드 함량을 극대화함. 자소엽의 경우 pilot scale에서 각 102.5, 141.2였던 지표물질함량이 plant scale에서 329.3, 188.7로 증가하였고, 쥘레의 경우 562.5, 537.2에서 788.0, 743.7로 증가하여 제조공정 최적화를 확인함.

- Plant scale로 생산한 네 가지 발효물을 협력기관에 공유하고 각 연구에 기준원료로 활용함.

- 품질관리 확립
- 협력기관에 공유한 네 가지 발효물의 품질시험결과

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	남원자소엽발효물-F		
INCI Name/한글전성분명	Perilla frutescens Extract 소엽추출물 Lactobacillus Ferment 락토바실러스발효물 Pentylene Glycol 펜틸렌글라이콜 ¹⁾ 1,2-Hexanediol 1,2-헥산다이올		
Lot No.	S-PFEF-NPH-120321		
제조일자	2021.03.12	유통기한	2023.03.11

Test Item	Specification	Result
Appearance	Yellow and brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04	1.002
pH Value	4.0 ~ 7.0	4.84
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark	① 보관조건: 직사광선을 피할 것, 실온 보관 ② *Pentylene Glycol in this product is naturally sourced.		
--------	--	--	--

Approved by Associate Scientist J.S. LEE

Research Center

Sung



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	남원라벤더발효물-F		
INCI Name/한글전성분명	Lavandula Angustifolia (Lavender) Extract 라벤더추출물 Lactobacillus Ferment 락토바실러스발효물 Pentylene Glycol 펜틸렌글라이콜 ¹⁾ 1,2-Hexanediol 1,2-헥산다이올		
Lot No.	S-LAEF-NPH-190221		
제조일자	2021.02.19	유통기한	2023.02.18

Test Item	Specification	Result
Appearance	Yellow and brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04	1.002
pH Value	4.0 ~ 7.0	4.75
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark	① 보관조건: 직사광선을 피할 것, 실온 보관 ② *Pentylene Glycol in this product is naturally sourced		
--------	---	--	--

Approved by Associate Scientist J.S. LEE

Research Center

Sung



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	남원뽕레몬발효물-F(SSF)		
INCI Name/한글전성분명	Rosa Multiflora Extract 뽕레몬추출물 Lactobacillus Ferment 락토바실러스발효물		
Lot No.	S-RMF-BG-190221		
제조일자	2021.02.19	유통기한	2023.02.18

Test Item	Specification	Result
Appearance	Brown ~ dark brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04	1.016
pH Value	4.0 ~ 7.0	5.10
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark	① 보관조건: 직사광선을 피할 것, 실온 보관		
--------	---------------------------	--	--

Approved by Associate Scientist J.S. LEE

Research Center

Sung



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	남원레몬그라스발효물-F(SSF)		
INCI Name/한글전성분명	Cymbopogon Citratus Extract 레몬그라스추출물 Lactobacillus Ferment 락토바실러스발효물		
Lot No.	S-CCF-BG-190221		
제조일자	2021.02.19	유통기한	2023.02.18

Test Item	Specification	Result
Appearance	Brown ~ dark brown liquid	Conformed
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04	1.016
pH Value	4.0 ~ 7.0	5.67
Heavy Metal	≤ 10 ppm	Conformed
Arsenic	≤ 2 ppm	Conformed
Microbes	≤ 100 CFU/mL	Not detected

Remark	① 보관조건: 직사광선을 피할 것, 실온 보관		
--------	---------------------------	--	--

Approved by Associate Scientist J.S. LEE

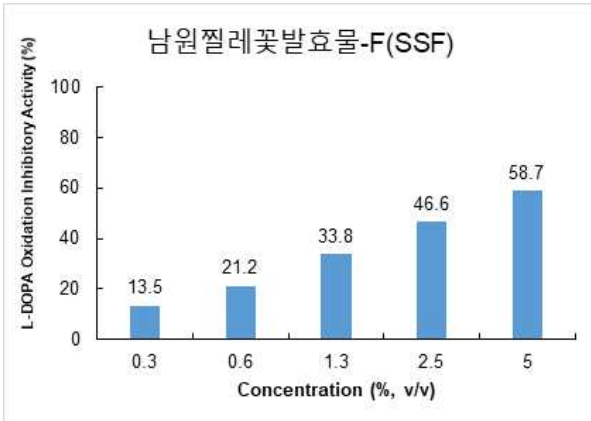
Research Center

Sung

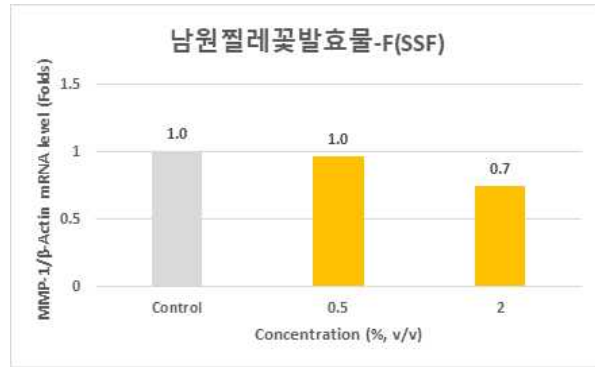


- 네 제품 모두 기준규격을 만족하는 품질을 확인하였고, 협력기관별 연구 진행함.

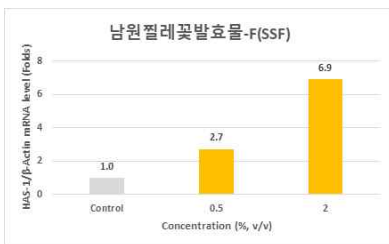
○ 지표물질 안정성을 확인한 plant scale 생산제품의 세포활성 효능을 검증함.



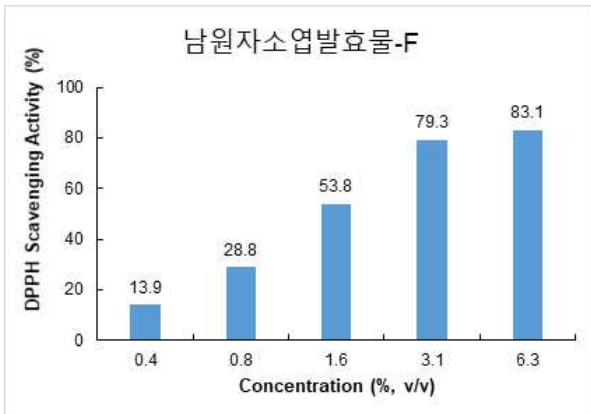
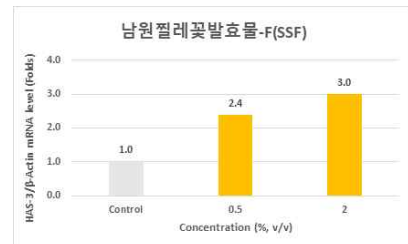
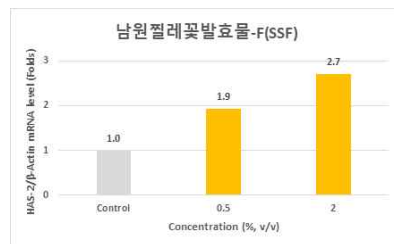
<남원질레꽃발효물의 미백효능>



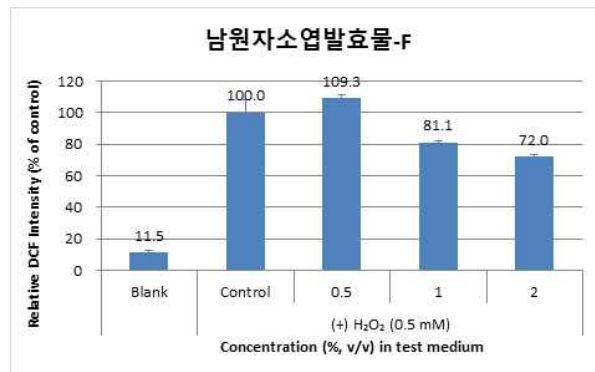
<남원질레꽃발효물의 항주름효능>



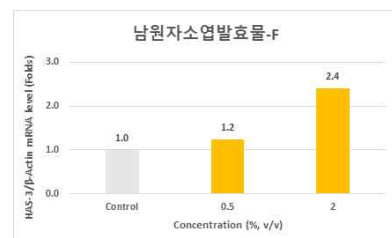
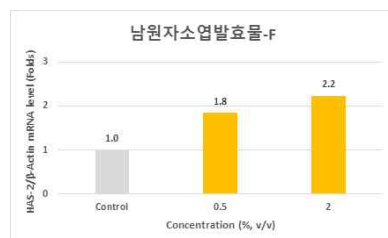
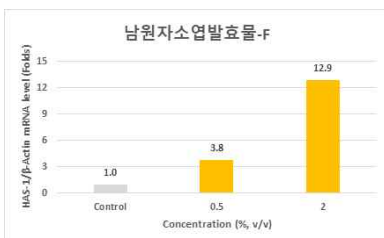
<남원질레꽃발효물의 보습효능>



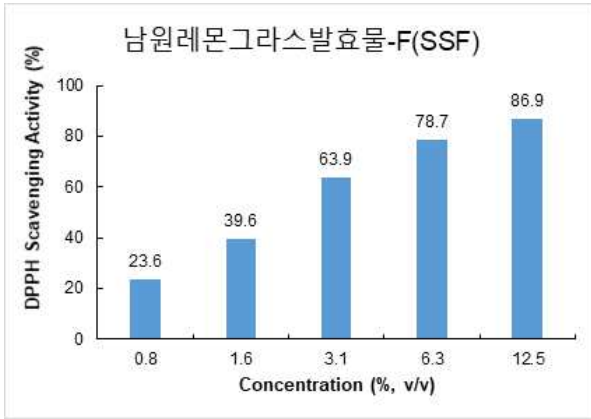
<남원자소엽발효물의 항산화효능>



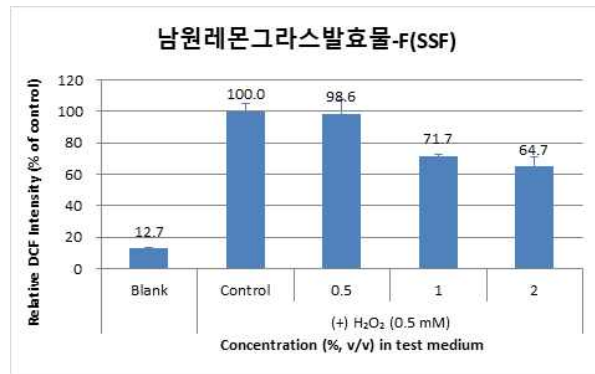
<남원자소엽발효물의 세포 내 항산화효능>



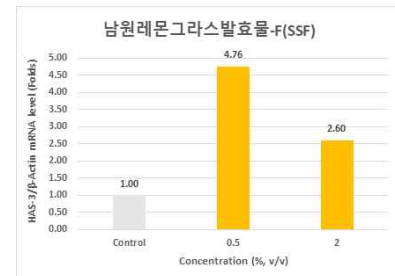
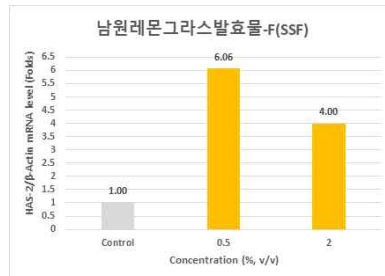
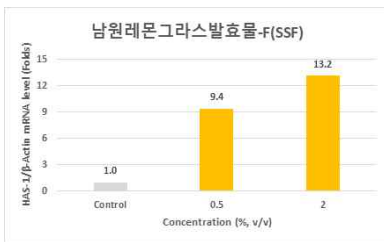
<남원자소엽발효물의 보습효능>



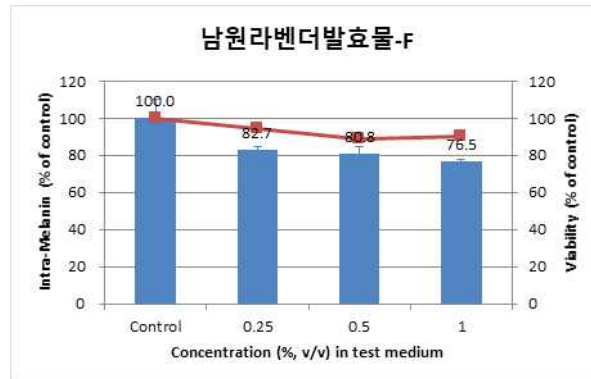
<남원레몬그라스발효물의 항산화효능>



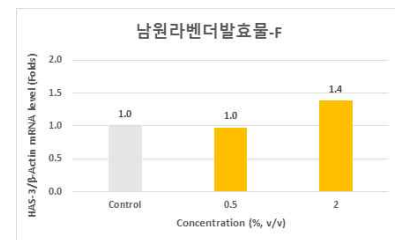
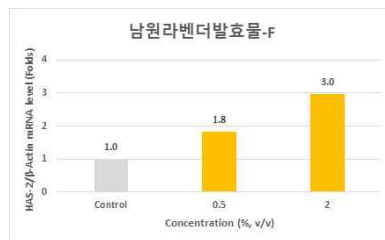
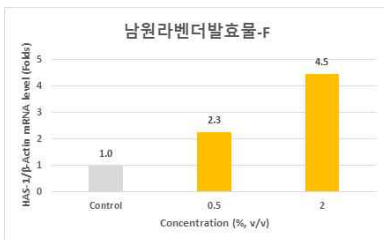
<남원레몬그라스발효물의 세포 내 항산화효능>



<남원레몬그라스발효물의 보습효능>



<남원라벤더발효물의 미백효능>



<남원라벤더발효물의 보습효능>

- 남원소재를 활용하여 개발한 발효물 모두 뛰어난 세포 효능을 보여줌. 특히, 네 제품 모두 HAS-1, 2, 3 유전자 발현을 증가시켜 보습효능을 가짐.

- 남원자소엽발효물과 남원레몬그라스발효물의 보습효능은 위 인체적용시험 결과를 통해 유의성을 거듭 확인함.

○ 남원소재를 활용한 발효제품 추가출시

- Plant scale을 통해 안전성과 안정성을 최종 확인한 남원자소엽발효물과 남원찔레꽃발효물을 제품화함. 각각 액체, 고체발효를 이용하여 남원 소재가 갖는 천연화장품 원료로서의 가치를 극대화한 제품. 남원자소엽발효물은 우수한 항산화 효능을 보이고, 남원찔레꽃발효물은 미백과 항주름 효능을 보임. 두 제품 모두 세포실험을 통해 HAS 유전자 발현을 통한 보습효능을 보였으며, 남원자소엽발효물의 보습효능은 인체적용시험에서도 확인함.

- 식물추출물원료의 지표물질함량은 완제품의 제형과 성상에 영향을 주는 범위가 제품별, 브랜드별로 상이하여 기준규격에 포함하지 않음. 효능과 지표물질 정보는 고객사에 공유하여 원료가 처방되는 조건에 맞춰 제품규격을 세분화하며, 이를 통해 완제품 처방량과 원료 판매량을 최적화할 수 있음.

SPECIFICATION

Product Name	남원자소엽발효물-F
Product Code	S-PPEF-NPH
INCI Name/한글전성분명	Perilla Frutescens Extract 소엽추출물 Lactobacillus Ferment 락토박실러스발효물 Pentylene Glycol 펜틸렌글라이콜 ¹⁾ 1,2-Hexanediol 1,2-헥산다이올

Test Item	Specification
Appearance	Yellow and brown liquid
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04
pH Value	4.0 ~ 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 2 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/mL

보관조건	실온	Preservative	-
포장단위	20kg, 200kg/ PE		

- 이 규격의 시험방법은 따로 규정한 것 이외에 대하여는 대한약전 통칙, 제제총칙 및 일반 시험법에 준함 것임
- ¹⁾Pentylene Glycol in this product is naturally sourced.

(주)더가든오브내추럴솔루션



SPECIFICATION

Product Name	남원찔레꽃발효물-F(SSF)
Product Code	S-RMF-BG
INCI Name/한글전성분명	Rosa Multiflora Extract 찔레꽃추출물 Lactobacillus Ferment 락토박실러스발효물

Test Item	Specification
Appearance	Brown ~ dark brown liquid
Specific Gravity	0.98 ~ 1.04
pH Value	4.0 ~ 7.0
Heavy Metal	≤ 10 ppm
Arsenic	≤ 2 ppm
Microbes	≤ 100 CFU/mL

보관조건	실온	Preservative	-
포장단위	20kg, 200kg/ PE		

- 이 규격의 시험방법은 따로 규정한 것 이외에 대하여는 대한약전 통칙, 제제총칙 및 일반 시험법에 준함 것임.

(주)더가든오브내추럴솔루션



<발효 제품 2종의 기준규격>

3) 국내외 전시회 및 네트워킹

○ 국내외 전시회 참가

- in-cosmetics Korea 2021에서 본 연구를 통해 개발한 남원소재원료들과 발효물 등을 홍보함.



- 전년에 이어 코로나로 인한 팬데믹 하에 대부분의 전시회가 취소되어, 고객사별 홍보를 진행함.
- 전년에 확정된 글로벌화장품기업 L사의 신규 브랜드 개발에 본 연구의 결과물이 적용되었고 상당한 매출 성과를 이뤘으나, 코로나로 인한 시장 상황 급변으로 브랜드 론칭이 2022년으로 연기됨.

마. 전북농업기술원 허브산채시험장(제4협동)

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
5차 년도 (2021)	남원지역 특화자원의 허브생산 기술개발	허브 생산성 향상을 위한 적정 전정방법 구명	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 라벤더 ○ 전정강도 : 무처리, 선단부 1/3제거, 선단부 1/2 제거 ○ 조사항목 : 개화기, 생육특성, 수량 등 	<ul style="list-style-type: none"> - 전정 처리 후 생육특성 및 수량성 조사 - 전초 선단부 1/3제거 시 생체 수확량 다소 증대(16%) - 전정처리 통한 개화 및 수확시기 지연가능 확인
		허브 고품질 생산을 위한 유기자재 적정 처리농도 구명	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 자소엽, 라벤더 ○ 처리자재 : 키토산, 규산염 ○ 시험장소 : 운봉읍 등 2개소 ○ 조사항목 : 생육특성, 수량성, 지표성분 등 	<ul style="list-style-type: none"> - 자재 처리후 수량성 조사 및 항산화 활성, 유효성분 분석 - 자소엽, 라벤더 자재 처리 시 수량 증대 - 자소엽 키토산 1,000배 처리시 항산화 활성 및 유효성분 우수 - 라벤더 500배 항산화 활성 우수

1) 허브(라벤더) 생산성 향상을 위한 전정방법 구명

○ 포장 조성 및 전정 처리

- 2020년 6월 허브산채시험장 비가림시설에 정식한 2년생 라벤더 잉글리시 품종을 시험재료로 활용함.
- 전정은 2021년 5월 12일에 식물체 전초의 선단부 1/3, 1/2를 제거하였음.

○ 라벤더 생육 특성 및 수량성

(조사시기: 6.7.)

구분	초장(cm)	초폭(cm)	화경장(cm)	화경수(개/주)	생체중(kg/10a)
무처리	27.5±3.4 ^z	28.4±2.7	49.3±1.6	145.3	222
1/3전정	25.6±3.5	26.9±4.4	38.4±5.3	168.9	226
1/2전정	22.4±2.4	25.8±1.7	33.7±4.1	137.7	175

^z평균±표준편차

- 무처리구의 화경장이 전정 처리에 비해 길었으며, 초장과 초폭도 다소 컸으나 유의성은 없었으며, 주당 화경수는 1/3전정 처리구가 무처리에 비해 16% 증가하였고, 1/2전정은 오히려 5% 감소하였음. 수량은 무처리와 1/3전정 처리 간의 차이가 적었으며, 이는 1차 수확 시 무처리구의 화경장이 길었기 때문으로 여겨짐.

○ 전정방법별 개화시기

구분	개화시(월.일.)	만개기(월.일.)
무처리	6. 7.	6.28.
1/3전정	6.14.	7. 8.
1/2전정	6.14.	7. 8.

- 수확 전 개화시는 전정 처리구가 무처리구에 비하여 일주일 정도 늦춰졌으며, 만개기는 10일 정도 늦어졌음.
- 라벤더 개화기 30일 이전에 전초의 선단부 1/3 전정하는 것이 개화 및 수확시기를 지연시킬 수 있으며, 생체 수확량을 다소 증가시킬 수 있는 것으로 판단됨. 하지만 과도한 전정은 오히려 라벤더의 생산성을 감소시키는 것으로 조사되어 주의가 필요함.

2) 허브 고품질 생산을 위한 유기자재 적정 처리 농도 구명

○ 처리구 조성 및 자재 처리

○ 자소엽

- 105공 포트에 파종 육묘한 것을 남원시 주천면 농가 포장(표고 200m)에 4월 27일 정식하였으며, 허브산채시험장(표고 500m)은 운봉에 소재하고 있으며 포장에 5월 11일에 식재하였음.
- 2020년 유기자재 시험시 키토산 처리가 무처리에 비해 항산화 활성과 지표성분의 함량이 대체로 우수함에 따라 키토산(성분량 5%)가 함유된 자재를 250배, 500배, 750배, 1,000배로 희석하여 처리함.
- 농가포장은 6월 9일, 6월 24일, 7월 16일, 시험장 포장은 7월 4일, 7월 19일, 8월 7일 각각 총 3회 걸쳐 압축 분무기를 이용해 작물이 흠뻑 적셔지도록 살포하였으며, 무처리구는 물을 살포하였음.

○ 라벤더

- 기존 비가림시설에 조성된 6년생 라벤더 잉글리시 품종을 시험재료로 사용하였으며, 2020년 시험시 규산염이 효과가 있는 것으로 확인되어 규산염(성분량 20%) 함유된 자재를 250배, 500배, 750배, 1,000배로 희석하여 5월 16일, 5월 29일, 6월 13일 3회 처리 후 화경을 수확하고 추가로 8월 16일, 8월 30일, 9월 14일에 걸쳐 엽면 살포하였음.

○ 자소엽 재배지별 기상환경

○ 평균기온

(단위: °C)

구분	5월중순	5월하순	6월상순	6월중순	6월하순	7월상순	7월중순	7월하순
주천	18.8	17.5	21.7	22.3	22.5	23.8	26.3	-
운봉	17.6	16.1	20.1	20.8	20.7	22.5	24.6	25.7

- 운봉 시험포장의 평균기온이 주천 농가포장보다 1°C이상 낮았으며, 이는 농가 포장은 해발 200m, 시험포장은 500m로 지대가 높아 평균기온이 다소 낮은 것으로 여겨짐.

○ 자소엽 생육 특성 및 수량성

○ 초기 생육특성(주천 농가포장)

(조사시기: 6.9.)

구분	초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	SPAD
무처리	38.5±3.2 ^z	12.6±0.8	11.3±0.9	46.6±3.3
250배	38.1±2.3	12.8±0.9	11.5±0.8	47.0±3.2
500배	37.6±2.8	12.4±1.3	11.8±0.9	46.3±2.4
750배	36.8±2.3	12.6±1.1	11.7±0.8	46.3±3.7
1,000배	36.9±2.1	12.3±0.9	11.4±0.7	45.8±4.0

^z평균±표준편차

○ 초기 생육특성(운봉 시험포장)

(조사시기: 6.29.)

구분	초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	SPAD
무처리	33.4±4.3 ^z	10.7±0.8	10.0±0.5	42.5±4.1
250배	34.2±5.6	9.7±1.1	8.9±1.5	43.0±5.1
500배	34.3±1.7	10.8±1.7	10.1±1.3	43.7±2.7
750배	34.1±3.6	10.2±1.2	9.9±1.3	44.3±2.9
1,000배	33.3±4.2	9.6±1.2	9.5±1.0	42.6±3.2

^z평균±표준편차

- 생육초기의 생육특성은 처리구간의 유의성은 없었음.

○ 후기 생육특성 및 수량성(주천 농가포장)

(조사시기: 7.27.)

구분	초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	SPAD	생체중(kg/10a)	건물중(kg/10a)
무처리	116.2	8.7	6.8	42.0	579	105
250배	122.8	9.6	7.0	41.9	754	134
500배	121.1	9.4	7.2	41.4	703	119
750배	115.0	9.0	6.8	43.5	674	111
1,000배	110.7	9.4	6.7	41.6	709	118

* 건조방법: 50°C, 96시간 열풍건조

- 초장, 엽장, 엽폭은 250배 처리구에서 가장 좋았으며, 생체중과 건물중은 무처리에 비해 처리구에서 우수하였음. 특히 생체중은 무처리구 대비 처리구 250배는 30.2%, 1,000배는 22.5%, 500배는 21.4%, 750배는 16.3%로 많았음.

○ 후기 생육특성 및 수량성(운봉 시험포장)

(조사시기: 8.17.)

구분	초장(cm)	엽장(cm)	엽폭(cm)	SPAD	생체중(kg/10a)	건물중(kg/10a)
무처리	95.2	9.4	6.2	43.7	945	219
250배	99.5	9.4	6.5	43.8	1,120	263
500배	99.3	9.0	6.5	43.3	1,076	256
750배	100.0	9.2	6.6	45.1	1,070	252
1,000배	96.5	9.7	7.0	44.8	1,037	255

* 건조방법: 50°C, 96시간 열풍건조

- 초장은 처리구가 무처리에 비해 다소 양호하였으며, 엽장과 엽폭은 1,000배 처리구가 좋았음. 생체중과 건물중도 처리구가 무처리에 비해 무거웠으며, 생체중은 처리농도가 높아질수록 증가하는 경향이 있었음.

- 주천 농가 및 운봉에서 자소엽 재배 결과 수량성은 무처리구에 비해 처리구가 좋았으며, 특히 두 처리구 모두 250배 처리구가 수량성이 가장 많은 것으로 확인됨.

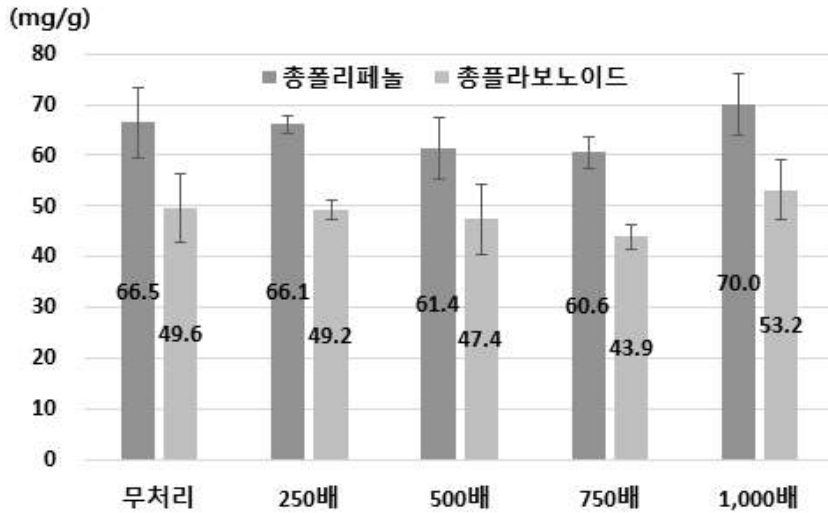
○ 주천 농가 포장 자소엽 항산화성 분석

○ 총 폴리페놀 함량 조사

- (분석방법) 재료를 수확하여 동결건조 후 분쇄하였음. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 비색법으로 시료 0.5g에 80% methanol 25mL를 넣어 강하게 볼텍싱 후 초음파 추출 60분, 상온 10분 방치, 원심분리(4,000rpm, 10분)하여 상층액을 2회 취하여 총 50mL로 정용하였음. 추출물 20μL에 2% sodium carbonate 용액 200μL을 가하고 5분간 반응 후 50% Folin-Ciocalteu's 시약 20μL를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시켰음. 반응액은 ELISA microplate reader(Epoch2, Biotek, Winooski, USA)를 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정하였고, 별도로 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하고 mg/g로 표시하였음.

○ 총 플라보노이드 함량 조사

- (분석방법) 총 플라보노이드 함량은 80% methanol 추출물 20 μ l에 diethylene glycol 200 μ l를 가하여 혼합하고 이어서 1N NaOH 용액 20 μ l를 가한 다음 30°C에서 1시간 동안 반응하고 Elisa reader를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정하였으며, 공시험 용액으로는 시료 추출액 대신 80% MeOH 20 μ l를 사용하였다. Total flavonoid 함량은 rutin을 사용하여 얻어진 검량곡선을 이용하여 정량하여 mg/g으로 표시하였음.

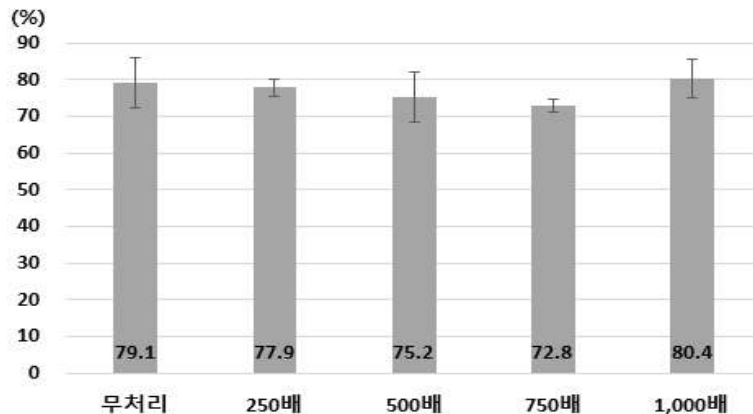


<주천 농가 포장 자소엽 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량>

- 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 1,000배 처리구에서 가장 많았으며, 750배 처리구에서 가장 낮았음.

○ ABTS⁺ 라디칼 저해활성

- (분석방법) ABTS⁺ 라디칼 저해활성은 ABTS 7mM 용액과 potassium persulfate 245mM의 용액을 조제한 다음 두 용액을 동량으로 혼합하여 실온의 암소에서 24시간 반응시킨 후 734nm에서 흡광도를 측정하여 값이 0.70±0.02이 되도록 희석하였음. 희석된 ABTS 용액 3,000 μ l에 추출물 30 μ l를 첨가한 후 혼합하여 30°C에서 20분간 반응시켜 734nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조는 합성 항산화제 BHT(butylated hydroxytoluene)를 0~500 μ g/mL 농도로 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 측정하였음.

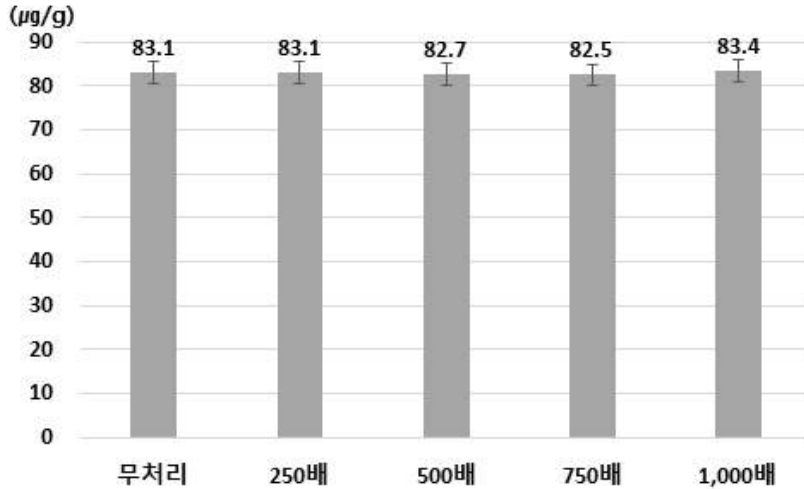


<주천 농가 포장 자소엽 ABTS⁺ 라디칼 저해활성>

- ABTS⁺ 라디칼 저해활성은 1,000배 처리구가 무처리에 비하여 우수하였으며, 타 처리구는 무처리보다 저해활성이 낮았음.

○ FRAP(철환원 항산화력) 활성 조사

- (분석방법) FRAP 활성은 300mM sodium acetate buffer(pH 3.6), 10mM TPTZ와 40mM HCl을 함유하는 용액, 20mM FeCl₃ · 6H₂O 용액을 준비하였음. FRAP 용액은 25mL sodium acetate buffer, 2.5mL TPTZ 용액 2.5mL FeCl₃ · 6H₂O 용액을 사용 직전에 10:1:1 비율로 혼합하여 조제 하였음. 이어서 시료 추출액 150μL와 FRAP 용액 2,850μL를 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시킨 후 593nm에서 생성물(ferrous tripyridyltriazine)의 흡광도를 측정하였음. 결과값은 표준물질인 trolox를 이용하여 표준 검량선에 대입하여 계산하였음.



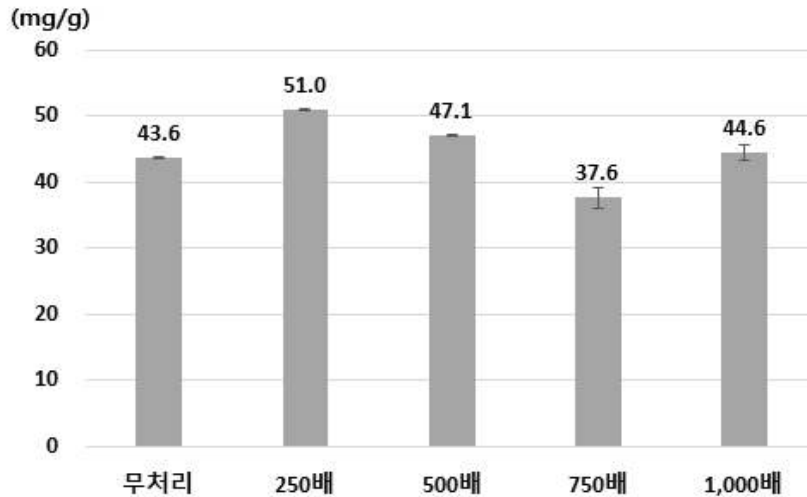
<주천 농가 포장 자소엽 FRAP 활성>

- FRAP 활성 처리구별 간 차이는 거의 없었음
- 주천 농가 포장 재배 시험 결과 1,000배 처리구만이 무처리 대비 항산화 활성이 높았음.

○ 운봉 시험 포장 자소엽 항산화성 분석

○ 총 폴리페놀 함량

- (분석방법) 50°C에서 96시간 열풍 건조한 시료를 마쇄하였음. 이것에 증류수를 가하여 10mg/mL 농도로 만든 후 30분 동안 초음파 추출하였음. 원심분리 후 상층액을 취하고 주사기 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였음. 96-well plate에 증류수 150μL를 가하고, 시험용액 및 증류수(공시험용)을 20μL씩 첨가 후 Folin-ciocalteu Reagent 10μL, 35% Sodium carbonate solution 20μL를 넣었음. 실온의 암소에서 1시간 동안 반응시킨 후, 마이크로플레이트리더기를 사용하여 760nm에서 흡광도를 측정하였음. Tannic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하고 mg/g로 표시하였음.

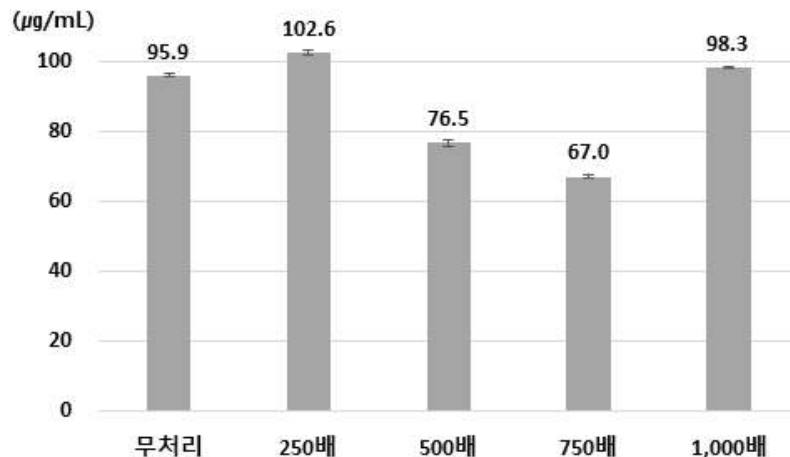


<운봉 시험 포장 자소엽 총 폴리페놀 함량>

- 총 폴리페놀 함량은 250배, 500배, 1,000배 처리구가 무처리 대비 많았으며, 750배 처리구에서 가장 낮아 주천농가 포장 시험 결과와 비슷하였음.

○ FRAP(철환원 항산화력) 활성

- (분석방법) 시료 1mg/mL의 농도로 증류수에 녹였음. Sodium acetate trihydrate 0.31g을 부피 플라스크에 넣고 증류수 100mL을 넣고 용해시켜 300mM Acetate Buffer(pH3.6)을 만들었음. TPTZ시약 0.031234g을 부피 플라스크에 넣고 40mM Hydrogen chloride를 10mL까지 채운 후, 완전히 용해시켜 10mM TPTZ in 40mM hydrogen Chloride를 만들었음. Iron(III) Chloride hexahydrate 0.05406g을 부피 플라스크에 넣고 증류수를 10mL까지 채운 후, 완전히 용해시켜 200mM Iron(III) Chloride를 조제하였음. 세 용액을 10:1:1 비율로 완전히 섞어 FRAP reagent를 만들어 180 μ L씩 분주한 후 시료 추출액과 5분 동안 반응시켜 준 후 마이크로플레이트리더기로 590nm에서 흡광도를 측정하였음. Iron(II) sulfate heptahydrate을 이용하여 표준검량선에 대입하여 구하였음.



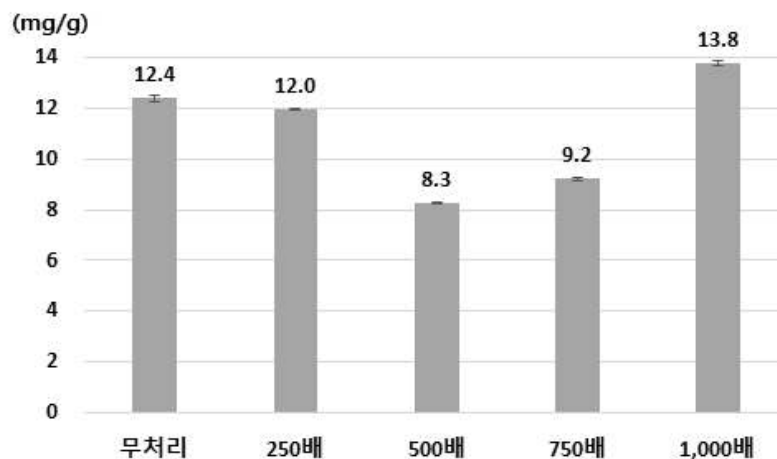
<운봉 시험 포장 자소엽 FRAP 활성>

- 자소엽의 FRAP활성은 250배, 1,000배 처리구가 무처리구에 비하여 우수하였으며, 총 폴리페놀 함량과 같이 750배 처리구에서 활성도 가장 낮았음.
- 운봉 시험 포장에서 재배한 자소엽은 처리구 250배와 1,000배 처리구가 무처리 대비 항산화 활성이 좋았음.

○ 자소엽 지표성분 분석

- (분석방법) 50°C에서 96시간 열풍 건조한 시료를 마쇄한 것을 25g에 50% 에탄올 500 ml을 사용하여 60°C에서 6시간 교반 추출한 뒤, syringe filter(0.45 μm)로 여과하여 HPLC 실시하여 rosmarinic acid 함량을 분석하였음.
- HPLC 조건

Column	Shim-pack VP-ODS, 4.6mm I.D. x250mmL., Shimazu, Japan	
Detection	280mm	
Flow rate	0.8ml/min	
Column temp.	40°C	
Solvent A	0.1% formic acid in water	
Solvent B	0.1% formic acid in ACN	
Gradient	Time(min)	Sol. B(%)
	2	0
	45	50
	50	95
	55	95
	55.1	0
	60	0



<자소엽 rosmarinic acid 함량>

- 주천에서 재배한 자소엽의 rosmarinic acid 함량은 1,000배 처리구에서 가장 많았으며, 이는 항산화 활성과 같은 결과이었음.
- 시험결과 주천과 운봉에서 자소엽 재배 시 키토산 자재 처리는 무처리구에 비해 수량성을 증대시키는 경향이 있었으며, 항산화 활성 및 유효성분 함량은 처리구 1,000배에서 우수한 편이었음.

○ 라벤더 수량성

구분	화경 생체중(kg/10a)	화경 건물중(kg/10a)	신초 생체중(kg/10a)	신초 건물중(kg/10a)
무처리	800	299	164	51
250배	1,175	448	216	72
500배	1,014	329	299	91
750배	1,019	323	284	92
1,000배	1,033	335	222	72

* 화경 수확: 7.6. / 신초 수확: 10.22. / 건조방법: 45°C, 72시간 열풍건조

- 라벤더 규산염 처리구가 무처리구보다 생체중 및 건물중이 많았으며, 특히 250배 처리구가 무처리 대비 46.9%로 증가하였음. 신초도 규산염 자재 처리구가 수량성이 좋았으며, 특히 500배 처리구가 우수하였음.

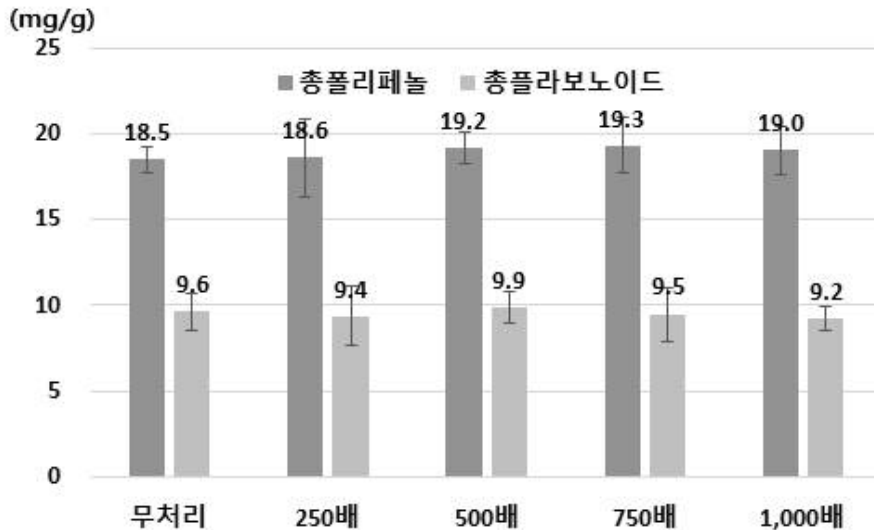
○ 라벤더 화경 향산화성 분석

○ 총 폴리페놀 함량

- (분석방법) 재료를 수확하여 동결건조 후 분쇄하였음. 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 비색법으로 시료 0.5g에 80% methanol 25mL를 넣어 강하게 볼텍싱 후 초음파 추출 60분, 상온 10분 방치, 원심분리(4,000rpm, 10분)하여 상층액을 2회 취하여 총 50mL로 정용하였음. 추출물 20μL에 2% sodium carbonate 용액 200μL을 가하고 5분간 반응 후 50% Folin-Ciocalteu's 시약 20μL를 가하여 혼합한 다음 30분간 반응시켰음. 반응액은 ELISA microplate reader(Epoch2, Biotek, Winooski, USA)를 사용하여 750nm에서 흡광도를 측정하였고, 별도로 gallic acid를 이용하여 작성한 검량곡선으로부터 총 폴리페놀 함량을 구하고 mg/g로 표시하였음.

○ 총 플라보노이드 함량

- 총 플라보노이드 함량은 80% methanol 추출물 20μL에 diethylene glycol 200μL를 가하여 혼합하고 이어서 1N NaOH 용액 20μL를 가한 다음 30°C에서 1시간 동안 반응하고 Elisa reader를 사용하여 420nm에서 흡광도를 측정하였으며, 공시험 용액으로는 시료 추출액 대신 80% MeOH 20μL를 사용하였다. Total flavonoid 함량은 rutin을 사용하여 얻어진 검량곡선을 이용하여 정량하여 mg/g으로 표시하였음.

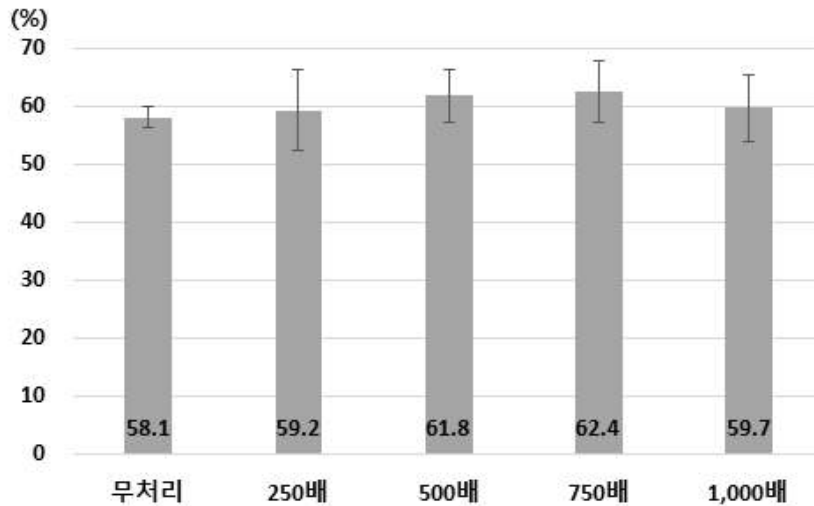


<라벤더 화경 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량>

- 총 폴리페놀 함량은 처리구가 무처리보다 많았으며 특히 처리구 500배, 750배가 우수하였으며, 총 플라보노이드 함량은 500배 처리구에서 높았음.

○ ABTS⁺ 라디칼 저해활성

- (분석방법) ABTS⁺ 라디칼 저해활성은 ABTS 7mM 용액과 potassium persulfate 245mM의 용액을 조제한 다음 두 용액을 동량으로 혼합하여 실온의 암소에서 24시간 반응시킨 후 734nm에서 흡광도를 측정하여 값이 0.70±0.02이 되도록 희석하였음. 희석된 ABTS 용액 3,000μL에 추출물 30μL를 첨가한 후 혼합하여 30°C에서 20분간 반응시켜 734nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조는 합성 향산화제 BHT(butylated hydroxytoluene)를 0~500μg/mL 농도로 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 측정하였음.

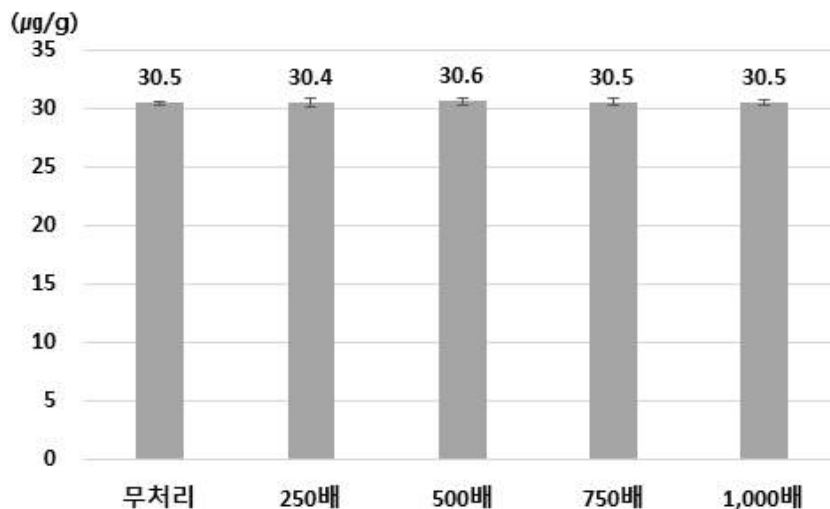


<라벤더 화경 ABTS⁺ 라디칼 저해활성>

- ABTS⁺ 라디칼 저해활성은 총 폴리페놀함량과 비슷한 경향을 보였으며, 처리구 500배, 750배가 우수하였음.

○ FRAP(철환원 항산화력) 활성

- (분석방법) FRAP 활성은 300mM sodium acetate buffer(pH 3.6), 10mM TPTZ와 40mM HCl을 함유하는 용액, 20mM FeCl₃ · 6H₂O 용액을 준비하였음. FRAP 용액은 25mL sodium acetate buffer, 2.5mL TPTZ 용액 2.5mL FeCl₃ · 6H₂O 용액을 사용 직전에 10:1:1 비율로 혼합하여 조제 하였음. 이어서 시료 추출액 150μL와 FRAP 용액 2,850μL를 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시킨 후 593nm에서 생성물(ferrous tripyridyltriazine)의 흡광도를 측정하였음. 결과값은 표준물질인 trolox를 이용하여 표준 검량선에 대입하여 계산하였음.



<라벤더 화경 FRAP 활성>

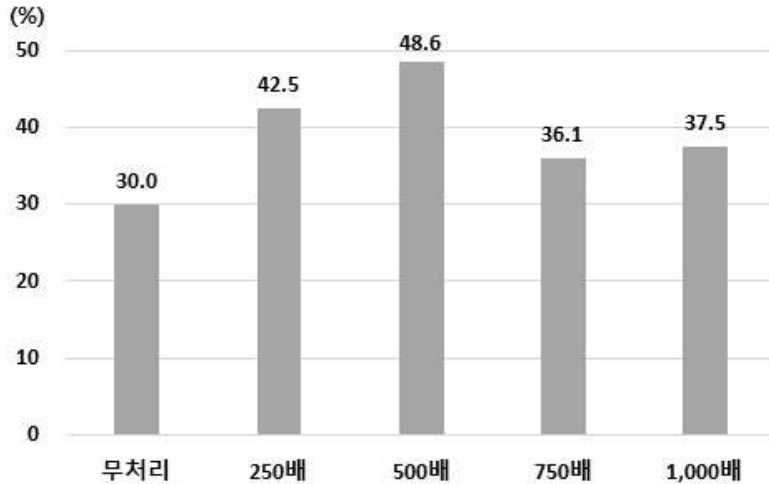
- FRAP 활성은 처리별 차이가 크지 않았음.

- 규산염 처리는 라벤더 화경의 항산화 활성을 증대시키는 경향이 있었으며, 특히 500배, 750배 처리구에서 항산화 활성이 우수하였음

○ 라벤더 신초 항산화성 분석

○ DPPH 라디칼 소거능

- (분석방법) 45°C에서 72시간 열풍 건조한 시료를 마쇄하였음. 시료를 1mg/mL의 농도로 에탄올에 희석한 후 각 시료를 96-well plate에 100μL씩 첨가하였음. 0.4mM DPPH Solution을 100μL씩 가한 후 37°C 배양기에서 30분 동안 반응시킨 후 마이크로플레이트 리더기로 490nm에서 흡광도를 측정하였음. Ascorbic acid을 이용하여 얻어진 검량선으로 계산하였음.

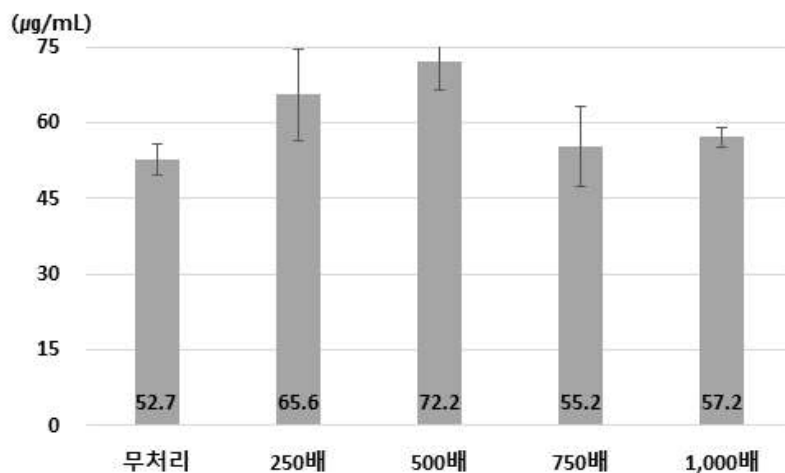


<라벤더 신초 DPPH 라디칼 소거능>

- 라디칼 소거능은 규산염 처리구가 무처리구에 비하여 우수하였으면, 특히 규산염 500배 처리구가 높았음.

○ FRAP(철환원 항산화력) 활성

- (분석방법) 시료 1mg/mL의 농도로 증류수에 녹였음. Sodium acetate trihydrate 0.31g을 부피 플라스크에 넣고 증류수 100mL을 넣고 용해시켜 300mM Acetate Buffer(pH3.6)을 만들었음. TPTZ시약 0.031234g을 부피 플라스크에 넣고 40mM Hydrogen chloride를 10mL까지 채운 후, 완전히 용해시켜 10mM TPTZ in 40mM hydrogen Chloride를 만들었음. Iron(III) Chloride hexahydrate 0.05406g을 부피 플라스크에 넣고 증류수를 10mL까지 채운 후, 완전히 용해시켜 200mM Iron(III) Chloride를 조제하였음. 세 용액을 10:1:1 비율로 완전히 섞어 FRAP reagent를 만들어 180μL씩 분주한 후 시료 추출액과 5분 동안 반응시켜 준 후 마이크로플레이트 리더기로 590nm에서 흡광도를 측정하였음. Iron(II) sulfate heptahydrate을 이용하여 표준검량선에 대입하여 구하였음.

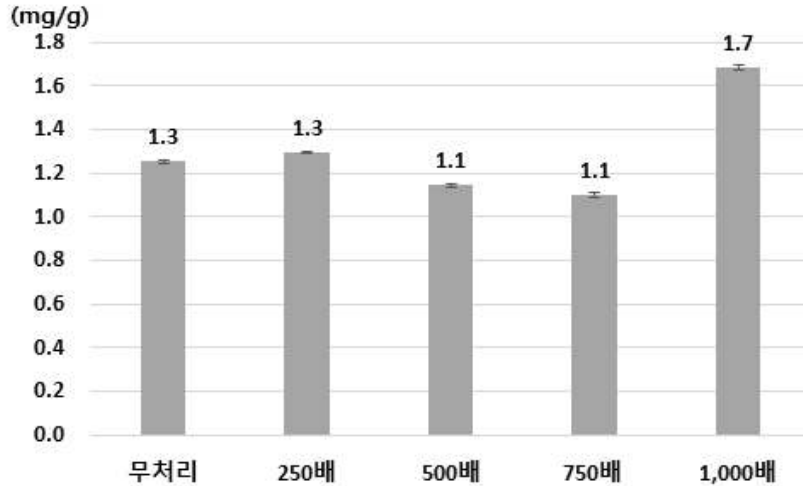


<라벤더 신초 FRAP 활성>

- 라벤더 신초의 FRAP활성은 무처리보다 처리구에서 우수하였으며, 이는 DPPH라디칼 소거능과 비슷한 경향을 보였음. 500배 처리구에서 높은 활성을 가졌음.
- 라벤더 신초의 항산화 활성은 대체로 처리구 500배에서 우수하였음.

○ 라벤더 신초 지표성분 분석

- 분석방법은 자소엽의 지표성분 분석방법과 동일하였음.



<라벤더 신초 rosmarinic acid 함량>

- 신초의 rosmarinic acid 함량은 1,0000배 처리구에서 가장 높았으며, 이는 작년도 시험 결과와 일치하였음.
- 시험 결과, 라벤더는 규산염 자재 처리구가 처리하지 않은 경우보다 수량성과 항산화활성이 우수하였음. 특히 화경의 수량성은 250배가 좋았으나 항산화 활성은 500배와 750배 처리구에서 양호하였고, 신초의 경우 수량성과 항산화 활성 모두 처리구 500배가 우수함을 확인할 수 있었음. 라벤더 재배 시 규산염은 500배액으로 처리하는 것이 고품질 화경이나 신초 등의 향장원료를 수확할 수 있을 것으로 여겨짐.

III. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

1) 1차년도

구분	연구목표	주요 내용 및 결과	담당기관
1차년도 (2017)	소재개발 및 자원화 (남원 지역특화 자원 10종)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 소재가공 및 효능평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 원재료표준화: 부위, 수확시기, 재배지역 <ul style="list-style-type: none"> -부위 : 꽃, 전초 -수확시기 : 4, 5, 7, 8, 10월 -재배지역 : 남원 -생육환경: 파종, 정식, 개화, 채종, 삽목시기 등 ○ 추출조건 및 제조공정표준화(bench scale) <ul style="list-style-type: none"> -추출규모 : bench scale -추출용매 : 물, 50% 에탄올 -추출온도 : 물 100°C, 에탄올 80°C -추출시간 : 4시간 -표준화 조건 : 수율, 색도 ○ 생리활성탐색(미백, 주름, 보습) <ul style="list-style-type: none"> -미백 : 세포독성, 티로시나제 활성, 멜라닌 생성능 -주름 : 세포독성, 콜라겐나아제 활성, 엘라스타아제 활성 -보습 : 세포독성, 히알루론산 분비능 	남원시화장품 산업지원센터 (제1협동)
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 지표(유효)성분 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량 <ul style="list-style-type: none"> -허브자원 10종의 추출물 20 종에 대한 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 ○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 탐색 및 설정 <ul style="list-style-type: none"> -문헌검색 및 HPLC 분석에 의한 허브자원 10종 의 지표성분 탐색 및 설정 ○ 지표(유효)성분 분석법 확립 <ul style="list-style-type: none"> -허브자원 10종 추출물중 HP -LC 분석법 및 LC-MS 분 석법 10건 확립 ○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 method validation <ul style="list-style-type: none"> -지표성분의 method validation 1건 수행 중 ○ 기능성 소재의 지표(유효)성분 정량 <ul style="list-style-type: none"> -HPLC 및 LC-MS에 의한 허브 자원 10종의 지표성분 정량 ○ 생리활성탐색(항산화) <ul style="list-style-type: none"> -허브자원 10종의 추출물 20 종에 대한 DPPH 저해 활성 분석 	우석대학교 산학협력단 (제2협동)
	소재 산업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생리활성탐색(항균, 방부) ○ 안전성, 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 세포독성평가 <ul style="list-style-type: none"> -효능 원료의 세포독성을 평가하여 안전성 기초 data 확보 ○ 열, 광, pH 안정성평가 ○ 제조공정표준화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> -추출조건별 지표물질 함량 비교하여 공정 최적화 	(주)더가든오브 내추럴솔루션 (제3협동)
제형 제품	<ul style="list-style-type: none"> ○ 올스킨 제품(클렌징폼, 올인원 에센스,수면팩)의 제조공정도 개발 ○ 제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토 	(주)하이솔 (제1세부,주관)	

		<ul style="list-style-type: none"> -라인별 제형 타입에 따른 천연 원료검토 ○ 제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립 -3종 제품에 적합한 천연향 조향 -3종 제품 베이스 샘플 ○ 올스킨 제품(클렌징, 올인원 에센스,수면팩)의 제형 및 제제 개발 ○ 최종산물에 대한 제형연구 -올스킨 제품 베이스 제형 대비 소재 첨가 제형의 안정성 변화값 : pH, 점도 	
	사업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마케팅 인프라 구축(중국, 베트남) ○ 해외시장 조사 및 기술동향 조사 -제품환경 및 산업환경 분석 ○ 진출 전략수립 -마케팅 전략 수립 ○ 국내 전시회 및 네트워킹 ○ 국내 전시회 참가 -코스모프로프 참가 ○ 디자인 개발 ○ 디자인 출원 -4건의 디자인 출원 -2건의 디자인 등록 	(주)하이솔 (제1세부,주관)
	재배정밀화 (재배 및 번식 기술)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 허브자원 시범포 조성 기본생리 연구 ○ 시험작목 : 허브자원 10종 ○ 처리내용 : 서양허브(3종) 라벤더 등, 동양허브(5종) 자소엽 등, 자원식물(2종) 찔레 등 ○ 재배면적 : 330 m²(작목당 33 m²), 노지재배 ○ 조사내용 : 기본생육(출현, 개화), 수량성 등 -허브자원 10종 시범포 조성 -허브자원 10종 지상부, 지하부 생육특성 조사 -허브자원 10종 이용부위별 향기성분 정성분석 	전북농업기술원 허브시험장 (제4협동)

2) 2차년도

구분	연구목표	주요 내용	담당기관
2차년도 (2018)	<p>소재개발 및 자원화 (남원 지역특화 자원 10종)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 소재가공 및 효능평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 추출조건 및 제조공정표준화(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> -사용부위: 전초, 꽃 -수확시기: 4, 5, 7, 9, 10월 -재배지역: 남원시 일대 -생육환경: 파종, 정식, 개화, 채종시기 -추출규모: pilot scale -추출용매: 50% 에탄올 -추출시간: 4시간 -기준규격: FT-IR -기능성분: 19종 폴리페놀 동시분석 ○ 기능성평가(미백, 주름, 보습) <ul style="list-style-type: none"> -항산화, 미백, 주름 상관관계분석 -미백(찜레, 산구절초), 주름(찜레, 와송), 보습(레몬그라스, 자소엽) 기전연구 ○ 소재자원화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 화장품원료 등재 <ul style="list-style-type: none"> -국제화장품원료등재(흰민들레, 찜레꽃, 곤달비, 와송 추출물, 자소엽수, 감국수) 	<p>남원시화장품 산업지원센터 (제1협동)</p>
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 지표(유효)성분 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 지표(유효)성분 동시 다분석 가능성 검토 <ul style="list-style-type: none"> -동시다분석(isocratic 분리법) 가능성 검토 : 산구절초, 자소 엽, 찜레 ○ 최종 조합물에 대한 지표(유효)성분 표준시험법 확립 <ul style="list-style-type: none"> -동시다분석(gradient cromato graphy 분리법) 표준 시험법 확립 -조합물1 : 산구절초, 자소엽, 찜레 -조합물2 : 산구절초, 와송, 자소엽, 찜레, 흰민들레 ○ 최종 조합물에 대한 method validation <ul style="list-style-type: none"> -Astragalin, Rosmarinic acid, Chlorogenic acid의 analysis method vlidation 진행 : 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 재현성 확인 ○ 최종 조합물 지표(유효)성분 정량 <ul style="list-style-type: none"> -찜레, Astragalin : 20.000 mg/g -산구절초, Chlorogenic acid : 1.0134~1.0354 mg/g -자소엽, Rosmarinic acid : 0.4444~0.4447 mg/g ○ 기능성(항산화) 평가 <ul style="list-style-type: none"> -DPPH 라디칼 소거능 : 산구절초, 자소엽, 찜레 BG40 추출물에서 항산화 기능 확인 	<p>우석대학교 산학협력단 (제2협동)</p>
	<p>소재산업화 화장품 원료</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 안전성, 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 인체 피부 자극성 평가 <ul style="list-style-type: none"> -찜레, 자소엽, 레몬그라스, 산구절초, 감국 추출물의 인체 피부 자극성을 평가 -무자극 판정 ○ 물리적 요인에 따른 지표물질 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> -7종 생산품 내의 지표물질 안정성 확인 ○ 제조공정표준화 및 기준규격확립(plant scale) <ul style="list-style-type: none"> ○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화 <ul style="list-style-type: none"> -제조공정 최적화 7종 ○ 지표 함량 기준 품질관리 확립 <ul style="list-style-type: none"> -품질관리 강화 : 잔류농약 검사, 알러지 유발물질 검사 ○ 국내외 전시회 및 네트워킹 	<p>(주)더가든오브 내추럴솔루션 (제3협동)</p>

		<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 전시회 참가 -In-cosmetics Korea 2018 -In-cosmetics Asia 2018 	
	제형제품	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품 개발(올스킨) ○ 제형연구를 통해 결정된 제형으로 클렌징 폼, 올인원 에센스, 수면팩 시제품 개발 -3가지 시제품의 처방 확정, 제조공정도 확립 ○ 안전성 평가(올스킨) ○ 시제품의 patch test -자체 첩포시험 안전성 확인 -전문임상기관 안전성 확인 ○ 안정성 평가(올스킨) ○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가 -3가지 제품의 대량생산에서 조건별 안정성 확인 ○ 제품 개발(올스킨) ○ 제품 개발 및 품목 보고 -림포디아 부스팅 매직 오투 버블폼 -림포디아 매직 슬리핑마스크 -림포디아 옴므 핸썸 올인원 	(주)하이솔 (제1세부, 주관)
	사업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 전시회 및 네트워킹 ○ 국내 전시회 참가 -2018 G-FAIR KOREA -2018 방콕 한국우수상품전 -2018 COSMOPROF ○ 홍보물 제작 -영문 홍보물 제작 ○ 디자인 개발 ○ 디자인 출원 -2건의 디자인 출원 ○ 디자인 등록 -4건의 디자인 등록 	(주)하이솔 (제1세부, 주관)
	재배정밀화 (재배 및 번식기술)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 허브 고품질 생산을 위한 적정 수확시기 설정 ○ 대상작물 : 와송, 자소엽, 레몬그라스, 찔레 ○ 재배방법 : 노지재배(남원, 익산) ○ 수확시기 : 6월~9월(4시기) ○ 조사항목 : 출아기, 개화기, 지상부·지하부 생육특성 등 	전북농업기술원 허브시험장 (제4협동)

3) 3차년도

구분	연구목표	주요 내용	담당기관
3차년도 (2019)	소재개발 및 자원화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 소재가공 및 효능평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효균주 선발(효모, 유산균) <ul style="list-style-type: none"> -효모 5종, 유산균 5종 균주 테스트 -원료함량: 2% -추출용매 및 시간: 물, 4시간 -발효접종: 4%(107 CFU/ml) -발효시간: 24, 48시간 -항산화효능평가(DPPH, 폴리페놀) -유산균 487 선정 ○ 발효조건 최적화 연구 <ul style="list-style-type: none"> -추출용매, 추출시간, 발효접종 균주 배양시간, 발효 후 공정 등 제조공정표준화 -원료함량: 5% -추출용매 및 시간: 물, 4시간 -발효접종: 5%(107 CFU/ml) -발효시간: 24시간 ○ 발효 전후 생리활성탐색(미백, 주름, 보습) <ul style="list-style-type: none"> -발효 전후 시료 효능평가 -미백: L-DOPA, Tyrosinase 활성 : 발효전후 차이 없음 -주름: Elastase, MMP-1 activity : 찹레 발효 후 우수 -보습: 히알루론산 생성유전자(HAS-1, -2, -3) : 찹레, 레몬그라스, 산구절초 발효 후 우수 ○ 발효 전후 관능성 평가 <ul style="list-style-type: none"> -발효 전후 용해도 평가 : 라벤더, 레몬그라스, 감국, 캐모마일, 와송, 찹레 발효 후 용해도 증가 -발효 전후 색도비교 : 라벤더, 와송, 자소엽, 찹레 발효 후 명도 및 채도 증가 : 레몬그라스, 감국 발효 후 명도 증가 	남원시화장품 산업지원센터 (제1협동)
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 지표(유효)성분 정량 및 발효조건 최적화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 전후 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량비교 <ul style="list-style-type: none"> -발효 전후 기능성 소재의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 비교, 발효 유용성 검정 - 발효 전후 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량 ○ 기능성 평가 및 발효조건 최적화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 전후 기능성 평가(항산화) <ul style="list-style-type: none"> -발효 전후 시료 항산화 활성 -발효 공정(BG) 시료 항산화 활성 	우석대학교 산학협력단 (제2협동)
	소재산업 화장품 원료	<ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 공정 연구 <ul style="list-style-type: none"> ○ 소재화에 적절한 발효 조건 연구 <ul style="list-style-type: none"> -발효샘플 분석을 통한 소재 선정 -액체 발효물, 고체 발효 추출물 제조 공정 설계 ○ 발효 전후 생리활성탐색(항균, 방부) <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 전후 생리활성탐색(방부/항균) <ul style="list-style-type: none"> -발효 전후 항산화, 미백, 주름, 보습 효과 -발효 전후 항균 효과 	(주)더가든오브 내추럴솔루션 (제3협동)
	소재산업 제형 제품	<ul style="list-style-type: none"> ○ 하이틴 제품(스킨, 로션, CC크림)의 제조공정도 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토 ○ 제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립 <ul style="list-style-type: none"> -포뮬라 구성 설정 -원료의 비율 및 제조공정 투입 순서 확인 -제형의 안정성 및 사용감 테스트 ○ 하이틴 제품(스킨, 로션, CC크림)의 제형 및 제제 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 최종산물에 대한 제형연구 <ul style="list-style-type: none"> -소재를 첨가한 제형의 안정성 평가 	(주)하이솔 (제1세부.주관)

	사업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 글로벌마케팅 인프라 구축 ○ 카탈로그/E 카탈로그 개발 <ul style="list-style-type: none"> -E 카탈로그 개발 ○ 국내외 뷰티관련 세미나, 컨퍼런스 등 행사참여 <ul style="list-style-type: none"> -2019 in cosmetics Korea ○ 마케팅 <ul style="list-style-type: none"> ○ 바이럴 마케팅 및 온라인 홍보 <ul style="list-style-type: none"> -소셜미디어·온라인 홍보 상시진행 ○ 국내 전시회 및 네트워킹 <ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 전시회 참가 <ul style="list-style-type: none"> -2019 비엠티뷰티 베트남 미용 전시회 ○ 홍보물 제작 <ul style="list-style-type: none"> -영문 홍보물 제작 	(주)하이솔 (제1세부,주관)
	재배정밀화 (재배 및 번식기술)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 와송 잡초경감을 위한 피복자재 선발(생력화재배) ○ 시험작물 : 와송 ○ 처리방법: 멀칭비닐(관행), 멀칭비닐+왕겨, 멀칭비닐+벼짚, 멀칭비닐+차광망 ○ 조사항목: 잡초발생양상, 활착률, 수량성 등 <ul style="list-style-type: none"> -시험처리에 따른 생육특성과 잡초 발생 양상 조사 ○ 허브 병해충 방제를 위한 유기농자재 선발(고품질생산) ○ 시험작물 : 와송, 자소엽, 레몬그라스, 찔레 ○ 처리방법 : 님추출물, 제충국제추출물 등 ○ 조사항목 : 병해충발생양상, 방제가, 생육특성 등 <ul style="list-style-type: none"> -병해충 발생여부 조사와 유기농 자재 처리에 따른 약해발생여부 조사 	전북농업기술원 허브시험장 (제4협동)

4) 4차년도

구분	연구목표	주요 내용	담당기관
4차년도 (2020)	소재개발 및 자원화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 소재가공 및 효능평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 추출 및 발효공정 표준화(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> -우수소재 4종(자소엽, 라벤더, 짚레꽃, 레몬그라스) -원료함량: 5% -추출용매 및 시간: 물, 4시간 -발효접종: 5%(107 CFU/ml) -발효시간: 24시간 ○ 발효소재 배합비 최적화연구 <ul style="list-style-type: none"> -우수소재 4종(자소엽, 라벤더, 짚레꽃, 레몬그라스대상 배합비 구성) ○ 다기능 소재의 기능성평가(미백, 주름, 보습) <ul style="list-style-type: none"> -배합 전후 시료 효능평가 -미백 <ul style="list-style-type: none"> ·멜라닌 합성 억제능, Tyrosinase 활성 억제능 : 배합후 차이 없음 -주름 <ul style="list-style-type: none"> ·콜라겐분해효소억제능 : 처리구 V (짚레 40%)에서 우수한 효능 보임. ·Elastase : 배합후 차이 없음 -보습 <ul style="list-style-type: none"> ·히알루론산생성유전자 (HAS-2) : 처리구 V (짚레40%)에서 우수한 효능 보임. ○ 소재자원화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 화장품원료 등재 및 라이브러리구축 <ul style="list-style-type: none"> -라벤더액상발효물, 자소엽액상발효물 화장품 원료등재 -라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 짚레꽃 라이브러리 구축 	남원시화장품 산업지원센터 (제1협동)
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 지표(유효)성분 정량 및 발효소재 배합비 최적화연구 ○ 발효소재 배합 전후 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량비교 <ul style="list-style-type: none"> -총 폴리페놀 및 총 플라보노이드는 함량은 배합후 처리구5(짚레꽃 40%)에서 가장 우수 ○ 발효소재 배합 전후 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량 <ul style="list-style-type: none"> -발효소재 배합 전후 기능성 소재의 지표성분 비교 정량 ○ 기능성(항산화) 평가 및 발효소재 배합비 최적화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효소재 배합 전후 기능성 비교 <ul style="list-style-type: none"> -배합 후 처리구5에서 우수한 항산화 활성을 나타냄 	우석대학교 산학협력단 (제2협동)
	화장품원료	<ul style="list-style-type: none"> ○ 안전성, 안정성 평가(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 전후 세포독성평가 <ul style="list-style-type: none"> -제품 안정성 및 세포 독성 시험 ○ 열, 광, pH 안정성평가 ○ 제조공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화(pilot scale) <ul style="list-style-type: none"> -발효공정 다변화에 의한 지표물질 분석 -효능 검증을 통한 제조공정 최적화 	(주)더가든오브 내추럴솔루션 (제3협동)
소재산업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품 개발(하이틴) <ul style="list-style-type: none"> ○ 제형연구를 통해 결정된 제형으로 스킨, 로션, CC크림의 시제품 개발 : 포물라 확정 <ul style="list-style-type: none"> -스킨, 로션, CC크림 시제품의 처방을 확정하여 제조공정도 확립 ○ 기존 제품과의 사용감 테스트 : 성능평가 <ul style="list-style-type: none"> -기존 제품(발효물 무첨가)과 시제품(발효물 첨가)의 피부 개선능 비교 ○ 안전성 평가(하이틴) <ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품의 patch test <ul style="list-style-type: none"> -자체 철폐시험 안전성 확인 -전문임상기관 안전성 확인 ○ 안정성 평가(하이틴) <ul style="list-style-type: none"> ○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가 	(주)하이솔 (제1세부,주관)	

		<ul style="list-style-type: none"> -3가지 시제품의 대량생산에서 건별(온도 편차, 온도순환) 안정성 확인 ○ 제품 개발(하이틴) <ul style="list-style-type: none"> ○ 제품 개발 및 품목 보고 -림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스 -에스테마인 톡톡 스킨에센스 -에스테마인 톡톡 컨드롤크림 ○ 실버 제품(클렌징 폼, 올인원 크림, 수면팩)의 제조공정도 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 향취 제거 및 마스크를 위한 첨가제 검토 -포물라 구성 설정 -원료의 비율 및 제조공정 투입 순서 확인 ○ 향취 제거 및 마스크를 위한 원료의 비율 확립 -향취제거 및 마스크에 적합한 향료 검토 및 비율 확립 	
	사업화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 글로벌마케팅 인프라 구축 <ul style="list-style-type: none"> ○ 홍보물 제작: 해외마케팅 및 전시용 영문 카달로그, 동영상 제작 -개발 브랜드 및 제품에 대한 영문 카달로그를 제작 -영문 홈에스테틱 동영상 제작 ○ 마케팅 실행 <ul style="list-style-type: none"> ○ 동영상 홍보(티저광고 및 프로젝트 영상) -국내 홈에스테틱 관련 홍보 동영상 제작 ○ 국내외 전시회 및 네트워킹 <ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 전시회 참가(비엠티뷰티 베트남 미용 전시회 등) -코로나 비상사태로 계획해둔 전시회/박람회 취소되어 위기대응 온라인 화상 수출설명회 참가 ○ 홍보물 제작 -베트남어 카달로그 제작 	(주)하이솔 (제1세부,주관)
		<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 전시회 및 네트워킹 <ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 전시회 참가(in-cosmetics 등) -코로나로 인해 모든 원료 전시회/박람회가 취소 되어, 고객사별 홍보를 진행함. 	(주)더가든오브 내추럴솔루션 (제3협동)
	재배정밀화 (재배 및 번식기술)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 허브 고품질 생산을 위한 유기농자재 선별(고품질) ○ 시험작물 : 자소엽, 라벤더 ○ 처리방법 : 무처리, 키토산, 규산염 등 ○ 조사항목 : 생육특성, 수량성, 지표성분 등 -자재 처리별 작물의 생육특성 및 수량성 조사 -작물의 처리구별 항산화성 및 지표성분 분석 	전북농업기술원 허브산채시험장 (제4협동)

5) 5차년도 취합 후 변경 예정

구분	연구목표	주요 내용	담당기관																			
5차년도 (2021)	소재개발 및 자원화	<p>○소재가공 및 효능평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효소재 바이오리포좀 조건확립 <ul style="list-style-type: none"> - 리포좀 적용소재 : 발효우수소재 4종(자소엽, 라벤더, 찔레꽃, 레몬그라스) - 리포좀 안정성조건 사전 실험 <table border="1" data-bbox="683 432 1126 573"> <thead> <tr> <th>Sample</th> <th>추출물함량(%)</th> <th>Lecithin함량(%)</th> <th>제조공정</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>발효자소엽</td> <td>100</td> <td>-</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>1안</td> <td rowspan="4">10</td> <td>6.75</td> <td rowspan="2">수상 및 포집물질 동시 첨가</td> </tr> <tr> <td>2안</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>3안</td> <td>6.75</td> <td rowspan="2">20% 수상 후 첨가</td> </tr> <tr> <td>4안</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table> <ul style="list-style-type: none"> ·pH : 처리구별 큰 차이 없음 ·가속가혹 : 육안상 제형 차이 없음 ·제타포텐셜 : 3안 절대값 높음 ·입도분석 : 1,3,4안 적정 값 - 발효소재 바이오리포좀 조건 확립 : 추출물 함량 10%, Lecithin 함량 6.75%, (20% 수상 후 추출물첨가) - 우수발효소재 4종 바이오리포좀화 : 라벤더, 찔레, 자소엽, 레몬그라스 ○ 생리활성기전연구(미백, 주름, 보습) <ul style="list-style-type: none"> - 우수발효소재 4종 (라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃) 대상 기전연구 - 미백 <ul style="list-style-type: none"> ·라벤더 : TRP-1 발현억제 ·자소엽 : TRP-1 발현억제 ·레몬그라스 : TRP-1, TRP-2발현억제 ·찔레꽃 : TRP-1, TRP-2발현억제 - 주름개선 <ul style="list-style-type: none"> ·라벤더 : COLA1 발현증가 ·자소엽 : COLA1, ELASTIN 발현증가 / MMP-9, MMP-13 발현억제 ·레몬그라스 : ELASTIN 발현증가, MMP-9 발현억제 ·찔레꽃 : COLA1, ELASTIN 발현증가 / MMP-9 발현억제 - 보습 <ul style="list-style-type: none"> ·라벤더 : HAS-2 발현증가 ·자소엽 : HAS-2 발현증가 ·레몬그라스 : HAS-2, HAS-3 발현증가 ·찔레꽃 : HAS-2 발현증가 - 피부장벽 <ul style="list-style-type: none"> ·라벤더 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 ·자소엽 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 ·레몬그라스 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 ·찔레꽃 : Filaggrin, Involucrin 발현증가 <p>○소재자원화</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 화장품원료 등재 및 라이브러리구축 <ul style="list-style-type: none"> - 레몬그라스고상발효물, 찔레꽃고상발효물 화장품 원료등재 - 캐모마일, 바위솔, 흰민들레, 감국, 산구절초 라이브러리 구축 	Sample	추출물함량(%)	Lecithin함량(%)	제조공정	발효자소엽	100	-	-	1안	10	6.75	수상 및 포집물질 동시 첨가	2안	5	3안	6.75	20% 수상 후 첨가	4안	5	<p>남원시화장품 산업지원센터 (제1협동)</p>
Sample	추출물함량(%)	Lecithin함량(%)	제조공정																			
발효자소엽	100	-	-																			
1안	10	6.75	수상 및 포집물질 동시 첨가																			
2안		5																				
3안		6.75	20% 수상 후 첨가																			
4안		5																				
		<p>○지표(유효)성분 정량 및 발효소재 바이오리포좀 조건 최적화</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성(항산화) 평가 및 발효소재 바이오리포좀 조건 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 발효소재 바이오리포좀에서 발효소재보다 지표성분의 함량이 증가하였음.(단, 라벤더의 리포좀 제형에서 rosmarinic acid 불검출) - 라벤더(rosmarinic acid): N.D - 자소엽(rosmarinic acid): 6.04µg/g 	<p>우석대학교 산학협력단 (제2협동)</p>																			

		<ul style="list-style-type: none"> - 레몬그라스(chlorogenic acid): 7.07µg/g - 찔레꽃(astragaloside): 33.43µg/g ○기능성(항산화) 평가 및 발효소재 바이오리포좀 조건 최적화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효소재 바이오리포좀 조건에 따른 기능성(항산화)비교 - 바이오리포좀보다 발효소재에서 더 좋은 활성을 나타내었음. - 바이오리포좀에서 DPPH 라디칼 소거능 활성: 찔레꽃>레몬그라스>자소엽>라벤더 - 발효소재에서 DPPH 라디칼소거능 활성: 찔레꽃>자소엽>레몬그라스>라벤더 ○ 생리활성기전연구(항산화) <ul style="list-style-type: none"> ○ 항산화 - 처리구V는 Xanthin oxidase 효소를 농도 의존적으로 강하게 억제(IC50: 39.66±2.92µg/mL). - Raw264.7세포주에서 처리구V의 세포독성평가 : 세포독성 없음 - SOD 활성 평가: LPS 처리 대비 처리구V(100µg/mL)에서 SOD 활성 증가 (76.9%) - ROS 형광이미지 분석: 농도 존적으로 ROS 활성 억제, 100µg/mL에서 8.0%로 양성대 조균(4-BHA)와 동등한 활성을 나타냄. - 처리구V NO억제 활성평가: 억제활성 없음. 	
	소재산업화	<ul style="list-style-type: none"> ○안전성, 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 인체 피부 자극성 평가 - 남원레몬그라스발효물과 남원자소엽발효 물의 인체적용시험을 통해 피부에 자극이 없음을 확인 ○ 물리적 요인에 따른 지표물질 안정성 평가 - 액체, 고체발효물들의 지표물질함량이 12주간 유지되는 것을 확인 ○제조공정표준화 및 기준규격확립(plant scale) <ul style="list-style-type: none"> ○ 지표 함량 기준 제조공정 최적화 - Plant scale의 제조공정을 최적화함 ○ 지표 함량 기준 품질관리 확립 - 품질관리기준을 확립하고, 추가 제품화 2건 달성 ○국내외 전시회 및 네트워킹 <ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 전시회 참가 - in-cosmetics Korea 2021에 참가하여 남원소재를 활용한 원료 홍보 	(주)더가든오브 내추럴솔루션 (제3협동)
		<ul style="list-style-type: none"> ○실버 제품의 제형 및 제제개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 최종 산물에 대한 제형 연구 - 소재를 첨가한 제형의 안정성 평가 ○실버 시제품 및 제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 제형연구를 통해 결정된 제형으로 바스폼, 바디로션, 수면팩의 시제품 개발 - 바스폼, 바디에센스, 마스크팩 시제품의 처방을 확정하여 제조공정도 확립 ○실버 시제품 안전성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 시제품의 patch test - 자체 첩포시험 안전성 확인 ○실버 시제품 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 대량생산에 의한 제형의 안정성 평가 - 3가지 시제품의 대량생산에서 건별 (온도 편차, 온도 순환) 안정성 확인 ○실버 제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 제품 개발 및 품목 보고 - 림포디아 커피&레몬밤 스킨 스파 밸런스 바스폼 	(주)하이솔 (제1세부,주관)

		<ul style="list-style-type: none"> - 림포디아 하이드로 바디 에센스 - 림포디아 부스팅 히팅 마스크 	
	사업화	<ul style="list-style-type: none"> ○국제 교류행사 진행 <ul style="list-style-type: none"> ○ 양국 연합을 통한 제품 개발 및 생산 추진 - 한중이 연합하여 신제품 개발 및 판매 ○ 수출입 관련 상호 연계협력 사항 발굴, 추진 - 림포테라피를 극대화 시킬 수 있는 제품 사용방법 및 판매 전략 협력 ○마케팅 시행 <ul style="list-style-type: none"> ○ 온라인 이벤트 활용 - 시기별 및 문제성 피부별 온라인이벤트 ○국내외 전시회 및 네트워킹 <ul style="list-style-type: none"> ○ 국내외 전시회 참가 - 코로나 19 장기화로 온라인 화상 수출설명회 참가 ○ 홍보물 제작 - 영문 루틴별 제품 사용법 동영상 제작 	(주)하이솔 (제1세부, 주관)
	재배정밀화 (재배 및 번식기술)	<ul style="list-style-type: none"> ○허브 생산성 향상을 위한 적정 전정방법 구명 <ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 라벤더 ○ 전정강도 : 무처리, 선단부 1/3제거, 선단부 1/2 제거 ○ 조사항목 : 개화기, 생육특성, 수량 등 - 전정 처리 후 생육특성 및 수량성 조사 - 전초 선단부 1/3제거 시 생체 수확량 다소 증대(16%) - 전정처리 통한 개화 및 수확시기 지연가능 확인 ○허브 고품질 생산을 위한 유기자재 적정 처리농도 구명 <ul style="list-style-type: none"> ○ 시험작물 : 자소엽, 라벤더 ○ 처리자재 : 키토산, 규산염 ○ 시험장소 : 운봉읍 등 2개소 ○ 조사항목 : 생육특성, 수량성, 지표성분 등 - 자재 처리후 수량성 조사 및 향산화 활성, 유효성분 분석 - 자소엽, 라벤더 자재 처리 시 수량 증대 - 자소엽 키토산 1,000배 처리시 향산화 활성 및 유효성분 우수 - 라벤더 500배 향산화 활성 우수 	전북농업기술원 허브산채시험장 (제4협동)

(2) 정량적 연구개발성과

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명			연도	1차년도 (2017)	2차년도 (2018)	3차년도 (2019)	4차년도 (2020)	5차년도 (2021)	계	가중치 (%)	
연구개발과제 특성 반영 지표	기술실시_이전(건)	목표(단계별)	0	1	1	0	1	2	10		
		실적(누적)	0	1	1	0	1	2			
	기술료(백만원)	목표(단계별)	0	10,000	0	0	9,000	19,000	5		
		실적(누적)	0	1,974	0	0	3,570	5,544			
	사업화	제품화 (건)	목표(단계별)	0	5	0	5	5	15	10	
			실적(누적)	0	7	0	5	5	17		
		매출액 (백만원)	목표(단계별)	0	100,000	160,000	200,000	300,000	760,000	5	
			실적(누적)	0	152,540	160,011	200,457	397,590	910,598		
		수출액 (백만원)	목표(단계별)	0	50,000	80,000	100,000	150,000	380,000	5	
			실적(누적)	0	65,520	83,790	192,082	470,250	811,642		
	고용창출(명)	목표(단계별)	2	0	1	0	1	4	10		
		실적(누적)	4	0	4	3	1	12			
	교육지도		목표(단계별)	0	0	1	1	1	3		
			실적(누적)	0	1	2	2	4	9		
인력양성(명)		목표(단계별)	0	1	0	1	0	2	5		
		실적(누적)	2	3	1	1	1	8			
전담기관 등록·기탁 지표	지식 재산권	출원	목표(단계별)	1	2	2	1	1	7	15	
			실적(누적)	4	5	3	2	1	15		
		등록	목표(단계별)	0	0	1	1	2	4		
			실적(누적)	0	4	2	3	4	13		
	학술 성과	논문	SCIE	목표(단계별)	0	0	1	0	1	2	
			실적(누적)	0	0	0	0	0	0		
		비SCIE	목표(단계별)	0	2	1	2	2	7		
			실적(누적)	0	2	1	2	2	7		
	학술 발표	목표(단계별)	1	2	3	3	3	12	15		
		실적(누적)	2	4	4	4	3	17			
	정책· 활용 홍보	홍보전시	목표(단계별)	2	3	3	6	6	20	20	
			실적(누적)	4	3	5	4	7	23		

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	화장품 용기	국내	(주)하이솔	17.11.21	30-2017-0054347	(주)하이솔	18.08.30	30-0971479	100%	
2	화장품 용기	국내	(주)하이솔	17.11.21	30-2017-0054348	(주)하이솔	18.08.30	30-0971481	100%	
3	화장품용 포장상자	국내	(주)하이솔	17.11.10	30-2017-0052450	(주)하이솔	18.10.15	30-0977435	100%	
4	화장품용 포장상자	국내	(주)하이솔	17.11.10	30-2017-0052451	(주)하이솔	18.10.15	30-0977434	100%	
5	항산화, 미백, 주름 및 보습용 화장료 조성물	국내	(재)남원시 화장품산업 지원센터	18.08.09	10-2018-0093363	(재)남원시 화장품산업 지원센터	20.03.31	10-2097723	100%	
6	고성능 액체크로마토그래피를 이용한 19 종 페놀 화합물 동시 분석 방법	국내	(재)남원시 화장품산업 지원센터	18.08.24	10-2018-0099405	(재)남원시 화장품산업 지원센터	20.02.25	10-2083419	100%	
7	천연 추출물을 함유하는 클렌징 폼 및 이의 제조방법	국내	(주)하이솔	18.10.30	10-2018-0130894	(주)하이솔	20.04.02	10-2098631	100%	
8	화장품 용기	국내	(주)하이솔	18.09.27	30-2018-0044802	(주)하이솔	19.06.05	30-1009900	100%	
9	화장품용 포장상자	국내	(주)하이솔	18.09.27	30-2018-0044803	(주)하이솔	19.05.20	30-1007866	100%	
10	페놀성화합물을 유효성분으로 하는 혼합추출물을 포함하는 피부보습 및 피부장벽 개선 화장료 조성물	국내	(재)남원시 화장품산업 지원센터	19.07.30	10-2019-0092744	(재)남원시 화장품산업 지원센터	21.03.15	10-2229902	100%	
11	식물 추출물을 함유하는 항산화 및 보습용 화장료 조성물	국내	(재)남원시 화장품산업 지원센터	19.10.07	10-2019-0124004	(재)남원시 화장품산업 지원센터	21.07.28	10-2285446	100%	
12	찔레 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균용 조성물	국내	(주)하이솔	19.10.24	10-2019-0132928	(주)하이솔	-	-	100%	
13	꽃 추출물을 함유하는 다기능 화장료 조성물	국내	(재)남원시 화장품산업 지원센터	20.02.12	10-2020-0017165	(재)남원시 화장품산업 지원센터	21.05.04	10-2250462	100%	
14	찔레꽃 추출물을 유효성분으로 함유하는 기억력 개선, 인지능력 개서, 또는 치매의 예방, 지연, 치료 또는 개선용 조성물	국내	우석대학교 산학협력단, 주식회사 한 풍네이처팜	20.02.17	10-2020-0019194	우석대학교 산학협력단, 주식회사 한풍네이처팜	21.10.26	10-2319712	50%	
15	찔레꽃 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 보습용 조성물	국내	(주)하이솔	21.07.05	10-2021-0087911	(주)하이솔	-	-	100%	

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타

저작권(소프트웨어, 서적 등) : 해당사항 없음.

신기술 지정 : 해당사항 없음.

기술 및 제품 인증 : 해당사항 없음.

표준화 : 해당사항 없음.

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	썬레꽃 에탄올추출물의 생리활성과 화장품 방부효과	한국약용작물학회지	김현우, 조하늘, 유병완, 김지효, 이태범	26(4)	대한민국	한국약용작물학회	비SCIE	18.08.31	pISSN 1225-9306 eISSN 2288-0186	100%
2	산구절초, 자소엽, 썬레를 함유한 천연 화장품 소재의 다성분 동시분석과 항산화활성	생약학회지	임재운, 함하늘, 쉬레스타 이비나쉬 찬드라 소양강	49(4)	대한민국	생약학회지	비SCIE	18.12.31	2288-9299	100%
3	레몬그라스와 자소엽 추출물의 피부보습 및 피부장벽에 관한 연구	대한 화장품학회지	황지영, 김현우, 조하늘, 이태범	45(3)	대한민국	대한화장품학회	비SCIE	19.09.30	pISSN 1226-2587 eISSN 2288-9507	100%
4	화장품 소재로서의 꽃 10 종 에탄올추출물 생리활성 특성연구	한국약용작물학회지	소양강, 김세울, 황지영	28(4)	대한민국	한국약용작물학회	비SCIE	20.08.30	pISSN 1225-9306 eISSN 2288-1086	100%
5	감국과 레몬그라스 에탄올추출물을 함유한 천연화장품 소재의 HPLC-DAD를 이용한 지표 성분 동시 분석 밸리데이션	아시아안뷰티 화장품 학술지	김주은, 임재운	18(4)	대한민국	아시아안뷰티화장품학회	비SCIE	20.12.31	2466-2046	100%
6	Simultaneous Analysis of Chlorogenic Acid, Epicatechin Gallate, and Rosmarinic Acid from the LOL (Ligularia stenofolophala, Orostachys japonica, Lavandula anfastifola) Cosmetic Composite and its Antioxidative Activity	아시아안뷰티 화장품 학술지	김주은, 임재운	19(2)	대한민국	아시아안뷰티화장품학회	비SCIE	21.06.30	2446-2046	100%
7	남원 · 지리산권 허브 3종의 피부 진정 효능에 관한 연구	아시아안뷰티 화장품 학술지	한지원, 남보미, 김세울, 박유나, 이범석, 황지영	19	대한민국	아시아안뷰티화장품학회	비SCIE	21.12.30	pISSN 2466-2046 eISSN 2466-2054	100%

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2017년 한국약용작물학회 심포지엄 및 추계학술발표회	최재호, 김현우, 조하늘, 유병완, 김지효, 이태범	17.09.26	청풍리조트 레이크 호텔 컨벤션홀(제천)	국내
2	2017년 대한약학회 추계 국제학술대회	김주은, 함하늘, 아빈, 김광상, 김민숙, 이태범, 최재호, 차준석, 김종엽, 임재윤	17.10.25	The K 호텔(서울)	국내
3	천연물 산업 국제심포지엄 및 2018년 한국자원식물학회 추계학술대회 : 미래성장동력으로서의 천연물산업	조하늘, 김현우, 소양강, 유병완, 김지효, 이태범	18.10.08	제천한방엑스포공원 한방생명과학관	국내
4	2018 한국약용작물학회 추계학술발표회 한·중 약용식물자원을 이용한 기능성 식품, 의약품 및 화장품 산업화 전략 심포지엄	이용문, 문정섭, 안송희, 양진호, 김동원, 안민실	18.10.17	제주 호텔빠레브	국내
5	2018 한국약용작물학회 추계학술발표회한·중 약용식물자원을 이용한 기능성 식품, 의약품 및 화장품 산업화 전략 심포지엄	이용문, 문정섭, 안송희, 양진호, 김동원, 안민실	18.10.18	제주 호텔빠레브	국내
6	The Shared frontiers in Pharmaceutical innovations for future prospects.	함하늘, 아빈, 임재윤	18.10.18	제주국제컨벤션센터	국내
7	바위슬과 레몬그라스의 지대별 생육특성 및 지표성분 비교	양진호, 문정섭, 염규생, 안송희, 김동원, 안민실	19.05.16	여수 베네치아 호텔	국내
8	2019년 한국약용작물협회 심포지움 및 춘계학술발표대회	소양강, 김현우, 조하늘, 황지영, 이태범	19.05.16	여수 베네치아 호텔	국내
9	바위슬 생력재배를 위한 피복재료 선발	양진호, 문정섭, 염규생, 기세연, 김동원	19.10.01	금산 다락원	국내
10	Integrating Vision and Mission for Phamaceutical Science Communities	김주은, 임재윤	19.10.14	여수 엑스포 컨벤션센터	국내
11	2020년 (사)한국약용작물학회 학술발표회	이태범, 소양강, 김세을, 황지영	20.10.07	온라인 (유튜브)	국내
12	2020 대한약학회 추계학술대회	김주은, 임재윤	20.10.21	온라인세미나	국내
13	한국미생물생명공학회 정기학술대회	이제성, 유예슬, 한기연, 황지영, 김광상, 차준석	20.08.26	온라인	국내
14	2020년 한국자원식물학회 추계학술대회	안송희, 문정섭, 염규생, 기세현, 정동춘	20.12.11	온라인	국내
15	2021 (사)한국약용작물학회 추계학술발표회	한지원, 남보미, 김세을, 박유나, 이범석, 황지영	21.11.04	온라인	국내
16	2021년 한국자원식물학회 정기총회 및 추계학술대회	안송희, 문정섭, 염규생, 김명석, 정동춘	21.10.07	국립 호남권생물자원관	국내
17	대한약학회 2021 초계국제학술대회	김주은, 최하연, 임재윤	21.12.20	전북대학교	국내

기술 요약 정보 : 해당사항 없음.

보고서 원문 : 해당사항 없음.

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 : 해당사항 없음.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작 : 해당사항 없음.

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	직접실시	천연 추출물을 함유하는 클렌징 폼 및 이의 제조방법에 대한 기술 실시	(주)하이슬	18.12.28	1,974,000	1,974,000
2	직접실시	찜레 추출물을 유효성분으로 함유하는 향균용 조성물에 대한 기술실시	(주)하이슬	21.11.29	3,570,000	3,570,000

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적 : 해당사항 없음.

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명	
							국내 (천원)	국외 (천원)			
1	기술보유자 직접사업화 기존업체	신제품 개발	전북 남원	제품 개발	화장품	(주)하이슬	부스팅 매직 오투 버블폼	15,024	-	2018	
							부스팅 매직 슬리핑 마스크	1,995	65,520	2018	
							옴므 핸섬 올인원	-	-	2018	
							헤드&숄더케어 시스템(3SET)	70,000	-	2018	
							부스팅 매직 오투 버블폼	46,502.9	-	2019	
							부스팅 매직 슬리핑 마스크	60,613	-	2019	
							옴므 핸섬 올인원	38,326.4	-	2019	
							헤드&숄더케어 시스템(3SET)	14,568.2	-	2019	
							시너지크림	-	83,790	2019	
							부스팅 매직 오투 버블폼	34,749.8	-	2020	
							부스팅 매직 슬리핑 마스크	37,708.6	-	2020	
							옴므 핸섬 올인원	33,956.3	-	2020	
							톡톡스킨에센스	20,039.8	-	2020	
							톡톡컨트롤크림	29,360.7	-	2020	
							데일리바디핏에센스	26,850	-	2020	
							시너지크림	-	192,082.5	2020	
							부스팅 매직 오투 버블폼	30,440	-	2021	
							부스팅 매직 슬리핑 마스크	35,743.3	-	2021	
							옴므 핸섬 올인원	31,283	-	2021	
							톡톡스킨에센스	20,630	-	2021	
톡톡컨트롤크림	25,937.8	-	2021								
컨트롤베이스CC크림	31,989.6	-	2021								
부스팅히팅마스크	15,358.5	-	2021								
하이드로바디에센스	12,748	-	2021								
커피&레몬밤스키니스파바스폼	14,658.9	-	2021								
스칼프스켈링	54,440	-	2021								
스칼프세럼	71,383	-	2021								
멀티세라미이드크림	50,081.8	-	2021								
시너지크림	-	470,250	2021								
2	기술보유자 직접사업화 기존업체	신제품 개발	경기 오산	제품 개발	원료	(주)더가든 오브내추럴솔루션	Namwon(남원)찜레 추출물	-	-	2018	
							Namwon(남원)자소엽 추출물	-	-	2018	
							Namwon(남원)감국추출물	-	-	2018	
							Namwon(남원)레몬그라스추출물	-	-	2018	
							남원산허브추출물	-	-	2018	
							남원리벤더발효물	-	-	2020	
							남원레몬그라스발효물	-	-	2020	
							남원산허브추출물	17,792	-	2020	
							남원찜레꽃발효물	-	-	2021	
남원자소엽발효물	-	-	2021								
남원산허브추출물	2,896	-	2021								

* 1) 기술이전 또는 자기실시

* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(천원)		
제품개발	2021	889,909.6	811,642.5	1,701,552.1	
제품개발	2021	20,688	-	20,688	
합계		910,597.6	811,642.5	1,722,240.1	

□ 사업화 계획 및 무역 수치 개선 효과 : 해당사항 없음.

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			1단계 (2017년~2018년)	2단계 (2019년~2021년)	
1	남원지역 특화자원을 이용한 제품 개발 및 사업화	(주)하이솔	2	4	6
2	남원지역 특화자원의 소재개발 및 효능평가	(재)남원시화장품 산업지원센터	1	4	5
3	남원지역 특화자원을 이용한 화장품 원료 개발 및 산업화	(주)더가든오브내추럴솔루션	1	-	1
합계			4	8	12

□ 고용 효과 : 해당사항 없음.

□ 비용 절감(누적) : 해당사항 없음.

□ 경제적 파급 효과 : 해당사항 없음.

□ 산업 지원(기술지도) : 해당사항 없음.

□ 기술 무역 : 해당사항 없음.

[사회적 성과]

□ 법령 반영 : 해당사항 없음.

□ 정책활용 내용 : 해당사항 없음.

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영 : 해당사항 없음.

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	우석대학교	2017		1	1		1	1				2	
		2018		1	1	1	2	1				3	
		2019		1				1				1	
		2020		1				1				1	
		2021	1					1				1	

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최횟수	총 교육 시간	총 교육 인원
1	와송 재배농가 현장컨설팅	- 와송 재배농가 애로사항 파악을 통한 현장애로 사항 해결방안 도출 및 농가소득 증대 기여 - 와송농가 애로사항, 경영상황 정보 수집을 통한 시험연구사업 반영 및 농가 경영 효율화 자료 활용	전북농업기술원 허브시험장	1	3	15
2	허브 재배농가 현장컨설팅	- 농가현황(재배품목, 재배방법 등)파악 및 허브 재배관련 정보제공	전북농업기술원 허브산채시험장	1	2	3
3	와송 재배농가 현장컨설팅	- 바위솔(와송) 재배시 주의점(관수 등) 및 홍보 및 유통의 중요성 교육	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	5
4	허브 경관단지 조성 농가 현장 컨설팅	- 농가 애로사항 및 현장 컨설팅	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	1
5	라벤더 재배 농가 현장 컨설팅	- 농가 애로사항 및 현장 컨설팅	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	1
6	라벤더 재배농가 컨설팅	- 농가 애로사항 해결 및 현장 적용 가능 시험사업 발굴	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	1
7	라벤더 경관재배 농가 현장 컨설팅	- 노지 재배 라벤더 계절별, 연차별에 따른 컨설팅으로 농가 시행착오 최소화 및 경영비 절감	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	1
8	라벤더 경관재배 농가 현장 컨설팅	- 농가 시행착오 최소화 및 경영비 절감을 위한 연구사업 발굴	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	1
9	라벤더 경관재배 농가 현장 컨설팅	- 농가 애로사항 해결을 위한 연구사업 발굴 - 개화기간 연장 재배 및 다양한 경관 연출을 통한 농가 소득 증대	전북농업기술원 허브산채시험장	1	1	1

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용 : 해당사항 없음.

□ 국제화 협력성과 : 해당사항 없음.

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	중앙TV방송	연합뉴스	남원 화장품컨소시엄 '뷰티산업 제품 개발' 정부 지원사업 선정	17.04.28
		뉴시스	남원 화장품컨소시엄 농림축산식품부 연구과제 국비 확보	17.04.28
2	중앙TV방송	국제뉴스	남원시 화장품 산업 육성을 위한 기업지원 업무협약 체결	17.11.11
		뉴스메이커	남원시 관내 화장품기업과 경쟁력 강화를 위한 업무협약 체결	17.11.11
3	지방일간지	전북일보	남원시 친환경 화장품산업의 비상	18.02.07
4	지방일간지	투데이안	전북농기원, 자생허브 연구로 화장품산업 육성 지원 앞장	18.07.31
		KNS 뉴스통신	전북농기원, 자생허브 연구로 화장품산업 육성 지원 앞장	18.07.31
5	중앙일간지	뉴스메이커	남원시, 친환경화장품 대표도시로 도약	19.01.12
		아시아투데이	남원, 중장기 지역동력 '친환경 화장품 산업 탄력...직접화단지 구축	19.01.14
6	중앙전문지	보건뉴스	화장품 신소재·신기술과 원료개발동향 공유	19.05.22
		코스모닝	화장품 융복합기술·천연원료 최신 트렌드 제시	19.05.23
7	지방Radio	전주 MBC	허브 재배 및 관리방법(라벤더 효능, 수확방법 등)	19.09.29
8	중앙TV방송	연합뉴스	지리산 식물에서 천연 화장품 원료 발굴 본격화	20.07.25
9	중앙전문지	코스모닝	K-뷰티산업을 선도하는 전문 미디어	20.09.08
		CMN	최첨단 화장품 원료 및 과학기술 전격 공개	20.09.16
10	지방Radio	전주 MBC	자소엽과 라벤더의 재배 및 이용방법	20.11.22
11	중앙전문지	코스인	남원시, '화장품산업 중심도시' 도약 선언 24억 투입 기업지원 본격화	21.03.08
12	중앙TV방송	연합뉴스	화장품기업 전문 입주공간 '남원 코스메틱 비즈니스센터' 착공	21.03.23
13	중앙전문지	코스모닝	남원화장품지원센터, 광주여대와 업무 협약	21.07.02
14	중앙전문지	CMN	남원시, 코스메틱비즈센터 입주의향기업 업무협약 체결	21.08.30
15	중앙전문지	코스모닝	다섯 번째 지리산, 아름다운 공감 네트워크	21.11.11
16	지방Radio	전주 MBC	라벤더 재배방법	21.11.28
17	중앙전문지	CMN	화장품산업전문교육 지원 협약기업 모집	21.12.06

□ 전시회 등 참여

번호	유형	행사명칭	전시품목	장소	행사일
1	전시회	COSMOPROF	화장품	HONG KONG CONVENTION & EXHIBITION CENTER	17.11.15
2	전시회	In-cosmetics Korea 2018	Namwon(남원)감국추출물 외 6종	서울시 코엑스 전시관	18.06.13 -18.06.15
3	전시회	2018 방콕 한국우수상품전	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	방콕 바이텍(BITEC) 전시장 EH100	18.10.03 -18.10.05
4	전시회	2018 G-FAIR	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	KINTEX 1st Exhibition Hall	18.10.24 -18.10.27
5	전시회	In-cosmetics Asia 2018	Namwon(남원)감국추출물 외 4종	태국 방콕	18.10.30 -18.11.01
6	박람회	2018 COSMOPROF ASIA HONG KONG	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	홍콩컨벤션(완차이전시장)	18.11.13 -18.11.17
7	전시회	In-cosmetics Korea 2019	Namwon(남원)감국추출물 외 3종	서울시 코엑스 전시관	19.06.26 -19.06.28
8	전시회	Vietnam's Premier International Beauty Show 2019	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	호치민 사이공 엑시비션 & 컨벤션 센터	19.08.22 -19.08.24
9	기타	2020 온라인 화상 수출상담회(1차)	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	소셜캠퍼스 온 전북 6층	20.03.25
10	기타	2020 제2회 온라인 화상 수출상담회(러시아)	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	소셜캠퍼스 온 전북 6층	20.06.25
11	기타	2020 제7회 온라인 화상 수출상담회(인도네시아)	부스팅 매직 오투 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 옴므 핸섬 올인원	소셜캠퍼스 온 전북 6층	20.07.09
12	기타	2021 글로벌파트너사업 매칭데이	부스팅 매직 오투 버블폼 외 8종	전북경제통상진흥원 드림스퀘어(본관 1층)	21.06.01
13	전시회	In-cosmetics Korea 2021	남원레몬그라스말효물-F(SF) 외 3종	서울시 코엑스	21.07.14

□ 포상 및 수상 실적 : 해당사항 없음.

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비 : 해당사항 없음.

2. 목표 달성 수준

추진 목표		달성 내용	달성도 (%)
소재개발 및 자원화	소재가공 및 효능평가	<ul style="list-style-type: none"> ○원재료 표준화: 부위, 수확시기, 재배지역 ○추출조건 및 제조공정표준화(bench scale) ○생리활성탐색(미백, 주름, 보습) ○기능성평가(미백, 주름, 보습) ○발효균주 선발(효모, 유산균) ○발효조건 최적화 연구 ○발효 전후 생리활성탐색(미백, 주름, 보습) ○발효 전후 관능성 평가 ○추출 및 발효공정 표준화(pilot scale) ○발효소재 배합비 최적화연구 ○다기능 소재의 기능성평가(미백, 주름, 보습) ○발효소재 바이오표준 조건확립 	100%
	소재자원화	<ul style="list-style-type: none"> ○화장품원료 등재 및 라이브리리구축 	
	지표(유효)성분 표준화	<ul style="list-style-type: none"> ○총폴리페놀, 총플라보노이드 함량 ○기능성 소재의 지표(유효)성분 탐색 및 설정 ○지표(유효)성분 분석법 확립 ○기능성 소재의 지표(유효)성분 method validation ○기능성 소재의 지표(유효)성분 정량 ○지표(유효)성분 동시 다분석 가능성 검토 ○최종 조합물에 대한 지표(유효)성분 표준시험법 확립 ○최종 조합물에 대한 method validation ○최종 조합물 지표(유효)성분 정량 ○기능성(항산화) 평가 	
	생리활성탐색(항산화)	<ul style="list-style-type: none"> ○생리활성탐색(항산화) 	
	지표(유효)성분정량 및 발효조건 최적화	<ul style="list-style-type: none"> ○발효 전후 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량비교 ○발효소재 배합 전후 총폴리페놀, 총플라보노이드 함량비교 ○발효소재 배합 전후 기능성 소재의 지표(유효)성분 비교정량 ○발효소재 바이오표준 조건에 따른 기능성(항산화) 비교 ○발효소재 바이오표준 조건에 따른 지표(유효)성분 비교정량 	
	기능성 평가 및 발효조건 최적화	<ul style="list-style-type: none"> ○발효 전후 기능성 평가(항산화) 	
소재 산업화	화장품원료	<ul style="list-style-type: none"> ○생리활성탐색(항균, 방부) ○안전성, 안정성 평가 ○세포독성평가 ○열, 광, pH 안정성평가 ○인체 피부 자극성 평가 ○물리적 요인에 따른 지표물질 안정성 평가 ○발효 전후 세포독성평가 ○인체 피부 자극성 평가 	100%

		<p>제조공정표준화</p> <ul style="list-style-type: none"> ○지표 함량 기준 제조공정 최적화(pilot scale) ○지표 함량 기준 품질관리 확립 <p>국내외전시회 및 네트워킹</p> <ul style="list-style-type: none"> ○국내외 전시회 참가 <p>○소재화에 적절한 발효 조건 연구</p> <p>제조공정표준화 및 기준규격확립(plant scale)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○지표 함량 기준 제조공정 최적화 ○지표 함량 기준 품질관리 확립 ○발효 전후 생리활성탐색(방부/항균) 	
	제형 제품	<p>제조공정도 개발(9건)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○제품의 물성개선을 위한 첨가제 검토 ○제품의 물성개선을 위한 원료의 비율 확립 ○향취 제거 및 마스킹을 위한 첨가제 검토 ○향취 제거 및 마스킹을 위한 원료의 비율 확립 <p>제형 및 제제 개발 (9건)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○최종산물에 대한 제형연구 <p>시제품 개발 9건</p> <ul style="list-style-type: none"> ○올스킨 제품의 제형연구를 통해 결정된 제형으로 클렌징 폼, 올인원 에센스, 수면팩 시제품 개발 ○하이틴 제품의 제형연구를 통해 결정된 제형으로 스킨, 로션, CC크림의 시제품 개발 : 포물라 확정 ○하이틴 제품을 기존 제품과의 사용감 테스트 : 성능평가 ○실버 제품의 제형연구를 통해 결정된 제형으로 바스폼, 바다로션, 수면팩의 시제품 개발 <p>안전성 평가(9건)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○시제품의 patch test ○대량생산에 의한 제형의 안정성 평가 <p>제품 개발(9건)</p> <ul style="list-style-type: none"> ○제품 개발 및 품목 보고 ○올스킨 제품 3건 : 일반 1건. 기능성 2건 ○하이틴 제품 3건 : 일반 1건. 기능성 2건 ○실버 제품 3건 : 일반 3건 	
사업화	마케팅 인프라 구축 (중국, 베트남)	<ul style="list-style-type: none"> ○해외시장 조사 및 기술동향 조사 ○진출 전략수립 ○카탈로그/E 카탈로그 개발 	100%
	국제 교류행사 진행	<ul style="list-style-type: none"> ○한중 연합을 통한 제품 개발 및 생산 추진 ○수출입 관련 상호 연계협력 사항 발굴, 추진 	
	국내 전시회 및 네트워킹	<ul style="list-style-type: none"> ○홍보물 제작 ○국내 전시회 참가 ○국내외 전시회 참가(in-cosmetics 등) 	
	디자인 개발	<ul style="list-style-type: none"> ○디자인 출원 및 등록 	
	마케팅 실행 마케팅 실행	<ul style="list-style-type: none"> ○바이럴 마케팅 및 온라인 홍보 ○동영상 홍보(티저광고 및 프로젝트 영상) ○온라인 이벤트 활용 	

재배 정밀화	허브자원 시범포 조성 기본생리 연구	○시험작목 : 허브자원 10종 ○처리내용 : 서양허브(3종) 라벤더 등, 동양허브(5종) ○자소엽 등, 자원식물(2종) 찢레 등 ○재배면적 : 330 m ² (작목당 33 m ²), 노지재배 ○조사내용 : 기본생육(출현, 개화), 수량성 등	100%
	허브 고품질 생산을 위한 적정 수확시기 설정	○대상작물 : 와송, 자소엽, 레몬그라스, 찢레 ○재배방법 : 노지재배(남원, 익산) ○수확시기 : 6월~9월(4시기) ○조사항목 : 출아기, 개화기, 지상부·지하부 생육특성 등	
	와송 잡초경감을 위한 피복자재 선발(생력화재배)	○시험작물 : 와송 ○처리방법: 멀칭비닐(관행), 멀칭비닐+왕겨, 멀칭비닐+벗짚, 멀칭비닐+차광망 ○조사항목: 잡초발생양상, 활착률, 수량성 등	
	허브 병해충 방제를 위한 유기농자재 선발	○시험작물 : 와송, 자소엽, 레몬그라스, 찢레 ○처리방법 : 님추출물, 제충국제추출물 등 ○조사항목 : 병해충발생양상, 방제가, 생육특성 등	
	허브 고품질 생산을 위한 유기농자재 선발	○시험작물 : 자소엽, 라벤더 ○처리방법 : 무처리, 키토산, 규산염 등 ○조사항목 : 생육특성, 수량성, 지표성분 등	
	허브 생산성 향상을 위한 적정 전정방법 구명	○시험작물 : 라벤더 ○전정강도 : 무처리, 선단부 1/3제거, 선단부 1/2 제거 ○조사항목 : 개화기, 생육특성, 수량 등	
	허브 고품질 생산을 위한 유기자재 적정 처리농도 구명	○시험작물 : 자소엽, 라벤더 ○처리자재 : 키토산, 규산염 ○시험장소 : 운봉읍 등 2개소 ○조사항목 : 생육특성, 수량성, 지표성분 등	

IV. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

○ 기술료

- 당초 목표 금액이 2차년도 10,000천원과 5차년도 9,000천원, 합계 금액 19,000천원이었으나 농림식품기술기획평가원과 협의하여 농림식품과학기술육성법 시행령 제14조에 의한 기술료 감면 규정에 따라 2차년도 1,974천원과 5차년도 3,570천원 기술료를 각각 납부하였음.
- 따라서 당초 목표보다 미달되었으나 농림식품과학기술육성법 시행령 제14조에 의한 기술료 감면 규정에 의한 사유로 감면 금액을 납부하였음.

○ SCI급 논문

- 향산화 효능과 HPLC를 활용한 천연소재의 성분 분석, 밸리데이션 등의 데이터로 SCI급 논문을 준비해 보았으나, 최근에는 NMR, TOF-MS 등 다른 분석 방법을 접목하지 않으면 투고가 매우 어려움을 인지함
 - 연구계획 당시의 SCI급 저널의 리뷰 기준이 매우 강화된 것으로 판단됨
 - 실제 3차년도부터 SCI급 저널 투고용으로 준비하고 작성한 영문논문을 SCI 저널에 투고하지 못하고 국내 KCI급 저널에 투고함
(DOI:<https://doi.org/10.20402/ajbc.2020.0098>)
 - 향산화 활성이 특히 강했던 찔레꽃 소재의 다른 약리활성을 시험관 내, 생체내에서 확인하고 아래와 같이 논문투고를 준비해왔음
 - 찔레꽃 추출물의 시험관내, 생체내 약리활성을 보고하는 논문 1편을 투고 준비 중임(The inhibitory activity on Acetylcholinesterase and anti-amyloidogenic effect of *Rosa muliflora* flower)
 - 찔레꽃 추출물을 주소재로 제조한 천연물 조성물 RCM의 시험관내, 생체내 약리활성에 대한 논문 1편을 투고 준비 중임(Effect of RCM fraction mixture on APPswe cell line and macrophages and on improving memory impairment in β -amyloid-induced Alzheimer's disease mouse model)
 - 현재까지 이상 2편의 논문투고가 지연되는 사유로서 in vitro 실험 데이터 중 1개 데이터의 유의성이 확보되지 않았으며 향산화 활성 관련 데이터가 DPPH 소거활성 데이터만 확보한 상태임
-

2) 자체 보완활동

○ 기술료

- 농림식품과학기술육성법 시행령 제14조에 의해 특허내용 및 기술료 산정방식, 기술료감면 신청서, 기술실시보고서, 중소기업확인서 등 제반 서류를 제출하여 감면받아 해당 기술료를 모두 납부하였으므로 기술료는 100% 수행하였음.

○ SCI급 논문

- 다음과 같이 데이터가 보완되는 대로 2편 모두 투고할 예정임
 - in vitro 실험 데이터의 유의성을 확보하기 위해 세포 수준의 반복실험을 진행 중임
 - 향산화 활성 관련 데이터로 ROS 실험 등의 추가실험을 통해 형광현미경 데이터 등을 확보 중임
-

3) 연구개발 과정의 성실성

○ 기술료

- 당초 계획된 목표 금액은 국비 대비 정액 기술료를 목표로 설정하였음. 첫 번째 특허는 2차년도(2018년 10월)에 천연 추출물을 함유하는 클렌징 폼 및 이의 제조방법(출원번호 10-2018-0130894)으로 출원하여 2020년4월에 등록(등록번호 10-2098631)되었음. 이 특허를 근거로 자체 기술 실시를 통해서 기술료 감면을 받아 당초 10,000천원이었으나 감면 금액으로 1,974천원을 납부하였음.
- 두 번째 특허는 3차년도(2019년 10월)에 찔레 추출물을 유효성분으로 함유하는 향균용 조성물(출원번호 10-2019-0132928)로 출원하였음. 이 특허를 근거로 자체 기술 실시를 통해서 기술료 감면을 받아 당초 9,000천원이었으나 감면 금액으로 3,570천원을 납부하였음.
- 따라서 농림식품과학기술육성법 시행령 제14조에 의한 기술료 납부로 기술료 납부과정이 성실하게 진행되었음.

○ SCI급 논문

- KCI 국내논문 실적 초과 달성
 - 특허 출원과 등록 각각 1건 초과 달성
-

V. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

1) 기술적 성과

□ 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 내용	연구성과 (건수)	우수성	기여한 점	비고
1	화장품 용기 디자인 출원 및 등록	3	화장품의 제형에 따른 소비자의 사용성을 고려한 용기 개발	화장품 용기는 각 제형에 따라 사용성도 중요하지만 회사의 아이덴티가 중요하며 하이슬만의 자체 용기 개발에 기여함	(주)하이슬
2	화장품용 포장상자 디자인 출원 및 등록	3	(주)하이슬의 기업이념과 제품의 특성을 알 수 있는 포장상자	포장상자는 이동의 편의성 및 기업 및 제품의 특성을 표현하는 것으로 (주)하이슬 제품 홍보에 기여함.	(주)하이슬
3	특허 출원 및 등록	9	항산화, 미백, 주름 및 보습용 화장료 조성물은 레몬그라스, 산구절초, 와송, 자소엽 및 쥘레 추출물을 함유하는 항산화, 미백, 주름, 보습용 화장료 조성물에 관한 것으로 각 추출물을 적당한 비율로 혼합한 혼합물이 높은 항산화, 미백, 주름 및 보습 효능을 보임.	각각의 혼합물을 in-vitro, in-vivo 실험을 통하여 항산화, 미백, 주름 및 보습에 대한 효능을 입증하였고 크림으로 제조하여 미백, 주름 및 보습에 대한 임상시험을 진행하여 제품 개발에 기여함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (등록)
			고성능 액체크로마토그래피를 이용한 19종 페놀 화합물 동시 분석 방법은 허브에 포함된 페놀 화합물을 간편하고 신속하며 경제성 측면에서 효율적인 고성능 액체크로마토그래피를 이용한 페놀 화합물의 동시 분석 방법을 제공함	페놀 화합물은 항산화 작용, 노화억제, 각질관리, 피부진정, 자외선 차단기능 등 다양한 역할을 수행하는데 페놀 화합물을 포함하고 있는 식물을 이용하여 화장품을 개발하기 위해서는, 간편하고 신속하며 효율적인 페놀 화합물의 분석이 필수적임. 다양한 종류의 페놀 화합물에 대해 동시적이면서도 신속한 분석이 가능하도록 기여함	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (등록)
			천연 추출물을 함유하는 클렌징 폼 및 이의 제조방법은 쥘레, 와송, 자소엽 및 레몬그라스 추출물을 함유하며, 제형이 안정적인 클렌징 폼 및 이의 제조방법에 관한 것으로 추출물 혼합물을 5%까지 혼합하여 색도, 점도, pH가 안정하고 관능평가가 우수한 클렌징 폼 개발	천연물의 특성상 향취, 색 등이 화장품의 제형 개발에 영향을 주어 소비자에게 거부감을 주는데 이를 극복한 제품 개발에 기여함.	(주)하이슬 (등록)
			페놀성화합물을 유효성분으로 하는 혼합추출물을 포함하는 피부보습 및 피부장벽 개선 화장료 조성물은 히알루론산 생성능을 가지는 추출물을 포함하는 혼합추출물이 피부 보습 및 피부 장벽 개선 효과가 우수하여 피부 보습 및 피부 장벽 개선 화장료 조성물을 개발함.	레몬그라스 추출물 및 자소엽 혼합추출물은 피부 보습 및 피부 장벽 개선 화장료 조성물을 제공할 수 있음. 이들은 모두 남원에서 자란 자생식물로 남원산 식물의 화장품 원료 개발에 기여함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (등록)
			식물 추출물을 함유하는 항산화 및 보습용 화장료 조성물은 곤달비, 비위솔, 레몬그라스, 쥘레의 지상부에서 추출한 추출물을 포함하는 식물 추출물을 함유함으로써, 우수한 항산화 및 보습 기능을 가질 뿐만 아니라 방부 효과도 나타내는 식물 추출물을 함유하는 항산화 및 보습용 화장료 조성물을 개발함.	곤달비와 비위솔은 남원에서 농가에 재배를 추천하고 재배 면적이 매년 증가하는 작물이며 이를 이용한 화장품 개발은 농가 소득창출에 기여함. 또한 방부 효과가 우수한 점은 화장품 원료 시장에서 가장 비중을 차지하는 방부제 대체제 개발에 기여함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (등록)
			쥘레 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균용 조성물은 대장균 (Escherichia coli), 황색포도상구균(Staphylococcus aureus) 및 칸디다 알비칸스(Candida albicans)에 대하여 항균 활성이 우수하다는 것을 확인함.	쥘레 추출물은 대장균, 황색포도상구균 및 칸디다 알비칸스 균에 대해 항균 활성이 뛰어나므로 화장품 원료 시장에서 가장 비중을 차지하는 방부제 대체제 개발에 기여함.	(주)하이슬 (출원)
			꽃 추출물을 함유하는 다기능 화장료 조성물은 남원-지리산권에서 자란 꽃향유 추출물, 양뽕나무꽃 추출물, 흰민들레 추출물 및 복사나무꽃 추출물을 혼합한 것으로 항산화, 미백, 주름개선, 보습 기능을 나타내는 다기능 화장료 조성물임.	남원-지리산권에서 재배 또는 자생하는 식물로 농가 소득창출에 기여하며 화장품 원료로 개발하는데 기여함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (등록)
			쥘레꽃 추출물을 유효성분으로 함유하는 기억력 개선, 인지능력 개선, 또는 치매의 예방, 지연, 치료 또는 개선용 조성물은 아세틸콜린에스테라제 저해활성, 베타-아밀로이드 분비 저해활성, 베타-시크리타제 등의 치매관련 단백질의 조절 활성 및 항산화 활성 등을 통해 기억력 및 인지능력을 개선할 수 있으며, 치매를 효과적으로 예방, 지연, 치료 또는 개선할 수 있음.	쥘레꽃은 전라북도 남원에서 10월에 수확한 것을 사용하였으며 쥘레꽃 추출물이 화장품의 기능성 원료 뿐만 아니라 기억력 개선에 효과적인 기능성 식품 소재로도 개발될 수 있는 가능성을 보여줌.	우석대학교 산학협력단 (등록)
			쥘레꽃 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 보습용 조성물은 쥘레꽃을 락토 바실러스 브레비스를 접종하여 발효한 것으로 발효전에 비해 피부 보습 인자의 발현이 크게 증가시키는 것을 확인함.	쥘레꽃 발효 추출물이 피부 보습에 대한 효과적인 원료로 개발하는데 기여함.	(주)하이슬 (출원)

2) 과학적 성과

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	우수성	기여한 점	비고
1	쫄레꽃 에탄올추출물의 생리활성과 화장품 방부효과	쫄레꽃 에탄올 추출물의 항산화 활성, 항균 활성 및 방부효과를 측정하여 기능성 화장품소재 및 천연방부제로서의이용가능성을 확인.	화장품 원료 시장에서 가장 수입 의존도가 높고 비중을 많이 차지하는 방부제 시장에 대한 방부대체제 개발을 통해 수입대체 효과가 클 것으로 기대.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (한국약용작물학회)
2	산구절초, 자소엽, 쫄레를 함유한 천연 화장품소재의 다성분 동시분석과 항산화활성	산구절초, 자소엽, 쫄레의 열수 추출물과 50% 에탄올 추출물의 총 플라보노이드량과 총 폴리페놀량을 정량하였으며 DPPH 소거능을 측정함. 또한 LC/MS 분석을 통하여 다양한 활성성분을 정성, 정량분석함으로써 각각의 지표성분을 확정하였으며, HPLC-DAD를 사용하여 이들 3종 천연물의 복합물에 대한 지표성분을 동시에 분석할 수 있는 새로운 분석법을 개발하여 그 분석법의 타당성을 검증하기 위하여 직선성, 범위, 특이성, 정확성, 정밀성, 검출한계, 정량한계 등의 분석법 밸리데이션을 수행함.	산구절초, 자소엽, 쫄레의 열수 추출물과 50% 에탄올 추출물에 대한 지표성분을 동시에 분석할 수 있는 새로운 분석법을 개발하여 그 분석법의 타당성을 검증하여 분석법에 대한 밸리데이션을 수행함으로써 다른 천연물의 분석 방법 확립에 활용 할 수 있을 것으로 기대됨.	우석대학교 산학협력단 (생약학회)
3	레몬그라스와 자소엽 추출물의 피부보습 및 피부장벽에 관한 연구	레몬그라스와 자소엽 추출물의 피부보습과 피부장벽에 미치는 영향과 페놀성 화합물을 분석하였으며 레몬그라스 에탄올 추출물(CCE)에서 chlorogenic acid와 p-coumaric acid가 검출되었으며 자소엽 에탄올 추출물(PFE)에서 rosmarinic acid와 caffeic acid가 검출되었음. 두 물질은 피부보습 및 피부장벽과 관련된 유전자의 발현을 증가시켰으며 피부보습과 표피분화 조절에 관여하는 PPAR- α 단백질의 발현이 농도 의존적으로 증가하였으며 특히 chlorogenic acid와 p-coumaric acid가 PPAR- α 발현을 증가시킴.	자소엽과 레몬그라스의 다양한 효능에도 불구하고 피부보습과 피부장벽에 대한 연구는 보고된 바 없으며, 본 연구를 통해 두 추출물이 피부보습과 피부장벽 개선에 대한 기능성 소재로써 활용될 수 있음을 확인하였고 화장품소재 원료로서의 응용 가능성을 제시함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (대한화장품학회)
4	화장품 소재로서의 꽃 10종 에탄올추출물 생리활성 특성연구	남원·지리산권 자원식물 중 화장품적 요소인 이미지가 아름다운 꽃 10 종(왕벚나무, 복사나무, 흰민들레, 저먼개모마일, 쫄레꽃, 연꽃, 꽃향유, 산구절초, 감국, 국화)의 항산화, 미백, 주름, 보습 활성 및 19 종의 phenolic compounds 성분 함량을 측정하여 화장품 소재 이용 가능성을 조사하여 항산화는 쫄레꽃, 왕벚나무, 꽃향유, 연꽃이 우수하였고, 미백 효능은 연꽃, 쫄레꽃, 산구절초가 우수하였고, 주름개선효과는 연꽃, 쫄레꽃이 우수하였고, 보습효과는 연꽃, 쫄레꽃이 우수하였음. 각각의 효능에 대한 상관 관계분석을 실시한 결과 항산화와 미백, 항산화와 주름, 미백과 주름 간에 상관관계가 있는 것으로 조사되었음.	꽃 10 종의 에탄올 추출물에서 세 가지 이상의 다기능소재가 2종 발굴되었고, 두 가지 이상의 소재는 2종, 단일 기능성 소재는 1종으로 절반에 해당하는 5종이 기능성 화장품 소재로서 높은 가능성을 나타냈음. 남원·지리산권 자원식물을 활용한 천연 유래 화장품소재개발을 통해 자생 식물을 활용한 화장품 원료의 국산화에 기여.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (한국약용작물학회)
5	감국과 레몬그라스 에탄올 추출물을 함유한 천연화장품 소재의 HPLC-DAD를 이용한 지표 성분 동시 분석 밸리데이션	총 플라보노이드와 폴리페놀함량이 높은 소재인 감국(Chrysanthemum indicum, CI)과 레몬그라스(Cymbopogon citratus, CC)를 선정하여 DPPH 라디칼소거능 평가 및 HPLC-DAD를 이용한 지표 성분의 동시 분석법을 개발하였고 이의 타당성을 검증하기 위해 직선성, 범위, 특이성, 정확성, 정밀성, 검출한계 등의 분석법 밸리데이션을 수행함.	본 연구에서 수립한 분석법 밸리데이션을 활용하여 감국, 레몬그라스를 함유하는 천연화장품의 개발단계부터 제품생산 단계에 이르기까지 원료소재의 품질관리와 제조관리에 응용할 수 있을 것으로 기대.	우석대학교 산학협력단 (아시안뷰티화장품학회)
6	Simultaneous Analysis of Chlorogenic Acid, Epicatechin Gallate, and Rosmarinic Acid from the LOL (Ligularia stenophelphala, Orostachys japonica, Lavandula anustifolia) Cosmetic Composite and its Antioxidative Activity	Chlorogenic acid (CGA), epicatechin gallate (ECG)와 rosmarinic acid (RMA)가 지표성분인 라벤더, 와송, 곤달비의 혼합물(LOL)은 DPPH 라디칼 소거능이 높은 것을 확인하였으며 HPLC-DAD를 사용하여 이들 3종 천연물의 복합물에 대한 지표성분을 동시에 분석할 수 있는 새로운 분석법을 개발하여 그 분석법의 타당성을 검증하기 위하여 직선성, 범위, 특이성, 정확성, 정밀성, 검출한계, 정량한계 등의 분석법 밸리데이션을 수행함.	라벤더, 와송 곤달비의 혼합물(LOL)에 대한 지표성분을 동시에 분석할 수 있는 새로운 분석법을 개발하여 그 분석법의 타당성을 검증하여 분석법에 대한 밸리데이션을 수행함으로써 다른 천연물의 분석 방법 확립에 활용 할 수 있을 것으로 기대됨.	우석대학교 산학협력단 (아시안뷰티화장품학회)
7	남원·지리산권 허브 3종의 피부 진정 효능에 관한 연구	고성능액체크로마토그래피를 사용한 19종 페놀성 화합물 동시분석방법을 통해 라벤더, 레몬그라스, 페퍼민트의 지표(유효) 성분을 분석하였고 항산화 효능과 피부장벽 인자 및 히알루론산 합성 효소의 발현량을 검증하였고, 항염증 효능을 검증하여 진정에 영향을 미치는 요소를 종합적으로 판단하여 라벤더, 레몬그라스, 페퍼민트가 가지는 진정 효능을 밝힘.	라벤더, 레몬그라스, 페퍼민트의 지표(유효) 성분을 분석하여 유효성분을 명확하게 하였으며 이들 성분에 의한 추출법 확립 및 이들의 화장품 원료로의 가능성을 제시함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터 (아시안뷰티화장품학회)

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	학술회의 명칭	우수성	기여한점	비고
1	2017 한국약용작물학회 심포지엄 및 추계학술발표회	라벤더와 캐모마일의 추출용매별 항산화 및 보습 활성 연구를 통해 50% 에탄올 추출물과 열수추출물이 DPPH 소거능 및 hyaluronic acid(HA) 합성 능력이 우수함을 확인함.	라벤더와 캐모마일 추출물이 항산화 효능과 보습 기능이 우수하여 화장품 원료로 사용 가능성을 시사함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터
2	2017 대한약학회 추계 국제학술대회	쥘레, 구절초, 캐모마일의 열수추출물과 50%에탄올 추출물에 대한 HPLC 분석을 통해 각각의 지표성분인 Quercitrin, Luteolin, Astragalin, Tormentonic acid, RutinRutin- trihydrate를 분석하였고 폴리페놀 함량과 플라보이드 함량을 측정하고 항산화 효능을 측정함.	쥘레가 폴리페놀과 플라보이드 함량이 가장 많았으며 쥘레, 구절초, 캐모마일 모두 항산화 효능이 뛰어나 화장품의 천연 소재로 가능성을 확인함.	우석대학교 산학협력단
3	2018 한국자원식물학회 추계학술대회	쥘레 50%에탄올 추출물은 항산화 기능이 있고 HPLC 분석을 통해 astragalin과 gallic acid를 확인하였고 이들은 B16F10 세포에서 멜라닌 생성을 억제함. 추출물은 엘라스테아제 활성을 53.2% 감소하였으며 S. aureus와 E. coli 저해 활성을 가져 항산화, 미백, 주름개선, 항균효과가 있음을 확인함.	쥘레 50%에탄올 추출물은 유효 성분으로 astragalin과 gallic acid가 있으며 미백효과가 있어 화장품 원료로 개발 가능함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터
4	2018 한국약용작물학회 추계학술발표회	저면캐모마일과 감국 꽃을 SPME(solid phase micro extraction) 방법을 이용해 휘발성 향기성분을 분석하였음. 저면캐모마일에서는 24종의 향기성분이 검출되었으며 주요성분은 β -ocimene, artemisia ketone, γ -terpinene이었고 감국에서는 33종이 검출되었고 주요성분은 sabinene, trans-ociperitol, α -phellandrene이었음.	꽃의 향기 성분은 채취시기에 따라 변화가 심하므로 주요 향기성분 분석을 통해서 화장품 원료로 사용할 수 있는 채취시기에 대한 정보를 제공함.	전북농업 기술원 허브산채 시험장
5	2018 한국약용작물학회 추계학술발표회	쥘레와 자소엽의 지대별 광합성속도 및 지표성분을 비교하였으며 500m이상의 남원지역에서 자란 식물인 15m의 익산에서 자란 식물보다 광합성속도가 빠르며 수확율이 높음. 또한 지표 성분 중 gallic acid, astragalin, caffeic acid, rosmarinic acid 함량이 고산지역에서 자란 식물에서 높게 나타남.	고산지대에서 자란 식물인 쥘레와 자소엽이 평지에서 자란 것보다 지표성분 함량이 높게 나타남.	전북농업 기술원 허브산채 시험장
6	2018 대한약학회 추계국제학술대회	남원에서 자란 자소엽, 쥘레, 구절초 각각의 유효성분인 Quercitrin, Rosmarinic acid, Astragalin을 HPLC 및 LC/MS를 이용하여 분석법을 확립함.	유효성분 밸리데이션 확립에 의한 제품의 품질 관리에 기여함.	우석대학교 산학협력단
7	2019 한국약용작물학회 춘계학술발표회	바위솔과 레몬그라스의 지대별 총 폴리페놀과 총 플라보이드 함량을 비교하였으며 지표성분인 Gallic acid와 Astragalin, Chlorogenic acid를 각각 조사한 결과 남원(500m)에서 자란 식물이 익산(15m)에서 자란 것보다 함량이 높았음.	고산지대인 남원에서 자란 허브가 평지인 익산에서 자란 것보다 생리활성이 뛰어난 것을 확인함.	전북농업 기술원 허브산채 시험장
8	2019 한국약용작물학회 춘계학술발표대회	레몬그라스와 자소엽 추출물에 대한 피부부소 및 피부장벽보호에 대한 연구 결과, 히알루론산 합성 및 HAS1, HAS2, HAS3, filaggrin, loricrin 유전자의 합성을 증가시켰음.	레몬그라스와 자소엽 추출물이 피부부소 및 피부장벽보호에 효과적인 원료로 적용 가능함.	(재)남원시 화장품산업 지원센터
9	2019 한국약용작물학회 추계학술발표회	바위솔 생력재배를 위한 피복재 선택을 위해 왕겨, 볏짚 및 차광막을 사용하였으며 재배력에는 크게 영향이 없었으나 잡초 발생율은 차광막은 36%, 왕겨는 25% 감소시켰음.	바위솔 재배에 있어서 피복재의 종류에 따른 잡초 경감 효과에 기여	전북농업 기술원 허브산채 시험장
10	2019 대한약학회 추계국제학술대회	곤달비, 와송, 라벤더의 지표성분인 Chlorogenic acid, Epicatechin gallate와 Rosmarinic acid에 대한 HPLC 및 HPLC-DAD 분석을 통해 직선성, 정확성 등을 확인하여 분석에 대한 밸리데이션을 확립함.	남원에서 자란 곤달비, 와송, 라벤더에 대한 화장품 원료에 대한 표준화에 기여.	우석대학교 산학협력단
11	2020 한국약용작물학회 학술발표회	남원·지리산권 자원식물의 꽃 10종 에탄올 추출물에 대한 화장품 소재로서의 가치를 탐색한 결과, 항산화 효능이 우수한 것은 쥘레꽃, 연꽃, 꽃향유꽃이었으며 미백 효능이 우수한 것은 연꽃, 쥘레꽃, 구절초꽃이었으며 주름개선 효능이 우수한 것은 연꽃과 쥘레꽃이었으며 보습 기능이 우수한 것은 흰민들레꽃, 구절초꽃, 꽃향유꽃이었음.	남원·지리산권 자원식물의 꽃 에탄올 추출물에 대한 각 기능별 화장품 원료로서의 가치 제공.	(재)남원시 화장품산업 지원센터
12	2020 대한약학회 추계학술대회	감국과 레몬그라스 에탄올 추출물을 활용한 천연 화장품 복합 조성물의 지표성분 표준화 및 다성분 동시분석법의 확립을 위해 각각의 지표 성분을 astragalin과 p-coumaric acid로 선정하였고 HPLC-DAD를 사용하여 직선성, 정확성, 정밀성 등의 분석.	식약처 가이드라인에 맞는 천연 화장품 소재의 제조 관리 및 품질관리를 위한 중요한 자료로 제공.	우석대학교 산학협력단
13	2020 한국미생물생명공학회 정기학술대회	라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 쥘레의 발효 추출물에 대한 생리활성 검증 결과, 항산화, 피부밝기, 주름개선, 보습, 항균 기능이 확인되었고 각각의 지표물질인 luteolin, apigenin, caffeic acid, salicylic acid를 확인함.	라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 쥘레의 발효 추출물에 대한 기능성 화장품 원료 사용 가능.	(주)더가든오브내추럴 솔루션
14	2020 한국자원식물학회 추계학술대회	유기자재인 키토산을 100배액으로 처리하였을 때 자소엽의 수량성이 증가하였으며 항산화 활성이 무처리에 비해 증가함.	화장품 소재인 자소엽의 재배 방법 확립에 기여.	허브산채 시험장
15	2021 한국약용작물학회 추계학술발표회	라벤더, 레몬그라스, 페퍼민트에 대한 피부 진정효능에 대한 연구 결과 항산화, 보습, 항염증 효능이 우수함을 확인함.	기능성 화장품 소재 및 제품 개발에 기여.	(재)남원시 화장품산업 지원센터
16	2021 한국자원식물학회 추계학술대회	라벤더 전정 방법이 개화 및 생체량에 미치는 영향을 조사한 결과, 전정에 의해 개화시기를 지연시키고 생체 수확량이 증가함.	화장품 소재인 라벤더의 재배 방법 확립에 기여	허브산채 시험장
17	2021 대한약학회 추계국제학술대회	라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 쥘레의 화장품 원료 복합 조성물을 제조하여 ROS, SOD, DPPH라디칼 소거능이 각각의 지표성분인 astragalin, chlorogenic acid, rosmarinic acid 처리시 보다 우수함을 확인함.	라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 쥘레의 화장품 원료 복합 조성물의 기능성 화장품 개발에 기여	우석대학교 산학협력단

3) 경제적 성과

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	우수성	기여한점	비고
1	직접실시	천연 추출물을 함유하는 클렌징 폼 및 이의 제조방법에 대한 기술 실시	쥬레, 와송, 자소엽 및 레몬그라스 추출물을 함유하며, 제형이 안정적인 클렌징 폼 및 이의 제조방법에 관한 것으로 추출물 혼합물을 5%까지 혼합하여 색도, 점도, pH가 안정하고 관능평가가 우수한 클렌징 폼을 개발하여 상품화하였고 국내의 매출 발생함.	국내 매출 증대 및 중국 수출에 기여함.	(주)하이솔
2	직접실시	쥬레 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균용 조성물에 대한 기술실시	쥬레 추출물을 유효성분으로 함유하는 항균용 조성물은 대장균 (Escherichia coli), 황색포도상구균 (Staphylococcus aureus) 및 칸디다 알비칸스 (Candida albicans)에 대하여 항균활성이 우수하다는 것을 확인하였고 방부대체제로 개발하여 제품에 적용함으로써 기존 수입 방부제 사용을 대체함.	수입 방부제에 대한 대체제 개발에 기여 및 국내 매출 증대 및 중국 수출에 기여함.	(주)하이솔

□ 사업화 현황

번호	사업화형태	사업화명	우수성	기여한점	비고
1	신제품 개발	화장품	부스팅 매직 오뚜 버블폼, 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 움므 핸섬 울인원 및 헤드&숄더케어 시스템(3SET) 등 9종을 개발하였고 이중 5종을 기능성 화장품으로 개발하여 직접 매출을 발생하였음. 또한 시너지크림 등 5종을 개발하여 간접매출을 발생하였음. 국내 매출 889,910천원과 국외 매출 811,643천원 달성함.	남원·지리산권 자원식물을 이용하여 생리활성 기능을 확인하고 그 기능에 따라 제품 개발에 적용함으로써 과학적인 근거를 바탕으로 한 기능성 화장품을 개발하여 국내 매출 및 국외 매출 발생에 기여함.	(주)하이솔
2	신제품 개발	원료	Namwon(남원)쥬레추출물, Namwon(남원)자소엽추출물, Namwon(남원)감국추출물, Namwon(남원)레몬그라스추출물, 남원산허브추출물, 남원리벤더발효물, 남원레몬그라스발효물, 남원산허브추출물, 남원쥬레꽃발효물, 남원자소엽발효물, 남원산허브추출물을 원료명으로 개발하였고 각 원료에 대한 생리활성 기능을 확인하였고 그 기능에 따라 원료를 구분하여 상품화하여 국내 매출 20,688천원 발생함.	남원·지리산권 자원식물을 이용하여 생리활성 기능을 확인하고 그 기능에 따라 기능성 소재로 원료화하였고 향후 남원·지리산권 자원식물의 원료 개발 및 원료의 상품화에 기여함.	(주)더가든오브내추럴솔루션

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	우수성	기여한점	비고
1	와송 재배농가 현장컨설팅	- 와송 재배농가 애로사항 파악을 통한 현장애로사항 해결방안 도출 및 농가소득 증대 기여 - 와송농가 애로사항, 경영상황 정보 수집을 통한 시험 연구사업 반영 및 농가 경영 효율화 자료 활용	허브 재배 농가에 대한 기술 인력의 역량 강화 및 재배 기술 향상에 기여	전북농업기술원 허브산채시험장
2	허브 재배농가 현장컨설팅	- 농가현황(재배품목, 재배방법 등)파악 및 허브재배 관련 정보제공		
3	와송 재배농가 현장컨설팅	- 바위솔(와송) 재배시 주의점(관수 등) 및 홍보 및 유통의 중요성 교육		
4	허브 경관단지 조성 농가 현장 컨설팅	- 농가 애로사항 및 현장 컨설팅		
5	리벤더 재배 농가 현장 컨설팅	- 농가 애로사항 및 현장 컨설팅		
6	리벤더 재배농가 컨설팅	- 농가 애로사항 해결 및 현장 적용 가능 시험사업 발굴		
7	리벤더 경관재배 농가 현장 컨설팅	- 노지 재배 리벤더 계절별, 연차별에 따른 컨설팅으로 농가 시행착오 최소화 및 경영비 절감		
8	리벤더 경관재배 농가 현장 컨설팅	- 농가 시행착오 최소화 및 경영비 절감을 위한 연구 사업 발굴		
9	'리벤더 경관재배 농가 현장 컨설팅	- 농가 애로사항 해결을 위한 연구사업 발굴 - 개화기간 연장 재배 및 다양한 경관 연출을 통한 농가 소득 증대		

VI. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

1) 활용분야

□ 기술적측면

○ 기술정책

- 지역특화품목에 대한 바이오기술 접목으로 지역산업의 기술고도화
- 에코 트렌드 및 나고야의정서 대응 천연허브 유래 소재를 통한 화장품 산업기술 확보
- 기능성화장품개발을 통한 뷰티 중심 기술 개발
- 생물자원 주권 중심 기술확대 및 시장확대 시 국내외 법적분쟁에 대한 기술사용권 조기확보

○ 기술개발

- 지리산 천연허브 대량재배생산기술 확보에 따른 천연물 공급기술 확보
- 천연물 소재의 바이오활성 중심 유효품목 발굴과 산업화기술력 확보
- 허브원료공급기지화를 위한 품목발굴, 소재화, 원료표준화, 상품기획, 제품개발 등 기술 패키지화 가능
- 기술패키지화에 따른 재배, 연구, 가공 등 산업기술개발 및 활용시스템 구축
- 향후 지리산 천연허브 소재은행을 위한 기초기반사업

○ 기술공유

- 품목 대량재배 등 재배정밀화 기술개발에 따른 재배농가 기술보급 및 공유 확산
- 지리산 천연허브 소재 및 산업화기술개발에 따른 관련 바이오산업 기술파급
- 천연허브 중심 화장품 개발기술의 지역 관련 기업 보급 확산

□ 경제적·산업적 측면

○ 지역 신성장동력 확보

- 농산물 기반 단순가공산업 중심의 지역경제의 고부가가치형 신산업으로 성장동력화
- 허브재배산업의 전략적 특화산업화로 지역 농산업의 고부가가치화
- 재배에서 제조가공 및 유통판매에 이르는 산업전주기적 시스템화로 지속적 성장동력화 기대

○ 지역산업구조 커스터마이징

- 허브재배산업, 허브관광산업, 허브가공산업, 화장품제조업, 농산물가공산업의 바이오뷰티산업으로 통합시너지
- 농산물 기반 허브재배산업의 다품종·소량생산 중심의 국내 유일의 바이오뷰티원료재배산업으로 전환
- 농산업 중심에서 에코트렌드와 신성장산업으로의 바이오뷰티특화산업화를 통해 지속가능 산업구조로 전환

○ 재배농가 및 관련기업 미시적 효과

- 재배물 구매기업 부진 등 전반적 침체상황에서 특성화된 품목과 품질로 판매실적 혁신 기대
- 지역 여건 상 중소영세기업 중심의 화장품 관련 기업의 시장선도제품

□ 인력 양성 측면

○ 국내 마케터(하이슬)

- 학생 서포터즈 교육 : 광주여자대학교, 우석대학교 등 인근 대학 미용관련 학과 학생들을 대상으로 본사의제품에 대한 교육을 실시하여 제품에 대한 성분 및 작용원리를 숙지하도록 하여 제품의 충성도를 고양함. 교육 수료 후 현장실습으로 연계하여 제조 및 연구개발과 관련된 고급 기술을 습득하여 졸업 후 우수한 인력을 채용할 계획임.
- 전문가 교육 : 이너벨라 145개 기맹점 원장들을 대상으로 제품의 사용방법, 효과상승, 판매 스킬 및 홍보 전략을 교육하여 판매를 극대화 하고자 하며 우수 학생 서포터즈를 기맹점과 연계하여 취업을 알선함.

○ 중국 마케터(하이슬)

- 중국 현지에서 KC이너벨라 직원들을 대상으로 제품에 대한 특징 및 작용원리와 사용방법 등을 교육할 수 있는 인력을 양성하고, 또한 중국의 우수 판매사원을 대상으로 국내로 초청하여 본사에서 그들을 교육할 수 있는 인력을 양성하여 중국 수출에 기여할 예정임.

○ 화장품 품질 관리 전문가(남원시화장품산업지원센터)

- 화장품 관련 기업 종사자들을 대상으로 화장품 품질관리 기준, 화장품안전 및 품질관리 기준, 미생물품질관리-시험 등의 교육을 실시하여 화장품 품질관리 전문 인력을 양성할 예정임.

○ 허브 재배 인력(전북농업기술원 허브산채시험장)

- 허브 재배 농가의 인력 양성

2) 활용방안

○ 남원·지리산권 허브의 바이오뷰티산업 원료화

- 남원·지리산권의 지역특화자원의 소재가공, 생리활성탐색, 지표성분 및 기능성분을 규명하여 화장품 산업에 적용할 수 있는 원료를 개발함으로써 산업화에 활용하여 재배확산 및 지역특화 산업 발전에 기여.

○ 서양허브·동양허브(약용)·자생식물을 포함한 허브산업 발전

- 서양허브 위주의 허브농업육성정책을 서양허브 정착화 그리고 자생·약용허브 발굴 및 재배 확대 및 허브농업 육성.

○ 허브재배산업의 정밀화

- 유효성분이 많은 자생·약용허브를 농가에 보급하기 위한 대량재배기술을 확립하고 친환경 재배인증을 통한 고품질 허브생산으로 농가소득 증대 유도.

○ 남원·지리산권 천연허브자원의 산업화를 통한 지역 인지도 상승

- 남원·지리산권의 천연자원의 소재 및 산업화기술 개발을 통해 지역특화자원의 라이브러리를 구축하고 우수성을 홍보함으로써 대국민관심도와 신뢰도를 향상시킴.

○ 허브제품의 다양화를 통한 허브산업의 지속 가능화

- 남원·지리산권의 허브 소재개발 및 자원화, 산업화를 통해 남원지역특화산업의 활성화와 다양한 화장품가공제품의 개발, 허브생산의 산업화를 극대화하고자 함.

○ 원예허브산업을 고부가가치형 바이오뷰티특화산업으로 확대 고도화

- 지역특화작물을 이용한 기능성 바이오 화장품을 산업화하여 국내·외 시장에서 제품의 경쟁력을 강화하고 고부가가치화로 제품화하여 6차산업화로 발전 확대.
-

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE	2	
	비SCIE	0	
	계	2	
국내논문	SCIE	0	
	비SCIE	0	
	계	0	
특허출원	국내	0	
	국외	0	
	계	0	
특허등록	국내	1	
	국외	0	
	계	1	
인력양성	학사	0	
	석사	0	
	박사	0	
	계	0	
사업화	상품출시	0	
	기술이전	0	
	공정개발	0	
제품개발	시제품개발	0	
비임상시험 실시		0	
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	0
		2상	0
		3상	0
	의료기기	0	
진료지침개발		0	
신의료기술개발		0	
성과홍보		3	
포상 및 수상실적		0	
정성적 성과 주요 내용		허브의 화장품 원료화 및 상품화	

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1. 자체평가의견서 및 연구 성과 활용계획서	1-1. 자체평가의견서
	1-2. 연구 성과 활용계획서

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		317024-5	
사업구분	농생명산업기술개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농생명산업기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성			과제유형	(개발)
연구개발기관	(주)하이솔			연구책임자	김광상
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2017.04.21. - 2017.12.31.	200,000천원	77,000천원	277,000천원
	2차년도	2018.01.01. - 2018.12.31.	300,000천원	110,000천원	310,000천원
	3차년도	2019.01.01. - 2019.12.31.	300,000천원	110,000천원	310,000천원
	4차년도	2020.01.01. - 2020.12.31.	300,000천원	110,000천원	310,000천원
	5차년도	2021.01.01. - 2021.12.31.	300,000천원	110,000천원	310,000천원
	계	2017.04.21. - 2021.12.31.	1,400,000천원	517,000천원	1,917,000천원
참여기업	(주)하이솔, (주)더가든오브내추럴솔루션				
상대국				상대국연구개발기관	

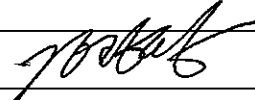
2. 평가일 : 2022. 02. 04

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)하이솔	연구소장	김광상

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

I. 연구개발실적

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수

- 천연 화장품 원료의 국산화
 - 우리나라 화장품의 우수성은 국내뿐만 아니라 해외에서도 널리 알려져서 중국과 동남아를 비롯한 새로운 소비시장이 형성되어 있으나 화장품 원료 시장은 대부분 수입에 의존하고 있음.
 - 특히, 천연물 소재는 해외 자원 의존성이 높으며 국내 유명메이커들도 천연화장품을 개발하여 유통하고 있지만 원료의 대부분을 수입산 천연 또는 천연유래 추출물을 사용하고 있음.
 - 뷰티 분야의 장기적인 경쟁력 제고를 위하여 화장품 원료에 대한 국산화가 필수적이며 본 연구를 통해 감국과 연꽃 추출물, 찔레꽃 발효물과 자소엽 발효물 및 혼합제품 등 총 6종을 원료화하여 코스맥스 등 국내 화장품제조업체에 판매하였음.
- 소비 트렌드를 반영한 다양한 제품 개발
 - 맞춤형화장품 시대의 개막에 따라 다른 성분들과의 호환성이 좋고 안정성이 입증된 다양한 소비자 기호에 맞는 원료를 개발하였으며 울스킨, 하이틴, 실버용 제품 9종을 개발하여 상품화하였고 국내 매출 및 해외 수출에 기여하였음..
 - 또한 본 연구에서 상용된 남원·지리산권 허브의 향산화, 항염, 항균, 미백, 주름개선, 보습, 피부장벽 강화, 진정 등 각각의 기능에 맞는 조합형태에 따라 여러 형태의 복합 기능을 갖는 화장품 원료 및 제품 개발이 가능함.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

- 기술적 측면
 - 에코 트렌드 및 나고야의정서 대응 천연허브 유래 소재를 통한 화장품 원료 및 제조 기술 확보
 - 지리산 천연허브 대량재배생산기술 확보에 따른 천연물 공급기술 확보
 - 허브원료공급기지화를 위한 품목발굴, 소재화, 원료표준화, 상품기획, 제품개발 등 기술패키지화 가능
 - 천연허브 중심 화장품 개발기술의 지역 관련 기업 보급 확산
- 경제적·산업적 측면
 - 농산물 기반 단순가공산업 중심의 지역경제의 고부가가치형 신산업으로 성장동력화
 - 농산업 중심에서 에코트렌드와 신성장산업으로의 바이오뷰티특화산업화를 통해 지속가능 산업 구조로 전환
 - 지역 여건 상 중소기업 중심의 화장품 관련 기업의 시장선도제품 개발
 - 천연 원료의 국산화 확대

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : 우수

- 천연물의 제조공정 확립에 활용
 - 각 천연물의 지표성분 및 유효성분에 대한 밸리데이션 확립으로 천연물의 제조공정에 대한 표준화가 가능함에 따라 다른 천연자원의 제조공정 확립에 활용
- 남원·지리산권 허브의 바이오뷰티산업 원료화에 활용
 - 허브 소재의 제조공정 표준화, 지표성분 및 기능성분을 규명하여 화장품 산업에 적용할 수 있는 원료를 개발함으로써 산업화에 활용.
- 바이오마커를 이용한 기능성 평가에 활용
 - 항산화, 항염, 항균, 미백, 주름개선, 보습, 피부장벽강화, 진정 등 각각의 기능에 대한 각각의 바이오마커를 확보하였고 이를 이용한 다양한 소재에 대한기능성 평가 스크리닝 기술에 활용.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

- 정량적 연구개발 성과
 - 당초 목표로 제시했던 성과지표 중 특허 출원과 등록은 7건과 4건이 목표였으나 9건과 8건, 제품화 건수, 국내 매출, 수출, 고용창출은 각각 15건, 760백만원, 380백만, 4명이 목표였으나 25건, 942백만원, 812백만원, 9명으로 초과 달성하였으며 인력양성, 교육지도 홍보전시는 2명, 3건, 20건이었으나 7명, 9건, 31건으로 초과달성하였음.
 - 과학적 성과 중 학술발표는 12건 목표 중 17건으로 초과 달성하였으며 비SCIE 논문은 7건 목표 중 7건 달성하였으나 SCIE 논문은 2건 목표로 하였으나 달성하지 못했음.
 - 기술료는 19백만원을 목표로 하였으나 농림식품과학기술육성법 시행령 제14조에 의한 기술료 납부 감액 정책으로 기술료 납부과정이 성실하게 진행되었음.
- 정성적 연구개발 성과
 - 당초 목표로 제시했던 소재개발 및 자원화 10종에 대한 추출조건 및 제조공정표준화, 지표성분 표준화, 생리활성 탐색에 의한 소재가공 및 효능평가, 소재의 ICID 등록에 의한 자원화, 발효물의 기능성 평가와 발효조건 확립, 발효소재의 바이오리포좀 조건을 확립하였고 최종적으로 미백소재는 라벤다, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃, 주름개선 소재로는 라벤다, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃, 보습소재 및 피부장벽보호 소재로 라벤다, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃을 확정함.
 - 화장품 원료의 산업화에 대한 연구는 1~2차년도 추출물에 대한 안전성, 안정성 평가 및 제조 공정 표준화를 확립하였음. 3~5차년도에는 발효물에 대한 발효공정 확립, 발효물의 생리활성 평가, 안전성, 안정성 평가 및 제조 공정 표준화를 확립하였고 최종적으로 추출물4종(흰민들레, 찔레꽃, 곤달비, 와송), 하이드로수 2종(자소엽수, 감국수), 발효물4종(라벤더엑상발효물, 자소엽엑상발효물, 레몬그라스고상발효물, 찔레꽃고상발효물)을 국제화장품원료집(ICID)에 등재하였음.
 - 화장품 완제품의 산업화는 10종의 원료를 사용하여 각 기능에 맞게 제조하여 안전성, 안정성 및 제조 공정 표준화를 확립하였고 울스킨 제품 3종, 하이틴 제품 3종, 실버 제품 2종을 개발하여 매출을 발생하였음.
 - 원료의 안정적인 확보를 위해 10종의 허브에 대해 생산성 향상을 위한 전정방법, 유기자재 발굴, 피복자재 발굴, 적정 수확시기 설정, 기본 생리 연구를 실시하였음. 각 허브에 대한 시범포를 조성하여 재배정밀화를 통해 생산성 향상에 기여하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수

○ 논문 성과(7건)

- 김현우, 조하늘, 유병완, 김지효, 이태범. 2018. 찔레꽃 에탄올추출물의 생리활성과 화장품 방부효과. 한국약용작물학회지 26(4):1-9
- 임재윤, 함하늘, 쉬레스타 아비나쉬 찬드라. 2018. 산구절초, 자소엽, 찔레를 함유한 천연 화장품 소재의 다성분 동시분석과 항산화활성. 생약학회지19(4):312-321
- 소양강, 황지영, 김현우, 조하늘, 이태범 2019. 레몬그라스와 자소엽 추출물의 피부보습 및 피부장벽에 관한 연구. 대한화장품학지 45(3):225-235
- 이태범, 소양강, 김세울, 황지영 2020. 화장품 소재로서의 꽃 10 종 에탄올추출물 생리활성 특성 연구. 한국약용작물학회지 28(4):260-275
- 김주은, 임재윤 2020. 감국과 레몬그라스 에탄올 추출물을 함유한 천연화장품 소재의 HPLC-DAD를 이용한 지표 성분 동시 분석 밸리데이션. 아시안뷰티화장품학술지18(4):657-667
- 김주은, 임재윤 2021. Simultaneous Analysis of Chlorogenic Acid, Epicatechin Gallate, and Rosmarinic Acid from the LOL (*Ligularia stenophelphala*, *Orostachys japonica*, *Lavandula anfastifolia*) Cosmetic Composite and its Antioxidative Activity. 아시안뷰티화장품학술지 19(2):235-245
- 한지원, 남보미, 김세울, 박유나, 이범석, 황지영 2021. 남원·지리산권 허브 3 종의 피부 진정 효능에 관한 연구. 아시안뷰티화장품학술지 19(4): 595-607

○ 지적소유권 성과(15건)

◦ 디자인 등록(6건)

- 화장품용기 (등록번호 30-0971479)
- 화장품용기 (등록번호 30-0971481)
- 화장품용 포장상자 (등록번호 30-0977435)
- 화장품용 포장상자 (등록번호 30-0977434)
- 화장품용기 (등록번호 30-1009900)
- 화장품용 포장상자 (등록번호 30-1007866)

◦ 특허 출원(1건)

- 찔레 추출물을 유효성분으로 함유하는 향균용 조성물 (출원번호 10-2019-0132928)

◦ 특허 등록(8건)

- 항산화, 미백, 주름 및 보습용 화장료 조성물 (등록번호 10-2097723)
- 고성능 액체크로마토그래피를 이용한 19 종 페놀 화합물 동시 분석 방법 (등록번호 10-2083419)
- 천연 추출물을 함유하는 클렌징 폼 및 이의 제조방법 (등록번호 10-2098631)
- 페놀성화합물을 유효성분으로 하는 혼합추출물을 포함하는 피부보습 및 피부장벽 개선 화장료 조성물 (등록번호 10-2229902)
- 식물 추출물을 함유하는 항산화 및 보습용 화장료 조성물 (등록번호 10-2285446)
- 꽃 추출물을 함유하는 다기능 화장료 조성물 (등록번호 10-2250462)
- 찔레꽃 추출물을 유효성분으로 함유하는 기억력 개선, 인지능력 개선, 또는 치매의 예방, 지연, 치료 또는 개선용 조성물 (등록번호 10-2319712)
- 찔레꽃 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 보습용 조성물 (등록결정)

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)		비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
소재 개발 및 자원화	원료표준화 및 제조공정표준화	25	100	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원10종 대상 사용부위, 수확시기, 재배지역, 생육환경 등 조사를 통해 원료표준화 1건 완료 및 추출용매, 추출온도, 추출시간 등 제조기술 관련 제조공정표준화 1건 완료 - 19종 폴리페놀 동시분석, FT-IR 통한 기준규격화 1건 완료 및 남원지역과 타지역 소재 기능성분 함량 차이 차별성 확립 - 발효균주 선발(유산균487) 및 발효조건 최적화 1건 (추출용매, 추출시간, 접종균수, 배양시간, 발효 후 공정) 완료
	생리활성탐색 및 기전연구		100	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원10종 대상 효능평가 6건(항산화, 미백, 주름, 보습, 항균, 방부), 기능성별 상관관계 분석, 기전연구 3건 (미백, 주름, 보습) 완료 - 발효전후 시료(18종)대상 효능평가 3건(미백, 주름, 보습)와 용해도/색차 비교 통한 발효 후 우수 시료 확보(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃) - 우수발효소재(4종) 대상 배합비 구성 통한 효능평가 3건 (미백, 주름, 보습) 완료 (찔레40%배합비 우수) - 발효소재 바이오포즈물리적, 화학적 안정 조건확립 (Particle size, Zeta potential 값 확보) - 우수발효소재(4종) 대상 기전연구 4건(미백, 주름, 보습, 피부장벽) 완료
	이화학적특성연구		100	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종의 이화학적특성연구를 위해 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정하여 10건의 목표를 달성하였으며, 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃)의 복합물에 대한 항산화 관련 효소(ROS, SOD)활성 평가를 1건을 완료하였음.
	지표(유효)성분 탐색 및 설정		100	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종(50% 에탄올 추출물)의 각 지표물질 문헌조사, LC/MS분석, HPLC 분석을 통해 지표성분을 설정하여 10건의 목표를 달성하였음. - 라벤더, 자소엽 Rosmarinic acid - 레몬그라스, 곤달비, 감국, 산구절초 Chlorogenic acid - 캐모마일 Apigenin-7-O-glucoside - 와송 Epicatechin gallate, 찔레꽃 Astragalin으로 설정함.
	지표(유효)성분 분석 및 밸리데이션 확립		100	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종의 지표성분 분석법을 확립하였고, 밸리데이션 목표 10건을 달성하였음.
	복합물에 대한 지표(유효) 성분 표준시험법확립		100	<ul style="list-style-type: none"> - 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃)의 복합물에 대한 표준시험법을 1건을 확립함. - 소재 4종의 바이오포즈 소재에 대한 전처리 및 분석법을 1건 확립하였음.
	화장품원료등재		100	<ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 및 우수발효소재 10건 (곤달비, 흰민들레, 찔레, 자소엽수, 감국수, 바위솔, 라벤더엑상발효물, 자소엽엑상발효물, 찔레꽃고상발효물, 레몬그라스고상발효물) 국제화장품원료 등재

				100	- 허브자원 10건 (라벤더, 레몬그라스, 캐모마일, 바위솔, 자소엽, 흰민들레, 곤달비, 감국, 산구절초, 찔레꽃)에 대한 라이브러리(건조물, 종자, 추출물) 구축 완료
소재 산업화	화장품 원료	원료 안전성 및 안정성 평가	15	100	- 기능성이 확인된 허브자원 찔레(미백, 주름개선), 레몬그라스(보습), 자소엽(보습), 감국(주름개선), 라벤더엑상발효물(미백, 주름개선), 자소엽엑상발효물(보습), 레몬그라스고상발효물(보습), 찔레꽃고상발효물(미백) 8건에 대한 안전성 및 안정성 평가 완료
		제조공정표준화 및 기준규격확립		100	- 기능성이 확인된 허브자원 찔레(미백, 주름개선), 레몬그라스(보습), 자소엽(보습), 감국(주름개선), 라벤더엑상발효물(미백, 주름개선), 자소엽엑상발효물(보습), 레몬그라스고상발효물(보습), 찔레꽃고상발효물(미백) 8건에 대한 안전성 및 안정성 평가 완료
		제품개발		100	- 기능성이 확인된 허브자원 찔레(미백, 주름개선), 레몬그라스(보습), 자소엽(보습), 감국(주름개선), 라벤더엑상발효물(미백, 주름개선), 자소엽발효물(보습), 라벤더고상발효물(미백, 주름개선), 자소엽엑상발효물(보습) 8건에 대한 제품개발 완료
	제형 제품	제품 제조공정도 개발	25	100	- 4종의 기능이 우수한 허브자원(찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스)이 첨가된 울스킨제품(클렌징폼, 울인원 에센스, 수면팩) 3종, 선택된 4종의 허브발효물(라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 찔레꽃)이 첨가된 하이틴제품(스킨, 로션, CC크림) 3종 및 찔레발효물이 40% 첨가된 발효복합물이 함유된 실버제품(클렌징폼, 울인원 페이스, 울인원 바디, 수면팩) 4종에 대한 제조공정도 확립
		제형 및 제제연구		100	- 4종의 기능이 우수한 허브자원(찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스)이 첨가된 울스킨제품(클렌징폼, 울인원 에센스, 수면팩) 3종, 선택된 4종의 허브발효물(라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 찔레꽃)이 첨가된 하이틴제품(스킨, 로션, CC크림) 3종 및 찔레발효물이 40% 첨가된 발효복합물이 함유된 실버제품(클렌징폼, 울인원 바디, 수면팩) 3종에 대한 제형연구 완료
		시제품	100	- 4종의 우수소재 및 컨셉소재 3종(흰민들레, 감국, 산구절초)가 함유된 울스킨 제품(림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼, 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 림포디아 옴 핸섬 울인원) 3종, 선택된 4종의 허브발효물 (라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 찔레꽃)이 첨가된 하이틴 제품(에스테마인 톡톡 스킨에센스, 에스테마인 톡톡 컨트롤크림, 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스) 3종 및 찔레발효물이 40% 첨가된 발효복합물이 함유된 실버제품 (커피&레몬밤 스킨 스파 밸런스 바스폼, 하이드로 바디 에센스, 부스팅 히팅 마스크) 3종의 시제품 개발함.	
		제품 디자인 개발	100	- 클렌징폼 용기, 클렌징폼 포장상자, 수면팩 용기, 수면팩 포장상자, 울인원 화장품 용기, 울인원 포장상자 6건에 대한 디자인 출원 및 등록을 완료함.	
		제품 안전성 및 안정성평가	100	- 울스킨 3종 (림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼, 림포디아 부스팅 매직 리핑 마스크, 림포디아 옴 핸섬 울인원), 하이틴 제품 3종 (에스테마인 톡톡 스킨에센스, 에스테마인 톡톡 컨트롤크림, 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스) 및 실버제품	

					3종 (커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼, 하이드로 바디 에센스, 부스팅 히팅 마스크)에 대한 안전성 및 안정성 평가 완료함.
		제품개발 및 상품화		100	- 울스킨 3종 (림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼, 림포디아 부스팅 매직 리핑 마스크, 림포디아 옴므 핸섬 울인원), 하이틴 제품 3종 (에스테마인 톡톡 스킨에센스, 에스테마인 톡톡 컨트롤크림, 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스) 및 실버제품 3종 (커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼, 하이드로 바디 에센스, 부스팅 히팅 마스크)에 대한 식약처 품목보고 완료함.
사업화	마케팅 전략수립		20	100	- 마케팅 전략수립 2건 (중국,베트남) 바이럴 마케팅 3건(네이버 블로그 마케팅, 인스타 마케팅, 유튜브 마케팅), 영문 홈에스테틱 동영상 제작, 영문 카달로그 제작, 티저광고 제작, 온라인이벤트를 진행하여 9건의 마케팅 전략을 수립하였음.
	국내외 전시회 및 네트워킹			100	- 2017 COSMOPROF, 2018 COSMOPROF, 2018 In-cosmetics Asia, 2018 방콕 한국우수상품전, 2018 COSMOPROF ASIA HONG KONG, 2019 비엠티 베트남 미용 전시회, 2021 COSMOPROF, 온라인 수출상담회 (베트남 2회, 러시아, 인도네시아, 일본) 등 총 12건의 국외전시회를 참가함. - 2018 G-FAIR KOREA, 2018 In-cosmetics Korea, 2021 In-cosmetics Korea 등 3건의 국내 전시회 참가함.
재배 정밀화 (재배 및 번식기술)	고품질생산연구		6	100	- 유기자재 처리 후 생체 수량성, 향산화성, 유효성분 조사 결과 자소엽은 키토산, 라벤더는 규산염이 우수 자재로 선발함. 이듬해 각 작물별 유기자재의 적정 처리농도를 구명하기 위해 자재 처리 후 수량성, 유효성분,향산화성 조사결과 자소엽은 키토산 1,000배 처리구, 라벤더는 규산염 500배 처리구가 우수함을 확인하여 성과2건 달성함. - 라벤더 전정 후 개화기, 생육특성, 수량성 조사 결과 선단부 1/3전정이 무처리 대비 생체 수확량이 증가됨을 확인하여 적정 전정방법 구명 1건 달성함.
	번식기술개발		4	100	- 라벤더 영양 번식기술 개발은 기존 사례가 많아 추가 연구가 필요하지 않으며, 기능성 우수 선발자원의 노동력 절감 및 병해충 방제에 대한 연구가 우선시 되어 계획을 변경하였음. - 와송 재배 시 잡초 발생경감을 위한 적정 자재 선발 (차광망+멀칭비닐)하여 1건 달성함. - 선발자원의 병해충 발생양상 확인 및 찔레 진딧물 방제 유기농 자재 선발(담배잎 추출물)로 1건 달성함.
	재배기술개발		2	100	- 허브자원 찔레 등 10종에 대한 기본생육 및 수량성 조사를 실시하여 당초 추진목표 1건 달성함.
	임간재배연구		3	100	- 허브자원 기능성 평가 결과 곤달비는 기능성을 보이지 않아 기존 과제인 임간재배연구를 기능성 우수 자원(자소엽, 와송, 레몬그라스, 찔레)에 대한 재배 연구로 수정하였음. - 재배지역별 우수 허브자원의 수량, 기능성, 지표성분 등을 조사·분석하여 지역별 적정 수확시기를 설정하여 4건을 달성함.
합계			100점		

Ⅲ. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 당초 계획했던 사업계획서의 내용 및 운영체계에 따라 성실하게 수행하였으며 정량적 목표 및 정성적 목표를 대부분 달성하여 전체적으로 우수한 결과를 도출하였음.
- 기술적 성과로 디자인은 6건을 출원하여 6건을 등록하였고, 특허는 9건을 출원하여 8건을 등록하여 높은 등록율과 함께 당초 목표를 추가 달성하였음.
- 과학적 성과로 국내 논문 7편, 국내학술대회 12편, 국제학술대회 5편을 발표하여 남원·지리산 특화자원 10종에 대한 가능성을 과학적으로 증명하였음.
- 경제적 성과로 특허 2건에 대해 직접실시를 통해 기술이전 하였고 총 16종의 직·간접 제품을 개발하여 국내 매출 889,910천원과 국외 매출 811,643천원 달성하였음. 또한 허브자원 및 우수발효 소재 10건을 국제화장품원료집(ICID)에 등록하여 원료화하여 제품화하였고 국내 매출 20,688천원을 달성하였음. 고용창출은 총 12명으로 당초 목표대비 6명을 초과달성하였으며, 전문 인력양성은 박사1명, 석사1명, 학사 2명, 기타 2명 등 배출하였고 산업 기술 인력양성을 위해 총 10개의 프로그램을 운영하여 총 29명에게 허브 재배에 대한 농가 현장 컨설팅을 하여 허브 재배 농가에 대한 기술 인력의 역량 강화 및 재배 기술 향상에 기여하였음. 홍보는 중앙 TV방송, 중앙일간지, 중앙전문지, 지방 라디오 방송 및 지방일간지를 통해 17건의 실적을 달성하여 남원·지리산 특화자원의 우수성과 화장품 원료 및 완제품에 대한 가능성에 대해 홍보하였음 .

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 최초 연구개발 기획 당시 혁신성, 기술성, 지속성을 통해 남원 원예허브산업을 바이오뷰티산업으로 발전시켜 화장품 소재의 원료화와 완제품 개발을 통해 고부가가치를 창출하는 것이 최종 목표였음.
- 따라서 혁신성 분야의 허브 판매 및 단순가공 형태의 저부가가치 산업에서 천연 화장품 원료의 국산화 및 기능성 화장품 개발에 의한 고부가가치 산업으로 전환이 이루어졌는가에 대한 평가, 기술성 분야의 허브재배기술, 허브가공기술, 화장품 원료 및 완제품 제조 기술에 대한 평가, 지속성 분야의 재배공급 시스템 구축과 소재 원료 및 시장 선도 제품 생산으로 허브의 공급과 수요의 지속성에 대한 평가 중요하다고 판단됨.
- 주관기관이 기업이기 때문에 기술적, 과학적, 경제적 성과 중 과학적 성과보다는 경제적 성과 및 기술적 성과에 높은 비중을 두고 평가해 주시면 좋겠음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 남원·지리산권 허브의 바이오뷰티산업 원료화
 - 남원·지리산권의 지역특화자원의 소재가공, 생리활성탐색, 지표성분 및 기능성분을 이용하여 화장품 산업에 적용할 수 있는 원료 및 완제품 개발에 활용.
 - 특허 및 논문을 통해 획득한 지식재산권을 활용하여 과학적으로 입증된 기능성 천연 원료 및 다양한 화장품 개발에 활용.
 - 지식재산권 및 생리활성 기능을 바탕으로 향후 기술이전 및 식품 소재나 의약품 소재 개발에 활용.
 - 국제화장품원료집(ICID)에 등록된 10종의 원료에 대해 국내 매출 뿐만 아니라 해외 수출을 위한 마케팅에 활용
- 허브재배산업의 정밀화
 - 재배 정밀화를 통해 유효성분이 많은 자생·약용허브의 대량재배기술을 농가에 보급하고 친환경재배 인증을 통한 고품질 허브생산으로 농가소득 증대에 활용.
 - 각각의 허브에 대한 재배기술을 바탕으로 같은 종류의 허브재배 방법 확립에 활용
- 남원·지리산권 천연허브자원의 산업화를 통한 지역 인지도 상승
 - 남원·지리산권의 천연자원의 소재 및 산업화기술 개발을 통해 지역특화자원의 라이브러리를 구축하고 우수성을 홍보함으로써 대국민관심도와 신뢰도를 향상시킴.
- 허브제품의 다양화를 통한 허브산업의 지속 가능화
 - 남원·지리산권의 허브에 대한 재배확산 및 지역특화산업으로 발전시켜 산업화에 활용하여 소재개발 및 자원화를 통해 남원지역특화산업의 활성화와 다양한 화장품가공제품의 개발, 허브생산의 산업화를 극대화하고자 함.
- 원예허브산업을 고부가가치형 바이오뷰티특화산업으로 확대 고도화
 - 지역특화작물을 이용한 기능성 바이오 화장품을 산업화하여 국내·외 시장에서 제품의 경쟁력을 강화하고 고부가가치화로 제품화하여 6차산업화로 발전 확대.

IV. 보안성 검토

□해당사항 없음.

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input checked="" type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야		
연구과제명	허브산업 기반 활용 뷰티산업 소재·제품개발 및 특화산업육성			
주관연구개발기관	(주)하이솔		주관연구책임자	김광상
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	1,400,000,000	517,000,000	150,000,000	2,067,000,000
연구개발기간	2017.04.21.~2021.12.31			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input checked="" type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 소재 개발 및 자원화 - 원료표준화 및 제조공정표준화 - 생리활성탐색 및 기전연구 - 이화학적특성연구 - 지표(유효)성분 설정 및 표준화	<ul style="list-style-type: none"> ○ 원료표준화 및 제조공정표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 허브자원10종 대상 사용부위, 수확시기, 재배지역, 생육환경 등 조사를 통해 원료표준화 1건 완료 및 추출용매, 추출온도, 추출시간 등 제조기술 관련 제조공정표준화 1건 완료 - 19종 폴리페놀 동시분석, FT-IR 통한 기준규격화 1건 완료 및 남원지역과 타지역 소재 기능성분 함량차이 차별성 확립 - 발효균주 선발(유산균487) 및 발효조건 최적화 1건(추출용매, 추출시간, 접종균수, 배양시간, 발효 후 공정) 완료 ○ 생리활성탐색 및 기전연구 <ul style="list-style-type: none"> - 허브자원10종 대상 효능평가 6건(항산화, 미백, 주름, 보습, 항균, 방부), 기능성별 상관관계 분석, 기전연구 3건(미백, 주름, 보습) 완료 - 발효전후 시료(18종)대상 효능평가 3건(미백, 주름, 보습)와 용해도/색차 비교 통한 발효 후 우수 시료 확보(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃) - 우수발효소재(4종) 대상 배합비 구성 통한 효능평가 3건(미백, 주름, 보습) 완료 (찔레40%배합비 우수) - 발효소재 바이오리포좀 물리적, 화학적 안정 조건확립 (Particle size, Zeta potential 값 확보) - 우수발효소재(4종) 대상 기전연구 4건(미백, 주름, 보습, 피부장벽) 완료 ○ 이화학적특성연구 <ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종의 이화학적특성연구를 위해 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 측정하여 10건의 목표를 달성하였으며, 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃)의 복합물에 대한 항산화 관련효소(ROS, SOD)활성 평가를 1건 완료하였음. ○ 지표(유효) 성분 설정 및 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종(50% 에탄올 추출물)의 각 지표물질 문헌조사, LC/MS 분석, HPLC 분석을 통해 라벤더, 자소엽 Rosmarinic acid, 레몬그라스, 곤달비, 감국, 산구절초 Chlorogenic acid, 캐모마일 Apigenin-7-O-glucoside 와송 Epicatechin gallate, 찔레꽃

	<p>Astragalin으로 설정함.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 10종의 지표성분 분석법을 확립하였고, 밸리데이션 목표 10건을 달성하였음. - 우수소재 4종(라벤더, 자소엽, 레몬그라스, 찔레꽃)의 복합물에 대한 표준시험법을 확립하였으며, 소재 4종의 바이오포즈 소재에 대한 전처리 및 분석방법을 확립하였음.
<p>② 소재 산업화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 화장품원료등재 - 원료 및 제품 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 화장품원료등재 <ul style="list-style-type: none"> - 허브자원 및 우수발효소재 10건 (곤달비, 흰민들레, 찔레, 자소엽수, 감국수, 바위솔, 라벤더엑상발효물, 자소엽엑상발효물, 찔레꽃고상발효물, 레몬그라스고상발효물) 국제화장품원료 등재 - 허브자원 10건 (라벤더, 레몬그라스, 캐모마일, 바위솔, 자소엽, 흰민들레, 곤달비, 감국, 산구절초, 찔레꽃)에 대한 라이브러리(건조물, 종자, 추출물) 구축 완료 ○ 화장품 원료 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 기능이 확인된 허브자원 찔레(미백, 주름개선), 레몬그라스(보습), 자소엽(보습), 감국(주름개선), 라벤더엑상발효물(미백, 주름개선), 자소엽엑상발효물(보습), 레몬그라스고상발효물(보습), 찔레꽃고상발효물(미백) 8건에 대한 안전성 및 안정성 평가 완료 - 기능이 확인된 허브자원 찔레(미백, 주름개선), 레몬그라스(보습), 자소엽(보습), 감국(주름개선), 라벤더엑상발효물(미백, 주름개선), 자소엽엑상발효물(보습), 레몬그라스고상발효물(보습), 찔레꽃고상발효물(미백) 8건에 대한 안전성 및 안정성 평가 완료 - 기능이 확인된 허브자원 찔레(미백, 주름개선), 레몬그라스(보습), 자소엽(보습), 감국(주름개선), 라벤더엑상발효물(미백, 주름개선), 자소엽발효물(보습), 라벤더고상발효물(미백, 주름개선), 자소엽엑상발효물(보습) 8건에 대한 제품개발 완료 ○ 화장품 완제품 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 4종의 기능이 우수한 허브자원(찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스)이 첨가된 울스킨제품(클렌징폼, 울인원 에센스, 수면팩) 3종, 선택된 4종의 허브 발효물(라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 찔레꽃)이 첨가된 하이틴제품(스킨, 로션, CC크림) 3종 및 찔레발효물이 40% 첨가된 발효복합물이 함유된 실버제품(클렌징폼, 울인원 페이스, 울인원 바디, 수면팩) 4종에 대한 제조공정도 확립 - 4종의 기능이 우수한 허브자원(찔레, 와송, 자소엽, 레몬그라스)이 첨가된 울스킨제품(클렌징폼, 울인원 에센스, 수면팩) 3종, 선택된 4종의 허브 발효물(라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 찔레꽃)이 첨가된 하이틴제품(스킨, 로션, CC크림) 3종 및 찔레발효물이 40% 첨가된 발효복합물이 함유된 실버제품(클렌징폼, 울인원 바디, 수면팩) 3종에 대한 제형연구 완료 - 4종의 우수소재 및 컨셉소재 3종(흰민들레, 감국, 산구절초)가 함유된 울스킨 제품(림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼, 림포디아 부스팅 매직 슬리핑 마스크, 림포디아 옴므 핸섬 울인원) 3종, 선택된 4종의 허브 발효물 (라벤더, 레몬그라스, 자소엽, 찔레꽃)이 첨가된 하이틴 제품(에스테마인 톡톡 스킨에센스, 에스테마인 톡톡 컨트롤크림, 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스) 3종 및 찔레발효물이 40% 첨가된 발효복합물이 함유된 실버제품 (커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼, 하이드로 바디 에센스, 부스팅 히팅 마스크) 3종의 시제품 개발함. - 클렌징폼 용기, 클렌징폼 포장상자, 수면팩 용기, 수면팩 포장상자, 울인원 화장품 용기, 울인원 포장상자 6건에 대한 디자인 출원 및

	<p>등록을 완료함.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 울스킨 3종 (림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼, 림포디아 부스팅 매직 리핑 마스크, 림포디아 옴므 핸섬 올인원), 하이틴 제품 3종 (에스테마인 톡톡 스킨에센스, 에스테마인 톡톡 컨트롤크림, 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스) 및 실버제품 3종 (커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼, 하이드로 바디 에센스, 부스팅 히팅 마스크)에 대한 안전성 및 안정성 평가 완료함. - 울스킨 3종 (림포디아 부스팅 매직 오투 버블 폼, 림포디아 부스팅 매직 리핑 마스크, 림포디아 옴므 핸섬 올인원), 하이틴 제품 3종 (에스테마인 톡톡 스킨에센스, 에스테마인 톡톡 컨트롤크림, 림포디아 부스팅 매직 컨트롤 베이스) 및 실버제품 3종 (커피&레몬밤 스킨스파 밸런스 바스폼, 하이드로 바디 에센스, 부스팅 히팅 마스크)에 대한 식약처 품목보고 완료함.
<p>③ 사업화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 마케팅전략 수립 및 인프라 구축 - 국내외 전시회 및 네트워킹 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마케팅전략 수립 및 인프라 구축 - 마케팅 전략수립 2건 (중국,베트남) 바이럴 마케팅 3건(네이버 블로그 마케팅, 인스타 마케팅, 유튜브 마케팅), 영문 홈에스테틱 동영상 제작, 영문 카달로그 제작, 티저광고 제작, 온라인이벤트를 진행하여 9건의 마케팅 전략을 수립하였음. ○ 국내외 전시회 및 네트워킹 - 2017 COSMOPROF, 2018 COSMOPROF, 2018 In-cosmetics Asia, 2018 방콕 한국우수상품전, 2018 COSMOPROF ASIA HONG KONG, 2019 비엠티뷰티 베트남 미용 전시회, 2021 COSMOPROF, 온라인 수출상담회 (베트남 2회, 러시아, 인도네시아, 일본) 등 총 12건의 국외전시회를 참가함. - 2018 G-FAIR KOREA, 2018 In-cosmetics Korea, 2021 In-cosmetics Korea 등 3건의 국내전시회 참가함.
<p>④ 재배정밀화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 고품질생산연구 - 번식기술개발 - 재배기술개발 - 임간재배연구 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 고품질생산연구 - 유기자재 처리 후 생체 수량성, 항산화성, 유효성분 조사 결과 자소엽은 키토산, 라벤더는 규산염이 우수자재로 선발함. 이듬해 각 작물별 유기자재의 적정 처리농도를 구명하기 위해 자재 처리 후 수량성, 유효성분, 항산화성 조사 결과 자소엽은 키토산 1,000배 처리구, 라벤더는 규산염 500배 처리구가 우수함을 확인하여 성과2건 달성함. - 라벤더 전정 후 개화기, 생육특성, 수량성 조사 결과 선단부 1/3전정이 무처리 대비 생체 수확량이 증가됨을 확인하여 적정 전정방법 구명 1건 달성함. ○ 번식기술개발 - 라벤더 영양 번식기술 개발은 기존 사례가 많아 추가 연구가 필요하지 않으며, 기능성 우수 선발자원의 노동력 절감 및 병해충 방제에 대한 연구가 우선시 되어 계획을 변경하였음. - 와송 재배 시 잡초 발생경감을 위한 적정 자재 선발(차광망+멀칭비닐)하여 1건 달성함. - 선발자원의 병해충 발생양상 확인 및 찔레 진딧물 방제 유기농 자재 선발(담배잎 추출물)로 1건 달성함. ○ 재배기술개발 - 허브자원 찔레 등 10종에 대한 기본생육 및 수량성 조사를 실시하여 당초 추진목표 1건 달성함. ○ 임간재배연구 - 허브자원 기능성 평가 결과 곤달비는 기능성을 보이지 않아 기존 과제인 임간재배연구를 기능성 우수 자원(자소엽, 와송, 레몬그라스, 찔레)에 대한 재배연구로 수정하였음. - 재배지역별 우수 허브자원의 수량, 기능성, 지표성분 등을 조사·분석하여 지역별 적정 수확시기를 설정하여 4건을 달성함.

3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표										
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍 보		기타 (타연구 활용등) (%)		
	특허 출원	특허 등록	품 종 등 록	S M A R T	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논 문	학 술 발 표	정 책 활 용			홍 보 전 시				
																			SCI		비 SCI	논 문 평 균 I F
단위	건	건	건	평 균 건 수	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건					
가중치	15	0	0	0	10	5	10	5	5	10	0	0	0	15	0	5	0	20	0			
최종 목표	7	7	-	-	3	28	15	2,110	1,230	6	-	-	2	7	-	13	5	2	-	23	-	
당해 년도	목표	7	4	-	-	2	19	15	760	380	4	-	-	2	7	-	12	3	2	-	20	-
	실적	9	8	-	-	2	5	25	941.8	812.3	9	-	-	0	7	-	17	9	7	-	31	-
달성률 (%)	129	114	-	-	67	19	167	45	66	150	-	-	0	100	-	131	180	350	-	135	-	

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	소재 개발 및 자원화기술
②	소재 산업화 기술(원료 및 제품)
③	제품 사업화 기술
④	재배정밀화 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술		v				v				v
②의 기술				v			v			v
③의 기술				v		v	v			v
④의 기술		v						v		v

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	남원-지리산권의 지역특화자원의 소재가공, 생리활성탐색, 지표성분 및 기능성분을 규명하여 화장품 식품산업에 적용할 수 있는 원료를 개발함으로써 산업화에 활용하여 재배 확산 및 지역특화산업 발전에 기여.
②의 기술	남원-지리산권의 천연자원의 소재 및 산업화기술 개발을 통해 지역특화자원의 우수성을 홍보함으로써 대국민관심도와 신뢰도를 향상시킴.
③의 기술	지역특화작물을 이용한 기능성 바이오 제품(화장품 및 식품)을 산업화하여 국내·외 시장에서 제품의 경쟁력을 강화하고 고부가가치화로 제품화하여 6차산업화로 발전 확대.

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표									
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구 활용등)	
	특 허 출원	특 허 등록	품 종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시		
													SCI	비 SCI							논 문 평 가 I F
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	명	건	건				
가중치	15	0	0	0	10	5	10	5	5	10	0	0	0	15	0	5	0	20	0		
최종목표	7	7	-	-	3	28	15	2,110	1,230	6	-	-	2	7	-	13	5	2	-	23	-
연구기간내 달성실적	9	8	-	-	2	5	25	941.8	812.3	9	-	-	0	7	-	17	9	7	-	31	-
연구종료후 성과창출 계획	0	0	-	-	1	0	0	1,169	418	0	-	-	2	0	-	0	0	0	-	0	-

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾	찔레꽃 발효 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 보습용 조성물 (특허등록확정 10-2021-0087911)		
이전형태	<input checked="" type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	0 천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input checked="" type="checkbox"/> 기타(자체실시)		
이전소요기간	1개월	실용화예상시기 ³⁾	2022. 3.
기술이전시 선행조건 ⁴⁾	-해당사항 없음.		

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.