



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년08월21일  
 (11) 등록번호 10-1432940  
 (24) 등록일자 2014년08월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 31/7048** (2006.01) **A61K 8/73** (2006.01)  
**A61P 17/00** (2006.01) **A61Q 19/00** (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2013-0066982  
 (22) 출원일자 2013년06월12일  
 심사청구일자 2013년06월12일  
 (56) 선행기술조사문헌  
 Food Chemistry. Vol. 101, 2007년, pp. 1742-1747\*  
 Biotechnology and Food Sciences. Vol. 2, No. 5, 2013년 4월 1일, pp. 2318-2322\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌  
 기술이전 희망 : 기술양도, 실시권허여, 기술지도

(73) 특허권자  
**충남대학교산학협력단**  
 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)  
**한국과학기술원**  
 대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)  
 (72) 발명자  
**조철훈**  
 대전광역시 유성구 어은로 57, 120동 1502호 (어은동, 한빛아파트)  
**최원호**  
 대전광역시 유성구 가정로 65, 102동 903호 (신성동, 대림두레아파트)  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**특허법인 에이치엠피**

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 최영희

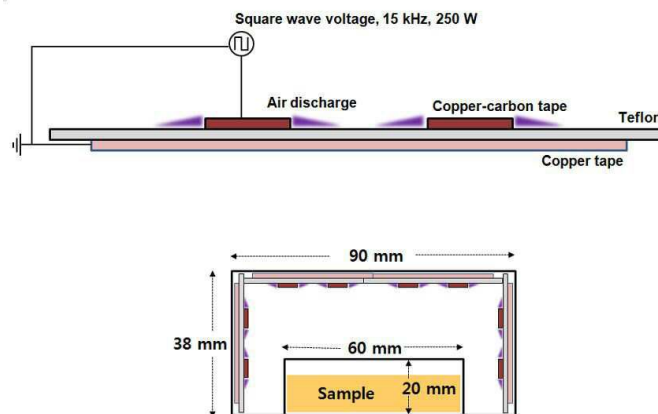
(54) 발명의 명칭 **플라즈마 처리에 의해 생리기능성이 증가된 페놀화합물의 제조방법**

**(57) 요약**

본 발명은 플라보노이드계 페놀화합물에 저온 대기압 플라즈마를 처리하는 것을 특징으로 하는 항산화, 미백 또는 항균 활성이 증가된 플라보노이드계 페놀화합물의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 플라즈마 처리 기술을 이용하여 식물성 플라보노이드계 페놀화합물의 생리기능성을 증가시킬 수 있다. 따라서 생리기능성이 향상된 본 발명의 플라보노이드계 페놀화합물은 항산화 및 미백 효과를 갖는 기능성 식품 뿐만 아니라, 활성산소 등의 산화작용에 의해 발생하는 질병에 대한 예방 및 치료용 약학 조성물에도 사용될 수 있으며, 향균제품 및 화장품의 제조에도 유용하게 이용될 수 있다.

**대표도** - 도1



(72) 발명자

**김현주**

대전광역시 동구 태전로 132-18 (삼성동)

**박상후**

대전광역시 유성구 대학로 291, 세종관 5103호 (어은동)

**용해인**

대전광역시 유성구 봉명로 93, 606동 702호 (봉명동, 도안휴먼시아6단지 센트럴시티)

**김기중**

대전광역시 유성구 원내로 52, 307동 501호 (원내동, 샘물타운아파트)

**정사무엘**

대전광역시 서구 계백로1158번길 128, 401호(가수원동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 PJ0092212013

부처명 농촌진흥청

연구사업명 농식품 위해요소 안전관리 및 평가체계 구축사업

연구과제명 저온플라즈마를 활용한 신선육의 식중독균 제어

기여율 1/1

주관기관 국립축산과학원

연구기간 2013.02.01 ~ 2014.12.31

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

나린진(naringin) 또는 퀘세틴(quercetin) 용액을 밀폐용기의 중앙에 위치시키는 단계;

상기 나린진 또는 퀘세틴 용액이 놓여진 바닥면을 제외한 밀폐용기의 내부면에 위치하는 플라즈마 공급원으로부터, 200-300W의 전력 및 10-20kHz의 주파수 조건에서 유전장벽 방전(dielectric barrier discharge) 및 대기압 아크(arc) 플라즈마 제트 방식으로 상기 나린진 또는 퀘세틴 용액에 플라즈마를 처리하는 단계를 포함하는, 나린진 또는 퀘세틴의 항산화 및 항균 활성을 증가시키는 방법.

### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 플라즈마 처리는 플라즈마가 상기 나린진 또는 퀘세틴 용액에 직접 접촉하지 않는 간접적인 처리 방식인 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 플라즈마 처리는 질소와 산소로 이루어진 공기를 방전시키는 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 유전장벽 방전은 전력 250 W 및 주파수 15 kHz의 조건에서 수행되고, 상기 대기압 아크 플라즈마 제트는 전력 75 W 및 주파수 15 kHz의 조건에서 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

### 청구항 5

제 1항 내지 제 4항 중의 어느 한 항의 방법에 따라 제조된 나린진 유도체

### 청구항 6

제 5항의 나린진 유도체를 포함하는 피부노화 예방용 약학적 조성물

### 청구항 7

제 5항의 나린진 유도체를 포함하는 화장료 조성물.

### 청구항 8

제 5항의 나린진 유도체를 포함하는 피부노화 예방용 기능성 식품 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 플라즈마 처리에 의해 생리기능성이 증가된 페놀화합물의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 나린진, 케세틴과 같은 플라보노이드계 페놀화합물에 플라즈마를 처리함으로써 그들이 갖는 생리기능성을 향상시킬 수 있는 신규한 플라보노이드계 페놀화합물의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 20세기 후반부터 현재까지 전 세계적으로 원활한 식량생산 및 공급으로 인해 현대인의 과잉 영양섭취 및 잘못된 식습관으로 인하여 비만, 당뇨 및 고혈압 등과 같은 성인병과 더불어 환경오염 등으로 인한 식품의 오염, 광우병, 구제역, 조류독감 등과 같은 신종 질병들이 인류의 건강을 위협하고 있다. 이로 인해 질병 치료, 예방 및 건강 증진을 위한 생리활성 기능이 있는 기능성 물질은 근래 식품 및 공중보건산업에서 소비자에게 크게 성장할 산업분야로 각광받고 있다 (Shin, D. W. 2003. *Food Sci Ind* 36, 81-89).

[0003] 기능성 물질은 화학적 합성품 보다는 천연물 유래 기능성 물질이 각종 질병이나 상해 회복에 효과적이며 체내 독성이 적어 특별한 부작용 없이 소비자들에게 높은 선호도를 보이고 있다 (Jung, S. J. et al., *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47, 135-140). 식품 제조용 원료로 사용되는 천연 식품자원은 생리활성 등 기능성을 유지하면서도 제품 첨가 시 제품의 특성에 영향을 미치지 않도록 무색, 무미 및 무취의 상태로 정제하는 공정이 가장 중요한 요소인데, 일부 천연 식품자원은 이러한 문제로 인해 산업적 이용이 제한되고 있다. 따라서 기능성 물질의 생리활성 증진을 위하여 화학적 및 효소적 반응이나 초고압, 방사선 등과 같은 비열처리 기술 등을 적용한 사례가 발표되고 있다 (Rold, E. et al., *LWT-Food Sci Technol* 42, 835-841).

[0004] 한편, 원자나 분자로 구성된 기체에 에너지를 인가하면 전기적으로 중성인 원자나 분자가 이온화하여 전자와 이온의 집합체가 되며 이들 하전입자들이 집단운동을 보이는 물질의 상태가 된다. 이러한 물질의 상태를 플라즈마라고 한다. 플라즈마는 온도와 밀도에 따라 고온, 고밀도 영역의 핵융합 플라즈마, 저온 영역의 공정 응용 플라즈마, 저밀도 영역의 우주 플라즈마 등으로 구분된다. 핵융합 플라즈마는 이온과 원자로 완전 전리된 상태로 1억도 내외의 고온 플라즈마인 반면, 저온 플라즈마는 이온화 되지 않은 중성의 원자나 분자가 섞여 부분 전리된 상태로 구성되어 있다.

[0005] 저온 플라즈마 가운데 대기압 플라즈마(atmospheric pressure plasma)는 대기압 상태에서 플라즈마를 발생하는 기술로 유전장벽 방전(dielectric barrier discharge, DBD), 코로나 방전(corona discharge), 마이크로파 방전(microwave discharge) 및 아크 방전(arc discharge) 등으로 분류된다. 특히 대기압 플라즈마는 저압 공정 플라즈마와 비교하여 활용목적에 따라 진공 시스템 없이도 발생 및 활용이 가능하여 설치 및 유지비용이 저렴하여 경제적이며, 폐기물을 발생시키지 않아 비오염적이고 환경 친화적인 기술로 알려져 있다.

[0006] 플라즈마는 공기 등 기체나 액체 중에서 전기방전에 의해 높은 에너지를 가진 원자, 높은 반응성을 가진 라디칼(-OH, -H, -HO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 및 오존 등을 생성하여 살균력을 가지는 것으로 보고되고 있으며, 최근 이와 같은 원리를 이용하여 식품분야에서 위생화를 위해 적용하는 사례들이 발표되고 있다 (Kim, B. et al., *Food Microbiol* 28, 9-13). 그러나 현재까지 플라즈마 기술을 적용한 생물소재의 생리기능성 증진에 관한 연구는 전무하다.

[0007] 본 발명은 대표적인 식물성 플라보노이드(flavonoid)로서 감귤 등에 함유된 나린진(naringin) 등의 생리활성을 저온 대기압 플라즈마 처리로 비약적으로 증진시켜 산업적 적용 가능성을 높이는 것에 대한 것이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 따라서 본 발명은 생리기능성이 향상된 플라보노이드계 페놀화합물의 제조방법을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0009] 또한 본 발명은 상기 방법으로 제조된 생리기능성이 향상된 플라보노이드계 페놀화합물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 플라보노이드계 페놀화합물에 플라즈마 처리하는 것을 포함하는 생리 기능성 증진 방법을 제공한다.
- [0011] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 플라보노이드계 페놀화합물은 나린진(naringin), 퀘세틴(quercetin), 커큐민(curcumin), 로테논(rotenone), 루틴(rutin) 및 카테킨(catechin)을 포함하는 플라보노이드계 페놀화합물이다.
- [0012] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 플라즈마 처리는 유전장벽 방전(dielectric barrier discharge) 또는 대기압 아크 플라즈마 제트를 사용할 수 있다.
- [0013] 본 발명의 일실시예에 있어서, 유전장벽 방전은 전력 200-300 W, 주파수 10-20 kHz에서 발생시킬 수 있고, 상기 대기압 아크 플라즈마 제트는 전력 50-80 W, 10-20 kHz로 발생시킬 수 있다.
- [0014] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 플라보노이드계 페놀화합물 제공한다.
- [0015] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 플라보노이드계 페놀화합물을 포함하는 약학적 조성물, 화장품 조성물 또는 기능성 식품 조성물을 제공한다.

**발명의 효과**

- [0016] 본 발명에 따르면, 저온 대기압 플라즈마 처리를 이용하여 식물성 플라보노이드계 페놀화합물의 생리기능성을 증가시킬 수 있다. 따라서 항산화, 미백 및 항균 활성이 증가된 플라보노이드계 페놀화합물은 다양한 분야에서 이용될 수 있다. 특히 항산화 및 미백 효과를 갖는 기능성 식품 뿐만 아니라, 활성산소 등의 산화작용에 의해 발생하는 질병에 대한 예방 및 치료용 약학 조성물에도 사용될 수 있으며, 향균제품 및 화장품의 제조에도 유용하게 이용될 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0017] 도 1은 유전장벽 방전 플라즈마를 발생시키기 위한 과정을 설명한 개략도이다.
- 도 2는 대기압 아크 플라즈마 제트를 설명한 개략도이다.
- 도 3a는 본 발명에 따른 플라즈마 처리된 나린진의 티로시나아제 저해 효과(%)를 나타낸 그래프이다.
- 도 3b는 본 발명에 따른 플라즈마 처리된 퀘세틴의 티로시나아제 저해 효과(%)를 나타낸 그래프이다.
- 도 4a은 본 발명에 따라 20분간 플라즈마 처리된 나린진의 항균 활성을 나타낸 사진이다. (a) 대조군(control), (b) *Escherichia coli* 0157:H7, (c) *Listeria monocytogenes*, (d) *Salmonella* Typhimurium, (e) *Staphylococcus aureus*.
- 도 4b은 본 발명에 따라 20분간 플라즈마 처리된 퀘세틴의 항균 활성을 나타낸 사진이다. (a) 대조군(control), (b) *Listeria monocytogenes*, (c) *Salmonella* Typhimurium.
- 도 5a는 나린진의 분자구조를 나타낸 그림이다.
- 도 5b는 플라즈마 처리하기 전, 나린진을 HPLC로 측정된 크로마토그램이다.
- 도 5c는 플라즈마 처리한 후, 나린진을 HPLC로 측정된 크로마토그램이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0018] 본 발명은 생리기능성을 증가시킨 식물성 플라보노이드계 화합물의 신규한 제조방법에 관한 것이다. 본 발명자들은 저온 대기압 플라즈마 처리를 통해 천연물 소재의 기능성을 향상시킬 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

- [0019] 따라서 본 발명은 식물성 플라보노이드계 페놀화합물의 제조에 있어서, 플라보노이드계 페놀화합물에 저온 대기압 플라즈마를 처리하는 것을 특징으로 하는 항산화, 미백 또는 항균 활성이 증가된 플라보노이드계 페놀화합물의 제조방법을 제공한다.
- [0020] 본 발명에서, 상기 ‘식물성 플라보노이드계 페놀화합물’은 식물 내에 존재하는 여러 페놀화합물 중 플라보노이드 또는 그 유사체를 의미하는 것으로, 아피제닌, 루테올린, 캄페롤, 이소람네틴, 안토시아닌, 프로안토시아닌, 히스페리딘, 레스베라트롤, 퀘세틴, 루틴, 커큐민, 로테논 등이 플라보노이드계 폴리페놀의 대표적인 예이다.
- [0021] 상기 페놀화합물 또는 폴리페놀(polyphenol)은 동일 분자 내에 2개 이상의 페놀성 수산기를 갖는 화합물을 지칭한다. 그 수는 5000종 이상에 이른다고 알려져 있으며, 페닐카르복실산계, 리그난계, 쿠르쿠민계, 쿠마린계, 플라보노이드계로 분류된다. 폴리페놀은 당분의 일부가 변화된 것으로, 식물의 잎이나 꽃, 수피 등에 포함되어 있고, 광합성에 의해 생성되며, 자외선에 의해 발생하는 활성 산소를 불활성화하는 기능이 있다. 한편 폴리페놀은, 암세포의 아포토시스를 유도하거나, 항산화 작용에 의한 활성 산소의 불활성화를 하는 등, 다양한 질병의 예방에 효과가 있다고 알려져 있다 (Br J Pharmacol 123: 565-573, (1998); Oncogene 24: 7180-7189, 2005).
- [0022] 이에, 본 발명자들은 항산화 활성과 같은 유용한 기능을 갖고 있는 식물성 플라보노이드계 페놀화합물의 생리기능성을 향상시키기 위하여 연구 노력한 결과, 이들 화합물에 플라즈마 처리를 함으로써 생리기능성이 증가함을 처음으로 확인하고, 이에 본 발명을 고안하게 된 것이다.
- [0023] 본 발명의 실시예에 따르면, 본 발명에 따라 플라즈마 처리한 나린진 용액에서 총 폴리페놀의 함량을 분석한 결과, 172.50 ppm에서 225.83 ppm으로 현저히 증가함을 확인하였고 퀘세틴 역시 102.53 ppm에서 처리 후 119.60 ppm으로 증가하였다 (표 1 참조). 따라서 이로 인하여 폴리페놀에 의한 생리기능성이 향상될 수 있음을 예상할 수 있다.
- [0024] 이전의 보고에 따르면, 다양한 페놀 화합물은 수산기를 통한 수소 공여와 페놀고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타내는 것으로 알려져 있다 (Shahidi, F., Wanasundara, P. K. 1992. Phenolic antioxidant. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32, 67-103).
- [0025] 따라서 본 발명에 따른 플라즈마 처리는 이러한 페놀 화합물의 구조에 변화를 일으킴으로써 증가된 생리기능성을 나타내는 것으로 판단할 수 있다. 이는 본 발명에서 플라즈마 처리 전과 후의 페놀화합물(나린진)에 대한 HPLC 분석 결과를 통해서도 확인할 수 있다. 도 4b와 4c는 플라즈마 처리 후 HPLC에 의한 크로마토그램의 변화를 나타낸 것이다. 즉 플라즈마에 의해 나린진을 구성하는 일부 결합구조에 영향을 받아 항산화, 항균 및 미백 활성에 영향을 미치는 새로운 결합 또는 구조가 형성되어 물질이 생성된 것으로 판단된다.
- [0026] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 플라보노이드계 페놀화합물은 나린진(naringin), 퀘세틴(quercetin), 커큐민(curcumin), 로테논(rotenone), 루틴(rutin), 카테킨(catechin) 등일 수 있다. 상술한 바와 같이, 플라즈마 처리에 의해 페놀 화합물을 구성하는 일부 결합구조에 변화가 일어나 생리 기능성의 향상이 일어날 수 있고, 본 발명의 실시예에서 그 대표적인 예로서 나린진과 퀘세틴에 대한 항산화, 미백 및 항균 활성 등의 기능성 향상에 대한 효과를 확인한 만큼, 이들 페놀화합물이 플라즈마 처리에 의해 동일한 생리기능성 향상 효과가 있음은 자명하다 할 것이다.
- [0027] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 플라보노이드계 페놀화합물은 나린진 및 퀘세틴이다. 나린진(naringin)은 플라보노이드 색소의 배당체로 강한 쓴맛을 가진다. 온수, 알코올, 아세톤 등에 녹이나, 냉수에는 잘 녹지 않으며, 에테르에는 녹지 않는다. 나린진은 귤의 과피, 과즙, 종자 등을 물이나 상온의 에탄올 또는 메탄올로 추출한 후 당업계에 공지된 방법에 따라 분리하고 정제하여 얻을 수 있다. 수용성이므로 사용범위가 다양하고 과다 섭취하더라도 무독한 것이 특징이다. 나린진은 쓴맛을 내는 고미료로 사용된다. 그 외에 정균 및 항균작용, 항산화작용, 아스코르빈산 상승작용, 항암작용 등이 특징이다. 퀘세틴(quercetin)은 플라보놀로 폴리페놀 화합물이며, 양파에 다량 함유되어 있으며, 자유라디칼(free radical) 소거, 지질과산화 억제, 항균, 면역 조절, 항당뇨 및 항암 특성 등 광범위한 기능성이 있다.
- [0028] 본 발명에서, 상기 나린진 및 퀘세틴은 당업계에 공지된 방법에 따라 식물로부터 추출, 분리, 정제 과정을 통해 얻은 것을 사용할 수도 있고, 정제된 형태로서 상업적으로 판매하는 회사로부터 구입한 것을 사용할 수도 있다. 예를 들어, 시그마(Sigma)사로부터 정제된 형태의 나린진 및 퀘세틴을 구입한 후 적절한 용매에 희석하여 사용할 수 있다.

- [0029] 본 발명에서, 상기 나린진 및 케세틴은 플라즈마 처리를 통해 처리 전과 비교하여 항산화 활성, 미백 효과 및 항균 활성에서 현저한 증가 효과가 있음이 확인되었다 (실시예 3-5 참조).
- [0030] 본 발명의 제조방법에 있어서, 상기 플라즈마 처리는 당업계에 공지된 플라즈마 기술들이 적용될 수 있어 플라즈마 소스는 특별히 한정되지 않으며, 유전장벽 방전(dielectric barrier discharge, DBD), 코로나 방전(corona discharge), 마이크로파 방전(microwave discharge) 및 아크 방전(arc discharge) 등의 대기압 플라즈마, 저압 플라즈마, 또는 진공 플라즈마를 사용할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 유전장벽 방전은 전력 200-300 W, 주파수 10-20 kHz에서 수행되고, 상기 대기압 아크 플라즈마 제트는 전력 50-80 W, 10-20 kHz으로 발생시킬 수 있다.
- [0032] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 플라보노이드계 페놀화합물을 제공한다.
- [0033] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 플라보노이드계 페놀화합물을 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 상기 약학적 조성물은 본 발명에 따라 증가된 항산화, 미백 및 항균 활성을 나타내므로 이러한 활성에 의해 치료될 수 있는 질병에 적용될 수 있다.
- [0034] 본 발명의 플라보노이드계 페놀화합물이 약학적 조성물로 이용되는 경우에는, 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 약학적으로 허용되는 제형, 예를 들면, 분말, 정제, 과립, 캡셀 또는 주사제 등의 제형으로 제조될 수 있다.
- [0035] 상기 담체 또는 부형제로는 물, 텍스트린, 칼슘카보네이트, 락토스, 프로필렌글리콜, 리퀴드, 파라핀, 생리식염수, 텍스트로스, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물류가 있으며, 이들은 1종 이상 사용될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니며, 통상의 담체 및 부형제는 모두 사용 가능하다. 또한 상기 조성물을 약제화하는 경우, 통상의 충전제, 증량제, 결합제, 붕해제, 계면활성제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유효제 또는 방부제 등을 더욱 포함할 수 있다.
- [0036] 또한, 본 발명에 따른 플라보노이드계 페놀화합물은 그 투여용량에 특별한 제약은 없으며, 체내 흡수도, 체중, 환자의 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율, 질환의 중증도 등에 따라 변화될 수 있다. 그러나, 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 플라보노이드계 페놀화합물은 체중 1 kg당 1일 0.001 내지 50 mg으로, 하루에 한번 또는 수회 나누어 투여할 수도 있다. 또한, 본 발명에 따른 플라보노이드계 페놀화합물은 다양한 경로로 투여될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.
- [0037] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 플라보노이드계 페놀화합물을 포함하는 화장료 조성물을 제공한다. 상기 화장료 조성물은 항산화, 미백 및 항균 용도에 있어서 향상된 효과를 나타낼 수 있다.
- [0038] 본 발명의 플라보노이드계 페놀화합물이 화장료 조성물로 이용되는 경우에는, 영양 크림, 수렴 화장수, 유연 화장수, 로션, 에센스, 영양젤 또는 마사지 크림 등의 제형을 가질 수 있으나 이에 한정되지는 않는다. 상기 화장료 조성물은 제조 시 화장료의 제형 또는 사용목적 등에 맞게 임의로 선정한 물질을 첨가할 수 있다. 예를 들어, 정제수, 유분, 계면활성제, 보습제, 고급 알코올, 증점제, 킬레이트제, 색소, 지방산, 산화방지제, 방부제, 왁스, pH 조절제, 향료 등이 첨가될 수 있다.
- [0039] 상기 유분으로는 미네랄오일, 사이클로메치콘, 스쿠알란, 옥틸도데실 미리스테이트, 올리브오일, 마카다미아 너트오일, 글리세틸옥타노에이트, 캐스터오일, 에칠헥실 이소노나노에이트, 디메치콘, 사이크로펜타실록산, 설플라워씨드오일 등이 사용될 수 있다.
- [0040] 상기 계면활성제로는 소르비탄세스퀴놀리에이트, 폴리솔베이트 60, 글리세틸 스테아레이트, 친유형 글리세틸스테아레이트, 소르비탄 올리에이트, 소르비탄 스테아레이트, 디에이-세틸포스페이트, 소르비탄스테아레이트/슈크로스코코에이트, 글리세틸스테아레이트/폴리에틸렌글라이콜-100 스테아레이트, 세테아레스-6 올리베이트, 아라키딜알코올/베헤닐알코올/아라키딜 글루코사이드, 폴리프로필렌글라이콜-26-부테스-26/폴리에틸렌글라이콜-40 하이드로제네이티드 캐스터오일 등이 사용될 수 있다.
- [0041] 상기 보습제로는 글리세린, 솔비톨, 프로필렌 글라이콜, 부틸렌 글라이콜, 헥실렌 글라이콜, 디글리세린, 베타

인, 글리세레스-26, 메칠글루세스-20 등이 사용될 수 있다.

- [0042] 상기 고급 알코올로는 세틸알코올, 스테아릴 알코올, 옥틸도데칸올, 이소스테아릴 알코올 등이 사용될 수 있다.
- [0043] 상기 증점제로는 산탄검, 카보머, 마그네슘알루미늄실리케이트, 셀룰로오스검, 텍스트린 팔미테이트 등이 사용될 수 있다.
- [0044] 상기 킬레이트제로는 디소듐이디티에이, 테트라소듐이디티에이 등이 사용될 수 있다.
- [0045] 상기 색소로는 청색1호, 적색40호, 황색4호, 황색 <41> 5호 등이 사용될 수 있다.
- [0046] 상기 지방산으로는 스테아릭애씨드, 미리스틱애씨드, 팔미틱애씨드, 이소스테아릭애씨드, 라우릭애씨드 등이 사용될 수 있다.
- [0047] 상기 산화방지제로는 토크페릴아세테이드, 부틸레이티드하이드록시톨루엔 등이 사용될 수 있다.
- [0048] 상기 방부제로는 메칠파라벤, 부틸파라벤, 프로필파라벤, 페녹시에탄올, 이미다졸리디닐우레아, 클로르페네신 등이 사용될 수 있다.
- [0049] 상기 왁스로는 카나우바왁스, 칸데닐라왁스, 밀납, 경납 등이 사용될 수 있다.
- [0050] 상기 pH 조절제로는 트리에탄올아민, 씨트릭애씨드 등이 사용될 수 있으며, 상기 향료로는 천연향료, 조합향료 등이 사용될 수 있다.
- [0051] 상기와 같은 본 발명의 화장료 조성물은 항산화 활성을 통해 피부의 산화에 의한 손상, 예를 들면 반점(갈색 반), 주근깨, 피부균열, 자외선 손상(햇볕에 탐) 등을 예방하는데 매우 유용하며, 또한 미백 활성 및 항균 활성을 통해 노화방지 및 피부보호 효과를 갖는 화장료로서 매우 유용하게 사용될 수 있다.

[0052] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 플라보노이드계 페놀화합물을 포함하는 기능성 식품 조성물을 제공한다.

[0053] 본 발명의 건강기능식품은 천연 식물성 소재인 플라보노이드계 페놀화합물을 유효성분으로 포함하므로 인체에 안전하여 식품에 첨가하여 사용하기에 적합하다. 상기 기능성 식품으로는 그 종류가 한정되는 것은 아니나, 예를 들어 통상적인 기호성 식품 즉, 라면, 생면 등의 면류, 두부, 시리얼, 빵류, 추잉 껌, 사탕, 과자류 등에 첨가하여 통상적으로 알려진 방법에 의하여 각종 식품으로 제조할 수 있고, 식용가능한 색소로서 적용할 수도 있다. 또한, 정제, 과립제, 환제, 경질캡셀제, 연질 캡셀제 또는 액제 제형 등 일반적인 제형으로 제형화될 수 있으며, 생즙, 파우치, 음료, 또는 다류 등으로 제조될 수도 있다. 상기한 성분 이외에 다른 성분은 제형에 따라 당업자가 적절하게 선택하여 배합할 수 있음은 물론이다. 또한, 본 발명의 식품 조성물에 포함되는 플라보노이드계 페놀화합물은 항산화 활성 및 항균 활성이 우수하여 산화에 의해서 일어나는 식품의 냄새나 풍미의 변화, 유지의 산패, 그리고 식품의 변색을 효과적으로 방지할 수도 있다. 따라서, 본 발명의 플라보노이드계 페놀화합물은 통상의 각종 식품류에 배합함으로써 이들 식품류를 보존하거나 식품의 신선도 및 품질을 장기간에 걸쳐 유지하기 위해 사용할 수도 있다. 상기 식품류로는 전형적인 식품뿐만 아니라, 음료(알코올성 음료도 포함함), 과실 및 그의 가공식품(예: 과일 통조림, 병조림, 잼, 마야말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 옛, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용 식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스등) 등을 포함함은 물론이다.

[0054] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[0055] **시료 준비**

[0056] 본 발명에 사용된 나린진(naringin) 및 퀘세틴(quercetin)은 Sigma사에서 구입하였으며, 메탄올을 이용하여 각각 500 및 100 ppm으로 용해하여 사용하였다.



[0057] **실시예 1. 플라즈마 처리**

[0058] 나린진(naringin) 및 퀘세틴(queracetin) 용액을 플라즈마 처리하기 위하여 시중에 판매되는 밀폐용기(108×88×48 mm) 내부에 플라즈마를 생성하도록 개발하였다 (도 1 참조). 플라즈마 소스는 유전장벽 방전(dielectric barrier discharge) 및 대기압 아크(arc) 플라즈마 제트 방식으로 제작되었으며, 전력은 각각 250 W 및 75 W 를, 주파수는 모두 15 kHz를 사용하여 발생시켰다. 준비된 나린진 및 퀘세틴 용액을 유리재질의 용기에 담아 플라즈마 발생장치의 중앙에 위치하게 한 다음 전원공급장치(power supplier)와 연결하여 5, 10 및 20분 동안 플라즈마 처리하였으며, 처리 도중 방전여부를 확인하였다.

[0059] **실시예 2. 총 폴리페놀 함량의 측정**

[0060] 실시예 1에서 플라즈마 처리한 상기 나린진 및 퀘세틴 용액의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법 (Gao, X. et al., 2000. *J Sci Food Agric* 80, 2021-2027)을 사용하여 분석하였다. 구체적으로, 시료 0.1 mL에 Folin-Ciocalteu's reagent (Sigma Chemical Co.) 0.2 mL을 첨가하고 23℃에서 2시간 방치 후 분광광도계를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 갈산(gallic acid, Sigma)를 이용하여 검량곡선을 작성한 후 함량 계산에 활용하였다. 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

**표 1**

[0061]

처리시간 (min)	총 페놀 함량 (ppm)	
	나린진	퀘세틴
0	172.50 <sup>d</sup>	102.53 <sup>d</sup>
5	181.17 <sup>c</sup>	111.87 <sup>c</sup>
10	211.50 <sup>b</sup>	115.73 <sup>b</sup>
20	225.83 <sup>a</sup>	119.60 <sup>a</sup>
SEM <sup>1)</sup>	2.472	1.583

[0062] <sup>1)</sup>Standard errors of the mean (n=3).

[0063] <sup>a-d</sup>Values with different letters within the same column differ significantly (p<0.05).

[0064] 상기 표 1과 같이, 총 폴리페놀 함량은 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 나린진은 처리하기 전 172.50 ppm에서 처리 후 최대 225.83 ppm으로 현저히 증가하였으며, 퀘세틴 역시 102.53 ppm에서 처리 후 119.60 ppm으로 증가하였다. 따라서 증가된 폴리페놀 함량에 의한 항산화 활성의 증가 또한 예상할 수 있었다.

[0065] **실시예 3. DPPH 라디칼 소거능의 측정**

[0066] 상기 실시예 1에서 플라즈마 처리한 나린진 및 퀘세틴 용액의 항산화 활성을 알아보기 위하여, DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 구체적으로, 시료 1 mL에 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 1 mL을 넣고 교반한 후 30분 동안 실온에 정치한 다음 반응 용액을 분광광도계(UV 1600 PC, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 하기와 같은 식에 의해 환산하고 그 결과를 하기 표 2에 나타내었다.

[0067] [식 1]

[0068] 
$$\text{DPPH 라디칼 소거능 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

표 2

[0069]

처리시간 (min)	DPPH 라디칼 소거능 (%)	
	나린진	퀘세틴
0	1.45 <sup>d</sup>	69.86 <sup>d</sup>
5	22.41 <sup>c</sup>	72.43 <sup>c</sup>
10	32.46 <sup>b</sup>	74.32 <sup>b</sup>
20	38.20 <sup>a</sup>	78.08 <sup>a</sup>
SEM <sup>1)</sup>	0.750	0.480

[0070] <sup>1)</sup>Standard errors of the mean (n=3).

[0071] <sup>a-d</sup>Values with different letters within the same column differ significantly (p<0.05).

[0072] 상기 표 2와 같이, 플라즈마 처리한 나린진 및 퀘세틴 용액의 DPPH 라디칼 소거능을 측정된 결과, 플라즈마의 처리 시간이 증가함에 따라 나린진은 1.45%에서 38.20%로 증가하였으며, 퀘세틴은 69.86%에서 78.08%로 현저하게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 따라서 총 폴리페놀의 함량과 항산화 활성과의 상관관계가 높은 것으로 나타났으며 총 폴리페놀의 함량은 항산화 활성에 크게 기여함을 알 수 있었다.

[0073] 실시예 4. 티로시나아제 저해 효과

[0074] 상기 실시예 1에서 플라즈마 처리한 나린진 및 퀘세틴 용액의 티로시나아제(tyrosinase) 활성을 측정하였다. 머쉬룸 티로시나아제(mushroom tyrosinase; 100 unit/mL, Sigma)를 0.2 mL, 기질로서 DOPA(3,4-dihydroxy-L-phenylalanine) 0.4 mL, 0.1 M 인산칼륨버퍼(potassium phosphate buffer; pH 6.8) 0.2 mL의 혼합액에 시료 0.2 mL를 첨가한 후 25°C에서 15분간 반응시켜 분광광도계를 이용하여 475 nm에서 측정하고 도파크롬(dopachrome)의 변화를 저해능으로 환산하였다. 티로시나아제 저해능은 하기 식 2로 계산하였다.

[0075] [식 2]

[0076] 
$$\text{Tyrosinase 저해능 (\%)} = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

[0077] A : 시료 자체의 흡광도

[0078] B : 시료 대신 methanol을 첨가한 흡광도

[0079] C : 효소액 대신 증류수를 첨가한 흡광도

[0080] 도 3a 및 도 3b는 플라즈마 처리된 나린진 및 퀘세틴의 티로시나아제 저해 효과(%)를 각각 나타낸 그래프이다. 도 3a에서, 플라즈마 처리 시간이 증가함에 따라 나린진의 티로시나아제 저해율이 6.12%에서 83.30%로 월등하게 증가한 것으로 나타났다. 도 3b에서, 플라즈마 처리에 의해 퀘세틴의 티로시나아제 저해율이 12.49%에서 78.34%로 증가한 것으로 나타났다.

[0081] 실시예 5. 항균 활성의 측정

[0082] 나린진 및 퀘세틴의 생육 저해환 측정을 위해 디스크 확산법을 이용하였다. 실험에 사용한 균주의 사용배지 및 배양온도는 하기 표 3와 같다.

표 3

균주	사용된 배지	온도(°C)
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7 (ATCC 43889)	TSB&TSA <sup>1)</sup>	37
<i>Listeria monocytogenes</i> (KCTC 3569)	TSB+0.6% YE <sup>2)</sup> & TSA+0.6% YE	37
<i>Salmonella</i> Typhimurium (KCTC 1925)	NB&NA <sup>3)</sup>	37
<i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1916)	TSB&TSA	37

[0084] <sup>1)</sup>TSB&TSA : Tryptic soy broth & Tryptic soy agar (Difco).

[0085] <sup>2)</sup>YE : Yeast extract (Difco).

[0086] <sup>3)</sup>NB&NA : Nutrient broth & Nutrient agar (Difco).

[0087] 균주의 활성은 이들이 접종된 배지에서 1백급이를 취해 균주에 따른 활성배지 10 mL에 접종하여 24시간 배양시킨 후 그 배양액 0.1 mL를 취해 새로운 배지 10 mL에 접종하여 18시간 동안 2차 배양한 후 그 배양액을 실험에 사용하였다. 멸균한 각각의 생육 배지를 페트리 디쉬에 15 mL씩 분주하여 응고시킨 후, 균 배양액 0.1 mL를 접종한 후 고르게 퍼지도록 하였다. 그 다음 멸균된 paper disc를 평판배지 표면에 밀착시킨 후 시료 50 µL를 첨가하여 각 균주의 배양온도에서 배양하여 페이퍼 디스크(paper disc; diameter, 8 mm) 주변에 생성된 저해환의 직경(mm)을 나타내었다. 실험은 3회 반복하여 평균값으로 나타냈다.

[0088] 하기 표 4 및 표 5는 플라즈마 처리된 나린진 및 퀘세틴 용액의 항균효과 측정한 결과로, 대표적인 식중독 세균 4종을 이용하여 생육 저해환 측정하였다. 퀘세틴의 경우 식중독 세균 2종을 이용하여 생육 저해환을 측정하였다. 또한 최장 처리시간인 20분 처리군에 대한 각각의 세균의 항균 측정 결과는 도 4a 및 도 4b에 나타냈다.

표 4

균주	직경 (mm)				
	Control	0 min	5 min	10 min	20 min
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	-	-	-	-	16
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	9	16	21
<i>Salmonella</i> Typhimurium	-	-	19	25	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	14	18

[0090] \* Paper diameter : 8 mm.

표 5

균주	직경 (mm)				
	Control	0 min	5 min	10 min	20 min
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-	-	12	15
<i>Salmonella</i> Typhimurium	-	-	-	16	24

[0091]

[0092]

\* Paper diameter : 8 mm.

[0093]

나린진의 경우, 상기 표 4와 같이 살모넬라 티피뮤리움(*S. Typhimurium*)에 대한 생육저해환이 19~32 mm로 가장 높게 나타났으며, *E. coli* O157:H7에 대한 생육저해환이 16 mm로 나타났다. 퀘세틴의 경우 나린진과 같이 살모넬라 티피뮤리움(*S. Typhimurium*)에 대한 생육저해환이 19~32 mm로 가장 높게 나타났다. 따라서, 본 발명에 따른 플라즈마 처리의 시간이 길어질수록 처리하기 전과 비교하여 항균 효과가 증대되는 것으로 나타났으며, 20분 처리 시 모든 균주에 대한 항균 활성이 우수한 것으로 확인되었다.

[0094]

나린진(naringin) 및 퀘세틴(querctetin)은 항균 효과가 있다는 일부 연구가 발표된 바 있으나, 이번 실험결과 나린진 자체의 항균효과는 없거나 미미한 것으로 확인되었다. 페놀화합물은 단순한 페놀(phenol), 페놀산(phenolic acid), 페닐프로파노이드(phenylprophanoid), 플라보노이드(flavonoid)류 등이 대부분으로 항균 활성에 영향을 미친다는 연구 결과를 볼 때 (Azuma, K. et al., 1999. *J Agric Food Chem* 47, 3963-3966), 플라즈마 처리에 의한 페놀 함량 및 나린진의 분자구조의 변화가 항균활성에 긍정적인 영향을 끼친 것으로 판단된다.

[0095]

**실시예 6. 플라즈마 처리에 의한 분자구조 변화 측정**

[0096]

플라즈마에 의한 나린진의 분자구조 변화를 측정하기 위해 HPLC(High performance liquid chromatography) 분석을 진행하였다. HPLC는 Agilent사의 1100 모델 시스템을 이용하였으며, 분석컬럼은 YMC-Pack ODS A-302 column (4.6 mm i.d. × 150 mm; YMC Co., Kyoto, Japan)을 사용하였고, 검출기는 diode array detector를 사용하여 280 nm에서 측정하였다. 이동상으로는 0.1% HCOOH/H<sub>2</sub>O가 포함된 10% (v/v) MeCN을 사용하였으며 (유속: 1.0 ml/min), 25분 까지 75% MeCN로 하였으며, 최종 30분까지 100% MeCN으로 이동상의 비율을 조절하였다.

[0097]

**통계처리**

[0098]

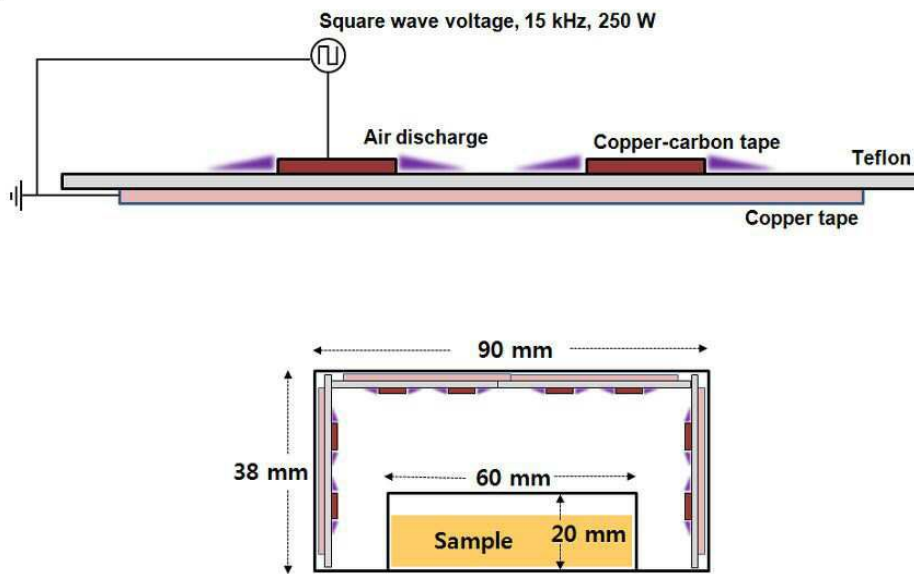
본 발명에서 얻은 결과는 SPSS 12.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 사용하여 각 실험구간의 유의성을 검증한 후 Duncan's multiple range test에 의해 실험구간의 차이를 5% 유의수준에서 분석하였다.

[0099]

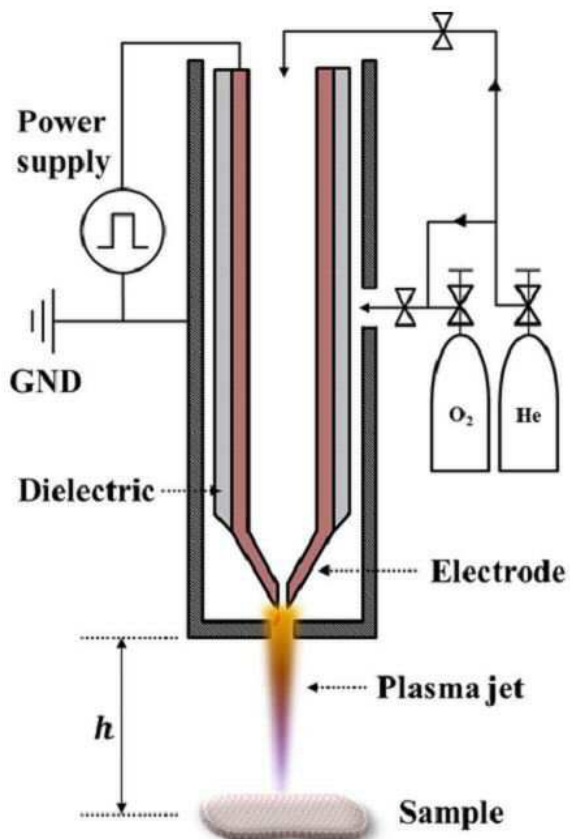
이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

도면

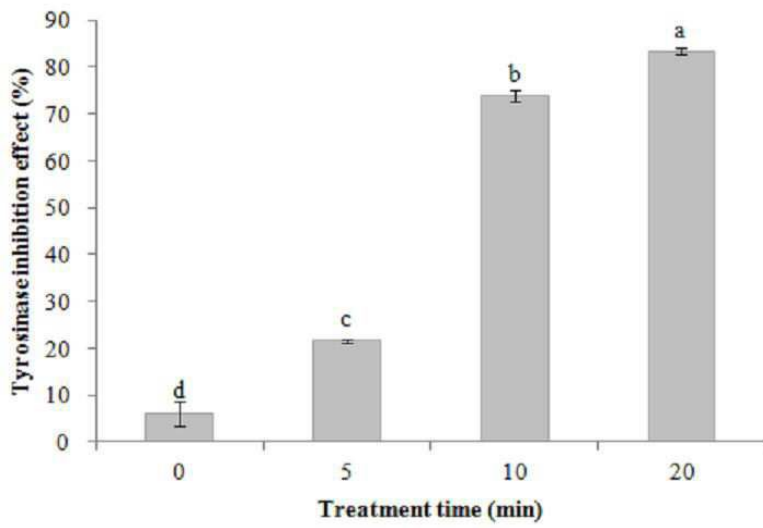
도면1



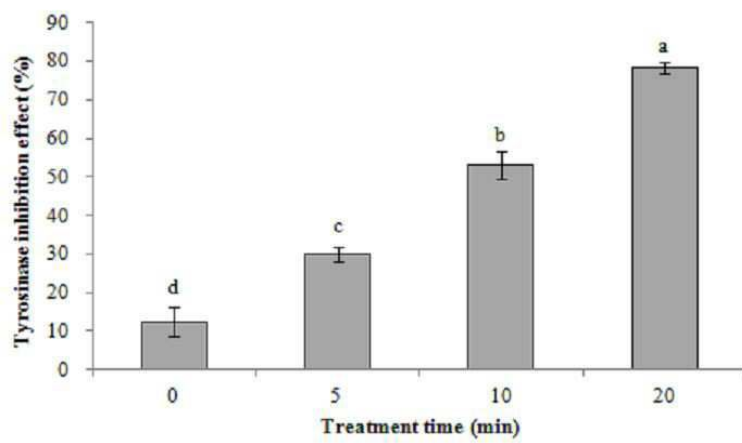
도면2



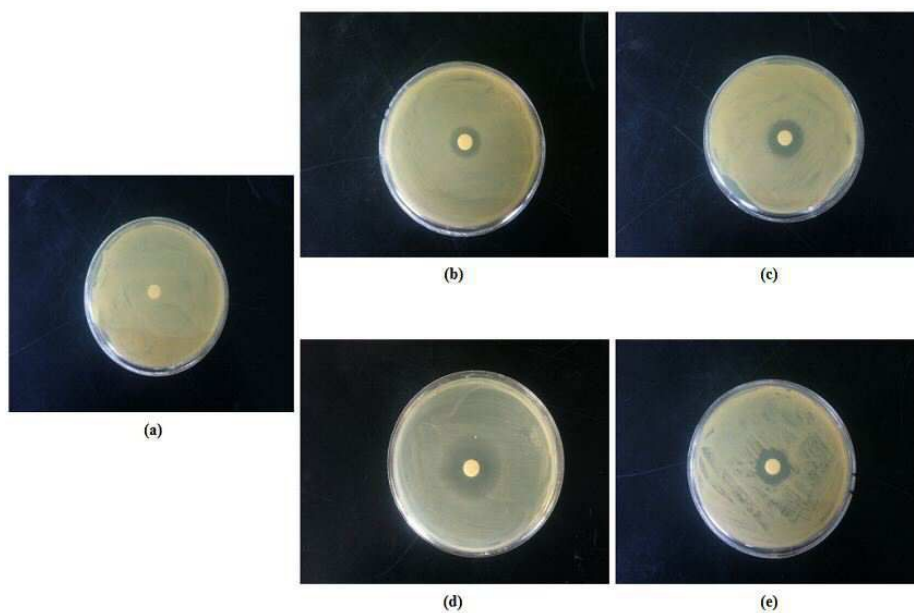
도면3a



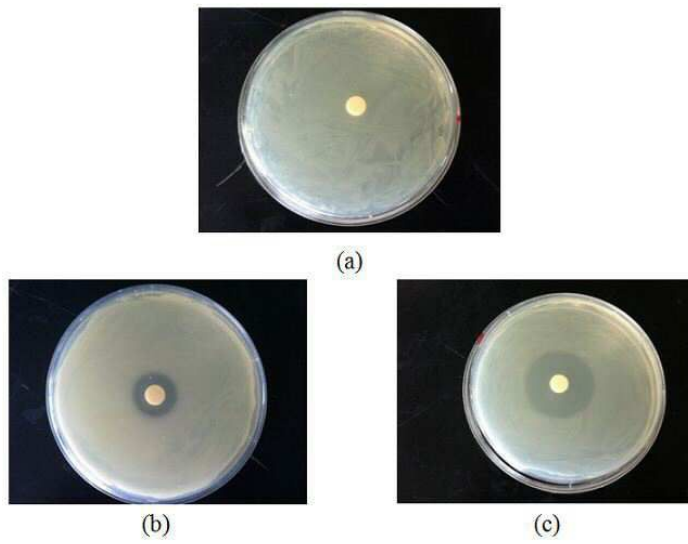
도면3b



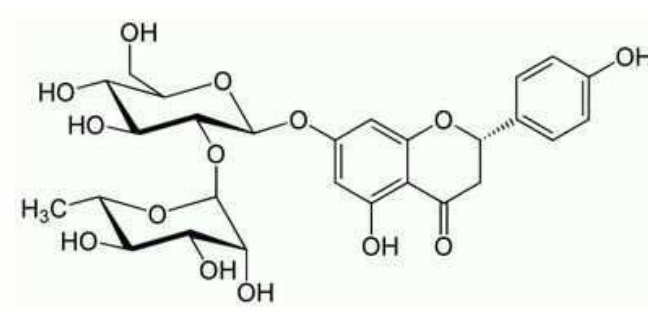
도면4a



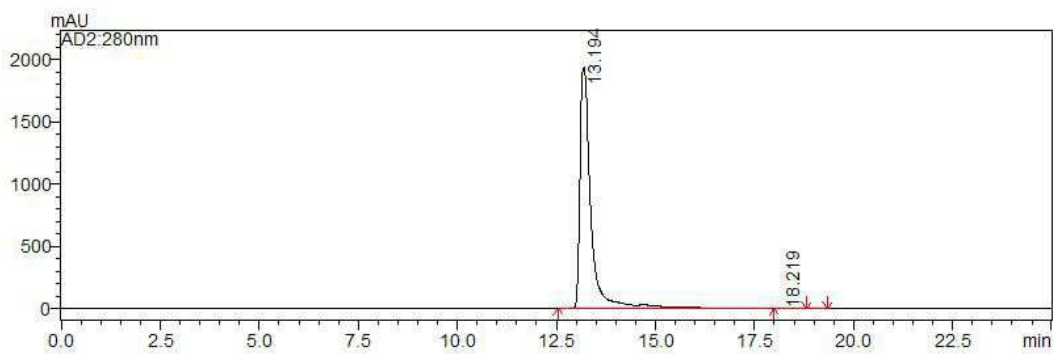
도면4b



도면5a



도면5b



도면5c

