creative commons

COMMONS DEED

저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000263990

2013년 8월

석사학위 논문

발아곡물의 발효추출물을 이용한 피부개선제의 개발

조선대학교 대학원

화학공학과

조 규 성

발아곡물의 발효추출물을 이용한 피부개선제의 개발

Development of Skin Improving Cosmetics Using Fermented Extracts of Germinated Grains

2013년 8월

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 공 학 과

조 규 성

발아곡물의 발효추출물을 이용한 피부개선제의 개발

지도교수 조 병 욱

이 논문을 공학 석사학위 신청논문으로 제출함

2013년 8월

조 선 대 학 교 대 학 원

화 학 공 학 과

조 규 성

조규성의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 김 정 규 (인)

위 원 조선대학교 교 수 이 재 웅 (인)

위 원 조선대학교 교 수 조 병 욱 (인)

2013 年 6 月

조 선 대 학 교 대 학 원

목 차

LIST OF TABLES

LIST OF FIGURES

ABSTRACT

Ⅰ. 서론 ····· 1

Ⅱ. 이론적 배경 ····· 3

1. 피부의 구조 ····· 3

1-1. 표피(Epidermis) ····· 4

1-1-1. 각질층 ····· 4

1-1-2. 투명층 ····· 5

1-1-3. 과립층 ····· 5

1-1-4. 유극층 ····· 5

1-1-5. 기저층 ····· 5

1-2. 진피(Dermis) ····· 5

1-2-1. 유두층 ····· 6

1-2-2. 망상층 ····· 6

1-2-3. 교원섬유 ····· 6

1-2-4. 탄력섬유 ····· 6

1-3. 피하지방(Subcutaneous fat) ····· 6

2. 발아(Germination) ····· 7

3. 발효(Fermentation) ····· 10

3-1. 발효균의 종류 ····· 11

3-1-1. 곰팡이류 ····· 11

3-1-1-1. 거미줄곰팡이 ····· 11

3-1-1-2. 누룩곰팡이 ····· 13

3-1-1-3. 푸른곰팡이 ····· 13

3-1-1-3. 빨강곰팡이 ····· 15

3-1-2. 효모류 ····· 15
3-1-2-1. 사카로미세스 ····· 15
3-1-2-2. 칸디다 ····· 16
3-1-3. 세균류 ····· 17
3-1-3-1. 바실러스 ····· 17
3-1-3-2. 젖산균 ····· 18
3-1-3-3. 방선균 ····· 19
3-2. 발효소재의 우위성 ····· 20
3-2-1. 영양의 극대화 ····· 20
3-2-2. 피부 흡수력의 향상 ····· 21
3-2-3. 독성의 제거 ····· 21

Ⅲ. 실험재료 및 실험방법 ····· 23
1. 실험재료 ····· 23
2. 발아곡물의 발효추출물 제조공정 ····· 23
3. 화장품 제형의 제조 ····· 25
3-1. 유연화장수 제조 ····· 25
3-2. 영양에센스 제조 ····· 25
3-3. 영양크림 제조 ····· 25
4. 피부주름 및 탄성력 측정 ····· 26

Ⅳ. 결과 및 고찰 ····· 27

Ⅴ. 결론 ····· 34

LIST OF TABLES

Table. 1 Compositions of Cosmetic Moisturizers Produced with or without fermented extracts of germinated grains ····· 29
Table. 2 Skin elasticity after applying the cosmetic moisturizers prepared ····· 30
Table. 3 Wrinkle improvement after treating with the cosmetic moisturizers prepared ····· 30

LIST OF FIGURES

Fig. 1. Structure of the skin ····· 4
Fig. 2. Rhizopus oligosporus ····· 12
Fig. 3. Rhizopus nigricans ····· 12
Fig. 4. Aspergillus ····· 13
Fig. 5. Penicillium camemberti ····· 14
Fig. 6. Penicillium chrysogenum ····· 14
Fig. 7. Monascus purpureus ····· 15
Fig. 8. Saccharomyces ····· 16
Fig. 9. Candida ····· 17
Fig. 10. Bacillus subtilis ····· 18
Fig. 11. Lactobacillus plantarum ····· 18
Fig. 12. Streptomyces ····· 19
Fig. 13. Streptomyces griseus ····· 20
Fig. 14. 복어난소의 누카즈케 ····· 22
Fig. 15. Process for Fermented extracts of 7 germinated grains ····· 24
Fig. 16. Skin-Visiometer, SV600(Courge and Khazaka Electronic, GmbH) ····· 26
Fig. 17. Improved effect of skin surface by the cosmetics developed ····· 32

Abstract

Development of Skin Improving Cosmetics Using Fermented Extracts of Germinated Grains

Cho, Kyu-Sung
Advisor : Prof. Jo, Byung-Wook, Ph. D.
Department of Chemical Engineering,
Graduate School of Chosun University

Recently, the development of natural materials has been proceeded actively worldwide because of influence of the 'well-being' and 'healing' and spread of naturalism. Through this thesis I try to develop skin improving cosmetics containing various nourishment and physiologically active materials with various germinated grains from *Oryza Sativa*, *Phaseolus Radiatus*, *Sesamum Indicum*, *Sorghum Bicolor*, *Coix Lachryma-Jobi*, *Glycine Max*, and *Rhynchosia Volubilis* by going through a process of extracting and fermenting of enzyme.

In order to increase the physiologically active materials of germinated grains' fermented extracts, I extracted the cellulase as a preprocess of fermentation, and by doing so, bioconversion rate could be raised in the fermentation process.

After 20 women put on nutritive cream that contains 3% (v/v) of germinated grains' fermented extracts on one side of their faces and the other nutritive cream that does not contain the fermented extracts on the other side of their faces for six weeks, skin elasticity and wrinkle reduction effect were measured through Skin visiometer® SV600(Courage and Khazaka

Electronic, GmbH).

As a result, in the aspect of skin elasticity improvement, the general nutritive cream showed 30% of effectiveness while the nutritive cream containing germinated grains' fermented extracts showed 90% of effectiveness. For wrinkle reduction effect, the general nutritive cream resulted in 30% of effectiveness while the nutritive cream containing germinated grains' fermented extracts showed 80% of effectiveness.

From the clients who actually tried the new researched and developed product, skin improvement effect was clearly verified through naked eye observation. From the participants who participated in the test for three months, improvement effect on skin roughness as well as fine lines was firmly observed, and from the participants who participated in the test for two months, it was proved that skin lubrication and fine lines were obviously changed as well. Also, skins with serious acne and atopy showed considerable improvement effect even in one or two months.

Therefore, it was concluded that through the process of germinating and fermenting functional nutritive materials and physiologically active materials were increased and the cosmetics that contains such extracts strengthen immunity and brings an effect on skin elasticity improvement, wrinkle reduction and skin trouble (atopy, acne, etc.).

Ⅰ. 서 론

의학의 발달과 지속적인 경제성장은 생활수준의 향상과 함께 인간의 기대수명을 증가시키고 이에 따라 건강관리의 개념도 질병의 대한 치료중심에서 벗어나 건강유지 및 질병예방을 중심으로 새롭게 발달되어 가고 있다[1].

인간이 아름다움을 추구하기 위하여 사용하는 화장품과 화장기술은 인류의 역사와 더불어 꾸준하게 발전되어 왔으며, 최근 생명과학의 발달과 고령화 사회의 특성이 반영되어 화장품 소재의 개발이 활발하게 이루어지고 있다[2].

현대인들은 정신적, 육체적 건강과 아름다움을 추구하는 과정에서, 남녀노소를 막론하고 아름답고 건강한 피부를 유지하여 사회적 자신감과 개성을 얻기 위하여 노력하고 있으며[3], 화장품 산업에서는 이를 반영하여 노화에 따른 피부의 기능저하를 지연시키거나, 노화과정에서 손상된 피부의 기능을 재생시키기 위한 기능성 화장품을 개발하려는, 즉 화장품에 약리학적 효능이 추가된 코슈메슈티컬(cosmeceutical)화장품의 개발이 빠른 속도로 진행되고 있다[4].

화장품 산업은 화학, 생명과학, 생리학, 약학, 의학 등의 과학기술이 복합적으로 적용되는 분야로, 기술집약적이고 고부가가치를 갖는 것으로 알려져 있다[5]. 국내 화장품 시장의 규모도 해마다 증가하고 있는 고부가가치 산업으로 현재 시중에는 미백, 주름개선, 여드름, 아토피 관련 화장품들을 바이오기술을 접목시켜 치료개념의 화장품으로 개발하여 출시되고 있다. 피부에 안전하며 기능이 뛰어난 제품들을 선호하는 소비자들의 욕구에 부응하기 위한 화장품업계의 원료개발 연구는 오래전부터 열정적으로 이어왔다.

그 중에서 특히 주목을 받는 원료가 발효과정에 독성이 제거되어 안전성이 뛰어난 발효원료이다. 더구나 이 발효원료를 화장품에 접목시켜 만든 발효화장품은 주름과 노화의 주범인 활성산소(Free radical)를 감소시켜주는 항산화 물질과 피부의 세포 활성, 콜라겐 합성, 미백, 보습 등 피부에 다양한 기능을 배가시켜주는 것으로 알려져 주목을 끌고 있다[6].

또한, 각종 식물 종자류는 발아하는 순간부터 무수한 영양소 및 각종 성분 등 우리 인체에 유익하고 필요한 성분의 활성도가 증대하게 되는데 이는 종자 스스로가 자생 및 종족 번식에 필요한 모든 성분을 만들고 있기 때문인데 그 신비함은 생명탄생 그 자체이다. 발아에 의해 생성된 생리활성물질인 피토케미칼

(phytochemicals)은 우리 인체의 면역력 상승과 자연 치유력을 높여 주는데 효과가 있다[7].

발아곡류는 휴면상태에 있는 곡물 씨앗의 배아(germ)를 싹으로 전환시키는 과정의 곡류를 말한다. 발아과정에는 각종 성장인자가 작용하고 각종 효소가 작용하여 종자에 있는 거대분자들을 싹을 틔우는데 필요한 물질들로 전환시키는 과정이 발생한다. 따라서 각 종자마다 발아 과정에서 피토에스토겐 같은 매우 유용한 생리활성 물질이 생성된다. 곡류를 발아할 경우에도 호흡과 대사작용 등에 의하여 곡류 속의 영양성분 및 기능성 성분의 함량변화가 있는데 일반적으로 지방 및 단백질함량은 감소하면서 아미노산과 같은 저분자의 기능성 물질이 증가하게 된다. 특히 피토에스트로겐인 이소플라본의 경우 발아 및 이의 발효과정을 통하여 증가한다고 알려져 있다[8].

또 하나의 대표적인 피토에스트로겐의 일종인 리그난(lignan)의 경우 깨에 풍부하게 들어 있다. W.H. Wu 등은 폐경기여성에 대한 임상실험에서 깨의 섭취를 통해서 혈중 지방, 항산화능력 및 호르몬 농도 개선에 효과가 있음을 확인하였다[9].

깨도 발아 과정을 통해 그 조성이 변하게 되는데 리놀레인산(linolenic acid)과 같은 불포화지방산이 감소하는 반면 칼슘과 같은 미네랄이 증가하고, 리그난인 세사몰(sesamol) 및 알파-토코페롤(alpha-tocopherol) 이 증가된다고 알려져 있다[10].

특히, 깨는 발아할 경우 리그난의 함량이 증가한다고 알려져 있다. Noriyasu 등은 발아된 깨에서 추출한 리그난 글리코사이드(lignan glycosides) 를 함유한 항노화 원료를 제안했다[11].

발아 및 발효가 원래 곡물의 생리활성 물질의 변화를 준다는 사실에 주목하여 여러가지 응용연구가 이루어져 왔다. 대한민국 공개특허 제2007-0043570호[12] 에서는 발아처리 대두를 원료로 하는 두유를 갱년기 증상 완화에 사용하고자 하였고, 대한민국 공개특허 제2004-0108226호[13]에서는 발아된 검은콩 및 검은 쌀을 효소분해하여 제조된 펩타이드를 함유하는 항노화 및 미백용 화장료 조성물을 제시하였으며, 대한민국 공개특허 제2006-0074262호[14]에서는 마늘, 감초, 우방자, 검정깨, 건강의 발효물을 포함하는 미백 화장료 조성물을 제시하였으나, 이들은 대부분 발아를 시키거나 발효를 시키는 어느 한 과정만을 통하여 얻어진 생리활성 물질의 응용에 관한 것이었다. 발아 된 곡물을 발효한 것에 관한 것으로, 일본 공개특허 제2007-290998호[15]에는 발아율무의 발효처리물을, 일본 공개 특허 제

2007-131578호[16]에서는 발아현미의 발효물 및 이를 함유하는 화장료 조성물을 제시한 바 있다.

그러나 피토에스트로겐이 풍부하며 발아 및 발효 과정 중 피트에스트로겐이 함량이 높아지거나 그 형태가 생체이용률이 높은 형태로 전환되는 콩 및 깨의 발아 및 발효에 관한 연구는 거의 이루어진 바가 없다. 본 연구에서는 국내에서 많이 경작되는 현미, 녹두, 검정깨, 수수, 율무, 서리태, 약콩의 발아를 발효 시켜 피부 개선 화장품의 원료로 사용하였고 이의 임상 시험을 통하여 좋은 결과를 얻었다.

II 이론적 배경

1. 피부의 구조

피부는 얼굴을 비롯한 우리 몸 전체를 둘러싸고 있으며, 체중의 약 16%를 차지하고 체온조절, 감각, 면역, 흡수 및 배설 등의 다양한 생리적 기능이 있다.

피부의 구조는 크게 표피, 진피, 피하지방으로 이루어져 있으며 그 내부로 각종 신경과 여러 부속기관으로 이루어져 있다[17]. 피부는 동물의 체표(體表)를 덮고 있는 피막(피막)으로 동물군에 따라서 그 상태는 현저하게 다르며 무척추동물의 단층(단층)의 표피로 된 것으로부터 척추동물의 다층의 표피와 그 아래의 진피(진피)로 된 것까지 포함되며, 또한 외피와 같이 각질화(각질화)한 경우도 있다. 인체의 피부는 체표를 덮은 조직으로써 물리적, 화학적으로 외부로부터 신체를 보호하는 동시에 전신의 대사(대사)에 필요한 생화학적 기능을 영위하는 생명기관이며 피부의 색깔은 진피층의 모세혈관의 혈액의 색과 표피 및 진피내의 색소에 의해 결정되는데 표피층의 두께나 그밖의 병적 색소의 출현에 의해 변한다. 피부의 총면적은 성인의 경우 약 1.6 ㎡라고 하며, 피하조직을 제외한 두께는 부위에 따라서 다른데 약 1.5-2 ㎜이고 피부 전체의 중량은 약 4 ㎏이다[18].

피부의 단백질은 알부민, 글로불린 등의 이용성(이용성) 단백질과 교원, 엘라스틴, 케라틴 등의 난용성 섬유단백질 등으로 되어있으며, 진피의 주성분을 이루는 교원섬유는 긴 폴리펩티드 사슬로 된 교원분자가 섬유의 방향으로 늘어져서 다발의 형태를 이루고 있으며, 케라틴은 각질층, 모발, 손톱의 주성분으로 다량의 티스틴을 함유하는 폴리펩티드이다. 지질은 지선(지선) 중에 있는 것, 지선으로부터 피부표면에 분비된 것, 그것이 피부 표면에 세균에 의해 변질된 것, 표피, 진피, 피하조직

등의 세포 내에 있는 것 등으로 되어 있는데, 하루에 분비되는 피지의 양은 1-2 g 이며, 피하지방은 주로 스테아르산, 팔미트산, 올레산의 트리글리세리드이다[19].

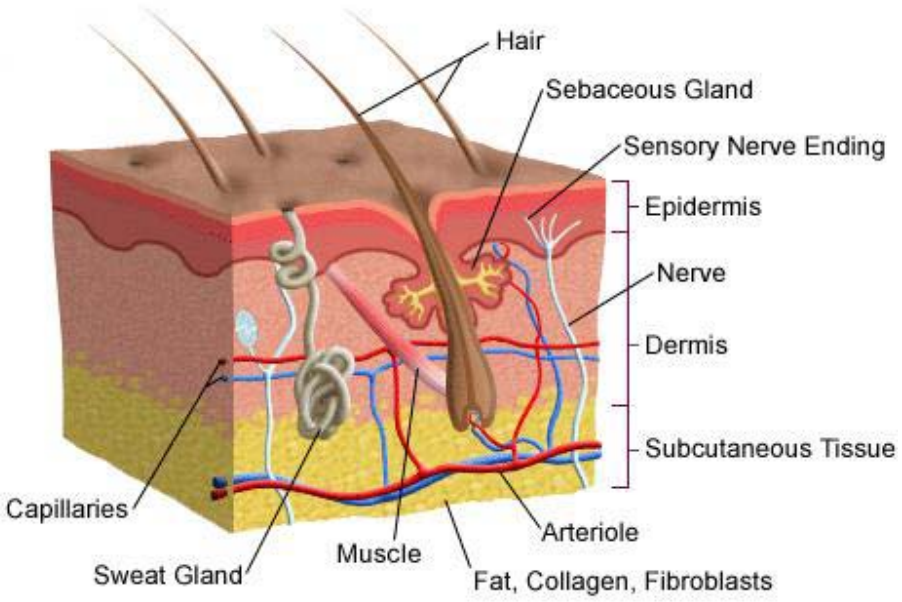

Fig.1. Structure of the skin
http://drypharmacist.com/uploads/2/9/5/9/2959076/3119989.gif?372

1-1. 표피(Epidermis)

외부 환경과 가장 직접적으로 접촉하는 부분으로 외부의 환경에 저항력을 가지고 있으며, 이 표피의 두께는 인종과 기후, 환경에 따라 달라진다. 표피는 90-95%의 각질세포와 색소세포, 랑게르한스 세포, 비만세포로 이루어져 있으며 표피 아래에 위치한 진피로부터 이 표피는 총 5개의 층으로 구분이 된다[20].

1-1-1. 각질층

표피의 최상부이며 무핵 세포체이다. 10-20층이 겹친 편평한 얇은 기와 모양의 각질판으로 각질들은 각화 작용에 의해 28일 주기로 떨어져 나가기를 반복한다. 무릎의 경우는 20일, 팔꿈치의 경우는 10일 주기로 이루어진다. 각질층의 사이에는 천연보습인자 (Natural Moisturizing Factor, NMF)가 있으며, 이 NMF는 피부건

조를 막는 역할을 한다. 대개 각질층은 정상적으로 10-20% 정도의 수분을 함유해야 하며, 수분이 부족하게 되면 건조해지고 까칠까칠한 표면을 가지게 된다. 부위에 따라 각질층의 두께가 다르다.

1-1-2. 투명층

케라틴으로 이루어져 있는 투명한 무핵의 세포로 2-3층의 편평 세포체이다. 손바닥, 발바닥에만 위치하고 있으며 지방형태의 물질인 엘라이딘으로 이루어져있다. 죽은 세포로 이루어진 각질층과 투명층이 발달한 부위의 피부는 피부 이식이 불가능하다.

1-1-3. 과립층

유황 단백질량이 많은 무형성의 입자로 빛을 굴절시켜 피부를 맑게 한다. 과립층은 각질화의 1단계가 이루어지는 곳으로 1-2층의 편평 혹은 방추형 세포로 구성이 되어있다. 얇은 케라토히아린이라는 작은 케라틴 과립 모양이며 알칼리성을 띄고 있고 손상 시에는 복구가 가능하다.

1-1-4. 유극층

표피를 대부분 점유하는 층으로 유핵의 극상 세포체이다. 세포분열을 하여 노후된 각질이 탈락 시 새로운 세포를 형성하는 곳으로 여러 층에서 10여 층의 세포가 겹쳐서 형성된다. 유극층의 세포 사이에는 임파액이 흐르면 표피세포에 영양을 공급한다. 알칼리성이며, 타원형의 세포 모양이므로 케라틴 섬유를 포함하고 있다.

1-1-5. 기저층

표피의 최하단 부위에 존재하는 층으로 단층의 원추상 세포이다. 이곳에서 세포분열을 하여 새 세포가 탄생하며 멜라닌 색소가 존재하여 피부의 색을 결정 짖는다[21].

1-2. 진피(Dermis)

콜라겐과 탄력섬유, 망상섬유로 상호연결 된 조직인 진피는 피부 전체의 90%를 차지하고 있으며 표피보다 14-20배 두껍다. 진피 내에는 혈관과 임파관, 신경, 한

선, 피지선, 모발선, 감각선, 입모근 등을 포함하고 있으며, 유두층, 망상층으로 구분될 수 있다[22].

1-2-1. 유두층

표피에 영양공급과 체온조절 작용을 하며, 모세혈관과 임파선이 있어 표피와 진피를 보호한다. 유두 진피는 표피의 아래에 존재하며 콜라겐과 탄력섬유, 모세혈관, 소신경, 림프가 있으며, 유두 진피는 진피 전체에서 10-20% 정도를 차지한다.

1-2-2. 망상층

유두층 아래에 존재하며 진피의 대부분이다. 모세혈관이 거의 없으며 콜라겐과 탄력섬유로 이루어져 있고, 망상층은 피부를 지탱하여 피부의 강도를 가지게 해준다. 피지선과 환선, 동맥, 정맥이 있으며, 이것들은 유두층의 모세혈관과 연결되어 있다.

1-2-3. 교원섬유(콜라겐)

모든 결합조직에 분포되어 거의 지주적인 역할을 하는 콜라겐은 장력을 가지고 노화방지에 큰 영향을 미치는 섬유이며, 단백질 중합체로 구성되어 있다.

1-2-4. 탄력섬유

엘라스틴이라는 물질로 이루어진 단백질로 원래 길이의 1.5배까지 늘어나는 탄성을 가지고 있으며 콜라겐과 마찬가지로 이 섬유가 얇아지면 노화에 영향을 끼친다.

1-3. 피하지방(Subcutaneous fat)

진피의 아래쪽에 다량의 지방을 함유한 조직으로 외부의 충격을 흡수하여 신경, 혈관, 내부 장기를 보호하며 체온을 조절하는 역할도 한다. 지방을 저장하는 곳으로 에너지로 쓰이기도 하며 다량의 지방이 축적될 경우 비만이 된다. 부위별에 따라 지방이 축적되는 정도가 다르며 가장 적은 부위는 얼굴이며 가장 많은 부위는 둔부와 복부이다[23].

2. 발아(發芽, Germination)

각종 식물 종자류는 발아하는 순간부터 무수한 영양소 및 각종 성분 등 우리 인체에 유익하고 필요한 성분의 활성도가 증대하게 되는데 이는 종자 스스로가 자생 및 종족 번식에 필요한 모든 성분을 만들고 있기 때문인데 그 신비함은 생명 탄생 그 자체이다. 또한 생성된 성분과 각종 물질은 우리 인체의 면역력 상승과 자연 치유력을 높여 주는데 효과가 있다[24].

쌀을 비롯한 식물종자는 알맞은 물, 산소, 온도가 주어지면 발아하며[25], 발아가 진행됨에 따라 생리적 활성이 증대되고 많은 성분의 변화가 일어나 발아에 의한 영양소의 유효도를 극대화 시키려는 연구가 많이 이루어지고 있다[26-27]. 종자발아에 관한 연구는 유지생산에 중요한 위치를 차지하고 있는 유채를 비롯하여 대두, 녹두 등의 두류와 보리, 옥수수 등의 곡류를 중심으로 활발히 이루어져 왔으며, 탄수화물, 단백질과 아미노산, 지방산, 무기질, 비타민 등 발아 중 주요 영양성분 등에 관한 보고[28]가 다수를 차지하며 그밖에 효소활성 변화에 관한 연구와 trypsin inhibitor나 phytate등의 영양적인 저해인자에 관한 연구들이 보고되었다. 발아과정은 먼저 수분이 흡수되면서 종피가 부풀어 수분과 가스의 투과가 용이해지고 이에 따라 종자내의 효소들이 활성화되어 자엽에 있는 영양성분들이 분해되고 생장점으로 이동하여 발아에 필요한 새로운 물질을 합성하기 시작한다고 한다. 씨앗에 저장된 단백질은 가용성 아미노산으로 전분은 amylase에 의해서 분해되어 포도당으로 전환된다. 지방은 lipase에 의해서 지방산과 glycerol로 분해되며 지방산은 산화되어 발아에 필요한 에너지를 공급하고 glycerol은 당으로 전환된다. 이러한 화학성분의 변화는 주로 자엽에서는 분해적인 대사가 일어나는데 반해, 배아에서는 합성적인 대사가 주로 일어난다. 현미는 백미에 비하여 지방, 단백질, Vitamin B_1과 B_2가 풍부하고 식이섬유의 함량이 약 2배정도 높으며 칼슘과 철분을 비롯한 각종 무기질의 함량도 백미보다 높기 때문에 현미를 백미로 도정할 때 도정도가 높아질수록 양적 감소뿐만 아니라 호분층에 다량 함유되어 있는 각종 영양분의 감소를 초래하게 된다[29]. 또한 현미는 싹이 날 때 각종 비타민, 무기질 아미노산, 효소, 아라비녹실란, 감마아미노낙산(γ-Aminobutyric acid, GABA)등의 영양소가 증가한다고 알려지고 있다.

콩은 그 성분조성에서 단백질과 지방질이 많고 전분이 적게 함유되어 있어서 전분을 다량 함유한 곡류를 주식으로 하는 아시아지역 사람들에게는 영양학적으로

중요한 식량자원의 역할을 해왔다. 특히 콩 단백질은 식물성 단백질이면서 그 영양가가 동물성 단백질에 근접해 양호한 아미노산 조성을 가지고 있어서[30] 일찍부터 주목을 받아 왔으며, 콩 지방질의 경우도 불포화지방산인 리놀렌산과 리놀레산을 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있다[31]. 검은콩은 흑대두라고도 하며 특정한 한 종류의 콩을 말하하는 것이 아니라 검은빛을 띠는 콩을 통칭한다. 서리태는 검은콩 가운데서도 크기가 크며 콩밥이나 콩자반 등에 사용되며 서목태는 다른 검은콩보다 크기가 작아 마치 쥐 눈처럼 보인다고 하여 쥐눈이콩이라고 부른다. 서리태는 껍질이 검은색이지만 속이 파랗다고 하여 속청이라고 불리며, 작물의 생육 기간이 길어서 10월경에 수확하고 서리를 맞아가며 자란다고 하여 서리태라는 명칭이 붙어졌다[32]. 물에 담갔을 때 잘 무르고 당도가 높아 다른 잡곡과 함께 밥에 넣어서 먹거나 떡을 만들 때 함께 넣는 등 주로 식용으로 쓰인다. 검은콩의 껍질에서는 노란콩의 껍질에선 발견되지 않는 genistein이 검출되었으며, isoflavone 및 anthocyanin 색소 등이 함유되어 있어 생리적인 효과가 매우 크다[33-34]. 이러한 성분들은 노화 억제작용, 항균작용, 돌연변이변이성 억제 작용, 콜레스테롤 저하 작용, 시력 개선 효과, 혈관 보호 기능, 항궤양 기능, 항산화 기능 등 여러 가지 생리활성이 알려져 있다[32].

녹두는 예부터 한방에서도 서열번갈(暑熱煩渴), 수종(水腫), 하리(下痢), 단독(丹毒), 옹종(擁腫)등의 치료와 청열(淸熱) 및 해독제로 널리 사용되어져 왔다[35]. 콩과에 속하는 녹두의 생리활성 기능은 식이섬유, 올리고당, 이소플라본(isoflavone), phytic acid, 콩 단백질과 그 가수분해 펩타이드, 식물성 sterol과 phenol 화합물 등에 기인하는 것으로 밝혀졌으며 가장 많이 연구가 되고 있는 것이 이소플라본(isoflavone)이다. 이소플라본(isoflavone)은 여러 호르몬의 에스트로겐 antagonist로 작용함으로서 여성들의 유방암, 골다공증의 예방 및 치료에 유효하며 항산화 효과와 심혈관 질환 등에 관해 보고되어 있다[36].

율무는 아시아의 온대, 열대지역에서 자생하는 호본과의 일년생 초본으로 예부터 자양강장제, 건위제, 건습제, 류마티즘 치료제, 이뇨제로 한방에서 많이 사용되어 왔다[37]. 율무의 약리적 효과로는 최근에 항암활성[38], 염증완화효과[39], 혈당강화작용[40] 등의 생리활성이 알려져 있다. 율무의 종실에는 특수성분으로 항종양 작용을 하는 coixenolide가 함유되어 있고, 율무의 종실 및 뿌리에는 coixol성분이 함유되어 있으며 이는 진통, 진경 작용 및 혈당을 저하시키는 효과[41]와 항경련에 효과적인 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다[42].

참깨는 옛날부터 여러 가지 불가사의한 힘을 가지고 있는 것으로 되어 있으며, 중국에서는 “참깨를 장복하면 늙지 않는다”라고 하며 불로의 묘약으로 알려져 있다[43]. 참깨과에 속하는 검정깨(흑임자)는 한방에서 주로 약으로 사용되며, 민간요법으로 널리 알려져 예부터 건강식품으로 많이 이용되고 있다[44]. 흑임자는 흰깨에 비해 유지 함량이 적으나 방향성이 풍부하고 맛이 좋아 흑임자죽, 흑임자다식, 흑임자강정, 흑임자 인절미, 흑임자 경단 등으로 이용하고 있다[45-46]. 참깨에는 45-55%의 지방과 36%의 단백질이 함유되어 있고 이것을 착유하여 각종 식용유 및 약용으로 이용하고 있다. 또한 칼슘, 인, 비타민 E 등이 풍부하게 함유되어 있어 강장식품으로 이용하고 있고, 깻묵은 사료 및 비료로 쓰기도 하며[47], 흑임자는 유지의 함량이 적고 맛이 좋아 그대로 식용하거나 향료용으로 이용되고 있다[48].

수수는 외떡잎식물 벼목 화본과(禾本科)의 한해살이풀로 학명이 *Sorghum bicolor L. Moench*이다. 쌀, 옥수수, 보리, 밀 다음으로 생산량이 많은 식용작물로서[49] 체온유지, 위장보호, 소화 촉진작용, 해독작용, 식욕 개선 작용과 종기 치료 작용 및 설사를 멈추는 것으로 사용하기도 하였다[50]. 수수는 시안배당체를 함유하여 날 것으로 과량 먹으면 중독 현상을 일으키기도 한다[51]. 수수에는 당질 73%, 비타민 B_1 등이 다량 함유되어 있고 지방 4.5%, 단백질 11% 등이 함유되어 있으나 tryptophan이나 cystine 같은 아미노산이 부족하다[52]. 수수는 주요 곡류들 중에서 tannin(polymeric polyphenols)을 함유하는 작물로 tannin의 함량은 품종에 따라 0.18-3.4%의 범위로 상당히 높은 것으로 알려져 있다. 모든 수수는 phenols을 함유하고 대부분은 flavonoids을 함유하지만, 착색된 종자만이 condensed tannin을 가지며 수수의 주된 flavonoids는 flavans이다[53].

3. 발효(醱酵, Fermentation)

인류탄생부터 사람들에게 사용되었을 것으로 추측되는 발효는 포도주와 맥주의 제조과정에서 이산화탄소 때문에 생기는 기포(氣泡)를 가리키는 말로써 오늘날의 발효는 포도당처럼 에너지원 분자들이 혐기성 상태에서 효소로 인해 분해가 더욱 활성화되어 에너지가 생성되는 과정을 의미한다. 초산균에 의한 초산발효나 곰팡이에 의한 유기산 발효의 호기적 발효(산화발효: 호흡과 유기화합물이 분자상 산소에 의하여 불완전 산화를 받는 반응)와 효모에 의한 알코올 발효나 유산발효의 혐기적 발효(에너지를 공급하는 산화 - 환원 반응으로 유기화합물이 수소 공여체와 산소

수용체의 양쪽을 연결하는 반응)가 있다. 세포에는 효소가 있어 세포질의 가용성 부분에 있어 근육, 효모 세균 및 식물계에서 발생하는 당변환의 일반적인 형태로 생성되는 화합물 중의 하나는 ATP(Adenosine triphosphate) 이다. 다른 생성물인 피루브산염은 세포 형태와 산소의 사용으로 인해 다양하게 변환할 수 있다. 다양하게 발효되면 얻어지는 것들이 알코올, 글리세롤, 이산화탄소, 부틸알코올, 아세톤, 젖산, 글루탐산나트륨, 아세트산, 구연산, 글루콘산, 소량의 항생물질, 비타민 B_{12}, 비타민 B_2 등이 있다.

우리나라에서 예로부터 발효를 통해 생활 속에 깊이 있는 것을 알아보면 막걸리나 김치로써 그것은 바로 효모 발효이다. 익힌 곡식에 누룩과 주모(酒母)를 넣고 일정양의 물을 부은 후에 시간이 지나면 발효가 이루어져 열을 가하지 않아도 부글부글 물이 끓어오르며 곡주가 된다. 누룩곰팡이의 가수분해와 효모의 발효과정의 결과이다. 장점은 막걸리에 생 효모가 많아 혈청 속의 콜레스테롤 수치가 감소된다. 화학주가 고혈압, 심장병, 동맥경화증의 성인병을 유발시키는 것과는 대조된다. 효모의 대사물에 있는 항생물질은 암이나 바이러스에 유효한 항생물질이라고 볼 수 있으며 상당량의 단백질과 당질, 콜린, 비타민B_2 등이 함유되어 있다. 이중 단백질과 당질은 혈당치가 떨어지지 않으며 비타민B_2와 콜린은 알콜성 간경화증 및 영양실조 현상을 예방시킨다. 발효성분을 이용해 각질제거를 한 후 막걸리로 마사지를 하는데 피부 정돈, 수분, 영양공급과 함께 살균 효과, 미백 효과까지도 기대 이상의 효과를 가진다.

또 다른 예를 들면 미생물에 의한 식초 발효는 초산균의 작용에 의해 알코올이 산화되고 식초산이 생성되는 원리이다. 식초산균의 적합한 생육 온도는 종류에 따라 다르나 약 18-34℃이다. 전분질을 원료로 할 때는 당화를 거쳐 주정발효가 일어나 술이 먼저 만들어지고 식초산발효가 일어나는 과정을 갖는다. 이때 발효되는 술의 주정농도는 5% 이하로 조절하는 것이 바람직하다.

김치는 젖산균이 증식되어 좋은 맛과 영양을 높이는 것이지만 젖산균을 일부로 배양하지 않아도 양념만 잘 배합하면 공기와 물에 떠돌아다니던 미생물이 정착하여 증식된다. 농업적으로 유용한 미생물도 별도로 접종하지 않아도 미생물이 잘 번식할 수 있는 환경만 만들어주면 된다. 효모나 유산균과 광합성세균들을 이용하여 서로 간에 복잡한 공존관계를 형성시켜 발효된 생성물의 항산화력을 갖는다. 많은 미생물들이 우리 일상생활에 존재하는데 사용범위에 따라 바람직하게 사용할 수 있다. 대부분의 미생물들이 오염과 악취, 부패에 가담을 하게 되면 환경을 파괴하

는 역할을 하나 미생물들을 바람직하게 알맞게 잘 사용하여 발효처리를 하게 되면 환경, 농업, 축산, 일상생활에 유용하게 사용되며, 특히 의약품과 식품, 화장품등에 활용할 수 있다. 예를 들어 우유나 콩을 자연 상태로 방치하면 공기 중에 활성산소로 인해 산화되어 부패하면서 강력한 악취를 풍기나 유산균이나 납두균을 작용시키면 우유는 요쿠르트가 되고 콩은 된장이 된다. 또한 이러한 발효를 돕는 많은 미생물이 현재 다양한 화장품에 접목되면서 다양한 기능을 가진 화장품으로 탄생한다. 제조회사마다 차이를 보이고 있지만 천연발효 원액을 이용하여 발효화장품 특유의 향을 갖게 하고 또한 방부효과를 자연적으로 갖는 더블효과까지 있다[54].

최근 고급의 인식이 무방부제, 무향, 무색소 등을 내세우면서 등장한 천연소재를 이용한 발효화장품이다. 주요화장품 회사들이 이에 걸맞게 새로운 아이디어와 기술을 제공받고 이를 기반으로 연구개발(R&D)을 진행하고 있다. 발효 미생물들이 제품 성분 효능을 높이고 피부 깊숙한 곳까지 빠르게 흡수시킬 수 있는 기술을 접목하여 연구개발을 하고 있다.

3-1. 발효균의 종류

3-1-1. 곰팡이류

3-1-1-1. 거미줄곰팡이(Rhizopus 속)

동양에서는 옛날부터 주조용으로 누룩에 많이 존재한다. 거미줄곰팡이 중 특히 아밀로법에 의한 알코올 발효에 중요하게 쓰이는 균종인 리조푸스 자바니쿠스 타케다(Rhizopus javanicus takeda)와 템페 제조에 쓰이는 리조푸스 오리고스포러스(Rhizopus oligosporus, <Fig.2>), 빵 제조 시에 사용되는 리조푸스 니그리칸스(Rhizopus nigricans, <Fig.3>) 등이 주로 사용되고 있다.

Fig.2. Rhizopus oligosporus
http://fungifood.tripod.com/tempefungi.htm

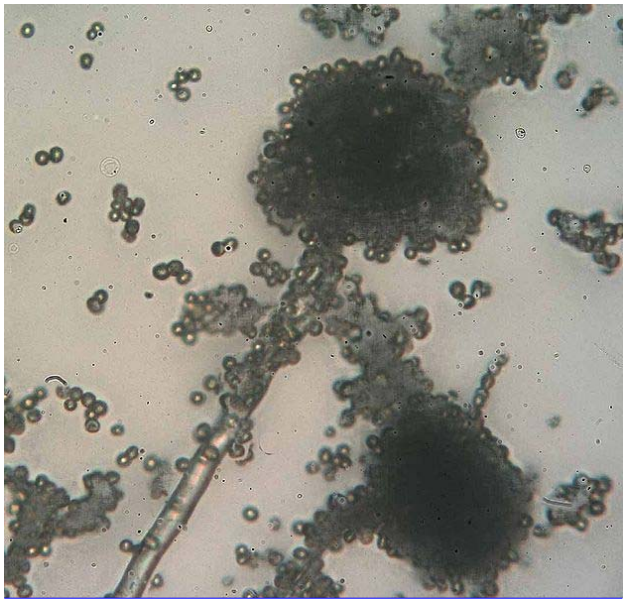

Fig.3. Rhizopus nigricans
http://en.wikipedia.org/wiki/File:Rhizopus_fungus.jpg

3-1-1-2. 누룩곰팡이(Aspergillus 속)

누룩곰팡이(Aspergillus 속, <Fig.4>) 중에는 일본식 발효식품 즉 일본 청주, 일본식 간장(유), 일본식 된장(미소) 등의 발효에 긴요하게 쓰이는 것들이 포함된다. 황

록색의 분생자를 생성하기 때문에 황국균이라 부르기도 한다. 누룩곰팡이 중에는 육안 상 황국균과 비슷하면서도 사람이나 동물에 치명적인 아플라톡신(Aflatoxin)을 내는 아스퍼질러스 프라부스(Asp. flavus)도 있으므로 이용 상 주의를 요한다. 또 흔히 흑국균이라 불리는 것 중에는 일본식 소주 양조에 쓰이는 것들이 있고, 가스오부시 제조 시 특유한 향기를 내는 아스퍼질러스 그라우쿠스(Asp. glaucus)도 있다.

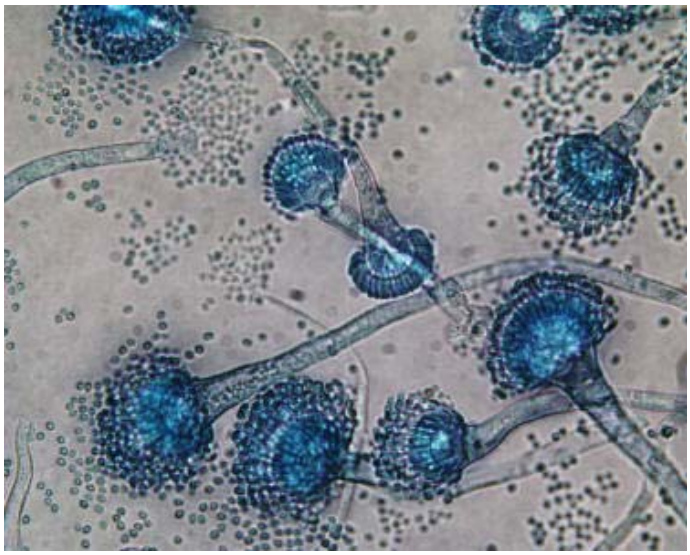

Fig.4. Aspergillus
http://www.eapcri.eu/images/aspergillus1.jpg

3-1-1-3. 푸른곰팡이(Penicillium 속)

푸른곰팡이(Penicillium 속)는 자연계에서 적응력이 비교적 강한 편이라 할 수 있다. 따라서 우리의 생활주변에서 가장 많이 눈에 띄는 곰팡이이다. 이 곰팡이 중에는 분생자의 색이 하늘색처럼 푸른 것이 많기 때문에 “푸른곰팡이”라 이름 지어졌다. 과실의 부패나 황변미(黃變米)의 원인균으로 유해한 것이 많으나 치즈의 발효에 관여하는 페니실리움 로퀴에폴티(P. roqueforti)나 페니실리움 카멜벨티(P. camemberti, <Fig.5>)등 유용한 것이 있고, 항생물질인 페니실리움 노타툼(P. notatum), 페니실리움 크리소제늄(P. chrysogenum, <Fig.6>)등이 있는 반면 페니실리움 시트리늄(P. citrinum), 페니실리움 톡시카리움(P. toxicarium)등은 곰팡이 독을 내는 것들이기 때문에 특히 이용 상 주의를 필요로 한다.

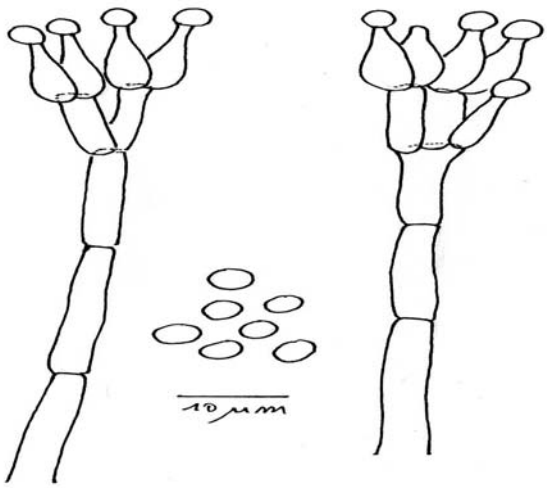

Fig.5. Penicillium camemberti
http://www.plantasyhongos.es/hongos/Penicillium.htm

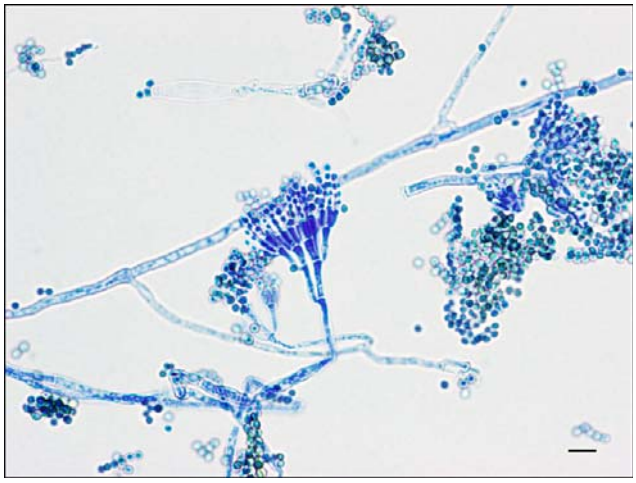

Fig.6. Penicillium chrysogenum
http://www.inspq.qc.ca/moisissures/photo_micro.asp?Lg=fr&No=22

3-1-1-4. 빨강곰팡이(Monascus 속)

빨강곰팡이(Monascus 속)는 균총이 선홍색 또는 자홍색을 띠고 있으며 중국에서 홍주라 불리는 붉은색을 띠는 술은 모나스쿠스 안카(Monascus anka)의 색소로 착색시켜서 된 것이다. 이외에 유용균으로 모나스쿠스 펄퍼레우스(Mon. purpureus,

<Fig.7>)도 알려져 있다. 이 곰팡이는 식용색소의 개발에도 유망 시 되고 있으며, 이들 곰팡이는 근자에 인체에 유용한 기능성이 있다는 것이 알려져 주목받고 있다.

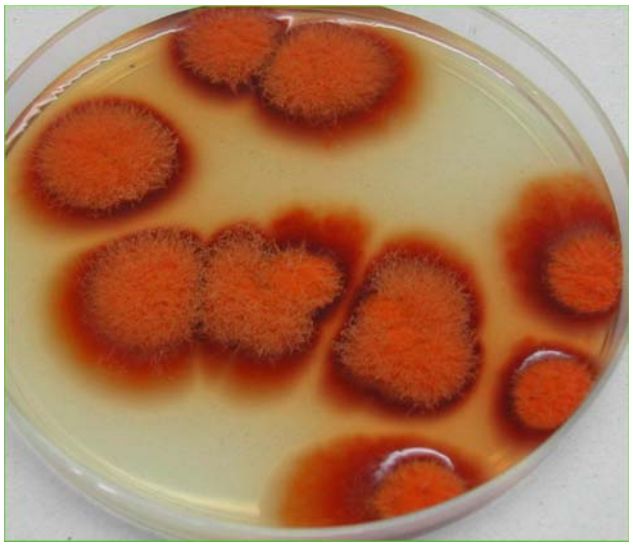

Fig.7. Monascus purpureus
http://maswangi.mardi.gov.my/proper2/Modul/Korporat/Images/Original/Monascus_purpureus.jpg

3-1-2. 효모류

3-1-2-1. 사카로미세스(Saccharomyces 속)

이 사카로미세스(Saccharomyces 속)은 효모 중에서 가장 대표적이라 할 수 있다. 각종 주류를 만들어 주는 효모가 대부분 여기에 속한다. 빵이나 맥주 등의 주정 발효용으로 유명하다. <Fig.8>

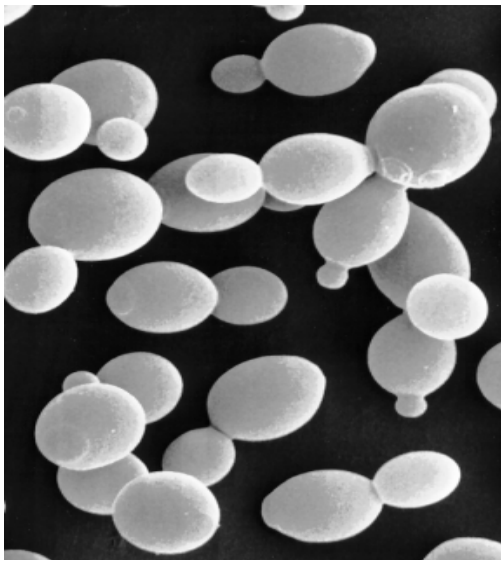

Fig.8. Saccharomyces
http://cdn.instructables.com/FQI/CNW9/F5Y3TPVR/FQICNW9F5Y3TPVR.MEDIUM.gif

3-1-2-2. 칸디다(Candida 속)

1984년 크래거(Kreger)등이 종래의 토룰라(Torula), 토룰롭시스(Torulopsis), 미코더마(Mycoderma), 모닐리아(Monilia)등을 크게 정리해서 칸디다속 30종으로 통일했다. 칸디다 리폴리티카(Candida lipolytica)나 칸디다 트로피칼로스(Candida tropycalis)등은 탄화수소 자화성이 강해서 사료용 균체 단백제조에 기대가 모아지고 있다. <Fig.9>

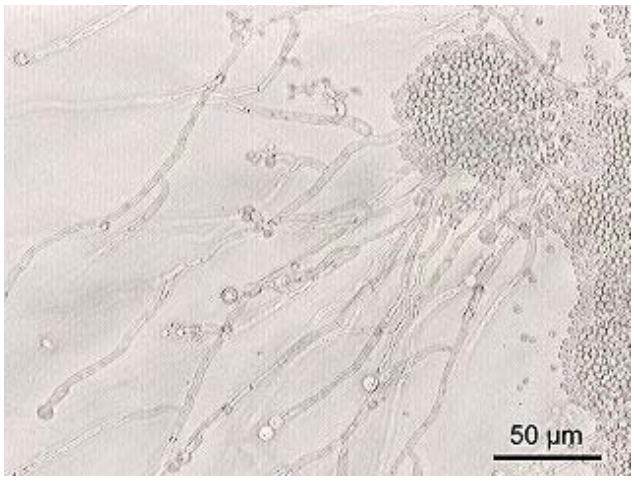

Fig.9. Candida
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/b6/Candida_albicans.jpg/320px-Candida_albicans.jpg

3-1-3. 세균류

3-1-3-1. 바실러스(Bacillus 속)

이 바실러스(Bacillus 속)의 세균은 호기성이며 영양세포는 간상이다. 내열성의 포자를 형성하고 자연계의 도처에 존재한다. 대표적인 종으로는 고초균이라 불리는 바실러스 서브틸리스(Bacillus subtilis, <Fig.10>)가 있으며 이 균은 강력한 프로타아제와 아밀라아제를 내기 때문에 옛날부터 장류나 청국장의 제조에 이용되어 왔다.

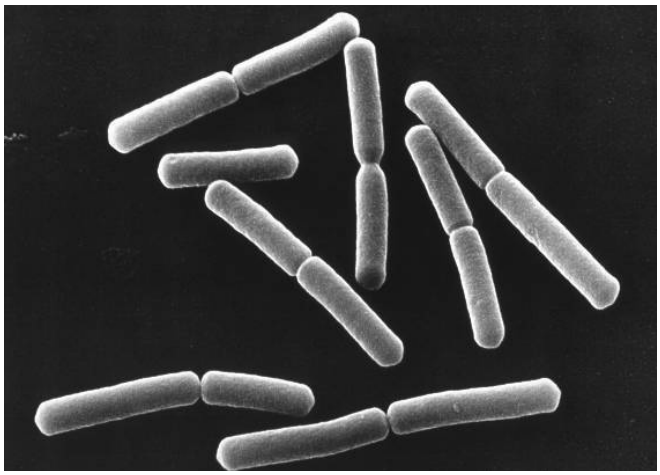

Fig.10. Bacillus subtilis

http://www.astrobio.net/images/galleryimages_images/Gallery_Image_7589.jpg

3-1-3-2. 젖산균(Lactic acid bacteria Lab)

당질을 분해해서 젖산을 내는 한 무리의 세균을 젖산균이라 하는데 이들은 그램 양성이며 운동성이 없고 통성혐기성균이다. 젖산균은 포도당의 발효형식에 따라 정상젖산균과 이상젖산균으로 나뉜다. 우리의 전통식품인 김치의 신맛이나 서양식품인 유발효제품의 신맛은 주로 젖산의 맛이다. <Fig.11>

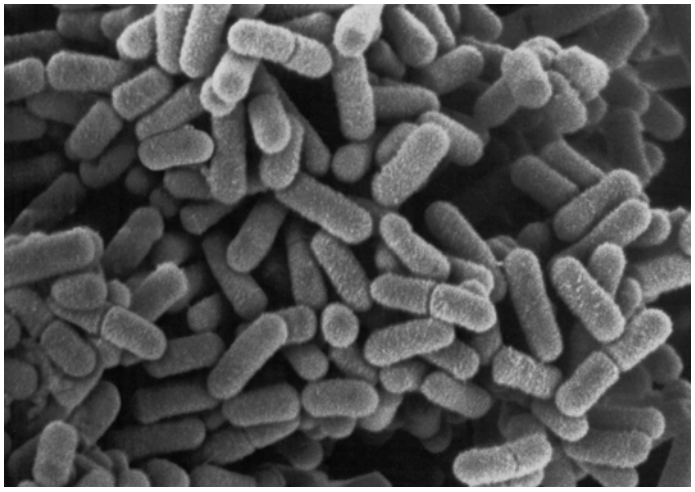

Fig.11. Lactobacillus plantarum

http://www.admani.com/Animal%20Health/Images/Ecosyl%201/MTD1.h2.gif

3-1-3-3. 방선균(Actinomycetes)

방선균은 토양미생물의 대표 균이다. 소위 흙냄새는 이 균이 원인인 것으로 보여지고 있다. 세포가 곰팡이처럼 길고 굵기는 세균처럼 가늘기 때문에 곰팡이와 세균의 중간적 미생물이라 보는 견해도 있다. 방선균 중에서 스트렙토마이세스(Streptomyces 속, <Fig.12>)은 각종 항생물질을 생성하기 때문에 유명하며 1943년 왁스만(Waks-man)은 스트렙토마이세스 그리세우스(Streptomyces griseus, <Fig.13>)에서 처음으로 항생물질인 스트렙토마이신을 개발하였다.

Fig.12. Streptomyces
http://www.childrensauthor.co.uk/i/Streptomyces300.jpg

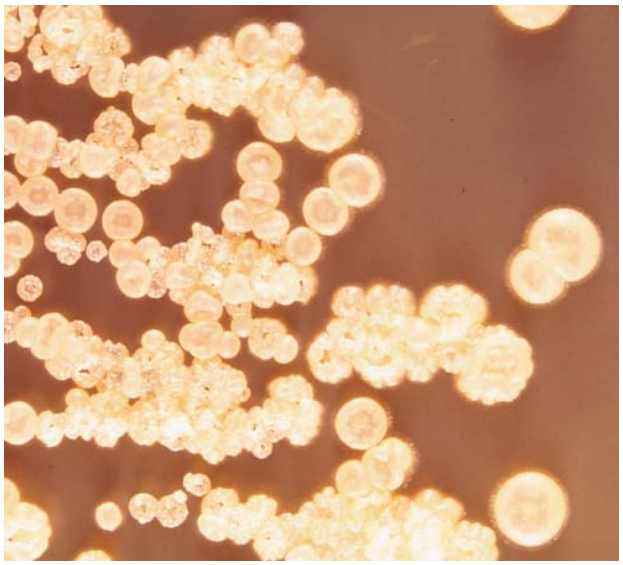

Fig.13. Streptomyces griseus
http://awesomebacteria.pbworks.com/f/image.jpg

3-2. 발효소재의 우위성

3-2-1. 영양의 극대화

발효화장품에 적용되는 영양분은 식품의 효과와 비슷하다. 발효는 음식을 오랫동안 보관할 수 있게 해 줄뿐 아니라 소화하기 쉬운 형태로 바꿔준다. 미생물이 음식을 발효시키는 동안 알코올, 젖산, 아세트산 등이 만들어지고, 이 성분들은 영양소의 파괴를 막고 음식물의 부패를 막는 천연방부제 역할을 한다. 또한, 발효과정을 거치면서 단백질이 분해되어 쉽게 소화되는 아미노산 형태로 바뀌는 것이다. 우유도 발효과정을 거쳐 사람이 소화하지 못하는 락토오스를 소화하기 쉬운 유산으로 바꿔주는데 이 유산균이 세포막의 구성성분이자 면역기능을 강화해 주는 오메가3 지방산을 만든다[55].

실제로 미생물들이 살아가면서 엽산이나 리보플라빈, 나이아신, 티아민, 비오틴 같은 비타민을 만들어 내고 어떤 재료를 어떤 방식으로 발효하느냐에 따라 나타나는 영양소가 달라진다. 발효화장품 대부분은 미생물대사를 통해 단백질, 아미노산, 비타민류, 유기산 등의 성분이 증대된 것으로 알려져 있다[56].

그리고 콩과 볏짚에 붙어 있는 바실러스 세균을 이용해 만드는 청국장은 콩 발효

식품 중 가장 짧은 2-3일 내에 완성되는데, 콩을 발효시키면 100g당 1,000억 마리 이상 되는 양질의 소화 효소 균이 생겨 소화력이 높아진다. 뿐만 아니라 본래 없었던 이로운 물질도 형성된다. 실 모양의 끈적끈적한 점액 물질은 항산화(항노화), 면역력 증강, 혈전 용해 등 생리활성물질의 효능을 극대화 시킨다[57].

3-2-2. 피부 흡수력의 향상

아무리 맛있고 영양가 높은 음식을 먹어도 체내에 흡수되지 않으면 아무 소용이 없다. 화장품도 마찬가지여서 좋은 원료를 따지는 만큼 피부에 얼마나 잘 흡수되는지가 중요하다. 일반적으로 피부세포의 간격은 70-80nm 크기로 화장품 성분이 피부 속으로 스며들기 위해서는 성분의 분자량이 피부세포 크기보다 작아야 하는데, 원료가 발효되는 과정에서 미생물과 효모가 작용해 분자 입자가 80nm이하로 분해되기 때문에 각종 발효성분이 진피층까지 흡수가 가능하다[56].

우리가 음식을 먹고 소화하는 과정을 떠올려보면 보다 쉽게 이해된다. 우리는 음식을 먹을 때 이로 씹어 식품을 분해하고 위에서는 위산을 이용해 녹이며, 장에서는 효소를 이용해 음식 성분을 세포가 이용하기 쉽게 제공한다. 발효화장품에 담기는 성분들은 이 과정을 미리 겪는다. 미생물이 천연 성분을 발효시켜 영양분이 피부 속으로 들어가기 전에 흡수되기 쉬운 형태의 입자로 만드는 소화의 역할을 담당하는 것이다[58].

3-2-3. 독성의 제거

식물에는 다양한 독소가 들어있다. 곡물에는 아연과 칼슘, 철, 마그네슘과 같은 무기질이 흡수되지 못하도록 방해하는 피틴산(phytic acid)이 들어있다. 조리하기 전에 곡물을 발효시키면 피틴산이 중화되기 때문에 훨씬 더 풍부한 영양소를 섭취할 수가 있다[59]. 또한, 아질삼염 시안화수소산, 옥살산, 니티로사민, 글루코시드 같은 독소 물질들도 발효과정을 거치는 동안 이러한 독소들이 줄어들거나 완전히 사라진다[60]. 이처럼 발효식품들은 설사 같은 소화기관 장애를 막아주고 유산균 같은 배양균이 살아있는 식품은 갓난아기의 생존율을 높여준다고 한다. 발효식품이 항암작용도 하고 여러 가지 질병을 막아준다는 사실이 이를 입증하는 것이다[61].

일본 전통 음식 중 하나인 '누카즈케'가 그 좋은 예라고 볼 수 있다. 누카즈케는 사람에게 치명적인 독(테트로톡신)을 함유하고 있는 복어로 만든 염장 음식으로,

복어를 1년간 소금에 절여 발효시키면 복어 난소에 들어있는 400-1,000MU/g의 독이 30-50MU/g로 줄어든다. 다시 쌀겨와 결합해 2년을 더 발효시키면 식용이 가능한 10MU/g 이하로 독성이 약해지고 맛도 풍부해 진다. <Fig. 14>

Fig.14. 복어난소의 누카즈케
http://shofu.pref.ishikawa.jp/shofu/dokunuki_h/globefish/howtomake/process/img/m07.jpg

모든 발효과정에는 생육 조건이 좋은 미생물이 우위를 점하기 위해 다른 오염 균이 번식하는 것을 막는 현상이 일어난다. 이때 우위를 차지하는 우점 균이 다른 균을 억제하기 위해 항균 물질을 발산하는데, 이 과정에서 우리에게 필요 없는 세균이나 독성이 함께 분해된다. 발효화장품에 담기는 영양분은 바로 이 과정을 통해 독성이 제거돼 피부 트러블이나 알레르기의 부작용을 완화시켜 준다[58].

Ⅲ. 실험재료 및 실험방법

1. 실험재료

본 실험에 재료로 사용한 현미, 녹두, 검정깨, 수수, 율무, 서리태, 서목태 등 7가지 종류의 곡물들은 청정지역인 전라남도 장흥군에서 재배되고 있는 곡물로서 직접 수확하여 건조한 후 시료로 사용하였다.

2. 발아곡물의 발효추출물 제조공정

발아곡물의 발효추출물을 주성분으로 하는 발효 화장품을 위하여 제조Fig.13 에 나타낸 공정으로 추출물을 얻었다.

공정을 요약하면 다음과 같다.<Fig.15>

1) 곡물을 발아시키는 곡물발아 단계(S100)
2) 발아곡물을 세척하고, 세척된 발아곡물을 건조시키는 발아곡물세척 및 건조단계(S200)
3) 발아곡물을 분쇄기에 투입하여 1 내지 3mm 크기로 분쇄한 후, 용기에 분쇄된 발아곡물과 셀룰라아제를 투입하여 발효가 잘 진행되도록 하는 발효전처리단계(S300)
4) 발아곡물 효소추출물에 유산균 (락토바실러스 플라타늄, 중량비 1%)을 투입하여 실온에서 48시간 내지 72시간 발효시키는 발효단계(S400)
5) 발효된 발아곡물의 발효물을 메쉬 여과망을 이용하여 큰 입자를 1차 여과한 후, 가압필터 여과 시스템을 이용하여 작은 입자를 2차 여과하는 여과단계(S500)
6) 멸균기를 이용하여 110 내지 130℃의 온도 조건에서 15 내지 30 분간 멸균 처리하는 멸균처리단계(S600)

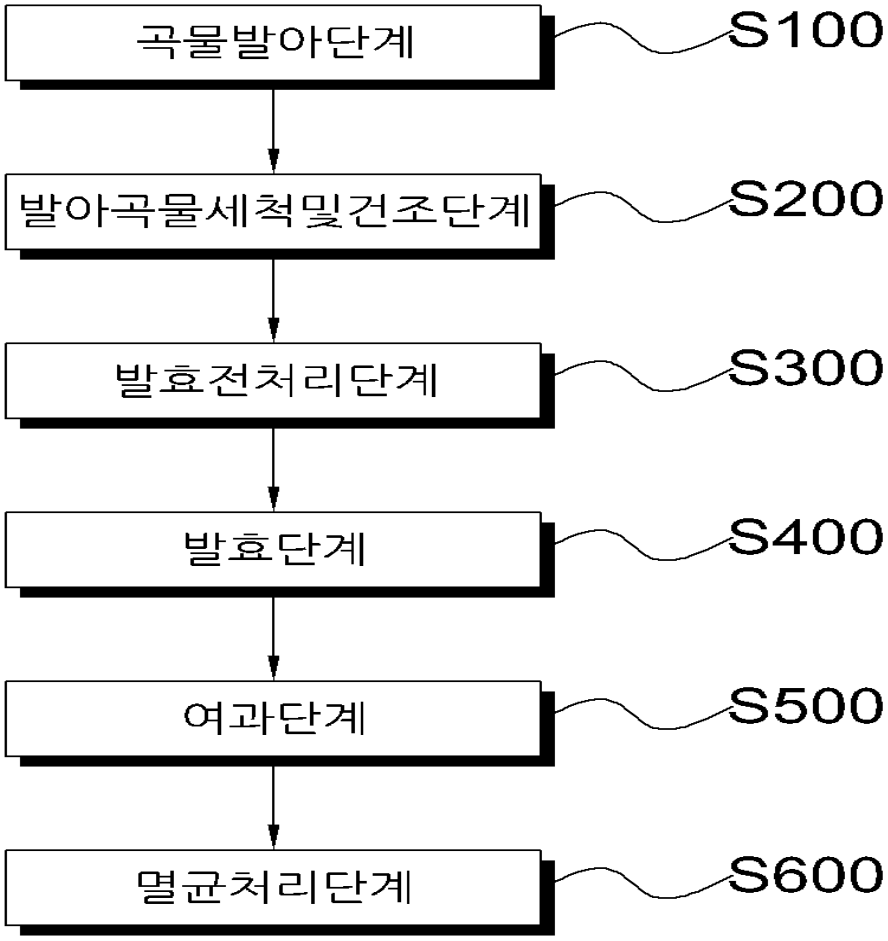

Fig. 15. Process for Fermented extracts of 7 germinated grains

곡물발아단계(S100)에서 발아시키기 위한 곡물은 현미, 녹두, 검정깨, 수수, 율무, 서리태, 서목태을 사용하였으며 배합 비율은 현미 20 wt %, 녹두 15wt %, 검정깨 5 wt %, 수수 10 wt %, 율무 10 wt %, 서리태 20 wt %, 서목태 20 wt %로 하였다.

3. 화장품 제형의 제조

발아곡물 발효추출물에 화장료를 혼합하여 발아 곡물의 발효 추출물을 함유한 화장료 조성물을 형성시켰다.

3-1. 유연화장수 제조

상기 화장료 조성물 형성 단계에서 유연화장수를 제조하기 위하여 다음의 조성을 택하였다.

발아곡물 발효추출물 1.0 wt%, 글리세린 5.0 wt%, 1,3-부틸렌글리콜 3 wt%, 알란토인 0.1 wt%, DL-판테놀 0.3 wt%, 디소듐이디티에이 0.02 wt%, 소듐 히아루로네이트 0.04 wt%, 에탄올 4.0 wt%, 피이지-60 하이드로제네이티드캐스터오일 0.4 wt%, 메칠파라벤 0.1 wt%, 향신료 0.1 wt%를 증류수 85.94 wt%로 혼합하여 제조하였다.

3-2. 영양에센스 제조

영양에센스 제조를 위하여 다음의 조성으로 수행하였다.

발아곡물 발효추출물 2.0 wt%, 글리세릴 스테아레이트SE 1.5 wt%, 스테아릴 알콜 1.5 wt%, 카보머 0.12 wt%, 폴리솔베이트-60 1.3 wt%, 솔비탄스테아레이트 0.5 wt%, 경화식물유 1.0 wt%, 카프릴릭트리글리세라이드 5.0 wt%, 스쿠알란 3.0 wt%, 사이클로메치콘 2.0 wt%, 디메치콘 0.8 wt%, 초산토코페롤 0.5 wt%, 쉐어버터 1.0 wt%, 글리세린 5.0 wt%, 1,3-부틸렌글리콜 3.0 wt%, 소듐 히아루로네이트 5.0 wt%, 트리에탄올아민 0.12 wt%, 메칠파라벤 0.1 wt%, 향신료 0.1 wt%를 증류수 66.46 wt%에 혼합하여 사용하였다.

3-3. 영양크림 제조

화장료조성물형성단계에서 영양크림 제조를 위하여 다음의 조성비를 기초로 하였다.

발아곡물 발효추출물 3.0 wt%, 글리세릴 스테아레이트SE 2.0 wt%, 세테아릴알콜 2.2 wt%, 스테아린산 1.5 wt%, 밀납 1.0 wt%, 폴리솔베이트 60 1.5 wt%, 솔비탄스테아레이트 0.6 wt%, 경화식물유 1.0 wt%, 스쿠알란 4.0 wt%, 카프릴릭트리글

리세라이드 5.0 wt%, 쉐어버터 2.0 wt%, 디메치콘 1.0 wt%, 글리세린 5.0 wt%, 베타인 3.0 wt%, 트리에탄올아민 1.0 wt%, 소듐 히아루로네이트 4.0 wt%, 메칠파라벤 0.1 wt%, 향신료 0.1 wt%를 증류수 62.0 wt%로 혼합하여 제조하였다.

본 연구에서는 발아곡물의 발효추출물을 1 내지 3 중량%와 잔량으로 화장료 베이스를 포함시켜 제조 하였다.

4. 피부 주름 및 탄성력 측정

Skin visiometer® SV600(Courage and Khazaka Electronic, GmbH)을 이용하여 피부의 주름을 측정하였다. 아래 사진 <Fig. 16>을 보면 피부의 주름을 볼 수 있는 기계로서 특별한 광원이 통과되도록 제작된 표준카트리지에 푸른색의 실리콘 replica로 얻은 피부주름 측정 프로그램을 구동시킨 후 화면상의 특정부위를 선택하여 주름의 깊이와 형태를 객관적으로 평가할 수 있다.

Fig. 16. Skin-Visiometer, SV600(Courage and Khazaka Electronic, GmbH)

Ⅳ. 결과 및 고찰

본 연구에서 채택한 곡물은 쉽게 구입할 수 있으면서 저렴한 우리 조상들이 즐겨 먹고 건강한 삶을 누렸던 현미, 녹두, 검정깨, 수수, 율무, 서리태, 서목태 등을 선별하였다. 발아곡물의 조성비를 결정하기위하여 수행한 예비실험에서 검정깨에 함유된 레시틴으로 인하여 추출물의 탁도가 높고 산화 및 산폐로 인해 안정성에 문제가 될 수 있어 조성비를 조정하여 탁도를 개선하고 안정성을 높였다.

또한, 상기 곡물발아단계에서 발아되는 곡물의 길이가 5mm 정도일 경우에 수득하는 것이 최적의 유효성분을 기대할 수 있다. 싹의 길이가 1cm 이상일 경우에는 씨앗의 성장을 위해 에너지들을 많이 사용하게 되어 유효 성분의 역가가 떨어지는 문제점이 있기 때문에 상기한 길이 정도에서 발아를 멈추게 하였다.

이후, 건조단계(S200)에서는 발아곡물을 세척하고, 세척된 발아 곡물을 건조시키는 단계를 수행하였다.

발아곡물 선택 시 현미는 처음 벼를 발아시켜 사용했는데 그에 따른 문제점으로 왕겨(벼의 껍질)에는 곰팡이와 세균들이 세척 후에도 그대로 존재하였다. 멸균을 하지만 곰팡이균 등은 열에 대한 저항이 강해 100% 사멸시키기 어렵고, 균들의 분열이 빠르게 진행되어 제품의 안정성에 문제 소지가 크다. 또한, 수수, 율무, 녹두의 껍질 부분도 문제 소지가 발생할 수 있으므로 가능한 한 껍질을 벗겨서 사용하는 것이 바람직하다.

약 5mm 정도 새순이 자란 곡물들은 발아과정을 중단하고 물로 5회 정도 깨끗이 세척 후 그늘진 곳에서 건조시킨다. 이때, 곡물이 썩지 않도록 자주 뒤집어 주고, 선풍기 등을 사용하여 자연바람을 활용하는게 좋다. 건조를 위해 온풍기, 열풍기를 사용할 경우 열과 강한 바람에 약한 유효성분들이 파괴될 수 있어 사용하지 않았다. 이후, 건조된 발아곡물을 분쇄기에 투입하여 1 내지 3mm 크기로 분쇄한 후, 용기에 분쇄된 발아곡물과 셀룰라아제를 투입하여 최적의 환경에서 발효가 잘 진행되도록 하는 발효전처리단계(S300)를 거치게 하여 품질의 향상을 도모 하였다.

발효 전처리단계는 발효가 원활하게 수행될 수 있도록 하기 위한 과정이며, 곡물이 부풀려지고 효소에 의해 섬유질이 1차 분해되어지기 때문에 발효가 저온(40℃ 이하)에서 일정시간 내에 이루어지도록 하기 위한 것이다.

분쇄된 발아곡물 30.0 wt%에 효소(셀룰라아제) 1.0 wt%, 정제수 69.0 wt%를 혼합하여 12시간 내지 24시간 동안 효소 처리하는 것이 좋은 발효 추출물을 얻게 한

다. 이후, 발아곡물 효소추출물에 유산균을 투입하여 실온에서 48시간 내지 72시간 발효시키는 발효단계(S400)를 거치게 된다.

즉, 발효조에 효소 처리된 곡물과 유산균 종균 배양액을 투입해 저온에서 48시간 내지 72시간 발효시키게 되며, 예를 들어 5L 발효조에 효소 처리된 곡물과 유산균 50mL를 투입하게 되는 것이다. 발효단계(S400)를 수행하기 위한 유산균 배양은 발효단계 전에 미리 진행하였다.

사용된 유산균은 락토바실러스 플라타늄이었으며 , 락토바실러스 플라타늄을 종균 배양한 후 효소전처리 단계에서 생성된 발아곡물의 효소물 배지에 접종하였다.

상기 발효단계에서는 생물학적 전환 과정(바이오컨버전 : bioconversion)에 의한 새로운 기능성분이 생성되게 된다[62].

즉, 생물학적 전환은 생물군을 에너지원으로 이용하는 것을 의미하며, 예를 들어 식물을 재료로 하여 발효시켜 메탄, 알코올, 수소 등을 추출하여 이를 에너지원으로 이용하는 것이다.

발효 시 유산균이 가지고 있는 효소들에 의해 발아된 곡물들을 미세한 입자로 분해하여 영양 성분을 증대시키고, 새로운 성분들이 생성되어 지는 과정이라 할 수 있다.

그리고, 발효를 통해 단백질성분들이 분해되어 펩타이드, 아미노산 등을 생성하고, 유산균이 가지고 있는 항균, 항염 성분들이 생성되게 된다. 얻어진 발아곡물의 발효물을 메쉬 여과(1차)와 가압필터 여과(2차) 시스템을 이용하여 큰 입자를 1차 여과한 후, 작은 입자를 2차 여과하는 여과단계(S500)를 수행 하였다.

1차 및 2차 여과 과정을 거치는 이유는 작업의 효율성과 여과 효과를 높이기 위한 것으로서, 1차 여과로 큰 입자들을 여과하여 2차 여과 작업시간을 단축하고 가압필터 여과 과정에서 필터보다 입자가 큰 입자들이 통과할 수 있는데 이러한 현상을 최소화하기 위한 과정인 것이다.

이후, 멸균기를 이용하여 110 내지 130℃의 조건에서 20분 간 멸균 처리하는 멸균처리단계(S600)를 수행하였다. 멸균처리단계는 멸균기(오토클레이브)를 통해 수행하였는데, 화장품에 사용되는 곡물추출물의 경우에는 1-6 개월 이상 장시간 보관하고 피부의 안전성을 위해 병원성 세균, 곰팡이균등을 반드시 제거하여야 한다. 상기 단계가 마무리되면 발아곡물의 발효추출물이 형성되는데, 상기 발효 추출물에 화장료 조성물을 형성하여 해당 화장품을 제조할 수 있게 된다.

본 연구에서는 화장료의 주름개선효과를 실제 사용 테스트를 통하여 평가 하였다.

Table 1에서 발아곡물의 발효추출물을 3%(v/v) 함유하고 있는 영양크림과 발아곡물의 발효추출물을 증류수로 대체한 영양크림을 비교예로 사용하였다.

Table 1 Compositions of cosmetic moisturizers produced with or without fermented extracts of germinated grains

Components	with extract (wt %)	without extract (wt %)
Fermented extract	3.0	0.0
Glyceril stearate SE	2.0	2.0
Cetearyl alcohol	2.2	2.2
Stearic acid	1.5	1.5
Beeswax	1.0	1.0
Polysorbate 60	1.5	1.5
Sorbitan stearate	0.6	0.6
Hydrogenated vegetable oil	1.0	1.0
Squalene	4.0	4.0
Caprylic triglyceride	5.0	5.0
Shea butter	2.0	2.0
Dimethicone	1.0	1.0
Glycerine	5.0	5.0
Betaine	3.0	3.0
Triethanolamine	1.0	1.0
Sodium hyaluronate	4.0	4.0
Methylparaben	0.1	0.1
Fragrance	0.1	0.1
Distilled water	62.0	65.0
Total	100.0	100.0

20명의 여성을 대상으로 얼굴의 한쪽 면에는 실험군을 다른 쪽 면에는 비교 예를 사용하여 6주 후의 피부탄력과 주름개선효과를 skin visiometer를 이용하여 주름의 깊이를 평가하여 주름 개선 정도를 평가하였으며 아울러 사진으로 촬영하여 육안으로 비교하였다.

이 평가를 토대로 한 피부탄력 및 주름개선효과의 결과는 하기의 Table 2 및 Table 3에 나타내었다.

발아곡물의 발효추출물을 사용한 화장료의 피부탄력 개선효과는 유효율(effectiveness)이 90%인데 반하여 일반 영양크림의 경우는 겨우 30%에 그쳤다.

Table 2 Skin elasticity after applying the cosmetic moisturizers prepared

moisturizer	skin elasticity			effectiveness (%)
	good	mild	no effect	
with the extract	15	3	2	90.0
without the extract	2	4	14	30.0

또 이들의 주름개선효과를 측정하여 이의 결과를 Table 3 에 나타내었다.

Table 3 Wrinkle improvement after treating with the cosmetic moisturizers prepared

moisturizer	wrinkle free			effectiveness (%)
	good	mild	no effect	
with the extract	12	4	4	80.0
without the extract	2	4	14	30.0

발아곡물의 발효추출물을 사용한 화장료의 주름개선 효과는 유효율(effectiveness)이 80%인데 반하여 일반 영양크림의 경우는 30%이었다.

실제로 연구 개발된 제품을 시술한 사지을 육안으로 검토하면 피부 개선효과가 뚜렷함을 알 수 있다.<Fig. 17>

(a)

Report on Tester 1:
Age: 25
Date of experiencing: 03.08.2011
Period of experiencing: 3 months
Please see enclosed contract.

3개월 사용

(b)

Report on Tester 2:
Age: 30
Date of experiencing: 03.292011
Period of experiencing: 3 months

3개월 사용

(c)

Report on Tester 3:
Age: 18
Date of experiencing: 04.08.2011
Period of experiencing: 2 months

2개월 사용

(d)

Report on Tester 4:
Age: 07
Date of experiencing: 05.08.2011
Period of experiencing: 2 month

1개월 사용

Fig. 17. Improved effect of skin surface by the cosmetics developed

Fig.17. 의 (a)와 (b)는 3개월간 사용한 경우의 표면 거칠기 및 잔 주름의 개선효과가 뚜렷함을 관찰할 수 있었고 특히 (a)의 경우 여드름 개선효과가 괄목할만한 변화를 보였다. 2개월간 사용한 경우인 (b)에서도 피부의 윤활도와 잔주름이 확실히 변화됨을 알 수 있었다. 아토피 피부염이 심한 (c)와 (d)의 경우 불과 1-2개월만에 상당한 개선효과가 있었다.

Ⅴ. 결론

발아곡류가 갖는 여러 가지 영양 및 생리활성물질을 발효추출물로 얻어 이를 피부개선용 화장품에 적용하였으며 이 평가를 토대로 한 피부탄력 및 주름 개선 효과 결과는 하기의 Table 2 및 Table 3에 나타내었다.

피부탄력 개선효과는 일반 영양크림의 경우 유효율(effectiveness)이 30%인데 반하여 발아곡물 발효추출물을 사용한 화장품에서는 90%의 유효율을 보였다.

또 이들의 skin visiometer를 사용하여 측정한 주름개선 효과는 일반 영양크림의 경우 유효율(effectiveness)이 30%인데 반하여 발아곡물 발효추출물을 사용한 화장품에서는 80%의 유효율을 보였다.

실제로 연구 개발된 제품을 시술한 사지을 육안으로 검토하면 피부 개선효과가 뚜렷함을 알 수 있다. 3개월간 사용한 경우의 표면 거칠기 및 잔주름의 개선효과가 뚜렷함을 관찰할 수 있었고 2개월간 사용한 경우에서도 피부의 윤활도와 잔주름이 확실히 변화됨을 알 수 있었다. 또한, 심한 여드름과 아토피 피부인 경우에도 불과 1-2 개월 만에 상당한 개선효과가 있었다.

따라서 사용한 7가지 곡물의 기능성 영양성분이 발효추출물로 전환시켜 화장품에 적용할 경우 피부 면역력을 향상시켜 줌으로서 주름개선 및 노화방지, 피부 트러블(여드름, 아토피 등)개선에 큰 효과가 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 김우정. 식품산업과 기능성 식품. 식품과학과 산업. 33(3): 1 (2000)

2. 송지성, 김영아. 국내 기능성 화장품 산업의 향후 시장 전망에 관한 연구. 한국 디자인문화학회지, 16: 259-271, 2009.

3. 심은경, 김강련. 코스메슈티컬 화장품 소비자의 선호도와 구매 결정요인. 한국미용학회지, 14: 1264-1279, 2008.

4. Brandt FS, Cazzaniga A, Hann M. Cosmeceuticals: current trends and market analysis. Semin. Cutan. Med. Surg., 30: 141-143, 2011.

5. 곽정임. 20-20대 여성의 화장품 구매행동에 관한 연구. 숙명여자대학교 석사학위논문, 2004.

6. 강옥진. 나는 발효화장품이 좋다. (주)P당, 2010.

7. 최봉호, 홍병희, 강광희, 김진기, 김석현. 신제 종자학. 향문사. 89-143, 1996.

8. Ung-Kyu Choi、Korean J. Food Sci, Technol., 2007, 39(3), 304~308.

9. Wen-Huey Wu, Yu-Ping Kang, Nai-Hung Wang, Hei-Jen Jou,y and Tzong-An Wang, Sesame Ingestion Affects Sex Hormones, Antioxidant Status, and Blood Lipids in Postmenopausal Women, 2006, 136(5), 1270-1275.

10. Tae-shik Hahm, Bioresouce Technology ,2009, 100, 1643~1647.

11. Kuno Noriyasu etal., Journal of SCCJ., 1999, 33(3), 245-253.

12. 대한민국 공개특허 제2007-0043570호.

13. 대한민국 공개특허 제2004-0108226호.

14. 대한민국 공개특허 제2006-0074262호.

15. 일본 공개특허 제2007-290998호.

16. 일본 공개특허 제2007-131578호.

17. 김계숙. 성인여성의 등급에 따른 피부 유, 수분도와 남성호르몬 조사, 서경대학교 p 5-6 (2007)

18. 김기연 외 9인. 피부과학 수문사 (2001)

19. 김영미. 메디컬스킨케어 & 스파, 임송출판사 p.25 (2005)

20. 박정선. 아름다움을 살리는 화장품 이야기, 해일출판사 (2001)

21. N.E.Fusenig. Cell interaction and epithelial differentiation. p 25-28 In R.I. Freshney(ed.), Culture of epithelial cells. Wiley-Liss.Inc, New York, NY. (1992)

22. 김주덕 외. 신화장품학, 동화출판사 pp.30 (2004)

23. H. A. Navsaria, S. R. Myers, I. M. Leigh, and I. A. Mckay, Culturing skin in vitro for wound therapy. Trends in Biotechnology. 13: 91-100 (1995)

24. 최봉호, 홍병희 외. 종자학, 향문사. 89-43 (1996)

25. 안신성, 장영희, 김영진, 김윤식, 박봉규, 이연주, 하재청. 생물과학, 아카데미 서적. p 167 (1987)

26. 오용석. 발아 현미의 영양학적 특성에 관한 특성연구, 공주대학교 석사학위 논문 (2003)

27. 모광희, 지장수. 발아현미의 성분 및 GABA함량 증가, 충북대학교 석사학위 논문 (2005)

28. 길복임. 전통식 및 산업식 현미식초의 이화학적 품질 특성, Journal of Natural Science Vol.11-1 (2004)

29. Kang BR, Park MJ, and Lee HS. Germination Dependency of Antioxidative

Activities in Brown Rice, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(4), 389-394 (2006)

30. James W Anderson, Belinda M Smith Carla s Washnock. Cardiowascular and renal benefits of dry bean and soybean intake, J. Am. Clin. Nutr. 70(suppl): 464s-74s (1999)

31. Geil, P.B and Anderson, J.W. Nutrition and health implications of dry beans, Areview. J. Am. Coll. Nutr. 13:549-558 (1994)

32. Kwon TW. (2000). Soybean in the 21st century. Korea Soybean Digest, 17: 1-4.

33. Kim YH, Yun HT, Park KY, Kim SD. (1997). Extraction and separation of anthocyanins in black soybeans. RDA J. Crop. Sci., 39: 35-38.

34. Kim, SD, Kim YH, Lee SH, Hong EH. (1992). Characteristics of black soybean for cooking with rice in Korea. Korea Soybean Society, 9: 1-13.

35. 전경희, 안몽기, 정수민, 최경민, 이승호, 정시련. 사람 말초혈액 단핵세포에서 녹두 렉틴의 사이토카인 생성효과, 생약학회지, 1999

36. 박미영. 콩 품종에 따른 isoflavone함량과 항산화 효과, 공주대학교, 2003.

37. Han JS. 1991. Change of triglyceride composition in adlay Powder during storage. Korean J. Food Sci. technol. 23(1): 102-108

38. Numuta, M.A., Yamamoto, M. and Yamada, H. 1994. Antitumor components isolated from the Chinese herbal medicine *Coix lachryma-jobi.* Plant Med. 60: 356-359

39. Han. YN, Yun HK, Park JH, Ryu SY. 1996. Development physiologically active substances from seeds of *Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen.* J. Agri. Sci. 38: 21-29

40. Takahashi, M, Konno, C. and Hikino, H. 1986. Isolation and hypoglycemic activity of coixans A, B and C glycans of *Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen*

seeds. Plant Med. 52: 64-68

41. Choi CK, Ryu SN, Lee BH, Kim KJ. 1999. HPLC Quantitative determination of coixol component *Coix lachryma-jobi var. ma-yuen* STAPE. Kor. J. Intl. Agri. 11(1): 103-106

42. Gomita Y, Ichimaru Y, Moriyama M, Fkamachi K, Uchikado A, Araki Y, Fukuda T, Koyama T. 1981. Behavioral and EEG effects of coixol (6-methoxybenzoxazolone), one of the components in *Coix Lachryma-Jobi L. var. ma-yuen* Stepf. Nippon Yakurigaku Zasshi. 77(3): 245-259

43. 후지마키마사오. 2002. 기능성 식품과 건강. 아카데미서적.

44. 천인석. 1987. 음양오행설의 기원에 관한 일고. 동서의학 12(3):62

45. Kim Jin Sook, Sohn Jung Woo, Yum Cho Ae. 1996. Sensory Characteristics of White and Black Sesame Gruels with Different Mixing Ratio and Decortication. The Korean Society of Food and Cookery Science 12(4):547-556.

46. 심영현, 차경희, 신정원. 1995. Studies on the Experimental Cookery and the Preservation of the Hugimja Dashik. The Natural Science Institute Seoul Women's University, The Journal of the Natural Science Institute 6:13-26.

47. 현영희, 구본순, 송주은, 김덕숙 공저. 식품재료학. 형설출판사.

48. 윤서석. 1986. 한국음식. 역사와 조리법, 수학사.

49. 농업통계. 농림부. 2003.

50. Nanjing University of TCM(edited), Chinese Herb Encyclopedia(Zhonghua Bencao). Shanghai Science & Technology Press, Shanghai. 8: 424-425. 1999

51. Elkin G.R. and Griffith J.E. Hydrolysate preparation for analysis of amino acids in sorghum grain: Effect of oxidative pretreatment. J. off. Anal. Chem. 68: 11-117. 1985

52. 김은희, 맹영선, 우순자, 곡류 및 두류 식품의 식이섬유 함량. 한국영양학회지. 26(1) 98-106. 1993
53. Dendy DAV. Sorghum and Millets(Chemistry and technology). American association of cereal chemistes, Inc., St. Paul, Minnesota, USA. 1995

54. 김기연, 김애경, 함성욱, 진정화. 발효원료를 이용하여 조성된 화장품의 피부임상연구. 충청대학교 피부미용학부, (주)미카도코스, 건양대학교 의료뷰티학과. 대한피부미용학회지 8(4): 21-24. 2010

55. 산도르엘릭스 카츠. 2007. 내 몸을 살리는 천연 발효식품, 전나무 숲

56. 김주덕. 2010. 지금 발효화장품에 세계가 주목하는 세 가지 이유, 헬스조선/강수민
57. 데일리코스메틱. 2009. 발효화장품, 영양풍부 작은 입자 인기 비결

58. CMN. 2012. 요즘 대세라는 발효화장품 대체 뭐가 다른 걸까

59. Sally fallon goes on at some lengh about Phytic acid in Nourishing traditions, 452, This idea is confirmed in paul pitchford's healing with atlantic books, p184. 1993

60. Bill Mollison. The permaculture book of ferment and Human Nutrition, Tagari, Australia, p20. 1993

61. S. Bengmak. Immunonutrition: Role 08 Biosurfactants, Fiber and Probiotic Bacteria, Nutrition 14, p7-8. 1992

63. 高藪 古族,石 原族,戸田 淨, 任川 藤豊, 編 “加治道と皮膚” 清至書院, 東京(1981).