

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2023-0000719
(43) 공개일자 2023년01월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 3/3463 (2017.01) *A01N 59/08* (2006.01)*A23L 3/3454* (2006.01) *A23L 3/3481* (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 3/3463 (2021.01)*A01N 59/08* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0083185

(22) 출원일자 2021년06월25일

심사청구일자 2021년06월25일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

김선애

서울특별시 성북구 장위로19길 7-17, 501호(장위동)

홍예원

인천광역시 중구 신도시북로88번길 48-5(운서동)

(74) 대리인

리앤목특허법인

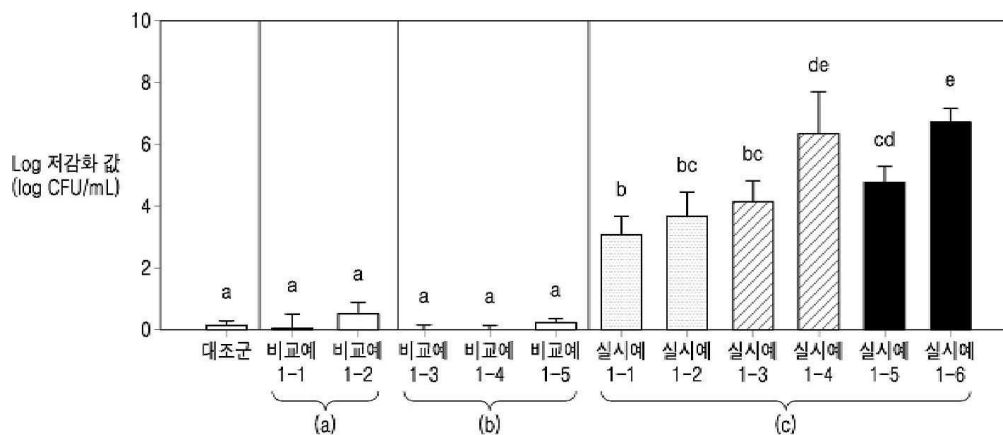
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 황산수소나트륨 및 카바크를 포함하는 항균용 조성물, 이를 이용한 항균 방법 및 이를 포함한 항균제

(57) 요약

본 발명은 황산수소나트륨 및 카바크를 포함하는 항균용 조성물, 이를 이용한 항균 방법 및 이를 포함한 항균제에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A23L 3/3454 (2013.01)

A23L 3/3481 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1395069562
과제번호	PJ015642022021
부처명	농촌진흥청
과제관리(전문)기관명	농촌진흥청
연구사업명	농축산물수출확대장애요인해소기술개발(R&D)
연구과제명	버섯의 미생물학적 안전관리 기술개발 및 위해성 평가(2공동)
기 여 율	1/1
과제수행기관명	이화여자대학교 산학협력단
연구기간	2021.01.01 ~ 2021.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크롤을 포함하는, 항균용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 상기 카바크롤로 이루어진(consist of), 항균용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 항균용 조성물은 유해미생물, 식중독균, 장내세균, 대장균, 바이러스 또는 곰팡이에 대해 항균 효과를 갖는 것을 특징으로 하는, 항균용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 항균용 조성물은 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 대장균 0157:H7(*Escherichia coli* 0157:H7), 리스테리아 모노사이토젠스(*Listeria monocytogenes*), 살모넬라(*Salmonella* spp.), 클로스트리디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 및 클로스트리디움(*Clostridium* spp.)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 균주에 대하여 항균 효과를 갖는 것을 특징으로 하는, 항균용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 황산수소나트륨은 0.005 내지 0.05 w/v%로 포함하는, 항균용 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 카바크롤은 0.005 내지 0.05 w/v%로 포함하는, 항균용 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 항균용 조성물을 15 내지 37 °C로 처리하는 것을 특징으로 하는, 항균용 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 항균용 조성물을 5 내지 10분 동안 처리하는 것을 특징으로 하는, 항균용 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 항의 항균용 조성물을 항균 대상에 처리하는 단계를 포함하는, 항균 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 항균 대상에 처리하는 단계는 15 내지 37 ℃ 조건에서 처리되는 것을 특징으로 하는, 항균 방법.

청구항 11

제9항에 있어서,

상기 항균 대상에 처리하는 단계는 5 내지 10분 동안 처리하는 것을 특징으로 하는, 항균 방법.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 항의 항균용 조성물을 포함하는 항균제.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 황산수소나트륨 및 카바크를 포함하는 항균용 조성물, 이를 이용한 항균 방법 및 이를 포함한 항균 제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 일반적으로 항균제는 과다 사용되거나 신체에 접촉·유입되면 건강상 위해를 초래할 가능성이 존재한다. 예를 들어, 차아염소산나트륨은 식품 조리·판매용 및 소분용 기구에 사용할 수 있는 항균제이나, 피부 접촉 시 화상 및 수포, 흡입하면 폐부종을 유발할 수 있고, 섭취시 구토, 복통이 나타날 수 있다. 아질산나트륨은 육류의 색을 개선하고 맛을 좋게 하며 클로스트리디움속 유해균을 억제하는 등의 효과가 있어 식품 첨가물로 널리 사용하는 항균제이나, 아민류와 결합하여 니트로사민이라는 독성 발암물질을 생성하는 등 문제를 일으킬 수 있다는 단점을 지닌다.

[0003] 이러한 인체에 대한 부작용을 해결책으로서 천연 항균용 조성물에 대한 연구가 계속되고 있는데, 그 일환으로 시트르산, 아세트산, 젖산 등의 유기산을 포함하는 항균제가 제시되었다. 다만, 유기산은 특유의 산취가 있어 고농도로 사용할 수 없고 신선식품에 적용이 어렵다고 알려져 있다.

[0004] 따라서, 산취가 발생하지 않아 처리 과정이 용이하면서도, 인체에 무해하고 높은 항균력을 나타내는 항균제에 대한 개발이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명의 과제는 항균 용도, 특히 식품 관련 항균 용도로서 황산수소나트륨 및 카바크를 포함함으로써, 산취가 발생하지 않고, 처리 시간이 짧고, 처리 온도가 상온으로 처리 과정이 용이하면서도, 인체에 무해하고 낮은 농도의 항균용 조성물을 통하여도 높은 수준의 항균력을 얻을 수 있는 항균용 조성물, 항균제 및 항균 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크를 포함하는 항균용 조성물을 제공한다.

[0007] 또한, 본 발명은 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크를 포함하는 항균용 조성물을 항균 대상에 처리하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 항균 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0008] 본 발명의 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크를 포함하는 조성물을 이용한 식품 항균 방법은 천연 항균 물질을 사용하여 인체에 무해할 뿐만 아니라, 산취가 발생하지 않고, 육류, 야채, 과일 등 다양한 식품에 폭넓게 사용 가능하며, 처리 시간이 짧으며 처리 온도가 상온이고, 별도의 장비나 심화된 기술을 요구하지 않아 처리 과정이 용이하며, 낮은 농도로도 항균 효과를 극대화시킬 수 있으며, 가격 경쟁력 측면에서도 우위를 가질 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1은 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크롤을 포함하는 조성물의 *E. coli* 0157:H7에 대한 항균 효과를 측정한 결과를 나타낸 도면이다; (a) 카바크롤 단독처리, (b) 황산수소나트륨 단독처리, (c) 카바크롤과 황산수소나트륨의 조합처리

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 이하에서 설명되는 본 창의적 사상(present inventive concept)은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시 예를 가질 수 있는 바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고, 상세한 설명에 상세하게 설명한다. 그러나, 이는 본 창의적 사상을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 창의적 사상의 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 또는 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0011] 이하에서 사용되는 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 창의적 사상을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 이하에서, "포함한다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품, 성분, 재료 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 나타내려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품, 성분, 재료 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0012] 본 발명은 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크롤을 포함하는 항균용 조성물, 이를 이용한 항균 방법 및 상기 조성물을 포함하는 항균제에 관한 것이다.

[0013] 본 발명자들은 카바크롤과 함께 무색 무취한 황산수소나트륨을 일정량 포함하는 경우 현저하게 높은 항균 효과를 가짐을 확인하였다.

[0014] 본 발명의 항균용 조성물은 무색 무취한 황산수소나트륨을 포함함에 따라 종래에 문제가 되었던 유기산의 산취 문제를 해결함과 동시에 천연 항균 물질인 카바크롤을 포함하여 인체에 대한 부작용이 적어 다양한 식품 관련 공정에 적용할 수 있다. 또한, 본 발명의 항균용 조성물은 항균 상승 효과로 인하여 낮은 농도로도 상온에서 단 시간 내에 현저한 항균 효과를 나타내 항균 처리가 용이한 것이 특징이다.

[0015] 상기 황산수소나트륨(NaHSO_4)은 무색 무취한 무기산으로서, 다른 산도조절제와 달리 산취나 시트르산 향미가 없어서 산취가 바람직하지 않은 음료에 산도조절제로 사용된다. JECFA (Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)에 따르면, 황산수소나트륨은 Food additives로 ADI(Acceptable Daily Intakes)는 Not specified로 분류되며 이는 식품에서 허용 가능하고 필요한 수준 사용했을 때 발생하는 물질의 총 식이 섭취량이 건강에 해를 끼치지 않는 매우 낮은 독성의 식품 물질을 가리키는 분류이다. GSFA (Codex General Standard for Food Additives)에 따르면, 황산수소나트륨은 Food additives로 Acidity regulator의 목적으로 사용되고 적용할 수 있는 식품의 범위는 유제품, 과일 및 채소류, 쌀, 전분, 가공육 등으로 다양하여 인체에 대한 부작용이 적은 항균 물질에 해당한다.

[0016] 일 구현예에 따르면, 상기 항균용 조성물은 황산수소나트륨(NaHSO_4) 및 카바크롤로 이루어질(consist of) 수 있다.

[0017] 상기 카바크롤(cavacrol)은 페놀의 일종으로서, 오레가노, 백리향, 베르가못 등에 포함된 성분에 해당하며, 천연으로부터 분리 정제하거나, 상업적으로 구입하여 사용하거나 또는 당업계에 공지된 화학적 합성법으로 제조할 수 있다.

[0018] 상기 카바크롤(carvacrol)은 식품첨가물공전에 등재된 물질로서, 섭취하더라도 인체에 무해한 천연 항균 물질에 해당한다. 또한, 카바크롤 오레가노 오일의 주 성분으로서, 미국과 유럽에서 항균작용을 하는 식품 첨가물로 사용된다.

[0019] 일 구현예에 따르면, 상기 식품 항균용 조성물은 유해미생물, 식중독균, 장내세균, 대장균, 바이러스 또는 곰팡이를 항균하는데 사용할 수 있다.

[0020] 예를 들면, 상기 식품 항균용 조성물은 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 대장균 0157:H7(*Escherichia coli* 0157:H7), 리스테리아 모노사이토젠스(*Listeria monocytogenes*), 살모넬라(*Salmonella* spp.), 클로스트리

디움 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*), 및 클로스트리디움(*Clostridium* spp.)으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 균주를 항균하는데 사용할 수 있으나, 이에 한정되지 아니한다.

[0021] 일 구현예에 따르면, 상기 황산수소나트륨의 함량은 발명의 목적에 따라 적절히 조절될 수 있다. 예를 들어, 황산수소나트륨의 함량은 전체 조성물 부피를 기준으로 0.005 내지 0.05 w/v %일 수 있으며, 바람직하게는 0.01 내지 0.04 w/v % 일 수 있다. 상기 기준으로 0.005 w/v % 미만일 경우에는 항균 효과가 떨어질 수 있으며, 0.05 w/v %를 초과하는 경우에는 경제적 이점이 감소할 수 있다.

[0022] 일 구현예에 따르면, 상기 카바크롤의 함량은 발명의 목적에 따라 적절히 조절될 수 있다. 예를 들어, 카바크롤의 함량은 전체 조성물 부피를 기준으로 0.005 내지 0.05 w/v %일 수 있으며, 바람직하게는 0.01 내지 0.03 w/v % 일 수 있다. 상기 기준으로 0.005 w/v % 미만일 경우에는 항균 효과가 떨어질 수 있으며, 0.05 w/v %를 초과하는 경우에는 에센셜 오일 특유의 이취가 발생할 수 있다.

[0023] 다른 측면에 따르면, 상기 항균용 조성물을 항균 대상에 처리하는 단계를 포함하는 항균 방법을 제공된다.

[0024] 일 구현예에 따르면, 상기 항균 대상은 식품 또는 식품 관련 공정 설비일 수 있다.

[0025] 일 구현예에 따르면, 상기 항균용 조성물의 처리는 상온 조건에서 이루어질 수 있다. 예를 들어, 상기 항균용 조성물의 처리는 약 15 내지 37 °C의 조건에서 이루어 질 수 있다.

[0026] 따라서, 상기 항균 방법은 처리 온도가 비교적 낮아 항균 처리 과정이 용이하고 경제적이란 장점을 지닌다.

[0027] 일 구현예에 따르면, 상기 항균용 조성물의 처리는 약 5분 내지 10분 동안 이루어 질 수 있다. 상기 항균용 조성물은 짧은 처리 시간으로도 높은 항균 효과를 나타내므로 항균 처리 과정이 용이하고 경제적이란 장점을 지닌다.

[0028] 또 다른 측면에 따르면, 상기 항균용 조성물을 포함하는 항균제가 제공된다.

[0029] 이하에서, 실시예를 들어, 본 발명의 일 구현예를 따르는 항균용 조성물에 대하여 보다 구체적으로 설명한다.

[0030] [실시예]

[0031] **제조예 1. 항균용 조성물의 항균 효과 검증을 위한 실험 준비**

[0032] **제조예 1-1. 사용균주 및 배양**

[0033] 본 발명에서는 대장균(*Escherichia coli*)의 항원형 0157:H7 3종(ATCC 35150, ATCC 43889, ATCC 43895)을 사용하였고, 각 균주를 튜브에 담긴 2 ml 증균배지 Tryptic Soy Broth (Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)에 30 ul 씩 분주하여 37°C에서 24시간 배양하였으며, 상기 배양한 균을 15 ml 플라스틱 튜브(SPL, 15ml Conical Tube, South Korea)에 모두 혼합하여 원심분리기(LaboGene, Gyrozen 1696R Table-top High-speed Centrifuges, Denmark)를 이용하여 3,000 g에서 15분간 원심분리하여 상등액을 제거한 후, 0.85% 멸균 생리식염수를 이용하여 미생물 펠렛을 2회 세척하고, 다시 동량의 0.85% 멸균 생리식염수를 넣고 교반하여 균액을 제조하였다.

[0034] **제조예 1-2. 황산수소나트륨, 카바크롤 표준용액 준비**

[0035] 황산수소나트륨(sodium bisulfate, NaHSO₄)을 멸균 증류수에 용해하여 1.20, 2.40, 3.60 w/v%의 표준 용액을 제조하였다. 카바크롤을 100% 에탄올에 용해하여 100, 125 mM의 표준 용액을 각각 제조하였다.

[0036] **제조예 1-3. 황산수소나트륨 및 카바크롤 조합처리 방법**

[0037] 멸균튜브에 9.7 ml의 멸균 생리식염수와 황산수소나트륨 표준용액 0.1 ml와 카바크롤 표준용액 0.1 ml를 첨가한 후(총량 = 9.9 ml) 9 내지 10 log CFU/ml 수준의 균액 0.1 ml를 처리액 9.9 ml에 분주(최종 농도: 7 내 8 log CFU/ml)하여 37° C 교반항온수조에서 10분 처리하여 하기 표 1의 실시예 1-1 내지 1-6을 제조하였다.

[0038] **제조예 1-3. 황산수소나트륨 및 카바크롤 단독처리 방법**

[0039] 멸균 튜브에 9.8 ml의 멸균 생리식염수와 황산수소나트륨 표준용액 0.1 ml 또는 카바크롤 표준용액 0.1 ml를 첨가한 후(총량 = 9.9 ml) 9 내지 10 log CFU/ml 수준의 균액 0.1 ml를 처리액 9.9 ml에 분주(최종 농도: 7 내지 8 log CFU/ml)하여 37° C 교반항온수조에서 10분 처리하여 하기 표 1의 비교예 1-1 내지 1-5를 제조하였다.

[0040] 대조군으로는 멸균 튜브에 9.7 ml의 0.85% 멸균 생리식염수와 0.1ml의 멸균 증류수 및 0.1 ml의 에탄올을 첨가

한 후(총량 = 9.9 ml) 9 내지 10 log CFU/ml 수준의 균액 0.1 ml를 처리액 9.9 ml에 분주(최종 농도: 7 내지 8 log CFU/ml)하여 37° C 교반항온수조에서 10분 처리하여 제조하였다.

[0041] 각 실시예 및 비교예들의 처리 용액 내의 최종 농도는 하기 표 1을 따르며, 하기 표 2는 카바크롤의 처리 용액 내 최종 농도를 w/v%로 환산한 결과를 나타낸 것이다.

표 1

구분	조성	처리 용액 내 최종 농도
실시예 1-1	황산수소나트륨(SBS) + 카바크롤 (CV)	SBS 0.012 v/w% + CV 1.0 mM
실시예 1-2		SBS 0.012 v/w% + CV 1.25 mM
실시예 1-3		SBS 0.024 v/w%+ CV 1.0 mM
실시예 1-4		SBS 0.024 v/w%+ CV 1.25 mM
실시예 1-5		SBS 0.036 v/w% + CV 1.0 mM
실시예 1-6		SBS 0.036 v/w% + CV 1.25 mM
비교예 1-1	카바크롤 (CV)	CV 1.0 mM
비교예 1-2		CV 1.25 mM
비교예 1-3	황산수소나트륨(SBS)	SBS 0.012 v/w%
비교예 1-4		SBS 0.024 v/w%
비교예 1-5		SBS 0.036 v/w%
대조군	1 v/v% 에탄올	-

표 2

구분	1.0mM	1.25mM
카바크롤 (CV)	0.0150 w/v%	0.0188 w/v%

[0044] 평가예 1. 항균용 조성물의 항균효과 분석

[0045] 황산수소나트륨과 카바크롤의 항균 상승 효과를 확인하기 위해 상기 실시예 1-1 내지 1-6 및 비교예 1-1 내지 1-5 및 대조군의 최종 처리 용액 1 ml를 취해 10-fold로 Dey-Engley Neutralizing broth에 중화하였다. 이후 TSA에 도말하여 37℃ 배양기에서 24시간 배양하였다. 균수는 TSA에 형성된 콜로니수를 계수하여 산출하였고, 균 농도를 log 값으로 나타내었다. 초기 접종균수를 측정하기 위하여 멸균 0.85% 생리식염수 9.9 ml에 상기의 균액 0.1 ml를 접종하여 같은 실험을 수행하였다. 초기 접종균수(N_0)와 처리 후 균수(N_t)를 토대로 각 조건별 균의 저감화값 (N_0/N_t)을 산출하였다. 각각의 살균 효과는 IBM SPSS Statistics 26의 일원배치 분산분석을 이용하여 동질 집단을 분석하였으며, 유의수준 0.05에서 Tukey's HSD test를 이용하였으며, 그 결과를 도 1 및 표 3에 나타내었다.

표 3

구분	조성	Log 저감화도 값 (log CFU/mL)
실시예 1-1	SBS 0.012 v/w% + CV 1.0 mM	3.0431
실시예 1-2	SBS 0.012 v/w% + CV 1.25 mM	3.6457
실시예 1-3	SBS 0.024 v/w%+ CV 1.0 mM	4.152
실시예 1-4	SBS 0.024 v/w%+ CV 1.25 mM	6.3371
실시예 1-5	SBS 0.036 v/w% + CV 1.0 mM	4.7496
실시예 1-6	SBS 0.036 v/w% + CV 1.25 mM	6.7146
비교예 1-1	CV 1.0 mM	0
비교예 1-2	CV 1.25 mM	0.5252
비교예 1-3	SBS 0.012 v/w%	0
비교예 1-4	SBS 0.024 v/w%	0.01
비교예 1-5	SBS 0.036 v/w%	0.2175
대조군	-	0.13

[0047] 그 결과, 도 1 및 표 3에서 나타난 바와 같이, 카바크롤 및 황산수소나트륨을 단독 처리하였을 때는 모든 농도

범위에서 1 log CFU/mL 초과인 *E. coli* O157:H7에 대한 항균 효과가 보이지 않았으며, 카바크롤과 황산수소나트륨의 조합처리한 경우 *E. coli* O157:H7에 대한 항균 효과가 3 log CFU/mL 이상의 수준으로 현저히 증대되는 것을 확인하였다. 특히, 카바크롤 1.25 mM과 황산수소나트륨 0.024 v/w% 또는 0.036 v/w%를 조합 처리한 경우, 6 log CFU/mL 이상의 항균 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 더불어, 카바크롤과 황산수소나트륨의 조합처리한 항균용 조성물은 산취가 발생하지 않음을 확인하였다.

[0048] 결론적으로, 전술한 실시예에 따르면, 본원의 항균용 조성물은 황산수소나트륨 및 카바크롤을 단독 처리시 저감화율을 더한 값보다 조합처리시 저감화율이 현저하게 높으므로, 둘 이상의 항균 물질을 조합하였을 때 높은 항균력을 나타내는 항균 상승 효과를 가짐을 알 수 있다. 또한, 처리 시간이 역시 10분으로 짧으며 처리 온도가 처리 온도가 37℃로 비교적 낮고, 별도의 장비나 심화된 기술을 요구하지 않아 처리 과정이 용이하며, 천연 항균 물질인 카바크롤을 사용하여 인체에 무해하면서도 황산수소나트륨과의 조합으로 인한 항균 상승 효과를 통하여 낮은 농도의 항균용 조성물만으로도 항균 효과를 극대화시킬 수 있어, 가격 경쟁력 측면에서도 우위를 가질 수 있다. 또한, 유기산을 포함하는 항균용 조성물과 달리 산취가 발생하지 않는다는 점 역시 확인하였다.

[0049] 그러므로, 본원은 인체에 대한 부작용이 적고, 처리 과정이 용이하고, 산취가 발생하지 않아 넓은 범위의 식품 또는 식품 관련 공정 설비에도 사용될 수 있는 높은 항균 효과를 가지는 항균용 조성물, 항균제 및 항균 방법을 제시한다.

[0050] 이상에서는 실시예를 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 구현예가 설명되었으나, 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 타 구현예가 가능하다는 점을 이해할 수 있을 것이다. 따라서, 본 발명의 보호범위는 첨부된 특허청구범위에 의해서 정해져야 할 것이다.

도면
도면1

