(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0015168
(43) 공개일자 2020년02월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 65/24 (2009.01) *A01N 65/22* (2009.01)
A01N 65/42 (2009.01) *A01N 65/44* (2009.01)
A23L 3/3463 (2017.01) *B65D 81/28* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A01N 65/24 (2013.01)
A01N 65/22 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0090618
(22) 출원일자 2018년08월03일
심사청구일자 2018년08월03일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
류지훈
서울특별시 용산구 이촌동 동부센트레빌아파트 102동 2502호
지혜근
경기도 용인시 기흥구 새천년로 27 녹원마을새천년그린빌2단지아파트 202동 802호
(74) 대리인
특허법인다나

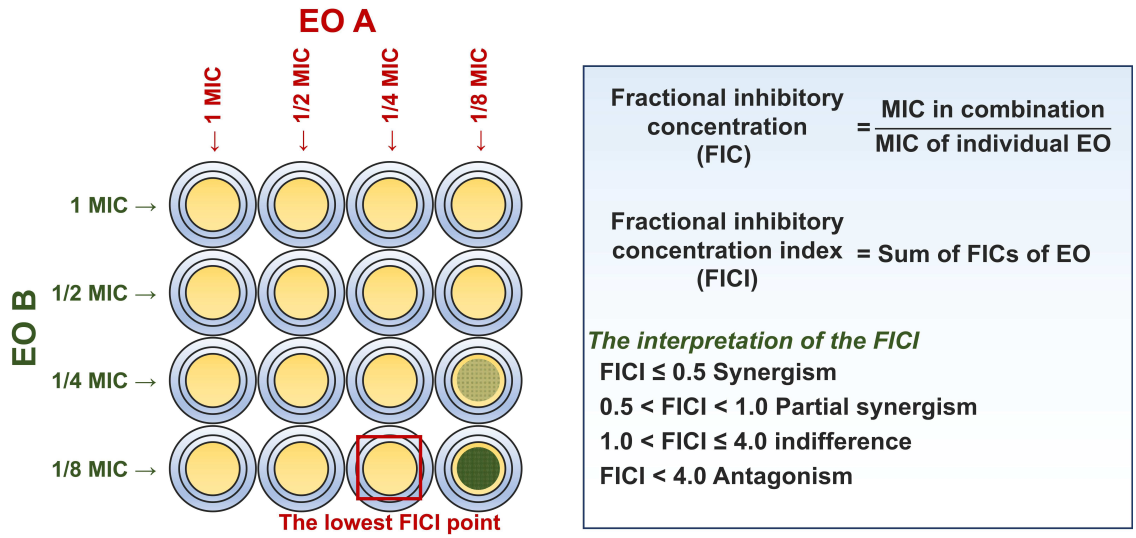
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **내건성 곰팡이 제어를 위한 항진균 천연 정유 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 천연 정유를 포함하는 항진균 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따른 조성물은 내건성 곰팡이의 생육을 효과적으로 저해시킬 수 있을 뿐만 아니라 개별적으로 사용되는 정유의 양을 최소화함으로써 식품에 적용될 경우 식품의 관능적 특성 변화를 최소화할 수 있으며, 개별적인 정유의 사용량 감소로 인한 비용 절감의 효과도 함께 얻을 수 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A01N 65/42 (2013.01)
A01N 65/44 (2013.01)
A23L 3/34635 (2013.01)
B65D 81/28 (2013.01)
A01N 2300/00 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 316011-05-3-HD060
부처명 농림수산식품기술기획평가원
연구관리전문기관 농림축산식품부
연구사업명 수출전략기술개발사업
연구과제명 건전활력종자 생산을 위한 종자소독처리 기술개발
기 여 율 50/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 316032053WT081
부처명 농림수산식품기술기획평가원
연구관리전문기관 농림수산식품기술기획평가원
연구사업명 농생명산업기술개발사업
연구과제명 유기제품의 유통기한 연장을 위한 천연물 유래 항균물질의 조합 처리 기술 개발
기 여 율 50/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2018.01.01 ~ 2018.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

시나몬 껍질(Cinnamon bark), 시트로넬라(Citronella), 메이 창(May chang), 갈릭(Garlic), 타임 리나룰(Thyme linalool), 오레가노(Oregano), 타임 티몰(Thyme thymol) 및 스피아민트(Spearmint)로 이루어진 군에서 선택된 2종 이상의 정유를 유효성분으로 포함하는 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)에 대한 항진균 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

시나몬 껍질 정유; 및

시트로넬라, 오레가노, 메이 창, 타임 리나룰 및 갈릭으로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

시트로넬라 정유; 및

갈릭, 메이 창, 오레가노, 타임 티몰, 스피아민트 및 타임 리나룰로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

메이 창 정유; 및

갈릭, 오레가노 및 타임 리나룰로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

갈릭 정유; 및

타임 리나룰, 타임 티몰, 오레가노 및 스피아민트로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

스피아민트 정유; 및

오레가노 또는 타임 리나룰 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

타임 리나룰 정유 및 타임 티몰 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 8

제2항에 있어서,

상기 유효성분은 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유를 포함하는 항진균 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 유효성분은 2종의 정유가 1:0.01 내지 1:32의 농도비로 포함되는 항진균 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서,

시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서,

시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유는 1:0.5:0.5 내지 1:4:4의 농도비로 포함되는 것인 항진균 조성물.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 항진균 조성물을 포함하는 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)에 대한 항진균 식품 포장재.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 항진균 조성물을 식품 포장재에 도포 또는 코팅하는 단계를 포함하는, 식품에서 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)의 생육을 예방 또는 억제하기 위한 식품 포장 방법.

청구항 14

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 항진균 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는, 식품에서 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)의 생육을 예방 또는 억제하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서,

상기 식품은 저수분 식품 또는 중간수분 식품인 식품에서 페니실리움 코릴로필룸 또는 유로티움 레펜스의 생육을 예방 또는 억제하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 내건성 곰팡이에 항진균 활성을 나타내는 천연 정유 조성물, 이를 포함하는 식품 포장재, 식품 포장 방법 및 내건성 곰팡이의 생육을 예방 또는 억제하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 및 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)와 같은 내건성 곰팡이는 미생물학적으로 비교적 안전하다고 여겨지는 중간수분 식품(intermediate-moisture food: a_w(수분활성도, Water Activity) 0.60-0.85인 식품)에서도 부패를 일으키는 것으로 알려져 있다(비특허문헌 1 내지 3). *P. corylophilum*은 식품 부패를 일으킬 수 있을 뿐만 아니라, 대사 과정의 2차 생산물로서 시트리닌(citrinin)과,

곰팡이독소를 생성한다는 연구 결과도 보고되었다(비특허문헌 4). 또한, 페니실리움 종과 유로티움 종은 환경에 흔히 존재한다고 알려져 있어 식품으로의 교차 오염이 쉽게 일어날 수 있다.

[0003] 내건성 곰팡이는 일반적으로 건조 환경뿐만 아니라 낮은 pH, 삼투압, 열 그리고 높은 염 농도 등의 다양한 외부 스트레스에 대한 내성이 강하기 때문에 식품 중에 생존하여 식품의 품질 저하와 이를 섭취한 사람에게서 식중독을 유발할 수 있다. 이러한 내건성 곰팡이의 생육을 제어하기 위해 식품에 첨가 가능한 에탄올 등을 식품 표면에 분무 처리하거나 합성 화학 보존료를 첨가하는 방법 등이 시도되어 왔지만 유의미한 효과를 거두고 있지 못하는 실정이다.

[0004] 최근 소비자들의 건강지향적 요구가 증가되면서, 항균제제로 화학적 합성물질이 아닌 정유(Essential Oil)와 같은 천연 항균제제를 선호하는 경향이 증가하고 있다. 정유는 식물로부터 추출하여 얻어진 휘발성이 강한 액체로, 다양한 미생물에 항균 활성을 가지는 것으로 알려져 있다. 이러한 미생물에 대한 항균 활성을 갖는 정유는 액체상태 또는 기체상태로 사용될 수 있다. 정유는 식품의 항균 포장재제로 이용될 수 있으며, 식품 표면이나 식품 접촉 표면의 틈새에 오염되어 있는 미생물에 대한 침투성이 높은 장점이 있어, 식품 포장산업에서 천연 정유를 이용한 위해 미생물의 살균기술에 대한 관심이 증가하고 있다. 하지만, 천연 정유를 식품에 적용하는 것에 있어서 가장 큰 제한 사항은 천연 정유가 일반적으로 강한 향미를 가지고 있어 식품에 사용될 경우 식품의 관능적 특성 및 물성에 영향을 줄 가능성이 높다는 것이다. 또한, 한 종류의 정유를 단독으로 사용할 경우 항균 효과를 보이기 위해서는 많은 양이 필요하기 때문에 비용이 많이 든다는 단점이 있다.

[0005] 따라서, 내건성 곰팡이를 제어하기 위하여 식품에 천연 정유를 처리하기 위해서는 식품에 처리하는 정유의 양, 또는 처리 후 식품에 잔류하는 정유의 양을 최소화할 수 있는 방법이 필요하다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0006] (비특허문헌 0001) Leistner, L., 1992. Food preservation by combined methods. Food Research International, 25(2), 151-158.

(비특허문헌 0002) Suhr, K. I., & Nielsen, P. V., 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal of Applied Microbiology, 94(4), 665-674.

(비특허문헌 0003) Pitt, J. I., & Hocking, A. D., 2009. The ecology of fungal food spoilage. In Fungi and food spoilage (pp. 3-9). Springer, Boston, MA.

(비특허문헌 0004) Dos Santos, C. M. C., Costa, G. L. D., & Figueroa-Villar, J. D., 2012. Identification of citrinin as the defence metabolite of Penicillium corylophilum stressed with the antagonist fungus Beauveria bassiana. Nat. Prod. Res. 26, 2316-2322.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명의 목적은 내건성 곰팡이에 대한 정유들의 항진균 효과는 유지하되, 개별적인 정유의 사용량을 감소시켜 식품의 관능적 특성에 대한 변화와 비용을 최소화할 수 있는 항진균 조성물을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명자들은 내건성 곰팡이에 대해 항진균 활성을 나타내는 정유 조성물에 대하여 천연물을 대상으로 연구를 진행하던 중 항균 시너지를 일으키는 천연 정유의 조합 및 그 비율을 탐색하여 항균 시너지를 극대화할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[0009] 본 발명은 천연 정유를 유효성분으로 포함하는 내건성 곰팡이에 대한 항진균 조성물, 상기 항진균 조성물을 포함하는 식품 포장재, 상기 항진균 조성물을 식품 포장재에 첨가하는 단계를 포함하는 식품에서 내건성 곰팡이의 생육을 예방 또는 억제하기 위한 식품 포장 방법, 상기 항진균 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는 식품

에서 내건성 곰팡이의 생육을 예방 또는 억제하는 방법을 제공한다.

[0010] 하기 실시예에서는, 천연 정유를 조합하여 그 비율에 따른 조성물의 내건성 곰팡이에 대한 항진균 활성을 확인하였으며, 천연 정유의 조합에 의한 항진균 시너지로부터 개별적으로 사용되는 정유의 양을 최소화할 수 있음을 확인하였다. 따라서, 일정 비율로 조합된 천연 정유는 내건성 곰팡이에 대한 항진균 조성물의 유효성분으로서 사용될 수 있다.

[0012] 이하, 본 발명의 구성을 상세히 설명한다.

[0013] 본 발명은 시나몬 껍질(Cinnamon bark), 시트로넬라(Citronella), 메이 창(May chang), 갈릭(Garlic), 타임 리나룰(Thyme linalool), 오레가노(Oregano), 타임 티몰(Thyme thymol) 및 스피아민트(Spearmint)로 이루어진 군으로부터 선택된 2종 이상의 정유를 유효성분으로 포함하는 내건성 곰팡이에 대한 항진균 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명에 있어서, “정유”란 시나몬 껍질, 시트로넬라, 메이 창, 갈릭, 타임 리나룰, 오레가노, 타임 티몰 또는 스피아민트로부터 향기 성분을 응축하여 얻은 오일상의 추출물을 말한다. 상기 정유의 제조에는 수증기 증류법, 휘발성 용제(벤젠, 헥산 등)를 이용한 용제 추출법, 침출법(추출 대상에 상처를 내어 침출 수액을 수집하는 방법), 압착법, 초임계 추출법 등을 이용할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니며 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 또한, 상기 정유는 시판되는 제품을 이용할 수 있다. 상기 정유는 액체 또는 기체로서 적용될 수 있다.

[0015] 한 구체예에서, 상기 정유는 기체 상태로 적용될 수 있다.

[0016] 본 발명에 있어서, 상기 항진균 정유 조성물은 내건성 곰팡이에 대한 항진균 활성을 나타낸다.

[0017] 본 발명에 있어서, 내건성 곰팡이는 비교적 건조한 조건에서도 증식할 수 있는 곰팡이를 의미하며, 0.60-0.85의 수분활성도(Water Activity)에서도 생육이 가능한 곰팡이를 말한다.

[0018] 한 구체예에서, 상기 내건성 곰팡이는 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)일 수 있다.

[0019] 상기 페니실리움 코릴로필룸과 유로티움 레펜스는 각각 푸름 곰팡이와 좁쌀 곰팡이에 속하는 진균으로, 저수분 식품이나 중간수분 식품에서 식품부패를 일으킬 수 있다. 또한 페니실리움 코릴로필룸은 곰팡이 독소를 생성하여 이를 섭취한 사람에게 식중독을 유발할 수 있다.

[0020] 따라서, 본 발명에 따른 조성물은 상기 진균의 생육을 억제함으로써 식품의 품질 저하와 식중독을 예방할 수 있다.

[0021] 본 발명에 있어서, 항진균 조성물은 시나몬 껍질, 시트로넬라, 메이 창, 갈릭, 타임 리나룰, 오레가노, 타임 티몰 및 스피아민트로 이루어진 군에서 선택된 2종 이상의 정유를 조합하여 포함하는 것일 수 있다.

[0022] 본 발명에 있어서, 상기 조성물의 정유는 2종의 정유가 1:0.1 내지 1:32의 농도비로 조합되는 것을 포함할 수 있다. 예컨대, 정유 A와 정유 B는 1:0.1 내지 1:32의 농도비, 1:0.25 내지 1:16, 1:0.25 내지 1:8, 1:0.5 내지 1:16, 1:0.5 내지 1:8, 1:0.5 내지 1:4, 1:1 내지 1:3, 1:2 내지 1:4, 1:2 내지 1:16, 1:4 내지 1:8의 농도비로 포함되어 조합되는 것일 수 있다.

[0023] 한 구체예에서, 본 발명은 시나몬 껍질 정유; 및

[0024] 시트로넬라, 오레가노, 메이 창, 타임 리나룰 및 갈릭으로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물일 수 있다.

[0025] 상기 조합에 있어서, 시나몬 껍질 정유; 및 시트로넬라, 오레가노, 메이 창, 타임 리나룰 및 갈릭으로 이루어진 군에서 선택된 정유는 1:0.01 내지 1:32의 농도비로 조합되는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 조합 정유는 1:0.05 내지 1:25, 1:0.0625 내지 1:20, 1:0.25 내지 1:16의 농도비로 포함되는 것일 수 있다.

[0026] 다른 구체예에서, 본 발명은 시트로넬라 정유; 및

[0027] 갈릭, 메이 창, 오레가노, 타임 티몰, 스피아민트 및 타임 리나룰로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물일 수 있다.

[0028] 상기 조합에 있어서, 시트로넬라 정유; 및 갈릭, 메이 창, 오레가노, 타임 티몰, 스피아민트 및 타임 리나룰로

이루어진 군에서 선택된 정유는 1:0.01 내지 1:32의 농도비로 조합되는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 조합 정유는 1:0.05 내지 1:16, 1:0.1 내지 1:8, 1:0.125 내지 1:1의 농도비로 포함되는 것일 수 있다.

[0029] 다른 구체예에서, 본 발명은 메이 창 정유; 및

[0030] 갈릭, 오레가노 및 타임 리나룰로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물일 수 있다.

[0031] 상기 조합에 있어서, 메이 창 정유; 및 갈릭, 오레가노 및 타임 리나룰로 이루어진 군에서 선택된 정유는 1:0.01 내지 1:32의 농도비로 조합되는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 조합 정유는 1:0.05 내지 1:16, 1:0.1 내지 1:8, 1:0.5 내지 1:1의 농도비로 포함되는 것일 수 있다.

[0032] 다른 구체예에서, 본 발명은 갈릭 정유; 및

[0033] 타임 리나룰, 타임 티몰, 오레가노 및 스피아민트로 이루어진 군에서 선택된 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물일 수 있다.

[0034] 상기 조합에 있어서, 갈릭 정유; 및 타임 리나룰, 타임 티몰, 오레가노 및 스피아민트로 이루어진 군에서 선택된 정유는 1:0.01 내지 1:32의 농도비로 조합되는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 조합 정유는 1:0.05 내지 1:20, 1:0.1 내지 1:16, 1:2 내지 1:8의 농도비로 포함되는 것일 수 있다.

[0035] 다른 구체예에서, 본 발명은 스피아민트 정유; 및

[0036] 오레가노 또는 타임 리나룰 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물일 수 있다.

[0037] 상기 조합에 있어서, 스피아민트 정유; 및 오레가노 또는 타임 리나룰 정유는 1:0.01 내지 1:32의 농도비로 조합되는 것일 수 있다. 예컨대, 상기 조합 정유는 1:0.05 내지 1:16, 1:0.1 내지 1:8, 1:0.25 내지 1:2의 농도비로 포함되는 것일 수 있다.

[0038] 다른 구체예에서, 본 발명은 타임 리나룰 정유 및 타임 티몰 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물일 수 있다.

[0039] 상기 조합에 있어서, 타임 리나룰 정유와 타임 티몰 정유는 1:0.01 내지 1:8, 예컨대 1:0.05 내지 1:4, 1:0.1 내지 1:2, 1:0.5 내지 1:1의 농도비로 조합되는 것일 수 있다.

[0040] 하기 실시예에서는, 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유의 조합에서 페니실리움 코릴로필룸에 대해 항진균 시너지 효과가 나타남을 확인하였다. 이에, 상기 조합을 기반으로 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유와 각각 부분 시너지 효과를 나타낸 메이 창 정유를 추가로 조합하여 항진균 효과를 확인한 결과, 상기 세 가지 정유의 조합에서 페니실리움 코릴로필룸에 대해 항진균 시너지 효과가 나타남을 확인하였다.

[0041] 이에, 본 발명은 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유를 유효성분으로 포함하는 항진균 조성물을 포함할 수 있다.

[0042] 상기 조합에 있어서, 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유는 1:0.5:0.5 내지 1:4:4의 농도비, 예컨대 1:1:1 내지 1:2:2, 1:2:1 내지 1:2:2의 농도비로 조합될 수 있다.

[0043] 또한, 하기 실시예에 따르면, 시나몬 껍질, 시트로넬라, 갈릭, 메이 창, 타임 티몰, 스피아민트, 타임 리나룰 및 오레가노로 이루어진 군에서 선택된 2종의 정유를 조합하여 식품에 처리한 결과, 유로티움 레펜스에 대해 항진균 부분 시너지 효과가 있음을 확인하였다.

[0044] 본 발명에 있어서, 상기 정유의 조성물 총 중량에 대한 함량은 조합되는 정유의 농도, 본 발명의 조성물이 적용되는 대상체에 따라 변할 수 있다.

[0045] 한편, 본 명세서에서 용어 '유효성분으로 포함하는'이란 정유의 상기와 같은 항균 효능 또는 활성을 달성하는데 충분한 양을 포함하는 것을 의미한다. 본 발명에 있어서, 정유는 0.0001 ㎕/mL 이상, 예컨대 0.001 ㎕/mL 이상, 0.004 ㎕/mL 이상 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0046] 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명의 조성물 내에서 조합되는 정유는 예를 들어, 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유가 조합되는 경우, 시나몬 껍질 정유는 0.0001 ㎕/mL 이상, 바람직하게는 0.001 ㎕/mL 이상, 보다 바람직하게는 0.0015 ㎕/mL 이상이 포함되고, 시트로넬라 정유는 0.0001 ㎕/mL 이상, 바람직하게는 0.001 ㎕/mL 이상, 보다 바람직하게는 0.0015 ㎕/mL 이상이 포함된다.

[0047] 본 발명의 다른 구체예에서, 상기 조합에 메이 창 정유가 추가로 조합되는 경우, 메이 창 정유는 0.0001 ㎕/mL 이상, 바람직하게는 0.001 ㎕/mL 이상, 보다 바람직하게는 0.0015 ㎕/mL 이상이 포함될 수 있다.

[0048] 상기 정유는 천연물로서 과량 투여하여도 인체에 부작용이 없으므로 본 발명의 조성물 내에 포함되는 정유의 양적 상한은 당업자가 적절한 범위 내에서 선택하여 실시할 수 있다.

[0050] 또한, 본 발명은 상기 항진균 조성물을 포함하는 내건성 곰팡이의 생육을 저해하기 위한 항진균 식품 포장재를 제공한다. 한 구체예에서, 상기 내건성 곰팡이는 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)일 수 있다.

[0051] 본 발명에 따르면, 상기 식품 포장재를 사용할 경우 종래에 식품 포장재에 사용되었던 정유의 양보다 사용되는 정유의 양이 최소화되어 식품에 미치는 관능적 영향이 최소화될 뿐만 아니라 비용 절감의 효과도 함께 얻을 수 있다.

[0053] 또한, 본 발명은 상기 항진균 조성물을 식품 포장재에 도포 또는 코팅하는 단계를 포함하는, 식품에서 내건성 곰팡이의 생육을 억제하기 위한 식품 포장 방법을 제공한다.

[0054] 본 발명에 있어서, 상기 항진균 조성물을 식품 포장재에 도포 또는 코팅하는 단계는, 시나몬 껍질(Cinnamon bark), 시트로넬라(Citronella), 메이 창(May chang), 갈릭(Garlic), 타임 리나룰(Thyme linalool), 오레가노(Oregano), 타임 티몰(Thyme thymol) 및 스피아민트(Spearmint)로 이루어진 군에서 선택된 2종 이상의 정유를 조합하여 항진균 조성물을 제조하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0055] 상기 방법에서 구체적인 정유의 조합 및 항진균 조성물은 앞서 설명한 내용을 동등하게 적용 또는 준용할 수 있다.

[0057] 또한, 본 발명은 상기 항진균 조성물을 식품에 처리하는 단계를 포함하는, 식품에서의 내건성 곰팡이의 생육을 예방하는 방법을 제공한다.

[0058] 본 발명에 있어서, 상기 내건성 곰팡이는 페니실리움 코릴로필룸(*Penicillium corylophilum*) 또는 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)일 수 있다.

[0059] 본 발명에 있어서, 상기 식품은 저수분 식품(low water activity food) 또는 중간수분 식품(intermediate-moisture food)일 수 있다. 상기 저수분 식품 및 중간수분 식품은 자연발생적, 또는 건조 또는 탈수 공정에 의해 약 1 내지 20%의 수분 함량도를 갖는 식품을 의미한다. 상기 저수분 식품 및 중간수분 식품에 속하는 식품군으로는 곡류(통곡 및 정곡), 양념, 향신료, 건조 허브, 분말식품, 커피, 빵류, 과자류, 건조 과실류, 건야채, 씨앗 또는 육포일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 본 명세서에서, '수분활성도(water activity)'는 임의의 온도에서 식품 중의 수분이 나타내는 수증기압(Ps)에 대한 순수한 물의 수증기압(Po)의 비(Ps/Po)로, 미생물의 생장, 식품의 풍미, 색, 향을 변화시키는 식품 내 화학적, 생물학적, 물리적 반응들과 관련이 있다.

[0061] 상기 저수분 식품 및 중간수분 식품은 일반적으로 0.60 내지 0.85의 수분 활성도를 갖는다.

[0062] 본 발명에 있어서, 상기 항진균 조성물을 식품에 처리하는 단계는 식품에 상기 조성물을 분무하는 단계일 수 있다.

발명의 효과

[0063] 본 발명의 항진균 조성물은 내건성 곰팡이의 생육을 효과적으로 저해시킬 수 있을 뿐만 아니라, 정유를 조합함으로써 얻을 수 있는 항진균 시너지로 인해 개별적으로 사용되는 정유의 양을 최소화함으로써 식품에 적용될 경우 식품의 관능적 특성 변화를 최소화할 수 있으며, 개별적인 정유의 사용량 감소로 인한 비용 절감의 효과도 함께 얻을 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0064] 도 1은 *P. corylophilum*에 대한 정유 기체의 최소저해농도(MIC)를 측정하는 방법을 도식화한 것이다.

도 2는 *P. corylophilum*에 대한 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유의 checkerboard assay 방법을 도식화한 것이다.

도 3은 육포에 접종된 *P. corylophilum*에 대한 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유의 조합의 항균력을 확인하기 위한 밀폐용기의 모식도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0065] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0067] **[실시예 1] 페니실리움 코릴로필룸(*P. corylophilum*)에 대한 천연 정유 기체의 최소저해농도의 결정**

[0068] *P. corylophilum*에 대한 천연 정유의 최소저해농도(minimal inhibitory concentration, MIC)를 결정하기 위해, 기체의 항균력 측정장치 및 기체의 항균력 측정방법(한국 등록특허 제10-1406387호)을 사용하였다.

[0069] 먼저, *P. corylophilum*의 포자 추출액을 제조하기 위해, *P. corylophilum*을 배양한 Dichloran 18% Glycerol agar(DG18) 한천배지에 10 mL의 0.1% peptone water with 30% glycerol(0.1% PW30G)을 분주하고, 스프레더를 이용하여 진균을 배양한 배지 위의 집락을 분리시킨 후, 멸균된 거즈를 이용하여 *P. corylophilum*의 집락과 0.1% PW30G가 혼합된 현탁액을 여과하였다. 현탁액의 포자 수는 Neubauer counting chamber(hemocytometer)와 현미경을 이용하여 계수하였다. 상기 포자 현탁액은 0.1% PW30G를 이용하여 10^5 또는 10^6 spores/mL의 농도로 희석한 후, 희석된 포자 현탁액을 5 mL씩 혼합하여 실험에 사용할 10 mL의 *P. corylophilum* 포자 추출액을 준비하였다.

[0070] DG18을 제조하여 고압 멸균시켰다. 액상의 상기 배지를 항균력 측정장치의 상부 용기에 0.35 mL씩 넣고 굳힌 후, *P. corylophilum* 포자 추출액(ca. 10^6 spores/mL) 10 ㎕를 분주하여 미생물이 배지에 흡착되도록 laminal flow biosafety hood (22±2℃)에서 30분간 유지하였다. 천연 정유는 디메틸 설폭사이드(dimethyl sulfoxide, DMSO)를 이용하여 단계별로 이진 희석하였다. 천연 정유 희석액을 paper disc(Advantec Toyo Kaisha. Ltd., Tokyo, Japan)가 들어있는 항균력 측정장치의 하부 용기에 10 ㎕씩 분주한 후, 상부 용기와 하부 용기를 빠르게 결합하여 밀봉시켜 주었다. 밀봉된 용기들은 25℃ 배양기에서 120시간 동안 배양한 후, 배지 위의 집락 형성 유무를 육안으로 관찰하여 집락이 형성되지 않은 정유 기체의 최소 농도를 최소저해농도(MIC)로 설정하였다. 도 1은 *P. corylophilum*에 대한 천연 정유 기체의 MIC를 측정하는 방법을 나타낸 것이며, 그 측정 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1

[0071]

정유			최소저해농도(Minimal inhibitory concentration (㎕/ml))
학명(Scientific name)	속명(Common name)	이용부위	
Allium sativum	갈릭(Garlic)	뿌리(Root)	0.0390
Cinnamomum zeylanicum	시나몬 껍질(Cinnamon bark)	껍질(Bark)	0.1563
Litsea cubeba	메이창(May chang)	열매(Fruit)	0.1563
Cymbopogon nardus	시트로넬라(Citronella)	줄기(Grass)	0.3125
Thymus zygis CT thymol	타임 티몰(Thyme thymol)	잎(Leaf)	0.3125
Origanum vulgare	오레가노(Oregano)	잎(Leaf)	0.6250
Mentha spicate	스피어민트(Spearmint)	허브 꽃(Flowering herb)	0.6250
Thymus zygis CT linalool	타임 리나룰(Thyme linalool)	꽃(Flower)	0.6250

[0072] 표 1에서 보는 바와 같이, 갈릭, 시나몬 껍질, 메이 창, 시트로넬라, 타임 티몰, 오레가노, 스피어민트 및 타임 리나룰 정유 모두 0.6250 ㎕/mL 이하의 낮은 최소저해농도(MIC)를 보이는 것을 통해 *P. corylophilum*에 대한 항진균 효과가 우수함을 확인하였다.

[0074] **[실시예 2] 시나몬 껍질 정유 기체와 시트로넬라 정유 기체 조합물의 항진균 시너지 확인**

[0075] 현재, 천연 정유를 조합하여 항균 시너지를 확인하기 위한 실험 방법은 표준화되어 있지 않으므로, 액체 상의 항균 물질을 조합하여 항균 시너지를 확인하는 방법인 checkboard assay를 응용하여 사용하였다.

[0076] 항균력 측정장치(vial type)를 4행 × 4열로 나열하였다. 항균력 측정장치의 상부 용기에 0.35 mL의 DG18 agar (실시예 1 참조)를 넣고 30분간 굳힌 후, *P. corylophilum* 포자 추출액 (10^6 spores/mL) 10 ㎕를 분주하여 미생물이 배지에 흡착되도록 laminar flow biosafety hood(22±2℃)에서 30분간 유지시켜 주었다. 항균력 측정장치의 하부 용기에 반으로 나누어진 8 mm 지름의 paper disc (Advantec Toyo Kaisha. Ltd., Tokyo, Japan)를 넣어 주었다. 액상의 정유 기체들은 DMSO를 이용하여 정유 기체의 최소저해농도(MIC)의 1/8 농도가 될 때까지 순차적으로 이진 희석하였다. 16 바이알의 가로 방향(4 바이알)에 MIC 농도부터 1/8 MIC 농도까지 이진 희석한 2.5 ㎕의 정유 A를 분주하였고, 세로 방향(4 바이알)에 MIC 농도부터 1/8 MIC 농도까지 이진 희석한 2.5 ㎕의 정유 B를 분주하였다. 분주한 직후, 상부 용기와 하부 용기를 빠르게 결합하여 밀봉시켰다. 밀봉된 용기들은 25℃ 배양기에서 120시간 동안 배양한 후, 배지 위의 집락 형성 유무를 육안으로 관찰하였다. *P. corylophilum*의 집락이 형성되지 않은 경우, 부분 억제 농도(fractional inhibitory concentration, FIC), 그리고 부분 억제 농도 지수(fractional inhibitory concentration index, FICI)를 계산하여 항진균 시너지 효과의 발생 여부를 확인하였다. 이때, FICI가 0.5보다 작거나 같으면 시너지 효과(synergistic effect), 0.5와 1 사이면 부분 시너지 효과(partial synergistic effect), 1과 4 사이면 무관함(indifferent), 4 이상이면 상쇄 효과(antagonistic effect)가 있는 것으로 판단하였다. 상기 측정법을 도 2에, 그 측정 결과를 표 2에 나타내었다.

[0077] [수학식]

[0078]

$$\blacktriangle \text{ 정유 기체의 FIC} = \frac{\text{조합물에서 정유기체의 MIC}}{\text{단일 정유 기체의 MIC}}$$

$$\blacktriangle \text{ FIC Index} = \text{정유 기체의 FIC들의 합}$$

표 2

[0079]

정유 A	정유 B	정유 농도 (㎕/mL)			FIC		FICI	결과
		정유 A	정유 B	총 정유	정유 A	정유 B		
시나몬 껍질(Cinnamon bark)	**시트로넬라(Citronella)**	**0.0390**	**0.0781**	**0.1171**	**0.2500**	**0.2500**	**0.5000**	**시너지 효과**
갈릭(Garlic)	시트로넬라(Citronella)	0.0195	0.0390	0.0585	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	타임 리나룰(Thyme linalool)	0.0195	0.0781	0.0976	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과

메이창(May chang)	시나몬 껍질(Cinnamon bark)	0.0195	0.0781	0.0976	0.1250	0.5000	0.6250	부분 시너지 효과
메이창(May chang)	시트로넬라(Citronella)	0.0195	0.1563	0.1758	0.1250	0.5000	0.6250	부분 시너지 효과
시트로넬라(Citronella)	오레가노(Oregano)	0.1563	0.0781	0.2344	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과
시나몬 껍질(Cinnamon bark)	오레가노(Oregano)	0.0195	0.3125	0.3320	0.1250	0.5000	0.6250	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	타임 티몰(Thyme thymol)	0.0195	0.0390	0.0585	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	메이창(May chang)	0.0195	0.0390	0.0585	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	오레가노(Oregano)	0.0195	0.1563	0.1758	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
메이창(May chang)	오레가노(Oregano)	0.0781	0.1563	0.2344	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	스피어민트(Spearmint)	0.0195	0.1563	0.1758	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
시트로넬라(Citronella)	타임 티몰(Thyme thymol)	0.1563	0.0390	0.1953	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
시트로넬라(Citronella)	스피어민트(Spearmint)	0.1563	0.1563	0.3125	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
시트로넬라(Citronella)	타임 리나룰(Thyme linalool)	0.1563	0.1563	0.3125	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
타임 리나룰(Thyme linalool)	스피어민트(Spearmint)	0.3125	0.1563	0.4688	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과

[0080] 표 2에서 보는 바와 같이, *P. corylophilum*에 대한 정유 기체들의 다양한 조합 처리 실험군에서 시너지 또는 부분 시너지 효과를 확인할 수 있었다. 그 중에서도 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유를 1:2의 농도비로 조합하여 처리하는 경우, 각각의 정유를 단독으로 처리한 경우보다 적은 양으로 *P. corylophilum*의 생육을 억제할 수 있음을 알 수 있었다. 상기 조합 처리군에서 FICI 값이 0.5000을 나타내는 것으로 보아, 두 정유 기체의 조합이 *P. corylophilum*에 대한 항진균 시너지 효과가 있음을 확인하였다.

[0082] **[실시예 3] 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유의 조합물의 항균 시너지 효과 확인**

[0083] 상기 실시예 2에서 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유의 조합에서 *P. corylophilum*에 대한 항진균 시너지 효과를 확인하였다. 이에, 시나몬 껍질 정유 및 시트로넬라 정유와 각각 조합 처리하였을 때 공통적으로 부분 시너지 효과(FICI=0.6250)를 나타낸 메이 창 정유 기체를 추가로 조합하여 실험을 진행하였다.

[0084] 항균력 측정장치(64 바이알)를 4행 × 4열 × 4세트로 나열하였다. 항균력 측정장치의 상부 용기에 0.35 mL의 DG18 agar를 넣고 30분간 굳힌 후, *P. corylophilum* 포자 추출액(10^6 spores/mL) 10 ㎕를 분주하여 미생물이 배지에 흡착되도록 laminal flow biosafety hood(22±2℃)에서 30분간 유지하였다. 항균력 측정장치의 하부 용기에 8 mm 지름의 paper disc(Advantec Toyo Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)를 넣어 주었다. 액상의 정유 기체들은 DMSO를 이용하여 정유 기체의 MIC에서 MIC의 1/8까지 순차적으로 이진 희석하였다. 16 바이알의 가로 방향(4 바이알)에 MIC 농도부터 1/8 MIC 농도까지 이진 희석한 1.7 ㎕의 정유 A를 분주하였고, 세로 방향(4 바이알)에 MIC 농도부터 1/8 MIC 농도까지 이진 희석한 1.7 ㎕의 정유 B를 분주하였다. 이렇게 16 바이알로 이루어진 항균력 측정장치 세트를 4개 준비하였다. 이후, MIC 농도부터 1/8 MIC 농도까지 이진 희석한 1.7 ㎕의 정유 C를 각 실험 기구에 분주하였다. 분주한 직후, 상부 용기와 하부 용기를 빠르게 결합하여 밀봉시켰다. 밀봉된 용기들은 25℃ 배양기에서 120시간 동안 배양한 후, 배지 위의 집락 형성 유무를 육안으로 관찰하였고, 정유 기체 조합의 항진균 시너지 효과는 상기 실시예 2와 동일한 방법에 따라 FIC 및 FICI를 계산하여 확인하였다. 그 결과를 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

[0085]

정유 농도 (㎕/mL)				FIC			FICI	결과
시나몬 껍질	시트로넬라	메이 창	총 정유	시나몬 껍질	시트로넬라	메이 창		
0.0195	0.0390	0.0195	0.0781	0.1250	0.1250	0.1250	0.3750	시너지 효과
0.0195	0.0390	0.0390	0.0975	0.1250	0.1250	0.2500	0.5000	시너지 효과
0.0195	0.0390	0.0781	0.1366	0.1250	0.1250	0.5000	0.7500	부분 시너지 효과

[0086] 앞선 실시예 2에서 *P. corylophilum*에 대한 항진균 시너지 효과를 나타내었던 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유의 농도를 고정하고, 메이 창 정유 기체의 농도를 다르게 하여 실험한 결과, 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유를 1:2:1 또는 1:2:2의 농도비로 조합하여 처리하는 경우에 각각의 정유를 단독 처리한 것보다 적은 양으로 *P. corylophilum*의 생육을 억제할 수 있음을 확인하였다. 상기 조합 처리군에서 FIC 값이 각각 0.3750 및 0.5000을 나타내는 것으로 보아 세 정유 기체의 조합에서 항진균 시너지 효과가 있음을 알 수 있다.

[0088] **[실시예 4] 실제 중간수분식품에서 정유 기체들의 항진균 효과 확인**

[0089] 앞선 실시예에서 *P. corylophilum*에 대한 강한 항균력을 보인 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유, 메이 창 정유 및 이들의 조합 처리에서 가장 낮은 FICI를 나타냈던 조합(1:2:1의 농도비(부피비))의 항균력을 육포에 접종된 *P. corylophilum*을 대상으로 하여 측정하였다.

[0090] 원형의 폴리스틸렌 용기를 이용하여 상기 실험을 위한 밀폐용기를 제조하였다. 도 3은 육포 표면에 정유 기체를 처리하기 위해 제조된 밀폐용기의 모식도이다. 밀폐용기 내부에 육포 쿠폰을 놓기 위해 작은 페트리 접시 뚜껑을 위치시켰다. MIC를 측정하는데 사용되는 정유 기체들의 상부 부분을 뒤집어 작은 페트리 접시 뚜껑 옆에 위치시키고, 멸균된 8 mm paper disc를 정유 기체틀의 상부 부분 내부에 위치시켰다. 밀폐용기의 내부 상대 습도를 93%로 유지시키기 위해, 실험을 진행하기 최소 12시간 전 20 mL의 포화 질산칼륨을 밀폐용기 바닥에 넣은 후, 25℃에서 보관하였다.

[0091] 2 cm × 4 cm로 재단한 육포 쿠폰을 실온(22±2℃)에서 자외선 살균한 뒤, 육포 쿠폰 위에 100 ㎕의 *P. corylophilum* 포자 혼합액(ca. 10^5 spores/mL)을 10점 점 접종(spot inoculation)하고 laminar flow biosafety hood(22±2℃)에서 1시간동안 건조시켰다. 건조된 육포 쿠폰을 밀폐용기 내부의 작은 페트리 접시 뚜껑 위에 놓고, 액상의 정유 기체를 paper disc에 분주하였다. 분주된 액상의 정유 양은 밀폐용기에서 모두 기화되었을 때의 정유 기체의 최종 농도가 0.0097, 0.0195, 0.0390 또는 0.0781이 되도록 하였다. 정유 기체 조합 처리의 경우, 시나몬 껍질 정유, 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유 액체의 농도가 1:2:1 농도비가 되도록 paper disc에 분주하였다. 액상의 정유를 분주한 후, 밀폐용기를 파라필름을 이용하여 밀봉시키고 25℃에서 120시간 동안 배양하였다.

[0092] *P. corylophilum*이 배양된 육포 쿠폰을 10 mL의 0.1% PW30G를 포함한 Whirl-pak bag에 넣은 뒤, 균질화 기기(Stomacher)를 이용하여 1분간 pummeling하였다. 0.1% PW30G를 이용하여 육포와 0.1% PW30G 혼합액을 십진 희석한 후, 이를 DG18 한천 배지에 평판 도말하였다. DG18 한천 배지는 25℃에서 48시간 동안 배양시킨 후, *P. corylophilum*으로 추정되는 집락(진녹색 집락)을 계수하여 아래 표 4에 나타내었다. 평판 도말의 이론적인 검출 한계는 0.1 log CFU/cm^2이었다.

표 4

[0093]

정유	*P. corylophilum* 개체 수 (log CFU/cm^2)					
	초기값	정유 농도 (㎕/mL)				
		0	0.0097	0.0195	0.039	0.0781
시나몬 껍질	A2.9±0.1c	A5.2±0.3a	B4.4±0.3b	A4.5±0.3b	**AB3.2±0.4c**	B3.1±0.3c

시트로넬라	A2.9±0.1e	A5.2±0.3a	A4.8±0.2b	B4.0±0.3c	A3.7±0.5cd	A3.6±0.4d
메이 창	A2.9±0.1d	A5.2±0.3a	A5.2±0.3a	B4.3 ±0.2b	AB3.5±0.3c	**B2.9±0.3d**
시나몬 껍질, 시트로넬라 및 메이 창의 조합	A2.9±0.1b	A5.2±0.3a	A4.9±0.1a	**C3.2±0.0b**	B3.0±0.4b	B3.1±0.3b

[0094] 상기 표 4에서 동일한 열에서 대문자는 유의한 차이가 없는 것을 의미하며($P \leq 0.05$), 소문자는 동일한 행에서 유의한 차이가 없음을 의미한다($P \leq 0.05$).

[0096] 상기 표 4에서 보는 바와 같이, 육포 표면에 접종된 *P. corylophilum*의 초기 개체 수는 ca. 2.9 log CFU/cm^2이었으며, 정유 기체들을 처리하지 않고 120시간 동안 배양한 경우에 개체수는 ca. 5.2 log CFU/cm^2으로 증가하였다. *P. corylophilum*의 초기 개체 수와 유의적인 차이를 나타내지 않은 각 정유 기체의 최소 농도는 시나몬 껍질 정유(0.0390 ㎕/mL), 시트로넬라 정유(>0.0781 ㎕/mL), 메이 창 정유(0.0781 ㎕/mL) 및 세 정유 기체의 조합(0.0195 ㎕/mL)이었다. 0.0195 ㎕/mL 농도에서, 시나몬 껍질 정유와 시트로넬라 정유 및 메이 창 정유 기체의 조합(1:2:1의 농도비(부피비))을 처리하였을 때의 *P. corylophilum*의 개체 수는 각각 정유 기체를 단일 처리하였을 때의 개체 수에 비해 유의적($P \leq 0.05$)으로 낮았다. 이 결과는 세 가지의 정유 기체를 조합 처리하는 경우, 단일 정유 기체를 처리하는 경우보다 낮은 농도에서 육포에 존재하는 *P. corylophilum*의 생육을 억제할 수 있다는 것을 의미한다.

[0098] **[실시예 5] 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)에 대한 천연 정유 기체의 최소저해농도의 결정**

[0099] *E. repens*에 대한 천연 정유의 최소저해농도(MIC)를 결정하기 위해, 상기 실시예 1에서 *P. corylophilum* 대신 *E. repens*를 사용한 것을 제외하고는 실시예 1과 동일한 방법으로 실험을 수행하였다. 그 결과를 하기 표 5에 기재하였다.

표 5

[0100]

정유			최소저해농도(MIC)(㎕/mL)
학명(Scientific name)	속명(Common name)	이용 부위	
Allium sativum	갈릭(Garlic)	뿌리(Root)	0.0390
Cinnamomum zeylanicum	시나몬 껍질(Cinnamon bark)	껍질(Bark)	0.1563
Cymbopogon nardus	시트로넬라(Citronella)	줄기(Grass)	0.1563
Litsea cubeba	메이 창(May chang)	열매(Fruit)	0.1563
Origanum vulgare	오레가노(Oregano)	잎(Leaf)	0.1563
Mentha spicate	스피아민트(Spearmint)	허브 꽃(Flowering herb)	0.3125
Thymus zygis CT linalool	타임 리나룰(Thyme linalool)	꽃(Flower)	0.3125
Thymus zygis CT thymol	타임 티몰(Thyme thymol)	잎(Leaf)	0.3125

[0101] 표 5에서 보는 바와 같이, 갈릭, 시나몬 껍질, 메이 창, 시트로넬라, 타임 티몰, 오레가노, 스피어민트 및 타임 리나룰 정유 모두 0.3125 ㎕/mL 이하의 낮은 최소저해농도(MIC)를 보이는 것을 통해 *E. repens*에 대한 항진균 효과가 우수함을 확인하였다.

[0103] **[실시예 6] 유로티움 레펜스(*Eurotium repens*)에 대한 정유 기체 조합물의 항진균 시너지 효과 확인**

[0104] 천연 정유를 조합하여 유로티움 레펜스에 대한 항진균 시너지를 확인하기 위해, 상기 실시예 2와 동일한 방법으

로 실험을 수행하였다. 그 결과를 표 6에 나타내었다.

표 6

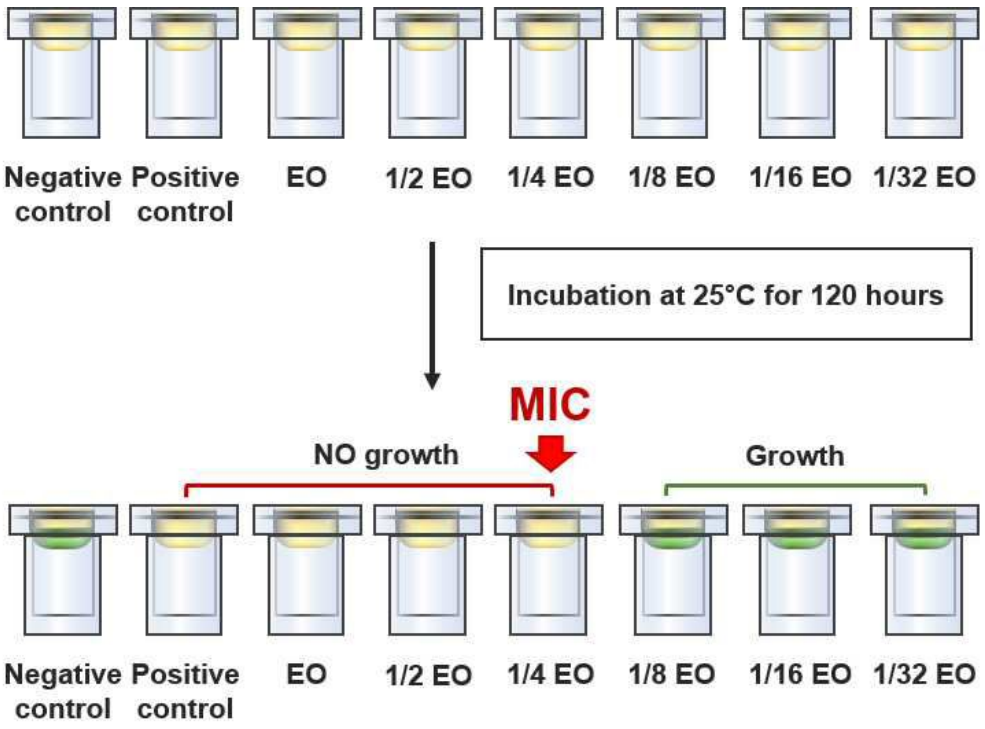
[0105]

정유 A	정유 B	정유 농도 (㎕/mL)			FIC		FICI	결과
		정유 A	정유 B	총 정유	정유 A	정유 B		
시나몬 껍질(Cinnamon bark)	메이 창(May chang)	0.0781	0.0195	0.0976	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과
시나몬 껍질(Cinnamon bark)	갈릭(Garlic)	0.0781	0.0049	0.0830	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과
시나몬 껍질(Cinnamon bark)	시트로넬라(Citronella)	0.0781	0.0195	0.0976	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	타임 티몰(Thyme thymol)	0.0049	0.1563	0.1612	0.1250	0.5000	0.6250	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	메이 창(May chang)	0.0195	0.0195	0.0390	0.5000	0.1250	0.6250	부분 시너지 효과
스피아민트(Spearmint)	타임 리나룰(Thyme linalool)	0.0390	0.1563	0.1953	0.1250	0.5000	0.6250	부분 시너지 효과
시나몬 껍질(Cinnamon bark)	타임 리나룰(Thyme linalool)	0.0781	0.0781	0.1563	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	스피아민트(Spearmint)	0.0195	0.0781	0.0976	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	타임 리나룰(Thyme linalool)	0.0097	0.1563	0.1660	0.2500	0.5000	0.7500	부분 시너지 효과
갈릭(Garlic)	오레가노(Oregano)	0.0195	0.0390	0.0585	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
메이 창(May chang)	타임 리나룰(Thyme linalool)	0.0781	0.0781	0.1563	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과
오레가노(Oregano)	스피아민트(Spearmint)	0.0390	0.1563	0.1953	0.2500	0.5000	0.7500	부분 시너지 효과
타임 리나룰(Thyme linalool)	타임 티몰(Thyme thymol)	0.1563	0.0781	0.2344	0.5000	0.2500	0.7500	부분 시너지 효과

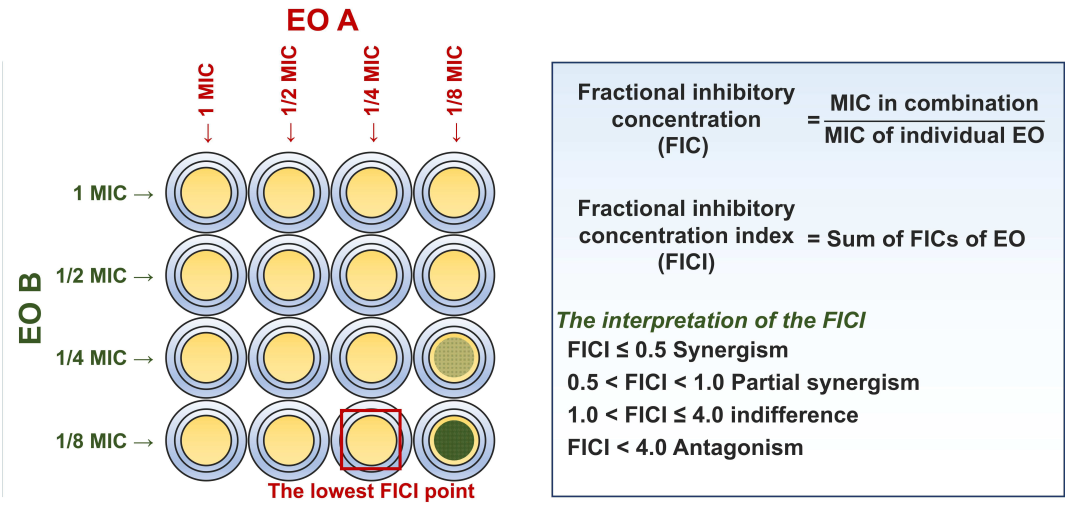
[0106] 표 6에서 보는 바와 같이, *E. repens*에 대한 정유 기체들의 다양한 조합 처리 실험군에서 부분 시너지 효과를 확인할 수 있었다. 그 중에서도 시나몬 껍질과 메이 창 정유의 조합, 시나몬 껍질과 갈릭 정유의 조합, 시나몬 껍질과 시트로넬라 정유의 조합, 갈릭과 타임 티몰 정유의 조합, 갈릭과 메이 창 정유의 조합 및 스피아민트와 타임 리나룰 정유의 조합은 FICI 값이 0.6250을 나타내어 부분적인 항진균 시너지 효과가 있음을 확인하였다.

도면

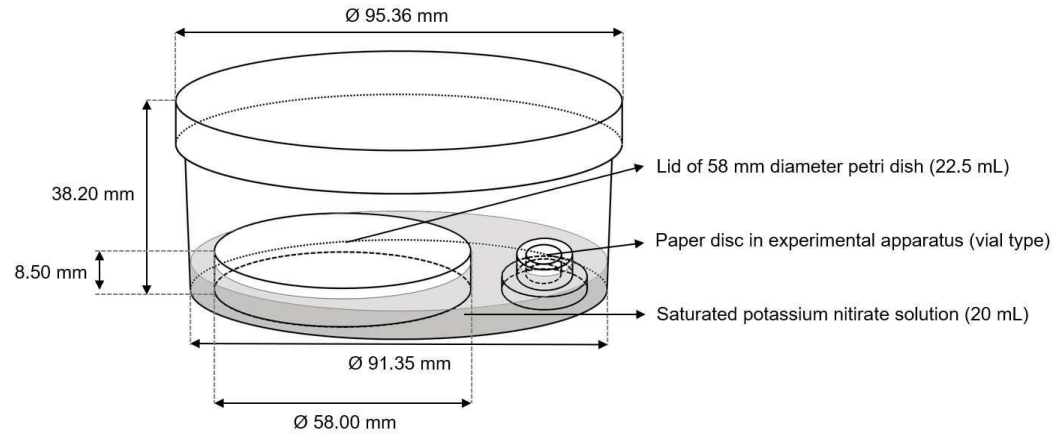
도면1


Negative control
Positive control
EO
1/2 EO
1/4 EO
1/8 EO
1/16 EO
1/32 EO
Incubation at 25°C for 120 hours
MIC
NO growth
Growth
Negative control
Positive control
EO
1/2 EO
1/4 EO
1/8 EO
1/16 EO
1/32 EO

도면2


EO A
1 MIC
1/2 MIC
1/4 MIC
1/8 MIC
EO B
1 MIC →
1/2 MIC →
1/4 MIC →
1/8 MIC →
The lowest FICI point
Fractional inhibitory concentration (FIC) = MIC in combination / MIC of individual EO
Fractional inhibitory concentration index (FICI) = Sum of FICs of EO
The interpretation of the FICI
FICI ≤ 0.5 Synergism
0.5 < FICI < 1.0 Partial synergism
1.0 < FICI ≤ 4.0 indifference
FICI < 4.0 Antagonism

도면3


Ø 95.36 mm
38.20 mm
8.50 mm
Lid of 58 mm diameter petri dish (22.5 mL)
Paper disc in experimental apparatus (vial type)
Saturated potassium nitirate solution (20 mL)
Ø 91.35 mm
Ø 58.00 mm