



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0026833
(43) 공개일자 2018년03월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A01N 65/12 (2009.01) A01N 25/02 (2006.01)
C11D 7/44 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A01N 65/12 (2013.01)
A01N 25/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0113614
(22) 출원일자 2016년09월05일
심사청구일자 2016년09월05일
기술이전 희망 : 기술양도

(71) 출원인
충남대학교산학협력단
대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)
(72) 발명자
송경빈
대전광역시 유성구 장대로71번길 34, 106동 704호(장대동, 장대푸르지오)
손현정
경상북도 포항시 남구 운하로 168, 602호(송도동, 송북주택)
강지훈
인천광역시 부평구 부평대로167번길 41, 304호(청천동, 현광아파트)
(74) 대리인
특허법인충정

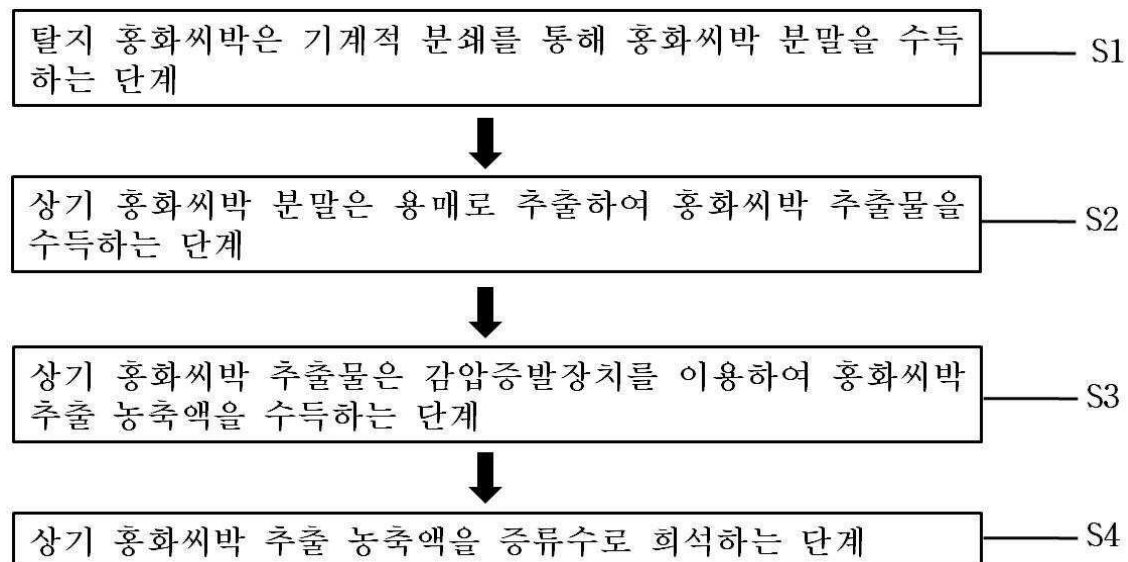
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 향균 세척수 및 그의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 향균 세척수 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게는 홍화씨박으로부터 추출된 천연 향균 물질을 함유한 천연 향균 세척수를 제공함으로써, 신선편이 채소 또는 과일과 같은 농산물을 상기 천연 향균 세척수로 세척하여 농산물의 저장 또는 유통 시 품질을 유지하고, 미생물학적(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



안전성을 향상시키도록 하는 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 향균 세척수 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

또한, 본 발명에서 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 향균 세척수를 이용한 세척 처리는 신선편이 채소 또는 과일에 잔존하는 총 호기성 세균을 비롯하여 리스테리아 모노사이토제네스와 같은 병원성 미생물에 대하여 제어가 가능하며 저장 중 미생물 안정성 확보와 함께 세척처리에 의한 품질 유지에 영향을 끼치지 않는다.

따라서, 본 발명은 신선편이 채소 또는 과일의 저장 중 미생물학적 안전성 제고와 품질 유지를 위해 효과적인 세척처리 기술이다.

(52) CPC특허분류

C11D 7/44 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

홍화씨박 추출물을 유효성분으로 포함하는 천연 향균 세척수.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 홍화씨박 추출물은 0.1 ~ 1.0 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 천연 향균 세척수.

청구항 3

탈지 홍화씨박은 기계적 분쇄를 통해 홍화씨박 분말을 수득하는 단계(S1);

상기 홍화씨박 분말을 용매로 추출하여 홍화씨박 추출물을 수득하는 단계(S2);

상기 홍화씨박 추출물은 감압증발장치를 이용하여 홍화씨박 추출 농축액을 수득하는 단계(S3); 및

상기 홍화씨박 추출 농축액을 증류수로 희석하는 단계(S4);를 포함하는 천연 향균 세척수의 제조방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 기계적 분쇄는 롤 분쇄, 햄머 분쇄, 볼 분쇄, 및 블랜더 분쇄로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 하는 천연 향균 세척수의 제조방법.

청구항 5

제 3 항에 있어서,

상기 용매는 물, 탄소수 1 내지 4개의 무수 또는 함유 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나인 것을 특징으로 하는 천연 향균 세척수의 제조방법.

청구항 6

제 3 항에 있어서,

상기 추출은 25 ~ 60 °C에서 1 ~ 12 시간 동안 수행하는 것을 특징으로 하는 천연 향균 세척수의 제조방법.

청구항 7

제 3 항에 있어서,

상기 홍화씨박 추출물은 0.1 ~ 1.0 중량%로 포함되는 것을 특징으로 하는 천연 향균 세척수의 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 상세하게는 홍화씨박으로부터 추출된 천연 항균 물질을 함유한 천연 항균 세척수를 제공함으로써, 신선편이 채소 또는 과일과 같은 농산물을 상기 천연 항균 세척수로 세척하여 농산물의 저장 또는 유통 시 품질을 유지하고, 미생물학적 안전성을 향상시키도록 하는 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근 소비자들의 웰빙에 대한 관심이 높아짐에 따라 상추 등 신선편이 채소또는 과일에 대한 수요가 증가하고 있다. 이러한 신선편이 채소의 경우 샐러드, 녹즙, 쌈 채소 같이 익히지 않은 상태로 주로 섭취하게 되는데, 별도의 가공 및 조리과정을 거치지 않아 미생물 오염에 노출되어 있고 실제로 이에 따른 식중독 발병사례가 꾸준히 발생하고 있다.

[0003] 현재 수확 후 농산물의 미생물학적 안전성 확보를 위한 다양한 연구가 진행되고 있다. 그 중, 신선편이 채소의 미생물학적 안전성 확보를 위해 차아염소산나트륨과 같은 염소계 세척제가 널리 사용되고 있으나, 소비자들의 염소계 살균 세척제에 대한 부정적인 인식과, 상기 염소계 세척제와 유기물이 반응하여 트리할로메탄과 같은 발암물질을 생성하는 등의 문제점이 있다.

[0004] 이를 대체하기 위해 새로운 세척제에 관한 연구가 진행되고 있으며, 그 중, 식품 유래 천연물질인 정유 등 다양한 천연 항균 물질에 대한 연구가 수행되고 있지만, 이러한 물질들은 실제 산업 공정에 적용하기에는 고가이며, 적용 농산물에 따라 효과가 상이하다는 단점이 존재한다.

[0005] 따라서, 본 발명에서는 홍화씨유를 착즙 후 발생하는 저가의 미활용되는 홍화씨박으로부터 추출된 천연 항균 물질을 이용하여 신선편이 채소 또는 과일의 천연 항균 세척수 개발에 사용하고자 한다.

[0006] 홍화(Safflower; *Carthamus tinctorious* L.)는 국화과에 속하는 일년생 초목으로 주로 한국, 인도, 중국, 남유럽 등에서 재배되어 왔다. 홍화의 가식 부위는 꽃과 씨가 있으며 홍화는 색소를 함유하고 있어 천연 염료로 주로 사용되며, 한약으로도 널리 사용하고 있다. 홍화씨는 특히 골다공증 등의 골질환 치료, 이노제 및 강장제로 많이 이용되어 왔다. 홍화씨는 주로 볶은 후 착즙 과정을 거쳐홍화씨유로 소비되는데, 홍화씨유에는 리놀레산을 비롯한 다량의 불포화지방산과 토코페롤을 함유하고 있어 항암, 항산화 활성 등의 효과를 나타낸다. 홍화씨박은 이러한 홍화씨유를 착유하고 발생하는 부산물로서, 섬유질, 단백질 등을 비롯하여 리그난과 플라보노이드 등 다양한 활성 성분들이 존재함에도 불구하고 대부분이 폐기되고 있는 실정이다. 특히, 홍화씨박의 표피에 잔존하는 플라보노이드와 페놀 성분들은 항산화 및 항균효과를 가진다고 알려져 있으나, 이를 이용하여 식품에 적용한 연구는 미흡하다. 특히, 홍화씨박으로부터 천연물질을 추출하여 신선편이 채소 또는 과일의 미생물 저감화를 위한 세척수를 개발한 연구는 현재 없다.

[0007] 따라서, 본 발명에서는 신선편이 채소 또는 과일 등의 농산물을 수확 후 저장, 유통 중의 미생물학적 안전성을 제고하고자 홍화씨유 가공 부산물인 홍화씨박으로부터 추출된 추출물을 이용한 천연 항균 세척수를 제조하여 세척 처리하는 기술을 개발하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 공개특허공보 제10-2015-0047673호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명은 상기와 같은 문제를 해결하기 위한 것으로, 홍화씨박으로부터 추출된 천연 항균 물질을 함유한 천연

항균 세척수를 제공함으로써, 신선편이 채소 또는 과일과 같은 농산물을 상기 천연 항균 세척수로 세척하여 농산물의 저장 또는 유통 시 품질을 유지하고, 미생물학적 안전성을 향상시키도록 하는 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수 및 그의 제조방법을 제공하는 데 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 본 발명의 일 측면에 따른 천연 항균 세척수는 홍화씨박 추출물을 유효성분을 포함할 수 있다.
- [0011] 본 발명에서 상기 홍화씨박 추출물은 0.1 ~ 1.0 중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0012] 본 발명의 다른 측면에 따른 천연 항균 세척수의 제조방법은 탈지 홍화씨박을 기계적 분쇄로 홍화씨박 분말을 수득하는 단계(S1), 상기 홍화씨박 분말은 용매로 추출하여 홍화씨박 추출물을 수득하는 단계(S2), 상기 홍화씨박 추출물은 감압증발장치를 이용하여 홍화씨박 추출 농축액을 수득하는 단계(S3), 및 상기 홍화씨박 추출 농축액을 증류수로 희석하는 단계(S4)를 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0013] 상기와 같이 본 발명에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수 및 그의 제조방법은 신선편이 채소 또는 과일과 같은 농산물의 표면에 잔존하는 초기 미생물 및 병원성 미생물수 감소 효과가 우수하므로, 실제 저장, 유통 과정 중 신선편이 채소 또는 과일과 같은 농산물의 미생물 생육을 효과적으로 저해하여 미생물학적 안전성을 확보하는데 효과적으로 이용될 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0014] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수 제조방법의 플로우 차트이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물의 세포 내 환원당 용출 함량을 나타내는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0015] 본 발명은 다양한 변경을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0016] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0017] 본원 명세서 전체에서 사용되는 용어 "~(하는) 단계" 또는 "~의 단계"는 "~를 위한 단계"를 의미하지 않는다. 본원 명세서 전체에서, "A 및/또는 B"의 용어는 "A 또는 B, 또는 A 및 B"를 의미한다.
- [0018] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 "이들의 조합"의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.
- [0020] 이하, 본 발명을 상세히 설명하고자 한다.
- [0022] 본 발명의 일 측면에 따른 천연 항균 세척수는 홍화씨박 추출물을 유효성분을 포함한다.
- [0023] 상기 홍화씨박 추출물은 0.1 ~ 1.0 중량%로 포함되는 것이 바람직하다.
- [0024] 상기 홍화씨박 추출물의 함량은 후술하게 되는 실험예를 통해 얻어진 최적의 범위이다. 0.1 중량% 미만이면 미생물 세포 내 환원당 용출 함량이 낮아 미생물의 성장을 저해하지 못하는 문제가 있으며, 1.0 중량% 초과이면 상기 환원당 용출 함량이 높아 미생물의 세포막에 영향을 받게 되어 세포 성장을 저해하는 효과는 있지만, 홍화씨박 추출물의 함량이 증가할수록 비용도 증가되어 경제적 측면에서 비효율적인 문제가 있다.

- [0026] 이하, 본 발명의 다른 측면에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 제조방법은 첨부한 도면을 참조로 하여 상세히 설명한다. 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시예는 본 발명의 개시가 완전하도록 하며 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위하여 제공되는 것이다.
- [0027] 도 1은 본 발명의 다른 측면에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 제조방법을 나타내는 플로우 차트이다.
- [0029] 본 발명의 다른 측면에 따른 천연 항균 세척수의 제조방법은 탈지 홍화씨박을 기계적 분쇄로 홍화씨박 분말을 수득하는 단계(S1), 상기 홍화씨박 분말은 용매로 추출하여 홍화씨박 추출물을 수득하는 단계(S2), 상기 홍화씨박 추출물은 감압증발장치를 이용하여 홍화씨박 추출 농축액을 수득하는 단계(S3), 및 상기 홍화씨박 추출 농축액을 증류수로 희석하는 단계(S4)를 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 제조방법을 각 단계별로 나누어서 설명하면 다음과 같다.
- [0033] 우선, 상기 탈지 홍화씨박은 기계적 분쇄를 통해 홍화씨박 분말을 수득하는 단계(S1)를 수행한다.
- [0034] 상기 기계적 분쇄는 롤 분쇄, 햄머 분쇄, 볼 분쇄, 및 블랜더 분쇄로 이루어지는 군으로부터 선택된 어느 하나인 것을 특징으로 한다.
- [0035] 상기 탈지 홍화씨박은 블랜더에 투입하고 10,000 ~ 50,000 rpm 속도로 3 ~ 15 분 동안 분쇄하여 홍화씨박 분말을 수득한다. 상기 속도가 10,000 rpm 미만이고, 시간이 3 분 미만으로 분쇄되는 경우, 상기 홍화씨박이 미세한 입자로 분쇄되지 않아 홍화씨박으로부터 천연 항균 물질을 원활하게 추출할 수 없으며, 상기 속도가 50,000 rpm 초과이고, 15 분 초과로 분쇄되는 경우, 블랜더 안에 마찰열의 발생으로 온도가 상승하여 홍화씨박이 변질되는 문제가 발생되고 이로 인해, 천연 항균 물질의 효능이 현저하게 감소되는 문제가 있다.
- [0037] 다음으로, 상기 홍화씨박 분말은 용매로 추출하여 홍화씨박 추출물을 수득하는 단계(S2)를 수행한다.
- [0038] 상기 용매는 물, 탄소수 1 내지 4개의 무수 또는 함수 저급 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, 부틸아세테이트 및 1,3-부틸렌 글리콜로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 어느 하나를 사용할 수 있다. 상기 용매는 알코올이 좋으며, 바람직하게는 에탄올이 좋은데, 에탄올은 더욱 바람직하게 70% 에탄올인 것이 좋다.
- [0039] 상기 (S2) 단계는 25 ~ 60 °C에서 1 ~ 12 시간 동안 추출하되, 25 °C 미만이면 홍화씨박으로부터 천연 항균 물질을 추출하는데 시간이 많이 소요되며, 60 °C 초과이면 상기 천연 항균 물질이 변질되어 그 효능이 현저하게 떨어져 천연 항균 세척수에 적용하기가 어려운 문제가 있다.
- [0041] 그 다음, 상기 홍화씨박 추출물은 감압증발장치를 이용하여 홍화씨박 추출 농축액을 수득하는 단계(S3)를 수행한다.
- [0042] 상기 (S3) 단계는 감압증발장치를 이용함으로써, 상기 홍화씨박 추출물에 함유된 추출물을 제거하여 홍화씨박 추출 농축액을 수득한다.
- [0044] 마지막으로, 상기 홍화씨박 추출 농축액을 증류수로 희석하는 단계(S4)를 수행한다.
- [0045] 상기 (S4) 단계는 상기 홍화씨박 추출 농축액을 3차 증류수로 희석하여 홍화씨박 추출물이 천연 항균 세척수 중 0.1 ~ 1.0 중량%로 포함됨으로써, 홍화씨박 추출물이 포함된 천연 항균 세척수를 제조하게 된다.

- [0047] 이하, 본 발명의 실시예, 비교예, 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.
- [0048] 하기 실시예, 비교예, 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것 일뿐, 본 발명이 하기 실시예, 비교예, 및 실험예에 한정되는 것이 아니다.
- [0050] < 실시예 1 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물의 제조
- [0051] 탈지 홍화씨박을 블렌더(30,000 rpm, 5 분, Wonder blender, Osaka Chemical Co., Ltd., Osaka, Japan)로 분쇄 후 얻어진 홍화씨박 분말 100 g을 1 L의 70% 에탄올을 이용하여 다음과 같은 방법으로 추출하였다. 혼합기를 이용하여 50 ℃에서 3 시간 동안 추출하였으며, 감압증발장치로 추출에 사용된 추출용매를 제거하여 100 mL의 추출 농축액으로 하여 세척수 제조에 사용하였다.
- [0052] 또한, 병원성 미생물에 대한 항균활성 효과 분석을 위해 추출 농축액을 동결 건조 후 분말화하여 사용하였다.
- [0054] < 실시예 2 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 제조 1
- [0055] 상기 실시예 1에서 제조된 홍화씨박 추출 농축액을 3차 증류수 희석하여 천연 항균 세척수 100 중량% 대하여, 홍화씨박 추출물이 0.1 중량%로 함유되는 천연 항균 세척수를 제조하였다.
- [0057] < 실시예 3 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 제조 2
- [0058] 상기 실시예 1에서 제조된 홍화씨박 추출 농축액을 3차 증류수 희석하여 천연 항균 세척수 100 중량% 대하여, 홍화씨박 추출물이 0.4 중량%로 함유되는 천연 항균 세척수를 제조하였다.
- [0060] < 실시예 4 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 제조 3
- [0061] 상기 실시예 1에서 제조된 홍화씨박 추출 농축액을 3차 증류수 희석하여 천연 항균 세척수 100 중량% 대하여, 홍화씨박 추출물이 0.7 중량%로 함유되는 천연 항균 세척수를 제조하였다.
- [0063] < 실시예 5 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 제조 4
- [0064] 상기 실시예 1에서 제조된 홍화씨박 추출 농축액을 3차 증류수 희석하여 천연 항균 세척수 100 중량% 대하여, 홍화씨박 추출물이 1.0 중량%로 함유되는 천연 항균 세척수를 제조하였다.
- [0066] < 실시예 6 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수를 이용한 세척 처리 방법
- [0067] 상기 세척 처리 방법은 상추와 실시예 2 내지 5에서 제조된 천연 항균 세척수를 1:20 (w/v) 비율로 3분간 세척 처리한 후 무균작업대로 옮겨 30분 동안 건조하여 상추 표면에 남아 있는 수분을 제거하였다.
- [0068] 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수(실시예 2 ~ 5)의 미생물 제어 효과를 비교하기 위해 상기 천연 항균 세척수 대신에 물(비교예)을 이용하여 상기 세척 처리 방법으로 동일하게 수행하였다.
- [0070] < 실험예 1 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물의 항균활성 측정
- [0071] 1) 디스크 확산법
- [0072] 상기 홍화씨박 추출물의 주요 병원성 미생물에 대한 항균활성 효과를 분석하기 위하여 디스크 확산법을 이용하여 장출형성대장균, 살모넬라 타이피리움, 리스테리아 모노사이토제네스, 황색포도상구균에 대하여 생육 저해 효과를 확인하였다.

[0073] 사용된 균주인 리스테리아 모노사이토제네스(ATCC 19111, ATCC 19115), 황색포도상구균(KCTC 1621)의 경우 뇌심장침출액 액체배지(BHI), 장출혈성대장균(NCTC 12079, ATCC 43889), 살모넬라 타이피리움(KCTC2514, ATCC 14028)의 경우 대두카제인소화 액체배지(TSB)에 접종한 뒤 37 °C에서 24 시간 진탕 배양하여 균주를 활성화 시켰다. 세포 배양액은 0.1 % 멸균 펩톤수로 3회 세척 후 각 균주의 스트레인을 동일한 양으로 혼합한 뒤 최종 균 접종액이 약 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL 농도가 되도록 희석하여 평판배지에 도말하였다. 동결 건조된 분말은 70% 에탄올에 용해시킨 후 직경 8 mm의 멸균된 원형여과지에 70 μ L 흡수시켜, 상기 언급된 병원성 미생물을 배양한 각 평판배지에 얹어 37 °C 배양기에 24 시간 배양하였다. 배양 후 홍화씨박 추출물에 의한 균의 생육 저해 정도를 측정하였다.

표 1

병원성 미생물	생육 저지대(mm)
장출혈성대장균	11.97 $\pm$ 0.30
살모넬라 타이피리움	12.36 $\pm$ 0.40
리스테리아 모노사이토제네스	15.91 $\pm$ 0.21
황색포도상구균	15.33 $\pm$ 0.22

[0075] 상기 표 1에서 나타낸 바와 같이, 70% 에탄올 추출물의 병원성 미생물에 대한 항균 활성을 측정한 결과, 장출혈성대장균, 살모넬라 타이피리움, 리스테리아 모노사이토제네스, 황색포도상구균에 대하여 각각 11.97, 12.36, 15.91, 15.33 mm의 생육저지대를 형성하였다. 홍화씨박 추출물의 항균 활성 효과는 그람 음성균보다 그람 양성균에서 더 높게 나타났으며, 특히 리스테리아 모노사이토제네스에 대하여 높은 효과를 보였다.

[0077] 2) 세포 내 구성 성분의 용출 함량 측정(환원당 함량 측정)

[0078] 상기 홍화씨박 추출물의 디스크 확산 법에 의해 항균성이 가장 높게 나타났던 리스테리아 모노사이토제네스에 대해 3,5-디니트로살리실산(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)방법을 이용하여 미생물 세포 내 환원당 함량을 측정함으로써 세포 내부 물질의 용출 정도를 확인하였다. 이는 홍화씨박이 미생물의 세포막에 끼치는 영향을 확인하는 것으로 이를 통해 홍화씨박의 항균활성을 측정하였다.

[0079] 사용된 균주인 리스테리아 모노사이토제네스(ATCC 19111, ATCC 19115, KCTC 13064)는 뇌심장침출액 액체배지(BHI)에 접종한 뒤 37 °C에서 24시간 진탕 배양하여 균주를 활성화 시켰다. 세포 배양액은 0.1 M 인산 완충액(pH 7.2)으로 3회 세척 후 각 스트레인을 동일한 양으로 혼합하여 25 mL으로 부피를 맞추는 후 실시예 2 ~ 5에 따른 홍화씨박 추출물(농도 0.1, 0.4, 0.7, 1 중량%)을 첨가하여 12시간 동안 진탕 배양하였다. 각 시간에 따라 배양액을 원심분리하여 얻어진 상등액 1 mL과 DNS 용액 1 mL을 혼합 후 90 °C에서 10분 동안 반응하였다. 반응 후 즉시 5 분간 냉각한 뒤 3차 증류수 10 mL을 혼합하여 분광광도계로 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 검량선은 표준물질로 글루코오스를 사용하였다.

[0080] 도 2에서 보는 바와 같이, 상기 리스테리아 모노사이토제네스에 대하여 홍화씨박 추출물 처리 후 세포 내 환원당 용출함량을 측정한 결과, 홍화씨박 추출물로 처리 시 세포 내 환원당의 용출 함량이 시간에 따라 증가함을 알 수 있다.

[0081] 또한, 홍화씨박 추출물의 농도가 증가함에 따라 환원당의 용출량이 증가하였으며, 이는 홍화씨박 추출물이 리스테리아 모노사이토제네스의 세포막에 영향을 주어 세포 생장을 저해하였음을 나타낸다.

[0083] < 실험예 2 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 초기 미생물 및 병원성 미생물 저감 효과 평가

[0084] 실험예 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수의 세척 처리 효과를 분석하기 위하여, 총 호기성 세균, 리스테리아 모노사이토제네스에 대한 미생물 수를 측정하였다.

[0085] 상추에 천연 항균 세척수를 상기 < 실시예 6 >에서와 같이 처리한 후, 시료 10 g과 0.1 % 멸균 펩톤수 90 mL를 멸균백에 넣고 3분 동안 균질기를 이용하여 균질화 시켰다. 균질화된 시료를 멸균 펩톤수를 이용하여 10배수 연

속 희석 후 각각의 배지에 분주하여 3번 반복 실험을 진행하였다. 총 호기성 세균은 플레이트 카운트 한천배지(PCA, Difco Co., Detroit, MI, USA)를 사용하여 37 °C에서 48시간 배양하였고, 리스테리아 모노사이토제네스는 옥스포드 미디엄 베이스(Oxford medium base, Difco Co, Detroit, MI, USA)를 사용하여 37 °C에서 48시간 배양하였다. 배양 후 형성된 집락을 계수하였으며, 검출된 미생물 수는 시료 g 당 colony forming unit (CFU)로 표시하였다.

표 2

(단위 : log CFU/g)

세척 처리 방법	총 호기성 세균	리스테리아 모노사이토제네스
대조구	6.11±0.14	6.31±0.19
물 세척(비교예)	5.69±0.15	5.82±0.14
실시에 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	4.92±0.16	4.75±0.22

상기 표 2에 나타난 바와 같이, 대조구와 비교하여 물 세척의 경우 총 호기성 세균, 리스테리아 모노사이토제네스 각각 0.42, 0.49 log CFU/g의 미생물 수 감소를 보였으나, 실시예 4의 홍화씨박 추출물이 포함된 천연 세척수 처리의 경우 각각 1.19, 1.56 log CFU/g 감소하였다.

또한, 물 세척과 비교하였을 때 총 호기성 세균, 리스테리아 모노사이토제네스 각각 0.77, 1.07 log CFU/g의 감소 수준을 보였으며, 이는 단순 물 세척에 비하여 홍화씨박 추출물을 함유한 천연 항균 세척수를 이용한 세척이 상추의 초기 미생물 및 병원성 미생물 제어에 더 효과적임을 알 수 있다.

< 실험예 3 > 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수로 세척 후 미생물 제어 효과 및 품질 분석 평가

실험예 3은 본 발명의 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수 처리 후 저장 중 미생물 제어 효과를 분석하기 위하여, 총 호기성 세균에 대한 미생물 수를 측정하였다. 또한, 품질 분석을 위하여 세척수 처리 후 저장 중 상추의 색도, 중량 감소율 및 수분함량의 변화를 측정하였다.

상추에 천연 항균 세척수를 상기 < 실시예 6 >에서와 같이 처리한 후, 시료를 저밀도 폴리에틸렌(low density poly ethylene)팩에 밀봉하여 4 °C에서 8일 동안 저장하였으며, 저장기간 0, 2, 4, 6, 8일차에 상추에서의 미생물 수를 측정하였다.

미생물 수 측정은 < 실험예 2 >에서와 같이 진행하였으며, 총 호기성 세균은 플레이트 카운트 한천배지를 사용하여 37 °C에서 48시간 배양 후 형성된 집락을 계수하였다. 검출된 미생물 수는 시료 g 당 colony forming unit (CFU)로 표기하였다.

표 3

(단위 : log CFU/g)

세척 처리 방법	저장 기간 (일)				
	0	2	4	6	8
대조구	6.65±0.21	6.19±0.36	6.23±0.09	7.11±0.08	6.36±0.10
물 세척(비교예)	6.21±0.27	5.82±0.44	5.96±0.43	6.15±0.10	5.89±0.18
실시에 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	5.83±0.21	5.38±0.13	5.45±0.20	5.92±0.15	5.51±0.36

상기 표 3에서 보는 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수로 세척 처리 후 저장 중 총 호기성 세균의 제어 효과를 확인하였다. 저장 초기 대조구와 비교하여 물 세척의 경우 0.40 log CFU/g의 미생물 수 감소를 보인 반면, 실시예 4의 홍화씨박 추출물이 포함된 천연 항균 세척수 처리는 0.82 log CFU/g의 군 감소를 나타내어 물 세척보다 효과적이었다. 저장 8일 후에도 이러한 미생물 감소 효과가 유지되어 대조구와 비교하였을 때 물 세척 처리는 0.47 log CFU/g, 실시예 4의 홍화씨박 추출물이

포함된 천연 항균 세척수 처리는 0.85 log CFU/g의 미생물 수 감소를 보였다.

[0096] 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수로 세척 처리가 단순 물 세척 처리보다 효과적인 미생물 제어 방법이라고 판단된다.

[0098] 또한, 저장 중 품질 분석을 위하여 상추의 색도는 색차계(CR-400 Minolta Chroma Meter, Konica Minolta Sensing Inc., Tokyo, Japan)를 사용하여 Hunter L, a, b값을 시료의 표면을 반복 측정 후 평균값으로 나타내었으며, 중량감소율은 각 시료의 초기 중량을 측정한 뒤 저장 일수별로 중량 차이 조사하여 초기 중량에 대한 백분율(%)로 나타내었다. 수분함량의 경우 시료를 일정한 크기로 자른 후 칭량접시에 1.5 g 칭량 후, 105 °C에서 24시간 건조하였다. 건조 후 30분간 방냉 후 무게를 측정한 뒤 저장 일수별로 무게 차이를 조사하여 백분율(%)로 나타내었다.

표 4

[0099]

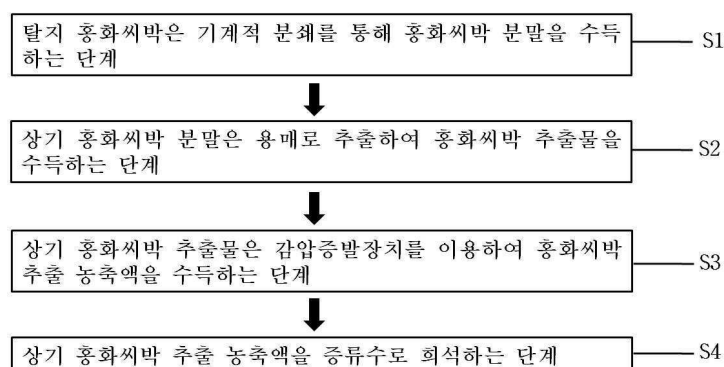
품질지표		세척 처리 방법	저장 기간 (일)				
			0	2	4	6	8
Hunter value	L	대조구	22.73±1.83	22.78±1.48	22.73±1.08	22.73±1.09	22.76±1.09
		물 세척(비교예)	22.73±1.56	22.73±1.55	22.77±1.64	22.75±1.45	22.72±1.22
		실시예 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	22.72±0.87	22.77±1.22	22.76±1.49	22.76±1.54	22.73±1.24
	a	대조구	3.63±0.65	3.65±0.77	3.68±0.78	3.63±0.67	3.64±0.48
		물 세척(비교예)	3.66±0.55	3.66±0.74	3.64±0.29	3.65±0.51	3.64±0.49
		실시예 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	3.67±0.62	3.69±1.14	3.66±0.79	3.68±0.50	3.67±0.48
	b	대조구	5.02±0.61	5.06±0.46	5.03±0.74	5.06±0.63	5.06±0.62
		물 세척(비교예)	5.07±0.74	5.08±0.69	5.04±0.44	5.04±0.73	5.04±0.52
		실시예 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	5.02±0.45	5.04±0.61	5.06±0.83	5.08±0.63	5.04±0.52
중량 감소율 (%)		대조구	-	0.28±0.17	0.39±0.12	0.56±0.16	0.67±0.15
		물 세척(비교예)	-	0.13±0.09	0.25±0.18	0.35±0.31	0.52±0.45
		실시예 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	-	0.10±0.09	0.20±0.07	0.28±0.09	0.40±0.05
수분 함량 (%)		대조구	92.30±1.36	91.33±0.27	92.55±0.38	91.61±0.31	92.09±0.55
		물 세척(비교예)	91.46±0.81	91.31±0.18	93.16±0.30	92.82±0.91	92.78±0.27
		실시예 4의 홍화씨박 추출물(0.7 중량%) 세척	92.46±0.73	92.12±1.09	93.03±0.62	92.64±0.47	93.44±0.31

[0100] 상기 표 4에서 보는 바와 같이, 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수로 세척된 상추의 품질변화를 분석하였다. 상추의 표면 색 변화를 나타내는 Hunter value L, a, b 값 모두 대조구를 비롯한 모든 처리에서 유의적인 차이를 보이지 않으며, 상추의 색을 유지하였고, 중량 감소율은 모든 처리에서 1% 미만의 중량감소율을 보였기에 저장 기간 중 큰 영향을 미치지 않음을 알 수 있다.

- [0101] 또한, 수분 함량 변화 역시 저장 초기와 저장 8일 후 약 92%로 수분 함량을 유지하였다.
- [0102] 따라서, 본 발명의 일 실시예에 따른 홍화씨박 추출물을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수를 이용한 세척 처리가 상추의 품질에 영향을 끼치지 않는 기술이라고 할 수 있다.
- [0104] 본 발명의 실험예 2 ~ 4에서 실시예 4에 따른 홍화씨박 추출물(0.7 중량%)을 유효성분으로 하는 천연 항균 세척수를 사용한 것은 충분한 예비실험을 통해 얻어진 결과로서, 실시예 5의 홍화씨박 추출물(1.0 중량%)와 비교하여 총 호기성 세균, 리스테리아 모노사이토제네스 각각 0.07, 0.14 log CFU/g의 차이로 감소 효과가 큰 차이를 보이지 않았기에 실시예 4로 선정하였으나, 이에 한정하지 않는다.
- [0105] 또한, 세척시간 3분 역시 예비실험을 통해 얻어진 결과로서, 세척시간 5분과 비교하여 총 호기성 세균, 리스테리아 모노사이토제네스 각각 0.04, 0.02 log CFU/g의 감소로 큰 차이를 보이지 않았으며, 상추와 같은 신선편이 채소는 장시간 물에 노출 시 외관품질에 부정적인 영향을 줄 수 있기에 최종적으로 3분으로 선정하였으나, 이에 한정하지 않는다.
- [0106] 또한, 홍화씨박 추출물로부터의 천연 항균 세척수로 세척 처리 후 저장 중 미생물 제어와 품질변화 측정을 위하여 8일간 4 ℃에서 저장하였으나, 이에 한정하지 않는다.
- [0108] 더 나아가, 본 발명의 천연 항균 세척수 제조에 적용된 홍화씨박 추출물의 처리농도와 세척처리 시간은 신선편이 채소 또는 과일을 신선하게 유지할 수 있는 처리조건으로 신선편이 채소 또는 과일에 있어 초기 미생물을 제어함으로써, 저장및유통과정에서의 미생물학적 안전성 제고와 품질유지를 위한 기술로 사용될 수 있다.
- [0110] 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

