



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0099782
(43) 공개일자 2019년08월28일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 <i>A01N 65/34</i> (2009.01) <i>A23K 10/30</i> (2016.01)
 <i>A23L 3/3472</i> (2006.01) <i>A61K 8/9789</i> (2017.01)
 <i>A61Q 17/00</i> (2006.01) <i>A61Q 19/00</i> (2006.01)</p> <p>(52) CPC특허분류
 <i>A01N 65/34</i> (2013.01)
 <i>A23K 10/30</i> (2016.05)</p> <p>(21) 출원번호 10-2018-0019657
 (22) 출원일자 2018년02월20일
 심사청구일자 2018년02월20일</p> | <p>(71) 출원인
 충남대학교산학협력단
 대전광역시 유성구 대학로 99 (궁동, 충남대학교)</p> <p>(72) 발명자
 육홍선
 대전광역시 서구 둔산남로 127, 305동 307호(둔산동, 목련아파트)
 김경희
 대전광역시 서구 청사서로 11, 105동 204호(월평동, 무지개아파트)</p> <p>(74) 대리인
 최규환</p> |
|---|--|

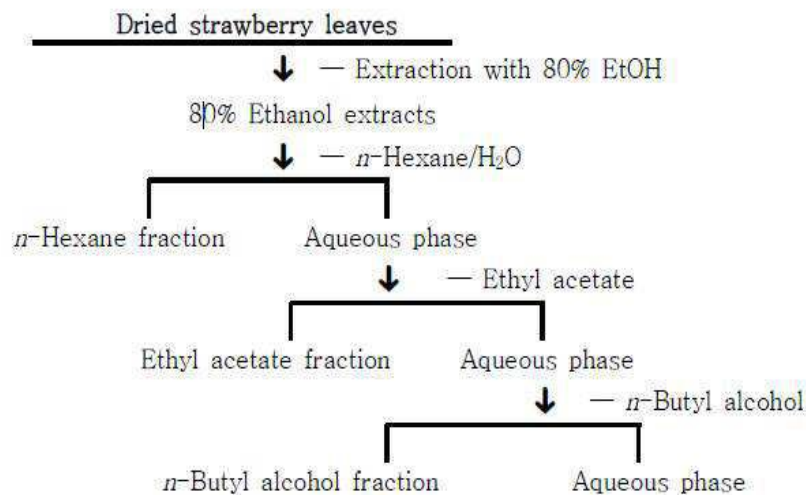
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 딸기 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물

(57) 요약

본 발명은 딸기 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 본 발명에 따르면, 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 잎 추출물 및 이의 분획물이 병원성 세균인 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*) 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 대해 우수한 항균 활성을 나타내므로, 의약품, 의약외품, 식품 첨가제 또는 사료 첨가제 등에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류

A23L 3/3472 (2013.01)

A61K 8/9789 (2017.08)

A61Q 17/005 (2013.01)

A61Q 19/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 재배 딸기 추출물은 딸기 잎을 추출한 것을 특징으로 하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 재배 딸기 추출물은 물, C₁~C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출한 것을 특징으로 하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 분획물은 재배 딸기 에탄올 추출물의 부탄올 또는 물 분획물인 것을 특징으로 하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 병원성 세균은 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*) 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것을 특징으로 하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물.

청구항 6

재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 화장료 조성물.

청구항 7

재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 식품 첨가제.

청구항 8

재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 사료 첨가제.

청구항 9

재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 의약외품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 딸기 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 화장품에는 물을 포함하여 다양한 영양분을 포함하고 있으므로 세균이나 진균에 의한 오염이 일어나기 쉽다. 화장품의 미생물 오염이 주는 부정적인 측면은 두 가지로 요약할 수 있는데 첫 번째는 소비자의 건강에 미치는 위험성이고, 두 번째는 상품 가치의 하락이다. 화장품은 대부분 사용방법이 피부에 도포하는 특징을 가지고 있으므로 미생물이 오염된 제품을 피부에 도포할 경우 상처를 통해 유입된 미생물로 인해 염증이나 피부 트러블이 발생할 수 있다. 특히, 병원성 미생물에 오염되었을 경우에는 건강에 심각한 문제를 일으킬 수도 있다. 그 외 곰팡이나 세균이 증식된 제품은 변취나 유화의 파괴, 제품 pH 변화로 인한 제품 성상의 변화를 유발하여 상품의 가치를 하락시키는 결과를 가져온다. 따라서 이를 억제하기 위하여 다양한 종류의 항균제가 사용되고 있는데 피부에 알러지를 유발할 수 있으므로 비교적 인체에 무해한 물질을 사용하는 것이 중요하다. 그동안 사용되어 오던 기존 항균제의 대부분은 화학 합성을 통해 제조된 것이었으나, 이와 같은 화학합성 항균제에 대한 내성균의 출현이 빈번해지고 있는 실정이며, 대부분 이들 화학 합성 항균제 자체가 지니는 독성이 크기 때문에 화학합성 항균제의 사용이 기피되고 있는 추세에 있다. 따라서 최근에는 천연물 중 항균활성을 지닌 소재를 개발하고자 하는 노력이 계속되고 있다.
- [0003] 한편, 재배 딸기(*Fragaria ananassa* Duch.)는 장미과에 속하는 다년생 식물로 재배 기간이 길고 노동력이 많이 드는 작물에 속하지만 저온에서 생육이 가능하며 저가온 시설재배로 11월부터 5월까지 수확할 수 있다. 재배딸기에는 플라보노이드(flavonoid)류로 케르세틴-7-자일로사이드(quercetin-7-xyloside), 프라가린(fragarin), 프로시아니딘 B₃(procyanidin B₃), 1-O-p-쿠마로일글루코스(1-O-p-coumaroylglucose), 2-헵탄올(2-heptanol) 또는 엘라직산(ellagic acid) 등을 포함하는 것으로 알려져 있다. 이에 딸기를 이용한 항염, 항암, 신장질환 등 질환 관련 많은 연구들이 다수 진행되고 있다. 또한, 향기와 색상이 우수하여 현재 잼, 시럽, 주스 등의 제조 원료로 많이 사용되고 있으며, 이를 이용한 가공품 가치도 높아 관련 연구들도 많이 진행되어 있는 상태이다.
- [0004] 한편, 일본공개특허 제2006-089410호는 항균용 조성물을 개시하고 있으며, 한국등록특허 제0997452호는 딸기 꼭지 추출물을 유효성분으로 하는 화장료 조성물을 개시하고 있다. 하지만, 본 발명의 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에 대해 아직까지 개시된 바가 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0005] 본 발명은 상기와 같은 요구에 의해 도출된 것으로서, 본 발명자들은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 잎 추출물 및 이의 용매(헥산, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물)별 분획물들을 병원성 세균인 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*) 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 각각 처리하여 상기 병원성 세균의 생육을 효과적으로 저해하는 것을 확인함으로써, 본 발명을 완성하였다.

과제의 해결 수단

- [0006] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물을 제공한다.
- [0007] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 화장료 조성물을 제공한다.
- [0008] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 식품 첨가제를 제공한다.
- [0009] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 사료 첨가제를 제공한다.
- [0010] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 의약외품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에 따르면, 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 잎 추출물 및 이의 분획물이 병원성 세균인 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*) 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 대해 우수한 항균 활성을 나타내므로, 의약품, 의약외품, 식품 첨가제 또는 사료 첨가제 등에 매우 유용하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 발명의 일 구현 예에 따른 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 및 이의 용매(헥산, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물)별 분획물의 제조 과정에 대한 모식도를 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 조성물을 제공한다.

[0014] 본 발명의 "항균(antimicrobial)"의 의미는 어떤 농도에서 미생물의 성장 또는 생존을 감소, 방지, 억제, 또는 제거하는 능력을 의미한다.

[0015] 본 발명의 "항균용 조성물"은 세균과 같은 미생물의 생육을 저해하는 활성을 가진 조성물로서, 항미생물제를 총칭하는 의미인 항생제와 같은 의미일 수 있고, 항균 효과가 요구되는 다양한 분야에 사용되는 모든 형태가 포함될 수 있으며, 예를 들어, 의약품, 의약외품, 식품 첨가제 또는 사료 첨가제 등의 형태일 수 있다.

[0016] 본 발명의 "함유하는(comprising)" 용어는 포함하는 것에 한정되지 않으며, 일례로 다른 첨가제, 성분, 지수 또는 단계와 같은 것을 제외하지 않는다.

[0017] 본 발명의 일 구현 예에 따른 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에서, 상기 재배 딸기 추출물은 딸기 잎을 추출한 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0018] 본 발명의 일 구현 예에 따른 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에서, 상기 추출물은 물, C₁-C₄의 저급 알코올 또는 이들의 혼합물을 용매로 하여 추출하는 것일 수 있고, 바람직하게는 에탄올을 용매로 하여 추출하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0019] 본 발명의 일 구현 예에 따른 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에서, 상기 분획물은 재배 딸기 에탄올 추출물의 부탄올 또는 물 분획물일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0020] 본 발명의 일 구현 예에 따른 병원성 세균에 대한 항균용 조성물에서, 상기 병원성 세균은 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*) 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0021] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 화장료 조성물을 제공한다.

[0022] 상기 병원성 세균은 전술한 바와 같다.

[0023] 상기 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 강한 항균 활성을 나타내면서, 인간 유래 세포에 대하여 낮은 세포독성을 나타내므로, 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 화장료 조성물의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

[0024] 본 발명의 화장료 조성물은 상기 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물 이외에 화장료 조성물에 통상적으로 이용되는 성분들이 포함되며, 예컨대 향산화제, 안정화제, 용해화제, 비타민, 안료 및 향료와 같은 통상적인 보조제, 그리고 담체를 포함한다.

[0025] 본 발명의 화장료 조성물에 있어서, 통상적으로 함유되는 화장료 조성물에 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 0.1 내지 50 중량%, 바람직하게는 1 내지 10 중량%의 양으로 첨가될 수 있다.

[0026] 본 발명의 화장료 조성물은 당업계에서 통상적으로 제조되는 어떠한 제형으로도 제조될 수 있으며, 예를 들어, 용액, 현탁액, 유탁액, 페이스트, 겔, 크림, 로션, 파우더, 비누, 계면활성제-함유 클렌징, 오일, 분말 파운데

이션, 유탁액 파운데이션, 왁스 파운데이션 및 스프레이 등으로 제형화될 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 보다 상세하게는, 유연 화장수(스킨), 영양 화장수(밀크로션), 영양 크림, 맛사지 크림, 에센스, 아이크림, 클렌징 크림, 클렌징 폼, 클렌징 워터, 팩, 스프레이 또는 파우더의 제형으로 제조될 수 있다.

[0027] 본 발명의 제형이 페이스트, 크림 또는 젤인 경우에는 담체 성분으로서 동물성 유, 식물성 유, 왁스, 파라핀, 진분, 트라가칸타, 셀룰로오스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 실리카, 탈크 또는 산화아연 등이 이용될 수 있다.

[0028] 본 발명의 제형이 파우더 또는 스프레이인 경우에는 담체 성분으로서 락토스, 탈크, 실리카, 알루미늄 히드록시드, 칼슘 실리케이트 또는 폴리아미드 파우더가 이용될 수 있고, 특히 스프레이인 경우에는 추가적으로 클로로플루오로히드로카본, 프로판/부탄 또는 디메틸 에테르와 같은 추진체를 포함할 수 있다.

[0029] 본 발명의 제형이 용액 또는 유탁액인 경우에는 담체 성분으로서 용매, 용해화제 또는 유탁화제가 이용되고, 예컨대 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 카보네이트, 에틸 아세테이트, 벤질 알코올, 벤질 벤조에이트, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸글리콜 오일, 글리세롤 지방족 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 또는 소르비탄의 지방산 에스테르가 있다.

[0030] 본 발명의 제형이 현탁액인 경우에는 담체 성분으로서 물, 에탄올 또는 프로필렌 글리콜과 같은 액상의 희석제, 에톡실화 이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 에스테르 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르와 같은 현탁제, 미소 결정성 셀룰로오스, 알루미늄 메타히드록시드, 벤토나이트, 아가 또는 트라가칸타 등이 이용될 수 있다.

[0031] 본 발명의 제형이 계면-활성제 함유 클렌징인 경우에는 담체 성분으로서 지방족 알코올 설페이트, 지방족 알코올 에테르 설페이트, 설포숙신산 모노에스테르, 이세티오네이트, 이미다졸리늄 유도체, 메틸타우레이트, 사르코시네이트, 지방산 아미드 에테르 설페이트, 알킬아미도베타인, 지방족 알코올, 지방산 글리세리드, 지방산 디에탄올아미드, 식물성 유, 라놀린 유도체 또는 에톡실화 글리세롤 지방산 에스테르 등이 이용될 수 있다.

[0032] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 식품 첨가제를 제공한다.

[0033] 상기 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 강한 항균 활성을 나타내면서, 인간 유래 세포에 대하여 낮은 세포독성을 나타내므로, 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 식품 첨가제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

[0034] 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물을 식품 첨가물로 사용하는 경우, 상기 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 식품 성분과 함께 사용될 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적에 따라 적절하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 원료에 대하여 15 중량부 이하, 바람직하게는 10 중량부 이하의 양으로 첨가된다. 그러나, 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하일 수 있으며, 안정성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 유효성분은 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있다.

[0035] 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 물질을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소시지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종스프, 음료수, 차, 드링크제, 알코올 음료 및 비타민 복합제 등이 있으며, 통상적인 의미에서의 식품을 모두 포함한다.

[0036] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 사료 첨가제를 제공한다.

[0037] 상기 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 강한 항균 활성을 나타내면서, 인간 유래 세포에 대하여 낮은 세포독성을 나타내므로, 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물은 사료 첨가제의 유효성분으로 유용하게 사용될 수 있다.

[0038] 본 발명의 사료 조성물은 발효사료, 배합사료, 펠렛 형태 및 사일리지 등의 형태로 제조될 수 있다.

[0039] 상기 발효사료는 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물 이외의 여러 가지 미생물군 또는 효소들을 첨가함으로써 유기물을 발효시켜 제조할 수 있으며, 배합사료는 여러 종류의 일반사료와 본 발명의 재배 딸기 추출물 또는 이의 분획물을 혼합하여 제조할 수 있다. 펠렛 형태의 사료는 상기 배합사료 등을 펠렛기에서 열과 압력을 가하여 제조할 수 있으며, 사일리지는 청예사료를 미생물로 발효시킴으로써 제조할 수 있다. 습식발효사료

는 음식물 쓰레기 등과 같은 유기물을 수집 및 운반하여 살균과정과 수분조절을 위한 부형제를 일정비율로 혼합한 후, 발효에 적당한 온도에서 24시간 이상 발효하여, 수분함량이 약 70%로 포함되도록 조절하여 제조할 수 있다. 발효건조사료는 습식발효사료를 건조과정을 추가로 거쳐 수분함량이 30% 내지 40% 정도 함유되도록 조절하여 제조할 수 있다.

[0040] 또한, 본 발명은 재배 딸기(*Fragaria ananassa*) 추출물 또는 이의 분획물을 유효성분으로 함유하는 병원성 세균에 대한 항균용 의약외품 조성물을 제공한다.

[0041] 본 발명의 조성물을 의약외품 첨가물로 사용할 경우, 상기 재배딸기 추출물 또는 분획물을 그대로 첨가하거나 다른 의약외품 또는 의약외품 성분과 함께 사용할 수 있고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용할 수 있다. 유효성분의 혼합량은 사용 목적에 따라 적합하게 결정될 수 있다.

[0042] 본 발명의 의약외품 조성물은 이에 제한되지는 않으나, 바람직하게는 소독청결제, 샤워폼, 가그린, 물티슈, 세제비누, 핸드워시, 가습기 충전제, 마스크, 연고제, 패치, 또는 필터 충전제일 수 있다.

[0043] 이하, 실시예를 이용하여 본 발명을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들에 의해 제한되지 않는다는 것은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어 자명한 것이다.

[0044] 재료 및 방법

[0045] 1. 재료

[0046] 실험에 사용된 재배 딸기 잎(*Fragaria ananassa* var. 'Seolhyang')은 2016년 5월에 충청남도 논산 김종원 농장에서 수확하여 수세한 후 일주일간 음건하였고, 마쇄하여 분말로 만들어 각종 실험 및 분석에 사용하였다.

[0047] 2. 시료 제조

[0048] 건조된 재배 딸기 잎은 시료 200g당 15배량(w/v)의 80% 에탄올로 24시간 3회 추출한 다음, 추출액을 여과지(Whatman No. 2, Maidstone, England)로 감압여과하였다. 여액을 40℃의 수욕 상에서 회전감압농축기(EYELA A-1000S, Tokyo Rikakikai co., Tokyo, Japan)로 용매를 제거하고 감압농축한 후, 동결 건조(SFDSM12-60Hz, Samwon Freezing Engineering Co., Seoul, Korea)하여 4℃ 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였다. 80% 에탄올 추출물은 분액 깔때기(Separating funnel)에 의한 용매별 분획으로 *n*-헥산(*n*-hexane), 에틸 아세테이트(ethyl acetate) 및 *n*-부탄올(*n*-butanol)로 연속 추출한 후 각 분획물을 회전감압농축기로 감압농축한 다음 동결 건조시켰다(도 1).

[0049] 3. 시험균주

[0050] 항균 활성은 각 균주를 이용하여 디스크 확산 분석법(disc diffusion assay)으로 측정하였다. 항균 활성 측정에 사용된 균주는 그람 양성균인 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*; *B. cereus*) KCTC 1012 및 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*; *S. aureus*) KCTC 3881과, 그람 음성균인 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*; *E. cloacae*) KTCT 1685, 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*; *E. coli*) KTCT 2441, 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*; *S. enterica*) KTCT 1925 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*; *P. aeruginosa*) KTCT 1636의 총 6종을 생물자원센터(Korean collection for Type Culture, Daejeon, Korea) 및 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다(표 1).

[0051] 4. 재배 딸기 잎 추출물 및 이의 용매별 분획물의 항균성 검색

[0052] 재배 딸기 잎 추출물 및 이의 용매별 분획물의 항균활성은 각 시험 균주를 대상으로 생육 배양하였다(표 1). 구체적으로, 분양받은 휴면상태의 균주들을 NB 배지(nutrient broth; Becton, Dickinson & Co., MD, USA)에서 3회 계대 배양하여 600nm에서 측정한 흡광도 값이 0.4~0.6(1×10^5 CFU/mL) 범위 안에 들어가게 한 후, 항균 활성 측정을 위한 시험 균주로 사용하였다. 각 시험 균주는 항균 시험용 평판배지인 NA(nutrient agar; Becton, Dickinson & Co., MD, USA)에 100 μ l씩 분주한 뒤 멸균 면봉으로 도말하였고, 각 시료는 디스크(disc) 당 1mg 및 5mg이 되도록 페이퍼 디스크(8mm)에 천천히 흡수시킨 뒤 건조과정을 거쳐 용매를 휘발시킨 후 평판배지 위에 밀착시킨 상태로 24시간 동안 30~37℃에서 배양하여 디스크 주변에 생성된 생육 저해환(Clear zone, mm)을 측정하여 항균활성을 비교하였다.

표 1

[0053] 본 발명에 사용한 시험 균주

시험 균주		배지	온도(℃)
그람 양성 세균	바실러스 세레우스(<i>Bacillus cereus</i>)	NA ¹⁾ /NB ²⁾	30
	스타필로코커스 아우레우스(<i>Staphylococcus aureus</i>)	NA/NB	30
그람 음성 세균	에스케리키아 콜라이(<i>Escherichia coli</i>)	NA/NB	30
	엔테로박터 클로아카에(<i>Enterobacter cloacae</i>)	NA/NB	30
	살모넬라 엔테리카(<i>Salmonella enterica</i>)	NA/NB	37
	슈도모나스 에루지노사(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	NA/NB	37

[0054] ¹⁾NA : Nutrient agar

[0055] ²⁾NB : Nutrition broth

[0056] 5. 통계처리

[0057] 모든 실험은 3회 이상 반복 측정하여 평균과 표준편차로 나타내었으며 그 결과는 SPSS 22.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago IL, USA) 소프트웨어를 이용하여 일원배치 분산분석(ANOVA)을 실시하였다. 유의적 차이가 있는 항목에 대해서는 던컨의 다중범위검정(Duncan's multiple range test)으로 p<0.05 수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

[0058] 실시예 1. 재배 딸기 잎 추출물 및 이의 용매별 분획물 처리에 따른 병원성 세균에 대한 항균 활성 확인

[0059] 본 실시예 1에서는 재배 딸기 잎 추출물과 이의 용매별 분획물을 제조하여 5mg/disc의 농도로 병원성 세균에 처리하여 항균활성을 확인하였다. 그 결과, 하기 표 1에 개시한 바와 같이 그람 양성균인 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*)와, 그람 음성균인 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 엔테로박터 클로아카에(*Enterobacter cloacae*), 살모넬라 엔테리카(*Salmonella enterica*) 및 슈도모나스 에루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 균주에서 생육 저해 현이 관찰되었다. 항균 활성을 보인 80% 에탄올 추출물에서는 살모넬라 엔테리카(11mm), 바실러스 세레우스(10mm), 엔테로박터 클로아카에(10mm) 및 에스케리키아 콜라이(9.25mm) 순으로 항균 활성을 보였고, n-부탄올 분획물에서는 바실러스 세레우스(11mm)에서 항균 활성을 나타냈으며, 물 분획물에서는 에스케리키아 콜라이(10.25mm), 바실러스 세레우스(10mm), 살모넬라 엔테리카(9.5mm), 슈도모나스 에루지노사(9.25mm) 순으로 생육 억제 활성을 나타내었다.

표 2

[0060] 병원성 세균에 대한 재배 딸기 잎 추출물 및 이의 용매별 분획물의 항균 효과

시험 균주	생육 저지환(mm)	
	용매	처리농도(5mg/disc)
바실러스 세레우스	80% 에탄올	10
	n-헥산	- ¹⁾
	에틸 아세테이트	-
	n-부탄올	11
	물	10
스타필로코커스 아우레우스	80% 에탄올	-
	n-헥산	-
	에틸 아세테이트	-
	n-부탄올	-
	물	-

에스케리키아 콜라이	80% 에탄올	9.25
	n-헥산	-
	에틸 아세테이트	-
	n-부탄올	-
	물	10.25
엔테로박터 클로아카에	80% 에탄올	10
	n-헥산	-
	에틸 아세테이트	-
	n-부탄올	-
	물	10.5
살모넬라 엔테리카	80% 에탄올	11
	n-헥산	-
	에틸 아세테이트	-
	n-부탄올	-
	물	9.5
슈도모나스 에루지노사	80% 에탄올	-
	n-헥산	-
	에틸 아세테이트	-
	n-부탄올	-
	물	9.25

[0061] ¹⁾ 생육 저지환 관찰 안됨

도면

도면1

