



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0146358
(43) 공개일자 2016년12월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/736 (2006.01) A61K 8/97 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/736 (2013.01)
A61K 8/97 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0083521
(22) 출원일자 2015년06월12일
심사청구일자 2015년06월12일

(71) 출원인
(주) 아마존허브
충청남도 서산시 해미면 한서1로 46 (한서대학교
공학관109호)
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경
희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
박용덕
서울특별시 노원구 중계로 184, 112동 402호 (중
계동, 신동아중계동아파트)
장중화
충청남도 서산시 고운로 276, 110동 401호 (동문
동, 한라비발디아파트)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인 천지

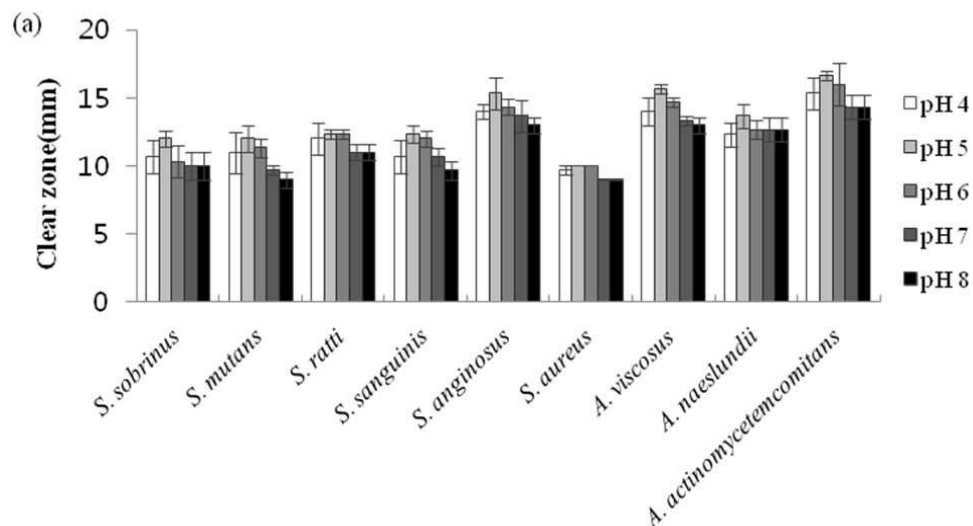
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 초고압 효소 반응으로 추출된 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 및 이의 제조방법

(57) 요약

본 발명은 초고압 효소 반응으로 추출된 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물에 관한 것으로, 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 60℃ 에서 10 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법 및 이를 이용하여 제조된 매실 추출물을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 2236/19 (2013.01)

A61K 2236/37 (2013.01)

(72) 발명자

오태진

충청남도 천안시 서북구 불당17길 14, 111동 602호
(불당동, 불당아이파크)

권하정

서울특별시 동대문구 회기로21가길 9 (회기동)

유상철

경기도 안성시 금광면 진안로 352

한소라

충청남도 천안시 서북구 늘푸른6길 41, 110동 140
3호 (두정동, 극동늘푸른아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 C0190937

부처명 중소기업청

연구관리전문기관 (사)한국산학연합회

연구사업명 2014년 산학협력 기술개발사업

연구과제명 생약제제 기반의 구취제거 및 구강병 예방/치료용 스프레이형 구강청정제 개발

기 여 율 1/1

주관기관 경희대학교산학협력단

연구기간 2014.06.01 ~ 2015.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

초고압 효소 반응으로 추출된 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 초고압 효소 반응은 90 내지 110 MPa에서 초고압기로 실시되는 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 효소는 Pectinex Ultra SP-L, Novozym 33095 및 Viscozyme L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이고, 상기 매실 추출물은

Pectinex Ultra SP-L 효소를 이용하여 pH 4 내지 6, 40 내지 60℃ 에서 20 내지 40시간 동안 초고압 효소 반응으로 추출되고, 구강균에 대한 최소 저해 농도가 3 내지 7%인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물,

Novozym 33095 효소를 이용하여 pH 5 내지 8, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 초고압 효소 반응으로 추출되고, 구강균에 대한 최소 저해 농도가 3 내지 7%인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물, 또는

Viscozyme L 효소를 이용하여 pH 5 내지 8, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 초고압 효소 반응으로 추출되고, 구강균에 대한 최소 저해 농도가 3 내지 13%인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 추출물은 트렙토코커스 소브리누스(*Streptococcus sobrinus*, KCTC 3308), 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*, KCTC 12256), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*, KCTC 3065), 스트렙토코커스 라티(*Streptococcus ratti*, KCTC 3655), 스트렙토코커스 상귀니스(*Streptococcus sanguinis*, KCTC 3284), 액티노마이세스 비스코수스(*Actinomyces viscosus*, KCTC 5531), 액티노마이세스 나이슬런디(*Actinomyces naeslundii*, KCTC 5525), 스트렙토코커스 안지노수스(*Streptococcus anginosus*, KCTC 3983) 및 애그리게이티박터 액티노마이세스탬코미탄스(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, KCTC 3698)로 이루어진 군에서 선택되는 균주에 대해 최소저해농도가 3 내지 7%의 항균 활성을 나타내는 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물.

청구항 5

씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계,

초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 60℃ 에서 10 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및

상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 효소는 Pectinex Ultra SP-L, Novozym 33095 및 Viscozyme L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나이고, 상기 제조방법은

씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 6의 완충용액 200 내지 400 부피부, Pectinex Ultra SP-L 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 40 내지 60℃ 에서 20 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법,

씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 5 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, Novozym 33095 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법, 또는

씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 5 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, Viscozyme L 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법인 것인

구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 초고압 효소 반응으로 추출된 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 현대사회는 보건의료기술이 발달하고 국민의 의식수준이 높아짐으로써 구강건강관리의 필요성에 역점을 두고 있으며, 국민들의 생활수준이 높아짐에 따라 구강건강에 대한 관심이 점차 높아지고 있어 구강위생용품의 소비량이 증가하고 있는 추세이고, 삶의 질과 관련하여 구강건강 중에서 사회생활에 장애가 되는 구취에 대한 관심이 증대되면서 구취 억제 효과에 대한 연구가 활성화 되고 있는 추세이다.

[0003] 구취 발생의 구강내 국소요인으로 지목받는 구강 부패 작용은 그람음성의 혐기성세균과 밀접하게 관련되며, 특히 휘발성 황화합물을 생성할 능력이 있다고 알려진 *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedicus*, *Phopyromonas gingivitis* 등이 치주질환 원인균이면서 구취유발 원인균으로 주목되고, 구강 내에 탄수화물은 그람양성균에 의해 분해되어 산을 형성함으로써 치아우식증을 유발한다.

[0004] 따라서 그람양성세균과 그람음성세균 모두에서 광범위한 항균력을 나타내는 물질이 첨가된 구강용품에 대한 요구가 높아지고 있다.

[0005] 구강환경내에서 이상적인 항균제로는 구강 내 다른 정상 세균총보다는 구강질환을 유발하는 세균에 대한 선택적 항균력이 우수하면서도 인체 및 환경 독성의 위험성이 낮은 물질이 요구된다는 특징이 있다. 이에 따라 최근에는 여러 부작용이 있는 기존의 화학 합성 항균물질을 대신 할 수 있는 천연물에 대한 관심이 증가하고 있다.

[0006] 그동안 국외뿐 아니라 국내에서도 이러한 천연 추출물을 이용한 항균연구가 활발하게 진행되고 있으며, 자몽종자 및 녹차 추출물의 구취 감소 효과와 금은화와 포공영추출물을 첨가한 치약의 치아우식증 및 치은염 감소 효과가 보고되고 있다.

[0007] 항미생물 제제 개발에 초점을 두면서 인체에 대한 독성이 적고 부작용이 없이 지속적인 효과를 가져올 수 있는 천연추출물에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 녹차추출물, 산초, 호랑이풀, 견우자, 황기, 오롱차, 프로폴리스, 플라보노이드 등이 대표적인 천연추출물이라고 알려져 있으나, 대부분은 합성 항균제에 대항할 만한 효능이 부족하거나 가격이나 기존 원료와의 상용성 측면, 원료에 따른 독성 등 실제로 제품화시키기에 많은 어려움이 있다.

[0008] 매실은 본초강목, 신농본초경, 명의별록 등의 각종 한의서에 만성기침, 하열에 의한 가슴의 열기나 목마름, 오래 된 학질, 만성설사, 치질, 혈변, 혈뇨, 회충에 의한 급성복통이나 구토, 갈고리촌충 구제를 치료한다고 기록되어 있으나, 구강균의 항균 효과에 대한 연구는 미비하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국특허공개 제10-2002-0008807호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명의 목적은 구취 개선 및 구강 질환 예방을 위하여 항구강균 활성이 최적화된 매실 추출물을 제공하는 것이다.

[0011] 본 발명의 또 다른 목적은 초고압 효소 반응을 이용한 매실 추출물의 제조방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 상기 문제를 해결하기 위하여 본 발명은 초고압 효소 반응으로 추출된 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물을 제공한다.

[0013] 상기 초고압 효소 반응은 90 내지 110 MPa에서 초고압기로 실시되는 것일 수 있다.

[0014] 상기 효소는 Pectinex Ultra SP-L, Novozym 33095 및 Viscozyme L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것일 수 있다.

[0015] 상기 추출물은 트렙토코커스 소브리누스(*Streptococcus sobrinus*, KCTC 3308), 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*, KCTC 12256), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*, KCTC 3065), 스트렙토코커스 라티(*Streptococcus rattii*, KCTC 3655), 스트렙토코커스 상귀니스(*Streptococcus sanguinis*, KCTC 3284), 액티노마이세스 비스코수스(*Actinomyces viscosus*, KCTC 5531), 액티노마이세스 나이슬런디(*Actinomyces naeslundii*, KCTC 5525), 스트렙토코커스 안지노수스(*Streptococcus anginosus*, KCTC 3983) 및 애그리게이티박터 액티노마이세스탬코미탄스(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, KCTC 3698)로 이루어진 군에서 선택되는 균주에 대해 최소저해농도가 3 내지 7%의 항균 활성을 나타내는 것일 수 있다.

[0016] 상기 매실 추출물은 Pectinex Ultra SP-L 효소를 이용하여 pH 4 내지 6, 40 내지 60℃ 에서 20 내지 40시간 동안 초고압 효소 반응으로 추출되고, 구강균에 대한 최소 저해 농도가 3 내지 7%인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물일 수 있다.

[0017] 상기 매실 추출물은 Novozym 33095 효소를 이용하여 pH 5 내지 8, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 초고압 효소 반응으로 추출되고, 구강균에 대한 최소 저해 농도가 3 내지 7%인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물일 수 있다.

[0018] 상기 매실 추출물은 Viscozyme L 효소를 이용하여 pH 5 내지 8, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 초고압 효소 반응으로 추출되고, 구강균에 대한 최소 저해 농도가 3 내지 13%인 것인 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물일 수 있다.

[0019] 상기 매실 추출물은 액상치약, 구강청정제, 구강용 스프레이, 구강용 연고제 또는 구강 바니쉬용 조성물인 것일 수 있다.

[0020] 또한 본 발명은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 60℃ 에서 10 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법을 제공한다.

[0021] 상기 효소는 Pectinex Ultra SP-L, Novozym 33095 및 Viscozyme L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것

일 수 있다.

[0022] 상기 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 6의 완충용액 200 내지 400 부피부, Pectinex Ultra SP-L 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 40 내지 60℃ 에서 20 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0023] 상기 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 5 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, Novozym 33095 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0024] 상기 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 5 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, Viscozyme L 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 매실 추출물은 구취 및 구강 질환을 일으키는 구강균 저해효과가 있다.

[0026] 본 발명의 매실 추출물 제조방법은 추출 조건의 최적화를 통해 항구강균 활성을 향상시키고, 저에너지, 저독성의 친환경적 방법으로 추출할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 본 발명 실시예 1의 pH 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 2는 본 발명 실시예 2의 pH 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 3은 본 발명 실시예 3의 pH 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 4는 본 발명 실시예 1의 온도 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 5는 본 발명 실시예 2의 온도 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 6은 본 발명 실시예 3의 온도 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 7은 본 발명 실시예 1의 반응 시간 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 8은 본 발명 실시예 2의 반응 시간 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 9는 본 발명 실시예 3의 반응 시간 조건에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

도 10은 본 발명 실시예 1 내지 3의 농도에 따른 항구강균 활성을 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 첨부한 도면을 참고로 하여 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다.

[0029] 본 발명에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 발명에서, '포함하다' 또는 '가지다' 등의 용어는 명세서상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0030] 본 발명은 초고압 효소 반응으로 추출된 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물을 제공한다.

[0031] 매실은 장미과 (Rosaceae)에 뽕나무 속에 속하는 매실나무(P.mume Sieb. et zucc)의 과실로서 한국, 중국 및 일

본 등에 널리 분포하며 다양한 품종이 재배되고 있다. 매실은 항산화 및 항균 활성이 우수한 것으로 보고되고 있다. 또한 매실의 주성분인 유기산과 시트르산은 항균활성이 높아 살균 및 해독을 하여 장을 정화할 뿐만 아니라 간을 활성화 하여 혈액 산성화 방지, 위액 및 타액 분비 촉진 작용을 한다. 면역 기구의 핵심인 대식세포(매크로파지)의 활성화, 피부의 노화 방지, 뼈의 노화 방지, 지방 세포의 분해 작용을 통해 체질을 강화시키며, 살균, 해독, 진정 작용을 하며 장을 정화하고 간 기능을 촉진시키며 혈액의 산성화를 방지하면서 위액과 타액의 분비를 촉진하는 작용을 한다고 알려져있다.

[0032] 또한 상기 매실은 건강기능식품 원료 및 전통 약제로 오랜 기간 사용되어 온 만큼 안정성이 확보된 천연물이다.

[0033] 상기 매실 추출물을 제공하기 위하여 본 발명은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 60℃ 에서 10 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법을 제공한다.

[0034] 추출 방식에 있어서 많이 사용하는 추출법인 유기 용매를 이용한 추출은 천연물 추출 물에 대한 안전성이 낮고, 많은 에너지가 필요할 뿐만 아니라 낮은 품질과 환경 오염에 대한 위험 및 독성 등 몇가지 결점을 안고 있다. 상기 문제점을 해결하기 위하여 본 발명에서는 초고압 효소 반응을 이용할 수 있다.

[0035] 효소 추출법은 효소를 통해 세포벽과 세포막을 효율적으로 파괴하여 세포 안에 있는 물질을 추출을 하는 기술을 말한다. 이 방법은 추출시 에너지 소비가 적으며 제조과정에서 독성물질이 배출되지 않으므로 기존 추출 방법인 화학적 추출법보다 친환경적이다.

[0036] 과실의 과피와 과육의 성분은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 펙틴 등으로 구성되어 있으며 과실의 종류에 따라 그 함량이 다르고, 사용되는 효소의 종류와 양, 반응 온도, 완충용액의 pH에 직접적인 영향을 받는다. 본 발명에 따른 매실 추출물을 얻기 위하여서는 pH 4 내지 8의 완충용액을 사용하는 것이 바람직하고, 초고압기를 사용하여 30 내지 60℃ 에서 10 내지 40시간 동안 반응시키는 것이 가장 바람직하다. 본 발명에 따른 매실 추출물은 상기 범위 내에서 가장 안정성을 나타내며 높은 항구강균 활성을 나타낸다.

[0037] 상기 초고압 효소 반응은 90 내지 110 MPa에서 초고압기로 실시되는 것일 수 있다. 상기 초고압 효소 반응은 대부분 30 내지 60℃ 사이에서 수행하여야 하기 때문에, 기 압력이 90 MPa 미만이면 대략 60 내지 80 MPa에서도 미생물이 생육 가능하다는 문제가 발생할 수 있고, 또한, 110 MPa 초과하면 초고압 효소 반응기 자체가 손상될 우려가 있다. 따라서, 본 발명에서 사용된 효소 반응기의 압력은 90 내지 110 MPa, 즉 Max로 고정하여 '초고압기'라는 명칭을 사용하는 것이다.

[0038] 본 발명에 따른 매실 추출물은 8배 희석한 농도부터 32배 희석한 농도에서 뚜렷한 항균활성을 보이고, 광역의 병원성 및 부패성 미생물들에서 항균활성을 나타낸다.

[0039] 상기 효소는 Pectinex Ultra SP-L, Novozym 33095 및 Viscozyme L로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것일 수 있다.

[0040] 상기 Pectinex Ultra SP-L은 Polygalacturonase가 함유된 단일효소이며, Novozym 33095는 Pectin lyase, Polygalacturonase이 함유된 복합 효소이고, Viscozyme L은 β -glucanase, xylanase, cellulase, hemicellulase이 함유된 복합 효소인 것일 수 있다.

[0041] 상기 효소의 종류에 따라 최적 제조조건이 변화될 수 있다.

[0042] 상기 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 4 내지 6의 완충용액 200 내지 400 부피부, Pectinex Ultra SP-L 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 40 내지 60℃ 에서 20 내지 40시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0043] 상기 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 5 내지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, Novozym 33095 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0044] 상기 구취 개선 및 구강 질환 예방용 매실 추출물 제조방법은 씨를 제거한 매실 100 부피부에 대하여, pH 5 내

지 8의 완충용액 200 내지 400 부피부, Viscozyme L 효소 5 내지 15 부피부를 첨가하고 밀봉하는 단계, 초고압기를 사용하여 90 내지 110 MPa, 30 내지 50℃ 에서 10 내지 30시간 동안 반응시키는 단계, 및 상기 반응물을 여과 및 농축하는 단계를 포함하는 것일 수 있다.

[0045] 본 발명은 구취 및 치아 우식증 유발 세균을 유발하는 균주에 대하여 항균 활성을 나타낸다. 더욱 자세하게 본 발명에 따른 매실 추출물은 트렙토코커스 소브리누스(*Streptococcus sobrinus*, KCTC 3308), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*, KCTC 12256), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*, KCTC 3065), 스트렙토코커스 라티(*Streptococcus rattii*, KCTC 3655), 스트렙토코커스 상퀴니스(*Streptococcus sanguinis*, KCTC 3284), 액티노마이세스 비스코수스(*Actinomyces viscosus*, KCTC 5531), 액티노마이세스 나이슬룬디(*Actinomyces naeslundii*, KCTC 5525), 스트렙토코커스 안지노수스(*Streptococcus anginosus*, KCTC 3983) 및 애그리게이터박터 액티노마이세스콤미탄스(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, KCTC 3698)로 이루어진 군에서 선택되는 균주에 대해 최소저해농도가 3 내지 7%의 항균 활성을 나타내는 것일 수 있다.

[0046] 상기 매실 추출물은 액상치약, 구강청정제, 구강용 스프레이, 구강용 연고제 또는 구강 바니쉬용 조성물인 것일 수 있다. 더욱 자세하게는 본 발명에 따른 매실 추출물 등의 생약성분을 함유한 스프레이형 구강청정제일 수 있고 이는 구취 개선, 구강 질환 예방 효과가 있다.

[0047] 이하, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본 발명의 실시예에 대하여 상세히 설명한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다.

[0048] [제조예: 청매실 추출물 제조]

[0049] 본 연구에 사용한 청매실은 2014년 광양시에서 냉동 청매실을 구입하여 냉동고에 보관하면서 실험시료로 사용하였다. 또한 사용된 효소는 Pectinex Ultra SP-L, Novozym 33095, Viscozyme L을 Novozymes Co.(Denmark)에서 구입하여 사용하였으며, Pectinex Ultra SP-L은 Polygalacturonase가 함유된 단일효소이며, Novozym 33095는 Pectin lyase, Polygalacturonase이 함유된 복합 효소이고, Viscozyme L은 β -glucanase, xylanase, cellulase, hemicellulase이 함유된 복합 효소이다.

[0050] 씨를 제외한 냉동 청매실 50g을 쥐 뒤, 완충용액을 150ml을 넣었다. 이때 buffer의 pH를 4에서 8까지 다양하게 하였다. 그리고 효소(하기 표 1과 같이 첨가)를 10 v/v%로 넣고 밀봉 하였다. 그 후 초고압기기를 사용하여 100Mpa 압력조건에서 30℃에서 60℃까지, 10시간에서 40시간까지 변화시키며 반응을 하였다. (pH, 온도 및 시간은 하기 표 2~11 참조)반응물을 감압 여과한 뒤, 회전 증발기를 사용하여 1/10 농축하였다. 그리고 농축한 추출물을 사용하여 구강균에 대한 페이퍼 디스크 테스트를 3차까지 진행한 이후, 평균값으로 결과를 확인하여 최적 조건을 찾았다.

표 1

	실시예 1	실시예 2	실시예 3
청매실(g)	50	50	50
완충용액(ml)	150	150	150
효소	Pectinex Ultra SP-L	Novozym 33095	Viscozyme L

[0052] [실험예: 추출물에 대한 항구강 활성 및 최소 저해 농도 측정 테스트(MIC)]

[0053] 항구강력을 확인하기 위해 선택한 9종의 구강균을 고체 배지에 도말하였다. 본 연구에서 사용된 구강균은 9종을 사용하였으며, 균명은 트렙토코커스 소브리누스(*Streptococcus sobrinus*, KCTC 3308), 스타필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*, KCTC 12256), 스트렙토코커스 뮤탄스(*Streptococcus mutans*, KCTC 3065), 스트렙토코커스 라티(*Streptococcus rattii*, KCTC 3655), 스트렙토코커스 상퀴니스(*Streptococcus sanguinis*, KCTC 3284), 액티노마이세스 비스코수스(*Actinomyces viscosus*, KCTC 5531), 액티노마이세스 나이슬룬디(*Actinomyces naeslundii*, KCTC 5525), 스트렙토코커스 안지노수스(*Streptococcus anginosus*, KCTC 3983) 및

에그리게이티박터 액티노마이세스템코미탄스(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, KCTC 3698)이다.

[0054] 그리고 페이퍼 디스크(paper disc, 직경6mm, ADVANTEC, Japan)에 농축한 추출물을 20 μ l 흡수시킨 후 배지 위에 올렸다. 그리고 37℃ CO₂ 인큐베이터에 12시간 배양 후, 클린 존(clean zone)의 지름을 측정을 하였다. 농축한 추출물의 최소 저해 농도 측정(Minimum Inhibitory Concentration, MIC)은 농축한 추출물을 2배씩 희석을 하여 사용하였다. 구강균의 OD₆₀₀ 0.1일 때, 96 well plate에 구강균과 농축한 추출물을 1:1로 접종하였다. 37℃ CO₂ 인큐베이터에 12시간 배양 후, OD₆₀₀에서 흡광도 값을 확인하여 최소 저해 농도를 확인하였다.

[0055] 실험결과는 아래 표 2 내지 11 및 도 1 내지 10에 나타내었다.

[0056] 표 2는 실시예 1(Pectinex Ultra SP-L 효소 추출물)의 제조방법 중 완충용액(buffer)의 pH 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다. pH 보정 완충용액은 Metrohm사의 pH 4, pH 7 용액을 사용하여 pH기기를 보정하였다. 보정 후, 상온에서 대상 Mouth spray 성분을 넣고 10초간 교반한 후, pH를 측정하였다.

표 2

[0057]

	Inhibitionzone diameter(mm)				
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 10.7 (± 1.2)	12.0 (± 0.6)	10.3 (± 1.2)	10.0 (± 1.0)	10.0 (± 1.0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.7 (± 0.3)	10.0 (± 0.0)	10.0 (± 0.0)	9.0 (± 0.0)	9.0 (± 0.0)
<i>Streptococcus mutans</i>	11.0 (± 1.5)	12.0 (± 1.0)	11.3 (± 0.7)	9.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.6)
<i>Streptococcus rattii</i>	12.0 (± 1.2)	12.3 (± 0.3)	12.3 (± 0.3)	11.0 (± 0.6)	11.0 (± 0.6)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	10.7 (± 1.2)	12.3 (± 0.7)	12.0 (± 0.6)	10.7 (± 0.7)	9.7 (± 0.7)
<i>Actinomyces viscosus</i>	14.0 (± 1.0)	15.7 (± 0.3)	14.7 (± 0.3)	13.3 (± 0.3)	13.0 (± 0.6)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	12.3 (± 0.9)	13.7 (± 0.9)	12.7 (± 0.7)	12.7 (± 0.9)	12.7 (± 0.9)
<i>Streptococcus anginosus</i>	14.0 (± 1.2)	15.3 (± 1.2)	14.3 (± 0.3)	13.7 (± 0.9)	13.0 (± 1.0)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	15.3 (± 1.2)	16.7 (± 0.3)	16.0 (± 1.5)	14.3 (± 0.9)	14.3 (± 0.9)

[0058] ¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

[0059] 표 3은 실시예 2(Novezym 33095 효소 추출물)의 제조방법 중 완충용액의 pH 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 3

[0060]

	Inhibitionzone diameter(mm)				
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 10.0 (± 0.6)	10.0 (± 0.6)	10.0 (± 0.6)	11.7 (± 0.9)	9.3 (± 0.7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.7 (± 0.3)	7.7 (± 0.3)	7.0 (± 0.0)	8.3 (± 0.3)	7.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus mutans</i>	8.0 (± 0.0)	7.7 (± 0.3)	7.3 (± 0.3)	9.0 (± 0.6)	8.0 (± 0.0)
<i>Streptococcus rattii</i>	9.7 (± 0.3)	9.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.0)	10.7 (± 0.3)	8.7 (± 0.3)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	7.0 (± 0.0)	7.3 (± 0.3)	7.3 (± 0.3)	7.7 (± 0.3)	7.0 (± 0.0)
<i>Actinomyces viscosus</i>	11.0 (± 0.0)	11.3 (± 0.3)	11.3 (± 0.3)	12.0 (± 0.0)	10.0 (± 0.0)

<i>Actinomyces naeslundii</i>	12.7 (± 0.3)	12.7 (± 0.7)	12.7 (± 0.3)	13.7 (± 0.3)	11.7 (± 0.9)
<i>Streptococcus anginosus</i>	11.3 (± 0.3)	11.7 (± 0.7)	11.3 (± 0.3)	12.3 (± 0.7)	10.7 (± 0.3)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	11.0 (± 0.6)	11.7 (± 0.3)	12.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.3)	10.3 (± 0.3)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 4는 실시예 3(Viscozyme L 효소 추출물)의 제조방법 중 완충용액의 pH 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 4

	Inhibitionzone diameter(mm)				
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 9.0 (± 0.6)	9.7 (± 0.3)	9.7 (± 0.3)	10.0 (± 0.0)	8.7 (± 0.9)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.7 (± 0.3)	7.7 (± 0.3)	8.0 (± 0.0)	8.7 (± 0.3)	7.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus mutans</i>	8.3 (± 0.9)	8.7 (± 0.7)	9.7 (± 0.7)	10.0 (± 0.6)	8.7 (± 0.7)
<i>Streptococcus rattii</i>	8.7 (± 0.7)	9.7 (± 0.7)	9.7 (± 0.3)	9.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.6)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	9.3 (± 0.3)	9.7 (± 0.3)	9.7 (± 0.3)	10.3 (± 0.3)	8.7 (± 0.7)
<i>Actinomyces viscosus</i>	10.3 (± 0.3)	10.3 (± 0.3)	12.0 (± 0.0)	12.7 (± 0.9)	12.0 (± 0.6)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	11.3 (± 1.2)	10.7 (± 0.9)	12.3 (± 0.9)	12.3 (± 0.7)	12.0 (± 1.0)
<i>Streptococcus anginosus</i>	9.3 (± 0.7)	9.3 (± 0.3)	10.0 (± 0.0)	10.7 (± 0.3)	10.0 (± 0.6)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	6.0 (± 0.0)	6.0 (± 0.0)	8.0 (± 0.6)	9.0 (± 0.6)	8.3 (± 0.7)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 2 내지 3을 참조하여 완충용액의 pH에 따른 항구강 활성을 살펴보면, 실시예 1(Pectinex Ultra SP-L, 표 2)의 경우 전체적으로 pH 5에서 가장 높은 활성이나 왔으며, 실시예 2(Novozym 33095, 표 3)의 경우에는 pH 7에서 가장 높은 활성이 나왔다. 그리고 실시예 3(Viscozyme L, 표 4)의 경우에도 pH 7에서 가장 높은 활성을 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

실시예 1은 pH 5에서 항구강 활성이 10.0 내지 16.7mm가 나왔으며, 클린 존(clean zone)이 가장 큰 것은 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*이며, 클린 존의 지름은 16.7mm (± 0.2)로 나왔다. 그리고 실시예 2는 pH 7에서 항구강 활성이 7.7 내지 13.7mm, 클린 존이 가장 큰 것은 *Actinomyces naeslundii*이며, 클린 존의 지름은 13.7mm (± 0.2)로 나왔다. 실시예 3은 pH 7에서 항구강 활성이 8.7 내지 12.7mm, 클린 존이 가장 큰 것은 *Actinomyces viscosus*이며, 클린 존의 지름은 12.7mm (± 0.2)로 나왔다.

표 5는 실시예 1(Pectinex Ultra SP-L 효소 추출물)의 제조방법 중 반응온도 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 5

	Inhibitionzone diameter(mm)		
	40℃	50℃	60℃

<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 10.0 (± 1.2)	12.0 (± 0.6)	10.7 (± 1.2)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.0 (± 0.0)	10.0 (± 0.0)	9.0 (± 0.0)
<i>Streptococcus mutans</i>	9.0 (± 0.6)	12.0 (± 1.0)	10.3 (± 0.7)
<i>Streptococcus rattii</i>	10.7 (± 0.9)	12.3 (± 0.3)	10.3 (± 1.3)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	11.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.7)	11.3 (± 0.9)
<i>Actinomyces viscosus</i>	14.3 (± 0.3)	15.7 (± 0.3)	14.3 (± 0.2)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	11.7 (± 0.3)	13.7 (± 0.9)	12.7 (± 0.3)
<i>Streptococcus anginosus</i>	14.7 (± 0.3)	15.3 (± 1.2)	14.3 (± 0.3)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	14.3 (± 0.3)	16.7 (± 0.3)	15.7 (± 0.9)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 6은 실시예 2(Novozym 33095 효소 추출물)의 제조방법 중 반응온도 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 6

	Inhibitionzone diameter(mm)			
	30℃	40℃	50℃	60℃
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 10.3 (± 0.3)	11.7 (± 0.3)	11.7 (± 0.9)	11.7 (± 0.7)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.3 (± 0.3)	9.0 (± 0.0)	8.3 (± 0.3)	8.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus mutans</i>	8.3 (± 0.3)	9.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.6)	8.7 (± 0.3)
<i>Streptococcus rattii</i>	9.3 (± 0.3)	11.3 (± 0.3)	10.7 (± 0.3)	10.7 (± 0.9)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	8.0 (± 0.6)	8.7 (± 0.3)	7.7 (± 0.3)	7.3 (± 0.3)
<i>Actinomyces viscosus</i>	11.0 (± 0.0)	12.7 (± 0.3)	12.0 (± 0.0)	11.7 (± 0.3)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	12.3 (± 0.3)	14.0 (± 0.6)	13.7 (± 0.3)	13.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus anginosus</i>	11.3 (± 0.3)	13.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.7)	12.3 (± 0.3)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	11.7 (± 0.7)	13.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.3)	12.3 (± 0.3)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 7은 실시예 3(Viscozyme L 효소 추출물)의 제조방법 중 반응온도 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 7

	Inhibitionzone diameter(mm)			
	30℃	40℃	50℃	60℃

<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 7.7 (± 0.3)	11.0 (± 0.6)	10.0 (± 0.0)	10.3 (± 0.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.0)	8.7 (± 0.3)	8.0 (± 0.0)
<i>Streptococcus mutans</i>	7.3 (± 0.3)	12.0 (± 0.6)	10.0 (± 0.6)	10.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus rattii</i>	7.7 (± 0.3)	11.7 (± 0.7)	9.7 (± 0.3)	9.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	9.0 (± 0.3)	12.3 (± 0.3)	10.3 (± 0.3)	9.3 (± 0.3)
<i>Actinomyces viscosus</i>	8.3 (± 0.6)	14.3 (± 0.7)	12.7 (± 0.9)	12.0 (± 1.0)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	9.3 (± 0.3)	13.7 (± 0.3)	12.3 (± 0.7)	11.7 (± 0.9)
<i>Streptococcus anginosus</i>	10.0 (± 0.6)	11.3 (± 0.9)	10.7 (± 0.3)	10.0 (± 0.0)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	7.7 (± 0.9)	10.0 (± 0.6)	9.0 (± 0.6)	8.7 (± 0.3)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 5 내지 7을 참조하여 반응 온도에 따른 항구강 활성을 살펴보면, 실시예 1(Pectinex Ultra SP-L, 표 5)인 경우 전체적으로 50℃에서 가장 높은 활성이 나왔으며, 실시예 2(Novozym 33095, 표 6) 경우에는 40℃에서 가장 높은 활성이 나왔다. 그리고 실시예 3(Viscozyme L, 표 7)인 경우에도 40℃에서 가장 높은 활성을 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

실시예 1은 50℃에서 항구강 활성이 10.0 내지 16.7mm로 나왔으며, 클린 존이 가장 큰 것은 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*이며, 클린 존의 지름은 16.7mm였다. 그리고 실시예 2는 40℃에서 항구강 활성이 7.7 내지 13.7mm로 클린 존이 가장 큰 것은 *Actinomyces naeslundii*이며, 지름은 14.0 mm (± 0.3)로 나왔다. 실시예 3은 40℃에서 항구강 활성이 8.7 내지 12.7 mm였고, 클린 존이 가장 큰 것은 *Actinomyces viscosus*이며, 지름은 14.3mm (± 0.2)였다.

표 8은 실시예 1(Pectinex Ultra SP-L 효소 추출물)의 제조방법 중 반응시간 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 8

	Inhibitionzone diameter(mm)			
	10시간	20시간	30시간	40시간
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 11.0 (± 0.6)	12.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.3)	11.0 (± 0.0)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9.3 (± 0.3)	10.0 (± 0.0)	11.3 (± 0.3)	10.0 (± 0.6)
<i>Streptococcus mutans</i>	10.7 (± 0.3)	12.0 (± 1.0)	12.3 (± 0.9)	11.7 (± 0.7)
<i>Streptococcus rattii</i>	11.3 (± 1.3)	12.3 (± 0.3)	13.0 (± 1.7)	11.7 (± 1.8)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	11.7 (± 0.7)	12.3 (± 0.7)	12.7 (± 0.3)	12.0 (± 0.0)
<i>Actinomyces viscosus</i>	12.7 (± 0.9)	15.7 (± 0.3)	16.3 (± 0.3)	15.3 (± 0.3)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	12.7 (± 0.3)	13.7 (± 0.9)	15.3 (± 0.3)	13.7 (± 0.3)
<i>Streptococcus anginosus</i>	13.7 (± 0.9)	15.3 (± 1.2)	15.7 (± 0.9)	15.0 (± 1.2)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	15.3 (± 0.7)	16.7 (± 0.3)	17.3 (± 0.3)	16.7 (± 0.3)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 9는 실시예 2(Novozym 33095 효소 추출물)의 제조방법 중 반응시간 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 9

	Inhibitionzone diameter(mm)			
	10시간	20시간	30시간	40시간
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 9.0 (± 0.0)	11.7 (± 0.3)	10.0 (± 0.6)	10.0 (± 0.6)
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.0)	8.0 (± 0.0)	7.7 (± 0.3)
<i>Streptococcus mutans</i>	8.0 (± 0.0)	9.7 (± 0.3)	9.0 (± 0.0)	9.0 (± 0.0)
<i>Streptococcus rattii</i>	7.7 (± 0.7)	11.3 (± 0.3)	10.7 (± 0.3)	10.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	7.0 (± 0.0)	8.7 (± 0.3)	7.7 (± 0.3)	7.3 (± 0.3)
<i>Actinomyces viscosus</i>	9.7 (± 0.3)	12.7 (± 0.3)	12.0 (± 0.6)	11.0 (± 0.6)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	12.0 (± 0.0)	14.0 (± 0.6)	13.7 (± 0.3)	13.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus anginosus</i>	10.3 (± 0.3)	13.0 (± 0.6)	12.7 (± 0.3)	12.7 (± 0.3)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	11.0 (± 0.0)	13.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.3)	12.3 (± 0.3)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

표 10은 실시예 3(Viscozyme L 효소 추출물)의 제조방법 중 반응시간 변화에 따른 항구강균 활성을 나타낸 것이다.

표 10

	Inhibitionzone diameter(mm)			
	10시간	20시간	30시간	40시간
<i>Streptococcus sobrinus</i>	¹⁾ 10.7 (± 0.3)	11.0 (± 0.6)	11.0 (± 0.6)	10.7 (± 0.3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.3 (± 0.3)	9.0 (± 0.0)	9.3 (± 0.3)	9.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus mutans</i>	10.7 (± 0.3)	12.0 (± 0.6)	12.3 (± 0.9)	12.0 (± 0.6)
<i>Streptococcus rattii</i>	9.3 (± 0.3)	11.7 (± 0.7)	12.3 (± 1.5)	12.3 (± 0.3)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	9.3 (± 0.7)	12.3 (± 0.3)	12.7 (± 0.3)	12.3 (± 0.7)
<i>Actinomyces viscosus</i>	10.7 (± 0.3)	14.3 (± 0.7)	15.3 (± 0.7)	14.7 (± 0.3)
<i>Actinomyces naeslundii</i>	11.0 (± 0.6)	13.7 (± 0.3)	14.3 (± 0.7)	14.0 (± 0.6)
<i>Streptococcus anginosus</i>	10.3 (± 0.3)	11.3 (± 0.9)	13.3 (± 0.3)	13.0 (± 0.6)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	9.3 (± 0.3)	10.0 (± 0.6)	11.0 (± 0.6)	11.0 (± 0.6)

¹⁾ Data is expressed as mean±SD (n = 3).

[0087] 표 8 내지 10을 참조하여 반응 시간에 따른 항구강 활성을 살펴보면, 실시예 1인 경우 전체적으로 30시간에서 가장 높은 활성이 나왔으며, 실시예 2인 경우에는 20시간에서 가장 높은 활성이 나왔다. 그리고 실시예 3인 경우에도 30시간에서 가장 높은 활성을 가진다는 것을 확인할 수 있었다.

[0088] 실시예 1은 30시간에서 항구강 활성이 11.3mm ~ 17.3mm 나왔으며, 클린 존이 가장 큰 것은 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*이며, 클린 존의 지름은 17.3 mm ($\pm$ 0.2)로 나왔다. 그리고 실시예 2는 20시간에서 항구강 활성이 7.7mm ~ 13.7mm, 클린 존이 가장 큰 것은 *Actinomyces naeslundii*이며, 지름은 13.7mm ($\pm$ 0.2)로 나왔다. 실시예 3은 30시간에서 항구강 활성이 9.3 mm ~ 13.0 mm이며, 클린 존이 가장 큰 것은 *Actinomyces viscosus*이며, 클린 존의 지름은 13.0 mm($\pm$ 0.3)로 나왔다.

[0089] 표 11은 실시예 1 내지 3의 최적 조건을 정리하여 나타낸 것이다.

표 11

청매실	원충용액	효소 종류	원충용액 pH	반응온도	반응시간	효소농도
50g	150ml	Pectinex Ultra SP-L	pH 5	50 °C	30 Hrs	10 v/v%
		Novozym 33095	pH 7	40 °C	20 Hrs	10 v/v%
		Viscozyme L	pH 7	40 °C	30 Hrs	10 v/v%

[0091] 실시예 1 내지 3의 최적 추출 조건에서의 구강균에 대한 최소 저해 농도 테스트(MIC) 결과를 아래 표 12에 나타내었고, 희석 농도에 따른 최소 저해 농도 테스트 결과를 도 10에 나타내었다.

표 12

	MIC values are in %		
Bacterial strains	Enzyme for enzymatic extraction		
	Pectinex Ultra SP-L	Novozym 33095	Viscozyme L
<i>S. aureus</i>	6.25	6.25	6.25
<i>S. anginosus</i>	6.25	6.25	6.25
<i>S. mutans</i>	6.25	6.25	6.25
<i>S. rattii</i>	6.25	3.125	6.25
<i>S. sanguinis</i>	3.125	3.125	3.125
<i>S. sobrinus</i>	6.25	6.25	12.5
<i>A. naeslundii</i>	6.25	6.25	6.25
<i>A. viscosus</i>	3.125	3.125	6.25
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	3.125	3.125	6.25

[0093] [제조예 2: 매실 추출물을 함유한 생약제제 스프레이형 구강청정제용 조성물]

[0094] 매실 추출물을 하기 표 13과 배합하여 스프레이식 구강청정제 조성물을 제조하였다.

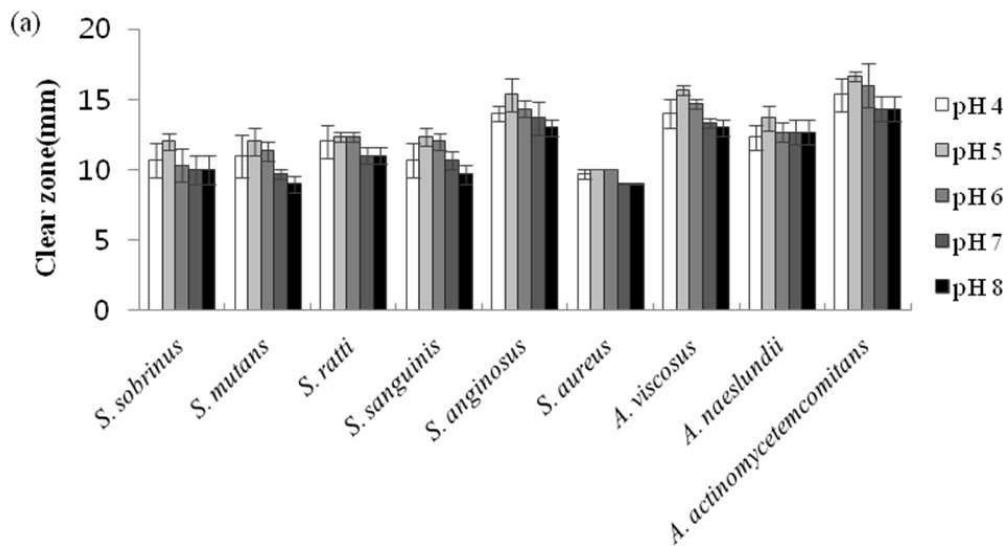
표 13

원 료 명	함량(%)
매실 추출물	0.1
Botanpi extract	trace
Rooibos extract	trace
Mentol	0.05
Xylitol	1
Poloxamer	0.25
Water	balance
Etc.	balance

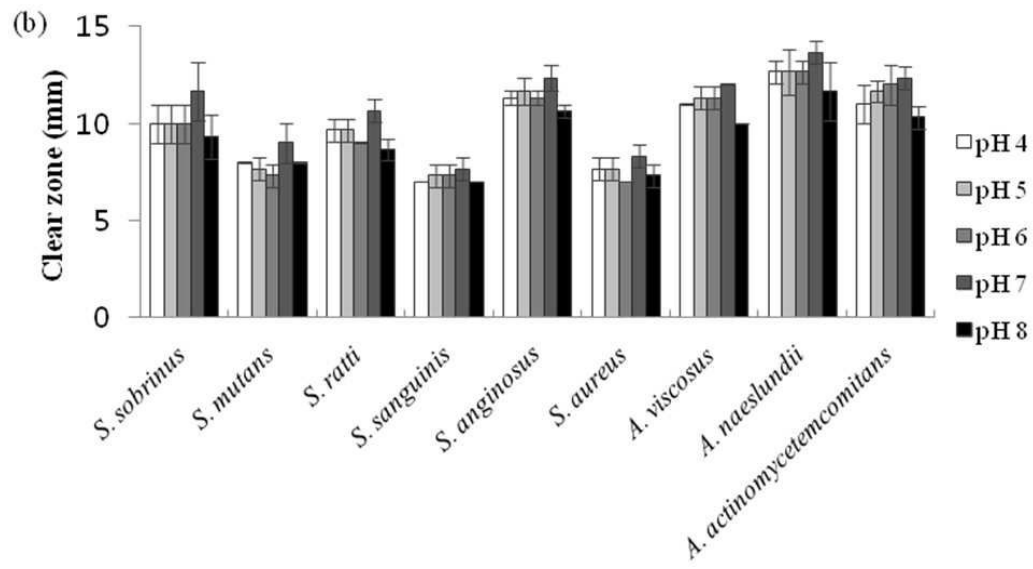
- [0096] 제조한 구강청정제 조성물 시료의 경시안정성 시험으로 HPLC 분석을 실시하였다.
- [0097] 상기 구강청정제 조성물 내에 매질의 유효 성분 (유기산, 폴리페놀, 플라보노이드)을 6개월 동안 7일 간격으로 성분 분석하여 성분의 분해 양상 및 보존률을 파악하였다.
- [0098] 0.1mV의 민감도를 갖는 pH meter(Metrohm, Switzerland)를 사용하여 구강청정제 성분의 pH를 측정한 결과 상기 스프레이형 구강청정제의 혼합 조성물의 pH가 5.5 미만일 때 법랑질의 부식을 촉진하는 것을 알 수 있었다.
- [0099] 이상에서 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

도면

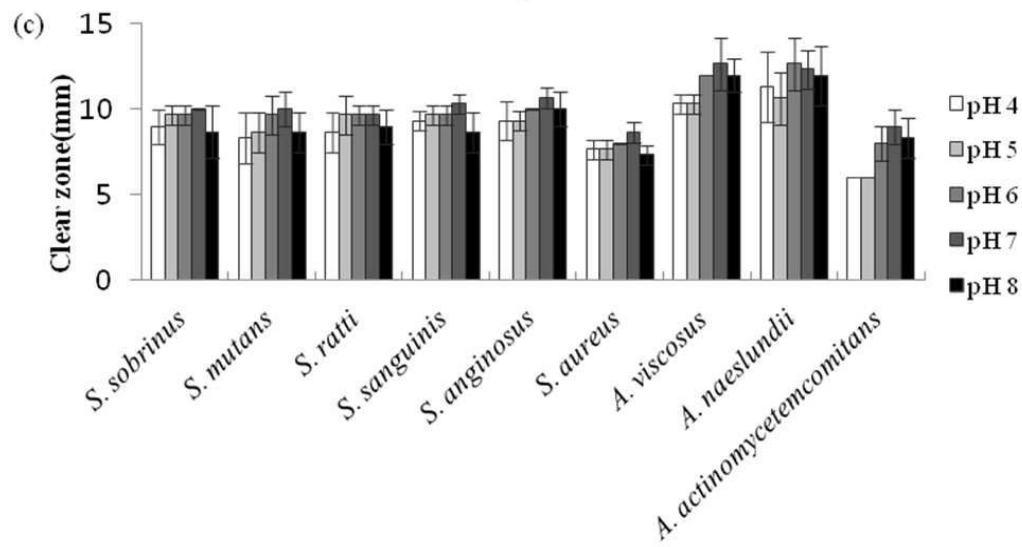
도면1



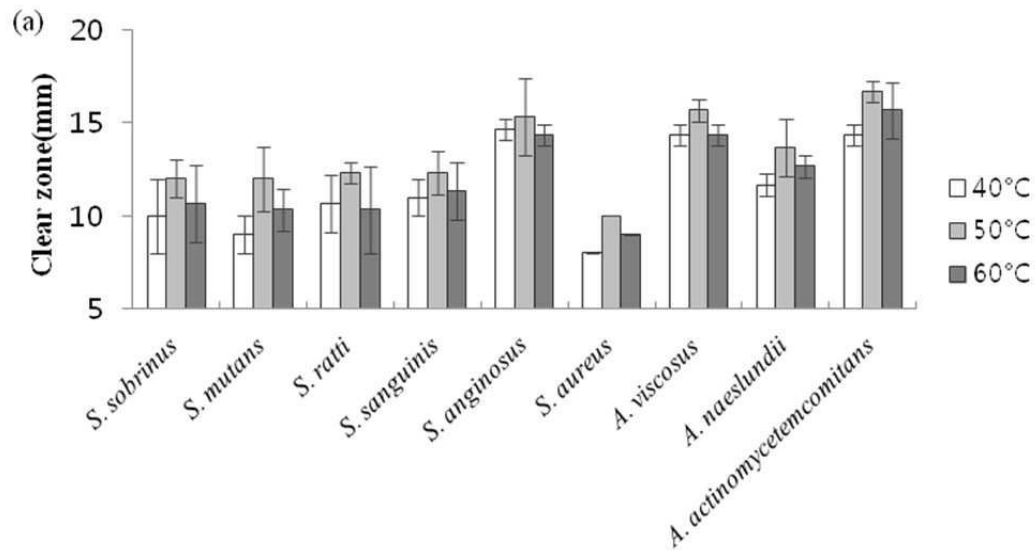
도면2



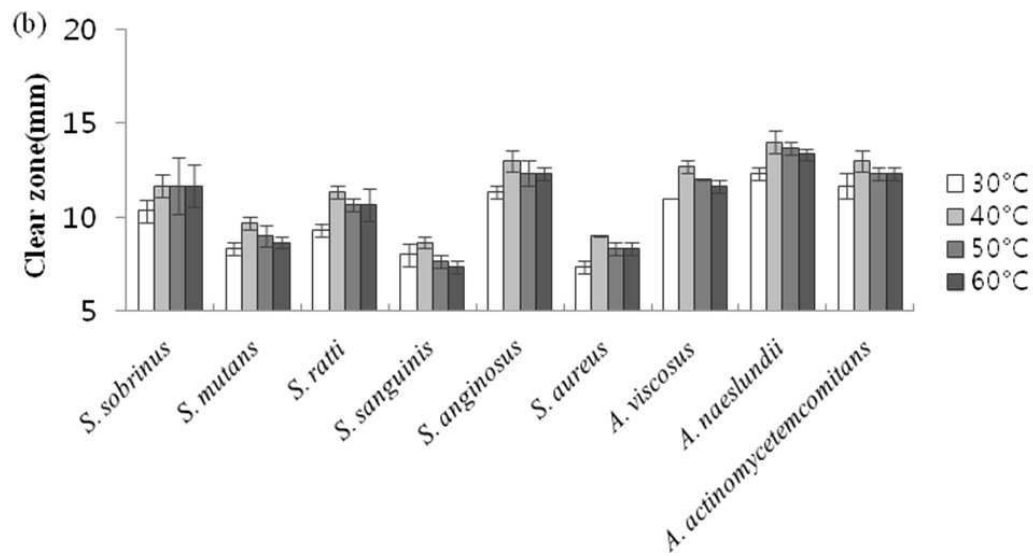
도면3



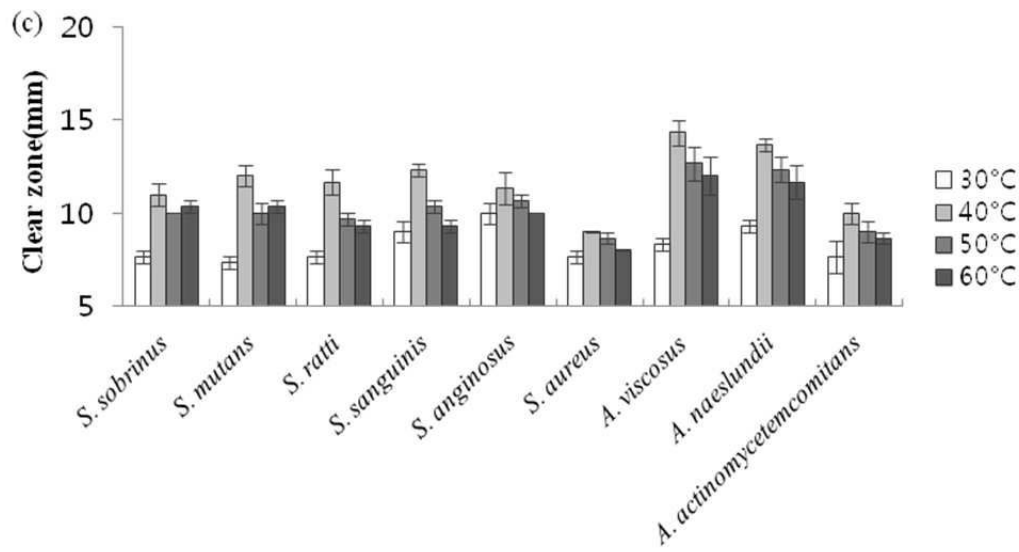
도면4



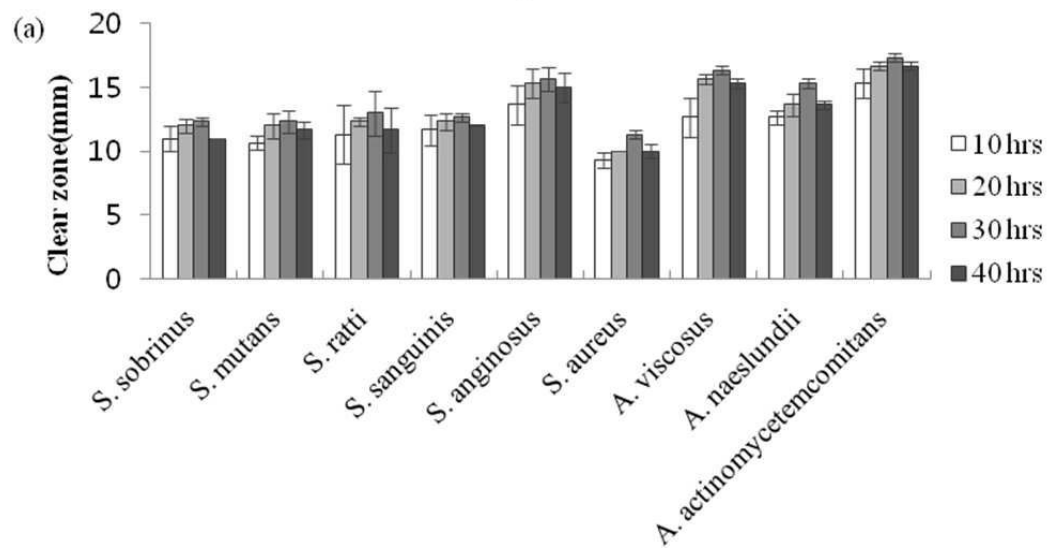
도면5



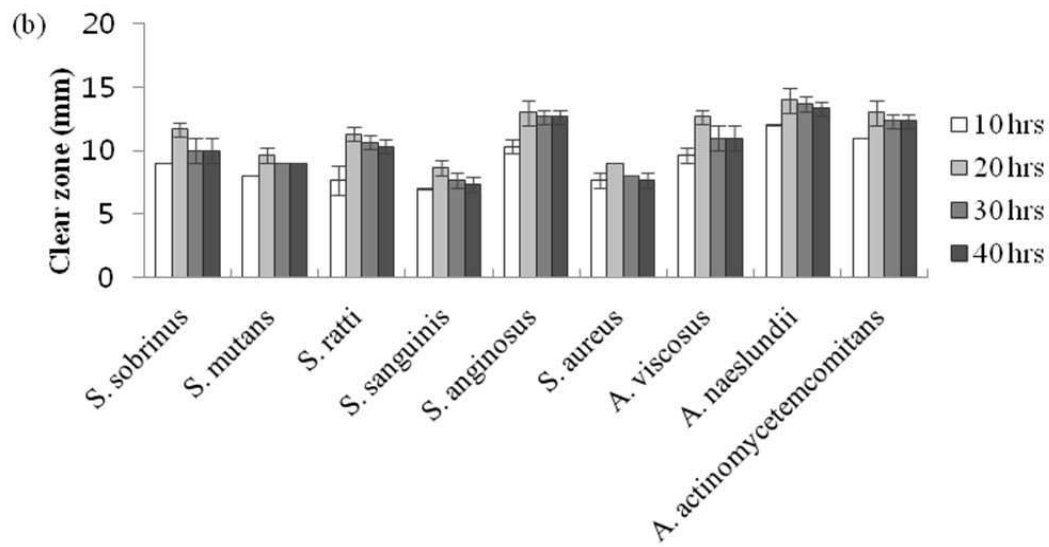
도면6



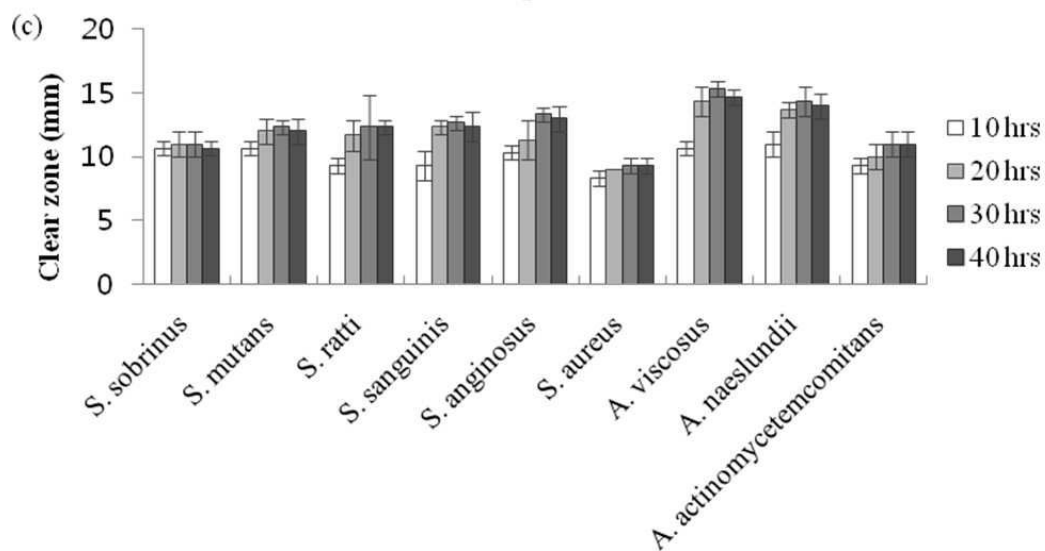
도면7



도면8



도면9



도면10

