

특허청구의 범위

청구항 1

에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 향균용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 조성물은,

약학 조성물 또는 손세정제 조성물 또는 농약 조성물인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 향균제로서 포함하는 것을 특징으로 하는 식품 조성물.

청구항 4

에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 향균제로서 포함하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물.

청구항 5

에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 향균제로서 포함하는 것을 특징으로 하는 사료 조성물.

청구항 6

향균제로서 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 사용하는 것을 특징으로 하는 세균의 살균방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 향균용 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 급속한 근대화 및 산업화의 시기를 거치면서 우리나라의 경제적인 규모는 증가하였고, 사회 및 산업 전반의 모습 또한 많이 변화하였다. 식품산업도 예외가 아닌데, 과거와 비교하였을 때, 사람들의 식습관에는 많은 변화가 있었으며, 식품의 안전성에 대한 사회적인 인식이 증가하였다.

[0003] 식품 안전성에 관한 문제 중 식중독과 관련한 문제는 이미 커다란 사회 문제가 되었고, 중요성이 날로 증가하고 있다. 식중독은 대부분 세균으로부터 기인하는 것으로 여겨지는데, 식중독에 있어서 실질적으로 세균이 차지하는 비중은 대단히 크다. 식약청의 통계에 따르면 2009년 식중독 환자 수는 5999명이며, 2010년에는 7218명의 식중독 환자가 보고되었다.

[0004] 식중독을 방지하기 위하여 다양한 형태의 항균제들이 개발되었고, 실질적으로 식품에 첨가되어 사용되고 있는 실정이다. 하지만, 항균제 또한 인체에 대해서는 해로울 수 있는 하나의 중요 인자가 되기 때문에 보다 안전한 항균제의 개발이 더욱 요구된다 할 것이다.

[0005]

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 특허공개번호 제10-2006-0075800호(공개일자: 2006. 07. 04)에는, "유기산 20~50 중량%, 유기산염 10.0~20.0 중량%, 키토올리고당 0.1~1.0 중량%, 파이올렌 1.0~10.0 중량% 및 물 잔부를 포함하여 이루어지는 식품용 항균제 조성물"이 기재되어 있다. 그것에 의하면, "유기산, 유기산염, 키토올리고당, 파이올렌을 특정 비율로 함유함으로써, 항균력이 탁월하여 식품의 보존성을 향상시킬 수 있고, 영양소 파괴나 식감의 저하가 없고 인체에 무해하며, 기존 산미료에 비해 신맛이 덜한, 식품용 및 범용 항균제로서 사용가능한 새로운 항균제 조성물을 얻을 수 있다"라고 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명에서는 인체에 대한 안전성이 우수한 새로운 항균제를 개발하여 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 하는 항균용 조성물을 제공한다.

[0009] 본 발명자들은 비타민 C로도 불리는 아스코르브산(ascorbic acid)의 이성질체인 에리소르브산(erythorbic acid)과 12개의 탄소수를 가진 지방산, 라우르산(lauric acid)를 중합하여 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 합성하고, 이의 항균성을 확인해 보았다.

[0010] 에리소르브산(erythorbic acid)는 아스코르브산의 입체 이성질체로 'D-isoascorbic acid' 또는 'D-araboascorbic acid' 라고도 부른다. C₆H₈O₆의 화학식을 가지며, 포도당의 발효과정에서 2-케토글루코네이트(ketogluconate)가 쉽게 에리소르브산으로 변하기 때문에 상대적으로 낮은 가격으로 이용 가능하다는 이점을 가지고 있다.

[0011] 라우르산(Lauric acid)는 CH₂(CH₂)₁₀COOH으로 표현되며, 'dodecylic acid' 혹은 'dodecanoic acid'이라 불린다. 12개의 탄소를 가진 사슬형 지방산으로 코코넛 오일 등에 포함되어 있다. 체내에서는 중쇄 지방산으로 포함되어 있으며, 지방산 그대로 간에 운반되어 β-산화에 의해 분해된다.

[0012] 에리소르빌 라우레이트는 다양한 방법으로 합성될 수 있는데, 본 발명에서는 일 예로, 리파아제(lipase) 효소를 이용하여, 에리소르브산 및 라우르산으로부터 합성하였다. 효소를 이용한 합성을 위해 리파아제 효소는 고정화하여 이용하였는데, 고정화 효소 이용 반응은 반응의 기질이나 생성물과는 반응하지 않으면서, pH, 온도, 및 압력 등 효소 반응 조건에서 생성물을 합성하는 것이다. 이 방법은 여러 장점을 가지는데 우선 반응 후 효소를 회수하고 재사용하는데 용이하며, 효소 회수를 통한 반응 정지가 쉽고, 생성물에 효소가 섞이지 않게 함으로써 생성물의 분리 및 정제에 유리하다. 또한, 효소의 안정성을 향상시킬 수 있다.

[0013] 본 발명에서는 반응 생성물인 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 그람 양성균에 대한 균 사멸 효과와 균 증식 억제 효과를 알아보았는데, 그람 양성균에 대해 우수한 사멸능이 확인되었다. 또한, 세포 독성이 없는 것으로 확인되었다.

[0014] 한편, 본 발명의 상기 조성물에 있어서, 조성물의 형태는 일 예로 약학 조성물 또는 손세정제 조성물 또는 농약 조성물일 수 있다.

- [0015] 본 발명의 약학 조성물에 포함되는 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 함량은, 예방 및 치료제의 사용방법, 복용자(동물)의 상태, 질환의 종류 및 질환의 중증 정도에 따라 바람직하게 조절하는 것이 좋다. 본 발명의 조성물에서 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 함량은 약학 조성물 또는 동물 의약품 중 0.000001중량%~50중량% 일 수 있으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 그러나, 그 함량이 0.1중량% 미만인 경우 예방 및 치료 효과가 미비할 수 있으며, 50중량% 초과하는 경우에는 사용량 대비 효과 상승률이 낮아 비경제적일 수 있다. 본 발명의 약학 조성물 또는 동물 의약품 조성물에 함유되는 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 농도는 바람직하게 10 μ M~1 mM인 것이 좋은데, 반드시 이에 한정되지는 아니한다.
- [0016] 한편, 본 발명의 약학 조성물 또는 동물 의약품 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 더욱 포함할 수 있다. 사용가능한 담체, 부형제 또는 희석제로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자이리톨, 에리트리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 갈습 포스페이트, 갈습 실리케이이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로즈, 폴리비닐피롤리돈, 물, 메틸하이드록시벤조에이트, 프로필하이드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유가 있으며, 이들은 1종 이상 사용될 수 있다. 또한, 예방 및 치료제가 약제인 경우 충전제, 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유효제 또는 방부제 등이 추가적으로 포함될 수 있다.
- [0017] 한편, 본 발명의 약학 조성물 또는 동물 의약품의 제형은 사용방법에 따라 바람직한 형태일 수 있으며, 특히 포유동물에 투여된 후 활성 성분의 신속, 지속 또는 지연된 방출을 제공할 수 있도록 당업계에 공지된 방법을 채택하여 제형화하는 것이 좋다. 구체적인 제형의 예로는 경고제(PLASTERS), 과립제(GRANULES), 로션제(LPTIONS), 리니먼트제(LINIMENTS), 리모나데제(LEMONADES), 방향수제(AROMATIC WATERS), 산제(POWDERS), 시럽제(SYRUPS), 안연고제(OPHTHALMIC OINTMENTS), 액체(LIQUIDS AND SOLUTIONS), 에어로솔제(AEROSOLS), 엑스제(EXTRACTS), 엘릭실제(ELIXIRS), 연고제(OINTMENTS), 유동엑스제(FLUIDEXTRACTS), 유제(EMULSIONS), 현탁제(SUSPENSIONS), 전제(DECOCTIONS), 침제(INFUSIONS), 점안제(OPHTHALMIC SOLUTIONS), 정제(TABLETS), 좌제(SUPPOSITORIES), 주사제(INJECTIONS), 주정제(SPIRITS), 카타플라스마제(CATAPLSMA), 캡슐제(CAPSULES), 크림제(CREAMS), 트로키제(TROCHES), 토크제(TINCTURES), 파스타제(PASTES), 환제(PILLS), 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐 중 선택되는 어느 하나일 수 있다.
- [0018] 한편, 본 발명의 약학 조성물 또는 동물 의약품의 투여량은 투여방법, 복용자(동물)의 연령, 성별 및 체중, 및 질환의 중증도 등을 고려하여 결정하는 것이 좋다. 일 예로, 본 발명의 예방 및 치료제는 유효성분을 기준으로 하였을 때 1일 0.1 내지 100 mg/kg(체중)으로 1회 이상 투여가능하다. 그러나 상기의 투여량은 예시하기 위한 일 예에 불과하며, 복용자(동물)의 상태에 따라 의사의 처방에 의해 변화될 수 있다.
- [0019] 한편, 본 발명의 손세정제 조성물은 통상의 손세정제 베이스에 본 발명의 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 특징적으로 첨가하여 제조될 수 있는데, 손세정제 베이스는 젤화제, 증류수 등을 포함하여 조성되며, 그 외에 경화촉진제, 피부 보습제, 영양제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0020] 한편, 본 발명의 농약 조성물은 본 발명의 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 특징적으로 첨가하여 제조되는데, 농약 조성물에 농학적으로 유효한 양으로 첨가되어 살균제로 사용될 수 있다.
- [0021] 한편, 본 발명은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 향균제로서 포함하는 것을 특징으로 하는 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 식품 조성물은 바람직하게 육류, 곡류, 카페인 음료, 일반음료, 초콜렛, 빵류, 스낵류, 과자류, 피자, 젤리, 면류, 껌류, 아이스크림류, 알코올성 음료, 술, 비타민 복합제 및 그 밖의 건강보조식품류 중 선택되는 어느 하나인 것인 것이 좋으나, 반드시 이에 한정되는 것은 아니다. 식품 중에 첨가되는 양은 향균제 또는 방부제로서 첨가되는 통상의 정도이면 좋다.
- [0022] 한편, 본 발명은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 향균제로서 포함하는 것을 특징으로 하는 화장료 조성물을 제공한다. 화장료 조성물은 특정의 제형으로 반드시 국한되어야 하는 것이 아니고, 화장품으로 사용될 수 있는 모든 형태의 제형을 다 포함하는데, 그 예로는 화장수, 젤, 수용성 리퀴드, 크림, 에센스, 수중유(O/W)형 및 유중수(W/O)형으로 이루어진 기초화장료 제형, 수중유형 또는 유중수형의 메이크업베이스, 파운데이션, 스킨커버, 립스틱, 립그로스, 페이스파우더, 투웨이케익, 아이섀도, 치크칼라 및 아이브로우펜슬류로 이루어진 색조화장료 제형 등이 있다. 화장품 중에 첨가되는 양은 향균제 또는 방부제로서 첨가되는 통상의 정도이면 좋다.
- [0023] 한편, 본 발명은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 향균제로서 포함하는 것을 특징으로 하는 사료 조성물 또는 사료 첨가제 조성물을 제공한다. 사료 조성물 또는 사료 첨가제 조성물은 향균제로서 에리소르빌

라우레이트(erythorbyl laurate)를 특징적으로 첨가하여 조성되면 그 제형에 특별히 국한되지 않는다.

[0024] 한편, 본 발명은 항균제로서 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 사용하는 것을 특징으로 하는 세균의 살균방법을 제공한다. 본 발명의 세균 살균방법은, 살균 성분으로 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 사용하는데 특징이 있으며, 세균에 오염된 작물 또는 부위에 살포하여 사용될 수 있다. 살포 방법으로는 분무 등의 방법이 있으며, 그 외에 화장지나 수건, 행주 등에 적시어 사용할 수도 있다.

발명의 효과

[0025] 본 발명의 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)는 그람 양성균에 대해 항균력이 확인되었는바, 항균제로서 식품, 화장품, 사료 등에 첨가되어 사용될 수 있고, 손 세정제 및 기타 외용제 의약품 형태로 개발되어 활용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 고정화 리파아제를 이용한 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 합성과정을 보여준다.
 도 2는 고정화 리파아제를 이용한 에리소르브산(erythorbic acid)과 라우르산(lauric acid) 합성 결과물의 HPLC 크로마토그램(chromatogram)이다. (a, RI-; b, UV-detector)
 도 3은 고정화 리파아제를 이용한 에리소르브산(erythorbic acid)과 라우르산(lauric acid)의 합성 시간에 따른 농도 변화 그래프이다. (●, erythorbic acid; ○, erythorbyl laurate)
 도 4는 에리소르브산(erythorbic acid), 라우르산(lauric acid), 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 균 사멸 효과를 보여준다. (●, erythorbic acid; ○, lauric acid; ▼, erythorbyl laurate)
 도 5는 에리소르브산(erythorbic acid), 라우르산(lauric acid), 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 균 생육 억제 효과를 보여주는 그래프이다. (●, erythorbic acid; △, lauric acid; ▼, erythorbyl laurate; ○, control)
 도 6은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 농도에 따른 균주별 생육 억제 효과를 보여주는 그래프이다.
 도 7은 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 세포 독성 시험 결과이다. (●, erythorbic acid; ○, lauric acid; ▼, erythorbic laurate; △, ascorbyl palmitate)

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 이하, 본 발명의 내용을 하기 실시예 및 실험예를 통해 더욱 상세히 설명하고자 한다. 다만, 본 발명의 권리범위가 하기 실시예에만 한정되는 것은 아니고, 그와 등가의 기술적 사상의 변형까지를 포함한다.

[0028] **[실시예 1: 에리소르빌 라우레이트의 합성]**

[0029] 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 합성에 이용한 효소 (triacylglycerol hydrolase, EC 3.1.1.3; Novozym 435)는 칸디다 안타르크티아(*candida antarctica*)에서 유래한 고정화 리파아제(lipase)로 7000 PLU/g의 촉매활성을 가진다.

[0030] 합성을 위한 원료로는 에리소르브산(erythorbic acid, ≥99.0%, Fluka, Sigma-Aldrich)과 라우르산(lauric acid, ≥99.0%, Fluka, Sigma-Aldrich)을 준비하였고, 아세토나이트릴(acetonitrile, J.T. Baker Co., Philips burg, NJ USA)을 사용하였다.

[0031] 또한, 합성 후 생성물의 확인을 위하여 HPLC(LC-2002, Jasco, Tokyo, Japan)을 이용하였는데, 이를 위하여 0.45 μm 멤브레인 필터와 HPLC-등급의 아세토나이트릴(acetonitrile), 'refractive index detector (RI-2031, hJasco)', 'ultraviolet detector (UV-2075, Jasco)'를 이용하였다.

[0032] 본격적인 에리소르빌 라우레이트(Erythorbyl laurate)의 합성을 위해 에리소르브산 0.12 mmol과 라우르

산 0.60 mmol을 바이알(vial)에 20 ml의 아세토나이트릴(acetonitrile)과 함께 넣었다. 그리고, 옵티칼 셰이킹 워터 배스(optical shaking water bath)에서 50℃, 200 rpm으로 30분간 교반시켰다. 교반 후, 200 mg의 고정화 리파아제를 첨가하여 반응을 일으켰다. 반응이 일어나는 동안 온도는 50±1℃로 유지했다. 도 1은 고정화 리파아제를 이용한 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 합성과정을 보여준다.

[0033] 한편, 에리소르브산과 라우르산의 시간에 따른 에스터화(에리소르빌 라우레이트의 생성도)를 관찰하기 위해, 미리 정한 시간 간격으로 샘플을 채취하여 HPLC로 분석하였다.

[0034] HPLC 분석을 위해 반응혼합물을 적절한 간격으로 채취하여 멤브레인 필터에 여과시켰다. 여과된 물질을 20 µL씩 HPLC에 주입하였다. 이동상은 'acetonitrile/water/acetic acid (90:5:5, v/v/v)'를 이용하였으며, 1.0 mL/min의 유속을 15분간 지속하였다. 에스터화의 정도는 다음의 식으로 알 수 있었다.

수학식 1

$$\text{Degree of esterification (\%)} = \frac{\text{erythorbyl laurate}}{\text{erythorbic acid} + \text{erythorbyl laurate}} \times 100$$

[0035]

[0036] 분석 결과, 도 2에서 보이는 대로 에리소르브산과 에리소르빌 라우레이트, 라우르산의 체류 시간(retention time)는 2.506 ± 0.014, 3.386 ± 0.027, 4.628 ± 0.032 min 이었다.

[0037] 도 3에서 보는 바와 같이, 반응이 진행됨에 따라 에리소르브산의 농도는 감소하는 반면에, 생성된 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)의 양은 점차적으로 증가하였다. 반응 시작 후 8시간이 지나면, 에스터화 정도 (약 78.5)는 최대치에 도달하고 변화하지 않았다. 이는 평형상태에 도달했기 때문이다.

[0038] 이상의 HPLC 크로마토그램을 통하여 에리소르빌 라우레이트의 합성을 확인하였고, 시간에 따른 에스터화 정도도 살펴 볼 수 있었다.

[실시예 2: 에리소르빌 라우레이트의 항균성 테스트]

(1) 균 사멸 효과 테스트

[0041] 그람 음성균 2가지와 그람 양성균 2가지를 대상으로 에리소르브산, 라우르산 그리고 이 두 가지의 중합 화합물이자 이 실험의 관심 물질인 에리소르빌 라우레이트의 균 사멸 효과를 알아보았다.

[0042] 항균성을 테스트하기 위한 선택적 배지로는 'sorbitol macconkey agar (SMAC; Difco)'와 'Xylose Lysine Desoxycholate agar (XLD; Difco)', 'Oxford agar base with Bacto™ Oxford antimicrobial supplement (MOX; Difco)', 'Baird-Parker Agar Base (BPA; Difco)'를 사용하였다.

[0043] 균주로는 에스세리키아 콜리아(*Escherichia coli*) O157:H7 (ATCC 35150), 살모넬라 타이피무리움(*Salmonella Typhimurium*) (ATCC 19586), 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*) (ATCC 19114) 그리고 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) (ATCC 27213)를 준비하였다. 각각의 균들은 'tryptic soy broth (Difco, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA)'에서 37℃로 24시간 동안 배양되었고, 4℃에서 20분간 4000×g로 원심분리하여 얻었으며, 'buffered peptone water (BPW, Difco)'로 정제되었다. 10⁶ CFU/ml의 현탁액 상태로 실험에 임하였다.

[0044] 본격적인 실험을 위해 0.1 mL의 균주 현탁액에 에리소르브산, 라우르산, 에리소르빌 라우레이트 10 mL를 넣었다. 볼텍스 믹서를 이용하여 30분간 잘 섞이도록 하였다. 그 후, 균주 현탁액과 시험 화합물이 섞인 용액 1 mL와 멸균된 펌프수 9 mL를 섞었다. 그리고 멸균된 펌프수를 이용하여 10배씩 희석하였다. 희석된 용액을 0.1 mL 채취하여, 선택 배지에 도말하였다. 도말된 플레이트는 37℃에서 24시간 동안 배양하였고, 배양 후 각 플레이트의 자라난 콜로니(colony)를 log₁₀ CFU/mL로 측정하였다.

[0045] 실험 결과(도 4), 그람 음성균인 에스세리키아 콜라이(*Escherichia coli*) O157:H7과 살모넬라 타이피무리움(*Salmonella thphimurium*)에 대해서는 에리소르빌 라우레이트가 에리소르브산, 라우르산과 비교하였을 때, 별다른 균 사멸 효과를 나타내지 못했다. 하지만, 그람 양성균인 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria*

monocytogenes)와 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)에 대해서는 에리소르빌 라우레이트가 뛰어난 균 사멸 효과를 가진 것으로 나타났다.

[0046] 에리소르빌 라우레이트의 농도에 따른 그람 양성균 수의 감소를 살펴 보면, 우선적으로 생균수의 감소를 보여준 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)에서는 농도가 증가할수록 점차적으로 균 사멸 효과가 증가하는 것으로 보였다. 200 ppm까지는 일정한 수준으로 생균수가 감소하는 것으로 나왔다. 즉, 농도가 증가함에 따라 농도 비례적으로 균 사멸 효과는 증가하였는데, 200 ppm에서부터는 0.48 CFU/mL로 같은 값으로 나왔다.

[0047] 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)의 경우에는 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)와 마찬가지로 농도가 증가하면서 생균수의 감소폭도 증가하였다. 하지만, 차이점으로는 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)에 비해 200 ppm 이상의 농도에서도 지속적으로 사멸하는 것으로 나타났다.

[0048] (2) 균 증식 억제 효과 테스트

[0049] 그람 양성균 2종류와 그람 음성균 2종류에 대한 균 사멸 효과를 검토한 후, 에리소르빌 라우레이트가 균 사멸 효과뿐만 아니라, 균 증식 억제 효과도 가지고 있을 것으로 예상하고 하기 실험을 진행하였다.

[0050] 에리소르빌 라우레이트의 균 증식 억제 효과 탐색을 위해 '96 well microtiter panel', 'Mueller Hinton Broth (MHB; Difco)', 'microtiter plate (SpectaMax M2, Molecula Devices, USA)', 그리고 사멸효과에서 사용한 균주와 동일한 균주를 준비하였다.

[0051] 본격적인 실험을 위해, 시험 균주들이 10^5 CFU/mL 함유되어 있는 100 μ L 균주액을 100 μ L의 샘플들에 각각 접종시켰다. 이를 37 $^{\circ}$ C에서 22시간 동안 배양하는 동안 600 nm에서 'microtiter plate'를 이용하여 20분 간격으로 흡광도를 측정하였다.

[0052] 실험 결과(도 5), 균 사멸 효과 시험과 비슷한 양상이 나타났다. 그람 음성균인 에스세리키아 콜라이(*Escherichia coli*) O157:H7과 살모넬라 타이피무리움(*Salmonella thphimurium*)에서는 에리소르브산, 라우르산, 에리소르빌 라우레이트 모두 별다른 균 증식 억제 효과를 갖지 못하였다. 하지만, 그람 양성균인 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)와 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)에 대하여는 효과적으로 균 증식을 억제한 것으로 나타났다. 그람 양성균에 대하여는 20~22 시간까지 균 증식을 억제시켰다.

[0053] 한편, 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)의 증식 억제 데이터를 살펴보면, 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*)와 다르게 균의 대수기가 시작하는 부분이 두드러지게 나타났다. 그래서 추가적으로 에리소르빌 라우레이트의 농도를 낮춰서 균의 성장곡선을 측정하였다. 같은 조건 아래 비교하여 본 결과, 에리소르빌 라우레이트의 첨가 농도가 낮을수록 유도기가 짧아지고 대수기가 일찍 나타나는 것으로 보여졌다. (도 6).

[0054] [실험예 1: 에리소르빌 라우레이트의 독성 시험]

[0055] 에리소르빌 라우레이트의 식품 첨가물로서의 안전성을 알아보기 위하여 MTT 어세이를 실시하여 세포 생존성을 알아보았다. 식품 첨가물로 사용되고 있는 아스코르브산(ascorbic acid), 에리소르브산, 아스코르빌 팔미테이트(ascorbyl palmitate)와 비교하여 인간 장 상피세포 INT-407에 대한 세포 독성 시험을 실시하였다.

[0056] 실험을 위해 '3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT; Sigma)', 인간 장 상피세포 INT-407 (ATCC CCL-6), 아스코르빌 팔미테이트, 에리소르빌 라우레이트, 에리소르브산, 라우르산, DMSO (Sigma), 'fetal bovine serum (GIBCO-BRL, Gaithersburg, MD, U.S.A.)', 세포 배양 배지 MEM (minimum essential medium), '96-well culture plate (SPL Lifesciences)', 인큐베이터를 준비하였다.

[0057] 아스코르빌 팔미테이트와 에리소르빌 라우레이트를 먼저 DMSO에 용해한 후에 'fetal bovine serum'의 10% (v/v) 세포 배양 배지 MEM 에 희석하였다.

[0058] INT-407 세포는 96-well 컬처 플레이트(culture plate)에 웰(well) 마다 1×10^5 개씩 조절 한 후 여러

농도의 아스코르빌 팔미테이트와 에리소르빌 라우레이트, 에리소르브산, 라우르산과 함께 습식 인큐베이터 (37 °C, 5% CO₂)에서 배양시켰다. 배양 후, MTT를 0.5 mg/ml의 최종농도로 첨가하고, 암실에서 주어진 방법으로 4시간 동안 배양하였다. 'Formazan crystal'을 용해시키기 위하여 'MTT solubilization solution (10% triton X-100 in isopropanol containing 0.1 N HCl)'을 200 µL씩 각 웰에 넣고 완전히 섞었다. 세포 생존성은 OD₅₇₀으로 측정되었고, 멀티웰 플레이트(multiwell plate)의 기본 흡광도는 OD₆₉₀으로 측정되었고, 570 nm 측정값과의 차로 정의되었다.

[0059] 실험 결과(도 7), 에리소르빌 라우레이트를 접종하였을 때, 세포 생존성은 모든 농도에서 현재 식품 첨가물로써 사용되고 있는 아스코르빌 팔미테이트보다 높게 나타났고, 50 µM과 200 µM의 농도에서는 에리소르브산과 비슷한 수준의 세포 생존성을 나타냈다.

[0060] **[제조예 1: 약학 조성물의 제조]**

[0061] 하기와 같이 항균 약학 조성물을 제조하였다.

[0062] (1) 산제 제조

[0063] 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate) 2 g에 유당 1 g을 혼합하고, 기밀포에 충전하여 산제를 제조하였다.

[0064] (2) 정제 제조

[0065] 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate) 100 mg, 옥수수전분 100 mg, 유당 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 2 mg을 혼합한 후 통상의 정제 제조방법에 따라 타정하여 정제를 제조하였다.

[0066] (3) 캡슐제 제조

[0067] 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate) 100 mg, 옥수수전분 100 mg, 유당 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 2 mg을 혼합한 후 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

[0068] (4) 주사제 제조

[0069] 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate) 100 mg에 주사용 증류수 적량을 가하여 용해시키고, pH를 약 7.5로 조절한 다음 2 ml 용량의 앰플에 충전 및 멸균시켜 주사제를 제조하였다.

[0070] **[제조예 2: 식품 조성물의 제조]**

[0071] 하기와 같이 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate)를 포함하는 소시지 식품 조성물을 제조하였다. 돈육 65.18중량%, 계육 25중량%, 전분 3.5중량%, 대두단백 1.7중량%, 식염 1.62중량%, 포도당 1.4중량% 및 글리세린 1.5중량%와 에리소르빌 라우레이트 0.1중량%를 배합하여 통상의 방법으로 소시지를 제조하였다.

[0072] **[제조예 3 : 손 세정제의 제조]**

[0073] 비이커에 에탄올 67.67 g, 장미향 0.05 g을 넣고, 증류수 24.33 g, 글리세린 0.5 g, 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate) 0.047 g을 넣고 25°C에서 3,000 rpm 으로 1분간 교반시켰다. 여기에 프로필렌글리콜 0.5 g, 이소프로필알콜 1.5 g, 이소프로필미리스테이트 0.5 g, 올리고당 0.004 g, 키토산 0.004 g을 차례로 넣고 교반기로 1분 정도 교반하고, 교반하는 동안 디이소프로판올 아민 0.2 g을 가하여 교반하였다. 기타 나머지 사항은 공지 기술을 이용하여 최종적으로 손 세정제를 제조하였다.

[0074] **[제조예 4: 화장수 제조]**

[0075] 95% 에탄올 8 g에 폴리퍼리돈 0.05 g, 올리엘알콜 0.1 g, 폴리옥시에틸렌모노올레이트 0.2 g, 향료 0.2 g, 파라옥시안식향산메틸에스테르 0.1 g, 소량의 산화방지제, 소량의 색소를 혼합 용해하였다. 에리소르빌

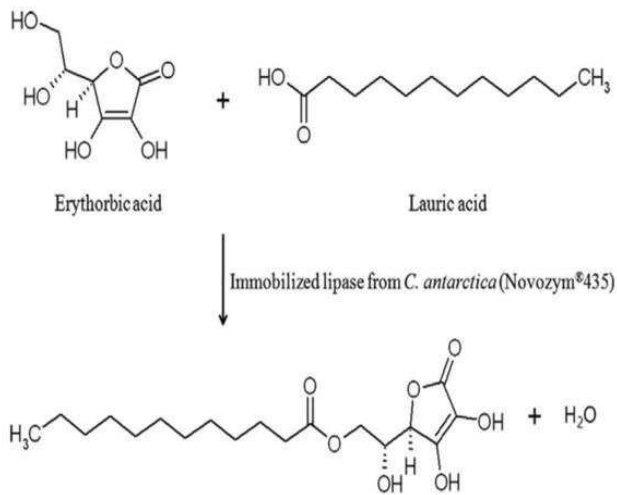
라우레이트(erythorbyl laurate) 0.05 g, 글리세린 5 g을 정제수 85.33 g에 용해한 후, 상기에서 제조한 혼합액을 첨가한 후 교반하여 화장수를 제조하였다.

[0076] [제조예 5: 사료의 제조]

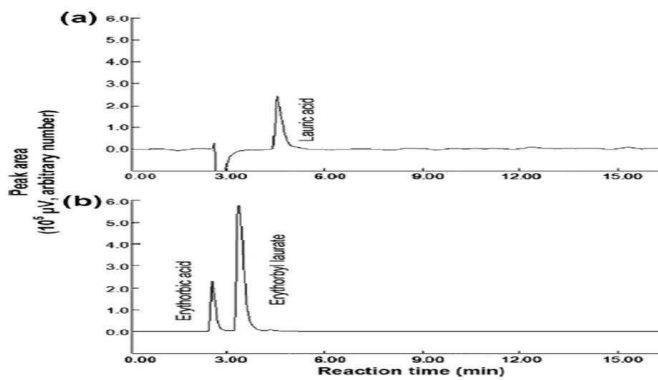
[0077] 어분 58 중량%, 대두박 4 중량%, 콘글루텐분 3 중량%, 소맥분 28.7 중량%, 오징어간유 4 중량%, 비타민 혼합제 1.2 중량% 및 미네랄 혼합제 1 중량%를 포함한 기본 사료에 에리소르빌 라우레이트(erythorbyl laurate) 1.0 중량%를 첨가하여 넙치 양식용 사료조성물 1 kg을 제조하였다.

도면

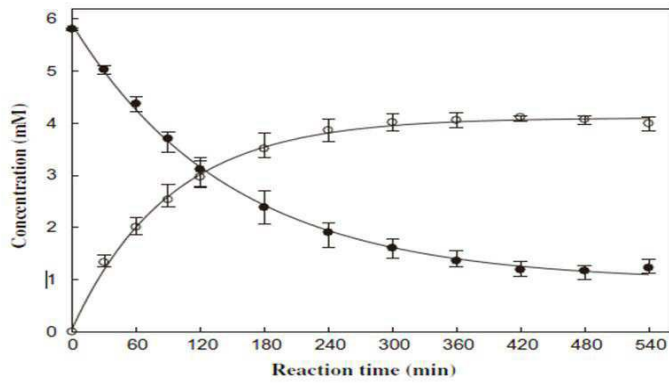
도면1



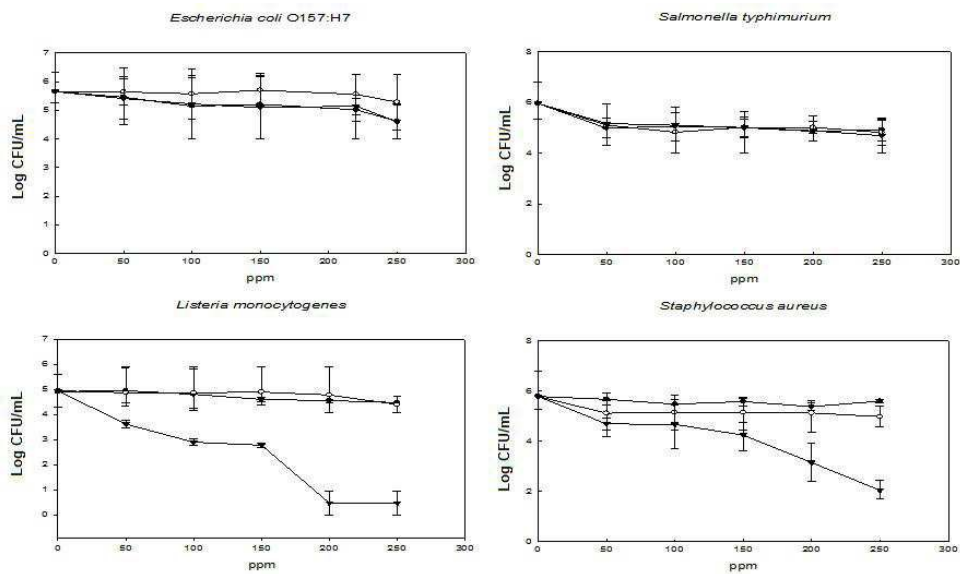
도면2



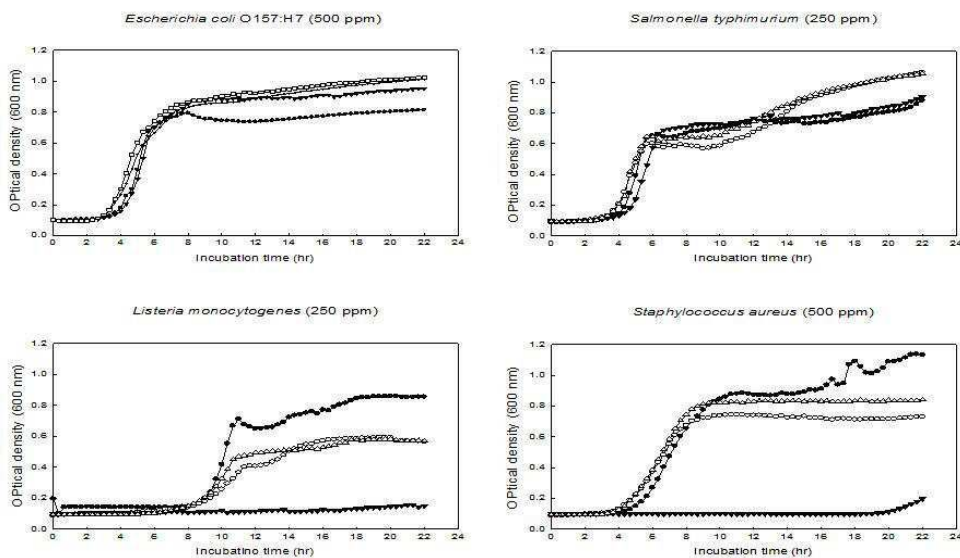
도면3



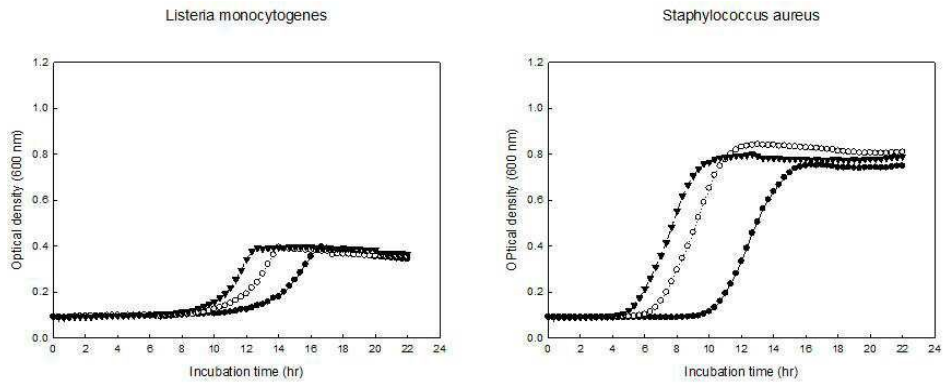
도면4



도면5



도면6



도면7

