

(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl. A01N 63/02 (2006.01)	(45) 공고일자 (11) 등록번호 (24) 등록일자	2006년05월26일 10-0583836 2006년05월19일
---	-------------------------------------	--

(21) 출원번호	10-2005-0065887	(65) 공개번호	10-2005-0087741
(22) 출원일자	2005년07월20일	(43) 공개일자	2005년08월31일

(30) 우선권주장      1020040056530      2004년07월20일      대한민국(KR)

(73) 특허권자      주식회사 롯데  
                          충남 천안시 직산읍 삼은리 43-5 충남테크노파크 천안밸리생산관 2층

이정화  
경기도 성남시 분당구 서현동 91번지 한양아파트 313동 502호

(72) 발명자      장동일  
                          경기 안양시 만안구 석수2동 27-1 현대아파트 107-1111

이정화  
경기도 성남시 분당구 서현동 91번지 한양아파트 313동 502호

(74) 대리인      이상문  
                          박천도

심사관 : 이진용

(54) 천연 항균제 및 이를 포함하는 조성물

요약

본 발명은 김치의 숙성 과정에서 출현하는 김치 유산균을 이용하여 제조되는 항균력이 높고, 항균 스펙트럼이 광범위한 다기능성 천연 항균제 및 이를 포함하는 음료, 사료, 의약품, 화장품, 식품 등과 같은 조성물에 관한 것으로서, 본 발명에 의한 김치 유산균의 배양액, 배양액의 농축액 또는 배양액의 건조물은 넓고 우수한 항균력을 보이며, 이를 활용하는 경우, 안전하고 효과적으로 사료, 음료, 식품, 의약품, 화장품 등에 항균력을 부여할 수 있게 된다.

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 김치의 숙성 과정에서 출현하는 김치 유산균을 이용하여 제조되는 향균력이 높고, 향균 스펙트럼이 광범위한 다기능성 천연 향균제 및 이를 포함하는 음료, 사료, 의약품, 화장품, 식품 등과 같은 조성물에 관한 것이다.

사료, 음료, 식품, 의약품, 화장품 등의 품질을 오랫동안 유지하기 위해서는 미생물에 의한 부패를 막아주는 방부제가 필수적인데, 제품 특성상 유통기간이 비교적 길며 미생물 영양원이 많은 화장품의 경우는 더욱 그러하다.

그러나, 기존의 방부제로서 가장 안전하며 화장품, 의약품에 널리 적용되는 파라벤류의 방부제조차도 피부 알러지 (Andrea Counti 등, Contact Dermatitis, 1997, 37:35-36)와 환경호르몬으로서의 가능성(Edwin 등, Toxicology and Applied Pharmacology, 1998, 153:12-19) 및 내성균 유발이라는 문제점을 가지고 있다. 뿐만 아니라 식품용 방부제들은 허용된 기준내의 사용도 불신되고 있고 지속적인 체내 축적으로 인한 급, 만성 독성, 돌연변이 유발 등의 새로운 문제 가능성이 대두되고 있다(신동화, 식품과학과 산업, 1990, 23(4) 68-72).

이러한 문제점들로 인하여 제품의 안전성과 경제성이 우수한 천연방부제에 대한 연구가 지속되고 있으며 그 결과로 향신료, 정유, 한약재 등 동, 식물기원의 추출물과 박테리옌 같은 미생물 기원의 천연향균성물질이 보고되고 있다.

천연의 향균성 물질로 알칼로이드(alkaloid), 플라보노이드(flavonoid), 피토알렉신(Phytoalexin), 향균펩타이드 등이 알려져 있으며, 유기산과 지방산 등의 향균성에 대한 것도 알려져 있다. 이들 대부분은 산의 pH에 의한 효과와 킬레이트에 의한 효과가 주 메커니즘일 것으로 추정된다.(El-shenawa, MA 등, J.Food Protec. 1989, 52(11):771-778) (Bizri, JN 등, J food Science, 1994, 59(1), 130-135)

그러나 보고된 천연 향균성 물질의 대부분은 색취, 안정성 저하, 좁은 향균 스펙트럼, 제형상의 문제점 등으로 인하여 상용화되지 못하고 있으며, 편백 추출물인 히노키티올(Hinokitiol), 목련추출물인 메그노놀(Megnonol), 자몽종자 추출물인 DF-100 등 극히 일부만이 상용화되고 있다.

이 중에서 가장 제품개발이 앞선 DF-100의 경우에 향균력은 DF-100에 포함된 유기산 및 합성보존료인 벤제토늄 클로라이드(Benzethonium chloride) 때문인 것으로 알려져 있으며, 그 외 다른 천연향균제 등은 경제성이 낮거나 좁은 향균 스펙트럼 또는 물성에 의한 사용범위의 제한성 등의 문제를 가지고 있어 진보되고 제품화 개발이 가능한 천연 향균제가 절실한 실정이다.

한편, 현재 일반제품에 사용되고 있는 향균제는 제품의 품질을 유지하는 차원이 아니라 미생물에 의한 사람 및 가축의 질병을 예방하고 치료하기 위하여 합성 항생제가 범용되고 있으나, 오용 및 남용으로 인해 다양한 내성균주가 나타나 병원에서는 감염증을 치료하기 위해 고단위의 항생제를 사용하여야 하는 악순환의 고리를 형성하고 있고, 가축에게도 원인균의 감수성이 떨어지고 항생제 잔류하는 공중보건 상 중요한 문제가 대두되고 있다.

메티실린 저항성 포도상구균(Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*;MRSA) (Voss, A 등, Int J. Antimicrob. Agents, 1995, 5:101-106)에 대처하기 위해 2가지 이상의 항생제를 복합적으로 사용하거나 반코마이신(Vancomycin)을 사용하고 있다. 그러나 반코마이신에 대하여 저항성을 갖는 장내 세균(vancomycin-resistant enterococci)(Billot-klein D. Antimicrob. Agents, Chemother, 1992, 36:1487-1490)과 같은 내성 균주가 출현하고 있다.

그에 따라 근래에는 항생제의 감수성을 높이기 위해 천연물에서 플라보노이드와 같이 사용하여 감수성을 높였다는 보고가 있으며(Iain X, Liu 등 J. Pharm. Pharmacol, 2000, 52:361-366), 향균 펩타이드(Giacometti A 등, J. Antimicrob. Chemother 2000 Nov; 46(5):807-811)도 병용효과를 위한 대안으로 많은 연구가 진행되었지만, 향균펩타이드는 향균성만 나타내는 제한성이 있으며 경제적 대량생산방법에 문제가 있다(Lee JH 등, Protein. Expr. Purif. 1998 Feb; 12(1), 53-60).

나이신(nisin)은 식품이나 화장품을 부패시키는 일부 세균에 대한 향균작용을 지니고 있는 펩타이드로 식용세균인 스트렙토코커스 락티스(*Streptococcus lactics*)의 발효산물로 식품방부제로서의 안전성과 효능이 탁월하여 미국을 포함한 세계 각국에서 우유 및 치즈에 널리 사용되고 있다. 나이신은 란티오닌이라는 아미노산을 함유하여 란티바이오틱스(Lantibiotics)라는 향균물질의 범주에 속하며, FDA에서 식품방부제로의 사용을 허가하였고 CTFA에서도 화장품원료로서 사용을 허가하였다.

그러나 나이신도 항균력의 범위에서 많은 제한을 갖고 있다, 예를 들면 내생포자를 갖는 그람양성균인 바실러스(*Bacillus*) 류나 진핵미생물인 이스트(Yeast)류, 곰팡이(Fungi) 등에는 항균력을 보이지 못하는 문제점을 갖고 있다.

**발명이 이루고자 하는 기술적 과제**

따라서 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 기존의 화학방부제가 갖는 인체에 자극이 있는 단점을 해결할 수 있는 천연 유래로 안전성이 확보되고, 습득이 용이하여 경제적이며, 또한 기존의 천연방부제가 갖는 좁은 범위의 항균 스펙트럼을 극복하여 넓은 항균 스펙트럼을 가지는 새로운 천연 항균성 물질을 제공하는 것이다.

또한, 본 발명이 이루고자 하는 다른 기술적 과제는 상술한 바와 같은 천연 항균성 물질을 활성 성분으로 포함하여 여러 제품으로 응용될 수 있는 조성물을 제고하는 것이다.

**발명의 구성 및 작용**

상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명은

김치의 숙성 과정에서 출현하는 김치 유산균의 배양액, 배양액의 농축액, 배양액의 건조물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 천연 항균제를 제공한다.

상술한 바와 같은 본 발명에 따른 천연 항균제에 있어서, 상기 김치 유산균이 류코노스톡(*Leuconostoc*)속 김치 유산균, 락토바실러스(*Lactobacillus*)속 김치 유산균, 웨이셀라(*Weissella*)속 김치 유산균 및 이들의 혼합 유산균에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

상술한 바와 같은 본 발명에 따른 천연 항균제에 있어서, 상기 류코노스톡(*Leuconostoc*)속 김치 유산균은 류코노스톡 시트레움(*Leuconostoc citreum*), 류코노스톡 락티스(*Leuconostoc lactis*), 류코노스톡 메젠테로이드 서브스피. 텍스트라니쿰(*Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*), 류코노스톡 메젠테로이드 서브스피. 메젠테로이드(*Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides*), 류코노스톡 아르젠티눔(*Leuconostoc argentinum*), 류코노스톡 카르노숨(*Leuconostoc carnosum*), 류코노스톡 젤리둠(*Leuconostoc gellidum*), 류코노스톡 김치아이(*Leuconostoc kimchii*), 류코노스톡 인헤(*Leuconostoc inhae*), 류코노스톡 가시코미타툼(*Leuconostoc gasicomitatum*) 및 이들의 혼합 유산균으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

상술한 바와 같은 본 발명에 따른 천연 항균제에 있어서, 상기 락토바실러스(*Lactobacillus*)속 김치 유산균은 락토바실러스 브레비스(*Lactobacillus brevis*), 락토바실러스 에시도필루스(*Lactobacillus acidophilus*), 락토바실러스 불가리쿠스(*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*), 락토바실러스 김치아이(*Lactobacillus kimchii*), 락토바실러스 파라플란타룸(*Lactobacillus paraplantarum*), 락토바실러스 쿠르바투스 서브스피. 쿠르바투스(*Lactobacillus curvatus subsp. curvatus*), 락토바실러스 사케이 서브스피. 사케이(*Lactobacillus sakei subsp. sakei*) 및 이들의 혼합 유산균으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

상술한 바와 같은 본 발명에 따른 천연 항균제에 있어서, 상기 웨이셀라(*Weissella*)속 김치 유산균이 웨이셀라 코레엔시스(*Weissella koreensi*), 웨이셀라 하니아이(*Weissella hani*), 웨이셀라 김치아이(*Weissella kimchii*), 웨이셀라 솔리(*Weissella soli*), 웨이셀라 콘푸사(*Weissella confusa*) 및 이들의 혼합 유산균으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

다른 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명은 김치의 숙성 과정에서 출현하는 김치 유산균의 배양액, 배양액의 농축액, 배양액의 건조물 및 이들의 혼합물로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 천연 항균제를 활성 성분으로 포함하는 조성물을 제공한다.

상술한 바와 같은 본 발명에 따른 조성물은 음료, 사료, 식품, 의약품 및 화장품으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것이 바람직하다.

본 발명은 무·배추 및 오이 등을 소금에 절인 것 또는 이 절인 것을 고추·마늘·파·생강·젓갈 등의 양념을 버무린 후 젓산 생성에 의해 숙성되어 저온에서 발효된 제품인 김치의 발효 과정에서 출현하는 김치 유산균의 배양액이 항균력이 높고, 항

균 스펙트럼이 광범위한 다기능성 천연 항균제의 역할을 할 수 있음을 발견하여 완성된 것으로 본 발명에 대하여 실시예를 통하여 상세하게 설명하기로 한다. 하기 실시예는 본 발명을 설명하고자하는 예시적인 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 기술적 사상의 범위가 변경되거나 축소되는 것은 아니다.

<실시예>

- 김치 유산균 배양액 제조 -

하기 표 1에 보는 바와 같은 김치 유산균을 이용하여 배양액을 제조하였는데 그 과정을 살펴보면 다음과 같다.

먼저 100 ml의 MRS(Difco) broth를 121℃에서 15분간 고압멸균 후, 김치 유산균을 접종하고 30℃에서 16시간 동안 진탕 배양하였다.

상기 배양액을 5000 X g로 3분간 원심 분리하여 상등액을 취하고, 이 상등액을 pore size 0.22 μm인 여과막 (membrane filter) 을 이용하여 여과하여 bacteria-free 상태의 배양액을 수득하였다.

이어서, 상기 배양액을 10,000 Da membrane을 통과시켜 여과액을 취한 후, 1,000 Da membrane으로 농축하였으며, 농축한 배양액을 bacteria-free 상태로 유지하기 위하여 pore size 0.22 μm인 여과막 (membrane filter) 을 이용해 여과하여 최종 실험용 배양액을 얻었다. 이 배양액의 최종 pH는 항상 7이 되도록 조정하여 pH에 의한 효과를 배제시켰다.

[표 1]

샘플 번호	균주	기탁번호
샘플 1	류코노스톡 김치아이( <i>Leuconostoc kimchii</i> )	KCTC2386
샘플 2	류코노스톡 메센테로이드 서브스피 메센테로이드 ( <i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Mesenteroides</i> )	KCTC3530
샘플 3	류코노스톡 시트레움( <i>Leuconostoc citreum</i> )	KCTC3524
샘플 4	류코노스톡 락티스( <i>Leuconostoc lactis</i> )	KCTC3582
샘플 5	락토바실루스 애시도필러스( <i>Lactobacillus acidophilus</i> )	KCTC 3111
샘플 6	락토바실루스 불가리쿠스( <i>Lactobacillus bulgaricus</i> )	KCTC 3635
샘플 7	락토바실루스 플랜타륨( <i>Lactobacillus plantarum</i> )	KCTC1048
샘플 8	락토바실루스 파라플랜타륨( <i>Lactobacillus paraplantarum</i> )	KCTC5045
샘플 9	락토바실루스 서브시피. 쿠르바투스( <i>Lactobacillus curvatus subsp. curvatus</i> )	KCTC3767
샘플 10	락토바실루스 사케이 서브시피. 사케이( <i>Lactobacillus sakei subsp. sakei</i> )	KCTC3598
샘플 11	웨이셀라 김치아이( <i>Weissella kimchii</i> )	KCTC3111
샘플 12	웨이셀라 솔리( <i>Weissella soli</i> )	KCTC3789

- 김치 유산균 배양액의 항균력 확인 시험 -

(1) 오염균의 준비

본 발명에 의한 류코노스톡 속 유산균의 배양액의 항균력 측정을 위하여 하기 표 2와 같이 다양한 분류학적 분포를 가지는 대상 미생물을 선정하였다.

[표 2]

분류		균주명	배지	배양온도(℃)
그룹 1 비포자형성세균류	Gram positive	<i>taphylococcus aureus</i> (KCTC 1916)	Nutrient agar (broth)	37
	Fermentative Gram negative rod	<i>schierichia coli</i> (ATCC8739)	Nutrient agar (broth)	37
	Nonfermentative Gram negative rod	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 2651)	Nutrient agar (broth)	37 30
그룹 2 포자형성세균류	Spore forming bacteria	<i>Bacillus subtilis</i> (KCTC 1021)	Nutrient agar	30
그룹 3 이스트류	Yeast	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	Potato dextrose agar(broth)	30
그룹 4 곰팡이류	Yeast	<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 9642)	Potato dextrose agar	25~30

박테리아 및 이스트는 항균력 측정실험 실시 1일전 상기 표 1에 기재되어 있는 배지 50ml(250ml 플라스크)에 접종하여 오버나이트(overnight) 배양하였다. 몰드는 포테이토 텍스트로스 아가 플레이트(potato dextrose agar plate) 또는 슬라트(slant)에서 1~2주 정도 사전 배양하였다. 이때 진균류 배지에는 항생제 클로람페니콜(chloramphenicol)을 넣어 주어 세균이 자라지 못하도록 하였다.

먼저, 그룹 1에 속하는 *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*를 오버나이트(overnight) 배양한 후 1 : 1 : 1 로 혼합하여 그룹 1 접종액을 준비하였다. 그룹 4에 속하는 몰드는, 1~2 주 배양한 배지에 식염수 10ml을 넣고 표면을 살살 긁어서 포자를 harvest 한 다음 1/10 ~ 1/100 희석(*A.niger*는 1/10~1/100, *Penicillium*은 최소 1/100 정도로 희석하여야 카운팅(counting)할 수 있는 정도가 됨)하여 헤모시토크미터(Hemocytometer)로 직접 카운팅해서 세포수(cell #)를 측정하여 접종액을 준비했다.

최종적으로 접종액의 미생물 숫자는 박테리아는 경우는  $10^8$  cells/ml, 이스트와 몰드는  $10^7$  cells/ml이 되도록 멸균된 생리식염수를 이용하여 희석하였다.

(2) 오염균의 접종 및 항균력 분석

실시예에서 얻은 배양액 샘플 1~21 50ml이 든 14개의 conical tube를 샘플별로 준비하고, 각각의 튜브에 그룹 1 접종액 0.5ml(최종 균 농도는 약  $10^7$  cells/ml), 그룹 2 미생물 오버나이트(overnight) 배양액을 0.4~0.45ml, 그룹 3 오버나이트(overnight) 배양액 0.5ml(최종 균 농도는 약  $10^5$  cells/ml) 및 그룹 4에 속하는 몰드 배양액(각 몰드의 최종 균 농도가 각의 최종 농도가  $5 \times 10^5$  cells/ml정도가 되도록)을 접종한다(각각 4중 실험).

그룹 1 및 그룹 2가 접종된 샘플은 30~35℃에서, 그룹 3 및 그룹 4가 접종된 샘플은 25~30℃에서 배양하면서 접종 후 0 일, 1일, 2일, 7일, 14일, 21일, 28일이 경과한 시점에서 0.1ml 또는 0.1g을 취하여 준비된 플레이트에 스프레딩(spreading)하고 인큐베이터에서 배양하였다. 배양 2일 후 (그룹1의 경우)와 배양 1주일 후(그룹2~그룹.4의 경우) 플레이트를 꺼내어 생존균수를 측정하여 배양액 샘플 1의 경우 하기 표 3, 샘플 2의 경우 하기 표 4, 샘플 3의 경우 하기 표 5, 샘플 4의 경우 하기 표 6, 샘플 5의 경우에는 표 7, 샘플 6의 경우에는 표 8, 샘플 8의 경우에는 표 10, 샘플 9의 경우에는 표 11, 샘플 10의 경우에는 표 12, 샘플 11의 경우에는 표 13, 샘플 12의 경우에는 표 14에 나타내었다. 하기 표에 기재된 수치는 4개 실험의 평균값이다.

[표 3]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$2.5 \times 10^6$	$7.1 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.1 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10$	0	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$0.8 \times 10^5$	$4.3 \times 10^3$	$3 \times 10$	0	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$8.7 \times 10^3$	$5 \times 10$	0	0	0

[표 4]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$4.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^5$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$8 \times 10$	0	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$7 \times 10^4$	$3 \times 10^3$	$9 \times 10$	0	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$2.9 \times 10^3$	$2.1 \times 10^2$	$2 \times 10$	0	0

[표 5]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$7.2 \times 10^5$	$4.4 \times 10^3$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$9.3 \times 10^3$	$2.2 \times 10^2$	$6 \times 10$	0	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$0.8 \times 10^5$	$4.3 \times 10^3$	$3 \times 10$	0	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.2 \times 10^3$	$8 \times 10$	0	0	0

[표 6]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^6$	$8.6 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$9 \times 10$	$3 \times 10$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.0 \times 10^4$	$2.5 \times 10^2$	$3.8 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$8.0 \times 10^4$	$6.0 \times 10^4$	0	0

[표 7]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^6$	$9.0 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	$6 \times 10$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.7 \times 10^2$	$3.8 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	0	0

[표 8]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	$8.6 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^4$	$8 \times 10^3$	$4 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.1 \times 10^2$	$2.8 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	0	0

[표 9]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.1 \times 10^6$	$9.6 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	$6 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.7 \times 10^2$	$3.8 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^4$	0	0

[표 10]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.1 \times 10^6$	$7.6 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$7 \times 10^4$	$6 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.6 \times 10^2$	$3.0 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^4$	0	0

[표 11]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^6$	$5.7 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	$5 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.0 \times 10^2$	$3.0 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	$9 \times 10^4$	0	0

[표 12]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	$9.0 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$9 \times 10^4$	$6 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.7 \times 10^2$	$3.8 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	0	0

[표 13]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	$9.4 \times 10^4$	0	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$8 \times 10^4$	$6 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$2.5 \times 10^2$	$3.3 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^4$	0	0

[표 14]

	0일	1일	2일	7일	14일	21일	28일
그룹 1	$1.0 \times 10^7$	$1.2 \times 10^6$	$9.4 \times 10^4$	$1.0 \times 10$	0	0	0
그룹 2	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$6 \times 10^4$	$6 \times 10^3$	0	0
그룹 3	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$3.1 \times 10^4$	$1.7 \times 10^2$	$3.8 \times 10$	0	0
그룹 4	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^5$	$1.0 \times 10^4$	0	0

상기 표에서 살펴본 바와 같이 본 발명에 따른 천연 항균제는 그람음성, 양성균, 이스트류, 곰팡이류에 항균 효과가 있는 매우 넓은 항균 스펙트럼을 보인 것을 알 수 있다.

**-김치 유산균 배양액과 파라벤과의 항균력 비교 시험-**

본 발명에 의한 김치 유산균 배양액의 항균력과 파라벤의 항균력을 비교하기 위하여 기초화장품의 하나인 스킨로션에 류코노스톡(*Leuconostoc*)속 배양액 샘플 1~4, 락토바실러스(*Lactobacillus*)속 배양액 샘플 5~10, 웨이셀라(*Weissella*)속 11~12와 파라벤을 적용하여 표 15와 같은 시험 조성물을 제조하여 항균력을 비교 분석하였다.

[표 15]

성분	시험조성물													
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12	#13	#14
글리세린	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
1,3-부틸렌 글리콜	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
PEG 1500	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
DL-판테놀	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
소듐히아루노네이트	5.0	5.0	5.0	0.1	0.1	0.1	5.0	5.0	5.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
카보머	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
에탄올	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
메틸파라벤	0	0.1	0	0	0	0	0	0.1	0	0	0	0	0	0
피.오.이 60 경화피마자유	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
트리에탄올 아민	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
류코노스톡 김치아이	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
류코노스톡 메센테로이드	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
류코노스톡 시트레움	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
류코노스톡 락티스	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
락토바실루스 एसिट도필러스	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
락토바실루스 불가리쿠스	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
락토바실루스 플랜타륨	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0
락토바실루스 파라플란타륨	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
락토바실루스 쿠르바투스	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
락토바실루스 사케이	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0
웨이셀라 김치아이	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0
웨이셀라 술리	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
중류수	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100	To 100

상기한 항균력 실험에서와 동일하게 시험조성물 예 1 ~ 14각각에 그룹 1~그룹 4의 미생물을 강제 접종하여 동일한 온도에서 배양하여 최종적으로 확인된 14일 경과 후 생존균의 수를 측정하여 하기 표 16에 나타냈다.

[표 16]

	그룹 1	그룹 2	그룹 3	그룹 4
시험조성물1	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
시험조성물2	$4 \times 10^5$	$3 \times 10^2$	$7 \times 10^2$	$9 \times 10^2$
시험조성물3	0	0	0	0
시험조성물4	0	0	0	0
시험조성물5	0	0	0	0
시험조성물6	0	0	0	0
시험조성물7	0	0	0	0
시험조성물8	0	0	0	0
시험조성물9	0	0	0	0
시험조성물10	0	0	0	0
시험조성물11	0	0	0	0
시험조성물12	0	0	0	0
시험조성물13	0	0	0	0
시험조성물14	0	0	0	0



표 16에서 볼 수 있듯이, 전체적으로, 모든 실험대상 그룹의 시험조성물 1에서 많은 균의 생장이 확인되었다. 기존의 화학 방부제를 사용한 시험 조성물의 2의 경우 박테리아 혼합물에 특히 약한 면을 나타냈으며, 진균 미생물인 이스트류나 곰팡이류는 어느 정도 성장을 억제하는 효과를 보였다. 반면에 모든 그룹의 시험조성물 3 ~ 14즉, 본 발명에 의한 천연항생제를 함유한 조성물에서는 균의 생장이 거의 발견되지 않았다.

이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의한 천연 항균제는 종래 널리 알려져 있고 널리 사용되고 있는 파라벤 보다 월등히 우수하고 넓은 항균 스펙트럼을 가지는 것을 확인할 수 있었다.

상술한 바와 같이 항균력 시험을 한 화장품 조성물 외에도 음료, 사료, 식품, 의약품 등과 같은 조성물에 포함되는 경우에도 항균력을 보일 것으로 판단되며, 음료, 사료, 식품, 의약품 등과 같은 조성물에 적용하는 경우, 적용 대상의 특성, 적용 대상의 제조, 유통, 보관 및 사용 양태 등에 따라 본 발명에 따른 배양액의 함량을 적절하게 조절하는 것은 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자라면 조성물의 물성 시험 등을 통해 충분히 가능할 것이다.

본 발명자의 다양한 실험에 의하면 음료, 사료, 식품, 의약품, 화장품 등과 같은 조성물의 전체에 대하여 0.1~30 부피% 포함되는 것이 적절한 것으로 판명되었다.

또한, 본 발명에 따른 천연 항균제는 오랜 기간 동안 인간이 섭취해 온 김치의 숙성 과정에서 나타나게 되는 김치 유산균의 배양액이기 때문에 별도의 안정성 시험이 없어도 그 안정성에 대해서는 의심의 여지가 없다고 사료된다.

### 발명의 효과

이상 검토하고 증명한 바와 같이, 본 발명에 의한 김치 유산균의 배양액, 배양액의 농축액 또는 배양액의 건조물은 넓고 우수한 항균력을 보인다. 따라서 이를 활용하는 경우, 안전하고 효과적으로 사료, 음료, 식품, 의약품, 화장품 등에 항균력을 부여할 수 있게 된다.

### (57) 청구의 범위

#### 청구항 1.

웨이셀라 코레엔시스(*Weissella koreensis*), 웨이셀라 하니아이(*Weissella hani*), 웨이셀라 김치아이(*Weissella kimchii*), 웨이셀라 솔리(*Weissella soli*), 웨이셀라 콘푸사(*Weissella confusa*) 및 이들의 혼합 유산균으로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나의 김치 유산균 배양액, 상기 배양액의 농축액, 상기 배양액의 건조물 및 이들의 혼합물로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나의 천연 항균제.

#### 청구항 2.

삭제

#### 청구항 3.

삭제

#### 청구항 4.

삭제

#### 청구항 5.

삭제

#### 청구항 6.

웨이셀라 코레엔시스(*Weissella korensis*), 웨이셀라 하니아이(*Weissella hani*), 웨이셀라 김치아이(*Weissella kimchii*), 웨이셀라 솔리(*Weissella soli*), 웨이셀라 콘푸사(*Weissella confusa*) 및 이들의 혼합 유산균으로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나의 김치 유산균 배양액, 상기 배양액의 농축액, 상기 배양액의 건조물 및 이들의 혼합물로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나의 천연 항균제를 활성 성분으로 포함하는 조성물.

**청구항 7.**

삭제

**청구항 8.**

삭제

**청구항 9.**

삭제

**청구항 10.**

삭제

**청구항 11.**

제 6항에 있어서, 상기 조성물이 음료, 사료, 식품, 의약품 및 화장품으로 이루어진 균에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 조성물.