



등록특허 10-2475055



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년12월06일

(11) 등록번호 10-2475055

(24) 등록일자 2022년12월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A23L 33/10 (2022.01) A23L 2/00 (2022.01)

A23L 33/115 (2016.01) A23L 33/16 (2016.01)

C02F 1/50 (2006.01) C02F 1/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A23L 33/10 (2022.01)

A23L 2/00 (2022.01)

(21) 출원번호 10-2020-0094137

(22) 출원일자 2020년07월29일

심사청구일자 2020년07월29일

(65) 공개번호 10-2022-0014488

(43) 공개일자 2022년02월07일

(56) 선행기술조사문헌

JP56091888 A*

KR1020180126208 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

연세대학교 원주산학협력단

강원도 원주시 흥업면 연세대길 1

(72) 발명자

이규재

충청북도 괴산군 감물면 도전로 52-1

(74) 대리인

김보정

전체 청구항 수 : 총 5 항

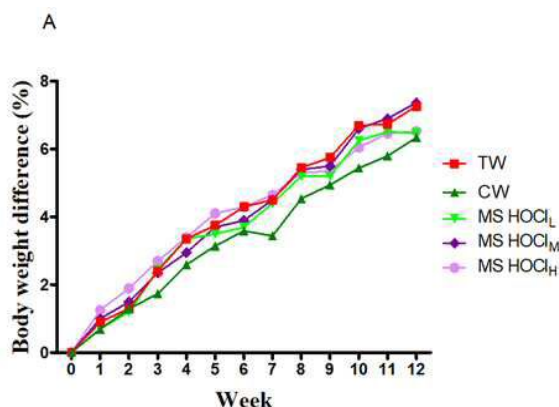
심사관 : 장은경

(54) 발명의 명칭 차아염소산 음용 조성물

(57) 요약

본 발명은 종래 차아염소산수는 안전성이 부족하여 섭취하기 어렵다는 점을 해결하고자, 유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 일정비로 혼합한 음용가능한 음용 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 음용 안전성이 있으며, 혈압 강하, 간기능 개선, 총 콜레스테롤 저하 등의 건강 증진 효과를 나타낸다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A23L 33/115 (2016.08)

A23L 33/16 (2016.08)

C02F 1/50 (2013.01)

C02F 1/68 (2013.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/30 (2013.01)

A23V 2250/022 (2013.01)

A23V 2250/032 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 물과 혼합하여 제조되고,

상기 차아염소산염 혼합용액은 차아염소산염 용액 전체 중량대비 물 80 내지 99 중량부 및 차아염소산염 혼합물 1 내지 20 중량부이고,

상기 차아염소산염 혼합물은 차아염소산염 혼합물 전체 중량대비 차아염소산나트륨 70 내지 99 중량부 및 규소염 1 내지 30 중량부이며,

유효염소농도가 40 내지 60 ppm인, 음용 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 유기산 혼합용액은 아세트산, 구연산 및 개미산으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것인, 음용 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 유기산 혼합용액은 유기산 혼합용액 전체 중량대비 물 50 내지 99 중량부 및 유기산 혼합물 1 내지 50 중량부이고,

상기 유기산 혼합물은 유기산 혼합물 전체 중량대비 아세트산 40 내지 89 중량부, 구연산 10 내지 60 중량부 및 개미산 1 내지 20 중량부인, 음용 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 음용 조성물은 음용 조성물 전체중량대비 유기산 혼합용액 0.01 내지 10 중량부, 차아염소산염 혼합용액 0.01 내지 10 중량부 및 물 80 내지 99.98 중량부인 음용 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 음용 조성물은 염소 부산물을 포함하지 않는 것인, 음용 조성물.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 차아염소산 음용 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 일정비로 혼합하여, 음용 안전성이 있으며, 건강증진효과가 우수한 음용 조성물에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 일반적으로, 살균력을 나타내는 물질은 살균과 동시에 환경, 인체 등에 악영향을 끼칠 수 있는 가능성이 있다. 살균력을 나타내는 물질 중 염소성분을 포함하는 물질은 세정제, 소독제, 살균제 등으로 널리 사용되고 있고, 이 중 차아염소산 나트륨과 차아염소산 칼슘은 1957년에 살충제로 사용하도록 처음 등록되어 사람과 동물에게 질병을 일으킬 수 있는 박테리아, 곰팡이, 조류 등을 억제하는데 사용되었다. 염소소독제는 염소산 염의 형태일 때 실온에서 안정적이고 유효기간이 긴 장점이 있지만 살균효과가 떨어지고, 염소가스의 휘발로 인한 안전문제가 제기된다(Fisher, 2009). 이산화 염소(chlorine dioxide)는 주로 실내 환경에서 무생물 및 표면의 박테리아, 바이러스, 곰팡이 등 유해한 미생물을 방제하여 식품 소독제, 식품가공장비의 소독, 의료폐기물 처리 등에 사용되는 비교적 인체에 안전한 물질이지만 용액 상태에서 매우 불안정하고 유효기간이 매우 짧아 이용 범위가 한정적이다.

[0004] 안전성과 안정성을 모두 만족하기 위한 대안으로 차아염소산수가 주목받고 있다. 차아염소산수의 주 성분은 차아염소산으로서, 주요 활성 염소종은 차아염소산(Hypochlorous acid, HOCl)과 차아염소산 이온(Hypochlorite ions, OCl⁻), 유리 염소 및 차아염소산염(Hypochlorite)이며, 그 중에서 차아염소산이 가장 우세한 비중을 차지한다. 차아염소산의 안전성과 안정성의 특성에 의해 미국식품의약국은 1999년부터 강산성 차아염소산수를 농수산물 세정에 사용하도록 허용하였고, 일본후생노동성에서는 2013년 생식용 어류, 생굴, 냉동식품 가공에 첨가물로 허용하고 있으며, 한국의 경우 식품의약품안전청(Korea Food & Drug Administration)의 식품첨가물 기준법에 따라 식품첨가물로 인정하고 있다.

[0005] 다만, 차아염소산수를 식품첨가물로 인정하고 있으나, 안전성을 고려하여 허용 기준치를 설정하고 있다. 미국의

경우, 식품 살충 및 살균제, 약제 및 과일의 세정 시에 200 ppm 미만, 씨앗 살균시 60-80 ppm 이하, 사람 음용시 4 ppm 이하로 규정하고 있고, 한국의 경우, 차아염소산수는 과일류, 채소류 등의 살균 목적에 한하여 사용하여야하며, 최종식품의 완성 전에 제거하여야 한다고 규정하고 있다.

[0006] 차아염소산수의 살균력, 안정성, 저장성, 친환경성 등의 특성에 의해 활용 분야가 매우 광범위하다. 차아염소산수는 식품가공, 농업, 의료, 수산, 축산 등에서 활용되고 있으며, 의료 분야에서는 손을 포함한 신체 소독, 내시경소독, 화상부위치료, 상처소독 등의 목적으로 이용되고 있다. 이와 관련하여, 대한민국공개특허 제10-2019-0105014호에서는 차아염소산 및 아세트산을 포함하여 피부 외상과 관련된 질환을 치료하기 위한 조성물이 개시되어 있고, 대한민국등록특허 제10-1781229호에서는 차아염소산 및 물을 포함하여, 화상, 절단, 마찰상 등의 조직을 치료하기 위한 약제가 개시되어 있으며, 일본공개특허 제2019-206544호에서는 수술 부위, 창상, 외상 부위에서 염증성 질환을 치료하기 위한 차아염소산염 용액이 개시되어 있다.

[0007] 다만, 차아염소산수의 박테리아, 바이러스, 곰팡이 등에 대한 살균력이 알려져 있더라도, 이는 인체에 들어가는 것을 전제로 하지 않은 것이고, 이를 음용하는 경우 살균력을 나타내는지에 대하여 구체적으로 개시된 바 없으며, 이의 음용시 안정성에 대해서도 구체적으로 개시된 바 없다.

[0008] 이에, 본 발명자들은 회석식으로 제조된 차아염소산 음용 조성물을 제조하기 위해 노력한 결과, 음용하더라도 간기능 지표, 체중 등에 차이가 없음을 확인하여 안정성이 있다는 점 뿐만 아니라 혈압 강하, 총 콜레스테롤 감소 등의 우수한 효과가 있음을 밝힘으로써, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0010] (특허문헌 0001) 대한민국등록특허 제10-2019-0105014호

(특허문헌 0002) 대한민국공개특허 제10-1781229호

(특허문헌 0003) 일본공개특허 제2019-206544호

비특허문헌

[0011] (비특허문헌 0001) Abdel-Rahman MS et al., A comparative kinetics study of monochloramine and hypochlorous acid in rat, Journal of applied toxicology, 1983, 3:175-179.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명에서는 종래 차아염소산은 염소농도 등에 의해 안전성이 부족하다는 점을 해결하고자, 음용가능한 구연산, 아세트산 및 개미산을 이용하며, 이를 차아염소산 나트륨 및 규소염과 혼합 및 회석하여 음용가능한 음용 조성물을 제공하기 위한 것이다. 또한, 음용을 통해 혈압 강하 등의 건강 증진이 가능한 음용 조성물을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0014] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 물과 혼합하여 제조되는 음용 조성물을 제공한다.

[0015] 본 발명의 일 양태에서, 유기산 혼합용액은 아세트산, 구연산 및 개미산으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함한다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 유기산 혼합용액은 유기산 혼합용액 전체 중량대비 물 50 내지 99 중량부 및 유기산 혼합물 1 내지 50 중량부이고, 상기 유기산 혼합물은 유기산 혼합물 전체 중량대비 아세트산 40 내지 89 중량부, 구연산 10 내지 60 중량부 및 개미산 1 내지 20 중량부이다.

[0016] 본 발명의 일 양태에서, 차아염소산염 혼합용액은 차아염소산나트륨 또는 규소염을 포함한다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 차아염소산염 용액은 차아염소산염 용액 전체 중량대비 물 80 내지 99 중량부 및 차아염

소산염 혼합물 1 내지 20 중량부이고, 상기 차아염소산염 혼합물은 차아염소산염 혼합물 전체 중량대비 차아염소산나트륨 70 내지 99 중량부 및 규소염 1 내지 30 중량부이다.

[0017] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 음용 조성물 전체중량대비 유기산 혼합용액 0.01 내지 10 중량부, 차아염소산염 혼합용액 0.01 내지 10 중량부 및 물 80 내지 99.98 중량부이다.

[0018] 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 염소 부산물을 포함하지 않는다.

[0019] 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물의 유효염소농도가 1 내지 200 ppm이다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물의 유효염소농도가 4 ppm 초과 150 ppm 미만이다. 보다 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물의 유효염소농도가 40 내지 60 ppm이다.

[0021] 또한, 본 발명은 간 질환 및 대사성 질환으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상의 질환 예방 또는 개선 효과를 제공한다.

[0022] 본 발명의 일 양태에서, 대사성 질환은 비만, 당뇨, 고지혈증, 지방간, 심혈관질환, 갑상선 항진증, 갑상선 저하증, 고혈압, 저혈압, 고혈당, 저혈당 및 통풍으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 것이고, 간 질환은 간염, 간경변, 비알콜성 지방간, 알코올성 지방간, 및 간경변으로 이루어진 군에서 선택되는 것이다.

[0023] 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 혈압강하, 혈당감소, 총 콜레스테롤 감소, 저밀도 콜레스테롤 감소, AST 활성감소, ALT 활성감소 및 감마티피피(γ -GTP) 활성감소로 구성된 그룹으로부터 하나 이상의 효과를 나타낸다.

발명의 효과

[0025] 본 발명은 유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 일정비로 혼합한 음용 조성물에 관한 것으로, 음용 안전성이 있으며, 음용시 혈압 강하, 간기능 개선, 총 콜레스테롤 저하 등의 건강 증진 효과가 우수하다는 이점이 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1a는 마우스의 체중 무게 변화를 나타낸 도이다.

도 1b는 마우스의 간 무게 변화를 나타낸 도이다.

도 2a는 혈청과 간 균질액에서 총 활성산소의 양을 나타낸 도이다.

도 2b는 혈청과 간 균질액에서 산화질소의 양을 나타낸 도이다.

도 3a는 혈청과 간 균질액에서 항산화효소 GPx의 농도를 나타낸 도이다.

도 3b는 혈청과 간 균질액에서 항산화효소 카탈라제의 농도를 나타낸 도이다.

도 4a는 혈청과 간 균질액에서 사이토카인 IL-1 β 의 양을 나타낸 도이다.

도 4b는 혈청과 간 균질액에서 사이토카인 IL-12을 나타낸 도이다.

도 4c는 혈청과 간 균질액에서 사이토카인 IFN- γ 을 나타낸 도이다.

도 4d는 혈청과 간 균질액에서 사이토카인 TNF- α 을 나타낸 도이다.

도 4e는 혈청과 간 균질액에서 사이토카인 IL-6을 나타낸 도이다.

도 4f는 혈청과 간 균질액에서 사이토카인 IL-10을 나타낸 도이다.

도 5는 간에서 총 ALT 농도 및 AST 농도를 나타낸 도이다.

도 6은 간의 조직학적 변화를 나타낸 도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0028] 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0030] 본 발명의 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 “포함”한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

- [0031] 본 명세서에서 "약학적으로 허용가능한" 및 "식품학적으로 허용가능한"이란 포함된 성분이 생물체를 상당히 자극하지 않고, 생물학적 활성 및 특성을 저해하지 않는 것을 의미한다.
- [0032] 본 명세서에서 기재되는 화합물은 특별히 정의를 하지 않는 한, 통상적으로 인식된 화합물을 의미한다.
- [0033] 본 발명에서 사용되는 용어 "예방"은 본 발명의 조성물의 체내 투입으로 특정 질환(예를 들어, 고혈압)의 증상을 억제시키거나 진행을 지연시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0034] 본 발명에서 사용되는 용어 "개선"은 본 발명의 조성물의 체내 투입으로 특정 질환(예를 들어, 고혈압)의 증상과 관련된 파라미터, 예를 들면 혈압 강하 등 증상의 정도를 감소시키는 모든 행위를 의미한다.
- [0035] 본 발명의 "혈압 강하"는 혈압이 정상 혈압범위(80mmHg 내지 120mmHg)를 초과하는 대상에 대하여 혈압을 정상 혈압 범위로 낮춘다는 의미로 사용된다.
- [0037] 본 발명은 유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 물과 혼합하여 제조되는 음용 조성물에 관한 것이다.
- [0038] 또한, 본 발명은 상기 음용 조성물을 통한 간 질환 및 대사성 질환으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상의 질환 예방 또는 개선 효과에 관한 것이다. 또한, 본 발명 음용 조성물은 구강 치아 및 위장관 조직에 영향을 주지 않아, 음용 시 구강 살균도 가능하다.
- [0040] 본 발명의 일 양태에서, 유기산 혼합용액은 아세트산(acetic acid), 구연산(citric acid) 및 개미산(formic acid)으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것이다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 유기산 혼합용액은 유기산 혼합용액 전체 중량대비 물 50 내지 99 중량부 및 유기산 혼합물 1 내지 50 중량부이고, 상기 유기산 혼합물은 유기산 혼합물 전체 중량대비 아세트산 40 내지 89 중량부, 구연산 10 내지 60 중량부 및 개미산 1 내지 20 중량부이다. 보다 더 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 유기산 혼합용액은 유기산 혼합용액은 유기산 혼합용액 전체 중량대비 물 90 내지 99 중량부 및 유기산 혼합물 1 내지 10 중량부이고, 상기 유기산 혼합물 전체 중량대비 아세트산 40 내지 89 중량부, 구연산 10 내지 60 중량부 및 개미산 1 내지 20 중량부이다.
- [0041] 본 발명에서 유기산 혼합용액은 아세트산, 구연산 및 개미산 이외에도 유기산으로 알려진 화합물을 더 포함할 수 있고, 예를 들면, 인산(phosphoric acid), 푸마르산(fumaric acid), 젖산(lactic acid), 사과산(malic acid) 등을 더 포함할 수 있다.
- [0042] 본 발명의 일 양태에서, 차아염소산염 혼합용액은 차아염소산 나트륨 또는 규소염을 포함하는 것이다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 상기 차아염소산염 용액은 차아염소산염 용액 전체 중량대비 물 80 내지 99 중량부 및 차아염소산염 혼합물 1 내지 20 중량부이고, 상기 차아염소산염 혼합물은 차아염소산염 혼합물 전체 중량대비 차아염소산나트륨 70 내지 99 중량부 및 규소염 1 내지 30 중량부이다.
- [0043] 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 음용 조성물 전체중량대비 유기산 혼합용액 0.01 내지 10 중량부, 차아염소산염 혼합용액 0.01 내지 10 중량부이고, 나머지는 물에 해당한다. 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 전체중량대비 유기산 혼합용액 0.01 내지 5 중량부, 차아염소산염 혼합용액 0.01 내지 5 중량부이고, 나머지는 물에 해당한다.
- [0044] 본 발명에서 구연산, 아세트산, 개미산, 차아염소산 나트륨 및 규소염은 상업적으로 판매되는 것을 사용하거나, 당업계에 공지된 방법으로 합성하거나, 자연에서 채취한 후 처리하여 수득된 것을 사용할 수 있으며, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 규소염은 규소가 염의 형태를 나타내는 것으로, 이에 한정되는 것은 아니나 예를 들면, $[\text{SiO}_3]^{2-}$, $[\text{HSiO}_3]^-$ 등을 포함한다.
- [0045] 본 발명에서 차아염소산 나트륨을 포함한 차아염소산 음용 조성물의 제조는 구연산, 아세트산, 개미산, 차아염소산 나트륨 및 규소염을 포함하는 혼합물은 물과 혼합하여 희석하는 방법에 의해 제조될 수 있다. 보다 상세하게는 구연산, 아세트산 및 개미산을 혼합한 혼합용액을 제조한 후, 차아염소산 나트륨 및 규소염을 혼합하여 혼합물을 제조하고, 물과 혼합하여 희석시켜 음용 조성물을 제조할 수 있다. 혼합되는 순서는 구연산-아세트산-개미산-차아염소산 나트륨-규소염-물의 순서로 혼합될 수 있으나, 물에 구연산, 아세트산, 개미산, 차아염소산 나트륨 및 규소염을 투입하는 방식, 차아염소산 나트륨을 물과 혼합한 뒤 구연산, 아세트산 및 개미산의 혼합용액을 혼합하는 방식 등 순서에 무관하게 혼합하여 제조할 수 있다.
- [0046] 또한, 본 발명에서 차아염소산 음용 조성물은 희석하는 방식 이외에 전기분해에 의한 방식에 의해서도 제조될 수 있으나, 희석에 의해 제조하는 것이 바람직하다. 희석에 의해 제조되는 경우 음용활용성이 높고, 고농도로

대량 생산이 가능하고, 전기분해 또는 염산을 이용하지 않음으로써 안전하고, 유해성 부산물이 발생하지 않을 수 있다.

- [0047] 본 발명에서 음용 조성물은 구연산, 아세트산, 개미산, 차아염소산 나트륨 및 규소염을 포함하는 혼합물 이외에 약학적으로 허용가능한 성분 또는 식품학적으로 허용가능한 성분, 예를 들면, 비타민 A, 미네랄, 무기질 등을 더 포함할 수 있다.
- [0048] 상기 구연산, 아세트산, 개미산, 차아염소산 나트륨은 유효염소농도를 변경시키기 위해 조절될 수 있다. 또한, 구연산, 아세트산 및 개미산을 이용함으로써 음용시 생체 내 생물학적 활성 또는 특성을 변경시키지 않고, 유의미한 예방, 개선 효과를 나타낼 수 있다.
- [0049] 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 염소 부산물을 포함하지 않는다. 종래 전기분해방식을 이용하지 않음으로써, 염소를 포함하는 발암물질인 염소부산물 발생하지 않는다.
- [0050] 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 유효염소농도가 1 내지 200 ppm이다.
- [0051] 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 유효염소농도가 4 ppm 초과 150 ppm 미만이다. 보다 더 구체적인 본 발명의 일 양태에서, 유효염소농도가 10 내지 125 ppm, 25 내지 110 ppm, 40 내지 60 ppm이다. 본 발명에서 음용 조성물은 유효염소농도가 적정수준으로 조절되어야 할 필요가 있으며, 유기산 혼합용액 및 차아염소산염 혼합용액을 통해 유효염소농도가 상기 범위를 초과하는 경우, 예컨대 200 ppm을 초과하는 음용 조성물을 음용하는 경우, 생물학적 활성 또는 특성에 부정적인 영향을 끼칠 수 있다. 한편, 본 발명에서 음용 조성물은 4 ppm의 농도를 초과하더라도 구연산, 아세트산을 포함하고, 희석하는 방식에 의해 제조됨으로써 음용 안전성을 가진다.
- [0053] 또한, 본 발명은 상기 음용 조성물을 통해 간 질환 및 대사성 질환으로 구성된 그룹으로부터 선택된 1종 이상의 질환 예방 또는 개선 효과를 제공한다.
- [0054] 상기 대사성 질환은 비만, 당뇨, 고지혈증, 지방간, 심혈관질환, 갑상선 항진증, 갑상선 저하증, 고혈압, 저혈압, 고혈당, 저혈당 및 통풍으로 이루어진 그룹에서 선택되는 어느 하나 이상의 대사성 질환일 수 있다.
- [0055] 또한, 상기 간 질환은 간염, 간경변, 비알콜성 지방간, 알코올성 지방간, 및 간경변으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 간질환일 수 있다.
- [0057] 또한, 본 발명의 일 양태에서, 음용 조성물은 혈압강하, 혈당감소, 총 콜레스테롤 감소, 저밀도 콜레스테롤 감소, AST 활성감소, ALT 활성감소 및 감마지티피(γ -GTP) 활성감소로 구성된 그룹으로부터 하나 이상의 효과를 나타낸다.
- [0058] 구체적으로, 본 발명의 조성물을 음용하여 대사성 질환의 일종인 고혈압, 고지혈증, 심혈관질환 등과 관련된 주요 지표인, 혈압, 총 콜레스테롤, 고밀도 콜레스테롤, 저밀도 콜레스테롤의 수치를 정상 수치까지 개선시킬 수 있다.
- [0059] 또한, 본 발명의 조성물을 음용하여 간염, 간경변, 지방간 및 간경화와 관계된 간손상의 주요 지표인, 간 효소 ALT(Alanine transaminase) 및 AST(Aspartate transaminase), 감마지티피(γ -GTP)의 농도를 정상 수치까지 감소시킬 수 있다.
- [0060] 또한, 본 발명의 조성물을 음용하더라도 세포 독성과 관련된 활성산소(reactive oxygen species, ROS), 산화질소(nitric oxide, NO), 항산화효소 GPx(Glutathione Peroxidase), 항산화효소 카탈라제(catalase), 혈청 사이토카인(cytokine)의 수치에 유의한 차이를 나타내지 않거나 오히려 개선된 효과를 나타내므로, 음용 조성물로서 적합하다.
- [0062] 이하, 본 발명을 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.
- [0063] 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실시예 및 실험예에 한정되는 것은 아니다.
- [0065] <실시예> 차아염소산 음용수 제조
- [0066] <1-1> 유기산 혼합용액 제조
- [0067] 아세트산, 구연산 및 개미산을 혼합하고, 물을 추가로 혼합하여 유기산 혼합용액을 제조하였다. 유기산 혼합용액은 아세트산 15 mg, 구연산 6.25 mg 및 개미산 3.75 mg을 혼합하고, 물을 480 ml 추가로 혼합하여

제조되었다.

<1-2> 차아염소산염 혼합용액 제조

차아염소산나트륨 및 규소염을 혼합하고, 물을 추가로 혼합하여 차아염소산염 혼합용액을 제조하였다. 차아염소산염 혼합용액은 차아염소산나트륨 40 mg 및 규소염 10 mg을 물을 450 ml와 혼합하여 제조되었다.

<1-3> 차아염소산 음용수 제조

상기 실시예 <1-1>에서 제조된 유기산 혼합용액 및 <1-2>에서 제조된 차아염소산염 혼합용액을 혼합하여 차아염소산 조성물을 제조하였다. 차아염소산 조성물은 유기산 혼합용액 30 ml 및 차아염소산염 혼합용액 100 ml을 혼합하여 제조되었고, 차아염소산 조성물을 물 1~50 L에 희석하여 저농도 차아염소산 음용수(MS-HOCL_L), 중농도 차아염소산 음용수(MS-HOCL_M), 고농도 차아염소산 음용수(MS-HOCL_H)를 제조하였으며, 그 특성은 표 1에 나타난 바와 같다.

<비교예> 미산성전해수 제조

전기분해장치(HOCLER Cosmic Round Korea Co.,Ltd.)를 사용하여 무격막시스템의 전해조에서 4.5 % 염산이 혼합된 수돗물을 전기분해하여 미산성전해수(CW)를 제조하였다. 미산성전해수의 조성은 표 1에 나타난 바와 같다.

표 1

측정 항목	TW	CW	MS-HOCL _L	MS-HOCL _M	MS-HOCL _H
pH	7.8	5.0	6.6	6.1	5.9
ORP (mV)	666	983	913	931	966
ACC (ppm)	0.5	8	27	51	106

(* TW : 수돗물 / CW : 미산성전해수 / ORP : 산화환원 전위차 / ACC : 유효염소농도)

<실험예 1> 실험조건 및 측정방법

<1-1> 실험용 마우스의 실험조건

6주령(19-20g)의 C57BL6 암컷 마우스 60마리(주식회사 오리엔트)를 구입하여 실험에 사용하였다. 마우스는 온도 23±2° C, 습도 55±5%, 12 h light/dark cycle 환경에서 관리되었다. 일주일 동안 순화과정을 거친 후, 임의로 10마리씩 하기 5개 군으로 분류하였다:

i) 수돗물 음용 대조군(TW), ii) 미산성 전기분해수 음용군(CW), iii) 저농도 MS-차아염소산수(MS-HOCL_L), iv) 중농도 저농도 MS-차아염소산수(MS-HOCL_M), v) 고농도 저농도 MS-차아염소산수(MS-HOCL_H).

실험수는 마우스용 물병을 통해 자유롭게 음용하게 하였으며 24시간 마다 실험수를 교체하여 주었고 음용기간은 3개월이었다. 실험 동물의 사용 및 관리는 연세대학교 원주의과대학 동물윤리위원회의 승인을 얻은 후 U.S. National Institutes of Health (NIH)의 가이드라인을 따라 수행되었다(YWC-190410-1).

<1-2> 체중과 간의 무게 측정

마우스의 체중은 전자저울을 이용하여 주 일 회 12주 동안 측정하였고 체중 차이에 따른 퍼센트로 계산되었다. 간의 무게 또한 도살 직후 분리되어 전자저울을 이용하여 측정되었다.

<1-3> 혈청과 조직샘플의 준비

마우스 혈청과 조직샘플의 준비는 이소플루란(isoflurane, 하나제약)으로 마취시킨 후 표준 프로토콜에 의해 진행되었다.

혈액은 안와정맥총에서 채혈되어 실온에서 응고시킨 후 14,000rpm으로 5분 동안 원심분리하여 혈청을 얻었다.

간 조직은 도살 직후 같은 부위의 조직을 3x3x3mm 크기로 절제한 후 프로테아제 억제제(protease inhibitor)가 혼합된 10 % 용해 완충액(10% cold RIPA lysis buffer, Thermo Scientific)에 넣고 비드 밀링 방법(bead milling method, QIAGEN)을 이용하여 균질화시켰다. 균질액을 4 °C, 10,000 x g로 15분 동안 원심분리하여 상층액을 분리한 후, 분석 전까지 -80 °C 냉동실에 보관하였다.

- [0091] 조직학적 관찰을 위해 약 5x5mm 크기로 간의 같은 부위를 각각 절제한 후 10% 포르말린 용액에 고정하였고, 수 세를 통한 고정액 제거, 알코올 탈수, 자일렌(xylene) 치환, 파라핀 침투 과정을 거쳐 파라핀 블록을 만든 후 4 μ m 두께로 절편을 만들었다. 절편은 통상적인 방법에 따라 탈파라핀, 함수, 헤마톡실린-에오신(hematoxylin-eosin) 염색, 탈수, 투명, 봉입 과정을 거쳐 광학현미경(BX51, Olympus Co.) 하에서 관찰되었다.
- [0093] <1-4> 산화 스트레스 마커
- [0094] ① 혈청과 간조직 내 활성산소(reactive oxygen species, ROS) 농도 측정
- [0095] 혈청과 간조직에서의 활성산소 농도는 2', 7' -디클로로플루오레스친디아세테이트 분석 키트(2', 7' -dichlorofluoresceindiacetate(DCFH-DA) assay kit, Abcam)를 이용하여 정해진 프로토콜에 따라 측정되었다. 각 실험군의 샘플들은 10 μ mol/L의 DCFH-DA와 37 $^{\circ}$ C의 암실의 조건에서 30분 동안 반응한 후, 마이크로 플레이트 리더(DTX-880 multimode microplate reader, Beckman Counter Inc.)를 이용하여 488/525 nm에서 흡광도를 측정 하였다.
- [0096] ② 혈청과 간조직에서 산화질소(nitric oxide, NO) 농도 측정
- [0097] 산화질소 농도는 NO 탐지 키트(NO detection kit, Intron Biotechnology Company)를 이용하여 정해진 프로토콜에 따라 측정되었다. 50 μ L의 혈청과 간 균질액을 각각 96-well plate에 넣고 A시약과 10분, B시약과 10분 동안 실온에서 반응시켰다. 흡광도는 마이크로 플레이트 리더(DTX-880 multimode microplate reader, Beckman Counter Inc.)를 이용하여 540nm에서 측정되었다.
- [0098] ③ 항산화효소 Glutathione Peroxidase (GPx) 활성 측정
- [0099] 혈청과 간조직 내에서의 GPx 활성은 GPx 분석 키트(GPx assay kit, Biovision)를 이용하여 과산화수소를 제거하는 능력을 통해 평가되었다. GPx에 의해 과산화수소가 환원되면 산화 글루타티온(oxidized glutathione)이 생성 되고, 이 물질은 글루타티온 환원 효소(glutathione reductase)와 환원된 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 포스페이트(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH))에 의해 환원되는 싸이클을 반복한다. NADPH가 NADP⁺로 산화되는 정도가 될 때 되는 것은 흡광도의 감소로 나타나고, 마이크로 플레이트 리더(DTX-880 multimode microplate reader, Beckman Counter Inc.)를 이용하여 340nm에서 흡광도가 측정되었다.
- [0100] ④ 항산화효소 카탈라제(Catalase) 활성 측정
- [0101] 혈청과 간조직 내에서 카탈라제 활성은 카탈라제 색도계 분석 키트(catalase colorimetric assay kit, BioVision)를 이용하여 측정되었다. 과산화수소의 해리율은 스펙트로메터(Beckman Counter Inc.) 570nm에서 측정되었다. 카탈라제 1 unit은 1분 안에 과산화수소 1 μ M을 분해하는데 필요한 효소의 양으로 정의된다. 카탈라제 활성은 측정법에서 사용된 단백질의 mg으로 노말라이즈(normalize)하였고, mU/mg으로 표현되었다.
- [0102] ⑤ 사이토카인 측정
- [0103] 인터루킨(Interleukin(IL))-1 β , IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α (tumor necrosis alpha), 인터페론 감마(IFN- γ)와 같은 사이토카인은 비드 서스펜션 분석 키트(bead suspension array kit, Bio-plex 200 system, Bio-Rad)를 이용하여 측정하였다.
- [0104] ⑥ 간기능 검사
- [0105] ⑥-1. 알라닌 아미노트랜스퍼라제 분석(Alanine aminotransferase (ALT) assay)
- [0106] 간에서 총 ALT 농도는 ALT 색도계 분석 키트(ALT colorimetric assay kit, Biovision)에 의해 측정되었고, units(U/L)로 표현되었다. 원리에 의하면, 아미노 그룹은 알라닌에서 알파 케토글루타레이트(alpha ketoglutarate)로 전환된다. 가역적인 전환 반응을 통해 피루베이트(pyruvate)와 글루타메이트(glutamate)가 생성된다. 글루타메이트(Glutamate)는 535/587nm에서 흡광도가 측정되었다.
- [0107] ⑥-2. 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 분석(Aspartate aminotransferase (AST or SGOT) assay)
- [0108] 간에서 총 AST 농도(concentration)는 AST 색도계 분석 키트(AST colorimetric assay kit, Biovision)에 의해 측정되었고 units(U/L)로 표현되었다. 원리에 의하면, 아미노 그룹(amino group)은 아스파테이트(aspartate)에서 알파 케토글루타레이트(alpha ketoglutarate)로 전환된다. 가역적인 전환 반응을 통해 옥살로아세테이트(oxaloacetate)와 글루타메이트(gluatamate)가 생성된다. 생성된 글루타메이트(glutamate)는 450nm에서 흡광도

로 측정되었다.

[0110] <실험예 2> 차아염소산 음용수의 안정성 분석결과

[0111] <2-1> 차아염소산 음용수의 성분 분석

[0112] <실시예>에 따라 제조된 차아염소산 음용수를 공인기관(Eurofins Dr. Specht Laboratorien GmbH)에 의뢰하여 살충제 또는 인체 유해성분 550여 종을 검사하였으며, 그 결과 안전의 기준을 벗어나는 유해한 성분은 검출되지 않았다.

[0114] <2-2> 체중과 간의 무게 측정 결과

[0115] 실험예 <1-2>에 따라 12주 동안 체중과 간의 무게 변화를 측정한 결과를 도 1에 나타내었다.

[0116] 측정결과, 체중은 각 실험군 마다 일관성 있는 증가추세를 보여주었고, 실험군들 사이에 유의한 차이는 나타나지 않았다(도 1a). 간의 무게 또한 수돗물 음용군에 비해 차아염소산 음용군이 낮은 경향을 나타내었으나 유의한 차이는 보이지 않았다(도 1b).

[0118] <2-3> 활성산소 및 산화질소 측정 결과

[0119] 실험예 <1-4>의 ① 및 ②에 따라 혈청과 간 균질액에서 총 활성산소 및 산화질소의 양을 측정하였으며, 그 결과를 도 2에 나타내었다.

[0120] 측정결과, 활성산소의 경우, 혈청에서는 모든 그룹 사이에 활성산소 농도의 유의한 차이는 나타나지 않았으나, 간에서는 MS-차아염소산수 음용군이 미산성전기분해수 군에 비해 전체적으로 높은 경향을 보였고 고농도 MS-차아염소산수 음용군($p < 0.05$)이 미산성전해수군에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다(도 2a).

[0121] 산화질소의 경우, 혈청 및 간 조직 내에서 그룹 간 농도의 유의한 차이를 나타내지 않았다(도 2b).

[0123] <2-4> 항산화효소 Glutathione Peroxidase (GPx) 활성 및 항산화효소 카탈라제(Catalase) 활성 측정 결과

[0124] 실험예 <1-4>의 ③ 및 ④에 따라 혈청과 간 균질액에서 항산화효소 GPx 및 항산화효소 카탈라제의 농도를 측정하였으며, 그 결과를 도 3에 나타내었다.

[0125] 측정결과, 항산화효소 GPx의 경우, 혈청 GPx 농도는 실험군 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았으나 간에서의 GPx 농도는 고농도 MS-차아염소산수 군이 가장 높게 나타났고 미산성전해수($p < 0.05$), 저농도 MS-차아염소산수($p < 0.01$), 중농도 MS-차아염소산수($p < 0.001$)와 비교하여 유의한 차이를 나타내었다(도 3a).

[0126] 카탈라제 활성의 경우, 간조직에서 모든 대조군과 실험군들 사이에 차이를 나타내지 않았으나, 혈청의 경우 미산성전해수($p < 0.01$), 저농도 MS-차아염소산수($p < 0.001$), 중농도 MS-차아염소산수($p < 0.001$), 고농도 MS-차아염소산수($p < 0.001$) 실험군들이 수돗물을 음용한 대조군에 비해 유의하게 낮게 나타났다(도 3b).

[0128] <2-5> 항산화효소 Glutathione Peroxidase (GPx) 활성 및 항산화효소 카탈라제(Catalase) 활성 측정 결과

[0129] 실험예 <1-4>의 ⑤에 따라 혈청과 간 균질액에서 염증성 사이토카인에 포함되는 IL-1 β , IL-12, IFN- γ , TNF- α 와 항염증성 사이토카인에 해당되는 IL-6와 IL-10의 농도를 측정하였으며, 그 결과를 도 4에 나타내었다.

[0130] 측정결과, MS-차아염소산수를 음용한 세 개의 실험군은 정수물과 수돗물 및 미산성전해수를 음용한 대조군과 비교하여 유의한 사이토카인 차이를 나타내지 않았다(도 4a 내지 도 4f).

[0132] <2-6> 간기능 지표 효소(ALT, AST) 측정 결과

[0133] 실험예 <1-4>의 ⑥에 따라 간에서 총 ALT 농도 및 총 AST의 농도를 측정하였으며, 그 결과를 도 5에 나타내었다.

[0134] 측정결과, 두 지표 모두 그룹간 유의한 차이를 나타내지 않았다(도 5).

[0135] 또한, 간의 조직학적 변화를 관찰하여 도 6에 나타내었다. 그 결과, 모든 실험군의 간조직은 핵의 모양과 크기, 염증성세포의 침윤, 미세구조 등을 포함하여 형태학적 차이를 나타내지 않았으며(도 6), 간독성과 관련된 병리학적 이상 소견을 보이지 않았다.

[0137] <실험예 3> 차아염소산 음용수의 인체 적용 효과

[0138] 2017년부터 유효염소 농도 50 ppm의 회석식 MS-차아염소산수(중농도 MS-차아염소산수, MS-HOCl_M)를 제조하여 하

루에 약 1.5 ~ 2L 분량을 음용하였으며, 음용 전과 음용 2년 후, 음용 3년 후 총 3회 건강검진을 통해 효과를 확인하였다.

[0139] 검진결과는 하기 표 2 및 표 3에 나타난 바와 같다.

표 2

[0140]

기초 및 신체계측				
검사항목	2016년 11월 29일	2018년 11월 29일	2019년 12월 06일	정상 기준범위
신장	174	174.9	173.6	
체중	68	69.4	74.7	
허리둘레	83	81.1	83.2	
체질량지수(kg/m ²)	22.5	22.7	23.8	18.5-24.9
혈압-수축기(mmHg)	138	128	120	90-119
혈압-이완기(mmHg)	80	78	68	60-79
혈액학 및 생화학적 검사				
검사항목	2016년 11월 29일	2018년 11월 29일	2019년 12월 06일	정상 기준범위
혈색소(g/dL)	15.5	15.7	14.1	13-17.5
혈당(mg/dL)	101	109	99	100미만
당화혈색소	5.9	6.2	6.1	4-5.6
총 콜레스테롤(mg/dL)	221	197	187	98-199
고밀도 콜레스테롤(mg/dL)	67	57	63	남 40이상 여 50이상
저밀도 콜레스테롤(mg/dL)	133	116	100	130미만
중성지방(mg/dL)	105	121	119	150미만
혈청 크레아티닌(mg/dL)	0.9	1.0	1.0	0.6-1.2
신사구체여과율 (mL/min/1.73m ²)	89	78	78	60이상
AST(SGOT)(IU/L)	101	39	43	38이하
ALT(SGPT)(IU/L)	141	36	30	38이하
감마지티피(r-GTP)(IU/L)	64	36	29	남 56이하 여 38이하
요화학검사				
검사항목	2016년 11월 29일	2018년 11월 29일	2019년 12월 06일	정상 기준범위
백혈구	-	++	-	-
아질산염	-	-	-	-
pH	7.5	6.0	7.5	5-8
요단백	-	-	-	-
요당	-	-	-	-
케톤체	-	-	-	-
유로빌리루빈	+-	+-	+-	+-
빌리루빈	-	-	-	-
요잠혈	-	-	-	-
요비중	1.015	1.021	1.017	1.01-1.03
요침사(적혈구)	0-1	0-1	0-1	0-1
요침사(백혈구)	0-1	20-29 (전립선염)	0-1	0-4

표 3

[0141]

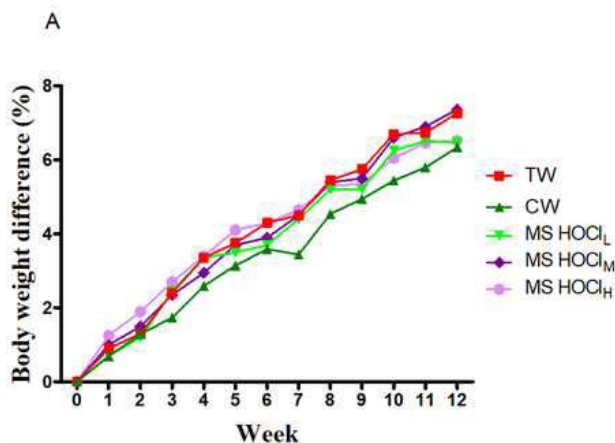
기타 혈액학적 검사 (2019년 검사결과 없음)			
검사항목	2016년 11월 29일	2018년 11월 29일	정상 기준범위

혈색소(g/dL)	15.5	15.7	13-17.5
백혈구수(10^3 /uL)	7.6	6.7	4-10.8
적혈구수(10^6 /uL)	4.7	4.7	3.3-5.6
혈소판수(10^3 /uL)	223	209	124-400
평균적혈구용적(fL)	95.7	96.4	83-100
평균적혈구혈색소(pg)	33.0	33.3	28-35
평균적혈구혈색소농도(g/dL)	34.4	34.5	31-36
적혈구분포계수(%)	12.8	11.9	0-14.6
혈소판분포계수(%)	12.1	12.0	0-18
평균혈소판용적(fL)	10.8	10.3	7-11.8
혈소판백분율(%)	0.24	0.21	0.12-0.31
호중성구(%)	46.2	38.4	35-70
호산구(%)	1.6	2.1	0-7
호염기구(%)	0.1	0.6	0-1.8
단핵구(%)	8.1	9.0	0-9
림프구(%)	44.0	49.9	20-53

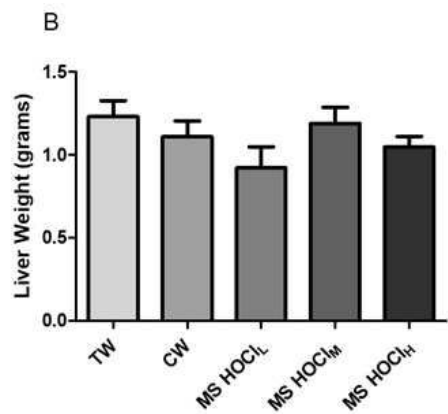
- [0142] 분석결과, i) 3년 동안 신장, 체중, 허리둘레, 체질량지수의 변화가 거의 없이 비슷한 수준을 유지하였다.
- [0143] ii) 혈압의 경우, 음용 전 혈압은 138/80 mmHg로서 고혈압 상태였으나, 음용 2년 후 혈압은 128/78 mmHg, 음용 3년 후 120/68 mmHg로서 정상 혈압수준을 나타내었다.
- [0144] iii) 혈액학적 검사 결과, 적혈구, 백혈구, 혈소판을 포함하여 음용 전과 음용 후의 검진 결과가 모두 정상 기준 범위 안에 포함되어 비슷한 수준을 유지하였다.
- [0145] iv) 소변을 이용한 요화학 검사 결과, 음용 전과 음용 후의 수치가 모두 정상범위 안에 포함되어 비슷한 수준을 유지하였다. 다만, 음용 대상자는 2018년 전립선염 감염으로 일시적으로 요침사가 증가하였다.
- [0146] v) 혈청을 이용한 생화학적 검사 결과, 음용 전에는 총 콜레스테롤, 저밀도콜레스테롤, AST, ALT, 감마지티피가 정상범위를 훨씬 벗어났으나 MS-차아염소산수 음용 2년 후에는 정상 수준으로 개선되었다. 또한, 음용 3년 후에는 음용 2년 후와 비교하여 비슷하거나 더 향상된 결과를 나타내었다. 이 외의 다른 검사 항목의 경우에는 음용 전 후 3년 동안 비슷한 수준을 나타내었다.
- [0147] 즉, MS-차아염소산수의 장기간 규칙적인 음용이 건강에 유해한 영향을 끼치지 않으며, 나아가 건강 증진에 도움이 되었음을 나타낸다.
- [0149] 결론적으로, 본 발명에 따른 차아염소산 음용 조성물은 종래 차아염소산수와 달리 음용하더라도 안전성이 있다는 점이 충분이 검증되었으며, 건강 증진에 도움이 된다는 우수한 효과를 가진다.

도면

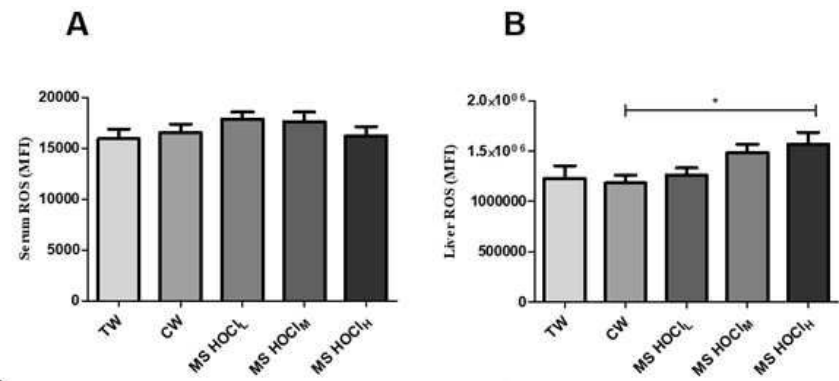
도면1a



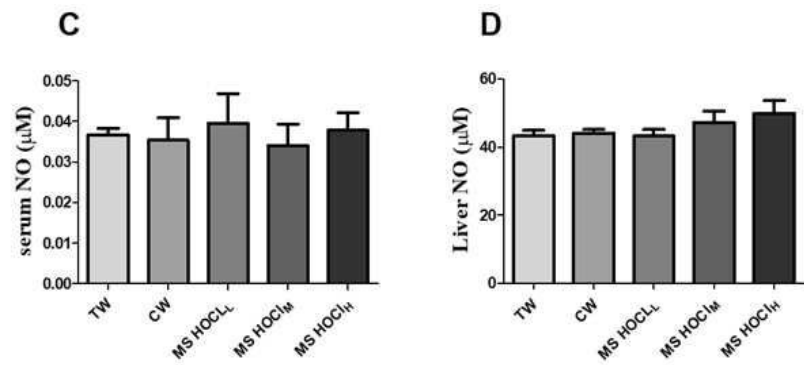
도면1b



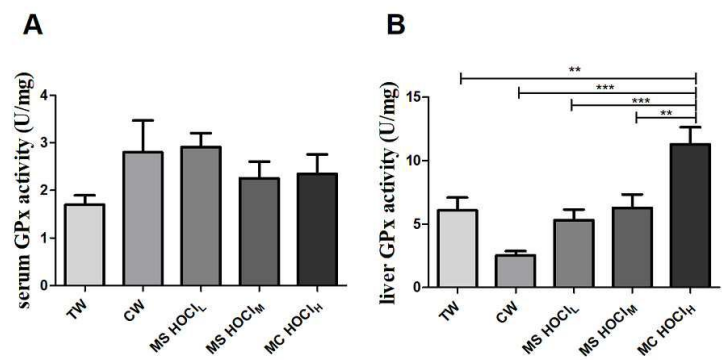
도면2a



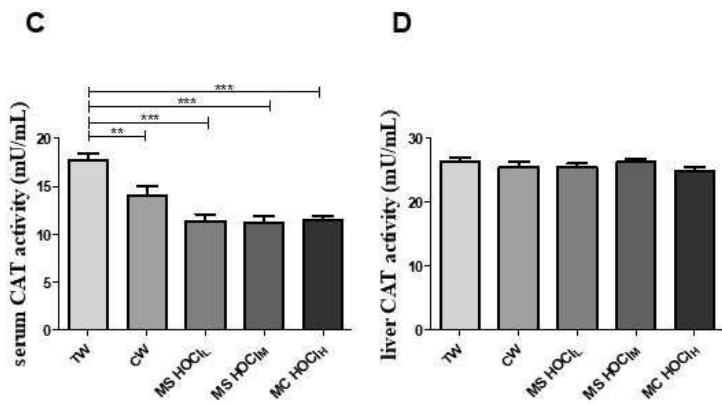
도면2b



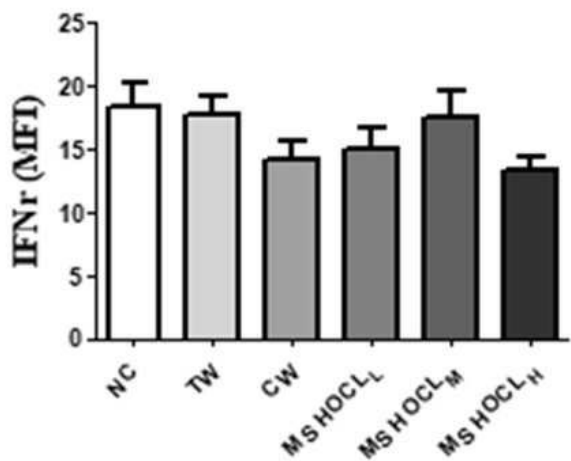
도면3a



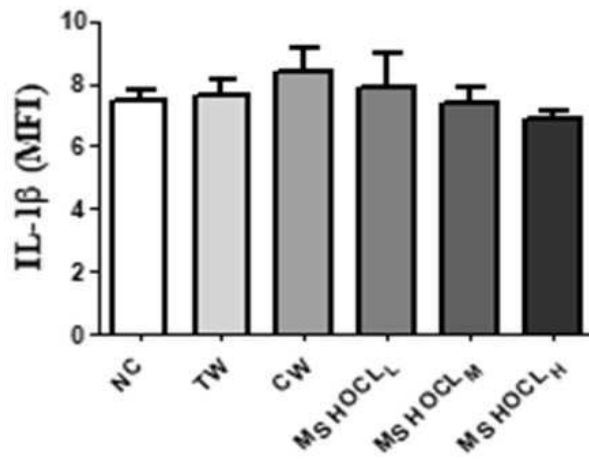
도면3b



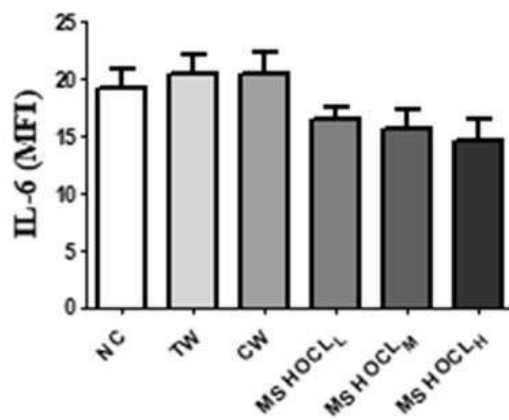
도면4a



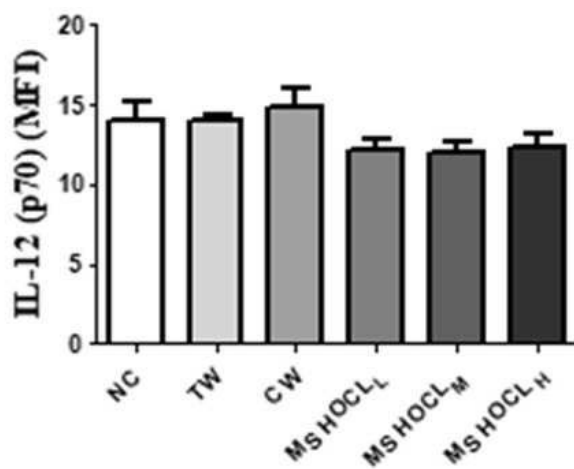
도면4b



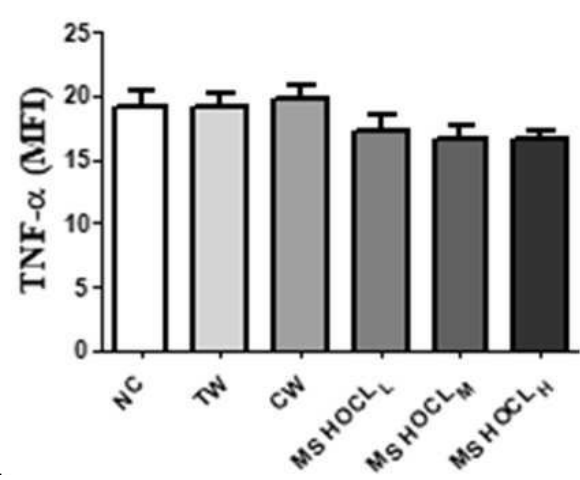
도면4c



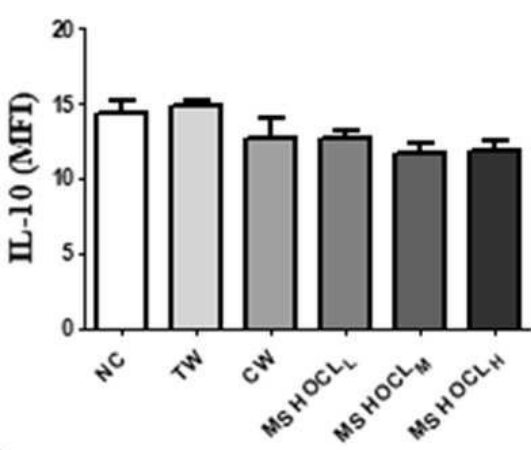
도면4d



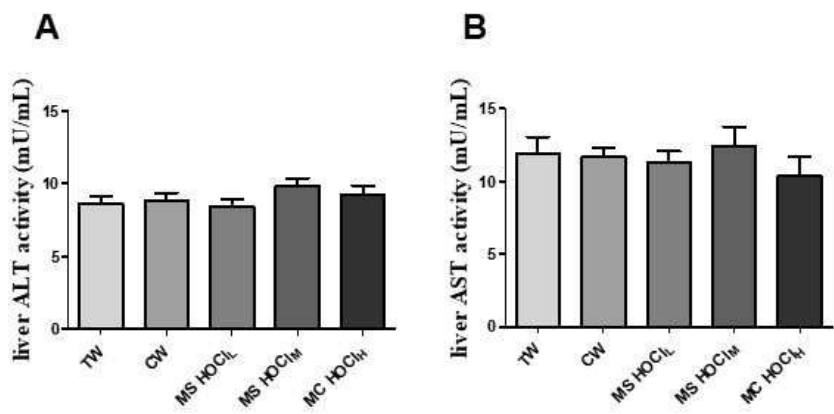
도면4e



도면4f



도면5



도면6

