

초임계 이산화탄소를 이용한 쑥 추출물의 항균효과에 관한 연구

성 기 천

대진대학교 이공대학 화학공학과
(2003년 6월 22일 접수 ; 2003년 11월 19일 채택)

A Study on the Antimicrobial Effect of Natural Artemisia Extract using Super Critical Carbon Dioxide

Ki-Chun Sung

Department of Chemical Engineering, Dae Jin University,
Pochun-Si 487-711, Korea
e-mail : kcsung@daejin.ac.kr
(Received June 22, 2003 ; Accepted November 19, 2003)

Abstract: Extraction of Natural Artemisia by using super critical carbon dioxide is operated under 40-50°C and 200-250 atm, thus, conversion rate is very low as 7wt% while high energy is being wasted. When Natural Artemisia Extract is applied in the control of microbe, concentration and reaction time greatly affected to the growth of microbe. Especially, when refined oil concentration from Natural Artemisia added more than 1,000ppm, *staphylococcus aureus* and *fungi* are terminated completely. Thus, it is proven that Natural Artemisia Extract has antimicrobial effect.

Keywords : super critical carbon dioxide, natural artemisia extract, antimicrobial effect.

1. 서 론

천연물을 인간이 직접 식용이나 약용으로 이용되었던 것은 역사적으로 고대 인류문화가 크게 번성하였던 4대강 유역에서부터 시작되었고, 19세기에 이르러 천연물질이나 합성물질이 식품이나 의약품, 공산품 및 화장품 등에 이용되면서 안전성, 안정성, 유효성에 관한 문제가 제기되어, 이에 대한 연구가 급속히 진행되어 온 것으로 밝혀지고 있다[1].

특히 천연물 중 쑥(*artemisia*)은 옛부터 한방요법으로 지혈, 빈혈, 해열, 진통, 해독 및 소화작용 등에 이용되어 왔고, 그리고 쑥의 정유성

분에서 나오는 천연의 맛, 색, 향기를 민간요법에 이용하여 왔으나, 오늘날 약리적으로 그 효능을 인정 받아 쑥은 천연물로서 다양하게 응용되고 있다[2].

천연 쑥은 분류학상 국화과(*compositae*)에 속하는 다년생 초본으로 중국, 한국, 일본 등 아시아지역과 이탈리아, 스페인 등 유럽지역 그리고 미국, 멕시코 등 아메리카 지역 등 전세계적으로 약 2,000여 종에 이르는 다양한 품종이 널리 분포되어 있고, 국내의 산야에 자생하고 있는 쑥도 약 300여종 이상이 분포되어 있는 것으로 알려지고 있다[3].

천연 쑥의 주요성분으로는 치네온, 세스커텔

렌 등의 정유성분과 비타민 A, B₁, B₂, C와 철분(Fe), 칼륨(K), 칼슘(Ca), 인(P)등의 미네랄 성분이 함유되어 있고, 여기에 수분(81.4%), 당질(6.9%), 섬유질(3.7%), 기타 성분들이 다양하게 함유되어 있다[4].

천연 썩의 정유성분인 치네온과 세스커텔렌은 세균이나 바이러스균에 저항력이 있어, 인체내 항균작용[5], 항당뇨작용[6], 항염증작용[7-9], 항위궤양작용[10], 항암작용[11] 등이 시험을 통하여 효능이 있는 것으로 보고되어 있다.

또한 천연 썩에 함유된 비타민류는 피부미용과 알레르기성 질환에 치유효과가 있고, 철분, 칼륨, 칼슘, 인 등의 미네랄 성분은 빈혈, 요통, 신경통등에 예방효과를 주며, 산성 체질을 알칼리성 체질로 개선시켜 주는 효능이 있는것으로 보고되고 있다[12].

기타 화학성분으로는 thujone, cineol, camphor, limonene, mycene, terpineol 등이 있으며, 천연의 독특한 향기성분과 염록소성분은 항균, 항염, 항종양 등 생체에 활성이 있는 것으로 알려져 왔으나, 그 활성이나 작용물질에 관해서는 명확하게 밝혀지지 않고 있다[13].

Kim과 Lee[14-15]는 한반도지역에 널리 자생하고 있는 썩의 추출물로 썩차를 개발하였고, 썩의 향기성분이 세균생육에 미치는 영향을 조사하여, 항균제나 보존제의 개발가능성을 검토하였다.

Yashphe[16]는 천연 썩에서 추출한 정유성분이 미생물시험을 통하여 antibacterial activity를 확인한 바 있다.

천연 썩의 메탄을 추출물을 인체 암세포에 투여하여 암세포의 증식효과와 암세포의 활성효과를 조사한 결과 인체 암 예방 효과에 영향이 있는 것으로 보고되고 있다 [17-19].

본 연구는 초임계 이산화탄소를 이용하여 천연 썩성분을 추출하였고, 이를 미생물 배양시험을 통하여 항균효과를 측정해 보고자 하였다.

2. 이론적 고찰

초임계 유체(Super Critical Fluid ; SCF) 추출은 임계점보다 높은 압력과 온도영역에서 기상과 액상을 분리하는 기술이다.

Fig. 1은 초임계 유체추출에서 가장 널리 이용되고 있는 이산화탄소의 압력과 온도에 관한

그림이며, 여기서 TP는 기체와 액체 그리고 고체가 만나는 삼중점이며, CP는 기체와 액체의 임계점($T_c=40^\circ\text{C}$, $P_c=73.7\text{bar}$)이다. 이 그림에서 임계점 이상의 영역을 초임계점(Super Critical Point)이라고 하고, 이 임계점 부근에서는 물질의 물성변화가 크며, 밀도의 경우 물질의 용해력과도 관계가 있다.

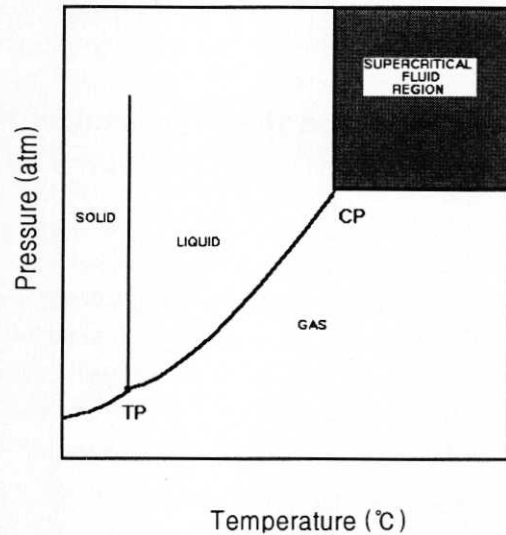


Fig. 1. Pressure-temperature diagram for carbon dioxide of super critical fluid.

Fig. 2는 밀도와 압력과의 관계를 온도의 변수로 나타낸 그림이다. 이 그림은 임계점 부근에서 압력과 온도 그리고 밀도의 변화가 크며, 초임계 유체에서 널리 이용되고 있는 영역은 $T_r=1\sim 1.2(40\sim 50^\circ\text{C})$, $P_r=0.5\sim 4.0(200\sim 250\text{atm})$, $\rho_r=0.5\sim 2.5(0.80\sim 1.20\text{g/cm}^3)$ 로 이 영역에서 초임계 유체로 시료를 기상과 액상으로 분리시킬 수 없는 특징을 가지고 있다.

Table 1은 각종 유체의 임계조건이다. 여기서 초임계 유체로 이용되는 이산화탄소는 무독성, 안전성, 내부식성, 경제적인 관점에서 유리하지만 비극성 용매로 각종 물질을 추출하는데 한계가 있으며, 특히 물, 당류, 전분, 단백질 등의 추출은 사용이 불가능한 단점이 있다.

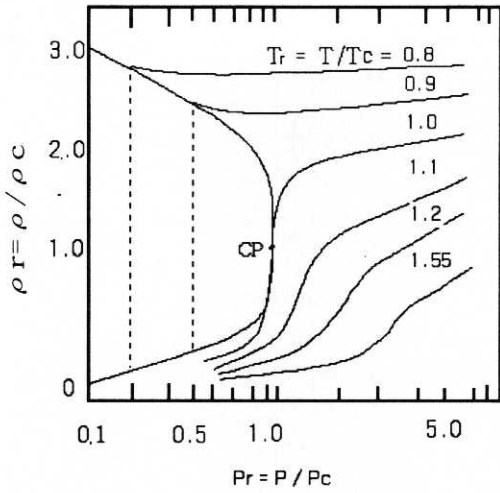


Fig. 2. Plot of Pr vs. ρr according to T_r parameter.

Table 1. Critical Condition of various Fluid

Fluid	MW	Pc(bar)	Tc(°K)	$\rho c(g/cm^3)$
Methanol	32.4	80.9	512.6	0.272
Ethanol	46.10	61.4	513.9	0.77
Benzene	78.11	48.9	562.1	0.302
Acetone	58.08	47.0	508.1	0.278
Carbon Dioxide	44.01	73.7	304.2	0.468
H ₂ O	18.00	20.1	647.3	0.332

3. 실험

3.1. 시료 및 기기

본 실험에 사용된 시료는 경기도 포천시 천연 썩을 채취하여 사용하였고, 추출용 유기용매로는 에탄올(특급시약, 독일산)을 사용하였다.

본 실험에 사용한 초임계 유체추출기(Com, PMSH-0500KAAA, Dong yang ve nture CO. LTD.)는 Fig. 3 과 같이 가압용 compressor, 구동용 gas booster, 3,000ml용 heating jacket reactor와 200ml용 view cell reactor, 회수용 삼각플라스크(500ml)가 기본구조인 장치를 사용하였고, 초임계 유체추출 용매는 99.9%의 순도를 가진 이산화탄소(Shin yang oxygen CO.)을 사용하였다.

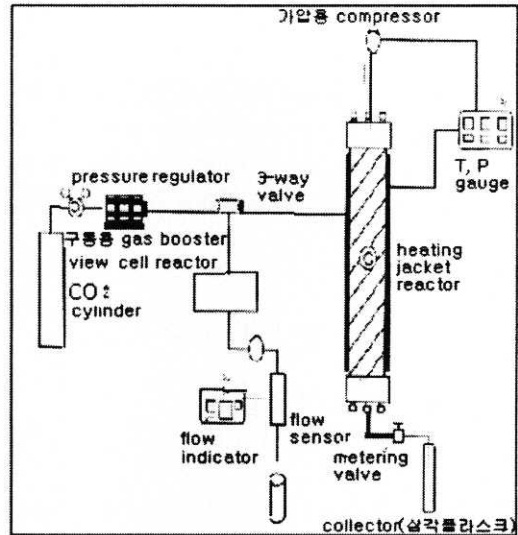


Fig. 3. Equipment of super critical fluid extractor.

3.2. 추출시험

3,000ml용 heating jacket reactor에 500g의 천연 썩과 유기용매인 에탄올 200ml를 첨가한 다음 초임계 유체인 이산화탄소를 주입하고, 가압용 compressor와 구동용gas booster를 작동시켜, 추출하였다.

compressor regulator를 이용하여 추출반응기의 유입압력을 일정하게 조절하고, 내부온도와 압력이 초임계 상태(40-50°C, 200- 250atm)에 이르면, 이산화탄소의 유입 밸브를 닫고, 추출 반응기의 출구를 열어 임계 상태에서 썩의 정유 성분을 dry ice상태로 추출하여, 삼각플라스크에 회수하였다.

3.3. 미생물 실험

3.3.1. 균주 및 시약

실험에 사용한 균주는 *staphylococcus aureus*균(KCCM-1001)과 *fungi*균(KCCM-2001)이다. 이 균주는 모두 한국 미생물 보존 센터(KCCM)에서 구입하였다.

그리고 미생물 실험에 사용한 Na배지는 beef extract 3g과 peptone 5g 그리고 NaCl 8g에 증류수 1,000ml를 가한, 액체 배지이다.

3.3.2. 미생물 실험기기

본 미생물 배양에 사용한 항온조는 incubator (LMI-3004, PL LABTEC Co.)이고, 미생물 측정에는 electron microscope (U-LH 100-3, Olympus Optical Co. Ltd)과 colony counter (CC-109, Dong Yang Science Co.)를 사용하였다.

4. 결과 및 고찰

4.1. 초임계 천연 쑥 추출

경기도 포천산 천연 쑥 500g(세척 및 건조)을 정확히 칭량하여, Fig. 3의 초임계 유체추출 기기에 넣고 유기용매인 에탄올(99.9%) 200g을 가한 다음 온도가 0~50℃ 압력이 0~250atm의 영역에서 초임계 유체인 이산화탄소를 주입하여, 시간 변화에 따른 정유성분을 얻었다.

초임계 유체인 이산화탄소의 평균 주입 유속은 약 1.60 l/min(STP)이었고, 초임계온도와 압력은 40-50℃와 200-250atm의 영역 범위하에서 추출하여, 얻어진 정유성분의 추출 수율(WT%)은 Table 2에서와 같이 약 7wt%(35g)로 비교적 낮게 회수되었다.

$$\text{추출수율(WT\%)} = \frac{\text{추출된 정유성분의 무게(G)}}{\text{천연 쑥의 무게(G)}} \times 100$$

Table 2. Weight of Natural Artemisia Extract at Temperature and Pressure according to Time Passage

Classification	Less than critical resion				Super critical region		
	Time(hrs)	0.0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Temperature (℃)	0	10	20	30	40	40	50
Pressure (atm)	0	50	100	150	200	200	250
Extraction weight(g)	0.0	2.5	5.0	10.0	35.0	35.0	35.0

또한 초임계 유체를 이용한 천연 쑥 추출에서 온도(0, 10, 20, 30, 40, 50℃)와 압력(0, 50, 100, 150, 200, 250atm)의 범위를 변화시켜, 천연 쑥의 정유성분 추출량을 측정한 결과 Fig. 4와 Fig. 5에 도시하면, 다음과 같다.

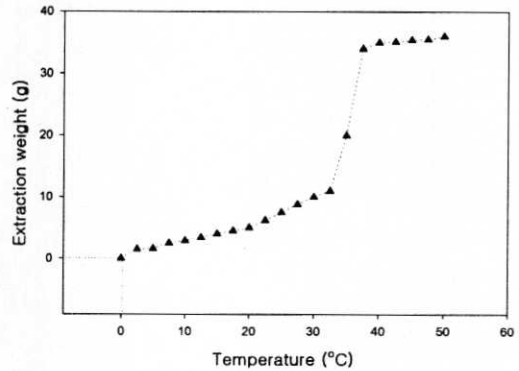


Fig. 4. Weight of natural artemisia extract according to temperature change.

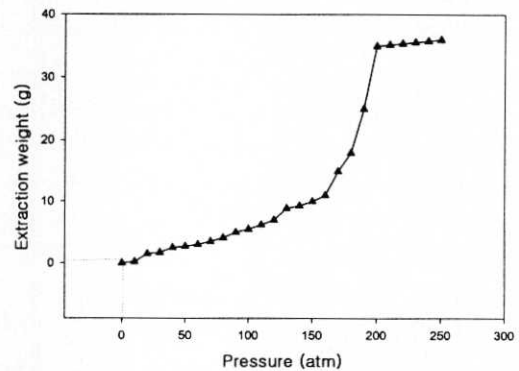


Fig. 5. Weight of natural artemisia extraction according to pressure change.

4.2. 천연 쑥 추출물의 미생물 실험결과

본 미생물 실험은 습윤멸균법에 의해 이미 멸균 처리한 petri dish에 Na배지 100ml를 취하고, 쑥의 정유성분 1ml를 투여한 다음 미생물 10x10 CFU/ml 첨가하고 incubator내에서 배양 온도를 37℃로 유지시켰을때, 시간경과에 따른 미생물 성장의 변화관계를 측정하여, Table 3에 나타내었다.

Table 3. Measurement Result on Change Relation of Microbe Growth according to Time passage

Incubation Time (hrs)	<i>staphylococcus aureus</i>		<i>fungi</i>	
	Control©	SampleⒶ	Control©	SampleⒶ
0	10x10 CFU/ml	10x10 CFU/ml	10x10 CFU/ml	10x10 CFU/ml
24	20x10 CFU/ml	8x10 CFU/ml	20x10 CFU/ml	9x10 CFU/ml
48	50x10 CFU/ml	5x10 CFU/ml	50x10 CFU/ml	6x10 CFU/ml
72	100x10 CFU/ml	2x10 CFU/ml	200x10 CFU/ml	3x10 CFU/ml
96	500x10 CFU/ml	1x10 CFU/ml	1,000x10 CFU/ml	1x10 CFU/ml
120	1,000x10 CFU/ml	-	2,000x10 CFU/ml	-

Sample Ⓐ : This added only natural artemisia extract 1ml

Control © : This added only steam water which natural artemisia extract does not use

Table 3 에서 *staphylococcus aureus* 균을 첨가한 sample Ⓐ의 경우 초기 농도 10x10 CFU/ml에서 48시간 경과후에는 5x10 CFU/ml로 50%감소되었고, 120시간 경과후에는 100%가 감소 되었다. 그러나 control ©의 경우 초기농도 10x10 CFU/ml 48시간 경과후에는 50x10 CFU/ml로 500% 증가하였고, 120시간 후에는 1,000x10 CFU/ml로 1,000% 증가를 나타냈다. 또한 *fungi* 균을 첨가한 sample Ⓐ의 경우 초기 농도 10x10 CFU/ml에서 48시간 경과후에는 6x10 CFU/ml로 40%가 감소되었고, 120시간 경과후에는 *staphylococcus aureus* 균과 같이 100%의 감소를 나타냈다. 그러나 control ©의 경우 초기농도 10x10 CFU/ml에서 48시간 경과후에는 50x10 CFU/ml로 500%가 증가하였고, 120시간 경과후에는 2,000x10 CFU/ml로 2,000%증가를 나타냈다.

4.2.1. 추출정유의 농도에 따른 *staphylococcus aureus* 균의 실험결과

본 실험은 Na배지 100ml를 취하고, 여기에 이 미 추출한 쑥의 정유성분을 1,000ppm, 100ppm, 10ppm으로 만들어, 이 용액 1ml를 Na배지액에 첨가하고, 여기에 *staphylococcus aureus* 균 10x10 CFU/ml(100Germs)를 접종한 다음 incubator내에서 배양온도 37℃로 유지시킨 다음, 배양시간에 따른 *staphylococcus aureus* 균

의 성장 관계를 관찰하여, Fig. 6에 나타내었다.

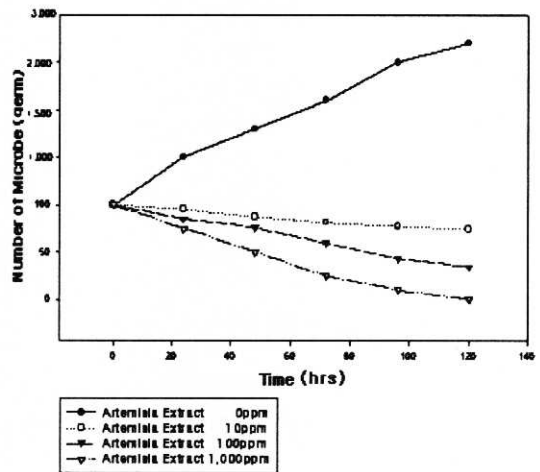


Fig. 6. Antimicrobial effect of *staphylococcus aureus* according to concentration change and culture time of natural artemisia extract.

Fig. 6은 천연 쑥 추출물의 농도 변화와 배양 시간 경과에 따른 *staphylococcus aureus* 균의 항균효과를 도시화 한 것으로 천연 쑥 추출물의 농도가 증가하면 미생물의 성장이 현저히 감소하는 현상을 보였고, 농도가 1,000ppm 첨

가할 경우 120시간 경과 시에는 미생물이 완전히 소멸 되는 것을 볼 수있다. 그러나 쑥 추출물을 첨가하지 않는 대조군의 경우 시간이 경과함에 따라 미생물의 성장이 크게 증가하는 것을 볼 수있다.

4.2.2. 추출정유의 농도에 따른 *fungi* 균의 실험결과

본 시험은 Na배지 100ml에 추출한 쑥정유성분을 1,000ppm, 100ppm, 10ppm의 농도로 만든 이 용액 1ml를 첨가하고, 여기에 *fungi*균 10x10 CFU/ml(100Germs)을 접종한 다음 incubator내에서 배양온도 37°C로 유지시키고, 배양시간경과에 따른 *fungi*균의 성장에 대한 변화관계를 Fig. 7에 나타내었다.

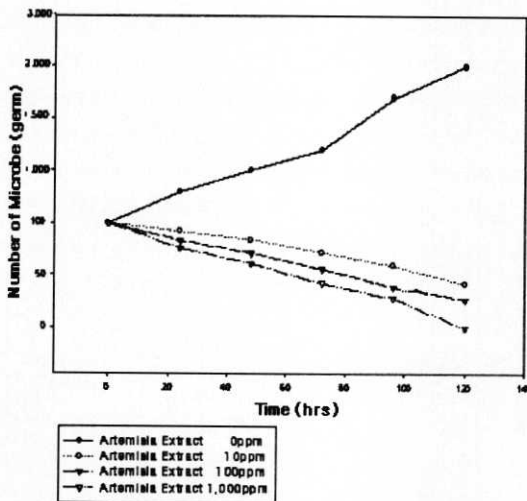


Fig. 7. Antimicrobial effect of *fungi* according to concentration change and culture time of natural artemisia extract.

Fig. 7에서 보는바와 같이 천연 쑥 추출물의 농도 변화와 배양시간에 따른 *fungi*균의 항균효과를 도시화한 것으로 천연 쑥 추출물의 농도가 증가하면 미생물의 성장이 감소되는 현상을 나타내었고, 천연 쑥 추출물의 농도가 1,000ppm 일때는 120시간 경과 시 미생물이 거의 소멸 됨을 볼 수있다. 그러나 쑥 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 경우 시간이 경과함에 따라 미생물의 성장이 현저히 증가하는 것으로 나타났다.

5. 결론

초임계 유체인 이산화탄소를 이용하여 천연 쑥의 정유성분을 추출, 미생물에 대한 항균효과를 시험결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 천연 쑥 성분의 추출은 초임계 상태인 온도가 40-50°C, 압력이 200-250atm에서는 열손실이 높고, 생산수율이 약 7%wt로 비교적 낮은 제조공정상 단점이 있다.
2. 천연 쑥의 정유성분을 첨가한 것은 시간이 경과할수록 미생물이 감소하는 현상을 나타내었으나, 쑥 추출물이 첨가되지 않은 대조군의 경우는 증가하는 현상을 나타내었다.
3. 천연 쑥의 정유성분 농도를 1,000ppm 이상 첨가하였을 경우 배양한 *staphylococcus aureus*균과 *fungi*균이 5일 후 거의 소멸상태로 관찰되었는데, 이는 쑥 추출물이 항균효과가 있음을 시사하는 것이다.

감사의 글

이 논문은 2003학년도 대전대학교 교내 연구비에 의해 지원되었음을 감사드립니다.

참고문헌

1. 김종원 : 천연물 화학, 영림사, 서울, (1995).
2. 홍윤식 (편역) : 현대 중공의 암치료, 영문사, 서울, 408 (1980).
3. 육창수 : 약용 식물학 (각론), 진명출판사, 서울, 293 (1977).
4. K. H. Kyung and H. P. Fleming, *J. Food, Sci.* 59, 350 (1994).
5. Y. C. Kuo, C. Y. Lin, W. J. Tsai, C. L. Wu, C. F. Chen, and M. S. Shiao, *Cancer Invest.*, 12, 611 (1994).
6. H. I. Marrif, B. H. Ali, and K. M. Hassan, *J. Ethnopharmacol.* 49, 51 (1995).
7. H. Lee and J. Y. Lin, *Mutat Res.*, 204 229 (1988).

8. 허영래, W. P. Michael : 새로이 분류도니 천연 함암제, 한국영양 및 식량 학회지, **20**, 401 (1991).
9. G. Chihara, J. Hamuro, Y. Maeda, and Y. Fukuoda, *Cancer Research*, **30**, 2276 (1970).
10. H. C. Huang, S. H. Chu, and P. D. Chao, *Eu.F.Pharmacol*, **198**, 211 (1991).
11. 한덕용, 김인혜 : 생약학회지, **4**, 71 (1973).
12. 정병선, 이병구, 심선택, 이정조 : 한국식문화학회지, **4**, 417 (1989).
13. 최경숙, 최봉영, 박형국, 김정환, 박종세, 윤창노 : 한국식품과학회지, **20**, 774 (1988).
14. 김영숙, 김무남, 김정옥, 이종호 : 한국식품영양학회지, **23**, 994 (1994).
15. 이태훈, 황우익, 박정미 : 암세포 증식에 미치는 Purnus Mume(매실), 고려대학교 의과대학 논문, **25**, 365 (1988).
16. J. Yashphe, R. Segal, A. Breucer, and G. Erdrelch-Naftali, *J Pharm. Sci.* **68**, 924 (1979).
17. 허영래, W. P. Michael : 새로이 분류된 천연 함암제, 한국영양식량학회지, **20**, 401 (1991).
18. G. Chihara, J. Hanuro, Y. Maeda, Y. Arai, and Y. Fukuoka, *Cancer Research*, **30**, 2276 (1970).
19. T. Miyazaki and M. Nishijima, *Chem Pharm. Bull.*, **29**, 3611 (1981).