

감귤에서 분리한 정유 성분의 항균활성 연구

정시화¹ · 김선빈² · 최학주² · 김동희^{1*}

Study of Anti-microbe Activity of Essential oil(Unshiu oil) purified from Citrus Unshiu S.Marcov

Jeoung See-Hwa¹ · Gim Seon-Bin² · Choi Hak-Joo² · Kim Dong-Hee^{1*}

¹Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

²Traditional and Biomedical Research Center(TBRC), Daejeon University

Volatile odor substance originating from drying and making dry peel of tangerine from the fruit skin were collected through modern equipment. The anti-microbial activity of the substance against various skin-residing bacteria including acne, dandruff, athlete's foot, and gingivitis inducing microorganisms were tested. Anti-microbial activity was observed in purified oil, where 87 to 92% was D-limonene. Against *P. acnes*, 103cfu/ml of *P. acnes* were suppressed at 0.1% Unshiu oil, and the MIC was measured to be 0.3%. Against *P. ovale*, a dandruff inducing bacteria, 104cfu/ml were suppressed at 0.1% Unshiu oil, and the MIC was measured to be 0.1%. Against *T. rubrum* and *T. Mentagrophytes*, both of which are athlete's foot inducing microorganisms, 83% of *T. Mentagrophytes* and 99.9% of *T. rubrum* were suppressed at 0.1% Unshiu oil, and the MIC were 0.3% and 0.05% respectively. Against *S. aureus*, a skin infection inducing bacteria, 103cfu/ml of the bacteria were suppressed at 0.1% Unshiu Oil. Against *B. subtilis*, a non-pathogenic sporulating bacteria, 104cfu/ml of the bacteria were suppressed at 0.1% Unshiu Oil. Against *C. albicans*, found in mucous membranes, 104cfu/ml of the bacteria were suppressed at 0.1% Unshiu Oil. Against *Aspergillus niger*, an otomycosis inducing microorganism, 99.9% were suppressed at 0.1% Unshiu Oil. The results above indicate that low concentration of purified oil extracted from tangerine had strong antimicrobial activities against bacteria and fungi residing on the skin, and that it may be developed into skin disorder treating products in the future.

Key words : D-limonene, Unshiu oil, dry peel of tangerine, Anti-microbial activity

I. 서론

최근 복잡한 사회 구조로 인해 다양한 환경오염과 심한 스트레스로 유발되는 각종 질병의 심화는 국가적 차원에서 선결되어야 할 중대한 문

제로 인식되고 있다.

오염된 환경과 지속적인 스트레스는 우리 몸의 호르몬 작용과 면역체계를 교란시켜 다양한 질병을 유발시키며, 특히 피부 질환은 직·간접적으로 매우 연관성이 있음을 여러 논문을 통하여 보고된 바가 있다¹⁻⁴⁾.

호르몬과 면역체계의 불안한 변이는 지루성 여드름과 지루성 탈모의 원인을 제공하는데⁵⁻⁸⁾, 성

* 교신저자 : 김동희, 대전대 한의과대학 병리학교실
투고일 : 2011년12월23일 수정일 : 2012년1월17일
확정일 : 2012년 2월5일

장기인 청소년 시기에는 과도한 호르몬에 의해 여드름이 생기며, 성인의 경우 지속적인 스트레스, 먹거리 및 환경 등에 의해서도 남성호르몬이 산화되어 지루성 트러블을 유도하게 된다⁹⁻¹¹. 이러한 결과는 혐기성 균의 서식지가 되어 여드름과 탈모를 촉진시키는 원인이 된다.

피부가 지루성으로 진행된다면, 피지가 모공 속에 막혀서 트러블을 일으키기도 하나, 주요 트러블의 원인은 세균에 의한 염증 확산이다¹². 특히, 혐기성 세균은 피지를 먹이삼아 지루성여드름과 지루성 탈모를 일으키는 염증성 트러블을 일으킨다^{13,14}.

그러나 현재 이러한 지루성트러블을 치료하는데에는 개인의 식사습관, 행동, 환경 및 유전요인 등의 다양한 변수로 인해 획일적인 복용처방으로는 근본적 원인을 치료하기가 어렵게 되었다. 때문에 내적 원인에 의해 나타나는 피부의 트러블을 개선하기 위한 외용제에 대한 지속적인 연구가 요구되고 있다.

일반적으로 천연 항균제는 안전하고 합성 항균제는 부작용이 심하다고 평가하기 쉬운데, 더 근본적인 문제는 항균제가 피부에 남아있는 물질인지 휘발되는 물질인지가 더 중요한 요인이라 보고 있다. 피부에 남아있는 항균제는 지속적인 피부 자극을 유발하게 되어 자극을 최소화하는 범위 내에서 함량을 결정하게 된다. 이렇게 소량으로 균을 억제하다보면 장기적으로 균이 내성이 생겨서 더 많은 항균제를 사용하게 되며 피부트러블 또한 심해질 수 있기 때문이다^{15,16}. 내성 및 피부트러블과 같은 문제를 해결하기 위해서는 피부에 남지 않고 휘발되는 항균제의 기능이 필요하다. 이러한 기능을 갖는 휘발성 항균제는 천연의 정유성분에서 찾을 수 있으며, 피부에 안전하고 과량을 사용하여도 부작용이 적으며 균에 대한 내성이 생기지 않을 것으로 사료된다. 기존의 정유성분에 대한 항균활성 선행연구로는 사자발쑥, 제라늄, 레몬그래스, 박하, 배초향, 고추냉이, 산초, 어성초, 편백나무, 측백나무 등의 정유성분에 대한 선행 연구가 있다¹⁷⁻²⁷. 위의 다양한 정유성분들은 *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus*

*aureus*와 같은 gram 양성균과 gram 음성균인 *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enterica*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Vibro parahaemolyticus*, *Vibro vulnificus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*에 대하여 항균활성을 나타내었다. 주로 병원성 세균으로 장내 세균, 식중독 균에 대한 항균활성을 나타내었는데, 본 연구에서는 감귤 정유 성분을 이용하여 여드름 유발균, 무좀균, 구강균, 비듬 유발균 및 기타 피부상재균을 위주로 항균활성을 연구하고자 한다.

귤나무의 열매 껍질을 벗겨 햇볕에 말린 진피는 현재 한약재로 다용하고 있으며, 겨울철 동안 소비를 하고난 감귤은 주스용을 만들기 위해 농축하여 냉장 저장하게 된다. 이 과정에서 정유 성분이 부산물로 나오게 되는데, 열매 껍질을 건조하여 진피를 만드는 과정에서 휘발되는 향기 성분을 현대적 기계 장치를 이용하여 확보함으로써 새로운 기능 성분을 밝혀내고 산업화에 응용할 수 있는 다양한 접근이 이루어지게 되었다.

감귤의 껍질을 벗길 때면 향긋한 귤 냄새가 심신을 안정시키기도 하며 향기로운 냄새가 주변의 악취를 없애는 소취기능을 한다는 것을 일상적인 생활에서 발견하였으며, 또한 냄새나는 발가락 부위에 껍질을 짜서 문지르면 곰팡이에 의한 발 냄새가 없어지는 현상 역시 민간에서 자주 회자되는 요법이다. 본 시료인 감귤 껍질에 대한 유관 연구로는 귤나무(*Citrus aurantium* L.subsp. *nobilis* Makino) 열매 껍질의 방향성 성분이 포도상구균에 항균작용이 있음이 보고²⁸되었고 감귤류의 진피와 과피의 항산화 연구와 더불어 생리활성이 보고²⁹⁻³⁴되었지만, 정유 성분에 대한 항균 활성 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 각종 세균의 오염에 의한 피부 염증 확산을 근본적으로 차단하면서 부작용과 내성이 없는 안전한 소재를 개발하기 위하여, 감귤 과피 정유 성분이 여드름균, 비듬균, 무좀균, 구강균 외 다수의 피부 상재균에 미치는 항균 효능을 확인하고자 하였다.

II. 실험

1. 재료

1) 시료

본 실험의 시료인 감귤은 제주도산으로 겨울철 12월~2월 중 생산되는 신선한 감귤을 직접 채집하여 감귤정유 성분을 추출하였다.

2) 미생물

미생물인 *Propionibacterium acnes*(KCTC 3414), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 32457), *Trichophyton rubrum*(ATCC 62345), *Pityrosporum ovale*(ATCC 12078), *Bacillus subtilis*(KCCM 11316), *Staphylococcus aureus* (KCTC 1916), *Candida albicans*(KCCM 12553), *Aspergillus niger*(KCTC 6912) 균주는 한국미생물 보존센터(Korea Culture Center of Microorganisms - KCCM)와 생물자원센터(Biological Resource Center / Korean Collection for Type Cultures - KCTC)에서 분양 공급 받았다.

3) 시약

각각의 미생물 시험에 사용된 배지 정보는 아래와 같다.

Table 1. Information of bacterials

| | |
|--|---|
| <i>Propionibacterium acnes</i> (KCTC 3414) | Brain Heart Infusion(BHI) |
| <i>Pityrosporum ovale</i> (ATCC 12078) | Lactose Broth(LB) |
| <i>Trichophyton rubrum</i> (ATCC 62345) <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (ATCC 32457) | Sabouraud's Broth(SDB) |
| <i>Candida albicans</i> (KCCM 12553) | YM AGAR (DIFCO 0712) YM BROTH (DIFCO 0711) |
| <i>Bacillus subtilis</i> (KCCM 11316) | NUTRIENT AGAR (DIFCO 0001) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (KCTC 1916) | NUTRIENT AGAR (DIFCO 0001) |
| <i>Aspergillus niger</i> (KCTC 6912) | POTATO DEXTROSE AGAR |

4) 기기

본 실험에 사용된 기기는 열탕추출기 (Cosmos 660, Korea), rotary vacuum evaporator (Heidolph Laborota 20 control, German), CO2 incubator (Forma scientific Co., U.S.A.), clean bench (Vision scientific Co., Korea), Gas Chromatography(Shimadzu, Japan) 등이다.

2. 방법

1) 시료 추출

감귤 20kg를 깨끗이 세척하고 껍질을 포함한 전체를 녹즙기로 분쇄한 후 150mesh 여과망으로 1차 여과하였다. 여과된 액을 추출기에 넣고 90~100℃, 3시간 동안 환류 증류시켜 정유 성분을 얻기 위해 활성화시켰다. 활성화된 액을 20L용 Evaporator를 이용하여 농축하였다. 농축 조건은 70℃ 이상에서 감압 농축하였다. 증류된 투명한 백색의 액체를 모으면 2개의 층으로 구분되는데 상부에 떠있는 층이 정유 성분이고 하부는 수분 성분이다. 위의 공정으로 백색의 에센셜 아로마 시료 약 30g을 확보하였다(이하 시료를 Unshiu oil이라 칭함). 정유 성분을 추출하기 위해서는 헥산과 같은 유기용매가 효과적이나 상업적으로 사용하기 위한 조건으로 용매를 사용하지 않고 증류법을 응용하였다.

2) 유효성분 확인

감귤 정유 성분을 가스 크로마토그래피(GC)에 의해서 분석하였으며, 이 때 사용된 GC는 Shimadzu 사제 모델 GC 14B이다. 분석 조건은 다음과 같다.

Table 2. The GC Condition of Unshiu oil

| | |
|-------------------|---|
| 검출기 | 수소염이온화검출기(불꽃이온화 검출기-FID) |
| 캐리어 가스 | 질소 350kPa |
| 주입구 온도 | 220℃ |
| 검출기 온도 | 240℃ |
| Column 조건 및 승온 온도 | 초기 온도 및 시간 : 60℃, 0min 최종 온도 및 시간 : 240℃ 5min 승온 온도 : 20℃/min |
| 유속 및 Split Ratio | 1.0 ml/min, 60:1 |
| 주입량 | 1 μ l |
| COLUMN | CBP20-M25-025(Polar) 내경:0.22 mm 코팅두께 : 0.25 μ m, 길이 : 25 m |
| 내부 표준액 | Naphthalene을 chloroform에 녹임(2% sol.) |
| 시료 전 처리 | (STD 전처리) 표준품 0.25 ml을 5 ml 내부표준액에 희석하였다. (검체전처리) 검액 0.25 ml을 5 ml 내부표준액에 희석하였다. |

3) 항균 실험

(1) 여드름 원인균(*Propionibacterium acnes*)에 대한 항균 실험

여드름 원인균인 *Propionibacterium acnes*(*P. acnes*) 균주를 Brain Heart Infusion(BHI) Broth 배지에 37 ℃, CO₂ 10% 조건하에서 72 시간 혐기 배양하여 활성화시켰다. 이 때 활성화된 배양액 내 *P. acnes*의 균수는 생균수 측정법에 의해 측정된 결과 약 107cfu/ml 이었으며, 이 배양액을 Unshiu oil 0.1% 함유한 것과 함유하지 않은 BHI broth에 각각 전체량의 1%씩 분주하여 다시 5일간 동일 조건 하에서 혐기 배양하였다. 이렇게 각각의 실험구에서 배양된 여드름균은 역시 희석 도말에 의한 생균수 측정법에 의하여 BHI agar에 유동플레이트법(Pour plate method)를 이용하여 분주한 후 역시 동일 조건에서 72시간 혐기 배양을 하였다. MIC 농도를

측정하기위해서 Unshiu oil의 농도를 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0%로 농도별 항균시험을 통하여 확인하였다.

(2) 비듬 원인균(*Pityrosporum ovale*)에 대한 항균 실험

지루성 피부 질환을 일으키는 주요 원인균인 *Pityrosporum ovale* 균주를 Lactose Broth(LB) 배지에 30 ℃, 항온 진탕배양지에서 72시간 배양하여 활성화시켰다. 이 때 활성화된 배양액 내 *Pityrosporum ovale*의 균수는 생균수 측정법에 의해 측정된 결과 약 104 cfu/ml 이었으며, 이 배양액을 감귤 정유(Essential Oil) 성분을 0.1% 함유한 것과 함유하지 않은 LB에 각각 전체량의 1%씩 분주하여 다시 5일간 동일 조건하에서 배양하였다. 이렇게 각각의 실험군에서 배양된 비듬균은 역시 희석 도말에 의한 생균수 측정법에 의하여 Mixed Malt Extract agar[Malt extract agar 60.0g, Ox-bile(desiccated) 20.0g, Tween 40 10.0g, Glycerol mono-oleate 2.5g in Distilled water 1.0L]에 유동플레이트법(Pour plate method)을 이용하여 분주한 후 역시 동일 조건에서 72시간 동안 배양하였다. MIC 농도를 측정하기 위해서 Unshiu oil의 농도를 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0%로 농도별 항균시험을 통하여 확인하였다.

(3) 무좀 원인균(*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*)에 대한 항균 실험

무좀균 원인균인 *Trichophyton rubrum*과 *Trichophyton mentagrophytes* 균주를 Sabouraud's Broth(SDB) 배지에 32 ℃, Shaking incubator에서 72시간 배양하여 활성화시켰다. 이 때 활성화된 배양액 내 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* 균수는 생균수 측정법에 의해 측정된 결과 약107 cfu/ml 이었으며, 이 배양액을 감귤 정유를 0.1% 함유한 것과 함유하지 않은 SDB에 각각 전체량의 1%씩 분주하여 다시 5일간 동일 조건 하에서 배양하였다. 이렇게 배양된 각각의 실험군에 여

과지(Whatman No.2)를 이용하여 여과한 후 건조 오븐 내에서 50 °C에서 5일간 건조시킨 후 그 중량을 측정하였다. MIC 농도를 측정하기위해서 Unshiu oil의 농도를 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0%로 농도별 항균시험을 통하여 확인하였다.

(4) 기타 피부 상재균에 대한 항균 실험

각 균주를 알맞은 액상 배지에 접종한 뒤 B. subtilis, E. coli, S. aureus는 37 °C에서, C. albicans은 25 °C에서 24시간 배양한 뒤, 이 배양액을 역시 각각의 평판 배지에 각 0.1 ml씩 분주하여 도말한 후 준비된 샘플을 0.07 ml씩 넣었다. 각각의 동일 온도에서 유동플레이트법(Pour plate method)을 이용하여 분주한 후 역시 동일 조건에서 72시간 동안 배양하였다. 곰팡이균인 A. niger는 Potato dextrose broth(PDB)에 접종 후 25°C에서 72시간 배양한 배양액 9 ml을 다시 새로운 PDB 90mL에 접종한 뒤 준비된 샘플을 1 ml씩 넣었다. 이를 다시 동일 온도에서 5일간 배양시킨 후 배지 내 균사체 형성 여부를 육안 판독하였다.

한약재 추출물의 항균시험은 주로 PAPER DISC법으로 측정하나, 휘발성 정유 성분은 미생물을 배양하는 온도에서 일부 휘발되어 재현성의 차이가 생기기 때문에 밀봉된 액상배지에서 시행하였다.

III. 실험 성적

1. 유효성분 확인 (GC 분석)

Table 3. The Concentration of d-Limonene in Unshiu oil

| Sample Name | Peak Area | Inner Standard Area | Standard Ratio | Sample Ratio | Contents(%) |
|------------------|-----------|---------------------|----------------|--------------|-------------|
| Limonene oil St. | 4,942,921 | 1,958,882 | 2,523 | | |
| Unshiu oil-1 | 4,823,373 | 2,109,745 | | 2,286 | 87.89 |
| Unshiu oil-2 | 4,755,743 | 2,079,756 | | 2,287 | 87.93 |

* Remark
참고)반응비 = 표준액 및 검액의 피크면적/내부표준액의 피크면적

Gas Chromatography로 Unshiu oil의 성분을 확인하였는데, 주 성분은 리모넨 오일로 확인되었다. 3회에 걸친 리모넨 분석결과 약 87~88%의 함량을 확인하였으며, 표 6에 피크 면적을 나타내었다. Fig. 1.은 Gas Chromatography 측정법에 의해 나타난 감귤 정유 성분인 Unshiu oil의 함량 그래프이다.

※ 계산식(함량)

$$\frac{\text{검액반응비}}{\text{표준액반응비}} \times \frac{\text{검액희석배수}}{\text{표준액희석배수}} \times \frac{\text{표준품취량}}{\text{검체취량}} \times \text{표준품함량(\%)}$$

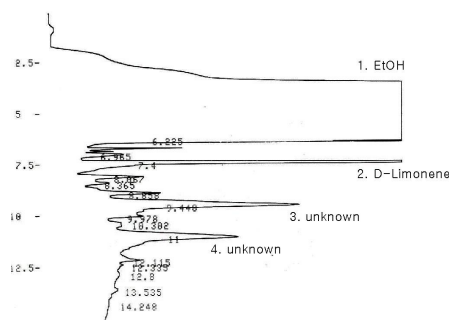


Fig. 1. Gas Chromatograph of Unshiu oil

2. 여드름균, 비듬균, 무좀균, 기타균에 대한 항균활성 시험

여드름균인 Propionibacterium acnes에 대한 시험을 3회 실시한 결과 colony 계수에서, 감귤 정유 성분을 함유한 실험군은 함유하지 않은 실험구보다 P. acnes의 균수가 약 103cfu/ml 감소하는 결과를 얻을 수 있었다. 이러한 결과에 준하

여 감귤 정유 성분의 여드름 원인균에 대한 항균 활성을 추가 입증하기 위하여 여드름 원인균에 대한 MIC(minimal inhibitory concentration, 최소저해농도) 측정을 실시한 결과, 표 4에 나타난 바와 같이, 0.3% 이상을 포함한 실험군에서는 여드름 원인 균주가 생육하지 못하였다(Table 4, Fig. 2, A). 비듬균인 *Pityrosporum ovale*에 대한 항균실험을 실시한 결과 상기 시험법에 따라 나타난 colony를 계수하였는데, 감귤 정유 성분을 함유하지 않은 실험군에서 약 104 cfu/ml의 균수가 나타났으며, 감귤 정유를 함유한 실험군에서는 *Pityrosporum ovale* 균이 관찰되지 않은 결과를 얻을 수 있었다. 비듬 및 지루성 피부질환 원인균에 대한 MIC(minimal inhibitory concentration, 최소저해농도) 측정에서는 표 4에 나타난 바와 같이, *Pityrosporum ovale*의 경우 0.1% 이상을 포함한 실험군에서 억제되는 결과가 나타났다 (Table 4, Fig. 2, B). 무좀균인 *T. mentagrophytes* 와 *T. rubrum* 에 대한 항균 실험결과 균사 증량은 감귤 정유를 함유한 실험군에서 이를 함유하지 않은 실험군보다 102배 적었으며, 실질적으로 감귤 정유 투여군에서는 생육을 육안으로 관찰할 수 없었다. Unshiu Oil 0.1% 농도의 시험 사진에서 살펴보면 *T. mentagrophytes*는 약 83%의 생육 억제 효과를

나타내었으며, *T. rubrum*은 99.9% 억제되었다. 감귤 정유의 무좀 원인균에 항균 활성을 추가 입증하기 위한 무좀 원인균에 대한 MIC(minimal inhibitory concentration, 최소저해농도) 측정에서는 *T. rubrum* 균주에서는 0.05% 이상을 포함한 실험군에서 억제되었으며, *T. Mentagrophytes* 균주 경우는 *T. rubrum* 보다는 약간 높은 0.3%의 농도에서 생장이 억제됨을 알 수 있었다 (Table 4, Fig. 2, C). 그 외 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)에 대한 항균활성 실험에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 103cfu/ml 개의 *S. aureus* 균을 억제하는 결과를 확인하였고 (Fig. 2, D), *Bacillus subtilis*(*B. subtilis*)에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 104cfu/ml 개의 *B. subtilis* 균을 억제하는 결과를 확인하였으며 (Fig. 2, E), *Candida albicans*(*C. albicans*)에 대한 항균활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 104cfu/ml 개의 *C. albicans* 균을 억제하는 결과를 확인하였다 (Fig. 2, F). 그리고 *Aspergillus niger*(*A. niger*)에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 *A. nigers* 균에 대하여 완전히 억제하는 결과를 확인하였다 (Fig. 2, G).

Table 4. Minimal Inhibitory Concentration(MIC) of Unshiu oil against various bacterials.

| Contents Sample | 0.01 % | 0.05% | 0.1% | 0.3% | 0.5% | MIC |
|--------------------------------|--------|-------|------|------|------|-------|
| <i>Propionibacterium acnes</i> | * | * | * | - | - | 0.3% |
| <i>Pityrosporum ovale</i> | * | * | - | - | - | 0.1% |
| <i>T. rubrum</i> | * | - | - | - | - | 0.05% |
| <i>T. Mentagrophytes</i> | * | * | * | - | - | 0.3% |

Minimal Inhibitory Concentration(MIC) of Unshiu oil *, no inhibition ; -, inhibition

IV. 고찰

감귤의 기능은 주로 착즙된 과피 또는 진피를 이용한 항산화 연구가 대부분이었으나 최근 당뇨병치료, 미백효과, 항관절염 연구에 대한 폭넓은 연구가 보고되었다³⁵⁻³⁷. 감귤정유 성분에 대한 항균효과에 대해서 임 등³⁸은 *Propionibacterium acnes*에 대한 유기용매로 추출한 d-limonene 오일의 MIC 농도를 Paper Disc법으로 보고한 바 있다.

피부 상재균들은 두피, 얼굴, 팔, 다리, 외음부, 발가락, 점막 등에 분포되어 있으면서 각종 질병을 확산시키는 원인이 된다. 여드름 원인균인 *Propionibacterium acnes*균은 여드름의 증상을 악화시키는데, 여드름이 있는 피부를 가진 사람의 70~80%가 11~25세의 연령층이어서 청소년기 여드름(acne adolescence) 혹은 심상성 여드름(acne vulgaris)이라 한다³⁹. 본 실험에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 103cfu/ml 개의 *P. Acne* 균을 억제하는 결과를 나타내었으며, MIC 농도는 0.3%로 확인되어(Table 4, Fig. 2, A) 여드름 치료에 본 시료를 적극적으로 활용할 수 있음을 시사해 주고 있다.

*Pityrosporum ovale*균은 청소년에서 장년에 이르기까지 두피 비듬의 원인으로서는 탈모를 촉진시키는 원인균이다. 두피의 주요 상주 미생물은 3개 균으로 혐기성균, 호기성 구균과 진균인 *Pityrosporum ovale*(*Malassezia furfur*)가 있다. 이들 균 중에서 *Pityrosporum ovale*가 남성 호르몬이 분비되는 사춘기 이후 두피와 같은 지루 부위에서 상존하기 시작하면서 비듬이 생기게 된다. 특히 비듬을 생성하는 주 원인균으로 알려진 *Pityrosporum ovale*는 지루 부위에 상존하는 정상균총의 46% 정도를 차지하며 기후, 땀, 음식 등의 환경적인 요인과 스트레스 등의 생리적인 요인에 의해서 비듬균이 모낭내에서 과다하게 증식하게 된다. 정상균총의 74%가 넘을 경우 비듬이 생기기 시작하고 83% 이상 높아질 경우 지루성 피부염으로 발병하게 된다고 이 등⁴⁰이 보고한 바 있다. 이 등⁴¹은 수십 종의 천연 오일에 대하여 곰팡이 균에 대한 항균시험을 통해 *Citrus*

aurantifolia 속의 Lime 껍질 오일이 가장 효과가 높다고 보고하였으며, 가스크로마토그래피 성분 분석 결과 limonene의 함유율이 높은 것으로 나타났다. 이는 감귤 정유 성분과 유사한 경향을 나타내는 것으로서, 본 실험에서는 *Pityrosporum ovale*에 대해 MIC 농도가 0.1%임을 확인하였다(Table 4, Fig. 2, B). 이러한 시험 결과는 유해성 논란이 되고 있는 기존 두피의 항 비듬제로 사용하던 Zincpyrithion의 천연 대체물질 개발에 대한 기초적 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

피부사상균은 일반적으로 피부와 털, 손·발톱의 각질층에 침범하며 임상적으로 경계가 명확한 환상의 경계부에 인설, 구진, 수포 등이 관찰되는 포자성 백선증(dermatophytosis, tinea)을 일으킨다. 김 등⁴²은 스테로이드의 지속적인 도포, 피부 자극이나 외상에 의한 털집 벽의 손상, 면역기능이 저하될 경우에는 구진, 농포, 육아종, 농양, 벽선 종창, 지루피부염 등 비전형적인 임상양상을 보일 수 있다고 하였다. 피부사상균은 세계적으로 42종이 알려져 있지만 우리나라는 *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. interdigitale*, *Microsporum canis*, *M. ferrugineum*, *M. gypseum*, *Epidermophyton floccosum* 등이 확인되었다. 1945~1950년 서울에서의 두부 백선 환자를 대상으로 조사한 결과 *M. ferrugineum*이 74.4%로 대부분을 차지하였으나 현재 우리나라의 백선증은 *T. rubrum*에 의한 발병이 약 85~90%를 차지하고 있으며 *T. mentagrophytes*가 그 다음으로 분포되어 있다고 이 등⁴³이 보고한 바 있다. 이러한 피부사상균을 치료하기 위한 외용제의 소재로는 imidazole, triazole 등의 항진균제가 사용되고 있으나 피부 발진, 가려움증, 국소적 작열감 등의 부작용이 발생하고 있어 부작용이 적고 치료 효과가 좋은 천연 항진균제 개발이 필요한 실정이다. 이에 본 실험에서는 무좀원인균인 *T. mentagrophytes*과 *T. rubrum*에 대해 Unshiu oil 0.01~5.0% 농도로 시험하여 각각의 MIC 농도를 확인하였는데, *T. mentagrophytes*의 MIC 농도는 0.3%이며, *T. rubrum*의 MIC 농도는 0.05%임을 확인하였

다(Table 4, Fig. 2, C).

*S. aureus*는 사람과 동물의 피부와 피하 조직에 생겨 만성적인 국부 감염을 일으키며, 섬유성 조직에 둘러싸인 종기에 하나 또는 그 이상의 입자를 형성한다. Toxic Shock Syndrome, Scalded Skin Syndrome 외 가벼운 피부 조직 감염을 일으키는 Gram-positive 박테리아이다. *S. aureus*는 아토피성 피부질환의 피부 손상과 건조성 아토피피부를 일으키는 원인 중 하나이다. 또한 *S. aureus*는 여러 가지 독소와 효소를 배출하여 피부를 손상하며 표피 각질세포를 자극하여 IL-18을 방출하는 역할을 한다⁴⁴⁾.

아토피피부염 발병 원인은 개인에 따라 다르지만 발병된 후 균에 의해서 악화되는 증상을 예방하기 위해서는 부작용이 적으면서 효과가 좋은 천연 항진균제 개발이 필요하다. 아토피피부 증상 악화균인 *S. aureus*에 대해서도 Unshiu oil은 0.1% 농도에서 103cfu/ml개의 *S. aureus* 균을 억제하는 결과를 확인하였다(Fig. 2, D). 이러한 결과는 아토피 피부질환 부위에 단순히 보습기능으로 케어하는 기존의 외용제의 한계를 넘어 Unshiu oil이 아토피피부염의 항진균제로서의 1차 기능을 담당할 수 있음을 시사해 주고 있다.

*B. subtilis*는 자연계에 광범위하게 존재하는 막대형의 Gram-positive 박테리아로서 공기 중은 물론 마른 풀, 하수, 토양 중에 존재하는 비병원성(非病原性) 포자형성 균이다. 아포를 갖고 있으므로 건조나 고온에 대한 저항력이 극히 강하며, 균체는 글리코젠을 함유하는 그람 양성균으로서 다수의 탄수화물을 분해하여 산을 생성하는데, *B. subtilis*에 대한 본 시료의 항균 활성에서는 0.1% 농도에서 104cfu/ml 개의 균을 억제하는 결과를 확인할 수 있었다(Fig. 2, E).

칸디다속균은 Yeast과에 속하는 단세포 fungus로서, 인체나 온혈 동물의 소화관, 구강, 점막, 질, 피부 등에 부생적(腐生的)으로 존재하고 있다. 특히 *C. albicans*은 피부 진균증을 일으키며 여러 가지 칸디다증이나 균교대증(菌交代症)을 일으키는 주 원인균이다⁴⁵⁾. 본 균에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서

104cfu/ml 개의 *C. albicans* 균을 억제하는 결과를 확인할 수 있었다(Fig. 2, F).

*A. nigers*는 아스페르질루스종(aspergilloma)과 이진균증(otomycosis)을 유발하는 대표 균주로서 지름 2~4 μ m 정도의 유격벽 균사를 갖고 있는 사상형 진균으로서 자연계에 광범위하게 분포하며⁴⁶⁾, 흔히 포자를 흡입하여 부비동이나 하기도에서 번식하게 된다. *A. nigers*는 포자로 성장하는 검은 균이나, 본 실험과 같이 액상 배지에서는 포자 형성이 안 되고 흰색의 균사체처럼 자라게 된다. 본 균에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 *A. nigers* 균에 대하여 완전히 억제하는 결과가 나타났다(Fig. 2, G).

결과적으로 Unshiu oil은 Propionibacterium acnes, Pityrosporum Ovale, T. rubrum, T. Mentagrophytes, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Candida albicans, Aspergillus niger 균주에 대하여 0.05~0.30%에서 항균 효과가 확인되었다.

상기의 진균 및 미생물에 대한 Unshiu oil의 폭넓은 항균기능의 결과에 따라 다른 에센셜 오일에서도 유사한 항균기능이 있을 것으로 사료된다. 또한 Unshiu oil을 포함한 천연에센셜 오일의 다양한 항균기능으로 기존의 합성항균제들을 대체하여 부작용을 줄일 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

V. 결론

귤나무 열매 껍질을 건조하여 진피를 만드는 과정에서 휘발되는 향기 성분을 현대적 기계 장치를 이용해 확보하였으며 여드름균, 비듬균, 무좀균, 구강균 외 다수의 피부 상재균에 미치는 항균 활성을 검색하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 감귤에서 항균 효과를 갖는 물질을 검색한 결과 정유 성분임을 확인하였으며, 주성분으로 리모넨(D-Limonene)이 약 87~92%가 함유된 것으로 확인되었다.

2. 여드름 원인균인 *Propionioacterium acnes*에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 103cfu/ml 개의 *P. Acne* 균을 억제하는 결과가 나타났으며, MIC 농도는 0.3%로 확인되었다.

3. 비듬 원인균인 *Pityrosporum Ovale*에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 104cfu/ml 개의 *P. ovale* 균을 억제하는 결과가 나타났으며, MIC 농도는 0.1%로 확인되었다.

4. 무좀 원인균인 *T. rubrum*과 *T. Mentagrophytes*에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 *T. Mentagrophytes*는 약 83%, *T. rubrum*은 99.9% 생육이 억제되었다. *T. rubrum*의 MIC 농도는 0.05%이었으며, *T. Mentagrophytes*는 0.3%로 확인되었다.

5. 피부 조직 감염을 일으키는 *S. aureus*에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 103cfu/ml 개의 *S. aureus* 균을 억제하였다.

6. 104cfu/ml 개의 *B. subtilis* 균을 억제하였다.

7. 점막 등에서 발견되는 *C. albicans*에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 104cfu/ml 개의 *C. albicans* 균을 억제하였다.

8. 아스페르길루스종과 이진균증을 유발하는 대표균주인 *A. niger*에 대한 항균 활성에서는 Unshiu Oil 0.1% 농도에서 99.9% 억제되었다.

이상의 결과로 굴나무 열매에서 얻은 정유 성분이 일반적인 항균 활성과 더불어 피부에 상재되어 있는 모든 유해균을 저 농도에서 억제함을 실험적으로 규명함으로써 다양한 피부 질환과 관련된 산업화에 응용될 수 있을 것으로 보인다.

<감사의 글>

본 연구는 지식경제부 지정 대전대학교 난치성 면역질환의 동서생명의학연구 지역혁신센터의 지원에 의한 것입니다.

VI. 참고문헌

1. Battaglia, Deborah Frances. In search of mechanisms and mediators by which immune stress disrupts reproductive neuroendocrine function and ovarian cyclicity. University of Michigan, pp.1-235, 2001.
2. Von Ah, Diane Marie. Stress, social support, immune response, and fatigue in women with breast cancer. The University of Alabama at Birmingham, pp.1-196, 2003.
3. Giovanola, Sophie. Psychological differentiation, depression, and patterns of coping with stress in HIV-positive mothers (Immune deficiency). Columbia University, pp.1-216, 2001.
4. 전숙영, 엄혜영, 류정우, 정병주, 김규언, 이기영. 아토피 피부염 환자에서 두피의 비듬 내 집먼지진드기 항원 농도와 임상증상 사이의 상관관계. 소아알레르기 및 호흡기, 9(1):32-40, 1999.
5. 차재훈, 김윤범, 남혜정, 김희정, 박외숙, 김규석. 지루성 피부염의 최신 지견. 한방안 이비인후피부과학회지, 19(3):118-133, 2006.
6. Kose O, Erbil H, Gur AR. Oral itraconazole for the treatment of seborrheic dermatitis: an open, noncomparative trial. J Eur Acad Dermatol Venereol, 19(2):172-175, 2005.
7. Berk, Thomas Scheinfeld, Noah. Seborrheic dematitis. CORE Medical

- Journals, 35(6):348-352, 2010.
8. McFalda, Wendy, Roebuck, Heather L. Rational management of papulopustular rosacea with concomitant facial seborrheic dermatitis: a case report, 4(1):40-42, 2011.
 9. Choi In-Hwa. A Clinical Study on the Prevalence of Skin Diseases in Adult Patients-focused on an ageing society. 한방안이비인후피부과학회지, 19(2):242-248, 2006.
 10. Jeong Se-Kyoo, Kim Jeong-Kee, Baek Ji-Hwoon. 5- α -Reductase Inhibitors from Native Plants and their Sebosuppressive Effects in Cultured Human Sebaceous Gland Cells. J of the society of cosmetic scientists of Korea, 31(3):273-277, 2005.
 11. 노병인. 지루피부염. 건강소식, 17(2):28-30, 1993.
 12. Hetem DJ, de Ruiter SC, Buiting AG, Kluytmans JA, Thijsen SF, Vlaminckx BJ, et al. Preventing Staphylococcus aureus bacteremia and sepsis in patients with Staphylococcus aureus colonization of intravascular catheters: a retrospective multicenter study and meta-analysis. Medicine (Baltimore), 90(4):284-288, 2011.
 13. 배광식. 근관충전의 미세누출과 혐기성세균. 대한치과의사협회지, 34(121) : 847-850, 1996.
 14. 정윤섭, 권용재, 이경원. Vitek ANI System에 의한 혐기성세균 동정의 정확성. 대한미생물학회지, 27(3):269-275, 1992.
 15. 백근식, 기광서, 최한나. 임상 검체로부터 분리된 methicillin 내성 Staphylococcus aureus의 독소 및 항생제 내성. 생명과학회지, 21(2):257-264, 2011.
 16. 김선미, 최남기, 조성훈. 어린이 치면세균막에서 치주질환 원인균과 항생제 내성유전자의 출현율. 대한소아치과학회지, 38(2):170-178, 2011.
 17. 조연희, 최영, 장매희. 사자발쑥, 제라늄 및 레몬그래스 정유성분의 항균활성. 한국생물환경조절학회 2003년도 춘계 학술대회 논문집, 01:132-134, 2003.
 18. 이승은, 박춘근, 차문석. 대장균과 살모넬라균에 대한 박하와 배초향 정유성분의 항균활성. 한국약용작물학회지, 10(3):206-211, 2002.
 19. 김진경, 차문석, 박경환. 고추냉이 정유성분의 조성 및 항균활성. 한국영양학회 2001년도 춘계연합학술대회 초록, 01:272.2-272.2, 2001.
 20. 장미란, 서지은, 이제혁. 산초 정유성분의 식중독균에 대한 항균활성. 한국식품조리과학회지, 26(2):206-213, 2010.
 21. 강정미, 차인호, 이영근. 어성초 휘발성 정유성분의 동정과 분획물이 향 특성 및 항균활성-II. Prep-HPLC에 의한 분획물의 향특성과 항균활성. 한국식품영양과학회지, 26(2):214-221, 1997.
 22. 강정미, 차인호, 이영근. 어성초 휘발성 정유성분의 동정과 분획물의 향특성 및 항균활성-I. 어성초의 휘발성 정유성분의 동정. 한국식품영양과학회지, 26(2):209-213, 1997.
 23. 류중재, 김정근, 김영운. 편백나무 정유를 처리한 면섬유의 항균성. 한국염색가공학회 2011년도 제 44차 학술발표회, 80-80, 2011.
 24. 강수경, 어규식, 전양현. 편백 피톤치드가 Candida albicans에 미치는 영향에 대한 연구. 대한구강내과학회지, 35(1):19-29, 2010.
 25. 김해성, 한상길, 맹주양. 편백나무 정유의 소취효과 및 항균력 평가. 한국냄새환경학회지, 8(3):111-117, 2009.
 26. 염태현, 임홍빈. 측백나무 열매 추출물의 항균활성. 한국용융작물학회지, 18(5) :

- 315-322, 2010.
27. 오병태, 김칭환, 조성환. 측백나무잎 추출물의 항균특성. 농업생명과학연구, 40(1): 21-26, 2006.
 28. 문관심. 약초의 성분과 이용, p.433, 1999.
 29. 현재석, 강성명, 마한다. 온주밀감 및 당유자 진피 요소 추출물의 항산화 활성. 한국식품조리과학회지, 26(1):18-25, 2010.
 30. 현재석, 강성명, 마한다. 진귤 및 온주밀감 진피의 항산화 활성. 한국식품영양과학회지, 39(1):1-7, 2010.
 31. 정희경, 정유식, 박치덕. 진피 에탄올 추출물이 Alloxan에 의해 유도된 HIT-T15 세포의 산화적 손상에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 39(8):1102-1106, 2010.
 32. 현재석, 강성명, 마한다. 제주산 감귤류 진피와 과피의 항산화 활성. 한국식품조리과학회지, 26(1):88-94, 2010.
 33. 김용덕, 마한다, 고경수. 수확시기별 제주 재래종 감귤과피의 활성산소종 소거활성. 한국식품영양과학회지, 38(4):462-469, 2009.
 34. 윤창훈, 좌승미. 감귤과피로부터 발암 promotion 억제 활성성분의 분리. 한국응용생명화학회지, 49(1):25-29, 2006.
 35. 이영재, 최영훈, 이선이. 감귤의 주요 기능성 성분이 당뇨병 치료 작용기전에 미치는 영향. Korean journal of horticultural science & technology, pp.105-106, 2010.
 36. 김성환, 김일출. 두충, 단삼, 진피 및 천궁의 항산화 활성 및 미백효과. Journal of the East Asian Society of Dietary Life, 18(4):618-623, 2008.
 37. 정진기, 손건호, 김영식. 진피 에탄올추출물의 콜라겐 유도 관절염 마우스에서의 항관절염 효과연구. The Korea journal of herbology, 26(3):1-6, 2011.
 38. 임호섭, 윤철훈, 오은하. 제주 감귤피에서 추출한 d-Limonene 오일의 항균 효과에 대한 연구. 한국유화학회지, 26(3): 350-356, 2009.
 39. 이영애, 한채정. 아우르베다 체질과 청소년기의 여드름 상태에 관한 상관성 연구. 한국인체예술학회지, 10(4):53-63, 2009.
 40. 이성현, 이종수. 구절초(*Chrysanthemum zawadskii*)로부터 비듬균에 대한 항균물질의 생산 및 특성. 한국미생물·생명공학회지, 35(3):220-225, 2007.
 41. 이정현, 이재숙. 비듬균(*Malassezia furfur*)에 대한 식물 오일들의 항균활성 및 활성오일의 성분 분석. kor. J. Microbiol. Biotechnol, 38(3):315-321, 2010.
 42. 김태권, 전영승, 김상태, 서기석. 피부 조직 검사로 처음 진단된 백선증의 임상, 병리조직 및 진균학적 소견. 대한피부과학회지, 47(12):1345~1352, 2009.
 43. 이수연, 광기섭, 이진제, 여환명, 최인규. 삼나무 흑심재 추출물의 피부사상균에 대한 항진균 활성. 목재공학, 37(3):265-273, 2009.
 44. Zenro Ikezawa, Junko Komori, Yuko Ikezawa, Yusuke Inoue. A Role of *Staphyococcus aureus*, Interleukin-18, Nerve Growth Factor and Semaphorin 3A, an Axon Guidance Molecule, in Pathogenesis and Treatment of Atopy Dermatitis. Allergy Asthma Immunol Res., 2(4):235-246, 2010 Oct.
 45. 박윤희, 박희문. 이중특이성 인산화 효소의 결손이 *Candida albicans* 병원성에 미치는 효과. 한국균학회지, 39(1):85-87, 2011.
 46. 조병현, 황은정, 박소연, 손준성, 이미숙. 면역력이 정상인 환자에서 발생한 중추신경계의 아스페르길루스증 1예. 대한내과학회지, 80(5):615-619, 2011.