

## $\alpha,\beta$ -Dichloro 치환기를 갖는 Chitosan Succinic Acid 유도체 합성과 피부미용 및 해태 김 양식 응용에 관한 연구

류성렬<sup>†</sup>

<sup>†</sup>세한대학교 지역개발연구소  
(2012년 9월 7일 접수 ; 2012년 9월 23일 수정 ; 2012년 9월 25일 채택)

### Application Study on Skin Beauty Culture, Green Laver Culture and Synthesis of $\alpha,\beta$ -Dichloro Substituted Chitosan Succinic Acid Derivatives

Soung-Ryual Ryu<sup>†</sup>

*Research Institute on Development of Region, Sae Han Univ.,  
Sam Ho. Young Arm, Chonnam, 526-702, Korea  
(Received September 7, 2012 ; Revised September 23, 2012 ; Accepted September 25, 2012)*

**요약** : 본 연구에서는  $\text{CCl}_4$  존재하에서  $\text{Cl}_2(\text{g})$  and ultra violet(200~300nm) 파장으로 maleic anhydride 와  $\text{Cl}_2(\text{g})$ 을 반응시켜  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 를 합성하였다. 그리고 두 번째 반응은 N-( $\alpha,\beta$ -dichloro)succinic acid 함유 glucosamine 유도체(I)를 합성하는 것으로 methanol 함유 2% acetic acid 용매 하에서 glucosamine과 과량의  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic anhydride을 넣은 후 온도를 70 $^{\circ}\text{C}$ 로 올리면서 반응시켰다. 우리는 합성한 유기산 유도체들이 해태 김 재배와 피부미용에 주로 유용하게 활용할 것으로 본다.

주제어 :  $\alpha,\beta$ -디클로로 숙신산, 해태김 양식, 김재배, 피부미용.

**Abstract** :  $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic acid was synthesized through the reaction of maleic anhydride with  $\text{Cl}_2(\text{g})$  and ultra violet(200~300nm) wavelength in the presence of  $\text{CCl}_4$ . The second reaction of N-( $\alpha,\beta$ -dichloro)succinic acid contained glucosamine derivatives(I) was accomplished by a modification of the general acylation using excess  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic anhydride in the presence of 2% acetic acid with methanol as a solvent at elevated temperature(70 $^{\circ}\text{C}$ ). We considered organic acid derivatives were useful especially of treatment for the cultivating *porphyra* and skin beauty culture.

*Keywords* :  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid, cultivateing porphyra, green laver culture, skin beauty culture.

<sup>†</sup>주저자 (E-mail : cmtryu@hanmail.net)

## 1. 서론

해태 김(*Porphyra*)은 홍조류로서 약 130여 종이 분포하고 있다[1]. 우리나라의 김 양식장 면적은 전남 완도와 진도가 전국 생산량의 75%를 차지하고 있으며 전체 김 양식장 면적은 47,331 ha이고 김 양식 어가는 약 20,000호로 나타나 있다[2]. 김 재배 양식은 수평 밭을 모체로 하여 부유식과 인공체묘 및 냉동 망 기술의 적용으로 김 양식 재배방법이 추진되어왔다[3]. 종전의 김 양식 법에 의하면 김은 하루에 일정시간 이상 간출되어 햇볕에 의해 적당히 건조되면서 부착 잡균이 소멸되고 파래 등 잡태가 구제되어 병해를 견디면서 양식 될 수 있다. 그러나 연안의 오염과 간척사업으로 인하여 어장의 축소, 황폐화에 따라 대부분의 김은 육지로부터 떨어져 부이와 닻에 의해 바닷물에 띄워져 양식되고 있는 실정이다.

따라서 잡조류 제거 및 갯 병의 피해를 줄이기 위해서 김과 잡조류 등의 성장특성과 내산성에 대한 차이점을 이용하여 잡조류와 규조류를 선택적으로 제거하는 산처리 제가 사용되고 있다. 그 중 대표적인 산 처리제는 무기산인 염산을 주로 사용함으로써 살포된 해양 주변의 급격히 낮은 pH로 인해 발생하는 환경오염과 해양 생태계 파괴 그리고 염산 사용으로 인한 김 선호도 기피로 인한 김의 소비감소 등의 문제점이 대두되고 있다[4].

그래서 최근에는 바다에서 김을 양식할 때 김 성장에 방해가 되는 잡조류, 잡균류 등을 제거하고 병해를 방지할 목적으로 사용되는 염산 대체 산 처리제로 유기산을 이용하고 있다. 그러나 유기산의 고가인 가격문제와 높은 pH로 인한 유기산을 기피하고 잡조류, 잡균류 등의 문제점을 해결하기 위하여 막대한 양의 염산을 비밀리에 사용하고 있으며, 심지어는 폐 염산까지 사용하고 있어 해양오염을 유발하여 바다속의 플랑크톤이나 미생물까지 고사하게 함으로써 바다의 생태계를 파괴하고, 갯벌까지 황폐화시켜 어장을 고갈시키는 원인이 되고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 정부는 김 양식 어장의 산 처리제 사용기준을 고시하여 유기산 20%이상, 무기산 3%이하를 함유하는 약제만을 사용하도록 규제하고 있다.

이러한 용도로 사용되는 유기산의 종류는 식

품 첨가물로 이용되고 있는 자연에서 얻을 수 있는 유기산으로 구연산(citric acid)등이 알려져 있다 [5].

그러나 화학적 특성과 현장 적용시의 여러 변수에 대한 영향을 구체적으로 검토하여 개발한 유기산은 거의 없으나 대체적으로 가능한 방법은 기존 유기산에 다른 치환기를 결합시켜 pKa를 변화시키는 방법도 제시되고 있다[6]. 특히 유기산을 이용한 김 양식용 처리제로 일반적으로 많이 사용되고 있는 구연산 유기산제는 침적시간이 5분 내지 20분으로 길어야만 효과를 볼 수 있어 10 내지 30초의 침적시간 만이 소요되는 염산을 대체할 수 있는 김 양식용 유기산 처리제로서의 갖추어야 할 다음의 요건을 만족시켜야 한다고 본다. 첫째는 병해 및 품질 저하의 원인이 되는 잡균이나 잡조류의 구제 효과가 탁월하여야 하며, 둘째는 양식하고자 하는 생물 즉 김의 생장을 저해하지 않거나 오히려 촉진하면서, 셋째는 환경오염의 염려가 없고 인체에 대해 해가 없어야 한다고 보며, 넷째는 유기산 처리시간이 짧아야 한다. 이와 같은 요건을 참고하여 개발하고자 하는 유기산은 독성이 없는 과일산 유도체로서, 환경오염 및 생태계 파괴의 염려가 없고, 염산의 경우와 비슷한 처리시간에도 염산과 같은 규제 효과를 얻을 수 있다. 따라서 다른 유기산이나 염산을 이용한 처리제 보다 해태 김 양식장의 잡조류 등을 방지할 수 있는 효과가 크다. 이러한 유기산 제조로 pH가 낮고 선택적으로 김 양식장에 피해를 주는 잡조류, 잡균류를 효과적으로 구제할 수 있는 김 양식용 유기산 처리제 뿐만 아니라 유기합성 제조시 중간체 또는 유도체 개발에 있어서 중요한 부분을 차지할 수 있다고 본다. 다른 한편으로 천연 고분자인 키틴 키토산 [7-9]의 항균 효능을 이용하는 다양한 연구가 활발히 이루어지고 있다 할 수 있다. 이러한 키토산은 새우, 게 등의 갑각류와 곤충, 버섯, 세균의 세포벽 등에 광범위하게 존재하고 있는 물질로 지구상에 셀룰로오스 다음으로 많은 양이 생성되고 있는 생고분자(biopolymer)의 일종이다[10-12]. 이러한 키토산은 식물계의 셀룰로오스와 같이 생물체의 외골격을 형성하여 지지체나 방호 역할을 담당하는 물질로서 키틴을 가수분해하여 얻어지며 chitin은N-acetyl-D-glucosamine이  $\beta$ -(1,4)로 결합한 다당류(poly- $\beta$

-1,4-N-acetyl-D-glucosamine)로 자연 환경 중에서 잘 분해되는 등 환경 친화성이 높고 체내에 존재하는 당질 분해 효소인 lysozyme에 의하여 가수분해 되는 생체 적합성 및 무독성 천연 고분자다. 그리고 chitosan [poly  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan]은 chitin[poly $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-2-deoxy-D-glucan]의 C2위치에 있는 N-acetamide기 중에 acetyl기를 제거하여 얻어지는 천연 polysaccharide로서 모든 물리적 성질이 chitin과는 다르다. 그중 키틴 그 자체의 용도는 적고, 대부분 키토산 제조 원료로 사용되고 있다. 즉 키틴이나 키토산을 가수분해하여 얻어진 저분자 다당류인 D-글루코오스아민, N-아세틸-D-글루코오스아민과 소당류인 키틴 올리고당, 키토산 올리고당을 이용을 극대화하는데 중요한 몫을 하고 있다. 이러한 키틴과 키토산은 무독성이며 생체내의 합성과 분해에 관여하거나 환경오염을 초래하지 않은 천연고분자 양이온이다. 이들 물질은 잠재적인 이용자원으로서 환경 폐수 응집제, 창상치료제 대장균에 대한 항균효과 및 어류에 기생하는 섬모충에 대한 구충효과 등 여러 산업분야에서 광범위한 응용 연구 대상이 되고 있다. 특히 chitin, chitosan 유도체들은 무독성, 무공해성, 생분해성 등의 여러 가지 특성이 있어 약물 전달 체, 혈액 응고제 및 식품 첨가제 그리고 항균작용, 면역강화작용, 항암활성 등이 보고된바 있다 [13-16].

따라서 유기산인 maleic anhydride을  $Cl_2(g)$ 로 첨가 반응시켜 얻은  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic anhydride는 수용성 산 처리로 새로운  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid를 합성하였다. 그 결과 기존 maleic acid 보다 강한 센 산으로써 이를 이용한 chitosan 유도체를 개발한다면 김 재배용 지지대의 잡조류 제거에 활용할 수 있다고 보며 또한 김 양식장은 물론 의약외품 피부질환 치료제로도 활용할 수 있다고 예상되어 다음과 같은 계획을 추진하고자 하였다. 즉,  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid를 chitosan 의 amine기에 결합하기 위해  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid의 전 단계인  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid 무수물을 chitosan의 amine 기에 결합을 시도하여  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid가 치환된  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acyl chitosan 천연 고분자를 합성하였다. 그래서 보다 센산 기능을 갖는

chitosan을 이용하여 해태 김 양식에 따른 잡조류 제어 효능을 확인하고 더 나아가 의약 외품으로 활용 가능성을 확인하기위해서 피부 여드름 치료 효능을 검토하였다. 먼저 개발하고자 하는 센산의 유기산 구조 형태는 다음과 같다.

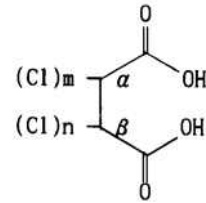
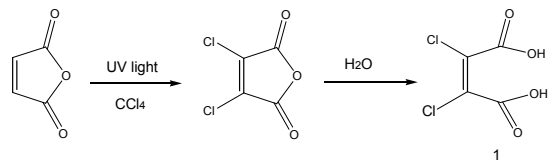


Fig. 1. Significant of succinic acid derivatives.



Fig. 2. Equipment in a laver farm.

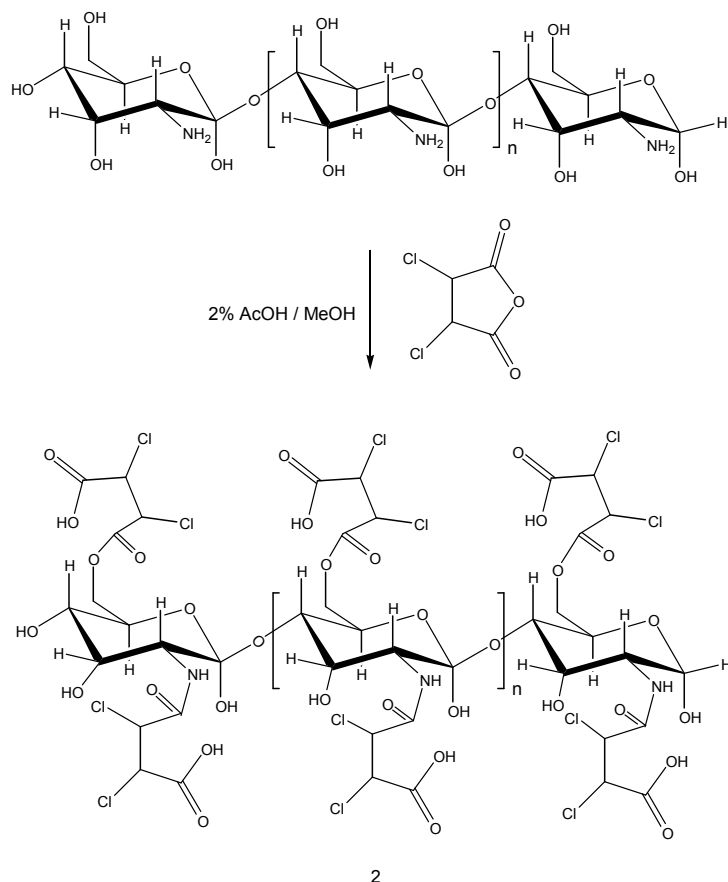


Scheme. 1. Synthetic route of  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid.

## 2. 실험

### 2.1. 시약 및 기기

시약 및 용매는 덕산사 제품을 정제하여 사용하였으며, 합성에 사용된 시약은 일본 Yakuri pure chemical Co와 일본 Kanto chemical Co.의 G. R급 시약 그리고 미국 Aldrich사의 G. R급 시약을 각각 사용하였다. 합성한 화합물을 확인하는데 사용한 기기 중 용점 측정은



Scheme. 2. Synthetic route of  $\alpha,\beta$ -dichloromaleic acid coupled chitosan derivatives.

Thomas Hoover melting point apparatus를 사용하였으며 보정은 하지 않았다. IR 스펙트럼은 Bruker IFS 66 FT-IR S분광계를 사용하여 얻었으며, 표면구조는 Hitachi X-650의 Scanning electron microscope를 사용하여 확인하였다.  $^1\text{H-NMR}$  spectra는 Varian T60 과 HA-100 spectrophotometer를 이용하였다. 그리고 T. L. C plate는 Merk DC-Fertig Platten Kieselgel 60F 254를 사용하였고, 미생물 측정기기는 Shaking incubator(LMI-3004, PL.Labtec. Co., Korea), Colony counter(CC-109, Dong Yang Sci.Co., Korea)를 각각 사용하였다.

### 2.1.1. 재료 및 방법

본 실험에 사용한 키틴은 전남 목포시 소재

Oean Bio Tec(사)에서 붉은 대게(*Chionoectes japonicus*) 각질로부터 추출한 것으로 일정한 크기로 마쇄(50mesh)하여 0-5  $^{\circ}\text{C}$ 의 냉장고에 보관하여 두고 실험에 사용하였다.

## 2.2. 유기산 유도체 합성

### 2.2.1. $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic anhydride의 합성

3구 둥근플라스크에 말레인산 무수물(maleic anhydride) 100 g(1.02 mole)을 넣고  $\text{CCl}_4$  용액 250 ml를 넣은 다음 50  $^{\circ}\text{C}$ 로 가온하여 녹이고, 염소가스( $\text{Cl}_2$ )을 용액 내에 통과시키면서 100-110  $^{\circ}\text{C}$ 로 가온후 UV 등(250 nm)으로 빛을 조사하고 동시에  $\text{Cl}_2$ 를 가하고 버블링

(bubbling)하면서 8-10 시간 동안 반응 시킨다. 반응종료 후 냉각하여 감압 농축하고 생성된 결정 화합물을 여과한다. 생성된 고체를 헥산 30 ml로 세척하여 결정 화합물 121 g을 얻었다. 계속하여 회수된 여액을 감압농축하여 헥산 20 ml를 가하여 결정화시켜 25.5 g을 얻었다. 이 결정 생성물을 상기에서 얻은 화합물과 합하여 최종적으로 생성된 화합물인  $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic anhydride 화합물 146.5 g을 얻었다.

수율: 85 %, MP: 87-92 °C

IR(KBr)Cm<sup>-1</sup>; 2922 (C-H), 1706 (C=O), 1634, 1584, 1455, 1430, 1261, 1210

<sup>1</sup>H-NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) $\delta$ ; 7.6(s, 1H, -Cl CH-CO), 6.5(s, 1H, -ClCH-CO-), 11.4(s, 1H, -COOH)

### 2.2.2. $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic Acid의 합성

3구 둥근플라스크에 합성한  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 무수물 (2,3-dichloro-succinic anhydride) 100 g(0.592 mole)을 증류수에 잠길 정도로 가한 다음, 자석 교반기로 6시간 동안 저어준 후 교반이 안 될 정도의 균일상태에서 적당량의 물을 가해 포화상태의 용액으로 하고, 이어서 이를 냉각시켜 결정화합물인  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid인 화합물 106 g을 얻었다.

수율 : 94.2 %, 융점 : 150~152 °C

IR(KBr)Cm<sup>-1</sup> ; 2986, 2884 (C-H), 2341 (overtone), 1720(C=O), 1432

<sup>1</sup>H-NMR(CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>) $\delta$ ; 9.6-9.7(d, 1H, 2 CH-Cl), 13.1(s, 1H, -COOH)

### 2.2.3. Poly[N-( $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic acid)glucosamine]유도체(9)의 합성

chitosan 5.0 g를 400 ml의 5% LiCl/DMA용액에 가하고 혼합물을 실온에서 2시간 동안 저어주었다. 그리고  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic anhydride 5.0 g를 함유한 5%의 LiCl/DMA용액에 넣은 다음 이어서 TEA를 당량 넣은 후 24시간 동안 저어주었다. 이를 감압농축하고 증류수 150 ml를 가해서 불용물은 제거하였다. 그리고 pH를 조절하여 생성된 결정화합물을 모

아 거르고 에테르 30 ml로 씻어준 후 건조하여 상기 키토산 유기산 화합물 3.83 g를 얻었다.

융점 : 246°C < Dec.

IR(cm<sup>-1</sup>); 3500(O-H), 2892~2887(C-H), 1732(C=O), 1200~1194(C-N)

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O)  $\delta$ ; 2.3 (s, 3H, NHCOCH<sub>3</sub>), 2.5 (s, 2H, -OCOCH<sub>2</sub>-), 2.8 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>COOH), 3.4~4.2(m, 6H, H2, H3, H4, H5, H6)

### 2.2.4. 김 유기산 배합

1)  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid를 함유한 유기산제 배합

15 중량 %의  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid, 5 중량 %의 진한 염산, 80 중량 %의 물을 혼합 균질 화하여 이들을 포함하는 pH 0.35의 김 양식용 유기산 처리제를 제조하였다.

2) Poly[N-( $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic acid)

glucosamine]을 함유한 유기산제 배합

10 중량 %의 Poly[N-( $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic acid)]glucosamine, 10 중량 %의  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid, 5중량 %의 구연산, 2 중량 %의 염산과 78 중량 %의 물을 혼합, 균질화 시켜 이들을 포함하는 PH 0.06 처리제를 제조하였다.

### 2.2.5. Test for treatment of mixed organic acid

10 중량 %의  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid, 10 중량 %의 succinic acid, 5중량 %의 구연산, 2 중량 %의 염산과 78 중량 %의 물을 혼합, 균질화 시켜 이들을 포함하는 PH 0.1 처리제를 제조하였다. 상기 처리제를 해수로 희석하여(20 배) PH 1.18로 한 다음 감은 방법으로 처리한 결과, 10 초 내지 20 초의 짧은 처리시간에도 불구하고 파래, 매생이, 규조류, 갯병이 발생하지 않았다.

### 2.2.6. 여드름 치료에 따른 피부미용 적용 시험

1) 세 가지 피부미용 관리방법

실험군 (대조군,  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid, 키토산 유도체군, 레티놀군)으로 나누어 각 관

리 방법 당 3인씩으로 배정하였으며 대상 1~3은 대조군으로 에센스를 사용하지 않은 관리만 받았고 대상 4~6은  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid,  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 가 치환된 키토산군을 에센스로 사용한 관리를 받았으며 대상 7~9는 레티놀에센스를 사용한 관리를 하였다.

2) 에센스의 제조

2-1)  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid가 치환된 chitosan을 첨가한 에센스

- ① 끓인 증류수 300 ml에  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan 20g를 넣고 1시간동안 저어주었다.
- ②  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan을 40 ml로 하였다. 그리고 12시간 정도 건조시켜 1.5 g의 분말을 획득하였다. 여기에 100% 조조바 오일 20 ml을 잘 섞어서 에센스로 사용하였다. 그리고  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 키토산 유도체 화합물은 수용성 화합물로 물에 잘 녹으며, 화합물 1.5 g에 100% 조조바 오일을 첨가하여 실험[OBT-Y]에 사용하였다.

3) 피부미용제 관리

표 1의 관리방법 외에 지속적인 관리를 하기 위해 관리실에 오지 않은 다른 날은 개인별 기초관리 제품을 토닉, 에센스, 수분 크림 순서로 아침과 저녁에 바르도록 지시 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 김 양식장에서의 유기산 현장적용 실험

1) 유기산의 처리에 따른 pH 영향 및 효과  
 본 연구의 유기산 처리제인 염소치환 succinic acid 유도체는 독성이 없는 과일산 유도체로서, 환경오염 및 생태계 파괴의 염려가 없고, 염산의 경우와 비슷한 처리시간에도 염산과 동일한 규제효과를 얻을 수 있어, 다른 유기산이나 염산을 이용한 처리제 보다 어민들의 폐해를 방지할 수 있는 효과가 크다. 해태 양식장에 사용되고 있는 염산대체용 유기산 제조로 pH가 낮고 선택적으로 김양식장에 저해를 주는 잡조류, 잡균류를 효과적으로 규제할 수 있는 김양식용 유기산 처리제 제조 시 유효 활성물질로, 또는 해양 김양식장 뿐만이 아니라 유기합성 제조 시 중간체 또는 유도체 개발에 있어서 중요한 몫을 차지할 수 있는 본 발명의 천연유기산 치환체는 센 산으로서의 사용범위가 매우 크다고 할 수 있다. 즉, 본 발명에서 개발한 유기산 유도체인  $\alpha,\beta$ -Cl치환 succinic acid 유도체는 현재 합성이 되지 않아 시판이 안되고 있는 최초의 합성물질로 산업에 미치는 영향은 클 것으로 예상된다.

2) 유기산의 처리에 따른 김 체세포 영향  
 화학합성 약품의 제조에 사용되는 말레인산 무수물이 환경오염의 염려가 없으며, 짧은 시간에도 불구하고 김의 성장이나 맛에 영향을 거의 미치지 않으면서 잡균이나 잡조류를 규제할 수 있었다.

Table 1. Control Method of 10 Week in Control Room( 1 time in 1 week)

1 Step	Wipe away out of makeup, after deep cleansing cream, contact of steem and tonic a period of 10 minutes
2 Step	Ater squeeze to an ane, no apply anything or afflied ratinol
3 Step	After application of mask, 15 minutes standing
4 Step	After rub out, no apply anything paste(contrast group), paste to OBT-Y and sun cream.

Table 2. Application and Experiment Result for Treatment of Cultivating Laver Farm as Different pH in Organic Acid Harmony Ratio

Composition and Condition	Analysis and Result		
	A	B	C
H <sub>2</sub> O, rest %	78	77.5	78
Maleic acid %	7.5	10	-
Synthesis organic acids	2,3-dichlorosuccinic acid 10 %, 2-chlorosuccinic acid 5%	2,3-dichlorosuccinic acid 20%	2-chlorosuccinic acid 10 %, 2,2,3,3-tetrachlorosuccinic acid 5%
citric acid %	5	-	5
HCl %	2	-	2
HNO <sub>3</sub> %	-	2.5	-
pH	0.1	0.05	0.021
Dilution X 20, pH	1.18	-	1.18
Dilution X 30, pH	-	1.12	-
Deposition time	10-20 sec	10-20 sec	10-20 sec

Table 3. Treatment of Organic acid Experiment Result for Green Laver and Laver in Laver Farm

Deposition Time	Green laver	EAP sea lettuce	GASI sea lettuce
<b>10-15 sec</b>	2-3 % below	95-98 %	90-99%
<b>20-30 sec</b>	1.5-3 % below	100 %	100 %

한편, 김의 성장 시기는 분양 기 유아가 성역기로 구분되며 이 시기에 따라 처리제의 바람직한 pH 범위 및 김 엽체의 침적시간이 달라질 수 있다. 즉 분양기의 경우에는 pH 2 내지 4에서 1분 내지 5분, 유아기의 경우는 pH 1.2 내지 2에서 15초 내지 1분, 성역기의 경우는 pH 1 내지 1.8에서 15초 내지 1분으로 하는 것이 바람

직하였다.

본 연구의 염소치환 succinic acid 유도체는 pH 0.05 내지 3.5의 산도를 갖는다. 이는 상업적인 제조단계에서는 편의상 pH 1이하, 예를 들면 pH 0.05 정도의 진한 농도로 제조되어 유통될 수 있으며, 최종적으로 사용한 때에는 물이나 해수로 희석하여 상기한 바와 같이 같은

pH 범위를 갖도록 조절할 수 있음은 물론이다. 본 발명의 유기산 처리제는 효과를 증진시키기 위하여 종래의 김양식용 처리제로 사용하고 있는 유기산 또는 무기산을 하나이상 포함할 수 있는데, 이 경우 기타 유기산 또는 무기산의 함량은 상기 처리제의 pH범위를 벗어나지 않도록 정하는 것이 바람직하다. 따라서 잡조류나 잡균류의 구제효과가 뛰어나면서 처리시간이 짧은 약제가 개발되지 않는 한 인건비등 눈앞의 이익만을 추구하는 어민들은 고시기준의 약제를 기피하고 비밀리에 염산을 사용하여 환경오염에 막대한 피해가 되고 있다.

이러한 문제점을 감안하여, 본 연구는 천연 유기산의 일종인 succinic acid 유도체로 산도를 크게 증가시키고, 염산 대체사용 가능성 있는 새로운 succinic acid를 개발하고자 하는 것이다. 김 양식에 이용되는 유기산 처리제를 개발하기 위해 천연과일에 존재하는 유기산을 선택하여 보다 공업적으로 쉽게 가공하고 활용도가 크며, 고부가가치성 창출로 환경 개선과 경제성 향상에도 크게 이바지할 것으로 본다.

### 3.2. 해태 김 양식장에 살포한 succinic acid 유도체 적용 후 해태 김의 체세포 결과

본 연구의 유기산 처리제인 염소치환 succinic acid 유도체는 독성이 없는 과일산 유도체로서, 환경오염 및 생태계 파괴의 염려가 없고, 염산의 경우와 비슷한 처리시간에도 염산과 동일한 규제효과를 얻을 수 있어, 다른 유기산이나 염산을 이용한 처리제 보다 어민들의 피해를 방지할 수 있는 효과가 크다.

해태 양식장에 사용되고 있는 염산대체용 유기산 제조로 pH가 낮고 선택적으로 김 양식장에 저해를 주는 잡조류, 잡균류를 효과적으로 구제할 수 있는 김양식용 유기산 처리제 제조 시 유효 활성물질로, 또는 해양 김양식장 뿐만이 아니라 유기합성 제조 시 중간체 또는 유도체 개발에 있어서 중요한 몫을 차지할 수 있는 천연유기산 치환체는 센 산으로서의 사용범위가 매우 크다고 할 수 있다. 즉,  $\alpha, \beta$ -Cl치환 succinic acid 유도체는 현재 합성이 되지 않아 시판이 안 되고 있는 최초의 합성물질로 수산분야는 물론 피부 미용분야에 이르기 까지 산업에 미치는 영향은 매우 클 것으로 예상된다.

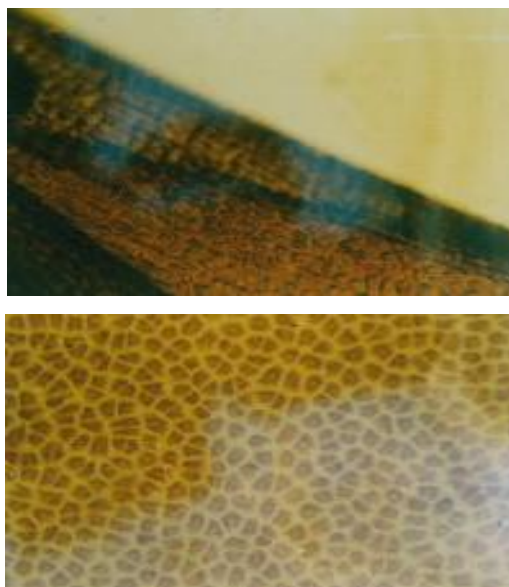


Fig. 3. Dead cell texture as after treatment of organic acid for laver.

특히 유기산 처리제인 염소치환 succinic acid 유도체는 독성이 없는 과일산 유도체로서, 환경오염 및 생태계 파괴의 염려가 없고, 염산의 경우와 비슷한 처리시간에도 염산과 동일한 규제효과를 얻을 수 있어, 다른 유기산이나 염산을 이용한 처리제 보다 어민들의 피해를 방지할 수 있는 효과가 크다할 수 있다. 그래서 해태 양식장에 사용되고 있는 염산대체용 유기산 제조로 pH가 낮고 선택적으로 김양식장에 저해를 주는 잡조류, 잡균류를 효과적으로 구제할 수 있는 김양식용 유기산 처리제 제조시 유효 활성물질로, 또는 해양 김양식장 뿐만이 아니라 유기합성 제조 시 중간체 또는 유도체 개발에 있어서 중요한 몫을 차지할 수 있는 본 발명의 천연유기산 치환체는 센 산으로서의 사용범위가 매우 크다고 할 수 있다.

즉, 본 발명에서 개발한 유기산 유도체인  $\alpha, \beta$ -염소치환 succinic acid 유도체는 현재 합성이 되지 않아 시판이 안 되고 있는 최초의 합성물질로 수산분야는 물론 피부 미용분야에 이르기 까지 산업에 미치는 영향은 매우 클 것으로 예상된다, 합성한 최종 화합물의 세부 스펙트럼은 다음과 같다.



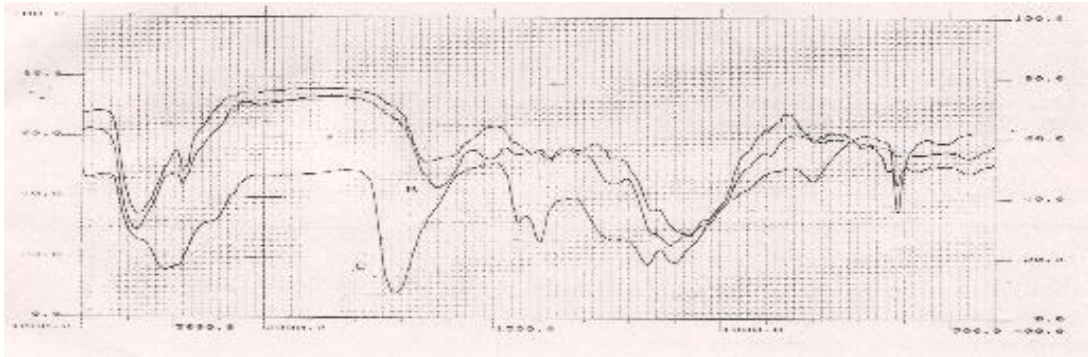


Fig. 4. IR Spectrum of (a) chitosan, (b) succinic acid-chitosan (c)  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid-chitosan.

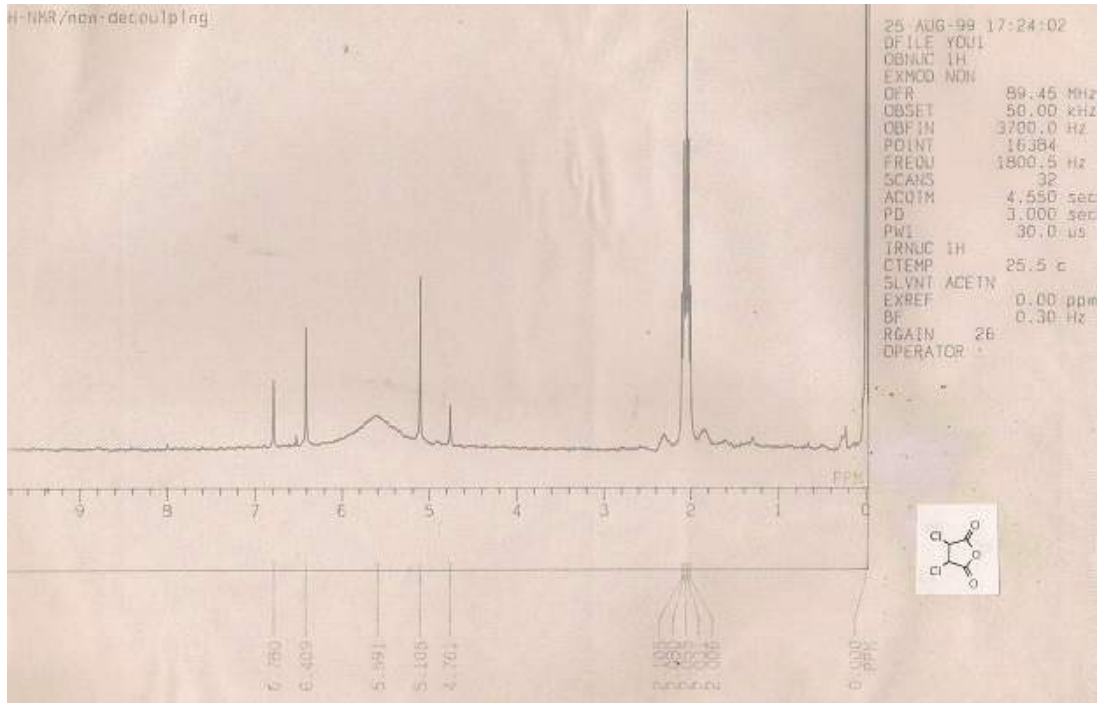


Fig. 5. <sup>1</sup>H-NMR Spectrum of  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic anhydride.

**3.3.  $\alpha,\beta$ -Dichlorosuccinic acid 치환 chitosan의 피부 여드름 적용시험**

여드름의 원인은 피부 표면 근처의 각질이 두꺼워져 피부 표면에서 막히면 피지선에서 생긴 피지가 밖으로 배출되지 못하고 고여 있는 상태이다. 최근 레티놀은 레티산의 전구물질로

피부에 침투된 후 레티산으로 변화하여 가용하기 때문에 레티산에 비해 효과는 매우 낮지만 피부 자극이 상대적으로 적다는 장점이 있어 최근 화장품에 많이 참가되고 있다. 트레티노인은 주로 각질을 벗겨내어 모낭이 파괴되지 않도록 하여 여드름의 증세가 악화되는 것을 막

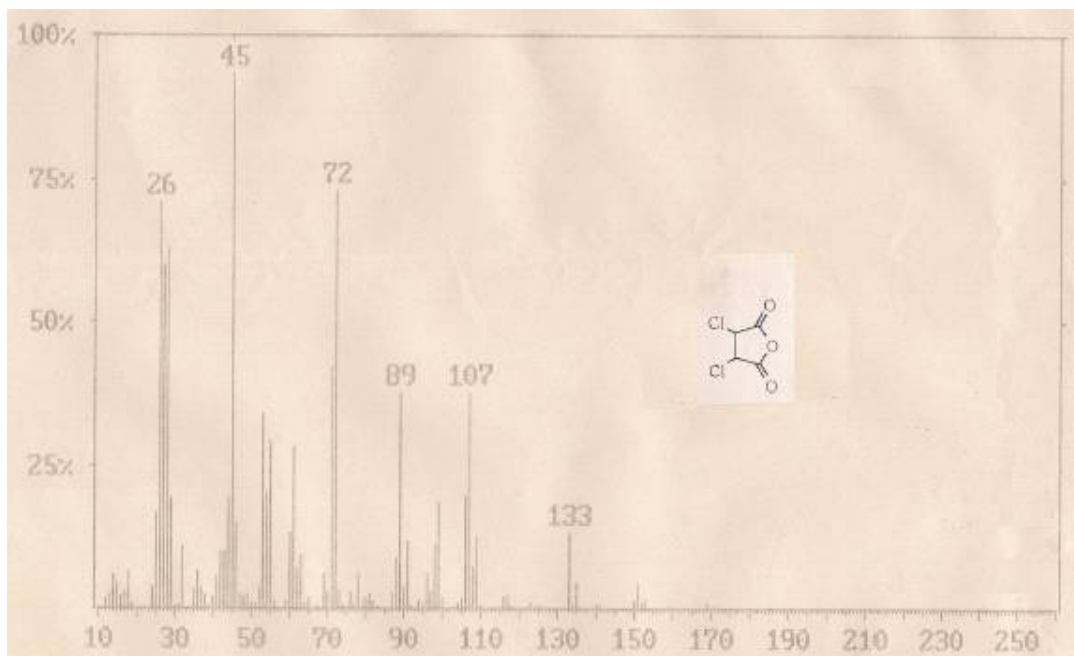


Fig. 6. Mass Spectrum of  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic anhydride.

Table 4. Control Method and Appraisal

Term	Administration methods	Valuation
1 week	Wipe away out to face pimple. Wipe away out to a piece of 3 pimple on forehead. Wipe away out to small dot and under the skin all face pimple	Large number of pimple under the skin pimple on forehead
2 week	·Located pimple on forehead	·Large number of pimple as all over face. Take place corneous tissue at wipe away out to face pimple and showed dry. appear no large develop
3 week	·Wipe away out to a piece of total 15 pimple	Appear of some swell up and no red shape in face

아주며 또한 막혀 있는 모공을 열어줌으로써 모낭 안에 번식해 있던 여드름 세균의 증식을 억제한다. 그래서 본 연구에서는 succinic acid

에 염소분자가 치환된  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 키토산 유도체를 합성하여 피부 여드름의 치료에 효과적인지를 알아보려고 하여 여드름

이 있는 대상 남녀 대학생에게 0.1 농도로 제조한 무색투명한 액상 겔을 사용한 후 아무것도 사용하지 않은 대조군과 비교하고 여드름에 효과적인 것으로 알려진 시판되는 레티놀을 사용한 실험 군과 비교 분석 하였다.

피부여드름 치료 효능을 확인한 결과는 다음과 같다. 즉,  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan이 여드름에 효과적인지를 알고자하여 목포시내 대학에 재학하고 있는 여드름이 많은 대학생 10명을 대상을  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan, 시판되는 레티놀 에센스, 아무것도 바르지 않은 대조군의 세 군으로 나누어 2012년 3월초부터 8월초까지 일주일에 한번 10회 관리실을 방문하여 관리를 받게 한 후 여드름 진정에 얼마나 효과적인지를 살펴보았다.

관리를 받은 대상 9명중에서 대조군 3명의 경우를 보면, 대상 1은 관리 시작 시점에서 2등급이었던 대상은 본인의 사정으로 인하여 3주간만 연구에 참여하였는데 끝나는 시점에도 2등급으로 비교적 호전반응이 있었다. 대상 2는 처음에 4등급이었으나 관리 후 일시적으로 많이 좋아져 더 이상 치료를 하지 않아도 되는 것으로 판단되었다. 그러나 장기적으로 보아 주변 환경과 피부 관리 여부에 따라서 계속 여드름이 생길 것으로 보였고, 대상 3의 경우 처음에 3등급이었는데 얼굴이 많이 붉고 오래전부터 계속 여드름이 생겼는데 [OBT-Y]관리 3주 후에 여드름 완전히 없어지고 깨끗해져서 관리를 중단하게 되었다.

$\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan의 경우 대상 4는 처음에 3등급이었으나 관리 후 1등급으로 호전되었으며 피부가 깨끗해졌다. 대상 5는 많은 여드름이 있었으나 관리 후 각질이 많이 없어졌으며 처음에 3등급에서 2등급으로 호전되었다. 대상 6은 여드름 자국들이 많이 있었으며 처음에 4등급으로 복합성 여드름이었으나 관리 후 자국들만 남고 2등급으로 호전되었다. 그러므로  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid치환 chitosan을 사용하면 관리전과 비교해서 대조군에 비해 오히려 신속하게 피부 여드름 치료 효능이 확인되었다. 그러나 임상학적 연구가 더 필요하다는 여지가 있었다. 그래서 앞으로 보다 세부적인 연구가 더 필요하다고 보나 일반 키토산 보다  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid 치환

chitosan이 보다 산성을 띠게 되어 키토산이 수용액에 녹지 않는 문제점이 있으나 보다 효율적으로 녹아서 균일화된 용액을 제조할 수 있었으며 산성 효과로 기전 여드름 치료제인 트레티노인 보다 오히려 여드름 치료에 효과가 우수하여서 화장품 분야와 의약부외품으로 보다 효과적으로 이용할 수 있다고 본다.

#### 4. 결론

1. 염소치환 succinic acid 유도체는 유기산은 pH가 낮고 독성이 없는 과일산 유도체로서, 환경오염 및 생태계 파괴의 염려가 없고, 선택적으로 김양식장에 피해를 주는 잡조류, 잡균류를 효과적으로 구제할 수 있어서 김양식용 유기산 처리제로 사용 시 염산의 경우와 비슷한 처리시간에도 염산과 동일한 규제효과를 얻을 수 있어, 해태 양식장에서 염산 대체용 유기산제로 활용이 가능하다고 본다. 그리고 김양식장 뿐만 아니라 유기합성 제조 시 중간체와 기타 피부 미용제로도 활용이 가능할 것으로 예상된다.
2. 합성 제조과정은, 말레인산무수물(maleic anhydride)을 HCl 가스를 이용하여 유기용매 존재 하에 자외선(UV)250 nm~300 nm 범위의 파장을 갖는 자외선을 조사하여 치환된 maleic anhydride의  $\alpha,\beta$ -위치에  $Cl_2$ 를 치환시켜  $\alpha,\beta$ -dichloro치환 succinic anhydride을 합성한 다음 증류수와 반응시키면 carboxylic acid로 치환되어  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid가 치환된 화합물을 얻었다. 이때 pH가 maleic acid 자체 보다 셀산(pH 1.3)으로 보다 강한 산성을 나타냈다. 이들 유기산은 pH가 낮아 저 농도에서도 김 양식용 유기산으로서의 효과를 나타낼 수 있으며 기존 염산 사용 처리제와의 비교 실험결과 오히려 김 처리제 효과가 매우 우수하였다.
3. 최종화합물인  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic acid를 합성하기위해 중요한 중간체인  $\alpha,\beta$ -dichlorosuccinic anhydride는 maleic anhydride를 이용하여  $CCl_4$  용매 하에서 염소화 반응을 시켰을 때가 벤젠을 용매

로 사용하여 염소화 반응을 시키는 반응보다 반응시간이 빠르고 생성물 회수과정에서 용매 제거가 보다 더 용이하였다. 그러나 벤젠용매 하에서 반응의 경우는 반응시간이 느리고 포화용액에서 회수과정 중 급속히 생성물의 결정이 생성되어 회수하는데 어려움이 있었다. 이것은 온도변화에 따른 용해도 저하로 판단되었으며 따라서 염소화 반응은  $\text{CCl}_4$  용매가 보다 효과적 반응이 잘 되는 것으로 확인하였다.

4.  $\alpha, \beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan을 사용하면 관리진과 비교해서 대조군에 비해 오히려 신속하게 피부 여드름 치료 효능이 확인되었다. 그러나 앞으로 실용화가 되려면 임상학적 세부 연구가 앞으로 더 필요하다고 보나 일반 키토산 보다  $\alpha, \beta$ -dichlorosuccinic acid 치환 chitosan이 보다 산성을 띠게 되어 기존 키토산이 수용액에 녹지 않는 문제점이 있으나 보다 효율적으로 녹아서 균일화된 용액을 제조할 수 있었다. 그리고 기존 여드름 치료제인 트레티노인 보다 오히려 여드름 치료에 효과가 우수하여 앞으로 의약부외품이나 기타 피부미용제 등으로 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 본다.

### 참고문헌

1. T. Yoshida, M. Notoya, N. Kikuchi, and M. Miyata, "Catalogue of Species of Porphyra in the World, with Special Reference to the Type Locality and Bibliography", *Nat. Hist. Res.*, **3**, 5(1997).
2. The Ocean Ministry of Maritime, *Statistics Annual Report* (1966).
3. S. H. Bae, "The Origin and Development Process of Laver Culture Industry in Korea. 1. Laver Culture History Still the End of Choson Dynasty", *Bull. Korean Fish. Soc.*, **24**, 153 (1991).
4. The Korean Society of Fisheries & Research Institute of Fishing Village of Problem (1996).
5. C. N. Sawyer, P. L. McCarty, and G. F. Parkin, "*Chemistry for Environmental Engineering*", 4th ed., McGraw-Hill, 532 (1994).
6. R. P. Schwarzenbach, P. M. Gschwend, and D. M. Imboden, "*Environmental Organic Chemistry*" John Wiley & Sons, 681(1993).
7. P. R. Austin, C. J. Brine, J. E. Castle, and J. P. Zikakis, "Chitin: New Facets of Research," *Science*, **212**, 749 (1981).
8. M. . Bade, A Stinson, A. Nehad, and M. Moneam, "Chitin Structure and Chitinase Activity: Isolation of Structurally Intact Chitins," *Conn. Yissue Res.*, **17**, 137 (1988).
9. K. Kurita, T. Sannam, and Y. Iwakura, "Preparation of Pure Chitin, Poly(N-acetyl-D-glucosamine), from the Water-Soluble Chitin," *Macromol. Chem.*, **178**, 2595 (1977).
10. R. A. A. Muzzarelli, Chitin, and Chitosan, Unique Cationic Polysaccharides. In: Towards a Carbohydrate-based Chemistry. Commission of the European Communities, Luxemburg, *Belgium*, 199 (1990).
11. K. Arai, T. Kinumaki, and T. Fujita, "Toxicity of Chitosan", *Bull. Tokai. Fish. Res. Lab.*, **337**, 89 (1969).
12. K. Y. Kim, H. S. Bom, C. S. Oh, H. C. Lee, and R. D. Park, "Genetic Toxicity of Chitosan and EDTA in Mice", *Chitin Chitosan Res.*, **23**, 122 (1966).
13. G. G. Allan, L. C. Altman, D. K. Bensinger, Ghosh, Y. Hirabayashi, A. N. Neogi, and S. Neogi, "Biomedical Application of Chitin and Chitosan. In: *Chitin, Chitosan and Related Enzyme*" J. P. Zikakis, (ed.). Academic Press, New York, USA, 119 (1984).
14. F. Shahidi, J. K. V. Arachchi, and Y. J.

- Jeon, "Food Applications of Chitin and Chitosan", *Tren. Food Sci. Technol.*, **10**, 37 (1999).
15. R. A. A. Muzzarelli, "Chitosan-Based Dietary Foods", *Carbohydr. Polym.*, **29**, 309 (1996).
16. A. Rund and O. Kees, "Mechanisms of Formation and Destruction of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans on Heterogeneous Systems", *Environ Sci. Tech.*, **29**, 1425 (1995).