

초피와 번행으로부터 항균성분의 분리 및 항균 비누에 관한 연구

전 미 · 김은선 · 김주덕[†] · 인철진*
창원대학교 자연과학대학 생물학화학융합학부
[†]숙명여자대학교 원격대학교 향장미용전공
(접수 2015. 5. 11; 게재확정 2015. 6. 4)

The Isolation of Antimicrobial Ingredient from *Zanthoxylum Piperitum* DC. and *Tetragonia Tetragonoides*; Antimicrobial Activity of Antimicrobial Soap

Mee Jeon, Eun-Seon Kim, Ju-Duck Kim[†], and Chuljin Ahn*

Department of Biology and Chemistry, Changwon National University, Changwon 641-773, Korea

[†]Department of Cosmetic and Beauty, Graduate School of Distance Learning, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea.

*E-mail: cjahn@changwon.ac.kr

(Received May 11, 2015; Accepted June 4, 2015)

주제어: 초피, 번행, 항균비누

Key words: *Zanthoxylum piperitum* DC., *Tetragonia tetragonoides*, Antimicrobial soap

서 론

우리나라 대표 향신료 중 하나인 초피는 운향과(Rutaceae)의 천연 향신료로서 *Zanthoxylum*에 속한다. 중국, 일본 및 우리나라에서 다양하게 사용되고 있는 초피는 오래 전부터 가장 일반적인 향신료로 사용되었음을 알 수 있다.¹ 이런 특성을 가지는 초피의 연구는 다양하게 이루어져 식물 형태학적, 생약학적 재배에 관한 연구 그리고, 지질, 아미노산, 플라보노이드 등의 향기 성분이나 신미 성분의 분석과 그 성분에 의한 항균작용에 대한 연구들이 수행되어 왔다.²⁻¹⁰ 하지만 이런 초피의 연구들 중 항균성 물질에 관한 연구 조사는 자세히 보고된 것이 없는 미진한 실정이므로 이에 대한 구체적인 조사와 항균성분을 이용한 항균 비누의 항균 능력에 대하여 연구하였다. 또한 번행은 석류과과의 여러해살이 풀로 초본식물인 번행초(*Tetragonia tetragonoides*)의 지상부이다. 이는 항암작용, 청열작용, 해독작용 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 항균성 물질인 *Tetragonia*도 함유되어 있다.^{11,12} 본 연구에서는 초피의 과피와 번행을 유기용매들을 이용하여 추출하여 보았고, 그 중에서 항균성이 가장 뛰어난 것을 찾아보았다. 그리고 효과가 가장 뛰어난 추출액을 사용하여 비누를 만들고 피부상재균과 황색포도상구균(*S.aureus*), 대장균(*E.coli*), 살모넬라균(*S.typhimurium*), 녹농균(*P.aeruginosa*)에 대한 항균성을 조사해보았다.

실 험

초피와 번행으로부터 항균성분 추출방법 및 항균조사

분쇄한 초피 100 g을 1 L 라운드 플라스크에 넣고 증류수 약 500 mL를 넣어 하루 동안 교반한다. 증류수를 걸러낸 후 초피를 건져내어 1 L 라운드 플라스크에 넣고 hexane 500 mL를 넣어 다시 하루 동안 교반한다. Hexane층을 분리한 후 걸러낸 초피를 다시 1 L 라운드 플라스크에 넣고 ethylacetate 500 mL를 넣고 2일동안 교반 한 후 초피를 걸러내고 ethylacetate층 용액을 모아서 rotatory evaporator를 이용하여 농축시킨다. 이 용액을 silicagel을 이용하여 여과시킨 후 불순물을 제거하고 다시 농축시킨다. 얻어진 초피 추출액을 초피 I이라 한다.

잘게 부순 번행 1 kg을 플라스크에 넣고 methanol 1 L를 넣어 3일 정도 교반 한 다음 methanol을 분리한 후 rotatory evaporator를 이용하여 농축시킨다. 이 농축액을 번행 I이라 한다. 번행 I을 Kugelrohr를 이용하여 감압하고 온도 별로 증류한다. 72-76 °C 사이에서 나온 증류 액을 번행 II라 하고, 80-82 °C 사이에서 나온 증류 액을 번행 III이라고 한다.

준비된 추출액 초피 I, 번행 I, 번행 II, 번행 III의 항균조사를 위하여 각 추출액을 10 mg씩 취하여 methanol (5 mL)로 희석시킨 후 이 시료를 0.45 µm membrane filter로 여과한다. 멸균된 여과 paper disk에 시료를 20 µL씩 주입한 후,

용매를 완전히 휘산시킨다. 시험균이 도말된 평판배 지 위에 휘산시킨 paper disk를 밀착시킨다. 4 °C 냉장고에서 1시간 방치시킨 후 배양한다. 판정은 disk 주변의 clear zone의 직경을 측정하여 판단하고 시험 조건은 disk size 직경 8 mm (ADVACTEC, Japan), 시료 주입량 20 µl, 배양 온도는 30 °C, 배양 시간은 48시간으로 하였다.

초피 및 과피 추출액을 이용한 항균성 비누 제조

첫 번째로 비누 베이스 99 중량%를 향료 1 중량%와 혼합기에서 잘 혼합한 후 비누 제조 기계에서 압출, 절단, 형태하여 고형 비누 형태로 만든다. 두 번째로 비누 베이스 98 중량%에 3,4,4'-트리클로로카르바닐리드 1 중량%와 향료 1 중량%를 첨가하여 같은 방법으로 만든다. 세 번째부터는 첫 번째 실험에서 초피 추출액을 첨가하면서 실험한다. 초피 추출액으로는 초피 I을 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 10.0, 15.0, 15.5 중량%까지 넣으며 비누를 제조하여 항균성을 실험하였다. 비누베이스 제조에 들어간 재료는 탄소수가 8 내지 20인 지방산 나트륨 또는 칼륨염, 지방산으로는 야자유, 팜유, 대두유, 피마자유, 올리브유, 팜핵유이며 피부 유연효과를 주기 위해 천연오일, 왁스, 지방 알코올을 사용하고 피부 보습효과를 주기 위해 글리세린과 솔비톨을 사용하였다.

초피 I과 변형 I을 사용하여 만든 항균비누가 대장균, 녹농균, 하농균에도 효과가 있는지 알아보기 위하여 초피 I과 변형 I을 각각 0.05%, 0.5%, 1.0%, 5.0% 넣은 항균비누를 동일한 방법으로 만들어 보았다.

결과 및 고찰

초피 추출액으로부터 항균 조사

이전 실험에서 ethylacetate 추출액으로부터 뛰어난 항균성이 나타나지 않았기 때문에 이번에는 물을 이용하여 무기물질을 걸러내고 다음으로 비극성 용매를 이용하여 비극성에 잘 녹는 유기물질을 걸러낸 후 마지막으로 극성 용매인 ethylacetate로 추출한 용액(초피 I)을 이용하여 항균성을 조사 하였다. 이때 비극성 용매로는 hexane을 사용하였다. 그 결과는 Table 1에 제시된 바와 같이 단순

Table 2. 변형 추출물 항균도 실험결과 (단위: mm)

시험균	S.aureus	E.coli	S.typhimurium	Paeruginosa
변형 I	26	19	21	15
변형 II	- ¹⁾	-	-	-
변형 III	-	-	-	-

¹⁾저지대 형성 안됨.

히 ethylacetate에서만 추출한 초피액보다 S.aureus, E.coli, S.typhimurium, Paeruginosa에 대한 항균 효과가 더욱 높아졌음을 알 수 있었다.

변형 추출액으로부터 항균 조사

Methanol로 희석시킨 변형 I, 변형 II, 변형 III 용액을 배양한 식중독 균들(S.aureus, E.coli, S.typhimurium, Paeruginosa)에 대한 항균조사를 하였다. 그 결과 변형 I 용액은 S.aureus에 가장 큰 저지대를 형성하였고, 그 다음으로 E.coli, S.typhimurium, Paeruginosa 순으로 저지대를 형성하였다. 변형 II, 변형 III은 어떤 식중독 균에도 저지대를 형성하지 않았다(Table 2).

초피 추출액을 이용한 항균성 비누에 관한 연구

사람의 피부는 표피, 진피, 및 피하지방층으로 구성되어 있는데 표피는 외부 환경과 항상 직접 접촉하고 있어 세균에 감염되기 쉽다. 표피에는 일반적으로 스테필로코커스(Staphylococcus), 스트렙토코커스(Streptococcus), 효소(Yeast)등이 존재하는데 스테필로코커스 종에는 가장 대표적인 것으로 스테필로코커스 아우레우스(Staphylococcus aureus)와 스테필로코커스 에피데미스(Staphylococcus epidermis) 등이 있다. 이들은 그람 양성균으로 직경 0.5 내지 1 µm 크기로 이루어진 혐기성 균의 성질을 가지고 있다.^{13,14} 이러한 세균들에 의해서 피부가 감염되어 여드름, 뾰루지, 버짐, 부스럼 등을 일으키게 되는데 과거에는 이러한 세균들을 살균한 목적으로 3,4,4'-트리클로로카르바닐리드 라는 살균제를 비누에 혼합하여 사용하였으나 피부 상재균에 대한 살균효과 및 소취 효과가 미약하였다. 따라서, 피부 상재균에 대한 실험으로 초피 추출액을 사용해 보기도 하였다.

Table 1. 초피 물-Hexane 추출 후 Ethylacetate 추출액 항균도 실험결과 (단위: mm)

Sample	시험균		S.aureus	E.coli	S.typhimurium	Paeruginosa
	Disk 유무					
초피 I(100% soln.)	Disk ○ ¹⁾		17	15	17	16
	Disk × ²⁾		형성됨	형성됨	형성됨	형성됨

¹⁾paper disk를 배지표면에 얹은 후, 그 위에 시료주입(저지대 크기 측정가능).

²⁾paper disk없이, 배지표면에 바로 시료주입(저지대 크기 측정불가능하고 저지대 형성 유무만 판단가능).

이유? 배지표면에 시료 주입 후 그 액이 일정한 크기로 퍼지지 않고 각각 다르기 때문에 크기는 측정이 불가능 함.

초피를 이용한 항균성 비누를 제조하기 위해 '초피 I'을 농도를 달리하여 첨가하면서 실험하였다. 첫 번째로 비누 베이스를 99 중량%를 향료 1 중량%와 혼합기에서 잘 혼합한 후 비누 제조 기계에서 압출, 절단, 형태하여 고정 비누 형태로 만들었다.

두 번째로 비누 베이스 98 중량%에 3,4,4'-트리클로로카르바닐리드 1 중량%와 향료 1중량%를 첨가하여 같은 방법으로 만들었다. 세 번째부터는 첫 번째 실험에서 초피 추출액(초피 I)을 첨가하면서 실험하였는데, 이때 초피 추출액(초피 I)을 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 10.0, 15.0, 15.5 중량%까지 실험하였다. 실험한 비누에 대하여 피부에 존재하는 피부 상재균에 대한 살균력을 확인하기 위하여 페트리디쉬(박테리아 배양용 접시)에 혐기성 균인 프테필로코머스 종의 피부 상재균을 배양하여 비누 수용액을 5% 떨어뜨린 다음 2일 경과 후 집락수를 측정하여 평가하였다. 피부 상재균에 대한 살균효과를 측정하기 위하여 아래와 같이 살균률을 구한다.

$$\text{살균률} = \frac{\text{배양한 피부 상재균수} - \text{비누 수용액 첨가후 2일 후의 피부 상재균수}}{\text{배양한 피부 상재균수}} \times 100$$

여기에서 피부 상재균에 대한 살균률이 90% 이상 되어야 효과가 있는 것으로 판단한다. 제조한 비누로 손을 세척한 후 한천 배지에 손바닥을 누르게 하고 2일 동안 배양하여 피부 상재균의 살균 상태를 관찰해 보았다(핸드프린터 법). 이상의 결과는 Table 3과 같다

초피 추출액(초피 I)을 0.5 내지 15.5 중량%를 함유하는 비누가 초피 추출액을 함유하지 않는 비누 및 0.1 중량%를 함유하는 비누보다 피부 상재균에 대한 살균 효과가 우수함을 알 수 있다. 또한 피부 상재균에 대한 살균력이 우수한 것으로 알려진 3,4,4'-트리클로로카르바닐리드를 1 중량%를 함유하는 비누보다 초피 추출액(초피 I)을 0.5 내지 15 중량% 함유한 비누가 피부 상재균에 대한 살균 효과가 우수하다. 초피 추출액(초피 I) 성분을 0.5 중량% 미만 사용할 경우 살균 효과가 미약하고 15 중량%이상 사용할 경우에는 살균효과는 우수하나 비누 제조 시 경도가 낮고 끈적끈적하여 작업성이 나빠 비누 제조가 곤란하였다. 다음에는 초피 I을 사용한 항균비누를 대장균(E.coli), 화농균(S.aureus), 녹농균(P.aeruginosa)에서 각각 추출액 0.5 중량% 농도에서 실험해보았고, 변행 식물로부터 추출한 변행 I을 사용한 항균 비누도 추출액 0.5 중량% 농도에서 실험해보았다. 그 결과는 Table 4에 제시되

Table 3. 비누 상재균 실험

Sample	배양한 피부 상재균 수	2 일 후의 피부 상재균 수	피부 상재균의 살균률 (%)	작업성
베이스 99%, 향료 1%	400	160	60.00	양호
베이스 98%, 향료 1% 3,4,4'- 트리클로로카르바닐리드 1%	430	45	89.53	양호
베이스 98.9%, 향료 1%, 초피 I 0.1%	430	49	88.33	양호
베이스 98.5%, 향료 1%, 초피 I 0.5%	480	47	90.20	양호
베이스 98.0%, 향료 1%, 초피 I 1.0%	470	27	92.70	양호
베이스 96.0%, 향료 1%, 초피 I 3.0%	450	25	94.42	양호
베이스 94.0%, 향료 1%, 초피 I 5.0%	400	11	97.25	양호
베이스 92.0%, 향료 1%, 초피 I 7.0%	400	8	98.00	양호
베이스 89.0%, 향료 1%, 초피 I 10.0%	500	6	98.80	양호
베이스 84.0%, 향료 1%, 초피 I 15.0%	500	5	99.00	양호
베이스 83.5%, 향료 1%, 초피 I 15.5%	500	4	99.20	작업안됨

Table 4. 초피 I과 변행 I을 사용하여 만든 비누의 항균 실험 결과

시험균	구분	5.0% 용액	1.0% 용액	0.5% 용액	0.05% 용액
대장균 (E.coli)	베이스 99%, 향료 1%	-	+	-	-
	베이스 98.5%, 향료 1%, 초피 I 0.5%	-	+	-	-
	베이스 98.5%, 향료 1%, 변행 I 0.5%	-	+	-	-
화농균 (S.aureus)	베이스 99%, 향료 1%	-	+	-	-
	베이스 98.5%, 향료 1%, 초피 I 0.5%	-	-	-	-
	베이스 98.5%, 향료 1%, 변행 I 0.5%	-	-	-	-
녹농균 (Paeruginosa)	베이스 99%, 향료 1%	-	+	-	-
	베이스 98.5%, 향료 1%, 초피 I 0.5%	-	+	-	-
	베이스 98.5%, 향료 1%, 변행 I 0.5%	-	+	-	-

바와 같이 초피 I과 변형 I은 피부 상재균의 일종인 화농균에서만 약간 효과가 있는 것으로 나타났으며, 그의 대장균 및 녹농균에 대해서 녹농균에 대해서는 효과가 없는 나타났다.

Acknowledgements. 이 논문은 2013-2015년도 창원대학교 연구비에 의하여 연구 되었음.

REFERENCES

1. 이성우, *한국식품문화사*, 교문사, **1997**, 60.
2. Jung, K. H.; Oh, S. J.; Bang, S. M.; Shin, D. S.; Kim, J. D.; Ahn, C. *J. Korean Chem. Soc.* **2009**, *53*, 5.
3. Kim, J.-H.; Lee, K.-S.; Oh, W.-T.; Kim, K.-R. *Korean J. Food Sci. Technol.* **1989**, *21*, 562.
4. Quanbo Xiong.; Dawen Shi.; Hirofumi Yamamoto.; Mizuo Mizuno. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 1123.
5. Narendra K. Kalia.; Bikram Singh.; Ram P. Sood. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 311.
6. Masataka Moriyasu.; Momoyo Ichimaru.; Yumi Nishiyama.; Atsushi Kato. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 299.
7. Ih-Sheng, Chen, T.-L.; Chang, Y.-L.; Teng, C.-M.; Lin, W.-Y. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 833.
8. Ih-Sheng, Chen, T.-L.; Lin, W.-Y.; Tsai, I.-L.; Chen, Y.-C. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 357.
9. Mitsuya Shimoda.; Yin Wu.; Shigeyuki Nonake.; Yutaka Osajima. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1325.
10. Yoshiki Kashiwada.; Chkashi Ito.; Hitoshi Katagiri.; Izumi Mase.; Katsuko Komatsu.; Tsuneo Namba.; Yasunasa Ikeshiro, *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1125.
11. 배기환, *한국의 약용식물*, 교학사, **2000**, 94.
12. 안덕균, *CD-ROM 한국의 약초*, 329호.
13. Chalmers, L., Soap perf. *Cosmet. Chem.* **1959**, 10.
14. Firestone, D.; Ridlehuber, J.; Berner, D. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1988**, 65.