

화장품소재로서 곱향 추출물 및 발효물의 생리활성 연구

이정로^{1,*} · 한갑훈² · 오태구³ · 강정린^{2,†}

¹우석대학교 제약공학과, 학생

²우석대학교 제약공학과, 교수

³우석대학교 제약공학과, 강사

(2023년 10월 9일 접수: 2023년 12월 29일 수정: 2023년 12월 30일 채택)

A Study on the Physiological Activity of *Agastachis herba* Extract and Fermented Products as Cosmetic Materials

Jeong-Ro Lee^{1,*} · Kap-Hoon Han² · Tae-Goo O³ · Jeong-Ran Kang^{2,†}

¹Department of Pharmaceutical Engineering, Woosuk University (Student)

²Department of Pharmaceutical Engineering, Woosuk University (Professor)

³Department of Pharmaceutical Engineering, Woosuk University (Lecturer)

(Received October 9, 2023; Revised December 29, 2023; Accepted December 30, 2023)

요 약 : 곱향은 서양에서 Korea mint라고 불릴 정도로 허브와 쓰임새가 매우 유사하다. 서양의 허브는 화장품의 소재로 많이 사용하지만 곱향은 우리나라에서 약재로 더 많이 사용되어 화장품 소재로서의 기능을 비교해보았다. 곱향 추출물과 추출물을 이용한 유산균과 효모 발효물, 에센셜오일, 플로럴워터에 대한 항산화, 미백, 폴리페놀, 플라보노이드, 항균력 실험을 진행하였다. 항산화 활성은 모든 샘플에서 높은 효과가 보였고, 미백과 폴리페놀, 항균력에서 에센셜오일이 가장 높은 효과가 보였다. 반면에 플라보노이드는 70% 에탄올 추출물에서 가장 높은 효과가 보였다. 이런 결과로 에센셜오일이 기능적으로 가장 큰 효과가 있었다. 하지만 추출물을 가지고 효모 발효를 진행한 시료들이 에센셜오일 만큼의 효과가 있다는 것을 확인해 에센셜오일의 적은 추출량에 비해 효모 발효를 진행한 시료가 화장품소재로서 충분한 가치가 있다고 본다.

주제어 : 곱향, 발효, 항산화활성, 폴리페놀, 항균력

Abstract : *Agastachis herba* is so similar in use to herbs that it is called Korea Mint in the West. Western herbs are commonly used as ingredients in cosmetics. However, in Korea, *Agastachis herba* is primarily used as a medicinal herb. This study aims to compare the effectiveness of one cosmetic ingredient with another cosmetic ingredient. Antioxidant, whitening, polyphenol, flavonoid, and antibacterial experiments were conducted on lactobacillus, yeast ferments, essential oils, and floral water using extracts from *Agastachis herba*. Antioxidants exhibited significant effects in all samples,

[†]Corresponding author

(E-mail: jrjang@woosuk.ac.kr)

while essential oils displayed the highest efficacy in terms of whitening, polyphenol content, and antibacterial properties. Flavonoids exhibited the strongest effect in the 70% ethanol extract. The essential oil had the most significant functional impact. However, it was confirmed that the fermented products that underwent yeast fermentation with extracts were as effective as essential oils.

Keywords : *Agastachis herba*, *Ferment*, *Antioxidant activity*, *Polyphenol*, *Antimicrobial*

1. 서론

곽향(*Agastachis herba*)은 전국 각지에 재배하거나 자생하는 식물로 꿀풀과에 속하는 1년생 초본색물인 곽향(*Agastachis herba*)의 지상부로 만든 약재로 서양의 허브처럼 꿀풀목에 속하며 향기나 쓰임새도 서양의 허브와 유사하다. 그래서 영어권에서는 Korean Mint라 부르기도 한다. 곽향은 배초향의 한약명으로 배초향은 건조시킨 전초의 길이가 약 60~90cm 정도이고, 줄기는 사방 주형으로 모가 나 있고, 지름은 약 3~10mm이다. 다 자란 줄기는 딱딱하고 강하며 목질화되어 있고, 단면은 안이 비어 있다. 줄기나 가지가 청록색이며 잎이 무성하고 냄새가 짙은 것이 상품이다. 곽향은 맛이 맵고 성질은 약간 따뜻하여 소화기계통의 기능을 항진시키면서 가슴이 답답하고 메스꺼운 증상, 발열, 두통, 구토, 식욕부진, 복부팽만, 설사 등 소화기계통을 건강하게 하고 당뇨, 혈압 등에도 탁월한 효능이 있다. 또한 향이 좋고 약효성분이 많아 노화방지 및 피부질환, 구취제거 효과뿐만 아니라 항균, 항암, 항바이러스, 항염증 효과가 있다고 알려져 있다.

곽향에는 Methylchavicol, Anethole, Anisaldehyde, D-limonene, α , β -pinene 등이 함유되어 있으며, 노화방지효과가 있는

Rosmarinic acid를 함유하고 있다. 현재 곽향에 대한 연구가 계속 진행되고 있으나 효모 발효와 에센셜 오일에 대한 많은 연구가 진행되지 않았다. 따라서 본 연구는 열수추출과 70% 에탄올 추출방법으로 곽향의 유효성분을 추출하고 동결 건조한 후 유산균과 효모를 배양을 진행하여 발효물을 다시 동결건조 하였다. 그리고 정유추출기를 이용하여 곽향의 에센셜 오일을 얻어 모든 시료들을 기능성을 평가함으로써 곽향이 화장품 소재로 어떤 시료가 활용가치가 높은 지에 대해 판단하고자 연구를 진행하였다[7, 10, 11].

2. 실험

2.1. 재료

본 실험에 사용된 건조 곽향은 국내에서 재배된 것으로 자연초(JAYEONCHO, CO, KOREA)에서 구입 후 상온 보관하였으며, 믹서로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다. 발효에 사용된 균주인 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3104)와 *Saccharomyces cerevisiae*(KCTC 7296)는 미생물 자원 센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)에서 분양 받은 표준 균주를 사용하였다. 아래 Table 1은 Sample들의 이름을 간단히 표현

Table 1. Sample name list

Sample full name	Simple name
Hot Water extract	H
<i>Lactobacillus plantarum</i> Hot Water fermented product	H(LP)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Hot Water fermented product	H(SC)
70% EtOH extract	E
<i>Lactobacillus plantarum</i> 70% EtOH fermented product	E(LP)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 70% EtOH fermented product	E(SC)
Essential oil	E.O

하였다.

2.2. 광향 추출물의 제조

광향 추출은 열수추출물에는 증류수, 에탄올추출물에는 70% EtOH을 이용하였다. 열수추출물은 광향 분말 20g에 증류수 400ml를 첨가하여 70°C에서 24시간 동안 Water Bath에서 추출을 진행하였다. 에탄올추출물은 광향 분말 20g에 70% EtOH 400ml를 첨가하여 70°C에서 24시간 동안 Water Bath에서 추출을 진행하였다. 추출이 끝난 후 면포를 이용하여 1차로 걸러주고, 0.2um paper filter로 여과하여 광향 열수 추출물과 광향 70% EtOH 추출물을 제조하고 동결건조기(Ilshin Lab Co., Ltd.)를 이용하여 동결건조를 진행해 분석용 시료로 사용하였다.

2.3. 광향 발효물의 제조

광향 발효물에 사용된 균주는 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3104)와 *Saccharomyces cerevisiae*(KCTC 7296) 2종으로 광향 발효물 제조에 사용하였다. 유산균과 효모 접종을 위한 배지는 멸균 증류수에 광향 열수추출물과 70% EtOH 추출물을 동결건조물을 각각 0.8%을 넣고 균주는 1.0x10⁸ cfu/ml 농도로 접종하고 30 ± 1°C에서 72 시간동안 160rpm으로 Shaking incubator에 배양하여 1차로 0.2um paper filter로 여과해주고 2차로 3500rpm으로 10분간 원심분리기를 이용하여 상층액을 0.45um 주사기 필터를 이용하여 한번 더 여과하여 광향 유산균 발효물과 광향 효모 발효물을 제조하고 동결 건조기(Ilshin Lab Co., Ltd.)를 이용하여 동결건조를 진행해 분석용 시료로 사용하였다[1, 8, 12].

2.4. 광향 Essential oil 추출

Essential oil 추출 장치(Lab Market)을 이용하여 Essential oil 추출을 진행하였다. 증류 플라스크에 광향 분말을 300g을 넣어주고 2구 플라스크에 물을 가득 채워주었다. 리비히 냉각기에 연결된 냉각 장치를 5°C로 맞춰주고, 맨틀의 온도를 120°C로 3 시간동안 건조물을 불려주었다. 충분히 불려준 후 냉각장치를 20°C로 올려서 Essential oil을 추출을 진행하여 나온 추출물을 피펫으로 따로 분리해 분석용 시료로 사용하였다[14, 15].

2.5. DPPH 라디칼 소거 활성 분석

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용

하여 자유 라디칼(free radical)인 DPPH 소거 활성을 분석하였다. 준비된 광향 추출물, 광향 발효물의 동결건조 분말을 99.9% Methanol에 용해하여 1% 농도의 실험 시료를 준비하고, 광향 E.O은 위 추출 방법으로 추출하여 사용하였다. DPPH(sigma-Aldrich Co., USA)를 99.9% Methanol을 이용해 0.1mM 농도로 희석하여 사용하였다. standard로 Ascorbic acid(sigma-Aldrich Co., USA)를 99.9% Methanol에 용해해 희석하여 사용하였다. Blank는 99.9% Methanol을 사용하였다. 각 시료 20ul를 0.1mM DPPH 용액 180ul을 혼합하여 최종 부피 200ul가 되도록 96 well plate에 분주하고 은박지로 96 well plate를 감싸서 37°C Incubator에 30분간 반응하고 분광 광도계(Multiskan GO, 51119200, Thermo)를 이용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다[1, 3, 19].

2.6. Tyrosinase 저해 활성 분석

Tyrosinase 저해 활성은 tyrosinase와 기질인 L-DOPA(sigma-Aldrich Co., USA)의 작용으로 생성되는 Dopachrome을 비색법을 이용해 정량하여 측정하였다. Mushroom tyrosinase(sigma-Aldrich Co., USA)를 10X PBS (pH 7.0) (Biosolution)으로 용해하여 2000units으로 제조하였다. L-DOPA(L-3,4-dihydroxyphenylalanine)도 10X PBS (pH 7.0)로 6mM 농도로 희석하여 사용하였다. 모든 시료와 Arbutin(sigma-Aldrich Co., USA), Ascorbic acid(sigma-Aldrich Co., USA)는 Pure water로 용해하였다. 37°C Incubator에서 20분간 반응시킨 후 96 Well plate에 200ul씩 분주하고 분광 광도계(Multiskan GO, 51119200, Thermo)를 이용하여 475nm에서 흡광도를 측정하였다[6, 21].

Tyrosinase inhibitory activity (%)

$$= \{1 - (C_{\text{absorbance } 475\text{nm}} - D_{\text{absorbance } 475\text{nm}} / A_{\text{absorbance } 475\text{nm}} - B_{\text{absorbance } 475\text{nm}})\} \times 100$$

A	시료를 첨가하지 않은 반응액의 흡광도 (Tyrosinase(50ul)+PBS(850ul)+L-DOPA(50ul))
B	Tyrosinase와 원충액만 혼합한 반응액의 흡광도 (Tyrosinase(50ul)+PBS(850ul))
C	시료를 첨가한 반응액의 흡광도 (Tyrosinase(50ul)+PBS(850ul)+Sample(50ul)+L-DOPA(50ul))
D	L-DOPA를 첨가하지 않은 반응액의 흡광도 (Tyrosinase(50ul)+PBS(850ul)+Sample(50ul))

2.7. 총 폴리페놀 함량 분석

Folin-Ciocalteu 방법을 이용하여 곽향의 샘플들의 폴리페놀 함량을 측정하였다. 모든 시료는 증류수로 용해하여 1% 농도로 사용하였다. Gallic acid(sigma-Aldrich Co., USA) 10mg을 증류수 10ml로 용해한 후 희석해준다. 2N Folin-Ciocalteu reagent(sigma-Aldrich Co., USA)를 증류수와 혼합하여 1N 농도로 만들어준다. 탄산나트륨(Na_2CO_3 , sigma-Aldrich Co., USA)과 증류수를 용해하여 10% 농도로 만들어준다. 각 시료를 20ul를 10% 탄산나트륨 80ul 혼합하고 6분간 실온에 반응시켜준다. 그리고 1N Folin-Ciocalteu reagent 100ul 혼합해주고 실온에서 1시간동안 반응시켜준다. 반응 시킨 후 96 Well plate에 200ul을 분주하고 분광 광도계(Multiskan GO, 51119200, Thermo)를 이용하여 765nm에서 흡광도를 측정 후 Gallic acid 농도 별 흡광도 값으로 검량선을 작성하였으며, 검량선으로부터 폴리페놀 함량을 구하였다. 함량은 mg/g으로 나타내었다[4, 9, 20].

2.8. 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Rutin hydrate(sigma-Aldrich Co., USA) 10mg을 70% EtOH 10ml로 용해한 후 희석해준다. 99.9% Methanol 용해시킨 시료 20ul와 99.9% Methanol로 용해시킨 10% aluminum nitrate(sigma-Aldrich Co., USA) 20ul, 1M Potassium acetate(YAKURI Pure chemical) 20ul를 혼합 후 총 부피가 1ml가 되도록 99.9% Methanol을 넣어주었다. 40분간 실온에서 반응시켜준다. 반응 시킨 후 96 Well plate에 200ul씩 분주하고 분광광도계(Multiskan GO, 51119200, Thermo)를 이용하여 415nm에서 흡광도를 측정 후 Rutin hydrate 농도 별 흡광도 값으로 검량선을 작성하였으며, 검량선으로부터 플라보노이드 함량

을 구하였다. 함량은 mg/g으로 나타내었다[4, 9, 20].

2.9. 항균력 실험 분석

곽향 샘플들의 실험 분석을 위해 *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* 4종의 균을 디스크 확산법을 이용하여 실험을 진행하였다. 4종의 균을 각각의 고체배지에 전체 도말을 해준 뒤에 Paper disc를 배지위에 올려주었다. Paper disc 위에 모든 시료 20ul를 넣어주었다. Positive control로 티트리 오일을 사용하였고, Negative control로 99.9% Methanol을 사용하였다. *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*는 30°C Incubator에서 *Escherichia coli*는 37°C Incubator에서 24시간을 배양해준다[10, 17].

2.10. HPLC를 이용한 폴리페놀 분석

곽향 샘플들의 폴리페놀 분석을 위해 HPLC를 이용하여 진행하였다. 모든 시료는 99.9% Methanol(HPLC Grade)로 용해하였다. 곽향 추출물, 발효물은 1000ppm으로 만들고, Essential oil과 Floral water은 10^{-1} 로 희석하여 샘플을 만들었다. 폴리페놀 표준물질 Gallic acid와 Rutin hydrate를 사용하여 실험을 진행하였으며, HPLC 분석조건은 Table 2 와 같다. 분석에 사용한 곽향 추출물, 발효물은 0.45um filter로 여과하여 사용하였다[5, 13].

2.11. 통계처리

모든 실험들은 동일한 조건에서 독립적으로 3회 반복하여 얻어진 실험 값들을 Excel(Microsoft Office)를 이용하여 평균과 표준편차를 계산하여 각 결과와 HPLC 결과는 Labsolutions(Shimadzu) 프로그램을 사용하여 Figure 상에 나타내었다.

Table 2. Condition of HPLC analysis for polyphenol

Instrument	LC-2050C (SHIMADZU, Japan)
Column	ACE 5 C18(150 X 4.6 mm)
Flow rate	0.7 mL / min
Injection Volume	10ul
Detector	UV Detector(280nm)
Column temperature	30°C
Mobile phase	0.1% Acetic acid in Methanol

3. 결과 및 고찰

3.1. DPPH 라디칼 소거 활성 분석

DPPH는 전자 또는 수소를 받아 항산화능이 높으면 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 커서 인체내에서 활성 라디칼에 의한 소거 작용으로 노화를 억제할 수 있다[16]. 곱향의 샘플들의 DPPH 라디칼 소거 활성 분석 결과 Fig. 1와 같다. Positive control인 VitC 100ppm, 50ppm, 25ppm, 12.5ppm, 0ppm(Blank)의 농도에서 라디칼 소거능이 $88.92 \pm 0.18\%$, $54.36 \pm 1.73\%$, $25.58 \pm 0.61\%$, $11.87 \pm 0.47\%$, 0% 일 때 H는 $87.16 \pm 0.27\%$, H(LP)는 $86.87 \pm 0.23\%$, H(SC)는 $86.36 \pm 0.25\%$, E는 $86.37 \pm 0.24\%$, E(LP)는 $86.91 \pm 0.19\%$, E(SC)는 $87.25 \pm 0.28\%$, Essential oil의 원액이 $88.30 \pm 0.75\%$, E.O는 0.1 농도에서 $76.18 \pm 0.63\%$ 로 나타났다. 곱향의 열수, 에탄올추출물과 이를 활용한 발효물의 DPPH 라디칼 소거능은 VitC 100ppm 농도와 비슷한 소거능을 보임을 알 수 있었다.

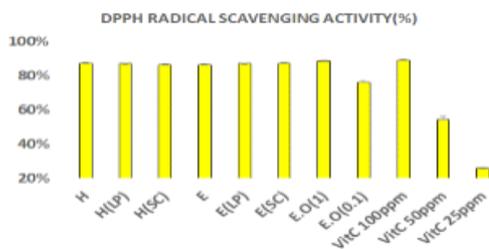


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *Agastachis herba* extract, fermented product, essential oil and standard (VitC).

3.2. Tyrosinase 저해 활성 분석

멜라닌의 체내 생성 과정은 매우 복잡적이기 때문에 멜라닌 함량을 감소시키거나 표피로 전달 되는 과정을 차단하기 위한 미백 효능 평가는 다양한 방법으로 연구되고 있다. Tyrosinase 활성 억제 효능 평가, tyrosinase glycosylation 억제 효능 평가, c-kit 저해 효능 평가 그리고 melanosome transfer 저해 효능 평가 등을 예로 들 수 있으며 그 중 tyrosinase 저해 활성 평가법은 L-tyrosine이 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)를 걸쳐 DOPA quinone으로 산화되는 과정의 전체 반응 속도를 결정하는 tyrosinase 효소의 효능을 억제

하는 정도를 측정하는 방법이기 때문에 이는 미백 활성을 평가하는데 매우 유용하다[21]. 곱향의 대표적인 물질로 알려진 Rosmarinic acid는 폴리페놀 화합물로 Tyrosinase 억제 활성 및 피부미백 효과가 보고되었다[2]. 곱향의 샘플들의 Tyrosinase 저해 활성 분석 결과 Fig. 2와 같다. Standard로 Arbutin 100ppm과 Vit C 1000ppm, 100ppm 농도로 사용하였다. 그 중에서 Vit C 1000ppm이 $32.89 \pm 0.41\%$ 로 가장 높은 Tyrosinase 저해 활성이 나타났다. Arbutin 100ppm과 Vit C 100ppm에서는 각각 $1.44 \pm 0.20\%$, $4.10 \pm 0.86\%$ 로 나타났다. 샘플 중에서 가장 높은 Tyrosinase 저해 활성이 나타난 것은 E.O 원액으로 $24.19 \pm 0.28\%$ 가 나타났다. 다음은 E(SC), E(LP)는 각각 $22.98 \pm 4.2\%$, $20.14 \pm 4.94\%$, $19.25 \pm 4.27\%$ 로 70% EtOH을 이용한 샘플들이 저해 활성이 높게 나타났다. 다음 H(SC), H(LP), H는 $17.46 \pm 3.88\%$, $14.58 \pm 3.92\%$, $13.12 \pm 3.59\%$ 로 나타났다. 그리고 E.O 10^{-1} 희석액은 $10.46 \pm 3.67\%$ 로 가장 샘플 중에 저해 활성이 낮게 나타났다. 결과를 보면 발효물들이 추출물보다 저해 활성이 대부분 높게 나온 것을 확인할 수가 있다. *Saccharomyces cerevisiae* 같은 경우는 저해율이 샘플 중에 가장 높았던 E.O 원액과 표준편차내에서 오일과 비슷한 저해율이 관찰되었다.

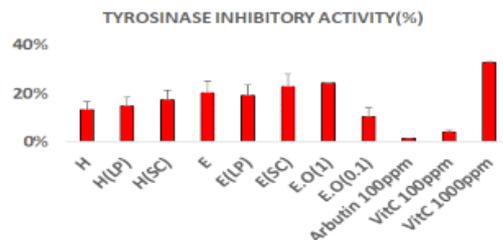


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity of *Agastachis herba* extract, fermented product, essential oil and standards(Arbutin, Vit C).

3.3. 총 폴리페놀 함량 분석

페놀산은 벤젠고리와 수산기(-OH)를 갖고, 대부분 자연에서 분리된 형태보다는 당, 아미노산, 지질 등과 에스테르 결합으로 연결되어 있다[20]. 총 폴리페놀 함량은 산화방지 능력을 기반으로 측정하는 방법으로 함량이 높을수록 항산화 능력이 우수하다는 것을 의미한다[2]. 곱향의 샘플들의 총 폴리페놀 함량 분석 결과 Fig. 3과 같다. Standard로

Gallic acid를 100ppm, 50ppm, 25ppm, 12.5ppm, 0ppm(Blank) 농도로 검량선 그래프를 작성하여 총 폴리페놀 함량 분석을 하였다. 함량 분석한 결과 E.O 원액에서 8417±3711mg/g으로 함량이 가장 높았고, 다음은 E(SC), E에서 6192±2689mg/g, 5124±2223mg/g으로 나타났다. 그리고 H(SC), E(LP), H, H(LP)는 각각 4933±2139mg/g, 4685±2033mg/g, 3770±1635mg/g, 3437±1490mg/g 순으로 함량이 나타났다. 가장 적은 함량을 가진 E.O 10⁻¹ 희석액은 410±214mg/g으로 나타났다. 샘플들을 비교했을 때 *Lactobacillus plantarum*로 발효한 샘플들은 추출물보다 총 폴리페놀 함량이 낮아진 것을 확인할 수 있었고, *Saccharomyces cerevisiae*로 발효한 샘플들은 추출물보다 총 폴리페놀 함량이 높아진 것을 확인할 수 있었다.

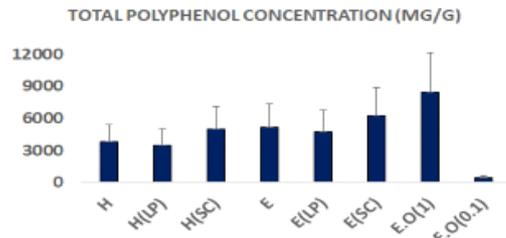


Fig. 3. Total polyphenol concentration of Agastachis herba extract, fermented product, essential oil.

3.4. 총 플라보노이드 함량 분석

플라보노이드는 식물에서 합성되는 폴리페놀류 물질 중 하나로 산화 스트레스 경감 활성 산소를 제거하여 항염증, 항바이러스, 항암효과가 있다고 알려져 있다[18]. 담황색이나 노란색을 띠고, 방 향족 2개와 탄소 3개로 구성된 C6-C3-C6의 기본 구조 화합물로 결합하는 다양한 hydroxyl기로 anthocyanidins, flavones, flavanones, flavonols, isoflavonoids, catechins 등으로 분류된다[20]. 광 향의 샘플들의 총 플라보노이드 함량 분석 결과 Fig. 4와 같다. Standard로 Rutin hydrate를 100ppm, 50ppm, 25ppm, 12.5ppm, 0ppm(Blank) 농도로 검량선 그래프를 작성하여 총 플라보노이드 함량 분석을 하였다. 함량 분석한 결과 E에서 494.72±34.04mg/g으로 함량이 가장 높았고, 다음은 E(SC)와 E(LP)에서 300.11±23.17mg/g, 294.28±26.54mg/g으로 큰 차이는 없었다. 그리고 H(SC), H, H(LP)는 183.44±9.02mg/g, 172.36±

6.23mg/g, 158.02±18.16mg/g으로 H(SC)가 플라보노이드 함량이 더 증가 했다는 것을 알수 있었다. E.O 원액과 E.O 10⁻¹ 희석액에서는 120.54±12.87mg/g, 92.26±3.35mg/g으로 다른 추출물과 발효물보다는 낮은 플라보노이드 함량이 나왔다.

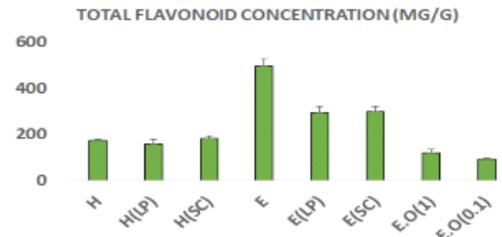


Fig. 4. Total flavonoid concentration of Agastachis herba extract, fermented product, essential oil.

3.5. 항균력 실험 분석

Staphylococcus aureus, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* 4종의 균을 이용하여 광향의 샘플들의 항균력 실험 분석 결과 아래 Fig. 5와 같다. 추출물과 발효물에서는 항균력이 관찰되지 않았다. 하지만 Positive control인 Tea tree oil과 비교하였을 때 E.O에서 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*에 대해서 항균력이 관찰되었다. *Pseudomonas aeruginosa* 균주는 Positive control인 Tea tree oil 과 E.O 둘 다 항균력이 잘 관찰되지 않았다.

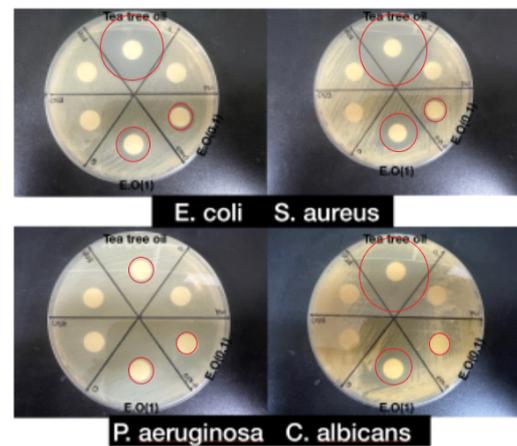


Fig. 5. Antimicrobial test results of Agastachis herba essential oil and tea tree oil (Positive control).

3.6. HPLC를 이용한 폴리페놀 분석

페놀성 물질은 다양한 생물에서 발견되는 물질로 공통으로 전자를 받아들여려는 성질을 가져 활성산소 등의 전자를 흡수하여 라디칼 활성을 소거한다고 알려져 있다[16]. Standard로 Gallic acid과 Rutin hydrate 100ppm의 농도를 사용하여 Chromatogram을 확인하였다. Standard의 HPLC 결과는 아래 Fig. 6와 같다. 광항의 샘플들의 HPLC 결과는 Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9와 같다. Standard인 Gallic acid와 Rutin hydrate의 Retention time과 Peak를 기준으로 추출물, 발효물, E.O의 Retention time과 Peak를 비교하였다. 아래 Table 3는 모든 샘플과 Standard의 Retention time을 나타냈다. Standard와 모든 샘플의 Retention time을 비교했을 때 Standard와 추출물과 발효물은 거의 시간과 Peak가 일치했고, E.O는 Peak는 일치했지만 시간이 약 0.1min 정도의 약간의 차이가 났다. 그 이유는 이동상을 0.1% acetic acid in methanol을 사용하였고, Standard와 추출물, 발효물은 고체상태인 동결건조물을 99.9% methanol에 녹였기 때문에 같은 결과가 나올 수 있었고 액체상태인 E.O는 99.9% methanol에 희석해서 사용했다. 그래서 Standard와 샘플들의 성상 차이로 약간의 시간 차이가 있는 걸로 보였다. 총체적으로 모든 샘플 내에 폴리페놀을 함유하고 있다는 것을 HPLC 분석을 통해 확인할 수 있었다.

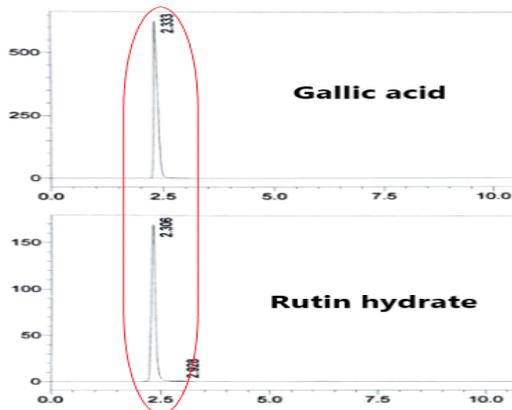


Fig. 6. HPLC chromatogram of standard compounds Gallic acid and Rutin hydrate.

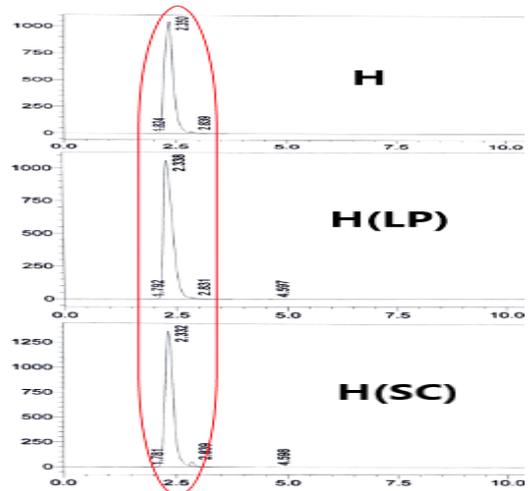


Fig. 7. HPLC chromatogram of *Agastachis herba* hot water extract and fermented product.

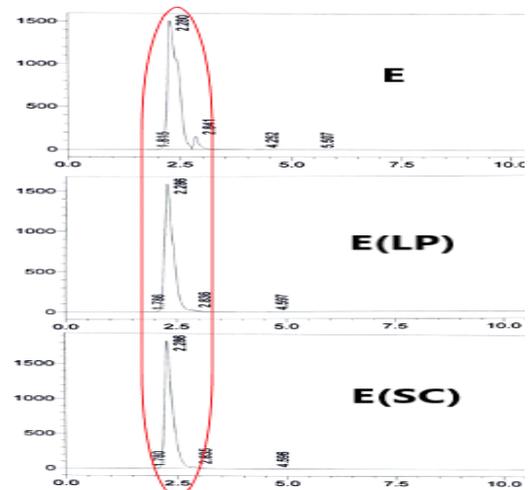


Fig. 8. HPLC chromatogram of *Agastachis herba* 70% EtOH extract and fermented product.

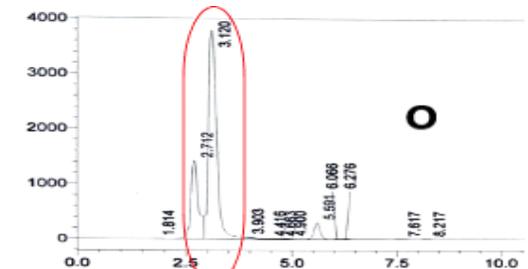


Fig. 9. HPLC chromatogram of *Agastachis herba* essential oil.

Table 3. Average retention time of Agastachis herba extract, fermented product, essential oil, Floral water and Gallic acid, Rutin hydrate

Name	Average retention time (min)
O	3.085±0.101
H	2.352±0.002
H(LP)	2.345±0.006
H(SC)	2.342±0.010
E	2.287±0.007
E(LP)	2.287±0
E(SC)	2.286±0
Gallic acid	2.340±0.011
Rutin hydrate	2.307±0.008

4. 결론

한국에서는 곱향을 향염, 소화불량, 건위, 구토, 진통, 복통, 감기 등의 치료를 위한 한약재로 많이 사용하지만 유럽에서는 허브로 많이 사용한다고 알려져있다. 그래서 치료목적이 아닌 곱향의 추출물과 발효물을 화장품소재로서 생리활성연구를 진행하였다[2].

본 연구에서 곱향을 열수와 70% EtOH 추출하여 추출물을 만들었고, 각각의 추출물로 유산균의 한 종류인 *Lactobacillus plantarum*과 효모의 한 종류인 *Saccharomyces cerevisiae*을 발효하여 발효물을 만들었다. 그리고 정유추출기를 이용하여 E.O를 얻어 얻은 샘플들로 기능성을 비교하기 위하여 항산화 실험인 DPPH 라디칼 소거 활성 실험과 미백 실험인 Tyrosinase 활성 저해 실험, 폴리페놀과 플라보노이드의 함량 측정 실험, 항균력 실험, 마지막으로 HPLC를 이용한 폴리페놀 확인 실험을 진행하였다.

곱향의 각 샘플들로 DPPH 라디칼 소거 활성을 평가한 결과 VitC 100ppm일 때 88.92%로 모든 샘플들이 86%가 넘어 높은 항산화 효과가 있었다. Tyrosinase 활성 저해율을 확인한 결과 VitC 1000ppm일 때 32.89%로 가장 높은 Tyrosinase 활성 저해율은 24.19%로 E.O이다. 다른 샘플들도 Tyrosinase 활성 저해율이 낮은 건 아니지만 데이터를 보면 추출물보다 발효물에서 더 좋은 활성 저해율이 나왔다는 것을 확인 할 수 있었다. 폴리페놀

과 플라보노이드 함량 측정 결과 폴리페놀은 E.O가 8417mg/g으로 가장 많은 함량을 가지고 있었다. 다른 샘플들도 함량이 낮은 수치는 아니지만 E와 E(LP), E(SC)에서 폴리페놀 함량이 높았다. 또 *Saccharomyces cerevisiae*로 발효한 샘플들 모두 폴리페놀 함량이 높아진 것을 확인 할 수 있었다. 플라보노이드는 E가 494.72mg/g으로 가장 많은 함량을 가지고 있었다. 대체적으로 데이터를 보면 플라보노이드는 E와 E(LP), E(SC)에서 높은 플라보노이드 함량을 확인 할 수 있었다. 그리고 항균력을 평가한 결과 Positive control인 Tea tree oil과 샘플들을 비교했을 때 E.O에서만 *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* 4종의 균에 항균력이 관찰되었다. 마지막으로 HPLC로 폴리페놀을 확인한 결과 Retention time이 2.2~3.2 min 사이 모든 샘플에서 폴리페놀이 관찰되었다. 모든 곱향의 샘플들의 기능성을 비교해 본 결과 E.O가 플라보노이드를 제외하고 모든 면에서 가장 뛰어났다.

이번 연구를 통해서 곱향이 한약재 뿐만 아니라 기능성이 좋은 화장품소재로 확인되었다고 판단된다. 곱향의 많은 효능으로 여러 종류의 화장품소재로 활용 가능성이 높다. E.O를 화장품소재로 사용하면 좋겠지만 추출하는 시간도 길고, 추출되는 양이 매우 소량이기 때문에 어떤 제품에 곱향을 사용할 때 E(SC)를 사용하는 것이 추출물보다 항산화, 미백 등의 기능성을 더 높여주고, 경제적인면에서 가장 좋을 것으로 보인다.

감사의 글

본 과제(결과물)는 교육부와 한국연구재단의 재원으로 지원을 받아 수행된 3단계 산학연협력 선도대학 육성사업(LINC3.0)의 연구결과의 일부입니다.

References

1. H. S. Jo, S. M. Hong "Enhancement of the Antibacterial and Antioxidative Capacities of *Glehnia littoralis* Extracts through Lactic Acid Bacteria Fermentatio", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.24, No.2, pp. 83-91, (2023).
2. J. W. Kim, J. H. Hong "Antioxidant Activity, Skin Whitening, and Anti-Wrinkle Effects of Various *Agastache rugosa* Fractions", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.50, No.7 pp. 679-691, (2021).
3. J. R. Kang, D. S. Oh, J. H. Kim, K. H. Han, X. X. Huang "A Study of Physiological Activities for Cosmeceutical Ingredient from Fermented *Aroniamelanocarpa* Extract", *Journal of Convergence for Information Technology*, Vol.10, No.1, pp. 243-250, (2020).
4. S. S. Kim, H. C. Cha "Comparison of the Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activities of Four Kinds of Sand Dune Plants Living in Taean", *Korea, Korean J. Plant Res*, Vol.30, No.1, pp. 8-16. (2017).
5. N. I. Kim, S. H. Yang, J. H. Shin, M. H. Choi D. S. Oh "Evaluation of Bioactivity of *Castanopsis cuspidata* var. *sieboldii* Leaves Extract and Isolation of Polyphenolic Compounds", *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal*, Vol.37, No.2, pp. 64-70, (2022).
6. K. H. Han, J. R. Kang, D. S. Oh, J. H. Kim "Fermented *Aroniamelanocarpa* Extract manufacturing method and cosmetic composition using it", 10-2017-0183784, Korea, (2017).
7. M. W. Han, C. K. Park, C. S. Park, H. J. Ahn, J. B. Seo, Y. J. Lee "Studies on Quality Control of Domestic *Agastachis Herba*", *Kor. J. Herbol*, Vol.34, No.2, pp. 67-74, (2019).
8. N. Y. Kim, H. J. Kim, J. H. Lee, E. K. Lee, O. H. Kang, D. Y. Kwon, H. S. So, K. N. Lee, M. S. Chong "Comparison of the Anti-inflammatory Effects of Water Fermented and Ethanol Fermented Extracts from *Rhei Radix et Rhizoma*", *Korean J. Oriental Physiology & Pathology*, Vol.25, No.2, pp. 227-233, (2011).
9. E. S. Seong, S. K. Kim, J. W. Lee, S. H. Choi, J. H. Yoo, J. D. Lim, J. K. Na, C. Y. Yu "Antioxidant and Antibacterial Activities of the Byproducts of *Abies holophylla* Extract", *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, Vol.26, No.2, pp. 134-140, (2018).
10. Y. J. Park "Antibacterial and Active ingredients of *Lithospermum erythrorhizon*, *Agastache rugosa* and *Cinnamomum cassia* complex extracts", Doctoral dissertation, Semyung University, Jecheon, (2022).
11. H. J. Heo, H. R. Shin, J. W. Chung, J. S. Lee "Comparison of Antioxidant Activities in *Agastache* Species", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.51, No.4, pp. 389-394, (2022).
12. H. M. Son "Study of Anti-inflammatory Activity of Fermented *Agastache rugosa* Extracts Using Lactic acid Bacteria", Masteral dissertation, Kyunghee University, Seoul, (2014).
13. H. K. Kim, Y. A. Kim, J. M. Chun, B. S. Ko "Pattern analysis of *Agastachis Herba* and *Pogostemonis Herba*", *Kor. J. Pharmacogn.*, Vol.34, No.4, pp. 274-277, (2003).
14. J. H. Kim "Effects of Korean Fragrant Plant *Agastache rugosa* (Fisch. & C.A.Mey.) Kuntze on Human Brain Psychophysiology", Doctoral dissertation, Kangwon University, Kangwon, (2021).

15. M. J. Hong, J. H. Kim, H. Y. Kim, M. J. Kim, S. M. Kim “Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oil of *Agastache rugosa* (Fisch. & C. A. Mey.) O. Kuntz”, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, Vol.28, No.2, 95-110, (2020).
16. Y. J. Cho, S. H. Kim, J. Y. Choi, J. B. Lee “Antioxidative and Anti-pollutant Activity of *Papaver rhoeas* Extract”, *Journal of Next-generation Convergence Technology Association*, Vol.7, No.7, pp. 1106-1115, (2023).
17. J. Y. Lee, T. H. Park, S. H. Park, S. A. Yang, K. H. Jhee “The Antimicrobial Activity of Fermented Extracts from Korean *Dendropanax morbifera*”, *Journal of Life Science*, Vol.29, No.1, 29-36, (2019).
18. S. Y. Park, K. Y. Hyun “Effect of Natural Substance Extracts on Hair Growth according to Antioxidant Effect”, *Journal of Next-generation Convergence Technology Association*, Vol.6, No.3, pp. 433-444, (2022).
19. Y. S. Kim, S. H. You “A Study on the Evaluation of Cosmetic Stability of Broccoli Extracts”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 40, No.5, 1065-1071, (2023).
20. H. G. Lee, J. G. Ji “Evaluation of Anti-inflammatory and Antioxidant Abilities of Complex Extracts Produced from *Leonurus japonicus* Houtt., *Houttuynia cordata* Thunberg, and *Citrus unshiu* Markovich”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 40, No. 1, 35-47, (2023).
21. S. Y. Kim, M. H. Lee, S. N. Park “Evaluations of Antioxidative Activity and Whitening Effect of Extracts from Different Parts of *Cosmos bipinnatus*”, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol. 27, No. 4, 559-567, (2010).