

## 항균제에 의한 기저귀 발진을 일으키는 *Candida albicans* 억제 효과

박준호 · 조옥기\* · 윤병호 · 이명구

(2001년 7월 13일 접수; 2001년 8월 20일 채택)

### The Effect of Antibacterial Agent for *Candida albicans* Inhibition of Diaper Rash

Jun-Ho Park, Wook-Kee Jho\*, Byoung-Ho Yoon, and Myoung-ku Lee

(Received on July 13, 2001; Accepted on August 20, 2001)

#### ABSTRACT

Diaper rash is found on the skin inside of baby's diaper area. Most diaper rashes are caused by prolonged contact with the moisture, germs, and ammonia of the stool and urine. Some diaper rashes are caused by fungi infection such as *Candida albicans* and *Preteus vulgaris*.

In this study, *Candida albicans* was used as a test microorganism and experiment was carried out to inhibit diaper rash. Handsheets were treated with chitosan oligosaccharide, bamboo extractives, as well as mixture of monolaurin as an emulsifier and bamboo extractives. Both shake flask method and halo test were applied in order to examine the antimicrobial activity of each sample. It was found from both results of the halo test and shake flask method that handsheets treated with chitosan oligosaccharide or bamboo extractives showed antimicrobial property. In the treatment of bamboo extractives without emulsifier, no distinct difference in antimicrobial effect was found between bamboo branch and bamboo leaves extractives. In case of mixture of bamboo extractives and emulsifier, the result also suggested that bamboo branch showed better synergistic effect than bamboo leaves.

Both chitosan oligosaccharide and bamboo extractive can be used as antifungal agents against *Candida albicans* for making diaper.

**Keywords:** Diaper rash, *Candida albicans*, Microorganism, Chitosan oligosaccharide, Bamboo extractives, Monolaurin, Antimicrobial, Halo test, Shake flask method, Antifungal

---

• 강원대학교 산림과학대학 제지공학과(Dept. of Paper Science & Engineering, College of Forest Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea).

\* 주식회사 템네스트(Temnest Inc.) 연구소장

## 1. 서론

항균기능 부여는 미생물의 서식이나 증식을 억제하여 전염성 질환예방, 약취예방, 섬유오염, 변색, 취화 방지 등을 목적으로 소위 抗菌가공, 防菌가공, 防臭가공, 防黴가공, 防腐가공이라 불리워지는 것이며 이를 총칭하여 抗菌防臭 가공이라고 한다. 이와 같은 기능을 부여하는 항균제는 무기 항균제, 유기 항균제, 천연 항균제 등 크게 세 가지로 분류된다. 무기 항균제는 항균력 지속성이 우수하고 독성이 적으나 가격이 비싸고 필요 첨가량도 많으며 금속이온에 의한 변색을 유발하기도 한다.<sup>1)</sup> 유기 항균제는 가공이 용이하며 기계적 물성에 영향을 미치지 않고 필요 첨가량이 낮다는 장점이 있으나 항균력의 지속성과 인체 안전성 등의 검증이 필요하다. 이에 비하여 천연계 항균제는 자연의 생물체로부터 추출하여 얻는 항균제로서 인체 안정성은 높지만 상업적인 생산과 생산 원가 적용을 위해서는 여전히 문제점을 지니고 있다.

항균제의 사용의 기원은 4000년 전 이집트인들이 미라를 싼 직물을 보호하기 위하여 여러 종류의 약용식물을 사용하여 세균과 곰팡이에 대한 저항성을 부여하는 것을 시작으로 여러 가지 방법이 시도되었다.

대나무과의 미세섬유와 혼합 초지하여 항균성을 부여하거나 glutar-aldehyde를 사용하여 종이에 항균성을 부여하는 방법이 연구되었지만 유해성 때문에 실용화에 실패하였다. 최근에는 천연 고분자 물질인 키토산을 사용하여 항균성을 부여하는 연구가 활발히 진행되고 있다.<sup>2)</sup>

항균성을 부여한 종이 재료는 각종 위생재료와 포장재료, 의료 등에 응용되고 있다.

제지산업에서도 종이의 표면에 살균제를 도포하거나 키토산<sup>3)</sup> 또는 항균작용을 가진 금속이온을 항균제로 사용하는 등 차별화와 고부가가치화 제품 개발에 주력하고 있다.

항균 방취가공은 확실한 항균효과와 위생효과가 커야 하고, 인체 생리 기능에 영향이 없으면서 처리 재료에 손상을 주지 않아야 하며 처리방법이 간단하여 가공비가 저렴한 조건 등을 갖추어야 한다.

본 실험은 항균제 처리를 하여 기저귀 발진을 억제시키기 위한 것이다. 기저귀 발진은 일회용 기저귀가 사용되기 시작하면서 피부와 접촉에 의해 생기는 알레르기로서 소변을 분해하여 암모니아를 발생시키는 요소분해균(*Proteus Vulgaris*) 또는 진균인 *Candida albicans*<sup>3-5)</sup>(이하 *C. albicans*로 표기)에 의해 발생하는 것으로 알려져 있다.

본 실험에서는 *C. albicans*에 의해 발생하는 피부 발진을 억제하는 방법으로 인체에 대한 안전성이 높고, 그 자체도 항균활성이 있으며 착색과 異臭가 없는 키토산과 전통적인 의약품으로 해열성, 지열성, 해독성의 기능<sup>6)</sup>이 있다고 알려진 대나무 추출물을 *C. albicans*에 적용하여 항균효과를 비교하였다.<sup>7,8)</sup>

대나무 추출물의 경우는 잎과 가지를 사용하기 때문에 죽제품 생산과정에서 발생하는 폐기물의 자원 재활용 면에서 또한 중대한 의미를 지니고 있다.

## 2. 재료 및 방법

본 실험에서는 천연계 항균제인 1) 키토산, 2) 대나무 추출물, 3) 유화제, 4) 대나무 추출물과 유화제와 혼합액 등을 일정한 농도의 용액으로 조제한 후 수초지를 15분 간 함침 처리하여 halo test와 shake flask method에 의하여 항균력을 비교 평가하였다.

### 2.1 공시재료

공시균 : *Candida albicans*(ATCC 10231)  
 항균제 : Chitosan oligosaccharide(DP 4-7,  
 (주)키토라이프)  
 대나무(단양 소재) 추출물(잎, 가지)  
 유화제 : Monolaurin(Sigma)

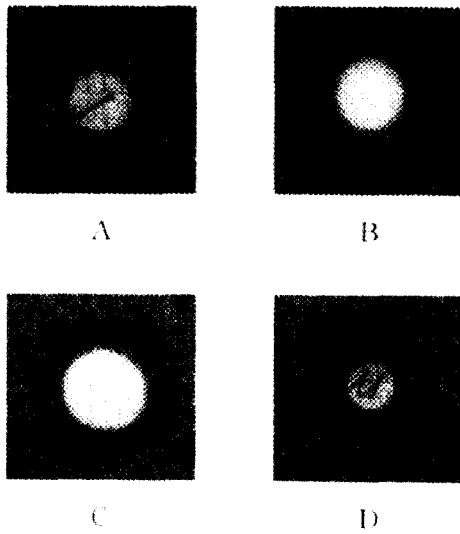
### 2.2 실험방법

#### 2.2.1 항균제 제조

대나무 가지와 잎을 율리 밀을 이용하여 미세하게 분쇄하였다. 분쇄한 가지 500 g에 에테르 2,000 ml를 넣고 속실렛 추출기를 사용하여 가열 환류하여 추출하였고, 잎은 500 g에 메탄올 2,500 ml를 첨가하여 상온에서 10일 간 방치하여 추출한 후 감압 건조하였다. 항균제로 사용되는 추출물의 농도는 0.1%, 0.5%, 1.0%로 제조하였다. 유화제와 혼합하여 사용한 경우는 추출물과 유화제의 혼합비를 1:4로 하였다.

#### 2.2.2 수초지 제조

TAPPI T 205 om-88에 의거하여 C.S.F. 400 ml 인 LBKP로 평량 60 g/m<sup>2</sup>인 수초지를 제조하였다.



**Fig. 1. Halo test of antifungal agents.**  
**A : 1% Chitosan oligosaccharide**  
**B : 1% Bamboo leaves**  
**C : 1% Bamboo branches**  
**D : 1% Monolaurin**

### 2.2.3 항균지 제조

일정 농도로 제조된 항균액에 제조한 수초지를 15 분 간 함침한 후 105℃에서 5분 간 건조하여 제조하였다.

### 2.2.4 항균성 테스트

#### 2.2.4.1 Halo test

일정량의 potato dextrose agar를 용해시켜 121℃에서 autoclave 한 후 냉각시켜 공시균(*C. albicans*)을 넣어 잘 섞은 후 petri dish에 분주하여 배지를 만든다. 살균된 핀셋으로 항균처리된 시료와 무처리 대조시료를 배지 위에 올려 놓는다. 30℃에서 24시간 배양하여 균저지대(clear zone)을 확인한다.

#### 2.2.4.2 Shake flask method

Shake flask method는 항균성을 정량적으로 분석하는 방법으로 일정량의 생균수를 적용하여 항균성 물질에 의해 생균수의 감소를 측정하는 방법이다.

300 ml의 삼각 플라스크에 인산 완충액 70 ml를 넣고 멸균하여 항균 처리한 시료 0.75±0.05 g과 공시균(*C. albicans*) 5 ml를 첨가하여 27℃, 120 rpm에서 1시간, 24시간 진탕시킨다. 진탕 전후의 *C. albi-*

*cans*의 진균수를 haemocytometer로 측정하였다.

$$\text{균감소율(\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A : 진탕 전 진균수/ml, B : 진탕 후 진균수/ml

## 3. 결과 및 고찰

Halo test로 항균력의 유무를 관찰할 수는 있으나 정량적인 방법이라 할 수 없으며 사용하는 항균제의 종류나 상태에 따라서 적합한 방법을 선택하여 사용해야 한다. 아직 종이의 항균력 평가법은 특별히 규정된 바가 없으므로 섬유용의 항균력 평가방법에 준하여 실시하고, 사용하는 항균제가 용출형인 경우 halo test로 정성적인 결과를 확인할 수 있으며 비용출형인 경우는 shake flask method를 사용하여 정량적인 평가를 할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 halo test로서 항균력의 유무를 확인하였으며 보다 정확한 항균제들의 항균력을 알아보기 위하여 shake flask method를 사용하여 균 감소와 그 증가율을 살펴보았다.

### 3.1 Halo test에 의한 항균효과

Halo test는 정성적인 방법으로 불침투성 필름 또는 공정상의 마지막 단계에서 불침투성 물질로 가공 처리하거나 coating된 필름인 경우와 직물에 가공된 항균제가 한천에 의해 쉽게 분산 침투되지 않는 것에는 적용할 수 없다. 그러므로 halo test에서 clear zone이 형성되지 않는다고 항균성이 없다고 말할 수 없다.

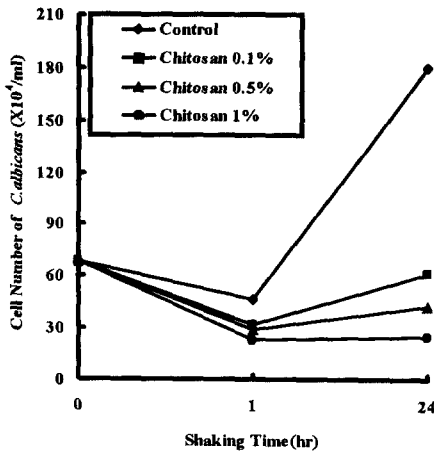
Fig. 1은 키토산 올리고당, 대나무 추출물, 유화제의 halo test 결과이다. 키토산 올리고당의 경우 1% 이하 농도에서는 clear zone이 나타나지 않았으나, 대나무의 잎과 가지 추출물의 경우는 1%에서 clear zone이 형성되지만 그 정도가 미약하였다. 유화제의 경우는 1%에서 clear zone이 명확하게 형성됨을 알 수 있었다.

이와 같이 halo test의 결과에 의하여 항균제로 적용 가능성을 확인하였다.

### 3.2 Shake flask method에 의한 항균 효과

#### 3.2.1 키토산 올리고당

Fig. 2는 키토산 올리고당을 항균제로 사용하여 농



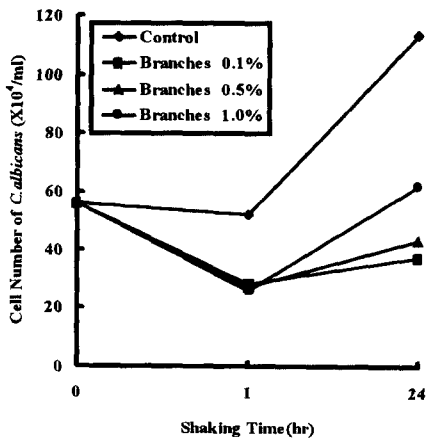
**Fig. 2. Growth-inhibition effect of Chitosan Oligosaccharide.**

도를 0.1%, 0.5%, 1%로 각각 변화시켜 27°C, 120 rpm에서 1시간, 24시간 진탕시킨 후의 *C. albicans* cell 수의 변화를 나타낸 것이다.

진탕 후 1시간을 비교하였을 때 키토산 올리고당 1% 용액으로 제조한 항균지에서 가장 항균력이 우수한 것으로 나타났으며 24시간이 경과한 후에도 1시간에 비하여 조금 증가하기는 하였으나 거의 변화가 없었다. 항균력을 비교해 보면 1% > 0.5% > 0.1% 순서로 농도가 높을수록 그 항균력도 우수한 것으로 나타났다.

**3.2.2 대나무 추출물**

Figs. 3과 4는 대나무 잎과 가지 추출물을 항균제



**Fig. 3. Growth-inhibition effect of bamboo branches extracts.**

로 농도를 0.1%, 0.5%, 1%로 각각 달리하여 27°C, 120 rpm으로 1시간, 24시간 진탕시킨 후의 *C. albicans* cell 수의 변화를 나타낸 것이다.

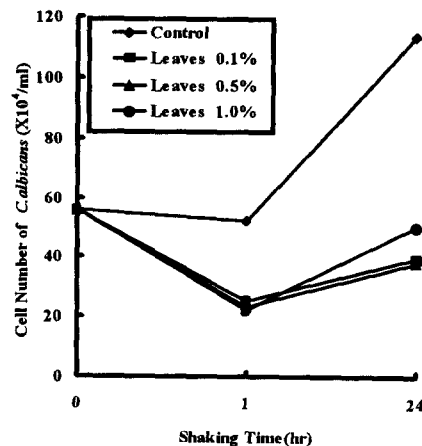
1시간 진탕 후의 균감소율은 대나무 가지와 잎 추출물이 비슷한 경향을 보였으나 24시간 진탕 후에는 0.1% 농도에서 대나무 가지와 잎 모두 1%보다 cell 증가율이 적었다. 가지와 잎이 저농도에서 *C. albicans* cell 수의 증가율이 적은 것은 수초지에 함침된 항균제의 양과 관계가 있는 것으로 사료된다. 0.1% 농도에서는 대나무 잎과 가지 추출물이 각각 수초지 중량에 대하여 0.04%, 0.11% 함침되어 있으며 1% 농도에서는 1.29%, 3.93% 함침되어 있다. 따라서 함침량이 수초지 중량에 대하여 1% 미만일 경우가 우수한 것으로 사료된다. 또한 1% 농도의 대나무 잎과 가지 추출물은 약간의 착색을 일으키므로 1% 농도보다는 착색도 없고 항균력도 우수한 0.1% 농도의 항균제가 사용하기에 적합하다고 사료된다.

**3.2.3 대나무 추출물과 유화제의 혼합물**

Figs. 5와 6은 대나무 가지와 잎의 추출물을 유화제와 함께 혼합하여 각각 0.1%, 0.5%, 1% 농도로 27°C, 120 rpm으로 1시간, 24시간 진탕시킨 후의 *C. albicans* cell 수의 변화를 나타낸 것이다.

0.1%, 1% 농도 모두 대나무 가지 추출물과 유화제를 혼합했을 때 대나무 잎 추출물과 혼합한 것보다 효과가 좋은 것으로 나타났다.

또한 시간 변화에 따른 *C. albicans* cell 수의 변화를 고려할 때 대나무 가지 추출물 1%에서 그 항균 지



**Fig. 4. Growth-inhibition effect of bamboo leaves extracts.**

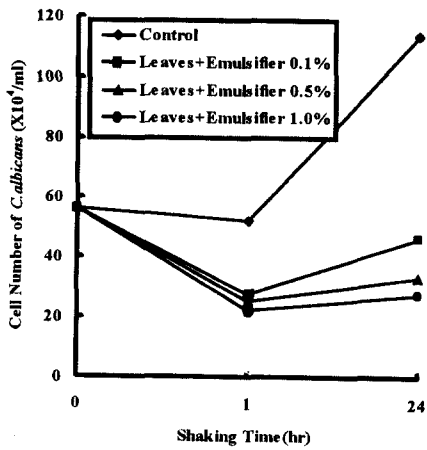


Fig. 5. Growth-inhibition effect of mixture of emulsifier and bamboo leaves extractives.

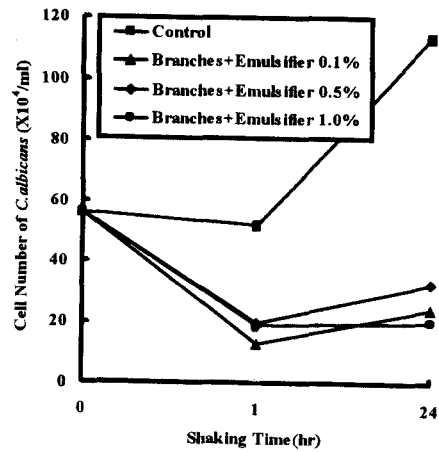


Fig. 6. Growth-inhibition effect of mixture of emulsifier and bamboo branches extractives.

속성이 우수함을 알 수 있었다.

Figs. 7과 8은 대나무 가지, 대나무 잎, 유화제, 대나무 가지와 유화제 혼합, 대나무 잎 추출물과 유화제를 혼합한 항균제의 항균력을 비교하기 위하여 나타낸 것으로 0.1%, 0.5%, 1% 농도로 용액을 제조한 후 수초지를 항균제 용액에 15분 간 침침 처리하였다.

대나무 잎 추출물은 동일한 농도에서 유화제나 유화제와 혼합 사용한 것보다 항균력이 약한 것으로 관찰되었다. 또한 유화제를 대나무 잎 추출물과 혼합 사용한 경우도 유화제 단독으로 사용된 때와 큰 차이가 없는 것으로 나타나 대나무 잎 추출물이 유화제와 혼합

사용할 경우 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 사료된다. 따라서 대나무 잎 추출물과 유화제의 혼합으로 나타나는 상승효과는 유화제에 의한 것으로 생각된다.

반면, 대나무 가지 추출물을 유화제, 유화제와 혼합 사용하여 비교한 경우, 대나무 가지 추출물보다 유화제를 사용하였을 때 더 높은 항균력을 나타냈으며, 유화제와 혼합 사용했을 때 매우 높은 항균력을 나타냈다.

이것은 대나무 가지 추출물 자체의 약한 항균이 유화제와 반응하여 상승효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다. 따라서 유화제인 monolaurin은 대나무 잎 추출

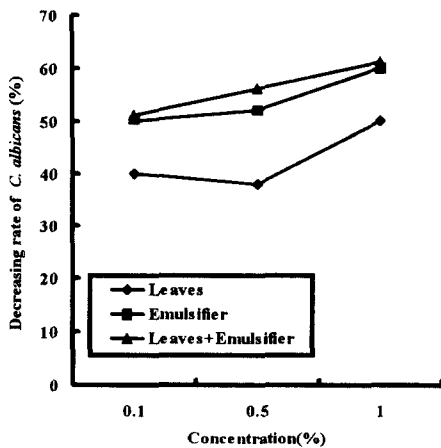


Fig. 7. Difference in decreasing rate of *C. albicans* at different antifungal treatment conditions.

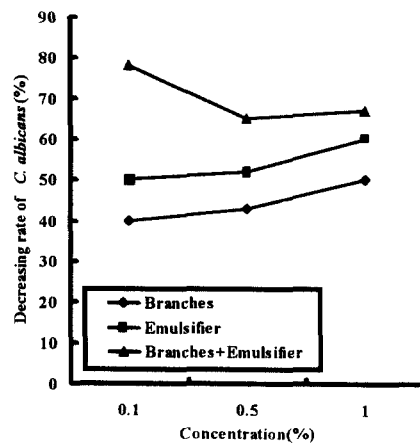


Fig. 8. Difference in decreasing rate of *C. albicans* at different antifungal treatment conditions.

물보다는 가지 추출물과 혼합 사용할 때 그 상승효과를 크게 얻을 수 있는 것으로 밝혀졌다.

#### 4. 결 론

1. 천연항균제인 키토산 올리고당과 대나무 추출물 모두 halo test와 shake flask method로 항균성을 나타냄을 알 수 있었다.
2. 대나무 잎과 가지 추출물 자체의 항균효과는 크게 차이가 없으나, 유화제와 혼합 사용하였을 경우 대나무 가지가 잎보다 더 큰 상승효과가 있음을 알 수 있었다.
3. 항균제를 사용한 특수지가 기저귀 발진의 원인인 *C. albicans*의 억제 효과가 있으므로 발진 예방용 기저귀 생산에 적용 가능성을 확인할 수 있었다.

#### 인 용 문 헌

1. Myoung-ku Lee, Doeg Hwan Oh, Sang Myoung Lee, Manufacture of Antimicrobial Paper for Food Products. Proceedings of recent advances in paper science and technology (Pre-symposium of the 10<sup>th</sup> ISWPC), 217-220 (1999).
2. 市川 賢治, JP 特開平 10-231201.
3. 光山 秀男, JP 特開平 8-268821.
4. Muzzarelli, R. A. A., In Chitin, Pergamon Press, Oxford, p. 1 (1977).
5. 임성균, 피부 캔디다증의 임상 및 진균학적 고찰, 고려대학교 석사학위논문 (1984).
6. 仁科 淳良, JP 特開平 4-248978.
7. Davise H. Larone., Medically important Fungi - A Guide to Identification, p. 54 (1993).
8. Chunying Chen, Yuqiang Ding, Study on the isolation, purification and physicochemical properties of polysaccharides from indocalamus tessellatus, *Biomed. Chromatogr.* 13:11-14 (1999).
9. 仁科 淳良, JP 特開平 11-61697.