삼나무와 편백나무 정유의 미백 및 항산화 효능 평가*¹

김 선 홍*² · 이 수 연*² · 홍 창 영*² · 곽 기 섭*² · 여 환 명*^{2,3} · 이 전 제*^{2,3} · 최 인 규*^{2,3†}

Whitening and Antioxidant Activities of Essential Oils from *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa**¹

Seon-Hong Kim*² · Su-Yeon Lee*² · Chang-Young Hong*² · Ki-Seob Gwak*² ·
Hwanmyeong Yeo*^{2,3} · Jun-Jae Lee*^{2,3} · In-Gyu Choi*^{2,3†}

요 약

본 연구는 삼나무와 편백나무 정유의 tyrosinase 저해 활성과 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical 소거 활성, SOD (superoxide dismutase) 유사활성을 구명하여 정유의 미백 및 항산화 효능을 평가하였다. 본 연구를 통해 삼나무와 편백나무 정유의 미백 및 항산화 기능성 소재로 개발하기 위한 기초자료로 이용하고, 건조 중 발생하는 nVOCs의 부가적 가치를 확인하고자 하였다. 삼나무 및 편백나무 잎의 정유는 수증기 증류법으로 24시간 추출하였고, 목부는 고온 열처리기를 이용하여 80, 100, 120℃의 온도조건에서 열기 건조하여 건조 중 목부로부터 발생하는 부산물인 천연 휘발성 유기화합물(nVOCs, Natural Volatile Organic Compounds)을 응축액의 형태로 추출하였다. 삼나무 잎의 정유가 편백나무 잎의 정유 보다 미백 및 항산화 활성에서 모두 높은 효과를 나타내었고 건조 시 발생한 nVOCs는 온도가 올라갈수록 미백 활성이 높아지는 것을 확인할 수 있었으며 항산화 활성은 120℃에서 발생한 삼나무 nVOCs에서만 나타났다.

ABSTRACT

The study was to investigate whitening and antioxidation effects by determining the tyrosinase inhibition activity, DPPH radical scavenging and superoxide dismutase like activity of essential oils from *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*. The aim of the present study was to

*¹ 접수 2011년 4월 27일, 채택 2011년 5월 31일

*² 서울대학교 농업생명과학대학 산림과학부, Dept. of Forest Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, Seoul 151-921, Korea

*³ Research Institute for Agriculture & Life Sciences, College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University, 599 Gwanak-ro, Gwanak-gu, Seoul 151-921, Korea

† 교신저자(corresponding author) : 최인규(e-mail: cingyu@snu.ac.kr)

suggest preliminary data for research whitening and anti-oxidant effects material of *C. japonica* and *C. obtusa* essential oils and confirm supplementary worth of natural volatile organic compounds (nVOCs). Essential oils of *C. japonica* and *C. obtusa* leaves were extracted by steam distillation method of clevenger type, and nVOCs were extracted by high-temperature reactor for utilizing nVOCs condensates released during drying of *C. japonica* and *C. obtusa* at 80, 100, and 120°C temperature conditions, respectively. In the activity of whitening and antioxidation, *C. japonica* oil was more effective than *C. obtusa* oil. nVOCs of *C. japonica* and *C. obtusa* showed highly activity of tyrosinase inhibitory at higher temperature. Antioxidation activity only shown on nVOCs of *C. japonica* produced at 120°C.

Keywords: *Cryptomeria japonica*, *Chamaecyparis obtusa*, essential oil, whitening effect, anti-oxidative effect

1. 서 론

삶의 질이 향상되면서 인간의 기본적 욕구 이외에 윤택한 삶을 누리기 위한 부가적 욕구도 상승되었다. 특히 외적 요인이 중요한 조건으로 인식되면서 피부에 대한 관심도 증대되었다. 또한 최근 남성 뿐 아니라 여성의 직장 생활과 야외 활동이 활발해지면서 유해 자외선에 노출되는 시간이 증가하였다. 이로 인해 피부 홍반, 색소 침착, 피부암 유발 등 피부 건강에 위협을 가하고 있다. 또한 인체는 항상 산소와 자외선에 노출되어 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 유도되며 이로 인하여 산화적 스트레스를 받게 된다. 활성산소종 중 피부 광 손상의 중요한 인자인 O₂ 및 OH는 피부에 존재하는 항산화 물질의 파괴, 지질과산화반응의 개시, 단백질의 산화, DNA 산화, 결합조직 성분인 collagen과 elastin 및 hyaluronic acid 등의 결합사슬 절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌 생성촉진 등 피부의 노화를 가속화 한다(Fantone & Ward, 1982; Park, 2003). 피부조직에서 일어나는 노화현상은 체내 대사 작용, 환경오염물질 노출, 자외선의 노출, 각종 스트레스 등에 의하여 체내 free radical의 생성이 촉진되며 생성된 free radical은 체내 방어시스템인 항산화계 효소와 항산화 물질에 의하여 제거되지만 이러한 보호망이 점차 파괴되면서 잔존하는 free radical은 생체조직을 손상시킬 뿐만 아니라 노화를 촉진한

다. 그러므로 이들 활성산소들은 피부노화의 원인이 될 뿐만 아니라 각종 암 발병을 야기하며 염증이나 각종 성인병을 일으키는 요소로 작용한다(Sies, 2003). 그 결과 피부 미백 및 항산화에 대한 관심이 증대되고 있으며 이러한 욕구를 충족시키기 위해 다양한 관련 화합물들이 개발되고 있다. 기존의 미백 및 항산화제 성분은 비타민C, 비타민E, 카로티노이드(carotinoid), 플라보노이드(flavonoid), 셀레늄, 코엔자임Q 등이 있다. 최근에는 이러한 성분을 천연물에서 유래하여 개발하는 연구에 관심이 높아지면서 합성 원료를 대체할 적절한 미백 및 항산화 효과를 나타내는 물질을 탐색하는 데 노력을 기울이고 있다.

국내에 자생하는 수종 중 삼나무는 남부지방과 제주도에서 널리 분포되어 있는 수종으로 목재 산업에 다양한 용도로 사용되며 그 추출성분들이 항진균, 항박테리아 활성을 보인다는 연구도 진행된 바 있다(Cheng *et al.*, 2005; David & Minemura, 2000). 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 측백나무과에 속하는 상록교목으로 1970년대 산림녹화 사업으로 남부 지방에 식재되었으며 최근 측백나무로부터 발생한 피톤치드의 유용성이 알려지면서 휴양림 조성 등으로 인해 비교적 주위에서 쉽게 접할 수 있는 수목 자원이다. 이러한 삼나무와 편백나무의 정유에 대한 많은 이용 방안이 제시되었고, 그 중 항균, 항충 활성과 같은 생리활성에 높은 효과가 있음이 밝혀졌다(Cheng *et al.*, 2007; Kofujita *et al.*, 2001; Matsu-

shita *et al.*, 2006). 그러나 정유의 tyrosinase 억제 효과와 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical 소거활성, SOD (superoxide dismutase) 유사활성과 같은 미백 및 항산화 효과에 대한 연구들이 진행되고 있으나 삼나무와 편백나무로부터 분리된 정유의 효과에 대한 연구는 전무하다.

원목을 내장재나 가구재로 이용하기 위해서 목재 내의 수분을 제거하는 공정인 건조 과정이 필요하다. 목재는 생재 상태에서 매우 불안정한 성질을 갖는 재료이기 때문에 건조 과정을 통해 뒤틀림, 수축, 할렬, 변색, 충해 등과 같은 건조 결함의 발생으로 인한 심각한 손상의 피해를 최소화한다(McDonald *et al.*, 2002). 목재의 건조는 일반적으로 온도와 습도를 조절하여 건조시키는 열기건조법을 이용하고 있다(새로 쓴 목재건조학, 2008). 그런데 목재의 열기 건조 중에 많은 천연 휘발성 유기 화합물들(nVOCs, Natural Volatile Organic Compounds)이 방출된다는 주장이 보고되고 있다(Cronn *et al.*, 1983). 건조 과정에 어떠한 약품도 첨가하지 않는 점과 온도를 높이기 위해 열을 가한다는 점을 고려해 볼 때 nVOCs가 목재로부터 방출되는 것이라 예상할 수 있다. 그리고 목재 건조 중 발생하는 nVOCs 성분에는 terpenoid 화합물들이 많은 부분을 차지하고 있다는 연구들이 보고되고 있다(Englund & Nussbaum, 2000; Lavery & Milota, 2001). Veneer를 건조할 때 방출되는 가스상 물질들은 그 veneer의 생재 상태의 수목의 나뭇잎에서 방출되는 성분과 외피의 oleoresin 성분과 유사하다고 밝혀졌다(Cronn *et al.*, 1983). Southern pine lumber를 82~118°C에서 고온 건조하였을 때 0.27%의 nVOCs가 발생하였고 방출된 nVOCs의 90%가 α -pinene과 β -pinene과 같은 monoterpene 이라고 밝혀졌다(Ingram Jr *et al.*, 1995). 또한 nVOCs는 건조 초기 1시간 동안 주로 발생한다(Englund & Nussbaum, 2000). 이러한 연구들을 바탕으로 삼나무와 편백나무의 열기 건조 중 발생하는 nVOCs의 활용 방안 증대를 위해 실험실 규모의 열처리기에서 발생하는 nVOCs를 포집하여 미백 및 항산화능을 알아보고 nVOCs에 포함된 terpenoid 화합물의 부가적 가치를 제시하고자 한다.

따라서 본 연구를 통해 삼나무와 편백나무 잎 정유의 미백 및 항산화 활성을 구명하여 화장품 산업에서 기능성 소재로 개발하기 위한 기초자료로 이용하고, 건조 중 발생하는 nVOCs의 화장품 산업으로의 응용을 통한 부가적 가치를 확인하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 연구에 사용된 수종은 천연목인 삼나무(*Cryptomeria japonica*)와 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)의 잎과 목부를 대상으로 하였으며, 수증기 증류법으로 정유를 추출하기 위해 잎은 생재 상태로 -39°C에서 냉동 보관하였고 고온 열처리기에서 열기 건조 중 발생하는 휘발성 유기화합물의 포집을 위한 목부는 목재가공 공장에서 제재한 후 4°C에서 냉장 보관하였다.

2.2. 정유의 추출

2.2.1. 수증기 증류법

실험실 규모의 수증기 증류장치에 500 g의 삼나무 및 편백나무의 잎과 4 ℓ의 증류수를 첨가하여 정유를 추출하였다. 온도를 점차 증가시켜 100°C에서 24 시간 동안 휘발성분들을 포집하였다. 발생한 휘발성분들은 응축액 형태로 포집되도록 하였다. 응축액 형태의 정유는 ethyl acetate를 100 ml씩 첨가하여 3회 추출하고 rotary evaporator를 통해 농축시켜 최종 정유를 얻은 뒤 4°C에서 냉장 보관하였다.

2.2.2. 건조 과정 중 발생하는 휘발성 유기화합물

실험실 규모의 고온 열처리기에서 삼나무 및 편백나무 목부의 열기 건조 중에 발생하는 휘발성 유기화합물(nVOCs, Natural Volatile Organic Compounds)을 포집하였다. 사용된 목부는 길이 50 cm, 높이 5 cm, 폭 15 cm 이하를 사용하였으며 고온 열처리기에 넣어 nVOCs를 포집하였다. 이때 발생하는 nVOCs는

carrier gas가 없는 상태에서 목재의 열기건조 중에 발생되어 냉각수에 의해 응축되고 온도마다 휘발되는 성분이 다르므로 온도 조건에 따른 nVOCs를 포집하였다. 온도는 각각 80, 100, 120°C로 하였으며 48시간 동안 포집하였다. 포집한 nVOCs는 hexane과 ethyl acetate로 추출하였고, 추출된 정유는 하나로 합쳐 각각의 온도별로 하나의 시료로 통합하였다.

2.3. 생리활성 평가

2.3.1. 정유의 미백 효과

2.3.1.1. Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성은 Yagi 등(1986)에 의해 제안된 방법을 변형하여 측정하였다. 측정 시 기질은 melanin 생합성 과정에서 tyrosinase가 처음에 hydroxylation시키는 물질인 L-tyrosine과 tyrosinase에 의해 tyrosine이 hydroxylation된 L-DOPA (L-3, 4-dihydroxy phenyl alanine)를 이용하였다. 비교구로는 비타민 C인 ascorbic acid와 시중에 시판되고 있는 미백 화장품 원료인 hydroquinone을 사용하였다. 기질 농도로 L-tyrosine은 0.3 mg/ml, L-DOPA는 2 mg/ml를 potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8)에 완전히 용해시켰다. Tyrosinase의 양은 기질이 L-tyrosine일 경우 125 units/ml, 기질이 L-DOPA일 경우 25 units/ml의 농도로 준비하였다. L-tyrosine과 L-DOPA를 450 를 가하고 삼나무 정유를 100 μ l를 가한 후 tyrosinase 100 μ l를 처리하여 37°C에서 각각 20분 반응시킨 후 492 nm에서 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 저해율은 다음과 같은 식으로 구하였다.

$$\text{Tyrosinase 저해율}(\%) = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

As : 시료 첨가군의 흡광도

Ac : 무 첨가군의 흡광도

2.3.2. 정유의 항산화 효과

2.3.2.1. DPPH radical 소거활성

DPPH radical 소거활성(electron donating abil-

ity, EDA)은 Blois (1958)의 방법을 변형하여 측정하였다. 5,000 ppm의 정유 0.2 ml에 6×10^{-5} mol/L의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl- hydrazyl)용액 1.8 ml를 가하여 10초간 진탕한 후 상온에서 30분간 방치한 다음 517 nm에서 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거율은 다음과 같은 식으로 구하였다.

$$\text{DPPH radical 소거율}(\%) = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

As : 시료 첨가군의 흡광도

Ac : 무 첨가군의 흡광도

2.3.2.2. Superoxide Dismutase 유사활성

SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund (1974)의 방법에 준하여 측정하였다. 환원제로는 pyrogallol을 이용하였다. Pyrogallol은 물에 존재하는 superoxide radical에 의해 자동 산화가 일어나 갈색 물질을 형성하여 superoxide 포착활성이 있는 물질이 존재 시 pyrogallol의 산화속도가 낮아지는 원리를 이용하여 superoxide 포착활성을 간접적으로 측정할 수 있다(조 등, 2007). Tris-HCl 완충용액(50 mM tris + 10 mM EDTA, pH 8.8) 2.6 ml와 정유 0.2 ml를 혼합 후 7.2 mM의 pyrogallol 0.2 ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시켰다. 그 후 1.0 M의 HCl를 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시켜 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양에 대한 흡광도를 420 nm에서 UV-Vis spectrophotometer를 사용하여 측정하였다. SOD 유사활성을 다음과 같은 식으로 구하였다.

$$\text{SOD 유사활성}(\%) = [1 - (As/Ac)] \times 100$$

As : 시료 첨가군의 흡광도

Ac : 무 첨가군의 흡광도

2.4. GC/MS 분석

GC (model-Agilent 6890)분석을 위해 column은 HP5 (25 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.52 μ m)를 사용하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였고 온도 조건은 injector 260°C, detector 280°C, oven 온도는 초기온도 120°C에서 5분간 유지시킨 후 4°C/min씩 상승시켜

Fig. 1. Tyrosinase inhibitory activity of *C. japonica*. Control : ascorbic acid and hydroquinone (substrate - A : L-tyrosine, B : L-DOPA). Drying temperature for nVOCs : 80, 100 and 120°C.

Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity of *C. obtusa*. Control : ascorbic acid and hydroquinone (substrate - A : L-tyrosine, B : L-DOPA). Drying temperature for nVOCs : 80, 100 and 120°C.

최종온도 280°C까지 올린 후 10분간 유지시켜서 분석하였다. MS는 model Agilent 5973를 사용하고 EI mode로 분석하였다. 얻어진 시료 피크의 mass data와 표준 library data (Willy 7th ed)와 비교하여 피크의 화합물 구조를 동정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 정유의 수율

시료를 수증기 증류법으로 추출한 결과 삼나무 4.7%, 편백나무는 3.6%의 정유를 획득하였다. 실험실 규모의 고온 열처리기에서 열기 건조 중에 발생하는 휘발성 유기화합물(nVOCs)을 포집하였을 때 삼나무 목부의 초기 함수율은 80, 100, 120°C에서 각각 67.1, 67.4, 72.8%이었고 최종 함수율은 각각 38.2,

33.3, 32.6%이었다. 포집된 응축수의 양은 각각의 온도에서 329.8, 321.9, 315.9 g으로 응축수에 포함된 정유는 hexane으로 추출 후 ethyl acetate로 추출하였다. 정유의 양은 80°C에서 hexane을 용매로 하였을 때는 0.220 g, ethyl acetate를 용매로 하였을 때는 0.059 g이었고, 100°C에서는 각각 2.200, 0.331 g이었으며, 120°C에서는 각각 1.950, 0.066 g이었다. 편백나무의 경우 초기 함수율은 각각 118.7, 72.0, 129.8%이었고 최종 함수율은 63.4, 21.7, 7.3%이었으며 포집된 응축수의 양은 각각의 온도에서 529.1, 483.9, 1060.5 g이었다. 정유의 양은 80°C에서 hexane을 용매로 하였을 때는 0.051 g, ethyl acetate를 용매로 하였을 때는 0.061 g이었고, 100°C에서는 각각 0.205, 0.345 g이었으며, 120°C에서는 각각 0.211, 0.261 g이었다. Hexane과 ethyl acetate로 추출한 정유를 한데 모아 각각의 온도별로 시료를 한 개로 통

합하였다. 이를 각각의 온도별 nVOCs라 명칭하였다.

건조 전 함수율과 건조 후 함수율을 비교해 본 결과 건조는 삼나무 보다 편백나무가 더 잘 되었지만 포집된 응축수에 포함된 정유의 양은 삼나무가 더 많았다. 또한 온도가 높아질수록 건조는 잘되었지만 정유의 양은 100와 120°C에서 비슷했다. 이는 Englund와 Nussbaum의 연구(2000)에 따라 nVOCs는 건조 초기 1시간 동안 주로 발생하므로 포집된 응축액에 포함된 정유는 건조 초기에 발생한 nVOCs 성분이 주를 이루었다고 사료된다.

3.2. 삼나무와 편백나무 정유의 미백 효과

피부의 색을 결정하는 인자에는 헤모글로빈(hemoglobin), 카로틴(carotin), 멜라닌(melanin) 등이 포함되어 있는데 그 중 melanin에 의한 영향이 가장 크다고 밝혀졌다(송 등, 2007). 멜라닌 생합성에 있어서 중요한 핵심 효소인 tyrosinase는 구리를 함유한 monooxygenase 효소로 이 효소는 tyrosine을 DOPA(3,4-dihydroxyphenylalanine), DOPA quinone, melanin으로 변형시킨다(Piao *et al.*, 2002). 따라서 tyrosinase의 활성을 저해시킨다면 피부에 melanin이 생성되는 것을 억제시킬 수 있으므로 tyrosinase 저해 효과를 통해 미백 효과를 알아보았다.

Fig. 1과 2는 삼나무와 편백나무 정유의 tyrosinase 저해 활성을 나타낸다. 비교구와 삼나무, 편백나무 정유는 농도가 높아질수록 tyrosinase 저해율이 높게 나타났다.

100%에 가까운 tyrosinase 저해 활성을 나타낸 비교구 보다는 삼나무와 편백나무 정유의 효과는 낮았지만 2,000 ppm의 농도에서 삼나무 잎의 정유는 L-tyrosine을 기질로 하였을 때는 88.4%, L-DOPA를 기질로 하였을 때는 76.8%의 높은 활성을 나타내었고 편백나무 잎의 정유는 각각 60.7, 76.0%를 나타내었다. 삼나무 잎의 정유가 편백나무 잎의 정유 보다 높은 tyrosinase 저해 활성 효과를 보였다.

L-tyrosine과 L-DOPA 두 기질을 사용하였을 때 삼나무와 편백나무 건조 시 발생한 nVOCs 모두 tyrosinase 저해에 효과를 나타내었다. 그리고 농도가

높아질수록 tyrosinase 저해율이 상승함을 보였다. 특히, 120°C에서 건조 시 발생한 nVOCs는 2,000 ppm의 농도에서 L-tyrosine을 기질로 사용하였을 때 삼나무는 82.8%, 편백나무는 88.6%의 tyrosinase 저해율을 나타내었는데 이는 잎의 정유에서 확인된 삼나무 88.4%, 편백나무 60.7%의 저해율과 비교하여 효과가 있다고 사료된다. 마찬가지로 L-DOPA를 기질로 사용하였을 때도 120°C에서 발생하는 2,000 ppm 농도의 삼나무와 편백나무 건조 시 발생한 nVOCs의 저해율은 93.6와 81.9%로 잎의 정유에서의 저해율 76.8, 76.0%보다 높게 측정되었다. 또한 L-DOPA를 기질로 하였을 때 삼나무는 낮은 농도에서도 효과를 나타내었고 80와 100°C에서 건조 시 발생한 nVOCs에서도 모두 효과를 확인 할 수 있었다.

Hydroquinone은 기질 L-tyrosine을 사용하였을 때에는 낮은 농도에서도 높은 효과를 나타내었지만 L-DOPA를 기질로 하였을 때에는 2,000 ppm의 농도에서만 49.2%의 효과를 나타내며 삼나무와 편백나무 정유보다 낮은 효과를 보였다. 이로써 삼나무와 편백나무 잎의 정유의 미백 활성은 비타민 C인 ascorbic acid 보다는 효과가 낮았지만 미백 제품에 사용되는 hydroquinone과 비교해서 유사한 효과가 있음을 알 수 있었다. 최근 보고에서는 hydroquinone이 피부에 독성이 있다는 연구들이 발표되었다(Kooyers & Westerhof, 2006). 따라서 천연 재료인 삼나무와 편백나무 정유가 우수한 tyrosinase 저해 활성을 나타내었기 때문에 삼나무와 편백나무 잎의 정유는 천연 미백제품 원료로 이용할 가치가 있다고 사료되며 잎의 정유와 비슷한 tyrosinase 저해활성을 나타낸 건조 중에 발생하는 부가 산물인 nVOCs 또한 미백 제품에 적용 가능성이 있으며 경제적으로도 가치가 있다고 사료된다.

3.3. 정유의 항산화 효과

3.3.1. DPPH Radical 소거 활성

삼나무와 편백나무 정유의 항산화 효과를 알아보기 위한 첫 번째 실험으로 안정한 radical인 DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl)를 이용하여 DPPH

Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of crude oil and nVOCs from *C. japonica* and *C. obtusa* (nVOCs of J : nVOCs of *C. japonica*, nVOCs of O : nVOCs of *C. obtusa*). Drying temperature for nVOCs : 80, 100 and 120°C.

radical 소거활성을 측정하였다(Brand-Williams *et al.*, 1995). 정유의 성분이 radical을 뺏거나 수소 radical을 제공함으로써 또는 전자를 공여함으로써 DPPH의 free radical을 전자적으로 안정하게 만들어 free radical의 독성을 감소시키는 기작을 가지고 있기 때문에(Brand-Williams *et al.*, 1995) 이를 바탕으로 free radical을 가지고 있는 활성산소의 피부노화를 방지할 가능성의 여부를 판단하여 삼나무와 편백나무 정유가 항산화 소재로 이용이 가능한 지를 알아보았다.

현재 항산화제로 이용되고 있고 불포화지방산, 비타민 A, 베타카로틴, 성 호르몬 등의 산화를 방지하는 항산화 작용이 있다고 알려진 비타민 E의 α -tocopherol을 비교구로 한 실험(Kamal-Eldin & Appelqvist, 1996) 결과는 Fig. 3과 같다. α -Tocopherol의 DPPH radical 소거활성은 90.19%로 매우 높은 반면 삼나무와 편백나무 잎의 정유와 건조 시 발생한 nVOCs의 효과가 거의 10%를 넘지 못하며 매우 낮은 활성을 나타내었다. 정유의 radical 소거활성은 그들의 각기 다른 kinetic behaviour를 가지므로 복잡한 반응 메커니즘의 영향으로 천천히 반응을 시켜야 한다고 보고하였다(Koleva *et al.*, 2002; Kulisic *et al.*, 2004).

Fig. 4. SOD like activity of crude oil and nVOCs from *C. japonica* and *C. obtusa* (nVOCs of J : nVOCs of *C. japonica*, nVOCs of O : nVOCs of *C. obtusa*). Drying temperature for nVOCs : 80, 100 and 120°C.

3.3.2. Superoxide Dismutase 유사활성

삼나무와 편백나무 정유의 항산화 효과는 superoxide dismutase (SOD) 유사활성 평가를 통하여 알아보았다. SOD란 우리 몸 안에 필요 이상으로 생성되는 활성산소를 중화시키며 인체에 들어오는 유해산소에 대한 자체 방어 시스템 중 가장 우수한 항산화 효소를 말한다.

두 개의 평행하게 회전하는 비 공유 전자쌍을 가진 산소분자는 전자쌍이 환원될 때 전자의 회전이 제한되기 때문에 1가 환원이 잘 일어난다. SOD는 과산화된 음이온 라디칼인 환원된 산소에 수소를 제공함으로써 활성산소를 제거시킨다(Marklund & Marklund, 1974).

따라서 삼나무와 편백나무 정유가 활성산소를 중화시키는 항산화 효소인 SOD와 같은 역할을 하는지 알아보기 위해 강력한 환원제인 pyrogallol을 이용하여 SOD 유사활성을 확인하였다.

Fig. 4는 항산화제인 α -tocopherol을 비교구로 하여 삼나무와 편백나무 잎의 정유와 건조 시 발생한 nVOCs의 SOD 유사활성에 대한 결과를 나타낸다. 비교구인 α -tocopherol이 40.9%의 활성을 나타낸 반면 삼나무 잎의 정유가 43.2%의 활성을 나타내었으며 편백나무 잎의 정유는 28.7%를 나타내었다. DPPH radical 소거활성 실험에서는 효과가 없었던

Table 1. The relative proportion and the retention time of major constituents from *C. japonica* (A) and *C. obtusa* (B) leaves essential oil by GC MS analysis

(A)		
Compounds	Relative proportion (%)	Retention time
Kaurene	19.36	33.37
α -Eudesmol	12.18	25.18
Elemol	10.93	22.72
γ -Eudesmol	10.61	24.71
α -Pinene	9.84	6.16
4-Terpineol	5.71	13.03
Sabinen	5.53	7.15
δ -Carene	3.05	8.11
γ -Terpinene	3.01	9.48
α -Limonene	2.02	8.68
(B)		
Compounds	Relative proportion (%)	Retention time
Camphene	15.67	17.59
Sabinene	8.96	7.15
Bornyl acetate	7.69	15.93
α -Limonene	6.60	8.68
γ -Terpinene	4.75	9.49
4-Terpineol	4.71	13.03
δ -Cadinene	4.47	21.99
Thujopsene	4.03	19.97
Elemol	3.91	22.72
β -Myrcene	3.27	7.54
α -Eudesmol	2.72	25.25
(+)-Beyerene	2.69	31.22
Germacrene D	2.62	20.63

잎의 정유에서 SOD 유사활성 효과를 확인할 수 있었다. 삼나무와 편백나무의 건조 시 발생한 nVOCs의 SOD 유사활성은 비교구인 α -tocopherol과 비교하여 효과가 없었지만 삼나무 건조 시 발생한 nVOCs가 편백나무 건조 시 발생한 nVOCs 보다 높은 SOD 유사활성을 가지는 것을 확인하였다. 삼나무 잎의 정유는 45.2%로 40.9%의 α -tocopherol 보다 높았지만 80°C에서 건조 시 발생한 삼나무 nVOCs는 18.4%, 100°C에서 건조 시 발생한 nVOCs는 16.1%로 낮아

서 DPPH radical 소거활성과는 다르게 잎의 정유보다도 효과가 낮았다. 하지만 120°C에서 건조 시 발생한 삼나무 nVOCs는 36.5%의 SOD 유사활성을 나타내며 다른 온도 조건에서 보다 우수한 효과를 보였다. 또한 건조 시 발생한 편백나무의 nVOCs는 80°C에서 14.6%, 100°C에서 20.6%, 120°C에서 19.8%를 나타내며 편백나무 잎의 정유 보다 SOD 유사활성이 낮았다. 따라서 건조 온도가 높아질수록 이때 발생하는 nVOCs의 SOD 유사활성은 높아진다고 판단된다.

삼나무와 건조 시 발생한 편백나무의 nVOCs는 잎의 정유 보다 SOD 유사활성이 효과적이지는 않지만 비교구인 α -tocopherol과 비교하였을 때 120°C에서 건조 시 발생한 삼나무 nVOCs는 다른 nVOCs 성분보다 높은 효과를 보이므로 항산화 효과를 가진다고 사료된다. 이에 따라 삼나무와 편백나무 정유 물질은 DPPH radical 소거활성에는 효과가 낮았지만 SOD 유사활성에서는 효과가 우수하므로 항산화 효과를 가지고 있다고 판단된다.

3.4. 정유 성분 분석

3.4.1. 삼나무와 편백나무 잎 정유 성분 분석

GC MS분석을 통해 삼나무와 편백나무 잎의 정유와 정유 분획물의 성분을 확인 하였다(Table 1).

삼나무 잎의 정유에서 가장 높은 비율을 차지하는 성분은 diterpene인 kaurene (19.4%)이었다. 그 이외의 성분으로는 monoterpene이 가장 많은 비율을 차지하였다. Monoterpene으로는 α -pinene (9.84%), 4-terpineol (5.71%), sabinene (5.53%), α -limonene (2.02%) 등의 성분이 확인되었고 sesquiterpene으로는 α -eudesmol (12.2%), elemol (10.9%), γ -eudesmol (10.6%) 등이 확인되었다. 잎의 정유 성분 중 가장 높은 비율을 차지하는 kaurene과 α -eudesmol, elemol, γ -eudesmol은 각각 diterpene과 sesquiterpene으로 정유 성분의 종류는 monoterpene이 많았지만 함유량으로 보면 sesquiterpene과 diterpene이 많은 부분을 차지하였다.

편백나무 잎의 정유의 성분은 삼나무 잎과 비슷한 성분들이 많이 포함되어 있지만 가장 높은 비율을 차지하는 성분은 monoterpene인 champhene이었다. 삼나무의 잎은 많은 종류의 monoterpene이 함유되었지만 편백나무의 잎은 sesquiterpene의 종류가 많았다. 그 이외의 편백나무 잎의 성분은 monoterpene으로는 sabinene (8.96%), bornyl acetate (7.69%), α -limonene (6.60%), 4-terpineol (4.71%) 등이 포함되어 있었고 sesquiterpene으로는 δ -cadinene (4.47%), thujopsene (4.03%), elemol (3.91%), α -eudesmol (2.72%) 등이 주성분 이었다.

두 수종의 차이는 삼나무 잎의 성분에 편백나무 정유에는 존재하지 않는 kaurene이 가장 높은 비율로 존재하는 것과 삼나무 잎은 많은 종류의 monoterpene이 함유되어 있지만 편백나무 잎은 sesquiterpene이 많은 부분을 차지하였다는 것이다. 이러한 정유성분의 차이로 인하여 삼나무 정유가 편백나무 정유보다 높은 미백 및 항산화 활성을 나타낸 것이라 사료된다. Kaurene은 높은 항산화 물질로 알려져 있고 식물 정유에 포함된 eudesmol은 항산화 효과가 있는 물질로 밝혀졌다(Kordali *et al.*, 2005). 또한 *Pistacia atlantica*의 주성분인 elemol 항산화 효과 물질로 밝혀져 있다(Benhammou *et al.*, 2008). 따라서 kaurene, α -eudesmol, elemol, γ -eudesmol이 주성분인 삼나무 정유가 편백나무 정유보다 높은 항산화 활성을 나타낸다고 사료된다. 삼나무와 편백나무 정유의 미백 활성에 관한 연구는 미비하기 때문에 본 연구를 통한 두 수종의 주성분의 차이인 kaurene, eudesmol, elemol에 의해 삼나무 미백 활성이 편백나무 미백 활성보다 높게 나타난다고 사료된다.

3.4.2. 건조 중 발생하는 nVOCs 성분 분석

Table 2는 삼나무와 편백나무의 건조 시 발생한 nVOCs의 성분의 GC MS 분석 자료이다. 잎의 정유와 다르게 건조 중 발생한 nVOCs의 주요 성분은 삼나무와 편백나무 모두에서 sesquiterpene 화합물로 확인되었다. 앞 선 연구에 따르면 목재 건조 중 발생하는 terpenoid 성분들은 주로 monoterpene이 높은 비율을 차지한다고 보고 된 것과는 다른 결과이다(Cronn *et al.*, 1983; Milota & Lavery, 2003). 식물에 함유되어 있는 sesquiterpene은 monoterpene에 비해 함유량도 적고 구조의 종류가 다양하고 물질이 갖는 작용과 효능이 monoterpene에 비해 다양하고 광범위하다고 알려져 있다(이 등, 2010). 삼나무와 편백나무의 건조 중 발생한 nVOCs의 성분은 두 수종 모두 온도에 상관없이 80, 100, 120°C에서 같은 종류의 terpenoid 화합물이 확인되었다. 가장 함유량이 많았던 성분은 δ -cadinene, α -cubebene, β -cubebene, α -muurolene이었다.

삼나무 건조 중 발생한 nVOCs 성분에는 항산화 활

Table 2. Major constituents of nVOCs from *C. japonica* (A) and *C. obtusa* (B) by GC MS analysis

(A)			
Compounds	Relative proportion (%) (Retention time)		
	80°C	100°C	120°C
δ -Cadinene	38.27 (31.56)	40.30 (31.55)	39.76 (31.57)
α -Muurolene	21.04 (31.10)		19.89 (31.10)
α -Cubebene	8.10 (34.64)	7.38 (34.64)	7.38 (34.64)
β -Cubebene	1.49 (28.25)	2.87 (28.24)	
L-Calamenene	6.04 (31.72)		7.59 (31.72)
Cadina-1,4-diene	9.74 (34.29)	8.16 (34.29)	7.01 (34.29)
α -Eudesmol	6.85 (35.03)	3.65 (35.02)	4.28 (35.03)
Elemol		2.69 (32.28)	3.99 (32.28)
Caryophyllene	1.47 (29.26)	2.69 (29.26)	2.47 (29.26)
2-Isopropyl-5-methyl-9-methylene[4.4.0]dec-1-ene		25.58 (31.10)	2.47 (31.10)
α -Caryophyllene	1.45 (30.19)	2.18 (30.19)	1.48 (34.21)
Epizonarene		3.94 (30.47)	
α -Elemene		1.57 (29.96)	
(B)			
Compounds	Relative proportion (%) (Retention time)		
	80°C	100°C	120°C
δ -Cadinene	39.96 (35.55)		18.95 (35.53)
α -Cubebene	8.01 (38.64)	0.62 (32.01)	
β -Cubebene	1.47 (32.27)		
α -Selinene	4.19 (39.03)		
γ -Muurolene		28.68 (35.53)	12.83 (38.91)
Caryophyllene	1.50 (33.29)		
α -Caryophyllene	1.48 (34.21)		
2-Isopropyl-5-methyl-9-methylene[4.4.0]dec-1-ene		10.71 (38.90)	11.26 (38.63)
α -Calacorene		9.33 (36.23)	7.49 (36.23)
α -Muurolene	23.33 (35.09)	6.21 (35.09)	7.21 (35.09)
L-Calamenene	3.15 (35.70)	3.64 (35.70)	3.56 (35.70)

성이 있는 eudesmol과 elemol이 포함되어 있으나 편백나무에는 확인되지 않았다. 삼나무 잎의 정유와 마찬가지로 삼나무 건조 시 발생한 nVOCs 성분에는 향산화 활성을 나타낸 α -eudesmol과 elemol의 존재

로 인하여 편백나무의 건조 시 발생한 nVOCs 성분보다 미백 및 향산화 활성이 높다고 판단된다. 또한 120°C에서 발생한 삼나무 nVOCs 성분에는 α -eudesmol과 elemol이 80와 100°C보다 많이 함유되어

있었기 때문에 80와 120°C보다 높은 미백 및 항산화 활성을 나타낸 것이라 사료된다.

4. 결 론

본 연구는 삼나무와 편백나무의 잎의 정유와 목부 건조 시 발생한 nVOCs의 terpenoids 화합물들의 미백 및 항산화 효과를 구명하였다. 편백나무 정유 또한 효과를 나타내었지만 삼나무 정유가 편백나무보다 tyrosinase 저해활성, SOD 유사활성에서 모두 높은 활성을 나타내었다. DPPH radical 소거활성에서는 삼나무와 편백나무의 잎의 정유와 건조 시 획득한 nVOCs 모두 활성을 나타내지 않았지만 tyrosinase 저해활성과 SOD 유사활성에서는 효과를 나타내었다. 특히 잎의 정유와 120°C에서 발생한 삼나무 nVOCs의 tyrosinase 저해 활성은 2,000 ppm의 농도에서 비타민 C인 ascorbic acid와 hydroquinone과 비슷한 효과를 나타내었다. 삼나무 잎의 정유의 주성분은 kaurene과 hydroxyl기를 가지고 있는 α -eudesmol, elemol, γ -eudesmol로 이로 인하여 편백나무 잎의 정유보다 높은 미백 및 항산화 효과를 나타낸다고 사료된다. 건조 시 발생한 nVOCs 또한 잎의 정유와 비슷한 정도의 미백 및 항산화 효과를 나타내므로 건조 시 발생한 nVOCs를 포집하여 이용한다면 부가가치를 높일 수 있을 것이다. 이와 같은 결과들로부터 삼나무와 편백나무 정유는 천연 미백 및 항산화 제품으로의 개발 가능성을 확인할 수 있었다.

사 사

본 연구는 산림청 '산림과학기술개발사업(과제번호: S120708L1001704C)'의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

참 고 문 헌

- 정희석, 강호양, 박정환, 이남호, 이형우, 강춘원, 여환명. 2008. 새로 쓴 목재건조학. 서울대학교 출판부: 7~8, 276~343.
- 송호진, 문효진, 박병언, 최방실, 이동자, 이지윤, 김창중, 심상수. 2007. 대나무 추출액의 항산화 작용과 미백 작용. 약학회지 51(6): 500~507.
- 이수연, 박기섭, 김선홍, 이진제, 여환명, 최인규. 2010. 삼나무 건조 중 발생하는 휘발성 유기화합물 Terpenoids의 분석. 목재공학회지 38(3): 242~248.
- 조민정, 박미정, 이훈숙. 2007. 썩갠 스테롤배당체의 아질산염소거작용 및 SOD 유사활성. 한국식품과학회지 39(1): 77~82.
- Benhammou1, N., F. A. Bekkara, and T. K. Panovska. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology 2(2) : 022~028.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199~1200.
- Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 28(1): 25~30.
- Cheng, S., H. Chang, C. Wu, and S. Chang. 2007. Anti-termite activities of essential oils from coniferous trees against *Coptotermes formosanus*. Bioresource technology 98(2): 456~459.
- Cheng, S., H. Lin, and S. Chang. 2005. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from different tissues of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(3): 614~619.
- Cronn, D., S. Truitt, and M. Campbell. 1983. Chemical characterization of plywood veneer dryer emissions. Atmospheric Environment 17(2): 201~211.
- David, N. and N. Minemura. 2000. Color and Discoloration. Wood and cellulosic chemistry 385.
- Englund, F. and R. Nussbaum. 2000. Monoterpenes in Scots pine and Norway spruce and their emission during kiln drying. Holzforschung 54(5): 449~456.
- Fantone, J. and P. Ward. 1982. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. The American Journal of Pathology 107(3): 395.
- Ingram Jr, L., F. Taylor, V. Punsavon, and M. Templeton. 1995. Identification of volatile organic compounds emitted during the drying of

- southern pine in pilot and laboratory experiments. Measuring and controlling VOC and particulate emissions from wood processing operations and wood based products 35~40.
16. Kamal-Eldin, A. and L. Appelqvist. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31(7): 671~701.
17. Kofujita, H., Y. Fujino, T. Sasaki, M. Hasebe, M. Ota, and K. Suzuki. 2001. Antifungal activity of the bark of *Cryptomeria japonica* and its relevant components. *Journal-Japan Wood Research Society* 47(6): 479~486.
18. Koleva, I., T. van Beek, J. Linssen, A. Groot, and L. Evstatieva. 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical analysis* 13(1): 8~17.
19. Kooyers, T. and W. Westerhof. 2006. Toxicology and health risks of hydroquinone in skin lightening formulations. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 20(7): 777~780.
20. Kordali, S., A. Cakir, A. Mavi, H. Kilic, and A. Yildirim. 2005. Screening of Chemical Composition and Antifungal and Antioxidant Activities of the Essential Oils from Three Turkish *Artemisia* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 3(5): 1408~1416.
21. Kulisic, T., A. Radonic, V. Katalinic, and M. Milos. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry* 85(4): 633~640.
22. Lavery, M. and M. Milota. 2001. Measurement of VOC emissions from ponderosa pine lumber using commercial and laboratory kilns. *Drying Technology* 19(9): 2151~2173.
23. Marklund, S. and G. Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry* 47(3): 469~474.
24. Matsushita, Y., Y. Hwang, K. Sugamoto, and T. Matsui. 2006. Antimicrobial activity of heartwood components of sugi (*Cryptomeria japonica*) against several fungi and bacteria. *Journal of Wood Science* 52(6): 552~556.
25. McDonald, A., P. Dare, J. Gifford, D. Steward, and S. Riley. 2002. Assessment of air emissions from industrial kiln drying of *Pinus radiata* wood. *European Journal of Wood and Wood Products* 60(3): 181~190.
26. Park, S. 2003. Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes. *Korean journal of food science and technology* 35(3): 510~518.
27. Piao, L., H. Park, Y. Park, S. Lee, J. Park, and M. Park. 2002. Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 50(3): 309~311.
28. Sies, H. 2003. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English* 25(12): 1058~1071.
29. Thirugnanasampandan, R., R. Jayakumar, V. Narmatha Bai, E. Martin, and K. J. Rajendra Prasad. 2008. Antiacetylcholinesterase and antioxidant ent-Kaurene diterpenoid, melissoidesin from *Isodon wightii* (Benth.) H. Hara. *Natural Product Research* 22(8): 681~688.
30. Yagi, A., T. Kanbara, and N. Morinobu. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Plant a Medica* 3981: 517~519.