

편백나무 건조 중 발생하는 휘발성 유기화합물의 항진균 및 항산화 활성

서영준 · 이재원*

전남대학교 농업생명과학대학 산림자원학부

Antifungal and Antioxidant Activities of Volatile Organic Compounds Generated During the Drying Process of *Chamaecyparis obtuse*

Young-Jun Seo and Jae-Won Lee*

Department of Forest Products and Technology (BK21 Program), Chonnam National University,
Gwangju 500-757, Republic of Korea

(Received July 6, 2012 / Accepted September 28, 2012)

In this study, we evaluated antifungal and antioxidant activities of condensed liquid of volatile organic compounds generated during the drying process of *Chamaecyparis obtuse*. Condensed liquid of volatile organic compounds were extracted with hexane and ethyl acetate, respectively. The extracts were used for antifungal activity at range from 100 to 500 mg/L. Antifungal activity of extracts increased as the extracts concentration increased, the activity against tested dermatophytes was high at 500 mg/L. Among extract solvents, antifungal activity was higher at hexane extract than the ethyl acetate. Especially, the antifungal activity against *Trichophyton rubrum* was higher than other tested dermatophytes. Antioxidant activity was 90% above 25 mg/L regardless of the extractive solvents, while the hexane extract showed high antioxidant activity below 25 mg/L. Major compounds of hexane extract were torreyol, alpha-cadinol, and tau-cadinol. However, major compounds of ethyl acetate extract were alpha-amorphene, alpha-cadinol, and gamma-cadinene.

Keywords: *Chamaecyparis obtuse*, antifungal activity, antioxidant activity, drying process, volatile organic compounds

편백나무(*Chamaecyparis obtuse*)는 상록침엽교목으로 일본이 원산지이며 1904년에 도입되어 주로 제주도 및 남부지방에 분포하고 있다. 산림청 통계에 따르면 2001년부터 2005년까지 매년 평균 1,347 ha의 편백나무를 조림하였으며 주로 가구재, 건축재로 사용되고 있다. 최근에는 편백나무 정유성분에서 항진균, 항산화, 미백효과 등 다양한 생리활성이 밝혀져 그 용도가 더욱 확대되고 있다(Kim *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005). 편백나무 원목을 내장재나 가구재로 이용하기 위해서는 목재의 수축, 할렬 및 미생물에 의한 피해를 줄이기 위해 원목의 수분을 제거하는 건조 과정이 반드시 필요하다. 편백나무는 열기 건조가 진행되는 동안 다양한 휘발성 유기화합물들을 포함한 기체를 발생한다(Cronm *et al.*, 1983; McDonald and Wastney, 1995). 지금까지 편백나무의 정유성분에 대한 생리활성 효과로는 항생효과, 살충효과, 타감효과 등이 보고되고 있다(Yaeno *et al.*, 2003; Gwak *et al.*, 2006; Park *et al.*, 2008). 따라서 원목을 건조과정에서 발생

하는 기체성분에 포함된 휘발성 유기화합물에도 이와 같은 생리활성 효과를 기대할 수 있다. 최근에는 건조과정 중에서 발생하는 휘발성 유기화합물을 모아 응축수로 만들고 있고, 이것은 일부에서 목욕탕 입욕제나 가구제작 시 분사하는 용도로 사용하고 있다.

휘발성 유기화합물은 다른 산업적인 공정을 통해서도 다량 발생하는데 여기에는 포름알데히드, 벤젠, 페놀 성분들이 다량 속해 있어 대기를 오염시키는 인자로 인식되어 문제가 되고 있다. 하지만 목재 건조 중 발생하는 휘발성 유기화합물 성분에는 terpenoids 화합물들이 많은 부분을 차지하고 있다는 연구들이 보고되고 있다(Englund and Nussbaum, 2000; McDonald *et al.*, 2002). 이와 같은 terpenoids는 식물 자신의 보호 기능을 넘어 인간에게 항염, 항바이러스, 항박테리아, 면역기능 강화 등의 효과를 가지고 있다(Soliman *et al.*, 1994; McGarvey and Croteau, 1995; Vila *et al.*, 1999). 하지만 아직까지 목재의 건조과정에서 얻어진 응축수에 대한 생리활성 평가는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 편백나무 건조과정에서 발생하는 휘발성 유기화합물 응축수의 항진균 및 항산화 활성을 평가하여 그 활용범위를 확대하고자 한다.

*For correspondence. E-mail: ljw43376@chonnam.ac.kr; Tel.: +82-62-530-2098; Fax: +82-62-530-2099

본 실험에 사용된 편백나무 응축수는 편백나무를 건조하는 과정에서 얻어진 기체성분을 응축시켜 얻은 수액으로 남원산림조합에서 제공 받아 사용하였다. 항진균 활성 평가를 위한 공시 균주로는 피부사상균 *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Epidermophyton floccosum*을 서울대학교 목재화학연구소에서 분양 받아 사용하였다. 피부사상균은 Sabouraud Dextrose Agar (SDA) 배지에 도말하여 26°C에서 배양하고 항진균 실험에 사용하기 위하여 4°C에서 보관하였다.

편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수에 포함된 휘발성 유기화합물을 추출하기 위해서 hexane과 ethyl acetate를 용매로 사용하였다. 응축수 250 ml에 각각의 용매를 250 ml 첨가한 후 추출하였고 이와 같은 추출과정을 세 번 반복하여 얻어진 추출액은 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 농축액에 포함된 수분을 제거하기 위해 sodium sulfate를 첨가하였으며, 반응 후 sodium sulfate를 제거하고 생리활성 평가를 위해 4°C에서 보관하였다.

항진균 활성은 한천희석법(agar dilution)을 이용하였다. SDA 배지에 hexane, ethyl acetate 추출 농축액을 각각 100, 500, 1000, 2500, 5000 mg/L의 농도가 되도록 첨가한 후 피부사상균을 접종하여 농축액을 넣지 않은 배지에서 자란 균의 성장량과 비교하여 편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수의 항진균 활성을 평가하였다. 항진균 활성은 다음 식에 의해 계산되었다.

$$\text{항진균 활성 (\%)} = \{(Dc-Ds)/Dc\} \times 100$$

Ds: 농축액이 처리된 배지에서 자란 균의 균사길이(mm),

Dc: 농축액을 처리하지 않은 배지에서 자란 균의 균사길이(mm)

편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수의 항산화 활성을 측정하기 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거활성을 측정하였다(Brand-Williams *et al.*, 1995). 5, 10, 25, 50, 100 mg/L 농도의 편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수로부터 얻은 추출액을 각각 0.4 ml를 취하여 0.8 ml의 0.5 mM DPPH 용액과 에탄올을 혼합하여 최종 부피를 4 ml로 만들었다. 반응물은 혼합한 후 30분 동안 실온에서 방치한 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 응축수의 활성 산소 소거능은 다음 식에 의해 계산하였다.

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

As: 농축액 첨가 시료의 흡광도, Ac: 대조군의 흡광도

편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수의 주성분을 확인하고자 전남대학교 공동실험실습관에 의뢰하여 GC/MS (model-Agilent 6890, Shimadzu, Japan) 분석을 하였으며 분석 조건은 다음과 같다. Column은 HP5 (25 m × 0.32 mm × 0.52 μm)를 사용하였으며 carrier gas는 헬륨을 사용하였고 온도 조건은 injector 260°C, detector 280°C로 하였다. Oven 온도는 초기온도 120°C에서 5분간 유지시킨 후 4°C/min씩 상승시켜 최종온도 280°C까지 올려 10분간 유지시켜 분석하였다. 얻어진 시료 피크의 mass

data와 표준 library data를 비교하여 화합물 구조를 동정하였다.

피부사상균에 대한 편백나무 건조과정에서 발생한 응축수의 항진균 활성을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. Hexane 추출물 100 mg/L 농도에서 *E. floccosum*에 대해 27.14%의 성장억제 효과를 보였으며 *T. schoenleinii*에 대해서는 18.46% 항진균 활성을 보였고 *T. rubrum*에 대해서는 6.94%로 가장 낮은 항진균 활성을 보였다. 500 mg/L 이상의 고농도에서는 모든 피부사상균에 대하여 100%의 항진균 활성을 보였다. Ethyl acetate 추출물의 경우 100 mg/L 농도에서 *E. floccosum*, *T. schoenleinii*에 대해서는 각각 14.71%, 17.33%의 활성을 나타냈고 *T. rubrum*에 대해서는 14.63%로 다른 균에 비해 낮은 활성을 보였다. 반면, 500 mg/L 농도에서는 *T. rubrum*에 대해 100%의 높은 활성을 나타냈다. *E. floccosum*, *T. schoenleinii*에 대해서는 각각 89.71%, 68.00%의 항진균 활성을 나타냈다. Ethyl acetate 추출물보다 hexane 추출물에서 항진균 활성이 뛰어났으며 추출물의 농도가 증가할수록 피부사상균의 성장 억제 효과도 증가하였다. 삼나무 건조과정에서 발생하는 응축수도 피부사상균에 대해 높은 활성을 가지고 있었다(Lee *et al.*, 2010). 이와 같은 결과는 건조과정에서 발생하는 기체의 응축수에 생리활성을 가지는 정유성분을 포함하여 높은 항진균 활성을 나타낸 것으로 사료된다.

편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수 농도에 따른 DPPH free radical 소거능을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. Hexane 추출물 25, 50, 100 mg/L의 농도에서는 약 90% 이상의 항산화 효과를 보였으며 5, 10 mg/L 농도에서는 각각 66.02, 85.11%의 항

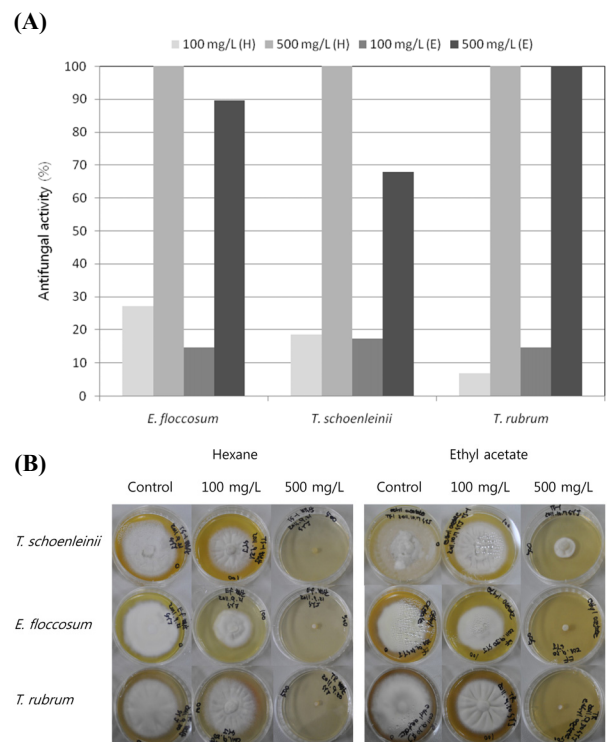


Fig. 1. Antifungal activities of hexane and ethyl acetate extracts of condensed liquid obtained during drying process of *C. obtusa* against dermatophytes.

Table 1. Major components from extracts of condensed liquid obtained during drying process of *C. obtusa* determined by GC/MS

(Hexane extract) Retention time (min)	Name	(Ethyl acetate extract) Retention time (min)	Name
33.159	alpha-Muurolene	30.921	alpha-Amorphene
33.508	gamma-Cadinene	31.380	Germacrene D
36.417	tau-Cadinol	32.613	Valencene
36.475	alpha-Cadinol	33.214	alpha-Muurolene
36.517	delta-Cadinol	33.586	gamma-Cadinene
36.757	Torreyol	34.133	alpha-Calacorene
37.090	Azulene	35.754	tau-Muurolol
40.617	Octanal	36.155	alpha-Cadinol
41.120	Globulol	36.529	delta-Cadinol
42.148	7,8-Epoxy-alpha-Ionone	36.821	Torreyol

산화 활성을 나타냈다. 5 mg/L의 저농도에서도 높은 항산화 활성을 나타냈으며 25 mg/L 이상의 농도에서는 항산화 효과가 더 이상 상승하지 않았다.

Ethyl acetate 추출물 50, 100 mg/L에서는 각각 91.56, 91.44%의 항산화 활성을 나타냈으며 5 mg/L 이상에서도 50% 이상의 높은 항산화 활성을 나타냈다. 전반적으로 hexane 추출물이 ethyl acetate 추출물보다 높은 항산화 활성을 나타냈으며 이것은 항진균 활성 결과와 비슷한 경향이다. 기존 연구결과에 의하면 편백나무 잎 정유 추출물 40 mg/L의 농도에서 50%의 항산화 활성을 나타냈으며 이것은 건조과정에서 발생하는 응축수를 이용한 것보다 낮은 활성을 나타내고 있다(Park *et al.*, 2005).

Hexane과 ethyl acetate 추출물에 대해 주요 성분 분석을 실시한 결과 Table 1, Fig. 3과 같다. Hexane 추출물의 주요 성분은 torreyol, alpha-cadinol, tau-cadinol 등이 검출 되었으며 ethyl acetate 추출물의 주요 성분으로는 alpha-amorphene, alpha-cadinol, gamma-cadinene, torreyol 등이 검출되었다. 이것은 편백나무 잎을 건조시켜 얻어진 응축수의 주성분인 alpha-cadinol, gamma-cadinene 등을 포함하고 있으며 monoterpene 보다 sesquiterpene으로 구성되어 있다(Kim *et al.*, 2011). Cronn 등(1983)은 목재건조 중 발생하는 terpenoid는 주로 monoterpene으로 구성되어 있다고 보고하였는데 본 연구 결과에서는 주로 alpha-cadinol, tau-cadinol, gamma-cadinene과 같은 sesquiterpene이 검출되었다.

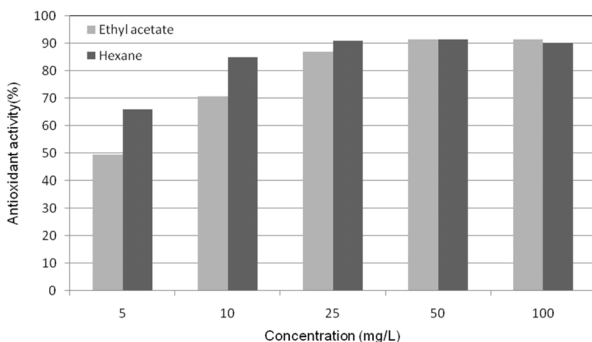


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of condensed liquid obtained during drying process of *C. obtusa*.

Sesquiterpene류는 monoterpene류보다 구조가 다양하고 항진균, 진통 등 다양한 생리활성에 효과가 높다고 알려져 있다 (Sode *et al.*, 1989). 이러한 이유로 본 연구 결과에서도 높은 항진균 및 항산화 효과를 유도하였을 것으로 사료된다.

Ethyl acetate 추출물에서 검출된 gamma-cadinene은 편백나무 이외에도 삼나무 및 altras cedar, sandalwood 등 다양한 식물에 포함되어 있으며 구강 박테리아의 *Staphylococcus epidermidis*, *Fusobacterium nucleatum*을 포함한 15종에 대해 상당한 억제활성을 보이고 있다(Kim *et al.*, 2004). 뿐만 아니라 *Salvia tomentosa*로부터 추출된 정유는 gamma-cadinene을 주성분으로 하여 *Pseudomonas aeruginosa*에 대해 항박테리아 활성을 나타낸다는 보고도 있다(Haznedaroglu *et al.*, 2001).

하지만 본 연구에서 ethyl acetate 추출물보다 hexane 추출물

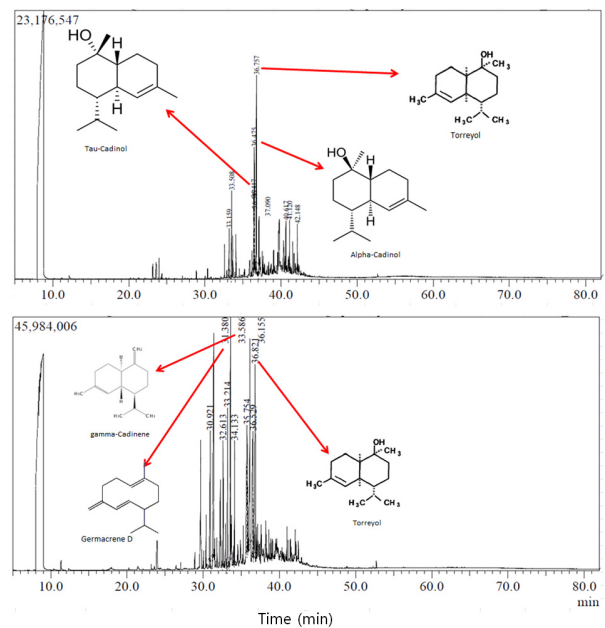


Fig. 3. Total ion chromatogram of the extracts of condensed liquid obtained during drying process of *C. obtusa* determined by GC/MS (top: hexane extract, bottom: ethyl acetate extract).

에서 높은 항진균, 항산화 효과를 나타낼 수 있었던 것은 hexane 추출물에서 검출된 각각의 주요성분의 시너지 효과에 의한 것으로 사료된다. 이와 같은 결과를 종합할 때 편백나무 건조과정에서 발생하는 응축수가 피부사상균의 생장억제 및 항산화 활성을 가지는 기능성 물질로 충분한 가능성이 있다는 것을 확인할 수 있었다. 앞으로 추출물 주요성분에 대한 독립된 생리활성 평가가 수행되어야 하며 지속적인 항산화 활성 유지를 위한 후속연구가 필요하다.

적요

본 연구는 편백나무 건조 중 발생하는 휘발성 유기화합물로 구성된 응축수에 대해 항진균 및 항산화 활성을 평가하였다. 응축수는 hexane과 ethyl acetate로 각각 추출하였으며 추출액의 농도 100–500 mg/L에서 피부사상균에 대한 항진균 활성을 측정하였다. 추출액 농도가 증가할수록 항진균 효과도 증가하였으며 500 mg/L에서는 모든 피부사상균에 대해 높은 항진균 활성을 나타냈다. 추출용매에 따라서는 hexane으로 추출하였을 경우 높은 활성을 나타냈으며, 특히 *Trichophyton rubrum*에 대한 항진균 활성이 높았다. 항산화 활성을 측정된 결과 25 mg/L 이상의 농도에서는 90% 이상의 항산화 활성을 나타냈으며 추출용매에 따른 차이는 거의 없었다. 하지만 25 mg/L 이하의 농도에서는 hexane 추출물에서 높은 항산화 활성을 나타냈다. 각각의 추출물 구성성분을 분석한 결과 hexane 추출물의 주요 구성성분은 torreyol, alpha-cadinol, tau-cadinol이며, ethyl acetate 추출물의 주요 구성성분은 alpha-amorphene, alpha-cadinol, gamma-cadinene으로 나타났다.

참고문헌

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* **28**, 25–30.
- Cronn, D., Truitt, S., and Chmpbell, M. 1983. Chemical characterization of plywood veneer dryer emission. *Atmospheric Environment* **17**, 201–211.
- Englund, F. and Nussbaum, R. 2000. Monoterpenes in Scots pine and Norway spruce and their emission during kiln drying. *Holzforschung* **54**, 449–456.
- Gwak, K.S., Park, M.J., Jeung, E.B., Chang, J.W., and Choi, I.G. 2006. Comparison of antifungal activities of monoterpenes and sesquiterpenes in essential oil from *Chamaecyparis obtuse* against dermatophytes. *Mokchae Konghak* **34**, 46–55.
- Haznedaroglu, M., Karabay, N., and Zeybek, U. 2001. Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. *Fitoterapia* **72**, 829–831.
- Kim, H.K., Kim, B.C., Shin, C.G., Jeong, S.I., Kim, H.J., and Ju, Y.S. 2004. Susceptibility of oral bacteria to essential oil of *Artemisia capillaris* Thunb. *Korean J. Oriental Medicine* **25**, 121–128.
- Kim, S.H., Lee, S.Y., Hong, C.Y., Gwak, K.S., Yeo, H.M., Lee, J.J., and Choi, I.G. 2011. Whitening and antioxidant activities of essential oils from *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtuse*. *Mokchae Konghak* **39**, 291–302.
- Lee, S.Y., Gwak, K.S., Kim, S.H., Lee, J.J., Yeo, H.M., and Choi, I.G. 2010. Analysis of terpenoids as volatile compound released during the drying process of *Cryptomeria japonica*. *Mokchae Konghak* **38**, 242–250.
- McDonald, A., Dare, P., Gifford, J., Steward, D., and Riley, S. 2002. Assessment of air emissions from industrial kiln drying of *Pinus radiata* wood. *Holz als Roh-und Werkstoff* **60**, 181–190.
- McDonald, A. and Wastney, S. 1995. Analysis of volatile emissions from kiln drying of radiata pine. Vol. 3, pp. 431–436. *In proc 8th Int. symp. of wood pulping chemistry*. Helsinki, Finland.
- McGarvey, D. and Croteau, R. 1995. Terpenoid metabolism. *Plant Cell* **7**, 1015.
- Park, M.J., Choi, W.S., Min, B.C., Kim, H.Y., Kang, H.Y., and Choi, I.G. 2008. Antioxidant activities of essential oils from *Chamaecyparis obtusa*. *Mokchae Konghak* **36**, 159–167.
- Park, M.J., Lee, S.M., Gwak, K.S., Jeung, E.B., Chang, W.J., and Choi, I.G. 2005. Investigation of active antifungal compounds of essential oil from *Chamaecyparis obtusa* against dermatophytes, *Microsporum canis* and *Trichophyton Mentagrophytes*. *Mokchae Konghak* **33**, 72–78.
- Sode, K., Karube, I., Araki, R., and Mikami, Y. 1989. Microbial conversion of β -ionone by immobilized *Aspergillus niger* in the presence of an organic solvent. *Biotechnol. Bioeng.* **33**, 1191–1195.
- Soliman, F.M., El-Kashoury, E.A., Dathy, M., and Gonaïd, M.H. 1994. Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egyptian. *J. Flavour Fragrance* **9**, 29–33.
- Yaeno, A., Nakai, Y., Hayakawa, R., and Nishino, T. 2003. Antibacterial effect of beta-thujaplicin on *Staphylococci* isolated from atopic dermatitis. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**, 113–122.
- Vila, J., Angel, F., and Limona, X. 1999. *Volvariella nigrovolveacea* kosina var. *Catalana Micol.* **22**, 131–135.