

추출방법에 따른 편백 정유의 향기 성분 비교 및 아토피 개선에의 응용

임금숙¹, 김란², 조훈³, 문영숙⁴, 최창남^{1*}

Comparison of Volatile Compounds of *Chamaecyparis obtusa* Essential Oil and its Application on the Improvement of Atopic Dermatitis

Geum-Sook Lim¹, Ran Kim², Hoon Cho³, Young-Sook Moon⁴, and Chang-Nam Choi^{1*}

접수: 2013년 2월 4일 / 게재승인: 2013년 3월 28일
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Volatile flavor compounds of *Chamaecyparis obtusa* essential oil were extracted by simultaneous steam distillation extraction (SDE) and supercritical fluid extraction (SFE) and analyzed by GC-MS. A total of 48 and 50 components were identified in essential oil by SDE and SFE, respectively. Monoterpenes, oxygenated monoterpenes, sesquiterpenes, oxygenated sesquiterpenes, and diterpenes in essential oil by SDE were 37.24, 10.9, 9.61, 0.22, and 0.22%, respectively. In the case of SFE, they were 19.1, 23.3, 22.66, 1.31, and 10.57%, respectively. Antioxidant activities were increased with the increase of essential oil up to 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$, irrespective of extraction method. Especially, when the essential oil concentration extracted by SDE was increased from 20 to 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$, the antioxidant activity was increased from 10.5 to 55.1%. However, over 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$ of essential oil, an equilibrium state was maintained. In the case of essential oil extrac-

ted by SFE, it was decreased compared to that of SDE. For the improvement of atopic dermatitis, various cosmetics such as an ato-cide soap, ato-cide spray, and ato-cide lotion containing essential oil extracted by SFE were tested. About over 90% was useful for the improvement of atopic dermatitis after 4 weeks of clinical trial targeting 40 female adults. These results demonstrate that ato-cide soap, ato-cide spray, and ato-cide lotion containing essential oil extracted by SFE could be used in functional cosmetics.

Keywords: *Chamaecyparis obtusa*, Essential Oil, Simultaneous Steam Distillation Extraction, Supercritical Fluid Extraction, Antioxidant Activity, Functional Cosmetics

1. 서론

정유 (essential oil)는 다른 성분에 비하여 미량으로 존재하지만 기호도 및 제품의 품질 평가에 중요한 영향을 미치며 품종의 선택에 있어서도 중요한 역할을 한다. 천연물로부터 정유성분을 분리하는 방법으로는 연속수증기증류법 (simultaneous steam distillation extraction, SDE), 용매추출법 (solvent extraction, SE)법, headspace법, 고체상 미세추출법 (solid-phase microextraction, SPME) 등 [1]이 있는데, 비교적 열에 안정한 시료인 경우에는 연속수증기증류법이 많이 이용되고 있고, 고체상 미세추출법은 유기용매를 사용하지 않고 적은 양의 시료를 간단하게 전처리할 수 있어 최근에 많이 사용되고 있다 [2]. 특정의 유용 성분을 분리하기 위해 일반적으로 높은 온도에서 추출용매를 이용한 추출법이 주류를 이루고 있지만 이는 높은 온도를 장시간 사용해야 함으로써 발

¹전남대학교 일반대학원 향장품화학동과정

¹Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetics, Chonnam National University Graduate School, Gwangju 500-757, Korea
Tel: +82-62-530-1772, Fax: +82-62-530-1779
e-mail: cnchoi@chonnam.ac.kr

²원광보건대학교 허브테라피향장과정

²Department of Herb Therapy & Cosmetics, Wonkwang Health Science University, Jeonbuk 570-750, Korea

³조선대학교 공과대학 응용화학소재공학과

³Department of Polymer Science & Engineering, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

⁴조선대학교 의과대학 내성세포연구센터

⁴Research Center for Resistant Cells, Chosun University Medical School, Gwangju 501-759, Korea

생하는 유용성분의 변성 및 파괴 등이 야기되고 또한 사용된 용매의 일부가 유용성분에 잔존할 가능성이 있기 때문에 효과적인 추출법이라고 할 수 없다 [3]. 한편 초임계 유체 추출법 (supercritical fluid extraction, SFE)은 이와 같은 단점을 보완하고 기존의 추출방법을 대체할 수 있는 신기술로서 식품, 의약품 및 향료공업에서 특정 성분을 추출분리하기 위하여 많이 이용되고 있으며, 석유공업에서 잔류유 추출, 토양과 수질에 존재하는 유해 유기물의 제거 및 초임계 유체의 빠른 팽창에 의한 초미립자 생성 등에 적용되고 있다. 가장 많이 사용되는 유체는 이산화탄소로서 불연성 및 무독성이며 임계온도와 임계압력이 낮아 초임계 상태를 만들기 쉽기 때문에 최근 식품, 의약, 화장품 등에 널리 사용되고 있다. 또한 초임계유체를 이용한 커피의 카페인과 담배의 니코틴 제거, 호프 엑기스의 추출 등은 이미 산업화되어 있고, 화장품과 식품업계에서는 향료소재 추출에 사용하고 있다 [4-6].

편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 열대 수종으로 우리나라는 남쪽 지방에 잘 생육하며 편백나무 정유는 많은 종류의 테르펜 성분을 함유하고 있으며, 최근에는 편백의 정유 성분이 다양한 용도로 사용되고 있고 이 수종은 상록 교목으로서 높이가 40 m, 지름 2 m까지 자라고 수피는 홍갈색이며 편백나무는 주로 조림용이나 관상수 방풍목으로 이용되어 왔다. 일반적으로 정유는 terpene, alcohol, aldehyde 등과 같은 여러 가지 복합화합물로서 이런 복합물질로 구성된 성분들이 질병을 치료하는데 광범위한 효능을 갖고 있다. 정유 성분 중 일부는 약간의 부작용을 일으키지만 정유에는 많은 유효한 성질과 성분을 갖고 있다. 정유 성분에 의한 효능은 항염증성, 살균성, 식욕증진, 진위, 강장성, 순환촉진성, 탈취성, 거담성, 살충성, 신경안정성 등이 현재 알려지고 있다 [7,8]. 편백나무의 정유 성분의 특성이나 조성에 관해서는 일본산 및 대만산 편백나무를 중심으로 연구 되어져 있으며, 이들의 주요 구성성분은 monoterpene류와 sesquiterpene류인 것으로 밝혀졌다 [9]. Kim 등은 알레르기 예방 효과 등을 확인하기 위해 아토피성 피부염 증상을 가진 사람의 혈액 중에 집먼지 진드기에 대한 면역 IgE에 속하는 항체와 집먼지 진드기 알레르겐의 원인을 검토 했다. 또한 편백 정유는 아토피, 알레르기 등 각종 피부질환의 원인이 되는 집먼지 진드기 생육 억제에 탁월한 효과가 있을 뿐 아니라, 피부질환에서 가장 괴로운 증상인 가려움증을 크게 경감시켜 준다고 보고하였다 [10]. 그러나 추출방법에 따른 편백 정유를 주성분으로 한 기능성 화장품을 제조하여 아토피 효과에 대한 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 첫째 연속 수증기 추출 및 초임계 추출 방법에 따른 편백 정유 성분을 비교하고 항산화 효과를 검토 하였다. 둘째, 아토피염을 가진 환자들에게 편백 정유를 주성분으로 한 세정용 천연 고형 비누와 액상 스프레이, 콜레스테롤, 세라미드, 지방산을 혼합한 유액(로션) 제품 등을 제조하여 환부에 도포하여 외용 치료제로서 안정성과 유효성을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료

편백 (*Chamaecyparis obtuse*)잎을 2011년 8월에 전남 장성 지역에서 채취해서 연속수증기 추출법 및 초임계 추출법을 이용하여 추출한 정유(Essential oil)를 사용하였다.

2.2. 추출

2.2.1. 연속수증기 추출법

Likens & Nickerson type 연속 수증기 증류장치를 이용하여 추출하였다. 편백잎 200 g을 잘게 세절하여 플라스크에 넣고 증류수 1,000 L를 넣은 후, 용매용 둥근바닥플라스크 (250 mL)에는 diethyl ether 100 mL를 가하였다. 시료가 들어 있는 플라스크를 100°C에서 먼저 가온하였고, 시료가 끓기 시작할 때 용매용 플라스크를 60°C로 가온하였다. 3시간 동안 추출 후 용매용 플라스크에 들어 있는 diethyl ether만을 분리하여 회전감압 농축기(EYELA NE-1101)를 이용하여 농축하였다.

2.2.2. 초임계 추출법

초임계 지방 추출 장치 (SCCO₂ Extraction System, IL Sin, Korea)로 추출하였다. 시료 추출기에 편백잎 200 g을 넣고, 압력 420 atm, 추출온도 45°C에서 5시간 동안 추출하였다.

2.3. 정유성분 분석

정유의 휘발성 향기성분의 분석과 동정에는 GC-FID (HP 6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA)와 GC-MS (7890A GC-5975C MS, Agilent technology, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. GC-FID에 사용된 capillary column은 HP-5 (30 m×0.32 mm×0.25 μm, J&W, Folsom, CA, USA)이었다. 초기 오븐 온도는 40°C에서 3분간 유지한 후에 10°C/min의 속도로 상승시켜 최종온도 230°C에서 5분간 유지하였고 carrier gas는 helium (2.2 mL/min)을 사용하였다. 향기성분이 흡착된 SPME fiber를 FID가 설치된 GC 주입구에 넣어 5분간 탈착시켜 splitless mode로 분석하였다. 분리된 성분의 동정을 위해 GC와 연결된 mass spectrometer (Agilent 5975C)와 HP-5MS column (30 m×0.25 mm×0.25 μm, J&W)을 사용하였다. 초기 오븐 온도는 40°C에서 4분간 유지한 후에 5°C/min의 속도로 상승시켜 최종온도 230°C에서 5분간 유지하였고 carrier gas는 helium (1.0 mL/min)을 사용하였다. MS의 이온화는 70 eV에서 실행하였고 splitless mode로 분석하였다. 분리성분의 최종 확인은 GC-MS의 library (Wiley/NBS)와 C6-C22의 n-paraffine mixture (Supelco)를 통한 retention indices의 계산결과를 참고하여 결정하였다.

2.4. 항산화 효과

희석한 추출액 10 mL, methanol 90 mL, DPPH (0.3 mM) 100 mL 혼합해서 30분간 암실에서 incubation하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 계산식은 다음과 같다.

향산화효과 (%) = [1 - (시료 첨가군의 흡광도 / 시료 무첨가군의 흡광도)] × 100

2.5. 아토피성 피부염 임상시험자 선정 및 방법

2012년 9월1일부터 9월30일까지 광주·전남지역에 거주하는 연구자의 선정 기준에 의해 선정된 남녀노소를 구분 하지 않은 40명의 아토피 피부염 환자를 선정하였다. 선정 기준은 다음과 같다. 아토피성 자가 진단 테스트는 서울의 S 한의원의 진단 테스트에 의해서 수정 보완된 테스트의 20문항 중 1~5개 초기 아토피 피부염, 6~10개 중증 아토피 11개 이상은 심한 아토피로 구분하였으며, 이 중 중증 아토피 증상인 40명을 선정하여 임상시험 대상으로 하였다(아토피 자가 진단 테스트의 20문항 중 11문항 이상인 사람, 임상시험 기간 중 스테로이드제 또는 항히스타민제, 면역 억제제를 사용하지 않은 사람, 아토피 피부염 외에 다른 피부 질환이 없는 사람). 대상자에 대해 사전 설문 조사를 실시한 후 편백 정유를 이용하여 제조한 아토피치드 비누와 아토피치드 스프레이 아토피치드 로션을 사용하게 한 후 설문과 사례 발표로 진행하였다.

2.6. 아토피 치료를 위한 제품의 조성

아토피 치료를 위해 편백 정유를 주성분으로 한 아토피치드 비누 (ato-cide soap), 액상 스프레이(ato-cide spray), 로션 (ato-cide lotion) 제품의 조성은 Table 1과 같다.

2.7. 아토피 치료를 위한 제품의 제조방법

아토피치드 비누 (ato-cide soap) 제조 방법: 비누베이스 90 g을 내열 유리에 잘게 썰어 넣어 비누베이스에 열을 서서히 가해 녹여, 1~3분 정도 식힌 다음, 녹인 비누 베이스에 편백정유 3 g로 녹여 비누 베이스에 넣고, 비누 틀에 부어 굳힌 다음 빼내 사용하였다.

아토피치드 스프레이 (ato-cide spray) 제조 방법: 소독한 비이커에 편백정유와 올리브 리퀴드를 넣어 섞고 정제수 90 mL를 혼합후, 그 다음에 글리세린을 넣고 잘 저어 소독한 스프

레이 용기에 담아 실험에 사용하였다.

아토피치드 로션 (ato-cide lotion) 제조 방법: 소독한 비이커 A에 camellia oil, neem oil, evening primrose oil, olive wax를 넣어 75°C에 온도를 맞고 소독한 비이커에 B에는 정제수 85 mL를 넣어 온도를 75°C까지 올린 다음 비이커 A와 B를 혼합하여 그 다음 glycerin, vitamin E, ceramide liquid, allantoin, vitamin B₅ 등의 첨가물을 넣어 고르게 교반하여 온도가 45°C 정도로 내려갈 때까지 잘 저어 준 다음 편백정유를 넣어 고르게 혼합한 다음 소독한 로션 용기에 담아 실험에 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 편백잎 수분 및 정유 추출수율

편백잎의 함수율 및 정유 추출 수율을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 편백잎의 함수율은 55.4%이고 수증기 추출방법에 의한 편백 정유 수율은 1.2%로 나타났다. 이것은 수증기 추출방법에 의한 일본 산 편백 정유 수율 1.5% [11] 및 경상대학교 (경남 진주시 가좌동) 교내에서 생장되고 있는 편백잎을 이용하여 정유 추출수율보다는 낮았지만 [12] 전북 전주 지역에서 자란 편백 정유 수율 0.8% [13]에 비해 높은 정유 수율을 나타냈다. 이것은 지역적 특성 및 생육의 환경의 차이라고 사료된다. 초임계 추출방법에 의한 편백 정유 추출물의 수율은 2.9%였다. 이 수치는 수증기 추출방법에 의한 수율보다도 약 2.4배 증가하였다.

3.2. 연속수증기 증류 및 초임계 추출법에 따른 정유 성분

일반적으로 식물 추출물의 경우 전처리 방법 및 전처리 과정 및 추출시에 사용한 용매에 따라 검출되는 성분이 달라진다. 정유는 많은 종의 유기화합물이 집합된 형태인 천연물이므로 유기성분을 잘 용출시키고 보존 추출할 수 있는 최적의 전처리법을 사용해야만 손실을 최소화해 다양한 성분의 정유 성분과 상대적으로 고농도의 각 성분을 고효율로 얻을 수 있다.

초임계 임계추출법의 경우는 온도를 갑자기 떨어뜨린 후 CO₂로 세포벽을 깨뜨려 성분을 추출하므로 성분 변형을 막고 성분 손실을 최소화하는 방법이고 다른 전처리법에 비해 상대적으로 검출되는 성분 종류가 다양하고 각 성분의 검출 농도도 높다고 보고되었다. 그러나 수증기 추출법의 경우 온도를 가해 시료를 끓여 유기성분을 추출하는 방법이므로 온도를 가해 끓이는 도중 성분이 변형되거나 손실되는 경우가

Table 1. Compositions of ato-cide soap, ato-cide spray, and ato-cide lotion

Composition	Concentration (g)		
	Ato-cide soap	Ato-cide spray	Ato-cide lotion
Soap base	90.0		
<i>C. obtusa</i>	3.0	0.5	0.5
Essential oil			
Olive liquid	1.0	1.0	
water		90.0	85
Camellia oil			1.0
Neem oil	2.0	1.0	3.0
Primrose oil			0.5
Olive wax	1.0	1.5	1.0
Glycerin	1.0	5.0	1.0
Vitamin E			1.0
Ceramide liquid	1.0	1.0	1.0
Allantoin			1.0
Vitamin B ₅	1.0		5.0

Table 2. Moisture content and extraction yield of *C. obtusa* essential oil

Material	Moisture content (%)	Extraction yield of essential oil using SDE (%)	Extraction yield of essential oil using SFE (%)
<i>C. obtusa</i> leaf	55.4	1.2	2.9

발생할 수 있으며, 물(수용성)에 친화력을 가지는 성분이나 수용성과 지용성의 양쪽성 성질을 가지는 성분의 경우 물에 용해되어 완전 제거되지만 일부분의 지용성 오일층에 남아 있게 되어 농도가 낮아질 수 있다고 보고되고 있다 [14]. 따라서 본 연구에서는 연속수증기 증류 및 초임계 추출법에 따른 정유 성분을 비교해 보았다. Table 3은 편백잎을 이용하여 수증기 및 초임계 추출법으로 추출한 휘발성 향기 성분을 GC/MS로 분석한 결과이다. Table 3에서 보는 바와 같이 추출방법에 따라 휘발성 향기 성분과 함량이 많은 차이가 있음을 알 수 있었다. 편백잎에서 연속 수증기 추출법으로 분리한 정유에서는 72종의 성분 중에서 48종의 성분을 동정하였다. 수증기 추출방법으로 추출한 정유 성분 중에서는 terpinenyl acetate 와 terpinen-4-ol이 각각 11.04%와 10.01%로 가장 높았고 그 다음 순으로 bornyl acetate (7.57%), gamma-terpinene (6.02%), elemol (5.16%), limonene (4.23%), sabinene (4.19%), beta-eudesmol (4.39%), carene (3.42%), beta-myrcene (3.29%), widdrene (3.27%), camphene (2.07%), cymene (2.3%), alpha-terpineol (2.28%), cadinen (2.45%), guaiol (2.58%), beyerene (2.21%), alpha-thujene (1.71%), isodene (1.57%), calamenene (1.56%), cedrol (1.44%), alpha-Thujene (1.35%) 순이었다. 수증기 추출방법에서는 sabinene hydrate acetate, thujopsene, alpha-bisabolol, germacrene, 1,6-germacradien-5-ol, caryophyllene oxide, androstan, (E)-solanone, alpha-bergamotene, alpha-muuroolene, dehydroaromadendrene, ledol, tramat, longifolene-(12)-epoxide-(1), guaiol, alloaromadendrene, pyrimidine-tetramine, beta-oplophenone은 검출되지 않았다. 그러나 초임계 추출법으로 분리한 정유에서는 74종의 성분 중에서 50종의 성분을 동정하였다. 추출한 정유 성분 중에서는 terpinenyl acetate와 elemol이 각각 13.97%와 13.52%로 가장 높았다. 특히 elemol 수치는 수증기 추출법보다도 약 2.6배 높았다. 그 다음 순으로 bornyl acetate (6.87%), sabinene (6.5%), beyerene (5.38%), limonene (4.75%), beta-eudesmol (3.33%), androstan (3.13%), beta.-myrcene (2.84%), widdrene (2.81%), cubebene (2.02%), germacrene (2.09%), caryophyllene (1.97%), cedrol (1.84%), gamma-terpinene (1.82%), ledol (1.46%), alpha-terpineol (1.35%), caryophyllene oxide (1.29%), globulol (1.24%), longifolene-(12)-epoxide-(1) (1.11%), 1,6-germacradien-5-ol (1.08%), beta-pinene (1.02%), tramat (0.88%), dehydroaromadendrene (0.87%), curcumene (0.84%), terpinen-4-ol (0.80%), delta-selinene (0.77%), alpha-pinene (0.75%), beta-himachalene (0.74%), solanone (0.72%), cedrene (0.65%), guaiol, (0.65%), rimuene (0.59%), cymene (0.58%), (E)-alpha-muuroolene (0.58%), thujopsene (0.57%), beta-elemene (0.54%), alpha-thujene (0.50%), camphene (0.50%), alpha-bergamotene (0.41%), terpinolene (0.38%), cadinen (0.38%), alpha-bisabolol (0.36%), pyrimidine-tetramine (0.35%), sabinene hydrate acetate (0.34%), beta-oplophenone (0.33%), alloaromadendrene (0.31%)이었다. 초임계 추출법에서는 carene, phellandrene, alpha-ylangene, guaiol, calamenene, longipinene, isocineole, 2-allyltoluene, ocimene, Iso-

Table 3. Volatile compounds of *C. obtuse* essential oil

Volatile compounds	Concentration (Relative peak area, %)	
	SDE method	SFE method
alpha-Thujene	1.35	0.5
alpha-Pinene	1.71	0.75
Camphene	2.07	0.5
Sabinene	4.19	6.5
beta-Pinene	3.12	0.99
Carene	3.42	
beta.-Myrcene	3.29	2.84
Phellandrene	0.86	
Cymene	2.3	0.58
gamma-Terpinene	6.02	1.82
Terpinolene	0.45	0.38
Limonene	4.23	4.75
alpha-Terpineol	2.28	1.35
Terpinen-4-ol	10.01	0.8
Bornyl acetate	7.57	6.87
sabinene hydrate acetate		0.34
Terpinenyl acetate	11.04	13.97
beta-Elemene	0.23	0.54
Cadinen	2.45	0.38
Germacrene		2.09
Cubebene	0.65	2.02
Curcumene	0.67	0.84
Caryophyllene	0.94	1.97
Cedrene	0.22	0.65
beta-Himachalene	0.95	0.74
alpha-Ylangene	0.53	
delta-Selinene	0.2	0.77
Calamenene	1.56	
Longipinene	0.95	
Thujopsene		0.57
Guaiol	2.58	
Elemol	5.16	13.52
alpha-bisabolol		0.36
Cedrol	1.44	1.84
beta-Eudesmol	4.39	3.33
1,6-Germacradien-5-ol		1.08
Caryophyllene oxide		1.29
Globulol		1.24
Rimuene	0.22	0.59
(E)-Solanone		0.72
Beyerene	2.21	5.38
Widdrene	3.27	2.81
Androstan		3.13
Isocineole	0.22	
2-Allyltoluene	0.22	
Ocimene	0.58	
Isoledene	1.57	
1,2-Diethylcyclohexane	0.29	
Cubenol	0.52	
alpha-Bergamotene		0.41
alpha.-Muuroolene		0.58
Dehydroaromadendrene		0.87
Ledol		1.46
Tramat		0.88
Longifolene-(12)-epoxide-(1)		1.11
Guaiol		0.65
Alloaromadendrene		0.31
Pyrimidinetetramine		0.35
beta-Oplophenone		0.33

ledene, 1,2-diethylcyclohexane, cubenol 등은 검출되지 않았다.

일반적으로 herb, spice, citrus, fruits 등 대부분의 식물체에서 얻어진 terpene류를 함유하는 정유에서 독특한 향에 영향을 미치는 것은 terpene (hydrocarbon)이 아니고 alcohol 또는 ester 등을 포함하는 oxygenated terpene으로 알려져 있다 [15]. Table 4는 휘발성분 중의 terpene류와 oxygenated terpene의 구성 비율을 나타내었다. 연속수증기 추출법을 이용해서 얻은 정유의 주요 구성성분은 88% 이상 terpene류로 구성되어 있다. 특히 monoterpene류, oxygenated monoterpenes류, sesquiterpenes, oxygenated sesquiterpenes 및 diterpenes이 차지하는 비율은 각각 37.24%, 10.9%, 9.61%, 0.22%, 0.22%이었다. Hong등 [12]은 전북 전주에서 자란 편백의 잎에서 분리한 정유의 구성 성분 중에서 95% 이상의 terpene류로 구성되어 있고 monoterpene류, oxygenated monoterpenes류, sesquiterpenes, 및 oxygenated sesquiterpenes이 차지하는 비율은 각각 36.59%, 29.85%, 4.43%, 20.74%라고 보고하였다. 그러나 전남 장성에서 채취한 편백잎을 이용하여 초임계 추출방법으로 추출할 경우 정유성분 중에서 monoterpene류, oxygenated monoterpenes류, sesquiterpenes, oxygenated sesquiterpenes, 및 diterpenes이 차지하는 비율은 각각 19.1%, 23.3%, 22.66%, 1.31%, 10.57%이었다. 연속수증기법에 의한 추출물의 경우 oxygenated terpene 함량이 초임계추출물보다도 훨씬 많은 양을 나타내고 있다. oxygenated terpene의 경우 산소의 존재로 인하여 terpene의 경우보다도 극성을 띠고 있어서 비극성인 초임계 이산화탄소보다도 물에 더 잘 추출된 것으로 사료된다. 이는 Nykanenn 등 [16]이 angelica root oil의 수증기 증류에 의한 추출의 경우가 초임계 추출 경우보다도 oxygenated terpene의 추출량이 더 많았다고 한 보고와도 일치하였다. 본 연구에서는 sesquiterpene류 성분들이 초임계 추출시보다도 수증기 추출시에 훨씬 적게 나타나고 있다. 이는 이들 성분들이 상대적으로 휘발도가 낮아서 수증기 증류시 파괴되거나 일부는 물에 가수 분해되었음을 시사하며 이로 인하여 향의 변질이 일어났을 것으로 생각된다.

Jung 등 [13]은 편백 추출물에서는 총 24종의 휘발성 향기 성분이 검출되었으며 휘발성 향기 성분은 alpha-terpinenyl acetate 14.9%, sabinene 10.9%, dl-limonene 9.6%, alpha-terpinolene 7.5%, alpha-pinene 7.1%로 monoterpene류가 약 83.7%, sesquiterpene류는 약 16.3%의 비율을 차지하는 것으로 확인되었다고 보고했다. 또한 일본산 편백 잎에서 분리된 편백 추출물에서 monoterpene류가 47.5%, sesquiterpene류가 43.2%, 산류와 페놀류 등 기타성분이 약 9.3%를 차지한다는 연구보

Table 4. Relative percentage of various classes of compounds in *C. obtuse* essential oil obtained by SDE and SFE

Compounds class	SDE method (%)	SFE method (%)
Monoterpenes	37.4	19.1
Oxygenated monoterpenes	10.9	23.33
Diterpenes	0.22	10.57
Sesquiterpenes	9.61	22.66
Oxygenated sequiterpenes	0.22	1.31

고 [17]와 일본산 편백 잎에서 분리한 정유의 중성성분 분석에서 monoterpene류의 비율은 58.9%, sesquiterpene류의 비율은 41.1%라고 보고된 결과 [18]와는 다른 결과를 나타냈다. 이는 편백의 품종, 편백잎의 채취 시기, 추출 증류방법 등의 차이 때문인 것으로 생각된다. 편백 추출물에서 확인된 monoterpene류와 sesquiterpene류는 항바이러스, 항균성을 나타내고 천연 방제제로서의 효능을 가진다는 연구결과가 있으며 특히 sesquiterpene류는 monoterpene류보다도 구조가 다양하고 항진균, 진통효과가 높다고 알려져 있다 [19]. 초임계 방법으로 추출한 정유의 성분 중에서 sesquiterpene류 함량은 monoterpene류 보다도 약 2.5배 높았다. 또한 dl-limonene는 낮은 농도에서 아플라톡신 억제효과 [20], pinene은 높은 항헬리코박터 파일로리 활성을 가진다는 연구 보고도 있다 [21].

3.3 연속수증기 및 초임계 추출법에 따른 정유의 항산화 활성

지질의 과산화 과정 중 만들어진 라디칼은 암, 동맥경화 등과 같은 많은 질병을 유발하며, 인체의 노화를 촉진시킨다 [22]. 천연물에 있는 페놀 화합물 및 플라보노이드 등은 이러한 라디칼에 수소를 공여하여 라디칼을 환원시키거나 상쇄함으로써 지질 산화를 억제할 수 있다. DPPH는 화합물내 질소 중심의 radical로 free radical의 안정화된 물질이다. 따라서 반응 중 DPPH의 감소는 free Radical의 소거 반응이 진행되고 있음을 알 수 있고 지질의 과산화 초기반응의 억제 정도를 예측할 수 있다. DPPH는 free radical을 가지고 있는 수용성 물질로서 515~520 nm 부근에서 최대 흡광도를 가지며 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 전자를 내어주며 radical이 소거되고 탈색된다. 이러한 DPPH는 dioxane이나 CCl₄와 같은 비극성 용매에서는 2차, 3차 산화 반응이 일어나기도 하나 DPPH의 질소 원자와 alcohol에는 수소 결합이 형성되기 때문에 alcohol용액 내에서는 비교적 안정하다 [23]. 연속수증기 및 초임계 추출법에 따른 정유의 항산화효과를 알아보기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정했고 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능은 정유의 농도에 각각 비례하였다. 수증기 추출법에 의해 추출된 정유의 경우에는 농도가 20 µL/mL에서 80 µL/mL로 증가할 경우 DPPH radical 소거능은 10.5%에서 55.1%로 증가하였으며, 그 이후에서는 평형상태를 유지하였다. 초임계추출법에 의해 추출

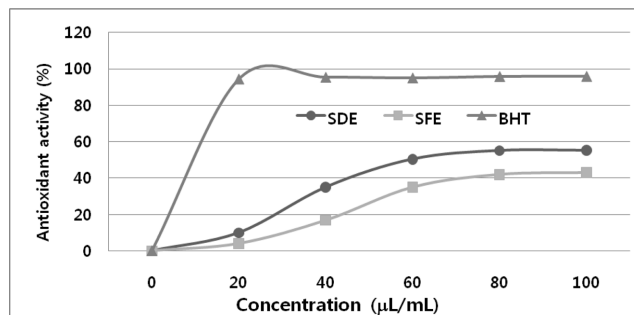


Fig. 1. Effect of essential oil concentration on antioxidant activity.

된 정유의 경우에는 농도가 20 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 80 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 로 증가할 경우 DPPH radical 소거능은 4.3%에서 42.8%으로 증가하였으며, 이 경우에서도 그 이후의 농도에서는 평형상태를 유지하였다. 이상의 결과로부터 수증기 추출법에 의한 정유 성분이 항산화 효과가 높은 것을 알 수 있었으며, 이는 monoterpene 농도가 초임계 추출법에 의한 것보다 더 높았기 때문으로 사료된다. 이러한 결과는 Germann 등 [24]이 정유 성분 중에서 monoterpene이 주로 활성을 갖는다는 결과와 일치하였다. 또한 정유 성분중에서 높은 항산화 활성을 나타내는 주요 활성 물질로는 gamma-terpinene, alpha-terpinene, terpinolene 같은 terpene이 보고되고 있다 [25]. 연속수증기 추출법에 의해 추출한 정유 성분 중에서 gamma-terpinene, terpinolene의 농도는 초임계 추출법보다도 약 2.9배 높았다. 그러나 편백정유는 휘발성으로 인해 효능이 오래 지속되지 않는다는 제한 효소를 가지고 있어 사용되는 용도에 따라 올바른 제형과 변형 혹은 가공방법의 선택이 중요하다고 사료된다.

3.4. 아토피성 피부염 임상효과

본 연구에서는 스트레스 완화 작용과 면역기능을 증대시키고 알레르기 및 피부질환에 효능이 있는 것으로 알려진 피톤치드 (phytoncide)의 함량이 가장 높은 것으로 보고된 편백정유를 주성분으로 한 세정용 천연 고형비누와 액상 스프레이, 콜레스테롤, 세라마이드, 지방산을 혼합한 유액 (로션) 제품 (ato-cide)을 피부건조증, 짓무름증, 가려움증을 호소하는 아토피 피부염 환자의 환부에 4주간 도포하게 하여 외용 아토피 개선 기능성 화장품으로서의 안정성과 아토피 증상이 개선되는 효능을 검증하기 위해 아토피 피부염 환자에게 적용한 편백 정유를 주성분으로 한 천연 고형 비누와 스프레이, 아토피치드 로션의 안정성과 아토피 증상의 개선 효능에 대해 검토하였다.

Gwak 등 [26]은 편백정유 성분 중 sesquiterpene류는 monoterpene류보다 구조가 다양하고 항진균, 진통 등 다양한 생리활성에 효과가 높다고 보고했다. 따라서 초임계 추출법에 의해 추출한 정유를 이용하여 아토피성 피부 증상 개선을 위한 편백 정유의 효능을 검증하기 위하여 비누와 스프레이, 로션을 제조하여 도포 후 설문지 답변과 사례 발표를 통해 연구를 진행하였다. 그 결과를 Table 5와 Fig. 2에 나타내었다. 사용 후 개선효과에 관한 질문에서 매우 좋아졌다 (35.0%), 좋아졌다 (30.0%), 조금 좋아졌다 (25.0%), 잘 모르겠다 (7.5%), 더 심해졌다 (2.5%)의 응답을 했고 65% 이상의 대상자가 좋아졌다 라는 응답을 해 편백 정유의 비누와 스프레이, 로션 등의 효능이 임상시험대상자들에게서 매우 유의함을 보여주었고 제품의 개선 요구 사항에 관한 질문에서는 보습력의 지속 (65.0%), 유분감의 지속 (12.5%), 향의 지속성 (20%), 자극성 완화 (0%)의 응답을 보였다.

이는 보습력의 지속이 65%의 높은 응답을 보인 원인은 계절적으로 더위가 채 가지지 않은 8월쯤 제품 성분을 구성하여 더위에 끈적이지 않도록 성분을 조성했던 요인과 아토피 피부염 환자들의 대부분이 공통적으로 호소하는 있는 심한

Table 5. Effect of ato-cide soap, ato-cide spray, and ato-cide lotion on skin condition

Item of test	Skin condition (%)	
제품도포 후 효과	매우 좋아졌다	35.0
	좋아졌다	30.0
	조금 좋아졌다	25.0
	잘 모르겠다	7.5
	더 심해졌다	2.5
제품이 개선되어 할 부분	보습력 지속	65.0
	유분감 지속	12.5
	향의 지속성	20.0
	자극성 완화	0
도포한 제품의 가장 큰 효과	가려움증 개선	65.0
	건조증 개선	27.5
	짓무름증 개선	5.0
도포한 제품의 가장 큰 장점	홍터완화	2.5
	제품의 효능 효과	65.0
	제품의 향	10.0
	제품의 용기	0
	제품의 안정성	25.0

건조증이 주요요인으로 작용한 것으로 보여진다.

또 자극성의 완화의 질문에 0%의 응답을 보인 부분에서는 편백 정유의 제품이 마우스 경구 투여 실험에서 보여준 결과와 마찬가지로 아토피성 피부에도 유의한 효과를 보일 것이라는 연구자의 생각과 일치함을 보여 주었다. 도포했던 제품의 가장 큰 효과를 묻는 질문에서는 가려움증 개선 (65.0%), 건조증 개선 (27.5%), 짓무름증 개선 (5.0%), 홍터완화 (2.5%)의 응답을 보여 이는 아토피성 피부염을 가진 사람의 가장 큰 고통인 심한 소양증을 보였던 결과를 볼 때 편백 정유의 제품이 아토피성 피부의 환우들의 고통을 덜어주는 데 매우 유의한 제품이라는 결론을 보여주고 있다. 도포 제품의 가장 큰 장점을 묻는 질문에서는 제품의 효능 효과 (65.0%), 제품의 향 (10.0%), 제품의 용기(0%), 제품의 안정성 (25.0%)의 응답을 보였다. 이는 제품의 안정성과 효능 효과에 대한 응답자들의 신뢰를 볼 수 있었다. 여러가지 주관적이고 객관적인 결과들을 보면 초임계 방법에 의해 추출한 편백정유가 아토피 증상 환우들의 가장 큰 고통으로 손꼽는 가려움증 완화로 상당한 효과를 보이는 것으로 확인되었으나 여러 가지 변수에 예민한 반응을 보이는 아토피성 피부염의 특성으로 볼 때 완치시킨다는 것은 어렵지만, 치료 보조용 화장품으로의 유



Fig. 2. Skin morphology after and before use of ato-cide soap, ato-cide spray, and ato-cide lotion.

효성은 가치가 있다고 사료된다. 그러나 본 연구자의 연구 대상자 중의 한 여고생은 연구 과정 중 아토피 개선 반응에서 좋은 호전 반응을 보이다가 시험을 앞두고 급격히 악화되는 증상을 보였다. 이는 스트레스가 인체의 면역기능을 저하시켜 아토피 피부염에 유해하기 때문으로 사료된다. 또한 본 연구는 아토피 피부염을 가진 환자들에게 독성평가 결과 무독성으로 알려졌으며 강한 살균작용과 숲의 수목향기로 심신의 안정을 주며, 또한 스트레스 완화 작용과 면역기능을 증대시키고 알레르기 및 피부질환에 효능이 있는 것으로 검증된 피톤치드 (phytoncide)의 함량이 가장 높은 것으로 보고된 편백 정유를 주성분으로 하여 세정용 천연 고형 비누와 액상 스프레이, 유액(로션)의 제품 등을 제조하여 환부에 도포함으로써 외용 치료제로서 안정성과 유효성을 확인하여 편백정유의 아토피성 피부증상 개선에 다양한 제품 유형으로의 활용 가능성이 있다고 사료된다.

4. 결론

연속 수증기 추출 및 초임계 추출 방법에 따른 편백 정유 성분 및 항산화 효과를 비교하고 아토피염을 가진 환자들에게 편백 정유를 주성분으로 한 기능성 화장품을 제조하여 환부에 도포하여 외용 치료제로서 안정성과 유효성을 검토하였다. 연속수증기 추출법을 이용해서 얻은 정유의 주요 구성 성분은 88% 이상이 terpene류이었다. 특히 monoterpene류, oxygenated monoterpene류, sesquiterpene, oxygenated sesquiterpene 및 diterpene이 차지하는 비율은 각각 37.24%, 10.9%, 9.61%, 0.22%, 0.22%이었다. 초임계 추출방법으로 추출할 경우는 monoterpene류, oxygenated monoterpene류, sesquiterpene, oxygenated sesquiterpene, 및 diterpene이 차지하는 비율은 각각 19.1%, 23.3%, 22.66%, 1.31%, 10.57%이었다. 연속수증기법에 의한 추출물의 경우 oxygenated terpene 함량이 초임계 추출물보다도 훨씬 많은 양을 나타내었다. oxygenated terpene의 경우 산소의 존재로 인하여 terpene의 경우보다도 극성이 커서 비극성인 초임계 이산화탄소보다도 물에 더 잘 추출되며, 수증기 추출법에 의한 정유 성분이 항산화 효과가 높은 것은 monoterpene 농도가 초임계 추출법에 의한 정유보다 더 높기 때문이다. 또한 초임계추출법으로 추출한 편백 정유를 혼합하여 제조한 화장품은 아토피 환우들에게 가장 큰 고통인 가려움증 개선 및 피부보습력을 증진시키는 등의 효과를 나타내어 안정적인 아토피 피부염 개선 물질 및 기능성화장품의 원료로서 적용 가능성이 있음을 확인하였다.

REFERENCES

1. Reineccius, G. A. (2007) *Flavour-isolation techniques: Chemistry, Bioprocessing, and Sustainability*. Berger RG (ed). pp. 409-

414, Springer-Verlag, Berlin, Germany.

2. Yun, K. S., J. H. Hong, and Y. H. Choi (2006) Characteristics of *Elsholtzia splendens* extracts on simultaneous steam distillation extraction conditions. *Korean J. Food Preserv.* 13: 623-628.

3. Choi, Y. H., J. Kim, and K. P. Yoo (1999) Selective extraction of ephedrine from *Ephedra sinica* using mixture of CO₂ diethylamine and methanol. *Chromatographia.* 50: 673-679.

4. Choi, Y. H., J. H. Ryu, K. P. Yoo, Y. S. Chang, and J. Kim (1989) Supercritical carbon dioxide extraction of podophyllotoxin from *Dysosma pleinata* roots. *Planta Med.* 64: 482-483.

5. Lucien, F. P. and N. R. Foster (2000) Solubilities of solid mixtures in supercritical carbon dioxide: A review. *J. Supercrit. Fluid.* 17: 111-134.

6. Hubert, P. and O. G. Vitzthum (1978) Fluid extraction of hop, spices, and tobacco with supercritical gases. *Angew. Chem. Int. Edit.* 17: 710-715.

7. Mishra, A. K. and N. K. Dubey (1994) Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl Environ Microbiol.* 60(4):1101-1105.

8. Price, S., L. Price, and S. Pe'noel D (1995) *Aromatherapy for Health professionals*. 1st ed., pp. 133-167. Chrchurch Livingstone, New York.

9. Hayashi, S., K. Yano, and T. Matsuura (1964) The monoterpene constituents of the essential oil from hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Bull. Chem. Soc. Japan.* 37: 608-683.

10. Kim, Y. Y. (2006) Health and phytoncide of forest, *Res. J. Cheju National Univ.* 35: 302-307.

11. Lin, T. C., J. M. Fang, and Y. S. Cheng (1999) Terpenes and lignans from leaves from *Chamaecyparis formosensis*. *Phytochem.* 51: 793-801.

12. Hong, C. U., C. S. Kim, N. G. Kim, and Y. H. Kim (2001) Composition of essential oils from the leaves and the fruits of *Chamaecyparis obtusa* and *Chamaecyparis pisifera*. *Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 44: 116-121.

13. Jung, J. Y., J. W. Kim, Y. S. Kim, H. M. Park, B. H. Lee, M. S. Choi, and J. K. Yang (2012) Antifungal activity of extracts from *Chamaecyparis obtusa* and *Pseudotsuga menziesii* against *Trichoderma* spp. *J. Agr. Life Sci.* 45(4): 1-11.

14. Chang, M. J. and S. R. Lee (2009) A comparative study on the compositions of Hwangryeonhaedok-tang's essential oils obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *J. Meridian Acupoint.* 26: 211-223.

15. Eskin, N. A. M. (1979) *Terpenoids and flavonoids: Flavor and textures: The chemistry and biochemistry of selected compounds*, pp. 69-93. Academic press, New York, U.S.A.

16. Nykanen, I., L. Nykanen, and M. Alkio (1991) Composition of angelica root oils obtained by supercritical CO₂ extraction and steam distillation. *J. Ess. Oil Rs.* 3: 229-236.

17. Hayashi, S., K. Yano, and T. Matsuura (1964) The monoterpene constituents of the essential oil from hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Bull. Chem. Soc. Japan* 37: 474-476.

18. Shieh, B., Y. Iizuka, and Y. Matsubara (1981) Monoterpenoid and sesquiterpenoid constituents of the essential oil of hinoki (*Chamaecyparis obtuse*). *Agric. Biol. Chem.* 45: 1497-1499.

19. Carson, C. F. and T. V. Riley (1995) Antimicrobial activity of the

- major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J. Appl. Bacteriol.* 78: 264-269.
20. Singh, P., R. Shukla, B. Prakash, A. Kumar, S. Singh, P. K. Mishra, and N. K. Dubey (2010) Chemical profile, antifungal, antiaflatoxinogenic and antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. *Food Chem. Toxicol.* 48: 1734-1740.
 21. Rozza, A. L., D. M. Moraes, T., Kushima, H., Tanimoto, A., Mayo Marques, M. O., Bauab, T. M., Hiruma-Lima, and C. H. Pellizzon (2010) Ariane Leite Rozza, Thiago de Mello Moraes, Helio Kushima, Alexandre Tanimoto, Marcia Ortiz Mayo Marques, Tais Maria Bauab, Clelia Akiko Hiruma-Lima, Claudia Helena Pellizzon. 6: 1380-1387.
 22. Dorman, H. J., M. Kosar, K. Kahlos, Y. Holm, and R. Hiltunen (2003) Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *J. Agr. Food Chem.* 51: 4563-4569.
 23. Decker, E. A. (1997) Phenolics: prooxidants or antioxidants. *Nutrition Review.* 55: 396-407.
 24. Germann. (2005) Terpenoids as plant antioxidants, *Vitamins Hormones.* 72: 505-535.
 25. Choi, H. S., H. S. Song, H. Ukeda, and M. Sawamura (2000) Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components. *J. Agr. Food Chem.* 48: 4156-4161.
 26. Gwak, K. S., M. J. Park, E. B. Jeung, J. W. Chang, and I. G. Choi (2006) Comparison of antifungal activities of monoterpenes and sesquiterpenes in essential oil from *Chamaecyparis obtuse* against dermatophytes. *Mokchae Konghak.* 34: 46-55.