Appl. Chem. Eng., Vol. 26, No. 6, December 2015, 648-658
http://dx.doi.org/10.14478/ace.2015.1064

Article

잣송이 부산물로부터 수증기 증류법에 의한 피톤치드의 추출

김배용 · 이철태†

단국대학교 화학공학과
(2015년 5월 19일 접수, 2015년 6월 16일 심사, 2015년 11월 11일 채택)

Production of Phytoncide from Korean Pine Cone Waste by Steam Distillation

Bae yong Kim and Chul-Tae Lee†

Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea
(Received May 19, 2015; Revised June 16, 2015; Accepted November 11, 2015)

초 록

수증기 증류법을 이용하여 잣나무의 손상 없이 잣송이 부산물로부터 피톤치드 성분의 대량 추출 가능성을 조사하였다. 또한 수증기 증류법에 의해 얻어진 잣나무 피톤치드 oil을 대상으로 column chromatography법에 의한 피톤치드의 구성 성분의 분리 가능성을 타진하였다. 잣송이 부산물로부터 물·수증기 증류법과 수증기 증류법에 의해 피톤치드의 대량생산이 가능하며, 수증기 증류법의 경우가 물-수증기 증류법의 경우에 비해 수율이 2배가량 높을 정도로 효과적이었다. 수증기 증류법의 경우 100 ℃, 30 min간 증류 시 잣나무 피톤치드 oil의 수율이 최고점이 얻어졌다. 얻어지는 잣나무 피톤치드 oil의 주성분은 α-pinene, β-pinene, D-limonene β-myrcene 및 3-carene 등 12가지 이상의 성분으로 이루어지고 있음을 확인하였다. 또한 수용성의 성분이 함유되어 있는 다량의 유효성분도 함께 생산되어지면 이들 성분은 oil상에서 확인된 물질과는 동일한 성분은 전혀 없는 verbenone, α-terpinieol, fenchol, 등의 성분으로 이루어짐을 확인하였다. 얻어지는 잣나무 피톤치드 oil의 다양한 구성 성분들은 column chromatography법에 의해 그 분리가 가능함을 확인하였다.

Abstract

Extraction of phytoncide oil from korea pine cone waste without damaging the pine cone tree itself was investigated using a steam distillation method. Also various components in the extracted phytoncide oil were separated using a column chromatography method. The extraction of phytoncide oil was effectively proceeded, and the maximum production yield of phytoncide oil could be obtained under 100 ℃ of distillation temperature and within 30 minute of distillation time. According to chemical analysis, it was found that the phytoncide oil from korea pine cone waste was consisted of more than 12 components such as α-pinene, β-pinene, D-limonene, as main components. In addition, the aqueous hydrogel containing other components such as verbenone, α-terpinieol, fenchol, different from components of phytoncide oil itself could be obtained through the steam distillation.

Keywords: *phytoncide, extraction, pine tree, pine cone waste, steam distillation*

1. 서 론

피톤치드(Phytoncide)란 '식물'을 뜻하는 'Phyton'과 '죽이다'는 뜻의 'Cide'인 그리스어의 합성어로서, 식물이 세균, 미생물, 해충 등으로부터 자신을 보호하기 위하여 공기 중에 방출하는 항균성 물질을 통칭한다. 이는 저비점의 휘발성이 강한 항생물질인 50여 종의 테르펜(terpene)계 물질로 구성되어 있으며, 주로 편백나무, 삼나무, 잣나무, 소나무 등 침엽수들의 모든 부위에 함유되어 있다[1]. 일반적으로 동일종, 동일속 식물에서 방출되는 피톤치드는 구성 성분의 종류, 조성 및 함량도 거의 일정하고 규칙적으로 생성되지만 식물이 생육하는 환경과 종류에 따라 또는 수확시기의 차이에 따라 동일종이라 해도 부위별로도 성분 조성 및 함량에 차이가 나게 된다[2]. 피톤치드의 주요 구성 성분은 α-pinene, β-pinene, β-myrcene, 및 bornylacetate[3,4] 등이지만 terpenoid, poly terpenoid, phenol류[5] 등 수십 내지 수백의 미량성분을 함유하는 혼합물로서 이들 성분이 항균, 살충, 타감 작용을 하며 세균의 성장을 저해한다[6]. 피톤치드는 식물의 성장과 분화에 직접적인 영향을 미치지는 않으나 다양한 기능을 나타내는 물질이며 의약, 향료, 생활용품 등에 광범위하게 적용 가능한 물질인 것이다. 특히 최근 들어 항염증, 살균, 탈취, 살충, 신경 안정, 호르몬 균형에 영향을 미치고 심혈관계 질환예방 등과 같은 독특한 약리작용 효과가 있으며[7], 콜레스테롤을 용해시켜 혈액순환을 촉진시키므로 노화방지와 고지혈증 및 콜레스테롤 저하에 뛰어난 효과를 나타내는 것으로 보고된 바 있다[8].

이러한 피톤치드의 산업적 이용을 위해서는 기본적으로 두 가지 요소에 대한 해결방안이 마련되어야 한다. 첫째는 피톤치드를 함유하고

† Corresponding Author: Dankook University,
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 16890, Korea
Tel: +82-31-8005-3541 e-mail: chult823@dankook.ac.kr

pISSN: 1225-0112 eISSN: 2288-4505 @ 2014 The Korean Society of Industrial and Engineering Chemistry. All rights reserved.

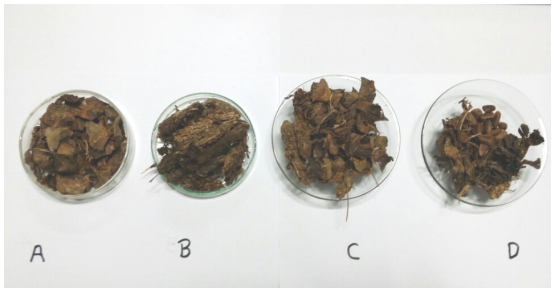


Figure 1. Various pine cone waste as feed materials.

있는 식물 자원으로부터 경제성 있는 피톤치드의 생산 및 공급방안의 확립이 중요한 요소이며, 둘째는 피톤치드의 본질적 특성인 높은 휘발성으로 인해 이의 활용과정에서 피톤치드의 기능적 효과가 지속적으로 유지되지 못한다는 커다란 약점이 있으므로 이의 문제 해결을 위한 피톤치드의 휘발성을 억제하는 서방화 공정의 개발이다.

이에 따라, 본 연구는 피톤치드의 획기적 산업화를 위해 반드시 해결되어야 할 우선적인 해결방안으로 피톤치드의 효율적인 생산공정의 확립방안을 마련하고자 하였다. 식물자원으로부터 피톤치드를 얻을 수 있는 방법으로는 수증기 증류법(steam distillation), 용매 추출법(solvent extraction), 초임계유체 추출법, 초음파추출법, 압착법 등 매우 다양한 방법이 있다[9,10]. 각각의 공정은 각각의 장단점을 가지고 있으며 다량 생산의 목적에서는 경제적인 측면에서 수증기 증류법이 가장 바람직한 공정으로 사료되고 있다. 수증기 증류법은 증류법의 일종으로, 수증기 증류법, 물・수증기 증류법이 있으며, 얻고자 하는 성분 및 추출방법에 따라 함량과 수율 등에 차이가 있다[11,12]. 피톤치드의 추출을 위한 연구는 피톤치드를 함유하는 대표적인 수종인 편백나무로부터 수증기 증류법에 의한 연구가 주로 이루어져 왔고, 그 외 추출법에 의한 연구 등이 이루어진 바 있으나 이 경우도 대부분 실험실 수준으로 침엽수의 가지, 잎 등으로부터의 추출 연구에 국한되어 있는 실정이다. 그러므로 대량 생산을 목적으로 하는 공정의 연구는 거의 이루어진 바 없다. 피톤치드를 함유하는 대표적인 식물자원은 잘 알려진 바와 같이 편백나무 외에 삼나무, 소나무, 잣나무 등이 있다[13]. 이들 중 잣나무는 우리나라 산림에 가장 많이 분포되어 있는 수종이며, 잣나무의 추출성분은 피부진정제, 소염제, 소독제, 완화제 및 보향제로 이용가능하며, 특히 잣나무로부터 얻어진 잣나무 피톤치드는 식품첨가물로 허가되어 있는 유일한 수종이다. 그러나 현재까지 이들 수종을 대상으로 하는 피톤치드의 추출 및 생산공정은 그 수율이 낮아 산업화에 문제가 있다. 더구나 이러한 수종으로부터 피톤치드의 추출은 근본적으로 피톤치드를 위한 벌목이라는 점이 수반되어야 한다. 그러므로 이러한 관점에서 잣나무를 벌목하거나 손상하지 않고, 잣을 수확한 후 폐기되는 잣송이 부산물로부터 피톤치드의 추출 및 생산 공정은 편백나무 또는 삼나무 등에서 피톤치드를 얻는 것과는 달리 매우 바람직한 피톤치드의 생산 공정이 될 수 있을 것이다. 즉, 잣나무에 함유된 피톤치드의 추출을 진행함에 있어서 잣나무 자체의 손상이 없이 피톤치드를 얻을 수 있다는 점이 본 연구의 가장 큰 장점이며 식물로부터 피톤치드의 생산을 위한 가장 이상적인 공정이 될 수 있는 것이다.

따라서 본 연구는 다양한 고기능성을 갖는 잣나무 피톤치드의 산업화를 위해 잣송이 부산물을 대상으로 수증기 증류방법을 이용하여 피톤치드의 양산화 공정을 확립하고, 나아가 이 피톤치드의 기능성 증대에 의한 고부가치화를 위한 방안의 기초연구로서 잣나무 피톤치드의 구성 성분들의 분리공정도 시도하였다.

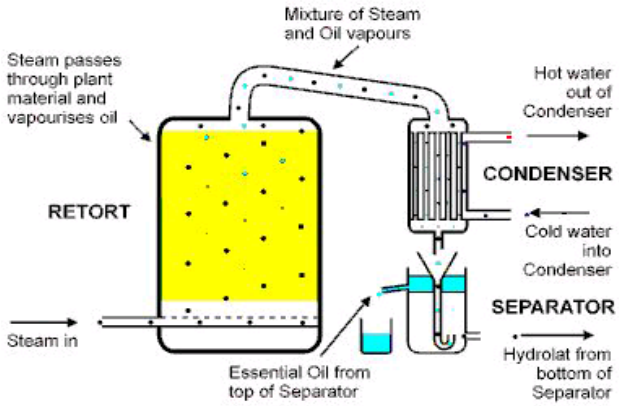


Figure 2. Steam distillation for extraction of phytoncide from pine cone waste.

2. 실 험

2.1. 시료

2.1.1. 피톤치드 생산 원료로서 잣송이 부산물

본 연구에서 피톤치드 생산의 원료로 고려하고 있는 잣송이 부산물은 잣송이로부터 잣은 탈각한 후 발생되는 것이다. 현재 국내에서 이 잣송이 부산물은 특별한 용도가 없는 폐기물로서 자연에 방치함으로써 환경오염원으로 잔류될 수 있는 바 주로 소각 처리하고 있는 실정이다. 본 연구에서 시료로 사용한 잣송이 부산물은 2014년 8월 강원도 홍천에서 잣송이를 수거하여 가평에서 잣을 탈각한 후의 부산물인 것이다. 원료로 사용하는 잣송이 부산물의 외관 상태는 Figure 1과 같이 잣송이로부터 잣의 탈각 조건, 잣 생산 지역, 탈각 후 보관 상태 등에 따라 매우 다양한 형태이다.

2.1.2. 잣송이 부산물 시료의 준비

신뢰할 수 있는 추출 공정조건의 결정에 영향을 주는 것은 잣송이 부산물의 이러한 외형이 아니다. 이런 외형이 다른 만큼 잔존 함유된 피톤치드 성분의 양이 다르며 이는 동일한 증류공정 조건하에서도 추출되는 피톤치드의 생산 수율의 편차에 영향을 주게 된다. 그러므로 재현성 있는 최적의 추출공정 조건을 결정하기 위해서 가급적 많은 양의 잣송이 부산물을 가급적 많은 횟수의 추출 실험을 통해 신뢰할 수 있는 결과를 얻어야 한다. 따라서 본 연구에서는 잣을 탈각한 후 28% 수분 함유량의 잣송이 부산물을 그늘진 곳에서 건조하여 수분함유량 20%의 상태로 입자는 2~4 cm 크기로 조정하여, 각각의 증류조건별로 16가지 유형의 잣송이 부산물을 각각 1 kg씩 대상으로, 3회 내지는 10회씩 추출실험을 통해 피톤치드의 추출 거동을 조사하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 피톤치드 추출을 위한 증류법

1) 수증기 증류법

그늘에서 건조하고 2~4 cm 크기로 준비한 잣송이 부산물 1 kg을 5 L 용량의 둥근 플라스크에 장입한다. 별도의 스팀 발생 장치를 두어 증류 온도는 100 ± 3 ℃로 유지하면서 스팀을 발생시켜 Figure 2와 같이 시료의 하단부에 직접 통과하도록 하였고, 추출 시간 10 min으로 부터 10 min 간격으로 일정 시간 동안 증류 시켰으며 각각의 시간 조건 당 3회 내지 12회씩 반복적으로 진행하여 재현성을 관찰하였다. 증류로 얻어진 용액은 비중 차에 의하여 오일 상과 수상이 분리되는

Table 1. Condition of GC/MS for Analysis of Phytoncide Obtained by Distillation

GC/MS	GC/MS-QP2010, Shimadzu. Japan
Column	DB-5, 30 m length × 0.25 mm ID × 0.25 μm thickness (Agilent)
Mass range	40~350 m/z
Inlet Temp.	250 ℃
Ion source Temp.	320 ℃
Temp. program	40 ℃ (3 min) → 2 ℃/min → 150 ℃ → 4 ℃/min → 200 ℃ (10 min)
Carrier gas	He gas, 1.5 mL/min
Injection volume	1.0 mL
Spilt ratio	20 : 1
Ionization	EI (electron impact), 70 eV

데 상등액은 잣나무 피톤치드 oil이며, 수상은 수용성 피톤치드 성분을 함유하는 수용성 Hydrosol (이하 '잣물'로 명명)이다. 얻어진 이들을 각각 분리하고 밀봉, 냉장 보관하며 성분 분석을 실시하였다. 추출된 피톤치드 oil의 수율은 다음의 식에 의해서 계산되었다. 최종 수율은 이들의 평균값으로 나타내었다.

$$\text{Yield of essential oil}(\%) = \frac{\text{wight of essential oil}(g)}{\text{Sample wight of } \pi \neq \text{ cone waste}(g)} \times 100$$

2) 물・수증기 증류법

수증기 증류법과 동일하게 잣송이 부산물 시료 1 kg를 준비하여 5 L 용량의 둥근 플라스크에 넣고, 여기에 추가적으로 잣송이 부산물이 담길 수 있을 만큼 증류수 2,000 mL를 넣는다. 그리고 1~2 min 동안 균질화시킨 후 수증기 증류법과 동일한 증류온도 100 ± 3 ℃로 유지하면서 일정 시간 동안 증류시켰다. 이후의 실험은 수증기 증류방법과 동일하다.

2.2.2 분석방법

1) GC/MS 분석

수증기 증류법, 물・수증기 증류법, 물질분리를 통해 collecting된 각각의 시료 10 mL와 990 mL 에탄올을 용매로 첨가하여 1 mL로 용량을 정량한 후 Table 1의 분석 조건에 따라 GC/MS를 이용하여 피톤치드의 성분을 분석하였다. 분석은 표준용액 및 Wiley 275 Library의 mass spectrum data와 표준시약의 retention time을 비교하여 확인하였다. 본 실험에서 사용한 표준용액은 Sigma (Sigma. USA)사에서 구매한 α-pinene, β-pinene을 사용하였다.

피톤치드는 단일 성분이 아닌 수십 가지 성분으로 구성된 혼합물이기에 모든 성분을 표준용액으로 정량할 수 없으므로 본 실험에서 위의 표준용액이 있는 개별의 연구에서는 검량선을 작성하여 정량하였고, 피톤치드 성분들의 상대적 함량은 peak area %로 표시하였다. 각 성분의 상대적 함량은 정량된 한 성분의 GC peak area 모든 peak의 총면적으로 나누어 백분율로 계산하였다.

2) UV 분석

TLC plate에 의한 화합물 검색 시 UV lamp (B.P. 66 TORCY -Z.I. SUD, VILBER LOURMAT, France)로 장파장 365 nm, 단파장 254 nm에서 각각 관찰하였다. 시료를 5 × 10 cm의 TLC plate에 점적하고, 시료가 점적된 TLC plate를 유리 챔버에 전개용매로 선정된 90% MeOH를 10 mL 넣어 전개시켰다. 이후 UV lamp를 통하여 분리된 시료의 전개상황을 확인하였고, 이를 사진 촬영하여 시료 중에 지표성분이 함유된 시료를 확인하였다.

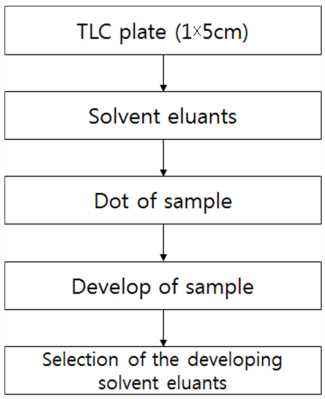


Figure 3. Process of selection of deployment solvent.

2.2.3. 피톤치드의 유효성분 분리 실험

잣나무 피톤치드의 활성성분을 분리하기 위하여 column chromatography법을 적용하여 잣나무 피톤치드 구성 성분들의 성분분리 가능성을 조사하였다. column packing 물질은 sillica gel 60 (MERCK, Korea)을 사용하였고, TLC plate는 TLC Silica gel 60 F254 (Millipore, Germany)을 사용하였다. 1차적으로 전개용매의 선정 절차를 Figure 3에 나타내었다. 전개용매의 선정을 위한 실험에는 표준 시료는 α-pinene, β-pinene (Sigma. USA)을 사용하였다. 분리실험에서는 전개용매로는 90% 메탄올(Sigma. USA)을 사용하였다.

전개용매의 선정을 위하여 TLC plate를 이용하여 전적한 후 60, 70, 80, 90, 100%의 MeOH를 전개용매로 사용하여 UV 상 밴드의 폭이 넓은 전개용매로써 90% MeOH가 가장 분리하기 용이한 조건으로 적정 지표 물질 확인을 위한 전개용매로 선정하였다. 수증기 증류법으로 30 min간 추출한 피톤치드 17 mg을 이용하여 column chromatography 실험을 아래의 순서로 진행하였다. 메스실린더에 솜을 넣고 고정 시키기 위해 알코올을 흘려보내고. sillicagel 60은 시료의 약 15배 사용해서 약 300 g을 90% 메탄올 500 mL 정도로 활성화시킨 후 추가로 1 L 정도를 만들어서 메스실린더에 흘려보낸다. 수평을 잡은 후 상단부가 건조해지기전 고정을 확인 후 잣나무 피톤치드 오일 17 mg을 넣고 상단이 건조하지 않은 상태에서 전개용매 90% MeOH 2 L를 넣는다. 메스실린더를 통해서 흘러 내려오기 시작하면 8~10 min 간격으로 고정 콜렉터를 사용하여 시료를 받았다. 시간대에 따라 모은 6종의 시료를 순서대로 P1부터 P6으로 명명하여 이들 시료의 함유 성분들을 분석하여 분리 여부를 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 수증기 증류

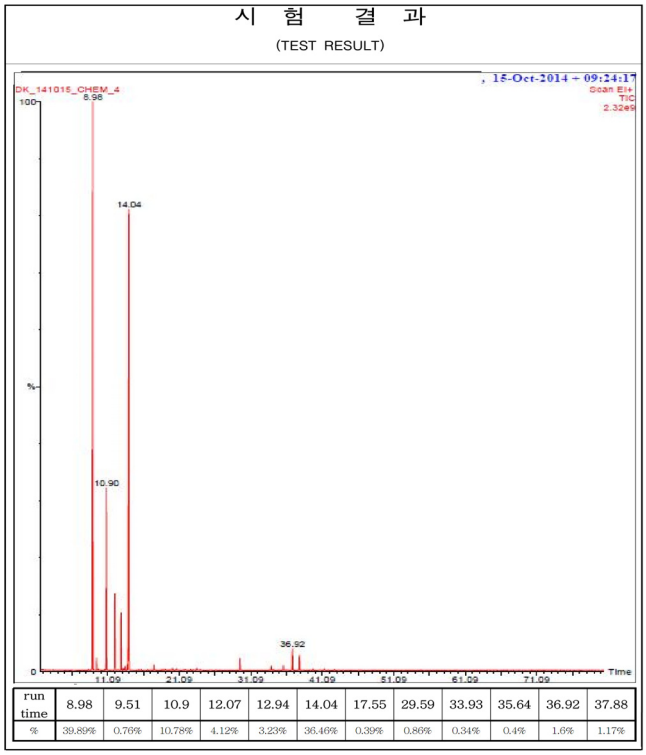
3.1.1. 수증기 증류법을 통한 잣나무 부위별 피톤치드의 추출

일반적으로 편백나무에서 피톤치드의 추출을 위해 잎과 수지를 사용하는 것과 같이 잣나무 잎과 수지를 대상으로, 그리고 본 연구에서 목적하는 잣송이 부산물을 대상으로 수증기 증류법에 의해 증류온도

Table 2. The Comparison of Major Component in Phytoncide Between Cone Waste Extract and Needles Extract by Steam Distillation

Component	pine cone waste(%)	needle leafs & branches (%)
α-pinene	39.89	20.7
camphene	0.76	7.0
β-pinene	10.78	3.5
β-myrcene	4.12	6.5
3-carene	3.23	-
D-limonene	36.46	12.6
(+)-4-carene	0.39	12.2
Bornyl acetate	0.86	9.9
Ylangene	0.34	13.4
α-Cubebene	0.4	14.2
Seychellene	1.6	-
Caryophyllene	1.17	-
total	100	100

100 ± 3 ℃로 유지하면서, 증류 시간 30 min간 추출을 진행하였으며, 각각 얻어진 피톤치드 oil에 대한 성분 분석을 통해 잣나무 부위별 피톤치드 성분의 추출 경향을 조사하였다. Table 2는 잣나무의 잎 및 가지부분과 잣송이 부산물로 각각 얻어진 피톤치드 oil를 GC/MS 분석한 결과 Figure 4와 같은 피크를 얻었고, 라이브러리를 통해 Table 2와 같은 분석결과를 구하였다. 우선 일차적으로 수증기 증류방법에 의해 잣나무의 여러 부위에서 피톤치드 성분의 추출이 가능하며, 또한 잣나무 부위별로 얻어진 피톤치드 oil은 각각 그 성분에 있어 차이가 있음을 확인하였다. Table 2에 나타낸 바와 같이 잣송이 부산물에서 추출된 피톤치드 oil은 α-pinene의 경우 39.89%로 잣나무 잎과 가지에서 추출한 경우의 20.7%보다 거의 두 배 정도로 함량이 많았으며, β-pinene 및 D-limonen의 경우도 잣송이 부산물의 경우가 잎과 가지에서 추출된 피톤치드 oil의 경우 보다 세 배 이상으로 함량이 많았다. 동일한 수목의 동일 부위로부터 추출되는 피톤치드라고 하더라도 추출대상이 식물자원의 채취 시기, 보관 방법 등에 따라 추출된 피톤치드의 구성 성분 및 그 조성에 차이가 있다[14]. 본 실험 결과 잣송이 부산물에서 추출된 피톤치드 oil의 경우에는 잎과 가지에서 확인되지 않는 Seychellene 및 Caryophyllene 성분이 추출되는 것을 알 수 있었으며 camphene, (+)-4-carene, Bornyl acetate 및 α-Cubebene의 함량은 잎과 가지에서 추출된 피톤치드 oil에 더 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다. 피톤치드의 대표적인 성분으로는 α-pinene 및 β-pinene을 꼽는다[15]. 잣송이 부산물에서 추출 함량이 높은 α-pinene은 식물계에서 가장 많은 terpenoid로서 성장이 가장 활발할 때 분비되는 생체활성물질이며 이 물질은 방충 및 항균의 작용을 한다[16]. 함유량이 높은 다른 물질인 β-pinene은 가장 특징적인 성분으로 미생물 억제 작용을 지니고 있는 것으로 보고되고 있어[17], 잣송이 부산물에 대한 연구 가치는 매우 높을 것으로 판단된다. 즉, 그 대표성분인 α-pinene 및 β-pinene이 잎과 수지에서 추출한 피톤치드 oil보다 잣송이 부산물에서 추출한 피톤치드 oil에 2배 이상 많이 함유되어 있다. 그러므로 잣나무 잎 또는 가지에서도 피톤치드 성분이 추출생산이 가능하겠으나, 잣나무의 잎 또는 가지를 피톤치드 생산의 원료로 이용하는 경우 이는 잣 생산의 감소는 물론 잣나무 자체의 벌목을 초래할 수 있으므로, 본 연구에서 목적하는 바 잣송이 부산물을 피톤치드의 생산원료로 이용하는 것은 매우 이상적인 잣나무 피톤치드의 추출 및 생산 공정이라 할 수 있다.



run time	8.98	9.51	10.9	12.07	12.94	14.04	17.55	29.59	33.93	35.64	36.92	37.88
%	39.89%	0.76%	10.78%	4.12%	3.23%	36.46%	0.39%	0.86%	0.34%	0.4%	1.6%	1.17%

Figure 4. Inter-comparison of peak area.

3.1.2. 추출 시간대에 따른 피톤치드의 추출 거동

실제 공정에서 원료인 잣송이 부산물의 상태는 잣 생산 지역과 기후 조건, 보관 조건 등으로 매우 다양하며 이는 곧 바로 추출되는 피톤치드 oil의 생산량과 밀접한 관계가 있다. 선행 기초실험의 결과 장시간 증류공정에서도 피톤치드 성분의 추출이 전혀 이루어지지 않는 경우의 잣송이 부산물도 있음을 확인한 바 있다. 그러므로 산업화를 위한 공업적 생산을 위해서는 추출공정에서 생산량에 대한 재현성이 유지되어야 하며 이를 위해서는 다양한 형태의 잣송이 부산물을 대상으로 충분한 양의 추출 실험이 이루어져야 할 것이다. 이에 따라 Figure 5는 각각의 증류 시간을 20 min에서 60 min의 조건을 유지하며, 각각의 증류 시간별로 각각 16가지 유형의 잣송이 부산물을 대상으로, 3회 내지는 10회씩 추출실험을 통해 각 잣송이 부산물 시료 각각 1 kg당 얻어진 피톤치드 oil의 평균추출 거동을 나타낸 것이다. 그리고 Figure 6은 이 피톤치드 oil의 추출생산과 함께 생성되어지는 부산물인 수용성 피톤치드 성분을 함유하는 수용성 Hydrosol인 잣물의 생성 거동을 나타낸 것이다. 그리고 Table 3은 이들 실험의 내역으로 각각의 추출 시간에 따라 진행된 총 추출시험의 회수 및 각 조건에서 얻어진 피톤치드 oil의 평균생성량 및 생성되는 잣물의 양 및 수율을 나타낸 것이며, Figure 7은 이들의 결과로부터 얻어진 각 추출 시간별 얻어진 피톤치드 oil 및 잣물의 양을 도시한 것이다. 먼저 Figure 5에서 볼 수 있는 바와 같이 각각의 추출 시간별로 16가지 유형의 잣송이 부산물로 얻어지는 추출량은 각 추출 시간별로 16가지 각각 시료에 대해 3~10회씩의 증류 공정을 통해 추출된 피톤치드 oil량의 평균값임에도 불구하고 그 편차가 매우 심함을 알 수 있다. 이는 시료로 사

Table 3. Amount of Phytoncide Oil and Average Yield through the Steam Distillation

Time (min)	Numbers of Sample Type for Pine cone Waste (EA)	Total Number for Extraction	Phytoncide Oil Extracted (g)	Yield of Oil (%)	Aqueous Pytoncide Extracted (g)
20	16	132	8.20	0.820	430.6
30	16	101	13.16	1.316	658.1
40	16	138	13.15	1.315	662.5
50	16	138	13.21	1.321	672.5
60	16	139	13.77	1.377	697.5

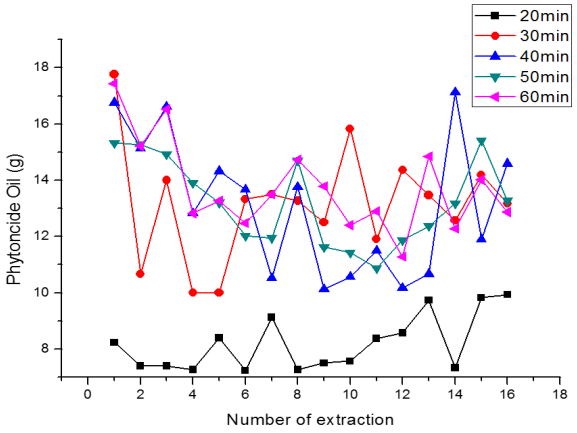


Figure 5. Extraction amount of Phytoncide oil according to change of distillation time by steam distillation.

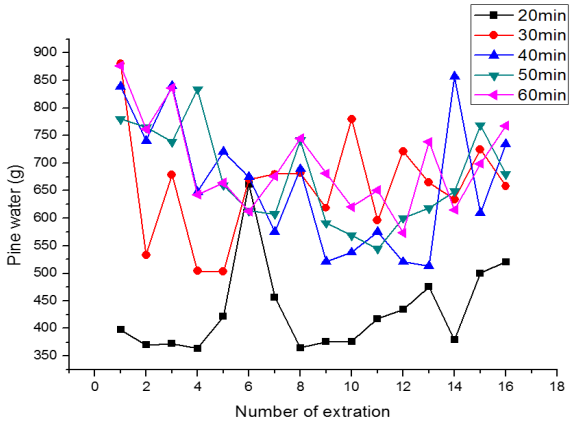


Figure 6. Amount of phytoncide aqueous solution extracted according to change of extraction time by steam distillation

용된 잣송이 부산물이 화학적 측면에서 다른 종류가 아니라 잣송이로부터 잣을 탈각한 후 얻어지는 잣송이 부산물의 보관 상태가 오래되어 함유된 피톤치드 성분의 높은 휘발성 탓으로 피톤치드 성분이 기화되어 소실되었기 때문으로 사료된다. 이는 효율적인 피톤치드의 추출 생산을 위해서는 잣송이 부산물의 선택 및 관리가 매우 중요함을 의미한다고 볼 수 있다. 그러나 이러한 편차가 발생할 수 있음에도 불구하고 추출 시간별로 얻어지는 피톤치드 oil량은 일정한 범위 내의 값으로 얻어질 수 있음을 알 수 있다. 시간대별 평균 추출량은 Table 3 및 Figure 7에 나타낸 바와 같이 추출 시간 20 min의 경우 8.20 g이나 30 min의 경우 13.16 g으로 크게 증가되어지나 더 이상 추출 시간을 늘려 60 min간 증류 공정을 진행하더라도 추출되는 피톤치드 oil량

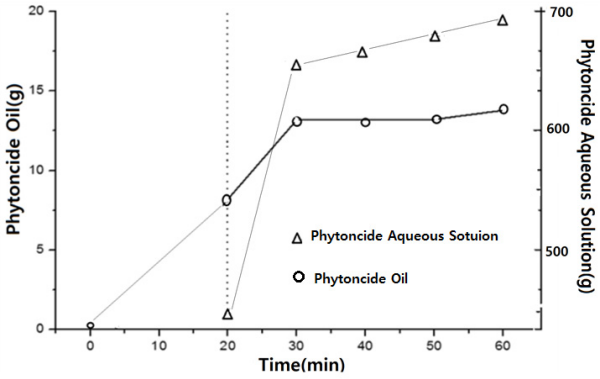


Figure 7. Amount of phytoncide oil and phytoncide aqueous solution extracted with the extraction time through steam distillation process.

은 13.77 g으로 수율의 측면에서 0.5% 이상 차이가 나지 않음을 알 수 있었다. 이는 증류 시간의 증가에 따른 효과로 인해 발생된 차이로 보기에는 그 영향이 매우 미미한 것으로 판단된다. 그러나 잣물의 생성량은 피톤치드 oil의 생성량이 30 min 이상 거의 증가함이 없는 경향성과는 달리 추출 시간이 30 min 이상으로 길어짐에 따라 증가되어지는 경향을 나타내고 있다. 이는 증류 시간이 길어짐에 따라 공급되는 수증기량의 많아지므로 예측될 수 있는 결과이다. 그리고 이 잣물의 양이 많아질수록 잣물 속에 존재하는 유효성분의 농도는 묽어지게 되므로 잣물의 양이 많아진다고 하여 특별한 이점이 있다고 볼 수 없다. 그러므로 잣송이 부산물의 형태나 유형이 차이가 있더라도 추출을 위한 증류조작시간은 투여되는 에너지의 경제성을 고려할 때 30 min 이상 유지하면 충분할 것으로 보인다. Table 4는 상기 결과에 나타낸 추출 시간별 표준편차이다.

3.1.3. 추출 시간대에 따른 피톤치드 oil의 구성 성분별 추출 거동

수증기 증류법에 의해 추출 생산되는 피톤치드 oil량을 기준으로 증류 시간 30 min이면 경제성있는 추출조건이 될 수 있을 것으로 예측되나, 피톤치드에는 다양한 성분이 함유되어 있는 바 증류 시간에 따른 이들 함유성분에 대한 추출 거동 또한 피톤치드 oil의 양산공정에 대한 중요한 변수가 될 수 있다. 이에 따라 Table 5는 앞서 각 증류 시간 별로 추출 생산되는 피톤치드 oil의 구성 성분별 추출량 변화를 조사한 것이며, Figure 8은 이들 성분 중 피톤치드의 지표가 되는 주요성분인 α-pinene, β-pinene 등의 변화를 도시한 것이다. Table 5에 나타낸 바와 같이, 수증기 증류법의 증류 시간에 따라 피톤치드의 대표 물질인 α-pinene의 함유량이 15 min에 46.31%에서 40 min에 37.13%까지 감소하였다. 앞서 실시한 증류 시간에 따른 피톤치드 oil 추출량의 경우 30 min에서 가장 높은 수율에 이르고 그 이상의 시간이 경과되더라도 큰 증가율은 얻어지지 않음을 알 수 있었다. 그러나

Table 4. Descriptive Statistics of Steam Distillation and Water-steam Distillation

Group	20 min		30 min		40 min		50 min		60 min	
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD
Steam Distillation	8.20	.99	13.16	2.01	13.15	2.47	13.21	1.55	13.77	1.63
Water-steam Distillation	2.47	.41	6.13	.74	6.64	.69	7.44	.56	8.80	1.22
total	5.33	3.00	9.64	3.87	9.89	3.76	10.32	3.15	11.29	2.90

Table 5. Compound Composition with Extraction Time by Steam Distillation

Compounds	15 min (%)	20 min (%)	25 min (%)	30 min (%)	35 min (%)	40 min (%)
α-pinene	46.31	45.98	41.08	39.89	38.08	37.13
camphene	0.87	0.83	0.75	0.76	0.72	0.75
β-pinene	11.1	11.23	10.69	10.78	10.41	10.01
β-myrcene	3.95	4.14	4.07	4.12	3.97	3.9
3-carene	3.02	3.05	3.02	3.23	3.22	3.19
D-limonene	31.3	33.15	37.3	36.46	36.43	36.24
(+)-4-carene	0.29	0.25	0.29	0.39	0.42	0.42
Bornyl acetate	0.63	0.29	0.62	0.86	1.33	1.59
Tricyclo(5.4.0.0(2,8)undec-9-ene, 2,6,6,9-tetramethyl	0.26	0.12	0.25	0.34	0.5	0.58
α-Cubebene	0.3	0.14	0.25	0.4	0.59	0.71
Seychellene	1.16	0.48	0.97	1.6	2.44	3.02
Caryophyllene	0.8	0.34	0.71	1.17	1.89	2.46
total	99.99	100	100	100	100	100

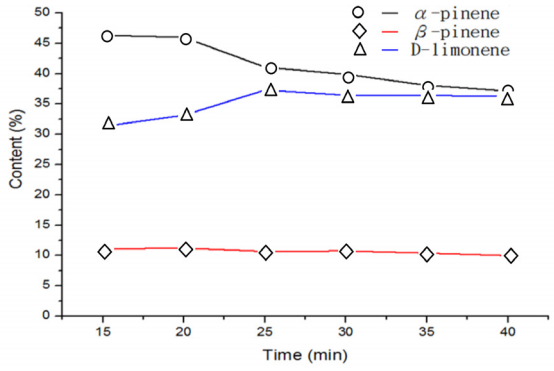


Figure 8. Extraction behavior of representative Phytoncide components in pine cone waste.

피톤치드 oil의 지표성분인 α-pinene은 조사된 범위 내의 가장 짧은 추출 시간 15 min에서 그 함유량이 가장 높고 증류 시간이 지나면서 함유량이 점점 감소하는 추세를 나타내었다. 이러한 경향성은 증류 시간이 길어짐에 따라 α-pinene의 추출이 감소되는 것이 아니라 증류 반응 초기에 α-pinene이 거의 추출이 완료되며 이후 증류 시간이 길어짐에 따라 추출이 완료되지 않은 성분 또는 추출이 되지 못한 성분들이 추출 시간이 경과됨에 따라 추출이 이루어짐에 따라 상대적으로 그 증가폭이 낮아지기 때문에 나타나는 현상이다. 이는 다른 지표물질인 β-pinene의 경우, 증류 시간 20 min에 함유량이 11.23%로 가장 높으나, 20 min 이상 증류 시간이 길어질수록 따라 점차 감소되는 경향을 나타내거나, 또는 D-limonene이 증류 시간 25 min까지 지속적으로 증가되나 이후 시간에서 다시 감소하는 현상 등을 통해 예측될 수 있다. 즉 피톤치드 oil의 특정 구성 성분이 일정한 추출 시간 이후 감소되는 현상을 나타내는 것은 주어진 추출조건에서 목적하는 성분의 추출이 평형점에 이르렀으며 더 이상의 추출 시간을 늘려야 필요가 없음을 의미한다. 그러므로 잣송이 부산물에 함유되어 있는 피톤치드 oil의 특정 성분만을 목표로 지정하는 경우 최적의 증류 시간은 별도의 선택이 필요할 수 있으나 조사된 구성 성분으로 볼 때는 증류 시간 30 min 전에 거의 대부분 가장 높은 함량에 이르고 있으므로 가장 높은 추출수율을 얻을 수 있는 증류 시간 30 min 이상의 증류 시간이 요구되지 않음을 알 수 있었다. 그러나 Bornyl acetate, α-Cubebene, Seychellene, Caryophyllene 등의 성분은 증류반응초기 15 min에 조성에 비해 증류 시간 40 min에서 2배 이상 그 농도가 높아지는 점으로 볼 때, 이러한 물질을 목적으로 하는 경우에는 증류 시간 30 min은 최적의 조건이 될 수가 없으며, 더 많은 증류 시간이 소요될 수도 있다.

3.1.4. 수용성 피톤치드 성분의 추출 거동

앞서 Figure 7에 나타낸 바와 같이 피톤치드 oil의 추출과 함께 생성되는 잣물은 추출 시간이 길어짐에 따라 비례하여 그 양도 증가되었다. 이 잣물은 공급되는 수증기에 잣나무 피톤치드의 구성 성분 중 수용성의 성분이 용해되어 생성되는 것이다. 그러므로 피톤치드 oil과 같은 높은 휘발성을 갖지는 않으나 주요한 기능성 물질로 이용될 수 있을 것으로 기대되는 바, 이의 구성 성분 및 조성 그리고 이들 성분들의 증류 시간 변화에 따른 거동의 확인이 필요하다. 이에 따라 Table 6는 피톤치드 oil의 추출률 기준으로 최적의 추출 조건으로 사료되는 증류 시간 30 min의 조건에서 얻어지는 잣물에 대한 GC/MS 분석결과이다.

Table 6. Aqueous Components Extracted from Cone Waste through Steam Distillation

components	content (%)	RT (min)
Verbenone	9.23	18.96
α-Terpinieol	8.11	18.66
Fenchol	6.83	16
Camphor	4.75	14.36
Borneol	4.66	18.74
p, α-Dimethylstyrene	4.43	12.35
Myrtenol	3.97	20.62
Carveol	3.86	21.46
Carvone	3.79	19.49
Benzaldehyde	3.4	14.63
d-Fenchone	3.23	11.13
total	56.26	

Table 7. Amount of Phytoncide Oil through the Water-steam Distillation and Comparison with Case of Steam Distillation

Time (min)	Numbers of Sample type for Pine cone Waste (EA)	Total Number for Extraction	Phytoncide Oil Extracted (g)	*Phytoncide Oil (g) in Steam Distill.*	Ratio of Steam Distill./water-Steam Distill.
20	16	120	2.47	*8.20*	3.32
30	16	123	6.13	*13.16*	2.15
40	16	131	6.64	*13.15*	1.98
50	16	126	7.44	*13.21*	1.78
60	16	126	8.80	*13.77*	1.56

Table 6에 나타낸 바와 같은 잣물의 구성 성분에 대한 조건은 Figure 7에 나타낸 바와 같이 증류 시간이 길어지면 길수록 수증기량이 증가되는 바 잣물에 함유된 각각의 유효성분의 농도는 감소될 것이나 성분 자체의 존재는 변함이 없을 것으로 예상할 수 있다. 그리고 구성 성분 자체도 피톤치드 oil의 구성 성분들과 동일한 구성 성분들이 미량이나마 존재할 수 있을 것으로 예측하였으나 그 결과는 Table 6의 성분들은 Table 5에 제시한 피톤치드 oil 구성 성분과는 전혀 다른 성분임을 확인할 수 있다. 또한 이들 성분 외에도 Linalool oxide, Eucalyptol, Camphene, p-Menthanediol-1,8,2,3-dimethyl-1- butnene, Pinocamphone, p, α, α-Trimethylbenzyl alcohol, 4-Carvomenth- enol, 2-Formyl-6,6-dimethylbicyclo-(3.1.1)hept-2-ene 등의 성분이 미량 존재함을 확인하였다. 이러한 구성 성분으로 볼 때 피톤치드 oil과 잣물의 혼화성은 매우 낮을 것이며, 또한 잣물의 성능 및 효능 등은 피톤치드 oil의 효과와 성능과는 차이가 있을 것이므로 잣물과 피톤치드 oil의 혼합 사용이 필요한 경우 이들의 혼화를 위한 별도의 처리 및 조작이 필요할 것이며 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

3.2. 물-수증기 증류

3.2.1. 추출 시간에 따른 피톤치드 oil 추출량

수증기 증류법과 마찬가지로 잣나무 피톤치드의 최적 추출공정을 확립하기 위하여 수증기 증류법과 동일하게 물・수증기 증류법을 시행하였다. 이에 따라 Figure 9은 앞서 수증기 증류법에서 적용된 경우와 마찬가지로 각각의 증류 시간을 20 min에서 60 min의 조건을 유지하며, 각각의 증류 시간별로 각각 16가지 유형의 잣송이 부산물을 대상으로, 각 증류 시간 조건 당 3회 내지는 12회씩 추출실험을 통해 각 잣송이 부산물 시료 1 kg당 얻어진 피톤치드 oil의 평균 추출량을 나타낸 것이다. 그리고 Table 7은 이들 각각의 추출 시간에 따라 진행된 총 추출시험의 회수 및 각 조건에서 얻어진 피톤치드 oil의 평균생성량 및 수증기 증류법 경우의 생성량을 비교하여 나타낸 것이며, Figure 10은 이것을 도시한 것이다. 먼저 Figure 9에서 볼 수 있는 바와 같이 각각의 추출 시간별로 16가지 유형의 잣송이 부산물로부터 얻어지는 피톤치드 oil의 추출량은 수증기 증류에서와 같이 각 추출 시간별로 각 시료에 대해 수차례 추출 실험을 통해 얻어진 평균값임에도 불구하고 그 편차가 매우 심함을 알 수 있다. 그러나 물-수증기 증류공정에서 얻어지는 피톤치드 oil의 양은, 수증기 증류공정과정에

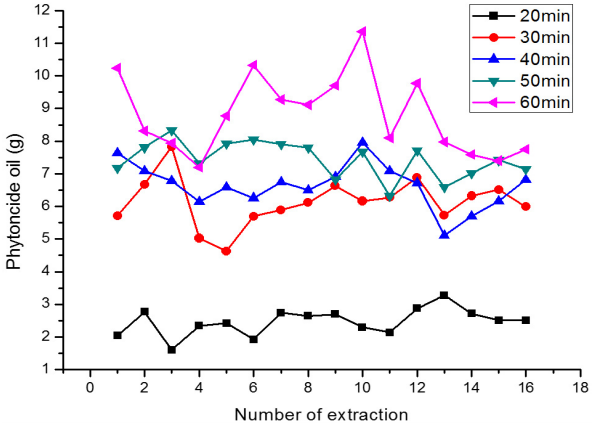


Figure 9. Extraction amount of Phytoncide with extraction time by water-steam distillation.

Table 8. Compound Composition with Extraction Time by Water-steam Distillation

Compounds(RT)	30 min		40 min	
	Water-steam	Steam	Water-steam	Steam
α-pinene (9)	55.83	39.89	57.84	37.13
camphene (9.5)	1	0.76	0.79	0.75
Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene,4-Mehylene-1-(1-Methylethyl)- (9.802)	0.6	-	-	-
β-pinene (10.9)	8.39	10.78	9.41	10.01
β-myrcene (12.068)	0.71	4.12	4.98	3.9
D-limonene (13.479)	23.08	36.46	21.22	36.24
cyclobutane, 1,2-bis(1-methylethenyl)-. Trans- (14.044)	1.02	-	-	
(+)-4-carene (17.561)	0.31	0.39	0.34	0.42
Bornyl acetate (29.591)	0.75	0.86	0.45	1.59
Tricyclo(5.4.0.0(2,8)undec-9-ene, 2,6,6,9-tetramethyl (33.933)	0.6	0.34	0.15	0.58
α-Cubebene (35.648)	1.18	0.4	0.26	0.71
Seychellene (36.929)	1.51	1.6	0.27	3.02
Caryophyllene (37.889)	1.41	1.17	1.64	2.46
Caryophyllene oxide (46.423)	1.09	-	-	
total	97.49	96.77	97.35	96.81

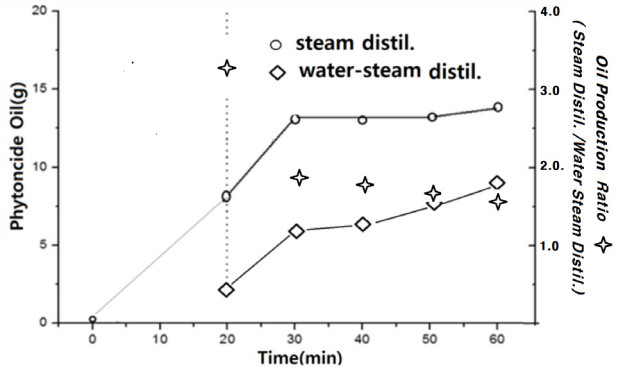


Figure 10. Performance comparison between steam distillation and water-steam distillation for extraction of phytoncide oil from pine cone waste.

서 일정 시간 후 일정량에 이른 경우와는 달리, 추출 시간이 증가될수록 조사된 범위의 시간조건에서 지속적으로 증가되는 경향을 나타내었다, 그러나 추출되는 피톤치드 oil의 양은 수증기 증류에 의해 얻어지는 양에 비해 상대적으로 적은 경향을 나타내었다. 이는 피톤치드 oil의 추출반응이 열적에너지에 의해 효과적으로 추출됨을 의미한다. 즉 잣송이 부산물에 함유된 피톤치드 oil 성분이 열에너지에 의해 기화되어 추출되어야 하는데, 물-수증기 증류 공정의 경우 공급되는 수증기의 열에너지가 잣송이 부산물과 함께 존재하는 물의 온도 상승에 소모되기 때문에 이 피톤치드 oil 구성 성분의 기화에 필요한 에너지 공급이 충분하지 못하여, 결과적으로 물-수증기 증류법에 의해 추출되어지는 피톤치드 oil량이 수증기 증류법의 경우보다 적어지게 되는 것이다. 그리고 이 물-수증기 증류법의 효율성을 검토하기 위해 물-수증기 증류법에서 얻어지는 피톤치드 oil량에 대해 수증기 증류법에 의해 얻어지는 피톤치드 oil량의 중량비(weight ratio)를 고려하였다. Table 7에 나타낸 바와 같이 추출 시간이 길어질수록 이론적으로는 궁극적으로 중량비가 1.0에 접근가능 하겠지만, 실제 추출 시간 20 min의

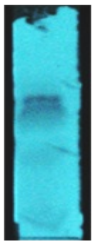


Figure 11. Mobile phase of methanol (90%).

경우 3.32이고, 추출 시간 30 min에서도 2.15, 추출 시간 60 min에서도 1.56에 이르지 못하며, 이에 대한 경향성을 도시한 Figure 11에 나타낸 바와 같이 추출 시간이 훨씬 길어져도 중량비 1.0에 이르기는 쉽지 않을 것으로 사료된다. 이러한 결과로 볼 때, 잣송이 부산물로부터 피톤치드 추출을 위한 증류법은 수증기 증류법이 훨씬 효율적임을 알 수 있다.

3.2.2. 추출 시간에 따른 피톤치드 oil구성 성분별 추출 거동

물・수증기 증류법에 의해 추출되는 피톤치드 oil의 경우, 수증기 증류법의 경우 생성되는 피톤치드 oil과 비교하여 구성 성분상의 차이점을 확인하고자, 물・수증기 증류법의 경우 추출 시간 30 min 및 40 min의 조건에서 생성되는 피톤치드 oil에 대한 GC/MS 분석을 진행하였다. Table 8은 이 분석 결과와 수증기 증류법의 결과를 비교 분석한 것이다.

물・수증기 증류법 및 수증기 증류법의 두 가지 증류법을 적용한 결과 얻어지는 피톤치드 oil의 구성 성분 및 조성에 있어 α-pinene, d-limonene, 및 β-pinene의 순서로 이들 성분의 함량이 구성됨은 비슷하나, 확인되는 구성 성분의 종류 및 조성에 있어서는 차이가 남을 확인할 수 있었다. Table 8에 나타낸 바와 같이, 물・수증기 증류법의 경우 추출되는 피톤치드 oil 중 α-pinene의 함량은 수증기 증류법의 경우 40% 미만이었던 것과는 달리, 증류 시간 30 min 조건에서 55.83%, 40 min의 조건에서는 57.84%로 전체 조성의 반 이상을 차지

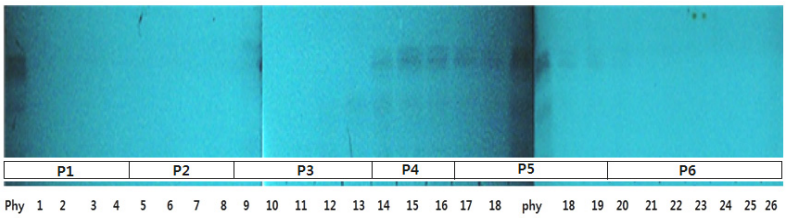


Figure 12. Mobile phase of components in phytoncide oil by column chromatography.

하였다. 그러나 피톤치드 oil의 또 다른 주요 물질인 β-pinene 의 경우는 증류 시간이 30 min에서 8.39%에서 40 min의 경우 9.41%로 근소하게 증가하지만, 수증기 증류법의 경우 얻어지는 피톤치드 oil에 비해 함량이 낮았다. 그리고 D-limonene의 경우도 수증기 증류법에서 얻어지는 피톤치드 oil에 비해 함량이 낮아지지만, β-pinene의 경우와는 달리 증류 시간이 30 min에서 40 min으로 길어짐에 따라 함량이 감소되었다. 증류 시간의 조건변화에 따라 얻어지는 피톤치드 oil의 조성 변화는 미량성분에서도 발견되었다. 즉 물・수증기 증류법의 경우 수증기 증류법에서는 확인되지 않은 Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene,4-Mehylene-1-(1-Methylethyl)-, cyclobutane, 1,2-bis(1-methylethenyl)- Trans- 및 Caryophyllene oxide 등의 미량성분이 증류 시간 30 min의 조건에서 추출됨이 확인되었다. 그러나 이 성분들은 증류 시간 40 min의 조건에서 추출되는 피톤치드 oil에는 존재가 확인되지 않았다. 물・수증기 증류법의 경우 추출되는 피톤치드 oil의 구성 성분의 조성이 증류 시간 조건에 따라 많은 차이가 나타나는 것은 피톤치드 oil에 함유되는 구성 성분이 열에너지에 매우 민감함을 의미한다. 그러므로 증류공정에 의해 피톤치드 oil의 최적 추출을 위한 물・수증기 증류법의 경우 증류조건은 단순히 피톤치드의 대표물질인 α-pinene 및 β-pinene의 함유량을 확인한다면 40분 추출에서의 성분이 더 유리하다고 생각될 수 있지만, 생리작용이라는 것은 한가지의 성분으로 이루어지는 것이 아니라 수많은 성분들의 조합으로 발생하는 것이므로 물・수증기 증류법의 경우도 증류 시간 30 min의 조건이 피톤치드 oil의 효과적인 추출을 위한 최적의 증류 시간으로 결정될 수도 있다.

3.3. 피톤치드 oil 구성 성분의 분리

3.3.1. Column chromatography법에 의한 피톤치드 oil의 분리 가능성

피톤치드 oil의 구성 성분은 매우 다양하다. 이들 구성 성분은 피톤치드 함유 수종을 비롯하여, 추출방법 등의 공정에 따라서도 매우 다양하게 달라질 수 있음을 알 수 있다[18]. 피톤치드의 효능이나 기능은 이들 구성 성분들 중의 어떤 특별한 성분 또는 다른 여러 성분들의 복합적 작용에 의해 나타나는 것으로 이해된다[19]. 그러므로 피톤치드의 다양한 기능성에 영향을 미치는 성분을 확인하기 위해서는 피톤치드의 구성 성분에 대한 분리가 필요하며 분리된 성분을 중점 강화함으로서 어떤 특성의 영향을 극대화할 수 있는 것이다. 따라서 본 연구에서는 수증기 증류법으로 얻어지는 잣나무 피톤치드 oil을 대상으로 그 구성 성분들을 column chromatography법에 의해 분리가능성을 타진하고자 column chromatography법에 의해 얻어지는 유분의 분석을 통해 이들 구성 성분의 거동을 확인하였다. 먼저 잣나무 피톤치드 oil의 구성 성분의 분리를 위한 전개용매를 선정하기 위하여 여러 종류의 전개용매에서 수증기 증류법을 통하여 30 min간 추출한 피톤치드 oil의 이동상을 확인해보았다. Figure 11과 같이 90% 메탄올(MeOH)에서 가장 확실한 이동상을 보이므로 90% 메탄올을 전개용매로 선정하여 물질 분리를 시도하였다. 따라서 잣나무 피톤치드 oil를 전개용매 90% MeOH로 silica gel column chromatography하여 6개의 fraction을 각각 P1에서 P6로 구분하여 나누고, 각 fraction의 시료들인 P1은 1~4 lane, P2는 5~8 lane, P3은 9~13 lane, P4는 14~16 lane, P5는 17~19 lane 및 P6은 19~26 lane에 점적하였고, 전개를 진행시키고 UV lamp로 확인하였을 때, Figure 12와 같은 결과를 얻을 수 있었다. UV lamp를 통하여 확인하였을 때 P4의 시료에서 확실한 band가 관찰되었다. 분리되지 않은 total 잣나무 피톤치드 Phy lane과 비교하여 보았을 때에도 P4가 점적된 14~16 lane에 Phy lane과 동일한 이동상의 유효 성분을 확인할 수 있었다. 한편 17~19 lane에서도 가장 먼 이동상의 밴드가 나타났고, P5 시료에서도 약간의 유효성분이 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 전체적으로 밴드가 선명하지 못해서 이러한 분석이 불안전해 보이지만, 다른 밴드와는 비교 시 최적 이동상으로 판단되는 바 피톤치드 구성 성분의 분리가능성은 충분히 있다고 사료된다.

3.3.2. 분리된 피톤치드 oil의 구성 성분의 분석

Column chromatography법에 의한 피톤치드 oil구성 성분의 분리 가능성을 확인하였으나 실제 이들 물질이 분리되었음을 확인하기 위해서는 분리된 피톤치드 oil에 대한 구성 성분의 확인이 필요하다. 이에 따라 앞서 column chromatography법에 의해 얻어진 시료 P1부터 P6에 이르기까지 각각의 시료에 대해 GC/MS 분석을 진행하였다. 이에 대한 전체의 분석 결과는 Table 9과 같다. 분석 결과 시료 P1은 초기 컬럼을 통과한 피톤치드이므로 이의 분석 결과는 증류 공정에 의해 추출된 잣나무 피톤치드 oil의 원액과 거의 동일한 분석결과를 나타내었다. 여기서 시료 P2를 나타내지 않은 것은 전개용매이었던 까닭에 전혀 피톤치드 oil의 구성 성분의 어느 것도 확인될 수 없었기에 나타내지 않았다. 그러나 시료 P3 이후 시료 P6의 분석결과는 칼럼크로마토그래피 방법에 의해 다양한 성분으로 구성되어 있는 피톤치드 oil의 구성 성분이 분리되어질 수 있음을 보여 주었다. 즉, 90% 메탄올을 전개용매로 선택하여 분리한 시료 P3의 경우 피톤치드 oil 속에 존재하는 것으로 확인된 12가지 성분 중 β-myrcene, Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethylidene) 등의 8가지의 성분이 확인되었다. 그리고 시료 P4의 경우는 더욱 더 성분분리가 진행되어 α-pinene, β-pinene, 3-carene, D-limonene 및 Camphene 등 6가지 성분이 확인되었고, 시료 P5는 시료 P4의 성분 중 Camphene성분이 분리되어져 5가지의 성분이 확인되었으며, 시료 P6의 경우는 α-pinene, β-pinene, 3-carene, 및 D-limonene의 4가지 성분만이 확인될 수 있었다. 나아가 각 성분의 조성 또한 α-pinene의 경우 피톤치드 oil 중 40% 미만의 함량이었으나 시료 P3로부터 시료 P6에 이르기까지 점차 높아져 시료 P6의 경우 49%에 이를 수 있음이 확인되었다. α-pinene뿐만 아니라 시료 P6에서 최종적으로 확인되는 주요 성분들은 공히 전체적으로 이와 같이 그 함량이 높아지는 경향을 확인하였다. 따라서 이러한 결과는 column chromatography법에 의해 피톤치드 oil의 구성 성분들이 충분히 분리될 수 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다.

Table 9. Components and Composition of Separated Phytoncide Oil Parts by Column Chromatography Method

Compound name	sample P1 %	sample P3 %	sample P4 %	sample P5 %	sample P6 %
α-pinene	39.43	47.23	48.2	49.08	49.23
Camphene	1.18	1.17	1.25	-	-
β-pinene	13.35	16.37	17.99	18.26	16.99
β-myrcene	5.58	-	-	-	-
3-carene	4.07	2.43	2.26	2.71	3.12
D-limonene	32.15	28.48	26.68	28.03	30.66
Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)	0.45	-	-	-	-
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-OL, 1.7.7-trimethyl-,acetate (1s-endo)-	0.86	1.54	2.69	1.92	-
Tricyclo[5,4,0,0(2,8)]undec-9-ene,2,6,6,9-tetramethyl-	0.35	-	-	-	-
Copaene	0.38	-	-	-	-
1,4-Methanoazulene,Decahydro-4,8,8-Trimethhyl-9-9Methylene	1.28	1.05	-	-	-
Caryophyllene	0.93	0.77	-	-	-
total	98.01	99.04	99.07	100	100

4. 결 론

본 연구를 통해 잣송이 부산물로부터 수증기 증류공정에 의해 잣나무 피톤치드 oil은 매우 효과적으로 추출 및 생산이 가능함을 알 수 있으며, 특히 잣나무의 자체의 손상이 없이 지속적으로 잣나무 피톤치드의 생산이 가능하다는 점에서 매우 바람직한 공정이 될 수 있다는 결론을 내린다.

(1) 잣송이 부산물을 대상으로 피톤치드 성분의 추출을 위해 수증기 증류법 및 물- 수증기 증류법에 의해 공히 피톤치드 성분이 추출되며 그 결과 피톤치드 oil 및 수용성의 피톤치드 성분을 함유하는 잣물의 생산이 가능하다.

(2) 수증기 증류법에 의해 잣송이 부산물로부터 얻어지는 피톤치드 oil의 주요구성 성분은 α-pinene, β-pinene, D-limonene, β-myrcene 및 3-carene 등 12가지 성분이 확인되었다.

(3) 피톤치드의 추출은 평균 추출량 및 수율의 면에서는 수증기 증류법이 우수하며, 물은 단순한 열전달 목적이 아닌 용매로 작용을 하여 수용성 피톤치드 성분을 함유하는 잣물의 부산이 가능하다.

(3) 피톤치드의 추출을 위하여 투입되는 에너지와 시간을 생각하여 볼 때, 수증기 증류법을 통하여 증류온도 100 ℃의 조건, 30 min간 추출을 진행하는 것이 수율 및 추출량과 조성 물질의 함량을 고려하였을 때 최적의 조건이라 판단된다.

(4) 물・수증기 증류법의 수증기 증류법에서 확인되지 않는 물질이 추출되어 조성 물질의 면에서는 장점이 될 수 있어 추출공정에 대한 추가적인 연구의 필요성이 있을 것으로 보이나, 수증기 증류법에 비하여 피톤치드 oil의 생산수율이 절반에 지나지 않으므로, 피톤치드 oil의 생산을 위해서는 수증기 증류법의 사용이 바람직하다.

(5) 잣나무 피톤치드 oil의 다양한 구성 성분들이 단일 성분으로 분리될 수 있는 가능성을 columm chromatography 방법에 시도한 결과 각각 구성 성분으로 분리가 가능함으로 확인하였으며, 각 해당 성분의 부가적인 효능 및 활용을 위해서는 향후 추가적인 연구가 필요하다.

감 사

본 연구는 단국대학교 2014년 교내연구비 지원에 의해 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

References

1. J. K. Yang and B. K. Kang, Efficient extraction methods and analysis of essential oil from softwood leaves, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **17**(4), 357-364 (2002).
2. J. Y. Ahn, S. S. Lee, and H. Y. Kang, Biological activities of essential oil from *Chamaecyparis obtusa*, *J. Korean Soc. Cosmet. Sci.*, **30**(4), 503-507 (2004).
3. O. Ekyundyo, Monoterepene composition of the needle oils of *Pinus* species, *J. Chromatogr. Sci.*, **16**, 294-295 (1978).
4. K. S. Choi, Flavor components of the needle oils from *Pinus rigida* mill and *Pinus densiflora* Sieb & Zncc, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **20**, 769-773 (1988).
5. W. T. Hong, G. M. Go, J. G. Lee, H. J. Jang, and J. J. Kwag, Volatile compounds of pine needle extracts, *J. Korean Soc. Tob. Sci.*, **24**(1), 53-59 (2002).
6. G. S. Shim and W. Y. Ahn, Domestic production and utilization of oleoresin (Ⅱ): Seasonal variation of monoterpene composition in needles of Korean white pine, *J. Kor. For. Energy*, **9**(2), 35-48 (1989).
7. S. J. Jang, Y. H. Kim, M. G. Kim, G. H. Kim, and S. Y. Yun, Essential oil composition from leaves, flowers, stems, and fruits of *Vitex rotundifolia* L. fil., *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, **45**(2), 101-107 (2002).
8. B. H. Hwang, J. H. Jo, S. S. Ham, and H. Y. Kang, Chemical analysis of pinus leaves, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**(1), 6-9 (2000).
9. F. J. Wen, Study on the Analysis of Physicochemical Characteristics of Essential Oil and the Application to the Deodorants, PhD Dissertation, Kwangwoon University, Seoul, Korea (2006).
10. H. G. Jung, J. G. Bang, N. S. Sung, and S. M. Kim, Review of functional volatile components in essential oil of medicinal and aromatic plants, *Korean J. Crop Sci.*, **48**(S), 41-48 (2003).
11. B. S. Jo, The Screening of Biological Activity from *Pinus koraiensis* Siebold et Zucc. Leaf and Development to Functionality Product, MA Dissertation, Kyungpook National University, Sangju, Korea (2012).

12. S. J. Ok and B. H. Hwang, Terpenoid analysis of the main softwoods essential oil: Comparision of terpenoid components in season, *J. Korean Soc. For. Energy Res.*, **10**, 84-96 (1990).
13. D. Y. Yu, A Study of Anti-oxidation Effect and Anti-bacterial Activation of *Pinus koraiensis* Extract, MA Dissertation, Kyonggi Unversity, Seoul, Korea (2010).
14. H. J. Song, Metabolic Profiling of Terpenoids and its Antifungal and Insecticidal Activity of *Thuja occidentalis* L. MA Dissertation, Gyeongsang National University, Jinju, Korea (2011).
15. N. Kurita, M. Miyaji, R. Kurane, and Y. Takahara, Antifungal activity of components of essential oils, *Agric. Biol. Chem.*, **45**(4), 945-952 (1981).
16. D. R. L. Caccioni, M. Guizzardi, D. M. Biondi, A. Renda, and G. Ruberto, Relationship between volatile component of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicym*, *Inter. J. Food Microbiol.*, **43**, 73-79 (1998).
17. K. Cimanga, K. Kambu, L. Tona, S. Apers, T. De Bruyne, N. Hermans, J. Totte, L. Pieters, and A. J. Vlietinck, Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo, *J. Ethnopharmacol.*, **79**, 213-220 (2002).
18. S. S. Lee, H. Y. Kang, and I. G. Choi, Studies on biological activities of woody essential oils (1), *Mokchae Konghak*, **30**(1), 48-55 (2002).
19. J. A. Morris, A. Khettry, and E. W. Seitz, Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils, *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, **56**, 595-603 (1979).