

수목 정유의 생리활성에 관한 연구(I)*¹

- 침엽수 잎 정유의 항균활성 -

이 성 숙*² · 강 하 영*² · 최 인 규*²

Studies on Biological Activities of Woody Essential Oils(I)*¹

- Antimicrobial Activity of Essential Oils from Coniferous Needles -

Sung-Suk Lee*² · Ha-Young Kang*² · In-Gyu Choi*²

요 약

대표적인 침엽수인 소나무, 잣나무, 편백, 화백의 잎 정유를 사용하여 수목 정유의 항균활성에 관하여 조사하였다. 항진균활성은 배지점적법을 이용하여 목재부후균인 *Gliocladium virens*, *Tyromyces palustris*, *Trametes versicolor*를, 비부후성 열화균인 *Rhizopus stolonifer*를, 수목병원균인 *Phomopsis albobestita*, *Endothia nitschkeii*, *Melanconis juglandis*에 대하여, 그리고 항세균활성은 paper disc법과 탁도측정법을 이용하여 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* 및 그람음성균인 *Escherichia coli*에 대하여 검정하였다. 그 결과, 항진균활성은 편백이 가장 우수한 것으로 나타났으며 그 다음이 소나무와 잣나무로 목재부후균에 대해서는 소나무가 잣나무보다 높은 활성을, 수목병원균에 대해서는 잣나무가 소나무보다 높은 활성을 나타내었다. 그리고 화백 잎 정유가 가장 활성이 낮은 것으로 나타났다. 또한, 항세균활성은 항진균활성과 달리 소나무 잎 정유가 편백보다 높은 활성을 보였으며 그 다음이 잣나무 그리고 화백의 순이었다. 이러한 정유에 따른 항균 스펙트럼의 차이는 각 정유의 성분 변이와 이러한 성분들의 미생물에 대한 작용특이성에 기인하는 것으로 사료되었다.

ABSTRACT

The essential oils were extracted from the needles of several softwood tree species, *Pinus densiflora*, *Pinus koraiensis*, *Chamaecyparis obtusa* and *Chamaecyparis pisifera* to investigate their biological activities. The antifungal activity by hyphal growth inhibition method was determined by three wood rot

* 1 접수 2001년 8월 1일, 채택 2001년 9월 12일
본 연구는 임업연구원 임업연구사업의 일환으로 수행되었음.

* 2 임업연구원 Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

fungi, one mouldous fungi, and three tree pathogenic fungi and the antibacterial activity by paper disc method and turbidimetric method by three gram positive bacteria and one gram negative bacteria, *Escherichia coli*, were also tested. Antifungal activity was the best in the essential oil from *C. obtusa*, and the following was resulted in order of *P. densiflora* and *P. koraiensis*. The essential oil from *P. densiflora* showed higher antifungal activity against wood rot fungi than that from *P. koraiensis*, while the result was contrary against tree pathogenic fungi. However, the antibacterial activity was the best in the essential oil from *P. densiflora*, and the following was in order of *C. obtusa* and *P. koraiensis*. From these results, the variation of biological activity seemed to be due to the chemical composition of essential oils.

Keywords: *Pinus densiflora*, *P. koraiensis*, *Chamaecyparis obtusa*, *C. pisifera*, essential oil, antifungal activity, antibacterial activity

1. 서 론

수목 정유에는 피톤치드라고 불리는 다양한 휘발성 성분들이 포함되어 있으며, 이러한 성분들은 항균활성이 있어 외부의 공격으로부터 자신을 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 이러한 천연물 유래의 항균활성은 합성약제와 비교하면 낮고, 더디게 작용하는 것은 사실이다. 하지만 다수의 균에 효과를 발휘하는 합성살균제는 독성이나 感作性을 띠는 것이 있으며 내성균의 출현 등 안전성 측면에서 문제가 되고 있다. 따라서 일상적으로 사용되는 제품에는 보다 안전성이 높은 것이 요구되고 있으며 이러한 관점에서 천연소재인 정유의 항균성이 주목을 받고 있다.

정유에는 항균활성 뿐만 아니라 스트레스를 완화시키고 진정효과를 갖는 등 매우 뛰어난 생리활성을 보유하고 있는 것으로 알려져 있다(나 등, 1998; 나 등, 1999). 또한 식물체 내에서 담당하는 정유의 역할을 일상생활에 응용하기 위하여 오래 전부터 항균성에 대한 연구가 수행되어 왔으며 각각의 방향성분(Morris 등, 1978; Kurita 등, 1981)과 증기상태에서의 항균성(Gocho, 1991a; 1991b; 1991c; 1992)도 보고되어 있다. 수목정유의 항균활성을 조사한 谷田貝 등의 보고(谷田貝와 大平, 1990)에 의하면 나한백, 편백, 화백, 솔송나무, 낙엽송, 전나무, 향나무, 레몬유카리 잎 정유는 *Aureobasidium pullulans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium citrium*, *Clado-*

sporium herbarum 등의 곰팡이 생육을, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* 등 세균의 생육을 100~1,000 ppm의 농도범위에서 완전히 저해하여 이들 잎 정유에 항균활성이 있다는 사실을 알 수 있다. 특히 나한백 材油와 여기에서 분리한 hinokitiol의 광범위한 항균 스펙트럼에 대해서도 상세히 보고하고 있다(岡部, 1992). 한편, 국내에서는 식품관련 분야에서 식품의 보존성 및 기호성 향상이라는 관점에서 주로 연구가 수행되어 왔으며 항균활성 또한 식품과 관련된 균에 대한 검토가 주류를 이루고 있다. 저자 등이 실시한 일련의 연구(강 등, 1993; 강·오, 1994)에서도 수목정유가 일부 식품관련 균에 항균력이 있음을 밝힌 바 있다. 최근 외국에서는 정유를 이용한 질병치료가 보편화되어 있고(Carson 등, 1995), 방향제 및 식료품 첨가제(Mishra와 Dubey, 1994)로도 사용하고 있다.

이러한 배경 하에서 국내에 자생하거나 조립한 수종 중 비교적 자원량이 많은 소나무, 잣나무, 편백, 화백 잎으로부터 정유를 추출하여 이 정유의 목재부후균, 수목병원균 및 세균에 대한 항균활성을 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시수종

소나무(*Pinus densiflora*) 및 잣나무(*P. koraiensis*)

sis) 잎은 강원도 홍천군 동면 노천리(홍천관리소 93 임반), 편백(*Chamaecyparis obtusa*) 잎은 전남 강진군 칠량면 명주리(백제농장 소유림), 화백(*C. pisifera*) 잎은 서울 동대문구 청량리2동 임업연구원 시험림내에서 채취하여 공시하였다.

2.2 공시균

항균활성검정용 공시균은 진균으로서 목재부후균인 *Gliocladium virens*, *Tyromyces palustris*, *Trametes versicolor*를, 비부후성 열화균인 *Rhizopus stolonifer*를, 수목병원균인 *Phomopsis albobesitita*, *Endothia nitschkeii*, *Melanconis juglandis*를, 세균으로서 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* 및 그람음성균인 *Escherichia coli*를 사용하였다.

2.3 공시정유의 추출

길이 1 cm 정도로 잘게 자른 가지와 잎을 임업연구원에서 별도 제작한 정유추출장치에 넣고 시료가 잠기지 않을 정도로 물을 넣은 다음 냉각수를 연결하고 가열하였다. 추출장치 내부온도가 100℃에 달한 후부터 2~3시간 가열하면서 흘러나오는 정유를 정유수집기로 수집하였다. 유출수로부터 분액여두를 사용하여 정유를 수집하였으며 수집한 정유는 여과하여 불순물을 제거하고 정유중량의 약 1%가 되도록 무수황산나트륨(105℃에서 3시간 이상 건조하여 데시케이터 내에서 방냉한 것)을 투입, 냉암소에서 24시간 탈수처리하여 실험용 정제정유를 얻었다.

2.4 항균활성검정

2.4.1 항진균활성

항진균활성 검정방법으로는 배지점적법(森 등, 1994)을 이용하였다. 즉, PDA(potato dextrose agar) 배지에 소정의 농도가 되도록 정유를 혼합하여 만든 평판배지에 미리 배양해둔 각 공시균의 균사

선단부를 직경 8 mm의 cork borer로 떼어내어 점종하였다. 배양온도 27℃에서 소정기간 배양한 후 자란 균사환의 직경을 측정하여 다음과 같이 균사생장억제율로 항균활성을 나타내었다.

$$\text{균사생장억제율(\%)} = \left[\frac{(Gc) - (Gt)}{(Gc)} \right] \times 100$$

Gc : 무첨가 배지상의 균사 직경

Gt : 첨가 배지상의 균사 직경

2.4.2 항세균활성

항세균활성은 paper disc법과 탁도측정법(池川 등, 1984)에 의하여 검정하였다. paper disc법은 우선 agar 1.5%가 함유되어 있는 nutrient agar 배지를 petri dish에 분주하여 하층배지를 만들고, 그 위에 각 세균을 접종한 1.0%의 agar 배지를 부어 2층의 평판배지를 만들었다. 이렇게 제조된 평판배지에 소정 농도의 정유를 함침시킨 paper disc(직경 : 8 mm)를 올려놓고 37℃에서 20시간 배양한 후 디스크 주변에 형성되는 생육저지환(clear zone)의 직경을 측정하여 항세균활성을 검토하였다.

탁도측정법은 세균의 경우 크기가 균일한 집단으로 세포수가 증가하면 탁도도 증가하는 것을 이용한 방법으로, 소정 농도의 정유를 첨가한 nutrient broth배지에 세균을 접종하여 37℃, 24시간 진탕배양한 후 세포수 증가를 610 nm의 흡광도로 측정하여 다음과 같이 세균생육억제율로 나타내었다.

세균생육억제율(%) =

$$\left[\frac{(\text{무처리구의 흡광도}) - (\text{처리구의 흡광도})}{(\text{무처리구의 흡광도})} \right] \times 100$$

3. 결과 및 고찰

3.1 정유의 항진균활성

소나무, 잣나무, 편백 및 화백 잎 정유의 항진균활성을 목재부후균 4종 및 수목병원균 3종에 대하여

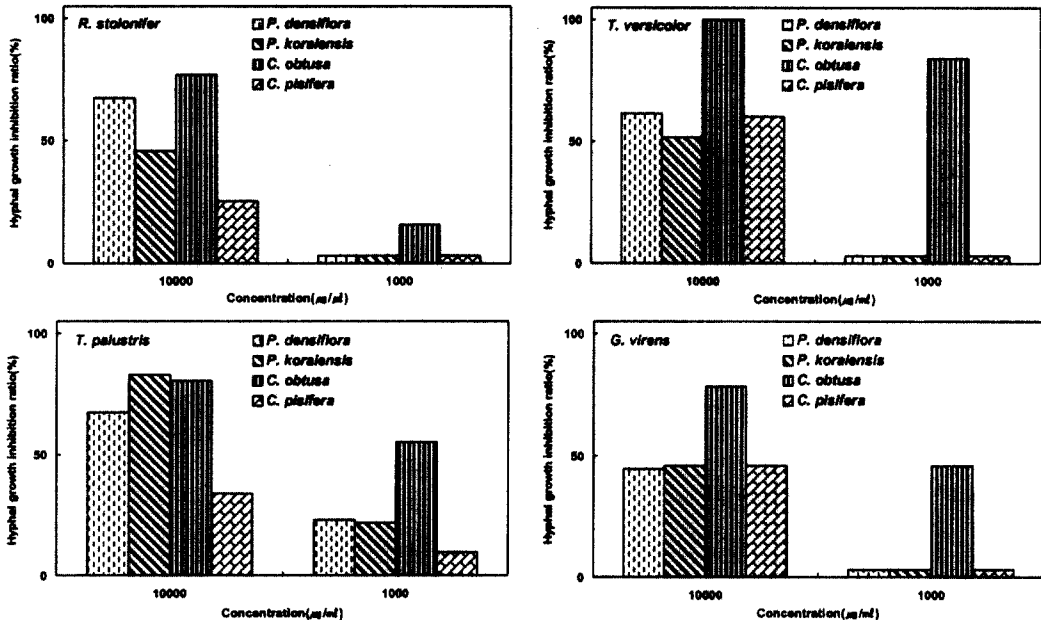


Fig. 1. Antifungal activities of essential oils from coniferous needles against wood rot fungi by the hyphal growth inhibition method.

조사하였다. 그 결과, 대표적인 갈색부후균인 *T. palustris*에 정유를 10,000 µg/mL의 농도로 처리하였을 경우 소나무, 잣나무, 편백 잎 정유 모두 50% 이상의 균사생장 억제율을 나타낸 반면, 화백 잎 정유는 33.7%의 억제율을 나타내었다(Fig. 1). 또한, 1,000 µg/mL의 농도에서는 편백 잎 정유가 55.4%의 억제율을 나타내었으며 소나무, 잣나무 및 화백 잎 정유는 각각 22.9%, 21.7%, 9.6%의 균사생장억제율을 나타내어 항균활성이 편백 잎 정유보다 낮은 것으로 밝혀졌다(Fig. 1). 또 다른 갈색부후균인 *G. virens*의 경우 1,000 µg/mL의 농도에서 편백 잎 정유가 45.8%의 억제율을 나타낸 반면, 다른 3종의 정유는 균사생장을 억제하지 못하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 이와 같은 경향은 대표적인 백색부후균인 *T. versicolor*와 비부후성 열화균인 *R. stolonifer*의 경우에도 나타나 1,000 µg/mL의 농도에서 편백 잎 정유만이 각각 84.3%와 15.7%의 억제율을 나타내었을 뿐 다른 공시수종의 정유는 균사 생장을 억제하지 못하였다(Fig. 1).

수목병원균을 조사한 결과, 포뭇시스 가지마름병균인 *P. albobestita*의 경우 10,000 µg/mL의 농도에서 소나무, 잣나무 및 편백 잎 정유가 60% 정도의 균사생장 억제율을 나타내었으며 화백 잎 정유가 42.2%의 가장 낮은 억제율을 나타내었다(Fig. 2). 1,000 µg/mL의 농도에서도 편백 잎 정유가 42.2%로 가장 높은 억제율을 나타내었으며 그 외의 수종은 30% 이하의 낮은 균사생장억제율을 나타내었다(Fig. 2). 참나무류 줄기마름병균인 *E. nitschkeii*는 편백 잎 정유를 10,000 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 균사의 생장을 완전히 저해하여 항균활성이 가장 높았으며, 잣나무 정유, 그리고 소나무 정유가 각각 69.9%와 61.4%의 균사생장 억제율을 나타내었다(Fig. 2). 화백 잎 정유는 30.1%로 가장 낮은 억제율을 나타내었다(Fig. 2). 호도나무 가지마름병균인 *M. juglandis*의 경우에도 같은 경향을 나타내어 10,000 µg/mL의 농도에서 편백이 100%의 가장 높은 억제율을, 그 다음이 잣나무, 소나무, 그리고 화백의 순이었다(Fig. 2).

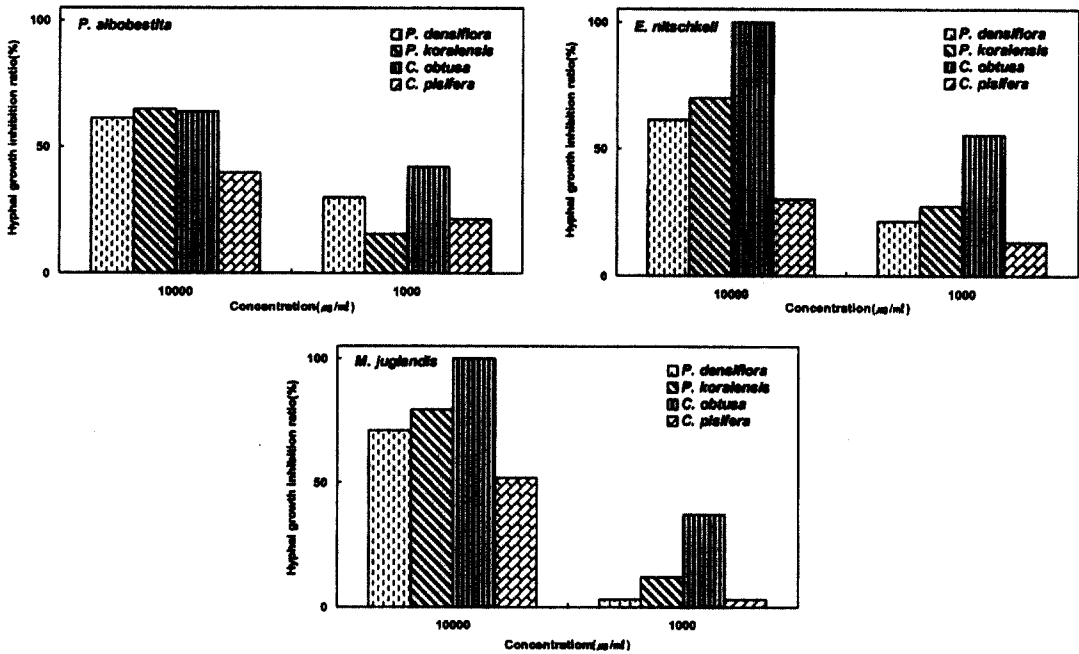


Fig. 2. Antifungal activities of essential oils from coniferous needles against tree pathogenic fungi by the hyphal growth inhibition method.

이상의 소나무, 잣나무, 편백, 그리고 화백 잎 정유의 항진균활성을 조사한 결과 편백이 가장 우수한 것으로 나타났으며 그 다음이 소나무와 잣나무로 목재 부후균에 대해서는 소나무가 잣나무보다 높은 활성을, 수목병원균에 대해서는 잣나무가 소나무보다 높은 활성을 나타내었다. 그리고 화백 잎 정유가 가장 활성이 낮은 것으로 나타났다. 이는 소나무와 편백 材部 및 잎 정유의 항진균활성을 비교, 조사한 결과(福田 등, 1991)와도 일치하는 것이었다. 소나무와 잣나무 잎 정유의 경우 항진균활성이 낮은 것으로 알려진 α -pinene, β -pinene, myrcene(Kurita 등, 1981)의 함량이 편백 잎보다 상대적으로 많기 때문에(강 등, 1993) 이러한 성분들이 활성에 영향을 미쳤을 가능성이 크다. 또한, 편백 잎 정유의 경우 sesquiterpene류인 bornyl acetate, α -terpinyl acetate 및 elemol의 함량이 소나무나 잣나무에 비해 상대적으로 높아(강 등, 1993) 이러한 성분과 cadinol류가 편백 잎 정유의 항진균성에 크게 기여하였을 것으로 사료되었다(近藤와 今村, 1986; 福田 등, 1991).

3.2 정유의 항세균활성

소나무, 잣나무, 편백 및 화백 잎 정유의 항세균활성을 그람양성균 3종 및 그람음성균 1종에 대하여 조사하였다. 그 결과 대표적인 그람양성균인 황색포도상구균 *S. aureus*에 대한 항균활성은 편백 잎 정유가 가장 우수하였으며, 다음이 소나무 잎 정유, 그리고 잣나무와 화백 잎 정유의 순이었다(Fig. 3). 연쇄구균인 *S. faecalis*의 경우에는 소나무, 편백, 잣나무, 화백 잎 정유의 순으로 활성을 나타내었으며, 고초균인 *B. subtilis*도 같은 경향을 나타내었다(Fig. 3). 또한 대표적인 그람음성균인 대장균 *E. coli*에 대한 항균활성은 4, 8, 24 mg/disc의 농도에서는 편백이 소나무보다 높은 항균활성을 보인 반면, 40 mg/disc의 농도에서는 소나무가 편백보다 높은 항균활성을 보여 보다 낮은 농도에서 높은 활성을 보인 편백 잎 정유가 소나무 잎 정유보다 활성이 높은 것으로 판단되었다(Fig. 3).

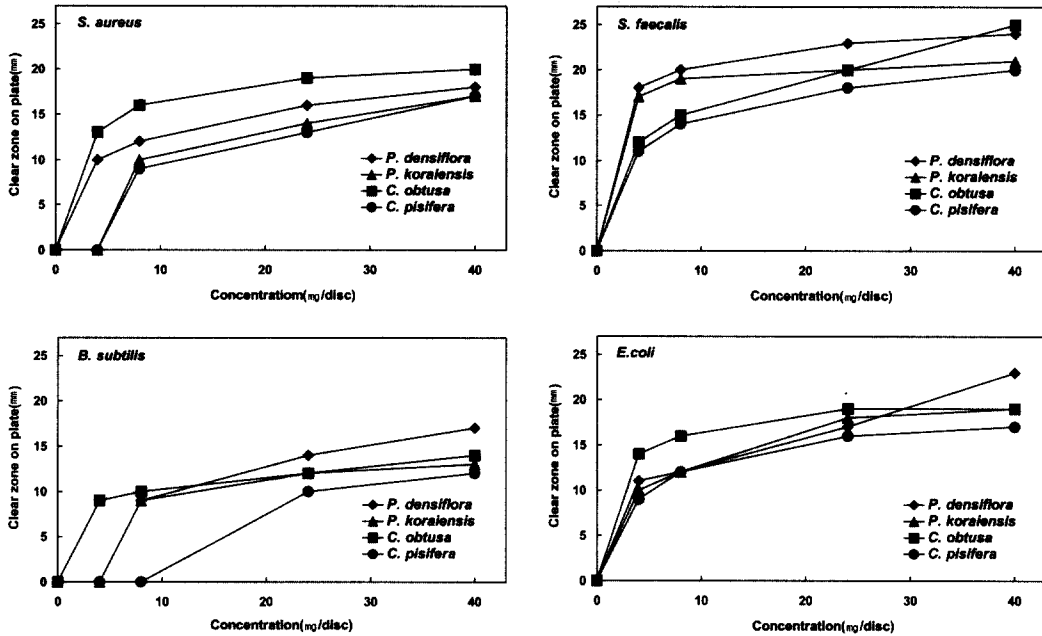


Fig. 3. Antibacterial activities of essential oils from coniferous needles by the paper disc method.

이와 같이 paper disc법을 사용할 경우 항세균활성을 스크리닝 단계에서 간단하고 빠르게 검정할 수 있는 장점이 있으나 생육저지환의 크기로 물질의 농도와 시험균의 감수성을 정량적으로 비교하는 것이 불가능하다(Morris 등, 1979; 池川 등, 1984). 그러므로 항세균활성을 정량적으로 비교할 수 있는 탁도법을 이용하여 황색포도상구균(*S. aureus*)과 대장균(*E. coli*)에 대한 공시정유의 항세균활성을 조사하였다. 그 결과 *S. aureus*에 대해 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 모든 공시 정유가 90% 이상 성장을 억제하였으나 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 소나무와 편백 잎 정유가 각각 87.8%와 94.5%의 성장억제율을 나타내었을 뿐 잣나무와 화백 잎 정유는 전혀 세균의 성장을 억제하지 못하였다(Fig. 4). 500 $\mu\text{g/mL}$ 보다 낮은 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 소나무와 편백 잎 정유 공히 *S. aureus*의 성장을 억제하지 못하는 것으로 나타나 *S. aureus*에 대해 거의 동등한 항균력을 가지는 것으로 추정되었다. 또한 그람음성균인 *E. coli*에 대한 항균활성은 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 *S. aureus*와 마

찬가지로 공시 정유 모두 90% 이상의 세균성장억제를 나타내었다. 그러나 500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 소나무, 편백, 잣나무, 화백의 순으로 각각 50.1%, 29.6%, 15.6%, 10.3%의 생육억제율을 나타내어 소나무 잎 정유가 편백 잎 정유보다 항세균활성이 우수한 것으로 나타났다.

이상의 결과 항진균활성과 달리 *E. coli*에 대한 항세균활성은 소나무 잎 정유가 편백 잎 정유보다 우수한 것으로 나타났다. 이는 β -pinene의 *B. subtilis* 및 *E. coli*에 대한 항균활성을 paper disc법으로 조사한 보고(Gocho, 1991a)에서 보는 바와 같이 *B. subtilis*에 대해서는 생육저지환을 형성하지 않고 *E. coli*에 대해서는 생육저지환을 형성하는 등 β -pinene의 영향인 것으로 추정되었다. β -pinene은 소나무 잎 정유의 주성분으로 편백보다 월등히 많은 양이 포함되어 있다(강 등, 1993).

이상 정유의 항세균활성을 종합해 보면 소나무, 편백, 잣나무, 그리고 화백의 순으로 활성이 우수한 것으로 나타났다. 이는 항진균활성과 달리 소나무 잎

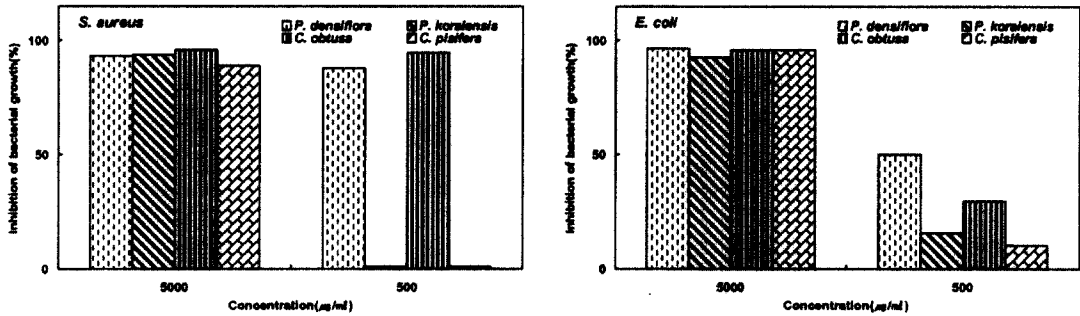


Fig. 4. Antibacterial activities of essential oils from coniferous needles by the turbidimetric method.

정유가 편백보다 높은 활성을 보인 것으로 이러한 정유의 항균 스펙트럼의 차이는 정유의 성분 변이에 기인하는 것으로, 추후 이러한 성분별에 따른 항균활성의 차이를 구명할 필요가 있는 것으로 사료되었다.

4. 결 론

수목 정유가 갖고 있는 다양한 생리활성 중 항균활성에 관하여 대표적인 침엽수인 소나무, 잣나무, 편백, 화백의 잎 정유를 이용하여 조사하였다. 그 결과 목재부후균 및 수목병원균에 대한 항진균활성은 편백이 가장 우수한 것으로 나타났으며 그 다음이 소나무와 잣나무로 목재부후균에 대해서는 소나무가 잣나무보다 높은 활성을, 수목병원균에 대해서는 잣나무가 소나무보다 높은 활성을 나타내었다. 그리고 화백 잎 정유가 가장 활성이 낮은 것으로 나타났다. 또한, 그람양성균 및 음성균에 대한 항세균활성을 조사한 결과에서는 항진균활성과 달리 소나무 잎 정유가 편백보다 높은 활성을 보였으며 그 다음이 잣나무 그리고 화백의 순이었다. 이러한 정유에 따른 항균 스펙트럼의 차이는 각 정유의 성분 변이와 이러한 성분들의 미생물에 대한 작용특성에 기인하는 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. 강하영, 오종환. 1994. 침엽수 수엽정유의 방향제 이용적

성. 임업연구원연구보고 49호 : 177~185.

2. 강하영, 이성숙, 최인규. 1993. 침엽수 수엽정유의 항균성에 관한 연구. 임산에너지 13(2) : 71~77.

3. 나기정, 강하영, 오종환, 최인규, 윤영원, 정의배. 1998. 침엽수종으로부터 분리된 정유의 스트레스 완화효과. 한국실험동물학회지 14(1) : 93~96.

4. 나기정, 강하영, 윤신근, 정의배. 1999. 침엽수정유의 생물학적 효능. 한국실험동물학회지 15(1) : 79~81.

5. 福田 清春, 金子 明裕, 原口 隆英. 1991. 樹木精油の抗菌性. 木材保存 17(3) : 18~23.

6. 池川 信夫, 丸茂 晋吾, 星 元紀. 1984. 生理活性物質のバイオアッセイ. 講談社 : 17~29.

7. 近藤 隆一郎, 今村 博之. 1986. ヒノキ心材の耐朽性成分. 木材學會誌 32(3) : 213~217.

8. 森 滿範, 土居修一, 青山政和. 1994. 樹皮抽出物の抗菌活性. 日本木材學會北海道支部講演集, 26 : 41~44.

9. 岡部敏弘. 1992. 青森ヒバ油の利用研究. APAST No. 3 : 14~19.

10. 谷田貝光克, 大平辰朗. 1990. 바이오マス變換計劃研究報告(農林水産技術會議) 第24號 : 36~69.

11. Carson C. F., B. D. Cookson, H. D. Farrelly and T. V. Riley. 1995. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Antimicrobial Chemotherapy, 35 : 421~424.

12. Gocho, S. 1991a. Antibacterial action of aroma compounds in vapor state. J. Antibact. Antifung. Agents 19(7) : 329~334.

13. Gocho S. 1991b. The factors affecting antibacterial action of FDC vapor. J. Antibact. Antifung. Agents 19(8) : 389~393.

수목 정유의 생리활성에 관한 연구(I)

14. Gocho S. 1991c. Antibacterial mechanism of aroma chemical vapors. *J. Antibact. Antifung. Agents* 19(10) : 511~515.
15. Gocho S. 1992. Antifungal action of aroma chemical vapors. *J. Antibact. Antifung. Agents* 20(11) : 585~589.
16. Kurita N, M. Miyaji, R. Kurane and Y. Takahara. 1981. Antifungal activity of components of essential oils. *Agric. Biol. Chem.* 45(4) : 945~952.
17. 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.
18. Morris J. A., A. Khettry and E. W. Seitz. 1979. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.* 56 : 595~603.