J Appl Biol Chem (2017) 60(1), 73−78
https://doi.org/10.3839/jabc.2017.013

Online ISSN 2234-7941
Print ISSN 1976-0442

Article: Bioactive Materials

Whitening and anti-wrinkle effect of *Pinus koraiensis* leaves extracts according to the drying technique

Jae-Bum Jo[1] · Hye-Jin Park[1] · Eun-Ho Lee[1] · Jae-Eun Lee[1] · Su-Bin Lim[1] · Shin-Hyub Hong[1] · Young-Je Cho[1]

건조방법에 따른 잣나무(*Pinus koraiensis*) 잎 추출물의 주름개선 및 미백 효과

조재범[1] · 박혜진[1] · 이은호[1] · 이재은[1] · 임수빈[1] · 홍신협[1] · 조영제[1]

Received: 1 November 2016 / Accepted: 19 January 2017 / Published Online: 31 March 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

Abstract This study provide activity for beauty food of water and 80 % ethanol extracts from *Pinus koraiensis* leaves. Total phenolic content of extracts from *Pinus koraiensis* leaves were each 12.22 mg/g (Drying under hot air) and 17.93 mg/g (Drying under shade), 14.36 mg/g (Lyophilization) in water extracts (WE) and 11.9 mg/g and 20.63 mg/g, 17.96 mg/g in 80 % ethanol extracts (EE). The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical scavenging activity of extracts from *Pinus koraiensis* leaves was 96.20 % in EE from drying under shade at extracts concentration. The 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical decolorization activity of extracts from drying under shade was 99.85 % in WE and 99.80 % in EE at extracts concentration. The antioxidant protection factor (PF) extracts from drying under shade type was 9.63 PF in WE and 10.48 PF in EE at extracts concentration. The thiobarbituric acid reactive substance from *Pinus koraiensis* leaf was 89.39 % in EE from drying under shade at extracts concentration. The elastase inhibition activity of EE for anti-wrinkle effect showed an excellent wrinkle improvement effect, showing 71.46 % in EE from lyophilization. Collagenase inhibition activity of EE from drying under shade was 97.48 % in extracts. Tyrosinase inhibition activity which was related to anti-melanogensis was observed. The tyrosinase inhibitory effect of extracts from lyophilization was confirmed to be 60.4 % in EE more than another drying methods at extracts concentration. Through out all results, it can be expected *Pinus koraiensis* leaves extracts to use as a functional material for anti-oxidant and functional beauty food.

Keywords Beauyt food · Biological activity · Extracts · *Pinus koraiensis* leaves

Young-Je Cho (✉)
E-mail: yjcho@knu.ac.kr

[1]School of Food Science & Biotechnology, Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

잣나무(*Pinus koraiensis*)는 소나무과에 속하는 상록교목으로 홍송이라고도 불리고 있으며 해발고도 1,000 m 이상에서 자라고 높이는 30 m, 지름 1 m 정도까지 자라는 나무로 수피는 회갈색이고 얇은 조각이 떨어진다(Hwang 등, 2014).

잎은 짧은 가지 끝에 3~5개씩 달리며, 뒷면에는 하얀 기공선이 있어 연한 초록색을 띠고, 가장자리에 잔 톱니가 있다. 잣나무 목부의 성분으로는 5-hydroxy-7-methoxyflavone, chrysin, pinocembrin, galangin, 3-hydroxy-5-methoxy-stilbene, pinosylvin 등이 함유되어 있다고 보고되었으며(Lee 등, 2003), 잣나무 잎의 성분으로는 페놀성 화합물로 gallic acid, protocatechuic acid, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, (+)-catechin,

astragalin, juglanin, quercetin, kaempferol 등으로 구성되어 있다(Bae와 Kim 2003; Kim 등, 2010).

잣나무 잎의 대표적 물질인 gallic acid를 Lee 등(1992)은 도토리에서 분리하여 항산화능을 측정한 결과, gallic acid의 함량이 높아질수록 항산화능이 높아짐을 확인할 수 있었고, syringic acid는 페놀성 화합물로 syringic acid의 에스테르 유도체인 phenylethanoid gylcoside는 강한 항산화작용을 가진다고 Heilmann 등(2000)은 보고하고 있으며, (+)-Catechin은 flavan-3-ol이라 불리는 화합물로 대표적인 폴리페놀 그룹에 속하며, 항산화 활성 및 항염증 활성 등의 광범위한 효능을 나타내는 것으로 알려져 있다(Skrzydlewska 등, 2002; Yokozawa 등, 2002). 위의 성분들이 포함된 잣나무 잎을 열풍건조, 음지건조, 동결건조의 3가지 건조방법을 이용하여 건조방법에 따라 성분 및 미용 식품으로의 효과에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위한 실험을 실시하였다. 열풍건조는 건조시간이 빠르고 간편하지만 빠른 수분 손실로 인한 수축, 표면경화, 갈변화 등으로 색상, 조직감, 영양가 등에서 품질적 열화가 문제될 수 있으며(Hong과 Lee 2004), 음지건조의 경우는 열처리 없이 서늘한 곳에서 자연건조 하여 열처리로 인한 품질적 열화의 문제는 발생하지 않을 것으로 사료되며, 비용 또한 부담이 되지 않지만 시간이 오래 걸린다는 단점이 있는 건조방법이다. 동결건조는 식품원료의 조직, 향기, 색 등을 비교적 잘 보존하고 식품의 구조변화를 최소화 시킬 뿐 아니라, 다공성으로 건조되므로 복원성이 뛰어나지만 건조시간이 느리고 비용이 많이 드는 단점이 있다(Lee 등, 2004; Kim 등, 2005).

따라서 본 연구에서는 폐자원으로 활용도가 낮은 한국산 잣나무(*Pinus koraiensis*) 잎을 3가지 건조방법(열풍건조, 동결건조, 음지건조)으로 건조한 후 추출물들의 항산화, 주름개선 및 미백 활성을 확인하고 기능성 화장품에 적용하기 위한 기능성 소재 개발 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

잣나무 잎 건조물 제조

본 실험에서 사용한 잣나무(*Pinus koraiensis*) 잎은 영천시 인근 야산에서 직접 채취하여 흐르는 물로 이물질을 제거 후 사용하였다. 열풍건조(drying under hot air)는 45 °C dry oven (Jeiotech, Daejeon, Korea)을 사용하여 건조하였으며, 음지건조 (drying under shade)는 통풍이 잘되는 서늘한 곳에서 열처리 없이 자연 건조시켰다. 동결건조(lyophilization)는 freeze dryer (Ilshinbiobase, Dongducheon, Korea)로 −80 °C에서 96시간 동안 건조하였다. 건조가 완료된 시료는 분쇄기를 사용하여 40 mesh로 분쇄한 후 4 °C 저온고에서 보관하며 시료로 사용하였다.

잣나무 잎 추출물의 제조

열풍, 음지, 동결건조물 열수 추출물(WE)의 경우 잣나무 잎 분말 2 g에 증류수 200 mL를 가하고 용액이 100 mL가 될 때 까지 15분간 가열하여 증발시킨 후 냉각하여 상온에서 교반 추출하였으며, ethanol 추출물(EE)은 시료 2 g에 80 % ethanol 100 mL를 추출용매로 가하여 24시간 동안 상온에서 교반 추출하였다. 추출액은 Whatman No. 1 filter paper (Whatman, Maidstone, UK)로 여과한 후 사용하였다.

Total phenolic compounds의 함량 측정

Total phenolic compounds 함량 측정은 Folin과 Denis (1912)의 방법에 준하여 측정하였으며, 시료 1 mL에 95 % ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 첨가하고 1 N Folin-Ciocalteu reagent (Junsei, Tokyo, Japan) 0.5 mL를 넣어 잘 섞어준 후, 5분간 방치한 다음 5 % Na_2CO_3 1 mL를 가하였다. 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선{Total phenolic compounds content in gallic acid (20~200 μg/mL), y=0.0083x-0.027, R^2=0.9963}으로부터 양을 환산하였다.

항산화 효과 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical에 대한 소거활성은 Blios (1958)의 방법에 준하여 측정하였으며, 전자공여능(%)은 1-(반응구의 흡광도/대조구의 흡광도)×100으로 나타내었다. 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization (ABTS)의 측정은 Pellegrin 등(1998)의 방법에 준하여 측정하였고, 저해율(%)은 1-(반응구의 흡광도/대조구의 흡광도)×100으로 나타내었다. Antioxidant protection factor (PF)는 Andarwulan과 Shetty(1999)의 방법에 준하여 측정하였으며, PF값은 반응구의 흡광도/대조구의 비로 나타내었다. Thiobarbituric acid reactive substance (TBARs) 측정은 Buege와 Aust(1978)의 방법에 준하여 측정하여 저해율(%)은 1−(반응구의 TBARs μM/대조구의 TBARs μM)×100으로 나타내었다.

주름개선 효과 측정

Elastase 저해효과 측정은 James 등(1996)의 방법에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 1 mL에 기질액 0.8 mM N-succinyl-(Ala)$_3$-ρ-nitroanilide 용액 0.1 mL의 혼합액에 1.0 U/mL porcine pancreatice elastase (Sigma-Aldrich Co, Louis, MO, USA) 효소용액 0.1 mL와 시료 0.1 mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37 °C에서 20분간 반응시켜 ρ-nitroaniline 생성량을 흡광도 410 nm에서 측정하였다.

Collagenase 저해효과 측정은 Wunsch와 Heindrich(1963)의 방법에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM $CaCl_2$를 첨가하여, 4-phenylazobenzyl oxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 mg/mL)를 녹인 기질액 0.25 mL 및 시료용액 0.1 mL의 혼합액에 0.2 mg/mL collagenase (Sigma-Aldrich Co, Louis, MO, USA) 0.15 mL를 첨가하였으며, 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1 mL을 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 6 % citric acid 0.5 mL를 넣어 반응을 정지 시킨 후, ethyl acetate 2 mL을 첨가하고 320 nm에서 흡광도를 측정하여, 저해율(%)은 (1−시료의 absorbance/대조구의 absorbance)×100으로 계산하였다.

미백 효과 측정

Tyrosinase 저해효과 측정은 Vincent와 Hearing(1987)의 방법에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 2.3 mL와 기질액 1.5 mM L-tyrosine 용액 0.4 mL의 혼합액에 250 U/mL mushroom tyrosinase (Sigma-Aldrich Co,

Louis, MO, USA) 0.1 mL와 시료 0.2 mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수를 0.2 mL 첨가하고 37 ºC에서 20분간 반응시켜 흡광도 475 nm에서 측정하여, 저해율(%)은 (1−시료의 absorbance/대조구의 absorbance)×100으로 계산하였다.

통계처리

본 실험의 결과는 3회 반복하여 측정한 평균값을 나타내었으며, 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 통계처리는 SPSS 22 for windows (Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 통계처리 하였고 분산분석(analysis of variance) 및 duncan의 다중범위검정법(Duncan's multiple range test)으로 95 % 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

Total phenolic compounds 함량

Phenolic compounds는 식물체에 존재하는 이미 널리 알려져 있는 천연 항산화제로 식물의 방어기작에 의하여 생산되는 2차 대사산물의 한 종류인데, 이 phenolic compounds는 단백질 등의 거대 분자들과 결합하는 특성을 가지는 phenolic hydroxyl기를 분자구조 내에 포함하고 있어 다양한 생리활성 기능을 나타낸다고 보고되어 있다(Choi 등, 2003). 건조방법에 따른 잣나무 잎의 total phenolic compounds를 추출하기 위해 water, 80 % ethanol을 추출용매로 사용하여 열풍건조, 음지건조, 동결건조한 잣나무 잎의 total phenolic compounds의 용출량을 알아보았다. 용출량을 측정한 결과, 열풍건조, 음지건조, 동결건조의 phenolic compounds는 Fig. 1과 같이 WE에서 각각 12.22, 17.93, 14.36 mg/g의 용출량을 나타내었고, EE에서는 11.9, 20.63, 17.96 mg/g의 용출량을 나타내며 건조방법에 따라 phenolic compounds 용출량이 달라짐을 알 수 있으며, 음지건조 방법이 열풍건조와 동결건조 방법보다 water와 80 % ethanol에서 보다 높은 total phenolic compounds 용출량을 나타내었다. 또한 80 % ethanol으로 추출하였을 때 물 추출물보다 높은 total pheonlic compounds 용출량을 나타내었다.

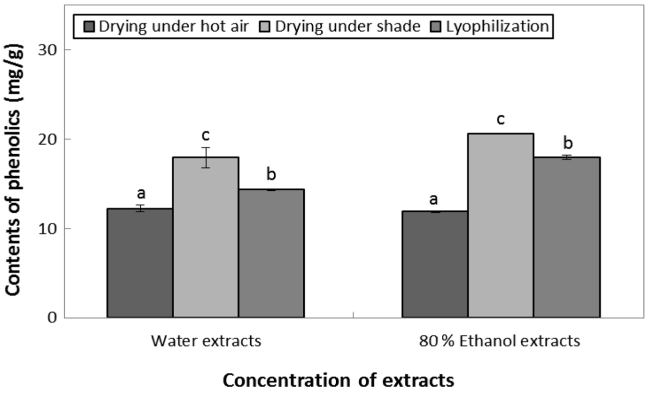

Fig. 1 The content of phenolic compounds in *Pinus koraiensis* leaves extracts. Means with different superscript letters are significantly different at p <0.05 by a Duncan's multiple range tests

잣나무 잎 추출물의 항산화 효과

DPPH법은 천연물질의 수용성 혹은 유기용매 추출물의 DPPH free radical의 소거능을 측정하여 항산화 지표로써 널리 사용되어지고 있다. 또한 DPPH radical 소거능을 가진 물질은 수소를 DPPH radical에 제공하여 비라디칼 형태인 DPPH-H로 전환시킴으로서 흡광도가 감소되는 것으로 알려져 있다. α-Tocopherol, sesamol, BHA, TBHQ 등은 DPPH 라디칼을 DPPH-H로 비라디칼화 시켜 흡광도를 감소시키는 수소 공여능이 뛰어난 항산화 물질들이다(Kyu 2010). 잣나무 잎 추출물을 이용하여 전자공여능을 측정한 결과 Table 1에서와 같이 열풍건조, 음지건조, 동결건조한 잣나무 잎의 WE에서는 90.45, 89.40, 90.45 %의 결과를 보였고, EE에서는 89.16, 96.20, 92.72 %의 전자공여능을 나타내었다. Yu와 Oh(2016)의 목이버섯 가루 50 g을 400 mL의 acetone과 ethanol로 추출하여 전자공여능을 측정한 결과 acetone 추출물의 전자공여능은 46.7 %이고, ethanol 추출물의 전자공여능은 58.7 %의 라디칼 소거 활성을 나타내었으나, 잣나무 잎의 추출물은 전자공여능을 모두 80 % 이상의 결과를 나타내어 잣나무 잎의 radical 소거 활성이 더 우수함을 알 수 있었다. ABTS radical 소거는 ABTS radical이 과황산칼륨과 반응하여 생성되는데 이는 추출물의 유효 물질에 의해 제거되어 청록색인 라디칼 특유의 색이 탈색되는 것을 이용하여 항산화 효과를 측정할 수 있으며, ABTS 라디칼 소거는 항산화 활성뿐만 아니라, 식물성 화학물질(phytochemicals)의 항산화 효과 측정에 최근까지 가장 활발하게 사용되고 있다(Ku 등, 2009; Han 등,

Table 1 Antioxidant activity of water and 80% ethanol extracts from *Pinus koraiensis* leaves by various drying techniques

Antioxidant assay	Extracts	Antioxidant activity		
		Drying technique		
		Dyring under hot air	Dyring under shade	Lyophilization
DPPH (%)	Water	90.45±1.34[a]	89.40±0.14[a]	90.45±0.51[a]
	Ethanol	89.16±2.43[a]	96.20±1.84[a]	92.72±5.29[a]
ABTS (%)	Water	99.80±0.23[a]	99.85±0.29[a]	99.75±0.09[a]
	Ethanol	99.95±0.31[a]	99.80±0.09[a]	99.90±0.17[a]
Antioxidant protection factor (PF)	Water	8.93±0.20[a]	9.63±0.26[b]	8.85±0.13[a]
	Ethanol	10.28±0.20[b]	10.48±0.11[b]	9.38±0.15[a]
TBARs (%)	Water	73.44±2.57[a]	78.55±3.96[ab]	82.07±4.63[b]
	Ethanol	85.84±0.63[a]	89.39±0.80[b]	88.11±0.78[b]

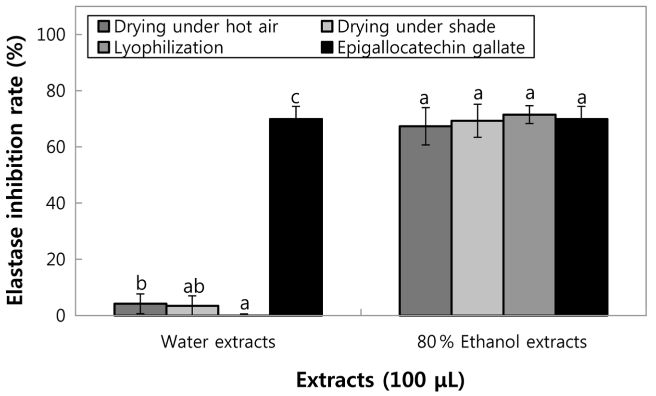

Fig. 2 Inhibitory rate of water and ethanol extracts on elastase from *Pinus koraiensis* leaves by various drying techniques. Means with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests

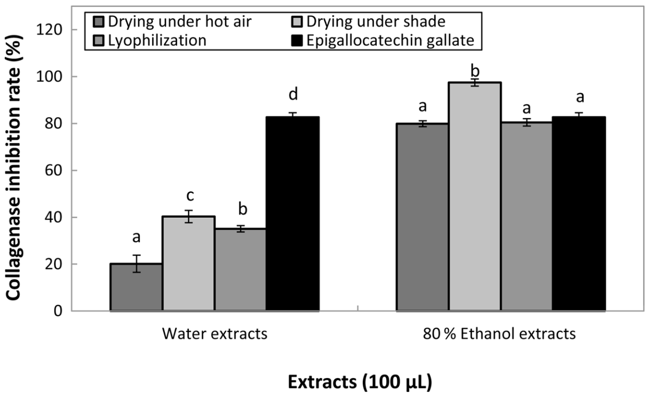

Fig. 3 Inhibitory rate of water and ethanol extracts on collagenase from *Pinus koraiensis* leaves by various drying techniques. Means with different superscript letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range tests

2014). ABTS를 측정한 결과, 3가지 건조방법 모두 WE와 EE에서 99 % 이상의 높은 활성을 나타내었다. 반면 Hwang 등(2013)의 돌미나리 70 % 에탄올 추출물의 라디칼 소거능은 1,000 μg/mL에서 66.3 %인 것으로 보아 잣나무 잎 추출물이 다른 천연물 보다 수용성 물질에 대한 항산화 효과가 높은 것으로 확인되었다. 지용성 항산화능을 측정하기 위해 잣나무 잎 추출물의 PF의 차이를 측정한 결과, 음지건조한 WE와 EE에서 9.63 PF와 10.48 PF로 열풍건조와 동결건조 보다 높은 항산화능을 나타내었고, Choi 등(Choi 등, 2013)이 천마와 발효천마를 물과 70 % ethanol 추출물로 PF를 측정한 결과 천마의 물과 ethanol 추출물은 1.12, 1.21 PF를 나타내었고, 발효천마의 물과 ethanol 추출물은 1.21, 1.29 PF를 나타내었다고 보고한 결과 보다 잣나무 잎의 PF 측정 결과가 매우 우수한 것을 확인할 수 있었다. 또 다른 지용성 항산화능을 측정하는 방법인 TBARs의 측정 결과, 물 추출물은 82.07 %의 항산화능을 동결건조 추출물에서 나타내었고, 80 % ethanol 음지건조 추출물은 89.39 %의 항산화능을 나타내어 지용성 물질에 대한 항산화 활성 또한 우수한 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과에 따라 잣나무 잎 추출물은 수용성 및 지용성 물질에 대한 높은 항산화능을 나타내었고, 특히 음지건조 추출물의 항산화능이 비교적 높은 양상을 나타내는 것으로 확인되었다. 이상의 결과에 따라 건조방법에 따라 항산화 효과가 달라짐을 알 수 있고, 잣나무 잎 추출물이 천연 항산화 물질로서 사용 가능성을 또한 확인할 수 있었다.

건조별에 따른 잣나무 잎 추출물의 주름 개선(Elastase, Collagenase 저해) 효과

Elastase는 인체의 중성구 과립구 내에 존재하는데, 진피 내 피부구조와 탄력을 유지하는 역할을 하는 주요 단백질 중의 하나인 elastin을 분해하고 collagen을 비특이적으로 가수분해하는 효소이다(Lee 등, 2010). 연령이 증가하면 collagen 생성이 감소되고 분해속도 또한 증가, 자외선 등의 환경적 요인에 의해 elastase 활성이 증가하는데 이는 피부 진피에 위치한 elastin 그물망 구조가 절단되어 피부의 탄력섬유가 점차 감소되어 피부에 주름이 증가한다고 알려져 있다(Vinson 등, 2001; Tsukahara 등, 2006). 3가지 방법으로 건조한 잣나무 잎 추출물의 elastase에 대한 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 2에서와 같이 열풍건조 WE에서 4.16 %로 매우 낮았으나, 동결건조 잣나무 잎의 EE은 elastase 저해 활성이 71.46 %으로 다른 건조방법 중 가장 높은 저해활성을 나타내었으며, 음지건조 EE 또한 69.28 %으로 높은 저해활성을 나타내었다. Jeong 등(2011)의 율피 추출물의 elastase 저해 활성 효과는 60 % methanol 추출물에서 1,000 μg/mL의 농도에서 42.88 %로 나타났으며, 아세톤 추출물의 경우 100 μg/mL의 농도에서 51 %로 나타났다. 율피 추출물과 비교해 보았을 때 잣나무 잎의 80 % ethanol 추출물의 주름 저해 효과의 우수함을 확인 할 수 있었다.

Collagen은 견고한 3중 나선구조를 가지는 피부의 섬유아세포에서 생성되는 세포 외 기질(extracellular matrix)의 중요한 구성성분의 단백질이며 특히 뼈와 피부, 건(tendon), 및 치아의 유기 물질의 대부분을 형성한다고 알려져있다(Jeroma 등, 1998). Collagen의 감소는 피부의 주름 형성과 밀접한 관련이 있으며, 이러한 collagen은 collagenase에 의해 감소하게 된다(Wlaschek 등, 2001; El-Domyati 등, 2002). 이에 collagen을 분해시키는 collagenase의 억제 효과를 알아보기 위해 잣나무 잎을 20 mg/mL로 추출한 WE와 EE의 collagenase 저해활성을 측정한 결과 Fig. 3과 같이 음지건조 WE의 억제활성이 40.31 %으로 열풍건조와 동결건조 물 추출물보다 높은 저해활성을 보였으며, EE에서도 역시 음지건조 잣나무 잎의 collagenase 저해 활성이 97.48 %으로 가장 높은 억제효과를 나타내었다.

시중에 주름개선 화장품의 원료로 널리 사용되고 있는 (−) epigallocatechin gallate와 비교한 결과, 열풍건조와 동결건조 ethanol 추출물은 비슷한 저해 효과를 나타내었지만, 음지건조의 경우는 월등히 높은 억제효과를 확인할 수 있었으며, Roh 등(2011)의 통초추출물을 H-Hexane으로 분획하여 10 mg/mL의 농도로 collagenase 저해 활성 측정 결과, 15.8 %의 저해 활성을 나타내었다고 보고하였다. 이상의 결과를 바탕을 잣나무 잎은 부작용이 적은 천연물로 주름개선 미용 소재로 사용함에 있어 부족함이 없을 뿐만 아니라, 다른 천연물과 비교하여 매우 효능이 우수한 것을 확인할 수 있었다.

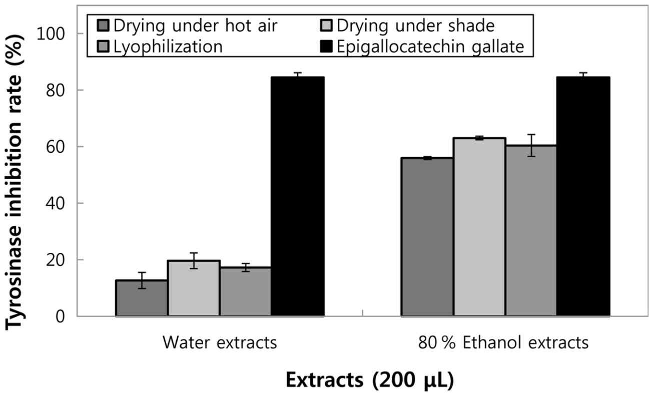

Fig. 4 Inhibitory rate of water and ethanol extracts on tyrosinase from *Pinus koraiensis* leaves by various drying techniques. Means with different superscript letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range tests

건조별에 따른 잣나무 잎 추출물의 미백(Tyrosinase 저해) 효과 Tyrosinase는 피부 표피 기저층의 melanocyte에서 tyrosine을 산화시키고, 펩타이드 tyrosinase에 의해 흑갈색 색소인 melanin의 생성을 촉진시키는 효소이다(Choe와 Choe 2011). Tyrosinase는 인체 내의 melanin 생합성 경로에서 초기 속도결정단계인 L-tyrosine이 L-DOPA를 거쳐 L-Dopaquionone으로 전환에 관여하는 효소로서, 피부가 자외선에 노출되었을 때 활성화되어 피부 노화가 촉진되며 피부에 암갈색 색소물질인 melanin의 침착이 일어나기 때문에 tyrosinase 저해는 melanin 생합성을 억제할 수 있으며 미백 성분 효과를 평가하는데 널리 이용되고 있다(Tsuji 등, 2001).

잣나무 잎을 3가지 방법으로 건조한 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과 Fig. 4와 같이 음지건조 WE의 저해 활성이 19.68 %으로 나타났고, EE에서는 63.03 %의 저해활성으로 3가지 방법으로 건조한 잣나무 잎 추출물 중에서 가장 높은 저해활성을 나타내었다. Mo와 Oh(2015)는 측백나무 80 % ethanol 추출물의 400 μg/mL 농도로 처리한 tyrosinase 활성 저해가 45.1 %로 나타났다고 보고하였으며, 또한 Ahn 등(2011)의 추출용매에 따른 함초 추출물의 tyrosinase 저해 활성 측정 결과, ethyl acetate를 이용한 함초 추출물 농도 20 mg/mL에서 15.2 %의 저해 활성을 나타내는 것으로 보아 잣나무 잎 추출물의 tyrosinase 저해 활성이 다른 천연물 보다 우수하다는 것을 알 수 있다.

음지건조 추출물은 열풍건조와 동결건조한 잣나무 잎 추출물보다 높은 collagenase와 tyrosninase 억제활성 결과는 주름을 억제하고 melanin 생합성 억제에 효과가 높음을 알 수 있으며, 이는 가을철 폐기되고 있는 잣나무 잎의 새로운 기능성 미용식품 소재로 활용이 가능할 것으로 기대되었다.

초 록

본 연구는 잣나무(*Pinus koraiensis*) 잎을 열풍건조, 음지건조, 동결건조하여 물과 80 % ethanol을 추출용매로 사용하여 추출물이 미용식품의 소재로서의 기능성을 증명하고자 실시하였다. Total phenolic compounds는 WE에서는 17.93 mg/g로 음지건조가 가장 높았고, EE에서도 20.63 mg/g로 음지건조 추출물이 가장 높은 용출량을 나타내었다. DPPH, ABTS radical 전자공여능 측정 결과, WE는 열풍건조에서 90.45, 99 %, EE에서는 음지건조가 96.2, 99 %의 높은 활성을 나타내었다. PF 측정 결과, 음지건조 잣나무 잎 추출물에서 WE는 9.63 PF, EE에서는 10.48 PF의 결과를 나타내었고, TBARs 측정 결과, 동결건조 잣나무 잎의 WE에서 82.07 %와 음지건조 잣나무 잎의 EE에서는 89.39 %의 가장 높은 높은 활성을 나타내었다. 주름개선 효과를 측정 결과, elastase 저해 활성은 동결건조 잣나무 잎 EE에서 71.46 %, collagenase 저해 활성은 음지건조 잣나무 잎의 EE에서 97.48 %로 가장 높은 저해 활성을 나타내었다. Melanin 생합성을 억제할 수 있는 tyrosinase 저해 활성은 음지건조 잣나무 잎의 EE 저해 활성이 63.03 %로 가장 높았다. 이러한 결과로 폐자원으로 여겨지는 잣나무 잎을 음지건조 하였을 때 항산화능뿐만 아니라, 주름 및 미백 활성이 특히 높은 것으로 보아 향후 잣나무 잎이 기능성 미용 소재 산업에 활용가치를 기대할 수 있었다.

Keywords 건조방법 · 미백 · 잣잎 · 주름개선 · 추출물

References

Ahn BK, Kim R, Choi DB, Kim YS (2011) Effect of *Salicornia bigelovii* extract on the activities of whitening and anti-Wrinkle. Appl Chem Eng 22: 56–60

Andarwulan N, Shetty K (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). J Agric Food Chem 47: 1776–1780

Bae BH, Kim YO (2003) Effect of leaf aqueous extracts from some gymnosperm plant on the seed germination, seeding growth and transplant of *Hibiscus syriacus* varieties. Korean J Ecol 26: 37–47

Blios MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 26: 1199–1200

Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. Method Enzymol 105: 302–310

Choe YS, Choe TB (2011) Melanogenesis inhibitory effects of *Allium hookeri* extract in B16F10 mouse melanoma cell. Kor J Aesthet Cosmetol 12: 163–168

Choi HS, Kim MG, Shin JJ, Pack JM, Lee JS (2003) The antioxidant activities of the some commercial teas. J Kor Soc Food Sci Nutr 32: 723–727

Choi JH, Kim JH, Jung JY, Suh SG (2013) Comparison of nerve growth factor induction and anti-aging activity using dried Gastrodia and fermented Gastrodia extracts. Kor J Hort Sci Technol 31: 380–387

El-Domyati M, Attia S, Saleh F, Brown D, Birk DE, Gasparro F, Ahmad H, Uitto J (2002) Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical and ltrastructural study of skin. Exp Dermatol 11: 398–405

Folin O, Denis W (1912) On phosphotungastic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J Biol Chem 12: 239–249

Han NK, Park CM, Kwon JC, Joung MS, Choi JW (2014) Whitening effect of *Fagopyrum tataricum* extract. J Sco Cosmet Scientists Korea 40: 179–186

Heilmann J, Calis I, Kirmizibekmez H, Schuhly W, Harput S, Sticher O (2000) Radical Scavenger activity of phenylethanoid glycosides in FMLP stimulated human polymorphonuclear leukocytes; Structure activity Relationships. Planta Med 66: 746–748

Hong JH, Lee WY (2004) Quality characteristics of osmotic dehydrated sweet pumpkin by different drying methods. J Korean Soc Food Sci Nutr 33: 1573−1579

Hwang HJ, Yu JS, Lee HY, Kwon DJ, Han W, Heo SI, Kim SY (2014) Evaluation on deodorization effect and anti-oral microbial activity of essential oil from *Pinus koraiensis.* Korean J Plant Res 27: 1−10

Hwang SJ, Park SJ, Kim JD (2013) Component analysis and antioxidant activity of *Oenanthe javanica* extracts. Korean J Food Sci Technol 45: 227−234

James AEK, Timothy DW, Gorden L (1996) Inhibition of human leukocyte and porcin pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic tyrosin inhibitors. Biochemistry 35: 9090−9096

Jeong HR, Kim JH, JO YN, Jeong JH, Heo HJ (2011) Characterization as cosmetic substances of chestnut inner skin extracts with antioxdant activity. J Agric Life Sci 45: 183−191

Jeroma SP, Gabrielle L, Raul F (1998) Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. J Invest Dermatol 90: 48−54

Kim JE, Kim WY, Kim JW, Park HS, Lee SH, Lee SY, Kim MJ, Kim AR, Park SN (2010) Antibacterial, antioxidative activity and component analysis of *Pinus koraiensis* Leaf Extracts. J Soc Cosmet Scientists Korea 36: 303−314

Kim JH, Seo HY, No KM, Han BJ (2005) Changes of volatile odor components in onion by freeze-drying. J Korean Soc Food Sci Nutr 34: 230−235

Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH (2009) Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant Constituents. J Appl Biol Chem 52: 70−76

Kyu JM (2010) Monitoring the changes of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) absorbance and oxidation products in thermally oxidized linoleic acid. Dissertation, Seoul National University

Lee MH, Jeong JH, Oh MJ (1992) Antioxidantive activity of gallic acid in acorn extract. J Korean Soc Food Nutr 21: 693−700

Lee JY, Yu MR, An BJ (2010) Comparison of biological activity between *Nelumbo nucifera* G. extracts and cosmetics adding *Nelumbo nucifera* G. J Life Sci 20: 1241−1248

Lee SS, Choe YJ, Choe DH, Hong IP (2003) Extractives of *Pinus koraiensis* wood. J Koeran Wood Sci 31: 48−49

Lee SW, Lee BS, Cha WS, Park JH, Oh SL, Cho YJ, Kim JK, Hong JH, Lee WY (2004) Diffusion of salt and drying characteristics of beef jerky. Kor J Food Preserv 11: 508−515

Mo JH, Oh SJ (2015) Tyrosinase inhibitory acticity and melanin production inhibitory activity of extract of *Thuja orientalic*. Kor J Asethet Cosmetol 13: 189−194

Pellegrin N, Roberta R, Min Y, Catherine RE (1998) Screening of diatry carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzo thiazoline-6-sulfonic acid)radical cation decolorization assay. Method Enzymol 299: 379−389

Roh EJ, Kim BK, Kim DS (2011) Antioxidative activity and antiaging effects of *Tetrapanax papyriferum* extract. J Korean Oil Chem Soc 28: 219−224

Skrzydlewska E, Ostrowska J, Farbiszewski R, Michalak K (2002) Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. Phytomedicine 9: 232−238

Tsuji N, Moriwaki S, Suzuki Y, Takema Y, Imokawa G (2001) The role of elastases secreted by fibroblast in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. Photochem Photobiol 74: 283−290

Tsukahara K, Nakagawa H, Moriwaki S, Takema Y, Fujinura T, Imokawa G (2006) Inhibition of ultraviolet-B-induced wrinkle formation by an elastase-inhibiting herbal extract: implication for the mechanism underlying elastase-associated wrinkles. Int J Dermatol 45: 460−468

Vincent J, Hearing Jr (1987) Mammalian monophenol monooxygenase (Tyrosinase): Purification, properties and reaction catalyzed. Method Enzymol 142: 154−165

Vinson JA, Su X, Zubik L, Bose P (2001) Phenol antioxidant quantity and quality in foods: Fruits. J Agric Food Chem 49: 5315−5321

Wlaschek M, Tantcheva-Poor I, Naderi L, Ma W, Schneider LA, Razi-Wolf Z, Schuller J, Scharffetter-Kochanek K (2001) Solar UV irradiation and dermal photoaging. J Photochem Photobiol *B* 63: 41−51

Wunsch E, Heindrich HG (1963) Zur qutitativen bestimmung der collagenase. Hoppe-Seyler's Physiolchem 333: 149−151

Yokozawa T, Nakagawa T, Kitani K (2002) Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. J Agric Food Chem 50: 3549−3552

Yu SC, Oh TJ (2016) Antioxidant activities and antimicrobial effects of extracts from *Auricularia auricula-judae.* J Korean Soc Food Sci Nurt 45: 327−332