

Antibacterial and Antioxidant Activity of *Chamaecyparis obtusa* Extracts

Bo Kyung Kim¹, Jeong Hyeon Kang¹, Geun Hye Oh¹, Ji-Young Hwang², Seok Oui Jang³ and Mihyang Kim^{1*}

¹Department of Food & Nutrition, Silla University, Busan 46958, Korea

²Department of Food Science and Technology, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

³Deok Hwa Food Co., Busan 49464, Korea

Received March 9, 2019 / Revised May 25, 2019 / Accepted June 13, 2019

In this study, we investigated the biological antioxidant and antibacterial activity of *Chamaecyparis obtusa* (*C. obtuse*) extracts by measuring DPPH radical scavenging and ABTS radical scavenging, and SOD-like activities. The DPPH and ABTS radical scavenging activities were increased in a dose-dependent manner, with maximum activities of 78% and 62% at an extract concentration of 50 μ l/ml. The *C. obtusa* extracts also showed high SOD-like activity, with a maximum activity of 92.85% at a concentration of 50 μ l/ml. The antibacterial activities of *C. obtusa* extracts were measured against six types of bacteria known to cause food poisoning and disease. Antibacterial activity was investigated against three gram-positive and three gram-negative bacteria using the paper disc agar diffusion method. The *C. obtusa* extracts showed antibacterial activities against *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. typhi* and *V. parahaemolyticus*, among which the activity against *B. cereus* was greatest. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *C. obtusa* extracts were 30 - 40 μ l/ml for the 6 strains that showed an antimicrobial response by the paper disc agar diffusion method. These results suggest that *C. obtusa* extracts could serve as potential antibacterial agents to inhibit the growth of pathogens responsible for food poisoning and disease.

Key words : Antioxidant, antibacterial activity, *Chamaecyparis obtuse*, inimum bactericidal concentration (MBC), Minimum inhibitory concentration (MIC)

서 론

최근 우리나라는 식생활 방식의 다양화 및 변화로 인하여 즉석식품, 간편편의식품 등과 같은 가공식품의 섭취가 증가하면서 유통 및 보존기간 중 식품의 부패 및 변질로 인한 다양한 식중독 사고가 발생하고 있다[4, 6, 11]. 이러한 이유로 안전한 식품 생산을 위해 다양한 보존료를 개발하고 사용하고 있으나 현재까지도 대부분 화학적으로 합성된 보존료를 사용하고 있는 식품이 다수이다. 특히, 합성 보존료는 체내에 축적 될 경우 물질의 종류 및 농도에 따라서 만성 독성, 발암성, 돌연변이 유발성 등의 문제가 제기되고 있다. 이와 더불어 식품에 대한 소비자의 인식수준이 높아짐에 따라 천연보존료에 대한 사용 및 관심이 증가되고 있다[1, 33].

천연 항균 소재에 대한 연구로는 전통식품 및 한약재를 이용한 천연보존료 개발[15], 약용식물 추출물을 이용한 천연항

균성 소재 개발[26], 약용식물 추출물 및 식품첨가물로 처리한 꽃감의 저장성에 대한 연구[16] 및 가공식품 중 천연유래 보존료 함량에 대한 조사[34] 등과 같은 다양한 연구가 진행되고 있다.

실제 식물로부터 유래된 물질은 넓은 범위의 미생물 활성을 가질 뿐만 아니라 인간에 대한 독성, 환경에 대한 악영향이 적기 때문에 새로운 천연유래 보존료 개발이 요구되고 있는 실정이다[17, 24]. 그러나 국내의 천연보존료 산업화 기술은 매우 미미한 실정이며, 자몽종자 추출물 외에는 국내에서 산업적으로 활용 가능한 제품이 거의 없어 새로운 천연보존료 기술 개발은 국내 식품산업에 매우 중요하고도 시급한 일이다.

편백나무(*Chamaecyparis obtuse*)는 노송나무라고도 불리는 열대나무종으로 일본이 원산지며, 우리나라의 제주도 및 남부 지방에서 자생하는 식물로 강한 향을 가져 살균, 탈취, 피부미용, 혈액순환, 감기 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다[14, 37]. 또한, 편백나무의 잎과 나뭇가지의 정유를 이용하여 항균, 향진균 및 항염증 효과에 대한 연구 보고가 있으며, 편백나무의 정유 중 활성을 나타내는 주요 물질로는 α -terpinyl acetate, β -phellandrene, β -myrcene, limonene, bornyl acetate, γ -terpinene, β -thujaplicin 및 monoterpenes으로 나타나 있다[14]. 한편, 자몽종자 추출물은 항균, 항산화, 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 항산화 성분이 부패성 및 병원성 미생

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5657

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

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.

물의 세포벽과 세포막의 기능을 약화시키고 효소 활성을 억제하는 것으로 연구되어 있다[24, 40].

이에 본 연구에서는 편백나무 추출액의 항산화 효능을 확인하고, 식중독을 유발하는 6종의 균주에 대하여 항균 활성을 측정하여 기능성 소재로의 개발 및 활용가능성에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 시료는 편백나무를 -70℃에서 3일간 동결하고, 건조에 의하여 승화된 엑기스를 모아 녹인 편백나무 추출액의 형태로 (주)덕화푸드(Busan, Korea)에서 제공받아, -30℃의 냉동상태로 보관하면서 사용하였다. 항산화 및 항균활성 측정을 위해 편백나무 추출액을 각각 30~50 µl/ml로 배양 배지 등을 이용하여 희석하여 사용하였다. 균주 배양에 사용된 배지는 BD/Difco Co. (Sparks, MD, USA)의 제품이며, 항균 활성 분석에 사용된 paper disc는 ADVANTEC Inc. (thickness 8 mm, Japan)에서 구입하였다. 그 외 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능 측정

편백나무 추출액의 전자공여능을 검토하기 위해 Blois의 방법[3]을 약간 변형하여 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소 공여 효과로 측정하였다. 96-well plate에 증류수로 희석한 시료와 150 µM DPPH 시약을 혼합하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 ELISA Multiscan Reader (Thermo scientific, Finland)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조 그룹과 흡광도 차이를 비교하여 free radical의 제거 활성을 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radicals scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS radical 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Lee 등[27]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액과 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 15시간 동안 암소에 방치하여 ABTS radical을 형성시킨 후 증류수로 희석한 시료와 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하여 값이 1.5가 되도록 증류수로 희석하였다. 희석한 용액에 시료를 혼합하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{ABTS radicals scavenging activity (\%)} =$$

$$\left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

편백나무 추출액의 SOD 유사활성은 Marklund 등의 방법[31]에 따라 과산화수소(H₂O₂)로 전환 시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 편백나무 추출액을 증류수로 농도별로 희석하여, 시료에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris [hydroxymethyl] anion-methane, 10 mM EDTA, pH 8.5)와 7.2 mM pyrogallol를 첨가하여 25℃에서 10분간 반응시킨 후 1N HCl를 가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA reader를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성능은 아래 계산식에 따라 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

식중독 균주 및 배양조건

항균 활성 실험에 사용된 균주는 KRIBB (Daejeon, Korea) 구입한 것을 사용하였다. 분변 오염 및 세균오염의 지표로 사용되는 *Escherichia coli*, 호기성 식중독균인 *Bacillus cereus*, 피부나 호흡기계 감염 및 식중독을 유발하는 *Staphylococcus aureus*, 수인성 질환인 장티푸스를 일으키는 *Salmonella typhi*, 통성 혐기성으로 사람 등의 동물에 감염되는 *Listeria monocytogenes*, 급성위장관염 등의 원인균인 *Vibrio parahaemolyticus*의 총 6종의 균주를 사용하였으며 각 균주의 배양 배지 및 배양 조건은 Table 1에 나타내었다.

편백나무 추출물의 항균 활성 측정

편백나무 추출물의 항균 활성은 paper disc diffusion method로 확인하였다[38]. 24시간 배양한 균주 배양액 0.2 ml을 1.5% agar를 포함하는 해당 한천배지에 도말하였고, 각 균주가 도말된 한천배지에 멸균된 paper disc (직경 8 mm)를 올린 후 시료를 20 µl씩 적하하여 완전히 흡수시켰다. 각 균주를 배양 조건에 맞추어 배양한 뒤 항균 작용에 의해 형성된 생육 저해환(clear zone)을 비교 및 관찰하였다. Paper disc diffusion method로 항균 활성이 나타난 균주에 대하여 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)와 최소살균농도(minimum bactericidal concentration, MBC)를 측정하였다.

편백나무 추출액의 최소저해농도(MIC, Minimum Inhibitory Concentration) 측정

편백나무 추출액의 최소저해농도 측정은 broth dilution method를 사용하였다[30]. 6종의 균주를 배양한 뒤 편백나무 추출액을 배양 배지로 농도별로 희석한 것을 첨가하여 37℃에서 배양 후, ELISA Multiscan Reader (Thermo scientific, Fin-

Table 1. Culture media and conditions for bacteria used in this study

Strain name	Gram strain	Culture media	Culture conditions	Culture time
<i>B. cereus</i>	Gram-positive	TSB ¹⁾	Aerobic, 37°C	18~24 hr
<i>E. coli</i>	Gram-negative	TSB	Aerobic, 37°C	18~24 hr
<i>L. monocytogens</i>	Gram-positive	BHI ²⁾	Aerobic, 37°C	18~24 hr
<i>S. aureus</i>	Gram-positive	TSB	Aerobic, 37°C	18~24 hr
<i>S. typhi</i>	Gram-negative	TSB	Aerobic, 37°C	18~24 hr
<i>V. parahaemolyticus</i>	Gram-negative	TSB containing 3% NaCl	Aerobic, 37°C	18~24 hr

¹⁾TSB: Tryptic soy broth, ²⁾BHI: Brain heart infusion

land)를 이용하여 660 nm에서 측정하여 균주가 증식되지 않은 시료의 농도를 구하였다.

편백나무 추출액의 최소살균농도(MBC, Minimum Bactericidal Concentration) 측정

편백나무 추출액의 최소살균농도 측정[23]은 각 실험 균주를 배양 조건에 맞도록 배양한 균주배양액에 배양 배지로 희석한 추출물을 최소저해농도 보다 낮은 농도와 높은 농도로 첨가한 후 배양하였다. 추출물이 첨가된 배지에 각 실험 균주들의 농도가 균일하도록 첨가하여 sodium phosphate buffer (pH 7.0)를 이용하여 단계별로 희석한 균액을 한천배지에 100 µl를 적하한 뒤 도말 및 배양을 수행하였다. 집락이 30~300개가 나타난 한천배지를 선택하여 집락수를 확인한 다음, 희석 배수를 역산하여 생균수를 계산하였다. 생균수를 측정하여 대조군에 비해 사멸된 균수가 99.9%를 넘는 편백나무 추출액의 최소농도를 MBC로 결정하였다.

통계처리

실험결과는 통계 SAS package (Statistical Analysis System, Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하여 각 시료의 평균과 표준편차를 계산하였고, 일원변량분석(one-way ANOVA)과 Duncan’s multiple range test를 실시하고 $p < 0.05$ level에서 시료간의 유의차를 검정하여 비교하였다.

결과 및 고찰

편백나무 추출액의 DPPH radical 소거능

편백나무 추출액의 DPPH radical 소거능을 측정한 결과 (Fig. 1), 편백나무 추출액의 농도가 30~50 µl/ml 범위일 때 농도의존적으로 증가하였다. 특히, 편백나무 추출액의 농도가 50 µl/ml일 때 78.63±2.31%의 가장 높은 radical 소거능을 나타내었다.

한방목초액을 이용한 연구[25]에서 목초액은 농도의존적으로 항산화 활성이 증가하였고 25 µg/ml 농도에서 비타민 C와 유사한 활성을 나타내었다. 또한, 소테나무 잎 및 편백나무[14]를 이용한 연구에서 소테나무 추출물의 농도가 10 µg/ml에서 97.30%의 DPPH radical 소거능이 나타났고, 편백나무 추출물

은 200 µg/ml의 농도에서 90.57%의 DPPH radical 소거능이 나타났다. 본 연구에서 이용한 편백나무 추출액은 편백나무를 -70°C에서 3일간 동결하고 건조에 의하여 승화된 엑기스를 모아 녹인 형태로, 일반 추출법과는 상이하므로 절대적인 비교는 불가하나, 편백속 식물의 항산화 활성이 대체적으로 높은 것을 알 수 있다.

인체 내 과다하게 생성된 ROS는 암, 노화, 심장질환, 염증 등 여러 가지 질병을 초래하나 항산화제를 이용함으로써 무독화 가능한 것으로 알려져 있다[8]. 편백나무 추출액과 같이 인체에 부작용이 없는 천연식물 추출물이 간접적으로 생체 내 항산화 방어시스템을 증가시키거나 직접적으로 ROS를 소거시키는 효과가 있다면 식품산업에 대한 활용도가 높을 것이다. 본 연구에서는 편백나무의 엑기스를 그대로 사용했다는 점을 감안할 때 천연 항산화 소재로 식품제조 가공에 바로 적용 가능할 것으로 기대된다.

편백나무 추출액의 ABTS radical 소거능

일반적으로 ABTS radical 소거능은 ABTS 라디칼을 생성한 후 항산화제의 농도에 따라 ABTS의 감소 정도를 백분율로 나타낸 방법으로 수용성 및 지용성 항산화제, 순수 화합물 및 식품 추출물 모두에 적용할 수 있는 방법이다[7]. 본 연구에서 편백나무 추출액의 ABTS radical 소거능을 측정한 결과(Fig.

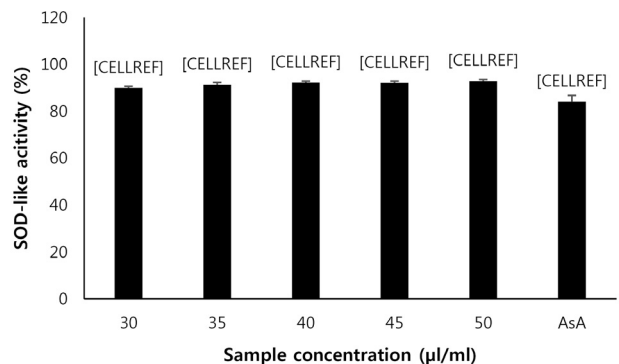


Fig. 1. DPPH free radical scavenging activity of *Chamaecyparis obtuse* extracts. Results are mean ± S.D. of triplicate data. AsA (ascorbic acid, 50 µg/ml) is used as positive control. Different letters (a-e) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

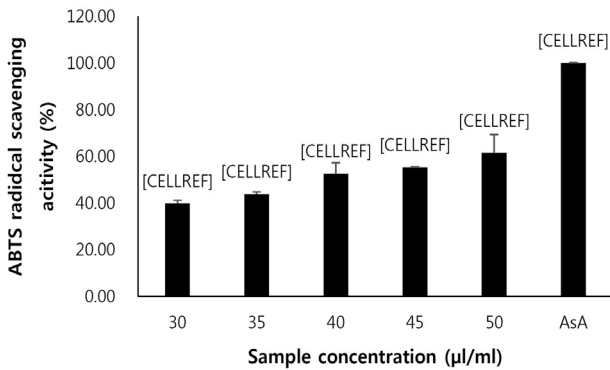


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of *Chameaecypris obtuse* extracts. Results are mean \pm S.D. of triplicate data. AsA (ascorbic acid, 50 μ g/ml) is used as positive control. Different letters (a-e) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

2), 추출액의 희석농도가 30~50 μ l/ml일 때 농도의존적으로 활성이 증가하였으며, 50 μ l/ml 농도에서 약 62%의 최대 활성을 나타내었다. 앞선 DPPH radical 소거활성 결과와 비교하여 ABTS radical 소거활성이 다소 낮은 활성을 나타내었다. 두 가지 실험 모두 인위적으로 생성된 free radical을 소거하는 작용 기작을 가지지만, 폴리페놀 물질 중에서도 ABTS radical의 소거능을 가지나 DPPH radical의 소거능을 나타내지 않는다는 보고가 있다[41]. 또한, 차(tea)류 추출물을 이용한 연구에서도 ABTS radical 소거능에 비하여 DPPH radical 소거능이 낮은 차류가 있다는 보고가 있으며[9], ascorbic acid 역시 ABTS radical에 비하여 DPPH radical과 높은 반응성을 나타낸다는 연구결과가 있다[5]. 따라서, 추출 용매 혹은 항산화 활성을 나타내는 물질의 극성 및 특성에 따라 다른 결과를 나타낼 수 있는 것으로 판단되어 DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거 활성이 다소 상이하게 나타난 것으로 사료된다.

편백나무 추출액의 SOD 유사활성능

편백나무 추출액의 SOD 유사활성능을 측정한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 편백나무 추출액의 농도 30~50 μ l/ml 범위에서 농도에 따른 유의적인 활성은 나타내지 않았으나 모든 농도에서 양성대조군인 ascorbic acid의 농도가 50 μ g/ml일 때 보다 높은 활성을 나타내었다. 가죽나무를 이용한 연구[28]에서 뿌리 추출물의 SOD 유사활성은 1.12~3.82% 범위였고 잎 추출물에서는 3.21~26.77%를 나타냈다는 보고가 있다. 또한, 제주도에서 자생하는 육상식물의 항산화 활성을 조사한 연구에서[32] 두메꿀물 꽃, 두메꿀물 잎, 돌잔고사리 잎의 열수추출물의 농도가 2.0%일 때 각각 44%, 43%, 40%의 SOD 유사활성을 나타내어 양성대조군으로 사용한 BHA와 거의 유사한 활성을 나타냈다. 이러한 연구결과와 비교하였을 때 편백나무 추출액이 다른 육상식물에 비하여 SOD 유사활성이 높은 것을 알 수 있다. SOD 유사 활성능은 페놀성 화합물과 flavonoids

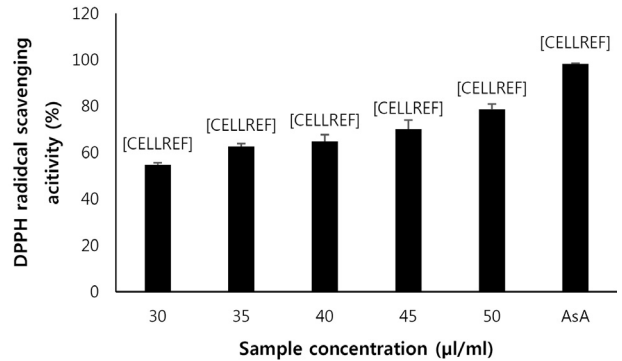


Fig. 3. SOD-like activity of *Chameaecypris obtuse* extracts. Results are mean \pm S.D. of triplicate data. AsA (ascorbic acid, 50 μ g/ml) is used as positive control. Different letters (a-c) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

화합물을 많이 함유할수록 활성이 증가한다는 보고[2, 21, 28, 29]가 있다. 편백나무의 flavonoids 함량은 $8.12 \pm 1.24 \mu$ g/mg으로 다른 산채류와 유사하거나 그 보다 많은 양의 flavonoids가 포함되어 있다는 보고[14]가 있어, 편백나무 추출액의 높은 SOD 유사활성은 flavonoids 화합물 또는 페놀성 화합물에 의한 것으로 사료된다.

한편, 자몽종자 추출물은 천연 유래의 상업적 식품첨가물로 자몽종자 추출물에 포함된 naringin과 같은 플라보노이드 물질이 항균효과를 비롯하여 금속 킬레이트 효과, 항산화 및 항염증 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[24, 40]. 자몽종자 추출물의 항균 활성은 항산화 성분인 ascorbic acid, ascorbyl palmitate 및 tocopherol 등에 의하여 부패성 및 병원성 미생물의 세포벽과 세포막의 기능을 약화시키고 효소 활성을 억제하는 것으로 연구되어 있다. 또한, 손바닥 선인장을 이용한 항산화 및 항균 활성 연구[10]에서 항산화 활성이 높은 추출물에서 항균 활성이 나타났다는 보고가 있다. 따라서 6종의 식중독 원인 균주를 이용하여 항산화 활성이 높은 편백나무 추출액의 항균 활성을 검토하였다.

편백나무 추출액의 항균효과

편백나무 추출액을 이용하여 식중독을 유발하는 대표적인 3개의 그람양성균과 3개의 그람음성균에 대하여 paper disc diffusion method를 이용하여 항균효과를 확인하였으며 생육 저해환을 측정한 결과를 Table 2에 나타내었다. 편백나무 추출액을 처리하였을 때 6개의 균주 모두에서 생육 저해환이 관찰되었다. 6종 균주의 항균력은 *B. cereus* > *S. typhi* > *E. coli* > *V. parahaemolyticus* > *S. aureus* > *L. monocytogenes* 순으로 나타났다. 이 중 독소형 세균인 *B. cereus*는 13.81 ± 1.14 mm의 생육 저해환을 나타내어 가장 높은 항균활성을 나타내었다. *B. cereus*는 토양세균이면서 농작물 및 대부분의 식품에 쉽게 오염이 되어 식중독을 유발하는 균주로, 식품 중 포자가 형성된 경우 가열조리과정을 거치더라도 생존하여 포자가 발아되어

Table 2. Antibacterial activities of *Chamaecyparis obtuse* extracts represented by diameter of clear zone (mm)

Strain	<i>Chamaecyparis obtuse</i> extracts	Ampicillin
<i>E. coli</i>	12.57±1.07	-
<i>S. aureus</i>	11.63±0.13	18.94±0.33
<i>V. parahaemolyticus</i>	12.51±0.65	20.02±0.30
<i>L. monocytogenes</i>	11.54±0.25	-
<i>S. typhi</i>	12.66±0.40	10.75±0.14
<i>B. cereus</i>	13.81±1.14	-

균이 성장하며 생성된 독소에 의하여 독소형 식중독을 유발하는 것으로 알려져 있다[19]. 따라서, 해당 균주에 노출 위험이 높은 식품에 편백나무 추출액을 처리한다면 *B. cereus*로 인한 피해를 저감화할 수 있을 것으로 생각된다. 한편, *S. typhi*의 경우 편백나무 추출액 처리로 양성 대조군인 ampicillin 보다 높은 항균력을 나타내었다. 또한, 편백나무 추출액의 항균활성은 전반적으로 그람음성균이 그람양성균에 높은 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 식품 부패 및 식중독을 유발하는 미생물에 대하여 항균력을 가지는 산수유, 유백피 한약재 등의 천연물을 이용한 연구에서도 그람양성균이 그람음성균에 비하여 높은 항균활성을 가진다는 보고와 일치하였다[13, 20, 22, 35, 36]. 타 천연소재와 마찬가지로 편백나무 추출액의 항균성은 항균활성 성분이 세포 내로의 투과에 의한 것 또는 세포합성을 저해한 결과로 사료된다.

편백나무 추출액의 최소저해농도(MIC, Minimum Inhibitory Concentration) 및 최소살균농도(MBC, Minimum Bactericidal Concentration)

Paper disc diffusion method를 이용하여 항균 활성이 확인된 6종의 균주를 이용하여 MIC 및 MBC를 측정하여 Table 3에 나타내었다. 최소저해농도는 항균력을 측정하는 가장 기초적인 지표 중 하나로 시험관내 미생물의 감수성을 조사하여 미생물의 번식을 억제할 수 있는 항생제의 최소농도를 검사하는 방법이다. 편백나무 추출액의 MIC는 추출액의 농도가 30~40 µl/ml 범위 내에서 나타났다. *S. typhi* 균주는 아포를 형성하지 않는 그람 음성간균으로 장관계 전염병이면서 수인성 질환인 장티푸스를 일으키는 병원성 세균으로 잘 알려져

Table 3. MIC and MBC of *Chamaecyparis obtuse* extracts for bacteria tested in this study

Strain	MIC (µl/ml)	MBC (µl/ml)
<i>E. coli</i>	35	35
<i>S. aureus</i>	35	35
<i>V. parahaemolyticus</i>	35	40
<i>L. monocytogenes</i>	40	40
<i>S. typhi</i>	30	30
<i>B. cereus</i>	35	35

있다[18, 23]. 편백나무 추출액 30 µl/ml의 농도에서 *S. typhi* 균주에 대한 항균 활성이 나타나 6종의 균주 중 가장 낮은 MIC 수치를 나타내어 살균 효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 반면, paper disc diffusion method를 이용한 항균활성에서 가장 높은 수치를 나타내었던 *B. cereus*는 MIC 및 MBC 결과에서는 *E. coli* 및 *S. aureus*와 같은 농도의 활성을 나타내었다.

이상과 같이 편백나무 추출액의 항균효과를 분석한 결과, 식중독을 유발하는 균주에 대한 항균력이 높게 나타났으며, 이는 편백나무 추출액의 항산화 성분에 의한 것으로 추측된다. 따라서 편백나무 추출액은 활성라디칼로 인한 노화 및 질병의 원인물질인 free radical을 제거하는 기능성 및 항균 소재로의 활용 가능성이 기대된다.

감사의 글

본 논문은 교육부와 한국연구재단(사회 맞춤형 산학협력 선도대학(LINC+) 육성사업) 및 부산광역시(2019년도 BB21+ 사업)의 지원을 받아 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

References

1. An, S. A., Cho, Y. H., Ha, S. D., Park, K. H. and Yoon, K. R. 2003. Case study on risk assessment of domestic food preservatives. *Food Sci. Indus.* **36**, 72-78.
2. Azuma, K., Nakayama, M., Koshika, M., Lppoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamaguchi, Y., Ito, H. and Higashio, H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3963-3966.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
4. Brewer, M. S., Sprouls, G. K. and Russan, C. 1994. Consumer attitudes toward food safety issues. *J. Food Safety* **14**, 63-76.
5. Cano, A., Hernández Ruíz, J., García Cánovas, F., Acosta, M. and Arnao, M. B. 1998. An end point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochem. Anal.* **9**, 196-202.
6. Chen, Z., Bertin, R. and Frolidi, G. 2013. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chem.* **138**, 414-420.
7. Cho, M. L., Lee, J. S., Lee, S., Son, Y. K., Bae, C. H., Yeo, J. H., Lee, H. S., Ma, J. G., Lee, O. H. and Kim, J. Y. 2015. Antioxidant activity of 11 species in Korean native forest plants. *Kor. J. Food Nutr.* **28**, 1098-1106
8. Choi, J. S., Oh, J. I., Hwang, I. T., Kim, S. E., Chun, J. C., Lee, B. H., Kim, J. S., Kim, T. J. and Cho, K. Y. 2003. Application and high throughput screening of DPPH free radical scavenging activity by using 96-well plate. *Kor. J. Pestic. Sci.* **7**, 92-99.
9. Choi, Y. M., Kim, M. H., Shin, J. J., Park, J. and Lee, J. S. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *Kor. J. Food Nutr.* **32**, 723-727.

10. Chung, H. J. 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus indica* var. saboten. *Kor. J. Food Nutr.* **16**, 160-166.
11. Gould, G. W. 1996. Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. *J. Food Prot.* **59**, 82-86.
12. Han, K. I., Kim, M. R., Jo, B. K., Kim, M. J., Kang, M. J., Park, K. H., Koo, Y. E., Kim, B. S., Jung, E. G. and Han, M. D. 2015. Antimicrobial and antioxidative activities of the extracts from walnut (*Juglans regia* L.) green husk. *J. Life Sci.* **25**, 433-440.
13. Hong, N. D., Rho, Y. S., Kim, N. J. and Kim, J. S. 1990. A study on efficacy of Ulmi cortex. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**, 217-222.
14. Jung, Y. T., Lee, I. S., Whang, K. and Yu, M. H. 2012. Antioxidant effects of *Picrasma quassioides* and *Chamaecyparis obtusa* (S. et Z.) ENDL extracts. *J. Life Sci.* **22**, 354-359.
15. Kim, H. Y., Lee, Y. J., Kim, S. H., Hong, K. H., Kwon, Y. K., Lee, J. Y., Ha, S. C., Cho, H. Y., Chang, I. S., Lee, C. W. and Kim, K. S. 1999. Studies on the development of natural preservatives from natural products. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **31**, 1667-1678.
16. Kim, J. H., Chung, I. K., Kim, H. Y. and Kim, K. M. 2018. Comparison of the quality of dried persimmon (*Diospyros kaki* THUNB.) treated with medicinal plant extracts and food additives. *Food Sci. Nutr.* **6**, 1991-1998.
17. Kim, S. J., Shin, J. Y., Park, Y. M., Chung, K. M., Lee, J. H. and Kweon, D. H. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **38**, 241-248.
18. Kim, S. M., Kim, E. C., Choi, M. R., So, H. A., Shim, E. S., Kim, E. S., Park, S. C., Seong, C. N. and Chong, Y. C. 2008. Cytolethal distending toxin production, genotypes and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolates from diarrhea patients and chickens. *J. Bacteriol. Virol.* **38**, 207-219.
19. Kim, T. S., Kim, M. J., Kang, Y. M., Oh, G. N., Choi, S. Y., Oh, M. S., Yang, Y. S., Seo, J. M., Ryu, M. G., Kim, E. S., Ha, D. R. and Cho, B. S. 2014. Molecular characterization and toxin profile of bacillus cereus strains isolated from ready-to-eat foods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **46**, 334-340.
20. Kim, Y. D., Kim, H. K. and Kim, K. J. 2003. Antimicrobial activity of solvent fraction from *Cornus officinalis*. *Kor. J. Food Sci.* **32**, 829-832.
21. Kwon, T. D., Choi, S. W., Lee, S. J., Chung, K. W. and Lee, S. C. 2001. Effects of polyphenol or vitamin C ingestion on antioxidative activity during exercise in rats. *Kor. J. Phys. Edu.* **3**, 891-899.
22. Lee, B. W. and Shin, D. H. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 200-204.
23. Lee, C. E., Jo, J. K., Kim, J. D., Lee, D. G., Kim, W. S. and Lee, S. H. 2017. Verification of antibacterial activity of herbal medicine extracts. *J. Life Sci.* **27**, 611-616.
24. Lee, J. W., Yoon, J. H. and Park, J. W. 2015. Effect of grapefruit seed extract on antibacterial activity on the coated packaging. *Food Eng. Prog.* **19**, 104-110.
25. Lee, K. M., Jeong, G. T. and Park, D. H. 2004. Study of antimicrobial and DPPH radical scavenger activity of wood vinegar. *KSBB J.* **19**, 381-384.
26. Lee, Y. C., Oh, S. W. and Hong, H. D. 2002. Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 700-709.
27. Lee, Y. M., Bae, J. H., Kim, J. B., Kim, S. Y., Chung, M. N., Park, M. Y., Ko, J. S., Song, J. and Kim, J. H. 2012. Changes in the physiological activities of four sweet potato varieties by cooking condition. *Kor. J. Nutr.* **45**, 12-19.
28. Lee, Y. S., Choi, J. B., Joo, E. Y. and Kim, N. W. 2007. Antioxidative activities and tyrosinase inhibition of water extracts from *Ailanthus altissima*. *Kor. J. Food Nutr.* **36**, 1113-1119.
29. Lee, Y. S., Joo, E. Y. and Kim, N. W. 2005. Antioxidant activity of extract from the *Lespedeza bicolor*. *Kor. J. Food Preserv.* **12**, 75-79.
30. Lehrer, R. I., Rosenman, M., Harwig, S., Jackson, R. and Eisenhauer, P. 1991. Ultrasensitive assays for endogenous antimicrobial polypeptides. *J. Immunol. Methods* **137**, 167-173.
31. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *FEBS J.* **47**, 469-474.
32. Moon, Y. G., Choi, K. S., Lee, K. J., Ki, K. Y. and Heo, M. S. 2006. Screening of antioxidative and antibacterial activity from hot water extracts of indigenous plants, Jeju-island. *KSBB J.* **21**, 164-169.
33. Park, C. S. and Cha, M. S. 2000. Comparison of antibacterial activities of green tea extracts and preservatives to the pathogenic bacteria. *Kor. J. Food Nutr.* **13**, 36-44.
34. Park, E. R., Lee, S. K., Hwang, H. S., Mun, C. S., Gwak, I. S., Kim, O. H. and Lee, K. H. 2008. Monitoring of natural preservative levels in food products. *Kor. J. Food Nutr.* **37**, 1640-1646.
35. Park, H. K. and Kim, S. B. 2006. Antimicrobial activity of grapefruit seed extract. *Kor. J. Food Sci.* **19**, 526-531.
36. Park, U. Y., Chang, D. S. and Cho, H. R. 1992. Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts. *Kor. J. Food Sci.* **21**, 91-96.
37. Park, Y. J., Jung, S. M., Yoo, S. A., Kim, W. U., Cho, C. S., Park, B. J., Woo, J. M. and Yoon, C. H. 2015. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of essential oil extracted from *Chamaecyparis obtusa* in mice. *In Immunopharmacol.* **29**, 320-325.
38. Piddock, L. J. 1990. Techniques used for the determination of antimicrobial resistance and sensitivity in bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **68**, 307-318.
39. Shi, J., Gong, J., Liu, J. E., Wu, X. and Zhang, Y. 2009. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. *LWT-Food Sci. Technol.* **42**, 477-482.
40. Tokoro, A., Kobayashi, M., Tatewakio, N., Sucuki, K., Okawa, Y., Mikami, Y., Suzuki, S. and Suzuki, M. 1989. Protective effect of *N*-acetyl chitohexaose on *Listeria monocytogenes* infection in mice. *Microbiol. Immunol.* **33**, 357-367.

41. Wang, M., Li, J., Rangarajan, M., Shao, Y., LaVoie, E. J., Huang, T. C. and Ho, C. T. 1998. Antioxidative phenolic

compounds from sage (*Salvia officinalis*). *Agric. Food Chem.* **46**, 4869-4873.

초록 : 편백나무 추출액의 항균 및 항산화 활성

김보경¹ · 강정현¹ · 오근혜¹ · 황지영² · 장석위³ · 김미향^{1*}

(¹신라대학교 식품영양학과, ²동의대학교 식품공학과 ³㈜덕화푸드)

본 연구에서는 편백나무(*Chamaecyparis obtusa*) 추출액의 항산화 활성 및 항균활성을 검토하였다. 편백나무 추출액의 항산화 활성을 평가하기 위하여 DPPH radical 소거능, ABTS radical 소거능 및 SOD 유사 활성을 분석하였다. 그 결과, 편백나무 추출액의 DPPH radical 및 ABTS radical 소거 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며, 50 µl/ml 농도에서 78% 및 62%의 최대 활성을 나타내었다. 또한, 편백나무 추출액은 높은 SOD 유사 활성을 보였으며, 50 µl/ml 농도에서 92.85 %의 최대 활성을 나타내었다. 한편, 편백나무 추출액의 항균 활성을 측정하기 위해 Paper disc agar diffusion 법을 이용하여 식중독 및 질병을 일으키는 6종의 균주에 대하여 검토하였다. 편백나무 추출액은 *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. typhi*, *V. parahaemolyticus*에 대한 항균 활성이 나타났고, 이중 *B. cereus*에 대하여 가장 강한 항 박테리아 활성을 보였다. 이상과 같이 항균 활성이 나타난 6종의 균주에서 편백나무 추출액의 MIC 및 MBC는 30~40 µl/ml로 확인되었다. 이러한 결과는 편백나무 추출액을 이용하여 식중독과 같은 병원균의 성장을 억제하는 항균 소재로 개발한다면 산업적 가치가 높을 것으로 생각된다.