

## Antibacterial and Antioxidant Activities of the Red Pine Leaf Distilled Concentrate

Kyung-Cheol Min<sup>1</sup>, Seung-Cheol Lim<sup>2</sup>, Bo-kyung Kim<sup>2</sup>, Geun-Dae Kim<sup>3</sup>, Ikchon Kim<sup>4</sup>, Sang-Hyeon Lee<sup>1,3</sup> and Mihyang Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioscience, Graduate School, Silla University, Busan 46958, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Silla University, Busan 46958, Korea

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Silla University, Busan 46958, Korea

<sup>4</sup>KCWELL Co., LTD., Seoul 06564, Korea

Received October 17, 2021 / Revised October 22, 2021 / Accepted October 25, 2021

In this study, antibacterial activity against pathogenic strains and antioxidant activity were measured using the red pine leaf distilled concentrate. The results of the antibacterial activity measured using an emulsion of the red pine leaf distilled concentrate by the paper disc method showed the antibacterial activities against three Gram negative pathogenic strains, *E. coli*, *S. typhi* and *Vibrio parahaemolyticus* and exhibited growth inhibitions of 12 mm, 10 mm and 9 mm at a 5.0% (v/v) concentration, respectively. In addition, all three strains also showed growth inhibitions even at 0.5% (v/v) concentration. However, no antibacterial activity was exhibited against gram positive bacteria. The results of the antibacterial activity using the red pine leaf distilled concentrate measured by the turbidity method, the same antibacterial activities against three gram negative pathogenic strains, *E. coli*, *S. typhi* and *V. parahaemolyticus* as results of the paper disc method. *V. parahaemolyticus* showed more than 50% growth inhibition compared to the negative control at a concentration of 5% (v/v), *E. coli* exhibited 33.5% growth inhibition at 4 hr incubation, and *S. typhi* showed 65.1% and 44.6% growth inhibitions at 4 and 5 hr incubations, respectively. Antioxidant activities of an emulsion of the red pine leaf distilled concentrate were measured by DPPH and ABTS methods. DPPH method showed the highest activity of 55.81% at a 1.0% (v/v) concentration. ABTS method exhibited the highest activity of 18.44% at a 1.0% (v/v) concentration. Through this study, it is expected that the developments of the food and the cosmetics with enhanced functionality by utilizing the antioxidant and antibacterial activities of the red pine leaf distilled concentrate.

**Key words** : Antibacterial activity, antioxidant activity, the red pine leaf distilled concentrate

### 서 론

소나무(*Pinus densiflora*)는 상록성 침엽수로서 우리나라를 비롯하여 일본, 중국 등 아시아 지역의 임야에 널리 자생하고 있다[16]. 우리나라에 가장 널리 분포되어 있는 종은 리기다종과 적송 소나무이다. 솔잎에 함유되어 있는 flavonoid, lignan, alkaloid, 유기산류 등은 혈청 콜레스테롤 저하효과[23], 항산화 효과 및 지질 저하효과, 항당뇨 효과, 항균효과[31, 33]가 있는 것으로 알려져 있다. 또한, 제빵에도 응용되고 있으며, 솔잎 발효액의 첨가에 의한 쯤빵의 저장성 향상[3]도 보고되어 있다. 솔잎에는 정유 성분인  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, borneol,

phellandrene, camphene과 플라보노이드류인 quercetin, kaempferol 등이 풍부하게 함유되어 있다[8]. 세균성 질병의 원인이 되는 병원성 미생물의 감염은 사망률 및 이환율에 영향을 주는 주요 원인으로 오랜 기간 동안 인간의 건강과 밀접한 연관이 있다. 1928년 최초의 항생제인 페니실린이 발견되었으며, 1930년대에 설파제가 발견되면서 항생제가 세균 및 진균에 대한 감염성 질환 치료에 중요한 역할을 하였다[6, 26, 35]. 그러나, 농업, 수의학 및 약학 등에서의 무분별한 항생제 사용으로 인하여 항생제 내성균주의 출현으로 세균 질병의 발생 빈도가 증가한다는 보고[11, 30, 35]가 있으며, 이러한 항생제 내성 균주에 대응하고자 천연물 유래의 새로운 항균 소재의 개발이 필요한 실정이다. 식물에 존재하는 항균물질은 대부분 flavonoid, phenolic compound, quinone, volatile oil, terpenoid 및 alkaloid 등의 이차 대사 산물이거나 그 유도체들로 알려져 있으며, 이들 항균물질은 추출 용매에 따라 항균활성에 차이를 보이는 것으로 보고되고 있다[18, 20, 21]. 최근 들어 항생제를 대신할 수 있는 천연물질을 이용한 항균물질의 개발이 활발히 진행되고 있으며, 녹차[38], 가자[10], 단삼[29], 자초

#### \*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.

[32], 갖[12] 등이 항생제 내성균주에 대해 항균활성을 나타낸다고 보고되었다. 본 연구에서는 적송잎으로부터 정유성분을 추출 가공한 적송잎증류농축액의 항균활성과 항산화활성을 확인하였고, 천연성분인 적송잎증류농축액의 항균활성 및 항산화활성 소재로의 활용 가능성을 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 적송잎증류농축액의 제조

솔잎을 세척하고, 절단(10 mm) 및 분쇄(3 mm)하고, 솔잎 150 kg에 물 230 kg을 첨가한 후, 95°C 이상에서 2~6시간 동안 가열하여 증류한 뒤 95°C 이상에서 7시간 이상 수분을 제거한 후, 마이크로필터를 통과시켜 여과한 솔잎증류농축액을 냉암소에서 10~40일간 숙성시켰다.

### 적송잎증류농축액을 이용한 에멀션의 제조

적송잎증류농축액을 5% (v/v)의 농도로 증류수에 첨가한 후, Homogenizing Mixer (MarkII Model 2.5, T.K Primix Co. Japan)로 6,000 rpm에서 20초간 처리하여 oil in water 에멀션을 제조하였다.

### Paper disc법을 이용한 적송잎증류농축액 에멀션의 병원성 균주들에 대한 항균활성 측정

Tryptic Soy (TS) broth (Difco, USA) 배지를 이용하여 그람 양성 병원성 균주인 *Bacillus cereus* 및 *Staphylococcus aureus*와 그람 음성 병원성 균주인 *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus*를 37°C, 250 rpm 조건으로 하루 동안 배양하였다. 배양한 병원성 균주들을 TS broth 배지로 100배로 희석하여 TS Agar 배지에 도말하고, 각각의 균주가 도말되어진 한천배지위에 멸균한 paper disc (직경 6 mm)를 올려놓은 후, 일정농도(0.5%, 1%, 5% (v/v))의 적송잎증류농축액 에멀션을 10 µl씩 paper disc에 완전히 흡수시켰고, 30°C 배양기에서 배양한 후 항균작용에 의해 생성된 생육저해환(clear zone)을 관찰 및 비교하였다. 음성대조군으로는 증류수를 사용하였다.

### 비탁법을 이용한 적송잎증류농축액의 그람음성 병원성 균주들에 대한 항균활성 측정

Paper disc법에서 항균활성이 확인된 그람음성 병원성 균주 3종을 대상으로 적송잎증류농축액을 각 농도별로 희석하여 비탁법을 이용하여 항균활성을 측정하였다. Tryptic Soy (TS) broth (BD, France) 4 ml에 그람음성 병원성 균주인 *E. coli*, *S. typhi* 및 *V. parahaemolyticus*를 접종하여 37°C 배양기에서 하루 동안 200 rpm으로 진탕 배양하였다. 이후 새로운 TS broth 배지 4 ml에 각 세균배양액을 0.5% (v/v)가 되도록 접종한 후, 적송잎증류농축액을 0.5, 1, 5% (v/v)의 농도로 첨가하고 37°C 배양기에서 200 rpm으로 진탕 배양하면서, 매시간

마다 배양액 0.5 ml를 채취하여 분광광도계로 600 nm에서 흡광도를 측정하여 세균들의 생육 정도를 비교하였다. 음성대조군으로는 증류수를 사용하였다.

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

DPPH radical 소거능 측정은 Blois의 방법에 따라 free radical을 가지고 있는 수용성 물질이 항산화활성이 있는 물질과 결합하면 전자를 내어 주면서 radical이 소거되고 탈색되는 원리를 이용하였다[27, 34]. 농도별로 제조한 시료 100 µl를 150 µM DPPH 시약 100 µl와 상온에서 30분간 반응시켜 540 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 L-ascorbic acid (100 µg/ml)를 이용하였다. 대조군과의 흡광도차를 백분율로 표시하였고, DPPH radical 저해율은 아래 계산식에 따라 나타내었다.

$$\text{DPPH radicals scavenging activity (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: absorbance of sample

B: absorbance of control (without sample)

### 적송잎증류농축액 에멀션의 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical 소거능 측정

2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS)와 과황산칼륨(potassium persulfate)을 혼합하여 암소에 두면 ABTS 양이온이 생성되는데 추출물의 항산화물질과 반응하여 양이온이 소거됨으로써 특유의 청록색이 탈색되므로 흡광도를 측정하여 항산화 능력을 측정할 수 있다[36, 37]. 7.4 mM ABTS 용액 2 ml와 2.6 mM 과황산칼륨 2 ml를 혼합하여 암소에서 약 15시간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 희석하였다. 희석한 용액 300 µl에 농도별로 조제한 시료 20 µl를 첨가하여 잘 혼합하고 실온에 30분간 방치한 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 시료를 첨가하지 않은 음성대조군과 비교하여 라디칼의 제거활성으로 나타냈으며 양성대조군으로는 L-ascorbic acid (100 µg/ml)를 이용하였다. 대조군과의 흡광도차를 백분율로 표시하였고, ABTS radical 저해율은 아래 계산식에 따라 나타내었다.

$$\text{ABTS radicals scavenging activity (\%)} = (1-A/B) \times 100$$

A: absorbance of sample

B: absorbance of control (without sample)

### 통계처리

연구결과로 얻어진 자료들을 SPSS (Statistical Package for Social Science, Version 26.0) 통계 프로그램을 사용하여 하위 그룹 각각의 기술 통계치(mean, SD)를 산출하였다. 집단간의 차이를 알아보기 위해 일원변량분석(one-way ANOVA)를 이용하여 분석하였고, 사후검증은 Tukey test방법을 적용하였으며 유의수준은  $p < 0.05$ 수준으로 검증하였다.

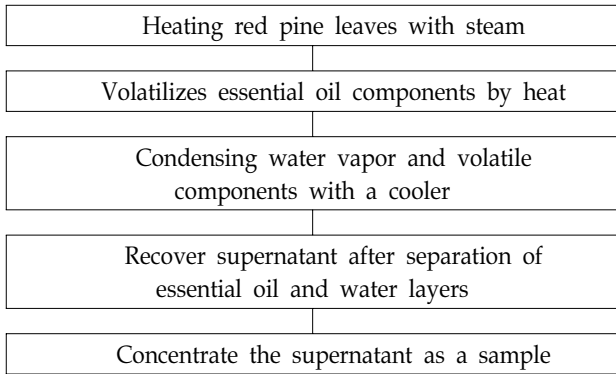


Fig. 1. A scheme of the oil extraction from the red pine leaf by the stem distillation method.

### 결과 및 고찰

#### 적송잎증류농축액의 제조

적송잎증류농축액을 제조하는 모식도를 Fig. 1에 나타냈다.

#### 적송잎증류농축액을 이용한 에멀션의 제조

Homogenizing Mixer를 이용하여 제조한 적송잎증류농축액 에멀션을 Fig. 2에 나타냈다. 흰색의 반투명의 액체 형태로 제조되었다

#### Paper disc법을 이용한 적송잎증류농축액 에멀션의 병원성 균주들에 대한 항균활성

적송잎증류농축액 에멀션으로 측정된 항균활성 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 병원성 균주인 *E. coli*, *S. typhi* 및 *V. parahaemolyticus* 3종의 균주에서 항균활성을 나타냈으며, 그람 음성 대표균인 *E. coli*에서 가장 활성이 높았다. 5% (v/v)의 농도



Fig. 2. An emersion of the red pine leaf distilled concentrate.

에서 12 mm, 1% (v/v) 농도에서 8 mm, 0.5% (v/v) 농도에서 6.3 mm의 생육저해환(clear zone)을 나타냈다. 장티푸스균인 *S. typhi*의 경우, 5% (v/v)의 농도에서 10 mm, 1% (v/v) 농도에서 9 mm, 0.5% (v/v) 농도에서 6.2 mm의 생육저해환(clear zone)을 나타냈다. 식중독균인 *V. parahaemolyticus*의 경우, 5% (v/v)의 농도에서 9 mm, 1% (v/v) 농도에서 8 mm, 0.5% (v/v) 농도에서 7 mm의 생육저해환을 나타냈다. 그람 양성 병원성 균주인 *B. cereus* 및 *S. aureus*에 대해서는 모든 농도에서 항균활성을 나타내지 않았다. Ahn [1] 등에 의하면 편백 정유의 농도가 5% 일 때, *E. coli* 균주의 항균활성을 분석한 결과, 10.8 mm의 생육저해환(clear zone)을 나타냈다는 보고가 있다.

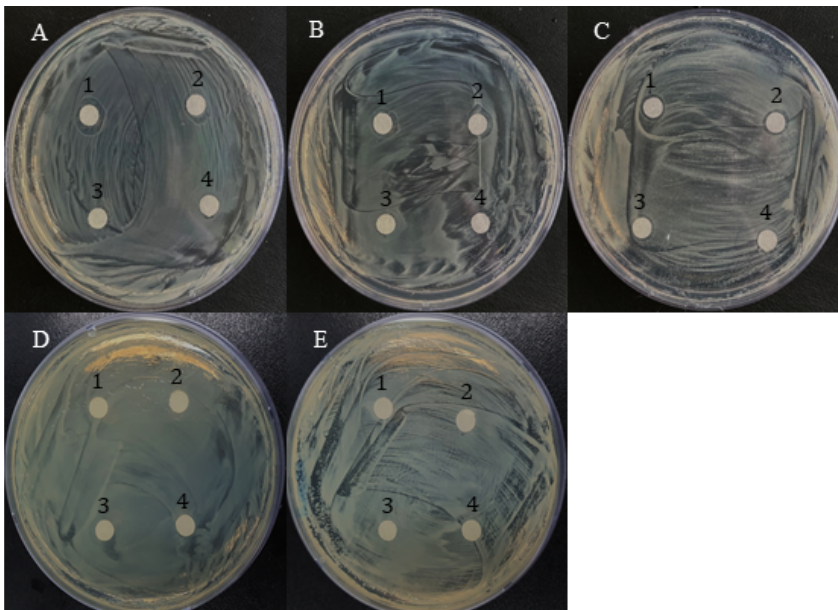


Fig. 3. Antibacterial activities of an emersion of the red pine leaf distilled concentrate by the paper disc method against pathogenic bacteria. A: *E. coli*, B: *S. typhi*, C: *V. parahaemolyticus*, D: *B. cereus*, E: *S. aureus*. 1: 5% (v/v), 2: 1% (v/v), 3: 0.5% (v/v), 4: ddH<sub>2</sub>O.

동일 균주에 적송잎증류농축액 에멀션을 5%농도로 처리하였을 때 12 mm의 생육저해환을 보였으므로 적송잎증류농축액 에멀션은 *E. coli*에 우수한 항균활성을 가지는 것으로 사료된다. Lee [22]의 연구에 의하면 박하와 배초향 정유로 항균활성을 실험한 결과, *E. coli*와 *S. typhi*에서 항균활성을 나타내어 본 연구의 적송잎증류농축액과 마찬가지로 식물의 정유 성분은 항균활성이 높은 것으로 확인되었다.

**비탁법을 이용한 적송잎증류농축액의 그람음성 병원성 균주들에 대한 항균활성**

적송잎증류농축액을 이용하여 비탁법[19]으로 항균활성을 측정된 결과를 Fig. 4에 나타냈다. *E. coli*, *S. typhi* 및 *V. parahaemolyticus* 3종의 균주 모두에서 항균활성을 보였으며, 특히 *V. parahaemolyticus*에서 높은 활성을 보였다. 가장 낮은 농도인 0.5% (v/v)에서도 3종의 균주 모두에서 항균활성이 나타났다. *V. parahaemolyticus*의 경우, 5% (v/v)의 농도에서 음성대조군에 비하여 60% 이상의 생육저해활성을 나타냈고, 특히 배양 4시간과 5시간에서 각각 62.6% 및 60%로 가장 높은 항균활성을 나타냈다. *E. coli*의 경우, 음성대조군과 비교하여 배양 4시간에서 64.3%의 항균활성을 보였다. *S. typhi*의 경우, 5% (v/v)의 농도에서 배양 4시간 및 5시간에서 각각 94.2 및 94.1%의 생육저해를 나타냈다. 배양 3시간 이후부터는 모든 균주들에 대하여 높은 항균활성을 나타냈고, 0.5% (v/v), 1% (v/v), 5% (v/v)의 모든 농도에서 음성대조군과 비교하여 높은 항균활성을 보였다. 아로마 정유의 항균활성을 측정된 연구[17]에 의하면 티트리, 베르가못 및 파츄리 정유를 10% 농도로 *E. coli*에 처리하였을 때, 각각 49.4%, 48.5% 및 40.3%의 생육저해활성을 나타냈다. 본 연구에서 사용된 시료의 농도가 5% (v/v)

인 것을 감안하면 다른 아로마 정유보다 높은 활성을 나타낸 것으로 사료된다.

수목정유[23]의 항균활성을 연구한 논문에 의하면 그람 음성균에서 항균활성이 높게 나타나는 것으로 보고 되어있다. 본 연구의 결과에서 적송잎증류농축액이 그람음성균에 대하여 항균활성을 나타내었는데, 타 연구에 있어서도 박하정유의 경우, *E. coli* 및 *S. typhi*에서 항균활성이 있었다는 보고가 있었으며, 페퍼민트[9, 23]를 이용한 연구에서도 *E. coli* 및 *S. typhi*에서 활성이 나타났다는 보고로 미루어보아 정유성분의 경우, 그람음성균에 대해 항균활성이 있는 것으로 사료된다. 이상의 결과로 병원성세균인 *E. coli*, *S. typhi* 및 *V. parahaemolyticus*에 대하여 우수한 항균활성을 나타내는 적송잎증류농축액을 이용하여 항균 소재를 개발한다면 식품, 소독제 및 항균제품 등에 적용이 가능할 것으로 생각된다.

**적송잎증류농축액 에멀션의 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능**

적송잎증류농축액 에멀션으로 측정된 DPPH radical 소거능 측정 결과를 Fig. 5에 나타냈다. 천연물의 항산화활성을 평가하는 방법 중 가장 대표적인 방법인 DPPH radical 소거능 측정은 free radical인 DPPH가 항산화활성을 가지는 물질을 만났을 때 hydrazine 형태로 환원시키는 원리를 이용하여 측정하는 방법이다[14, 31]. 따라서, 이러한 DPPH radical소거능이 높은 소재의 경우 활성산소와 같은 radical에 대한 소거활성과 항산화화성을 기대할 수 있다. 이러한 실험 방법을 이용하여 본 연구에서는 적송잎증류농축액의 항산화활성을 검토하였다. 그 결과 적송잎증류농축액의 농도가 각각 0.1% (v/v), 0.5% (v/v), 1% (v/v)일 때 9%, 54.41% 및 55.81%의 활성을

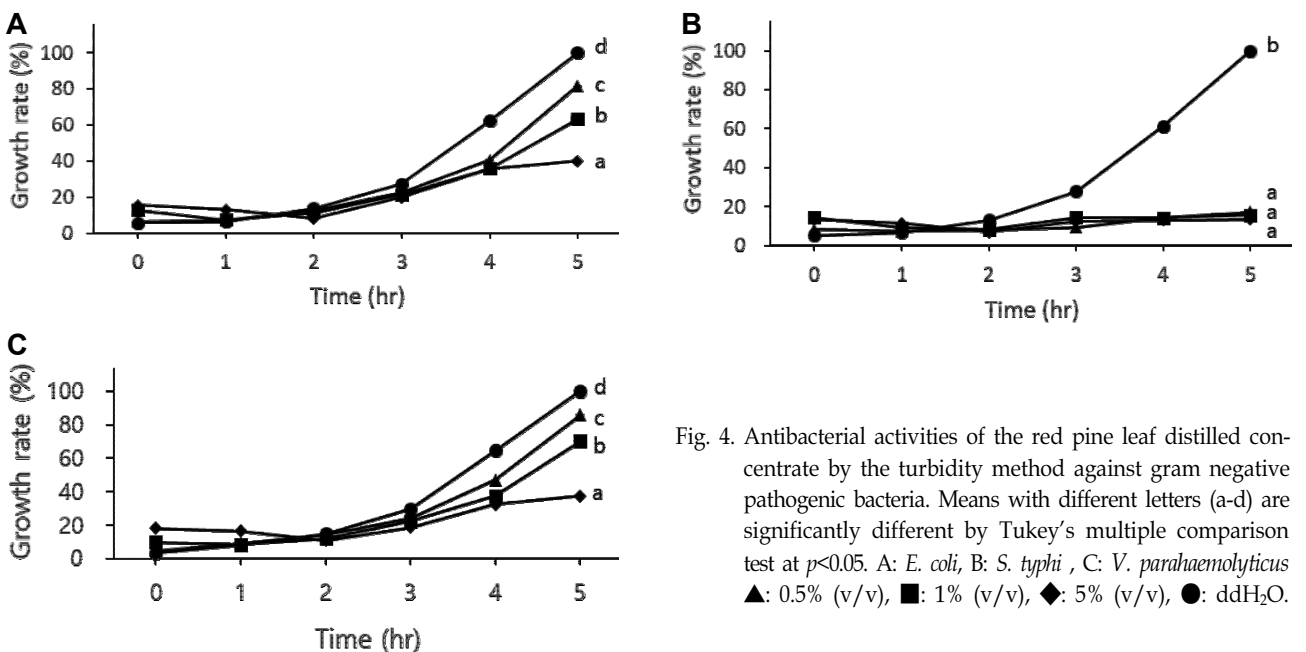


Fig. 4. Antibacterial activities of the red pine leaf distilled concentrate by the turbidity method against gram negative pathogenic bacteria. Means with different letters (a-d) are significantly different by Tukey's multiple comparison test at  $p < 0.05$ . A: *E. coli*, B: *S. typhi*, C: *V. parahaemolyticus* ▲: 0.5% (v/v), ■: 1% (v/v), ◆: 5% (v/v), ●: ddH<sub>2</sub>O.

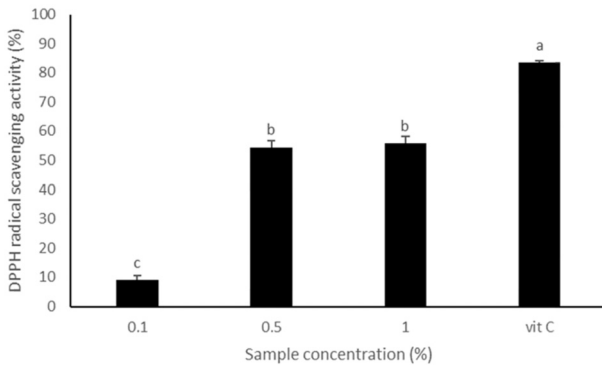


Fig. 5. DPPH radicals scavenging activities of an emersion of the red pine leaf distilled concentrate. Means with different letters (a-c) on bars are significantly different by Tukey's multiple comparison test at  $p < 0.05$ . vit C: 100  $\mu\text{g/ml}$  of vitamin C.

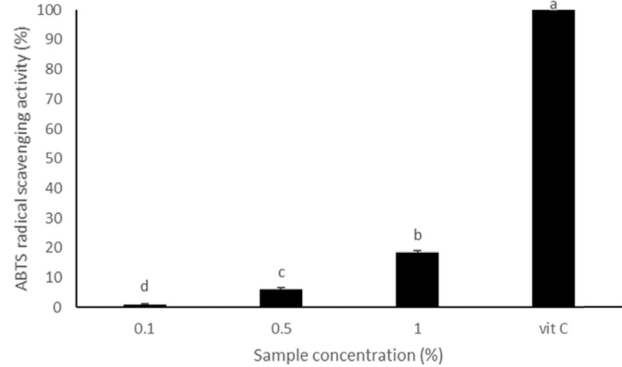


Fig. 6. ABTS radical scavenging activities of an emersion of the red pine leaf distilled concentrate. Means with different letters (a-d) on bars are significantly different by Tukey's multiple comparison test at  $p < 0.05$ . vit C: 100  $\mu\text{g/ml}$  of vitamin C.

나타내어 1% (v/v) 농도에서 최고 활성을 보였다. 5% (v/v) 농도의 시료를 이용하여 DPPH radical 소거능 실험을 수행하였을 때, 시료 자체의 색으로 인하여 sample blank에서 sample의 흡광도를 제거하면 음수값이 나와 결과를 도출할 수 없었다(data not shown). 꿀꿀과 식물에 속하는 배초향 정유의 항산화활성을 연구한 논문[28]에서 제주산, 전남산 및 경북산 배초향 정유가 1% (v/v)의 농도에서 각각 15.6%, 10.5%, 13.6%의 DPPH radical 소거능을 나타냈다는 보고가 있다. 또한, 산초종자 정유의 항산화활성을 비교한 논문[13]에서 산초 정유의 농도가 10  $\mu\text{g/ml}$ 일 때 약 3%의 활성을 보였다는 결과와 비교하면 적송잎증류농축액은 높은 항산화활성을 나타낸 것으로 사료된다. 인체에 free radical이 과도하게 생성되는 경우 항산화 기전이 파괴되며[2], 산화적 스트레스의 증가로 인하여 압, 노화 및 염증 발생과 같은 결과를 초래함으로써 이러한 피해를 예방하기 위하여 항산화활성이 높은 식품 소재에 대한 연구가 다수 진행되고 있다[3, 14, 27]. 적송잎증류농축액과 같이 인체에 대한 안전성이 확보된 식품 소재가 우수한 항산화활성을 가진다면 식품산업 및 다양한 산업군에 적용 시 부가가치가 높은 항산화 기능성 소재로 활용 가능성이 있는 것으로 기대된다.

#### 적송잎증류농축액 에멀션의 2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical 소거능

ABTS radical 소거능 측정 결과를 Fig. 6에 나타냈다. ABTS radical 소거능 측정법은 인위적으로 생성된 radical을 소거하는 능력을 화학적으로 측정해서 DPPH radical 소거능 측정법과 함께 대표적인 항산화활성 측정법이다[36]. ABTS radical 소거능 측정에서는 적송잎증류농축액의 농도가 각각 0.1% (v/v), 0.5% (v/v), 1% (v/v)일 때 0.99%, 5.98% 및 18.44%의 활성을 나타낸 것으로 보아 1% (v/v)의 농도에서 최고 활성을 나타내었다. 하지만, DPPH radical 소거능과 비교하여 다소

낮은 활성을 보였다. DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능 실험에서 다른 결과를 보이는 이유로는, free radical을 소거하는 활성을 가지지만 폴리페놀과 같은 항산화 물질 중에서도 ABTS radical의 소거능을 가지나 DPPH radical의 소거능을 나타내지 않는다는 보고가 있는 것으로 보아[5, 24, 25], DPPH radical 소거능과 ABTS radical 소거능 측정 결과가 동일한 양상을 보이지 않는 것으로 사료된다[15, 37]. 새덕이 잎 정유의 항산화활성을 측정된 연구[5]에서도 새덕이 잎 정유에서는 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 ABTS radical 소거능이 6.47%로 낮은 활성이 나타난 것으로 보고되어 있다. 또한, 다양한 종류의 식물 정유를 이용한 연구[10]에서도 실화백과 갯기름나무 정유는 0.2% 이상의 SC50 값을 나타냈다는 보고가 있어, 본 연구에서 사용된 적송잎 증류농축액은 타 정유의 활성과 유사하거나 다소 높은 ABTS radical 소거능을 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

#### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

#### References

- Ahn, J. Y., Lee, S. S. and Kang, H. Y. 2004. Biological activities of essential oil from *Chamaecyparis obtuse*. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **4**, 503-507.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Cho, M. K., Kim, M. H. and Kang, M. Y. 2008. Effects of rice embryo and embryo jelly with black rice bran pigment on lipid metabolism and antioxidant enzyme activity in high cholesterol-fed rats. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **51**, 200-206.

4. Choi, D. M., Chung, S. K. and Lee, D. S. 2007. Shelf life extension of steamed bread by the addition of fermented pine needle extract syrup as an ingredient. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 616-621.
5. Choi, O. K., Noh, Y. C. and Hwang, S. Y. 2000. Antimicrobial activity of grapefruit seed extracts and polylysine mixture against food-borne pathogens. *Kor. J. Dietary Culture* **15**, 9-15.
6. Dar, K. B., Bhat, A. H., Amin, S., Anees, S., Masood, A., Zargar, M. I. and Ganie, S. A. 2016. Efficacy of aqueous and methanolic extracts of *Rheum spiciformis* against pathogenic bacterial and fungal strains. *J. Clin. Diagn. Res.* **10**, 18-22.
7. Jeong, M. J., Yang, J., Choi, W. S., Kim, J. W., Kim, S. J. and Park, M. J. 2017. Chemical compositions and antioxidant activities of essential oil extracted from *Neolitsea aciculata* (Blume) Koidz leaves. *J. Kor. Wood Sci. Technol.* **45**, 96-106.
8. Ji, H. Y., Park, M. G. and Joo, S. Y. 2021. Antioxidant effect of complex extracts from pin needle, green tea, and sea buckthorn leaves. *J. Food Sci. Technol.* **53**, 290-295.
9. Jin, H. W., Sang, Y. L., Kim, J. H. and Park, K. W. 2013. Antioxidant and antimicrobial activity of peppermint oil products. *J. Kor. Soc.* **16**, 361-367.
10. Kang, H. M., Moon, J. S., Jang, G. C., Kim, J. M., Song, M. D. and Yang, S. Y. 2005. Antibacterial effects of *Terminaliae chebula* extract against major pathogens and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from bovine mastitis milk. *Kor. J. Vet. Res.* **45**, 113-119.
11. Kang, M. W. and Kim, Y. R. 1993. Infection of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Kor. Soc. Chemother.* **11**, 17-26.
12. Kang, S. K., Kim, Y. D. and Park, S. K. 1995. Effect of antimicrobial of leaf mustard (*Brassica juncea*) extract on compositions and leakage of cellular materials in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**, 280-285.
13. Kim, A. Y., Pyo, B. S., Kim, S. M., Park, M. J., Lee, S. S. and Lee, K. I. 2019. Radical scavenging effects of 10 plant essential oils and active compound screening analysis. *Kor. J. Medicinal Crop. Sci.* **27**, 427-435.
14. Kim, B. A. 2014. Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of *Zanthoxylum schinifolium* essential oil. *J. Kor. Applied Sci. Technol.* **31**, 440-445.
15. Kim, B. K., Ryu, J. H., Jang, S. O. and Kim, M. 2020. Antioxidant activity and cell differentiation effects of *Monascus purpureus* pigment on osteoblast-like MC3T3-E1 Cells. *J. Life Sci.* **30**, 468-475.
16. Kim, N. Y., Jang, M. K., Jeon, M. J., Lee, D. G., Jang, H. J., Lee, S. W., Kim, M. H., Kim, S. G. and Lee, S. H. 2010. Verification of antimicrobial activities of various pine needle extracts against antibiotic resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *J. Life Sci.* **20**, 589-596.
17. Kim, Y. I., Song, H. R., Choi, J. N. and Kim, H. 2001. Antibacterial effects of aroma essential oils. *J. Korea Soc. Beauty Art.* **2**, 169-177.
18. Kim, S. M., Lee, H., Peck, K. R., Song, J. H., Yang, J. W., Jin, J. H., Pai, H. J., Oh, M. D. and Choe, K. W. 1997. Genetic relatedness of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates recovered from 3 different hospitals in Korea. *Kor. J. Infect. Dis.* **29**, 453-462.
19. Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y. and Rhee, H. I. 2005. Inhibitory effect of pine extract on  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition* **21**, 756-761.
20. Lee, B. W. and Shin, D. H. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganism. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 200-204.
21. Lee, K. I. and Kim, S. M. 2009. Antioxidative and antimicrobial activities of *Eriobotrya japonica* Lindl. leaf extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 267-273.
22. Lee, S. E., Park, C. G., Cha, M. S., Kim, J. K., Seong, N. S., Bang, K. H. and Bang, J. K. 2002. Antimicrobial activity of essential oils from *Mentha arvensis* L. var. *piperascens Malivaud* and *Agastache rugose* O. Kuntze on *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* **10**, 206-211.
23. Lee, S. S., Ha, Y. K. and In, G. C. 2002. Studies on biological activities of woody essential oils. *Mokchae Konghak* **30**, 48-55.
24. Lee, Y. H., Shin, S. H., Choi, Y. S. and Lee, S. Y. 1996. Development of the health foods containing the extract from *pinus strobus* leave. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **25**, 379-389.
25. 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.
26. Miert, A. V. 1994. The sulfonamide diaminopyrimidine story. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **17**, 309-316.
27. Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* **26**, 211-219.
28. Moon, Y. G., Hong, J. S. and Song, M. H. 2012. DPPH radical scavenging activity and composition of essential oil from the herbs of Jeju *Agastache rugosa*. *J. Life Sci.* **22**, 156-160.
29. Mok, S. J., Park, U. Y., Kim, Y. M. and Chang, D. S. 1997. Effects of solvents and extracting condition on the antimicrobial activity of *Salviae miltiorrhizae radix* (*Salvia miltiorrhiza*) extract. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **25**, 224-228.
30. Pisteli, L. and Giorgi, I. 2012. Antimicrobial action of flavonoids. In: Patra AK (ed) *Dietary phytochemicals and microbes*. Springer, Netherlands. 33-61.
31. Park, H. G., Cha, M. R., Hwang, J. H., Kim, J. Y., Park, M. S., Choi, S. U., Park, H. R. and Hwang, Y. I. 2006. Antimicrobial activity of the extract from *Pyrola japonica* against *Bacillus subtilis*. *J. Life Sci.* **16**, 989-993.
32. Park, N. H. and Lee, S. H. 2003. Antimicrobial activity of pine needle extract and horseradish on the growth of *Vibrio*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 185-190.
33. Park, J. S. 2019. Application of pine needle extract as cosmetic material. *J. Digital Convergence* **17**, 395-400.
34. Park, S. K., Lee, T. S. and Park, S. K. 2005. Estimation of daily dietary intake of food red colors. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 75-80.
35. Saleem, M., Nazir, M., Ali, M. S., Hussain, H., Lee, Y. S.,

- Riaz, N. and Jabbar, A. 2010. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Nat. Prod. Rep.* **27**, 238-254
36. Soares, D. G., Andrezza, A. C. and Salvador, M. 2003. Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1077-1080.
37. 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*). *J. Agric. Food Chem.* **46**, 4869-4873.
38. Yeo, S. G., Ahn, C. W., Kim, I. S., Park, Y. B., Park, Y. H. and Kim, S. B. 1995. Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**, 293-298.

### 초록 : 적송잎증류농축액의 항균활성 및 항산화활성

민경철<sup>1</sup> · 임승철<sup>2</sup> · 김보경<sup>2</sup> · 김근대<sup>3</sup> · 김익종<sup>4</sup> · 이상현<sup>1,3</sup> · 김미향<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>신라대학교 일반대학원 바이오과학과, <sup>2</sup>신라대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>신라대학교 제약공학과, <sup>4</sup>주케이씨웰)

본 연구에서는 적송잎증류농축액을 이용하여 그람음성 병원성 균주들에 대한 항균활성 및 항산화활성을 측정하였다. 적송잎증류농축액 에멀션의 항균활성을 paper disc법으로 측정한 결과, 그람음성 병원성 균주인 *E. coli*, *S. typhi*, *V. parahaemolyticus*에 대해 항균활성을 나타냈으며, 5% (v/v)의 농도에서 각각 12 mm, 10 mm, 9 mm의 생육저해환(clear zone)을 보였다. 또한, 가장 낮은 농도인 0.5% (v/v)의 농도에서도 3종의 균주 모두에서 활성을 보였다. 그러나 그람양성 병원성 균주에 대한 항균활성은 나타나지 않았다. 적송잎증류농축액의 항균활성을 비탁법으로 측정한 결과, paper disc법의 결과와 마찬가지로 그람음성 병원성 균주인 *E. coli*, *S. typhi*, *V. parahaemolyticus*에 대해 항균활성을 나타냈다. *V. parahaemolyticus*에서는 5% (v/v)의 농도에서 음성 대조군에 비해 60% 이상의 생장억제를 보였고, *E. coli*에서는 배양 4시간에서 64.3%, *S. typhi*에서는 배양 4시간과 5시간에서 각각 94.2%, 94.1%의 생장억제를 보였다. 적송잎증류농축액 에멀션의 항산화활성을 DPPH radical 소거능으로 측정 한 결과, 1.0% (v/v)의 농도에서 55.81%의 활성을 나타냈다. 적송잎증류농축액 에멀션의 항산화활성을 ABTS radical 소거능으로 측정한 결과, 1.0% (v/v)의 농도에서 18.44%의 활성을 나타냈다. 본 연구를 통해, 적송잎증류농축액의 생리활성인 항균활성 및 항산화활성을 검증하였으며, 이를 이용하여 기능성이 강화된 식품 및 화장품의 개발이 가능할 것으로 기대된다.