

# 전나무와 잣나무 잎 추출물의 대장균과 황색포도상구균에 대한 항균특성

최용우 · 이승범<sup>†</sup>

단국대학교 화학공학과  
(2024년 5월 22일 접수, 2024년 5월 30일 수정, 2024년 5월 30일 채택)

## Antibacterial Properties of Extracts from *Abies holophylla* and *Pinus koraiensis* Needles Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Young Woo Choi and Seung Bum Lee<sup>†</sup>

Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea  
(Received May 22, 2024; Revised May 30, 2024; Accepted May 30, 2024)

### 초 록

본 연구에서는 전나무와 잣나무 잎으로부터 항균특성을 갖는 기능성 물질을 추출한 후 반응표면분석법 중 중심합성 계획법(CCD-RSM)을 이용하여 최적화하였다. 최적 추출 조건은 전나무의 경우 추출온도(59.5 °C)와 주정/초순수 부피비(69.5 vol.%)이었으며, 이때 반응치는 추출수율(13.5%), 대장균 억제직경(11.6 mm), 황색포도상구균 억제직경(9.3 mm)로 산출되었다. 또한 잣나무의 경우에는 최적 추출조건인 추출온도(59.2 °C)와 주정/초순수 부피비(67.8 vol.%)에서 추출수율(4.8%), 대장균 억제직경(7.9 mm), 황색포도상구균 억제직경(12.5 mm)로 산출되었다. 각 천연물의 최적조건에서 실제 실험 결과 전나무 잎의 추출수율은 13.0%, 대장균 억제직경은 11.7 mm, 황색포도상구균 억제직경은 9.2 mm로 약 ± 2.30% 오차율을 나타내며, 잣나무 잎의 추출수율은 5.1%, 대장균 억제직경은 7.5 mm, 황색포도상구균 억제직경은 12.3 mm로 ± 4.23% 오차율을 나타내었다.

### Abstract

In this study, functional substances with antibacterial properties were extracted from the needles of *Abies holophylla* and *Pinus koraiensis*, and optimized using the central composite design-response surface methodology (CCD-RSM). The optimal extraction conditions for *Abies holophylla* were an extraction temperature of 59.5 °C and an ethanol/ultrapure water volume ratio of 69.5 vol.%, resulting in an extraction yield of 13.5% and inhibition diameters of 11.6 mm against *Escherichia coli* (*E. coli*) and 9.3 mm against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). For *Pinus koraiensis*, the optimal extraction conditions were an extraction temperature of 59.2 °C and an ethanol/ultrapure water volume ratio of 67.8 vol.%, resulting in an extraction yield of 4.8% and inhibition diameters of 7.9 mm against *E. coli* and 12.5 mm against *S. aureus*. The actual experimental results under these optimal conditions showed that an extraction yield from *Abies holophylla* needles was 13.0% and an inhibition diameter of 11.7 mm against *E. coli* and 9.2 mm against *S. aureus*, indicating an error rate of approximately ± 2.3%. For *Pinus koraiensis* needles, the extraction yield was 5.1%, with inhibition diameters of 7.5 mm against *E. coli* and 12.3 mm against *S. aureus*, indicating an error rate of ± 4.23%.

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Inhibition diameter, *Abies holophylla*, *Pinus koraiensis*

## 1. 서 론

최근 화장품의 기능은 노화방지, 보습효과, 미백효과, 주름개선, 치료효과 등 다양한 용도로 사용되고 있다. 이 중 화장품의 안전성과 유효성을 유지하는 데 중요한 역할을 하는 항균성능에 대한 관심이 고조되고 있다[1]. 항균제는 화장품 속에서도 사람의 피부와 접촉하여

번식할 수 있는 세균, 곰팡이, 미생물 등의 성장을 억제하거나 방지하는 역할을 하며 화장품의 유통기간을 늘리고 안정성을 보장하는 역할을 한다. 그러나 주로 사용되고 있는 항균제는 합성 항균제이며, 이는 화장품의 안전성 및 사람의 피부건강에도 악영향을 미칠 수 있다. 따라서 합성 항균제를 대체할 수 있는 천연 항균제의 선택과 사용은 반드시 필요하며, 이에 대한 연구 및 규제는 화장품 산업에서 지속적인 관심사로 떠오르고 있다[2].

천연 항균제로 사용 가능한 천연물로 전나무(*Abies holophylla*)와 잣나무(*Pinus koraiensis*) 잎 등이 사용될 수 있다. 전나무는 소나무과에 속하는 상록침엽교목으로 높이는 약 40 m까지 자라고 잎은 바늘모양으로 나는 것이 특징이다. 전나무 잎의 유효 성분 중에서는 borneol

<sup>†</sup> Corresponding Author: Dankook University  
Department of Chemical Engineering, Gyeonggi 16890, Korea  
Tel: +82-31-8005-3559 e-mail: leesb@dankook.ac.kr

과  $\alpha$ -bisabolol이 항균작용을 하는 성분으로 보고되고 있다[3]. 또한 잣나무는 소나무과에 속하며 해발고도 1000 m 이상에서도 서식하는 생명력이 높은 식물로 예로부터 항진균, 항바이러스, 항균제로 사용되고 있다. 잣나무 잎에서 항균작용을 하는 성분 중 3-carene, camphene, limonene 등의 terpene hydrocarbon의 종류가 대부분 분포되어 있으며, ethyl acetate 또한 포함되어 있다[4].

따라서 본 연구에서는 전나무와 잣나무 잎에 함유된 항균활성물질을 추출한 후 대장균(*Escherichia coli*, *E. coli*)과 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 억제 직경을 통하여 항균특성을 고찰하였다. 또한 이들의 추출과정을 반응표면분석법 중 중심합성법(central composite design-response surface methodology, CCD-RSM)을 이용하여 최적화하였다. CCD-RSM은 가상의 공간에 실험을 설계하고 분석한 결과를 통하여 반응치의 목표 값을 이루는 실험조건을 최적화한다. 중심합성계획법을 통해 실험을 설계하였으며, 추출과정의 독립변수로는 추출온도와 주정/조순수 부피비로 설정하였고, 반응치로는 추출수율과 항균효능을 평가하기 위하여 대장균과 황색포도상구균의 억제직경(inhibition diameter)을 측정하였다[5].

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 천연물의 추출과정

실험에 사용된 천연물로는 전나무와 잣나무 잎을 선정하였으며, 파쇄 후 40 °C에서 24 h 건조하여 사용하였다. 천연물 분말 10 g을 용매 400 mL에 넣은 후 추출온도와 주정/조순수 부피비를 독립변수로 추출과정을 진행하였다. 추출과정 후 진공여과장치(A-1000S)를 이용하여 2번 여과한 후 회전진공증발기(N-1100)를 이용하여 40 °C에서 증류시켰다. 증류과정 후 추출물을 -20 °C 냉동고에 12 h 동안 얼린 후, 동결건조장치(CRYODOS.50)를 이용하여 24 h 동안 건조하여 추출물의 분말을 얻었다[6]. 추출수율은 실험에 사용된 천연물의 질량과 동결건조 후 건조물의 질량을 이용하여 다음과 같이 계산하였다[7].

$$\text{Yield} = \frac{S_A}{S_F} \times 100(\%) \quad (1)$$

여기서  $S_A$ 는 추출물의 총질량이며,  $S_F$ 는 추출과정에 사용된 천연물의 질량이다. 총 3회 반복 측정된 평균값을 사용하였다.

### 2.2. 대장균과 황색포도상구균에 대한 항균능력 평가

본 연구에서 사용한 그람음성균 1종과 그람양성균 1종은 병원성 세균으로서 국립보건진흥원으로부터 분양받은 시험용 균주를 사용하였다. 대장균(ATCC 25922)과 황색포도상구균(ATCC 25923)을 한천배지를 사용하여 37 °C의 배양기(incubator, BI-P-150)에서 24 h 동안 배양한 후 한 균락을 0.5 McFarland 탁도로 맞추었다. 균액 50  $\mu$ L를 Muller Hinton Agar (MHA, ID = 9 mm, H = 4 mm)에 고르게 도말하였다. 1 mg/mL 농도의 전나무와 잣나무 잎 추출물을 멸균된 항생물질 검정용 여과지(paper disk, ID = 6 mm)에 각각 25  $\mu$ L씩 흡수시킨 후 균을 도말한 배지에 올려놓고 억제직경을 mm 단위로 측정하였으며, 이때 대조균은 증류수를 이용하였다[8].

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 천연물로부터 항균활성물질의 추출과정

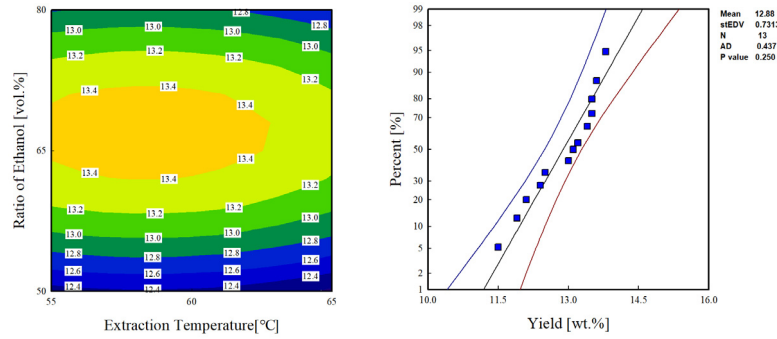
전나무와 잣나무 잎으로부터 항균활성물질을 추출하기 위한 추출과정을 CCD-RSM을 이용하여 최적화하였다. 추출과정의 독립변수로는 추출온도(55~65 °C)와 주정/조순수 부피비(50~80%)를 설정하였고, 반응치로는 추출수율, 대장균과 황색포도상구균의 억제직경을 설정하였다. CCD-RSM을 이용하여 설계된 추출과정의 2가지 독립변수를 이용한 전나무와 잣나무 잎의 추출조건 및 3가지 반응치를 나타낸 실험결과를 Table 1에 나타내었다.

전나무 잎 추출실험 결과를 바탕으로 CCD-RSM을 이용하여 최적화 분석결과에 따른 각 반응치에 대한 2차 회귀방정식을 식 (2)-(4)에 나타내었다[9].

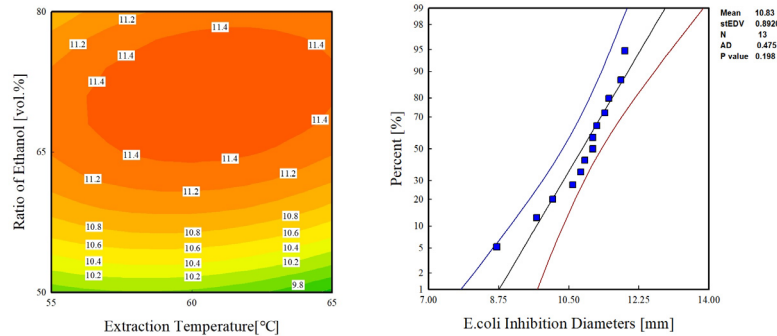
Table 1. Two Variables and Corresponding Response Values Using CCD-RSM

| No. | Experimental condition |                 | <i>Abies holophylla</i> needle extracts |                     |                       | <i>Pinus koraiensis</i> needle extracts |                     |                       |
|-----|------------------------|-----------------|---|---------------------|-----------------------|---|---------------------|-----------------------|
|     | Temp. [°C]             | Ethanol [vol.%] | Yield [%]                               | <i>E. coli</i> [mm] | <i>S. aureus</i> [mm] | Yield [%]                               | <i>E. coli</i> [mm] | <i>S. aureus</i> [mm] |
| 1   | 60.0                   | 65.0            | 13.8                                    | 11.2                | 9.1                   | 4.7                                     | 7.9                 | 12.4                  |
| 2   | 60.0                   | 65.0            | 13.2                                    | 11.5                | 9.5                   | 4.7                                     | 7.9                 | 12.6                  |
| 3   | 52.9                   | 65.0            | 13.1                                    | 10.8                | 8.7                   | 4.5                                     | 7.6                 | 12.8                  |
| 4   | 55.0                   | 50.0            | 12.5                                    | 10.1                | 7.1                   | 3.8                                     | 7.2                 | 11.5                  |
| 5   | 60.0                   | 43.8            | 11.5                                    | 8.7                 | 6.8                   | 3.1                                     | 7.1                 | 9.1                   |
| 6   | 60.0                   | 65.0            | 13.4                                    | 11.1                | 8.8                   | 4.8                                     | 7.8                 | 12.4                  |
| 7   | 67.1                   | 65.0            | 13.5                                    | 10.9                | 8.6                   | 4.6                                     | 7.6                 | 11.5                  |
| 8   | 60.0                   | 86.2            | 12.1                                    | 10.6                | 8.9                   | 4.3                                     | 7.6                 | 9.5                   |
| 9   | 60.0                   | 65.0            | 13.5                                    | 11.8                | 9.2                   | 4.6                                     | 7.9                 | 12.6                  |
| 10  | 60.0                   | 65.0            | 13.6                                    | 11.9                | 9.1                   | 4.7                                     | 7.8                 | 12.6                  |
| 11  | 55.0                   | 80.0            | 13.0                                    | 11.1                | 8.9                   | 4.4                                     | 7.6                 | 9.9                   |
| 12  | 65.0                   | 50.0            | 11.9                                    | 9.7                 | 8.1                   | 3.2                                     | 7.3                 | 9.7                   |
| 13  | 65.0                   | 80.0            | 12.4                                    | 11.4                | 8.4                   | 4.4                                     | 7.7                 | 9.9                   |

(a) Extraction yield



(b) *E. coli* inhibition diameter



(c) *S. aureus* inhibition diameter

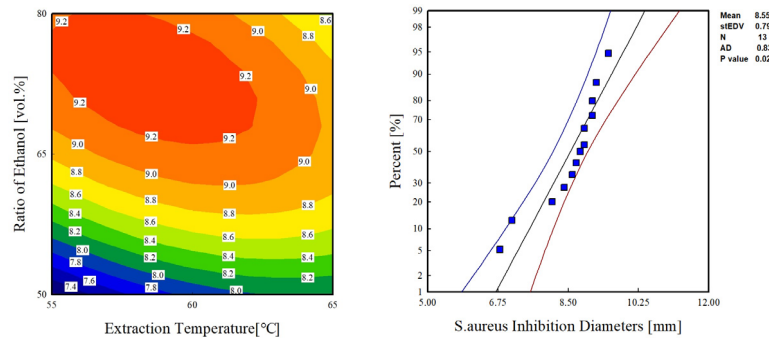


Figure 1. Contour graph and Scatter plot of in 95% confidence interval of extraction yield, *E. coli* and *S. aureus* inhibition diameter of *Abies holophylla* needle extracts.

$$Y = -21.0 + 0.584x_1 + 0.521x_2 - 0.00500x_1^2 - 0.003889x_2^2 + 0.00000x_1x_2 \quad (2)$$

$$E = -98.6 + 3.046x_1 + 0.450x_2 - 0.02670x_1^2 - 0.004522x_2^2 + 0.00333x_1x_2 \quad (3)$$

$$S = -66.1 + 1.660x_1 + 0.733x_2 - 0.01105x_1^2 - 0.003006x_2^2 - 0.00500x_1x_2 \quad (4)$$

여기서 3가지 반응치는 추출수율(Y), 대장균 억제직경(E), 황색포도상구균 억제직경(S)이고, 독립변수는 추출온도( $x_1$ )와 주정/초순수 부피비( $x_2$ )이다.

Figure 1은 CCD-RSM을 이용하여 2가지 독립변수에 대한 반응치 변화에 대한 등고선과 95% 신뢰구간 내의 분포도를 나타낸 그림이다. 그림에서 추출수율은 추출온도의 변화에 따른 증가폭이 나타나지 않으며, 주정/초순수 부피비에 따라서는 증가하다 다시 감소하였다. 대

장균과 황색포도상구균 억제직경의 경우에는 추출온도 변화에 큰 영향이 없었으며, 주정/초순수 부피비가 증가하면 증가하는 경향을 나타내었다[10]. 또한 13번의 실험을 통하여 얻은 추출수율, 대장균과 황색포도상구균의 억제직경에 대한 95% 신뢰구간에서의 통계학적 유의성을 확인하기 위하여 평균값, 표준편차(standard deviation, SD), AD (Anderson-Darling) 등에 의거하여 분포도의 신뢰성을 분석하였다. 표준편차는 실험결과의 분산상태를 나타내는 값으로 표준편차가 작을수록 실험 데이터들의 분산분포가 좁아지는 것을 의미한다. AD는 실험결과의 예상분포 구간에서 분포균일성을 나타내며, AD가 클수록 분포구간 내 실험결과의 불균일함을 의미한다[11]. 독립변수인 추출수율(평균값 = 12.88, 표준편차 = 0.7313, AD = 0.437), 대장균 억제직경(평균값 = 10.83, 표준편차 = 0.8920, AD = 0.475), 황색포도상구균의 억제직경(평균값 = 8.554, 표준편차 = 0.7986, AD = 0.839)로 산출되었다. 위 데이터는 통계학적 분포이론에 근거하여 합리적인 수치에 해당되는 것이 확인되며 산출된 데이터들이 정규분포에 따른다고 볼 수 있다[12].

Table 2. CCD-RSM Variance Analysis of Regression Coefficients of the Various Response Values of *Abies holophylla* Needle Extracts

| Source      | Yield [%] |         | <i>E.coli</i> [mm] |         | <i>S.aureus</i> [ mm] |         |
|-------------|-----------|---------|--------------------|---------|-----------------------|---------|
|             | F-value   | P-value | F-value            | P-value | F-value               | P-value |
| Module      | 13.27     | 0.002   | 17.2               | 0.001   | 23.56                 | 0.000   |
| $x_1$       | 0.57      | 0.473   | 0.000              | 0.965   | 0.26                  | 0.624   |
| $x_2$       | 4.88      | 0.063   | 35.34              | 0.001   | 52.39                 | 0.000   |
| $x_1^2$     | 1.24      | 0.302   | 4.03               | 0.085   | 8.66                  | 0.022   |
| $x_2^2$     | 60.86     | 0.000   | 48.25              | 0.000   | 51.88                 | 0.000   |
| $x_1x_2$    | 0.000     | 1.000   | 1.19               | 0.311   | 9.17                  | 0.019   |
| Lack of fit | 2.75      | 0.177   | 0.58               | 0.657   | 0.94                  | 0.501   |
| $R^2$       | 90.45     |         | 92.47              |         | 94.39                 |         |

전나무 잎의 추출과정의 CCD-RSM 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. *F*-value는 회귀 모델 전체의 유의성을 평가하는 통계량이며, 값이 클수록 데이터의 유의성을 가지고 있다는 것을 판단하며, *P*-value는 귀무가설의 기각 여부를 나타내는 지표이며, 개별 회귀 계수의 값이 작을수록 귀무가설을 기각하고 대립가설을 채택할 가능성이 높다는 것을 알 수 있으며, *F*-value는 클수록 모델 전체의 유의성을 나타내며, *P*-value는 작을수록 개별 회귀 계수의 유의성을 나타낸다. 따라서 두 값의 통계적 검정을 통하여 실험결과의 신뢰성을 판단한다. 교호효과는 두 개 이상의 독립변수가 함께 작용하여 종속 변수에 미치는 영향을 의미한다. 주효과도는 각 독립 변수가 종속 변수에 미치는 평균적인 효과를 나타내며 값이 클수록 그 미치는 효과가 크다고 판단한다[13]. 각 독립변수에 따른 추출수율에 대한 *F*-value는 각각 0.57, 4.88이고, *P*-value는 각각 0.473, 0.063이며, 따라서 추출온도에 비해 주정/초순수 부피비의 *F*-value가 보다 작고 *P*-value는 보다 크기 때문에 추출수율에 대한 주정/초순수 부피비가 주효과도로 분석되었다. 또한 교호효과도는 (추출온도 × 주정 / 초순수 부피비)로 표현되며, *F*-value는 1.24, *P*-value는 0.302이다. 본 연구에서 결정계수( $R^2$ )는 90.5%이었다. 대장균 억제직경에 대한 *F*-value는 각각 0.001, 35.34이고, *P*-value는 각각 0.965, 0.001 이다. 따라서 추출온도에 비해 주정/초순수 부피비의 *F*-value가 보다 작고 *P*-value는 보다 크기 때문에 추출수율에 대한 주정/초순수 부피비가 주효과도로 분석되었다. 또한 교호효과도의 *F*-value는 4.03, *P*-value는 0.085이다. 본 연구에서 결정계수( $R^2$ )는 92.5%이었다. 황색포도상구균 억제직경에 대한 *F*-value는 각각 0.26, 52.39이고, *P*-value는 각각 0.624, 0.001이다. 따라서 추출온도에 비해 주정/초순수 부피비의 *F*-value가 보다 작고, *P*-value는 보다 크기 때문에 황색포도상구균 억제직경에 대한 주정/초순수 부피비가 주효과도로 분석되었다. 또한 교호효과도의 *F*-value는 8.66, *P*-value는 0.022이다. 본 연구에서 결정계수( $R^2$ )는 94.4%이었다.

Table 1의 잣나무 잎 추출실험 결과를 바탕으로 CCD-RSM을 이용하여 최적화 분석결과에 따른 각 반응치에 대한 2차 회귀방정식을 식 (5)~(7)에 나타내었다.

$$Y = -16.02 + 0.429x_1 + 0.2233x_2 - 0.00475x_1^2 - 0.002417x_2^2 + 0.002000x_1x_2 \quad (5)$$

$$E = -17.78 + 0.6590x_1 + 0.1635x_2 - 0.005450x_1^2 - 0.001161x_2^2 - 0.000000x_1x_2 \quad (6)$$

$$S = -35.9 + 1.019x_1 + 0.640x_2 - 0.01237x_1^2 - 0.007642x_2^2 + 0.00577x_1x_2 \quad (7)$$

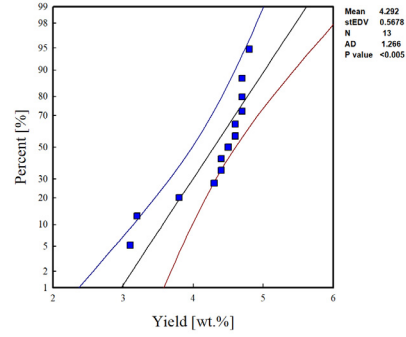
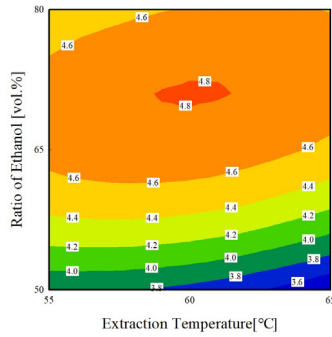
Figure 2는 CCD-RSM을 이용하여 2가지 독립변수에 대한 반응치 변화에 대한 등고선과 95% 신뢰구간 내의 분포도를 나타낸 그림이다. 등고선 그래프에서 추출수율은 추출온도에 따라 영향이 없었으며, 주정/초순수 부피비가 증가함에 따라 증가하다 다시 감소하였다. 대장균 억제직경의 경우에도 추출온도 의존성은 작았으며, 주정/초순수 부피비가 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였다. 또한 황색포도상구균 억제직경의 경우에는 추출온도가 낮을수록 증가하고, 주정/초순수 부피비가 증가함에 따라 증가하다 다시 감소하였다. 잣나무 잎 추출물의 추출수율 및 대장균과 황색포도상구균 억제직경에 대한 95% 신뢰구간 내의 분포도에 의한 독립변수에 따른 평균값, 표준편차, AD, *P*-value는 각각 추출수율(평균값 = 4.292, 표준편차 = 0.5678, AD = 1.266), 대장균 억제직경(평균값 = 7.615, 표준편차 = 0.2672, AD = 0.981), 황색포도상구균 억제직경(평균값 = 11.27, 표준편차 = 1.420, AD = 0.981)로 산출되었다. 이는 통계학적 분포이론에 근거하여 합리적인 수치범위에 해당되는 것이 확인되며, 산출된 데이터들이 정규분포에 따른다고 볼 수 있다[14].

잣나무 잎의 반응표면분석 결과를 Table 3에 나타내었으며, 추출수율의 교호효과는 *F*-value는 22.3, *P*-value는 0.002이고, 주정/초순수 부피비의 *F*-value가 가장 크고 *P*-value가 가장 작기 때문에 주정/초순수 부피비가 주효과도로 분석된다. 대장균 억제직경의 교호효과는 *F*-value는 11.67, *P*-value는 0.011이고, 주정/초순수 부피비의 *F*-value가 가장 크고 *P*-value가 가장 작기 때문에 주정/초순수 부피비가 주효과도로 분석된다. 황색포도상구균 억제직경의 교호효과는 *F*-value는 8.13, *P*-value는 0.025이고, 주정/초순수 부피비의 *F*-value가 가장 크고 *P*-value가 가장 작기 때문에 주정/초순수 부피비가 주효과도로 분석된다. 각 반응치에 결정계수는 추출수율은 96.1%, 대장균 억제직경은 97.7%, 황색포도상구균 억제직경은 95.6%로 나타났다.

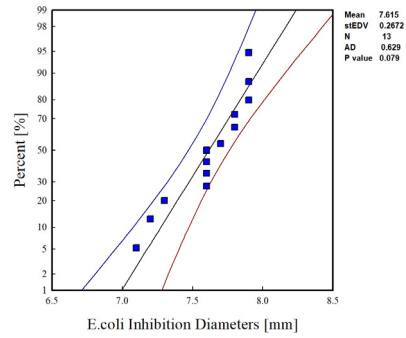
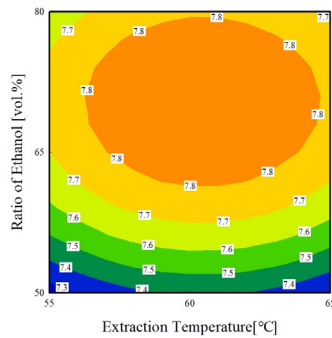
### 3.2. CCD-RSM을 이용한 최적화

전나무와 잣나무 잎 추출과정에서 추출온도와 주정/초순수 부피비를 CCD-RSM에서 독립변수로 설정하고 추출수율과 대장균 억제직경과 황색포도상구균 억제직경을 반응치로 설정하여 추출과정에 대한 최적화연구를 진행하였다. CCD-RSM 분석 결과에 따라 두 개 독립변수를 종합 고려하여 전나무 잎 추출물의 종합만족도 그래프를 보면

(a) Extraction yield



(b) E.coli inhibition diameter



(c) S.aureus inhibition diameter

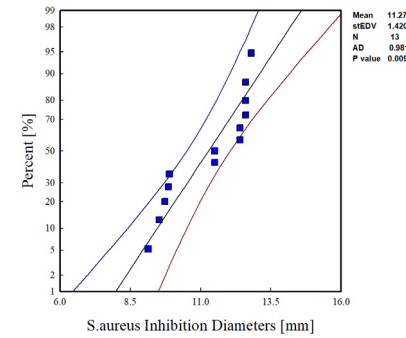
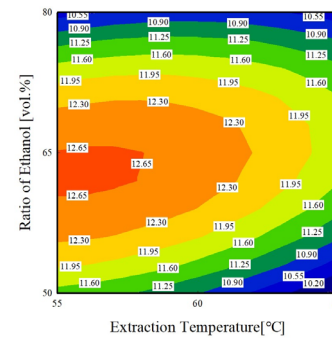


Figure 2. Contour graph and Scatter plot of in 95% confidence interval of extraction yield, *E. coli* and *S. aureus* inhibition diameter of *Pinus koraiensis* needle extracts.

Table 3. CCD-RSM Variance Analysis of Regression Coefficients of the Various Response Values of *Pinus koraiensis* Needle

| Source      | Yield [%] |         | <i>E. coli</i> [mm] |         | <i>S. aureus</i> [mm] |         |
|-------------|-----------|---------|---------------------|---------|-----------------------|---------|
|             | F-value   | P-value | F-value             | P-value | F-value               | P-value |
| Module      | 34.41     | 0       | 60.67               | 0       | 30.23                 | 0       |
| $x_1$       | 1.22      | 0.307   | 1.81                | 0.22    | 10.87                 | 0.013   |
| $x_2$       | 70.73     | 0       | 102.82              | 0       | 0.7                   | 0.431   |
| $x_1^2$     | 4.54      | 0.071   | 46.77               | 0       | 4.35                  | 0.075   |
| $x_2^2$     | 95.17     | 0       | 171.95              | 0       | 134.37                | 0       |
| $x_1x_2$    | 4.16      | 0.081   | 0                   | 1       | 4.89                  | 0.063   |
| Lack of fit | 8.75      | 0.031   | 0.81                | 0.549   | 28.43                 | 0.004   |
| $R^2$       | 96.09     |         | 97.74               |         | 95.57                 |         |

독립변수인 추출온도와 주정/초순수 부피비는 각각 61.2 °C, 67.4 vol.%로 나타났으며, 이 조건에서 추출수율과 대장균과 황색포도상구균 억제직경은 각각 13.5%, 11.6 mm, 9.3 mm로 나타났다. 잣나무 잎 추출물의 종합만족도 그래프를 보았을 때 추출온도와 주정/초순수 부

피비는 각각 59.2 °C, 67.8 vol.%로 나타났으며, 이 조건에서 추출수율과 대장균과 황색포도상구균 억제직경은 각각 4.8%, 7.9 mm, 12.5 mm로 산출되었다. 전나무와 잣나무 잎 추출물 과정의 종합만족도 그래프에서 추출수율과 대장균과 황색포도상구균의 억제직경 실험그래

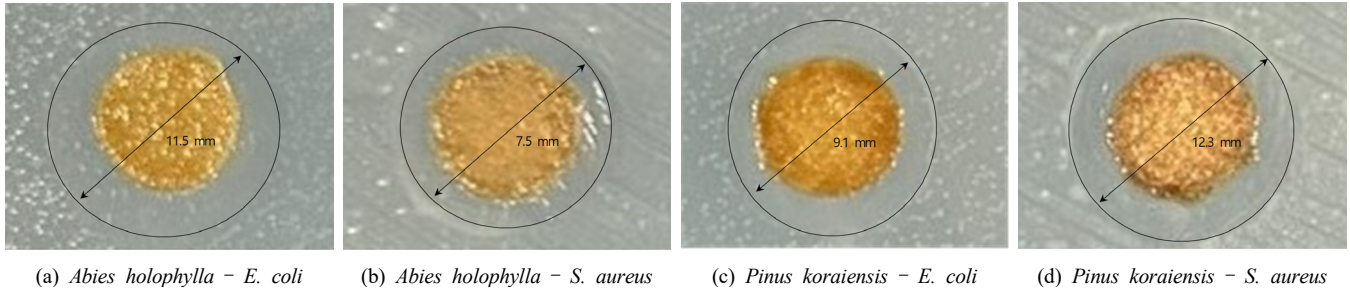


Figure 3. Comparison of the inhibition diameters against *E. coli* and *S. aureus* for *Abies holophylla* and *Pinus koraiensis* needles extracts.

프 모두 독립변수의 최적값과 반응치의 최적값을 포함하기에 본 조건에서 종합적인 분석의 최적결과를 얻을 수 있고, 또한 종합만족도는 0.9555이기에 본 실험의 예상결과는 나타난 독립변수의 값에서 실험했을 때 반응치의 값이 최적의 값으로 나올 가능성이 매우 높다고 볼 수 있다[15].

Figure 3은 디스크 확산법을 이용하여 최적조건에서 전나무 잎과 잣나무 잎 추출물의 대장균과 황색포도상구균의 억제직경을 측정 한 사진이다. 전나무 잎 추출물의 대장균과 황색포도상구균 억제직경은 각각 11.5 mm, 9.1 mm이고, 잣나무 잎 추출물의 대장균과 황색포도상구균 억제직경은 각각 7.5 mm, 12.3 mm이었으며, 전나무와 잣나무 잎 추출물의 항균능 측정 결과 평균 오차율은 각각  $\pm 2.3\%$ ,  $\pm 4.23\%$ 로 나타났다. 전나무와 잣나무 잎 추출물의 항균특성이 대장균과 황색포도상구균에 대해 다르게 나타났다. 이는 추출된 기능성 물질이 다르기 때문으로 전나무 추출물의 경우 주성분인  $\alpha$ -bisabolol과 bornyl acetate가 대장균에 대한 항균특성이 우수하기 때문이다[16]. 잣나무 추출물의 기능성 물질로는 3-carene, camphene, limonene 등이 있으며, terpene hydrocarbon 함유량이 많아 황색포도상구균에 대한 항균특성이 우수하게 나타났다[17].

#### 4. 결 론

전나무와 잣나무 잎 추출물의 대장균과 황색포도상구균 억제직경을 기준으로 추출과정을 진행하였다. CCD-RSM을 이용하여 전나무와 잣나무 잎의 항균활성물질의 추출과정을 최적화한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 전나무 잎 추출물의 CCD-RSM 최적화 분석 결과 추출수율, 대장균과 황색포도상구균 억제직경을 모두 만족하는 최적 조건은 추출온도(59.5 °C)와 주정/초순수 부피비(69.5 vol.%)로 산출되었으며, 이 조건에서의 반응치는 추출수율(13.5%), 대장균 억제직경(11.6 mm), 황색포도상구균 억제직경(9.3 mm)이었다. 이 조건에서 실제실험 결과는 추출수율(13.0%), 대장균 억제직경(11.5 mm), 황색포도상구균 억제직경(9.1 mm)로 측정되어 오차율은 각각  $\pm 3.8\%$ ,  $\pm 0.9\%$ ,  $\pm 2.2\%$ 로 나타났다.

2. 잣나무 잎 추출물의 CCD-RSM 최적화 분석 결과 최적 추출온도는 59.2 °C이고, 주정/초순수 부피비가 67.8 vol.%이었으며, 이 조건에서 추출수율(4.8%), 대장균 억제직경(7.9 mm), 황색포도상구균 억제직경(12.5 mm)로 산출되었다. 실제 실험 결과 추출수율(5.1%), 대장균 억제직경(7.5 mm), 황색포도상구균 억제직경(12.3 mm)으로 측정되어 오차율은 각각  $\pm 6.0\%$ ,  $\pm 5.1\%$ ,  $\pm 1.6\%$ 로 나타났다.

3. 전나무와 잣나무 잎 추출물의 항균특성 실험 결과 대장균 억제직경의 경우 전나무 잎 추출물(11.5 mm) > 잣나무 잎 추출물(7.5 mm)로

나타났으며, 황색포도상구균 억제직경의 경우에는 잣나무 잎 추출물(12.3 mm) > 전나무 잎 추출물(9.1 mm)로 나타났다.

#### References

1. I. S. Chang, Present and future of functional cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **29**, 149-177 (2003).
2. E. Y. Choi and Y. J. Kim, The effect of grapefruit seed extract by cosmetic preservatives, *J. Invest. Cosmetol.*, **8**, 241-251 (2010).
3. K. H. Nam, K. Y. Joo, E. H. Choi, J. B. Jung, and P. S. Park, Distribution and natural regeneration of *Abies holophylla* in plantations in gapyeong, *J. Korean Soc. For. Sci.*, **110**, 341-354 (2021).
4. J. E. Kim, W. Y. Kim, J. W. Kim, H. S. Park, S. H. Lee, S. Y. Lee, M. J. Kim, A. R. Kim, and S. N. Park, Antibacterial, antioxidative activity and component analysis of *Pinus koraiensis* leaf extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **36**, 303-314 (2010).
5. H. S. Sung, J. O. Kang, M. A. Lee, J. W. Lee, H. K. Lee, M. K. Lee, J. H. Lim, and M. N. Kim, Clarithromycin and amoxicillin susceptibility testing of *Helicobacter pylori* by disk diffusion method, *Ann. Clin. Microbiol.*, **12**, 30-36 (2009).
6. S. B. Lee, H. S. Jang, and I. K. Hong, Optimization of extraction process for antioxidant from Persimmon leaf and thistle using response surface methodology, *Appl. Chem. Eng.*, **28**, 442-447 (2017).
7. G. H. Ryu and J. P. Remon, Extraction yield of extruded ginseng and granulation of its extracts by cold extrusion-spheronization, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **33**, 899-904 (2004).
8. W. H. Moon and K. D. Yook, Antimicrobial effect of garlic extract against pathogenic bacteria, *J. Digit. Converg.*, **12**, 477-484 (2014).
9. H. S. Jang, X. Ma, and S. B. Lee, Preparation of cosmeceuticals containing wheat sprout extracts: Optimization of emulsion stability using CCD-RSM, *Appl. Chem. Eng.*, **32**, 320-325 (2021).
10. K. H. Lee, A. J. Kim, and M. J. Kim, Optimization of roasting condition to improve quality of freeze-dried silkworms using RSM, *Asian J. Beauty Cosmetol.*, **18**, 95-106 (2020).
11. C. Pan, G. Kora, W. H. McDonald, L. T. David, C. V. Nathan, B. H. Gregory, A. P. Dale, F. S. Nagiza, and L. H. Robert, ProRata: A quantitative proteomics program for accurate protein abundance ratio estimation with confidence interval evaluation, *Anal. Chem.*, **78**, 7121-7131 (2006).
12. D. Bertašius, K. N. Nechval, N. A. Nechval, M. Purgailis, and K. Rozite, Optimization of yield management under constraints and uncertainty via statistical inference equivalence principle, *Appl. Econ. Syst. Res.*, **1**, 91-102 (2007).

13. J. R. Pycke, Multivariate extensions of the Anderson-Darling process, *Stat. Probabil. Lett.*, **63**, 387-399 (2003).
14. J. C. Park and M. G. Kim, Comparative analysis of the TPTT, MPMT and RSM models, *Korean Chem. Eng. Res.*, **26**, 194-204 (1988).
15. I. K. Hong, Microwave mediated production of fame from waste cooking oil: Optimization of process parameters by RSM, *Appl. Chem. Eng.*, **31**, 172-178 (2020).
16. E. S. Seong, S. K. Kim, J. W. Lee, S. H. Choi, J. H. Yoo, J. D. Lim, J. K. Na, and C. Y. YOO, Antioxidant and antibacterial activities of the byproducts of *Abies holophylla* extract, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **26**, 134-140 (2018).
17. H. J. Hwang, J. S. Yu, H. Y. Lee, D. J. Kwon, W. Han, S. Il. Heo, and S. Y. Kim, Evaluations on deodorization effect and anti-oral microbial activity of essential oil from *Pinus koraiensis*, *Korean J. Plant Res.*, **27**, 1-10 (2014).

**Authors**

Young Woo Choi; B.Sc., Graduate Student, Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea; 72211666@dankook.ac.kr

Seung Bum Lee; Ph.D., Professor, Department of Chemical Engineering, Dankook University, Gyeonggi 16890, Korea; leesb@dankook.ac.kr