

## 침엽수 잎과 구과 추출물의 생리활성

강소담 · 임상휘 · 김주성

# Physiological activity of extracts from softwood needles and cones

Sodam Kang · Sang Hwi Im · Ju-Sung Kim

Received: 24 October 2023 / Revised: 25 October 2023 / Accepted: 25 October 2023 / Published: 7 November 2023

© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** Although softwoods are widely distributed in Korea and used in various industries, studies are limited and comparative research on softwoods has been overlooked. Therefore, in this study, the physiological activity of four species of softwoods found in Korea was quantified. Needles and cones of *Pinus densiflora*, *Chamaecyparis obtusa*, *Cryptomeria japonica*, and *Abies koreana* were collected, and material was extracted using 70% methanol. We quantified the following physiological traits: total phenol and flavonoid content, antioxidant activity (DPPH, TEAC, FRAP), and inhibitory activity of the enzymes  $\alpha$ -glucosidase, elastase, and tyrosinase. Total phenol and flavonoid contents and antioxidant activities were high in *Chamaecyparis obtusa* and *Cryptomeria japonica*, and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity was highest in the leaves of *Chamaecyparis obtusa*. Elastase inhibitory activity was high in the leaves and cones of *Pinus densiflora* and the cones of *Abies koreana*, and tyrosinase inhibitory activity was highest in the leaves of *Pinus densiflora*. In Korea, softwoods are planted extensively on roadsides and as windbreaks, and they are highly competitive in supplying raw materials since they are pruned every year. Based on the results of this study, softwoods are considered suitable for use in healthcare products, diabetes products, wrinkles, and whitening cosmetics.

**Keywords** Antioxidant activity, Elastase, Total phenol, Tyrosinase,  $\alpha$ -Glucosidase

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this paper.

S. Kang<sup>†</sup> · S. H. Im<sup>†</sup> · J.-S. Kim (✉)  
제주대학교 식물자원환경전공  
(Major in Plant Resource and Environment College of  
Agriculture and Life Science, Jeju National University, Jeju  
63243, Korea)  
e-mail: aha2011@jejunu.ac.kr

## 서론

침엽수는 겉씨식물 중 구과식물에 속하는 나무로 바늘 모양의 잎을 가지고 있으며, 잎의 모양이 뾰족하기 때문에 가뭄에 강한 것으로 알려져 있다(Du et al. 2020). 독특한 향을 가지고 있어서 고급 목재로 이용되며, 성장이 빠르고 저렴하다는 장점이 있어서 방풍림이나 건축 소재로의 활용성이 높다(Farjon 2018; Yang et al. 2019). 대표적인 침엽수로는 구상나무와 삼나무, 편백나무 및 소나무 등이 있으며, 다양한 테르페노이드 성분(isoprene, camphene, limonene 등)을 함유하고 있다(Kopaczyk et al. 2020).

구상나무(*Abies koreana*)는 한국 고유종으로 소나무과의 식물이며 아고산 지대에 한정 분포하고 있다(Kong 2006). 구상나무의 분포지역은 매우 제한적이며 기후변화로 인해 개체수가 감소하고 있기 때문에 국제자연보호연맹(International Union for Conservation of Natural Resources, IUCN)에 의해 멸종위기종으로 분류되었다(Kim et al. 2011b; Kim et al. 2017a). 현재까지는 구상나무의 생육 특성과 서식지 감소 원인 등을 규명하는 연구가 진행되어 왔지만, 최근에는 구상나무의 효능을 입증하여 활용하고자 하는 연구가 진행되고 있다(Koo and Kim 2020; Song et al. 2018).

삼나무(*Cryptomeria japonica*)는 일본에서 도입된 수종으로 조림과 방풍림 조성을 위해 남부지방과 제주도에 많이 식재되었다. 2000년대 초반까지 조림이나 생장특성, 생장모델에 대한 연구가 주를 이뤘으나, 삼나무의 화분 알레르기가 알려지면서 삼나무 벌채와 활용 방안에 대한 관심이 높아지고 있다(Kim et al. 2017b; Lee et al. 2006).

편백나무(*Chamaecyparis obtusa*)는 노송나무, 회목(檜木)이라고도 불리며 주로 한반도의 남부지역과 제주도에 자생한다. 가구 및 건축 목재로의 활용도가 높고, 잎에는 특유의 향과 정유 성분 함량이 높기 때문에 오일로 추출하여 사용하고 있다(Lim et al. 2013). 최근에는 kaempferol과 quercetin 성분이

확인되었고 항균과 미백 등의 효능이 밝혀지면서 화장품 산업에서 활용되고 있다(Bajpai et al. 2014; Jung 2020; Lee et al. 2012).

소나무(*Pinus densiflora*)는 한국, 중국, 일본에 널리 분포하는 대표적인 침엽수이며, 우리나라 전체 산림면적 중 약 25% 이상을 차지한다(Korea Forest Service 2022). 수세기 동안 동아시아 전역에서 식품으로 섭취해왔으며, 화장품과 식품 원료로 개발하기 위한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다(Ji et al. 2021; Kim and Chung 2000; Park et al. 2021). 특히 프랑스 해안지방에서 자라는 소나무를 추출하여 제조한 피크노제놀(pycnogenol)은 천연 항산화제로서 효능을 인정받아 국제적으로 판매되고 있다(Kim et al. 2012).

현재 우리나라의 산림면적은 전체 국토의 63.6%인 6,318,007 ha로, 이 중 침엽수가 약 37% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있다(Kang et al. 2019). 이처럼 침엽수는 우리나라 전국토에 걸쳐서 넓게 분포하고 있고 식품, 목재, 화장품 등으로 활용하기 위한 연구가 진행되고 있다. 하지만 대부분의 연구는 개별 원료에 대해서만 집중되어 있고 침엽수 간의 비교 분석에 관한 연구는 상대적으로 적은 상황이다. 따라서 본 실험에서는 구상나무와 삼나무, 편백나무 및 소나무의 잎과 구과를 70% 메탄올로 추출한 후 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화 활성,  $\alpha$ -glucosidase, elastase, tyrosinase 저해활성 등의 실험을 진행하였다. 이를 통해 침엽수 간의 효능을 비교 분석할 수 있었으며, 실험결과를 정리하여 산업적으로 활용할 수 있는 기초 데이터를 제시하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 편백나무와 소나무, 삼나무는 제주대학교 캠퍼스 내에서 채취하였고 구상나무는 한라생태숲에서 채취하였다. 각 나무의 잎과 구과는 열풍건조기(PFC-P0-91, Nihon-freezer, Namyangju, Korea)를 사용하여 건조 후 분쇄하여 실험 시료로 사용하였다.

### 침엽수 추출물 제조

침엽수 시료를 각각 25 g씩 취하고 300 mL의 70% 메탄올을 가해 초음파세척기(POWERSONIC520, Hwashin Tech, Korea)를 이용하여 1시간 동안 추출하였고 이 과정을 3회 반복하여 추출하였다. 이후 buchner funnel과 진공펌프를 가지달린 플라스크에 연결해 압력을 가하여 filter paper로 여과하는 과정을 3회 반복하고, 이 용액을 회전식 감압농축기(Hei-VAP Precision, Heidolph, Schwabach, Germany)를 이용해 농축하였다. 농축액은 동결건조 후 농도별로 만들어 실험을 진행하였으며 모든 과정은 3번 반복하였다.

### 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량의 측정은 Folin-Denis의 방법을 활용하여 측정하였다(Singleton et al. 1999). 침엽수 추출물 20  $\mu$ L에 700  $\mu$ L의 증류수를 혼합하고 folin ciocalteu를 100  $\mu$ L씩 가한 후 암 조건에서 2시간 동안 반응하였다. 이후 100  $\mu$ L씩 20% sodium carbonate를 가하여 1시간 동안 정치한 뒤 750 nm에서 microplate reader (i-Mark 168-1135, Bio-Rad, USA)를 사용해 흡광도 값을 측정하였다. 총 페놀 함량은 표준물질인 gallic acid를 기준으로 하여 표준검량곡선을 작성하여 gallic acid equivalent (GAE)로 나타내었다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Im과 Kim (2022b)의 방법을 사용하여 분석하였다. 침엽수 추출물 100  $\mu$ L에 300  $\mu$ L의 에탄올과 20  $\mu$ L의 10% aluminum nitrate, 20  $\mu$ L 1M potassium acetate를 혼합하고 증류수 560  $\mu$ L를 혼합액에 가해 1시간 정치하였다. 그 후 415 nm에서 microplate reader를 사용해 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 표준물질인 quercetin을 이용해 표준검량곡선을 작성해 quercetin equivalent (QE)로 나타내었다.

### DPPH radical 소거 활성 측정

침엽수 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능은 Im과 Kim (2022b)의 방법을 변형하여 측정하였다. 암조건에서 메탄올에 용해시켜 농도가 0.15 mM인 DPPH 160  $\mu$ L를 침엽수 추출물 40  $\mu$ L과 혼합하여 30분간 반응시켰다. 이후 490 nm의 파장에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.  $RC_{50}$  값은 DPPH 농도를 50% 감소시키는 시료양을 기준으로 추출물의 DPPH radical 소거능을 계산하여 항산화능을 측정하였다. 또한 추출물의 양성대조군으로 butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하여 DPPH radical 소거능을 비교하였다.

### Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 측정

TEAC는 Im과 Kim (2022b)의 방법을 변형하여 측정하였다. 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 암소에서 24시간 동안 반응하여 ABTS radical을 생성시키고 실험에 사용하기 직전에 750 nm 파장에서  $0.70 \pm 0.02$ 가 되도록 ABTS radical 용액에 증류수를 넣어 희석하였다. 그 다음 ABTS radical 혼합용액 200  $\mu$ L와 각 추출물 10  $\mu$ L를 혼합하여 5분간 반응하고 750 nm에서 microplate reader 사용해 흡광도를 측정하였다. Trolox를 표준물질로 이용해 표준검량곡선을 작성해 건조 시료 1 g당 trolox 농도(mM TE/g)로 나타내었다.

### Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 측정

침엽수 추출물의 FRAP 측정은 Im과 Kim (2022b)의 방법을 변형하여 측정하였다. 실험 직전에 10:1:1 비율로 300 mM의 sodium acetate buffer (pH 3.6)와 20 mM의 FeCl<sub>3</sub> 그리고 10 mM의 2,4,6-tripyridyls-triazine (TPTZ)를 혼합하였고 그 후 37°C에서 15분간 반응시키고 595 nm에서 microplate reader를 통해 흡광도 값을 측정하였다. 표준검량곡선은 FeSO<sub>4</sub>를 이용해 표준검량곡선을 작성하고 시료 1 g당 FeSO<sub>4</sub>의 환원력 (mMFE/g)으로 나타내었다.

### α-Glucosidase 저해활성 측정

침엽수 추출물의 α-glucosidase 저해활성은 Ko 등(2017)의 방법을 사용하여 α-D-glucopyranoside (pNPG)를 통해 저해 활성을 측정하였다. 20 μL의 추출물에 α-glucosidase (0.5 U/mL) 50 μL와 20 mM potassium phosphate buffer (pH 6.8) 120 μL를 혼합하여 37°C의 incubator에서 10분 동안 배양하였다. 10분이 지난 뒤 혼합한 용액에 10 μL의 pNPG를 가한 뒤 30분간 반응시키는 과정을 거쳤다. 그 후 이 용액에 100 μL의 0.1 M sodium carbonate를 가하여 반응을 정지시키고 415 nm에서 microplate reader를 사용해 흡광도를 측정하였다. 결과는 흡광도를 통해 추출물의 저해율을 구해 GIC<sub>50</sub>으로 나타내었으며 이는 α-glucosidase의 활성을 50% 저해하는데 필요한 샘플의 양을 나타낸 것이다.

### Elastase 저해활성 측정

침엽수 추출물의 elastase 저해활성은 Ko 등(2018)의 방법을 사용하여 측정하였다. 20 μL의 추출물에 50 mM Tris HCl buffer (pH 8.0) 120 μL를 가하고 elastase 10 μL와 1 mM N-succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide 50 μL를 혼합하여 37°C의 incubator에서

20분 동안 배양하였다. 그 후 415 nm에서 microplate reader를 사용해 흡광도를 측정하였다. 결과는 흡광도를 통해 추출물의 저해율을 구해 EIC<sub>50</sub>으로 나타내었으며 이는 elastase의 활성을 50% 저해하는데 필요한 샘플의 양을 나타낸 것이다.

### Tyrosinase 저해활성 측정

침엽수 추출물의 tyrosinase 저해활성 측정은 Ko 등(2017)의 방법을 사용하여 측정하였다. 증류수, 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5), 1 mM L-tyrosine을 9:10:10 비율로 섞은 혼합액 170 μL와 추출물 10 μL를 혼합한 후 1 KU/mL tyrosinase from mushroom 20 μL를 가하여 37°C incubator에서 20분간 반응시켰다. 이후 490 nm에서 microplate reader를 사용하여 흡광도를 측정하였고, tyrosinase의 활성을 50% 저해하는데 필요한 샘플의 양인 TIC<sub>50</sub>으로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

#### 총 페놀 및 플라보노이드 함량

침엽수에서의 총 페놀 함량은 97.59–222.72 mg GAE/g 범위에서 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 24.19–65.77 mg QE/g 범위에서 측정되었다(Table 1). 침엽수 잎의 총 페놀 함량은 편백나무 잎에서 222.72 mg GAE/g으로 매우 높은 함량을 나타내었고 그 다음으로 구상나무 잎에서 149.12 mg GAE/g으로 높은 값을 보여주었다. 삼나무 잎과 소나무 잎에서는 각각 125.44 mg GAE/g, 115.64 mg GAE/g으로 큰 차이를 나타내지는 않았다. 구과에서는 잎과 마찬가지로 편백나무 구과에서 가장 높은 값인 162.91 mg GAE/g을 확인할 수 있었고, 삼나무 구과(140.37 mg GAE/g)에서 그 다음으로 높게 나타났다. 침엽수 잎의 총 플라보노이드 함량은 삼나무 잎에

**Table 1** Total phenol and total flavonoid contents (mean ± SD) of the needles and cones of four species of softwood

	Groups	Total phenol (mg GAE/g) <sup>z</sup>	Total flavonoid (mg QE/g) <sup>x</sup>
Needles	<i>Pinus densiflora</i>	115.64 ± 11.66 <sup>c</sup>	28.61 ± 2.16 <sup>e</sup>
	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	222.72 ± 6.88 <sup>a</sup>	55.17 ± 1.24 <sup>b</sup>
	<i>Abies koreana</i>	149.12 ± 9.13 <sup>bc</sup>	46.29 ± 2.33 <sup>c</sup>
	<i>Cryptomeria japonica</i>	125.44 ± 5.74 <sup>dc</sup>	62.37 ± 2.23 <sup>a</sup>
Cones	<i>Pinus densiflora</i>	98.24 ± 6.71 <sup>f</sup>	39.18 ± 3.71 <sup>d</sup>
	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	162.91 ± 6.35 <sup>b</sup>	24.19 ± 1.28 <sup>e</sup>
	<i>Abies koreana</i>	97.59 ± 6.56 <sup>f</sup>	50.11 ± 3.70 <sup>bc</sup>
	<i>Cryptomeria japonica</i>	140.37 ± 8.96 <sup>cd</sup>	65.77 ± 2.81 <sup>a</sup>

Letters (a-f) in the same column indicate significant differences between species at  $p < 0.05$  according to Duncan's multiple range tests. Values are the average of triplicate measurements.

<sup>z</sup>Total phenol content analyzed as milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per gram of extract.

<sup>x</sup>Total flavonoid content analyzed as milligrams of quercetin equivalent (QE) per gram of extract.

서 62.37 mg QE/g으로 가장 높은 값을 보여주고 있고 그 다음으로는 편백나무 잎(55.17 mg QE/g), 구상나무 잎(46.29 mg QE/g), 소나무 잎(28.61 mg QE/g) 순서로 측정되었다. 구과의 경우 삼나무 구과에서 65.77 mg QE/g으로 높은 함량을 보여 주었고 편백나무 구과에서 24.19 mg QE/g으로 낮은 함량을 나타내었다. 페놀 함량과 플라보노이드 함량은 서로 높은 상관관계가 있는 것으로 알려져 있으나 본 실험에서의 삼나무 잎과 구과는 다른 경향을 나타내고 있으며, 총 페놀 함량과는 다르게 총 플라보노이드 함량에서 가장 높은 값을 보여 주고 있다(Im and Kim 2022a). 이는 다른 실험군에 비해 플라보노이드 성분이 더 많이 추출된 것으로 생각되며, Kim 등 (2017b)의 연구에서도 삼나무 메탄올 추출물에는 플라보노이드 구조를 가진 화합물이 다량 함유되어 있는 것을 확인하였다. 또한 편백나무 구과는 총 페놀 함량에서 매우 높았지만 총 플라보노이드 함량 실험에서는 가장 낮다는 점을 고려했을 때 편백나무 구과에 함유된 페놀 화합물은 다른 실험군보다 비플라보노이드 계열 성분이 많이 들어있는 것으로 보이며 추후 연구에서 HPLC를 이용한 성분 함량 비교가 필요할 것으로 생각된다.

항산화 활성

DPPH, TEAC, FRAP, ORAC 실험을 진행하여 침엽수 잎과 구과의 항산화 활성을 측정하였으며 실험 결과는 Table 2에 나타내었다. DPPH 실험은 침엽수 잎과 구과의 DPPH radical을 50% 저해하는데 필요한 농도인 RC<sub>50</sub> 값으로 표기하였다. 잎에서는 편백나무 잎에서 56.32 µg/mL로 가장 높은 활성이 확인되었고, 소나무 잎에서 저해활성이 가장 낮은 87.11 µg/mL로 나타났고, 구과에서는 편백나무 구과에서 63.98 µg/mL로 가장 높은 활성이 확인되었고, 구상나무 구과에서 저해

활성이 가장 낮은 109.85 µg/mL로 나타났고, 모든 추출물에서 양성대조군인 BHT보다 높은 항산화 활성을 보여주었고, 그 중 편백나무가 가장 활성이 높게 나타났다. TEAC 실험은 편백나무가 잎에서는 373.94 mM TE/g, 구과에서는 354.84 mM TE/g으로 가장 높은 값을 나타내었다. FRAP 실험은 앞선 실험과 마찬가지로 편백나무 잎과 구과에서 각각 1325.35 mM FeSO<sub>4</sub>/g, 1068.82 mM FeSO<sub>4</sub>/g으로 매우 높은 값을 나타내었고, 삼나무 잎과 구과에서는 874.14 mM FeSO<sub>4</sub>/g, 947.13 mM FeSO<sub>4</sub>/g으로 편백나무 다음으로 높은 환원력을 나타내었다. 항산화 실험 결과는 편백나무와 삼나무에서 라디칼 저해활성이 높은 경향을 보였으며 이는 총 페놀 함량과도 일치한다. 대체로 총 페놀 함량의 경향성은 항산화 실험과 유의적인 상관관계를 보인다는 연구결과가 있으며, 본 실험에서도 항산화 활성에 페놀성 화합물이 영향을 준 것으로 생각된다(Im and Kim 2022a). 또한 편백나무 구과의 경우 총 플라보노이드 함량은 가장 낮게 측정되었지만 항산화 활성은 매우 높다는 점을 고려했을 때 항산화 활성에 영향을 주는 비플라보노이드 계열 성분에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 생각한다.

α-Glucosidase 저해활성

α-Glucosidase는 다당류의 탄수화물을 단당류로 분해하는 소화와 흡수에 필수적인 효소로서 소장점막의 미세융모막에 존재하며 경구혈당강하제로 사용되고 있다(Kim et al. 2011a). 침엽수의 잎과 구과 추출물의 α-glucosidase 저해활성은 Table 3과 같다. α-Glucosidase 저해활성은 62.70-872.28 µg/mL의 범위로 소나무 잎과 편백나무 구과, 삼나무 구과를 제외한 모든 추출물에서 혈당강하제로 사용되는 acarbose (679.09 µg/mL)의 저해활성보다 높거나 비슷한 저해율을 나타내었다.

**Table 2** Antioxidant activity (mean ± SD) of the needles and cones of four species of softwood

	Groups	DPPH (RC <sub>50</sub> : µg/mL) <sup>z</sup>	TEAC (mM TE/g) <sup>x</sup>	FRAP (mM FeSO <sub>4</sub> /g) <sup>y</sup>
Needles	<i>Pinus densiflora</i>	87.11 ± 4.97 <sup>b</sup>	208.50 ± 7.30 <sup>cd</sup>	806.10 ± 17.30 <sup>e</sup>
	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	56.32 ± 5.76 <sup>c</sup>	373.94 ± 11.94 <sup>a</sup>	1325.35 ± 30.12 <sup>a</sup>
	<i>Abies koreana</i>	85.25 ± 4.91 <sup>b</sup>	239.11 ± 13.10 <sup>c</sup>	596.63 ± 18.57 <sup>f</sup>
	<i>Cryptomeria japonica</i>	80.68 ± 5.18 <sup>b</sup>	242.31 ± 12.41 <sup>c</sup>	874.14 ± 15.31 <sup>d</sup>
Cones	<i>Pinus densiflora</i>	106.24 ± 7.12 <sup>a</sup>	172.93 ± 26.65 <sup>d</sup>	523.03 ± 16.54 <sup>e</sup>
	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	63.98 ± 1.13 <sup>c</sup>	354.84 ± 26.79 <sup>a</sup>	1068.82 ± 24.29 <sup>b</sup>
	<i>Abies koreana</i>	109.85 ± 4.28 <sup>a</sup>	184.02 ± 23.17 <sup>d</sup>	456.39 ± 19.51 <sup>h</sup>
	<i>Cryptomeria japonica</i>	87.55 ± 3.81 <sup>b</sup>	282.02 ± 6.22 <sup>b</sup>	947.13 ± 40.10 <sup>c</sup>
Positive control	Butylated hydroxytoluene	281.43 ± 1.94 <sup>a</sup>		

Letters (a-h) in the same column indicate significant differences between species at *p* < 0.05 according to Duncan's multiple range tests. Values are the average of triplicate measurements.

<sup>z</sup>Amount required for a 50% reduction in DPPH free radicals.

<sup>x</sup>TEAC analyzed as millimoles of trolox equivalent (TE) per gram of extract.

<sup>y</sup>FRAP analyzed as millimoles of ferrous sulfate equivalent (FeSO<sub>4</sub>) per gram of extract.

특히 편백나무 잎(62.70  $\mu\text{g/mL}$ )에서 가장 높은  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 보였고, 그 다음으로는 구상나무 구과(253.84  $\mu\text{g/mL}$ )와 삼나무 잎(288.85  $\mu\text{g/mL}$ )에서 높은 저해활성을 나타내었다. Lee 등(2012)의 연구에서 편백나무 잎의 성분으로 taxifolin이 분리되었으며, taxifolin은  $\alpha$ -glucosidase에 대해 억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있기에 이러한 이유로 편백나무 잎의 활성이 가장 높았던 것으로 사료된다(Kwon et al. 2017; Liu et al. 2017). 본 실험에서 편백나무와 삼나무 모두 매우 높은  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 확인되었으므로 해당 조제품의 원료로서의 활용성이 매우 높을 것으로 생각한다.

### Elastase 저해활성

침엽수 잎과 구과의 elastase 저해활성은 Table 3과 같다. Elastase 저해활성은 48.86–1,070.04  $\mu\text{g/mL}$ 의 범위로 나타났다. 잎 부위에서는 소나무 잎(48.86  $\mu\text{g/mL}$ )이 가장 높은 저해활성을 보여주고 있으며 양성대조군으로 사용한 ursolic acid (31.79  $\mu\text{g/mL}$ )와 비슷한 저해활성을 보여주고 있다. 소나무 잎에는 elastase 효소를 저해하는 것으로 알려진  $\alpha$ -pinene, limonene 성분이 다량 들어있으며, 본 실험에서도 이러한 성분이 영향을 준 것으로 생각된다(Kim and Shin 2005; Kim et al. 2010). 소나무 잎 다음으로는 편백나무 잎과 삼나무 잎에서 각각 261.71  $\mu\text{g/mL}$ , 260.36  $\mu\text{g/mL}$ 으로 비슷한 활성을 나타내었고, 구상나무 잎에서는 1,070.04  $\mu\text{g/mL}$ 으로 저해활성이 가장 낮게 확인되었다. 구과 부위에서는 소나무 구과와 구상나무 구과에서 각각 85.10  $\mu\text{g/mL}$ , 90.40  $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높은

저해활성을 나타내었다. 이 결과를 통해 주름 개선 화장품의 원료로 이용될 수 있는 소나무 잎과 구과, 구상나무 구과에 대한 효능을 확인할 수 있었다.

### Tyrosinase 저해활성

침엽수 추출물의 tyrosinase 저해활성은 Table 3과 같다. Tyrosinase 저해활성은 0.66–2.47  $\mu\text{g/mL}$ 의 범위로 나타났다. 잎의 경우 소나무 잎의 활성이 0.66  $\mu\text{g/mL}$ 로 가장 높고 그 다음으로는 삼나무 잎(1.55  $\mu\text{g/mL}$ ), 편백나무 잎(2.13  $\mu\text{g/mL}$ ), 구상나무 잎(2.47  $\mu\text{g/mL}$ ) 순서로 나타났다. 구과에서는 각 샘플 간의 차이는 크지 않았으나 편백나무 구과와 삼나무 구과가 각각 1.03  $\mu\text{g/mL}$ , 1.08  $\mu\text{g/mL}$ 으로 높게 나타났고, 소나무 구과(1.32  $\mu\text{g/mL}$ ), 구상나무 구과(1.55  $\mu\text{g/mL}$ ) 순서로 확인되었다. Tyrosinase 저해활성은 소나무 잎이 가장 높았지만 소나무 구과에서는 상대적으로 낮게 나타난 점을 감안했을 때 소나무 구과보다 소나무 잎에 많이 들어있는 성분이 실험 결과에 영향을 준 것으로 보인다. 소나무 잎에 다량 들어있다고 알려진  $\alpha$ -pinene 성분은 tyrosinase를 저해하는데 강력한 효과가 있다는 것이 최근 연구에서 밝혀졌고, 소나무 구과에 비해 소나무 잎이 2배 가량 높게 함유하고 있으며 본 실험에서도 저해활성이 약 2배 가량 차이가 나고 있다(Chao et al. 2017; Hwang et al. 1995). 이러한 점을 감안했을 때 소나무 잎의 tyrosinase 저해활성에는  $\alpha$ -pinene 성분이 깊게 관여하고 있는 것으로 보인다.

**Table 3** Inhibitory activity (mean  $\pm$  SD) of the enzymes,  $\alpha$ -glucosidase, elastase, and tyrosinase, in the needles and cones of four species of softwood

	Groups	GIC <sub>50</sub> <sup>z</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )	EIC <sub>50</sub> <sup>x</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )	TIC <sub>50</sub> <sup>y</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ )
Needles	<i>Pinus densiflora</i>	745.33 $\pm$ 18.73 <sup>de</sup>	48.86 $\pm$ 17.56 <sup>ab</sup>	0.66 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>
	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	62.70 $\pm$ 4.27 <sup>a</sup>	261.71 $\pm$ 19.89 <sup>d</sup>	2.13 $\pm$ 0.18 <sup>de</sup>
	<i>Abies koreana</i>	481.70 $\pm$ 23.45 <sup>c</sup>	1070.04 $\pm$ 41.43 <sup>e</sup>	2.47 $\pm$ 0.65 <sup>e</sup>
	<i>Cryptomeria japonica</i>	288.85 $\pm$ 12.43 <sup>b</sup>	260.36 $\pm$ 6.17 <sup>d</sup>	1.55 $\pm$ 0.15 <sup>cd</sup>
Cones	<i>Pinus densiflora</i>	676.63 $\pm$ 29.40 <sup>d</sup>	85.10 $\pm$ 10.73 <sup>bc</sup>	1.32 $\pm$ 0.35 <sup>c</sup>
	<i>Chamaecyparis obtusa</i>	804.15 $\pm$ 35.42 <sup>de</sup>	235.69 $\pm$ 17.39 <sup>d</sup>	1.03 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup>
	<i>Abies koreana</i>	253.84 $\pm$ 6.09 <sup>b</sup>	90.40 $\pm$ 20.99 <sup>bc</sup>	1.55 $\pm$ 0.15 <sup>cd</sup>
	<i>Cryptomeria japonica</i>	872.28 $\pm$ 29.50 <sup>e</sup>	103.47 $\pm$ 1.33 <sup>c</sup>	1.08 $\pm$ 0.34 <sup>bc</sup>
Positive control	Acarbose	679.09 $\pm$ 23.70 <sup>f</sup>	-	-
	Ursolic acid	-	31.79 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	-
	Arbutin	-	-	0.12 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>

Letters (a-f) in the same column indicate significant differences between species at  $p < 0.05$  according to Duncan's multiple range tests. Values are the average of triplicate measurements.

<sup>z</sup>GIC<sub>50</sub>: Concentration required to exert an inhibitory capacity of 50% of  $\alpha$ -glucosidase.

<sup>x</sup>EIC<sub>50</sub>: Concentration required to exert an inhibitory capacity of 50% of elastase.

<sup>y</sup>TIC<sub>50</sub>: Concentration required to exert an inhibitory capacity of 50% of tyrosinase.

## 적 요

침엽수는 국내에 널리 분포되어 있고 산업계에서 다양한 방법으로 이용하고 있다. 하지만 대부분의 연구는 한정적으로 진행되었으며 침엽수 간의 비교 분석에 대한 연구는 상대적으로 소홀히 다루어져 왔다. 이에 본 연구에서는 국내에 분포하는 침엽수 4종을 선정하여 후 생리활성을 측정하여 침엽수 간의 효능을 비교하였다. 실험에 앞서 소나무, 편백나무, 삼나무, 구상나무의 잎과 구과를 채취하였고 70% 메탄올로 추출하였다. 실험은 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화 활성(DPPH, TEAC, FRAP),  $\alpha$ -glucosidase, elastase, tyrosinase 효소 저해 활성을 진행하였다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화 활성에서는 편백나무와 삼나무에서 높게 측정되었다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성에서는 편백나무 잎의 활성이 가장 높아 항당뇨 제품으로의 활용성이 높은 것으로 확인되었다. Elastase 저해활성에서는 소나무 잎과 구과, 구상나무 구과에서 높게 나타나 주름개선 화장품으로의 이용 가능성을 확인하였고, 미백실험인 tyrosinase 저해활성에서는 소나무 잎에서 활성이 가장 높게 측정되었다. 우리나라는 침엽수를 가로수와 방풍림 조성 등의 목적으로 대량 식재하고 있고, 매년 가지치기 작업을 해주기 때문에 원료 수급에 있어서 경쟁력이 높은 편이다. 그렇기 때문에 본 실험 결과를 기반으로 헬스케어 제품, 당뇨 제품, 주름 및 미백 화장품 등으로 개발하기에 적합할 것으로 판단된다.

## 사 사

본 논문은 2023학년도 제주대학교 교원성과지원사업에 의하여 연구되었습니다.

## References

- Bajpai VK, Sharma A, Baek KH (2014) Antibacterial mode of action of the essential oil obtained from *Chamaecyparis obtusa* sawdust on the membrane integrity of selected foodborne pathogens. *Food Technol Biotechnol* 52:109-118
- Chao WW, Su CC, Peng HY, Chou ST (2017) *Melaleuca quinquenervia* essential oil inhibits  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone-induced melanin production and oxidative stress in B16 melanoma cells. *Phytomedicine* 34:191-201
- Du H, Ran JH, Feng YY, Wang XQ (2020) The flattened and needlelike leaves of the pine family(Pinaceae) share a conserved genetic network for adaxial-abaxial polarity but have diverged for photosynthetic adaptation. *BMC Evol Biol* 20:1-12
- Farjon A (2018) The Kew review: Conifers of the world. *Kew Bull* 73:1-16
- Hwang BH, Zhao J, Kwon HI, Song JM (1995) Terpene components analysis on needle and pine cone of *Pinus thunbergii*. *J Kor For En* 15:23-26
- Im SH, Kim JS (2022a) Antioxidant and anti-inflammatory activities of methanolic extract and its fractions of *Lamium purpureum* L. *J Adv Eng and Tech* 15:115-121
- Im SH, Kim JS (2022b) Physicochemical properties of extracts from different parts of *Camellia sinensis*. *Korean J Med Crop Sci* 30:195-203
- Ji HY, Park MG, Joo SY (2021) Antioxidant effect of complex extracts from pine needle, green tea, and sea buckthorn leaves. *Korean J Food Sci Technol* 53:290-295
- Joung YW, Kim YM, Jang YA (2020) Studies on the antioxidant and whitening effects of *Chamaecyparis obtusa* extract. *KOCS* 37:1496-1506
- Kang JT, Lee SJ, Kim TS, Song JS, Lee CM, Lee DW (2019) The occurrence of insect pests, damage rates and chemical control at coniferous seed orchard. *Korean J Pestic Sci* 23:241-250
- Kim HY, Lim SH, Park YH, Ham HJ, Lee KJ, Park DS, Kim KH, Kim SM (2011a) Screening of  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and lipase inhibitory activity with Gangwon-do wild plants extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:308-315
- Kim JK, Koh JG, Yim HT, Kim DS (2017a) Changes of spatial distribution of Korean fir forest in Mt. Hallasan for the past 10 years(2006, 2015). *Korean J Environ Ecol* 31:549-556
- Kim KY, Chung HJ (2000) Flavor compounds of pine sprout tea and pine needle tea. *J Agric Food Chem* 48:1269-1272
- Kim SH, Lee SY, Cho SM, Hong CY, Park SY, Park M, Choi IG (2017b) Antioxidant activities of *Cryptomeria japonica* leaves extracts by extraction methods. *J Korean Wood Sci Technol* 45:495-510
- Kim SM, Kang SW, Jeon JS, Um BH (2012) A comparison of Pycnogenol® and bark extracts from *Pinus thunbergii* and *Pinus densiflora*: Extractability, antioxidant activity and proanthocyanidin composition. *J Med Plant Res* 6:2839-2849
- Kim YJ, Cho BJ, Ko MS, Jung JM, Kim HR, Song HS, Lee JY, Sim SS, Kim CJ (2010) Anti-oxidant and anti-aging activities of essential oils of *Pinus densiflora* needles and twigs. *Yakhak Hoeji* 54:215-225
- Kim YS, Chang CS, Kim CS, Gardnet M (2011b) *Abies koreana*, the IUCN Red List of threatened species, version 2014.3. <https://www.iucnredlist.org/>. Downloaded on 28 August 2023
- Kim YS, Shin DH (2005) Volatile components and antibacterial effects of pine needle(*Pinus densiflora* S. and Z.) extracts. *Food Microbiol* 22:37-45
- Ko HM, Eom TK, Kim KC, Yoo JH, Lim JD, Yoo CY, Kim JS (2018) Biological activity investigation of supercritical fluid extract of fermented mountain ginseng adventitious root. *J Adv Eng and Tech* 11:115-121
- Ko HM, Eom TK, Song SK, Jo GY, Kim JS (2017) Tyrosinase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities and antioxidant effects of extracts from different parts of *Hypochoeris radicata*. *Korean J Med Crop Sci* 25:139-145
- Kong WS (2006) Biogeography of native Korean pinaceae. *J Korea Geograph Soc* 41:73-93

- Koo KA, Kim DB (2020) Review forty-year studies of Korean fir (*Abies koreana* Wilson). Korean J Environ Ecol 34:358-371
- Kopaczynk JM, Warguła J, Jelonek T (2020) The variability of terpenes in conifers under developmental and environmental stimuli. Environ Exp Bot 180:104197
- Korea Forest Service (2022) Statistical Yearbook of Forestry
- Kwon JH, Kim TY, Kim JK, Kim JY (2017) Characteristics of *Opuntia monacantha* haw. for the functional raw material production. Appl Chem Eng 28:252-256
- Lee DS, Lim MS, Kwan SS, Kim SY, Park SN (2012) Antioxidative activity and component analysis of *Chamaecyparis obtusa* leaf extract. Appl Chem Eng 23:93-99
- Lee IK, Kang YJ, Kim CS, Kim YK (2006) Effects of thinning on soil properties and seed productivity in seed orchards of *Cryptomeria japonica* and *Chamaecyparis obtusa*. J Ecol Environ 29:495-501
- Lim GS, Kim R, Cho H, Moon YS, Choi CN (2013) Comparison of volatile compounds of *Chamaecyparis obtusa* essential oil and its application on the improvement of atopic dermatitis. KSBB J 28:115-122
- Liu J, Wang X, Geng S, Liu B, Liang G (2017) Inhibitory mechanism of taxifolin against  $\alpha$ -glucosidase based on spectrofluorimetry and molecular docking. Nat Prod Commun 12:1725-1728
- Park C, Park J, Kim WJ, Kim W, Cheong H, Kim SJ (2021) Malonic acid isolated from *Pinus densiflora* inhibits UVB-induced oxidative stress and inflammation in HaCaT keratinocytes. Polymers 13:816
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Meth Enzymol 299:152-178
- Song BW, Song MJ, Park MJ, Choi DH, Lee SS, Kim M, Hwang KC, Kim IK (2018) Anti-wrinkle and whitening effects of essential oil from *Abies koreana*. J Life Sci 28:524-531
- Yang J, Choi WS, Kim JW, Lee SS, Park MJ (2019) Anti-inflammatory effect of essential oils extracted from wood of four coniferous tree species. J Korean Wood Sci Technol 47:674-691