

## 솔잎에서 향미생물 활성을 갖는 benzoic acid의 분리 및 동정

국주희 · 마승진 · 박근형  
전남대학교 식품공학과

### Isolation and Characterization of Benzoic Acid with Antimicrobial Activity from Needle of *Pinus densiflora*

Ju-Hee Kuk, Seung-Jin Ma and Keun-Hyung Park

Department of Food Science and Technology, Chonnam National University

#### Abstract

The ethyl acetate (EtOAc) extracts from needles of *Pinus densiflora* were showed antimicrobial activities against bacteria, yeast and fungi. The antimicrobial active substance of EtOAc extracts were successively purified with solvent fractionation, silica gel adsorption column chromatography and Sephadex LH-20 column chromatography. The purified active substance was isolated as crystals and identified as benzoic acid by MS, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR. The amount of benzoic acid was 0.608 mg per gram of fresh needle of *Pinus densiflora*.

Key words: needle of *Pinus densiflora*, antimicrobial activity, benzoic acid

## 서 론

부패 및 병원성 미생물에 의한 피해는 여러 분야에서 직면하고 있는 심각한 문제 중의 하나이다. 현재, 이러한 유해 미생물의 증식을 억제시키는 항균제로 주로 인공합성품이 사용되고 있으나, 경우에 따라 그 안전성이 문제로 제기되고 있다<sup>(1,2)</sup>. 최근 건강에 대한 욕구가 증대됨에 따라 인공합성품의 기피 현상 또한 두드러지고 있어 안전성에 문제가 없는 천연 향미생물 활성물질의 개발이 요구되고 있다<sup>(3)</sup>.

특히, 식물은 매우 다양한 유용성분을 함유하고 있으며 미생물에 대한 자기방어 수단으로 항균성 물질을 생산한다고 알려져 있어 식물자원에서 향미생물 활성물질을 찾으려는 시도가 계속되어 왔다. 우리나라에서도 자생하고 있는 식물을 대상으로 향미생물 활성물질의 탐색 연구<sup>(4,5)</sup>, 식물유래의 항균활성물질의 이용 연구<sup>(3,6,7)</sup> 등이 수행되었으나 향미생물 활성물질의 구명에 관한 연구는 빈약한 실정이다.

소나무(*Pinus densiflora* Siebold et Zuccarini)는 소나무과(Pinaceae)에 속하는 상록 교목으로 전국의 산지

에 자생하며 수피는 암갈색의 비늘 모양으로 갈라져 있고 가지는 윤생한다. 잎은 침형으로 2개가 1뿔음으로 되어 있으며 길이는 10~15 cm 정도로 비교적 굵고 단단하다. 꽃은 자웅동주로 5월에 피며 과실은 구과로서 다음해 9~10월경에 익는다<sup>(8,9)</sup>. 솔잎의 성분으로는  $\alpha$ -oienene,  $\beta$ -pinene, camphene 등의 정유성분, quercetin, kaempferol 등 flavonoid류, 수지 등이 있으며<sup>(9)</sup> 수분 58.1%, 단백질 4.5%, 지질 3.9%, 당질 19.6%, 섬유소 13.3%, 회분 0.6% 정도가 함유되어 있다고 알려져 있다<sup>(11)</sup>.

솔잎은 간장질환, 위장질환, 신경계질환, 순환기계질환, 피부질환 등의 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며<sup>(10,12)</sup> 솔잎의 기능성에 관한 연구로는 김 등<sup>(13)</sup>이 솔잎 첨가식이 지질대사에 미치는 영향을, 강 등<sup>(12)</sup>은 솔잎 추출물의 항변이원성, 항산화 효과가 있음을 보고하였다. 이<sup>(14)</sup>는 솔잎 중의 항산화성 물질의 존재와 항산화활성에 대해 보고하였으며, 부 등<sup>(15)</sup>은 솔잎으로부터 프리 라디칼 소거 작용이 뛰어난 항산화 성분인 4-hydroxy-5-methyl-3[2H]-furanone을 분리한 바 있다.

솔잎은 옛부터 건강식품, 차 등으로 이용되어 왔으며<sup>(16)</sup> 현재도 한방과 식품분야에서 여러가지 형태의 제품으로 활발히 이용<sup>(17)</sup>되고 있는 반면, 일부 약리학적, 영양학적 측면 외에 항산화활성을 갖는 물질에 대해

Corresponding author: Keun-Hyung Park, Department of Food Science and Technology, Chonnam National University, 300 Yongbong-dong, Kwangju 500-757, Korea

보고되어 있을 뿐 솔잎에 포함된 항미생물 활성물질의 구명에 관한 연구는 전혀 이루어지지 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 솔잎에 포함된 항미생물 활성물질의 탐색을 시도함으로써 솔잎의 식품보존제 및 유용항균제로서의 이용가능성 및 솔잎의 기능성 해명에 도움이 되고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용된 소나무(*Pinus densiflora* Siebold et Zuccarini)의 잎(솔잎)은 전라남도 장성군 북이면 수성리에서 자라고 있는 소나무에서 5월 초순에 채취하여 이중 10 kg을 실온에서 건조한 후 분쇄하여 시료로 사용하였다.

### 시료의 추출

분쇄한 솔잎을 *n*-hexane, ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH)로 순차 추출하여 각 솔잎 추출물을 얻었다. 즉, 솔잎을 *n*-hexane 10 L에 1시간 침지시켜 hexane으로 추출하고 남은 잔사를 EtOAc 43 L에 24시간 침지시킨 뒤 EtOAc로 추출하였다. 이어서 EtOAc 추출후 남은 잔사를 MeOH 20 L에 침지시키고 MeOH로 추출하였다. 추출은 과량의 용매와 함께 3회 반복하여 homogenizer (NISSEI AM-7)로 마쇄하면서 추출하였으며, 각 추출물은 G3 Glass filter와 Whatman No. 2로 여과하여 얻어진 여액을 cooling aspirator (Eyela Cool Ace CA-111)가 장치된 vacuum evaporator (Eyela N-N)를 사용하여 37°C에서 감압농축하여 용매를 제거하였다. 이렇게 얻은 *n*-hexane, EtOAc, MeOH 추출물의 항미생물 활성을 검정하였다.

### 용매분획(solvent fractionation)

용매가 제거된 추출물을 EtOAc와 buffer용액(0.2 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-0.2 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.5)으로 수상획분(buffer fraction)과 중성획분(EtOAc-soluble neutral fraction)으로 분배하였다. 수상획분을 0.1 M HCl을 이용하여 pH 3.0으로 조절한 뒤 다시 EtOAc로 분배하여 산성획분(EtOAc-soluble acidic fraction)과 수용액획분(aqueous fraction)으로 분획하고 얻어진 획분에 대하여 항미생물 활성을 검정하였다.

### *n*-hexane-EtOAc 혼합용매계에 의한 분획

*n*-hexane-EtOAc 용매계에 대한 용해성의 차를 이용하여 분획하고자 EtOAc 농도를 0%에서 100%까지 2.

5%씩(농도별로 150 mL씩) 단계적으로 증가시키면서 가용획분을 얻어 분획하고 활성을 검정하였다.

### Silica gel adsorption column chromatography

시료의 약 10배량에 상당하는 silica gel (180 g, 70~230 mesh, column chromatography-용, Merck사)을 EtOAc로 slurry를 만들어 column (3.2×48 cm)에 충전시킨 후, MeOH-EtOAc 용매계로 MeOH 농도를 0, 2, 4, 6, 100%로 단계적으로 증가시킨 step-wise 용출방법으로 용출분획하여 활성을 검정하였다. 또한, 시료의 약 10배량에 상당하는 silica gel (100 g, 70~230 mesh, column chromatography-용, Merck사)을 chloroform (CHCl<sub>3</sub>)으로 slurry를 만들어 column (2.7×41 cm)에 충전시킨 후, MeOH-CHCl<sub>3</sub> 용매계로 MeOH 농도를 0, 10, 20, 30, 40, 50, 100%로 단계적으로 증가시킨 step-wise 용출방법<sup>(18)</sup>으로 용출분획하여 활성을 검정하였다.

### Sephadex LH-20 column chromatography

Sephadex LH-20 (25~100 mesh, Pharmacia사)을 MeOH-CHCl<sub>3</sub> (4:1, v/v) 용매계<sup>(19)</sup>로 하루밤 팽윤시킨 후, column (3.3×100 cm, bed volume 1000 mL)에 충전하고 동 용매계를 사용하여 용출분획하여 활성을 검정하였다.

### Recrystallization

소량의 *n*-hexane을 넣어 water bath에서 서서히 가온(45°C)하면서 완전히 용해시킨 후 냉각시켜 재결정화하였다.

### HPLC

박 등<sup>(20)</sup>의 방법에 따라 Sep-pak (C<sub>18</sub> type)으로 전처리하고 filter (Gelman Acrodisc LC 13 PVDF, 0.2 μm)로 여과한 후, 1% acetic acid (AcOH)-MeOH (60:40, v/v)용매계의 μBondapak C<sub>18</sub> column (0.3×30.0 cm, Waters)을 이용하여 분당 1 mL (Model 510 solvent delivery system, Waters)로 용출하였으며 검출은 UV detector (254 nm, Model 486 tunable absorbance detector, Waters)를 이용하였다. 활성물질의 정량은 HPLC에 의하여 authentic 물질로 검량선을 작성하여 정량분석하였다.

### MS

직접주입장치가 장착된 Jeol JMS-AX 505 WA mass spectrometer를 이용하여 이온화(70 eV), ion source

temperature 200°C의 조건에서 direct probe방식으로 분석하였다.

### <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR

Varian Unity Plus-300 (300 MHz) FT-NMR spectroscopy를 사용하여 분석하였고 용매는 CDCl<sub>3</sub>를 사용하였으며, 내부표준물질로 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다.

### 사용 미생물

항미생물 활성 검색을 위해 사용된 미생물은 Gram 양성세균 7종(*Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3104, *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100), Gram 음성세균 4종(*Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella typhimurium* ATCC 19430, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1628, *Vibrio vulnificus* CDC C7184), 효모 1종(*Saccharomyces cerevisiae* IFO 1850), 곰팡이 1종(*Aspergillus parasiticus* KCTC 6170)을 사용하였다.

### 사용배지

세균의 경우, *Streptococcus mutans*는 BHI배지(Difco), *Vibrio vulnificus*는 LB배지(Difco), 젖산균은 Lactobacilli MRS 배지(Difco), 그 밖의 세균은 Nutrient 배지(Difco)를 사용하였고, 효모의 경우는 YM배지(Difco), 곰팡이의 경우는 potato dextrose 배지(Difco)를 사용하였다.

### 항미생물 활성 측정

각각의 배지를 이용하여 세균은 37°C 또는 30°C에서 24시간 동안, 효모는 30°C에서 24시간 그리고 곰팡이는 30°C에서 48시간 동안 3회 반복하여 전배양을 행한 후 접종균주로 사용하였다.

항미생물 활성의 검정은 paper disc (φ 8 mm, Whatman)방법<sup>(21)</sup>으로 측정하였다. 먼저 pour-plate method<sup>(22)</sup>에 의해 45°C로 조절된 멸균배지 15 mL에 전배양액 0.1 mL를 micro pipette을 이용하여 무균적으로 옮겨 잘 혼합시킨 후 지름이 9.0 cm인 petri dish에 넣고 굳혔다. 여기에 시료의 일정 상당량을 적하하여 용매를 제거한 paper disc를 올린 뒤 0.85% 식염수(75 μL)로 확산시켜 세균은 37°C 또는 30°C에서 16시간, 효모는 30°C에서 16시간 그리고 곰팡이는 30°C에서 48시간

배양하여 paper disc 주위의 clear zone의 크기(mm)로 활성의 정도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 솔잎 유기용매추출물의 항미생물 활성

솔잎(10 kg, 수분함량 50.4%)을 *n*-hexane, EtOAc, MeOH로 순차 추출하여 얻은 각 추출물을 생체중량 2 g에 상당하는 양으로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Table 1에 나타낸 바와 같이 EtOAc 추출물에 항미생물 활성이 집중되었으며 *Streptococcus mutans*를 비롯한 13종의 미생물에 대하여 비교적 강한 항미생물 활성을 나타냈다.

### 활성성분의 정제와 얻어진 획분의 활성

솔잎 10 kg에서 얻어진 EtOAc 추출물(265.18 g)을

**Table 1. Antimicrobial activities of solvent extracts from *Pinus densiflora* needle against various microorganisms**

Microorganisms	Clear zone (mm)		
	Hexane fr. <sup>1)</sup>	EtOAc fr. <sup>1)</sup>	MeOH fr. <sup>1)</sup>
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	10 <sup>2)</sup>	14 <sup>2)</sup>	- <sup>2)</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 5638)	14	23	11
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	11	19	12
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	14	25	11
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	-	22	12
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	-	21	10
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 19430)	16	22	9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1628)	-	23	-
<i>Vibrio vulnificus</i> (CDC C7184)	-	17	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> (KCTC 3104)	-	13	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (KCTC 3100)	-	13	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (IFO 1850)	-	14	-
<i>Aspergillus parasiticus</i> (KCTC 6170)	-	16	-

<sup>1)</sup> 2 g fr. wt. eq./disc of extracts from *Pinus densiflora* needle.

<sup>2)</sup> 5 g fr. wt. eq./disc of extracts from *Pinus densiflora* needle.

-: No inhibition.

**Table 2. Antimicrobial activities of solvent fractionated fractions obtained from EtOAc extracts of *Pinus densiflora* against various microorganisms**

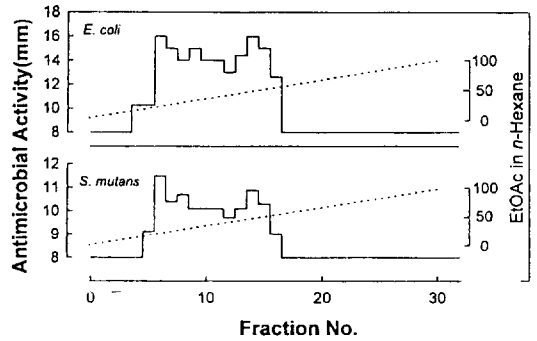
Microorganisms	Clear zone (mm)		
	Aqueouse fr. <sup>1)</sup>	neutral fr. <sup>1)</sup>	acidic fr. <sup>1)</sup>
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	-	-	13
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 5638)	-	12	24
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	-	10	19
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	-	12	25
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	-	11	18
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	-	-	18
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 19430)	-	9	22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1628)	-	-	20
<i>Vibrio vulnificus</i> (CDC C7184)	-	10	15
<i>Lactobacillus plantarum</i> (KCTC 3104)	-	-	16
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (KCTC 3100)	-	-	14
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (IFO 1850)	-	-	19
<i>Aspergillus parasiticus</i> (KCTC 6170)	-	-	21

<sup>1)</sup> 2 g fr. wt. eq./disc of extracts from *Pinus densiflora* needle. -: No inhibition.

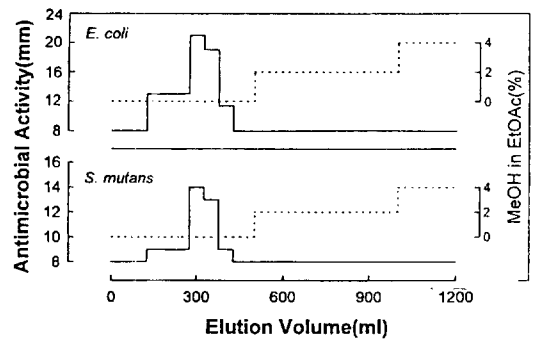
용매분획하여 수용액획분, 중성획분(186.84 g), 산성획분(24.43 g)을 얻었다. 이들 획분에 대하여 항미생물 활성을 검정한 결과(Table 2), 대부분의 활성이 산성획분에서 인정되었다.

활성이 인정된 산성획분(24.43 g)을 *n*-hexane-EtOAc 혼합용매로 용해성의 차를 이용하여 분획하고 *S. mutans*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 두 균주 모두 *n*-hexane-EtOAc용매계의 15:75~42.5:57.5 (v/v)의 획분(18.18 g, 9,950 g fr. wt. eq.)에서 활성이 인정되었다.

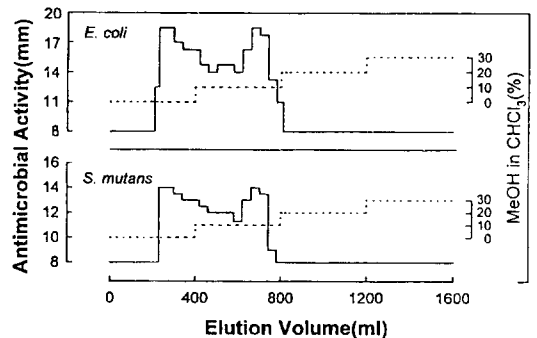
이 활성획분을 MeOH-EtOAc계의 silica gel adsorption column chromatography로 용출, 분획하고 *S. mutans*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정한 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 두 균주 모두 MeOH-EtOAc용매계의 0:100 (v/v)의 용출획분(11.293 g, 9,905 g fr. wt. eq.)에서 활성이 인정되었다. 또한 MeOH-CHCl<sub>3</sub>계의 silica gel adsorption column chromatography



**Fig. 1. Distribution of antimicrobial activities after fractionated with *n*-hexane-EtOAc solvent system of the EtOAc soluble acidic fraction from *Pinus densiflora*.**



**Fig. 2. Distribution of antimicrobial activities after silica gel adsorption column chromatography of the active fractions from *Pinus densiflora*.**



**Fig. 3. Distribution of antimicrobial activities after silica gel adsorption column chromatography of the active fractions from *Pinus densiflora*.**

로 용출, 분획하고 *S. mutans*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정한 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 두 균주 모두 MeOH-CHCl<sub>3</sub>용매계의 0:100~10:90 (v/v)의 용출획분(10.249 g, 9,875 g fr. wt. eq.)에서 활성이 인정되었다.

Silica gel adsorption column chromatography의 활성획분(10.249 g)을 MeOH-CHCl<sub>3</sub> (4:1) 용매계의 Sephadex LH-20 column chromatography에 의해 분획하고, *S. mutans*와 *E. coli*를 대상으로 항미생물 활성을 검정하였다. 그 결과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 bed volume에 대한 elution volume의 비(Ve/Vt)가 0.88~1.00의 용출획분(6.707 g, 9,575 g fr. wt. eq.)에서 두 균주 모두 활성이 인정되었으며, 이 활성획분을 농축한 결과 활성물질이 결정상으로 얻어졌다. 결정상으로 얻어진 물질의 순도를 확인하기 위하여 1% AcOH-MeOH (60:40, v/v) 용매계의 HPLC분석을 시도하였다. 그 결과, retention time (*t<sub>R</sub>*) 9.7분에 95% 이상의 함량을 보인 main peak 이외에 극성이 보다 낮은 물질 유래의 peak가 존재하여 결정상으로 얻어진 이 활성물질은 단일물질이 아니라 극성이 다른 미량의 물질을 포함하고 있음을 알 수 있었다. 이에 *n*-hexane을 이

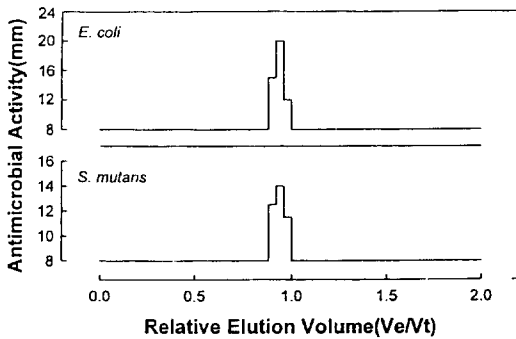


Fig. 4. Distribution of antimicrobial activities after Sephadex LH-20 column chromatography of the active fractions from *Pinus densiflora*.

Table 3. Antimicrobial activities of isolated compound A from needle of *Pinus densiflora*

Microorganisms	Clear zone (mm)	
	0.5 mg/disc	1 mg/disc
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	-	10
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 5638)	14	16
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	15	17
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	14	16
<i>Micrococcus luteus</i> (ATCC 9341)	12	15
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10536)	14	16
<i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 19430)	14	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (KCTC 1628)	15	17
<i>Vibrio vulnificus</i> (CDC C7184)	9	12
<i>Lactobacillus plantarum</i> (KCTC 3104)	9	11
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (KCTC 3100)	9	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (IFO 1850)	9	13
<i>Aspergillus parasiticus</i> (KCTC 6170)	14	15

용한 재결정을 시도하여 백색침상결정 5.82 g을 얻었으며 이 물질은 1% AcOH-MeOH계의 ODS-HPLC로 확인한 결과 단일 peak로 나타나 재결정에 의해 얻어진 활성물질이 단일물질임을 확인하였으며 이 물질을 compound A로 명명하였다. 단리된 compound A의 항미생물활성을 조사한 결과를 table 3에 나타냈다.

활성물질의 구조확인

재결정에 의해 분리된 compound A를 직접도입방식의 electron impact (EI) mass분석을 한 결과 Fig. 5와 같이 molecular ion (M<sup>+</sup>)이 m/z 122에 나타났으며, 특징적인 fragment ion이 m/z 105 (M-17, base peak), 77 (M-45), 51 (M-71)에 나타났다. 이 spectrum으로 NIST library 검색을 실시한 결과, benzoic acid의 가능성 (NIST entry No. 3420)이 시사되었다.

또한, CDCl<sub>3</sub>를 용매로 사용하여 <sup>1</sup>H-NMR을 실시한 결과, δ 7.47 (2H, t, J=7.4 Hz, H-3,5), 7.61 (1H, t, J=7.4 Hz, H-4), 8.13 (2H, d, J=7.4 Hz, H-2,6), 11.68 (1H, br s, -OH)에서 proton이 관찰되었으며(Fig. 6), <sup>13</sup>C-NMR을 실시한 결과, δ 128.46 (C-3,5), 129.35 (C-1), 130.21 (C-2,6), 133.78 (C-4), 172.47 (C-1')의 위치에서 carbon의 존재를 확인하였다(Fig. 7). 그리고 이들 spectra는

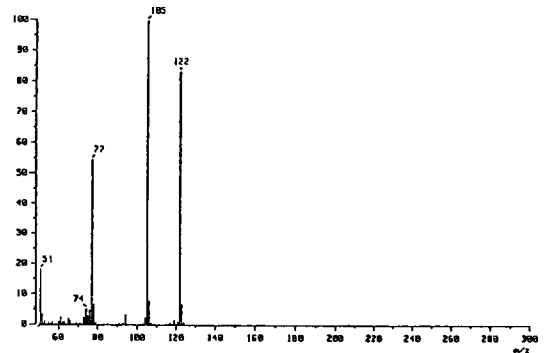


Fig. 5. Direct-EI-mass spectrum of compound A.

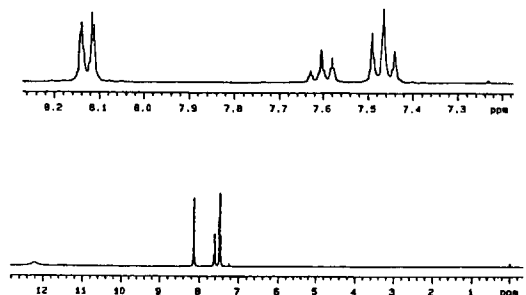


Fig. 6. <sup>1</sup>H-NMR spectrum of compound A in CDCl<sub>3</sub>.

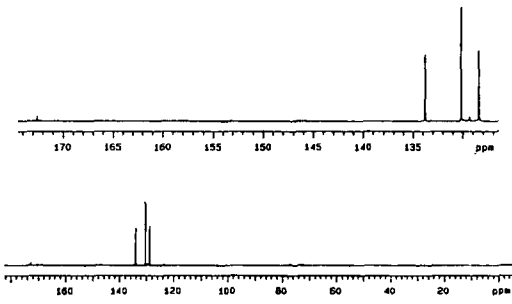


Fig. 7. <sup>13</sup>C-NMR spectrum of compound A in CDCl<sub>3</sub>.

Aldrich library spectra of benzoic acid (2, 1063 B)와 일치하였다.

이상의 MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR의 분석에서 얻어진 mass spectrum과 NMR spectra는 benzoic acid의 구조를 갖고 있는 것으로 판명되어, 술잎으로부터 향미생물 활성물질로 단리된 compound A는 benzoic acid로 동정되었다.

Benzoic acid는 광택이 있는 작은 엽상 또는 침상의 결정<sup>(23)</sup>으로 cranberries, raspberries, plums, cinnamon, cloves 등에 천연적으로 존재하는 유기산이며<sup>(24,25)</sup>, Salkowski에 의해 처음으로 항균활성이 있음이 보고<sup>(26)</sup>된 바 있으나, 술잎에서 이 물질이 분리, 동정된 것은 처음으로 생각된다. 또한, 향미생물 활성물질로 분리되고 동정된 benzoic acid는 술잎 생체중량 g당 0.608 mg이나 함유되어 있어 건조술잎(수분함량 8.1%)의 경우 g당 1.12 mg 수준이었다. 이러한 함유량은 보고된 타 식물체의 함유량<sup>(26)</sup>(0.01~11.2 μg)에 비하여 월등하게 많은 양이었다. 이러한 연구결과로부터 술잎 및 술잎추출물은 향미생물 활성을 갖는 기능성 소재로서 이용 가능성이 강력히 시사되었으며, 추후 compound A 이외의 극성이 낮은 minor성분의 구명과 함께 송순을 비롯한 소나무의 다른 부위 및 소나무 유연식물의 향미생물 활성물질에 대한 검토가 필요하다고 생각된다.

### 요 약

소나무(*Pinus densiflora* Siebold et Zuccarini) 잎의 ethyl acetate 추출물은 세균, 효모, 곰팡이에 대하여 향미생물활성을 나타내었다. 활성물질을 solvent fractionation, silica gel adsorption column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography 등에 의해 정제하여 백색결정성 물질로 단리하였다. MS, <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR 등의 기기분석에 의해 단리된 물질의 구조 해석을 시도한 결과 benzoic acid로 동정되었다. Ben-

zoic acid가 술잎에서 분리, 동정된 것은 처음으로 생각되며 특히, 술잎 생체중량 g당 0.608 mg이나 함유되어 있어, 타 식물체에 비하여 대단히 많은 양이 함유되어 있음이 확인되었다.

### 감사의 글

본 연구는 서울대학교 농업생물신소재연구센터를 통한 한국과학재단우수연구센터 및 전남대학교 연구년 교수연구비의 지원에 의한 연구결과와 일부이며 이에 감사드립니다.

### 문 헌

1. 조순영, 유병진, 장미화, 이수정, 성낙주, 이응호 : 수산미이용자원 중에 존재하는 항균성 물질의 검색. 한국식품과학회지, **26**, 261 (1994)
2. 신동화 : 천연 항균성 물질의 연구현황과 식품가공에의 이용. 식품과학과 산업, **23**, 68 (1990)
3. 김선재, 박근형 : 식물성 김치재료 추출물의 향미생물 효과. 한국식품과학회지, **27**, 216 (1995)
4. 한지숙, 신동화, 윤세익, 김문숙 : *Listeria monocytogenes*의 증식을 억제하는 식물 가능한 식물 추출물의 검색. 한국식품과학회지, **26**, 545 (1994)
5. 양민석, 하영래, 남상해, 최상욱, 장대식 : 국내 자생식물의 항균활성. 한국농화학회지, **38**, 584 (1995)
6. 분광덕, 변정아, 김석중, 한대석 : 김치의 선도유지를 위한 천연보존제의 탐색. 한국식품과학회지, **27**, 257 (1995)
7. 정대균, 유리나 : 김치발효미생물에 대한 대나무잎 추출물의 항균력. 한국식품과학회지, **27**, 1035 (1995)
8. 이창복 : 대한식물도감. 향문사, 서울, p.63 (1982)
9. 임경채 : 조림학본론. 향문사, 서울, p.271 (1992)
10. 신민교, 정보섭 : 향약생약대사전. 영림사, 서울, p.104 (1990)
11. 농촌영양개선연구회 : 식품성분표. 농촌진흥청, p.194 (1991)
12. 강유환, 박용곤, 오상룡, 문광덕 : 술잎과 쭈 추출물의 기능성 검토. 한국식품과학회지, **27**, 978 (1995)
13. 김종대, 윤태현, 최 면, 임경자, 주진순, 이상영 : 술잎 첨가식이 쥐의 혈청 지방질대사에 미치는 영향. 한국노화학회지, **1**, 66 (1991)
14. 이민수 : 송엽중의 항산화성 물질에 관한 연구. 한양대학교 대학원 석사학위 청구논문, 한양대학교 대학원 (1985)
15. 부용출, 전체옥, 오지연 : 술잎으로부터 항산화 성분인 4-hydroxy-5-methyl-3[2H]-furanone의 분리. 한국농화학회지, **37**, 310 (1994)
16. 이정숙 : 송엽과 송화의 성장에 따른 영양성분의 변화에 관한 연구. 한양대학교 대학원 석사학위 청구논문, 한양대학교 대학원 (1980)
17. 황수진 : 기능성음료 개발. 식품과 위생, **8**, 56 (1995)
18. 박근형, 김선재, 박종대, 이관숙, 현규환 : 버섯자의 brassinosteroid 활성물질. 한국농화학회지, **36**, 376 (1993)
19. 박근형, 김선재, 현규환 : 결정자의 brassinosteroid 활성

- 물질. 한국농화학회지, **36**, 99 (1993)
20. 박근형, 김선재, 현규환 : 옥수수 종실의 brassinosteroid 활성물질탐색. 한국생물공학회지, **8**, 300 (1993)
  21. Zaika, L.L.: Spices and herbs. Their antimicrobial activity and it's determination. *J. Food Safety*, **9**, 97 (1988)
  22. Harrigan, W.F. and Margaret E.M.: Laboratory methods in food and dairy. *Microbiology, Academic Press*, p.25 (1976)
  23. 문범수 : 식품첨가물. 수학사, p.87 (1990)
  24. Fischer, J.R., Fletcher, D.L., Cox, N.A., and Bailey, J.S.: Microbiological properties of hard-cooked eggs in a citric acid-based preservative solution. *J. Food Prot.*, **48**, 252 (1985)
  25. Djerassi, C., Connolly, J.D. and Faulkner, D.J.: Dictionary of natural products. In *Chapman & Hall Chemical Database Vol. 3*, New York, p.1557.
  26. 細貝, 直井, 岡田 : 食品衛生化學物質マニュアル. 中央法規出版, 東京, p.19. (1985)
- 
- (1996년 11월 15일 접수)