

## 으름덩굴(*Akebia quinata* DECAISNE) 추출물의 항균 효과

황현익, 이인순, 김지은, 문혜연\*

대구대학교 공과대학 생물공학과

전화 (053) 850 - 6552, FAX (053) 850 - 6559

### Abstract

Antimicrobial effects of *Akebia quinata* DECAISNE were studied. Their Stems and Fruits were extracted with ethanol and water. The ethanol extracts, boiling ethanol extracts, boiling water extracts were not showed the inhibitory effects. But water extracts of stems and fruits were showed inhibitory effects on the 2species. (*Bacillus subtills* KCTC 1021, *Bacillus cereus* KCTC 1012)

### 서 론

식생활 문화의 변천과 생활수준이 향상됨에 따라서 가공식품의 수요가 증가하고 있으나 식품의 부패 및 변질을 방지하기 위해 사용가능한 화학 식품보존료는 차아염소산, 차아염소산 나트륨염, 차아염소산 칼륨염, 클로라민 B, 클로라민 T, 표백분 염소계 살균제 등이다. 이와 같은 물질은 독성이 강하여 식품에 직접적으로 첨가할 수 없다. 이로 인하여 최근 인체에 무해한 항균물질을 향신료나 한약재에서 찾으려는 연구가 활발하다.

본 실험에서 사용하는 으름덩굴(*Akebia quinata* DECAISNE)의 경우 중부 지방·남부지방의 해발 50~1,300m의 지역 산기슭 수림속 및 인가부근 숲 가장자리 등에 자생하며 열매의 과육은 식용하며, 뿌리 및 줄기는 창달(暢達), 인후(咽喉), 진해(鎮咳), 해열(解熱), 소염(消炎), 배농(排膿), 구충(驅蟲), 부종(浮腫) 등에 약재로 사용되어왔다.

본 실험에서는 식품의 부패 및 식중독의 원인균 등을 이용하여 항균력을 검정하고 항균물질 추출의 최적의 조건을 조사하여 이를 보고한다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주 및 배양조건

본 실험에서 사용한 균주는 6종으로서 Table 1과 같이 배양하였으며 그 중 2종인 *Enterobacter agglomerans*, *Hafnia alvei* 는 대구대학교 생물공학과 유전공학 실험실에서 2001년 3월에 분양 받았으며, *Staphylococcus aureus* KCTC 1928, *Mycobacterium sp* KCTC 1829, *Bacillus subtills* KCTC 1021, *Bacillus cereus* KCTC1012, 는 유전자은행(KCTC)로부터 분양 받아 사용하였다.

Table 1. List of strains and media used for antimicrobial experiment

Microorganism	Media used	Incubation temperature(°C)/RPMI
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1928		
<i>Bacillus subtills</i> KCTC 1021	Nutrient Broth(Difco)	35/150
<i>Bacillus cereus</i> KCTC 1012		
<i>Mycobacterium sp</i> KCTC 1829		
<i>Enterobacter agglomerans</i>	LB Broth(Scharlau)	35/150
<i>Hafnia alvei</i>		

**으름 덩굴 추출물의 제조**

으름의 열매와 가지는 경북 영천에 소재한 약재상에서 건조된 상태의 제품을 구입하여 사용하였다.

**Ethanol 추출** — 각각의 시료 50g에 100%, 70%, 50%, 30%의 Ethanol을 500ml씩 첨가하여 상온에서 72시간 방치 후 Filter paper로 거른 후 감압 농축 장치로 최초량의 1/9로 농축하여 사용하였다.

**Distilled water 추출** — 각각의 시료 50g에 물 500ml을 첨가하여 상온에서 24, 48, 72시간씩 방치 후 Filter paper로 거른 후 감압농축장치로 최초량의 1/9로 농축하여 사용하였다.

**물 열수 추출** — 시료 50g에 물 500ml을 첨가한 후 환류 냉각장치가 부착된 환 플라스크에서 100℃로 6시간 열수 추출한 후 Filter paper로 거른 후 감압농축장치로 최초량의 1/9로 농축 후 사용하였다.

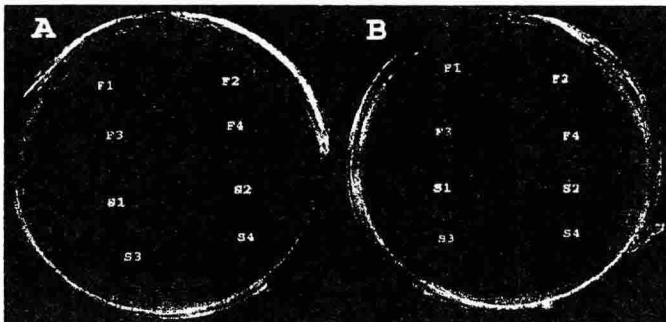
**Filter paper disc agar diffusion method**

멸균된 petri dish(87×15mm)를 이용하여 Nutrient agar broth(Difco), LB agar broth(Scharlau)에 12시간 동안 Liquid broth에서 배양된 균 1ml을 도말하여 12시간 배양한 후 멸균된 filter paper(Waterman No 2, 직경 6mm)에 시료를 Filtration(0.45μm) 처리균과 Autoclave 처리균으로 분류하여 0.1%씩 흡착시킨후 용매에 의한 항균력을 배제하기 위해 완전히 건조시킨 후 배지에 올려놓은 후 시료의 확산을 위하여 0.8%의 멸균된 생리식염수 50μl를 첨가하였다. 35℃에서 24시간 배양 후 filter paper 주변의 Clear zone 크기(mm)를 측정하여 다음과 같이 환산하였다.

$$\frac{\text{Total clear zone} - \text{disk zone}}{\text{disk zone}} \times 100 = \text{inhibition}(\%)$$

**항균 효과 측정**

Nutrient broth(Difco), LB broth(Scharlau)에 시료 0.1%씩 첨가한 30ml의 액체배지에 시험균주가 배양된 평판 배지에서 1백금이를 접종하여 35℃, 150rpm으로 배양하면서 spectrophotometer(Cecil CE303, A600)를 이용하여 균의 성장 정도를 24시간 동안 측정하였다.



A. *Bacillus cereus* KCTC 1012

B. *Bacillus subtilis* KCTC 1021

**Figure 1. growth inhibition effect of Filter paper disk method**

F1, fruit 0.05% Autoclave

F2 fruit 0.05% Filtration

F1 fruit 0.1% Autoclave

F2 fruit 0.1% Filtration

S1 stem 0.05% Autoclave

S2 stem 0.05% Filtration

S3 stem 0.1% Autoclave

S4 stem 0.1% Filtration

## 결과 및 고찰

### 물 추출물의 Extract time에 따른 항균력

추출시간에 따른 항균물질 생산의 최적 조건을 찾기 위하여 상온에서 24hr, 48hr, 72hr로 분리하여 추출한 후 항균력을 검증하였다. Figure 2. 에서 같이 항균활성이 가장 높은 추출 조건은 72hr 이상의 추출에서 나타난다.

### 으름, 목통 추출물의 온도 안정성

Figure 1에서 나타나듯이 Filterlation(0.45 $\mu$ m)과 Autoclave(121 $^{\circ}$ C 15min) 처리군에서 Autoclave 처리군이 Filterlation 처리군 보다 약 5%정도 항균력이 높게 나타나고 있으나 열수추출물(100 $^{\circ}$ C 6hr)의 경우 항균력이 감소되었다.(Figure 3.) 열에 의한 항균력의 변화에 대해서는 계속 더 연구되어야 할 부분이다.

### 추출용매에 따른 항균효과

Ethanol 100%, 70%, 50%, 30% 농도차이에 의한 으름, 목통 추출물의 filter paper disk method 결과는 Table 2에서와 같이 70, 50, 30%에서 *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*에서 1mm 정도의 저조한 Clear zone를 나타내었으며, 으름, 목통 물추출물의 경우 *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium sp*, *Enterobacter agglomerans*, *Hafnia alvei*에서는 Ethanol 추출물과 같이 저조한 항균력을 나타내었으나, Figure 1. 4 에서 보이는 바와 같이 *Bacillus subtilis*에서는 으름 추출물의 0.1% 농도에서 50%의 항균력을 보였으며 목통 추출물의 경우 같은 농도에서 25%의 항균력을 나타내었다. *Bacillus cereus*의 경우 으름, 목통 추출물의 농도를 0.1%에서 측정하였을 때 으름의 경우 60%, 목통의 경우 40%의 항균력을 나타내며 으름 추출물이 항균력이 높게 나타났다. 실험에서 사용된 용매를 비교할 때 으름덩굴의 항균성 물질은 Ethanol에서 추출되는 지용성 물질보다는 물에서 쉽게 용해되는 수용성 물질이 항균력을 가지는 것을 사료된다.

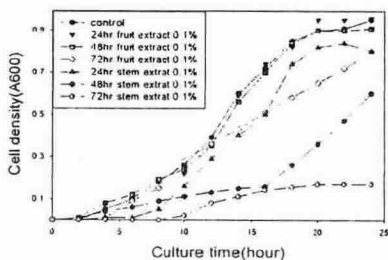


Figure 2. Growth curve of Microorganism with the water extracts of Akebia stem and fruit (*B. cereus* KCTC 1012)

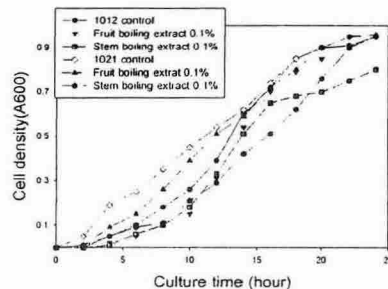


Figure 3. Growth curve of Microorganism with the boiling water extracts of Akebia stem and fruit (*B. cereus* KCTC 1012, *B. subtilis* KCTC 1021)

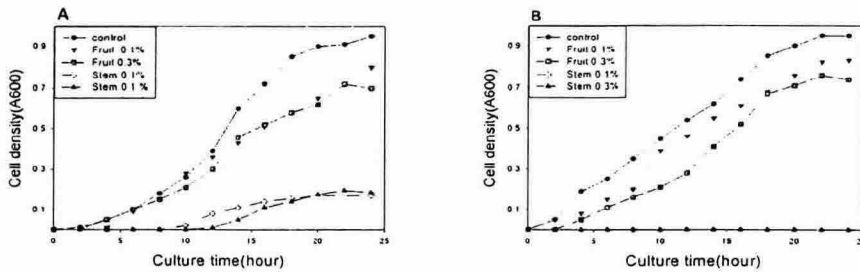


Figure 4. Growth of Microorganism with the water extracts of Akebia stems and fruits.  
(A. *Bacillus cereus* KCTC 1012 B. *Bacillus subtilis* KCTC 1021)

Table 2. Growth inhibition of stems and fruits ethanol extracts on microorganism used in the experiments

sample	S.					H. sample	B.				
	<i>subtilis</i>	<i>cereus</i>	<i>sp agglomerans</i>	<i>alvei</i>			<i>subtilis</i>	<i>cereus</i>	<i>sp agglomerans</i>	<i>alvei</i>	
S <sup>3)</sup> 100%	- <sup>1)</sup>	-	1 <sup>2)</sup>	-	-	F <sup>4)</sup> 100%	-	-	-	-	-
S70%	-	1	1	-	-	F70%	-	1	1	-	-
S50%	1	1	1	-	-	F50%	1	1	1	-	-
S30%	1	1	1	-	-	F30%	1	1	1	-	-

<sup>1)</sup>No inhibition <sup>2)</sup>Diameter of clear zone(mm) <sup>3)</sup>Stem extract <sup>4)</sup>Fruit extract

## 요 약

으름덩굴로부터 식품 보존재 개발을 위하여 실시한 연구 72hr동안 물 추출한 목통의 수용성 물질이 도시락 부패 및 식중독 유발균인 *Bacillus subtilis* KCTC 1021 *Bacillus cereus* KCTC 1012에 항균력을 나타내었으며, Autoclave(121℃ 15min)를 할 경우 항균물질의 항균 활성이 더 높아짐을 확인할 수 있었다. 반면에 6hr 이상 열수 추출에서는 오히려 추출물의 항균력이 저하 되었다.

## 참고 문헌

1. 박찬성 "향신료가 식중독세균의 증식에 미치는 영향"(1997), 한국조리과학회지,13(3),330
2. 지원대,정민선,정현채,이숙정,정영건"마늘과 생강의 항균성 및 증류성분",한국농화학회지, 40(6),514
3. 한복진,우상규,신현경"목통의 물추출물이 *Clostridium perfringens* 및 주요 장내미생물의 생육에 미치는 영향"(1995)한국산업미생물학회,23(6),633
4. E, N, Quiroga "Screening antiungal activities of selected medicinal plant"(2001) *J.Ethnopharmacology*,8(74),89
5. Tiira Ojala"Antimicrobial activity of some oumarin ontaning herbal plants growing Finland"(2000)*J.Ethnopharmacology*,7(73),299