

## 으름 덩굴의 항균 성분 분리 및 함량분석

황현익, 이인순\*, 김지은, 문혜연

대구대학교 생물공학과, 파이토케미칼(주)\*

전화 (053) 850-6552, FAX (053) 850-6559

### Abstract

For the antimicrobial activity test, *Akebia quinata* DECAISNE stem were extract water and fractionate it with four solvents which had a different polarity. antimicrobial activity were increased in order of petroleum ether fraction = diethyl ether fraction  $\leq$  n-butanol fraction < ethyl acetate fraction < aqueous fraction. Water extracts of stems and fruits were showed inhibitory two species bacterial (*Bacillus subtilis* KCTC 1021, *Bacillus cereus* KCTC 1012) from developing.

### 서 론

식물은 색물체의 생존에 필수적이 아니지만 살아가는 데는 유익한 기능을 수행하는 이차대사산물을 만든다. 이들 이차대사산물은 포유류를 비롯한 동물에게도 강한 생리적 영향을 주고 있어 많은 주목을 받고 있다. 이러한 물질로 phenol성 물질, terpenoid, alkaloid 등이 있다. 첫째로 phenol성 물질은 당과 결합하여 배당체로서 존재하는 경우가 많으므로 보통 수용성이다. 자연에 존재하는 phenol성 물질의 구조는 1000가지 이상이 밝혀졌으며 그 중 flavonoid가 대부분이나 단순한 monocyclic phenol류, phenyl propanoid류, phenol성 quinone류도 상당수 알려져 있다. 두 번째로는 terpenoid로서 대체로 지용성이며 세포질에 많이 분포하며 대표적인 terpenoid로는 saponin이 잘 알려져 있으며, saponin의 기능으로는 거담, 진해, 항염증, 중추억제, 피로방지, cholesterol 대사촉진, 핵산과 단백질의 합성촉진, 감염방어, 항암, 항균작용 등 다양한 작용이 알려져 있다. 이와같이 포유류에 대한 영향외에도 이차대사산물은 병원성 균류 등의 미생물로부터 식물을 보호하는 물질로도 작용한다. 특히 phenol성 물질 중에는 항균작용이 있는 물질이 많으므로 진균, 세균 또는 virus 등 병원균의 침입에 대한 방어작용을 할 것이라고 믿고 있을 뿐만 아니라 일단 병원균이 식물체에 침입하면 phenol성 물질의 생합성이 촉진되거나 또는 phytoalexin이 출현하는 것으로 보아 병에 대한 저항 역할도 하는 것 같다. 그러나 식물의 2차대사산물을 천연 원료로한 항균제나 식품 보존제(천연 방부제) 등에 관해서는 그 연구가 미흡한 실정이다.

본 실험에서 사용하는 으름덩굴(*Akebia quinata* DECAISNE)은 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 사용되어왔고, phenol성 물질과 saponin 함유가 높은 물질로 알려져 있으나, 활용에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 식생활 문화의 변화와 환경오염에 대비하여 안전한 식품 첨가 보존제의 개발의 필요성이 증대되고 그에 대한 수요 또한 증가되는 실정이다. 그

러므로 본 연구는 으름덩굴을 이용한 유용성분을 추출하여 다른 항균효과를 가지는 물질을 분리하여 이를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 균주 및 재료

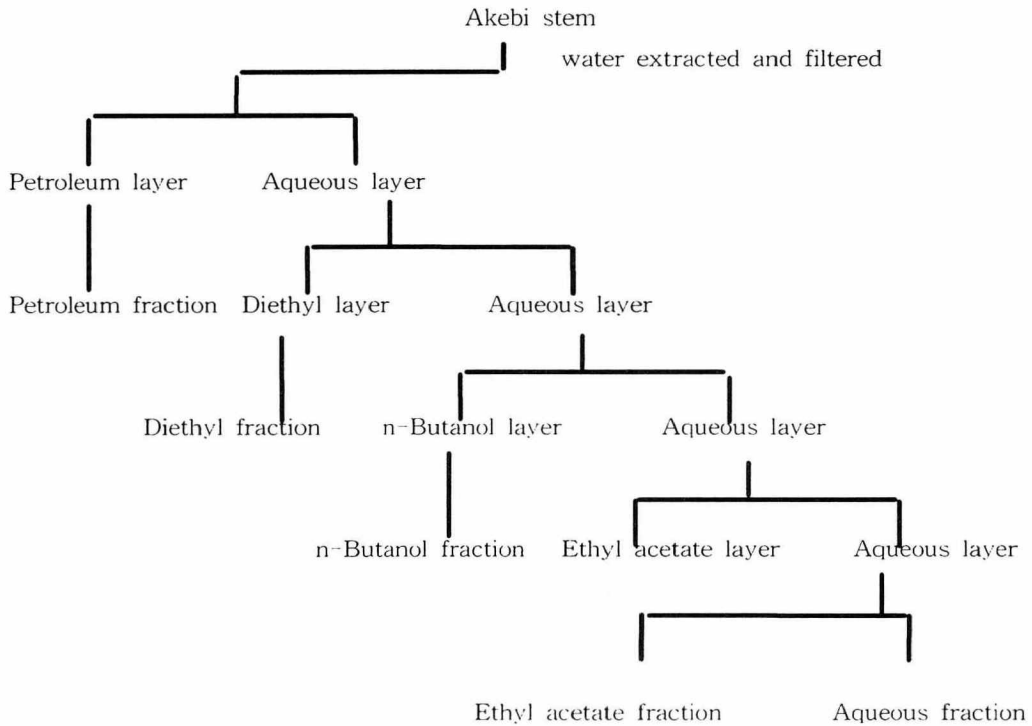
본 실험에서 사용한 균주는 *Bacillus subtilis* KCTC1021, *Bacillus cereus* KCTC1012,로서 Table I 과 같이 배양 하였으며, 재료인 으름 덩굴은 경북 영천에 소재한 약재상에서 건조된 상태의 제품을 구입하여 사용하였다.

Microorganism	Media used	Incubation temperature(°C)/RPM
<i>Bacillus subtilis</i>	Nutrient Broth(Difco)	35/150
<i>Bacillus cereus</i>		

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

#### 으름 덩굴 추출물의 제조

으름덩굴의 물 추출 및 각각의 분획 분리는 Fig 1.과 같은 과정으로 용매의 극성차를 이용해 비극성 용매 분획으로 부터 극성 용매 분획으로 분리하였다.



**Figure 1** Flow diagram the extract and fractionation of Akebia stem.

### 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(0.45 $\mu$ m) 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 50 $\mu$ l를 첨가하였다. 35 $^{\circ}$ C에서 24시간 배양 후 filter paper 주변의 Clear zone 크기(mm)를 측정하여 다음과 같이 환산하였다.

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

### 결과 및 고찰

#### 각 획분의 추출 수율

으름 덩굴의 용매별 추출 수율은 Table 2와 같다. 물 추출물로는 높은 23.9mg/ml에서 petroleum ether와 diethyl ether는 1.1mg/ml, n-butanol은 1.9의 낮은 수율을 보였으며, ethyl acetate는 8.5mg/ml로 높은 추출 수율을 나타내었다. 극성 용매일수록 추출효율이 낮아지는 것으로 관찰되었으며, 이는 으름 줄기의 성분이 극성이 낮은 배당체로 구성되어진 것으로 생각된다.

Fraction	Extract yield(mg/ml)
water extract	23.9
Petroleum ether	1.1
Diethyl ether	1.1
n-butanol	1.9
Ethyl acetate	8.5
Aqueous	15.4

Table II. Yield of each fractions extracted from Akebi stem.

#### 으름 덩굴 줄기의 항균 효과

으름덩굴의 각 획분의 항균효과를 측정한 결과 극성 용매인 petroleum ether, diethyl ether, n-butanol의 경우 항균 효과를 관찰 할 수 없었으며, Fig 2와 같이 물 추출액과 aqueous fraction, ethyl acetate fraction에서만 항균력을 관찰 할 수 있었다. 이는 으름 덩굴의 항균효과를 가지는 물질은 두 가지 이상의 물질로 추정되며 한 물질은 비극성 물질이며, 다른 한 물질은 양극성 물질로 추정된다. 물 추출물의 경우 80%정도의 항균력을 보였으나, ethyl acetate fraction의 경우 다른 추출물의 사용량에 10%만을 사용하여 20%정도의 항균력을 보였으며, 이는 양극성 항균 물질의 항균력이 더 우수한 것으로 추정되어진다.

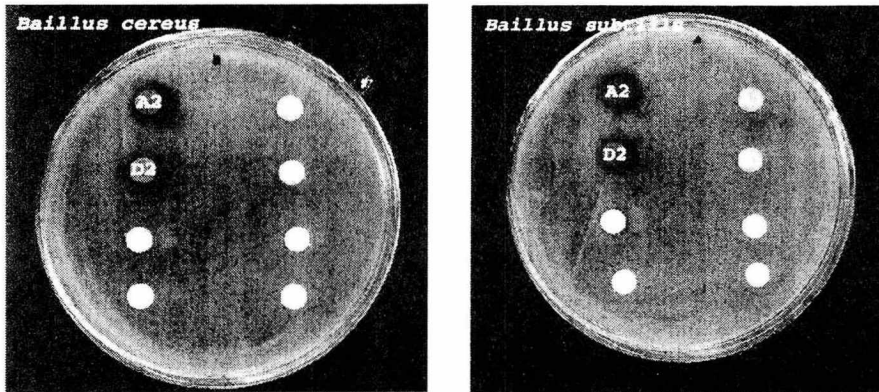


Figure 2. growth inhibition effect of Filter paper disk method

A1 water extract stem 0.05%

A2 water extract stem 0.1%

D1 aqueous fraction 0.05%

D2 aqueous fraction 0.1%

E1 Ethyl acetate fraction 0.005%

E2 Ethyl acetate fraction 0.01%

B1 n-butanol fraction 0.005%

B2 n-butanol fraction 0.01%

#### 참고문헌

1. 이인순, 최명철, 문혜연 "도라지 추출액에 따른 기관지 질환 세균에 미치는 효과" (2000) 한국생물공학회지, 15(2), 162~166
2. 김미정, 변명우, 장명숙 "대나무(신의대)잎의 생리활성 및 항균효과" (1996) 영양식량학회지, 25(1), 135~142
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