

환삼덩굴의 용매분획별 항균성 및 항산화성

박승우* · 우철주 · 정신교 · 정기택

*경상북도 보건환경연구원, 경북대학교 식품공학과

Antimicrobial and Antioxidative Activities of Solvent Fraction from *Humulus japonicus*

Seung-Woo Park*, Cheol-Joo Woo, Shin-Kyo Chung and Ki-Taek Chung

*Public Health and Environment Research Institute, Kyungsangpook-do
Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University

Abstract

The biological activities of *Humulus japonicus* were extracted by water and methanol. Methanol was better solvent than water in the extraction for antimicrobial activities against six different species of bacteria and two yeasts. The methanol extract was systematically fractionated with various organic solvents which have different polarities. From the result of antimicrobial activities against six species of bacteria and two species of yeasts, methanol extract was superior to water extract. The methanol extract of *Humulus japonicus* showed antimicrobial activity against the all species of microorganisms tested except *Escherichia coli*. The butanol fraction of methanol extract showed antimicrobial effect on the all species tested. The minimal inhibition concentration(MIC) of the butanol fraction on the growth of microorganisms was ranged between 0.1~0.4%. The water extract of *Humulus japonicus* did not show inhibition of the activity of trypsin but methanol extract showed inhibitory activity. The chloroform fraction of methanol extract showed comparatively higher trypsin inhibitory activity than other fractions. The concentration of 50% inhibition(IC₅₀) by chloroform fraction was 1.0 mg/ml. Enzyme-inhibitor complex formation was above 90% of the while for 20 min. It was revealed that methanol extract of *Humulus japonicus* inhibited peroxide production of lard and soybean oil as substrate by antioxidative test. The chloroform fraction of methanol extract had the highest activity. When 0.2% of chloroform fraction was added, induction period of soybean oil and lard were extended 15, 9 days, respectively.

Key words: *Humulus japonicus*, biological activities, MIC

서 론

최근 천연물을 중심으로 한 학문이 발전하면서 천연물이 가지는 2차 대사산물인 생리활성물질에 대한 관심이 증대되고 있다. 생리활성물질은 매우 적은 양으로 현저한 활성을 나타내는 고부가가치의 물질로서 수 많은 종류가 인류에게 유용하게 이용되고 있으며, 또한 새로운 물질들이 연구 개발되고 있다^(1,2). 특히 인공합성품중 일부가 안전성의 문제가 제기되면서 규제를 강화하고 있고, 소비자들의 안전과 건강에 대한 요구증대에 따라 일반 기업에서도 인공합성품의 사용을 제한하려는 추세에 있어 천연물의 이용분야는 더욱 더 넓어질 것으로 생각된다.

지구상에는 200,000종 이상의 현화식물이 존재하고 있으며, 우리나라의 고등식물은 약 4,500여종으로 추정하고 있다. 이 중 식용이나 약용자원으로 이용하는 식물은 수백종 미만으로 알려져 있으며⁽¹⁾ 아직까지 생리활성과 유효성분이 규명되지 않은 자원이 상당히 존재할 것으로 생각된다.

한편 천연물중에 생리활성을 나타내는 물질은 toco-pherol⁽³⁾, phenol성 물질⁽⁴⁾, flavonoid 유도체⁽⁵⁾, Maillard형 갈변생성물⁽⁶⁾, 아미노산, peptide 등⁽⁷⁾이 알려져 있다. 환삼덩굴(*Humulus japonicus*)은 삼과에 속하는 덩굴성 1년초로서 7~8월에 개화하는 자웅이주의 식물로서 우리나라 전역에 산재하고 있으며 환삼덩굴에 대한 연구보고는 약리작용에 관한 것이 대부분이며 생리활성에 관한 연구는 거의 없는 실정이다⁽⁸⁾. 따라서 본 연구는 환삼덩굴의 생리활성을 검색하여 유용자원으로 활용하기 위한 기초연구로서 환삼덩굴을 각종 용매로 추출 및 분획하여 항균성, trypsin 저해활성 및 항산화성을 조사하였기에

Corresponding author: Seung-Woo Park, Public Health and Environment Research Institute, Kyungsangpook-do, Taegu 702-702, Korea

보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 환삼덩굴은 1993년 6월 경북 영천 지역에서 채취하여 음건한 후 분말로 분쇄하여 시료로 사용하였으며, 추출용매인 물은 이온교환수지를 통과시킨 증류수를, 메탄올, 부탄올, 에칠아세테이트, 헥산 등의 유기용매는 일급시약을 사용하였다.

추출 및 분획

시료의 추출은 시료에 5배량의 물 또는 메탄올을 가하여 수욕상에서 환류 냉각하면서 3회 추출한 후 여과하고 감압농축하여 물 추출물과 메탄올 추출물로 하였다. 메탄올 추출물은 10% 메탄올로 녹인 후 Fig. 1과 같이 계통 분획하여 헥산, 클로로포름, 에칠아세테이트, 부탄올 및 물층으로 분획하였다.

항균성 시험

항균성 시험에 사용한 균주와 배지는 Table 1과 같으며, 모든 균주는 계대배양하여 충분히 활성화 시킨 후 실험에 사용하였다. 각 추출물의 항균성 시험은 paper disc(Toyo 27, 10 mm)를 이용한 agar diffusion법⁽⁹⁾으로 행하였다. 즉, agar plate에 미리 배양한 균액을 멸균면봉으로 도말하고 paper disc에 각 추출물을 50 µl씩 흡

수시켜 plate 표면에 얹어 30°C 에서 24~48시간 동안 배양한 후 disc 주위의 inhibition zone(mm)의 직경으로 비교하였다. 부탄올 분획의 미생물에 대한 최소저해농도(minimum inhibitory concentration, MIC)의 측정은 micro plate를 이용한 serial dilution법으로 행하였다.

Trypsin 저해활성의 측정

Trypsin 저해활성은 AACC의 방법^(10,11)을 다소 변형하여 사용하였다. 즉, trypsin(sigma) 용액 1ml와 각 추출물 1ml를 혼합한 후, 37°C 에서 30분간 전처리하고 기질인 N-benzoyl-DL-arginine p-nitroanilide HCl (BAPA, Sigma Chemical Co.) 2.5 ml를 가하여 37°C 에서 정확히 20분간 반응시킨 후 30% 초산으로 반응을 정지시키고 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 spectrophotometer(Shimadzu UV-190) 410 nm에서 물을 대조액으로 흡광도를 측정하여 저해율로 나타내었다.

저해활성이 가장 높은 클로르포름 분획은 농도에 따른 trypsin의 잔존활성을 측정하였고, 전처리 시간이 EI 복합체(enzyme-inhibitor complex) 형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 전처리 시간을 5분에서 30분간 변형시키면서 trypsin의 잔존활성을 측정하였다.

항산화성 시험

항산화성 시험의 기질은 돈지(D농산)와 대두유(D유량)를 사용하였다. 유지 30g에 각 추출물을 0.2% 농도가 되도록 첨가하였으며, 대조구인 α-tocopherol(sigma)은 0.05% 농도로 첨가하여 65°C 항온기에서 15일간 저장하면서 경시적으로 과산화물가를 측정하여 항산화 효과를 비교하였다. 과산화물가의 측정은 AOAC 방법⁽¹²⁾에 따라 시험하였다.

결과 및 고찰

항균성

물 추출물과 메탄올 추출물의 항균성: 환삼덩굴을 물과 메탄올로 추출하여 세균 6종과 효모 2종에 대하여 항균성을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 물 추출물은 *Staphylococcus aureus*와 효모에 대하여만 항균효과를 나타내었으나, 메탄올 추출물은 *Escherichia coli*를 제외한

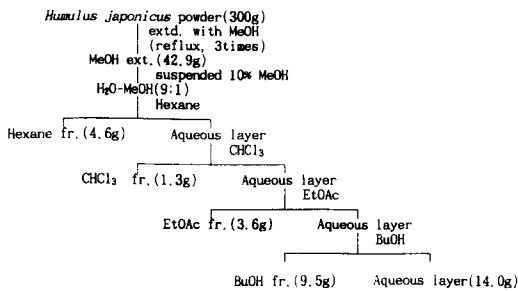


Fig. 1. Extraction and fractionation procedure for *Humulus japonicus*

Table 1. List of strains and media for antimicrobial test

Strains	Media
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Nutrient agar and broth
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	Nutrient agar and broth
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	Nutrient agar and broth
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Nutrient agar and broth
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Nutrient agar and broth
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Nutrient agar and broth
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Sabraud dextrose agar and broth
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601	Sabraud dextrose agar and broth

Table 2. Antimicrobial activity of water and methanol extract of *Humulus japonicus* on several microorganisms

Strains	Inhibition zone on plate(mm)	
	H ₂ O ext.	MeOH ext.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	14	20
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	0	16
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0	16
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0	17
<i>Samonella enteritidis</i> ATCC 13076	0	15
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	12	18
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601	12	18

Dose: soluble solid, 0.3 mg/disc

Table 3. Antimicrobial activity of each fraction of *Humulus japonicus* on several microorganisms

Strains	Inhibition zone on plate(mm)				
	Hexane	CHCl ₃	EtOAc	BuOH	H ₂ O
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	15	20	17	21	16
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	0	14	0	18	0
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0	0	14	16	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0	0	0	12	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0	0	14	18	0
<i>Samonella enteritidis</i> ATCC 13076	0	0	13	16	0
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0	12	14	18	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601	0	12	15	20	12

Dose: soluble solid, 0.3 mg/disc

Table 4. Minimum inhibitory concentration(MIC) of butanol fraction of *Humulus japonicus* on microbial growth

Strains	Concentration of butanol fraction(%)			
	0.4	0.2	0.1	0.05
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	-	-	-	+
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	-	-	+	+
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	-	-	-	+
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	+
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	-	-	-	+
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	+	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601	-	-	-	+

+: growth, -: no growth

모든 시험균주에 항균효과를 나타내어 메탄올 추출물의 항균성이 물 추출물 보다 우수하였다. 이 결과는 이와 신⁽¹³⁾과 박 등⁽¹⁴⁾이 생약재와 식물을 이용하여 물 추출물과 알콜 추출물의 항균성을 조사한 결과와 유사하였다.

메탄올 추출물의 분획별 항균성: 항균성이 우수한 메탄올 추출물을 각종 용매로 분획하여 항균성을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 부탄올 분획은 모든 시험균주에 항균성을 나타내었고, 균종별로는 *Staphylococcus aureus*와 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 항균성이 우수하였으며 모든 분획이 *Staphylococcus aureus*에 대하여는 항균성을 나타내었다. 이는 이와 신⁽¹³⁾이 황백을 이용하여

분획별 항균성을 조사한 결과와 유사하였다.

부탄올 분획의 최소저해농도: 항균성이 우수한 부탄올 분획의 미생물에 대한 최소저해농도(MIC)를 조사한 결과는 Table 4와 같다. 0.1~0.4%의 농도 범위에서 시험균주의 증식을 억제하였으며, 균종별로는 *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Saccharomyces cerevisiae*에 대하여는 0.1%, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*에 대하여는 0.2%, *Escherichia coli*에 대해서는 0.4%에서 미생물의 증식을 저해하였다. 이는 박 등⁽¹⁴⁾이 자초 추출물을 이용한 항균성 시험에서 0.1~0.15% 농도에서 상당수 미

Table 5. Inhibitory activity on the trypsin of water and methanol extract of *Humulus japonicus*

Extract	Activity(OD, at 410 nm)	Inhibition (%)
Control	0.858	0.0
H ₂ O ext.	0.845	1.5
MeOH ext.	0.705	17.8

Trypsin: 12 µg/ml, BAPA: 0.4 mg/ml, Inhibitor: 1 mg/ml

Table 6. Inhibitory activity on the trypsin of each fraction of *Humulus japonicus*

Fraction	Activity(OD, at 410 nm)	Inhibition(%)
Control	0.858	0.0
Hexane	0.644	24.9
CHCl ₃	0.423	50.7
EtOAc	0.588	31.5
BuOH	0.603	29.7
H ₂ O	0.856	0.2

Trypsin: 12 µg/ml, BAPA: 0.4 mg/ml, Inhibitor: 1 mg/ml

생물의 증식이 억제되었다는 결과와 유사하였다.

Trypsin 저해활성

물 추출물과 메탄올 추출물의 trypsin 저해활성 : 환삼덩굴을 물과 메탄올로 추출하여 trypsin 저해활성을 조사한 결과는 Table 5와 같다. 물 추출물은 trypsin 저해활성이 거의 나타나지 않았으나, 메탄올 추출물은 약 18% 정도의 저해활성을 나타내었다. Trypsin 저해물질은 소염작용, 변이유발 저지 및 발암에 따른 암선위 저지등 많은 질병에 대한 효과가 보고되어 있으며, 체액중의 단백분해효소의 식별, affinity chromatography의 활성기 또는 복잡한 생체반응에 관한 단백분해효소의 기능을 해석하는 시약으로 이용되는 등^(16,17) 그 활용의 범위가 넓어지고 있어 이에 대한 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

메탄올 추출물의 분획별 trypsin 저해활성 : Trypsin 저해활성을 나타낸 메탄올 추출물을 다시 각종 용매로 분획하여 분획별 trypsin 저해활성을 조사한 결과는 Table 6과 같다. 물 분획은 전혀 활성을 나타내지 않았으나, 헥산 분획은 약 25%, 에칠아세테이트와 부탄올 분획은 30% 내외의 저해활성을 나타내었고, 클로로포름 분획은 50% 이상의 trypsin 저해활성을 나타내어 클로로포름 분획이 trypsin에 대한 저해활성이 가장 우수하였으며, 50% 저해농도(IC₅₀)는 1 mg/ml였다. 김⁽¹⁸⁾은 꾸지뽕나무잎 추출물의 에칠아세테이트 분획에서 trypsin 저해활성이 가장 높게 나타났다고 보고하여 본 조사결과와 상이하였는데 이는 trypsin 저해활성을 나타내는 물질의 차이에 의한 것으로 사료된다.

클로로포름 분획의 농도와 전처리 시간의 영향 : Trypsin의 저해활성에 미치는 클로로포름 분획 농도의 영향은

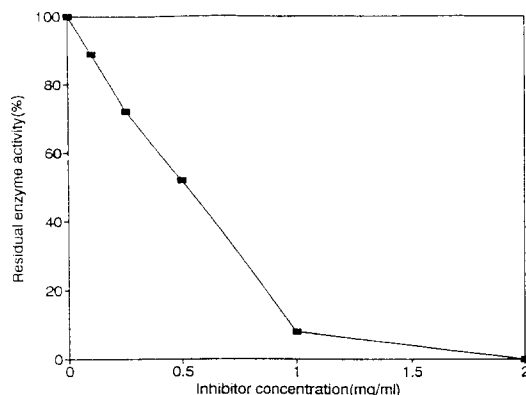


Fig. 2. Effect of inhibitor concentration on the inhibitory activity to the trypsin

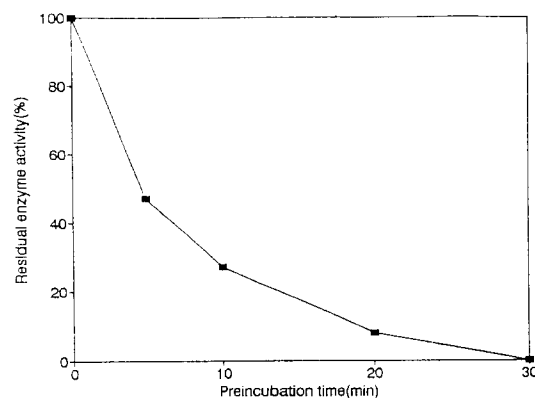


Fig. 3. Effect of preincubation time on the inhibitory activity of the inhibitor to the trypsin

조사하기 위하여 클로로포름 분획을 ml당 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 mg의 농도로 첨가하여 trypsin의 잔존활성을 조사한 결과는 Fig.2와 같다. 1 mg/ml까지는 농도의 증가에 따라 거의 비례적인 저해효과를 나타내었으나, 그 이상의 농도에서는 완만하게 저해율이 증가하였다.

EI 복합체(enzyme-inhibitor complex) 형성에 미치는 전처리 시간의 영향을 알아보기 위하여 효소와 저해물질(클로로포름 분획)을 가하여 5분에서 30분간 전처리 시킨후 trypsin의 잔존활성을 조사한 결과는 Fig.3에서 보는바와 같이 EI 복합체 형성이 빠른 시간내에 이루어져 20분에 90% 이상의 저해효과를 나타내었다. 이는 Ti와 Seu⁽¹⁹⁾는 trypsin 저해물질이 30분 경과후 93%의 저해를 보였다는 결과와 유사하였다.

항산화성

물 추출물과 메탄올 추출물의 항산화성 : 환삼덩굴의 물 추출물과 메탄올 추출물을 돈지와 대두유에 0.2%

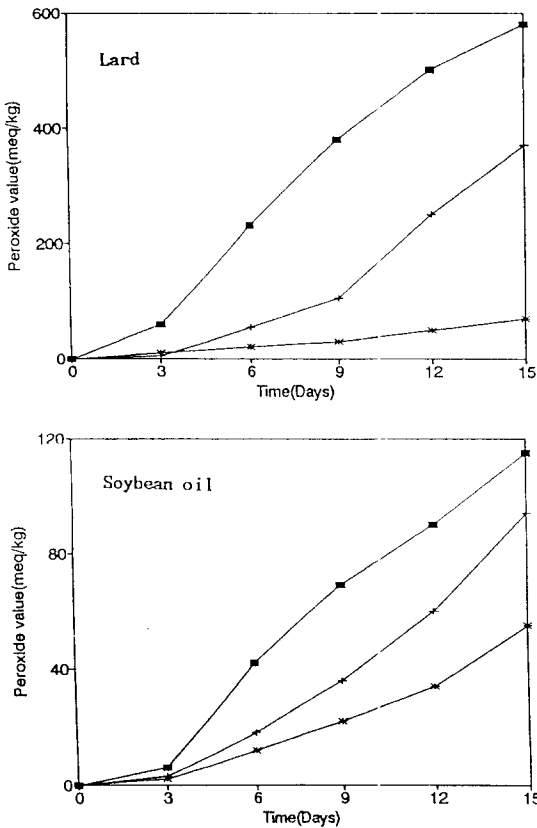


Fig. 4. Antioxidative activity of water and methanol extract of *Humulus japonicus* on the lard and soybean oil
 ■—■; Control, ×—×; H₂O ext. *—*; MeOH ext

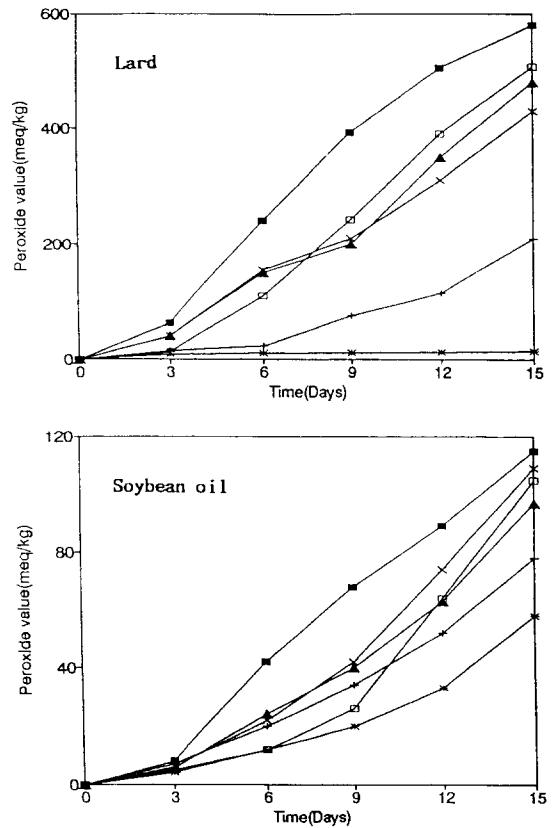


Fig. 5. Antioxidative activity of each fraction of *Humulus japonicus* on the lard and soybean oil
 ■—■; Control, +—+; Hexane fr., *—*; CHCl₃ fr., □—□; EtOAc fr. ×—×; BuOH fr., ▲—▲; H₂O fr.

농도로 첨가하여 65°C 에서 저장하면서 과산화물가를 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다.

돈지와 대두유 공히 무첨가구에 비하여 물 추출물과 메탄올 추출물을 첨가한 시험구에서 과산화물의 생성이 억제되었으며, 물 추출물 보다는 메탄올 추출물의 항산화 효과가 우수하였다. 기질에 따라서는 돈지가 대두유에 비하여 항산화 효과가 높게 나타났는데, 이는 오 등⁽²⁰⁾의 결과와 일치하였다. 동물성 유지인 돈지가 식물성 유지인 대두유 보다 항산화 효과가 높게 나타난 것은 식물성 유지 자체에 존재하는 항산화 성분과 지방산의 차이에 의한 것으로 사료된다.

메탄올 추출물의 분획별 항산화성 : 항산화성이 우수한 메탄올 추출물의 분획별 항산화 효과를 조사하기 위하여 돈지와 대두유에 각 분획을 0.2% 농도로 첨가하여 65°C 에서 저장하면서 경시적으로 과산화물가를 측정 한 결과는 Fig. 5와 같다.

클로로포름 분획과 헥산 분획에서 항산화 효과가 높게 나타났으며, 클로로포름 분획의 항산화 효과가 가장 우수하였다. 에칠아세테이트, 부탄올, 물 분획은 저장 초

기에는 어느 정도 항산화 효과가 인정되었으나, 시일이 경과함에 따라 항산화능이 감소하였다. 환삼덩굴의 항산화물질은 여러 분획에서 활성을 나타내는 것으로 보아 복합물질의 작용에 의한 것으로 사료된다.

클로로포름 분획의 농도별 영향 : 항산화성이 가장 우수한 클로로포름 분획의 농도에 따른 항산화 효과를 조사하기 위하여 돈지와 대두유에 클로로포름 분획의 농도를 0.05, 0.1, 0.2% 농도로 첨가하여 65°C 에서 저장하면서 과산화물가를 측정 한 결과는 Fig. 6과 같다. 항산화성은 농도가 증가함에 따라 높게 나타났으며, 0.2% 농도에서는 0.05%의 α-tocopherol을 첨가한 대조구 보다 항산화 효과가 높게 나타났다. 과산화물가가 20 meq/kg에 도달하는 시간을 유도기간(induction period)으로 하였을 때, 돈지의 경우, 무첨가구는 2일 이내에 유도기간에 도달하였으나, 0.2% 클로로포름 분획 첨가구는 15일에 유도기간에 도달하였다. 한편 대두유의 경우는, 무첨가구의 유도기간이 5일이었으나, 0.2% 클로로포름 분획 첨가구는 유도기간이 9일로서 유지의 산화안정성이 상당 기간 연장되었다. 본 실험에 사용한 항산화물질이

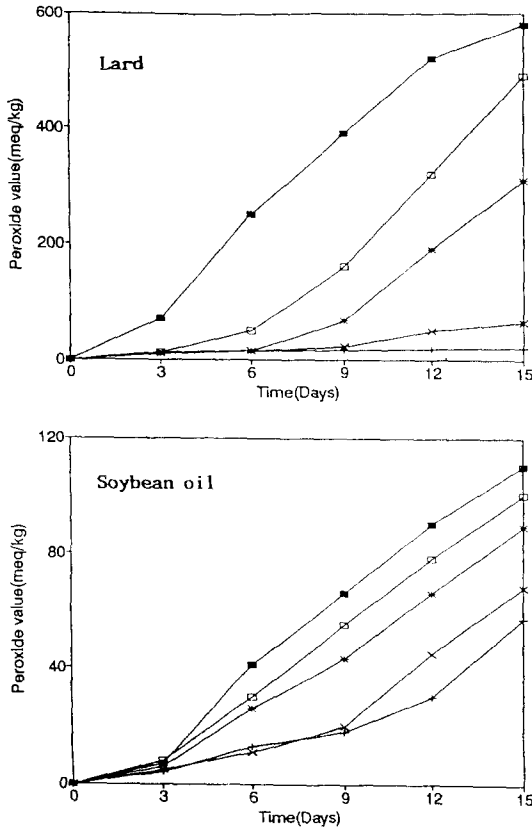


Fig. 6. Antioxidative activity on the concentration of chloroform fraction

■—■: Control, +- -: 0.2%, · · ·: 0.1%, □—□: 0.05%, ×—×: α-tocopherol (0.05%)

조추출물인 점을 감안할 때 정제가 이루어질 경우 보다 낮은 농도에서 항산화 효과를 나타낼 것으로 사료되며, 항산화물질의 정제 및 동정이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

환삼덩굴의 생리활성물질들을 검색하기 위하여 물과 메탄올로 추출하여 항균성과 trypsin 저해활성 및 항산화 효과를 조사하였으며, 메탄올 추출물은 다시 계통 분획하여 분획별 활성을 조사하였다.

세균 6종과 효모 2종을 대상으로 항균성을 조사한 결과, 물 추출물 보다는 메탄올 추출물의 항균성이 우수하였으며, *Escherichia coli*를 제외한 모든 시험균주에 항균효과를 나타내었다. 분획별 항균효과를 비교한 결과, 부탄올 분획이 모든 시험균주에 항균효과를 나타내었으며, 균종별로는 *Staphylococcus aureus*와 *Saccharomyces cerevisiae*에 대한 항균효과가 우수하였다. 부탄올 분획의 미생물에 대한 최소저해농도(MIC)는 0.1~0.4% 범위였

다. 환삼덩굴 추출물의 trypsin 저해활성을 조사한 결과, 물 추출물은 저해활성을 나타내지 않았으나, 메탄올 추출물은 저해활성을 나타내었다. 분획별 저해활성은 클로로포름 분획에서 가장 높았으며 클로로포름 분획의 50% 저해농도(IC₅₀)는 1 mg/ml였으며, EI(enzyme-inhibitor) 복합제 형성시간은 20분에 90% 이상이었다. 환삼덩굴의 메탄올 추출물은 돈지와 대두유를 기질로한 항산화성 시험에서 과산화물의 생성을 억제하였다. 메탄올 추출물의 분획별 활성은 클로로포름 분획에서 가장 높게 나타났으며, 클로로포름 분획의 농도를 0.2% 첨가하였을 때, 유지의 유통기간은 돈지는 15일, 대두유는 9일로서 산화안정성이 연장되었다.

문 헌

1. 강삼식, 윤혜숙, 장일무: 천연물 과학, 서울대학교출판부, p.71(1988)
2. 篠原和毅: 食用植物中の生理的機能成分, 食品と開発, 27, 29(1992)
3. Kalimoto, G., Yoshida, M. and Shibahra, A.: A role of tocopherol on the heat stability of vegetable oils. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkashi*, 38, 301(1985)
4. 위재준: Isolation and identification of constituents from antioxidant and hematopoietic fractions of panax ginseng C.A. Mayer. 서울대학교 박사학위논문(1989)
5. Hudson, B. and Lewis, J.: Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oil phospholipid as a synergist. *Food Chem.*, 10, 111(1983)
6. 김상담, 도재호, 오훈일: Antioxidant activity of panax ginseng browning products. *한국농화학회지*, 24, 161 (1981)
7. 문갑순, 최홍식: Antioxidative characteristics of soybean sauce in lipid oxidation process. *J. Food Sci. Technol.*, 19, 537(1987)
8. 육창수: 원색한국약용식물도감, 아카데미서적, p.138 (1989)
9. Davidson, P.M. and Parish, M.E.: Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.*, 43, 148(1989)
10. AACC: *Approved methods of the AACC*. Method 71-10, American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota (1982)
11. Clyde, E.S.: Trypsin inhibitor measurement: Effect of order of reagent addition. *Cereal Chem.*, 70, 111(1993)
12. AOAC: *Official method of analysis*. 14th ed., Association of Official Analytical Chemist, Washington.(1984)
13. 이명원, 신동화: 식품 부패미생물의 증식을 억제하는 천연 항균성물질의 검색. *한국식품과학회지*, 23, 200 (1991)
14. 박옥연, 장농석, 조확래: 한약재 추출물의 항균효과 검색. *한국영양식량학회지*, 21, 91(1992)
15. 박옥연, 장농석, 조확래: 자초 추출물의 항균특성. *한국영양식량학회지*, 21, 97(1992)
16. 류병호, 이수화, 신동분, 김동석: *Streptomyces* S-217에 의한 trypsin 저해물질의 생산 및 정제. *산업미생물학회지*, 20, 534(1992)
17. Umezawa, H.: *Enzyme Inhibitors of Microbial Origin*.

Univ. of Tokyo Press, p.1(1972)

18. 김성환 : 푸지뽕나무 잎의 생리활성 및 HPLC에 의한 성분의 정량. 경상북도 보건환경연구원연보, 5, 37(1992)
19. Ti, D.H. and Seu, J.H.: Trypsin inhibitor from *Streptomyces* sp.(III). Cultural conditions for the inhibitor production. *J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, 11, 297(1983)
20. 오만진, 이가순, 손화영, 김성렬 : 칠히리의 항산화 성분. 한국식품과학회지, 22, 793(1990)

(1994년 5월 23일 접수)