

섬바디로부터 *L. monocytogenes*에 대한 생장억제 물질의 분리 및 구조동정

오진아 · 신동화 · 백남인*

전북대학교 응용생물공학부(농업과학기술연구소), *경희대학교 농학과

Isolation and Identification of Growth Inhibition Substance on *L. monocytogenes* from *Dystaenia takesimana* Kitagawa

Jin-Ah Oh, Dong-Hwa Shin and Nam-In Baek*

Faculty of Biotechnology, Chonbuk National University

*Department of Agriculture, Kyunghee University

Abstract

The ethanol extracts and its n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa exhibited growth inhibition on *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, ATCC 19112, ATCC 19113, ATCC 19114 and ATCC 15313. The minimum inhibitory concentration of the ethanol extract and its n-hexane fraction were 50 ppm and below 30 ppm on *Listeria monocytogenes* respectively. By silica gel column chromatography, the active fraction A8 was obtained from the ethanol extract of *Dystaenia takesimana* Kitagawa. After three times of column chromatography, the SBD-1 and SBD-2 were separated from the A8 fraction of the ethanol extract of *Dystaenia takesimana* Kitagawa. Antimicrobial activity of the SBD-1 and SBD-2 was lower than that of the A8. And the A8 exhibited growth inhibition on five strains of *Listeria monocytogenes* at the level of 10~30 ppm and the bactericidal effect was confirmed at same the level. The purified antimicrobial active compound was identified as (9z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyn-3,8-diol, faltarindiol, by EI/MS, ¹H-NMR and ¹³C-NMR.

Key words: *Dystaenia takesimana* Kitagawa, *L. monocytogenes*, antimicrobial activity, polyacetylene, faltarindiol

서 론

식품의 변질이나 부패는 일반적으로 물리화학적 변화와 미생물학적 변화로 크게 나눌 수 있으며 식품의 구성 성분이나 조건에 따라 조금의 차이는 있겠지만 물리화학적 변화보다는 미생물 작용에 의한 변질이 그 대부분을 차지하고 있다. 식품에서 부패성 및 병원성 미생물을 제거하기 위해 가열살균을 한다거나 냉동·냉장, 방사선처리, 그리고 화학 합성 보존제를 사용하여 미생물을 사멸 또는 증식억제를 시키고 있다. 이 방법 중 가장 많이 이용되고 있는 가열살균은 열 처리를 함으로 품질이 저하되고, 냉장·냉동의 경우 그 비용이 많이 들며 원료에 이미 균이 오염되어 있거나 유통과정중 온도의 관리가 허술할 경우 식중독이 발생할 수 있으며 보존제의 사용은 그 안전성의 논란 때문에 그 사용범위가 점차 줄어들고 있다. 이러한 문제점을

보완하기 위한 방법의 하나로 천연물을 이용하여 식품 저장기간 동안 신선함과 안전성을 지속시키려는 연구가 이루어지고 있다⁽¹⁾.

최근에는 식용식물로부터 항 미생물 물질을 분리하고 구조를 밝히는 연구가 활발히 진행되고 있는데 두릅수피에서 3,4-dihydroxybenzoic acid를 분리⁽²⁾하였고, 육두구 과피에서 분리된 malabaricon B와 malabaricon C는 *B. subtilis*, *Streptococcus durans*를 1~4 µg/mL의 농도로 증식을 억제⁽³⁾시켰으며, *Myristica argentea*에서 분리된 diaryldimethylbutane lignans 이 *Streptococcus mutans* 을 25 ppm에서 증식 억제시켰고⁽⁴⁾, *Angelica dahurica* 뿌리에서 분리된 분리물⁽⁵⁾이 항균활성을 나타낸다고 보고하였다. 약용식물인 *Aspidosperma marcgravianum* Woodson에서는 alkaloid계 물질⁽⁶⁾을 *Maclura pomifera*의 과실에서 isoflavones을 분리⁽⁷⁾하였다. 위의 보고와 같이 천연물로부터 물질을 분리하고 규명하는 일은 인간에게 해가없는 천연물을 이용함으로써 건강 지향적 소비패턴에 부응할 수 있고, 식품의 안전성에 기여할 수 있을 것이다.

Corresponding author: Dong-Hwa Shin, Faculty of Biotechnology, Chonbuk National University, Dukjin-dong, Chonju, Chonbuk 560-756, Korea

섬바디(*Dystaenia takesimana* Kitagawa)는 산형과로 울릉도에서 나는 다년초이며 키는 1.5~2 m, 윗부분에 가지를 치고, 4~5개의 마디가 있으며 꽃은 흰색이며 산형화로서 원 줄기 끝과 가지 끝에 달리며, 개화기는 7~9월, 결실기는 8~10월이다. 이 섬바디는 식용과 약용으로 과실과 뿌리 이용하여, 益精, 養精神의 효과가 있다⁽⁸⁾.

본 실험에서는 예비실험에서 *Listeria monocytogenes*에 대한 항균 효과를 확인한 결과를 바탕으로 미생물 증식억제 효과가 있는 물질을 분리하고 그 화학구조를 구명하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

섬바디(*Dystaenia takesimana* Kitagawa)는 전북 고창 지역에서 자생하는 것을 직접 채취하여 수세, 건조(40°C, 72시간), 분쇄하여 에탄올 추출용 시료로 사용하였다.

추출

분쇄기로 마쇄한 시료에 5배 정도의 75% 에탄올을 혼합하여 환류냉각관이 부착된 플라스크에 넣고 85°C 수욕상에서 3시간 가열, 추출 후 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator에서 농축하였다⁽⁹⁾.

에탄올 추출물의 분획

에탄올 추출물에 증류수: hexan(1:1)을 가하여 hexan 분획물을 얻고(3회 반복) 이 분획물을 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올을 순차로 가하여 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물을 각각 얻었다. 각 분획물은 진공 농축기와 진공 건조기로 용매를 완전히 제거한 후 에탄올로 녹여 0.2 μ seiz filter로 제균한 다음 항균효과 실험에 사용하였다⁽⁹⁾.

항균 활성물질의 분리 및 동정

섬바디 에탄올 추출물을 용매별로 순차 분획하여 얻은 각각의 분획에 대하여 항균활성을 확인하였고 항균 활성과 얻어진 분획의 수율에 따라 Fig. 1과 같이 활성물질을 분리하였다. hexan 분획물(15 g)을 silica gel (250 g, 70~230 mesh, Merck)이 hexan : 에틸아세테이트 (60 : 1)로 현탁, 충전된 column(3.5×45 cm)에서 극성을 단계적으로 증가시키는(60 : 1 → MeOH, v/v) step-wise 용출법으로 분리하여 10개의 분획(A1~A10)을 얻었고 이 중에서 활성과 수율이 우수한 A8로부터 활성물질을 분리하였다^(10,11).

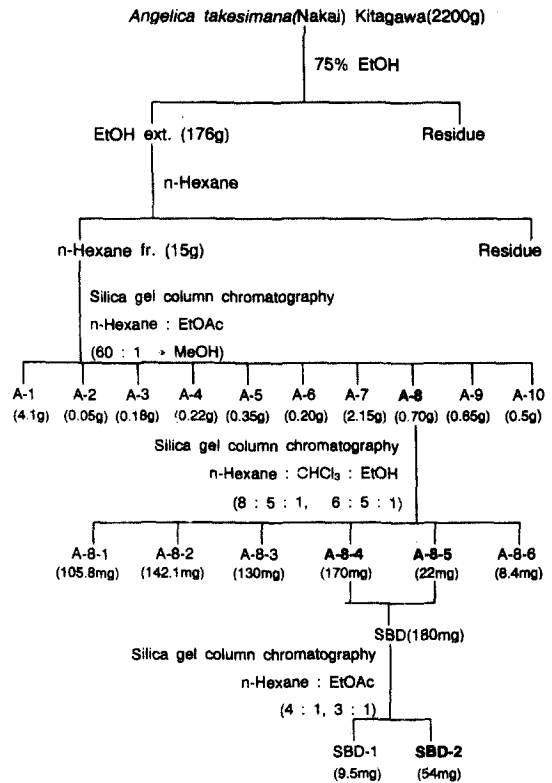


Fig. 1. Isolation flow diagram of the antimicrobial compound from *Dystaenia takesimana* Kitagawa.

획분 A8(0.7 g)은 다시 hexan : 클로로포름 : 에탄올(8 : 5 : 1, 6 : 5 : 1, v/v)용매계로 silica gel column chromatography(2.5×35 cm)하여 소획분(A8-1~A8-6)을 얻었다. 중에서 항균 효과가 있는 A8의 4, 5획분을 혼합하여 hexan : 에틸아세테이트(4 : 1, 3 : 1, v/v) 용매계로 SBD-1 및 SBD-2를 분리하였고 이 분리물이 TLC(hexan: 에틸아세테이트=3 : 1)로 단일 점적임을 확인하였다. 분리된 물질을 EI/MS를 통하여 분자량을 확인하고 NMR로 구조를 동정하였다.

분취할 때 용리물들은 TLC 상에서 전개시킨 후 UV(254 nm, 365 nm)의 흡수 양상과 황산(15~20%) 발색시 나타나는 점적의 모양에 따라 분취하였다.

분석 기기

혼탁도 측정을 위해서 UV spectrometer(Shimadzu UV-1201)와 Bioscreen C(Labsystem, Oy, Helsinki, Finland)를, 물질규명을 위하여 EI/MS(ZEOL JMS-AX505WA), ¹H- (400 MHz) 및 ¹³C-NMR (100 MHz) (ZEOL JNM-LA400)을 사용하였다.

실험균주 및 배지

항균 활성 시험에 사용한 미생물과 배지는 Table 1과 같다.

에탄올 추출물 및 용매 분획물과 획분의 농도별 항균효과

시험 균주가 접종된 사면배지에서 1백금이를 취해 10 mL 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양시킨 배양액 0.1 mL를 다시 10 mL 액체배지에 접종하여 30°C에서 24시간 배양시켰다. 이 균주 배양액 0.1 mL를 에탄올로 완전히 용해시킨 분획물을 일정농도(ppm)로 첨가한 액체배지에 접종한 후, 에탄올 추출물과 용매 분획물을 첨가한 배지는 30°C에서 72시간 동안 배양하면서 12시간 간격으로 620 nm에서, 획분은 Bioscreen C를 이용^(12,13)하여 30°C에서 72시간 동안 2시간 간격으로 600 nm에서 각 혼탁 정도를 측정하여 증식억제 효과를 비교하였다. 이때 첨가되는 용매 자체의 항균력을 배제하기 위하여 모든 시험은 처리농도와 동일하게 에탄올만을 첨가한 대조구를 설정하여 증식정도를 비교하였다⁽¹¹⁻¹³⁾.

정제된 소획분의 살균효과

각 균주가 배양된 사면배지에서 1백금이씩 취해 10 mL 액체배지에 접종, 30°C에서 24시간 배양하였다. 이 배양액 0.1 mL를 정제된 물질이 일정농도로 첨가된 액체배지에 접종하여 30°C에서 72시간 동안 배양하면서 24시간 간격으로 PCA 표준평판한천 배양법에 의해 생균수를 계수하고 같은 방법으로 균주배양액 0.1 mL의 생균수를 계수하여 초기 접종균수를 구했다. 처리구와 동일 농도로 에탄올만을 가한 것을 대조구로 하였다⁽¹⁰⁾.

결과 및 고찰

에탄올 추출물과 용매 분획물의 항균효과

섬바디 에탄올 추출물을 50, 100, 500 및 1000 ppm

농도(에탄올 농도는 1%)로 배지에 첨가하여 관찰한 결과 50 ppm의 낮은 농도에서 5균주 모두 72시간 동안 증식억제 효과가 지속되었고 균에 따른 감수성의 차이는 나타나지 않았다(Table 2). 에탄올 추출물에서 뚜렷한 증식억제 효과를 보여 용매분획하여 분획별 항균활성을 관찰하였다. 그 결과 모든 실험 균에 대하여 핵산과 클로로포름 분획물에서 뚜렷한 증식억제 효과를 나타내었으며 에틸아세테이트 분획물은 300 ppm에서만 증식억제 현상이 일어났고, 부탄올이나 물 분획물에서는 대조구와 비슷하거나 더 높았다(Table 2). 이 현상은 5균주 모두에서 같은 경향을 나타내었고, 이것으로 보아 *Listeria*의 증식을 억제시키는 물질이 비극성이라는 사실을 확인할 수 있었다.

핵산 분획물의 1차 column chromatography 후 얻은 획분들의 항균효과

섬바디 분획물의 경우 위에서 관찰한 것같이 핵산 분획물과 클로로포름 분획물의 효과가 비슷하여 사용한 섬바디에 대해서 수율(핵산 : 0.13%, 클로로포름 : 0.02%)이 높은 핵산 분획물을 분리 대상으로 선정하였다.

핵산 분획물로부터 항균활성 물질을 분리하기 위해 먼저 TLC상에서 분리능이 좋은 용매조건을 탐색 후 선택된 용매조건 (핵산 : 에틸아세테이트)에서 silica gel column chromatography를 실시한 결과 분리된 10개의 획분을 얻었다. 각 획분(A1~A10)을 진공건조 후 에탄올로 용해시킨 획분들을 30 ppm과 10 ppm 수준으로 배지에 첨가하여 *L. monocytogenes* 5 균주를 접종, 72 시간 동안 배양시켰다. 그 결과는 Fig. 2~3과 같다.

분리된 획분 중 A8(R_f : 0.4)은 모든 균에 대하여 30 ppm, 10 ppm 두 농도를 첨가한 배지에서 72시간 동안 혼탁도의 변화가 없었으며, 획분 A9는 30 ppm 농도를 첨가한 배지에서 혼탁도의 변화가 없었지만 10 ppm이 첨가된 배지에서는 일정 시간 동안 증식억제 효과를 보이다가 약하게 균이 증식하는 것을 관

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

Microorganism tested	Media used	Incubation (°C)
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111		
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19112	Tryptic soy	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19113	broth & agar	30
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114	(Difco)	
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313		

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) of ethanol extract and solvent fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa

<i>L. monocytogenes</i>	MIC (ppm)					
	EtOH	n-Hexane	CHCl ₃	EtoAc	BuOH	H ₂ O
ATCC 19111	<50	<30	<30	300	- ¹⁾	-
ATCC 19112	<50	<30	<30	300	-	-
ATCC 19113	<50	<30	<30	300	-	-
ATCC 19114	<50	<30	<30	300	-	-
ATCC 15313	<50	<30	<30	300	-	-

¹⁾ - : not inhibitory at 300 ppm

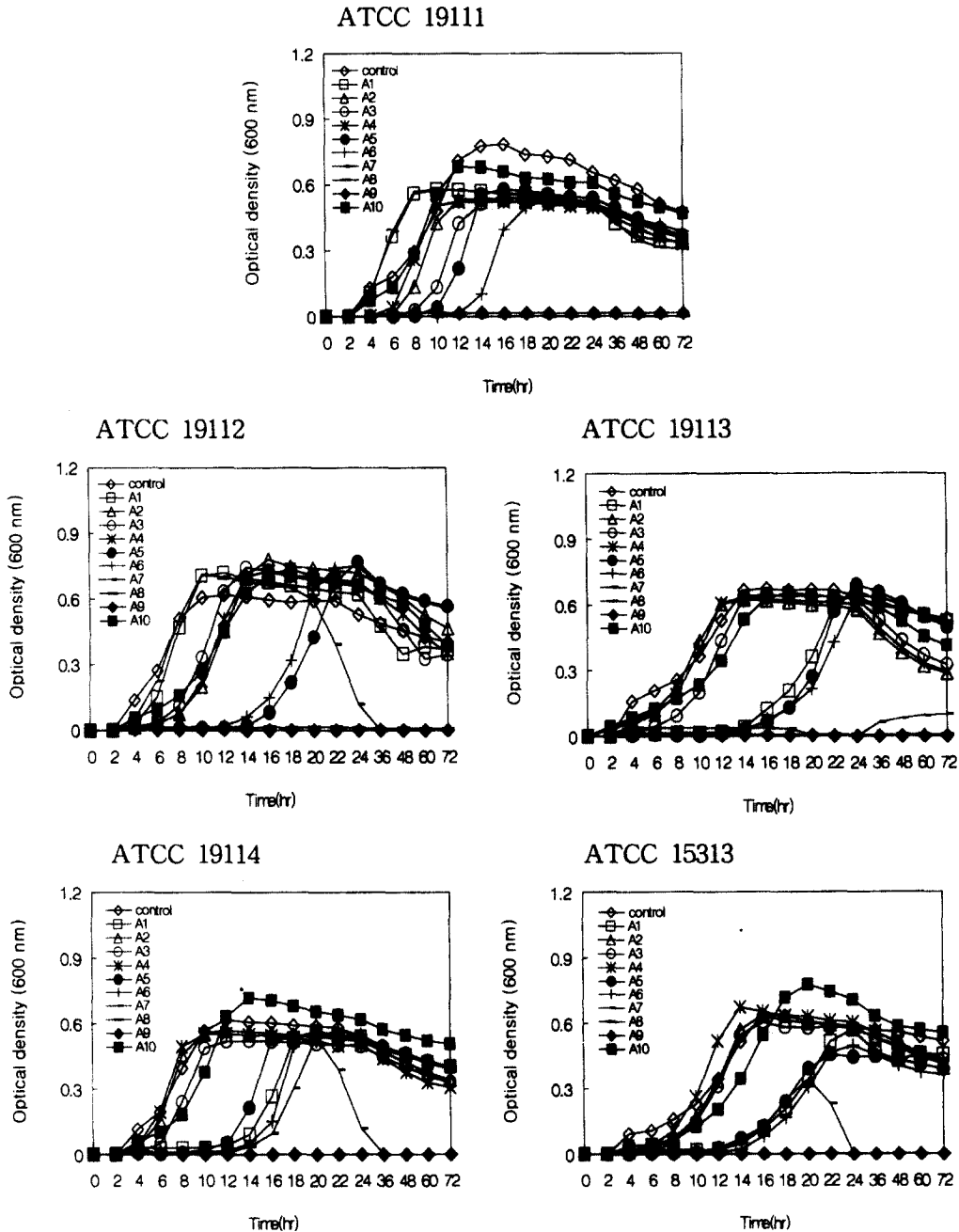


Fig. 2. Growth inhibition by fraction A1~A10 (30 ppm) obtained after chromatography of n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa on *L. monocytogenes*.

찰할 수 있었다. 그 이외의획분, 즉 A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, 및 A10은 두 농도에서 대조구와 같은 수준으로 균이 증식하여 증식억제 효과가 나타나지 않음을 알 수 있었다.

hexan 분획물의 1차 획분(A8)의 *L. monocytogenes*에 대한 살균효과

*L. monocytogenes*의 증식억제를 위한 섬바디 hexan 분획물로부터 분리된 A8의 최소증식억제 농도(ppm)가

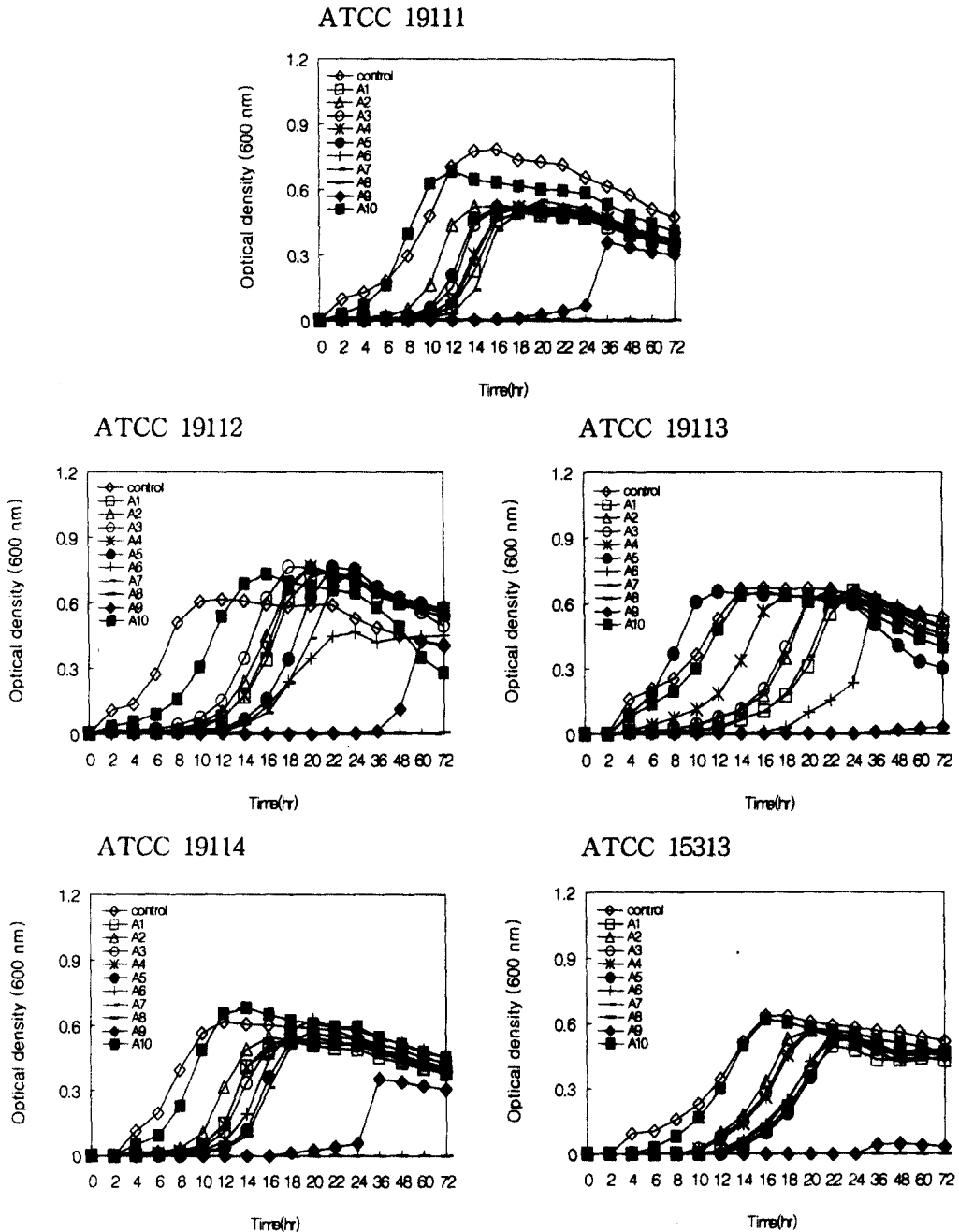


Fig. 3. Growth inhibition by fraction A1-A10 (10 ppm) obtained after chromatography of n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa on *L. monocytogenes*.

MIC < 10 ppm으로 sodium benzoate나 potassium sorbate의 화학 합성 보존제보다 효과가 좋음을 확인⁽⁹⁾하였다. 그러나 액체 배양법에서 혼탁도 측정으로 균의 증식 양상은 관찰할 수 있으나 정확한 항균정도를 확인하기

어렵기 때문에 각 균주가 접종된 배지에 섬바디 분리 물 A8을 30 ppm 및 10 ppm씩 첨가하여 72시간 동안 배양하면서 24시간 간격으로 생균수를 계수 하여 살균효과를 관찰하였다(Fig. 4). 초기 접종 균수는 $10^5 \sim$

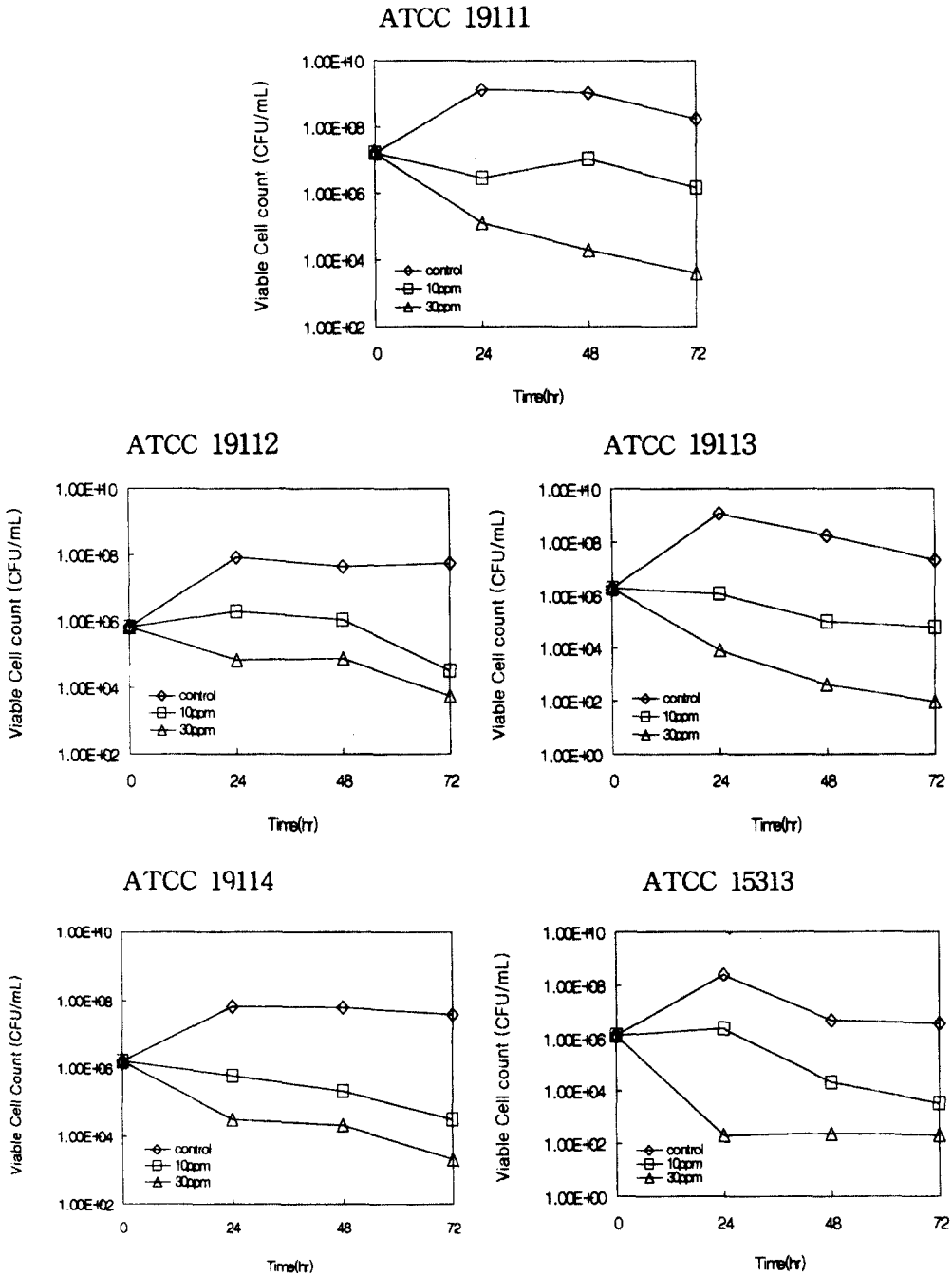


Fig. 4. Bactericidal effect of A8 isolated from n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa on *L. monocytogenes*.

10⁶ CFU/mL이었으며 균종에 따라 차이는 있지만 24 시간 배양한 후 전체적인 균수 변화를 살펴보면(Fig. 4) 대조구는 10² CFU/mL 증가한 반면 처리구는 10²~10³ CFU/mL 정도 감소하였다. 이후 72시간 배양 기간

동안에는 대조구는 1 log cycle 감소하였고 처리구는 균에 따라 1 log cycle~3 log cycle 감소하거나 뚜렷한 변화가 나타나지 않았다. 이들 결과로 볼 때 섬바디 추출물의 A8 분획물은 *L. monocytogenes* 실험균주 모두

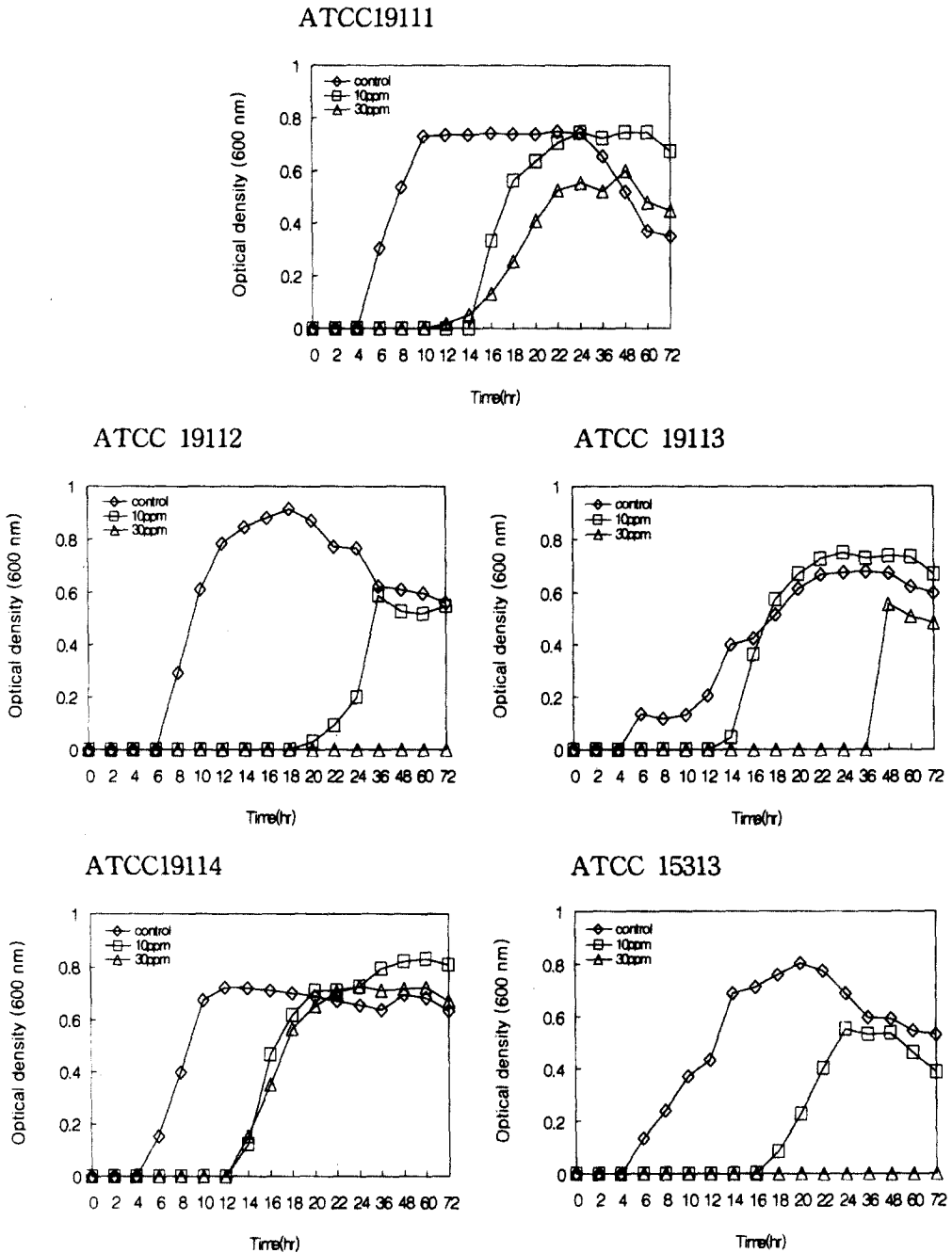


Fig. 5. Growth inhibition by SBD-2 isolated from n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa on *L. monocytogenes*.

에 대하여 30 ppm 혹은 10 ppm 첨가수준에서 증식저해 혹은 살균효과가 있음을 확인하였다.

hexan 분획물의 3차 획분(SBD-1, SBD-2)의 *L. mo-*

*nocytogenes*에 대한 증식억제 효과

소획분으로 얻은 A8(R_f : 0.4)를 확인한 결과 순수 물질은 아니므로 silica gel column으로 재 분리(hexan : 클로로포름 : 에탄올)하였고, 재 분리해서 얻은 6개

획분중 4번째와 5번째 획분을 혼합하여 같은 column으로 3차 분리(핵산 : 에틸아세테이트)하여 단일물질로 확인된 SBD-1(R_f : 0.4)과 SBD-2(R_f : 0.23)를 얻었다

핵산 분획물로부터 분리된 정제도가 우수한 SBD1의 증식억제 효과를 비교한 결과, 모든 균에 대하여 SBD-1은 성장을 저해시키지 못하였는데, ATCC 19111의 경우 두 농도에서 대조구와 비슷한 경향을 보였고, ATCC 19112에 대하여는 24시간 이후 대조구 보다 혼탁도가 증가하였으며, ATCC 19113, 19114, 15313의 경우에는 성장을 더 촉진 시켰음을 알 수 있었다.

핵산 분획물로부터 3차 분리하여 얻은 SBD-2의 증식억제 효과는 Fig. 5와 같다.

SBD-2는 30 ppm 농도에서 *L. monocytogenes* ATCC 19111에 대하여 유도기를 지연시켰으며, 이 보다 낮은 10 ppm에서는 대조구와 비슷한 혼탁도를 보였다. ATCC 19112에 대하여는 30 ppm 농도에서는 균의 증식을 억제시켰고, 10 ppm에서는 유도기를 지연시켰다. ATCC 19113에 대해서는 30 ppm 농도에서 60시간 이후 혼탁도가 증가하였고 10 ppm 농도에서는 12시간 이후부터 대조구보다 혼탁도가 증가하였다. ATCC 19114에 대해서도 ATCC 19111과 같은 효과를 보였으며, ATCC 15313에 대해서는 30 ppm에서 72시간 동안 균을

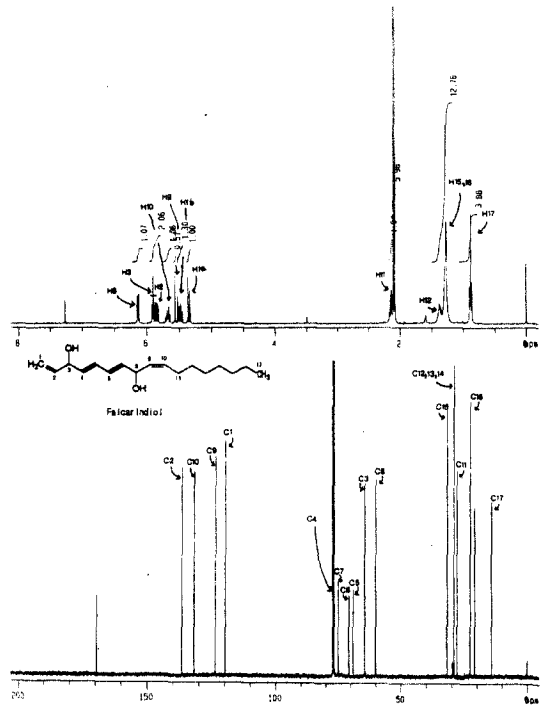


Fig. 6. $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of SBD-2 isolation from n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa (in CdCl_2).

Table 3. $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ chemical shift of SBD-2 isolated from n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa (400 and 100 MHz, CdCl_2)

NO.	SBD-2		SBD-2 diacetate	
	δ_c	δ_H	δ_c	δ_H
1	117.25	5.47, ddd, $J=17.0, 1.0, 1.0$ Hz	119.81	5.47, ddd, $J=17.2, 1.0, 1.0$ Hz
2	135.79	5.27, ddd, $J=10.3, 1.0, 1.0$ Hz	136.53	5.34, ddd, $J=10.3, 1.0, 1.0$ Hz
3	63.37	5.93, ddd, $J=17.0, 10.2, 5.4$ Hz	64.37	5.84, ddd, $J=17.2, 10.3, 5.4$ Hz
4	79.84	4.94, ddd, $J=5.4, 1.0, 1.0$ Hz	76.68	5.90, ddd, $J=5.4, 1.0, 1.0$ Hz
5	68.67		69.09	
6	70.23		70.72	
7	78.28		75.01	
8	58.48	5.21, br. d, $J=8.8$ Hz	60.01	6.13, br. d, $J=8.8$ Hz
9	127.64	5.53, ddt, $J=11.0, 7.7, 1.2$ Hz	123.59	5.53, ddt, $J=11.1, 7.7, 1.3$ Hz
10	134.53	5.61, ddt, $J=11.0, 1.2, 6.6$ Hz	131.82	5.67, ddt, $J=11.1, 1.4, 6.6$ Hz
11	27.65	2.10, ddt, $J=7.2, 1.0, 6.6$ Hz	27.87	2.14, ddt, $J=7.2, 1.2, 6.6$ Hz
	29.24		29.13	
12	29.13	1.38, br. t, $J=6.6$ Hz	29.12	1.38, br. t, $J=6.6$ Hz
	29.07		29.10	
13		1.32-1.20 (8H)		
		1.35-1.22 (8H)		
14				
15	31.75		31.79	
16	22.59		22.63	
17	14.05	0.88 (3H), t, $J=6.8$	14.11	0.88(3H), t, $J=6.8$ Hz
acetyl			169.46, 169.43, 20.92, 20.86	2.10 (3H), s 2.08 (3H), s

증식시키지 못했고, 10 ppm에서는 24시간 이후 혼탁도가 증가하였다.

단일 물질로 분리된 SBD-1과 SBD-2는 두 물질로 추정된 A8보다 항균활성이 감소되었는데 이는 천연물에 존재하는 항균활성 물질이 단독으로 작용하는 것이 아니라 여러 물질에 의한 상승작용으로 그 효과를 나타낸다고 추정할 수 있다.

핵산 분획물 (SBD-2) 의 구조동정

섬바디로부터 분리된 A8의 핵산 분획물을 다시 분리한 결과 SBD-2는 노란색 oil형태인 화합물로 황산 발색시 점정색을 나타냈으며 이때 R_f치는 0.23이었다.

SBD-2의 ¹H-NMR결과는 Fig. 6 및 Table 3과 같다.

Vinyl기의 특징적인 signal[5.47(1H, ddd, J=17.0, 1.0, 1.0 Hz), 5.27(1H, ddd, J=10.3, 1.0, 1.0 Hz), 5.93(1H, ddd, J=17.0, 10.2, 5.4 Hz)] 및 그와 인접한 oxy-methine 수소의 signal[4.94(1H, ddd, J=5.4, 1.0, 1.0 Hz)]이 관측되었고, 다른 한쌍의 이중결합[5.53(1H, ddt, J=11.0, 7.7, 1.2 Hz), 5.61(1H, ddt, J=11.0, 1.2, 6.6 Hz)]과 이웃하고 있는 oxy-methine 수소의 signal[5.21(1H, br. d, J=8.8 Hz)]과 methylene[2.10(2H, ddt, J=7.2, 1.0, 6.6 Hz)]의 존재가 확인되었으며 많은 methylene(1.20~1.38) 및 말단 methyl[0.88(3H, t, J=6.8 Hz)]의 존재도 확인되었다.

SBD-2의 ¹³C-NMR결과는 Fig. 6 및 Table 3과 같다.

4개의 4급탄소가 79.84, 68.67, 70.23, 78.28 ppm에서 관측되어 2쌍의 3중결합이 존재함이 밝혀졌고, vinyl기 (117.25, 135.79 ppm)와 또 다른 하나의 2중결합에서 유래한 methine 탄소(127.64, 134.53 ppm) signal이 관측되었다. 또한 2개의 oxy-methine 탄소(63.37, 58.48 ppm), 1개의 methyl(14.05 ppm) 및 6개의 methylene 탄소 signal(27.65, 29.24, 29.13, 29.03, 31.75, 22.59 ppm)이 관측되었다. 따라서 SBD-2는 두 쌍의 3중결합과 2개의 hydroxy기를 갖는 탄소수 17개의 폴리아세틸렌 화합물로 판명되었으며 Fig. 7과 같이 EI/MS로부터 결정된 분자량(M⁺: 260)과 ¹³C-NMR의 chemical shift를 조사하고 기존 문헌^(14,15)의 NMR 결과를 비교함으로써 그 구조를 (9z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyne-3,8-diol인 falcariindiol로 결정하였다. 이 falcariindiol은 섬바디에서는 확인되지 않았으나 일반적으로 미나리과 식물의 뿌리 혹은 *Cladosporium fulvum*이 증식한 토마토 잎에서 발견되며 항진균 혹은 진통효과가 알려지고 있다⁽¹⁶⁾.

요 약

섬바디 75% 에탄올 추출물과 핵산 분획물을 첨가

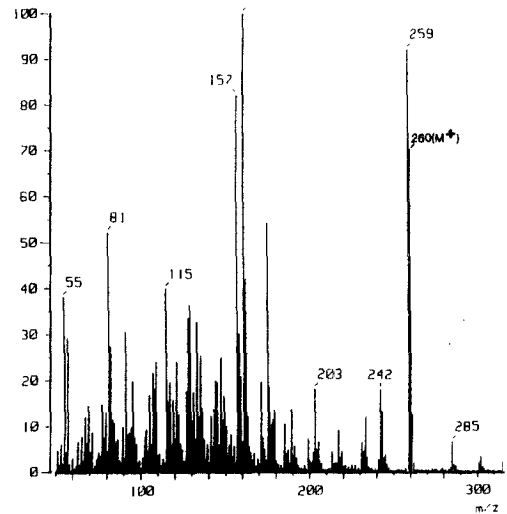


Fig. 7. EI/MS spectrum of SBD-2 isolation from n-hexane fraction of *Dystaenia takesimana* Kitagawa.

하여 *Listeria monocytogenes*(Lm) ATCC 19111, ATCC 19112, ATCC 19113, ATCC 19114 및 ATCC 15313에 대한 증식억제 효과와 그 활성 물질의 구조를 확인하였다. 항균효과를 시험한 결과 에탄올 추출물은 50 ppm, 핵산 분획물의 경우에는 30 ppm에서 5종의 *Listeria* 균주를 모두 증식저해 시켰다. 항균활성이 우수한 섬바디 핵산 분획물을 silica gel column으로 1회 분획하여획분 A8을 얻었고 이의 항균효과는 대단히 우수하여 10 ppm에서 실험균주 모두를 증식저해 시켰다. A8이 아주 우수한 항균효과를 나타내었기에 살균효과가 기대되었다. Tryptic soy broth에 섬바디 추출물에서 분리된 A8를 30 및 10 ppm씩 배지에 첨가한 후 Lm 5균주를 배양시켜 24시간 간격으로 생균수를 확인한 결과 대조구는 균수가 증가하는 반면 처리구는 균수가 감소함으로써 살균효과가 인정되었다. 그리고 이 획분 A8을 2회 연속 분리하여 단리된 소획분 SBD-1과 SBD-2를 얻었다. 이렇게 단일 물질로 분리된 SBD-1과 SBD-2의 항균효과는 column 분리후 얻은 획분(A8)보다 증식억제 효과가 감소하였는데 이는 섬바디에 존재하는 항균물질은 단독으로 작용하는 것이 아니라 그 안에 있는 여러 물질들의 혼합작용으로 그 효과가 나타난 것이라 추정되었다.

단일물질로 분리된 두 물질 중 수율이 높은 SBD-2를 구조 동정한 결과 폴리아세틸렌 화합물 (9z)-heptadeca-1,9-dien-4,6-diyne-3,8-diol인 falcariindiol로 확인되었다. 이 물질은 미나리과 식물 뿌리에 존재한다.

감사의 글

이 연구는 '98년도 농림기술개발 연구과제로 수행한 연구 결과의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Shin, D.H. Present research status of natural antimicrobial components and their application to food processing. *Food Science and Industry* 23: 68-77 (1990)
2. Ma, S.J., Ko, B.S. and Park, K.H. Isolation of 3,4-dihydroxybenzoic acid with antimicrobial activity from bark of *Aralia elata*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27: 807-812(1995)
3. Orabi, K.Y., Mossa, J.S. and Elferaly, F.S. Isolation and characterization of two antimicrobial agents from mace (*Myristica fragrans*). *Journal of Natural Products* 54: 856-859 (1991)
4. Nakatani, N., Ikeda, K., Kikuzaki, H., Kido, M. and Yamaguchi, Y. Diaryldimethylbutane lignans from *Myristica argentea* and their antimicrobial action against *Streptococcus mutans*. *Phytochemistry* 27: 3127-3129 (1988)
5. Kwon, Y.S., Kobayashi, A., Kajiyama, S.I., Kawazu, K., Kanzaki, H. and Kim, C.M. Antimicrobial constituents of *Angelica dahurica* root. *Phytochemistry* 44: 887-889 (1997)
6. Verpoote, R., Ruigrok, L.M. and Svendsen, A.B. Medicinal plants of Surinam. *Planta Medica* 46: 149-152 (1982)
7. Mahmoud, Z.F. Antimicrobial components from *Maclura*

- pomifera fruit. *Planta Medica* 42: 299-301 (1981)
8. Song, J.T., Jung, H.B., Kim, B.W. and Kim, K.Y. *Korean Plant Resources Research Institute*, p. 383 Jeail Publishing Co., Seoul, Korea (1989)
9. Han, J.S. Growth inhibition of by plant extract. M.S. thesis, Chonbuk National Univ., Chonju, Korea (1995)
10. Ahn, E.Y. Isolation and identification of antimicrobial active substance from edible plant extract. M.S. thesis, Chonbuk National Univ., Chonju, Korea (1998)
11. Woo, W.S. *Methodology of Natural Chemistry*. p. 22 Min Eum Sa, Seoul, Korea, (1989)
12. Minelli, E.B., Benini, A., Bassi, C., Abbas, H., Falconi, M., Locatelli, F., Marco, R. and Pederzoli, P. Antimicrobial activity of human pancreatic juice and its interaction with antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40: 2099-2105 (1996)
13. Hedin, G. and Hambræus, A. Screening tests for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 28: 681-694 (1991)
14. Kobayashi, M., Fujita, M. and Mitsuhashi, H. Studies on the constituents of umbelliferae plants. XV. constituents of *Cnidium officinale*: occurrence of pregnenolone, coniferylferulate and hydroxyphthalides. *Chem. Pharm. Bull.* 35: 1427-1433 (1987)
15. Schulete, K.E. und Potter, B. Polyacetylene aus *Pituranthus tortuosus* (Desf.) Benth. *U. Hook. Arch. Pharm.* 310: 945-963 (1977)
16. Harborne, J.B. and Baxter, H. *Phytochemical Dictionary*. p. 49 Taylor & Francis, London, UK (1993)

(1999년 1월 29일 접수)