

벼메뚜기의 항산화 효과와 항균 활성

김현진* · 강성주 · 김선곤 · 김정은 · 구희연
전라남도농업기술원 곤충잡업연구소

Antioxidant activity and antimicrobial activity of the grasshopper, *Oxya chinensis sinuosa*

Hyun Jin Kim*, Sung Ju Kang, Seon Gon Kim, Jung Eun Kim and Hui Yeon Koo

Insects and Sericultural Research Institute, Jeollanamdo Agricultural Research and Extension Services, Jangseong 57214, Korea

(Received October 16, 2015, Revised October 21, 2015, Accepted October 26, 2015)

ABSTRACT

In this study, to confirm the physiological activity of the grasshopper (*Oxya chinensis sinuosa*) antioxidant activity, antimicrobial activity, thermal stability of the antimicrobial substance, pH stability, total polyphenol content of the adult grasshopper was measured. Antibacterial activity in accordance with the extraction solvent showed a strong antibacterial activity in a mixed solvent of ethanol for the *E. coli* strain. Antimicrobial activity in 40°C hot air drying and a freeze-dried condition was the highest and there was no difference in the gender. Antibacterial substance was stable to heat and pH. Antioxidant activity of the grasshopper exhibited a high activity in the 50% and 70% ethanol extract. Total polyphenol content was the 12~17 mg / 100 g and there was not great difference according to the drying conditions and gender.

Key words : Grasshopper, *Oxya chinensis sinuosa*, Antioxidant activity, Antimicrobial activity

서 론

벼메뚜기(*Oxya chinensis sinuosa*)는 메뚜기목 메뚜기과에 속하는 곤충으로 몸길이는 약 21~35 mm이며 성충은 8~10월 중에 나타난다. 연 1회 발생하며, 땅 속에서는 알 무더기로 월동하는데, 알무더기는 아교질의 얇은 막으로 싸여 있다. 벼메뚜기는 주로 벼과 식물의 잎을 먹는 곤충으로, 대발생할 경우 배추를 비롯한 다른 농작물에도 피해를 준다. 농약의 대량 살포와 환경오염으로 보기가 힘들어졌지만 최근에는 오히려 기호 식품과 간식용으로 관심이 증대하면서 대량 사육을 시도하고 있다(Paek et al. 2010).

예로부터 벼메뚜기는 기침, 천식, 백일해, 기관지염에 효능이 있고 중풍과 경련을 치료하는데 도움을 주며 구황곤충으로 이용되어 왔다. 벼메뚜기에 대한 국내 연구로는 메뚜기류 추출물의 염증 조절작용 및 세포사멸보호 효과(Park et al. 2006), LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 세포에 벼메뚜기 에탄올 추출물을 처리하여 벼메뚜기의 항염증 효능에 대한 연구(Yoon et al. 2014), 벼메뚜기 전제품종의

지질열화에 함유색소성분이 미치는 영향(Lee et al. 1987), 벼메뚜기 단백질의 영양가에 관한 연구(Kim et al. 1987) 등이 있으나 건조 방법이나 항균 활성 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구는 식용곤충인 벼메뚜기를 활용한 가공식품 및 건강 기능성 식품 개발의 기초자료를 제공하고자 벼메뚜기의 추출 용매와 건조 방법에 따른 항산화 활성 및 항균 활성에 대해 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 시료는 2013년 6월 전남 장성군 소재 전남농업기술원 곤충잡업연구소에서 사육중인 벼메뚜기의 성충을 채취하여 -60°C에서 급냉한 것을 동결시료로 사용하였고, 40°C와 60°C 열풍으로 72시간 건조한 것을 열풍 건조시료로 사용하였으며 -60°C에서 급냉 후 동결건조한 시료를 동결건조 시료로 사용하였다. 모든 시료는 -60°C에서 보관하며 시험 재료로 사용하였다.

*Corresponding author. E-mail: hjkim12@korea.kr

2. 사용균주 및 시약

실험에 사용한 균주는 공시균주인 *Bacillus cereus* KCCM 40935, *Staphylococcus aureus* KCCM 11325, *Listeria monocytogene* ATCC 3313의 그람양성균 3종, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* KCCM 11328, *Escherichia coli* ATCC 15489의 그람음성균 3종을 선정하여 사용하였다. 균 생육배지는 nutrient broth와 agar를 사용하였다. 배지는 Difco(USA)사 제품을 구입하여 사용하였으며, 추출 용매 및 시약(Sigma-Aldrich Co, USA)은 일급 또는 특급시약을 구입하여 사용하였다.

3. 방법

3.1. 용매별 추출

각 시료 10 g에 극성이 다른 5종(hexane, ether, ethyl acetate, ethanol, water)의 추출 용매를 각각 100 mL 씩 첨가하여 homogenizer로 마쇄한 다음, 상온에서 2시간 동안 교반 침출시켜 추출한 후 여과(Whatman No.2) 하였다. 이 추출 여액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 60°C 수욕 상에서 감압 농축 후 추출용매 5 mL로 정용하여 냉장실(4°C)에 보관하면서 필요한 농도로 희석하여 항균 활성 검색 및 항산화 활성 측정 실험에 사용하였다.

3.2. 추출물별 항균 활성 검색

벼메뚜기의 항균 활성 검색은 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 즉 항균 활성 검색에 사용한 종균 균주는 slant에 배양된 각각의 균주 1 백금이를 취해 10 mL의 균 생육배지에 접종하고 균주의 생육적온에서 3회 계대 배양하여 사용하였다. 항균 활성 검색의 시험용 평판배지는 각각의 생육배지로 멸균된 기층용 배지를 petri dish에 15 mL 씩 분주하여 응고시키고, 중층용 배지를 각각 5 mL 시험관에 분주하여 멸균한 후, 45°C 수욕 상에서 보관하면서 시험균액 0.1 mL를 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 후 기층용 배지 위에 분주한 뒤 고르게 응고시키고 2중의 균 접종 평판배지를 만들어 사용하였다. 또한 부재료의 항균 활성 검색은 한천배지 확산법(Disc plate method)으로 측정하였다. 즉 각각의 추출물을 filter paper disc(8mm, Toyo seisakusho, Japan)에 일정량 흡수시킨 후 추출용매를 무균적 조건 하에서 완전히 날려 보낸 다음 시험용 평판배지 표면에 놓아 밀착시키고 0.85% NaCl 멸균 식염수로 확산시켜 냉장실에서 1시간 동안 방치시켰다. 이 후 균 생육적온인 37°C에서 10~18시간 동안 배양한 다음 paper disc 주변의 clear zone 직경(mm)을 측정하여 항균 활성을 비교하였다.

3.3. 항균성 물질의 열 안정성 및 pH 안정성 조사

벼메뚜기의 항균 활성 검색에서 열 안정성은 벼메뚜기 추출물을 60~100°C에서 20 min 간격으로 60 min까지 열처리하였으며 대조구와 같이 한천배지 확산법으로 *Salmonella typhimurium*과 *Escherichia coli*의 생육저해환을 측정하여 비교하였다. pH 안정성을 측정하기 위하여 벼메뚜기 추출물을 0.1 N HCl과 NaOH으로 pH 3~9까지 조절한 후 상온에서 1시간 방치한 다음, 다시 각각의 균주 최적 pH로 중화시켜서 열 안정성과 동일한 방법으로 생육저해환을 측정하여 비교하였다.

3.4. 항산화 활성 측정

항산화 활성은 Blois의 방법에 준하여 각 추출물의 DPPH에 대한 수소 공여 효과로 측정하였다. 즉 일정농도의 시료 2 mL에 0.1 mM DPPH용액(dissolved in 99% methanol) 4 mL를 가하고, vortex mixing하여 37°C의 암조건에서 30 분간 반응시켰다. 이 반응액을 흡수분광광도계(Agilent 8453, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 electron donating ability(EDA%)로 측정하였으며 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

$$EDA(\%) = (\text{Abs control} - \text{Abs sample}) / \text{Abs control} \times 100$$

Abs control: 음성대조구(분획 미첨가)의 흡광도

Abs sample: 실험구(분획 첨가)의 흡광도

3.5. Total polyphenol 함량 분석

벼메뚜기의 total polyphenol 함량 분석은 Folin-Denis의 방법에 따라 실험하였다. 즉 시료 5 g을 취하여 70% ethanol 50 mL로 환류 추출하고, 희석한 후 Folin 시약 2 mL를 첨가하여 3분 후에 10% Na₂SO₃ 5 mL를 가하고 혼합하여 발색시켰다. 1시간 후 발색된 시약을 흡수분광광도계(Agilent 8453, USA)를 사용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질 tannin을 기준으로 환산하였다.

결과 및 고찰

1. 추출물별 항균 활성

벼메뚜기의 건조조건에 따른 항균 활성은 평판배지 확산법으로 측정하였으며 그 결과는 표 1과 같다. 식품 유해균 6종에 대한 항균 활성 검정 결과 살모넬라균, 녹농균, 대장균에 대하여 항균 활성을 보였고, 건조조건별로는 열풍건조 40°C와 동결건조 조건에서 항균 활성이 높았으며 암수에 따른 차이는 없었다. 추출용매에 따른 항

Table 1. Antimicrobial activity of ethanol mixed extract from *Oxya chinensis sinuosa*

| Microorganism | Drying method | sexuality | Clear zone on plate (mm) | | | | |
|-----------------------|-----------------------|-----------|--------------------------|-----------------|------------------|-------------------|----|
| | | | Distilled water | 50 % ethanol | 70% ethanol | 100% ethanol | |
| <i>S. typhimurium</i> | Freeze | Female | - ¹⁾ | - | - | - | |
| | | Male | - | - | - | - | |
| | Hot air drying 40°C | Female | - | + ²⁾ | + | + | |
| | | Male | - | + | + | + | |
| | Hot air drying 60°C | Female | - | - | - | - | |
| | | Male | - | - | - | - | |
| | Freeze drying | Female | - | + | ++ ³⁾ | + | |
| | | Male | - | - | + | - | |
| | <i>Ps. aeruginosa</i> | Freeze | Female | - | - | - | - |
| | | | Male | - | - | - | ++ |
| Hot air drying 40°C | | Female | + | + | + | + | |
| | | Male | ++ | + | + | +++ ⁴⁾ | |
| Hot air drying 60°C | | Female | - | - | - | - | |
| | | Male | - | - | - | - | |
| Freeze drying | | Female | - | - | - | + | |
| | | Male | - | - | - | ++ | |
| <i>E. coli</i> | | Freeze | Female | - | - | - | - |
| | | | Male | - | - | - | - |
| | Hot air drying 40°C | Female | - | ++ | ++ | - | |
| | | Male | - | + | ++ | - | |
| | Hot air drying 60°C | Female | - | - | - | - | |
| | | Male | - | - | - | - | |
| | Freeze drying | Female | - | ++ | +++ | - | |
| | | Male | - | + | + | - | |

¹⁾ -: no growth inhibition.

²⁾ +: a little growth inhibition.

³⁾ ++: moderate growth inhibition.

⁴⁾ +++: strong growth inhibition.

균력은 *E. coli* 균주의 경우 ethanol 혼합용매에서 강한 항균력을 보였다. 이는 에탄올 추출물이 물 추출물보다 높은 활성을 나타낸다는 보고(Kim et al. 2011)와 일치하였다. 녹농균, 대장균과 살모넬라균에 대하여 항균 활성이 나타나므로 부패 및 식중독균의 생육 억제에 효과가 있을 것으로 생각되며, 앞으로 모든 식품에 강화되고 있는 각종 세균에 대한 규제에 대비하여 벼메뚜기를 가공식품의 보존료로 이용할 수 있는 가능성을 확인하였다.

2. 항균성 물질의 열 안정성 및 pH 안정성

벼메뚜기 ethanol 추출물에 함유되어 있는 항균 물질의 열 안정성과 pH 안정성을 알아보기 위하여 *S. typhimurium*

과 *E. coli* 균주에 대하여 생육저해환을 측정된 결과는 표 2, 3과 같다. 열처리 온도를 달리해도 대조구와 비교해 큰 차이를 보이지 않았으며 이와 같은 결과는 벼메뚜기 ethanol 추출물의 항균 물질은 열에 안정한 물질임을 알 수 있다 (Kim et al. 2011). 또한 pH의 변화를 주어 측정된 생육 저해환도 대조구와 큰 차이를 보이지 않아 강산, 강염기에도 안정한 물질임을 알 수 있다.

3. 추출물별 항산화 활성

벼메뚜기의 항산화 활성 측정은 distilled water와 ethanol 을 이용하여 추출한 시료의 DPPH free radical 소거능을 조사하였으며 그 결과는 표 4와 같다. 벼메뚜기의 전자공

Table 2. Thermal stability of ethanol extract from *Oxya chinensis sinuosa* on the growth microorganisms

| Microorganism | Clear zone on plate (mm) | | | | | |
|-----------------------|--------------------------|------------|----|----|----|-----|
| | Control | Temp. (°C) | | | | |
| | | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| <i>S. typhimurium</i> | ++ | ++ | + | ++ | ++ | + |
| <i>E. coli</i> | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ |

+: a little growth inhibition, ++: moderate growth inhibition.

Table 3. pH stability of ethanol extract from *Oxya chinensis sinuosa* on the growth microorganisms

| Microorganism | Clear zone on plate (mm) | | | | | |
|-----------------------|--------------------------|----|---|----|----|----|
| | Control | pH | | | | |
| | | 3 | 5 | 7 | 9 | 11 |
| <i>S. typhimurium</i> | ++ | + | + | ++ | + | + |
| <i>E. coli</i> | ++ | ++ | + | ++ | ++ | + |

+: a little growth inhibition, ++: moderate growth inhibition.

여성은 70% ethanol 추출물에서 90% 이상으로 가장 높은 항산화 활성을 보였으며 50% ethanol 추출물, distilled water 추출물, 100% ethanol 추출물 순서로 항산화 활성이 높았다. 이는 벼메뚜기 유충의 항산화 활성이 낮다는 보고(Park et al. 2004)와 상반되나 곤충의 유충과 성충의 차이가 있을 것으로 판단된다. 활성산소는 인체 내에서 질병과 노화를 일으키는 원인물질로써 활성산소의 항산화 능력은 노화억제 작용의 척도로 평가할 수 있는데 시료 추출물의 DPPH free radical 소거 활성으로 보아 50% ethanol extract와 70% ethanol extract에서 강한 항산화 능력이 있음을 추정할 수 있다. 이는 에탄올 추출물의 항산화 활성이 높다는 보고(Yoon et al. 2007)와 일치하였다.

Table 4. Electron donating ability of ethanol mixed extract from *Oxya chinensis sinuosa*

| Drying method | Sexuality | Distilled water | 50% ethanol | 70% ethanol | 100% ethanol |
|---------------------|-----------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Freeze | Female | 58.51 ± 0.23 ¹⁾ | 65.36 ± 0.22 | 83.80 ± 0.02 | 48.22 ± 0.14 |
| | Male | 62.85 ± 0.25 | 63.59 ± 0.09 | 64.92 ± 0.05 | 55.05 ± 0.06 |
| Hot air drying 40°C | Female | 65.01 ± 0.38 | 77.09 ± 0.10 | 94.9 ± 0.11 | 37.26 ± 0.02 |
| | Male | 47.99 ± 0.14 | 92.57 ± 0.06 | 90.6 ± 0.15 | 34.04 ± 0.02 |
| Hot air drying 60°C | Female | 68.40 ± 0.22 | 76.04 ± 0.36 | 92.71 ± 0.05 | 64.94 ± 0.07 |
| | Male | 76.61 ± 0.11 | 82.44 ± 0.03 | 70.65 ± 0.11 | 62.68 ± 0.26 |
| Freeze drying | Female | 56.36 ± 0.30 | 87.46 ± 0.20 | 94.71 ± 0.02 | 26.23 ± 0.19 |
| | Male | 37.99 ± 0.23 | 90.2 ± 0.05 | 94.5 ± 0.07 | 39.09 ± 0.12 |

Mean ± SD (n = 3).

Table 5. The content of total polyphenol from *Oxya chinensis sinuosa*

| Total polyphenol | Freeze | Hot air drying 40°C | Hot air drying 60°C | Freeze drying |
|------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|---------------|
| Female | 3.45 ± 0.01 ¹⁾ | 13.07 ± 0.05 | 17.59 ± 0.04 | 14.06 ± 0.04 |
| Male | 2.79 ± 0.02 | 12.35 ± 0.07 | 17.07 ± 0.06 | 17.61 ± 0.07 |

Mean ± SD (n = 3).

4. Total polyphenol 함량 분석

폴리페놀류는 산화를 방지하는 작용, 즉 항산화 기능을 갖고 있다. 최근 폴리페놀류가 주목받고 있는 이유는 이 기능이 생체 내에서도 항산화제로 작용함으로써 건강 유지와 질병 예방 등에 기여할 것으로 기대되고 있기 때문이다(Whang et al. 2001). 이와 같은 기능을 갖는 폴리페놀 함량을 조사한 결과, 벼메뚜기의 폴리페놀 함량은 표 5와 같이 2.79 ~ 17.61 mg/100 g으로 동결에서 가장 낮은 반면 열풍건조와 동결건조에서는 12 ~ 17 mg/100 g으로 건조조건이나 성별에 따른 차이는 크지 않았다.

적 요

본 연구에서는 벼메뚜기의 생리활성을 확인하기 위하여 벼메뚜기의 성충을 실험재료로 하여 항산화 활성, 항균 활성, 항균 물질의 열 안정성, pH 안정성, total polyphenol 함량 등을 측정하였다. 추출용매에 따른 항균력은 *E. coli* 균주의 경우 ethanol 혼합용매에서 가장 높은 항균력을 보였다. 항균 활성은 열풍건조 40°C와 동결건조 조건에서 가장 높았으며 암수에 따른 차이는 없었고 항균 물질은 열과 pH에 안정하였다. 벼메뚜기의 항산화 활성은 50% ethanol 추출물과 70% ethanol 추출물에서 가장 높은 활성이 나타났고 total polyphenol은 12 ~ 17 mg/100 g으로 건조조건이나 성별에 따른 차이는 크지 않음을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 지역특화기술개발연구사업(과제 번호: PJ00940302)의 연구비 지원을 받아 진행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Blois MS (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**(26), 1199~1200.
- Joslyn MA (1970) *Methods in food analysis*. Acad press, New York, USA, 710~711.
- Kim HA, Lee SH, Choi YC, Park KH, Hwang JS, Kim NJ, Nam SH (2013) Comparison of fibrinolytic activity from Korean indigenous insects. *J Seric Entomol Sci* **51**(2), 147~152.
- Kim HJ, Lee JW, Kim YD (2011) Antimicrobial activity and antioxidant effect of *Curcuma longa*, *Curcuma aromatic* and *Curcuma zedoaria*. *Korean J Food Preserv* **18**(2), 219~225.
- Kim KY, Michael DP, Chung HJ (2000) Antimicrobial effectiveness of pine needle extracts on food borne illness bacteria. *J Microbial Biotechnol* **10**, 227~232.
- Kim TS, Lee JH, Choi BD, Ryu HS (1987) Nutritional value of dried paddy grasshopper, *Oxya chinensis formosana*. *Journal of food science and nutritio* **16**(2), 98~104.
- Lee JH, Kim TS, Choi BD, Kim GE, Lee KH (1987) Effects of containing pigments of dried grasshopper on the lipid deterioration. *Journal of food science and nutritio* **16**(4), 300~305.
- Lee KM, Nam SH, Song HS, Yeo JH, Lee KG, Bae YH (2009) Total phenol contents and DPPH radical scavenging activity of entomopathogenic fungi. *Korean J Appl Entomol* **48**(3), 377~383.
- Paek MK, Hwang JM, Jung KS, Kim TW, Kim MC, Lee YJ, Cho YB, Park SW, Lee HS, Ku DS, Jeong JC, Kim KG, Choi DS, Shin EH, Jwang JH, Lee JS, Kim SS, Bea YS (2010) Checklist of Korean insects nature and ecology **36**.
- Park DS, Yoon MI, Xu MZ, Yu H, Kim JR, Jeong TS, Park HY (2004) Screening of anti-atherogenic substances from insect resources. *Kor J Pharmacogn* **35**(3), 233~238.
- Park JY, Heo JC, Woo SU, Yun CY, Kang SW (2006) Anti-inflammatory and cellular protective effects on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity of grasshopper extracts. *Korean J Food Preserv* **13**(6), 796~802.
- Whang HJ, Han WS, Yoon KR (2001) Quantitative analysis of total phenolic content in apple. *Analytical Sci. Technol* **14**(5), 377~383.
- Yoon WJ, Lee JA, Kim JY, Kim SB, Park SY (2007) Antioxidant activity and physiological function of the *Anomala albopilosa* extracts. *Journal of food science and nutritio* **36**(6), 670~677.
- Yoon YI, Chung MY, Hwang JS, Goo TW, Ahn MY, Lee YB, Han MS, Yun EY (2014) Anti-inflammatory effect of *Oxya chinensis sinuosa* ethanol extract in LPS-induced RAW 264.7 cells. *Journal of Life Science* **24**(4), 370~376.