

국내 서식 미국바퀴(*Periplaneta americana* L.)의 특성 및 추출물의 항산화·항균 효과

김정은^{1*} · 김선곤¹ · 강성주¹ · 김춘성¹ · 최용수²

¹전남농업기술원 전남곤충잡업연구소 유용곤충연구실, 전라남도 장성군 장성읍 성산 3길 67

²농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 잠사양봉소재과 꿀벌육종연구실

Effect of antioxidation and antibacterial activity on crude extract and Characterization of American Cockroaches (*Periplaneta americana* L.) in Korea

Jung-Eun Kim^{1*}, Seon-Gon Kim¹, Sung-Ju Kang¹, Chun-Sung Kim¹ and Yong-Soo Choi²

¹Jeon-nam Agricultural Research & Extension Services, Insect & Sericultural Research Institute, Korea

²Department of Agricultural Biology, National Academy of Agricultural Science, R.D.A. WanJu-Gun, Iseo-myeon 55365, Korea

(Received October 19, 2015, Revised October 21, 2015, Accepted October 26, 2015)

ABSTRACT

The American cockroaches, *Periplaneta americana* L. was the most important worldwide pest species. It has been an public health problems. We were determinated life cycle and extraction of crude extracts by chemical reagents from cockraches (*P. americana* L.). The extracted crude solution has been antibacterial activity to gram negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, 6.44 ± 1.03 mm), gram positive bacteria (*Bacillus subtilis*, 1.88 ± 0.40 mm), and fungus (*Candida albicans*, 5.61 ± 0.57 mm) using radial diffusion assay. We were analysed of up-regulation of Glutathione-S-transferases (GSTs) stimulation, indicating that antioxidantal protein from various classes are simultaneously expressed in a single insect upon infection or injury. The gene from *Periplaneta americana* L. were cloned, analysed sequence, and measured protein expression by Real Time PCR (Polymerase Chain Reaction).

Key words : Cockroache, *Blattella germanica*, Antioxidant, Antibacterial, Crude extract

서 론

미국바퀴(*Periplaneta americana*)는 1625년 아프리카에서 미국으로 유입된 바퀴 중으로써(Bell and Adiyodi 1981), 뛰어난 민첩성과 번식능력으로 사람과 생활하면서 알리지 등 각종 질병을 매개하는(Sohn et al. 2012, Cloarec et al. 1992, Rivault et al. 1993) 해충으로써 지하실, 욕실 등 습기가 많은 장소에서 주로 서식하는 매우 방제가 어려운 해충이다(Rust et al. 1991). 이와 관련하여 위생곤충인 바퀴에 대한 방제연구를 비롯한 매개병균의 방제를 위한 연구 결과가 발표되었다(Pai et al. 2003, 2005). 그러나 방제의 대상인 바퀴류가 중국, 베트남, 태국 등의 국가에서는 식용으로 많이 이용되고 있으며, 곤충 식용화 기술 개발을 위한 연구로 곤충의 기능성 및 식품으로의 영양적

가치에 대한 연구결과들이 많이 발표되고 있다(Chen et al. 1994, Costa-Neto 2015, Durst and Hanboonsong 2015, Yen 2015). 특히 중국의 경우에는 약 3,000년 전부터 곤충을 식용으로 하고 있었다(Zhou 1982). 아울러 최근 100년간 곤충이 식량자원으로 중요한 역할을 하고 있으며, 금후 지속적으로 성장 가능할 것으로 분석한 결과도 발표되었다(DeFoliart 1989, 1999, van Huis 1996). 바퀴의 경우에는 서식환경의 특성상 체내에 공생미생물에 의한 항균 물질의 분비 및 항균 단백질 발현이 우수한 경향이 있어서 기능성 식의약용으로의 개발 가능성을 가지고 있다. 미국바퀴는(*P. americana*) 기타 바퀴류에 비하여 크기가 국내 서식 종 중 가장 큰 바퀴에 속하며, 크기가 작은 바퀴류에 비하여 사육이 용이하여 기능성 물질 연구를 통한 바퀴의 이용에 적절한 조건을 가지고 있다. 따라서 본

*Corresponding author. E-mail: kje2864@korea.kr

연구에서는 미국바퀴(*P. americana*)의 식의약품 소재로의 개발을 위하여 사육 조건을 확립하고 미국바퀴(*P. americana*)가 분비하는 향산화, 향균 물질의 특성을 분석하고 사육 조건에 따른 기능성 물질의 다량발현 여부를 확인하여 양질의 식의약품 소재로써 미국바퀴(*P. americana*)가 이용이 가능함을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험 재료

시험곤충은 국내에서 서식하고 있는 미국바퀴(*P. americana*)를 유용곤충연구소에서 분양받아 이용하였으며, 온도 25~28°C, 광주기 12L : 12D, 습도 60±5% 조건에서 실내 사육 하였다. 사육용기는 50×35×35 cm의 투명 아크릴 케이스에 종이 난좌를 이용한 은신처를 공급하고 신선한 물과 가축용 사료(농협 육계용전기사료)를 자유급식 시켰다.

2. 사육특성

미국바퀴(*P. americana*)의 사육특성 조사를 위해 사육용기 직경 12 cm, 높이 9 cm의 원형 플라스틱 케이스를 이용하여 100마리씩 조사하였고, 먹이는 가축용(육계전기사료) 고형사료를 1회용 알미늄 접시에 일정량을 넣어 공급하였으며 물은 탈지면에 적서 매일 공급하였다. 조사방법은 막 우화한 암수 1쌍씩 접종하여 매일 산란수, 산란시간을 조사하였고, 난협은 처리구당 100개씩 수거하여 직경 9 cm 원형 플라스틱 케이스에서 알기간, 부화율을 조사하였으며 난협의 크기는 디지털캘리퍼스를 이용하여 측정하였다.

3. 시료채취 및 추출방법

미국바퀴(*P. americana*) 성충을 채취하여 동결건조 후 분쇄하여 시료로 사용하였고, 추출방법은 시료 5g에 증류수, 에탄올, 메탄올, 헥산, 에틸에테르, 에틸아세테이트를 각각 100 ml씩 가한 후 실온에서 3,000 rpm으로 shaking 하여 overnight 추출하였으며 추출액은 NO.2 여과지로 여과한 여액을 회전감압농축기를 사용하여 농축시킨 후 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

4. 바퀴의 화학적 특성조사

일반성분은 식품공전의 일반성분시험법에 따라 분석하였다. 수분은 상압가열건조법으로 향량의 용기에 시료 1g을 정밀하게 달아 105°C로 향량에 도달할 때까지 건조하여 수분함량을 측정하여 산출하였다. 단백질은 마이크로세미킬달법에 따라 측정하였으며, 조지방은 에테르추출법

에 따라 측정하였다. 즉 시료 1g을 원통여과지에 취하여 속슬렛 추출관에 넣고 무수에테르로 8시간 추출, 수기 중의 에테르를 증발시키고, 98~100°C 건조기로 향량에 도달할 때까지 건조한 후 칭량하여 조지방 함량을 산출하였다. 조회분은 깨끗한 도가니를 전기로에서 600°C이상으로 여러 시간 강하게 가열한 후 테시케이터에 옮겨 실온으로 식힌 다음 곧 화학천칭으로 칭량하였다. 다시 2시간 강하게 가열하여 건조 칭량하고 이 조작을 향량이 될 때까지 반복하였다. 시료를 도가니에 정밀히 달아 넣고 회화로에 옮겨 550~600°C에서 여러시간 가열하여 백색~회백색의 회분이 얻어질 때까지 계속하였다. 회화가 끝난 후, 가열을 그치고 그대로 식혀 온도가 약 200°C로 되었을 때 테시케이터에 옮겨 식힌 후 실온으로 되면 곧 칭량하여 검체의 회분량(%)을 산출하였다.

바퀴의 아미노산 분석은 Ohara와 Ariyosh의 방법에 따라 분석하였다. 시료 5g에 증류수를 가하고 homogenizer (OGAWA SEIKI CO., LTD, JAPAN)로 마쇄하여 교반 후 침출시켜 100 mL로 정용하여 원심분리(3,000 rpm, 30 min)한 후 상층액을 취하여 여과하였고, 여액 10 mL에 sulfasalicylic acid 25 mg을 첨가하여 4°C에서 4시간 동안 방치시킨 후 원심분리(50000 rpm, 30 min.)하여 단백질 등을 제거하고, 상층액을 0.45 m membrane filter로 여과하여 얻은 여액을 일정량 취하여 아미노산 자동분석기(Biochrom 30 + Amino Acid Analyzer, UK)로 분석하였다.

지방산 분석을 위해 시료 3g에 chloroform-methanol로 추출여과하여 감압농축한 지방질 약 100 mg을 가지형 플라스크에 취하고 1N-KOHexanol 용액 4 mL를 섞어 유지방울이 없어질 때까지 교반시킨 다음 14% BF₃-Methanol 5 mL를 가한다. 냉각기를 부착하여 5분간 80°C에서 가열하여 methylester화 하였고, 이 용액에 NaCl 포화용액 3 mL를 가하고, 다시 hexane 1 mL를 가하여 흔들어 섞은 후 시험관에 옮겨 정치하였고 상층을 분취하여 무수 Na₂SO₄를 넣어 수분을 제거하고 1 mL를 vial에 채취한 후 GC로 분석하였고 분석조건은 아래 표와 같다.

Model	Shimadzu GC-17A
Column	SP TM-2560 capillary column (100 m length × 0.25 mm I.d. × 0.25 μm film thickness)
Oven temperature	140°C(10 min) → 4°C/min → 240°C(30 min)
Injection temp.	260°C
Detector temp.	260°C
Split ratio	1 : 100
Detector	Flame ionization detector
Injection volume	3 μL

5. 항산화(DPPH scavenging activity, %) 측정

Blois의 방법에 준하여 DPPH에 대한 수소 공여 효과로 측정하였다. 일정농도의 시료 2 mL에 0.1 mM DPPH용액(dissolved in 99% methanol) 4 mL를 가하고, vortex mixing하여 37°C의 암조건에서 10분간 반응시킨 후 14,000 rpm으로 3분간 원심분리 하여 상층액을 자외선분광광도계(Agilent 8453, USA)를 사용하여 517 nm로 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 electron donating ability(EDA%)로 측정하며 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내어 산출하였다.

6. 항균 활성 측정

미국바퀴(*Periplaneta americana*) 추출물의 항균 활성 검사는 Disc diffusion test와 Radial diffusion assay로 측정하였고, 항균 활성 측정에 사용된 균주는 국립농업과학원 농업미생물과에서 분양받은 것으로 표 1과 같다. Disc diffusion test는 각각의 추출물 농축액을 filter paper disc(8 mm, Toyo seisakusho., Japan)에 100 µl 흡수시킨 후 무균적 조건 하에서 건조시킨 다음, 시험용 평판배지 표면에 배양된 시험균액을 100 µl씩 접종하여 도말하고, 시료를 흡수시킨 filter paper disc를 배지에 밀착시킨 후 각각의 균 생육적온에서 10 ~ 18시간 동안 배양한 다음 paper disc 주변의 clear zone 직경(mm)을 측정하여 항균 활성을 비교하였다.

미국바퀴(*P. americana*) 추출물의 병원균에 대한 항균 활성 검색 후 최저성장저해농도(Minimum Inhibitory Concentration) 측정을 위해 Radial diffusion assay를 적용하였다. 각 균주를 TSB(Tryptic soy broth, Difco, USA) 액체배지에서 전배양하여 활성화 시킨 후 이용하였으며 50ml tube에 배양된 균은 4°C, × 880 g에서 10분간 centrifuge하여 pallet을 취했고 10 mM cold sodium phosphate buffer (pH 7.4)로 washing 한 후 bacterial pallet을 5 ml의 동일 buffer에 현탁시켰다. 자외선분광광도계를 이용하여 620 nm에서 OD값을 측정하여 균농도를 4 × 10⁶ cfu/ml로 맞추어 멸균된 underlay gel(100 mM sodium phosphate buffer, 1% low electroendosmosis agarose, TSB) 10 ml에 배양된 균(4 × 10⁶ CFU/ml)을 혼합하여 10 × 10 mm 사각플레이트에 부어 굳혔다. Underlay gel에 지름 8 mm의 구멍을 내어 시료를 농축원액, 2배, 4배, 8배, 16배, 32배로 희석하여 40 µl씩 구멍에 넣었고, 추출물이 확산되도록 37°C에서 3시간 배양한 후, 그 위에 overlay gel (TSB, 1% low electroendosmosis agarose)을 부어 굳힌 다음 37°C에서 18시간 동안 배양하였다. 이후 clear zone의 크기를 측정하여 항균 활성을 비교하였다.

Table 1. Strains and growth conditions

Strains	Media used	Growth conditions
<i>B. subtilis</i> (KACC 17047)	R2A Medium	30°C, 24 h
<i>S. auricularis</i> (KACC 13252)	Corynebacterium agar	37°C, 24 h
<i>E. coli</i> (KACC 10005)	LB Medium	28°C, 24 h
<i>P. aeruginosa</i> (KACC 10232)	NA (Nutrient agar)	37°C, 24 h
<i>C. albicans</i> (KACC 30004)	YM	25°C, 24 h

7. Total RNA의 분리와 First-Strand cDNA 합성

Total RNA는 미국바퀴(*Periplaneta americana*) 시료를 액체질소로 동결시킨 상태에서 마쇄한 후 SV RNA extraction Kit(Promega)의 방법에 따라 분리하였으며, 최종적으로 50 µL RNase-free water에 elution 하였다. Total RNA 농도는 260 nm/280 nm 흡광도 값의 비율로 결정하였다. 분리한 RNA는 oligo-dT primer와 cDNA Synthesis Kit(Promega)에 의한 역전사 효소반응 PCR(RT-PCR)을 통해 First-Strand cDNA를 합성하였다.

8. Q-PCR (Real time PCR)

본 실험에서 미국바퀴(*Periplaneta americana*)의 사육조건에 따른 항산화 관련 단백질의 발현량 비교를 위하여 사용된 발현량 조사 장비로는 Exicycler™ Quantitative Thermal Block(Bioneer, Korea)을 사용하였으며, 증폭된 산물의 정량은 SYBR Green을 사용하여 측정하였다. Real-time PCR 진단을 위한 최적 primer annealing 온도의 확립을 위하여 temperature gradient PCR을 수행하였다. 본 real-time PCR은 총량을 20 µl로 하여 2 × Prime Q-Master mix, 각 10pmole primer로 조성하였으며, 반응조건은 94°C에서 10분간 pre-denaturation시킨 후, denaturation 94°C, 20초, primer annealing 50 ~ 65°C, 20초, DNA extension 72°C, 20초를 40cycles 수행하였으며, 이 후 melting temperature analysis를 45 ~ 94°C에서 수행하였다(2°C/sec).

결과 및 고찰

1. 미국바퀴 생활사

본 연구에 사용된 미국바퀴(*Periplaneta americana*)는 한 개의 난포가 평균 25개의 알을 포란하고 있으며, 14.5개의 알이 부화하여 약 67%의 부화율을 보였으며, 각각의 난형은 단경 0.4, 장경 0.86 mm의 크기를 가지고 있었다(표 2). 미국바퀴의 적정 사육조건을 구명하기 위하여 온

도별 산란율을 조사한 결과, 28°C에서 산란전 기간이 8일 정도 소요되고 산란시간은 3.58분, 부화율이 14.26%, 알 기간은 36.62시간으로써 가장 효율적인 사육온도가 28°C로 확인되었다(표 3). 부화한 미국바퀴(*P. americana*)는 성충기까지 총 13령기를 거치면서 성숙한다(그림 1).

2. 미국바퀴의 화학적 특성조사

식품원료 및 의약품 소재로 활용하기 위하여 미국바퀴(*P. americana*) 성충의 일반성분 및 유용성분을 분석한 결과, 일반성분 중 수분이 60% 이상을 차지하고 있으며, 조지방이 1%, 조단백질은 33.49%로써 조단백질 함량이 높게 측정되었다(표 4). 또한 아미노산 분석결과 미국바퀴는 필수아미노산이 2.37%를 차지하고 있으며, 글루탐산 등 다양한 아미노산으로 구성되어 있다(표 5). 미국바퀴(*P.*

americana)의 지방산 함량 분석 결과로는 oleic acid (C18:1n9c)가 28.91%, palmitic acid (C16:0)가 19.06%로

Table 4. General component of *Periplaneta americana*

Moisture (%)	Inorganic compound (%)	Crude fat (%)	Crude protein (%)
60.11	1.36	1.05	33.49

Table 5. Amino acid composition of *Periplaneta americana* (%)

Amino acids	(%)
Cystine	0.01
Methionine	0.17
Aspartic Acid	0.03
Threonine	0.38
Serine	0.38
Glutamic Acid	0.66
Glycine	1.63
Alanine	1.38
Valine	0.33
Isoleucine	0.15
Leucine	0.33
Tyrosine	0.23
Phenylalanine	0.15
Lysine	0.34
Histidine	0.52
Arginine	1.46
Proline	0.77
Essential amino acid ratio (%)	2.37
	26.6

Table 2. Characterization of eggs about *P. americana*

No. of eggs in Oothecae	No. of emerging	Hatchability (%)	Size of Oothecae (mm)	
			Long length	Short length
21.5 ± 1.00	14.5 ± 0.54	67.4 ± 0.19	0.86 ± 0.03	0.40 ± 0.03

Table 3. Characterization of Oviposition at different temperatures of *P. americana*

(°C)	Preoviposition	Time of laying egg	No. of emerging	Period of egg
22	24.70 ± 12.86	9.73 ± 1.78	14.87 ± 1.46	87.07 ± 3.92
25	15.70 ± 11.95	6.95 ± 3.94	13.07 ± 3.25	50.27 ± 1.55
28	8.00 ± 4.29	3.58 ± 0.78	14.26 ± 1.94	36.62 ± 1.36
32	11.6 ± 9.78	6.27 ± 3.35	12.93 ± 3.65	34.09 ± 1.55

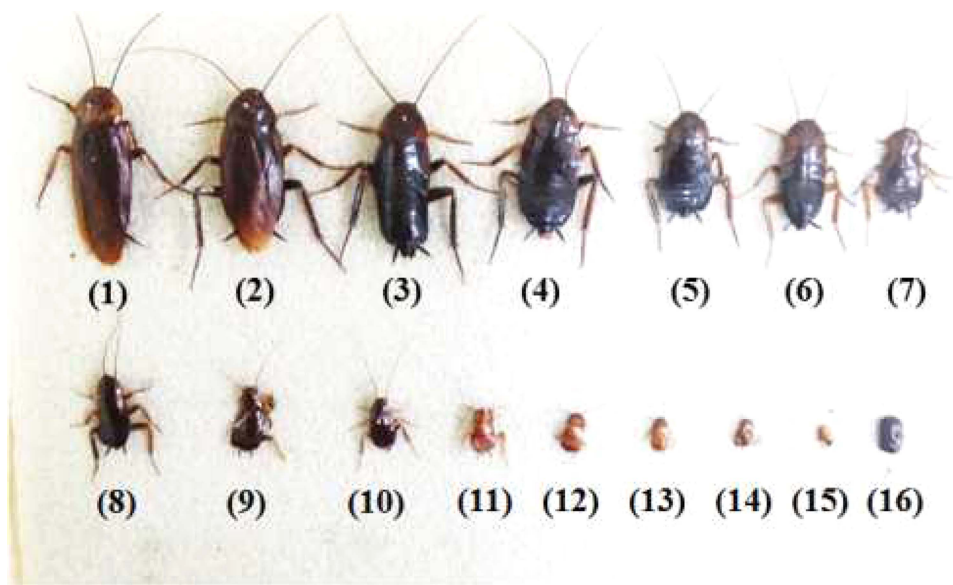


Fig. 1. Life cycle and size calculation of female and male. 1st to 13th instar of *P. americana*.

Table 6. Fatty acid composition of *Periplaneta americana* (%)

Fatty acid	(%)
Lauric acid (C12 : 0)	0.28
Myristic acid (C14 : 0)	1.43
Pentadecanoic acid (C15 : 0)	0.16
Palmitic acid (C16 : 0)	19.06
Heptadecanoic acid (C17 : 0)	2.71
Stearic acid (C18 : 0)	2.94
Arachidic acid (C20 : 0)	2.38
Heneicosanoic acid (C21 : 0)	-
Behenic acid (C22 : 0)	0.32
Lignoceric acid (C24 : 0)	0.14
Saturated	29.42
Palmitoleic acid (C16 : 1)	2.49
cis-10-Heptadecenoic acid (C17 : 1)	-
Elaidic acid (C18 : 1n9t)	3.41
Oleic acid (C18 : 1n9c)	28.91
cis-11-Eicosenoic acid (C20 : 1)	0.12
Nervonic acid (C24 : 1)	0.23
Monounsaturated	35.16
Linoleic acid (C18 : 2n6c)	23.02
cis-11,14-Eicosadienoic acid (C20 : 2)	6.15
Linolenic acid (C18 : 3n3)	0.63
cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20 : 3n6)	0.58
cis-11,14,17-Eicosatrienoic acid (C20 : 3n3)	0.69
Arachidonic acid (C20 : 4n6)	4.35
Polyunsaturated	35.42

가장 많은 양의 지방산으로 확인되었다(표 6). 미국바퀴에서 가장 많은 양을 차지하고 있는 palmitic acid는 항암작

용이 있는 지방산으로 알려져 있다(Harada et al. 2002). 이와 같이 미국바퀴(*P. americana*)는 높은 단백질 함량과 유용지방산으로 구성된 식품원료로서 사용이 가능할 것으로 분석되었다.

3. 미국바퀴 추출물의 항산화 효과

미국바퀴(*Periplaneta americana*) 동결건조 시료의 각 용매별 추출물의 DPPH에 의한 free radical 제거능을 검사하였다. 활성산소는 생체세포를 공격하여 지질과 단백질 핵산(DNA, RNA)을 파괴하고, 여러 가지 효소기능들을 저해하여 질병(암과 노화)을 촉진한다. 이 실험법은 안정한 자유 라디칼인 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH)을 이용하여 일정량의 시료 용액과의 반응에 의하여 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 분광광도계로 측정하여 간접적으로 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법이다. 미국바퀴 동결건조 시료의 각 용매별 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 free radical inhibitor로서 대조구로 이용한 Vit.C(0.1% ascorbic acid)와 비교했을 때 증류수와 MeOH추출물에서 87.46%와 89.29%로 비슷한 수준이었다.

4. 미국바퀴 추출물의 항균 활성

미국바퀴(*Periplaneta americana*)는 성충을 멸균증류수(DW) 및 각종 유기용매(ethyl acetate, hexan, ethyl ether, EtOH, MeOH)로 추출하여 각각의 조추출물이 가지고 있는 항균 활성을 측정하기 위하여 그램 음성균인 *P. aeruginosa*, *E. coli*와 그램 양성균인 *B. subtilis*, *S. auricularis*와 진균인 *C. abbicans*을 대상으로 실시한 disc diffusion test의 결과, ethyl ether를 이용하여 추출한 조추출물이 시험에 사용된 각각의 공시균주에 대하여 *B. subtilis* 1.88 ± 0.40 mm, *S.*

Table 7. Analysis of DPPH scavenging activity for differential solvents

(Unit: %)						
Vit.C	DW	E.A*	E.E*	MeOH	EOH	Hexan
90.11 ± 0.29	87.46 ± 0.11	35.35 ± 6.12	59.67 ± 7.91	89.29 ± 0.11	42.41 ± 3.71	44.68 ± 13.02

Vit.C: 0.1% ascorbic acid, E.A: Ethyl acetate, E.E: Ethyl Ether.

Table 8. Antimicrobial activities of extracts from *Periplaneta americana*

	Clear zone on plate (mm)					
	DW	E.A*	E.E*	MeOH	EOH	Hexan
<i>B. subtilis</i>	-	-	1.88 ± 0.40	-	-	-
<i>S. auricularis</i>	-	-	7.78 ± 0.76	-	-	-
<i>C. abbicans</i>	-	-	5.61 ± 0.57	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	6.44 ± 1.03	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	7.55 ± 0.74	-	-	-

*Ethyl acetate (E.A), Ethyl ether (E.E).

Table 9. Results of radial diffusion. MIC(Minimum inhibition concentration) value of extracts from *P. americana* by Ethyl ether

Bacteria	Clear zone on plate (mm)				
	Stock	10-1	10-4	10-8	10-16
<i>B. subtilis</i>	0.98 ± 0.19	—	—	—	—
<i>S. auricularis</i>	2.11 ± 0.29	1.98 ± 0.74	0.91 ± 0.08	—	—
<i>C. abdicans</i>	4.39 ± 0.49	3.86 ± 0.69	2.34 ± 0.10	0.49 ± 0.18	—
<i>P. aeruginosa</i>	7.31 ± 0.42	7.04 ± 1.42	6.00 ± 1.05	4.82 ± 3.64	2.25 ± 0.81

*MIC (Minimum inhibition concentration) value by Radial diffusion assay.

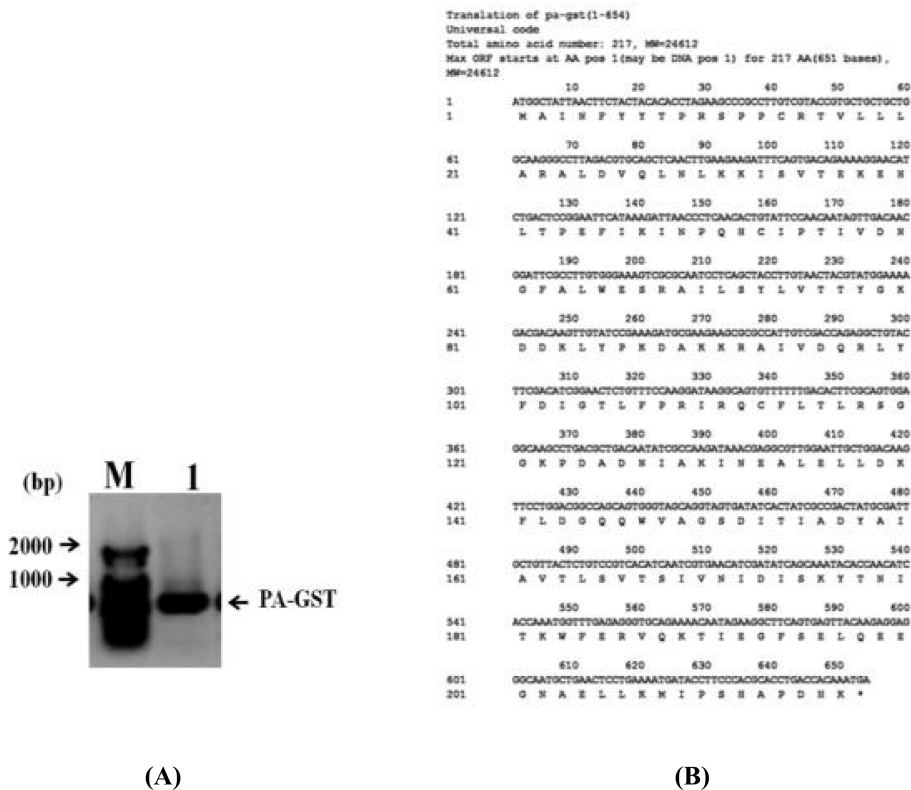


Fig. 2. PCR and cDNA sequence of the Pa-gst genes. (A) RT-PCR of Pa-gst from *P. americana*. The cDNAs were synthesized by RT-PCR. Lane 1 is the PaGST. The amplified products were electrophoresed in a 1.2% agarose gel, stained with ethidium bromide, and visualized under UV light. Lane M is DNA size markers (100 bp ladder). (B) Nucleotide sequence and predicted amino acid sequences of partial-gst (Glutathion-S-transferase) and cDNA clones numbers at the left indicate positions of the nucleotide and amino acid.

auricularis 7.78 ± 0.76 mm, *P. aeruginosa* 6.44 ± 1.03 mm, *E. coli* 7.55 ± 0.74 mm, *C. abdicans* 5.61 ± 0.57 mm의 clear zone을 형성하면서 각각의 균주 성장을 저해하는 것을 확인하였으며(표 8), 이러한 ethyl ether 조추출물의 MIC값을 측정하기 위하여 사용된 radial diffusion assay의 결과로는 추출물 원액에서만 *B. subtilis*를 0.98 ± 0.19 mm 저해하였으며, 추출물의 10⁻⁴의 농도에서 *S. auricularis* 0.91 ± 0.08 mm, 10⁻⁸에서 *P. aeruginosa* 2.25 ± 0.81 mm, 10⁻⁸에서 *C. abdicans* 0.49 ± 0.18 mm의 MIC값이 확인되었다(표 9).

5. 유용단백질 발현 조절의 사육 기술 적용

미국바퀴(*Periplaneta americana*)가 가지고 있는 항산화 및 항균 활성 물질은 화학적인 물질을 비롯한 단백질성 물질도 다수 차지하고 있다. 대표적으로 본 연구에서는 항산화 물질인 GST(Glutathione-S-transferases) 유전자를 cloning하고 염기서열을 분석하였다(그림 2). 선발된 GST 유전자 partial cDNA를 주형으로 하는 Forward; 3'-TTATTTTCATAAATTGTTGCAGGAAAGTCTTC-5', Reverse 3'-TTATTTTCATAAATTGTTGCAGGAAAGTCTTC-5' primer를 이용하여 PCR한 결과 651개의 coding 영

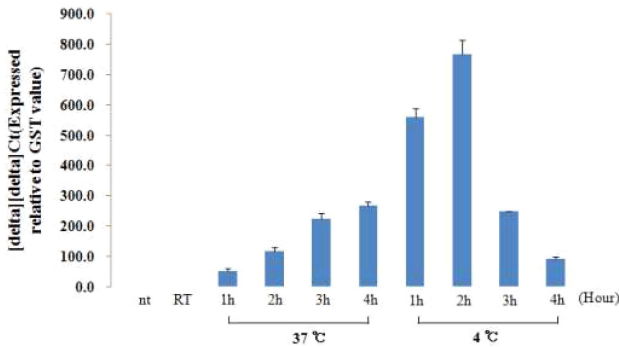


Fig. 3. PaGST expression profile in the adult body of *P. americana* by heat-shock. RT samples (0h) were used as controls. Total RNA from *P. americana* adult cockroaches treated with 4°C and 37°C was isolated from hole body at different time points. Induction and suppression of PaGST in the *P. americana* bodies was analyzed by qRT-PCR. The β -actin gene was used as the internal control for qRT-PCR. Relative mRNA levels of and PaGST during the differential time (4 h) in 37°C and 4°C (nt: not treat, RT: Room temperature).

역으로 구성된 GST 단편을 확보하였으며, 염기서열을 분석 후 GST 유전자임을 확인하였다(그림 2). 미국바퀴를 사육하는 기술을 개선 및 변형을 통한 유용유전자의 발현량 차이를 비교하기 위하여 온도 조절을 통한 온도 스트레스를 처리한 후 GST 발현량 분석을 Real Time PCR을 이용하여 정량분석 하였다. 그 결과, 항산화 단백질인 GST는 37°C에서 한시간 단위로 점차 발현량이 증가하고, 4°C처리를 한 경우에는 1시간 경과 후 급격하게 늘어났으며, 2시간이 경과한 후에 가장 많은 발현량을 보였다. 그러나 3시간이 경과한 후부터 발현량이 감소하기 시작하여 4시간 후 급격한 발현량 감소를 확인할 수 있었다(그림 3). 이러한 결과는 바퀴를 식약용 원료로 이용할 경우 최종 생산물로의 가공할 때 가공전 온도처리를 통하여 항산화 물질 등 더 많은 유용물질을 발현시킬 수 있어서 원료의 품질고급화를 기대할 수 있을 것이다.

적 요

본 연구는 미국바퀴(*Periplaneta americana*)의 식의약용 소재로의 활용을 위하여 미국바퀴의 사육 특성을 조사하여 사육의 편의를 제공하고, 유용물질의 분리 및 분석을 통하여 식의약용 소재로의 가능성을 제시하고자 하였으며, 그 결과로 미국바퀴는 한 개의 난포가 평균 25개의 알을 포란하고 있고, 14.5개의 알이 부화하여 약 67%의 부화율을 보였으며, 28°C에서 사육하는 것이 가장 효율적인 사육온도로 확인하였다. 미국바퀴(*P. americana*) 성충의 일반성분 및 유용성분 분석 결과, 일반성분 중 수분이 60% 이상을 차지하고 있으며, 조지방이 1%, 조단백질은

33.49 %로써 조단백질 함량이 높게 측정되었다. 필수아미노산이 2.37%를 차지하고 있으며, 지방산은 항암작용을 가지고 있는 oleic acid (C18:1n9c)가 28.91%, palmitic acid(C16:0)가 19.06%로 가장 많은 양을 차지하고 있어 미국바퀴의 식용화 가능성을 확인하였다. 미국바퀴(*P. americana*)는 성충을 멸균중류수(DW) 및 각종 유기용매(ethyl acetate, hexan, ethyl ether, EtOH, MeOH)로 추출하여 각각의 조추출물이 가지고 있는 항균 활성을 측정하기 위하여 그램 음성균인 *P. aeruginosa*, *E. coli*와 그램 양성균인 *B. subtilis*, *S. auricularis*와 진균인 *C. abdicans*을 대상으로 실시한 disc diffusion test의 결과, ethyl ether를 이용하여 추출한 조추출물이 시험에 사용된 각각의 공시균주에 대하여 *B. subtilis* 1.88 ± 0.40 mm, *S. auricularis* 7.78 ± 0.76 mm, *P. aeruginosa* 6.44 ± 1.03 mm, *E. coli* 7.55 ± 0.74 mm, *C. abdicans* 5.61 ± 0.57 mm의 clear zone을 형성하면서 각각의 균주 생장을 저해하는 것을 확인하였으며, 온도 스트레스에 대한 항산화 물질인 GST 발현량을 Real Time PCR을 이용하여 정량분석 한 결과, 항산화 단백질인 GST는 37°C에서 한 시간 단위로 점차 발현량이 증가하고, 4°C처리를 한 경우에는 1시간 경과 후 급격하게 증가하였으며, 2시간 경과한 후에 가장 많은 발현량을 보였다. 본 연구결과에 따라서, 미국바퀴(*P. americana*)는 각종 유용성분을 함유하고 있으며, 항균 활성도 우수한 것으로 확인하였고, 온도처리와 같은 사육조건 조절시 고품질의 원료생산을 통한 농가소득 증대에 기여할 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 글

본 연구는 전라남도 농업기술원 연구사업인 바퀴류 대량사육 및 이용기술 개발에 의하여 수행되었음.

References

- Bell WJ, Adiyodi KG (1981) The american cockroach. Chapman and hall, London.
- Chen X, Feng Y, Zhang H, Chen Z (1994) Review of the nutritive value of edible insects impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. *Arteriosclerosis and Throm.* **14**(4), April.
- Cloarec A, Rivault C, Fontaine F, Leguyader A (1992) Cockroaches as carriers of bacteria in multi-family dwellings. *Epidemiol Infect* **109**, 483~490.
- Costa-Neto EM (2015) Anthro-entomophagy in Latin America: an overview of the importance of edible insects to local communities. *Journal of Insects as Food and Feed* **1**, 17~23.
- DeFoliart GR (1989) The human use of insects as food and as animal feed. *Bulletin of the Entomological Society of America*

- 35, 22~35.
- DeFoliart GR (1999) Insects and food: why the western attitude is important. *Annual Review of Entomology* **44**, 21~50.
- Durst PB, Hanboonsong Y (2015) Small-scale production of edible insects for enhanced food security and rural livelihoods: experience from Thailand and Lao people's Democratic Republic. *Journal of Insects as Food and Feed* **1**, 25~31.
- Harada H, Yamashita U, Kurihara H, Fukushi E, Kawaba J, Kamei Y (2002) Antitumor activity of palmitic acid found as a selective cytotoxic substance in a marine red alga. *Anticancer Res.* **22**(5), 2587~2590.
- Pai HH, Chen WC, Peng CF (2005) Isolation of bacteria with antibiotic resistance from household cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*) *Acta Tropica* **93**, 259~265.
- Pai HH, Chen WC, Peng CF (2003) Isolation of nontuberculous mycobacteria from nosocomial cockroaches. *J Hosp Infect* **53**, 224~228.
- Ramos-Elorduy J (2006) Threatened edible insects in Hidalgo, Mexico and some measures to preserve them. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* **2**, 1~10.
- Rivault C, Cloarec A, Le Guyader A (1993) Bacterial load of cockroaches in relation to urban environment. *Epidemiol. Infect* **110**, 317~325.
- Rust MK, Reiersen DA, Hansgen KH (1991) Control of american cockroaches (Dictyoptera: Blattidae) in sewers. *Journal of Medical Entomology* **28**, 210~213.
- Sohn MH, Kim KE (2012) The cockroach and allergic diseases. *Allergy Asthma Immunol Res* **4**, 264~269.
- van Huis A (1996) The traditional use of arthropods in sub-Saharan Africa. *Proceedings of the section experimental and applied entomology of the netherlands entomological society* **7**, 3~20.
- Yen AL (2015) Insects as food and feed in the asia pacific region: current perspectives and future directions. *Journal of Insects as Food and Feed* **1**, 33~55.
- Zhou SW (1982) *A history of Chinese entomology*. Science Press, Beijing. pp180~186.