

국내 자생식물의 유기용매추출물로부터 양파부패균 *Penicillium* sp.

ON-211에 대한 항균활성 검증

하철균, 태연희, 강선철

대구대학교 공과대학 생물공학과

전화 : 053-850-6553, Fax : 053-850-6559

Abstract

Antifungal activities of domestic plants were examined to develop natural anti-microbial agents, able to protect onion from spoiling microorganisms during their storage. A fungus was isolated from spoiling onion and identified to *Penicillium* sp. ON-211, based on the morphological characteristics of conidiophore and conidia. Chloroform extracts of *Juniperus chinensis* Linnaeus, *Juniperus. chi.* var. *horizontalis*, water extract of *Thujs orientalis* Linnaeus' seed and the n-hexane extract of *Juniperus. chi.* var. *horizontalis* N. showed remarkable antifungal activities against this fungus.

서론

현재 양파의 저장은 주로 0~1℃ 정도에서 약 8개월 정도 저장가능하나, 저장중 미생물 및 기타 원인에 의한 중량감소가 일어난다. 미생물에 의한 병해로는 *Aspergillus*에 대한 흑색 분상의 포자균이 생성되는 black mold, *Fusarium*에 의한 백색 및 핑크색의 곰팡이가 발생하는 *Fusarium* bulb rot, Botrytis에 의한 gray mold rot, 이외에서 bacterial soft rot 등이 있다. 따라서 적절한 저장 온도의 유지와 미생물을 제어할수 있는 system 개발이 필수적으로 요구된다. 한편 미생물에 대한 항균제 개발은 주로 유해 미생물을 중심으로 연구되어왔기 때문에, 이런 용도로 개발된 항균제는 대부분 화학합성품을 사용하고 있으므로 농산물의 저장에 적용하기에는 부적합하다. 천연항균제로는 식물추출물, 특정 단백질 및 효소류, 유기산류, bacteriocin 등이 있다. 특히 식물은 매우 다양한 유용성분을 함유하고 있으며 이러한 식물자원에서 항미생물 활성물질을 찾으려는 시도가 계속되어 왔으나 식품 저장이나 농산물 저장에 적용할 수 있는 항균제는 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 양파의 저온 저장 시 부패를 일으키는 균을 분리, 동정한 후 이 균에 대해 항균 활성을 가지는 식용식물을 수집하여 항균력을 검증하여, 식품 및 농산물의 저장 시 부패를 방지하기 위한 천연항균제 개발의 기반을 마련하고자 한다.

재료 및 방법

1. 사용균주 및 배지

실험에 사용한 균주는 양파의 저온저장 중 bulb로부터 분리한 곰팡이를 사용하였고, 균생육 배지로는 Potato Dextrose Agar(PDA)와 Maltose Extract Agar(MEA)를 사용하였다.

2. 분리균주의 동정

이 균의 동정은 형태학적인 특징을 LWD 대물렌즈가 장착된 광학현미경과 육안으로 관찰하면서 Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi(7th ed.)의 분류체계에 따라 동정하였다.

3. 식물체의 용매분획물 제조

식물재료는 경북 일대의 자생지에서 채취하여 녹즙기로 마쇄한 후 사용하였다. 이들 각각을 100 ml의 n-hexane, ethyl-acetate, chloroform을 순차적으로 분획한 후 유기용매를 증발시켜서 추출물을 얻었으며, 남은 분획을 물분획으로 사용하였다. 각 추출물은 분획용매에 10%의 농도로 녹인 후 항균력 측정에 사용하였다.

4. 항균력 측정

항균활성 검사에 사용된 균주는 양파로부터 순수 분리한 균을 PDB배지에서 20°C, 48시간 동안 진탕배양하여 종균으로 사용하였다. 항균성 시험용 평판배지의 조제는 액상 배지에 agar를 0.8% 첨가하여 멸균한 후, 배지가 응고되기 전에 종균을 접종한 다음, petri dish에 10 ml 씩 분주하였다. 이 평판배지가 응고된 후 지름 4 mm의 구멍을 뚫고, 각각의 시료를 5 μ l 넣은 뒤 20°C에서 48시간 배양한 후 생성되는 투명환의 크기로써 항균력을 측정하였다.

결과 및 고찰

양파로부터 분리한 균주를 동정하기 위하여 MEA 및 PDA에서 균체를 배양하면서 육안과 광학현미경을 이용하여 형태를 관찰한 결과 선발 균주는 사용한 두 배지 모두에서 빠른 성장을 보였으며, 균사체의 표면은 녹색을 띠었다(Table 1). 이 균주는 광학현미경 상에서 빗자루 모양의 전형적인 *Penicillium* sp.의 분생포자를 나타내었다. 즉 conidial head의 형태는 칼럼형이었으며, 분생자의 직경은 2.5 μ m이었다. 경자의 형태는 플라스크형이었으며, 분생자병의 hyalide는 평활하였으며, 분절형태는 simple type이었다. 이상의 결과들로부터 분리균주는 *Penicillium* sp.로 동정하고 *Penicillium* sp. ON-211로 명명하였다. 식물체 즙으로부터 항균활성을 나타내는 식물재료를 유기용매로 분획한 후 분획물의 *Penicillium* sp. ON-211에 대한 항균활성을 측정한 결과 (Table 2), 측백나무열매는 물 분획에서 항균활성이 높았고 정향나무, 탕자나무의 잎은 chloroform 분액에서 높은 활성을 나타내었다. 한편 등근향나무의 잎은 n-hexane 분액에서 높은 활성을 나타내었고, 연필향나무의 잎은 ethyl

acetate 분획에서 비교적 높은 항균활성이 나타났다.

요약

양파의 저온저장중 부패방지를 위한 천연항균제 개발의 일환으로 저장양파로부터 부패세균을 분리한 후 이 균에 대한 식물추출물의 항균활성을 조사하였다. 양파의 저온저장중 과육으로부터 분리한 곰팡이를 MEA와 PDA에서 배양하면서 분생자병과 분생자의 형태적 특성을 조사한 결과 플라스크형의 phialide, 분생자병의 branching type이 simple type이며, conidial head가 columnar shape 가지고 있는 것으로 확인되어 *Penicillium* sp. ON-211으로 동정하였다. 또한 자생 식물을 채집하여 각종 유기용매로 추출한 후 항균활성을 조사하였다. 정향나무, 탕자나무의 잎은 chloroform 분획에서 높은 활성을 나타내었고, 측백나무 열매는 물분획에서 높은 활성을 나타내었으며, 연필향나무의 잎은 ethyl acetate 분획에서 비교적 높은 항균활성이 나타났다.

참고문헌

1. Cavallito, C.J. and J. H. Bailey (1944) Allicin, the Antimicrobial Principle of *Allium sativum*. I. Isolation, Physical Properties and Antibacterial Action. *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 1950-1951.
2. Lin, A. J., M. Lee and D. L. Klayman (1989) Antimarial Activity of New Water-soluble Dihydroatemisinin Derivatives. 2. Streospecificity of the ether Side Chain, *J. Med. Chem.* 32, 1249-1252.
3. Beuchat, L. R. (1976) Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to spices and organic acids. *J. Food Science* 41, 899-902.
4. Kobayashi, H. A. (1992) A Study on Analytical Methods for Determination of Pesticide Residue in Animals, Plants and the Environment, *J. Pesticide Sci.*, 17, 125-136

Table 1. Morphological characteristics of *Penicillium* sp. ON-211.

| Characteristics | MEA(malt extract agar) |
|--------------------------------|-----------------------------|
| Growth | fast |
| Colony color | green(dark) |
| Colony reverse color | yellow |
| Colony type | convex |
| Conidial head | columnar, radiate |
| Type of conidiophore branching | simple |
| Conidiophores hyalide | smooth |
| Phialide | flask shape |
| Conidia shape | globose, 2.5 μ m(dia.) |
| Exudate | absent |

Table 2. Antifungal activity of the various solvent fractions from the crude plant extracts against *Penicillium* sp. ON-211.

| Plant | Diameter of clear zone (mm) | | | |
|---------------------------|-----------------------------|---------------|------------|-------|
| | n-Hexane | Ethyl acetate | Chloroform | Water |
| <i>J. chinensis</i> L. | - | - | 4.0 | - |
| <i>J. chi.</i> var. g. H | 2.0 | - | - | - |
| <i>J. virginiana</i> L. | - | 2.6 | 1.0 | - |
| <i>J. chi.</i> var. h. N. | - | - | - | - |
| <i>T. orientalis</i> | - | - | 2.1 | - |
| <i>T. orientalis</i> | 1.6 | - | - | 3.2 |
| <i>T. cuspidata</i> | - | - | - | - |
| <i>A. simonii</i> | - | 1.2 | 1.0 | - |
| <i>P. trifoliata</i> | - | - | 2.0 | - |
| <i>L. japonica</i> | - | - | 1.4 | - |