

곰팡이 RF101이 생성하는 적색 색소의 안정성 및  
추출물의 생리활성 검정

유소현, 양덕조

충북대학교 생물학과

전화 (043) 261-2293, FAX (043) 261-2293

**Abstract**

The stability of red pigment isolated from RF101 was determined over a period of storage for the pH, light, temperature and various metal ions. The absorption maximum of red pigment was 510nm. Red pigment was stable from pH 5 to pH 9 and in dark conditions. It was also stable against temperature below 25°C and in K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>. Antibacterial activity of RF101 showed growth-inhibitory activity against plant pathogens *Agrobacterium* spp.

**서론**

식품, 화장품, 의약품 및 사료 첨가제 또는 보조제 등으로 다양하게 사용되는<sup>1)</sup> 색소는 크게 천연물에서 추출하는 색소와 화학적으로 합성된 합성색소로 나눌 수 있다. 합성색소는 19세기 이후 광범위하게 사용되어 왔으나 안전성 등의 문제가 대두되면서 점차 사용이 줄고 천연색소로 눈을 돌리고 있는 실정이다. 천연색소의 원료는 식물의 꽃, 잎, 뿌리와 열매 등에서 추출 정제하여 사용하여 왔으며, 동물계 색소로는 곤충 등에서 얻고 또는 미생물로부터도 얻을 수 있다. 그러나 천연색소에 대한 연구는 대부분 식물색소에 치중하고 있지만 식물색소는 특정 식물에서만 색소의 추출이 가능하고 외부 생육조건에 따라 많은 영향을 받기 때문에 생산비와 동질성에 문제가 있다.<sup>2,3)</sup> 최근 식물 이외에 미생물로부터 색소를 얻기 위한 연구가 많이 수행되었으며 *Monascus anka* 유래의 황색색소, *Serratia marescens* 유래의 적색색소, *Bacillus* sp. PY123 유래의 황색색소에 대한 연구가 알려져 있다.<sup>4)</sup> 미생물로부터의 색소생산은 미생물의 배양이 용이하다는 점과 색소의 동질성 유지뿐만 아니라 단시간에 다량의 색소를 얻을 수 있다는 이점이 있다.<sup>5)</sup> 그럼에도 불구하고 미생물 기원의 색소에 대한 연구는 극히 한정되어 있으며, 산업적으로 사용되는 미생물 유래의 색소는 *Monascus anka*가 생산하는 색소가 대표적이다. 본 연구는 적색 색소를 생성하는 자생 곰팡이 RF101을 채집하여 색소의 특징 및 그 안정성과 생리활성을 검정하여 산업적으로 이용하기 위한 기초 자료를 마련하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 균사체 배양

채집한 버섯으로부터 분리한 단일 균사체를 1/2 MS agar 배지, pH 5.8, 25°C, 암상태에서 1주간 배양 한 후 1/2 MS 액체 배지, pH 5.8, 25°C, 암상태에서 15일간 배양하였다.

### 균사체 분리 및 색소추출

균사체와 배양액을 원심분리(8,000rpm, 15min, 4°C)하여 균사체와 배양액을 분리하였다. 균사체를 증류수로 2회 씻은 후 60°C dry oven에서 24h 건조한 후 분말로 만들어 건량을 측정하였다. 건조한 균사체 분말을 chloroform, methanol, 25°C distilled water, 70°C distilled water에 각 각 넣고 추출했다. 각 용매별 추출물을 Rotaevaporator(115 Ex, Brinkmann)로 농축하여 사용하였다.

### 적색 색소의 흡광도 측정

각 용매별 추출물을 UV/Vis spectrophotometer(U-3400, HITACHI)로 파장별 200-700nm에서 scanning 하였다.

### 색소의 안정성 측정

적색 색소의 pH, light, temperature, metal ion 등의 효과를 알아보려고 건조시료를 chloroform에 용해시켜 사용하였다. pH에 의한 영향을 알아보기 위해 색소용액에 pH 3, 5, 7, 9 11 용액을 첨가하여 25°C에서 4시간 방치한 후 흡광도를 측정하였다. 광도에 의한 영향은 25°C의 암소와 광( $1.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )아래에서, 온도의 영향은 4°C, 25°C, 70°C의 암소에서, 금속이온에 의한 영향은 25°C 암소조건에서  $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ 의 금속이온용액 NaCl, KCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ 를 첨가하였다. 흡광도의 변화는 5일 동안 암상태에서 보관하면서 24시간 간격으로 UV/Vis spectrophotometer(U-3400, HITACHI)를 이용하여 510nm에서 측정하였다.

### 적색 색소 및 추출물의 생리활성 검정

균사체 powder 0.25%, 0.5%와 각 용매 chloroform, 70% methanol, 25°C distilled water, 70°C distilled water 추출물을 식물에 모근병(hairy root)을 일으키는 *Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub>, *Agrobacterium rhizogenes* wx, *Agrobacterium rhizogenes* 8196, *Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub>T, *Agrobacterium rhizogenes* 13257, *Agrobacterium rhizogenes* 15834를 이용하여 생리활성을 검정하였다.

### 결과 및 고찰

배양한 균사체를 씻어 건조한 후 측정한 건량은 13.3g/L이었다. 각 용매별로 추출했을 때, 가장 선명한 색상이 추출되는 chloroform 추출액을 취하여 흡광도를 측정 한 결과 흡수 peak은 510nm에서 나타났다. pH에 대한 안정성을 검정하기 위해

510nm에서 흡광도를 측정 한 결과 Fig. 1에서 제시한 바와 같이 pH 3의 용액에서는 대조구와 비교하여 흡광도가 감소하였으며 색도도 황색으로 변화되었다. 이러한 결과는 적색 색소가 산에 의하여 구조가 파괴되었기 때문이다. pH 5, 7, 9에서는 대조구와 유사한 흡광도를 나타내는 것으로 보아 이 영역에서는 색소가 안정함을 알 수 있다. pH 11에서는 적색 색소가 자색으로 변화였고 대조구보다 흡광도가 높아졌다. 이러한 변화는 색소의 분자구조에 OH group이 반응하여 흡광도에도 변화가 일어나는 것으로 보여진다. 온도에 대한 안정성 실험에 대한 결과는 Fig. 2에서 나타나는 바와 같이 4℃와 25℃에서는 흡광도가 대조구와 비교해 5일 동안 90%이상 유지되었다. 반면 70℃에서는 흡광도가 시간이 경과함과 동시에 급격히 감소하였으며, 색도도 황색으로 변화였다. 이러한 결과로 볼 때, 이 색소는 저온이나 실온에서는 안정한 반면 고온에서는 안정성이 감소하는 것으로 보여진다. 광에 의한 영향을 실험한 결과, 적색 색소는 암상태에서는 안전한 반면 광상태에서는 시간이 경과함과 동시에 흡광도의 급격한 감소를 보였다(Fig. 3). 금속이온에 대한 안정성 실험 결과는 Fig. 4에 제시한 바와 같이 2일 까지는 80%정도, 5일 까지 비교적 안정한 것으로 나타났다. 그러나 NaCl은 다른 이온에 비해 안정성이 낮은 것으로 나타났다. RF101 및 그 추출물의 생리활성 검정 결과는 균사체 powder 0.25%가 첨가된 배지에서는 *Agrobacterium rhizogenes* A<sub>4</sub>와 *Agrobacterium rhizogenes* wx에서 생장 억제 효과가 크게 나타났고 0.5%에서는 모든 균주들의 생장 상태가 현저하게 억제되었다. 추출물에서는 70% methanol 추출물과 70℃ D.W 추출물의 생장 억제 효과가 가장 크게 나타났다(Table 1). 이러한 결과로 미루어 볼 때, RF101의 색소와 그 추출물을 생물 농약을 비롯한 기능성 제품으로의 직접적인 산업화를 위하여 안정성 유지에 대한 연구가 진행된다면 이 곰팡이로부터 충분한 산업적 이용 가치를 갖는 활성물질을 생산할 수 있을 것으로 생산된다.

## 요약

적색 색소를 생성하는 곰팡이 RF101로부터 여러 용매를 이용하여 추출물을 얻어낸 후 각 추출물의 특성을 조사한 결과 chloroform 용액은 510nm에서 흡수 peak를 나타냈으며, pH 5-9영역에서 안정함을 보였고, 암상태의 저온과 실온에서 5일이 경과한 후 90%이상 이 구조적으로 안정함을 보였다. 금속이온들 중 NaCl을 제외하고 KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub> 용액에서 5일이 경과한 후에도 60%이상의 안정함을 나타내었고, 균사체 powder가 0.5% 첨가된 배지에서는 모든 균주의 생장이 억제되었으며 70% methanol 추출물, 70℃ D.W 추출물에서도 생장 억제 효과가 크게 나타났다. 이러한 결과로 볼 때, 더 많은 연구가 진행된다면 곰팡이 RF101로부터 산업적 이용 가치가 있는 물질을 생산할 수 있을 것으로 생각되며 그에 대한 연구는 계속 수행 중에 있다.

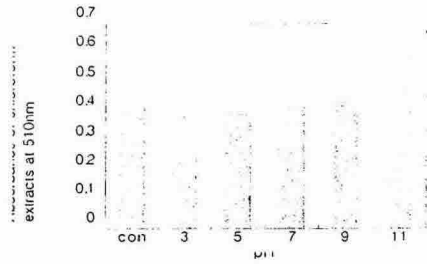


Fig. 1. Effect of pH on the pigment of RF101

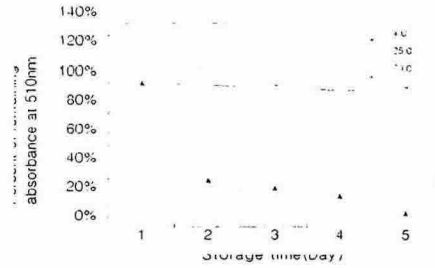


Fig. 2. Effect of temperature on the pigment of RF101

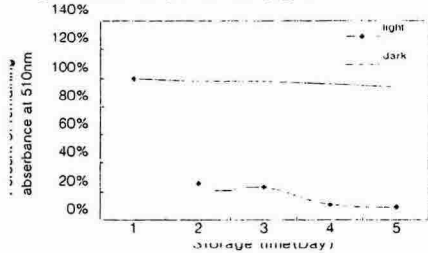


Fig. 3. Effect of light on the pigment of RF101

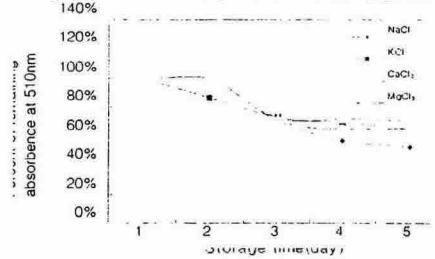


Fig. 4. Effect of metal ion on the pigment of RF101

Table 1. Antibacterial activity of powder and extracts of RF101

Bacteria	Antibacterial activity							
	control	0.25%	0.50%	control	chloroform	70% methanol	25°C D.W	70°C D.W
A. A <sub>1</sub>	*****	+	+	*****	**	**	*****	+
A. wx	*****	+	+	*****	***	***	****	+
A. 8196	*****	***	+	*****	**	**	****	***
A. A <sub>1</sub> T	*****	**	+	*****	***	***	****	**
A. 13257	*****	**	+	*****	**	**	***	+
A. 15834	*****	**	+	*****	***	**	****	+

(\*\*\*\*\* : 100% growth, \*\*\*\* : 70% growth, \*\*\* : 50% growth, \*\* : 30% growth, + : 10% growth)

### 참고문헌

1. Lauro, G.J, A primer on natural colors(1991), *Cereal Foods World*. 36: 945-953
2. Zhong, J.J., T. Seki, S.I. Kinoshita and T. Yoshida, Effects of Surfactants on Cell Growth and Pigment Production in Suspension Cultures of *Perilla frutescens*(1992), *World J. Microbiol. Biotechnol.* 8: 106-109
3. Hanagata, N., A. Ito, Y. Fukuju, and K. Murata. Red Pigment Formation in Cultured Cells of *Carthamus-Tinctorius* L(1992), *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 56: 44-47
4. Lee. H. W, J. H. Sohn, J. W. Choi, B. I. Yeh, W. S. Shin, J. B. Kim and H. W. Kim, Production of Water-Soluble Pigment from Mycelial Culture of *Cordyceps scarabaicola* KEFC-C252 and Its Antimutagenic Effect(2000), *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 28: No.2, 111-116
5. Ju. J. Y., H. W. Nam, J. C. Yoon and C. S. Shin. Extractive fermentation of red pigment using *Mascus sp.* J101(1994), *Kor. J. Appl. Microbiol. biotech.* 22: 85-91