

알로에 베라가 *Aspergillus parasiticus*의 生育 및 aflatoxin 生成에 미치는 影響

김종규 · 이용욱*

계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Effect of *Aloe vera* on the Growth and Aflatoxin Production of *Aspergillus parasiticus*

Jong-Gyu Kim and Yong Wook Lee*

Department of Public Health, College of Natural Sciences, Keimyung University,
School of Public Health Seoul National University

ABSTRACT

This study was performed to investigate the inhibitory effect of *Aloe vera* on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. Spore suspension of *A. parasiticus* ATCC 15517 was inoculated on the yeast-extract sucrose broth containing 0.1%, 0.5%, 1.0% and 10.0% of chloroform extract of *Aloe vera* and then incubated at 30°C for 7 days. Mycelial weight was 160.7 mg/5ml in control group and decreased by the addition of the extract with no significance. The mold caused decrease in pH of the media with and without the extract. pH in the group contained 10.0% of the extract showed significantly higher value of 5.10 than that of 4.90 in control group ($p < 0.05$). Fluorescence spots of four aflatoxins were observed under the 365 nm of UV light after extraction of the media and TLC. In the result of separation and determination by HPLC, the aflatoxins were produced in the order of B₁, G₁, B₂ and G₂ in all groups. Production of aflatoxins B₁, B₂ and G₁ was reduced by the addition of the extract and decreased as amount of the extract increased. The production of aflatoxins B₁ and B₂ significantly reduced when the media contained more than 1.0% of the extract, and G₁ more than 0.5%, respectively ($p < 0.05$). No reduction and no significant difference among groups were observed in case of aflatoxin G₂. With the above result, the extract of *Aloe vera* reduced the production of aflatoxin by *A. parasiticus* though it did not inhibit mycelial growth.

Keywords : *Aloe vera*, *Aspergillus parasiticus*, aflatoxin, TLC, HPLC.

I. 서 론

곰팡이 독소(mycotoxins)는 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로서 사람과 동물에 이상 생리작용과 질병을 유발하는 물질이다. 현재까지 알려진 곰팡이 독소는 100여종 이상이 있으며 사람과 가축에 가장 치명적으로 작용하는 것은 aflatoxins이다. Aflatoxins를 생성하는 주요 균주는 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus*인 것으로 알려져 있다.^{1,7)} 이들 균주의 aflatoxin 생성 조건은 기질의 수분 16% 이상, 온도 25~30°C, 상대습도 80~85% 이상이며,³⁾ 0.80 정도의 비교적 낮은 수분활성도에서 생육이 가능하다는

점이 중시되고 있다.¹⁾ 땅콩 뿐만 아니라 탄수화물이 풍부한 쌀, 보리, 밀 및 옥수수 등의 곡류가 주요한 기질이 되는 것으로 알려져 있고 또한 동일한 균주라 할지라도 환경조건에 따라 aflatoxin 생성능에 차이를 보이는 것으로 되어있다.^{1,8)}

따라서 aflatoxins의 오염 방지는 우선적으로 이들 곰팡이의 오염 예방과 더불어 곰팡이의 생육에 의한 aflatoxins의 생성을 억제하는 환경을 만드는 일이다. 세계적으로 곰팡이의 aflatoxin 생성에 영향을 미치는 요인이나 그 처리 및 제거에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 그 예로서 aflatoxin 생성 저해 및 무독화에 대하여 각종 물리적, 화학적 및 생물학적

방법들이 보고되었다.^{1,9-11)} 이 방법들 중 일부는 실용적 측면에서 활용 가능하나 한편 생태학적 위험 등 또 다른 문제를 야기하기도 한다. 비교적 안전한 방법으로 천연 식물의 특수한 성분을 이용하는 것이 효과적이라는 측면에서 소수의 결과가 보고되었다. 이 보고들에서는 인삼, 한약재, 마늘 및 각종 채소 등이 일부 *Aspergillus*속 곰팡이에 억제적 작용을 하였음을 제시하였다.¹²⁻¹⁹⁾

지구상에는 20만종 이상의 식물이 알려져 있으나 이 중 우리가 지식을 갖고 이용할 수 있는 것은 불과 2,500종 정도이며 실용할 수 있는 것은 150종 미만으로 만약 우리가 미래에 닥치게 될 위기의 시기에 생존해 내기 위해서는 식품과 연료의 고갈, 오염 및 질병과 같은 당면 문제를 해결해줄 수 있는 식물류에 대한 인식, 즉 'proper evaluation'이 필요하다고 하겠다. 특히 분명한 것은 현재 우리가 이용하고 있는 식물의 종자류, 양근류와 구근류 중 일부는 인간에게 효과적이고 오랜 시간을 두고 시험되어져 재인식되어질 가치를 충분히 갖고 있다. 세계보건기구(WHO)에서는 37개종의 식물을 선택하여 인간의 건강에 미치는 영향중 생식력 억제작용에 관한 범세계적인 공동 연구를 수행하였으며 여기서 *Aloe vera*는 어떤 부작용도 없이 생식 조절제로 이용될 수 있는 가능성을 나타내었다. WHO는 이러한 *Aloe vera*의 효력을 인정하여 wonderful healing plant라고 지칭하기에 이르렀다.²⁰⁾ 본 연구는 수종의 약초류 중에서 이와 같이 신비의 식물이라고 불리어지고 있는 Aloe가 유해 미생물에 대한 억제효과를 갖는 지를 관찰하고자 한다.

Aloe는 식물계에서의 위치를 보면 꽃과 식물로서 단자엽 식물로 분류된다. 백합과(Liliaceae)의 알로에속(Aloineae)에 속하며 잎은 일백이 평행하고 꽃잎은 3 또는 2배 수로 되어 있다. 300여종의 Aloe가 있는 것으로 추정되고 있고 대부분은 아프리카가 원산지이나 현재에는 열대, 아열대 또는 온화한 기후에서도 재배되고 있다. 기원전 1552년에 기록된 것으로 추정되는 에베르스 파피루스에 이미 Aloe의 사용이 적혀있으며 그 후 Hippocrates가 Aloe의 성분을 의료용으로 사용한 이래 최근에 이르기까지 각종 약리 작용 및 치료 효과가 실험적으로 밝혀지면서 그 용도가 더욱 증대되고 있다. 그 중에서도 주목할만한 몇 가지 종들은 아프리카 남부 케이프가 원산지인 Cape Aloe(*Aloe ferox* Miller 및 *Aloe aborescence*), 아프리카 동북 지역과 잔지바르가 원산지일 것으로 추측되는 Sucotrine Aloe(*Aloe pernyi* Baker), 지중해 연안의 아프리카 북부의 Curasao

Aloe(*Aloe barbadensis* Miller 또는 *Aloe vera* Linne, *Aloe vulgaris* Lamark)등이다. 특히 *Aloe vera*는 내복용으로, 외과적으로 그리고 화장품용 등으로 그 작용이 매우 광범위한 것으로 알려져 있다. Aloe에 관한 일부 서적에서는 진균성 질환에 대한 치료 효과가 언급되었으나 곰팡이 균주에 대한 구체적인 실험 결과는 제시된 바가 거의 없다.

따라서 본 연구는 *Aloe vera*에 의한 aflatoxin 오염 예방 및 해독 가능성을 탐구하기 위하여 *Aloe vera* 추출물을 일정 농도별로 첨가한 배지에서 *A. parasiticus*의 생육과 aflatoxin 생성에 미치는 영향 및 효과적인 농도를 실험 연구하였다.

II. 재료 및 방법

1. 균주 활성화 및 포자현탁액의 조제

본 실험에서 사용한 균주는 *Aspergillus parasiticus* ATCC 15517로서 한국중균협회에서 분양 받아서 사용하였다. *A. parasiticus*를 potato-dextrose agar (PDA) (Difco laboratories, Detroit, MI)의 사면배지에서 30°C로 10일 동안 3회 연속 계대배양시켜 충분히 활성화시켰다. 활성화된 균주를 PDA 평판배지에 접종하여 30°C로 7일 동안 배양한 후, 형성된 포자에 멸균된 0.1% tween 80 용액 1 ml와 멸균수 5 ml를 가하고 흔들어서 포자를 씻어내는 조작을 3회 반복하였다. 멸균수를 더 가하여 현미경으로 검정하면서 포자수를 $10^6 \sim 10^7$ /ml로 조절하여 배양에 사용하였다.

2. 시약 및 기구

실험에 사용된 aflatoxin 표준품은 Supelo Inc. (Bellefonte, PA) 제품이었으며, high performance liquid chromatography(HPLC) 분석을 위하여 HPLC용 methanol과 acetonitrile(Merck. Co)을 사용하였고, 기타 분석에 사용한 시약은 특급 이상이였다. Thin layer chromatography(TLC) plate는 silica gel 60으로 코팅된 aluminium sheet(Merck Co. No. 5553, Germany)를 사용하였다. 시료 추출물의 감압 농축을 위하여 rotary evaporator(Büchi, Rotavapor, RE120, Switzerland)를 사용하였으며 포자수의 조절을 위하여 hematometer와 현미경(Nikon, HFX-II, Japan)을 사용하였다. Aflatoxin의 최종 분석을 위하여 HPLC(Waters, Milford, MA)를 사용하였다. *Aloe vera* 시료중의 일반 성분 분석을 위해서 킬달 장치 및 속실렛 장치를 사용하였다.

3. 배양방법

배양을 위해서 Krivobok 등²¹⁾의 방법에 따라 yeast-extract sucrose(YES) 배지를 사용하였다. 시험관(15×100 mm)에 YES배지를 5 ml씩 가하여 121°C, 15 lb하에서 15분동안 고압증기 멸균하고 알로에 추출물을 농도별로 (0.1, 0.5, 1.0 및 10%) 무균적으로 가하였다. 각 시험관에 *A. parasiticus* 포자현탁액을 접종하여 30°C에서 7일간 배양하였다.

4. Aloe 시료의 추출물 조제 및 일반성분 분석

실험에 사용한 Aloe 시료는 *Aloe vera* Linne로서 국내산이며 분말상의 시료를 생산자로부터 직접 구입하였다. 시료 분말을 더욱 분쇄한 후 120 mesh로 통과시켜 추출물을 조제하였다. 즉 Aloe분말에 chloroform을 가하여 12,000 rpm에서 30분 동안 원심 분리하였다. 이 조작을 2회 반복하여 추출액을 모두 모아서 여과하고 감압농축하여 고형분으로 조제한 후 80°C에서 살균하여 알로에 추출물 시료로 하였다. 한편 알로에 시료의 일반성분으로서 수분, 회분, 조단백, 조지방 및 탄수화물 함량을 분석하였다. 수분은 상압가열건조법, 회분은 회화법, 단백질은 마이크로킬달법, 조지방은 Soxhlet 추출법²²⁾에 의하였다.

5. 균의 생육도 측정

균의 생육도는 건조 균체 측정방법에 의해 실시하였다. 즉 배양물을 고압증기 멸균한 후 여과지(Toyo No. 2)로 여과한 다음 균체를 회수하여 증류수로 반복 세척하였다. 이를 50°C에서 24시간 동안 건조시키고 항량이 된 수기에서 방냉한 후 중량을 측정하였다.

6. 배양액의 pH측정

배양에 따른 pH 변화를 관찰하고자 pH meter (Orion model EA920, U.S.A.)로써 균체 하층의 배양액의 pH를 측정하였다.

7. Aflatoxin 분석

Aflatoxin의 추출 시료 중의 aflatoxin 추출은 AOAC(Association of Official Analytical Chemists) 법²³⁾을 변형하여 수행하였다. 배양이 끝난 배양물을 시험관에 일정량 취하였다. 여기에 NaCl을 가하고 동량의 methanol과 chloroform을 가한 후 시험관 교반기로 충분히 교반하여 aflatoxin을 추출하였다. Chloroform 층을 분취한 후 다시 chloroform을 가하여 앞의 조작을 반복하고 24시간 동안 정치시켰다. Chloroform 층을 합하여 질소 gas하에서 증발시키고 그 잔류물을 aflatoxin 정성 및 정량을 위한 시료로

하였다.

Aflatoxin의 정성-상기의 잔류물에 대하여 aflatoxin 함유 여부를 확인하고자 AOAC법에 따라서 TLC를 행하였다. 시료 추출잔류물의 시험용액과 aflatoxin 표준용액을 각각 일정량씩 취하여 박층판(silica gel plate, Merck, 6.8×5 cm)의 하단에 spotting하고 chloroform : acetone(9 : 1)혼합액으로 미리 포화시킨 TLC용 전개조에서 전개하였다. 전개된 박층판의 용매를 휘산시킨 후 장파장(365 nm)의 자외선을 조사하여 박층판상의 aflatoxin 표준용액과 시료 추출물 용액의 형광성 및 Rf치를 비교 관찰하였다.

Aflatoxin의 정량-Aflatoxin의 정량 분석은 HPLC를 이용하여 수행하였다. 상기와 같이 조제된 chloroform 추출 잔류물에 trifluoroacetic acid를 가하여 유도체화시킨 후 여기에 주입 용매를 가하여 HPLC 분석을 위한 시료로 하였다. HPLC system (Waters, U.S.A)의 구성은 M510 pump, Rheodyne injector, M746 integrator 및 M474 fluorescence detector를 사용하였다. 측정 조건으로는 역상의 C₁₈ column(30 cm×3.9 mm I.D.)을 실온에서 사용하였으며, 형광검출기의 여기 파장 365 nm, 방출파장 425 nm에서 25% acetonitrile의 이동상을 1.0 ml/min의 유속으로 흘려 aflatoxins의 분리를 시도하고 정량하였다.

8. 자료의 처리 및 분석

각 실험군별 평균치와 표준편차를 계산하고 각 군의 평균치들간의 유의성 검정을 위하여 $\alpha=0.05$ 에서 분산분석을 실시하였다. 유의성이 나타난 경우에 대하여는 중비교검정법(multiple comparison test)으로서 Duncan's multiple range test를 실시한 내용을 가지고 각 군별 평균치의 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

*A. parasiticus*를 PDA 배지에 계대 배양하여 충분히 활성화시킨 후 포자현탁액을 조제하고 이를 *Aleo vera* 추출물이 첨가된 YES 배지에 접종하여 배양한 후 균의 생육도, pH 및 aflatoxin 생성량을 측정한 결과는 다음과 같다.

1. *Aloe vera*의 일반성분 분석 결과

본 실험에서 사용한 *Aloe vera* 분말의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. Aloe의 구성 요소에 대하여 이제까지 알려진 바로는 신선한

Table 1. Composition of powder of *Aloe vera*

Nutrient	Content(%)
Moisture	7.5 ± 0.1
Ash	15.5 ± 0.1
Crude protein	7.2 ± 0.1
Crude fat	4.0 ± 0.1
Carbohydrates	65.8 ± 0.2

Each value represents Mean ± S.D.

*Aloe vera*의 젤에는 lignin, saponin, 수종의 다양한 anthraquinones, 무기성분 및 미네랄, 비타민, 당당류 및 다당류, 각종 효소 및 아미노산 등 다양한 성분들이 있다.²⁰⁾ 이와 같이 다양한 성분들을 함유하고 있는 것으로 볼 때 *Aloe vera*라는 식물과 그 식물의 만병 통치적인 (cure-all) 명성에 흥미를 갖지 않을 수 없다. 이 모든 성분들은 서로 영양소로 뿐만 아니라 손상이나 질병 등의 다른 인체의 생물학적 요구에 상승적으로 작용하여 놀라운 보완 효과를 제공하는 것으로 추측되고 있다. 그러나 *Aloe vera* 분말에 대하여는 그 성분 분석이 이루어진 바가 별로 없으며 또한 젤 상태에서 분말상으로 되었을 때 구성요소의 변화 등에 대한 바는 보고가 없다. 본 연구에서는 다만 이와 같은 조성을 갖는 분말 상의 시료가 aflatoxins를 생성하는 곰팡이 균주에 저항 작용을 할 수 있는지를 확인하고자 하며 젤 상의 시료에 대하여는 앞으로의 연구에 기대하기로 한다.

2. 균의 생육도

*Aleo vera*의 chloroform 추출물이 농도별로 첨가된 배지에 *A. parasiticus*의 포자를 접종하고 30°C에서 7일간 배양하여 성장한 균체량은 Table 2에서 보는 바와 같다. 대조군의 경우 160.7 mg이었으며 *Aleo vera* 첨가군의 경우 0.1% 첨가군에서 159.5 mg, 0.5% 첨가군에서 168.2 mg, 1.0% 첨가군에서 157.3 mg 및 10.0% 첨가군에서 152.4 mg으로 나타나 배지중 *Aloe vera* 추출물의 농도가 증가할수록 균의 생육이 낮아지는 경향이었으나 유의한 감소를 나타내지는 않았다. Aflatoxin 생성 균주에 대하여 식물체 추출물의 효과를 연구한 보고로 Bahk 등¹⁸⁾은 홍삼 사포닌이 0.36% 첨가된 배지에서 *A. parasiticus*를 배양하였을 때 균체 성장을 억제하였다고 보고하였다. 구 등¹⁹⁾은 한약재 중 목단의 추출물이 약 0.2% (0.05 ml/30 ml) 첨가된 배지에서 *A. parasiticus*를 배양하였을 때 대조군에 비하여 균체량이 감소되었고 0.1 ml/30 ml 이상 첨가군에서는 균의 생육이 완전히 억제되었다고 보고하였다. 우 등¹⁶⁾은 마늘의

Table 2. Effect of chloroform extract of *Aloe vera* on the growth of *A. parasiticus*¹⁾

Concentration of extract(%)	Final pH ²⁾	Mycelial weight (mg/5 ml)
Control	4.90 ± 0.07 ^{NS}	160.7 ± 26.9 ^{NS}
0.1	4.85 ± 0.03	159.5 ± 5.0
0.5	4.85 ± 0.07	168.2 ± 12.0
1.0	4.90 ± 0.12	157.3 ± 19.7
10.0	5.10 ± 0.01	152.4 ± 19.5

¹⁾ *A. parasiticus* was incubated in yeast-extract sucrose broth containing chloroform extract at 30°C for 7 days.

²⁾ Initial pH of the medium was 5.5.

Each value represents Mean ± S.D.

^{NS} No significant difference was found among groups.

추출물이 첨가된 배지에서 *A. parasiticus*를 배양하였을 때 마늘 추출물의 농도가 증가할수록 균체 생육도가 감소되었으며 6.0%(1.5 g/25 ml) 첨가군의 경우 균의 생육이 완전히 억제되었다고 보고하였다. Bullerman¹⁷⁾은 계피의 추출물이 0.2% 이상 첨가된 배지에서 *A. parasiticus*를 배양하였을 때 균체량이 감소되었다고 보고하였다. 정 등¹⁹⁾은 무우 등의 채소 추출물이 첨가된 배지에서 *A. parasiticus*의 생육이 일부 억제되었음을 보고하였다. 이 등¹²⁾은 백삼 추출물이 1.0% 첨가된 배지에서 *A. flavus*를 배양하였을 때 균체량이 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다고 보고하였다.

이상의 연구들에서 보는 바와 같이 다양한 식물의 추출물이 *A. parasiticus* 또는 *A. flavus*의 생육에 억제 효과를 가짐을 알 수 있다. 그러나 본 실험의 결과에서는 YES 배지에 *Aloe vera*의 추출물을 첨가함으로써 *A. parasiticus*의 성장을 유의하게 억제시키지는 못하는 것으로 나타나고 있다. 한편 서¹⁴⁾의 보고에서는 인삼 추출물을 배지에 첨가시에 *A. flavus*의 균체량이 대조군에 비하여 오히려 증가된 것으로 나타났다. 본 연구와 타 연구자들의 실험은 배지 및 균주 등의 차이가 있으며 또한 성장 억제 효과를 기대하였던 식물체가 달랐으므로 이와 같은 결과들을 나타내었다고 생각되며 따라서 균체의 생육 정도만으로 *Aloe vera*의 효과 전체를 평가하기에는 무리가 있다고 본다.

3. 배양액의 pH 변화

*Aloe vera*의 chloroform 추출물이 농도별로 첨가된 배지에 *A. parasiticus*의 포자를 접종하고 30°C에서 7일간 배양한 후 배양물의 pH를 측정할 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 모든 군에서 초기의 pH

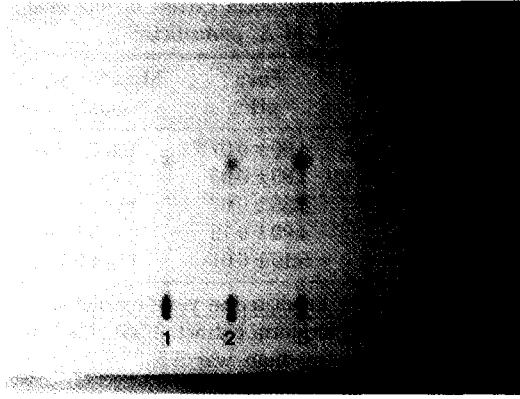


Fig. 1. TLC chromatogram of standard aflatoxins and extracted media. Standards(1), control(2), and groups contained 0.1%(3), 0.5%(4), and 1.0% (5) of extract of *Aloe vera*, respectively.

5.5보다 낮아진 결과를 나타내었다. 대조군의 경우 4.90이었으며, *Aloe vera* 첨가군에서는 10% 첨가군이 5.10으로 대조군에 비하여 유의한 차이를 보였고($p < 0.05$) 다른 군에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다. 배양후 배지의 pH가 초기 pH 5.5보다 낮아진 것은 탄수화물 대사 결과로 보이며 Bahk 등¹³⁾과 이 등¹²⁾은 곰팡이의 성장이 급격히 성장되는 시기에 pH가 최저에 이르다가 다시 증가하는 것으로 설명하고 있다. 이 등¹²⁾의 보고에서도 백삼 추출물이 0.1%, 0.5% 및 1.0% 첨가된 YES 배지에서 *A. flavus*를 배양하였을 때 배양 후의 pH가 초기 pH보다 낮았으며 대조군에 비하여 유의한 차이를 나타내지 않아 본 연구의 결과와 일치하는 경향이였다.

4. Aflatoxin 생성의 확인

상기와 같이 배양한 배양물에서 aflatoxin의 생성을 확인하기 위하여 배양액을 추출하여 감압 농축하고 TLC를 행하였다. 그 결과 Fig. 1과 같은 TLC chromatogram을 얻었다. 각 군에서 나타난 spot는 aflatoxins 표준물질과 비교하여 볼 때 4종이 분리되었음을 알 수 있으며, 이들의 색깔과 Rf값이 동일하게 나타나서 aflatoxins가 생성되었음을 확인할 수 있었다. TLC는 aflatoxin 생성 여부를 확인할 수 있는 비교적 간단한 방법으로 오래 전부터 이용되어 왔다. 이 등¹²⁾도 TLC를 이용하여 백삼추출물이 첨가된 배지에서 *A. flavus*에 의하여 aflatoxins가 3종 이상 생성되었음을 확인하였다. 또한 aflatoxins 이외의 다른 mycotoxin에 대해서도 TLC를 이용한 기법이 행하여져 신 등²⁴⁾은 *Penicillium citrinum*에

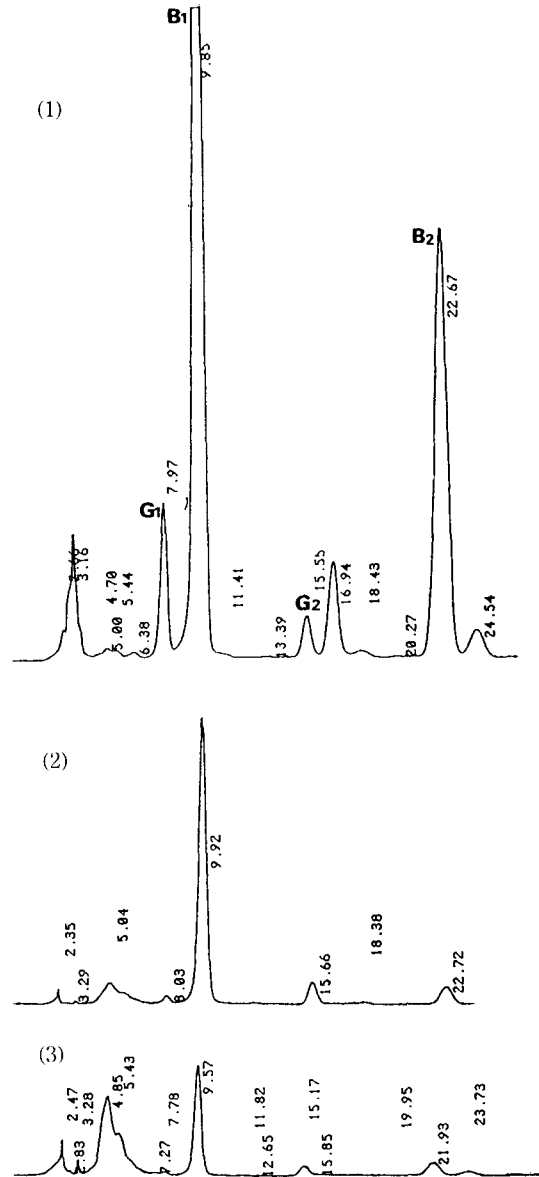


Fig. 2. HPLC chromatogram of aflatoxins. Condition: Reversed phase C_{18} column(30 cm×3.9 mm) at room temperature, Mobile phase; water: acetonitrile, 3 : 1(v/v), Flow rate 1.0 ml/min, Detection; fluorescence at 365 nm excitation and 425 nm emission. Standards(1), control(2) and group contained 1.0%(3) of extract of *Aloe vera*, respectively.

의한 citrinin 생성을 TLC에 의하여 확인하여 보고하였다.

Table 3. Effect of chloroform extract of *Aloe vera* on the aflatoxin production of *A. parasiticus*¹⁾

Concentration of extract(%)	Aflatoxin production($\mu\text{g/ml}$)			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
Control	43.11 \pm 6.84 ^a	3.57 \pm 1.22 ^a	10.25 \pm 1.37 ^a	0.69 \pm 0.26 ^{NS}
0.1	19.27 \pm 2.45 ^b	1.12 \pm 0.16 ^b	6.38 \pm 1.60 ^{ab}	0.53 \pm 0.44
0.5	23.10 \pm 5.55 ^{ab}	2.11 \pm 0.25 ^c	6.92 \pm 0.53 ^b	0.26 \pm 0.01
1.0	15.98 \pm 5.47 ^{bc}	1.24 \pm 0.27 ^b	4.94 \pm 1.18 ^b	0.51 \pm 0.20
10.0	6.50 \pm 1.99 ^c	0.67 \pm 0.18 ^b	1.72 \pm 0.28 ^c	0.31 \pm 0.23

¹⁾ *A. parasiticus* was incubated in yeast-extract sucrose broth containing chloroform extract at 30°C for 7 days. Each value represents Mean \pm S.D.

Values with different superscript letters in a column are significantly different(p<0.05).

^{NS} No significant difference was found among groups.

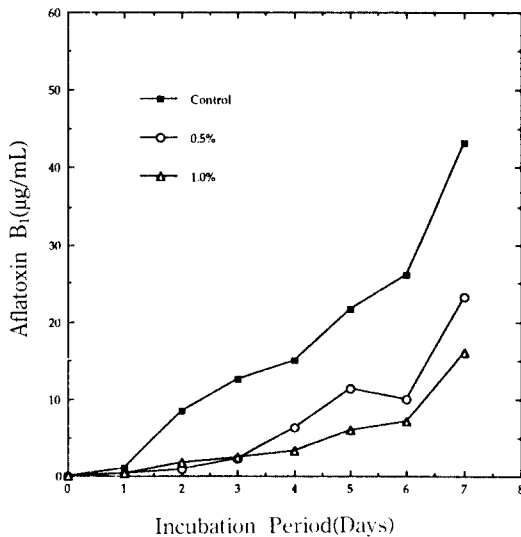


Fig. 3. Aflatoxin B₁ accumulation by *A. parasiticus* at 30°C when media contained extract of *Aloe vera*. Each point represents mean of 5 replicates.

5. Aflatoxin 생성량

상기의 배양물에서 생성이 확인된 aflatoxins를 정량하기 위하여 HPLC를 행한 결과, Fig. 2와 같이 양호하게 분리된 chromatogram을 얻었으며 이로부터 각 aflatoxins를 정량한 결과는 Table 3, Fig. 3 및 4에서 보는 바와 같다.

Aflatoxin B₁의 경우 대조군에서 43.11 ppm, *Aloe vera* 추출물 0.1% 첨가군에서 19.27 ppm, 0.5% 첨가군에서 23.10 ppm, 1.0% 첨가군에서 15.98 ppm, 10.0% 첨가군에서 6.50 ppm으로 대조군에 비하여 *Aloe vera* 추출물의 첨가량이 증가할수록 aflatoxin B₁의 생성량이 감소되는 경향을 보였다. *Aloe vera*

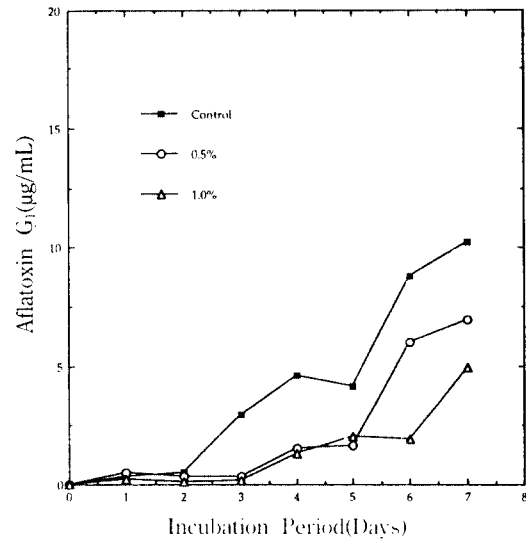


Fig. 4. Aflatoxin G₁ accumulation by *A. parasiticus* at 30°C when media contained extract of *Aloe vera*. Each point represents mean of 5 replicates.

추출물 0.1%, 1.0% 및 10.0% 첨가군은 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였으며, 첨가군 사이에도 농도별로 유의한 차이를 나타내었다. 다만 0.5% 첨가군에서는 0.1% 첨가군에서 보다 생성량이 많았으며 대조군에 비하여 유의한 감소를 보이지 않았는데 이는 실험상의 오차로 생각된다.

Aflatoxin G₁의 경우 대조군 10.25 ppm, *Aloe vera* 추출물 0.1% 첨가군 6.38 ppm, 0.5% 첨가군 6.92 ppm, 1.0% 첨가군 4.94 ppm 및 10.0% 첨가군 1.72 ppm으로 역시 *Aloe vera* 추출물의 첨가량이 증가할수록 생성량이 감소되는 경향을 보였다. *Aloe vera* 추출물 0.5%, 1.0% 및 10.0% 첨가군은 대조군에

비하여 유의한 감소를 보였으며 첨가균 사이에도 농도별로 유의한 차이를 나타내었다.

Aflatoxin B₂의 경우는 대조군에서 3.57 ppm이었으며 *Aloe vera* 추출물 첨가군에서는 대조군에 비하여 생성량이 감소되었다. *Aloe vera* 추출물 0.1%, 1.0% 및 10.0% 첨가군은 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다. *Aloe vera* 추출물 첨가군 사이에도 유의한 차이를 나타내었다.

Aflatoxin G₂의 경우 대조군에서 0.69 ppm으로 네가지 aflatoxins 중에서 가장 적은 양이 생성되었으며 *Aloe vera* 추출물 첨가군에서는 변이가 큰 수치로 측정되어 대조군에 비하여 별다른 차이를 나타내지 않았다.

식품과 사료 및 자연계에 aflatoxins가 존재하는 경우, aflatoxin B₁이 90% 이상을 차지하는 것으로 알려져 있는 바, 본 실험에서 나타난 결과를 보면 aflatoxin B₁ 생성량은 대조군에 비하여 0.1% 첨가군에서 55.3%, 0.5% 첨가군에서 46.4%, 1.0% 첨가군에서 62.9% 그리고 10.0% 첨가군에서 84.9%가 감소된 것으로 나타나고 있다. Aflatoxin G₁의 경우 각 첨가군에서 대조군에 비하여 각각 37.4%, 32.5%, 51.8% 및 83.2%씩 감소하였다. Aflatoxin B₂ 및 G₂의 경우는 각 첨가군에서 모두 B₁ 및 G₁ 보다 대조군에 대한 감소 정도가 높은 것으로 나타났다. 따라서 이제까지 알려진 바와 같이 aflatoxin B₁이 가장 강력한 독소임을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과를 종합적으로 평가하면 *Aloe vera* 추출물을 0.5% 이상 첨가시에 aflatoxin G₁을, 그리고 1.0% 이상 첨가시에는 aflatoxins B₁과 B₂를 유의하게 감소시켰으며(p<0.05) 따라서 본 연구에서는 aflatoxins 생성을 억제할 수 있는 *Aloe vera* 추출물의 유효 농도를 1.0%로 제시할 수 있다.

식물체의 추출물이 *A. parasiticus*의 aflatoxin 생성에 미치는 영향을 연구한 보고로 Bahk 등¹⁵⁾은 인삼추출물이 2.0% 첨가된 배지에서 aflatoxin G₁의 생성은 억제되었으나 B₁ 생성은 억제되지 않았다고 보고하였다. 구 등¹⁶⁾은 한약재 중 백출 추출물을 배지에 0.2 ml/30 ml로 첨가시 총 aflatoxin 생성량(aflatoxins B₁, B₂, G₁ 및 G₂)이 대조군에 비하여 약 50% 감소된 것으로 보고하였다. 우 등¹⁶⁾은 마늘 추출물을 배지에 1.5 g/25 ml로 첨가시 aflatoxin 생성이 완전히 억제되었다고 보고하였다. Bullerman¹⁷⁾은 계피 추출물을 배지에 1.0% 첨가시에 4가지 aflatoxins의 생성량을 모두 99% 이상 감소시켰다고 보고하였다. Batt 등¹⁸⁾은 당근 추출물이 aflatoxin 생성 저해에 효과적인 것으로 보고한 바 있다. 정 등¹⁹⁾도 무우 등의 채소 추출물을 첨가한 배지에서

aflatoxin 생성 억제 효과를 보고하였다. 한편 이 등¹²⁾은 백삼추출물을 첨가한 배지에서 *A. flavus*를 배양하였을 때 백삼 추출물 첨가량에 따라서는 aflatoxin 생성량에 유의한 차이를 보이지는 않았으나 대조군에 비하여 모두 감소된 결과를 나타냈으며 또한 1.0% 첨가군에서는 aflatoxin 생성량이 54% 감소된 것으로 나타났다고 보고하여 본 연구의 결과와 유사한 경향이였다.

이상의 결과로부터 인삼, 마늘, 일부 한약재 및 일부 채소 등과 더불어 *Aloe vera*도 aflatoxin 생성에 대한 억제 효과 인자가 있음을 추측할 수 있으며 앞으로 그 주요 성분의 억제 효과 및 기전을 밝힐 수 있는 연구가 필요하다고 본다.

IV. 결 론

본 연구는 *Aloe vera*가 *A. parasiticus*의 생육과 aflatoxin 생성에 미치는 억제 효과를 관찰하기 위하여 수행되었다. *Aloe vera*의 chloroform 추출물을 0.1%, 0.5%, 1.0% 및 10.0%로 yeast-extract sucrose 배지에 첨가하고 *A. parasiticus* ATCC 15517의 포자현탁액을 접종하여 30°C에서 7일 동안 배양하였다. 건조 균체량은 대조군에서 160.7 mg/5 ml이었으며 *Aloe vera* 추출물 첨가군에서는 이보다 낮게 나타났으나 유의한 감소를 나타내지는 않았다. 배양액의 pH는 모든 군에서 초기보다 낮아졌으며 *Aloe vera* 추출물 첨가군에서는 대조군보다 높은 경향을 보였다. 10.0% 첨가군에서는 pH 5.10으로 대조군의 pH 4.90에 비하여 유의하게 높은 값을 나타내었다(p<0.05). 배양액을 추출하여 TLC를 수행한 후 장파장의 자외선(365 nm)하에서 검색한 결과 4종의 aflatoxins가 생성되었음을 확인할 수 있었다. Aflatoxins의 생성량을 정량하기 위하여 HPLC를 수행한 결과 모든 군에서 aflatoxin B₁, G₁, B₂ 및 G₂의 순으로 생성량이 나타났으며, *Aloe vera* 추출물의 첨가량이 증가할수록 aflatoxins B₁, B₂ 및 G₁의 생성량이 감소하는 경향을 나타내었다. Aflatoxin B₁ 및 B₂의 생성량은 *Aloe vera* 추출물 1.0% 이상의 첨가로써, G₁의 생성량은 0.5% 이상의 첨가로써 대조군에 비하여 유의하게 감소되었다(p<0.05). Aflatoxin G₂의 생성량은 대조군에 비하여 유의한 감소를 보이지 않았으며 *Aloe vera* 추출물 첨가군 사이에서도 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과로부터 *Aloe vera* 추출물은 *A. parasiticus*의 균체 성장을 저해하지는 않으나 aflatoxin의 생성을 감소시킬 수 있는 것으로 평가되었다.

감사의 말씀

본 연구는 1994년도 계명대학교 비자연구기금으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다

참고문헌

- 1) Smith, J. E. and Moss, M. O. : Mycotoxins, formation, analysis and significance. John Wiley & Sons, Chichester, 1985, pp. 3-103.
- 2) WHO : Environmental health criteria 11, Mycotoxin. 1979.
- 3) 이용욱, 정영채, 신광순, 신효진 : 최신 식품위생학, 개정증보, 신광출판사, 서울, 1989, pp. 171-188.
- 4) Patterson, D. S. P. and Jones, B. D. : Aflatoxin and related compound. In: Wyllie T. D. and Morehouse, L. G.(eds), Mycotoxigenic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses: an encyclopedic handbook. Marcel Dekker, New York, 1977, pp. 131-238.
- 5) Cocon J. M. : Food toxicology. Part B. Marcel Dekker, New York, 1988, pp. 677-770.
- 6) Wilson, B. J. : Hazards of mycotoxins to public health. *J. Food Prot.*, **41**(5), 375-384, 1978.
- 7) Hsieh, D. P. : Toxic fungal poliketides in the food chain, *Proc. Fourth Int. Congress Food Sci. and Technol. Vol III*. Washington, D. C., 1974, pp. 228-237.
- 8) Bennett, J. W. and Lee, L. S. : Mycotoxins-their biosynthesis in fungi: aflatoxins and other bisfuranoids. *J. Food Prot.* **42**(10), 850-809, 1979.
- 9) Yang C. Y. : Comparative studies on the detoxification of aflatoxins by sodium hypochlorite and commercial bleaches. *Appl. Microbiol.*, **24**, 885-890, 1972.
- 10) Mann, G. E., Codifer, L. P., Jr. and Dollear, F. G. : Effect of heat on aflatoxin in oilseed meals. *J. Agr. Food Chem.* **15**, 106-109, 1967.
- 11) 김종규 : 실험실 배수 중 aflatoxin 감소를 위한 화학적 처리에 관한 연구. 한국환경위생학회지, **18**(2), 52-56, 1992.
- 12) 이창숙, 김종규 : 인삼이 *Aspergillus flavus*의 생육 및 aflatoxin 생성에 미치는 영향. 한국환경위생학회지, **20**(4), 90-97, 1994.
- 13) Bahk, J. and E.H. Marth: Growth and synthesis of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the presence of Ginseng products. *J. Food Prot.* **46**(3), 210-215, 1983.
- 14) 서명자 : 한국인삼이 *Aspergillus flavus*에 의한 aflatoxin 생성에 미치는 영향, 자연과학논문집, **31**, 285-294, 1981.
- 15) 구성희, 이용욱, 정덕화, 김종규 : 한약재가 *Aspergillus parasiticus* R-716의 생육과 aflatoxin 생성에 미치는 영향. 한국식품위생학회지, **3**(2), 89-97, 1984.
- 16) 우영숙, 정덕화 : *Aspergillus parasiticus* R-716의 생육, 지질 및 aflatoxin 생산에 미치는 마늘 엑기스의 영향. 한국식품위생학회지, **10**(2), 89-97, 1984.
- 17) Bullerman, L. B. : Inhibition of aflatoxin production by cinnamon. *J. Food Sci.*, **39**, 1163-1165, 1974.
- 18) Batt, C., Solberg, M. and Ceponis, M. : Inhibition of aflatoxin production by carrot extract. *J. Food Sci.*, **45**, 1210-1213, 1980.
- 19) 정덕화, 김종규, 장진규, 최수철 : *Aspergillus parasiticus* R-716의 aflatoxin 생성 저해 물질에 관한 연구-효과적인 채소 추출물 및 그 영향. 한국식품위생학회지, **1**(1), 23-29, 1986.
- 20) Coats, B. C. and Ahola, R. : The silent healer: a modern study of *Aloe vera*. 1984, pp. 3-62.
- 21) Krivobok, S., Seigle-Murand, F., Steiman, R. and Marzin, D. : Screening methods to detect toxicogenic fungi in liquid media. *J. Microbiol. Methods*, **7**, 29-36, 1987.
- 22) 보건사회부 : 식품공전, 1994, pp. 643-663.
- 23) Association of official analytical chemists : Official methods of analysis, 15th ed. 1990, pp. 1185-1205.
- 24) 신동균, 이용욱, 김종규, 정덕화 : *Penicillium citrinum*의 생육과 citrinin 생성에 미치는 젖산균의 영향에 관한 연구. 한국식품위생학회지, **6**(3), 119-126, 1991.