# 한약재가 *Aspergillus parasiticus* R-716의 生育과 aflatoxin 生成에 미치는 影響

具聖會·李容旭*·鄭德和**·金宗圭*

서울保健專門大学 *서울大学校 保健大学院 **慶尙大学校

# The Effects of Oriental Herbs on Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus parasitius* R-176

**Sung-Hoi Koo, Yong-Wook Lee*, Duck-Hwa Chung** and Jong-Gyu Kim***

*Seoul Health Junior College, *School of Public Health, Seoul National University*

***Gyeongsang National University*

**ABSTRACT—The possible effects of some oriental herbs, which have been used to treat cancerlike disease in Korea, on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* R-716 were investigated.**

***Zedoaria rhizoma, Curcuma longa, Cyperus rotundus, Angelica gigas, Paeonia albiflora, Paeonia mountan, Atractylis ovata,* and *Pulsatilla koreana* were extracted with chloroform.**

**Among them the extract of *Paeonia mountan* was remarkably effective on the growth inhibition, and *Curcuma longa, Zedoaria rhizoma, Cyperus rotundus, Paeonia albiflora, Atractylis ovata* also inhibited the growth.**

**The extract of *Atractylis ovata* and *Curcuma longa,* also inhibited the aflatoxin production but the others showed no effect at all or sometimes stimulated effect. With the addition of 0.2m*l* extract of *Atractylis ovata* in 30m*l* SLS medium, the growth was delayed for about 2 days, and after 9 days, mycelium weight was 0.953g, and total aflatoxin was reduced 50%(792$\mu$g) of that produced in the control(1547$\mu$g). Aflatoxin per mycelium weight was decreased 32%(992$\mu$g) of that produced in the control(1467$\mu$g), but NADPH oxidase was higher as compared to the control. The extract of *Atractylis ovata* appeared to have a inhibitory effect on the growth and the aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* R-716.**

**Keywords□*Aspergillus parasiticus* R-716, growth and aflatoxin production, *Atractylis ovata***

食品과 飼料에서의 aflatoxin 生成은 물리적, 화학적, 생물학적 要因에 의하여 影響을 받으며, 그 중 물리·화학적 인자의 변화에 따라 aflatoxin을 生成할 수 있는 유전적 특성을 갖춘 미생물의 경우 aflatoxin 生成에 결정적인 影響을 받을 수 있다.

이러한 aflatoxin의 自然界에의 오염방지는 우선 aflatoxin 生成 곰팡이를 제거하는 일이며 이것은 環境의 조절과 화학적 抗곰팡이 藥品의 사용, 그리고 자연적 저항인자의 이용에 의해 가능하며, 그 중 前者에 의한 aflatoxin 生成억제에 관한 硏究는 많이 되어 왔으나[1,2] 이로 인해 발생되는 生態學的 문제제기의 가능성 때문에 재고되어야 할 것이다. 따라서 藥草類를 비롯한 특수식물이 함유하고 있는 자연적 저항인자를 이용하여 유해 미생물의 成長과 이들에 의한 mycotoxin 生成을 방지함은 물론 食品의 저장성을 향상시키는 것은 매우 안전하고 효과적인 일이라고 생각된다. 이와 같은 目的으로 藥草類를 비롯한 천연물이 유해 미생물의 生育에 미치는 影響에 대한 硏究가 시작되었으며 일찌기 Chamberland[3]가 cinnamon oil이 *Bacillus anthracis* 生育에 강력한 저해작용이 있음을 보고한 이래 여러 양념류 및 향신료의 특수성분들이 *Aspergillus*를 비롯한 有害 미생물

Received for publication 10 June, 1988
Reprint requests; Dr. Yong-Woo Lee at the above address

의 生育 및 mycotoxin 生成에 미치는 影響에 대해 硏究가 활발히 진행되고 있다[4-14].

한편 國內에서의 硏究를 보면 Crane 등[15]이 韓國人의 암발생율에 대한 임상실험에서 간장과 된장에 aflatoxin 存在 가능성을 시사한 이래, 有害곰팡이의 분리를 비롯한 aflatoxin에 대한 조사가 활발해졌고 대두 발효 식품[16,17], 變質米와 저장곡류[18] 및 기타 식품[19,20]에서 *Aspergillus flavus*를 포함한 mycotoxin 生成 곰팡이를 분리 동정하고 aflatoxin을 검출한 바 있다. 최근 정등은 각종 試料로부터 aflatoxin 生成能이 강한 菌을 분리하고[21] temperature cycling을 시키면서 공시균의 aflatoxin 生成條件을 검토하였고[22] 무우를 비롯한 15種의 채소에 대해 chloroform으로 추출물을 조제하여 공시균의 aflatoxin 生成 저해에 관한 논문을 발표하였으며[23] 그 외 박[24], 서 등[25]의 人蔘에 관한 보고가 있으나 아직도 藥草類가 함유하는 자연적 저항인자가 mycotoxin 오염방지와 관련된 報文은 미흡한 실정이다.

따라서 本 硏究者들은 한의원에서 오래 前부터 위, 간염 증상의 처방에 사용되어온 몇 종의 한약재를 구입하여 이들을 유기용매로 추출한 다음, 이들 추출물이 공시균(*Aspergillus parasiticus* R-716)의 生育과 aflatoxin 生成에 미치는 影響을 조사하여 몇가지 結果를 얻었기에 보고하고자 한다.

## 材料 및 方法

**공시균주 및 배지**—공시균주는 韓國產 變質米로부터 분리 동정하여 보과중인 *Aspergillus parasiticus* R-716을 사용하였으며 기본 배지는 Matles 등[26]의 sucrose low salt(SLS) 배지를 참고한 것으로 그 組成은 Table 1과 같다.

**材料 및 추출물의 조제**—실험에 사용된 材料는 시중 한약방에서 구입한 봉출(*Zedoaria rhizoma*), 강황(*Curcuma longa*), 향부자(*Cyperus rotundus*), 당귀(*Angelica gigas*), 백작약(*Paeonia albiflora*), 목단(*Paeonia mountan*), 백출(*Atractylis ovata*) 및 백두옹(*Pulsatilla koreana*) 등이다. 이들의 추출물 조제는 Hitokoto 등[10]의 方法에 의하였다. 즉 각각의 材料 20g에 chloroform 100 m*l*를 첨가하여 충분히 마쇄한 후 500 m*l* 삼각플라스크에 옮기고, 다시 100 m*l* choroform으로 완전히 씻어 넣은 후 밀전하여 왕복진탕기로 5시간 동안 진탕·추출하였다. 液을 여과한 다음 분액여두에서 chloroform 層만을 모아 감압농축하여 5℃ 이하의 暗所에 보관하면서 필요에 따라 95% ethanol에 녹여 aflatoxin 生成 저해실험의 試料로 사용하였다.

**Table 1. Composition of SLS medium**

| | |
|---|---|
| Sucrose | 85 g |
| L-asparagin | 10 g |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 2 g |
| $KH_2PO_4$ | 2 g |
| $MgSO_46H_2O$ | 1 g |
| $CaCl_22H_2O$ | 75 mg |
| $ZnSO_4$ | 10 mg |
| $Na_2B_4O_7$ | 2 mg |
| $FeSO_46H_2O$ | 2 mg |
| $MnCl_24H_2O$ | 5 mg |
| Ammonium molybdate | 2 mg |
| Distilled water | 1 *l* |

*Initial pH of the medium was 4.5.

**포자 현탁액**—공시균을 사면배지에서 28℃로 8일 동안 연속 계대배양시켜 충분히 活性化시킨 후 0.1% tween 80 1 m*l*와 멸균수 5 m*l*를 가하고 흔들어서 포자를 씻어내는 조작을 3회 반복하여 포자를 수집하였다. 다시 적당량의 멸균수를 가하여 현미경으로 포자數를 $10^6$~$10^7$개/m*l*로 조절하여 배양에 사용하였다.

**배양방법**—평판 배양은 기본 배지를 살균한 후 한약재 추출물을 濃度別(0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 m*l*/30 m*l*)로 첨가하여 평판한 다음 無菌的으로 단일 colony를 접종하여 28℃에서 15일간 배양하였고, 액체 배양은 기본 배지 30 m*l*를 300 m*l* 삼각플라스크에 넣고 살균한 다음 한약재 추출물을 濃度別(0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 m*l*/30 m*l*)로 첨가하여 포자현탁액 0.5 m*l*를 無菌的으로 접종하여 28℃에서 9~12일간 배양하였다.

**菌의 生育度**—菌의 生育度는 평판 배양의 경우 배양 15일 후 colony의 크기와 포자 착생 여부를 조사하였고, 액체 배양시는 건조 균체량으로 비교하

였다. 즉 배양액을 여과지(Toyo, No. 2)로 여과하여 50℃에서 24시간 건조시키고 방냉한 후 恒量이 된 수기에서 여과지 무게를 除한 것을 건조 균체량으로 하였다. pH는 pH meter로써 측정하였다.

**Aflatoxin의 검색−1)** Aflatoxin의 추출 및 정제 : 試料 중의 aflatoxin 추출은 AOAC法[20]에 준하였다. 즉 액체배지 30 m*l*에 同量의 chloroform을 가하여 2.5시간 진탕시켜 추출하고, 규조토를 균일하게 깐 Büchner funnel로 여과한 후 분액여두로 분획하여 chloroform 層만 분리하고 50 m*l*로 감압농축해서 column chromatography 하였다. Glase filter가 부착된 22×300 mm column에 무수 $Na_2SO_4$ 5g을 가하고 chloroform을 1/2 정도 채웠다. 그 위에 chloroform으로 현탁하여 활성화된 silica gel 10g을 가하여 15분간 방치한 후 15g의 무수 $Na_2SO_4$를 다시 첨가하였다. 이렇게 충진된 column에 chloroform 추출물 50 m*l*를 흡착시킨 후 유속 10~20 m*l*/min이 되게 질소 gas로 조절하여 n-hexane 150 m*l*와 ethyl ether 150 m*l*로 지방과 색소를 제거하였으며, column에 흡착된 aflatoxin을 chloroform : methanol (97 : 3)의 혼합액으로 용출시키고 이 용출액을 감압농축하여 소량의 chloroform으로 vial에 씻어 넣어 진공 건조기에서 상온건조시켰다.

2) Aflatoxin의 정량 : Aflatoxin의 정량은 high performance liquid chromatography를 이용하여[28] Table 2와 같은 條件에서 분석하였다. 標準 aflatoxin의 검량곡선은 Fig. 1과 같고 HPLC chromatogram은 Fig. 2와 같이 나타났다.

**Table 2. Condition of high performance liquid chromatography for the analysis of aflatoxin**

| | |
|---|---|
| Type | WATERS MODEL 244 |
| Detector | UV 365 nm |
| Column | $\mu$ Bondapak $C_{18}$ |
| Flow rate | 1 m*l*/min |
| Solvent | $H_2O$ / MeOH / Acetonitrile = 50/25/10 |
| Chart speed | 0.5 cm/min |
| Sensitivity | 0.01-0.5 Aufs* |

*Absorbance unit full scale

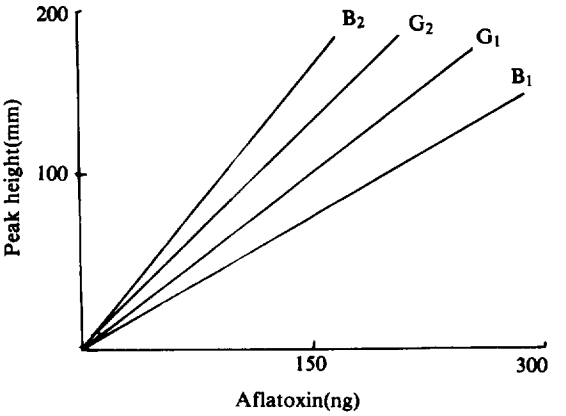


**Fig. 1. Calculating curve for quantitative analysis of aflatoxin.**

**효소 活性의 측정−1)** 조효소의 조제 : 일정량의 菌體를 0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.4) 및 sea sand와 함께 豫冷시킨 mortar에 넣고 잘 마쇄한 다음 10,000 rpm으로 10분간 냉동 원심분리(Hitachi 20 PR-5)하여 얻은 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

2) NADPH oxidase 活性 : NADPH oxidase (EC 1, 6, 99, 1)의 活性은 Hart 등[29]의 方法에 의하였다. 즉 0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.4) 2.5 m*l*, 0.36$\mu$M NADPH 용액 0.3 m*l* 및 조효소액 0.2 m*l*를 넣고, 25℃에서 2분간 반응시킨 다음 NADPH의 감소량을 흡광도로서 측정하고 이때의 효소 活性은 흡광도 0.01의 감소를 1 unit로 계산하여 相對活性度로 표시하였다.

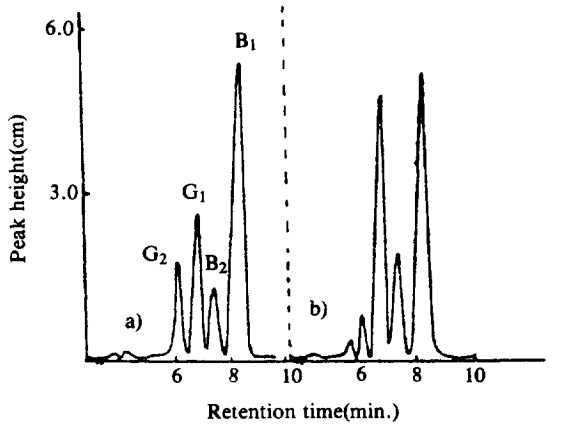


**Fig. 2. HPLC chromatogram of aflatoxin**
a) aflatoxin standard
b) aflatoxin extracted from sample

## 結果 및 考察

**菌의 生育에 미치는 추출물의 影響**—각 한약재 20 g으로부터 추출물을 조제한 다음 추출물을 살균된 배양액에 濃度別(0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 m*l*/30 m*l* medium)로 첨가하고 無菌的으로 공시균을 접종하여 28℃에서 9일간 배양하면서 菌의 生育에 미치는 影響을 조사한 結果는 다음과 같다.

**Table 3. Effect of chloroform extract of oriental herbs on growth of *Aspergillus parasiticus* R-716**

| Herbs | Extract | Dry weight(g) | % Control |
|---|---|---|---|
| Control | 0 | 1.054 | 100 |
| *Zedoaria rhizoma* | 0.05 | 0.849 | 80.5 |
| | 0.1 | 0.827 | 78.4 |
| | 0.2 | 0.708 | 67.1 |
| | 0.4 | 0.238 | 22.5 |
| ***Curcuma longa*** | 0.05 | 0.881 | 83.6 |
| | 0.1 | 0.723 | 69.0 |
| | 0.2 | 0.529 | 50.2 |
| | 0.4 | 0.227 | 21.6 |
| *Cyperus rotundus* | 0.05 | 0.948 | 89.9 |
| | 0.1 | 0.851 | 80.7 |
| | 0.2 | 0.810 | 76.8 |
| | 0.4 | 0.289 | 27.4 |
| *Angelica gigas* | 0.05 | 0.902 | 85.5 |
| | 0.1 | 0.895 | 84.9 |
| | 0.2 | 0.872 | 82.2 |
| | 0.4 | 0.882 | 83.6 |
| ***Paeonia albiflora*** | 0.05 | 0.908 | 86.1 |
| | 0.1 | 0.815 | 77.3 |
| | 0.2 | 0.798 | 75.7 |
| | 0.4 | 0.351 | 33.7 |
| *Paeonia moutan* | 0.05 | 0.641 | 60.8 |
| | 0.1 | — | — |
| | 0.2 | — | — |
| | 0.4 | — | — |
| *Atractylis ovata* | 0.05 | 0.953 | 90.4 |
| | 0.1 | 0.891 | 84.5 |
| | 0.2 | 0.798 | 75.7 |
| | 0.4 | 0.430 | 40.8 |
| *Pulsatilla koreana* | 0.05 | 1.075 | 101 |
| | 0.1 | 0.893 | 84.7 |
| | 0.2 | 0.882 | 83.6 |
| | 0.4 | 0.843 | 79.9 |

Table 3에서와 같이 목단 추출물 첨가군에서 가장 현저하게 菌의 生育이 저해되었고, 그외 첨가군에서는 강황, 봉출, 향부자, 백작약, 백출의 順으로 저해되었다. 특히 목단의 경우 추출물 0.05 m*l* 첨가로 菌體量이 대조군의 1.054g/30 m*l*에 대해 40%가 감소된 0.641g이었고, 0.1 m*l* 이상 첨가군에서는 菌의 生育이 완전히 억제되었다. 또한 강황, 봉출, 향부자의 경우도 0.4 m*l* 첨가로 각각 대조군의 21.6%, 22.5% 및 27.4%의 生育을 보였다. 그러나 당귀 및 백두옹은 저해작용이 완만하여 0.4 m*l* 첨가군에서도 대조군의 83.6%, 79.9%인 0.882g 및 0.843g의 菌體量을 보였다.

유 등[30]도 抗癌物質을 天然物에서 얻을 目的으로 각종 추출법에 의해 한약재를 추출하여 cancer cell의 배양시 첨가한 결과 모든 材料에서 chloroform 첨가군이 $LD_{50}$ 값이 현저하게 낮아졌다고 보고하였다.

**Aflatoxin 生成에 미치는 추출물의 影響**—한편 aflatoxin 生成에 미치는 추출물의 影響은 Table 4에서 보는 바와 같이 生育 저해와는 약간 달리 백출과 강황 첨가군에서는 저해 효과를 보여 백출 추출물 0.2 m*l* 첨가로 대조군의 1,547$\mu$g/30 m*l*에 비해 약 50%의 aflatoxin이 감소된 792$\mu$g/30 m*l*였으며, 강황도 濃度의 증가에 따라 저해도가 증가되었다.

그러나 봉출, 백두옹, 백작약, 당귀 및 향부자는 소량의 첨가로 오히려 aflatoxin 生成이 증가되었다. 그 중 백두옹, 백작약, 봉출 등은 추출물 0.1 m*l* 첨가로 1,874$\mu$g, 1,785$\mu$g 및 1,787$\mu$g의 aflatoxin이 생성되어 대조군보다 15~21%가 증가되었고, 목단은 0.05 m*l* 첨가로 1,156$\mu$g이 생성되어 菌體 g當 aflatoxin 함량이 1,803$\mu$g/g이 되어 生育 저해는 강하나 aflatoxin 生成 자체에는 별다른 효과가 없는 것으로 나타났다.

**백출 추출물 濃度別 첨가에 따른 効果**—공시균의 生育과 aflatoxin 生成 저해에 양호한 結果를 보인 백출 추출물을 濃度別로 첨가하여 공시균에 미치는 影響을 자세히 조사하였다.

生育에 미치는 影響을 평판 배양 및 액체 배양으로 나누어 관찰한 결과 Table 5에서 보는 바와 같이 濃度 증가에 따라 포자 착생 및 포자 색깔이 불

**Table 4. Effect of chloroform extract of oriental herbs on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* R-716**

| Herbs | Extract | Aflatoxin(ug/30ml) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $B_1$ | $B_2$ | $G_1$ | $G_2$ | Total | %Control |
| Control | 0 | 814 | 184 | 387 | 162 | 1547 | 100 |
| *Zedoaria rhizoma* | 0.05 | 927 | 98 | 582 | 33 | 1640 | 106 |
| | 0.1 | 940 | 193 | 630 | 24 | 1787 | 115 |
| | 0.2 | 723 | 84 | 367 | 11 | 1185 | 76 |
| | 0.4 | 434 | 22 | 194 | 6 | 656 | 42 |
| *Curcuma longa* | 0.05 | 826 | 106 | 352 | 46 | 1330 | 86 |
| | 0.1 | 752 | 49 | 310 | 18 | 1129 | 73 |
| | 0.2 | 792 | 65 | 125 | 23 | 1005 | 65 |
| | 0.4 | 425 | 31 | 260 | 42 | 758 | 49 |
| *Cyperus rotundus* | 0.05 | 950 | 198 | 587 | 101 | 1836 | 118 |
| | 0.1 | 863 | 99 | 445 | 51 | 1458 | 94 |
| | 0.2 | 521 | 56 | 311 | 24 | 921 | 59 |
| | 0.4 | 392 | 47 | 100 | 15 | 554 | 36 |
| *Angelica gigas* | 0.05 | 764 | 256 | 530 | 33 | 1583 | 102 |
| | 0.1 | 771 | 125 | 633 | 24 | 1553 | 100 |
| | 0.2 | 821 | 178 | 495 | 45 | 1539 | 99 |
| | 0.4 | 828 | 210 | 426 | 23 | 1487 | 96 |
| *Paeonia albiflora* | 0.05 | 831 | 147 | 537 | 84 | 1599 | 103 |
| | 0.1 | 932 | 182 | 620 | 51 | 1785 | 115 |
| | 0.2 | 689 | 46 | 348 | 39 | 1122 | 73 |
| | 0.4 | 368 | 27 | 238 | 14 | 647 | 42 |
| *Paeonia moutan* | 0.05 | 672 | 101 | 354 | 29 | 1156 | 74 |
| | 0.1 | — | — | — | — | — | — |
| | 0.2 | — | — | — | — | — | — |
| | 0.4 | — | — | — | — | — | — |
| *Atractylis ovata* | 0.05 | 876 | 117 | 392 | 32 | 1419 | 91 |
| | 0.1 | 884 | 65 | 261 | 20 | 1238 | 80 |
| | 0.2 | 446 | 27 | 298 | 21 | 792 | 51 |
| | 0.4 | 122 | 13 | 52 | — | 187 | 12 |
| *Pulsatilla koreana* | 0.05 | 975 | 152 | 597 | 98 | 1822 | 117 |
| | 0.1 | 1048 | 162 | 542 | 122 | 1874 | 121 |
| | 0.2 | 813 | 57 | 591 | 70 | 1531 | 99 |
| | 0.4 | 596 | 28 | 416 | 19 | 1059 | 68 |

**Table 5. Effect of chloroform extract of *Atractylis ovata* on growth by *Aspergillus parasiticus* R-716**

| Conc. of ext. (ml/30ml med.) | Plate culture | | Surface culture | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Sporulation | Color of spore | Diameter(cm) | Final pH | Dry weight(g) |
| Control | + + + | yellow green | 6.1 | 2.3 | 1.054 |
| Ethanol | + + + | yellow green | 6.2 | 2.3 | 1.048 |
| 0.05 | + + | yellow green | 5.0 | 2.6 | 0.935 |
| 0.1 | + + | yellow | 4.3 | 2.7 | 0.891 |
| 0.2 | + + | yellow | 3.5 | 2.8 | 0.789 |
| 0.4 | + | whitish yellow | 2.5 | 3.4 | 0.430 |

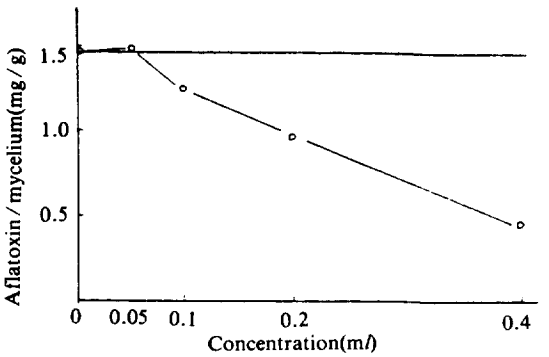


**Fig. 3. Effect of chloroform extract of *Atractylis ovata* on aflatoxin production per mycelium by *Aspergillus parasiticus* R-716.**

량하게 나타났고, colony의 크기는 대조군의 6.1 cm에 비해 0.4 m*l* 첨가군에서 2.5 cm로 저해되었다.

액체 배양의 경우도 菌體量이 대조군에서 1.054 g인데 비해 0.4 m*l* 첨가군에서 0.430g으로 평판 배양시와 상응하게 나타났으며 이때 ethanol만 0.4 m*l* 첨가한 경우는 배양법에 관계없이 별다른 影響을 나타내지 않았다.

또한 菌體 g當 aflatoxin 함량을 살펴 보면 Fig. 3에서 보는 바와 같이 대조군의 1,467$\mu$g/g에 비해 0.05 m*l* 첨가군이 1,486$\mu$g/g인 것을 제외하고는 0.1 m*l*, 0.2 m*l* 및 0.4 m*l* 첨가군이 각각 1,389$\mu$g, 992$\mu$g, 434$\mu$g/g으로서 모두 감소되었으며, 이 結果로 미루어 배출이 함유하는 特殊成分이 공시균의 生育과 物質代謝에 影響을 미치는 것으로 생각된다.

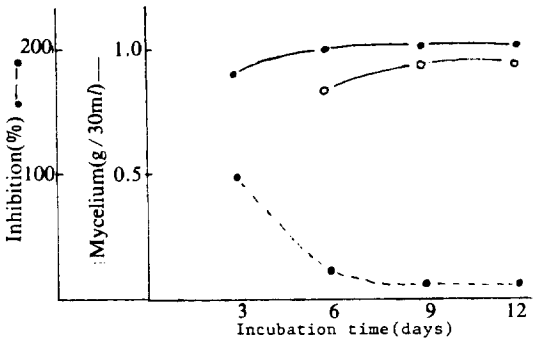


**Fig. 4. Effect of chloroform extract of *Atractylis ovata* on growth during incubation by *Aspergillus parasiticus* R-716.**

●—● : control, ○—○ : SLS + extract

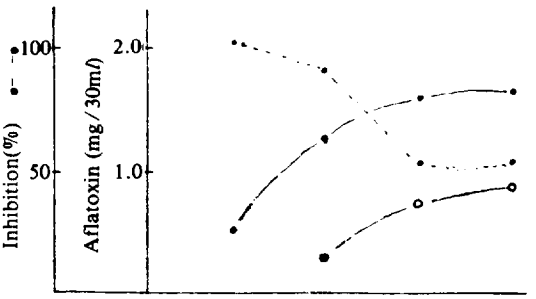


**Fig. 5. Effect of chloroform extract of *Atractylis ovata* on aflatoxin production during incubation by *Aspergillus parasiticus* R-716.**

●—● : control, ○—○ : SLS + extract

**경시적 배양에 따른 백출 추출물의 影響**—백출 추출물을 0.2 m*l* 첨가한 후 경시적으로 공시균을 배양하면서 그 影響을 조사한 결과 生育 저해는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 3일까지 대체로 菌의 增殖이 이루어져 6일째는 96%가량의 菌體가 생성된 대조군에 비해 첨가군의 경우는 강한 生育 저해로 3일까지 겨우 0.085g의 菌의 增殖을 보이다가 6일째에는 0.816g으로서 대조군의 77% 生育을 보였으며 aflatoxin 역시 菌의 生育과 상응하게 Fig. 5와 같이 나타났다.

즉 대조군은 배양 6일째에 전체 86%가 생성된 반면 첨가군은 生育 저해와 더불어 6일째에 213 $\mu$g 정도 생성되었다가 菌體 生育이 거의 이루어진 9, 12일에는 각각 792, 827$\mu$g이 생성되었다. Aflatoxin의 종류별 함량은 Table 6에서 보는 바

**Table 6. Effect of chloroform extract of *Atractylis ovata* on aflatoxin production during incubation of *Aspergillus parasiticus* R-716**

| Media | Days | Aflatoxin ($\mu$g / 30m*l*) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $B_1$ | $B_2$ | $G_1$ | $G_2$ | Total |
| SLS | 3 | 313 | 28 | 103 | 31 | 475 |
| | 6 | 880 | 102 | 219 | 88 | 1298 |
| | 9 | 814 | 184 | 387 | 162 | 1547 |
| | 12 | 793 | 208 | 379 | 171 | 1553 |
| | 15 | 748 | 192 | 447 | 162 | 1549 |
| SLS-extract | 3 | — | — | — | — | — |
| | 6 | 141 | — | 72 | 18 | 231 |
| | 9 | 486 | 27 | 258 | 21 | 792 |
| | 12 | 492 | 84 | 165 | 86 | 827 |
| | 15 | 487 | 53 | 199 | 92 | 831 |

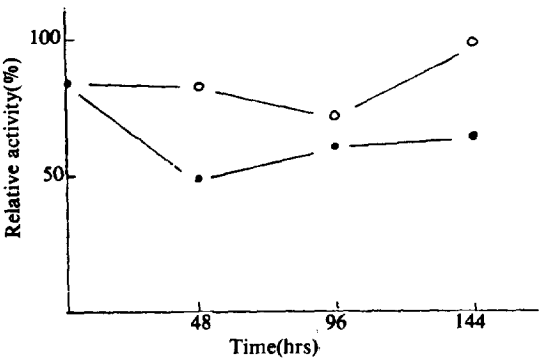


**Fig. 6. Effect of chloroform extract of *Atractylis ovata* on NADPH oxidase activity of *Aspergillus parasiticus* R-716 precultured for 3 days in SLS medium.**

●—● : control, ○—○ : SLS + extract.

와 같이 전체 배양기간중 대부분이 aflatoxin $B_1$ 分布比가 컸으나 時間의 경과에 따라 다른 group의 分布比가 증가하는 경향이었으며 첨가군에 비해 대조군이 현저하였다. 이것은 백출이 함유하고 있는 特殊成分의 저해작용으로 공시균의 生育과 aflatoxin 生成이 지연되고, 아울러 aflatoxin $B_1$에서 다른 aflatoxin에로의 전환 등 전체적인 代謝 진행이 늦어지는 것으로 생각된다.

또한 다른 2차 代謝産物의 生成과 같이 aflatoxin 生成에도 각종 산화효소가 관여하고 있으며 그 중 acetate를 비롯한 aflatoxin 전구물질을 aflatoxin으로 전환시키는데 필요한 것으로 알려져 있는 NADPH의 산화효소 活性에 백출 추출물이 미치는 影響을 조사하였다. 즉 3일간 前 배양한 공시균을 0.02M phosphate buffer (pH 5.8)로써 세척한 후 대조군 및 첨가군으로 나눈 배양기에 다시 접종하고 각각 48, 96, 144시간 배양하면서 관찰하였다.

대조군의 경우 48시간에서 가장 낮은 활성을 보이다가 그 후 증가하였으며 첨가군의 경우는 훨씬 높게 나타났다. Aflatoxin 生成과 관련된 효소는 대수기 이후에 活性이 증가되기 시작하여 정지기로 들어가면서 活性이 강할 것으로 예상되며 이때 實驗結果와 같이 NADPH의 수요가 증가된 것으로 생각된다.

Singh 등[31]도 cell free extracts에서 sterigmatocystin의 aflatoxin에로의 전환이 NADPH에 크게 좌우됨을 밝힌 바 있으나 아직도 aflatoxin과 관련된 효소학적 硏究가 부족한 실정이며 특정 物質에 의한 mycotoxin 등의 生合成에 대한 저해작용 및 그 기작에 관한 硏究는 계속되어야 할 것이다.

## 감사의 말씀

이 論文의 硏究費 일부는 1987년도 문교부 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 충당되 었으며 이에 감사하는 바이다.

## 국문 요약

한의원에서 오래 前부터 사용되어 오고 있는 몇 종의 한약재를 구입하여 이들을 chloroform으로 추출하여 추출물을 조제한 다음 공시균(*Aspergillus parasiticus* R-716)의 生育과 aflatoxin 生成에 미치는 影響을 조사한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 목단 추출물 첨가군에서 가장 현저하게 공시균의 生育이 저해되었고 그외의 첨가군에서도 강황, 봉출, 향부자, 백작약, 백출의 順으로 저해되었다.

2. Aflatoxin 生成은 백출과 강황 추출물 첨가군에서만 저해되었고, 나머지 첨가군에서는 오히려 증가되거나 효과가 적었다.

3. 백출 추출물 0.2ml 첨가시 3일째부터 菌體 生成을 시작하여 9일째에 0.953g/30ml이었고, aflatoxin 함량은 792μg으로서 대조군에 비해 약 50%가 감소되었다.

菌體 g當 aflatoxin 함량은 992μg으로서 대조군의 1,467μg에 비해 역시 크게 감소되었으며 NADPH oxidase 活性은 대조군보다 높아 백출 추출물이 공시균의 生育과 aflatoxin 生成에 저해 효과가 있는 것으로 나타났다.

## 참고문헌


1. Anderson, E.E., Esselen, W.B. and Handleme, N.A.R.: The effect of essential oil on the inhibition and thermal resistance of microorganisms in acid food products. *Food Res.*, **18,** 40 (1953).
2. Basappa, S.C., Jayaraman, A., Sreenivasamurthy, V. and Parpia, H.A.B.: Effect of B-group vitamins and ethyl alochol on aflatoxin production by *Asp. oryzae. Indian J. Expl. Biol.*, **5,** 262 (1967).
3. Chamberland, M.: Les essences au point devue de leurs propritietes antiseptique. *Ann. Inst. Pasteur,* **1,** 153 (1887).
4. Fabian, F.W.: Kreh, C.F. and Little, N.W., Role of spices in pickled food spoilage. *Food Res.*, **4,** 269 (1939).
5. Buchanan, F.M.: The inhibitory action of certain spices on the growth of microorganisms. *J. Ind. Eng. Chem.*, **8,** 620 (1916).
6. James, L.H.: Reducing the microbial content of spices. *Food Inds.*, **10,** 428 (1938).
7. Cavallito, C.J., Bailey, J.H., Allicin: The antimicrobial principle of *Allium sativum,* isolation. Physical properties and antimicrobial action. *J. Am. Chem. Soc.*, **66,** 1950 (1944).
8. Dold, H. and Knapp, A.: Antiseptic action of spices, *Z. Hyg. Infekt. Sionskrankh,* **128,** (1948).
9. Wright, W.J., Bice, C.W. and Fogelberg, J.M.: The effect of spices on yeast fermentation. *Cereal Chem.*, **3,** 100 (1954).
10. Hitokoto, H., S. Moruzumi, T. Wauke, S. Sakai and I. Ueno: Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth. *Mycopathologia,* **66**(3), 161 (1978).
11. Tsai, W.Y.J., J.H. Moy, W.K. Nip and H.A. Frank: Stimulation of aflatoxin production in media supplemented with Taro. *J. Food Sci.*, **46,** 1274 (1981).
12. Bahk, J.R. and E.H. Marth: Growth and synthesis of aflatoxin by *Asp. parasiticus* in the presence of ginseng products. *J. Food Prot.*, **46,** 210 (1983).
13. Batt, C., M. Solberg, and M. Ceponis: Effect of volatile components of carrots seed oil on growth and aflatoxin production by *Asp. parasiticus. J. Food Sci.*, **48,** 762 (1983).
14. Ray, L.L. and L.B. Bullerman: Preventing growth of potentially toxic molds using antifungal agents. *J. Food Prot.*, **45,** 953 (1982).
15. Crane, P.S., S.U. Rhee, and D.J. Sheel: Experience with 1079 cases of canser of the stomach seen in Korea from 1960 to 1968. *Amer. J. Surgery,* **120,** 751 (1970).
16. 정용, 권숙표 : 한국발효식품중 aflatoxin의 함유에 관한 연구. 대한예방의학회지, **2**(1), (1969).
17. 이태령, 이상규 : 식품중 유독성 대사산물에 관하여(제1보) 수종의 한국대두발효식품중 aflatoxin 유무의 검색에 관하여. 한국식품과학회지, **1,** 78(1969).
18. 이관령, 이서래 : 국내의 변질미에서 분리된 *Aspergillus flavus*의 aflatoxin 생성능. 한국식품과학회지, **6**(3), 196(1974).
19. 김용화, 황보정숙, 이서래 : 몇가지 한국식품중 aflatoxin 검출. 한국식품과학회지, **9**(1), 73(1977).
20. 주현규, 권우건 : 저장건시중 유독성 곰팡이에 관한 연구. 한국산업미생물학회지, **8**(4), 237(1980).
21. 정덕화, 김찬조 : aflatoxin 생성균의 분리 및 초기 pH, Zn의 영향. 한국산업미생물학회지, **14**(1), 1(1986).
22. 정덕화, 정영철, 성낙계 : 고체배지에서 aflatoxin 생성능에 미치는 temperature cycling의 영향. 한국환경위생학회지, **12**(1), 39(1986).
23. 정덕화, 김종규, 강진규, 최수철 : *Aspergillus parasiticus* R-716의 aflatoxin 생성저해물질에 관한 연구(효과적인 채소추출 및 그 영향). 한국식품위생학회지, **1**(1), 23(1986).
24. Bahk, J.R. and J.K. Lee: Growth and synthesis of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the presence of ginseng products with reduced minor element. *Kor. J. Hlth.*, **10**(1), 78 (1984).
25. 서명자, 김석영 : *Asp. parasiticus*에 의한 aflatoxin 생산능에 인삼과 pH가 미치는 영향. 부산대학교 가정대학 연구보고, **7**, 95(1981).
26. Matles, R.I. and G.N. Wogan: Production of aflatoxin in submerged culture. *Appl. Microbial.*, **13,** 208 (1965).
27. Association of official analitical chemists, Of-

ficial methods of analysis, 26-29 (1980).
28. Dong, M.W. and J.L. Dicesare: Improved food analysis using high speed liquid chromatography. *Food Technology*, **58**, (1983).
29. Hart, D.C. and Fouts, J.R.: Studies on the possible mechanisms by which chlordane stimulates hepatic microsomal drug metabolism. *Biochem. Pharmac.*, **14**, 263 (1965).
30. Ryu, S.H. and M.Y. Park: Premary screening for growth inhibitors of L1210 cells from oriental herbs. *Kor. J. Appl. Microbial. Bioeng.*, **10**(1), 53 (1982).
31. Singh, R. and Hseieh, D.P.H.: Enzymatic conversion of sterigmatocystin into aflatoxin $B_1$ by cell free extracts of *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Environ. Microbial.*, **31**, 743 (1976).