The Journal of the Korean Chemical Society,
Volume 8, Number 2, 1964,
Printed in Republic of Korea.

적미병 보리의 유독성분에 관한 연구(제 I 보)

동물실험에 의한 유독성의 확인

고려대학교 이공대학 화학과

김태봉 · 한보섭* · 한상현 · 기용숙**

(1964. 6. 2 수리)

Studies on the Toxic Substances in Korean Barley Infected with Gibberella Zeae(I)

Identification of the Toxicity of the Infected Grain by Animal Tests.

Dept. of Chemistry, Korea University

Tae Bong Kim, Bo-Sup Hahn*, Sang-Heynn Hahn, and Ryong Suk Kee**

(Received June 2, 1964)

Abstract

It was confirmed that korean scabby barley during the summer of 1963 was infected with Gibberella zeae. Feeding experiments showed that the diseased grain was toxic and induced emesis in pigs. The concentrated extracts which contained the emetic principle were prepared by refluxing the grain with methanol or water for 5 hours and then concentrating the filtrates and the washing in vacuum. Animal tests proved that methanol extraction for the emetic principle was more effective than extraction with water.

서 론

적미병 병원균(Gibberella zeae)에 감염된 맥류가 인체 및 몇몇 가축에 유독함은 A. Pomaskii (1915), K. Beller *et al* (1929), A. D. Dickson *et al* (1930), M. Popp (1930), 기타 여러 사람들에 의해 지적되었다[1] [2] [3]. 저자들은 1963년 6월, 한국 전역에 걸쳐 큰 피해를 입은 소위 "적미병 보리"의 유독성분에 관한 연구를 시도함에 앞서, 그것으로부터 감염균을 분리 확인하였고, 실험동물에 대한 사료시험과 아울러, 적미병에 감염된 보리를 methanol 또는 물로 추출하여서 만든 농축 수용액으로 동물실험을 한 결과, 그 독성을 확인하였다. 여기서는 저자들이 얻은 이러한 실험결과를 보고하고자 한다.

실험방법 및 결과

실험재료. 농림부 농산물 검사소로부터 제공된 1963년도 경남 김해산 적미병 보리(및 이를 도정한 정맥과 딩게)를 사용하였다.

실험동물. 실험동물로는 적미병 보리의 유독성분에 대해 가장 예민한 중독증상을 나타내는 것으로 알려진[1] [2] 돼지를 사용하였다. 즉 시중에서 두룩코오지 잡종 6마리를 구입하여, 3주일간 정상사료를 주면서 이상이 없음을 확인한 후 사용하였고(체중; 15—22.5kg), 실험 기간 중에는 각 실험동물마다, 정상상태를 회복

* Dept. of Chemistry, Seoul National University

** Dept. of Microbiology, Medical College, Seoul National University

시키기 위하여, 적어도 2일 간의 간격을 두고서 다음 실험을 실시하였다. 실험동물은 특수한 경우를 제외하고는, 항상 21시간 단식시킨 것을 사용하였다. 그리고 중독성 여부와 그 정도는 적미병 보리를 사료로서 먹이거나 또는 그것으로부터 만든 농축 수용액을 위관을 써서 먹인 후 3시간 동안에 나타난 구토증상(구토를 시작하기까지의 시간, 구토 계속시간, 구토회수)을 관찰 비교하였다.

(A) 한국산 적미병 보리의 특징. 한국산 적미병 보리는 문헌에 지적되어 있는 것처럼 낟알이 유난히 작고, 불그스름한 광택없는 누른 색을 띠고 있었다. 저자들은 시료의 규격에 관하여 한 가지 참고자료를 얻고자 시료와 1962년도 산의 온전한 보리(농산물검사소 제공)의 무게를 비교하여 본 즉, 무게 감소율이 35%라는 현저한 차이가 있었다.

(B) 미생물학적 검사[3]. 한국산 적미병 보리를 직접 현미경으로 보면, 그 표면에 적자색의 작은 알맹이 모양의 것이 다수 붙어 있었고, 이것을 채취하여, 현미경으로 본 즉, Fusarium sp.의 macroconidia 유사한 독특한 형태의 것이 확인되었다. 그 크기는 평균 58.3×6.8 μ, 4-5개의 격막이 있었으며, Gram 양성이었다.

이 macroconidia를 Sabouraud agar media (pH 5.6)에 slide culture를 하여 본 즉, 1일 후에는 그 중앙부에서, 2일 후에는 그 양쪽 끝에서 발아하여 hyphae가 생기기 시작하였으며, 7일 후부터는 hyphae의 절간 또는 말단에서 conidiophore가 생기면서 conidia가 연달아 발생되었고, 이런 것들이 점점 병행 발생하여, 마침내 Fusarium sp. 고유한 바나나 모양의 tuft를 이루었다.

한편 적미병 보리로부터 분리한 macroconidia의 순수배양주를 Sabouraud agar 및 carrot agar (pH 6.0)에 각각 slide culture하여 색소의 형성과정을 살펴 본 결과에 의하면, Sabouraud agar에서는 2일 후부터 hyphae 내부에 누동색의 색소 granule이 생기기 시작하여, 7일 후에는 그것이 짙은 누른색으로 되었다가 10일 후부터는 적자색으로 변하였고, carrot agar에서는 7일째에 벌써 적자색의 색소 granule이 생겼다.

이상 저자들이 관찰한 결과만을 가지고서 이 감염균이 곧 Gibberella zeae라고 단정할 수는 없겠으나, 그 형태학적 특징이 적미병 병원균의 그것과 매우 유사한 점, 그리고 특히 시료에서 이것 외의 다른 어떤 감염균도 확인되지 않았다는 사실등으로 미루어 볼 때, 이것은 지금까지 보고된 적미병 병원균과 같은 것이라고 결론된다.

(C) 적미병 보리의 독성 확인실험. 분쇄한 적미병 보리를 21시간 단식시킨 실험동물에게 사료로서 먹였을 때의 실험결과는 표 1에 실은 바와 같다.

Table 1. Toxicity tests with the infected grain.

Test* animal	(Weight)	Amount of the infected grain administered	Interval between administering and vomition	Vomitions
No. 3	15.8 kg.	500 g.	90 min.	5 times
4	17.2	500	97	4

* Fasted for 21 hrs.

즉 실험동물은 약 1시간만 후부터 5~8분 간격을 두고, 4~5회 구토를 하였으며, 2시간 30분 후에 정상 사료를 먹인 후에도 2~3회 구토를 하였다.

(D) 유독성분의 추출 및 그 농축 수용액에 의한 동물실험.

(1) 물 추출액. 저자들은 우선 원리상으로는 Hoyman의 방법[1]과 같은 방법으로, 적미병 보리의 물 추출액을 만들었다. 즉 분쇄한 적미병 보리 1 kg에 3.4 *l*의 물을 넣고, 5시간 동안 100°내외로 가열한 것을 식힌 후 350 ml의 methanol 를 가하여 거르고, 한편 찌끼를 합계 3 *l*의 물로 세 번 씻은 액을 처음의 걸음액과 합쳐 50—60°에서, 시럽이 될 때까지 진공농축하였다.

이렇게 만든 것을 2 *l*의 methanol로 처리하여 불용성물질을 제거한 후, 용액을 다시 진공농축한 다음, 세 번에 걸쳐 물 100 ml씩을 가하여, 그때마다 진공농축을 되풀이하면서 methanol과 불용성물질을 제거하였다. 마지막으로, 시럽상의 이 농축액에 물을 섞어 전체가 100 ml가 되도록 하였다. 즉 이 농축 수용액 1 ml는 보리 10 g에 해당한다.

(2) methanol 추출액. 위에 적은 물 추출법은 실시하기가 번거로울 뿐만 아니라, 그 추출효과가 그다지 크지 않음이 동물실험으로 밝혀졌으므로[3,4], 저자들은 이보다 더 간편하고 효과적인 추출법을 마련하고자, 다음과 같은 방법으로, methanol 추출을 시도하였다.

즉 적미병 1 kg(분쇄한 것)에 2 *l*의 methanol을 가하여, 5시간 동안 reflux한 후 거르고, 한편 찌끼를 합계 1.5 *l*의 methanol로 세 번 씻어, 이 액과 처음의 걸음액을 합친 것을 (1)과 같은 방법으로, 시럽이 될 때까지 진공농축하였다. 이렇게 한 것에 세 번에 걸쳐 더운 물을 50 ml씩 가하여, 그때마다 진공농축을 되풀이하면서, 불용성물질과 남아 있는 methanol을 완전히 제거하고, 마지막으로 물을 가하여 100 ml의 맑은 농축 수용액을 만들었다.

(3) 두 농축 수용액의 독성실험. 물로 추출한 농축 수용액과 methanol로 추출한 농축 수용액을 써서 동물실험을 한 결과는 표 2에 실은 바와 같다.

Table 2. Animal tests with the concentrated extracts from the infected grain under different conditons.

Test number	Test Animal	(Weight)	Solvent for extraction	Amount of con'd ext. administered*	Duration fasted	Toxic symptoms in pig (Vomitions)			
						Interval between administering & vomition	Duration of vomition	Nunber of vomitions	Vomitions after normal feeding, 3 hrs. later
	No.	kg.		ml.	hrs.	min.	min.	No.	
A	1	14.9	Water	45	21 hrs.	15	10	6	15, 35 min. (2times)
B	1	15.6	Water	50	9 min.	—	—	—	—
C	1	15.0	Water	45	45 hrs.	—	—	—	—
D	3	15.6	MeOH	48	21 hrs.	18	73	19	25, 37, 45min. (3 times)
E	1	15.4	MeOH	25	9 hrs.	—	—	—	—
F	6	15.4	MeOH	30	21	15	30	11	11, 15, 18 min. (3 times)

* 1 ml. of these concentrated extracts equal to 10g. of the infected grain; in all experiments the extract was administered by a stomach tube.

이 실험결과에 의하면, 21시간 단식시킨 실험동물에게 위관을 써서 두 농축 수용액을 주었을 경우, 실험동물은 심한 구토증상을 일으켰다(실험 A와 D). 그리고 이 실험으로, methanol로 추출한 농축 수용액은 물로 추출한 농축 수용액에 비해 독성이 현저하게 크다는 사실을 확인하였다.

(4) 동물실험조건의 검토. 물로 추출한 농축 수용액과 methanol로 추출한 농축 수용액을 써서 동물실험조건(농축액의 급여량 및 단식시간의 영향)을 검토한 결과는 표 2에 요약한 바와 같다.

즉 물로 추출한 농축 수용액을 주었을 경우, 표준량(50 ml)을 먹였음에도 불구하고, 45분, 9시간 단식시킨 실험동물에 있었어서는 둘다 전연 구토증상이 나타나지 않았다(실험 B와 C). 한편, methanol로 추출한 농축 수용액을 써서 한 실험에서는, 9시간 단식시킨 실험동물에게 표준량의 절반을 주었을 때는 전연 구토를 일으키지 않았으나(실험 E), 21시간 단식시킨 것에 30 ml를 주었을 때는, 뚜렷한 구토증상이 나타남을 볼 수 있었다(F).

이상 말한 실험결과로 미루어 볼 때, 적미병 보리의 추출 농축액에 의한 동물실험에 있어서, 그 독성을 분명히 확인하려면, 단식시간은 21시간, 농축액(methanol로 추출한 것)의 급여량은 30ml 이상이 필요할 것이다.

결 론

한국산 적미병 보리에서 Fusarium sp. 유사한 감염균을 분리 확인하였다. 한국산 적미병의 사료실험을 한 결과, 그 독성을 확인하였고, 이 보리로부터 추출한 농축 수용액의 일정량을 실험동물에게 주었을 때는, 심한 중독증상을 나타내었다. 적미병 보리의 유독성분의 추출용매로서는 물보다 methanol이 훨씬 적당함을 알았다.

이 연구를 하는 데 있어서, 여러 모로 편의를 돌보아 주신 고려대학교 화학과 교직원, 동물실험을 위해 조력을 해 주신 고려대학교 농과대학장 홍 기창 교수, 그리고 동물실험을 직접 도와 주신 고려대학교 농과대학 축산학과 직원 여러 분들, 특히 임 백규 조교의 후의에 대해서 저자들은 사의를 표하고자 한다. 또 여러 가지 귀중한 조언을 해 주신 원자력연구소 생물학실장 이 근배 박사에게 이 기회에 감사하여 마지 않는다.

끝으로, 이 연구는 농림부의 요청에 따라, 그 보조금으로 이루어진 것으로, 연구를 적극 후원해 주신 전 농림부 적미병대책위원회 위원장 정 남규 박사 및 연구재료를 마련하는 데 애써 주신 농림부 농산물검사소 시험소 배 세환 소장에게도 아울러 사의를 표하고자 한다.

문 헌

1) W. G. Hoyman, Phytopath., **31**, 871 (1941)
2) 西門, 農業技術資料 97號, 107-116 (1958).
3) 김태봉, 한보섭, 한상현, 農林部 麥類赤黴病對策研究報告書 p. 582 (1963).
4) 김태봉, 한보섭, 한상현, 大韓化學會誌, **8**, 78~81 (1964).