

## 진균류의 증식과 대사에 미치는 방아(*Agastache rugosa*) 추출물과 Estragole의 효과

박재림<sup>†</sup> · 박송희 · 김정옥\* · 김수원\*\* · 이수영\*\*  
부산여자대학교 환경학과, \*화학과, \*\*식품영양학과

### The Effect of Estragole Identified and Extracts from *Agastache rugosa* O. Kuntze on the Fungal Growth and Metabolism

Jae-Rim Bahk<sup>†</sup>, Song-Hee Park, Jeong-Ok Kim\*, Su-Weon Kim\*\* and Soo-Young Lee\*\*  
Department of Environmental Science, \*Dept. of Chemistry, \*\*Dept. of Food and Nutrition,  
Pusan Women's University, Pusan, 617-736, Korea

**ABSTRACT**—The extracts from *Agastache rugosa* O. Kuntze, their chloroform and hexane fractions, and estragole identified from hexane fraction were tested to investigate the effects on the growth and metabolic activities of several true fungi. The fungi used were: *Aspergillus oryzae* KFCC 890, *Aspergillus niger* KCCM 11240, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4597, *Saccharomyces ellipsoideus* PNU 2215. The growth of *S. cerevisiae* by treatment of water extract (1%), hexane fraction (0.05%), and estragole (0.05%) were inhibited 93%, 50%, and 33% respectively, and *S. ellipsoideus* was also inhibited markedly with delaying the lag phase maximum 12 hrs. The growth of *A. oryzae* was inhibited by treatment of extracts and fractions. The ethanol production by *S. cerevisiae* was increased more than two times in the highest value around 42 hrs incubation by water extract, but chloroform fraction inhibited its production. The glucoamylase activities by *A. niger* were strongly inhibited by hexane and chloroform fractions (0.05%). The invertase activity by *S. cerevisiae* using estragole (0.05%) reached to 57.5% of control group. *S. cerevisiae* treated with the estragole was damaged the cell wall and cell membrane, leaked the protoplasm, and observed broken pieces of cell.

**Key words** □ *Agastache rugosa* O. Kuntze, fungal growth, ethanol production,  $\alpha$ -amylase activity, glucoamylase activity

식물 추출물이 항균성을 가지고 있는 것은 오래전부터 알려졌고 그 대표적인 것이 각종 향신료들이다.<sup>1,4)</sup> 식품에 이용되는 향신료 중 계피, 인경, 마늘, 양파 등이 그 성분과 함께 미생물 증식억제 효능이 밝혀져 있고<sup>5,6)</sup> 홍삼, 백삼, 금은화, 우방자, 의이인, 산백피 등의 약용식물이 미생물 증식 및 대사에 미치는 억제효과도 보고되어<sup>7,8)</sup> 있다.

방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)는 배초향으로도 불리며 꿀풀과에 속하는 여러해살이 풀로 제주도를 비롯한 전국, 일본, 대만, 동아시아의 온대지방에 야생한다.<sup>9,10)</sup> 어린 순은 나물로 무쳐 먹기도 하며 전 세계에서 풍기는 독특하고 진한 향기로 식품에 향신료로 제공되며, 한방에서 건위제로 소화불량,

식체, 복통, 토사, 흉통에 사용하며 청량 해열제로 감기, 두통 등에 이용되며, 종기, 종독에 다른 약제와 함께 이용된다.<sup>11)</sup>

방아에 대한 연구는 주로 일반성분과<sup>12)</sup> 향기성분<sup>13)</sup> 분석에 대한 보고만 있다. 앞선 연구<sup>14)</sup>에서 방아 추출물과 estragole이 세균 *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *V. parahemolyticus*의 증식을 크게 억제하는 것으로 나타났다.

본 연구는 이런 방아 추출물과 estragole이 세균의 항균성에 미치는 효과에 이어서 진균류의 증식과 대사억제 효능을 파악하기 위하여 효모 *Saccharomyces cerevisiae*, *S. ellipsoideus*의 증식과 ethanol 생산 및 invertase활성 그리고 곰팡이 *Aspergillus oryzae*와 *A. niger*의 증식과 효소( $\alpha$ -amylase, glucoamylase)활성을 조사하고 세포의 형태도 관찰하여 그 결과를 보고한다.

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용된 시료는 경남 안동 일대에서 자생하는 방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)를 7~9월에 채취한 것으로 잎부분을 사용하였다.

균주 및 배지조성

본 연구에 사용된 효모는 *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4597과 *S. ellipsoideus* PNU 2215이었고, malt agar 사면배지에서 배양한 균을 다시 액체배양(MP broth : malt extract 20 g/l, peptone 5 g/l)하여 실험에 제공하였다. 곰팡이는 *Aspergillus oryzae* KFCC 890과 *Aspergillus niger* KCCM 11240을 사용하였고, PDA(potato dextrose agar) 사면배지에서 배양시킨 것을 다시 액체배지(soluble starch 10 g/l, peptone 10 g/l, yeast extract 5 g/l, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 g/l, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 g/l, NaCl 1 g/l, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.1 g/l)에서 배양하여 실험에 제공하였다.

시료의 추출과 분획

물 추출물과 methanol 추출물은 방아잎 100 g에 D.W.와 methanol을 각각 200 ml씩 가하여 2분간 blender로 마쇄한 후 두겹의 guaze로 짜고, 남은 내용물에 다시 D.W.와 methanol을 각각 100 ml 가하여 guaze로 짜서(2회 반복) 잔류성분이 충분히 용출되게 하였다. 이 추출액들을 여과지(Whatman No. 2)로 여과하여 동결건조 한 것을 각각 물 추출물, methanol 추출물로 하였다.

Hexane 및 chloroform 분획은 동결건조 전의 methanol 추출액에 hexane : methanol : H<sub>2</sub>O(10:1:9)의 혼합액을 1 : 1의

비율로 혼합한 후 seperatory funnel에서 hexane 층과 aqueous 층으로 분리하였고(Fig. 1), aqueous 층에 chloroform을 동량 혼합한 후 같은 방법으로 추출하여 chloroform 분획물로 사용하였다. Hexane과 chloroform 분획물은 rotary evaporator를 이용하여 용매를 제거한 후 4°C에서 냉장보관하여 사용하였다.

Estragole 분리, 동정

방아의 methanol 추출물, hexane 그리고 chloroform 분획물을 각각의 용매에 0.1% 되도록 녹여 GC와 GC-MS로 분리, 동정(15)한 결과 hexane 추출물의 주 화합물로서 estragole이 밝혀졌다(Fig. 2). 방아의 주 향기성분이 estragole임을 확인하고 표준품(Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, USA)을 구입하여 실험에 사용하였다.

이 때 GC 분석조건은 Hewlett Packard series II(Hewlett Packard, TX, USA)를 이용하여 column(DB-5)은 fused silica capillary column (50 m×0.25 mm i.d.)을 사용하였다. Column 온도는 50~250°C까지 2°C/min으로 하였고, detector는 FID, injector 온도는 260°C였다.

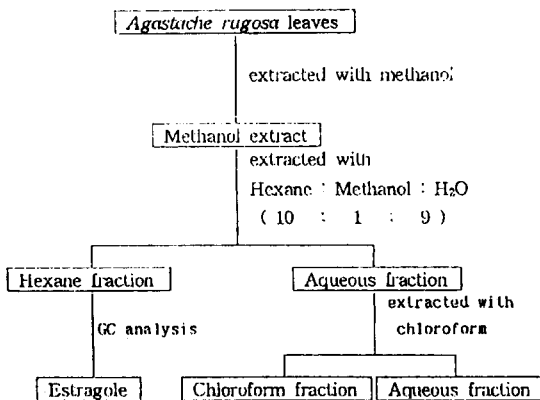


Fig. 1. Fractionation of methanol extract from *Agastache rugosa*.

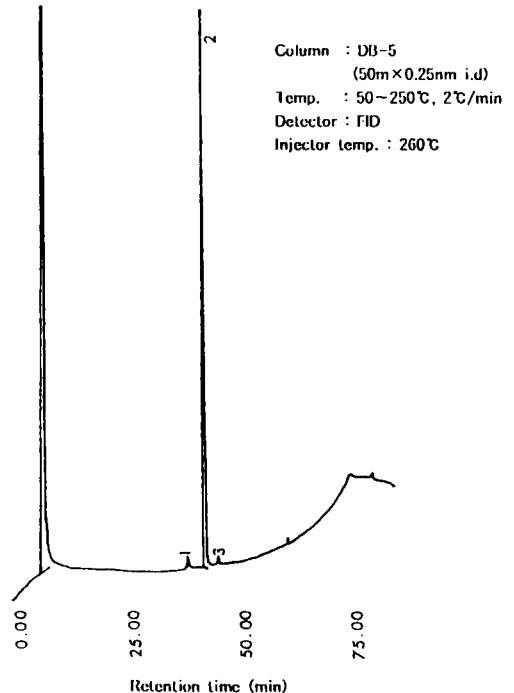


Fig. 2. GC analysis of hexane extract from *Agastache rugosa* Peak identification (peak 1: eugenol, peak 2: estragole, peak 3: isoeugenol).

### 증식측정

**시험균주의 전배양**—효모 증식용 현탁액을 제조하기 위하여 malt agar 사면배지에 계대배양한 균주 1백금이를 MP broth 100 ml에 접종하여 30°C에서 12시간 배양시킨 후 대수기의 영양세포( $3.0 \times 10^6$  CFU/ml)를 배지에 접종하였다. 곰팡이 포자현탁액의 제조는 potato dextrose agar 사면배지에서 30°C, 7일간 배양하여 형성된 포자를 멸균한 생리식염수에 수확하였다. 수확한 conidia의 수는 haematometer를 이용하여 계산하였으며, *A. oryzae*는  $2.6 \times 10^7$  conidia/ml, *A. niger*는  $4.5 \times 10^7$  conidia/ml이었다.

**검액의 조제**—물 추출물을 제외한 각 추출물을 배지에 용해시키기 위해 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 1%까지 첨가하여 균의 증식에 영향을 미치지 않는 것을 확인하고(3회 실험), 물 추출물과 methanol 추출물의 배양액중의 농도는 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1%가 되게 하였고, 3차의 예비실험 결과 hexane 분획물과 chloroform 분획물은 그 물질들의 증식 억제 정도가 커서 물과 methanol 추출물보다 1/10 농도로 희석하여 배양액 중의 농도가 0.01%, 0.03%, 0.05% 되도록 첨가한 후 멸균하였다. Estragole의 첨가는 0.5 ml의 DMF(N,N-methylformamide)에 녹여 배지 첨가농도 0.01%, 0.03%, 0.05%로 하였다. 멸균된 배양액에 대수기의 균 현탁액 1 ml를 각각 접종하여 37°C, 200 rpm으로 진탕배양하였다.

**증식 측정**—효모의 증식은 균 접종후 6시간 단위로 spectrophotometer(Spectronic 20D, Milton Roy Co.)를 사용하여 600 nm에서 흡광도(optical density)를 측정하였다. 곰팡이의 증식은 건조균체 측정법을 이용하여 배양액을 여과지(Whatman No. 2)로 고정된 funnel을 통하여 여과한 다음 40 ml의 멸균된 생리식염수(0.9%)와 증류수로 mycelia를 각각 1회 세척하였다. 여과지를 funnel에서 분리한 후 90°C에서 10시간 건조시킨 다음 desiccator에 24시간 방치한 후 중량을 측정하였다.

### Ethanol 생산 측정

방아 추출물의 ethanol 대사에 미치는 영향을 파악하기 위하여 효모 *S. cerevisiae*의 증식을 측정할 시간에 맞추어 배지중의 ethanol 생산량을 측정하였다. 생산된 ethanol 정량은 n-propanol을 internal standard로 하여 gas chromatography(Hewlett Packard series II)를 사용하여 측정하였다. 이때 이용된 column은 fused silica capillary column(DB-5), detector는 FID, injector 온도는 260°C, 온도 program은 50~100°C, sample injector량은 0.2  $\mu$ l였다. 시료준비는 시험관에 배양액과 1% propanol 용액을 각각 0.5 ml씩 넣고 여기에 sodium bisulfate와 calcium sulfate의 혼

합물(1:1) 2 g을 천천히 녹인 다음 n-butanol을 0.5 ml 넣고 3,000 rpm, 20분간 원심분리하여 n-butanol 층을 작은 vial에 모으고, 여기에 anhydrous potassium carbonate 150 mg을 첨가하여 5분 이상 정치시킨 후 GC 분석에 사용하였다.

### 효소 활성 측정

**$\alpha$ -amylase 활성**—방아 추출물이 *A. oryzae*의  $\alpha$ -amylase 활성에 미치는 영향을 측정하기 위하여 *A. oryzae*를 PDA 배지(30 ml)에 접종하여 37°C, 200 rpm에서 진탕배양한 후 균체를 제거한 다음 그 여액을 이용하여 Blue value 법<sup>16)</sup>으로 측정하였다. 시험관에 2% 가용성 전분 2 ml, 0.5 M acetate buffer(pH 5.0) 1 ml를 가한 후 효소액 1 ml를 가하고 37°C water bath에서 30분간 반응시킨 다음 0.5 N acetic acid 10 ml를 넣어 반응을 중지시킨 후 이 용액 1 ml를 취하여 1/3,000 N 요오드용액 10 ml에 정색하여 660 nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다. 동일한 기질과 완충액을 넣어 같은 조건으로 반응시킨 후 0.5 N acetic acid 용액 10 ml를 가한 후 효소액을 가하여 blank test 값으로 하였다. 효소활성 단위는 37°C에서 30분간 blue value를 10% 저하시키는 효소역가를 1단위로 표시하였다.

**Glucoamylase 활성**—방아추출물이 *A. niger*의 glucoamylase 활성에 미치는 영향을 측정하기 위하여 *A. niger*를 PDA 배지(30 ml)에 접종하여 37°C, 200 rpm에서 진탕배양한 후 균체를 제거한 다음 그 여액을 이용하여 Somogyi-Nelson 법<sup>17)</sup>으로 측정하였다. 시험관에 1% 가용성 전분액 1 ml와 0.5 M acetate buffer(pH 5.0) 0.5 ml를 가하여 37°C의 water bath에서 5분간 예열하고 효소액 0.5 ml를 가하여 10분간 반응시킨 후 Somogyi reagent 2 ml를 가한 다음 30분간 끓인 후 냉수로 냉각시켰다. 충분히 냉각시킨 후 Nelson reagent 1 ml를 가하여 20분간 실온에 방치한 후 20 ml로 정용하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성도는 효소액 1 ml가 가용성 전분으로부터 생성한 glucose 양( $\mu$ g)을 포도당 표준검량선을 이용하여 계산하였다.

**Invertase 활성**—방아의 주 향기성분인 estragole이 효모의 invertase 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 배양액 3 ml를 8,000 rpm에서 15 분간 원심분리하여 균체를 회수한 후 증류수로 2회 세척하였다. 세척한 균체를 2.0 ml로 희석하여 1.5 ml를 취하여 0.3 M acetate buffer(pH 4.6) 0.5 ml과 혼합한 후 30°C water bath에서 10% sucrose 용액(w/v) 1 ml를 넣고 3분간 반응시켰다. 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 1.5 ml를 첨가하여 끓는 물속에서 5분간 반응시킨 후 흐르는 물에 냉각시킨 다음 증류수 10 ml를 혼합하고 540 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 의하여 in-

vertase activity로 환산하였다. 이때 invertase activity unit는 30°C, pH 4.6(18,19)에서 10% sucrose와 3분간 반응하여 생성된 1 g의 glucose를 1 unit로 하였다.

**세포 관찰**

*S. cerevisiae*의 estragole 처리군과 대조군의 세포 형태를 전자현미경(scanning electron microscope, SEM)을 사용하여 관찰하였다. MP broth에 0.01% estragole을 첨가하여 24시간 동안 배양한 지시균에서 세포를 회수하고 2.5% glutaraldehyde로 slide glass에 고정한 후 80% alcohol로 탈수하여 gold coating하여 SEM(JSM-6400, JEOL. Ltd.)으로 가속전압 10 KV에서 촬영하였다. 대조군으로는 같은 시간에 배양한 estragole 비처리 지시균을 사용하였다.

**결과 및 고찰**

**진균류의 증식**

*Saccharomyces cerevisiae*와 *S. ellipsoideus*—물 추출물을 첨가하여 30°C에서 48시간 배양한 *S. cerevisiae*와 *S. ellipsoideus*의 증식곡선은 Fig. 3(a)와 같으며 두 균주에서 유사한 경향을 나타냈다. 시료 전농도에서 대조군에 비해 *S. cerevisiae*와 *S. ellipsoideus* 두 균주의 증식이 억제되었으며 첨가농도 1%에서 완전한 증식억제가 나타났다.

방아의 methanol 추출물을 첨가한 배양에서 *S. cerevisiae*의 증식은 Fig. 3(b)와 같이 첨가농도 0.1%에서 배양 24시간부터 증식이 다소 억제되었으나, 0.3%와 0.5%에서 증식이 크게 억제되었다.

Methanol 추출물로부터 분획한 hexane 분획물을 농축한 다음 농축액이 *S. cerevisiae*의 증식에 미치는 영향을 측정 한 결과는 Fig. 4와 같이 농도가 증가함에 따라 억제효과가

커졌으나, chloroform 분획물 첨가군에서는 그 억제효과가 hexane 첨가군보다 적었다.

*S. cerevisiae*의 증식 억제가 가장 강한 methanol 추출물 0.5% 보다 1/10 농도의 hexane 분획물(0.05%)을 첨가했을 때 methanol과 유사한 증식억제 효과가 있음을 알 수 있듯이, 방아에 대한 *S. cerevisiae*의 증식억제 효과는 hexane 분획에서 크게 나타났다.

Hexane분획의 실험결과에 따라 hexane 분획의 주성분이며 향기성분인 estragole을 첨가하여 *S. cerevisiae*와 *S. ellipsoideus*의 증식에 미치는 영향을 관찰(Fig. 5)한 결과 estragole이 *S. cerevisiae*의 증식을 억제하는 효과는 거의 없는 것으로 나타났다. 그러나 *S. ellipsoideus*는 첨가농도 0.01%, 0.03% 모두 유도기와 대수기의 연장 없이 증식하여 30시간에 대조군 보다 각각 16.8%, 27.7%의 증식 억제를 보이며, 0.05%는 유도기가 12시간 연장된 후 증식기의 증식경사가 완만하게 나타나 배양 48시간에 대조군의 약 66.0%에 머물렀고, 증식기가 약 30시간 정도 지속되었다.

방아 추출물과 분획물이 세균의 증식에 미치는 영향을

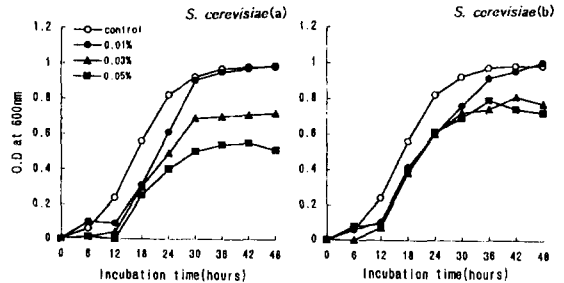


Fig. 4. The growth of *S. cerevisiae* in the presence of hexane (a) and chloroform fraction (b) from *A. rugosa*.

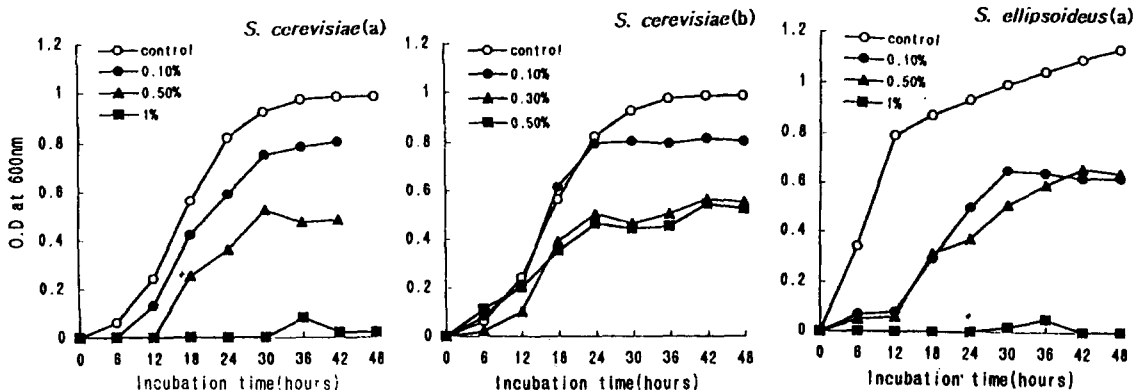


Fig. 3. The growth of *S. cerevisiae* and *S. ellipsoideus* in the presence of water (a) and methanol extract (b) from *A. rugosa*.

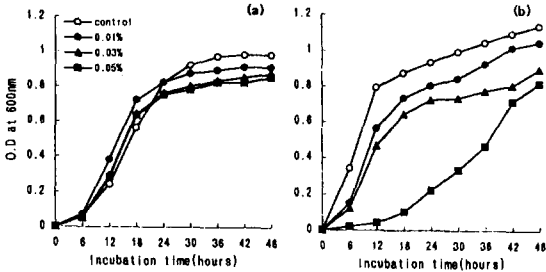


Fig. 5. The growth of *S. cerevisiae* (a) and *S. ellipsoideus* (b) in the presence of estragole identified from *A. rugosa*.

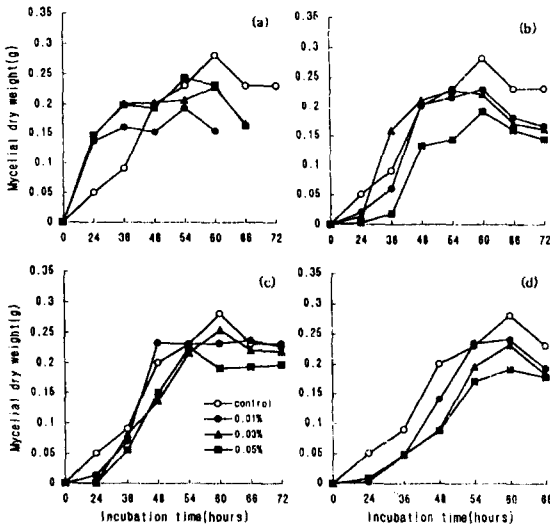


Fig. 6. The growth of *A. oryzae* in the presence of water (a), methanol exact (b), hexane fraction (c), and chloroform fraction (d) from *A. rugosa*.

보고한 것<sup>14)</sup>과 비교하면 물 추출물(1%)에서 거의 완전한 증식억제를 보인 것과 함께 모든 시료의 농도에서 세균의 증식억제 정도와 동일한 효과를 나타내었다.

*Aspergillus oryzae*와 *A. niger*—시료를 첨가하여 *A. oryzae*의 증식을 측정된 결과(Fig. 6) 전체시료의 전농도에서 모든 시료가 대조군에 비해 이 균의 증식을 억제시켰고 시료 첨가농도가 높아질수록 억제정도가 커졌으나 현저한 차이는 아니었다. 다만 물 추출물은 유도기를 대폭 단축시켰으나, 나머지 methanol, hexane, chloroform 추출물은 유도기를 24시간 정도 연장시켰다. *A. niger*의 증식 역시 *A. oryzae*와 같이 물 추출물에서 다소 촉진되었고 나머지 추출물은 증식을 억제시켰으나 억제효과와 유의성은 없는 것으

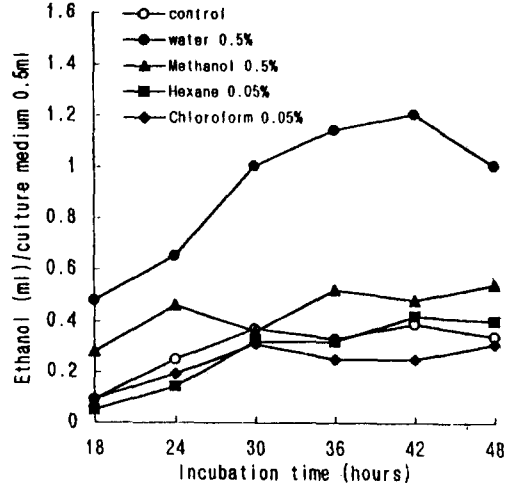


Fig. 7. The effects of extracts and fractions from *Agastache rugosa* on the unit of ethanol production by *S. cerevisiae*.

로 나타났다.

Ethanol 생산

*S. cerevisiae*의 ethanol 생성량을 측정된 결과는 Fig. 7과 같다. *S. cerevisiae*는 물 추출물 0.5% 첨가시 ethanol 생성이 대조군보다 많았으며 배양 42시간에 최대에 이르렀고 최대치가 대조군의 3배 정도 되었다.

Methanol 추출물은 대조군보다 모든 농도에서 ethanol 생산량이 증가하였고, 특히 0.5% 첨가군이 대조군보다 많이 생성하였다. Hexane 분획물 처리군은 전체적으로 대조군과 비슷한 수준이었고, chloroform 분획 첨가군은 배양 12시간까지 ethanol 생산이 없었고 배양 30시간에 최대치를 나타냈으나 대조군의 생성량에 미치지 못했다. 결과적으로 본 실험에서 methanol 추출물 0.5% 첨가군이 대조군 보다 ethanol 생성을 다소 촉진시킨 것을 제외하고는 물 추출물에서 나타난 바와 같은 ethanol 생성을 크게 촉진한 성분을 찾지 못했다.

효소활성

방아 추출물들을 첨가하여 측정된 *A. oryzae*의  $\alpha$ -amylase의 활성과 *A. niger*의 glucoamylase의 활성은 Fig. 8과 같다. 물 추출물 첨가군에서 *A. oryzae*증식은 대조군에 미치지 못했으나  $\alpha$ -amylase의 활성은 다소 높게 나타났고 그 활성이 지속되었다. 다른 물질 첨가군에서 볼수 없는 지속적인 활성을 설명할 방법이 없다. *A. niger*의 glucoamylase의 최대활성은 배양 60시간에 시료 첨가농도 0.1%(물 및

methanol 추출물) 또는 0.01%(hexane 분획물 및 chloroform 분획물)에서 물 추출물이 대조군의 72.7%, hexane 분획물이 11.9%, chloroform 분획물이 2.5%에 불과하였으나 methanol 추출물은 배양 54시간의 결과(2회 실시) 역시 설명할 수 없다. 첨가농도 0.5%(물 및 methanol 추출물) 또는 0.05%(hexane 분획물 및 chloroform 분획물)에서 물 추출물이 대조군의 49.6%, methanol 추출물이 46.0%, hexane 분획물이 18.8%, chloroform 분획물이 0.008%로 그 억제정도가 매우 커  $\alpha$ -amylase 활성과는 대조적이다. 그러나 *A. oryzae*가  $\alpha$ -amylase의 활성이 *A. niger*보다 강하고, *A. niger*의 glucoamylase의 활성이 *A. oryzae*보다 강하다고 해도 glucoamylase의 특이 기질인 p-nitrophenyl- $\alpha$ -glucoside를 이용한 활성시험을 실시치 못하여 정확한 비교를 할 수 없었다.

방아의 주 향기성분인 estragole이 *S. cerevisiae*의 invertase 활성에 미치는 영향은 Table 1과 같다. *S. cerevisiae*의 대수증식이 배양 12시간(Fig. 5)에 시작되는 반면, 효소 활성은 30시간에 급격히 높아져 최고의 활성을 나타낸 36시간에 대조군의 약 57.5% 정도로 invertase 활성을 억제

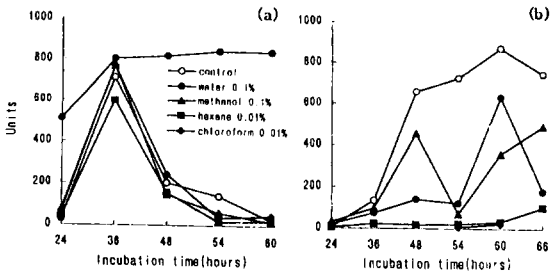


Fig. 8. The effects of extracts and fractions from *A. rugosa* on the  $\alpha$ -amylase (a) by *A. oryzae* and glucoamylase (b) by *A. niger*.

Table 1. The effect of estragole on the invertase activity by *S. cerevisiae*

Time (hrs)	Invertase activity (unit) <sup>1)</sup>	
	Control	Estragole (0.05%)
12	0.46 <sup>2)</sup> ±0.04	0.52±0.28
18	6.30±0.57	1.61±0.22
24	5.55±0.68	0.97±0.27
30	27.67±8.30	14.67±0.88
36	29.00±2.04	16.67±0.62
42	15.67±1.32	13.83±1.55
48	7.75±0.25	7.68±0.77

Remarks: 1) One unit represents the 1 g of glucose liberated from 10% sucrose (1.5 ml) for 3 min at 30°C, 2) Means of activity and standard error (n=3)

시켰다. Leucine 첨가량이 invertase 활성에 미치는 영향을 살펴본 결과(18), leucine 0.3 g/l를 첨가한 경우 활성이 가장 높게 나타난 반면, leucine 0.6 g/l 이상 과량 첨가된 경우 invertase 활성이 오히려 저하되는 경향을 나타내어 leucine 첨가량이 과다하면 invertase 발현에 큰 영향을 미친다는 것도 보고가 있었으나 본 연구에서는 단일 농도(0.05%) 첨가 결과 뿐이므로 단정할 수 없다.

### 세포 관찰

대부분의 효모에서 세포자체의 내성은 원형질막<sup>20)</sup>의 능력과 관계가 있다고 한다. 시료첨가에 따라 증식이 억제 되었으므로 세포벽 또는 세포에 손상이 있을 것으로 보고 그 손상정도를 확인하기 위하여 estragole 0.01%를 처리한 지시균의 scanning electron micrograph를 대조군의 것과 비교하여 보았다.

*S. cerevisiae*의 세포는 estragole 처리한 세포에 비해 비교

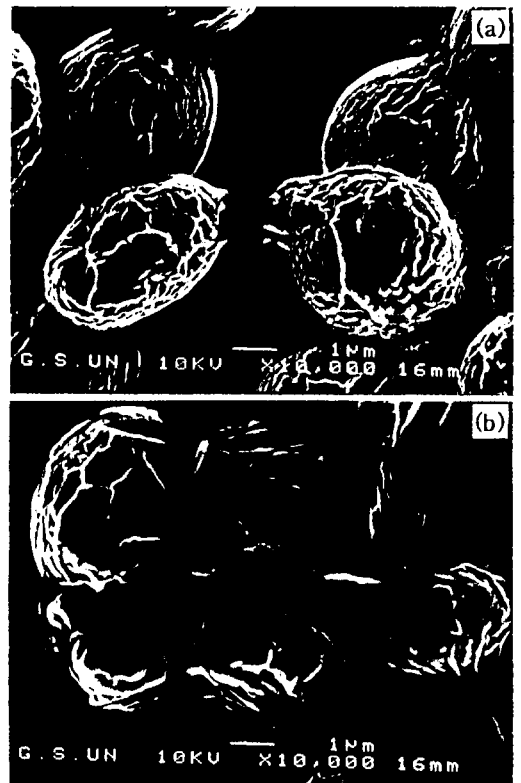


Fig. 9. Scanning electron microscopic view of *S. cerevisiae* treated with 0.01% estragole. (a: control, b: 0.01% estragole treated).

적 세포벽의 표면이 매끄러워 보이거나, estragole 처리한 세포는 표면이 심하게 손상되어 있고 세포의 파편도 떨어져 나와 있다(Fig. 9). 이는 estragole이 단백질 변성에도 영향을 미칠 수 있는 phenol성 물질로 세포막에 있는 효소의 비활성 또는 단백질 변성을 일으켜 세포막과 벽의 손상과 원형질 이탈을 일으킨 것이 아닌가 생각된다.

식품 및 농축산물 식품원료에 오염되어 식품의 변질 및 독소물질의 생성현상을 일으키는 *Penicillium* sp.의 conidia가 grapefruit seed extract(GFSE) 처리에 의하여 포자 형태 뿐 아니라 포자 구조변형 및 내용물의 유실로 정상적인 발

아기능과 생식기능이 파괴되는 현상을 조 등<sup>21)</sup>이 보고하였다. 이로써 bacteriocin, GFSE와 같이 이 물질이 미생물의 효소의 기능을 저해<sup>22)</sup>하고, 세포막 및 세포벽의 기능 상실로 인한 내용물이 유실된 것으로 본다.

## 감사의 글

본 연구는 1992년도 한국과학재단 연구비지원(KOSEF 921-1500-012-2)에 의하여 수행되었으며, 지원에 감사드린다.

## 국문요약

향신료로 제공되는 방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)의 물과 methanol 추출물, methanol 추출물의 chloroform과 hexane 분획물, hexane 분획물의 주 성분인 estragole을 재료로 하여 진균류(*Aspergillus oryzae* KFCC 890, *A. niger* KCCM 11240, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4597, *S. ellipsoideus* PNU 2215)의 증식과 효소활성에 미치는 영향을 조사한 결과는 다음과 같다. 방아의 물 추출물(1%), hexane 추출물과 estragole(0.05%) 첨가군에서 *S. cerevisiae*의 증식은 각각 대조군의 93%, 50%, 33%의 억제효과를 나타내었고, *S. ellipsoideus*의 증식도 현저하게 억제되면서 유도기도 최고 12시간 연장되었다. *A. oryzae*의 증식은 모든 추출물과 분획물의 첨가로 억제되었다. *S. cerevisiae*의 ethanol 생산은 물 추출물 0.5% 첨가군에서 배양 42시간에 대조군의 최고 2배 이상이었으나, chloroform 추출물은 ethanol 생산을 억제 하였다. *A. niger*의 glucoamylase 활성은 전체 첨가군에서 억제되었고 농도가 높을수록 억제정도가 크게 나타났다. *S. cerevisiae*의 invertase 최대활성은 estragole 0.05% 첨가군에서 대조군의 57.5%에 그쳤고, 전자현미경으로 관찰한 *S. cerevisiae*의 세포는 세포벽이 손상되어 형태가 불규칙하고 작은 세포의 파편이 관찰되었다.

## 참고문헌

- Ibrahim, H.R., Kato, A. and Kobayashi, K.: Antimicrobial effects of lysozyme against gram-negative bacteria due to covalent binding of palmitic acid, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 2077(1991).
- Fukai, K., Ishigami, T. and Hara, Y.: Antimicrobial effects of tea polyphenols against phytopathogenic bacteria, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 1895(1991).
- Himejima, M. and Kubo, I.: Antibacterial agents from the Cashew *Anacardium occidentale*(Anacardiaceae) nutshell oil, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 418(1991).
- Zaika, L.L. and Kissinger, J.C.: Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus cerevisiae*, *J. Food Science*, **46**, 1205(1981).
- Dewit, J.C., Notermans, S., Gorin, N. and Kampelmacher, E.H.: Effect of garlic oil or onion oil on toxin production by *Clostridium botulinum* in meat slurry, *J. Food Protection*, **42**, 222(1979).
- Johnson, M.G. and Vaughn, R.H.: Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion, *Appl. Microbiol.*, **17**, 903(1969).
- Lee, H.Y., Kim, C.H., Sung, T.K., Mun, T.K. and Lim, C.J.: Antibacterial activity of *Ulmus pumilus* L. extract, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 1(1992).
- Park, U.Y., Chang, D.S. and Cho, H.R.: Screening of antimicrobial activity for medicinal herb extracts, *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **21**, 91(1992).
- 이덕봉: 한국 동식물도감, 식물편(유용식물), 문교부, 405(1961)
- 이창복: 대한 식물도감, 향문사, 649(1979).
- 김재길: 원색 천연약물 대사전, 남산당, 498(1984).
- Ahn, B. and Yang, C.B.: Chemical composition of Bangah(*Agastache rugosa* O. Kuntze) herb, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **23**, 375(1991)

13. Ahn, B. and Yang, C.B.: Volatile flavor components of Bangah(*Agastache rugosa* O. Kuntze) herb, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **23**, 582(1991).
14. 박재림, 김정옥, 강혜윤, 김운영, 천화정: 방아(*Agastache rugosa* O. Kuntze)로부터 동정된 estragole과 방아 추출물의 항균효과, *J. Food Hyg. Safety*, **10**, 181(1995).
15. Gudzinowicz, B.J. and Guzinowicz, M.J.: Analysis of drugs and metabolites by gas chromatography mass spectrometry, New York and Basel, Mercel Dekker, Inc., 1, 102(1977)
16. Jun, Y.S. and S.H. Park, Study on the utilization of rice straw for production of microbial amylase, 부산대학 자연과학논문집, **33**, 345(1982).
17. Norton Nelson: A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose, May Institute for Medical Research of the Juwish Hospital, and the Dept. of Biological Chemistry, College of Medicine, University of Cincinnati, 375(1944).
18. Shin, H.H., Cho, J.S., Park, H.Y. and Pyun, Y.R.: Effect of amino acids and dissolved oxygen on expression invertase in recombinant *Saccharomyces cerevisiae*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 384(1992).
19. Lim, H.G, Kim, K.H and Seo, J.H.: Effects of sucrose on Invertase expression in recombinant *Saccharomyces cerevisiae*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **20**, 417(1992).
20. Park, J.K., Peck, S.Y. and Yoo, Y.J.: Temperature effects and optimization for ethanol fermentation, *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.*, **17**, 619(1989).
21. Cho, S.W., Lee, H.C., Seo, I.W., Kim, Z.U., Chang, Y.S. and Shin Z. I.: Efficacy of grapefruit seed extract in the preservation of *Satsuma mandarin*, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **23**, 614(1991).
22. Davidson, P.M. and Branden, A.L.: Antimicrobial activity of non-halogenated phenolic compounds, *J. Food Protect.*, **44**, 623(1981)