2014 목재화학 및 실험

9주차 수목 정유 성분의 생리활성 (II) – 수목 정유의 항진균 유효 성분 구명

조교: 류 가 희

1. 실험목표

TLC bioassay를 통한 수목 정유 성분의 항진균 활성 평가.

2. 실험재료

① 수목 정유

1조: 삼나무

2조: 편백나무

3조: 전나무

② 균: *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum*

③ 배지: SDA (sabouraud Dextrose Agar) 배지

④ 실험 기기: Autoclave, Stationary-incubator, Clean bench, GC-MS

3. 실험방법

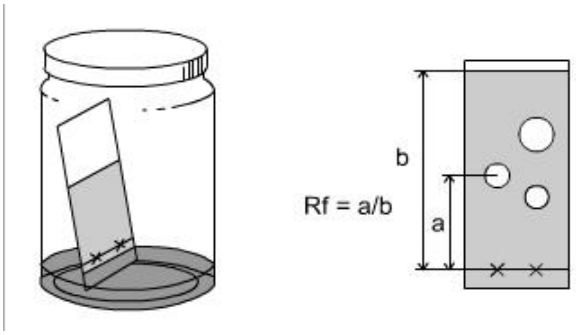
① SDA (sabouraud Dextrose Broth) 배지를 준비한다. – Auto-clave(121℃, 15분)에서 멸균

② 수목 정유 분획: TLC (Thin Layer Chromatography)

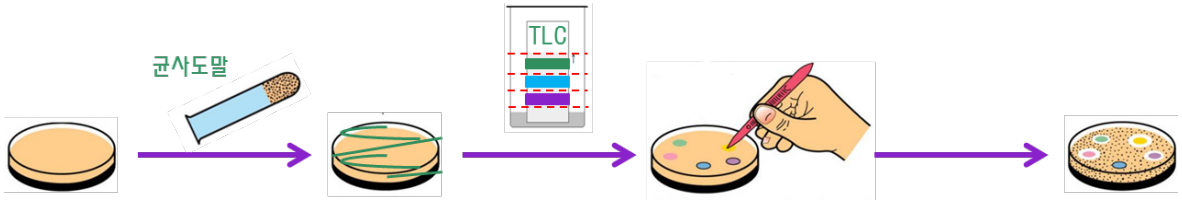
- 정유 5mg/㎖를 ethyl acetate 에 용해]
- TLC plate 에 loading
- Hexane: Ethyl Acetate (8:1, v/v)의 용매에 전개
- Phosphomolybdic acid (발색시약) 뿌려서 양상 확인
- 양상에 따라 다수의 spot 으로 구분

TLC bioassay

TLC plate 상에서 상대적 이동도로 분리된 spot 을 발색시약이나 UV 흡수를 이용하여 확인하여 분리된 정유의 생리활성을 알아본다. 본 실험에서는 분리된 spot 으로 항진균 활성을 알아 볼 것이다.



③ 이동도로 분리된 정유 성분을 분획하여 나누고 나누어진 TLC plate(분획된 성분을 함유하고 있음)를 자른다.
④ 선배양된 균주를 멸균수를 이용하여 포자현탁액 준비
⑤ Petri Dish에 SDA 배지를 넣고 굳힌다.
⑥ 굳은 SDA 배지 위에 포자현탁액을 도말한다.
⑥ 포자현탁액이 도말된 배지 위에 수목 정유 분획물을 함유하고 있는 TLC plate를 고정시킨다.



⑦ 28℃에서 배양
⑧ 7 일이 지난 후 균사의 억제환을 확인
⑨ 가장 효과가 높았던 분획 부분의 성분 분석(GC/MS)을 실시
⑩ GC-MS로 수목 정유 분획물의 성분 분석 실시

4. Report

① 수목의 정유 성분은 terpenoids로 이루어져 있는데 terpenoids는 무엇이며 그 종류에 대하여 조사하시오(monoterpene, sesquiterpene, diterpene 등등).
② 항균 활성 유효성분에 대해 조사하시오.
③ GC-MS 원리에 대해 서술하시오.
④ 본 실험 결과를 다른 조의 결과와 비교하여 서술하시오.