

# 眞菌類의 相互作用에 의한 Aflatoxin 生成能에 關한 研究

忠北大學校 家政教育科

金 雲 珠

延世大學校 醫科大學 豫防醫學教室

鄭 勇·權 肅 杓

—Abstract—

## Effect of Various Fungi on the Aflatoxin Productivity in the Culture of *Asp. Flavus*.

En Ju Kim

Department of Home Economical Education, Chung Buk National University

Yong Chung and Sook Pyo Kwon

Department of Preventive Medicine & Public Health, Yonsei University College of Medicine,

This study was attempted to know that the interactions of various fungi, and methionine and  $MgSO_4$  introduced as the substrate of culture media for fungi were affected to produce aflatoxins by *Asp. flavus*.

5 different fungi were isolated from the fermented soybean mash and were cultured in Chemically Defined medium (C.D. media) and soybean mash at 25°C for 10 days.

(1) It was confirmed that *Asp. flavus* produced aflatoxins in the C.D. medium and soybean mash, but that *Asp. niger*, *Asp. oryzae*, *Asp. awamori* and *Asp. terreus* did not produced them respectively.

(2) *Asp. flavus* cultured with *Asp. niger* did not produce aflatoxins in C.D. medium, but produced in soybean mash, in other hand, *Asp. flavus* with other fungi except *Asp. niger* produced aflatoxins in C.D. medium and soybean mash.

(3) The growth of fungi were more prosperous in the seperate culture than in the mixed culture.

(4) In the C.D. medium added 20% of cultured medium of *Asp. niger*, *Asp. flavus* did not produce aflatoxins but other cultured medium did not prohibit the production of aflatoxins by *Asp. flavus*.

(5) On the contrary,  $MgSO_4$  increasing the productivity of aflatoxins by *Asp. flavus* in the C.D. medium, methionine known as one of precursor of aflatoxins did not affected the increasing productivity with significance.

## I. 緒 論

1960年 英國에서의 10萬餘 질년조의 倒死事件<sup>1, 2)</sup>이 땅콩飼料에 번식된 眞菌類의 일종인 *Aspergillus flavus* Link ex Fries의 第2次 代謝産物인 aflatoxin에 기인한다는 것이 Sargeant等에 의하여 알려졌다.

이러한 aflatoxin은 強力한 發癌物質로서 동물의 肝臟, 胃 및 腎臟 等の 癌의 原因이 된다고 한다.<sup>2-4)</sup> 또한 Davidson과 Alpert等은 人間들이 Aflatoxin에 汚染되었던 飮食物을 攝取한 後 肝肥大, 肝纖維化 및 急性肝炎을 일으켰다고 보고하였고<sup>5)</sup> Seel等은 韓國人 胃癌의 發病率 頻도가 높은 理由를 常用 醱酵食品中 메주 中에서 *Aspergillus flavus*等 有害 곰팡이의 寄生 및 이들의 產生하는 aflatoxin에 의한다고 보고하였다<sup>6)</sup>.

특히 穀類와 곰팡이 醱酵食品을 많이 攝取하는 東南亞에서 食品에 의한 aflatoxin의 攝取量과 肝癌 發生率 間에 높은 相關성이 있다고 하는 최근의 疫學的 調査 研究<sup>7-11)</sup>에 따라 aflatoxin은 人間發癌率과 密接한 關係가 있다고 밝혀졌다<sup>12)</sup>.

Aflatoxin은 醱酵食品 및 肝臟穀類인 大豆, 땅콩, 쌀, 수수, 옥수수, 맥아와 우유 등 蛋白質이 많이 含有된 食品에 곰팡이가 寄生하여 產生된다<sup>13)</sup>.

Aflatoxin을 生成하는 菌株는 主로 *Aspergillus* Sp.와 *Penicillium* Sp.로 *Aspergillus flavus* 이외에 *Asp. parasiticus*, *Asp. niger*, *Asp. ruber*, *Asp. wentii*, *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. puberulum*, *P. frequentans* 및 *P. variable* 등 9種이 알려졌다<sup>12, 13)</sup>.

또한 aflatoxin은 B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, B<sub>1a</sub> 및 B<sub>2a</sub> 등의 8種 以上이 알려졌다고 이들의 毒作用의 差異도 알려졌다.<sup>2, 14)</sup>

國內에서도 여러 學者들에 의하여 각종 食品 中에서의 유해 곰팡이의 汚染과 aflatoxin의 檢索의 調査結果가 報告되었다.

即 鄭 및 權 等은 各種 在來式 메주에서 aflatoxin G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>의 存在를 확인하였고,<sup>15)</sup> 李 等은 大豆 醱酵食品을 調査檢索한 結果 몇개의 試料에서 aflatoxin G<sub>1</sub>을 確認하였으며, aflatoxin 類似物質을 檢出 報告하였다.<sup>16)</sup> 柳 等은 재래식 메주 中에서 *Aspergillus flavus* 3株 6-8%,<sup>17)</sup> 鄭 等은 *Aspergillus flavus-oryzae* 株 4-5%를 檢索 報告하였다.<sup>18)</sup>

*Aspergillus flavus*는 自然中에 어디서나 흔히 存在하는 곰팡이<sup>19)</sup>로 濕度 및 溫度가 높은 곳일 수록 眞菌類의 繁殖率과 그 毒性物質의 產生量도 增加<sup>20)</sup>하며 이

러한 環境要素가 造成될 경우 致死量 以上의 aflatoxin이 檢出된다고 한다.<sup>24)</sup>

Aflatoxin을 生成하는 데에는 다른 미생물과의 共存에 의하여 큰 影響을 받는다고 하며 相互間의 生存競爭의 으로 자란다<sup>21)</sup>고 한다.

재래식 메주 中에서 aflatoxin 發見率이 10-20%<sup>18)</sup> 이었다는 報告는 各 眞菌類들의 汚染率과 그 繁殖條件에도 起因하겠으나 相互 眞菌類들 間에 競爭的 反應에 의한 原因 또는 한 菌株의 二代謝産物들이 다른 菌株에 成長發育을 抑制하여 그 毒素分泌를 阻害하는 경우도 생각하게 한다.

따라서 저자는 各 眞菌類 相互 作用에 의한 aflatoxin의 生成機轉과 各種 基質에 따른 진균류의 aflatoxin 生成에 미치는 影響을 究明하고자 이 研究에 着手하였다.

## II. 實驗方法

### 1. 實驗對象菌株

메주에서 分離 同定된 眞菌類인 *Aspergillus flavus*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* 및 *Aspergillus terreus*의 5株를 使用하였다.<sup>18)</sup>

### 2. 培養 培地

培養 培地는 Czapek-Dox 寒天 培地를<sup>25)</sup> 使用하였고 aflatoxin 產生檢索 培地로는 Chemical Defined medium<sup>26)</sup> (C.D. medium) 및 熟成熟 大豆를 使用하였다

### 3. 實驗 培養方法

#### 가. 眞菌類의 培養方法

Czapek-Dox 寒天 培地 C.D. medium 및 熟成熟 大豆 培地에 各 菌株들을 接種하고 各 己 25°C에서 10日 間 培養하였다.

이 때에 眞菌類는 다음 표와 같이 單獨 또는 混合 接種 培養하였다. (Table 1-1, Table 1-2).

Table 1-1. The mixed Fungi culture in Czapek-Dox agar medium

No.	kinds of fungus	medium
1	<i>Asp. flavus</i> + <i>Asp. awamori</i>	Czapek-Dox agar
2	<i>Asp. flavus</i> + <i>Asp. niger</i> .	Czapek-Dox agar
3	<i>Asp. flavus</i> + <i>Asp. oryzae</i>	Czapek-Dox agar
4	<i>Asp. flavus</i> + <i>Asp. terreus</i>	Czapek-Dox agar

**Table 1-2.** The fungi culture in chemically defined medium and soybean

No.	Kinds of fungus	medium
1	Asp. flavus	C. D medium
2.3.	Asp. niger	C. D medium
4.5.	Asp. oryzae	C. D medium
①	Asp. flavus	Soybean
②	Asp. oryzae	Soybean
6	Asp. flavus+Asp. awamori	C. D medium
7	Asp. flavus+Asp. niger	C. D medium
8	Asp. flavus+Asp. oryzae	O. D medium
9	Asp. flavus+Asp. terreus	C. D medium
③	Asp. flavus+Asp. niger	Soybean
④	Asp. flavus+Asp. oryzae	Soybean
⑤	Asp. flavus+Asp. niger+Asp. oryzae	Soybean

나. 混合培養液 調製 및 培養方法

Aflatoxin 생성 菌株엔 Asp. flavus가 他種真菌의 代謝産物에 의하여 aflatoxin 생성에 미치는 영향을 알기 위하여 다음과 같이 實驗하였다 (Table 2).

**Table 2.** Asp. flavus inoculated to the metabolite of various fungus.

No.	Kinds of cultured media by fungus	Amount of fungus culture media C. D medium (%)	C. D medium (%)
1	Asp. awamori	20	80
2	Asp. niger	20	80
3	Asp. oryzae	20	80
4	Asp. terreus	20	80

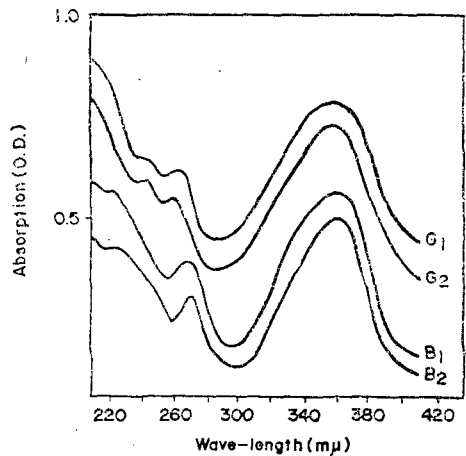
即 各 真菌類의 培養液을 여과하여 芽胞 및 菌體를 除去하고 그 液을 20% 되게 하여 새로이 調製된 C. D medium에 添加하고 Asp. flavus를 接種하고 25°C에서 10日間 培養하였다.

다. 基質의 添加 方法

真菌類가 aflatoxin 産生에 미치는 영향을 알기 위하여 C. D. medium에 基質인 Methionine<sup>22)</sup> 및 MgSO<sub>4</sub><sup>23)</sup>를 다음과 같이 添加하고 Aspergillus flavus를 接種 培養 하였다 (Table 3).

**Table 3.** Substrates added to the culture media

No.	kinds of fungus	substrate	medium
10	Asp. flavus	Methionine 10mg	C. D medium
11	Asp. flavus	Methionine 20mg	//
12	Asp. flavus	Methionine 50mg	//
13	Asp. flavus	Methionine 100mg	//
14	Asp. flavus	Methionine 10mg MgSO <sub>4</sub> 0.5g	//
15	Asp. flavus	//	//



**Fig. 1.** U. V. absorption spectrum of standard aflatoxins (methanol).

4. Aflatoxin 檢索方法

美國 AOAC 公定方法<sup>26)</sup>에 의하여 aflatoxin을 抽出하고 TLC 및 UV spectrum으로 確認하였다.

即 試料에 n-Hexane을 加하여 Blender에서 磨碎하고 脫脂하며 methanol 및 chloroform을 使用하여 抽出하고 column chromatography法에 의하여 精製 後 蒸氣浴上에서 蒸發 乾固시킨 다음, 이것을 methanol: chloroform (3:97 V/V%) 용액을 展開液으로 하여 Thin Layer Chromatography에 의하여 展開分離하였다. 이것을 紫外線燈(Ultra Violet Lamp, Blakray Long Wave. Model B-100A 3660A<sup>27)</sup>-units, curtin Co.) 下에서 標準 aflatoxin (美 FDA에서 분양 받은 것임)과 一致된 Rf 値를 求하고 그 標準 aflatoxin에 該當하는 部分을 分離하여 methanol로 抽出하고 Hitachi-Perkin Elmer Co. 製 Model 101 spectrophotometer로 Ultra Violet 吸光 spectrum을 測定하여 標準 aflatoxin의 spectrum (Fig. 1)과 比較하여 確認

하였다.

이 실험에 使用한 표준 aflatoxin 용액의 농도는 AOAC 法 (26,009)에 의하여 定하였고 波長 360m $\mu$ 에서의 最大 吸光度를 測定하고 分子量과 몰 吸光度 (Molar absorbance)에 의하여 計算하였다.

### III. 實驗結果

#### 1. 各 真菌類의 aflatoxin 生成能

메주에서 分離 同定된 5菌株의 C. D. medium 과 熟成熟 大豆 培地上에서 單獨混合·培養하였을 때의 aflatoxin 生成 與否를 檢査한 結果 다음과 같다.

이때 各 真菌類의 培養物 抽出液에 對한 Thin Layer Chromatogram 上的 樣相은 Fig. 2 및 Fig. 3과 같았다

이때 aflatoxin 과 類似한 物質에 對하여는 標準 aflatoxin 의 紫外線 吸光帶 (Ultra Violet Absorption Spectrum) Fig 1. 과 比較하여 확인되었다.

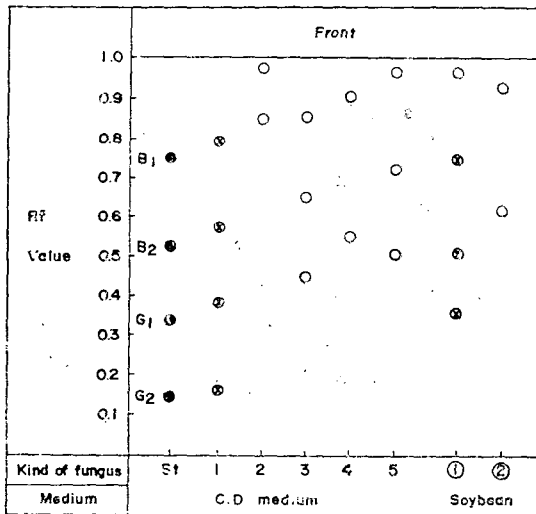


Fig. 2. TLC for the extracts from fungus culture.

- ⊗: The suspected aflatoxin
- St: Standard
- 1. Asp. flavus
- 2. Asp. niger
- 3. Asp. niger
- 4. Asp. oryzae
- 5. Asp. oryzae
- ① Asp. flavus
- ② Asp. oryzae

즉 C. D. medium 에서의 aflatoxin 生成 菌株는 Asp. flavus 이었고, 또 Asp. flavus 에 Asp. oryzae 株, Asp. terreus 株, Asp. awamori 株의 混合 培養하였을 때였다.

또한 aflatoxin 非生成 菌株로는 Asp. niger, Asp. oryzae 株들과 Asp. flavus 에 Asp. niger 株를 混合

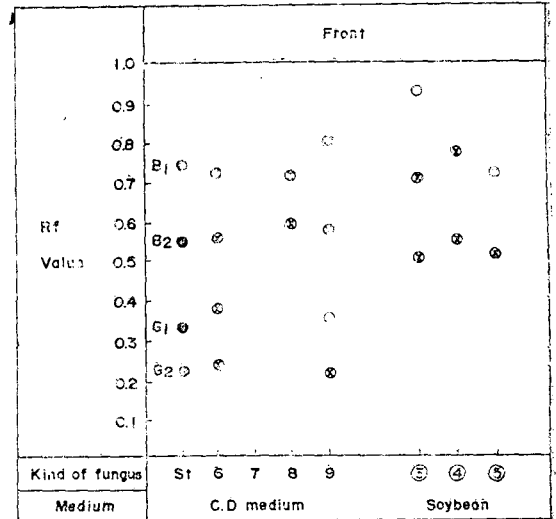


Fig. 3. TLC for the extracts from the mixed culture of fungi.

- ⊗: The suspected aflatoxin
- St: Standard
- 6. Asp. flavus+Asp. awamori
- 7. Asp. flavus+Asp. niger
- 8. Asp. flavus+Asp. oryzae
- 9. Asp. flavus+Asp. terreus
- ③ Asp. flavus+Asp. niger
- ④ Asp. flavus+Asp. oryzae
- ⑤ Asp. flavus+Asp. niger +Asp. oryzae

培養한 菌株이었다.

熟成熟 大豆 培地에서 Asp. flavus 以外の 菌株들은 aflatoxin 을 生成하지 아니하였고, Asp. flavus 에 Asp. niger 株 및 Asp. oryzae 株를 各己 2種 菌株씩 混合 培養하였을 때는 aflatoxin 生成이 認定되었다.

또한 Asp. flavus 에 Asp. awamori 株, Asp. niger 株를 3菌株 混合 培養하였을 때는 aflatoxin 生成이 認定되었다.

이때에 各種 真菌類에 의한 生成 aflatoxin 의 種類 및 그 生成량은 다음과 같다. (Table 4-1, Table 4-2).

#### 2. 各 真菌類의 生成度

各 真菌類들의 混合 培養하였을때 競爭的 生長度를 보기 위하여 Czapek-Dox 寒天 培地, C. D. medium 및 熟成熟 大豆 培地에서 培養하였다.

이 實驗은 真菌類들 間의 競爭的 生長에 따른 aflatoxin 生成 如否와의 關係를 알기 위한 것으로 그 結果는 다음과 같다. (Table 5-1, Table 5-2, Table 5-3).

즉 Asp. flavus 에 Asp. awamori 株, Asp. terreus 株들을 各기 Czapek-Dox 寒天 培地에서의 混合 培養

Table 4-1.

Aflatoxin productivity by fungus

No.	kinds of fungi	production of aflatoxin ( $\mu\text{g/ml}$ ) ( $\mu\text{g/gm}$ )				medium
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	
1	Asp. flavus	3.74	5.10	4.74	3.26	C. D. medium
2	Asp. niger	—	—	—	—	//
3	Asp. niger	—	—	—	—	//
4	Asp. oryzae	—	—	—	—	//
5	Asp. oryzae	—	—	—	—	//
①	Asp. flavus	1.74	3.17	—	2.77	Soybean
②	Asp. oryzae	—	—	—	—	//

Table 4-2.

Aflatoxin productivity by mixed culture of fungi

No.	kinds of fungi	production of aflatoxin ( $\mu\text{g/ml}$ ) ( $\mu\text{g/gm}$ )				medium
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>	
6	Asp. flavus+ Asp. awamori	2.72	2.85	3.34	2.21	C. D. medium
7	Asp. flavus+Asp. niger	—	—	—	—	//
8	Asp. flavus+Asp. oryzae	2.50	2.87	—	—	//
9	Asp. flavus+Asp. terreus	2.87	2.99	3.01	2.82	//
③	Asp. flavus+Asp. niger	1.63	3.77	—	—	Soybean
④	Asp. flavus+Asp. oryzae	1.57	3.82	—	—	//
⑤	Asp. flavus+Asp. niger +Asp. oryzae	1.75	3.87	—	—	//

Table 5-1. The growth rate of fungus in the Czapek-Dox medium

No.	kinds of fungus	growth rate	medium
①	Asp. flavus + Asp. niger	— ###	Czapek-Dox agar medium
②	Asp. flavus + Asp. oryzae	+ +	//
③	Asp. flavus + Asp. awamori	## —	//
④	Asp. flavus +Asp. terreus	## —	//

— . no growth      ###. properous growth  
+ . sparse growth

하였을 때 生長度는 Asp. flavus가 優勢하였고, Asp. oryzae 株는 Asp. flavus 株와 同一한 生長이었다. 또한 Asp. niger 株는 Asp. flavus 株보다도 탁월하게 優勢한 生長度를 나타내었다.

C. D. medium 에서는 Asp. flavus를 單獨 培養하였을 때 生長이 가장 優勢하였고, Asp. flavus에 Asp. awamori 株, Asp. oryzae 株를 각기 混合 培養하였을 때에는 Asp. flavus가 優勢하게 生長하였다.

또한 Asp. flavus에 Asp. niger 株를 混合 培養하였을 때에는 Asp. flavus가 전혀 生長하지 못하였고, Asp. niger 生長이 優勢하였다.

熟成熟 大豆 培地에서는 Asp. flavus가 C. D. medium 에서 보다도 生長率이 조금 낮은 편이었고, Asp. flavus에 Asp. awamori 株, Asp. oryzae 株를 각기 混合 培養하였을 때에는 C. D. medium 에서 보다도 生長率이 낮았다.

**Table 5-2.** The growth rate of fungi in the C. D medium and Soybean media

No.	kinds of fungus	The growth of Asp. flavus	medium
1.	Asp. flavus	###	C. D medium
2.	Asp. flavus+ Asp. awamori	##	"
3.	Asp. flavus+Asp. niger	+	"
4.	Asp. flavus+ Asp. oryzae	##	"
5.	Asp. flavus+ Asp. terreus	++	"
①	Asp. flavus	###	Soybean
②	Asp. flavus+ Asp. awamori	++	"
③	Asp. flavus+Asp. niger	+	"
④	Asp. flavus+ Asp. oryzae	##	"
⑤	Asp. flavus+ Asp. terreus	++	"
—, no growth		###, properous growth	
+ sparse growth			

**Table 5-3.** The growth rate of fungi (as the weight of mycelium)

No.	kinds of fungi	mycelium (g/100ml)	medium
1.	Asp. flavus	2.65	C. D. medium
2.	Asp. niger	3.87	"
3.	Asp. niger	3.34	"
4.	Asp. oryzae	2.47	"
5.	Asp. oryzae	2.31	"
6.	Asp. flavus+Asp. awamori	1.84	"
7.	Asp. flavus+Asp. niger	2.01	"
8.	Asp. flavus+Asp. oryzae	2.1	"
9.	Asp. flavus+Asp. terreus	1.13	"

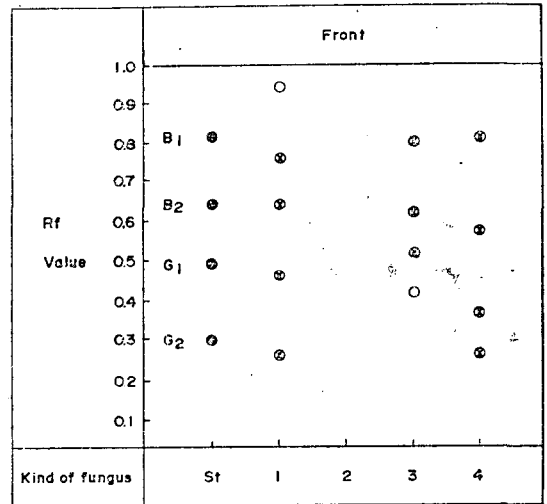
반면에 Asp. niger 는 C. D. medium 에서 보다도 生長率이 조금 優勢하였다.

이때에 C. D. medium 에서의 각 真菌類의 成長率을 그 mycelium 의 건조무게로 나타낸 결과는 다음과 같다. (Table 5-3)

이상의 결과로 보아 各種 培地上에서의 真菌類의 生長 樣狀은 混合 培養하였을 때, 單獨培養하였을때 보다는 그 生長度가 낮은 것을 관찰할 수 있었다.

**3. 混合 培養液에서의 Asp. flavus 의 aflatoxin 生成能**

Asp. flavus 가 他種 菌株의 代謝產物에 의한 aflatoxin 生成樣狀의 결과는 다음과 같다. (Fig 4, Table 6-1)



**Fig. 4.** TLC for Asp. flavus culture in the various culture medium.

⊗: The suspected aflatoxin  
St: Standard

1. Asp. flavus+Asp. awamori
2. Asp. flavus+Asp. niger
3. Asp. flavus+Asp. oryzae
4. Asp. flavus+Asp. terreus

**Table 6-1.** Aflatoxins production by Asp. flavus in the fungus culture medium.

No.	kind of culture medium by fungus	Production of Aflatoxins by Asp. flavus (mg/ml)			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
1.	Asp. awamori	1.77	2.38	2.94	2.71
2.	Asp. niger	—	—	—	—
3.	Asp. oryzae	0.84	2.21	2.30	—
4.	Asp. terreus	1.98	2.01	2.80	2.23

Asp. flavus 培養液에 각 真菌類의 培養液 20%를 混合하여 培養한 결과를 보면 다음과 같다.

즉 Asp. oryzae, Asp. terreus 및 Asp. awamori

培養液을 添加한 培地에서의 *Asp. flavus* 는 aflatoxin 을 生成하였고, *Asp. niger* 培養液에서는 生成하지 않았다. 이것은 *Asp. niger* 株의 有毒代謝產物로 *Asp. flavus* 의 生育에 阻害를 받는 것으로 생각된다.

또 混合 培養液에서의 *Asp. flavus* 의 成長度를 그 mycelium 의 건조 무게로 표시한 결과는 다음과 같다 (Table 6-2).

Table 6-2. The growth rate of *Asp. flavus* in the mixed culture.

No.	kind of the mixed combined with <i>Asp. flavus</i> .	weight of mycelium (g/100 ml)
1.	<i>Asp. awamori</i>	0.07
2.	<i>Asp. niger</i>	0.17
3.	<i>Asp. oryzae</i>	0.13
4.	<i>Asp. terreus</i>	0.15

各種 真菌類 培養液 添加 培地上에서의 *Asp. flavus* 의 成長度는 매우 부진하였다. 이는 各種 培地上에서의 *Asp. flavus* 單獨 또는 混合 培養하였을때 보다 매우 낮은 成長度를 나타내었다.

#### 4. 添加基質에 의한 aflatoxin 生成樣狀

*Asp. flavus* 에 methionine,  $MgSO_4$  를 添加 基質로 한 aflatoxin 生成 樣狀의 결과는 다음과 같다 (Fig 5, Table 7-1).

methionine 및  $MgSO_4$  를 基質로 添加하여 *Asp. flavus* 의 aflatoxin 生成에 미치는 영향을 實驗한 결과

Table 7-1. The Productivity of Aflatoxins by *Asp. flavus* in the medium added substrates.

No.	Substrate	Production of aflatoxin			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
10.	methionine 10mg	3.01	3.09	3.35	3.22
11.	methionine 20mg	3.45	3.66	3.98	3.04
12.	methionine 50mg	3.53	3.11	4.05	3.01
13.	methionine 100mg	3.37	3.58	4.23	3.03
14.	methionine 10mg. MgSO <sub>4</sub> 0.5g	4.96	5.55	4.78	3.34
15.	"	4.85	5.46	4.96	3.51
1.	—	3.67	5.10	4.14	3.26

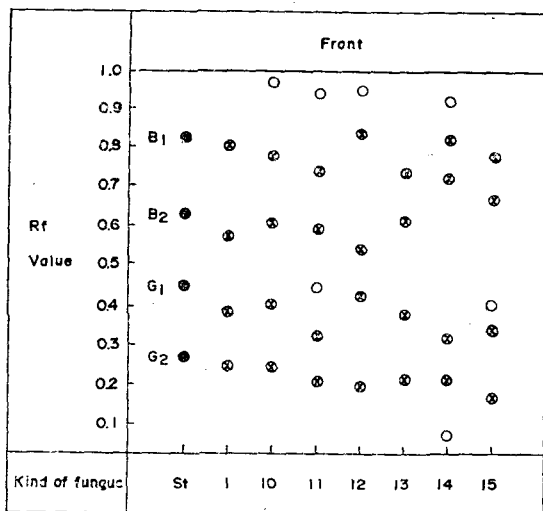


Fig. 5. TLC for culture medium of *Asp. flavus* in the combined medium with substrate.

⊗: The suspected aflatoxin

St: Standard

1. *Asp. flavus*
10. *Asp. flavus* (methionine 10mg)
11. *Asp. flavus* (methionine 20mg)
12. *Asp. flavus* (methionine 50mg)
13. *Asp. flavus* (methionine 100mg)
14. *Asp. flavus* (methionine 10mg,  $MgSO_4$  0.5g)
15. *Asp. flavus* (methionine 10mg,  $MgSO_4$  0.5g)

Table 7-2. The growth of *Asp. flavus* in the medium added substrates (as the weight of mycelium)

No.	substrate	mycelium (g/100ml)
10.	methionine 10mg	1.50
11.	methionine 20mg	1.57
12.	methionine 50mg	1.91
13.	methionine 10mg	1.63
14.	methionine 10mg MgSO <sub>4</sub> 0.5g	1.71
15.	"	1.83
11.	—	2.65

에서는 aflatoxin 의 前驅物質<sup>22)</sup>로 알려진 methionine 을 基質로 添加하였을때 aflatoxin 生成 促進度 反應에 영향은 없었으며 添加量 別로도 aflatoxin 生成 樣狀의

有意한 差를 볼 수가 없었다.

이것은 Hesseltin 등 soybean 에 methionine 을 基質로 添加하여 *Asp. flavus* 株를 接種 培養하였을 때 aflatoxin 生成度 증가에 影響이 없었다고<sup>22)</sup> 지적한 바와 일치하였다.

또한  $MgSO_4$ 를 methionine 과 같이 基質로 添加하였을 때 生長度에는 현저한 差異는 없었지만 aflatoxin 生成度에는 影響이 있었다.

*Asp. flavus* 의 生長度를 mycelium 의 건조무게로 표시한 결과에서도 각기 有意한 差異가 없었다.

#### Ⅳ. 考 察

자연중에서는 각종 醱酵食品 및 貯藏穀類에 여러 雜菌의 汚染기회가 많고 또한 有菌菌들이 分泌하는 mycotoxin 의 危險性에 대하여서는 많은 학자들에 의하여 경고되었다.

특히 한국민의 一常食品중의 하나인 메주등에서 *Asp. flavus* 의 寄生과 된장 간장등에 aflatoxin 이 檢出된다는 사실은, 식품위생 및 국민보건상 매우 우려되는 바이다. 그러나 재래식 메주에서의 aflatoxin 생성 菌株인 *Aspergillus flavus* 등의 發見率과 Aflatoxin 檢出率과는 반드시 일치하지 않으며, 재래식 메주에서 aflatoxin 의 檢出率은 대체로 10—20%라는 사실은 汚染된 各種 眞菌類의 相互作用 및 基質에 의한 影響이라고 생각할 수 있다.

이 研究結果에 따라 眞菌類의 成長 및 aflatoxin 生成은 他 眞菌類의 影響을 받으며 더우기 어느 眞菌類의 代謝產物은 *Asp. flavus* 등의 aflatoxin 生成에 影響을 미친다는 것을 관찰할 수가 있었다. 이 影響을 미치는 因子 또는 그 物質의 物理, 化學的 性質에 대하여서는 앞으로 규명되어야 할 것이다.

Aflatoxin 을 生成하는 데에는 生成菌株인 *Aspergillus flavus* 가 다른 微生物과의 相互間의 生存競爭의 所以로 共存에 의하여 큰 影響을 받을 뿐만 아니라, 環境인자로서 濕度, 溫度, 基質, 光線 및 기타 要因들이 갖추어질 경우 aflatoxin 또는 mycotoxin 生成에 크게 影響을 미칠 것이다.

C. D. medium 에서의 각 眞菌類의 混合배양하였을 때 aflatoxin 生成 樣狀을 볼 때 *Asp. niger* 에 의하여 *Asp. flavus* 의 aflatoxin 生成沮害는 매우 흥미 있는 일이다.

이것은 메주중에서의 aflatoxin 發見率과는 연관이 있는 것으로 생각된다.

그러나 熟成熟 大豆가 固體 培地임으로 菌體의 繁殖

範圍에 따라 그 影響의 範圍가 液體 培地와는 달리 매우 限定되기 때문에 생각된다.

또한 Ashworth 등 땅콩에 여러가지 곰팡이를 접종한 결과 *Asp. niger*, *Rhizoctonia Solani* 등은 *Asp. flavus* 의 生育과 基質에 있어서의 aflatoxin 生成을 制限한다고<sup>26)</sup> 보고하였고, Wildman 등은 *Penicillium Species* 가 *Asp. flavus* 와 競合의 所以로 生育할 때 aflatoxin 의 生産을 감소시킨다고<sup>27)</sup> 지적한 바와 대체로 유사한 결과를 얻었다.

한편 眞菌類의 aflatoxin 生成을 촉진할 것으로 생각되는 前驅物質<sup>22)</sup>인 methionine 을 첨가하였을 때 aflatoxin 生成에 影響이 없었고 이는 Hesseltin 등의 Soybean 에 aflatoxin 前驅物質인 methionine 을 添加하여 *Asp. flavus* 를 접종 배양한 결과 aflatoxin 生成에 큰 影響이 없었다는 보고와 일치하였다.

Aflatoxin 生成增加에 影響을 주고 必須物質로 알려진  $MgSO_4$ 를 添加 基質로 하였을 경우 生長度에는 현저한 차이는 없었지만 aflatoxin 生成度에는 影響이 있었다.

따라서 *Asp. flavus* 등 aflatoxin 生成菌株가 基質內에서의 aflatoxin 生成過程에 미치는 影響의 研究도 앞으로 각종 식품에 함유된  $MgSO_4$ 의 作用과 더불어 methionine 의 影響에 대하여 더욱 研究하여야 할 課題다.

이 研究는 各種 眞菌類의 aflatoxin 生成 機轉과 aflatoxin 의 生成 방식에 대한 研究에 조그마한 기여가 되기를 바란다.

#### Ⅴ. 結 論

재래식 메주에서 分離된 各 眞菌類의 相互作用에 의한 aflatoxin 의 生成機轉을 규명하고 methionine 및  $MgSO_4$  에 의한 *Asp. flavus* 의 aflatoxin 生成에 미치는 影響을 알기 위하여 실험 연구한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 各 眞菌類의 C. D. medium, 熟成熟 大豆 培地에서의 단독 및 混合 培養하였을 때 aflatoxin 生成 樣狀을 보면, C. D. medium 上에서의 aflatoxin 生成菌株는 *Asp. flavus* 株이었고 또한 *Asp. flavus* 에 *Asp. oryzae* 株, *Asp. terreus* 株, *Asp. awamori* 株의 混合 培養하였을 때에는 aflatoxin 이 生成되었다.

한편 aflatoxin 非生成菌株는 *Asp. niger*, *Asp. oryzae* 株이었고, *Asp. flavus* 에 *Asp. niger* 株를 混合 培養하였을 때 aflatoxin 이 檢出되지 않았다.



熟成熟大豆 培地上에서의 aflatoxin 生成菌株는 Asp. flavus 이었고, Asp. flavus 에 Asp. niger 株 및 Asp. oryzae 株를 각기 2種 菌株씩 混合 培養하였을 때와 Asp. flavus 에 Asp. awamori 株, Asp. niger 株를 3菌株씩 混合 培養하였을 때는 aflatoxin 이 검출되었다.

이때 단독 培養하였을 때 보다는 混合 培養하였을 때 aflatoxin 生成度가 낮았다.

2. Czapek-Dox 寒天 medium, C. D. medium 및 熟成熟 大豆 등의 培地上에서 各 眞菌類의 成長率을 보면; 單獨 培養하였을 경우보다 混合 培養하였을 때가 成長率이 낮았다.

3. Asp. flavus 培養培地에 Asp. awamori, Asp. oryzae, Asp. terreus 및 Asp. niger 各 眞菌類의 代謝培養液을 添加 培養한 경우, Asp. awamori, Asp. oryzae, Asp. terreus 株들 培養液에서의 Asp. flavus 는 aflatoxin 을 生成하였고, Asp. niger 株 培養液에서 aflatoxin 이 檢出되지 않았다.

4. Methionine 및  $MgSO_4$  이 Asp. flavus 의 aflatoxin 生成에 미치는 영향을 보면;

methionine 을 基質로 添加하였을 경우 aflatoxin 生成에는 영향이 없었다. 그러나  $MgSO_4$  와 methionine 을 같이 基質로 添加하였을 경우도 成長度에는 현저한 差는 없었으나 aflatoxin 生成度에는 약간의 增加하는 경향이 있었다.

(本 研究는 1976年度 延世大學校 醫科大學 教授 研究 補助費로 遂行되었음.)

## 參 考 文 獻

- Sargent, K., Sheridan, A., O'Kelly, J., and Carnaghan, R. B. A.: *Toxicity Associated with Certain Samples of Groundnuts*, *Nature*, 1921: 1096, 1961.
- Schoental, R.: *Aflatoxins. Annual Review of Pharmacology*, 7:343, 1967.
- Wogan, G. N.: *Chemical Nature and Biological Effects of Aflatoxins*, *Bacteriological Reviews*, 30:460, 1966.
- Butler, W. H.: *Carcinoma of the Glandular Stomach in Rats given Diets containing Aflatoxin*, *Nature*, 209:90, 1966.
- Alpert, M. E., and Davidson, C. S.: *Mycotoxins. A Possible cause of Primary Carcinoma of the Liver*, *Amer. J. Med.* 46:325, 1969.
- Crane, P. S., Rhee, S. U., and Seel, D. J.: *Experience with 1,079 Cases of Cancer of the Stomach Seen in Korea from 1962 to 1968*, *Amer. J. Surgery*, 120:751, 1970.
- Shank, R. C., Wogan, G. N., and Gibson, J. B.: *Dietary aflatoxins and human liver cancer (I)*, *Food Cosmet. Toxicol.* 10:51, 1972.
- Shank, R. C., Wogan, G. N., Gibson, J. B., and Nondasuta A.: *Dietary aflatoxins and human liver cancer (II)*, *Food Cosmet. Toxicol.* 10:61, 1972.
- Shank, R. C., Gordon J. E., Wogan, G. N., Nondasuta, A., and Subhamani, B.: *Dietary aflatoxins and human liver cancer (III)*, *Food Cosmet. Toxicol.* 10:71, 1972.
- Shank, R. C., Bhamarapravati, N., Gordon, J. E., and Wogan, G. N.: *Dietary aflatoxins and human liver (IV)*, *Incidence of primary liver cancer in two municipal populations of Thailand*, *Food Cosmet. Toxicol.* 10:171, 1972.
- Shank, R. C., Siddhichai, P., Subhamarapravati N., Gordon, J. E., and Wogan, G. N.: *Dietary aflatoxins and human liver (V)*, *Durration of primary liver cancer and prevalence of hepatomegaly in Thailand*, *Food Cosmet. Toxicol.* 10:181, 1972.
- 김정숙: *Aflatoxin B<sub>1</sub> 및 G<sub>1</sub> 이 백서간에 미치는 영향에 관한 형태학적 및 자기 방사법적 연구*, 연세의대논문집, 4(2):80, 1971.
- Kurata, H., Tanabe, H., Kanota, K., Udagawa, S., and Ichirinoe, M.: *Studies on the population of toxigenic fungi in foodstuffs: Aflatoxin producing fungi isolated from foodstuffs in Japan*, *J. Food Hygienic society of Japan*, 9:29, 1968.
- Wogan, G. N.: *Chemical nature and biological effects of the aflatoxins*, *Bacteriological Reviews*, 30:460, 1966.
- 鄭勇, 權肅杓: *韓國醱酵食品中 Aflatoxin 의 含有에 關한 研究*, *大韓豫防醫學會誌*, 2(1):1, 1969.
- 李泰寧, 李相圭: *食品中 有毒性 代謝產物에 關하여 (第1報) 數種의 韓國 大豆 醱酵食品中 Aflatoxin 有無의 檢索에 關하여*, *韓國食品科學會誌*, 1:78, 1969.

17. 유춘, 고춘명, 권숙표, 정용 : 한국 저장 식품중의 유독성-물질과 그 방지에 관한 연구; 장유증의 *Aflatoxin* 에 관하여, 연세논총, 7:191, 1969.
18. 정용, 김갑영, 권숙표 : 메주의 위생학적 제조법에 관한 연구, 연세논총, 8:13, 1971.
19. Hiscocks, E.S. : *The importance of molds in the deterioration of tropical foods and feed stuffs. Mycotoxin in food stuffs* (G.N. Wogan, editor, M.I.T. press), pp.15-26, 1965.
20. Majumder, S.K., K.S. Nardsimhan, and H. A. B. parpia: *Micro ecological factors of Microbial spoilage and the occurrence of Mycotoxins on stored Grains. Mycotoxin in food stuffs* (G.N. Wogam, editor, M.I.J.T. press), pp. 27-47, 1965.
21. 李寬寧, 金永培, 李瑞來 : *Aspergillus flavus* 로 汚染된 貯藏穀類에서의 *Aflatoxin* 生成, 韓國食品科學會誌, 7:1, 1975.
22. Hesseltine, C.W., Shotwell, O.L., Ellis, J.J., and Stubblefield, R.D. : *Aflatoxin Formation by Aspergillus flavus*, *Bacteriological Reviews*, 30:795, 1966.
23. Davis, Diener and Agnihotri: *Production of Aflatoxins B and G in Chemically Defined Medium, Mycopathologia ET Mycologia Applicata*, 31:251, 1965.
24. Schroeder, H.V. : *Proc. Mycotoxin Research Seminar, Washington, D.C., June, 1967.*
25. 한대섭 외 : 진균용배지, 최신미생물학. 서울동명사 발행, P.164, 1972.
26. William Horwitz: *Natural Poisons. Chapter 26 from Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Editor AOAC Methods Twelfth Edition. 1975.*
27. Wildman, J.D., Stoloff, L., and Jacobs, R. : *Aflatoxin Production in mixed culture medium by Aspergillus flavus and Penicillium SP., Biotechnol. Bioeng.*, 9:429, 1967.
28. Ashworth, L.J., Schroder, H.W. and Langley, B.C. : *Aflatoxins; Environmental Factors Governing Occurrence in Spanish Peanuts, Science*, 148:1228, 1965.