

꿀화분 곰팡이의 방사선 감수성

이 재 원·김 영 배*·최 언 호

서울여자대학 식품과학과, *고려대학교 식품공학과
(1986년 8월 1일 수리)

Radiosensitivity of Molds Isolated from Honey Pollen

Jae Won Lee, Young Bae Kim* and Eon Ho Choi

Department of Food Science, Seoul Woman's University and
Department of Food Technology, Korea University, Seoul, Korea

서 론

화분은 꽃의 수술에서 채취되는 미세한 분말로서 질소화합물을 포함한 각종 영양요소를 풍부하게 함유하고 있어¹⁾ royal jelly와 蜂乳의 원료로서 뿐만아니라 幼蟲의 먹이로서 중요하다²⁾. 화분은 또한 동서양에서 사람의 영양식으로는 물론 제과와 화장품의 원료, 전립선에 관련된 질병의 치료 등에 이용되며³⁾ 자연식품의 선호로 인하여 그 소비량이 점차 증가하고 있다. 화분은 온도와 습도가 높은 늦봄부터 초가를 사이에 수집되므로 감염된 미생물과 해충의 증식이 크게 문제시되고 있다. 화분을 오래 저장하기 위해서는 건조(자연건조, 열풍건조, 냉동건조)와 이에 이은 훈증처리법 등이 현재 이용되고 있으나, 제품의 품질저하와 약제성분의 잔류, 유독성 물질의 생성 등 여러 가지 문제점을 내포하고 있다.

한편 放射線에 의한 식품의 살균, 살충의 안전성이 FAO/IAEA/WHO 공동전문위원회에서 인정되었고 1983년 FDA에서는 건조 채소류와 향신료, 조미료에 대해 살균선량으로 10kGy까지 안전하다고 발표하였으며⁴⁾ 실제 미국 후생성은 1984년 살균선량을 30kGy까지 승인하였다⁵⁾. 그의 다른 국가에서도 食品照射에 관심을 갖고 있어 1985년 8월까지 32개국에서 73개 食品群, 227종의 品目에 대한 照射가 법적으로 허가되어 그 일부가 산업화

되었거나 특수목적으로 실용화되고 있다⁶⁾.

따라서 본 연구에서는 放射線 照射에 의한 화분 저장을 시도하기에 앞서 화분의 부패균으로 생각되는 곰팡이를 분리, 동정하고 이들의 방사선 감수성과 산소 및 질소가스가 이들의 방사선 감수성에 미치는 영향을 검토하였기에 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

경기도 남양주군 와부읍 울성리에서 1984년 9월에 채취되어 6개월간 저장된 메밀화분을 시료로 사용하였다.

2. 곰팡이의 분리와 동정

시료 5g을 100ml의 멸균수에 넣어 30분간 진탕, 희석한 현탁액을 streptomycin(30 μ g/ml)이 첨가된 Czapek 한천 평판배지(1000ml 수용액 중 NaNO₃ 3.0g, K₂HPO₄ 1.0g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, KCl 0.5g, 1% FeSO₄-7H₂O 1.0ml, Sucrose 30.0g)에 접종하고 30°C에서 3~5일간 배양하여 형성된 곰팡이의 colony를 분리하였다. 분리된 곰팡이는 The Genus Aspergilli⁷⁾, Manual of the Penicilli⁸⁾, 및 The Fungi⁹⁾의 방법에 따라 동정하였다.

3. 放射線 照射와 생균수 계수

放射線 照射는 한국에너지연구소에 설치된 10,000Ci Co-60 감마線源을 이용하여 0.11kGy/min

의 선량을로 照射하였다. 즉, 분리, 동정된 곰팡이들을 PDA 배지에서 1~2주일간 사면배양(30°C)하여 생긴 본생포자를 냉온의 M/10 phosphate buffer(pH 6.5)를 사용하여 현탁시키고 4점의 가

Table 1. Morphological and cultural characteristics of isolated fungi

Colony No. 02 : <i>Aspergillus niger</i>	
Colony growth rate	: Rather restricted on Czapek's agar
Colony color & texture	: Black, conidia abundant
Colony reverse color	: Almost colorless
Cleistothecia & Sclerotia	: Not observed
Conidial head	: Radiate and splitting, black
Sterigmata	: Biseriate
Vesicle	: Globose
Conidiophore	: Smooth, 1.5~2.5 μ m
Coonidia	: Blobose, 4~5 μ m in diameter
Colony No. 08 : <i>Aspergillus oryzae</i>	
Colony growth rate	: Rapid growth on Czapek's agar
Colony color & texture	: Green, dull brown with age
Colony reverse color	: Colorless
Cleistothecia & Sclerotia	: Not observed
Conidial head	: Radiate
Sterigmata	: Mainly uniseriate
Vesicle	: Subglobose
Conidiophore	: Colorless, 4~5 μ m
Conidia	: Green, smooth, globose to subglobose, 4~8 μ m in diameter
Colony No. 17 : <i>Penicillium jensenii</i>	
Colony growth rate	: Restricted
Colony color & texture	: Grey green, wrinkled, conidia abundant exudate not produced
Colony reverse color	: Very lightly brown
Perithecia and Sclerotia	: Not produced
Penicilli	: Divaricate, asymmetric
Conidiophore	: Smooth, arising from substratum, 0.4~0.5 μ m in length
Conidia	: Globose, 2.0~2.5 μ m in diameter
Colony No. 21 : <i>Alternaria</i>	
Colony growth rate	: Rapidly spreading
Colony color	: Grey, black brown
Mycelium	: Septate
Pycnidium or sexual spore	: Not produced
Conidiogenous cells	: Not specialized
Conidia	: Dark brown, clubshaped, occurred in chains, divided into several cells by transverse and vertical walls, formed at the tip of the previous spore

제로 여과하여 균사체를 제거한 후에 포자 농도를 $10^7 \sim 10^8/m^3$ 로 조절한 현탁액을 2.0ml씩 시험관 (1.5×12cm)에 넣어 0.5, 1.0, 1.5, 2.0kGy의 선량으로 照射하였으며, 화분의 경우는 1, 2, 3, 4, 8kGy의 선량으로 직접 照射하였다. 放射線 照射가 끝난 포자현탁액과 화분은 냉은의 phosphate buffer로서 적절히 희석하여 czapek 평판배지에 접종하고 30°C에서 2~3일간 배양시켜 형성된 colony를 계수하였다¹⁰⁾.

4. 가열처리 및 질소 산소가스의 병용처리

분리, 동정된 곰팡이 중 *Penicillium jenseni*를 선택하여 그 포자현탁액 2.0ml를 시험관에 넣고 이액 속에 질소 혹은 산소가스를 1분 동안 濕氣 시킨 다음 50°C의 항온에서 10분간 가열하고 0~2kGy의 감마선을 照射하여 위와 같은 방법으로 형성된 colony를 계수하였다.

결과 및 고찰

1. 곰팡이의 분리 및 동정

본 연구에 사용된 화분의 곰팡이 수는 약 4.6×10^3 CFU/g이었다. 이 화분을 75~85% RH에서 10일간 실온에서 방치한 후에 평판배양하여 27개의 colony를 분리하고 이들로부터 육안으로 식별되는 7개의 균주를 다시 분리한 바, 이 중 4개가 Table 1과 같은 배양 및 형태학적 특성을 나타내어 *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger*, *Penicillium jenseni*, *Alternaria* SP.인 것으로 동정하였다.

2. 분리 곰팡이의 방사선 감수성

미생물의 방사선 감수성은 보통 생존곡선 (survival curve)과 D_{10} 값으로 나타낸다. 그리고 방사선 치사선량 (lethal dose), D_R 을 구하기 위하여 이들로부터 $D_R = I + nD_{10}$ 의 공식이 유도되는데 여기서 I 는 유도선량 (induction dose), n 은 불활성화 계수, 그리고 D_{10} 값은 미생물을 90% 사멸시키는 데 필요한 방사선 조사선량이다^{11,12,13)}.

본 연구에서 분리 동정된 4종의 곰팡이에 대한 방사선 감수성은 Fig. 1, Table 2 같다. 곰팡이의 D_{10} 값은 *Penicillium jenseni*가 0.43kGy로 가장 낮았고 *Alternaria*가 0.97kGy로 가장 높았다. 유도선량이 *Alternaria*를 제외한 다른 곰팡이들은 0.18~0.23kGy이므로 이들 포자를 2kGy로 조사하면 그 수를 $10^{-4.1} \sim 10^{-2.1}$ 로 감소시킬 수 있으며

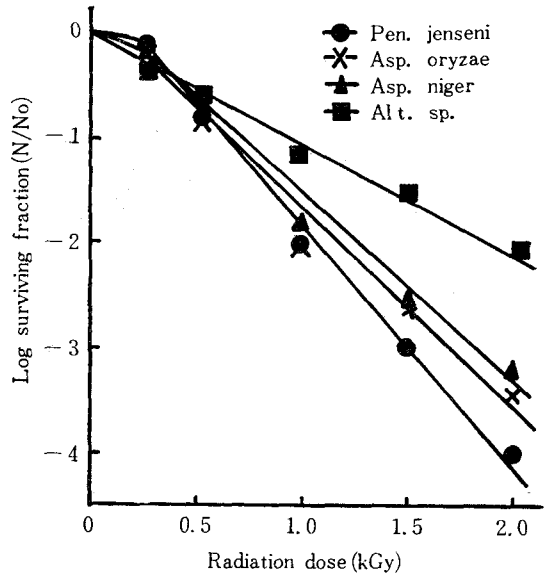


Fig. 1. Radiation survival curves for conidia of molds isolated from honey pollen

Table 2. Radiosensitivity of molds isolated from honey pollen

Strain	D_{10} value (kGy)	Induction dose (kGy)	Inactivation factor at 2kGy
<i>Penicillium jenseni</i>	0.43	0.23	4.1
<i>Aspergillus oryzae</i>	0.54	0.18	3.4
<i>Aspergillus niger</i>	0.58	0.23	3.1
<i>Alternaria</i> sp	0.97	0.00	2.1

이는 방사선의 표적이 여러개 있다고 하는 multi-target theory로서 설명된다^{14,15)}.

최동¹⁶⁾의 변질미에서 분리된 곰팡이의 방사선 감수성에 관한 보고에 의하면 *Asp. flavus* var. *columnaris*, *Asp. ochraceus*, *Pen. citrinum*, *Pen. islandicum*의 D_{10} 값은 각각 0.24, 0.17, 0.14, 0.26kGy이었고 유도선량은 각각 0.48, 0.56, 0.21, 0.42kGy이었다.

여기서 방사선의 표적은 생명현상을 지배하는 DNA로서 DNA 분자에 미치는 손상기작과 수복기작은 불분명하지만 DNA의 purine이나 pyrimidine 염기가 소실되어 치명적인 돌연변이가 일어나거나 절단된 DNA 사슬이 수복되지 않기 때문이며 DNA의 절단과 수복기능은 미생물의 종류에 따라 다르다고 한다¹⁷⁾.

3. 가스조성과 열처리가 방사선 감수성에 미치는 영향

분리, 동정된 곰팡이 중에서 *Pen. jenseni*를 선택하여 현탁액의 가스조성을 달리하였을 때의 방사선 감수성을 조사한 결과는 Table 3 및 Fig. 2와 같다. 질소가스 포화액에서의 방사선 감수성은

Table 3. Combination effect of radiation and heat on the inactivation of *Penicillium jenseni* conidia.

	D_{10} value (kGy)	Induction dose (kGy)	Inactivation factor at 2 kGy
Not heated			
Air	0.43	0.23	4.1
O ₂	0.40	0.23	4.4
N ₂	0.55	0.25	3.2
Heated*			
Air	0.43	0.00	4.7
O ₂	0.40	0.00	5.0
N ₂	0.55	0.00	3.6

*The conidia were heated for 10 min at 50°C under different types of dissolved gas conditions

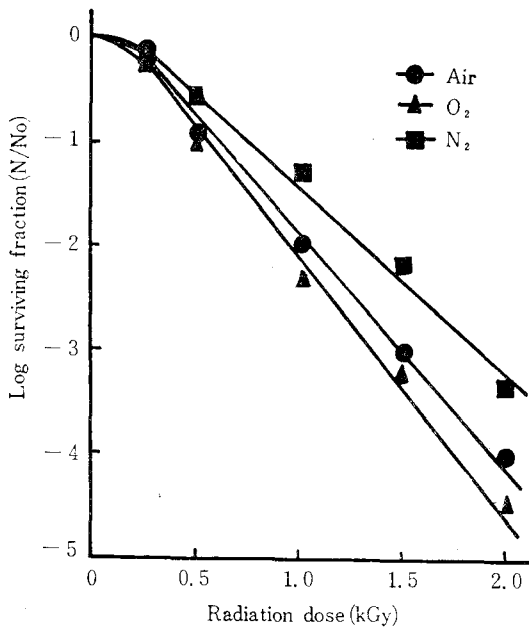


Fig. 2. Modification of radiation effect on the inactivation of *Pen. jenseni* conidia by changing dissolved air to nitrogen or oxygen gas.

공기에서보다 현저하게 감소하여 D_{10} 값이 0.43kGy에서 0.55kGy로 증가하였고, 반대로 산소 포화액에서는 방사선 감수성이 증가하여 D_{10} 값이 0.40kGy로 감소하였다.

화분의 성분변화에 영향을 주지 않는 비교적 낮은 온도에서의 가열효과를 보기 위하여 질소 또는 산소가스를 포화시킨 *Pen. jenseni*의 현탁액을 가열(50°C, 10분)시킨 후 방사선 조사하였을 때의 생존율을 조사한 바 Table 3, Fig. 3과 같이 일반

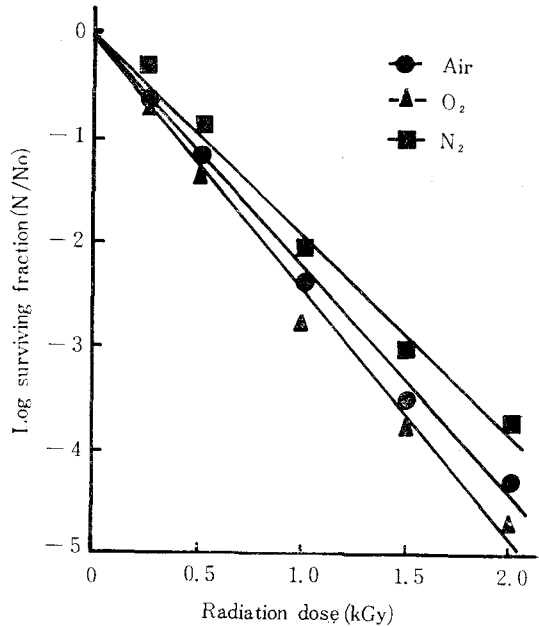


Fig. 3. Combination effect of radiation and heat on the inactivation of *Pen. jenseni* conidia. The conidia were heated for 10 min at 50°C in different gases.

공기와 가스처리를 한 모든 실험구의 D_{10} 값이 열처리를 하지 않은 때의 D_{10} 값과 거의 동일하였고, 반면에 유도선량은 모두 0이 되었다. 즉 방사선照射에 열처리의 병용은 D_{10} 값에는 영향을 주지 않았으나 유도선량을 감소시키는 효과를 나타내었다.

Hattori와 Matsuyama¹⁸⁾는 소세지에서 분리된 *Proteus vulgris*균을 질소가스 중에서 감마선照射하였을 때 방사선 감수성이 현저히 감소하였다고 보고하였고, Ewig^{19,20,21)}는 *Bacillus megaterium* 포자를 산소 존재하에서照射하면 방사선 감수성이 증가하는데 이제는 세가지 기작이 있어 그 중 하나는 방사선에 의하여 생성된 hydroxy radical이 산소와 반응하기 때문이라고 증명하였고,

Sommer²²⁾는 *Rhizopus stolonifer*(49°C), Okazawa¹¹⁾는 *Penicillium terrester*(50°C, 55°C)균주에 대한 가열과 방사선의 병용처리에서 상승효과를 보고하였다.

4. 放射線照射에 의한 화분의 살균효과

화분에 존재하는 미생물의 방사선 감수성을 조사하기 위하여 화분에 직접 0~8kGy의 선량으로 照射하고 생존수를 계수한 바 Fig. 4와 같이 총세

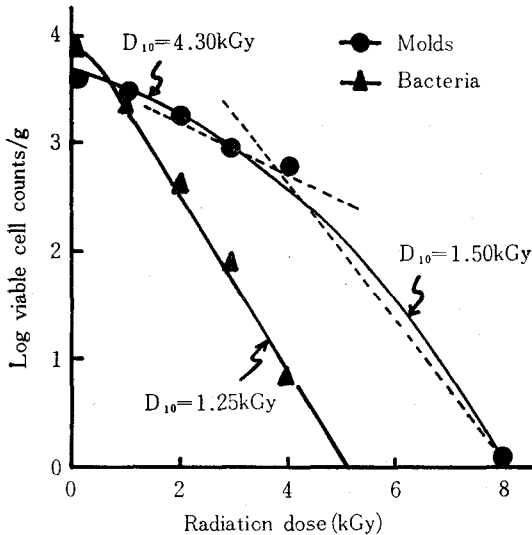


Fig. 4. Lethal effect of gamma irradiation on bacteria and molds present in honey pollen.

균수는 非照射區에서 $8.6 \times 10^8/g$ 이었고, 1, 2, 3 및 4kGy 照射區에서는 각각 $2.2 \times 10^8/g$, $4.0 \times 10^7/g$, $7.5 \times 10^1/g$, $7.0 \times 10^0/g$ 로 현저하게 감소되었으며 8kGy 照射區에서는 전혀 검출되지 않았다. 화분 변패의 주원인균으로 생각되는 곰팡이의 경우는 非照射區에서 $4.6 \times 10^8 CFU/g$ 1, 2, 3 및 4kGy 照射區에서는 2.9×10^8 , 1.8×10^8 , 9.3×10^2 , $6.0 \times 10^2 CFU/g$ 로 각각 감소되었고, 8kGy 照射區에서는 완전히 사멸되었다.

세균의 평균 D_{10} 값은 1.25kGy이었고, 곰팡이의 경우는 sigmoidal curve를 보여 1.50~4.30kGy로 곰팡이가 세균보다 방사선에 대한 감수성이 낮은 것을 알 수 있었다.

요 약

방사선을 이용한 화분의 저장방법을 개선하기

위하여 저장중인 메밀 화분으로 부터 곰팡이를 분리, 동정하고 이들의 방사선 감수성을 조사하였다.

분리, 동정된 곰팡이는 *Penicillium jenseni*, *Aspergillus oryzae*, *Asp. niger*, *Alternaria* SP.으로 이들 포자의 D_{10} 값은 각각 0.43, 0.54, 0.58, 0.97kGy 이었고, 유도선량은 각각 0.23, 0.18, 0.23, 0kGy이었다. *Pen. jenseni* 포자의 방사선 감수성은 용존산소하에서 증가하였으며 이에 열처리를 병용하였을 때는 유도선량이 현저하게 감소하였다. 화분 중의 총세균과 곰팡이의 D_{10} 값은 각각 1.25kGy와 1.50~4.30kGy이었다.

참 고 문 헌

1. 정원철 : 서울여자대학 대학원 석사학위 논문 (1982).
2. 김병호, 김용두 : 한국축산학회지, 10 : 75 (1967).
3. Howell, J. and Champie, C.: American Bee Journal, 2 : 817(1981).
4. Department of Health and Human Services: Food and Drug Administration (FR 179, 22Cb) (Docket No. 81N-0004), Federal Register, 48 : 30613, July 5(1983).
5. Department of Health and Human Services: Food and Drug Administration 21 CFR Part 179(Docket No. 81N-0004), Federal Register, 49 : 5714, February 14(1984).
6. IAEA/FAO: Food Irradiation News Letter, Vienna, 9 : 29(1985).
7. Paper, K.B. and Fennel, D.I.: The Genus *Aspergillus*, Robert E. Krieger Pub. Co., Huntington, New York(1973).
8. Raper, K.B. Tom, C. and Fennel, D.I.: Manual of the *Penicilli*, The Williams and Wilkins Co.(1949).
9. Ainsworth, G.C. Sparrow, F.K. and Sussman A.S.: The Fungi, An Advanced Treatise, Vol. 4A, Academic Press, New York.
10. 최언호, 양재승, 이서래 : 한국식품과학회지, 10 : 88(1978).
11. Okazawa, Y.: Ann. Rep. Inst. Phys. Chem. Res., 47 : 205(1971).
12. Matsuyama, A. Okazawa, Y. Aria, H. and

- Mifune, M.: Sci. Papers Inst. Phys. Res. (Japan), 67 : 35(1973).
13. FAO/IAEA: Training Manual on Food Irradiation Technology and Techniques, Technical Reports series No. 114, IAEA, Vienna, p. 41 (1970).
 14. Matsuyama, A.: Radioisotopes, 22 : 58(1973).
 15. Grecz, N. Lo, H. Kennedy, E.J., Durban, E.: Radiation Preservation of Food(Proc. Symp., Bornbay, Nov. 1972, IAEA/FAO), IAEA, Vienna, p. 177(1973).
 16. 최언호, 김홍렬, 이서래 : 한국식품과학회지, 7 : 3(1975).
 17. David F. Sangster: Radiation Chemistry in Food Preservation(Ionizing Energy Treatment of Foods National Symposium, Sydney, Oct. 1983), IAEA, Vienna, p.7(1984).
 18. Matsuyama, A. and Hattory, Y.: Ann. Rep. Inst. Phys. Chem, Res., 44 : 27(1968).
 19. Ewig, D. and Powers, E.L.: Science, 134 : 1049(1976).
 20. Ewig, D.: Radiat. Res., 72 : 291(1977).
 21. Ewig, D.: Radiat. Res., 73 : 121(1978).
 22. Sommer, N.F. and Maxie, E.C.: Food Irradiation(Proc. Symp., Karlsruhe, 1966, IAEA/FAO), IAEA, Vienna, p. 571(1966).