

김으로부터 분리한 방사선 저항성 세균

- 연구노트 -

안현주 · 육홍선 · 김동호 · 김 성* · 변명우[†]

한국원자력연구소 방사선식품·생명공학연구팀
*영남대학교 식품가공학과

Identification of Radiation-Resistant Bacterium Isolated from Dried Laver (*Porphyra tenera*)

Hyun-Joo Ahn, Hong-Sun Yook, Dong-Ho Kim, Sung Kim* and Myung-Woo Byun[†]

Team for Radiation Food Science & Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute,
Taejon 305-353, Korea

*Dept. of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyungsan 712-749, Korea

Abstract

A radiation-resistant bacterium was isolated from gamma irradiated dried laver (*Porphyra tenera*) and its microbiological characteristics were examined. As a result of resistance test to gamma irradiation, the isolate was survived 10^3 CFU/mL even at 30 kGy and significant shoulder line zone was shown until 20 kGy. The D_{10} value was 11.27 kGy. The isolate was gram-positive, non-motile coccus and catalase-positive. In culture, the red-pigmented smooth colony was observed. The biochemical test in API (analytical profile index) system showed that the isolate fermented glucose and fructose as the carbon source. Therefore, a radiation-resistant bacterium isolated from laver was potentially identified as *Micrococcus roseus* sp.

Key words: gamma irradiation, laver, radiation-resistant bacterium

서 론

식품 및 공중보건산물의 방사선 살균은 매우 효과적인 살균방법이라 할 수 있으나, 자연상태에는 방사선에 강한 저항성을 나타내어 잠재적 위해요소로 작용할 수 있는 미생물들이 존재한다(1,2). 방사선 저항성을 갖는 세균이 조사된 식품 및 공중보건산물의 건전성에 미치는 영향이나 방사선 생물학적 관점에서 관심의 초점이 되고 있으며, 이러한 연구결과에 기초하여 산업적으로는 방사선 저항성 세균에 준한 중점제어요인(critical control point)이 권장되고 있다(3-6). Anderson 등(7)이 마쇄된 우유에서 *Micrococcus radiodurans* 라는 방사선 저항성 세균을 발견한 이후로 미생물 자체뿐만 아니라 이러한 균주가 존재할 수 있는 환경 및 소재 등에 관한 다양한 연구가 이루어져 왔다. 현재까지 알려진 방사선 저항성 세균은 대부분 비병원성으로 영양요구성이 까다롭고, 열에 대한 저항성이 없으며, 대부분 염농도에 민감하고, 식품 미생물 분포 중 매우 적은 비율을 차지하기 때문에 식품위생 측면에서는 큰 문제가 되지 않는다고 보고되고 있으나 방사선 저항성 세균이 존재할 가능성이 있는 식품소재의 모색 및 이들 미생물의 특성과 저항성 기작 등에 관한 연구는 미흡한

실정이다(8,9).

한편, 김(*Porphyra tenera*, laver)은 해수 유충 및 미생물의 오염도가 높고 건조과정 중의 2차오염 가능성 등으로 유통단계에서 품질이 저하되는 문제점을 갖고 있어, 김의 위생화 및 저장성 향상에 대한 기술 개발이 필요한 실정이다(10). 본 연구팀에서도 김의 위생화 및 저장성 향상을 목적으로 김에 대한 감마선 조사를 실시하였으며, 그 과정에서 방사선 저항성세균을 발견하였다. 따라서 본 논문에서는 김의 감마선 조사 살균 과정에서 분리된 방사선 저항성 균주의 형태학적, 생화학적 특성을 검토하고 이를 잠정 동정하여 보고하고자 한다.

재료 및 방법

김의 방사선 조사

김은 충남 서천산의 마른 김(수분함량 20%내외)으로 polyethylene 필름에 밀봉·포장한 후 방사선을 조사하였다. 방사선 조사는 한국원자력연구소 내 선원 10만 Ci, Co-60 감마선 조사시설을 이용하여 실온($12 \pm 1^\circ\text{C}$)에서 분당 70 Gy의 선량율로 각각 5, 10, 20, 30, 40 및 50 kGy의 총 흡수선량을

[†]Corresponding author. E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr
Phone: 82-42-868-8060, Fax: 82-42-868-8043

얼도록 하였으며, 흡수선량 확인은 ceric cerous dosimeter 를 사용하였고 총 흡수선량의 오차는 ±0.2 kGy였다.

방사선 감수성

방사선 조사 직후 각 조사선량에 따라 1 g의 김을 취하여 멸균 펨톤수에 희석한 후 pour plating 방법으로 plate count agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에 접종하고 37°C에서 48시간 배양하여 생성된 colony의 수를 계수하여 감마선 조사에 따른 미생물의 생존곡선 및 이에 따른 D₁₀ 값을 조사하였다.

방사선 저항성 균주의 분리 및 동정

고선량에서도 생존한 김 미생물의 단일 colony를 취하여 nutrient agar(Difco Lab., Detroit, MI, USA)에서 순수 분리한 다음 형태관찰, gram stain, catalase test, 배양특성, carbohydrate fermentation 및 API system(BioMerieux, France)을 통하여 형태학적, 생화학적 특성을 조사하고 그 결과를 API system index(11)와 Bergey's manual of systematic bacteriology(12)에 준하여 잠정 동정하였다.

결과 및 고찰

방사선 감수성 및 분리균주의 동정

방사선 조사 직후 조사선량에 따른 김의 총균수 변화는 Fig. 1과 같다. 방사선 조사를 하지 않은 대조구의 총균수는 3.2×10⁶ CFU/g으로 나타났으며, 방사선 조사구는 5~10 kGy의 선량에서도 10⁶ CFU/g 수준을 유지하였다. 특히 방사선 조사구의 경우 붉은색의 색소를 형성하는 colony가 관찰되었으며 10 kGy 이상의 조사구에서는 모두 붉은색의 단일 colony만이 형성되었고 20~30 kGy의 선량에서는 10³~10⁵ CFU/g 수준으로, 40 kGy 조사선량에서도 10¹ CFU/g의 수

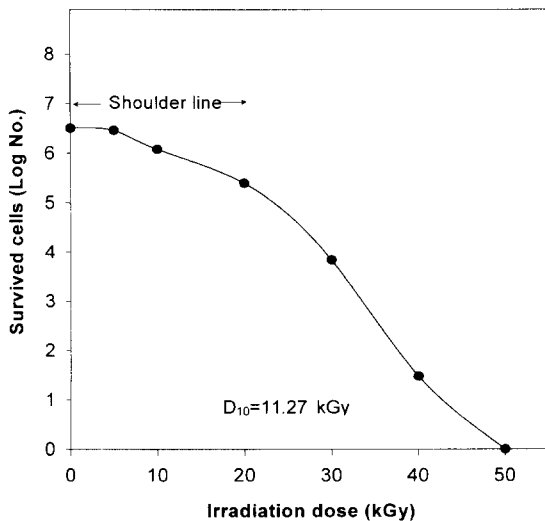


Fig. 1. Radiation survival curve of bacterium isolated from dried laver.

준까지 생존하여 방사선 저항성이 높은 균주가 존재하는 것으로 나타났다. 또한 방사선 저항성 균주의 생존곡선에서 특징적으로 나타나는 shoulder line이 0~20 kGy까지의 조사선량에서 관찰되었으며, 본 미생물의 D₁₀값은 11.27 kGy로 방사선에 대한 저항성이 매우 큰 것으로 나타났다.

이와 같이 방사선 저항성을 나타내는 균주를 김에서 순수 분리하여 형태학적 특징 및 배양 특성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 현미경 관찰 결과 그림양성을 갖는 비운동성의 구균으로 2~4개 혹은 다발모양의 형태를 이루는 것으로 나타났으며, catalase test에서 강한 양성반응을 보였다. 또한 배양시 붉은색 색소를 갖는 smooth colony를 형성하며, 3% NaCl 함유 배지에서는 생존이 가능하지만 그 이상의 염에서는 생존할 수 없는 것으로 나타났다.

분리균주의 생화학적 특성은 Table 2와 같다. 몇 가지 당의 발효특성 시험결과, glucose와 fructose를 기질로 이용하였으며 glucose 이용시 gas 생성은 관찰되지 않았다. 이러한 특성을 갖는 분리균주를 API system(11)과 Bergey's manual of systematic bacteriology(12)에 준하여 *Micrococcus roseus* sp.로 잠정 동정하였다. 한편, Davis 등(13)은 대구(haddock)의 체조직에서 붉은 색소를 형성하며 강한 방사선 저항성을 나타내는 *Micrococcus roseus*를 처음 발견하였는데, 그 형태학적 및 생화학적 특성이 본 실험에서 분리된 방사선 저항성 균주와 매우 유사한 것으로 나타났다. 이상의 결과로 보아 감마선 조사를 이용한 김의 위생화에 미치는 *Micrococcus roseus* sp.의 역할 규명이나 방사선 저항성 균주를 제어할 수 있는 열처리 등의 병용효과 등에 관한 연구

Table 1. Morphological and cultural characteristics of the isolated bacterium from dried laver

Morphological and cultural characteristics	
Shape	Spherical, smooth
Gram stain	+
Motility	-
Catalase	+
Pigment production	Reddish
Growth pH	6.2~7.5
Growth temperature	20~39°C
3% NaCl media	+

Table 2. Biochemical characteristics of the isolated bacterium from dried laver

Biochemical characteristics			
Acid from glucose	+	α -methyl phosphate	-
Gas from glucose	anaerogenic	Sodium pyruvate	-
D-fructose	+	Raffinose	-
D-mannose	-	Xylose	-
Maltose	-	Saccharose	-
Lactose	-	α -methyl glucoside	-
D-mannitol	-	D-trehalose	-
Xylitol	-	N-acetyl glucosamine	-
D-melibiose	-	Arginine	-
Potassium nitrite	-	Urease	-

가 필요할 것으로 사료되었다.

요 약

김에서 방사선 저항성 세균을 분리하여 잠정 동정하였다. 분리균주의 감마선 감수성 시험결과 특징적으로 20 kGy까지 shoulder line을 형성하였으며 semi-log의 감소를 보이는 구간에서의 D₁₀ 값은 11.27 kGy였다. 분리균주는 그람양성의 비운동성 구균으로 2~4개 혹은 다발모양의 형태를 이루며, catalase test에서 강한 양성반응을 보였다. 배양시 특징적으로 붉은색 색소를 생산하며 smooth colony를 형성하였고, API system에 의한 생화학적 특성시험 결과 glucose와 fructose를 기질로 이용하였으며 다른 시험에서는 음성반응을 나타내었다. 따라서 김에서 분리된 방사선 저항성 세균은 *Micrococcus roseus* sp.로 잠정 동정하였다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구개발사업의 일환으로 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Josephson, E.S. and Peterson, M.S. : *Preservation of food by ionizing radiation*. CRC Press, Florida, p.167-209 (1982)
2. Lea, D.E. : *Actions of radiations on living cells*. 1st ed., Cambridge University Press, Cambridge (1946)

3. Byun, M.W., Kim, D.H., Yook, H.S. and Ahn, H.J. : Sterilization of microorganisms by irradiation. *Food Science and Industry*, **33**, 58-70 (2000)
4. Lett, J.T. : *Advances in radiation biology*. Academic Press, London, Vol. II, p.72-124 (1984)
5. Loaharanu, P. : Worldwide status of food irradiation and the FAO/IAEA/WHO/ITC-UNCTAD/GATT International conference on the acceptance : Control and trade in irradiated food. *Radiat. Phys. Chem.*, **34**, 1013-1030 (1989)
6. Kaplan, H.S. and Zavarine, R. : Correlation of bacterial radiosensitivity and deoxyribonucleic acid base composition. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **8**, 432-439 (1962)
7. Anderson, A.W., Nordan, H.C., Cain, R.F., Parrish, G. and Duggan, D. : Studies on a radio-resistant micrococcus. I. Isolation, morphology, cultural characteristics and resistance to gamma radiation. *Food Technol.*, **10**, 575-579 (1956)
8. Kitayama, S. and Matsuyama, A. : Possibility of the repair of double strand scissions in *Micrococcus radiodurans* DNA caused by gamma-rays. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **33**, 418-322 (1968)
9. Lavin, M.F., Jenkins, A. and Kidson, C. : Repair of ultraviolet light-induced damage in *Micrococcus radiophilus*, an extremely resistant microorganism. *J. Bacteriol.*, **126**, 587-593 (1976)
10. Park, J.W., Kang, S.G., Oho, S.W., Park, S.Y., Jung, S.T., Park, Y.K., Rhim, J.W. and Ham, K.S. : Effects of chitosan treatment on the quality of dried lavers. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 1115-1119 (1999)
11. API : *Analytical Profile Index*. Bio merieux S. A., France (1995)
12. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams & Wilkins Press, Baltimore, USA (1986)
13. Davis, N.S., Silverman, G.J. and Masurovsky, E.B. : Radiation-resistant, pigmented coccus isolated from haddock tissue. *J. Bacteriol.*, **86**, 294-298 (1963)

(2000년 10월 4일 접수)