

조선 전통 메주에서 균독소(Mycotoxin) 측정

이 상 선*

한국교원대학교 대학원 생물과학 및 생물교육학 전공

Detections of the Mycotoxins on the Korean Traditional Home made Mejus

Sang-Sun Lee*

Major in Biological Science and Education, Graduate School, Korea National University of
Education, Chung-Puk 363-791, Korea

ABSTRACT: The mycotoxins, Aflatoxin B₁(B) and Ochratoxin A(A), were measured from the various mejus manufactured under the artificial or natural conditions by the indirect competitive ELISA; The various fungi isolated from the Korean traditional home (KTH) made meju collected were observed to produce each mycotoxin mentioned above in the toxin producing broth, but only few in the sterilized cereals of soybean under the artificial conditions. Thus, the isolated fungi were not found to produce both A and B toxins in the artificial conditions. Particularly, the any mycotoxin was not determined at the range of 0.01 to 100 ng per gm of the mejus made under the conditions of KTH widely collected in Korea. The mycotoxins produced by the meju-fermenting fungi were seemed or speculated to be degraded in KTH's meju under the natural conditions. The species of *Mucor* involved in the initial stage of fermentation were discussed to be important in the fermentations of KTH meju.

KEYWORDS: Mycotoxin, Aflatoxin B, Ochratoxin A, Meju. Indirect competitive ELISA

메주는 장류 발효에 중요한 원천으로, 된장과 간장 생산에 중요한 원료물질이 되고 있다. 메주는 전통적으로 시골 농가에서 만들어지는 것으로 다양한 균에 의하여 발효된다. 메주가 각 지역의 일반 농가에서 담아지고 있기 때문에 지역마다 만들어지는 간장과 된장의 맛이 다르고, 이것은 지역에 서식하는 균 군상(fungal flora)에 의한 것으로 생각되고 있다(Lee 등, 1993; 이 등, 1995; 박 등, 1977). 조선 전통 메주는 그 지역의 균 군상에 의존하기 때문에 좋은 발효균들이 있는 반면에 균독소를 생성하는 균도 많이 알려지고 있다(Doyle 등, 1994). 실제로 장류에서 곰팡이에 의한 균독소(aflatoxin)의 우려를 제시한 바 있으며(Time, 1969 May 9, p 48), 이에 메주 서식균과 관련하여 균독소(mycotoxin)에 대한 연구 결과 국민건강과 관련된 부분이

많았다(김, 1977; 강 등, 1991ab; 김과 김, 1986). 이는 주로 곡물저장과 발효식품에 관련된 내용으로 균독소를 심각하게 설명하고(Lee와 Lee, 1969), 균과 관련된 연구에서는 식품의 안정성에 대한 중요한 문제로 메주 제조시 반드시 한번쯤은 조사되어야 할 것으로 생각되어진다.

균독소는 균의 생장시에 생성되는 대사산물로, 균이 성장할 수 있는 저장 곡물이나 발효 물질에서 생성되는 것으로 생각된다(Kasasian와 Dendy, 1979). 현재, 곡물 저장 기간 동안에 균들이 곡물을 부패시킴으로써 생성되는 균독소는 균종에 따른 대사 분비물로 이것은 사람의 간에 유독할 뿐만 아니라 발암물을 내포한다고 알려졌다(Lee와 Chang, 1963; Lee와 Lee, 1969). 곡물 저장과 메주 발효에 관련지어 이들의 진균들은 두 가지로 분류할 수가 있는데, 공기 중에 있는 포자의 오염과 식물체에서 병원성 균 침입시 그 균에서 생성되는 균독소로 나

*Corresponding author

눌 수 있다. 먼저, 공기 중에 있는 포자의 경우는 곡물 수확과 저장 기간 동안 노출된 시기에 포자의 오염에 의하여 곡물들이 부패되어 균독소를 포함하는 경우이다. 또한, 식물체가 성장함에 따라, 병원균이 침입하여 열매(곡물)에까지 오염되는 균으로 곡물 저장기간 동안에 균 성장과 함께 독소를 방출한다. 이러한 식물 병원균들은 주로 *Fusarium*, *Alternaria* 및 *Claviceps*이며, 균독소는 국민 건강에 중요하다(Collins와 Rosen, 1981). 식물의 병원균인 *Claviceps*는 맥각에, *Alternaria*는 잎과 줄기에 병을 야기시키는 균으로 대두 식물과는 크게 관련이 없다. 지금까지 알려진 식물체의 뿌리병과 시들병을 야기시키는 것으로(McGee, 1991), 대두 식물의 종자 내(seed borne disease)에도 많은 것으로 보고되고 있다(McGee, 1991). 따라서, 이들 균은 식물 성장 동안 식물의 병을 발병시키고, 곡물의 저장 기간에 곡물을 부패시키는 균으로 문제가 되고 있다(Chelkowschi, 1989). 외국에서 수입되는 콩에는 반드시 이러한 균독소에 대한 것이 필수로 조사되어야 할 것이다. 그러나, 우리나라에서는 메주 발효시 콩을 저장하는 기간이 없으므로, 메주 발효로 인한 이러한 문제는 거의 없다고 생각되어진다. 이러한 면에서 메주발효를 우리 나라의 콩으로 한다면, 조선 전통 메주발효에 대한 균독소 문제는 공기 포자의 오염과 관련된 균독소에 대한 문제로 한정 지을 수가 있겠다.

공기 오염에 의한 곡물의 부패에 관한 Mycotoxin에 대한 문제는 과거 20년간 이상 간장과 된장에서 주목되어 왔다(Heathcote, 1984; Jennifer 등, 1991). 특히, 발효식품을 많이 이용하는 동양인에게는 더욱 중요한 것으로 국민 건강과 직결되는 것으로 생각된다. 균독소는 *Aspergillus flavus*의 발암성 대사산물인 Aflatoxin이 1960년에 발견된 이후, 현재 독성이 알려져 있는 균종은 약 150종이다(Heathcote, 1984; Jennifer 등, 1991; Jone, 1972; Wheeler 등, 1987). 우리나라에서도 전통발효식품인 메주, 된장, 간장에 있는 균종 *Penicillium* sp., *Phialotubus microsiorus*, *Eupenicillium lapidosum* 및 *Paecilomyces variotti*가 Ochrotoxin A를 생성한다고 보고한 바 있다(강 등, 1991ab; Lin 등, 1981; Steyn, 1984).

그러므로 한국 재래식 메주에서는 위에서 언급된 여러 종의 곰팡이가 함께 존재하기 때문에 미생물에 의한 균독소 생성에 대한 우려가 있다. 이러한 면에서, 메주는 균 발효에 의하여 생성되는 균독소의 문제를 반드시 해결하고 분명하게 설명되어야 할 문제로 생각된다. 특히, 메주발효에 작용하는 메주균을 중심으로 보면, 황곡균에서 생성될 수 있는 Aflatoxin에 대한 것이 가장 중요한 것으로 생각된다. 이러한 의미에서 메주에 서식하는 균들에서 균독소 생성과 관련된 연구는 중요하다. 따라서, 본 연구에서 조선 전통 메주에 있는 균들에서 균독소를 측정하였다

재료 및 방법

메주

메주는 우리나라의 전국에 있는 조선 전통 간장과 된장을 만드는 메주를 94년 12월부터 96년 3월 수집하였으며, 수집된 메주에서 서식 균을 분리하였다. 각 수거 혹은 채집된 메주에서 우선 외부의 균 성장을 관찰하였으며, 이를 각각 냉동고에 보관하여 필요에 따라 사용하였다. 메주 균이 분리하기 어려울 때는 균이 서식한 메주 부위를 칼로 으려내어, 항온기에서 균을 재 배양시켰다. 이때, 나타난 균은 해부 현미경 하에서 분생자의 색깔과 형태에 따라 구별하여, 채집 동정하였다(Lee, 1995; Domsch 등, 1980a, b; Gilman, 1968). 또한, 순수 분리된 메주 균은 멸균된 콩에 접종하여 3주 동안 고품 배양된 낱알 메주 1g를 취하여, 70% methanol용액에 넣어서 균독소 추출과 농축을 하였다. 메주에 균독소를 측정하기 위하여서는 아래의 지역 농가에서 만들어진 전통 메주를 채집하였다(채집시기; 1996. 11-1997. 3; Table 1). 채집된 메주 5g을 70% methanol 용액에서 아래에 언급된 균독소를 추출하여 농축한 것을 사용하였다(Veratox, 1996; Heathcote, 1984; Jennifer와 Hagler, 1991; Jone, 1972; Moule, 1984).

배양

조선 전통 메주에서 다양한 균들이 분리되었으며, 실험의 결과와 같이 많은 균들이 동정되었다(Lee,

Table 1. Collections of Korean traditional home mdae mejus

1. 충북 충주시 수안보 식당, 2. 충북 괴산군 연풍면 절골, 3. 충북 괴산군 연풍면 절골, 4. 충남 예산군 덕산면 남연교 주면
5. 경북 칠곡군 가산면 석우동, 6. 경북 칠곡군 가산면 석우동, 7. 전남 담양군 대덕리, 8. 충북 청원군 북일면 농가,
9. 충남 연기군 서면, 10. 충남 연기군 초치원읍, 11. 광주직할시 북구 우산동, 12. 경기도 여주군 연라리, 13. 전남 담양군 수북면 궁산리,
14. 경기도 성남시 분당구 서현동, 15. 강원도 평창군 진부면 탐동, 16. 강원도 평창군 진부면 척천리, 17. 강원도 평창군 대화면 안미 메주(김정콩),
18. 강원도 평창군 대화면 대하 메주(노란콩), 19. 강원도 평창군 대화면 안미메주(노란콩), 20. 인천광역시 남동구 만수동,
21. 강원도 평창군 진부면 송정리, 22. 강원도 평창군 진부면 수향리, 23. 강원도 평창군 진부면 용평면 속시,
24. 강원도 평창군 진부면, 25. 경기도 여주군 북내면 산란리 민가, 26. 강원도 강릉시,
27. 충북 청주시 흥덕구 동막동, 28. 광주직할시 관산구 운남동, 29. 대전광역시 성남동, 30. 주소 미기재,
31. 전남 신안군 안좌면 바닷가 농가, 32. 광주광역시 주소 미재, 33. 충북 충주시 상모면 화천리, 34. 충주시 상모면 하철리 사지동,
35. 충주시 삼모면 하철리 사지동, 36. 충북 괴산군 연풍면 조룡산, 37. 충북 괴산군 연풍면 조룡산,
38. 경기도 포천군 가산면 감합리, 39. 미기재, 40. 충북 청원군 북외리 제조메주, 41. 전남 장성군 삼서면 대곡리,
42. 충북 괴산군 연풍리, 43. 충북 충주시 수안보 주변 식당, 44. 경북 안동시 안동 화회 마을, 45. 충남 천안시 원성2동,
46. 충남 천안시 성황동

1995). 이들의 균은 250 ml 삼각플라스크에 50 ml씩 포함된 균독소 배지에 접종하여 균을 진탕 진탕·배양하였다(Heathcote, 1984; Steyn, 1984). 배양기간은 4~5일간으로 진탕한 균의 배양 체는 우선 거름종이를 이용하여 균체를 제거한 후 배양액을 모아, 균독소 생성 여부를 판정하였다. 또한, 균독소가 생성 가능한 균들을 선정하여, 삶은 콩에 10일동안 고형 배양하였으며, 이들을 건조시켜 발효된 콩 속에서 균독소를 정량하였다.

Ochratoxin A

ELISA법을 사용한 Indirect competitive ELISA법(ICEL)으로 Ochratoxin A(OTA)을 BSA에 반응시켜, OTA-BSA를 완충용액(carbonate buffer)에 녹여, microtiter plate에 100 µl씩 주입한 다음 4°C에서 하룻밤 방치하여 well에 코팅한 후, PBS buffer(Phosphate Bovine Serum-tween; 0.01 M PBS에 tween 20를 0.02% 첨가한 용액)로 4회 세척하였다. 그런 다음 항체의 비특이적인 반응을 방지하기 위하여 인산완충 용액(0.01 M PBS)에 녹인 0.1% Ovalbumin을 가하여 하룻밤 방치한 후 PBS buffer로 4회 세척하였다. 세척한 well에는 표준 OTA 추출액과 항체를 적당량 희석하여, 각각 50 µl씩 well에 주입하여 4°C에서 하룻밤 동안 반응시킨다. 반응된 well은 washing buffer로 4회 세척하고 1:1,000으로 희석한 2차 항체(anti-mouse Ig-HRP, Sigma)를 100 µl씩 분주하고 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후, PBS buffer로 다시

6회 세척하였다. 기질 (2,2-azinobenzthiazoline; ABTS) 용액 100 µl를 분주하여 실온에서 30분 발색시킨 후 반응정지 용액(citrate buffer)를 50 µl 넣어서 반응을 정지시켰다. 이것을 ELISA reader (Dynatech Lab. MR 600, USA)의 410 nm에서 흡광도를 측정하여, 표준곡선을 설정하였다.

Aflatoxin

소량의 균독소인 Aflatoxin 를 효과적으로 검출하기 위하여 Sepharose 4B에 항체를 부착시킨 Immuno affinity column(Veratox, 1996)을 구입하여 사용하였다. 위의 분리된 균체를 배양한 용액 4~8 ml 를 직접 Immuno column에 넣어서 강압 여과를 한다. 이때 용액 속에 있는 불순물을 제거하기 위하여, 10 ml의 2차 증류수로 2회 세척하여 용출시킨 다음, 컬럼 속에 있는 용액을 완전히 제거시킨다. 여기서, 컬럼 속에 있는 Aflatoxin을 methanol 0.5 ml 용액으로 유속 1 drop/min로 florisil tip에 용출시켜 uv lamp 하에서 확인하여, 농도별의 표를 대조하였다. 또, Aflatoxin B₁은 위의 Ochratoxin A와 같은 ICEL로 정량하였다.

결 과

1994년에서 최근까지 채집된 각각의 메주에서 다양한 서식 균이 채집되었다. 이들의 균에서 가장 흔하게 채집된 균들은 본 실험실에서 여러 편의 논문으로 발표되었다. 우선, 많이 분리되고, 균독소 생성

으로 문제가 발생될 수 있다고 생각되는 균만을 선정하여, 균독소 생성 배지에 배양하였다. 또한, 이들의 균들은 무균 상태에서 멸균된 날 콩에 단독 균으로 배양하였다(Table 2). 메주는 모두가 우리 나라 전역에서 채집된 것으로 Table 1에 기록되었으며, 균상의 기록은 생략하였다. 여기서 각각의 메주에서 분리된 균들은 동정되어 보관되었다. 대략적으로 분리된 균들에서 대표로 생각되는 균들을 선정하여 균독소 검출을 시도하였다. 검출한 결과와 본 실험

실에서 무균 상태에 단독균을 배양한 결과를 놓고 비교하였다.

균독소 측정을 위하여, Sigma에서 시판되는 Aflatoxin B₁과 Ochratoxin A를 구입하여, 균독소 검정에 대한 표준 곡선을 만들었다(Fig. 1). 만들어진 항체로 ICEL의 방법으로 나온 결과는 Fig. 1과 같다. 대체로 각각의 표준 균독소 범위는 0.01~100 ng에서 측정되었으며, 그림과 같이 그 흡광도는 semi-log 그래프 상에서 직선으로 나타났다(R=

Table 2. Detections of Aflatoxin and Ochratoxin A produced by the different fungi inhabited in the mejus

Marks,	Fungal isolates	Detections of Aflatoxin ^a	Aflatoxin B ₁	Ochratoxin A
S-02,	<i>Absidia corymbifera</i>	Not detectable	0 ^b (ND ^c)	0 ^b (ND ^c)
V-02,	<i>Aspergillus oryzae</i>	10 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-01,	<i>Aspergillus oryzae</i>	Not detectable	0 (ND)	+ (ND)
M-04,	<i>Aspergillus oryzae</i>	0-5 ppb	0 (ND)	+ (ND)
M-27,	<i>Aspergillus oryzae</i>	20 ppb	0 (0.5ng/ml)	0 (ND)
M-39,	<i>Aspergillus oryzae</i>	Not detectable	+ (ND)	0 (ND)
M-29,	<i>Aspergillus niger</i>	10-20 ppb	+ (ND)	0 (ND)
M-30,	<i>Aspergillus niger</i>	5-10 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-43,	<i>Penicillium turolense</i>	20 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-48,	<i>Penicillium turolense</i>	No detectable	0 (ND)	0 (ND)
M-20,	<i>Botrytris cinerea</i>	No detectable	+ (ND)	0 (ND)
M-21,	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	No detectable	0 (ND)	0 (ND)
M-05,	<i>Chrysonilia sitophili</i>	No detectable	0 (ND)	0 (ND)
	Standard (50 ppb) solution	50 ppb	-	-
M-22,	<i>Penicillium griseo-pureum</i>	0-5 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-26,	<i>Penicillium griseo-pureum</i>	10-20 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-44,	<i>Penicillium citrium</i>	10-20 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-31,	<i>Paecilomyces variotii</i>	0-5 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-51,	<i>Paecilomyces variotii</i>	0-5 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-02,	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	10 ppb	0 (ND)	0 (ND)
J-01,	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0 ppb	0 (ND)	0 (ND)
M-34,	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0-5 ppb	0 (ND)	+ (50.1ng/ml ^f)
M-36,	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	5-10 ppb	0 (ND)	0 (ND)

^aAflatoxin (ppb) per 8 ml of culture filtrate were determined by Immuno affinity column (Aflascan and Aflaprep, Rh ne-Poulenc). The culture filtrate inoculated with the spores and incubated at 25°C for 4 days.

^bDeterminations of each mycotoxin reacted with the antiserum made in Jung, Duk-Hwa, Department of Food Science, Agricultural College, Kyung-Sang National University. The mycotoxins were directly measured from the culture filtrates obtained from the shaking cultures at 25°C for 4 days. The bar indicated "not detected"

^cDeterminations of each mycotoxin (culture filtrate in the above) reacted with the antiserum made in Jung, Duk-Hwa, Department of Food Science, Agricultural College, Kyung-Sang National University. Mycotoxins extracted by the 70% ethanol and directly from the cereals of soybean incubated at 25°C for 10 days. The others (ND) described indicated that the mycotoxin was not detected in the cereals of soybean under the circumstances given.

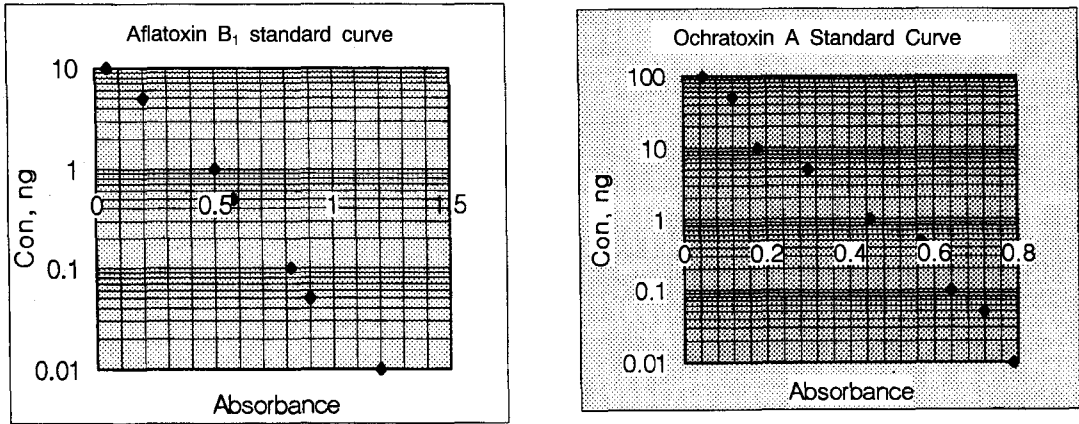


Fig. 1. The standard curves of aflatoxin B₁ (left) and ochratoxin A (right) made by the indirect competitive ELISA.

.844 for Aflatoxin B₁ and R=.735, for Ochratoxin A). 이러한 것을 기초로 하여 균을 배양한 배양액 혹은 대두콩에 균독소를 측정하였다. 구입된 Aflascan은 균을 독소배지에 진탕한 용액을 정량하였으며, 전체 aflatoxin을 표현한 것이다 (Table 2). 이 균독소 측정 kit는 모든 종류의 aflatoxin를 측정된다는 것이 다른 균독소 측정과는 달랐다. 우선, 독소배지에 생성된 용액을 본다면, 대부분의 *Aspergillus*속의 균들은 Aflatoxin을 생산하는 것으로 나타났다. 그리고, *Penicillium*속의 균들도 동일한 결과로 Aflatoxin를 생성하는 결과가 나왔다. 다른 불완전균인 *Scoupariopsis*속의 균도 역시 Aflatoxin이 생성되는 것으로 나타났다. 이러한 외국에서 구매된 Aflascan 혹은 Aflaprep에서 나온 결과는 많은 균들에서 8/22의 비율로 Aflatoxin이 생성되는 것으로 파악되었다 (Table 1).

Aflatoxin B₁과 Ochratoxin A의 경우에 많은 균들이 균독소를 생산하지 않았지만, 몇 개의 *Aspergillus*속의 균들은 균독소 생성이 측정되었다. 구입된 Aflascan과 ICCEL 방법은 서로 간의 측정엔 차이점이 있는 것으로 나타났다 (Table 2). 날콩을 멸균하여 균을 접종하였을 때, 순수 배양된 콩도 균독소 생성여부가 측정되었다. 여기 표에서 팔호 속에 있는 값은 콩 배지로 배양한 균에서 균독소를 측정한 것이며, 값이 나타나지 않은 것은 메주콩에 균독소가 위에서 언급된 범위 내에서는 전혀 측

정되지 않은 것들이다. 비슷한 정량 방법이나, ICCEL으로 Aflatoxin B₁를 측정된 결과에서는 단지 몇 개의 균에서만 생성되는 것으로 나타났다. 여기서는 주로 *A. oryzae*(M-27)에서 채집된 단 한 균에서만 Aflatoxin B₁이 검출되었다. 특수하게 Aflatoxin B₁의 양은 독소 생성 배지에서 분리된 균에서 다만 M96-4균(*A. oryzae*; 미보고된 자료임)과 M-27균(*A. oryzae*)는 각각 7.5 및 0.5 ng/ml이 생성되었다. Ochratoxin A의 분석은 독소생산 배지에서 분리된 균에서, 두 개의 *A. oryzae*의 분리균인 M-01과 M-04에서 검출되었으며, M-34인 *S. brevicaulis*에도 생성되는 것이 관찰되었다. 멸균된 대두 콩에서 다만 M96-4균(*A. oryzae*)과 M-34균(*S. brevicaulis*)은 각각 55.45 및 50.01 ng/ml씩 생성되었다. 주로, *A. oryzae*와 *Scoupariopsis*속의 단 한 균에서 생성되는 것이 관찰되었다. 여기서 나타난 결과에서는 같은 종의 *A. oryzae*도 서로 다른 종류의 균독소를 균독소 배지에 생성되는 것이 관찰되었다. 이들은 실험실 조건하에 균독소 생성을 파악하기 위하여 균을 순수하게 배양시킨 결과이며, 독소 배지에서 여러 균들이 균독소 생성을 관찰할 수가 있었다. 그와 반면에 날 콩에 배양한 균에도 몇몇 균들에 한하여 균독소가 측정이 되었다.

조선 전통식 메주 제조 농가 혹은 메주 제조회사에서 46여 개의 자연 상태에서 제조된 메주 (Table 1)를 직접 건조시켜서 균독소를 측정하였다. 그 결과는 위에서 사용한 균독소에서 최소한 0.01~100

ng의 범위에서 어떠한 메주에도 균독소는 측정되지 않았다. 본 실험에서 만들어져 사용된 항체로 *Alfatoxin B₁*과 *Ochratoxin A*를 측정할 결과 농가에서 만들어진 어떤 메주에도 위의 두 균독소는 나타나지 않았다. 여기서 앞에서 사용한 균들은 모두 전통 메주에서 분리된 균으로 독소배지 혹은 콩에 순수 배양한 것에는 균독소가 발견되었다. 그러나, 자연 상태에 있는 메주와 실험실에서 수행한 결과는 다른 것으로 나타났다.

고 찰

조선 전통 메주는 우리 나라에서 간장과 된장의 원료로 중요하며, 메주에서 균독소에 관한 문제는 국민 건강을 위하여 연구되는 과제이다. 이러한 면에서 메주가 서식 균에 의하여 발효되는 것으로 균에 대한 균독소의 연구는 메주 발효 연구에 필수적이다. 또한, 메주 제조에서 메주 발효와 관련된 균에 대한 연구도 진행되었다(이 등, 1993; 1997; 이, 1995ab). 본 연구를 위하여 각 지역에서 제조되는 메주를 채집하여, 다양한 균을 분리하였고, 인위적인 환경으로는 균독소 배지와 대두 콩을 이용하였다. 각각의 배지에서는 메주 발효와 관련되는 균들이 순수 분리되어 접종하였다. 우선, 문헌에 기록된 독소 배지를 이용하여 균을 배양한 결과, 많은 균들에서 균독소를 생성하는 것으로 보고되었다(Betina, 1984; Alvarez-Barrea, 1982). 이러한 것은 조선 전통 메주에서 서식하는 균들도 특수한 환경에서는 균독소를 생성할 수 있는 능력이 있다는 것을 의미하고 있다. 즉, 지역에서 만드는 메주의 경우 제조(메주 제조시 콩의 다른 물질을 사용한다면)가 다르면(김과 이, 1959; Chang, 1966), 서식하는 균의 환경이 달라지므로 균독소를 낼 수 있다는 것으로 사료되고 있다.

균독소 정량에서 *Aflascan*은 모든 종류의 *Aflatoxin*을 검출할 수 있는 *kit*로 많은 균들로부터 서로 다른 *Aflatoxin*을 검출할 수 있는 것으로 설명되고 있다(Veratox, 1996). 이 *kit*를 이용하였을 때에 독소 배지에 배양한 균들은 여러 종류의 *Aflatoxin*를 생산하는 것으로 나타났다. 비록, 균독소 정량에서 조선 전통 메주의 경우 균독소인 *Aflatoxin B₁*과

*Ochratoxin A*가 전혀 측정되지 않고 있지만, 그래도 많은 균에서 특히 환경이 다를 경우에 균독소가 생성되는 것으로 생각할 수가 있겠다(Alvarez-Barrea 등, 1982; Lin 등, 1981). *A. oryzae*은 아직 분류학적으로 충분한 자료가 부족한 균으로 동양의 발효식품에서는 다시 검증이 필요한 균이다(김, 1977; 김과 김, 1986). 또한 *A. flavus*와 같은 *A. flavus group*에 속하는 균으로 균독소 생성과 관련된 균으로 주목할 필요가 있다(Raper와 Fennell, 1973; Pitt와 Hocking, 1985). 본 실험실에서 황곡 균에 대한 분류 실험에서 많은 종류의 분리 사용한 결과, 메주 제조에서 인위적인 종균이 첨가된 사실이 나타났다(Chang 등, 1962; Lee 등, 1997). 본 실험인 황곡균의 분류와 균독소 연구에서, 메주 제조시 인위적인 황곡균의 사용은 균독소를 배출할 위험이 내포되는 것으로 생각된다(Hesseltine 등, 1966; Hesseltine, 1985). 우리나라에서 다양한 균독소 검출에 관한 연구에서 균독소가 메주에서 연구된 바가 있다(Lee와 Lee, 1969). *Ochratoxin A*는 수많은 지역에서 분리된 메주에서 검출되었으며, 주로 푸른곰팡이인 *Penicillium*속의 균에도 많이 생성된다고 보고 되었다(강 등, 1991ab). 그러나, 본 실험에 채집된 메주 균에서는 언급된 두 개의 균독소가 함께 생성되는 것은 관찰되지 않았다. 이러한 내용은 과거의 연구와 많은 차이점을 나타내고 있다. 여기서 한 실험에서 정량에 대한 서로의 방법은 차이가 있으나, 그 결과는 뚜렷하게 비교되고 있다.

제조된 재래식 메주에서의 *Aflatoxin*의 검출량 및 빈도는 의외로 낮은 것으로 보고되고 있다(김, 1977; 김과 김, 1986). 독소를 생성하는 곰팡이도 확인이 되었으나 독소가 검출되지 않은 땅콩, 치즈의 경우는, 공존하는 미생물 균에 의하여 생성이 감소되거나 분해된 결과라고 알려졌다(Wheeler 등, 1987; Ellis 등, 1974). 더우기, *Aflatoxin*은 이를 생성하는 곰팡이 자신도 소량 분해함이 보고되었다(Doyle 등, 1994). 또한, 동양에서 발효식품을 만드는데 오랫동안 사용해온 곰팡이들은 유독 물질을 생성하지 않을 뿐만 아니라 식품에 존재하는 다른 미생물에 의해 독소의 축적이 억제된다는 것이 증명되고 있다. 예를 들면, *tempe* 발효에 사용되는

*Rhizopus oligosporus*는 발암물질로 알려진 Aflatoxin을 생성하지 않을 뿐더러, 본래 존재하는 Aflatoxin 농도를 40%로 낮출 수 있다고 한다(Hesseltine 등, 1976). 더우기, *R. oligosporus*는 *Aspergillus flavus*와 함께 배양했을 때 그의 생육, 포자발아와 독소생성이 억제되며 나아가 *Rhizopus* 속의 다른 곰팡이인 *R. arrhizus*, *R. oryzae*, *R. chinensis*도 같은 효과를 나타낸다는 것이 알려졌다(Hesseltine 등, 1976; Lee 등, 1998). 많은 *Rhizopus*속의 균들은 Aflatoxin 혹은 Ochratoxin과 비슷한 steriod compound(주로 곤충의 호르몬 종류)를 분해할 수 있는 능력이 알려졌다(Lee 등, 1998). 조선 전통 메주에서는 매번 집합균(Lee, 1995ab; 이 등, 1997; Hahn 등, 1962; Hahn와 Kim, 1962)이 위의 불완전균(Chang 등, 1962; 이 등, 1997)과 함께 있는 것으로 다른 인위적인 혹은 단독균을 사용하여 제조된 메주와는 다르다고 생각된다. 이러한 면에서 우리의 실험 결과가 옳게 나왔다면, 조선 전통으로 자연적인 균 군상을 이용한 메주 발효에서는 균독소에 대한 문제는 크게 없는 것으로 생각된다. 또한, 아직 이에 대한 직접적인 증명은 많은 실험이 필요한 것이지만, 간접적으로 메주 발효에 관여되는 초기 균으로 검은 털곰팡이(*Rhizpous*)와 털곰팡이(*Mucor*)가 중요한 것으로 추론된다.

적 요

우리 나라에 중요한 식품의 원료인 메주에 대한 균독소(Aflatoxin B₁와 Ochratoxin A) 생성 여부를 인위적인 혹은 자연적인 환경에서 조사하였다. 채집된 메주에서 균을 분리하여 접종함으로써, 인위적인 환경인 독소생성 배지와 콩을 이용한 배지를 이용하여 균독소 생성을 관찰하였다. 조선 전통메주에서 채집된 메주 균인 불완전 진균들은 몇몇 균이 독소를 생성하였으나, 멸균된 날 콩에는 다만 2~3개의 분리균들이 Aflatoxin B₁와 Ochratoxin A를 분비하였다. 그러나, 언급된 두 개의 균독소가 함께 생성하는 분리균은 관찰되지 않았다. 그러나, 조선 전통메주에서는 어떤 채집된 메주에서도 위의 균독소가 0.01~100 ng 범위에서 관찰되지 않았다.

이러한 결과로 메주 제조에 관련된 메주 균에서 털곰팡이(*Mucor species*)가 메주 제조에 초기에 작용한 균으로 전통 메주의 발효와 균독소 생성과 관계에서 중요한 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구에서 균독소인 Aflatoxin A₁와 Ochratoxin A는 경상대학교 식품학과 정덕화교수께서 정량하였다. 또한, 연구의 일부분은 과학기술부의 선도과학기술 사업의 일환으로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

강성철, 신현길, 김종배, 강창한, 이상선. 1991a. 전통 대두 발효 식품중에 존재하는 Ochratoxin A 생성 균주의 특성. 한국식품과학회지 23: 572-577.
 강성철, 이상선, 신현길, 김종배. 1991b. 한국발효 대두식품에서 오크라톡신 A의 정량과 균분리. 한국균학회지 19: 148-155.
 김상순. 1977. *Aspergillus oryzae*와 *Asp. sojae*를 이용한 각종 메주성장에 관한 연구. 한국식품과학회지 15: 277-285.
 김상순. 1978. *Aspergillus oryzae* 및 *Aspergillus sojae*를 이용한 개량메주의 향상에 의한 장류의 품질비교. 한국식품과학회지 10: 63-72.
 김성택, 김영배. 1986. 몇가지 고오지 곰팡이가 *Aspergillus flavus*에 의한 Aflatoxin 생성에 미치는 영향. 한국농화학회지 29: 255-259.
 김호식, 이서래. 1959. 콩고오지와 보리고오지 제조중의 생화학적 변화, 서울대학교논문집(생농계) 9: 1-20.
 박경자, 김영미, 이배함, 이복선. 1977. 재래식메주에 분포하고 있는 진균에 관한 조사연구. 한국균학회지 5: 7-12.
 오만진. 1995. 전통혼성주의 품질 향상 및 산업화 기술연구. 전통발효식품의 과학과 연구. 충남대학교, 과학기술처.
 이상선. 1995. 전통메주에 관련된 미생물의 생물학적인 분류 및 안정성 연구(위탁-5) pg 393-464. 전통장류용 메주의 산업화를 위한 기반기술 연구(전통발효식품의 과학화 연구). 한국식품개발연구원, 과학기술처.
 이상선, 성창근, 배종찬, 유진영. 1997. 메주에서 분리되어 단독균으로 발효된 메주와 간장. 한국식품영양과학회지 26: 751-758.

- Alvarez-Barrea V., Pearson, A. M., Price, J. F., Gray, J. I. and Aust, S. D. 1982. Some Factors influencing aflatoxin production in fermented sausages. *J. Food Science* 47: 1773-1775.
- Betina V. 1984. Citrinin and related substances. in pp 183-210: Betina V. ed "*Mycotoxins, production, Isolation, Separation and Purification*". Elsevier Amsterdam. p 528.
- Chang, C. H. 1966. The studies on improvement of ordinary meju by adding of barley koji. Commemoration Theses Sixtieth Aniversary. Seoul National University 81-89.
- Chang, K. H., Lee, K. H. and Park, S. O. 1962. Studies on koji soy sauce brewing, 1. Isolation of *Aspergillus* sp. *Report of the Army Research and Testing Laboratory* 1: 40-45.
- Chelkowschi, J. 1989. *Fusarium*, Mycotoxin, Taxonomy and Pathogenicity. Elsevier, Amsterdam.
- Collins, G. J. and Rosen, J. D. 1981. Distribution of T-2 Toxin in wet milled corn products. *J. Food Science* 46: 877-1433.
- Domsch, K. H., Dams, W. and Anderson, T. 1980a. *Compendium of Soil Fungi*. Volume 1. Academic Press (London). 859 pp.
- Domsch, K. H., Dams, W. and Anderson, T. 1980b. *Compendium of Soil Fungi*. Volume 2. Academic Press (London). 405 pp.
- Doyle, M. E., Steinhart, C. E. and Cochrane, B. A. 1994. *Food safety 1994*. Food Research Institute, Marcel Dekker, Inc. (Department of Food Microbiology and toxicology, Univ. of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin), p 333-356.
- Ellis, J. J., Wang, H. L. and Hesseltine, C. W. 1974. *Rhizopus* and *Chlamydomucor* strains surveyed for milk-clotting, amylolytic and antibiotic activities. *Mycologia* 66: 593-599.
- Gilman, J. C. 1968. *A manual of Soil Fungi*. The Iowa state University Press, Ames, Iowa, U.S.A pp 8-70.
- Hahn, Y. S. and Kim, K. J. 1962. Studies on manufacturing of soy sauce 5. On Genus *Mucor* in Korean Bean Meju. The report of National Industrial Research Institute 11: 140-152.
- Hahn, Y. S., Park, B. D. and Chun, K. S. 1962. Studies on manufacturing of soy sauce, 4. On Genus *Rhizopus* and *Mucor* in Korean Wine Kokja. The Report of National Industrial Research Institute 11: 52-70.
- Heathcote J. G. 1984. Aflatoxin and related toxins. in pp 89-130: Betina V. ed "*Mycotoxins, production, Isolation, Separation and Purification*". Elsevier Amsterdam. p 528.
- Hesseltine, C. W. and Ellis, J. J. (1970) Mucorales. In pg 187-217: *The Fungi VIa, b*. Ainsworth, G. C., Sparrow, F. K., and Sussman, A. S. eds. Academic Press. N. Y.
- Hesseltine, C. W., Swain, E. W. and Wang, H. C. 1976. Developments in Industrial Microbiology 17: 101.
- Hesseltine, C. W. (1985) Fungi, People, and Soybeans. *Mycologia* 77: 505-525.
- Hesseltine, C. W., Shotwell, O. L., Ellis, J. J. and Stubblefield, R. D. 1966 Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Bacteriol. Rev.* 30: 795-805.
- Jennifer, Y. L. and Hagler, W. H. 1991. Aflatoxin and Cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolated from contaminated maize. *J. Food Science* 56: 871-872.
- Jone, B. D. 1972. *G70. Methods of aflatoxin analysis*. Tropical products Institute 56/62/ Gray's Inn Road London WC1X 8LU. Foreign and Commonwealth Office (Overseas Development Administration).
- Kasasian, R. and Dendy, D. 1979. *G117 Grain processing losses bibliography, Covering threshing, shelling, hulling, milling, grinding etc and excluding harvesting and storage*. Tropical products Institute 56/62/ Gray's Inn Road London WC1X 8LU Ministry of Overseas Development.
- Lee, K. H. and Chang, K. H. 1963. Studies on Koji for soysauce brewing. 2. On the Optimum Conditions of Growth and Identification of *Aspergillus* sp. *Report of the Army Research and Testing Laboratory* 2: 24-25.
- Lee, S. S., Park, K. H., Choi, K. J. and Won, S. A. 1993. Identification and Isolation of Zygomycete fungi found on Maeju, a Raw Material of Korean Traditional soysauces. *Korean Mycol.* 21: 172-187.
- Lee, S. S. 1995. Meju fermentation for a Raw material of Korean traditional Soy-sauce. *Korean Mycol.* 23: 161-175.
- Lee, S. S., Park, D. H., Sung, C. K. and Yoo, J. Y. 1997. Studies on the yellow fungal isolates (*Aspergillus* species) inhabiting at the cereals in Korea. *Korean Mycology* 25: 35-45.

- Lee, S. S., Yoon, Y. S., Yu, K. W. and Sung, C. K. 1998. Observations of the isolates of *Rhizopus* species inhabiting at the raw materials for Korean traditional fermented foods in Korea. In Press.
- Lee, T. Y. and Lee, S. K. 1969. Studies on toxic metabolites occurring in Foods, 1. Screen Test of Aflatoxin in Some Korean Fermented Soybean Foods. *J. Korea Association of food Sciences* 1: 78-84.
- Lin, Y. C., Ayres, J. C. and Koehler, P. E. 1981. Effect of temperature cycling on the production of Patulin and citrinin. *J. Food Science* 46: 974-975.
- McGee, D. S. 1991. *Soybean disease, A reference source for seed technologists*. The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota p 151.
- Moule, Y. 1984. Biochemical effects of mycotoxins. in pp 1-30: Betina V. ed "*Mycotoxins, production, Isolation, Separation and Purification*". Elsevier Amsterdam. p 528.
- Pitt, J. I. and Hocking, A. D. 1985. *Fungi and Food spoilage*. CSIRO, Division of Food Res. Sydney. Academic Press, Sydney.
- Raper, K. B. and D. I. Fennell. 1973. *The genus Aspergillus*. Robert E. Krieger Publishing Company, Huntington, New York. pp 686
- Steyn, P. S. 1984. Ochratoxin and related dihydroisocoumarins. in pp 183-210: Betina V. ed "*Mycotoxins, production, Isolation, Separation and Purification*". Elsevier Amsterdam. p 528.
- Veratox. 1996. *Veratox and Agri-Screen test kit*. Neogen Corporation, 620 Leshler Place, Lansing MI 46912.
- Wheeler, J. L. Harrison, M. A. and Koehler, P. E. 1987. *In vitro* Metabolism of aflatoxin B₁ with Microsomal enzymes in the Presence of selected nutrients. *J. Food Science* 52: 1432-1433.