

마비성패류독의 생물학적 제독

2. 해수에서 분리한 *Enterobacter* sp. CW-6를 이용한 마비성패류독의 분해

박미정 · 이희정 · 이태식 · 김지희 · 이태호*
국립수산진흥원 위생가공연구소, *부산대학교 미생물학과

Change of Paralytic Shellfish Poison Components during Bacterial Detoxification

Mi Jung PARK, Hee Jung LEE, Tae Seek LEE
Ji Hoe KIM and Tae Ho LEE*

Sanitation & Processing Research Division, National Fisheries Research
& Development Institute, Pusan 619-900, Korea

*Department of Microbiology, College of Natural Science, Pusan National University,
Pusan 609-735, Korea

Optimum temperature for paralytic shellfish poison (PSP) detoxification of *Enterobacter* sp. CW-6 isolated from sea water and changes of contents and ingredients composition of PSP during bacterial detoxification process were investigated. *Enterobacter* sp. CW-6 detoxicated 61.5~67.7% and 87.4~96.8% of initial PSP toxicity (25.1~28.5 nmole/g) after 5~12 days at 30 and 35°C, identified as optimal growth temperature, respectively. The detoxification rate of *Enterobacter* sp. CW-6 for crude PSP with initial concentration of 38.2 nmole/g after 8 and 12 days at 30°C in the Marine broth was 88.4 and 92.7%, respectively. During bacterial detoxification process using crude toxin solution, temporary increment of STX group was detected and identified that was derived from GTX2, 3 group. The detoxification rate of *Enterobacter* sp. CW-6 on purified GTX1 and 4 with initial concentration 47 nmole/g and 37 nmole/g were more than 90% after 12 days in the marine broth at 30°C. *Enterobacter* sp. CW-6 also showed a detoxification activity on purified GTX2 and 3, and the detoxification rate for the initial concentration 25.6 nmole/g after 12 days was 66.4%.

Key words: Paralytic shellfish poison, Bacterial PSP detoxification

서 론

인체에 급성치사 독성을 나타내는 마비성패류독은 saxitoxin (STX), gonyautoxin (GTX) 등 20여 독소성분의 복합체로 알려져 있다 (Oshima, 1995; Murakami and Noguchi, 2000).

마비성패류독은 냉장, 동결 등과 같은 저온이나 열탕, 가열조리 등 고온처리에 의해서도 잘 파괴되지 않는 특성을 가지고 있다. 그러나 110°C 이상의 강력한 열처리가 수반되는 통조림 제조 공정은 독소를 상당량 감소시킬 수 있는 것으로 보고되고 있다 (Noguchi et al., 1980a, 1980b; Mizuta et al., 1995; Kim et al., 1996; Shin et al., 1996).

그러나 이러한 열처리에 의한 제독이나 감독 효과는 가공원료의 독화 정도 또는 가공 조건 등에 따라서 상당히 달라질 수 있기 때문에 최종 제품의 위생안전을 완전하고 균일하게 보장하기 어려운 것으로 보고되고 있다 (Vicites et al., 1999). 따라서 패류 가공품 제조에는 무독 또는 독화의 정도가 낮은 위생안전이 확보된 원료를 사용하는 것이 무엇보다 중요하다. 따라서 근년에는 열처리 공정을 적용시킬 수 없는 활패를 대상으로 생물학적 제독이나 제독에 관한 연구가 진행되고 있다 (菊池 等, 1995; Sugawara et al., 1997).

본 연구에서는 마비성패류독 분해능이 있는 세균을 사용한 생물학적 제독 또는 감독 방법을 확립하고자 해수에서 분리한 마비

성패류독 분해능이 있는 균주의 독소 각 구성성분에 대한 구체적인 분해 활성과 독소 분해과정 중의 구성성분간의 상호 전환과 변환을 조사하였다.

재료 및 방법

시험 균주 및 표준 독소

시험 균주는 마비성패류독의 주요 구성성분인 GTX1~4에 대하여 광범위한 분해 활성을 나타내는 *Enterobacter* sp. CW-6를 사용하였으며, 표준 독소 [CTX (carbamoyl-N-sulfo-11-hydroxysaxitoxin sulfate), GTX, STX]는 미국 FDA 및 일본 東北大學에서 분양 받아 사용하였다.

마비성패류독의 구성성분 분석

마비성패류독 정량 및 구성성분은 Oshima (1995)의 post-column을 이용한 미량 형광 HPLC법으로 분석하였다.

시험 균주의 마비성패류독 분해에 미치는 배양온도의 영향 일정량의 조독소 용액을 첨가한 marine broth (Difco社)에 시험 균주를 접종한 후 20~40°C에서 배양하면서 배양액 중의 독소 함량의 경시적인 변화를 HPLC로 분석하였다.

시험 균주에 의한 마비성패류독 구성성분 분해 활성 측정

GTX1, 4 및 GTX2, 3을 각각 일정량 첨가한 marine broth에 시험 균주를 접종하고 30°C에서 배양하면서 배양액 중의 독소 함량 및 독소 각 구성성분의 경시적인 변화를 HPLC로 분석하였다.

결과 및 고찰

Enterobacter sp. CW-6가 마비성패류독의 분해능에 미치는 온도의 영향 조독소 용액을 사용한 마비성패류독 분해 시험에서 시험 균주의 독소 분해 최적 온도는 30°C로 균주의 증식 최적 온도와 일치하지는 않았다 (Fig. 1). 그러나 배양 적온으로 확인되었던 30, 35°C에서의 경우, 최초 독력 34 MU/g에서 분해 시험 5일만에 각각 56.8, 44.1%, 12일 후에는 93.0, 79.5%가 분해되었다. 그리고, 배양 적온에서 벗어날수록 균주의 독소 분해활성은 감소하였으며, 특히 20°C에서는 배양 12일 후에도 최초 독력의 69.0%가 잔존하였다.

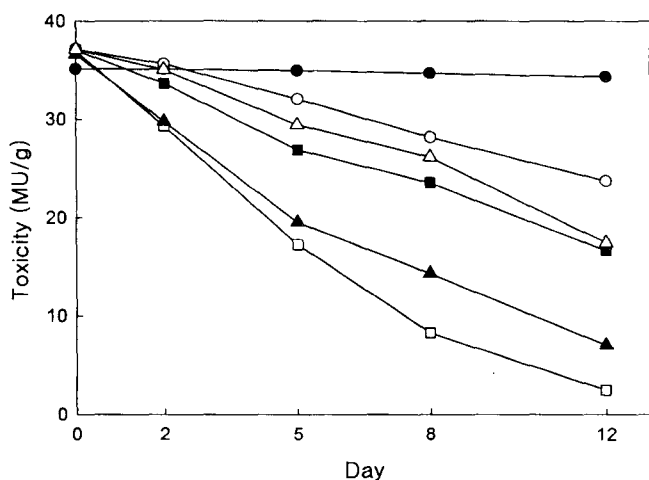


Fig. 1. Effects of temperature on the PSP detoxification activity of *Enterobacter* sp. CW-6.

●, Control; ○, 20°C; ■, 25°C; □, 30°C; ▲, 35°C; △, 40°C.

Enterobacter sp. CW-6의 마비성패류독 분해과정 중의 독소 구성성분 변화

시험 균주 *Enterobacter* sp. CW-6를 이용한 마비성패류독 분해 과정 중의 독소 구성성분 변화를 Fig. 2~6에 나타내었다.

진주담치 중의 마비성 패류독소를 0.1N HCl로 가열 추출하고, 추출한 조독소 용액을 일정량 첨가한 배지에 시험 균주를 접종하고 30°C에서 배양하였을 때, 마비성패류독의 함량 및 구성성분의 경시적인 변화를 Fig. 2에 나타내었다. 시험 용액 중의 마비성패류독 함량은 초기 농도인 38.2 nmole/g에서 배양 2일까지 거의 변화가 없었으나, 배양 5일 후에는 최초 농도의 61.3%로 감소하였으며, 배양 8일과 12일 후에는 각각 88.4, 92.7%가 감소하였다.

한편 분해과정 중에 독소 각 구성성분의 변화를 확인한 결과, GTX1, 4 혼합물의 경우 분해과정 2일째 5.7 nmole/g이었던 것이 배양 5, 8, 12일 후에는 각각 2.1, 1.0, 0.9 nmol/g으로 감소하였다.

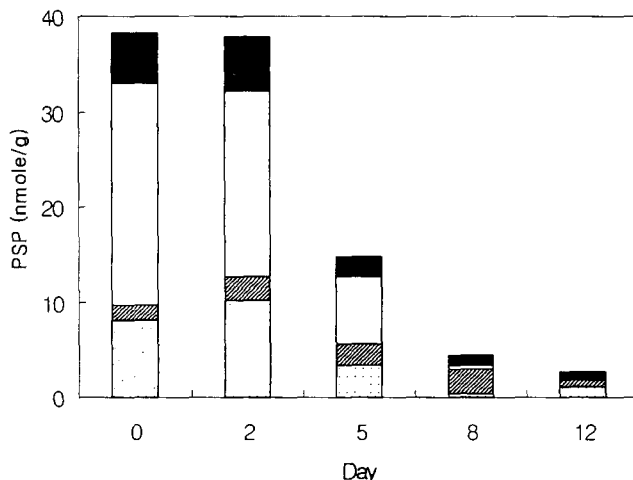


Fig. 2. Change of PSP contents and ingredients composition during bacterial detoxification process at 30°C.

■, GTX1, 4; □, GTX2, 3; ▨, STX group; ▩, CTX group.

GTX2, 3 혼합물은 시험 2일째 19.5 nmole/g에서 5일 후에는 7.0 nmole/g으로, 8일 후에는 0.4 nmole/g으로 급격히 감소하였으며, 12일째는 완전히 분해되는 것으로 확인되었다. 또한 CTX는 시험 2일째 10.1 nmole/g에서 8일 후에는 0.4 nmole/g으로 급격히 감소하였다. 그러나 STX group은 시료의 총 독소 함량이 감소하는 중에서도 8일째까지 일시적으로 증가한 후 감소하였다.

Kotaki et al. (1985)은 *Pseudomonas* sp.와 *Vibrio* sp.를 이용한 마비성패류독 분해 시험에서 GTX1, 2, 3 group이 STX로 변환되며, 이는 GTX group의 C-11 hydroxysulfate와 N-1 hydroxyl group이 제거되는 것에 기인하는 것으로 보고한 바 있다.

따라서 독소 분해과정 중 각 구성성분간의 상호 전환이나 변환을 확인하기 위하여 정제 독소를 이용하여 독소성분 분해 시험을 실시하였다. 각 독소성분은 구성성분간의 완전한 분리가 어려운 관계로 GTX1, 4 및 GTX2, 3의 혼합물을 각각 사용하였다.

GTX1, 4를 함유한 marine broth에 시험 균주를 접종하고 30°C에서 배양하면서 측정된 경시적인 독소 함량 및 구성성분의 변화를 Fig. 3, 4에 나타내었다.

시험 용액 중의 배양 배지에 함유된 최초 농도 47.0, 37.0 nmole/g의 GTX1, 4 혼합물은 경시적으로 감소하여, 시험 12일 후에는 GTX1은 100%, GTX4는 90.8%가 분해되었다. 그러나, 독소 함량이 감소되는 기간동안의 각 구성성분의 상호 변화 또는 전환은 확인되지 않았다.

Sugawara et al. (1997)은 *Acinetobacter* sp.와 *Pseudomonas* sp.에 의한 GTX1, 4 혼합물의 분해 시험에서 배양 10일 후에 GTX1, 4 혼합물의 함량이 80% 이상 감소되었으며, 특히 GTX4는 배양 10일 후에 완전히 소실되었다고 보고한 바 있다.

그러나 GTX2, 3을 이용한 분해 시험에서 독소의 최초 농도 25.6 nmole/g는 배양 2, 5, 8일 배양 후에는 각각 10.4, 5.6, 0.8 nmole/g으로 감소하였다 (Fig. 5, 6). 특히 GTX 2는 배양 2일째부터 급격히 감소하여 배양 5일 후에는 1.6 nmole/g으로 감소한 후, 배양

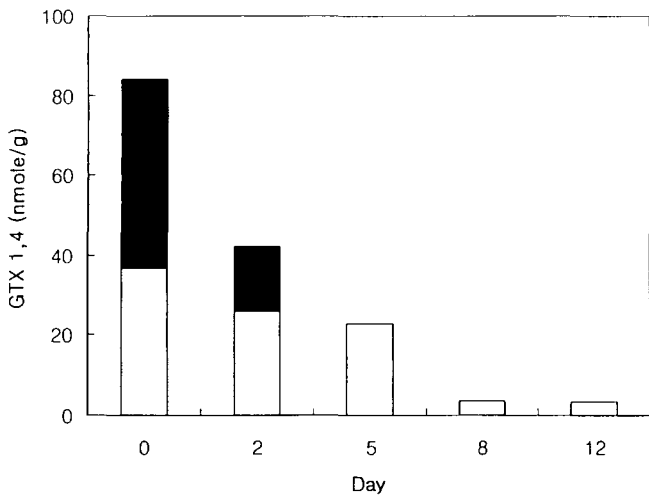


Fig. 3. Detoxification activity of *Enterobacter* sp. CW-6 against GTX1, 4 at 30°C. ■, GTX1; □, GTX4.

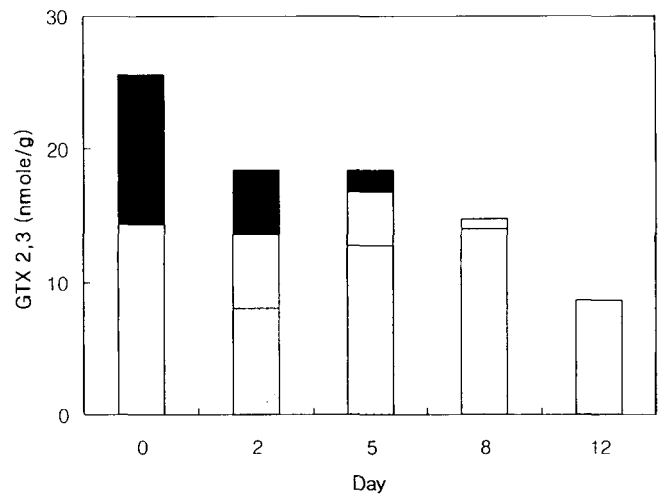


Fig. 5. Detoxification activity of *Enterobacter* sp. CW-6 against GTX2, 3 incubated for 12 days at 30°C. ■, GTX2; □, GTX3; ▨, STX.

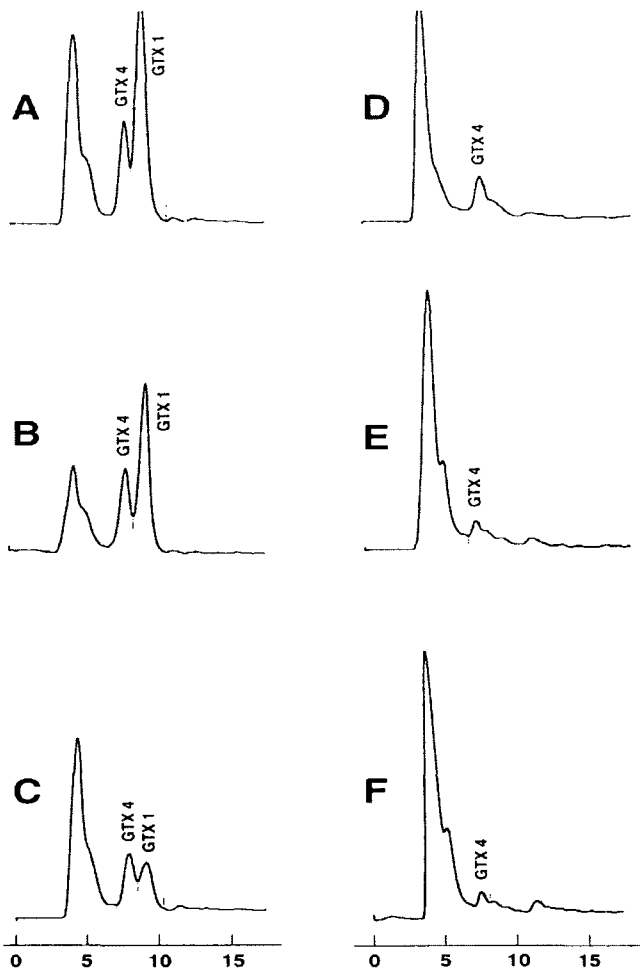


Fig. 4. Detoxification activity of *Enterobacter* sp. CW-6 against GTX 1, 4 incubated at 30°C for 12 days. A, Control; B, 0 day; C, 2 day; D, 5 day; E, 8 day; F, 12 day.

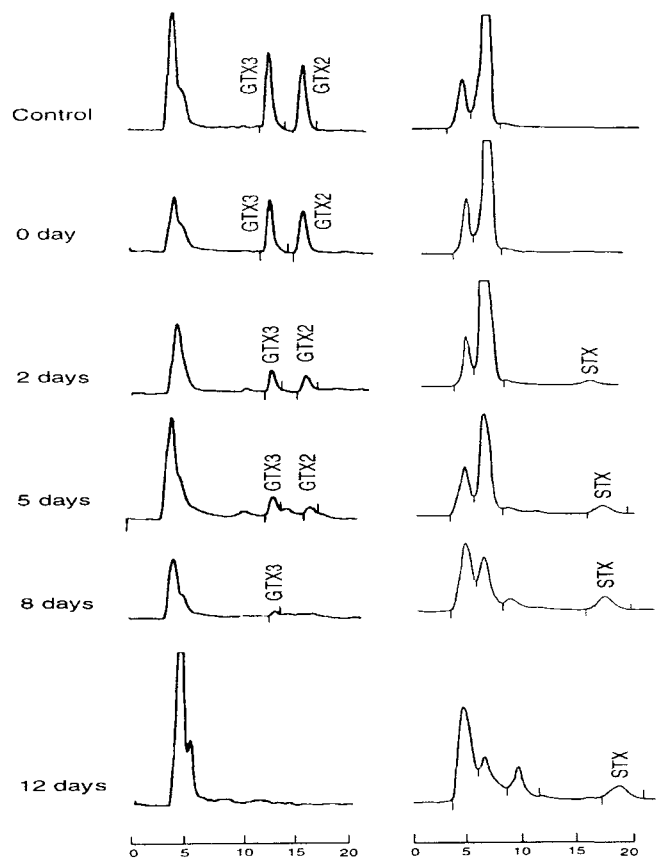


Fig. 6. Detoxification activity of *Enterobacter* sp. CW-6 against GTX 2, 3 incubated at 30°C for 12 days.

8일째 완전히 소실되었다. 그리고 GTX3은 GTX2와 같이 경시적인 감소 경향을 나타내어 배양 8일에는 0.8 nmole/g으로 감소하여, 12일 후에는 완전히 분해되었다.

그러나 배양 2일째부터는 최초 시험구에서는 검출되지 않았던 STX가 검출되기 시작하였으며, 5일과 8일 후에는 각각 12.8, 14.0 nmole/g으로 증가하였다. 그러나 12일 후에는 8.6 nmole/g으로 감소하였다.

Sugawara et al. (1997)은 *Acinetobacter* sp.와 *Pseudomonas* sp.의 균주를 이용한 GTX2, 3의 분해 시험에서 각 성분은 각각 46.0, 63.0% 감소하였고, 각 균주의 분해시험 과정 중에 약간의 STX가 생성되었다고 보고한 바 있다.

한편, Kotaki et al. (1985)와 菊池等 (1995)이 *Pseudomonas* sp., *Vibrio* sp.와 *Enterobacter* sp. 등의 균주를 이용한 시험에서도 배양 10일 후에 약간의 STX가 생성되었다는 결과를 보고한 바 있다.

요 약

해수에서 분리한 마비성패류독 분해 균주 *Enterobacter* sp. CW-6 균주의 마비성 패류독소 최적 분해 온도 및 시험 균주의 독소 분해과정 중의 독소 함량 및 구성성분을 조사한 결과는 다음과 같다.

시험 균주는 배양 적온으로 확인된 30, 35°C에서 배양 5일만에 각각 최초 첨가 독력의 56.8, 44.1%, 12일 후에는 93.0, 79.5%를 분해하였다. 그러나, 배양 적온에서 벗어날수록 균주의 독소 분해 활성은 감소하여 20°C에서는 배양 12일 후에도 최초 독력의 69.0%가 잔존하였다.

시험 균주 *Enterobacter* sp. CW-6는 30°C에서의 조독소를 이용한 분해 활성 측정에서 초기 농도 38.2 nmole/g의 마비성패류독을 배양 8일 및 12일째 각각 88.4%, 92.7% 분해하였다.

정제 독소를 이용한 분해 시험에서, 조독소 분해과정 중에 일시적으로 증가하는 STX group은 GTX2, 3에서 전환된 것으로 확인되었다.

시험 균주 *Enterobacter* sp. CW-6는 정제 독소에 대해서도 강한 분해 활성을 나타내었으며, 최초 농도 47.0 nmole/g의 GTX1과 37.0 nmole/g의 GTX4를 분해 과정 12일 후에 각각 100, 90.8% 분해하였으며, GTX2, 3 혼합물에 대하여는 최초농도 25.6 nmole/g의 독소를 12일 후에 66.4%까지 분해하였다.

참 고 문 헌

- Kim, Y.M., S.H. Choi, S.J. Kim, S.B. Suh, H.S. Byun, D.S. Chang and I.S. Shin. 1996. 1. Toxicity change in paralytic shellfish poison-infested blue mussel, *Mytilus edulis* and oyster, *Crassostrea gigas* during boiling and canning process. J. Korean Fish. Soc., 29, 893~899.
- Kotaki, Y., Y. Oshima and T. Yasumoto. 1985. Bacterial transformation of paralytic shellfish toxins in coral reef crabs and a marine snail. Nippon Suisan Gakkaishi, 51, 1009~1013.
- Mizuta, M., K. Takata, T. Monden., T. Yoneda and S. Yamauchi. 1995. Reduction in toxicity of PSP infested oyster during canning process. J. Food Hyg. Soc. Jap., 36, 423~427 (in Japanese).
- Murakami, R. and T. Noguchi. 2000. Paralytic shellfish poison. J. Food Hyg. Soc. Jap., 41, 1~10 (in Japanese).
- Noguchi, T., Y. Ueda, Y. Onoue, M. Kono, K. Koyama, K. Hashimoto, Y. Seno and S. Mishima. 1980a. Reduction in toxicity of PSP infested scallops during canning process. Nippon Suisan Gakkaishi, 46, 1273~1277 (in Japanese).
- Noguchi, T., Y. Ueda, Y. Onoue, M. Kono, K. Koyama, K. Hashimoto, T. Takeuchi, Y. Seno and S. Mishima. 1980b. Reduction in toxicity of highly PSP infested scallops during canning process and storage. Nippon Suisan Gakkaishi, 46, 1339~1344 (in Japanese).
- Oshima, Y. 1995. Postcolumn derivatization liquid chromatographic method for paralytic shellfish toxins. J. AOAC International, 78, 528~532.
- Shin, I.S., S.H. Choi, T.S. Lee, H.J. Lee, J.H. Kim, J.S. Lee and Y.M. Kim. 1996. 2. Change of toxin composition and specific toxicity in paralytic shellfish toxins of blue mussel, *Mytilus edulis* and oyster, *Crassostrea gigas* from Woepori, Koje, Korea during canning process. J. Korean Fish. Soc., 29, 900~908.
- Sugawara, A., T. Imamura, S. Aso and K. Ebitani. 1997. Change of a paralytic shellfish poison by the marine bacteria living in the intestine of the Japanese surf clam, *Pseudocardium sybilla*, and the brown sole, *Pleuronectes herzensteini*. Sci. Rep. Hokkaido Fish. Exp. Stn., 50, 35~42 (in Japanese).
- Vieites, J.M., L.M. Botana, M.R. Vieytes and F.J. Leira. 1999. Canning process that diminishes paralytic shellfish poison in naturally contaminated mussel (*Mytilus galloprovincialis*). J. Food Prot., 62, 515~519.
- 菊池慎太郎, 館脇正和. 1995. 麻痺性貝毒を微生物により無毒化する. 化学と生物, 33, 563~565.

2000년 9월 23일 접수

2000년 11월 20일 수리