

*Bacillus subtilis*와 *Aspergillus flavus*의 相互作用에 의한
Aflatoxin 生成能에 관한 研究(第1報)

—*Aspergillus flavus*의 Aflatoxin 生成에 미치는 배양조건—

徐 明 子

(釜山大學校 家政大學 食品營養學科)

Study of the Productivity of Aflatoxin through the Interaction
of *Bacillus subtilis* & *Aspergillus flavus*(I)

—The Effects of Culture Conditions on the Production
of Aflatoxin by *Aspergillus flavus*—

Suh, Myung Ja

(Dept. of Food & Nutrition, College of Home Economics, Busan National Univ.)

ABSTRACT

In order to investigate the production of aflatoxin in various conditions such as pH, moisture and temperature, 27 samples were inoculated with *Aspergillus flavus*, and in addition 3 samples were inoculated with the mixture of *Aspergillus flavus* and *Bacillus subtilis* and cultured under the conditions such as 20°C and 30% moisture contents. The following results were obtained;

- (1) Aflatoxin production was the highest at pH 5.0 and relatively high at pH 7.0. Its production was decreased significantly when pH reached 9.0.
- (2) The yield of aflatoxin was shown comparatively high level at 30% moisture contents. The higher moisture contents was, the lower aflatoxin production was.
- (3) The highest level of aflatoxin production was at 20°C, and comparatively high level was at 30°C. However, its production was fairly low at 40°C.
- (4) The highest crude aflatoxin production was 5.093 ppm (B_1 , 1.912 ppm; B_2 , 0.521 ppm; G_1 , 2.119 ppm; G_2 , 0.541 ppm) at 30% moisture, pH 5.0 and 20°C and the lowest one 2.197 ppm (B_1 , 0.793 ppm; B_2 , 0.185 ppm; G_1 , 0.102 ppm; G_2 , 0.381 ppm) at 63% moisture, pH 9.0 and 40°C.
- (5) When *Aspergillus flavus* and *Bacillus subtilis* were cultured together under the conditions such as 20°C and 30% moisture, aflatoxin production was decreased by 27% comparing with the culture of *Aspergillus flavus* alone.

緒 論

Aflatoxin에 對한 研究는 英國에서 일어난 Turkey X-disease의 原因菌이 眞菌類의 一種인 *Aspergillus flavus*에서 分泌된 二次代謝物質에 起因한다는 것이 Sargeant等(1961)에 의하여 알려졌다.

이러한 aflatoxin은 動物의 위장, 간장, 신장 등의 癌의 原因이 된다는 Butler(1966), Wogen(1966), Schoental(1967) 등의 報告가 있으며 Alpert等(1969)은 사람이 aflatoxin에 汚染되었던 음식을 먹으면 肝肥大, 肝線維化 및 급성간염을 일으킨다고 報告하였다. Seel(1970)等은 韓國人의 胃癌 發病율이 높은 理由를 발효식품인 메주중에 *Aspergillus flavus*等 有害곰팡이의 증식 및 이들이 產生하는 Aflatoxin이 關係된다고 報告한 바 있다. Kurata等(1968)은 저장곡류인 쌀, 大豆, 땅콩, 완두, 콩, 수수, 옥수수, 우유등 단백질이 많이 含有된 食品이나 발효식품에 곰팡이가 증식하여 aflatoxin이 產生된다고 한다.

Aflatoxin을 產生하는 菌株中 特히 *Aspergillus flavus*는 自然界에 널리 分布하는 곰팡이의 一種으로 韓國人常用 발효식품중 된장, 간장 제조공정에서 여러 잡균의 오염 기회가 많을것으로 생각되어 이에 對한 食品中 有害 곰팡이의 오염과 aflatoxin의 검출이 우리나라에서도 1969년부터 시도되어 왔다.

즉 鄭 및 權等(1969)은 在來式 메주에서 aflatoxin의 在存를 확인하였고 李等(1969)은 數種의 韓國 大豆醱酵食品中에서 aflatoxin 유사물질을 검출 報告하였다. 유등(1969)은 大豆 및 메주中에서 aflatoxin의 존재확인과 메주로부터 분리된 眞菌類中 生成菌은 *Aspergillus flavus*, *Penicillium cyclopium* 및 未확인주 3種임을 報告하였고 李等(1970)은 메주, 된장, 고추장, 쌀, 밀, 팥, 낙화생, 막걸리 등에서 aflatoxin을 검색 報告하였고, 鄭等(1971)은 메주의 위

생학적 제조법에 대하여, 李等(1971)은 발효식품에서 분리한 *Aspergillus flavus* 15 菌株에서, 高等(1973)은 곡류에서 분리한 *Aspergillus*屬 (58菌株)의 aflatoxin 生成能에 對하여, 金等(1977)은 된장, 메주, 땅콩중의 aflatoxin 검출에 관하여 報告한 바 있다. Majumder等(1965)은 溫度 및 습도가 높은곳 일수록 眞菌類의 번식율과 그 독성물질의 產生量도 增加된다고 하였으며 Schroeder(1967)는 이러한 환경요소가 조성될 경우 致死量 이상의 aflatoxin이 檢出된다고 하였다. 또한 李等(1976)은 aflatoxin이 *Bacillus megaterium*의 생육에 미치는 영향에서 aflatoxin은 세균의 격막형성에 關係하는 mesosome의 기능에 영향을 미친다고 報告한바 있으며, 金等(1976)은 眞菌類의 aflatoxin生成能은 共存하는 미생물의 종류에 따라 크게 영향을 받는다고 하였다.

우리나라에서 生産되는 在來式 메주는 各種 眞菌類들이 많이 오염되어 있어 그 오염율과 繁殖條件에 따라 菌 相互間에 일어나는 대사산물의 영향이 aflatoxin生成에 크게 영향이 미칠것으로 思料된다.

따라서 저자는 aflatoxin 生成균주인 *Asp. flavus*를 중점적으로 水分含量, pH, 온도 등의 조건下에서 배양하였을때 aflatoxin生成에 미치는 영향을 조사한 다음 우리나라 발효식품에 aflatoxin 生成균과 자연상태에서 共存하기 쉬운 *Bacillus subtilis*와의 相互關係가 aflatoxin生成에 어떻게 영향을 미치는가를 조사하여 그 결과를 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 使用 菌株

Aspergillus flavus ATCC 15517

Bacillus subtilis ATCC 6633

2. 시약

TLC用 Silica-gel G 및 Column用 Silica-gel은 Merck 會社製를 使用하였고 기타

시약은 모두 특급품을 使用하였다.

3. 실험방법

Asp. flavus 배양은 蒸大豆 30g에 水分, pH를 各各 조절한 후 三角 flask에 넣어 멸균한 다음, peptone phosphate soy broth배지에서 25°C에서 5日間씩 3回 連續繼代하여 충분히 活性化시킨 *Aspergillus flavus* 1ml당 1.5×10^5 정도 되도록 한 孢子 懸탁액 1ml를 接種하였다. 또한 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis* 혼합배양은 培養된 *Aspergillus flavus*를 1ml당 1.0×10^5 정도 되도록 한 포자懸탁액 1ml를 接種하고 다시 培養된 *Bacillus subtilis* 1ml당 1.0×10^7 정도 되게 한 균懸탁액 1ml를 接種한 뒤 이들을 各各 20°C 30°C 40°C의 各 온도에서 15日間 培養하여 실험에 使用하였다.

4. Aflatoxin의 추출 및 定量法

미국 AOAC 公定方法에 의하여 추출 분리하였다. 즉 메주에 n-hexane을 加하여 脫脂하고 methanol 및 chloroform으로 抽出하고 column chromatography法에 依하여 정제한 후 蒸氣浴上에서 蒸發乾固 시킨 다음 이것을 thin layer chromatography에 依하여 methanol: Chloroform(3:97v/v%) 용액을 전개액으로 분리하였다.

이것을 紫外線燈(U.V model TE 25-36 B.L.E West Buvey, Co.)에서 표준 aflatoxin(美 FDA에서 分讓받은 것임)과 일치된 Rf치를 求하고 그 표준 aflatoxin에

해당하는 部分을 분리하여 methanol로 抽出하고 Hitachi Model 124 Spectrophotometer로 ultraviolet 吸光 spectrum을 측정하여 표준 aflatoxin의 spectrum (Fig. 1)과 비교하여 확인하였다.

本 實驗에 使用한 표준 aflatoxin 용액의 濃度는 AOAC法 (26.009)에 依하여 定하였으며 波長 360m μ 부근에서의 最大 吸光度를 測定하고 分子量과 吸光度(molar absorbance)에 依하여 計算하였다.

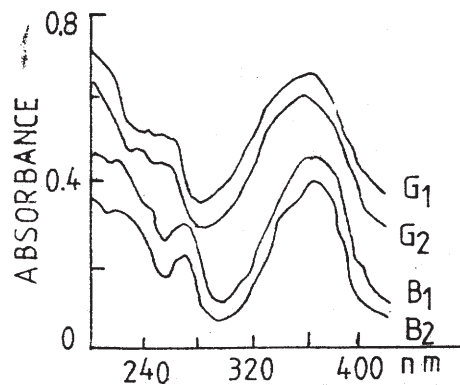


Fig. 1. UV absorption spectra of standard aflatoxin (methanol)

Table 1. The amount of Aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* in Various moisture contents and pH at 20°C

moisture pH Aflatoxin	63%			45%			30%		
	5.0	7.0	9.0	5.0	7.0	9.0	5.0	7.0	9.0
B ₁	1.259	1.182	1.178	1.426	1.324	1.052	1.912	1.741	1.261
B ₂	0.365	0.356	0.202	0.401	0.301	0.225	0.521	0.501	0.218
G ₁	1.318	1.354	1.613	1.568	1.625	1.638	2.119	2.213	2.384
G ₂	0.423	0.444	0.491	0.431	0.447	0.469	0.541	0.567	0.586
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	3.365	3.333	2.594	3.826	3.697	3.384	5.093	5.022	4.449

unit: ppm

Table 2. The amount of Aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* in various moisture contents and pH at 30°C

moisture pH Aflatoxin	63%			45%			30%		
	5.0	7.0	9.0	5.0	7.0	9.0	5.0	7.0	9.0
B ₁	1.086	1.013	0.814	1.241	1.176	0.824	1.486	1.293	1.114
B ₂	0.339	0.312	0.193	0.365	0.292	0.219	0.369	0.342	0.206
G ₁	1.061	1.091	1.091	1.124	1.209	1.257	1.364	1.382	1.501
G ₂	0.305	0.314	0.321	0.314	0.377	0.401	0.331	0.355	0.367
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	2.781	2.735	2.431	3.044	3.054	2.701	3.550	3.422	3.188

unit: ppm

Table 3. The amount of Aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* in various moisture contents and pH at 40°C

moisture pH Aflatoxin	63%			45%			30%		
	5.0	7.0	9.0	5.0	7.0	9.0	5.0	7.0	9.0
B ₁	1.073	0.936	0.793	1.092	0.986	0.711	1.252	1.048	0.904
B ₂	0.257	0.254	0.185	0.302	0.298	0.201	0.311	0.306	0.204
G ₁	0.864	0.974	1.102	0.956	0.994	1.014	1.046	1.102	1.172
G ₂	0.261	0.291	0.318	0.252	0.301	0.342	0.290	0.341	0.331
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	2.455	2.435	2.197	2.602	2.579	2.268	2.899	2.787	2.611

結果 및 考察

Aflatoxin 생성능은 여러지 要因에 依하여 左右된다. 즉 *Aspergillus flavus*의 배양 조건을 各各 pH 5.0, 7.0, 9.0, 水分含量 29.80%, 44.65%, 63.15% (이하 各各 30%, 45%, 63%로 略함)로 조절한 蒸大豆배지에 *Aspergillus flavus* 菌株를 接種하고 이것을 온도 20°C, 30°C, 40°C로 各各 15日間 배양한 시료 27個에서 aflatoxin 생성량을 실험한 결과는 Table 1, 2, 3과 같다.

pH에 따른 aflatoxin의 총生成量은 대체로 pH 5.0의 경우 비교적 높은 aflatoxin의 生成을 볼 수 있으며 pH 7.0에서도 別로 큰 차이가 없는 aflatoxin의 生成量을 볼 수 있

었다. 그러나 pH 9.0에서는 그 농도가 현저히 감소되었다.

水分含量 45%, 온도 20°C의 조건下에서 pH 5.0의 경우 crude aflatoxin의 量은 3.826 ppm (B₁, 1.426 ppm; B₂, 0.401 ppm; G₁, 1.568 ppm; G₂, 0.431 ppm)이고 pH 7.0의 경우에는 3.697 ppm (B₁, 1.324 ppm; B₂, 0.301 ppm; G₁, 1.625 ppm; G₂, 0.447ppm)이며 pH 9.0에서는 3.384ppm (B₁, 1.052p pm; B₂, 0.225ppm, G₁, 1.638ppm; G₂, 0.469ppm)의 crude aflatoxin의 生成量이 나타났다. 이 때 pH 5.0의 경우와 비교해 볼 때 pH 7.0의 경우는 別 차이를 나타내지는 않았으나 pH 9.0의 경우에는 pH 5.0에 비하여 약 12%의 감소를 보여 주었다.

水分 45%含量에서 pH 및 온도에 따른

의 변화는 Fig2.에서 나타난 바와 같이 pH에 있어서는 aflatoxin B₁의 생성량은 pH가 산성에서 알칼리로 변화함에 따라 감소되었으며 온도에 따른 변화는 pH7.0에서 온도 20°C의 경우 aflatoxin B₁은 1.324ppm이며 온도 30°C일 때는 aflatoxin B₁은 1.176ppm이며 온도 40°C인 경우는 aflatoxin B₁은 0.986ppm로 같은 pH 7.0조건에서도 온도 상승에 따라 aflatoxin의 감소현상이 나타났다. 일반적으로 곰팡이類가 산성에서 잘生育한다는事實에서, *Aspergillus flavus*의 좋은 成長度가 aflatoxin의 높은 생성량을 나타내었다고 본다. Davi등(1966)은 中性근처의 pH농도가 최적 pH농도라고 보고

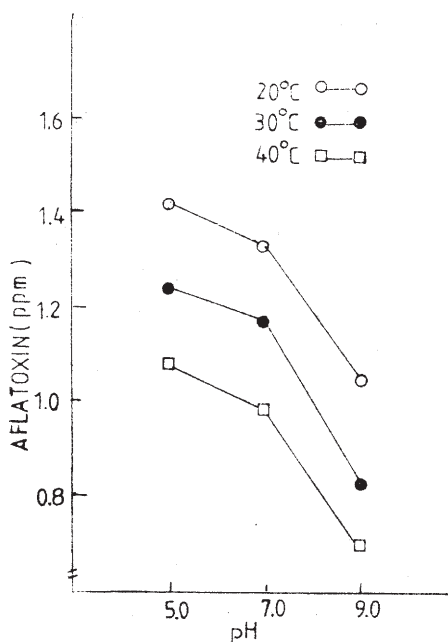


Fig. 2 Aflatoxin production at the changes of pH and temperature in a given moisture 45% by *Aspergillus flavus*

한 바 있으며, 그 후 Basappa등(1970)은 pH 5~6에서 最大量의 aflatoxin을 얻을 수 있었다고 보고한 사실과 비슷한 결과를 나타내었다.

수분에 따른 aflatoxin의 생성량은 온도 20°C pH 7.0의 조건하에서 수분함량 30%의 경우 aflatoxin의 生成量은 5.022ppm(B₁, 1.741ppm; B₂, 0.501ppm; G₁, 2.213ppm; G₂, 0.567ppm)이며, 같은 조건하에서 45%

수분함량의 경우 3.697ppm (B₁, 1.324ppm; B₂, 0.301ppm; G₁, 1.625ppm; G₂, 0.447ppm), 수분함량 63%의 경우 3.333ppm(B₁, 1.182ppm; B₂, 0.356ppm; G₁, 1.354ppm; G₂, 0.444ppm)으로 수분함량 30%의 경우와 비교해보면 수분함량 45%의 경우는 약 26.4%의 감소를 보였다. 또한 수분함량 63%의 경우는 34%의 aflatoxin 生成量이 감소되었다. 그리고 수분함량에 따른 aflatoxin의 생성량은 수분함량이 많은 조건에서는 aflatoxin 생성이 적게 나타남을 볼 수 있다. pH 및 수분에 따른 aflatoxin B₁의 변화는 Fig3과 같다. pH7.0 온도 20°C의 조건에서 수분함량 30% 경우 aflatoxin B₁은 1.741ppm이며 수분함량 45% 경우 aflatoxin B₁은 1.324ppm, 수분함량 63%의 경우는 1.882ppm으로 수분함량이 많아질수록 감소되었다. 또한 각 aflatoxin B₁의 경우 온도에 따라서, pH 5.0 및 pH 9.0의 경우에서도 수분함량이 많아질수록 aflatoxin의 양이 감소되는 현상이 나타났다. 이것은 Galderwood 및 Schroeder(1967)은 24~26%의 습도함량이 있을 때 7~21日 배양菌株에서 最大의

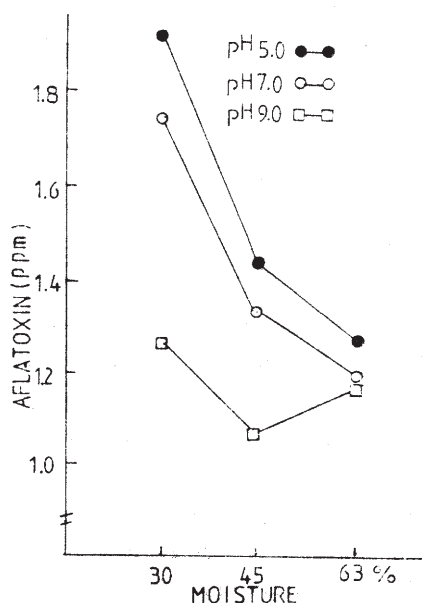


Fig 3. Aflatoxin production at the changes pH and moisture in a given temperature, 20°C by *Aspergillus flavus*

toxin을 얻을 수 있었다고 지적한 바와 大體로 유사한 結果를 얻었다.

온도와의 관계를 보면 *Aspergillus flavus* sp.가 生長할 수 있는 온도 범위는 6~46°C로서 생육적온은 20°C~30°C로 되어있다.

Schindler등(1967)은 *Aspergillus flavus*의 경우 aflatoxin의 生成은 25°C에서 最大量을 生成한다고 報告하였으며, Shroeder 및 Hein등(1967)은 rough rice에 *Aspergillus flavus*를 배양하여 온도와 時間에 따른 aflatoxin의 生成量을 관찰한 바 20°C에서 30°C로 증가할수록 最大의 aflatoxin을 얻을 수 있는 時間은 反對로 짧아진다고 하였다. 따라서 *Aspergillus flavus*의 온도에 依한 aflatoxin의 生成을 檢査하기 위하여 20°C, 30°C, 40°C의 세가지 온도에서, 15日間 水分, pH를 各各 달리한 여러 조건하에서 배양한 결과 20°C에서 가장 좋은 *Aspergillus flavus* 生長度와 aflatoxin의 높은 生成量을 볼 수 있었으며, 30°C의 경우는 20°C의 경우보다 약간 감소된 양을 볼 수 있으나 40°C의 경우는 비교적 많은 감소량을 볼 수 있었다.

pH 7.0 수분함량 45% 조건하에서 20°C로 배양하였을 때 crude aflatoxin의 量은 3.67ppm(B_1 , 1.324ppm; B_2 , 0.301ppm; G_1 , 1.625ppm; G_2 , 0.447ppm)으로 最大의 aflatoxin의 濃度를 볼 수 있었으며 30°C의 경우 crude aflatoxin 生成量은 각 3.053ppm(B_1 , 1.176ppm; B_2 , 0.292ppm; G_1 , 1.209ppm; G_2 , 0.377ppm), 40°C의 경우 2.579ppm(B_1 , 0.986ppm; B_2 , 2.986ppm; G_1 , 0.994ppm; G_2 , 0.301ppm)로 20°C 조건에서의 경우와 비교해 보면 30°C의 경우 11.4%의 감소율을 나타냈으며, 온도 40°C의 경우에는 30% 비율로 감소된 현상이 나타났다.

또한 水分과 온도에 따른 aflatoxin B_1 의 변화는 Fig. 4과 같다. 즉 pH 7.0 수분함량 30%조건하에서 온도 20°C의 경우 aflatoxin B_1 은 1.741ppm으로 가장 높은 함량이 나타났으며, 온도 30°C의 경우 aflatoxin B_1 생성량은 1.293ppm, 40°C에서는 aflatoxin

B_1 의 1.048ppm으로 20°C 조건하에서 생성된 aflatoxin B_1 의 량과 비교해 볼 때 30°C의 경우 26%, 40°C의 경우 약 40%의 비율로 감소되었다.

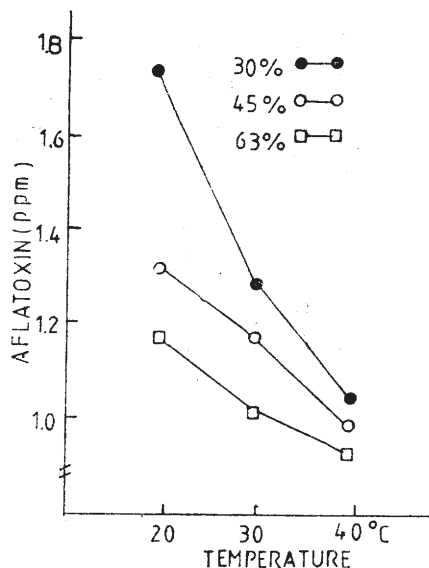


Fig 4. Aflatoxin production at the changes of temperature and moisture in a given pH, 7.0 by *Aspergillus flavus*

Aflatoxin 생성능은 동일 pH區 및 同一 水分含量 조건에서는 온도가 상승함에 따라 aflatoxin 생성량이 감소되는 현상이 나타났다. 또한 aflatoxin B_1 , B_2 , G_1 및 G_2 에서는 일반적으로 B_1 , G_1 이 B_2 , G_2 보다 많이 생성되었으며, 온도 조건에 의한 aflatoxin B 군과 G 군과의 aflatoxin 생성량을 비교해 보면 온도 20°C의 경우는 B 군보다는 G 군이 약간 높았으며 40°C의 경우 B 군이 G 군보다 높은 경향을 보여 주었다.

pH 조건에 따른 aflatoxin B 군과 G 군과의 aflatoxin 생성 관계를 보면 일반적으로 pH 9.0의 조건에서는 B 군보다 G 군의 aflatoxin 생성량이 높았다. 즉 pH 5.0의 경우 B 군은 pH 9.0로 변함에 따라 감소를 보였으며 反面에 G 군은 pH 5.0의 경우보다 pH 9.0에서 aflatoxin의 생성량이 증가되는 경향이 나타났다.

이상에서 나타난 실험 결과에서 Aflatoxin이 가장 많이 生成되는 배양조건은 水分

Table 4. Comparison of aflatoxin production by single culture of *Aspergillus* and mixed culture of *Aspergillus* and *Bacillus* at 20°C and 30% moisture

pH	Aflatoxin (ppm)	Single culture	Mixed culture
5.0	B ₁	1.912	1.264
	B ₂	0.521	0.402
	G ₁	2.119	1.612
	G ₂	0.541	0.441
7.0	B ₁	1.741	1.219
	B ₂	0.501	0.379
	G ₁	2.213	1.623
	G ₂	0.567	0.443
9.0	B ₁	1.261	1.027
	B ₂	0.208	0.201
	G ₁	2.384	1.624
	G ₂	0.586	0.447

30% pH5.0 온도 20°C이다. *Aspergillus flavus* 와 *Bacillus subtilis*를 혼합培養하였을 경우 생성된 Aflatoxin량은 Table 4와 같다. 온도 20°C 水分含量 30% 조건하에서 pH5.0의 경우 *Aspergillus flavus*에 의하여 생성된 crude aflatoxin은 5.093ppm으로, *Bacillus subtilis*菌과 혼합하였을 경우와 비교해 볼때 3.719ppm으로, 약27%의 감소율이 나타났으며, pH7.0의 경우와 pH9.0의 경우에서도 26%의 비율로서 aflatoxin의 양은 현저히 감소되는 결과를 나타냈다. 또한 독성이 강한 aflatoxin B₁의 경우는 Fig 5에서 나타낸 바와같이 pH5.0의 경우 *Aspergillus flavus*는 1.912ppm으로, *Bacillus subtilis*菌과 혼합배양의 경우

1,264ppm으로 약 34%의 감소현상이 나타났으며, pH7.0의 경우는 30%감소, pH9.0의 경우는 19%의 감소로, pH가 높아질수록 B₁의 감소 현상이 현상이 현저히 나타났다.

*Aspergillus flavus*에 의하여 생성된 경우와 마찬가지로 *Bacillus subtilis*菌과 혼합배양하였을때도, aflatoxin B₁, G₁이 B₂,

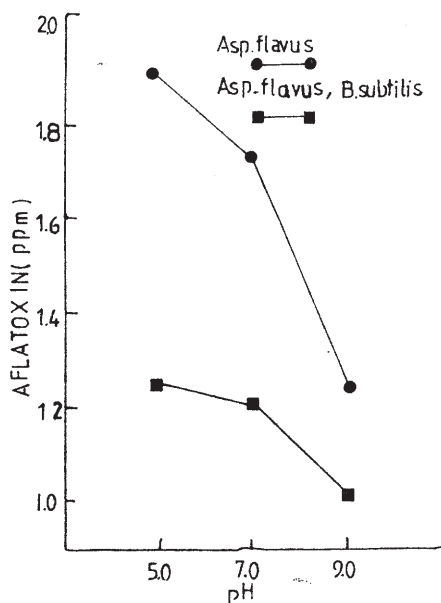


Fig 5. Comparison of aflatoxin production by single culture of *Aspergillus flavus* and the mixture of *Aspergillus flavus* and *Bacillus subtilis* at 20°C and 30% moisture.

G₂보다 많이 생성하였으며 *Aspergillus flavus* 단독 배양의 경우보다 *Bacillus subtilis*菌과 혼합배양하였을때 현저히 aflatoxin 생성량이 감소되었다.

摘 要

배양조건에 따른 aflatoxin 생성능을 알기 위하여 蒸大豆배지에 *Aspergillus flavus*를 pH 5.0 pH 7.0 pH 9.0 水分 30%, 45%, 63%, 온도 20°C 30°C 40°C등의 조건으로 각 배양한 27종의 시료와 *Bacillus subtilis*와 혼합배양한 3종의 시료를 AOAC 공정법에 의하여 aflatoxin의 생성량을 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 各 pH에 依한 aflatoxin의 생성량은 pH 5.0의 경우가 높았으며 pH 7.0의 경우도 비교적 높은

편이었으나 pH 9.0에서는 aflatoxin 생성량이 현저히 감소되었다.

2. 水分含量에 따른 aflatoxin의 생성량은 水分이 적은 30%의 경우, 비교적 많은 양의 aflatoxin을 얻을 수 있었으며, 그 다음이 45%, 63% 순으로서 수분함량이 많아질수록 aflatoxin의 생성이 감소되었다.

3. 온도조건에 의한 결과는 *Aspergillus flavus*를 20°C로 배양하였을 때 가장 높은 aflatoxin의 생성량을 볼 수 있었으며, 30°C의 경우도 비교적 높은 양의 aflatoxin 생성을 볼 수 있으나 40°C의 경우는 aflatoxin의 생성은 낮았다.

4. 여러가지 배양조건에 따른 *Aspergillus flavus*의 aflatoxin 생성량은 수분 30% pH 5.0 온도 20°C일 때 crude aflatoxin은 5.093ppm (B₁, 1.912ppm; B₂, 0.521ppm; G₁, 2.119ppm; G₂, 0.541ppm) 이므로 가장 높았으며, 수분함량 63% pH 9.0 온도 40°C일 때 crude aflatoxin의 양은 2.197ppm (B₁, 0.793ppm; B₂, 0.185ppm, G₁, 1.102ppm; G₂, 0.318ppm)으로 aflatoxin 생성이 가장 낮았다.

5. *Aspergillus flavus*를 여러 조건하에서 배양한 결과 가장 많이 생성되는 배양조건인 온도 20°C 수분 30%의 조건하에서 *Bacillus subtilis*와 혼합배양한 결과 *Aspergillus flavus* 단독배양의 경우보다 *Bacillus subtilis*균과 혼합배양하였을 때 aflatoxin은 약 27%나 감소되었다.

참 고 문 헌

- Alpert, M.E. and C.S. Davidsun, 1967. Mycotoxins. A possible cause of primary carcinoma of the liver, *Amer. J. Med.* **46**, 325.
- Arai, T., R. Itol and Y. Koyamy, 1967. Antimicrobiol. activity of aflatoxins. *J. Bacteriol.* **93**, 59.
- Ashworth, L.J., H.W. Schroder and B.C. Laugley, 1965. Aflatoxins; Environmental Factors Governing Occurrence in Spanish Peanuts. *Science* **148**, 1228.
- Basappa, S.C., V. Sreenwasamurthy, and H. A. B. Parpia, 1970. Aflatoxin and kojic acid production by resting cells of *Aspergillus flavus*, Link. *J. Gen. Microbiol.* **61**, 81.
- Buchanan Jr., R.L. and J.C. Ayres, 1975. Effect of Initial pH on Aflatoxin production. *Applied Microbiology*. **30**(6), 1050~1051
- Butler, W.H., 1966. Carcinoma on the glandular stomach in rats given diets containing aflatoxin *Nature* **209**, 90.
- Caldenwood, D.L. and H.W. Schroeder, 1968. Aflatoxin development and grade of undried rough rice following prolonged storage in a erated bins. U.S. Dept. Ag-
r., *Agr. Res. Serv. Rep.* **52**, 32
- Chu, F.S., C.C., Chang, H., Ashoor, Samy. and ,N. Prentice 1975. Stability of Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A in Brewing. *Applied Microbiology*, **29**(3), 313~316.
- Crane, P.S, S.U., Rhee, and D.J. Seed, 1970 Experience with 1,079 cases of cancer of the stomach seen in Korea from 1960 to 1968. *Amer. J. Surgery* **120**, 751.
- Devid M., L.H. Wilson, Huang, and Edward Jay, 1975. Survival of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* in High-Moisture Corn stored Under Modified Atmospheres. *Applied Microbiology* **30** (4), 592~595.
- Davis, N.D., U.L. Diener and D.W. Eldridge, 1966. Production of aflatoxin B₁ and G₁ by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. *Appl. Microbiol.* **14**, 378
- Diener, U.L. and N.D. Davis, 1966. Aflatoxin production by isolates of *Aspergillus flavus*. *Phytopathol.* **56**, 1390.
- Gupta, S.K. and T.A. Venkitasubramanian, 1975. Production of Aflatoxin on soybeans. *Applied Microbiology*, **29**(6), 834~836.
- Kulik, M.M. and C.E. Holaday, 1966. Aflatoxin: a metabolic product of several fungi. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **30**, 137

15. Korata H., M., Tanabe. K., Kauota, S., Udagawa, and M. Ichirinoe, 1968. Studies on the population of toxigenic fungi in foodstuffs; aflatoxin producing fungi isolated from foodstuffs in Japan.
16. Majumder, S.K., K.S. Nardsimban and H.A. B. Parpia, 1965. Microecological factors of Microbial Spoilage and the the occurrence of Mycotoxins on stored Grains Mycotoxin in foodstuffs (G.N. Wogan editor, M.I.J.T. press), pp 27~47.
17. Nip, Fred C.W.K., Chang, F.S. Chu, and N. Prentice, 1975. Fate of Ochratoxin A in Brewing. *Applied Microbiology* **30** (6), 1048~1049.
18. Sargeant, K., A., Sheridan, J., O'Kelly, and R.B.A. Carnaghan, 1961 Toxicity Associated with Certain Samples of Ground nuts. *Nature* **192**, 1096.
19. Schindler, A.F., J.G. Palmer, and W. V., Eisenberg, 1967. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as related to various temperatures, *Appl. Microbiol.* **15**, 1006.
20. Schoental, R., 1967 Aflatoxins, *Annual Review of Pharmacology* **7**, 343.
21. Schroeder, H.V., 1967 Proc. Mycoxin, Research Seminar, Washington, D.C, June.
22. Schroeder, H.W. and H., Hein, Jr., 1967. Effect of diurnal temperature cycles on the production of aflatoxin, *Appl. Microbiol.* **16**, 988., **15**, 441.
23. Scott, P.M, Van W. Walbeek, and J., Forgacs, 1967. Formation of aflatoxins by *Aspergillus astainus* Wehmer, *Appl. Microbiol.* **15**, 45.
24. Wildman, J.D., L., Stoloff, and R. Jacobs, 1967. Aflatoxin production in mixed culture medium by *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp., *Biotechnol. Biol.* **9**, 429.
25. William Horowitz, 1975. Natural poisons, Methods of Analysis of the Associations of official Analytical chemists, Editor. AOAC Methods Twelfth Edition.
26. Wogan, G.N., 1966 Chemical Nature and Biological Effects of aflatoxins. *Bacteriological Reviews* **30**, 460.
27. 고춘명, 최태주, 유준, 1973, 한국 균학회지 **1**, 17.
28. 김용화, 황보정숙, 이서래, 1977. 몇가지 한국 식품중 Aflatoxin의 검출 한국식품과학회지 **9**(1) 73.
29. 김운주, 정용, 권숙표 1976; 진균류의 상호 작용에 의한 aflotoxin 생성능에 관한 연구. 예방의학회지 **9**, 77.
30. 유준, 고춘명, 권숙표, 정용 1969, 한국저장 식품 中の 유독성 물질과 그 방지에 관한 연구, 장유중의 Aflatoxin에 관하여 연세논총 **7**: 191.
31. 이관명, 이서래, 1974; 국내의 변질미에서 분리된 *Aspergillus flavus*균의 Aflatoxin 생성 능 식품과학회지 **6** (3), 196~176.
32. 이근배, 이장규, 김찬수, 유준, 심길순, 성호경, 전세열, 이희성, 조선애, 이금자, 1970. 과학기술처 1970년도 연구개발사업보고서 M OST-R-70-84-PM p.41
33. 이배함, 권영연, 최태주, 주현규, 김상재, 정성구, 1971. 건국대학교 학술지 **12**, 367.
34. 이정희, 정영채, 정용, 1973. 각종 처리에 의한 Aflatoxin의 분해에 관한 연구. 식품과학회지 **5**(4), 201-205.
35. 이태령, 이상규, 1969, 식품 中 유독성 배산물에 관하여 (第1報). 수종의 한국 대두 발효 식품 中 aflatoxin 유무의 검색에 관하여. 한국식품과학회지 **1**, 78.
36. 정용, 김갑영, 권숙표, 1971, 메주의 위생학적 제조법에 관한 연구. 연세논총 **8**, 13.
37. 정용, 권숙표, 1969. 한국발효식품 中 Aflatoxin의 함유에 관한 연구. 대한 예방의학회지 **2**(1), 1~14
38. 최기호, 이관명, 이서래, 1976; Aflatoxin이 *Bacillus megaterium*의 생육에 미치는 영향 식품과학회지 **8**(1), 47.
39. 眞鍋 勝, 松浦 慎治, 中野 政弘 1967. 薄層および液體クロマトグラフィーによる aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂) の分離, 定量 農化. **41**(11), 592~598
40. 佐藤 友太郎, 松浦 慎治, 1968. アフラトキシン 研究 の進歩. 日本食品工業學會誌 **15** (12), 569~577.