

Bacillus subtilis와 **Aspergillus flavus**의 相互作用에 依한 Aflatoxin
生成能에 關한 究研 (第 2 報)

—**Aspergillus flavus**와 **Bacillus subtilis**의 혼합배양에 의한 Aflatoxin 生成에 관하여—

徐 明 子

(釜山大學校 家政大學 食品營養學科)

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

—The production of afatoxin by mixed cultures of
Aspergillus flavus and *Bacillus subtilis*—

SUH, Myung-Ja

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

ABSTRACT

24 samples which were inoculated with *Aspergillus flavus* and *Bacillus subtilis* and cultured on the steamed soybean media under various conditions—pH, moisture and temperature were—investigated on the production of aflatoxin by the interaction of these two microorganisms.

- (1) The amount of aflatoxin produced by mixed cultures of *Aspergillus flavus* and *Bacillus subtilis* was decreased significantly rather than that of single cultures of *Aspergillus flavus*.
- (2) Maximum production of crude aflatoxin was 2.560 ppm (B_1 , 0.908 ppm; B_2 , 0.261 ppm; G_1 , 1.162 ppm; G_2 , 0.229 ppm) at 30% moisture, pH 5.0 and 20°C, whereas minimum production was 1.107 ppm (B_1 , 0.341 ppm; B_2 , 0.104 ppm; G_1 , 532 ppm; G_2 , 0.130 ppm) at 63% moisture, pH 9.0 and 40°C.

緒 論

Aflatoxin은 강력한 癌物質로서 1960年
英國에서 10萬마리 이상의 칠면조가 연속해
서 폐죽음을 일으킨 사고가 브라질에서 수입
한 땅콩類 사료에서 기생하는 *Aspergillus*
*flavus*가 산생한 독소에 의한 中毒症이 화
인된 후 이때부터 aflatoxin이라 命名하였다.

*Aspergillus flavus*는 自然中에서 가장
흔히 발견되는 곰팡이의 一種으로, Mann
(1967), Dollear 등(1968), 鄭等(1969, 1971)
은 곰팡이 식품을 많이 섭취하는 東南亞에
서는 食品에 의한 aflatoxin의 섭취량과 肝
癌發生率間에 높은 相關性이 있다고 報告하
였으며, 또한 Dwarakanath 등(1968)도 afla
toxin은 人間發癌率과 밀접한 關係가 있다고
밝혔다. Aflatoxin은 飼料 및 여러 食品의

Aflatoxin 生成菌에 의해 오염될 가능성에 대하여 사람들은 非常한 관심을 集中하게 되어 이의 毒作用 및 이를 生成하는 菌에 對하여 많은 研究가 進行되고 있다.

李等(1969), 鄭等(1969), 李等(1971), 高等(1973), 金等(1977)은 우리나라 발효식품 중의 aflatoxin검색에 관하여 報告하였으며 Davis 및 Diener(1968)은 여러종류의 Carbohydrate等이 Afatoxin生成을 促進한다고 보고한 바 있으며, Lee(1966)는 Barium toxin분비를 阻害한다고 하였다. 柳等(1970)은 紫外線을 照射하였을 경우 toxin이 파괴되거나 菌株의 变이를 促來한다고 보고하였으며, 鄭等(1971)은 aflatoxin에 對한 空氣 오존 및 자외선 처리 효과에 對하여 관찰하였다. Ashworth等(1969)은 곡류 및 면실에 加溫처리 및 aeration으로 *Aspergillus flavus*의 침입으로부터의 방지법을 研究報告하였으며, Pohland(1968)은 aflatoxin을 약산으로 처리하면 hemiacetal로 변형되어 그 毒性的 현저한 감소를 초래하였다는 것을 관찰 보고하였다. 李等(1973)은 pH 처리온도 산 알카리 식염등의 각종 처리에 의한 aflatoxin의 分解에 관하여 연구한 바 있다. Marth(1979)等은 光線, 热, 산, 鹽基, 산화제, 中아황산염등에 의한 aflatoxin 阻害에 關하여 研究한 바 있다. Ciegler등(1966)은 *Flavobacterium aurantiacum*의 미생물이 aflatoxin을 분해 해독한다고 보고하였으며, 李等(1975)은 곰팡이류에 의하여 生成된 aflatoxin이 실제로 共存하는 다른 미생물에 의하여 큰 영향을 받는다고 하며 相互경쟁적으로 자란다고 한다.

따라서 우리나라에서 生産되는 在來式 酿주에는 各種 真菌類와 共存할 가능성이 있는 *Bacillus subtilis*들이 많이 오염되어 있어서 그 오염율과 生育조건에 따른 菌相互間의 作用으로 因하여 aflatoxin生成에 어떤 영향이 미칠 것으로 생각되어, 제 1 報에 이어 제 2 報에서도 aflatoxin 生成菌株인 *Aspergillus flavus*와一般的으로 在來式 酿주에 生育하는 *Bacillus subtilis*를 각水分

含量, pH, 温度等의 여러 條件下에서 배양하여 菌相互作用에 依한 aflatoxin生成에 미치는 영향을 실험하여 그 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 使用 菌株

Bacillus subtilis ATCC 6633

Aspergillus flavus ATCC 15517

2. 試藥

TLC用 silica gel 및 Column用 silica gel은 Merck 公社製를 使用하였고 기타 試藥은 모두 特級品을 使用하였다.

3. 實驗 培養法

Peptone phosphate soy broth 培地에서 *Aspergillus flavus*는 20°C에서 5日間씩, *Bacillus subtilis*는 37°C에서 2日間씩 3回連續繼代하여 충분히 活性化시킨 것을 使用하였다.

*Bacillus subtilis*와 *Aspergillus flavus*混合培養은 蒸大豆 30g에 水分 pH를 각各 조절한 후 삼각 flask에 넣어 淚潤한 다음 活性化된 *Aspergillus flavus*를 1ml當 1.0×10⁶정도 되도록한 胞子 혼탁액 1ml을 접종하고 다시 活性化된 *Bacillus subtilis* 1ml當 1.0×10⁷정도 되게한 菌 혼탁액 1ml를 접종하였다.

對照區로서 *Aspergillus flavus*, *Bacillus subtilis*를 각各 단독배양하기 위하여 위와같이 조정된 蒸大豆培地에 活性化시킨 *Aspergillus flavus*를 1ml當 1.0×10⁶정도가 되도록한 胞子 혼탁액 1ml를 접종하였으며 *Bacillus subtilis*는 1ml當 1.0×10⁷정도 되게한 菌 혼탁액 1ml를 각各 접종하였다.

이들 對照區菌 및 혼합배양균을 각각 20°C, 30°C 40°C의 各 温度에서 15日間 培養하여 실험에 使用하였다.

4. Aflatoxin의 押出 및 定量法

제 1 報의 方法에서와 같이 美國 AOAC 公定法에 依하여 抽出하고 TLC 및 UV spectrum으로 확인하였다.

結果 및 考察

對照區로서 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 각각 pH 5.0, 7.0, 9.0, 水分 29.80%, 44.65%, 63.15% (이하 各 30%, 45%, 63%로 略함)로 조절한 蒸大豆배지에 接種하여 温度 20°C, 30°C, 40°C로 각각 15日間 배양한 試料 48個에서 aflatoxin 生成 여부를 실험한 結果는 다음과 같다.

이들 *Aspergillus flavus* 및 *Bacillus subtilis*의 각 배양물추출액에 對한 Thin Layer Chromatography上의 aflatoxin 양상은 Fig. 1과 같다. 이때 aflatoxin은 TLC에서 표준 aflatoxin과 同一한 色調와 aflatoxin B₁, B₂, G₁ 및 G₂에 해당하는 R_f치를 갖는 형광성 물질에 對해서 그 methanol용액의 ultra violet 吸光 spectrum을 구하여 본 結果 *Aspergillus flavus*菌株에서는 배양조건에 따라 aflatoxin 생성량은 차이가 있었으나, 全試料에서 Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂의 生成을 볼 수 있었다. 그러나 *Bacillus subtilis*는 좋은 成長度는 나타내었으나 aflatoxin의 生成은 전혀 볼 수 없었다. 이것은 Kulik 및 Holaday(1966)에 의한 報告에서와 같이 *Aspergillus* sp. 와 *Penicillium* sp.의 數種 만이 aflatoxin을 分泌한다는 보고와 Diener

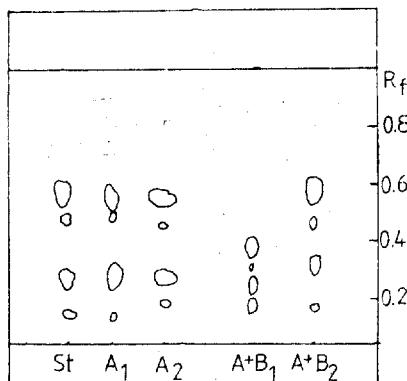


Fig. 1. T. L. C. of aflatoxin developed by the extract of culture media by single- or mixed-cultures, St: standard A: *Aspergillus flavus* A+B: *Aspergillus flavus*+*Bacillus subtilis*

및 Davis(1966)은 *Aspergillus flavus*의 80

%가 aflatoxin을 分비한다하며, Scott等(1967)은 *Aspergillus*속의 aflatoxin B₁ 및 G₁을 分비한다는 報告와 같은 결과를 나타내었다.

蒸大豆배지上에서 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 접종하여 各 温度 pH 및 水分別로 15日間 混合배양한 시료 24個에서 aflatoxin의 生성량을 실험한 結果 表 1, 2, 3과 같다.

*Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 혼합배양하였을 때 生産되는 aflatoxin의 量을 對照區와 비교해 보면 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis* 혼합 배양하였을 경우 현저히 aflatoxin 生成量이 감소된 결과를 보여주었다. 温度 20°C, pH 7.0, 水分含量 63%의 경우 *Aspergillus flavus*+*Bacillus subtilis* 혼합배양하였을 때, crude aflatoxin의 生成量은 2,501ppm(B₁, 0.082ppm; B₂, 0.184ppm; G₁, 0.906ppm; G₂, 0.279ppm)으로 대조구와 비교해 보면 약 39% 감소된 현상을 볼 수 있다. 또한 前報에서 배양조건이 좋지 못하였던 수분함량 63%, 온도

Table 1. The amount of Aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* (control), *Aspergillus flavus* & *Bacillus subtilis* on several degrees of moisture, pH, at 20°C.
Unit: ppm

moisture Aflatoxin pH	63%		45%		
	control	mixed-culture	control	mixed-culture	
5.0	B ₁	1.259	0.868	1.428	0.908
	B ₂	0.365	0.201	0.401	0.261
	G ₁	1.318	0.873	1.568	1.162
	G ₂	0.423	0.263	0.431	0.229
	B ₁	1.182	0.682	1.324	0.904
	B ₂	0.356	0.184	0.301	0.213
	G ₁	1.354	0.906	1.625	0.179
	G ₂	0.444	0.279	0.447	0.234
7.0	B ₁	1.178	0.477	1.052	0.736
	B ₂	0.202	0.111	0.225	0.124
	G ₁	1.613	0.914	1.638	1.209
	G ₂	0.491	0.282	0.469	0.254
9.0	B ₁	1.178	0.477	1.052	0.736
	B ₂	0.202	0.111	0.225	0.124
	G ₁	1.613	0.914	1.638	1.209
	G ₂	0.491	0.282	0.469	0.254

Table 2. The amount of Aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* (control), *Aspergillus flavus* & *Bacillus subtilis* on several degrees of moisture, pH, at 30°C

pH	Aflatoxin	Unit: ppm					
		moisture		63%		45%	
		control	mixed-culture	control	mixed-culture	control	mixed-culture
5.0	B ₁	1.086	0.767	1.241	0.809	1.486	1.064
	B ₂	0.339	0.163	0.365	0.221	0.369	0.205
	G ₁	1.061	0.682	1.124	0.721	1.364	0.892
	G ₂	0.305	0.127	0.314	0.211	0.331	0.175
7.0	B ₁	1.013	0.642	1.176	0.743	1.293	0.913
	B ₂	0.312	0.152	0.292	0.199	0.342	0.201
	G ₁	1.091	0.723	1.209	0.755	1.382	0.963
	G ₂	0.314	0.181	0.337	0.229	0.355	0.255
9.0	B ₁	0.814	0.452	0.824	0.609	1.114	0.628
	B ₂	0.193	0.104	0.219	0.117	0.206	0.172
	G ₁	1.103	0.764	1.257	0.764	1.501	0.987
	G ₂	0.321	0.192	0.401	0.275	0.367	0.289

Table 3. The amount of Aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* (control), *Aspergillus flavus* & *Bacillus subtilis* on several degrees of moisture, pH, at 40°C

pH	Aflatoxin	Unit: ppm					
		moisture		63%		45%	
		control	mixed-culture	control	mixed-culture	control	mixed-culture
5.0	B ₁	1.073	0.594	1.092	0.706	1.252	0.886
	B ₂	0.257	0.124	0.302	0.140	0.311	0.157
	G ₁	0.864	0.413	0.956	0.535	1.046	0.591
	G ₂	0.261	0.114	0.252	0.257	0.290	0.137
7.0	B ₁	0.936	0.508	0.986	0.609	1.048	0.756
	B ₂	0.254	0.116	0.298	0.111	0.306	0.183
	G ₁	0.974	0.522	0.994	0.542	1.102	0.717
	G ₂	0.291	0.127	0.301	0.147	0.341	0.147
9.0	B ₁	0.793	0.341	0.711	0.528	0.904	0.102
	B ₂	0.185	0.104	0.201	0.108	0.204	0.102
	G ₁	1.102	0.532	1.014	0.552	1.172	0.788
	G ₂	0.318	0.130	0.342	0.154	0.331	0.153

40°C pH 9.0의 경우에서도 약 49%의 감소 현상을 볼 수 있다.

수분함량에 따른 aflatoxin생성량은 온도

30°C pH 7.0의條件下에서水分含量 30%경우 crude aflatoxin의量은 2.332ppm(B₁, 0.913ppm; B₂, 0.201ppm; G₁, 0.963ppm;

G_2 , 0.255ppm)이며 수분함량 45%의 경우는 1.926ppm(B_1 , 0.743ppm; B_2 , 0.199ppm; G_1 , 0.755ppm; G_2 , 0.229ppm) 수분함량 63%의 경우 crude aflatoxin의 양은 1.698ppm (B_1 , 0.642ppm; B_2 , 0.152ppm; G_1 , 0.723ppm; G_2 , 0.181ppm)으로 수분함량 30%의 경우와 비교해 보면 수분 45%의 경우는 약 17.5%의 감소를 보였으며, 수분함량 63%의 경우는 약 23%의 aflatoxin量이 감소되었다. 또한 대조구와 비교해 보면 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus Subtilis* 혼합배양에 의한 aflatoxin生成能의 결과는, 같은 조건하에서 수분함량 30%경우 32%가량의 감소를 보이며 수분함량 45%의 경우 약 47%감소, 수분 함량 63%의 경우 48% 감소현상이 나타났다. pH 및 수분함량에 의한 aflatoxin B_1 의生成量은 Fig. 2와 같다. 온도 30°C, pH 7.0의條件下에서 수분함량 30%경우 aflatoxin B_1 은 0.913ppm으로, 수분함량 45%, 63%의 경우와 비교해 보면 각각 약 19%, 30% 감소율이 나타났다. 따라서 혼합배양에 의한 afl-

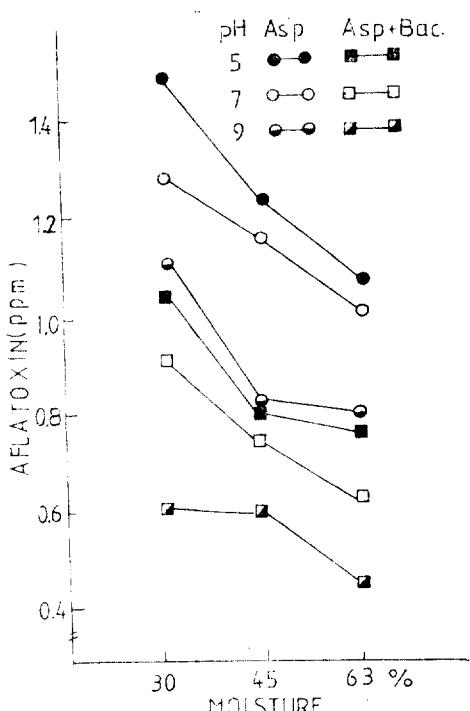


Fig. 2. Aflatoxin production at pH and moisture in a given temperature 30°C

atoxin B_1 의生成量도 수분함량이 증가함에 따라 aflatoxin B_1 감소현상이 나타났다. 또한 aflatoxin B_1 에 대해서 *Bacillus subtilis*와 *Aspergillus flavus* 혼합배양의 경우對照구와 비교해 보면 이것도 역시 각 수분함량에 따라 30%~37%정도 감소되었다.

수분함량에 의한 aflatoxin生成能은 수분 함량이 많아질수록 aflatoxin생성량이 감소되는 것을 볼 수 있으며, 이것은前報에서 나타난結果와一致한다.

溫度와의關係를 보면 pH7.0, 水分含量 45%條件下에서 20°C로 배양하였을 경우 crude aflatoxin의量은 2.580ppm(B_1 , 0.904ppm; B_2 , 0.213ppm; G_1 , 0.179ppm; G_2 , 0.234ppm)이며 30°C條件下에서는 1.926ppm (B_1 , 0.743ppm; B_2 , 0.1999ppm; G_1 , 0.755ppm; G_2 , 0.229ppm), 40°C條件下에서는 1.498ppm(B_1 , 0.609ppm; B_2 , 0.110ppm; G_1 , 0.542ppm; G_2 , 0.147ppm)으로, 温度가 낮은 20°C의 경우를 기준으로 하여 비교해 보면, 30°C條件下에서는 25%의 감소현상, 40°C 조건하에서는 42% 정도의 감소현상이 나타났다. 또한 *Aspergillus flavus*-*Bacillus subtilis* 혼합배양에 있어서 대조구와 비교해 보면 같은 조건하에서 20°C의 조건인 경우 30%의 감소, 30°C 조건하에서는 37%의 감소, 40°C 조건하의 경우는 42%의 감소현상이 나타났다.

또한水分과 温度에 따른 aflatoxin B_1 의변화는 Fig. 3과 같다.

수분함량 45% pH7.0의條件下에서 温度 20°C로 배양한 경우와 비교해 보면 aflatoxin B_1 은 0.904ppm으로 30°C의 경우에는 21% 정도의 감소를 나타냈으며 40°C의 경우에는 약 42% 감소현상이 나타났다. 또한 대조구와의비교에서도 각 温度區에 따라 약 32~38%의 aflatoxin B_1 이 감소되었다. 따라서 温度에 따른 aflatoxin 생성능은 온도 상승과 더불어 aflatoxin量은 현저히 감소되었다.

pH에 따른 aflatoxin 변화는前報에서 나타난結果와 같이 pH9.0에서 aflatoxin 생성량이 낮았다. pH에 의한 aflatoxin 생성

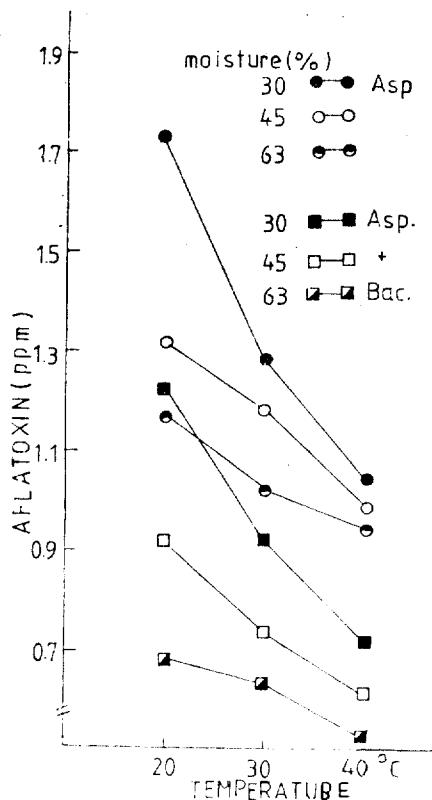


Fig. 3. Aflatoxin production at moisture and temperature in a given pH 7.0

량은 수분함량 45%, 온도 30°C의 조건에서 pH 5.0의 경우 crude aflatoxin의量은 1.952ppm(B₁, 0.809ppm; B₂, 0.221ppm; G₁, 0.721ppm; G₂, 0.211ppm)으로 대조구와 비교했을 때 약 36% 감소율을 나타냈으며 pH 7.0의 경우는 1.926ppm(B₁, 0.743ppm; B₂, 0.199ppm; G₁, 0.755ppm; G₂, 0.229ppm)로 대조구와의 비교에서 이것도 37% 감소현상이 일어났다. pH 9.0의 경우 crude aflatoxin量은 1.755ppm(B₁, 0.609ppm; B₂, 0.117ppm; G₁, 0.764ppm; G₂, 0.275ppm)로 대조구와의 비교는 약 35% aflatoxin이 감소되었다.

水分 45%含量에서 pH 및 온도에 따른 aflatoxin B₁의 생성결과는 Fig. 4와 같이 온도가 상승함에 따라 aflatoxin B₁의 함량이 감소되었으며, 또한 pH에 있어서 각 배양조건下에서는 모든구는 pH 5.0에서 가장 aflatoxin B₁ 생성량이 많았으며 다음이 pH 7.0

pH 9.0의順이었다. Aflatoxin B₁에 있어서对照區와 비교해 보면 pH 5.0 수분함량 45%의條件下에서는 각 배양온도조건에 따라 35~46%의 감소 현상이 나타났다.

Aflatoxin을生成하는菌株인 *Aspergillus flavus*가 다른 미생물과의相互間의 생존경쟁적인共存에依하여는 영향을 받는다고 본다.

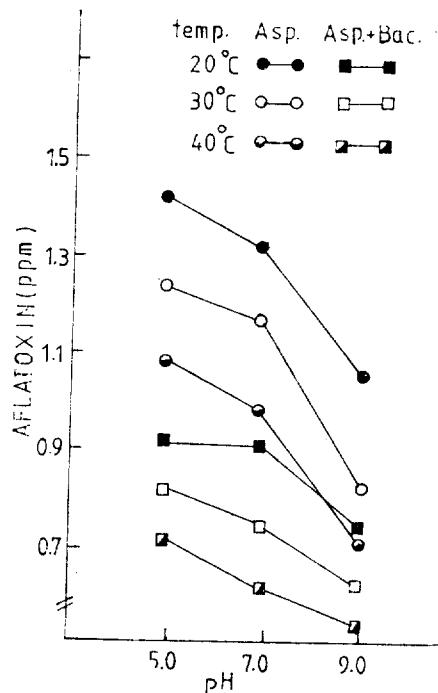


Fig. 4. Aflatoxin production at temperature and pH in a given moisture 45 %.

*Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 혼합배양하였을 때의 aflatoxin 생성양상을 보면 *Bacillus subtilis*에依하여 *Aspergillus flavus*의 aflatoxin生成阻害는 매우 흥미있는 일이다. Ashworth等(1965)은 망종에 여러가지 곰팡이를 접종한 결과 *Aspergillus niger*, *Rhizoctonia solani*等은 *Aspergillus flavus*의 생육과 기질에 있어서 aflatoxin生成을制限한다고報告하였으며, Wildman等(1967)은 *Penicillium* sp.가 *Aspergillus flavus*와 경합적으로 생육할 때 aflatoxin의生产을 감소시킨다고 하였으며, Arai等(1967)은 Aflatoxin의數種이 *Streptomyces*

ptomyces와 Nocardia를 발육 억제시킨다고 主張하였다. 또한 金等(1976)은 *Aspergillus flavus*에 *Aspergillus niger* 및 *Aspergillus oryzae*株를 각기 그株 菌株씩 혼합배양하였을 때, *Aspergillus flavus*만을 배양하였을 때보다 aflatoxin 생성량이 낮았다고 지적한 바 있다.

*Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis* 혼합배양에 의한 aflatoxin 生成能에 있어서는 水分 温度等 어린 條件下에서도 對照區

에 비하여 현저히 aflatoxin 생성량이 감소되었다. 또한 全試料에서 aflatoxin B₁, B₂, G₁ 및 G₂가 생성되었으며 特히 毒性이 강한 aflatoxin B₁이 B₂보다 相當히 많이 생성되었다.

Aflatoxin을 생성하는 菌과一般的으로 在來式 메주에 生育하는 *Bacillus subtilis*는 大豆에 기생하여 여러 환경조건에 따른 aflatoxin 生成에 어떤 영향을 주는 것으로 생각된다.

摘要

蒸大豆培地에 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 各種 pH, 水分 및 温度等의 여러가지 條件下에서 混合培養한 24種의 試料에서 菌相互間의 作用에 依한 aflatoxin 生成能에 對하여 實驗한 結果 다음과 같다.

- 對照區로서 *Aspergillus flavus*를 各種 pH, 水分 및 温度에 따라 培養하여 생성된 aflatoxin과 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 混合培養하였을 때 生成된 aflatoxin量을 比較해 보니 *Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*의 混合培養의 경우一般的으로 aflatoxin 生成量이 현저히 감소되었다.
- 溫度에 依한 aflatoxin 生成能에 있어서는 온도 20°C 條件下에서 배양하였을 때 가장 높은 aflatoxin의 生成량이 나타났으며, 다음으로 30°C, 40°C의 順이었다.
- pH에 依한 aflatoxin의 生成은 pH 5.0의 조건에서 가장 높았고 pH 7.0의 경우도 거의 유사한 결과를 나타냈다. pH에 있어서는 pH 9.0의 경우가 가장 적은 aflatoxin의 生成을 볼 수 있었다.
- 水分에 따른 aflatoxin의 生成 결과는水分이 적은 30%의 경우 비교적 높은 편이었으며 45%, 63%의 順으로 aflatoxin의 生成量이 감소되었다.
- Aspergillus flavus*와 *Bacillus subtilis*를 여러가지 條件下에서 混合培養한 結果 水分含量 45%, pH 5.0, 温度 20°C의 條件下에서 crude aflatoxin의 量은 2.634ppm(B₁, 0.908ppm; B₂, 0.261ppm; G₁, 1.162ppm; G₂, 0.229ppm)로 가장 높은 生成량이 나타났으며, 水分含量 63%, pH 9.0 温度 40°C의 조건下에서 crude aflatoxin의 量은 1.107ppm(B₁, 0.341ppm; B₂, 0.104ppm; G₁, 0.532ppm; G₂, 0.130ppm)으로 가장 낮은 aflatoxin의 生成을 볼 수 있었다.

参考文獻

- Alpert, M.E., and C.S. Davidson, 1969. Mycotoxins. A possible cause of primary Carcinoma of the liver. *Amer. J. Med.* **46**, 325.
- Arai, T., R. Itol and 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. Sreenivasamurthy and H. A. B. Parpia, 1970. Aflatoxin and kojic acid production by resting cells of *Aspergillus flavus*, Link. *J. Gen. Microbiol.* **61**, 81.
- Butler, W.H., 1966. Carcinoma of the Glandular stomach in Rats given Diets containing aflatoxin. *Nature* **209**, 90.
- Calderwood, D.L. and H.W. Schroeder, 1968. Aflatoxin development and grade of

- undried rough rice following prolonged storage in aerated bins. *U.S. Dept. Agr. Agr. Res. Serv. Rep.* **52**, 32.
7. 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 1962 to 1968. *Amer. J. Surgery* **120**, 751.
 8. 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.
 9. Diener, U.L. and N.D. Davis, 1966. Aflatoxin production by isolates of *Aspergillus flavus*. *Phytopathol.* **56**, 1390.
 10. Kulik, M.M. and C.E. Holaday, 1966. Aflatoxin: a metabolic product of several fungi. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **30**, 137.
 11. Kurata H, H. Tanabe, K. kauota, S. Udagwa and M. Ichirinoe. Studies on the population of toxicogenic fungi in foodstuffs; aflatoxin producing fungi isolated from foodstuffs in Japan.
 12. Majumdei, S.K., K.S. Nardsimhan and H.A. B. Parpia, 1965. Micro ecological factors of Micrbiol spoilage and the occurrence of Mycotoxins on stored Grains. Mycotoxin foodstuffs. (G.N. Wogam editor, M.I.J.T. Press), pp. 27~47.
 13. Sargeant, K., A. Sheridan, J. O'kelly and R. B.A. Carnaghan, 1961. Toxicity Associated with certain Samples of Groundnuts. *Nature* **192**, 1096.
 14. Schindler, A.F., J.G. Palmer and W.V., Fisen berg, 1967. Aflatoxin ploduction by *Aspergillus flavus*. *Appl. Microbiol.* **15**, 1006.
 15. Schoental, R., 1967. Aflatoxins. *Annual Review of pharmacology* **7**, 343.
 16. Schroeder, H.V., 1967. *Proc. Mycotoxin. Research Seminar*, Washington, D.C, June.
 17. Schroeder, H.W. and H. Hein, Jr., 1967. Effect of diurnal temperature cycles on the production of aflatoxin. *Appl. Microbiol.* **16**, 988, **15**, 441.
 18. Scott, P. M., Van W. Walbeek and J., Forgacs, 1967. Formation of aflatoxins by *Aspergillus astianus* Wehmer, *Appl. Microbiol.* **15**, 45.
 19. Wildman, J.D., L. Stoloff, and R. Jacobs, 1967. Aflatoxin Production in mixed culture medium by *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. *Biotechnol. Bioeng.* **9**, 429.
 20. William Horwitz, 1975. Natural Poisons chapter 26 from Offical Methods of Analysis of the Associations of Official Analytical chemists. Editor AOAC Methods Twelfth Edition.
 21. Wogan, G. N., 1966. Chemical Nature and Biological Effects of Aflatoxins. *Bacteriological Reviews* **30**, 460.
 22. 고춘명, 최태주, 유준, 1973. 한국 군학회지 **1**, 17.
 23. 김용화, 황보정숙, 이서래, 1977. 몇 가지 한국 식품中 aflatoxin의 검출. 한국식품과학회지 **9**(1), 73.
 24. 김운주, 정웅, 권숙표, 1976. 진균류의 상호 작용에 의한 aflatoxin 생성능에 관한 연구. 예방의학회지 **9**, 77.
 25. 유준, 고춘명, 권숙표, 정웅, 1969. 한국저장 식품中의 유독성물질과 그 방지에 관한 연구. 자유中의 Aflatoxine에 관한 연구. 열세년총 **7**, 191.
 26. 이관령, 이서래, 1974. 국내의 면질미에서 분리된 *Aspergillus flavus*-군의 Aflatoxin 생성 능. 식품과학회지 **6**(3), 169~176.
 27. 이근배, 이장규, 김찬수, 유준, 심길순, 성호 경, 전세열, 이희성, 조신애, 이금자, 1970. 과학기술처 1970년도 연구개발사업보고서 MosT-R-70~84-PM pp. 41
 28. 이배합, 퀸영연, 최태주, 주현규, 김상재, 정성구, 1971. 전국대학 학술지 **12**, 867.
 29. 이정희, 정영체, 정웅, 1973, 각종치료에 의한 Aflatoxin의 분해에 관한 연구. 식품과학회지 **5**(4), 201~205.
 30. 이태령, 이상규, 1969. 식품中 유독성 대다 산물에 관하여(제 1報). 수종의 한국 대두 발효식품中 aflatoxin 유무의 검색에 관하여. 한국식품과학회지 **1**, 78.

31. 정용, 김갑영, 권수호, 1971. 매주의 위생학적 제조법에 관한 연구. *연세논총* 8, 13.
32. 정용, 권숙호, 1969. 한국발효식품 中 Aflatoxin의 함유에 관한 연구. 대한 예방의학회지, 2(1) 1~4.
33. 최기효, 이판령, 이서례, 1976. Aflatoxin이 *Bacillus megaterium*의 생육에 미치는 영향. *식품파학회지* 8(1) 47.
34. 倉田清, 一戸正勝, 1967. Studies on the population of Toxigenic Fungi in Foodstuffs. *食品衛生誌* 8(3) 237~247.
35. 諸岡信一, 1971. Aspects on the studies on Mycotoxins from Moldy Creals. *食衛誌* 12(6), 459.