

# 飼料内 곰팡이 發育 抑制劑의 効果에 関한 研究

- Mold-X의 효과에 関한 研究 -

尹和重·張京鎭·金泰鍾·元松大\*

(건국대학교 축산대학교) \*연암축전

## 서 론

1960년 영국에서 "Turkey-X disease"가 발생한 이래 곰팡이와 곰팡이 독소에 대한 관심과 연구는 사료위생 분야로 집중되기 시작했다.<sup>24,25)</sup>

또한 곰팡이와 곰팡이 독소는 식품내에도 발육 함유되어 식품위생 분야에서도 연구활동이 활발히 진행되어 오고 있다.<sup>10,11,23)</sup> 특히 축산업의 발전이 급진되어 가고 있는 우리나라에서는 급증되어 가고 있는 가축에 필요한 사료의 수급이 절대적으로 부족하여 외국으로 부터 많은 사료를 수입하여 충당하고 있는 실정이다. 또한 하절기의 고온다습한 기후조건은 국내생산의 사료는 물론이요, 외국으로 부터 도입되는 사료의 보관시에도 곰팡이가 발육되기 좋은 조건이다.<sup>4,8,14)</sup>

사료내의 곰팡이 피해는 2가지로 대별 하여 생각할 수 있다. 즉 곰팡이의 발육으로 인한 직접적인 가축 사료의 품질저하와 곰팡이가 생산하는 곰팡이 독소로 인한 가축의 피해로 나누어 생각할 수 있다.<sup>13)</sup> 최근 우리나라에서도 곰팡이로 오염된 사료를 가축에게 급여하여 가축의 발육성장 장애로 많은 경제적 손실을 가져왔을 뿐만 아니라, 곰팡이 독소로 인하여 가축에 각종 질병이 발생되어 큰 피해를 가져왔다고 하며, 이미 외국에서는 그와 같은 사실이 많

이 보고되고 있다.<sup>7)</sup> 그리하여 곰팡이가 생산하는 독소에 관한 조사연구도 활발히 진행되어 오고 있다.<sup>16,18,22,25)</sup>

이러한 곰팡이와 곰팡이 독소의 피해를 줄이기 위한 방법으로 외국에서는 많은 항곰팡이제제가 연구 개발되어 이용되어 오고 있다.<sup>1,2,3,5,6,8,9,15,17,21)</sup>

곰팡이 발육억제제를 사용함으로써 사료의 품질이 증진되고, 가축의 성장이 촉진되며,<sup>20)</sup> 가축질병의 피해가 예방되고, 위생적인 축산식품을 섭취하게 되어 축산인은 물론이요, 인류사회에 크게 공헌되는 바이다.

본 연구팀은 곰팡이와 곰팡이 독소에 관한 각종시험을 수행하던 중 항곰팡이 제제로 광범위 곰팡이 발육 억제제인 "Mold-X"의 효과에 관한 연구도 시행한 바, 좋은 성적을 얻어 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 곰팡이 발육억제제

공시된 곰팡이 발육억제제로는 미국 AG.research MFG, Co., INC에서 제조된 "Mold-X dry powder"를 사용 하였으며, 그 주된 성분

은 propionic, Acetic, Benzoic 및 Sorbic acid 가 혼합된 제품이다.

## 2) 공시균주

시험에 사용된 균주는 Aflatoxins를 생산하는 *Aspergillus flavus* Link LAM 2119와 *A. parasiticus* RIB 1037을 배지와 옥수수에 접종하였다.

## 3) 곰팡이 배양배지

곰팡이 배양배지는 Sabouraud dextrose agar Dri-form으로 GIBCO Diagnostics 회사제를 사용하였다.

## 4) 옥수수와 옥수수 분말

시중 사료회사에서 구입된 옥수수를 사용하였으며, 그 옥수수를 분쇄하여 필요에 따라 옥수수분말로 사용하였다.

# 2. 방 법

## 1) 세균배양기 내에서의 곰팡이 발육억제 효과

Sabouraud dextrose agar에 Mold-X dry powder를 500ppm, 250ppm 및 150ppm씩 용해 희석하여 곰팡이의 발육을 억제하는 시험을 하였으며, 대조군으로는 약제를 첨가하지 않은 배지에 곰팡이를 접종하여 비교토록 하였고, 각 배지는 petri dish에 분주하여 균한 다음 필요에 따라 사용하였다.

### 1) 곰팡이의 접종

① 배지에 직접 균을 배양할때는 한 백금이의 곰팡이를 배지의 중심부에 1회 천자하여 배양토록 했다.

② 슬라이드 글라스위에 곰팡이를 접종할때는 모든 재료를 멸균한 후 V자형의 유리봉을 petri dish안에 놓고, 그 위에 슬라이드를 올려 놓은 다음 1cm×1cm×0.4cm의 농도가 다른 agar block을 만들어 슬라이드위에 접촉시켰다. agar block의 옆면 네곳에 각각 한 백금이의 곰팡이를 찍어 1회 천자 접종한 후 cover glass를 씌웠으며, 습도를 유지하기 위하여 petri dish저면에 3ml의 멸균 증류수를 넣은 후, p-

etri dish의 뚜껑을 덮어 25℃의 세균 배양기에서 7일간 배양했다.

③ 배지위에 옥수수를 심는데는, 먼저 옥수수를 10% Sodium hypochlorite액에 3분간 세척한 후, 다시 멸균 증류수로 3번 씻어서 공시균주의 포자가 함유된 생리 식염수에 옥수수의 배지 접촉부를 담근 다음, 농도가 다른 각 배지위에 부착하여 7일간 25℃의 세균배양기에서 배양했다.

## 2) 실내의 보관시 곰팡이 발육억제 효과

### 1) 옥수수내에서의 곰팡이 발육억제 시험

Mold-X 곰팡이 발육억제제는 배지의 수분 함량과 깊은 관계가 있으므로 20%이상의 수분이 함유된 배지에서는 고농도의 약제를 사용하였으나, 13%이하의 수분이 함유되었을 경우에는 저농도의 약제를 사용함이 좋았다.

실온내에 보관된 옥수수의 수분을 측정하기 위하여, 옥수수를 135℃의 dry oven에 2시간 건조시킨 바 12%의 수분이 함유되었었다. 12%가 함유된 1kg의 옥수수를 121℃에서 30분동안 고압 멸균기에 소독을 하고 식힌 후, control群을 제외하고 Mold-X dry powder를 각각 250ppm, 200ppm, 150ppm 및 100ppm이 되도록 하여, 잘섞이게 한 다음, 供試菌株들을 혼합접종하여 2ℓ의 용기에 넣어 개방된 상태로 20~25℃의 실온에서 6개월간 보관 시험했다.

### 2) 옥수수 분말내의 곰팡이 발육억제 시험

옥수수를 분쇄기에 갈아서 0.83mm. Screen mesh의 체를 통과한 옥수수분말 1kg을 121℃에서 30분간 고압 멸균하여 식힌 후 control群을 제외하고 Mold-X dry powder를 각각 250ppm, 200ppm, 150ppm 및 100ppm이 되도록 잘 섞어서 供試菌株를 혼합 접종하여 2ℓ의 용기에 넣어 개방된 상태로 20~25℃실온에서 1개월간 보관 시험하였다.

곰팡이 억제효과와 정도는 제일 좋은것이-,

다음으로 좋은 것이 +, 제일 효과가 낮은 것이 ++, 그리고 대조군이 +++로 표시 되었다. 실내의 시험과 배양기내에서의 시험은 각 종류별로 5회씩 반복 실시했다.

## 결 과

1. 배양기내의 배지 시험에서는 표 2에서 보여주는 바와 같이 평면배양, 옥수수배양 및 슬라이드배양 방법에 있어서, Mold-X 500ppm에서는 곰팡이가 모두 자라지 않았고(-), 250ppm에서는 곰팡이가 약간 증식되었으며(+), 150ppm에서는 상당한 곰팡이 증식이 나타났으나(++), 대조군에서는 대단히 심한 곰팡이 발육이 나타났다.(+++)

표 2의 -, +, ++ 및 +++의 정도는 사진 1-1, 1-2, 1-3, 2-1, 2-2, 2-3, 3-1, 3-2 및 3-3에서 그 정도를 보여주고 있다.

Table 2. Effect of Mold-X in the kinds of Media

Dose of Mold-X Media	500ppm	250ppm	150ppm	Control
On the petri dish	-	+	++	+++
In the corns	-	+	++	+++
On the slide culture	-	+	++	+++

2. 실내 보관시의 약효 시험에 있어서도 Mold-X 250ppm, 200ppm 및 150ppm을 옥수수와 옥수수분말에 혼합 첨가한 후, 대조군과 함께 곰팡이를 접종한 결과는 표 1에서 나타내는 바와 같다. 즉 250ppm의 Mold-X를 함유한 옥수수나 옥수수 분말에서는 곰팡이가 전혀 자라지 않았고(-), 200ppm에서는 곰팡이가 약간 증식되었으며(+), 150ppm에서는 상당한 곰팡이 증식이 나타났으나(++), 대조군에서는 대단히 심한 곰팡이 발육이 나타났다.(+++) 표 1의 -, +, ++ 및 +++의 정도는 사진 4-1, 4-2, 4-

3, 5-1, 5-2 및 5-3에서 보여주고 있다.

## 고 찰

실내에서의 옥수수에 접종한 곰팡이의 발육억제 효과를 위하여 광범위 곰팡이 발육억제제인 Mold-X 250ppm수준을 사용하였을 때에는 전혀 곰팡이가 자라지 않는 좋은 결과를 가져왔다. (표 1과 사진 4-1) 그러나 200ppm수준의 Mold-X를 사용하였을 때에는 약간의 곰팡이가 자랐으며 150ppm수준의 Mold-X를 사용하였을 때에는 곰팡이가 상당히 자랐으므로 곰팡이의 발육억제를 위해서는 최소한 250ppm수준의 Mold-X를 사용해야 하리라 생각한다.

Richard, C. Dixon 등<sup>18)</sup>이 연구한 유기산들의 곰팡이 발육억제 효과 시험에 의하면 옥수수내의 수분함량이 적으면 적을수록 약의 용량도 소량 필요하다고 하였다. 그리하여 본 시험의 시행전에 옥수수의 수분함량을 측정할 결과 12%의 수분이 함유되었음을 알게 되었다. 그래서 Mold-X의 함량도 250ppm수준치 이하를 택하게 되었다. 또한 Richard, C. Dixon 등<sup>18)</sup>의 보고에 의하면 propionic, benzoic 및 acetic acid의 순서로 곰팡이 발육억제 효과를 나타낸성적은 사료내의 수분함량에 의하여 달리 나타났으나, Mold-X는 이들을 모두 혼합한 제제이기 때문에 특히 Aflatoxins를 생산하는 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus paraciticus*에는 좋은 효과를 가져온 것으로 생각한다.

그 외에도 Chen, T.C. 등<sup>2)</sup>은 Gentian violet로 곰팡이 발육억제 시험을 하였고, Dicken, F. 등<sup>5)</sup>은 lactones를 이용한 곰팡이 발육억제 시험을 하였으며, Britt, D. G. 등<sup>1)</sup>은 propionic acid와 formic acid에 의한 곰팡이 발육억제 시험을 하였으나 그 결과는 Mold-X에 미치지 못했다.

사료와 식품으로 사용되는 경우 옥수수는 분말 상태로 보관되는 경우가 많으므로 옥수수분말에 접종한 곰팡이의 발육억제 효과를 위한 M-

old-X에서도 250ppm수준에서는 곰팡이가 자라지 않는 좋은 결과를 가져왔다. 그러나 200ppm수준에서는 곰팡이가 약간 자라고, 150ppm수준에서는 곰팡이가 상당히 자랐으므로 250ppm수준의 Mold-X가 곰팡이 발육억제제로 양호함을 나타냈다(표 1과 사진5-1). Chen, T. C.

Table 1. Effect of Mold-X in the Corn of Room Storage

Dose of Mold-X Media	250ppm	200ppm	150ppm	Control
In the corns	-	+	++	+++
In the corn meals	-	+	++	+++

등<sup>3)</sup>은 옥수수 가루에서 곰팡이의 억제효과를 얻었다고 보고한 바 있으나 그 함량이 많았으며, 또한 Chen, T. C. 등<sup>4)</sup>이 인용한 Richardson과 Halick의 연구보고에 의하면, 14~15%의 수분이 함유된 옥수수분말에서 propionic acid의 단일 제품을 썼을때, 0.1%의 많은 양을 사용하여, 곰팡이의 발육을 억제하였으므로 세균배양기내에서의 배지내 시험에서는 배지의 수분 함량이 많으므로 곰팡이 발육 억제제도 500ppm수준의 Mold-X를 사용했다.<sup>5)</sup> Mold-X 500ppm, 250ppm 및 150ppm이 함유된 Sabouraud dextrose agar의 평판 배지에서 곰팡이가 자라지 않은 것은 500ppm 수준이었고, 250ppm 수준의 배지에서는 곰팡이가 약간 자랐으며 150ppm 수준의 배지에서는 곰팡이가 상당히 자랐다(표 2와 사진 1-1, 1-2).

Britt, D. G. 등<sup>6)</sup>의 propionic acid의 곰팡이 발육억제 시험결과에서 보다 훨씬 적은 양의 Mold-X로 곰팡이의 발육을 억제하였으므로 그 효과가 월등한 것으로 생각된다.

옥수수에 부착된 곰팡이의 종류를 판정하는 시험방법인 배지내 옥수수 배양법은 옥수수에 부착된 곰팡이의 포자가 자람으로써 판별되는 것이다. 본 시험에서 옥수수배양법을 적용한것

은 옥수수에 부착된 곰팡이 포자의 발육억제를 규명코져 시행한 것이다. 시험결과로는 Mold-X 500ppm, 250ppm 및 150ppm수준이 함유된 배지들에서 곰팡이가 자라지 않은 것은 역시 500ppm수준이었고, 250ppm 수준에서는 부분적으로 곰팡이가 자랐으며, 150ppm 수준에서는 모든 옥수수에 곰팡이가 자랐다(표 2와 사진 2-1, 2-2). 그러므로 500ppm수준의 Mold-X가 곰팡이 포자의 발육을 억제할 수 있음을 나타냈다. 그럼으로 본 방법도 앞으로는 곰팡이의 발육억제 시험에 많이 이용되도록 권장하는 바이다.

곰팡이의 발육상태가 동정에 이용되는 Slide 배양법은 곰팡이의 종류를 구별하는데 간편한 방법인 바, 본 시험에서 이 방법을 시도한 것은 aflatoxins를 생산하는 *Aspergillus flavus*를 쉽게 판정할 수 있기 때문이었다. 시험 결과로는 Mold-X 500ppm, 250ppm 및 150ppm 수준이 함유된 배지에서 곰팡이가 자라지 않는 것은 500ppm수준이었고, 250ppm와 150ppm에서는 곰팡이가 상당히 자랐으므로 본 시험의 결과도 500ppm수준의 Mold-X가 곰팡이 발육억제제로 우수함이 입증되었다(표 2 사진3-1, 3-2).

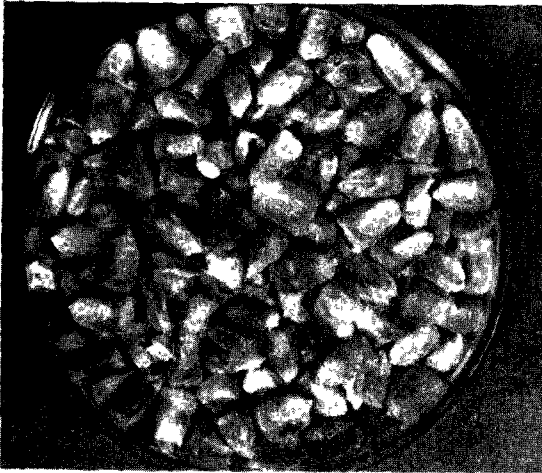
## 적 요

본 연구팀은 1981년 10월 부터 1982년 3월까지 시행한 광범위 곰팡이 발육억제제인 Mold-X의 효과에 관한 시험을 시행한 결과 그 성적을 요약하면 다음과 같다.

1. 12%의 수분함량이 함유된 옥수수와 옥수수가루 저장에 있어서의 250ppm수준의 Mold-X가 곰팡이의 발육을 억제하였다.

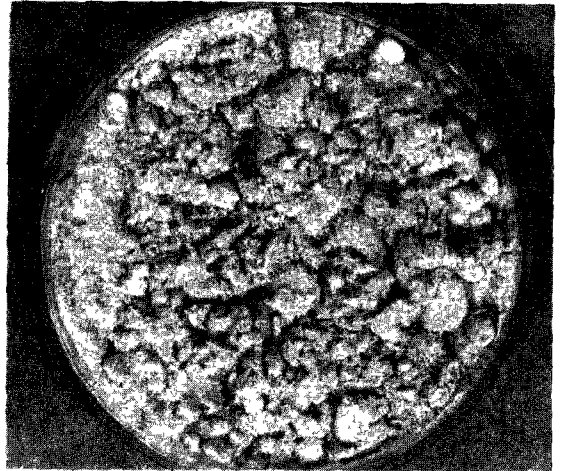
2. 수분이 많이 함유된 배지에서 곰팡이의 발육을 억제할 수 있는 Mold-X의 함량은 500ppm수준이었다.

Picture 1 - 1



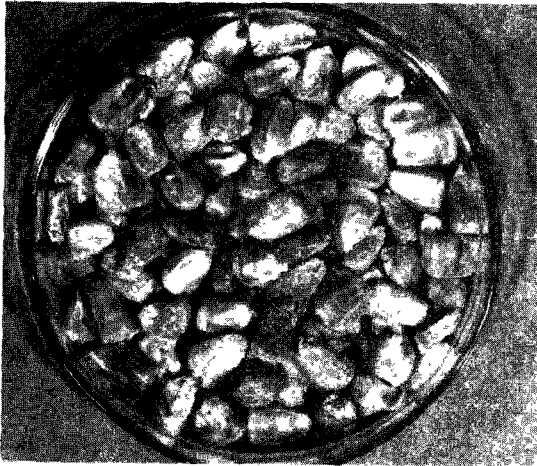
500 ppm

Picture 2 - 1



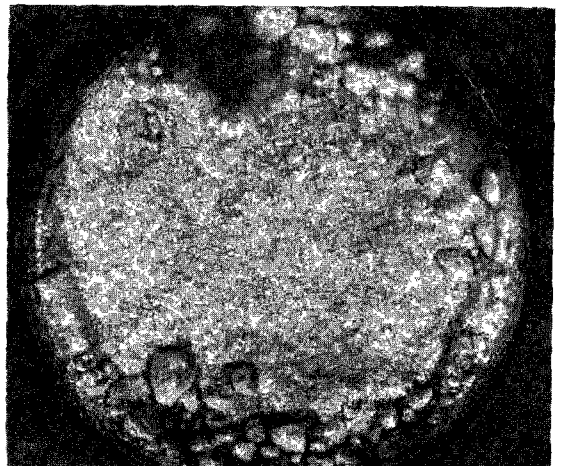
500 ppm

Picture 1 - 2



250 ppm

Picture 2 - 2



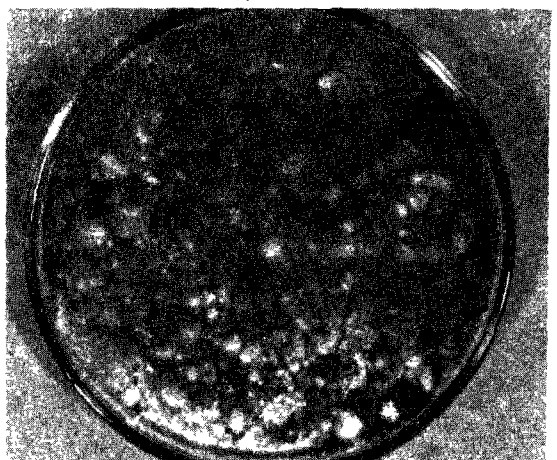
250 ppm

Picture 1 - 3



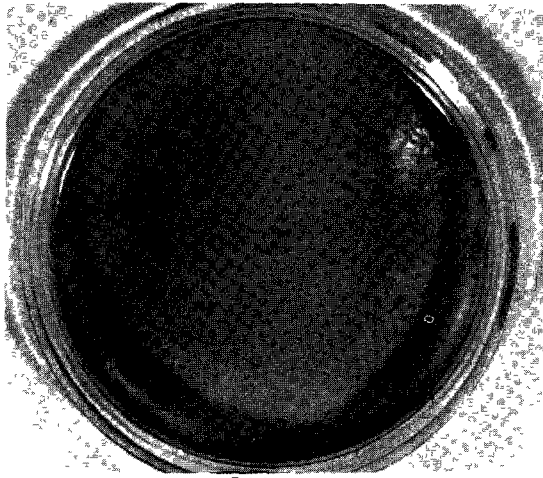
Control

Picture 2 - 3



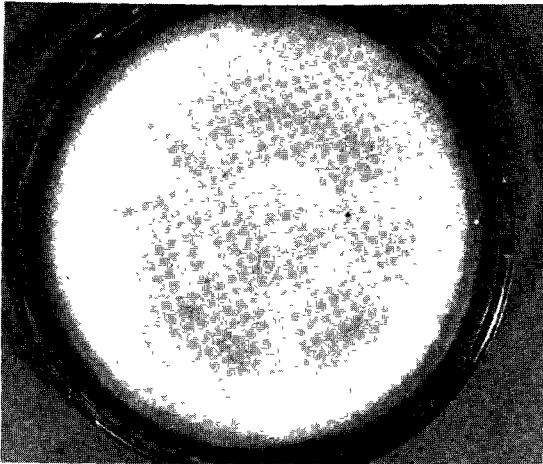
Control

Picture 3 - 1



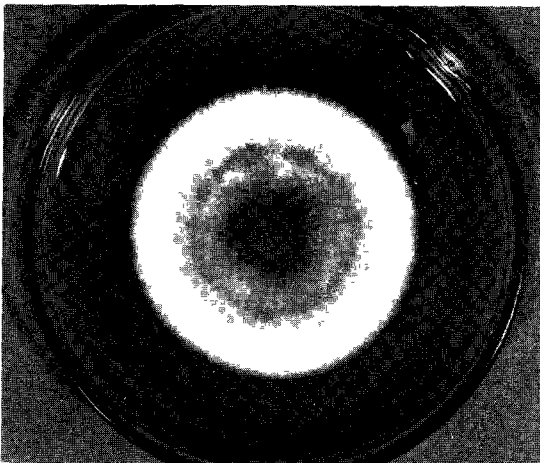
500 ppm

Picture 3 - 2



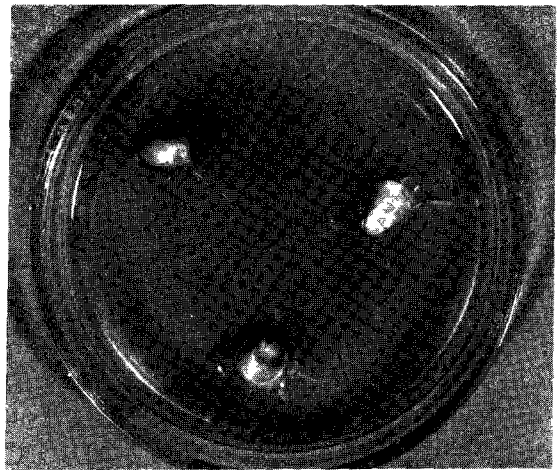
250 ppm

Picture 3 - 3



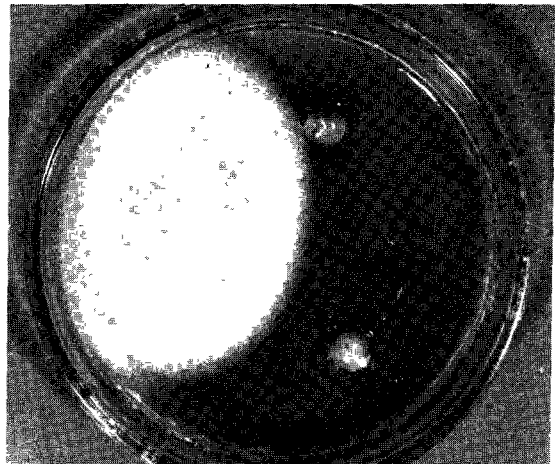
Control

Picture 4 - 1



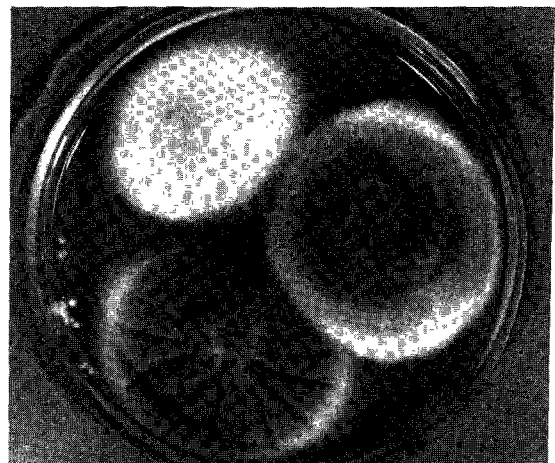
500 ppm

Picture 4 - 2



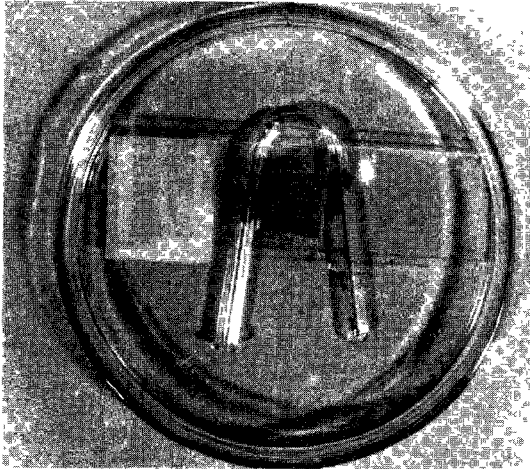
250 ppm

Picture 4 - 3



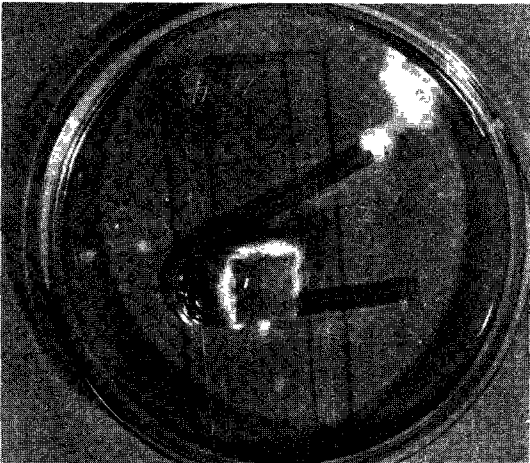
Control

Picture 5 - 1



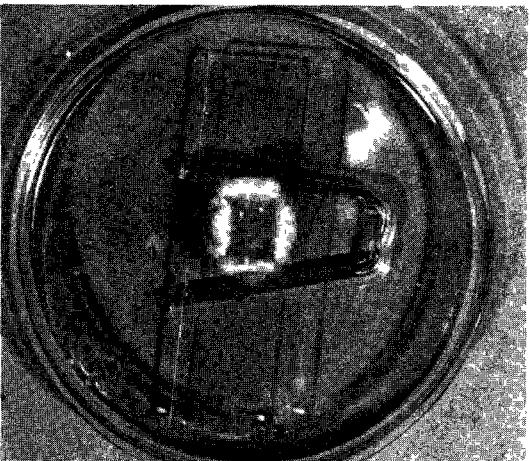
500 ppm

Picture 5 - 2



250 ppm

Picture 5 - 3



Control

《参考文献》

- 1 Britt, D. G., Huber, J. T. and Rogers, A. L. : Fungal growth and acid production during fermentation and refermentation of organic acid treated corn silages 1974 J. Dairy Sci 51-4 : 532-539.
- 2 Chen, T. C. and Day, E. J. : Gentian violet as a possible fungal inhibitor in poultry feed : Plate assays on its antifungal activity. 1974. M. A. F. E. S., Mississippi State University, Mississippi 39762, 1791-1794.
3. Chen, T. C., Dilaorth, B. C., Day, E. J., AraFate, V. G. and Shaves, K. J. : Fungistatic compounds in broiler production. 2. Effect on feed microflora 1979. Poultry Sci. 58 : 1451-1455.
- 4 Christensen, C. M. and Kaufmann, H. H. : Grain storage. The role of fungi in quality loss. 1969. Un. Minnesota, St. Paul. Mn.
- 5 Dickens, F. and Jones, H. E. H. : Further studies on the carcinogenic and growth inhibitory activity of lactones and related substances. 1963. Br. J. Cancer. 17: 100-108
6. Dilworth, Ben. C., Chen, T. C. and Day, E. J. : Fungistatic compounds in broiler production. 1 Effect on rate of gain and feed utilization. 1979 Poultry Sci 58 : 1445-1450.
- 7 Fritz, J. D., Mishvec, P. B., Pla, G. W., Harrison, B. N., Week, C. E. and Dantzman, J. G. : Toxicogenicity of moldy feed for young chicks 1973 Poultry Sci 52 : 1523-1530
8. Garlich, J. D., Wyatt, R. D. and Hamilton, P. B. : The metabolizable energy value of high moisture corn preserved with a mixture of acetic and propionic acids 1976 Poultry Sci 55 : 225-228
- 9 Goering, H. K. and Gordon, C. H. : Chemical Acids to preservation of high moisture feeds 1974 J. Dairy Sci 56 : 1347-1351
10. Kim, Y. H., Hwangbo, J. S. and Lee, S. R. : Detection of aflatoxins in some Korean foodstuffs 1977 Korean J. Food Sci. Technol. 9-1. 73-80
11. Lee, B. H., Chun, Y. Y., Choi, T. J., Choo, H. K., Kim, S. J. and Chung, S. K. : Productivity of aflatoxin by Korean industrial strains of the Aspergilli 1971. Kon-Kuk Academic Treatise. 10 : 807-814.
- 12 Lillehoj, E. B., Fennell, D. I. and Kwolek, W. F. : Aspergillus flavus and aflatoxin in Iowa corn before harvest 1976. Science 193 : 495-496.
- 13 Lillehoj, W. J., Garcia, W. J. and Lambrow, M. : Aspergillus flavus infection and aflatoxin production in corn. Influence of trace elements. 1974 Agr. Res. Service, U. S. 28-5 : 763-767.

14. Mulhge, S K and Chesters, C G, C . Ecology of fungi associated with moist stored grain. 1970 Ann Appl Biol 65 : 277-284.
15. Nandi, B . Glucosamine analysis of fungus-infected wheat as a method to determine the effect of antifungal compounds in grain preservation. 1978 Cereal Chem 55 : 121 - 126.
16. Odette, L S., Marion, L. G., Glenn, A. B., Ronald, D. P. and Clifford, W. H : Survey of 1975 wheat and soybeans for aflatoxin, Zearalenone and ochratoxin. 1977. J. AOAC. 60-4 : 778-783.
17. Paster, N. : A commercial scale study of the efficiency of propionic acid and calcium propionate as fungistats in poultry feed. 1979. Poultry Sci. 58 : 572-576.
18. Richard, C Dixon and Pat B. Hamilton : Evaluation of some organic acids as mold inhibitors by measuring CO<sub>2</sub> production from feed and ingredient. 1981. Poultry Sci. 60 : 2182-2188
19. Schindler, A. F and Abadie A. N : Sterigmatocystin production by *Aspergillus versicolor* on semi-synthetic and natural substrates : A comparison of twenty eight isolates and studies on the effect of time. 1973 Abstr. 0472. 2nd int. congr. plant pathology. Minneapolis, Minnesota.
20. Smith, P A, Nelson, T. S. and Beasley, J N : Chick assay to evaluate mold inhibitors 1973 Dep of Am Sci, University of Arkansas, Fayetteville, AR 72701
21. Stewart, R. G., Wyatt, R. D. and Ashmore, M D : The effect of various antifungal agents on aflatoxin production and growth characteristics of *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in liquid medium 1977 Poultry Sci. 56 : 1630-1635.
22. Takeda, Y., Isohata, E., Amano, R., Tanabe, H and Kurata, H : Studies on analysis of mycotoxin (IV). Examination of sterigmatocystin in grains. 1974. J. Food Hygiene. 15-5 : 363-367.
23. Udagawa, S. I., Kobatake, M. and Kurata, H. : Re-estimation of preservation effectiveness of potassium sorbate (food additive) in James and Marmalade. 1977. Report of National Hygiene Institute. 95 : 88-92
24. Yoon, H. J. : Histopathologic studies on liver in ducklings administered aflatoxin produced by Korean Industrial Strain of the *Aspergillus flavus*. Korean J. Vet. Res. 1975. 15 : 133-139.
25. Yun, K. B. and Yoon, H J. : Histopathologic studies on liver in chicken administered aflatoxin produced by Korean Industrial Strain of the *Aspergillus flavus*. Konkuk Academic Treatise. 1973. 15 : 603-613

## Studies on Effect of Mold Inhibitor in Corn

- Study on Inhibitory Effect of Mold-X -

Yoon, Hwa Joong, Chang, Kyung Jin,  
Kim, Tae Jong, Won, Song Dae.

### Abstract

In the experiments of the inhibition of mold growth from October 1, 1981 to March 31, 1982, Mold-X has been shown the effective results as follows ;

1. In the storage of the corn and the corn meal contained 12% moisture, the growth of mold was inhibited by the Mold-X of 250ppm level.
2. In the media of petri dish contained over 20% moisture, the growth of mold was inhibited by the Mold-X of 500ppm level.