

**1989 학회년도**  
**제 4 회 정기총회 및 학술대회**  
**학술발표 요지**

## Aspergillus속이 생성하는 aflatoxin의 신속한 분석법의 개발

정덕화<sup>o</sup> · 하기수 · 정혜경

경상대학교 식품공학과

*Aspergillus*속 등의 곰팡이 중 일부가 생성하는 mycotoxin의 경우 강력한 발암유기력을 가진 유해물질이지만 효과적인 분석법은 물론 구체적 오염현황 조사도 어려운 실정이다. 특히 이들 유해미생물을 직접 다루는 배양실험의 경우 과대한 mycotoxin 생성에 의한 2차 오염이 심각한 문제로 제기되고 있으나 종래의 TLC, HPLC 등의 방법으로는 해결책을 모색하기가 어렵다. 본 연구자들은 이러한 문제점을 극복하기 위한 노력으로 aflatoxin 생성균주인 *Aspergillus flavus*와 sterigmatocystin 생성균주인 *Aspergillus versicolor* 등을 공시균주로 test tube, tip culture 등의 소규모 배양으로 신속 정확히 mycotoxin을 분석할 수 있는 ELISA법을 개발하는 실험을 하였다.

## 곡류 중 zearalenone의 오염정도에 관하여

정덕화 · 이용욱 · 김종규<sup>o</sup>

경상대학교 식품공학과, 서울대학교 보건대학원

1988년 3월부터 전국적으로 수집한 쌀 88종과 콩 75종을 시료로 하여 *Fusarium*속이 생산하는 mycotoxin인 zearalenone의 오염여부를 competitive direct ELISA법으로 분석하였다. 분석에 앞서 곡류에 zearalenone을 인위적으로 spike시켜 하룻밤 방치시키고, methanolphosphate buffered saline dimethyl formate(870 : 29 : 1)을 첨가하여 상법대로 zearalenone을 추출하여 표준곡식을 구한 결과 쌀, 콩의 자체성분이 ELISA에 영향을 주지않음을 확인하였다. 특히 쌀 88개 시료 중 8개, 콩 75개 중 7개가 각각 positive로 나타났으며 그 중 R-36 시료는 54.12 µg/kg의 높은 함량을 보였다.

## Aspergillus niger 혼합배양이 Aspergillus flavus의 aflatoxin 생성에 미치는 영향

정덕화 · 김용호<sup>o</sup> · 김성영

경상대학교 식품공학과

곡류를 비롯한 식품 중에 *Aspergillus flavus*를 비롯한 aflatoxin 생성균이 오염되었을 때 기존의 오염되어 있던 곰팡이에 의해 어떤 영향을 받는지를 조사하기 위해 농산물에서 쉽게 분리되는 *Aspergillus niger*를 aflatoxin 생성균주인 *Aspergillus flavus*와 30°C에서 14일간 배양하면서 균의 생육, 배양액 중의 산 및 aflatoxin의 생성량을 비교하였다. 그 결과 생성된 균체량은 거의 비슷하였고, 산의 생성은 *Aspergillus niger* 단독배양시 20.59 mg/ml이, 혼합배양시는 14.65 mg/ml, 그리고 *Aspergillus flavus* 단독으로 배양 10일째 3.63 mg/ml의 산을 각각 생산하였다. 그러나 aflatoxin은 *Aspergillus flavus* 단독배양 8일째에 196 µg/ml이 측정된 반면 혼합배양시는 3.9 µg/ml를 나타내어 98% 이상의 aflatoxin 생성이 저해되었다.

## 피두로부터 추출한 다당류의 간장 보호작용에 관한 연구

문창규 · 이은경 · 박광식

서울대학교 약학대학

간장보호작용을 갖는 새로운 생약성분을 검색하기 위하여 중앙 promoter로 알려진 oil 성분을 제외한 파두추출물에 대해 그 작용을 검토하였다. 간 독성 유발물질로는  $CCl_4(2.5 \text{ ml/kg})$ 를 사용하였으며 독성지료로는 TBA method에 의한 lipid peroxidation과 혈청 AST, ALT 효소활성을 측정하여 다음 결과를 얻었다.

1. 파두의 다당류 분획은  $CCl_4$ 에 의한 지질 과산화현저히 억제하였으며 혈청 AST, ALT level도 개선시켰다.
2. 사용된 다당류 분획 중 분자량 30만 이상의 분획에서 그 활성이 현저하였다.
3. 이 분획은 glucose, xylose, arabinose 등의 단당류로 구성된 것으로 추정되었다.

## 새로운 단기 항암성 스크리닝법에 의한 영지 추출물의 효과에 관한 연구

金鍾洙 · 李榮純

서울대학교 수의과대학

단기 항암성 스크리닝법 모델을 이용하여, 영지추출물(*Ganoderma lucidum* extract)의 발암물질에 의한 랫트의 간암 발생과정 중 전암병변(preneoplastic lesions)인 증식소(hyperplastic foci) 및 증식결절(hyperplastic nodules)의 형성을 억제하는지 여부를 알아보기 위해 다음과 같은 시험을 하였다.

8주령의 수컷 Fischer 334 랫트를 4개의 군으로 분리하고, 각 군 모두에 시험시작일에 간암 유발물질(Initiator)인 diethylnitrosamine(DENA)을 200 mg/kg씩 복강내로 투여하고 제 1군에는 Promoter인 2-AAF(0.02%, 2~4주)와 영지추출물(0.1%, 2~8주)을 급여하고, 제 2군에는 2-AAF(0.02%, 2~4주)만을 급여하였다. 제 3군에는 영지추출물(0.1%, 2~8주)을 급여하고, 제 4군에는 basal diet만을 급여하였다. 시험개시 3주째에 간변화의 증폭을 위해 전 개체에서 간의 67%를 절제하였다.

화학적 발암물질에 의해 발생된 랫트 간에서의 전암병변을 지표효소인 Glutathione S-transferase placental form (GST-P)에 대한 면역 조직화학적 염색을 이용하여 증명하고, Color Video Image Analyzer를 이용하여 전암병변의 수와 면적을 계산한 후 영지추출물(0.1%)을 급여한 군과 대조군간의 성적을 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. DENA 투여 후 promoter인 2-AAF와 영지추출물을 급여한 제 1군의 평균체중은 대조군인 제 2군에 비해 유의차 있게 높았다( $p < 0.01$ ).
2. 영지추출물(0.1%)은 랫트 간에서 발암물질에 의한 증식결절(hyperplastic nodules) 형성에 있어서 2-AAF에 의한 promotion을 억제하지 못하였다.
3. 영지추출물(0.1%)은 증식소(hyperplastic foci)의 발생에 있어서도 유의할 만한 억제효과가 없었다.

## 생쥐에게 투여한 유산균 및 유산균발효유의 면역증강효과

강국희 · 김제국

성균관대학교 낙농학과

유산균 및 유산발효유의 면역증강효과를 검토하기 위하여 생쥐(mouse)에게 *bifidus* 균체 및 그 배양액 발효유를 복강 혹은 경구로 투여한 후 주요한 면역담당세포인 Peritoneal macrophage를 복강으로부터 채취, 배양하여 그 배양액의  $\beta$ -glucuronidase,  $\beta$ -galactosidase, lactate dehydrogenase의 3종류 효소활성과 *in vitro* 및 *in vivo*에서의 탐식효과, SRBC에 대한 mouse 비장세포의 항체생성능력을 조사하였다.

*Bif. breve*와 *Bif. longum* 균체를 하루 100  $\mu$ g씩 건강한 생쥐의 경구 및 복강으로 투여하여 투여 2, 3, 5, 8일째 복강으로부터 peritoneal macrophage를 Hanks 배지 3 ml와 함께 채취하여 효소활성과 *in vitro* 탐식효과를 측정하였다. 그리고 *in vivo* 탐식효과는 colloidal carbon(8 mg/100 ml)을 생쥐의 꼬리 정맥으로 주입한 후 모세관용 이용하여 3분 간격으로 안와로부터 혈액 50  $\mu$ l씩 채취하여 혈중 carbon 농도변화를 측정하였다. PFC 정량은 *bifidus* 균을 하루 100  $\mu$ g씩 8일 동안 연속투여한 후 균투여 8일째부터 SRBC를 복강에 주입하여 SRBC 주입 후 2, 3, 5, 8일째 생쥐의 비장을 적출하여 비장세포와 SRBC 그리고 1.5% agarose를 혼합하여 배양한 후 여기에 보체(guinea pig serum)를 첨가하여 gell상에 형성된 용혈 plaque를 계수하였다. *Bifidus* 발효유의 경우는 10% 환원탈지유에 접종, 배양한 후 생쥐에 경구적으로만 투여하는 것을 제외하고는 균체투여의 경우와 동일한 방법에 의해서 실시하였다.

*Bif. breve* 균체를 생쥐에 투여하였을 때 peritoneal macrophage에서 유리된  $\beta$ -galactosidase 활성은 투여 5일째 가장 높았으며 각각 75.16, 62.49였다. 또 *Bif. breve* 균체를 생쥐의 복강으로 투여하였을 때 macrophage에서 유리된 lactate dehydrogenase 활성은 *Bif. longum* 균체를 투여하였을 경우보다 2배 증가하였으며 투여 5일째 는 0.241로서 정상치의 4.8배 높았다.

*Bifidus* 발효유를 생쥐에 경구적으로 투여하였을 때 macrophage에서 유리된 효소활성은 균체를 투여하였을 경우보다 낮았으며 *Bif. breve* 발효유 투여의 경우  $\beta$ -glucuronidase 활성은 8일째 대조군보다 2배 증가하였으며  $\beta$ -galactosidase 활성은 대조군과 거의 같은 수준이었으며, lactate dehydrogenase는 5일째 대조군의 2배로 증가하였다. 한편 *Bif. longum* 발효유를 투여하였을 경우는  $\beta$ -glucuronidase 활성은 대조치와 거의 유사한 수준이었으며  $\beta$ -galactosidase와 lactate dehydrogenase 활성은 각각 투여 5, 3일째 최고치를 나타내었으며 이 때 대조치의 2-3배로 증가하였다. Macrophage의 *in vitro* 탐식효과에서는 항체첨가유무에 관계없었으며 *Bif. breve* 균체를 투여하였을 때가 *Bif. longum*을 투여하였을 때보다 효과가 높았다. 한편 *bifidus* 발효유를 투여하였을 때 *in vitro* 탐식효과는 투여 5일째 최고치를 나타냈으며 이 때 대조군보다 2배 높았다.

*In vitro* 탐식효과에서는 *bifidus* 균체를 생쥐에 복강으로 투여하였을 때가 경구로 투여하였을 때보다 우수하였으며 반감소실시간( $t/2$ )은 복강투여의 경우 2.94분이며 경구투여의 경우 3.43분이었다. SRBC에 대한 비장세포 10 cell당 용혈 plaque수는 *bifidus* 균체를 경구투여하였을 때 투여 5일째 가장 높았으며 이 때 *Bif. breve*은 462 pfc/10 cells이었으며 *Bif. longum*은 660 pfc/10<sup>6</sup> cells이었다.

## 쥐에게 투여한 유산균 및 유산발효유의 항암효과

김제국<sup>○</sup> · 강국희

성균관대학교 낙농학과

유산균 및 유산발효유의 항암효과를 검토하기 위하여 다음과 같이 흰쥐에 대한 유산균체 투여실험과 생쥐에 대한 유산균 발효유의 투여실험으로 구분하여 실시하였다. 유산균은 유아 및 성인으로부터 분리한 *bifidobacterium breve*와 *Bif. longum*을 사용하였다.

1) 유산균체 투여에 의한 흰쥐의 분변 중 발암 관련효소의 활성억제 대장균 발생에 관련있는 효소  $\beta$ -glucuronidase, Nitroreductase, Azoreductase가 유산균체의 경구투여에 의하여 어떻게 활성이 변하는지 검토하기 위하여, 곡류식이균과 육류식이균으로 나누어 실험하였다. *Bif. breve*와 *Bif. longum*의 균현탁액  $10^{10}/ml$ 를 하루에 1번 1.5-2 cc씩 Rat에게 경구투여하면서, 분변 중의 발암 관련효소 3종류의 활성을 측정할 결과, 쇠고기 육류식이균의 효소활성이 곡류식이균보다 1.5배 증가하였다.

쇠고기식이균의 경우, *Bif. breve*를 10주간 투여한 Rat의 분변효소 활성의 10주간 평균치는  $\beta$ -glucuronidase 5.29, Nitroreductase 5.13, Azoreductase 18.19( $\mu g$  product/Hr/mg fecal protein)로서, 유산균을 투여하지 않은 경우의 6.64, 6.46, 20.54보다 평균 13% 이상 감소하였고, *Bif. longum*을 투여한 경우의 효소활성은  $\beta$ -glucuronidase 4.38, Nitroreductase 3.11, Azoreductase 16.8로서 투여하지 않은 것의 6.25, 5.88, 22.99보다 26% 이상 감소하여, 유산균체의 투여가 발암 관련효소의 활성을 현저하게 억제하였다.

2) 생쥐에 대한 유산균 발효유의 항암효과

발효유의 항암효과를 실험하기 위하여 *Bif. breve*와 *Bif. longum*을 10% 탈지환원유에 배양하여 *Bifidus* 발효유로 한 다음, 이것을 dialysis tube로 투석하여 농축한 dialyzate(투석물) 0.01 ml를 1일 1회 Ehrlich 복수암 세포 및 Sarcoma-180 암세포가 이식된 생쥐(mouse)의 꼬리정맥에 주사하면서 복수 중의 암세포 증식과 DNA 함량을 측정하였다. *Bifidus* 발효유의 항암물질은 dialyzate에 함유되어 있었다. 이들 암세포의 억제에 대하여는 *Bif. longum* 발효유의 dialyzate가 *B. breve*의 경우보다 높았다. 특히 *Bif. longum* 발효유 투석물이 Ehrlich 복수암에 대한 억제율은 암세포수로 36%, DNA 함량으로 39%로 가장 높았다. 투석 잔유물을 생쥐에 경구투여 및 복강 주입하였을 때 항암효과를 나타내지 않았다.

또 *Bifidus* 발효유의 ether 추출물은 Ehrlich 복수암과 Sarcoma-180 암에 대하여 약 20%의 억제효과를 나타내었다.

## 식육종의 설파메타진 검정법 비교

박친구<sup>○</sup> · 이창업 · 이문환 · 신광순

서울대학교 대학원 수의학과 독성학교실

보다 정확하고 선택적인 SMZ 분석법을 확립하고자 HPLC를 이용한 세 가지의 SMZ 분석법을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

방법 1(현지의 공정방법)의 SMZ(sulfamethazine) 및 방법 2(SEP-PAK 응용법)는 각각 77.0%, 31.9%이였으며 방법 3(Yoshihiro)은 각각 5.3%, 101.7%였다.

SMZ의 회수율은 방법 1과 방법 2가 좋았고( $p < 0.01$ ) internal standrad로 쓰이는 SMR의 회수율은 방법 3이 가장 좋았으나( $p < 0.01$ ), SMZ의 회수율과 차이가 컸다.

## 천연색소들의 Alloxan 유도 당뇨 Mice의 면역기능 회복능에 관한 연구

문창규 · 양경미<sup>o</sup> · 목명수 · 임철홍

서울대학교 약학대학 위생약학교실

일반적으로 당뇨병 상태에서 T-세포성 면역기능이 저하되어 있으며, 그에 따른 합병증이 문제되고 있어, Alloxan 유도 당뇨상태의 Mice에 천연색소들을 투여하여 당뇨 Mice의 면역능에 미치는 영향을 검토하였다. Alloxan을 꼬리정맥에 주사하여 당뇨를 유발시킨 8일 후, 상기의 색소들을 7일간 복강투여하고 Delayed hypersensitivity, Antibody mediated hypersensitivity, BSA specific lymphocyte proliferation, Interleukin-2, Lymphocyte proliferation by lectin, Mixed lymphocyte reaction 등의 T 세포성 면역기능을 살펴본 결과, 정상군에 비해 저하되어 있는 당뇨상태의 면역능이 천연색소의 투여로 정상군의 면역능으로 회복되는 통계적 유의성을 보였다. Positive control로서 저농도의 Cyclophosphamide를 이용하였다. 이상의 결과로 보아 이들 색소들은 각종 자가면역질환의 면역조절제(Immunomodulator)로서의 가능성이 있다.

## *In vitro* Teratogenicity Testing Using the Art Embryo Culture system(1) Effects of Sodium Salicylate on Rat Embryonic Development *In vitro* and *In vivo*

Shinsuke Nakaura, Satoru Tanaka, Kunio Kawashima Akiira Takanaka,

Srikandi Djajalaksana, Mang-Il Huang and Youmie Lee<sup>o</sup>

Division of Pharmacology, National Institute of Hygienic Sciences,

Kamiyoga Setagaya, Tokyo, 158 ; NQCL, Indonesia ; Hubei

Institute for Drug Control, China ; National

Institute of Safety Research, Korea

Teratogenic effect of sodium salicylate was examined in rat embryo developing *in vitro* and *in vivo*. In the *in vitro* experiment, rat embryo explanted at day 9.5 of gestation was cultured in rat serum together with sodium salicylate(0, 100, 200 and 400  $\mu\text{g/ml}$ ) for 48 hrs. In the *in vivo* experiment, sodium salicylate(0, 75, 150 and 300 mg/kg) was administered orally to pregnant rats for 3 days from days 9 to 11 of gestation, and embryos were removed from the uterus 3 hrs after the last administration. In both the *in vitro* and *in vivo* experiments, sodium salicylate caused a retardation of the embryonic development as measured by yolk-sak diameter, crown-rump length, number of somites and protein content. A variety of malformations such as hemorrhage, stunted and swollen brain, open neural tube and small size somites were produced. The incidence of malformations was increased with an increasing concentration or dose of sodium salicylate. The malformations produced in the *in vitro* experiment were comparable to those in the *in vivo* experiment. These results suggest that the *in vitro* rat embryo culture method is useful for *in vitro* teratogenicity testing.

## Studies on the Development of Natural Cheese Product

Lee Hyang Hee and Heo Tae Ryeon

Department of Biological Engineering, College of Engineering  
Inha University

For the improvement of quality of cheese, and extension of the consumption of a natural cheese, we made the favorable semi-hard cheese through the studies about, the effects of the changes of cheese making process on the final cheese property.

In the heat treatment method, the pasteurization effect was the most efficient at 72°C/16 sec.

In order to develop specific acidity, two starter were added in the pasteurized milk. In this case the mesophilic starter spent more time than the thermophilic starter did.

In the pasteurized milk, 1.5% added starter was the most effective. When the acidity was progressed above to 0.160% due to the starter, heat-treated milk was coagulated into a degree to be cut easily in 35 minutes with the addition of 0.0025% rennet, at 33°C without addition of the calcium chloride.

In the different heating method, time and curd treatment, it was indicated that four type cheeses A, B, C, D were different in pH and acidity of final curd.

### 전자레인지와 일상가열 방법에 따른 배양액내 미생물 사멸 효과 및 그 영향인자에 관한 비교 연구

이효경 · 이용욱

서울대학교 보건대학원

전자레인지의 배양액내 미생물 사멸효과와 그 영향인자를 알아보기 위해 *E. coli*, *Candida tropicalis*, *Bacillus subtilis*은 점막미생물로 전자레인지와 일상 가열방법으로 열처리한 후 사멸을 비교해 봄으로써 사멸효과를 알아보았다. 또한 전자레인지에 의한 사멸에 영향을 미친 인자와 특성을 알아보기 위해 전자레인지로 처리한 *E. coli*의 세포막 손상정도 및 돌연변이 유발여부를 확인해 보았다.

1. 회석한 배양액내의 *E. coli*, *Candida tropicalis*와 같이 70°C 이전에 사멸하는 균에서는 전자레인지가 사멸 측면에서 효과적이었으나 내열성 포자를 형성하는 *Bacillus subtilis*에서는 일상가열방법이 더 효과적이었다.

2. 전자레인지로 열처리한 *E. coli* NaCl을 포함한 배지에서 생육이 저해되는 실험과 260 nm의 흡광도를 측정하는 실험에서 모두 전자레인지에 의한 세포막 손상이 크게 나타났다.

3. 전자레인지로 열처리한 *E. coli*의 영향요구성 실험에서 돌연변이 유발가능성은 확인되지 않았다.

## 백서에서 selenium 및 zinc 동시 투여가 카드뮴 독성에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

김영미 · 이용욱

서울대학교 보건대학원

카드뮴과 상호작용을 하여 독성을 일으킨다고 알려진 여러 금속 중 그 방어기전이 상이한 필수미량원소인 셀레늄 및 아연을 동시에 경구적으로 투여함으로써 카드뮴 중독의 변화 양상을 관찰하였다.

실험은 대조군, 카드뮴(100 ppm) 단독투여군, 카드뮴(100 ppm)+아연(100 ppm) 혼합투여군, 카드뮴(100 ppm)+아연(100 ppm)+셀레늄(1 ppm), 카드뮴(100 ppm)+아연(100 ppm)+셀레늄(4 ppm) 및 카드뮴(4 ppm)+아연(100 ppm)+셀레늄(8 ppm) 혼합투여군 등 6군으로 나누고 각 군에서 백서를 7마리씩 배정하여 7주간 실시되었다.

시료, 음료섭취량 관찰 및 급식효율, 중체량의 변화, 장기의 상대중량, 카드뮴 축적량, 병리조직학적 소견을 종합한 결과 아연과 셀레늄을 카드뮴과 동시에 투여했을 때 아연의 방어효과는 관찰되지 않았고 셀레늄을 고농도(4.8 ppm) 투여한 군에서는 부분적인 방어효과를 관찰할 수 있었다.