

Alimentary Mycotoxicosis

食品곰팡이의 毒素—Aflatoxin을 中心으로



權肅約

延世大学校医大教授(藥博)

真菌毒素中毒의 歷史

최근에 英国・日本等地에서 곰팡이 (真菌類) 가 생성하는 毒素에 대해서 많은 社会問題가 야기되고 있다.

최초로 쌀의 真菌毒素가 알려진 것은 1947年으로서 隣国日本에서 台湾米를 約 10万「톤」輸入하였는데 그 쌀에 黄色곰팡이가 번식해 있고 그 쌀을 動物에 長期間投与함으로써 肝潰疽 肝硬化症을 이 르킨다는 것이 발견되어 크게 社会문제되었던 것이다. 당시 日本에서는 이것을 病變米, 黄變米(Yellowsis)라고 하고 真菌의 種類로서 Penicillium Citrinum, Penicillium islandicum 등을 有毒菌株로서 분리하고 생성되는 毒素을 Citrinin, islandotoxin Patulin, Luteosbyrin 등으로 불렀다.

그러나 食品의 곰팡이의 피해는 일찌기 1932年에 朝鮮東部「시베리아」地方에서 越冬수수에 곰팡이가 번식한 것을 長期間먹고 다수의 住民들이 無形成性貧血(Panmyelotoxicosis)을 이르게서 높은

死亡率을 보였던 사건이 있어 역사적으로 처음으로 알려진 Alimentary toxicaleukia(ATA)로 알려지고 있다.

Aflatoxin의 發見

그 후 1961年 英国의 東南地方에서 七面鳥 約10万마리가 일제히 倒死한 사건이 있어 많은 家畜飼育者가 피해를 입었는데 이 때에 이 病의 原因이 究明되지않아 “Turkey X disease”라고 命名하였다.

같은 해에 닭, 오리, 돼지에도 많은 피해가 발견되었는데 이 때의 原因은 南美「브라질」에서 수입해서 飼料로 사용한 땅콩에 번식한 곰팡이라는 것이 1963年 Alleroft, Carnagham 그리고 1965년에 Newberne이 발견하고 世界各國의 땅콩을 시험한 결과 約 14個國의 땅콩과 그밖의 많은 種類의 穀類에서 같은 毒性의 곰팡이가 檢出되어 그 毒素을 Aflatoxin이라고 命名했다.

1963年에 Anstwick와 Ayerst는 땅콩에서 59種

의 곰팡이를 분리하여 그중 9種이 Aflatoxin을 생산하고 그 밖에 *Aspergillus oryzae*, *A. tamarii*, *A. fumigatus*, *Botryodiplodia theobromae*, *Rhizopus orrhizus*, *phoms sp*에서는 Aflatoxin이 검출되지 않았다.

1966년에 Parrish 등은 각종곡류에서 분리한 *Aspergillus flavus* 93種을 분리하여 그중 26種이 Aflatoxin을 생성하는 것을 알게되어 Aflatoxin은 주로 *Aspergillus flavus*가 생성하는 것을 알게 되었다

Aflatoxin의 生成条件

*Aspergillus flavus*은 대체로 10~45℃ (最適溫度 30℃) 比濕 75% 이상에서 땅콩의 水分은 9%가 유지되었을 때에 菌이 번식하여 Aflatoxin이 생성된다.

1968년 Wogan과 Mateles는 Aflatoxin을 생성하는 菌株의 분리를 위해서 땅콩, 쌀등을 實驗培地로 이용하였고, 1963년 Codner 등은 땅콩培地를 사용해서 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus*를 30℃에서 10~13日間培養하여 24~265mg/kg의 Aflatoxin을 생성시키는데 성공하였다.

1966년에 Hesslittine 등은 Aflatoxin生産菌을 쌀, 수수, 땅콩, 옥수수, 小麦, 大豆 등에 배양하여 Afla. oxin 생산에 성공하였는데 그 중에서 大豆에서는 Aflatoxin生産量이 비교적 적었다고 보고하였다.

한편 Sargeant 등은 1963년에 真菌의 一般培地로 알려진 Czapek培地에 *A. flavus*를 배양했으나 Aflatoxin生産은 없었다고 한다.

그러나 1962년 Nesbitl 등의 연구에 의하면 Czapek培地에 亜鉛鹽을 微量加하므로서 Aflatoxin生産은 다소증가하나 自然物培地에 배양한 것보다는 생산량이 적었다고 한다.

그 후 1968년 Wogan과 Mateles, 1965년에 Mateles와 Adye는 各種糖, 그리고 amino酸, 亜鉛鹽의 효과를 조사하여 深部培養法을 적용하므로서 60~80mg/l 의 Aflatoxin을 생산하는데에 성공하였다.

Aflatoxin의 化学的性質

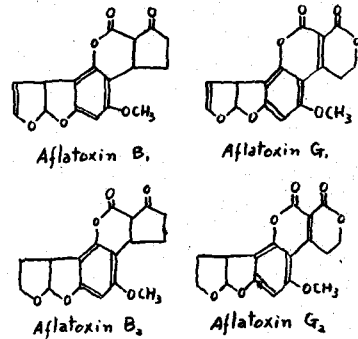
1961 및 1963년에 Sargeant 등은 Aflatoxin을 땅

콩에서 분리하여 그 성질을 조사하고 이것이 紫外線下에서 螢光을 나타내는 것과 極性溶媒 예를 들면 Methanol, Chloroform, Acetone에 溶解되고 無極性溶媒인 Hexane, 石油에틸, 물에 溶解되지 않으며 Chromatography에 의해서 분리된다고 보고하였다.

1965년에는 日本 朝尾 등이 3~5% methanol 의 Chloroform液도 薄層Alumina Chromatography로 Aflatoxin을 分淮展開시켜 2個의 靑色螢光部分 (Aflatoxin B₁, B₂), 2個의 黃綠色螢光部分 (Aflatoxin G₁, G₂)으로 분리하고 그 R_f値는 각각 0.56 (B₁), 0.53 (B₂), 0.48 (G₁), 0.46 (G₂)였다고 한다.

이 때에 각부분의 量比는 菌株培地培養條件에 따라 차가 있었다.

1962년 Nesbitt, 1961년 Sargeant, 1962년 Zijden 1963, 1965 朝尾 1963 Chang, 1963 Dorp 는 각각 Aflatoxin의 구조에 대해서 연구하고 다음과 같은 구조를 발표하였다.



이 構造決定에 따라서 1967년에 Büchi 등은 그합성에 성공하여 이 化学構造를 확정시켰다.

Aflatoxina의 紫外線最大吸收波長은 다같이 223, 265, 365mμ이며 最大螢光波長은 B₁, B₂는 425 mμ (Hartley 1963), G₁, G₂는 450mμ이 었다.

이 物質은 Alkali에 약하고 熱이나 光線에 의해서 일부파괴된다. 이 성질은 땅콩기름을 Alkali処理를 해서 精油하기 때문에 땅콩기름중에서 Aflatoxin이 발견되지 않는 이유인 것으로 추측되고 있다.

1965년 Fischbach와 Campbell는 5% 次亜塩素酸나트륨 (NaOCl)液과 10% 塩素「가스」는 Aflatoxin을 파괴하지만 食品의 營養物質이 破壞되기 때

문에 실용성은 없는 것이라고 말하였다.

物理化学 定量에 대해서는 1963年 Broadbent, Genest, Smith, 1964 Delongh, Nesheim 등의 研究로 「카림크로마토그래피」法에 의해서 정량적으로 흡수시켜 溶媒로 抽出하는 方法과 紫外線 Spector 法에 의해서 檢体 1kg中 5 μ g(5ppb)까지 測定할 수 있으나 모든 食品에 대해서 이 毒素測定上의 障害現象与否에 대해서는 조사되지 않았다.

生物学的 作用

Aflatoxin의 長期投与로서 各種動物의 組織에 肉腫形成을 볼 수 있다.

특히 새끼 七面鳥, 새끼오리 송아지와 같은 幼畜은 成畜보다 더욱 예민히 독작용이 나타 난다.

이 중에서 새끼오리는 標準毒性檢査에 사용되고 있으며 칠면조는 새끼오리보다 다소 둔하고 닭은 비교적 저항하고 羊은 抵抗力이 극히 강하다.

새끼오리에 대해서는 0.3ppm의 Aflatoxin을 飼料에 섞어 6週間 飼育하면 30%가 倒死하며 닭은 1.8ppm混合飼料로 10週間飼育하여도 체중감소가 나타날 정도이다.

돼지는 0.41~0.69ppm까지의 連續投与에서도 변화가 없으나 2.2ppm 投与로서 16週間 飼育하면 倒死한다.

젖소에서는 2.7ppm Aflatoxin 混合飼料로서 20~53日 投与하면 牛乳分泌가 극도로 감소하고 Aflatoxin M가 牛乳中에서 발견된다고 Allcroft(1963)가 보고하고 있다.

Aflatoxin의 病理

주로 나타나는 組織變化는 肝組織에서 볼 수 있으며 羊을 제외한 대부분의 家畜에서 胆管肥厚 (Bile duct hyperplasia)를 볼 수 있고 또 羊과 닭을 제외한 家畜에서 肝細胞의 腫瘍(Enlarged hepatic cell)를 나타 낸다.

多量投与에 있어서 나타나는 急性中毒은 肝의 潰疽와 溶血現象을 나타 낸다.

慢性中毒症에서는 소와 돼지의 肝에서 纖維組織이 형성된다.

Aflatoxin의 急性毒性 LD50은 오리에서 1日經口 0.5mg/kg体重, CF-1 마우스에서 숫컷은 腹腔内 注射로서 62mg/kg, Fisher rat에서 암수 다같이 經口 1日投与로 1.0mg/kg, 어린원숭이 (体重

1.5~2.0kg)에서 18日間經口投与로서 0.5mg/kg로 나타 난다. 원숭이는 처음에 食慾減退(Anorexia)가 오고 門脈에 炎症과 肝脂肪組織의 病變을 볼 수 있으며 胆硬化症을 유발한다.

1965年 Legator 등은 人間의 非倍数性 種屬特異 Haploid 染色体가 없는 肺胚細胞(heteroploid humar embryonic lung cell)의 組織培養中에 Aflatoxin을 작용시켰는데 Aflatoxin B₁ G₁ 混合物 0.05ppm에서 48時間內에 細胞成長은 억제되고 0.5ppm에서도 완전히 生長이 정지되었다. 또 Aflatoxin B₁ 1.0ppm를 가하면 8時間에 巨大細胞數는 92%가 증가하였고 細胞의 tritiated thymidine 吸收를 조사한 결과 DNA合成이 억제되는 것을 알게 되었다. 또 Aflatoxin B₁ 1ppm濃度에서는 4時間만에 thymidine의 결합이 억제되었다.

1965년에 Gabliks 등은 Aflatoxin B₁ 1~5ppm를 가한 組織培養培地에 人間肝細胞(Hela Cells)를 배양한 바 細胞의 破壞와 단백질合成이 억제되는 것을 관찰하였다. 같은 시기에 Zuckerman는 Aflatoxin B₁ 10ppm를 가한 組織培養에서 人間肝胚細胞를 배양하여 細胞質RNA와 核에 심한 변화를 발견하고 있다.

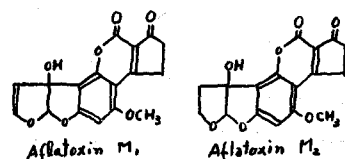
1961年Lancaster 등은 Aflatoxin을 함유하는 땅콩飼料를 11마리의 쥐에 6個月間 投与함으로써 9마리가 生存하고 그 중 2마리가 肝癌을 나타 냈다고 보고하였다.

1963년에 Salmon과 Wewberne은 땅콩을 33.3%함유한 飼料에 0.1~3.5ppm의 Aflatoxin을 가하여 48~72週間 쥐에 투여한 바 73마리의 쥐중 64마리에 肉腫이 나타 났다고 하였다.

Aflatoxin의 代謝

1966년에 Alleroft 등은 Aflatoxin을 투여한 소의 牛乳中에 Aflatoxin M가 함유되어 있는 것을 발견하고 이것을 milk toxin이라고 命名하였다. 또 Aflatoxin이 尿와 糞중에서도 발견된다고 하였다.

Holzapfel은 1966년에 이 Aflatoxin M₁, M₂를 분리하여 다음과 같은 구조를 결정하여 발표하였다.



Aflatoxin M₁, M₂의 毒性은 Holzapfel의 연구 결과에 의하면 40~50g의 体重을 갖인 새끼오리에 대해서 LD₅₀가 16~61.4μg이며 같은 動物에 대해서 Aflatoxin B₁은 12μg로 M₁ M₂가 B₁보다 毒性이 다소 낮다.

1965年 Shank와 Wogan이 C¹⁴을 갖인 Aflatoxin을 腹腔内注射를 하여 体内分布를 조사한 바 肝臟에 到達時間이 他臟器에 비해서 가장 빠르며 30分後에 最高濃度에 도달하였다. 그리고 24時間 内에 肝의 蓄積量의 70~80%가 胆汁을 통해서 糞중에 排泄되고 이것은 全投与量의 約60%에 該當되었다. 尿중에는 全投与量의 20%가 排泄되며 肝의 濃度는 他臟器의 5~15倍의 濃度였다고 한다.

生化学的 作用

前記한 바와같이 Wogan 등의 조사에 의해서 Aflatoxin은 DNA合成과 DNA-dependant RNA合成이 억제되므로서 단백질의 합성이 억제된다.

Clifford와 Sporn이 각각 1966년에 Aflatoxin B₁을 쥐에 투여하면 劇的으로 肝核RNA前驅物質의 결합이 억제되는 것을 관찰하였다.

1965, 1966년에 Wogan과 Friedman은 Aflatoxin은 肝의 特異酵素의 작용을 완전히 封鎖하며 hydrocortison生成을 자극하는 tryptophan pyrrolase의 증가가 억제된다고 하였다. 또 이것은 植物에 있어서 Chlorphil 합성은?억제되고 種子(Lepidium sativum L.)의 発芽가 억제된다고 1965年 Schoental와 White가 보고하고 있다.

其他의 糸状菌毒素中毒

1941~1945年間に 苏联에서 발생한 ATA의 被害에 이어 1941~1945年間に 다시 東經40~140°北緯 50~60°의 地域에 널리 동일한 Aleukia가 穀物을 越冬收穫하는 농촌지방에서 全年令層住民에 발생하고 있음이 밝혀졌다. 1945年 Sarkisov는 毒性을 갖인 수수에서 動物에 ATA를 나타내는 Fusarium sporotrichioides를 분리하였다.

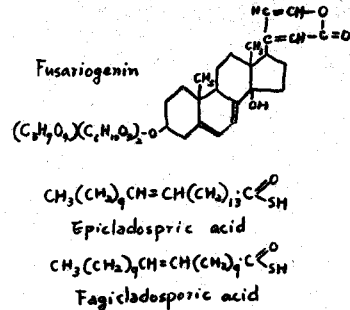
Joffe는 1960~1965年間に 同地方의 農家の 950種의 穀類에 대해서 毒性이 있는 糸状菌을 발견하고 그 중에서도 Fusarium poae, Fusarium sporotrichioides 그리고 Cladosporium epiphyllum가 ATA의 원인이며 이 菌種들은 -2~-10°C에서 왕성하게 번식한다는 것을 알게 되었다고 한다. 따라서 越冬收穫하는 穀類에 이들 菌이 번식하고 독

소가 생성되는 것은 이해가 된다.

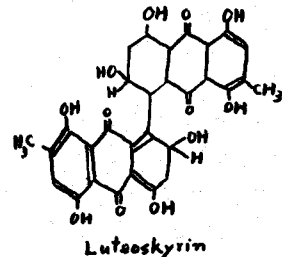
이 Fusarium와 Cladosporium에서 생성되는 독소는 石油「에틸」, 「크로로호름」, 「아세톤」, 「에칠알코올」, 「에틸」 등 油溶性溶媒에 溶解되며 試料를 Soxhlet 抽出器로 抽出된다.

이 物質은 6年間貯藏한 穀類와 불에 구운 穀類에서도 안정하다. 耐熱性은 125°C 30分, 110°C에서 18時間으로도 安定하며 酸「알카리」處理에 의해서도 분해되지 않는다.

그리고 이 毒性物質은 乳汁를 통해서 分泌되지 않는다. 化学構造는 1965年 Joffe가 F.Cladosporium에서 분리하여 다음과 같이 결정하였다.



日本에서 1947~1954年間に 수입한 쌀에서 발견된 黄变米에서는 Pencillium islandicum Sopp(Uraguchi 等 1961)을 분리하여 毒性物質 Luteoskyrin을 抽出하고 그 구조를 결정하였다. 이 物質의 毒性은 생쥐에 대해서 靜脈注射 LD₅₀=6.65mg/kg, 皮下注射 147.0mg/kg, 経口 221.0mg/kg이다



이 이외에도 많은 種類의 穀類에서 各種 眞菌毒素가 발견되어 있으며 각각 毒性, 病理, 生化学的 代謝에 대하여 조사되어 있다.

(参考書) Gerald N. Wogan, Mycotoxicosis in Foodstuffs, The M.I.T. Press, Cambridge, Mass, 1965년