

곡류저장시 *Fusarium moniliforme*에 의한 Fusarin C 생성에 관한 연구

안명수 · 현영희* · 정태영** · 김덕숙***

성신여자대학교 식품영양학과 · *성신여자대학교 대학원

인천대학교 화학과 · *서일전문대학 식품가공학과

A Research on the Production of Fusarin C in Cereals during Storage by *Fusarium moniliforme*

Myung Soo Ahn, Young Hee Hyun*, Tae Yung Chung** and Duk Sook Kim***

Dept. of Food and Nutrition, Sungshin Women's University

*Graduate School, Sungshin Women's University

**Dept. of Chemistry, Incheun University

***Dept. of Food Technology, Seoil Junior College

Abstract

Fusarin C, which had been produced in cereals by *Fusarium moniliforme*, was known as a mutagen. In this study, natural occurrences of fusarin C in 12 kinds of cereals grown in Korea, fusarin C production by *F. moniliforme* in cereal cultures, and the relation between fusarin C production and water activity were investigated.

The results were obtained as follows;

1. Fusarin C was detected large amounts in rice, glutinous millet, sorghum millet, and corn obtained from Seoul markets randomly. But in cereals selected from Pyungtaik market, fusarin C was detected in barley and job's tears only. The amounts were much lower than those from Seoul markets.

It was thought that keeping conditions of cereals during retailing period were very important factors to natural occurrences of fusarin C.

2. The amounts of fusarin C production were determined much more in rice and barley cultures with *F. moniliforme*. In this study, the facts are made clear that rice and barley had been more proper than corn to produce fusarin C by *F. moniliforme*.

*본 연구는 1988년도(5월) 학술진흥재단 연구비(자유과제)의 지원으로 수행되었음.

3. Water activity had more effect on fusarin C production in corn cultures than rice cultures. In corn cultures, water activity was higher, and the amounts of fusarin C production was larger. In case of high activity (Aw 0.85), the amounts of fusarin C was shown the largest in 1 week after then was decreased rapidly.

I. 서 론

*Fusarium moniliforme*은 옥수수, 쌀등의 곡류에 많이 기생하는 곰팡이중의 하나¹⁾로서 옥수수를 상용하는 남 Africa의 Transkey 지역에서 식도암 발병율이 매우 높다는 역학조사 결과와 *F. moniliforme*의 오염율과는 높은 상관관계가 있음이 밝혀졌다²⁾. 또한 중국 Henan 지방의 Linxian country에서 10만명중 263명의 식도암 환자가 발생되어 세계에서 가장 높은 발병율을 보여주었으며 이 지역에서도 곡류에 *F. moniliforme*의 오염율이 높다는 사실을 알았다³⁾.

Li들⁴⁾은 옥수수빵에 *F. moniliforme*을 접종 배양시 친후 쥐를 사육한 결과 胃에서 乳頭種과 側頭鱗세포암이 크게 자란 것을 관찰하였다.

Bjeldanes들⁵⁾은 *F. moniliforme*이 곡류에 오염되면 대사산물로서 Fusarin C가 생성되어 Ames assay를 통하여 이것은 bacteria에 대한 변이원성을 나타낸다는 사실을 발표하였으며 Gelderblom들⁶⁾도 이를 확인하였다.

또한 Marasas들⁷⁾은 옥수수에 *F. moniliforme*을 접종하여 45~50°C에서 24시간 배양시킨 후 대사산물을 추출 분리하여 쥐를 이용한 동물실험 결과 간암이 발생되었음을 보고하였다.

季들⁸⁾은 우리나라 충북지방에서 시판되고 있는 곡물 및 사료를 대상으로 하여 *Fusarium* 속 곰팡이의 대사산물중에서 trichothecene 및 zearelenone을 검출하였다 고 보고한 바 있다. 또한 季들⁹⁾은 한국산 곡류중에서 *Fusarium graminearum*에 의하여 생성되는 mycotoxin인 nivalenol, deoxynivalenol, zearelenone 등이 검출되었음을 보고하였다.

安들¹⁰⁾은 *Fusarium moniliforme*에 의하여 생성되는 mycotoxin인 Fusarin C에 대한 문헌적 고찰을 통하여 Fusarin C의 구조적 특성^{11,12)}, 생성^{13,14)}, 독성^{15,16)} 및 불활성화¹⁷⁾를 정리하여 발표하였으며 또한 安들¹⁸⁾은 몇 가지의 액체배지에서 *F. moniliforme*에 의한 Fusarin

C의 생성능력을 비교하고 또 액체배지들중 Czapek-Dox medium을 사용하여 28°C에서 2주간, pH 6.5로 배양할 경우, 그리고 옥수수배지에서는 28°C에서 1주간 배양할 때에 Fusarin C의 생성량이 최대이었음을 보고하였다.

우리나라에서 상용되고 있는 곡류들은 일년에 한번 수확되고 저장되어 있으면서 수요자에게 공급되고 있다. 옥수수에 오염이 용이한 *F. moniliforme*은 다른 곡류에도 오염될 가능성이 크나 아직까지 우리나라에서는 물론 외국에서도 옥수수이외의 곡류에 대한 검토가 이루어진 바가 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 우선 우리나라에서 상용되고 있는 12종의 곡류를 서울과 평택에서 무작위적으로 구입하여 저장 및 판매유통기간중에 Fusarin C의 생성, 존재여부를 확인하고자 하였으며 또 몇 가지 곡류에 *F. moniliforme*을 접종하고 배양하여 Fusarin C의 생성능력을 옥수수와 비교하고자 하였다. 그리고 Fusarin C의 생성능력과 수분활성도와의 관계를 검토하여 곡류의 Fusarin C 생성에 미치는 수분활성도의 영향을 고찰하고자 하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 접종액과 Fusarin C 표준액

본 실험에 사용된 *F. moniliforme*은 미국 Berkeley 대학의 Dr. Bjeldanes lab.에서 분리 동정된 균주(F84)를 사용하였으며 Fusarin C 표준액도 Dr. Bjeldanes lab.에서 공급받아 사용하였다.

2) 곡류

배양실험에 사용된 쌀, 옥수수, 대두, 검정콩은 작물시험장에서, 보리는 맥류연구소에서 공급되었으며 Fusarin C의 존재여부를 검토하기 위한 실험에 사용된 곡류, 즉 쌀(Rice), 찹쌀(Glutinous rice), 보리(Barley), 대두(Soybean yellow), 검정콩(Soybean black), 팔(Small red bean), 조(Foxtail millet), 차조

(Glutinous millet), 올무(Job's tears), 밀(Wheat), 수수(Sorghum millet), 옥수수(Corn) 등은 서울의 돈암, 경동, 중앙시장에서 무작위적으로 구입하여 혼합사용하였으며 또한 평택에서 비교적 잘 저장된 곡류를 구입하여 시료로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 접종과 배양

Squared paper 상태인 F 84를 121°C에서 15분간 살균한 double distilled water (DDW) 100 ml에 약 0.0986 g을 가한 후 진탕하여 접종액으로 사용하였다.

쌀과 보리는 그대로, 옥수수, 대두, 검정콩은 cutting하여 각각 50 g씩 계량하고 30 g의 DDW를 가한 다음 autoclave 내에서 121°C로 15분간 살균하여 냉각시킨 후 접종액 2.5 ml를 가한 다음 incubator 내에서 28°C로 1주, 2주간 배양하였다.

또한 desiccator내의 수분활성도를 Goldman¹⁹⁾의 방법에 따라 0.58(NaBr 포화용액) 0.75(NaCl 포화용액), 0.85(KCl 포화용액)로 조정한 후 앞에서의 방법과 같은 방법으로 쌀과 옥수수에 접종한다음 각기의 수분활성도에서 1, 2, 4주간 상온에서 광선을 차단한 상태로 배양하였다.

2) Fusarin C의 추출

곡류 및 배양된 곡류시료에 50 ml의 CH₂Cl₂를 가하고 24시간 방치한 후 여지(Whatman No. 1)상에서 추출하여 다시 50 ml, 20 ml의 CH₂Cl₂를 가하여 여과하고 모든 여액을 함께 담아 Anhydrous sodium sulfate로 포화시켜 1주야간 냉장실에 방치하였다. 이것을 다시 여지상에서 여과하여 Rotary evaporator (Büchi CH-9230 Flawil/Schweiz 850830)로 30°C에서 감압건조

시킨다음 2, 1, 1 ml의 CH₂Cl₂와 2, 1, 1 ml의 5% CH₃OH/CH₂Cl₂로 spice micro colum (Si, Analytach)을 통해 여과 정제한 후 5 ml vial에 담고 N₂ stream 하에서 건조하여 Teflon 처리된 뚜껑을 덮고 –20°C에서 냉동하여 두고 HPLC 측정시에 사용하였다. 이 때에 사용한 모든 용매는 He gas로 degassing하여 사용하였다.

3) Fusarin C량의 측정

Fusarin C의 양은 High Performances Liquid Chromatography (HPLC)에서 측정하기 위하여 각 시료에서 추출 정제된 Fusarin C를 degassed CH₂Cl₂로 희석하여 10 μl씩 주입하였다. 이때 사용한 HPLC의 분석조건은 다음 Table 1과 같았다.

III. 결과 및 고찰

1. 시판 곡류중의 Fusarin C의 존재여부

서울과 평택에서 시판되고 있는 12종의 곡류를 대상으로 Fusarin C를 검출한 결과는 다음 Table 2에서 보는 바와 같았다. 서울의 경동, 돈암, 중앙시장의 3곳에서

Table 1. Analysis conditions for fusarin C determination by HPLC

Instrument	Varian 5020 (U.S.A.)
Reverse phase column	Micro Bondapack C-18 30×3.9
Mobile phase	70% methanol
Flow rate	1.5 ml/min
Injection volume	10 μl
Detector	Wavelength variable detector 358 nm
Data calculator	Varian integrator 4270 (U.S.A.)

Table 2. Fusarin C amounts in cereals obtained from market in Seoul

Cereals	Fusarin C amounts		Cereals	Fusarin C amounts	
	mg/kg	%		mg/kg	%
Rice	520.2	0.052	Foxtail millet	—	—
Glutinous rice	—	—	Glutinous millet	479.8	0.0479
Barley	—	—	Job's tears	—	—
Soybean yellow	—	—	Wheat	—	—
Soybean black	—	—	Sorghum millet	940.3	0.094
Small red bean	—	—	Corn	58.0	0.0058

a. Values are means of duplicate determination

Table 3. Fusarin C amounts in cereals obtained market in Pyungtaik.

Cereals	Fusarin C amounts		Cereals	Fusarin C amounts	
	mg/kg	%		mg/kg	%
Rice	—	—	Soybean black	—	—
Glutinous rice	—	—	Job's tears	13.5	0.00135
Barley	140.0	0.014	Foxtail millet	—	—
Soybean yellow	—	—	Corn	—	—

a. Values are means of duplicate determination

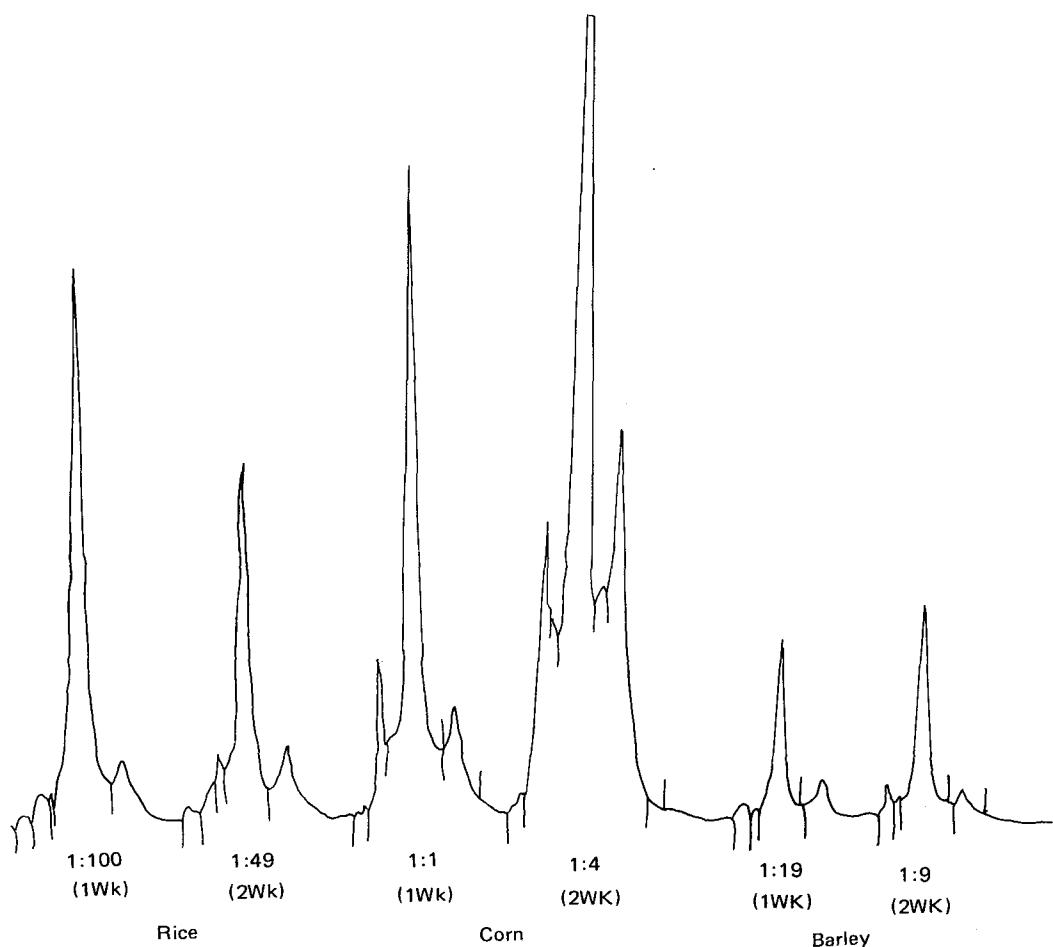


Fig. 1. Fusarin C chromatogram of rice, corn, barley cultures inoculated with *Fusarium moniliforme* by HPLC.

무작위적으로 구입한 12종의 곡류종에서 쌀, 차조, 수수, 옥수수에서 Fusarin C가 검출되었다. 옥수수에서 58 mg/kg의 양이 검출된데 비하여 쌀, 차조는 옥수수의 약 8배 이상의 양으로 나타났으며 특히 수수의 경

우에는 940 mg/kg으로 월등히 많은 양이 존재하고 있음을 알 수 있었다.

이에 비하여 평택지역에서 구입된 곡류들 중에서는 Table 3에서 보는 것과 같이 보리와 올무에서 소량이 검

Table 4. Fusarin C production in cereal cultures inoculated with *Fusarium moniliforme*

Culture condition	Fusarin C amounts (mg/kg) ^a	
	28°C/1 week	28°C/2 weeks
Rice	110071	37015.6
Barley	5402.4	7404.0
Soybean yellow	750.8	1679.8
Soybean black	980.0	780.0
Corn	3544.2	9609.0

a Values are means of duplicate determination

출되었다. 올무에는 극히 미량이 존재하나 보리의 경우는 140 mg/kg으로 서울지역에서 검출된 옥수수중의 Fusarin C양에 비하면 약 1/3 정도에 불과하였다. 이들 값은 Thiel²⁰⁾이 미국 Pennsylvania 남동부지역의 옥수수에서 Fusarin C의 양을 측정한 결과에 비하면 월등히 높았으며 그 이유는 곡류의 재배, 수확, 저장, 유통 기간중의 보관방법 등의 차이에 기인할 것으로 사료된다.

여기에서 현재 우리가 사용하고 있는 곡류들 중 일부에서 Fusarin C가 다량 검출되었다는 사실에 각별히 유의해야 한다고 생각한다. 또한 평택지역에서 수거된 곡류들은 비교적 판매될 때까지 개량된 창고에서 보관되어 있었으나 서울지역의 곡류는 생산지로부터 운송된 후 판매시까지 시장등에서 보관되어 있던 것이므로 유통기간 중의 저장상태가 Fusarin C량에 중요한 요인이 될 것으로 사료된다.

2. 곡류배지에서 *F. moniliforme*에 의한 Fusarin C의 생성

쌀, 보리, 대두, 검정콩 및 옥수수를 배지로 하여 *F. moniliforme*을 배양한 후 Fusarin C의 생성량을 측정한 결과는 Table 4 및 Fig. 1에서 보는 것과 같았다.

여기에서 쌀은 *F. moniliforme*에 의한 Fusarin C의 생성량이 28°C에서 1주간 배양시 110071 mg/kg으로 다른 곡류보다 약 20~140배나 월등히 높게 나타났으며 그 다음은 보리, 옥수수의 순이었다. 2주간 배양하는 동안 쌀은 오히려 Fusarin C 생성량이 약 1/3로 감소되었고 검정콩도 약간 감소되었으나 옥수수와 대두는 약 2배 이상 증가되었으며 보리도 상당량 증가되었다. 옥수수배지의 이와같은 경향은 安들¹⁸⁾의 결과와 다소 차이가 있

Table 5. Fusarin C production depend on Water activity in rice culture with *Fusarium moniliforme*

Water activity	Fusarin C amounts (mg/kg) ^a		
	1 week	2 weeks	4 weeks
0.58 ^{*1)}	34	188.2	—
0.75 ^{*2)}	—	—	—
0.85 ^{*3)}	—	15.6	572.4

*1) NaBr Saturated Solution.

*2) NaCl Saturated Solution.

*3) KCl Saturated Solution.

a. values are means of duplicate determination

Table 6. Fusarin C production depend on Water activity in corn culture inoculated with *Fusarium moniliforme*

Water activity	Fusarin C amounts (mg/kg) ^a		
	1 week	2 weeks	4 weeks
0.58 ^{*1)}	28.0	48.0	—
0.75 ^{*2)}	63.0	144.4	9
0.85 ^{*3)}	174.2	62.0	29

*1) NaBr Saturated Solution

*2) NaCl Saturated Solution.

*3) KCl Saturated Solution.

a. Values are means of duplicated determination

으나 이것은 미국산 옥수수와 한국산 옥수수의 품종별 차이에 기인되는 것이 아닌가 생각된다. 이러한 결과에서 쌀은 옥수수보다 *F. moniliforme*를 더 선호하는 것을 알 수 있었으며 Fusarin C 표준용액을 제조하기 위한 순수한 Fusarin C의 분리를 목적으로 할 때에는 쌀이 배지로서 더욱 적합하다는 새로운 사실을 알 수 있었다.

3. 수분활성도에 의한 Fusarin C 생성량의 비교

쌀과 옥수수를 배지로 하여 *F. moniliforme*을 배양할 때 배지의 수분활성도 (Aw)를 0.58, 0.75, 0.85로 조정하고 이에따른 Fusarin C의 생성량을 비교한 결과는 Table 5, 6 및 Fig. 2에서 보는 것과 같았다.

쌀을 배지로 한 경우에 Aw가 0.58인 때에는 1주, 2주 내에 Fusarin C가 생성되었으나 4주에는 보이지 않은데 비하여 Aw가 높은 0.85에서는 시간이 경과될수록 많은 양이 생성된 것으로 나타났다. 따라서 배양시간이 4주까지 길어질수록 Aw가 높을수록 Fusarin C의 생성량이 많아졌다. 한편 옥수수배지에서는 Aw가 0.58 및 0.75

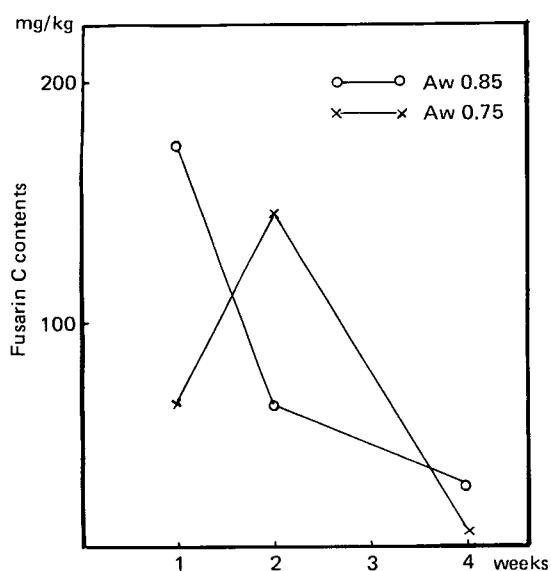


Fig. 2. Fusarin C contents of corn culture depend on water activity.

인 때에는 2주까지 시간이 경과됨에 따라 생성량이 증가되나 Aw가 0.85인 때에는 오히려 1주보다는 2주에서, 2주보다는 4주에서 생성량이 점점 감소되는 양상을 나타내었다. 또한 옥수수배지에서는 Aw가 0.58일때 1주간 배양시에 28 mg/kg의 생성량을 보이나 0.75에서는 63.0, 0.85에서는 174.2 mg/kg으로 수분활성도가 높아짐에 따라 Fusarin C의 생성량이 월등히 높아지는 것을 볼 수 있었다. 여기에서 옥수수는 쌀보다 *F. moniliforme*에 의해 Fusarin C를 생성할 경우 수분활성도에 대한 의존도가 매우 크다는 것을 알 수 있었다.

IV. 요 약

우리나라에서 상용되고 있는 12종의 곡류 중에서 Fusarin C의 존재여부와 몇종의 곡류배지에서의 *F. moniliforme*에 의한 Fusarin C의 생성능력 및 Fusarin C의 생성과 수분활성도와의 관계를 검토한 결과는 다음과 같았다.

- 서울지역에서 상용하고 있는 곡류 12종 중에 쌀, 차조, 수수, 옥수수에서 Fusarin C가 상당량 검출되었으며 평택지역에서는 보리와 율무에서만, 서울지역의 곡류들보다 훨씬 적은 양이 검출되었다. 이와같은 경향

에서, 지역간의 판매 유통기간중의 보관상태가 매우 중요한 인자라고 생각된다.

- 곡류를 배지로 한 *F. moniliforme*의 배양시에 생성되는 Fusarin C의 양은 쌀에서 월등히 높게 나타났으며 보리에서도 옥수수보다 많은 양이 생성되는 것으로 나타나 우리가 상식하고 있는 쌀 및 보리가 *F. moniliforme*의 배지로서 옥수수보다 더 적절하다는 것을 알 수 있었다.

- 수분활성도가 Fusarin C 생성에 미치는 영향은 쌀보다 옥수수에 더 큰 것으로 나타났다. 옥수수의 경우 수분활성도가 높을수록 Fusarin C의 생성량이 크게 증가되며, 수분활성도가 높은 부분에서는 1주에서 최고 값을 나타내었으나 2주에서는 급격히 감소되었다.

REFERENCES

- Booth C., The genus *Fusarium*, p. 11, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Survey, U.K., 1971.
- Marasas, W.F.O., Wehner, F.C., Van Rensberg, S.J., and Van Schalkwyk, D.J., Mycoflora of corn in Human Esophageal cancer Areas in Transkey, Southern Africa, *Phytopathology*, **71**:792-798, 1981.
- Li, M., and Cheng, S.J., Ethiology of Carcinomas of the Esophagus, in Huang, G.J. and Wu, Y.K. (Editor), *Carcinoma of the Esophagus and Gastric candida*, Springer verlag., N.Y., p. 26-51, 1984.
- Li M.H., Tian, G.J., Lu, S.H., Guo, S.P., Jin, C.L., and Wang, Y.L., Forestomach carcinomas induced in rats by corn bread inoculated with *Fusarium moniliforme* Chimese. *J. Oncol.*, **4**, 241-244, 1982.
- Wiebe, L.A. and Bjeldanes, L.F., Fusarin C a mutagen from *Fusarium moniliforme*, grown on corn, *J. Fd. Sci.*, **46**, 1424-1426, 1981.
- Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G., Jaskiewicz, K., and Marasas, W.F.O., Investigations on the carcinogenicity of fusarin O a mutagenic metabolic of *Fusarium moniliforme*, *Carcinogenesis*, **6**, 903-905, 1985.
- Marasas, W.F.O., Kriek, N.P.J., Finchman, J.E., and Van Resenberg, S.J.: Primary Liver Cancer and Esophageal Basal Cell Hyperplasia in Rats caused by *Fusarium moniliforme* Int. *J. Cancer*, **34**:383-387, 1984.
- 이응수, 장항숙, 오유진, 조재민, 장성재, 곡물 및 사료중의 *Fusarium mycotoxin*에 관한 연구, 충북대학

- 교 논문집, 제29집, 162-173, 1983.
- 9) Lee, U.S., Jang, H.S., Tanaka, T.S., Hasegawa, A. H., Oh, Y.J. and Ueno, Y.S., The Coexistence of the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and Zearelenon in Korean cereals harvested in 1983, *Food Additives and contaminants*, **2**, 3, 185 -192, 1985.
 - 10) 안명수, 혼영희, *Fusarium moniliforme*에 의해 생성되는 Fusarin C에 관한 연구, 성신여대 생활문화연구 논문집 제 3 집, 1988.
 - 11) Gaddami, V., Bjeldanes, L.F., and Shoolery, J.N., Fusarin C: Structure determination by natural abundance ^{13}C - ^{13}C coupling and Deuterium-induced ^{13}C shifts, *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 652-654, 1985.
 - 12) Boeckman, Jr. R.K., Thomas, E.W., *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, 987, 1979.
 - 13) Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., and K.J. Van der Merwe, Natural occurrence of fusarin C, a mutagen produced by *Fusarium moniliforme*, in corn, *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 1064 -1067, 1984.
 - 14) Farber, J.M., Sanders, G.W. and Scott, P.M., production of fusarin C in liquid culture, 6th IUPAC symp., Mycotoxins and phycotoxins, pretoria, South Africa, July 22-25, 1985.
 - 15) Cheng, S.J., Jiang, Y.Z., and Lo, H.Z., A mutagenic metabolite produced by *fusarium moniliforme* isolated from Linxian country, China, *Carcinogenesis*, **6**, 903-905, 1985.
 - 16) Jaskiewricg, K., Van Rensburg, S.J., Marasas, W.F. O., and Gelderblom W.C.A., carcinogenicity.
 - 17) Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G., Van der Merwe, K. J., Metabolic activation and deactivation of fusarin C, A mutagen produced by *Fusarium moniliforme*, *Biochem. Pharm.*, **33**, 10, 1601-1603, 1984.
 - 18) 안명수, 혼영희, 액체 배지에서의 *Fusarium moniliforme*에 의한 Fusarin C 생성에 관한 연구, 한국조리 과학회지, **4**, 2, 65-69, 1988.
 - 19) Goldman, M., Horev, B., and Saguy, I. 1983. Decolorization of Beta-Carotene in Model Systems simulating Dehydrated Foods. Mechanism and kinetic Principles. *J. Food Sci.*, **48**, 751.
 - 20) Thiel, P.G., Gelderblom, W.C.A., Marasas, W.F.O., Nelson, P.E. and Wilson, T.M., Natural occurrence of moniliforme and Fusarin C in corn screenings known to be hepatocarcinogenic in rats, *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 5, 773-775, 1986.