

# 배양조건이 *Aspergillus flavus* ATCC 15517의 Aflatoxin 생성에 미치는 영향

정덕화 · 이용욱\* · 김용호 · 김성영 · 김종규\*

경상대학교 · \*서울대학교 보건대학원

## The Effect of Cultural Conditions on the Aflatoxin Production of *Aspergillus Flavus* ATCC 15517

Duck Hwa Chung · Yong Wook Lee\* · Yong Ho Kim  
Sung Young Kim · Jong Gyu Kim\*

*Dept. Food Science & Tech., Gyeongsang National University*

*\*School of Public Health, Seoul National University*

### Abstract

To investigate the effect of cultural condition on the aflatoxin production of *Aspergillus flavus* ATCC 15517, mixed culture with *Aspergillus niger*, better kind of media and size of cultural vessels were examined. YES medium was better than SLS medium for this study. Small scale test tube culture was showed the possibility to simply examine the growth, total acidity, pH and aflatoxin production during cultivation, and also could reduce the second contamination of aflatoxin B1 from large scale broth cultured. Especially ELISA method is simple, sensitive and specific and therefore well suited to small scale of test tube culture. Mixed culture significantly reduced the aflatoxin production of *Aspergillus flavus* ATCC 15517 and showed almost 95% inhibition of that level during the incubation.

---

Keywords: Aflatoxin B1, *Aspergillus flavus* ATCC 15517, ELISA, *Aspergillus niger*

## I. 서 론

유해물질오염에 대한 국민의 관심은 경제성장과 더불어 높아졌으나 아직도 우리가 섭취하고 있는 식품의 중금속, mycotoxin 오염 여부를 가늠할 수 있는 안정성에 대한 기초자료가 부족하며 이 분야에 대한 체계적조사나 데이터 확보가 매우 시급한 실정이다. 특히 *Aspergillus* 속등의 곰팡이가 생성하는 mycotoxin의 경우 강력한 발암유기력을 가진 유해한 물질<sup>1-3)</sup>로 알려져 있지만 효과적인 분석법은 물론 오염현황조사도 어려운 실정이다. 종래 mycotoxin 분석에 사용되었던 TLC, HPLC법<sup>4-6)</sup> 등은 추출과 정제에 많은 시간과 유기용매가 소비되고 넓은 공간, 많은 기구, 그리고 전문인력을 필요로 하여 경제성이 없을 뿐만 아니라<sup>7)</sup> 처리과정에서 수반되는 안전성 문제가 심각하게 제기되어 이를 극복하기 위한 노력으로 면역분석법이 mycotoxin 분석에 응용되기 시작하였다.<sup>8)</sup> 즉 Pestka,<sup>9-10)</sup> Chu<sup>11)</sup> 등이 aflatoxin B<sub>1</sub>, aflatoxin M<sub>1</sub>, sterigmatocystin, T-2 toxin, zearalenone, ochratoxin A 등 각종 mycotoxin의 ELISA법 응용을 위해 peroxidase의 활성저해가 없는 시료추출물의 조제조건, 최적 반응조건에 관한 광범위한 실험과 실제 ELISA test kit 생산을 시도하였고, Dixon<sup>12)</sup> 등도 aflatoxin B<sub>1</sub> 등의 항체생성에 대해, 그리고 Yaguan 등<sup>13)</sup>은 sterigmatocystin의 항혈청생성 실험과 시료조제 및 반응조건 개선에 대한 연구를 하는 등 많은 연구가 활발히 진행되고 있다. 영국의 Morgan<sup>14)</sup>도 각종 mycotoxin의 항혈청 또는 단일 클론항체를 생산하여 보리를 비롯한 곡류에 오염된 mycotoxin을 간단히 측정할 수 있는 방법의 개발과 오염예방을 위해 실험해오고 있으며 일본에서는 Ueno<sup>15)</sup> 등을 중심으로 *Fusarium* 독소 연구를 오랫동안

안 해오고 있으나 아직도 감도 높은 항체생산, 효과적 시료조제 및 반응조건 개선등의 실질적 당면문제가 남아있다. 이와 같은 외국에서의 mycotoxin에 대한 오랫동안의 활발한 연구와는 달리 국내에서의 연구는 대단히 미흡하며, 최근 오염된 옥수수의 국내수입이 문제화되면서 관련업체나 연구소에서도 관심을 갖기 시작하여 기기분석과 함께 수입된 ELISA Kit 사용으로 aflatoxin의 자체분석을 시도하고 있으나 안전성의 문제점과 비싼 수입 Kit의 경제성등으로 거의 실질적인 분석이 어려운 실정이다.

이러한 실정을 감안하여 유해곰팡이의 농산물에의 오염문제에 대해 관심을 갖고 이미 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성균의 분리를 비롯한 일련의 기초적 실험결과를 보고한 바 있으며,<sup>16-25)</sup> 최근에는 mycotoxin 분석에의 면역학적 기법도입을 시작하여 새롭고도 안전한 분석법을 소개하기도 했다.<sup>26)</sup>

본 보에서는 발효식품의 mycotoxin 오염에 방에 관한 연구의 일환으로 우선 발효식품중에 쉽게 나타나는 *Aspergillus niger*를 aflatoxin 생성균주인 *Aspergillus flavus* ATCC 15517과 여러가지 조건으로 혼합배양한 후 ELISA법으로 aflatoxin B<sub>1</sub>을 정량하여 배양조건이 공시료의 aflatoxin생성에 미치는 영향을 검토하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 공시균주

실험에 사용된 균주는 aflatoxin B<sub>1</sub>을 강력하게 생산하는 *Aspergillus flavus* ATCC 15517로서 ATCC로부터 분양받았고, 혼합배양균주는 본 실험실에서 분리동정하여 보관중인 *Aspergillus niger*였다.

## 2. 배지조정

본 실험에서 균의 배양을 위해 사용된 기본 배지는 YES배지와 여러가지 무기질성질을 인위적으로 일정량 첨가한 SLS 배지를 사용하였고 배지의 pH 조절은 0.1N  $\text{NH}_4\text{Cl}$  및 0.1N  $\text{NaOH}$ 로 조절하였으며 조성은 Table 1, Table 2에서 나타낸 바와 같다.

## 3. 포자현탁액

공시균들을 사면배지에서 14 동안 30 °C에서 배양시켜 활성화시킨 다음 0.1% tween-80 1ml 와 멸균된 증류수 5ml 을 가하여 tube mixer 에서 강력히 교반시켜 포자를 씻어내는 조작을 3회 반복하여 얻은 포자현탁액을 완전살균된 4겹의 cheese cloth로 여과하고 적당한 양의 멸균수로 희석하면서 포자수를 현미경으로  $10^6$ - $10^7$ /ml 로 조절하여 사용하였다.

## 4. 배양방법

배양규모를 소형화하면서 편리화를 도모하기 위해 소형시험관(12×150mm)에 YES배지, SLS배지를 각각 5ml 씩 첨가하고 고압증기살균(121 °C, 1 kg/cm<sup>2</sup>, 20 min.)시킨 다음 포자현탁액을 100 $\mu$ l 씩을 무균적으로 접종하여 30 °C에서 14일간 배양하면서 경시적으로 각각의 배양액을 실험하였다. 또한 삼각 flask 배양을 위해서는 100ml 삼각 flask 에 YES배지, SLS배지를 각각 20ml 씩 분주하여 포자현탁액 100 $\mu$ l 씩을 접종한 후 test tube 배양과 동일하게 배양하면서 비교실험하였다.

## 5. 생육도, pH 및 산도측정

균의 생육도는 경시적으로 배양한 배지를 일정량 취하여 살균한 다음 Toyo No. 2 filter paper 로 여과한 후 얻은 균체를 60 °C의 dry

Table 1. Composition of modified YES medium

Yeast extract	20g
Sucrose	200g
Distilled water	1 l

Initial pH of the medium was 5.5.

Table 2. Composition of modified SLS medium

Sucrose	85g
L-asparagine	10g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2g
$\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	75mg
$\text{ZnSO}_4$	10mg
$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5mg
Ammonium molybdate	2mg
Distilled water	1 l

Initial pH of the medium was 4.5.

oven에서 24시간 건조시켜 방냉한 후 항량이 된 무게에서 filter paper 무게를 제외한 것을 균체량으로 하였다. 또한 pH는 pH meter로 측정하였으며 산도는 배양액 1ml 를 취하여 증류수 20ml 을 가한 다음 지시약 2~3 방울을 떨어뜨리고, 0.1N  $\text{NaOH}$ 로서 end point 까지 적정한 후 citric acid 양으로 환산하여 표시하였다.

## 6. Aflatoxin의 검색

기존의 정량법<sup>4-6</sup>과 달리 ELISA법에 의한 aflatoxin 정량을 위한 시료의 조제는 배양액을 100배이상 적당히 희석한 것을 측정시료로 직접 사용하였다.

또한 aflatoxin 함량측정은 Warner<sup>7)</sup> 등의 방법을 참조하여 ELISA kit를 이용하여 Fig.

1과 같이 aflatoxin B<sub>1</sub>에 특이성을 갖고 항체가 coating되어 있는 microtiter plate를 washing buffer (0.01M phosphate buffer solution)로 3회 씻고, 시료와 aflatoxin B<sub>1</sub>-HRP(horseradish peroxidase) 희석액을 동량혼합한 후 100 μl씩 well에 주입하고 37 °C에서 10분간 방치한다. washing buffer로 다시 6~7회 씻은 plate는 일정량의 기질(2'-azido-di-3-ethylbenzthio-zoline sulfonic acid)를 첨가하여 결합된 aflatoxin B<sub>1</sub>-HRP를 5분간 발색시키고 반응저지액 100 μl씩을 가해 반응을 정지시켜 ELISA reader로서 흡광도를 측정하였다. 한편 배지속에 표준 aflatoxin B<sub>1</sub>을 농도별로 첨가하여 하룻밤 방치 후 희석한 다음 상기의 방법대로 Fig. 2와 같은 표준곡선을 구하고 시료에서 얻은 흡광치를 표준곡선과 비교하여 그 함량을 계산하였다.

### III. 결과 및 고찰

1. 배양조건이 균의 생육에 미치는 영향  
 공시균인 *Aspergillus flavus* ATCC 15517을 *Aspergillus niger*와 혼합배양을 하거나, 배양기의 크기를 달리하거나, 혹은 배양액의 조정을 달리하는 등 배양조건이 공시균의 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

그 결과 Table 3에서 나타난 바와 같이 단독과 혼합배양시 모두 YES배지에서의 생육정도가 SLS배지보다 높게 나타났고 용량이 많은 Δ flask에서의 값이 test tube 배양보다 높았다.

그러나 test tube 배양기에서의 생육정도는 배양초기인 4일을 전후해서 70% 이상이 끝났으며, 배양기의 면적이 큰 Δ flask에서 생육이 오히려 빨리 끝나 4일 이후에는 오히려 생육정도가 감소되는 현상을 보였다. 이와 같이 배양기의 크기에 따라 동일 미생물의 경우에도

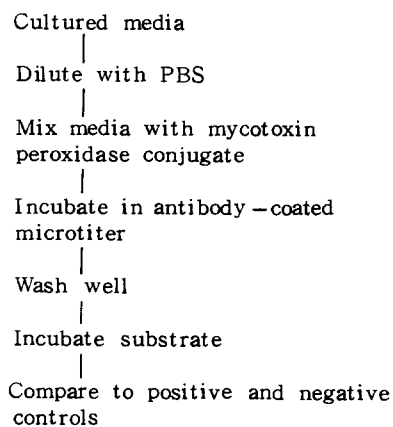


Fig. 1. Steps for simplified microtiter well ELISA of aflatoxin B<sub>1</sub>

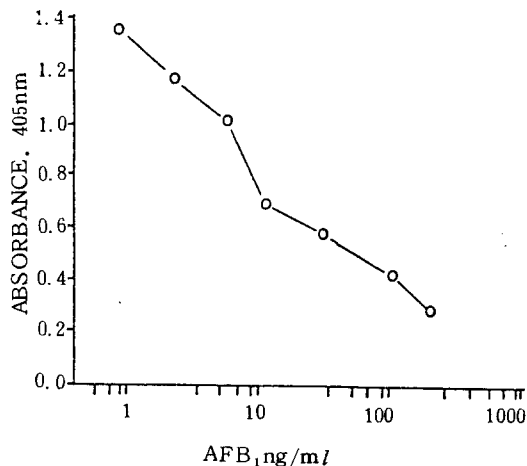


Fig. 2. Competitive direct ELISA standard curve for aflatoxin B<sub>1</sub>

균생육정도가 다소 다르게 나타났지만 mycotoxin 실험을 위한 경우에 있어서 2차 오염을 포함한 안정성문제를 고려할 때 test tube와 같은 소규모 배양으로도 충분히 실험이 가능할 것으로 생각된다. 그러나 많은 균으로부터 mycotoxin 생성유무 확인시험을 할 때 소규모의 경우 배양조건을 악화하여 mycotoxin 생성이 불량

Table 3. Comparisons of mycelial growth during incubation of used strains at 30°C for 14days  
(Unit: mg/ml)

Strains	Media	Days Vessels	(Unit: mg/ml)						
			2	4	6	8	10	12	14
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	10.29	10.71	26.28	27.86	28.17	28.60	28.92
		△ flask		36.86		28.97		22.50	
	SLS	test tube	9.21	19.43	21.37	20.59	18.76	18.01	18.12
		△ flask		18.02		14.95		13.15	
<i>Asp. flavus</i>	YES	test tube	11.88	21.86	23.78	25.70	28.76	29.70	32.64
		△ flask		49.94		41.55		35.65	
	SLS	test tube	9.20	13.17	20.34	20.82	23.30	22.00	22.68
		△ flask		40.02		25.15		21.35	
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	11.33	21.68	23.86	28.28	27.44	26.98	24.88
		△ flask		43.61		20.74		21.75	
<i>Asp. flavus</i>	SLS	test tube	9.03	19.71	18.25	18.28	18.77	18.23	17.16
		△ flask		19.54		12.00		10.40	

할 수가 있기 때문에 종래의 많은 시료를 필요로 하는 분석법으로는 screening이 어려우나 ELISA법을 응용할 경우는 측정방법이 단순하고 민감하므로<sup>14)</sup> 배양규모를 최소화시킨 test tube 배양법으로도 mycotoxin의 측정이 가능할 수 있어 본 실험에 적용해 보았다. 또한 단독배양과 혼합배양의 경우 대체로 SLS배지보다 YES배지가 좋았고 특히 SLS배지가 첨가된 △ flask 배양의 경우는 YES보다 생육상태가 훨씬 저조하였다.

## 2. 배양기의 총산 및 pH

공시균주인 *Aspergillus niger*는 우리나라 발효식품에서 *Aspergillus oryzae* 등과 함께 아주 빈번히 나타나는 균주로서 균의 성장과 더불어 1차 대사산물인 각종 유산균, 특히 구연산을 배지에 축적하는 성질을 갖고 있다. 이러한 균과 더불어 aflatoxin생성균이 2차 오염되었을 경우 기존의 *Aspergillus niger* 등이 생성하는 유기산이 aflatoxin생성균에 어떠한 영향을 주는지를 알아보기 위해 우선 배양액내의 총산을 조사하였다. 그 결과 배양액 ml 당 산의 함량은 YES배지가 SLS배지보다, test

tube 배양이 △ flask 배양보다 높았으며 *Aspergillus niger* 단독배양이 *Aspergillus flavus*와의 혼합배양보다 훨씬 높았으나, *Aspergillus flavus* 단독배양보다는 혼합배양이 산의 생성이 많아 생성된 산이 공시균의 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성에 영향을 미칠 것으로 예상되었다.

즉 Table 4에서 보는 바와 같이 *Aspergillus niger*는 1차 대사산물인 유기산을 배양후기까지 축적하는 것에 반하여 *Aspergillus flavus* ATCC 15517과 같은 mycotoxin생성균은 배양초기에 대체로 1차 대사산물의 소규모축적을 마치며, 혼합배양의 경우 과잉축적된 유기산이 aflatoxin등의 2차 대사산물합성을 방해할 것이라 생각할 수 있었다. 또한 배양액의 pH는 대체로 총산의 함량과 거의 유사한 경향을 나타내어 *Aspergillus niger* 단독배양시 높은 산의 함량을 보인 YES 배양기에서는 배양초기 급격히 낮아졌다가 6일 이후 약간 증가했으나 전체적으로 3.0 이하에 머물렀고, 다른 시험구에서도 초기에 저하되었다가 후기에 다소 증가하는 같은 경향을 보였다.

## 3. Aflatoxin B<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향

Table 4. Comparisons of total acidity during incubation of used strains at 30°C for 14days

(Unit : mg/ml broth)

Strains	Media	Days Vessels							
			2	4	6	8	10	12	14
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	8.35	13.98	18.75	19.07	20.59	12.66	11.03
		△ flask		10.19		2.94		2.63	
	SLS	test tube	4.05	4.92	5.36	8.52	9.14	7.04	7.35
		△ flask		4.10		3.52		3.15	
<i>Asp. flavus</i>	YES	test tube	2.21	3.10	4.36	3.84	3.63	3.05	2.84
		△ flask		5.15		3.84		2.10	
	SLS	test tube	5.99	3.00	2.42	2.47	2.39	1.85	2.10
		△ flask		3.68		1.68		2.84	
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	6.25	9.27	11.40	12.25	14.65	4.31	1.89
		△ flask		19.43		2.10		1.89	
<i>Asp. flavus</i>	SLS	test tube	6.78	4.57	4.26	5.67	8.35	6.83	5.51
		△ flask		2.21		1.26		2.10	

Table 5. Comparisons of pH during incubation of used strains at 30°C for 14days

Strains	Media	Days Vessels							
			2	4	6	8	10	12	14
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	2.50	2.35	1.25	1.38	1.66	1.78	2.80
		△ flask		1.02		4.09		4.47	
	SLS	test tube	3.40	3.56	3.77	3.08	3.04	2.17	3.89
		△ flask		4.60		5.30		5.65	
<i>Asp. flavus</i>	YES	test tube	4.90	4.17	4.07	4.36	4.37	4.45	5.74
		△ flask		3.20		6.06		6.20	
	SLS	test tube	3.71	4.02	4.83	4.71	4.99	5.28	5.81
		△ flask		2.63		6.81		7.92	
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	2.73	2.66	2.63	2.44	1.66	2.04	4.77
		△ flask		1.62		4.93		5.10	
<i>Asp. flavus</i>	SLS	test tube	2.83	3.18	3.67	3.05	2.91	2.97	3.66
		△ flask		6.54		7.80		6.55	

배양이 끝난 시료의 aflatoxin B<sub>1</sub> 함량을 ELISA 법으로 정량하여 배양조건이 공시균의 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 균의 생육조건이 어렵게 나타났던 △ flask 배양에서 오히려 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성이 크게 나타났고, 혼합배양의 경우 *Aspergillus flavus* ATCC 15517의 단독배양시 보다 현저히 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성이 감소됨을 알 수 있었다. 즉 단독으로 *Aspergillus flavus* ATCC 15517을 test tube에 배양할 경우 8~10일 사이

에 142-196 μg/ml의 높은 함량을 보인 반면 혼합배양의 경우는 4~6일 사이에 5.8~8.6 μg/ml의 aflatoxin B<sub>1</sub> 함량을 보이다가 시간의 경과에 따라 점차 감소하여 10일 이후에는 3.0 μg/ml 수준을 보여 전과정을 통해 약 95% 이상의 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성이 저해되는 것으로 나타나, 각종 진균류와 혼합배양한 김등<sup>28)</sup>의 연구보고와도 일치하는 경향을 보였다.

이러한 결과는 과거의 TLC<sup>4)</sup> 및 HPLC등<sup>5)</sup>의 방법을 이용할 경우에는 소요배양액이 많아

Table 6. Comparisons of aflatoxin production during incubation of used strains at 30°C for 14days

(Unit :ug/ml broth)

Strains	Media	Days Vessels							
			2	4	6	8	10	12	14
<i>Asp. flavus</i>	YES	test tube	78	137	185	196	192	175	163
		△ flask		186		218		197	
	SLS	test tube	21	82	131	136	142	118	102
		△ flask		94		153		142	
<i>Asp. niger</i>	YES	test tube	4.8	8.6	6.3	3.9	2.6	2.7	2.1
		△ flask		9.4		5.8		6.2	
<i>Asp. flavus</i>	SLS	test tube	5.4	5.8	2.7	2.6	1.7	2.1	2.0
		△ flask		4.7		3.2		2.8	

test tube 배양으로는 어려울지 모르나 ELISA 방법을 사용하므로써 많은 시료를 간단한 전처리 과정을 통하여 정확히 분석하는 것이 가능하게 되었다. 즉 이러한 ELISA법의 응용으로 배양액의 양을 줄이므로써 대량배양으로 인한 2차 오염을 높일 수 있고 아울러 많은 시료를 동시에 처리할 수 있으며, 시료간의 반복실험이 가능하여 종래 방법상의 문제점, 즉 추출정제과정에서의 과대한 시간과 경제성, 그리고 실험중 mycotoxin이나 유기용매에 피부노출로 인한 안정성등의 문제가 극복될 수 있다.<sup>26)</sup>

아울러 본 실험에서 나타난 바와 같이 혼합배양으로 인한 mycotoxin 생성저해는 과거 발효식품에서 aflatoxin B<sub>1</sub>이 검출되었다는 것이 실제 오염된 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성균이 발효과정중 생성된 것인지, 아니면 원료기질 자체가 aflatoxin B<sub>1</sub>에 이미 오염되었던 것이 발효생성물에 유리된 것인지를 조사해 볼 필요성을 갖게 한다. 이러한 연구로 좀 더 구체적으로 함으로써 aflatoxin B<sub>1</sub>생성과 된장, 간장등의 동양발효식품이 어떠한 상관관계를 갖고있는지를 규명하는 좋은 자료가 될 것으로 사료하는 바이다.

#### IV. 결 론

*Aspergillus flavus* ATCC 15517의 aflat-

oxin 생성에 배양조건이 어떠한 영향을 미치는가를 조사하기 위하여 *Aspergillus niger*와 공시균을 혼합배양하면서 배지조성, 그리고 배양기의 크기를 다르게 조정하여 실험하였다. 그 결과 YES배지가 SLS배지보다 공시균의 배양에 적합하였고 전과정을 통하여 소규모 test tube 배양으로 공시균의 생육, 산생성, pH를 조사하는 것이 가능하여 대량배양으로 인한 2차 오염을 줄일 수 있었고, 특히 소규모 배양액의 aflatoxin 함량도 ELISA법을 응용하므로써 신속정확히 측정할 수 있었다. 아울러 *Aspergillus niger*와의 혼합배양은 공시균의 aflatoxin B<sub>1</sub> 생성에 크게 영향을 주어 전배양을 통하여 test tube 배양의 경우 95% 이상의 aflatoxin 생성이 저해되었다.

#### 참 고 문 헌

1. Mirocha, C.J., S.V. Pathre, & C.M. Christensen: Zearalenone, In J.V. Rodricks, C.W. Hesseltine, & M.A. Mehlman(eds.) *Mycotoxins in human and animal health.* Patohtox Publishers, Inc., Park Forest South, IL. 345, 1977.
2. Busby Jr., W.F., and G.F. Wogan: *Mycotoxins and mycotoxicoses*, In H. Rrieman

- and F.L. Bryan(ed.), Food-borne infections and intoxications, 2nd ed. Academic press, New York, 419, 1979.
3. Wogan, G.N., and P.M. Newberne: Dose-response characteristic of aflatoxin B1 carcinogenesis in the rat, *Cancer Res.*, 27, 2370, 1984.
  4. Scott, P.M., T. Panalaks, S. Kanhere, and W.F. Miles: Determination of zearalenone in cornflakes and other-based foods by thin layer chromatography, high pressure liquid chromatography. High resolution mass spectroscopy, *J. Assoc. Off. Chem.* 61, 593, 1978.
  5. Campbell, A.D., O.J. Francis JR., R.A. Beebe, and L. Stoloff; Determination of aflatoxins in peanut butter, using-two liquid chromatographic methods *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67,312, 1984.
  6. Cjang, H.L., J.W. Devries and W.E. Hobbs : Comparative study of two methods for extraction of aflatoxin from peanut meal and peanut butter, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62,281, 1979.
  7. Romer, T.M., L.R.: Methods of detecting mycotoxins in mixed feeds and feed ingredients, *Feedstuffs*, 12, 18, 1976.
  8. Pestka, J.J., Y.K. Lee, W.O. Harder and F.S. Chu: Comparison of a radioimmunoassay and an enzyme-linked immunosorbent assay for the analysis of aflatoxin M1 in milk, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64,294, 1981.
  9. Pestka, J.J., P.K. Gaur and F.S. Chu: Quantitation of aflatoxin B1 and aflatoxin B1 antibody by an enzyme-linked immunosorbent assay, *Microbiol.*, 40, 1027, 1980.
  10. Pestka, J.J., S.S. Lee, H.P. Lau and F.S. Chu: Enzymelinked immunosorbent for t-2 toxin, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 940, 1981.
  11. Chu, F.S., M.T.S. Hsia and P.S.: preparation and characterization of aflatoxin B1-190 carboxymethyl oxime, *J. Assoc. Off. Chem.*, 60,791, 1977.
  12. Dixon, I. E., R.L.P. Hart and J.J. Pestka: Hybridoma cell line produces a specific monoclonal antibody to the mycotoxin zearalenone and alpha zearalenone. *J. Agr. Food Chem.*, 33,312, 1987.
  13. Yaguan Li and F.S. Chu: Production and characterization of antibody against sterigmatocystin, *J. Food Safty*, 6,119, 1984.
  14. Morgan r. Michael, Angray S. Kang and Henry W.S. Chan: Production of antisera against sterigmatocystin Hemicaetal and its potential Enzyme- linked Immunosorbent assay for sterigmatocystin in barley, *J. Sci. Food Agric.*, 27,873, 1986.
  15. Ueno, Y., I. Ueno, K. Amakai, Y. Ishikawa, H. Tsunoda, K. Okubo, M. Saito M. Enomoto: Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria* (II), *J. Exp. Med.*, 41,507, 1971.
  16. 우영숙 · 정덕화 : *Aspergillus parasiticus* R-716 의 생육 및 aflatoxin 생산에 미치는 마늘 (*Allium sativum*) 엑기스의 영향, 경상대학교 논문집, 23 (23), 89, 1984.
  17. 정덕화 : *Aspergillus parasiticus* R-716 의 생육 및 aflatoxin 생성에 미치는 강황 (*Curcuma longa* L.) 엑기스의 영향, 경상대학교논문집, 23 (2), 153, 1984.



18. 정덕화·김찬조 : Aflatoxin생성균의 분리 및 초기 pH, 한국산업미생물학회지, 14 (1), 9, 1986.
19. 정덕화·정영철·성낙계 : 고체배지에서 aflatoxin생성에 미치는 temperature cycling의 영향, 한국환경위생학회지, 12(1), 39, 1986.
20. 정덕화 : *Aspergillus parasiticus* R-716에 생육 및 aflatoxin생성에 채소추출물의 영향, 대한위생학회지, 1(1), 1986.
21. 이광승·장진규·정덕화 : 인삼 saponin 이 *Aspergillus parasiticus* R-716의 생육 및 aflatoxin생성에 미치는 영향, 19(1), 11, 1986.
22. 김종수·정덕화·문일평·김치용 : 토끼의 aflatoxin B<sub>1</sub>의 중독증에 대한 인삼 엑기스의 효과, 경상대학교논문, 26(1), 1987.
23. 정덕화·구성희·이용욱·김종규 : 한약제가 *Aspergillus parasiticus* R-716의 생육과 aflatoxin생성에 미치는 영향, 식품위생학회지, 3(2), 89, 1988.
24. Chung Duck Hwa, James, J. Pestka, Abouzied, Mohamad: ELISA of sterigmatocystin produced by *Aspergillus versicolor* ATCC 18643 and *Aspergillus nidulans* ATCC32610 in small scale liquid culture, Applied Environmental Microbiology, (In press) 1990
25. 정덕화 : Enzyme Linked Immunosorbent Assay에 의한 mycotoxin의 분석, 식품과학과 산업, 21(4), 33, 1988.
26. Warner, R., B.P. Ram, L.P. Hart & J.J. Pestka: Screening for zearalenone in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay, J. Agr. Food Chem., 34,714, 1986.
27. Kim En Ju, Yong Chung and Sook Pyo Kwon: Effect of various fungi on the aflatoxin productivity in the cutlruue of *Asp. flavus*, Korean J. Preventive Medicine, 9(1), 77, 1976.