

옥수수를 주재료로 한 한국산 사료에서의 Fumonisin B₁ 오염현황

이택수 · 정수현 · 김영배
고려대학교 식품공학과

Contamination of Fumonisin B₁ in Corn-Based Feed Products in Korea

Taek-Soo Lee, Soo-Hyun Chung and Young Bae Kim
Department of Food Technology, Korea University, Seoul, Korea

Abstract

One hundred and six corn-based feed products collected between 1992 and 1993 were analysed to investigate fumonisin B₁ contamination. Eighty-two samples 77.4% turned out to contain fumonisin B₁ ranging from 50 to 1,281 ng/g with average of 497 ng/g.

Key words: fumonisin B₁, *Fusarium* mycotoxin, corn-based feeds

서 론

곰팡이독은 곰팡이의 이차 대사산물로서 동물과 사람에게 생리적 장애를 일으킨다. 사료용으로 사용되는 곡물은 식품용에 비하여 품질이 낮은 것이 보통이며 곰팡이독의 오염의 우려도 높은 것으로 생각된다. 오염된 사료는 섭취한 가축에게 일차적으로 장애를 주어 경제적으로 피해를 주나 나아가서 축산 식품중에 잔류하여 인간에게 이차적인 위해를 나타내기도 한다⁽¹⁾.

*Fusarium*은 자연계에 널리 퍼져 있으며 옥수수를 비롯한 곡류를 포함한 작물에 흔히 기생하는 식물 병원균으로서 다양한 종류의 독성물질을 생산하는 것으로 알려져 있다. 이에 더하여 최근 fumonisin이라는 또 하나의 새로운 독소가 밝혀져 이에 대한 활발한 연구가 진행되고 있다⁽²⁾. Fumonisin은 수용성 물질로서 알려진 몇가지의 동족체(Fig. 1) 중 자연계에 가장 많은 양으로 발견되는 fumonisin B₁은 말의 뇌백질 연화증(equine leukoencephalomalacia, ELEM)⁽³⁾과 돼지의 폐수종(porcine pulmonary edema, PPE)을 유발하며⁽⁴⁾, 쥐(rat)의 간염⁽⁵⁾과 병아리에서 간회저증 등의 원인 물질임이 보고되었다⁽⁶⁾. Fumonisin은 여러 종류의 동물에서 다양한 병독성을 일으키지만 특히 남아프리카⁽⁷⁾와 중국 화남성의 역학적 조사 결과 사람의 식도암 유발과 높은 상관 관계가 있는 것으로 알려져 주목을 끌고 있다⁽⁸⁾.

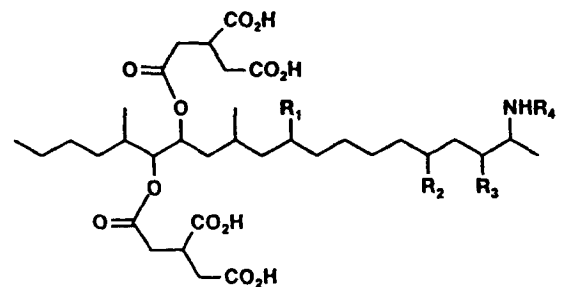
옥수수에서의 FB₁ 생성량은 다른 곡류에서보다 높은 것으로 알려져 있으며⁽⁹⁾ 주요 생산국을 포함하여 다수의 국가에서 FB₁이 자연발생으로 오염되어 있음이 보고되고 있다. 근래 우리나라의 옥수수는 거의 대부분을 수입에

의존하며, 이 중 사료용이 가장 중요한 용도이다. 최근 1993년 중국에서 수입된 사료용 옥수수에 여러가지 *Fusarium* 독소들의 오염상태를 조사한 결과중에 fumonisin이 검출되었다는 보고가 있었다⁽¹⁰⁾. 그러나 우리나라의 사료에 대한 fumonisin의 오염 실태는 아직 보고된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 사료의 FB₁의 오염 현황을 파악하기 위한 기초 자료 수집을 위하여 옥수수를 주원료로 하는 사료와 사료용 옥수수를 수집하여 곰팡이 및 FB₁의 오염수준을 조사하였다.

재료 및 방법

시료 수집

FB₁의 오염도를 조사하기 위하여 사료 공장과 개인



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
FB ₁	OH	OH	OH	H
FB ₂	H	OH	OH	H
FB ₃	OH	H	OH	H
FB ₄	H	H	OH	H
FA ₁	OH	OH	OH	CH ₂ CO
FA ₂	H	OH	OH	CH ₂ CO

Fig. 1. Chemical structure of the fumonisins

Corresponding author: Young Bae Kim, Department of Food Technology, Korea University, Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-701, Korea

농장으로부터 106개의 옥수수를 주재료로한 사료시료를 수집하였다. 이들 중 74개는 1992년 6월부터 8월 사이에 경기지역의 3개 사료 공장으로부터 수집하였고 32개는 1992년 12월부터 1993년 2월 사이에 경기, 강원, 충청 및 전라지역의 12곳의 개인 농장으로부터 수집하였다. 수집된 시료는 모두 외관상 건전해 보였다.

총 곰팡이수 및 *Fusarium*수의 측정

총 곰팡이수 및 *Fusarium*수는 각각 potato dextrose agar 및 modified Czapek-Dox agar⁽¹¹⁾를 사용하여 측정하였다. 배지는 살균 후에 streptomycin(0.01%)를 첨가하였다. 시료 1g을 0.05% Tween 80 용액에 잘 현탁하여 적당히 희석한 후 희석액 0.2 ml을 한천 평판위에 도말하고 30°C에서 5일 배양 후 생성된 콜로니의 수를 세었다. Modified Czapek-Dox agar상에 나타나는 colony들은 Nelson 등⁽¹¹⁾의 방법으로 *Fusarium*속 곰팡이인지 확인하였다.

Fumonisin B₁의 분석

Fumonisin B₁은 시료에서 추출하여 순화한 후 HPLC로 분석하였으며 그 상세한 과정은 전보에 기술하였다⁽¹²⁾.

Fumonisin B₁의 확인

시료에서 검출된 fumonisin B₁의 확인을 위하여 Rottmnghaus 등의 방법⁽¹³⁾을 다소 변형하여 HPLC에 의하여 분석함으로 행하였다. 즉 표준품 FB₁(Sigma Chem. Co.) 용액 혹은 시료 추출물 100 µl에 2 N KOH 용액 1 ml을 가하고 70°C에서 1시간 동안 가수분해시켰다. 반응물을 실온으로 식힌 후 ethyl acetate 10 ml로 FB₁의 분해 산물(amino-pentol)을 추출하였다. 추출액을 60°C에서 N₂ 가스를 이용하여 완전히 건조시키고, 이 건조물을 acetonitrile-water(1+1, v/v)로 정용한 후 다시 OPA 유도체를 형성시켜서 FB₁의 분석시와 같은 조건에서 HPLC 방법으로 분석하여 머무름 시간을 비교하였다.

결과 및 고찰

총 곰팡이수와 *Fusarium*수

시료의 총 곰팡이수와 *Fusarium*수를 정리하여 Table 1에 나타내었다. 총 곰팡이 수는 검출되지 않은 경우에서부터 10⁵/g 수준의 범위로 측정되었고 10³/g 수준인 시료가 74.5%로서 대다수를 차지하였다. *Fusarium*수의 경우도 같은 범위로서 역시 10³/g 수준인 시료가 84.9%를 차지하여 가장 빈도가 높았고 대체로 총 곰팡이 수와 *Fusarium*수는 커다란 차이를 보이지 않았다.

Fumonisin B₁ 분석

본 실험에 적용된 FB₁ 분석 방법의 회수율은 실험자에 따라 다소 차이나게 보고되고 있다. 정⁽¹⁴⁾이 실험한 옥

Table 1. Distribution of *Fusarium* and total fungal counts in 106 corn-based feed products

unit : sample No (%)		
Propagule levels (counts/g)	<i>Fusarium</i> counts	Total fungal counts
less than 10 ²	3 (2.8)	0 (0)
10 ²	11 (10.4)	5 (4.7)
10 ³	79 (74.5)	90 (84.9)
10 ⁴	12 (11.3)	10 (9.4)
10 ⁵	1 (0.9)	1 (0.9)

Table 2. Recovery of fumonisin B₁ added to corn-based feed

FB ₁ added (ng/g)	FB ₁ found (ng/g)	FB ₁ recovery (%)
125	126±26	101±21
250	223±24	89±10
500	442±45	88±9

수수에서의 회수율이 101~109%이었으나 각종 옥수수 함유 식품에 적용한 corn meal에서의 회수율은 99.5%로 보고되었다⁽¹⁵⁾.

옥수수가 주성분인 사료의 경우 125~500 ng/g의 첨가범위에서 FB₁ 회수율은 평균 89~101% 수준으로 옥수수의 경우 보다는 낮았으나 오염도 조사에 사용할 수 있다고 판단하였다(Table 2).

분석한 시료의 FB₁ 분석 결과를 정리하여 Fig. 2 및 Table 3에 나타내었다. 분석한 106개의 사료 시료 중 82점에서 FB₁에 검출되었고(검출 한계 : 50 ng/g) 이는 77.4%의 오염율을 나타낸다. FB₁이 검출된 시료들의 평균 오염수준은 497 ng/g이며 가장 높은 값 1,281 ng/g을 포함하여 1,000 ng/g 이상으로 오염된 시료는 7개 이었다.

국내의 사료의 오염도에 대한 기존의 보고는 찾을 수 없었지만 옥수수의 경우 1992년 중부지방에서 생산된 91시료중 43개(47.3%)에서 평균 410 ng/g의 FB₁이 검출되고 최고값은 6,455 ng/g이었다⁽¹⁴⁾. 또한 사료 공장에서 수집한 중국산 옥수수 시료 68개중 27개 시료에서(39.7%) FB₁이 검출되고 검출된 시료의 평균 검출량은 122.7 ng/g이고 최고값은 1,428 ng/g이었다고 보고가 있다⁽¹⁰⁾.

한편 Ueno 등⁽¹⁶⁾은 중국산 사료 원료용 옥수수에서 평균 6800 ng/g, 네팔산 옥수수에서 평균 600 ng/g의 FB₁이 오염되어 있었다고 보고하였다. 미국 중부 지역에서 생산된 옥수수의 경우 1988년부터 1991년까지 조사 결과 각각 평균 700, 2300, 1700 및 1500 ng/g이 검출되었다고 보고하였다⁽¹⁷⁾. 이러한 결과들과 비교할 때 오염된 사료의 비율은 옥수수에 비하여 높은 편이나 평균 오염 수준은 결코 더 높다고 할 수는 없다.

Fumonisin의 독성에 대한 자료는 아직 찾을 수 없어 이러한 수준의 오염의 위해를 평가하기는 어렵다. 단지

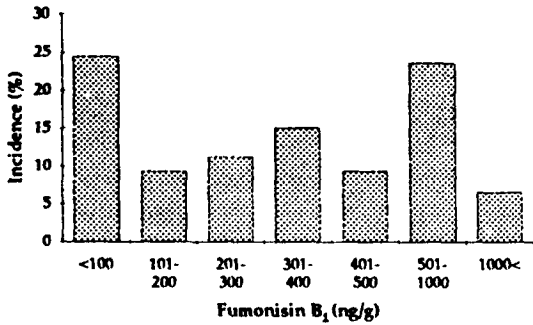


Fig. 2. Distribution of fumonisin B₁ levels in 106 corn-based feed products

Table 3. Range and mean fumonisin B₁ levels determined in corn-based feed products

FB ₁ range ng/g	mean-positives ng/g	positives/total (%)
0-1,281	497	82/106 (77.4)

가축에 문제가 되었던 사료를 분석하여 대략적인 독성을 짐작하고 있다. 말의 뇌백질 연화증(ELEM)의 원인 사료에서는 1,000~126,000 ng/g 범위의 FB₁이 검출되었고 대다수가 10,000 ng/g을 넘었다고 한다⁽¹⁸⁾. 또 다른 보고에서도 평균 7,700 ng/g이며 1,300~27,000 ng/g 범위로 검출되었다고 한다⁽¹⁹⁾. 본 사료들의 오염도는 대부분 이에 미치지 못하는 못하지만 일부 경우는 하한선에 근접하여 주목을 끈다. 그러나 미국에서 수집된 주요 옥수수 가공 식품가운데 16개 corn meal 중 15개 시료에서 평균 1,048 ng/g, 또한 10개 corn grit 시료 모두에서 601 ng/g의 FB₁이 검출되었고 한다⁽²⁰⁾. 사람이 섭취하는 식품의 원료는 사료에 비하여 일반적으로 양호한 것이라고 생각 하지만 본 실험의 결과는 이들 일부 옥수수 가공 식품의 경우보다 오히려 낮은 수준으로 성급한 위해평가가 어려웠다. 독성에 대한 연구와 더불어 광범위한 자료 수집이 계속적으로 필요하다고 하겠다.

검출된 FB₁의 확인

Rottinghaus 등⁽¹³⁾은 출된 fumonisin B₁을 확인하기 위하여 가수분해 산물을 C₁₈ plate에서 박층 크로마토그라피로 분석하였다. 본 실험에서는 같은 원리로 가수분해 산물을 OPA 유도체로 전환시켜 HPLC로 분석한 결과 얻어진 chromatogram을 Fig. 3에 나타내었다. 사료에서 검출된 FB₁의 머무름 시간은 표준품과 같이 6.72 분 이었다. 이어서 이 시료의 가수분해물의 머무름 시간은 표준품 가수분해물과 동일한 7.49분이었다. 이는 FB₁의 ester가 가수분해로 분리되고 남은 골격에 아미노기가 잔류하여 aminopentol 혼합물이 다시 OPA와 결합하면 형광성 물질을 형성할 수 있기 때문에 HPLC로

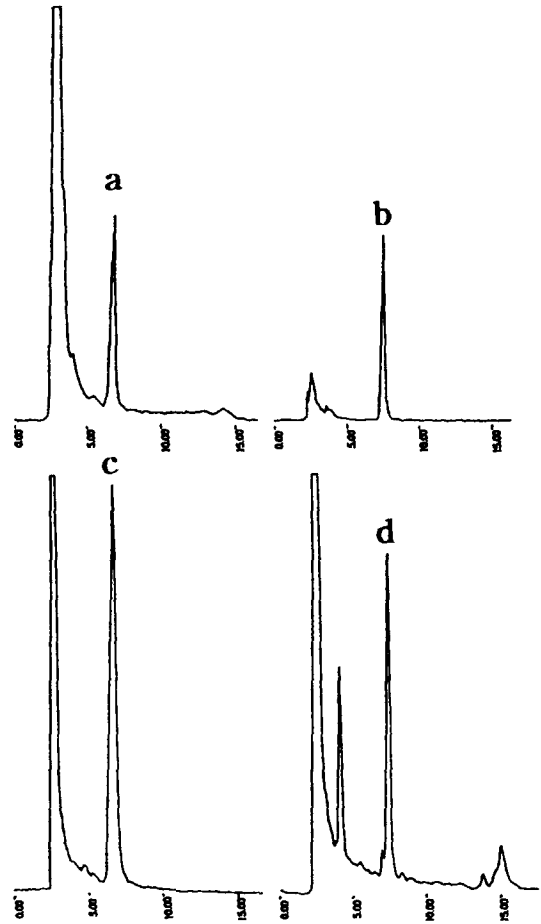


Fig. 3. HPLC chromatogram of FB₁ and hydrolyzed FB₁

a: authentic FB₁, b: hydrolyzed authentic FB₁, c: FB₁ from feed, d: hydrolyzed FB₁ from feed

분석할 수 있었고 두 분자의 tricarballic acid의 이탈로 머무름 시간이 지연된 것으로 생각된다.

요 약

1992년부터 1993년 사이에 수집된 옥수수를 주재료로 한 우리나라의 사료 106 시료중 82점(77.4%)에서 fumonisin B₁이 검출되었다. 검출된 시료들의 평균 검출량은 497 ng/g이었고 최고값은 1,281 ng/g이었다.

문 헌

1. Bertina, V.: *Mycotoxins*, Elsevier Science Pub. Co. Inc., New York. p.3-24 (1984)
2. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vlegaar, R. and Kriek, N.P. J.: Fumonisin-Novel mycotoxins with cancer promo-

- ting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**(7), 1806 (1988)
3. Ross, P.F., Ledet, A.E., Owens, D.L., Rice, L.G., Nelson, H.A., Osweiler, G.D. and Wilson, T.M.: Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatitis, and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonisins. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **5**, 69 (1993)
 4. Haschek, W.M., Motelin, G., Ness, D.K., Harlin, K.S., Hall, W.F., Vesonder, R.F., Peterson, R.E. and Beasley, V.R.: Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia*, **117**, 83 (1992)
 5. Gelderblom, W.C.A., Kriek, N.P.J., Marasas, W.F.O. and Thiel, P.G.: Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B₁, in rats. *Carcinogenesis*, **12**(7), 1247 (1991)
 6. Ledoux, D.R., Brown, T.P., Weibking, T.S. and Rottinghaus, G.E.: Fumonisin toxicity in broiler chicks. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **4**, 330 (1992)
 7. Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. and van Schalkwyk, D.J.: *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei, South Africa. *Phytopathology*, **82**(3), 353 (1992)
 8. Yoshizawa, T., Yamashita, A. and Luo, Y.: Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**(5), 1626 (1994)
 9. Holcomb, M., Sutherland, J.B., Chiarelli, M.P., Korfmacher, W.A., Thompson, H.C. Jr., Lay, J.O. Jr., Hankins, L.J. and Cerniglia, C.E.: HPLC and FAB mass spectrometry analysis of fumonisin B₁ and B₂ produced by *Fusarium moniliforme* on food substrates. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 357 (1993)
 10. Kang, H.J., Kim, J.C., Seo, J.A., Lee, Y.W. and Son, D.H.: Contamination of *Fusarium* Mycotoxins in Corn Samples Imported from China. *Agric. Chem. Biotech.*, **37**(5), 385 (1994)
 11. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O.: "*Fusarium Species*; An illustrated manual for identification", Pennsylvania State University Press. University Park, PA, USA (1983)
 12. 정수현, 이택수, 김영배: 벼의 수분활성도가 *Fusarium moniliforme* NRRL 13569의 성장과 Fumonisin B₁ 생성에 미치는 영향. 한국식품과학회지, **27**, 1995 (인쇄중)
 13. Rottinghaus, G.E., Coatney, C.E. and Minor, H.C.: A rapid, sensitive thin layer chromatography procedure for the detection of fumonisin B₁ and B₂. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **4**, 326 (1992)
 14. 정수현: 한국산 옥수수 및 벼에서의 Fumonisin B₁ 오염현황과 수분활성도가 *Fusarium moniliforme*의 성장과 Fumonisin B₁ 생성에 미치는 영향. 고려대학교 박사학위논문 (1993)
 15. Hopmans, E.C. and Murphy, P.A.: Detection of fumonisin B₁, B₂, and B₃ and hydrolyzed fumonisin B₁ in corn-containing foods. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1655 (1993)
 16. Ueno, Y., Aoyama, S., Sugiura, Y., Wang, D.S., Lee, U.S., Hirooka, E.Y., Hara, S., Karki, T., Chen, G. and Yu, S.Z.: A limited survey of fumonisins in corn and corn-based products in Asian countries. *Mycotoxin Research*, **9**, 27 (1993)
 17. Murphy, P.A., Rice, L.G. and Ross, P.F.: Fumonisin B₁, B₂, and B₃ content of Iowa, Wisconsin, and Illinois corn and corn screenings. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 263 (1993)
 18. Ross, P.F., Rice, L.G., Reagor, J.C., Osweiler, G.D., Wilson, T.M., Nelson, H.A., Owens, D.L., Plattner, R.D., Harlin, K.A., Richard, J.L., Colvin, B.M. and Banton, M.I.: Fumonisin B₁ concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **3**, 238 (1991)
 19. Thiel, P.G., Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Marasas, W.F.O., Nelson, P.E. and Wilson, T.M.: Levels of fumonisins B₁ and B₂ in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 109 (1991)
 20. Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O. and Stockenstörn, S.: Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 2014 (1991)

(1994년 12월 5일 접수)