

## *Fusarium moniliforme* NRRL 13569의 액체 배양 중의 성장과 Fumonisin B<sub>1</sub> 생성

김은경 · 정수현<sup>1</sup> · 이성택<sup>2</sup> · 김영배\*

고려대학교 생명공학원, <sup>1</sup>고려대학교병설 보건전문대학 식품영양학과,  
<sup>2</sup>한국과학기술원 생물학과

**Factors Affecting the Growth and Fumonisin B<sub>1</sub> Production of *Fusarium moniliforme* NRRL 13569 in Liquid Culture.** Eun-Kyung Kim, Soo-Hyun Chung<sup>1</sup>, Sung-Taik Lee<sup>2</sup> and Young-Bae Kim\*. Graduate School of Biotechnology, Korea University, Seoul 136-701, Korea, <sup>1</sup>Department of Food Nutrition, Junior College of Allied Health Science, Korea University, Seoul 136-703, Korea, <sup>2</sup>Department of Biological Science, KAIST, Taejeon 305-600, Korea - The effects of some nutrients and culture conditions on the growth and the production of fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) from *Fusarium moniliforme* NRRL 13569 were investigated in liquid culture. Xylose and soytone yielded the highest mycelial growth as the C- and N-source, respectively. The highest level of FB<sub>1</sub> was obtained when yeast extract was used as the N-source but no FB<sub>1</sub> from NaNO<sub>3</sub>. While Fe<sup>+++</sup> showed inhibition effect on FB<sub>1</sub> production, Zn<sup>++</sup> enhanced the FB<sub>1</sub> production as well as the mycelial growth. FB<sub>1</sub> was maximally produced when the initial pH value and the specific surface area of the medium was adjusted to 5 and 1.4 cm<sup>2</sup>/ml, respectively. FB<sub>1</sub> formation reached the maximum value (210,000 ng/ml) in 30 days and then decreased in Czapek medium substituted with 1% xylose and 0.3% yeast extract, and supplemented with 0.2% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, where the initial pH value and the specific surface area of the medium are optimally controlled.

국제 교역이 날로 활성화되면서 곡류를 비롯한 수입 농산물은 안전성과 관련하여 관심의 대상이 되고 있다. 옥수수를 비롯한 곡류에서 전 세계적인 검출이 보고 되고 있는 fumonisin은 *Fusarium* 속의 여러 종(1-3)의 곰팡이들이 생산하며 최근에 와서야 구조가 밝혀진(4) 수용성 곰팡이 독소이다. 이 독소는 구조적으로 유사한 유도체 몇 개가 알려져 있으며 이 중 Fumonisin B<sub>1</sub>(FB<sub>1</sub>)은 자연 발생 뿐만 아니라 인공 배양물 중에서도 가장 많이 생성되는 형태로서 생성된 독소의 70-80% 이상을 차지하는 대표적인 물질로 이에 대한 연구가 집중되고 있다. FB<sub>1</sub>은 말과 돼지 등의 가축의 폐사로 경제적 손실을 초래하며(5-7) 쥐에게는 간암을(8), 역학 조사 결과 사람의 식도암과 관련이 있다고 여겨지고 있다(9, 10). 실제로 식품에서도 소량 검출됨이 확인 되고 있으나 규제 기준이나 독성 기작에 관하여는 아직 연구 중에 있다.

FB<sub>1</sub> 생성에 영향을 미치는 온도(11) 및 수분 활성도의 영향(12) 그리고 기질 종류(13)에 대한 보고가 있다. 그러나 이들 연구 결과는 옥수수나 쌀 등의 곡류를 기질로 사용하였기 때문에 FB<sub>1</sub> 생성에 영향을 미치는 특정 영양 성분에 대해서 정확하게 결론짓기는 어려운 실정이다.

한편 곡류에 배양하는 경우 다량의 추출 용매가 요구되며, 기질에서 유래하는 여러 가지 불순물 때문에 정제도 용이하지 않다. 그러나 말과 같은 대 동물을 대상으로 하는 독성 실험에는 다량의 독소가 요구되므로 정제가 용이하며 경제적인 생산 조건의 확립은 실용적 측면에서도 필요하다 하겠다. 이러한 필요성에도 불구하고 곡류 기질의 고체 배양에 비하여 수율(14, 15)이 불리하다.

본 연구는 *Fusarium moniliforme* NRRL 13569의 액체 배양 중에서 균체 성장 및 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 몇 가지 영양 인자와 환경 인자들의 영향을 조사하였으며, 배양 시간에 따른 FB<sub>1</sub>의 생산량도 측정하였다.

### 재료 및 방법

#### 균주

본 실험에서 사용한 *Fusarium moniliforme* NRRL 13569는 미국 Minnesota 대학 곰팡이 독 연구실에서 분양받은 것이다. 이 곰팡이는 Potato Dextrose Agar(PDA) 사면배지에서 30°C, 7일 배양 후 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

#### 배지

기본 배지로 glucose-Czapek(glucose 30 g, NaNO<sub>3</sub> 3 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5 g, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.01

\*Corresponding author

Tel. 82-2-3290-3416, Fax. 82-2-923-3971

E-mail: ybkim@kucncx.korea.ac.kr

Key words: Fumonisin B<sub>1</sub> production, Liquid culture, *Fusarium moniliforme*

g, KCl 0.5 g, water 1 l)을 사용하였으며 탄소원 및 질소원 실험시 glucose 혹은  $\text{NaNO}_3$  대신 각각 다른 종류의 탄소원 및 질소원을 첨가하였다. 미량 금속의 효과는 기본 배지에 비타민 혼합액을 첨가하였다(16).

### 접종원의 제조 및 배양

냉장 보관 중이던 *Fusarium* 균주를 PDA 사면에 계대하여 30°C에서 7일 배양하여 활성화 시킨 후, 살균한 0.05% Tween 80을 함유한 생리적 식염수를 붓고, 백금이로 부드럽게 긁어 포자 현탁액을 만들었다. 이렇게 만들어진 포자 현탁액은 4겹의 살균 거즈를 통과시켜 균사체를 제거하고, 현탁액의 포자수를 bacterial counting chamber를 사용하여  $10^7$  conidia/ml 되게 조정하여 접종원으로 사용하였다. 500 ml 용량의 삼각플라스크에 100 ml의 배지를 채워 제조한 접종원 1 ml을 접종한 후 25°C에서 정지 배양하였으며 모든 실험은 3회 반복으로 배양하여 실시하였다. 배양물을 미리 건조하여 칭량된 여과지(Whatman No. 42 filter paper)로 여과한 후, 여과지 위의 균체를 증류수 100 ml로 세척하고 105°C에서 3시간 건조한 후 desiccator에서 실온까지 방냉시킨 후 건조균체의 무게를 측정하였다.

### Fumonisin B<sub>1</sub>의 정량

배양액을 여과지(Whatman No. 4)로 여과한 후 pH 4로 조정된 다음, 2 ml acetonitrile과 5 ml 증류수로 전처리된 Sep-Pak C<sub>18</sub> cartridge(Waters Division of Millipore Co., Milford, MA., USA)에 10 ml의 시료를 주입하였다. 증류수 5 ml 및 acetonitrile-water(15:85, v/v) 2 ml로 차례로 순화한 후 FB<sub>1</sub>을 4 ml acetonitrile-water(7:3, v/v)로 용출하였다. 용출액은 N<sub>2</sub> 가스로 완전히 건조시키고, acetonitrile-water(1:1, v/v) 일정량을 가하여 다시 녹였다. 정용한 시료액 중 50 µl를 취하여 o-phthalaldehyde(OPA) 유도체를 제조하고 이미 보고한 바와 같은 조건에서(17) HPLC로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 탄소원 및 질소원이 균체 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향

기본 배지(glucose-Czapek)에서 탄소원 및 질소원을 달리하여 30일 배양 후의 균체량 및 FB<sub>1</sub> 생성량을 Table 1에 나타냈다. 시험한 탄소원 중 xylose가 가장 높았고, corn starch도 glucose 보다 균사체 생성량이 높았다. 또한 유기산 중에서는 acetate가 glucose보다 높은수준을 나타냈으나 succinate 및 citrate의 경우는 매우 저조한 성장을 보였다. Xylose를 함유한 배지에서의 균체량 생성은 glucose에 비하여 약 5배 이상 증가된 것이었으나,

**Table 1. Effect of carbon- and nitrogen-source on the mycelial growth and FB<sub>1</sub> production of *F. moniliforme* NRRL 13569**

| C- or N-sources*             | Dry Cell Weight (mg/ml) | Final pH | Fumonisin B <sub>1</sub> (ng/ml) |
|------------------------------|-------------------------|----------|----------------------------------|
| Glucose                      | 109.7±57.6**            | 7.2      | ND***                            |
| K-Acetate                    | 276.0±67.8              | 9.7      | ND                               |
| K-Succinate                  | 64.7±2.6                | 7.4      | ND                               |
| K-Citrate                    | 16.7±2.1                | 8.4      | ND                               |
| Sucrose                      | 174.0±48.8              | 7.4      | ND                               |
| Xylose                       | 615.0±58.6              | 9.9      | ND                               |
| Corn-starch                  | 307.7±76.8              | 7.7      | ND                               |
| $\text{NaNO}_3$              | 109.7±57.6              | 7.2      | ND                               |
| Alanine                      | 237.0±64.5              | 4.6      | 4990±2305                        |
| K-Glutamate                  | 78.0±12.7               | 3.2      | 375±191                          |
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 111.7±19.4              | 3.4      | 1637±1486                        |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$     | 209.0±108.4             | 4.9      | 663±348                          |
| Urea                         | 220.3±55.6              | 4.2      | 4794±2813                        |
| Peptone                      | 248.3±79.0              | 4.7      | 22878±26938                      |
| Yeast extract                | 233.7±33.8              | 7.2      | 38976±17281                      |
| Soytone                      | 266.7±19.4              | 5.6      | 9535±5759                        |

\*Glucose-Czapek was used as the basal medium. \*\*Data±standard error(SE). \*\*\*ND; not detected.

FB<sub>1</sub>은 탄소원의 종류와 관계없이 실험한 배지에서 모두 검출되지 않았다. 이는 탄소원 이외의 다른 영양소들이 독소 생성에 적합하지 않았기 때문으로 생각되었다. 특히 기본 배지 성분 중에서  $\text{NaNO}_3$ 는  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ 와 마찬가지로 양 이온 및 음 이온이 모두 영양원으로 필요하지만 그 이용율이 크게 다를 것으로 생각되며 따라서 배양액의 pH를 높게 하는 것으로 판단된다. 질소원으로 nitrate를 사용한 탄소원 효과의 실험 결과에서 배양물의 최종 pH가 7.2이상으로, 균사체가 가장 많이 형성된 xylose의 경우 pH 9.9까지 도달한 것으로 나타났다.

한편 질소원 종류로 soytone에서 균체 생성량이 가장 높았다. 그러나 질소원의 종류는 탄소원에 비하여 균체 생성에 미치는 영향이 예민하지 않은 것으로 생각되었다. 단지 ammonium sulfate 및 potassium glutamate가 특히 낮은 균체 성장을 보인 것은 ammonium 염, 혹은 glutamate의 질소원으로서의 효과라기 보다는 대응 이온들에서 야기되는 영향으로 생각되었다.  $\text{NaNO}_3$  이외의 실험한 모든 질소원에서 FB<sub>1</sub> 생성이 확인되었으나, 생성량은 yeast extract를 함유한 배지에서 가장 높았으며 peptone, soytone, alanine, urea 등도 비교적 높은 생성량을 보였다. 배양물의 최종 pH도 3.2-5.6 범위로 측정되었으나 yeast extract의 경우 7.2로 예외적으로 높았다.

### 미량 금속이 균체 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향

곰팡이 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 몇 가지 미량 금속의 영향을 조사하기 위하여 비타민 혼합액(16)을 첨가한

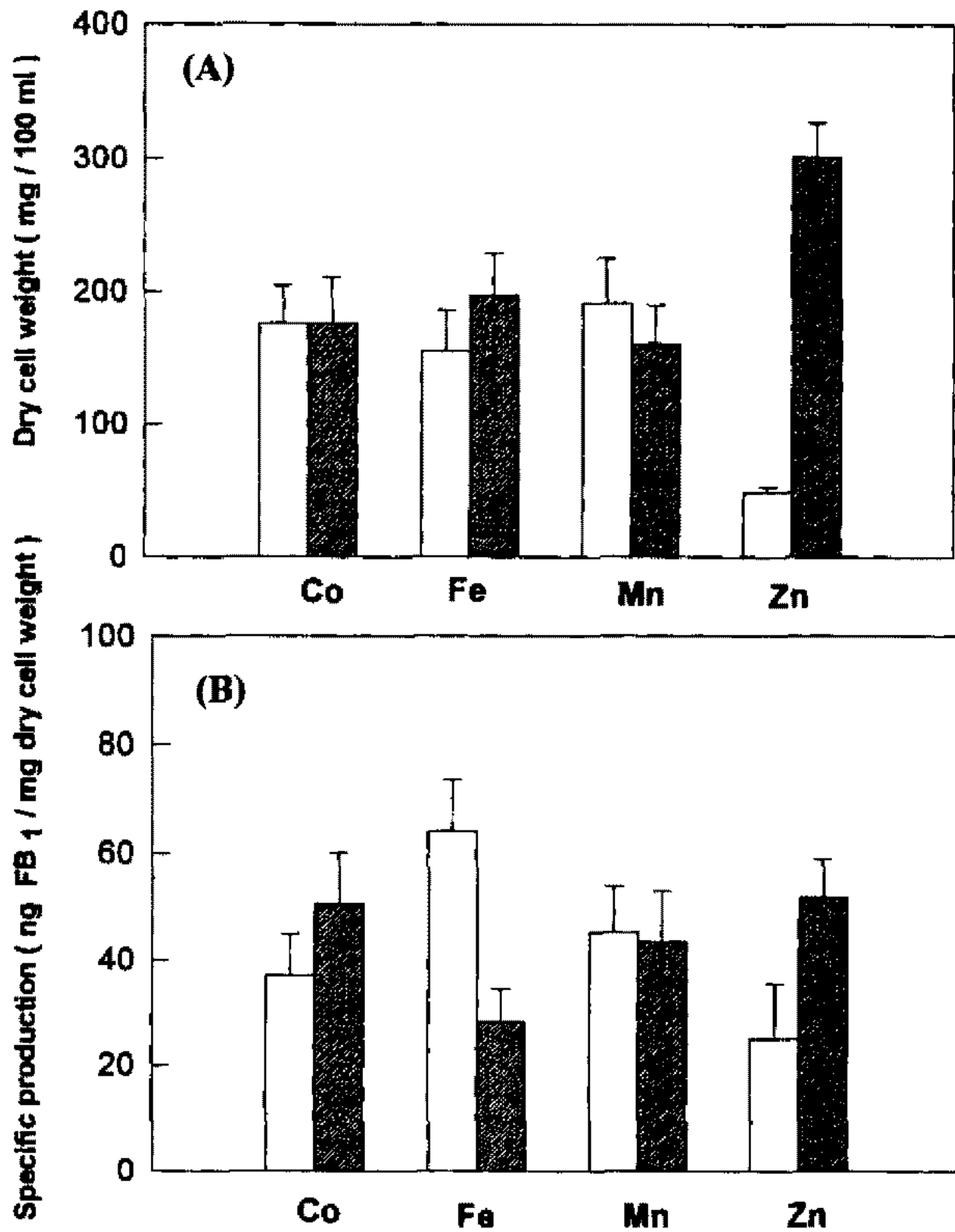


Fig. 1. Effects of some minerals on the mycelial growth (A) and FB<sub>1</sub> production (B) by *F. moniliforme* NRRL 13569. Czapek medium supplemented with vitamin mixture was used. Vertical bars indicate +SE. □ mineral not added, ▨ mineral added.

기본 배지에 아연, 코발트, 철 및 망간 등의 첨가 및 무첨가가 균체량 및 FB<sub>1</sub>의 생성량에 미치는 영향을 실험하여 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 모든 결과의 차이는 Duncan's multiple range test으로 검증하였다(18). 균체 성장은 아연의 첨가로 확실하게 촉진되었으나 코발트, 망간 및 철 이온의 효과는 뚜렷하지 않았다. 건조 균체당 독소의 생성량은 철의 첨가로 감소하였고, 코발트 및 망간의 첨가는 각각 뚜렷한 영향을 보이지 않았다. 반면에 아연의 첨가는 균체 증식 뿐만 아니라 균체당 독소의 생성량도 증가시켰다(유의수준: P<0.05). 이 실험의 결과로 각 금속의 효과를 판단할 수는 있었으나 독소의 생산량이 전반적으로 낮은 상태로서 더욱 결정적인 요인의 개선이 요구되었다.

초기 pH가 균체 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향

기본 배지에서 독소의 생성량이 가장 높았던 질소원 yeast extract를 선택하고, 완충능의 보완을 위하여 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 0.2% 수준으로 첨가하고 초기 pH를 각각 다른 값으로 조절한 배지에서 *F. moniliforme* NRRL 13569를 30일간 배양하였을 때 생성된 균체량 및 FB<sub>1</sub>의 생성량을 Fig. 2에 나타내었다. 개선된 배지 조건에서 균체 성장은 Czapek 배지에 비하여 대체로 증가하였다. 독소의 생성양

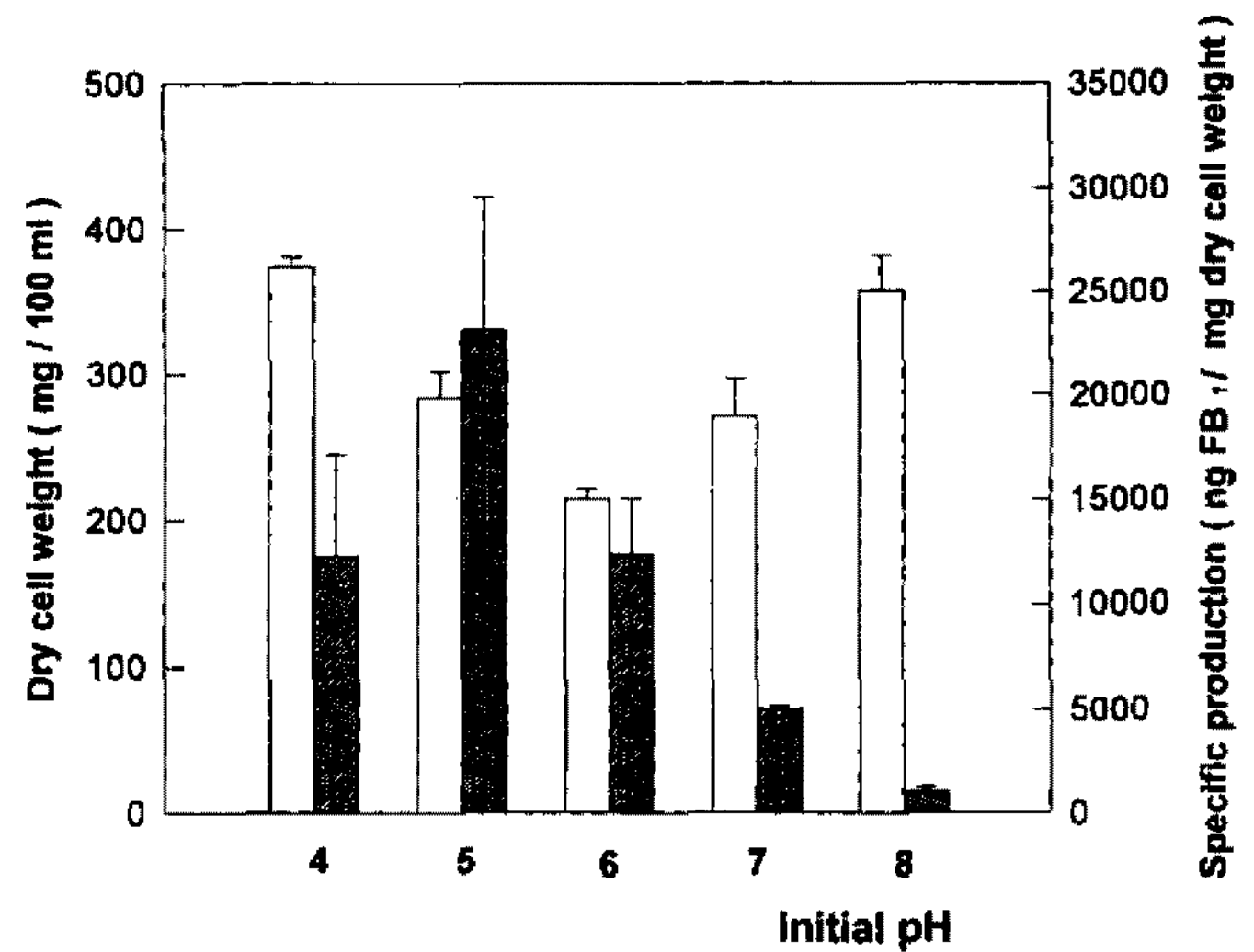


Fig. 2. Effects of initial pH on the mycelial growth and FB<sub>1</sub> production of *F. moniliforme* NRRL 13569.

은 초기 pH 5로 조절한 배지에서 가장 높아서 23,000 ng/mg 수준을 기록하였다. 초기 pH 5는 FB<sub>1</sub> 생성에 가장 적당한 것으로 나타났으나 pH 4-6 범위에서 큰 차이없이 활발하다고 볼 수 있었다. 그러나 이 범위를 초과하면 균체 생산량은 비슷한 수준이라도 독소 생성량이 뚜렷하게 감소함을 알 수 있었다. pH 값이 독소의 생성에 미치는 영향은 더욱 연구해야 확실히 알 수 있을 것이나, 알칼리 조건에서 FB<sub>1</sub>의 안정성은 낮아서 FB<sub>1</sub> 추출 시에도 시료나 추출 용매를 산성화 시키는 것이 효과적이다(19).

xylose 농도가 균체 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향

기본배지에 xylose 및 yeast extract를 치환하고 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 0.2% 첨가하여 30일간 배양하면서 xylose의 농도가 변화할 때 균체 및 독소의 생성량을 측정하여 Fig. 3

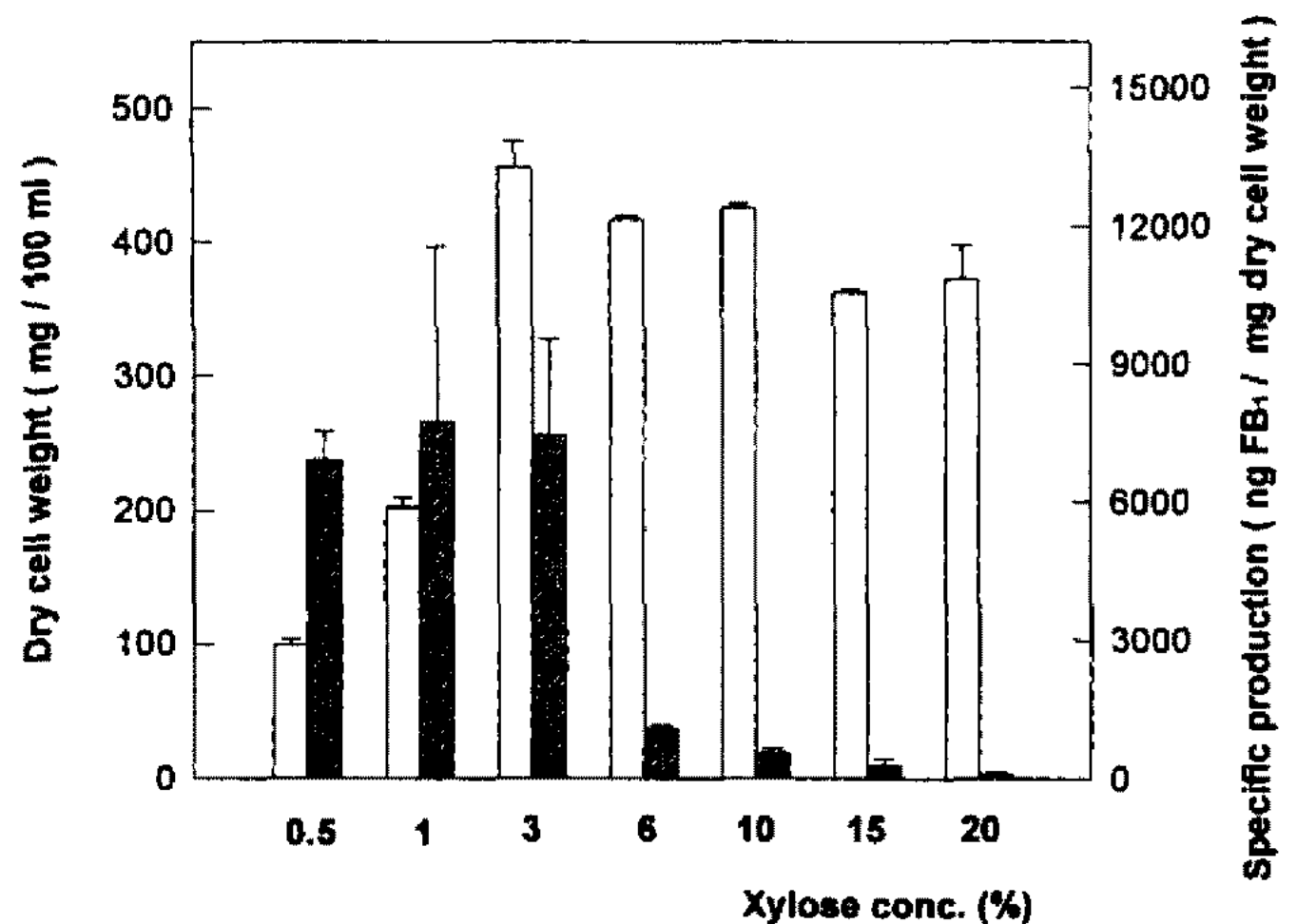


Fig. 3. Effects of xylose concentration on the mycelial growth and FB<sub>1</sub> production of *F. moniliforme* NRRL 13569. Czapek medium substituted by 0.3% yeast extract and supplemented with 0.2% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> was used. Vertical bars indicate+SE. □ mycelial growth, ▨ FB<sub>1</sub> production.

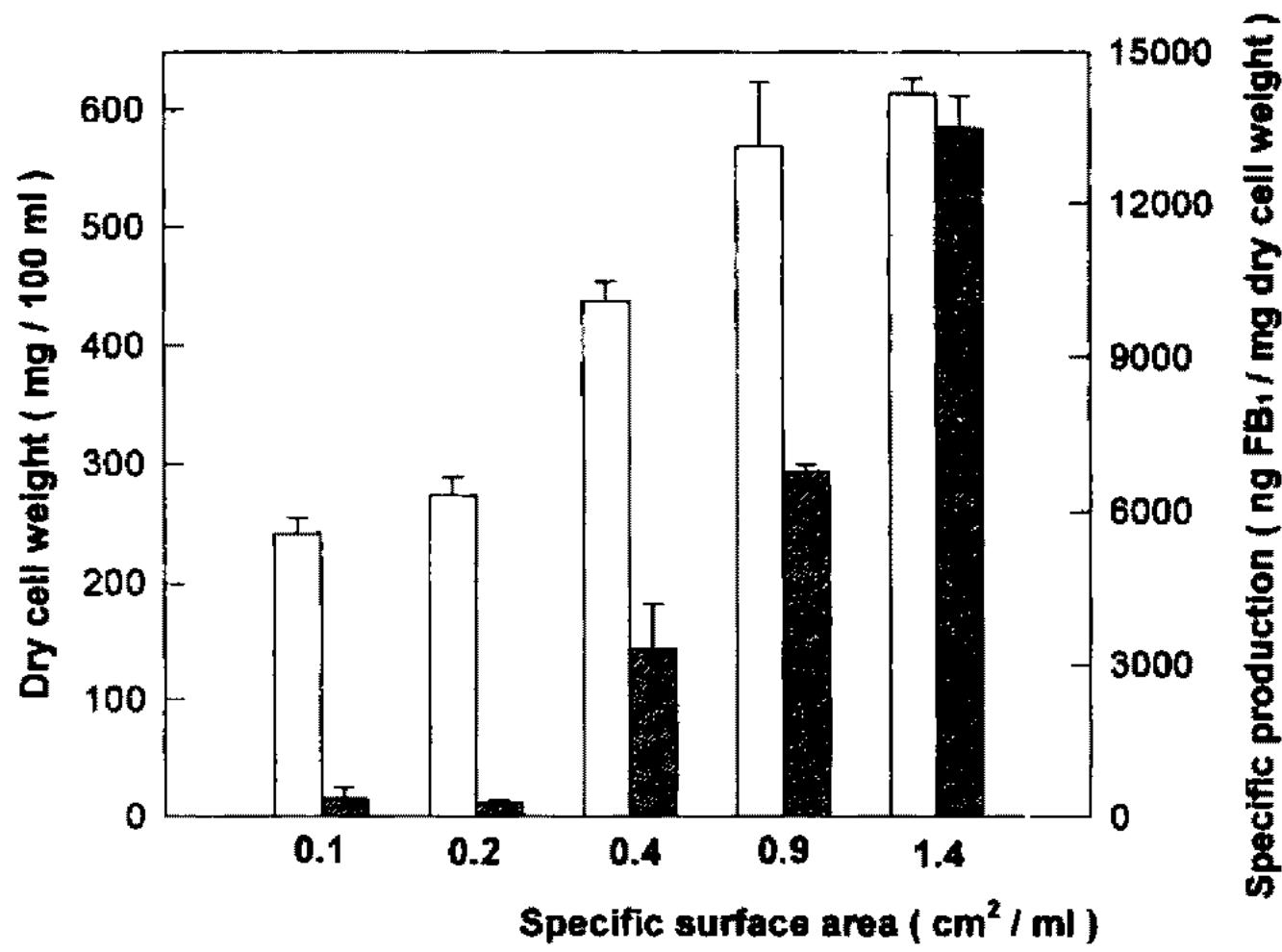


Fig. 4. Effects of specific surface area of medium on the mycelial growth and FB<sub>1</sub> production of *F. moniliforme* NRRL 13569.

Czapek medium substituted by 0.3% yeast extract and supplemented with NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> was used. Vertical bars indicate +SE. □ mycelial growth, ▨ FB<sub>1</sub> production.

에 나타내었다. 배지의 xylose의 농도가 3%까지 증가되면서 균체량 생성은 증가되었으나 그 이상의 농도에서는 더 이상 증가하지 않고 비슷한 수준에 머물렀다. 그러나 fumonisin B<sub>1</sub> 생성은 xylose 0.5-3% 수준에서 비슷한 수준으로 높은 생산량을 보였으나 6% 이상으로 증가할 경우 다량의 균사체 형성에도 불구하고 FB<sub>1</sub>의 생성량은 오히려 감소하는 경향이였다. Fumonisin은 탄소원만이 증가되는 조건에서는 그 생성량이 증가되지 않으며 균체당 독소 생성 수율은 오히려 감소하는 것으로 나타났다.

#### 배지 비표면적이 균체 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향

기본배지에 xylose 및 yeast extract를 치환하고 NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 0.2% 첨가하여 30일간 배양하면서 정지 배양 중의 통기 효과를 실험한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 100 ml의 일정량의 배지를 모양이나 크기가 다른 플라스크 및 실린더에 담아 배지 용적에 대한 표면적의 비율을 변화시켜 정지 배양하였을 때 균체 생성량 및 건조 균체당 FB<sub>1</sub>의 생성량은 비표면적의 증가에 따라 증가하여 실험한 최대 배지 비 표면적 1.4 cm<sup>2</sup>/ml인 경우 가장 높았으며, 이 때 FB<sub>1</sub> 생성량은 건조 균체당 13,000 ng/mg 수준이었다. 정지 배양시 통기량의 증가는 균체 및 독소생성을 증가시키는 것으로 나타났다. *F. proliferatum*의 경우, 진탕 배양 시에도 독소가 생성되지 않았고 fed batch 식 배양으로 1000 ppm 이상의 독소 생산을 확인하였으나(20) 옥수수 배양의 수율(21)에 못하고 있다. 고체 배양 방식의 통기 효율성이 곡류가 제공하는 미지의 영양소와 함께 곰팡이의 성장과 독소 생성 생리에 미치는 영향이 더욱 밝혀져야 하겠다.

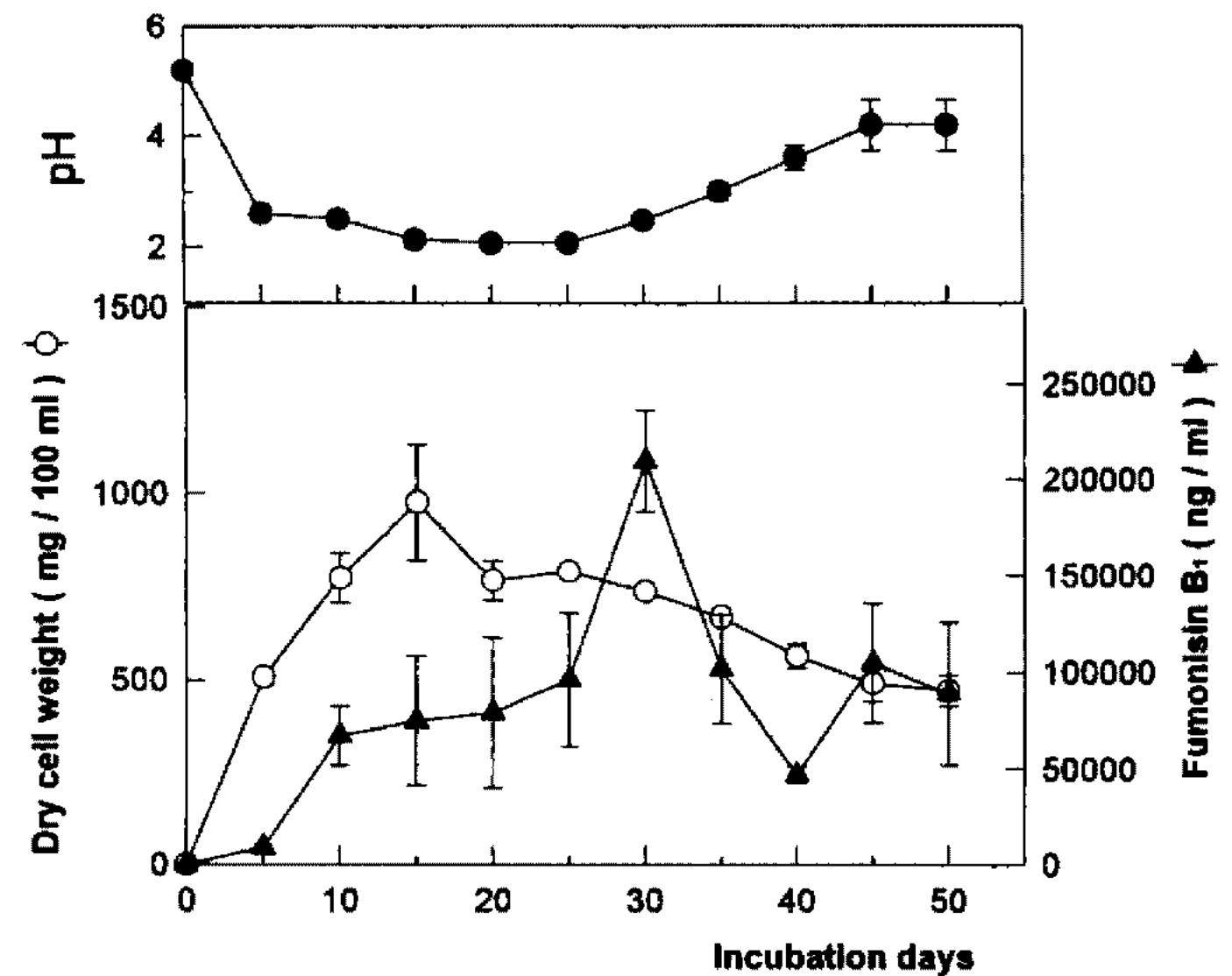


Fig. 5. Mycelial growth and FB<sub>1</sub> production by *F. moniliforme* NRRL 13569 in liquid culture.

Czapek medium substituted with 1% xylose and 0.3% yeast extract and supplemented 0.2% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> was used. The initial pH and the specific surface area of medium was adjusted to 5 and 1.4(cm<sup>2</sup>/ml), respectively. Vertical bars indicate ±SE.

#### 배양 시간에 따른 균체 및 FB<sub>1</sub> 생산량의 변화

기본 배지에서 1% xylose와 0.3% yeast extract를 교체하고 0.2% ammonium phosphate는 첨가하여 FB<sub>1</sub>의 생산을 위한 배양 시간을 알아보았다. 배지의 용적에 대한 표면적의 비(비표면적)가 1.4 cm<sup>2</sup>/ml, 초기 pH 5로 조절하여 배양 중 균체 성장 및 FB<sub>1</sub> 생산량의 변화를 측정하여 Fig. 5에 나타내었다. *F. moniliforme* NRRL 13569의 50일 배양 기간 중 pH 값은 감소와 회복의 추세를 보였으나 2-4 범위에 머물러 중성 이상으로 오르지 않았다. 균체 성장은 배양 15일까지는 꾸준히 증가하여 977 mg/100 ml에 이르렀으며 이후 소폭씩 감소하여 배양 50일에는 468 mg/100 ml이 되었다.

FB<sub>1</sub>은 배양 기간이 경과함에 따라 소폭씩 계속 증가하다가 배양 25일 후에 급격한 증가를 보여 배양 30일에 210,000 ng/ml 수준의 최대 생산량을 나타내었다. 그 이후에는 다시 급격한 감소가 이어지고 45일 후에는 100,000 ng/ml 수준의 독소가 잔류하고 있었다. 균체 성장이 최대값에 도달한 지 약 2주 후에 독소 생산도 최대값을 보였으나 그 이후 절반 수준으로 급속히 감소하므로 적절한 배양 시간의 조절이 FB<sub>1</sub>의 수율에 중요함을 보여주고 있다.

#### 요 약

*Fusarium moniliforme* NRRL 13569를 액체 배지에서 정지 배양할 때 영양소 및 배양 조건이 균체 성장과 FB<sub>1</sub> 생성에 미치는 효과를 조사하였다. 균체 성장에는 탄소원 및 질소원으로 각각 xylose 및 soytone이 가장 효과



가 좋았고 FB<sub>1</sub> 생성은 yeast extract에서 가장 높게 나타났으나 NaNO<sub>3</sub>에서는 FB<sub>1</sub>이 생성되지 않았다. 아연이 균체 성장 및 FB<sub>1</sub> 생성을 촉진하였고 철은 FB<sub>1</sub> 생성을 저해하는 것으로 나타났다. 초기 pH 5에서, 배지의 표면적이 1.4 cm<sup>2</sup>/ml인 경우에 독소 생성량이 높았고 이 조건에서 xylose와 yeast extract로 치환한 Czapek배지에 0.2% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>를 첨가하여 배양 시 30일 후에 *F. moniliforme* NRRL 13569의 FB<sub>1</sub>생성은 210,000 ng/ml 수준으로 최고값을 나타내고 이후 감소하였다.

### 감사의 글

본 연구는 고려대학교 교내 연구비 지원으로 이루어졌습니다.

### 참고문헌

- Ross, P. F., P. E. Nelson, J. L. Richard, G. D. Osweiler, L. G. Rich, R. D. Plattner and T. M. Wilson. 1990. Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 3225-3226.
- Thiel, P. G., W. F. O. Marasas, E. W. Sydenham, G. S. Shephard, W. C. A. Gelderblom and J. J. Nieuwenhuis. 1991. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 1089-1093.
- Nelson, P. E., R. D. Plattner, D. D. Shackelford and A. E. Desjardins. 1992. Fumonisin B<sub>1</sub> production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in Section *Liseola* by some related species. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 984-989.
- Bezuidenhout, S. C., W. C. A. Gelderblom, C. P. Gorst-Allman, R. M. Horak, W. F. O. Marasas, G. Spiteller and R. Vlegaar. 1988. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxin from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 743-745.
- Voss, K. A., R. D. Plattner, C. W. Bacon and W. P. Norred. 1990. Comparative studies of hepatotoxicity and fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> content of water and chloroform/methanol extracts of *Fusarium moniliforme* strain MRC 826 culture material. *Mycopathologia.* **112**: 81-92.
- Wilson, T. M., P. F. Ross, D. L. Owens, L. G. Rice, S. A. Green, S. J. Jenkins and H. A. Nelson. 1992. Experimental reproduction of ELEM. *Mycopathologia.* **117**: 115-120.
- Haschek, W. M., G. Motelin, D. K. Ness, K. S. Harlin, W. F. Hall, R. F. Vesonder, R. E. Peterson and V. R. Beasley. 1992. Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia.* **117**: 83-96.
- Gelderblom, W. C. A., N. P. J. Kriek, W. F. O. Marasas and P. G. Thiel. 1991. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B<sub>1</sub> in rats. *Carcinogenesis.* **12**: 1247-1251.
- Sydenham, E. W., P. G. Thiel, W. F. O. Marasas, G. S. Shephard, D. J. Schalkwyk and K. R. Koch. 1990. Natural occurrence of some *Fusarium mycotoxins* in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of the Transkei, Southern Africa. *J. Agric. Food Chem.* **38**: 1900-1903.
- Thiel, P. G., W. F. O. Marasas, E. W. Sydenham, G. S. Shephard and W. C. A. Gelderblom. 1992. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. *Mycopathologia.* **117**: 3-9.
- Alberts, J. F., W. C. A. Gelderblom, P. G. Thiel, W. F. O. Marasas, D. J. Schalkwyk and Y. Behrend. 1990. Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B<sub>1</sub> by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 1729-1733.
- 정수현, 이택수, 김영배. 1995. 벼의 수분활성도가 *Fusarium moniliforme* NRRL 13569의 Fumonisin B<sub>1</sub> 생성에 미치는 영향. *한국식품과학회지* **27**: 119-123.
- Holcomb, M., J. B. Sutherland, W. A. Chiarelli, J. H. C. Korfmacher, J. J. O. Thompson, and C. E. Cerniegli. 1993. HPLC and FAB mass spectrometry analysis of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> produced by *Fusarium moniliforme* on food substrates. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 357-360.
- Jackson, M. A. and G. A. Bennet. 1990. Production of fumonisin B<sub>1</sub> by *Fusarium moniliforme* NRRL 13616 in submerged culture. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 2296-2298.
- Blackwell, B. A., J. D. Millerand and M. E. Savard. 1994. Production of carbon 14-labeled fumonisin in liquid culture. *J. A.O.A.C. Int.* **77**: 506-511.
- SAS Institute. 1988. SAS/STAT User's guide, version 6, Pp 209-243. 4th edition, Cary, N. C.
- Jackson, M. A., P. J. Slininger and R. J. Bothast. 1989. Effects zinc, iron, cobalt, and manganese on *Fusarium moniliforme* NRRL 13616 growth and Fusarin C biosynthesis in submerged cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 649-655.
- Chung, S. H. and Kim, Y. B. 1995. Natural Occurrence of Fumonisin B<sub>1</sub> in Korean Corn and Rough rice. *Food and Biotechnol.* **4**: 212-216.
- Murphy, P. A., S. Hendrich, E. C. Hopmans, C. C. Hauck, Z. Lu, G. Buseman and G. Munkvold. 1996. Effect of processing on fumonisin content of corn, Pp 323-334 In L. S. Jackson, J. W. DeVries and L. B. Bullerman(ed.), *Fumonisins in Food*, Plenum Press, New York and London.
- Keller, S. E. and T. M. Sullivan. 1996. Liquid culture methods for the production of fumonisin. Pp 205-212 In L. S. Jackson, J. W. DeVries and L. B. Bullerman(ed.), *Fumonisins in Food*, Plenum Press, New York and London.
- Nelson, P. E., P. H. Huba, P. F. Ross and L. G. Rice. 1994. Fumonisin production by *Fusarium* species on solid substrates. *J. A.O.A.C. Int.* **77**: 522-525.

(Received 10 April 1997)