

## 미국산 옥수수의 Fumonisin B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub> 오염현황

유춘철 · 오덕환\* · 박부길\*

국립농산물검사소, \*강원대학교 농업생명과학대학 식품·생명공학부

### Natural Occurrence of Fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in Corns Imported from U.S.A.

Chun Cheol Yu, Deog Hwan Oh\* and Boo Kil Park\*

National Agricultural Products Inspection Office

\*Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University

#### Abstract

Eighty corn samples, which imported from U.S.A between 1995 and 1996, were analyzed for fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) and B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>) contamination. The total fumonisin level and mean from 80 imported samples showed 0 (limited detection level)-65.9  $\mu\text{g/g}$  and 6.9  $\mu\text{g/g}$ , respectively. FB<sub>1</sub> was detected in 57 (71.3%) from 80 samples at the concentrations ranging from 0 to 48.8  $\mu\text{g/g}$ , while FB<sub>2</sub> was detected in 49(61.3%) at concentrations ranging from 0 to 17.1  $\mu\text{g/g}$ . The total fumonisin incidence analyzed from 80 samples were 37.5%, 42.6 and 19.9% for concentrations ranging from below 1  $\mu\text{g/g}$ , between 1.1 and 10  $\mu\text{g/g}$  and above 30  $\mu\text{g/g}$ , respectively. The total fumonisin level containing below 1  $\mu\text{g/g}$  from samples imported in 1995 and 1996 was 47.7% (21/44) and 29.4 (10/34), while total fumonisin level containing above 10  $\mu\text{g/g}$  was 47.7% (21/44) and 29.4 (10/34), respectively. In the meanwhile, the fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> containing below 1  $\mu\text{g/g}$  from 80 samples imported between 1995 and 1996 was 38.8% and 67.5%, while fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> containing above 10  $\mu\text{g/g}$  was 12.5% and 5%, respectively.

Key words: fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, imported corn, HPLC

#### 서 론

우리나라 농업은 미국 위주로 발달되어 벼에 대해서는 많은 연구가 수행되었으나 대표적인 곡류중의 하나인 옥수수에 대한 연구는 많이 보고되어 있지 않다. 국내에서 생산되는 옥수수는 강원도가 주재배지역이며 충북 및 기타지역에서 일부 생산되고 있다. 일반적으로 수확 후 종실용 옥수수는 전량 정부 구매되고 일부 식용옥수수는 미국과로 수확하여 썬 옥수수로 소비되고 있다. 그러나 생활수준의 향상으로 건강식품에 대한 선호도가 증가함에 따라 옥수수의 수요가 증가되고 있으나 식용옥수수의 경우 찰옥수수를 제외하고는 단옥수수는 거의 전량 외국에서 수입하고 있으며 종실용 및 사료용의 경우도 전량 외국에서 수입하고 있는 실정이다.

Mycotoxin 중에서 최근에 알려진 것으로는 fusarium 에 의해 생성된 2차 대사산물로 6종류의 fumonisin이 발견되었다<sup>(1)</sup>. 그 중에서 fumonisin B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>가 주요한 toxin으로 밝혀졌으며 전세계적으로 자연조건에서 오염된 곡류나 옥수수 및 옥수수제품등에서 많이 검출되는 것으로 보고되고 있으며 이 mycotoxin은 곰팡이인 *Fusarium moniliforme*과 *F. proliferatum*이 생산한다고 알려져 있다<sup>(2,3)</sup>. Fumonisin 독소에 관한 연구는 말종에서 뇌 백질(白質)연화증<sup>(4,5)</sup>, 돼지에는 폐수종 증후군<sup>(6)</sup>, 쥐의 간암<sup>(7)</sup> 및 사람에서는 식도암 발병<sup>(8-10)</sup>등에 관련이 있다고 보고되었다. 이러한 fumonisin 독소는 최근에 분리되고 특성이 밝혀지고 있으며 세계적으로도 이 독소에 대하여 많은 연구가 보고되고 있고 그 중에서도 남아프리카, 아르헨티나, 브라질, 미국, 스위스 및 일본 등에서 활발하게 연구를 진행하고 있다<sup>(11-16)</sup>. 우리나라에서도 강원도와 경기도 일부지역에서 생산된 옥수수와 벼에 대하여 자연조건에서 오염되었다는 보고가 있다.<sup>(17,18)</sup>

Corresponding author: Boo-Kil Park, Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

우루구아이 라운드가 타결된 이후 우리나라에서는 식용과 사료용 옥수수의 수입이 급격히 증가하고 있다. 최근에 옥수수에서 곰팡이독소인 mycotoxin에 대한 연구가 많이 보고되면서 수입옥수수의 안전성에 대한 심각성이 증가하고 있으나 소비자의 인식이 부족하고 수입옥수수에 대한 곰팡이독소의 오염현황에 대한 정보가 거의 없어 이에 대한 대책마련이 시급한 실정이다. 따라서 본 연구는 국내에 수입되는 수입산 옥수수로부터 곰팡이독소에 대한 오염정도를 파악해보고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 옥수수 시료

실험에 사용한 옥수수는 1995년과 1996년 사이에 미국에서 수입한 것으로 국립농산물검사소 인천지소, 부산지소의 협조로 80점을 점당 약 500g씩 채취하여 실험실에서 혼합한 뒤  $-40^{\circ}\text{C}$  초저온냉동고에서 저장한 후 분석시마다 분쇄하여 사용하였다.

### 표준독소 및 시약

표준독소인 fumonisin B<sub>1</sub> 및 B<sub>2</sub>는 미국 Sigma Chemical사로부터 구입하였으며 독소의 추출을 위해 사용된 유기용매인 acetonitrile, methanol, acetic acid는 GR급을 구입하여 본 실험에 사용하였다.

### Fumonisin 추출 및 정제

옥수수 시료로부터 fumonisin 독소를 추출하기 위하여 Thakur 등<sup>(19)</sup>의 방법을 부분적으로 수정하여 사용하였다. 즉 Waring blender로 곱게 마쇄한 시료 25g을 acetonitrile-water(1:1, v/v) 100 mL와 함께 250 mL

Erlenmeyer flask에 넣고 1시간 동안 진탕한 후 3,000×g로 25분간 원심분리(Bechman 90, USA)하여 상등액 20 mL를 취한 다음 추출물로 사용하였다. 이 추출물을 strong anion exchange cartridge(Merck)를 사용하여 추출물을 흡착시키고 methanol로 세척한 다음 methanol-water(3:1, v/v)로 유속 2 mL/min 속도로 용출시킨 후 methanol-water(3:1, v/v)과 methanol로 연속적으로 세척한 다음 fumonisin B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>를 5% acetic acid함유 methanol로 용출시켰다. 용출된 용액을 rotary evaporator로(Eyela, Rikakikai Co. Japan) 60°C에서 진공 농축시켰으며 남아있는 잔사물을 5 mL의 methanol에 녹여 acetic acid가 없어질 때까지 약 7~8회 반복하여 농축 건조시킨 후 일정량의 acetonitrile-water(2:3, v/v)로 용해시킨 다음 0.45 μm membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과시킨 후  $-4^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 사용하였다.

### Fumonisin B<sub>1</sub> 및 B<sub>2</sub> 분석

Fumonisin 분석은 fumonisin B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub> 표준물질을 10 mL 메스플라스크에 5 mg의 FB<sub>1</sub>을 칭량하여 넣고 acetonitrile-H<sub>2</sub>O(20/80, v/v)로 정용하여 500 μg/mL의 stock solution을 만들고 FB<sub>2</sub> 표준용액도 FB<sub>1</sub>과 같이 만든 후 정량분석을 위해 acetonitrile-H<sub>2</sub>O(20/80 v/v)로 10, 5, 3, 1, 0.5 및 0.3 μg/mL 수준으로 희석하여 표준곡선을 작성한 후 Thakur 등<sup>(19)</sup>의 방법을 사용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

Fumonisin B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>를 확인하기 위하여 표준품과 시료추출물로부터 HPLC를 이용하여 분석한 결과의 chromatogram을 Fig. 1에 나타내었다. 표준품에서 검출된 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 retention time(RT)은 12.5 min과 16.2 min을 나타내었으며 시료에서 분리한 독소도 표준품과 동일한 시간을 각각 나타내었다. Table 1은 외국에서 1995년~1996년에 걸쳐 수입한 옥수수로부터 fumonisin독소 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 오염현황을 조사한 결과를 나타내었다. 검색된 총 80점의 옥수수로부터 총 fumonisin독소의 오염범위와 평균치는 0(검출한계이하농도)~65.9 μg/g과 6.9 μg/g을 각각 나타내었고 FB<sub>1</sub>은 80개 시료 중에서 71.3%인 57개의 시료, FB<sub>2</sub>는 61.3%인 49개가 각각 오염되었으며 FB<sub>1</sub>과 FB<sub>2</sub>의 오염범위는 0~48.8 μg/g과 0~17.1 μg/g을 각각 나타내었다. 한국산 옥수수에서도 fumonisin B<sub>1</sub>이 B<sub>2</sub>보다 더 많이 검출되었고<sup>(20)</sup> 다른 나라에서 보고된 옥수수시료나 옥수수를 재료로한 식품뿐만 아니라 말에서 뇌백

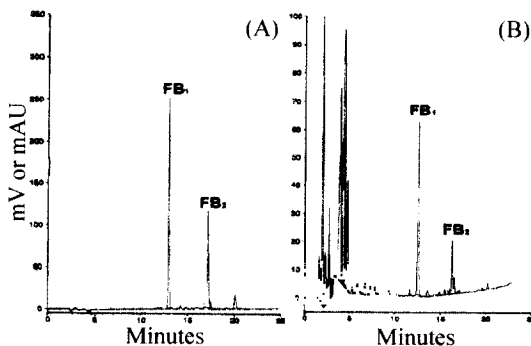


Fig. 1. HPLC chromatogram of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>. A: authentic FB<sub>1</sub> and FB<sub>2</sub>. B: FB<sub>1</sub> and FB<sub>2</sub> extracted from imported corns

**Table 1. Incidence and levels of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> determined in 80 imported corns**

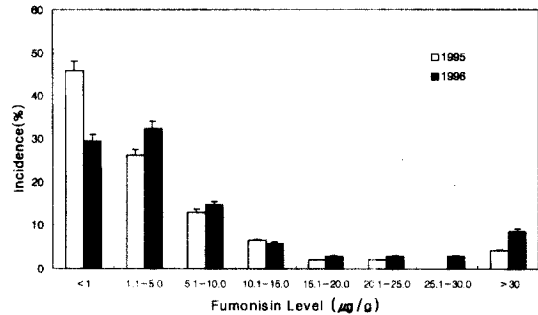
Fumonisin	Range (µg/g)	Mean-positive (µg/g)	Incidence (%) (positive/total)
B <sub>1</sub>	0 <sup>1)</sup> ~48.8	7.8	71.3 (57/80)
B <sub>2</sub>	0~17.1	2.6	61.3 (49/80)
Total	0~65.9	6.9	71.3 (57.80)

<sup>1)</sup>0: detected below 50 ng/g

질연화증을 일으켰던 시료에서도 비슷한 경향을 나타낸 것으로 보아<sup>(3,21)</sup> 옥수수에서는 fumonisin B<sub>1</sub>이 가장 중요한 독소인 것으로 나타났다.

Table 2는 수입산 옥수수의 총 fumonisin 오염상황을 농도별로 나누어 분석한 결과를 나타내었다. 검색된 총 옥수수시료 80점중 1 µg/g 이하의 오염은 37.5%, 1.1~10 µg/g의 오염은 42.6%로 전체의 80.1%를 차지하였으며, 10 µg/g 이상의 오염은 19.9% 그리고 30 µg/g 이상의 오염은 6.3%를 각각 나타내었다. 이와같은 결과에 대한 fumonisin 독소의 안전성에 대한 위해농도는 아직까지 국제적으로 fumonisin 독소에 대한 위해평가기준이 설정이 되어있지 않기에 때문에 객관적으로 위해평가를 설정하는 것이 어렵지만 지금까지 보고된 자료중 가속에 문제가 되었던 독성을 기준으로 하여 분석해볼 때 말의 뇌백질연화증의 원인시료에서는 1.0~126 µg/g범위의 fumonisin B<sub>1</sub>이 검출되었고 이중 대부분의 농도가 10 µg/g을 초과하였고 다른 보고에서도 평균범위가 7.7 µg/g(1.3~27 µg/g)으로 검출되었다고 보고<sup>(11,12)</sup>된 것으로 보아 10 µg/g 이상의 검출량은 안전성 문제를 충분히 야기시킬 것으로 사료된다.

1995년과 1996년에 수입한 옥수수로부터 연도별 총 fumonisin 독소의 오염현황을 조사한 결과를 Fig. 2에 나



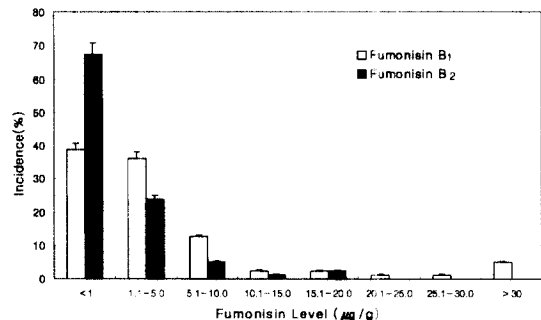
**Fig. 2. Distribution levels of total fumonisin found in im-ported corns during 1995 and 1996 year.**

타내었다. 1 µg/g 이하농도로 검출된 시료는 1995년산이 47.7%(21/44)로 1996년의 29.4%(10/34)에 훨씬 많았고 1.1-10 µg/g 농도로 검출된 시료는 1995년산이 44%(18/44)로 1996년의 47.1%(16/34)에 비하여 약간 적었으며 10.0 µg/g 이상의 농도로 검출된 시료에서는 1996년산이 23.5%(8/34)로 1995년산의 20.5% (9/44)에 비하여 약간 많은 것으로 나타났다. 한편, 1995년과 1996년에 수입한 옥수수로부터 fumonisin과 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 오염현황을 농도별로 나누어 분석한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 분석된 총옥수수시료 80점중에서 1 µg/g 이하의 오염은 FB<sub>1</sub>이 38.8%, FB<sub>2</sub>가 67.5%를 나타내었고, 1.1-10 µg/g의 오염은 FB<sub>1</sub>이 48.8%, FB<sub>2</sub>가 27.5%를 나타내었으며 10 µg/g 이상의 오염은 FB<sub>1</sub>이 12.5%, FB<sub>2</sub>가 5%를 각각 나타내었다. 이러한 결과는 같은 시기에 한국에서 생산된 옥수수로부터 분석한 fumonisin 오염현황이 10 µg/g 이상의 오염율을 기준으로볼 때 강원(37.3%), 경기(36.0%), 충북(21.2%) 및 경북(7.0%)의 순으로 나타난 것을 보면 직접적인 비교를 할 순 없지만 수입산 옥수수가 한국산 옥수수에 비하여<sup>(20)</sup> 본 연구의 결과에서 나타난 fumonisin의 오염도는 더 낮은 것으로 나타났다.

최근까지 fumonisin 독성에 관한 자료는 아직 확립

**Table 2. Distribution levels of total fumonisin determined in imported corns**

Level (µg/g)	Number of sample	Incidence (%) (positive/total)
<1	30	37.5
1.1- 5.0	23	28.8
5.1-10.0	11	13.8
10.1-15.0	5	6.3
15.1-20.0	2	2.5
20.1-25.0	2	2.5
25.1-30.0	1	1.3
>30	5	6.3
Total	78	97.5(78.80)



**Fig. 3. Distribution levels of fumoinisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> found in 80 imported corns.**

되어 있지 않아 어느정도의 농도가 안전성에 심각한 영향을 미치는가에 대한 위험평가가 없으나 식용 또는 사료용 곡류로부터 지금까지 보고된 fumonisin 독성에 관한 자료를 종합해볼 때 옥수수를 주식으로 하는 남아프리카 사람들이나 중국등지에서 fumonisin 독소로 인한 암 발생률이 증가한다는 보고는 이 독소에 대한 지속적인 연구와 더불어 광범위한 자료수집의 필요성을 나타내었다. 우리 나라는 식용 및 사료용 옥수수의 대부분을 외국으로부터 수입하고 있기 때문에 fumonisin에 노출될 위험성이 매우크다. 따라서 국내산은 물론 수입옥수수를 비롯한 각종 곡물로부터 fumonisin독소의 자연발생을 조사하여 이에 대한 검역체계의 확립은 물론 이 독소를 제어할 수 있는 기술의 개발 또한 매우 중요한 일이라 하겠다.

## 요 약

1995년과 1996년도에 미국에서 수입한 옥수수 80점을 수집하여 fumonisin B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 오염현황을 조사하였다. 검색된 총 80점의 수입옥수수로부터 총 fumonisin독소의 오염범위와 평균치는 0(검출한계 이하농도)~65.9 µg/g과 6.9 µg/g을 각각 나타내었고, FB<sub>1</sub>은 80개 시료 중에서 71.3%인 57개의 시료, FB<sub>2</sub>는 61.3%인 49개가 각각 오염되었으며, FB<sub>1</sub>과 FB<sub>2</sub>의 오염범위는 0~48.8 µg/g과 0~17.1 µg/g을 각각 나타내었다. 수입산 옥수수의 총 fumonisin 오염상황은 옥수수시료 80점중 1 µg/g 이하의 오염은 37.5%, 1.1~10 µg/g의 오염은 42.6%로 전체의 80.1%를 차지하였으며, 10 µg/g 이상의 오염은 19.9%를 각각 나타내었다. 또한, 1995년과 1996년에 수입한 옥수수로부터 연도별 총 fumonisin독소의 오염현황을 조사한 결과 1 µg/g 이하농도로 검출된 시료는 1995년산이 47.7%(21/44)로 1996년산 29.4%(10/34)에 비하여 훨씬 많았고 10.0 µg/g 이상의 농도로 검출된 시료에서는 1996년산이 23.5%(8/34)로 1995년산의 20.5%(9/44)에 비하여 약간 많은 것으로 나타났다. 한편, 1995년과 1996년에 수입한 옥수수로부터 fumonisin과 B<sub>1</sub>과 B<sub>2</sub>의 오염현황을 농도별로 나누어 분석한 결과 분석된 총옥수수시료 80점 중에서 1 µg/g 이하의 오염은 FB<sub>1</sub>이 38.8%, FB<sub>2</sub>가 67.5%를 나타내었고 10 µg/g 이상의 오염은 FB<sub>1</sub>이 12.5%, FB<sub>2</sub>가 5%를 각각 나타내었다.

## 문 헌

1. Cawood, M.E., Gelderblom, W.C.A., Vleggaar, R.,

- Behrend, Y., Thiel, P.G. and Marasas, W.F.O. Isolation of the fumonisin mycotoxins: quantitative approach. *J. Agric. Food Chem.* 39: 1958-1962 (1991)
2. Gelderblom, W.C.A., Marasas, W.F.O., Vleggaar, R., Thiel, P.G. and Cawood, M.E. Fumonisin. Isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia* 117: 11-16 (1992)
3. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R. and Kriek, N.P.J. Fumonisin-novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1806-1811 (1988)
4. Ross, P.F., Ledet, A.E., Owens, D.L., Rice, L.G., Nelson, H.A., Osweiler, G.D. and Willson, T.M. Experimental equine leukoencephalomalacia, toxic hepatitis and encephalopathy caused by corn naturally contaminated with fumonisin. *J. Vet. Diagn. Invest.* 5: 69-74 (1993)
5. Thiel, P.G., Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Marasas, W.F.C., Nelson, P.E. and Willson, T.M. Levels of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in feeds associated with confirmed causes of equine leukoencephalomalacia. *J. Agric. Food Chem.* 39: 109-111 (1991)
6. Haschek, W.M., Motelin, G., Ness, R.E. and Beasley, V.R. Characterization of fumonisin toxicity in orally and intervenously dosed swine. *Mycopathologia* 117: 83-86 (1992)
7. Gelderblom, W.C.A., Kriek, N.P.J., Marasas, W.F.O. and Thiel, P.G. Toxicity and carcinogenicity of the *F. moniliforme* metabolite, fumonisin B<sub>1</sub> in rats. *Carcinogenesis* 12: 1247-1251 (1991)
8. Marasas, W.F.O., Wehener, F.C., Rensbury, S.J. and van Schalkwyk, D.J. Mycoflora of corn produced in human esophageal cancer areas in Transkei. *South Africa Phytopathology* 71: 792-796 (1980)
9. Yoshizawa, F., Yamashita, A. and Luo, Y. Fumonisin occurrences in corn from high and low risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1626-1629 (1994)
10. Sanchis, V., Abadias, M., Oncins, L., Sala, N., Vinas, N. and Canela, R. Occurrences of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn-based products from the Spanish market. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2147-2148 (1994)
11. Ross, P.F., Rice, L.G., Reagor, J.C., Osweiler, G.D., Willson, 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 B<sub>1</sub> concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3: 238-242 (1991)
12. Thiel, P.G., Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Marasas, W.F.O., Nelson, P.E. and Willson, T.M. Levels of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. *J. Agric. Food Chem.* 39: 109-111 (1991)
13. Sydenham, E.W., Marasas, W.F.O., Shephard, G.S., Thiel, P.G. and Hirooka, E.Y. Fumonisin concentrations

- in Brazilian feeds associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicoses. *J. Agric. Food Chem.* 40: 994-997 (1992)
14. Muraphy, P.A., Rice, L.G. and Frank Ross, P. Fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub> content of Iowa, Wisconsin and Illinois corn and corn screenings. *J. Agric. Food Chem.* 41: 263-266 (1993)
  15. Pittet, A., Parisod, V. and Schellenberg, M. Occurrence of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn-based products from the Swiss market. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1352-1354 (1992)
  16. Ueno, Y., Aoyama, S., Sugiura, Y., Wang, D.S., Lee, D.S., Hirooka, E.Y., Hara, S., Karki, T., Chem, S. and Yu, S.Z. A limited survey of fumonisins in corn and corn-based products in Asian countries. *Mycotoxin Research* 9: 27-34 (1993)
  17. Chung, S.H. Natural occurrence of fumonisin B<sub>1</sub> in Korean corn and rough rice and the effect of water activity on the growth of *Fusarium moniliforme* and on the production of fumonisin B<sub>1</sub>. Korea University, Dissertation (1993)
  18. Lee, T.S., Chung, S.H. and Kim, Y.B. Contamination of fumonisin B<sub>1</sub> in corn-based feed products in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 221-224 (1995)
  19. Thakur, R.A. and Smith, J. Determination of fumonisin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and their major hydrolysis products in corn, feed and meat using HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1047-1052 (1996)
  20. Yu, C.C., Oh, D.H. and Park, B.K. Natural occurrence of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in Korean corns. *Korean J. Food Sci. Technol.* (in press)
  21. Thiel, P.G., Marasdas, W.F.O., Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Gelderblom, W.C.A and Nieuwenhuis, J.J. Survey of fumonisin production by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 1089-1093 (1991)
- 
- (1998년 7월 30일 접수)