식품에 존재하는 "변형된 후자리움 곰팡이독소"의 안전성 평가 동향

The Trend on Safety Evaluation of Modified Fusarium Mycotoxins Existed in Foods

류재기*, 이데레사, 이수형, 함현희, 문혜연, 홍성기

Jae-Gee Ryu*, Theresa Lee, Soohyung Lee, Hyeonheui Ham, Hye Yeon Mun, Sung Kee Hong

농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물팀

Microbial Safety Team, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

1. 서 론

곰팡이독소는 분자량이 작고 인축에 독성이 있는 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물이다. 이들 독소를 생산하는 주요 곰팡이로는 후자리움, 아스퍼질러스, 페니실륨, 알타나리아 등이 있으며, 전 세계적으로 수백톤의 식품이 매년 피해를 받고 있다. 그래서 100여개 국가에서 식품과 사료에 곰팡이독소 안전기준을 설정하여 관리하고 있다.

곰팡이독소를 생산하는 곰팡이는 농작물 재배포장이나 비닐하우스에서 식물에 감염하는 식물병원균이거나 수확 후 저장이나 유통식품에 발생하는 부생성 곰팡이들이다. 또한 살아있는 식물체에서 발생하는 곰팡이독소는 식물체의 방어기작에 의해 본래의 구조가 변경되어 전통적인 분석방법으로는 검출되지 않는다. 이러한 곰팡이독소 유도체들을 "은폐된 곰팡이독소"(masked mycotoxins, 이후 "은폐곰팡이독소"로 기술)라고 한다.

후자리움 곰팡이독소들(데옥시니발레놀, 제랄레논, 푸모니신, 니발레놀, T-2독소, HT-2독소)은 식물이 재배 생육기간에 식물체에 발생하므로 식물체에 의해 결합 또는 대사과정에 의해 변형되기 쉽다. 은폐곰팡이독소는 1990년대 초에 처음 소개되어 최근에 이르기까지 사용되는 용어로 식물체 대사물질과는 다른 독특한 물질로 간주되어 왔다. 그러나 곰팡이독소는 식물 이외의 다른 생물체(곰팡이, 세균, 포유류)와 식물체 가식부위의 가공과정에 의해서 변형될 수 있다. 이들 모든 곰팡이독소는 "은폐곰팡이독소"라는 용어로는 포괄할 수 없다. Rychlik 등(2014)에 따르면 곰팡이독소의 구조적으로 변형된 형태라는 의미인 "변형된 곰팡이독소(modified mycotoxins)"용어로 포괄할 수 있다. Rychlik 등(2014)는 곰팡이독소를 4개의 계층수준으로 구분하였다. 상위수준에서 곰팡이가 생합성 경로를 통해 생산하는 변형되지 않은 곰팡이독소, 매질과 연관된 곰팡이독소, 화학구조가 변형된 곰팡이독소로 구분하고, 하위수준에서 변형된 곰팡이독소를 생물적 변형

* Correspondence to: Jae-Gee Ryu, PhD
Microbial Safety Team, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea
Tel: 82-63-238-3391 Fax: 82-63-238-3840 E-mail: jgryu@korea.kr

표 1. 변형된 곰팡이독소(Modified Mycotoxins)의 분류체계 및 정의

1차 수준	2차 수준	3차 수준	4차 수준	예 시
곰팡이독소 (parent toxins)				DON, Aflatoxin B1, 3-acetyl-DON, 15-acetyl-DON
매질연관 곰팡이독소	결합체, 물리적으로 용해 또는 포획			
	공유결합			Fumonisines-전분 결합체 OTA-, DON- 올리고당 결합체
변형된 곰팡이독소	생물적 변형	- 기능적 변형 (1단계 대사물질)		α-ZEL, β-ZEL Aflatoxin B1-epoxide
		- conjugate 결합체 (2단계 대사물질)	식물에 의한 결합 (= ILSI에 따른 은폐독소)	DON-3-glucoside
			동물에 의한 결합	DON-3/8/15-glucuronide, HT2-3/4-glucuronide
			곰팡이에 의한 결합	ZEN-14-sulfate
			기타	Deepoxy-DON (=DOM-1)
	화학적 변형	열에 의한 변형		norDON A, B, C, D, iso DON, N-carboxymethyl-FB1, N-deoxyfructosyl(NDF)-FB1 14-(R)-OTA
		비 가열에 의한 변형		DON-sulfonate, norDON A-C (알카리 조건)

* ILSI : 국제생명과학회(International Life Science Institute)

과 화학적 변형으로 구분하였다. 기존의 은폐곰팡이독소는 생물적 변형 중 식물에 의한 결합체에 해당한다고 하였다. 〈표 1〉은 변형된 곰팡이독소의 구분에 따른 정의를 정리한 것이다. 푸모니신독소는 매질과 공유결합하거나 비공유결합의 형태가 존재한다. 그래서 "변형된 푸모니신(modified fumonisins)" 용어는 공유(예; NDF-FB)와 비공유(물리적 포획) 결합형태를 포함한다.

대부분의 곰팡이독소와 변형된 형태의 독소들은 곡류의 바깥층이나 껍질(박)에 주로 농축되기 쉬워서 곡류의 하얀 밀가루 또는 분말과 같은 부위는 곰팡이독소의 농도가 상대적으로 낮게 오염되어 있다. 제랄레논, 니발레놀, T-2독소, HT-2독소, 푸모니신의 변형된 형태의 곰팡이독소와 관련된 공중보건과 동물건강 위험을 변형되지 않은 곰팡이독소(parent mycotoxins)와 비교하고자 하였다. 포유류의 대사과정에서 생기는 변형된 곰팡이독소를 제외한 식용식물(식물과 곰팡이 대사 모두에서 생기는 형태를 포함)에 발생하는 변형된 곰팡이독소에 대해서만 정리하였다.

2. 법제화(규제관리) 동향

생물로서의 식물은 외부물질에 대한 방어기작으로써 곰팡이독소의 화학구조를 변형시킨다. 변형된 곰팡이독소는 추출 가능한 곰팡이독소-당 복합체이거나 추출할 수 없는 곰팡이독소가 식물체 조직에 존재하지만 현재 규정으로 관리하지 않고 있다. 앞서 언급한 후자리움 곰팡이독

소의 독성, 동물과 인간노출, 가축과 공중건강에 대한 위험성에 대한 과학적 평가는 이미 수행되었지만 이들 곰팡이독소들의 대사물질과 은폐 또는 결합형태의 독소들에 관한 정보는 매우 제한적이거나 아예 전무한 실정이다.

FAO/WHO공동 식품첨가물 전문위원회(JECFA)는 데옥시니발레놀(DON)의 잠정최대일일섭취허용기준(PMTDI)을 1 ㎍/kg body weight/day 로 2001년에 설정하였다. 2010년에는 JECFA는 DON의 PMTDI를 DON의 아세틸 유도체를 포함하여 1 ㎍/kg body weight/day 로 설정하여 고시하였다. DON의 변형된 독소인 DON-3-Glucoside는 독성학적 자료 부족으로 아직 포함시키지 않았다.

유럽의 규정(EEC NO. 315/98)은 공중건강을 위해 허용기준초과 오염물질을 함유하는 식품은 시장에 진열할 수 없으며 오염수준은 이성적으로 취할 수 있는 가능한 한 낮게 유지해야 한다. 그리고 필요하다면 유럽연합은 특정 오염물질에 대해 최대허용수준을 설정할 수 있다. 이러한 분석방법과 참고자료는 시료채취와 유럽공동체 규정, EC NO.188/2006의 부록에 정해져 있다.

변형되지 않은 후자리움 곰팡이독소에 대한 최대허용기준은 이미 정해져 있으며, 이들 독소의 변형된 형태는 이 규정에 고려되지 않았지만 관리의 필요성은 지속적으로 인식되고 있다. 유럽연합은 식품과 사료 중 DON, DON 대사물질, 은폐된 DON의 존재와 관련하여 동물과 사람의 공중건강 위험에 대한 과학적 의견제시를 유럽식품안전청(EFSA, European Food Safety Authority)에 요구하였다(2013. 7월). 또한 유럽연합은 곡류와 곡류 가공품에 T-2와 HT-2 독소의 합에 대한 권고에서 "사실상 은폐독소인 mono-, di-glycosylated T-2와 HT-2 결합체 또한 분석할 필요성"을 지적하였다(2013년).

3. 변형된 독소의 자연발생과 경로

곰팡이독소 및 그 변형된 독소는 다양한 형태로 표기되고 있다. 은폐독소의 경우 명명법이 더 복잡, 서로 다른 물질이 같은 약어로 표기되는 등 표기체계가 잡혀있지 않다. 명료성과 공공성에 근거한 변형된 곰팡이독소의 명명법을 정리하면 〈표 2〉과 같다.

"은폐곰팡이독소"라는 용어는 1990년 Gareis가 최초로 "포유류의 소화과정 중 분해되는 곰팡이독소 유도체" 라고 정의하였으며, 10여년 이후에 "화학적 또는 생화학적 반응으로 생성되는 가용성 또는 불용성의 곰팡이독소 결합체"라고 정의하였다. 은폐기작에 기초한 은폐독소의 종합적인 분류를 〈그림 1〉에 나타내었다.

곰팡이독소는 인축 뿐만 아니라 식물체에도 독성을 보이므로 식물체는 곰팡이독소에 대응하여 물리적인 포획화와 화학적인 변형이라는 2종류의 해독기작을 가지고 있다. 곰팡이독소가 식물세포 외부에 존재할 때는 세포벽 구성성분인 고분자 화합물에 결합하여 불용성 형태로 존재하며, 식물세포내에 존재하는 곰팡이독소는 주로

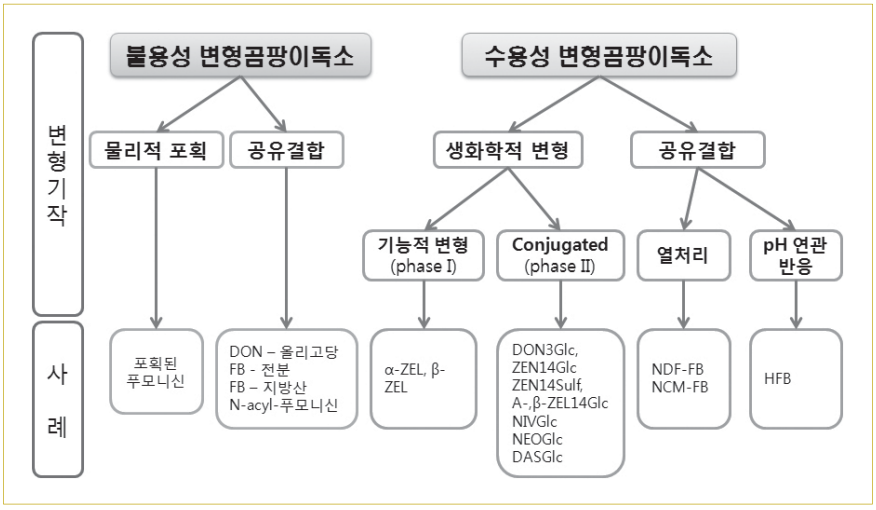

그림 1. 생성기작에 따른 변형된 곰팡이독소의 종류

표 2. 곰팡이독소와 이의 복합체(유도체)의 약어 및 동의어

곰팡이독소명	제시된 약어	동의어
Zearalenone	ZEN	ZEA, ZON, Z
Zearalenol	ZEL	ZOL
Zearalanone	ZAN	
Zearalanol	ZAL	
Nivalenol	NIV	
Fusarenon-X	FUS-X	FusX
T-2 toxin	T2	
HT-2 toxin	HT2	
Deoxynivalenol	DON	D
Acetyldeoxynivalenol	Ac-DON	A-DON, ADON
3-Acetyldeoxynivalenol	3Ac-DON	NeoSol
15-Acetyldeoxynivalenol	15Ac-DON	
Neosolaniol	NEO	
Diacetoxyscirpenol	DAS	
Ochratoxin A	OTA	OA
Ochratoxin B	OTB	OB
Ochratoxin α	OTα	
Fumonisin B	FB	FumB, FUMB
Hydrolyzed fumonisin B	HFB	
Partially hydrolysed fumonisin B	PHFB	
N-deoxyfructos-1-yl fumonisin B	NDF-FB	
N-carboxymethyl fumonisin B	NCM-FB	
Patulin	PAT	PT
Glucoside	Glc	G
Glucuronide	GlcA	GA, G
Sulphate	Sulf	S

Glucosyl transferase 같은 효소에 의해 글루코스, 말론산, 글루타티온 등과 반응하여 수용성 결합체를 형성하는데 독성이 원래 곰팡이독소에 비해 약하며, 액포로 이동되어 분비되지 않고 식물체 조직에 영구적으로 저장되는데, 이것을 포획화라고 한다.

4. 변형된 곰팡이독소의 독성

사람과 동물은 식품이나 사료를 통하여 변형되지 않은 곰팡이독소 뿐만 아니라 변형된 형태의 곰팡이독소에 노출된다. 변형된 독소의 독성, 생체이용율(bioavailability) 또는 대사경로에 대하여 극히 일부분이 알려져 있다. 심지어 몇몇 연구들이 이들 독소들과 관련된 인축의 건강에 잠재적인 위협으로 집중 조명되어 왔으나, 결국 최근까지 이러한 물질들은 위험평가에서 고려되지 않았다. 변형된 곰팡이독소 자체의 낮은 독성을 제시하는 보고에도 불구하고 포유류 소화 과정에서 독성이 있는 aglycone(곰팡이독소 배당체의 가수분해로 얻어진 탄수화물이외의 성분) 배출은 자체뿐만 아니라 장내 서식 미생물군집에 추가적인 노출위험을 내포하고 있다.

변형된 독소는 독소생성곰팡이가 침입한 후 식물체에서 형성되어 식품과 사료에 자주 오염되는 물질이다. 이들 변

형된 독소 자체의 활발한 생물활성과 소화과정 중에 원래의 독소를 배출함으로써 인축의 건강에 위험성을 초래한다. 위험평가를 위해 변형된 독소의 독성학적 연관성에 대한 in vivo 연구가 중요하다. 그러나 순수 정제한 변형된 독소 이용의 제한성 때문에, 동물에서의 변형된 독소 영향에 관한 단편적인 보고만이 현재 이용 가능한 실정이다.

5. 위해요소 확인 및 위해성 결정

5.1 변형된 곰팡이독소의 생물이용성

DON과 일부 ZEN이외의 곰팡이독소의 변형된 형태의 생물이용성에 관하여 알려진 바가 거의 없다. 그래서 DON에 대한 다음의 연구를 제시함으로써 변형된 곰팡이독소의 생물이용성에 대한 원칙들을 적용하고자 하였다. 변형된 곰팡이독소에 관한 매우 중요한 토론거리는 장관내에서 가수분해와 흡수될수 있는지 여부이다. Gareis 등(1990)은 사료에 첨가한 제랄레논(ZEN)의 변형된 형태인 ZEN14Glc를 약 600 ㎍/day으로 14일간 어린돼지(27kg)에 처리하였다. 분뇨에서 ZEN과 에스트로겐 대사물질인 α-ZEN이 매일 다른양으로 검출되었다. 처리 6일째 오줌에서 ZEN과 α-ZEN이 각각 70과 90 ㎍/day, 대변에서 80과 40 ㎍/day로 가장 많이 관찰되었다. 이 연구에서 conjugated ZEN, 즉 ZEN14Glc는 가수분해후 흡수되어 제랄레논의 총량적 노출에 기여하고 있음을 알 수 있다.

최근의 연구에서 이러한 관찰을 뒷받침하고 있다(Versilovskis 등, 2012). ZEN14Glc와 DON3Glc 그리고 C^{13}동위원소로 이루어진 ZEN과 DON 25 ㎍ 동량을 각각 흰쥐에 경구 투여한 후 55분후에 여러 조직과 장관에서의 독소를 분석하였다. 방광이나 간에서는 동위원소 라벨한 곰팡이독소는 검출되지 않았고 글루코사이드 또는 글루쿠로나이드 ZEN독소가 검출되었다. 위에서는 ZEN14Glc와 동위원소가 없는 ZEN가 검출되어 Gareis등(1990)이 보여준 장관에서 글루코사이드 독소 결합체가 가수분해됨을 확인하였다. 소장과 대장에서의 글루코사이드 독소 결합체는 상대적으로 높은 수준의 곰팡이독소에 비해 낮은 수준이었다.

Nagl 등(2012)은 2.0 mg/kg bw의 DON 또는 3.1 mg/kg bw의 DON3Glc를 흰쥐에 노출시켰다. DON처리의 경우 오줌과 대변에서 DON과 알려진 대사물질인 DOM-1의 양이 각각 처리량의 15와 13%가 회수되었다. 글루코사이드 독소의 경우 대변에서 DON과 DOM-1가 17%회수되었고 글구코사이드독소는 소량 회수되었다. 소변에서는 훨씬 적은양이 회수(4%)되었고 글구코사이드 독소는 아마도 장관의 아랫부분에서 가수분해되는 것으로 보이며 DON독소의 생물이용성 측면에서 양은 훨씬 적지만 무시할수 없는 은폐독소라는 것을 알수 있었다. 투여된 독소의 전체적인 회수는 DON독소에 대해서는 28%, 글루코사이드 DON독소에 대해서는 21%로 상당히 적었다.

이러한 자료를 종합할 때 변형된 곰팡이독소의 생물이용성에 관한 정보가 제한적이지만 곰팡이독소의 배출과 흡수는 분명하며 변형된 독소 또한 총량적 노출에 기여할 것이다.

5.2 실험동물에서 변형된 곰팡이독소의 독성

변형된 곰팡이독소의 독성에 관한 대부분의 경우에 상대적으로 풍부한 정보를 토대로 사람과 동물 모두에 대해 추정한 건강에 기초한 권장기준(HBGV; health based guidance value) 때문에 변형된 형태의 ZEN, NIV, T-2, HT-2, 푸모니신에 대한 독성학적 자료는 현재 유용하지 않다. 탄수화물과 황산염과 같은 극성물질과 대사과정에서의 결합은 보통 불활성화 반응으로 간주한다. 왜냐하면 aglycone(글루코사이드가 가수분해하여 얻어지는 당질이외의 물질)은 보통 생물활성을 잃고 활성부위에서 제거되기 때문이다. 그러나 이러한 일반원칙의 예외가 존재한다.

conjuagate(두 물질의 복합체)는 conjugation 이후 생물학적 활성을 유지하거나 획득할 수 있고, conjugate복합체의 가수분해를 통해 parent aglycone(곰팡이독소 모물질)이 배출될수 있으며, 생물활성물질의 흡수를 향상시킬 수 있어 독성학적으로 중요하다. 최소한 4가지의 분자

기작이 은폐곰팡이독소가 독성학적 활성을 보일 수 있다.

(1) conjugation은 모화합물의 활성을 없어지지 않는 경우,

(2) conjugation은 전에 존재하지 않았던 모화합물에 활성이 존재할 경우,

(3) 변형된 곰팡이독소는 곰팡이독소의 흡수를 촉진하는 경우,

(4) 변형된 곰팡이독소는 장관에서 가수분해되어 배출된 곰팡이독소 모물질이 흡수될 수도 있다. 마지막 기작은 매우 가장 빈번한 경우이다. 그러나 변형된 곰팡이독소의 Toxicokinetics와 독성자료가 실제로 없이 곰팡이독소 모물질의 영향에 변형된 형태의 기여정도를 현재로서는 정량화하기 어렵다.

6. 식품에서 변형된 형태의 곰팡이독소의 자연발생

현재까지 알려진 은폐곰팡이독소의 원래 곰팡이독소는 DON, NIV, FUS-X, T-2, ZEN, NEO, OTA이다. 게다가 식물체에서 푸모니신 독소의 포획화에 대한 증거가 일부 알려져 있다. 현재까지 자연 감염된 곡류와 곡류제품에서 은폐곰팡이독소의 자연발생은 DON과 제랄레논(ZEN)에 대해서만 기술해 왔다. 또는 최근의 한 연구는 자연 감염된 옥수수에서 푸모니신의 지방산 에스테르화합물의 발생을 보고하였다(Falavgna 등, 2013).

은폐곰팡이독소에 대한 자연발생 자료는 보통 곰팡이독소 본래 물질에 대한 상대적인 퍼센트(%)로 표현해 오고 있다. 변형된 곰팡이독소의 자연발생 자료의 증가는 문헌으로부터 이용가능하다. 하지만 표준물질과 분석보정도구의 부족 때문에 대부분의 조사는 DON과 DON3GIC에 집중되고 있으며, 다음으로 제랄레논(ZEN)과 그의 구조적으로 연관된 물질그룹이 많은 실정이다. 반대로 매우 극소수의 자료가 T-2와 HT-2독소 뿐만 아니라 NEO, DAS, FUS-X와 같은 트리코쎄신 독소의 변형된 형태에 대해 이용 가능하다.

푸모니신 독소의 공유결합으로 변형된 형태는 옥수수에서 낮은 농도로 발생함이 보고되었다. 즉 N-acyl 유도체가 포장이나 가공과정 중에 형성될 수 있는 반면 O-acyl 유도체는 재배포장에서만 발견되었다. 비공유적으로 결합된 푸모니신은 푸모니신과 비슷한 농도(60%~100%)로 발생됨이 보고되었다.

가공에 따른 DON과 ZEN의 변형된 형태는 주로 곡류 알곡의 외부에 존재하여 박피와 밀가루 생산과정에 농축된다. 달리 말하면, DON과 그이 변형된 형태 이외에 트리코세센 독소의 가공중에 가능한 전환에 대한 자료가 부족한 실정이다. 푸모니신에 관하여, N-acyl 유도체는 환원당(예; 콘푸레이크)의 존재시에 압출가공시에 형성된다. 축산제품(예; 우유, 낙농제품, 육류, 계란)에 발생하는 변형된 곰팡이독소에 대한 자료는 이용가능하지 않다. 비록 후자리움 곰팡이독소와 이와 구조적으로 연관된 물질이 사료에서 축산물로의 전이가 현재까지 보고된 적이 없지만, 껍질(박)이나 섬유질이 풍부한 가공식품은 변형된 곰팡이독소가 높은 수준으로 오염될 수 있음이 보고되었다.

제랄레논의 변형된 형태는 자주 제랄레논 모물질과 동시 발생되며 제랄레논의 110%까지 발생하여 총 제랄레논 농도를 고려할 가능성이 있다. 니발레놀(NIV)와 관하여, 변형된 곰팡이독소는 니발레놀 농도의 30%까지 곡류에서 발생팀이 보고되었으며, 반면에 변형된 T-2와 HT-2 독소는 10%까지 곡류에서 발생되고 있다. 기계적으로 포획된 푸모니신은 본래 푸모니신 독소의 60~100%로 옥수수에서 광범위하게 발생이 보고되었고, 공유적으로 결합된 푸모니신 독소는 반대로 매우 낮은 농도(5~6%)로 존재하였다.

6.1 변형된 제랄레논 독소

식품과 사료에서 ZEN과 그 유도체 α-, β-ZEN 은폐독소를 활발하게 연구해오고 있다. *Arabidopsis thaliana* 또는 곡류의 세포배양체를 이용하여 ZEN-conjugate형태를 동정하였고, ZEN-글루코사이드, 말로닐글루코사이드, dihexoside, pentosyl hexoside와 같은 수많은 용출성화합물이 형성됨을 구명하였다(Berthiller 등, 2006).

밀시료 10개를 조사한 결과 ZEN에 대한 ZEN14Glc의 상대적 비율이 30%까지 존재함이 밝혀졌다. 다른식품(밀가루, 통밀빵, 옥수수가루, 비스켓, wheat flakes, bran flakes, muesli, 크래커, 곡류스낵바, polenta)에서는 ZEN14Glc가 낮은량 존재하였다. 곡류와 곡류가공품에 존재하는 ZEN conjugates의 종류와 발생정도를 〈표 3〉에 요약하였다. 가장 최근의 발생보고에 따르면 ZEN의 변형된 형태(ZELs, ZEN14Glc, ZEN14sulf, α-ZEL14Glc β-ZEL14Glc)는 곡류가공식품, 주로 bran-이나 섬유소강화 식품에서 이들 독소의 모물질과 함께 흔하게 발생한다. ZEN에 대한 변형된 ZEN의 발생비율은 15%~110%이었다.

6.2 트리코세신 독소의 변형된 형태

현재까지 대부분의 연구는 DON3Glc의 자연발생에 관한 것이었다. 반면에 다른 변형된 트리코세신 곰팡이 독소들은 정량적으로 다루고 있지 않다. 그 이유는 주로 분석방법과 표준물질의 부족에서 발견할수 있다. 그러나 DON3Glc는 거의 10년전에 발견되었고 반면에 다른 변형된 곰팡이독소는 최근에 확인되었다는 것을 또한 고려해야 한다. 변형된 트리코세신독소중에 FUS-XGlc와 NIVGlc는 후자리움곰팡이를 인공적으로 감염시킨 밀곡물에서 처음 보고 되었다. FUS-X와 NIV의 15% 이상이 글루코사이드 결합체로 전환된다는 사실이 밝혀졌다(Nakagawa 등, 2011). FUS-XGlc는 이제까지 자연감염 시료에서는 보고되지 않았다. 최근에 NIVGlc의 발생은 12%~27%농도로 밀에서 보고 되었다. 최근에 3-O-glucoside T-2와 HT-2독소 또한 *Fusarium sporotrichioides*균으로 접종한 밀과 귀리에서 발생함이 보고되었다. 자연 감염된 밀과 귀리에서 또한 발생됨이 보고 되었는데 이들 독소의 모물질인 T-2와 HT-2독소의 12%가 발생되었다(Lattanzio등, 2012).

T-2, HT-2독소와 이들 독소의 글루코사이드-독소 복합체들 사이에 피크 면적을 기초한 접근법을 사용하여 곰팡이 배양하여 얻어진 1%미만의 피크면적비율이 검출되었다. 반면에 높은 양의 글루코사이 복합체가 자연오염된 밀과 귀리 시료에서 평가되었다(피크면적비율은 T-2Glc와 HT-2Glc 각각 24%와 27%까지 존재). 이 자료는 DON3Glc에 대해서 보고 된 것(총DON 오염수준의 30%까지)과 유사하였다(Cirlini 등, 2013).

니발레놀의 글루코실레이트 형태는 최근에 동정되었다. 그래서 발생자료가 문헌상에 이용할수 없다. 그러나 NIV는 구조적으로 DON과 유사하고 NIN의 변형된 독소는 DON에 대한 것과 유사한 정도로 발생할 수 있다. 같은 이유로 식품가공은 NIV3Glc수준에 유의적으로 영향을 받을 수 있다. 이것으로 인하여 부가적인 30%가 NIN의 노출평가에 고려되고 있다.

T-2와 HT-2의 변형된 형태는 단지 최근에 문헌에 보고 되었다. 즉, 매우 적은 발생자료가 자연발생 조건하에서 수집되었다. T-2와 HT-2의 글루코실 형태는 밀과 귀리 모두에서 T-2와 HT-2의 12%수준까지 자연발생 한다.

6.3 변형된 푸모니신 독소

식품에서 물리적으로 포획된 푸모니신의 존재가 밝혀졌다. 이것은 가수분해한 후에만 분석할 수 있다. 사실 오염된 가공품을 알카리 가수분해한 후에 용출된 푸모니신의 양은 기대했던 양보다 많았다. 이것은 전분과 같은 고분자 화합물의 구조안으로 곰팡이독소가 물리적인 포획에 의한 은폐현상 때문이다. 이 현상이 분석의 문제로 간주되지만 최근 연구들은 옥수수의 유전자형과 농업적요소와 강한 관련이 있음이 보고되었다(Dall'Asta등, 2012). Bryla 등(2014)은 글루텐이 제거된 빵에서 물리적으로 포획된 푸모니신은 푸모니신의 80%까지 존재한다고 보고하였다. 푸모니신의 공유결합 복합체중에는 지방에스테르-푸모니신복합체가 *F. verticillioides*를 접종한 쌀배양체에서 확인되었다. 그러나 이들 에스테르-푸모니신 복합체는 자연감염된 옥수수에서 최근에 발견되었는데 푸모니신농도의 5%까지 존재하였다(Falavigna 등, 2013). 〈표 3〉는 옥수수와 옥수수 가공품에서 물리적으로 포획된 푸모니신

표 3. 식품유래 식품에서 변형된 곰팡이독소의 발생수준

구 분	은폐독소	곡류 식품명	발생수준(%) (unmodified mycotoxins 대비)	참고문헌
트리코쎄신	D3G	26개 곡류(평균)	6 ~ 29%	Desmarchelier 등(2011)
		밀	7 ~ 29%	Berthiller 등(2009)
		옥수수	5 ~ 46%	Berthiller 등(2009)
		보리-맥아-맥주	41.6-21.2-196.2%	Lancova 등(2008)
		맥주(14국가)	약 4 ~ 150%	Kostelanska 등(2009)
	Glucosylated F-X	밀	15% 이상	Nakagawa 등(2011)
	NIV-Glc	밀	12 ~ 27%	Yoshinari 등(2014)
	T-2-Glc, HT-2-Glc	밀, 귀리	약 12%	Lattanzio 등(2012)
제랄레논	ZEN14Glc	밀	~ 30%	Schneweis 등(2013)
	ZEN14Sulf	밀가루, 크랙커	~ 15%	Vendl 등(2010)
	ZEN 은폐독소 총합 (ZEN14Glc, ZEN14Sulf, α-, β-ZEL14Glc)	섬유소강화식품(빵, 오트밀, 시리얼류)	~ 110%	De Boevre 등 (2012,2013)
푸모니신	물리적 포획된 푸모니신	옥수수 및 그 제품	~ 100%	Dall'Asta 등(2009)
	지방산-푸모니신 결합체	옥수수	5 ~ 6%	Falavigna 등(2013)

과 푸모니신 복합체의 발생을 정리하였다.

7. 사람에 대한 노출평가

변형된 형태를 합하여 곰팡이독소에 대한 인간 노출평가는 최근의 EFSA 견해 (ZEN-CONTAM Panel, 2011a, NIV-CONTAM Panel,2013, T-2와 HT-2독소 (CONTAM panel, 2011b)에서 설정한 총량적 노출모델을 사용하여 문헌에 보고한 수준을 기초로 곰팡이독소의 변형된 형태에 대한 곰팡이독소 모물질의 노출과 비교하여 노출평가를 수행하였다(EFSA CONTAM Panel, 2014).

8. 인간 건강위험 결정

위험 결정은 parent 형태와 변형된 형태의 곰팡이독소를 합하여 산출한 종합노출과 각각의 parent 곰팡이독소에 대한 (잠정)일일섭취허용량((PM)TDI)을 비교함으로써 수행하였다. 하위한계(lower bound)방법을 사용할 경우, TDI수준이상으로 제랄레논과 변형된 제랄레논에 종합노출에서 평균이나 95th 퍼센타일 노출를 갖는 소비자는 없었다. 그러나 곡류에서 제랄레논과 변형된 제랄레논의 총합농도가 상위한계수준과 근접하였다면, 높은 소비자(95th 퍼센타일)가 제랄레논 일일섭취허용량(TDI; 0.25 μg/kg bw/day)의 2.2배까지 노출될 가능성이 있었다.

니발레놀과 변형된 니발레놀의 총합노출은 가장 높은 95th 페센타일의 상위한계수준의 노출이 니발레놀 일일섭취허용량(TDI; 1.2 μg/kg bw/day)의 20%수준이하이므로 우려대상이 아니었다. T-2와 HT-2독소의 합과 이들의 변형된 형태의 총합노출은 가장높은 상위한계노출이 일일섭취허용량(TDI; 0.1 μg/kg bw/day)과 비슷한 것을 제외하고는 상/하위한계의 모든 노출이 TDI보다는 낮아 중요하지 않았다. 푸모니신과 이들 독소의 변형된 형

태의 합에 대한 노출은 특히 어린이 그룹에서 우려할 만하였다. 유아그룹의 경우 하위한계 0.2~14%, 상위한계 43~66%, 어린이 그룹의 경우, 하위한계 0~38%, 상위한계 11~59%가 잠정일일섭취허용량(PMTDI; 2 ㎍/kg bw/day) 초과하였다. 95th 퍼센타일의 높은 노출에서 PMTDI의 하위한계 2.5 배, 상위한계 3배를 초과하는 것으로 평가되었다.

9. 맺음말

변형된 곰팡이독소는 식물또는 곰팡이에서 극성물질과의 conjugation에 의해 형성된 곰팡이독소의 대사물질이다. 변형된 곰팡이독소는 최근까지 곰팡이독소를 분석시에 단지 종종 검출되어 왔다. EFSA는 ZEN(제랄레논), NIV(니발레놀), T-2와 HT-2독소, 푸모니신과 각각의 변형된 형태를 포함하여 위험평가를 수행하였다. 변형된 곰팡이독소 분석을 위한 프로토콜은 주로 물과 아세토니트릴추출에 기초하여 LC-tandam MS에 의한 분석이다. 면역학적 방법은 범용분석을 위한 간단한 대체법이지만 높은 불확실성을 보였다. 상업적으로 이용 가능한 보정물질(calibrant)과 표준물질의 부족으로 유효성이 검증된 범용방법이 부족한 실정이라는 것을 알 수 있었다.

박(bran)과 섬유소가 풍부한 식품은 변형독소를 포함하는 곰팡이독소에 더 오염되기 쉽다. EFSA의 발생 DB에는 변형된 곰팡이독소에 관한 자료가 없지만, 문헌에 보고된 제한된 정보에 근거하여 변형된 형태의 곰팡이독소(특히 제랄레논과 푸모니신독소)는 곰팡이독소의 총량에 실질적으로 추가될 필요성이 있다. 식품 사슬에서 발생과 노출평가를 위하여, 제랄레논, 니발레놀, T-2와 HT-2의 합, 푸모니신 곰팡이독소의 발생수준은 변형된 곰팡이독소를 각각 100%, 30%, 10%, 60%를 더하여 평가할 수 있었다. 변형된 곰팡이독소는 장관에에서 배출, 가수분해, 생물전환, 흡수될 수 있다. 위해요소 확인 및 평가를 위해 Conjugated 곰팡이독소의 독성에 관한 정보가 비록 없을지라도, 외부물질과의 결합물질이 독성학적으로 중요한 문헌자료를 참고하여, 모든 변형된 곰팡이독소의 독성은 그들의 parent 곰팡이독소와 동등하다고 가정하여 평가하였다.

트리코쎄신(니발레놀과 T-2 및 HT-2독소의 합)과 제랄레논, 푸모니신 곰팡이독소에 각각의 변형된 형태를 합하여 인간의 건강위험을 결정하였다. 트리코쎄신 곰팡이독소의 위험은 우려수준이 아니었으나, 제랄레논과 그의 변형된 형태의 합은 (잠정)일일섭취허용량의 2.2배까지, 푸모니신과 그의 변형된 형태의 합은 상위한계에서 2.5배, 상위한계에서 3배까지 노출가능성이 있었다.

하지만 보다 정확한 위험평가를 위하여는 1)변형된 곰팡이독소의 화학구조에 대한 더 많은 정보와, 2) 아직 결정되지 않은 변형된 곰팡이독소의 동정, 3) 변형된 곰팡이독소에 대한 유효성 검증이 가능하고 민감한 공정분석법 개발, 4) 변형된 곰팡이독소가 식품가공과정에서 전환경로가 구명되어야 하며, 5) 식품에서 더 많은 자연발생 자료와, 6) 독성학적 정보가 축적되어야 한다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of "Research Program for Agricultural Science & Technology Development (Project No. PJ008635)", National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

참고 문헌

1. Berthiller F, Werner U, Sulyok M, Krska R, Hauser MT and Schuhmacher R, 2006. Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry(LC-MS/MS) determination of phase II metabolites of the mycotoxin zearalenone in the model plant *Arabidopsis thaliana*. Food Additives and Contaminants, 23, 1194-1200.

2. Berthiller F, Dall'Asta C, Corradini R, Marchelli R,

Sulyok M, Krska R, Adam G and Schuhmacher R, 2009. Occurrence of deoxynivalenol and its 3-beta-D-glucoside in wheat and maize. Food additives and contaminants. Part A, 26, 507-511.

3. Berthiller F, Crews C, Dall'Asta C, Saeger SD, Haesaert G, Karlovsky P, Oswald IP, Seefelder W, Speijers G and Stroka J, 2013. Masked mycotoxins: a review. Molecular Nutrition and Food Research, 57, 165-186.

4. Bryla M, Roszko M, Szymczyk K, Jędrzejczak R, Słowik E and Obiedziński MW, 2014. The effect of baking on reduction of free and hidden fumonisins in gluten-free bread. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 09/2014, DOI: 10.1021/jf504077m

5. Dall'Asta C, Mangia M, Berthiller F, Molinelli A, Sulyok M, Schuhmacher R, Krska R, Galaverna G, Dossena A and Marchelli R, 2009. Difficulties in fumonisin determination: the issue of hidden fumonisins. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 395, 1335-1345.

6. De Boevre M, Di Mavungu JD, Maene P, Audenaert K, Deforce D, Haesaert G, Eeckhout M, Callebaut A, Berthiller F, Van Peteghem C and De Saeger S, 2012. Development and validation of an LC-MS/MS method for the simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, T-2-toxin and some masked metabolites in different cereals and cereal-derived food. Food Additives and Contaminants. Part A, 29, 819-835.

7. De Boevre M, Jacxsens L, Lachat C, Eeckhout M, Di Mavungu JD, Audenaert K, Maene P, Haesaert G, Kolsteren P, De Meulenaer B and De Saeger S, 2013. Human exposure to mycotoxins and their masked forms through cereal-based foods in Belgium. Toxicology Letters, 218, 281-292.

8. Desmarchelier, A., Seefelder,W., Survey of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3- glucoside in cereal-based products by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. W. Mycotox. J. 2011, 4, 29-35.

9. EFSA(European Food Safety Authority), 2014. Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins for maize and maize products. EFSA Journal 2014;12(5):3699, 61 pp.

10. EFSA(European Food Safety Authority), 2013. Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure. EFSA Journal 2013;11(10):3379, 56 pp.

11. EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2013. Scientific Opinion on risks for animal and public health related to the presence of nivalenol in food and feed. EFSA Journal 2013;11(6):3262, 119 pp.

12. EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2014. Scientific Opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. EFSA Journal 2014;12(12):3916, 107 pp.

13. Falavigna C, Lazzaro I, Galaverna G, Battilani P and Dall'Asta C, 2013. Fatty acid esters of fumonisins: first evidence of their presence in maize. Food additives and Contaminants. Part A, 30, 1606-1613.

14. Gareis M, Bauer J, Thiem J, Plank G, Grabley S and Gedek B, 1990. Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. Zentralbl Veterinarmed B, 37, 236-240.

15. JECFA, 2010. 72nd Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. http://www.who.int/entity/foodsafety/chem/summary72_rev.pdf Accessed 8 Dec. 2015.

16. Kostelanska M, Hajslova J, Zachariasova M, Malachova A, Kalachova K, Poustka J, Fiala J, Scott PM, Berthiller F and Krska R, 2009. Occurrence of deoxynivalenol and its major conjugate, deoxynivalenol-3-glucoside, in beer and some brewing intermediates. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57, 3187-3194.

17. Lancova K, Hajslova J, Kostelanska M, Kohoutkova J, Nedelnik J, Moravcova H and Vanova M, 2008. Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking. Food additives and contaminants. Part A, 25, 650-659.

18. Lattanzio VM, Visconti A, Haidukowski M and Pascale M, 2012. Identification and characterization of new Fusarium masked mycotoxins, T2 and HT2 glycosyl derivatives, in naturally contaminated wheat and oats by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. Journal of Mass Spectrometry, 47, 466-475.

19. Nagl V, Woechtl B, Schwartz-Zimmermann HE, Hennig-Pauka I, Moll WD, Adam G and Berthiller F, 2014. Metabolism of the masked mycotoxin

deoxynivalenol-3-glucoside in pigs. Toxicology Letters, 229, 190-197.

20. Nakagawa H, Ohmichi K, Sakamoto S, Sago Y, Kushiro M, Nagashima H, Yoshida M and Nakajima T, 2011. Detection of a new Fusarium masked mycotoxin in wheat grain by high-resolution LC-Orbitrap MS. Food additives and contaminants. Part A, 28, 1447-1456.

21. Rychlik M, Humpf HU, Marko D, Danicke S, Mally A, Berthiller F, Klaffke H and Lorenz N, 2014. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including "masked" mycotoxins. Mycotoxin Research, 30, 197-205.

22. Schneweis I, Meyer K, Engelhardt G and Bauer J, 2002. Occurrence of zearalenone-4- beta-D-glucopyranoside in wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 1736-1738.

23. Vendl O, Berthiller F, Crews C and Krska R, 2009. Simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, and their major masked metabolites in cereal-based food by LC-MS-MS. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 395, 1347-1354.

24. Veršilovskis A, Geys J, Huybrechts B, Goossens E, De Saeger S and Callebaut A, 2012. Simultaneous determination of masked forms of deoxynivalenol and zearalenone after dosing in rats by LC-MS/MS. World Mycotoxin Journal, 5, 303-318.

25. Yoshinari T, Sakuda S, Furihata K, Furusawa H, Ohnishi T, Sugita-Konishi Y, Ishizaki N and Terajima J, 2014. Structural determination of a nivalenol glucoside and development of an analytical method for the simultaneous determination of nivalenol and deoxynivalenol, and their glucosides, in wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62, 1174-1180.