Kor. J. Food Hygiene 7(1), 1-6 (1992)

Aflatoxin 및 *Aspergillus flavus*의 處理가 벼의 成熟 및 쌀의 成分에 미치는 影響

이용욱 · 김종규 · 강진순*

서울大學校 保健大學院, 晋州專門大學*

Effect of Inoculation of Aflatoxin and *Aspergillus flavus* on the Kernel Development and Nutrient Composition in Field-grown Rice

Yong-Wook Lee, Jong-Gyu Kim and Jin-Soon Kang

*Graduate School of Public Health, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea, Jinju Junior College**

ABSTRACT—**Two rice cultivars, a high yield variety of Cheongcheong and a Korean native kind of Chucheong were grown in paddy. 1 μg and 10 μg of aflatoxin B_1 and *Asp. flavus* (10^6 conidia/ml) were inoculated at milk stage. At harvest, kernels from the inoculated plant showed slightly lower ripening rates and 100-grain weights than did those of controls. The nutrient and fatty acid composition of unpolished rice of inoculated group were similar to those of controls and differences between the control and inoculated group were not significantly different.**

Keywords□**Aflatoxin, *Asp. flavus*, rice, kernel development, nutrient and fatty acid composition**

곰팡이 毒素(mycotoxin)는 곰팡이가 생산하는 2次 代謝産物로서, 사람과 가축에 異常 生理作用이나 疾病을 유발하는 物質이다. 現在까지 알려진 곰팡이 毒素는 100여종 이상이 있으며, 食品과 관련하여 사람과 動物의 健康에 가장 致命的으로 작용하는 것은 aflatoxin으로 되어 있다.[1-3] Aflatoxin은 發癌性이 강하다는 것 이외에도 突然變異性, 畸形 發生性 等이 있으며, 生活環境에서 그 生成 菌株의 自然汚染이 용이하고, 熱에 대하여 저항성이 커서 280~300℃에서 분해되는 등, 一般 食品과 같은 가공, 처리로는 분해가 불가능하다는 점[4-6] 등으로 더욱 衛生上의 問題를 크게 하고 있다. 땅콩 飼料에서 최초로 발견되었던 aflatoxin B_1은 그 후 全世界的으로 각종 農産物을 비롯한 食品과 飼料 等에서 다양하게 분리, 보고[7-10]되고 있으며, 이러한 사실은 農産物에 있어서 aflatoxin 汚染의 管理뿐만 아니라 食量의 生産으로부터 消費에 이르는 全過程에서의 감시가 필요함을 강조하게 되었다.

農産物에 있어서 aflatoxin과 aflatoxin 生成 곰팡이의 汚染을 收穫 前 단계에서부터 調査 및 차단하기 위한 目的으로 행해진 硏究들에서는 특히 해충의 피해 정도, field-drying, 곡식 낟알의 수분 함량 또는 汚染 時期 및 농도 등과 관련하여 aflatoxin 生成 및 蓄積[11-17]을 탐구하였다. 한편 aflatoxin을 비롯한 mycotoxin 生成 곰팡이의 植物体에서의 生長과 관련하여 營養物質의 소모 및 利用 등을 관찰하여야 할 필요가 있겠으나 이에 관하여는 硏究가 미진한 편이다. 本 硏究는 收穫 前 農産物에서 aflatoxin 및 그 生成 곰팡이가 오염되었을 때 植物体의 生長 및 成熟에 미치는 影響, 그리고 營養成分의 소모 여부 또는 成分 組成에 미치는 影響 등을 조사하고자

Received for publication 25 November, 1991
Reprint request: Dr. Y.W. Lee at the above address

하였다.

材料 및 方法

벼의 品種 및 圃場 栽培－실험을 위한 벼 品種으로서 統一型의 青青벼와 一般型의 秋青벼를 선정하였으며 1990년 5월부터 9월까지 영남지방의 圃場에서 栽培를 실시하였다. 施肥와 기타 管理는 경상남도 농촌진흥원 標準 栽培法[18] 및 常法[19]에 준하였다. 5월 26일 圃場에 모내기를 하여 재배하면서 乳熟期에 aflatoxin B_1 표준물질 1 μg 또는 10 μg을 벼의 줄기 하부에, 그리고 *Asp. flavus* 胞子현탁액(10^6 conidia/ml)을 낟알에 각각 처리하였다. 統一벼는 9월 15일, 一般벼는 9월 22일에 각각 수확하여 탈곡하였다.

登熟率 및 100粒重 測定－圃場에서 수확된 벼에서 數量 構成要素中 登熟率과 100粒重을 측정하였다. 登熟率은 總 穎花數, 즉 이삭에 붙어 있는 總粒數에 대한 충실히 여문 登熟粒數의 比를 퍼센트로 나타내었고, 平均 100粒重은 登熟粒을 임의로 100개씩 취하여 그 重量을 측정, 平均値를 구하였다.

一般 成分 및 脂肪酸 成分－圃場에서 수확된 登熟粒을 도정하여 현미의 水分, 灰分, 粗蛋白質, 粗脂肪 및 炭水化物의 含量을 측정하였고, 脂肪酸을 분석하였다.

水分은 건조기(Advantec, FS-620, Japan)에서 105℃로 건조한 후 恒量을 측정하였고, 灰分은 회화로(제일과학)에서 600℃로 회화한 후 恒量을 측정하였다. 粗蛋白質은 Semimicro Kjeldahl 장치(Büchi, 322, 342, Switzerland)를 사용하여 황산 20 ml로써 추출하였으며, 粗脂肪은 soxhlet추출기(Büchi, 810, Switzerland)를 사용하여 ethylether로써 추출하였다. 以上의 含量을 제외한 나머지를 炭水化物로 하였다.

脂肪酸의 分析은 AOAC법[20]에 준하였다. 즉, 試料 1.0g을 냉각기가 부착된 100 ml round bottom flask에 취한 후 0.5 N NaOH methanol용액 15 ml를 첨가하고 10분동안 수용액상에서 가열하였다. 방냉한 후 14% BF_3 methanol용액 10 ml를 가하여 10분동안 가열하고, 다시 방냉하였다. 여기에 n-hexane 5 ml를 첨가하여 5분동안 가열한 후 방냉하고 포화식염수로 100 ml가 되도록 정용한 후 n-hexane層을 취해 無水 Na_2SO_4로 탈수시킨 다음 gas chromatograph(G.C., Hewlett Packard, HP 5890A, U.S.A.)로 분석하였다. 이 때의 GC 分析條件은 Table 1과 같다.

Table 1. GC condition for fatty acids analysis

Items	Conditions
Instrument	Hewlett Packard 5890A
Column	15% DEGS, glass 2 m×3 mm ID
Detector	Flame Ionization Detector
Column temp.	175℃
Detector temp.	250℃
Injection temp.	230℃
Carrier gas	N_2, 40 ml/min.
Chart speed	5 mm/min

結果 및 考察

登熟率 및 100粒重－Aflatoxin 및 *Asp. flavus*의 汚染이 벼의 成熟에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 青青벼와 秋青벼의 乳熟期에 aflatoxin B_1 10 μg과 *Asp. flavus* 胞子 현탁액(10^6 conidia/ml)을 처리하고

Table 2. Kernel development of rice plant inoculated with aflatoxin B_1[1]

Inoculum size(μg)	Ripening rate(%)		100-grain weight(g)	
	Cheong-cheong	Chuch-eong	Cheong-cheong	Chuch-eong
0	88.1± 1.4	83.2± 1.9	2.6± 0.1	2.3± 0.1
10	85.8± 2.4	72.9± 4.4	2.5± 0.1	2.1± 0.1

[1] Aflatoxin B_1 was injected into stem by syringe at milk stage.
All values represent Mean± S.E.

Table 3. Kernel development of rice plant inoculated with *Asp. flavus*[1]

Inoculum size (conidia/ml)	Ripening rate(%)		100-grain weight(g)	
	Cheong-cheong	Chuch-eong	Cheong-cheong	Chuch-eong
Control	88.1± 1.4	83.2± 1.9	2.6± 0.1	2.3± 0.1
10^6	85.9± 1.7	79.6± 3.8	2.6± 0.1	2.2± 0.1

[1] Spore suspension of *Asp. flavus* was inoculated on kernel by brush at milk stage.
All values represent Mean± S.E.

Table 4. Nutrient composition of unpolished rice inoculated with aflatoxin B_1[1,2]

Cultivar	Inoculum size(μg)	Moisture content(%)	Crude ash(g)	Crude protein(g)	Crude fat(g)	Carbohydrate (g)
Cheongcheong	0	10.7± 0.1	1.9± 0.1	8.9± 0.1	2.5± 0.2	76.1± 0.2
	1	11.1± 0.1	1.8± 0.1	7.8± 0.1	2.3± 0.1	77.1± 0.1
	10	11.2± 0.1	1.9± 0.1	8.9± 0.2	2.3± 0.2	75.8± 0.3
Chucheong	0	10.8± 0.1	1.7± 0.1	8.3± 0.2	2.4± 0.1	76.9± 0.1
	1	11.2± 0.1	2.0± 0.2	8.4± 0.1	2.4± 0.1	76.1± 0.1
	10	10.9± 0.1	1.8± 0.1	9.1± 0.1	2.3± 0.1	76.1± 0.2

[1] Aflatoxin B_1 was injected into stem by syringe at milk stage.
[2] per 100g edible portion
All values represent Mean± S.E.

Table 5. Nutrient composition of unpolished rice inoculated with *Asp. flavus*[1,2]

Cultivar	Inoculum (conidia/ml)	Moisture content(%)	Crude ash(g)	Crude protein(g)	Crude fat(g)	Carbohydrate (g)
Cheongcheong	Control	10.7± 0.1	1.9± 0.1	8.9± 0.1	2.5± 0.2	76.1± 0.2
	10^6	11.3± 0.1	1.7± 0.1	8.8± 0.2	2.7± 0.2	75.5± 0.3
Chucheong	Control	10.8± 0.1	1.7± 0.1	8.3± 0.2	2.4± 0.1	76.9± 0.1
	10^6	10.7± 0.1	1.9± 0.1	8.5± 0.2	2.9± 0.1	76.1± 0.4

[1] Spore suspension of *Asp. flavus* was inoculated on kernel by brush at milk stage.
[2] per 100g edible portion
All values represent Mean± S.E.

收穫 後 數量 構成要素中 登熟率과 100粒重을 측정한 結果는 Table 2 및 Table 3과 같다. Aflatoxin B_1 處理時 두 品種 모두 100粒重은 對照群에 비하여 작게 나타났으나 유의한 차이를 보이지는 않았고, 登熟率에 있어서는 秋青벼의 處理群이 對照群보다 낮게 나타났으며($p<0.05$), *Asp. flavus* 處理時에는 100粒重과 登熟率이 處理群에서 對照群보다 비슷하거나 낮은 경향을 나타내었으나 유의한 차이를 보이지는 않았다.

한편 Hart 等[11]은 밀을 온실에서 재배하면서 *Gibberella zeae* 胞子 현탁액(10^6 conidia/ml)을 처리하여 收穫 後 100粒重을 측정한 結果, 낟알이 여물기 前에 일찍 처리한 群일수록, 그리고 처리 후 덮개를 씌워 놓은 시간이 길수록 100粒重은 감소하였고 밭에서 직접 재배한 밀에서도 역시 胞子 현탁액 처리 후 덮개를 씌워 놓은 시간이 길수록 100粒重이 감소하였다고 보고하였다. 또한 Lillehoj 等[12]은 옥수수에 *Asp. flavus* 胞子 현탁액(10^7 conidia/ml)을 접종하여 재배한 結果, 수확된 낟알의 重量이 對照群에 비하여 작게 나타났다고 보고하여, 本 實驗의 結果와 비교적 일치하였으며 aflatoxin 처리에 관한 實驗結果는 實驗例를 찾지 못하여 비교하지 못하였다. 그러나 以上의 結果들로 볼 때 aflatoxin 또는 그 生成 菌株의 汚染時 벼를 비롯한 植物體의 成熟에 影響을 미칠 수 있는 것으로 생각되며 이에 대하여 앞으로의 硏究가 기대된다.

쌀의 一般 成分 및 脂肪酸 組成－Aflatoxin 및 *Asp. flavus*의 汚染이 쌀의 成分에 미치는 影響을 관찰하기 위하여 青青벼와 秋青벼의 乳熟期에 aflatoxin B_1 1 μg과 10 μg, 그리고 *Asp. flavus* 胞子 현탁액(10^6 conidia/ml)을 처리하고 收穫 後 登熟粒에 있어서 현미의 一般 成分과 脂肪酸을 분석한 結果는 Table 4, 5 및 Fig. 1과 같다. Table 4에서 보는 바와 같이 aflatoxin 處理群의 경우 우리나라 쌀(玄米)의 一般 成分 含量,[21] 즉 水分 11.0%, 灰分 1.2g, 蛋白質 7.2g, 脂質 2.5g 및 炭水化物 78.1g/100g과 成分別로 수

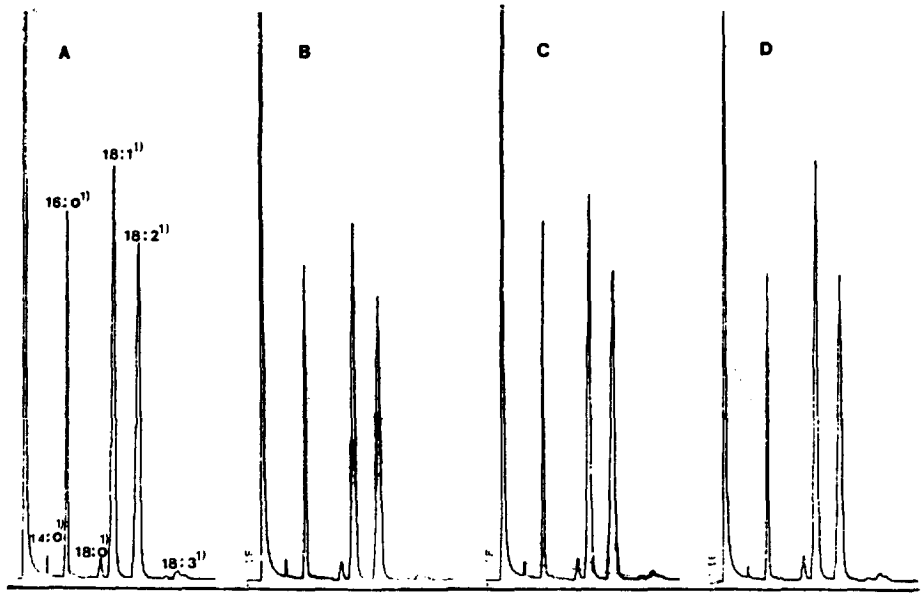

Fig. 1. GC chromatogram of fatty acids of unpolished rice. A, control; B, 1 μg of aflatoxin B_1 was injected into stem at milk stage; C, 10 μg of aflatoxin B_1 was injected into stem at milk stage; D, spore suspension of *Asp. flavus*(10^6 conidia/ml) was inoculated on kernel by brush at milk stage.
[1)] represents number of carbon atoms and number of double bonds.

치상의 차이를 보이기는 하였으나 큰 차이가 없었고, 處理群과 對照群 사이에서도 뚜렷한 차이를 볼 수 없었다. 또한 *Asp. flavus* 處理群의 경우 두 品種에서 모두 炭水化物의 含量이 약간 적은 것 이외에는 두드러진 傾向을 발견할 수 없었다. 한편 쌀의 脂肪酸 組成은 秋靑벼의 경우 Fig. 1에서 보는 바와 같이 對照群에서 C14 : 0, C16 : 0, C18 : 0, C18 : 1, C18 : 2 및 C18 : 3의 比가 0.7, 18.6, 39.9, 37.7 및 1.4인 것에 비하여 aflatoxin 處理群에서는 그 組成比가 거의 동일하게 나타났으며 *Asp. flavus* 處理群에서는 수치상 약간의 차이만을 보였다. 靑靑벼의 경우 對照群에서 각 脂肪酸의 比가 0.9, 21.1, 1.8, 39.7, 33.8 및 1.6인 것에 비하여 處理群別로 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

植物體에 aflatoxin이나 그 生成 菌株가 오염되었을 경우 그 成分에 미치는 影響에 관해서는 比較資料를 찾지 못하였다. 그러나 위와 같은 結果로 미루어 微量의 aflatoxin이 穀類에 오염될 경우 植物體 자체의 生育에는 큰 影響을 주는 것 같지 않으나 직접 곰팡이에 오염된 穀粒의 경우 착생된 곰팡이의 成長 및 生育에 요구되는 炭水化物의 이용과 다른 成分의 消耗를 가정할 수 있겠다. 本 實驗에서의 경우 處理群이나 對照群 모두 완전한 낟알을 모아 試料로 사용하였으므로 成分間의 큰 차이를 관찰할 수 없었던 것으로 생각되었다.

국문요약

圃場에서 統一型의 靑靑벼와 一般型의 秋靑벼를 재배하여 aflatoxin 및 *Asp. flavus*의 處理가 벼의 成熟과 쌀의 成分에 미치는 영향을 조사하였다. 乳熟期에 1 μg 및 10 μg의 aflatoxin B_1과 *Asp. flavus* 포자현탁액(10^6 conidia/ml)을 각각 처리하고 收穫 後 登熟率과 100粒重을 측정하였으며, 登熟粒의 현미중 一般 成分 및 脂肪酸 組成을 분석하였다. 處理群의 登熟率과 100粒重은 對照群에 비하여 낮거나 작은 경향을 보였으며 현미의 水分, 灰分, 蛋白質, 脂質 및 炭化化物 含量과 脂肪酸 組成은 對照群에 비하여 뚜렷한 차이가 없었다.

참고문헌

1. Smith, J.E. and Moss, M.O.: Mycotoxins, formation, analysis and significance. John Wiley & Sons, Chichester, 1985, pp 3-103.
2. WHO: Mycotoxins, Environmental health criteria, 11. World Health Organization, Geneva, 1979.
3. 李容旭, 鄭英彩, 申光淳, 辛孝善: 最新 食品衛生學, 改訂增補. 新光出版社. 서울, 1989, pp. 171-188.
4. Patterson, D.S.P. *et al.*: Aflatoxin and related compounds. In: Wyllie, T.D. and Morehouse, L.G. (eds), Mycotoxigenic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses; an encyclopedic handbook. Marcel Dekker, New York, 1977, pp. 131-233.
5. Concon, J.M.: Food toxicology, Part B. Marcel Dekker, New York, 1988, pp. 677-770.
6. Wilson, B.J.: Hazards of mycotoxins of public health, *J. Food Prot.*, **41**(5), 375-384 (1978).
7. Strzelecki, E.L., Gasiorowska, U., Gorazdowska, M., Cader-Strzelcka, B. and Pawlczak, M.: Levels of aflatoxin B_1, bacteria and fungi in feed and food in 1971-1987. *Mycotoxin Res.*, **4**(2), 89-96 (1988).
8. Hag Elamin, N.H., Abdel-Rahim, A.M. and Khalid, A.E.: Aflatoxin contamination of groundnuts in Sudan. *Mycopathologia,* **104**, 25-31 (1988).
9. Chulze, S. *et al.*: Incidence of aflatoxin, zearalenone and deoxynivalenol on corn in Argentina. *Mycotoxin Res.*, **5**(1), 9-12 (1989).
10. Wood, G.E.: Aflatoxins in domestic and imported food and feeds. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **72**(4), 543-548 (1989).
11. Hart, L.P., Pestka, J.J. and Liu, M.-T.: Effect of kernel development and wet periods on production of deoxynivalenol in wheat infected with *Gibberella zeae. Postharvest Pathol. and Mycotoxins,* **74**(12), 1415-1418 (1984).
12. Lillehoj, E.B., Calvert, O.H., Kwolek, W.F. and Zuber, M.S.: Aflatoxin variation among corn samples with varying ratios of *Aspergillus falvus*-inoculated/noninoculated kernels. *J. Assoc. Anal. Chem.*, **62**(5), 1083-1086 (1979).
13. Widstrom, N.W., Wilson, D.M. and McMillan, W. W.: Aflatoxin contamination of preharvest corn as influence by timing and method of inoculation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**(2), 249-251 (1981).
14. Lillehoj, E.B., *et al.*: Aflatoxin contamination of preharvest corn: Role of *Aspergillus flavus* inoculum and insect damage. *Cereal Chem.*, **57**(4), 255-257 (1980).
15. Lee, L.S., Klich, M.A., Cotty, P.J. and Zeringue, H.J. Jr.: Aflatoxin in Arizona cottonseed: Increase in toxin formation during field drying of balls. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**, 416-420 (1989).
16. Sharma, A., Behere, A.G., Padwal-Desal, S.R. and Nadkarni, G.B.: Influence of inoculum size of *Aspergillus parasiticus* spores on aflatoxin production. *Appl. Environ. Microbiol.*, **40**(6), 989-993 (1980).
17. Payne, G.A. and Hagler, W.M. Jr.: Aflatoxin accumulation of inoculated ears of field-grown maize. *Plant Dis.*, **72**(5), 422-424 (1988).
18 慶尙南道 農村振興院: 食糧作物技術經營教本. 1988.
19. 李殷雄 外: 水稻作, 四訂. 鄕文社. 서울. 1990.
20. A.O.A.C.: Official methods of analysis. 15th ed., 1990.
21. 농촌진흥청 농촌영양개선연수원: 식품성분표, 제 3 개정판. 1986.