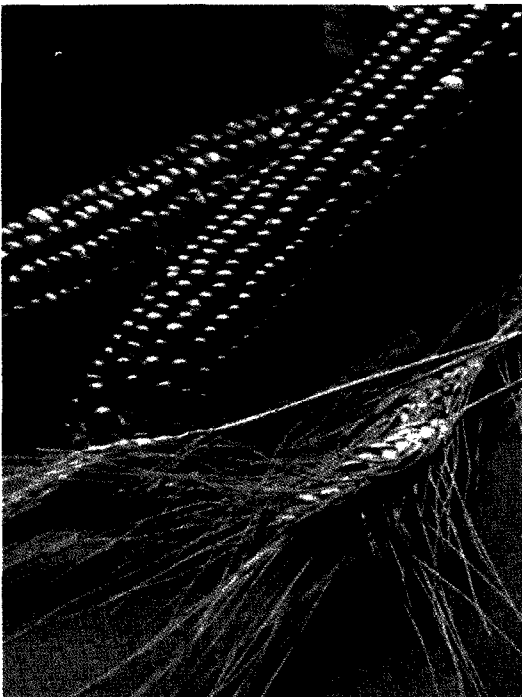


옥수수내의 곰팡이 독소에 관하여

전국대학교 축산대학
교수 윤 화 중



■ 서 론

곰팡이에 관한 동물의 피해는 크게 두 가지로 나누어 생각할 수 있다.

하나는 직접 곰팡이가 동물체의 장기에 침입하여 기생함으로서 가해지는 조직세포의 피해로 *Aspergillus Fumigatus*의 병아리 폐염이 그 좋은 예라 할 수 있으며, 또 하나는 곰팡이가 생성한 독소가 동물체내에 들어가 조직세포를 파괴하거나, 이상세포가 증식 되도록 자극하는 경우로, *Aspergillus flavus*의 Aflatoxins이 간조직을 파괴하거나 간종양을 발생시키는 것이 그 좋은 예라 할 수 있다. 전자의 경우도 1980년대에 이미 발견되어 수의학에서는 잘 알려져오고 있으나, 최근 인의계에서는 또 하나의 불치의 질병으로 알려져 큰 관심사로 대두되고 있다. 즉 폐결핵으로 확진 되었음에도 불구하고 치료되지 않는 환자들로부터 많은 종류의 곰팡이가 분리되고 있다는 사실이다. 그러나 더 큰 곰팡이 문제는 우리가 섭취하는 음식물과 가축이 섭취하는 사료내에 곰팡이가 기생하여 생성하는 곰팡이 독소가 사람과 동물들에서 간을 비롯한 각 장기에서 많은 피해를 일으킨다는 것이다.

곰팡이 독소가 세계적으로 문제시 된것은 1960년 영국의 칠면조 농장에서 수십만 마리 씩 새끼 칠면조들이 죽어 나가자 그 원인을 알 수 없게 되어 Turkey-X disease라 명명된때부터 시작되었다. 당황한 연구진들은 세계적인 유대관계를 수립하여 그 원인 조사에 착수한 결과 *Aspergillus flavus*가 생성하는 Aflatoxin이 그 원인임을 밝혀내게 되었으며, 문제의 곰팡이 사료는 케냐에서 수입된 땅콩이라는 사실도 알게 되었다.

그 후 많은 연구가 진행되어 1965년과 1966년에는 Aflatoxin에 B₁(Blue₁), B₂, G₁(Green₁), G₂, M₁(Milk₁) 및 M₂가 있으며, 가장 독성이 강한 것은 Aflatoxin B₁이고 그 다음이 G₁이며,

다른것들은 그다지 큰 피해를 일으키지 않는 것으로 알려졌다.

이러한 문헌소개가 세계적으로 알려지자 우리나라에서는 1968년 Dr. Crane이라는 외과의사가 전주에 있는 예수병원에 근무하던 중 한국인이 많은 암을 가지고 있으며, 그 원인이 발효식품인 메주를 섭취하기 때문이라고 미국외과학회지에 보고함으로써 부터 사람들의 관심을 더욱 집중케 하였다. 1970년 부터 건국대학교에 근무하시던 고 이배함박사님께서는 전국적으로 메주를 수집하여 곰팡이의 종류를 분류하고, 그 곰팡이들로부터 생성되는 독소들을 추출분석한 결과 *Aspergillus Flavus*라는 곰팡이가 주종을 이루었으며, 그중 Aflatoxin B₁과 G₁을 생성하는 균주를 보관 이용하여 이 분야의 연구에 큰 공헌을 하였다. 또한 필자는 그 Aflatoxin B₁과 G₁을 오리병아리에 투여하여 급성적인 괴사병변과 장기간 투여에 의한 담즙관상피 세포로 인한 간암발생에 관한 연구에서 그 독성을 입증하게 되었다.

계속되는 연구에서, 지금까지 곰팡이 독소의 대표인 Aflatoxins만 하여도 B₁, B₂, G₂, B₂A, B₃, G₂A, GM₁, GM₂, M₁, M₂, P₁, Q₁, RB₁, RB₂ 및 Ro 등 많은 종류가 발견되었으며 Citrinin, Sterigmatocystin, Ochratoxin A, Rubratoxin A와 B, Patulin, Penicillic acid, Earabeneone 및 Verrucaric acid와 Roridin A 등 수십종의 곰팡이 독소가 추출소개 되었다. 이러한 독소들의 대부분은 유해한 것들이다. 또한 200,000종의 곰팡이 가운데 많은 종류들은 발효식품등에 이용되어 유익한 것들이나, 50~60종은 동물들에 독성이 있거나 유해한 질병을 일으키는 것으로 알려졌다.

우리나라의 기후조건을 살펴보면, 하절기를 중심으로 춘추의 기온은 27°C 이상의 온도로 곰팡이가 서식하기에 가장 알맞은 조건이며, 습도도 14.5% 이상으로 곰팡이 성장에 좋은 조건을 갖추었을 뿐만 아니라, 그 저장법과 수송수단 등에 있어서, 곰팡이가 자라기에 대단히 적합한 실정이다. 뿐만 아니라 우리나라와 같이 땅이 협소하고 농작물의 수확량이 적은 나라에서도 세계적인 선진국의 식생활을 따라가자니 자

연 주곡 위주의 농업방식에서 축산을 주축으로 하는 유축농업으로 그 형태가 바뀌어지지 않을 수 없는 실정이다. 그러나 충분한 사료생산을 하지 못하는 우리 형편에 자연 외국으로부터 사료의 원료를 수입하지 않을 수 없는 사정이다. 그런데 이와 같이 수입되는 사료의 원료는 현지에서 생산할때 부터 이미 곰팡이의 포자가 감염된 것이 상당량에 달하며, 계속되는 수송과정과 수년간의 보관 실태의 허점 및 도입 후 우리나라에 도착된 다음 가공분배 되기까지의 과정과 시간등 제반조건이 곰팡이의 기생과 번식 기회를 피한다는 것은 극히 어려운 문제라 하지 않을 수 없다.

특히 우리나라에서 최근에 많은 물의를 일으키고 있는 불량사료의 중론은 마치 암적존재로 대두되고 있는 바이다.

젖소의 비유량 저하 및 축체의 이상현상, 간 질환의 빈발 및 도살후의 많은 농양현상, 돼지의 도살후 폐기조직의 증가 및 원인불명의 질병과 폐사등 확진되지 못하는 질병들이 날로 늘어감에 따라 억측은 구구한 실태이다. 필자는 이와 같이 원인불명의 이상 실태의 원인을 규명해 보려는 일환책으로 우리나라에 보관되고 있는 사료중 특히 옥수수를 중심으로 곰팡이의 감염 실태와 주종을 이루고 있는 곰팡이의 종류 및 그들이 생성하는 독소의 종류와 그 독성을 규명코저 1979년부터 1980년에 걸쳐 연구한 결과 몇 가지 사실이 밝혀졌기에 수의사 여러분들과 같이 알고저 하는 바이다.

연구에 이용된 재료 및 연구방법

전국적으로 보관되어 있는 옥수수를 채취하여, 27°C의 부란기에서 14.5% 이상의 수분이 존재토록 하여 곰팡이를 배양하면서 주종을 이루고 있는 곰팡이로 부터 사부로드배지, 감자배지 및 차팩배지 등에 다시 접종배양하여 육안적 조건에 의한 형태와 색깔 등으로 구분하여 분류하고, 시간적차이에 의한 성장형태에 의하여 규명되었다. 또한 배지별로 시차에 따라 현미경적으로 관찰하여 그 분생포자병, 경자, 분생포자 및 정낭등의 형태와 크기에 의하여 곰팡이의 종류를 구별토록 하였다.

배양시간에 따라 배양중의 곰팡이로 부터 독소를 추출하여 독소의 종류를 규명하고, 주종을 이루는 독소를 택하여 순수분리 하였다. 그 성상을 알고자 TLC에 점적전개하여 Rf치를 관측하고, Cary 17D라는 UV Spectrophotometer에 의하여 그 흡광도에 따른 성질을 관찰하였으며 표준품이 있는 독소는 그 표준품과 비교규명하고, 표준품이 없는 독소는 Aflatorin중 제일 유사한 것과 비교규명 하였다.

독소의 독성을 규명하기 위하여 동물 실험을 수행하였는데 일반적으로 곰팡이 독소에 가장 감수성이 강한 실험동물의 하나로 알려진 부화 후 2-3일된 오리병아리를 실험동물로 택하였다. 독소의 투여량을 측정하기 위하여 유사한 표준품이나 같은 종류의 표준품을 택하여 그 검량선에 일치시켜서 독소량을 측정토록 하였다. 투여량은 오리병아리의 중량에 차이없이 동일하게 1 μ g, 5 μ g 및 10 μ g군으로 구분하여 10일간 계량관찰 하였다. 실험도중 폐사하는 것은 즉시 계량한 후 부검하여 병변부를 조사하고, 병소의 주발생장기인 간을 계량하여 10% formalin에 고정하였으며, 고정된 간조직은 3~5 μ m의 두께로 잘라 헤마톡실린과 이오신염색을 하여 관찰하였다. 또한 세포의 소기관들을 관찰하기 위하여 도살후 곧 1%OSO₄(Phosphate buffer; PH7.4) 용액에서 온도 0~4 $^{\circ}$ C를 유지하면서 2시간동안 고정했다. 고정된 간장 표본들은 Ethanol ascending series로 탈수하여 Propylene Oxide로 청결히 했다.

그다음 Epon812를 사용하여 Epoxy resin(Luft1961)으로 포매하여 glass knife를 이용 Sorvall MT-2 B ultramicrotome으로 600A $^{\circ}$ 두께로 잘라 얇은 절편을 만들었다. Saturated uranyl acetate와 Lead citrate(Reynalds 1963)로 염색하여 Hitachi Hu-11E type 전자현미경을 이용 10,400~40,000배의 비율로 관찰하였다.

또한 곰팡이의 발육억제와 독소생산능력의 저하를 위한 실험을 위하여 AGresearch, Inc 회사의 Mold-X를 이용하였다. Mold-X는 옥수수 1kg당 0.1g, 0.5g 및 1g의 3군으로 구분하여 시험하고, 곰팡이 발육억제시험과 독소생

산 능력의 저하시험을 시행하였다.

연구결과 및 고찰

우리나라에 있는 옥수수를 전국적으로 수집하여 주종을 이루고 있는 곰팡이들을 분리한 결과 *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. ceryzae*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigatas*, *A. candidus*, *A. nidulans* 및 *A. glaucus*와 같은 *Aspergillus*속이 우세하였으며, *penicillium*속의 곰팡이 종류도 많이 분리 되었다.

이러한 곰팡이들 중에서 *Aspergillus Versicolor*를 중심으로 *A. flavus*와 *A. arylae*와 같은 곰팡이들은 *Sterigmatocystin*이란 독소를 주로 생성하였으며, 또한 *A. flavus*; *A. parasiticus* 및 *A. oryzae*와 같은 곰팡이들은 *Sterigmatocystin*외에 *Oblatoxin B₁*을 생성하기도 하였고, 미량이지만 *ablatoxin B₂*도 생성하였다. 그러나 *aflatoxin G₁*과 *G₂*는 전연 생성되지 않았다. 그 외에도 아직 동정되지 않은 수종의 독소들이 생성되어 보관중에 있으며, 이러한 사실들은 흥미로운 시험결과라 할 수 있으며, 빠른 시일내에 이들이 동정되도록 물리적 및 화학적 성상을 규명하고, 독성을 검사하며, 분해시험과 독량측정을 완성하려고 활발한 연구활동이 진행중에 있다.

생성된 *Sterigmatocystin*은 황색의 독소로 외국의 문헌에 소개되기는 하였으나, 그렇게 큰 비중을 차지하지 않는 곰팡이 독소로 독성도 *aflatoxin B₁*의 1/80정도로 대단히 약하다고 보고 되었다. 그런데 우리나라에 보관되어 있는 옥수수에 기생하고 있는 곰팡이들이 생성하는 독소는 *Sterigmatocystin*이 주종의 곰팡이 독소였으며, 또한 그 독성도 동물실험에 의하여 대단히 강하다는 사실을 알게 되었다. 더욱이 흥미로운 것은 아직까지 보고된바 있는 사실로 *Sterigmatocystin*이 상하로 두개의 스파트가 분리된 점이다. 이러한 소견은 *Sterigmatocystin Cystin*도 1과2가 존재 한다는 사실이 밝혀진 셈이다.

이렇게 발견된 *Sterigmatocystin*의 독성을 규명하기 위하여 오리병아리에게 투여한 동물 시험에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

Sterigmatocystin은 TLC 상의 점적전개 된 Rf치에서 다른 어느 곰팡이 독소 보다도 높게 위치하였으며, Carry17D의 U. V. Spectrophorometer에 의한 흡광도는 상하로 분리된 스팟들이 각기 aflatoxin G₁과 G₂에 유사하였다. 그리하여 실험동물에 사용된 독소의 양을 측정하는데도 Sterigmatocystin의 표준품을 구하지 못하였으므로 aflatoxin G₁과 G₂에 기준하여 검량선을 선정하고 정량하였다.

이렇게 정량된 Sterigmatocystin을 1 μ g, 5 μ g 및 10 μ g씩 투여하는 시험군으로 나누어 시험을 수행하였다. 임상적으로 시험기간동안 관찰한 결과로는 aflatoxin이나 다른 곰팡이독소들을 투여 하였을때와 비슷하게 식욕감퇴, 원기상실, 설사, 체중감소 및 영양불량등의 증상이 공통적으로 나타났다.

부검소견으로는 삼출성 복수가 나타나는 것도 약간 있었으며, 신장과 장에 출혈점이 나타났다. 특징적인 병변은 간장에 충혈이나 출혈만이 뚜렷하게 나타났으며, 변성과 괴사반이 소상으로 나타난 것이었다.

병리조직학적 소견으로는 Sterigmatocystin 5 μ g을 투여한 오리병아리의 간에서 지방변성, 간실질세포의 괴사, 충혈과 출혈등의 소견이 나타났으며, 특히 특기 할 수 있는 특징적인 병변은 섬유아세포의 증식이라 할 수 있었다.

Sterigmatocystin 1 μ g을 투여한 오리병아리의 간장에서는 간세포의 세포소기관들인 핵막의 굴곡, 핵내 염색질의 농염, 사립체의 형태변화 및 상실, 내형질세망의 형태변화 및 ribosomes의 소실등이 나타났고, 지방변성과 당원변성등이 뚜렷하였다.

Aflatoxin이 장기적으로 투여될 때 다른 곰팡이 독소들이 투여되어 나타나는 병변소견과 같이 공통적으로 나타나는 일반적인 소견외에 고유한 특징적 소견이라 하면, 담즙관 상피세포의 증식이라 할 수 있는데 반하여, Sterigmatocystin의 특징적 소견이라 하면 섬유아세포의 증식이라 할 수 있었다.

이와 같이 중요시 되고 있는 곰팡이의 피해를 줄이는 방법으로 몇가지 고안된 점으로는 다음과 같은 방법을 생각하였다.

1) 곰팡이가 기생되지 않은 사료를 동물들에게 급여하는 것.

(2) 부득이 급여하게 될 경우라도 품질이 좋은 사료에 절반량 이하로 혼합하여 급여하는것.

3) 이미 곰팡이가 기생된 사료는 곰팡이 분해제를 적용하는 것.

비곰팡이가 자라지 못하도록 곰팡이 발육 억제제를 사용하는 것 등이다.

곰팡이의 발육 억제제 및 독소분해제로는 널리 보급되고 있는 Mold-X가 현재 우리나라에서 입수할 수 있는 곰팡이 발육억제제이기 때문에 시험에 이용하였다. 옥수수 1kg당 0.1g, 0.5g 및 1g의 시험군으로 구분하여 시험한 결과 0.5g의 Mold-X를 혼합한 군에서는 Aspergillus뿐만 아니라 Penicillium을 비롯한 각종 곰팡이들이 발육되지 않았으며, 의심되는 시험군은 독소를 추출하여 그 양을 측정할 바 Aflatoxin B₁에 대비된 검량에서 Sterigmatocystin은 0.5ppm에 달하는 것이 없었다.

■ 결 론

시험에서 얻어진 성적을 요약하여 보면 다음과 같다.

1. 현재 우리나라에 있는 옥수수에서 분리된 곰팡이의 종류는 Aspergillus Flavus, A. parasiticus, A. versicolor, 및 A. oryzae와 Penicillium속이 주종을 이루고 있었다.

2. 곰팡이 독소는 Sterigmatocystin이 주종을 이루고 있으며, 약간의 aflatoxin B₁도 추출되었다.

3. Sterigmatocystin의 특징적인 병리조직학적 소견은 aflatoxin이 담즙관상피세포의 증식인데 반하여 섬유아세포의 증식인 점이었다.

4. 항곰팡이 제제로는 Mold-X를 사용하여 좋은 성과를 거두었으며, 독소의 분해력도 대단히 좋은 성적을 나타냈다.