

한국산 곡류에서의 곰팡이독소 오염현황 및 동시분석

김동호 · 장한섭 · 최규일 · 김현정 · 김호진 · 김효린 · 조현정 · 이 찬^{1*}
국립농산물품질관리원, ¹중앙대학교

Occurrence of Mycotoxins in Korean Grains and Their Simultaneous Analysis

Dong-Ho Kim, Han-Sub Jang, Gyu-Il Choi, Hyun-Jung Kim, Ho-Jin Kim,
Hyo-Lin Kim, Hyun-Jung Cho, and Chan Lee^{1*}

National Agricultural Products Quality Management Service
¹Chung-Ang University

Abstract Eleven mycotoxins, including aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, zearalenone, T-2 toxin, deoxynivalenol, and HT-2 toxin, were analyzed simultaneously in rice, barley, and maize produced in 2011 by liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry (LC/MS/MS). Limits of detection (LOD) are 0.2 µg/kg for aflatoxin B₁, and G₁, 0.3 µg/kg for aflatoxins B₂, and G₂, 0.1 µg/kg for ochratoxin, fumonisins, zearalenone, and T-2 toxin and 3.0 µg/kg for deoxynivalenol and HT-2 toxin. Limits of quantification (LOQ) were 0.6 µg/kg for aflatoxins B₁, and G₁, 0.9 µg/kg for aflatoxins B₂, and G₂, 0.3 µg/kg for ochratoxin, fumonisins, zearalenone, and T-2 toxin and 10.0 µg/kg for deoxynivalenol and HT-2 toxin. Recoveries for 11 mycotoxins ranged from 70.45 to 111.11%. Fumonisin, deoxynivalenol, and zearalenone were detected from 0.9 to 334.0 µg/kg in the polished rice, barley and raw corn cultivated in Korea. Other mycotoxins were not detected. Deoxynivalenol contamination was mainly found in barley (24 out of 43 samples) and the average value in positive samples was 113.30 µg/kg.

Keywords: mycotoxins, simultaneous analysis, rice, barley, corn

서 론

아플라톡신(aflatoxin, AF), 오크라톡신(ochratoxin, OT), 푸모니신(fumonisin) 등의 곰팡이독소(mycotoxin)는 곰팡이에 의하여 생성되는 2차 대사산물이며, 지금까지 400여 종이 알려져 있다(1-3). 아플라톡신은 *Aspergillus flavus*, *Asp. parasiticus* 같은 곰팡이에 의해 생성되며, 간독성 등을 유발하는 것으로 알려져 있으며(4), 오크라톡신은 *Asp. ochraceus*, *Asp. ostianus* 등의 *Aspergillus species*와 *Penicillium viridicatum* 같은 *Penicillium species* 곰팡이에 의해 생성되고, 신장 및 간장 독성, 면역저하 및 기형유발 등을 일으킨다(5). 한편, 푸모니신은 *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* 같은 곰팡이가 생산하며, 신장 및 간장 독성, 폐부종(pulmonary edema), 말 뇌단백연화증(equine leukoencephalomalacia) 등을 유발하는 것으로 알려져 있다(6). 푸모니신을 생산하는 *Fusarium species*는 이외에도 데옥시니발레놀(Deoxynivalenol, DON)과 제랄레논(Zearalenone, ZEN), T-2 toxin(T-2) 같은 곰팡이독소를 생산한다(6). 데옥시니발레놀과 제랄레논은 *F. graminearum*, *F. culmorum*, 그리고 *F. crookwellense* 같은 곰팡이에 의해 주로

생성되는 독소들이며, 동물들에게 사료거부(feed refusal), 면역저하(immunosuppression), 발정증후군(estrogenic syndrome) 등을 유발한다(6). T-2 toxin(T-2)은 *F. sporotrichoides*와 *F. trincitum* 같은 곰팡이에 의해 오염된 곡물에서 주로 발견되며, 피부 출혈(hemorrhage), 무백혈구증(alimentary toxic alenia) 등의 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있다(6).

국제보건기구(WHO) 산하 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)는 발암성과 관련해 곰팡이독소들을 다음과 같이 분류하고 있다. 아플라톡신은 group 1의 발암물질(carcinogenic to humans)이며(7), 오크라톡신 A(OTA)와 푸모니신 B₁, B₂(FB₁, FB₂)은 group 2B 발암가능물질(possibly carcinogenic to humans)이다(8). 한편, 제랄레논, 데옥시니발레놀, T-2 toxin은 group 3의 발암물질로 분류할 수 없는 물질(not classifiable as to its carcinogenicity to humans)로 분류되며, 위의 기준으로 곰팡이독소들의 위해성을 강조하고 있다(9). 현재 곰팡이독소의 위해평가는 곰팡이독소 개별분석을 통해 이루어지고 있으며, 세계 각국이나 국제기구들이 이 결과들을 바탕으로 곰팡이독소의 최대허용기준을 설정하여 관리하고 있다. 그렇지만 곰팡이독소 오염은 개별 독소별로 발생되지 않으며, 여러 곰팡이독소들이 동시에 오염되어 발견되는 경향이 있다. 곰팡이독소들의 동시감염은 인체나 가축의 건강에 심각한 문제가 될 수 있다. 데옥시니발레놀, 제랄레논, 푸모니신의 동시첨가가 발효 효모(brewing yeast)의 생장에 미치는 영향(10), 닭이나 병아리(broiler or broiler chick) 생육에 미치는 아플라톡신, 오크라톡신, 푸모니신, T-2 toxin, 데옥시니발레놀의 동시오염 영향(11), 아플라톡신 및 푸모니신 B₁의 동시 섭취가 돼지 생육에 미치는 상승효과연구(12,13), 혼합독소

*Corresponding author: Chan Lee, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong, Gyeonggi 456-756, Korea

Tel: 82-31-670-3035

Fax: 82-31-676-8865

E-mail: chanlee@cau.ac.kr

Received July 31, 2012; revised November 7, 2012;

accepted November 7, 2012

(combination of toxins)에 의한 세포수준의 독성 상승작용 등 곰팡이독소의 동시오염이 미치는 독성 상승효과 연구들이 보고되고 있다(14-19). 따라서, 여러 가지 독소가 인간이나 가축이 이용하는 사료나 농식품에 어떠한 양상으로 오염되어 있고, 상호작용하고 있는지 살펴보는 작업이 필수적이라 할 수 있다.

위에서 언급한 주요 곰팡이독소들을 면역친화컬럼(immunoaffinity column, IAC)을 이용하여 정제하고, HPLC를 이용하여 정량하는 분석방법이 여러 연구 및 공인분석법에서 많이 이용되고 있다. 개별 성분 분석에 있어서 이러한 분석법들은 매우 정확하고, 효율적이라고 할 수 있다. 그러나, 여러 가지 곰팡이독소를 동시에 분석하는 데에는 시간이나 비용 면에서 합리적이라고 할 수 없다. 따라서, 동시분석을 위한 많은 연구가 시도되고 있다. 곰팡이독소 항원들을 시린지(syringe)에 충전하여 동시 전처리가 가능하도록 만든 면역친화컬럼(IAC: AO, AOZ, 1/6), 다상분 전처리용 SPE(Solid Phase Extraction: BondElut, Mycosep), QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Ranged, Safe)법 등 많은 전처리법이 소개되고 있으며, 액체크로마토그래피 질량분석기(HPLC/MS/MS)를 사용한 방법들이 대중화되고 있다(20,21).

본 연구에서 아플라톡신 B₁, B₂, G₁, G₂(AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂), 오크라톡신 A, 푸모니신(B₁, B₂), 데옥시니발레놀, 제랄레논, T-2 toxin, HT-2 toxin을 한번에 정제할 수 있도록 새롭게 개발된 면역친화컬럼(1/6 column, vicam, USA)을 사용하여 LC/MS/MS로 동시 분석하는 방법을 검증하였다. 그리고 이 분석법을 이용하여 한국에서 대표적인 곡류인 쌀, 현미, 보리 및 생옥수수(raw corn)에 대하여 곰팡이독소 동시발생 실태를 조사하였다. 쌀은 전통적으로 우리나라의 주식이며, 일반적으로 10%정도 도정하여 백미(white rice, polished rice) 형태로 섭취하였으나, 근래에 들어서는 벼(unprocessed rice) 외피만을 제거한 현미(brown rice, unpolished rice) 형태 소비도 증가하고 있다. 따라서, 벼에서 발생된 곰팡이독소가 현미 내 잔존할 확률이 백미보다 높을 수 있다. 한편, 한국에서 사료 및 식품용으로 수입하고 있는 옥수수는 일반적으로 곰팡이독소 오염에 노출되기 쉽다. 따라서 옥수수에 대한 곰팡이독소 관리기준이 설정되어 있으나, 모두 건조 후의 옥수수 알곡이나 옥수수 유래 제품(corn or corn derived products)을 대상으로 한 것이다. 하지만, 한국의 경우 수확한 옥수수를 건조하지 않고 생식하는 독특한 문화를 가지고 있어 생옥수수를 통한 곰팡이독소의 섭취도 가능한 상태이다.

현재까지 한국 농산물에 대하여 11종 곰팡이독소의 오염현황을 동시에 조사한 자료는 없으며, 곰팡이독소 오염수준을 동시분석 한 사례가 없다. 이 같은 배경하에 2011년 산 벼, 쌀, 보리, 옥수수에서 11종 곰팡이독소를 동시분석 하였으며, 곰팡이독소별 오염도를 조사하였다. 이 연구결과는 한국 내 유통되는 곡류의 곰팡이독소 오염현황을 밝히는 자료이며, 국내 유통되는 식품의 안전관리를 위한 유용한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

재료 및 방법

시료

한국의 주요 곡류의 곰팡이독소 오염연구를 위하여 2011년산 벼 39점, 쌀 47점, 보리 43점, 옥수수 84점을 전국에서 수거하였다. 벼 가공단계에 따른 독소의 변화양상을 조사하기 위하여 벼 39점으로부터 외피를 제거한 현미 19점, 현미를 다시 도정한 백미 5점을 수집하였다. 보리는 시중에 유통 중에 있는 2011년산을 대상으로 하였으며, 유통중인 생옥수수 54점과 강원도와 충북지

역의 옥수수채포장에서 각각 15점씩 수거된 생옥수수를 분석 시료로 사용하였다.

시약 및 장비

곰팡이독소 추출을 위하여 Sigma(St. Louis, Mo, USA)사의 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4), Merck(Darmstadt, Germany)사의 메탄올을 사용하였다. 정제용 면역친화컬럼(immunoaffinity column)으로 Vicam(Milford, MA, USA)사의 1/6 컬럼을 사용하였으며, 전처리 장비로 왕복식 진탕기(Taitec, SR-2w, Saitamaken, Japan), 원심분리기(Hanil, Combi 514R, Incheon, Korea), 질소농축기(Interface, HyperVap HV-300, Daejeon, Korea) 등을 사용하였다. Imtakt사의 C₁₈컬럼 (150×2 mm, 3 μm, Kyoto, Japan)을 사용하여 다양한 독소를 분리하였으며, Agilent사의 HPLC (1200series)가 연결된 질량분석기(AB, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 곰팡이독소를 확인하였다.

표준물질

분석을 위해 모두 11종의 곰팡이독소 표준물질이 준비되었다. 아플라톡신(afatoxin mix, 5 mL)과 오크라톡신(5 mL)은 Biopure (Biopure, Tulln, Austria)사의 제품이며, 데옥시니발레놀 (2 mL), 푸모니신(fumonisin B₁, B₂), 제랄레논(2 mL), T-2 toxin(1 g)과 HT-2 toxin(HT-2, 2 mL)은 Sigma사에서 구입되었다. 질량분석기의 감도(sensitivity)를 위한 저장표준액(stock solution)으로 아세토니트릴(ACN)이 사용되었으며, 표준용액(working solution)을 20% 아세토니트릴로 제조하였다.

전처리

시료 20 g을 정밀히 달아 100 mL의 PBS를 넣은 후 1시간 동안 강하게 진탕하여 곰팡이독소를 추출하였다. 3000 rpm으로 원심분리 후 상층액 70 mL를 취하여 그 여과액을 곰팡이독소 분석 시액(A)으로 사용하였다. 남은 용기에 메탄올 70 mL를 추가하여 잔류 독소를 추출하였다. 동일하게 1시간 동안 강하게 진탕하였으며, 여과 후 PBS로 9:1 희석하여 시액(B)으로 사용하였다. 1/6 면역친화컬럼을 매니폴드(mani-fold)에 연결한 후 시액 B 25 mL를 천천히 흘려주었고(2-3 drops/sec), 10 mL의 PBS로 세척하였다. 다음으로 시액 A 2.5 mL를 동일한 방법으로 흘려주고, 5 mL의 DW로 세척하였다. 주사기나 감압장치를 이용하여 천천히 컬럼에 남아 있는 물을 제거 한 후 메탄올 5 mL를 이용하여 컬럼에 잔류하고 있던 모든 독소를 추출하였다. 추출한 액을 50°C 질소로 건조 하였으며 최종적으로 0.5 mL의 20% ACN에 녹여 질량 분석을 위한 시액으로 사용하였다.

표준독소분석

다양한 곰팡이독소 분리를 위해 농도구배(gradient)조건을 이용하였다(Table 1). A용액은 HPLC용 증류수이며, ACN/0.1% formic acid를 B용액으로 사용하였다(0.25 mL/min). 각 독소들의 최적 분석조건들이 서로 다르므로 동시분석 조건에서 어떤 독소들은 최적의 감도로 분석되지 않는다. 본 연구에서 positive mode로 분석이 설정된 독소들은 비교적 높은 감도로 분석될 수 있었으나 negative mode에서 감도가 좋은 데옥시니발레놀의 경우 positive mode에서 상대적으로 낮은 감도에 분석조건을 정립할 수 밖에 없었다. 제랄레논은 negative mode에서 감도가 더 좋으나 오크라톡신 피크(peak)와 분리가 어려워 positive mode에서 분석되었다. 질량분석을 위한 이온화 조건과 MRM쌍은 Table 2와 같다.

Table 1. Solvent gradient condition for LC/MS/MS analysis

Total time (min)	Flow rate (μL/min)	A (%) distilled water	B (%) ACN/0.1% formic acid
0	0	250	95
1	5	250	50
2	7	250	45
3	13	250	10
4	16	250	10
5	16.1	250	95
6	20	250	95

결과 및 고찰

독소분석을 위한 검량선 작성

각각의 독소에 대한 스펙트럼과 크로마토그램(EIC)을 Fig. 1에 나타내었으며, 이를 바탕으로 독소들의 검량선을 작성하였다. 질량분석기로 정량분석 시 검량선 작성은 HPLC 분석시보다 매우 어렵다. 이온화도(ionization) 등의 변화에 의하여 분석 초기값과 후반부값의 차이가 발생하며, matrix match, 내부표준물질(internal standard) 사용 등 여러 가지 보정방법을 이용해 오차를 줄이고 있다. 본 연구에서는 면역친화컬럼을 사용하여 효율적으로 독소를 추출하고 정제하였기 때문에 상대적으로 시료의 영향(matrix effect)이 미미하였다. 아플라톡신 B₁과 오크라톡신 A의 검량식은 각각 $y=3.39 \times 10^3 x + 2380$ 과 $y=9.72 \times 10^3 x + 56.3$ 이었으며, 결정계수(r)는 0.999과 0.9999이었다. 제랄레논과 데옥시니발레논의 검량식은 각각 $y=264x-186$ 과 $y=28.7x-94.1$ 이었으며, 결정계수(r)는

1.0000과 0.9999이었다. 푸모니신 B₁과 T-2 toxin의 검량식은 각각 $y=198x-729$ 과 $y=720x-88.7$ 이었으며, 결정계수(r)는 모두 0.9999이었다.

회수율, 정성한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

11종의 곰팡이독소가 검출되지 않은 쌀 시료에 Table 4와 같은 농도로 곰팡이독소를 인위적으로 오염시킨 후 독소들을 분석하여 회수율을 측정하였다. 70.45%로 제랄레논의 회수율이 가장 낮았으며 나머지 독소들은 79.05-111.11%의 양호한 결과를 나타내었다. 각각의 독소에 대한 회수율 및 정성, 정량한계는 Table 3과 같다.

곰팡이독소 동시 오염도 조사

시중 유통 백미 47점, 보리 43점, 생옥수수(raw corn) 54점과 강원, 충북지역의 생산단계(cultivation stage) 생옥수수 30점에 대하여 곰팡이독소 오염도 조사를 실시하였다. 조사 대상 모든 시료에서 아플라톡신, 오크라톡신 A, T-2 toxin 및 HT-2 toxin은 검출되지 않았다. 백미의 경우 푸모니신과 제랄레논이 각각 17점에서 양성으로 나타나 조사 대상 독소 중 가장 오염이 심한 것으로 나타났다. 푸모니신 B₁은 14점에서 양성으로 나타나 29.8%의 검출율을 보였으며 양성시료평균(average in positive samples) 오염도는 1.95 μg/kg이었다. ZEN은 47개 시료 중 17개에서 검출되어 36.2%의 검출율을 보였으며, 양성시료평균은 2.46 μg/kg이었다. 데옥시니발레논은 단지 3점에서 양성으로 나타났으며, 최대치는 93.10 μg/kg이었다. 따라서, 제랄레논과 푸모니신이 데옥시니발레논보다 상대적으로 높은 오염율을 보이는 것으로 나타났으며, 푸모니신과 제랄레논이 동시에 오염된 경우는 전체 47점 중 6건으로 12.8%이었다.

Table 2. MS conditions for the analysis of mycotoxins

Mycotoxin	Precursor ion	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DT (v)	DP (v)	EP (v)	CEP (v)	CE (v)	CXP (v)
AFB ₁	[M+H] ⁺	313	241	100	70	11	24	51	4
			128	100	70	11	24	89	4
AFB ₂	[M+H] ⁺	315	259	100	70	10	19	50	3
			257	100	70	10	19	50	3
AFG ₁	[M+H] ⁺	329	311	100	70	11	14	25	4
			200	100	70	10	20	50	3
AFG ₂	[M+H] ⁺	331	189	100	70	10	20	50	3
			257	100	70	11	14	47	4
OTA	[M+H] ⁺	404	239	100	41	5	18	31	4
			358	100	41	5	18	19	6
FB ₁	[M+H] ⁺	722	335	100	91	8	33	53	6
			352	100	91	8	33	43	6
FB ₂	[M+H] ⁺	706	354	100	70	9	30	45	15
			336	100	70	9	30	47	4
T-2	[M+H] ⁺	484	215	100	21	6	25	29	4
			185	100	21	6	25	31	4
ZEN	[M+H] ⁺	319	283	100	46	11	20	17	8
			187	100	46	11	20	25	4
HT-2	[M+NH ₄] ⁺	442	263	100	26	3	20	19	8
			215	100	26	3	20	19	4
DON	[M- H] ⁻	295	265	100	-40	-7.5	-14	-12	-4
			138	100	-40	-7.5	-14	-22	-2

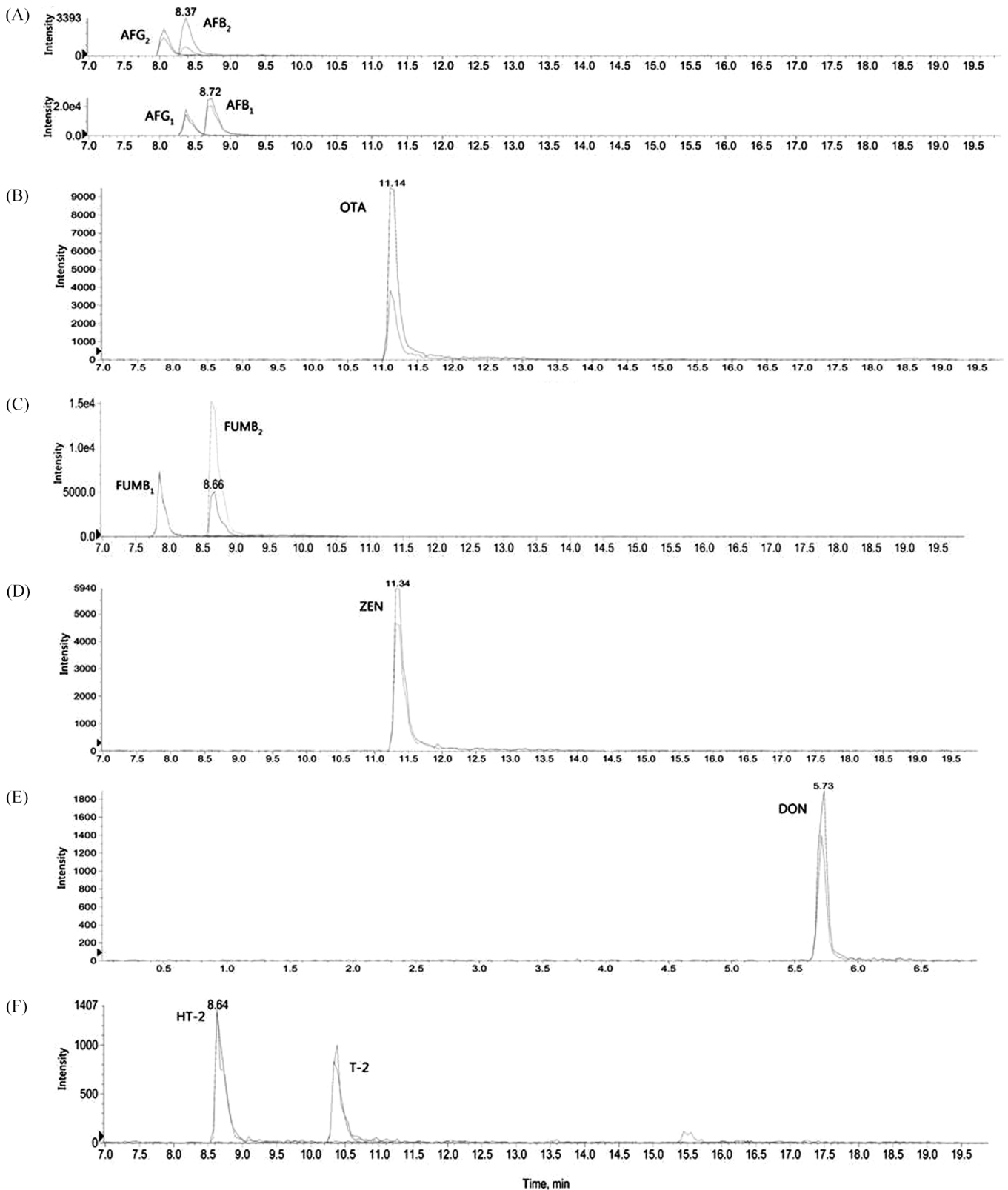


Fig. 1. Spectrums and chromatograms of mycotoxins. (a) aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂), (b) ochratoxin A, (c) fumonisin (B₁, B₂), (d) zearalenone, (e) deoxynivalenol, (f) T-2 and HT-2 toxin

보리의 경우 제랄레논이 43개 시료 중 15개에서 양성으로 분석되어 34.88%의 검출율로 백미와 비슷한 수준의 오염율을 나타내었다. 그러나, 데옥시니발레논은 43개 시료 중 24개에서 양성

으로 나타나 55.81%의 오염율을 보였으며, 평균 오염도도 334.00 µg/kg으로 상대적으로 가장 높은 오염도를 나타내었다. 푸모니신은 단지 1개의 시료에서만 양성으로 나타났다. 검출된 독소 중

Table 3. LOD, LOQ and recovery of mycotoxins in polished rice

Mycotoxin	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	OTA	FB ₁	FB ₂	DON	ZEN	HT-2	T-2
Spiked level (µg/kg)	10.1	2.5	10.1	2.5	2.0	50.0	50.0	100.0	50.0	50.0	2.5
Recovery (% , n=4)	97.18	106.14	94.50	111.11	103.09	100.95	81.85	79.05	70.45	106.50	95.30
±SD(%)*	±8.02	±11.94	±18.86	±11.12	±5.21	±7.73	±16.90	±11.42	±3.44	±7.63	±10.84
RSD (%)**	0.83	0.28	2.02	0.25	0.10	3.83	10.32	14.45	2.44	3.58	0.28
LOD (µg/kg)	0.2	0.3	0.2	0.3	0.1	0.3	0.3	3.0	0.3	3.0	0.3
LOQ (µg/kg)	0.6	0.9	0.6	0.9	0.3	1.0	1.0	10.0	1.0	10.0	1.0

*: Standard deviation

**: Relative standard deviation

푸모니신은 주로 백미에서 많이 검출되었으며, 데옥시니발레놀은 보리에서 많이 검출되었고, 제랄레논이 비슷한 수준으로 오염된 것으로 확인되었다. 따라서, 백미와 보리에 발생하는 곰팡이의 종류가 다른 것으로 사료되었다.

한국에서 Lee 등(22)은 백미 51점에서 데옥시니발레놀과 제랄레논 등이 검출되지 않았다고 보고하였다. 그러나, Ok 등(23)의 연구에서 백미내 데옥시니발레놀이 43%의 오염율로 분석되었으며, 양성시료 평균오염치(average in positive samples)를 28.4 µg/kg으로 보고하였다. 이 연구에서 제랄레논은 검출되지 않았으며, 보리에서 데옥시니발레놀은 39%의 오염율을 나타내었다. 데옥시니발레놀 양성시료 평균오염은 37.4 µg/kg이었으며, 제랄레논 14개 시료 중 1개만이 33.3 µg/kg 수준으로 검출되었다. Seo 등(24)의 백미, 현미, 보리 각 12점을 대상으로 한 연구에서 푸모니신은 검출되지 않았으나, 건조 옥수수 12점 중 3점에서 122-268 µg/kg 수준으로 푸모니신이 검출되었다. 또한, Ok 등(23)은 데옥시니발레놀이 백미에서 14% 검출되었으며, 양성평균이 20 µg/kg 수준이라고 보고하였다. 현미에서는 16% 검출율에 35 µg/kg 평균 오염도를 보였으며, 보리에서 58% 검출율에 22 µg/kg 평균 오염도를 보였다(9). 이외에도 1993년에는 보리 중에서 데옥시니발레놀과 제랄레논이 각각 89.7%(양성평균이 170 µg/kg), 51.3%(양성평균 287 µg/kg)의 오염도를 보고한 자료가 있다(25). 지난 몇 년 동안 발표된 연구결과들은 백미에서 29.3%의 푸모니신 오염율과 36.2%의 제랄레논 오염율을 보인 이번 연구결과와 많은 차이가 있었으나, 보리의 경우는 오염율과 오염수준에서 과거의 연구결과와 이번 조사결과 간에 큰 차이가 나지 않았다. 연구결과와 차이는 제한적인 시료수, 상이한 재배 환경이나 유통경로, 정확성(accuracy)과 감도(sensitivity)가 다른 분석방법 등의 원인으로 생길 수 있으며, 보다 정확한 오염실태 파악을 위해서는 정밀하고 광범위한 오염조사가 필요한 것으로 사료된다.

한편, 옥수수 84점에 대하여 곰팡이독소 동시 오염 조사를 실시하였다. 경기도 지역 유통옥수수 38점과 전라북도 유통옥수수 6점, 그리고 강원, 충북 지역의 유통옥수수 각 5점, 두 지역의 포장에서 수확을 기다리고 있던 생산단계 생옥수수 각 15점을 대상으로 하였다. 모든 시료 중 경기도 유통시료 1점에서 푸모니신이 검출되었으나, 이 시료는 껍질이 벗겨진 상태로 포장되어 유통 중이던 시료로서 유통조건이 좋지 않아 곰팡이독소가 발생한 것으로 사료된다. 한국 옥수수를 대상으로 한 Kim 등(25)의 연구결과에서 건조옥수수에서 데옥시니발레놀이 30%의 오염율(양성시료 평균 310 µg/kg의 오염도)을 보였으며, 제랄레논도 17.4%의 오염율(151 µg/kg의 평균 오염도)을 나타내었다. 2005년과 2006년에 수집된 옥수수에서는 데옥시니발레놀과 제랄레논이 각각 71%, (379.4 µg/kg 평균오염도)와 64% 오염율(42.8 µg/kg 평균오염도)로 검출되었으며, 옥수수통조림(canning corn)도 데옥시니발레놀이 86% 오염된 것으로 나타났다(66.3 µg/kg 평균오염도)(20).

또한, 1996년에 데옥시니발레놀이 평균 93% 오염율과 145 ng/kg의 오염도를 나타낸 보고도 있다(20). 이 같이 건조옥수수에서의 곰팡이독소 오염 실태 분석에 관한 연구는 많이 있으나, 생옥수수에서의 오염도 조사 결과 보고는 아직 없다. 이번 연구조사에서 생식을 위한 생옥수수에서는 곰팡이독소가 거의 발견되지 않았으며, 대부분의 곰팡이독소 오염은 건조, 저장단계에서 발생하는 것으로 사료된다. 이번 조사에서 아플라톡신, 오크라톡신, T-2 toxin(HT-2 toxin)은 나타나지 않았다(Table 4).

오크라톡신의 경우 백미 60점 중 5점에서 0.9-6.0 µg/kg 수준으로 검출되었으며, 보리 22점 중 5점에서 0.6-0.9 µg/kg 수준으로 오염 결과가 보고되었다(8). 2002년의 경우 보리와 옥수수에서는 아플라톡신B₁, 푸모니신B₁, 오크라톡신 등이 검출되지 않았다는 보고가 있었으며(26), 일본에서도 백미에서 오크라톡신, 현미에서 아플라톡신, 푸모니신 등의 곰팡이독소들이 검출되지 않았다는 유사한 연구보고가 있다(27,28). 한편, 아프리카 나이지리아의 경우 2011년 쌀에서 아플라톡신이 28-372 µg/kg 수준에서 100%검출되었고, 오크라톡신은 134-341 µg/kg 수준에서 66.7% 검출되었다(29). 이러한 사례는 오염빈도 및 검출량에서 과거 국내연구보고 및 이번 연구분석결과와 매우 다른 경우이며, 아프리카 지역의 재배환경 및 수확 후 관리가 우리나라를 포함한 아시아국과 매우 다르다는 것을 나타내는 것이라 할 수 있다.

쌀 가공용 곰팡이독소 오염현황

한국의 주식은 쌀로 곡류 중 생산량 및 소비량이 가장 많으며, 현미는 웰빙 열풍에 더불어 그 소비가 증가하고 있다. 따라서, 이러한 식품의 안전관리를 위하여 벼, 현미, 도정 백미로 진행되는 가공과정에서 곰팡이독소 오염을 변화를 조사하였다. 일반적으로 현미에서 백미보다 곰팡이독소가 높게 오염되어 있는 것으로 예상되므로 곰팡이독소 위해평가를 위해 현미와 백미의 곰팡이독소 노출 정도, 비율 등을 정확히 파악하고 있어야 한다. 이 같은 목적으로 19점의 벼와 현미, 그리고 5점의 쌀을 1차 실험 재료로 사용하였으며, 벼를 직접 도정하여 현미 및 백미로 만들어 분석결과를 비교하였다(Table 5).

벼에서 푸모니신B₁, B₂가 68%와 47%, 제랄레논이 68%, 데옥시니발레놀이 16%의 평균 오염율을 나타내었다. 현미에서는 푸모니신B₁이 19개 시료 중 9개 시료에서 검출되어 47%로 감소하였으며, 양성시료 평균 2.97 µg/kg이었다. 제랄레논의 경우 7개 시료에서 검출되어 37% 오염율로 감소하였으며, 평균 26.09 µg/kg의 오염도를 나타내었으며, 데옥시니발레놀은 검출되지 않았다. 백미에서는 5개 중 3개 시료에서 푸모니신B₁만이 평균 3.43 µg/kg 검출되었다. 벼에서 양성비율이 가장 높았으며, 현미나 백미에서 상대적으로 낮은 농도로 검출되거나 불검출되어 가공 과정을 거치면서 시료 외부의 독소들이 대부분 제거되는 것을 확인할 수 있었다. 주요 오염 독소들은 푸모니신과 제랄레논이었

Table 4. Occurrence of mycotoxins in rice, barley and corn

		AF (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	OTA	FB ₁	FB ₂	DON	ZEN	HT-2	T-2
Polished Rice (n=47)	Average**±SD*** (µg/kg)	0	0	1.94 ±1.71	1.24 ±0.37	49.60 ±38.77	2.46 ±1.59	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	14 (29.8)	3 (6.4)	3 (6.4)	17 (36.2)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	6.74	1.66	93.10	6.66	0	0
Barley (n=43)	Average**±SD*** (µg/kg)	0	0	0	6.06	113.30 ±93.03	3.54 ±2.04	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	0	1 (2.3)	24 (55.8)	15 (34.9)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	0	6.06	334.00	8.95	0	0
Raw corn (n=84)	Average**±SD*** (µg/kg)	0	0	68.00	32.90	0	0	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	1 (1.2)	1 (1.2)	0	0	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	68.00	32.90	0	0	0	0

*: not detected

**: in positive samples

***: Standard deviation

Table 5. Occurrence of mycotoxin according to processed stage in unpolished rice

		AF (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	OTA	FB ₁	FB ₂	DON	ZEN	HT-2	T-2
Polished Rice (n=5)	Average±SD* (µg/kg)	0**	0	3.43 ±0.23	0	0	0	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	3(60)	0	0	0	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	3.70	0	0	0	0	0
Unpolished rice (n=19)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	2.97 ±0.90	0	0	26.09 ±39.02	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	9(47)	0	0	7(37)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	4.48	0	0	113.00	0	0
Unprocessed rice (n=19)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	106.61 ±294.79	57.23 ±128.98	41.03 ±38.70	126.54 ±291.35	15.50	0
	No. of positive samples (%)	0	0	13(68)	9(47)	3(16)	13(68)	1	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	1080.00	399.00	84.50	1080.00	15.50	0

*: Mean±standard deviation in positive samples

**: not detected

며, 아플라톡신과 오크라톡신, T-2 toxin은 검출되지 않았다. 1개의 벼 시료에서 HT-2 toxin이 15.50 µg/kg 검출되었다.

벼, 현미, 백미로 직접 가공하고 분석시 데옥시니발레놀은 각각 3, 0, 0점이 오염되었으며, 각각 13, 7, 0점이 검출된 제랄레논보다 양성시료 수가 적었다. 도정백미에서는 푸모니신FB₁만이 검출되었다(Table 5). 유통중인 백미에서 푸모니신, 데옥시니발레놀, 제랄레논이 모두 검출된 조사(23)나 현미에서 데옥시니발레놀과 제랄레논의 검출을 보고한 연구(22)와 비교할 때 본 연구의 결과는 차이가 나며, 저장 및 유통과정에서 데옥시니발레놀과 제랄레논과 같은 독소들이 발생하거나 증가하는 것으로 생각된다.

지역별 곰팡이독소 오염 분석

모든 곡식은 지역에 따라 토질, 강수량 등 재배환경이 모두 다르게 된다. 따라서 곰팡이독소의 발생량과 발생양상도 다르게 나타나며, 벼 품종의 곰팡이에 대한 저항성에 따라 곰팡이독소 발생 양상도 차이 날 수 있다. 따라서 지역 및 품종에 따른 곰팡이독소 발생양상을 구분하여 조사하였다. 시료가 부족한 강원과

전남의 시료 각 1점씩을 제외한 37점을 대상으로 Table 6에서 보는 바와 같이 경기, 충남북, 경남북, 전북지역에서 데옥시니발레놀, 제랄레논, 푸모니신 양성시료를 분석하였다. 푸모니신은 충북에서 평균 83%의 오염율로 가장 많이 검출되었고, 전북시료에서 1080.00 µg/kg의 매우 높은 오염도를 나타내는 시료가 확인되었다. 데옥시니발레놀은 경북에서 60%의 오염율을 나타내었고, 경기, 전북, 경남에서는 나타나지 않았다. 제랄레논은 모든 지역에서 광범위하게 나타났으며, 전북시료에서 100%의 오염율과 평균 265.31 µg/kg로 가장 높은 오염도를 나타내었다. 경기, 전북, 경남 지역의 시료에서는 11종의 조사대상 독소 중 푸모니신과 제랄레논이 검출되었으며, 충남과 경북 지역에서 재배된 벼에서도 데옥시니발레놀과 제랄레논이 검출되었다. 충북시료의 경우 3가지 독소가 모두 검출되었다.

동일지역에서 재배되는 서로 다른 품종의 곰팡이독소 오염도 비교를 위하여 충남지역에서 재배된 주남벼(*junam*)와 호품벼(*hopum*)를 비교하여 보았다(Table 7). 오염율과 오염도에서 호품벼보다 주남벼에서 더 높은 오염도를 나타내었다. 벼의 품종에

Table 6. Occurrence of mycotoxin according to region and species of unprocessed rice

		AF (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	OTA	FB ₁	FB ₂	DON	ZEN	HT-2	T-2
Gyunggi (<i>Chuchung</i> , n=4)	Average±SD* (µg/kg)	0**	0	9.94 ±12.25	6.60	0	11.55 ±10.83	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	2(50)	1(25)	0	4(100)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	18.60	6.06	0	27.60	0	0
Chungbuk (<i>Chuchung</i> , n=6)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	32.58 ±52.64	19.46 ±21.29	47.40 ±52.47	77.08 ±84.11	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	5(83)	3(50)	2(33)	4(67)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	125.00	43.50	84.50	195.00	0	0
Chungnam (<i>Junam</i> , n=5)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	0	0	12.90 ±4.11	130.16 ±124.31	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	0	0	2(40)	5(100)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	0	0	15.80	337.00	0	0
Chungnam (<i>Hopum</i> , n=5)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	0	0	12.80	59.30 ±66.43	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	0	0	1(20)	5(100)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	0	0	12.80	165.00	0	0
Chonbuk (<i>Hopum</i> , n=7)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	545.35 ±756.11	202.27 ±278.22	0	265.31 ±398.90	15.50	0
	No. of positive samples (%)	0	0	2(29)	2(29)	0	7(100)	1(14)	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	1080.00	399.00	0	1080.00	15.50	0
Kyungbuk (<i>Ilpum</i> , n=5)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	0	0	17.87 ±9.18	31.30 ±21.35	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	0	0	3(60)	4(80)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	0	0	28.00	57.10	0	0
Kyungnam (<i>Dongjin</i> , n=5)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	36.47 ±40.92	15.36 ±16.59	0.00	44.00 ±55.44	0.00	0
	No. of positive samples (%)	0	0	3(60)	3(60)	0	2(40)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	83.70	34.50	0.00	83.20	0.00	0

*: Mean±standard deviation in positive samples

**: not detected

Table 7. Occurrence of mycotoxin according to grade of unprocessed rice

		AF (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	OTA	FB ₁	FB ₂	DON	ZEN	HT-2	T-2
Special grade (n=8)	Average±SD* (µg/kg)	0**	0	37.29 ±42.18	23.20 ±15.98	17.97 ±9.35	35.41 ±29.67	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	3(38)	2(25)	3(38)	7(88)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	83.70	34.50	28.30	84.40	0	0
First grade (n=25)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	127.68 ±357.16	70.86 ±160.76	33.82 ±34.70	108.98 ±235.36	15.50	0
	No. of positive samples (%)	0	0	9(36)	6(24)	4(16)	20(80)	1(4)	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	1080.00	399.00	84.50	1080.00	15.50	0
Second grade (n=6)	Average±SD* (µg/kg)	0	0	125.00	43.50	13.05 ±3.89	202.20 ±214.03	0	0
	No. of positive samples (%)	0	0	1(17)	1(17)	2(33)	5(83)	0	0
	Maximum (µg/kg)	0	0	125.00	43.50	15.80	510.00	0	0

*: Mean±standard deviation in positive samples

**: not detected

따라서 곰팡이독소의 오염정도가 다르게 나타날 수 있다는 가능성을 보여주고 있으나, 샘플수가 적고(5개) 독소 오염에는 많은 변수들이 작용하기 때문에 정확히 단정지을 수는 없었다. 경기도에서 재배된 추청벼(*chuchung*)에서 충북 지역에서 재배된 벼보다

더 많은 독소가 더 높은 농도로 오염되었다고 확인되었다. 충남과 전북지역에서 재배된 호풍벼에서 두 지역 모두 100%의 오염율을 보였으나, 전북지역의 벼에서 제라레논이 4배 이상 높은 오염도를 나타내었다. 두 경우 모두 상대적으로 위도가 낮은 지역

의 벼에서 곰팡이독소가 높게 검출되는 결과를 나타내었다.

벼의 등급별 곰팡이독소 오염도

한국에서는 벼를 알곡의 충실도, 피해립 함유 여부 등 품질의 차이에 따라 등급으로 구분하여 관리하고 있다. 일반적으로 등급이 높은 특등의 품질이 좋고, 가격도 높게 받게 되는데, 독소 발생의 관점에서 실제 차이를 확인하기 위하여, 벼의 등급(특등, 1등, 2등)에 따른 곰팡이독소 오염도를 조사하였다. 등급에 따라 유의적인 차이를 보였는데, 특등에서 2등급으로 갈수록 오염도와 오염도가 증가하는 결과를 나타내었다. 제랄레논의 경우 특등, 1등급, 2등급에서 각각 35.41, 108.98, 202.20 µg/kg의 양성평균오염도를 나타내 일반적으로 등급이 낮은 벼일수록 곰팡이독소 오염도가 높은 것으로 나타났다. 따라서, 일반적으로 외견상 양호한 벼가 독소의 오염도 적은 것을 확인할 수 있었다. 곰팡이독소는 재배과정 중 여러가지 농작물에 곰팡이에 의하여 감염된 후 발생하게 된다. 초기 독소 오염이 최소화된 양질의 벼를 생산, 소비한다면 곰팡이독소로부터의 피해를 최소화할 수 있을 것이다.

요 약

11종(아플라톡신 B₁, B₂, G₁, G₂, 오크라톡신 A, 푸모니신 B₁, B₂, 제랄레논, 테옥시니발레놀, T-2 toxin과 HT-2 toxin) 곰팡이독소 동시분석법을 정립하였다. 1/6 면역친화컬럼을 이용하여 정제하였으며, LC/MS/MS로 분석하였다. 각각 독소별 정성한계는 S/N=3에서 0.1-3.0 µg/kg이었으며, 정량한계는 S/N=10에서 0.3-10.0 µg/kg이었다. 회수율(recovery)은 70.45-111.11%이었으며, 상대표준편차(RSD)는 0.10-14.45%로 나타났다.

동 분석법을 이용하여 대표적인 한국산 농산물인 백미, 보리, 옥수수에 대한 곰팡이독소 오염실태를 조사하였다. 푸모니신, 테옥시니발레놀, 제랄레논이 백미와 보리에서 각각 평균 29.8, 6.4, 36.2%와 2.3, 55.8, 34.9%의 평균 오염율을 보였으며, 다른 독소들은 나타나지 않았다. 옥수수에서는 1개의 시료에서 푸모니신(B₁+B₂)이 100.90 µg/kg 검출되었다. 하지만, 곰팡이독소 오염 수준은 현재 우리나라 각 곰팡이독소 허용 최대기준치 이내로 나타났다. 한편, 벼의 가공단계, 재배지역, 벼 품종 및 품질 등급에 따른 곰팡이독소 오염현황을 비교하였다. 벼에서 현미, 백미로 가공될수록 곰팡이독소 오염도는 감소하였다. 동일 품종의 경우에 상대적으로 기온이 높은, 낮은 위도의 지역에서 재배된 벼가 곰팡이독소가 많이 오염된 것으로 나타났으며, 벼의 품질 등급이 낮아질수록 높은 곰팡이독소 오염도를 나타내었다.

이러한 결과를 종합적으로 살펴보았을 때 국내산 주요 농산물의 곰팡이독소 오염수준이나 위해도가 기준치 이내이며, 위험한 수준은 아닌 것으로 판단된다. 그러나, 곰팡이독소는 코덱스 등 국제사회에서 중요하게 다루어지고 있고, 현재까지 알려지지 않은 위험성이나 신규 독소들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 만큼 우리나라도 충분한 연구를 통하여 우리 식품에 대한 안전성 논란에 사전 대비토록 하여야 할 것이다.

문 헌

- Binder EM, Tan LM, Chin LJ, Handl J, Richard J. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Anim. Feed Sci. Tech.* 137: 265-282 (2007)
- D'Mello JPF, Macdonald AMC. Mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Tech.* 69: 155-166 (1997)
- Flannigan B. Mycotoxins. In: *Toxic Substances in Crop Plants*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. pp. 226-257 (1991)
- Decastelli L, Lai J, Gramaglia M, Monaco A, Nachtmann C, Oldano F, Ruffer M, Sezian A, Bandirola C. Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Control* 18: 1263-1266 (2007)
- Schlatter CH, Struder-Rohr J, Rasonyi TH. Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Addit. Contam.* 13: 43-44 (1996)
- D'Mello JPF, Placinta CM, Macdonald AMC. Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. *Anim. Feed Sci. Tech.* 80: 183-205 (1999)
- Ren Y, Zhang Y, Shao S, Cai Z, Feng L, Pan H, Wang Z. Simultaneous determination of multi-component mycotoxin contaminants in foods and feeds by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 1143: 48-64 (2007)
- Park JW, Chung SH, Kim YB. Ochratoxin A in Korean food commodities: Occurrence and safety evaluation. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4637-4642 (2005)
- Ok HE, Kim HJ, Cho TY, Oh KS, Chun HS. Determination of deoxynivalenol in cereal-based foods and estimation of dietary exposure. *J. Toxicol. Env. Heal. A* 72: 1424-1430 (2009)
- Boeira LS, Bryce JH, Stewart GG, Flannigan B. The effect of combinations of *Fusarium* mycotoxins (deoxynivalenol, zearalenone, and fumonisin B1) on growth of brewing yeasts. *J. Appl. Microbiol.* 88: 388-403 (2000)
- Grenier B, Loureiro-Bracarense AP, Luciola J, Pacheco GD, Cosalter AM, Moll WD, Schatzmayr G, Oswald IP. Individual and combined effects of subclinical doses of deoxynivalenol and fumonisins in piglets. *Mol. Nutr. Food Res.* 55: 761-771 (2011)
- Verma J, Johri TS, Swain BK, Ameena S. Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. *Brit. Poultry Sci.* 45: 512-518 (2004)
- Harvey RB, Edrington TS, Kubena LF, Elissalde MH, Rottinghaus GE. Influence of aflatoxin and fumonisin B1-containing culture material on growing barrows. *Am. J. Vet. Res.* 56: 1668-1672 (1995)
- Ruiz MJ, Mackov P, Juan-Garcia A, Font G. Cytotoxic effects of mycotoxin combinations in mammalian kidney cells. *Food Chem. Toxicol.* 49: 2718-2724 (2011)
- Tammer B, Lehmann I, Nieber K, Altenburger R. Combined effects of mycotoxin mixtures on human T cell function. *Toxicol. Lett.* 170: 124-133 (2007)
- Creppy EE, Chiarappa P, Baudrimont I, Borracci P, Moukha S, Carrat MR. Synergistic effects of fumonisin B1 and ochratoxin A: are *in vitro* cytotoxicity data predictive of *in vivo* acute toxicity? *Toxicology* 201: 115-123 (2004)
- Berek L, Petri IB, Mesterhazy A, Tren J, Molnr J. Effects of mycotoxins on human immune functions *in vitro*. *Toxicol. In Vitro.* 15: 25-30 (2001)
- Kouadio JH, Dano SD, Moukha S, Mobio TA, Creppy EE. Effects of combinations of *Fusarium* mycotoxins on the inhibition of macromolecular synthesis, malondialdehyde levels, DNA methylation and fragmentation, and viability in Caco-2 cells. *Toxicol.* 49: 306-317 (2007)
- Klarić MS, Rumora L, Ljubanović D, Pepeljnjak S. Cytotoxicity and apoptosis induced by fumonisin B₁, beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: Effects of individual and combined treatment. *Arch. Toxicol.* 82: 247-255 (2008)
- Lattanzio VM, Solfrizzo M, Powers S, Visconti A. Simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A, and *Fusarium* toxins in maize by liquid chromatography/tandem mass spectrometry after multitoxin immunoaffinity cleanup. *Rapid Commun. Mass Sp.* 21: 3253-3261 (2007)
- Kltzel M, Lauber U, Humpf HU. A new solid phase extraction clean-up method for the determination of 12 type A and B trichothecenes in cereals and cereal-based food by LC-MS/MS. *Mol. Nutr. Food Res.* 50: 261-269 (2006)
- Lee T, Lee SH, Lee SH, Shin JY, Yun JC, Lee YW, Ryu JG. Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in rice and its milling by-products in Korea. *J. Food Protect.* 74: 1169-1174 (2011)

23. Ok HE, Chang HJ, Choi SW, Lee NR, Kim HJ, Koo MS, Chun HS. Co-occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in cereals and their products. *J. Fd. Hyg. Safety* 22: 375-381 (2007)
24. Seo E, Yoon Y, Kim K, Shim WB, Kuzmina N, Oh KS, Lee JO, Kim DS, Suh J, Lee SH, Chung KH, Chung DH. Fumonisin B1 and B2 in agricultural products consumed in South Korea: An exposure assessment. *J. Food Protect.* 72: 436-440 (2009)
25. Kim JC, Kang HJ, Lee DH, Lee YW, Yoshizawa T. Natural occurrence of *Fusarium* mycotoxins (trichothecenes and zearalenone) in barley and corn in Korea. *Appl. Environ. Microb.* 59: 3798-3802 (1993)
26. Park JW, Kim EK, Shon DH, Kim YB. Natural co-occurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1 and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Addit. Contam.* 19: 1073-1080 (2002)
27. Tanaka K, Sago Y, Zheng Y, Nakagawa H, Kushiro M. Mycotoxins in rice. *Int. J. Food Microbiol.* 119: 59-66 (2007)
28. Sugita-Konishi Y, Nakajima M, Tabata S, Ishikuro E, Tanaka T, Norizuki H, Itoh Y, Aoyama K, Fujita K, Kai S, Kumagai S. Occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, and fumonisins in retail foods in Japan. *J. Food Protect.* 69: 1365-1370 (2006)
29. Makun HA, Dutton MF, Njobeh PB, Mwanza M, Kabiru AY. Natural multi-occurrence of mycotoxins in rice from Niger State, Nigeria. *Mycotoxin Res.* 27: 97-104 (2011)