

人工胃液에 의한 Sterigmatocystin의 失活物에 관한 衛生化學的 研究

김수연 · 오유진 · 여신구 · 장성재
충북대학교 약학대학

Hygienic Studies on Inactive Substances of Sterigmatocystin by Artificial Gastric Juice

Soo-Yeon Kim, You-Jin Oh, Sin-Koo Yeo and Seong-Jae Jang
College of Pharmacy, Chung Buk National University, Cheongju 310, Korea

Abstract: Sterigmatocystin bears a close structural relationship to aflatoxin B₁ and is a carcinogenic compound that has been shown to affect various species of experimental animals. Reaction and toxicity of sterigmatocystin in the artificial gastric juice were investigated. Sterigmatocystin was degraded in artificial gastric juice and extracted by the method of A.O.A.C. After cleaned up by silica gel column chromatography, this substance was detected and characterized by thin layer chromatography, UV, IR and mass spectra. It showed R_f 0.4 and brick-red color by TLC. Especially, in the mass spectrum of it, fragment peak at m/e 327 was due to the loss of the -CH₃ and -H₂O, fragment peak at m/e 341 was due to the loss of the H₂O and -H⁺, and fragment peak at m/e 239 was due to the loss of the 2-chloro-tetrahydrofuran and methyl group from the parent molecule. Therefore, a degraded substance of sterigmatocystin reacted in artificial gastric juice (Sub. K) was estimated with additional formation of hydrochloric acid. In four-day-old chicken embryos, the mean lethal dose (LD₅₀) was 140 μg/egg, and 90 to 100% of the embryos were killed with 1 mg/egg. This LD₅₀ 140 μg/egg compared with an LD₅₀ 14.69 μg/egg for sterigmatocystin (acute toxicity) showed the substance to be much less toxic than sterigmatocystin.

Keywords: Sterigmatocystin, Carcinogen.

Sterigmatocystin은 1945년에 Hatsuda 등(1954)에 의해 처음 분리되었고, Bullock 등(1962)에 의해 그 구조가 결정되었으며, 그 구조는 aflatoxin B₁과類似的한 구조를 갖는 xanthone系化合物이다(Davies 등, 1960).

Sterigmatocystin은 주로 *Aspergillus versicolor*에서 생산되나 *A. nidulans*, *A. rugulosus*, *A. parasiticus*, *A. flavus*, *A. chevalieri*, *A. ruber*, *A. amstolodami*, 그리고 일부 *Bioplaris* species와 *Penicillium* species에 의해서 생산된다고 보고되었다(Rabie 등, 1976; Rabie 등, 1977).

Sterigmatocystin을 생산하는 균종은 그 분포가 廣範

圍하여 옥수수 식품, 빵류, 건조한 과일류, 치즈, 곡류, 메주, 설탕에 절인 과일류, 육류제품 등 各種食品 및 農産物에서 多量檢出된다고 한다(Orth 등, 1973).

Sterigmatocystin은 thin layer chromatography에 의해 長波長의 紫外線照射下에서 淡黃色을 나타내고, chloroform: methanol(98:2) 溶液으로 展開시켰을 때 R_f 0.8로 나타나며, 肉眼的 檢出의 最低限界가 約 0.4 μg으로서 aflatoxin에 비해 1,000배나 弱한 感度를 나타낸다고 하였다(Vorster 등, 1968).

一般的인 物理的, 化學的 特性은 淡黃色針狀結晶으로 mp 246°C(dec)이고, 大部分의 溶媒에 比較的 不溶性이지만, chloroform에는 잘 溶解하고 pyridine에도

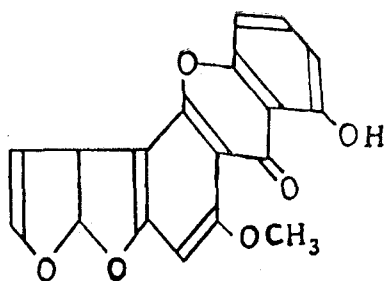


Fig. 1. The chemical structure of sterigmatocystin.

Common name	sterigmatocystin
	(3a, 12c-Dihydro-8-hydroxy-6-methoxyfuro [3', 2': 4, 5] furo [3, 2-c] xanthen-7-one)
Molecular weight	324.0633
Molecular formula	C ₁₈ H ₁₂ O ₆

比較的 잘 溶解한다(Bullock等, 1962).

또한 sterigmatocystin은 alkali에 强하고 濃酸에 弱하다고 하였다(Hatsuda等, 1954). Vorster等(1968), Stack等(1976), Takeda等(1974)에 의하여 穀類中の sterigmatocystin의 抽出法에 관한 研究가 發表되었고, sterigmatocystin의 分析法에 대해서는 Gimeno(1979), Northolt等(1980) 그 외 여러 研究者들이(Purchase等, 1973; Schroeder等, 1975) thin layer chromatography (TLC)에 의한 分析法에 관하여 研究하였고, Takeda等(1974)과 Manabe(1971)는 gas chromatography(GC) 分析法에 관하여 報告하였으며, high performance liquid chromatography(HPLC) 分析法에 대해서는 Stack等(1976), Kingston等(1976), Schmidt等(1981), Isohata等(1976)이 報告한 바 있다.

Sterigmatocystin의 毒性에 대해서 Dickens等(1956)은 rat를 使用한 毒性試驗에서 週 2회, 0.5 mg 皮下注射時 24回에 局所의 皮下肉腫, 肝細胞癌(Purchase等, 1970) 膽管癌等の 形成이 確認되어 注目을 끌었다. 그후 Terao 등(1973)은 sterigmatocystin LD₅₀의 量을 分割投與하여 rat에서 發生한 腫瘍에 대한 報告에서도 sterigmatocystin의 投與量을 總計 60 mg(LD₅₀) 이 되도록 分割投與하고 그 1回量 및 投與法의 差異에 따르는 腫瘍發生에 차이가 있는지 없는지를 檢索한 結果, 投與法에 의한 肝腫瘍 發生의 差異는 없으나 約 50%의 實驗動物에서 主로 肝癌, 肝腺腫 및 中皮腫이 나타났다고 하였다.

또한 심한 腎臟壞死를 일으키며 中毒性皮膚炎因子이

나 aflatoxin B₁과는 달리 胚子奇型發生效果는 나타나지 않는다(Wogan, 1975).

rat에 의한 急性毒性은 腹腔內投與로 LD₅₀는 60 mg/kg(Holzaphel, 1966), 經口投與로 LD₅₀는 166 mg/kg이며, aflatoxin B₁의 LD₅₀는 7.2 mg/kg(經口)에 比較하면 현저한 差異를 보인다.

mouse에 대한 LD₅₀는 經口投與로 800 mg/kg이고, 鷄胚에 대한 急性毒性은 sterigmatocystin의 LD₅₀가 14.69 µg/egg인 것과 比較해서 aflatoxin B₁은 0.82 µg/egg이다.

七面鳥에 대한 sterigmatocystin의 LD₅₀는 40 µg/kg이고, aflatoxin은 0.335 µg/kg으로 나타난다.

이와같이 sterigmatocystin의 LD₅₀가 낮고 aflatoxin의 LD₅₀가 높으며, 經口投與로 sterigmatocystin의 LD₅₀가 낮아지는 理由는 細胞와 直接作用할 境遇는 이와같이 強力한 急性 및 慢性毒性을 나타내고, aflatoxin B₁의 構造의 類似한 分子構造와 作用基가 있지만, sterigmatocystin의 難溶性이 經口投與後의 體內에서의 吸收率과 相關성이 있다고 報告된 바 있다(Purchase等, 1971; Terao, 1975).

이와같은 毒性 發現作用이 있는 sterigmatocystin의 解毒處理는 食品衛生 및 公衆衛生上 重要한 問題이며 우리나라에서도 食糧 및 醱酵食品中에서 多量 生産된다고 思料되어 著者等은 人工胃液中에서의 sterigmatocystin의 失活에 관한 報告를 한 바 있다(金, 1980).

따라서 人工胃液에서의 sterigmatocystin의 反應活成物의 急性毒性에 대한 研究는 國民保健의 차원에서 食品衛生上 重要한 意味를 갖는다. 그러나 아직까지 國內外的으로 이 部分에 대한 研究發表가 없으므로 著者等은 이 物質의 毒性과 그 安全性에 대한 研究를 遂行하였고, 反應生成物의 構造의 變化를 더욱 明確히 究明하고자 本研究를 施行한 바 약간의 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

試藥 및 調製

(1) 標準sterigmatocystin 溶液

標準品 sterigmatocystin kit(Makor製 Israel)를 使用하였으며, sterigmatocystin 5 mg을 benzene: acetonitrile (98:2) 溶液 20 ml에 溶解하였다.

(2) Chloroform, benzene, acetonitrile, sodium chloride, hydrochloric acid, methanol, sodium sulfate anhydrate, acetic acid는 (和光社製) 特級品을 使用하

였다.

(3) TLC plate用은 adsorbosil-1(E. Merck社)을 사용하였고 column用 silica gel(Kieselgel 60, 0.063~0.200 mm Merck社)은 105°C에서 1時間 加熱, 放冷後 silica gel重量 1% w/w의 물을 加하여 충분히 교반하고 밀폐용기에 저장하여 24時間以內에 使用하였다.

(4) 人工 胃液

大韓藥典(KP IV)(1982) 基準에 따라 봉해시험법중 제 1 액을 調製하여 使用하였다.

機 器

- (1) Shaker, IWA-KI-KM type(萬能 Shaker社)
- (2) Rotary vacuum evaporator(東京理化學 器機株式會社)
- (3) Thin layer chromatography kit(Yamato科學社)
- (4) UV lamp(long wave 3650 Å°)
- (5) 自記薄層螢光 densitometer, SD-92 type(明日香工業)
- (6) UV-VIS spectrophotometer(Perkin-Elmer, Model No. 576)
- (7) IR spectrophotometer(Perkin-Elmer, Model No. 283)
- (8) GC-MS-QP-1000(Shimadzu Co.)
- (9) Incubator(半回轉卵裝置付)
- (10) Millipore apparatus kit (10 mm syringe and 25 mm ss filter holder, 光和機材株式會社)

人工胃液中에서의 sterigmatocystin의 反應,

抽出 및 精製

(1) 反 應

人工胃液 200 ml에 標準 sterigmatocystin 溶液 0.5 ml를 加하여 37°C의 水浴上에서 매때로 가볍게 흔들면서 1時間 加溫하여 反應시켰다.

(2) 抽出 및 TLC에 의한 確認

人工胃液中에서 sterigmatocystin을 反應시킨 溶液 200 ml를 A.O.A.C.法(1980)에 準하여 Scheme I과 같이 분액여두에 取하여 chloroform: methanol (1:1) 溶液 200 ml를 加하고 5分間 定항한다음 分離시키고 上層液에 다시 chloroform 100 ml를 加하여 2回抽出, 分離시킨後 chloroform 層단을 모아 無水 Na₂SO₄로 脚水시키고, 濾過한다음 rotary vacuum evaporator로 35°C에서 1-2 ml가 되도록 感壓 濃縮하였다.

TLC plate는 TLC kit를 利用하여 20×20 cm glass plate에 Adsorbosil-I을 0.25 mm 두께로 被覆하여 80°C에서 2時間 活性化시킨 것을 使用하였으며 標準品과 人品液中에서의 sterigmatocystin의 反應生成물을 各各

spot한다음 benzene: acetic acid: methanol(90:5:5)의 展開溶媒로 10 cm까지 飽和展開시킨다음 暗所에서 溶媒를 揮發시킨후, 80°C에서 10分間 加溫後 365 nm 波長의 UV lamp 照射에 依해 確認하였다.

(3) 精製 및 分離

chromatography用 column(22×30 mm)에 chloroform을 使用하여 濕式法에 依해 sodium sulfate anhydrate 5 g, column用 silicagel 30 g順으로 충전한다음 chloroform: methanol(98:2) 溶液으로 充分히 洗滌한 後 上記抽出한 檢體를 chloroform: methanol(98:2) 溶液 1-2 ml로 溶解하여 넣고 chloroform: methanol(98:2) 溶液으로 流下시키 分離한다음 rotary evaporator를 利用하여 35°C에서 1-2 ml가 남을때까지 減壓濃縮하여 人工液中에서의 sterigmatocystin의 純粹한 反應生成物(以下 sub·K로 表示)을 얻었다.

Sub·K의 分析

(1) UV spectrum測定

Ultraviolet spectrum은 Perkin-Elmer Model 576을 使用하였으며, methanol을 溶媒로하여 1×1 cm quartz cell로 적당한 흡광도가 나타나는 濃도에서 測定하였다.

(2) IR spectrum測定

Infrared spectrum은 Perkin-Elmer Model 283을 使用하여 一般의인 方法에 依해 sterigmatocystin은 nujol을 사용해서 測定하였고, sub·K는 KBr cell에 발라져 測定하였다.

(3) Mass spectrum測定

GC/MS를 使用하여 total ion chromatogram을 測定하였으며, 使用한 機器는 Shimadzu QP-1000으로 column은 packed column OV-17 2% ϕ2 mm×1.1 m로 180°C에서 8°C/min씩 加熱하고 250°C에서 30分間 測定하였다.

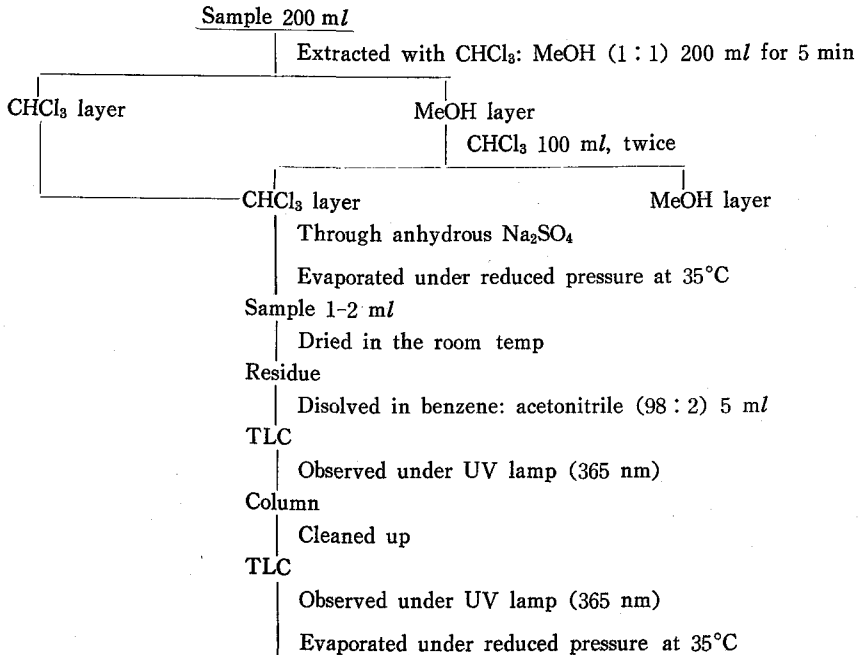
이에서 얻은 total ion chromatogram의 各 peak에 해당하는 mass spectrum은 70 eV에서 electron ionization에 依해 測定하였다.

Sub·K의 生物學的 毒性試驗

鷄胚法中 卵黃囊內 接種法을 應用하여 致死量(LD₅₀)을 試驗하였다. 供試卵은 無處置群, 對照群 및 1試料 1稀釋當 各 20個씩을 加算한 數의 1.2倍數의 新鮮한 有精初卵을 使用하였다.

즉 2個試料에 對해 段階稀釋하여 LD₅₀을 求하기 위하여 [(20個×4稀釋×2試料)+20個對照群+20個無處理群]×1.2=240個를 準備하였다.

對照群에는 TLC plate上에서 Sub·K의 spot가 없는것의 擔體를 加어모아 精製後 毒性試驗法에 準하여 接種



Pure substance of sterigmatocystin reacted in artificial gastric juice (denote sub-K)

Scheme I. Extraction of substance of sterigmatocystin reacted in artificial gastric juice.

하였으며 供試有精卵의 全般的狀態 및 孵化操作, 全體의 異常有無를 알기위하여 無處理群을 두었다. 全體有精卵을 35-37°C로 調節한 半回轉卵裝置孵化器에서 孵化를 시켰으며 孵化器內의 蒸氣壓을 飽和狀態로 維持하기 위하여 물을 器內에 넣어두었다.

96時間 孵化後 全卵을 檢卵하여 無精卵을 除去하였으며 兪필로 氣室 및 鷄胚의 位置를 表示하고 孵化 4日後에 氣室部를 消毒하고 송곳으로 小孔(1-2 mm)을 만들고 再消毒하였다. 試料에서 抽出한 Sub-K의 毒性試驗을 實施하기 위하여 化學的 定量法試驗에 의해 sub·K의 量을 測定하여 鷄胚授與量을 決定하였다.

그리하여 Sub-K의 既知量을 dimethyl sulfoxide (DMSO) 一定量(反應物 1.0 mg/DMSO 1.0 ml)에 溶解하고 다시 再蒸溜水로 各段階稀釋溶液으로 하여 millipore filter paper 및 滅菌된 注射針(1/2 mm)付 tuberculin 注射器로 各卵의 小孔을 통해 無菌的으로 稀釋試料 0.2 ml를 確實히 血管이 發育된 有精卵의 卵黃囊內에 接種하였으며 小孔을 cellotape로 閉孔하고 계속 孵化시켰다. 稀釋試料接種 24時間以內의 死卵은 非特異的인 것으로 看做하고 接種 48時間 以後의 鷄胚生死有無를 肉眼으로 觀察하여 LD₅₀를 計算하여 毒性을 判定하였다.

結果 및 考察

Sub.K의 分析

(1) TLC分析

Fig. 2에서 보는 바와같이 標準 sterigmatocystin 溶液은 R_f 0.8의 淡黃色 spot를 나타내었으나 人工胃液中의 sterigmatocystin의 反應生成物의 spot에서는 R_f 0.4의 적벽돌색의 전혀 다른 物質이 나타났다. 이 點으로 미루어보아 sterigmatocystin은 人工胃液中에서 極성이 훨씬 적어진 다른 物質로 變化되었다는 것을 알 수 있었으며, 極히 微量의 未反應 sterigmatocystin의 흔적이 sterigmatocystin의 螢光度, 色相, R_f值와 比較確認되었으므로 精製하였다.

(2) UV spectrum分析

Fig. 3에서 나타난 바와같이 標準 sterigmatocystin의 UV spectrum은 λ_{max}^{MeOH}nm: 208, 235 (shoulder), 249에서 α-peak가 나타나고 329 nm에서 현저한 β-peak가 나타나는 반면에 sub·K의 spectrum은 λ_{max}^{MeOH}nm: 202, 223의 약한 β-peak가 278 nm에서 나타나므로서 현저한 차이를 발견할 수 있었다.

(3) IR spectrum 分析

Fig. 4에서 나타난 바와 같이 標準 sterigmatocystin

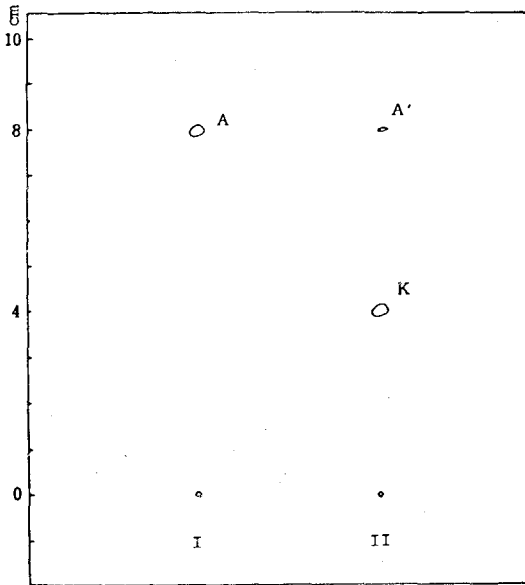


Fig. 2. Thin layer chromatogram on authentic *sterigmatocystin* (I) substances of *sterigmatocystin* reacted in artificial gastric juice (II). A: *sterigmatocystin*, A': none reacted *sterigmatocystin*, K: substance of *sterigmatocystin* reacted in artificial gastric juice
※ room temp. (27~28°C)

에서는 1,600~1,700 cm^{-1} 에서 lacton 및 이중결합에 의한 peak가 있으나 Sub·K의 IR Spectrum에서는 이의 peak가 관찰되지 않았다.

Sub·K의 構造的 變化를 더욱 明確하게 알아보기 위하여 Fig. 5에서 나타난 各 peak에 해당하는 mass

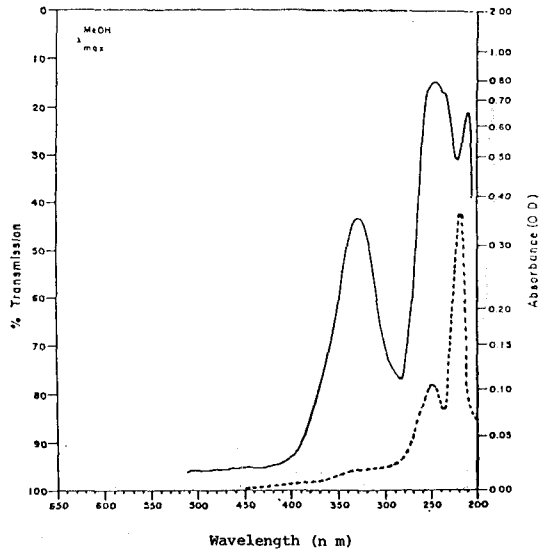


Fig. 3. Ultraviolet spectra of authentic *sterigmatocystin* (I) and Sub·K (II).

spectrum을 分析한 結果 Fig. 7에서 Fig. 12까지와 같다.

Fig. 7에서 나타난 m/e 147의 fragment peak는 분자량 148인 2,3-dihydro-benzopyran-4-one에서 proton 1개가 떨어져나간 것임을 알 수 있었고 Fig. 9, 10, 12(A) 및 12(B)에서 나타나 있는 m/e 327의 fragment peak와 Fig. 11에서 나타난 m/e 341의 fragment peak로서 parent molecule이 *sterigmatocystin*의 分子量 324보다 큰 物質이라는 것을 알 수 있었다.

그리므로 Fig. 8에서 나타난 m/e 280의 fragment

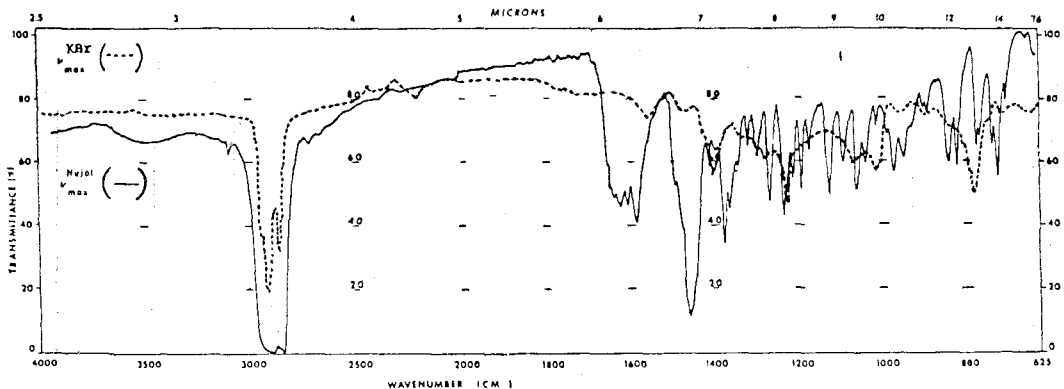


Fig. 4. Infrared spectra of authentic *sterigmatocystin* (—) and Sub·K (---).

(4) Mass spectrum 分析

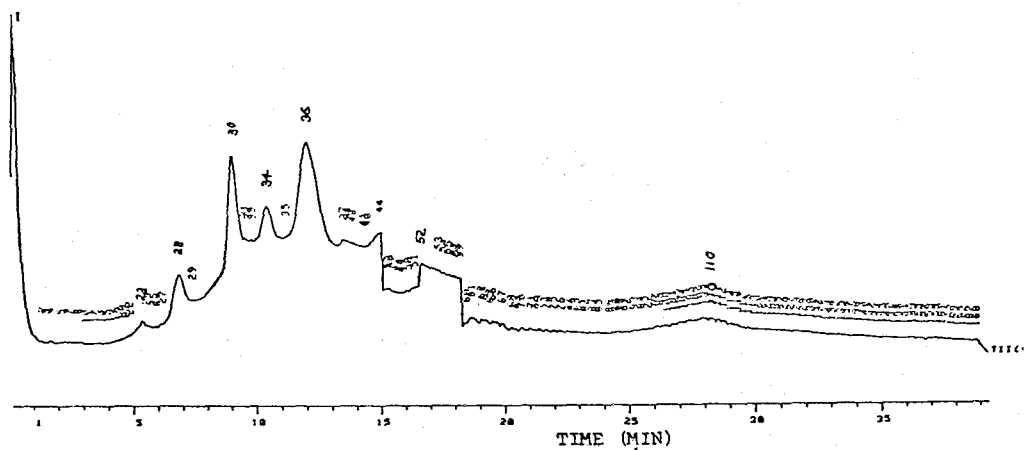


Fig. 5. Total ion chromatogram of Sub-K.

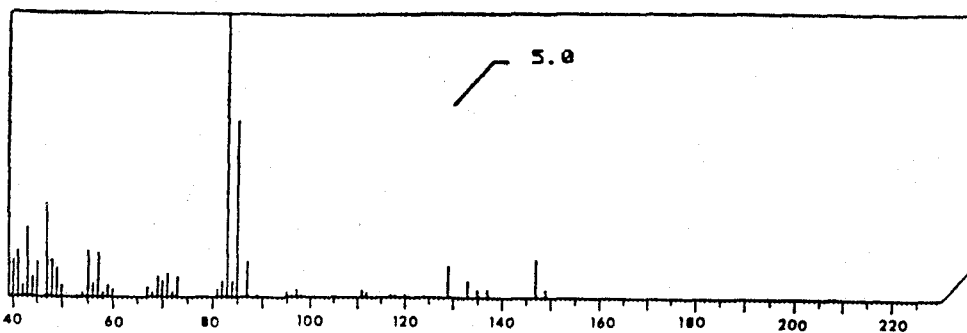


Fig. 6. Mass spectrum of authentic sterigmatocystin.

① Data 23

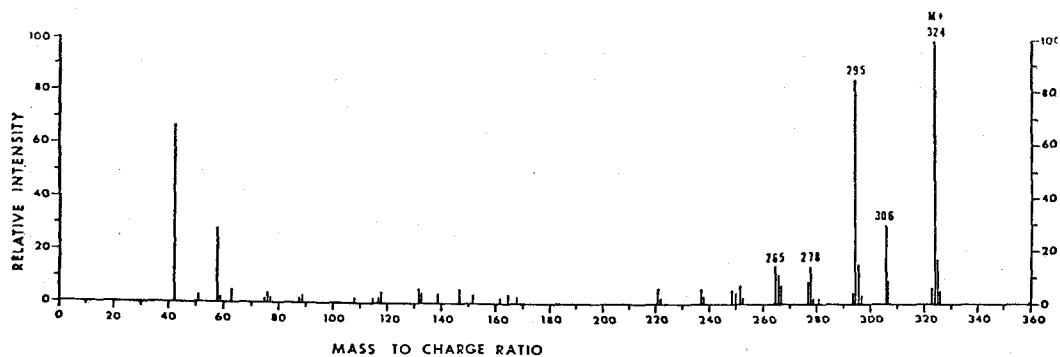


Fig. 7. Mass spectrum of data 23 in total ion chromatogram.

② Data 28

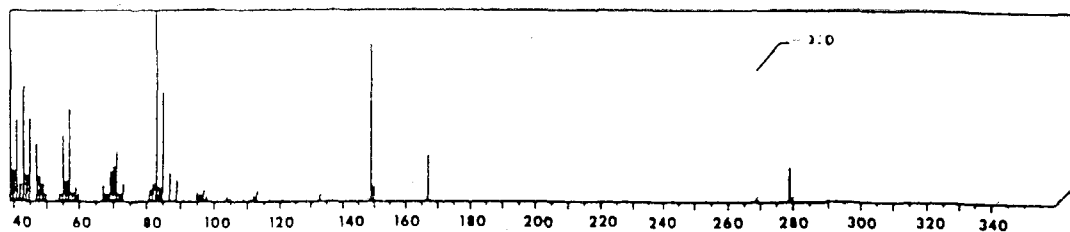


Fig. 8. Mass spectrum of data 28 in total ion chromatogram.

③ Data 30

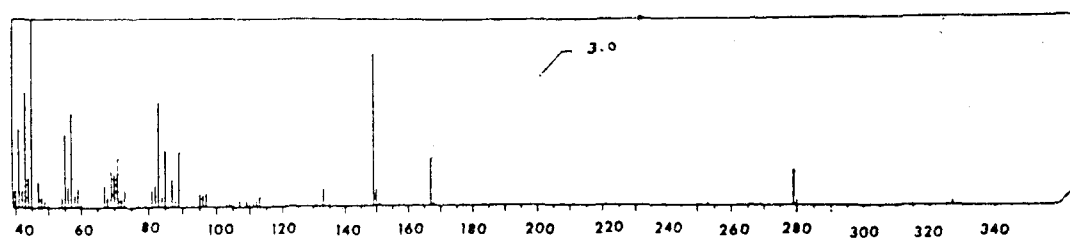


Fig. 9. Mass spectrum of data 30 in total ion chromatogram.

④ Data 34

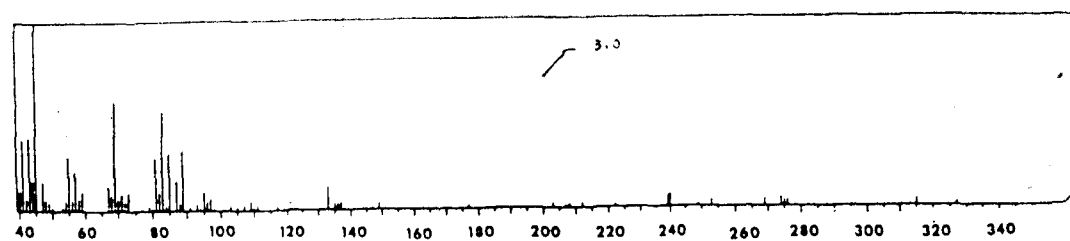


Fig. 10. Mass spectrum of data 34 in total ion chromatogram.

⑤ Data 36

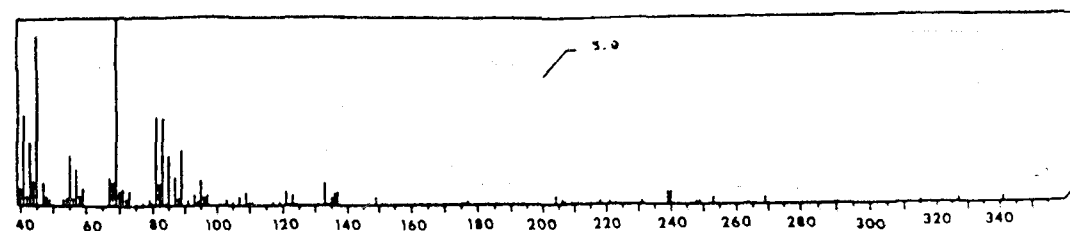


Fig. 11. Mass spectrum of data 36 in total ion chromatogram.

⑥ Data 44, data 52 and data 110

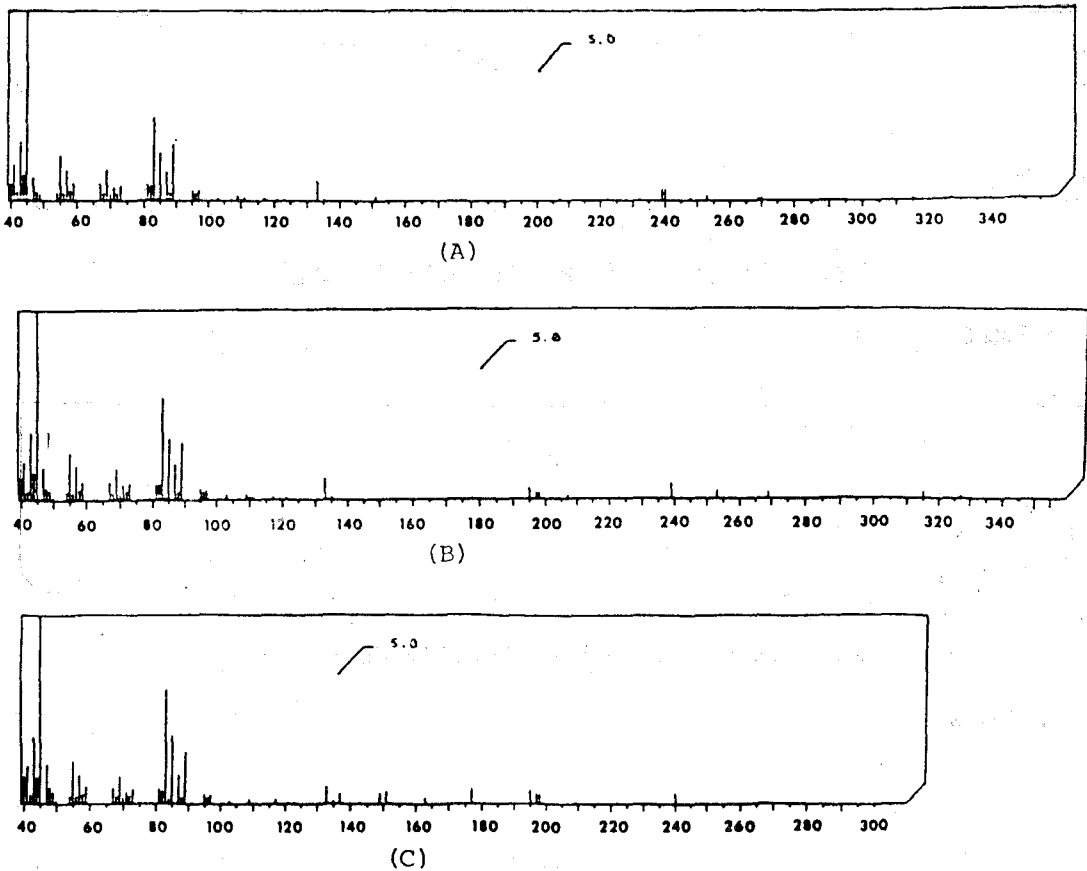


Fig. 12. Mass spectra of data 44 (A), data 52 (B) and data 110 (C) in total ion chromatogram.

peak는 parent molecule에서 $\text{CH}_3-\overset{\text{Cl}}{\text{C}}-\text{O}$ 가 떨어져 나간 것임을 알 수 있었고, Fig. 9에서의 m/e 327의 fragment peak는 parent molecule에서 $-\text{CH}_3$, $-\text{H}_2\text{O}$ 가 떨어져 나간 것임을 알 수 있었다.

또한 Fig. 10에서 나타난 m/e 239의 fragment peak는 parent molecule에서 2-chloro-tetrahydrofuran 및 $-\text{CH}_3$ 가 떨어져 나간 것임을 알 수 있었고, Fig. 11에서 나타난 m/e 341의 fragment peak는 parent molecule에서 $-\text{H}_2\text{O}$ 및 $-\text{H}^+$ 이 떨어져 나간 것임을 알 수 있었다.

그러므로 人工胃液中에서의 sterigmatocystin의 反應生成物 즉 Sub·K는 sterigmatocystin에 人工胃液中의 hydrochloric acid가 附加되어진 hydrochloride 附加體임을 알 수 있었다.

Sub·K의 生物學的 毒性

鷄胚에 의한 急性毒性은 aflatoxin B₁의 0.82 μg/egg에 比較해서 sterigmatocystin의 LD₅₀는 14.69 μg/egg로서 aflatoxin의 約 1/20에 該當하는 毒性發現作用이 있으나 Sub·K에 대한 毒性試驗을 實施한 結果 Fig. 13의 用量反應曲線에서 나타난 바와 같이 Sub·K의 LD₅₀는 140 μg/egg로서 Sterigmatocystin의 14.69 μg/egg에 比較하여 보면 그 毒性이 현저히 低下된 物質임을 알 수 있었다.

以上の 實驗結果로 미루어 보아 人工胃液中에서의 sterigmatocystin의 反應生成物은 胃液中의 hydrochloric acid와 反應하여 hydrochloride 附加體를 形成하게 되며 이 物質은 毒性試驗에서 比較的 毒性이 적은 物質로 變化되었다.

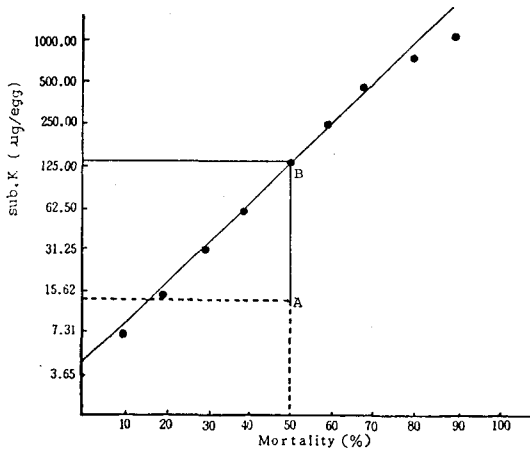


Fig. 13. Dose response curve for Sub-K LD₅₀ and sterigmatocystin LD₅₀ by the chicken embryo tests. (in four-day old egg)(authentic sterigmatocystin (I) and Sub-K (II))

結 論

人工胃液中에서의 sterigmatocystin의 反應生成物의 分析과 그 毒性試驗을 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Sterigmatocystin을 人工胃液中에서 37°C 1時間 反應시켰을때 人工胃液中 hydrochloric acid와 反應하여 附加形成된 反應生成物(Sub·K)을 TLC, UV, IR, 및 mass spectrum에 의하여 確認하였다.

2. Sub·K의 毒性試驗을 實施한 結果 그 LD₅₀는 140 µg/egg로서 sterigmatocystin의 LD₅₀ 14.69 µg/egg에 비하여 그 毒性이 현저하게 감소되었다.

文 獻

A.O.A.C. (1980): *Official Methods of Analysis*, 30th ed., pp. 431-432 and pp. 426-427.
 Bullock, E., Roberts, J.C. and Underwood, J.G. (1962): Studies in mycological chemistry, part XI, structure of isosterigmatocystin and an amended structure for sterigmatocystin. *J. Chem. Soc.*: 4179-4183.
 Davies, J.E., Kirkaldy, D. and Roberts, J.C. (1960): Studies in mycological chemistry, part VII, sterigmatocystin, a metabolite of *Aspergillus versicolor*

(Vuillemin). *J. Chem. Soc.*: 2169-2178.
 Dickens, F., Jones, H.E.H. and Waynforth, H.B. (1966): Oral, subcutaneous and intratracheal administration of carcinogenic lacton and related substances; the intratracheal administration of cigarette tar in the rat. *Br. J. Cancer* 20: 134-144.
 Gimeno, A. (1979): Thin layer chromatographic determination of aflatoxins, ochratoxins, sterigmatocystin, zearalenone, citrinin, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, penicillic acid, patulin and penitrem A. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 62: 579-585.
 Hatsuda, Y., Kuyama, S. and Terashima, N. (1954): Studies of the metabolic products of *Aspergillus versicolor*, II, physical property and chemical structure of sterigmatocystin (I). *J. Agr. Chem. Soc. Jap.* 28: 992-997.
 Holzaphel, C.W., Purchase, I.F.H., Steyn, P.S. and Gowers, L. (1966): The toxicity and chemical assay of sterigmatocystin, a carcinogenic mycotoxin and its isolation from two new fungal sources. *S. Afr. Med. J. (Suppl. S. Afr. J. Nutr.)* 40: 1100-1101.
 Isohata, E., Takeda, Y. and Uchiyama, M. (1976): Studies on chemical analysis of mycotoxin (VI) study on simultaneous determination of penicillic acid and patulin by high performance liquid chromatography. *J. Fd. Hyg. Soc. Jap.* 17: 308-313.
 Kingston, D.G.I. and Chem, P.N. (1976): High performance liquid chromatography of sterigmatocystin and other metabolites of *Aspergillus versicolor*. *J. Chromatog.* 118: 414-417.
 Manabe, M., Minamisawa, M. and Matsuura, S. (1971): Gas liquid chromatographic assay of sterigmatocystin. *J. Agr. Chem. Soc. Jap.* 45: 565-570.
 Northolt, M.D., Hans, P., Van Egmond, Soentoro, P. and Deijll, E. (1980): Fungal Growth and the presence of sterigmatocystin in hard cheese. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63:
 Orth, R. (1973): *Inaugural Dissertation*, Naturwissenschaftliche Gesamtfakultät der Universität Heidelberg, Heidelberg.
 Purchase, I.F.H. and Van der Watt, J.J. (1970): Carcinogenicity of sterigmatocystin. *Food Cosmet., To-*

- xicol.* 8: 289-295.
- Purchase, I.F.H. and Van der Watt, (1971): In *Mycotoxins in Human Health* (I.F.H. Purchase ed.). MacMillan, New York. p. 209.
- Purchase, I.F.H. and Pretorius, M.E. (1973): Sterigmatocystin in coffee beans. *J. of the A.O.A.C.* 56: 225-226.
- Rabie, C.J., Lubben, A. and Steyn, M. (1976): Production of sterigmatocystin by *Aspergillus versicolor* and *Bipolaris sorokiniana* on semisynthetic liquid and solid media. *Appl. Environ. Microbiol.* 32: 206-208.
- Rabie, C.J., Steyn, M. and Van Schalkwyk, G.C. (1977): New species of *Aspergillus* producing sterigmatocystin. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 1023-1025.
- Schmidt, R., Mondani, J., Ziegenhagen, E. and Dose, K. (1981): High performance liquid chromatography of the mycotoxin sterigmatocystin and its application to the analysis of mouldy rice for sterigmatocystin. *J. Chromatog.* 207: 435-438.
- Schroeder, H.W. and Kelton, W.H. (1975): Production of sterigmatocystin by some species of the genus *Aspergillus* and its toxicity to chicken embryos. *Appl. Microbiol.* 30: 589-591.
- Stack, M.E., Nesheim, S., Brown, N.L. and Pohland A.E. (1976): Determination of sterigmatocystin in corn and oats by gel permeation and high pressure liquid chromatography. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* 59: 966-970.
- Takeda, Y., Isohata, E., Amano, R., Tanabe, H. and Kurata, H. (1974): Studies on analysis of mycotoxin (IV), examination of sterigmatocystin in grains. *J. Fd. Hyg. Soc. Jap.* 15: 363-367.
- Terao, K., Yamazaki, M. and Miyaki, K. (1973): Carcinoma by administration of the divided dose of LD₅₀ of sterigmatocystin to rat. *J. Fd. Hyg. Soc. Jap.* 14: 272-273.
- Terao, K. (1975): Factors on the mechanism of mycotoxicosis induced by aflatoxin, sterigmatocystin and related compounds. *Proc. Jap. Assoc. Mycozicol.* 1: 6-8.
- Vorster, L.J. and Purchase, I.F.H. (1958): A method for the determination of sterigmatocystin in grain and oil seeds. *Analyst* 93: 694-696.
- Wogan, G.N. (1975): Mycotoxins. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 15: 437-451.
- 金秀娟 (1980): 韓國産 旨味料 및 人工胃液에 依한 sterigmatocystin의 失活에 關한 研究. 忠北大學校 大學院論文集 6: 299-303.
- 한국약학대학협의회 약진분과회 (1982): 大韓藥典 제 4 개정, 문성사, 서울, p.1071.

<Received October 14, 1985;

Accepted December 20, 1985>