

## 면역분석기법에 의한 농산물에서의 Deoxynivalenol 생성균 검색

강성조 · 오상석\* · 박정현 · 김형갑\*\* · 정덕화†

경상대학교 대학원 응용생명과학부 · \*이화여자대학교 식품영양학과,  
\*\*진주산업대학교 환경공학과

### Screening of Deoxynivalenol Producing Strains from Agricultural Products by Immunoanalytical Method

Sung Jo King, Sang Suk Oh\*, Jung Hyun Park, Hyoung Kab Kim\*\* and Duck Hwa Chung †

Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University  
\* Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University  
\*\*Dept. of Environmental Engineering, Chinju National University

#### ABSTRACT

In order to evaluate the safety of agricultural products in Korea, we carried out work by screening of *Fusarium* species, which can produce deoxynivalenol(DON) from agricultural products in Western Gyeongnam, Korea. From 215 samples of soil and agricultural products, 129 strains of *Fusarium* species were obtained. The isolated strains were cultured at 28°C for 14 days in rice mediums, and then extracted with 84% acetonitrile. The production of DON was verified by thin layer chromatography(TLC). As the results of TLC, 25 strains were identified as DON producing strain. But, only 10 strains were identified as DON producing strains by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). The levels of DON production were shown from 20 to 90 µg/g of rice medium. The maximum DON producing strain No. 41 was isolated from corn. In conclusion, the above results indicate that DON producing fungi contaminated agricultural products in Korea. Therefore, further studies are required to accumulate more detailed data about the contamination of DON in various agricultural products.

**Key word** : *Fusarium* sp., Deoxynivalenol(DON), TLC, ELISA

### I. 서 론

곰팡이류가 증식한 후 2차 대사를 거쳐 생성되는 곰팡이독소(mycotoxin)는 사람이나 동물이 이를 섭취하면 생체 내에서 유독작용을 일으키는데, 이들 독소의 원인 곰팡이는 *Aspergillus*속, *Penicillium*속 및 *Fusarium*속 등이 알려져 있다.<sup>1,2)</sup> 이들 곰팡이 중에서도 *Fusarium*속 곰팡이는 비교적 저온에서도 생육이 양호하며 저장 또는 가공중의 곡류 및 채소류의 부패에 관여하여 많은 독성물질을 생성한다고 알려져

있다.<sup>3)</sup> *Fusarium*속 곰팡이가 생성하는 독성물질을 *Fusarium* toxin이라 하며 이 중에서 가장 많은 비중을 차지하는 것이 trichothecene계 독소이다.<sup>4)</sup>

Deoxynivalenol(DON)은 trichothecene계 독소의 하나로 vomitoxin이라는 명칭으로도 통용되고 있으며 *Fusarium graminearum*(*Gibberella zeae*)과 *Fusarium sporotrichioides*등이 생성하는 곰팡이독소이다.<sup>5,6)</sup> DON이 오염된 곡물을 섭취한 사람이나 가축은 설사, 구토, 발열, 피부손상, 백혈구 감소, 단백질 생합성 작용억제 등의 증상을 보인다고 보고되었다.<sup>7-9)</sup> DON에 대해 많은 나라에서 규제를 하고 있는데, 캐나다의 경우 연질밀 2 ppm, 유아식품 1 ppm 수준을 허용 규제치로 정했으며, 미국 FDA의 경우 밀 완제품 1 ppm, 사료 5 ppm 수준을 규제치로 정해놓

†Corresponding author :Division of Applied Life Science,  
Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea  
Tel : 055-751-5480, Fax : 055-753-4630  
E-mail : dhchung@nongae.gsnu.ac.kr

Districts	Number of samples									Total	
	Rice	Soil	Soybean	Barley	Fruit	Meju	Peanut	Corn	Unhulled barley		Unhulled rice
Chinju	5	5	7	5	5	4	7	6	-	-	44
Sanchung	3	5	5	4	5	5	5	3	5	-	40
Hamyang	5	5	6	5	5	5	5	5	5	5	51
Sachun	5	5	5	2	5	3	5	5	5	5	45
Samchungpo	5	5	5	5	5	5	5	-	-	-	35
Total	23	25	28	21	25	22	27	19	15	10	215

Table 1. Location of sampling site and sources

고 있으며, 소련 보건성의 규제치는 경질밀 1 ppm, 기타밀 0.5 ppm으로 상당히 엄격하다.<sup>10,11)</sup>

농산물에서의 DON 오염 여부의 검색 및 오염방제를 위해서는 DON 생성 곰팡이의 존재 유무, 분포상황 및 생성능 등에 관한 과학적 연구와 동시에 분석법을 확립하는 것이 선행되어야 할 것이다. 현재 DON의 분석은 주로 thin layer chromatography (TLC), high pressure liquid chromatography (HPLC) 등이 이용되고 있으나, 대량의 시료 분석시 장시간과 인력이 많이 요구된다는 단점이 있다.<sup>12,13)</sup> 그러므로 DON을 정밀하게 모니터링하기 위해서는 시료 요구량이 적고, 정제가 간편하며, 대량 처리 할 수 있는 방법의 개발이 요구되고 있다.

본 연구에서는 서부경남지방 곡류의 안전성을 평가하기 위한 일환으로 *Fusarium*속 곰팡이를 분리하고, 분리된 균을 인공배양 한 후 독소 생성능이 있는 곰팡이를 TLC 방법으로 검색한 후 검출감도가 뛰어나고 신속, 간편하면서도 또한 경제적인 장점을 가진 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)에 의해 DON 생성량을 정량하여 그 결과를 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험재료

Anti-DON MAb는 본 실험실에서 개발한 DON-3 hybridoma cell line 배양상등액을 사용하였으며, polyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20), hydrogenperoxide, deoxynivalenol (DON), 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMBZ) 등은 Sigma사로부터, antimouse IgG-horseradish peroxidase (HRP) conjugate는 Jacson사에서, 그리고 TLC plate (No. 5553)는 Merck사에서 구입하여 사용하였다. 그 외 사용한 시약과 유기용매는 특급 이

상을 사용하였다. 또한 microtiter plate 96well은 Dynex technologies사에서, ELISA Reader는 Bio-Rad Model 550 (U.S.A.)을 사용하였다.

### 2. 균원시료

본 실험에 사용된 균원시료는 진주를 비롯한 서부경남 일원(사천, 삼천포, 산청, 함양)에서 1999년 11월부터 2000년 1월 까지 쌀을 비롯한 10종류 채취시료에서 총 215개의 균원시료를 Table 1과 같이 일정량씩 수집하여 4℃에 보관하면서 DON 생성균의 검색에 사용하였다.

### 3. *Fusarium*속 곰팡이의 분리 및 배양

균의 분리는 시험관(18×200 mm)에 멸균수 10 ml와 시료 1 g을 취하여 교반기로 혼합한 후 혼합액 200  $\mu$ l를 rose bengal agar [Peptone, 0.5% (w/v); Bacto Dextrose, 1% (w/v); KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1% (w/v); MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.05% (w/v); Rose Bengal, 0.0035% (w/v); Agar, 1.5% (w/v); pH 5.6] 평판배지에 분주하여 도말한 후 28℃에서 7일간 배양하였다. 평판배양 후 Nelson 등<sup>14)</sup>의 방법으로 colony의 모양, 크기 및 색깔 등을 관찰하여 *Fusarium*속으로 추정되는 균주를 선정하여 potato-dextrose agar (PDA) (Difco laboratories) 평판배지에서 분리를 반복하면서 단일 집락을 PDA 사면배지에 접종시킨 후 4℃에 보관하며 실험에 사용하였다. 또한 순수 분리한 *Fusarium*속 곰팡이 중 DON 생성곰팡이를 검색하기 위하여 PDA 사면배지에서 보관한 곰팡이의 분생자를 약 4×4 mm 정도 떼어내어 쌀가루와 톱밥을 9 : 1 (w/w)로 섞은 쌀 고체배지의 시험관(25×180 mm, 배지량 5g)에 접종하여 28℃에서 14일간 배양하였다.

#### 4. 분석시료의 전처리

배양이 끝난 후 121°C에서 15분간 멸균한 후 Romer 등<sup>15)</sup>의 방법에 준하여 배지 5배의 acetonitrile : water (84 : 16, v/v)를 첨가하여 추출하였다. 용매층을 일정량 회수하여 charcoal (Darco G-60) : alumina (80~200 mesh)를 7 : 3(w/w) 비율로 넣은 소형 column에 추출용매를 통과시켜 고속진공농축기로 농축시킨 후 TLC 분석용 시료는 ethylacetate에 용해시켜 검색용 시료로 사용하였고, 면역분석용 시료는 20% 메탄올에 녹여 실험에 사용하였다.

#### 5. TLC법에 의한 DON 생성균의 검색

추출된 시료의 TLC법에 사용된 전개용매는 toluene : acetone : methanol (5 : 3 : 2, v/v) 혼합용액을 사용하였으며, 20% aluminum chloride anhydrous (20g/60% ethanol 100ml) 용액으로 발색시키고 100~110°C에서 10분 정도 건조시킨 후 UV (365 nm) 하에서 관찰하였다.

#### 6. 면역분석법에 의한 DON의 분석

분리균주의 DON 생성능을 분석하기 위하여 사용한 면역분석법은 본 실험실에서 확립한 indirect competitive ELISA법을 사용하였다. 코팅항원으로 DON-HG-BSA를 0.05M PBS용액 ml당 1µg의 농도로 조절한 후 96 well microplate에 100 µl씩 분주하여 4°C에서 하루 방치하여 코팅한 후 세척용 완충용액(0.05M PBS-tween)으로 4회 씻었다. 0.05M PBS에 녹인 0.1% OVA를 well에 125 µl씩 분주하여 4°C에서 하루 방치하여 blocking 한 후 세척액으로 4회 세척하고, 20% methanol PBS-tween에 녹인 표준 DON 또는 시료 50 µl를 각 well에 넣고, 1차 antibody (1:1,000) 50 µl를 넣어 microtiter plate shaker를 사용하여 섞은 후 4°C에서 하룻밤 반응시켰다. 반응시킨 plate를 세척액으로 5회 세척하여 well에 1:10,000으로 희석한 2차 항체 (HRP-labeled goat anti-mouse IgG)를 100 µl씩 분주하여 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 세척액으로 다시 6회 세척 후 기질 (TMBZ) 용액 100 µl를 분주하여 실온에서 30분 동안 발색시켰다. 푸른색으로 발색된 well에 2N-황산용액을 50 µl씩 넣어 노란색으로 반응을 정지시킨 후 ELISA reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선과 Bio-Rad사에서 제공한 소프트웨어를 사용하여 DON 함량을 계산하였다. 이 때 작성된 표준곡선은 Fig. 1과 같았다. 한편 항체의 특이성을 조사하기 위하여 trichothecene계 독소

들인 nivalenol, T-2 toxin, deacetoxyscripenol 및 3-acetyl DON과 교차반응성을 조사하였다.

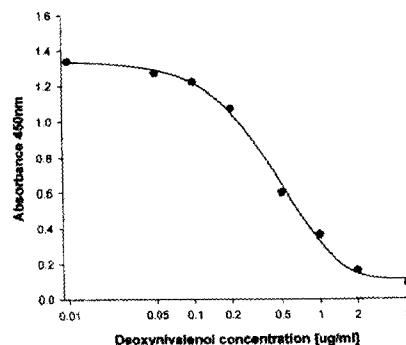


Fig. 1. Standard curve for DON by indirect competitive ELISA.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. Fusarium속 균의 분리

서부경남에서 수집된 215개의 시료 중 형태학적으로 Fusarium속으로 인정되는 곰팡이는 129균주로 분리되었으며, 평판배양상에서 형태학 특성을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 일반적으로 균사는 처음에는 백색을 나타내다가 자라면서 황색, 핑크색, 적자색, 갈색 등을 나타내었고, colony 뒷면은 황색과 적색을 나타내었다. Microconidia 모양은 칼 모양의 형을 나타내며 길게 뻗은 상태를 보였고 3~5개의 격벽이 확인되어 Fusarium속으로 분류하였다.

#### 2. TLC법에 의한 DON 생성균의 검색

분리균의 DON 생성능에 대한 TLC분석 결과는 Table 3과 같으며, 분리된 Fusarium속 곰팡이 129균주 중 25균주가 DON 생성능이 있음을 확인하였다. 이 때의 DON의 Rf치가 0.56으로 나타났다. DON은 형광성과 UV 흡광도가 잘 나타나지 않기 때문에 TLC에서는 발색제에 의존할 수밖에 없는데 Scott 등<sup>16)</sup>은 황산과 p-anisaldehyde등을 처리한 후 110~120°C에서 가열하는 방법으로 발색을 시도하였으며 12, 13번 탄소의 epoxy기에 대한 이용방법으로 p-anisaldehyde를 처리하는 방법이 있었으나 Kamimura 등<sup>17)</sup>이 이용한 20% aluminum chloride 처리가 DON에서는 가장 양호하게 형광성을 띄는 점이 본 실험에서도 확인되었다. DON의 형광을 가장 높게 나타낸 균주는 C-41번으로서 Fig. 2에서 보는 바와 같이 나타났고 표준 DON의 Rf치와 같은 위치에서 뚜렷이 확인되었다.

Table 2. Cultural and morphological characteristics of *Fusarium* sp. isolates

characteristics	Observation
Microconidia	globose, oval, pear-shaped, elongate
Shape	0-1 septated
Dimension(μm)	
0-septate	6.0-11.0×2.6×8.2
1-septate	9.2-19.0×3.0×7.2
Macroconidia	falcate to curved with or without foot cell
Shape	3-5 septated
Dimension(μm)	
3-septate	19.0-45.0×3.2×6.0
5-septate	19.0-51.0×3.54×6.0
Aerial mycelium	
Color	white, yellow, carminered to purple
Consistency	downy, somewhat powderly weely
Growth rate	3-8cm

Table 3. The distribution of *Fusarium* sp. isolated from 10 kinds of samples and DON-producing strains screened by TLC

Source of sample	No. of samples	No. of <i>Fusarium</i> sp. isolated	No. of DON producing-isolates
			TLC
Rice	23	15	1
Meju	22	11	4
Corn	19	9	1
Barley	21	6	1
Soil	25	21	4
Peanut	27	18	4
Fruit	25	13	4
Soybean	28	20	3
Unhulled barley	15	5	2
Unhulled rice	10	11	1
Total	215	129	25



Fig. 2. TLC chromatogram of crude sample. A; Standard DON, B; Sample No. 41

한편, 19개 국가의 곡류에서 *Fusarium* 속 독소 즉, nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone의 오염을 조사한 Tanaka 등<sup>18)</sup>의 보고에 의하면 우리나라 시료 중 분리된 *Fusarium* 곰팡이에서의 DON 생성균의 발현율이 100%였는데 본 실험에서는 낮은 발현율을 보였다. 이러한 결과는 실험에 사용한 시료의 채취 시기, 기온의 영향이 균의 성장에 영향을 준 것으로 생각된다.

3. 면역분석법에 의한 DON의 분석

TLC법에 의해 확인된 균주의 DON 생성능을 조사하기 위하여, 본 실험실에서 확립한 indirect competitive ELISA법을 사용하여 조사하였다. 이때

항체는 Table 4에서 보는 바와같이 nivalenol, T-2 toxin, deacetoxyscripenol과는 교차반응이 없었으며 3-acetyl DON만 23%의 교차반응성을 가지며 표준 DON과 농도에 따라 예민하게 반응하였다. 본 실험의 결과 10 ppb- 5 ppm까지 검출 가능함을 확인할 수 있었다.

TLC법으로 DON의 생성능이 확인된 균주 25개의 시료를 ELISA법으로 정량 실험한 결과 Table 5와 같이 10개의 시료에서 DON 생성능이 있는 것으로 나타나 TLC의 결과와 차이를 보였다. 이는 ELISA는 DON에 대한 특이성이 있는 단클론 항체를 사용하여 DON만을 측정할 수 있는 반면, TLC법에 의한 것은 특이성이 낮고, 같은 Rf치를 가지는 spot이라도 배양

Table 4. Cross reactivity of used antibody to DON with analogue by indirect competitive ELISA

Trichothecene	Cross-reactivity(%)
DON	100
Nivalenol	-
3-AcetylDON	23
T-2 toxin	-
Deacetoxyscripenol	-

중 생성되는 분자량과 특성이 비슷한 이차대사산물 중 다른 물질 일 수 있으므로 이러한 결과의 차이가 나타난 것으로 생각된다. ELISA법으로 분리균주의 DON 생성량을 정량적으로 분석한 결과 쌀배지 g당 20-90  $\mu\text{g}$ 으로 나타났고, 그 중 가장 생성량이 높은 균주는 TLC에서와 같이 옥수수에서 분리한 No. 41로 g당 90  $\mu\text{g}$ 의 DON을 생성하는 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 시료에 축적되어 오염된 농도는 아니지만, 이러한 독소 균들이 곡류에 오염되어 있을 경우, 시료에서의 독소오염율이 높아지고 또한 저장·유통 중 독소의 축적에 의해 대부분 국가의 허용기준치인 1 ppm을 초과할 위험도가 크다. 그러므로 곡류에서의 독소생성곰팡이의 지속적인 모니터링은 필요하다고 사료된다.

Table 5. DON producing ability of isolated strains by ELISA

DON( $\mu\text{g/g}$ )	No. of strains
0-20	2
21-25	2
26-30	1
31-35	0
36-40	0
41-45	0
46-50	2
51-55	2
56-60	0
61-100	1
Total	10

곡류 중 DON의 오염정도는 북미, 유럽 등에서 광범위하게 보고되고 있다. 미국의 경우 분석시료 중 80%가 존재하고 있음을 확인하였고<sup>19)</sup>, 영국에서는 70%<sup>20)</sup>, 캐나다에서는 90%<sup>21)</sup>, 뉴질랜드에서는 50%<sup>22)</sup> 존재하였으며 지역에 따라 다소의 차이는 있으나 세계적으로 널리 분포하고 있음을 알 수 있다. 이 등<sup>23)</sup>도 국내 수입된 옥수수에서 DON의 오염도를 조사하여 대부분의 국가의 허용기준치인 1 ppm 이상

으로 DON에 오염된 옥수수 시료가 많은 것으로 나타나 농산물의 안전성 관리가 절실히 요구된다고 하였으며, 본 연구에서도 우리나라 농산물과 토양에서 DON 생성균의 오염이 확인되어, 농산물의 안전성 향상을 위하여 DON을 포함한 곰팡이독소의 오염방지를 위한 체계적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되며, 특히 우리나라의 경우 DON의 허용 기준치가 아직 설정되어 있지 않은 실정이어서 이에 대한 관심이 더욱 필요 할 것으로 생각된다.

#### IV. 결 론

서부 경남 일원에서 쌀을 비롯한 농산물에서 DON 생성능이 있는 균주의 오염여부를 조사하기 위해 총 215개의 균원시료에서 균 분리를 실시한 결과 *Fusarium*속 129균주를 분리하였다. 분리된 균을 쌀배지에서 28°C, 14일 배양한 후 추출하여 thin layer chromatography (TLC)법으로 DON 생성능을 확인한 결과 25균주에서 확인되었으나 ELISA법에 의해서는 10 균주가 확인되었다. DON 생성능은 시료 g당 20-90  $\mu\text{g}$ 으로 나타났고, 그 중 가장 생성량이 높은 균주는 옥수수에서 분리한 No. 41로 g당 90  $\mu\text{g}$ 이었다.

#### 참 고 문 헌

- 1) Bullerman, L. B.: Significance of mycotoxins to food safety and human health, *J. Food Prot.*, 42, 65-86, 1979.
- 2) Barnes, J. M.: Aflatoxin as a health hazard. *J. Appl. Bacteriol.*, 33, 285-298, 1970.
- 3) Cole, R. J. and Cox. R. H.: Hand book of toxic fungal metabolites. New York, London, San Francisco, Academic press. pp. 152-263, 1981.
- 4) Ueno, Y.: Mycotoxins. In toxicological aspects of food, Miller, K. Ed. Elsevier, Amsterdam. pp. 139-150, 1987.
- 5) Pather, S. V. and Mirocha, C. J.: Analysis of deoxynivalenol from culture of *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 992-994, 1978.
- 6) Pestka, J. J., Bahrawy, A. E. and Hart, L. P.: Deoxynivalenol and 15-monoacetyldeoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* R 6576 in liquid media. *Mycopathologia*, 91, 23-28, 1985.
- 7) John, R. C., Martin, F. H. and Robert. L. O.: Response of Peyer's patch lymphocyte subsets to *Giardia muris*

- infection in BALB/C mice. *Cellular Immuno.*, 97, 44-50, 1986.
- 8) Joffe, A. Z.: *Fusarium species, their biology and toxicology*. New York, Chichester: J wiley an sons. 1986.
- 9) Pestka, J. J.: Enhanced surveillance of foodborne mycotoxins by immunochemical assay. *J. Assoc. off. Anal. Chem.*, 71, 1075-1081, 1988. 10) Claremills, E. N., Sandra, A., Heather, A. L. and Morgan, R. A. M.: An enzyme-linked immunosorbent assay for deoxynivalenol in wheat, utilizing novel hapten derivatization. *Food & agricultural immunology*, 2, 109-118, 1990.
- 11) Rotter, B. A., Prelusky, D. B and Pestka, J. J.: Review : Toxicology of deoxynivalenol. *J. of Toxicology and Environmental Health*, 48, 1-34, 1996.
- 12) Epply, R. M., Trucksess, M. W. and Nesheim, S.: Deoxynivalenol in winter wheat: thin layer chromatographic method and survey. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 67, 43-45, 1984.
- 13) Bennet, G. A., Peterson, R. E. and Plattner, R. D.: Isolation and purification of deoxynivalenol and a new trichothecene by high pressure liquid chromatography. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 58, 1002-1005, 1981.
- 14) Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O.: *Fusarium species and illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Park, Pennsylvania. pp. 1-193, 1983.
- 15) Romer, T. R.: Use of small charcoal/alumina cleanup columns in determination of trichothecene mycotoxins in foods and feeds. *J. AOAC*. 69, 699-703, 1985.
- 16) Scott. P. M., Lawrence, J. W. and Vanwalbeek, W.: Detection of mycotoxins by thin layer chromatography: application to screening of fungal extracts. *Appl. Microbiol.*, 20, 839-842, 1970.
- 17) Kamimura, H., Nishuim, M., Yasuda, K., Saito, K., Ibe, A., Nagayama, Y., Ushiyama, H. and Naoi, Y.: Simultaneous detection of several *Fusarium* mycotoxins in cereals, grains, and foodstuffs. *J. AOAC*, 64, 1067-1073, 1981.
- 18) Tanaka, T., Hasegawa, A. and Yamamoto, S.: Worldwide contamination of cereal by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. *J. Agri Food Chemi.*, 36, 976-983, 1988.
- 19) Cote, L. M., Reynolds, J. D., Vesonder, R. F., Buck, W. B., Swanson, S. P., Coffey, R. T. and Brown, D.: Survey of vomitoxin-contaminated feed grains in midwestern United States, and associated health problems in swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184, 189-192, 1984.
- 20) Tanaka, T., Hasegawa, A., Matsuki, Y., Lee, U. S. and Ueno, Y.: A limited survey of *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone in 1984 UK harvested wheat and barley. *Food Addit. Contam.*, 3, 247-252, 1986.
- 21) Trenholm, H. L., Cochrane, W. P., Cohen, H., Elliot, J. I., Farnworth, E. R., Friend, D. W., Hamilton, R. M., Standish, J. F. and Thompson, B. K.: Survey of vomitoxin contamination of 1980 Ontario white winter wheat crop: results of survey and feeding trials. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 66, 92-97, 1983.
- 22) Hussein, H. M., Franich, R. A., Baxter, M., Andrew, I. G.: Naturally occurring *Fusarium* toxins in New Zealand maize. *Food Addit. Contam.*, 6, 49-57, 1989.
- 23) 이향범, 손동화, Kunio Kosaka, Yoshio Ueno: 옥수수 중 Deoxynivalenol의 검출을 위한 효소면역측정법의 개발. *한국산업미생물학회지*, 25, 414-419, 1997.