J. Fd Hyg. Safety 16(3), 200–205 (2001)

국내산 우유 및 유제품에서의 Aflatoxin M_1 오염수준 및 Monte-Carlo Simulation을 이용한 발생 추정

박경진† · 이미영* · 노우섭 · 천석조 · 심우창 · 김창남 · 신은하 · 손동화**
*한국보건산업진흥원 식품산업단, *서울대학교 보건대학원, **한국식품개발연구원*

Occurrence and Estimation Using Monte-Carlo Simulation of Aflatoxin M_1 in Domestic Cow's Milk and Milk Products

Gyung-Jin Bahk†, Mi-Young Lee*, Woo-Sup Roh, Seok-Jo Chun, Woo-Chang Shim, Chang-Nam Kim, Eun-Ha Shin and Dong-Hwa Shon**
Department of Food Industry, Korea Health Industry Development Institute, Seoul, 156-050, Korea
**School of Public health, Seoul National University, Seoul, 110-744, Korea*
***Korea Food Research Institute, Seongnam, Kyunggi, 463-746, Korea*

ABSTRACT – In this study, occurrence of aflatoxin M_1 (AFM_1) in domestic milk and milk products was determined. The level of AFM_1 in market milk (0.047 ppb) was lower than that in raw milk (0.083 ppb) but this looks like that is due to dilution in collecting process rather than the effect of sterilization. In the case of nonfat dry milk, level of AFM_1 appeared high by 0.24 ppb but it is thought to be not different from market milk actually because nonfat dry milk is diluted at intake. In the case of ice cream, finished products were contaminated with AFM_1 of 0.020 ppb and also have the possibility of the contamination of AFB_1 due to secondary raw material such as nuts and almond. On the basis of the results of this study and previous studies, Monte-Carlo simulation is conducted to estimate the contamination level of AFM_1 in domestic market milk. To consider uncertainty and variability fitting procedure was passed through. And we used beta distribution to estimate the prevalence and triangular distribution to estimate the concentration level of AFM_1 in milk. As a result, the 5%, 50% and 95% points of the distribution of the probability of AFM_1 contamination level in milk is 0.0214, 0.0946 and 0.1888 ppb, respectively. Also we estimate that AFM_1 in almost milk was low more than 0.5 ppb that is American acceptable level but 80.4% exceeded far 0.05 ppb that is European standard.

Key words □ Aflatoxin M_1, milk, milk product, Monte-Carlo simulation

아플라톡신은 *Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus* 등의 곰팡이 대사산물로서 동물에서 발암성, 돌연변이성, 최기형성 등을 나타내는 강력한 독성물질이다. 아플라톡신의 주요한 형태는 B_1, B_2, G_1, G_2 등이 있으며, 그 중 가장 독성이 강한 Aflatoxin B_1(AFB_1)은 IARC에서 Group 1로 분류한 인체 발암물질로서[1] 열에 안정하여 270~280°C 이상으로 가열해야 분해되므로 식품의 일반적인 열처리나 가공공정에 의해서는 독소가 완전히 제거되지 않는다.[2-4] 따라서 아플라톡신에 오염된 농축산물을 원료로 하여 만들어진 가공식품도 연쇄적으로 오염되어 이를 섭취한 사람이나 동물에게 독성을 나타낸다.

AFB_1은 주로 땅콩, 보리, 옥수수, 쌀, 밀 등의 곡물에서 검출된다. 특히 온도가 높고 상대습도가 높은 지역에서 잘 생성되며 저장기간이 길수록, 환기가 불충분할수록 잘 생성된다. 국내에서는 곡류 전반에 걸쳐 AFB_1이 검출되고 있으며 메주, 된장, 건조과일 및 수산물에서도 다량의 AFB_1이 검출된 사례가 있었다. 또한 수입 농산물 및 가공식품에서도 다량의 AFB_1이 검출되어 폐기 및 반송되기도 하였다.[5] 국내식품 중의 아플라톡신 함유량 조사연구에서는 곡류 2.6 ppb, 두류 3.9 ppb, 견과류 4.2 ppb, 가공식품 1.4 ppb의 AFB1이 검출되었으며 국내 잠정 허용기준치 10 ppb[6]을 초과한 경우도 2%에 달했다. 수입식품 중에서는 곡류 4.2 ppb, 두류 5.4 ppb, 견과류 6.0 ppb, 가공식품 3.8 ppb이며, 잠정 허용기준치 초과율도 6.9%로 나타나 국내에서 소비되는 식품의 아플라톡신 오염률이 상당한 것을 알 수 있었다.[7]

AFB_1은 체내대사에 의하여 Aflatoxin M_1(AFM_1)으로 전

†Author to whom correspondence should be addressed.

환되며, 그 전환율은 1~2%로 알려져 있다.[8] AFM_1은 AFB_1보다 독성은 낮으나 여전히 간독성 및 발암성을 나타내며 IARC에 의해 Group 2A로 분류되어있다.[1] AFM_1은 가열, 냉동, 발효 등 각종 가공공정에서도 안정성이 큰 것으로 보고되고 있어,[2-4] 아플라톡신에 오염된 사료를 섭취한 유우(乳牛)의 유 및 유제품의 섭취가 건강에 유해한 영향을 미칠 수 있으며 특히 유 및 유제품을 많이 섭취하는 유아 및 어린이가 이러한 위험에 많이 노출될 것으로 추정된다.

외국의 경우 우유 중의 AFM_1 오염허용치를 법으로 정하여 시행하고 있으며 미국의 경우는 0.5 ppb이고, 유럽은 0.05 ppb, 가장 엄격한 스위스의 경우는 0.01 ppb이다.[9] 우리나라의 경우 식품 중 곡류, 두류, 땅콩, 견과류 및 그 단순가공품(분쇄, 절단)에 한해서 10 ppb 잠정 허용기준치가 설정된 AFB_1[16]과 달리 AFM_1은 허용기준치가 아직 설정되어 있지 않은 실정이다.

국내에서는 최근 몇 년간 다수의 AFM_1의 검출기법에 대한 연구가 보고되어 왔으나[10-13] 유 및 유제품에 대한 AFM_1 오염 수준의 전반적인 평가가 이루어지지 않은 실정이며 위해성에 기반한 노출량 평가관련 연구는 전무한 상태이다.

본 연구에서는 국내에서 생산되는 유 및 유제품에 대하여 AFM_1을 분석하고, 가공공정별 AFM_1 함량 변화를 조사하여 유 및 유제품에서의 AFM_1의 변이 및 발생 경향을 살폈다. 또한 국내 시판 우유의 AFM_1 발생 연구 자료를 취합하여 기존의 point estimate가 아닌 확률적 방법과 simulation을 이용, 우유에서 AFM_1의 발생수준을 추정하고자 하였다.

재료 및 방법

시료

본 분석은 판매 또는 제조공정 중의 우유(초코우유, 딸기우유 포함)와 아이스크림 및 아이스크림 부원료(망고, 호두, 아몬드), 그리고 목장에서의 착유유 및 사료를 시료로 하였다. AFM_1과 AFB_1을 분석하기 위하여 Table 1과 같이 시료를 채취하여 분석에 이용하였다. 사료의 경우 3개의 목장에서 종류별(펠렛형, TMR형, 후레이크형)로 6개씩 채취하였고 시유의 경우는 저장온도별로 유통기간 중의 AFM_1의 변화정도를 보기 위하여 각각 5°C, 10°C, 15°C에서 5일간 저장한 후 분석에 이용하였다.

시료의 전처리

AFM_1의 오염도를 분석하기 위한 유제품들의 추출과정은 먼저 Sep-Pak® C_{18} cartridge (Waters Associates, Milford, MA, USA)를 vacuum manifold (VISIPREP™, Sepelco, Bellefonte, PA, USA)에 장착시킨 후 methanol 10 mL와 water 10 mL로 전처리 하였다. 이어서 시료 10 mL와 water 15 mL를 혼합한 후 약한 진공을 가하며 천천히 주입하였다. 독소가 주입된 cartridge를 acetonitrile-water(5:95, v/v) 10 mL로 세척한 후 diethyl ether 7 mL로 AFM_1을 추출하였다. 이때 초코우유를 제외한 모든 종류의 가공유는 원액을 바로 실험에 이용하였는데 초코우유는 코코아 분말의 제거를 위하여 3,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 그 상등액만 취하였다. 탈지분유의 경우에는 시료 10 g을 water 50 mL로 희석한 후, 이 중 10 mL를 분석에 사용하였으며 아이스크림 시료는 10 g을 water 15 mL로 섞은 후 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리 하여 지방층과 불순물을 제거하고 상등액은 60°C에서 질소가스를 이용하여 건조시킨 후 PBST (phosphate buffered saline with Tween 20: 0.01 M phosphate buffer, 0.138 M NaCl, 0.0027 M KCl, and 0.05% Tween 20) 1 mL에 용해시켰다.

AFB_1의 오염도를 분석하기 위한 사료 및 아이스크림 부

Table 1. Tested samples and level of AFM_1 in cow's milk and milk products

Samples		Analyzed item	No. of samples	Conc. (ppb)
Cow's milk	feedstuffs	AFB_1	18	7.000 ± 4.096
	raw milk	AFM_1	15	0.083 ± 0.037
	bulk milk (before sterilization)	AFM_1	5	0.035 ± 0.007
	finished product (after sterilization)	AFM_1	10	0.047 ± 0.014
	market milk stored for 5 days at 5°C	AFM_1	10	0.054 ± 0.017
	market milk stored for 5 days at 10°C	AFM_1	10	0.067 ± 0.013
	market milk stored for 5 days at 15°C	AFM_1	10	0.062 ± 0.012
Nonfat dry milk	finished product	AFM_1	5	0.240 ± 0.059
Ice cream	secondary raw material (nuts etc.)	AFB_1	5	0.067 ± 0.010
	mixed ice cream (before sterilization)	AFM_1	5	0.047 ± 0.014
	mixed ice cream (after sterilization)	AFM_1	5	0.029 ± 0.011
	finished product	AFM_1	5	0.020 ± 0.003

원료는 AFM_1의 경우와 마찬가지로 Sep-Pak® C_{18} cartridge로 추출하였고 전처리는 10 g의 사료를 건식 믹서기로 곱게 간 후 methanol-water (60:40, v/v)를 20 mL 첨가한 후 1시간 동안 진탕하였다. 이를 15,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 잔사를 제거하고 상등액만 사용하였다. 아이스크림 원료 중 망고를 제외하고는 사료와 동일하게 전처리 하였고 망고는 시유의 전처리법과 동일하게 처리하였다.

AFM_1의 분석

AFM_1의 분석을 위하여 간접경합 ELISA (competitive indirect; ciELISA)를 이용하였으며, 표준곡선은 Fig. 1과 같다. 즉 Aflatoxin M_1-BSA conjugate (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 2 μg/mL의 농도로 coating buffer (0.02 M Tris buffer 0.15 M NaCl, pH 9.0)에 용해하여 microplate (F96 Maxisorp, #442404, Nunc, Kamstrup, Denmark)의 각 well당 100 μl씩 넣고 4°C에서 하룻밤 방치한 후 125 μl의 washing buffer인 PBST로 3회 세척한 뒤 1% BSA를 첨가한 PBST에 1/20,000로 희석한 항혈청인 anti-aflatoxin M_1-BSA antiserum과 시료용액의 1:1 혼합액을 100 μl씩 넣고 실온에서 1시간동안 반응시켰다. 그 다음 3회 세척하고 washing buffer에 1/20,000로 희석한 goat anti-rabbit IgG antibody-HRP(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 2차 항체로 처리하였다. 1시간 처리 후 3회 세척하고 기질용액 (0.001% H_2O_2, 0.01% TMB in 0.05 M phosphate citrate buffer, pH 5.0) 100 μl를 30분 반응시킨 후 2 N H_2SO_4, 50 μl로 반응을 정지시키고 microplate reader (Thermomax Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 분석치는 시료당 3반복의 평균값으로 표시하였으며 검정곡선으로부터 그 값을 읽어 농도를 구하였다.

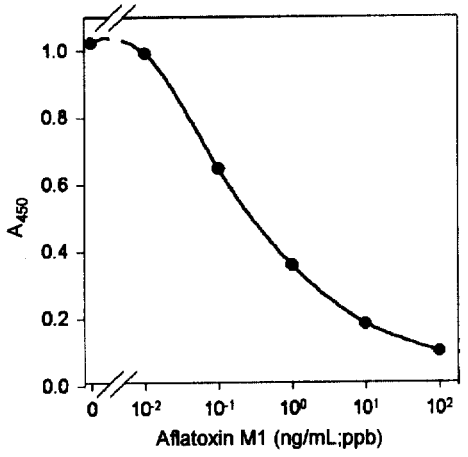

Fig. 1. Standard curve for AFM1 by ciELISA.

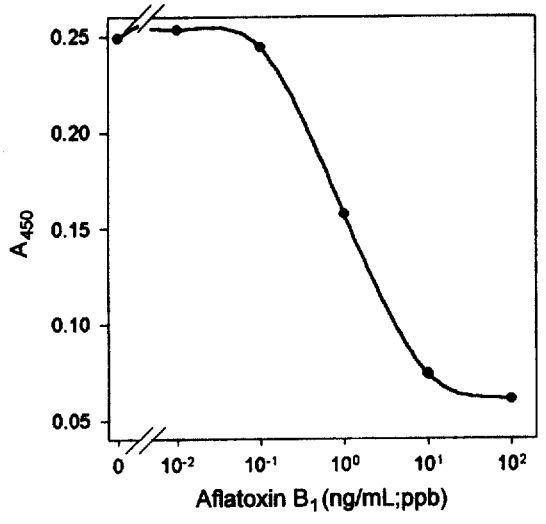

Fig. 2. Standard curve for AFB1 by cdELISA.

AFB_1의 분석

AFB_1의 분석에는 직접경합 ELISA(competitive direct; cdELISA)를 이용하였으며, 표준곡선은 Fig. 2와 같다. 즉 정제된 anti-AFB_1 antibody를 상기의 coating buffer에 2 μg/mL의 농도로 희석한 후 각 well에 100 μl씩 채우고 하룻밤 방치한 후 125 μl의 washing buffer로 3회 세척하였다. 다음으로 washing buffer로 1,000배 희석한 AFB_1-HRP conjugate와 시료용액을 1:1로 혼합한 용액을 100 μl 넣고 상온에서 1시간 동안 경합반응을 시켰다. 이후의 과정은 위의 ciELISA의 경우와 동일하게 처리하여 발색하고 그 흡광도를 측정하였다.

Monte-Carlo Simulation

몬테-카를로 시뮬레이션은 조사자료 및 본 연구의 실험결과 자료를 바탕으로 이용 가능한 확률분포모델을 선정, Simulation Model을 작성하였다. Simulation 구동은 @RISK 4.0 (Palisade Inc, 2000)을 이용하였으며 Sampling type은 Median Latin Hypercube sampling을, Generator seed는 random 방법을 선택하였고, Iterations(반복시행횟수) 20,000 이상의 결과를 최종적인 Simulation 결과로 이용하였다.

결과 및 고찰

우유 및 유제품의 아플라톡신 발생수준

시료 중 아플라톡신 분석결과는 Table 1과 같다. 분석결과 사료는 모두 AFB_1에 오염된 상태였고, 오염수준은 평균 7.000 ± 4.096 ppb으로 나타났다. AFM_1의 양과 AFB_1의 섭

취비는 직접적으로 관련이 있다고 보고한 Allcroft and Roberts[14]의 연구결과를 토대로 위의 사료를 섭취한 유우의 우유는 AFM_1으로 오염되었음을 추측할 수 있다. 원유의 AFM_1 오염도가 평균 0.083 ppb로 사료의 AFB_1 오염수준의 1.2%인 것으로 나타났다. 이는 AFB_1의 1~2%가 체내에서 AFM_1으로 대사된다는 기존의 연구[8]와 일치한다.

따라서 우유의 AFM_1 발생을 막기 위해서는 사료 중 아플라톡신 오염을 최소화하는 것이 무엇보다 중요하다. 아플라톡신에 오염된 사료에 hydrated sodium calcium aluminosilicate를 첨가함으로써 사료 중 AFB_1 농도에 따른 유 중 AFM_1을 감소시킬 수 있다는 연구결과가 보고되었으며, 사료에 암모니아를 처리함으로써 존재하는 AFB_1의 95~98%을 무독화한다는 보고도 있다.[3]

아이스크림의 부원료로 많이 사용되는 호두, 아몬드 등의 AFB_1은 평균 0.067 ppb로 비교적 오염 수준이 낮은 것으로 나타났다. 그러나 이 결과는 아이스크림이 AFM_1 뿐 아니라 AFB_1에 오염될 가능성 또한 존재함을 시사한다.

우유의 경우 살균 전후에 따른 AFM_1의 농도는 유의한 차이가 없었으나 원유와 시유를 비교할 때는 유의한 감소가 있음을 알 수 있다. 이는 시유를 대량으로 집유하는 과정에서 AFM_1이 희석되어 농도가 다소 감소한 것으로 보이며, 살균 전후의 농도 차이는 유의하지 않았다. 따라서 Yousef and Marth[15]의 연구에서 우유내의 AFM_1 수준은 살균에 따른 뚜렷한 변화가 나타나지 않는다는 보고와 본 결과는 일치한다.

탈지분유의 경우 AFM_1의 농도가 현격히 증가하였으나 이는 탈지분유가 농축되었기 때문이며 섭취시 다시 희석하므로 실제로는 다른 유제품과의 오염수준 차이가 크지 않을 것으로 사료된다.

아이스크림 제조공정에서 AFM_1의 발생수준은 살균 전후에 따라 유의한 감소를 보였으나 이는 살균으로 인한 효과로 보기는 어려우며 액상유와 달리 재료들이 균질화되지 않은 상태에서 시료로 채취되었기 때문으로 보아진다. 살균후 제품과 냉동 저장된 완제품간에도 유의한 차이는 나타나지 않았다.

유통기한 5일 후의 저장 온도별(5, 10, 15°C) AFM_1 농도 차이는 유의하지 않았다. 이는 AFM_1이 저장 조건과 관계없이 안정함을 의미하며, 이는 AFM_1의 양이 시간경과에 따라 감소하여 0°C에서 4일간 저장한 후에 AFM_1의 40%가 감소하고, 6일 후에는 80%가 감소한다고 보고한 Mckinny[16]의 연구와 5°C에서 1~3일간의 저장으로 11~25%까지 AFM_1의 양이 감소된다고 한 Stoloff et al.[17]의 연구와 상반된다.

Monte-Carlo Simulation을 이용한 국내 시판 우유 중 AFM_1 발생 추정

국내 시판 우유 중의 AFM_1의 발생 수준을 추정하기 위하여 국내 연구 자료를 조사하였다. 국내산 유 및 유제품에서의 AFM_1 자료는 1996년과 2000년에 발표된 결과[11,13] 및 본 연구 결과 자료를 이용하였다(Table 2).

Table 2의 결과에서 AFM_1의 발생정도(prevalence)에 대한 양성 비율은 82.1%이다. 하지만 이들 결과는 실험시기 및 시료의 선정 등 실험방법에서의 차이가 있어 variability와 uncertainty를 내포하고 있다. 따라서 Vose[18]는 실제 조사된 실험결과에 대한 불확실성을 감소시키고 신뢰성을 높이기 위한 한 방법으로 통계학적인 fitting의 절차를 거쳐야 한다고 하였다. Table 2의 조사된 자료를 근거로 하여 fitting 절차에 따라 최대 발생 추정값(maximum likelihood estimator: mle), lower limit, upper limit을 산출하였으며, 이러한 값의 추정은 @RISK 프로그램을 통해 이루어졌다.[19] 한편 Table 2의 positive sample 대한 확률분포모델은 전체 표본 수와 positive 수를 알 수 있으므로 beta distribution을 적용하였으며[18], Table 2의 실험결과에 대한 fitted beta distribution에 대한 결과는 Table 3과 같다.

Table 2. Level of AFM_1 in domestic market milk.

Sample	No. of positive samples	Level of AFM_1	Reference
market milk	10/10	0.047 ± 0.014 (ppb)	current study
market milk	53/70	0.018 ± 0.010 (ppb)	12)
market milk	15/15	0.131 ± 0.064 (ppb)	10)

Table 3. Parameter and summary of fitted beta distribution for AFM_1 in market milk(Drawn from Table 2).

Parameter	Lower limit	mle*	Upper limit
mean	0.8542	0.9197	0.9852
variance	0.0342	0.0103	0.0004
α	0.1722	0.1722	0.1722
β	0.0850	0.0850	0.0850

*maximum likelihood estimators

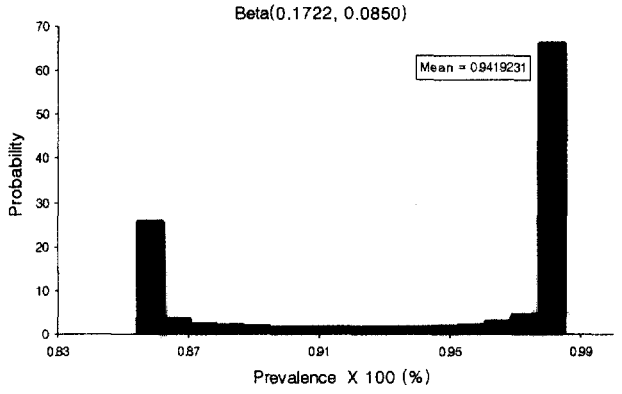

Fig. 3. Fitted beta distribution with α=0.1722, β=0.0850 for AFM_1 in market milk (Drawn from Table 2, 3).

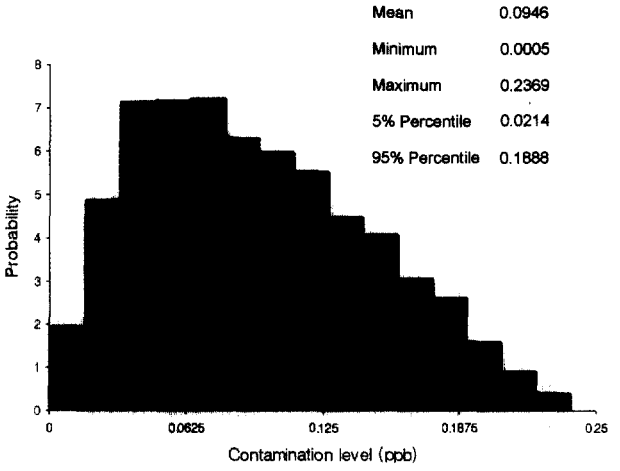

Fig. 4. Distribution statistic and simulated contamination level of AFM_1 in market milk.

Table 3의 결과를 근거로 beta distribution에 대한 최종적인 신뢰구간은 최소 0.8542, 최대 0.9852이며, 이 신뢰구간에 대한 beta distribution은 Fig. 3과 같다. 이는 실제 우유에서의 AFM_1의 발생정도(prevalence)에 대한 분포를 나타낸 것이다.

Table 2의 3개 군별로 하여 조사된 결과에서의 AFM_1의 평균 오염농도(concentrations)는 정확한 raw data를 얻을 수 없었고, 조사결과에 있어 차이가 크게 나타나고 있으므로, 본 연구에서는 최소오염수준을 0, 최대오염수준을 0.280 ppb[13], Table 2의 3개군 값에 대한 평균값 0.043 ppb를 중위수로 하여 triangular distribution에 적용하였다.

Fig. 3의 발생정도와 오염농도를 고려하여 시뮬레이션 된 결과는 Fig. 4와 같다. 즉, 국내 시판 우유에서 AFM_1의 발생 가능한 오염수준(contamination level)은 최소(5% percentile) 0.0214, 평균(50% percentile) 0.0946 및 최대(95% percentile) 0.1888 ppb로 나타났다.

Fig. 4 에서와 같은 시뮬레이션 결과는 전체적으로 미국의 AFM_1 허용기준치인 0.5 ppb 보다는 상당히 낮은 수준이지만 시판우유의 80.4%는 유럽의 기준인 0.05 ppb보다 높은 수준으로 예측되어 유럽의 허용기준치를 초과하는 것으로 나타났다.

본 연구는 국내 유제품 중 AFM_1의 오염농도에 대한 자료의 부족 뿐 아니라 각 연구 결과의 variation이 큰 관계로 확률분포 적용에 어려움이 있었으며 시판 우유의 AFM_1 오염수준에 대해서만 노출량을 평가했다는 제한점이 있으나 평균값만을 취한 기존의 연구에 비해 불확실성을 감소시켰으며 결과를 확률분포로 제시되었다는 점에서 가치가 있다고 할 수 있다. 또한 이상의 노출량평가 결과에 독성학적인 양-반응(dose-response) 평가모델 및 정확한 섭취량에 대한 자료가 보완된다면 AFM_1에 대한 risk assessment를 수행할 수 있다. 그러나 국내외적으로 AFM_1에 대한 독성학적 연구가 아직까지 미흡한 상태이며, 국내 유제품에서의 AFM_1 오염농도 및 유제품 섭취량에 대한 자료가 미흡하다는 점은 AFM_1의 risk assessment를 위한 계속적인 연구의 필요성을 나타내는 것이다. 특히 유제품을 주로 섭취하는 집단이 영유아 및 어린이이며 이들의 단위체중 당 섭취량이 성인에 비해 월등히 높다는 점을 고려할 때 이들 그룹에 대한 유제품 중 AFM_1에 대한 추가 연구의 중요성이 제기된다. 따라서 향후 연구를 통해 연령별로 세분화된 유제품 섭취량 조사자료와 정확한 AFM_1 오염수준관련 자료를 얻는다면 좀 더 정확한 위해성 추정이 가능할 것이며, 국내 유제품 중 AFM_1의 허용기준치 설정에 대한 과학적이고 객관적인 기초 자료로 이용할 수 있을 것이다.

감사의 말

이 논문은 1999년도 농림부 농림기술개발연구사업의 지원과제(199064-2)로 이루어진 것이며 이에 깊이 감사드립니다.

국문요약

시중 유통중인 유 및 유제품의 AFM_1의 오염수준을 파악하기 위해 분석한 결과 우유의 경우는 원유(0.083 ppb)에 비해 시유의 AFM_1 농도(0.047 ppb)가 낮게 나타났으나 이는 살균의 효과라기보다 집유 과정에서의 희석 때문인 것으로 보이며, 탈지분유의 경우 AFM_1의 농도가 0.24 ppb로 높게 나타났으나 섭취시 희석되므로 우유와 큰 차이는 없을 것으로 생각되었다. 아이스크림제품의 경우 AFM_1 오염농도는 0.020 ppb로 나타났다. 이상의 결과는 미국 FDA의 허용기준치인 0.5 ppb보다 월등히 낮은 수치로 나타난 것이다.

국내 시판 우유 중 AFM_1 오염수준을 평가하기 위해 본 연구의 결과와 기존의 국내 연구 결과를 토대로 Monte-Carlo 시뮬레이션을 시행하였다. 불확실성과 다양성을 고려하기 위해 fitting 절차를 거쳤으며, 시판 우유 중 AFM_1의 발생정도(prevalence)를 추정하기 위해 beta distribution을, 우유에서의 AFM_1 오염농도(concentration)를 추정하기 위해 triangular distribution을 적용한 결과, 국내 시판 우유에서 AFM_1의 발생 가능한 오염수준(contamination level)은 최소(5% percentile) 0.0214, 평균(50% percentile) 0.0946 및 최대(95% percentile) 0.1888 ppb로 나타났다. 전체적으로 미국의 AFM_1 허용기준치인 0.5 ppb 보다는 상당히 낮은 수준이지만 시판우유의 80.4%는 유럽의 기준인 0.05 ppb보다 높은 수준으로 예측되어 유럽의 허용기준치를 초과하는 것으로 나타났다.

참고문헌

1. Rothschild, L.J.: IARC classes AFB_1 as class I human carcinogens. *Food Chemical News*, **34**, 266(1996).
2. Galvano, F., Galofaro, V., and Galovano, G.: Occurrence and stability of aflatoxin M_1 in milk and milk products: a worldwide review. *Journal of Food Protection*, **59**, 1079-109 (1996).
3. JECFA: Report of Joint WHO/FAO Expert Committee on Food Additives 56th meeting (2001).
4. Yousef, A. E. and Marth, E. H.: Degradation of aflatoxin M_1 in milk by ultraviolet energy, *Journal of Food Protection*, **48**, 697-698 (1985).
5. 서정희: 곰팡이독소의 독성 및 오염현황, 친환경안전사료연구회 정기총회 및 심포지움, 23-46 (2001).
6. 한국식품공업협회: 식품 중 아플라톡신 잠정허용기준, 식품공전 (2000).
7. 윤미혜, 김국주, 김종화, 김명길, 김양희, 손종성, 정진아: 수입식품 및 국내식품중의 아플라톡신 함유량 조사연구, 보건환경연구원보, **11**, 32-39 (1999).
8. Van Egmond, H.P.: Aflatoxin M_1: Occurrence, toxicity, regulation. Mycotoxins in Dairy Produts, edited by Hans P. van Egmond, New York: *Elsevier Applied Science*, pp. 11-55 (1989).
9. Van Egmond, H.P.: Mycotoxins: regulations, quality assurance and reference materials, *Food Additives and Contaminants*, **12**, 321-330 (1995).
10. 손동화, 임선희, 이인원: 희석에 의한 우유 중 Aflatoxin M_1의 효소면역측정법, *Korean J. Food Sci. Technol*, **28(6)**, 1184-1187 (1996).
11. 손동화, 임선희, 이인원: 효소면역측정법에 의한 우유중의 Aflatoxin M_1 분석, *Kor. J. Appl, Microbiol. Biotechnol.*, **24(5)**, 630-635 (1996).
12. 이혜숙, 조병훈, 손성완, 강환구, 박종명: HPLC를 이용한 우유 중 Aflatoxin M_1 정량분석법, 수의과학논문집, **10(2)**, 55-59 (1998).
13. E. K. Kim, D. H. Shon, D. Ryu, J. W. Park, H. J. Hwang, and Y. B. Kim: Occurrence of aflatoxin M_1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC, *Food Additives and Contaminants*, **17**(1), 964 (2000).
14. R. Allcroft and B. A. Roberts: Toxic ground meal: The relationship between aflatoxin B_1 intakes by cows and excretion of aflatoxin M_1 in milk, *Vet. Rec.*, **82**, 116-118 (1968).
15. Yousef. A.E. and Marth, E.H.: Stability and degradation of aflatoxin M_1. *In H.P. Van Egmond, Mycotoxins in dairy products, London: Elsevier* (1989).
16. McKinney JD: Determination of aflatoxin M in raw milk: a modified Jacobson, Harmeyer and Wiseman method, *J Am Oil Chem Soc.*, **49**(7), 444-5 (1972).
17. Stoloff L, Trucksess M, Hardin N, Francis OJ, Hayes JR, Polan CE, Campbell TC: Stability of aflatoxin M_1 in milk, *J. Dairy Sci.*, **58**(12), 1789-93 (1975).
18. Palisade Inc.: Guide to using @RISK: risk analysis and simulation add-in for microsoft excel. Ver 4.0 (2000).
19. Vose, D. J.: Quantitative risk analysis: A guide to Monte Carlo simulation modelling, *John willey & Sons* (1996).