J. Fd Hyg. Safety
Vol. 23, No. 2, pp. 108~112 (2008)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

식품 중 아플라톡신 오염도 조사

박민정* · 윤미혜 · 홍해근 · 조태석 · 이인숙 · 박정화 · 고환욱
경기도보건환경연구원북부지원

A Survey of the Presence of Aflatoxins in Food

Min-Jung Park*, Mi-Hye Yoon, Hae-Geun Hong, Tae-Suk Joe, In-Sook Lee, Jeong-Hwa Park and Hoan-Uk Ko
Gyeonggi-do Institute of Health and Environment, North branch
(Received May 23, 2008/Accepted June 15, 2008)

ABSTRACT – A survey of total aflatoxin levels was conducted on 158 samples (nuts, fermented foods and their processed products) collected in local markets in Gyeonggi-do and Domestic Internet Site. The total aflatoxins were quantified by the immunoaffinity column clean-up method followed by high performance liquid chromatography (HPLC)-fluorescence detector (FLD). Aflatoxins were found in 45(28.5%) samples including 34 nuts and nut products, 7 soybean pastes, 1 meju, 1 bean product and 2 corn snacks with a range of 0.02 ~ 3.96 μg/kg. These results show that the contamination level of aflatoxin in foods consumed in Korea is low compared with the standard in Korea Food Code(10 μg/kg as aflatoxin B_1). Aflatoxin B_1 content was increased in peanuts and corn snacks during storage but it was decreased in *doenjang* (soybean paste).

Key words : aflatoxin, immunoaffinity column, HPLC-FLD

곰팡이독소(Mycotoxin)는 *Aspergillus*속, *Penicillium*속 및 *Fusarium*속에 의해서 생성되는 독소이며, 아플라톡신(aflatoxin)은 *Aspergillus flavus*, *Asp. parasiticus*, *Asp. nomious* 등의 *Aspergillus*속 곰팡이에 의해 생성되는 2차 대사산물이다[1,2]. 지금까지 20여 종의 아플라톡신이 알려져 있으나 일반적으로 발견되는 아플라톡신은 B_1, B_2, G_1, G_2로서 주로 곡류, 두류, 견과류 등 농산물과 그 가공품에서 광범위하게 발견되고 있다. 이 중에서도 아플라톡신 B1은 발암성, 기형유발, 간장독성 등을 유발하는 가장 강력한 독성물질로, 국제 암연구회(IARC, International Agency for Research on Cancer)에서 group 1(carcinogenic to humans)으로 분류하고 있다[3].

미국, 영국, 일본 등 선진국에서는 아플라톡신을 비롯한 많은 곰팡이독소에 대하여 활발한 연구가 이루어지고 있으며 특히 아플라톡신에 대하여는 농산물, 가공식품 및 사료 등에 5~50 ppb 수준으로 허용기준을 설정하여 관리하고 있다. 아플라톡신에 대한 각국의 관리현황을 살펴보면 유럽연합(EU)의 경우 땅콩, 견과류, 건조과일류, 곡류, 가공식품 등에 대하여 아플라톡신 B_1으로서 2~8 μg/kg, 총 아플라톡신으로서 4~10 μg/kg을 최대기준으로 정하여 규제하고 있으며, 미국식품의약국(FDA, Food and Drug Administration)에서는 브라질넛, 식품, 땅콩, 땅콩가공품, 피스타치오에 대하여 총 아플라톡신으로서 20 μg/kg의 최대기준치를 정하고 있고, 국제규격위원회(CODEX)에서는 아몬드, 헤이즐넛, 피스타치오, 비가공 땅콩에 대하여 총 아플라톡신으로서 15 μg/kg의 기준치를 설정하고 있다[4-6]. 우리나라에서도 곡류, 두류, 견과류 및 그 단순가공품에 대하여 아플라톡신 B_1으로서 10 μg/kg의 기준을 설정하여 관리하다가 최근에 된장, 고추장, 고춧가루와 땅콩 및 견과류를 함유한 과자류까지 확대하여 규제를 강화하고 있다[7,8].

곡류를 주식으로 하고 있고 많은 식품과 원료 농산물을 수입에 의존하고 있는 우리나라의 경우 아플라톡신에 노출될 가능성이 높을 것으로 예상되므로 유통되는 식품에 대한 아플라톡신 오염도 조사는 식품안전성 측면에서 매우 중요하다.

따라서 본 연구에서는 아플라톡신 오염이 우려되는 견과류, 장류, 곡류 및 그 가공품을 대상으로 HPLC-FLD 분석법을 이용하여 아플라톡신에 대한 오염실태를 조사하였다. 또한 식품의 저장 · 유통과정에서의 아플라톡신 생성을 알아보고자 식품 개봉 후 저장기간에 따라 변화하는 아플라톡신 오염도를 조사하였다.

*Correspondence to: Min-Jung Park, Gyeonggi-do Institute of Health and Environment, North branch, #66, Je 2 Chengsa 1-ro, Uijeongbu-city, Gyeonggi-do, 480-764, Korea
Tel: 82-31-852-7815, Fax: 82-31-852-7832
E-mail: enrogel@gg.go.kr

재료 및 방법

재료

식품 중 아플라톡신 오염도 조사에 사용된 재료는 2007년 1월부터 2008년 1월까지 경기지역의 시중 마트에서 소포장과 벌크형태로 판매되는 제품과, 국내 온라인상에서 판매하는 제품을 구입하였으며 견과류 및 그 가공식품(79건), 장류(29건), 곡류가공품등 가공식품(50건) 등 총 158건을 대상으로 하였다. 158건 중 시중마트 소포장 제품은 87건, 벌크포장 제품은 21건, 온라인 판매제품은 50건이었다. 개봉 후 저장기간에 따른 아플라톡신 변화량 조사에 사용한 재료는 1차 오염도 조사에서 아플라톡신 B_1이 검출된 된장 1건, 옥수수스낵 2건, 땅콩가루 2건, 땅콩 1건 등 6건을 개봉한 후 다시 밀봉하여 상온(15~25℃)에서 6개월 보관하면서 시료로 사용하였다.

표준품 및 시약

실험에 사용한 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2 표준품은 Sigma사에서 구입하여 사용하였으며 추출과 분석에 사용된 acetonitrile, methanol은 HPLC용으로(J. T. Baker, U.S.A.), trifluoroacetic acid (Fluka, Switzerland)는 특급을 사용하였다.

정제용 칼럼 및 분석장비

시료 정제용 칼럼은 immunoaffinity column (AflaTest, Vicam Co., U.S.A.)을 사용하였고, 분석장비는 fluorescence detector가 부착된 HPLC (Agilent 1200 series, Agilent Technologies, U.S.A.)를 사용하였다.

표준용액 조제

아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2 표준품 각각 1 mg을 acetonitrile 10 ml에 녹여 표준원액으로 하고 아플라톡신 혼합 표준용액은 각 표준원액 1 ml씩을 분취하여 질소로 완전히 농축한 다음 trifluoroacetic acid 200 μl로 20분간 유도체화시킨 후 각각의 최종농도가 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 ppb가 되도록 이동상(30% acetonitrile)으로 희석하여 사용하였다.

시료 전처리 방법

시료의 아플라톡신 전처리 과정은 2005년 식품의약품안전청 연구결과 보고서에서 확립한 방법을 적용하였다[9]. 균질화한 시료 25 g에 1% NaCl이 포함된 70% methanol 용액 100 ml를 첨가하여 20분간 진탕한 후 여과하고 이 여액 10 ml에 증류수 20 ml를 혼합한 용액 15 ml를 취하여 immunoaffinity column에 통과시킨 후 증류수 10 ml로 column을 세척하고 acetonitrile 3 ml로 용출하였다. 용출액을 질소로 완전히 농축한 다음 trifluoroacetic acid 200 ml로 20분간 유도체화시킨 후 이동상을 800 ml 첨가하여 시험용액으로 하였다(Fig. 1).

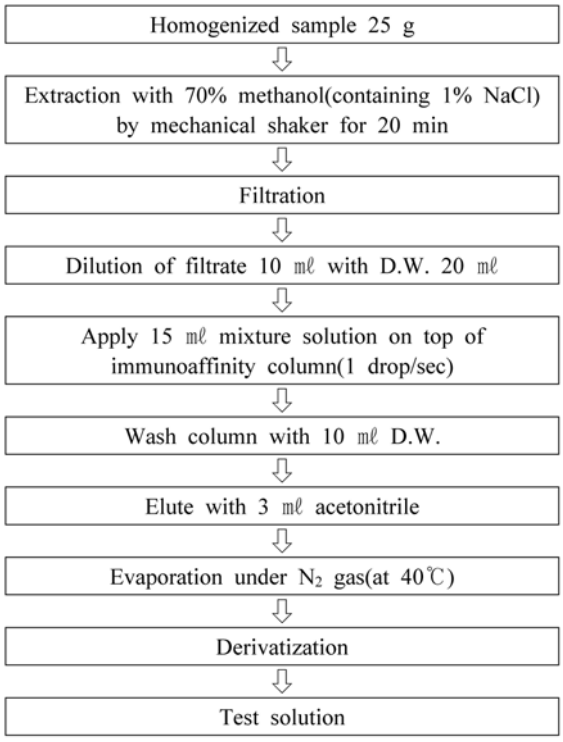

Fig. 1. Flow diagram of sample preparation for analysis of total aflatoxins in various foods.

Table 1. HPLC condition for the determination of aflatoxins.

Instrument	HPLC (Agilent 1200 series)
Column	Capcell pak C_{18} UG120 (250 mm × 4.6 mm × Shiseido)
Detector	Fluorescence detector
Wavelength	Ex 360 nm, Em 450 nm
Mobile phase	Water : Acetonitrile = 70 : 30
Flow rate	0.7 ml/min
Injection volume	50 μl

HPLC에 의한 정량

아플라톡신 정량분석을 위하여 Table 1과 같이 검출기는 fluorescence detector (FLD, Ex. 360 nm, Em. 450 nm), column은 Capcell pak C_{18} UG120(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, Shiseido), 이동상은 30% acetonitrile로 유속 0.7 ml/min, 시료용액 주입량은 50 μl로 하여 아플라톡신을 분석하였다.

결과 및 고찰

시료 중 아플라톡신 회수율

아플라톡신 혼합표준용액의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 2와 같았으며 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2의 검출한계(limit of detection, LOD)는 최소검출량을 구하는 방법으로 신호대 잡음비(S/N) > 3으로 볼 때 0.01 μg/kg이었다. 총 아플라톡

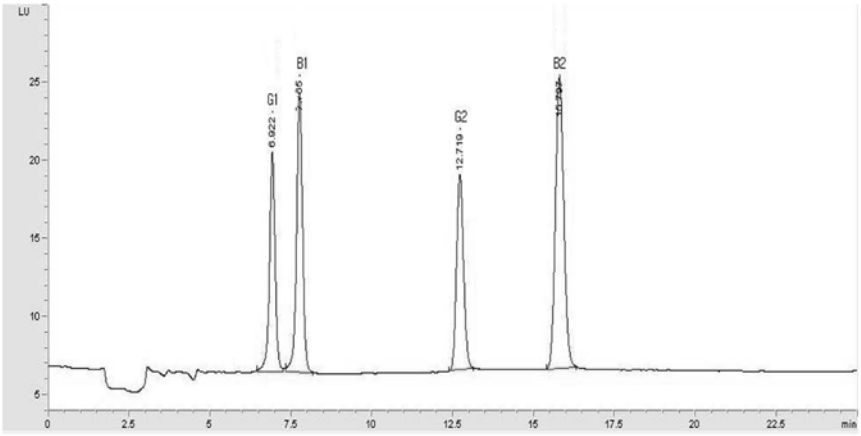

Fig. 2. HPLC chromatogram of aflatoxin standards.

Table 2. Incidence and detection range of total aflatoxin levels in foods.

Type of food	incidence		Range of AFs levels (μg/kg)				
	No.	%	AFs	AFB_1	AFB_2	AFG_1	AFG_2
Nuts and processed products							
Peanut	9/30	30.0	0.02~1.05	0.02~0.95	0.02~0.09	-	-
Other nut	13/37	35.1	0.03~2.86	0.03~2.45	0.08~0.25	-	-
Peanut butter	12/12	100	0.17~3.96	0.06~3.13	0.04~0.68	0.04~0.26	0.03~0.12
Total	34/79	43.0	0.02~3.96	0.02~3.13	0.02~0.68	0.04~0.26	0.03~0.12
Fermented soybean foods							
Doenjang	5/11	45.5	0.04~2.46	0.04~2.15	0.07~0.36	-	-
Chunggukjang	2/12	16.7	0.34, 0.90	0.34, 0.90	-	-	-
Mixed soybean pastes	0/4	0	-	-	-	-	-
Meju	1/2	50.0	2.13	1.93	0.20	-	-
Total	8/29	27.6	0.04~2.46	0.04~2.15	0.07~0.36	-	-
Others							
Cereal products	0/11	0	-	-	-	-	-
Bean products	1/7	14.3	0.06	0.06	-	-	-
Powdered red pepper	0/11	0	-	-	-	-	-
Corn snack	2/11	18.2	0.05, 0.12	0.05, 0.12	-	-	-
Cooky and candy (contained nuts)	0/10	0	-	-	-	-	-
Total	3/50	6.0	0.05~0.12	0.05~0.12	-	-	-
Total	45/158	28.5	0.02~3.96	0.02~3.13	0.02~0.68	0.04~0.26	0.03~0.12

신의 회수율은 아플라톡신이 검출되지 않은 시료 중 땅콩, 땅콩버터, 된장, 미숫가루를 선정하여 총 아플라톡신 혼합 표준용액을 최종농도 5 μg/kg이 되도록 첨가한 후 시료 전처리 방법과 동일하게 전처리하여 HPLC로 정량분석하였다. 회수율 실험결과 아플라톡신 B_1은 72.9~85.5%, B_2는 83.2~100.8%, G_1은 74.8~84.6%, G_2는 75.8~84.1%로 비교적 양호한 회수율을 보였으며, B_2의 회수율이 상대적으로 약간 높은 경향을 보였다. 본 실험 결과는 immunoaffinity column과 HPLC-FLD를 도입하여 보고한 Chan 등[10] 또는 Jang 등[11]의 아플라톡신 회수율 73~101%, 64~101%과 비교해 볼 때 비슷하거나 약간 낮은 것으로 판단된다.

유통식품 중 아플라톡신 오염도 조사

경기지역 시중마트와 국내 온라인상에서 유통되고 있는

견과류 및 그 가공식품 79건, 장류 29건, 곡류가공품 등 가공식품 50건을 대상으로 아플라톡신 오염실태를 조사한 결과, Table 2와 같이 총 158건 중 45건(28.5%)에서 아플라톡신 오염이 확인되었고, 오염수준은 아플라톡신 B_1으로서 0.02~3.13 μg/kg, B_2로서 0.02~0.68 μg/kg, G_1으로서 0.04~0.26 μg/kg, G_2로서 0.03~0.12 μg/kg, 총 아플라톡신으로서 0.02~3.96 μg/kg 범위로 나타났다. 식품유형별로는 견과류 및 그 가공식품의 경우 79건 중 34건(43.0%), 장류는 29건 중 8건(27.6%), 그 외 가공식품은 50건 중 3건(6.0%)에서 아플라톡신이 검출되어 견과류 및 그 가공식품에서 검출빈도가 가장 높은 것으로 나타났다. 견과류 및 그 가공식품 중 땅콩버터의 경우 12건 모두에서 아플라톡신 4종(B_1, B_2, G_1, G_2)이 검출되었고 검출량 또한 총 아플라톡신으로서 0.17~3.96 μg/kg으로 조사대상 식품 중 가장 높은 오염도를 보였다. Jang 등[11]은 곡류에 비해 견과류에서 아플라톡신 검출빈도가 높았고 특히 땅콩 및 땅콩버터에서 30%와 84.6%로 높은 검출빈도를 보였다고 발표하였고, Park[12]의 연구결과에서도 땅콩 및 땅콩버터 중 21%에서 아플라톡신 오염이 확인되었다고 하였다. 이러한 경향을 볼 때 땅콩 등 견과류가 아플라톡신 생성 곰팡이에 가장 오염되기 쉬운 식품 중의 하나임을 알 수 있었다.

본 연구결과 아플라톡신 오염수준은 국내(아플라톡신 B_1으로서, 10 μg/kg 이하)의 기준규격을 초과하는 것은 없는 것으로 나타났으나 우리나라의 경우 곡류를 주식으로 하고 있기 때문에 지속적인 모니터링으로 아플라톡신 노출에 주의를 기울여야 할 필요가 있다. 특히 45건의 오염된 시료 중 20건에서 아플라톡신 B_1과 함께 B_2 또는 G_1, G_2가 검출되어 향후 총 아플라톡신에 대한 기준설정 등 안전성 검토가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Table 3은 조사대상 식품을 구입한 유통경로별로 아플라톡신 오염도를 살펴본 것으로 시중 마트에서 소포장으로 판매하는 제품(9.2%)에 비해 벌크 형태로 판매하는 제품(38.1%)이나 온라인상에서 구입한 제품(58.0%)에서 아플라톡신 검출빈도가 높은 것으로 나타났다. 특히 땅콩 등 견과류에서의 아플라톡신 검출율은 소포장 판매품이 4.5%인 반면, 온라인 판매제품은 44.7%, 벌크제품은 50%로 벌크제품과 온라인 판매제품에서 높은 검출율을 보였고, 옥수수스낵의 경우도 소포장제품에서는 아플라톡신이 검출된 제품은 없었으나 벌크제품에서는 5건 중 2건이 검출되어 40%의 검출율을 보였다. 또한 온라인상에서 구입한 땅콩버터에서는 12건 모두 아플라톡신이 검출되어 100%의 검출율을 보였다. 이는 식품의 포장형태 및 보관장소 등 저장조건 또는 유통경로에 따라 아플라톡신 오염수준이 달라질 수 있음을 보여준다.

Table 3. Incidence and detection range of total aflatoxin levels by market distribution systems.

Market distribution system	Incidence		Range of AFs levels(μg/kg)
	No.	%	
Each package			
Peanut & Nuts	1/21	4.5	0.04
Fermented soybean foods	7/26	26.9	0.04~2.46
Corn snack	0/6	0	-
Others	0/34	0	-
Total	8/87	9.2	0.04~2.46
Bulk package			
Peanut & Nuts	4/8	50.0	0.05~1.05
Fermented soybean pastes	1/3	33.3	1.02
Corn snack	2/5	40.0	0.05, 0.12
Others	1/5	20.0	0.05
Total	8/21	38.1	0.05~1.05
On-line sale			
Peanut & Nuts	17/38	44.7	0.02~2.70
Peanut butter	12/12	100	0.17~3.96
Total	29/50	58.0	0.02~3.96
Total	45/158	28.5	0.02~3.96

Table 4. Changes of aflatoxin B_1 concentration during storage.

Food	Concentration of AFB_1 (μg/kg)		
	After opening	After 1 month	After 6 months
Doenjang	0.95	0.59	0.29
Corn snack (1)	0.05	0.13	0.19
Corn snack (2)	0.12	0.15	0.18
Ground peanut (1)	0.05	0.08	0.07
Ground peanut (2)	0.95	0.91	1.11
Peanut	0.30	0.37	0.60

개봉후 저장기간에 따른 아플라톡신 변화량

식품을 개봉하여 저장하는 동안 변화하는 아플라톡신 함량을 조사하기 위하여 유통식품중 아플라톡신이 검출된 된장 1건, 옥수수스낵 2건, 땅콩가루 2건, 땅콩 1건 등 6건을 선정하여 상온에서 보관하면서 1개월 후, 6개월 후의 아플라톡신 B_1 함량을 분석하였다. 그 결과 Table 4와 같이 된장을 제외한 5건의 식품은 아플라톡신 B_1이 저장기간에 따라 증가하는 경향을 보였다. 아플라톡신은 식물이 수확 후 소비가 되기까지 전 과정에서 오염될 수 있으므로 저장기간이 길수록 아플라톡신 오염량은 증가될 것으로 예상할 수 있다. Saleemullah 등[13]의 연구에서도 인위적으로 아플라톡신 생성균주를 곡류, 견과류에 접종한 후 저장기간에

따라 아플라톡신 함량을 측정한 결과, 양은 차이가 있었으나 저장기간이 길수록 아플라톡신 생성이 증가하였다고 하였다.

한편 본 연구에서 된장은 다른 식품과는 달리 저장기간에 따라 다소 감소하는 것으로 나타났는데 이는 된장의 여러 성분과 발효과정 중에 상재하는 미생물에 의해 아플라톡신 함량이 저하된 것으로 사료된다. 실제로 Kang 등[14,15]은 아플라톡신 생성균인 *Aspergillus flavus, Asp. parasiticus*에 대해 가장 강력한 길항력이 있는 균을 분리하여 *Bacillus* sp. 인 것으로 보고하였고 길항균과 아플라톡신 생성균을 처리하여 제조한 된장에서 아플라톡신 B_1 함량이 87%이상 감소하였다고 하였다. Park 등[16]도 *Asp. parasiticus*를 오염시켜 메주를 전통 방법으로 발효했을 때 아플라톡신 생성은 일어났지만, 된장, 간장 등을 만들기 위해 발표된 메주를 소금과 물을 넣고 3개월 정도 숙성하였더니 약 63%의 아플라톡신 B_1이 파괴되었다고 보고하였다.

아플라톡신은 자연발생적으로 생성되는 독소로 일단 생성이 되면 완벽한 제거와 불활성화는 어려운 것으로 알려져 있다. 세척 및 가열 등 일반적인 식품가공으로는 아플라톡신 제거가 어렵기 때문에 Yeo 등[17]은 사전에 오염을 방지하거나 오염된 식품의 섭취를 예방하는 것이 최선의 방법이라고 제안하고 있다. 본 연구결과에서도 보듯이 아플라톡신은 식품의 저장기간이 길수록 오염이 증가될 수 있으므로 식품섭취에 의한 아플라톡신 노출을 피하기 위해서는 되도록 빨리 섭취하고, 곰팡이가 발생하지 않도록 건조하고 온도가 낮은 조건에서 보관하여야 한다.

요 약

경기지역 시중마트와 국내 온라인상에서 유통되고 있는 견과류 및 그 가공식품 79건, 장류 29건, 곡류가공품 등 가공식품 50건에 대해 immunoaffinity column 정제방법을 이용하여 HPLC-FLD로 아플라톡신 오염실태를 조사한 결과 총 158건 중 45건(28.5%)에서 아플라톡신 오염이 확인되었고, 오염수준은 아플라톡신 B_1으로서 0.02~3.13 μg/kg, 총 아플라톡신으로서 0.02~3.96 μg/kg 범위로 국내 기준치인 10 μg/kg을 초과하는 것은 없었다. 아플라톡신이 검출된 식품은 견과류 및 그 가공식품에서 34건(43.0%) 장류에서 8건(27.6%), 그 외 가공식품에서 3건(6.0%)으로 견과류 및 그 가공식품에서 검출빈도가 가장 높았다. 식품을 개봉하여 1개월, 6개월 보관 후의 아플라톡신 B_1 함량은 저장기간이 길어질수록 땅콩, 옥수수스낵에서는 증가하는 경향을 보였으나 된장의 경우에는 다소 감소하였다.

참고문헌

1. Gourama, H. and Bullerman, L. B.: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*; aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds-a review. *J. Food Protec*., **58**, 1395-1404 (1995).
2. Kurtzman, C. D., Horn, B. W. and Hesselitine, C. W.: *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavors* and *Aspergillus tamari*. *J. of Microbiol*., **53**, 147-158 (1987).
3. IARC. Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans (Lyon:IARC), Vol. 82, pp. 171 (2002).
4. European Commission, Commission Regulation. available at http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/2001en_2001R0466_do_ 001.pdf
5. Food and Drug Administration, Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed. available at http://www.fsan.fda.gov/~lrd/fdaact.html#afla
6. Codex alimentarius commission, Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on food additives and contaminants. available at http://ftp.fao.org/codex/ccfac37/fa37_19e.pdf
7. KFDA: Revision of food standards (KFDA notification 2007-63) (2007).
8. KFDA: Revision of food standards (KFDA notification 2007-84) (2007).
9. Lee J. O., Oh K. S., Sho Y. S., Park S. S., Suh J. H., Choi W. J., Lee B. H. and Woo G. J.: A survey of total aflatoxin in foods. *Annu. Rep. KFDA*. **9**, 148 (2005).
10. Chan D., MacDonald S.J., Boughtflower V. and Brereton P.: Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in food using a fully automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography-fluorescence detector. *J. Chromatogr.* **A 1059**, 13-16 (2004).
11. Jang M. R., Lee C. H., Cho S. H., Park J. S., Kwon E. Y., Lee E. J., Kim S. H. and Kim D. B.: A survey of total aflatoxins in food using high performance liquid chromatography-fluorescence detector (HPLC-FLD) and liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Korean J. Food Sci. Technol*. **39**(5), 488-493 (2007).
12. Park J. W.: Analysis of peanut and peanut butter retailed in Korea for aflatoxin B_1. *Korean J. Food Sci. Technol*. **38**(2), 309-312 (2006).
13. Saleemullah, Iqbal A., Khalil I. A. and Shah H.: Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food chemistry*. **98**(4), 699-703 (2006).
14. Kang K. J., Park J. H. and Cho J. I.: Control of aflatoxin and characteristics of the quality in *doenjang* (soybean paste) prepared with antifungal bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol*. **32**(6), 1258-1265 (2000).
15. Kang K. J., Jeoung J. H. and Cho J. I.: Inhibition of aflatoxin-producing fungi with antifungal compound preduced by *Bacillus subtilis*. *J. Food Hyg. Saf*. **15**(2), 122-127 (2000).
16. Park K. Y., Lee K. B. and Bullerman L. B.: Aflatoxin in production by Aspergillus parasiticus and its stability during the manufacture of Korean soy paste (*doenjang*) and soy sauce (*kanjang*) by traditional method. *J. Food Prot*. **51**, 938-945 (1988).
17. Yeo H. J. and Kim J. G.:Effects of cooking and processing on the reduction of aflatoxin content in corn. *J. Food Hyg*. Saf. **18**, 87-93 (2003).