J. Fd Hyg. Safety
Vol. 25, No. 1, pp. 65~72 (2010)

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

향신료 및 건조과실류 중 총 아플라톡신의 분석

강영운 · 조태용[1] · 박희라 · 오금순[2] · 김동술*
식품의약품안전평가원 식품위해평가부 오염물질과
[1]대구지방식품의약품안전청 유해물질분석과
[2]식품의약품안전청 식품안전국 수입식품과

Analysis of Total Aflatoxins in Spices and Dried Fruits

Young-Woon Kang, Tae-Yong Cho[1], Hee-Ra Park, Keum-Soon Oh[2], and Dong-Sul Kim*
Food Contaminants Division, Food Safety Evaluation Department, Seoul, Korea
[1]Hazardous Substances Analysis Division, Daegu Regional KFDA, Daegu, Korea
[2]Food Import Division, Korea Food & Drug Administration, Seoul, Korea
(Received December 15, 2009/Revised February 3, 2010/Accepted February 24, 2010)

ABSTRACT - We used fluorescence detector to analyse total aflatoxins (G1, G2, B1, B2) with TFA (Trifluoro-acetic acid) derivation method and PHRED (Photochemical reactor enhanced detection) method. PHRED method was superior in reproduction and convenience, but TFA derivation method was superior in selectivity and sensitivity. The recovery rate of aflatoxin B1, B2, G1 were more than 80%, and G2 was more than 70%. The detection limit of B1, B2, G1 and G2 were respectively 0.05, 0.05, 0.2 and 0.1 μg/kg. Confirmed method was used to analyse total aflatoxins in total 316 items as 9 kinds 137 dried fruits and 10 kinds 179 spices. By the result, Aflatoxins were detected in 27 dried fruits (19.7%) and in 87 spices (48.6%).

Key words : Aflatoxin, spices, dried fruit

서 론

아플라톡신은 열대 또는 아열대 지방에서 발생하는 곰팡이 종류인 *Aspergillus flavus* 또는 *Asp. parasiticus* 등에 의해 생성되는 강력한 간독성 물질이다[1]. 종류에 따라 아플라톡신 B1, B2, G1, G2, M1 및 M2 등이 있으며 이 중 아플라톡신 B1이 가장 독성이 강한 것으로 알려져 있다. 아플라톡신 M1은 아플라톡신 B1에 오염된 사료를 섭취한 소의 체내 대사물질로서 우유로 분비되게 된다. 많은 오염도를 보이는 식품은 옥수수, 수수속의 식물, 견과류 등 전분질이 많은 식품들이다. 위험성이 발견된 최초의 경위는 1960년 영국에서 브라질에서 수입된 곰팡이에 오염된 땅콩이 포함된 사료를 먹은 100,000마리의 칠면조 새끼가 폐사되어 최소 수 십만 달러의 경제적 손상을 주었고, 발병초기에는 원인규명을 못해 이 질병을 칠면조에서 발생한 원인불명의 질병이라는 의미로 “Turkey X disease”라고 불렀다. 그 후 1962년 땅콩에서 곰팡이 *A. flavus*로부터 원인물질을 분리하여 아플라톡신이라 명명하였고 이후 본격적인 연구가 진행되었다.

아플라톡신이 생체 내 흡수되면 간의 cytochrome P-450 효소에 의해 종의 유전적 소인에 따라 수산화된 형태(aflatoxicol)인 아플라톡신 M1, Q1, P1 등으로 전환되고 대사 후 요 등으로 배설되는데 포유동물의 경우 유 중에도 아플라톡신 M1, M2 등으로 배출된다. 한편 섭취되어진 아플라톡신은 간의 cytochrome P-450 효소에 의해 aflatoxicol 이외에 아플라톡신 B1-8,9-epoxide이 생성되는데 이것이 DNA와 결합하여 간암을 유발시키는 것으로 알려지고 있다[2]. 실험동물에서 간의 종양발생은 아플라톡신 B1의 노출과 상관성이 있는 것으로 나타났는데 이때 DNA 손상은 아플라톡신 B1-DNA 부가물(aflatoxin B1-DNA adducts)의 영향을 받는 것으로 나타났다. B형 간염 바이러스와 질환에 상관없이 간암 발병에 대한 아플라톡신의 역할은 중국 및 스와질란드에서 수행된 조사에서 확실하게 되었고[3,4], 이 결과를 토대로 1987년 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서는 아틀라톡신을 발암성이 확실한 Group 1으로 분류하게 되었다[5]. 1992

*Correspondence to: Dong-Sul Kim, Food Contaminants Division, 194 Tongil-ro, Eunpyung-gu, Seoul, 122-704, Korea
Tel : 02-380-1669, Fax : 02-357-4735
E-mail : dongsul@korea.kr

년에는 또 다른 그룹의 과학자들이 역학조사 자료를 근거로 아플라톡신 혼합물이 인간의 간암 발병에 충분한 근거를 가지고 있고 이의 대사체인 아플라톡신 M1은 발암을 유발할 수 있는 물질이라고 보고하였다[6]. 대만에서의 연구결과에서는 B형 간염이 있을 경우 아플라톡신에의 노출은 간암 발병 위험이 높아진다고 보고하였다. 따라서 B형 간염 백신을 접종 받는 것이 간암 발병률을 낮출 수 있다고 보고하고 있다[7]. 아플라톡신은 독성이 강할 뿐만 아니라 열에 안정하여 식품의 가공 중 제거하기 어렵기 때문에 식품안전관리상 매우 중요한 물질로서 여러 식품들 중 특히 오염가능성이 높은 건조과실류와 향신료 중 아플라톡신의 오염실태를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

아플라톡신 분석을 위해 건조향신료 10종 179건 및 건조과실류 9종 137건의 시료를 대형할인매장, 재래시장 및 인터넷을 통하여 구입하였고, 구입한 식품은 균질화하여 -20°C의 냉동상태로 보관하여 사용하였다.

표준품 및 시약

아플라톡신 B1, B2, G1 및 G2 표준품은 Sigma-Aldrich Inc.(St. Louis, USA)에서 구입한 것을 사용하였다. 추출 및 분석에 사용되는 아세토니트릴 및 메탄올은 HPLC급(Merck Co., USA)를 사용하였으며, 염화나트륨(Wako Co., Japan) 및 Trifluoroacetic acid(TFA) (Sigma Co., USA)는 모두 특급 이상의 것을 사용하였다.

정제용 칼럼 및 분석장비

아플라톡신 정제용 칼럼으로는 AflaTest (Vicam Co., USA) 면역친화성칼럼(Immunoaffinity column)을 사용하였으며, 액체크로마토그래프는 Shosedo Nanospace SI-2, 형광검출기는 3013 Fluor Detector (Shiseido Co., Tokyo, Japan)을 사용하였다. 또한 액체크로마토그래프의 분석컬럼과 형광검출기 사이에 설치하는 Photochemical Reactor Enhanced Detection (PHRED)는 254 nm 저압의 수은램프(250V, 50Hz, 8Watt)를 가지고 있으며 자외선 조사로 인한 형광유도체 반응이 일어나는 투명한 코일은 PTFE (Polytetrafluoroethylene)제로 길이 25 m, 내경 0.5 mm를 갖는 것(AURA Industries Inc., New York, USA)을 사용하였다.

표준용액 조제

아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2를 아세토니릴에 녹여 각각 200 μg/mL이 되도록 한 것을 아플라톡신 혼합 표준원액으로 하고 이것을 다시 아세토니트릴로 1.0~50 ng/mL의 농도가 되도록 희석하여 아플라톡신 혼합표준용으로 하고 검량선 작성을 위한 표준용액으로 하여 검량선을 작성하였다.

아플라톡신의 분석

시료 중의 아플라톡신을 70% 메탄올로 추출한 후 여과하고 아플라톡신에 특이적으로 결합하는 monocolonal antibody를 고정상인 gel 상에 결합시킨 면역친화성 칼럼으로 정제한 후 검출감도를 높이기 위해 아플라톡신 B1 및 G1을 trifluoroacetic acid (TFA)로 수화반응(hydration) 시킨 것을 형광검출기로 정량하였고, TFA 유도체화와 별도로 PHRED를 이용하여 분석한 것을 비교하였다.

추출

분쇄한 시료 25 g을 달아 균질기에 넣고 1% 염화나트륨이 함유된 70% 메탄올 100 ml를 넣어 5분간 고속으로 균질화한 후 이를 여과(Whatman No.4)한다. 여과가 잘 되지 않을 경우에는 원심분리 후 여과를 하였다. 여액 10 mL를 100 mL 플라스크에 취하고 물 또는 10% Tween 20 용액 30 mL를 가하여 희석시킨다. 희석액을 흔들어 섞은 후 여과(Whatman GF/A)한 것을 추출액으로 한다.

정제

추출액 20 mL를 면역친화성컬럼(Immunoaffinity column)에 주입하여 초당 1 방울의 속도로 통과시킨다. 이어서 물 10 mL를 같은 유속으로 완전히 유출하여 버리고 아세토니트릴 3 mL로 용출시킨다.

유도체화

TFA에 의한 유도체화는 용출액의 용매를 50°C에서 질소로 완전히 제거하고 잔류물에 트리플루오로초산 0.2 mL를 가하여 어두운 곳에서 15분간 방치시킨 후 아세토니트릴 · 물 혼액(2:8, v/v) 0.8 mL를 가하여 녹인 것을 시험용액으로 하였다. PHRED에 의한 유도체화는 용출액의 용매를 50°C에서 질소로 완전히 제거하고 여기에 아세토니트릴 1 mL를 가하여 녹인 것을 시험용액으로 하였다.

HPLC 분석

아플라톡신 정량분석을 위하여 형광검출기가 부착된 HPLC를 사용하고 분석컬럼은 Shiseido UG-120(4.6 mm × 150 mm, 0.5 μm)을 사용하였다. TFA 및 PHRED 유도체화에 따른 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다. 확립된 분석법을 이용하여 아플라톡신 혼합표준용액의 최종농도가 5 ng/g이 되도록 시료에 첨가한 후 정량하여 회수율을 검토하였다.

Table 1. Comparison of operating conditions of HPLC for aflatoxins derivatives by TFA and PHRED

Item	TFA	PHRED
Instrument	Shiseido Nanospace SI-20	Shiseido Nanospace SI-20
Detector	Fluorescence Ex. 360 nm/Em. 450 nm	Fluorescence Ex. 365 nm/Em. 435 nm
Column	Shiseido UG-120 (4.6 mm × 150 mm, 0.5 μm)	Shiseido UG-120 (4.6 mm × 150 mm, 0.5 μm)
Mobile phase	25% Acetonitrile	Acetonitrile : Methanol : Water (15:30:55)
Flow rate	1.0 mL/min	1.0 mL/min

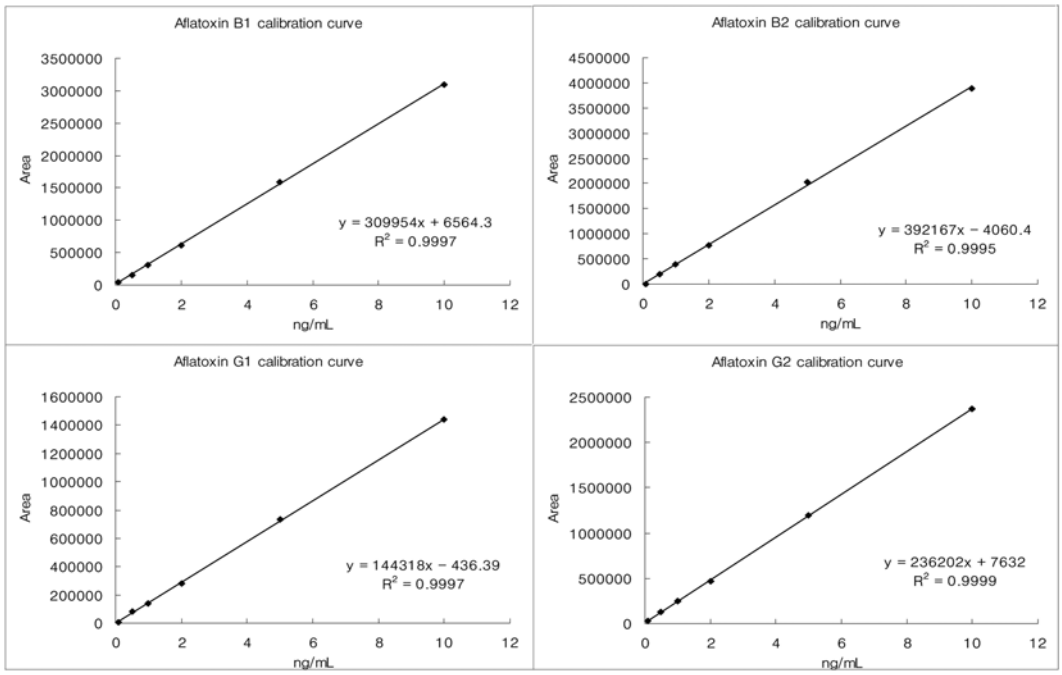

Fig. 1. Calibration curve of aflatoxin B_1, B_2, G_1 and G_2 by HPLC-FLD (TFA).

결과 및 고찰

총아플라톡신 시험법 확립

검량선

TFA유도체 및 아플라톡신의 검량선 작성을 위하여 TFA 유도체의 경우 아플라톡신 혼합 표준용액을 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 및 10.0 ng/mL로 PHRED의 경우 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 및 50.0 ng/mL로 각각 조제하여 HPLC으로 분석하였다. 그 결과는 TFA 유도체의 경우 상관계수(R^2)가 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2에서 0.9997, 0.9995, 0.9997, 0.9999로 나타났고 PHRED를 사용한 경우도 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2에서 1.0000, 0.9991, 1.0000, 1.0000로 모두 양호한 직선성을 나타내었다(Fig. 1, Fig. 2).

전처리 방법 검토 및 회수율

시료별 아플라톡신의 회수율을 알아보기 위해 오 등의 방법에 따라 식품별로 회수율을 측정하였으나 아플라톡신 B1, B2, G1은 곶감, 후추 등 일부를 대부분 회수율이 80% 이상을 나타내었으나 G2는 70% 이하의 회수율을 나타내는 것이 많아 전처리 과정을 검토해 본 결과, Immunoaffinity column 주입 전 여과액 10 mL에 20 mL 물을 가하여 희석한 용액의 메탄올 용액 비율(약 23%)이 높아 immunoaffinity column에 주입하면 G2의 일부가 그대로 유출됨을 발견하였다. 이에 메탄올 용액의 비율을 줄이기 위하여 희석비율을 여액 10 mL에 물 30 mL을 가한 희석용액(메탄올 비율 약 17%)을 사용한 결과, 일부 품목을 제외하고는 대부분 70% 이상의 회수율을 나타내었다. 더 이상의 희석은 물불용물의 생성 등으로 적절하지 않았다. 심황, 후추, 육두구는 아플라톡신 모든 종류에서 회수율이 60% 이하로 좋지 않았는데 이들은 추출 후 희석단계에서 물 불용물이 발생하여 최종 여과시 막 생성으로 아플라톡신의 여과를 방해하는 것으로 판단되었다. 이들의 회수율을 개선시키기 위하여 O'Riordan[8]의 방법에 따라 희석용액을 물 대신 1% Tween 20을 사용한 결과 우수한 회수율을 나타내었다. 또한 곶감의 경우에는 시료의 특성상 추출 후 여과가

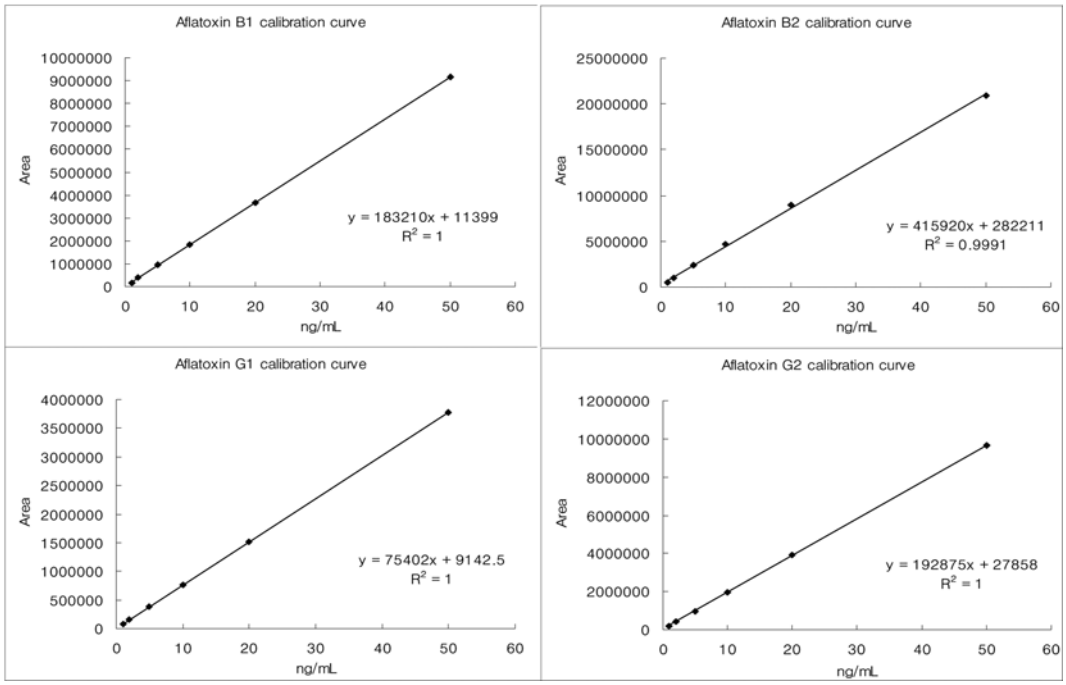

Fig. 2. Calibration curve of aflatoxin B_1, B_2, G_1 and G_2 by HPLC-FLD (PHRED).

Table 2. Recoveries of aflatoxins in various foods (n = 3)

Item	Recovery(%) ± Standard deviation			
	B1	B2	G1	G2
Blank	98.9 ± 3.1	96.5 ± 2.3	96.8 ± 3.8	83.3 ± 5.1
Dried mango	82.4 ± 5.5	72.1 ± 2.5	85.0 ± 4.9	70.6 ± 2.4
Dried figs	83.7 ± 3.6	79.5 ± 3.1	94.6 ± 4.7	73.3 ± 5.3
Dried berries	82.1 ± 3.0	83.1 ± 1.6	94.3 ± 4.8	76.9 ± 3.0
Dried apricot	86.1 ± 1.8	87.0 ± 2.3	94.5 ± 4.8	74.5 ± 4.5
Dried prune	86.2 ± 3.7	91.2 ± 4.2	92.8 ± 3.9	78.9 ± 5.4
Dried kiwi	85.2 ± 3.2	88.2 ± 4.2	93.8 ± 4.5	82.0 ± 1.6
Dried papaya	84.0 ± 4.2	90.4 ± 1.9	97.5 ± 4.1	78.8 ± 1.9
Raisins	86.3 ± 5.7	89.0 ± 7.4	90.6 ± 4.2	76.9 ± 3.5
Dried persimmon	79.3 ± 1.0	84.7 ± 4.2	90.9 ± 1.3	76.1 ± 3.2
Red pepper	85.7 ± 2.4	89.2 ± 3.0	96.3 ± 8.4	83.4 ± 3.3
Red pepper powder	83.9 ± 3.8	87.2 ± 3.3	90.5 ± 5.3	76.6 ± 2.0
Shredded redpepper	91.0 ± 2.0	97.3 ± 2.7	93.3 ± 2.3	83.2 ± 3.6
Paprika powder	82.1 ± 3.0	83.1 ± 1.6	94.3 ± 4.3	76.9 ± 3.0
Spice formula(*Dadaeki*)	85.0 ± 2.4	89.7 ± 2.3	94.7 ± 4.6	82.0 ± 2.9
Ginger	81.2 ± 6.3	82.5 ± 2.4	91.2 ± 4.1	78.3 ± 4.8
Turmeric powder	82.5 ± 4.2	83.9 ± 4.1	85.0 ± 4.9	72.6 ± 5.2
Curry powder	80.2 ± 5.9	85.1 ± 3.5	91.7 ± 3.3	75.5 ± 4.6
Nutmeg	80.1 ± 1.6	82.7 ± 2.8	92.9 ± 2.5	73.7 ± 3.3
Pepper	80.7 ± 1.4	82.5 ± 8.2	89.6 ± 3.4	70.6 ± 2.4

잘 되지 않아 원심분리를 행한 후 여과하였다. Table 2는 상기 내용을 개선한 후의 식품별 회수율을 나타낸 것으로 아플라톡신 B1, B2 및 G1은 80% 이상, G2는 70% 이상의 회수율을 나타내었다.

검출한계 및 정량한계

HPLC/FLD으로 분석한 결과 검출한계(LOD)는 signal/noise(S/N) 비가 3일 때의 농도로 하였고 정량한계(LOQ)는 S/N의 비가 5일 때의 농도로 하여 구하였다. TFA 유도체화의 경우 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2의 검출한계는 각

Table 3. Detection limit and quantitation limit of aflatoxins by HPLC/FLD

Analyte	TFA		PHRED	
	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)	LOD(μg/kg)	LOQ(μg/kg)
Aflatoxin B_1	0.05	0.1	0.2	0.4
Aflatoxin B_2	0.05	0.1	0.1	0.2
Aflatoxin G_1	0.20	0.4	0.3	0.6
Aflatoxin G_2	0.10	0.2	0.2	0.4

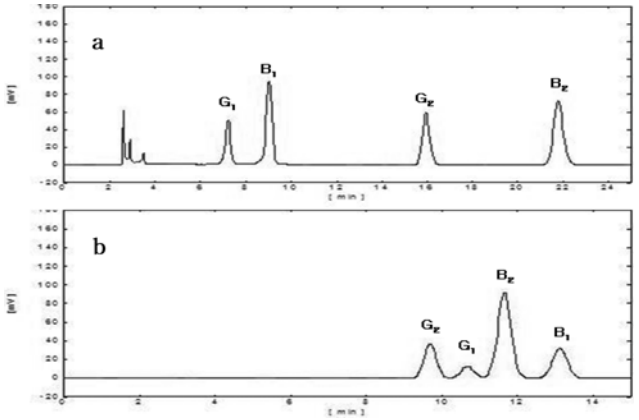

Fig. 3. Comparison of chromatograms of derivatized flatoxins standard by TFA (a) and PHRED (b).

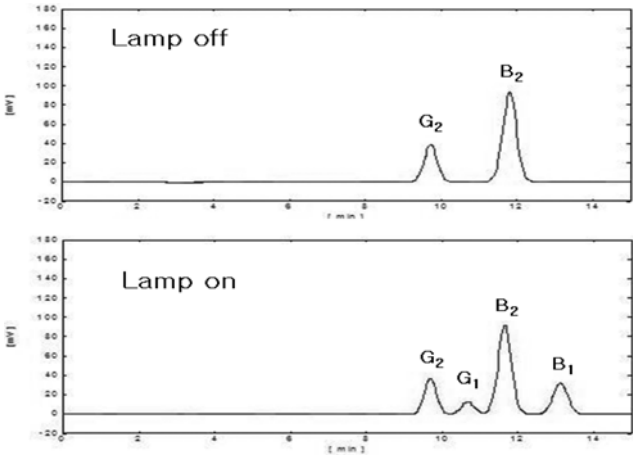

Fig. 4. Chromatogram with fluorescence detection of aflatoxin B1, B2, G1 and G2, using photochemical reactor with light off and light on.

각 0.05, 0.05, 0.20, 0.10 μg/kg으로 나타났고 정량한계는 각각 0.1, 0.1, 0.4, 0.2 μg/kg으로 나타났으며, PHRED 유도체화의 경우에는 B_1, B_2, G_1 및 G_2의 검출한계는 각각 0.2, 0.1, 0.3, 0.2 μg/kg으로 나타났고 정량한계는 각각 0.4, 0.2, 0.6, 0.4 μg/kg으로 나타났다(Table 3).

이러한 결과는 TFA 유도체화의 경우 검출한계가 5 μg/kg으로 보고된 오 등(2006)의 보고와 유사한 결과를 나타내었으나 아플라톡신의 검출한계가 B1 0.03, B2 0.03 G1 0.15 및 G2 0.02라고 한 Cho[9]의 보고보다는 다소 높은 경향을 나타내었다. PHRED 유도체화는 TFA 유도체화에 비해 동일 농도에서 피크의 높이가 낮고 피크의 폭이 넓어 검출한계와 정량한계가 TFA 유도체화에 비해서는 다소 높게 나타났다. 정량한계는 S/N의 비가 5로 산출하였는데 일반적으로 정량한계는 S/N의 비가 10으로 산출하는 경우가 많으나 S/N의 비가 5일 때에도 충분히 정량이 가능하여 정량한계로 설정하였다.

Table 4. Repeatability of detection of aflatoxins by TFA and PHRED

	Relative standard deviation(RSD, %)			
	Aflatoxin B_1	Aflatoxin B_2	Aflatoxin G_1	Aflatoxin G_2
TFA	3.6	2.0	5.3	2.8
PHRED	1.6	1.7	4.5	1.2

TFA 유도체화 및 PHRED 유도체화의 비교

아플라톡신을 UV/VIS 검출기로 분석할 경우 감도가 낮아 정량한계가 10 μg/kg 이상이 되므로 일반적으로 선택성이 커 감도가 우수한 형광 검출기를 사용한다. 그러나 아플라톡신 B2 및 G2는 형광검출기에서 그대로 분석이 가능하나 B1 및 G1은 HPLC 이동상의 의해 형광이 상쇄(quenching)되어 유도체화 없이는 형광분석이 불가능하다. 이를 위해 Pre column 방법으로 TFA 유도체화 하는 방법이 있으며, Post column 방법으로는 요오드 또는 브롬을 전기화학적인 방법으로 유도화 시켜 분석하는 방법이 있다. 또한 Post column 방법으로 PHRED를 이용한 광화학적인 방법을 이용하기도 하는데 요오드 또는 브롬을 사용하는 방법보다 매우 조작이 간단하고 비용이 저렴한 등의 장점이 있어 본 연구에서는 TFA 유도체화 방법과 PHRED 방법을 비교 검토하였다.

분석시간은 PHRED 유도체가 다소 빨랐으나 피크의 분리도나 resolution은 TFA 유도체화가 우수하였다(Fig. 3). PHRED에 의한 형광유도체화는 자외선(254 nm) 조사에 의해 B2 및 G2는 영향이 없으나 B1 및 G1가 각각 형광을 띄는 B_2a와 G_2a로 전환되게 된다. 따라서 Fig. 4와 같이 PHRED의 수은등을 켰을 때와 껐을 때 다른 크로마토그램을 나타내게 된다. PHRED에 의한 아플라톡신 분석의 가장 큰 장점은 TFA 유도체화와 같은 화학적인 전처리 조작이 필요 없이 분석컬럼과 형광검출기 사이에 장치를 설치하여 자외선을 조사하면 된다는 것이다. 유도체화에 따른 재현성은 PHRED가 화학적인 전처리 조작이 없으므로 TFA 유도체화에 비해 약간 우수한 것으로 나타났다(Table 4). PHRED 유도체화에 의한 아플라톡신 정량은 TFA 유도체화에 비해 감도 낮으나 유사 피크와 겹치는 경우가 TFA 유도체화에 비해 적으므로 TFA 유도체화 정량시험의 확인시험용으로도 사용가능하였다.

Table 5. Incidence (positive/analysed samples) and range of aflatoxins levels in dried fruits

Type of food	Incidence		Range of AFs levels (μg/kg) (Average)				
	No.	%	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	AFs
Dried mango	0/16	0.0	ND	ND	ND	ND	ND
Dried figs	3/20	5.0	ND-0.176 (0.020)	ND	ND-0.388 (0.019)	ND	ND-0.564 (0.039)
Dried berries	0/6	0.0	ND	ND	ND	ND	ND
Dried apricot	7/15	46.7	ND	ND-0.184 (0.068)	ND	ND	ND-0.184 (0.068)
Dried prune	6/15	40.0	ND	ND-0.119 (0.038)	ND-1.053 (0.251)	ND	ND-1.053 (0.289)
Dried kiwi	0/15	0.0	ND	ND	ND	ND	ND
Dried papaya	0/15	0.0	ND	ND	ND	ND	ND
Raisins	10/20	50.0	ND	ND-0.156 (0.065)	ND	ND	ND-0.156 (0.065)
Dried persimmon	3/15	20.0	ND	ND	ND-0.880 (0.109)	ND	ND-0.880 (0.109)
Total	27/137	19.7					

분석결과

건조과실류

건조과실류는 수확한 과실을 자연상태 또는 건조기에 넣어 수분을 감소시킨 것으로서 수분과 당분으로 인해 냉장보관하지 않고 장기간 보관할 수 있는 식품으로 그대로 먹거나 다른 식품의 재료로 사용하기도 한다. 제조과정 중 탈색을 방지하고 보존성을 높이기 위해 이산화황을 처리하기도 한다. 건조과실류 9종 137건 중 27건(19.7%)에서 아플라톡신이 소량 검출되었다(Table 5). 건망고, 건딸기류, 건키위 및 건파파야에서는 아플라톡신이 검출되지 않았는데 이들은 일반적으로 당절임 형태로 유통되는 경우가 많아 수분활성이 낮아 보관 중 곰팡이의 서식이 어려워 아플라톡신이 검출되지 않은 것으로 판단된다. 반면 건살구, 건자두 및 건포도에서는 총 아플라톡신이 최고 0.184, 1.053 및 0.156 μg/kg이 각각 검출되었는데 비교적 수분함량이 높은 종류이기 때문인 것으로 추측된다. 건조무화과는 아플라톡신 검출사례가 매우 빈번하게 보고되는 제품으로 2007년 유럽 RASFF(Rapid Alert for Food and Feed)에서 아플라톡신에 대한 검출사례로 보면 257건 중 156건(53%)가 건조무화과였는데 대부분 터키산 제품이었다[10]. 그러나 본 연구에서는 총 20건 중 3건(15%)에서 총 아플라톡신이 최고 0.564 μg/kg 검출되었다. 곶감에서는 15건 중 3건(20%)에서 아플라톡신 G1이 최고 0.880 μg/kg 검출되었다. 건조과실류에서 총 아플라톡신이 평균 0.3 μg/kg 이하로 미량이므로 건강상 위해는 없으나 비교적 수분 함량이 높은 제품인 건살구, 건자두, 건포도, 건무화과 및 곶감은 보관상 주의가 필요할 것으로 생각된다.

향신료

건조향신료의 아플라톡신 오염은 주로 습도가 높은 우기나 건조온도가 낮아 불충분하게 건조되는 경우 곰팡이 발생에 의해 생성될 수 있다. 일반적으로 수분함량이 11% 이상이 되면 곰팡이가 서식할 수 있고 14% 이상이 되면 아플라톡신이 축적되게 된다. 본 연구에서는 건고추, 고춧가루 등 179건을 수거하여 총 아플라톡신을 분석하였다. 일부 건고추, 고춧가루, 실고추, 건생강 등을 제외하면 대부분 수입제품이며 인도, 인도네시아 등 열대지방에서 생산되는 제품들이다. 가장 높은 검출량(총 아플라톡신으로서 ND-18.445 μg/kg, 평균 2.58 μg/kg)을 보인 육두구(Nutmeg)은 우리나라에서는 향신료로 사용되기도 하지만 한약재로서 사용되고 있어 현행 생약의 곰팡이독소 기준 및 시험방법에서는 아플라톡신 B1으로서 10 μg/kg 이하로 규제하고 있으며, 유럽연합에서도 아플라톡신 B1으로서 5 μg/kg 이하, 총 아플라톡신으로서는 10 μg/kg 이하로 관리되고 있어 식품으로 사용되는 육두구에 대해서도 안전기준 마련이 필요하였다. 이 외에 카레에서는 총 아플라톡신으로서 평균 1.0 μg/kg, 최고 5.4 μg/kg가 검출되었고 카레의 원료가 되는 심황에서도 평균 0.5 μg/kg, 최고 1.3 μg/kg 검출되어 함께 안전관리가 이루어져야 할 것으로 판단되었다. 고추류에 대한 검사 결과 고춧가루와 파프리카 분말에서 각각 총 아플라톡신으로서 최고 5.9 μg/kg(평균 1.0 μg/kg), 1.3 μg/kg(평균 0.5 μg/kg) 검출되었으나 건고추, 실고추 및 다대기에서는 매우 미량(평균 1 μg/kg 이하) 검출되었다(Table 6). 따라서 향신료 중 아플라톡신의 관리가 필요한 품목은 이미 기준이 설정되어 있는 고춧가루를 제외하면 육두구, 카레, 심황 및 파프리카 분말로 판단되었다.

Table 6. Incidence(positive/analysed samples) and range of aflatoxins levels in spices

Type of food	Incidence		Range of AFs levels (μg/kg) Minimum - Maximum (Average)				
	No.	%	AFB_1	AFB_2	AFG_1	AFG_2	AFs
Red pepper	1/15	6.7	ND	ND	ND	ND-0.200 (0.013)	ND-0.200 (0.013)
Red pepper powder	10/15	66.7	ND-4.615 (0.723)	ND-0.372 (0.046)	ND-1.982 (0.229)	ND-0.039 (0.003)	ND-5.887 (1.001)
Shredded red pepper	0/16	0.0	ND	ND	ND	ND	ND
Paprika powder	13/15	86.7	ND-0.842 (0.195)	ND-0.373 (0.092)	ND-1.214 (0.179)	ND-0.200 (0.013)	ND-1.328 (0.479)
Spice formula (*Dadaeki*)	2/17	11.8	ND-0.198 (0.019)	ND	ND	ND	ND-0.198 (0.019)
Ginger	5/15	33.3	ND-0.169 (0.028)	ND-0.324 (0.092)	ND-0.635 (0.042)	ND-0.450 (0.030)	ND-1.058 (0.192)
Turmeric powder	11/15	73.3	ND-0.780 (0.112)	ND-0.384 (0.080)	ND-0.947 (0.286)	ND-0.409 (0.059)	ND-1.299 (0.537)
Curry powder	14/16	87.5	ND-4.042 (0.757)	ND-0.361 (0.155)	ND-1.050 (0.092)	ND-0.240 (0.030)	ND-5.403 (1.033)
Nutmeg	10/15	66.7	ND-13.074 (1.849)	ND-1.399 (0.202)	ND-3.392 (0.468)	ND-0.580 (0.060)	ND-18.445 (2.579)
Pepper	13/25	52.0	ND-0.552 (0.049)	ND-0.424 (0.149)	ND-0.400 (0.016)	ND	ND-0.994 (0.214)
Others	8/15	53.3	ND-0.552 (0.079)	ND-0.424 (0.214)	ND-0.845 (0.088)	ND)	ND-1.090 (0.363)
Total	87/179	48.6					

결 론

향신료 및 건조과실류 중 총 아플라톡신 분석은 70% 메탄올로 검체를 추출하여 정제컬럼으로서 선택성이 우수한 immunoaffinity column을 사용하였고 유도체화 방법은 TFA 유도체화와 자외선 조사에 의한 PHRED유도체화를 서로 비교하였고 검출은 형광검출기를 사용하였다. 그 결과, TFA 및 PHRED에 의한 검량곡선은 모두 우수한 직선성을 나타내었다. TFA와 PHRED의 검출한계는 피크의 높이와 분리도가 우수한 TFA가 낮게 나타내었다. 그러나, PHRED에 의한 아플라톡신 분석은 화학적인 유도체화 과정이 없어 편리하였고, 방해피크가 TFA에 비해 적어 정량분석된 결과의 확인방법으로도 유용하게 사용할 수 있다.

기존의 시험법을 사용하여 총 아플라톡신의 회수율을 검토한 결과, 아플라톡신 G2의 회수율이 낮아 원인을 조사한 결과 immunoaffinity column에 주입되는 메탄올의 비율이 약 23%로 G2는 컬럼에 흡착되지 않고 유출됨을 발견하여 희석비율을 높여 메탄올의 비율이 약 17%가 되도록 하였고, 심황, 육두구, 후추는 여과시 물불용물이 생겨 회수율이 좋지 않아 물과의 혼화를 위해 희석용매를 물 대신 1% Tween 20을 사용하여 회수율을 개선하였다. 개선된 시험법으로 회수율을 측정한 결과, 아플라톡신 B1, B2 및 G1은 대부분 80% 이상을 나타내었고 G2는 70% 이상을 나타내었다.

건조과실류 9종 137건 중 27건(19.7%)에서 아플라톡신이 소량 검출되었다. 당절임 형태로 유통되는 경우가 많으므로 수분활성이 낮아 보관 중 곰팡이의 서식이 어려운 건망고, 건딸기류, 건키위 및 건파파야에서는 아플라톡신이 검출되지 않았고, 비교적 수분함량이 높은 건살구, 건자두 및 건포도에서는 총 아플라톡신이 최고 0.184, 1.053 및 0.156 μg/kg이 각각 미량 검출되었다. 아플라톡신 검출 사례가 많이 보고되고 있는 건무화과에서는 제외국의 결과와는 달리 총 20건 중 3건(15%)에서 총 아플라톡신이 불과 최고 0.564 μg/kg 검출되었다. 곶감에서는 15건 중 3건(20%)에서 아플라톡신 G1이 최고 0.880 μg/kg 검출되었다.

건조향신료 10종 179건 중 87건(48.6%)에서 아플라톡신이 검출되었다. 가장 높은 검출량(총 아플라톡신으로서 ND-18.445 μg/kg, 평균 2.58 μg/kg)을 보인 육두구(Nutmeg)는 우리나라에서는 향신료로 사용되기도 하지만 한약재로서 사용되고 있어 현행 생약의 곰팡이독소 기준 및 시험방법에서는 아플라톡신 B1으로서 10 μg/kg 이하로 규제하고 있으며, 유럽연합에서도 아플라톡신 B1으로서 5 μg/kg 이하, 총 아플라톡신으로서는 10 μg/kg 이하로 관리되고 있어 식품으로 사용되는 육두구에 대해서도 안전기준 마련이 필요하였다. 이 외에 카레에서는 총 아플라톡신으로서 평균 1.0 μg/kg, 최고 5.4 μg/kg가 검출되었고 카레의 원료가 되는 심황에서도 평균 0.5 μg/kg, 최고 1.3 μg/kg 검출되어

함께 안전관리가 이루어져야 할 것으로 판단되었다. 고추류에 대한 검사 결과 고춧가루와 파프리카 분말에서 각각 총 아플라톡신으로서 최고 5.9 μg/kg(평균 1.0 μg/kg), 1.3 μg/kg(평균 0.5 μg/kg) 검출되었으나 건고추, 실고추 및 다대기에서는 매우 미량(평균 1 μg/kg 이하) 검출되었다.

요 약

총아플라톡신의 분석을 위하여 대상 시료로부터 추출된 용액을 면역친화성칼럼(immunoaffinity column)을 이용하여 정제하고 트리플루오로초산(TFA, trifluoroacetic acid) 유도체법과 광유도체화 형태인 PHRED (Photochemical reactor enhanced detection) 유도체법을 비교 검토하여 분석하였다. 결과적으로 재현성 및 편리성은 PHRED유도체법이 우수하였으나 분리도 및 검출한계는 TFA유도체법이 우수하였다. 확립된 시험법은 아플라톡신 B1, B2, G1은 80% 이상, G2는 70% 이상의 회수율을 보였고, 아플라톡신 B1, B2, G1 및 G2 각각 0.05, 0.05, 0.2 및 0.1 μg/kg의 검출한계를 나타내었다. 확립된 시험법으로 향신료 및 건조과실류 중 총 아플라톡신에 대한 실태 조사를 위하여 향신료 10종 179건 및 건조과실류 9종 137건 총 316건을 분석하였다. 그 결과, 건조과실류 건망고 등 9종 137건 중 27건(19.7%)에서 아플라톡신이 소량 검출되었으며, 건조향신료 육구두 등 10종 179건 중 87건(48.6%)에서 아플라톡신이 검출되었다.

참고문헌

1. Peers, F.G. and Linsell, C.A. : Dietary aflatoxins and human primary liver cancer., *Ann. Nutr. Aliment*., **31**: 1005-1017, 1977.
2. Shank, R.C., Bhamarapravati, N., Gordon, J.E., and Wogan, G.N. : Dietary aflatoxins and human liver cancer. IV. Incidence of primary liver cancer in two municipal populations of Thailand., *Food and Cosmetics Toxicology*, **10**: 171-179, 1972.
3. Sun TT, Chu YY. Carcinogenesis and prevention strategy of liver cancer in areas of prevalence. *J Cell Physiol.,* **3**: 39-44, 1984.
4. Peers, F. G, Bosch X, Kaldor J, Linsell C. A., Pluijmen M. : Aflatoxin exposure, hepatitis B virus infection and liver cancer in Swaziland, *Int J Cancer,* **39**: 545-553, 1987.
5. International Agency for Research on Cancer (IARC) : Overall evaluations of carcinogenicity: An updating of IARC monographs volumes 1 to 42. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, Suppl* **7**: 1-440, 1987.
6. International Agency for Research on Cancer (IARC). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum,* **56**: 1-599, 1993.
7. Wang J.S., Groopman JD. : DNA damage by mycotoxins. *Mutat Res.,* **424**: 167-181, 1999.
8. O'Riordan M., M. G. Wilkinson : A survey of the incidence and level of aflatoxin contamination in a range of imported spices preparations on the Irish retail market, *Food Chemistry,* **107**: 1429-1435, 2008.
9. Cho, S. H., C. H. Lee, M. R. Jang, Y. W. Son, S. M. Lee, I. S. Choi, S. H. Kim, D. B. Kim : Aflatoxin contamination in spices and processed spice products commercialized in Korea, *Food Chemistry,* **107**: 1283-1288, 2008.
10. European Commission : The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report, p25, 2007.