J. Fd Hyg. Safety 21(2), 76-81 (2006)

식품중 총 아플라톡신 분석법 개선

오금순† · 서정혁 · 박성수[1] · 소유섭 · 최우정[2] · 안영순[3] · 이종옥 · 우건조
식품의약품안전청 식품평가부, [1]서울지방식품의약품안전청, [2]경인지방식품의약품안전청,
[3]식품의약품안전청 식품안전정책팀

Advances in the Analysis of Total Aflatoxins in Foods

Keum Soon Oh†, Junghyuk Suh, Seong-soo Park[1], You-Sub Sho, Woo-Jeong Choi[2], Yeong-Sun An[3], Jong-Ok Lee, and Gun-Jo Woo
Department of Food Evaluation, Korea Food & Drug Administration
[1]SeoulRegional of KFDA, [2]Gyeongin Regional of KFDA
[3]Food Safety Policy Team, Korea Food & Drug Administration
(Received May 17, 2006/Accepted June 13, 2006)

ABSTRACT – We optimized conditions of extract solvents and elution solvents for total aflatoxins in foods using HPLC/FLD. The extract solvent was 70% methanol solution including 1% NaCl and the 3 mL of acetonitrile was used as elution solvent using immnuoaffinity column. The detection limits (LOD) was 0.05 ng/g. The recoveries for total aflatoxins (B_1, B_2, G_1 and G_2) studied in foods were cereals (74.1~95.5%, 83.7~98.8%, 80.4~102.4%, 72.8~76.5%), pulses (85.8~87.5%, 83.8~90.7%, 92.0~94.5%, 60.6~65.6%), nuts (84.6~97.1%, 86.0~94.1%, 95.5~111.5%, 71.0~89.9%), processed foods (81.5~87.1%, 82.8~85.8%, 85.4~92.7%, 68.9~76.4%), dried fruits (83.6~93.5%, 78.1~90.4%, 93.0~108.5%, 64.9~78.5%) and other foods (72.5~98.3%, 73.1~96.4%, 83.5~107.2%, 64.2~75.8%), respectively.

Key words: aflatoxin, immunoaffinity column, recovery

아플라톡신은 *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* 등의 *Aspergillus* 속 곰팡이에 의해 생성되는 2차 대사산물로서 주로 곡류, 견과류, 사료 등 농산물과 그 가공품에서 광범위하게 발견되는 대표적인 곰팡이 독소이다. 아플라톡신이 종류로는 B_1(AFB_1), B_2(AFB_2), G_1(AFG_1) 및 G_2(AFG_2) 등이 있으며, 독성이 가장 강한 것은 B1이다. 특히, 아플라톡신 B_1은 발암성, 기형유발, 간장독성 등을 유발하는 강한 독성 물질로서, 국제암등록기구(IARC, International Agency for Research on Cancer)에서 group 1(carcinogenic to humans)으로 분류하고 있다[1].

WTO 체제하에 자유무역 확대로 인하여 우리나라는 대부분의 사료 및 식품 원료를 수입에 의존하고 있어 상대적으로 아플라톡신에 노출될 가능성이 점차 증가되고 있다고 볼 수 있으며, 유럽신속경보체계 및 국제식품규격(Codex) 등에서도 주의 깊게 관찰되고 있는 실정이다.

아플라톡신의 국제적인 규제현황을 보면, 유럽연합(EU)은 다른 국가들과는 달리 두가지 형태로 관리하고 있는데, 땅콩, 견과류, 건과일, 곡류, 가공식품 등에 대하여 AFB1으로서 2~8 μg/kg, 총 아플라톡신으로서 4~10 μg/kg을 maximum level로 설정하고 있으며, 미국식품의약국(FDA, Food and Drug Administration)에서는 브라질넛, 식품, 땅콩, 땅콩가공품, 피스타치오넛에 대하여 총 아플라톡신으로서 20 μg/kg의 기준을 설정하여 운용하고 있다[2,3]. 국제규격위원회(CODEX)에서는 비가공 땅콩에 대하여 AFB1으로서 15 μg/kg으로 maximum level이 정해져 있으며[4], 우리나라의 경우에는 곡류, 두류, 견과류 및 그 단순가공품에 대하여 AFB1으로서 10 μg/kg의 기준을 설정하여 규제하고 있으나5) 국제간의 규격조화를 위해서는 우리나라도 총 아플라톡신으로 기준을 설정 할 필요성이 대두되었다.

현행 식품공전의 분석법을 개정하기 위해서는 식품중 총 아플라톡신 분석법 확립이 우선적으로 선행되어야 하며, 일반적으로 주로 사용되는 형광검출기를 장착한 HPLC를 이용하였다[6-10]. 또한, 아플라톡신의 정제에 multifunctional column 및 Sep-Pak silica cartridge를 사용하는 등의 방법이 사용되어 왔으나[11,12], 최근 들어 immunoaffinity column을 사용한 신속하고 간편한 정제법이 제시[13,14] 됨에 따라 본

†Author to whom correspondence should be addressed.

연구에서는 보편적으로 널리 사용되는 immunoaffinity column을 이용하여 정제조건을 확립하고자 하였다.

따라서 본 연구에서는 식품중 총 아플라톡신 전처리방법의 최적조건을 확립하고자 국제적 흐름에 부합한 기준 및 규격 설정을 위한 첫 단계로서 추출용액 및 정제시 용출용액의 조건을 확립하였다.

재료 및 방법

실험재료

국내에서 시판되고 있는 견과류 6종(아몬드, 밤, 땅콩, 잣, 피스타치오, 호두), 곡류 6종(쌀, 찹쌀, 기장, 현미, 옥수수, 혼합곡류, 보리), 두류 3종(대두, 강남콩, 녹두), 가공식품 3종(땅콩버터, 보리차, 고추장), 건조과일류 6종(자두, 무화과, 포도, 망고, 파파야, 파인애플) 및 기타식품 5종(메주가루, 고춧가루, 콩가루, 이유식, 커피)을 대상으로 균질화하여 시료를 -20°C의 냉동상태로 보관하면서 사용하였다.

표준품 및 시약

실험에 사용한 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2 표준품은 Sigma사에서 구입하여 사용하였으며 acetonitrile(Merck Co., USA, HPLC용), methanol(Merck Co., USA, HPLC용), sodium chloride(Wako Co., Japan, 특급시약), trifluoroacetic acid(Sigma Co., USA, 특급시약)을 사용하였다.

정제용 칼럼 및 분석장비

정제용 칼럼은 immunoaffinity column(AflaTest, Vicam Co., USA)을 사용하였고, 분석장비는 고속액체크로마토그라피(Model 1100 Series, Agilent Co. USA)을 사용하였다.

표준용액 조제

아플라톡신 표준원액은 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2 표준품을 각각 10 mg씩 달아서 acetonitrile 10 mL에 녹여 정확히 1000 μg/mL로 하고 아플라톡신 혼합 표준용액은 각 원액 1 mL씩 분취하여 acetonitrile으로 정확히 10 mL로 희석하여 제조한 후 적당량을 취하여 각각의 농도로 희석하여 사용하였다.

전처리 조건 검토

식품 중 아플라톡신 분석을 위한 최적의 추출용매 및 정제시 사용되는 용출용매를 결정하기 위하여 시료 25 g을 취하여 일정량의 아플라톡신 혼합 표준용액을 첨가한 후 70% methanol 용액에 NaCl을 각각 1%, 2% 첨가한 용매와 80% methanol 용액에 NaCl을 각각 1%, 2% 첨가한 용매를 100 mL 첨가한 후 20분간 진탕하여 얻은 추출액을 여과지(Advantec No. 1)로 여과하여 추출액으로 하였다.

정제시 사용할 용출용매를 검토하기 위하여 각각의 용매로 추출하여 여과한 여액 10 mL에 증류수 20 mL을 혼합한 혼액 15 mL을 immunoaffinity column으로 정제한 후 용출시 각각 acetonitrile 3 mL, 5 mL, methanol 3 mL, 5 mL을 사용하여 용출시켰다. 각각의 용출액을 질소로 완전히 농축시켜 trifluoroacetic acid(TFA) 200 μL과 이동상(20% acetonitrile) 800 μL를 첨가한 후 20분간 유도체화시켰다. 유도체화 시킨 용액을 0.45 μm filter로 여과한 여액을 시험용액으로 하여 회수율을 측정하고 그 결과를 비교분석하였다.

HPLC 분석 장비의 조건

아플라톡신을 정량분석하기 위하여 HPLC system(Agilent Co. USA)을 사용 하였고 검출기는 fluorescence detector (Ex 360 nm, Em 450 nm), column은 μ-Bondapak C_{18}, 이동상은 20% acetonitrile를 사용하였으며 총 아플라톡신 분석을 위한 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. Operation conditions of HPLC for total aflatoxins analysis in foods

Item	Conditions
Instrument	HPLC (Agilent Co. USA)
Detector	Fluorescence detector
Column	μ-Bondapak C_{18}
Wavelength	Ex 360 nm, Em 450 nm
Mobile phase	20% acetonitrile
Flow rate	0.5 mL/min

회수율 검토

추출용매, 용출용매 등을 검토하여 총 아플라톡신 분석법을 확립한 후 확립된 분석법을 이용하여 아플라톡신 혼합표준용액을 최종농도 5 ng/g이 되도록 시료에 첨가한 후 정량하여 회수율을 검토하였다.

결과 및 고찰

추출용액 조건 확립

식품 중 총 아플라톡신 분석법을 확립하기 위하여 먼저 아플라톡신 추출에 사 용할 용매를 검토하였다. 검토한 추출용액은 AOAC 방법[13,15]을 참고하여 메탄올 70% methanol에 NaCl을 각각 1%, 2% 첨가한 용액과 80% methanol 용액에 NaCl을 각각 1%, 2% 첨가한 용액 4가지를 대상으로 검토하였다.

Table 2. Recoveries of aflatoxin spiked into peanut butter and glutinous rice sample using various extraction solvents for sample preparation

Sample	Aflatoxins	Mean of Recoveries(%)			
		Methanol - Water (70 + 30)		Methanol - Water (80 + 20)	
		1% NaCl	2% NaCl	1% NaCl	2% NaCl
Peanut butter	B_1	82.6	82.0	86.9	85.5
	B_2	83.7	84.9	88.3	88.4
	G_1	86.7	86.2	86.8	87.5
	G_2	74.7	72.8	64.9	61.4
Glutinous rice	B_1	93.5	87.6	87.5	89.0
	B_2	97.3	91.6	93.4	93.4
	G_1	103.7	90.5	90.1	90.9
	G_2	77.7	73.6	69.8	68.6

각각의 추출용액을 검토한 결과는 Table 2와 같다. 사용한 시료는 시료의 상태에 따라 땅콩버터와 찹쌀 분말을 이용하였으며, 표에서 보듯이 두 가지 식품 모두 사용한 추출용액에 따른 아플라톡신 B_1, B_2, G_1에 대한 회수율은 80% 이상으로 양호한 수준을 보였으나 아플라톡신 G_2에 대한 회수율은 다소 낮은 수준이였다.

추출용액에 따른 회수율을 비교한 결과, 70% methanol에 1% NaCl 및 2% NaCl로 조제한 추출용액의 경우 땅콩버터는 B_1 82.6%, 82.0%, B2 83.7%, 84.9%, G_1 86.7%, 86.2%, G_2 74.7, 72.8%였고, 찹쌀가루는 B_1 93.5%, 87.6%, B_2 97.3%, 91.6%, G_1 103.7%, 90.5%, G_2 77.7, 73.6%였으며, 80% methanol에 1% NaCl 및 2% NaCl로 조제한 추출용액의 경우 땅콩버터는 B_1 86.9%, 85.5%, B_2 88.3%, 88.4%, G1 86.8%, 87.5%, G_2 64.9, 61.4%였고, 찹쌀가루는 B_1 87.5%, 89.0%, B_2 93.4%, 93.4%, G_1 90.1%, 90.9%, G_2 69.8, 68.6%였다.

따라서, 아플라톡신 G2의 회수율이 다소 높은 70% methanol에 1% NaCl를 첨가한 추출용액을 전처리방법에 적용하기로 하였다.

Stroka 등[13]의 보고에 따르면 땅콩버터, 피스타치오 paste, 무화과 paste, 파프리카 분말, 일반적 농산물, 땅콩 등의 시료를 immunoaffinity column로 정제하여 HPLC로 분석하고자 할 때 80%의 methanol에 약 1.5%(5 g/300 mL)의 NaCl를 첨가하여 추출에 사용하였다. 그러나 본 연구에서는 80% methanol 보다 70%의 methanol에 1%의 NaCl를 첨가한 추출용매를 사용하였을 때 회수율이 다소 높은 것으로 나타났다.

용출용액 조건 확립

추출액 중의 아플라톡신을 정제하기 위하여 immunoaffinity column을 이용하였으며, 용출시 각각 acetonitrile과 methanol 3 mL, 5 mL을 용매로 사용하였다. 그 결과, acetonitrile로 용출시켰을 때의 크로마토그램을 보면(Fig. 2, (b)) 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2의 4가지 피크가 깨끗이 분리된 것을 볼 수 있었다. 그러나 3 mL과 5 mL간 용출용매 용량의 차이는 없었기 때문에 질소농축시간이 단축시키기 위해서 acetonitrile 3 mL을 용출용액으로 사용하였다.

반면, methanol을 이용하여 용출하였을 경우 용량에 상관없이 Fig. 1(b)에서 보는 바와 같이 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2의 피크가 분리되기는 하였으나 방해피크로 인하여 크로마토그램이 깨끗하지 않았으며, 특히 아플라톡신 G_1과 B_2의 피크에서 분리도가 현저히 떨어져 용출용액으로서 적합하지 않았다.

Moller 등[16]은 methanol과 water(8:2)의 혼합용액을 추출에 사용하여 methanol로 용출시켰을때 아플라톡신 B_1과 B_2

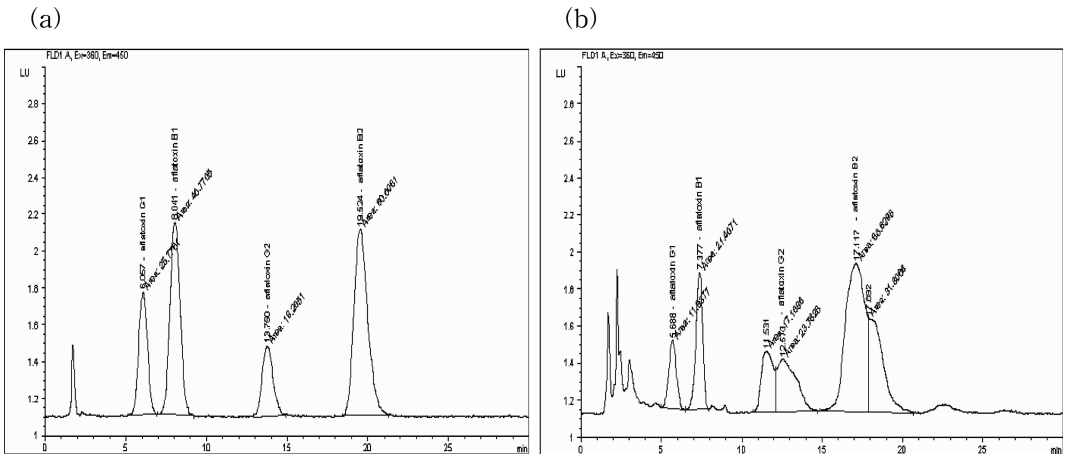

Fig. 1. HPLC chromatograms of elution with 3 mL acetonitrile (a) and 3 mL methanol (b).

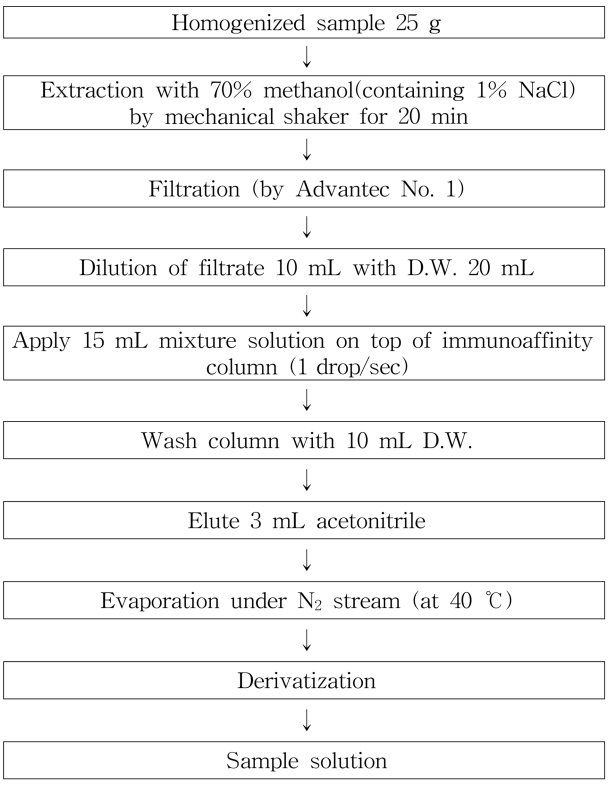

Fig. 2. Flow diagram of sample preparation for analysis of total aflatoxins in various foods.

의 회수율이 각각 76.1%, 85.7%라고 보고한 바 있으며, Chan 등[17]은 아플라톡신과 오크라톡신 A를 동시분석 할 경우 acetonitrile과 water를 6:4로 혼합한 추출용액을 사용하여 methanol로 용출시켰을 때 아플라톡신과 오크라톡신 A의 회수율이 식품에 따라 다소 상이하였으나 모두 70% 이상의 회수율을 보였다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 methanol을 용출용액으로 사용하였을 경우 아플라톡신의 피크 분리도에 문제점이 있었다. 이는 추출용액, 검출파장 등의 차이에 기인한 것으로 판단된다.

검량선 작성

검량선 작성을 위해 아플라톡신 혼합 표준용액을 1 ng/g, 3 ng/g, 5 ng/g, 10 ng/g이 되도록 조제하여 HPLC 분석조건에 따라 혼합 표준용액을 주입하여 얻어진 피크면적으로부터 검량선을 작성하였다. 그 결과는 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 상관계수(R^2)는 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2 각각 0.99991, 0.99997, 0.99988 및 0.99999로 나타나 양호한 직선성을 보였다.

검출한계 및 회수율 검토

Imunoaffinity column을 이용하여 포집한 용출용액을 질소로 완전히 농축시킨 후 trifluoroacetic acid 200 μL과 이동

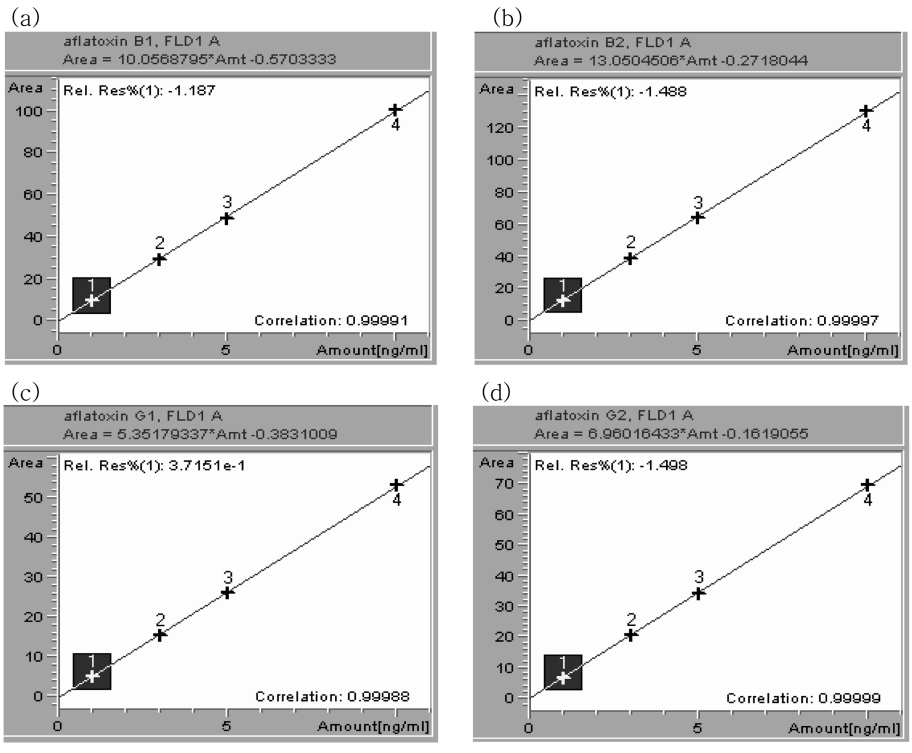

Fig. 3. Calibration curve of aflatoxin B_1 (a), B_2 (b), G_1 (c) and G_2 (d).

Table 3. Average recoveries of added aflatoxins in various foods (n=3)

Category	Sample	Average recoveries(%)			
		B_1	B_2	G_1	G_2
Cereals	Rice	95.5±9.26	98.8±4.24	102.4±10.94	73.2±2.22
	Glutinous rice	94.5±8.45	96.5±6.23	101.1±9.81	76.5±2.10
	Millet	77.5±13.07	88.5±4.98	84.7±11.00	74.3±1.18
	Brown rice	84.3±15.73	94.4±5.76	93.7±17.68	72.8±0.06
	Maize	74.1±5.18	83.7±1.89	80.4±6.57	73.0±1.48
	Mixed cereals	79.9±4.33	89.1±1.75	87.3±6.83	77.4±2.90
	Barley	88.7±3.64	91.7±0.42	96.7±1.57	77.8±1.94
Beans	Soy bean	86.2±2.19	90.7±1.66	92.9±3.72	62.6±3.26
	Kidney bean	87.5±4.29	83.8±1.69	94.5±1.87	65.6±1.28
	Green pea	85.8±1.81	89.3±2.76	92.0±2.39	60.6±1.05
Nuts	Almond	93.5±0.25	86.0±0.76	102.3±0.17	84.4±1.88
	Chestnut	95.8±0.09	88.5±0.77	95.5±1.25	79.6±0.89
	Peanut	97.1±0.23	94.1±0.17	111.5±8.96	71.0±0.00
	Pinenut	94.5±0.02	90.5±0.05	97.4±0.26	84.7±1.08
	Pistachio nut	93.5±0.51	86.0±1.09	105.7±0.21	89.9±1.36
	Walnut	84.6±1.23	86.3±0.86	97.1±2.54	72.4±2.90
Processed products	Peanut butter	86.2±1.22	85.8±0.95	92.8±2.75	74.3±1.33
	Steam-barley	87.1±5.23	83.6±0.90	85.4±0.46	68.9±5.74
	Kochujang	81.5±0.38	82.8±1.38	91.4±3.59	76.4±5.36
Dried fruits	Plum	83.6±2.08	90.4±2.76	108.5±8.10	68.7±8.08
	Fig	86.1±5.17	93.7±0.93	97.1±9.44	64.9±6.93
	Grape	85.1±0.35	78.1±1.12	96.5±0.48	78.5±2.97
	Mango	86.7±0.79	82.8±0.51	93.0±0.39	72.8±1.18
	Papaya	93.5±1.17	85.7±1.34	102.8±0.73	76.1±2.91
	Pineapple	89.7±0.77	83.3±1.11	99.4±0.49	75.1±3.24
Others	Meju flour	72.5±6.48	73.1±3.22	83.5±4.05	74.8±6.67
	Red pepper flour	85.3±0.83	81.3±1.09	94.6±2.21	75.8±2.59
	Soybean flour	80.2±1.61	81.9±1.42	86.0±1.30	73.9±3.69
	Infant food	81.8±0.47	83.3±0.31	89.9±0.15	64.2±1.11
	Coffee	98.3±0.44	96.4±0.51	107.2±1.34	68.7±1.54

상(20% acetonitrile) 800 μL를 첨가한 후 20분간 유도체화시킨 다음 0.45 μm filter로 여과한 여액을 시험용액으로 하여 HPLC로 정량분석 하였으며, 검출한계(detection limit)는 0.05 ng/g이었다.

확립된 분석법으로 대상 시료에 아플라톡신 혼합 표준용액을 최종농도 5 ng/g이 되게 첨가하여 회수율을 측정한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다.

식품군별 즉 곡류 6종, 두류 3종, 견과류 6종, 가공식품 3종, 건조과실류 6종 및 기타식품 5종에 대하여 총 아플라톡신 회수율을 실시하였다. 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2의 회수율은 곡류 74.1~95.5%, 83.7~98.8%, 80.4~102.4% 및 72.8~76.5%, 두류 85.8~87.5%, 83.8~90.7%, 92.0~94.5% 및 60.6~65.6%, 견과류 84.6~97.1%, 86.0~94.1%, 95.5~111.5% 및 71.0~89.9%, 가공식품 81.5~87.1%, 82.8~85.8%, 85.4~92.7% 및 68.9~76.4%, 건조과실류 83.6~93.5%, 78.1~90.4%, 93.0~108.5% 및 64.9~78.5%, 기타식품 72.5~98.3%, 73.1~96.4%, 83.5~107.2% 및 64.2~75.8%를 보여주었으며, 특히, 분석한 시료 모두에서 아플라톡신 G_2가 다른 아플라톡신에 비해 회수율이 다소 낮은 것으로 나타났다.

Pearson 등[18]이 60% methanol 용액으로 추출하여 immunoaffinity column을 통하여 clean-up한 후 HPLC-FLD를 이용하여 피스타치오와 캐슈너트 중의 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2을 분석한 결과 피스타치오의 회수율은 각각 85%, 99%, 79% 및 80%를 나타내었고 캐슈너트의 경우에는 각각 99%, 106%, 88% 및 80%를 나타내었으며, 분석법의 검출한계는 2 ng/g이었다고 보고 한 바 있어 회수율은 본 연구결과와 유사하였으나 검출한계는 다소 높은 경향을 보였다.

국문요약

총 아플라톡신 분석을 위한 최적의 추출 및 용출조건을 확립하여 최적의 전처리 조건을 확립하였다. 추출용매는 70% methanol 용액에 NaCl을 각각 1% 첨가한 용액을 사용하였고, 정제용 컬럼인 immunoaffinity column을 이용하여 acetonitrile 3 mL를 용출용매로 사용하여 아플라톡신 혼합용액의 분리능을 좋게 하였다. 검출한계는 0.05 ng/g 수준이였고, 식품의 유형별 총 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)의 회수율은 곡류 74.1~95.5%, 83.7~98.8%, 80.4~102.4% 및 72.8~76.5%, 두류 85.8~87.5%, 83.8~90.7%, 92.0~94.5% 및 60.6~65.6%, 견과류 84.6~97.1%, 86.0~94.1%, 95.5~111.5% 및 71.0~89.9%, 가공식품 81.5~87.1%, 82.8~85.8%, 85.4~92.7% 및 68.9~76.4%, 건조과실류 83.6~93.5%, 78.1~90.4%, 93.0~108.5% 및 64.9~78.5%, 기타식품 72.5~98.3%, 73.1~96.4%, 83.5~107.2% 및 64.2~75.8%를 보여주었다.

참고문헌

1. IARC, Monograph on the evaluation of carcinotenic risk to humans(Lyon:IARC), Vol. **82**, pp. 171 (2002).
2. European Commission, Commission Regulation. available at [http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/2001/en_2001R0466_do_001.pdf]
3. Food and Drug Administration, Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed. available at [http://www.cfsan.fda.gov/ ~lrd/fdaact.html#afla]
4. Codex alimentarius, Maximum level and sampling plan for total aflatoxins in peanuts intended for further processing. available at [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/335/CXS_209e.pdf]
5. Korea Food and Drug Administration, Food Code, (2005).
6. Papp E., H-Otta K., Zaray G., Mincsovics E. Liquid chromatographic determination of aflatoxins, *Microchemical J.* **73**, 39-46 (2002).
7. Boenke A. Method validation for mycotoxin determinations in food and feedstuffs, trends in analytical chemistry, **17**(1), 10-17 (1998).
8. Malone B. R., Humphrey C. W., Romer T. R., Richard J. L. Determination of aflatoxins in grains and raw peanuts by a rapid precedure with fluorometric analysis, *Journal of AOAC International*, **83**(1), 95-98 (2000).
9. Asis R., Paola R. D., Aldao M. A. J. Determination of aflatoxin B1 in highly contaminated peanut samples using HPLC and ELISA, *Food and Agricultural Immunology*, **14**, 201-208 (2002.)
10. Daradimos E, Marcaki P., Koupparis M. Evaluation and validation of two fluorometric HPLC methods for the determination of aflatoxin B1 in olive oil, *Food Additives and Contaminants*, **17**(1), 65-73 (2000).
11. Akiyama H., Goda Y., Tanaka T., Toyoda M. Determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in spices using a multifunctional column clean-up, *Journal of Chromatography A*, **932**, 153-157 (2001).
12. Kim E. K., Shon D. H., Yoo J. Y., Ryu D., Lee C., Kim Y. B. Natural occurrence of aflatoxins in Korean Meju, *Food Additives and Contaminants*, **18**(2), 151-156 (2001).
13. Stroka J., Anklam E., Jorissen U., Gilbert J. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: Collaborative study, *Journal of AOAC International*, **83**(2), 320-340 (2000).
14. Mably M., Mankotia M., Cavlovic P., Tam J., Wong L., Pantazopoulos P., Calway P., Scott P. M. Survey of aflatoxins in beer sold in Canada, *Food Additives and Contaminants*, **22**(12), 1252-1257 (2005).
15. AOAC Official Method 991.31, Afaltoxins in Corn, Raw Peanuts and Peanut butter, AOAC Official Methods of Analysis (1995).
16. Moller T. E., Nyberg M. Efficiency of different extraction solvent mixtures used in analyses of aflatoxins from a certified peanut meal reference material, *Food Additives and Contaminants*, **21**(8), 781-785 (2004).
17. Chan D., MacDonald S. J., Boughtflower V., Brereton P. Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in food using a fully automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography-fluorescence detection, *Journal of Chromatography A*, **1059**, 13-16 (2004).
18. Pearson S. M., Candlish A. A. G., Aidoo K. E., Smith J. E. Determination of aflatoxin levels in pistachio and cashew nuts using immunoaffinity column clean-up with HPLC and fluorescence detection, *Biotechnology Techniques*, **13**, 97-99 (1999).