pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 36, No. 1, pp. 24~33 (2021)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.1.24

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

LC-MS/MS를 이용한 식·약 공용 농산물의 곰팡이독소 분석 및 위해평가

최수정* · **고숙경** · **박영애** · **정삼주** · **최은정** · **김희선** · **김은정** · **황인숙** · **신기영** · **유인실** · **신용승**
서울시보건환경연구원

Determination of Mycotoxins in Agricultural Products Used for Food and Medicine Using Liquid Chromatography Triple Quadrupole Mass Spectrometry and Their Risk Assessment

Su-Jeong Choi*, Suk-Kyung Ko, Young-Ae Park, Sam-Ju Jung, Eun-Jung Choi, Hee-sun Kim, Eun-Jung Kim, In-Sook Hwang, Gi-Young Shin, In-Sil Yu, Yong-Seung Shin
Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Gwacheon, Korea

(Received November 18, 2020/Revised December 20, 2020/Accepted January 1, 2021)

ABSTRACT - For this study, we surveyed concentrations of 8 mycotoxins (aflatoxin B_1, B_2, G_1, G_2, ochratoxin A, fumonisin B_1, B_2 and zearalenone) in agricultural products used for food and medicine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and conducted a risk assessment. Samples were collected at the Yangnyeong Market in Seoul, Korea, between January and November 2019. Mycotoxins were extracted from these samples by adding 0.1% formic acid in 50% acetonitrile and cleaned up by using an ISOLUTE Myco cartridge. The method was validated by assessing its matrix effects, linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), recovery and precision using four representative matrices. Matrix-matched standard calibration was used for quantification and the calibration curves of all analytes showed good linearity (r^2>0.9999). LODs and LOQs were in the range of 0.02-0.11 μg/kg and 0.06-0.26 μg/kg, respectively. Sample recoveries were from 81.2 to 118.7% and relative standard deviations lower than 8.90%. The method developed in this study was applied to analyze a total of 187 samples, and aflatoxin B_1 was detected at the range of 1.18-7.29 μg/kg (below the maximum allowable limit set by the Ministry of Food and Drug Safety, MFDS), whereas aflatoxin B_2, G_1 and G_2 were not detected. Mycotoxins that are not regulated presently in Korea were also detected: fumonisin (0.84-14.25 μg/kg), ochratoxin A (0.76-17.42 μg/kg), and zearalenone (1.73-15.96 μg/kg). Risk assessment was evaluated by using estimated daily intake (EDI) and specific guideline values. These results indicate that the overall exposure level of Koreans to mycotoxins due to the intake of agricultural products used for food and medicine is unlikely to be a major risk factor for their health.

Key words : Agricultural products used for food and medicine, Mycotoxins, Risk assessment

약용식물은 오래전부터 질병의 예방과 치료를 목적으로 사용되고 있는 식물이며, 건강기능식품, 화장품, 천연물 의약품 등의 원료로 광범위하게 이용되고 있다[1,2]. 대한약전 및 대한약전 외 생약 규격집에 한약재로 허용되어 있는 약용식물은 489품목이고[3,4], 이 중 식품공전에 식품의 원료로도 사용 가능한 115품목이 허용되어 있으며[5], 이를 식·약 공용 농·임산물이라고 한다. 동일한 약용식물이라 하더라도 사용목적에 따라 적용되는 법령, 규격기준, 유해물질 관리, 수입 검사 등의 품질 및 안전 관리체계가 달라서 소비자들은 식·약 공용 농·임산물을 한약재로 혼동하여 오남용하는 사례들이 있다[6].

뿐만 아니라 이러한 약용식물은 토양에 직접 접촉해서 자라므로 독성과 오염물질(곰팡이독소, 잔류농약, 중금속 등)의 잠재적인 오염을 피할 수는 없다. 그 중 곰팡이독소는 *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속, *Fusarium* 속 및 *Alternaria* 속의 곰팡이가 생성하는 2차 대사산물로 현재까지 구조가

*Correspondence to: Su-Jeong Choi, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Gwacheon 13818, Korea
Tel: +82-2-940-9813 Fax: +82-2-964-8174
E-mail: csj79@seoul.go.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

밝혀진 것은 300-400여 종으로, 약용식물에서 주로 문제가 되는 것은 아플라톡신(Aflatoxin), 오크라톡신 A (Ochratoxin A), 푸모니신(Fumonisin), 제랄레논(Zearalenone) 및 데옥시니발레놀(Deoxynivalenol)이다[7-9]. 약용식물의 생산, 수확, 가공, 저장 과정 중 부적절한 환경으로 인해 곰팡이 발생이 증가되고, 곰팡이독소 생성 위험도 증가시키며, 한번 생성된 곰팡이독소는 열에 매우 안정하여 가공과정에서도 잘 파괴되지 않는다[10]. 곰팡이독소가 오염된 식물을 사람 또는 동물이 섭취했을 경우 독성을 나타내는 기관에 따라 간세포독소(Hepatotoxin), 신장독소(Nephrotoxin), 신경독소(Neurotoxin) 및 면역독소(Immunotoxin)로 나누어진다[11]. 국제보건기구(WHO) 산하 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)는 발암성과 관련해 아플라톡신은 발암물질(Group 1), 오크라톡신 A와 푸모니신 B_1 및 B_2는 인체발암가능물질(Group 2B)로 분류하고, 제랄레논, 데옥시니발레놀 및 T-2 toxin은 발암물질로 분류할 수 없는 물질(Group 3)로 분류하여 위해성을 강조하고 있다[12]. 현재 곰팡이독소의 위해평가는 개별 곰팡이독소 분석으로 이루어지며, FAO/WHO 식품첨가물합동전문가위원회(FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives of the United Nations, JACFA)와 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA)에서 곰팡이 독소의 최대잔류허용기준을 설정하여 관리하고 있다[13-15]. 우리나라도 식품별로 곰팡이독소 기준이 설정되어 있고[16], 최근 총 아플라톡신 및 아플라톡신 B_1의 기준이 식물성 원료 및 전체 가공식품으로 확대되어 관리되고 있다[17].

곰팡이독소 분석법에는 박층크로마토그래피법(Thin layer chromatography, TLC)[18], 효소면역측정법(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)[19], 가스크로마토그래피법(Gas chromatography, GC)[20] 및 다양한 검출기를 이용한 액체크로마토그래피법(High performance liquid chromatography, HPLC)[21,22] 등이 있다. 박층크로마토그래피법과 효소면역측정법은 빠르고 간단하고 특이성이 있는 장점으로 인해 스크리닝 분석에 많이 사용되나, 민감도, 정확성, 위양성 등의 단점이 있다[18,19]. 보통 정량분석에는 형광검출기(Fluorescence detector, FLD)를 이용한 액체크로마토그래피법을 가장 많이 사용하지만, pre-column과 post-column 유도체화 과정이 필요하며, 개별분석에 주로 활용된다[10,23]. 최근에는 유도체화 없이 낮은 검출한계, 우수한 민감도, 선택성, 정성 및 정량이 동시에 가능한 질량분석기(Mass spectrometry)를 이용한 동시분석법을 많이 사용하고 있다. 곰팡이독소는 단일독소의 오염 뿐만 아니라 여러 독소의 동시오염이 많이 발생하기 때문에 식품 중 곰팡이독소 동시분석법에 대한 연구는 여러 분야에서 활발히 이루어지고 있으며[23-27]. 최근 식품공전에도 LC-MS/MS를 이용한 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2), 오크라톡신 A, 제랄레논, 푸모니신(B_1, B_2) 동시분석법이 신설되었다[28]. 곰팡이독소의 낮은 허용기준을 고려하면, 시료의 복잡한 화학적 성분들을 제거하기 위한 시료 정제과정이 필요하며, 고상추출법(Solid phase extraction, SPE)[25,26], 액액추출법(Liquid liquid extraction)[29], 고체상미세추출법(Solid phase micro-extraction)[30], 면역친화성칼럼법(Immunoaffinity columns)[21,22] 및 QuEChERS법(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)[24,27] 등이 있다. 그 중 많이 사용되는 면역친화성칼럼은 곰팡이독소 항체가 있어 특이성이 높고, 신속 간편한 방법이나 가격이 비싸고, 유통기한의 제약, 동시추출이 어렵기 때문에 동시분석법에는 적용이 힘들어[21,22], 최근에는 QuEChERS법과 다성분 분석용 SPE를 활용한 연구들이 많이 이루어지고 있다[10,23,26,27]. 따라서 본 연구에서는 건강식품 및 가공식품의 기능성 원료로 많이 사용되는 식·약 공용 농산물에 대하여 곰팡이독소 다성분 분석용 SPE 컬럼으로 정제 후 LC-MS/MS로 분석하여 곰팡이독소 8종의 동시분석법 유효성을 검증하고, 확립된 분석법으로 곰팡이독소의 오염도를 파악하고 위해평가를 통해 곰팡이독소 안전관리 방향을 설정하는데 활용하고자 한다.

Materials and Methods

재료

2019년 1월에서 11월까지 서울 약령시장에서 유통되고 있는 식·약 공용 농산물 중 갈근(8건), 감초(20건), 길경(13건), 당귀(15건), 작약(10건), 황기(16건), 건강(16건), 산약(9건), 천궁(8건), 천마(8건), 구기자(10건), 복분자(9건), 산수유(10건), 오미자(12건), 치자(8건), 연자육(8건) 및 산조인(7건) 17품목 187건의 시료를 구입하여 식·약 공용한약재 관능검사지침[31]에 따라 기원, 약용부위 등을 감정한 뒤, 곰팡이독소를 분석하였다. 시료는 분쇄기(DA338-G, Hanil, Seoul, Korea)로 분쇄하여 폴리에틸렌 비닐팩에 밀봉 포장하여 냉동(-20°C)보관하면서 사용하였다.

시약 및 기구

표준물질 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2는 Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, MO, USA)에서, 푸모니신 B_1, B_2, 오크라톡신 A 및 제랄레논은 Biopure (Tulln, Austria)에서 구입하였다. 추출 및 기기분석에 사용된 아세토니트릴, 메탄올 및 물(Fisher Scientific Co, Pittsburgh, PA, USA)은 HPLC급과 LC/MS급을 사용하였고, 개미산암모늄(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 개미산(Fisher Scientific Co, Pittsburgh, PA, USA)은 LC/MS급을 사용하였다. 시료를 여과하기 위해 유리섬유여과지(Whatman GF/A, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)를 사용하였으며, 실린지 필터는 0.2 μm의 13 mm 실린지 디스크 필터(Minisart RC, Germany)를 사용하였고, 분석물질 정제용 칼럼은 Isolute Myco (60 mg/3 mL, Biotage, Cardiff, UK)을 사용하였다.

시료의 추출에 사용된 초음파기는 Bransonsonic (Branson Ultrasonic Co. Ltd., USA)이고, 원심분리기는 TOMY MX-301 (TOMY SEIKO Co. Ltd., Japan)이고, 용매를 제거할 때 사용한 질소농축기는 N-EVAPTM 112 (Organomation, MA, USA)였다.

실험방법

표준 용액의 조제

아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2는 메탄올에 녹여 50 ng/mL으로, 푸모니신 B_1과 B_2는 50% 아세토니트릴로, 오크라톡신 A과 제랄레논은 아세토니트릴로 200 ng/mL으로 만들어 -20°C에서 냉동보관하면서 표준원액으로 사용하였다. 혼합표준용액은 각각 표준원액 50 μL를 질소 농축하여 0.1% 개미산 함유 50% 메탄올 1 mL로 재용해한 뒤 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2는 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5 ng/mL, 푸모니신 B_1, B_2, 오크라톡신 A 및 제랄레논은 0.2, 0.4, 1, 2, 4, 10 ng/mL이 되도록 대표시료 황기(Astragali Radix), 산약(Dioscoreae Rhizoma), 구기자(Lycii Fructus), 연자육(Nelumbinis Semen)의 무처리 추출물(matrix)로 희석하여 matrix가 첨가된 표준용액을 조제하였다.

시료의 추출 및 정제

시료의 전처리는 식품공전 중 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2), 오크라톡신 A, 제랄레논, 푸모니신(B_1, B_2) 동시분석법에 따라 실시하였다[28]. 검체를 분쇄하여 균질화한 시료 약 2.5 g을 정밀히 달아 0.1% 개미산 함유 50% 아세토니트릴 20 mL를 가하고 30분간 초음파를 이용하여 추출하고 3700 xg에서 10분간 원심분리한 후, 이를 유리섬유여과지로 여과한다. 여액 4 mL를 취하여 증류수 16 mL를 가해 20 mL로 하여 추출액으로 한다. 정제용 카트리지를 미리 아세토니트릴 2 mL, 증류수 2 mL로 차례로 활성화시킨 다음 추출액 5 mL를 주입하여 유출시킨다. 이어서 증류수 2 mL와 10% 아세토니트릴 2 mL를 유출시키고, 카트리지에 남아 있는 용액을 감압펌프를 이용하여 제거한 후, 0.1% 개미산 함유 아세토니트릴 2 mL 및 메탄올 4 mL를 차례로 흘려 용출시킨다. 이 용출액을 50°C에서 질소건고시킨 후 잔류물에 0.1% 개미산 함유 50% 메탄올 1 mL로 녹인 후, 0.2 μm 실린지 필터로 여과하여 기기분석에 사용하였다.

기기분석

곰팡이독소 분석을 위해 LC는 Vanquish Horizon UHPLC (Thermo Fisher, MA, USA)를 사용하였으며, 질량분석기는 TSQ Altis (Thermo Fisher, MA, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석용 칼럼은 역상 칼럼인 Hypersil GOLD$_{TM}$ C_{18} (2.1 × 100 mm, 1.9 μm Thermo Fisher, USA)을 사용하였고, 0.1 mM 개미산암모늄과 0.1% 개미산이 함유된 물과 메탄올을 사용하여 기울기 용리방법을 사용하였는데, 초기 유기용매는 1분까지 30%로 유지하다, 6분 동안에 20%로 선형적으로 변화시킨 후, 20%에서 7분까지 유지하였다. 이동상의 유속은 0.3 mL/min였고, 30°C에서 주입량은 5 μL였다. 정량분석을 위하여 LC-MS/MS의 전자분무이온화(Electrospray ionization, ESI)법의 음이온화방법(Negative mode)과 양이온화방법(Positive mode)으로 collision energy (CE)를 조절하여, 최적의 정량이온과 정성이온을 선택하였고, 기기분석조건은 다음과 같다; positive spray voltage는 3500 V, negative spray voltage는 2500 V, vaporizer 온도는 450°C, sheath gas는 50 Arb 및 aux gas는 10 Arb로 설정하였고, MRM 분석을 위한 이온들은 Table 1과 같다.

분석법 유효성 검증

유효성 검증은 식품의약품안전평가원의 '식품 등 시험법 마련 표준 절차에 관한 가이드라인[32]' 및 CODEX 가이드라인[33]에 따라 매질효과(Matrix effects), 직선성(Linearity), 검출한계(Limit of detection), 정량한계(Limit of quantification),

Table 1. MRM transition and LC-MS/MS conditions for analysis of mycotoxins

	Compound	Polarity	Precursor ion (m/z)	Product ion[1] (m/z)	Collision energy (eV)	RF[2] Lens (eV)
MRM	AFB_1[4]	+	313	285/241	24/39	92
	AFB_2[5]	+	315	287/259	26/31	103
	AFG_1[6]	+	329	243/200	28/36	99
	AFG_2[7]	+	331	313/245	25/31	112
	FB_1[8]	+	722	334/352	32/32	121
	FB_2[9]	+	706	336/318	38/40	136
	OTA[10]	+	404	239/221	61/61	72
	ZEA[11]	-	317	175/131	24/30	96

[1]Numerical values are given in the order quantitative/qualitative ion, [2]Collision energy for quantitative/qualitative ion, [3]RF: Radio frequency, [4]Aflatoxin B_1, [5]Aflatoxin B_2, [6]Aflatoxin G_1, [7]Aflatoxin G_2, [8]Fumonisin B_1, [9]Fumonisin B_2, [10]Ochratoxin A, [11]Zearalenone.

정확성(Accuracy) 및 정밀성(Precision)으로 평가하였다. 매질효과는 용매 검량선과 matrix-matched 표준용액의 검량선 기울기의 백분율로 판단하였고, 직선성은 대표 시료를 전처리 한 후 혼합표준용액 50 μL를 취해 질소가스로 농축한 뒤 0.1% 개미산 함유 50% 메탄올 1 mL로 재용해한 뒤 희석하여 매질보정 검량법(Matrix matched calibration)으로 정량하였고, 각 검량선의 상관계수(r^2, Coefficients of correlation)를 구하였다. 검출한계와 정량한계는 대표시료에 6단계 혼합표준용액을 첨가하여 5번 반복 측정한 뒤 표준편차(σ)와 검량선의 기울기(S)로 구하여 검출한계는 σ/S × 3.3, 정량한계는 σ/S × 10으로 계산하였다. 정확성과 정밀성은 대표시료에 3단계 농도(아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2는 0.1, 0.5, 2 μg/kg, 푸모니신 B_1, B_2, 오크라톡신 A 및 제랄레논은 0.4, 2, 8 μg/kg)가 되도록 혼합표준용액을 첨가하여 3회 반복 실험하여 회수율과 상대표준편차(Relative standard deviation, RSD)로 평가하였다.

위해평가

식·약 공용 농산물 섭취로 인한 곰팡이독소의 위해평가는 식약처 위해평가 지침서[34]에 따라 결정론적 접근방식(Deterministicapproach)인 점추정(Point estimation)으로 노출평가를 수행하였다. 식·약 공용 농산물의 일일섭취량은 국민영양조사의 식품섭취량 자료가 없어 생약의 1일 복용량을 기준으로 산출하였고[35], 곰팡이독소 평균오염도와 생약의 1일 복용량을 한국인 평균 체중 65.82 kg[36]으로 나누어 1일 인체노출량(Estimated daily intake, EDI)을 구하였다. 아래 식과 같이 아플라톡신은 독성 기준값(0.170 μg/kg b.w./day)과 비교하는 노출안전역(Margine of exposure, MOE) 방법으로 산출하였고, 그 외 곰팡이독소는 인체노출안전기준과 비교하였으며, 푸모니신과 제랄레논은 1일 섭취한계량(Tolerable daily intake, TDI, 푸모니신 1.65 μg/kg b.w./day, 제랄레논 0.4 μg/kg b.w./day)과 비교하였고, 오크라톡신 A는 주간 노출량과 주간 섭취한계량(Tolerable weekly intake, TWI, 0.11 μg/kg b.w./day)을 비교하여 노출량 비율(%)로 산출하였다.

$$MOE = \frac{BMDL_{10}(\text{Benchmark Dose Lower Confidence Limit, } \mu g/kg\ b.w./day)}{\text{Estimated daily intake (EDI, } \mu g/kg\ b.w./day)}$$

$$\%TDI = \frac{\text{Estimated daily intake (EDI, } \mu g/kg\ b.w./day)}{\text{Tolerable daily intake (TDI, } \mu g/kg\ b.w./day)} \times 100$$

$$\%TWI = \frac{\text{Procisional Tolerable Weekly Intake (PTWI, } \mu g/kg\ b.w./day)}{\text{Tolerable daily intake (TWI, } \mu g/kg\ b.w./day)} \times 100$$

Results and Discussion

LC-MS/MS 조건 확립

곰팡이독소 분석법의 최적조건은 1 μg/mL으로 조제한 표준품을 10 μL/min 유속으로 주입하여 ESI 양이온모드와 음이온모드에서 full scan하여 질량스펙트럼을 얻은 후, 최적의 선구이온(Precursor ion)을 선택하였다. 선택된 선구이온에 CE값을 변경하면서 안정되고 감도 좋은 생성이온(Product ion)을 만들어 특성 이온을 선택하여 MRM (Multiple reaction monitoring)방법으로 분석하였다. 제랄레논은 $[M+H]^{\cdot}$이, 그 외 곰팡이독소 7종은 $[M+H]^{+}$이 선구이온으로 선택되었으며, 생성이온들 중에서 감도가 가장 큰 이온을 정량이온(Quantification ion)으로, 차순 크기의 이온들은 확인이온(Confirmation ion)으로 정성확인을 하였다 (Table 1). 보통 곰팡이독소 분석용 이동상으로 완충용액(개미산, 초산 등)을 첨가하여 MS 감도를 증가시키는데[23,24], 최종 0.1 mM 개미산암모늄과 0.1% 개미산이 함유된 물과

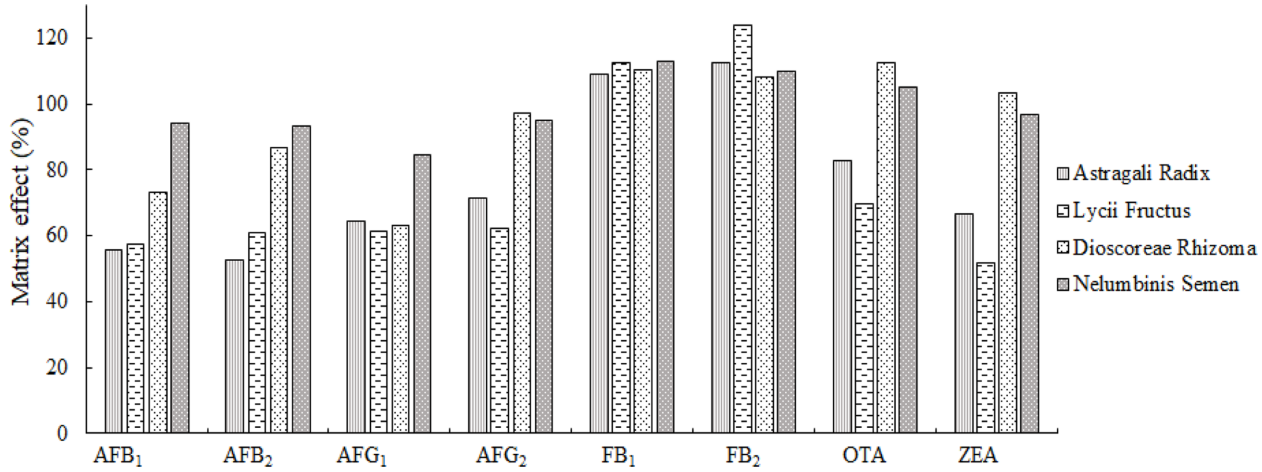

Fig. 1. Signal suppression/enhancement (SSE) effect of 8 mycotoxins in representative matrices.

메탄올을 사용하였다.

시험법 유효성검증

매질효과는 LC-MS/MS 등 질량 분석기를 이용할 때 주로 나타나는 현상으로, 대상 시료의 matrix가 함께 용출되어 ESI 도입구에서 표면장력과 점성으로 인해 기기감도에 영향을 주어 이온 억제나 증가현상이 나타난다[37]. 보통 내부표준물질을 사용하여 매질효과를 줄이는데, 다성분 동시분석법은 내부표준물질이 없을 경우 정량값의 편차를 줄이기 위해 매질보정 검량법을 사용한다[38]. 매질효과는

Table 2. Linear equations, correlation coefficients, limit of detections (LODs), limit of quantifications (LOQs), recovery and precision of mycotoxins in representative matrices

Compound	Representative matrix	Linearity		LOD (μg/kg)	LOQ (μg/kg)	Recovery±RSD[1] (%)		
		Regression equations	Correlation coefficients (r^2)			Low level[2]	Medium level[3]	High level[4]
AFB_1	Astragali Radix	Y=156880x-152	1.0000	0.02	0.07	116.6±2.16	101.2±2.70	102.6±1.08
	Dioscoreae Rhizoma	Y=445788x+7839	0.9999	0.06	0.16	100.3±5.11	86.9±3.52	88.0±1.23
	Lycii Fructus	Y=293300x-253	0.9999	0.03	0.10	92.3±5.00	94.2±4.54	92.3±2.38
	Nelumbinis Semen	Y=610273x-602	0.9999	0.03	0.09	98.0±2.04	97.3±0.83	97.6±1.09
AFB_2	Astragali Radix	Y=49906x+1354	0.9999	0.04	0.13	96.7±5.10	88.2±3.29	104.1±1.40
	Dioscoreae Rhizoma	Y=215001+18455	1.0000	0.06	0.17	114.7±2.01	97.5±4.86	97.7±0.85
	Lycii Fructus	Y=124612x+23127	1.0000	0.03	0.08	95.7±8.12	92.6±4.17	91.3±1.32
	Nelumbinis Semen	Y=243502x-407	0.9999	0.04	0.11	106.7±1.45	97.8±2.84	94.2±2.34
AFG_1	Astragali Radix	Y=106623x-214	1.0000	0.04	0.11	96.3±4.20	91.1±3.29	103.3±1.38
	Dioscoreae Rhizoma	Y=343833x+450	0.9999	0.04	0.11	99.3±0.58	89.0±1.80	87.7±3.25
	Lycii Fructus	Y=311906x-2656	1.0000	0.02	0.06	97.3±2.59	94.7±5.19	90.3±3.02
	Nelumbinis Semen	Y=498027x-3977	0.9999	0.05	0.14	104.3±0.55	96.2±1.36	95.1±1.71
AFG_2	Astragali Radix	Y=49923x-39	0.9999	0.05	0.15	100.7±1.52	98.7±0.71	97.6±0.34
	Dioscoreae Rhizoma	Y=230067x-1450	1.0000	0.04	0.14	111.0±1.80	100.6±4.04	101.1±2.79
	Lycii Fructus	Y=131568x+1028	1.0000	0.03	0.08	95.3±5.96	87.1±0.58	87.6±2.89
	Nelumbinis Semen	Y=237590x+4175	1.0000	0.05	0.16	95.3±3.37	95.8±0.55	88.4±2.87
FB_1	Astragali Radix	Y=25117x-911	1.0000	0.06	0.19	108.3±7.22	110.1±6.57	105.5±1.05
	Dioscoreae Rhizoma	Y=28141x+1076	1.0000	0.11	0.18	93.8±6.00	88.9±1.68	90.3±2.55
	Lycii Fructus	Y=28033x+898	1.0000	0.04	0.14	93.2±2.61	95.6±1.61	93.0±1.08
	Nelumbinis Semen	Y=28618x-385	1.0000	0.06	0.19	87.6±0.33	81.7±3.58	81.2±0.40
FB_2	Astragali Radix	Y=52224x-2085	0.9999	0.06	0.18	111.3±2.37	98.8±1.45	95.1±1.79
	Dioscoreae Rhizoma	Y=60359x-2122	0.9999	0.04	0.14	118.1±0.65	91.4±1.08	93.3±2.59
	Lycii Fructus	Y=63266x-1380	1.0000	0.04	0.13	94.3±6.24	88.7±1.35	89.2±4.44
	Nelumbinis Semen	Y=58879x-4545	0.9999	0.07	0.23	98.5±2.93	86.5±0.40	82.2±2.79
OTA	Astragali Radix	Y=10924x-549	0.9998	0.06	0.18	112.3±5.93	110.1±6.57	97.6±0.34
	Dioscoreae Rhizoma	Y=114483x-5914	0.9999	0.05	0.15	118.7±1.55	97.9±3.16	101.1±2.49
	Lycii Fructus	Y=83411x-1276	0.9999	0.07	0.23	92.7±6.14	94.2±1.30	96.8±8.90
	Nelumbinis Semen	Y=131341x-9859	0.9999	0.03	0.10	109.3±3.00	99.9±0.41	96.0±2.67
ZEA	Astragali Radix	Y=8821x-48	0.9999	0.06	0.19	106.5±3.54	112.7±4.73	107.8±2.08
	Dioscoreae Rhizoma	Y=19978x+352	1.0000	0.05	0.15	117.4±2.66	112.7±2.11	97.7±1.80
	Lycii Fructus	Y=7908x-156	1.0000	0.09	0.26	97.7±6.51	112.7±7.32	111.2±4.61
	Nelumbinis Semen	Y=19012x-678	0.9999	0.03	0.10	106.2±2.47	96.8±2.42	101.6±1.56

[1]Recovery (n=3), RSD=Relative standard deviation, [2]AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2: 0.1 μg/kg, FB_1, FB_2, OTA, ZEA:0.4 μg/kg, [3]AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2: 0.5 μg/kg, FB_1, FB_2, OTA, ZEA:2 μg/kg, [4]AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2: 2 μg/kg, FB_1, FB_2, OTA, ZEA:8 μg/kg.

100%보다 낮을수록 이온억제현상이, 100%보다 높을수록 이온강화 효과가 나타나며, 보통 80-120%일때 매질의 영향을 받지 않는다[39]. 곰팡이독소의 매질효과는 51.83-123.80%으로(Fig. 1), 아플라톡신은 황기, 구기자, 산약에서, 제랄레논과 오크라톡신 A는 황기, 구기자에서 이온억제현상이 나타났으며, 그에 비해 푸모니신은 다른 곰팡이독소에 비해 매질효과가 덜 나타났고 연자육도 전반적으로 매질의 영향을 덜 받았다. 대표시료의 매트릭스로 인한 이온억제 및 강화현상이 나타나 매질보정 검량법으로 정량하였다. 분석법의 직선성은 매질보정 검량법으로 정량한 결과, Table 2와 같이 대표 시료에 대한 곰팡이독소 8종의 상관계수(r^2)는 0.9999이상의 우수한 직선성을 보였고, 검출한계는 0.02-0.11 μg/kg, 정량한계는 0.06-0.26 μg/kg였다. 본 연구의 검출한계와 정량한계는 기존 LC-MS/MS로 보고된 Han 등[39]의 검출한계(0.01-0.36 μg/kg) 정량한계(0.01-0.43 μg/kg) 및 Li 등[40]이 제시한 검출한계(0.02-0.15 μg/kg), 정량한계(0.06-0.50 μg/kg)와 유사하였다. 정확성 및 정밀성 실험은 대표시료별 3단계 농도의 회수율과 상대표준편차로 검증하였고, 회수율은 Table 2와 같이 아플라톡신 B_1 86.9-116.6%, 아플라톡신 B_2 88.2-114.7%, 아플라톡신 G_1 89.0-104.3%, 아플라톡신 G_2 87.1-111.0%, 푸모니신 B_1 81.2-110.1%, 푸모니신 B_2 82.2-118.1%, 오크라톡신 A 92.7-118.7%, 제랄레논 96.8-117.4%였고, 상대표준편차는 0.33-8.9%였다. 본 연구방법은 회수율 80% 이상과 정밀성 8.9% 이하의 상대표준편차를 나타내어, 유럽연합 집행위원회(European Commission, EC)[41] 지침의 회수율 및 정밀성 유효범위를 만족하였다.

식·약 공용 농산물의 곰팡이독소 오염현황

식·약 공용 농산물의 곰팡이독소 오염도는 Table 3과 같이 총 17품목 187건 중 7품목 29건(15.5%)에서 곰팡이독소가 검출되었고, 검출된 7개 품목은 감초, 황기, 생강, 천궁, 복분자, 오미자 및 산조였으며, 그 농도는 아플라톡신 B_1 1.18-7.29 μg/kg, 푸모니신(B_1 및 B_2의 합) 0.84-14.25 μg/kg, 오크라톡신 A 0.76-17.42 μg/kg, 제랄레논 1.73-15.96 μg/kg였고, 아플라톡신 B_2, G_1 및 G_2는 검출되지 않았다. 식·약 공용 농산물(식물성 원료)에 대한 곰팡이독소 허용기준은 총 아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합 15.0 μg/kg이하)과 아플라톡신 B_1 (10.0 μg/kg이하)만이 설정되어 있고, 산조 3건(1.6%)에서만 아플라톡신 B_1이 1.18-7.29 μg/

Table 3. Range of levels and incidence of 8 mycotoxins contamination in a various agricultural products used for food and medicine

Classification		Incidence (%) (Detection /Sample)	Range of mycotoxin levels (μg/kg) (No of samples detected)				
			Total AFs (AFB_1+AFB_2+AFG_1+AFG_2)	AFB_1	FB_1+FB_2	OTA	ZEA
Radix (82)	Puerariae Radix	0(0/8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Glycyrrhizae Radix	35.0(7/20)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.73-4.07(7)
	Platycodonis Radix	0(0/13)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Angelicae Gigantis Radix	0(0/15)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Paeoniae Radix	0(0/10)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Astragali Radix	6.3(1/16)	N.D.	N.D.	N.D.	17.42(1)	N.D.
Rhizoma (41)	Zingiberis Rhizoma	25.0(4/16)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3.89-15.96(4)
	Dioscoreae Rhizoma	0(0/9)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Cnidii Rhizoma	12.5(1/8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	1.71(1)
	Gastrodiae Rhizoma	0(0/8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Fructus (49)	Lycii Fructus	0(0/10)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Rubi Fructus	44.4(4/9)	N.D.	N.D.	0.84-2.53(2)	N.D.	2.40-8.53(2)
	Corni Fructus	0(0/10)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Schisandrae Fructus	50.0(6/12)	N.D.	N.D.	1.48-14.25(5)	N.D.	2.21(1)
	Gardeniae Fructus	0(0/8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Semen (15)	Nelumbinis Semen	0(0/8)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	Zizyphi Semen	85.7(6/7)	1.18-7.29(3)	1.18-7.29(3)	1.38-2.52(3)	0.76-1.62(5)	1.76(1)
Total		15.5(29/187)	1.18-7.29(3)	1.18-7.29(3)	0.84-14.25(10)	0.76-17.42(6)	1.73-15.96(16)

[1)]N.D.: Not detected.

kg으로 기준 이내로 검출되었다. 기준이 설정되어 있지 않은 곰팡이독소 검출현황을 살펴보면 푸모니신은 10건(5.3%, 오미자 5건, 복분자 2건, 산조 3건)에서 0.84-14.25 μg/kg, 오크라톡신 A는 6건(3.2%, 산조 5건, 황기 1건)에서 0.76-17.42 μg/kg, 제랄레논은 16건(8.6%, 감초 7건, 건강 4건, 복분자 2건, 산조 1건, 오미자 1건, 천궁 1건)에서 1.73-15.96 μg/kg의 범위로 검출되었다. 다만 황기 1건에서 오크라톡신 A가 17.42 μg/kg으로 식품 중 최대기준(육두구 15.0 μg/kg)보다 높게 검출되었다. 제랄레논과 푸모니신의 검출률은 *Aspergillus*와 *Penicillium* 속이 주로 생성하는 아플라톡신과 오크라톡신 A의 검출률보다 높았으며, 이는 주로 *Fusarium* 속이 생성하는 곰팡이독소로 수확단계에서 주로 발생되지만, 보관과정에서도 증식할 수 있기 때문에 보관에도 주의해야 한다[8].

사용부위에 따른 곰팡이독소 검사결과는 큰 차이를 확인할 수 없었으나, 부위별 검출률은 종자류(40.0%), 과실류(20.4%), 근경류(12.2%), 근류(9.8%) 순이였고, 품목별 검출률은 산조(85.7%), 오미자(50.0%), 복분자(44.4%), 감초(35.0%), 생강(25.0%), 천궁(12.5%), 황기(6.3%)였다. 특히 산조는 검출률이 가장 높았고, 아플라톡신 B_1 (1.18-7.29 μg/kg), 푸모니신(1.38-2.52 μg/kg), 오크라톡신 A (0.76-1.62 μg/kg) 및 제랄레논(1.76 μg/kg)이 모두 검출되었으며, 이중 중복 검출은 4건으로, 3종류의 곰팡이독소(아플라톡신 B_1, 푸모니신 및 오크라톡신 A)가 2건, 2종류의 곰팡이독소(푸모니신과 오크라톡신 A 및 아플라톡신 B_1과 제랄레논)가 각각 1건씩 검출되었다. 국내 유통되는 식·약 공용 농산물의 70-80%는 수입에 의존하며[42], 산조는 모두 수입산으로 4종류의 곰팡이독소가 검출되고 검출률도 가장 높아, 곰팡이독소에 대한 지속적 관찰 및 감시가 필요하다.

국내외 한약재 및 식·약 공용 농산물의 곰팡이독소 연구사례를 살펴보면 Han 등[39]은 한약재 곰팡이독소 검출률은 83.3%(1.7-48.0 μg/kg)로, 그 중 40%의 검출률을 보인 아플라톡신은 0.2-19.5 μg/kg의 범위로 검출되었고, 종자류, 근경류, 근류, 잎류, 화류 순으로 검출되었다. 오크라톡신 A는 0.2-1.8 μg/kg, 제랄레논은 2.1-10.3 μg/kg 검출되었다고 보고하였다. Wei 등[43]은 감초 중 총 아플라톡신은 불검출-2.29 μg/kg, 아플라톡신 B_1은 불검출-1.37 μg/kg, 오크라톡신 A는 0.2-94.7 μg/kg이 검출되었고, 아플라톡신과 오크라톡신 A의 중복 검출도 보고되었다. Cho 등[25]은 식·약 공용농산물의 곰팡이독소 오염도 연구에서 근류는 푸모니신 B_1 (0.79-33.68 μg/kg), 푸모니신 B_2 (0.90-1.60 μg/kg), 제랄레논(1.40-27.62 μg/kg) 및 오크라톡신 A (불검출-27.62 μg/kg)가 검출되었고, 근경류는 아플라톡신(불검출-5 μg/kg), 제랄레논(불검출-10.33 μg/kg) 및 오크라톡신 A (불검출-27.62 μg/kg)가 검출되었고, 종자류는 제랄레논(3.47-10.33 μg/kg)만 검출되었고, 두 가지 이상의 곰팡이독소 중복검출도 보고되었다. 본 연구결과는 기존 연구결과와 비슷하거나 낮게 검출되어 안전한 수준이었으나, 곰팡이독소는 사용부위에 한정하지 않고 다양하게 검출되며, 중복검출도 많이 발생한다. 두 가지 이상의 곰팡이독소에 교차오염 될 경우 독

Table 4. Risk assessment of mycotoxins in agricultural products used for food and medicine

Sample name	Daily intake (g/day)[1)]	AFB_1			OTA			FB(FB_1+FB_2)			ZEA		
		Mean (μg/kg)	EDI[2)] (ng/kg b.w./day)	MOE[3)]	Mean (μg/kg)	PTWI[4)] (ng/kg b.w./day)	%TWI[5)]	Mean (μg/kg)	EDI (ng/kg b.w./day)	%TDI[6)]	Mean (μg/kg)	EDI (ng/kg b.w./day)	%TDI
Astragali Radix	30	-	-	-	1.09	3.48	3.16	-	-	-	-	-	-
Glycyrrhizae Radix	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.93	0.16	0.04
Cnidii Rhizoma	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.21	0.03	0.01
Zingiberis Rhizoma	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.83	0.39	0.10
Schisandrae Fructus	14	-	-	-	-	-	-	2.02	0.43	0.03	0.18	0.04	0.01
Rubi Fructus	14	-	-	-	-	-	-	0.37	0.08	0.005	1.21	0.26	0.06
Zizyphi Semen	19	1.79	0.52	329.00	0.87	1.76	1.60	0.70	0.20	0.01	0.25	0.07	0.02
Total		1.79	0.52	329.00	1.96	5.24	4.76	3.09	0.71	0.04	4.61	0.94	0.24

[1)]Daily intake: Daily herb intake, [2)]EDI (Estimated daily intake, ng/kg b.w./day)=Average concentration (μg/kg)×daily intake (g/day)/average body weight of KOREA adults (65.82 kg), [3)]MOE (Margin of exporure)=0.170($BMDL_{10}$, Benchmark Dose Lower Confidence Limit, μg/kg b.w./day)/EDI (μg/kg b.w./day), [4)]PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake, ng/kg b.w./week)=Average concentration (μg/kg)×daily intake (g/day)×7/average body weight of KOREA adults (65.82 kg), [5)]%TWI=PTWI×100/TWI{(Tolerable weekly Intake, μg/kg b.w./day): OTA 0.11}, [6)]%TDI=EDI×100/TDI{(Tolerable daily Intake, μg/kg b.w./day): FB 1.65 μg/kg b.w./day, ZEA 0.4 μg/kg b.w./day}.

성의 상승효과를 나타내어[44], 사람이나 동물의 건강에 심각한 문제가 될 수 있기 때문에, 다양한 품목에 대한 오염도 조사가 필요하고, 고온다습한 기후 변화로 인한 곰팡이 독소의 발생증가에 대비한 선제적 모니터링도 필요하다.

식·약 공용 농산물의 위해평가

곰팡이독소가 검출된 29건의 식·약 공용 농산물을 섭취할 경우를 가정하여 위해도를 산출하였다. 불검출 데이터의 경우 보통 1/2 LOD를 적용하나[45], 본 연구에서는 불검출 데이터를 1/2 LOD으로 적용해도 전체 농도의 큰 차이가 나지 않아 0으로 적용하였다. 식·약 공용 농산물을 섭취로 인한 곰팡이독소의 위해평가 결과는 Table 4와 같다. 아플라톡신 B_1의 1일 인체노출량은 0.00052 μg/kg b.w./day으로, 동물독성시험 간암발생률의 독성 기준값(0.17 μg/kg b.w./day)과 비교했을 때 위해영향이 나타날 가능성은 낮았고, 푸모니신의 일일평균노출량은 0.00071 μg/kg b.w./day로 일일섭취한계량(1.65 μg/kg b.w./day)의 0.04%였고, 오크라톡신 A의 주간평균노출량은 0.00524 μg/kg b.w./week로 주간섭취한계량(0.11 μg/kg b.w./week)의 4.76%였고, 제랄레논의 일일평균노출량은 0.00094 μg/kg b.w./day로 일일섭취한계량(0.4 μg/kg b.w./day)의 0.24%였다. 이는 국내 식이섭취를 통한 아플라톡신(0.011 μg/kg b.w./day), 푸모니신(0.212 μg/kg b.w./day), 오크라톡신 A (0.0026 μg/kg b.w./day) 및 제랄레논(0.0168 μg/kg b.w./day)의 일일노출량보다 낮은 수준으로[46], 식·약 공용 농산물 섭취로 인한 곰팡이독소 위해도는 안전한 수준으로 판단되지만, 섭취방법에 따른 불확실성이 존재한다. 식·약 공용 농산물의 주된 섭취방법인 탕액 조제시 아플라톡신의 이행률(13.6%-51.3%)[47], 오크라톡신 A (2.74-35.18%) 및 제랄레논(0.63-3.32%)의 이행률은 감소해서[48], 오염된 곰팡이독소 양보다 적게 섭취 할 수는 있으나, 그대로 섭취하는 환제의 경우 오염된 전량을 섭취할 수 있으므로, 섭취방법에 대한 고려 및 그에 대한 연구가 더 필요하다. 곰팡이독소는 기후, 수확 전 후 관리, 저장, 유통 등의 여러 요인에 영향을 받기 때문에[10,49] 동일한 시료라도 오염수준이 다르게 나타날 수 있어 정확한 노출평가를 위해서는 식·약 공용 농산물에 대한 곰팡이독소 오염도조사를 다양한 품목으로 확대하고, 지속적인 모니터링 및 위해평가를 통해 규격 설정 검토 등의 품질관리체계 마련이 필요할 것으로 판단된다.

국문요약

2019년 1월부터 11월까지 서울약령시장에서 유통되는 식·약 공용 농산물 총 187건을 대상으로 곰팡이독소 동시다성분 SPE 컬럼으로 정제 후 LC-MS/MS로 분석하여 곰팡이독소 8종의 동시분석법 유효성을 검증하고, 확립된 분석법으로 곰팡이독소 오염도 파악 및 위해평가를 실시하였다. LC-MS/MS를 이용한 동시분석법의 유효성 검증은 매질효과, 직선성, 검출한계, 정량한계, 정확성 및 정밀성으로 하였다. 매질 보정 검량선의 상관계수(r^2)는 0.9999이상의 우수한 직선성을 보였고, 검출한계는 0.02-0.11 μg/kg였고, 정량한계는 0.06-0.26 μg/kg였고, 회수율은 81.2-118.7%였고, 상대표준편차는 0.33-8.90%로 우수한 재현성을 나타냈다. 확립된 분석법으로 검사한 결과 기준이 설정된 아플라톡신은 B_1이 1.18-7.29 μg/kg (기준: 총 아플라톡신 15.0 μg/kg이하, B_1 10.0 μg/kg이하)으로 기준 이내로 검출되었고, 아플라톡신 B_2, G_1 및 G_2는 검출되지 않았다. 기준이 미 설정된 곰팡이독소는 푸모니신(0.84-14.25 μg/kg) 오크라톡신 A (0.76-17.42 μg/kg) 및 제랄레논(1.73-15.96 μg/kg)이 검출되었다. 위해평가 결과 아플라톡신 B_1의 1일 인체노출량은 0.00052 μg/kg b.w./day였고, 푸모니신 및 제랄레논의 일일섭취한계량 대비 각각 0.04%, 0.24%였고, 오크라톡신 A의 주간섭취한계량 대비 4.76%로 우리나라 국민들이 식·약 공용 농산물 섭취로 인한 곰팡이독소 위해도는 안전한 것으로 평가되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Su-Jeong Choi https://orcid.org/0000-0002-1749-1016
Suk-Kyung Ko https://orcid.org/0000-0003-4694-1837
Young-Ae Park https://orcid.org/0000-0001-5264-317x
Sam-Ju Jung https://orcid.org/0000-0002-6860-9627
Eun-Jung Choi https://orcid.org/0000-0003-4744-1885
Hee-sun Kim https://orcid.org/0000-0002-1007-3903
Eun-Jung Kim https://orcid.org/0000-0001-6992-6512
In-Sook Hwang https://orcid.org/0000-0002-1513-0102
Gi-Young Shin https://orcid.org/0000-0001-6825-5219
In-Sil Yu https://orcid.org/0000-0001-7717-7363
Yong-Seung Shin https://orcid.org/0000-0002-3985-0366

References

1. Falzon, C.C., Balabanova, A., Phytotherapy: an introduction to herbal medicine. *Prim. Care,* **44**, 217-227 (2017).
2. Kim, J.Y., Development and industrialization of functional bioactive material from the medicinal plant. *Food Ind. Nutr.,* **18**, 1-6 (2013).
3. Ministry of Food and Drug Safety, 2019. The Korean Pharmacopoeia, Cheongju, Korea.
4. Ministry of Food and Drug Safety, 2016. The Korean Herbal Pharmacopoeia, Cheongju, Korea.
5. Ministry of Food and Drug Safety, 2019. Korean Food Code, Cheongju, Korea.

6. Song, V.K., Control system of herbal medicine in shared use for food and medicine purpose. Korea Food & Drug Administration (2006).
7. Santos, L., Marı´n, S., Sanchis, V., Ramos, A.J., Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain. *J. Sci. Food Agric.,* **89**, 1802-1807 (2009).
8. Milićević, D.R., Skrinjar, M., Baltić, T., Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins,* **2**, 572-592 (2010).
9. Han, Z., Ren, Y.P., Zhu, J.F., Cai, Z.X., Chen, Y., Luan, L.J., Wu, Y.J., Multianalysis of 35 mycotoxins in traditional Chinese medicines by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with accelerated solvent extraction. *J. Agric. Food Chem.,* **60**, 8233-8247 (2012).
10. Zhang, L., Dou, X.W., Zhang, C., Logrieco, A.F., Yang, M.H., A review of current methods for analysis of mycotoxins in herbal medicines. *Toxins,* **10**, 65 (2018).
11. Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO), 2001. Manual on the Application of the HACCP System in Mycotoxin Prevention and Control, 73, FAO Food and Nutrition Paper, Rome.
12. World Health Organization, 1993. International Agency for Research on Cancer (IARC): Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Some naturally occurring substances, food items and constituents, hetrocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, France, 5, pp 245-395.
13. European Commission, (2020, November 10). Commission Regulation No 466/2001, Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Retrieved from http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/fcr/fcr02_en.pdf
14. European Union, (2020, November 10). Commission Regulation No 401/2006, Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. Retrieved from https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32006R0401
15. Food and Agriculture Organisation, 2003. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. Food Nutr. (FNP) 81 (Rome: Paper FAO of the United Nations).
16. Ministry of Food and Drug Safety, 2020. Korean Food Code, Cheongju, Korea, pp. 39-41.
17. Ministry of Food and Drug Safety, 2018. KFDA,s Notification NO. 2018-74, Cheongju, Korea
18. Omurtag, G.Z., Yazicioglu, D., Occurrence of T-2 toxin in processed cereals and pulses in Turkey determined by HPLC and TLC. *Food Addit. Contam.,* **18**, 844-849 (2001).
19. Vidal, J.C., Bonel, L., Ezquerra, A., Duato, P., Castillo, J.R., An electrochemical immunosensor for ochratoxin A determination in wines based on a monoclonal antibody and paramagnetic microbeads. *Anal. Bioanal. Chem.,* **403**, 1585-1593 (2012).
20. Valle-Algarra, F.M., Medina, A., Gimeno-Adelantado, J.V., Llorens, A., Jimenez, M., Mateo, R., Comparative assessment of solidphase extraction clean-up procedures, GC columns and perfluoroacylation reagents for determination of type B trichothecenes in wheat by GC-ECD. *Talanta,* **66**, 194-201 (2005).
21. Solfrizzo, M., Panzarini, G., Visconti, A., Determination of ochratoxin A in grapes, dried vine fruits, and winery by products by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection (HPLC-FLD) and immunoaffinity cleanup. *J. Agric. Food Chem.,* **56**, 11081-11086 (2008).
22. Liu, G., Zhu, Z., Cheng, J., Senyuva, H.Z., Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using postcolumn bromination for the determination of aflatoxins in black and white sesame seed: single-laboratory validation. *J. AOAC Int.,* **95**, 122-128 (2012).
23. Yang, Y., Li, G., Wu, D., Liu, J., Li, X., Luo, P., Hu, N., Wang, H., Wu, Y, Recent advances on toxicity and determination methods of mycotoxins in foodstuffs. *Trends Food Sci. Technol.,* **96**, 233-252 (2020).
24. Miró-Abella, E., Herrero, P., Canela, N., Arola, L., Borrull, F., Ras, R., Fontanals, N., Determination of mycotoxins in plant-based beverages using QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chem.* **229**, 366-372 (2017).
25. Cho, H.D., Suh, J.H., Feng, S., Eom, T., Kim, J., Hyun, S.M., Kim, J., Wang, Y., Han, S.B., Comprehensive analysis of multi-class mycotoxins in twenty different species of functional and medicinal herbs using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Control,* **96**, 517-526 (2019).
26. Liu, Q., Kong, W., Guo, W., Yang, M., Multi-class mycotoxins analysis in Angelica sinensis by ultra fast liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.,* **988**, 175-181 (2015).
27. Kunz, B.M., Wanko, F., Kemmlein, S., Bahlmann, A., Rohn, S., Maul, R., Development of a rapid multi-mycotoxin LC-MS/MS stable isotope dilution analysis for grain legumes and its application on 66 market samples. *Food Control,* **109**, 106949 (2020).
28. Ministry of Food and Drug Safety, 2018. KFDA,s Notification NO. 2018-54, Cheongju, Korea
29. Flores-Flores, M.E., González-Peñas, E., An LC–MS/MS method for multi-mycotoxin quantification in cow milk. *Food Chem.*, **218**, 378-385 (2017).
30. Hu, Q., Liu, S., Chen, X., Xu, J., Zhu, F., Ouyang, G., Enhancing enrichment ability of a nanoporous carbon based solid-phase microextraction device by a morphological modulation strategy. *Analytica Chimica Acta,* **1047**, 1-8 (2019).
31. Ministry of Food and Drug Safety, 2009. The dispensatory on the visual and organoleptic examination of commercial herbs for food and medicine, Cheongju, Korea.
32. Ministry of Food and Drug Safety, 2016. Guidelines on standard procedures for preparing analysis method, Cheongju, Korea.
33. CODEX Alimentarius Commission, 2003. Guidelines on good laboratory practice in residue analysis, CAC/GL 40-1993. CAC, Rome, Italy.

34. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, 2011. Guidance for risk assessment. Seoul, Korea.
35. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, (2020, November 10). National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, http://www.nifds.go.kr/brd/m_15/view.do?seq=12441&srchFr=&srchTo=&srchWord=%ED%95%9C%EC%95%BD%26%2340%EC%83%9D%EC%95%BD%26%2341%EC%9D%98&srchTp=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1=
36. KOSIS, (2020, November 10). Korean statistical information service. Retrieved from https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=350&tblId=DT_35007_N132&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=350_35007_A007&seqNo=&lang_mode=ko&language=kor&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE
37. Panuwet, P., Hunter, R.E. Jr., D'Souza, P.E., Chen, X., Radford, S.A., Cohen, J.R., Marder, M.E., Kartavenka, K., Ryan, P.B., Barr, D.B., Biological matrix effects in quantitative tandem mass spectrometry-based analytical methods: Advancing biomonitoring. *Crit. Rev. Anal. Chem.,* **46**, 93-105 (2016).
38. Sulyok, M., Krska, R., Schuhmacher, R., Application of a liquid chromatography-tandem mass spectrometric method to multi-mycotoxin determination in raw cereals and evaluation of matrix effect. *Food Addit. Contam.,* **24**, 1184-1195 (2007).
39. Han, Z., Ren, Y., Zhu, J., Cai, Z., Chen, Y., Luan, L., Wu, Y., Multi analysis of 35 mycotoxins in traditional Chinese medicines by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with accelerated solvent extraction. *J. Agric. Food Chem.,* **60**, 8233-8247 (2012).
40. Li, M., Kong, W., Li, Y., Liu, H., Liu, Q., Dou, X., Ou-Yang, Z., Yang, M., High-throughput determination of multi-mycotoxins in Chinese yam and related products by ultra fast liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry after one-step extraction. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.,* **1022**, 118-125 (2016).
41. COMMISSION REGULATION (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs.
42. Ministry of Food and Drug Safety, (2020, November 10). Retrieved from https://www.mfds.go.kr/brd/m_511/view.do?seq=32616&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=1
43. Wei, R., Qiu, F., Kong, W., Wei, J., Yang, M., Luo, Z., Qin, J., Ma, X., Co-occurrence of aflatoxin B_1, B_2, G_1, G_2 and ochratoxin A in Glycyrrhiza uralensis analyzed by HPLC-MS/MS. *Food Control,* **32**, 216-221 (2013).
44. Frisvad, J.C., Hubka, V., Ezekiel, C.N., Hong, S.B., Nováková, A., Chen, A.J., Arzanlou, M., Larsen, T.O., Sklenář, F., Mahakarnchanakul, W., Samson, R.A., Houbraken, J., Taxonomy of Aspergillus section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Stud. Mycol.,* **93**, 1-63 (2019).
45. World Health Organization, (2021, February 4). Principles and methods for the risk assessment of chemical substances. IPCS, Environmental Health Criteria 240. Retrieved from https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44065/WHO_EHC_240_eng.pdf
46. Ministry of Food and Drug Safety, 2016. Risk assessment of mycotoxins, Cheongju, Korea.
47. Park, S.Y., Moon, H.J., Cho, S.Y., Lee, J.G., Lee, H.M., Song, J.Y., Cho, O.S., Cho, D.H., Monitoring of aflatoxins on commercial herbal medicines. *J. Food Hyg. Saf.,* **26**, 315-321 (2011).
48. Chung, D.H., Application of analytical method for detection of mycotoxins in herbal medicines. Korea Food & Drug Administration (2008).
49. Ashiq, S., Hussain, M., Ahmad, B., Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants: a review. *Fungal Genet. Biol.,* **66**, 1-10 (2014).