pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 4, pp. 267~274 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.4.267

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

식 · 약공용 농산물의 아플라톡신 오염 실태 조사

김성단* · 김애경 · 이현경 · 이새람 · 이희진 · 류회진 · 이정미 · 유인실 · 정권
서울시보건환경연구원

A Monitoring of Aflatoxins in Commercial Herbs for Food and Medicine

Sung-dan Kim*, Ae-kyung Kim, Hyun-kyung Lee, Sae-ram Lee, Hee-jin Lee, Hoe-jin Ryu, Jung-mi Lee, In-sil Yu, and Kweon Jung
Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul, Korea
(Received May 2, 2017/Revised May 18, 2017/Accepted June 20, 2017)

ABSTRACT - This paper deals with the natural occurrence of total aflatoxins (B_1, B_2, G_1, and G_2) in commercial herbs for food and medicine. To monitor aflatoxins in commercial herbs for food and medicine not included in the specifications of Food Code, a total of 62 samples of 6 different herbs (Bombycis Corpus, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Menthae Herba, Nelumbinis Semen, Polygalae Radix, Zizyphi Semen) were collected from Yangnyeong market in Seoul, Korea. The samples were treated by the immunoaffinity column clean-up method and quantified by high performance liquid chromatography (HPLC) with on-line post column photochemical derivatization (PHRED) and fluorescence detection (FLD). The analytical method for aflatoxins was validated by accuracy, precision and detection limits. The method showed recovery values in the 86.9~114.0% range and the values of percent coefficient of variaton (CV%) in the 0.9~9.8% range. The limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) in herb were ranged from 0.020 to 0.363 μg/kg and from 0.059 to 1.101 μg/kg, respectively. Of 62 samples analyzed, 6 semens (the original form of 2 Nelumbinis Semen and 2 Zizyphi Semen, the powder of 1 Nelumbinis Semen and 1 Zizyphi Semen) were aflatoxin positive. Aflatoxins B_1 or B_2 were detected in all positive samples, and the presence of aflatoxins G_1 and G_2 were not detected. The amount of total aflatoxins (B_1, B_2, G_1, and G_2) in the powder and original form of Nelumbinis Semen and Zizyphi Semen were observed around ND~21.8 μg/kg, which is not regulated presently in Korea. The 56 samples presented levels below the limits of detection and quantitation.

Key words : Herbs, Aflatoxins, HPLC, PHRED

미국의 시장조사 전문업체인 'Global Industry Analysts (GIA), Inc.'의 2012년 보고서에 따르면, 세계보완대체의학 시장은 2015년에는 1,141억 달러 이상으로 전망하여 2010년 853억 달러에 비해 33.8% 증가하는 것으로 예측하였다. 국내 한의약 제품 산업시장 현황(생산액 기준) 또한 2008년 1조 7,142억 원에서 2013년 3조 1,128억 원 규모로 국내 한방제품 산업시장의 크기가 급격히 증가하고 있다[1]. 한편 한약재의 종류는 모두 602종(국내 공정서: 대한약전 165품목, 대한약전외한약(생약)규격집 437품목) 이상이 있다. 국산 한약재 생산현황은 약용과 식품용 등으로 혼재되어 사용되는 약용작물의 특성상 현재 농림축산식품부의 약용작물 생산실적을 근거로 하여 간접적으로 파악하게 된다. 약용작물이 모두 한약재로 활용된다고 할 수는 없으며 식품으로 분류되는 경우도 많은데, 이것은 2013년 한약재(약용작물)의 생산액이 한약재 규격품 생산액 1,824억 원에 비해 9.2배 많은 1조 6,864억 원이었던 자료로도 확인할 수 있다[1-2].

약사법(법률 제14084호, 2016.3.22.) 제47조의 의약품등의 판매 질서에 따르면 의약품의 품목허가를 받은 자, 수입자 또는 의약품 도매상은 의약품의 소매 행위를 할 수 없도록 규정하고 있다. 따라서 소비자가 한약재를 구입 · 복용하는 경로는 한의원, 한방병원, 한약방, 한약국 등 한방의료 기관을 통해 처방을 받아 규격품 한약을 구입하거나 시장이나 건강원/탕제원 등을 통해 비규격품 한약을 구입하는 경우, 그 외 건강 기능성 식품이나, 차/음료수/주류, 일반 식품의 형태로 한약재를 복용하게 된다[3].

그러므로 소비자가 한의원, 한방병원, 한약방, 한약국 등

*Correspondence to: Sung-dan Kim, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, 5, Yangnyeongjungang-ro, Dongdaemun-gu, Seoul 02569, Korea
Tel:82-2-968-5098, Fax:82-2-964-8174
E-mail: joyfulksd@seoul.go.kr

에서 구입하게 되는 규격품 한약재는 약사법에 의한 대한약전 및 대한약전외한약(생약)규격집에 따라 품질관리 되고 있으며, 시장이나 건강원/탕제원 등을 통해 구입하게 되는 비규격품 한약재는 식・약 공용 농산물로서 식품위생법에 의한 식품공전에 따라 품질관리 되고 있다.

한편 우리나라에서 유통되고 있는 규격품 한약재는 2008년 「생약의 곰팡이독소 허용기준 및 시험방법」에 따라 감초 등 9품목에 대하여 곰팡이독소 중 아플라톡신 B_1을 10 μg/kg 이하로 기준을 신설한 이후, 2009년「생약 등의 잔류・오염물질 기준 및 시험방법」에 의해 괄루인 등 10품목을 추가하였다. 이 후 2012년 현재 곰팡이독소 적용 대상품목이 감초 등 19품목이던 것을 백강잠을 추가하여 총 20품목에 대해 검사를 실시하도록 함과 아울러, 아플라톡신 B_1 10 μg/kg 이하로 관리하던 곰팡이독소 기준을 아플라톡신 B_1 외에 총 아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2 의 합) 15 μg/kg 이하의 기준을 추가하여 검사를 실시하도록 하였다.

그러나 소비자가 시장이나 건강원/탕제원 등에서 구입하게 되는 비규격품 한약재인 식・약 공용 농산물은 식품위생법에 의한 「식품의 기준 및 규격」에 의해 설정된 총 아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2 의 합)과 푸모니신 등 총 7종의 곰팡이독소 기준에서, 식・약 공용 농산물 116종(식품의약품안전처 고시 제2016-43호, 별표1 및 2) 중 육두구 만 총 아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2 의 합)의 기준이 설정되어있다.

즉 동일한 품목이라도 사용 목적에 따라 관련 법령이 달라 각기 다른 품질 규격, 유해물질 관리 기준, 수입 검사 기준 등의 품질 및 안전관리체계가 적용되고 있어 한약재 공급자들 뿐 아니라 수요자인 소비자의 혼란을 가중시키고 있다. 또한 엄격한 약사법의 적용을 받는 한약재와 비교하여 농산물로 분리・관리되는 식・약 공용 농산물이 의약품용으로 둔갑되어 유통되는 사례가 발생하고 있어 한약재 전반의 안전에 대한 소비자의 불신과 우려를 높이는 결과를 초래하고 있다[4].

자연계에 존재하는 곰팡이 이차대사체 산물 중 인체 및 동물에 유해한 작용을 하는 저분자 유기화합물을 곰팡이독소(mycotoxin)라 하며 현재 350여종의 진균류에서 400종류 이상의 곰팡이독소가 동정 되고 있으며, 실제 1,000개 이상의 독성대사체가 알려지고 있다[5]. 이 중 식품 및 그 원료에서 문제가 되는 것은 곰팡이에 따라 크게 *Aspergillus*속(aflatoxins, cyclopiazonic acid, ochratoxin, sterigmatocystin 생성), *Penicillium*속(ochratoxin, patulin 생성) 및 *Fusarium*속(deoxynivalenol, fumonisins, zearalenone 생성) 곰팡이독소 등으로 구분할 수 있다[6]. 이 가운데 aflatoxin은 *Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus, Aspergillus nominus*와 같은 곰팡이들이 그들의 제 2차 대사산물로 생성하는 독성물질을 말하며 *Aspergillus*의 A와 *flavus*의 FLA, 독이라는 뜻의 toxin을 조합하여 만들어진 단어이다[7].

Aflatoxin은 주로 고온(25~30°C), 다습(80~85%)한 열대나 아열대지방에서 잘 생성되며 수확에서 건조까지 저장기간이 길고, 환기가 불충분할수록 잘 생성된다. 특히, 농산물 중에서는 쌀, 보리, 밀 등의 곡류와 땅콩, 피스타치오, 호두와 같은 견과류, 옥수수 등과 같이 탄수화물 함량이 높은 기질에서 잘 생성되는 것으로 알려져 있다[8-9].

Aflatoxin은 aflatoxin B_1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2 등이 대표적이고 현재까지 약 20종의 이성체가 알려져 있으며 이들은 무색에서 연노랑색의 결정체로 자외선 하에서 나타내는 형광의 색에 따라 B (blue)군, G (green)군으로 구분된다[10-11]. 그 중에서도 가장 많이 발현되는 아플라톡신 B_1은 가장 강력한 독성을 나타내며[12], 상대적인 독성은 $B_1 > M_1 > G_1 > M_2 > B_2 > G_2$의 순이다[13]. 아플라톡신의 독성은 동물실험 결과 강한 간장 장애, 장관 출혈, 신장 출혈 등을 일으킨다[14]. 세계보건기구(WHO; World Health Organization)에 따르면 아플라톡신의 일일 섭취량과 간암 발생자수와의 역학 조사를 통해 높은 상관관계를 확인할 수 있었고, 또한 간암을 비롯해 간세포 암종(hepatocellularcarcinoma), 급성 간염(acutehepatitis), 그리고 라이 증후군(Reye's syndrome)등의 질병과도 연관이 있는 것으로 알려져 있다[15].

최근 국내에서 한약재의 아플라톡신 분석법 및 모니터링에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는 가운데[16-20], 소비자들의 요구에 의해 분말 등 다양한 형태로 유통되고 있는 식・약 공용 농산물에 대한 연구는 제한적으로 진행되고 있다. 그러나 농산물로 취급되는 약용작물인 식・약 공용 농산물은 육두구를 제외하고는 곰팡이독소에 대한 「식품의 기준 및 규격」이 없으며, 고온・다습, 환기불량 등의 열악한 보관환경에서 분말 등 다양한 형태로 장기간 저장・유통될 때 곰팡이독소에 대해 더욱 취약할 수 있어 소비자들의 우려는 더욱 높아지고 있다.

따라서 본 연구에서는 유통 중인 원형 및 분말형태의 식・약 공용 농산물에 대해 아플라톡신의 오염도를 조사함으로써, 소비자들이 유통 식・약 공용 농산물 선택 시 고려할 수 있는 자료를 제공하고 안전한 유통체계를 구축하는 데 기여하고자 한다.

Materials and Methods

재료

2016년 6~12월 서울약령시에서 원형 또는 분말 형태로 유통 판매되는 식・약 공용 농산물 총 62건을 구입하였다. Table 1과 같이 분석에 사용된 식・약 공용 농산물은 총아플라톡신 허용기준이 설정된 한약재(20품목)와 식・약 공용 농산물(116품목)에 동시에 포함된 품목으로 감초(Glycyrrhizae Radix et Rhizoma) 20건, 박하(Menthae Herba) 12건, 백강잠(Bombycis Corpus) 7건, 산조인(Zizyphi Semen)

Table 1. List of commercial herbs for food and medicine for the monitoring of aflatoxins

Classification by used part	Main material	Original form (N)	Powder (N)
Radix	Polygalae Radix	2	0
Radix et Rhizoma	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	14	6
Herba	Menthae Herba	7	5
Semen	Nelumbinis Semen	7	6
	Zizyphi Semen	5	3
Animal	Bombycis Corpus	3	4
Total		38	24
		62	

Table 2. Operating conditions of HPLC-FLD for the analysis of total aflatoxins

Parameter	Value
Instrument	Waters 2695 Separations Module
Detector	Waters 2475 Multi λ Florescence Detector (Ex: 365 nm, Em: 435 nm)
Column	SunFir® C18 (3.5 μm, 4.6 mm × 150 mm)
Mobile phase (v/v/v)	Methanol: Acetonitrile: Water = 27.3:18.2:54.5
Column temperature	30°C
Flow rate	1 mL/min
Injection volume	10 μL

8건, 연자육(Nelumbinis Semen) 13건, 원지(Polygalae Radix) 2건을 대상으로 아플라톡신 오염도를 조사하였다.

시약 및 기구

아플라톡신 분석을 위한 표준품은 아플라톡신 Mix kit-M (B_1, B_2, G_1, G_2) (Supelco, Bellefonte, PA, USA)을 사용하였으며, 추출 및 기기분석의 이동상 조제에 사용한 methanol과 acetonitrile은 HPLC grade (Merck, Darmstadt, Germany)를 사용하였다. 시료의 여과를 위해 Whatman No. 4, 유리섬유 여과지(Wathman GF/A) (WathmanTM, Maidtone, Kent, UK)를 사용하였고, 정제용 칼럼으로는 Afla Test WB (Vicam, Milford, MA, USA) 면역친화성칼럼(Immuno-affinity column)을 사용하였다. 시료는 분쇄기(DA338, DAESUNG ARTLON, Gyeonggi, Korea)를 사용하여 균질화 하였으며, Sonicator (CPX8800H, Branson, Danbury, CO, USA)를 이용하여 용매 추출하였다.

시료의 전처리 및 기기분석

균질화한 시료 5.0 g을 정밀하게 달아 희석시킨 70% 메탄올 100 mL를 넣고 30분간 초음파 추출한 다음 여과한다. 여액에 70% 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 다시 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 물로 80 mL가 되게 희석하여 유리섬유여과지로 여과하여 추출액으로 한다. 추출액 40 mL를 정확하게 취하여 아플라톡신용 면역친화성 컬럼을 통과시키고, 물 10 mL를 3 mL/분의 유속으로 2회 통과시켜 나온 유출액은 버린다. 면역친화성 칼럼에 5-10초간 약한 진공을 통과시켜 건조시켜, 0.5 mL의 메탄올을 넣어 중력에 의해 용출액이 나오도록 한다. 1분간 방치한 다음 유속은 5 mL/분을 넘지 않도록 하면서, 0.5 mL의 메탄올을 2회 통과시켜 용출액을 모두 합하여 1 mL가 되게 하여 시험용액으로 사용하였다[21].

전처리된 시험용액 중 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)은 HPLC-FLD (High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detector)를 이용하여 정성 및 정량 분석하였다. 기기분석 조건은 Table 2와 같이 Waters (Milford, MA, USA)의 Waters 2695 Separations Module과 Waters 2475 Multi λ Florescence Detector를 연결한 HPLC System에 후 칼럼 유도체화 장치인 광화학 반응장치 PHRED (AURA industries, New York, NY, USA)를 연결하여 사용하였다.

검출한계 및 정량한계

검량선은 아플라톡신 Mix kit-M (B_1, B_2, G_1, G_2)를 혼합 표준 원액으로 하여 메탄올로 희석하여 B_1 1.25~40 μg/L, B_2 0.375~12 μg/L, G_1 1.2~38.4 μg/L, G_2 0.363~11.6 μg/L로 조제한 후, HPLC-FLD로 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)을 측정하여 검량선을 작성하였다. 검출한계(Limit of Detection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)는 반응의 표준편차(the standard deviation of the response, σ)와 검량선 기울기(the slope of the calibration curve, *S*)에 근거하여 ICH Q2 (R1) (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for registration of Pharmaceuticals for Human Use, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology) 방법[22]에 따라 구하였다. 이 때 반응의 표준편차(σ)는 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)이 검출되지 않은 연자육(Nelumbinis Semen) 분말을 공시료(blank sample)로 사용하여 분석시료와 동일하게 전처리하고 HPLC-FLD를 이용하여 측정한 값을 이용하였다.

$$LOD = 3.3(\sigma/S) \quad (1)$$

$$LOQ = 10(\sigma/S) \quad (2)$$

정확도 및 정밀도

시험법을 검증하기 위하여 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)이 검출되지 않은 연자육에 최종농도가 B_1 2.4~19.4 μg/L, B_2 0.7~5.8 μg/L, G_1 2.5~19.6 μg/L, G_2 0.9~6.8 μg/L가 되도록

Table 3. LOD, LOQ, recovery, and precision for the aflatoxins analyzed

Aflatoxins	Spike level (μg/L)	Recovery (%)	Precision (CV%)	LOD[1] (μg/kg)	LOQ[2] (μg/kg)
B_1	2.4	101.8	7.0	0.086	0.262
	4.9	100.4	1.9		
	9.7	95.1	3.9		
	19.4	99.2	9.8		
B_2	0.7	86.9	4.0	0.020	0.059
	1.5	90.4	1.2		
	2.9	98.5	8.2		
	5.8	105.6	4.0		
G_1	2.5	95.2	2.5	0.363	1.101
	4.9	100.6	2.1		
	9.8	97.8	4.6		
	19.6	98.5	9.5		
G_2	0.9	114.0	9.3	0.126	0.382
	1.7	113.0	6.1		
	3.4	98.6	0.9		
	6.8	103.0	5.0		

[1] LOD : Limit of Detection
[2] LOQ : Limit of Qantitation

아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2) 혼합 표준용액을 첨가하여 분석시료와 동일하게 전처리하고 HPLC-FLD를 이용하여 측정한 뒤 회수율 및 변동계수(Coefficient of Variation, %)를 구하여 분석법을 검증하고 분석결과의 신뢰성을 확인한 결과는 Table 3과 같다.

수분함량

식품공전[23]의 제 9. 일반시험법 1. 식품성분시험법 1.1 일반성분시험법 1.1.1 수분 1.1.1.1 건조감량법 가. 상압가열건조법에 따라 수분함량을 측정하였다.

Results and Discussion

검출한계 및 정량한계

아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2) 분석을 위하여 아플라톡신 Mix kit-M (B_1, B_2, G_1, G_2)을 methanol로 희석하여 조제한 후 HPLC-FLD로 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)을 5회 반복 측정하여 검량선을 작성한 결과, 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2 각각 0.998 이상의 정의 상관관계(r^2)를 보였다. Table 3과 같이 아플라톡신의 검출한계(LOD)는 B_1 0.086 μg/kg, B_2 0.020 μg/kg, G_1 0.363 g/kg, G_2 0.126 μg/kg이었고, 정량한계(LOQ)는 B_1 0.262 μg/kg, B_2 0.059 μg/kg, G_1 1.101 g/kg, G_2 0.382 μg/kg로, Park 등[20]의 아플라톡신 B_1, B_2, G_2의 검출한계 및 정량한계 결과와 유사하였으며, 아플라톡신 G_1은 10배 가까이 차이가 있었다. 이러한 차이는 Park 등[20]의 아플라톡신의 검출한계 및 정량한계는 signal/noise 비율을 이용하였으나, 본 연구에서는 반응의 표준편차(σ)와 검량선 기울기(*S*)에 근거한 방법[22]에 따라 아플라톡신이 검출되지 않은 연자육 분말을 공시료로하여 반응의 표준편차를 사용하여 매트릭스 효과(matrix effect)가 나타났기 때문이라고 생각한다.

정확도 및 정밀도

실험방법의 유효성을 검증하기 위하여 회수율에 따른 정확성 및 정밀도를 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 정확도를 확인하기 위하여 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)이 검출되지 않은 연자육에 아플라톡신 표준품을 methanol로 희석하여 혼합된 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2) 표준용액을 첨가하여 분석시료와 동일하게 전처리하고 HPLC-FLD를 이용하여 측정하였으며, 각각의 실험은 3회 반복하여 실시하였다. 그 결과 회수율은 각각의 첨가농도에서 B_1 95.1~101.8%, B_2 86.9~105.6%, G_1 95.2~100.6%, G_2 98.6~114.0%로 높은 회수율을 나타내었다. 또한 정밀도를 파악하기 위하여 변동계수(Coefficient of Variation, %)를 구한 결과, 각각의 첨가농도에서 B_1 1.9~9.8%, B_2 1.2~8.2%, G_1 2.1~9.5%, G_2 0.9~9.3%로 본 실험방법은 식・약 공용 농산물의 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)의 분석에 적합한 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 B_1, B_2, G_1의 경우 Kim 등[19]의 결과와 비슷한 수준이었으며, G_2의 회수율이 낮았던 Kim 등[19]의 결과와는 달리 본 연구 결과에서는 아플라톡신 B_1, B_2, G_1, G_2가 비슷한 수준으로 다소 높게 나와 Park 등[20]의 결과와 같은 양상을 나타내었다.

아플라톡신 잔류량

2016년 6~12월 서울약령시에서 원형 또는 분말 형태로 유통 판매되는 식・약 공용 농산물 총 62건을 구입하여, 후칼럼 유도체화 장치인 광화학 반응장치를 연결한 후 HPLC-FLD를 이용하여 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)을 정성 및 정량 분석하여 아플라톡신 오염도를 조사한 결과는 Table 4와 같다.

식・약 공용 농산물 중 사용부위에 따른 아플라톡신 오염의 특성을 살펴본 결과, 식물의 종자(Semen)인 경우만 아플라톡신이 검출되었고, 식물의 뿌리(Radix), 뿌리 및 뿌리줄기(Radix et Rhizoma), 잎(Herba)의 경우와 동물성인 백강잠(Bombycis Corpus)은 아플라톡신이 검출되지 않았다. 종자(Semen)는 전체 21건을 대상으로 아플라톡신을 검사한 결과 6건에서 아플라톡신이 검출되어 28.6%의 검출률을 나타내었다. 종자(Semen) 중 식・약 공용 농산물 원형은 전체 12건을 대상으로 아플라톡신을 검사한 결과 3건에서 아플라톡신이 검출되었으며, 원형을 분말화하여 판매되고 있는 식・약 공용 농산물의 경우는 9건을 대상으로 아플라톡신을 검사한 결과 3건에서 아플라톡신이 검출

Table 4. Incidence and level of aflatoxin contamination in commercial herbs for food and medicine

Classification by used part	Main material	Positive samples/Total samples (N[1])		Concentration Range (μg/kg)					
				Original form			Powder		
		Original form	Powder	AFB_1[2]	AFB_2[3]	total aflatoxins (B_1, B_2, G_1 and G_2)	AFB_1	AFB_2	Total aflatoxins (B_1, B_2, G_1 and G_2)
Radix	Polygalae Radix	0/2	0/0	ND[4]	ND	ND	ND	ND	ND
Radix et Rhizoma	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	0/14	0/6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Herba	Menthae Herba	0/7	0/5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Semen	Nelumbinis Semen	2/7	2/6	ND-11.869	ND-2.786	ND-14.655	ND-2.223	ND	ND-2.223
	Zizyphi Semen	1/5	1/3	ND-6.612	ND-2.570	ND-9.182	ND-19.345	ND-2.452	ND-21.797
Animal	Bombycis Corpus	0/3	0/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Total		3/38	3/24	ND-11.869	ND-2.786	ND-14.655	ND-19.345	ND-2.452	ND-21.797

[1] N : Number of samples
[2] AFB_1 = Aflatoxin B_1
[3] AFB_2 = Aflatoxin B_2
[4] ND = Not Detected.

되었다. 이와 같은 결과는 유통 생약의 아플라톡신 모니터링을 실시한 결과 모두 종자 생약에서 아플라톡신이 검출된 Park 등[20]의 결과와 일치하였다.

식・약 공용 농산물의 품목별 아플라톡신 검출 건수를 살펴본 결과, 원지(Polygalae Radix), 감초(Glycyrrhizae Radix et Rhizoma), 박하(Menthae Herba), 연자육, 산조인(Zizyphi Semen), 백강잠(Bombycis Corpus) 중 연자육, 산조인에서만 아플라톡신이 검출되었다. 연자육은 한약재 규격품의 경우 연꽃 *Nelumbo nucifera* Gaertner (수련과 Nymphaeaceae)의 잘 익은 씨로서 그대로 또는 연심을 제거한 것을 약으로 사용하고, 산조인은 산조(酸棗) *Zizyphus jujuba* Miller var. *spinosa* Hu ex H. F. Chou (갈매나무과 Rhamnaceae)의 잘 익은 씨를 약으로 사용한다. 연자육 중 원형 그대로 판매되는 경우는 7건을 검사한 결과 2건에서 아플라톡신 B_1, B_2가 검출되었고, 분말로 판매되는 6건을 검사한 결과 2건에서 아플라톡신 B_1이 검출되었다. 산조인 중 원형은 5건을 검사한 결과 1건에서 아플라톡신 B_1, B_2가 검출되었으며, 분말은 3건을 검사한 결과 1건에서 아플라톡신 B_1, B_2가 검출되었다. 아플라톡신은 여러 곰팡이 독소 중에서 발암성이 가장 큰 것으로 알려져 있으며, 아플라톡신 동족체들 중 아플라톡신 B_1이 가장 큰 독성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다. 동물실험 및 역학 조사의 결과를 토대로 하여 WHO산하 국제암연구기구(IARC; International Agency for Research on Cancer)의 분류에 의해 AFB_1은 Group 1(인체발암물질)으로 정하고 있다[24]. 아플라톡신 B_1에 의한 발암 기전은 확실치는 않지만 생체 내의 간장 cytochrome p-450 효소에 의해 대사되어 반응성이 높은 AFB_1-8,9-epoxide로 변형된 후, 염색체 내 디옥시리보핵산과 비가역적으로 공유결합을 하는 AFB_1-DNA adducts를 형성하는데, 이들이 돌연변이 유발성 및 발암성을 지닌 것으로 알려져 있다[13].

아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2) 중 식・약 공용 농산물에서 검출된 아플라톡신의 종류를 살펴본 결과, 아플라톡신에 오염된 연자육 및 산조인에서는 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2) 중 아플라톡신 B_1, B_2만 검출되었다. 아플라톡신이 검출된 연자육 4건 중 원형 1건에서만 B_1, B_2가 동시에 검출되었고, 원형 1건 및 분말 2건 모두는 아플라톡신 B_1만 검출되었다. 아플라톡신에 오염된 산조인 2건 즉, 원형 1건 및 분말 1건에서는 아플라톡신 B_1, B_2 동시에 검출되었다. 이와 같은 결과는 산조인 및 연자육에서 아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2의 검출률이 각각 45.5~48.8%, 24.4~31.8%, 22.7~29.3%, 27.3~31.7% 였다는 Lee 등[18]의 결과와는 다소 차이가 있었다.

아플라톡신이 검출된 식・약 공용 농산물 중 연자육과 산조인은 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)에 대한 기준이 설정되어 있지 않다. 식・약 공용 농산물은 식품의약품안전처 고시(제2016-43호, 2016.5.31.)에 따라 [별표1] “식품에 사용할 수 있는 원료”의 목록과 [별표2] “식품에 제한적으로 사용할 수 있는 원료”의 목록에 수록되어 있다. 식물성은 납, 비소 등 개별 중금속 허용기준이 「대한민국약전」 (식품의약품안전처 고시) 또는 「대한민국약전외한약(생약)규격집」 (식품의약품안전처 고시)에 따르게 되어 있으며, 동물성의 경우는 「대한민국약전외한약(생약)규격집」 (식품의약품안전처 고시)에 적합하도록 규정하고 있

다. 따라서 식·약 공용 농산물 중 식물성 원료의 경우는 곰팡이독소 기준 중 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)에 해당하는 것은 육두구만 기준을 15.0 μg/kg 이하 (단, B_1은 10.0 이하이어야 한다)로 관리하고 있는 상황이다. 그러나 한약재의 경우 현재 총 20품목에 대한 곰팡이독소 기준을 총 아플라톡신(아플라톡신 B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합) 15.0 μg/kg 이하 (단, B_1은 10.0 μg/kg 이하)로 설정하여 관리하고 있다.

아플라톡신이 검출된 식·약 공용 농산물 중 연자육의 아플라톡신 검출량을 살펴보면, 연자육 원형은 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)이 ND~14.655 μg/kg, 아플라톡신 B_1이 ND~11.869 μg/kg 검출되었고, 분말 형태로 유통되는 연자육은 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)이 ND~2.223 μg/kg, 아플라톡신 B_1이 ND~2.223 μg/kg 검출되었다. 현재 연자육에 대한 총아플라톡신에 대한 설정된 기준이 없어 유통 차단을 할 수 없지만, 육두구와 같은 수준의 곰팡이독소 기준(총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합) 15.0 μg/kg 이하 (단, B_1은 10.0 이하이어야 한다))로 설정된다면 연자육 원형 1건에서 아플라톡신 B_1의 검출량(11.869 μg/kg)이 기준을 초과하므로 유통을 차단할 필요가 있다. 또한 산조인의 아플라톡신 검출량은 원형은 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)이 ND~9.182 μg/kg, 아플라톡신 B_1이 ND~6.612 μg/kg 검출되었고, 분말 형태의 산조인은 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)이 ND~21.797 μg/kg, 아플라톡신 B_1이 ND~19.345 μg/kg 검출되었다. 분말형태의 산조인 가루 1건에서 검출된 아플라톡신의 양 또한 곰팡이독소 기준이 설정된다면 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)과 아플라톡신 B_1의 기준을 초과하게 되므로 유통 차단이 필요한 수준이었다.

또한 종자(Semen)인 연자육 및 산조인의 생산 국가를 살펴본 결과는 Fig. 1과 같이 한국, 중국, 미얀마 그리고 베트남이었으며, 그 중 아플라톡신이 검출된 연자육 및 산조인의 생산 국가는 미얀마와 베트남이었다. 베트남에서 수입된 종자 10건 중 4건에서 아플라톡신이 검출되었으며, 베트남에서 수입된 종자는 모두 연자육이었다. 또한 미얀마에서 수입된 종자(Semen) 7건 중 2건에서 아플라톡신이 검출되었으며, 미얀마에서 수입된 종자는 모두 산조인이었다.

그러므로 최근 건강에 대한 관심이 높아져 생약의 수요가 증가함에 따라 값이 싸고 비교적 규제와 감시가 용이한 수입 생약이 국내 유통의 70~80%를 차지하고 있으며[20], 수입되는 생약의 생산국가 또한 다양해지고 있는 시점에서 수입 생약에 대한 품질관리를 강화하여야 할 것으로 생각한다.

따라서 「대한민국약전」 (식품의약품안전처 고시) 또는 「대한민국약전외한약(생약)규격집」 (식품의약품안전처 고시)에 곰팡이독소에 대한 기준이 설정되어 있는 한약재 20품목과 동일한 식·약 공용 농산물도 곰팡이독소 기준을 설정하거나, 식·약 공용 농산물은 식품의약품안전처 고시(제2016-43호, 2016.5.31.)에 따라 [별표1] "식품에 사용할 수 있는 원료"의 목록과 [별표2] "식품에 제한적으로 사용할 수 있는 원료"의 목록에서 "식물성은 납, 비소 등 개별 중금속 허용기준이 「대한민국약전」 (식품의약품안전처 고시) 또는 「대한민국약전외한약(생약)규격집」 (식품의약품안전처 고시)에 따른다"라는 규정에 중금속뿐만 아니라 곰팡이독소 또한 포함하는 것이 필요하다고 생각한다. 그 결과 안전한 식·약 공용 농산물을 유통시켜 질병예방 및 치료를 목적으로 식·약 공용 농산물을 섭취하는 소비자를 보호할 수 있을 것으로 생각한다.

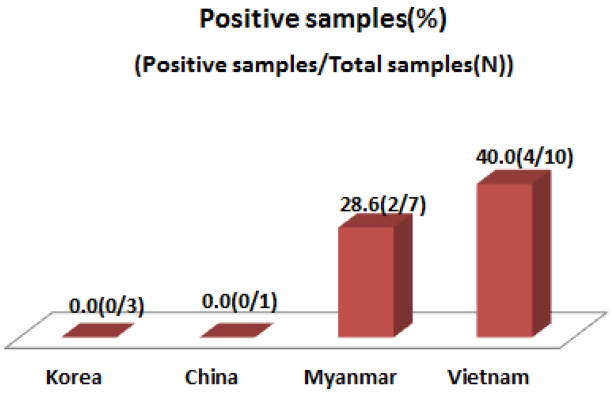

Fig. 1. Comparison of positive samples according to the place of origin in Semens.

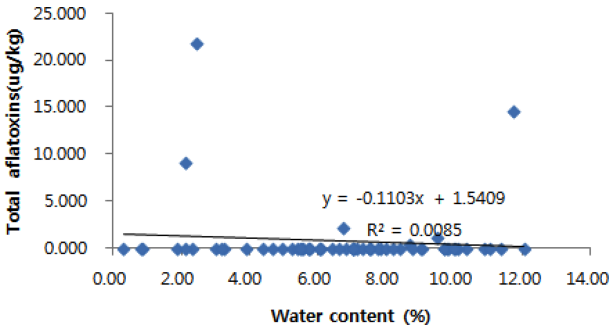

Fig. 2. Correlation of aflatoxin contamination with water content of commercial herbs for food and medicine.

수분함량과 아플라톡신 잔류량과의 상관관계

상압가열건조법에 따라 식·약 공용 농산물 62건의 수분함량을 측정한 결과 평균 6.71%(0.31~12.05%)이었다. Fig. 2와 같이 식·약 공용 농산물의 수분함량과 아플라톡신 잔류량과의 상관관계(r^2)를 측정한 결과 0.0085로 상관성이 없는 것으로 나타났다.

Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus 및 *Aspergillus nominus*에 의해 생성되는 아플라톡신은 농산물의 생육기

간뿐 만 아니라 저장・유통 중에도 습도 및 온도가 높은 환경 하에서 장기간 저장되었을 때 더욱 잘 생성 되는 것으로 알려져 있는데, 특히 수분 16% 이상, 상대습도 80-85% 이상, 온도 25-35°C인 고온 다습한 지역에서 자라기에 최적의 조건을 갖추고 있다[8,25-27]. 한편 최근 연구에 따르면 열대 및 아열대 지방을 중심으로 생산되는 일부 생약에서 아플라톡신 오염 사례가 보고된 바 있어 건조와 저장이 불량하면 아플라톡신에 더욱 노출이 잘 된다는 것을 시사 한바와 같이[28-29] 약용작물에서의 일반적인 독소 오염의 원인으로 수확 후의 비위생적인 관리가 주원인으로 제시되고 있다.

본 연구에서도 수분함량과 아플라톡신 잔류량과의 상관성이 없는 것으로 나타난 점으로 볼 때 식・약 공용 농산물의 비위생적인 관리가 습도보다는 아플라톡신 잔류량에 더 많은 영향을 끼치는 것으로 추정할 수 있었다. 따라서 고온 다습한 지역에서의 세척, 건조, 포장의 GAP (Good Agricultural Practice) 준수가 중점 관리 지점의 관리에서 매우 중요하므로[30-31], 질병 치료 및 예방을 위한 장기간 섭취할 가능성이 있는 식・약 공용 농산물 또한 품질 및 유통관리 방법을 보완하여야 할 것이다.

국문요약

2016년 6~12월 서울약령시에서 원형 또는 분말 형태로 유통 판매되는 식・약 공용 농산물 총 62건을 구입하여, 후칼럼 유도체화 장치인 광화학 반응장치를 연결한 HPLC-FLD를 이용하여 아플라톡신(B_1, B_2, G_1, G_2)을 정성 및 정량 분석함으로써 오염도를 조사하였다. 아플라톡신의 검출한계는 B_1 0.086 μg/kg, B_2 0.020 μg/kg, G_1 0.363 g/kg, G_2 0.126 μg/kg이었고, 정량한계는 B_1 0.262 μg/kg, B_2 0.059 μg/kg, G_1 1.101 g/kg, G_2 0.382 μg/kg였다. 회수율은 B_1 95.1~101.8%, B_2 86.9~105.6%, G_1 95.2~100.6%, G_2 98.6~114.0%이었으며, 변동계수(Coefficient of Variation, %)는 B_1 1.9~9.8%, B_2 1.2~8.2%, G_1 2.1~9.5%, G_2 0.9~9.3%였다. 사용부위에 따른 아플라톡신 오염의 특성을 살펴본 결과 종자(Semen)만 아플라톡신이 검출되었으며, 21건 중 6건(원형 3건, 분말 3건)에서 아플라톡신이 검출되었다. 품목별 아플라톡신 검출 건수를 살펴본 결과, 연자육 중 원형은 7건을 검사한 결과 2건에서 아플라톡신 B_1, B_2가 검출되었고, 분말은 6건 중 2건에서 아플라톡신 B_1이 검출되었다. 산조인 원형은 5건 중 1건에서 아플라톡신 B_1, B_2가 검출되었으며, 분말은 3건 중 1건에서 아플라톡신 B_1, B_2가 검출되었다. 아플라톡신 검출량을 살펴보면, 연자육 원형은 총아플라톡신(B_1, B_2, G_1 및 G_2의 합)이 ND~14.655 μg/kg(B_1 ND~11.869 μg/kg) 검출되었고, 분말은 총아플라톡신이 ND~2.223 μg/kg(B_1이 ND~2.223 μg/kg) 검출되었다. 산조인 원형의 아플라톡신 검출량은 총아플라톡신이 ND~9.182 μg/kg(B_1이 ND~6.612 μg/kg) 검출되었고, 분말은 총아플라톡신이 ND~21.797 μg/kg(B_1이 ND~19.345 μg/kg) 검출되었다. 따라서 이러한 곰팡이독소 검출현황을 토대로 식・약 공용 농산물에 대한 곰팡이독소 기준을 설정하여 식・약 공용 농산물의 안전한 유통을 관리할 필요가 있다.

Reference

1. Korea Health Industry Development Institute: Health industry white paper 2014. hanhakmunwha, pp. 436-446 (2015).
2. Korea Institute for Health and Social Affairs: Pre-planning study for the risk assessment of herbal medicines. pp. 18 (2014).
3. Nielsen Company Korea: Survey method research on intake of chinese medicine by Korean. pp. 30 (2009).
4. Song V.K.: Control system of herbal medicine in shared use for food and medicine purpose. The report of Korea Food & Drug Administration (2006).
5. Brase, S., Encinas, A., Keck, J., Nising, C.F.: Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chem. Rev.*, **109**, 3903-3990 (2009).
6. Binder, E.M., Tan, L.M., Chin, L.J., Handl, J., Richard, J.: Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feed and feed ingredients. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **137**, 265-282 (2007).
7. Rustom, I.Y.S.: Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem.*, **59**, 57-67 (1997).
8. Gourama, H. and Bullerman, L.B.: *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*; Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds-A review. *J. Food Prot.*, **58**, 1395-1404 (1995).
9. 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. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization, Lyon, France, **5**, 245-395 (1993).
10. Taber, H.H. and Schroeder, H.W.: Aflatoxin producing potential of isolates of the *Aspergillus flavus-oryzae* group from peanuts (*Arachis hypogaea*). *Appl. Microbiol.*, **15**, 140-144 (1967).
11. Sweeney, M.J. and Dobson, A.D.W.: Mycotoxin production by *Aspergillus, Fusarium and Penicillium* species. *Int. J. Food Microbiol.*, **43**, 141-158 (1998).
12. Smith, J.E. and Moss, M.O.: Mycotoxins, formation, analysis and significance. John Wiley & Sons Ltd., pp. 133-137 (1985).
13. Eaton, D.L., Ramsdell, H.S., Neal, G.E., Groopman, J.D.: Biotranformation of aflatoxins: In the toxicology of aflatoxins human health, veterinary, and agricultural significance. Academic Press, pp. 45-72 (1993).
14. Groopman, J.D., Wogan, G.N., Roebuck, B.D., Kensler, T.W.: Molecular biomarkers for aflatoxins and their applica-

tion to human cancer prevention. *Cancer Res*, **54** (7 Supplement), 1907s-1911s (1994).
15. World Health Organization (WHO): Mycotoxins: Environmental health criteria 11. Available from: http://www.inchem.org/ documents/ehc/ehc/ehc011.htm. Accessed Jan. 11, (2017).
16. Park S.K., Jang J.I., Ha K.T., Kim S.D., Kim O.H., Choi Y.H., Seung H.J., Kim S.J., Lee K.A., Jo H.B., Choi B.H., Kim M.Y.: A survey of the presence of aflatoxins in herb medicines. *J. Food Hyg. Saf.*, **24**, 169-173 (2009).
17. Lee S.D., Kim Y.S., Yoon Y.T., Park A.S., Shin Y., Kim H.S., Kim Y.K., Choi B.H.: Monitoring of Aflatoxins in Herb Medicines. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **18**, 338-344 (2010).
18. Lee S.D., Kim Y.S., Kim N.H., Jung H.J., Jung S.J., Kim H.S., Kim K.S., Han K.Y.: A study on aflatoxins analysis in the herb medicines. *J. Food Hyg. Saf.*, **26**, 424-434 (2011).
19. Kim Y.H., Kang H.S., Oh S.W., Lee H.J., Kim M.G., Chung S.Y., Choi S.H., Bang S.J., Han K.J., Lee J.W., Kim Y.S., Kim H.Y.: Monitoring of aflatoxins in medicinal herbs. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **42**, 27-32 (2010).
20. 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).
21. Korea Food & Drug Administration (KFDA): The Korean Pharmacopoeia. KFDA Notification, Korea, No. 2012-129 (2012)
22. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1). Available from: http://www.ich.org/ fileadmin/Public_Web_Site /ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf. Accessed Dec. 2, (2016).
23. Korea Food & Drug Administration (KFDA): Korea Food Code -Testing Method I-. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea, pp. 3 (2015).
24. International Agency for Research on Cancer (IARC): Evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Monographs (2003).
25. Pozzi, C.R., Correa, B., Gambale, W., Paula, C.R., Chacon-Reche, N.O., Meirelles, M.C.: Postharvest and stored corn in Brazil: mycoflora interaction, abiotic factors and mycotoxin occurrence. *Food Addit. Contam.*, **12**, 313-319 (1995).
26. Turner, P.C., Sylla, A., Gong, Y.Y., Diallo, M.S., Sutcliffe, A.E., Hall, A.J.: Reduction in exposure to carcinogenic aflatoxins by postharvest intervention measures in west Africa: a community-based intervention study. *The Lancet*, **365**, 1950-1956 (2005).
27. Wild, C.P.: Aflatoxin exposure in developing countries: the critical interface of agriculture and health. *Food Nutr. Bull.*, **28**, S372-380 (2007).
28. Ip, S.P. and Che, C.T.: Determination of aflatoxins in Chinese medicinal herbs by high-performance liquid chromatography using immunoaffinity column cleanup Improvement of recovery. *J. Chromatogr. A*, **1135**, 241-244 (2006).
29. Katerere, D.R., Stockenstrom, S., Thembo, K.M., Rheeder, J.P., Shephard, G.S., Vismer, H.F.: A preliminary survey of mycological and fumonisin and aflatoxin contamination of African traditional herbal medicines sold in South Africa. *Hum. Exp. Toxicol.*, **27**, 793-798 (2008).
30. Reddy, S.V., Mayi, D.K., Reddy, M.U., Thirumala-Devi, K., Reddy, D.V.: Aflatoxins B_1 in different grades of chillies (Capsicum annum L.) in India as determined by indirect competitive-ELISA. *Food Addit. Contam.*, **18**, 553-558 (2001).
31. Trucksess, M.W. and Scott, P.M.: Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. *Food Addit. Contam. Part A*, **25**, 181-192 (2008).