J. Fd Hyg. Safety 9(4), 221-228(1994)

가정과 재래시장에서 수거한 된장, 간장, 고추장에 존재하는 Ochratoxin A 분석

김철재 · 박경란 · 김종배† · 신현길†
숙명여자대학교 가정대학 식품영양학과, †건국대학교 축산대학 축산가공학과

Analysis of Ochratoxin A from *Deonjang, Kanjang, Gochujang* Collected from Houses and Traditional Markets

Chul-Jai Kim, Kyung-Ran Park, Joung-Bae Kim† and Hyun-Kil Shin†
Department of Food and Nutrition, College of Home Economic, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea, and †Department of Animal Products Science, Kon-Kuk University, Seoul 133-701, Korea

ABSTRACT—The quantitative detection of ochratoxin A (OT-A) in the traditional fermented foods were investigated to develop the analytical procedures, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA) and Chemiluminescence Immunoassay(CIA). Products used were divided into two groups: the first was the home-made 13 *Doenjang*, 12 *Kanjang*, and 14 *Gochujang*; and the second the traditional commercial products, 17 *Deonjang* and 11 *Kanjang*, which collected throughout the country. The standard curve for the quantitative determination of OT-A showed that the sensitivities in ELISA and CIA were upto the level of 20 pg/assay, and that the OT-A recovery rates were appeared to be more than 90%. The residual OT-A in the home-made products were 7.1± 3.7 ng/g for *Deonjang*, 2.1± 2.6 ng/g for *Kanjang* and 4.0± 1.9 ng/g for *Gochujang*, whereas 22.5± 14.0 ng/g *Doenjang* and 16.9± 4.1 ng/g *Kanjang* were found in the traditional commercial products. Residual OT-A in the home-made products was comparatively far less than that of the traditional commercial products. At heat stability test of OT-A in the traditional fermented foods was found to be stable even at 121℃ for 120 min.

Keywords □ Ochratoxin A, *Kanjang, Deonjang, Kochujang*, CIA, ELISA, Sensitivity, Heat stability

Ochratoxin(OT)은 *Penicillia*와 *Aspergilli*속 등의 곰팡이가 생산하는 mycotoxin으로 A, B, C와 이들 유사체가 알려지고 있으며 L-phenylalanine과 amide 결합을 하는 isocoumarine이다.[1-3] 독성정도나 농산물에서의 발생빈도를 볼 때 ochratoxin A(OT-A)가 가장 중요하다. OT-A는 주로 신장독,[4] 간장독[5] 및 기형발생인자이며 면역작용을 저해한다.[6,7] 인간에게는 Balkan중후군인 유행성 신염의 원인 물질로 밝혀졌으며 만성 신장염을 일으키는 신장독으로 보고되고 있다.[4] OT-A중독은 세계 어느 곳에서나 발생되며 특히 온대지방에서 많이 찾아볼 수 있다. OT-A는 오염된 사료곡물[8,9] 특히 옥수수,[10,11] 보리,[12,13] 밀,[14,15] 귀리[13] 그리고 쌀[16]에서 발견된다. 또한 OT-A는 가축 특히 돼지의 간이나 혈액에서도 발견되고 있어[17,18] 가축사육에 중요하며 일부 동유럽국가에서 인간의 혈액에서도 발견되고 있다.[11,19] 최근에는 OT-A가 식품에 오염될때 인간이나 동물에게 줄 수 있는 위험 정도를 추청한 연구 결과도 보고되고 있다.[20]

† To whom correspondence should be addressed.

따라서 OT-A는 식품에 의한 직접적 전이 및 곡류사료에 의한 2차적 전이에 의해 인체 흡수 가능성이 매우 높다.

우리나라의 전통 발효식품인 된장, 간장 및 고추장 등은 대부분이 자연 발효에 의해 제조되기 때문에 각종 유해균류의 오염가능성이 매우 높으며 특히 곰팡이에 의해서 생성되는 mycotoxin의 잔존위험성은 높다.[21,22] 된장과 메주 등에서 OT를 생성하는 곰팡이를 분리 동정하여 이들 균의 pH, Aw 등에 대한 내성을 조사 보고한 바 있으며 이들 전통식품내에 상당량의 OT가 잔존하고 있다고 보고하고 있다.[23] 따라서 이들 전통식품들은 훌륭한 곰팡이의 배지로서 OT 뿐만 아니라 다양한 mycotoxin의 생산가능성이 높고, 대부분의 이들 식품들이 비위생적인 방법으로 생산, 유통되고 있으므로 이들의 오염정도가 철저히 파악되어야 할 것이다.

곡류나 발효식품에서부터 mycotoxin추출은 AOAC 방법[24]을 사용하여 정성적으로 추출되어 왔으나 정량적으로 분석하기 위해서 Thin Layer Chromatography(TLC),[25] High Performance Liquid Chromatography(HPLC),[26,27] 그리고 Spectrofluorometer방법[28] 등이 이용되어 오고 있다. 그러나 이 분석방법들의 문제점은 시료의 전처리 과정이 복잡하고, toxin의 손실과 분석시간의 소비, 검출한계 및 특이성의 제한 등의 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해 최근 면역학적 정량분석 방법(Immunoassay)이 시도되고 있다.[29] 면역학적 분석방법은 기존의 분석방법보다 빠르고, 감도가 높으며, 노동력과 가격이 싸다는 장점을 갖고 있어, 농산물의 농약 잔존률, 미생물에 의한 오염, 그리고 자연 발생적인 toxin정량에 효과적이다. OT-A분석을 위한 면역학적 방법은 방사성 동위원소를 이용한 Radioimmunoassay(RIA)[30]와 방사성 동이원소 대신 효소를 사용한 Enzyme Linked Immunosorbent Assay(ELISA)[31,32]가 보고되고 있다. 한편 전통 발효식품으로부터 화학적 발광물질을 이용한 Chemiluminescenceimmunoassay(CIA)방법을 사용한 OT-A도 보고되고 있다.[33]

본 연구에서는 우리나라에서 재래식 방법으로 생산되고 있는 된장, 간장 및 고추장 등을 가정에서 그리고 재래시장에서 전국적으로 수집하여 시료로 이용하였다. OT-A의 분석은 효소를 이용한 ELISA와 화학적 발광물질을 이용한 CIA 방법이 이용되었다. 전통발효식품으로 부터 Ochratoxin의 분석을 통하여 이들이 어떻게 carry over되는지를 그리고 열에 대한 내성을 조사하였다.

재료 및 방법

시료

시료는 두가지 경로를 통해서 수거하여 실험에 이용하였다. 일반 가정에서 재래식 방법으로 생산된 된장, 간장, 고추장과 재래시장에서 유통되고 있는 된장, 간장을 전국적으로 수거하였다. 수거된 시료는 플라스틱 용기에 300 g씩 밀봉하여 분석시까지 냉동고에서 보관하면서 분석 시료로 사용하였다. 시료는 서울(19), 경기(7), 대전(13), 광주(11), 부산(13), 제주(4) 등 전국에서 수거하였으며, 수거 지역과 시료수는 Table 1과 같다.

시약

본 실험에 사용된 시약인 Ochratoxin A(OT-A), Bovine Serum Albumin(BSA), Complete Freund's adjuvent, Ethyl-dimethyl-prophyl-carbodiimide(EDPC), N-N-dicyclohexyl-carbodiimide(DCC), N-hydroxysuccinimide(NHS), Dimethylformamide(DMF), Sepharose-4B-Protein A는 Sigma사(USA), Horse Radish Peroxidase(HRP)는 Boehringer Mannheim사(Germany), Aminobuthylisoluminol(ABEI)는 LKB(Finland)사 제품을, 기타 시약은 모두 특급품을 사용하였다.

면역원의 준비

면역원(OA-BSA)은 Kim 등[34]의 방법에 따라 합성하였다.

Table 1. Source area and number of samples collected and used for ochratoxin A analysis

Soruce	Number of samples			
Area	*Deonjang*	*Kanjang*	*Gochujang*	Total
Seoul	5 (7)[a]	3 (2)	− (2)	21 (11)
Kunggi	3 (1)	1 (1)	− (1)	4 (3)
Taejeon	4 (2)	3 (2)	− (2)	7 (6)
Kwangju	3 (1)	2 (2)	− (3)	5 (6)
Pusan	2 (2)	2 (3)	− (4)	4 (9)
Cheju	−	− (2)	− (2)	− (4)
Total	17 (13)	11 (12)	− (14)	28 (39)

[a] The number of home-made samples.

면역화는 합성된 OT-A-BSA 150 μg을 phosphate buffered saline (PBS; 0.05 M, pH 7.4) 0.5 ml에 용해하여 동량의 Complete Freund's adjuvent와 유화시켜 토끼의 등(back) 20여곳에 피내주사(intradermal)하였다. 2주 간격으로 동량의 면역원을 Incomplete Freund's adjuvent와 유화시켜 5차 주사하고, heart punture하기 1주일 전에 2배의 면역원을 booster 주사하였다.

OT-A 항체의 분리는 면역화된 토끼의 심장으로부터 채혈한 혈액을 4℃에서 하룻 동안 방치한 후 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하여 혈청을 분리하였다.

Coat of antibody with coating buffer(0.01 M barbital buffer, pH 9.6) to microtiter strip at 4℃ for 16 hrs

↓

Wash 3 times with 0.05 M PBST

↓

Block with 3% BSA-0.01 M PBST

↓

Incubate at 37℃ for 1.5 hrs

↓

Wash 3 times with 0.05 M PBST

↓

(unit : μl)

	NSB	Bo	B
standard or sample	–	–	75
buffer(0.05 M PBS)	75	75	–
tracer(OT-A-HRP)	75	75	75

↓

Incubate at 37℃ for 1.5 hrs

↓

Wash 3 times with 0.05 M PBST

↓

Add 1,2-phenylene diamine substrate solution

↓

Incubation at 37℃ for 30 min

↓

Add 2 N H_2SO_4 for reaction stop

↓

Read O.D. at 490 nm with ELISA Auto Reader

Fig. 1. Procedure of ELISA for the assay of ochratoxin A (PBST stands for phosphate buffered saline-Twein 20. NSB, B_0 and B mean non-specific binding, zero binding, and binding, respectively).

강 등[35]의 방법에 따라 Sepharose-4B-Protein A affinity column을 이용하여 혈청을 분리하고, 분리 정제된 Immunoglobulin(IgG)를 항체로 이용하였다.

표지 물질의 합성

ELISA에 필요한 효소 HRP로 표지된 OT-A의 합성은 Pestaka 등[32]과 Chu 등[36]의 방법에 따라 실시하였다. CIA에 필요한 화학적 발광물질, ABEI로 표지된 OT-A의 합성은 Kim 등[34]의 방법에 따라 실시하였다. 합성된 OT-A-ABEI는 TLC plate에서 methanol : chloroform : hexane : ethyl acetate = 1 : 1 : 1 : 1 (v/v/v/v)을 전개용매로 하여 분리하였다.

OT-A 정량을 위한 ELISA와 CIA

HRP를 표지시킨 OT-A-HRP를 이용하여 Fig. 1과 같이 ELISA를 실시하여 ELISA Auto Reader(BioTek model, El 311)를 이용하여 흡광도를 490 nm에서 측정하였으며,[37] CIA분석은 ABEI를 표지시킨 OT-A-ABEI를 이용하여 Luminometer(Model Clinilumat, LB9502, Berthold)를 이용하여 생산된 빛의 양을 4초간 측정하였다.[34]

Ochratoxin A의 추출 및 회수율

시료에서의 OT-A의 회수율을 비교하기 위하여 시료의 추출은 AOAC[24]방법 및 Kang[38]방법에 따라 실시하였다. 분석의 정확성과 추출 방법의 회수 정도를 알기 위해서 회수율 조사는 된장, 간장 및 고추장 10 g당 각각 100 ng과 10 ng의 OT-A를 임의로 첨가하여 잘 혼합한 뒤 방치하여 충분히 흡수하게 한 다음 위에서 서술한 추출방법을 이용하여 시료에서 OT-A를 분리 정제하여 면역분석법으로 정량하여 기대치에 대한 백분율로서 회수율을 산출하였다.

가열처리에 의한 OT-A의 잔존량

가열처리에 의한 OT-A의 잔존량 조사는 OT-A가 함유되어 있지 않은 시료를 선택하여, 시료 20 g에 200 ng(즉, 10 g당 100 ng)의 OT-A를 임의로 첨가하여 잘 혼합시킨뒤, 다시 100 ml의 증류수를 넣어 혼합하고 60, 90, 121℃에서 각각 30, 60, 90, 120분간 가열하였다. 이때 60, 90℃는 water-bath에서, 121℃는 autoclave에서 가열하였다. 가열처리된 시료는 AOAC 방법[28]에 의하여 추출하여 OT-A의 잔존량을 측정하였다.

결과 및고찰

항체의 생성확인과 표준곡선 작성을 위해 먼저 항체의 희석농도(titer)를 결정하기 위하여 각 항체의 농도마다 1 μg/ml의 OT-A를 첨가하여 얻은 항체희석곡선을 작성하였다. 항체 농도가 낮아짐에 따라 표지물질(tracer)과의 반응정도가 낮아졌으며 또한 경쟁물질로 첨가시킨 표준 OT-A와도 좋은 경쟁 반응을 나타내었다. 따라서 ELISA의 경우 충분한 흡광도와 좋은 경쟁반응을 보인 1 : 200, CIA의 경우 33% 반응정도를 나타낸 1 :7200으로 희석농도를 결정하였다.

위와 같이 항체를 희석시켜 16시간 동안 coating한 뒤 OT-A 표준곡선을 작성한 결과는 Fig. 2와 같았다. OT-A의 함량이 낮을수록 표지물질과의 경쟁반응은 감소하였다. ELISA와 CIA에서 모두 OT-A 측정범위는 0.02~20 ng/assay (0.02~20×10^{-9} g/assay)정도로, 감도(sensitivity)는 20 pg/assay(20×10^{-12} g/assay)로 나타났다. 이러한 결과는 Pestaka 등[32]의 25 pg/tube, 한[33]의 20 pg/tube와 유사한 결과로서 OT-A 측정에 우수한 표준곡선으로 사료되며, RIA의 결과[30]보다 월등히 우수하였다.

본 실험의 정확도를 조사하기 위하여 된장, 간장 및 고추장 10 g당 각각 100 ng, 10 ng의 OT-A를 임의로 첨가한 뒤 추출하여 첨가된 양과의 백분율로 회수율을 산출하여 본 결과는 Table 2와 같다. Table 2에서 보는 바와 같이 AOAC[24]와 Kang 방법[38]에서 모두 좋은 회수율을 보였으며, 고농도(100 ng/10 g sample)와 저농도(10 ng/10 g sample)에서 모두 좋은 회수율이 나타났다.

된장의 경우 AOAC와 Kang 방법에서 고농도의 경우 104.7± 6.3%와 86.2± 5.4%, 저농도의 경우 89.5± 2.4%와 83.3± 2.4%를 나타냈고, 간장의 경우 고농도에서 109.1± 12.7%와 89.9± 6.1%, 저농도에서 95.2± 7.2%와 94.5± 5.5%를 나타냈다. 두 방법 모두 좋은 회수율을 보이나 Kang 방법보다 AOAC 방법이 표

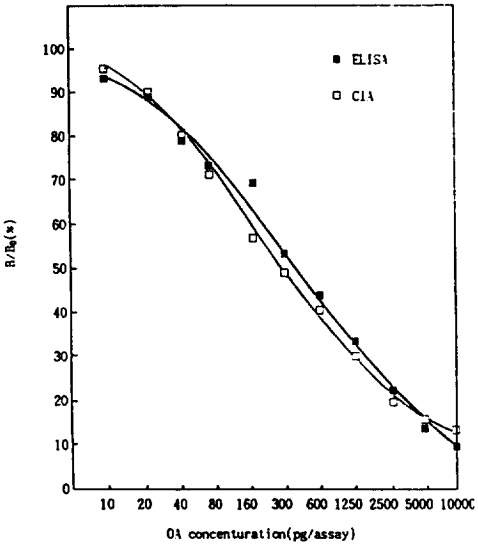

Fig. 2. Standard curves for ochratoxin A concentration in enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) and chemiluminescence immunoassay(CIA)

Table 2. Recovery of ochratoxin A from sample clean-up

Sample	OT-A Conc. (ng)	Recovery (%) AOAC method	Recovery (%) Kang's method
Deonjang	100	86.2± 5.4[a]	104.7± 6.3
	10	83.3± 2.4	89.5± 2.4
Kanjang	100	89.9± 6.1	109.1± 12.7
	10	94.5± 5.5	95.2± 7.2
Gochujang	100	61.3± 1.0	N. D.[b]
	10	65.9± 14.8	N. D.

[a] Data is Mean± Standard Deviation.
[b] N.D.: Not detected.

Table 3. Detection of ochratoxin A in *Deonjang*, *Kanjang* and *Gochujang*

Amount of OT-A (ng/g)	Number of sample produced the corresponding amount OT-A		
	Deonjang	*Kanjang*	*Gochujang*
Not detected	−[a](−)[b]	− (1)	(−)
Less than 2.5	− (2)	− (7)	(4)
2.5~10	5 (10)	3 (4)	(10)
10~25	3 (1)	6 (−)	(−)
25~50	8 (−)	2 (−)	(−)
More than 50	1 (−)	− (−)	(−)

[a] The number of sample in the traditional market.
[b] The number of home-made sample.

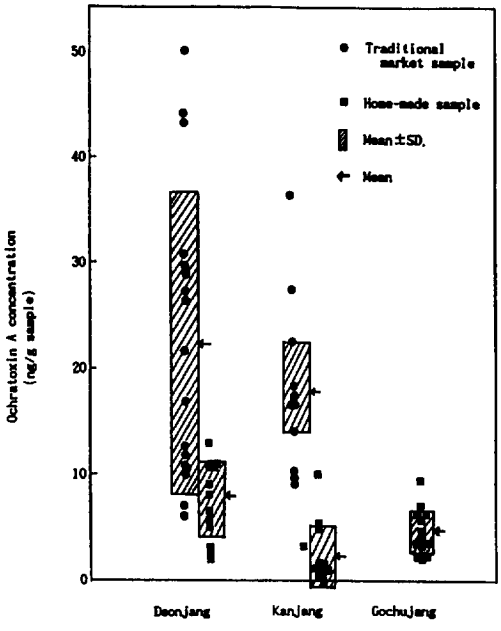

Fig. 3. Distribution of residual ochratoxin A in *Deonjang*, *Kanjang* and *Gochujang*.

준편차가 적고, 추출과정에서 추출이 완료된 후 1 ml PBS용액에 녹여 그대로 정량에 이용하므로 실제 시료에 적용할 때 더 정확한 data를 낼 수 있으며 적은 양까지 검출할 수 있는 방법이라고 사료되어 시료의 분석에는 AOAC 방법을 이용하였다.

고추장의 경우 AOAC 방법에서 고농도에서 63.1± 1.0%, 저농도에서 65.9± 14.8%의 다소 낮은 회수율을 나타냈으며, Kang 방법에서는 추출이 되지 않았다. 이것은 고추장의 경우 색소 성분이 많고, 찹쌀, 당분 등의 함량이 많아 추출시 영향을 준 것으로 생각된다.

OT-A의 정량분석은 된장(30), 간장(23), 고추장(14)의 시료를 AOAC법[24]에 따라 추출하였으며 OT-A의 양을 정량 분석한 결과는 Table 3와 Fig. 3과 같다.

된장의 경우 g당 2.5~10 ng의 OT-A를 함유한 시료가 가장 많은 것으로 나타났으며, 10~50 ng/g의 OT-A를 함유한 것도 상당인 것으로 나타났다. 또한 재래시장에서 유통되고 있는 된장이 일반 가정의 것보다 OT-A 잔류량이 높은 것을 볼 수 있다(Fig. 3).

간장의 경우 g당 2.5~10 ng의 OT-A를 함유한 시료가 가장 많은 것으로 나타났지만, 검출되지 않거나 소량 검출된 것도 비슷한 수로 나타났다. 간장 역시

Table 4. Effect of heating time and temperature on stability of ochratoxin A in *Deonjang* soup

min	Residue of OT-A (%)		
	60℃ [a]	90℃ [a]	121℃ [b]
30	102.3	86.0	88.4
60	86.0	87.2	102.3
90	90.7	84.9	90.7
120	97.7	100.0	88.4

[a] Heat treatment is done in water bath for indicated times.

[b] Heat treatment is done in autoclave for indicated times.

재래시장에서 유통되고 있는 것이 일반 가정의 것보다 높았으며 (Fig. 3), 된장보다 OT-A잔류량이 적게 검출되었다. 이러한 결과는 OT-A분자가 일반 환경조건에서 상당히 안정하여 일단 식품에 오염되면 파괴되는데 어려움이 있으나 자외선이나 NH_3에 의한 파괴,[39-41] 간장제조시 다량의 물을 첨가함으로써 일어나는 희석 효과 등을 원인으로 생각할 수 있다.

결과에서 보듯이 OT-A는 메주에서 생성되어 된장과 간장으로 전이(carry over)된 것으로 볼 수 있으며, 강 등[23]은 메주내에 존재하는 OT-A를 분석하였는데, 본 간장과 된장에서 분석된 OT-A량 보다 많은 27.3± 11.8 ng/g의 잔존량을 보고하고 있다.

고추장의 경우에는 g당 2.5~10 ng의 OT-A를 함유한 것으로 나타났으며, 10 ng 이상의 OT-A는 검출되지 않았다. 이 양은 고추장의 회수율이 약 63%의 낮은 회수율을 보였기 때문에 실제 정량한 양에 1.6을 곱한 양으로 환산하였다. 이는 고추장의 경우 OT-A 생성 Fungi가 자랄 수 있는 부위가 고추장을 발효시킬 경우 표면에 불과하고 또한 강 등[23]은 OT-A 생성 Fungi 최저 Aw가 0.85로서 고추장의 발효 조건이 OT-A의 생성을 상당히 억제함을 알 수 있다.

Huff 등[42]은 닭에게 OT-A가 첨가된 사료를 먹였을 때, 사료 1 g당 2.0 μg 이상의 OT-A를 첨가한 경우 성장 장애가, 1.0 μg OT-A/g 이상의 사료를 주었을 때 신장의 크기와 무게가 감소하였으며, 4.0 μg OT-A/g 이상의 사료를 주었을 때 혈중 uric acid의 증가가 일어난 것으로 보고하고 있다. 이와 비교하여 볼 때 된장, 간장 및 고추장의 OT-A 잔류수준은 낮다고 보여지지만 국민 건강과 관련하여 볼 때 무시할 수 없는 양이다. Table 4에서 볼 수 있는 바와 같이 재

래시장에서 유통되고 있는 이들 식품과 일반 가정의 것이 차이를 나타내고 있어서 전통 발효식품의 위생적인 제조와 유통, 보관이 매우 중요함을 알 수 있으며, 가정에서 위생적으로 직접 제조하여 섭취하는 것이 바람직한 것으로 보여진다. 따라서 국민 건강의 차원에서 재래시장에 유통되고 있는 이들 식품은 규제가 되든지 보다 위생적인 생산과 유통이 이루어질 수 있도록 제도하여야할 것으로 생각된다.

가열처리에 의한 OT-A의 잔존량 조사는 OT-A가 함유되어 있지 않은 시료에 일정량의 OT-A를 임의로 첨가하여 잘 혼합시킨뒤 60, 90, 121℃에서 각각 30, 60, 90, 120분간 가열하여, 가열처리된 시료를 AOAC 방법에 의하여 추출하여 OT-A의 잔존량을 ELISA 방법에 의하여 측정하였다. 가열처리 후 OT-A의 잔존량은 Table 5와 같다.

Table 5의 결과에서 보듯이 60, 90, 121℃에서 30, 60, 90, 120분간 가열시 OT-A의 파괴는 거의 일어나지 않는 것으로 나타났다. Josefesson과 Moller[43]는 150~160℃ 이상에서 가열시에도 OT-A의 약 20% 정도 밖에 파괴되지 않는다고 보고하였는데 본 연구의 결과에서도 121℃ 가열 처리에서 열에 대한 안정성을 볼 수 있다. 우리 가정에서 150℃ 이상으로 조리한다는 것이 실제로 불가능하므로 가열조리에 의한 OT-A의 파괴는 기대하기 힘들므로 이들 전통식품 내에 잔존하는 OT-A는 여과되지 않고, aflatoxin 등의 mycotoxin과 달리 소비시에 체내에 그대로 전이되므로 OT-A의 오염에 노출되지 않도록 더욱 주의하여야 할 것이다.

감사의 글

이상의 연구는 1992년도 (주)미원부설 한국음식문화연구원 지원비로 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구에서는 재래 방법에 따라 생산되고 있는 전통발효식품(된장, 간장, 고추장)에 함유되어 있는 Ochratoxin A(OT-A)를 면역학적 정량분석법인 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)와 Chemiluminescence Immunoassay(CIA)법을 개발하여 분석하였다. 각 가정에서 생산하여 소비되는 장류(된장 13종, 간장 12종, 고추장 14종)와 재래적인 방법으로 생산하여 국내시장에서 유통되고 있는 장류(된장 17종, 간장 11종)로 나누어 분석을 실시하였다. OT-A를 정량 조사한 표준곡선의 작성 결과 CIA나 ELISA 모두 sensitivity는 20 pg/assay 이었으며, 본 실험에서 사용한 면역분석법의 OT-A회수율은 90% 이상이었다. OT-A의 잔존량은 가정에서 생산하여 소비되는 시료의 경우 된장 7.1± 3.7 ng/g, 간장 2.1± 2.6 ng/g 그리고 고추장이 4.0± 1.9 ng/g이었으며, 반면 재래시장에 유통되고 있는 시료의 경우 된장이 비교적 잔존량이 높은 22.5± 14.0 ng/g, 간장이 16.9± 4.1 ng/g으로 나타나 가정에서 생산되고 있는 전통발효식품의 경우 OT-A의 오염도가 아주 낮은 것으로 나타났다. 한편 OT-A의 가열안정성 시험에서는 60, 90, 121℃에서 120분까지 가열 처리하여 OT-A의 잔존량을 조사하였던 바 121℃의 고압처리(120 min)에서도 안정하였다.

참고문헌

1. Wilson, D.M. and Abramson, D.: Mycotoxins., In *Storage of Cereal Grains and Their Products*, 4th ed. (Sauer, D.B. ed) American Association of Cereal Chemists, *Inc. St. Paul*, MN pp. 341 (1992).
2. Steyn, P.S.: Ochratoxins and related dihydroisocoumarins. *Dev. Food Sci.*, **8**, 183 (1984).
3. Scott, D.E.B.: Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products. *Mycopathol. Mycol. Appl.*, **25**, 213 (1965).
4. Krogh, P., Hald, B., Plestina, R. and Ceovic, S.: Balkan (Endermic) nephropathy and food from ochratoxin A; Preliminary results of a survey of foodstuffs. *Acta*

Path. Microbiol. Sect. B., **85**, 238 (1977).
5. Szczech, G.N., Carton, W.W. and Tuite, J.: Ochratoxin A toxicosis in swine. *Vet. Pathol.*, **10**, 347 (1973).
6. Ciegler, A., Fennell, D.I., Mintzlaff, H.J. and Leistner, L.: Ochratoxin synthesis by Penicillium species. *Naturwissenschaften*, **59**, 365 (1972).
7. Richrad, J.L., Thurston, J.R. and Deyoe, B.L.: Effect of ochratoxin and aflatoxin on serum protein. Complement activity and antibody production to *Brucella Abortusin* Gunea pigs. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, **29**, 27 (1985).
8. Connole, M.D., Blaney, B.J. and McEwan, T.: Mycotoxins in animal feeds and toxic fungi in Queensland 1971-80. *Aust. Vet. J.*, **57**, 314 (1981).
9. Scott, P.M., VanWalbreek, W., Kennedy, B. and Anyeti, Y.: Mycotoxins (ochratoxin A, citrinin, sterigmatocystin) and toxigenic fungi in grains and other agricultural products. *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 1103 (1972).
10. Micro, C., Grossi, M., Onori, R., Chirico, M. and Brera, C.: Aflatoxin B, ochratoxin A and zearalenone in Italian corn; Monitoring during production 1982, 1983 and 1984. *Crop. Rev. Soc. Ital. Sci. Aliment.*, **15**, 113 (1986).
11. Bauer, J. and Gareis, M.: Ochratoxin A in food chain. *Z. Veterinaermed. B.* **34**, 613 (1987).
12. Shutwell, O.L., Hesseltine, C.W., Vandegraft, F.E. and Goulden, M.L.: Survey of corn from different regions for aflatoxin, ochratoxin and zearalenone. *Cereal Sci. Today*, **16**, 266 (1971).
13. Benham, C.L.: Mold and mycotoxins in animal feeding stuffs 1980. *Proc. Meet. Mycotoxin Anim. Dis.*, **4**, 38 (1982).
14. Shotwell, O.L., Goulden, M.L. and Hesseltine, C.W.: Survey of US wheat for ochratoxin and aflatoxin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **59**, 122 (1976).
15. Buckle, A.E.: The occurrence of mycotoxins in cereals and animal feedstuffs. *Vet. Res. Commun.*, **7**, 171 (1983).
16. Uchiyama, M., Isohata, E. and Taheda, Y.: A case report on the detection of ochratoxin A in rice. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.*, **17**, 103 (1976).
17. Marguardt, R.R., Frohlich, A.A., Sreemannarayana, O., Abramson, D. and Bernatsky, A.: Ochratoxin A in blood from slanghter hogs in Western Canada. *Can. J. Vet. Res.*, **52**, 186 (1988).
18. Stahr, H.M., Domoto, M., Zhu, B.L. and Pfeiffer, R.: Chemical analysis for ochratoxin poisoning. *Mycotoxin Res.*, **1**, 31 (1985).
19. Pepeljnjak, S. and Cvetnic, Z.: The mycotoxicological chain and contamination of food by ochratoxin A in the nephropathic and non-nephropathic area of Yugoslavia. *Mycopathologia*, **90**, 147 (1985).
20. Kuiper-Goodman, T. and Scott, P.M.: Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomed. Environ. Sci.*, **2**, 179 (1989).
21. 김용화, 황포정숙: 몇 가지 한국식품 중 Aflatoxin의 검출. 한국식품과학회지, **9**, 73 (1977).
22. 이서래: 식품의 안전성연구. 식품과학과 산업, **21**, 9 (1988).
23. 강성철, 신현길, 김종배, 김창한, 이상선: 전통 대두발효식품중에 존재하는 Ochratoxin A 생성균주의 특성. 식품과학회지, **23**, 572 (1991).
24. Scott, P.M.: Chapter 49. Natural Poisons. In *Official Method of Analysis*. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemist. Washington D.C., pp. 1184 (1990).
25. Nesheim, S., Hardin, N.F., Francis, O.J. Jr. and langham, W.S.: Analysis of ochratoxins A and B and their esters in barley, using partition and thin layer chromatography. I. Development of the method. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **56**, 819 (1973).
26. Lepom, P.: Simultaneous determination of the mycotoxins citrinin and ochratoxin A in wheat and barley by high performance liquid chromatography. *J. Chromotogr.*, **355**, 335 (1986).
27. Terada, H., Tsubouchi, H., Yamamoto, K., Hisada, K. and Sakabe, T.: Liquid chromatographic detection of ochratoxin A in coffee beans and coffee products. *Assoc. Off. Anal. Chem.*, **69**, 960 (1986).
28. Hult, K. and Gatenbeck, S.: A spectrophotometric procedure using carboxypeptidase A for the quantitative measurement of ochratoxin A. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **59**, 128 (1976).
29. Chu, F.S.: Immunoassays for mycotoxins. In *Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation of Mycotoxins*. (Cole, R.J. ed.). Academic Press, New York pp. 207 (1986).
30. Russeau, D.M., Slegers, G.A. and van Peteghem C.H.: Radioimmunoassay of ochratoxin A in barley *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 529 (1985).
31. Lee, S.C. and Chu, F.S.: Enzyme-linked immunosorbent assay of ochratoxin A in wheat. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **67**, 45 (1984).
32. Pestaka, J.J., Steinert, B.W. and Chu, F.S.: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of ochratoxin A. *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 1472 (1981).
33. 한재수: Ochratoxin A의 생성조건 및 정량을 위한 면역

분석법 개발에 대한 연구. 건국대학교 대학원 석사학위논문 (1989).
34. Kim, J.B., Barnard, G.A., Collins, W.P., Kohen, F., Lidner, H.R. and Eshhar, Z.: Measurememt of plasma estradiol-17β by solid-phase chemiluminescene immunoassay. *Clinical Chem.*, **28**, 34 (1982).
35. 강원준, 고대환, 이경광, 김종배, 정길생: Progesteron 측정을 위한 면역 분석법의 최적 조건에 관한 연구. 대한가축번식연구회보, **9**, 105 (1985).
36. Chu, F.S., Chang, F.C. and Hinsdill, R.F.: Production of antibody against ochratoxin A. *Appl. Environ. Microbiol.*, **31**, 831 (1985).
37. Kemeny, D.M. and Challacombe, S.J.: ELISA and Other Solid Phase Immunoassay. Wiley and Sons Press, New York (1988).
38. Kang, S.C., Lee, S.S., Shin, H.K. and Kim, J.B.: Measurement of ochratoxin A and isolated of the fungi producing ochratoxin A from Korean traditional fermented soybean foodstuffs. *Kor. J. Mycor.*, **19**, 148 (1991).
39. Northolt, M.D., Van Egmond, H.P. and Pauloch, W.E.: Ochratoxin A production by some fungal species in relation to water activity and temperature. *J. Food Protection*, **42**, 485 (1979).
40. El-Banna, A.A., Pitt, J.I., and Leister, L.: Production of Mycotoxins by Penicillium Species. Institute of Microbiology, Toxicology, and Histology, Federal Center for Meat Research Kulumbach, Federal Republic of Germany, 1-10 (1988).