J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 4, pp. 346~352 (2007)

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

국내생산 사료의 Aflatoxin 오염도 조사

장한섭[1] · 조현정[1] · 이경은 · 이 찬*
[1]국립농산물품질관리원 시험연구소, 중앙대학교 식품공학과

Survey of the Presence of Aflatoxins in Compound Feeds and Feed Ingredients

Han-Sub Jang[1], Hyun-Jung Jo[1], Kyung-Eun Lee, and Chan Lee*
[1]*Experiment & Research Institute, National Agricultural Products Quality Management Service*
Food Science & Technology, Chung-Ang University
(Received Noverber 5, 2007/Accepted December 17, 2007)

ABSTRACT – Contamination of aflatoxins(AFs) was monitored in 447 compound feeds and 138 feed ingredients samples distributed in South KOREA in 2006 and 2007. The degree of AFB_1 and AFB_2 contamination in compound feed was 20% and 3%, respectively. The levels of detection were ranged from 0.48 to 10.46 ppb for AFB_1 and from 0.25 to 0,42 ppb for AFB_2. Thirty eight percent of compound feeds were contaminated with AFB_1 at concentration between 0.43 and 5.52 ppb and AFB_2 was detected in 2% of compound feeds at levels ranging 0.26-0.40 ppb. The highest degree of AFB_1 contamination was observed in compound feeds for beef cattle (75%) followed by for dairy cattle (72%) and in bran among feed ingredients (30%). Bran exhibited the highest level of AFB_1 contamination (3.1 ppb). Vegetable proteins and compound feeds for dog showed relative lower degree of contamination at 2.9 and 1.9 ppb, respectively. AFG_1 and AFG_2 were not detected in any compound feeds and feed ingredients samples.

Key words: aflatoxin, feed ingredient, compound feed, contamination

곰팡이독소(Mycotoxin)는 곰팡이가 생산하는 독소로서 식품 및 사료에서 광범위하게 발생한다. 곰팡이독소의 오염은 인류와 동물에게 다양한 급성 및 만성적인 손상을 유발시키기 때문에 식품 및 사료의 안전성 관리에 직면한 현안 중 하나로 인식되고 있다.[1)] 사료는 공동경작, 제조, 이동, 저장 등의 과정에서 기후 조건에 따라 곰팡이로부터 쉽게 오염이 되며, 저장온도, 습도가 관리되는 최적 시스템에서도 곰팡이 오염은 지속적으로 문제를 일으키고 있다.[2)] 최근에도 사료에서 *Aspergillus*와 *Penicillium* 속의 곰팡이 오염이 더욱 빈번하게 발생하고 있다고 보고되고 있다.[3)]

아플라톡신(aflatoxin, AF)은 일반적으로 사료에서 쉽게 발견되는데 그 이유는 아플라톡신을 생산하는 *Aspergillus flavus*가 저장 중에 발생하는 가장 일반적인 곰팡이 중 하나이기 때문이다.[4)] 사료에 *A. flavus*가 오염되어 아플라톡신이 발생하면 가축성장이 저해되어 막대한 경제적 손실을 초래한다.[5)] 아플라톡신들은 coumarin고리에 융합된 dihydrofuran 또는 tetrahydrafurano의 일부분이며[6)], 주된 아플라톡신 유도체로는 $B_1(AFB_1)$, $B_2(AFB_2)$, $G_1(AFG_1)$, $G_2(AFG_2)$ 등이 보고되고 있다(Fig. 1).[1)] 아플라톡신은 다양한 농산물, 식품 등에서 발견되며, 아플라톡신 유도체 중 AFB_1은 WHO의 International Agency for Research on Cancer(IARC)에서 1그룹의 발암물질로 분류되고 있다.[7)] 미국의 FDA에서는 식품을 대상으로 전체 아플라톡신(total AFs)으로서 20 ppb(우유는 aflatoxin M_1 으로서 0.5 ppb)의 기준치를 설정하고 있는 반면 유럽연합에서는 AFB_1은 2-5 ppb, 전체 아플라톡신은 4-10 ppb(유아용 식품은 aflatoxin M_1 0.025 ppb, AFB_1 1.0 ppb)의 최대허용기준치를 설정하고 있다.[8)]

국내 사료제조 공장에서 사용하는 대부분의 원료는 외국에서 수입하고 있는 실정으로 최종 생산된 배합사료 및 단미사료에서 AFs의 오염이 의심 되고 있다. 그러나 사료에 대한 곰팡이독소들의 오염현황에 대한 조사 실적은 현재까지 많지 않다.[9)] 즉, 우리나라에서는 사료 중 곰팡이독소들의 오염실태에 대한 자료가 미흡하며, 오염실태조사가 된 것도 일부 단미사료에 대한 것이 대부분이고 가축

*Correspondence to: Chan Lee, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansung, 456-756 Korea
Tel: 82-31-670-3035, Fax: 82-31-676-8865
Email : chanlee@cau.ac.kr

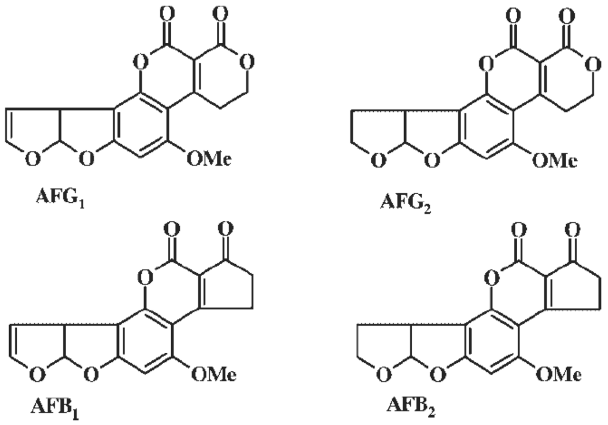

Fig. 1. Structures of aflatoxin.

이 실질적으로 섭취하는 축종별 배합사료에 대한 오염도 조사 자료는 거의 찾아볼 수 없는 실정이다. 따라서 국내에서 생산된 사료에서 곰팡이독소 오염정도를 아플라톡신을 중심으로 정량적으로 파악할 필요가 있고, 오염도 조사결과를 근거로 사료 제조과정 중 곰팡이독소들의 위해를 최소화하기 위한 방안 마련이 필요하다. 이 같은 배경하에 현재 우리나라에서 시판되고 있는 사료 중 아플라톡신의 함량을 분석하여 사료와 축산물 및 그 가공품의 안전성을 증대 시키고자 오염도 조사를 실시하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

아플라톡신들(AFs)의 오염도 조사 시료로 2006년도에서 2007년도에 국내 사료 제조공장에서 유통된 배합사료와 단미사료를 사용하였으며, 25 kg 지대포장 또는 1톤 백(ton bag)포장 사료를 대상으로 하였다. 사료관리법상의 시료 채취요령에 따라 무작위 추출법으로 포대 또는 톤당 1 kg 정도의 분석시료를 채취하여 혼합용지 위에서 골고루 혼합한 후 4분법으로 500 g정도의 시료를 취하여 분석하였다.[10]

AFs 표준품으로 아플라톡신혼합물(aflatoxin mix, SUPELCO, U.S.A)을 사용하였다. Methanol/glacial acetic acid(98:2 v/v)와 물을 1:1(v/v)로 혼합한 용액으로 표준품을 약 1000배 희석하여 stock solution을 제조한 후, methanol로 약 50배 희석하여 AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2의 표준용액으로 사용하였다. 시료전처리용 시약으로 HPLC급 methanol(Merck, GER)을 사용하였으며, 시료 정제를 위하여 immunoaffinity column(AFLAPREP^R, R-Biopharm, U.K)을 사용하였다.

기기 및 장치

형광검출기(G1321A fluorescence detector)가 장착된 HPLC(Agilent 1100 series, Agilent Technologies, U.S.A)를 사용하였다. 시료분쇄기, 균질기(OMNI International, U.S.A), 화학천칭(Sartorius, GER), 원심분리기, 시험관 교반기, vacuum system, KOBRA cell(R-Biopharm, U.K), Mili-Q RiOs/Elix water purification system(Millipore, Bedford, MA, U.S.A) 등을 사용 하여 전처리과정을 시행하였다.

시료의 전처리

AFs를 추출하기 위하여 500 g의 시료를 잘 혼합하고 약 250 g의 시료를 입자크기 600 μm 정도가 되도록 시료분쇄기로 분쇄하였다. 이 시료 중 25 g을 칭량하여 methanol/water(60:40 v/v) 추출용액 125 ml를 넣고 NaCl 2 g을 첨가한 후 AFs이 추출되도록 균질기로 10,000 rpm에서 2분간 추출하였다. 여기에 증류수 125 ml를 첨가하여 10초간 혼합한 후 여과지(Whatman No. 4)로 여과한 후 여과용액 20 ml를 취하여 immunoaffinity column에 유속이 2-3 ml/min되도록 통과 시켰다. 10 ml증류수로 column을 2회 세척한 후 1 ml methanol로 backflushing을 3회 실시하면서 중력에 의해 AFs를 유출시켜 시료액으로 사용하였다.[11] 전처리 과정을 요약하여 Fig. 2에 나타내었다.

기기분석 조건

AFs를 분석하기 위하여 Eclipse-XDB-C_{18} column(reversed-phased column I.D. 4.6×150 mm, particle size 3.5 μm, Agilent Technologies, U.S.A)과 guard column(C_{18}, 5 μm)

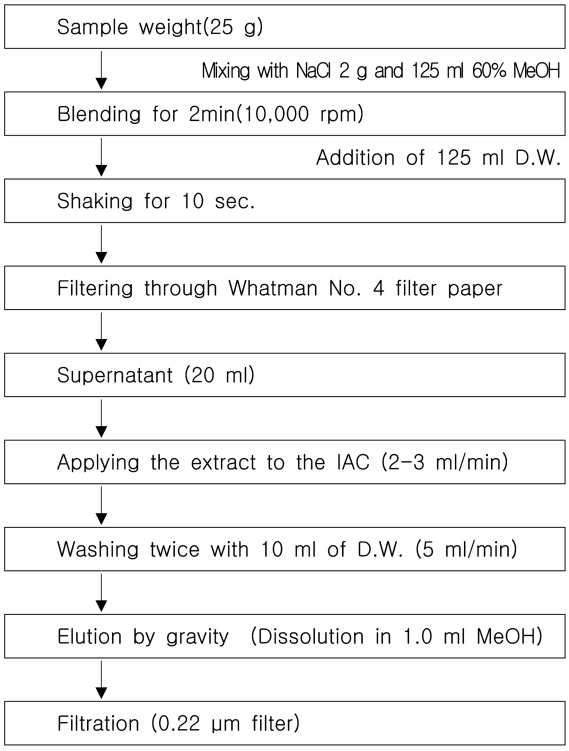

Fig. 2. Process for purification of aflatoxins.

을 사용하였고, 35°C에서 10분간 분석하였다. Methanol : water(50:50 v/v, with 119 mgKBr/1L, 4 M nitric acid 350 μl/L)를 제조하여 이동상으로 사용하였고 유속은 1.0 ml/min로 설정하였다. AFG_1과 AFB_1의 검출감도를 높이기 위해서 C_{18}컬럼과 검출기 사이에 코브라셀을 연결하여 분석하였다.[12] 주입량은 8 μl이었으며, 형광검출기의 검출파장을 excitation wavelength 362 ㎚, emission wavelength 426 nm로 설정하였다.

검출된 AFB_1의 LC/MS/MS 분석을 위하여 water : methanol의 구배 용액을 이동상으로 사용하였으며, C_{18} 역상 컬럼(2.1×100 mm, 3 μm, Hamilton, U.S.A)이 사용되었다. 유속을 200 μl/min로 설정하였고 주입량을 20 μl로 하였다. LC/MS/MS 분석을 위하여 API 3000 분석기(Applied Biosystems, U.S.A)를 사용하였다. ESI Positive ion mode로 분석하였으며, 5500 V로 ion spray voltage를 설정하였다.

회수율 실험

AFs에 오염되지 않은 소사료와 대두박에 AFG_1을 2.09 μgkg^{-1}, 4.17 μg kg^{-1}의 농도로 첨가하였으며, AFG_2, AFB_1, AFB_2도 두가지 농도로 각각의 시료에 혼합하고(0.64 μgkg^{-1}, 1.28 μgkg^{-1} AFG_2; 0.61 μgkg^{-1}, 1.23 μgkg^{-1} AFB_1; 3.96 $\mu gkg^{-1,}$ 1.98 μgkg^{-1}, AFB_2) 24시간 동안 건조시킨 후 상기 실험방법으로 3회 반복하여 회수율을 측정하였다.

검출한계, 정량한계 측정 및 검량선 작성

Signal/noise 비율이 3:1일 때를 기준으로 AFs의 검출한계를 측정하였고, Signal/noise 비율이 10:1일 때를 기준으로 정량한계를 결정하였다. AFB_1의 농도를 0.989, 1.978, 3.956, 7.912, 19.78 μgkg^{-1}, AFB_2의 농도를 0.307, 0.614, 1.228, 2.456, 6.14 μgkg^{-1},으로 조절한 표준용액을 제조하였다. 마찬가지로 AFG_1의 농도를 1.043, 2.086, 4.172, 8.344, 20.86 μgkg^{-1}, AFG_2의 농도를 1.276, 2.552, 6.38 μgkg^{-1}으로 조절하여 표준용액으로 사용하였다. 각 표준용액을 HPLC column에 주입하여 피크의 면적을 계산하였고, 각 표준품의 양에 대한 각 피크의 면적을 그래프로 계산함으로써 검량선을 작성하였다.

결과 및 고찰

아플라톡신의 분석

표준품인 아플라톡신 혼합물의 HPLC 분석결과는 Fig. 3과 같다. AFG_2, AFG_1, AFB_2, AFB_1의 머무름 시간은 각각 3.5, 4.0, 4.7, 5.6 min이었다.

AFs의 회수율 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. AFs의 회수율 실험을 위하여 소 사료와 대두박을 사용하였고, AFs의 표준용액을 첨가하여 분석한 결과 회수율이 61.3-92.3% 범위를 보였다. 이하 실험에서 결과값에 회수율보정은 하지 않았다. 1997년 영국에서 보고된 바에 의하면

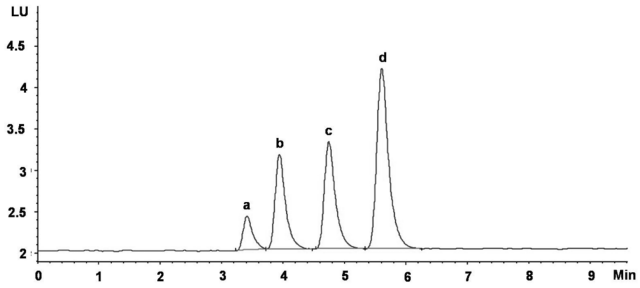

Fig. 3. Chromatogram of aflatoxin standard solutions. a: aflatoxin G2, b: aflatoxin G1, c: aflatoxin B2, d: aflatoxin B1.

Table 1. Samples for aflatoxins analysis

Compound Feeds	Number of samples	Feed ingredients	Number of samples
Cattle feeds	137	By-products of grains	43
Swine feeds	98	Grains	9
Poultry feeds	123	Vegetable proteins	61
Dog feeds	32	By-products of food	9
Aqua culture feeds	42	Soyprotein concentrates	3
Cat feeds	6	Fibrous feeds	11
Fibrous feeds	2		
Mouse feeds	1		
Duck feeds	4		
Sheep feeds	1		
Rabbit feeds	1		

Table 2. Recoveries and relative standard deviations(RSD) from blank feed spiked with aflatoxins at different levels

Type	Spiking level (μgkg^{-1})	Recovery (%) ± SD[a]	RSD (%)
Cattle	AFG_2 0.64	ND[b]	-
	AFG_1 2.09	92.28 ± 0.25	12.75
	AFB_2 0.61	82.56 ± 0.04	8.57
	AFB_1 1.98	73.23 ± 0.05	3.64
	AFG_2 1.28	62.37 ± 0.17	21.17
	AFG_1 4.17	70.56 ± 0.23	7.84
	AFB_2 1.23	71.04 ± 0.04	4.21
	AFB_1 3.96	61.30 ± 0.15	6.14
Soybeen meal	AFG_2 0.64	ND[b]	-
	AFG_1 2.09	87.58 ± 0.12	6.59
	AFB_2 0.61	88.44 ± 0.02	4.38
	AFB_1 1.98	77.56 ± 0.04	2.30
	AFG_2 1.28	60.91 ± 0.38	13.02
	AFG_1 4.17	84.45 ± 0.34	9.74
	AFB_2 1.23	66.49 ± 0.04	4.72
	AFB_1 3.96	73.11 ± 0.38	13.02

[a] SD, Standard Deviation (n=3 replicates).
[b] ND, Not detected.

AFs의 회수율은 65-105%로 나타났고[13], Beg 등이 2006년도에 보고한 자료에서 AFs의 회수율은 70.4-112.6%로 나타났다.[14] 본 실험의 AFs회수율은 국외 자료와 비교해 볼 때 비슷하거나 다소 낮은 것으로 판단되었다.

단미사료에서의 아플라톡신오염도

아플라톡신오염도를 분석하기 위하여 총 585점의 사료가 수집되었다. 이중 배합사료가 447점이었으며, 1387점의 단미사료도 조사되었다.

단미사료 시료의 AFB_1의 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 강피류 43점 중 13점(30%)의 사료가 AFB_1에 오염되었고, 평균농도는 3.19 ppb 수준이었다. 강피류 중 단백피는 평균농도 2.88 ppb 수준으로 오염되었으며, 시료번호 376번 옥수수피의 경우 10.46 ppb 수준의 AFB_1이 검출되어 단미 및 배합사료 전체시료 중 가장 높은 오염정도를 보였다. 시료번호 324번 옥수수피는 AFB_2와 AFB_1이 동시에 오염되어 있었으며, AFB_2가 0.25 ppb, AFB_1이 4.37 ppb 수준이었다.

박류는 61점 중 14점(22%)의 사료가 AFB_1에 오염되었으며, 오염된 사료의 평균농도는 2.91 ppb이었고 농도범위는 0.48 ppb-7.13 ppb 수준이었다. 옥수수글루텐은 7점이 오염되었으며 평균농도는 4.69 ppb 이었다. 323번 옥수수글루텐에서는 7.13 ppb의 AFB_1이 검출되었는데 이는 박류 중 최고 오염농도 수준이었다. 다른 옥수수글루텐 3점에서는 AFB_2와 AFB_1이 동시에 검출되었으며 각각의 농도는 0.35 ppb-0.42 ppb, 그리고 3.59 ppb- 6.60 ppb 수준이었다. 옥수수배아박은 5점이 오염되었으며 평균농도 1.31 ppb 수준이었다. 기타 식물성 박류 11점 중 임자박 1점에서 0.79 ppb, 분류되지 않은 박류 1점에서 0.48 ppb 농도의 AFB_1이 검출되었다.

오염된 AFB_1의 평균농도가 높은 순서는 옥수수글루텐 > 옥수수피 > 단백피 > 옥수수배아박 순으로 나타났으며 곡물류 9점과 박류 중 대두박 23점에서는 아플라톡신이 검출되지 않았다. 남은 음식물, 농축단백질, 섬유질류의 기타 단미사료에서도 아플라톡신이 검출되지 않았으며 모든 단미사료에서 AFG_1, AFG_2는 검출되지 않았다.

이탈리아의 Decastelli 등이 2004-2005년도에 조사한 바에 의하면 616점의 사료 중 8.1%에 해당하는 단미사료 44점에서 20 ppb 수준을 초과하는 아플라톡신이 검출된 것으로 나타났다.[15] 또한, 2003년도 국내에서 Kang 등이 사료 179점을 분석한 보고에서는 9점의 사료에서 7.37-10.50 ppb 수준으로 오염된 것으로 조사되었다.[16] 그리고 2005년 Beg 등의 연구에서는 쿠웨이트 단미사료 중 소맥피 24%, 대두박 47%, 옥수수 52%의 아플라톡신 오염률을 보고하였고, 이때 검출범위는 0.15-0.27 ppb 수준이었다.[12] 이 연구에서 분석된 단미사료 중 옥수수의 오염률은 위에서 보고된 여러 연구의 오염률보다 다소 높았지만 검출된 농도는 비슷하거나 조금 낮은 것으로 나타났다.

Table 3. Presence of aflatoxin B_1 in feed ingredients

	Samples		No.(%) of contaminated samples[b]		No. of smaples with AFB_1 concn of			AFB_1 concn[a] (μgkg^{-1})	
	Type	Total no.			ND[c]	LOD[d]-LOQ[e]	>LOQ	Mean±SD	Range
Bran	Danbeak-pi	7	5	(71)	2	1	4	2.88±1.65	0.60-5.73
	Soybean hull	7	1	(16)	6	1	-	0.51	-
	Wheat shorts	5	1	(20)	4	-	1	3.71	-
	Wheat bran	12	1	(8)	11	1	-	0.51	-
	Corn bran	7	5	(71)	2		5	4.46±3.12	1.88-10.46
	Others	5	-		5	-	-	-	-
Grains	Barley	1	-		1	-	-	-	-
	Wheat	5	-		5	-	-	-	-
	Soybean	3	-		3	-	-	-	-
Vegetable proteins	Soybean meal	23	-		23	-	-	-	-
	Corn gluten	21	7	(33)	14	-	7	4.69±1.79	2.35-7.13
	Corn germ meal	6	5	(83)	1	1	4	1.31±0.30	0.82-1.64
	Others	11	2	(18)	9	2[f]	-	0.64±0.15	0.48-0.79
Others	By-products of food	9	-		9	-	-	-	-
	Soyprotein concentrates	3	-		3	-	-	-	-
	Fibrous feed	13	-		13	-	-	-	-

[a] Samples with AFB_1 concentrations ≥ LOD were used for analyses.
[b] Samples with AFB_1 concentrations ≥ LOD.
[c] ND, Not detected (AFB_1 concentration in sample < 0.403 μgkg^{-1}).
[d] LOD, limit of detection.
[e] LOQ, limit of quantification (AFB_1 concentration in sample = 0.889 μgkg^{-1}).
[f] Perilla meal, and not specified.

Table 4. Presence of aflatoxin B_1 in compound feeds

Type	Samples			No.(%) of contaminated samples[b]		No. of smaples with AFB_1 concn of			AFB_1 concn[a] (μgkg^{-1})	
	Usage	Stage	Total no.			ND[c]	LOD[d]-LOQ[e]	>LOQ	Mean±SD	Range
Beef cattle	Breeding	Calves	4	3	(75)	1	2	1	1.24±1.03	0.46-3.22
		Pregnancy	27	20	(74)	7	13	7	0.97±0.72	0.43-3.79
		Lactation	2	2	(100)	-	1	1	1.14±0.44	0.70-1.58
	Fatting	Calves	11	9	(82)	2	5	4	0.93±0.33	0.49-1.43
		Finishing	23	16	(70)	7	10	6	1.00±0.73	0.52-3.65
Dairy cattle	Breeding	Calves	34	24	(71)	10	12	12	0.96±0.39	0.44-2.00
		Pregnancy	1	1	(100)	-	-	1	0.91	-
	Lactation	Drying-off	6	6	(100)	-	3	3	0.80±0.15	0.53-0.96
		High-yielding	1	-		1	-	-	-	-
		Lactation	26	18	(69)	8	9	9	0.87±0.26	0.47-1.52
Swine		Piglets	26	7	(27)	19	5	2	0.83±0.38	0.47-1.70
		Piglets over 5kg	4	-		4	-	-	-	-
	Breeding	Pregnancy	15	3	(20)	12	2	1	0.95±0.59	0.44-1.77
		Lactation	16	6	(38)	10	2	4	1.11±0.47	0.43-1.95
	Fatting	Growing	37	6	(16)	31	3	3	1.15±0.63	0.61-2.48
Poultry	Layer	Chicken	36	6	(17)	30	5	1	0.61±0.22	0.45-1.08
		Laying	31	7	(23)	24	5	2	0.82±0.72	0.43-2.54
	Broiler	Broiler	54	17	(31)	37	13	4	0.74±0.20	0.49-1.13
	Parents stock	Breeder	2	-		2	-	-	-	-
Dog		Young	7	1	(14)	6	1	-	0.63	-
		Growing	16	4	(25)	12	1	3	2.22±1.95	0.52-5.52
		Mature	9	-		9	-	-	-	-
Aqua culture		Cultivation	42	7	(17)	35	7	-	0.63±0.16	0.44-0.86
Others		Cat	6	1	(17)	5	-	1	1.24	-
		Fibrous feed	2	2	(100)	-	1	1	0.98±0.17	0.81-1.15
		Duck	4	1	(25)	3	-	1	1.03	-
		Sheep	1	1	(100)	-	-	1	1.48	-
		Rabbit	1	-		1	-	-	-	-
		Mouse	1	-		1	-	-	-	-

[a] Samples with AFB_1 concentrations ≥ LOD were used for analyses.
[b] Samples with AFB_1 concentrations ≥ LOD.
[c] ND, Not detected (AFB_1 concentration in sample < 0.403 μgkg^{-1}).
[d] LOD, limit of detection.
[e] LOQ, limit of quantification (AFB_1 concentration in sample = 0.889 μgkg^{-1}).

배합사료에서의 아플라톡신오염도

고기소 사료 69점 중 52점(75%)의 사료가 AFB_1에 오염되었고 평균농도는 1.01 ppb 수준이었다(Table 4). 고기소 번식용 사료의 경우에는 평균 1.03 ppb의 오염을 나타내었으며, 비육용의 경우는 0.97 ppb 수준으로 AFB1이 오염되어 있었다. 고기소 번식용 사료 중 임신우 사료에서는 3.79 ppb 수준의 AFB_1이 분석되었으며, 이 값은 고기소 사료에서 검출된 결과 중 제일 높은 농도이었다. 한편, 오염된 평균농도를 비교해 볼 때 번식용 송아지 사료의 평균오염농도는 1.24 ppb로 고기소 사료 중 가장 높은 오염률을 나타내었다. 임신우용 사료 1점, 번식용 중송아지 사료 1점, 큰소비육용 전기사료 1점에서는 AFB_2와 AFB_1이 동시에 검출되었으며 그 값은 각각 0.26 ppb-0.27 ppb, 3.22 ppb-3.79 ppb로 나타났다.

젖소 사료에서는 68점 중 49점(72%)의 사료에서 0.90 ppb 수준의 AFB_1이 검출되었다. 젖소 번식용 사료는 평균농도 0.96 ppb 수준으로 오염된 것으로 분석되었으며, 비육용의 경우 오염률이 0.85 ppb로 번식용 사료 보다 약간 낮은 수준이었다. 한편, 젖소 중 큰송아지 사료에서 2.00 ppb의 AFB_1이 검출되어 젖소 사료 중 가장 높은 오

염정도를 보였다. 원유를 생산하는 젖소에게 급여하는 비유기 젖소 사료의 경우는 AFB_1의 평균오염도가 0.87 ppb 정도로 분석되었다. 비유초기젖소 사료에서는 1.52 ppb의 AFB_1이 검출되어 비유용 사료 중 최고농도를 나타내었으나 허용기준치의 10분의 1 수준이었다. 젖소 큰송아지 사료 1점에서는 AFB_2와 AFB_1이 동시에 검출되었으며 각각의 농도는 0.30 ppb, 2.00 ppb로 나타났다.

돼지 사료를 분석시 98점 중 22점(22%)의 사료에서 평균농도 1.01 ppb 수준의 AFB_1이 검출되었으며, 0.43 ppb-2.48 ppb의 오염을 나타내었다. 한편, 육성돈 후기 사료에서는 2.48 ppb 수준의 AFB_1이 검출되었으며, 돼지 사료 중 최고의 오염도를 나타내었다.

닭 사료 123점에서는 30점(24%)의 사료가 AFB_1에 오염되어 있는 것으로 나타났다. 오염의 평균농도는 0.73 ppb 수준이었으며 0.43 ppb- 2.54 ppb의 넓은 범위의 오염률을 나타내었다. 산란초기 사료에서는 2.54 ppb의 AFB_1이 검출되어 산란초기 사료가 닭 사료 중 최고의 오염도를 나타내었다. 그리고 산란초기 사료 1점에서 0.34 ppb의 AFB_2와 0.40 ppb의 AFB_1이 동시에 검출되었다. 2005년에 Beg 등이 닭 사료에서 아플라톡신의 오염도를 조사하였다. 이 연구에서 산란계 사료, 육계 초기사료 그리고 육계 말기사료에서 각각 66%, 71%, 82%의 아플라톡신 오염률이 보고되었으며, 0.21-0.48 ppb 수준의 오염농도가 분석되었다.[14] 전체적으로 닭사료에서 산란계 사료 19%, 육계사료 31%의 오염률이 분석되었으며, 이때 검출된 아플라톡신의 농도범위는 0.43-2.54 ppb로 나타났다.

한편, 개사료의 아플라톡신 오염이 다른 가축사료의 아플라톡신 오염현황과 비교하기 위하여 분석되었다. 분석된 개사료 32점 중 5점(16%)의 사료에서 평균 1.90 ppb 수준의 AFB_1이 검출되었으며, 오염된 사료의 농도범위는 0.52 ppb-5.52 ppb 이었다. 육성개 사료에서 5.52 ppb의 가장 높은 농도의 아플라톡신이 검출되었으며, 큰개 사료에서는 아플라톡신이 검출되지 않았다. 육성개 사료 1점에서도 다른 가축의 사료에서처럼 AFB_2와 AFB_1이 동시에 검출되었으며 각각의 분석농도는 0.40 ppb와 5.52 ppb이었다. 국외에서 보고된 개사료의 아플라톡신오염현황을 살펴보면, 2001년 멕시코에서 Sharma 등이 19점의 개사료 중 15점의 사료에서 평균 5 ppb의 AFB_1을 검출(79% 오염률) 하였으며, AFB_2도 5점의 사료에서 검출(26% 오염률)을 보였고 평균오염농도는 0.07 ppb 수준이었다.[17] Sharma 등의 개사료 연구결과에서는 본 실험의 오염도 조사와 비교하여 상대적으로 낮은 아플라톡신오염도가 보고되었다.

이외에도 어류용 사료 42점 중 7점(17%)의 사료가 AFB_1에 0.63 ppb 수준으로 오염되었고, 기타 배합사료 중 육성오리, 육성양, 고양이 사료에서 1.0 ppb 수준의 AFB_1이 검출되었다.

검출된 Aflatoxin의 LC/MS/MS의 확인

검출된 AFB_1의 MS/MS mass spectrum을 Fig. 4에 나타

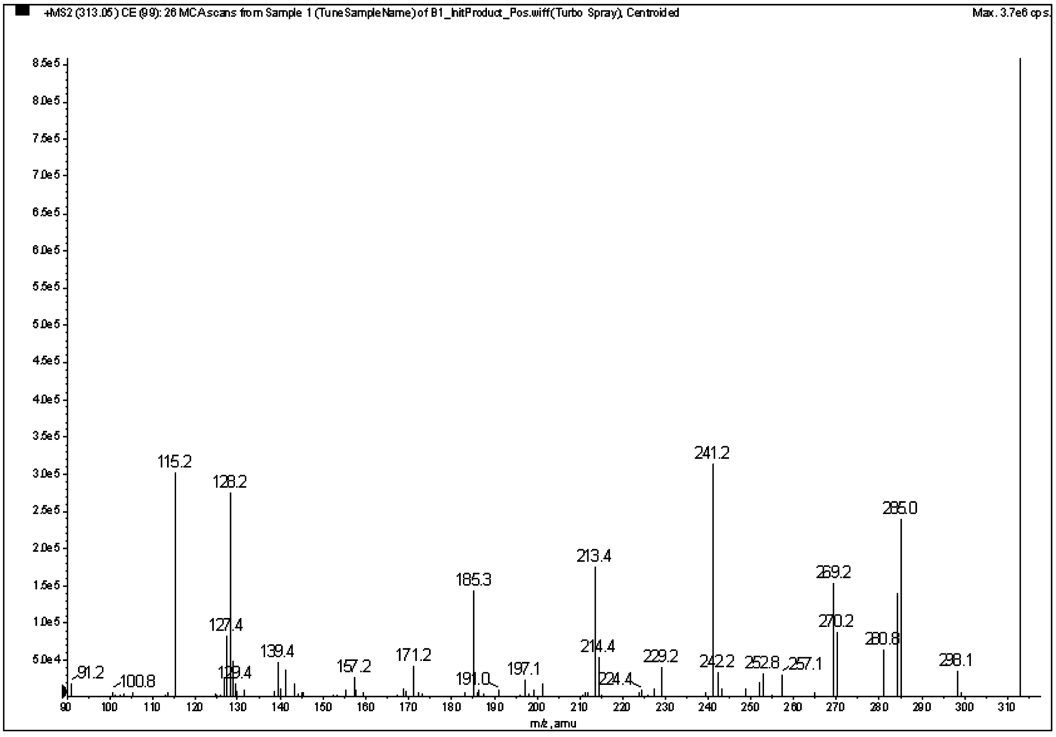

Fig. 4. Fragment ion mass spectrum of the $[M+H]^+$ ion(m/z 313) of aflatoxin B_1.

내었다. AFB_1은 *m/z* 313을 나타내었으며 이 이온화한 분자를 MS/MS 모드에서 CID를 수행하였다. 최적의 collision energy(7 eV)를 주었을 때 조각이온(*m/z* 285)이 나타났고 이 조각이온과 AFB_1(*m/z* 313)을 이용하여 MRM(Multiple Reaction Monitoring) 모드로 분석한 결과 동일한 피크가 나타났다. 이 결과로부터 시료에서 검출된 물질이 AFB_1임을 확인할 수 있었다.

요 약

2006년에서 2007년까지 국내에서 생산된 사료 중 585점(배합사료 447, 단미사료 138)의 사료에서 아플라톡신 오염도를 조사하였다. 단미사료 중 AFB_1과 AFB_2의 오염도는 각각 20%와 3%이었으며, 오염농도는 각각 0.48~10.46 ppb와 0.25-0,42 ppb로 나타났다. 배합사료에서는 AFB_1오염도가 38%로 나타났으며, 평균 0.43-5.52 ppb 수준의 검출농도로 분석되었다. 그리고 조사된 사료 중 2%의 배합사료가 0.26-0.46 ppb의 농도로 AFB_2에 오염되어 있는 것으로 나타났다. 사료의 종류별로 아플라톡신 오염을 비교 시 고기소 사료(75%)> 젖소 사료(72%) > 강피류(30%) 순으로 AFB_1이 많이 오염되어 있는 것으로 나타났으며, AFB_1 평균오염농도는 강피류(3.1 ppb)에서 가장 높았으며, 박류(2.9 ppb), 개사료(1.9 ppb) 순으로 감소되는 것으로 나타났다. 검사한 모든 시료에서 AFG_1와 AFG_2는 검출되지 않았다.

감사의 글

이 논문은 2007년도 중앙대학교 일반연구비지원에 의하여 부분적으로 지원된 것임

참고문헌

1. Sforza, S., Dall'Asta, C., and Marchelli, R.: Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*. **25**, 54-76 (2006)
2. Jaimez, J., Fente, C.A., Franco, C.M., Cepeda, A., and Vazquez, B.I.: A survey of the fungal contamination and presence of ochratoxin A and zearalenone on Spanish feed and raw materials. *J. Sci Food Agric*. **87**, 832-840 (2004)
3. Yiannikouris, A. and Jouany, J.P.: Mycotoxins in feeds and their fate in animals. *Review. Anim. Res*. **51**, 81-99 (2002).
4. Scudamore, K.A., Hetmanski M.T., Nawaz, S., Naylor, J., and Rainbird, S.: Determination of mycotoxins in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay clean-up and HPLC. *Food Add Contam*. **14**, 175-186 (1997)
5. Fink-Gremmels, J.: Mycotoxins : Their implications for human and animal health. *Vet. Qual*. **21**, 115-120 (1999)
6. 이희권, 황영희, 김민정, 김무기, 이성은, 이희선: 식품및 사료에서 발생하는 곰팡이독소의 독성 및 대사. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 45, 1, 1-10 (2002)
7. World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some naturally occurring substances: Food Items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *Int. Agency Res. Cancer Lyon*. **56**, 489-521 (1993)
8. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Worldwide regulations for mycotoxins in 2003, FAO Food and Nutrition Paper 81 (2003).
9. 이홍구: 월간사료산업. **4**, 113 (2004)
10. 농림부: 사료관리법령집. 222-231 (2005)
11. Worner, F.M., Patey, A.L., and Wood, R.: Determination of the levels of aflatoxin in peanut butter using the aflaprep immunoaffinity column clean-up procedure collaborative trial. *J. Assoc. Publ. Analysts.* **28**, 1-10, (1992)
12. Traag, W.A., Van Trijp, J.M.P., and Tuinstra, L.G.M.Th.: Sample clean-up and post-column derivatization for determination of aflatoxin B1 in feedstuffs by liquid chromatography. *Journal of Chromatography.* **396**, 389-394, (1987)
13. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF): Survey of aflatoxins and ochratoxin a in cereals and retail products. MAFF UK Food Surveillance Information Sheet. No. 130, (1997)
14. Beg, M.U., Al-Mutairi, M., Beg, K.R., Al-Mutairi, H.M., Ali, L.N., and Saeed, T.: Mycotoxins in Poultry Feed in Kuwait. Arch. Environ. *Contam. Toxicol*. **50**, 594-602 (2006).
15. Decastelli, L., Lai, J., Gramaglian, M., Monaco, A., Nachtmann, C., Oldano, F., Ruffier, M., Sezian, A., and Bandirola, C.: Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Cont.* **18**, 1263-1266, (2007)
16. 강성조, 이범준, 유환수, 전향숙, 박선자, 이광근, 심원보, 강진순, 정덕화: 곰팡이독소의 국가 안전관리체계구축을 위한 연구. 독성물질 국가관리사업연구보고서. 제2권 (2003)
17. Sharma, M. and Mrquez, C.: Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. *Animal Feed Science and Technology.* **93**, 109-114, (2001).