

식품중 총 아플라톡신의 노출량 평가

오금순* · 서정혁 · 소유섭 · 박성수¹ · 최우정² · 이종욱 · 김희연² · 우건조
식품의약품안전청 식품평가부, ¹서울지방식품의약품안전청, ²경인지방식품의약품안전청

Exposure Assessment of Total Aflatoxin in Foods

Keum Soon Oh*, Junghyuk Suh, You-Sub Sho, Seongsoo Park¹, Woo-Jeong Choi²,
Jong-Ok Lee, Hee Yun Kim², and Gun-Jo Woo

Department of Food Evaluation, Korea Food & Drug Administration

¹Seoul Regional of KFDA

²Gyeongin Regional of KFDA

Abstract A survey of total aflatoxin levels was conducted on 565 food samples (cereals, nuts, etc) collected in commercial markets. The determination of aflatoxins (B₁, B₂, G₁, and G₂) was performed using HPLC with fluorescence detector. The Limit of Detections (LODs) of the B group and G group were 0.05 ng/g and 0.07 ng/g, respectively. In addition, recoveries of rice, peanut butter, and red pepper flour were satisfactory. Total aflatoxin was detected 27 samples (4.8%) out of 565 samples. Incidence ratios in cereals, nuts, processed products, and other foods were 0.2, 0.4, 3.0 and 1.2%, respectively, but aflatoxin was not detected in pulse and dried fruits. The daily intake of total aflatoxin using food intakes was 0.04 ng/kg bw/day.

Key words: aflatoxin, incidence ratio, food intake, daily intake

서 론

곰팡이 독소는 *Aspergillus*속, *Penicillium*속 및 *Fusarium*속에 의해서 생성되는 독소이며, 이 중 아플라톡신은 *Aspergillus*속에 의해서 생성되는 독소로서 B₁, B₂, G₁, G₂가 있다. 주요 곰팡이는 *Aspergillus flavus*, *Asp. parasiticus* 등이며, 주로 곡류, 견과류, 사료 등 농산물과 그 가공품에서 광범위하게 발견되고 있다(1).

WTO 체제하에서의 자유무역의 확대로 특히, 곡류를 주식으로 하고 있는 우리나라에서는 상대적으로 아플라톡신에 노출될 가능성이 점차 증가되고 있다고 볼 수 있다. 유럽의 경우 매주 유럽연합회원국으로부터 자체 검사결과를 근거로 유럽신속경보체계를 운영하고 있는데 2005년도 전체 오염물질 중 아플라톡신의 검출비율이 상대적으로 높게 나타남에 따라 관리를 강화하고 있는 실정이며, Codex에서도 땅콩 등 견과류에 대하여 지속적으로 논의 중에 있다.

아플라톡신은 세계 각 나라별로 기준 및 규격을 설정되어 있는데 가장 독성이 강한 B₁으로서 관리하는 경우와 총 아플라톡신(B₁, B₂, G₁, 및 G₂)으로 관리하는 경우가 있다. 각국의 관리현황을 살펴보면 유럽연합(EU)에서는 땅콩, 견과류, 견과일, 곡류, 가공식품 등에 대하여 B₁으로서 2-8 µg/kg, 총 아플라톡신으로서 4-10 µg/kg을 최대기준(maximum level)으로 설정하고

있으며, 미국 식품의약품(FDA, Food and Drug Administration)에서는 브라질 너트, 식품, 땅콩, 땅콩가공품, 피스타치오 너트에 대하여 총 아플라톡신으로서 20 µg/kg의 기준을 설정하여 운용하고 있다(2,3). 국제규격위원회(Codex)에서는 비 가공 땅콩에 대하여 총 아플라톡신 15 µg/kg으로 관리하고 있다(4). 우리나라와 일본의 경우는 B₁으로서 10 µg/kg의 규격을 설정하여 관리하고 있다(5,6).

언급한 바와 같이 이들 독소가 농산물의 생육기간 및 저장, 유통 중에 생기는 곰팡이 의하여 생성되는 독소로서 열에 비교적 안정하기 때문에 조리 및 가공 후에도 분해되지 않으며, 이때 오염된 식품을 섭취한 사람이나 동물에게 여러 가지 장해를 일으키기 때문에 각국에서 관리하고 있는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 Codex 등 총 아플라톡신으로 규격을 설정 또는 검토하고 있는 국제간의 방향을 감안할 때 국내에 유통 중인 식품을 대상으로 총 아플라톡신의 규격 마련 및 안전성 확보를 위하여 오염실태 조사를 실시하였고, 한국인 평균 식이섭취량을 고려하여 1일 1인당 노출량을 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료

국내에서 시판되고 있는 견과류(157점), 곡류(97점), 두류(50점), 가공식품(84점), 건조과일류(18점) 및 기타식품(159점) 등 총 565건을 2002년 및 2005년 전국의 대도시(서울, 부산, 광주, 대전 등) 할인마트, 백화점, 재래시장 등에서 1kg 이상 구입하였으며 가루나 분말형태의 단순 가공을 거친 시료를 제외한 모든 시료는 포장단위로 분쇄기에 넣어 마쇄한 후 -20°C의 냉동상태로 보관하면서 실험에 사용하였다.

*Corresponding author: Keum Soon Oh, Department of Food Evaluation, Food Contaminants Team, Korean Food & Drug Administration, 231 Jinheung-no, Eunpyong-gu, Seoul 122-704, Korea
Tel: 82-2-380-1671
Fax: 82-2-380-1359
E-mail: puregold@kfda.go.kr
Received October 11, 2006; accepted January 25, 2006

표준품 및 시약

실험에 사용한 아플라톡신 B₁, B₂, G₁, G₂ 표준품은 Sigma사에서 구입하여 사용하였으며 acetonitrile(Merck Co., USA), methanol(Merck Co., USA), sodium chloride(Wako Co., Japan), trifluoroacetic acid(TFA, Sigma Co., USA)을 사용하였다.

표준용액 조제

아플라톡신 표준원액은 아플라톡신 B₁, B₂, G₁, G₂ 표준품을 각각 10 mg씩 달아서 acetonitrile 10 mL에 녹여 정확히 1,000 µg/mL로 하고 아플라톡신 혼합 표준용액은 각 원액 1 mL씩 분취하여 acetonitrile으로 정확히 10 mL로 희석하여 제조한 후 1, 5, 10 µg/mL의 농도가 되도록 희석하여 표준용액으로 사용하였다.

총 아플라톡신 전처리 방법

균질화한 시료 25 g을 취하여 70% methanol 용액에 1% NaCl이 포함된 용액 100 mL을 첨가한 후 20분간 진탕하여 여과지(Advantec No. 1)로 여과하여 추출액으로 하였다. 상기추출액 10 mL에 증류수 20 mL을 혼합한 용액 15 mL을 immunoaffinity column(AflaTest, Vicam Co., USA)에 부하한 후 증류수 10 mL로 2회 세척하여 건조한 다음 acetonitrile 3 mL를 첨가하여 용출하였다. 이때 immunoaffinity column은 총 아플라톡신에 대한 특별한 항체를 함유하고 있어 최대용량은 아플라톡신 B₁이 100 ng/mL 이하가 되어야 한다. 용출액을 질소로 완전히 농축시켜 TFA 200 µL와 이동상(20% acetonitrile) 800 µL를 첨가한 후 20분간 유도체화시켰다. 유도체화시킨 용액을 0.45 µm filter로 여과한 여액을 시험용액으로 사용하였다.

HPLC에 의한 정량

아플라톡신을 정량분석하기 위하여 HPLC system(Model 1100 Series, Agilent Co. USA)을 사용하였고 검출기는 Fluorescence detector(FLD, Ex. 360 nm, Em. 450 nm), column은 µ-Bondapak C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 µm), 이동상은 20% acetonitrile를 이용하여 유속을 0.5 mL/min, 시료용액 주입량은 50 µL로 하여 총 아플라톡신을 분석하였다.

회수율 검토

균질화한 쌀, 땅콩버터 및 고춧가루에 최종시험용액의 농도가 5 ng/g이 되도록 아플라톡신 혼합표준용액을 첨가하여 전처리 과정을 거친 후 분석하여 회수율을 검토하였다.

식품 중 아플라톡신 노출량 평가

본 연구에서 조사된 식품 중 총 아플라톡신의 검출량을 SPSS 통계프로그램(12.0k)을 이용하여 평균값을 산출하였으며, 각 식품별 섭취량은 '01 국민건강·영양조사 결과보고서(7)를 이용하여 한국인 평균 섭취량 및 성인 평균 체중 55 kg(8)을 사용하여 노출량을 평가하였다.

결과 및 고찰

회수율

총 아플라톡신 표준용액의 HPLC 크로마토그램은 Fig. 1과 같으며, 아플라톡신 B₁, B₂, G₁ 및 G₂에 대한 검출한계 값은 혼합 표준용액을 저 농도로 희석하면서 HPLC/FLD로 분석하여 최저값의 검출량을 구하는 방법으로 이들 총 아플라톡신의 검출한계(LOD, Limit of Detection)는 신호대 잡음비(S/N) > 3으로 볼 때

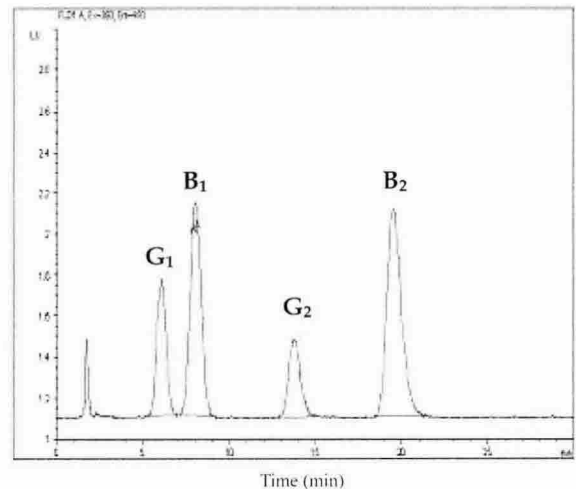


Fig. 1. HPLC chromatogram of total aflatoxin standard.

각각 B₁과 B₂는 0.05 ng/g이고, G₁과 G₂는 0.07 ng/g이다. 회수율 분석은 시료 전처리와 동일하게 immunoaffinity column을 사용한 전처리 방법을 사용하여 쌀, 땅콩버터 및 고춧가루에 아플라톡신 혼합표준용액의 최종 농도가 5 ng/g이 되도록 조정된 후 유도체화한 다음 HPLC/FLD로 분석하였다.

아플라톡신 B₁, B₂, G₁ 및 G₂에 대한 회수율은 쌀 95.5, 98.8, 102.4 및 73.2%, 땅콩버터 86.2, 85.8, 92.8 및 74.3%, 고춧가루 85.3, 81.3, 94.6 및 75.8%로 비교적 양호한 결과를 보여주었으며, 상대적으로 G₂는 낮은 회수율을 보여주었다. 이는 G₂가 immunoaffinity column의 antibody와 친화력이 상대적으로 낮기 때문이라 생각되어진다.

한편, Chan 등(9)은 옥수수가루 및 땅콩버터 등을 대상으로 본 연구와 동일하게 immunoaffinity column을 사용하여 회수율을 조사하였다. 이때 총 아플라톡신 5 ng/g 수준으로 첨가하여 회수율을 조사한 결과 73-101%의 범위를 보여주었고, 이중 G₂는 75-98%의 회수율로 본 연구결과와 같이 총 아플라톡신 중 상대적으로 낮은 회수율을 보여주었다.

식품 중 총 아플라톡신 오염도 조사

국내에서 유통 중인 곡류, 두류, 견과류, 가공식품 등 565건에 대한 총 아플라톡신(B₁, B₂, G₁, G₂)의 오염도를 조사하였으며, 혼합 표준용액의 검출한계 이하인 시료에 대해서는 불검출로 처리하였다. 식품유형별로 총 아플라톡신 검출건수 및 검출율은 Table 1과 같이 곡류 97건 중 1건, 견과류 157건 중 2건, 가공식품 84건 중 17건, 기타식품 159건 중 7건에서 아플라톡신이 검출되었으나 두류, 건조과일류에서는 검출되지 않았다. 전체 시료 565건 중 27건이 검출되어 검출율이 4.8%를 보여주었으며 이중 전체식품 대비 가공식품이 3.0%, 기타식품 1.2%, 견과류 0.4% 및 곡류 0.2%의 검출율을 보여주었다.

총 아플라톡신이 검출된 시료의 내역을 살펴보면, 곡류는 가장 1건에서 0.99 ng/g, 견과류는 2건에서 각각 0.21, 2.03 ng/g, 가공식품 중 땅콩버터 16건에서 0.09-4.00 ng/g, 된장 1건에서 0.50 ng/g, 기타식품 중 메주가루 3건에서 0.05-4.10 ng/g, 콩가루 1건에서 0.70 ng/g, 고춧가루 3건에서 0.05-0.19 ng/g이 검출되었다. 이들의 양은 현재 식품공전(5) 공통기준 및 개별기준(10 ng/g, B₁으로서)에 비해 낮았으며, 각국의 기준에 비해 상대적으로 낮은 EU의 기준보다도 낮은 수치를 보여주었다.

Table 1. Incidence rate of total aflatoxin in foods

Category	No. of sample	Positive sample	Range (ng/g)	Incidence rate (%)
Cereals	97	1	0.99 (0.01)*	0.2
Beans	50	0	0.00	0.0
Nuts	157	2	0.21-2.03 (0.02)	0.4
Processed products	84	17	0.09-4.00 (0.17)	3.0
Dried fruits	18	0	0.00	0.0
Others	159	7	0.05-4.10 (0.05)	1.2
Total	565	27	0.00-4.10 (0.06)	4.8

*Average contents of total aflatoxin in detected samples.

Table 2. Daily intake of total aflatoxin in foods consumed by the Korean population

Category	Commodity	Mean Food intake (g/person/day)	Level of total aflatoxin (ng/g)	Aflatoxin intake (ng/kg bw/day)
Cereals	Rice	215.9	0 ¹⁾	0
	Barley	4.3	0	0
	Glutinous rice	4.2	0	0
	Mixed cereals	0.7	0	0
	Brown rice	1.0	0	0
	Millet	0.1	0.098	0.0002
	Maize	0.2	0	0
Beans	Soybean	2.7	0	0
	Kidney bean	0.3	0	0
	Green peas	0.2	0	0
Nuts	Almond	0.0	0	0
	Peanut	0.4	0	0
	Walnut	0.0	0	0
	Pistachios nut	0.0	0	0
	Pine nuts	0.0	0.224	0
	Chestnut	1.3	0	0
	Mixed nuts	0.0	0	0
Processed products	Peanut butter	0.0	0.582	0
	<i>Kochujang</i>	4.3	0	0
	Popcorn	0.0	0	0
	Sweet corn	0.3	0	0
	Soybean paste	9.3	0.039	0.007
	Steam-barley	4.3	0	0
Dried fruits	Plum	0.0	0	0
	Fig	0.0	0	0
	Grape	0.0	0	0
	Mango	0.0	0	0
	Papaya	0.0	0	0
	Pineapple	0.0	0	0
Others	<i>Meju</i> flour	7.50 ²⁾	0.253	0.035
	Soybean flour	0.0	0.026	0
	Red pepper flour	1.9	0.021	0.001
	Infant formula	0.2	0	0
	Rice flour	0.0	0	0
	Corn flour	0.0	0	0
	Wheat flour	5.1	0	0
	Coffee	2.7	0	0
Total			1.243	0.043

¹⁾In determining the level, samples below the level of detection (LOD) were taken zero.

²⁾Carry-over rates of AFB₁ from *meju* to *doenjang* and *kanjang* were 80% and 3%, respectively (14).

외국의 조사 사례를 살펴보면, Candlish 등(10)은 곡류, 견과류, 견과일, 허브, 향신료 125건 중 총 아플라톡신 함량을 분석한 결과, 피스타치오 3건에서 15-259 ng/g의 범위로 검출되었고, 다른 2건의 피스타치오 시료에서는 아플라톡신이 극소량 검출되었다고 보고한 바 있으며, Abdulkadar 등(11)은 이란, 시리아, 터키, 미국 등에서 카타르로 수입된 81건 견과류 중의 총 아플라톡신 함량을 분석한 결과 피스타치오와 땅콩 19건의 시료에서 0.53-289 ng/g의 범위에서 검출되었으며, 아몬드, 캐슈넛, 호두, 헤즐넛 등에서는 아플라톡신이 검출되지 않았다고 보고한 바 있다.

Erdogan(12)은 터키에서 70건의 고춧가루 중의 아플라톡신 함량을 조사한 결과 11건의 적색 고춧가루에서 1.1-97.5 ng/g 수준으로 검출되었다고 보고한 바 있다. 그러나 본 연구에서는 땅콩 및 피스타치오 시료에서 아플라톡신이 검출되지 않았는데 이는 수출국, 수입경로, 저장기간 등 본 연구에 사용된 시료와는 여러 가지 요인이 다르기 때문인 것으로 판단된다. 또한, 고춧가루의 경우 터키에서 검출된 양보다 낮은 수준임을 알 수 있었다. 이는 생산지역의 기온, 습도 및 재배환경 등에 따라 매우 상이하기 때문에 외국의 연구결과와 직접적으로 비교하기는 어렵지만 상대적으로 안전한 것으로 보여 진다. 그러나 수입물량의 증가 및 환경변화 등 다각적인 요인 등을 고려하여 지속적으로 안전성 관리 조사가 이루어져야 할 것으로 생각되어진다.

한편, Zinedine 등(13)은 모로코에서 상업적으로 유통되고 있는 향신료 총 41건(후추 15건, 파프리카 14건, 생강 12건)을 대상으로 아플라톡신 B₁을 조사한 결과 후추 0.09 ng/g, 파프리카 2.88 ng/g 및 생강 0.63 ng/g이 검출되었다고 보고하였다.

식품 중 총 아플라톡신의 노출량 평가

본 연구에서 조사된 식품 중 총 아플라톡신 함량에 대한 1일 섭취량을 평가하기 위하여 '01 국민건강·영양조사 결과보고서(7)를 근거로 하여 식품의 1인 1일당 섭취량(평균값)을 조사한 다음 식품 중의 총 아플라톡신 검출함량을 곱하고 성인 평균 체중인 55 kg으로 나누어 식품 중 총 아플라톡신의 1일 1인당 평균 섭취량을 구한 결과는 Table 2와 같다. 아플라톡신의 함량(ng/g)과 1일 섭취량(g/day)이 불검출 또는 "0.0"으로 표시된 데이터는 "0"으로 계산하였으며, 메주가루는 된장의 원재료가 되는 점을 감안하여 된장의 평균섭취량의 80%를 메주섭취량으로 환산하여 계산하였다(14).

본 연구에서 조사한 총 아플라톡신의 1일 1인당 평균섭취량은 0.04 ng/kg bw/day 이었는데, 외국의 경우 총 아플라톡신의 1일 1인당 섭취량은 호주 0.15 ng/kg bw/day, 스웨덴 0.80 ng/kg bw/day, 미국 0.26 ng/kg bw/day으로 보고(15,16)된 바 있으며, EU(17)는 아플라톡신 B₁에 대한 1일 섭취량이 0.03-1.28 ng/kg bw/day이었다고 보고한 바 있는데 본 연구에서 조사된 1일 1인당 평균섭취량이 다른 국가들에 비해 상대적으로 낮은 것을 볼 수 있었다. 이는 유럽으로 수출되고 있는 이란 및 브라질 산 견과류 등에서 아플라톡신이 빈번히 검출되고 있는 반면 우리나라의 경우 이들 국가들로부터의 수입량이 상대적으로 적어 검출빈도가 다소 낮음을 알 수 있다. 참고로, 유럽신속경보체계(RASFF: Rapid Alert System for Food and Feed)는 EU 가입국가들이 자국에 유통된 식품이나 사전통과 검사를 통해서 경보 및 정보를 각 국가들이 공유하는 system으로서 매주 정보를 제공하고 있다. 2005년도 자료를 살펴보면 아플라톡신 경보대상 중 1/2 이상을 차지할 정도로 많이 검출되고 있으며 그 기여식품으로는 견과류가 월등히 높게 나타났다(18). 이러한 이유 때문에 EU의 아플라톡신 1일 섭취량이 상대적으로 높은 것으로 생각되어진다.

요 약

HPLC/FLD를 이용하여 곡류, 견과류 등 총 565건을 대상으로 총 아플라톡신 함량을 조사하여 노출량을 평가하였다. B와 G 그룹의 검출한계는 각각 0.05, 0.07 ng/g이었고, 쌀, 땅콩버터 및 고춧가루에 대한 아플라톡신(B₁, B₂, G₁ 및 G₂)의 회수율은 양호한 수준이었다. 총 아플라톡신은 전체 시료 565건 중 27건(4.77%)이 검출되었으며, 검출빈도는 곡류 0.17%, 견과류 0.35%, 가공식품 3.01%, 기타식품 1.24%을 보여주었고, 두류 및 견조과일류는 검출되지 않았다. 식이섭취량을 고려한 총 아플라톡신의 1일 1인당 평균섭취량은 0.04 ng/kg bw/day이었다.

문 헌

1. IARC. Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans (Lyon: IARC). Vol. 82, p. 171 (2002)
2. European Commission. Commission Regulation. Available from: http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/2001/en_2001R0466_do_001.pdf. Accessed Dec. 12, 2005.
3. Food and Drug Administration. Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed. Available from: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fdaact.html#afla>. Accessed Dec. 7, 2005.
4. Codex. Maximum level and sampling plan for total aflatoxins in peanuts intended for further processing. Available from: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/335/CXS_209e.pdf. Accessed Mar. 6, 2006.
5. Food and Drug Administration. Food code. Korea Food Industry Association, Namhyung-Munhwa, Seoul, Korea. p. 152 (2005)
6. Ministry of Health Labour and Welfare of Japan. Available from: <http://www.mhlw.go.jp/index.html>. Accessed Feb. 23, 2006
7. Ministry of Health and Welfare. Report on 2001 National Health and Nutrition Survey I. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea (2003)
8. Lee MC, Hong MG, Park KS, Choi DM, Lim MH, Lee SR. Procedures in establishing residue limits of pesticides on food crops in Korea. Korean J. Food Sci. 37:685-694 (2005)
9. Chan D, MacDonald SJ, Boughtflower V, Brereton P. Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in food using a fully automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography-fluorescence detector. J. Chromatogr. A 1059: 13-16 (2004)
10. Candlish AAG, Pearson SM, Aidoo KE, Smith JE, Kelly B, Irvine H. A survey of ethnic foods for microbial quality and aflatoxin content. Food Addit. Contam. 18: 129-136 (2001)
11. Abdulkadar AHW, Al-Ali A, Al-Jedah J. Aflatoxin contamination in edible nuts imported in Qatar. Food Control 11: 157-160 (2000)
12. Erdogan A. The aflatoxin contamination of some pepper types sold in Turkey. Chemosphere 56: 321-325 (2004)
13. Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C, Debegnach F, Angelini S, De Santis B, Faïd M, Benlemlih M, Minardi V, Miraglia M. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. Food Control 17: 868-874 (2006)
14. Park JW, Kim EK, Kim YB. Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B₁ through food consumption. Food Addit. Contam. 21: 70-75 (2004)
15. JECFA. Forty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants in Food: Aflatoxins. WHO Food Additives Series, 40 (Geneva: WHO), pp. 359-469 (1998)
16. Thuvander A, Möller T, Enghardt Barbieri H, Jansson A, Salomonsson C, Olsen M. Dietary intake of some important mycotoxins by the Swedish population. Food Addit. Contam. 18: 696-706 (2001)
17. International Programme on Chemical Safety World Health Organization. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (Aflatoxins). Available from: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v040je16.htm>. Accessed Feb. 20, 2005.
18. European Commission, Rapid Alert System Food and Feed. Available from: http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/index_en.htm. Accessed Dec. 30, 2005.