

## **Mycotoxin을 중심으로 한 전통식품의 위생학적 연구**

정 덕 화

경상대학교 식품공학과

### **Hygienic Study of Traditional Foodstuffs Subjected to the Mycotoxin**

**Duck-Hwa Chung**

*Department of Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea*

#### **ABSTRACT**

Certain Fungi including *Aspergillus flavus* produce low molecular secondary metabolite that is toxic to human and animals, which have been termed mycotoxin. Given the proper humidity and temperature like summer in Korea, are capable of growing of those hazard fungi and elaborating mycotoxin on almost any organic substrate such as traditional foodstuffs and their raw materials including rice, barley, corn, meju, doenjang and gochujang etc.

Until now, some people have examined to isolate various fungi such as *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Fusarium* sp. from traditional foodstuffs and raw materials, and have screened various mycotoxin producing strains. Some mycotoxin contamination such as aflatoxin, ochratoxin, deoxynivalenol(DON) and zearalenone etc. also have been confirmed from similar above samples. But these data are different each other and inconsistent in experimental conditions and methods. Especially, almost experiments have been finished for one time. So more consistent experimental method and data are necessary to evaluate objectively the safety of traditional foodstuffs subjected to the mycotoxin.

For this purpose, we have to apply a new advanced technology to develop more simple and rapid methods for determination of mycotoxin and also have to concentrate our efforts on activation of research and accumulation of technology with sustaining investment of financial support and enlargement of research installation. With those harmonious efforts, it should be possible to examine continuously and systematically the mycotoxin contamination in our traditional foodstuffs and to assure the safety of them. Then we can maintain and develop the better traditional foodstuffs suited to internationalization.

---

Key words: *Aspergillus flavus*, Traditional foodstuffs, Mycotoxin.

## I. 서 론

식품의 안전성을 위협하는 요소로는 미생물오염, 농약, 중금속 등의 화학물질오염, 공장폐수나 생활하수에 의한 환경오염 등을 들 수 있으며<sup>1-2)</sup> 그 중에서도 미생물오염은 *Salmonella*, *Botulinus*, *Listeria* 등의 각종 식중독균에 의한 오염<sup>3-5)</sup>과 *Aspergillus*속, *Penicillium*속, *Fusarium*속 곰팡이 중에서 특정한 유해곰팡이가 생성하는 mycotoxin의 식품에의 오염으로 인해 생기는 문제를 들 수가 있다<sup>6)</sup>.

곰팡이독소에 오염될 가능성이 있는 식품을 살펴보면 곰팡이에 오염된 곡류나 종자 과일, 채소 등의 농산물이나 동물의 사료뿐만 아니라 우유, 유제품, 육고기 등의 동물조직이나 육가공품에도 잔류할 수 있고<sup>7-9)</sup> 메주, 고추장, 된장, 치즈 및 발효육가공품과 같이 곰팡이를 이용한 발효관련식품을 들 수 있다. 따라서 곡류를 원료로 한 발효식품을 상용하고 있는 우리들의 경우 전통식품재료로 사용되는 쌀, 보리, 콩 등은 수확후 처리과정 뿐만 아니라 운송, 저장기간동안 미생물의 오염을 피할 수가 없으며 특히 전통발효식품의 중요한 부재료인 누룩, 메주 등은 천염미생물 즉, 세균, 효모, 곰팡이의 번식과 함께 유해미생물의 오염을 배제하기가 매우 어렵다.

따라서 특히 *Aspergillus oryzae* 등의 국균과 형태학적으로 유사한 *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* 등의 오염으로 발생될 수 있는 mycotoxin 문제점을 생각하지 않을 수 없다<sup>10-11)</sup>. 이들 유해곰팡이가 생성하는 mycotoxin을 살펴보면 *Aspergillus*속 곰팡이가 생성하는 mycotoxin으로는 aflatoxin, sterigmatocystin, ochratoxin, versicolorin 등이 있으며, *Penicillium*속 곰팡이는 patulin, citrinin, citreoviridin, rubratoxin, islanditoxin, penicillic acid 등을 생성한다. 또한 *Fusarium*속 곰팡이가 생성하는 것으로는 T-2 toxin, nivalenol, fusarenoe-X, deoxynivalenol(DON:vomitoxin) 등의 trichothecene류와 zearalenone 등이 있으며 기타 유해곰팡이가 생성하는 mycotoxin으로는 viridiol류, sporidesmin 등이 있으며 slaframine, oosponol 등이 있는데 그 중 대표적인 mycotoxin의 독성과 오염이 확인된 식품을 정리해보면 Table 1과 같다.

Mycotoxin 중에서도 전통식품에서 논란의 대상이 되고있는 aflatoxin B1은 Fig. 1과 같은 기작에 의해 생체내에서 DNA의 guanyl과 결합하여 aflatoxin-DNA adduct와 같은 발암원인물질을 생성하므로서 다른 물질에 비해 발암성이 강력한 것으로 알려져 외국에서는 많은 연구가 되어있다<sup>13-17)</sup>. 우리나라에서도 1968년 전주 예수병원의 Seel박사가

**Table 1.** Summary of naturally-occurring fungal toxins from various samples<sup>12)</sup>

| Group              | Toxic manifestations  | Occurrence  |
|--------------------|---|---|
| Aflatoxins         | Hepatotoxic, hepatocarcinogenic, teratogenic  | Corn, peanuts, cottonseed, rice, treenuts, sorghum, dairy products. |
| Citrinin           | Nephroxic   | Barley, wheat, oats   |
| Cyclopiazonic acid | Necrosis of G I tract, hepatotoxic  | Corn, peanuts, cheese   |
| Ergot alkaloids    | Convulsions;vasoconstriction, necrosis of extremities   | Rye, cereal grains  |
| Ochratoxins        | Nephroxic, teratogenic, carcinogenic, immunotoxic   | Barley, corn, oats, rye   |
| Patulin            | Stomach lesions   | Apple products  |
| Penicillic acid    | Acute toxicity, carcinogenic  | Corn, beans   |
| Sterigmatocystin   | Hepatotoxic, Hepatocarcinogenic   | Wheat, barley, rice, green coffee bean                              |
| Trichothecenes     | Feed refusal, emesis, reduced weight gain, necrosis of G I tract, immunotoxicity, immunoglobulin A, nephropathy | Corn, wheat   |
| Zearalenone        | Hyperestrogenism, infertility, abortion, carcinogenic   | Corn, wheat, moldy hay  |

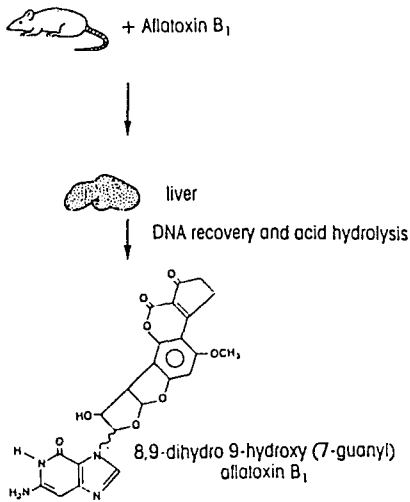


Fig. 1. Procedure of DNA-aflatoxin B<sub>1</sub> adducts from mouse liver<sup>15)</sup>.

한국인의 암발생과 간장, 된장 중의 aflatoxin과 관련이 있을 가능성을 제시<sup>18)</sup>한 이래 한국전통식품에서의 aflatoxin 존재 유무에 관한 논란이 계속되어 오고 있으나 아직도 체계적인 연구가 부족한 실정이다<sup>19-22)</sup>. 이러한 실정을 감안하여 본보에서는 전통식품 및 그 재료와 관련하여 진행되어온 aflatoxin을 포함한 각종 mycotoxin의 연구결과를 종합하여 전통식품의 위생학적 측면을 생각해 보고자 한다.

## II. Mycotoxin생성 곰팡이의 출현

전통식품은 탄수화물이 많이 함유된 쌀, 보리, 콩, 옥수수등을 재료로 *Asp. oryzae*, *Asp. usami*, *Asp. kawachii*, *Asp. awamuri* 등의 유용 곰팡이와, *Saccharomyces crevisiae* 등의 효모, *Bacillus natto*, *Lactobacillus bulgaricus* 등의 각종 세균을 부분적으로 활용하여 생산하고 있다. 따라서 이러한 전통식품재료의 경작, 수확, 가공 및 저장 과정 중에 탄수화물을 기질로 생육이 가능한 유해 미생물의 오염을 배제할 수 없으며 *Asp. flavus* 등의 유해곰팡이의 경우 여름에 고온다습하고 낮과 밤의 기온차가 심한

우리나라의 독특한 기후조건을 고려할 때 각종 mycotoxin의 오염가능성을 예측할 수 있다.

일찌기 본 연구자도 각종 전통식품을 포함한 농산물에 *Asp. flavus* 등의 유해곰팡이의 오염여부를 알아보기 위해 진주를 비롯한 진양군, 사천군, 함안군 등의 서부경남 일원에서 수집한 토양, 과일, 변질미, 대두, 땅콩, 기타 농산물 및 발효식품 등의 균원시료 367점으로부터 aflatoxin 생성균주의 검색을 광범위하게 하였다. 균의 분리에 있어서는 먼저 균원시료의 균을 GPA 평판배지에 분리배양한 후 *Aspergillus* 속으로 추정되는 동일 종류의 colony만을 취하고 순수분리하여 783종의 곰팡이를 얻었다.

이들 균주의 배양액을 전처리한 다음 TLC법에 의해 전개한 Rf값으로 보아 aflatoxin과 유사한 형광물질을 생성하는 균주를 검색하였다. 그 결과 783주의 시험균주 중 16주만이 형광물질을 생성하였고, 특히 변질미에서 분리한 균에서 형광물질이 많이 나타났으며(R-96, R-602, R-628, R-642, R-716), 그 중 R-716은 가장 뚜렷한 형광성 spot을 나타냈다. 또한 땅콩에서 분리된 P-507 역시 R-716 못지않게 형광물질 생성능이 크게 나타났고, 그외 토양 및 대두에서 분리된 S-127, B-821에서도 상당한 형광성물질을 관찰할 수 있었다.

분리한 16균주의 aflatoxin 생성량을 HPLC법으로 정량한 결과 Table 2에서 보는 바와같이 P-507과 R-716 균주는 각각 1163.42, 1606.425 $\mu$ g/30g의 aflatoxin을 생성하였고 그의 R-96, S-127 및 B-821의 배양물에서 생성이 확인되었다. 그러나 P-241, F-510, B-594 및 R-602균주 등을 비롯한 나머지 균주에서는 aflatoxin 생성이 확인되지 않았다. aflatoxin의 생성이 확인되지 않은 이들 균주에서는 TLC상에 나타났던 형광물질은 aflatoxin 이외의 다른 물질에 기인하는 것이지만 어떤것인지는 확인할 수 없었다. 김 등<sup>19)</sup>도 메주에서 aflatoxin 검출시 aflatoxin B<sub>1</sub>과 유사한 형광물질을 chloroform:acetone 용매로 column chromatography한 결과 aflatoxin과 동일물질이 아님을 확인한 바 있다.

강 등<sup>23)</sup>도 메주, 된장, 간장 등의 30점의 시료로부터 222균주의 곰팡이를 분리한 ochratoxin A 생성균주를 검색한 결과 Table 3에서와 같이 메주에서

**Table 2.** Comparisons of aflatoxin productivities of strains on rice medium by HPLC (unit ;  $\mu\text{g}/30\text{g}$ )

| Strain No. | Aflatoxin      |                |                |                |         |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|
|            | B <sub>1</sub> | B <sub>2</sub> | G <sub>1</sub> | G <sub>2</sub> | Total   |
| R-96       | 23.62          | 1.86           | 9.25           | —              | 34.73   |
| S-127      | 162.75         | —              | 83.26          | 2.75           | 248.76  |
| P-241      | —              | —              | —              | —              | —       |
| S-322      | —              | —              | —              | —              | —       |
| O-323      | —              | 2.76           | 1.14           | —              | —       |
| F-325      | 4.26           | —              | 2.04           | —              | —       |
| P-507      | 596.14         | 11.38          | 536.42         | 36.48          | 1163.42 |
| F-510      | —              | —              | —              | —              | —       |
| P-533      | —              | —              | —              | —              | —       |
| O-547      | —              | —              | 2.01           | 0.83           | —       |
| R-602      | —              | —              | —              | —              | —       |
| R-628      | 2.65           | —              | —              | —              | —       |
| R-642      | —              | —              | —              | —              | —       |
| R-716      | 834.61         | 62.27          | 608.46         | 101.11         | 1606.45 |
| B-821      | 12.56          | —              | 6.95           | 2.34           | 21.85   |

**Table 3.** Ochratoxin A producing fungal isolates from various Korean traditional soybean fermented food-stuffs<sup>23)</sup>

| Foodstuffs | Sample No. | Number of fungal collected | Number fungi producing OTA |
|------------|------------|----------------------------|----------------------------|
| Meju       | 10         | 83                         | 16 / 83(19.27%)            |
| Doenjang   | 10         | 71                         | 13 / 71(18.30%)            |
| Kangjang   | 10         | 68                         | 10 / 68(14.70%)            |
| Total      | 30         | 222                        | 39 / 222(17.5%)            |

16균주를 포함하여 모두 39균주의 ochratoxin 생성 곰팡이를 분리함으로써 발효식품을 포함한 농산물에 유해곰팡이의 오염을 확인한 바 있다.

최근 김 등<sup>24)</sup>은 서부경남에서 수집한 쌀, 보리, 콩, 메주 등 215개의 시료에서 *Fusarium*속으로 인정되는 곰팡이 129 균주를 분리한 다음 이들의 vomitoxin 생성능을 TLC법과 HPLC법으로 분석하였다. 그 결과 Table 4에서 나타난 바와 같이 TLC법에 의한 정성시험 결과에서는 25 균주가 vomitoxin 유사물질을 생성하는 것으로 나타났으나 HPLC법으로 정량분석한 결과 10 균주만이 vomitoxin을 생성하는 것으로 확인하였다.

이상의 mycotoxin 이외에도 sterigmatocystin<sup>25)</sup>, patulin<sup>26)</sup>, citrinin<sup>27)</sup>, T-2 toxin<sup>28)</sup>, zearalenone<sup>29-41)</sup> 등을 생성하는 유해곰팡이의 검색이 이루어져 일부 시료에서 이들 mycotoxin 생성곰팡이가 오염

되어 있음이 보고되었다. 이러한 결과로 미루어 보아 전통식품 자체에서의 mycotoxin 오염여부에 관한 체계적이고 지속적인 검색이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

### III. 전통식품과 Mycotoxin

앞서의 결과와 같이 식품재료에서 aflatoxin을 비롯한 각종 mycotoxin 생성균이 검색됨에 따라 이들 원료나 전통식품자체의 mycotoxin 잔류여부에 대한 실험<sup>32-34)</sup>이 수행되었다. 일찌기 김 등<sup>20)</sup>은 전국 주요 도시의 가정에서 메주 54점과 재래식 된장 125점을 수집하여 aflatoxin을 검색한 결과 Table 5와 같이 메주에서는 7.4%, 된장에서는 8.8%의 빈도로 검출되었으며, 이들은 모두 영남지역의 시료에서만 검출되었다. Aflatoxin이 가장 많이 검출된 것은 부

**Table 4.** The distribution of *Fusarium* spp. separated from 10kinds of samples and vomitoxin-producing strains screened by TLC and HPLC<sup>24)</sup>

| Source of isolated strains | No. of samples | No. of isolants | No. of vomitoxin producing-strains |      |
|----------------------------|----------------|-----------------|------------------------------------|------|
|                            |                |                 | TLC                                | HPLC |
| Rice                       | 23             | 15              | 1                                  | 1    |
| Meju                       | 22             | 11              | 4                                  | 1    |
| Corn                       | 19             | 9               | 1                                  | 1    |
| Barley                     | 21             | 6               | 1                                  | —    |
| Soil                       | 25             | 21              | 4                                  | 1    |
| Peanut                     | 27             | 18              | 4                                  | 1    |
| Fruits                     | 25             | 13              | 4                                  | 2    |
| Soybean                    | 28             | 20              | 3                                  | 1    |
| Unhulled barley            | 15             | 5               | 2                                  | 1    |
| Unhulled rice              | 10             | 11              | 1                                  | 1    |
| Total                      | 215            | 129             | 25                                 | 10   |

**Table 5.** Detection of aflatoxins in Korean fermented soy foods by HPLC<sup>20)</sup>

| Location(city)      | Meju        | Doenjang     |
|---------------------|-------------|--------------|
| Seoul               | 0/20        | 0/40         |
| Chuncheon           | 0/1         | 0/9          |
| Daejeon             | —           | 0/8          |
| Jeonju              | —           | 0/8          |
| Kwangju             | —           | 0/10         |
| Jeju                | —           | 0/10         |
| Daegu               | 0/16        | 6/20         |
| Pusan               | 4/17        | 5/20         |
| Total (% Frequency) | 4/54 (7.4%) | 8/125 (8.8%) |

산 지역에서의 된장 시료에서 B<sub>1</sub> 66ppb, B<sub>2</sub> 13ppb,

G<sub>1</sub> 불검출, G<sub>2</sub> 5ppb로서 총량 84ppb였다. 이와 같이 검출된 aflatoxin B<sub>1</sub>은 순수 분리한 후 이화학적 및 생물화학적 방법에 의하여 동정하였으며, 우리나라에서는 유일하게 aflatoxin에 대한 확인시험을 수행한 연구라고 볼 수 있다.

또한 전통식품이나 재료 자체에서 aflatoxin 이외의 mycotoxin의 오염에 관한 보고도 발표되었다. 이 등<sup>36)</sup>은 *Fusarium*속 곰팡이가 생성하는 mycotoxin의 일종인 deoxynivalenol (DON), nivalenol 등의 trichothecene과 zearalenone의 오염 여부를 강원지방의 옥수수 시료를 기기분석한 결과 Table 6에서 보는 바와 같이 DON은 65.2%의 시료에서 29~2752ng/g의 수준으로 확인되었고, nivalenol

**Table 6.** Natural occurrence of trichothecenes and ZEA in corn from Kangwon pvince<sup>35)</sup>

| Mycotoxin <sup>a</sup> | No(%) of positive | Mean(range) level(ng/g) in positive |
|------------------------|-------------------|-------------------------------------|
| DON                    | 30(65.2)          | 310(29~2752)                        |
| 3-ADON                 | 0( 0.0)           | ND <sup>b</sup>                     |
| 15-ADON                | 12(26.1)          | 297(22~1726)                        |
| 3,15-ADON              | 0( 0.0)           | ND                                  |
| NIV                    | 16(34.8)          | 77( 6~ 366)                         |
| 4-ANIV                 | 5(10.9)           | 55(23~ 139)                         |
| 4,15-DANIV             | 7(15.2)           | 29(17~ 51)                          |
| ZEA                    | 8(17.4)           | 151( 4~ 388)                        |

<sup>a</sup> The trichothecenes were quantified by GC-MS with selected ion monitoring and ZEA was quantified by HPLC with a fluorescence

<sup>b</sup> ND, not detected

은 34.8%가 6~366ng/g, 그리고 zearalenone은 17.4%의 시료에서 평균 151ng/g 수준으로 각각 잔류하는 것을 확인하였다.

최근 정 등<sup>36)</sup>은 종래의 기기분석법이 아닌 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)법을 응용하여 재료 중 aflatoxin을 검색한 결과 65점의 쌀시료에서 3점의 양성시료를 확인하였고 그중 가장 높은 함량이 7.5ng/g임을 밝힌바 있다.

그러나 일련의 실험들은 시료수집을 포함한 실험 방법과 실험조건이 다양할 뿐만 아니라 지속적이지 못하고 일과성에 끝나므로서 우리 전통식품에 어떤 mycotoxin이 얼마만큼의 수준으로 오염되어 있는지를 정확히 규명하기가 어렵다. 한편 전통식품에 대한 mycotoxin 오염여부와 관련한 또다른 접근으로는 장류를 비롯한 발효식품 중에 mycotoxin을 파괴시키는 어떤 성분이 존재할 수 있다는 견해로서 박 등<sup>37)</sup>은 간장 저장 중 암모니아와 pH가 aflatoxin B<sub>1</sub>의 파괴에 미치는 영향을 검토하였는데 그 결과 Table 7과 같이 0.1% 및 0.5% 암모니아 용액에서 aflatoxin B<sub>1</sub>은 30℃에서 저장 하루만에 완전히 파괴되었다고 밝혔다. 그리고 pH 5, 7, 9, 10, 11의 완충용액에서 aflatoxin B<sub>1</sub>의 파괴효과는 pH 5와 7에서는 안정하였지만 pH 9 이상에서는 검출되지 않았다. 또한 박 등<sup>38)</sup>은 간장에서 분리한 갈색물질이

model system에서 aflatoxin B<sub>1</sub>을 pH 7의 완충용액에서 2일동안 30℃에서 반응시킨 결과 60% 이상의 aflatoxin이 파괴되었다고 하였다. 또한 된장과 간장 제조과정에서 숙성기간 중 소량의 숯(전체부피의 1/50)을 띄운 시료는 숯을 안띄운 시료보다 훨씬 많은 양의 aflatoxin B<sub>1</sub>이 파괴되어 발효식품의 mycotoxin에 대한 안전성이 있음을 제시하였다. 이와 비슷한 실험으로는 배주를 천연 발효시킨 후 쥐에게 먹었던 바 PER(protein efficiency ratio)가 현저하게 떨어졌으며 동시에 쥐들이 죽기도 하였으나 숙성과정을 거친 된장과 간장은 PER도 증가하였으며 죽은 쥐도 없었다고 하였다. 이 실험결과를 기초로 재래식 된장, 간장 제조시 aflatoxin의 생성 및 파괴 가능성을 검토하기 위하여 *Aspergillus parasiticus*를 단독배양하거나 *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus oryzae* 및 *Bacillus subtilis*를 메주에 혼합배양하여 aflatoxin의 생성을 확인하고 이들을 물 또는 소금물에 각각 숙성시킨 후 파괴 정도를 밝힌 바 있다<sup>39)</sup>.

정 등<sup>40)</sup>도 aflatoxin 생성균주인 *Aspergillus flavus*와 발효식품에서 흔히 분리되는 *Aspergillus niger*를 혼합배양한 결과 Table 8과 같이 배양 8일째 *Asp. flavus*의 aflatoxin 생성이 98%이상 감소되어 3.9 µg/ml의 함량을 보여 전통식품제조시 mycotoxin

**Table 7.** Degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> in the presence of different concentration of ammonia during incubation at 30℃<sup>37)</sup>

| Incubation time<br>(hrs) | Aflatoxin B <sub>1</sub> stability(%) |            |          |          |          |
|--------------------------|---------------------------------------|------------|----------|----------|----------|
|                          | NH <sub>3</sub> (%)                   | 0          | 0.05     | 0.1      | 0.5      |
| 2                        |                                       | 100.0±0.30 | 4.5±0.78 | 2.5±0.10 | 3.0±0.04 |
| 4                        |                                       | 99.8±0.01  | 2.4±0.12 | 1.2±0.00 | 1.1±0.02 |
| 6                        |                                       | 99.2±0.20  | 3.4±0.15 | 0.9±0.00 | 0.9±0.00 |
| 24                       |                                       | 100.0±0.00 | ND       | ND       | ND       |

**Table 8.** Comparison of aflatoxin production during incubation of used strains at 30℃ for 14days<sup>40)</sup>

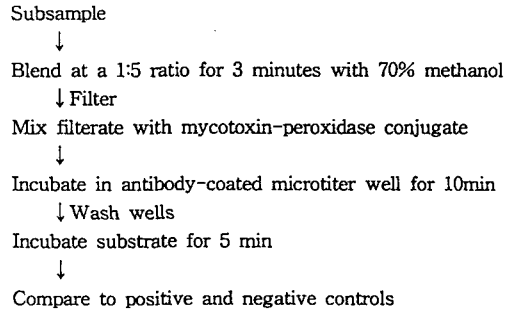
(unit: µg/ml broth)

| Strains              | Media | Days<br>Vessels | Days |       |       |       |       |       |       |
|----------------------|-------|-----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                      |       |                 | 2    | 4     | 6     | 8     | 10    | 12    | 14    |
| <i>Asp. flavus</i>   | YES   | test tube       | 78.0 | 137.0 | 185.0 | 196.0 | 192.0 | 175.0 | 163.0 |
|                      | SLS   | -               | 21.0 | 131.0 | 131.0 | 136.0 | 142.0 | 118.0 | 102.0 |
| <i>Asp. niger</i>    | YES   | -               | 4.8  | 6.3   | 6.3   | 3.9   | 2.6   | 2.7   | 2.1   |
| + <i>Asp. flavus</i> | SLS   | -               | 5.4  | 2.7   | 2.7   | 2.6   | 1.7   | 2.1   | 2.0   |

생성균이 오염되었다해도 기존의 균과 경쟁적으로 성장함으로써 mycotoxin의 생성이 급격히 저해되므로 전통식품의 오염정도가 감소할 것으로 보고한 바 있다. 그러나 이러한 결과를 이론적으로 뒷받침하기 위해 보다 지속적이고 체계적인 연구가 이루어지고 관련 연구자료가 축적되어야 할 것으로 사료되는 바이다.

이와같이 전통식품에서의 mycotoxin과 관련된 연구가 부족한 원인의 하나로 mycotoxin 분석기술의 미비점을 지적하지 않을 수 없다. 종래 mycotoxin 분석에 의존해 왔던 TLC, HPLC법은 Table 9에서 보는 바와 같이 추출과 정제에 많은 시간과 유기용매가 소비되고 넓은 공간, 많은 기구 그리고 전문인력을 필요로 하여 경제성이 낮을 뿐만 아니라 처리 과정에서 수반되는 안전성 문제가 심각하게 제기되어왔다<sup>41~42)</sup>. 이를 극복하기 위한 노력으로 면역분석법이 식품 중 mycotoxin 분석에 응용되었다.

지금까지 mycotoxin 분석에 활용한 RIA법과 ELISA법으로서, 전자의 경우는 폐기물의 안전성이 문제되어 ELISA법으로 대체되었으며 ELISA법 가운데서도 Fig. 2에서 보는 바와 같이 실험과정이 단순하여 신속 정확한 mycotoxin 측정이 가능한 competitive direct ELISA법이 효과적인 방법으로 보고되어 있다<sup>43)</sup>. ELISA법은 항체의 종류와 특성, 그리고 분석법과 반응조건의 최적화 등에 따라 mycotoxin의 검출범위를 picogram까지 낮추는 것이 가능하며 이는 대부분의 식품시료를 분석전에 시



**Fig. 2.** Analysis of mycotoxin by competitive direct ELISA<sup>43)</sup>.

간과 노력을 절약할 수 있는 간단한 처리만으로도 정확한 분석을 얻을 수 있게 해 줄 것이다. 비록 감도 높은 항혈청 또는 단일 클론항체 생산을 위해 저분자 물질인 mycotoxin을 hapten으로 하고 단백질과 결합체를 만드는 복잡한 과정을 필요로 하나 microplate를 이용한 competitive direct ELISA의 경우는 많은 시료를 단시간에 분석할 수 있으며 폐기물의 처리문제가 없고 사용되는 시약이 대부분 안정하고 독성이 없어 안전성이 보장된 방법으로 평가되고 있다. 그러나 외국에서의 분석방법 개선에 대한 오랫동안의 활발한 연구와는 달리 국내에서의 연구결과는 대단히 미흡하며, 최근 오염된 옥수수의 국내 수입이 문제되면서 관련업체나 연구소 등에서 관심을 갖기 시작하여 기기분석과 함께 수입된 EL-

**Table 9.** Basic steps in chemical analysis of various mycotoxin<sup>41~42)</sup>

| Step                       | Description  | Purpose                               |
|----------------------------|--|---------------------------------------|
| Sampling                   | Probe of automatic sampler   | Representative sample                 |
| Sample preparation         | Grinding, mixing, subsampling  | Representative sample                 |
| Extraction                 | Shaker or blender  | Separate the toxin                    |
| Clean-up                   | Liquid-liquid partitioning Column chromatography   | Separate the toxin                    |
| Final separation           | TLC, GLC, LC   | Separate the toxin                    |
| Detection and quantitation | Fluorescence on TLC plate<br>Fluorescence in solution<br>UV absorption in solution             | Detection and measurement of response |
| Confirmation               | TLC separation and detection of derivative of mycotoxin,<br>Biological test, Mass spectrometry | Identification of chemical compound   |

ISA kit의 사용으로 aflatoxin의 자체분석을 시도하고 있으나 기술 축적의 미비, 안전성의 문제점, 그리고 비싼 수입 kit에 의한 경제성 문제 등으로 실질적인 분석이 매우 어려운 실정이다. 따라서 전통식품에서의 신속, 정확하며 안전한 분석법의 확립과 이를 뒷받침할 mycotoxin의 분석을 위해 값싼 국내 ELISA kit 개발이 절실히 요구되고 있다.

#### IV. 요약

*Aspergillus flavus*를 포함한 수종의 곰팡이들은 사립과 가축에 독성이 있는 저분자의 2차대사산물을 생산하며 이를 mycotoxin이라고 부른다. 우리나라 여름과 같은 적당한 온도와 습도는 유해곰팡이의 성장이 가능하여 쌀, 보리, 옥수수, 메주, 된장, 간장 및 고추장과 같은 전통식품 및 그 재료와 같은 대부분의 유기물질에서 mycotoxin이 생산될 수 있다. 지금까지 여러사람들은 *Aspergillus*속, *Penicillium*속, *Fusarium*속 곰팡이를 전통식품과 그 재료로부터 분리하였으며, 그 중에서 여러 mycotoxin을 생산하는 곰팡이를 검색하였다. 또한 상기와 비슷한 시료에서 aflatoxin, ochratoxin, deoxynivalenol (DON) 및 zearalenone 등의 mycotoxin오염을 확인하기도 했다. 그러나 이러한 자료들은 실험조건과 방법에서 서로 상이하며 일관성이 결여되어있고, 특히 대부분의 실험들이 일과성으로 끝났기 때문에 곰팡이독소를 중심으로 하여 전통식품을 객관적으로 평가하기 위해서는 보다 지속적이고 합리적인 실험방법과 재료가 요구된다. 이러한 목적을 위해서는 새로운 첨단기술을 응용하여 mycotoxin을 보다 간편하고 신속히 분석할 수 있는 방법을 개발해야하며, 또한 보다 지속적인 연구비 투자와 연구시설의 확충으로 연구의 활성화와 기술축적을 위한 노력을 해야할 것이다. 이같은 합리적인 노력으로 전통식품의 mycotoxin 오염여부를 지속적으로 조사하고, 아울러 우리 전통식품의 안전성을 확보하는 것이 가능하며 그 결과 국제화 시대에 부응하는 보다 나은 전통식품의 보존과 개발이 이루어지게 될 것이다.

#### V. 참고문헌

1. Concon, J. M. : Food Toxicology, Part A, Marcel Dekker, Inc. : 605, 1988.
2. 신호선 : 식품가공 중 생성되는 독성인자(총설), 한국영양식량학회지, 19 : 483, 1990.
3. Dutta, P.K., and B.S. Malik : Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* from animal and human being Indian, J. Anim. Sci., 51 : 1045. 1981.
4. Weis, J., and Seeliger, H. R. P. : Incidence of *Listeria Monocytogenes* in nature, Appl. Microbiol., 30 : 29-32. 1975.
5. 홍종해, 이용옥 : 우리나라에서 보고된 집단식 중독의 발생특징에 관한 연구(1981-1989), 식품위생학회지, 5 : 205, 1990.
6. Wyllie, T. D., and Morehouse, L. G. : Mycotoxic Fungi, Mycotoxicoses, Vol. 1, Dekker : 136. 1978
7. Mirocha, C. J. : Metabolism and residue of trichothecene toxins in animal and plant systems. In Mycotoxins and phytotoxins (Elsevier Science Publishers, Amsterdam) : 409, 1986.
8. Robison, T. S., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Behrens, J. C., Chi, M. S., Weaver, G. A. and Nystrom, S. D. : Transmission of T-2 toxin into bovine and porcine milk, J. dairy sci., 62 : 637, 1979.
9. Mirocha, C. J. : Metabolism and transmission of T-2 toxin and its metabolites in tissue, milk and eggs from cattle and poultry. Final Report to Bureau Veterinary Medicine, FDA, USA Contract No 223-78 : 7031, 1979.
10. Holder, C. L., Nony, C. R. and Bowman, M. C. : Trace analysis of zearalenone and zearalenol in animal chow by high pressure liquid chromatography and gas liquid chromatog-



- raphy, J. AOAC., 60 : 272, 1977.
11. James, L. J., Mcgirr, L. G. and Smith, T. K. : High pressure liquid chromatography of zearalenone and zearalenol in rat urine and liver, J. AOAC., 65 : 8, 1982.
  12. Smith, J. E. and Moss, M. O. : Mycotoxins, 50-72, John Wiley & Sons Ltd., 1985.
  13. Miller, E. C. and Miller, J. A. : In vivo combination between carcinogens and tissue constituents and possible role in carcinogenesis, Cancer Research, 12 : 547, 1952.
  14. Miller, E. C. : Some current perspectives on chemical carcinogenesis in humans and experimental animals, Cancer Research, 38 : 1479, 1978.
  15. Lin, J. K., Miller, E. C. and Miller, J. A. : 2, 3-dihydro-2-(guan-7-yl)-3-hydroxy aflatoxin B<sub>1</sub>, a major acid hydrolysis product of aflatoxin B<sub>1</sub>-DNA or ribosomal RNA adducts formed in hepatic microsome-mediated reaction in rat liver in vivo, Cancer Research, 37 : 4430, 1977.
  16. Groopman, J. D., Donahue, P.R. and Zhu, J. : Aflatoxin metabolism in human; Detection of metabolites and nucleic acid in urine by immunoaffinity chromatography, Proc. Natl. Acad. Scius., 82 : 6492, 1985.
  17. Lehmann, A. R. and Dean, S. W. : Cancerprone human disorders with defects in DNA repair. In Handbook of experimental pharmacology, Carcinogenesis and mutagenesis, Springer, Berlin : 1989.
  18. Steel, D. J., Crane, P. S. and Rhee, P. S. : Experience with 1079 cases of cancer of the stomach seen in Korean from 1962 to 1968, Amer. J. Surgery, 120 : 57-89, 1970.
  19. 김광호 : 수종 곡류 및 발효식품 중의 aflatoxin 검색, 경희대 약대 논문집, 3 : 61, 1975.
  20. 김용화, 황보정숙, 이서래 : 몇가지 한국식품 중 aflatoxin의 검출, 한국식품과학회지, 9 : 73, 1977.
  21. 오유진 : 일광 조사효과에 의한 메주 중 aflatoxin B<sub>1</sub>의 파괴 및 그 독성에 관한 연구, 충북대 논문집, 11 : 153, 1976.
  22. 오유진, 이응수 : 한국산 된장 중 수종 아미노산이 aflatoxin B<sub>1</sub>에 미치는 영향, 충북대 논문집 : 15353, 1977.
  23. 강성철, 이상선, 신현길, 김종배 : 전통대두발효식품 중에 존재하는 ochratoxin A 생성균 분리와 ochratoxin A량 측정, 한국균학회지, 19 : 148, 1991.
  24. 김형갑 : *Fusarium*속 균주가 생성하는 vomitoxin이 계배의 면역체계에 미치는 영향, 경상대학교 박사학위 논문 : 1993.
  25. 김도영, 김교창 : *Aspergillus versicolor*가 생성하는 mycotoxin에 관한 연구, 한국영양식량학회지, 16 : 278, 1987.
  26. 김동술, 정덕화, 김성영, 전향숙, 정선희, 강성조 : 자연계로부터 Patulin 생성 *Penicillium* sp.의 분리에 관한 연구, 한국환경위생학회지, 19(3) : 41, 1993.
  27. 정혜경 : 영남지방 농산물의 citrinin 생성균 오염정도에 관하여, 경상대학교 석사학위 논문 : 1991.
  28. 전향숙, 정덕화, 이서래 : Detection of T-2 toxin in Korean Grains by ELISA, 4(2) : 66, 1995.
  29. 하정기, 정덕화, 김성영 : 가축사료 중 zearalenone분석을 위한 enzyme linked immunosorbent assay법의 개발, 한국식품위생학회지, 6(3) : 111, 1991.
  30. 김성영, 정선희, 정덕화 : 영남지방 농산물에서의 zearalenone 생성균의 분리, 한국식품과학회지, 24(6) : 581, 1992.
  31. 김성영, 정선희, 정덕화 : ELISA법에 의한 zearalenone 생성균주의 검색, 한국농화학회지, 31(1) : 7, 1993.
  32. 정용, 권숙표 : 한국발효식품 중 aflatoxin의 함유에 관한 연구, 예방의학회지, 2, 1 : 1969.
  33. 이근배, 이장규, 김찬수, 유준, 심길순, 성경, 전

- 세열, 이희성, 조신애, 이금자 : 한국식품 중 발암물질의 검색에 관한 연구. 한국과학기술처 연구개발사업보고서, Most-R-70-84-PM : 1970.
34. 이배함, 전영연, 최태주, 주현구, 김상재, 정성구 : 한국산 발효식품미생물이 분비하는 aflatoxin에 관한 연구. 건국대 학술지, 12 : 807, 1971.
35. Lee, D. H., Kim, J. S., Kalantari, H. G., Zong, M. S. and Chang, I. M. : Survey of *Fusarium* mycotoxin contaminations in Korean and imported cereals, Mycotoxins, 40 : 43, 1994.
36. 정덕화, 하기수, 정혜경, 김동술, James J. Pestka : 영남지방 농산물에 대한 위생학적 연구 제2보. ELISA법에 의한 aflatoxin B<sub>1</sub> 검색, 한국식품위생학회지, 4(3) : 171, 1989.
37. 박건영, 이은숙 : 간장저장 중 암모니아와 pH가 aflatoxin B<sub>1</sub>의 파괴에 미치는 영향, 한국영양식량학회지, 18 : 115, 1989.
38. 박건영, 이은숙, 문숙희, 최홍식 : 간장 및 모델 시스템에서 간장 갈색물질과 슛이 aflatoxin B<sub>1</sub>의 파괴에 미치는 영향, 한국식품과학회지, 21 : 419.
39. 박건영, 이규복 : 재래식 된장, 간장 제조 중 aflatoxin의 파괴에 관한 연구, 부산대학교 가정대학 연구보고, 13 : 49, 1987.
40. 정덕화, 이용옥, 김용호, 김성영, 김종규 : 배양조건이 *Aspergillus flavus* ATCC 15517의 aflatoxin 생성에 미치는 영향, 한국환경위생학회지 16(1) : 45, 1990.
41. Scott, P. M., Lawrence, J. W. and Van walbeek, W. : Detection of mycotoxins by thin layer chromatography application to screening of fungal extracts, Appl. Microbiol., 20 (5) : 839, 1970.
42. Chang H. I., Devries, J. W., and Hobbes, W. E. : Comparative study of two methods for extraction of aflatoxin from peanut meal and peanut butter, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 62 : 1281, 1979.
43. Ram, B.P., Hart, R. J. C., and Pestka, J. J. : Application of ELISA to retail survey of aflatoxin B<sub>1</sub>, J. Food Prot., 49 : 792, 1986.