

韓國醱酵食品中 Aflatoxin 의 含有에 關한 研究

延世大學校 醫科大學 豫防醫學教室

鄭 勇 · 權 肅 杓

=Abstract=

Study on Aflatoxins in Korean Fermented Foodstuffs

Yong Chung, Sook Pyo Kwon

Dept. of Preventive Medicine & Public Health
Yonsei University, College of Medicine

35 samples of Korean fermented foodstuffs were tested to isolate and to identify for aflatoxins. Aflatoxin G₁ was detected in samples of soybean and Kanjang (Soybean sauce), and aflatoxins G₁ & G₂ in Meju (fermented soybean mass) and Dwenjang (fermented soybean paste). In the culture media of *Aspergillus flavus* aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ were also isolated and identified.

Aflatoxins were confirmed by the thin layer chromatography with methanol: chloroform (5:95v/v) developer and the ultra violet absorption spectrum.

I. 序 言

1960年 英國에서의 10萬餘 칠면조의 倒死事件^{1,2)}이 *Aspergillus flavus* Link ex Fries의 代謝產物인 Aflatoxin에 起因한다는 것이 알려진 以來, 이의 毒作用 및 이를 生成하는 菌에 對하여 많은 研究報告가 있다.

특히 Aflatoxin은 強力한 發癌物質로서 動物의 肝臟, 胃 및 腎臟 등의 癌의 原因이 된다는 報告가 있다²⁻⁴⁾.

Aflatoxin은 땅콩(peanut)을 爲始해서 쌀(rice), 大豆(soybean), 완두콩(kidney bean), 밀(wheat) 등 많은 穀類 및 醱酵食品中에서 發見될 뿐 아니라⁵⁾ 이를 生成하는 菌도 *Aspergillus flavus* 以外에 8種이 알려져 있다. 이들은 *Aspergillus*屬과 *Penicillium*屬으로 *A. parasiticus*, *A. niger*, *A. ruber*, *A. wentii*, *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *P. puberulum*, *P. frequentans* 및 *P. variable* 이다^{2, 5)}.

또한 Aflatoxin은 B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ 및 M₂의 最小 6種이 알려져 있으며 이들의 毒作用의 差異도 알려져 있다^{2, 3)}. 이中 aflatoxin M₁ 및 M₂는 milk product 등

에서 發見된다.

한편 韓國人の 胃 및 肝의 發癌率을 보면 1968年 12月 現在 胃癌은 總發癌率中 第2位인 13.58%(男子에서는 第1位로 19.72%, 女子에서는 8.02%로 第2位)이고 肝癌은 總發癌率中 第4位인 4.74%(男子에서는 第2位로 8.16%, 女子에서는 1.65%로 第12位)를 나타내었다⁶⁾.

이러한 韓國人の 胃癌과 肝癌의 높은 發病率과 韓國人 常用 醱酵食品中 된장 및 간장은 그 製造工程에 있어서 自然中의 여러 雜菌의 汚染의 機會가 많을 것을 생각할 때 메주 및 醬類에 對한 Aflatoxin의 檢索은 食品衛生 및 國民保健上 매우 重要한 일이라고 生覺된다.

따라서 著者들은 大豆, 메주, 된장 및 간장에 對하여 Aflatoxin을 檢索하여 그 結果를 報告한다.

II. 實驗方法

1. 試料蒐集

콩(大豆) 5種, 메주 10種(在來式 6種 및 改良式 4種), 된장 10種 및 간장 10種(在來式 5種 및 改良式 5種)을

各市場 또는 家庭에서 總 35種을 1969年 1月5日부터 4月10日까지 다음 第1表와 같이 蒐集하였다.

大豆, 메주 및 된장은 粉碎 研磨하여 2mm 체(篩)로 걸은 後 잘 混合하여 試料로 使用하였다.

2. Aspergillus flavus 培養液

大豆, 메주 및 된장에서 分離한 7株의 Aspergillus flavus 의 Czapek's 液體培地 培養液을 本校 微生物學教

第1表 試料

| 試料種類 | 番號 | 數 | 蒐 集 處 | 備 考 |
|------|-----|---------|----------|---------|
| 大 豆 | 1 | 5 | 서울 S 市場 | |
| | 2 | | // N // | |
| | 3 | | // D // | |
| | 4 | | // C // | |
| | 5 | | 釜山 A // | |
| 메 주 | 6 | 10 | 서울 S 市場 | 在來式 |
| | 7 | | // N // | |
| | 8 | | // A 家庭 | |
| | 9 | | 釜山 A // | |
| | 10 | | 光州 B // | |
| | 11 | | 大田 C // | |
| | 12 | 4 | 서울 S 市場 | 改良式 |
| | 13 | | // S // | |
| | 14 | | // S // | |
| | 15 | | // S // | |
| | 된 장 | 16 | 10 | 서울 S 市場 |
| 17 | | // S // | | |
| 18 | | // N // | | |
| 19 | | // N // | | |
| 20 | | // D // | | |
| 21 | | // D // | | |
| 22 | | 서울 A 家庭 | | |
| 23 | | // B // | | |
| 24 | | // C // | | |
| 25 | | // D // | | |
| 간 장 | 26 | 10 | 서울 E 家庭 | 在來式 |
| | 27 | | // F // | |
| | 28 | | // G // | |
| | 29 | | // H // | |
| | 30 | | // I // | |
| | 31 | 5 | 서울 S 市場 | 改良式 |
| | 32 | | // // // | |
| | 33 | | // // // | |
| | 34 | | // // // | |
| | 35 | | // // // | |

室에서 提供받아 그 培養液中の Aflatoxin 을 檢索하였다.

이中 1株는 大豆에서, 3株는 在來式메주에서, 2株는 改良式메주에서 그리고 1株는 된장에서 分離된 것이었다.

3. Aflatoxin 의 抽出 및 確認方法

粉末 또는 塊形試料는 各各 50gm 과, 液體試料는 100 ml 을 取하여 美國 AOAC 公定方法⁷⁾에 依하여 抽出, 分離하였다.

即 試料에 n-Hexan 을 加하여 脫脂하고 methanol 및 chloroform 를 使用한 Column chromatography 法에 依하여 抽出後 蒸氣浴上에서 蒸發乾固시킨다음, 이것을 methanol : chloroform (5:95 v/v%) 溶液을 展開液으로 하여 Thin layer chromatography 에 依하여 展開 分離하였다. 이것을 紫外線燈(Ultra violet lamp, Blakray, Long wave, Model B-100A. 3660 Å. units. Curtin Co.) 下에서 標準 Aflatoxin (美 FDA 에서 分讓받은 것임)과 一致된 Rf 值를 求하고 그 標準 Aflatoxin 에 該當하는 部分을 分離하여 methanol로 抽出하고 Beckman DU Spectrophotometer 로 Ultraviolet 吸光 Spectrum 을 測定하여 確認하였다.

Ⅲ. 實驗結果 및 考察

大豆, 메주 및 된장에서 分離된 Aspergillus flavus 는

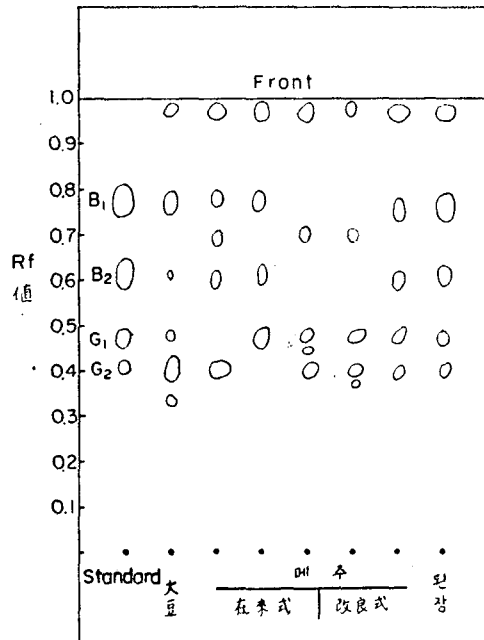
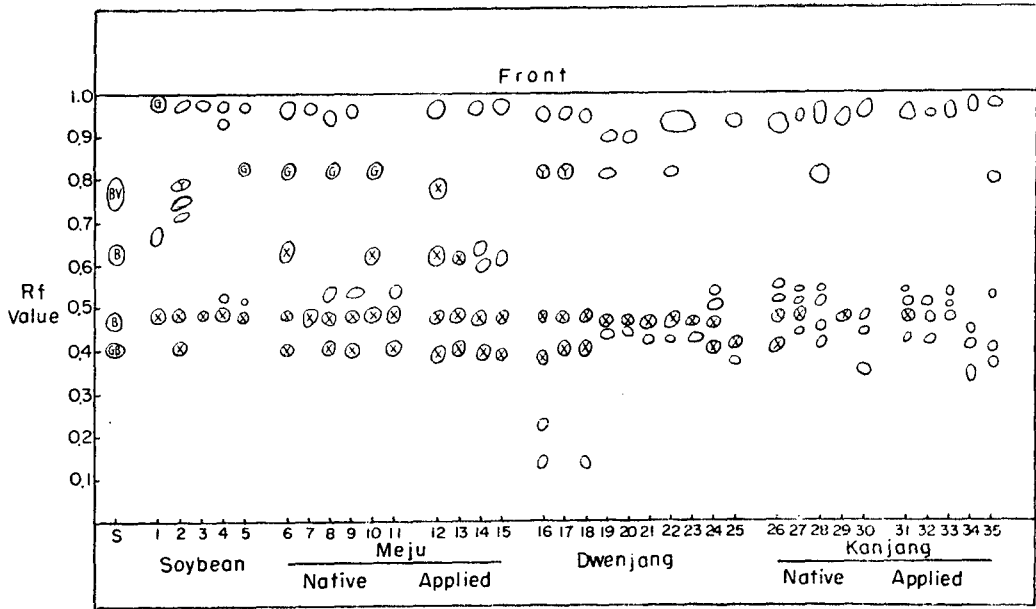


Fig. 1. 各試料에서 分離된 Aspergillus flavus 의 aflatoxin 의 생성



X: Aflatoxin suspected BV: Blue Violet B: Blue
 GB: Greenish blue G: Green Y: Yellow

Fig. 2. TLC behavior of Sample extracts

Czapek's 液體培地內에서 aflatoxin B₁, B₂, G₁ 및 G₂ 를 生成하는 것을 確認하였다(第1圖).

한편 大豆, 메주, 된장 및 간장의 各 試料는 Thin layer chromatograph 上의 樣相은 第2圖 및 第2表와 같고, TLC 上에서 標準 Aflatoxin 과 同一한 色調 및 Rf

値를 갖는 것에 對해서 그 methanol 溶液의 Ultraviolet 吸光 spectrum 을 求하여 본 結果, 大豆 및 간장類에 있어서 는 aflatoxin G₁ 을, 메주 및 된장類에 있어서는 aflatoxin G₁ 및 G₂ 를 確認할 수 있었다(第3圖).

標準 aflatoxin 및 試料로 부터 aflatoxin G₁ 및 G₂ 라

第2表

試料로부터 TLC 上에 檢出된 aflatoxin 의 種類

| 試料番號 | 試料 | aflatoxin 의 種類 | 試料番號 | 試料 | aflatoxin 의 種類 | 試料番號 | 試料 | aflatoxin 의 種類 |
|------|-------------|--|-------------------------------|-------------------------------|---|-------------------------------|-------------|-------------------------------|
| 1 | 大豆 | G ₁ | 12 | 메주 (改良式) | B ₁ B ₂ G ₁ G ₂ | 26 | 간장 (在來式) | G ₁ G ₂ |
| 2 | | G ₁ G ₂ | 13 | | B ₂ G ₁ G ₂ | 27 | | G ₁ |
| 3 | | G ₁ | 14 | | G ₁ G ₂ | 28 | | — |
| 4 | | G ₁ | 15 | | G ₁ G ₂ | 29 | | G ₁ |
| 5 | | G ₁ | 16 | | 된장 | G ₁ G ₂ | | 30 |
| 6 | 메주 (在來式) | B ₂ G ₁ G ₂ | 17 | G ₁ G ₂ | | 31 | 간장 (改良式) | G ₁ |
| 7 | | G ₁ | 18 | G ₁ G ₂ | | 32 | | — |
| 8 | | G ₁ G ₂ | 19 | G ₁ | | 33 | | — |
| 9 | | G ₁ G ₂ | 20 | G ₁ | | 34 | | — |
| 10 | | B ₂ G ₁ | 21 | G ₁ | | 35 | | — |
| 11 | | G ₁ G ₂ | 22 | G ₁ | | | | |
| | | 23 | G ₁ | | | | | |
| | | 24 | G ₁ G ₂ | | | | | |
| | | 25 | G ₁ | | | | | |

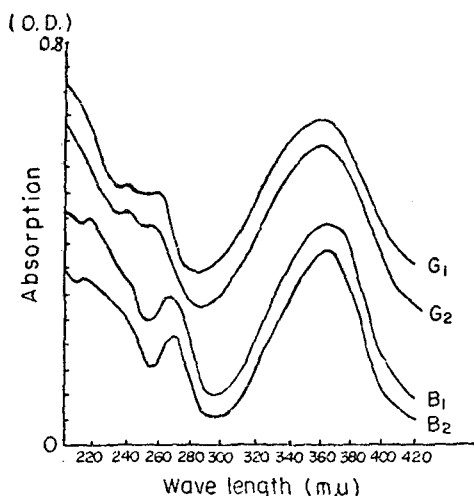


Fig. 3. Ultra-violet absorption Spectra of the Aflatoxins (methanol)

고 認定되는 것에 對한 methanol 溶液의 UV spectrum 의 最大吸光度(λ max)는 240m μ , 260m μ 및 363m μ 에서 볼 수 있었다. 이러한 結果는 Kurata 等⁵⁾ 여러 다른 報告^{8,9)}와 一致하였다.

여기서 大豆, 메주 및 된장중에 aflatoxin B₁ 이 檢出 되지 않는 것은 李⁹⁾ 等의 報告와 一致하였다.

또한 試料中에서 分離된 Aspergillus flavus 는 Czapek's 培地上에서 aflatoxin B₁, B₂, G₁ 및 G₂ 의 生成이 可能한 데 反하여 試料中에서는 aflatoxin B₁ 및 B₂ 의 存在를 認定할 수 없는 것은 興味있는 事實이다.

이 問題에 對해서는 aflatoxin 이 光線, 空氣, 酸 및 alkali 에 弱한 性質^{2,3,7)}을 生覺할 때 醬類의 製造過程中 메주가 完全히 成熟하면 日光에 말린후 醬을 담그므로 그 때에 光線 特히 紫外線 및 空氣에 依하여 aflatoxin 이 變性되지 않는가 生覺된다. 또한 醬의 製造時 鹽類와 의 作用에 依한 變化 및 그 毒性의 減少도 생각케 한다.

aflatoxin B₁ 및 G₁ 은 Hydrogenation (水素化)에 依하여 aflatoxin B₂ 및 G₂ 로 變性하여 그 毒性의 減少를 가져온다는 報告^{8,10)} 및 aflatoxin B₁ 은 酸性에서 Hemiacetal 을 形成하여 그 毒性의 顯著한 減少를 보인다는 報告가 있다¹¹⁾.

勿論 aflatoxin 을 生成하는 菌이 大豆에 寄生하여 여러 環境條件에 依한 aflatoxin 의 生成過程에 對하여서도

研究되어야 할 것이며, 이것은 上記 現象과 關聯해서 앞으로 韓國醱酵食品 및 여러 穀類들의 貯藏, 管理 및 aflatoxin 의 除毒에 도움이 될 것이다.

또한 Aflatoxin G₁ 및 G₂ 의 存在가 韓國人 常用 醬類에서 發見된다는 事實은 韓國人의 發癌率과의 關係에서 疫學的인 調査 및 aflatoxin G₁ 及 G₂ 의 生化學的 乃至 病理學的 研究가 더욱 있어야 할 것이다.

V. 結 論

1969年 1月5일부터 4月10일까지 各 市場 및 家庭에서 蒐集한 大豆 5種, 메주 10種(在來式 6種 및 改良式 4種), 된장 10種 및 간장(在來式 5種 및 改良式 5種)을 試料로 하여 美國 AOAC 公定方法에 依하여 Aflatoxin 을 抽出 및 分離하고 紫外線部 吸光度를 測定한 結果, 大豆 및 간장에서 Aflatoxin G₁ 과 메주 및 된장에서 Aflatoxin G₁ 및 G₂ 의 存在를 確認할 수 있었다. 試料中의 Aflatoxin B₁ 및 B₂ 의 存在는 認定할 수 없었다.

한편 試料로 부터 分離된 Aspergillus flavus 는 Czapek's 液體培地에서는 Aflatoxin B₁, B₂, G₁ 및 G₂ 를 生成함을 確認하였다.

REFERENCES

- 1) Sargent, K., Sheridan, A., O'Kelly, J., and Carnaghan, R. B. A. : *Nature*, 192:1096, 1961.
- 2) Schoental, R. : *Annual Review of Pharmacology*, 7, 343, 1967.
- 3) Wogan, G. N. ; *Bacteriological Reviews*, 30:460 1966.
- 4) Butler, W. H. ; *Nature*, 209:90, 1966.
- 5) Kurata, H., Tanabe, H., Kanota, K., Udagawa, S., and Idrinoe, M. ; *J. Food Hygienic Society of Japan*, 9:29, 1968.
- 6) 大韓病理學會: 大韓病理學會誌, 2:1, 1968.
- 7) Official methods: *J. AOAC*, 49:299, 1966.
- 8) Hartley, R. D., Nesbitt, B. F., and O'Kelly, J. : *Nature* 198:1056, 1963.
- 9) 李泰寧, 李相圭: 韓國食品科學會誌, 1:78, 1969.
- 10) Wogan, G. N. : *Science*, 142:1191, 1963.
- 11) Pohlard, A. E., Cushmac, M. E., and Andrellos, P. J. ; *J. AOAC*, 51:907, 1968.