

## 각종 처리에 의한 Aflatoxin 의 분해에 관한 연구

이 정 희·정 영 채\*·정 용\*\*

수도여자사범대학 · \*중앙대학교 농과대학 · \*\*연세대학교 의과대학  
(1973년 7월 3일 수리)

### Studies on the Elimination of Aflatoxin by Various Treatment

by

Chung Hee Lee, Yung Chai Chung\* and Yeong Chung\*\*

Soo Do Women's Teachers College, \*College of Agriculture

Chung-Ang University · \*\*College of Medicin, Yonsei University

(Received July 3, 1973)

#### Abstract

In order to eliminate aflatoxin in foodstuffs, the effects of the treatment by various pH conditions, acid and alkali, and salt on each temperature and time were studied in this experiment and the results were as follows:

- 1) In the low pH, aflatoxins were much more destroyed than high pH. The destruction of aflatoxins was significantly increased by heat in the same pH levels.
- 2) By the treatment of 1.5 and 10% of sodium hydroxide and ammonia, aflatoxins were completely eliminated, but 40~80% of aflatoxins were eliminated by the treatment of 1.5 and 10% of acetic acid, hydrochloric acid and sulfuric acid.
- 3) By the treatment of aflatoxin in bile acid and artificial gastric juice, aflatoxins were completely eliminated and 75% respectively.
- 4) By the boiling (100°C) for 30 minutes in salt solution, 39~55% of aflatoxins was eliminated and no variation was observed as the concentration.

#### 서 론

1960년 영국에서 10만 여 만리의 칠면조의 도사사건은 사료중에 함유된 aflatoxin 이라는 강력한 발암물질에 기인하였다는 것은 잘 알려진 사실이다.<sup>(1)(2)</sup> Aflatoxin 은 *Aspergillus flavus* 등의 각종 진균류가 산생하는 제2차 대사산물로 각종 실험동물에 대하여 간 및 위장등에 종양 및 기능 저하를 야기한다.<sup>(3)(4)(5)</sup>

더우기 aflatoxin 을 생산하는 *Aspergillus flavus* 는 자연중에서 가장 흔히 발견되는 곰팡이의 일종으로<sup>(6)</sup> 한국인 상용 장류의 원료인 메주중에서 aflatoxin 과 함께 검지되었다는<sup>(7)(8)</sup> 사실은 한국민의 보건상 매우 우려되

는 바 크다.

한편, 여러 학자들에 의하여 aflatoxin 함유식품에 대하여 그 처치법이 연구 고안되어 왔다. 즉, 鄭과 權은 aflatoxin 에 대한 공기, 오존 및 자외선의 처리 효과를 관찰 하였고,<sup>(9)</sup> Mann 등은 땅콩등의 aflatoxin 에 대하여 열처리 방법 및 메틸아민(methylamine), 수산화나트륨(NaOH), 암모니아 등의 처리로 인한 제거 방법을 연구하였다.<sup>(10)(11)(12)</sup> Gardner 등은 oil-seed meal 중의 aflatoxin 을 아세톤과 물, 또는 아세톤, 헥산(hexane) 과 물의 혼합 용제로 추출 제거법을 보고 하였다.<sup>(13)</sup> 또한 Ashworth 등은 곡류 및 면실에 가온처리 및 aeration 으로 *Aspergillus flavus* 의 침입으로부터의 방지법을 연구보고 하였으며<sup>(14)</sup> 또한 Pohland 등은 aflatoxin

에 약산으로 처리하면 hemiacetal로 변형되어 그 독성의 현저한 감소를 초래하였다는 것을 관찰 보고 하였다.<sup>(15)</sup> 이러한 연구 보고들에 의하면 aflatoxin은 각종 처리에 의하여 어느 정도 제거될 수 있는 것으로 생각되어 진다.

따라서, 저자는 우선, 각종 산 및 알칼리에 대한 aflatoxin의 변화와, 강산성인 인공위액 및 알칼리성인 담즙산에 대하여 aflatoxin의 파괴 여부를 관찰하여 약간의 지견을 얻었기에 보고한다.

### 실험 방법

#### 1. 실험대상

Aflatoxin 1 mg을 10 ml의 메탄올에 용해하여 사용하였다. aflatoxin은 미국 M.I.T.의 Wogan으로부터 분양 받은 aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, 및 G<sub>2</sub>의 혼합물이다. 이에 대한 각 실험농도는 분광광도계 (Spectrophotometer, Beckman D.U.)의 350 m $\mu$  검량 곡선에 의하여 측정하였다.

#### 2. 시험대상

1) 각종 액성 및 온도에 따른 Aflatoxin의 영향

pH 1.0~10.0 범위에서 aflatoxin의 변화 양상을 관찰하였다. pH 1.0 및 2.0은 Clark Lubs buffer(2.0N HCl+0.2N KCl buffer)를, pH 3.0~5.0은 MacIvaine buffer(0.1M citric acid+0.2M sodium dibasic phosphate buffer)를, 또한 pH 6.0~10.0은 phosphate buffer(1/15 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+1/15M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> buffer)를 사용하였다.

각 pH의 원충액 5ml에 aflatoxin, 메탄올 용액을 가하여 aflatoxin이 100 ppm이 되도록 하고 배양기에서 37°C 30분 및 1시간 방치하고, 또 100°C 30분간 가열 처리하였다.

2) 각종 산의 처리

초산, 염산 및 황산의 각 1%, 5%, 10% 용액 5ml에 aflatoxin-methanol 용액을 가하여 aflatoxin이 100 ppm가 되도록 하여 실온(20°C)에서 30분 방치한 다음, 그 변화를 관찰하였다.

3) 각종 알칼리의 처리

수산화나트륨 및 암모니아의 각 1%, 5%, 10%의 용액 5ml에 250 ppm의 aflatoxin을 가하고 실온(20°C)에서 30분 방치하였다.

4) 인공위액 및 담즙산에 대한 반응

인공위액<sup>(16)</sup> 및 진강한 개의 담즙, 각 5ml에 aflatoxin 157 ppm을 가하여 37°C 30분 및 60분간 방치하였다.

5) 식염에 대한 반응

식염 5%, 10% 및 20% 각 5ml에 aflatoxin 250 ppm을 가하여, 100°C 30분간 처리 하였다.

6) Aflatoxin의 검색 및 변화 양상 측정

각종 산, 알칼리 및 식염으로 처리한 액은 클로로포름

으로 추출하였고 인공위액 및 담즙산으로 처리한 액은 A.O.A.C. 공정법에<sup>(17)</sup> 의하여 추출한 후, 각기 thin layer chromatography에 의하여 분리 확인하고 또한 ultra-violet absorption spectrum에 의하여 확인하였다.

TLC 전개액은 메탄올(methanol)과 클로로포름(chloroform)을 3 : 97의 비로 만들어 사용하였고 TLC의 매질(媒質)은 Silica gel G(E. Merck製, Germany)를 사용하였다.

### 결 과

#### 1. Aflatoxin의 각 액성 및 처리 온도에 따른 영향

각종 액성(pH)과 그 처리 온도에 따른 aflatoxin의 변화양상은 Table 1과 같이 그 농도의 변화를 관찰할 수 있었다. 즉 액성이 중성(pH 7.0)에서 산성 또는 알칼리성으로 변화함에 따라 그 농도가 현저히 감소하였다. pH 1.0에서 aflatoxin을 각각 온도에서 처리한 경우, 41%~58%의 aflatoxin의 농도가 감소되었으며, pH 10.0인 경우, 58%~72%의 감소를 보였다.

한편, 각 pH에서의 처리 온도 및 그 시간에 의한 변

Table 1. Effects of pH and temperature on aflatoxin(ppm)

Temp(°C)	Time (minutes)	pH									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
37°C	30(min)	59	60	62	82	100	100	100	68	—	42
37°C	60(min)	46	—	50	80	—	100	100	48	—	35
100°C	30(min)	42	48	52	83	87	89	90	46	—	28

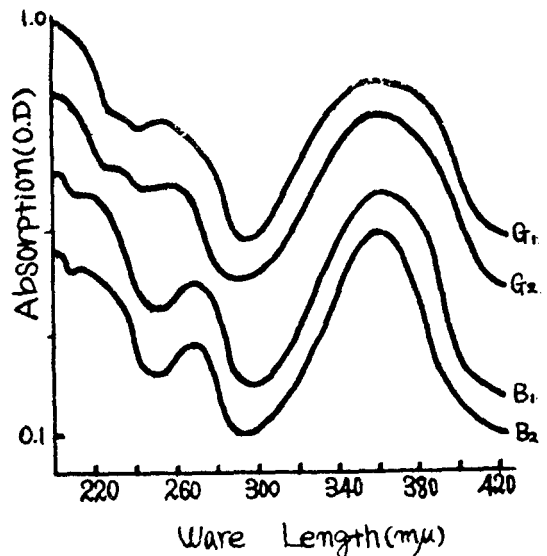


Fig. 1. Ultra-violet absorption spectra of aflatoxin in methanol

화를 보면, 그 액성이 pH 1.0~3.0에서 그리고 pH 8.0~10.0에서 처리 온도가 높을수록, 또한 그 처리 시간이 길수록 aflatoxin 농도의 감소를 보였다.

또한 aflatoxin의 100°C 30분 가온처리한 것은 pH 7.0에서 10%의 aflatoxin의 감소를 보였고, pH 1.0에서 58%, pH 10.0에서 72%의 감소를 보였다.

각종 처리한 aflatoxin의 thin layer chromatography 상의 양상은 자외선하에서 표준 aflatoxin의 색조인 자색 및 황록색의 형광을 나타냈고, 또한 aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> 및 G<sub>2</sub>의 Rf치인 0.58, 0.48, 0.27 및 0.10이었다.

또한 그 ultra-violet absorption spectrum은 대조표준 aflatoxin과 같이 최대 흡수 파장대가 aflatoxin B<sub>1</sub> 및 B<sub>2</sub>는 270 및 360 mμ, 또한 aflatoxin G<sub>1</sub> 및 G<sub>2</sub>는 230, 260 및 360 mμ이었다. (Fig. 1)

**2. Aflatoxin의 각종 산 및 알칼리에 대한 처리 효과**

각종 산 및 알칼리에 대한 aflatoxin의 반응을 보면 Table 2와 같이 대체로 산류에 비하여 알칼리류가 aflatoxin에 민감하게 반응되었으며, 이 실험에서 수산화나트륨 및 암모니아의 각 1%, 5% 및 10%용액에 대하여 aflatoxin이 실온 (20°C)에서 30분 이내에 완전히

**Table 2. Effects of various acids and alkalis on aflatoxin**

	Concentration of acid and alkali (%)	Concentration of aflatoxin (ppm)	Removal rate of aflatoxin (%)
Control		250	0
Acetic acid	1	149	40
	5	110	54
	10	110	54
Hydrochloric acid	1	130	48
	5	100	60
	10	68	73
Sulfuric acid	1	80	68
	5	48	81
	10	40	84
Sodium hydroxide	1	0	100
	5	0	100
	10	0	100
Ammonia	1	0	100
	5	0	100
	10	0	100

(Treated : 20°C, 30mins)

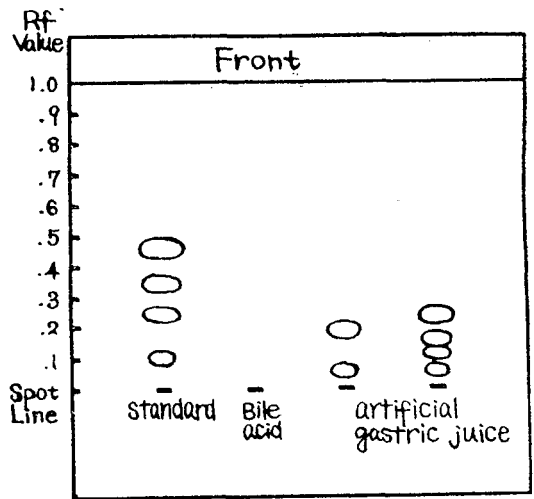
파괴되며 자외선부(long wave 350~380 mμ)에서 그의 형광이 소실되었음을 관찰하였다.

또한 각종 산류에 대한 처리 후 aflatoxin의 thin layer chromatography나 ultra-violet spectrum은 표준 aflatoxin과 동일하였다.

이들 처리한 산류중, 황산은 68~84%의 제거율로서 가장 심한 농도의 감소가 있었고, 다음이 염산 및 초산의 순이었다.

**3. Aflatoxin의 인공위액 및 담즙산에 대한 영향**

인체의 소화액중, 그 산성이 강한 위액과 알칼리성이 강한 담즙산에 대한 aflatoxin의 변화를 알기 위하여, 인공 위액 및 건강한 개의 담즙에 대하여 37°C에서 aflatoxin과의 변화를 보면, 다음 Table 3과 같이 인공 위액에서는 30분에 36%, 60분에 75%의 감소를 보였고 담즙산 처리에서는 aflatoxin이 거의 완전한 감소를 보였고, 그 thin layer chromatography의 양상은 Fig. 2와 같다.



**Fig. 2. TLC behavior of aflatoxins treated with bile acid and artificial gastric juice**

이 TLC 상에 나타난 Rf치 0.96에 대한 그 ultra-violet absorption spectrum은 다음 Fig. 3과 같았다

이 Rf치 0.96의 색조는 UV long wave에 대하여 자색 형광을 나타내었다.

**4. 식염의 각종 농도에 따른 Aflatoxin의 열처리 효과**

식염 5%, 10% 및 20%와 그 대조로 증류수에 대하여, 시료 aflatoxin 250 ppm이 되도록 가하고, 100°C 30분간 가열 처리한 결과, 가열 처리시, 대조시료는 46%의 aflatoxin 농도의 감소를 보였고, 식염 5%, 10% 및 20%에 대하여 39%, 55% 및 52%의 aflatoxin 농도의 감소를 보였다(Table. 4).

Table 3. Effects of artificial gastric juice and bile acid on aflatoxin (37°C)

Duration of treatment	Control	30 min	60 min
Artificial gastric juice	157 ppm (100%)	100 ppm (64%)	40 ppm (25%)
Bile acid	157 ppm (100%)	trace (-)	trace (-)

다. 이들의 발암 기전은 간 및 위등의 세포내 단백질합성에 관하여는 DNA-dependant RNA polymerase를 억제하여 결과적으로 오는 종양적으로 알려져 있다.

Aflatoxin은 *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. ruber*, *P. frequance* 및 *P. variabile* 등이 생성하는 mycotoxin의 일종으로 각종 곡류 및 식품을 오염한다. (20)(21)

이러한 aflatoxin은 그 성질에 따라 m.p.가 240~289°C로 그 분해 온도는 m.p. 이상이다. (3) 그러나 공기, ozone 및 자외선 분해가 되어 변성이 된다는 사실과 (9) 또한 약산에 의해서 hemiacetal의 형태로 변성된다는 보고는 (15) 각종 상용 발효식품을 오염하는 aflatoxin의 제거 및 제독의 가능성을 알려 주는 것이다. 따라서, 이 실험 결과와 연관하여, 각종 액성 pH의 변화에 따른 aflatoxin의 농도는 pH 7.0을 중심으로 산과 알칼리를 비교하면 알칼리성에서 더욱 약한 것을 발견할 수 있으며, 또한 산성 및 알칼리인 용액내에서 aflatoxin의 감소와 위액의 액성이 대체로 pH 1.0~3.0 및 담즙산의 액성이 pH 7.5~8.5인 것으로 보아 aflatoxin의 현저한 감소를 볼 수 있었다. 더우기 담즙산에서의 aflatoxin의 제거율은 거의 100%로서 식품중에 함유된 aflatoxin이 위장을 통할 때에 많은 파괴를 가져올 것이 예상된다. 또한 담즙산에 의하여 aflatoxin 외에 변성된 물질에 대하여서는 그 특성 및 기타의 성질을 추구하여야 할 것이다.

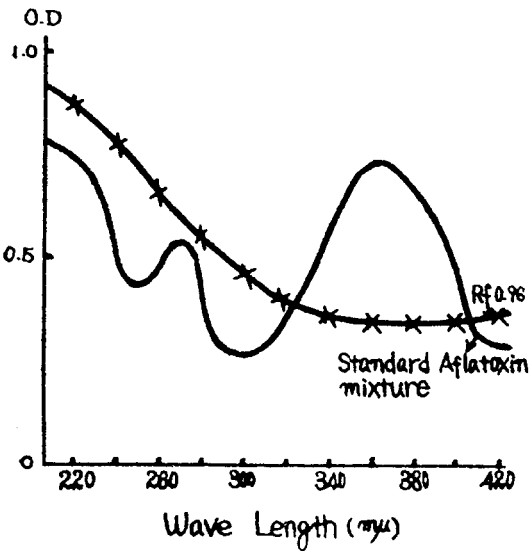


Fig. 3. Variation of UV absorption spectrum of aflatoxins by bile acid treatment

Table 4. Elimination of aflatoxin by thermal treatment on various concentrations of salt (Treated : 100°C, 30 min)

Concentration of salt	Concentration of aflatoxin(ppm)	Elimination rate(%)
Control(%)	136	46
5%	152	39
10%	112	55
20%	120	52

※ Initial aflatoxin concentration is 250 ppm

이들의 TLC 양상 및 그 UV spectrum은 표준 aflatoxin과 같았다.

고 찰

Aflatoxin의 독성에 관하여서는 많은 연구 보고가 있

다. 각종 산류 및 알칼리에 대한 반응에서 aflatoxin은 수산화나트륨 및 암모니아 1%의 용액내에서 완전히 그 고유의 형광성을 잃게 됨은 매우 흥미있는 사실이다. 그러므로 식품중에 오염된 aflatoxin의 처리 방안이 고안될 수 있을 것이다.

한편, aflatoxin의 공기 처리로 인한 변성은 가열 처리할 때에 aflatoxin의 파괴를 생각하였으나, 이 실험에서는 식염 농도에 따른 100°C, 30분 가열 처리 결과, aeration과 같은 aflatoxin의 완전 변성은 관찰할 수 없었다.

한국인 상용 간장중의 식염의 농도는 대체로 15~20%로서 이들은 성숙시킬 때에 가열 농축시킨다. 이러한 간장의 가열 처리는 어느 정도 오염된 aflatoxin의 제거를 예상할 수 있으나, 완전한 효과를 기대할 수 없을 것으로 생각된다.

오늘날 각종 식품, 특히 발효 식품 및 곡류중에 aflatoxin 등의 유독 mycotoxin의 오염은 국민 보건 위생상 매우 우려가 된다.

이러한 점 등과 aflatoxin의 각종 처리에 의한 안정성에 대한 본 연구 결과를 감안하여 식품 위생학적으로 aflatoxin의 제거처리 방법의 기초가 되기를 바란다.

## 요 약

Aflatoxin의 각종 액성에 대한 변화와 위액, 담즙산, 각종 산과 알칼리 및 식염 농도에 따른 열처리시의 그 안정성 및 변화 양상을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Aflatoxin은 액성의 pH가 산성에서 보다 알칼리성에서 더욱 감소하였다. 한편, 100°C에서 30분 열처리한 것은 37°C에서 30분 처리한 것보다 더욱 aflatoxin이 감소하였다.
- 2) Aflatoxin에 대한 초산(醋酸), 염산, 황산을 각기 1%, 5% 및 10% 액으로 20°C 30분 처리할 때에, 초산은 40~50%, 염산은 48~73% 및 황산은 68~84%의 감소율을 나타내었다. 한편, 수산화나트륨 및 암모니아의 1%, 5% 및 10%액으로 처리하면 완전히 aflatoxin이 파괴되었다.
- 3) 인공위액에 대한 aflatoxin은 37°C 60분에 약 75%의 감소를 나타내었으며 담즙산에 대하여는 대부분 파괴되었다. 이때 파괴된 물질은 TLC 상에서 Rf치가 0.96이었으며, 220~420 m $\mu$ 까지의 UV spectrum에서 최대 흡수 파장대는 관찰할 수 없었다.
- 4) Aflatoxin에 식염을 가하여 100°C 30분 열처리하면 그 39~55%의 aflatoxin이 감소되는 것을 관찰할 수 있었고, 식염의 농도에 따라 그 변성도의 차는 발견할 수 없었다.



본 실험을 함에 있어 시종 조연과 지도를 하여 주신 김현실교수님을 비롯하여 가정학과의 여러 교수님께 감사드리며, 아울러 본 실험을 위해 모든 시설을 제공하여 주신 연세대학교 의과대학 예방의학교실의 권숙표 교수님께도 심심한 사의를 표하는 바입니다.

## 문 헌

- 1) Asao, T., Buchi, G. Abdel Kader, M. M. Chang, S. B. Wick, E. L. and Wogan, G. N.: *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 882 (1965)
- 2) Allcroft, R. and Carnaghan, R. B. A.: *Chem.*

*Industrials* (London) p. 50 (1963).

- 3) Wogan, G. N.: *Bacteriol. Reviews*, **30**, 460 (1966)
- 4) Wogan, G. N.: *Federation Proc.*, **27**, 932 (1968).
- 5) Butler, W. H. and Barnes J. M.: *Nature*, **209**, 90 (1966).
- 6) Hiscocks, E. S.: *Mycotoxins in Foodstuffs*, (The M. I.T. Press, Wogan, G.N. ed.) pp. 15~26 (1965).
- 7) 정용, 권숙표: *대한예방 의학회지*, **2**, 1 (1969).
- 8) 유준, 고춘명, 권숙표, 정용: *연세논총*, **7**, 191 (1969).
- 9) 정용, 김갑영, 권숙표: *연세논총*, **8**, 3 (1971).
- 10) Mann, G. E., Codifer, L. P. Jr. and Dollear, F. G.: *Agr. and Food. Chem.*, **15**, 1090 (1967).
- 11) Dollear, F. G., Mann, G. E., Codifer, L. P. Jr. H.K. Jr. Gardner, Koltun, S.P. and Vix, H.L.E.: *J. of Am. Oil Chemists Soc.*, **45**, 862 (1968).
- 12) Dwarakanath, C. T., Rayner, E. T. Mann G. E. and Dollear, F. G.: *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **45**, 93 (1968).
- 13) Gardner, H. K. Jr., Koltun, S. P. and Vix, H. L. E.: *Agr. and Food Chem.*, **16**, 990 (1968).
- 14) Ashworth, L. J. McMeans Jr., J. L., and Brown, C.M.: *Phyto. Pathology*, **59**, 669 (1969).
- 15) Pohland, A. R., Cushman M. E. and Andrellos P. J.: *J. A.O.A.C.*, **51**, 907, (1968).
- 16) Ivey, M.: *Gastric juice, Artificial, Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*, The C.V. Mosby Company, Saint Louis, P. 997, (1963).
- 17) Official Method: *J.A.O.A.C.*, **52**, 405 (1969).
- 18) Gelboin, H. V., Wortham, J. S. Wortham, Wilson, R.G., Freidman, M. and Wogan, G. N.: *Science*, **154**, 125 (1966)
- 19) Roy, K. A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **169**, 206 (1968).
- 20) Hiroshi, K.; Tanabe, H., Kanota, K. Udagawas and Masakatsu. I.: *J. Food Hyg. Soc., Japan*, **9**, 29 (1968).
- 21) Hiroshi, K.: *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **9**, 431 (1968).