

식품중의 Aflatoxins - 분석방법 및 이화학적 반응을 통한 저감화를 중심으로 -

황준호 · 전향숙¹ · 이광근*

동국대학교 식품공학과, ¹한국식품개발연구원

(2003년 10월 2일 접수, 2003년 12월 3일 수리)

이 논문에서는 식품 또는 식품원료 중의 aflatoxin에 관한 오염현황, 최신 분석법 그리고 저감화 시킬 수 있는 방안에 대해 조명하였다. Aflatoxin은 여러 곰팡이가 생성하는 2차 대사산물로서 곰팡이 독소 중 가장 독성이 강한 것으로 알려져 있다. 발암성을 포함한 독성 관계로 aflatoxin은 인간의 건강 측면 뿐 아니라 식품을 포함한 산업 전반에 경제적으로 큰 영향을 끼치고 있다. 우리나라와 같은 식량 수입국에서는 식품의 안전성 확보를 위해 노출량 조사, 위해평가 및 관리가 체계적으로 이루어져야 하며 아울러 새로운 aflatoxin 분석 기술의 개발과 독성 저감화 기술의 개발이 병행되어야 한다고 판단된다.

Key words: Aflatoxins 분석방법, 독성 저감화

서 론

최근 소득증대에 따라 식품소비패턴이 변화되고 UR 협상타결, 위해요소중점관리기준(HACCP)이 식품가공산업에 적용됨에 따라 국내에서 제조되는 식품과 수입되는 식품 및 그 원료의 오염문제에 국민적 관심이 제고되고 있다. 특히 곰팡이독소(mycotoxin)는 농산물의 생육기간 및 저장, 유통 중에 곰팡이가 생산하는 2차 대사산물로서, 열에 안정하여 조리, 가공 후에도 잘 분해 되지 않아 오염된 식품 및 원료를 통하여 가축 및 인간에게 건강상 위해를 나타낸다. 또한 일부 독소들은 동물들의 조직이나 우유 등에 잔존함으로써 인간에게 2차적인 위해를 나타낼 뿐만 아니라 간암이나 식도암 등 암의 발생과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 이에 WHO, FAO 등에서는 식품관련 위해요소 중 식품첨가물이나 잔류농약보다 곰팡이독소의 위험성이 더 큰 것으로 논의된 바 있다.¹⁾

현재까지 구조가 밝혀진 곰팡이 독소는 200여 개로, 식품 및 그 원료에서 주로 문제가 되는 것은 aflatoxin, ochratoxin, deoxynivalenol, nivalenol, zearalenone, patulin 등이다. 이 가운데 aflatoxin은 식품과 관련하여 가축과 인간에게 가장 치명적으로 작용하는 곰팡이독소로서 현재 17여종의 동족체가 발견되어 있다.²⁾ 비록 한국의 기후조건은 aflatoxin 생성에 최적이라고 할 수는 없으나, 한국인들은 곡류를 주식으로 하고 있고, 곡류 가공식품을 다량 섭취할 뿐만 아니라 상당량의 식품 및 사료원료를 수입에 의존하고 있어 aflatoxin에 노출될 가능성이 높을 것으로 예상된다.^{3,4)} 그러나 국내에서 aflatoxin 오염현황 조사는 대두 발효 식품 및 곡류 등에서 aflatoxin B₁을 대상으로 제한적인 범위 내에서 단편적으로 시도되었기 때문에 정확한 노출

량 평가가 이루어지지 않고 있는 실정이다. 국가적인 차원에서 aflatoxin의 노출량을 정확하게 파악하고 나아가 위해평가와 관리를 하기 위해서는 무엇보다도 신속하고, 감도가 높은 aflatoxin 분석방법의 확립이 요구된다고 하겠다.

따라서 본고에서는 aflatoxin으로부터 식품의 안전성을 확보하기 위해 국내에서 이루어져야 할 연구 및 정책 방향을 제시하는데 기초자료로 이용되게 하고자, 국내외에서 이루어진 자료들을 토대로 식품중 aflatoxin의 오염 및 분석기술에 대한 현황과 더불어 현재까지 이루어진 이화학적 aflatoxin의 저감화 연구 동향에 대해 살펴보고자 한다.

본 론

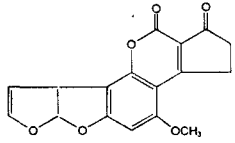
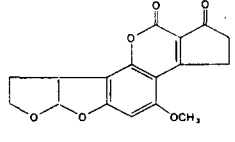
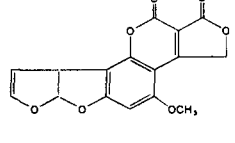
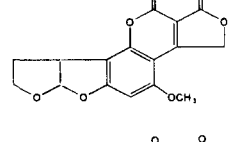
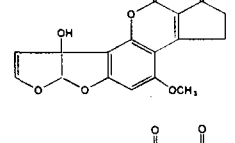
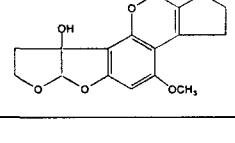
Aflatoxin의 물리화학적 성질. Aflatoxin(AF)은 *Aspergillus flavus*, *A. parastictus*, *A. nomius*와 같은 곰팡이들이 그들의 제 2차대사 산물로 생성하는 독성물질을 말한다. Aflatoxin의 어원은 *Asperillus*의 A와 *flavus*의 FLA, 독이라는 뜻의 Toxin을 조합하여 만들어진 단어이다.⁵⁾ Aflatoxin이 전 세계적으로 관심을 모으게 된 것은 지금으로부터 40여 년 전인 1960년 영국에서 칠면조가 폐죽음을 당한 사고가 발생했을 때 그 원인이 브라질에서 수입된 사료에 함유된 Aflatoxin이라는 균 독소로 밝혀진 이후이다.⁶⁾ Aflatoxin은 17여종의 화학 구조 이성질체를 가지고 있다. Aflatoxin은 thin layer chromatography(TLC)에 의해 발현되는 색에 따라 B(blue)군 G(green)군으로 구분되고, 이들을 섭취한 후 동물의 생체 대사산물로서 소변 및 유즙 등에서 발견되는 것이 M(metabolized toxin)군인데 그중 B₁, G₁ 및 M₁이 가장 잘 알려져 있다.⁷⁾ Aflatoxin M₁(AFM₁)은 일반적으로 우유나 유제품에서 발견 되는데 aflatoxin의 대사적 유도체로 인간을 포함한 포유동물에서 aflatoxin B₁(AFB₁)의 monohydroxy 유도체이다. Table 1에 각 aflatoxin의 화학구조 및 화학적 특성을 나타내었다. AFM₁은 일명 우유독(milk toxin)이라고 하고,

*연락처

Phone: 82-2-2260-3370; Fax: 82-2-2260-3370

E-mail: kwglee@dongguk.edu

Table 1. Chemical structures, properties, and toxicity of aflatoxins

Aflatoxin	Structure	Molecular Formula (molecular weight)	Melting Point	LD ₅₀
AFB ₁		C ₁₇ H ₁₂ O ₆ (312)	268-269	24 µl/kg
AFB ₂		C ₁₇ H ₁₄ O ₆ (314)	286-289	1700 µl/kg
AFG ₁		C ₁₇ H ₁₂ O ₇ (328)	244-246	784 µl/kg
AFG ₂		C ₁₇ H ₁₄ O ₇ (330)	237-240	3450 µl/kg
AFM ₁		C ₁₇ H ₁₂ O ₇ (328)	299	320 µl/kg
AFM ₂		C ₁₇ H ₁₄ O ₇ (330)	293	1230 µl/kg

AFB₁보다 발암성과 돌연변이성이 적은 것으로 알려져 있다.^{5,8)} 좀 더 구체적인 구조적 차이를 살펴보면, aflatoxin G(AFG)는 aflatoxin B(AFB)와 달리 cyclopentenone ring 대신에 3-lactone ring이 존재한다. Aflatoxin B₂(AFB₂)과 aflatoxin G₂(AFG₂)는 AFB₁과 aflatoxin G₁(AFG₁)이 가지는 8, 9번 탄소사이의 이중 결합에 연결된 furan ring의 vinyl ether 구조를 가지지 않는다. 이러한 구조적 차이는 그들이 가지는 독성의 강도와 분석 시 민감도의 차이를 일으킨다. 즉, AFB₁과 AFG₁은 AFB₂, AFG₂보다 발암성과 독성이 강하다.⁹⁾ AFB, AFG, AFM 이외에 인체의 생체대사로 생성이 되는 P₁, Q₁ 등도 있는 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ AF의 용해성의 경우, 물에 약간 녹고(10-30 µg/ml), 핵산이나 석유 에테르와 같은 비극성용매에는 거의 녹지 않은 반면, 클로로포름, 메탄올과 같은 중간정도의 극성 유기용매에 잘 녹는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ Aflatoxin은 pH 3 이하나 10 이상의 극단적인 pH 영역에서 매우 불안정하며, 산소의 존재하에서 자외선에 노출되거나 산화제에 의해서 파괴되거나 건조된 상태에서는 융점까지의 온도 범위에서 비교적 안정하다. 또한 aflatoxin의 락톤환(lactone ring)이 알칼리 가수분해에 대해 반응성이 매우 커서, 암모니아나 차아염소산소다에 의해 파괴되는 것으로 알려져 있다.

Aflatoxin은 주로 고온(25-30°C), 다습(80-85%)한 열대나 아열

대지방에서 잘 생성되며 수확에서 건조까지 저장기간이 길고, 환기가 불충분할수록 잘 생성된다. 농산물 중에서는 쌀, 보리, 밀 등의 곡류, 땅콩, 피스타치오, 호두와 같은 견과류와 옥수수 등과 같이 탄수화물 함량이 높은 기질에서 잘 생성되는 것으로 알려져 있다.¹²⁾ 주된 생성균 중, 검출빈도가 가장 높은 것은 *A. flavus*이며, *A. parasiticus*와 *A. nomius*의 검출빈도는 낮다고 보고되었다.

식품중 aflatoxin의 국외 오염 현황. Aflatoxin은 주로 세계 지 곰팡이(*A. flavus*, *A. parasiticus* 및 *A. nomius*)에 의해 생성된다고 알려져 있는 바, 일반적으로 *A. flavus*는 aflatoxin B₁, B₂를 *A. parasiticus*는 aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂를 생성한다.¹³⁾ 지역적으로 미국과 아프리카 지역에서는 *A. flavus*, 동남아시아 지역에서는 *A. parasiticus*가 주로 분포되어 있는 것으로 보고되었다.¹⁴⁾

Aflatoxin의 오염은 열대나 아열대 지역에서 발생되지만, 국가간 무역이 활발해지면서 발생지역에 상관없이 여러 나라에서 AF의 오염정도에 대해 여러 종류의 식품시료를 지속적으로 조사하였다. 이중 대표적인 오염사례 및 연구를 Table 2에 나타내었다. 1974년 후반부터 1975년 초에 인도 서부 Gujarat 및 Rajasthan 150촌락에서 aflatoxin에 의한 집단 중독이 발생하였는데, 이는 이 지방의 일기불순으로 주식인 옥수수에 6.25-15.6

Table 2. FAO/WHO/UNEP monitoring program: aflatoxins in maize and maize products

Country	Year	No. of samples	Median (g/kg)	90th percentile (g/kg)
Maize				
Brazil	1981	228	<8.0	<8.0
Canada	1976	25	<4.0	<4.0
Guatemala	1976-79	231		4-360
Kenya	1978-79	8	<0.1-70	30-1920
Mexico	1979-80	96	<2.5-<10	<2.5-30
United Kingdom	1978	29	5.0	8.0
USA	1978-83	2633	<1-80	10-700
USSR	1981-82	219	<1.0	<1-662
Maize products				
Canada ^c	1983	20	4.0	6.0
Guatemala ^c	1977-79	22	<4.0	10-20
Kenya ^d	1978-79	283	<10.0	<10.0
Mexico ^e	1978	217	<2.0	Not reported
Switzerland ^c	1978	40	<0.5	2.0
United kingdom ^d	1978	13	<0.1	<0.1
USA ^f	1978-83	174	<1.0	<1-56
USSR ^c	1976	87	<1.0	5.0

From Jelinek *et al.* (1989)¹⁵⁾

^aMany of the median values were below the detection limits of the assay.

^bThe level below which 90% of the findings occurred in a given survey; when more than one value is given, they refer to separate surveys in different years.

^cMaize flour, ^dTortillas, ^eGround or dry-milled maize.

Table 3. Occurrence of aflatoxin M₁ in milk

Country or region	Period of sampling	No. positive/no. samples	Proportion positive (%)	Range of concentrations (µg/kg) ^a
Austria	1983-86	0/65	0	<0.03
Belgium	1960s, 1970s	42/68	62	0.02-0.2
	1980-86	135/809	16.7	<0.01-0.5
China	1981, 1983	173/319	54.2	0.02-0.5
Finland	1982, 186	0/17	0	<0.1
France	1981-85	580/3634	16.4	0.02-0.5
Germany	1960s, 1970s	229/788	29.1	0.04-6.5b
India	1960s, 1970s	3/21	14	Up to 13.3
Ireland	1981-1982	0/36	0	<0.015
Italy	1982-84	213/537	39.7	0.001-0.15
Netherlands	1960s, 1970s	74/95	82	0.03-0.5
	1985-86	964/1241	77.7	0.01-0.09
South Africa	1960s, 1970s	5/21	24	0.02-0.2
Spain	1983	7/95	7	0.02-0.04
Sweden	1983-86	384/647	59.2	0.005-0.3
Taiwan	1986	0/217	0	<0.1
United Kingdom	1960s, 1970s	85/278	31	0.03-0.52
	1981-83	59/686	8.6	0.01-0.78
USA	1960s, 1970s	191/302	63	Trace->0.7

Compiled from van Egmond (1989)¹⁷⁾

^aFor milk powder, calculated on the basis of reconstituted milk (dilution factor, 10×)

^bWestern part, 0.04-0.54; eastern part, <0.1-6.5.

µg/g(ppm)의 aflatoxin이 오염되었기 때문이었다. 1976-1983년에 남북아메리카, 유럽, 아시아, 아프리카에 있는 16개국의 옥수수 와 옥수수관련 제품중 총 aflatoxin 수준을 조사한 결과 median 수준은 <0.1-80 µg/kg으로 나타났고, 시료의 10% 이상이 5 µg/kg이상의 aflatoxin으로 오염되었다.¹⁵⁾ 또한 1981년 인도, 수단,

브라질에서 수입한 땅콩에서는 50% 이상이 26 µg/kg 수준 이상으로 aflatoxin이 오염되어 있었다. 열대성 저기압의 일종인 사이클론에 노출된 인도산 쌀중 aflatoxin 함량은 1,130 µg/kg의 최고치를 보였으며, 20 µg/kg 이하로 오염된 시료가 거의 없는 것으로 조사되었다(Choke, 1990). 1960년대, 1970년대 및 1980

Table 4. Population exposures estimated on basis of analyses of aflatoxins in food

Country or region	Period of sampling	Food source	Estimated exposure to aflatoxin B ₁ (ng/kg bw/day)	Reference
Kenya	1969	P (diet and beer)	3.5-14.8 ^b	Peers & Linsell (1973) ⁽¹⁰³⁾
Swaziland	1972-73	H (wet diet)	5.1-43.1 ^c	Peers <i>et al.</i> (1976) ⁽¹⁰⁴⁾
	1982-83	H	[11.4-158.6]	Peers <i>et al.</i> (1987) ⁽¹⁰⁵⁾
Mozambique	1969-74	P	38.6-183.7	van Rensburg <i>et al.</i> (1985) ⁽¹⁰⁶⁾
Transkei	1976-77	P	16.5	van Rensburg <i>et al.</i> (1985) ⁽¹⁰⁶⁾
Gambia	1988	P	[4-115] ^d	Wild <i>et al.</i> (1992a) ⁽¹⁰⁷⁾
Southern Guangxi, China	1978-84	M	[11.7-2027]	Yeh <i>et al.</i> (1989) ⁽¹⁰⁸⁾
Thailand	1969-70	P	5-55	Shank <i>et al.</i> (1972a) ⁽¹⁰⁹⁾
USA	1969-79	M	2.7	Bruce (1990) ⁽¹¹⁰⁾

[] Calculated by Working Group, assuming 70-kg weight per person

^aP, samples of cooked food from the platel H, uncooked food samples from the home M, samples from the market

^bB₁ and B₂

^cAflatoxin, unspecified

^dB₁, B₂, G₁, G₂

Table 5. Incidence and levels of aflatoxin B₁ in Korean feeds and foods

Year	Commodities	No. positives/no. samples	AFB ₁ (ng/g)	Methods of analysis	References
1969	<i>meju</i> etc.	0/15	-	TLC	(26)
1969	<i>meju</i> etc.	1/35	-	TLC	(25)
1970	<i>meju</i> etc.	0/228	-	TLC	(111)
1975	cereals, <i>dwenjang</i> etc.	0/95	-	TLC	(27)
1977	<i>meju</i> etc.	15/210	66	TLC	(112)
1979	dried fishes & dried fruits	4/11	0.25	TLC	(113)
1982	feeds	1/8	30	TLC	(28)
1985	<i>meju</i> , soybean foods	0/70	-	HPLC	(33)
1985	<i>dwenjang</i>	0/46	-	TLC	(114)
1989	rice	3/88	2.0-6.2	ELISA	(30)
1989	rice, barley	7/181	3.3-9.6	ELISA	(31)
1991	feeds	37/61	0.6-81.9	HPLC	(34)
1997	rice, peanuts etc.	16/80	10-585	ELISA	(32)
1998	<i>meju</i>	35/60	1.0-40.7	ELISA	(35)
1998	<i>meju</i>	25/60	2.1-23.5	HPLC	(35)

년대에 여러 나라를 대상으로 우유중 aflatoxin M₁의 오염정도를 조사한 결과, 대부분의 시료가 0.5 µg/kg 이하로 검출되었다 (Table 3).¹⁷⁾ 한편, aflatoxin에 오염된 곡물을 취급하거나 가공하는 직업에 종사하는 사람들을 대상으로 aflatoxin의 직업성 노출정도도 평가되었다. Aflatoxin B₁이 오염된 사료(0-26 µg/kg)를 취급한 근로자 45명중 7명의 혈액에서 >5-100 pg/mg albumin 범위의 혈중 albumin-aflatoxin B₁ adduct가 검출되었다. 또한 여러 장소에서 채취한 분진 시료에서 불검출-8 µg/kg dust 범위의 aflatoxin B₁이 검출되었다.^{18,19)}

식품 중에 aflatoxin 함량을 조사하고 해당 식품의 소비량을 고려하여 식이를 통한 aflatoxin의 노출량을 평가한 결과, 동남아시아와 아프리카에서 aflatoxin B₁의 노출량 범위는 일일 2-200 ng/kg이었다 (Table 4).²⁰⁾ 한편, 인간에 대한 직접적인 노출정도를 평가하기 위해 혈액, 노 및 젖 시료 중 aflatoxin의 오염정도가 여러 연구에서 조사되었다.^{21,22,23)} 아프리카, 동남아시아 및 유럽 몇 개국의 사람들을 대상으로 혈청 aflatoxin-albumin adduct 수준을 분석한 결과, 태국에 비해 잠비아, 케냐 중국 (Guangxi 지방)의 함량이 높았고, 유럽은 검출한계 이하로 조사되었다.²⁴⁾

식품 중 aflatoxin의 국내 오염 현황. 국내에서는 한국인의 암발생율과 관련시켜 곰팡이 발효식품 중 aflatoxin의 존재에 대해 관심이 고조되기 시작하여 1969년부터 식품 중 aflatoxin의 오염 정도에 대한 연구가 수행되었다. 1969년부터 1998년까지 국내에서 이루어진 aflatoxin의 오염조사 자료를 정리한 것은 Table 5와 같다.

즉, 이와 이는 메주 및 된장을 포함한 15점의 대두 발효식품 중 6점의 시료에서 aflatoxin 유사물질 검출하였고, 정과 권도 35점의 대두발효 식품 중 1점의 시료에서 aflatoxin G₁과 G₂의 존재를 확인하였다.²⁵⁾ 이 등과 김과 환은 각각 곡류와 발효식품 228점과 95점에서 aflatoxin을 TLC로 검색하였으나 음성의 결과를 보고하였다.^{26,27)} 1977년에 김 등은 54점의 메주, 125점의 된장, 31점의 땅콩을 포함한 210점의 시료에서 aflatoxin의 검색을 시도한 결과, 4점의 메주시료 및 11점의 된장 시료에서 aflatoxin이 검출되었다고 보고하였다. 전과 신의 보고에서는 건조 과실, 종실류 및 건조 수산물 11점중 4점에서 0.25 µg/kg 수준으로 aflatoxin이 검출되었다.²⁸⁾ 김과 노는 메주 및 대두발효 식품 70점 가운데 TLC에 의한 검색에서는 aflatoxin 유사물질이 검출되었지만 HPLC에서는 음성이었다고 하였다.²⁹⁾ 한편

1985년 최는 한국산 재래식 된장 46점을 TLC로 분석하였으나 aflatoxin B₁이 검출되지 않았다고 했다. 1989년부터 면역학적 기법이 도입되어 강 등과 정 등은 영남지방의 곡류 269점에서 aflatoxin을 ELISA법으로 조사한 결과, 153점의 쌀 시료 중 6점의 시료에서 2.0-7.5 µg/kg, 116점의 보리 시료 중 4점의 시료에서 3.6-9.6 µg/kg의 범위로 검출되었다.^{30,31)} 손 등도 ELISA법을 사용한 조사에서 국내산 땅콩, 옥수수 및 캐슈너트 각각 20점에서 9점, 3점 및 4점의 시료에서 61-585 µg/kg, 17-20 µg/kg 및 20.2-27.3 µg/kg의 범위로 aflatoxin이 검출되었다고 하였다.³²⁾ 한편 사료와 수입 농산물에서도 aflatoxin의 오염조사가 실시되어 강과 강은 8점의 사료 중 1점에서 30 µg/kg의 aflatoxin B₁ 오염을 확인하였고,³³⁾ 이 등의 연구에서 61점의 면실박, 채종박 등의 사료용 수입농산물 중 37점의 시료에서 0.6-81.9 µg/kg의 aflatoxin B₁이 검출되었다.³⁴⁾ 1998년 김은 60점의 메주시료중 ELISA와 HPLC에 의해 aflatoxin 오염정도를 조사한 결과 35점의 시료에서 각각 1.2-40.7, 2.1-23.5 µg/kg의 범위로 검출되었다.³⁵⁾ 국가간 교역에서는 1981년 일본으로 수출한 국산 땅콩 제품에 aflatoxin이 검출되어 반품 조치 받은 바 있으며, 1997년에는 국내산과 북한산 땅콩에서 허용기준치인 10 ppb의 58.5 배에 달하는 aflatoxin B₁이 검출되었다. 또한 1997년에는 서울과 경기 지역의 재래시장에서 판매되는 국산과 수입산 곡물에서 aflatoxin이 검출되기도 하였다.⁷⁾

이상의 국내 오염조사 결과들을 살펴보면 우려와는 달리 대두발효 식품중 aflatoxin의 오염정도는 비교적 높지 않은 것으로 나타났다. 이는 aflatoxin의 생성을 저해하거나 파괴하는 식품성분에 의한 효과이거나 발효과정에 의해 aflatoxin이 일부 파괴되었기 때문으로 추측되고 있다. 그러나 초기 대부분의 오염 조사는 검출한계가 높은 TLC로 이루어졌기 때문에 비교적 낮은 농도의 aflatoxin을 검출하지 못하였을 가능성이 높다. 또한 대부분의 조사연구가 통계적인 방법에 기초한 체계적인 샘플링 없이 단일 분석방법에만 의존하여 제한적이고 간헐적으로 이루어진 것으로 보여 정확도와 신뢰도가 낮은 결과를 얻었을 가능성 또한 완전히 배제할 수 없을 것이다. 따라서 향후 국내외 생산된 식품 및 그 원료를 대상으로 체계적이고 지속적인 aflatoxin의 오염조사가 이루어져야 할 것이다.

Aflatoxin의 독성 및 발암성. Aflatoxin을 비롯한 진균 독소는 식품의 조리 및 가공 후에도 잘 분해 되지 않는 특성을 가진다. 이러한 곰팡이 독소는 사람이 이에 오염된 식품을 섭취할 경우, 간을 비롯한 여러 장기에 이상을 유발하고 면역기능 억제 및 중독 증세를 야기하는 등의 건강 위해를 나타낸다. 또한 전 세계적으로 식량 자원과 사료 중에 오염되어 경제적 손실을 야기하기도 한다. Aflatoxin은 대부분의 동물 중에서 발암성, 돌연변이성, 기형 유발성(teratogenic), 그리고 면역 억제성(immunosuppressive)을 나타낸다. Aflatoxin의 독성은 AFB₁, AFG₁, AFB₂, AFG₂ 순으로 약해지고, AFB₁의 terminal furan 부분이 mycotoxin의 생물학적 활성을 결정하는 중요한 요인이 되는 것으로 알려져 있다.³⁶⁾ International Agency for Research on Cancer(IARC)에서는 aflatoxin을 발암성물질 1그룹으로 분류하고 있다. AFM₁은 AFB₁보다 발암성이나 돌연변이성이 적다.

Table 6. Regulatory amounts of aflatoxin in various countries

Country	Commodity	Aflatoxin (s)	Level (ng/g)
Austria	all foods	B ₁	1
		B ₂ , G ₁ , G ₂	5
	milk	M ₁	0.05
China	rice, edible oil	B ₁	10
Japan	all foods	B ₁	10
Korea	all foods	total	10
EU	animal feed	total	20
France	all foods	B ₁	10
	milk	M ₁	0.05
Germany	all foods	B ₁	2
		B ₂ , G ₁ , G ₂	4
	milk	M ₁	0.05
USA	all food	Total	20
	milk	M ₁	0.5
South Africa	all food	B ₁	5
		B ₂ , G ₁ , G ₂	10

AFB₁에 의한 발암 가능성은 TD₅₀(tumorigenic dose, g/kg/day)을 산출함으로써 비교할 수 있다. 최 등은 식품을 통해 노출되는 aflatoxin B₁의 일일 노출량을 ELISA 방법으로 산출하였다. 쌀, 보리, 땅콩, 간장 및 된장의 일일 섭취량과 AFB₁의 오염도를 기준으로 산출된 AFB₁ 하루 노출 예상량은 1.86±0.46 ng/kg/day이었다. 이 결과치는 한국인의 주된 간암 발생 원인이 AFB₁이 아니라고 해석하고 있다.³⁷⁾

발암성이 강한 aflatoxin에 오염된 농산물은 식료나 사료에 적합하지 않기 때문에 20여개 나라에서 규제치를 설정하고 식품에 대한 안전성을 극대화하고 있다(Table 6).³⁶⁾ WHO-FAO합동 위원회에서는 식품 중에 함유된 aflatoxin-B₁, B₂, G₁, G₂의 총량을 20 ppb 이하로 정하고, 미국에서도 식료 사료에서 aflatoxin 총량을 20 ppb 이하로 정하고 있다. 일본의 경우 식품에서 aflatoxin의 규제 농도를 10 ppb를 기준으로 하고 있다. 기타 세계 여러 나라들의 AF규제치의 상한선을 살펴보면, 프랑스(모든 식품)에서는 AF 총량으로 10 ppb, 오스트레일리아(모든 식품)는 AFB₁ 5 ppb, 남아프리카(모든 식품)는 AFB₁ 5 ppb, 미국(모든 식품 및 사료)은 AF 총량으로 20 ppb, 우유에서는 AFM₁ 0.5 ppb로 규정하고 있다. 유럽공동체(EC)는 사료에 대해서 AF 총량으로 20 ppb로 제한하고 있다. 우리나라의 경우에는 aflatoxin B₁에 대한 규제치는 10 ppb로 정하고 있다.

Aflatoxin의 최신 분석기술 현황. 식품의 안전성 및 경제적 관점에서 aflatoxin의 중요성 때문에 새로운 분석기법의 개발이 계속적으로 이루어져 왔다. 최근 들어 aflatoxin을 모니터링 하는데 신기술을 응용하는 분야가 주목할 만큼 발전하고 있다. Aflatoxin 분석은 다양한 식품에서 발견되고 aflatoxin 이성체들도 다양하기 때문에 분석하는 방법 또한 매우 다양하게 제시되고 있다. 다른 독성 물질의 분석과 마찬가지로 높은 민감도(sensitivity), 정밀도(precision), 정확도(accuracy), 재현성(reproducibility), 그리고 시간의 단축이 aflatoxin 분석의 중요한 인자라고 할 수 있다.³⁸⁾ Aflatoxin 분석에 있어서 초기에는 주로 thin layer chromatography(TLC)와 자외선을 이용한 분석방법이 이용되어 왔으며, 미니칼럼을 이용한 방법, high

Table 7. Assays for the detection of aflatoxins

	Methods	References
Indirect method	Visible A. flavus (VAF) method	(115)
	BGYF method (Black light)	(39)
	Bichromatic sorter method	(40)
	NIR method	(41)
	FTIR-method	(42,43)
Direct method	TLC	(116)
	Minicolumn method	(116)
	HPLC	(116)
	Immunoassay (RIA, EIA)	(117,118)
	Microwell (microtiter plate, strip)	"
	Dipstick assay	"
	Immunofiltration	"
	Biosensor	
	Fiber optics	(75)
	Small particle (microbead)	(78,79)
	Surface plasmon resonance (SPR)	(119)
	Liposome	(120)
	Microcapillary	(121)
Fluorescence polarization (FP)	(83)	

performance liquid chromatography(HPLC) 및 gas-liquid chromatography(GLC) 등 크로마토그래피를 이용한 방법들이 시도되었다. 특히 HPLC에 의한 aflatoxin 분석법은 다양한 형태의 시료에 성공적으로 적용될 수 있는 정확한 분석방법이기는 하나 시료의 추출과 정제과정에 장시간이 소요되고, 고가 장비와 숙련된 기술을 요한다. 이러한 단점들을 해소하기 위하여 항체를 분석에 응용하는 enzyme linked immunosorbant assay (ELISA)로 대표되는 면역학적 분석 기법이 도입되어 kit 개발로 이어져 현재 aflatoxin의 스크리닝에서 정량적인 분석에 이르기까지 광범위하게 이용되고 있다.

현재 aflatoxin의 분석에 이용되고 있는 방법들을 정리하면 Table 7과 같다. 즉, 분석원리, 사용목적 등에 따라 여러 가지 분류방법이 있겠으나 독소의 존재여부를 간접적으로 파악하는 간접적인 방법과 직접 독소의 함량을 측정하는 직접적인 방법으로 분류할 수 있다. 간접적인 방법에는 visible *A. flavus*법 (VAF method), BGYF(bright greenish-yellow fluorescence)법, bichromatic sorter 사용법, FTIR(fourier transform infrared spectroscopy) 이용법 등의 대부분 추정 시험방법들이 있으며, 직접적인 방법으로는 TLC법, 미니컬럼 이용법, HPLC법, 면역 분석법 등이 있다. 면역분석법은 세부적으로 방사성동위원소나 효소를 이용하는 방법으로 나누거나, format에 따라 microwell 분석(microtiter plates, strips), dipstick 분석 및 immunofiltration 분석으로 나눌 수 있겠다. 특히 최근 몇 연구진들에 의해 곰팡이 검출을 위한 추정 시험용으로 뿐만 아니라 독소의 검출을 위한 바이오센서(biosensor)의 개발이 활발하게 이루어지고 있다.

간접적인 방법에 속하는 방법들은 곰팡이 오염에 대한 신속 시험으로 곰팡이독소의 존재가능성을 나타내는 추정 시험으로 널리 사용되어 왔다. Visible *A. flavus*법은 농장수준에서 육안으로 *A. flavus* 생성유무를 파악하는 방법이며, BGYF(또는 black light)법은 자외선하에서(365 nm) *A. flavus*나 *A.*

*parasticus*에 오염된 옥수수는 형광을 나타낸다는데 착안하여 곡류의 등급화에 널리 이용되는 방법이다.³⁹⁾ 다른 접근방법으로 곰팡이 오염시 발생하는 색의 변화를 검출해 왔는데, 특히 변색된 피스타치오를 제거하기 위해 화상과 변색을 검출할 수 있는 검지 알고리즘을 결합시킨 장치인 biochromatic sorter가 이용되었다.⁴⁰⁾ 또한 근적외선(NIR) 분광법을 이용하여 파수 700 nm와 1100 nm에서의 투과도 비의 차이로 곰팡이가 오염된 nut 을 검출함으로써 aflatoxin의 함량을 4-18% 수준까지 감소시킬 수 있다고 보고하였다.⁴¹⁾ Aflatoxin 생성 곰팡이 오염을 평가하기 위한 방법으로 두가지 형태의 FTIR 즉, FTIR-DRS(diffuse reflectance spectroscopy)와 FTIR-PAS(photoacoustic spectroscopy)가 사용되었다. *A. flavus*에 오염된 옥수수에 두 가지 FTIR 기술을 적용한 결과 FTIR-PAS가 DRS에 비해 감도가 더 높은 것으로 조사되었다.⁴²⁾ 즉, 이 방법은 시료가 적외선을 흡수하면 흡수된 에너지의 일부는 열로 전환되어 음향으로 방출되는 원리를 이용하는 것으로 Gordon 등은 옥수수 표면에 오염된 곰팡이를 검출하여 옥수수를 등급화 하는데 활용하였다.⁴³⁾

AF 분석을 위한 시료의 채취(sampling). Aflatoxin은 다양한 식품에서 검출 되고 시료에서 aflatoxin이 균질하게 분포하지 않기 때문에 시료를 대표 하는 것을 선택하는 것, 즉 시료의 채취(sampling)와 시료의 보관은 분석에 있어 매우 중요한 요소이다. Aflatoxin이 발견되는 시료들을 살펴보면, 식품에서는 가장 빈번히 검출되는 땅콩과 같은 견과류나 유제품이 있고, 독성연구에서는 독성을 추적, 분석하기 위한 소변, 혈액, 조직 등이 있다. 시료채취는 aflatoxin 분석에 있어서 오차의 대부분을 차지하고 있다.⁴⁴⁾ 일반적으로 시료의 성상에 따라 분석에서 상이한 결과를 보여주는데, 시료의 입자가 작으면 오염이 되기 쉬운 반면, aflatoxin의 추출은 용이하다. 또한 시료의 외관에 상처나 껍질의 유무에 따라 상이한 시료의 오염도를 가지므로 이를 고려하여 분석해야 한다.⁹⁾

AF 분석을 위한 시료 준비(sample preparation). Aflatoxin의 추출은 시료의 물리화학적 특성에 좌우되기 때문에 시료에 따라 다양한 추출 용매와 추출 방법을 사용하고 있다. Aflatoxin은 물에 잘 녹지 않으나, 유기 용매에 잘 녹는 성질을 가지고 있어, 추출 용매로 acetone, chloroform, 그리고 methanol을 주로 사용하고 있다. 소량의 물을 유기 용매에 섞어서 사용하면 시료에 대한 유기용매의 성질을 좋게 해주므로 aflatoxin의 추출 효율을 높인다.⁹⁾ 전처리 방법으로는 AOAC(Association of Official Analytical Chemistry)에 나와 있는 CB method, BF method, immunoaffinity column method, 그리고 Romer's cleanup column method를 가장 널리 사용하고 있다.⁴⁵⁾ 이들 전처리 방법들은 liquid-liquid partition, solid phase extraction (SPE), immunoaffinity column method등을 이용하였다. Liquid-liquid-partition은 crude extraction을 얻기 위한 작업으로 주로 사용한다.⁴⁶⁾ SPE은 silica gel 자체나 silica gel에 C₆, C₈, C₁₈, phenyl 을 결합시킨 후 column에 충전하고 나서 통과시킨 aflatoxin을 유기 용매에 따라 분리하여 용출시키는 방법이다. 최근에는 여러 SPE 제품이 상용화 되어 있어, 사용이 편리하고 간단하며, 가격이 저렴한 장점을 가지고 있다.⁴⁷⁾ Immunoaffinity column을 이용한 aflatoxin 추출 방법은 높은 특

Table 8. Derivatization methods for aflatoxin analysis using HPLC

Derivatization method	Aflatoxin(s)	Detection limit	Recovery percentage	Reference
Trifluoroacetic acid (TFA)	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂ ,M ₁	0.3 µg/l	93~125% (in 1ppb)	(59)
	B ₁ ,B ₂	1.5 µg/l (B ₁), 0.8 µg/l (B ₂)	>90%	(122)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂	0.02 µg/l (in wine)		(58)
Iodine	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂	1 µg/l	80%	(61)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂		71~88.3%	(60)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂	2.7 µg/l (B ₁), 1.6 µg/l (B ₂), 2.5 µg/l (G ₁), 3.2 µg/l (G ₂)	82.1~88.0%	(46)
Bromine	Q ₁	49.5 ng/l (in urine)	88%	(65)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂	0.05 µg/l	70~100%	(63)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂		88.9% (B ₁), 100.5% (B ₂)	(64)
	B ₁ ,B ₂	1.1 µg/l (B ₁), 0.3 µg/l (B ₂)	>90%	(122)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂ ,Q ₁	6.9 ng/l (B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂), 18 ng/l (M ₁ ,Q ₁) (in urine)	96~106% (B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂), 103% (M ₁), 100% (Q ₁)	(49)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂	3.1 µg/l (B ₁ ,G ₁ ,G ₂), 1.8 µg/l (B ₂) (in airborne dust)	84~101%	(51)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂		95~99%	(51)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂		86% (CB method)	(51)
Cyclodextrins(CDs)	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂	4 µg/l (B ₁), 4 µg/l (B ₂), 6 µg/l (G ₁), 4 µg/l (G ₂) in DMβ-Cyd		(62)
	B ₁ ,B ₂ ,G ₁ ,G ₂ ,M ₁	0.05 µg/l (B ₁), 0.003 µg/l (B ₂), 0.125 µg/l (G ₁), 0.075 µg/l (G ₂), 0.0005 µg/l (M ₁) in β-CD-Su	76.5% (0.25 µg/l), 75.2% (0.5 µg/l), 73.2% (0.1 µg/l)	(36)

이성과 민감도 그리고 많은 양의 추출액을 농축할 수 있는 기능을 가진다. Kussak 등은 airborne, urin에서 aflatoxin을 분석하기 위해 특이성과 민감도가 높은 immunoaffinity를 사용하여 분석하였다.^{48,49)} Aflatoxin의 정확한 분석을 위해 추출 방법간의 효율성과 회수율에 대한 비교 실험들이 많이 이루어 졌다. Roch는 기존의 CB method보다 좋은 전처리 방법으로 phenyl bonded-phase cartridge를 사용하는 PH-HPLC method를 비교하여 보고하였다.^{46,50)} 다른 보고에서는 Sep-Pack C₁₈과 immunoaffinity column 방법간의 추출 및 정제방법을 비교하는 실험에서 유의적 수준의 차이가 없었다고 보고했다.³⁸⁾ 김은 회수율 측면에서 AOAC에서 제시한 추출 방법 중, 회수율을 고려했을 때 Romer's clean up column 방법이 가장 높았고, 다음이 immunoaffinity column 방법과 CB 방법 순이었다.⁵¹⁾

Thin layer chromatography(TLC) 분석법. TLC는 aflatoxin분석에서 간단하고 값이 싼 분석법으로 알려져 있다. 하지만 TLC 분석법은 민감도가 낮고 정량 분석이 어려운 단점을 가지고 있다.⁵²⁾ 정확한 정량 분석을 위해서는 densitometer를 필요하며, 비용이 많이 드는 단점을 가지고 있다. 노동 및 시간 집약적이라는 이유로 TLC 분석법은 유럽을 중심으로 한 선진국에서 최근 HPLC 분석법 등으로 대체 되었다.⁵³⁾ 하지만 여전히 TLC 분석법은 aflatoxin을 분석하는 가장 간단하고 저렴한 분석 방법으로 적도 근방의 개발도상국에서는 많이 사용되고 있다.⁴⁷⁾

High performance liquid chromatography(HPLC) 분석법. HPLC를 이용한 aflatoxin 분석은 시료 채취, 시료 전처리, 정제, 농축, 추출, 정량, 정성의 작업을 거쳐서 이루어진다. 처음 HPLC를 이용한 AF 분석에서는 normal phase에서 자외선흡광검출기(Ultraviolet absorption detector)로 분석을 하였으나 검출

한계가 높은 관계로 reverse phase를 채택한 형광검출기(Fluorescent detector)를 이용한 분석법으로 전환되었다. 형광검출기를 사용한 aflatoxin 분석은 자외선흡광검출기를 사용한 것에 비해 30~40배 정도 높은 민감도를 가진다.⁵⁴⁾ 형광검출기가 선택된 이유는 aflatoxin의 화학구조에서 높은 공액도(conjugate)와 안정성으로 자연 형광성을 띠기 때문이다. 그리고 aflatoxin 이성질체들의 구조적 차이, 특히 terminal ring의 차이에 의해 형광 성질에 차이를 가져오기 때문에 HPLC-형광검출기로 여러 aflatoxin 이성질체들의 동시-개별 분석이 가능하게 되었다. 예를 들면 AFG₂, AFB₂ 이성체는 AFB₁, AFG₁보다 더 높은 형광성을 띤다.⁹⁾

Aflatoxin의 분석에서 높은 민감도를 가진 간편한 분석방법을 개발하기 위해서 다양한 검출기를 적용하였고 여러 유도체를 통해 분석하였다. 보다 안정적으로 검출한계(detection limit)를 낮추기 위해 질량분석기(Mass spectrometry)⁵⁵⁾ 그리고 amperometric^{54,56)} 검출기를 사용하였다. Elizalde-Gonzalez는 amperometric 검출기를 사용하여 AF의 검출한계를 7~10 ng까지 낮추었다고 보고하였다.⁵⁴⁾

유도체를 이용한 aflatoxin 분석은 비유도체 방법에 비해 3~4배의 검출 신호(detection signal)를 높여주는 결과를 보여준다. Table 8에 각 유도화 방법별로 검출한계, 대상 aflatoxin 등을 정리하여 표기하였다. AFB₁, AFG₁를 분석하기 위하여 TFA(trifluoroacetic acid), bromine, 그리고 iodine에 의한 유도체화를 시키는데 이때에는 AFB₁과 AFG₁ 이성체들의 형광성이 비유도체에 비해 2~3배의 높은 값을 가지게 된다. 유도체화는 유도체화를 시키는 시기에 따라 컬럼전(pre-column) 방법과 컬럼후(post-column) 방법으로 나눌 수 있다.⁴⁶⁾ 주로 aflatoxin의 형광성을 향상시키기 위해 pre-column을 사용하여 TFA으로

hemiacetal 유도체를 형성시키거나⁵⁷⁾ post-column을 사용하여 bromine이나 iodine을 가지고 유도체화를 시킨다.^{49,58)}

TFA에 의한 pre-column방법은 HPLC로 주입하기 전에 TFA와 미리 반응시키는 것인데 다양한 식품 중의 aflatoxin을 유도체화 하기 위해 사용되었다.⁹⁾ Takahashi은 AF 이성체들을 aflatoxin을 TFA로 유도체화 시켜 HPLC로 분석한 결과, AFB₁과 AFG₁은 형광성이 높아졌으나 AFB₂, AFG₂는 포화된 구조를 가지고 있기 때문에 유도체화가 되지 않아 signal의 차이가 없었다고 보고하였다.⁵⁹⁾ TFA 유도체법을 이용하여 우유, 크림, 치즈 중의 AFM₁ 검출도 시도하였다. 이 실험에서 검출한계는 0.3 µg/l이었고, 1 ppb에 대한 회수율은 93~125%이었다. 그리고 유도화 과정으로 3~4배 이상의 형광성이 향상 되었다.⁶⁰⁾ TFA 유도체의 가장 큰 단점은 methanol이 methylacetal을 형성하여 aflatoxin 유도체를 불안정하게 한다는 점이다. 하지만 이 문제는 methanol을 이동상으로 사용하지 않으면 해결할 수 있다.⁹⁾

Iodine에 의한 AF유도체화 방법도 개발되어 많이 응용되었다. 주로 AFB₁, AFG₁을 iodine을 가지고 형광 유도체화 시켜 형광성과 분리도를 향상시켰다고 보고 되었다.⁶¹⁾ Iodine 유도화 실험은 aflatoxin을 높은 온도(60°C)로 이동상에 iodine을 넣어 유도체와 시켰는데, AFB₁과 AFG₁의 형광성은 50%정도 올랐으나, AFB₂, AFG₂는 아무런 효과가 없었다.⁶²⁾ iodine 유도화의 최대 형광효과는 포화된 요오드와 짧은 반응시간(3~5초), 높은 온도(75°C)에서 이루어진다고 했고, 검출 한계는 분석기에 따라 다르지만 일반적으로 0, 1, 2 ppb 수준이다.⁹⁾ 현재 이 방법은 다양한 식품 중의 aflatoxin분석에 적용하고 있고, AOAC-IUPAC에서 규격화된 방법으로 채택하고 있다.⁴⁵⁾ Iodine 유도체 방법의 단점은 요오드가 할로젠 분자이므로 불안정하다는 것과, 반응을 일으키기 위해 이동상에서 75°C로 가열을 하여야 하고, 펄프와 같은 부가 장치들이 필요하다는 점이 있다.⁶³⁾

Bromine을 이용한 유도화 방법이 iodine 유도체 방법과 다른 점은 bromine이 강한 산화 능력을 가지고 있으나 안전성이 낮기 때문에 전기화학반응이 잘 일어나 KOBRA cell 시스템을 사용한다는 점이다. 유도화 반응은 상온에서 4초 내로 이루어지고, iodine 유도체화와 비슷한 검출 능력을 보여준다.⁹⁾ 이 방법은 다양한 식물과 허브 중의 aflatoxin 농도를 분석하는데 사용되었는데 검출한계는 0.05 ppb이었고, 회수율은 70~100%를 보여주었다.⁶⁴⁾ bromine 유도화 방법은 자동화 되어 있고, 분석에 걸리는 시간 또한 pre-column에 비하여 1/2로 단축되고 더 안전하고 향상된 분리능을 보여준다.^{46,53)} bromine 유도화 방법은 일반 식품 뿐 아니라 공기(airborne dust),⁴⁸⁾ 뇨(urine)^{49,65)} 등에도 사용되고 있다.

Bromine이나 iodine과 같은 할로젠원소를 이용한 유도체화는 용액 상에서 불안정하기 때문에 aflatoxin 분석 시 여러 가지 문제점을 가지고 있어, 최근 halogen 원소들을 대치하여 향상된 방법인 cyclodextrins(CDs)을 사용하는 시도가 있었다.⁶³⁾ CDs는 dextran을 CD-transglycolase 효소로 분해 합성하여 생성이 된 것으로 카이랄성, 회전 이성질체(chiral-toroidal configuration)인 성질을 가지고 있다. 생성된 cyclic oligomer은 6~8개의 glucose unit가 α-1,4 결합으로 되어 있고, 일반적으로 α-, β-, γ- cyclodextrin으로 분류되고 methyl기를 붙인 이성질체

를 만들어 성질을 변화시켜 사용한다. CDs는 구멍 안에 많은 종의 유기물, 무기물을 포함할 수 있는 능력을 가지고 있다.⁹⁾ CDs를 이용한 유도체화는 TFA나 halogen 유도체화보다 높은 정확도, 민감도를 보여 주었고 분석시간을 15분 내로 단축하였다.⁶³⁾ Marchelli 등은 aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁에 대해서 succinyl-β-cyclodextrin(β-CD-Su), dimethyl-β-cyclodextrin(DIMEB), β-cyclodextrin(β-CD)을 사용하여 유도화 시켜 각 AF에 대해 형광성 강화 효과를 비교 하였다. AFB, AFG는 β-CD를 사용한 경우 8~12배 형광성이 높게 나타났고, β-CD-Su의 경우 10~15배 높게 나타났고, AFM₁의 경우에는 1.5배 좋게 나타났다. 검출한계는 0.3 µg/kg이하로 나타났으며, β-CD-Su를 사용한 AFM₁의 분석에서는 0.0005 µg/kg까지 분석이 가능하다.³⁶⁾

Aflatoxin 분석을 위한 enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) 분석법. 최근 aflatoxin 분석에 있어서, 빠르고 간편하면서도 높은 민감도가 있어야 한다는 필요성이 제기되었다. 기존의 TLC나 HPLC의 분석 방법은 추출과 정제에 많은 시간과 유기 용매가 소비되고, 넓은 작업 공간, 많은 기구 그리고 전문 인력이 필요하다. 이런 문제점에 대해 ELISA는 높은 민감도, 짧은 분석 시간, 전처리 과정의 간편함으로 주목을 끌었다.⁴⁴⁾ 현재 사용되고 있는 aflatoxins을 분석하기 위한 상업적 ELISA Kit를 Table 9에 정리하였다. ELISA가 aflatoxin 분석법으로 공식적으로 받아들여지는 것은 1990년대부터였다. ELISA 분석법은 aflatoxin 분석에서 분석시간을 2시간 이내로 줄였고, aflatoxin B₁과 M₁의 검출 농도를 1 ppb, 0.01 ppb까지 줄였다. Aflatoxin을 분석하는 immuno assay법으로 ELISA방법 외에도 radioimmunoassay(RIA),^{66,67)} flow-injection liposome immuno assay(FILIA)법^{68,69)} 등이 있다. Tsai와 Yu는 높은 습도 (aw = 0.98, 0.92)에서 쌀, 밀가루, 옥수수에서 성장하는 *A. parasiticus* 중의 aflatoxin 분석을 ELISA를 이용하여 실험 하였다.⁷⁰⁾ 여러 종류의 치즈 중에 오염된 AFM₁를 ELISA로 분석하였고,⁷¹⁾ 쌀 65종, 보리 116종에 대한 AFB₁에 대한 분석에 ELISA를 사용하여 짧은 시간에 간단한 조작으로 분석을 실시하였다.³¹⁾ 손 등은 AFB₁의 정량하기 위해 항체를 생산, 정제하여 분석법을 확립하고 직접법과 간접법의 특성 및 문제점을 비교하였다.⁷²⁾ Aflatoxin 분석을 위한 ELISA 분석법의 효율성과 기존 방법인 TLC, HPLC 방법간의 상호 비교에 관한 실험이 많이 이루어졌다.^{73,74,75)}

바이오센서를 이용한 aflatoxin 분석. 직접적인 분석 방법중 비교적 최근에 발전하고 있는 바이오센서는 분석대상 물질과 생물학적 요소와의 특이적인 반응을 검출할 수 있는 신호로 변환시킨 계측장치를 말하는 것으로 생물학적 요소가 항체를 이용할 경우 면역센서라고 한다. 면역센서는 전통적인 ELISA에 비해 첫째 신속하며, 둘째, 센서의 재사용이 가능하며, 셋째, 연속적인 모니터링이 가능하다는 장점이 있다. 이러한 이유로 최근 여러 형태의 면역센서가 선보이고 있는데, aflatoxin에 적용된 면역센서는 fiber optics, small particles(microbead) 및 surface plasmon resonance(SPR) 등을 이용한 기기 유형이 있다. Optical fiber를 기본적으로 사용한 다양한 형태의 바이오센서가 시료나 표준 용액중 aflatoxin을 검출하는데 적용되었다.^{76,77)} 최근 microbead를 사용한 면역센서로 nut에서 2.5-227 ng/g 범

Table 9. Commercial immnological kits for aflatoxin analysis

Analyte	Manufacturer	Kit name	Recognition	Primary matrices
Aflatoxin	Edittek/Diagnostix	Single Step Cup		pure culture
Aflatoxin	Edittek/Diagnostix	EZ Screen		corn, peanuts
Aflatoxin	Edittek/Diagnostix	EZ-QUANT		corn, peanuts
Aflatoxin	International Diagnostics Systems Corp.	Afla-Cup Aflatoxin Screening		corn, peanuts
Aflatoxin	r-Biopharm GmbH	RIDASCREEN Aflatoxin Total		cereals, feed
Aflatoxin	r-Biopharm GmbH	RIDASCREEN Aflatoxin Column	cereals, feed	
Aflatoxin	Vicam LP	Aflatest	Performance Tested 940801 AOAC Official method 991.31; USDA-FGIS	grain, corn, cottonseed
Aflatoxin	Neogen	Veratox AST	USDA-FGIS	grain, corn, cottonseed
Aflatoxin	Charm Sciences, Inc.	Charm II Aflatoxin		
Aflatoxin M ₁	Charm Sciences, Inc.	Charm ROSA Aflatoxin M ₁ Test		bovine milk
Aflatoxin M ₁	Edittek/Diagnostix	Single Step Cup		milk
Aflatoxin M ₁	Reidel-deHaen AG	ELIZA System for Aflatoxin M ₁	Section 35 LMBG (Food and Commodities Act of Germany)	milk, dairy products
Aflatoxin M ₁	IDEXX Laboratories, Inc.	SNAP Aflatoxin M ₁		milk
Aflatoxin M ₁	International Diagnostics Systems Corp.	Aflatoxin M ₁ One-Step ELISA		milk
Aflatoxin M ₁	r-Biopharm GmbH	RIDA SCREEN Aflatoxin M ₁	Section 35 LMBG (Food and Commodities Act of Germany)	milk, cheese
Aflatoxin M ₁	Vicam LP	AflaM ₁		milk
Aflatoxin B	Vicam LP	AflaB		corn, peanuts
Aflatoxin B ₁	Edittek/Diagnostix	Single Step Cup		milk, cereal
Aflatoxin B ₁	Reidel-deHaen AG	ELIZA System for Aflatoxin B ₁	Section 35 LMBG (Food and Commodities Act of Germany)	cereals, feed
Aflatoxin B ₁	r-Biopharm GmbH	RIDASCREEN Aflatoxin B ₁		
Aflatoxin B ₁	Diffchamb AB	Transia Plate	Aflatoxin B ₁	feed, cereals, peanuts, maize, wheat, nuts, figs, cocoa, spices, tea and other products
Aflatoxin B ₁	Diffchamb AB	Transia Tube Aflatoxin B ₁		cereals, peanuts, maize, wheat, nuts, figs, cocoa, spices, tea and other products
Aflatoxin (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	Romer Labs, Inc.	Fluoro Quant Afla	USDA; FGIS	wheat, corn, cottonseed, milo, soybeans, rice, popcorn, corn meal
Aflatoxin (B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂)	Romer Labs, Inc.	Aflacup	AOAC Official method 993.16; USDA-FGIS	corn, feeds, peanuts, cottonseed
Aflatoxin	Romer Labs, Inc.	Romer Minicolumn	AOAC Official method 975.36	corn, feeds, peanuts, cottonseed

위의 aflatoxin B₁을 검출하였다.⁷⁸⁾ 또한 존 홉킨스 대학 연구진들은⁷⁹⁾ 비경쟁적 형태의 microbead-based 면역센서를 개발하여 aflatoxin B₂ 표준용액을 0.1-50 ng/ml까지 2분 정도의 분석시간으로 검출할 수 있었다고 보고하였다. 한편, 물질이 센서표면에 결합할 때 발생하는 질량의 변화를 측정하는 SPR의 원리를 이용한 센서에 의해 aflatoxin의 분석이 시도되었다.^{80,81,82)}

상기 언급한 모든 면역센서들은 고상 표면(membrane, fiber, well 등)에 부착된 독소-conjugate, 또는 고체 표면 위에 부착된 독소에 특이적인 항체와 작용하는 것들이다. 그러나 어떤 표면 위에 항체를 부착하는 것은 분석하고자 하는 목적물질과 상호 작용하는 능력에 영향을 줄 수도 있기 때문에 액상 면역센서가 대안으로 개발되었다. 액상 면역센서는 크게 모세관(capillary)에서 행하는 것과, fluorescence polarization(FP)의 물리적 특성을 사용하는 형태의 2가지로 대별된다. 전자는 면역분석법의 특이성과 모세관 전기영동(CE)의 분리능을 결합시키는 시도로

fumonisin에 대해서만 분석이 이루어졌을 뿐 aflatoxin에 대해서는 시도되지 않았다. 후자는 용액중 작은 분자는 더 빨리 회전하며 큰 분자에 비해 낮은 polarization value를 나타내며, 항체가 결합할 경우 면역복합체를 형성하여 천천히 회전하기 때문에 높은 polarization value를 나타낸다는 원리를 이용하는 분석 방법이다. 다른 형태의 면역분석법에 비해 FP가 가지는 장점은 간편하며, 색이 짙은 시료나 혼탁된 시료에 대해서도 간섭작용 없이 분석이 가능하다는 것이다. 이 기술은 주로 임상분야에서 많이 이용되어 왔으며, portable 장치 또한 가능하므로 향후 aflatoxin을 포함한 곰팡이독소에 분석에 있어서 이 기술의 잠재성은 매우 높을 것으로 사료된다.⁸³⁾

물리, 화학, 생물학적 처리를 통한 aflatoxin 저감화. Aflatoxin의 독성에 의한 경제적 손실이 매우 크기 때문에 가공처리를 통해 aflatoxin의 농도를 줄이는 다양한 저감화 방법이 개발, 소개되고 있다. Aflatoxin의 저감화에 대한 기본적인 원리는 대상

Table 10. Reduction of aflatoxin by chemical and biochemical treatments

Method	Treatment	Aflatoxin	Reduction of aflatoxin	Reference
Biochemical	<i>A. flavus</i> + <i>Mucor</i> sp.	B ₁	98.9%	(95)
	<i>A. flavus</i> + <i>Tr.harziaum</i>	B ₁	98.9%	(95)
	<i>A. flavus</i> + <i>Phoma</i> sp.	B ₁	99.8%	(95)
	<i>F. aurantiacum</i>	B ₁	80%	(123)
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain GG	B ₁	80%	(94)
	<i>L. rhamnosus</i> LC-705	B ₁	80%	(94)
	200 U/mg horse radish peroxidase	B ₁	60%	(94)
	20~200 U/mg horse radish peroxidase in protein	B ₁	28~53%	(96)
	3000 ppm Grapefruit Seed Extract	B ₁	100%	(92)
	Chemical	ammonia gas	B ₁	95~97%
chlorine gas		B ₁	75%	(88)
BHA		B ₁	80%	(89)
BHT		B ₁	80%	(89)
O ₃		B ₁	66.9%	(87)

작물의 재배 전후에 걸쳐 화학적, 물리적, 생물학적 처리를 통하여 aflatoxin의 농도를 줄이는 것이다.⁸⁴⁾ 이 처리 방법은 *A. flavus*의 성장을 억제하거나, aflatoxin을 생성을 억제하고 생성이 된 aflatoxin을 파괴 및 변형을 시켜 독성을 없앤다. 본고에서는 재배중의 aflatoxin 저감화는 다루지 않고 재배 후 저장 그리고 가공 중의 저감화에 대해 설명하고자 한다. 저장 중에 생성되는 aflatoxin의 저감화는 저장 환경을 조절함으로써 가능하다. 즉, 높은 온도와 습도에서 aflatoxin 성장이 극대화 하므로 낮은 온도와 건조한 환경을 조성하면 곰팡이의 성장을 억제하여 aflatoxin의 양을 줄일 수 있다. Aflatoxin 저감화 방법 개발 시 기본적인 원칙으로 5가지를 Ruston이 제시하였다.⁵⁾ 이들은 첫째, 처리시 안전해야 하며, 해로운 잔유물이 생성되지 않아야 하고, 둘째, 영양의 손실이 없어야 하고, 셋째, 물리적 파괴나, 관능적 질이 떨어지지 않아야 하고, 넷째, 경제적이면서 기술적으로 가능한 것이어야 하며, 다섯째, 곰팡이나 포자가 존재한다면 그것들마저 파괴시켜야 한다는 것이다.⁵⁾

화학적 처리에 의한 aflatoxin의 저감화 방법. 화학 물질에 의한 aflatoxin의 저감화 방법은 암모니아와 일부 산화제를 사용하고 있다. Aflatoxins의 화학 및 생물학적 처리에 의한 저감화 방법을 Table 10에 정리하였다. 산업계에서 가장 많이 이용하고 있는 방법인 암모니아 처리 방법은 주로 사람이 먹는 식품 보다는 사료에 존재하는 aflatoxin을 저감화 하기 위해 사용한다. 암모니아 처리법에 대한 효율성과 독성은 박 등에 의해 보고 되었다.⁸⁵⁾ 암모니아 가스를 30~60분 동안 노출 시켰을 때 AFB₁이 97% 감소되었다.⁸⁶⁾ 또한 과망간산칼륨, 차아 염소산나트륨, 과산화수소와 같은 산화제를 사용하여 aflatoxin을 파괴시키는데 이용되기도 한다.

오존을 이용하여 aflatoxin을 저감화 하는 방법도 개발되었는데 이는 효율적으로 오존을 농축할 수 있는 기술이 발달되면서 이루어졌다.⁸⁷⁾ McKenzie의 보고에 의하면 2% 오존에 의해 AFB₁, AFG₁의 저감화가 되고, 20% 오존에 의해 AFB₂, AFG₂의 저감화가 신속히 이루어졌다고 한다. 또한 chlorine gas 처리를 통하여 AFB₁이 줄어들어 확인되었다.⁸⁸⁾

최근에는 여러 식물체에서 유래한 천연물질이나 합성 항산화제를 이용하여 aflatoxin을 저감화 하려는 노력들이 보고 되고

있다. 이러한 시도들은 천연물질을 포함한 항산화제가 aflatoxin에 의한 간세포 손상과 DNA 변형을 방어할 수 있다는 가설에서 시작되었다. 실험에 사용된 천연물질들은 합성 항산화 물질인 butylated hydroxyanisole(BHA)와 tertiary butylhydroquinone (TBHQ)가 있고⁸⁹⁾ 천연 항산화제로는 레티놀, 토코페롤, flavonoid 등의 식물 추출물이 있다. 항산화 비타민 C, E와 미나리에서 추출한 flavonoid를 사용하여 aflatoxin 부산물 생성의 억제 효율을 확인하였다.^{90,91)} 자몽(grapefruit) 종자 추출물을 이용한 *A. parasticus*의 생육 및 aflatoxin 생성 억제 효과에 대해 보고 되었다.⁹²⁾ 자몽 종자 추출물은 곰팡이의 세포막기능을 파괴하여 생육을 억제하는 것이 전자현미경을 통해서 확인 할 수 있었는데, 자몽 추출물 농도 4 mg/g 이상에서 90% 이상의 *A. parasticus*의 생육 및 aflatoxin 생성 억제 효과를 보여 주었다. 이 등은 천연 추출물을 이용하여 aflatoxin의 생물학적 변환(biotransformation)을 저해 시킨 실험 결과를 발표하였다.⁹³⁾

화학물질에 의해 aflatoxin의 독성을 저감화 시키는 방법뿐 아니라, aflatoxin을 추출하여 제거하는 방법도 소개 되었는데, 이때 사용되는 용매는 90% ethanol, 90% aqueous acetone, 80% isopropanol hexane-methanol, methanol-water, acetonitrile-water와 같은 유기용매를 주로 사용하고 있다. 그러나 이 추출 방법은 소량의 시료에 대해서 사용이 가능하지만 대량에서는 사용이 비효율적이다.⁵⁾

생물학적 처리에 의한 aflatoxin의 저감화 방법. 화학적 처리에 의한 aflatoxin 저감화는 비싼 장비의 이용과 비독성 물질의 영양손실을 초래하고 새로운 독성물질을 생성하기 때문에 이런 단점을 개선해줄 수 있는 방법으로서 생물학적 저감화에 대한 연구가 진행되고 있다. 생물학적 저감화는 박테리아, 효모, 곰팡이, 식물에서 추출된 효소에 의해서 aflatoxin을 제거되거나 독성을 저감화 시키게 된다. *Lactobacillus rhamnosus* strain GG(LBGG)와 *Lactobacillus rhamnosus* strain LC-705 (LC705)은 aflatoxin을 액체 배지상에서 80%까지 제거하였다는 보고가 있다.⁹⁴⁾ Shantha는 *phoma* sp., *Mucor* sp., *Trichoderma hazianum*, *Trichoderma* sp. 639, *Rhizopus* sp. 663, *Rhizopus* sp. 710, *Rhizopus* sp. 668, *Alternaria* sp. 등의 종의 곰팡이와 aflatoxin을 생성시키는 *A. flavus*와 같이 배양하

Table 11. Reduction of aflatoxin by physical treatments

Treatment	Condition	Aflatoxin	Reduction of aflatoxin	Reference
Heat	30% moisture at 100°C for 1 hr	B ₁ , B ₂	74.8%	(97)
	6.6% moisture at 100°C for 1 hr	B ₁ , B ₂	32.7%	(97)
Extruder	processing at 160°C	total	76%	(102)
Cooked rice	heating in 2l water for 30 min	B ₁	53.1%	(7)
Rice cake	aging in 2l water for 12 hr heating for 30 min	B ₁	14.4%	(7)
Fermented rice	ferment at 60~65°C for 4~5 hr	B ₁	88.6%	(7)
Popped rice	heating at 80~90°C for 10 min	B ₁	92.4%	(7)
Oven Roasting	roasting at 150°C for 15 min	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , total	43.5%, 49.1%, 59.5%, 48%, 47.8%	(124)
Traditional Roasting	roasting at 180°C for 10 min	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , total	51.2%, 59.7%, 68.6%, 56.%, 55.9%	(124)
Microwave oven Roasting	roasting for 4 min	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , total	36.5%, 49.1%, 56.7%, 40%, 42.2%	(124)
Dark roasting procedure	roasting at 200°C	B ₁	93%	(125)
Gamma irradiation	3 kGy	B ₁ , G ₁	100%, 100%	(126)
	2 kGy in 2, 4, 6% NaCl	<i>A. flavus</i>	94.1, 100, 100%	(127)
Solar irradiation	aging in yeast-extract sucrose broth for 168 hr	total	90.4%	(99)
	aging in potato dextrose agar (PDA) for 168 hr	total	77.4%	(99)

여 생성을 억제하는 효과를 보였다. 이중에 *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *phoma* sp. 등은 99%의 저감화 효과를 보여주었다.⁹⁵⁾ 곰팡이나 박테리아를 이용하는 방법 외 식물체에서 얻어지는 효소 추출을 사용하여 aflatoxin을 저감화 하고 있다. 항산화능을 가진 효소인 horse radish peroxidase(HRP)을 추출하여 aflatoxin을 저감화 한다. 200 U/mg의 HRP는 AFB₁을 60% 감소시키고, HRP반응하기 가장 좋은 조건으로 20°C, pH 6, 60 분간 상압에서 있을 때 활성이 가장 높게 나타남을 확인 하였다.⁹⁶⁾ 식물에서 추출이 되는 자연 항산화제인 토코페롤, 레티놀, 비타민 C, 비타민 E, polyphenol류는 항산화제 작용으로 aflatoxin의 활성화를 억제한다. 박 등의 논문에서는 비타민 C와 E가 aflatoxin을 생체내에서 저감화하는데 영향을 준다고 발표하였다.⁹¹⁾ 또한 다양한 polyphenol이 쥐의 간의 미소체에서 cytochrome P450이 활성형태인 aflatoxin B₁-8,9-epoxide 형성을 억제한다고 보고 하였다.⁹³⁾ 자연 항산화제 뿐만 아니라 합성항산화제인 BHA나 TBHQ에 의해서 식품의 지질과산화 과정을 통제하는데 도움을 준다.^{89,91)}

물리적 처리에 의한 aflatoxin의 저감화 방법. Aflatoxin 저감화를 위한 물리적인 처리 방법은 다양하게 알려져 있다. Aflatoxin은 237~306°C에서 분해가 이루어지는 고체상 물질로 150°C 이하에서는 파괴가 거의 이루어지 않으며, 가해주는 온도와 시간에 따라 파괴 정도가 결정 된다.⁵⁾ 가열을 하여 aflatoxin을 좀더 효율적으로 파괴시키기 위해서는 온도는 높고, 시간을 길수록 좋은 효율을 보이지만, pH와 수분을 조절함으로써 aflatoxin의 분해 효율성을 높일 수 있다. 즉, pH가 낮거나, 수분이 많거나, 이온 상태로 존재한다면 낮은 온도에서도 짧은 시간에서 aflatoxin 분해가 가능하다. Mann 등의 실험에서 30% 수분과 100°C 온도에서 1시간동안에 74.8%의 aflatoxin 저감 효과를 보였는데, 같은 조건에서 수분이 6.6% 일때는 저감효과가 32.7%로 떨어 졌다.⁹⁷⁾

빛에 의한 aflatoxin의 분해에도 많은 실험이 이루어지고 있다. Aflatoxin 분해에 사용되는 빛은 X-ray와 gamma-ray이다.

빛을 이용하면 열이 발생하지 않으면서 독성물질을 파괴하는 장점을 지닌다. 그러나 이를 과도하게 조사할 경우 해로운 물질이 부가적으로 생성 되어 독성을 증가시킬 수도 있다. Gamma ray를 이용한 Temch와 Thilly의 실험에서 1~10 kGy를 쬐어주면, 75~100%의 aflatoxin 저감화 효과를 보여 주었다.⁹⁸⁾ X-ray와 gamma-ray 이외의 radiation에 의한 aflatoxin 저감화는 radio wave, micro wave, infrared wave, 그리고 가시광선에 의해 이루어지는데 사용 시 열을 내는 특성이 있다. 조리 과정에서 사용되는 micro wave나 태양 광선에 의한 저감화 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히 태양광선에 의한 저감화는 8시간 비추었을 때 AF는 50% 이하의 유의적 감소를 나타내었다.⁹⁹⁾

물리적 방법 중 하나인 흡착제에 의한 aflatoxin 제거는 흡착제와 aflatoxin의 화학구조적 상호 작용에 따라 효율이 결정된다. 사용되는 흡착제로는 activated charcoal과 여러 종류의 aluminosilicates 등이 있다.⁸⁴⁾ Hydrated sodium calcium aluminosilicate(HSCAS)은 1987년에 처음 aflatoxin 저감화 실험이 진행된 후 반응 메커니즘과 *in vivo*에서의 실험이 계속적으로 이루어 졌다. HSCAS는 진균독소 중 특히 aflatoxin에 대해 높은 흡착 능력을 보여주었고, PH와 온도에 의해서 흡착능력이 다르게 나타난다고 보고 되었다.¹⁰⁰⁾

물리적 효과로 식품을 만드는 가공 공정 중, aflatoxin의 양을 추적함으로써 가공공정에 의한 aflatoxin 저감화 실험들도 이루어지고 있다. 한국의 전통적인 쌀 조리과정에서 aflatoxin 저감화 연구에서 네가지의 전통 조리 방법이 서로 다른 저감화 효율을 보여주었다. 즉, 고온을 가하고 미생물 발효를 거치는 복잡한 과정을 가지는 조리 방법에서 높은 저감화 효율을 보였는데, 특히 고온 고압에서 하는 쌀튀기는 92%의 감소율을 보여준다. 식해도 88%의 효율을 보여주었다.⁷⁾ 또한 mexico 요리인 tortilla 두가지 조리 중 aflatoxin의 저감화 되는 정도에 대해 연구가 이루어지고 있다.¹⁰¹⁾ Buser는 압출성형기의 온도와 휴지 시간 조절을 통하여 aflatoxin이 얼마나 감소하는 지에 대하여 연구하였다. 온도가 증가할수록 높은 aflatoxin의 저감효과

를 볼 수 있다. 104°C에 비하여 160°C가 33% 감소됨을 확인할 수 있었고, 한번 압출 성형한 것 보다 4번 성형한 경우 55%가 감소되었다.¹⁰²⁾

결 론

이상으로 국내외에서 보고된 자료들을 토대로 식품 중 aflatoxin의 국내·외 오염 현황과 최신 분석기술에 대해 간단히 살펴보았다. Aflatoxin은 곰팡이독소 중에서도 발암성을 포함한 독성이 강해 인간과 가축에게 나타내는 건강상 위해가 클 뿐만 아니라 곡물의 양적 감소나 질적 저하, 가축들의 생육저하나 개체수 감소 등 국내 농·수·축산업의 경제성에도 막대한 영향을 미친다. 특히, 곰팡이독소에 대한 관심도나 농산물 수출입현황이 나라마다 다르기 때문에 각 국은 자국의 이익을 고려하여 규제나 권장치에 차이를 보이고 있는 바, 수입국인 경우 이를 엄격하게 설정하여 자국의 이익과 자국민의 안전을 도모하고 있는 실정이다. 한국도 농산물 수입국이기 때문에 우리의 국익이나 aflatoxin으로부터 식품의 안전성 확보를 위해서 노출량 조사, 위해평가 및 관리가 체계적으로 이루어져야 한다. 이에 가장 우선적으로 요구되는 오염현황 조사가 체계적이고 지속적으로 이루어져야 하며, 아울러 aflatoxin 분석 기술의 개발과 새로운 저감화 기술의 개발이 병행되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청 독성물질 국가관리체계 구축 사업(독관리 325)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Kuiper-Goodman, T. (1999) Approach to the risks analysis of mycotoxins in the food supply. Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxin.
- Gourama, H. and Bullerman, L. B. (1995) *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*; Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds-A review. *J. Food Prot.* **58**, 1395-1404.
- Ministry of Health & Welfare (2000) Report on 1998 Korean national nutrition survey.
- Korea Consumer Protection Board (1999) Current status on safety of several mycotoxin in agricultural products.
- Rustom, I. Y. S. (1997) Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem.* **59**, 57-67.
- Nasir, M. S. and Jolley, M. E. (2002) Development of a fluorescence polarization assay for the determination of aflatoxins in grains. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3116-3121.
- Yeo, H. J. and Kim, J. K. (2002) Reduction of aflatoxin during the cooking and processing of rice. *J. Food Hyg. Safety* **17**, 79-86.
- Thirumala-Devi, K., Mayo, M. A., Hall, A. J., Craufurd, P. Q., Wheeler, T. R., Waliyar, F., Subrahmanyam, A. and Reddy, D. V. R. (2002) Development and application of an indirect competitive enzyme-linked immunoassay for aflatoxin M₁ in milk and milk-based confectionery. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 933-937.
- Jaimez, J., Fente, C. A., Vazquez, B. I., Franco, C. M., Cepeda, A., Mahuzier, G. and Prognon, P. (2000) Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *J. Chromatogr.* **882**, 1-10.
- Franco, C. M., Fente, C. A., Vazquez, B. I., Cepeda, A., Mahuzier, G., and Prognon, P. (1998) Interaction between cyclodextrins and aflatoxins Q₁, M₁ and P₁ fluorescence and chromatographic studies. *J. Chromatogr.* **815**, 21-29.
- Cole, R. J. and Cox, R. H. (1981) In *Handbook of toxic fungal metabolites*. Academic Press, New York. pp. 1-66.
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993) Some naturally occurring substances, food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IACR Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. **56**, pp. 245-395.
- Doner, W. J., Cole, R. J. and Diener, U. L. (1984) The relationship of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* with reference to production of aflatoxin and cyclopiazonic acid. *Mycopathologia* **87**, 13-15.
- Pitt, J. I., Hocking, A. D., Bhudasamai, K., Miscamble, B. F., Wheeler, K. A. and Tanbook-Ek, P. (1993) The normal microflora of commodities from Thailand. I. Nuts and oilseeds. *Int. J. Food Microbiol.* **20**, 211-226.
- Jelinek, C. F., Pohland, A. E., and Wood, G. E. (1989) Review of mycotoxin contamination. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-up date, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **72**, 223-230.
- Choke, H. C. (1991) Overview of mycotoxins in the Asian reign, In: Merican, Z., Ahamad, N., Lan, Y. Q., Moy, G. G., Othman, N. D. M., Shahabudin, H. A., and Mohamed, A. R. (eds.), Proceedings of the First Asian Conference on Food Safety, 2-7 September 1990, Selangor Darul Ehsan, Malaysian Institute of Food Technology. Kuala Lumpur, Malaysia. pp. 36-45.
- van Egmond, H. P. (1989) In *Mycotoxins in dairy products*, Amsterdam, Elsevier. pp. 45-60.
- Olsen, J. H., Dragsted, L. and Autrup, H. (1988) Cancer risk and occupational exposure to aflatoxins in Denmark. *Br. J. Cancer* **58**, 392-396.
- Autrup, J. L., Schmidt, J., Seremet, T. and Autrup, H. (1991) Determination of exposure to aflatoxins among Danish workers in animal-feed production through the analysis of aflatoxin B₁ adducts to serum albumin. *Scan. J. Work Environ. Health* **17**, 436-440.
- Hall, A. J. and Wild, C. P. (1993) In *The epidemiology of aflatoxin-related disease*, Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (eds.), The toxicology of aflatoxins: Human health, veterinary and agricultural significance, New York, Academic Press.
- Autrup, H., Seremet, T., Wakhisi, J. and Wasunna, A. (1987) Aflatoxin exposure measured by urinary excretion of aflatoxin B₁-guanine adduct and hepatitis B virus infection in areas with different liver cancer incidence in Kenya. *Cancer Res.* **47**, 3430-3433.
- Zhu, J. O., Zhang, L. S., Hu, X., Xiao, Y., Chen, J. S., Xu, Y.

- C., Fremy, J. and Chu, F. S. (1987) Correlation of dietary aflatoxin B₁ levels with excretion of aflatoxin M₁ in human urine. *Cancer Res.* **47**, 1848-1852.
23. Groopman, J. D., Jiaqi, Z., Donahue, P. R., Pikul, A., Lisheng, Z., Chen, J-S. and Wogan, G. N. (1992) Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-DNA adducts in people living in Guangxi autonomous region. People's Republic of China. *Cancer Res.* **52**, 45-52.
24. Wild, C. P., Rasheed, F. N., Jawla, M. F. B., Hall, A. J., Jansen, L. A. M. and Montesano, R. (1991) In-utero exposure to aflatoxin in west Africa. *Lancet* **337**, 1602.
25. Chung, Y. and Kwon, S. P. (1969) Studies on the detection of aflatoxin in Korean fermented foods. *Preventive Med.* **2**, 1-6.
26. Lee, K. Y. and Lee, S. K. (1969) Toxic metabolites in foods 1. Detection of aflatoxin in several Korean soybean fermented foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **1**, 78-84.
27. Kim, K. H. (1975) The detection and estimation of aflatoxin in domestic cereal products and fermented foods. *Bull. K H Pharma. Sci.* **3**, 61-66.
28. Chun, S. Y. and Shin, H. S. (1979) Studies on the chemical analysis of the mycotoxin in foods. *Human Sci.* **3**, 61-67.
29. Kim, Y. K. and Roh, J. K. (1985) Detection of aflatoxin in soybean food by HPLC. *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**, 295-303.
30. Kang, H. Y., Lee, Y. W., Chung, D. H. and Pestka, J. J. (1989) Hygienic studies on some Korean cereals - A study on the mycotoxin contamination. *J. Korean Publ. Health Asso.* **15**, 83-90.
31. Chung, D. H., Ha, G. S., chung, H. K., Kim, D. S. and Pestka, J. J. (1989) Hygienic studies on the agricultural products in youngnam districts (part II) determination of aflatoxin B₁ by ELISA method. *J. Food Hygiene* **4**, 171-176.
32. Shon, D. H., Cho, M. A. and Lee, M. H. (1997) Aflatoxin residues in agricultural Commodities determined by direct ELISA. *J. Food Hyg. Safety* **12**, 281-287.
33. Kang, H. J. and Kang, C. B. (1982) Hygienic studies on commercial foods in Korea 2. Contamination of molds and aflatoxin in feeds. *Kor. J. Vet. Publ. Health* **6**, 95-103.
34. Lee, I. W., Seo, B. C., Shon, D. H., Park, Y. J., Kim, J. C., Kim, Y. G., Park, E. R. and Yang, S. Y. (1991) Report of Ministry of Science and Technology.
35. Kim, E. K. (1998) Natural occurrence and risk assessment of some mycotoxins in Korean food. Ph D. thesis, Korea University, Seoul, Korea.
36. Chiavaro, E., Dall'Asta, C., Galaverna, G., Biancardi, A., Gambarelli, E., Dossena, A. and Marchelli, R. (2001) New reversed-phase liquid chromatographic method to detect aflatoxins in food and feed with cyclodextrins as fluorescence enhancers added to the eluent. *J. Chromatogr.* **937**, 31-40.
37. Choi, M. J., Byun, S. H., Kim, H. S. and Lee, B. M (1995) Dietary exposure of aflatoxin B₁ cancer risk assessment. *J. Food Hyg. Safety* **10**, 81-87.
38. Kim, J. K. (1993) Comparative study on the HPLC determination of aflatoxins coupled with extraction and clean-up methods. *J. Food Hygiene* **8**, 251-254.
39. Shotwell, O. L., Goulden, M. L. and Hesseltine, C. W. (1972) Aflatoxin contamination: association with foreign material and characteristic fluorescence in damaged corn kernels. *Cereal Chem.* **49**, 458-465.
40. Pearson, T. (1996) Machine vision system for automated detection of stained pistachio nuts. *Lebensm. Technol.* **29**, 203-209.
41. Hirano, S., Okawara, N. and Narazke, S. (1998) Near infra red detection of internally moldy nuts. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 102-105.
42. Greene, R. V., Gordon, S. H., Jackson, M. A., Bennett, G. A., McClelland, J. F. and Jones, R. W. (1992) Detection of fungal contamination in corn: potential of FTIR-PAS and -DRS. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 1144-1149.
43. Gordon, S. H., Jones, R. W., McClelland, J. F., Wicklow, D. T. and Greene, R. V. (1997) Identification of Fourier transform infrared photoacoustic spectral features for detection of *Aspergillus flavus* infection in corn. *Intl. J. Food Microbiol.* **35**, 179-186.
44. Chung, D. H. (1990) Development of rapid, safe analytical techniques of aflatoxins and their current regulation. *J. Chromatogr.* **815**, 21-29.
45. Trucksess, M. W. (2000) In Natural poisons. in Official Methods of Analysis of AOAC international, Horowitz (17th ed.) AOAC international, vol II.
46. Roch, O. G., Blunden, G., Coker, R. D. and Nawaz, S. (1995) The validation of a solid phase clean-up procedure for the analysis of aflatoxins in groundnut cake using HPLC. *Food Chem.* **52**, 93-98.
47. Gilbert, J. (2002) Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. *Trends Anal. Chem.* **21**, 468-486.
48. Kussak, A., Andersson, B. and Andersson, K. (1993) Determination of aflatoxins in airborne dust from feed factories by automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography. *J. Chromatogr. B* **616**, 235-241.
49. Kussak, A., Andersson, B. and andersson, K. (1995) Immunoaffinity column clean-up for the high-performance liquid chromatographic determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ and Q₁ in urine. *J. Chromatogr. B* **672**, 253-259
50. Roch, O. G., Blunden, G., Coker, R. D. and Nawaz, S. (1992) The development and validation of a solid phase extraction/HPLC method for the determination of aflatoxins in groundnut meal. *Chromatographia* **33**, 208-212.
51. Kim, M. H. (1996) Comparison of methods for Determination of aflatoxins in food products. *J. Food Hyg. Safety* **11**, 149-157.
52. Holcomb, M., Wilson, D. M., Trucksess, M. W. and Thompson, H. C. Jr. (1992) Determination of aflatoxins in food products by chromatography. *J. Chromatogr.* **624**, 341-352.
53. Kim, J. K. (1998) Determination of Aflatoxin using high-performance liquid chromatography with optimized fluorescence detection. *J. Food Hyg. Safety* **13**, 41-46.
54. Elizalde-Gonzalez, M. P., Mattusch, J and Wennrich, R. (1998) Stability and determination of aflatoxins by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *J. Chromatogr.* **828**, 439-444.
55. Schatzki, T. F. and Haddon, W. F. (2002) Rapid, non-destructive selection of peanuts for high sflatoxin content by soaking and tandem mass spectrometry *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3062-

- 3069.
56. Duhart, B. T., Shaw, S., Wooley, M., Allen, T. and Grimes, C. (1988) Determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal. Chim. Acta* **208**, 343-346.
57. Carisano, A. and Torre, G. D. (1986) Sensitive reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of aflatoxin M₁ in dry milk. *J. Chromatogr. A* **355**, 340-344.
58. Traag, W. A., van Trijp, J. M. P., Tuinstra, L. G. M. Th. and Kok W. T. (1987) Sample clean-up and post-column derivatization for the determination of aflatoxin B₁ in feedstuffs by liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **396**, 389-394.
59. Takahashi, D. M. (1977) Reversed-phase high-performance liquid chromatographic analytical system for aflatoxins in wines with fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* **131**, 147-156.
60. Beebe, R. M. and Takahashi, D. M. (1980) Determination of aflatoxin M₁ by high-pressure liquid chromatography using fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.* **28**, 481-482.
61. Dorner, J. W. and Cole, R. J. (1988) Rapid determination of aflatoxins in raw peanuts by liquid chromatography with postcolumn iodination and modified minicolumn clean-up. *J. AOAC* **71**, 43-47.
62. Tuinstra, L. G. M. Th. and Haasnoot, W. (1983) Rapid determination of aflatoxin B₁ in dutch feeding stuffs by high-performance liquid chromatography and post-column derivatization. *J. Chromatogr. A* **282**, 457-462.
63. Cepeda, A., Franco, C. M., Fente, C. A., Vazquez, B. I., Rodriguez, J. L., Prognon P. and Mahuzier, G. (1996) Postcolumn excitation of aflatoxins using cyclodextrins in liquid chromatography for food analysis. *J. Chromatogr. A* **721**, 69-74.
64. Reif, K. and Metzger, W. (1995) Determination of aflatoxins in medicinal herbs and plant extracts. *J. Chromatogr. A* **692**, 131-136.
65. Kussak, A., Andersson, B. and Andersson, K. (1994) Determination of aflatoxin Q₁ in urine by automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **656**, 329-334.
66. Langone, J. J. and Van Vunakis, H. (1976) Aflatoxin B₁: specific antibodies and their use in radioimmunoassay. *J. Nat. Cancer Inst.* **56**, 591-595.
67. Korde, A., Pandey, U., Banerjee, S., Sarma, H. D., Hajare, S., Venkatesh, M., Sharma, A. K. and Pillai, M. R. A. (2003) Development of a radioimmunoassay procedure for aflatoxin B₁ measurement. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 843-846.
68. Edwards, A. J. and Durst, R. A. (1995) Flow-injection liposome immunoanalysis (FILIA) with electrochemical detection. *Electroanal.* **7**, 838-845.
69. Ho, J.-A. and Wauchope, R. D. (2002) A Strip Liposome Immunoassay for Aflatoxin B₁. *Anal. Chem.* **74**, 1493-1496.
70. Tsai, G.-J., and Yu, S.-C. (1999) Detecting *Aspergillus parasiticus* in cereals by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Int. J. Food Microbiol.* **50**, 181-189.
71. Sarmehmetoglu, B., Kuplulu, O. and Celik, T. H. (2003) Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA. *Food Control*. Article in Press, Corrected Proof - Note to users.
72. Shon, D. H., Park, A. R., Seo, B. C., Kim, J. C., Lee, Y. W., Nam, Y. J. and Hawer, W. D. (1992) Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of aflatoxin B₁. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 225-232.
73. Azer, M. and Cooper, C. (1991) Determination of aflatoxins in foods using HPLC and a commercial ELISA system. *J. Food Prot.* **54**, 291-295.
74. Hongyo, K. I., Itoh, Y., Hifumi, E. and Takeyasu, A. (1992) Comparison of monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay with thin-layer chromatography and liquid chromatography for aflatoxin B₁ determination in naturally contaminated corn and mixed feed. *J. AOAC Int.* **75**, 307-319.
75. Nilufer, D. and Boyacioglu, D. (2002) Comparative study of three different methods for the determination of aflatoxins in tahini. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3375-3379.
76. Carter, R. M., Jacobs, M. B., Lubrano, G. J. and Guilbault, G. G. (1997) Rapid detection of aflatoxin B₁ with immunochemical optodes. *Anal. Lett.* **30**, 1465-1482.
77. Boiarski, A. A., Busch, J. F., Brody, R. S., Ridgway, R. W., Altman, W. P. and Golden, C. (1996) Integrated optic sensor for measuring aflatoxin B₁ in corn. *SPIE* **2686**, 45-52.
78. Strachan, N. J. C., John, P. G. and Miller, I. G. (1997) Application of an automated particle-based immunosensor for the detection of aflatoxin B₁ in foods. *Food Agric. Immunol.* **9**, 177-183.
79. Carlson, M. A., Barger, C. B., Benson, R. C., Frase, A. B., Phillips, T. E., Velky, J. T., Groopman, J. D., Strickland, P. T. and Ko, H. W. (2000) An automated, handheld biosensor for aflatoxin. *Biosens. Bioelectron.* **14**, 841-848.
80. Van der Gaag, B., Burggaaf, R. A. and Wahlstrom, L. (1996) Application and development of a BIAcore for the detection of mycotoxin in food and feed. Poster Presentation at the 110th AOAC International Annual Meeting and Exposition, Orlando, FL. Sept. pp. 8-12.
81. Van der Gaag, B. and Stigter, E. (1997) Application development on the BIAcore for the detection of mycotoxins in food and feed. Poster Presentation at the 111th AOAC International Annual Meeting and Exposition, San Diego, CA. Sept pp. 7-11.
82. Van der Gaag, B., Stigter, E., and Pohl, S. (1999) Development of a biosensor for the detection of mycotoxins Satellite Workshop to the Gordon Conference on mycotoxins and phycotoxins, Salisbury Cove, ME, June 17-19.
83. Nasir, M. S. and Jolley, M. E. (1999) Fluorescence polarization: an analytical tool for immunoassay and drug discovery. *Comb. Chem. High T. Scr.* **2**, 177-190.
84. Huwig, A., Freimund, S., Kappeli O. and Dutler, H. (2001) Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Lett.* **122**, 179-188.
85. Park, D. L. (1993) Perspectives on mycotoxin decontamination procedures. *Food Addit. Contam.* **10**, 49-60.
86. Cucullu, A. F., Lee, L. S., Pons, W. A. and Stanley, J. B. (1976) Ammoniation of aflatoxin B₁. Isolation and characterization of a product with molecular weight 206. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 408-410.
87. McKenzie, K. S., Sarr, A. B., Mayura, K., Bailey, R. H., Miller, D. R., Rogers, T. D., Norred, W. P., Voss, K. A., Plattner, R.

- D., Kubena, L. F. and Phillips, T. D. (1997) Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food Chem. Toxicol.* **35**, 807-820.
88. Samarajeewa, U., Sen, A. C., Fernando, S. Y., Ahmed, E. M. and Wei, C. I. (1991) Inactivation of aflatoxin B₁ in corn meal, copra meal and peanuts by chlorine gas treatment. *Food Chem. Toxicol.* **29**, 41-47.
89. Soni, K. B., Lahiri, M., Chackradeo, P., Bhide, S. V. and Kuttan, R. (1997) Protective effect of food additives on aflatoxin-induced mutagenicity and hepatocarcinogenicity. *Cancer Lett.* **115**, 129-133.
90. Park, J. C., Ha, J. O. and park, K. Y. (1996) Antimutagenic effect of flavonoids isolated from oenanthe javanica. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 588-592.
91. Park, S. J., Kang, S. J., Park, J. H., Oh, S. S. & Chung, D. H. (2001) The effect of antioxidant vitamins on aflatoxin B₁-DNA adduct the formation in aflatoxin B₁ administered mice liver. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 669-675.
92. Cho, S. H., Chung, D. H., Seo, I. W., Lee, H. S., Hwang, B. H. and Park, W. P. (1992) Inhibitory effects of grapefruit seed extract on growth and aflatoxin production of aspergillus parasiticus. *Kor. J. Food Hygiene* **7**, 15-22.
93. Lee, S. E., Campbell, B. C., Molyneux, R. J., Hasegawa, S. and Lee, H. S. (2001) Inhibitory effects of naturally occurring compounds on aflatoxin B₁ biotransformation. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5171-5177.
94. EL-Nezami, H., Kankaanpaa, P. Salminen, S. and Ahokas, J. (1998) Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B₁. *Food Chem. Toxicol.* **36**, 321-326.
95. Shantha, T. (1999) Fungal degradation of aflatoxin B₁. *Nat. Toxins* **7**, 175-178.
96. Chitragada Das and MishraIn, H. N. (2000) *In vitro* degradation of aflatoxin B₁ by horse radish peroxidase. *Food Chem.* **68**, 309-313.
97. Mann, G. E., Codifer, L. P. and Dollear, F. G. (1967) Effect of heat on aflatoxin in oilseed meals. *J. Agric. Food Sci.* **15**, 1090-1092.
98. Temcharoen, P. and Thilly, W. G. (1982) Removal of aflatoxin B₁ toxicity but not mutagenicity by 1 megarad gamma radiation of peanut meal. *J. Food Safety* **4**, 199-205.
99. Byun, Y. H. and Kim, J. G. (1999) Effect of sunlight on the reduction of mycelia and aflatoxins. *J. Food Hyg. Safety* **14**, 428-432.
100. Ramos, A. J. and Hernandez, E. (1997) Prevention of aflatoxicosis in farm animals by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: a review. *Anim. Feed Sci. Tech.* **65**, 197-206.
101. Mendez-Albores, J. A., Arambula-Villa, G., Loarca-Pina, M. G., Gonzalez-Hernandez, J., Castano-Tostado, E. and Moreno-Martinez, E. (2002) Aflatoxins' fate during the nixtamalization of contaminated maize by two tortilla-making processes. *J. Stored Prod. Res.* in press.
102. Buser, M. D. and Abbas, H. K. (2002) Effects of Extrusion Temperature and Dwell Time on Aflatoxin Levels in Cottonseed. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 2556-2559.
103. Peers, F. G. and Linsell, C. A. (1973) Dietary aflatoxins and liver cancer - a population based study in Kenya. *Br. J. Cancer* **27**, 473-484.
104. Peers, F. G., Gilman, G. A. and Linsell, C. A. (1976) Dietary aflatoxins and human liver cancer. A study in Swaziland. *Int. J. Cancer* **17**, 167-176.
105. Peers, F. G., Bosch, X., Kaldor, J., Linsell, C. A. & Pluijmen, M. (1987) Aflatoxin exposure, hepatitis B virus infection and liver cancer in Swaziland. *Int. J. Cancer* **39**, 545-553.
106. van Rensburg, S. J., Cook-Mozaffari, P., van Schalkwyk, D. J., van der Watt, J. J., Vincent, T. J. and Purchase, IF. (1985) Hepatocellular carcinoma and dietary aflatoxin in Mozambique and Transkei. *Br. J. Cancer* **51**, 713-726.
107. Wild, C. P., Hudson, G. J., Sabbioni, G., Chapot, B., Hall, A. J., Wogan, G. N., Whittle, H., Montesano, R. and Groopman, J. D. (1992) Dietary intake of aflatoxins and the level of albumin-bound aflatoxin in peripheral blood in the Gambia, West Africa. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **1**, 229-234.
108. Yeh, F.-S., Yu, M.-C., Mo, C.-C., Luo, S., Tong, M. J. and Henderson, B. E. (1989) Hepatitis B virus, aflatoxins, and hepatocellular carcinoma in southern Guangxi, China. *Cancer Res.* **49**, 2506-2509.
109. Shank, R. C., Gordon, J. E., Wogan, G. N., Nondasuta, A. and Subhamani, B. (1972) Dietary aflatoxins and human liver cancer. III. Field survey of rural Thai families for ingested aflatoxins. *Food Cosmet. Toxicol.* **10**, 71-84.
110. Bruce, R. D. (1990) Risk assessment for aflatoxin: II. Implications of human epidemiology data. *Risk Anal.* **10**, 561-569.
111. Lee, K. B., Lee, J. K., Kim, C. S., Yoo, J., Shin, G. S., Sung, H. G., Chun, S. Y., Lee, H. S., Cho, S. E. and Lee, K. J. (1970) Report of ministry of science and Technology. MOST-R-70-84-PM:41.
112. Han, Y. I., Kim, K. H. and Oh, Y. B. (1978) The study on the detection of aflatoxin in the fermentation products and cereals. *Korean J. Env. Hlth. Soc.* **5**, 46-50.
113. Kim, Y. H., Hwangbo, J. S. and Lee, S. R. (1977) Detection of aflatoxin in same korean foodstuffs. *Korean J. Food Sci. Technol.* **9**, 73-80.
114. Choi, M. S. (1985) Detection of aflatoxins in some Korean native soybean pastes. M.S. Thesis, Kyungpook University, Daegu.
115. Sydenham, E. W. and Shephard, G. S. (1997) Chromatographic and allied methods of analysis for selected mycotoxins, in: Progress in Food Contaminant
116. Chu, F. S. (1996) Recent studies on immunoassays for mycotoxins, in: Immunoassays for Residue Analysis, Beier, R. C. and Stanker, L. H. (eds.), American Chemical Society, Washington, DC.
117. Pestka, J. J. (1994) Application of immunology to the analysis and toxicity assessment of mycotoxins. *Food Agric. Immunol.* **6**, 219-224.
118. Mullett, W., Lai, E. P. C. and Yeung, J. M. (1998) Immunoassay of fumonisins by a surface plasmon resonance biosensor. *Anal. Biochem.* **258**, 161-167.
119. Ho, J. A., and Durst, R. A. (2000) Development of a flow-injection liposome immunoanalysis system for fumonisin B₁. *Anal. Chim. Acta* **414**, 61-69.

120. Maragos, C. M. (1997) Detection of the mycotoxin fumonisin B₁ by a combination of immunofluorescence and capillary electrophoresis. *Food Agric. Immunol.* **9**, 147-157.
121. Roch, O. G., Blunden, G., Haig, D. J., Coker, R. D. and Gay, C. (1995) Determination of aflatoxins in groundnut meal by high-performance liquid chromatography: A comparison of two methods of derivatisation of aflatoxin B₁. *Br. J. Biomed. Sci.* **52**, 312-316.
122. Line, J. E. and Brackett, R. E. (1995) Factors affecting aflatoxin B₁ removal by *Flavobacterium aurantiacum*. *J. Food Prot.* **58**, 91-94.
123. Soliman, K. M. (2002) Incidence, level, and behavior of aflatoxins during coffee bean roasting and decaffeination. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 7477-7481.
124. Micco, C., Miraglia, M., Brera, C., Desiderio, C. and Masci, V. (1992) The effect of roasting fate aflatoxin B₁ in artificially contaminated green coffee beans. *Mycotoxin Res.* **8**, 93-97.
125. EL-Bazza Zeinab, E. M., Farrag Hala, A., EL-Fouly Mohie, E. D. Z. and EL-Tablawy Seham, Y. M. (2001) Inhibitory effect of gamma radiation and *Nigella sativa* seeds oil on growth, spore germination and toxin production of fungi. *Rad. Phys. Chem.* **60**, 181-189.
126. shahin, A. A. M. and Aziz, N. H. (1997) Influence of gamma rays and sodium chloride on aflatoxin production by *Asperillus flavus*. *Microbios* **90**, 163-175.

Aflatoxins in Foods - Analytical methods and Reduction of Toxicity by Physicochemical Processes-

Jun-Ho Hwang, Hyang Sook Chun¹ and Kwang-Geun Lee* (*Department of Food Science and Technology, Dongguk University, ¹Korea Food Research Institute*)

Abstract: The purpose of this paper is to review the occurrence, analytical methods and reduction methods of aflatoxins in foods. Aflatoxins are produced by the secondary metabolism of various fungal species and have the highest toxicity among mycotoxins. Due to their toxicity including carcinogenic activity, aflatoxins affect not only the health of humans and animals but also the economics of agriculture and food. As a food-importing country, because aflatoxins could contaminate raw commodities and foodstuffs, there should be inspection on the exposure and the regulation of risk assessment as a food safety measure. In addition, studies on rapid analytical methods and reduction of toxicity by various processes for aflatoxins should be carried out in conjunction with those of the risk assessment of aflatoxins.

Key words: aflatoxins, analytical methods, toxicity reduction

*Corresponding author