

연구노트

국내 시판 땅콩 및 땅콩버터 중 Aflatoxin B₁ 오염 분석

박 제 원*

헬스 캐나다 식품 연구부

Analysis of Peanut and Peanut Butter Retailed in Korea for Aflatoxin B₁

Je Won Park*

Food Research Division, Food Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada

Abstract Aflatoxin B₁ in 70 retail samples, including 40 food-grade peanut (28 domestic, 12 imported) and 30 peanut butter (12 domestic, 18 imported) samples, was analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection (FD), and positive samples were confirmed using HPLC with mass spectrometry (MS). Recoveries of aflatoxin B₁ spiked at 2 ppb exceeded 80% in both commodities. Detection limits for aflatoxin B₁ by HPLC-FD and MS analysis were 0.8 and 0.1 ppb, respectively. Four domestic and six imported peanut samples contained detectable levels of aflatoxin B₁ with means of 19 and 32 ppb, respectively. Aflatoxin B₁ was found in two domestic and three imported peanut butter samples with mean aflatoxin B₁ of 10 and 12 ppb, respectively. Peanut commodity showed more frequent aflatoxin B₁ contamination compared to its processed peanut butter product, and levels of aflatoxin B₁, especially in imported peanuts, were significantly ($p < 0.05$) higher than those of other commodities. These results suggest peanut and peanut butter are not major contributors to dietary intake of aflatoxin B₁ in South Korea.

Key words: peanut, peanut butter, aflatoxin B₁, HPLC-ESI-MS, HPLC-FD

서 론

Aflatoxin은 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus* 등의 자연계에 널리 편재하고 있는 저장 곰팡이가 생산하는 곰팡이독소로, 특히 aflatoxin B₁은 그 중 원료 식품 및 그 가공품 내 가장 빈번히 발견되고 가장 높은 독성을 지녔으며 여러 역학 결과를 토대로 하여 1993년 국제 암 연구소(International Agency for Research on Cancer)는 본 곰팡이독소를 인체 발암기능물질로 분류하였다(1,2). 주된 오염 원료 농산물은 곡류, 땅콩 및 견과류 등이고 오염된 원료로부터 가공 처리된 가공품 또한 인체 내 aflatoxin B₁의 섭취 경로이기도 하다(3-5). 국내에선 1989년 이래로 곡류, 두류, 땅콩, 견과류 및 그 단순 가공품(분쇄, 절단)에 대하여 10 ppb의 aflatoxin B₁ 잔류 허용기준을 설정하고 있으며, 그 수치는 곰팡이독소의 위해 평가 자료에 바탕을 둔 것이 아닌, 단지 설정 당시에 사용되던 분석법의 검출한계를 기준으로 하여 마련된 것이다(6). 근래에 들어 고 감도의 다양한 분석 기기의 도입은 그 검출한계를 ppt 수준으로까지 낮출 수 있게 하였다. 최근 수 편의 연구 보고에 따르면, 국내 유통되는 보리, 옥수수 및 그 가공품과 대표 원료 식품인 쌀 중에서 aflatoxin B₁의 오염 정도가 잔류 허용기준(10 ppb) 이하로 나타난 일부 시료를 검출하였다(7,8). 또

한 국산 백미 내 진균 분포를 알아 본 결과 일부 시료에서 aflatoxin B₁을 생산하는 *A. flavus*를 분리한 바 있다(9). 특히 한국인의 주식인 백미의 경우 aflatoxin B₁의 낮은 오염도 및 오염 수치에도 불구하고 그 섭취량을 고려한 결과, 백미를 통한 aflatoxin B₁ 섭취는 한국인의 총 섭취량을 통한 aflatoxin B₁ 노출의 주요 원인이었고 일일 추정섭취량(Probable Daily Intake) 또한 0.89-5.37 ng/kg b.w./day로 북미와 유럽 여러 국민의 총 섭취량을 통한 일일 추정섭취량을 크게 웃도는 것으로 나타났다(8). 이상의 결과는 한국인의 aflatoxin B₁ 오염 식품들의 섭취에 따른 건강상 위해 가능성을 뒷받침 하였다. 다만 백미의 경우 조리된 밥의 형태로 체내 섭취되므로, 이전에 행해졌던 쌀의 섭취량을 통한 일일 섭취량의 추정치는 한국인의 aflatoxin B₁ 섭취량을 과대평가할 소지가 있었고, 따라서 aflatoxin B₁의 쌀 조리과정 중 소장(道長)을 살펴본 바 밥의 조리과정을 통해 aflatoxin B₁이 30%이상 감소하였다(10). 보다 정확한 aflatoxin B₁의 위해평기를 위해선 또 다른 오염 가능 농산물인 땅콩 및 그 가공품의 정확한 오염 조사가 필요함을 위에 언급된 연구 보고에 공통적으로 논의한 바 있고(8), 국내에서 수행된 바 있는 땅콩 및 그 가공품 중 aflatoxin B₁의 오염 조사 대부분이 단일 분석법(thin layer chromatography나 enzyme-linked immunosorbent assay 등)을 통해 이루어졌고, 확정 실험이 이루어지지 않아서 그 신뢰성이 떨어지는 실정이다(11,12). 본 연구에서는 유기용매 분액·추출 및 silica cartridge를 이용한 시료의 전처리, 그리고 HPLC(high performance liquid chromatography) 기기 분석법을 토대로 시판 국산 및 수입산 땅콩 및 땅콩버터를 대상으로 aflatoxin B₁의 오염도를 조사하고 땅콩 및 그 가공품의 섭취가 한국인의 섭취를 통한 aflatoxin B₁ 노출의 주요 원인인지를 살펴보고자 하였다.

*Corresponding author: Je Won Park, Food Research Division, Food Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada, Address Locator 2203D, Ottawa, Ontario K1A 0L2, Canada
 Tel: +1 613-957-0979; Fax: +1 613-941-4775

E-mail: jewonpark@hotmail.com

Received July 20, 2005; accepted February 1, 2006

재료 및 방법

시약 및 표준물질

실험에 사용한 용매는 모두 HPLC급이며, 특급 이상의 시약이 이용되었다. Aflatoxin B₁ 표준물질은 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고 methanol : acetonitrile(1 : 1, v/v)에 용해한 후, -18°C 냉동 암소에 보관하였다. 또한 본 표준 용액을 HPLC 이동상인 methanol : acetonitrile : water(17 : 17 : 70, v/v)에 적절히 희석하여 HPLC 분석에 사용하였다.

시료

국내에서 시판되는 탈각 알 땅콩 총 40점(국산 28점, 수입산 12점)과 가공품인 땅콩버터 총 30점(국산 12점, 수입산 18점)을 2003년 4월과 5월 사이 서울 시내 소매점에서 구입하였으며 최소 채취양은 300 g이었다. 모든 시료는 육안으로 하자가 없는 식용으로서 가정용 분쇄기(KitchenAid, St. Joseph, MI, USA)로 곱게 간 다음 체(US #20)에 걸러서 4°C에 냉장 보관하였다.

시료 내 Aflatoxin B₁의 추출 및 전처리

땅콩 및 땅콩버터 시료 내 aflatoxin B₁의 추출 및 전처리 과정은 Park 등(7,8,10)의 방법을 사용하였다. 요약하면 시료 5 g을 methanol : water(8 : 2, v/v) 용매 25 mL로 30분간 진탕하여 aflatoxin B₁를 추출한 후 Whatman #4로 여과하였다. 여과액은 우선 dichloromethane을 이용하여 분액 · 추출하였으며 Sep-Pak silica cartridge(Waters, Milford, MA, USA)로 전처리 하였다. Aflatoxin B₁이 검출되지 않은 땅콩 및 땅콩버터를 각각 선별하여 2 ppb 수준으로 aflatoxin B₁를 첨가한 후 전술한 조건으로 처리한 후 HPLC로 분석하였다. 모든 시료를 3반복으로 분석하였다.

분석법

전처리된 시료 용출액을 45°C에서 질소로 건조시킨 후 trifluoroacetic acid로 유도체화하여 HPLC 기기 분석에 사용하였다. 우선 aflatoxin B₁의 형광검출(FD, fluorescence detection)에 이용된 HPLC-FD 기기는 다음과 같다(7,8,10). Pump(Waters, model 616): injector(Waters, model 717 plus auto-sampler); fluorescence detector (Waters, model 474, λ_{ex} = 360 nm λ_{em} = 440 nm). 분석에 사용한 컬럼은 Nova-Pak C₁₈(Waters, 3.9 mm × 150 mm, 5 μm)이며 이동상으로 methanol : acetonitrile : water(17 : 17 : 70, v/v)를 1 mL/min 유속으로 흘렸다. 한편 형광검출 HPLC 분석법으로 곰팡이독소의 오염이 확인된 시료 내 aflatoxin B₁의 확정실험으로 이용되었던 HPLC-ESI(electrospray ionization)-MS(mass spectrometry) 기기는 다음과 같다. HP 1100 system(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA); VG Biotech platform MS(VG Biotech., Cheshire, UK). 분석에 사용한 컬럼은 UltraCarb ODS30(Phenomenex, Torrance, CA, USA; 2.0 mm × 250 mm, 5 μm)이며 이동상으로 acetonitrile : methanol : 10 mM ammonium acetate(2 : 6 : 15, v/v)를 0.2 mL/min 유속으로 흘렸다. Aflatoxin B₁의 분자 이온 [M+H]⁺은 m/z = 313으로 검출되었고, 그 검출 한계(signal/noise = 5)는 HPLC-FD와 HPLC-ESI-MS 각각 0.8과 0.1 ppb이었다.

통계

각 시료 내 aflatoxin B₁의 오염도 및 오염수준에 차이가 있는지($p < 0.05$)를 통계분석하기 위하여 SigmaStat(Jandel Scinetific, version 3.0, San Rafael, CA, USA)을 이용한 z-test와 ANOVA 기법을 실시하였다.

Table 1. Recovery of aflatoxin B₁ added to peanut and peanut butter at 2 ppb

Commodity	Aflatoxin B ₁ spiked (ppb)	Aflatoxin B ₁ recovered (ppb)	Recovery (%) ¹⁾
Peanut	2.00	1.65	81 ± 4
		1.61	
		1.57	
Peanut butter	2.00	1.59	80 ± 8
		1.67	
		1.51	

¹⁾Values indicate mean of n = 3, with standard deviation.

결과 및 고찰

시료 중 aflatoxin B₁의 회수율

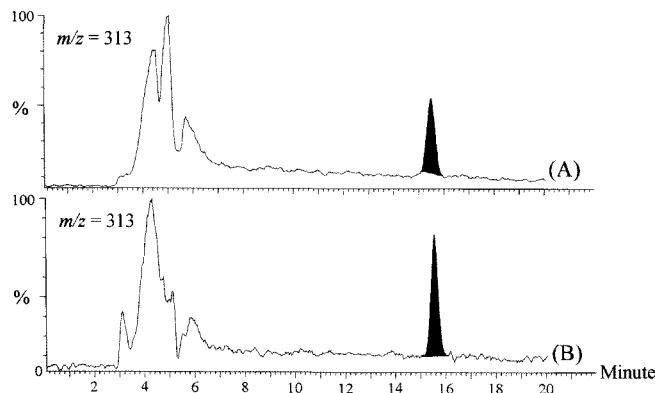
유기용매 분액 · 추출 및 silica cartridge를 이용한 시료의 전처리, 그리고 마지막 HPLC 기기분석으로 구성된 땅콩 및 땅콩버터 내 aflatoxin B₁의 회수율은 모두 80%이상으로 나타났다(Table 1). 특히 동일한 추출, 전처리 및 기기 분석법이 사용된 Park 등(7,8,10)의 곡류 및 그 가공품 내 첨가된 aflatoxin B₁의 회수율 결과와 비교할 때, 시료는 달라도 aflatoxin B₁의 높은 회수율은 (>80%) 동일하였다. 단지 땅콩버터 내 첨가된 aflatoxin B₁의 회수율 반복 실험간 표준편차가 땅콩 시료보다 2배 이상 높게 나타났고, 이는 땅콩 가공품 내 특정 방해물질로 인한 곰팡이독소의 손실에 기인된 것으로 추정된다. 이 같은 시료유래 방해물질의 존재는 시료의 전처리 과정뿐만 아니라 HPLC-FD와 같은 기기 분석 시 aflatoxin B₁의 용출 시간과 겹치는 등 분석법의 재현성을 떨어트린다. 한편 땅콩 및 땅콩버터 내 aflatoxin B₁의 분석과 연관된 여러 문현을 참조해 보면, IAC(immunoaffinity cleanup)과 HPLC-FD를 도입한 Stroka 등(13) 또는 Blesa 등(14)의 방법 또한 aflatoxin B₁의 회수율이 75-88% 사이인 것으로 보고되어 결국 본 분석법은 땅콩 및 그 가공품인 땅콩버터 내 aflatoxin B₁의 검출에 적합함을 알 수 있었다.

시료 중 aflatoxin B₁의 오염 조사

국내 시판 중인 탈각 알 땅콩 40점(국산 28점, 수입산 12점)과 가공품인 땅콩버터 30점(국산 12점, 수입산 18점)을 대상으로 aflatoxin B₁의 오염을 조사한 결과, 총 70점 중 15점(21%)에서 그 오염이 확인되었고 이 중 5점은 aflatoxin B₁ 외에도 aflatoxin B₂ 및 G1의 오염이 확인되었다(Table 2). 오염된 시료 내 aflatoxin B₁의 오염수준은 1.2에서 49 ppb 범위로, 일부 시료 내 aflatoxin B₁의 오염수준은 현재 우리나라에서 설정하고 있는 식품 내 잔류 aflatoxin B₁ 허용기준치인 10 ppb를 초과하였다. 원산지에 따른 각 시료 내 aflatoxin B₁의 오염도를 살펴본 결과 수입산 땅콩에서 높은 오염도(50%)가 나타났으며($p < 0.05$), 오염수준의 경우엔 가공품인 땅콩버터보단 땅콩에서 그리고 국산 땅콩보다는 수입산 땅콩에서 높은 aflatoxin B₁ 오염수준이 확인되었다(Table 2). 위 결과를 미루어 보아 수입산 땅콩이 aflatoxin B₁의 오염에 가장 많이 검출된 수입산 땅콩 시료(49 ppb)의 HPLC-ESI-MS 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다. 그 오염도의 결과는 Park 등(7)의 결과에서 나타난 국산 보리 및 옥수수 가공품의 오염도보다 높게 나타났고 그 오염수준은 비슷하였다. 또한 국산 백미와 비교할 시, aflatoxin B₁의 오염도 및 오염수준 모두 높은 것으로 확인되었다(8). 한편 땅콩 및 땅콩버터를 대상으로 한 전 세계 여

Table 2. Comparisons of the aflatoxin B₁ occurrence data for peanut and peanut butter marketed in Korea¹⁾

Commodity	Origin	No. of sample	Incidence (%) ²⁾	Levels (ppb) ³⁾
Peanut	Domestic	28	14 (4/28) ^{a4)}	1.9 (0.9-2.5) ^b
	Imported	12	50 (6/12) ^b	3.2 (1.2-4.9) ^{b,c}
Peanut butter	Domestic	12	17 (2/12) ^a	1.0 (0.9-1.0) ^a
	Imported	18	17 (3/18) ^a	1.2 (1.0-1.7) ^a

¹⁾Detectable levels of aflatoxin B₂ or G₁ were found in 5 samples.²⁾Percentage incidence (positive samples/total samples).³⁾Mean of aflatoxin B₁ level in positive samples was detected by HPLC-FD and they were also confirmed for the presence of aflatoxin B₁ by HPLC-ESI-MS.⁴⁾Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$) in a sample column.**Fig. 1. HPLC-ESI-MS chromatograms of peanut samples (A) spiked with aflatoxin B₁ (2 ppb) and (B) naturally contaminated with aflatoxin B₁ (4.9 ppb).**

러 나라의 오염 결과와 비교하면 비슷한 오염도를 나타내며 오염수준은 낮은 편이었다(13,16).

2001년 한국인의 일일 땅콩 섭취량은 0.4 g으로 20대 성인을 기점으로 그 소비량이 소량 늘어나 노년기에는 0.7 g을 섭취하는 것으로 나타났으며, 땅콩버터의 경우엔 청소년기에서만 0.2 g의 섭취량으로 극히 제한되어 있어 한국인의 일일 땅콩버터 섭취량은 0.1 g 미만이다(15). 특히 땅콩 및 그 가공품의 국민 소비량은 90년대 이후 식이습관의 고급화 및 수입 농산물의 개방화로 아몬드나 호두 등 견과류의 수입에 따른 대체 효과로 꾸준히 감소 추세에 있다. 또한 국내 수입된 대부분의 땅콩은 식용이 아닌 사료용 땅콩박의 형태로 수입되고 있는 실정이다. 한국인의 평균체중을 55 kg으로 가정할 경우, 한국인의 땅콩 섭취를 통한 aflatoxin B₁ 일일 섭취량은 pg/kg b.w./day 수준으로 한국인의 백미를 통한 aflatoxin B₁의 일일 허용섭취량인 0.89-5.37 ng/kg b.w./day에 비하면 극히 미비한 것으로 나타났다(8). 이상의 연구 결과로부터, 국내 유통되는 일부 국산 및 수입산 땅콩 및 땅콩버터는 국내 식품의 aflatoxin B₁의 규격(10 ppb)을 초과하여 aflatoxin B₁에 오염되었으며, 국산 곡류 및 그 가공품에 비해 높은 오염도나 오염수준을 보이고 있지만, 종실류의 일일 섭취량이 적은 관계로 한국인은 땅콩 및 땅콩버터의 섭취를 통해서는 aflatoxin B₁의 건강상 위해에 노출되지 않는 것으로 파악되었다.

요 약

식용 땅콩 40점(국산 28점, 수입산 12점)과 땅콩버터 30점(국산 12점, 수입산 18점) 등 2003년 서울에서 무작위 선정된 총 70

점의 국내 시판 중인 땅콩 및 그 가공품을 대상으로 aflatoxin B₁의 오염을 조사하였다. 본 곱팡이독소의 분석에는 형광검출 HPLC 방법이 사용되었고, 그 오염의 확인에는 HPLC-MS가 이용되었다. 두 가지 대표 시료들에 2 ppb 수준으로 첨가된 aflatoxin B₁의 회수율은 모두 80% 이상으로 양호하였다. 또한 사용된 두 분석법 즉, HPLC-FD와 HPLC-MS의 검출한계는 각각 0.8과 0.1 ppb로 나타났다. 총 40점의 땅콩 중 10점(국산 4점, 수입산 6점)에서 aflatoxin B₁의 오염이 확인되었고, 국산 및 수입산 땅콩의 평균 오염수준은 각각 19와 32 ppb이었다. 한편 aflatoxin B₁은 총 5점의 땅콩버터에서 검출되었고, 평균 오염수준이 국산과 수입산 땅콩버터 각각 10과 12 ppb이었다. 수입산 땅콩의 경우 aflatoxin B₁의 오염도가 보다 빈번히 나타났고, 특히 그 오염수준은 땅콩버터와는 다른 통계적으로 유의한 차이($p < 0.05$)를 지적하였다. 본 실험의 결과, 땅콩 및 땅콩버터는 한국인의 aflatoxin B₁ 노출에 있어서 주요 기여식품이 아님을 확인할 수 있었다.

문 헌

- Wilson DM, Mubatanhema W, Jurjevic Z. Biology and ecology of mycotoxicogenic species as related to economic and health concerns. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504: 3-17 (2002)
- IARC. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Lyon, France. pp. 245-395 (1993)
- Dawlatana M, Coker RD, Nagler MJ, Wild CP, Hassan MS, Blunden G. The occurrence of mycotoxins in key commodities in Bangladesh: Surveillance results from 1993 to 1995. *J. Nat. Toxins* 11: 379-386 (2002)
- Pietri A, Bertuzzi T, Pallaroni L, Piva G. Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. *Food Addit. Contam.* 21: 479-487 (2004)
- Mphande FA, Siame BA, Taylor JE. Fungi, aflatoxin, and cyclopiazonic acid associated with peanut retailing in Botswana. *J. Food Prot.* 67: 96-102 (2004)
- KFDA. Food Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Republic of Korea. p. 102 (2000)
- Park JW, Kim EK, Shon DH, Kim YB. Natural co-occurrence of aflatoxin B₁, fumonisin B₁ and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Addit. Contam.* 19: 1073-1080 (2002)
- Park JW, Kim EK, Kim YB. Estimation of the daily exposure of Koreans to aflatoxin B₁ through food consumption. *Food Addit. Contam.* 21: 70-75 (2004)
- Park JW, Choi SY, Hwang HJ, Kim YB. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined to humans. *Int. J. Food Microbiol.* 103: 305-314 (2005)
- Park JW, Lee C, Kim YB. Fate of aflatoxin B₁ during the cooking of Korean polished rice. *J. Food Prot.* 68: 1431-1434 (2005)
- Jo MH, Shon DH, Lee MH. Aflatoxin residues in agricultural commodities determined by direct ELISA. *J. Food Hyg. Safety*

- 12: 281-287 (1997)
12. Oh YJ, Yoon YP, Yeo SK, Hong JT. The detection of aflatoxin in home-made Takju and peanut butter. *J. Food Hyg. Safety* 1: 171-176 (1986)
13. Stroka J, Anklam E, Jorissen U, Gilbert J. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 83: 320-340 (2000)
14. Blesa J, Soriano JM, Molto JC, Marin R, Manes J. Determination of aflatoxins in peanuts by matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography. *J Chromatogr. A* 1011: 49-54 (2003)
15. KMOHW. National Health and Nutrition Survey. Korea Ministry of Health and Welfare. Gwacheon, Republic of Korea (2002)
16. Jelinek CF, Pohland AE, Wood GE. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72: 223-230 (1989)