

PH4) 한방제제의 안전성(Aflatoxin B₁)에 관한 연구

정대학*, 황현욱¹, 조병섭², 박문기¹

대구한의대학교 한방생명자원 연구센터,

¹대구한의대학교 한방제약공학과, ²경북도청 새경북기획단

1. 서 론

국민소득이 증가하고 삶의 질이 향상되면서 건강 및 보전에 대한 국민의 관심은 점점 증가하게 되었다. 한때 ‘웰빙’이라는 가치가 ‘잘 먹고 잘사는 것’에 대한 국민적 기대를 반영하여 식품뿐만 아니고 문화의 코드로 부상하여 산업적 트렌드로 자리매김 할 수 있었던 것은 이러한 국민의 기대가 대단한 한때의 유행이 아닌 진정한 의미의 의식주 생활에 대한 질적 향상을 추구하려는 국민의 희망이 적극적으로 표출된 현상이라고 이해할 수 있을 듯하다.

이런 현실에서 노화나 성인병에 어떻게 대처해야 하는가는 중대한 관심사여서 한약 등의 생약제제에 대한 국민적 관심이 높아지고 있으며 그 수요도 수년 전 보다는 늘어나고 있다.

최근 과학기술의 발전에 따라서 가공기술도 동반되어 발전되므로 농산물 및 한약재의 장기 저장 및 수송이 가능하게 되었으나 여기에 수반되는 새로운 문제점으로 대두된 것이 곰팡이 독소이다.

곰팡이독소(mycotoxin)는 곰팡이가 생성하는 제2차 대사산물로서 인체에 중독증을 초래한다. 인류가 곰팡이독소를 인식하게 된 것은 오래전부터이나 본격적으로 연구를 하기 시작한 시기는 1960년 이후이며 약 30여년의 역사를 가지고 있다. Aflatoxin의 발견 이후 곰팡이독소에 관한 연구가 활기를 띠게 되었고 다른 곰팡이들로부터 독소의 분리 및 동정, 독성 및 독소의 자연발생 등에 관한 연구들이 전세계적으로 수행되고 있다.

밝혀진 18종의 아플라톡신 중 B₁, B₂, G₁, G₂가 주요 독소이고 아플라톡신 B₁이 가장 흔히 발견되고 또한 가장 강력한 독성을 가졌다. 아플라톡신 B₁은 간장에서 cytochrome p450(CYP)에 의해 활성화되고, 신장에서는 peroxidase에 의해 아플라톡신 B₁ 8,9-oxide로 변화하여 DNA에 결합하여 강력한 발암작용을 나타낸다.

미국, 영국, Canada, 일본 등 선진국에서는 Aflatoxin을 비롯한 많은 mycotoxin류에 대한 활발한 연구가 이루어지고 있으며 특히 Aflatoxin에 대하여는 식품과 사료등의 허용기준을 정하여 규제하고 있다. 그러나 아직 우리나라에서는 Aflatoxin에 대한 기준을 잠정적으로 10 ppb로 정하고 시험법은 AOAC의 CB method에 준하고 있을 뿐 이에 대한 연구가 미비한 실정이다.

2. 실험 및 연구방법

실험에 사용된 한방제제는 대구지역 10개 약국에서 공통적으로 구할수 있는 우황청심환과 그 현탁액 8종과 그 외 한방제제 11종을 가지고 실험하였다.

2.1. 시약 및 기구

Aflatoxin 표준 물질은 Supelco Inc.(Bellefonte, U.S.A) 제품이었으며, HPLC 분석을 위하여 HPLC용 methanol과 acetonitrile(Merck, Germany)을 사용하였으며, 기타 시약은 특급 이상이였다. 시료의 처리를 위하여 Afla B Mycotoxin Testing System Columns Only (VICAM)을 사용하였으며 aflatoxin 분석을 위하여 HPLC system(Waters, Milford, MA)을 이용하였다.

2.2. HPLC분석 조건

HPLC system의 구성은 Waters사의 M510펌프, Rheodyne injector, M746 integrater, 역상의 μ -Bondapak C₁₈ column(30 cm × 3.9mm), 그리고 M2475 형광 검출기로 구성하였다. 여기 파장 365nm, 방출 파장 435nm에서 acetonitrile-water(40+60)의 이동상을 1.0ml/min의 유속으로 흘려 aflatoxins의 분리를 시도하였다. 시료 추출물 및 표준물질의 주입량은 20 μ l였다.

2.3. 시험방법

이 약 500 ~ 600 g을 잘 분쇄한 후 가루로 하여 잘 섞고 약 5.0 g을 정밀하게 달아 물·메탄올 혼합액(3 : 7) 100 mL를 넣고 30 분간 초음파 추출한 다음 여과한다. 물·메탄올 혼합액(3 : 7)을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 다시 이액 10 mL를 정확하게 취하여 물로 80 mL가 되게 희석하여 추출액으로 한다.

추출액 40 mL을 정확히 취하여 아플라톡신용 면역친화성 칼럼을 통과시키고, 물 10 mL를 3 mL/분의 유속으로 2회 통과시켜 나온 유출액은 버린다. 아플라톡신용 면역친화성 칼럼에 5 ~ 10 초간 약한 진공을 통과시키거나, 주사기로 10 초간 공기를 통과시켜 건조시킨다. 건조된 아플라톡신용 면역친화성 칼럼에 0.5 mL의 메탄올을 넣어 중력에 의해 용출액이 나오도록 한다. 1 분간 방치한 후 0.5 mL의 메탄올을 2 회 통과시켜 용출액을 모두 합하여 물로 5 mL가 되게 한다. 이때 유속은 5 mL/분을 넘지 않도록 한다. 만약 용출액이 투명하다면 이를 검액으로 하고, 필요하면 0.45 μ m 필터로 여과한다.

감사의 글

실험에 사용한 일부소재를 분양해주신 대구한의대학교 국가지정 연구소재은행에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 이용욱, 정영채, 신광순, 신효선 : 최신 식품위생학, 개정증보, 신광출판사, 서울, 1989, pp171-188
김종규 : Aflatoxin 분석법에 관한 연구 ; 추출 및 정제방법의 비교, 식품위생학회지 8(4):251-254(1993)
김종규, 이용욱 : Aflatoxin B₁ 에 대한 항체 생산 및 ELISA법을 이용한 쌀의 aflatoxin B₁ 오염에 관한 연구. 국민보건연구소 연구논총 2(1): 53-88(1992)