

아스콜빈산에 의한 Aflatoxin B₁의 파괴에 관한 연구

박 건 영 · 권 미 향

부산대학교 식품영양학과
(1986년 12월 10일 접수)

Effect of L-ascorbic acid on the degradation of aflatoxin B₁

Kun-Young Park and Mee-Hyang Kweon

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan, Korea
(Received, December, 10, 1986)

Abstract

Large amount of aflatoxin B₁(AFB₁) is disappeared in the presence of L-ascorbic acid(AA) in buffer solution at pH values from 1 to 7 during 5 days of incubation at 37°C. AFB₁ was quite stable at pH's between 5 and 7 when AA was absent(control), however, 50~60% of AFB₁ was degraded in its presence after 5 days. The rate of disappearance of AFB₁ increased with a decreasing of pH in the presence of AA, even though AFB₁ in the control degraded increasingly with the decrease in pH(pH≤4). The level of AFB₁ decreased as the reaction temperature increased when AFB₁ reacted with AA. The aflatoxin could not be detected at all after 3 days when the reaction occurred at 60°C, while the aflatoxin was stable at 5°C throughout the reaction period. 90~96% of AFB₁ was found to be degraded in a day when AFB₁ reacted with AA plus different concentrations of CuSO₄ · 5H₂O, showing remarkably faster rate than the control; however, different concentrations of L-cysteine instead of CuSO₄ 5H₂O protected the degradation of aflatoxin and no AFB₁ was degraded for a day and resulted in less AFB₁ disappeared than the control. The degradation of AFB₁ was dependent on AA concentration and the rate of disappearance as the concentration of AA decrease, but AFB₁ concentration did not influence the rate. The product formed when AFB₁ reacted with AA was identified to AFB_{2a} by using HPLC chromatographic examinations, and by UV spectrum of AFB₁ reacted with AA. The disappearance of AFB₁ was correlated well in the appearance of AFB_{2a}. From the results, the degradation of AFB₁ in the presence of AA is probably due to one or more of the oxidative products of AA which was produced during the AA oxidation.

서 론

Aflatoxin(AF)은 *Asp. flavus*나 *Asp. parasiticus* 균주들에 의해 식품이나 사료에 생성·오염될 수 있는데 사람이나 동물이 섭취할 경우 암 투

히 간암을 유발할 수 있는 독소이다.¹⁾ AF 중 독성, 발암성 및 돌연변이성이 가장 강한 물질은 AF B₁인데,²⁾ AFB₁은 생체내나 생체외에서 간의 mixed function oxidase system에 의해 대사활성(metabolic activation)되어 친전자성(electrophilic)

lic)한 2,3-epoxide로 전환하여 세포상의 친핵성(nucleophilic)인 핵산이나 단백질과 함께 첨가생성물들(adducts)을 형성함으로써 이들 물질들을 불활성 또는 돌연변이를 일으켜 암을 유발시키는 원인이 된다.^{3~5)}

식품이나 사료에 오염된 AF의 제거는 여러가지로 시도되어 왔다. 그러나 AF은 열에 안정하여 열처리에 의한 파괴는 기대할 수 없으며,⁶⁾ 흡착제, bisulfite, H₂O₂와 같은 산화제, 암모니아의 사용 또는 발효방법 등에 의해 파괴될 수 있으나 파괴의 정도, 경제적인 면 또는 처리 후 동물질의 제거 등에 문제가 있다고 보겠다.⁷⁾

비타민 C는 암과 관련하여 그의 예방^{8,9)} 및 치료¹⁰⁾에까지 그 가능성이 보고되어 있다. 아스콜빈산(AA)의 강한 환원력, 항산화제로서의 역할 또는 pH, 온도, 산소 및 metal 등에 의해 쉽게 산화되어 생성되는 산화생성물들에 의해 발암원 또는 발암전구물질이 직접적으로 파괴^{11~13)}될 가능성과 체내 microsomal enzyme activity와 관련하여 그 발암성을 저해한다는 보고도 있다.^{14,15)} 한편 AF B₁의 difuran ring의 친전자성인 이중결합은 친핵성의 thiol group과 반응하여 수화된으로써 불활성화되어 그의 유사화합물인 AF B_{2a}를 형성할 가능성이 있다고 보고되어 있다.¹⁶⁾ 비타민 C 역시 강력한 친핵성의 특성을 가지므로¹⁷⁾ AF B₁ 파괴에 영향을 있으리라 보아진다.

본 실험에서는 식품에 존재하는 영양물질인 비타민 C가 microsomal enzyme system과 관련하여 AF B₁을 불활성화 할 수 있는지를 실험하기에 앞서 직접적으로 AA와 AF B₁을 반응시켜 봄으로써 발암전구물질인 AF B₁의 감소에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

사용시약; AF B₁과 AF B_{2a}는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo. USA), Silicagel (Kieselgel 60G)은 Merck Co. (Darmstadt, Germany), L-ascorbic acid와 L-Cysteine은 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan)에서 구입하였고 그 외 사용된 시약은 모두 특급으로 하였다.

시료조제 및 실험방법; UV spectrophotometer에서 조제⁸⁾한 AF B₁ 용액 200ml (benzene: acetoni-

trile, 98:2, v/v)를 nitrogen gas로 증발시키고 methanol로 표준 AF B₁ 용액(200µg/ml)을 제조한 후 aluminium foil로 싸서 -20°C freezer에 보관하면서 매 실험시 사용하였다. 먼저 AA에 의한 AF B₁ 파괴에 있어서 pH의 영향을 보기 위하여 pH 1~7에서 두 물질을 반응시켰는데 이때 실험에 사용한 각 pH의 완충 용액은 0.5M의 KCl-HCl (pH 1~2), citrate-phosphate (pH 3~4), succinate (pH 5), NaOH-Na₂HPO₄ (pH 6~7)이었다. 반응 혼합물을 조제하기 위하여 먼저 완충용액과 AA 용액을 혼합하여 pH meter (Perkin-Elmer Metrion III)에서 초발 pH를 조정하고,¹⁶⁾ 2 dram screw cap vial에 1.9ml를 취한 후 AF B₁ 용액을 0.1ml 가하여서 AF B₁은 전체 반응액의 5%로 하였다. 대조군으로는 동일한 완충용액에 동량의 AF B₁을 가하였다. screw capping한 vial들은 wood block rack에 옮겨 암소에서 반응시켰다.

또한 AA가 AF B₁의 파괴에 미치는 몇 가지 영향을 보기 위하여 온도(5~60°C) 차이에 의한 효과 및 산화제(CuSO₄·5H₂O, 0.5~5ppm)와 환원제(L-cysteine, 2.5~25µM)의 농도별 첨가에 따른 AF B₁ 파괴를 실험하였다. 그리고 AA 농도(AF B₁)의 농도를 고정하고 AA의 농도(0.1~0.75 M 범위)와 AF B₁의 농도(AA의 농도를 고정하고 AF B₁의 농도 0.5~10µg/ml 범위)를 달리하여 이들이 AF B₁ 파괴에 미치는 영향을 관찰하였으며, 이들 실험기간 중 사용한 반응용액의 buffer action은 변함이 없었다.

반응중 생성된 화합물을 동정하기 위하여 Thin Layer Chromatography(TLC)-Scanner (Shimadzu Cs-930), Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography, RPLC (Waters Associate Inc. Milford, MA; Fluorescence detector, Model 420, Column; µ-Bondapak/C₁₈, Eluting solvent; 1% acetic acid: acetonitrile, 70:30, v/v) 및 UV spectrophotometer (Shimadzu recording spectrophotometer UV 240)를 사용하였다.

Aflatoxin의 정량; Dual wave length TLC Scanner (Shimadzu Cs-930)를 사용하여 반응 후 TLC plate (20×20cm, silicagel 0.25mm thickness)에서 표준 물질과 비교 정량하였으며, 전개 용매는 TEF (Toluene: Ethylacetate: 90% Formic acid, 60:30:10, v/v/v)를 사용하였다.¹⁸⁾

결과 및 고찰

AF B₁을 완충용액(pH 1~7) 중에서 AA와 반응시켰을 때 Table 1과 같이 AF B₁은 극히 불안정하여 반응기간 중 상당량이 감소되었다. AA를 첨가하지 않은 대조군에서는 pH 감소에 따라 AF B₁이 다소 파괴되었지만 pH 5 이상에서는 반응기간 중 안정하였다. pH 1, 2에서는 대조군에서도 상당량이 파괴되어 AA 첨가 효과가 크지 못하였다. AF B₁은 산 특히 고농도의 HCl 존재하에 acid catalysis에 의해 파괴되어 AF B_{2a}로 전환한다고 알려져 있다.²⁰⁾ 반응 1일 후, pH 3, 4에서는 대조군의 경우 3~4%만의 AF B₁이 파괴되어 거의 안정했으나 AA 첨가군에서는 42~61%가 파괴되었고, pH 5~7에서는 대조군이 1~2%, AA 첨가군이 2~16%가 각각 파괴되어 pH가 높아질수록 그

파괴속도가 감소됨을 보였다.

pH 5 이상에서 5일간 반응한 AA 첨가군은 50~66%의 AF B₁이 파괴된 반면에 대조군에서는 안정하였다. AA가 AF B₁을 분해하는데 있어 특히 반응초기에서 낮은 pH 쪽으로 갈수록 그 속도가 빠른 현상은 이 pH에서 AA의 강한 환원력에 의해 AF B₁ 분자에 수소 이온을 쉽게 공급할 수 있었기 때문이라고도 생각된다.

AF B₁과 AA의 반응에 있어서 온도변화도 Table 2에서와 같이 분해반응에 영향을 주었는데 5℃의 낮은 온도에서는 반응기간 중 안정하였으나 온도 증가에 따라 그 분해 속도가 점차로 증가되어 60℃에서는 반응 1일 동안 68%의 AF B₁이 파괴되었으며, 3일 후에는 완전히 파괴되었다. AA는 온도 증가에 따라 그 산화 속도가 증가하므로,²¹⁾ 온도 증가에 따라 AA에 의한 AF B₁ 파괴 속도가 증

Table 1. Effect of pH and time on the degradation of aflatoxin B₁ by L-ascorbic acid.

Incubation time (days)	pH ^c	Aflatoxin B ₁ (ug/ml) ^a			
		1	2	3	4
1	AFB ₁ ^e +AA ^f (AFB ₁)	2.3±0.27 ^b (2.3±0.06) ^d	3.8±0.08 (4.4±0.12)	3.9±0.75 (9.6±0.21)	5.8±0.39 (9.7±0.03)
3	AFB ₁ +AA (AFB ₁)	ND ^e ND	2.2±0.02 (4.2±0.37)	2.5±0.05 (8.7±0.58)	3.9±0.23 (9.1±0.62)
5	AFB ₁ +VC (AFB ₁)	ND ND	0.8±0.06 (2.4±0.48)	1.7±0.42 (7.6±0.41)	2.2±0.77 (8.3±0.22)

Incubation time (days)	pH ^c	Aflatoxin B ₁ (ug/ml) ^a		
		5	6	7
1	AFB ₁ ^e +AA ^f (AFB ₁)	8.4±0.39 (9.9±0.03)	9.3±0.15 (9.8±0.45)	9.8±0.16 (9.8±0.64)
3	AFB ₁ +AA (AFB ₁)	5.3±0.30 (9.9±0.15)	6.6±0.39 (9.8±0.07)	6.9±0.61 (9.8±0.43)
5	AFB ₁ +VC (AFB ₁)	3.4±0.46 (9.8±0.17)	4.2±0.40 (9.8±0.27)	5.0±0.91 (9.7±0.30)

^a AFB₁ at a concentration of 32uM(0.1ml of a solution of 200ug AFB₁/ml methanol in a 2ml reaction mixture; 10ug AFB₁/ml in a reaction) was incubated in the appropriate buffer containing 0.5M of L-ascorbic acid at 37℃.

^b Values are mean±SD of three determinations.

^c Buffers; pH1-2(0.5M of KCl-HCl buffer in buffer solutions without L-ascorbic acid), (0.5 M of succinate buffer), pH6-7(0.5M of NaOH-Na₂HPO₄ buffer).

^d The values in parentheses indicate control value (AFB₁ plus buffer without L-ascorbic acid).

^e Aflatoxin B₁

^f L-Ascorbic acid

^g Not detected

Table 2. Effect of temperature and time on the degradation of aflatoxin B₁ by L-ascorbic acid at pH 5.

Temperature (°C)	Aflatoxin B ₁ (ug/ml) ^a			
	Incubation time (days)	1	3	5
5		9.9±0.08 ^b (1) ^d	9.5±0.25(5)	9.9±0.42(1)
25		9.9±0.10(1)	7.2±1.03(28)	6.4±0.61(36)
37		8.6±0.39(14)	5.2±0.58(48)	2.5±0.37(75)
45		7.1±0.81(29)	4.3±0.41(57)	2.1±0.22(79)
60		3.2±0.60(68)	ND ^c	ND

^a AFB₁ at a concentration of 32uM(10ug/ml) was incubated in the succinate buffer containing 0.5M of L-ascorbic acid at various temperatures.

^b Values are mean±SD of three determinations.

^c Not detected.

^d The values in parentheses indicate the percentage of AFB₁ degradation.

Table 3. Effect of cupric ion on the degradation of aflatoxin B₁ by L-ascorbic acid at pH5 and 37°C.

Ppm of CuSO ₄ ·5H ₂ O (Ppm of Cu ⁺⁺)	Aflatoxin B ₁ (ug/ml) ^a			
	Incubation time (days)	1	3	5
0(0)		4.8±0.09 ^b (4) ^d	2.6±0.35(48)	1.3±0.08(74)
0.5(0.1)		0.5±0.00(90)	0.3±0.04(94)	ND ^c
2.5(0.5)		0.4±0.05(92)	0.1±0.00(98)	ND
5.0(1.0)		0.2±0.01(96)	0.1±0.00(98)	ND

^a AFB₁ at a concentration of 16uM(5ug/ml) was incubated in the succinate buffer containing 0.5M of L-ascorbic acid plus various concentrations of CuSO₄·5H₂O.

^b Values are mean±SD of three determinations.

^c Not detected

^d The values in parentheses indicate the percentage of AFB₁ degradation.

가한 것은 AA와 AFB₁의 반응성의 증가와 함께 AA 산화에 의한 산화 생성물들의 효과로 사료된다. AA 산화 생성물들은 여러가지로 복잡하고 알려져 있지 않은 물질도 많이 있으나, 그 중 free radical, singlet oxygen, oxalic, L-tartaric acid, L-threonic acid, H₂O₂ 등이 알려져 있다.²¹⁾ AFB₁은 열에 안정하여 270°C에서도 파괴되지 않으나²²⁾ AA 존재시에 5°C 이상에서 파괴된 것은 온도에 의해 AA가 불안정하여 그 산화속도의 증가로 인한 현상이라 생각된다.

AA 산화에 의한 AFB₁ 분해의 영향을 산화제 및 환원제를 이용하여 그 결과를 관찰하였다.

Table 3은 AA의 산화를 촉매하는 금속 이온 중 Cu⁺⁺(CuSO₄·5H₂O)를 첨가시 AFB₁의 파괴효과를 보여 주고 있는데 저 농도(0.1~1ppm)의 Cu 이온을 첨가 했을 때, 반응 1일째에 대조군은 4%의 AFB₁이 파괴되었음에 비하여 90~96%의 AFB₁이 파괴되어 산화제 첨가에 따른 AA의 AFB₁ 파괴가 급격히 증가되었으며, 이 경우 3일 반응 후에는 6~98%가, 5일 후에는 완전히 파괴되었다. Cu⁺⁺의 농도는 미량으로도 AA 산화 촉진제로 충분한 양이었으며,²²⁾ 실험에 사용된 농도 범위에서 농도 증가에 따른 차이는 크지 않았다. AA가 metal(Cu⁺⁺, Fe⁺⁺⁺)로 산화 촉매될 경우

Table 4. Effect of L-cysteine on the degradation of aflatoxin B₁ by L-ascorbic acid at pH 5 and 37°C.

L-Cysteine concentration (uM)	Aflatoxin B ₁ (ug/ml) ^a			
	Incubation time (days)	1	3	5
0		4.8±0.09 ^b (4) ^c	2.6±0.35(48)	1.3±0.08(76)
2.5		4.9±0.05(2)	3.1±0.00(38)	2.5±0.00(50)
12.5		4.9±0.06(2)	3.5±0.05(30)	2.8±0.02(44)
25.0		5.0±0.02(0)	3.4±0.00(32)	3.0±0.01(40)

^a AFB₁ at a concentration of 16uM(5ug/ml) was incubated in the succinate buffer containing 0.5M of L-ascorbic acid plus various concentrations of L-cysteine.

^b Values are mean±SD of three determinations.

^c The values in parentheses indicate the percentage of AFB₁ degradations.

그 반응 생성물로 H₂O₂가 생성된다고 보고되어 있다.²³⁾ 그러나 AA의 환원제로 첨가한 L-cysteine은 AA의 AFB₁ 파괴를 오히려 저해하여 대조군보다 적은 량의 AFB₁이 파괴되었다(Table 4). L-cysteine 농도 증가에 따라 AFB₁의 파괴율은 더욱 감소하였는데 이는 L-cysteine이 AA의 산화를 방지함으로써 일어나는 결과였다고 추측된다. 반응 5일 후에 대조군의 경우 약 76%의 AFB₁이 감소되었으나 L-cysteine의 첨가시 40~50%만 감소되어 결국 L-cysteine은 AA 첨가에 의한 AFB₁의 분해를 보호하는 역할을 하였다. Patulin은 AFB₁보다 발암성이 다소 약한 곰팡이 독소로서 AA 용액 및 AA가 존재하는 사과즙속에서 파괴되었는데, 그 원인은 AA 산화 중에 생성되는 free radical, singlet oxygen이 Patulin을 분해했을 가능성이 있다는 보고가 있다.²⁴⁾ 또한 AA에 의한 *Campylobacter jejuni* 성장 저해에 있어서 AA 자체보다는 AA 산화에 의한 그 산화 생성물이 오히려 더 효과적이었다는 보고²⁵⁾ 등에 비추어 본 실험 결과는 AA가 AFB₁을 파괴하는데 있어서는 AA의 산화가 촉진됨에 따라 그 속도가 증가되며 그 산화 생성물이 AFB₁ 파괴에 관여되었다고 생각된다.

Fig. 1은 AA B₁의 농도를 고정한 후 AA 농도에 따른 AFB₁의 파괴를 보여 주는데 AA 농도 증가에 따라 AFB₁ 분해 속도도 증가되어 AFB₁ 분해 속도는 AA 농도에 의존적임을 알 수 있는데, 이는 다른 보고서의 결과와 비슷한 것이었다.²⁰⁾ 그러나 AA의 농도를 고정한 후 AFB₁ 농도를 달리

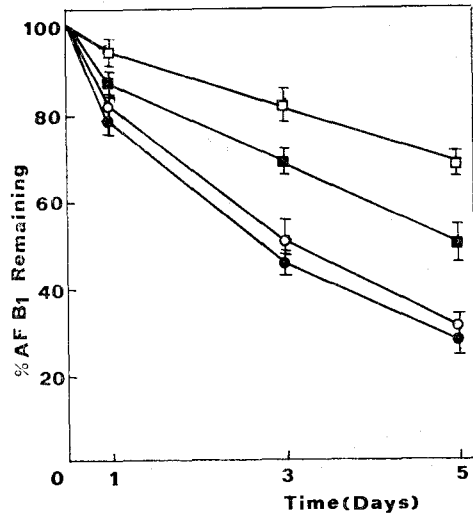


Fig. 1. Effect of L-ascorbic acid concentration on the degradation of aflatoxin B₁ at pH5 and 37°C. The vertical bars represent one standard deviation of three samples. Symbols; 0.1M(□), 0.25M(■), 0.5M(○) and 0.75M(●).

했을 때 AFB₁의 파괴 속도는 농도에 대한 관련성을 보이지 않고 거의 같은 속도로 파괴됨을 볼 수 있었는데(Fig. 2), 이는 thiol에 의한 AFB₁의 mutagenicity 감소 실험에서와 같은 결과였다.¹⁶⁾ 그러나 이 현상은 위 실험에서 택한 AFB₁의 농도가 전체 반응액에 차지하는 비율에 의했을 가능성도 있다고 보겠다.

AFB₁과 AA를 여러 처리에 의해 반응시킨 후 반응물질들을 TLC plate 상에 분리하였을 때 새로운 나타나는 대표적인 spot를 관찰할 수 있었다. 이 물질의 Rf value와 color가 AFB_{2a}와 동일하였으며, RPLC (Fig.3) 및 UV Spectrophotometer (Fig.4)에 의한 비교 실험 결과에서서도 AFB_{2a} 표준품과 일치하였다. Fig.3에서 산화제(CuSO₄·5H₂O)로 처리한 B군에서는 AFB₁이 거의 검출되지 않았으나 반면에 AFB_{2a} 표준품과 동일한 elution time을 가지는 peak를 얻었다. UV spectrophotometer에서는 시료에서 분리한 AFB_{2a}의

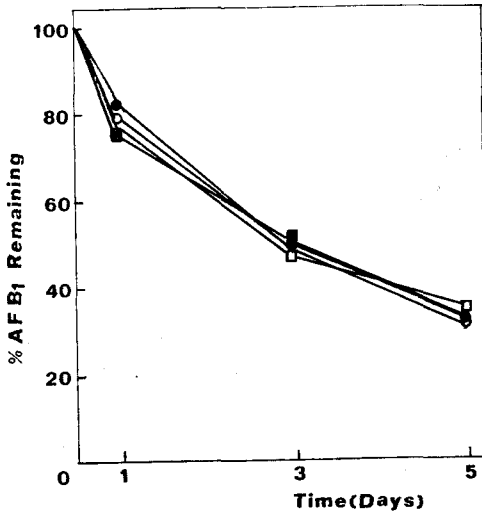


Fig. 2. Effect of aflatoxin B₁ concentration on the degradation of aflatoxin B₁ by L-ascorbic acid at pH5 and 37 C. The vertical bars represent one standard deviation of three samples. Symbols; 0.5 ug/ml(□), 1ug/ml(■), 5ug/ml(○) and 10 ug/ml(●).

spectrum과 표준품 AFB_{2a}의 것이 동일하였고, AFB₁과 같이 365nm에서 최고 흡광도치를 나타내었다.²¹⁾ 그러나 NMR, IR, Mass spectra에 의한 화학적인 방법 및 동물실험, Ames Test 등의 생물학적 방법에 의한 더욱 자세한 동정이 필요하리라 본다. Fig.5는 반응기간에 따라 반응액에서 AFB₁의 감소와 동시에 AFB_{2a}가 생성되는 것을 보여 주는데, AFB₁은 AA와 반응하여 대부분

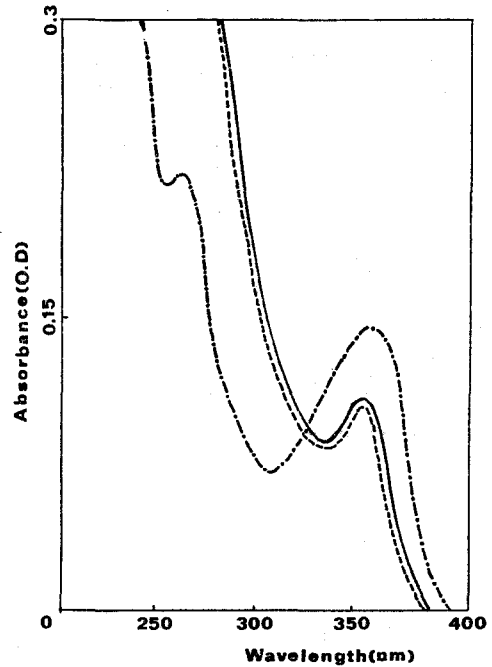
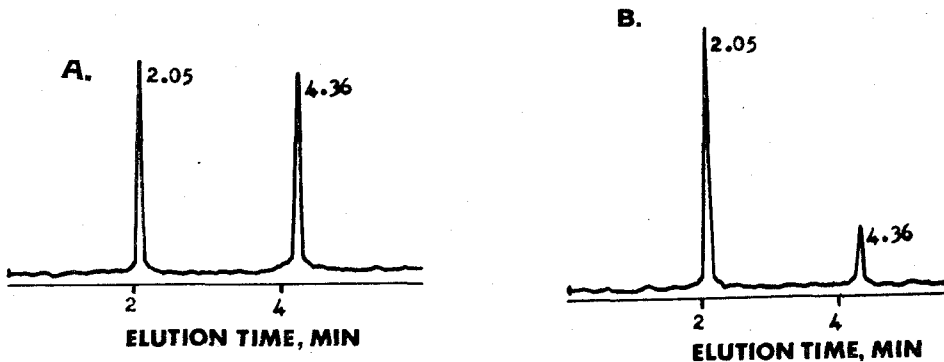


Fig. 3. UV absorption spectra of aflatoxin B₁ and aflatoxin B_{2a} in methanol. Symbols; Standard AFB₁(---), Standard AFB_{2a}(—) and Isolated AFB_{2a} from AFB₁ treated with L-ascorbic acid(.....)



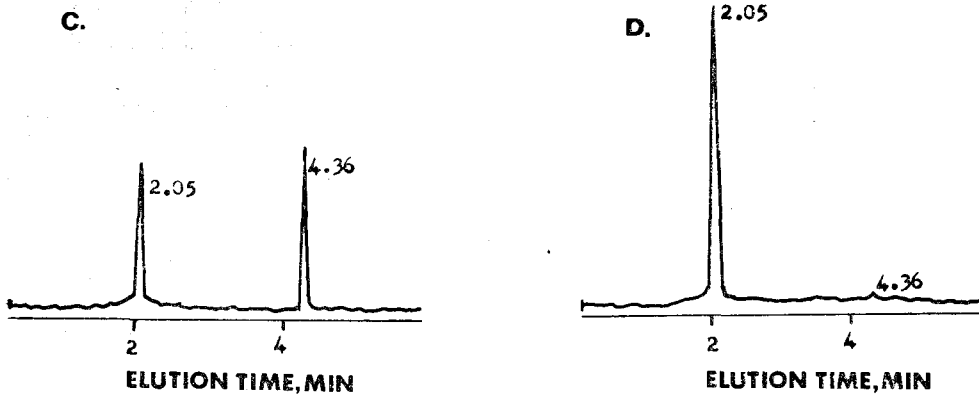


Fig. 4. Reversed phase high performance liquid chromatogram of aflatoxin B₁ (elution time: 4.36) and aflatoxin B_{2a}(2.05); (A) Standards of AFB_{2a} and AFB₁, (B) AFB₁ treated with L-ascorbic acid, (C) AFB₁ treated with L-ascorbic acid plus L-cysteine and (D) AFB₁ treated with L-ascorbic acid plus cupric ion(CuSO₄ · 5H₂O).

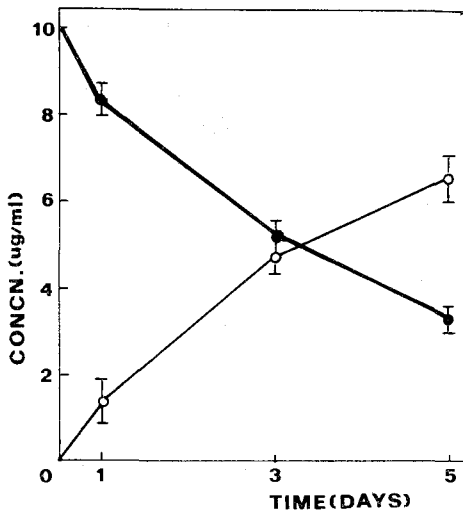


Fig. 5. Plot of the disappearance of aflatoxin B₁ and concurrent appearance of aflatoxin B_{2a} after up to 5 days of aflatoxin B₁ with L-ascorbic acid at pH5 and 37C. The vertical bars represent one standard deviation of three samples. Symbols; Aflatoxin B₁(●) and Aflatoxin B_{2a}(○).

이 AF B_{2a}로 전환됨을 알 수 있다. 반응 후의 용액을 TLC plate상에서 분리하여 UV light하에서 관찰하였을 때 AFB₁의 blue spot는 시간경과에 따라 소멸되어 가는 반면에 하단 부분에 새로이 나타나는 blue spot를 관찰할 수 있었다.

AA가 산화될 때 특히 산화 생성물 중 여러가지 산들이 생성되어 반응액의 pH를 감소시킨다는 사실이 알려져 있다.^{21,25} AFB₁이 단지 AA의 산화로 인한 산 생성으로 반응 pH를 낮춰 AFB₁을 AF B_{2a}로 변환시켰는지 혹은 앞에서 예측한 여러 산화 생성물에 의한 것인지를 확인 추적하기 위해 HCl-NaOH(0.5M)로 pH를 조정하여 AA 용액을 반응기간에 따라 pH 변화를 보았으며(Fig. 6, A) 그 pH 변화에 따른 gradient pH system(감소된 pH를 0.1N HCl로 조정)에서의 AFB₁의 파괴를 관찰하였다(Fig. 6, B). AA 첨가 없이 pH 감소에 따른 gradient pH System에서는 대조군과 비교하였을 때 4일째까지는 95% 신뢰구간이 서로 중복되어 그 차이가 없었지만 반응 5일째는 pH 감소에 따른 AFB₁의 파괴도 다소 영향이 있었다. 그러나 AA 첨가시, 95% 신뢰구간은 gradient pH system에서의 신뢰구간과 전혀 중복되지 않았으며, 상당량의 AFB₁이 감소됨을 관찰할 수 있었다.

이 결과로부터 AFB₁이 AF B_{2a}로 전환될 때 AA 산화에 따른 산화 생성물들이 중요한 역할을 하고 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 어떤 산화 생성물이 어떻게 AFB₁을 분해하는지, AFB₁ 분해에 있어서 AA의 환원력은 어떻게 관여하는지에 대한 정확한 기작을 밝히기 위해서는 좀더 구체적인 연구가 필요하리라 본다. AF B_{2a}는 독성, 발암성, 발암성 및 돌연변이성이 거의 없다는 점²⁶과 AA는 수용성이며 조리 또는 저장중 쉽게 파

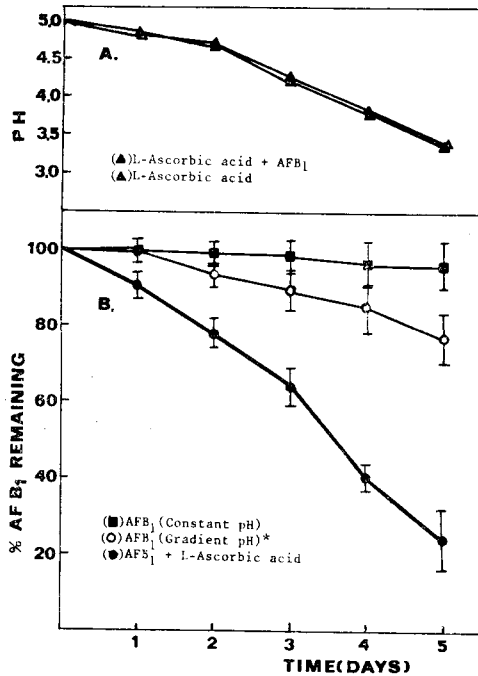


Fig. 6. Changes in pH(A) and degradation of aflatoxin B₁(B) when L-ascorbic acid was reacted with AFB₁ at 37 and pH5 adjusted with 0.5M of NaOH-HCl. The vertical bars represent 95% confidence intervals. *The samples at each data point adjusted with 0.1N of HCl to the pH decreased due to the treatment of L-ascorbic acid (see A).

괴되어 산화 생성물을 만들고 있으므로 식품 속의 AA의 존재 및 식품에 첨가된 AA는 AFB₁과 같은 발암 전구 물질의 감소에 어떤 역할을 하고 있으리라 생각된다.

요 약

AFB₁과 아스콜빈산(AA)이 산성 pH(pH 1~7)에서 반응하는 동안 (37°C에서 5일간) 상당량의 AFB₁이 파괴되었다. 반응기간 중 AFB₁은 pH 5~7 사이에서 대조군의 경우 거의 파괴되지 않았는데 AA가 존재할 때 5일 후 50~66%가 파괴되었다. pH 4 이하에서는 대조군 자체에서도 pH가 낮아지면서 AFB₁의 파괴가 증가되었지만 AA 존재하에서는 그 파괴량도 증가되었을 뿐 아니라,

pH가 떨어질수록 속도도 증가했다. AFB₁이 AA와 반응했을 때 온도가 증가함에 따라 AFB₁량이 점차 감소하여 60°C에서 반응할 때는 3일 후에 전혀 AFB₁을 발견하지 못했지만 5°C에서는 반응기간 중 AFB₁은 안정했다. AFB₁이 산화제(CuSO₄·5H₂O)가 첨가된 AA와 반응했을 때 그 반응속도는 급격히 증가되어 90~96%의 AFB₁이 파괴되었으며, 대조군의 4%만이 파괴된 것과는 대조적이었다. 환원제 L-cysteine을 첨가했을 때 하루 동안 AFB₁의 파괴는 거의 없었으며 반응기간 중 대조군보다 소량의 AFB₁이 파괴되었다. AFB₁의 파괴는 AA의 농도에 따라 달랐는데 AA 농도가 감소할수록 파괴 속도가 감소했지만 AFB₁의 농도는 이 파괴 반응에 영향을 주지 못했다. AFB₁과 AA가 반응하여 새로이 생성된 반응물은 TLC, RPLC 및 UV spectrophotometer를 이용하였을 때 AFB_{2a}로 동정되었으며, AFB₁의 분해와 더불어 AFB_{2a}의 생성이 확인되었다. 이 실험 결과에 비추어 AA 존재시 AFB₁의 파괴는 AA 산화기간 중 생성된 산화 생성물에 의한 것으로 추정된다.

參 考 文 獻

1. Bullerman, L.B.: *J. Food Prot.*, **42**, 65 (1979).
2. Heathcote, J.C. and Hibbert, J.R.: In "Aflatoxin; Chemical and Biological Aspects," Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, **16**(1978).
3. Hagar, I.K., Lilly, M.M. and Avishay, H.S.: *Cancer Res.*, **44**, 1831(1984).
4. Niranjana, B.G., Bhat, N.K. and Avadhani, N.G.: *Science*, **215**, 73(1982).
5. Singer, B. and Grunberger, D.: In "Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens," Plenum Press, New York and London, 181(1983).
6. Marth, E.H. and Doyle, M.P.: *Food Technol.*, **33**, 81(1979).
7. Park, K.Y.: *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **13**, 117(1984).
8. Reddy, B.S., Hanson, K., Mathews, L. and Sharma, C.: *Fd. Chem. Toxic.*, **21**, 129(1983).

9. Jerome, J.K., Theodore, D., Conney, A.H. and Burns, J.J.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **70**, 747(1973).
10. Cameron, E. and Pauling, L.: *Cancer Res.*, **39**, 663(1979).
11. Counsell, J.N. et al.: In "Vitamin C," Applied Science Publishers, London and New Jersey, 349(1981).
12. Raymond, J.S. and Cynthia, L.C.: *Muta. Res.*, **66**, 349(1979).
13. Hildegard, M. and Weisburger, J.H.: *Science*, **196**, 1000(1977).
14. Calabrese, E.J.: Nutrition and Environmental Health; The influence of Nutritional Status on Pollutant Toxicity and Carcinogenicity, Wiley-Interscience Publication, New York, **1**, 275(1980).
15. Domngang, F. and Bassir, O.: *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 2307(1982).
16. Friedman, M., Wehr, C.M. and Macgregor, J.J.: *Fd. Chem. Toxic.*, **20**, 887(1982).
17. Joseph, B.G.: *Nature*, **268**, 370(1977).
18. Horwitz, W.: In "AOAC," 14th edition, 26.001~26.009(1984).
19. Park, K.Y. and Bullerman, L.B.: *J. Food Sci.*, **48**, 889(1983).
20. Lindenfesler, L.A. and Ciegler, A.: *J. Agr. Food Chem.*, **18**, 640(1970).
21. Machlin, L.J.: In "Handbook of Vitamins; Nutritional Biological and Clinical Aspects," Marcel Dekker Inc., New York, 204(1984).
22. Fennema, O.R.: In "Principles of Food Science; Food Chemistry," Marcel Dekker Inc., New York, 361(1976).
23. Khan, M.M.T. and Martell, A.E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 4176(1967).
24. Brackett, R.E. and Marth, E.M.J.: *J. Food Prot.*, **42**, 864(1979).
25. Fletcher, R.D., Albers, A., Chen, A.K. and Albertson, J.N.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **45**, 792(1983).
26. Hsieh, D.P.H., Wong, J.J.Z.A., Michas, C. and Ruebner, B.H.: In "Origins of Human Cancer," Haiatt, H.H., Watson, J.D., and Winsten, J.A. Eds., Cold spring Harbor Laboratory, Book B, 697(1977).