

면역분석기법을 이용한 서부경남 시판 메주 및 된장에서의 Aflatoxin 생성균 검색

박정현 · 강성조 · 오상석* · 정덕화†

경상대학교 대학원 응용생명과학부, *이화여자대학교 식품영양학과

The Screening of Aflatoxin Producing Fungi from Commercial Meju and Soy Bean Paste in Western Gyeongnam by Immunoassay

Jung Hyun Park, Sung Jo Kang, Sang Suk Oh* and Duck Hwa Chung†

Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University

*Department of Food and Nutrition, Ewha Womans University

ABSTRACT – Generally, non-aflatoxigenic fungi, such as *Aspergillus oryzae*, and *Aspergillus niger* are main microflora in Korean traditional fermented foods including Meju and soybean paste, but sometimes, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* can be contaminated and accumulated aflatoxins during fermentation and storage. So the screening of aflatoxigenic strains in fermented traditional food is very important to improve the sanitary quality of those foods. In this work, we screened aflatoxin producing fungi from commercial Meju and soybean paste in Western Gyeongnam by immunoassay. Samples were randomly purchased from market of the commercial Meju(10 EA) and soybean paste(20 EA) in nine areas of Western Gyeongnam. Of the samples collected, 24 strains and 22 strains of *Aspergillus* sp. were isolated from Meju and soybean paste, respectively. The isolated strains were cultured on SLS media at 25°C for 15 days. The cultured broth were extracted with ethyl acetate and were analysed to determine aflatoxin B₁(AFB₁) by direct competitive ELISA(DC-ELISA). Six strains(25%) isolated from Meju, and 2 strains(9%) isolated from saybean paste, were confirmed as aflatoxin producing strains. The average range of aflatoxin productivity of isolates from Meju was 54.6 ± 38.7 ng/ml and that from soybean paste was 11.1 ± 8.6 ng/ml, respectively. Among them, isolated strain No. M-5-4 produced a high level of AFB₁ and showed 98.26 ng/ml of AFB₁. Every isolates were also re-confirmed their AFB₁ productivity by thin layer chromatography(TLC). The TLC results also showed same trend as DC-ELISA results. As the above results, the screening of hazard mycotoxigenic fungi from traditional fermented foods should be necessary for the safety and the application of HACCP system in the food manufactory in Korea.

Key words □ Meju, Soy bean paste, *Aspergillus* sp. Aflatoxin, DC-ELISA, and TLC

곰팡이독소(mycotoxin)는 진균류가 생산하는 2차 대사 산물 중에서 사람을 포함한 척추동물에 독성을 일으키는 화합물의 총칭이다. 그 화학구조, 생물작용은 다양하지만 대부분 분자량이 아주 작은 저분자 화합물이다. 몇몇 곰팡이독소는 급성독성, 발암성이 있는 것으로 확인되어 있다¹⁾. 그 중 대표적인 곰팡이독소로는 aflatoxin B₁, ochratoxin, sterigmatocystin 등이 알려져 있다^{2,3)}.

그 중 aflatoxin은 가장 독성이 크며 간독소로 간암유발인자이면서 면역기능의 저하를 일으키는 것으로 한국사람의 간암발생률과의 상관성에 관심의 대상이 되어왔다. Aflatoxin

의 종류로는 aflatoxin B₁, B₂, G₁ 그리고 G₂이며 이들은 약 365 nm의 UV 조사 하에서 강한 형광(螢光, fluorescence)을 나타내는 특징을 가지고 있다. 빌암성에 관해서는 aflatoxin B₁이 모든 곰팡이 독소 중에서 가장 독성이 강하다고 알려져 있다. 관련된 식품으로는 주로 곡류나 특히 땅콩 등에서 많이 발견되었다⁴⁻⁷⁾. Aflatoxin을 생성하는 균주는 여러 종류가 있으나 그 중에서 특히 *Aspergillus flavus* 또는 *Aspergillus paraciticus*가 aflatoxin을 가장 많이 생산하며 이들은 주로 곡류제품에서 많이 발견되어^{8,9)} 농산물에서의 곰팡이 독소들에 대한 안전성에 대한 연구의 필요성도 대두되어 왔다. 일반적으로, 농산물에 오염된 곰팡이를 확인하고 정량 하는 방법에는 비교적 절차가 간단하고 비용이 적

[†]Author to whom correspondence should be addressed.

게 드는 thin layer chromatography(TLC)가 많이 이용되어 왔다¹⁰⁾. 그러나 TLC법은 검출감도가 낮은 문제점이 있어 같은 문제점을 해결하기 위하여 최근 면역학적 분석법의 하나인 효소면역 분석 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)법이 곰팡이 독소 분석에 이용되고 있다¹¹⁾.

한편, 우리나라 전통 발효식품은 곡류를 이용하여 *Aspergillus oryzae* 같은 항국균을 국균으로 발효시켜 이용하는 경우가 많으므로 보통 메주나 된장에서 성장하는 곰팡이는 안전하며 위험하지 않다는 인식이 대부분이다. 그러나 이러한 곰팡이 외에도 *A. flavus* 및 *A. paraciticus* 등 독소 생성 균이 있을 것으로 판단하여 이를 전통식품에 변식하는 각종 곰팡이에 대한 안정성 검증에 대한 요구가 높아지고 있다.

본 연구에서는 우리나라 전통발효 식품인 메주와 된장의 안전성 평가를 위하여 서부경남지역에서 시판되고 있는 메주와 된장시료를 구입한 다음 *Aspergillus* 속 균을 분리하고 분리균의 aflatoxin 생성여부를 본 연구실에서 확립한 면역분석기법으로 조사하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균원시료

본 실험에 이용된 균원시료는 서부경남 9개 지역(함양, 사천, 진주, 하동, 곤양, 사천, 삼천포, 고성 및 마산)에서 각각 메주 10점 된장 20점을 무작위로 Table 1과 같이 구입하여 분쇄한 후 4°C에 보관하면서 *Aspergillus* 속 곰팡이의 분리와 aflatoxin 생성균 검색에 사용하였다^{12,13)}.

메주 및 된장 시료에서의 곰팡이 분리

각종 균원시료로부터 *Aspergillus* 속 균을 분리하기 위해서 세균과 효모의 생육을 억제하고 곰팡이만 선택적으로 증

식시키기 위하여 rose bengal이 35 mg/L 첨가된 rose bengal agar 배지를 사용하였으며, *Aspergillus* 속 곰팡이의 순수분리 및 보관을 위해서 potato dextrose agar(PDA) 배지를 사용하였고, 모든 배지는 멸균(121°C, 15 min)하여 사용하였다.

먼저, 균의 분리는 0.05% Tween80 멸균 증류수 9 ml가 함유된 시험관(18 × 200 mm)에 메주, 된장의 분쇄시료 1 g을 넣고 10배, 100배, 1,000배, 10,000배로 단계 희석한 혼합액 100 µl를 표면을 건조시킨 각 4개의 rose bengal agar 평판배지에 도말 한 후 28°C에서 4일간 배양하였다¹⁴⁾. 배양 후 CFU를 측정하여 전체 곰팡이 오염도를 조사하였고, 형성된 colony의 모양, 크기 및 색깔 등을 육안과 현미경 관찰을 통하여 *Aspergillus* 속으로 추정되는 균주를 선택하여 PDA 평판배지에서 분리를 반복하여 단일 colony를 순수 분리하였다. 순수 분리한 *Aspergillus* 속 균주는 PDA 사면배지에 접종하여 4°C에 보관하며 필요시 2회 계대(繼代) 배양한 후 이하의 실험에 사용하였다.

분리한 *Aspergillus* 속 곰팡이중 aflatoxin 생성균의 검색

순수 분리한 *Aspergillus* 속 곰팡이는 sucrose low salts (SLS)배지에서 배양하여 aflatoxin 생성정도를 관찰하였다. 즉, SLS배지 9 ml에 분리균의 포자현탁액 100 µl씩 접종한 후 25°C에서 15일간 배양하였다¹⁶⁻¹⁹⁾. 분리균의 배양물을 121°C에서 15분간 멸균한 뒤 영양 균체 및 포자를 사멸시키고 균체를 제거한 다음 3 ml의 ethyl acetate로 추출하여 유기용매 총 1 ml 씩을 취해 N₂ gas로 농축하여 ELISA 및 TLC법에 의한 분리균의 독소생성능 측정을 위한 시료로 사용하였다^{20,21)}. 농축된 샘플은 10% MeOH/PBS 1 ml에 용해하여 ELISA검사용으로 사용하였으며, 100% methanol 200 µl에 재용해하여 TLC용으로 사용하였다.

1) 면역분석법에 의한 검색

분리한 *Aspergillus* 속 곰팡이 중 aflatoxin 생성균을 검색하기 위하여 본 실험실에서 확립한 direct competitive enzyme linked immunosorbent assay(DC-ELISA)를 실시하였다. 이때 사용한 항체는 Table 2에서 보는 바와 같이 aflatoxin B₁(AFB₁)에 대해서는 100% 교차 반응성을 보이고 AFB₂, AFG₁, AFG₂, toxin(Sigma Co, Louis, MO, USA)과는 각각 26, 61, 및 24% 정도 교차 반응성을 보이나 다른 곰팡이 독소(ochratoxin, T-2 toxin, zearalenone)와는 교차반응성이 없는 단클론성 항체(AF-78 MAb)을 사용하였다.²²⁾

DC-ELISA를 실시하기 위하여 먼저, AF-78 Mab을 carbonate coating buffer(pH 9.0)로 1:200으로 희석하여 이를

Table 1. Sample sources for screening of aflatoxin producing strains from Meju and saybean paste.

Area	No. of samples	
	Meju	Soybean Paste
Hamyang	1	2
Sanchung	1	2
Jinju	2	4
Hadong	1	2
Gonyang	1	2
Sachun	1	2
Samchunpo	1	2
Gosung	1	2
Masan	1	2
Total	10	20

Table 2. Cross reactivity of anti-AFB₁ MAb(AF-78) to aflatoxins and other mycotoxins

Analogues	Cross-reactivity(%)
Aflatoxin B ₁	100
Aflatoxin B ₂	27
Aflatoxin G ₁	61
Aflatoxin G ₂	24
Ochratoxin A	0
T-2 toxin	0
Zearalenone	0

microtiter plate(Dynatech Co. Chantilly, VA, USA)에 100 μl씩 주입하고 37°C에서 하룻밤 방치한 후 세척용 완충용액(PBST)으로 3회 세척하였다. 세척한 plate에 단계 회석한 표준 AFB₁ 또는 배양물과 500배 회석된 AFB₁-HRP를 각각 1:1(v/v)의 비율로 100 μl씩 well에 주입하고 37°C에서 20분 동안 반응시켰다. 반응한 plate는 세척용 완충액으로 다시 6회 세척하고 기질용액(2,2'-azinobis(3-ethylbenz-thiazoline)sulfonic acid; ABTS) 100 μl를 분주하여 37°C에서 15분간 발색시킨 후 반응정지액을 50 μl씩 가해 반응을 정지시켰다. 반응하여 발색된 plate는 ELISA reader(Bio Rad Ins. USA; Model 550)로 405 nm에서 흡광도를 측정하여 MPM software(Bio Rad, Version 4.0)를 사용하여 AFB₁함량을 계산하였다²³⁾.

2) TLC에 의한 aflatoxin 확인

순수 분리한 *Aspergillus* 속 곰팡이의 aflatoxin 생성 유무를 TLC 방법에 의해 재확인하였다. 즉, 표준독소 AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂(Sigma Co, Louis, MO, USA)회석액 및 ethyl acetate로 추출한 배양액 1 ml을 건조 후 100% methanol 200 μl에 재용해한 시료액을 110°C에서 1시간 정도 활성화시킨 TLC plate(No.5553, Merck Co. Darmstadt, Germany)에 점적하였다. TLC plate는 CHCl₃:MeOH (97:3(v/v)) 혼합액을 전개용매로 1차 전개시키고 37°C에서 10분 정도 건조시킨 다음 다시 toluene:ethyl acetate:formic acid (5:4:1(v/v)) 혼합한 용매로 2차 전개시켰다. 전개된 plate는 37°C에서 10분 정도 건조시킨 다음 UV(365 nm)하에서 표준 독소 AFB₁, AFB₂, AFG₁, 및 AFG₂와 비교·관찰하여 분리균의 aflatoxin 생성 유무를 재확인하였다.

결과 및 고찰

메주 및 된장 시료에서의 곰팡이 오염도 측정

수집한 각종 메주와 된장 1 g을 멸균 0.05% Tween80 용액으로 단계회석 후 rose bengal agar 평판배지에 접종하여

Table 3. Determination of contamination rate(CFU) and the isolation of *Aspergillus* sp. from Meju

Sample	CFU/ml	Isolated <i>Aspergillus</i> sp. strains
M1	1.6 × 10 ³	M-1-1, M-1-2
M2	3.2 × 10 ²	M-2-1, M-2-2, M-2-3, M-2-4
M3	4.5 × 10 ⁴	M-3-1, M-3-2
M4	5.0 × 10 ⁴	M-4-1, M-4-2, M-4-3
M5	2.8 × 10 ⁴	M-5-1, M-5-2, M-5-3, M-5-4, M-5-5
M6	2.2 × 10 ³	M-6-3, M-6-4
M7	2.0 × 10 ⁵	M-7-1
M8	3.0 × 10	
M9	2.8 × 10 ³	M-9-1, M-9-2
M10	4.0 × 10 ⁴	M-10-1, M-10-2, M-10-3
Total	24 EA	

Table 4. Determination of contamination rate (CFU) and the isolation of *Aspergillus* sp. from Soybean paste

Source	CFU/ml	Isolated <i>Aspergillus</i> sp. strains
S1	5 × 10 ⁴	
S2	2 × 10 ⁴	S-2-1, S-2-2
S3	3 × 10 ²	
S4	8 × 10 ⁴	S-4-1, S-4-2, S-4-3, S-4-4
S5	5 × 10 ³	S-5-2
S6	5 × 10 ³	
S7	5 × 10 ⁴	S-7-1, S-7-2
S8	4 × 10 ³	S-8-1, S-8-2
S9	1.8 × 10 ⁵	S-9-1, S-9-2
S10	2 × 10 ⁴	
S11	7 × 10 ³	S-11-2, S-11-3
S12	2 × 10 ⁴	
S13	5 × 10 ³	S-13-1, S-13-3
S14	3 × 10 ³	S-14-1, S-14-2
S15	4 × 10 ³	S-15-3
S16	3.2 × 10 ⁴	
S17	5 × 10 ⁵	S-17-3
S18	3 × 10	S-18-1
S19	1 × 10 ⁴	
S20	2 × 10 ⁴	
Total	22 EA	

28°C에서 4일간 배양 후 colony를 판별하였다. 그 결과 Table 3 및 Table 4에서 보는바와 같이 수집된 메주 시료에서의 평균 CFU는 $3.3 \times 10^4 \pm 6.2 \times 10^4$ (CFU/ml) 이었고, 된장 시료의 평균 CFU는 $5.0 \times 10^4 \pm 1.1 \times 10^5$ (CFU/ml)로 나타났다. CFU로 비교해 볼 때는 메주와 된장에서의 곰팡이 발현 빈도는 큰 차이가 없었으나, 된장에서 곰팡이의 colony 수가 약간 많았다. 그러나 된장 보다 메주에서 다양한 colony가 발견되어 메주에서 보다 많은 종류의 곰팡이가

흔재되어 있음을 알 수 있었다.

메주 및 된장 시료에서의 *Aspergillus*속 곰팡이의 분리
 배지 위에 형성된 colony의 모양, 크기 및 색깔 등을 육안과 현미경 관찰을 통하여 표준 곰팡이와 비교해서 *Aspergillus* 속으로 추정되는 균주를 선택하여 PDA 평판배지에 단일 colony를 분리하였다. 그 결과 Table 3 및 4에서와 같이 메주 및 된장에서 총 46개의 *Aspergillus*속 추정균주를 분리하였고, 메주에서 된장보다 약 2배 정도로 높은 *Aspergillus*속 균주 분리율을 보였다.

분리한 곰팡이의 aflatoxin 생성

1) 면역분석법에 의한 분리균의 aflatoxin 생성능 검색
 순수 분리한 *Aspergillus* 속 곰팡이를 sucrose low salts (SLS)배지에서 배양하여 aflatoxin 생성정도를 DC-ELISA법으로 확인한 결과 Table 5에서와 같이 *Aspergillus* 속으로 분리한 46균주 중 17.4%인 8균주가 aflatoxin 생성균주로 확인되었다. 즉, 메주시료에서 분리한 24균주 중 25%인 6균주가 그리고, 된장에서 분리한 22균주 중 9%인 2균주가 aflatoxin을 생산하는 것으로 나타났다. 결과적으로 메주에서 aflatoxin 생성균주가 된장보다 약 3배에 가까운 수치로 발견되었으며, 이는 주변환경에서의 aflatoxin 생성균주의 오염 가능성성이 높음을 예측할 수 있다. 따라서 대규모 메주 및 된장 가공공장은 물론 최근 전국적으로 늘어나고 있는 소규모 전

통발효식품 제조공장에서의 유해곰팡이의 오염예방과 규제가 각별히 요구된다. 특별히 우리나라 식품가공공장에서의 HACCP(hazard analysis critical control point) 도입이 강조되고 있는 현시점에서 곡류 및 두류를 이용한 전통발효식품 가공공장에서 이들 유해 곰팡이독소생성균의 오염여부를 확인하는 것은 중요관리점(CCP; critical control point)으로 생물학적 위험요소 설정에서 중요한 것으로 판단된다.

한편, 배양액의 aflatoxin 정량에 앞서 표준 AFB₁으로 DC-ELISA를 실시하여 회수율을 구한 결과 Table 6에서 보는 바와 같이 최저 86%에서 최고 105%로 나타나 DC-ELISA법에 의한 AFB₁ 정량결과를 신뢰할 수 있었다.

DC-ELISA법으로 분리균 배양액 중의 aflatoxin을 정량한 결과, 분리균 M-5-4를 배양한 액체배지에서 ml 당 aflatoxin이 98.26 (ng/ml)로 가장 높게 검출되었으며, 분리균 M-2-1, M-2-2 및 M-4-1의 배양액에서도 aflatoxin이 각각 84.09, 76.98 및 50.74 ng/ml로 검출되었다. 된장에서 분리된 균의 경우는 aflatoxin 생성정도가 낮아 분리균 S-15-3은 17.14 ng/ml의 aflatoxin을 생성하였으며 다른 분리균은 10 ng/ml이하를 생산하는 것으로 나타났다. 이를 메주에서 분리된 균주들은 메주를 간장 및 된장 제조용 재료로 사용할 경우 발효·저장시 메주 자체에 축적된 독소가 이행될 확률이 높다, 특히 된장의 경우는 독소생성균의 분리빈도는 낮지만, 바로 섭취하는 식품자체의 특성상, 이행될 aflatoxin이 화학적 위험요소로서 작용할 가능성이 크다. 그러나, Park 등²⁵⁾이 보고한 바와 같이 된장이나 간장의 발효과정 중 aflatoxin의 분해는 물론 aflatoxin의 독성을 저해하는 물질이 존재할 가능성이 있으므로 메주나 된장 등의 전통식품에 대한 지속적인 안전성 연구가 필요하다고 사료되는 바이다.

Table 5. Detection of aflatoxin B₁ in cultured media by direct competitive-ELISA

Sample	Source	Isolated strains	Concentration (ng/ml broth)
Meju	M2	M-2-1,	84.09
	M2	M-2-2	76.98
	M4	M-4-1	50.74
	M5	M-5-4	98.26
	M6	M-6-4	9.86
	M10	M-10-3	7.88
Soybean Paste	S2	S-2-1	4.99
	S15	S-15-3	17.14

Table 6. Recovery rate of spiked aflatoxin B₁ from spiked in SLS medium by direct competitive ELISA

Spiked AFB ₁ (ng/ml)	Detected AFB ₁ (ng/ml)	Recovery rate (%)
5	4.7 ± 1.2	94
10	10.5 ± 0.8	105
50	48 ± 4.7	96
100	86 ± 8.9	86

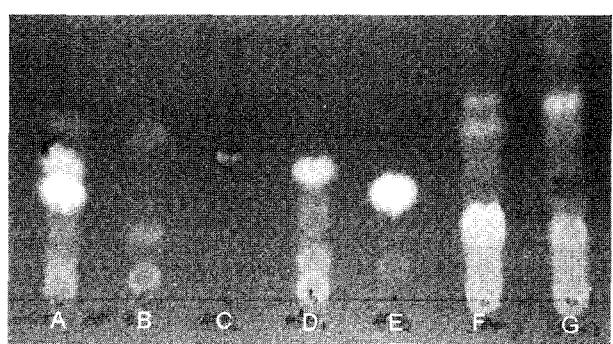


Fig. 1. TLC chromatogram of standard aflatoxins and samples.

A, Standard Toxin Mix; B, Aflatoxin B₁; C, Aflatoxin B₂; D, Aflatoxin G₁; E, Aflatoxin G₂; F, Sample M-5-4; G, Sample M-6-4

2) TLC에 의한 aflatoxin 생성능 검색

ELISA법에 의하여 AFB₁ 생성균주로 나타난 분리균 및 Aspergillus속으로 분리된 균을 TLC법으로 aflatoxin 생성여부를 다시 확인하였다. 즉, 실험방법에서 설명한 바와 같이 분리균의 배양액을 ethyl acetate로 추출한 다음 추출액 1 ml을 농축한 후 200 µl의 methanol에 재용해하여 TLC를 실시하였다. 그 결과 ELISA 검사결과와 유사하게 독소생성 능이 낮거나 없는 균들은 특이 spot을 확인 할 수 없었고, aflatoxin 생성능이 높은 균주들은 Fig. 1에서와 같이 AFB₁과 같은 R_f치를 가지는 푸른 형광성이 있는 spot을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 미루어 보아 앞으로 메주나 된장에서 각 시료 자체에 생육하고 있는 곰팡이 중 aflatoxin의 생성여부

를 알아보는 것은 전통식품의 안전성 확보를 위하여 국제경쟁력을 높이기 위해서 반드시 필요하다. 앞으로는 메주나 된장을 생산하는 식품공장을 포함한 전통식품가공공장에서 생산된 제품들의 국제화를 위해 무엇보다 이들 공장에서의 HACCP(Hazard Analysis Critical Control Point) system의 적용이 필연적이다²⁶⁾. 이때 이들 전통식품에 잔류될 가능성이 있는 곰팡이 독소는 화학적 위해인자로서의 중요관리점 즉, CCP(critical control point)로 관리되어야 할 것이다. 따라서 식품의 안전성 차원에서도 이러한 실험이 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각되며, 무엇보다 전통식품에서의 유해인자중의 하나인 곰팡이 독소 분석시 많은 시료처리와 안정하고 신속한 실험결과를 얻기 위해서 DC-ELISA와 같은 고도의 기술 확보와 응용이 대단히 중요하다고 생각된다.

국문요약

일반적으로 메주나 된장 등의 한국 전통발효식품에는 *Aspergillus oryzae*나 *A. niger* 등과 같은 곰팡이독소를 생성하지 않는 균이 주로 서식하는 것으로 알려져 있다. 그러나 때로는 *A. flavus*나 *A. paraciticus*와 같은 유해곰팡이가 오염되어 발효나 저장 중에 aflatoxin이 축적될 수도 있다. 따라서 이를 전통발효식품에서의 aflatoxin 생성균의 검색이 이들 식품의 안전성 확보를 위해 매우 중요하다고 생각된다. 본 연구에서는 면역분석기법을 이용하여 서부경남 시 판메주 및 된장에서 aflatoxin 생성균을 검색하였다. 시료로는 서부경남 9개 지역으로부터 메주 10개와 된장 20개를 수집하였고, 수집된 시료로부터 메주에서는 24개 그리고 된장에서는 22개의 Aspergillus속 균을 분리하였다. 분리균들은 SLS 배지에 접종하여 25°C에서 15일간 배양한 다음, 배양액을 ethyl acetate로 추출하고, DC-ELISA법으로 배양물중의 AFB₁를 측정하였다. 그 결과 메주로부터 분리된 균주 중에는 6균주가, 된장에서 분리된 균주에서는 2 균주가 AFB₁을 생산하는 것으로 확인되었다. 메주에서 분리된 6균주의 AFB₁ 생성량은 평균 54.6 ± 38.7 ng/ml 이었고, 된장에서 분리한 2균주는 평균 11.1 ± 8.6 ng/ml의 AFB₁를 생산하였다. 그 중 분리균 No. M-5-4는 98.26 ng/ml의 AFB₁를 생산하여 가장 높은 생성능을 보였다. 아울러 TLC에 의해 aflatoxin 생성능을 재확인 한 결과 DC-ELISA의 결과와 유사하였다. 이상의 결과로 미루어 보아 식품의 안전성과 한국에서의 전통발효식품산업에의 HACCP 시스템 도입을 위해 발효식품에서의 유해곰팡이독소 생성균의 검색은 필요하다고 사료되는 바이다.

참고문헌

- 정덕화, 신동화, 장동석, 김창민, 이인선 공저: 식품위생학, 117-120 (1999).
- Concon, J. M.: Food toxicology, Part B. Marcel Dekker, New York. 677-770 (1988).
- Wilson, B.J.: Hazards of mycotoxins to public health. *J. Food Prot.* **41**, 375-384 (1978).
- Imad A. Ahmed. and Richard K. Robinson.: Selection of a Suitable Method for Analysis of Aflatoxins in Date Fruits. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 580-584 (1998).
- Busby, W. F. Jr. and Wogan, G. N.: Aflatoxins in chemical carcinogen, 2nd Ed. vol.2, (Searle, C. E. eds.) Washington, D. C. American Chemical Society. p.945-1136 (1984).
- Stoloff, L., Rodricks, J. V., Hesseltine, C. W. and Mehlmann, M. A.: Mycotoxins in human and animal health. *Pathotox*, Illinois, p. 37 (1977).
- Scott, De B.: Toxigenic fungi isolated from cereal and legume products. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **25**, 213-222 (1965).
- Patterson, D. S. P.: Metabolism as a factor in determining toxic action of aflatoxins in different animal species. *Food Cosmet. Toxicol.* **11**, 287-294 (1973).
- 서정원 : 미생물 독소. 형설출판사. p. 167-187 (1991).
- Trucksess, M. W., Flood, M. T., Mossoba, M. M. and Page, S. W.: High-Performance thin-layer chromatographic determination of deoxy nivalenol, fusarenon-X and nivalenol in barley, corn, and wheat. *J. Agric. Fd. Chem.* **35(4)**, 445-448 (1987).
- Pestka, J. J., Li, Lee., Harder, W. O. and Chu, F. S.: Comparison of radioimmunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay for determining aflatoxin M₁ in milk. *J. Assoc.*

- Off. Anal. Chem.* **64**(2), 294-301 (1981).
12. 張轉烈, 許昌文 共著: *Atlas of Clinical Microbiology*, 大學書林, p. 265-268 (1990).
 13. 倉田浩, 坂井千三 共著: *食品の衛生微生物検査*, 請談社 サイエンティフィク, p. 78, (1983).
 14. 村上英也. コウジ菌の分類. *食品衛生學會誌*. 13(1), 1-11 (1972).
 15. Kenneth Helrich. Natural poisons chapter 49 from officinal methods of analysis of the association of officinal analytical chemists Editor AOAC methods. 15th edition. p. 1185-1194 (1990).
 16. T. V. Reddy, L. Viswanathan, and T. A.: Venkitasubramanian. High Aflatoxin Production on a Chemically Defined Medium. *Appl. Micro.* **22**(3), 393-396 (1971).
 17. Jun H. K., Park K. Y. and Jo Y. B.: Effect of ginseng saponin and its related materials on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL2999 in synthetic Medium. *Kor. J. Microbiol.* **24**(4), 352-356 (1986).
 18. Moreno, M. A., Olivares, A. and Suarez, G.: Improved methodology for detecting aflatoxin production quantitatively in natural media. *Mycotoxin Research.* **5**, 51-56 (1989).
 19. Shih, C. N. and Marth, E. H.: Production of aflatoxin and its partition between the medium and the mycelium of *Aspergillus parasiticus* during incubation under various conditions. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **158**, 215-224 (1975).
 20. Moreno, M. A., Ramos, M. C. and Suarez, G.: A rapid extraction method for detecting aflatoxin producing isolates. *Mycotoxin Research.* **3**, 33-35 (1987).
 21. 국립보건원 위생부: *식품 중 Mycotoxin의 분석법*, p. 88-92 (1992).
 22. Morris B. A. and Clifford M. N.: Immunoassays in Food Analysis, 116-123, 1985.
 23. Rambo, G. W. and Beam, G. A.: Sterols and fatty acids of aflatoxin and non aflatoxin producing isolates of *Aspergillus*. *Phytochemistry.* **13**, 195-198 (1974).
 24. Park, K. Y. and Lee, K. B.: Degradation of aflatoxins during manufacturing of Doenjang and Kanjang by traditional method. *Busan National Univ.* **13**, 49-55 (1987).
 25. 박완희, 이병철 공저: HACCP실무, 정문각, 22-64, 1999.