

## 국내생산 사료의 Aflatoxin 오염도 조사

장한섭<sup>1</sup> · 조현정<sup>1</sup> · 이경은 · 이 찬\*

<sup>1</sup>국립농산물품질관리원 시험연구소, 중앙대학교 식품공학과

### Survey of the Presence of Aflatoxins in Compound Feeds and Feed Ingredients

Han-Sub Jang<sup>1</sup>, Hyun-Jung Jo<sup>1</sup>, Kyung-Eun Lee, and Chan Lee\*

<sup>1</sup>Experiment & Research Institute, National Agricultural Products Quality Management Service  
Food Science & Technology, Chung-Ang University

(Received November 5, 2007/Accepted December 17, 2007)

**ABSTRACT** – Contamination of aflatoxins (AFs) was monitored in 447 compound feeds and 138 feed ingredients samples distributed in South KOREA in 2006 and 2007. The degree of AFB<sub>1</sub> and AFB<sub>2</sub> contamination in compound feed was 20% and 3%, respectively. The levels of detection were ranged from 0.48 to 10.46 ppb for AFB<sub>1</sub> and from 0.25 to 0.42 ppb for AFB<sub>2</sub>. Thirty eight percent of compound feeds were contaminated with AFB<sub>1</sub> at concentration between 0.43 and 5.52 ppb and AFB<sub>2</sub> was detected in 2% of compound feeds at levels ranging 0.26-0.40 ppb. The highest degree of AFB<sub>1</sub> contamination was observed in compound feeds for beef cattle (75%) followed by for dairy cattle (72%) and in bran among feed ingredients (30%). Bran exhibited the highest level of AFB<sub>1</sub> contamination (3.1 ppb). Vegetable proteins and compound feeds for dog showed relative lower degree of contamination at 2.9 and 1.9 ppb, respectively. AFG<sub>1</sub> and AFG<sub>2</sub> were not detected in any compound feeds and feed ingredients samples.

**Key words:** aflatoxin, feed ingredient, compound feed, contamination

곰팡이독소(Mycotoxin)는 곰팡이가 생산하는 독소로서 식품 및 사료에서 광범위하게 발생한다. 곰팡이독소의 오염은 인류와 동물에게 다양한 급성 및 만성적인 손상을 유발시키기 때문에 식품 및 사료의 안전성 관리에 직면한 현안 중 하나로 인식되고 있다.<sup>1)</sup> 사료는 공동경작, 제조, 이동, 저장 등의 과정에서 기후 조건에 따라 곰팡이로부터 쉽게 오염이 되며, 저장온도, 습도가 관리되는 최적 시스템에서도 곰팡이 오염은 지속적으로 문제를 일으키고 있다.<sup>2)</sup> 최근에도 사료에서 *Aspergillus*와 *Penicillium* 속의 곰팡이 오염이 더욱 빈번하게 발생하고 있다고 보고되고 있다.<sup>3)</sup>

아플라톡신(aflatoxin, AF)은 일반적으로 사료에서 쉽게 발견되는데 그 이유는 아플라톡신을 생산하는 *Aspergillus flavus*가 저장 중에 발생하는 가장 일반적인 곰팡이 중 하나이기 때문이다.<sup>4)</sup> 사료에 *A. flavus*가 오염되어 아플라톡신이 발생하면 가축성장이 저해되어 막대한 경제적 손실

을 초래한다.<sup>5)</sup> 아플라톡신들은 coumarin고리에 융합된 dihydrofuran 또는 tetrahydrofuran의 일부분이며<sup>6)</sup>, 주된 아플라톡신 유도체로는 B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>), B<sub>2</sub>(AFB<sub>2</sub>), G<sub>1</sub>(AFG<sub>1</sub>), G<sub>2</sub>(AFG<sub>2</sub>) 등이 보고되고 있다(Fig. 1).<sup>1)</sup> 아플라톡신은 다양한 농산물, 식품 등에서 발견되며, 아플라톡신 유도체 중 AFB<sub>1</sub>은 WHO의 International Agency for Research on Cancer(IARC)에서 1그룹의 발암물질로 분류되고 있다.<sup>7)</sup> 미국의 FDA에서는 식품을 대상으로 전체 아플라톡신(total AFs)으로서 20 ppb(우유는 aflatoxin M<sub>1</sub> 으로서 0.5 ppb)의 기준치를 설정하고 있는 반면 유럽연합에서는 AFB<sub>1</sub>은 2-5 ppb, 전체 아플라톡신은 4-10 ppb(유아용 식품은 aflatoxin M<sub>1</sub> 0.025 ppb, AFB<sub>1</sub> 1.0 ppb)의 최대허용기준치를 설정하고 있다.<sup>8)</sup>

국내 사료제조 공장에서 사용하는 대부분의 원료는 외국에서 수입하고 있는 실정므로 최종 생산된 배합사료 및 단미사료에서 AFs의 오염이 의심 되고 있다. 그러나 사료에 대한 곰팡이독소들의 오염현황에 대한 조사 실적은 현재까지 많지 않다.<sup>9)</sup> 즉, 우리나라에서는 사료 중 곰팡이독소들의 오염실태에 대한 자료가 미흡하며, 오염실태조사가 된 것도 일부 단미사료에 대한 것이 대부분이고 가축

\*Correspondence to: Chan Lee, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Ansong, 456-756 Korea  
Tel: 82-31-670-3035, Fax: 82-31-676-8865  
Email: chanlee@cau.ac.kr

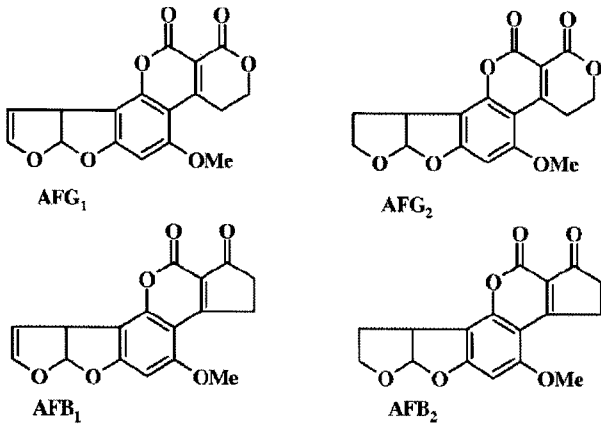


Fig. 1. Structures of aflatoxin.

이 실질적으로 섭취하는 축종별 배합사료에 대한 오염도 조사 자료는 거의 찾아볼 수 없는 실정이다. 따라서 국내에서 생산된 사료에서 곰팡이독소 오염정도를 아플라톡신을 중심으로 정량적으로 파악할 필요가 있고, 오염도 조사결과를 근거로 사료 제조과정 중 곰팡이독소들의 위험을 최소화하기 위한 방안 마련이 필요하다. 이 같은 배경하에 현재 우리나라에서 시판되고 있는 사료 중 아플라톡신의 함량을 분석하여 사료와 축산물 및 그 가공품의 안전성을 증대 시키고자 오염도 조사를 실시하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

아플라톡신들(AFs)의 오염도 조사 시료로 2006년도에서 2007년도에 국내 사료 제조공장에서 유통된 배합사료와 단미사료를 사용하였으며, 25 kg 지대포장 또는 1톤 백 (ton bag)포장 사료를 대상으로 하였다. 사료관리법상의 시료 채취요령에 따라 무작위 추출법으로 포대 또는 톤당 1 kg 정도의 분석시료를 채취하여 혼합용지 위에서 골고루 혼합한 후 4분법으로 500 g 정도의 시료를 취하여 분석하였다.<sup>10)</sup>

AFs 표준품으로 아플라톡신혼합물(aflatoxin mix, SUPELCO, U.S.A)을 사용하였다. Methanol/glacial acetic acid(98:2 v/v)와 물을 1:1(v/v)로 혼합한 용액으로 표준품을 약 1000배 희석하여 stock solution을 제조한 후, methanol로 약 50배 희석하여 AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>의 표준용액으로 사용하였다. 시료전처리용 시약으로 HPLC급 methanol(Merck, GER)을 사용하였으며, 시료 정제를 위하여 immunoaffinity column(AFLAPREP<sup>®</sup>, R-Biopharm, U.K)을 사용하였다.

#### 기기 및 장치

형광검출기(G1321A fluorescence detector)가 장착된

HPLC(Agilent 1100 series, Agilent Technologies, U.S.A)를 사용하였다. 시료분쇄기, 균질기(OMNI International, U.S.A), 화학천칭(Sartorius, GER), 원심분리기, 시험관 교반기, vacuum system, KOBRA cell(R-Biopharm, U.K), Mili-Q RiOs/Elix water purification system(Millipore, Bedford, MA, U.S.A) 등을 사용 하여 전처리과정을 시행하였다.

#### 시료의 전처리

AFs를 추출하기 위하여 500 g의 시료를 잘 혼합하고 약 250 g의 시료를 입자크기 600 µm 정도가 되도록 시료분쇄기로 분쇄하였다. 이 시료 중 25 g을 칭량하여 methanol/water(60:40 v/v) 추출용액 125 ml를 넣고 NaCl 2 g을 첨가한 후 AFs이 추출되도록 균질기로 10,000 rpm에서 2분간 추출하였다. 여기에 증류수 125 ml를 첨가하여 10초간 혼합한 후 여과지(Whatman No. 4)로 여과한 후 여과용액 20 ml를 취하여 immunoaffinity column에 유속이 2-3 ml/min되도록 통과 시켰다. 10 ml증류수로 column을 2회 세척한 후 1 ml methanol로 backflushing을 3회 실시하면서 중력에 의해 AFs를 유출시켜 시료액으로 사용하였다.<sup>11)</sup> 전처리 과정을 요약하여 Fig. 2에 나타내었다.

#### 기기분석 조건

AFs를 분석하기 위하여 Eclipse-XDB-C<sub>18</sub> column(reversed-phased column I.D. 4.6×150 mm, particle size 3.5 µm, Agilent Technologies, U.S.A)과 guard column(C<sub>18</sub>, 5 µm)

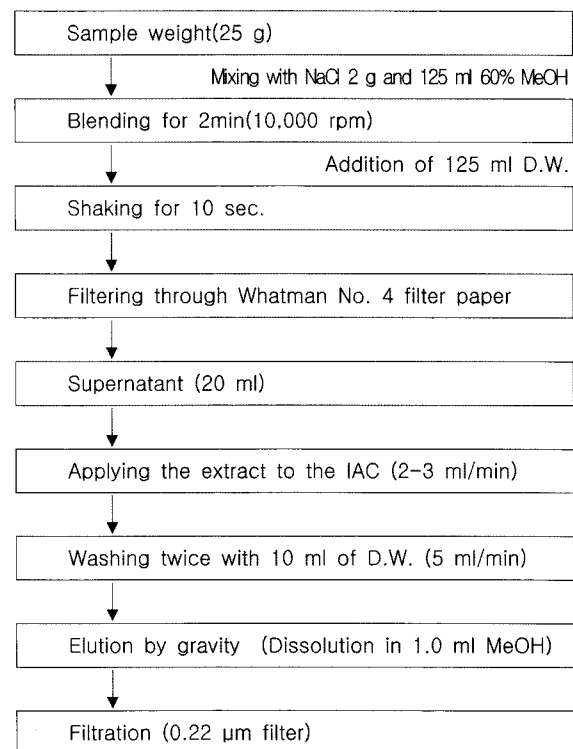


Fig. 2. Process for purification of aflatoxins.

을 사용하였고, 35°C에서 10분간 분석하였다. Methanol : water(50:50 v/v, with 119 mgKBr/1L, 4 M nitric acid 350 µl/L)를 제조하여 이동상으로 사용하였고 유속은 1.0 ml/min로 설정하였다. AFG<sub>1</sub>과 AFB<sub>1</sub>의 검출감도를 높이기 위해서 C<sub>18</sub>컬럼과 검출기 사이에 코브라셀을 연결하여 분석하였다.<sup>12)</sup> 주입량은 8 µl이었으며, 형광검출기의 검출파장을 excitation wavelength 362 nm, emission wavelength 426 nm로 설정하였다.

검출된 AFB<sub>1</sub>의 LC/MS/MS 분석을 위하여 water : methanol의 구배 용액을 이동상으로 사용하였으며, C<sub>18</sub>역상 컬럼(2.1×100 mm, 3 µm, Hamilton, U.S.A)이 사용되었다. 유속을 200 µl/min로 설정하였고 주입량을 20 µl로 하였다. LC/MS/MS 분석을 위하여 API 3000 분석기 (Applied Biosystems, U.S.A)를 사용하였다. ESI Positive ion mode로 분석하였으며, 5500 V로 ion spray voltage를 설정하였다.

**회수율 실험**

AFs에 오염되지 않은 소사료와 대두박에 AFG<sub>1</sub>을 2.09 µgkg<sup>-1</sup>, 4.17 µg kg<sup>-1</sup>의 농도로 첨가하였으며, AFG<sub>2</sub>, AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>도 두가지 농도로 각각의 시료에 혼합하고(0.64 µgkg<sup>-1</sup>, 1.28 µgkg<sup>-1</sup> AFG<sub>2</sub>; 0.61 µgkg<sup>-1</sup>, 1.23 µgkg<sup>-1</sup> AFB<sub>1</sub>; 3.96 µgkg<sup>-1</sup>, 1.98 µgkg<sup>-1</sup>, AFB<sub>2</sub>) 24시간 동안 건조시킨 후 상기 실험방법으로 3회 반복하여 회수율을 측정하였다.

**검출한계, 정량한계 측정 및 검량선 작성**

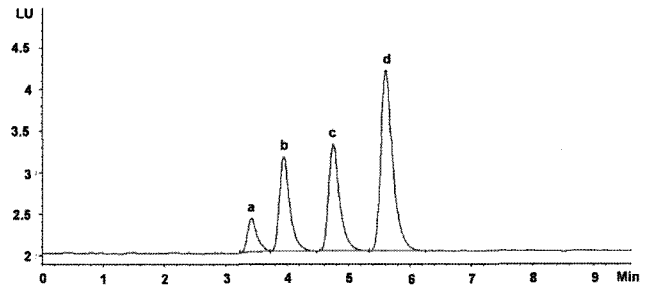
Signal/noise 비율이 3:1일 때를 기준으로 AFs의 검출한계를 측정하였고, Signal/noise 비율이 10:1일 때를 기준으로 정량한계를 결정하였다. AFB<sub>1</sub>의 농도를 0.989, 1.978, 3.956, 7.912, 19.78 µgkg<sup>-1</sup>, AFB<sub>2</sub>의 농도를 0.307, 0.614, 1.228, 2.456, 6.14 µgkg<sup>-1</sup>,으로 조절한 표준용액을 제조하였다. 마찬가지로 AFG<sub>1</sub>의 농도를 1.043, 2.086, 4.172, 8.344, 20.86 µgkg<sup>-1</sup>, AFG<sub>2</sub>의 농도를 1.276, 2.552, 6.38 µgkg<sup>-1</sup>으로 조절하여 표준용액으로 사용하였다. 각 표준용액을 HPLC column에 주입하여 피크의 면적을 계산하였고, 각 표준품의 양에 대한 각 피크의 면적을 그래프로 계산함으로써 검량선을 작성하였다.

**결과 및 고찰**

**아플라톡신의 분석**

표준품인 아플라톡신 혼합물의 HPLC 분석결과는 Fig. 3과 같다. AFG<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFB<sub>1</sub>의 머무름 시간은 각각 3.5, 4.0, 4.7, 5.6 min이었다.

AFs의 회수율 분석 결과를 Table 2에 나타내었다. AFs의 회수율 실험을 위하여 소 사료와 대두박을 사용하였고, AFs의 표준용액을 첨가하여 분석한 결과 회수율이 61.3-



**Fig. 3.** Chromatogram of aflatoxin standard solutions. a: aflatoxin G2, b: aflatoxin G1, c: aflatoxin B2, d: aflatoxin B1.

**Table 1.** Samples for aflatoxins analysis

Compound Feeds	Number of samples	Feed ingredients	Number of samples
Cattle feeds	137	By-products of grains	43
Swine feeds	98	Grains	9
Poultry feeds	123	Vegetable proteins	61
Dog feeds	32	By-products of food	9
Aqua culture feeds	42	Soyprotein concentrates	3
Cat feeds	6	Fibrous feeds	11
Fibrous feeds	2		
Mouse feeds	1		
Duck feeds	4		
Sheep feeds	1		
Rabbit feeds	1		

**Table 2.** Recoveries and relative standard deviations(RSD) from blank feed spiked with aflatoxins at different levels

Type	Spiking level (µgkg <sup>-1</sup> )	Recovery (%) ± SD <sup>a</sup>	RSD (%)
Cattle	AFG <sub>2</sub> 0.64	ND <sup>b</sup>	-
	AFG <sub>1</sub> 2.09	92.28 ± 0.25	12.75
	AFB <sub>2</sub> 0.61	82.56 ± 0.04	8.57
	AFB <sub>1</sub> 1.98	73.23 ± 0.05	3.64
	AFG <sub>2</sub> 1.28	62.37 ± 0.17	21.17
	AFG <sub>1</sub> 4.17	70.56 ± 0.23	7.84
	AFB <sub>2</sub> 1.23	71.04 ± 0.04	4.21
Soybeen meal	AFB <sub>1</sub> 3.96	61.30 ± 0.15	6.14
	AFG <sub>2</sub> 0.64	ND <sup>b</sup>	-
	AFG <sub>1</sub> 2.09	87.58 ± 0.12	6.59
	AFB <sub>2</sub> 0.61	88.44 ± 0.02	4.38
	AFB <sub>1</sub> 1.98	77.56 ± 0.04	2.30
	AFG <sub>2</sub> 1.28	60.91 ± 0.38	13.02
	AFG <sub>1</sub> 4.17	84.45 ± 0.34	9.74
AFB <sub>2</sub> 1.23	66.49 ± 0.04	4.72	
AFB <sub>1</sub> 3.96	73.11 ± 0.38	13.02	

<sup>a</sup>SD, Standard Deviation (n=3 replicates).

<sup>b</sup>ND, Not detected.

92.3% 범위를 보였다. 이하 실험에서 결과값에 회수율보정은 하지 않았다. 1997년 영국에서 보고된 바에 의하면

AFs의 회수율은 65-105%로 나타났고<sup>13)</sup>, Beg 등이 2006년 도에 보고한 자료에서 AFs의 회수율은 70.4-112.6%로 나타났다.<sup>14)</sup> 본 실험의 AFs회수율은 국외 자료와 비교해 볼 때 비슷하거나 다소 낮은 것으로 판단되었다.

### 단미사료에서의 아플라톡신오염도

아플라톡신오염도를 분석하기 위하여 총 585점의 사료가 수집되었다. 이중 배합사료가 447점이었으며, 1387점의 단미사료도 조사되었다.

단미사료 시료의 AFB<sub>1</sub>의 분석 결과를 Table 3에 나타내었다. 강피류 43점 중 13점(30%)의 사료가 AFB<sub>1</sub>에 오염되었고, 평균농도는 3.19 ppb 수준이었다. 강피류 중 단백피는 평균농도 2.88 ppb 수준으로 오염되었으며, 시료번호 376번 옥수수피의 경우 10.46 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 검출되어 단미 및 배합사료 전체시료 중 가장 높은 오염 정도를 보였다. 시료번호 324번 옥수수피는 AFB<sub>2</sub>와 AFB<sub>1</sub>이 동시에 오염되어 있었으며, AFB<sub>2</sub>가 0.25 ppb, AFB<sub>1</sub>이 4.37 ppb 수준이었다.

박류는 61점 중 14점(22%)의 사료가 AFB<sub>1</sub>에 오염되었으며, 오염된 사료의 평균농도는 2.91 ppb이었고 농도범위는 0.48 ppb-7.13 ppb 수준이었다. 옥수수글루텐은 7점이 오염되었으며 평균농도는 4.69 ppb 이었다. 323번 옥수수글루텐에서는 7.13 ppb의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었는데 이는 박류 중 최고 오염농도 수준이었다. 다른 옥수수글루텐 3

점에서는 AFB<sub>2</sub>와 AFB<sub>1</sub>이 동시에 검출되었으며 각각의 농도는 0.35 ppb-0.42 ppb, 그리고 3.59 ppb- 6.60 ppb 수준이었다. 옥수수배아박은 5점이 오염되었으며 평균농도 1.31 ppb 수준이었다. 기타 식물성 박류 11점 중 임자박 1점에서 0.79 ppb, 분류되지 않은 박류 1점에서 0.48 ppb 농도의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었다.

오염된 AFB<sub>1</sub>의 평균농도가 높은 순서는 옥수수글루텐 > 옥수수피 > 단백피 > 옥수수배아박 순으로 나타났으며 곡물류 9점과 박류 중 대두박 23점에서는 아플라톡신이 검출되지 않았다. 남은 음식물, 농축단백질, 섬유질류의 기타 단미사료에서도 아플라톡신이 검출되지 않았으며 모든 단미사료에서 AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>는 검출되지 않았다.

이탈리아의 Decastelli 등이 2004-2005년도에 조사한 바에 의하면 616점의 사료 중 8.1%에 해당하는 단미사료 44점에서 20 ppb 수준을 초과하는 아플라톡신이 검출된 것으로 나타났다.<sup>15)</sup> 또한, 2003년도 국내에서 Kang 등이 사료 179점을 분석한 보고에서는 9점의 사료에서 7.37-10.50 ppb 수준으로 오염된 것으로 조사되었다.<sup>16)</sup> 그리고 2005년 Beg 등의 연구에서는 쿠웨이트 단미사료 중 소맥피 24%, 대두박 47%, 옥수수 52%의 아플라톡신 오염률을 보고하였고, 이때 검출범위는 0.15-0.27 ppb 수준이었다.<sup>12)</sup> 이 연구에서 분석된 단미사료 중 옥수수의 오염률은 위에서 보고된 여러 연구의 오염률보다 다소 높았지만 검출된 농도는 비슷하거나 조금 낮은 것으로 나타났다.

**Table 3.** Presence of aflatoxin B<sub>1</sub> in feed ingredients

	Samples		No.(%) of contaminated samples <sup>b</sup>	No. of samples with AFB <sub>1</sub> concn of			AFB <sub>1</sub> concn <sup>a</sup> (μgkg <sup>-1</sup> )	
	Type	Total no.		ND <sup>c</sup>	LOD <sup>d</sup> -LOQ <sup>e</sup>	>LOQ	Mean±SD	Range
Bran	Danbeak-pi	7	5 (71)	2	1	4	2.88±1.65	0.60-5.73
	Soybean hull	7	1 (16)	6	1	-	0.51	-
	Wheat shorts	5	1 (20)	4	-	1	3.71	-
	Wheat bran	12	1 (8)	11	1	-	0.51	-
	Corn bran	7	5 (71)	2	-	5	4.46±3.12	1.88-10.46
	Others	5	-	5	-	-	-	-
Grains	Barley	1	-	1	-	-	-	-
	Wheat	5	-	5	-	-	-	-
	Soybean	3	-	3	-	-	-	-
Vegetable proteins	Soybean meal	23	-	23	-	-	-	-
	Corn gluten	21	7 (33)	14	-	7	4.69±1.79	2.35-7.13
	Corn germ meal	6	5 (83)	1	1	4	1.31±0.30	0.82-1.64
	Others	11	2 (18)	9	2 <sup>f</sup>	-	0.64±0.15	0.48-0.79
Others	By-products of food	9	-	9	-	-	-	-
	Soyprotein concentrates	3	-	3	-	-	-	-
	Fibrous feed	13	-	13	-	-	-	-

<sup>a</sup> Samples with AFB<sub>1</sub> concentrations ≥ LOD were used for analyses.

<sup>b</sup> Samples with AFB<sub>1</sub> concentrations ≥ LOD.

<sup>c</sup> ND, Not detected (AFB<sub>1</sub> concentration in sample < 0.403 μgkg<sup>-1</sup>).

<sup>d</sup> LOD, limit of detection.

<sup>e</sup> LOQ, limit of quantification (AFB<sub>1</sub> concentration in sample = 0.889 μgkg<sup>-1</sup>).

<sup>f</sup> Perilla meal, and not specified.

**Table 4.** Presence of aflatoxin B<sub>1</sub> in compound feeds

Type	Samples			No.(%) of contaminated samples <sup>b</sup>		No. of samples with AFB <sub>1</sub> concn of			AFB <sub>1</sub> concn <sup>a</sup> (µgkg <sup>-1</sup> )	
	Usage	Stage	Total no.			ND <sup>c</sup>	LOD <sup>d</sup> -LOQ <sup>e</sup>	>LOQ	Mean±SD	Range
Beef cattle	Breeding	Calves	4	3	(75)	1	2	1	1.24±1.03	0.46-3.22
		Pregnancy	27	20	(74)	7	13	7	0.97±0.72	0.43-3.79
		Lactation	2	2	(100)	-	1	1	1.14±0.44	0.70-1.58
	Fattening	Calves	11	9	(82)	2	5	4	0.93±0.33	0.49-1.43
		Finishing	23	16	(70)	7	10	6	1.00±0.73	0.52-3.65
Dairy cattle	Breeding	Calves	34	24	(71)	10	12	12	0.96±0.39	0.44-2.00
		Pregnancy	1	1	(100)	-	-	1	0.91	-
	Lactation	Drying-off	6	6	(100)	-	3	3	0.80±0.15	0.53-0.96
		High-yielding	1	-	-	1	-	-	-	-
		Lactation	26	18	(69)	8	9	9	0.87±0.26	0.47-1.52
Swine	Piglets	Piglets	26	7	(27)	19	5	2	0.83±0.38	0.47-1.70
		Piglets over 5kg	4	-	-	4	-	-	-	-
	Breeding	Pregnancy	15	3	(20)	12	2	1	0.95±0.59	0.44-1.77
		Lactation	16	6	(38)	10	2	4	1.11±0.47	0.43-1.95
	Fattening	Growing	37	6	(16)	31	3	3	1.15±0.63	0.61-2.48
Poultry	Layer	Chicken	36	6	(17)	30	5	1	0.61±0.22	0.45-1.08
		Laying	31	7	(23)	24	5	2	0.82±0.72	0.43-2.54
	Broiler	Broiler	54	17	(31)	37	13	4	0.74±0.20	0.49-1.13
	Parents stock	Breeder	2	-	-	2	-	-	-	-
Dog	Young	Young	7	1	(14)	6	1	-	0.63	-
		Growing	16	4	(25)	12	1	3	2.22±1.95	0.52-5.52
		Mature	9	-	-	9	-	-	-	-
Aqua culture	Cultivation	42	7	(17)	35	7	-	0.63±0.16	0.44-0.86	
Others	Cat	6	1	(17)	5	-	1	1.24	-	
	Fibrous feed	2	2	(100)	-	1	1	0.98±0.17	0.81-1.15	
	Duck	4	1	(25)	3	-	1	1.03	-	
	Sheep	1	1	(100)	-	-	1	1.48	-	
	Rabbit	1	-	-	1	-	-	-	-	
	Mouse	1	-	-	1	-	-	-	-	

<sup>a</sup> Samples with AFB<sub>1</sub> concentrations ≥ LOD were used for analyses.

<sup>b</sup> Samples with AFB<sub>1</sub> concentrations ≥ LOD.

<sup>c</sup> ND, Not detected (AFB<sub>1</sub> concentration in sample < 0.403 µgkg<sup>-1</sup>).

<sup>d</sup> LOD, limit of detection.

<sup>e</sup> LOQ, limit of quantification (AFB<sub>1</sub> concentration in sample = 0.889 µgkg<sup>-1</sup>).

### 배합사료에서의 아플라톡신오염도

고기소 사료 69점 중 52점(75%)의 사료가 AFB<sub>1</sub>에 오염되었고 평균농도는 1.01 ppb 수준이었다(Table 4). 고기소 번식용 사료의 경우에는 평균 1.03 ppb의 오염을 나타내었으며, 비육용의 경우에는 0.97 ppb 수준으로 AFB<sub>1</sub>이 오염되어 있었다. 고기소 번식용 사료 중 임신우 사료에서는 3.79 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 분석되었으며, 이 값은 고기소 사료에서 검출된 결과 중 제일 높은 농도이었다. 한편, 오염된 평균농도를 비교해 볼 때 번식용 송아지 사료의 평균오염농도는 1.24 ppb로 고기소 사료 중 가장 높은 오

염률을 나타내었다. 임신우용 사료 1점, 번식용 중송아지 사료 1점, 큰소비육용 전기사료 1점에서는 AFB<sub>2</sub>와 AFB<sub>1</sub>이 동시에 검출되었으며 그 값은 각각 0.26 ppb-0.27 ppb, 3.22 ppb-3.79 ppb로 나타났다.

젖소 사료에서는 68점 중 49점(72%)의 사료에서 0.90 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었다. 젖소 번식용 사료는 평균농도 0.96 ppb 수준으로 오염된 것으로 분석되었으며, 비육용의 경우 오염률이 0.85 ppb로 번식용 사료 보다 약간 낮은 수준이었다. 한편, 젖소 중 큰송아지 사료에서 2.00 ppb의 AFB<sub>1</sub>이 검출되어 젖소 사료 중 가장 높은 오

염정도를 보였다. 원유를 생산하는 젖소에게 급여하는 비유기 젖소 사료의 경우는 AFB<sub>1</sub>의 평균오염도가 0.87 ppb 정도로 분석되었다. 비유초기젖소 사료에서는 1.52 ppb의 AFB<sub>1</sub>이 검출되어 비유용 사료 중 최고농도를 나타내었으나 허용기준치의 10분의 1 수준이었다. 젖소 큰송아지 사료 1점에서는 AFB<sub>2</sub>와 AFB<sub>1</sub>이 동시에 검출되었으며 각각의 농도는 0.30 ppb, 2.00 ppb로 나타났다.

돼지 사료를 분석시 98점 중 22점(22%)의 사료에서 평균농도 1.01 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었으며, 0.43 ppb-2.48 ppb의 오염을 나타내었다. 한편, 육성돈 후기 사료에서는 2.48 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었으며, 돼지 사료 중 최고의 오염도를 나타내었다.

닭 사료 123점에서는 30점(24%)의 사료가 AFB<sub>1</sub>에 오염되어 있는 것으로 나타났다. 오염의 평균농도는 0.73 ppb 수준이었으며 0.43 ppb- 2.54 ppb의 넓은 범위의 오염률을 나타내었다. 산란초기 사료에서는 2.54 ppb의 AFB<sub>1</sub>이 검출되어 산란초기 사료가 닭 사료 중 최고의 오염도를 나타내었다. 그리고 산란초기 사료 1점에서 0.34 ppb의 AFB<sub>2</sub>와 0.40 ppb의 AFB<sub>1</sub>이 동시에 검출되었다. 2005년에 Beg 등이 닭 사료에서 아플라톡신의 오염도를 조사하였다. 이 연구에서 산란계 사료, 육계 초기사료 그리고 육계 말기사료에서 각각 66%, 71%, 82%의 아플라톡신 오염률이 보고되었으며, 0.21-0.48 ppb 수준의 오염농도가 분석되었다.<sup>14)</sup> 전체적으로 닭사료에서 산란계 사료 19%, 육계사료 31%의 오염률이 분석되었으며, 이때 검출된 아플라톡신의

농도범위는 0.43-2.54 ppb로 나타났다.

한편, 개사료의 아플라톡신 오염이 다른 가축사료의 아플라톡신 오염현황과 비교하기 위하여 분석되었다. 분석된 개사료 32점 중 5점(16%)의 사료에서 평균 1.90 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었으며, 오염된 사료의 농도범위는 0.52 ppb-5.52 ppb 이었다. 육성개 사료에서 5.52 ppb의 가장 높은 농도의 아플라톡신이 검출되었으며, 큰개 사료에서는 아플라톡신이 검출되지 않았다. 육성개 사료 1점에서도 다른 가축의 사료에서처럼 AFB<sub>2</sub>와 AFB<sub>1</sub>이 동시에 검출되었으며 각각의 분석농도는 0.40 ppb와 5.52 ppb이었다. 국외에서 보고된 개사료의 아플라톡신오염현황을 살펴보면, 2001년 멕시코에서 Sharma 등이 19점의 개사료 중 15점의 사료에서 평균 5 ppb의 AFB<sub>1</sub>을 검출(79% 오염률) 하였으며, AFB<sub>2</sub>도 5점의 사료에서 검출(26% 오염률)을 보였고 평균오염농도는 0.07 ppb 수준이었다.<sup>17)</sup> Sharma 등의 개사료 연구결과에서는 본 실험의 오염도 조사와 비교하여 상대적으로 낮은 아플라톡신오염도가 보고되었다.

이외에도 어류용 사료 42점 중 7점(17%)의 사료가 AFB<sub>1</sub>에 0.63 ppb 수준으로 오염되었고, 기타 배합사료 중 육성오리, 육성양, 고양이 사료에서 1.0 ppb 수준의 AFB<sub>1</sub>이 검출되었다.

**검출된 Aflatoxin의 LC/MS/MS의 확인**

검출된 AFB<sub>1</sub>의 MS/MS mass spectrum을 Fig. 4에 나타

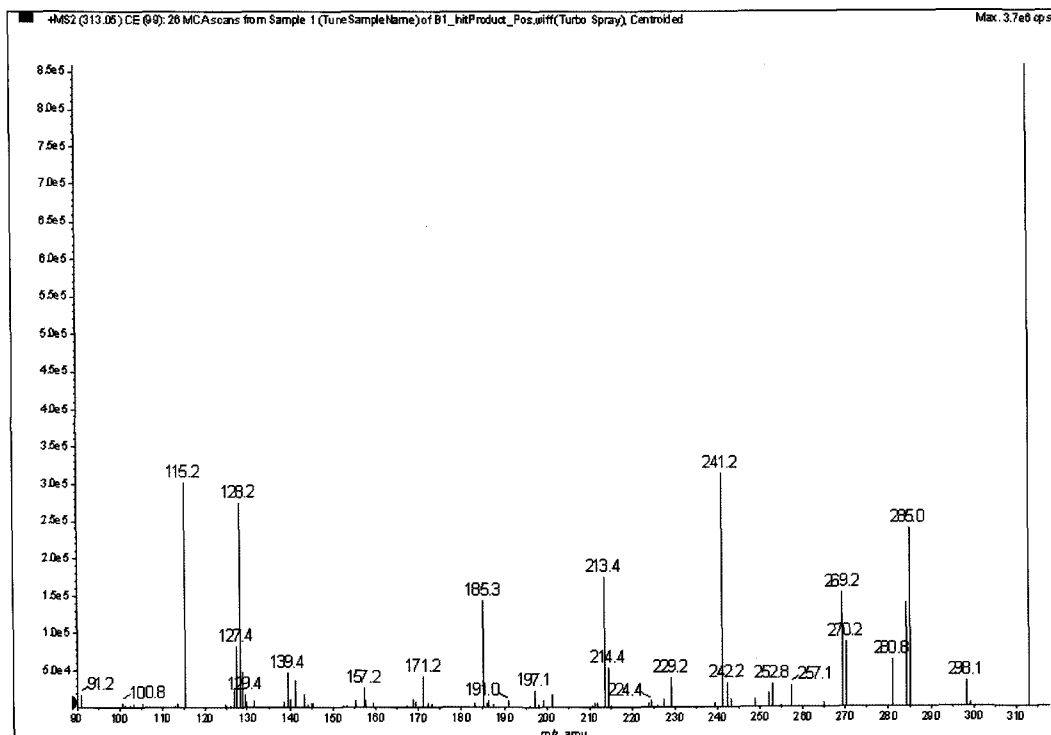


Fig. 4. Fragment ion mass spectrum of the [M+H]<sup>+</sup> ion(m/z 313) of aflatoxin B<sub>1</sub>.

내었다. AFB<sub>1</sub>은  $m/z$  313을 나타내었으며 이 이온화한 분자를 MS/MS 모드에서 CID를 수행하였다. 최적의 collision energy(7 eV)를 주었을 때 조각이온( $m/z$  285)이 나타났고 이 조각이온과 AFB<sub>1</sub>( $m/z$  313)을 이용하여 MRM(Multiple Reaction Monitoring) 모드로 분석한 결과 동일한 피크가 나타났다. 이 결과로부터 시료에서 검출된 물질이 AFB<sub>1</sub>임을 확인할 수 있었다.

## 요 약

2006년에서 2007년까지 국내에서 생산된 사료 중 585 점(배합사료 447, 단미사료 138)의 사료에서 아플라톡신 오염도를 조사하였다. 단미사료 중 AFB<sub>1</sub>과 AFB<sub>2</sub>의 오염도는 각각 20%와 3%이었으며, 오염농도는 각각 0.48~10.46 ppb와 0.25-0.42 ppb로 나타났다. 배합사료에서는 AFB<sub>1</sub>오염도가 38%로 나타났으며, 평균 0.43-5.52 ppb 수준의 검출농도로 분석되었다. 그리고 조사된 사료 중 2%의 배합사료가 0.26-0.46 ppb의 농도로 AFB<sub>2</sub>에 오염되어 있는 것으로 나타났다. 사료의 종류별로 아플라톡신 오염을 비교 시 고기소 사료(75%) > 젖소 사료(72%) > 강피류(30%) 순으로 AFB<sub>1</sub>이 많이 오염되어 있는 것으로 나타났으며, AFB<sub>1</sub> 평균오염농도는 강피류(3.1 ppb)에서 가장 높았으며, 배류(2.9 ppb), 개사료(1.9 ppb) 순으로 감소되는 것으로 나타났다. 검사한 모든 시료에서 AFG<sub>1</sub>와 AFG<sub>2</sub>는 검출되지 않았다.

## 감사의 글

이 논문은 2007년도 중앙대학교 일반연구비지원에 의하여 부분적으로 지원된 것임

## 참고문헌

- Sforza, S., Dall'Asta, C., and Marchelli, R.: Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*. **25**, 54-76 (2006)
- Jaimez, J., Fente, C.A., Franco, C.M., Cepeda, A., and Vazquez, B.I.: A survey of the fungal contamination and presence of ochratoxin A and zearalenone on Spanish feed and raw materials. *J. Sci Food Agric*. **87**, 832-840 (2004)
- Yiannikouris, A. and Jouany, J.P.: Mycotoxins in feeds and their fate in animals. *Review. Anim. Res*. **51**, 81-99 (2002).
- Scudamore, K.A., Hetmanski M.T., Nawaz, S., Naylor, J., and Rainbird, S.: Determination of mycotoxins in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay clean-up and HPLC. *Food Add Contam.* **14**, 175-186 (1997)
- Fink-Gremmels, J.: Mycotoxins : Their implications for human and animal health. *Vet. Qual.* **21**, 115-120 (1999)
- 이희권, 황영희, 김민정, 김무기, 이성은, 이희선: 식품및 사료에서 발생하는 곰팡이독소의 독성 및 대사. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, **45**, 1, 1-10 (2002)
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC): IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some naturally occurring substances: Food Items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *Int. Agency Res. Cancer Lyon*. **56**, 489-521 (1993)
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO): Worldwide regulations for mycotoxins in 2003, FAO Food and Nutrition Paper 81 (2003).
- 이흥구: 월간사료산업. **4**, 113 (2004)
- 농림부: 사료관리법령집. 222-231 (2005)
- Worner, F.M., Patey, A.L., and Wood, R.: Determination of the levels of aflatoxin in peanut butter using the aflaprep immunoaffinity column clean-up procedure collaborative trial. *J. Assoc. Publ. Analysts*. **28**, 1-10, (1992)
- Traag, W.A., Van Trijp, J.M.P., and Tuinstra, L.G.M.Th.: Sample clean-up and post-column derivatization for determination of aflatoxin B1 in feedstuffs by liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. **396**, 389-394, (1987)
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF): Survey of aflatoxins and ochratoxin a in cereals and retail products. MAFF UK Food Surveillance Information Sheet. No. 130, (1997)
- Beg, M.U., Al-Mutairi, M., Beg, K.R., Al-Mutairi, H.M., Ali, L.N., and Saeed, T.: Mycotoxins in Poultry Feed in Kuwait. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **50**, 594-602 (2006).
- Decastelli, L., Lai, J., Gramaglian, M., Monaco, A., Nachtmann, C., Oldano, F., Ruffier, M., Sezian, A., and Bandirola, C.: Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Cont.* **18**, 1263-1266, (2007)
- 강성조, 이범준, 유환수, 전향숙, 박선자, 이광근, 심원보, 강진순, 정덕화: 곰팡이독소의 국가 안전관리체계구축을 위한 연구. 독성물질 국가관리사업연구보고서. 제2권 (2003)
- Sharma, M. and Mrquez, C.: Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. *Animal Feed Science and Technology*. **93**, 109-114, (2001).