

인축의 뇨 중 aflatoxin M₁의 오염분석 및 위해성 평가

김현정 · 광보연¹ · 손동화*
한국식품연구원, ¹(주)네츄럴엔도텍

Detection of Aflatoxin M₁ in Human and Porcine Urine and Its Risk Assessment

Hyun-Jung Kim, Bo-Yeon Kwak¹, and Dong-Hwa Shon*

Korea Food Research Institute
¹Natural Endotech Co., Ltd.

Abstract To conduct a risk assessment of AFB₁ intake, AFM₁, which is a metabolite of AFB₁ in the human and porcine urine, was determined by competitive direct ELISA (cdELISA). The detection limit of cdELISA using anti-AFM₁ antibody and AFB₁-HRP conjugate was 10 pg/mL. The recoveries of AFM₁ were 117-167% after the addition of AFM₁ in the human urine in a range of 3-100 pg/mL. 165 samples (95.5%) of those obtained from 172 persons evidenced measurable levels of urinary AFM₁. The detected AFM₁ ranges were 0-11.6 pg/mL and the average level of AFM₁ contamination was 2.74±1.89 pg/mL. The estimated amount of AFM₁ excretion in the human urine was 3.97 ng/day and the estimated AFB₁ intake amount was 79.4 ng/day. The probable daily intake (PDI) of AFB₁ by the subjects was estimated to be 1.28 ng/kg·bw/day, which was higher than the tolerable daily intake (TDI, 0.15 ng/kg·bw/day). In the case of porcine urine, the AFM₁ ranged between 0.97-26.7 pg/mL and the average contaminated AFM₁ was 10.62±4.39 pg/mL. The estimated amount of AFM₁ excretion in the porcine urine was 27.6 ng/day, and the estimated AFB₁ intake amount was 551 ng/day.

Key words: urine, AFM₁, cdELISA, risk assessment

서 론

아플라톡신(aflatoxins, AFs)은 *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus* 및 *Asp. nomius*와 같은 곰팡이가 생산하는 이차 대사산물(진균독소)이며 현재 화학적으로 구조가 유사한 18여종의 아플라톡신의 동족체가 발견되어있다(1). AFs는 thin layer chromatography(TLC)에 의해 자외선 하에서 발현되는 형광의 색에 따라서 B군, G군으로 크게 구분되며 이중 대표적인 것이 aflatoxin B₁(AFB₁), aflatoxin B₂(AFB₂), aflatoxin G₁(AFG₁), 및 aflatoxin G₂(AFG₂)이다. AFs의 독성은 동물의 종에 따라 다르게 나타나며 동물실험 결과를 바탕으로 볼 때, AFB₁이 가장 강력한 독성을 나타내었고 다음으로 AFG₁, AFB₂, AFG₂ 순으로 보고되었다(2). 현재 AFB₁은 그 투여량이 100 µg 이하일 경우에도 발암성을 갖는 것으로 밝혀져 있으며(3) 사람에게는 hepatocellular carcinoma, acute hepatitis, Reye's syndrome 등의 질병과도 연관이 있는 것으로 알려져 있다(4).

AFs은 옥수수, 땅콩, 면실과 같은 곡류, 두류 등의 각종 농산물에서 자주 검출되며 보통의 식품가공이나 살균처리로 파괴되지 않는다. 우리나라의 경우 곡류, 두류, 땅콩 및 그 가공품에 대해서 AFB₁은 10 ppb 이하로, 우유류에 대해서는 aflatoxin M₁(AFM₁)이 0.5 ppb 이하로 규제되고 있다. AFB₁은 간암을 유발하

는 중요인자로서 발표된 바가 있고 세계 다른 지역에 비해서 상대적으로 AFB₁에 오염된 식품이 많을 것으로 추측되는 아프리카와 서남아시아에서의 간암 발생률과 AFB₁의 오염정도에 대한 연구가 많이 진행되었다(5-7). 한편, 우리나라의 간암 발생률은 위암 다음으로 그 비율이 높으며 10여 년간 계속 증가하고 있다. 이러한 증가의 원인은 hepatitis B virus 감염 외에 알콜 섭취와 AFB₁의 오염 등이라 할 수 있다. 따라서 식품 중 AFB₁의 전반적인 오염도 조사는 본 독소가 갖는 국민건강에의 위해 정도를 평가하는데 필수적인 것이다. 하지만, 광범위한 식품의 오염도 조사는 막대한 노동력과 장비가 소요될 뿐 아니라 개개인의 식습관 차가 무시된 조사이므로 간접적인 조사방법이 요구된다.

Groopman 등(8)은 뇨로 배출되는 AFB₁의 대사산물의 양과 식재료 중 AFB₁의 오염정도를 분석하여 AFB₁의 평균 섭취량과 대사물질의 양과의 상관도를 분석한 결과 aflatoxin-N7-guanine (AFN7G)와 AFM₁의 높은 상관도를 확인하였다. Cheng 등(9)은 실제 AFB₁의 노출정도에 대한 정확한 현황 파악과 분석법의 확립을 위하여 사람 두 명에게 실제로 AFB₁을 식이적으로 투여하여 배출되는 AFM₁을 분석 하였는데 이는 사람의 뇨 중 AFM₁이 AFN7G의 두 배 정도 많이 존재하여 미량으로 존재하는 시료를 분석하기에 용이하다고 밝혔다. 따라서 AFB₁의 오염현황 파악을 위한 좋은 지표물질로서 뇨 중 AFM₁량의 분석은 광범위한 연구에 큰 기여를 할 것으로 예상된다.

본 연구에서는 우리나라 일반인의 뇨 중 AFB₁의 생체내 대사산물인 AFM₁을 분석함으로써 AFB₁의 오염정도와 그 위해도를 간접적으로 평가하였다.

*Corresponding author: Dong-Hwa Shon, Korea Food Research Institute, Seongnam, Gyeonggi 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9133
Fax: 82-31-709-9876
E-mail: dhs95@kfri.re.kr
Received October 4, 2008; revised January 13, 2009;
accepted January 22, 2009

재료 및 방법

재료

항체 정제용 protein A column으로 Pierce Co.(Rockford, IL, USA)의 Immunopure plus IgG purification kit(#44679), Tween을 함유한 phosphated buffered saline(PBST buffer: 0.01 M phosphate buffer, 0.138 M NaCl, 0.0027 M KCl, 0.05% Tween 20), 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine dihydrochloride(TMB) 등은 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)제품을 사용하였으며, 그 외 모든 시약은 GR 등급 이상을 사용하였다. 특히 AFM₁에 대한 특이항체는 Shon 등(10)이 생산한 것을 사용하였다.

시료 채취

AFM₁의 오염도를 조사하기 위한 시료는 2005년 10월에 채취한 한국인의 뇨 172점과 국내산 돼지의 뇨 120점으로 총 292점이었다. 인뇨의 경우 한국식품연구원의 정기건강진단시 직원으로부터 제공받았으며, 돈뇨의 경우 (주)한국냉장 도축장(Cheongwongun, Korea)에서 도살되는 돼지의 방광으로부터 채취하였다.

시료의 전처리

뇨 중의 독소 분석을 Foos와 Waren의 방법대로 행하였다(11). 즉, methanol 10 mL과 증류수 10 mL로 전 처리된 C18 cartridge (Waters, Milford, MA, USA)에 시료 15 mL을 주입하였다. 이어서 acetonitrile과 증류수의 혼합액(5:95, v/v) 10 mL로 세척한 후 diethyl ether 7 mL로 AFM₁을 용출하였다. C18 cartridge에서 용출된 용액을 60°C dry bath에서 N₂ 가스로 건조시킨 후 washing buffer(0.02 M Tris, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween 20, pH 7.4) 2 mL로 용해시킨 다음, cdELISA에 의한 AFM₁의 분석에 사용하였다.

항 AFM₁ 다클론 항체의 정제

Protein A column kit를 이용하여 항체를 정제하였다. 제공된 binding buffer 5 mL로 평형화 한 protein A column에 항 AFM₁ 항혈청 2 mL을 binding buffer와 1:1로 혼합하여 주입하였다. 이어서 binding buffer 15 mL로 세정한 후, 제공된 elution buffer 15 mL로 용출시키면서 1 mL씩 분획하였다. 항체 함량을 280 nm에서 흡광도로 확인하고 해당 분획을 Sephadex G-25 column으로 탈염한 후 항체를 회수하였다.

Aflatoxin B₁-enzyme conjugate의 제조 및 정제

경합 ELISA에 사용하기 위한 AFB₁-horseradish peroxidase (HRP)를 Chu등(12)의 방법으로 제조하였다. 즉, AFB₁ 5 mg과 carboxymethylamine-HCl을 pyridine/H₂O/MeOH(1/1/4, v/v) 8 mg을 4 mL로 녹인 후 90°C에서 2시간 동안 환류시켰다. 이를 상온에서 하룻밤 방치한 후 evaporator에서 완전히 건조시키고 다시 2.5 mL의 ethanol을 가해서 녹인 후 reaction vial에 옮겼다. 반응 혼합물에 물 7.5 mL을 가한 후 1-ethyl-3-(3-diethyl amino propyl) carbodiimide(EDAC) 188 mg과 25% ethanol 1 mL로 녹인 HRP (1100 units/mg solid) 5 mg을 첨가하였다. 상온에서 30분 동안 저어 혼합한 후, EDAC 188 mg을 다시 한 번 첨가하고 4°C에서 16시간 동안 반응시켰다. 반응액은 PBS buffer(1.9 mM NaH₂PO₄, 8.1 mM Na₂HPO₄, 154 mM NaCl, pH 7.2)로 투석하고 Sephadex G-25 column으로 탈염한 후 AF₁-enzyme conjugate를 회수하였다.

cdELISA 분석 방법

정제된 항체를 coating buffer(0.02 M Tris, 0.15 M NaCl, pH

9.0)로 1,000배 희석한 후 microplate의 well에 100 μL씩 가하고 4°C에서 하룻밤 동안 정치하여 용기에 흡착시켰다. 흡착 후 plate는 washing buffer(0.02 M Tris, 0.15 M NaCl, 0.05% Tween 20, pH 7.4) 150 μL로 각 well 당 3회 세척한 후 시료와 20배 희석한 AFB₁-HRP를 동량 혼합한 용액을 100 μL 넣고 상온에서 한 시간 동안 경합 반응을 시켰다. 이어 washing buffer로 3회 세척한 후 기질 용액(1 mg TMB, 9 mL phosphate-citrate buffer(pH 5.0), 30% H₂O₂ 7 μL) 100 μL를 넣고 상온에서 30분간 발색시킨 다음 2N H₂SO₄ 50 μL씩을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 각 well의 반응액의 발색 정도를 microplate reader(Thermomax™, Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA, USA)로 450 nm의 파장에서 측정하였고 시료 당 3 반복한 값의 평균으로 표시하였다.

위해성 평가

위해성 평가(risk assessment)란 과장된 실험조건하에서 건강에 해를 줄 수 있는 물질이 실제적인 조건에서는 어느 수준의 피해를 줄 수 있을 것인지를 추정하는 작업이다. 시료분석을 통하여 AFM₁의 오염량을 구하였고, 이로부터 AFB₁의 일일섭취추정량(probable daily intake, PDI)을 산출하였다. 위해도 평가를 위한 일일섭취감내량(tolerable daily intake, TDI)은 Kuiper-Goodman(13)이 안전계수를 감안하여 제안한 값으로 0.15 ng/kg bw/day을 적용하였다. 한국인의 평균체중으로는 식품의약품안전청 국립독성연구소의 연구보고서(14)를 바탕으로 62 kg을 적용하였다. 또한 돼지의 경우 평균 체중을 60 kg으로 적용하여 계산하였다. 곰팡이독소 AFB₁의 위해성 평가는 위험도 평가(hazard assessment)로부터 얻어진 안전하다고 생각되는 기준인 TDI 값과 노출량 평가를 통하여 얻어지는 PDI 값을 비교하여 실시하였다.

결과 및 고찰

AFM₁ 정량 곡선과 회수율

항 AFM₁ 항체와 AFB₁-HRP를 사용하여 cdELISA에 의한 AFM₁ 분석 조건을 확립하고 작성한 표준 곡선을 Fig. 1에 나타내었다. 경합 반응 시 AFB₁-HRP를 사용하여 항 AFM₁ 항체에 대한 AFB₁-HRP의 결합력이 다소 낮을 것을 우려 했으나 표준 곡선에서도 볼 수 있듯이 분석에는 전혀 문제가 생기지 않았고 1-1,000 pg/mL 농도의 AFM₁을 정밀하게 측정할 수 있었다. cdELISA

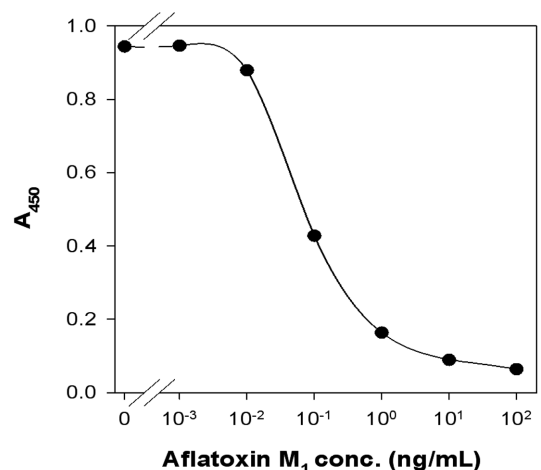


Fig. 1. Standard curve of cdELISA for aflatoxin M₁.

방법에 의한 인노의 AFM₁ 회수율은 Table 1에 나타난 바와 같이 117-167%의 범위였고 평균 139%로 나타나서 오염 수준에 따라 회수율이 다소 증가하는 경향을 나타내었다. 본 실험에 사용된 cdELISA 방법은 검출 감도가 매우 높아서 AFM₁의 엄격한 규제에 대응하는 분석법으로 충분히 활용 가능한 것으로 나타났다.

인노의 AFM₁ 오염 분석

인노 중 AFM₁의 오염 현황을 분석하여 Table 2에 나타내었다. cdELISA 방법으로 분석한 결과 모두 172개의 시료 중 165개 (95.9%)의 시료에서 AFM₁이 검출되었다. 남자의 경우 118명 중 115명의 노에서 AFM₁이 검출되었으며 평균 2.91±1.89 pg/mL이었고 여자는 총 54명의 시료에서 AFM₁이 검출되었으며 평균 2.36±1.85 pg/mL로 남자보다 적게 나타났다. 전체적으로 농도별 분포정도는 Fig. 2에 나타난 바와 같고 범위는 0-11.6 pg/mL 사이였으며 시료의 평균 오염량은 2.74 pg/mL로 나타났다. 하루 중 성인의 평균 노 배출량은 남자의 경우 1.7 L이고 여자는 1.2 L로 알려져 있어 이의 평균인 1.45 L를 사람의 평균배출량으로 가정하여 계산한 결과 AFM₁의 일일배출추정량은 3.97 ng/day으로 나타났다.

일반적으로 식이적 섭취한 AFB₁은 AFM₁의 형태로 일정량이 전환되어 배출된다. 따라서 배출되는 정도를 수치화한, AFB₁의

Table 1. Aflatoxin M₁ recoveries from artificially contaminated human urine when determined by cdELISA

AFM ₁ added (pg/mL)	Toxin recovered (pg/mL) ¹⁾	Recovery (%)
3	3.51±0.43	117
10	13.9±2.37	139
30	50.2±3.84	167
100	136±4.70	136
Average		139±20 ¹⁾
CV (%)		14.8

¹⁾Mean±S.D.

Table 2. Incidence and levels of aflatoxin M₁ determined in human urine by cdELISA

Gender	Positive samples/total samples (%)	Ranges (pg/mL)	Means (pg/mL) ¹⁾
Male	115/118 (97.5)	0-11.6	2.91±1.89
Female	51/54 (94.4)	0-11.6	2.36±1.85
Total	165/172 (95.9)	0-11.6	2.74±1.89

¹⁾Mean±S.D.

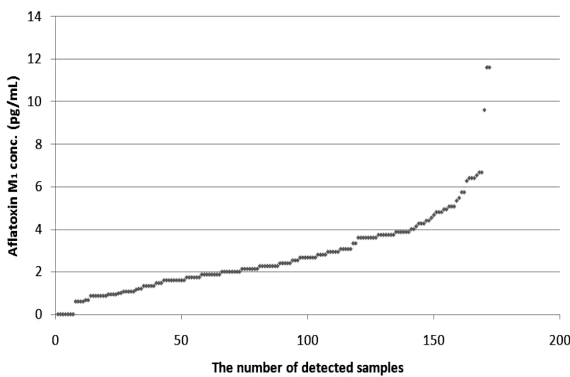


Fig. 2. Aflatoxin M1 concentrations in 172 human urine samples.

Table 3. References of conversion rate of aflatoxin B₁ to aflatoxin M₁ in human body

AFB ₁ exposition level	AFB ₁ intake (ug/day)	AFM ₁ excretion (ng/day)	Conversion rate (%)	Reference No.
High	4-221	40-4,840	1.49	15
High	66	710	1.38	16
Low	0.1-0.3	6.1	2-5	9
Low	1	54-66	5-6	9

체내 전환율에 대한 기존 연구자료를 바탕으로 노 중 평균 AFM₁의 오염량으로 부터 식이적 AFB₁의 섭취량을 간접적으로 예측하였다. Table 3과 같은 선행 연구결과(9,15,16)로부터 AFB₁의 1.5%정도가 요를 통하여 AFM₁의 형태로 배출되는 경우와 AFB₁의 5% 이상이 AFM₁의 형태로 노에서 배출되는 것으로 두 가지 조건을 적용할 수 있었으나 일일노출량이 낮은 경우는 체내 전환율을 5% 정도로 보고 있으므로 이를 적용하였다. 인체에서 AFB₁이 AFM₁으로의 전환율을 5%로 적용할 경우 AFB₁의 일일노출량은 79.4 ng/day로 추정되었다. 이는, 간암 발병율이 상대적으로 낮은 지역의 중국과 타이완 주민을 대상으로 한 연구 결과(9)로부터 추정된 AFB₁의 평균섭취량(0.1-0.3 µg/day)과 비교하면 약간 낮은 수준이었다.

돈노의 AFM₁ 오염 분석

돈노 120점의 AFM₁ 오염 현황을 cdELISA로 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. 독소가 검출된 시료의 평균 오염 수준은 10.6 pg/mL로 그 범위는 0.97-26.7 ng/mL로 나타났다. 돈노로 배출된 AFM₁의 량을 바탕으로 사람의 경우와 동일하게 적용하여 환산하였다. (주)대한양돈협회(17)에서 제시된 바와 같이 평균 하루 노 배출량을 2.6 L로 적용한 결과 AFM₁의 배출량은 하루 27.56 ng/day이었고 돈노의 경우도 인노와 마찬가지로 체내 전환율 5%를 적용할 경우 AFB₁의 일일노출량은 551 ng/day으로 산출되었다.

Table 4. The mean levels of aflatoxin M₁ determined in porcine urine by cdELISA

Farm house	Positive/total samples (%)	Range (pg/mL)	Mean±S.D. (pg/mL)
A	12/12 (100)	1.60-14.8	9.34±4.29
B	2/2 (100)	13.3	13.3±0.00
C	10/10 (100)	9.33-17.5	11.2±2.38
D	3/3 (100)	4.93-16.1	10.8±5.63
E	10/10 (100)	1.25-17.5	9.37±5.54
F	5/5 (100)	3.43-26.7	13.3±8.31
G	9/9 (100)	4.67-14.7	8.55±3.14
H	10/10 (100)	2.27-9.73	5.19±2.35
I	5/5 (100)	0.97-9.73	6.03±3.36
J	4/4 (100)	10.0-11.3	10.8±0.61
K	5/5 (100)	12.5-17.3	14.4±2.17
L	7/7 (100)	10.7-16.0	12.6±2.70
M	19/19 (100)	7.20-18.7	14.3±3.31
N	5/5 (100)	6.93-11.6	10.3±1.92
O	5/5 (100)	7.47-13.3	10.8±2.33
P	6/6 (100)	7.86-12.7	9.60±1.89
Q	2/2 (100)	10.3-10.7	10.5±0.28
Total	120/120 (100)	0.97-26.7	10.6±4.39

Table 5. Risk assessment of aflatoxin B₁ in this study

Subject	AFM ₁ excretion (ng/day)	AFB ₁ intake (ug/day)	PDI ¹⁾ (ng/kg bw/day)	TDI ²⁾ (ng/kg bw/day)
Human	3.97	79.4	1.28	0.15
Pig	27.6	551	9.2	-

¹⁾ Probable daily intake

²⁾ Tolerable daily intake which was established by Kuiper-Goodman(13).

위해성 평가

앞에서 인노 중 AFM₁ 오염치로부터 추정된 AFB₁의 섭취량(79.4 ng/day)을 바탕으로 사람의 평균 체중으로 62 kg을 적용하여 산출한 PDI 값은 1.28 ng/kg·bw/day로 나타났다(Table 5). AFB₁의 위해성 평가를 위하여 이 PDI 값을 안전 기준으로 생각하는 TDI 값과 비교하였다. 즉, 본 연구에서 구한 PDI 값은 Kuiper-Goodman(13)이 제안한 TDI 값(0.15 ng/kg·bw/day)의 약 8.5배로 높게 나타났다.

하지만 문헌의 고찰에서 그 AFs의 PDI 값의 범위가 0.03-2 ng/kg·bw/day로 보고되어(14,18), 본 연구에서의 결과도 그 범위 내에 들어가는 것을 알 수 있었다. 즉, 미국 0.26 ng/kg·bw/day, 캐나다 1-2 ng/kg·bw/day, 호주 0.15 ng/kg·bw/day, 스웨덴 0.8 ng/kg·bw/day, 그리고 EU(AFB₁을 기준으로) 0.03-1.28 ng/kg·bw/day이었다(18). 또한 국내의 경우 국립독성연구소는 곡류 및 견과류 등의 시료를 분석한 후 일일식사추정량(PDI)을 바탕으로 AFB₁의 PDI 값을 0.654 ng/kg·bw/day으로 평가하였다(14).

그런가 하면, Choi 등(19)은 한국인의 뇨 중에 배출된 AFB₁의 분석치는 섭취한 AFB₁의 7.5%에 해당하는 양이라는 가정하에 한국인의 AFB₁의 PDI 값을 240 ng/kg·bw/day라고 보고하였다. 하지만 이는 뇨 중에 배출된 AFM₁의 분석치로 부터 구한 PDI 값에 비하면 지나치게 높은 수치였다. 즉, 본 연구에서 구한 PDI 값의 188배, 타이완인을 대상으로 구한 수치(9)의 150 배에 달하였다. 그 까닭은 뇨 중에서 검출되는 AFB₁의 양이 AFB₁의 섭취량과 그 상관도가 낮다는 Groopman 등의 보고(20)를 전혀 고려하지 않았기 때문으로 추측된다.

다른 한편 돼지의 경우, 체중 60kg(17)을 적용하면 그 PDI 값은 9.2 ng/kg·bw/day로 나타나 사람보다 7배 정도 많은 양의 AFB₁에 노출된 것으로 나타났다.

본 연구의 분석결과를 종합해 볼 때, 뇨 중에 존재하는 AFM₁의 정량을 위하여 사용된 ELISA는 기기분석에 비해 복잡한 전처리가 필요하지 않으며 그 정밀도가 매우 높아서 효과적인 미량 분석이 가능함을 알 수 있었다. 이러한 기술을 바탕으로 뇨 중 AFM₁의 오염정도를 모니터링함으로써 보다 정확한 AFB₁의 노출현황 파악 및 위해성 평가가 가능하다고 생각한다.

요 약

AFB₁의 대사산물 중 하나인 AFM₁을 사람과 돼지의 뇨에서 cdELISA를 통해 분석함으로써 간접적으로 AFB₁의 위해성 평가를 수행하고자 하였다. 항 AFM₁ 항체와 AFB₁-HRP를 이용한 cdELISA에서 AFM₁의 검출한계는 10 pg/mL로 나타났다. 사람의 뇨에 AFM₁을 3-100 pg/mL 농도가 되게 첨가한 후 cdELISA로 분석하였을 때 그 회수율은 117-167%(평균 139±19.1)의 범위로 나타났다. 사람의 뇨 중 AFM₁의 오염정도를 cdELISA로 분석한 결과 전체 172개의 시료 중 165개의 시료에서 평균 2.74±1.89 pg/mL 농도로 검출되었다. 뇨 중 AFM₁의 일일배출량은 평균 3.97 ng/day으로 나타났고, AFB₁의 섭취량은 체내전환율 5%로 가정하였

을 때, 79.4 ng/day로 추정되었다. 따라서 사람의 일일섭취추정량(PDI)은 1.28 ng/kg·bw/day로 나타났으며 돼지의 PDI는 9.2 ng/kg·bw/day로 나타났다. 한편 AFB₁ 섭취의 위해성 평가에서 사람의 PDI는, 일일섭취감내량(TDI, 0.15 ng/kg·bw/day)보다 8.5배나 높은 값을 보였지만 외국의 연구결과와 비교하였을 때 대체로 비슷하게 나타났다.

감사의 글

본 논문은 보건 의료기술연구개발사업의 연구과제(HMP-98-F-2-0004)로 수행된 결과의 일부입니다.

참고문헌

1. Busby Jr. WF, Wogan GF. Mycotoxins and Mycotoxicoses. p. 519, In: Feed-born infections and intoxications. 2nd ed., Riemann H, Bryan FL(eds). Academic Press, New York, NY, USA (1979)
2. Carnaghan RBA, Hartley RD, O'Kelly J. Toxicity and fluorescence properties of the aflatoxins. Nature 200; 1101(1963)
3. Wogan GN, Newberne PM. Dose-response characteristics of aflatoxin B₁, carcinogenesis in the rat. Cancer Res. 27: 2370 (1967)
4. Hall AJ, Wild CP. Epidermology of aflatoxin-related disease. pp. 233, In: The Toxicology of Aflatoxins Human Health, Veterinary, and Agricultural Significans, Eaton DL, Groopman JD(eds), Academic Press, San Diego, CA, USA (1994)
5. Azziz-Baumgartner E, Lindblade K, Giesecker K, Rogers HS, Kieszak S, Njapau H, Schleicher R, McCoy LF, Misore A, Rubin C, Slutsker L. Aflatoxin investigative group. Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. Environ. Health Perspectives 113: 1779-1783 (2005)
6. Krishnamachari KA, Bart RV, Nagarajan V, Tilak TB. Investigations into an outbreak of hepatitis in the parts of western India. J. Med. 63: 1036-1049 (1975)
7. Lye MS, Ghazali AA, Mohan J, Alwin N, Nair RC. An outbreak of acute hepatic encephalopathy due to severe aflatoxicosis in Malaysia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 53: 68-72 (1995)
8. Groopman JD, Hasler JA, Trudel LJ, Pikul A, Donahue PR, Wogan GN. Molecular dosimetry in rat urine of aflatoxin-N7-guanine and other aflatoxin metabolites by multiple monoclonal antibody affinity chromatography and immunoaffinity/high performance liquid chromatography. Cancer Res. 52: 267-274 (1992)
9. Cheng Z, Root M, Ran W, Chen J, Campbell TC. Use of an improved method for analysis of urinary aflatoxin M₁ in a survey of Mainland China and Taiwan. Cancer Epidem. Bionarkes & Prev. 6: 523-529 (1997)
10. Shon DH, Lim SH, Lee YW. Detection of aflatoxin M₁ in cow's milk by an enzyme-linked immunosorbent assay. Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24: 630-635 (1996)
11. Foos JF, Warren JD. Improved cleanup for liquid chromatography analysis and fluorescence detection of aflatoxin M₁ and M₂ in fluid milk products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67: 1111-1114 (1984)
12. Chu FS, Hsia MTS, Sun PS. Preparation and characterization of aflatoxin B₁-1-(O-carboxymethyl) oxime. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 60: 791-794 (1997)
13. Kuiper-Goodman T. Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: Aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. Can. J. Physiol. Pharm. 68: 1017-1024 (1990)

14. NITR. Study on establishment of natural safety control system of mycotoxins with special reference to aflatoxins. National Institute of Toxicological Research, Seoul, Korea (2005)
15. Wei YH, Ku GP, Lu TH. Analysis of urinary aflatoxin B₁ and M₁ by TLC method. Qidong Cancer Res. 5: 115-117 (1983)
16. Hu WG, Tien CC, Wang YH, Ting TY, Fong YC, Loung YT, Huang SS. Urinary excretion of aflatoxin M₁ in inhabitants of region with high liver cancer incidence in Guangxi. Hygiene Invest. 27: 152-154 (1983)
17. Korea swine association. Information of swine. Available from : <http://www.koreapork.or.kr>. Accessed Sep. 30, 2008.
18. Oh KS, Suh JH, Park SS, Choi WJ, Lee JO, Kim HY, Woo GJ. Exposure Assessment of total aflatoxin in foods. Korean J. Food Sci. Technol. 39: 25-28 (2007)
19. Choi MJ, You YC, Kim HS, Lee BM. Immunological monitoring of urinary aflatoxins and estimation of liver cancer incidence in Koreans. J. Biochem. Mol. Biol. 29: 105-110 (1996)
20. Groopman JD, Jiaqi Z, Doahue PR, Pikel A, Lisheng Z, Jun-shi C, Wogan GN. Molecular dosimetry of urinary aflatoxin-DNA adducts in people living in Guangxi Autonomous Region, People's Republic of China. Carcin Res. 52: 45-52 (1992)