

생약 복용에 따른 아플라톡신 B₁의 인체모니터링 연구

이진희 · 류희영 · 김현경 · 김도정 · 이영주 · 정수희 · 장동덕 · 김형수 · 홍연표* · 윤혜성†

식품의약품안전청, *중앙대학교 예방의학교실
(2010. 3. 9. 접수/2010. 4. 5. 수정/2010. 4. 22. 채택)

Biomonitoring of Aflatoxin B₁ Exposed by Herbal Medicine Intake

Jin Hee Lee · Heui-Young Ryu · Hyun-Kyung Kim · Dojung Kim · Young Joo Lee · Su Hee Jung ·

Dong Deuk Jang · Hyung Su Kim · Yeon-Pyo Hong* · Hae-Seong Yoon†

Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

*Dept. of Preventive Medicine, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

(Received March 9, 2010/Revised April 5, 2010/Accepted April 22, 2010)

ABSTRACT

Aflatoxin B₁, a known human carcinogen, is the member of aflatoxin subfamily that is most frequently found in contaminated foods. Epidemiological studies have suggested that aflatoxins may be associated with human liver cancer and acute hepatitis. Recently it was reported that the traditional medical herbs sold in domestic markets are contaminated with aflatoxins. Long-term administration of these contaminated medicines could result in adverse health effects. Therefore, it is important to evaluate the levels of exposure to aflatoxin in people who ingest traditional herbal medicines. Blood samples were collected, before and after the herbal medicine intake, from 151 subjects who visited the hospital. The metabolite of aflatoxin B₁ in blood, aflatoxin B₁-albumin (aflatoxin B₁-lysine), is reportedly an appropriate internal exposure indicator, and its levels in the collected bloods were therefore analyzed using a liquid chromatography-mass spectrometry. The analytical method of aflatoxin B₁-lysine in blood was firstly optimized in Korea and the levels were detected below quantification limits (2 pg/mg albumin) in this study population. Consequently, the exposure levels of aflatoxin B₁ by ingestion of herbal medicines were low but it is important to monitor routinely due to the possibility of risk on the aflatoxin exposure.

Keywords: aflatoxin B, biomonitoring, blood, herbal medicine

I. 서 론

아플라톡신(aflatoxin, AF)은 곰팡이의 일종인 *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*)가 생산하는 대사산물로, 사람을 포함한 다양한 종의 포유동물에 있어서 유전독성을 지닌 강력한 발암물질로 알려져 있으며 간장, 신장, 신경계, 내분비계, 면역계 독성을 지니고 있다.^{1,2)} AF 유도체들은 B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ 등으로 구분되고 각각 독성에 차이가 있다. AFB₁은 가장 강력한 급성 및 만성적인 중독증을 유발하는 독성을 가지고 있는 반면,³⁾ AFM₁은 급성 간독성을 유발

한다. 국제암연구회(IARC)에서는 AF 혼합물을 발암 물질(group 1)로 규정하고 있으며,⁴⁾ 우리나라를 비롯하여 유럽, 미국, 일본 등 많은 국가에서 식품 중 AF의 최대허용량을 설정하여 규제하고 있다.^{5,6)}

AFB₁이 체내로 반입되면, cytochrome P-450 system에 의하여 간에서 우선 대사된다.⁷⁾ Reactive AFB₁-8,9-epoxide가 DNA와 결합하여 AFB₁-guanine adduct를 형성하므로 AFB₁ 노출의 유용한 생물학적 지표가 될 수 있으나, 분석시료로 표적장기의 조직이 필요하기 때문에 시료수집이 용이하지 않다. AFB₁-guanine adduct는 DNA 또는 RNA repair시 화학적인 분해에 의하여 일부가 노로 배출되기도 하지만 만성노출을 반영하기는 어렵다고 여겨진다.⁷⁾ 한편 간에서 생성된 AFB₁-8,9-epoxide는 AFB₁-8,9-dihydrodiol을 거쳐 AFB₁-protein

†Corresponding author : Korea Food & Drug Administration
Tel: 82-32-450-3360, Fax: 82-32-442-4622
E-mail : hsyoon0956@korea.kr

adduct를 형성하게 된다. 동물실험으로 AFB₁을 투여한 결과 AFB₁-protein 중 가장 많은 것이 AFB₁-albumin이었으며 AFB₁이 albumin의 lysine에 특이적으로 결합하게 된다. AFB₁-albumin은 용량에 비례하여 형성되며 내부 장기의 AFB₁-DNA adduct 양과도 상관성을 보였다. 따라서 혈액 중 AFB₁-albumin은 표적장기의 DNA adduct를 모니터링 할 수 있는 좋은 지표물질로 사용될 수 있다. 또한, 사람에서도 AFB₁-albumin과 AFB₁-DNA adduct의 생성 양상 속도는 동물실험의 결과와 유사하였다. 사람의 혈액 중 albumin은 반감기가 약 20일 이상이므로, AFB₁-albumin은 AFB₁의 축적된 노출정도를 반영할 수 있는 좋은 지표물질이 될 수 있고, DNA adduct의 경우 시술을 통하여 조직을 떼어내는 침윤적인 시료수집 방법을 사용해야 하지만 albumin adduct는 혈액을 수집하는 덜 침윤적인 시료수집 방법을 요구하므로 시료수집이 비교적 용이하다. 따라서 본 연구에서는 AFB₁-albumin adduct를 이플라톡신 생체지표물질로 선정하였다(Fig. 1).⁸⁾

한약재는 천연물로서 생육, 저장, 유통 과정을 거쳐 소비자에게 공급된다. 식품의 경우 가공기술의 발달이나 유통구조의 개선으로 안전성이 제고되고 있는 반면, 한약재는 저장, 유통 과정 중 곰팡이와 진균류 등으로 오염될 가능성이 매우 높은 실정이다. 실제 국내에서 유통되는 한약재에서 AF를 검사한 결과 다수의 한약재에서 2~373 ppb 수준의 AF이 검출된 바 있다.^{9,10)} AF은 열에 매우 안정하기 때문에 끓는 물에서도 분해되지 않아, 한약재에 잔존한 AF이 탕약으로 이행되어 복용자에게 노출될 경우 간에 축적되어 위해영향을 나타낼 가능성을 배제할 수 없다.

대체 의학이나 자가 치료가 지속적으로 증가하면서 한약재에 대한 관심과 섭취가 꾸준히 늘고 있다. 한의원에서 진단을 받고 한약을 구입하기도 하지만 한약재 시장이나 건강원 등에서 구입하는 인구도 적지 않은 것으로 조사되고 있다. 한약재는 질병치료 뿐 아니라 건강 증진의 목적으로 많이 사용되고 있음을 고려할 때 한약재의 안전성에 대한 확보가 절실히 요구된다. 현재까지 한약재 복용에 의한 AF의 인체노출에 관한 연구

는 전무한 실정이다. 국내에서 일반인과 간 또는 기타 질환자를 대상으로 혈액과 뇨 중 AF을 분석한 연구가 있었으며, 영국, 중국 등에서 일반인을 대상으로 인체 모니터링을 수행한 보고가 있으나, 한약재 복용과는 관련성은 찾아볼 수 없다. 따라서 이 연구를 통해 한약재 복용 전후의 인체시료를 이용하여 AF을 정량분석하고 내적노출량을 산출하여 한약재 복용에 따른 AF의 노출정도를 파악하고 한약재의 안전관리를 위한 기초 자료를 제공하고자 한다.

II. 연구방법

1. 표준물질 및 시약

AFB₁-albumin 분석을 위한 표준물질인 AFB₁-lysine (AFB₁-lys)과 내부표준물질인 d₄-AFB₁-lys은 미국질병관리본부(Centers for Disease Control and Prevention)에서 제공받았다. AFB₁-lys과 d₄-AFB₁-lys의 농도는 각각 4.23 µg/ml, 50 ng/ml이고 순도는 각각 98%, 97%이었다. 표준품은 25% 메탄올을 이용하여 희석법으로 물혀서 사용하였다. 추출과 LC/MS 분석에는 아세토니트릴, 메탄올, 포름산(Aldrich, >99.0%)을 사용하였고, 모든 추출용매는 HPLC용 특급시약으로 각각 Sigma사에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 AFB₁ 정제용 immunoaffinity column(IAC)은 NeoColumn for AFLATOXIN(Narrow Bore, Neogen Europe Ltd.)을 이용하였다.

2. 분석 시료

본 연구시료인 혈액은 2007년 중앙대학교 의과대학에서 제공받았으며, 해당 대학의 임상윤리심의위원회의 승인을 받은 프로토콜에 따라 자발적인 동의를 한 대상자에 한하여 시료수집을 수행하였다. 대상 집단은 생약(한약) 복용자 151명, 생약(한약) 미복용자 94명으로, 한약복용자는 한약복용 후 2주 이내 병원에 재방문하여 혈액을 채취하였고 복용 전후의 시료는 모두 동일인으로 하였다. 이때 최근 2개월간 한약재를 취급하거나 한약재 또는 생약을 복용한 사람, 신장질환이나 간질환이 있는 사람은 제외하였다. 채취된 혈액은 혈장을 분리하여 2~3개의 튜브에 분주하고 초저온 냉동고(-80°C)에 보관하여 분석 시 실온에 녹여 사용하였다.

3. 시료전처리방법

혈 중 albumin만을 추출하여 정제, 정량 후 모든 시료에서 albumin 3 mg을 취하였다. 혈청 0.5 ml는 56°C에서 45분간 방치한 후 10분간 얼음으로 차갑게 한다.

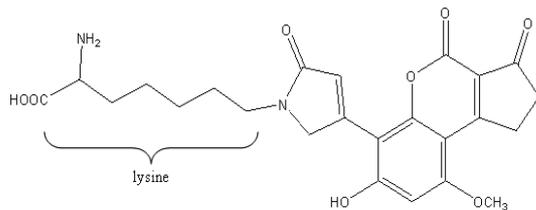


Fig. 1. Chemical structure of AFB₁-lysine adduct.

포화된 황산암모늄 750 μl를 넣어 침강시킨 후 원심분리한 후 취한 상등액은 아세트산 100 μl를 첨가하여 albumin을 침강시켰다. 추출된 albumin은 phosphate buffered saline(PBS) 0.5 ml에 녹이고, 정량 적용 범위 안에 들어가도록 albumin의 농도를 PBS로 1:50으로 희석하여 조정하였다. Human serum albumin을 표준물질로 하여 PBS 0.5 ml에 녹여 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 mg/ml가 되도록 조제하였다. 분석용 시료 용액 10 μl를 96 well plate에 취하고 Biorad protein assay 염색시약 200 μl를 가하여 5분간 방치하였다. 파장 595 nm로 흡광도를 측정하여 단계적 농도의 검량선에서 albumin양을 계산하였다. 전처리과정의 동일한 실험 처리를 위하여 모든 시료의 albumin 양은 PBS 0.5 ml에 3 mg이 포함되도록 하였다. PBS에 푼 pronase 300 μl를 가하여 37°C에서 16시간 동안 반응시키고, immunoaffinity column(IAC)을 이용하여 고체상 추출(Solid phase extraction, SPE) 하였다. PBS를 용출시켜 활성화하고 시료를 통과시킨 후 PBS를 1 ml 이용하여 세척하였다. 메탄올을 이용해 SPE에서 시료를 용출한 뒤 Speed-Vac를 이용하여 건조시켰다. 이 시료는 80 μl의 25% 메탄올을 이용하여 재용해하여 원심분리한 후 바이알에 담아 LC/MS로 분석하였다.

4. 시료분석

Agilent사의 1200 series 액체 크로마토그래프에 Applied Biosystems(MDS Sciex, Concord, ON, Canada)사의 API 4000 질량검출기가 직접 연결된 liquid chromatography-mass spectrometry(LC/MS)를 사용하였으며, LC/MS방식은 LC/MS-ESI positive mode를 적용하였다. 크로마토그래픽 분리를 위하여 HPLC에서 사용한 이동상은 각각 1% 포름산이 포함된 증류수와 아세트니트릴이었으며, 기울기 용리법을 사용하여 분석물질과 방해물질을 분리하였고, 이때의 유속은 분당 0.25 ml이었다. 이동상의 용매조성은 Table 1과 같다. 시료주입은 Agilent사의 1200 high performance autosampler SL을 써서 10 μl를 주입하였고, 컬럼은 Tosoh TSKgel ODS-80Ts(reverse phase column I.D. 2.0 mm, length 150 mm, particle size 5-micron)을 사용하였으며, 컬럼 온도는

Table 1. Mobile solvent conditions at LC/MS

Time	Flow Rate (μl/min)	Eluent A (%)	Eluent B (%)
Initial	250	90.0	10.0
0.5	250	80.0	20.0
1.0	250	75.0	25.0
4.0	250	75.0	25.0
5.0	250	20.0	80.0
6.0	250	20.0	80.0
6.5	250	90.0	10.0
10.0	250	90.0	10.0

는 35°C를 유지하였다.

혈 중 AFB₁-lys의 분석은 질량분석기를 사용하였으며, 이온화 소스로 ESI(electrospray ionization)의 positive mode를 사용하여 분석물질을 이온화 하였으며, 이온화 소스 에너지는 5500 V를 유지하였다. 질량 분석기의 parameter는 분석의 감도를 최상으로 유지하기 위하여 curtain gas 15 Mpsi, GS1 60 Mpsi, GS2 60 Mpsi, detector temperature 600°C를 이용하였으며 AFB₁-lys의 EP(entrance potential)는 9.0, d₄-AFB₁-lysine의 EP(entrance potential)는 10.0 으로 유지하였다. 질량분석기의 분석조건은 Table 2와 같다.

III. 결과 및 고찰

1. 연구 대상

연구대상은 생약(한약) 복용자 151명, 생약(한약) 미복용자 94명으로, 생약복용자는 복용전과 복용 후 2주 이내 병원에 재방문하여 혈액을 채취하였으며, 복용 전후의 시료는 모두 동일인으로 하였다. 생약(한약)복용자는 전체 151명으로 남녀 성분비율은 남자 51.7%(78명), 여자 48.3%(73명)으로 한약 복용 전과 복용 후의 동일한 사람의 혈액을 채취하여 전체 분석 시료 수는 복용 전 151건, 복용 후 151건, 미복용 94건으로 총 396건이었다. 대조군으로 생약 미복용자는 전체 94명으로 남녀 성분비율은 남자 57.4%(54명), 여자 42.5%(40명)이었다. 남성의 경우 20세~39세가 57.7%로 가장 많았고 여성은 40세~59세가 47.9%로 가장 많았다. 남자, 여자 모두 40세~59세에서 가장 많이 분포하

Table 2. Conditions of mass spectrometry

Compound	Parent ion Q1 Mass (amu)	Daughter ion Q3 Mass (amu)	DP(V) (Declustering Potential)	CE(V) (Collision Energy)	CXP(V) (Cell Exit Energy)
AFB ₁ -lys	457	394	65	33	11
		328	65	33	11
d ₄ -AFB ₁ -lys(ISTD)	461	398	65	33	11

Table 3. Study subject characteristics

1) Age and gender distribution of subjects who ingested herbal medicines

Age (years)	Gender		Total (%)
	Male (%)	Female (%)	
20~39	45 (57.7)	20 (27.4)	65 (43.0)
40~59	23 (29.5)	35 (47.9)	58 (38.5)
over 60	10 (12.8)	18 (24.7)	28 (18.5)
Total	78 (100.0)	73 (100.0)	151 (100.0)

2) Age and gender distribution of controls

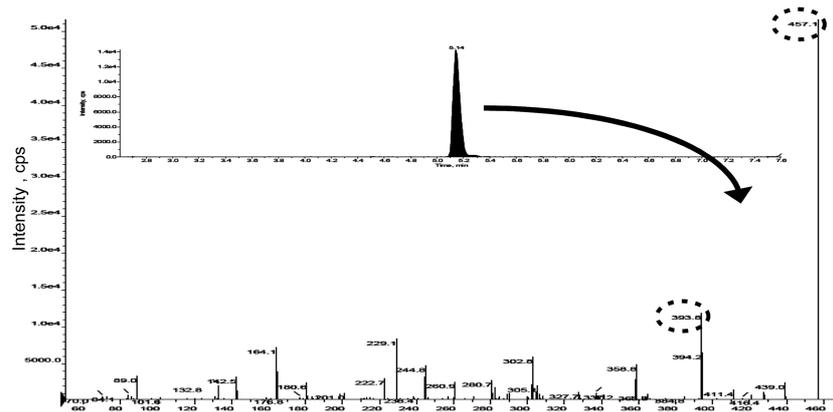
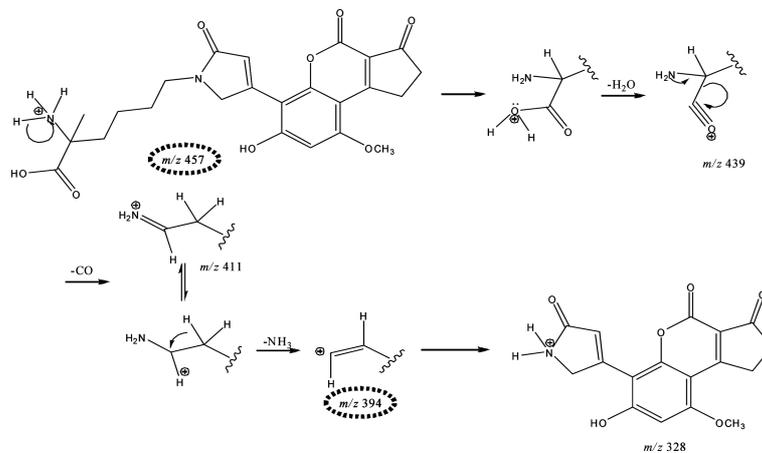
Age (years)	Gender		Total (%)
	Male (%)	Female (%)	
20~39	9 (22.5)	24 (44.4)	33 (35.1)
40~59	28 (70.0)	28 (51.9)	56 (59.6)
over 60	3 (7.5)	2 (3.7)	5 (5.3)
Total	40 (100.0)	54 (100.0)	94 (100.0)

는 경향을 보였다(Table 3).

2. 혈액 중 Aflatoxin-lys 분석법 밸리데이션

AFB₁-lys의 정량적 평가 시 사용한 품질관리 시료는 human serum(Sigma, MO, USA)에서 추출한 albumin 3 mg을 0.5 ml PBS에 녹인 시료로서, low quality control(5 pg/mg albumin, 15 pg/ml), middle quality control(10 pg/mg albumin, 30 pg/ml), high quality control(20 pg/mg albumin, 60 pg/ml) 시료는 품질관리 혈청에 표준품을 각각 첨가하는 방법으로 제조하였다.

1) LC/MS를 이용한 AFB₁-lys product ion의 정성분석 AFB₁-lys은 [M+H]⁺ 이온을 모분자로 하고 $m/z=457$ 을 갖는다. MRM(multiple reaction monitoring) 분석은 AFB₁-lys의 딸이온 중 가장 높은 감도를 나타내고 생체시료의 방해물질과 구분되는 $m/z=394$ 이온을 선택

**Fig. 2.** LC/MS/MS spectrum of AFB₁-lys.**Fig. 3.** Fragmentation pathway of AFB₁-lys, *J Label Compd Radiopharm* 2004; 47: 807-815).

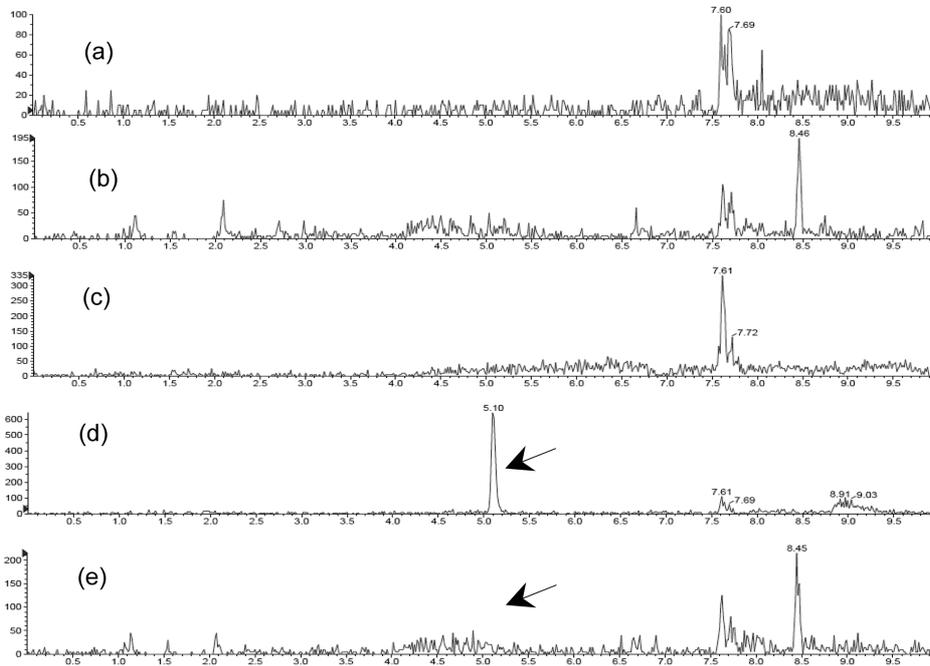


Fig. 4. Extracted ion (*m/z* 394 for AFB₁-lys) chromatograms of 25% Methanol (a), blank (b), zero blank (c), positive control sample (2pg AFB₁-lys/mg albumin) (d) and serum from the study subject (e).

하였다(Fig. 2, Fig. 3). 내부표준품은 d₄-AFB₁-lys로서 [M+H]⁺ 이온을 모분자로 하고 *m/z*=461을 갖으며, 이때 정량이온은 *m/z*=398이온으로 하였다.

2) 분석방법의 신뢰성 검증

25% 메탄올, blank(human serum에 내부표준품이 첨가되지 않은 시료), zero blank(human serum에 내부표준품이 첨가된 시료), 정량한계(2 pg AFB₁-lys/mg

albumin) 수준의 농도인 positive control 시료를 LC/MS로 분석한 extracted ion chromatogram을 비교하였을 때 내부표준품에서 유도되는 AFB₁-lys이 없고 분석하고자 하는 AFB₁-lys의 머무름 시간에서 방해물질이 없음을 확인하였다(Fig. 4(a)-(d)).

혈 중 AFB₁-lys 분석 정확도 평가 결과 평균 97.0%~103.6%의 수준으로 나타났고, coefficient of variation (CV)은 1.5%~7.6%의 분산정도로서 참값에 근접하는 정도가 양호하였다. 정밀도 또한 평균 100.0%~104.0%의 수준으로 나타났고, coefficient of variation(CV)은 1.9%~10.4% 분산정도로서 측정값에 근접하는 것을 확인하였다. 회수율은 평균 77.7%~97.6%의 수준으로 나타났고, coefficient of variation(CV)은 9.3%~15.0%의 분산정도로서 분석물질을 추출한 검출기 반응과 표준품의 검출기 반응이 근접함을 확인하였다(Table 4). 검량선은 $y=0.0118x-0.065$ 이었으며 r^2 은 0.99이상을 유지하는 것으로 나타났(Table 5, Fig. 5).

Table 4. Validation test from blank serum spiked with AFB₁-lys at different levels

	LQC	MQC	HQC
	5 pg/mg albumin	10 pg/mg albumin	20 pg/mg albumin
Accuracy(CV), %	101.4(7.6)	97.0(5.0)	103.6(1.5)
Precision (CV), %	104.0(10.4)	100.0(4.5)	103.0(1.9)
Recovery (CV), %	97.6(9.3)	96.7(9.7)	77.7(15.0)

Table 5. Calibration curves for AFB₁-lys from six different spiked serum samples

Analyte	Regression line			Calibration range (pg/mg albumin)	Retention time (min)
	Slope, a	Intercept, b	r ²		
AFB ₁ -lys	0.0118	-0.065	0.9990	2.0-80.0	4.81

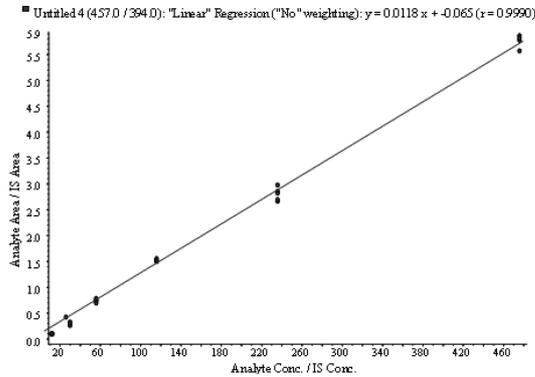


Fig. 5. Calibration curve for quantification of AFB₁-lys on LC/MS/MS.

3. AF-lysine의 생체지표물질로서의 적합성 검증

아플라톡신 B₁의 대사와 관련하여 랫드, 마우스, 오리, 사람의 종간 연구에 따르면, 랫드는 AFB₁의 노출량 당 생성되는 AFB₁-albumin 수준이 사람과 유사하다. 문헌에 의하면 랫드는 AFB₁ 대사에 관여하는 효소와 그 과정이 사람과 동일한 것으로 연구되었다. 따라서 AF-lys의 생체지표물질로서의 타당성을 검증하기 위해, 체중 1 kg당 아플라톡신 B₁ 1 mg을 랫드에게 복강 내 주사로 투여하고 24시간 이후 혈액을 채혈하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청에 내부표준품을 첨가한 후, AFB₁을 투여한 랫드의 혈 중 AFB₁-albumin

(lysine)을 LC/MS/MS로 분석한 결과는 Fig. 6과 같다. 혈 중 랫드의 AFB-lys은 5.14 min의 머무름 시간을 가졌으며, 내부표준품인 d₄-AF-lys은 5.00 min의 머무름 시간을 가졌다.

4. LC/MS/MS를 이용한 AFB₁-lys의 인체모니터링

국내 아플라톡신 인체모니터링 연구에서는 ELISA와 HPLC 등의 방법으로 AFB₁의 양을 분석하였으며, ELISA법으로는 평균 6.1%의 검출율을 보였으나, HPLC로 측정할 경우 모든 시료에서 불검출되었다.^{11,12)}

AFB₁은 생체 내 AFB₁-8,9-epoxide에서 AFB₁-8,9-dihydrodiol을 거쳐 혈 중 AFB₁-protein adduct로 존재하며, 그 중 대부분인 AFB₁-albumin adduct는 혈액내의 반감기가 30~60일로 비교적 장기간의 노출을 측정하는 데 유용한 생체지표물질이다. 따라서 본 연구에서는 복용기간이 14일에서 21일 정도인 생약을 통한 AFB₁의 노출정도를 모니터링하기 위하여 AFB₁-lys이 보다 정확한 지표물질이라고 판단되었다. 국외에서는 대부분이 AFB₁-lys을 지표물질로 하여 아플라톡신을 인체모니터링한 결과가 보고되고 있는 반면 국내에서는 전무한 실정이다.¹³⁻¹⁶⁾

본 연구에서는 생약 미복용자의 혈액 시료 94점, 생약 복용 전의 시료 151점, 생약 복용 후 시료 151점을 이용하여 2 pg/mg albumin의 정량한계를 보이는 확립된 실험방법에 따라 전처리하고 LC/MS로 AFB₁-lys

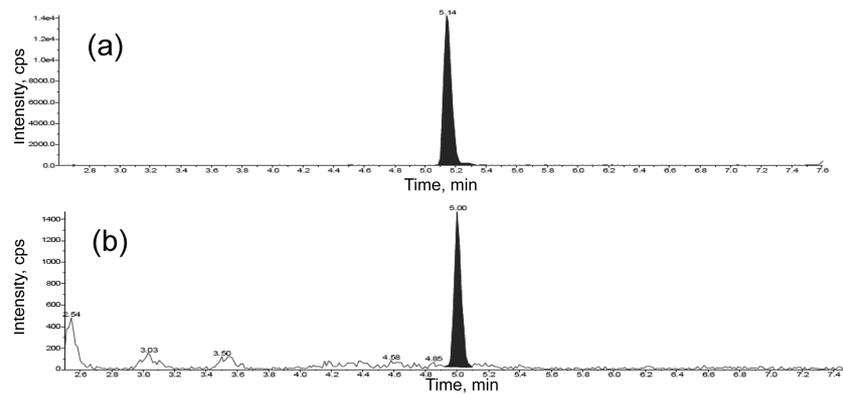


Fig. 6. Extracted ion chromatograms of AFB₁-lys (a) and d₄-AF-lys (b).

Table 6. The results of AFB₁-lys in human serum

Parameter	Controls	Before ingestion	After ingestion
n	94	151	151
2 pg/mg albumin ≤ n ≤ 80 pg/mg albumin	0	0	0
Detection rate (%)	0 %	0 %	0 %

을 분석한 결과, 복용 전, 복용 후, 미복용자 집단 시료에서 모두 음성 결과를 보였다(Table 6). 인체시료에서의 AFB₁-lys의 크로마토그램은 Fig. 4의(e)와 같다.

Turner 등이 영국인 104명을 대상으로 HPLC법으로 혈청 중 AFB₁-albumin(AFB₁-lys)양을 측정 한 결과 AFB₁-lys이 평균 29.3 pg/mg albumin(남), 26.9 pg/mg albumin(여)로 검출되었으며,¹³⁾ Jolly 등이 아프리카 가나인 162명을 대상으로 혈 중 AFB₁-albumin adduct를 radioimmunoassay법으로 분석한 결과, 모든 시료에서 AFB₁-albumin이 검출되었고 평균 0.89 pmol/mg albumin이었다.¹⁵⁾ 아프리카 감비아인을 대상으로 138명의 산모와 16주 영아를 대상으로 산모와 영아의 혈액, 제대혈 중 AFB₁-albumin adduct level을 측정 한 결과 산모의 혈 중 AFB₁-albumin adduct 농도는 평균 40.4 pg/mg(4.8 pg/mg-260.8 pg/mg), 제대혈의 AFB₁-albumin adduct 농도는 평균 10.1 pg/mg(5.0 pg/mg-189.6 pg/mg), 유아의 AFB₁-albumin adduct 농도는 평균 8.7 pg/mg(5.0 pg/mg-30.2 pg/mg)으로 검출되었다.¹⁶⁾

현재까지 일반인을 대상으로 한 아플라톡신의 인체모니터링연구는 극히 제한적이며, 위에서 언급한 영국의 경우 수입식품에서 아플라톡신 오염이 의심된 바 있으며, 아프리카의 가나 및 감비아는 옥수수 등 주식에서 아플라톡신의 오염이 높은 것으로 보고된 바가 있어 인체시료에서의 아플라톡신의 검출농도가 본 연구 결과에 비해 높게 보고된 것으로 사료된다. 최근 조 등(2009)¹⁷⁾은 국내 유통 중인 생약재 476건 중 아플라톡신 B₁을 분석한 결과, 1건에서 1.74 ng/g의 농도로 검출되었으며, 탕액을 통한 아플라톡신의 이행률은 매우 낮은 것으로 보고하여 생약을 통한 아플라톡신의 인체노출은 낮은 것으로 추정된다.

생체시료 중 아플라톡신의 농도는 식품 등 주요노출원의 오염도와 상관성이 있는 것으로 알려져 있다. 가나의 식품 중 평균 아플라톡신의 오염도는 0.4-490.6 ng/g으로 보고되었고,¹⁸⁾ 2006년 식약청연구결과, 국내 유통 중인 곡류, 견과류, 두류, 가공식품 등 719 건에 대한 모니터링 결과 아플라톡신 B₁이 0.04-4.45 ng/g으로 검출되어 상대적으로 국내 식품의 오염도가 낮은 것으로 나타났다.¹⁹⁾ 따라서 아플라톡신의 인체노출을 저감화하기 위해서는 노출원에 대한 철저한 관리가 선행되어야 하겠다.

이번 연구를 통해 국내에서는 처음으로 AFB₁-albumin의 생체 분석법을 최적화하고, AFB₁-albumin 정량분석을 시도하였다. 본 연구결과, 현재 한약재 등 다양한 경로를 통하여 인체로 유입가능한 AFB₁에 대한 인체노출은 낮은 수준으로 파악되었다.

IV. 결 론

본 연구는 생약 복용으로 인한 아플라톡신의 인체모니터링을 통하여 생약 중 아플라톡신에 대한 안전성평가 및 안전관리방안 수립 시 필요한 기초 자료를 확보하기 위하여 생약 복용 전, 후의 일반인을 대상으로 실시하였으며, 혈중 AFB₁의 노출에 대한 지표인 AFB₁-albumin(AFB₁-lys)을 모니터링하는 분석방법을 체계화 하였다.

혈 중 AFB₁-lys 분석을 위한 전처리 기법으로는, 사용이 용이하고 재현성이 뛰어나 실험시간의 오차가 적은 장점이 있는 고체상 추출법을 적용하였다. 기기분석법의 접근에서는 고감도 장비인 LC/MS를 이용하여 AFB₁-lys의 정성분석을 실시하고 tandem mass 방법으로 재현성과 감도가 뛰어난 정량분석법을 적용하였다. 확립된 분석방법으로 직신성, 정확성, 정밀성, 특이성 등의 벨리테이션을 수행하여 허용 오차범위내의 결과를 확인함으로써 신뢰성을 확보하였다.

총 396개의 혈액시료에서 AFB₁-lys을 분석한 결과 모든 시료에서 정량한계 이하로 검출되었으며, 생약복용으로 인한 국내 인구집단의 아플라톡신의 노출정도는 낮은 것을 알 수 있었다. 그러나 아플라톡신에 미량으로 지속적인 노출 시 건강위해영향을 일으킬 우려가 있으므로 지속적인 모니터링 연구가 필요하다고 사료된다.

감사의 글

이 연구는 정부(식품의약품안전청)의 학술연구비 지원을 받아 수행된 연구(08181유해물486, 07162유해물662)이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J. and Carnaghan, R. B. A. : Toxicity associated certain samples of groundnuts. *Nature*, **192**, 1095-1097, 1961.
2. Nasir, M. S. and Jolley, M. E. : Development of a fluorescence polarization assay for the determination of aflatoxins in grains. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, **50**(11), 3116-3121, 2002.
3. Kim, J. G. : Occurrence of Aflatoxins in rice and rice products and by-products of rice. *A Review. Korean Journal of Environmental Health Sciences*, **32**(5), 515-521, 2006.
4. IARC : Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to human (Lyon:IARC). **82**, 171, 2002.
5. European Commission, Commission Regulation:

- available from [http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/2001/en_2001R0466_do)001.pdf]. Assessed May, 21, 2009.
6. Food and Drug Administration, Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed. available at [http://www.fda.gov/Food/GuidanceCompliance/RegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ChemicalContaminantsandPesticides/ucm077969.htm]. Assessed December, 15, 2005.
 7. Wild, C. P., Jiang, Y. Z., Sabbioni, G., Chapot, B. and Montesano, R. : Evaluation of methods for quantitation of aflatoxin-albumin adducts and their application to human exposure assessment. *Cancer Research*, **50**(2), 245-251, 1990.
 8. Groopman, J. D., Donahue, P. R., Zhu, J. Q., Chen, J. S. and Wogan, G. N. : Aflatoxin metabolism in humans: detection of metabolites and nucleic acid adducts in urine by affinity chromatography. 1: *Proceedings of the National Academy & Sciences of the United States of America*, **82**(19), 6492-6496, 1985.
 9. Jung, J. Y., Kim, Y. J., Park, K. S., Yim, O. K., Jun, M. Y., Ko, H. J., Cho, I. H., Baek, W. S., Kim, K. H., Lee, S. K., Ko, J. Y., Lee, J., Sin, S. H., Goak, E. Y., Choi, J. Y., Lee, Y. J., Im, Y. J., Im, D. B. and Son, Y. J. : The study of hazard materials monitoring and their intaking rate on oriental herbal medicine. *KFDA Annual Report*, **10**, 984-986, 2006.
 10. Lee, J. T. : Research on intake of chinese medicine by Korean. *KFDA Annual Report*, **9**, 867-868, 2005.
 11. Park, S. J., Chun, H. S., Park, J. S., Bae, D. H. and Chung, D. H. : Study on monitoring of aflatoxin from foods and biosamples(II). *KFDA Annual Report*, **8**(2), 2618-2619, 2004.
 12. Shim, W. B., Chun, H. S., Bae, D. H. and Chung, D. H. : Study on the establishment of natural safety control system of mycotoxins-with special reference to aflatoxins. *KFDA Annual Report*, **9**, 899-900, 2005.
 13. Turner, P. C., Dingley, K. H., Coxhead, J., Russell, S. and Garner, C. R. : Detectable levels of serum aflatoxin B₁-albumin adducts in the United Kingdom population: Implications for aflatoxin-B₁ exposure in the United Kingdom. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **7**(5), 441-447, 1998.
 14. Egner, P. A., Groopman, J. D., Wang, J. S., Kensler, T. W. and Friesen, M. D. : Quantification of aflatoxin-B₁-N⁷-guanine in human urine by high-performance liquid chromatography and isotope dilution tandem mass spectrometry. *Chemical Research in Toxicology*, **19**(9), 1191-1195, 2006.
 15. Jolly, P., Jiang, Y., Ellis, W., Awuah, R., Nnedu, O., Phillips, T., Wang, J. S., Afriyie-Gyawu, E., Tang, L., Person, S., Williams, J. and Jolly, C. : Determinants of aflatoxin levels in Ghanaians: Sociodemographic factors, knowledge of aflatoxin and food handling and consumption practices. *International Journal of Hygiene & Environmental Health*, **209**(4), 345-358, 2006.
 16. Turner, P. C., Collison, A. C., Cheung, T. B., Gong, Y., Hall, A. J., Prentice, A. M. and Wild, C. P. : Aflatoxin exposure in utero causes growth faltering in Gambian infants. *International Journal of Epidemiology*, **36**(5), 1119-1125, 2007.
 17. Jo, D. H., Son, Y. W., Moon, H. J., Cho, S. Y., Kim, S. S., Park, S. Y., No, J. Y., Lee, H. M., Kang, E. K., Lee, J. G., Park, E. R., Kim, S. I., Song, J. Y. and Jo, O. S. : A Survey of aflatoxin on commercial herbal medicine. *KFDA Annual Report*, **13**, 2009. in press
 18. James, B., Adda, C., Cardwell, K., Annang, D., Hell, K., Korie, S., Edoh, M., Gbeassor, F., Nagatey, K. and Houenou, G. : Public information campaign on aflatoxin contamination of maize grains in market stores in Benin, Ghana and Togo. *Food Additives and Contaminants*, **24**(11), 1283-1291, 2007.
 19. Kim, S. H., Lee, C. H., Son, Y. W., Jang, M. R., Choi, I. S., Lee, S. M., Cho, S. H., Park, J. S., Kwon, E. Y., Lee, E. J., Sohn, S. H. and Kim, D. B. : A survey of the natural occurrence of total aflatoxins in food. *KFDA Annual Report*, **10**, 827-837, 2006.