

견과종실류 및 그 가공품 중 곰팡이독소 오염도 조사 연구

성진희* · 김기철 · 신상운 · 김지은 · 광신혜 · 백은진 · 이은빈 · 김혜진 · 이원주 · 이명진 · 박용배
경기도보건환경연구원 식품의약품연구부

A Study on Mycotoxin Contamination in Nuts and Seeds and Their Processed Foods

Jin-Hee Sung*, Ki-Cheol Kim, Sang-Woon Shin, Ji-Eun Kim, Shin-Hye Kwak, Eun-Jin Baek, Eun-Bin Lee,
Hye-Jin Kim, Won-Joo Lee, Myung-Jin Lee, Yong-Bae Park

Food and Drug Research Division, Gyeonggi Province Institute of Health and Environment, Suwon, Korea

(Received May 6, 2021/Revised June 22, 2021/Accepted July 16, 2021)

ABSTRACT - A total of 106 samples (nuts, nut products, oilseeds, oilseed products, seed for beverage products) were simultaneously analyzed with LC/MS/MS method. The tested mycotoxins were aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂), ochratoxin A, fumonisin (B₁, B₂), and zearalenone. Mycotoxins were detected in 37 of 106 samples (35%), and two or more mycotoxins were simultaneously detected in 9 of 106 samples (8.5%). Aflatoxin ochratoxin A, fumonisin and zearalenone were detected at the range of 0.08-1.45 µg/kg, 17.29 µg/kg, 1.16-14.89 µg/kg and 0.12-12.69 µg/kg, respectively. The results revealed that the most frequently detected mycotoxin was zearalenone (23%), followed by aflatoxin (13%), fumonisin (8%) and ochratoxin A (1%). Detection rates of nuts and oilseeds were 35% and 33%, respectively, and detection rates of their processed foods were 44% and 46%, respectively. The detection rate of mycotoxins was 10% higher in processed foods than in nuts and oilseeds. Mycotoxins are physicochemically stable and can persist during food processing and cooking, making management of mycotoxins in raw materials a concern of high importance.

Key words : Mycotoxin, Aflatoxin, Ochratoxin, Fumonisin, Zearalenone

곰팡이독소(mycotoxin)는 곰팡이에 의해 생성되는 2차 대사산물로 농산물의 생산, 저장, 유통, 가공 과정에서 발생할 수 있으며 사람과 동물에 각종 질병을 유발할 수 있다¹⁾.

Aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂)은 *Aspersillus flavus*, *Asp. parasiticus* 곰팡이에 의해 주로 생성되며, 면역억제, 간독성 등을 유발하고 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서는 인체 발암성이 확실한 발암물질인 Group 1으로 분류하고 있다²⁾. Ochratoxin A는 *Asp. ochraceus*와 *Penicillium verrucosum*에 의해 생성되며 신장독성, 간장독성, 면역독성이 있는 것으로 알려져 있으며 국제암연구소에서 발암가능물질(Group 2B)로 분류되어

있다³⁾. Fumonisin (B₁, B₂)은 *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* 등의 곰팡이가 주된 원인균으로 사람에게서 식도암 유발 원인물질로 추정되고 있으며 발암가능물질(Group 2B)로 분류되어 있다. Fumonisin을 생산하는 *Fusarium* species은 이외에도 zearalenone 같은 곰팡이독소를 생산한다. Zearalenone은 *F. graminearum* 등의 곰팡이에 의해 주로 생성되며 내분비계장애물질로서 과에스트로겐증, 유산, 불임 등 생식에 관련된 독성을 주로 유발하는 것으로 알려져 있다⁴⁾.

한편 곰팡이독소는 온대지역과 아열대 지역에서 흔히 발생하는데 최근 지구온난화로 우리나라도 온대기후에서 아열대 기후로 변화가 예측되고 있어 곰팡이독소의 발생 위험이 증가되고 있다⁵⁾. 또한 최근 수입 식품은 미국, 중국 등 온대지역과 동남아시아지역 등 아열대 지역이 주를 이루고 있고 매년 수입량이 증가하고 있어 곰팡이독소에 대한 잠재적 위험성이 높아지고 있다⁶⁾.

현재 우리나라는 2019년에 aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂의 합)의 기준 규격을 일부 식품에서 모든 식품으로 범위를

*Correspondence to: Jin-Hee Sung, Food and Drug Research Division, Gyeonggi Province Institute of Health and Environment, Suwon 16381, Korea
Tel: +82-31-250-2572, Fax: +82-31-250-2537
E-mail: jhsung7@gg.go.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

확대하였으며 이에 따라 견과종실류도 15.0 µg/kg 이하(B_1 은 10.0 µg/kg 이하)로 기준이 설정되어 있다. 그러나 fumonisin과 zearalenone에 대해서는 아직 기준이 설정되어 있지 않으며 ochratoxin A의 경우도 커피콩, 볶은커피에 대해 5.0 µg/kg 이하, 인스턴트커피에 대해 10.0 µg/kg 이하로 관리하고 있으나 커피를 제외한 견과종실류에 대해서는 기준이 설정되어 있지 않다⁷⁾.

식품 안전성에 대한 소비자들의 관심, 식품가공기술의 발달 및 유통구조의 다양화 등으로 식품의 안전성이 제고되고 있으나, 곰팡이독소에 대한 실태 파악은 다소 부족한 실정이다.

또한 기준 규격이 설정되어 있는 식품에 대한 곰팡이독소의 오염실태 조사⁸⁻¹⁰⁾가 이루어지고 있지만 견과종실류에 대한 fumonisin, ochratoxin A, zearalenone에 대한 연구 결과는 미비하다.

따라서 본 연구에서는 도내 유통 견과종실류 및 그 가공품에 대하여 aflatoxin (B_1 , B_2 , G_1 , G_2), ochratoxin A, fumonisin (B_1 , B_2), zearalenone의 곰팡이독소 오염 실태 조사를 통하여 신규 기준 설정을 위한 과학적 근거 마련 및 안전관리를 위한 기초 자료를 제시하고자 한다.

Materials and Methods

대상시료

경기도내 대형유통매장에서 판매하고 있는 견과류(땅콩, 아몬드, 잣, 캐슈넛트, 호두, 사차인치, 브라질넛트) 26건, 견과류가공품(견과류가 혼합되어 있거나 다른 식품이나 식품첨가물을 넣어 가공한 것) 18건, 유지종실류(들깨, 참깨, 호박씨, 해바라기씨) 24건, 유지종실류가공품(참기름, 들기름, 올리브유, 해바라기유) 26건, 음료종실류가공품(커피원두) 12건으로 총 106건을 구입하여 곰팡이독소 분석에 사용하였다.

표준물질 및 시약

표준물질로 사용된 aflatoxin (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) mix kit, ochratoxin A, fumonisin (B_1 , B_2) mixture, zearalenone (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)은 solution으로 구입하여 사용하였다. 추출 및 분석에 사용된 acetonitrile, methanol (Merck, Darmstadt, Germany)은 HPLC급으로 formic acid (Sigma-aldrich, St. Louis, MO, USA)는 LC-MS급으로 구입하여 사용하였고, Ammonium formate는 Sigma-aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

시료의 전처리

본 연구에서는 식품 공전¹¹⁾에서 제시한 aflatoxin (B_1 , B_2 , G_1 , G_2), ochratoxin A, fumonisin (B_1 , B_2), zearalenone 곰

팡이독소 동시분석법을 사용하여 전처리하였다. 시료는 분쇄하여 균질화한 후 2-5 g을 정밀히 달아 추출용액인 50% acetonitrile (0.1% formic acid) 20 mL를 가하고, 30분간 추출한 후 3500 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 원심 분리한 액을 유리섬유여과지(Whatman GF/A, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)로 여과한 후 여액 3 mL에 물을 가해 15 mL가 되게 하여 추출액으로 하였다.

정제 카트리지(ISOLUTE[®] Myco, 60 mg/3 mL, Biotage, Cardiff, UK)는 초당 1방울의 속도로 acetonitrile 2 mL, 증류수 2 mL로 활성화 시킨 후 추출액 5 mL를 주입하여 통과시켰다. 이어서 증류수 2 mL, 10% acetonitrile 2 mL를 같은 유속으로 통과시킨 후 정제 카트리지 내에 남아 있는 용액을 완전히 제거하였고 acetonitrile (0.1% formic acid) 2 mL, methanol 4 mL로 용출 시킨 후 50°C에서 질소로 건조시켰다. 건조물에 50% methanol (0.1% formic acid) 1 mL를 가하여 용해시킨 후 필터(Syringe filter, PTFE 0.2 µm, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과한 액을 최종 시험 용액으로 하였다.

기기분석

분석 장비는 HPLC (Nasca 5500, Osaka soda, Osaka, Japan)가 연결되어 있는 MS/MS (Qtrap 4500, AB Sciex, Framingham, MA, USA)를 사용하였으며 HPLC/MS/MS 분석 조건 및 MRM 조건은 각각 Table 1, 2와 같다.

분석방법 검증

분석법에 대한 신뢰성 확보를 위해 aflatoxin B_1 , B_2 , G_1 은 0.2-2.7 µg/kg, aflatoxin G_2 는 0.3-5.3 µg/kg, ochratoxin A는 0.6-10.2 µg/kg, fumonisin B_1 , B_2 는 3.1-50.0 µg/kg, zearalenone은 1.6-25.0 µg/kg의 범위에서 검량선을 작성하여 검량선의 결정계수(coefficient of determination, R^2)를 확인하였고 검량선 3회 반복 분석을 통해 얻어진 기울기와 Y절편의 표준편차를 바탕으로 검출한계(LOD)와 정량한계(LOQ)를 구하였다. 또한 곰팡이독소가 검출되지 않은 들깨가루에 혼합표준용액을 첨가하여 회수율을 확인하였다.

저장기간에 따른 곰팡이독소의 변화량

식품을 저장하는 동안 보관 방법에 따라 곰팡이독소의 변화량을 알아보기 위해 aflatoxin B_1 과 zearalenone이 검출된 들깨를 실온(20°C), 냉장(4°C), 냉동(-20°C) 조건에서 4개월간 보관하면서 1개월마다 분석하여 함량의 변화를 조사하였다.

온도변화에 따른 곰팡이독소의 변화량

온도 변화에 따른 곰팡이독소의 변화량을 알아보기 위해 sea sand (425-850 µm, Wako, Japan)에 곰팡이독소 8종 혼합 표준용액을 일정한 농도로 첨가하여 25°C, 50°C,

Table 1. The analytical conditions of HPLC/MS/MS

Instrument	Parameter	Conditions			
HPLC	Column	Imtakt cadenza C18 (3 mm × 150 mm, 3°C)			
	Column temperature	40°C			
	Flow rate	0.5 mL/min			
	Injection volume	10 µL			
	Mobile phase	Time	A ¹⁾ (%)	B ²⁾ (%)	
		0	95	5	
		0.5	95	5	
		2	60	40	
		9	0	100	
		11.5	0	100	
12		95	5		
15	95	5			
MS/MS	Ionization	ESI (positive, Negative mode)			
	Gas	N ₂			
	Ion spray voltage	positive 5500 V negative -4500 V			
	Ion source temperature	500°C			

¹⁾ A: 5 mM ammonium formate in DW (0.1% formic acid).

²⁾ B: 5 mM ammonium formate in MeOH (0.1% formic acid).

Table 2. MRM¹⁾ conditions for the analysis of mycotoxins

Component	Ionization mode	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)		Cone voltage (V)	Collision energy (V)
			Quantitative	Qualitative		
Aflatoxin B ₁	ESI+	312.90	284.9	241.0	80, 80	35, 53
Aflatoxin B ₂	ESI+	314.90	287.0	259.0	121, 150	37, 41
Aflatoxin G ₁	ESI+	328.90	200.0	243.0	76, 140	57, 39
Aflatoxin G ₂	ESI+	330.90	189.1	245.0	121, 160	57, 43
Ochratoxin A	ESI+	404.00	239.0	102.0	51, 51	37, 97
Fumonisin B ₁	ESI+	722.20	334.2	352.3	111, 111	57, 53
Fumonisin B ₂	ESI+	706.20	336.2	318.3	111, 111	53, 55
Zearalenone	ESI-	316.90	174.8	131.0	-125, -125	-34, -38

¹⁾ MRM: Multiple Reaction Monitoring.

75°C, 100°C, 125°C, 150°C, 175°C, 200°C에서 20분간 건조오븐에서 반응시킨 뒤 50% methanol (0.1% formic acid) 5 mL를 가하여 용해시킨 후 필터(PTFE, 0.2 µm)로 여과한 액을 최종 시험용액으로 분석하였다. Sea sand는 식품 matrix를 대체하기 위해 사용되었다.

통계분석

저장 기간에 따른 곰팡이독소의 함량 변화의 유의적인 차이를 확인하기 위하여 one-way Anova (Excel 2013

software, Microsoft, Redmond, WA, USA)를 사용하였다. $P < 0.05$ 수준에서 유의적인 차이가 있다고 판단하였다.

Results and Discussion

검량선, 검출한계 및 정량한계, 회수율

표준용액을 농도별로 조제하여 검량선을 작성한 결과 검량선의 결정계수(R^2)가 모든 항목에서 0.999이상으로 양호한 직선성을 나타내었다. 직선성, 검출한계(LOD)와 정량

Table 3. Recovery, LOD and LOQ of mycotoxins

Component	Coefficient of determination (R ²)	Recovery (average±RSD, %)	LOD ¹⁾ (µg/kg)	LOQ ²⁾ (µg/kg)
Aflatoxin B ₁	0.9999	72.92±1.36	0.02	0.06
Aflatoxin B ₂	0.9998	66.67±2.50	0.02	0.06
Aflatoxin G ₁	0.9998	69.21±3.79	0.03	0.09
Aflatoxin G ₂	0.9999	78.67±5.75	0.03	0.09
Ochratoxin A	0.9999	63.48±6.09	0.04	0.12
Fumonisin B ₁	0.9999	72.48±4.48	0.21	0.64
Fumonisin B ₂	0.9998	75.72±5.91	0.24	0.72
Zearalenone	0.9998	86.70±3.34	0.05	0.15

¹⁾ LOD: Limit of detection = $3.3 \times \sigma/S$.

²⁾ LOQ: Limit of quantitation = $10 \times \sigma/S$.

σ : Standard deviation of the intercept.

S: Slope of the calibration curves.

한계(LOQ), 회수율을 구한 결과는 Table 3과 같다. 검량선의 기울기와 Y절편의 표준편차를 바탕으로 구한 검출한계는 aflatoxin B₁, B₂가 0.02 µg/kg, aflatoxin G₁, G₂는 0.03 µg/kg, ochratoxin A는 0.04 µg/kg, fumonisin B₁, B₂는 0.21, 0.24 µg/kg, zearalenone은 0.05 µg/kg으로 나타났으며 검출한계 미만은 불검출 처리하였다. 들깨가루를 이용하여 구한 회수율은 63.5-86.7%로 식품의약품안전처에서 제시한 식품등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인¹²⁾에서 곰팡이독소 시험법 항목에 대해 제시한 기준에 적합하였다.

곰팡이독소의 검출 현황

견과류 26건, 견과류가공품 18건, 유지종실류 24건, 유지종실류가공품 26건, 음료종실류가공품 12건에 대한 곰팡이독소 검사 결과는 Table 4와 같다.

견과류 중 호두와 캐슈넛트에서는 곰팡이독소가 검출되지 않았고 아몬드 4건 중 2건에서 aflatoxin이 0.16 µg/kg이 검출되었다. 땅콩은 5건 중 1건에서만 aflatoxin과 zearalenone이 각각 0.72 µg/kg, 1.67 µg/kg이 검출되었고 브라질넛트에서는 3건 중 3건에서 모두 aflatoxin이 0.16-1.45 µg/kg 수준으로 검출되었다. 사차인치는 2건 중 1건에서 zearalenone이 0.73 µg/kg이 검출되었고 잣에서는 4건 중 2건에서 fumonisin이 2.65-13.25 µg/kg, zearalenone이 2.16 µg/kg 검출되었다. 견과류에서는 총 26건 중 9건에서 검출되어 34.6%의 검출률을 보였으며 검출된 곰팡이독소는 aflatoxin, fumonisin, zearalenone이었다. 견과류가공품에서는 총 18건 중 8건에서 검출되어 44.4%의 검출률을 보였고 aflatoxin, fumonisin, zearalenone이 각각 0.08-0.29 µg/kg, 1.16 µg/kg, 0.12-4.98 µg/kg의 농도 범위로 검출되었다.

Aflatoxin의 경우에는 현재 허용 기준이 설정되어 있으

며 모든 시료가 기준 이내로 검출되어 안전하다고 판단된다. 그러나 기준이 설정되어 있지 않은 fumonisin과 zearalenone이 총 44건 중 견과류에서 3건, 견과류가공품에서 7건이 검출되었는데 모니터링 등 후행 연구를 통해 안전 관리를 위한 기준 설정이 필요할 것으로 사료된다.

유지종실류에서 들깨, 참깨, 해바라기씨, 호박씨를 선정하여 조사한 결과 해바라기씨와 호박씨에서는 곰팡이독소가 검출되지 않았다. 들깨는 10건 중 7건에서 aflatoxin, fumonisin, zearalenone이 검출되었으며 검출 범위는 각각 0.16-1.17 µg/kg, 3.09-14.89 µg/kg, 2.39-12.62 µg/kg이었다. 참깨는 10건 중 1건에서만 ochratoxin A가 17.29 µg/kg이 검출되었다.

유지종실류가공품은 들기름 12건 중 8건에서 aflatoxin과 zearalenone이 검출되었으며 검출 범위는 각각 0.32 µg/kg, 1.46-12.69 µg/kg이었다. 참기름은 10건 중 3건에서 zearalenone이 1.50-2.08 µg/kg이 검출되었으며 올리브유는 2건 중 1건에서 zearalenone이 1.08 µg/kg이 검출되었고, 해바라기씨유에서는 검출되지 않았다. 특히 들깨와 들기름의 검출률을 보면 각각 70.0%, 66.7%로 비슷하게 나타났는데 이는 곰팡이독소에 오염된 원료로 제품 제조 시 가공식품에 이행되어 잔존할 수 있을 것이라 생각된다. 유지종실류는 총 24건 중 8건에서 검출되어 33.3%의 검출률을 보였으며 aflatoxin, ochratoxin A, fumonisin, zearalenone이 모두 검출되었다. 유지종실류가공품은 총 26건 중 12건이 검출되어 46.2%의 검출률을 보였으며 aflatoxin, zearalenone이 검출되었다.

검출 빈도의 경우 유지종실류 24 건 중 aflatoxin 2건, ochratoxin A 1건, fumonisin 5건, zearalenone 5건이 검출되었다. 유지종실류가공품은 26건 중 aflatoxin 1건, zearalenone 12건이 검출되었다. 유지종실류 및 그 가공품 모두 zearalenone의 검출빈도가 상대적으로 높게 나타났으

Table 4. The incidence and the range of mycotoxin contents

Group	Items	Incidence		The range of mycotoxin ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
		No ¹⁾	%	Aflatoxin	Ochratoxin A	Fumonisin	Zearalenone
Nuts	Almonds	2/4	50.0	0.16	-	-	-
	Walnuts	0/5	-	-	-	-	-
	Peanuts	1/5	20.0	0.72	-	-	1.67
	Cashew nuts	0/3	-	-	-	-	-
	Brazill nuts	3/3	100.0	0.16-1.45	-	-	-
	Sacha inchi	1/2	50.0	-	-	-	0.73
	Pine nuts	2/4	50.0	-	-	2.65-13.25	2.16
	Total	9/26	34.6	0.16-1.45	-	2.65-13.25	0.73-2.16
Nut products	Nut products	8/18	44.4	0.08-0.29	-	1.16	0.12-4.98
	Perilla	7/10	70.0	0.16-1.17	-	3.09-14.89	2.39-12.62
	Sesame	1/10	10.0	-	17.29	-	-
Oilseeds	Sunflower seeds	0/2	-	-	-	-	-
	Pumpkin seeds	0/2	-	-	-	-	-
	Total	8/24	33.3	0.16-1.12	17.29	3.09-14.89	2.39-12.62
Oilseed products	Perilla oil	8/12	66.7	0.32	-	-	1.46-12.69
	Sesame oil	3/10	30.0	-	-	-	1.50-2.08
	Sunflower oil	0/2	-	-	-	-	-
	Olive oil	1/2	50.0	-	-	-	1.08
	Total	12/26	46.2	0.32	-	-	1.08-12.69
	Seed for beverage products	Coffee (bean)	0/12	-	-	-	-

¹⁾ No: Sample number (Positive/analysed samples).

나 아직 국내에는 기준규격이 없는 실정이다. 검출빈도가 높다는 것은 식품을 통해 곰팡이독소에 노출될 수 있는 확률이 높은 것으로 생각할 수 있다. Zearalenone은 광범위한 지역에서 많이 발생할 수 있고 발암물질은 아니지만 가축에서 생식독성을 나타내므로^{13,14)} 기준 이내라도 오염된 식품에 자주 노출되었을 때의 유해성을 고려하여 타당한 식품안전관리 방향으로 나아가야 할 것이다.

음료종실류 가공품 중 커피원두를 선정하여 곰팡이독소를 검사한 결과 12건의 시료 모두 불검출로 나타났다. 커피에서의 곰팡이독소 발생은 재배과정보다는 수확 후 건조하는 과정에 발생하는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 본 연구에서는 모두 불검출로 안전 관리가 잘되고 있는 것으로 판단된다.

다중 곰팡이독소 검출현황

전체 조사 대상 품목 106건 중 두 항목 이상의 곰팡이독소에 오염된 경우는 9건으로 8.5% 검출률을 보였다. 그 중 aflatoxin과 zearalenone이 동시에 오염된 경우가 4건이었고, fumonisin과 zearalenone이 동시에 오염된 경우가 4건이었으며 들깨 1건에서는 aflatoxin, fumonisin, zearalenone이 동시

에 검출되었다.

Kim 등¹⁶⁾의 연구에서는 곡류에서 fumonisin과 zearalenone이 동시에 오염된 경우가 12.8%라 보고하였으며 Jung 등¹⁷⁾의 연구에서는 곡류에서 fumonisin과 zearalenone이 함께 검출되는 경우가 33.3%라 보고하였다. *Fusarium* species은 fumonisin과 zearalenone을 생산하므로 동시에 오염될 수 있으며¹⁸⁾, 곰팡이독소의 동시 발생으로 인하여 독소들이 함께 섭취되었을 때 독성의 상승 효과를 가져올 수 있다는 연구들이 보고되고 있다^{19,20)}.

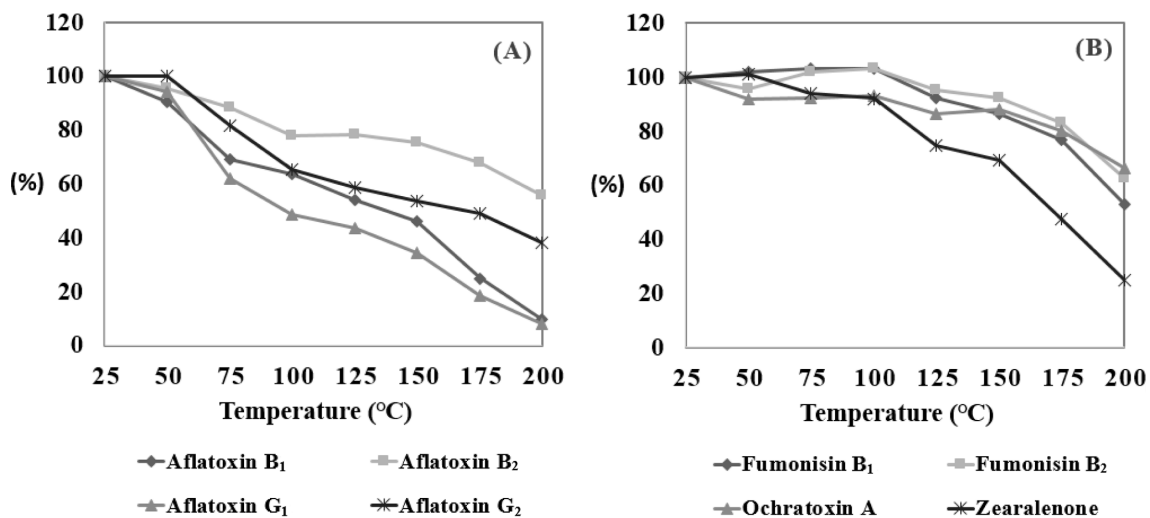
저장기간에 따른 곰팡이독소의 변화량

식품을 저장하는 동안 보관 방법에 따라 곰팡이독소의 변화량을 알아보기 위해 aflatoxin B₁과 zearalenone이 검출된 들깨를 선정하여 실온(20°C), 냉장(4°C), 냉동(-20°C)에서 4개월간 보관하면서 1개월마다 함량의 변화를 조사하였다(Table 5). 실험 대상인 들깨는 aflatoxin B₁과 zearalenone이 각각 1.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 5.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 검출되었다. 4개월간 저장하면서 aflatoxin B₁의 함량은 실온(20°C)에서 1.17-1.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 냉장(4°C)에서 1.17-1.69 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 냉동(-20°C)에서 1.17-1.89 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 나타났고, zearalenone은 실

Table 5. Changes of aflatoxin B₁, zearalenone concentration in perilla during storage

Component	Storage temperature	Storage month/ concentration (μg/kg)				
		0	1	2	3	4
Aflatoxin B ₁	20°C	1.17±0.15 ¹⁾	1.20±0.26	1.31±0.12	1.42±0.04	1.47±0.22
	4°C	1.17±0.15	1.68±0.22	1.69±0.22	1.32±0.19	1.57±0.63
	-20°C	1.17±0.15	1.39±0.21	1.55±0.38	1.40±0.15	1.89±0.32
Zearalenone	20°C	5.23±0.47	6.03±0.39	5.58±0.25	4.93±0.83	4.90±0.49
	4°C	5.23±0.47	5.36±0.51	5.86±0.22	4.38±0.27	4.42±0.14
	-20°C	5.23±0.47	5.69±0.29	5.43±0.30	4.28±0.29	4.05±0.40

1) mean±SD.

**Fig. 1.** Remaining percentage of mycotoxins under heating conditions.

온(20°C)에서 5.23-6.03 μg/kg, 냉장(4°C)에서 5.23-5.86 μg/kg, 냉동(-20°C)에서 5.23-5.69 μg/kg의 농도로 나타났다. 저장 기간 동안 곰팡이독소의 함량이 변화하는 듯 보이나 뚜렷한 경향성을 보이지 않았고 그 값들의 유의미한 차이는 없었다($P>0.05$).

Kim 등²¹⁾의 연구에서 고춧가루를 실온과 냉장에서 20일간 보관한 후 ochratoxin A의 함량을 조사한 결과 두 집단에서 ochratoxin A의 함량에 유의한 차이가 없었으며 이는 제품이 개봉 이후 수분이 재흡수 되지 않도록 주의한다면 곰팡이 생장의 제한요인인 수분활성도에 변화가 생기지 않아 독소 오염이 악화되지 않는다고 하였다. 하지만 한 번 발생한 곰팡이독소는 저장 기간이나 보관 방법 등에 영향을 받지 않고 안정한 형태로 식품에 존재한다고 볼 수 있을 것이다. 따라서 곰팡이독소가 초기에 발생하지 않도록 저장하는 것이 가장 좋은 안전 관리 방법이라 판단되며 가공식품의 제조에 있어서도 곰팡이독소를 발생시키는 곰팡이의 성장을 억제할 수 있는 원료의 보관 관리가 중요할 것으로 판단된다.

온도에 따른 곰팡이독소의 변화량

곰팡이독소 8종 혼합 표준용액을 일정한 농도로 첨가하여 각 온도별로 건조 오븐에서 20분간 반응시킨 뒤 분석한 aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂의 함량은 Fig. 1(A)와 같다. 25°C에서 측정된 값을 기준으로 곰팡이독소의 잔존량을 백분율로 나타내었다. Aflatoxin B₁과 G₁은 온도가 높아질수록 감소하는 경향을 보였으며 200°C에서 90%이상 감소하여 각각 10%, 8%가 잔존하였다. aflatoxin B₂, G₂는 B₁, G₁ 보다 완만하게 감소하는 경향을 보였고 200°C에서 각각 56%, 38%가 잔존하였다.

Fumonisin B₁, B₂, ochratoxin A, zearalenone의 변화량은 Fig. 1(B)와 같다. Fumonisin B₁, B₂, ochratoxin A는 125°C에서 90%이상 잔존하였고 그 이후로 서서히 감소하는 경향을 보였다. 200°C에서 fumonisin B₁, B₂, ochratoxin A는 각각 53%, 63%, 66%의 잔존율을 보였다.

Zearalenone은 100°C 이후부터 감소하는 경향을 보이며 150°C, 175°C, 200°C에서 각각 69%, 47%, 25%의 잔존율을 보였다. Matsuura 등²²⁾은 수분이 함유된 밀가루를 100°C에서 15분 가열 시 3.2%, 150°C에서 60분간 가열 시 28.5%

의 zearalenone이 감소되었다고 보고하였다.

이는 곰팡이독소가 열에 매우 안정하다는 것을 보여주며 일반적인 가공 또는 조리 과정에서 곰팡이독소의 제거를 기대할 수 없을 것으로 판단된다.

국문요약

본 연구는 견과종실류 및 그 가공품을 대상으로 LC/MS/MS를 이용하여 aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂), ochratoxin A, fumonisin (B₁, B₂), zearalenone을 동시 분석하여 오염 실태를 조사하였다. 연구 대상 106건 중 37건(35%)에서 곰팡이독소가 검출되었으며, 2항목 이상의 곰팡이독소가 동시에 검출된 경우는 8.5%로 조사되었다. Aflatoxin, ochratoxin A, fumonisin, zearalenone은 각각 0.08-1.45 µg/kg, 17.29 µg/kg, 1.16-14.89 µg/kg, 0.12-12.69 µg/kg의 농도 범위로 검출되었다. 검출 빈도로 보면 zearalenone (23%), aflatoxin (13%), fumonisin (8%), ochratoxin A (1%) 순으로 높은 검출율을 보였다. 원물 형태인 견과류와 유지종실류는 각각 35%, 33%의 검출율을 나타내었고 이를 가공한 견과류가공품과 유지종실류가공품은 각각 44%, 46%의 검출율을 나타내어 가공 식품에서의 곰팡이독소 검출율이 10% 이상 높게 나타났다. 곰팡이독소는 물리화학적으로 안정한 물질로서 가공이나 조리 과정 중에도 그대로 남아있어 식품 원료에서의 곰팡이독소 관리가 더 중요할 것으로 판단된다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

ORCID

Jin-Hee Sung <https://orcid.org/0000000157018971>
 Ki-Cheol Kim <https://orcid.org/0000000346406703>
 Sang-Woon Shin <https://orcid.org/0000000264145378>
 Ji-Eun Kim <https://orcid.org/0000000255524165>
 Shin-Hye Kwak <https://orcid.org/0000000220525643>
 Eun-Jin Baek <https://orcid.org/0000000328860603>
 Eun-Bin Lee <https://orcid.org/0000000247751886>
 Hye-Jin Kim <https://orcid.org/0000000273640821>
 Won-Joo Lee <https://orcid.org/0000000155393954>
 Myung-Jin Lee <https://orcid.org/0000000248817672>
 Yong-Bae Park <https://orcid.org/0000000325968520>

References

1. Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment.

Food Chem. Toxicol., **60**, 218-237 (2013).

- Robens, J.F., Richard, J.L., Aflatoxins in animal and human health. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **127**, 69-94 (1992).
- Park, J.E., Heo, S., Lee, M.S., Kim, E.J., Park, J.S., Oh, J.H., Jang, Y.M., Kim, M.H., Monitoring Ochratoxin A in coffee and fruit products in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **42**, 263-268 (2010).
- Song, H.H., Kim, J., Lee, C., A review of mycotoxins from fusarium species. *Safe Food*, **1**, 19-28 (2006).
- Medina, A., Akbar, A., Baazeem, A., Rodriguez, A., Magan, N., Climate change, food security and mycotoxins: do we know enough. *Br. Mycol. Soc.*, **31**, 143-154 (2017).
- Chung, S.H., 2008. Safety evaluation for fumonisins in food commodities. Ministry of Food and Drug Safety, Korea, pp. 5-7
- Ministry of Food and Drug Safety, 2020. Korea Food Code. Korea, pp. 42-45.
- Seo, M.Y., Kim, M.G., Kim, J.K., Jang, M.K., Lee, Y.N., Ku, E.J., Park, K.H., Yoon, M.H., Investigation of unintentionally hazardous substance in commercial herbs for food and medicine. *J. Food Hyg. Saf.*, **33**, 453-459 (2018).
- Yang, Y.S., Lee, H.H., Kim, A.G., Ryu, K.Y., Choi, S.Y., Seo, D.R., Seo, K.W., Cho, B.S., Survey of mycotoxin contamination in grains and grain products. *J. Food Hyg. Saf.*, **34**, 205-211 (2019).
- Jeong, S.E., Chung, S.H., Hong, S.Y., Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in meju and soybean paste produced in South Korea. *Appl. Biol. Chem.*, **62**, 65 (2019).
- Ministry of Food and Drug Safety, 2020. Korea Food Code. Korea, pp. 1357-1362.
- Ministry of Food and Drug Safety, 2016. Guidelines on standard procedures for preparing test methods, including food. Korea, pp. 17-18.
- Shim, W.B., Song, J.E., Kim, J.S., Chung, Y.C., Chung, D.H., Investigation of the transfer rate of zearalenone in herbal medicines to their decoction. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 312-316 (2013).
- Choi, E.J., Kang, S.T., Jung, S.Y., Shin, J.M., Jang, M.S., Lee, S.M., Kim, J.H., Chae, Y.Z., Analysis and uncertainty estimation of zearalenone in cereal-based products by LC-MS/MS. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **44**, 658-665 (2012).
- Lopez-garcia, R., Augusto mallmann, C., Pineiro, M., Design and implementation of an integrated management system for ochratoxin A in the coffee production chain. *Food Addit. Contam. Part A*, **25**, 231-240 (2008).
- Kim, D.H., Jang, H.S., Choi, G.I., Kim, H.J., Kim, H.J., Kim, H.L., Cho, H.J., Lee, C., Occurrence of mycotoxins in korean grains and their simultaneous analysis. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 111-119 (2013).
- Jung, S.J., Jo, S.A., Kim, D.G., Jung, S.O., Kim, K.S., Han, K.Y., Chae, Y.Z., A survey of mycotoxin in agricultural products. *Report of S.I.H.E.*, **48**, 35-45 (2012).
- Smith, M.C., Nadez, S., Coton, E., Hymery, N., Natural Co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. *Toxins*, **8**, 94 (2016).

19. Boeira, L.S., Bryce, J.H., Stewart, G.G., Flannigan, B., The effect of combinations of fusarium mycotoxins (deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin B₁) on growth of brewing yeasts. *J. Appl. Microbiol.*, **88**, 388-403 (2000).
20. Verma, J., Johri, T.S., Swain, B.K., Ameena, S., Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. *Br. poult. Sci.*, **45**, 512-518 (2004).
21. Kim, D.H., Jang H.S., Kim, Y.M., Ahn, J.S., Survey for contamination and study for reduction of ochratoxin A and aflatoxin in red pepper. *J. Food Hyg. Saf.*, **24**, 299-306 (2009).
22. Matsuura, Y., Yoshizawa, T., Morooka, N., Effect of food additives and heating on the decomposition of zearalenone in wheat flour. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **22**, 293-298 (1981).