

유통 약용식물 중 곰팡이독소 오염도 조사

이휘재 · 김은영

제주특별자치도 보건환경연구원

Survey of Mycotoxin Contamination in Commercial Herbal Medicines

Hwee-jae Lee and Eun-Yeong Kim

Jeju Special Self-Governing Province Institute of Health and Environment

ABSTRACT This study investigates mycotoxin contamination levels in herbal medicines that are not regulated by mycotoxin safety guidelines proposed by The Korean Pharmacopoeia and The Korean Herbal Pharmacopoeia. We aim to provide datasets for establishing future safety guidelines for commercial herbal medicines. To monitor mycotoxins (zearalenone, ochratoxin A, fumonisins B₁, and fumonisins B₂) in herbal medicines, 103 samples were collected from randomly selected commercial retailers in Jeju-do and refined using an immunoaffinity column. Mycotoxin levels were analyzed in the samples using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and were detected in 10 samples (9.7%). Specifically, we found zearalenone in 2 samples (1.9%), ochratoxin A in 4 samples (3.9%), fumonisin B₁ in 5 samples (4.9%), and fumonisin B₂ in 1 sample (1.0%). At least two samples showed the presence of 2 types of mycotoxins. Our study detected four types of mycotoxins (ochratoxin A, zearalenone, fumonisin B₁, and fumonisin B₂) for which no safety guidelines are set in the Korean Pharmacopoeia and Korean Herbal Pharmacopoeia. These results indicate the necessity to continuously monitor contamination levels of mycotoxins in herbal medicines.

Key words: mycotoxin, herbal medicine, chromatography

서 론

곰팡이독소는 *Aspergillus* 속, *Penicillium* 속 및 *Fusarium* 속 곰팡이가 생성하는 2차 대사산물이며, *Aspergillus* 속은 곰팡이독소인 aflatoxin, cyclopiazonic acid, ochratoxin, sterigmatocystin을 생성하고, *Penicillium* 속은 ochratoxin, patulin을 생성하며, *Fusarium* 속은 deoxynivalenol, fumonisins, zearalenone을 생성한다(Binder 등, 2007). 국제암연구소(International Agency for Research on Cancer)는 아플라톡신을 인간에 대한 발암성이 확인된 group 1등급으로, 아플라톡신 M₁, 오크라톡신 A, 푸모니신을 인간에 대해 발암가능성이 확인된 group 2B 등급으로 분류하고 있다. 푸모니신은 사람에게 식도암의 원인물질로 추정되고 있으며(Rheeder 등, 1992), 오크라톡신 A는 곡류, 커피, 포도 등에서 많이 발견되고 신장 독성이 있는 것으로 보고된다(Ahn 등, 2007; Yong, 2011). 옥수수 같은 곡류에서 주로 발견되는 것으로 알려진 제랄레논은 가축에서 성성숙전 증후군, 생식불능, 에스트로겐 활성을 나타내어 생식

기능에 영향을 끼치는 것으로 보고되고 있다(Kim 등, 2013; Seeling 등, 2005; Song 등, 2006).

곰팡이는 열에 약해서 고온으로 처리되면 대부분 사멸하나, 곰팡이독소는 열에 안정하여 한번 생성된 독소는 열처리를 통해 제거가 불가능하다. 또한 곰팡이독소와 같이 자연에서 유래되는 오염 물질은 저장, 유통과정에도 생성되므로 사전에 차단하거나 식품에서 완벽하게 제거하는 것은 사실상 불가능하다(Midio 등, 2001; Santos 등, 2009; Toth, 2012).

최근 건강에 관한 관심 증가로 약용식물은 차, 음료, 주류 및 각종 요리 등에 사용되어 소비가 증가하고 있고 재래시장, 마트, 온라인 등에서 쉽게 구입 가능하며, 일부 약용식물들은 세계 각국에서 수입되어 장기간 저장되거나 유통되고 있다. 고온·다습, 환기 불량 등의 열악한 보관환경에서 다양한 형태로 장기간 저장·유통되는 약용식물은 곰팡이독소에 대해 더욱 취약할 수밖에 없다.

곡류 및 가공식품은 곰팡이독소 11종에 대해 허용기준이 설정되어 관리되고 있다. 그러나 한약재로 관리되고 있는

Received 1 June 2023; Revised 17 June 2023; Accepted 29 June 2023

Corresponding author: Hwee-jae Lee, Jeju Special Self-Governing Province Institute of Health and Environment, 41, Samdonggil, Jeju-si, Jeju Special Self-Governing Province 63142, Korea, E-mail: hweej@korea.kr

© 2023 The Korean Society of Food Science and Nutrition.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

약용식물은 감초 등 21품목에 대한 아플라톡신의 허용기준만 설정되어 관리되고 있고(MFDS, 2012a, 2012b), 농산물로 관리되고 있는 약용식물은 육두구만 오크라톡신 A에 대한 허용기준이 있다(MFDS, 2023). 한약재로 관리되는 약용식물 21종 및 농산물로 관리되는 육두구를 제외한 약용식물은 곰팡이독소의 허용기준이 없는 상황이고, 관리되는 약용식물도 아플라톡신 위주의 허용기준만 설정되어 있어서 나머지 곰팡이독소에 대한 허용기준은 없는 실정이다. 약용식물에 대한 아플라톡신의 조사는 여러 연구를 통해 보고됐으나 오크라톡신 A, 제랄레논, 푸모니신 B₁, 푸모니신 B₂ 곰팡이독소에 관한 연구는 미비한 수준이다. 이에 본 연구에서는 유통 중인 약용식물에 대해 허용기준이 설정되지 않은 곰팡이독소인 오크라톡신 A, 제랄레논, 푸모니신 B₁, 푸모니신 B₂의 오염도를 조사함으로써, 약용식물의 곰팡이독소에 대한 안전성 확보 및 허용기준 설정 시 자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료

2021년 4월부터 9월까지 제주도 지역 재래시장 및 약초 판매점을 통해 유통되는 약용식물을 구입하여 분석하였다. 농림축산식품부에서 발행한 2019년 특용작물 생산실적에서 생산량 순위가 높은 약용식물을 대상으로 하여 구입하였고 부위별로는 근 및 근경류 52건, 과실류 17건, 잎류 12건, 전초류 11건, 피류 8건, 등록류 2건, 벼섯류 1건으로 총 103건의 약용식물에 대해 곰팡이독소 분석을 시행하였다.

방법

시약 및 정제용 칼럼 표준품은 ochratoxin A(Bipure), zearalenone(Sigma-Aldrich), fumonisin B1, B2 Mix(Bipure)를 사용하였으며, 시약은 메탄올(Fisher), acetonitrile(Fisher), formic acid(Fisher)를 사용하였다. 시료 정제는 ISOLUTE® Myco 60 mg/3 mL Tableless SPE Columns(Biotage)를 사용하였다. 표준용액은 구입한 표준품을 0.1% 개미산을 함유한 50% 메탄올 용액으로 1~20 µg/L의 농도가 되도록 5단계로 회석하여 조제하였다.

Table 1. The analytical conditions of LC-MS/MS for mycotoxins

	Parameters	Conditions
LC	Instrument	QTRAP 5500, SCIEX
	Column	OSAKA SODA C18 2.7 µm, 2.1 mm × 150 mm
	Column temp.	40°C
	Mobile phase	A: 0.1% formic acid in 5 mM ammonium formate/ water B: 0.1% formic acid in 5 mM ammonium formate/ methanol Gradient
	Flow rate	0.3 mL/min
MS/MS	Injection volume	2.0 µL
	Ionization	ESI Positive, Negative mode
	Collision gas	N ₂
	Source temp.	550°C

추출 및 정제

분석방법은 식품공전 방법을 그대로 사용하였다(MFDS, 2021). 검체를 분쇄하여 균질화한 후 2 g을 정밀히 달아 0.1% 개미산을 함유한 50% 메탄올 용액 20 mL를 가하고, 30분간 진탕기에서 추출한 후 3,700×g에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리한 액을 유리섬유여과지로 여과한 후 여액 3 mL에 물을 가해 총 15 mL가 되게 하여 추출액으로 하였다.

정제 카트리지는 아세토니트릴 2 mL를 초당 1방울의 속도로 통과시키고, 물 2 mL를 같은 유속으로 통과시켜 활성화한 후 추출액 5 mL를 주입하여 통과시켰다. 이어서 물 2 mL와 10% 아세토니트릴 용액 2 mL를 차례로 같은 유속으로 통과시킨 후 정제 카트리지 내에 남아 있는 용액을 완전히 제거하였다. 0.1% 개미산을 함유한 아세토니트릴 용액 2 mL와 메탄올 4 mL를 차례로 같은 유속으로 통과시켜 용출시킨 후 50°C에서 질소로 건조시켰다. 건조물에 0.1% 개미산을 함유한 50% 메탄올 용액 1 mL를 가하여 용해한 후 필터(PTFE, 0.2 µL)로 여과한 액을 최종 시험용액으로 하였다.

분석기기 조건

곰팡이독소 정량분석을 위해 liquid chromatography tandem mass spectrometry(QTRAP 5500, SCIEX)를 사용하였다. 조제된 표준용액과 시험용액을 liquid chromatography tandem mass spectrometry에 주입하여 머무름 시간과 면적을 비교하여 분석하였다. 기기의 분석조건은 Table 1과 같으며, 질량분석을 위한 성분별 특성이온은 Table 2와 같다.

결과 및 고찰

회수율

곰팡이독소 분석 회수율은 약용식물 중 예비분석 결과 곰팡이독소가 검출되지 않은 3개 품목[복분자(*Rubus coreanus* Miq.), 익모초(*Leonurus japonicus* Houtt.), 목단피(*Moutan Radicis Cortex*)]를 선정한 후, 품목별로 표준용

Table 2. Multiple reaction monitoring conditions of LC-MS/MS for mycotoxins

Mycotoxins	Ionization mode	MW	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	CE (V)	CXP (V)
Ochratoxin A	Positive	403.81	404.0	239.0, 102.0	37 (105)	16 (14)
Fumonisin B ₁	Positive	721.83	722.4	334.3, 352.3	61 (65)	12 (12)
Fumonisin B ₂	Positive	705.83	706.4	336.2, 318.3	61 (61)	12 (12)
Zearalenone	Negative	318.36	317.1	131.1, 175.0	42 (43)	8 (13)

Table 3. Average recoveries of added mycotoxins in herbal matrix (%)

Mycotoxins	Concentration of mycotoxin added	Rubi Fructus	Leonuri Herba	Moutan Cortex
Ochratoxin A	2 μg/kg	71.2	73.4	75.7
	20 μg/kg	69.4	71.8	76.1
	50 μg/kg	70.1	70.5	73.2
	Average	70.2	71.9	75.0
Fumonisin B ₁	2 μg/kg	81.5	81.1	79.8
	20 μg/kg	84.5	84.3	81.9
	50 μg/kg	83.2	80.4	79.1
	Average	83.1	81.9	80.3
Fumonisin B ₂	2 μg/kg	85.2	84.8	81.6
	20 μg/kg	87.4	85.9	82.1
	50 μg/kg	85.5	86.1	79.8
	Average	86.0	85.6	81.2
Zearalenone	2 μg/kg	87.4	88.8	91.9
	20 μg/kg	88.1	89.4	91.4
	50 μg/kg	86.8	85.8	89.9
	Average	87.4	88.0	91.1

Table 4. LOQ of mycotoxins

Mycotoxins	LOQ (μg/kg)
Ochratoxin A	1.5
Fumonisin B ₁	2.0
Fumonisin B ₂	2.0
Zearalenone	2.0

액을 첨가하여 곰팡이독소 모든 성분의 최종농도가 20 μg/kg이 되게 하였으며 시료 분석방법과 동일하게 3회 반복 처리하여 회수율을 측정하였다. 약용식물의 시료별 평균 회수율은 Table 3과 같다.

정량한계

정량한계(LOQ)는 S/N 비가 10대 1일 때의 농도를 기준으로 측정하였다(Table 4).

약용식물 중 곰팡이독소 성분별 검출 현황

제주 도내 유통 중인 약용식물 총 103건을 분석한 결과 10건(9.7%)의 시료에서 곰팡이독소 12건이 검출되었다. 곰팡이독소 성분별 검출 결과를 살펴보면 푸모니신 B₁이 5건(4.9%)의 시료에서 검출되어 가장 높은 검출률을 보였고 이어서 오크라톡신 A 4건(3.9%), 제랄레논 2건(1.9%), 푸모니신 B₂ 1건(1.0%)의 순으로 검출되었다(Table 5).

Table 5. The number of detected mycotoxins and detection range of mycotoxins in herb medicines

Mycotoxins	Number of detection	Detection rate (%)	Detection range (μg/kg)
Ochratoxin A	4	3.9	2.7~15.8
Fumonisin B ₁	5	4.9	8.2~51.0
Fumonisin B ₂	1	1.0	2.7
Zearalenone	2	1.9	12.5~15.7

약용식물별 곰팡이독소 검출 성분

곰팡이독소가 검출된 약용식물을 살펴보면 상백피(Mori Radicis Cortex)에서 오크라톡신 A(2.7 μg/kg)가 검출되었으며, 석창포(Acorus gramineus Sol. ex Aiton) 2건에서 제랄레논(15.7 μg/kg), 푸모니신 B₁(43.2 μg/kg, 51.0 μg/kg)이 검출되었다. 옥죽(Polygonati Odorati Rhizoma)에서 푸모니신 B₂(2.7 μg/kg), 황기(Astragalus membranaceus)에서 오크라톡신 A(3.7 μg/kg), 시호(Bupleurum falcatum)에서 오크라톡신 A(7.1 μg/kg), 오미자(Schisandra chinensis)에서 제랄레논(12.5 μg/kg), 푸모니신 B₁(41.3 μg/kg), 복분자(Rubus coreanus Miq.)에서 푸모니신 B₁(8.2 μg/kg), 구기자(Lycium chinense Mill.)에서 오크라톡신 A(15.8 μg/kg), 개질경이(Plantago camtschatica)에서 푸모니신 B₁(21.9 μg/kg)이 검출되었다(Table 6).

약용식물 분류별 곰팡이독소 검출률

약용식물은 해당 식물의 사용 부위에 따라 분류가 된다. 분류별 곰팡이독소 검출 현황을 살펴보기 위해 국내산 및

Table 6. The detected mycotoxins in herb medicines

Type of medicines	Mycotoxins	Detection amounts (μg/kg)
Mori Radicis Cortex	Ochratoxin A	2.7
<i>Acorus gramineus</i> Sol. ex Aiton (1)	Zearalenone	15.7
<i>Acorus gramineus</i> Sol. ex Aiton (2)	Fumonisin B ₁	43.2
	Fumonisin B ₁	51.0
Polygonati Odorati Rhizoma	Fumonisin B ₂	2.7
<i>Astragalus membranaceus</i>	Ochratoxin A	3.7
<i>Bupleurum falcatum</i>	Ochratoxin A	7.1
<i>Schisandra chinensis</i>	Zearalenone	12.5
	Fumonisin B ₁	41.3
<i>Rubus coreanus</i> Miq.	Fumonisin B ₁	8.2
<i>Lycium chinense</i> Mill.	Ochratoxin A	15.8
<i>Plantago camtschatica</i>	Fumonisin B ₁	21.9

Table 7. Detection rate of mycotoxins by classification of domestic herb medicines

Classification	Number of collected samples	Number of detected samples	Detection rate (%)
Radix	44	3	6.8
Fructus	16	3	18.7
Herba	12	1	8.3
Plant	11	—	—
Bark	6	—	—
Tuber	2	—	—
Mushroom	1	—	—

Table 8. Detection rate of mycotoxins by production country of radix herb medicines

Production country	Number of collected samples	Number of detected samples	Detection rate (%)
Domestic	44	3	6.8
Imported	8	3	37.5

수입산에 따른 검출률의 차이가 있으므로, 원산지에 의한 검출 영향을 배제하고자 국내산 약용식물에 대해서만 검출 경향을 살펴보았다. 과실류(Fructus)는 16건 중 3건(18.7%)에서 검출되어 가장 높은 검출률을 보였고, 이어서 엽류(Herba)는 12건 중 1건(8.3%)에서 검출되었으며, 근 및 근경류(Radix)는 44건 중 3건(6.8%)이 검출되었다. 전초류(Plant), 편류(Bark), 등목류(Tuber), 버섯류(Mushroom)에서는 검출되지 않았다(Table 7). 과실류의 곰팡이독소 검출률이 높은 이유는 과실류가 다른 부위에 비해 수분을 많이 함유하고 있어서 곰팡이 생성에 유리한 조건이기 때문인 걸로 추정된다. 근 및 근경류 또한 토양에 접촉되어 있으므로 습기, 곰팡이 등의 환경에 노출되어 곰팡이 생성이 쉽게 이루어졌기 때문으로 판단된다.

약용식물 원산지별 곰팡이독소 검출률

곰팡이독소의 약용식물 원산지별 검출률을 살펴보기 위해 약용식물의 분류별 검출률의 차이에 의한 검출 영향을 배제하고자 가장 많이 구입한 부위인 근 및 근경류에 대해서만 검출 경향을 살펴보았다. 수입산은 8건 중 3건(37.5%)에서 검출되었고, 국내산은 44건 중 3건(6.8%)에서 검출되었다(Table 8). 국내산에 비해 수입산 시료의 곰팡이독소 검출률이 높은 이유는 수입산 제품의 경우 수입 단계에서 장기간 저장에 의해 습도, 온도 등의 곰팡이 발생 환경에 더 많은 시간이 노출되었기 때문으로 추정된다.

요약

본 연구는 제주지역 재래시장 등에서 유통되고 있고 농림축산식품부에서 발행한 2019년 특용작물 생산실적에서 생산량 순위가 높은 약용식물 총 103건에 대해 곰팡이독소 4종

(오크라톡신 A, 제랄레논, 푸모니신 B₁, 푸모니신 B₂)의 검출 현황을 조사하였다. 약용식물 분류별 구입수는 근 및 근경류 52건, 과실류 17건, 엽류 12건, 전초류 11건, 편류 8건, 등목류 2건, 버섯류 1건이며, 구입시료 총 103건 중 10건(9.7%)의 시료에서 곰팡이독소 12건이 검출되었다. 곰팡이독소 성분별 검출 결과는 푸모니신 B₁이 5건(4.9%)의 시료에서 검출되었고, 오크라톡신 A 4건(3.9%), 제랄레논 2건(1.9%), 푸모니신 B₂ 1건(1.0%)의 순으로 검출되었다. 곰팡이독소가 검출된 약용식물을 살펴보면 상백피에서 오크라톡신 A(2.7 µg/kg)가 검출되었으며, 석창포 2건에서 제랄레논(15.7 µg/kg), 푸모니신 B₁(43.2 µg/kg, 51.0 µg/kg)이 검출되었고, 옥죽에서 푸모니신 B₂(2.7 µg/kg), 황기에서 오크라톡신 A(3.7 µg/kg), 시호에서 오크라톡신 A(7.1 µg/kg), 오미자에서 제랄레논(12.5 µg/kg), 푸모니신 B₁(41.3 µg/kg), 복분자에서 푸모니신 B₁(8.2 µg/kg), 구기자에서 오크라톡신 A(15.8 µg/kg), 개질경이에서 푸모니신 B₁(21.9 µg/kg)이 검출되었다. 국내산 약용식물의 분류별 곰팡이독소 검출 현황을 살펴보면 과실류(Fructus)는 16건 중 3건(18.7%)에서 검출되어 가장 높은 검출률을 보였고, 엽류(Herba)는 12건 중 1건(8.3%)에서 검출되었으며, 근 및 근경류(Radix)가 44건 중 3건(6.8%)이 검출되었다. 전초류(Plant), 편류(Bark), 등목류(Tuber), 버섯류(Mushroom)는 검출되지 않았다. 곰팡이독소의 약용식물 원산지별 검출률을 살펴보면 가장 많이 구입한 부위인 근 및 근경류의 경우 수입산은 8건 중 3건(37.5%)에서 검출되었고, 국내산은 44건 중 3건(6.8%)에서 검출되었다. 본 연구 결과 시중에 유통되는 약용식물에서 대한민국약전 및 대한민국약전외생약(한약) 규격집에 허용기준 미설정된 곰팡이독소 4종(오크라톡신 A, 제랄레논, 푸모니신 B₁, 푸모니신 B₂)이 검출되었음을 알 수 있었다. 그 검출량이 인체에 얼마만큼의 위험을 가하는 수준인지 알기 위한 위해 성 평가가 필요하리라 판단되며, 이를 위해서는 각 약용식물에 대한 정확한 섭취량 정보 조사가 추가로 이루어져야 할 것으로 보인다. 또한 약용식물의 생산, 유통, 저장과정 중 어느 곳에서 곰팡이독소 오염이 발생했는지 추가연구가 필요할 것이고, 이를 바탕으로 약용식물의 생산, 유통, 저장과정 중 곰팡이독소의 모니터링 시스템이 구축되어야 할 것이다. 마지막으로 곰팡이독소 허용기준이 미설정된 약용식물의 곰팡이독소 허용기준 설정을 위한 다각적인 연구가 필요하리라 판단된다.

감사의 글

본 연구는 제주특별자치도 보건환경연구원 연구사업의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Ahn SJ, Jeoung SY, Lim MS, et al. Canine renal failure caused by ochratoxin A and citrinin in the commercial dog food.

- J Vet Clin. 2007. 24:82-87.
- Binder EM, Tan LM, Chin LJ, et al. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. Anim Feed Sci Technol. 2007. 137:265-282.
- Kim YJ, Kim MR, Choi TS, et al. Monitoring of 7 mycotoxins in pork. Korean J Vet Serv. 2013. 36:303-309.
- MFDS. Food code. 2023 [cited 2023 May 2]. Ministry of Food and Drug Safety. Available from: <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC>
- MFDS. Food code – A general examination method. 2021 [cited 2021 Mar 5]. Ministry of Food and Drug Safety. Available from: <https://various.foodsafetykorea.go.kr/fsd/#/ext/Document/FC?searchNm=곰팡이독소&itemCode=FC0A691003004A700>
- MFDS. The Korean herbal pharmacopoeia. 2012a [cited 2023 May 2]. Ministry of Food and Drug Safety. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_207/view.do?seq=6065&srchFr=&srchTo=&srchWord=대한약전&srchTp=0&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&Data_stts_gubun=C9999&page=1
- MFDS. The Korean pharmacopoeia. 10th ed. 2012b [cited 2023 May 2]. Ministry of Food and Drug Safety. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_207/view.do?seq=6049&srchFr=&srchTo=&srchWord=대한약전&srchTp=0&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&Data_stts_gubun=C9999&page=1
- Midio AF, Campos RR, Sabino M. Occurrence of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in cooked food components of whole meals marketed in fast food outlets of the city of São Paulo, SP, Brazil. Food Addit Contam. 2001. 18:445-448.
- Rheeder JP, Marasas WFO, Thiel PG, et al. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in transkei. Pathophysiology. 1992. 82:353-357.
- Santos L, Marin S, Sanchis V, et al. Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain. J Sci Food Agric. 2009. 89:1802-1807.
- Seeling K, Dänicke S, Ueberschär KH, et al. On the effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and the feed intake level on the metabolism and carry over of zearalenone in dairy cows. Food Addit Contam. 2005. 22:847-855.
- Song HH, Kim J, Lee C. A review of mycotoxins from *Fusarium* species. Safe Food. 2006. 1(3):19-28.
- Toth D. Multi mycotoxin analysis. Safe Food. 2012. 7(4):8-17.
- Yong KC. Contamination and detoxification of ochratoxin A in alcoholic beverages. Master's thesis. Dankook University. 2011.