

가공식품 중 아크릴아마이드 분석

정형욱 · 박성국 · 최동미★

식품의약품안전청, 신중유해물질팀
(2007. 3. 7. 접수, 2007. 3. 26. 승인)

Determination of acrylamide in food products

Hyung-Wook Chung, Sung-Kug Park and Dongmi Choi★

New Hazard Chemicals Team, Korea Food & Drug Administration,
#231 Jinheung-Ro, Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, Korea

(Received March 7, 2006; Accepted March 26, 2007)

요 약: 고속액체크로마토그래피/질량분석기를 이용하여 가공 식품 중 아크릴아마이드를 분석하였다. 대상 식품은 감자칩 (6종), 프렌치후라이 (11종)으로 총 17종이었다. 시료를 균질화하여 3차 증류수로 추출하고 C₁₈ 및 혼합이온교환수지 카트리지를 이용하여 정제한 후 LC/MS/MS으로 분석하였다. 이동상으로는 0.1% 초산과 0.5% 메탄올을 함유하는 수용액을 사용하였으며, 대상물질의 특이이온을 ESI 질량분석기로 확인 및 정량하였다. 평균 회수율은 91~101%이었으며, 정량한계는 10 µg/kg이었다. 대상식품의 유형에 따라 검출 수준에 차이를 나타냈으며, 평균 검출수준은 감자칩은 0.71 mg/kg, 프렌치후라이는 0.34 mg/kg이었다.

Abstract: A selective analytical method of LC/MS/MS has been applied to determine the levels of acrylamide in food products. Food samples were 17 including 6 potato chips, and 11 french fries. The analysis of food samples includes extraction with DDDW, clean-up using C₁₈ and mixed ion exchange SPE cartridges and detection by liquid chromatography tandem mass spectrometry. The mobile phase was a mixture of 0.1% acetic acid and 0.5% methanol in water. The target ions were identified and determined by ESI mass spectrometer. The overall recoveries were ranged from 91% to 101% and the limit of quantitation was 10 µg/kg. Depending on food kinds, the levels of acrylamide were variable and the average was 0.71 mg/kg for potato chips, and 0.34 mg/kg for french fries.

Key words: acrylamide, food, LC/MS/MS

1. 서 론

아크릴아마이드는 무색의 백색결정으로 물에 잘 녹

으며 폴리머를 형성하는 성상으로 인하여 종이, 섬유 및 화장품 제조 시 응집제 등 산업계 뿐 만아니라 단백질 등 분리를 위한 전기영동 방법에 필요한 젤을 만드

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-380-1664 Fax : +82-(0)2-382-4892

E-mail: mechoi@kfda.go.kr

는 시약으로 실험실에서도 사용되고 있다.¹ 또한 2002년 4월 스웨덴의 SNFA(Swedish National Food Administration)의 발표에 의하면 전분함량이 높은 식품을 고온 처리하는 과정에서 아크릴아마이드가 생성된다고 한다.^{2,4} 실험동물에 이용한 아크릴아마이드의 독성평가에 의하면 장기간 다량 섭취 시 쥐에서 암을 유발시킬 수 있으며 유전독성이 발견되었으나 인체 발암 증거가 제한적이거나 부정확하고 실험동물의 발암증거는 충분하므로 국제암연구기관 IARC(International Agency for Research on Cancer)에서는 인체에 대해 발암 가능성이 있는(probably carcinogenic to human) 2A group으로 분류하고 있다.^{5,6} 따라서 고온에서는 실험동물에 암을 유발시킬 수 있으나 식품의 제조가공 중 생성되는 저수준에서는 암을 유발시킨다는 명확한 증거가 없으므로 일반 국민에게 위해를 줄 가능성은 현재 명확하지 않다고 할 수 있다. 그러나, 탄수화물이 많은 다양한 식품을 튀기거나 굽는 과정에서 자연적으로 생성되는 부산물인 아크릴아마이드는 식물성이며, 탄수화물은 많이 함유하고 있으나 단백질을 적게 함유하고 있는 식품군을 조리하거나 가공식품을 고온(120 °C 이상)의 열처리 공정에 노출시켰을 때 생성되므로 식품 중 검출 수준, 인체영향 등이 국제적으로 이슈화가 되고 있다.

식품 중 아크릴아마이드 생성에 있어 가장 중요한 전구물질은 식품의 색깔과 풍미를 주는 Maillard 반응에 필요한 식품 구성요소인 환원당 및 유리아미노기가 있는 아스파라긴이며, 이외에 아크릴아마이드 생성에 영향을 미치는 요인은 열처리 과정의 시간과 온도, pH, 식품 저장 조건이 포함된다.^{7,9} 특히, 감자의 경우 환원당을 함유하고 있으며 고온에서 기름에 튀기거나 굽는 프렌치후라이나 감자 칩 등으로 가공되므로 식품 제조가공 중 아크릴아마이드가 생성될 수 있다. 따라서 식품의 안전성을 확보하고 국민보건 증진을 위하여 식품 중 아크릴아마이드의 잔류실태 연구가 요구되고 있다.

감자칩, 프렌치후라이 등 가공식품 중 아크릴아마이드를 검출하기 위한 시험법으로는 LC/MS/MS¹⁰⁻¹²에 의한 분석법이 주로 사용되고 있으나 capillary zone electrophoresis¹³, GC/MS/MS¹⁴ 등을 사용하여 분석하기도 한다.

이에 본 연구에서는 아크릴아마이드를 검출하기 위하여 간편하고 보편적으로 사용할 수 있는 식품시료의 전처리 방법 및 LC/MS/MS의 분석조건을 최적화하고 감자를 이용한 가공식품에 대한 잔류실태를 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

2. 실험

2.1. 시약, 시액 및 기구

메탄올, 물, 2-프로판올, 개미산은 Merck Inc. (Darmstadt, Germany) 및 Sigma Chemicals (St. Louis, MO, USA)에서 HPLC급으로 구매하였고, 여과튜브(0.45 µm PVDF Maxi-spin filter tube)는 Alltech Associates (Deerfield, IL, USA)에서 구매하였다. SPE용 카트리지의 경우, C₁₈(octadecyl silica)이 200 mg(용량 6 mL) 충전되어 있는 Oasis HLB는 Waters Co. (Milford, MA, USA)에서 구매하였으며, SAX와 SCX가 200 mg(용량 3 mL) 충전되어있는 혼합 카트리지는 Bond Elut-Accucat는 Varian Co. (Harbor City, CA, USA)에서 구매하여 사용하였다. 표준물질인 아크릴아마이드는 Sigma Chemicals (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였고, 내부표준물질 ¹³C₃-아크릴아마이드는 Cambridge Isotope Lab (Andover, CA, USA)에서 구매하였다.

내부표준용액으로는 ¹³C₃로 치환된 아크릴아마이드 1 mg을 메탄올에 녹인 내부표준원액 일정량을 취하여 0.1% 개미산용액을 가해 200 ng/mL가 되도록 조제하였다.

시료 균질화를 위한 믹서기는 한국후지공업의 믹서기를 사용하였으며, 원심분리기는 Tomy Seiko 사의 MX-301 (Tokyo, Japan)을 사용하였다.

2.2. 기기

고속액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography)는 Shiseido Nanospace SI-2(Shiseido Fine Chemicals, Tokyo, Japan)을 사용하였으며 tandem mass spectrometry (MS/MS) 검출기는 Finnigan TSQ Quantum Ultra EMR (Thermo Electron Co., MA, USA)을 사용하였으며, C₁₈ 컬럼은 Aqua C₁₈(2×250 mm, Phenomenex, Torrance, CA, USA)를 사용하였다.

2.3. 실험방법

2.3.1. 대상물질 및 대상시료

아크릴아마이드(CAS No. 79-06-1)를 대상으로 하였다. 아크릴아마이드의 화학식은 C₃H₅NO이며 분자량은 71이다.

시중에 유통되는 감자칩 6건, 프렌치후라이 11건 등 총 17건을 채취하여 분석 전까지 냉동보관 하였다.

2.3.2. 시료 중 대상물질 추출

균질화한 시료 1g을 50 mL 폴리프로필렌 코니컬 튜브

에 넣고 내부표준용액 1 mL와 3차 증류수 9 mL를 가한 후 잘 혼합하여 진탕기에 넣고 180~200 rpm으로 20분 동안 추출한 후 원심분리기를 이용하여 9,000 rpm으로 30분 동안 원심분리하였다. 이후 원심분리하여 얻어진 물층 5 mL를 여과튜브에 옮기고 7,000 rpm으로 10분간 다시 원심분리하였다. 메탄올 3.5 mL와 물 3.5 mL로 활성화시킨 Oasis HLB SPE 카트리지에 여액 1.5 mL를 넣어 통과시킨 후 물 0.5 mL를 흘려버리고 물 1.5 mL로 용출시켰다. 메탄올 2.5 mL와 물 2.5 mL로 활성화시킨 Bond Elut-Accucat SPE 카트리지에 용출액 1.5 mL를 넣은 후 처음 0.5 mL를 버리고 이후 얻어진 1 mL를 액체크로마토그래프의 시험용액으로 하였다.

2.3.3. LC/MS/MS 분석

HPLC 컬럼은 C₁₈ 칼럼(2 mm id, 250 mm, 5 µm)를 사용하였으며 컬럼 온도는 35 °C이었다. 이동상으로는 0.1 % 초산과 0.5 % 메탄올을 포함하는 수용액을 사

용하였다. 시료는 20 µL를 주입하였으며 유속은 0.2 mL/min이었다. Post-column makeup은 1% 초산을 포함하는 2-프로판올을 50 µL/min로 하였다. 질량분석은 positive ESI(electrospray ionization)를 이용한 MRM (multiple reaction monitoring) 방식으로 아크릴아마이드는 m/z 72→55, ¹³C₃으로 치환된 내부표준물질은 m/z 75→58을 선택하였다. Sheath gas 및 auxiliary gas는 질소를 35 및 15 psi로 각각 사용하였다. Capillary 온도는 340 °C이었고 collision gas로는 아르곤을 사용하였으며 collision energy는 11~13 V이었다. 분석결과 머무름 시간에 의해 대상물질을 확인하였으며 피이크 면적법에 의해 정량하였다. 정량한계는 10 µg/kg이었다.

3. 결과 및 고찰

균질화한 시료를 3차 증류수로 추출하여 정제하고

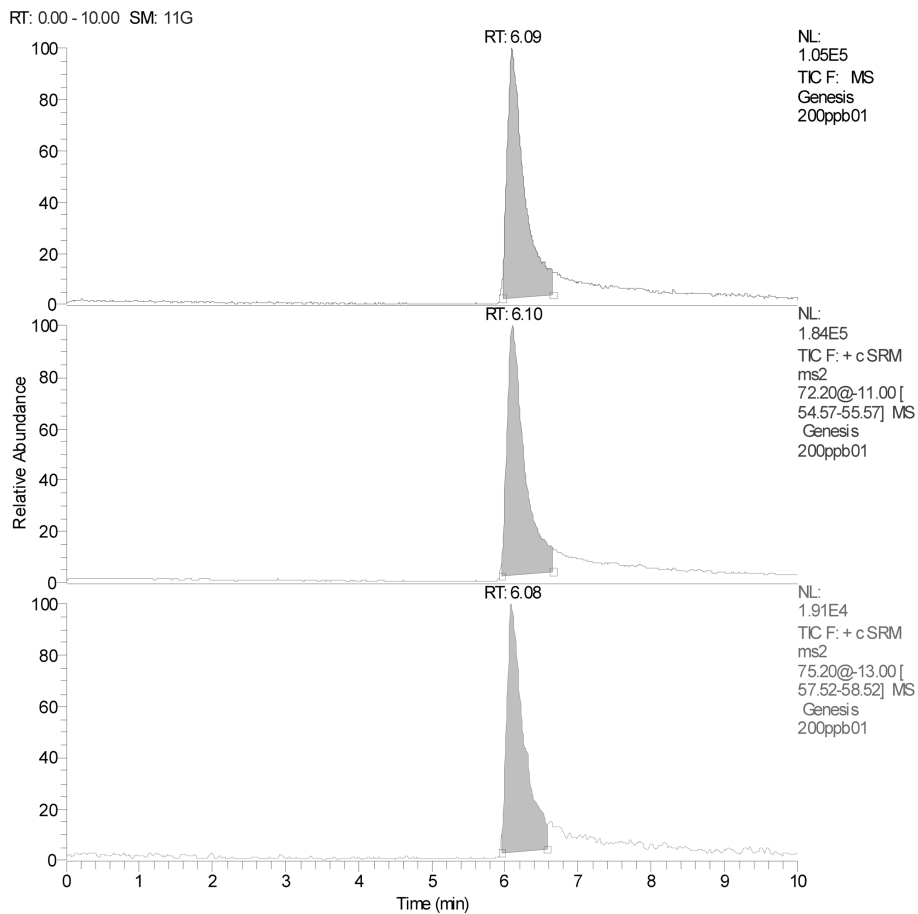


Fig. 1. Typical ion chromatograms of acrylamide standard for TIC (top), m/z 72→55 (middle) and m/z 75→58 (bottom).

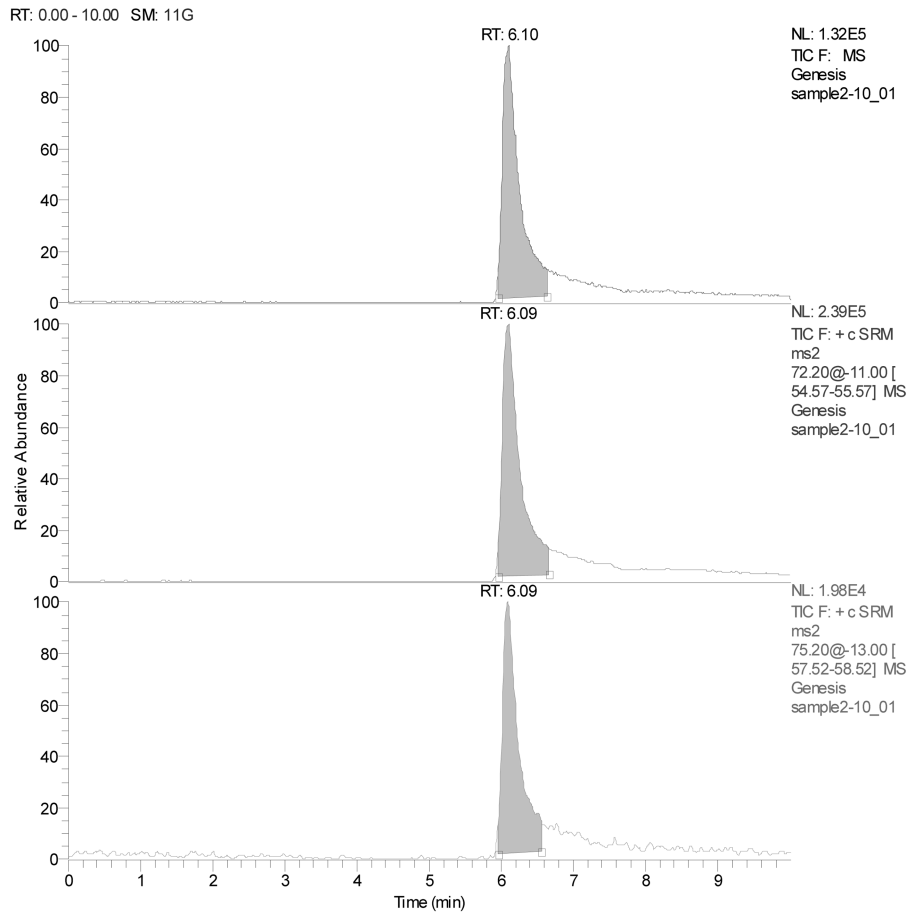


Fig. 2. Typical ion chromatograms of acrylamide in sample for TIC (top), m/z 72→55 (middle) and m/z 75→58 (bottom).

LC/MS/MS로 분석한 표준용액 및 시료에 대한 아크릴아마이드의 크로마토그램 및 질량 스펙트럼은 Fig. 1~Fig. 3과 같다. 아크릴아마이드는 분자량이 71인 비교적 작은 화학 물질로 극성이 높아 시료성분이 복잡한 식품에서 추출, 정제 등 전처리 과정에 시간이 많이 소요되므로 매우 노동 집약적이었다. 특히 감자 가공품인 감자칩이나 프렌치후라이의 경우 기름에 튀긴 식품이므로 유분, 탄수화물 등 방해물질이 분석에 매우 큰 영향을 주고 있다. 따라서 두 단계의 컬럼 정제 과정을 통해 정제를 함으로서 정제뿐만 아니라 농축 효과도 얻을 수 있었다. 또한 검출은 MRM을 이용한 MS/MS 분석법으로서 아크릴아마이드는 m/z 72→55, $^{13}\text{C}_3$ 으로 치환된 내부표준물질은 m/z 75→58을 각각 선택하여 확인 및 정량을 하였다. 검량선 작성을 위하여 표준물질 6개 농도범위(0.02, 0.04, 0.08, 0.10, 0.20, 0.40 mg/kg)에서 측정분석한 결과 Fig. 4에 나타난 바

와 같이 직선성을 보여주었으며 상관계수 r^2 는 0.9973으로 매우 만족할 만한 수준이었다. 검출한계는 신호 대 잡음비 3이상에서 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었고 정량한계는 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 식품 중 아크릴아마이드 분석에 적합한 수준이었다.

분석방법의 효율을 재고하기 위하여 시중에 유통되는 프렌치후라이(검출수준 0.18 mg/kg)에 표준물질을 0.20, 0.80 및 1.50 mg/kg 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 회수율을 얻었다. 회수율 측정 결과는 Table 1에 나타난 바와 같이 전체 회수율은 91~101%이고 CV는 7.3~11.1%이었다.

이와 같이 최적화된 분석방법을 식품시료에 적용한 결과 Table 2와 같이 대상식품의 유형에 따라 검출 수준에 차이가 있었다. 감자칩의 경우 검출수준이 0.54~0.93 mg/kg이었으며 평균수준은 0.71 mg/kg이었다. 프렌치후라이의 경우 검출수준이 0.12~1.14 mg/kg이었



Fig. 3. Typical mass spectra of acrylamide (top) and ¹³C₃-acrylamide (bottom).

Table 1. Recoveries of acrylamide in the spiked food samples

Spiked (mg/kg)	Fortified (mg/kg)	Found (mg/kg)	Recovery (%)	CV (%)
0.20	0.38	0.36	91	8.8
0.80	0.98	0.93	95	11.1
1.50	1.68	1.69	101	7.3

(n=3)

Table 2. Levels of acrylamide in the food samples

Food sample	Levels (mg/kg)		
	Min	Max	Mean
Potato chips (6)	0.54	0.93	0.71
French fries (11)	0.12	1.14	0.34

으며 평균수준은 0.34 mg/kg이었다. 이와 같은 검출수준은 국제식품규격 Codex, 미국 FDA 등의 연구결과

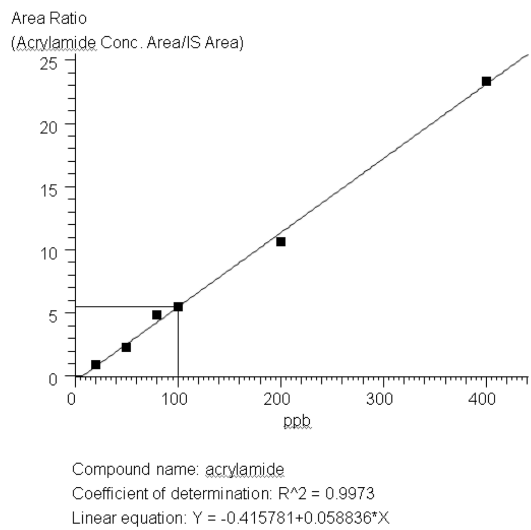


Fig. 4. Calibration curve for acrylamide by LC/MS/MS.

와 유사하거나 낮은 수준이었다.

식품 중 아크릴아마이드의 생성량은 식품구성 요소 및 조리가공 등의 온도와 시간 등에 따라 수준차가 크기 때문에 특정식품의 기준설정이나 섭취량의 권고는 어려운 실정이다. 따라서 우리나라를 비롯하여 WHO, Codex 등 국제기구나 미국 등은 기준규격을 설정하기보다는 효과적인 저감화 또는 제어방법 개발을 위해 구체적인 생성기전 연구에 집중하고 있다. 궁극적으로는 식품수준이 ALARA (as low as reasonably achievable)가 되도록 저감화되어야 한다고 권장하고 있다.

따라서 본 연구내용인 식품 중 아크릴아마이드를 분석하는 방법은 향후 아크릴아마이드 저감화 추이를 파악하고 유통식품의 안전성 확보를 위한 식품분석에 매우 유용하게 적용할 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. D. Taeymans, J. Wood, P. Ashby, I. Blank, A. Studer, R. H. Stadler, P. Gonde, et al. *CRC Review in Food Sci., Nutri.*, **44**(5), 323-347 (204).
2. D. Sharp, *Lancet*, **361** (2003).
3. E. Tareke, P. Rydberg, P. Kaylsson, S. Eriksson, M. Tornqvist, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4998-5006 (2002).
4. K. Svensson, L. Abramsson, W. Becker, A. Glynn, K.-E. Hellenas, Y. Lind, J. Rosen *Food. Chem. Toxicol.*, **41**, 1581-1588 (2003).
5. IARC, **60**, 389 (1994).
6. Report of a Joint FAO/WHO Consultation (ISBN 92 2 156218 8), 2002.
7. F. Pedreschi, K. Kaack, K. Granby, *Food Res. Int.*, **39**, 40-16 (2006).
8. T. Wieklund, H. Ostlie, O. Lothe, S. H. Knutsen, E. Brathen, A. Kita, *LWT*, **39**, 571-575 (2006).
9. S. Eriksson, P. Karlsson, *LWT*, **39**, 392-398 (2006).
10. <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrylami.html>
11. T. Wenzl L. Karasok, J. Rosen, K.-E. Hellenas, C. Crews, L. Castle, E. Anklam, *J. Chromatogr. A*, **1132**, 211-218 (2006).
12. C. Kim, E. Hwang, H. Lee, *Food Chem.*, **101**, 401-409 (2007).
13. E. Bermudo, O. Nunez, L. Puignou, M. T. Galceran, *J. Chromatogr. A*, **1129**, 129-134 (2006).
14. M. R. Lee, L.-Y. Chang, J. Dou, *Anal. Chim. Acta*, **582**, 19-23 (2007).
15. Y. Zhang, Y. Ren, H. Zhao, Y. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, **584**, 322-332 (2007).