

LC/ESI-MS를 이용한 Acrylamide의 정성확인 및 정량분석

박찬구 · 조성자 · 조남준 · 김민영 · 손종렬* · 문경환*

서울시보건환경연구원

*고려대학교 보건대학 환경보건과

Quantitative Analysis and Qualification of Acrylamide Using LC/ESI-MS

Chan-Koo Park · Sung-Ja Jo · Nam-Joon Chough · Min-Young Kim ·

Jong-Ryeul Sohn* · Kyong-Whan Moon*

*Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment,
Seoul 137-130, Korea*

**Department of Environmental Health College of Health Science Korea University, Seoul
136-703, Korea*

Abstract

Acrylamide, difficult to analyze by GC and GC/MS due to the polarity and low volatility, was analyzed by LC/ESI/MS in the study. Acrylamide its(molecular weight 71amu) showed $m/z=72$ $(M+H)^+$ and high peak intensity at 22V in SIR mode. The mass spectrum ratios of acrylamide for qualitative identification had $m/z=72$ in precursor ion and $m/z=55$ in products ion, respectively. Those ratios at 30V in SIR mode ranged from 1: 1.4 to 1:1.17 despite various acrylamide concentrations. The ion intensity ratios of acrylamide ($m/z=72$, $[M+H]^+$) to acrylamide isotopes ($m/z=73$, $[M+H]^+$) ranged from 100 : 3.57 to 100 : 3.92. The results verified theoretical mass spectrum ratio that was 100:3.82. The linearity of standard calibration curve was $y = 520.584x + 1815.26$ with $r^2=0.99$. In quality assurance and quality control, the recovery rate ranged from 81.64 percent to 90.97 percent and relative standard deviation was less than 10% with 5 repeated injections at individual standard calibration solutions. The method was applied to analyze acrylamide in food at grocery stores. Snacks made of potatoes showed the highest acrylamide concentration followed by products made of French fries, wheat, and corn.

Key words : Acrylamide, LC/ESI/MS, EDCs, Quantification, Qualification

I. 서 론

아크릴아마이드는 주로 접착제 제조, 합성수지,

합성섬유, 토양 훈증제, 염료 및 유기합성에 주로 사용되는 물질이다. 성분은 벤젠에서 얻어지는 백색 박편형 결정체로 일부 동물실험에서 악성 위종

양을 일으키는 것으로 알려지고 있다¹. 이 물질의 인체 위해성에 대해 EPA에서는 다이옥신과 같은 B2 그룹에, IARC에서는 사람에게 발암가능성이 있는 등급인 2A로 분류하고 있다. 이외에도 NTP, WWF, EU등의 국가나 기관에서 이와 유사한 등급으로 분류하고 있는 물질이다. 최근에 들어와서 스웨덴 국립식품청에서 감자튀김, 아침식사 대용곡물식, 구운빵 등에서 이 물질이 검출됐다고 발표하면서부터 국제적으로 관심을 받기 시작했으며, 영국, 노르웨이, 스위스 등에서도 이와 유사한 실험결과들이 발표되고 있다^{2,3,4}. 또한 미국 식품의약국(FDA)에서 미국 내에서 조리된 식품 중 상당수에서 이 물질이 함유되어 있음을 보고한바 있다⁵. 아크릴아마이드에 대한 관심이 국제적으로 부각되자 세계보건기구(WHO)에서는 아크릴아마이드의 유해성을 조사하기 위하여 전문가 회의를 소집하였으며, 이 회의에서 기름에 튀긴 탄수화물 식품에서 아크릴아마이드가 검출되지만, 현재 수집된 정보만으로는 기피식품으로 정할 단계는 아니며, 아크릴아마이드의 위험도를 구체적으로 측정하고 암 유발 위험을 줄이기 위한 추가적인 연구가 필요하다고 규정하였다⁶.

아크릴아마이드는 극성이 크고, 분자량(C_3H_5NO)이 71.09로 매우 작은 물질이다. 이러한 물리·화학적 특성 때문에 GC(GC/MS)나 LC(LC/MS)로는 분석이 곤란하다고 알려지고 있으며, 현재 이 물질의 분석은 주로 LC/MS/MS 방식이 보편적으로 사용되고 있다. 그러나 이 LC/MS/MS 기종은 워낙 고가의 장비로 대부분의 분석실에서 보유하기는 어려운 실정이다. 본 연구에서는 식품이나 화장품등에 함유되어 있는 아크릴아마이드 분석을 LC/MS(ESI)를 사용한 분석방법을 정립하고, 이 정립된 방법을 시판되고 있는 스펙류등의 식품에 적용하여 보고자 하였다.

II. 연구방법

1. 분석기기 및 시약

아크릴아마이드를 분석하기 위하여 사용한 분석기기는 Waters사의 2690 HPLC와 Micro Mass사의 Mass Selective ZQ 2000을 연결시킨 LC/MSD

에 Waters 2690 HPLC auto injector 및 controller를 연결하여 사용하였다. 아크릴아마이드의 추출을 위하여 JEIO TECH사의 SI-2000R 진탕기와 Beckman사의 고속 원심분리기를 사용하였다. 아크릴아마이드 표준시약(Aldrich Chemical Company, USA)은 분말제품으로 순도가 99%이상을 사용하였다. 입자상 시료를 제거하기위하여 Alletech사의 maxi filter -tube를, 시료의 정제와 농축을 위하여 Waters사의 MAX(Mixed mode Anion eXchanger) 카트리지와 HLB(Hypophilic Lipophilic Balance)카트리지를 사용하였다. 또한 실험에 사용된 초차는 초차 세척기(NEWMACTIC LA2)를 이용하여 2회 이상 세척하여 건고 시킨 다음 알루미늄 호일로 밀봉 하여 보관하였으며, 실험 직전에 사용용매(메탄올)로 다시 한번 세정하여 사용하였다. 기타 실험에 사용된 모든 시약과 추출용매는 잔류농약급 이상을 사용하여, 불순물이나 오염에 의한 측정오차를 최대한 감소시켰다.

2. 기기조건 설정

LC/MS는 이온화 방식에 따라 대기압 화학적 이온화 방식(atmospheric pressure chemical ionization, APCI)과 전기분무 이온화 (electrospray ionization, ESI)방식으로 나눌 수 있다. ESI 방식은 분석할 수 있는 분자량 범위가 넓으며, 전하를 띤 물질의 분석에 주로 이용된다. APCI 방식은 분자량이 작고 비극성을 갖는 환경물질 분석에 주로 사용된다. 본 연구에서 적용할 기기 방식은 그 대상물질을 알고 있으며, 질량이 71에, 극성을 띄고 있는 아크릴아마이드를 분석하고자 하므로 ESI 방식을 적용하였다. 또한 아크릴아마이드는 양 전하를 띄고 있어 LC/ESI-MS 중 positive ion mode 방식을 선정하였다. 이 방식을 적용하여 대상물질(M)을 분석하게 되면 H, NH_4 , Na, K가 첨가되어 $(M+H)^+$, $(M+NH_4)^+$, $(M+Na)^+$, $(M+K)^+$ 의 형태의 질량을 나타내게 된다. ESI 방식에서 나타나는 아크릴아마이드의 질량을 확인하기 위하여 아크릴아마이드 표준용액($0.1\mu g/ml$)을 $10\mu l/min$ 속도로 질량검출기에 직접 주입한 결과 m/z이 72인 $(M+H)^+$ 형태로 나타났다. 이 상태에서(tune page) 아크릴아마이드의 피크가 최대가 되도록 기기조건을 설

정하였다. 아크릴아마이드 분리에 사용한 칼럼은 극성물질이며, 질량이 작은 유기화합물의 분석에 적합하도록 고안된 C 18 계통의 Waters사의 Polarity™ dC18 column(2.1×150mm, 3μm)을 사용하였다. 이동상은 0.4% MeOH in 0.1% acetic acid를 사용하였다. 분석에 사용된 자세한 기기조건은 Table 1에 제시하였다.

Table 1. Operating conditions for LC/MS

	Activity	Condition
MS	•SIR@m/z	72
	•Dual@m/z	72, 55
	•Ion mode	ES ⁺
	•Cone(V)	Single Channel : 22V Dual Channel : 30V
	•source Temperature	120°C
	•Desolvation Temperature	350°C
	•Cone Gas Flow	25 L/hr
	•Desolvation Gas Flow	500 L/hr
	•Dwell Time	0.3
	•RF Lenz (V)	0.5
	•Capillary (KV)	3.5
	•Extractor (V)	3
LC	•Column	Atlantis™ dC18(2.1×150mm, 3μm)
	•Mobile Phase	0.4% MeOH in 0.1% Acetic Acid
	•Flow	0.2ml/min
	•Stop Time	10min
	•Column Temperature	30°C
	•Sample Temperature	20°C

3. 시료추출

현재까지 아크릴아마이드의 생성과정은 정확히 밝혀지고 있지 않으나, 자연 아미노산인 아스파라긴이 감자, 시리얼 그리고 설탕 등과 고온(100°C이상)에서 화학반응을 통하여 형성되는 것으로 알려지고 있다^{7,8,9}. Thierry¹⁰등에 따르면 이 반응은 다음 Fig. 1에 도시한 것과 같은 반응에 의해서 형성된다고 보고하고 있다.

WHO 자료에 따르면 특히 기름에 튀긴 탄수화물 식품에서 아크릴아마이드가 다량 검출된다고 밝히고 있어, 본 연구에서는 아크릴아마이드가 함유된 것으로 판단되는 식품중 시판되고 있는 감자

• Asparagine + Dextrose (Starch) at >180°C → Acrylamide

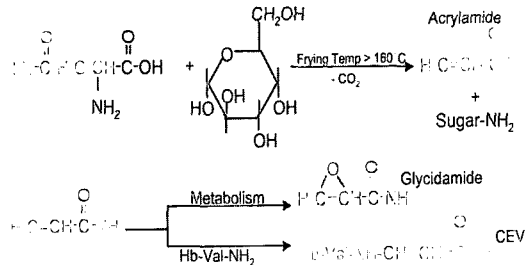


Fig. 1. Acrylamide is formed by the reaction of 2 naturally occurring GRAS food ingredients fried at high temperatures

튀김(French fries)과 감자, 옥수수 그리고, 밀을 원료로 사용한 스낵류를 대상으로 하였다. 각 시료에서 아크릴아마이드 추출은 FDA 시험 방법에 준하여 실험을 수행하였다. 선정된 시료를 블렌더를 사용하여 균질화시킨 후 이 중 1g을 취하여 증류수 10ml에 혼합하여 20분간 수욕조상에서 shaking 후 원심분리기(9000rpm, 5분)를 사용하여 원심분리하였다. 원심분리에서 얻어진 상층액을 다시 maxi-filter tube를 이용하여 9000rpm에서 5분간 원심분리하여 시험액 3ml를 취하였다. 이 액을 HLB (6cc 500mg) cartridge와 MAX(6cc 500mg) cartridge를 사용하여 정제 및 농축을 하였다. 이러한 과정을 거친 여액을 메탄올을 가하여 정확히 1 ml로 하여, 측정용 시료액으로 하였다. 이 추출과정과 LC/MS에 주입하는 단계까지의 과정을 Fig.2에 도시하였다.

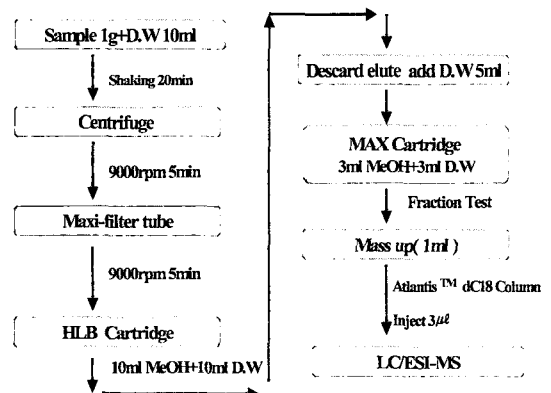


Fig. 2. Extraction Procedure for the determination of Acrylamide

III. 결과 및 고찰

1. 정성확인

1.1. 정량 확인용 Cone Voltage 선정

분자량이 71인 아크릴아마이드 표준용액(0.1 μ g/ml)을 10 μ l/min 속도로 질량검출기에 직접 주입한 결과 m/z 72인(M+H)⁺형태로 나타났으며, m/z 72가 최적화되도록 튜닝(tuning)을 통하여 기기 조건을 설정하였다. 이 조건에서 TIC 방식을 통하여 머무름 시간이 3.85 분임을 확인하였다. 정량 분석을 위한 cone voltage를 결정하기 위하여 LC/MS에 주입하는 아크릴아마이드 표준물질 양을 2ng으로 고정한 후 cone voltage만 변화(10~50V)를 주어 실험한 결과 피크 강도는 22V에서 최대로 나타났으며, 22V 전·후에서는 감소하다가 50V 이상에서는 trace 정도로 나타났다. 또한 이러한 차이를 질량 스펙트럼에서 확인하고자 동일한 조건하에서 TIC 모드로 확인한 결과 SIR 모드 결과와 동일하게 나타나 아크릴아마이드 정량 분석 시 최적의 cone voltage는 22V임을 확인할 수 있었다. 이 결과를 Fig. 3에 도시하였다.

1. 2. Precursor와 Products 이온 비를 이용한 정성확인

대상물질의 정성확인을 위한 가장 보편적인 방법은 스펙트럼 비를 이용하는 것이다. GC/EI-MS 방식에서는 70eV에서 설정된 library가 사용되기도 하지만, LC/MS에서 사용하는 EI 방식에서는 분석 방법의 차이(이동상등) 때문에 이러한 library가 설정되기는 사실상 어렵다. 따라서 대상물질의 정성확인을 하기 위하여 사용자가 library를 설정하는 것이 보편적 방법이다. 사용자 library를 만들고자 TIC 모드에서 cone voltage를 10V부터 50V 까지 5V 간격으로 단계별 변화를 주어, 아크릴아마이드의 ion spectrum 변화를 알아보았다. 이 결과 아크릴아마이드의 precursor ion 인 m/z 72[M+H]⁺는 22V에서 최대 강도를 나타낸 후 cone voltage 증가에 따라 점진적으로 감소되었다. 반면 cone voltage가 증가함에 따라 아크릴아마이드의 products ion인 m/z 55 ion은 22V 이하에서는 trace 정도의 강도를 나타내다가 이후 40V까지는 비례적으로 증가하였다. 그러나 50V 이상의 cone voltage에서는 급격히 감소하는 추세를 나타내었으며, 그

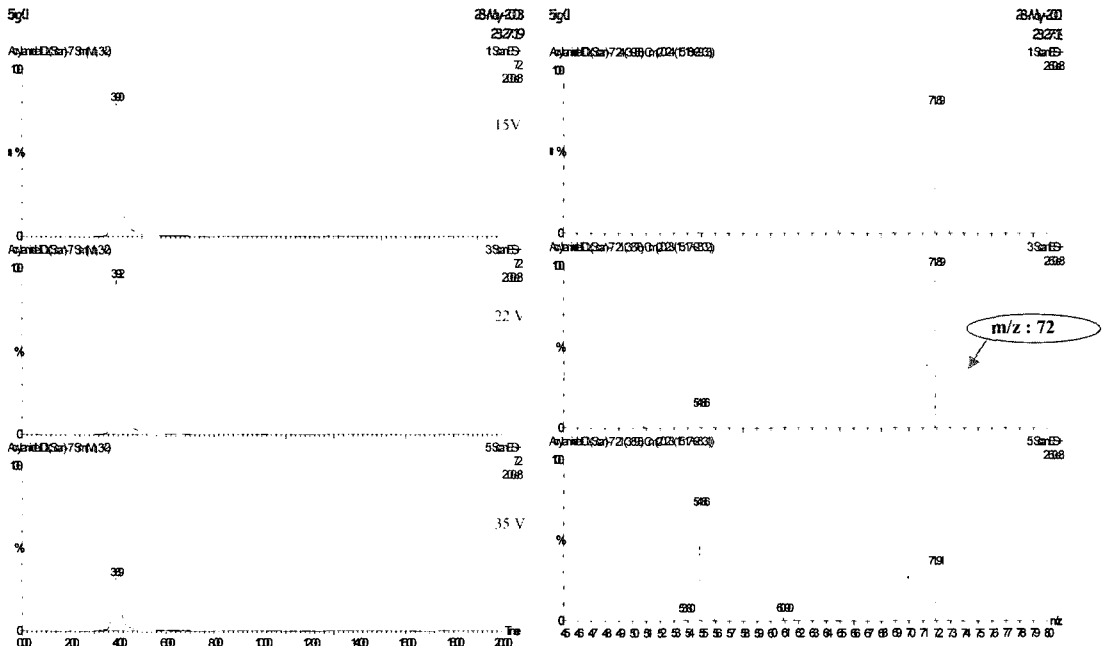


Fig. 3. Ion chromatograms at m/z 72 [M+H]⁺ according to cone voltage (15, 22 and 35V).

이상의 cone voltage에서는 precursor 와 products ion 모두 trace 정도의 강도를 나타내었다. voltage 변화에 따른 아크릴아마이드의 이러한 특성을 정량적 비로 확인하기 위하여 library를 설정하기 위한 적절한 products ion이 생성되는 30V로 고정시킨 후 농도를 단계적인 변화 (0.5~10ng)를 주어 분석한 결과 아크릴아마이드의 precursor ion m/z 72 와 products ion m/z 55는 농도 증가에 따라 비례적으로 증가하며, 또한 그 비율이 일정하게 나타나고 있음을 확인할 수 있었다. 즉 cone voltage가 일정한 범위(40V이하)에서는 농도 변화에 따라 precursor ion 과 products ion의 비는 변하지 않았다. 이러한 full scan mode에서 나타나는 precursorion과 productson의 비만으로도 분석하고자 하는 물질의 정성확인이 가능하다. 그러나 ppb 수준으로 존재하는 대상물질을 분석하기에는 감도가 낮은 full scan mode에서는 확인하기가 어렵다. 이러한 점을 고려하여 full scan mode에서 나타난 precursor와 products ion을 선정하여 SIR mode에서 분석한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4는 cone voltage를 30V로 고정한 후 아크릴아마이드 표준액 농도를 단계적(5단계)으로 증가시켜 precursor

와 products ion의 비 변화를 5회 반복하여 측정된 결과 그 비는 1 : 1.14~1.17 범위였으며, 상대표준편차는 10%이하를 나타내었다. 이러한 실험 결과는 아크릴아마이드의 정성확인에 이 방법을 적용하여도 큰 무리가 따르지 않음을 확인할 수 있는 결과라 할 수 있다.

1.3. Isotope를 이용한 정성확인

모든 물질은 물리·화학적 성질은 같으나 질량이 다른 동위원소를 갖고 있다. 분자량이 같더라도 구조식이 다르면 다른 동위원소를 갖게 된다. isotope MS나 HR/MS에서는 동위원소의 이러한 특성을 이용하여 대상물질의 정성확인에 많이 사용하고 있다. 본 실험에서는 아크릴아마이드 정성확인의 보조수단으로 이용하고자 분리능이 HR/MS에 비해 떨어지는 LC/ESI/MS에 이 방법을 적용하여 보았다. 아크릴아마이드(C₃H₅NO)는 탄소, 수소, 질소, 산소로 구성되어 있다. 탄소는 자연계 내에서 C¹²와 C¹³로 존재하며 그 비는 98.89%와 1.11%이며, 수소는 H¹와 H²로 99.985%와 0.015%, 질소는 N¹⁴과 N¹⁵이 99.64%와 0.86%, 산소는 O¹⁶, O¹⁷, O¹⁸가 99.76%, 0.04%,0.20%의 비로 자연계에 존재한다고 알려지고 있다. 이를 계산하면 아크릴

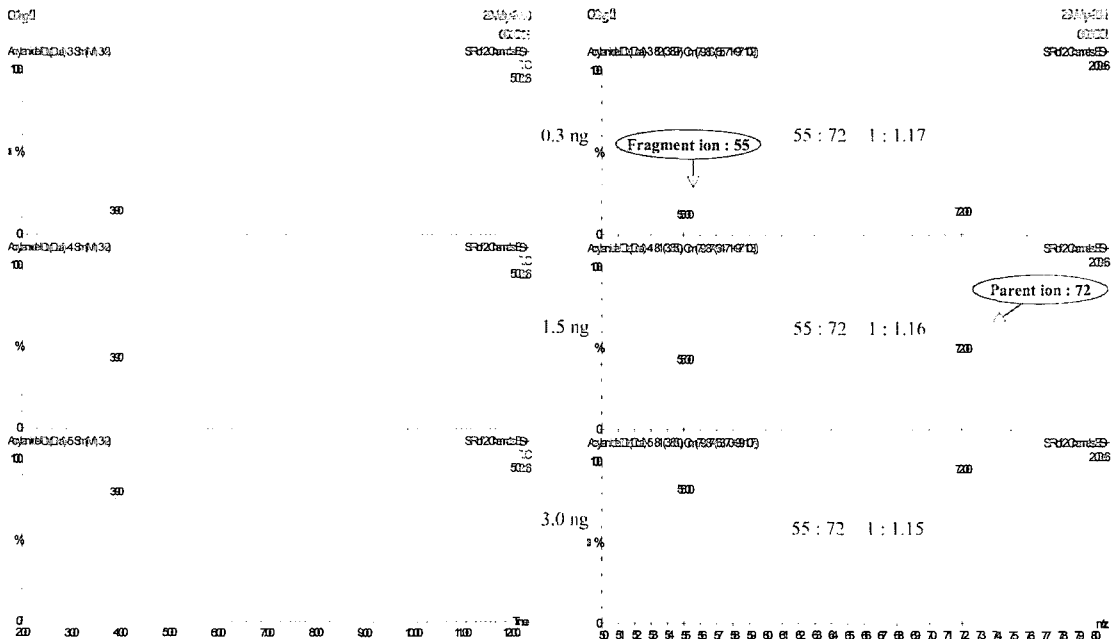


Fig. 4. Acrylamide spectrum intensity of each standard concentration.

아마이드의 질량은 71이며, 아크릴아마이드의 동위원소는 질량이 72의 형태를 대부분 취하는 것으로 계산되어진다. 이 아크릴아마이드의 동위원소는 LC/ESI/MS에서는 m/z 73([M+H]⁺) 형태로 나타났으며, 아크릴아마이드 m/z 72([M+H]⁺)와의 비는 72 : 73 = 100 : 3.82로 확인되었다. 아크릴아마이드 농도변화에 따라서 이 비가 어떻게 나타나는지를 확인하기 위하여 scan mode에서 voltage를 22V로 고정시킨 후 단계적으로 농도 변화(0.1ng ~ 10ng)를 주어 분석한 결과 농도변화에 따라 아크릴아마이드의 m/z 72[M+H]⁺와 Isotope m/z 73[M+H]⁺의 이온 스펙트럼 비는 농도변화에 따라 달라지지 않고, 그 비[100 : 3.76(1ng), 3.68(2ng), 3.80(10ng)]가 5회 반복실험에서도 일정(SD 10% 이하)하게 나타났으며, 또한 농도가 비교적 높게 나타난 실제 시료들에서 이 비는 100 : 3.48로 나타났다. 현재 일반적으로 통용되는 이론적인 비와 실제시료의 편차가 30% 정도(EPA등) 인 점을 감안한다면 본 실험이 큰 무리가 따르지 않은 실험임을 확인할 수 있었다. 그러나 저 농도(0.1ng 이하)영역에서의 편차가 30%를 자주 상회하며, 또한 이 기종을 사용한 이러한 정성확인 방법의 예가 적어 이에 대한 명확한 설정을 하려면 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

2. 정량한계 및 정도관리

추출이 끝난 시료의 정량은 각 농도 단계 별 상대반응계수(relative response factor: RRF)를 이용한 내부표준법으로 정량하였으며, 이에 사용된 치환한 정량용 내부표준물질은 13C3-labeled acrylamide를 이용하였다. 시료의 정량 확인에 필요한 검량선을 작성하고자 LC/MS/SIR mode에서 주입되는 아크릴아마이드 표준용액의 양이 0.02, 0.05, 0.15, 0.30, 1.50ng이 되도록 5단계의 시료를 만들

어 실험한 결과, 아크릴아마이드의 직선성을 나타내는 식은 $y=687.058X + 815.26$ 이었으며, r^2 는 0.99 이상을 유지하는 것으로 나타났다. 분석기기의 검출한계(instrumental detection limit : IDL)는 검량선 작성시 가장 하한 값인 20pg에서 S/N(signal to noise) 비는 8 이상을 나타내어 이를 이 실험의 기기 검출한계로 설정하였다. 정량한계(method detection limit : MDL) 는 일반적으로 S/N 비 10 이상으로 간주되고 있다. 본 실험에서는 치환된 정량용 내부 표준물질 13C3-labeled acrylamide 30pg을 실제 시료 (5회 반복)에 주입한 후 분석하였을 때 S/N 비는 20~30정도이었으며, 이때 상대 표준편차는 10% 이하를 나타내었다. 이 수준을 본 실험의 정량한계로 설정하였다. 이는 시료 1g을 취하여 추출한 최종액의 양이 1ml 정도일 때 이 용액 중에 아크릴아마이드 200ng이 포함되어 있는 양으로 시료 중의 아크릴아마이드 농도가 4ppb 이상 존재할 때 분석할 수 있는 수준이다. 이러한 방법으로 작성된 검량선을 Fig.5에, 각 농도 단계별 크로마토그램을 Fig.6에 나타내었다.

실험의 정확성을 기하고자 앞서 설정된 조건 하에서 표준시료의 회수율 검정과 반복재현성 등을 확인함으로써 아크릴아마이드 분석에 대한 정도관리를 수행하였다. 아크릴아마이드를 전 처리를 한 군과 전 처리를 하지 않은 군으로 나누어 각 방법 별로 5회에 걸쳐 회수율을 실험하고, 이를 외부표준법으로 정량한 결과들을 Table 2에 제시하였다. Table 2에서 보듯이 시료의 회수율은 81.64~90.97%로 나타났다. 시료 0.03ng을 제외한 모든 농도 단계에서의 상대표준편차 값은 10%이하로 나타나 일반적으로 허용하는 최대 상대표준편차가 30% (EPA, FDA등)인 점을 감안한다면 본 실험실에서 수행하는 추출방법은 상당히 양호한 것임이 확인되었다. 병행하여 나타낸 머무름 시간에 대한 상대표준편차는 1%이하로 나타나 선정된 컬럼의 분리능은 우수한 것으로 확인되었다.

Table 2. Result of Acrylamide QA, QC test

Std Conc. (ng)	Without treatment (A)				With treatment (B)				Rec(%) (B)/(A)
	Area	R.T	RSD		Area	R.T	RSD		
			Area	R.T			Area	R.T	
0.02	4914±421	3.85	8.56	0.21	4012±497	3.86	12.38	0.26	81.64
0.05	11702±474	4.05	5.20	0.27	10194±733	3.90	7.42	0.30	87.11
0.15	30343±2133	3.87	7.03	0.26	26540±1027	3.82	3.87	0.24	87.46
0.3	58806±2275	3.82	3.87	0.30	52281±2604	3.86	4.98	0.25	88.90
1.5	145236±5635	3.88	6.73	0.24	132129±4888	3.84	3.87	0.18	90.97

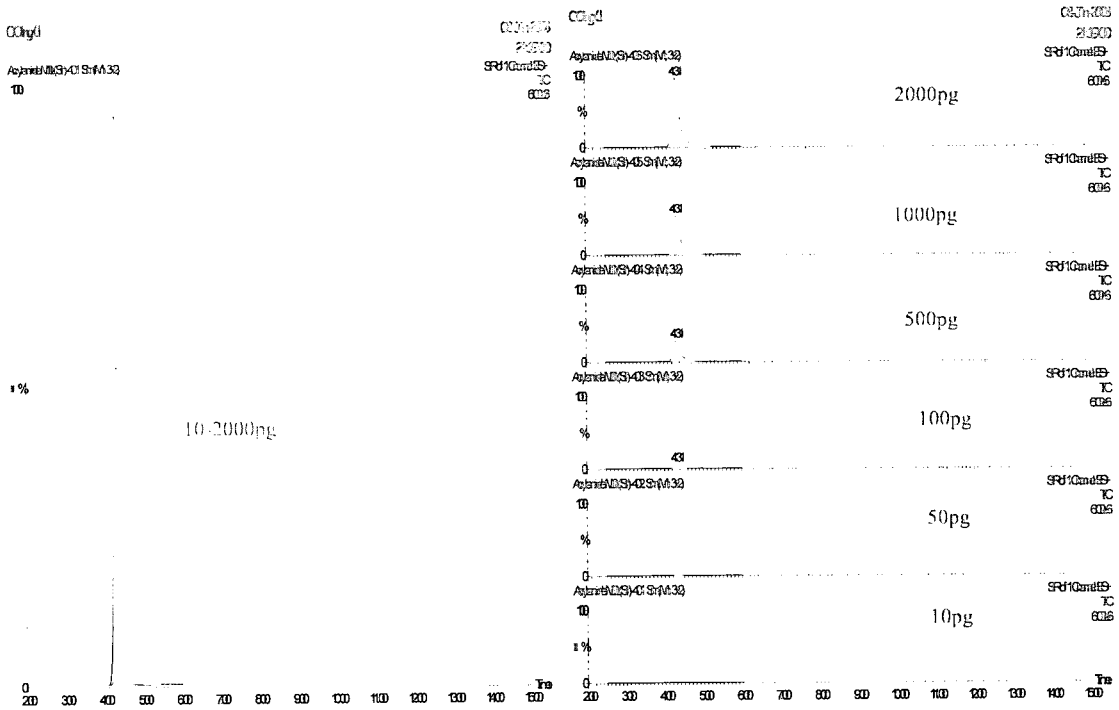


Fig. 5. Acrylamide standard chromatogram with pretreatment.

S.I.H.E.

02-Jun-2003
21:19:00

Compound 1 name: Acrylamide-4 Method File: Acrylamide-4
 Correlation coefficient: $r = 0.999698$, $r^2 = 0.999397$
 Calibration curve: $591.440 \cdot x + 6791.67$
 Response type: External Std, Area
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None

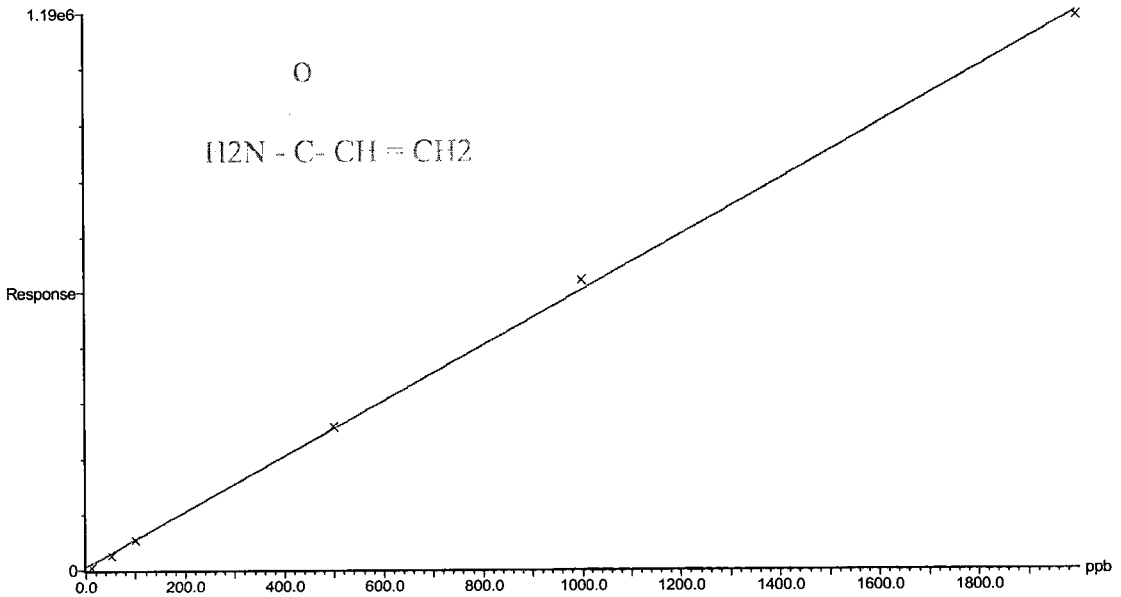


Fig. 6. Acrylamide calibration curve with pretreatment

3. 시료분석 결과

현재 시판되고 있는 식품중에서 아크릴아마이드가 함유되어 있을 가능성이 높은 감자튀김(French fries) 4종류와 감자(12종), 옥수수(6종) 그리고 밀(5종)을 원료로 사용한 스낵(crisps)류를 대상으로 선정하여 설정된 조건하에서 분석한 결과 Fig.7과 같은 결과를 얻었다. Fig.7은 분석 결과 중에서 농도별 대표성(가장 높은 농도, 중간 그리고 가장 낮은 농도)을 갖는 시료를 선정하여 나타내었다. 감자를 원료로 사용한 스낵류에서 81.85~165.87ppb 범위로 가장 높은 농도를 나타내었다. 다음으로 감자튀김(34.38~48.29ppb), 밀(11.54~30.94ppb)순으로 나타났으며, 옥수수를 원료로 사용한 제품에서는 1개 시료에서만 정량한계 이상농도인 15.13ppb를 나타내었다. 이러한 결과는 외국에서 조사된 자료들^{2,3,4,6})에 비하여 전반적으로 낮은 농도를 나타내고 있는데, Eden² 등이 연구한 결과와 국내 관련 기업연구소에 따르면 아크릴아마이드 농도는 제품원료, 생산 온도(감자를 원료로 사용 시 100℃에서 146ppb, 220℃에서 5,051ppb)그리고 제조공정에 따라 큰 차이가 발생한다고 보고한바 있어 이러한 원인에 기인된 결과일 가능성도 추정할 수 있었으며, 또한 감자튀김 같은 분석 시료는 상당기간 냉동 보관 후에 분석을 하여 이러한 결과가 도출되었을 가능성도 있다. 이에 대한 보다 명확한 규명을 하기 위해서는 좀더 많은 시료를 대상으로 한 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료되었다.

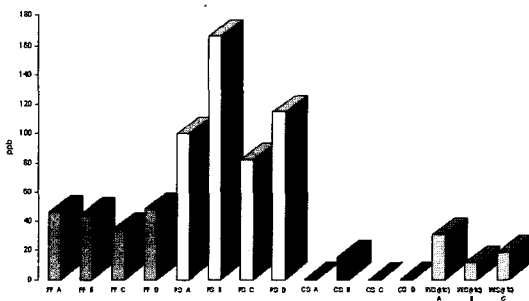


Fig. 7. Histogram of acrylamide concentration in french fries, potato crisp, cone crisp, wheat crisp (FF: french fries, PS: potato crisp, CS: cone crisp, WS: wheat crisp)

IV. 결 론

극성이 크고, 휘발성이 낮아 GC나 GC/MS로 분석이 곤란한 아크릴아마이드를 LC/ESI/MS 방식을 적용하여 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 아크릴아마이드를 분석하기 위하여 사용한 기기는 LC/ESI-MS(positive ion mode)를 사용하였으며, 분리에 사용된 컬럼은 C-18 계통의 Waters사의 PolarityTM dC18 column(2.1×150 mm, 3μm)을, 이동상은 0.4% MeOH in 0.1% acetic acid를 사용하였다. 시료에서 추출된 여액의 정제와 농축을 위하여 HLB와 MAX 카트리지를 사용하였다.
2. 분자량이 71인 아크릴아마이드는 LC/ESI-MS 방식에서는 m/z 72인(M+H)⁺ 형태로 나타났으며, m/z 72가 최적화되도록 tuning 작업을 한 결과 22V에서(SIR mode) 최대의 peak를 얻을 수 있었다.
3. precursor와 products ion 비를 이용한 정성확인용 library를 설정하고자 voltage와 표준용액을 단계적 변화를 주어 5회 반복 실험한 결과 30V에서 아크릴아마이드의 precursor ion m/z 72 와 products ion m/z 55 는 농도 변화에 관계없이 그 비는 1 : 1.14~1.17 범위를 나타내었으며, 상대표준편차는 5% 이하를 나타내었다. 동위원소 비를 이용한 정성확인에서는 아크릴아마이드의 동위원소는 m/z 73([M+H]⁺) 형태로 나타났으며, m/z 72([M+H]⁺)와의 이론적인 비는 72:73 =100:3.82로 확인되었다. 시료에 이를 적용 시 비교적 고농도 영역에서는 이러한 비가 상당히 일치하는 결과를 나타내었으나, 저농도(0.1ng 이하)영역에서는 표준편차 값이 30%를 자주 상회하는 결과가 나타나며, 또한 이러한 기준을 사용한 정성확인 방법의 예가 적어 이에 대한 명확한 설정을 하려면 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료되었다.
4. 정량확인을 위하여 아크릴아마이드 표준용액을 5단계로 만들어 검량선을 작성한 결과 y = 687.058X+815.26 이었으며 r²는 0.99 이상을 유

지하는 것으로 나타났다. 검량선의 가장 하한 값(검출한계)인 20pg (LC/MS 주입량)에서 S/N 비는 8 이상이었다. 치환된 정량용 내부 표준물질 13C3-labeled acrylamide 30pg을 실제 시료 (5회 반복)에 주입한 후 분석하였을 때 S/N 비는 20~30정도이었으며, 이때 표준편차는 10% 이하를 나타내었다. 이 수준을 본 실험의 정량한계로 설정하였다.

5. 본 실험의 정확성을 기하고자 회수율검정과 반복 재현성 등에 대한 실험 결과 시료의 회수율은 81.64~90.97%로 나타났으며, 각 농도 단계별 반복 (5회)실험결과, 상대표준편차 값이 10% 이하로 나타나 본 실험실에서 수행한 실험방법이 큰 무리가 따르지 않음을 확인할 수 있었다.
6. 설정된 분석조건하에서 시료를 분석한 결과 감자를 원료로 사용한 스낵류에서 81.85~165.87ppb 범위로 가장 높은 농도를 나타내었다. 다음으로 감자튀김(34.38~48.29ppb), 밀(11.54~30.94ppb)순으로 나타났으며, 옥수수류 원료로 사용한 제품에서는 1개 시료에서만 15.13ppb 정도로 검출되었다.

참고문헌

1. Mendel, F : Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A Review, 2003.
2. Eden T, Rydberg, P, Eriksson, S and Margareta, T, : Analysis of acrylamide a carcinogen formed in heated food stuffs. Food Chem., 50, 4998~5006, 2002.
3. Agric, J : Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. Food Chem., 51 : 4504~4526, 2003.
4. Johan, R and Karl-Erik, H, : Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Analyst, 127 : 880~882, 2002.
5. FDA, FDA Draft Action Plan for Acrylamide in food, 2002.
6. Summary Report, FAO/WHO consultation on the health implication of acrylamide in food, GENEVA, 2002.
7. Donald, S M, Bronislaw, L.W, and Andrew, T D, Acrylamide is formed in the maillard reaction. Nature, 419, 448~449, 2002.
8. Akio, Y, Yuuka, T, Matt, H, and Takayuki, S, Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems. J. Agric. Food Chem., 51, 3999~4003, 2003.
9. Tamio, M, 食品中のアクリル アミド 食衛誌, 43, 348~351, 2002.
10. Thierry, M and Marian, T, Acrylamide analysis using LC/MS/MS application, Overview, 2002.