식품산업과 영양 15(1), 27~30, 2010 Food Industry and Nutrition

산·학·연 논단

HPLC Mass Spectrometry를 이용한 참기름의 진위 판별법 연구

김 청 태

(주)농심 식품안전연구소

The Identification of Adulteration of Sesame Oils Using HPLC Mass Spectrometry

Cheong-Tae Kim

Food Safety Research Institute, NONGSHIM Co,. Ltd., Seoul 156-010, Korea

서 론

참기름은 참깨과(*Pedaliaceae*)에 속하는 열대 및 아열대성 초본식물인 참깨(*Sesamun indicum* L.)로부터 얻어지는 식물유로 항산화력이 강한 sesamin, sesamol, sesamolin 등을 함유하고 있어 노화를 억제하고 암 예방에도 유익한 것으로 알려져 있으며 불포화 지방산을 많이 함유하고 있어 영양학적으로도 우수한 기름이다. 특히, 독특한 맛과 향을 갖고 있어 음식의 풍미를 더해주는 전통식품으로 우리나라에서는 옛날부터 널리 사용되고 있다(1-4). 그러나 값싼 이종 오일혼합을 이용한 가짜 참기름의 수입 및 유통량이 증가함에 따라 식품의약품 안전청에서는 참기름 진위판별을 위한 법적 규격을 2006년에 제정 및 시행하게 되었다(8). 따라서 순수한 참기름에 유사한 값싼 기름을 혼합하여 유통시키는 가짜 참기름을 판별하기 위한 신속하고 정확한 그리고 그들의 혼합 비율까지도 명확하게 분석할 수 있는 분석법 확립이 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다.

기름의 진위를 판별하기 위한 연구들은 오래 전부터 GC나 GC/MS 등을 이용한 다양한 방법이 연구되어 왔다. 그러나 GC나 GC/MS를 이용하여 각종 스테롤의 함량을 측정하는 방법 및 가수분해 후 유도체화 시켜 지방산 조성 비율을 측정하는 방법 등은 복잡한 전처리 과정 등으로 인하여 분석시간이 길어 많은 양의 시료를 짧은 시간에 분석하기에는 어려운 점이 많은 것으로 나타났다. 그리고 기존의 GC나 GC/MS 분석방법 등을 응용하여 구성 지방산의 양과 비율로써 혼합 참기름의 진위를 판별할 수 있는 방법 중 하나로 특정 지방산인 linoleic acid와 erucic acid의 함량 차이로 진위를 판정하는 방법은 혼합유가 10% 이상 섞여 있을 때 가능한 것으로 나타났다. 또한 참기름의 특정성분인 sesamin을 측정하는 방법은 참깨의 원산지에 따라 그 함량의 범위가 다양하여 적용하기가 어려운 것으로 보고되고 있다(3). 최근에는 향기성분을 측정하여 참기름과 들기름의 혼합비를 규명하는 분석방법 및 전자코와 질량분석기를 이용한 분석방법 그리고 NIR 등을 이용한 많은 진위판별 방법이 개발되고 있다. 하지만 특정 향기 또는 냄새를 이용한 판별법은 유통 중에 다른 향이 혼입되는 경우, 원산지 및 재배조건에 따라 발생될 수 있는 특정 단일 지표물질의 농도가 변화되는 경우, 참기름의 향에 영향을 주지 않는 기름을 첨가 했을 경우에는 진위를 판별하거나 혼합 비율을 명확하게 판별하기에는 어려움이 있는 것으로 나타났다.

따라서 본 연구에서는 독특한 향을 함유하지 않은 이종 기름의 첨가, 특정 단일 지방산을 함유한 부산물 등을 함유한 저급 품질의 기름을 혼합했을 경우 뿐만 아니라 각종 어떤 기름이 혼합되어도 유도체화 등과 같은 전처리 방법 없이 정확하고 신속하게 분석할 수 있는 LC/MS를 이용한 혼합유 진위 판별 방법을 연구하였다.

재료 및 방법

시료

본 연구에 사용한 참기름, 옥수수기름, 콩기름 등은 서울 시내 마트에서 판매되는 제품을 구입하여 사용하였다.

시약 및 표준용액

분석에 사용한 dichloromethane과 acetonitrile은 HPLC용(Merck, Damstadt, Germany) 시약을 사용하였고, APcI의 최적 조건을 설정하기 위하여 tripentadecanoin (Supelco, Bellfonte, PA, USA)를 사용하였다.

혼합유 제조

순수한 기름을 포함하여 참기름과 옥수수기름 그리고

E-mail: kctmass@hanmail.net
Phone: 02-820-8131, Fax: 02-810-9047

참기름과 콩기름의 비율을 각각 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50%(v/v)의 비율이 되도록 혼합하여 분석 시료로 사용하였다.

LC/MS에 의한 분석

Tripentadecanoin을 이용하여 APcI의 이온화 최적 조건(Table 1, Table 2)을 설정한 후 각각의 시료를 dichloromethane에 300 ppm이 되도록 녹여 HPLC에 에 10 uL 주입하고 Develosil C30(L 250 mm, I.D. 4.6 mm) column으로 분석조건(Table 3)에 따라 분리한 후 TSQ-Quantum LC mass spectrometer(Theromofisher scientific, CA, USA)와 LTQ-Orbitrap mass spectrometer(Theromofisher scientific)를 이용하여 정성 및 정량분석을 하였다. TAGs 표준 시약을 모두 구입할 수 없었기 때문에 LTQ-Orbitrap MS를 이용하여 각 peak에 대한 TAGs를 정성분석하고 이때 얻은 High Resolution Mass Spectrum을 활용하여 TSQ-Quantum LC MS에서 정성 및 정량분석

Table 1. APcI conditions in TSQ Quantum mass spectrometer

Device parameters	Conditions
Discharge current	4.5 kV
Polarity	Positive
Vaporizer temperature	450°C
Sheath gas pressure	50 arb with nitrogen
Ion sweep gas pressure	5.0 arb with nitrogen
Aux gas pressure	5.0 arb with nitrogen
Capillary temperature	270°C
Tube lens offset	106
Skimmer offset	-7

Table 2. APcI conditions in LTQ Orbitrap Mass spectrometer

Device parameters	Conditions
Spray voltage	4.2 kV
Capillary temperature	200°C
Sheath gas flow rate	20 arb with nitrogen
Aux gas flow rate	12 arb with nitrogen
Sweep gas flow rate	10 arb with nitrogen
Mass range	100~1,200 *m/z*
Polarity	Positive
Resolution of mass spectra	60,000

Table 3. Conditions for HPLC analysis of TAGs in oils

Time (min)	Acetonitrile	Dichloromethane
0	90	10
10	80	20
50	40	60
55	30	70
60	90	10
70	90	10

할 수 있도록 활용하였다.

결과 및 고찰

TAGs의 Mass Spectrum

Triacylglyceride는 glycerol 1 분자에 3 분자의 지방산이 에스테르결합을 통하여 결합된 성분으로 그들을 구성하는 지방산의 종류 및 결합된 위치에 따라 영양학적 기능이 다른 것으로 알려졌으며 지방산의 결합위치를 보통 *SN1, SN2, SN3*로 나타낸다. 본 연구 결과 지방산의 위치와 구성하는 지방산의 종류에 따라 Full Scan Mass Spectrum의 fragment pattern이 다르게 나타남을 알 수 있었다. 특히 *SN1* 또는 *SN3* 위치에 불포화 지방산이 결합되어 있으면 molecular ion peak의 세기가 해당 위치에 포화지방산이 결합된 경우보다 크게 나타남을 알 수 있었다. 그리고 fragment ion의 종류와 이온 세기 비율을 이용하여 지방산의 종류와 개수를 예측할 수 있었다.

Triolein은 분자량의 정보를 얻을 수 있는 $[OOO+H]^+$ 이온 885.796 m/z가 상대적으로 크게 나타났고 fragment ion은 단일 이온으로 $[OO]^+$이온 603.538 m/z가 크게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 1).

Palmitoyldiolein에서는 분자량의 정보를 얻을 수 있는 $[POO+H]^+$이온 859.780 m/z가 나타났고 이온 형성의 가능성이 큰 $[PO]^+$ fragment ion 577.522 m/z가 $[OO]^+$ fragment ion 603.538 m/z보다 그 세기가 크게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 2).

Oleoyldipalmitin에서는 분자량의 정보를 얻을 수 있는 $[POP+H]^+$이온 833.764 m/z가 나타났으나, *SN1* 또는 *SN3* 위치에 포화지방인 palmitic acid가 결합되어 있기 때문에 이온 세기가 상대적으로 작게 나타났다고 사료된다. 그리고 이온 형성의 가능성이 큰 $[PO]^+$ fragment ion 577.522 m/z가 $[PP]^+$ fragment ion 551.506 m/z보다 그

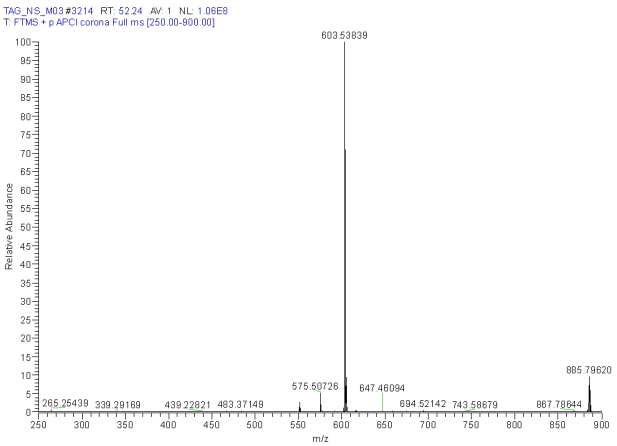

Fig. 1. Full scan mass spectrum of triolein.

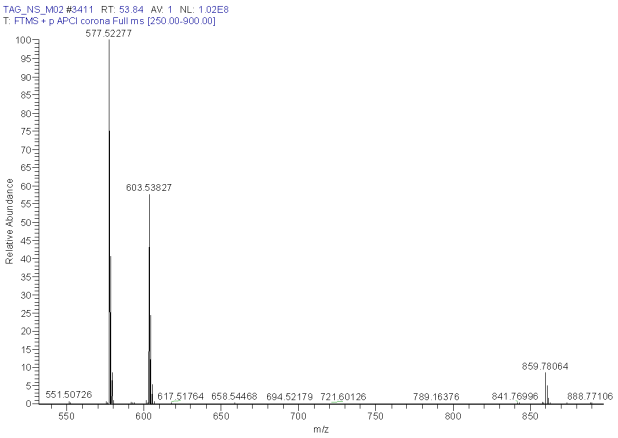

Fig. 2. Full scan mass spectrum of palmitoyldiolein.

세기가 크게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 3).

Stearoyldiolein에서는 분자량의 정보를 얻을 수 있는 $[OOS+H]^+$이온 887.811 m/z가 나타났고 이온 형성의 가능성이 큰 $[OS]^+$ fragment ion 605.553 m/z가 $[OO]^+$ fragment ion보다 그 세기가 크게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 4).

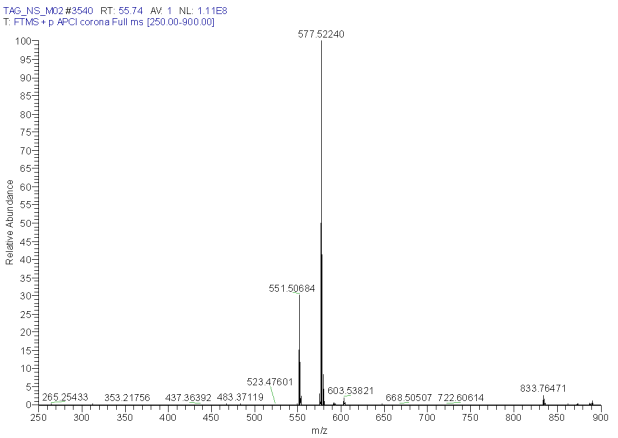

Fig. 3. Full scan mass spectrum of palmitoyldiolein.

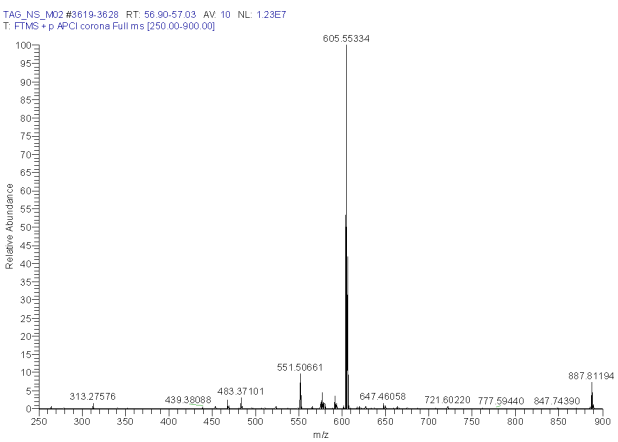

Fig. 4. Full scan mass spectrum of stearoyldiolein.

검량선 작성 및 진위반별 방법

감량선은 순수한 기름을 포함하여 참기름과 옥수수기름 그리고 참기름과 콩기름의 비율을 각각 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50(v/v)의 비율이 되도록 혼합하여 300 ppm이 되도록 dichloromethane에 녹여 분석하였다. 이때 얻어진 Total Ion Chromatogram에서 각각의 peaks를 분석한 결과 혼합 농도 변화에 대한 직선성의 특징을 갖는 이온 중 특징적인 5가지 이온 즉, trilinolein(879.747 m/z), palmitoyloleoyllinolenin(855.747 m/z), linoleoyldiolein (883.779 m/z), triolein(885.794 m/z), 그리고 palmitoyldiolein(859.774 m/z)를 선택하여 혼합 비율에 따른 면적과의 상관관계를 측정하였고 이를 이용하여 혼합유의 종류 및 혼합 비율을 확인할 수 있었다. Trilinolein과 palmitoyloleoyllinolenin은 옥수수 기름이나 콩기름의 혼합비가 증가 할수록 모두 증가하는 특징을 나타냈으나 linoleoyldiolein, triolein 그리고 palmitoyldiolein 등 3가지 이온들은 옥수수 기름이나 콩기름의 혼합비가 증가할수록 감소하는 특징을 나타내었다. 각각의 상관관계식은 Fig. 5와 Fig. 6에 각각 나타내었다. 이 결과는 기존의 GC나 GC/MS를 이용할 때 혼합유의 혼합 비율에 따라 나타나는 단일 지방산의 농도 비율 변화보다 더욱 뚜렷한 차이를 나타남을 알 수 있었다(3).

결 론

본 연구에서는 참기름의 진위 판별을 위하여 식품안전성 물질 규명 및 분석분야에서 최근 그 사용이 점차 늘어나고 있는 HPLC-MS와 HPLC-HR-MS를 이용한 방법을 연구하였다. 본 방법은 기존에 많이 사용되는 GC나 GC/MS 방법보다 유도체화 없이 신속하고 정확하게 혼합

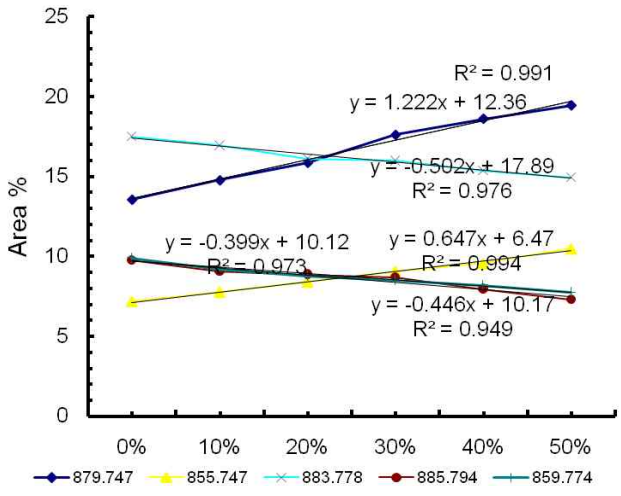

Fig. 5. The linear variation of TAGs according to the percentage of adulteration of sesame oil with corn oil.

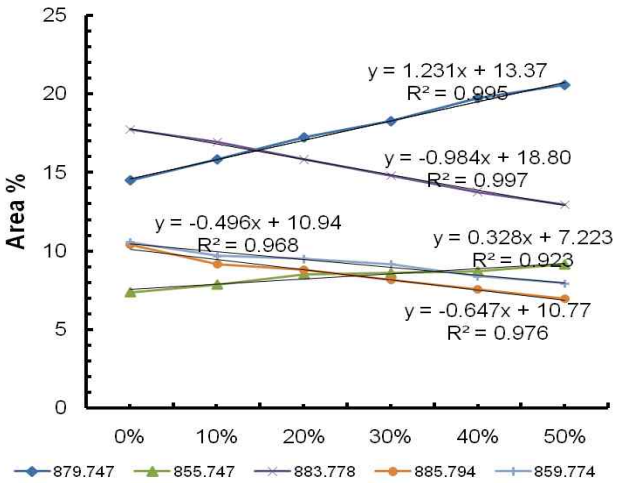

Fig. 6. The linear variation of TAGs according to the percentage of adulteration of sesame oil with soy bean oil.

유의 종류 및 혼합비를 판별할 수 있었으며 혼합 유종 및 농도에 따른 TAGs의 상관관계식은 개별 지방산 각각에 대한 상관관계식보다 유종판별에 더욱 적합하게 나타남을 알 수 있었다. 또한 LC/MS를 활용한 TAGs의 지방산 위치 및 그들의 종류에 대한 정보해석 방법은 구조지질 및 그들의 대사물질 연구뿐만 아니라 기능성 유지개발에 필요한 기술이라 사료된다.

참고문헌

1. Fukuda Y, Osawa T, Namiki M. Ozaki T. 1985. Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agr Biol Chem Tokyo* 49: 301-306.
2. Aruoma Ol. 1995. Assessment of potential prooxidant and antioxidant action. *J Am Oil Chem Soc* 73: 1617-1625.
3. 식품의약품안전청. 2004. 참기름의 진위판별법 및 유통구조 개선에 관한 연구.
4. 손희진, 강진희, 홍은정, 임채란, 최진영, 노봉수. 2009. 전자코-Mass spectormetry를 이용한 들기름이 혼합된 참기름의 판별분석. 한국식품과학회지 41: 609-614.