

GC-tandem mass spectrometry를 이용한 분쇄원두커피 중 PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbons) 분석법 연구 및 인체노출량 평가

정소영* · 박주성 · 손여준 · 최수정 · 이윤정 · 김미선 · 박소현 · 이상미 · 채영주
서울시보건환경연구원

Analysis of PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in Ground Coffee Using GC-tandem Mass Spectrometry and Estimation of Daily Dose

So Young Jung*, Ju Sung Park, Yeo Joon Son, Su Jeong Choi, Yun Jeong Lee, Mi Sun Kim,
So Hyun Park, Sang Me Lee, and Young Zoo Chae

Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment

Abstract The purpose of this study was to develop an analytical method for determining 15 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of EU priority using gas chromatography (GC)-tandem mass spectrometry (MS). The PAHs in ground coffee were analyzed after being extracted using methods such as saponification-liquid-liquid extraction, Soxhlet extraction, and solid-liquid extraction. The solid-liquid extraction method showed the greatest repeatability and most efficient reduction of the matrix effect. GC-tandem MS for the quantification of the 15 PAHs showed better resolution and lower limit of detections (LODs) than GC-MS-selected ion monitoring (SIM) and high performance liquid chromatography with fluorescence detector. LODs of this method for the ground coffee types were 0.002-0.1 µg/kg and limit of quantifications (LOQs) were 0.006-0.2 µg/kg. The recoveries ranged from 52.6 to 93.3%. Forty-six commercial types of ground coffee were analyzed to determine their PAHs contamination levels. PAHs concentration ranged from ND to 5.988 µg/kg. This study was conducted with toxicity equivalence factors, the U.S. EPA recommendation to identify dietary risks for PAHs in different types of coffee. The estimated average daily dose of PAHs was 5.24×10^{-8} mg/kg body weight/day.

Keywords: PAHs, GC-tandem mass, ground coffee, average daily dose

서 론

Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs)은 탄소와 수소로만 이루어진 둘 또는 그 이상의 방향족 고리가 결합되어 있는 화합물을 말한다. 사람이 PAHs에 노출되게 되는 경로는 다양하나 비흡연자의 경우 공기호흡과 식품을 통해 주로 노출되며, 그 이외에는 토양, 음용수등을 통해 노출된다(1-4).

EU의 SCF(Scientific Committee on Food)는 15종의 PAHs를 동물에서의 생체실험결과 돌연변이를 일으키거나 유전자변형을 일으키는 또는 발암력이 있는 물질로 규정하였고, 식품으로 하루에 섭취되는 benzo(a)pyrene의 양을 하루 6-8 ng/kg body weight/day 이하로 권고하고 있다(5).

식품 중 PAHs의 추출방법은 비누화분해 후 액체-액체 분배추출법(6,7), 식용유지, 음료 등 액상시료에서는 액체-액체 분배추출법(8,9)이 주로 사용되고, 그 외 고체시료는 분쇄 후 유기용매로

초음파 추출하는 고체-액체 추출법(10)이 이용되기도 한다. 추출 후 정제에는 GPC(Gel Permeation Chromatography)나(11) SPE(Solid Phase Extraction)이 주로 이용되고 있다.

SDB(Styrene-divinylbenzene copolymer) 카트리지는 충전물질과 PAHs의 π - π 결합 상호작용으로 결합력이 C_{18} 보다 더 강하여(12), 다른 카트리지보다 더 좋은 결과를 나타낸 보고가 있다(13,14). 이 방법은 충전제와 PAHs의 결합력을 이용하여 상대적으로 비극성인 지방 등의 방해성분을 용매로 세척해 줌으로써 정제한다.

탠덤질량분석법(tandem mass spectrometry, MS/MS)은 PAHs의 경우는 여러 개의 벤젠고리로 이루어진 안정적인 구조로 인해 fragmentation이 쉽게 일어나지 않으므로 GC-MS-SIM(Selective ion monitoring)과 비교하여 볼 때 획기적인 PAHs의 절대 감도 증가는 기대하기 어려우나 복잡한 시료의 방해성분들이 fragmentation 과정을 거치면서 사중극자(quadropole) filter를 한번 더 통과하여 PAHs가 선택적으로 검출되므로 바탕값이 안정되어 낮은 검출한계를 가질 수 있는 장점이 있다. GC-MS나 GC-MS/MS는 사용중 이온소스의 오염 등으로 인한 감도저하나 기기적인 오차를 보정하기 위해서는 내부표준물질사용이 필수적이므로 최근에는 내부표준물질로 분석물이 ^{13}C 나 2D 로 치환된 이성질체를 사용하여(15) 이런 단점들을 보완하고 있다.

또한 GC-MS/MS는 같은 머무름시간을 가지더라도 product ion이 상이하면 multiple reaction monitoring(MRM)에 의해 각각에 대한 분석을 할 수 있어 동시분석에 유용할 뿐 아니라 크로마토

*Corresponding author: So Young Jung, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Gwacheon, Gyeonggi 427-070, Korea
Tel: 82-2-570-3247
Fax: 82-2-570-3248
E-mail: syjung12@seoul.go.kr
Received January 17, 2011; revised May 24, 2011;
accepted August 4, 2011

그램 피크에서 정량이온들의 검출량비(ratio)를 통해 물질의 정성 확인이 가능하여 HPLC-FLD(Fluorescence detector)의 한계를 보완할 수 있다.

커피는 지방함량이 13.5%, 단백질 함량이 4.60%, 탄수화물이 63.7%로(16), 원두를 볶는 과정이 맛과 색, 향을 좌우하므로 필수적이지만 이 때 원하지 않는 화합물인 PAHs가 생성되기도 한다. 따라서 최근 커피를 볶는 과정에서의 PAHs생성에 관한 연구(17,18)와 그 분석법에 대한 연구들이 이루어지고 있다(19,20). GC-MS/MS 분석은 GC-MS에 비해 좋은 감도를 가지는 반면 이온소스가 쉽게 오염되므로 방해성분을 효과적으로 제거할 수 있는 전처리법 확립이 필수적이다.

본 실험에서는 EU의 SFC에서 설정한 15종의 PAHs 분석하는데 있어 GC-MS/MS를 이용하여 분쇄원두커피를 대상으로 기기 분석법과 전처리방법을 연구하였다. 또한 WHO와 U.S.EPA에서 설정한 상대독성계수를 근거로 TEQ값을 환산하여 실제 음용되는 원두커피의 PAHs 인체노출량을 계산하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

실험에 사용한 원두커피는 시중에 판매되고 있는 제품 46종을 대상으로 실험하였다. 표준물질인 benzo(a)anthracene(BaA), benzo(b)fluoranthene(BbFA), benzo(j)fluoranthene(BjFA), benzo(k)fluoranthene(BkFA), benzo(g,h,i)perylene(BghiP), benzo(a)pyrene(BaP), chrysene(CHR), cyclopenta(c,d)pyrene(CPP), dibenzo(a,h)anthracene(DBahA), dibenzo(a,e)pyrene(DBaEP), dibenzo(a,h)pyrene(DBahP), dibenzo(a,i)pyrene(DBaiP), dibenzo(a,l)pyrene(DBalP), indeno(1,2,3-c,d)pyrene(IP), 5-methylchrysene(5-MCH)은 Dr.Ehrenstorfer(Germany)사의 PAH-Mix 170을 사용하였고, 내부표준물질로 사용된 chrysene-D₁₂, perylene-D₁₂는 Supelco(USA)사의 semivolatle internal standard mix(Cat.no. 48902)를, indeno(1,2,3-c,d)pyrene-D₁₂는 Dr.Ehrenstorfer사로부터 구입하여 사용하였다. 초음파추출과 카트리지 정제에 사용된 아세토니트릴, 싸이클로헥산과 이소옥탄은 Fisher Scientific(USA) 제품을 사용하였고, 디클로로메탄은 Wako(Japan)사의 잔류농약분석용을 사용하였다.

정제에 사용된 카트리지는 Phenomenex(USA)사의 Strata-SDB-L Styrene-Divinylbenzene Polymer(100 µm, 260A)(1,000 mg, 6 mL)였다. Florisil은 Junsei(Japan)사 제품으로 130°C에서 12시간동안 활성화시킨후 데시케이터에 보관하여 사용하였다. 비누화에 사용한 수산화칼륨은 Junsei제품이었고 추출시 사용된 n-hexane과 에탄올, diethyl ether는 Fisher Scientific로부터 구입하였다.

장비

분석에 사용된 GC-MS/MS(Gas Chromatography tandem mass Spectrometer)는 Varian사의 450-GC와 320 Mass Detector, CombiPal autosampler를 사용하였다. 분석에 사용한 컬럼은 Varian사의 VF-5 MS Column(30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df)이었다. Soxhlet추출은 Gerhardt(Germany)사의 자동 장치인 Soxtherm을 사용하였다.

기기분석

Table 1의 기기분석조건으로 PAHs 15종의 혼합 표준용액을 먼저 scan mode로 분석하여 각각의 머무름시간과 질량스펙트럼을 확인하였다. 그 결과를 바탕으로 전구이온(precursor ion)(m/z)을 설정하여 collision energy(V)를 5-50 eV범위에서 5 eV 간격으로 달

Table 1. Analytical conditions of GC/MS

Parameter	Condition
Inlet. temp.	280°C
Transfer line temp.	280°C
Ion source temp.	240°C
Injection Volume	2 µL
Column flow	He, 1.0 mL/min
Column	VF-5 MS (30 m, 0.25 mmID, 0.25 µm df)
Oven temp.	10°C 10°C 150°C (2)---250°C(10)---280°C(30)

리하여 product ion 스펙트럼을 다시 확인하였다. 그 스펙트럼에서 precursor ion과 적합한 collision energy, quantitative ion을 설정하여 Collision cell pressure는 1.8mTorr 조건하에서 Table 2와 같이 분석하였다.

초음파 후 고체-액체 추출

분쇄커피 약 5 g을 conical tube에 정밀히 취하고 10 µg/kg 내부 표준물질 1 mL를 첨가하여 증류수 10 mL를 넣어 30분간 방치하였다. 추출용액으로 1:1 이소옥탄/싸이클로헥산 20 mL를 넣고 초음파로 30분간 추출한 후 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 원심분리된 상층액을 취해 색소성분을 제거하기 위하여 후로리실을 첨가하여 다시 원심분리 하였다. 후로리실양에 따른 제거 효율을 알아보기 위해 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 g로 달리 첨가하여 3000 rpm으로 5분간 원심분리 하고 상등액 전량을 SPE정제에 사용하였다.

비누화 후 액체-액체 분배추출

분쇄한 커피 약 10 g을 정밀하게 달아 1 M 수산화칼륨/에탄올 용액 100 mL를 등근바다 플라스크에 넣고 10 µg/kg 농도의 내부 표준물질 1 mL를 첨가한 후 환류냉각장치를 부착시켜 80°C에서 3시간동안 비누화 분해시켰다. 분해 후 환류냉각기에서 플라스크를 떼어 냉각시키고 다시 헥산 50 mL를 냉각기관을 통해 넣어주고 에탄올:헥산(1:1)용액 50 mL를 가해 분액깔대기로 옮겼다. 물 50 mL를 가해 10분간 진탕한 후 물층을 다른 분액깔대기에 옮겨 헥산 50 mL로 다시 10분간 진탕하는 과정을 2회 반복하였다. 헥산층을 모아 물 100 mL로 2회 세척한 후 무수황산나트륨과 1PS 여과지를 이용하여 탈수하고 40°C 이하에서 감압하여 약 2 mL 정도로 농축하여 카트리지 정제하였다.

Soxhlet 추출

Soxhlet 추출장치의 원통여지에 커피 약 5 g을 무게를 정밀히 측정하여 넣고 10 µg/kg 농도의 내부표준물질 1 mL를 첨가한 후 디에틸에테르 140 mL를 부어 Soxtherm을 사용하여 자동추출 하였다. 추출 후 후드에서 남은 에틸에테르를 제거한 후 남은 지방 성분 전량을 카트리지에 정제하였다.

정제

SDB-L 카트리지를 아세토니트릴 5 mL로 활성화 한 후 시료를 loading하고 1:1 이소옥탄/싸이클로헥산 15 mL로 카트리지를 씻어 주면서 지방성분을 제거한 후 20% 디클로로메탄 함유 헥산 12 mL 로 용출하였다. 질소농축기를 사용해 40°C 이하에서 용매를 제거한 후 디클로로메탄 1 mL로 정용하여 GC-MS/MS로 분석하였다.

Table 2. MRM acquisition conditions of PAHs in GC-MS/MS analysis

Segment	Analyte	RT (min)	Precursor ion >Quauantifier (m/z)	Collision Energy (eV)
1	Cyclopenta(c,d)pyrene	15.526	226>224	30
			226>226	5
	Benzo(a)anthracene	15.583	228>226	30
			226>226	5
	Chrysene-D ₁₂	15.693	240>236	30
Chrysene	15.739	228>226	30	
2	5-Methylchrysene	18.079	242>240	30
			242>242	5
3	Benzo(b,j)fluoranthene	22.348	252>250	30
			252>252	5
	Benzo(k)fluoranthene	22.501	252>250	30
			252>252	5
	Benzo(a)pyrene	24.238	252>250	30
Peryne-D ₁₂	24.643	264>260	30	
4	Indeno(1,2,3-c,d)pyrene-D ₁₂	29.146	288>286	30
			288>288	5
	Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	29.211	276>274	30
			276>276	5
	Dibenzo(a,h)anthracene	29.463	278>276	30
Benzo(g,h,i)perylene	30.486	278>278	5	
		276>274	30	
5	Dibenzo(a,l)pyrene	38.172	302>300	45
			302>302	10
	Dibenzo(a,e)pyrene	41.361	302>300	45
			302>302	10
	Dibenzo(a,i)pyrene	42.585	302>300	45
Dibenzo(a,h)pyrene	43.228	302>302	10	
		302>300	45	
			302>302	10

절대회수율(absolute recovery) 검토

분쇄원두커피 중 PAHs 절대회수율은 PAHs가 잔류하지 않은 것으로 확인된 시료 5g에 표준용액 20 µg/kg 1 mL를 첨가하여 위와 동일하게 실험하였다.

절대회수율은 표준물질과 내부표준물질을 바탕시료에 첨가하여 전처리를 거친 값과 시료전처리를 하지 않은 최종표준물질 피크높이를 비교하여 구하였다. 3회 반복하여 실험하여 평균값과 표준편차를 계산하였다.

원두커피 추출액으로의 이행계수

원두커피 46종 분석 결과 여러 종의 PAHs가 검출된 No. 14를 선택하여 실제로 우리가 마시는 커피추출액으로 어느 정도 이행되는지를 알아보기 위해 직접 추출하여 정량하였다. 분쇄원두커피 15 g을 전기커피메이커로 물 500 mL로 추출하여 이 추출액에 내부표준물질 10 µg/kg 1 mL를 첨가한 후 추출액 전량을 *n*-헥

산: 석유에테르(2:1) 200 mL로 2번 액체-액체 분배하였다. 층분리가 제대로 이루어지지 않을 경우 에탄올 50 mL를 조심스럽게 첨가하면서 분리하였다. 용매층을 모아 물 200 mL로 세척한 후 용매를 40°C 이하에서 2 mL 이하로 감압농축하여 그 잔류물을 위와 동일한 카트리지정제법으로 정제하였다. 실험은 3회 반복하여 평균값을 구하였다.

결과 및 고찰**원두커피중 PAHs 전처리 방법 비교 및 확립**

Fig. 1-2에 각 PAHs 별로 정량이온을 filtering한 MRM 크로마토그램을 나타내었다. 본 실험에서 사용한 기기분석 조건과 컬럼으로는 benzo(b)fluoranthene과 benzo(j)fluoranthene을 분리할 수 없어 두 PAHs의 합으로 나타내었다.

위의 실험방법에서의 전처리법을 비교한 결과, 비누화 분해 후 액체-액체 분배추출법과 soxhlet추출법의 경우 커피가 가지는 고유피크와 내부표준물질이 분리되지 않아 정량에 어려움이 있었고, SPE 카트리지 정제 후에도 방해물질을 완전히 제거하기가 어려웠다.

비누화 분해 후 액체-액체 분배추출법과 soxhlet추출 방법으로 전처리한 동일시료를 9회 반복해서 기기분석하여 얻은 머무름시간과 피크높이의 재현성을 benzo(a)pyrene과 dibenzo(a,l)pyrene의 피크로 구하였다. 상대표준편차값으로 알아본 결과, soxhlet방법의 경우, 머무름시간의 상대표준편차는 benzo(a)pyrene이 0.31%, dibenzo(a,l)pyrene이 0.54%였고 피크높이의 상대표준편차는 benzo(a)pyrene이 3.28%, dibenzo(a,l)pyrene이 18.36%였다. 비누화 분해 후 액체-액체 분배추출법으로 전처리한 시료의 경우 머무름시간의 상대표준편차는 benzo(a)pyrene이 0.03%, dibenzo(a,l)pyrene이 0.05%였고 피크높이의 편차는 benzo(a)pyrene이 4.04%, dibenzo(a,l)pyrene이 10.37%로 dibenzo(a,l)pyrene의 피크높이에 대한 편차값의 경우 일반적인 크로마토그래피에서 인정하는 RSD 값 5%를 초과하였다. Fig. 3에 초음파 후 고체-액체 추출법, 비누화 후 액체-액체 추출법, soxhlet추출법으로 전처리 한 후 기기 분석한 TIC를 나타내었다. 크로마토그램을 살펴보면 특히 머무름시간이 20분 이전에 많은 방해물질들의 피크가 관찰되는데, 이는 비누화 분해 후 액체-액체 분배추출법과 soxhlet추출법은 높은 온도에서 오랜 시간 가열함으로써 커피고유성분인 향이나 색소 등이 많이 추출되어 나오는데서 기인한 것으로 생각된다. 그 결과로 커피에서의 전처리 방법은 초음파 후 고체-액체 추출법이 가장 적합하다고 판단하여 시중 유통되는 커피의 PAHs 함량을 조사하였다.

원두커피를 초음파 후 액체-고체 추출법으로 실험했을 때 기기분석 시 방해가 되는 물질 중 색소성분의 제거를 위해 추출액에 후로리실을 첨가하였다. 첨가하는 후로리실의 양은 0.1, 0.3, 0.5 및 0.7 g으로 변화시켜 가면서 정제효율을 비교하였다. 그 결과를 보면 크로마토그램의 바탕값은 후로리실 첨가량이 증가할수록 안정되기는 하나, 0.5 g 이후부터는 회수율이 급격히 떨어지므로 0.3 g을 첨가하여 색소성분을 제거하였다. 위와 마찬가지로 전처리한 시료를 9회 반복 주입하여 benzo(a)pyrene과 dibenzo(a,l)pyrene의 머무름시간과 피크높이에 대한 RSD값을 전처리방법과 후로리실 첨가량에 따른 변화를 알아보고자 Fig. 4과 Fig. 5에 그 래프로 나타내었다. 머무름시간에 대한 상대표준편차는 고체-액체 추출법에서는 후로리실양이 증가함에 따라 감소하였고 soxhlet추출법에서 가장 큰 편차를 보였다.

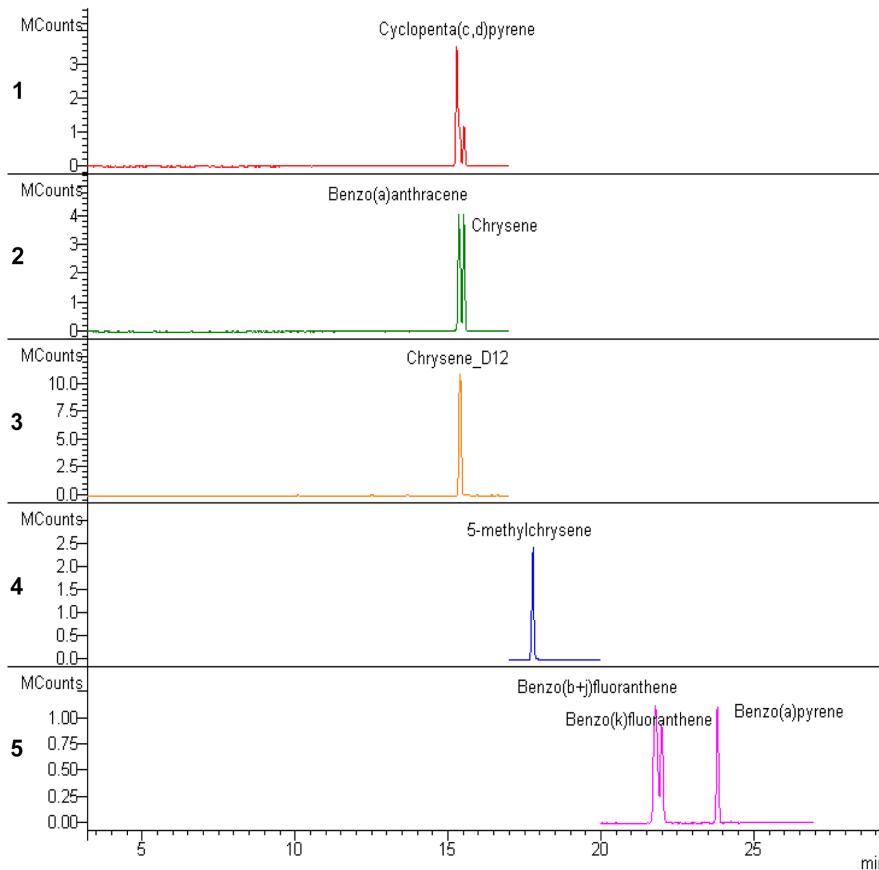


Fig. 1. MRM chromatograms of (1) cyclopenta(c,d)pyrene, (2)benzo(a)anthracene, chrysene, (3) chrysene-D₁₂ (4) 5-methylchrysene, and (5) benzo(b+j)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene obtained by GC-MS/MS (5 µg/kg).

절대회수율(Absolute recovery)

커피중 PAHs의 분석을 초음파 후 고체-액체 추출법으로 전처리 하고 GC-MS/MS로 분석한 회수율은 Table 3에서 보는 바와 같이 52.6-93.3% 로서 EU에서(21) 식품 중 PAHs 분석방법으로 인정할 수 있는 회수율 범위인 50-120%에 모두 적합하였다. 회수율 실험시 3회 반복실험으로 구한 상대표준편차는 3.0-15.2%로 Simon 등(22)의 연구에서 보고한 상대표준편차값인 0.7-20%의 범위와 크게 차이나지 않는 값으로 커피에서의 PAHs 분석에 있어 적합하다고 판단하였다.

검량선작성, 검출한계 및 정량한계

Table 1와 2의 조건으로 구한 기기분석 조건으로 내부표준물질이 10 µg/kg 수준으로 포함되어 있는 표준용액 0.5, 1, 5, 10, 20 µg/kg을 주입하여 내부표준법으로 검량선을 작성하였다. 검량선의 직선성과 R²값 그리고 본 연구에서 확립한 분쇄원두커피 중 PAHs 분석방법의 검출한계와 검량한계를 Table 4에 나타내었다. 검출한계는 S/N=3의 농도값으로 구하였고 정량한계는 S/N=10의 농도값으로 구하였다. 직선성을 나타내는 R² 값은 0.9763-0.9999로 dibenzo(a,h)pyrene을 제외한 14종의 PAHs들이 0.99 이상의 좋은 직선성을 나타내었다.

GC-MS/MS분석 시 PAHs의 기기상의 검출한계는 0.01-0.5 µg/kg로 기존 연구에서 보고된 HPLC-FLD의 검출한계와 비슷하거나 낮은 수준이었고 GC-MS/SIM에 비해서는 1/10-1/100 정도의 검출한계로 PAHs 분석에 있어 우수한 감도를 나타냈다.

시중 유통 원두커피의 PAHs 함량조사

시중에서 유통되고 있는 분쇄원두커피 46건을 대형마트, 백화점에서 구입하여 PAHs 함량을 조사하였다. 그 결과는 Table 5와 같다. 커피 중 PAHs의 농도는 15종의 총 합으로 불검출-5.988 µg/kg으로 검출되지 않은 커피는 8종으로 전체의 17.4%였고 총 PAHs의 평균농도는 1.117 µg/kg이었다. 15종 가운데 가장 독성이 높은 benzo(a)pyrene은 불검출-0.66 µg/kg이었고 평균농도는 0.071 µg/kg이었다. 다른 연구결과와 비교하면 원두와 인스턴트커피에서의 benzo(a)pyrene 함량은 0.01-1.2 µg/kg으로 조사된 바 있고(20), 원두커피는 볶는 온도에 많은 영향을 받아 260°C에서 20분간 볶을때는 12.67 µg/kg, 총 PAHs양으로 117.33 µg/kg까지도 검출되는 것으로 보고되고 있다(17-19). 따라서 본 실험대상으로 사용된 46건의 원두커피의 경우, 볶는 과정 중 생성되는 PAHs의 양은 안전하게 관리되고 있는 것으로 보인다.

인체노출량 평가

PAHs와 같은 이성체 화합물의 위해성평가는 상대독성계수 TEF(Toxic Equivalency Factor)를 정해 가장 독성이 큰 benzo(a)pyrene을 기준인 TEF=1로 하여 구하고, 식품 중 PAHs 함량에 TEF값을 곱한 TEQ(Toxic Equivalent)값을 이용하여 평가한다.

본 연구에서 함량조사를 실시한 분쇄원두커피의 PAHs 농도를 EPA에서 TEF가 설정되어 있는 8항목에 대해 TEQ값을 계산하고 분쇄원두커피에서 존재하는 PAHs가 우리가 마시는 원두커피로 어느 정도 전이되는지를 측정하기 위하여 농도가 높은 시료를 커

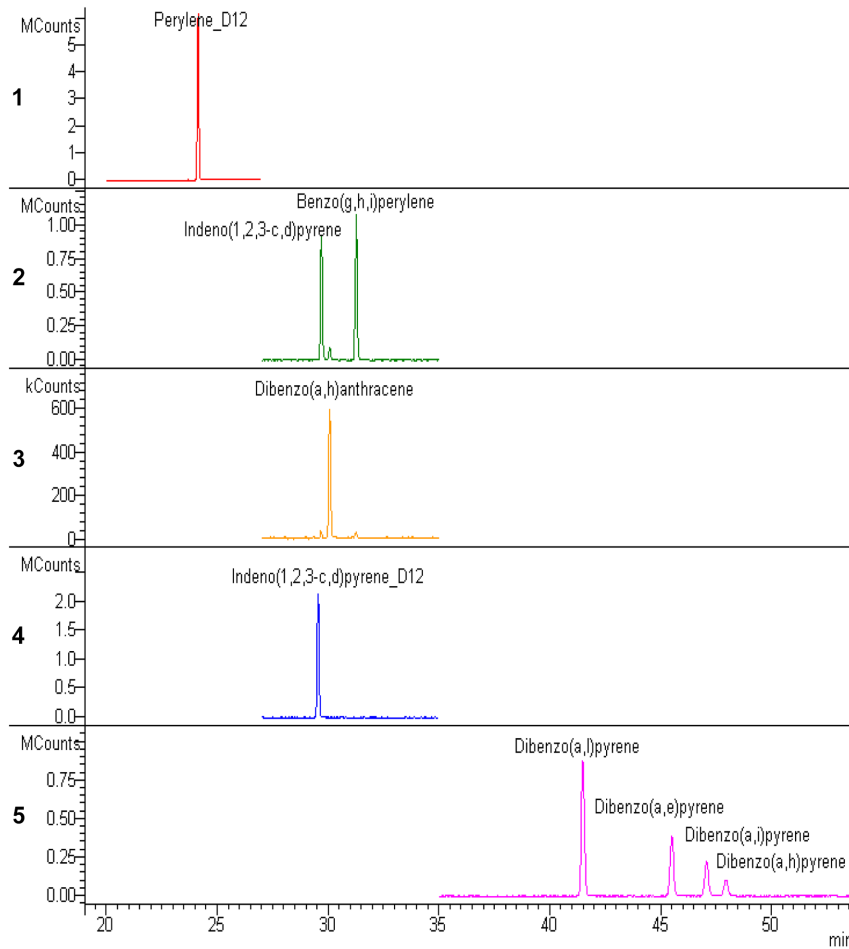


Fig. 2. MRM chromatograms of (1) perylene-D₁₂ (2) indeno(1,2,3-c,d)pyrene, benzo(g,h,i)perylene, (3) dibenzo(a,h)anthracene, (4) indeno(1,2,3-c,d)pyrene-D₁₂, and (5) dibenzo(a,l)pyrene, dibenzo(a,e)pyrene, dibenzo(a,i)pyrene, dibenzo(a,h)pyrene obtained by GC-MS/MS (5 µg/kg).

피메이커로 추출하여 분석하였다.

결과, 분쇄원두커피의 함량을 TEQ로 환산한 값은 0-0.797 ngTEQ/g이었고 평균 0.100 ngTEQ/g이었다. 그러나 우리가 실제 섭취하는 PAHs양은 추출한 원두커피 중 함량하므로 실제 마시는 원두커피로의 이행계수가 필요하므로 8종의 EPA PAHs항목이 가장 많이 포함되어 있는 시료 No.14를 대상으로 이행계수를 산출하여 그 결과를 Table 6에 표시하였다.

이 이행계수로 분쇄원두커피 중 PAHs함량을 마시는 원두커피 중 함량으로 환산해 다른 식품에서 기인되는 양과 비교하여 안전성을 검토해 보았다. 분쇄원두커피에서 검출된 양에 이행계수를 환산하여 계산한 커피 46건의 평균 TEQ는 0.017 ngTEQ/g이

었다. No. 14커피로 이행계수를 구하지 못한 Benzo(g,h,i)perylene 과 Indeno(1,2,3-c,d)pyrene의 오염도는 46건의 커피중 평균 검출 농도가 0.006 µg/kg와 0.001 µg/kg이며 TEF로 환산한 TEQ는 0.00006과 0.0001 ngTEQ/g이므로 무시할 만한 값으로 생각되어 나머지 이행계수를 구한 6종의 PAHs에 대해서만 계산하였다.

식품의약품안전청에서는 PAHs의 위해평가를 위해 식품중의 PAHs 오염도를 2001년-2005년동안 조사한 결과(23), 축산물이나 축산물가공품의 평균농도는 1.14 µg/kg, 식용유지에서는 3.29 µg/kg, 야채나 과일류에서는 0.19 µg/kg였다. 아울러 이런 오염도를 기초로 해서 인체노출량(mg/kg b.w./day)을 계산하였다.

식품 중 PAHs 발암평가를 위한 인체노출량(µg/kg b.w./day)

$$= \sum_{i=1}^n \left[\frac{\text{식품 } i \text{의 오염도}(\text{ngTEQ/g}) \times 1\text{일 평균식품섭취량}(\text{g/day}) \times \text{노출기간}(45\text{년})}{\text{체중}(60\text{kg})^{**} \times \text{평균수명}(73\text{년})^{***}} \right]$$

i 분석된 식품종류

*20-64세 평균식품섭취량(국민영양조사보고서, 2001)

**평균체중(한국표준과학연구원, 2000)

***한국인 평균 기대수명(생명표, 1999)

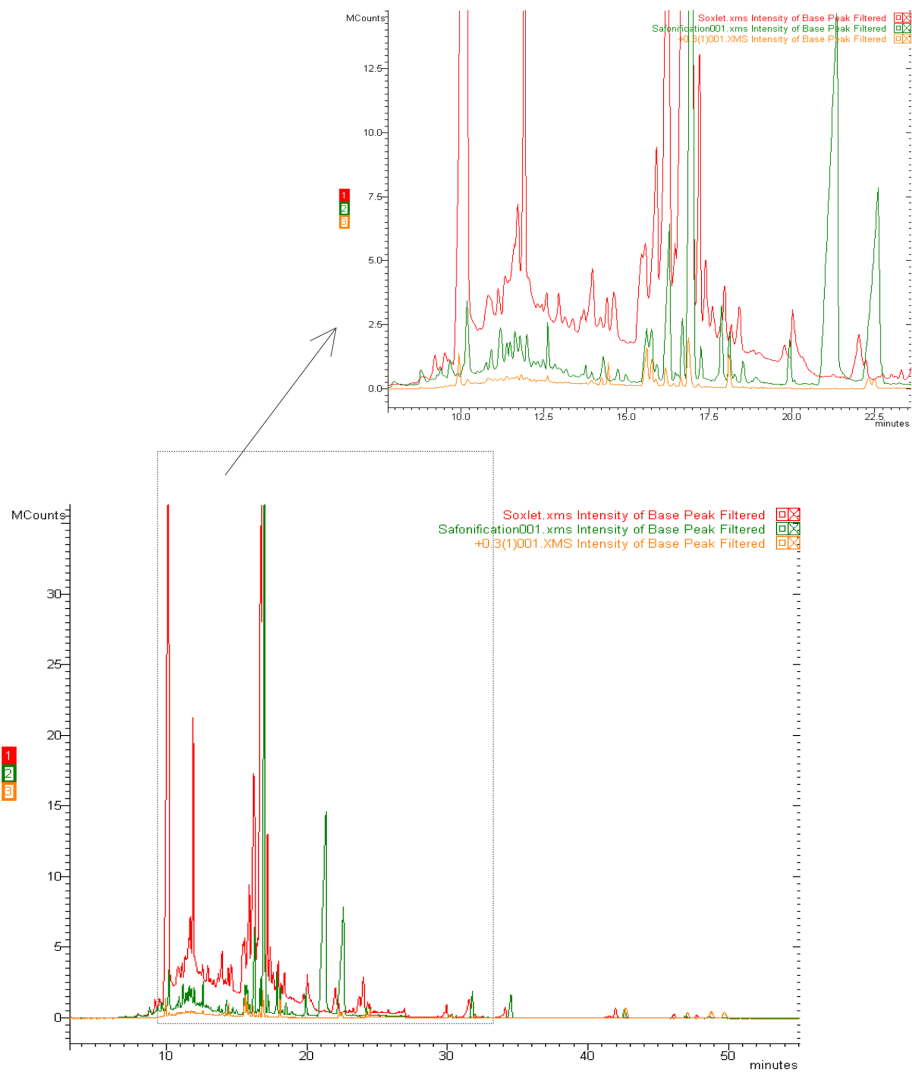


Fig. 3. Total ion chromatograms of PAHs in ground coffee with various methods ((1) soxhlet extraction, (2) saponification and liquid-liquid extraction, (3) solid-liquid extraction).

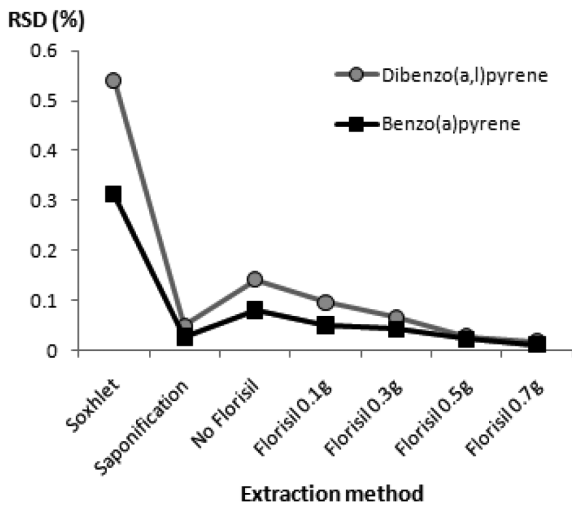


Fig. 4. RSD(%) of retention time according to various extraction methods.

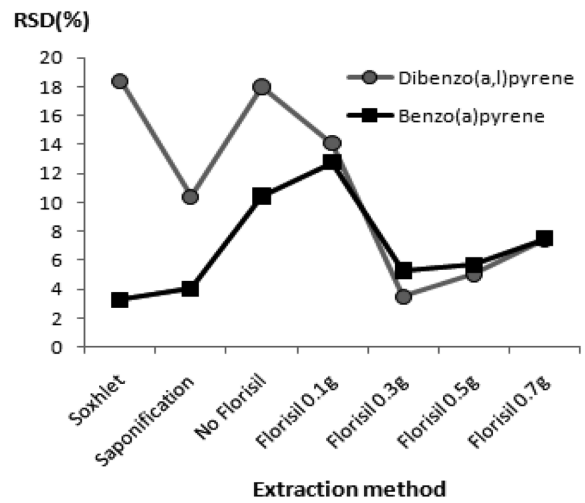


Fig. 5. RSD(%) of peak height according to various extraction methods.

Table 3. Absolute recoveries of 15 PAHs in ground coffee by solid-liquid extraction method (n=3)

Analyte	Recovery±RSD (%)
Cyclopenta(c,d)pyrene	66.4±10.7
Benzo(a)anthracene	79.4±13.9
Chrysene	83.4±15.2
5-Methylchrysene	64.4±9.5
Benzo(b+j)fluorancene	93.3±9.1
Benzo(k)fluorancene	62.8±4.6
Benzo(a)pyrene	64.4±5.1
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	62.7±6.1
Dibenzo(a,h)anthracene	62.6±3.5
Benzo(g,h,i)perylene	58.2±3.0
Dibenzo(a,l)pyrene	68.3±4.6
Dibenzo(a,e)pyrene	57.2±6.7
Dibenzo(a,i)pyrene	56.6±12.6
Dibenzo(a,h)pyrene	52.6±10.4

본 연구에서 추출한 원두커피 농도는 우리가 커피전문점에서 마시는 레귤러커피정도였고, 원두커피의 경우 국민영양조사보고서(2007년)에 기초한 1일평균식품섭취량의 자료가 없으므로 일반적으로 1회에 마시는 양인 300 mL를 기준하여 계산하였다. 원두커피 추출 시 사용한 커피농도는 15 g을 500 mL로 추출하였으므로 1회 300 mL 마셨다고 가정했을 때 인체노출량(average daily dose, mg/kg b.w./day)을 계산해보면 5.24×10^{-8} mg/kg b.w./day이다($0.017 \times 300 \times 45 / 60 / 73 \times 10^{-6}$).

이 양을 위의 식약정보고서에서 보고한 다른 식품에서의 인체노출량과 비교해보면, 숯불돼지고기구는 4.35×10^{-7} mg/kg b.w./day, 구운닭고기 1.35×10^{-7} mg/kg b.w./day, 햄버거 2.47×10^{-8} mg/kg b.w./day, 콩기름 1.53×10^{-8} mg/kg b.w./day, 마늘 3.55×10^{-9} mg/kg b.w./day 등으로 숯불돼지고기구나 구운 닭고기에서 기인되는 PAHs의 노출량보다는 적었지만 햄버거나 콩기름, 마늘 등의 야채류에서 기인되는 값보다는 큰 값이었다. 이는 원두커피 300 mL를 매일 마신다는 가정하에 계산된 값으로, 원두커피는 젊은이들 사이에서 기호식품으로 자리잡고 있으며 소비량도 개인에 따라 편차가 큰 식품이다. 현재 우리나라에서 benzo(a)pyrene

의 규격은 식용유지에서 $2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 설정되어 있고 훈제어육 식품, 어류, 패류 등에 설정되어 있으나 커피에 대해서는 기초자료가 미미한 실정이다. 따라서 앞으로 원두커피의 benzo(a)pyrene 및 발암성이 있는 다른 PAHs에 대해서 지속적으로 잔류량을 모니터링하여야 할 필요성이 있다고 생각한다.

위와 같이 본 연구에서는 원두커피의 위해성을 WHO와 U.S.EPA에서 설정한 TEF값을 근거로 검토해 보았다. 그러나 EU에서는 여러 PAHs들이 동시에 존재할 때, 상대독성계수는 서로 영향을 미치지 않는다는 가정하에 위해성을 단순히 더하게 되는데 실제 실험결과는 여러 PAHs가 같이 존재할때는 예상결과보다 훨씬 높은 독성이 나타내는 것으로 알려진 최근 보고(24)등의 결과를 근거로 PAHs들의 독성을 평가할 때 benzo(a)pyrene을 지표물질로 사용할 것을 권고하지만 TEF값으로 평가하는 것은 무리가 있다고 평가하였다(21).

이처럼 식품 중 PAHs의 위해성에 대한 견해는 연구기관에 따라 다르고 독성에 관한 연구도 세계 여러나라에서 계속 수행되고 있어 아직은 더 많은 연구결과로 평가되어야 할 부분이다. 또한 위해성평가 연구와 더불어 식품 중 PAHs 분석방법의 개발이나 함량 모니터링 연구도 함께 진행되어 PAHs의 안전성 확보에 힘써야 할 것으로 생각한다.

요 약

식품 중 존재하는 PAHs를 분석하기 위해 GC-MS/MS를 이용하여 분쇄원두커피를 대상으로 15종의 PAHs를 동시분석 하였다. 전처리법은 soxhlet법, 비누화분해 후 액체-액체 추출법, 초음파 후 고체-액체추출법으로 비교실험하여 재현성과 불순물제거효율이 가장 좋은 초음파 후 고체-액체 추출법을 선택하여 실험하였다. 실험법의 회수율은 PAHs중에 따라 52.6-93.3%, 검출한계는 0.002-0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 정량한계는 0.006-0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 PAHs분석에 가장 좋은 감도를 나타내는 HPLC-FLD나 GC-MS-SIM과 비슷하거나 낮은 수준의 검출한계를 나타내었다. 적합한 전처리 방법을 선택한 후 시중 유통되는 원두커피를 대상으로 15종의 PAHs 함량을 조사하였을 때 46종의 총 PAHs농도는 불검출-5.988 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다.

분쇄원두커피를 커피메이커로 추출하여 PAHs의 이행계수를 계산한 후 WHO와 U.S.EPA에서 설정한 상대독성계수(TEF)를 근

Table 4. Calibration equations, correlation coefficients, LODs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) and LOQs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) of the proposed method for the determination of PAHs^{a)}

	Regression curve	R ²	Method LOD	Method LOQ
Cyclopenta(c,d)pyrene	y = 0.4489x - 0.0053	0.9997	0.004	0.01
Benzo(a)anthracene	y = 0.3702x + 9.2067e ⁻⁴	0.9999	0.004	0.008
Chrysene	y = 0.6078x + 0.0026	0.9999	0.002	0.006
5-Methylchrysene	y = 0.9302x - 0.0061	0.9999	0.003	0.01
Benzo(b+j)fluorancene	y = 0.3660x - 0.0047	0.9998	0.005	0.016
Benzo(k)fluorancene	y = 0.1813x - 0.0056	0.9948	0.006	0.02
Benzo(a)pyrene	y = 0.3266x - 0.0053	0.9996	0.006	0.02
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	y = 0.6656x - 0.0053	0.9996	0.006	0.02
Dibenzo(a,h)anthracene	y = 0.4235x - 0.0013	0.9998	0.002	0.06
Benzo(g,h,i)perylene	y = 0.8381x - 9.0420e ⁻⁴	0.9994	0.006	0.02
Dibenzo(a,l)pyrene	y = 0.5947x - 0.0081	0.9998	0.006	0.02
Dibenzo(a,e)pyrene	y = 0.1753x - 2.5354e ⁻⁴	0.9988	0.02	0.05
Dibenzo(a,i)pyrene	y = 0.0887x + 9.1589e ⁻⁵	0.9941	0.04	0.1
Dibenzo(a,h)pyrene	y = 0.0506x - 0.0013	0.9763	0.1	0.2

^{a)}Instrument linearity range: 0.5-20 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Table 5. Contents of 15 PAHs in 46 ground coffee samples

	CPP	BaA	CHR	5-MCH	B(b+j)FA	BkFA	BaP	IP	DBahA	BghiP	DBalP	DBacP	DBaiP	DBahP	Total
1	0.475	-	0.475	-	-	0.082	-	-	-	-	-	-	-	-	1.032
2	0.714	0.547	0.799	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.060
3	-	-	1.089	-	-	0.153	-	-	-	-	-	-	-	-	1.242
4	0.508	-	0.570	-	-	0.074	0.250	-	-	-	-	-	-	-	1.402
5	0.564	0.556	0.810	-	-	0.111	0.360	-	-	-	-	-	-	-	2.401
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	0.647	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.647
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	0.896	0.634	0.862	-	0.308	0.106	0.400	-	-	-	-	-	-	-	3.206
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	0.045	0.090	-	-	-	-	-	-	-	0.135
12	-	-	-	-	0.135	-	-	-	0.100	-	-	-	0.208	-	0.443
13	-	-	-	-	-	0.042	-	-	-	-	-	-	-	-	0.042
14	1.197	0.557	0.915	-	0.280	0.170	0.421	-	0.084	-	-	-	-	-	3.624
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.038	-	-	-	0.038
16	0.226	-	0.359	-	0.067	-	-	-	-	-	-	-	0.116	-	0.768
17	0.374	0.377	0.708	-	0.389	0.223	0.430	-	-	-	-	-	-	-	2.501
18	0.338	-	0.317	-	0.076	-	0.096	-	-	-	-	-	-	-	0.827
19	-	-	0.564	-	0.237	0.170	-	-	-	-	-	-	-	-	0.971
20	-	-	0.734	0.21	0.090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.034
21	1.131	-	0.663	-	0.219	0.109	-	-	-	-	-	-	-	-	2.122
22	0.350	-	0.463	-	0.127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.940
23	-	-	-	-	0.095	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.095
24	-	-	-	-	0.079	-	-	-	-	0.137	-	-	-	-	0.216
25	-	-	-	-	0.080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.080
26	-	-	-	-	0.132	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.132
27	1.220	-	-	-	0.201	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.421
28	0.833	-	0.927	-	0.184	0.178	-	-	-	-	-	-	-	-	2.122
29	1.168	0.684	1.157	-	0.358	0.206	0.660	-	-	-	-	-	-	-	4.233
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	2.680	1.379	1.564	-	0.173	0.192	-	-	-	-	-	-	-	-	5.988
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.108	-	-	-	-	0.108
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	1.759	-	1.170	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.929
37	0.808	-	0.750	-	0.164	0.132	-	-	-	-	-	-	-	-	1.854
38	-	-	-	-	0.104	-	-	0.090	-	-	-	-	-	-	0.194
39	-	-	-	-	0.088	0.095	-	-	-	-	-	-	-	-	0.183
40	0.905	-	1.046	-	0.177	0.153	0.340	-	-	-	-	-	-	-	2.621
41	-	-	-	-	0.041	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.041
42	-	-	-	-	0.106	-	-	0.09	-	-	-	-	-	-	0.196
43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	-	-	-	-	0.099	0.095	-	-	-	-	-	-	-	-	0.194
45	1.725	-	1.032	-	0.238	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.995
46	-	-	-	-	0.193	0.14	-	-	-	-	-	-	-	-	0.333
Average	0.416	0.110	0.410	0.005	0.103	0.058	0.071	0.004	0.004	0.006	0.001	0.000	0.008	0.000	1.117

Table 6. PAHs amount of coffee brews (500 mL) from ground coffee (15 g) and transfer coefficients (C_i) (n=3)

PAH	Ground coffee (ng)	Coffee brew (ng)	C _i (%)
Benzo(a)anthracene	8.355	1.521	18.2±2.0
Chrysene	13.725	2.525	18.4±4.5
Benzo(b)fluoranthene	4.200	2.369	56.4±8.0
Benzo(k)fluoranthene	2.550	0.484	19.0±5.5
Benzo(a)pyrene	6.315	0.556	8.8±1.8
Dibenzo(a,h)anthracene	1.260	0.344	27.3±3.6

거로 음용되는 원두커피의 인체노출량(mg/kg b.w./day)을 구한 결과 5.24×10^{-8} mg/kg b.w./day였다.

문 헌

- WHO/IARC(World Health Organization/The International Agency for Research on Cancer) Tobacco Smoking. IRAC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol.38. International Agency for Research on Cancer. Lyon. France. pp. 421-426 (1986)
- Becher G, Bjørseth A. Determination of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons by analysis of human urine. *Cancer lett.* 17: 301-311 (1983)
- Teschke K, Hertzman C, Netten CV, Lee E, Morrison B, Cornista A, Lau G, Hundal A. Potential exposure of cooks to airborne mutagens and carcinogens. *Environ. Res.* 50: 296-308 (1989)
- Rugen PJ, Stern CD, Lamm SH. Comparative carcinogenicity of the PAH as a basis for acceptable exposure level (AELs) in drinking water. *Regul. Toxicol. Pharm.* 9: 273-283 (1989)
- EC (European Commission). Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. EU, Brussels, Belgium (2002)
- Hu SJ, Kim MH, Oh NS, Ha J, Choi KS. Levels of Polycyclic aromatic hydrocarbons in fish, shellfish and their processed products. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 866-872 (2005)
- Stumpe-Viksna I, Bartkevis V, Kukre A, Morozovs A. Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood. *Food Chem.* 110: 794-797 (2008)
- Brum DM, Cassella RJ, Pereira Netto AD. Multivariate optimization of a liquid-liquid extraction of the EPA-PAHs from natural contaminated waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescence detection. *Talanta* 74: 1392-1399 (2008)
- Tfouni SAV, Souza NG, Neto MB, Loredó ISD, Leme FM, Furlani RPZ. Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in sugarcane juice. *Food Chem.* 116: 391-394 (2009)
- Rey-Salgueiro L, Garcia-Falcon MS, Martinez-Carballo E, Simal Gandara S. Effects of toasting procedures on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread. *Food Chem.* 108: 607-615 (2008)
- Ballesteros E, Sanchez AG, Martos NR. Simultaneous multidetermination of residues of pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in olive and olive-pomace oil by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1111: 89-96 (2006)
- EL Harrak R, Calull M, Marce RM, Borrull F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by solid phase extraction membranes. *Int. J. Environ. An. Ch.* 64: 47-57 (1996)
- Cortesi N, Fusari P. Determinazione degli idrocarburi policiclici aromatici: Utilizzo di fasi eluenti la matrice lipidica a minor impatto ambientale. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 82: 167-172 (2005)
- Kim MS. Determination of benzo(a)pyrene in sesame oils using solid phase extraction. MS thesis, Dankook University, Yongin, Korea (2009)
- Veyrand B, Brosseau A, Sarcher L, Varlet V, Monteau F, Marchand F, Andre F, Bizet BL. Innovation method for determination of 19 polycyclic aromatic hydrocarbons in food and oil samples using gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry based on an isotope dilution approach. *J. Chromatogr. A* 1149: 333-344 (2007)
- Food and Drug Administration. Food and nutrient data system. Available from: <http://kissna.kfda.go.kr> Mar. 02, 2009.
- Houessou JK, Maloug S, Leveque AS, Delteil C, Heyd B, Camel V. Effect of Roasting Conditions on the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon content in ground arabica coffee and coffee brew. *J. Agr. Food Chem.* 55: 9719-9726 (2007)
- Houessou JK, Goujot D, Heyd B, Camel V. Modeling the formation of some polycyclic aromatic hydrocarbons during the roasting of Arabica coffee samples. *J. Agr. Food Chem.* 56: 3648-3656 (2008)
- Justin Koffi Houessou, Corine Delteil, Valerie Camel. Investigation of sample treatment steps for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in ground coffee. *J. Agr. Food Chem.* 54: 7413-7421 (2006)
- Houessou JK, Benac C, Delteil C, Camel V. Determination of polyaromatic hydrocarbons in coffee brew using solid-phase extraction. *J. Agr. Food Chem.* 53: 871-879 (2005)
- EFSA(European Food Safety Authority). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food, Scientific Opinion of the Panel on Contaminations in the Food Chain. *The EFSA Journal* 724: 1-114 (2008)
- Simon R, Palme S, Anklam E. Single-laboratory validation of a gas chromatography-mass spectrometry method for quantitation of 15 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in spiked smoke flavourings. *J. Chromatogr. A* 1103: 307-313 (2006)
- Food and Drug Administration. Riskprofile. Available from: http://safefood.kfda.go.kr/safefood/user/db/riskReadDetail.jsp?prev_uri=/safefood/user/db/riskList.jsp&board_code=28&id=78. Nov. 12, 2010.
- Schneider K, Roller M, Kalberlah F, Schuhmacher-Wolz U. Cancer risk assessment for oral exposure to PAH mixtures. *J. Appl. Toxicol.* 22: 73-83 (2002)