

## 국내산 보리차중의 BENZO[a]PYRENE의 함량과 가공조건에 따른 용출량 변화에 관한 연구

식품분석과

조 한 빈·박 경 애·정 현 주·이 집 호  
김 태 랑·서 병 태·오 수 경

### Determination of Benzo(a)pyrene in Roasted Domestic Barley and Change of Soluble Matters by Roasted Condition

*Food Analysis Division*

Han-bin Jo, Kyung-ai Park, Hyun-joo Cheng, Jib-ho Lee, Tae-rang Kim,  
Byung-tae Seo and Soo-kyoung Oh

#### = Abstract =

Domestic barley was roasted at various temperature and time in 190, 240, and 270°C during 20, 40 and 60min, respectively, using the temperature controlling barley roaster.

To determin of Benzo(a)pyrene in roasted barley which was crushed in 10-20 mesh and its infusion, the analytical method applied consist of extraction and clean-up procedure involving saponification & silicagel column chromatography and liquid- liquid partition, followed by HPLC with fluorescence detector.

In roasted barley(which was crushed), Benzo(a)pyrene was detected at levels ranging 0 to 1.24µg/kg, but in its infusion of roasted barley, Benzo(a)pyrene was not detected.

#### 서 론

다환 방향족 탄화수소 (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 자연적으로 형성 될 뿐만 아니라, 공기오염에 의해서나 식품처리공정에 사용되는 유기용매나, 훈연, 건조, 볶음 등의 공정 과정에서 생성되는 유기물의 불완전 연소 생성물질로 생활주변에 광범위하게 존재하는 대표적인 발암물질이다<sup>1)</sup>.

PAHs의 확인 지표로 알려져 있는 벤조피렌

(Benzo(a)pyrene)은 포유동물인 경우 거의 대부분이 간에서 대사가 이루어지지만 생체내 모든 부분에서 지질 과산화 반응이 일어날 수 있어 이때 생성된 라디칼이 대사 활성화에 관여하기도 한다. 여러 가지 형태의Benzo(a)pyrene 대사 산물 중 친전자성이 강한 대사산물들이 친핵성이 강한 DNA의 염기와 비가역적으로 공유결합하여 부가체를 형성하면 이로 인해 염기배열 손상이 일어나 DNA의 복제과정에서 유전자 정보의 변형을 초래하여 정상세포를 악성종양 세포로 변환시켜 암을 유발하게 된다<sup>2,3)</sup>.

많은 관심과 우려를 갖게하는 발암성 물질은 커피콩을

볶는 과정에서 발암성 탄화수소 형성 가능성이 Licknt<sup>4)</sup>에 의해 처음 지적된 이후로 최근 30년간 다양한 식품에 대한 PAHs 확인 분석이 이루어져 왔다.

Kuratsune과 Hueper<sup>5)</sup>, Fritz<sup>6)</sup>, Bories와 Gasc<sup>7)</sup> 등은 볶은 커피로부터 0.1 - 0.8 $\mu$ g/Kg, 커피추출액으로 부터 0.006 - 0.3 $\mu$ g/kg의 Benzo(a)pyrene을 확인하였으며, Howard와 Fazio<sup>8)</sup>는 각종 음료에 대해, Nico de Kruijff 등<sup>9)</sup>은 커피를 포함한 여러종류의 차, 향신료, 훈연식품 및 어육, 볶은 곡물, 식물성 유지 등에 대해 PAHs 확인 실험을 하였다. 이때 PAHs를 확인 하기 위해 Schaad등<sup>10)</sup>은 GC-MS를 Woidich<sup>11)</sup>는 TLC를 fluorodensitometer로, Nakagawa등<sup>12)</sup>은 HPLC를 이용하였다.

본 실험에서는 우리나라 국민이 가장 많이 마시는 대표적인 음료인 보리차 내에 Benzo(a)pyrene이 어느 정도 함유되어 있는지를 알아보기 위해 볶은 보리 제조장치를 이용해 온도 및 시간을 변화시켜 제조한 볶은보리분말 및 그 추출액속에 함유되어 있는 Benzo(a)pyrene을 추출 정제하여 형광검출기가 부착된 HPLC를 이용하여 실험하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 재료

본 실험에 사용하기 위한 겉보리는 영양산 보리를 시중에서 구입하였다. 시중에서 판매되는 포장된 보리차와 유사한 색과 향미를 갖는 볶은 보리를 제작하기 위해 먼저 그림 1의 장치를 이용하여 제조해본 결과 240 $^{\circ}$ C에서 40분간 볶았을 때 그색도가 거의 일치하는 것을 색도계로 확인하였다.

이 온도와 시간을 기준으로하여 190, 240, 270 $^{\circ}$ C에서 각각 20, 40, 60분간 겉보리 100g을 25 RPM의 회전속도로 각각의 조건에서 볶은 다음 공기중에 방냉 시킨 후 밀봉하여 보관하였다.

### 2) 시 약

- \* Cyclohexane, Acetonitrile : HPLC grade
- \* KOH, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Anhydrous, THF : GR
- \* Silicagel (70-230 mesh) : 불순물을 제거하기 위해 24 시간 동안 500 $^{\circ}$ C로 가열한후 활성을 제거하기 위하여 15%(W/W)의 증류수로 균질화 하였다.
- \* Benzo(a)Pyrene standard(sigma, USA)

### 3) 기 구

- \* HPLC system(Waters사, USA), with 515 solvent delivery, U6K injector, 474 fluo-

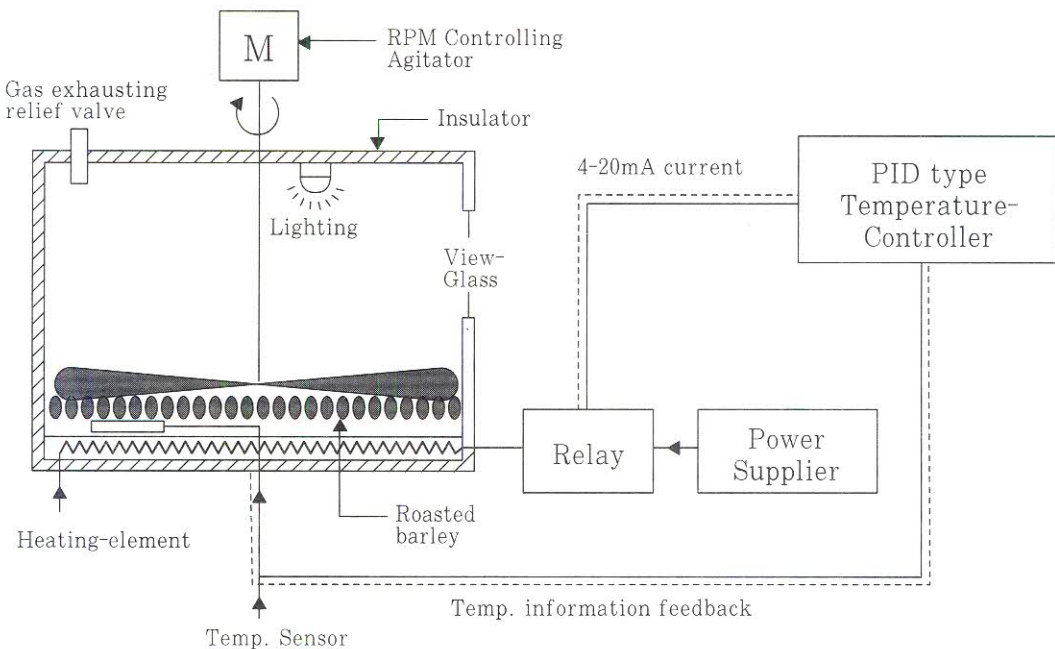


Fig. 1. Schematic diagram of temperature controlling barley roaster.

cence tunable detetor, 746 integrator.

\* Glass column : ID 15mm X 300mm with 100ml cup.

\* Rotary evaporator(Buchii 114, swiss)

#### 4) 볶은보리제조장치

본 실험에 사용한 볶은 보리를 제조하기위한 장치는 그림 1과 같다. 스테인레스 스틸 재질로 된 반경 15cm 높이 10cm의 원통형 용기를 3cm 두께로 단열처리 한 다음 보리의 품온을 측정하기 위해 바닥에 열전대쌍을 부착하고 이를 온도 조절기에 연결하여 ± 2℃의 오차 범위 내에서 온도조절이 이루어지게 하였다. 또한, 보리를 균일하게 볶기 위한 교반장치로 스테인레스 스틸로 제작한 14cm 크기의 임펠러를 부착하였고 일정한 속도로 교반하기 위해 모터를 사용하였다. 내부 위벽에 조명장치를 하고 유리벽을 설치하여 볶음 정도를 육안으로 살펴볼 수 있게 하였다.

#### 5) 방법

##### (1)보리의 영양성분 및 물리화학적 특성 실험

겉보리와 볶은보리의 영양학적 특성 및 물리 화학적 특성을 알기 위해 겉보리와 190, 240, 270℃에서 각각 40분간 볶은 보리에 대한 조단백질, 조지방은 식품공전<sup>15)</sup>, 색도는 볶음 정도를 객관적인 수치로 판정하기 위해 보리의 색도를 L\*Chkharth방법<sup>14)</sup>을 응용하여 색차계(ND 101- D)로 측정하였고, 가용성고형분의 정량은 A.O.A.C법<sup>17)</sup>에 따라 다음과 같이 실시하였다. 물 1000ml를 용기에 넣고 끓기 시작하면 티백포장지에 넣은 25g의 분말보리를 넣고 10분간 끓인다음 추출액을 105℃에서 증발 건조 시킨 후 그 무게를 측정 하였다. 실험에 사용하기위해 겉보리와 볶은 보리를 분쇄기에 넣고 분쇄한 후 체로 걸러 그 크기가 10-20 메쉬인 분말을 시료로 하였다.

##### (2)Benzo(a)pyrene의 추출 및 확인

###### ① 검화(Saponification) 및 추출

겉보리 및 190, 240, 270℃의 온도에서 20, 40, 60분간 열처리 한 볶은보리를 10-20mesh로 분쇄하여 시료로 사용하였다. 먼저 분말보리 25g을 티백포장하여 200ml의 끓는 물에 넣고 10분간 끓인다음 냉각시키고 분쇄칼대에 넣고 cyclohexane을 이용하여 유기성 용출성분을 3회에 걸쳐 분취하였다. 농축시킨 cyclohexane층 및 분쇄한 분말 시료 25g을 500ml용 환저 플라스크에 넣고 1M Ethanolic KOH 200ml를 가하고 환류 냉각기를 부착하여 수욕상에서 40분간 가열한 다음 공기중에서 방냉 시킨 후 환류 냉각기를 통해 cyclohexane 200ml를 가하고 다시 5분간 가열하였다.

검화를 끝낸 시료를 여과후 1L용 분액깔대기에 넣고 100ml증류수를 가해 2분간 격렬히 흔들어준다. 이때 에멀전이 생기면 에탄올 10ml 또는 포화 NaCl용액 10 ml를 가한다. 층이 완전히 분리 될 때까지 방치 한 후 cyclohexane층을 분취하고 여기에 증류수 100ml를 가해 알칼리성을 띠지 않을 때까지 세척해 준 다음 무수황산 나트륨층을 통과시켜 수분을 제거시킨 유기 용매층을 회수하였다. 회전증발농축기로 38℃이하의 온도에서 2ml가 남을 때까지 증발 농축 시켰다.

###### ②정 제

실리카겔 5g에 cyclohexane 10ml를 넣어 슬러리를 만든다음, 무수황산나트륨을 바닥에 1cm정도 채운 유리컬럼에 기포가 생기지 않도록 조심스럽게 채운다. 그 위에 무수황산나트륨을 1cm정도 채우고 cyclohexane 30ml로 컬럼 세척을 한다.

추출과정에서 증발 농축시킨 유기용매층을 cyclohexane으로 깨끗이 씻어 컬럼에 붓고 분당 2ml의 속도로 용리시킨다. 이때 처음 10ml는 버리고 100ml를 수기에 받아 회전증발기로 38℃이하의 온도에서 2ml정도 남을때까지 농축시킨다. 이 농축액을 소형 바이알에 넣고 수욕상에서 증발건고 시킨다음 THF 1ml로 녹여 HPLC측정용 시험용액으로 하였다<sup>14)</sup>.

Table 1. Chemical, Physical and Nutrient Proerties.

Properties	Covered Barely	Roasted Barley		
		I (190℃, 40mim)	II (240℃, 40mim)	III(270℃, 40min)
Crude Protain(%)	9.2	9.1	7.4	5.1
Crude Fat(%)	1.8	1.6	1.2	0.8
Color Value(Y-value)	15.8	12.5	4.9	2.5
Soluble Solid(%)	3	7	58	42

### ③HPLC 분석

실온에서 supelco LC-PAH(150mm × 4.6mm × 5 μm)column을 사용하였다. 검출기로는 형광검출기를 사용하였으며 여기파장(Excitation wavelength)은 219 nm, 방출파장(Emission wavelength)은 416 nm, gain 1000, 감도는 8로하였다. 이동상으로는 Acetonitrile : MeOH : Water (80:10:10)를 사용하였고 유속은 1.0 ml/min로 하였다

## 결과 및 고찰

### 1)보리의 영양성분 및 물리화학적 특성

겉보리와 190, 240, 270℃에서 40분간 볶은 보리를 분쇄하여 단백질, 조지방함량 및 색도, 가용성고형분을 측정 한 결과를 표 1에 나타내었다.

표 1에 나타난 바와 같이 조단백질 및 조지방함량은 겉보리가 최대값을 나타냈으며, 190℃, 40min과는 유사치를 보이고 있다. 그러나 240℃, 40min, 270℃, 40min의 경우는 볶음온도가 증가함에 따라 크게 감소함을 보인다. 이는 열처리과정시 갈변현상이 급속히 진행됨과 동시에 영양성분의 소실이 함께 이루어졌음을 알 수 있다.

색도와 가용성 고형분과의 관계를 보면 240℃, 40min의 경우가 최고의 가용성고형물을 함유함을 알 수 있다. 다른 연구자들의 경우와 마찬가지로 적절한 색도 (Y=4.0-5.0)를 유지하는 것이 가용성고형분의 함량을 최대로 할 수 있음을 확인 할 수 있었다. 따라서 너무 진한 갈색을 띠 때까지 보리를 볶는 것보다 일정 색도를 유지하게끔 볶아주는 것이 영양손실을 줄일 수 있을 뿐만 아니라 가용성 고형분의 양을 최대로 늘릴 수 있음을 알 수 있다.

### 2)Benzo(a)pyrene의 분석

#### (1)검량선 작성

Benzo(a)pyrene 표준품을 아세토니트릴에 녹여 그 농도를 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 ppb로 표준용액을 만들어 HPLC로 분석한 결과 그 기울기가 0.998로 좋은 직선성을 보였다.

이때 Benzo(a)pyrene의 추출한계는 0.1μg/kg이었다.

#### (2)회수율실험

Benzo(a)pyrene을 cyclohexane에 녹여 2.0 μg/ml농도의 용액을 만들어 20 ml를 25g의 볶은 보리분말과 볶은 보리 25g을 끓여 만든 보리추출액 200ml에 각각 넣어 Benzo(a)pyrene을 첨가하지 않은 볶은보리 및 보리추출

액과 동일한 실험과정을 거쳐 Benzo(a)pyrene의 회수율을 측정하였다. 그 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2에 나타난바와 같이 볶은보리로부터 Benzo(a)pyrene의 회수율은 평균 90.4%, 보리추출액으로부터는 평균 95.3%의 값을 얻었다

Table 2. Recovery ratio of Benzo(a)pyrene

Processing Condition		Ground Roasted Barley (%)	Ground Roasted Barley Brew(%)
190 °C	20 min.	92.4	98.2
	40 min.	90.6	95.1
	60 min.	89.4	98.5
240 °C	20 min.	91.3	96.3
	40 min.	93.7	95.6
	60 min.	90.1	94.3
270 °C	20 min.	88.3	92.18
	40 min.	92.1	94.1
	60 min.	91.0	93.6
Average		90.9	95.3

### (3)볶은보리 및 보리추출액에서 Benzo(a)pyrene

농도 10μg/kg표준용액의 chromatogram을 그림 2에 나타내었다.

190, 240, 270℃에서 20, 40, 60분간 볶은 보리분말

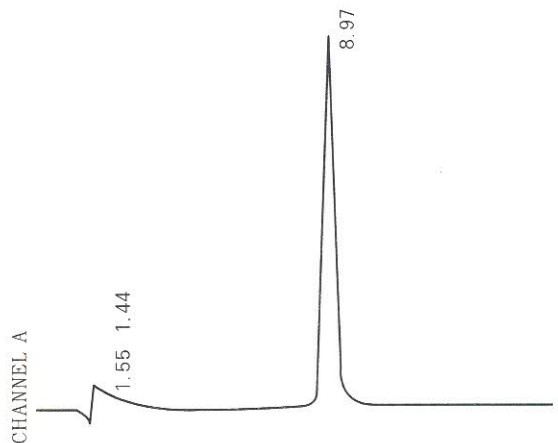


Fig. 2. Chromatogram of benzo(a)pyrene standard.

및 그 추출액으로 부터 Benzo(a)pyrene의 추출 정제공정을 거쳐 HPLC로 확인하여 그 결과를 표 3에 나타 내었

다. 표 3에 나타난 바와 같이 볶은 보리 분말내에서는 미량의 Benzo(a)pyrene이 검출 되었으나 볶은보리추출액에서는 전혀 검출되지 않았다. 본 실험에서 얻은 볶은보리로 부터 Benzo(a)pyrene의 양은 T.Stijve와 C.Hischenhuber<sup>11)</sup>의 연구 결과 0.5 - 3.8 $\mu$ g/kg와 비교해 볼 때 약간 낮은 수치를 확인하였다. 볶은보리분말 및 그 추출액에 대한 chromatogram을 그림 3 과 그림 4에 나타내었다

표 3에 나타난바와 같이 높은 시간에서 장시간 볶은 것일수록 Benzo(a)pyrene이 크게 검출 되었다. 보리차가 심하게 볶아진 경우에는 비록 향미를 증가 시키는 효과는 있을지 모르나 Benzo(a)pyrene이 증가 할 뿐만 아니라 표 1에 나타난 바와 같이 가용성고형분의 양을 감소시키기 때문에 과다한 열처리에는 피하는 것이 좋을것으로 생각된다.

Nico de kruijf<sup>7)</sup> 등의 볶은 커피, 커피분말, 커피찌꺼기 및 커피추출액으로부터 Benzo(a)pyrene의 추출분석 실험에서 볶은커피와 커피분말, 커피 찌꺼기 뿐만 아니라 커피추출액에서도 소량(0.006 - 0.3 $\mu$ g/kg)의 Benzo(a)pyrene이 검출되었다. 그러나 본 실험에서 사용한 볶은 보리추출액에서는 검출되지 않았다. 이는 커피내에 존재하는 카페인이 Benzo(a)pyrene과 착화합물을 형성할 뿐만 아니라 Benzo(a)pyrene의 추출액에 직접적인 영향을 주기 때

**Table 3.** The Detected Amount of Benzo(a)pyrene in Ground Roasted Barley Which Treated at Each Temperature and Time at 25 rpm.

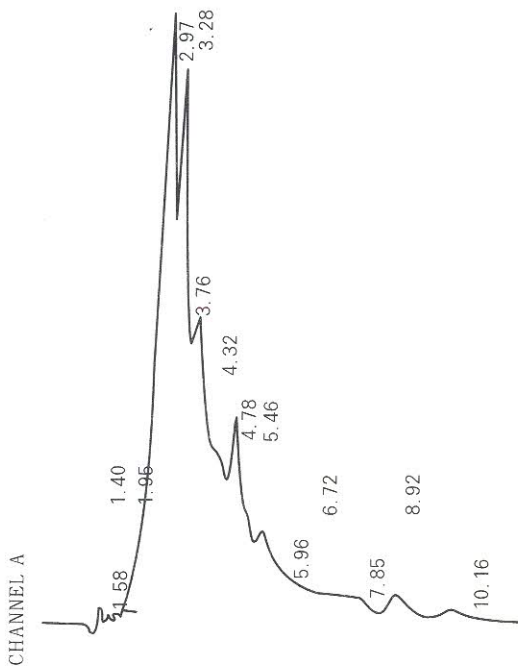
Processing Condition	Ground Roasted Barley( $\mu$ g/kg)	
190 °C	20	-
	40	-
	60	-
240 °C	20	-
	40	0.05
	60	0.35
270 °C	20	0.03
	40	0.85
	60	1.24

문에 Benzo(a)pyrene의 물에 대한 낮은 용해성에도 불구하고 커피추출액에서는 검출이 되었으나 본 실험에서는 그러한 영향이 배제되었기 때문에 검출 되지 않은 것으로 생각할 수 있었다.

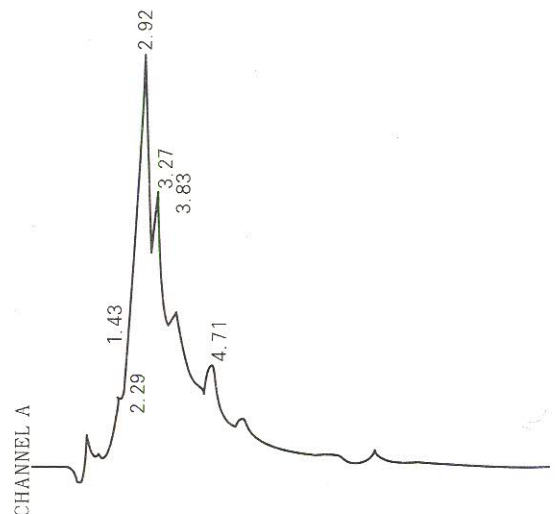
## 결 론

국내산 겉보리를 190, 240, 270°C에서 20, 40, 60분동안 볶아 보리차를 만들고 이의 추출액을 만들어 영양학적인 면과 물리 화학적특성 및 Benzo(a)pyrene의 함량을 측정 한 결과는 다음과 같았다.

1. 겉보리의 조단백질 및 조지방 함량은 각각 9.2% 및 1.8 %이었다. 그러나 볶은보리의 경우 볶음 온도가 높을수록 그 수치가 작아졌다. 또한, 색도와 가용성 고형



**Fig. 3.** Chromatogram of roasted barley



**Fig. 4.** Chromatogram of barley brew

분과의 관계는 Y값이 4.9인 240℃에서 40분간 볶은 보리의 경우 최대값을 나타냈으나 이보다 작거나 큰 값에서는 감소하였다.

2. 회수를 실험에서 볶은보리분말에서는 평균 90.9%, 보리추출액에서는 평균 95.4%의 회수율을 나타냈다.
3. 볶은보리분말에서 0.05 - 1.24 $\mu$ g/kg의 Benzo(a)pyrene이 검출 되었으며 볶음온도와 시간이 증가함에 따라 큰 값을 보였다. 그러나 보리추출액으로 부터는 Benzo(a)pyrene 이 검출되지 않았다.

### 참고문헌

1. C. Hischenhuber and T.stijve : Determination of Benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brews by HPLC with Fluorescence Detection. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 83. Jahrg. Heft. p. 1 (1987).
2. A.P. Alvares and W.B. Partt : Principles of drug action : The basis of pharmacology. 3rd Edition. Churchill Livingstone Inc., New York, p. 360 (1990).
3. R.G Harvey and N.E. Geacintov : Intercaliation and binding of calcinogenic hydrocarbon metabolite to nucleic acid. Chemical Research 21 : 66 (1988).
4. Lickint, F., Med. Klin : 45 : 1499 (1938).
5. Kuratsune, M., Hueper, W.C. : JNCI J. Natl. Cancer Inst. 24 : 463. (1960).
6. Fritz, W. Nahrung, 12 : 799 (1968).
7. Bories, G ; Gasc, N. Ann. Falsif. Expert. Chim. Toxicol. 789 : 487 (1980).
8. Howard, J. W., Fazio, T., : J. AOAC, 63 : 1077 (1980).
9. Nico de Kruijf, Ton Schouten, and Gerriy H. D. van der stegen : Rapid Determination of Benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence detection. J. Agric. Food. Chem, 35 : 545 (1987).
10. Schaad, R. E. Chromatography of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons(in German). Chromat. Rev., 13 : 61 (1960).
11. Woidich, H. et. al. : Chromatographia, 10 : 140 (1977).
12. Nakagawa, T., Sato, Y., Kawamura, T., Watabe, A. and Motita, M. : Determination of Benzo(a)pyrene in liquid paraffin by HPLC. Bull. Env. Contam and Toxicol. 19 : 703 (1978).
13. T. stijve and C. Hischenhuber. : Simplified determination of Benzo(a)pyrene and other Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in various Food Materials by HPLC and TLC. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 83. Jahrg. Heft 9., p. 276 (1987).
14. C. Lintas and M. C. de Mattheais and F. Merli. : Determination of Benzo(a)pyrene in smoked, cooked and toasted Food products. Fd. Cosmet. Toxicol., 17 : 325(1979).
15. 보건복지부 : 식품공전 (1996).
16. L'ckhart, E.E. : Food Technol., 14 : 597 (1960).
17. Pattrica Cunnif : Official Methods of Analysis, 16th Edition. USA (1995)