

마이크로파 추출법을 이용한 방사선 조사 대두의 Hydrocarbons 분석 전처리조건 최적화

이정은[†] · 권중호¹

[†]대구과학대학교 식품영양조리과, ¹경북대학교 식품공학과
(2013년 12월 6일 접수; 2013년 12월 23일 수정; 2013년 12월 23일 채택)

Optimization of Pre-Treatment Conditions for Hydrocarbons Detection from Irradiated Soybean Using Microwave-Assisted Extraction

Jeong-Eun Lee[†] · Joong-Ho Kwon¹

[†]*Department of Food and Nutrition and Cook, Taegu Science University, Daegu, 702-723, Korea*
¹*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University,
Daegu 702-701, Korea*

(Received December 6, 2013 ; Revised December 23, 2013 ; Accepted December 23, 2013)

요약 : 지질 함량이 많은 식품에 방사선 조사여부 판별방법으로 적용가능한 hydrocarbons법의 전처리 추출공정을 개선하고자, 추출시간을 효율화 하고 추출용매의 사용을 줄일 수 있는 마이크로웨이브 추출법을 적용하였다. 국제 교역량이 가장 높은 농산물중 대두를 대상으로 방사선 조사(4 kGy)를 하여 hydrocarbons 분석에 대한 전처리 조건을 최적화하고자 하였다. 예측된 대두의 최적 추출범위는 extraction time 1.3-3.2분, microwave power 61-133 W로 나타났고, 예측된 범위에서 임의점을 설정하여 회귀식에 대입하여 최적값을 예측하였을 때 값은 microwave power와 extraction time이 각각 97 W과 2.2 분으로 확인되었다.

방사선조사 허가식품에 대해서 검지법의 분석결과와 더불어 신속성이 요구되는 상황에서 hydrocarbons검지법 적용이 가능한 대두를 대상으로 MAE (microwave-assisted extraction) 추출법을 적용한다면, 식품공전상의 현행 추출전처리(12-24시간)에 따른 분석시간을 줄이고 추출공정 개선이 가능할 것으로 본다.

주제어 : 마이크로파, 추출, 대두, hydrocarbons, 방사선

Abstract : Microwave-assisted extraction (MAE), which is known as less time and less solvent than current extraction methods, was applied to hydrocarbons extraction from irradiated soybean. Among the transported agricultural products, soybean was selected as representative samples for possible application of irradiated treatment and identification of radiation-induced markers. Using 4 kGy-irradiated soybean, different microwave extraction conditions (extraction time and microwave

[†]Corresponding author
(E-mail: jeli@tsu.ac.kr)

power) were applied and the changes in hydrocarbon concentrations were monitored. The predicted optimum extracted condition for hydrocarbon analysis of soybean was found to be microwave extraction with a microwave power of 97 W and extraction time of 2.2 min. This extraction time was significantly lower compared to the common extraction time of 12–24hr.

Keywords : microwave, extraction, soybean, hydrocarbons, irradiation

1. 서 론

농산물의 개방이 가속화됨에 따라 국제교역은 증가하고 있으나, 국가간 검역에서 농산물의 해충은 큰 문제가 되고 있다. 농산물의 국제교역시 경계유기체인 해충사멸/방지에 대한 여러 방법중 방사선 조사기법은 저선량에 의해서도 해충의 생육단계(알, 애벌레, 번데기, 성충)에 관계없이 사멸이 가능하므로 식량교역시 검역해충 박멸기술로써 감마선 조사기법의 활용이 높아지고 있다 [1].

방사선 조사식품(irradiated food)은 한국을 포함한 세계 57 개국에서 230여 품목이 허가가 되어[2], 자국의 실정에 맞게 방사선 조사관련 규정을 적용하고 있다[3]. 방사선 처리된 식품을 교역하는 과정에서 관리하기 위해서는 방사선 조사처리 유무를 명확하게 판별할 수 있는 검지기기술법이 필요하다. 특히 대두 및 참깨 등 유지종실류의 방사선 조사여부 판별방법으로 가장 실용가능성 있는 화학적 분석 방법으로 GC-MS 분석에 의한 hydrocarbons법[4-16]을 들 수 있다.

Hydrocarbons은 식품에 함유되어 있는 지방이 고에너지의 방사선에 의해 여러 종류의 방사선 분해산물(radiolytic product)이 생성되며, 그 중에서 일부 분해산물의 carbonyl group에서 α 탄소와 β 탄소 위치의 결합이 끊어져 원래의 지방산보다 탄소수가 1개(C_n-1) 적거나, 2개 적으면서 첫 번째 탄소위치에 새로운 이중결합에 의해 생성된다. 따라서 이들 hydrocarbons은 지방을 함유한 식품의 방사선 조사여부 확인에 활용될 수 있다[8,10,11]. Hydrocarbons의 분석은 크게 3가지 과정으로 지질의 추출과정, florisil column을 통한 hydrocarbons 분리과정 및 GC/MS identification으로 나눌 수 있다. Hydrocarbons의 분리과정인 florisil column chromatography 수행에 따른 유기용매, 시간, 비용 등에 대한 현 방법의 문제점을 개선하고자 solid phase

extraction(SPE) 방법을 이용한 연구가 수행된 바 있다[15,17,18]. 현행 지질추출과정은 용매추출방법이 유일하며, 용매추출시 고가의 유기용매가 다량으로 필요하고 긴 추출시간(12-24 시간)을 필요로 하게 되므로 MAE(Microwave-assisted extraction)이나 SFE(solid phase extraction) 방법을 제안하였다. MAE는 마이크로파의 특성을 이용한 추출방법으로 5분이내 단시간에 균일하게 효율적으로 추출할 수 있어 기존 용매추출방법의 단점을 보완할 수 있고 신속성과 효율성을 극대화 할 뿐만 아니라 용매사용량을 현저히 줄일 수 있는 잠재력을 지닌 것으로 알려져 MAE를 이용하여 hydrocarbons의 현행추출법의 단점을 보완할 수 있을 것으로 예상된다[15,19-21].

방사선 조사식품의 검지 관련 연구는 식품조사기술의 산업화와 더불어 방사선 조사식품의 교역이 이루어지면서 본격적인 연구가 시작되었고, 국내에서도 방사선 조사식품의 확인시험법에 대한 연구도 활발히 진행되고 있는 추세이다. 이에 국내 방사선 허용대상 품목중 수입의존도가 높고, 지질의 추출이 가능한 대두를 대상으로 hydrocarbons 전처리조건의 개선을 위한 기초연구를 수행하고자 본 실험을 실시하였다.

2. 실험 및 방법

2.1. 실험재료

본 실험에 사용된 대두는 경북 상주 인근 재배 농가에서 구입하였고, low density polyethylene (LDP) bag에 포장하여 실험에 사용하였다.

2.2. 감마선조사

대두는 4 kGy의 선량으로 60-Cobalt gamma irradiator (100 kCi point source AECL, IR-79, MDS Nordion International Co. Ltd., Ottawa, ON, Canada)를 이용하여 시간당 일정한 선량률

로 흡수토록 조사하여 실험에 사용하였다.

2.3. Microwave를 이용한 hydrocarbons

추출조건 최적화를 위한 실험계획

방사선 조사(4 kGy)된 대두를 이용하여 추출 시간과 microwave power에 의한 hydrocarbons 변화를 반응표면분석법[22]을 이용하여 추출조건을 모니터링하였다. 또한 Table 1과 같이 독립변수(X_i)로 extraction time(X_1 : 1-5 min)와 microwave power(X_2 : 0-160 W)를 -2, -1, 0, 1, 2의 5단계로 부호화하였고, 이들 독립변수를 중심합성계획에 따라 10구간으로 설정하였으며 반복 측정($n=3$)하여 그 평균값을 회귀분석에 사용하였다. 또한 microwave를 이용한 hydrocarbons의 추출조건 최적화를 위해 각 반응 표면을 superimposing 했을 때 중복되는 부분의 범위로 예측하였다. 또한 예측된 범위에서 임의점을 설정하여 회귀식에 대입하여 최적값을 예측하였다.

Table 1. Central Composite Design by RSM (Response Surface Methodology) Computer Program for the Optimization of Microwave Extracting Conditions for 4 kGy-irradiated Soybean

| Exp. No. ¹⁾ | Extraction time (min) | Microwave power (W) |
|------------------------|-----------------------|---------------------|
| 1 | 4(1) | 120(1) |
| 2 | 4(1) | 40(-1) |
| 3 | 2(-1) | 120(1) |
| 4 | 2(-1) | 40(-1) |
| 5 | 3(0) | 80(0) |
| 6 | 3(0) | 80(0) |
| 7 | 5(2) | 80(0) |
| 8 | 1(-2) | 80(0) |
| 9 | 3(0) | 160(2) |
| 10 | 3(0) | 0(-2) |

¹⁾ The number of experimental conditions by central composite design.

2.4. Hydrocarbons 분석

2.4.1. 지방산 분석

지방질 유래의 hydrocarbons 분석과 관련하여 각 시료의 지방산 조성을 분석하였다. 마쇄된 대두 100 g에 sodium sulfate와 4 배량의 n-hexane(HPLC grade)을 가하여 조지방을 추출(100 rpm, 12 hr)하여 Whatman paper(no.41)로 여과한 후 원심분리(20 min, 6,000 rpm) 하였다. 추출물을 rotary evaporator(EYELA, N-1000, Rikakikai Co., LTD., Tokyo, Japan)로 감압농축하여 Metcalf 등[23]의 방법에 준하여 boron trifluoride/ methanol(14%)를 가하여 fatty acid methyl esters(FAMEs)화 하였다. FAMEs는 flame ionization detector(FID)가 장착된 gas chromatograph를 사용하여 분석하였으며 분석에 사용된 컬럼은 DB-FFAP 122-3232(30 m, 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film; J&W Scientific, Folsom, CA, USA)였다. GC-FID 조건은 injection volume 1 μ L, injector temp. 240°C이었고, column temp.는 150°C에서 2 분간 유지한 후 180°C까지 5°C/min 속도로 승온하여 180°C에서 5 분간 유지한 다음 240°C까지 8°C/min 속도로 승온하여 29.5 분간 유지하였다. detector temp.는 250°C였고, carrier gas는 helium(1 mL/min)이었다.

2.4.2. Hydrocarbons 분석

Hydrocarbons 분석은 EN 1784방법에 준하여 실시하였고[24], 분석방법은 지방추출, florisil column chromatography 및 GC/MS identification을 포함한다. Florisil(60-100 mesh, Fisher Scientific, PA, USA)은 volatile organic contaminant를 제거하기 위하여 550°C에서 overnight하여 데시케이터에서 식힌 후 3%(w/w) 증류수를 가한 다음 20 분간 잘 혼합하여 10-12 시간 안정화시킨 후 충전제로 사용하였다. 불활성화된 florisil(20 g)은 teflon stopcock이 부착된 glass column(200×23 mm)을 n-hexane으로 씻은 후 충전하였다. 추출된 지방(1 g, stored at -18°C)에 내부 표준물질로써 1 mL n-eicosane(4 μ g/mL hexane)을 florisil column에 가하여 2 mL/min 유속으로 60 mL를 분리하여 2 mL로 농축한 후 질소로 0.5 mL까지 농축하여 GC/MS를 이용하여 분석하였다.

Hydrocarbons의 정량분석에 사용된 GC/MS의 분석은 6890 model gas chromatograph와 Agilent 5793N mass selective detector(를 사용

하였으며, 시료의 ion화는 electron impact ionization(EI) mode로 실시하였다. 사용된 컬럼은 DB-5(30 m×0.32 mm i.d., 0.25 μ m, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였고, ionization voltage와 ion source 온도는 각각 70 eV와 250°C였다. Hydrocarbons 분석조건으로 오븐온도는 60°C에서 170°C까지 25°C/min 속도로, 205°C까지는 2°C/min 속도로 승온하였고, 다시 10°C/min 속도로 270°C까지 승온시켰다. Injector와 detector온도는 각각 250°C였으며, carrier gas는 헬륨(1.0 mL/min)이었다. 분석시료(2 μ L)는 초기에는 splitless mode(2 min)로 하고, 그 후에는 split mode(1:10)로 하였다. 분리된 성분의 확인은 준비된 표준품과의 retention time 비교와 각 피크의 mass spectra대조로서 확인하였다. Standard hydrocarbon은 1-tetradecene(C_{14:1}), pentadecane(C_{15:0}), 1-hexadecene (C_{16:1}), 1,7-hexadecadiene(C_{16:2}), heptadecane(C_{17:0}) 및 8-heptadecene(C_{17:1})을 Sigma Co.(Sigma Aldrich, St. Louis, USA)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 지방산 조성

시료의 hydrocarbons 분석을 위해 방사선조사 처리되지 않은 시료로부터 지방산 조성을 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 대두의 조지방 함량은 16.5%이었고 hydrocarbons의 모지방산이 될 수 있는 지방산 중 linoleic acid와 oleic acid와 각각 56.2%와 19.9%로 가장 많이 함유되었으며 linolenic acid와 palmitic acid가 그 다음으로 나타났다. 또한 불포화지방산의 함유량은 87.6%, 포화지방산은 12.4%로 나타났다. 대두의 경우, Lee 등의 보고[9]에 의하면 대두유에 함유된 지방산 조성이 국산 및 중국산 모두 거의 같은 경향을 나타내었고 linoleic acid와 oleic acid가 전체 지방산의 약 78%를 포함하고 있고, 포화지방산이 전체지방산의 13%, 불포화지방산은 약 87%를 각각 차지한다고 보고하여 본 결과를 잘 뒷받침해주고 있다. 특히 대두는 불포화도가 높은 식품으로 방사선 조사에 의해 지방산으로부터 생성될 주요 hydrocarbons를 예측할 수 있을 것이다.

Table 2. Comparison of Fatty Acid Composition of Soybean (unit : rel. %)

| Fatty acid | Sample | Fatty acid composition |
|---------------------------|--------|------------------------------|
| Myristic acid (14:0) | | 0.1 \pm 0.00 ¹⁾ |
| Palmitic acid (16:0) | | 9.5 \pm 0.05 |
| Palmitoleic acid (16:1) | | 0.1 \pm 0.00 |
| Heptadecanoic acid (17:0) | | 0.1 \pm 0.00 |
| Stearic acid (18:0) | | 2.5 \pm 0.30 |
| Oleic acid (18:1 cis) | | 19.9 \pm 0.09 |
| Linoleic acid (18:2 cis) | | 56.2 \pm 0.23 |
| Linolenic acid (18:3 n-3) | | 11.4 \pm 0.05 |
| Arachidic acid (20:0) | | 0.2 \pm 0.00 |
| Behenic acid (22:0) | | 0.0 \pm 0.00 |
| TSFA ²⁾ | | 12.4 |
| TUSFA ³⁾ | | 87.6 |

¹⁾ Mean \pm s.d. (n=2). ²⁾Total saturated fatty acid. ³⁾Total unsaturated fatty acid.

3.2. Hydrocarbons 분석 특성

식품에 함유되어 있는 지방질은 고에너지의 방사선에 의해 지방질 분자내 탄소 사이의 결합이 끊어짐과 동시에 재배열과 같은 반응, 즉 carboxylic group이 제거되면서 모지방산보다 탄소수가 하나 작은 것(C_{n-1}), 그리고 carboxylic group과 이것에 인접한 탄소가 제거되면서 1번 탄소에 이중결합이 형성되는 것(C_{n-2:1}) 등 여러 종류의 방사선 분해산물(radiolytic product)이 생성된다[8,10].

대두에서 검출된 주요 hydrocarbons에 대하여 방사선 조사 시료와 비조사 시료 간에 차이가 명확히 나타났으며, 조사선량의 증가에 따라 주요 hydrocarbons 검출량이 매우 뚜렷하게 증가되었다(Table 3). 대두의 비조사구에서는 C_{15:0} 및 C_{17:0}이 검출되었으며 C_{14:1}은 palmitic acid로부터 유래되나 비조사구에서도 검출되었다. 방사선 조사에 의하여 생성되는 주요 hydrocarbons으로 C_{17:2}, C_{17:1}, C_{16:3} 및 C_{16:2}는 대두의 방사선 조사 여부 검지를 위한 marker로 사용할 수 있을 것으로 예상된다. 이상의 결과는 Hwang 등(5,12)과 Lee 등(9)의 보고에서의 hydrocarbons 검지마커들과 유사한 결과를 나타냈다.

Table 3. Hydrocarbons Detected in Non-irradiated and 4 kGy-irradiated Soybean (unit : $\mu\text{g/g}$ oil)

| Hydrocarbon | Irradiation dose (kGy) | |
|--|-------------------------------|-----------------|
| | 0 | 4 |
| 1-Tetradecene (C _{14:1}) | 0.15 \pm 0.12 ¹⁾ | 0.41 \pm 0.05 |
| Pentadecane (C _{15:0}) | 0.22 \pm 0.01 | 1.77 \pm 0.16 |
| 1,7,10-Hexadecatriene (C _{16:3}) | - | 1.95 \pm 0.04 |
| 1,7-Hexadecadiene (C _{16:2}) | - ²⁾ | 1.36 \pm 0.07 |
| 1-Hexadecene (C _{16:1}) | - | 1.27 \pm 0.14 |
| 6,9-Heptadecadiene (C _{17:2}) | - | 2.65 \pm 0.09 |
| 8-Heptadecene (C _{17:1}) | - | 1.26 \pm 0.03 |
| Heptadecane (C _{17:0}) | 0.15 \pm 0.12 | 1.29 \pm 0.21 |

¹⁾Mean \pm s.d. (n=2). ²⁾Not detected.

3.3. Microwave 추출조건에 따른 대두의 hydrocarbons 모니터링

방사선이 조사된 대두의 microwave 추출조건에 따른 지방과 hydrocarbons 함량변화에 대한 결과와 반응표면 회귀식은 Table 4과 Table 5에 나타내었다. 추출조건별 대두의 지방함량은

8.64-11.28%로 조건에 따라 차이를 보였고 회귀식의 R²는 0.9002로 5%이내의 유의수준에서 유의성이 인정되었다. 이때 지방함량의 정상점은 안장점으로 능선분석을 실시한 결과, 추출시간 3.95분, microwave power 100.48 W일 때 최대값은 11.05%로 예측되었다. Hydrocarbon C_{16:3}에 대

Table 4. Hydrocarbons Detected in Oil Extracted from 4 kGy-irradiated Soybean by MAE

| Exp. No. ¹⁾ | Oil (%) | Hydrocarbons ($\mu\text{g/g}$ oil) | | | | | | | |
|------------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | C _{14:1} | C _{15:0} | C _{16:3} | C _{16:2} | C _{16:1} | C _{17:2} | C _{17:1} | C _{17:0} |
| 1 | 10.95 \pm 0.25 | 0.36 \pm 0.035 | 1.18 \pm 0.021 | 1.47 \pm 0.113 | 1.38 \pm 0.057 | 0.94 \pm 0.014 | 2.04 \pm 0.064 | 1.47 \pm 0.141 | 1.35 \pm 0.035 |
| 2 | 10.41 \pm 0.30 | 0.42 \pm 0.042 | 1.36 \pm 0.092 | 1.80 \pm 0.085 | 1.07 \pm 0.049 | 0.91 \pm 0.064 | 2.47 \pm 0.106 | 1.58 \pm 0.071 | 1.60 \pm 0.035 |
| 3 | 10.22 \pm 0.14 | 0.38 \pm 0.007 | 1.25 \pm 0.035 | 1.96 \pm 0.148 | 1.12 \pm 0.057 | 1.22 \pm 0.099 | 2.89 \pm 0.417 | 1.31 \pm 0.064 | 1.78 \pm 0.212 |
| 4 | 9.74 \pm 0.35 | 0.37 \pm 0.028 | 1.29 \pm 0.113 | 1.28 \pm 0.156 | 1.10 \pm 0.057 | 0.91 \pm 0.156 | 2.05 \pm 0.064 | 1.37 \pm 0.156 | 1.26 \pm 0.163 |
| 5 | 9.95 \pm 0.09 | 0.44 \pm 0.007 | 1.31 \pm 0.092 | 1.90 \pm 0.049 | 1.32 \pm 0.106 | 1.10 \pm 0.148 | 2.71 \pm 0.028 | 1.24 \pm 0.014 | 1.53 \pm 0.240 |
| 6 | 10.16 \pm 0.15 | 0.38 \pm 0.106 | 1.97 \pm 0.156 | 2.01 \pm 0.035 | 1.21 \pm 0.042 | 1.05 \pm 0.134 | 2.59 \pm 0.156 | 1.27 \pm 0.057 | 1.47 \pm 0.177 |
| 7 | 11.28 \pm 0.33 | 0.37 \pm 0.085 | 1.30 \pm 0.064 | 1.65 \pm 0.092 | 1.35 \pm 0.028 | 0.99 \pm 0.014 | 2.40 \pm 0.240 | 1.46 \pm 0.141 | 1.45 \pm 0.156 |
| 8 | 9.69 \pm 0.27 | 0.53 \pm 0.049 | 1.53 \pm 0.092 | 1.34 \pm 0.233 | 1.21 \pm 0.057 | 0.84 \pm 0.049 | 2.13 \pm 0.106 | 1.32 \pm 0.092 | 1.41 \pm 0.198 |
| 9 | 10.24 \pm 0.29 | 0.22 \pm 0.064 | 1.00 \pm 0.085 | 1.50 \pm 0.014 | 1.04 \pm 0.042 | 0.93 \pm 0.092 | 2.05 \pm 0.191 | 1.65 \pm 0.092 | 1.29 \pm 0.127 |
| 10 | 8.64 \pm 0.13 | 0.24 \pm 0.028 | 1.19 \pm 0.163 | 1.08 \pm 0.064 | 1.18 \pm 0.021 | 0.81 \pm 0.078 | 2.09 \pm 0.177 | 1.42 \pm 0.021 | 1.33 \pm 0.191 |

¹⁾The number of experimental condition by central composite design.

Table 5. Second Order Polynomials for Hydrocarbons Detected in Oil Extracted from 4 kGy-irradiated Soybean by MAE

| Response | Second order polynomial equations | R ² | Significance |
|-------------------|---|----------------|--------------|
| Oil | $Y_1 = 8.741197 - 0.161837X_1 + 0.027302X_2 + 0.158710X_1^2 + 0.000375X_1X_2 - 0.000123X_2^2$ | 0.9002 | 0.0393 |
| C _{14:1} | $Y_2 = 0.410642 - 0.136697X_1 + 0.005231X_2 + 0.027238X_1^2 - 0.00438X_1X_2 - 0.000025661X_2^2$ | 0.9253 | 0.0026 |
| C _{15:0} | $Y_3 = 0.613971 + 0.364964X_1 + 0.013159X_2 - 0.061433X_1^2 - 0.000875X_1X_2 - 0.000073651X_2^2$ | 0.4900 | 0.6177 |
| C _{16:3} | $Y_4 = -1.804820 + 1.453142X_1 + 0.037301X_2 - 0.161709X_1^2 - 0.006313X_1X_2 - 0.000099379X_2^2$ | 0.9752 | 0.0026 |
| C _{16:2} | $Y_5 = 1.456916 - 0.159688X_1 - 0.001570X_2 + 0.011287531X_1^2 + 0.001812X_1X_2 - 0.000023521X_2^2$ | 0.5606 | 0.5062 |
| C _{16:1} | $Y_6 = -0.241792 + 0.596094X_1 + 0.012077X_2 - 0.084394X_1^2 - 0.001750X_1X_2 - 0.000035114X_2^2$ | 0.8722 | 0.0625 |
| C _{17:2} | $Y_7 = -1.196873 + 1.608909X_1 + 0.039275X_2 - 0.178404X_1^2 - 0.007938X_1X_2 - 0.000092342X_2^2$ | 0.9502 | 0.0103 |
| C _{17:1} | $Y_8 = 1.723337 - 0.281662X_1 - 0.005137X_2 + 0.068671X_1^2 - 0.000312X_1X_2 + 0.000041740X_2^2$ | 0.8071 | 0.1326 |
| C _{17:0} | $Y_9 = -0.067499 + 0.541460X_1 + 0.019789X_2 - 0.028457X_1^2 - 0.004813X_1X_2 - 0.00030971X_2^2$ | 0.8596 | 0.0745 |

한 분석결과는 1.08–2.01 $\mu\text{g/g}$ 범위로 추출조건에 따라 차이를 보였고(Table 4) 회귀식의 R²는 0.9752으로 유의성이 1% 이내의 유의수준에서 인정되었다(Table 5). 예측된 정상점은 최대점으로 이때 최대값은 1.99 $\mu\text{g/g}$ 으로 추출조건 2.22 분, 117 W 일 때였다(Table 6). 추출조건에 대한 영향은 추출시간 및 microwave power에 많은 영향을 받고 있는 것으로 나타났으며($p < 0.01$), 그 중 microwave power가 추출조건에 가장 큰 영향을 주는 것으로 나타났다(Table 7). 조사된 대두의 microwave 추출조건에 따른 hydrocarbon C_{16:2}에 대한 함량은 1.04–1.38 $\mu\text{g/g}$, 회귀식의 R²는 0.5606으로 유의성은 매우 낮았다. 예측된 정상점은 안장점이었고 hydrocarbon C_{16:2}에 대해 능선분석을 실시한 결과 추출시간 3.93 분, microwave power 103.69 W 일 때 최대값은 1.337 $\mu\text{g/g}$ 으로 예측되었으며 추출조건에 대한 영향은 미미하였다.

Hydrocarbon C_{17:2}에 대한 측정결과는 2.05–2.89 $\mu\text{g/g}$ 범위였고, 회귀식의 R²는 0.9502으로 1%이내의 유의수준에서 유의성이 인

정되었다. 예측된 정상점은 최대점이었으며 추출시간 1.53 분, microwave power 140.81 W일 때 최대값은 2.84 $\mu\text{g/mg}$ 로 예측되었다(Table 6). Hydrocarbon C_{17:2}에 대한 볶음조건의 영향은 microwave power에 가장 큰 영향을 받고 있었으며, 그 다음으로 볶음시간에 영향을 받고 있는 것으로 나타났다(Table 7)($p < 0.01$). 한편, hydrocarbon C_{17:1}에 대한 회귀식의 R²는 0.8071로 유의성이 인정되지 않았으며 다른 hydrocarbons marker에 비해 추출조건에 의한 영향도 매우 적었다(Table 7).

3.4. Microwave 추출조건에 따른

hydrocarbons 예측

중심합성 실험계획에 의해 추출조건을 달리하여 방사선 조사된 대두의 hydrocarbons 변화를 모니터링하고자 반응변수로 지방함량과 radiation-induced hydrocarbons 8 종에 대한 상대적인 값과 그 회귀식을 나타내어 확인하였다. 그 결과 추출조건에 따른 이들 반응변수들의 값은 조금씩 다른 반응표면을 나타내고 있으므로,

Table 6. Predicted Levels of Different Extraction Conditions for the Maximum Responses of Hydrocarbons Detected in oil MAE-extracted from 4 kGy-irradiated Soybean by the Ridge Analysis

| Response | R ² | Significance | X ₁ | X ₂ | Max. | Morphology |
|-------------------|----------------|--------------|----------------|----------------|-------|--------------|
| Oil | 0.9002 | 0.0393 | 3.95 | 100.48 | 11.05 | Saddle point |
| C _{14:1} | 0.9253 | 0.0026 | 1.01 | 88.58 | 0.52 | Saddle point |
| C _{15:0} | 0.4900 | 0.6177 | 2.39 | 74.39 | 1.55 | Max. |
| C _{16:3} | 0.9752 | 0.0026 | 2.22 | 117.00 | 1.99 | Max. |
| C _{16:2} | 0.5606 | 0.5062 | 3.93 | 103.69 | 1.33 | Saddle point |
| C _{16:1} | 0.8722 | 0.0625 | 2.38 | 118.30 | 1.14 | Max. |
| C _{17:2} | 0.9502 | 0.0103 | 1.53 | 140.81 | 2.84 | Max. |
| C _{17:1} | 0.8071 | 0.1326 | 2.59 | 159.85 | 1.57 | Min. |
| C _{17:0} | 0.8596 | 0.0745 | 1.47 | 138.26 | 1.83 | Saddle point |

Table 7. Regression Analysis for Regression Model of Variables in Hydrocarbons Detected in Oil Extracted from 4 kGy-irradiated Soybean by MAE at Different Extraction Condition

| Extraction condition | F-Ratio ¹⁾ | | | | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | Oil | C _{14:1} | C _{15:0} | C _{16:3} | C _{16:2} | C _{16:1} | C _{17:2} | C _{17:1} | C _{17:0} |
| Microwave power (W) | 4.89 | 3.04 | 0.18 | 29.89*** | 0.95 | 5.28* | 19.04*** | 2.86 | 6.48* |
| Extraction time (min) | 6.13* | 7.65** | 1.18 | 48.48*** | 1.08 | 7.72** | 23.86*** | 3.65 | 8.15** |

¹⁾* significant at 10% level; ** significant at 5% level; *** significant at 1% level.

그 중 radiation-induced marker로 사용될 수 있는 hydrocarbon C_{16:3}, C_{16:2}, C_{17:2} 및 C_{17:1} 반응 변수들을 모두 충족시킬 수 있는 추출조건을 얻기 위하여 반응표면을 superimposing하여 최적범위를 예측하여 보았다.

Microwave 추출에 의한 대두의 hydrocarbons의 변화를 확인하여 hydrocarbon C_{16:3}, C_{16:2}, C_{17:2} 및 C_{17:1}의 반응표면의 중첩되는 부분을

Fig. 1에 나타내었고, superimposing하여 얻어진 최적 범위를 Table 8에 제시하였다. 최적 추출범위는 추출시간 1.3-3.2분, microwave power 61-133 W로 나타났다.

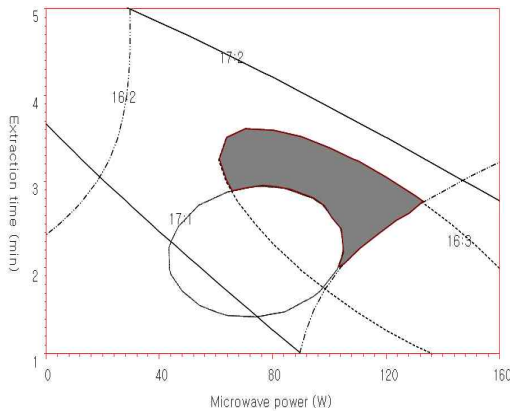


Fig. 1. Superimposed Response Surfaces for the Maximized Levels for Hydrocarbons Detected in Oil Extracted from 4 kGy-irradiated Soybean by MAE at Different Extraction Conditions.

Table 8. Optimum Extraction Condition Ranges of Response Variables by Superimposing the Response Surfaces for Hydrocarbons Detected in Oil Extracted from 4 kGy-irradiated Soybean by MAE

| Extraction condition | Range of optimum condition | Optimum condition |
|-----------------------|----------------------------|-------------------|
| Extraction time (min) | 1.3 - 3.2 | 2.2 |
| Microwave power (W) | 61 - 133 | 97 |

4. 결 론

지질 함량이 많은 식품에 방사선 조사여부 판별방법으로 적용가능성이 가장 높은 hydrocarbons법의 전처리 추출공정을 개선하고자, 추출시간 및 추출용매를 줄일 수 있는 마이크로웨이브 추출법을 적용하였다. 국제 교역량이 가장 높은 농산물중 지질의 함량이 높은 대두를 대상으로 방사선 조사(4 kGy)를 하여 마이크로웨이브 추출조건에 의한 hydrocarbons 변화를 모니터링하였다.

중심합성 실험계획에 의해 독립변수인

extraction time (1-5 min)과 microwave power(0-160 W)를 달리하여 10구간으로 나누어 실험을 실시하였고, radiation-induced marker로 사용될 수 있는 hydrocarbon C_{16:3}, C_{16:2}, C_{17:2} 및 C_{17:1} 반응변수들을 모두 충족시킬 수 있는 추출조건을 얻기 위하여 반응표면을 superimposing 하여 최적범위를 예측하여 보았다. 예측된 대두의 최적 추출범위는 extraction time 1.3-3.2분, microwave power 61-133 W로 나타났고, 예측된 범위에서 임의점을 설정하여 회귀식에 대입하여 최적값을 예측하였을 때 값은 microwave power와 extraction time이 각각 97 W과 2.2 분이었다. 국내에서는 방사선조사식품 확인시험법이 고시(2007. 4. 12)되었고, 시행(2010. 1. 1)되고 있는 상황으로 검지법의 분석결과의 정확성과 더불어 신속성이 요구되는 실정이다. 국내 방사선 허용대상 26개 품목중 hydrocarbons검지법 적용이 가능한 대두를 대상으로 MAE추출법을 적용한다면, 식품공전상의 현행 추출전처리(12-24시간)에 따른 분석시간을 줄이고 추출공정 개선이 가능할 것으로 본다.

감사의 글

이 논문은 2013년도 대구과학대학교 교육역량 강화사업단의 지원을 받아 수행된 연구임.

References

1. M. W. Byun, J. H. Kwon, B. S. Cha, K. H. Chung, and H. O. Cho, Control of Insects on Stored Rice Grain by Gamma Irradiation, *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **31**, 143 (1988).
2. IAEA, Food and Environmental Protection Newsletter, **9**, 21 (2006).
3. IAEA, International Consultative Group on Food Irradiation, **7**, 30 (2008).
4. A. Spiegelberg, G. M. Schulzki, N. Helle, K. W. Bögl, and A. Schreiber, Methods for Routine Control of Irradiated Food : Optimization of a Method for Detection of Radiation-Induced Hydrocarbons and its Application to Various Foods, *Radiat.*

- Phys. Chem.*, **43**, 433 (1994).
5. K. T. Hwang, J. E. Kim, and J. S. Yang, The Identification of Post-Irradiated Soybeans by Measuring the Concentration of Hydrocarbons, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **40**, 907 (2005).
 6. P. Bhattacharjee, R. S. Singhal, A. S. Gholap, P. S. Variyar, D. R. Bongirwar, Hydrocarbons as Marker Compounds for Irradiated Cashew Nuts, *Food Chem.*, **80**, 151 (2003).
 7. C. R. Choi and K. T. Hwang, Detection of Hydrocarbons in Irradiated and Roasted Sesame Seeds, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 469 (1997).
 8. J. R. Kavalam and W. W. Nawar, Effects of Ionizing Radiation on Some Vegetable Fats, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **46**, 387 (1969).
 9. E. Lee, M. O. Kim, H. J. Lee, K. S. Kim, and J. H. Kwon, Detection Characteristics of Hydrocarbons from Irradiated Legumes of Korean and Chinese Origins, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **30**, 770 (2001).
 10. M. F. Dubravcic and W. W. Nawar, Effect of Free Fatty Acids on the Radiolysis of Triglycerides, *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 1087 (1976).
 11. W. W. Nawar, Volatiles from Food Irradiation, *Food Rev. Int.*, **2**, 45 (1986).
 12. K. T. Hwang, J. H. Yoo, C. K. Kim, T. B. Uhm, S. B. Kim, and H. J. Park, Hydrocarbons Detected in Irradiated and Heat-Treated Eggs, *Food Res. Int.*, **34**, 321 (2001).
 13. J. Y. Park and K. T. Hwang, Hydrocarbons as Markers for Identifying Postirradiated Peanuts, *JAOAC.*, **76**, 125 (1999).
 14. H. W. Chung, J. H. Hong, M. R. Marshall, Y. Jeong, and S. B. Han, Detection Properties of Irradiated Ostrich Meat by DNA Comet Assay and Radiation-Induced Hydrocarbons, *J. Food Sci.*, **69**, 399 (2004).
 15. J. H. Kwon, T. Kausar, J. Lee, H. K. Kim, and D. W. Ahn, The Microwave-Assisted Extraction of Fats from Irradiated Meat Products for the Detection of Radiation-Induced Hydrocarbons, *Food Sci. Biotechnol.*, **16**, 150 (2007).
 16. K. T. Hwang, J. E. Kim, J. N. Park, and J. S. Yang, Effects of Roasting, Powdering and Storing Irradiated Soybeans on Hydrocarbon Detection for Identifying Post-Irradiation of Soybeans, *Food Chem.*, **102**, 263 (2007).
 17. H. Berg, M. Margard, G. Johanson, and L. Mathiasson, Development of a Supercritical Fluid Extraction Method for Determination of Lipid Classes and Total Fat in Meats and its Comparison with Conventional Methods, *J. Chromatogr. A*, **785**, 345 (1997).
 18. E. Depedro, M. Casillas, and C. M. Miranda, Microwave Oven Application in the Extraction of Fat from the Subcutaneous Tissue of Iberian Pig Ham, *Meat Sci.*, **45**, 45 (1997).
 19. C. R. Buffler and M. A. Stanford, Effects of Dielectric and Thermal Properties on the Microwave Heating of Foods, *Microwave World*, **16**, 5 (1995).
 20. J. Giese, Advances in Microwave Food Processing, *Food Technol.*, **46**, 118 (1992).
 21. V. Lopez-Avila, R. Young, and N. Teplitsky, Microwave-Assisted Extraction as an Alternative to Soxhlet, Sonication, and Supercritical Fluid Extraction, *J. AOAC Int.*, **79**, 143 (1996).
 22. N. Gontard, S. Guilbert, and J. L. Cuq, Edible Wheat Gluten Films : Influence of the Main Process Variables on Film Properties Using Response Surface Methodology, *J. Food Sci.*, **57**, 190 (1992).
 23. L. D. Metcalf, A. A. Schmitz, and J. R. Pelka, Rapid Preparation of Fatty Acid Esters from Lipid for Gas Chromatographic Analysis, *Anal. Chem.*, **38**, 514 (1996).

24. EN 1784, Foodstuffs - Detection of Irradiated Food Containing Fat, Gas Chromatographic Analysis of Hydrocarbons, European Committee for Standardization, Brussels, Belgium (2003).