다중 표적 프로파일 기법을 적용한 불량식품 판별

Detection of Adultrated Food Using Multi-target Profiling Method

최지연, 김경수*

Ji Yeon Choi, Kyong Su Kim*

조선대학교 자연과학대학 식품영양학과

Department of Food and Nutirion, Chosun University

서론

식품 산업은 계속해서 급속한 발전을 이루고 있으며 동시에 최근 경제적 이익을 목적으로 저가 타원료 또는 식품에 사용이 불가능한 원료를 사용하거나, 표시 사항 등을 허위로 표시하는 등 다양한 방법으로 제조하여 유통되는 사례가 증가하고 있다(1-4). 이러한 불량식품은 법의 규제를 피하기 위해 더욱 복잡하고 다양화되고 있는 실정이며(5), 특히 식용이 불가능한 원료 또는 물질 등을 함유한 식품은 안전한 먹거리를 원하는 소비자의 건강에 해를 미칠 수 있는 위험성이 높다(3).

최근 우리나라에서 발생되었던 주요 불량식품 사례를 살펴보고자 한다(표 1). 2008년 중국에서 우유의 증량을 목적으로 물로 희석시킨 후 단백질 함량 기준을 충족하기 위해 식품에 사용 불가능한 공업용 멜라민을 첨가하여 유아용 분유 또는 우유를 첨가한 다양한 가공식품을 제조 및 판매하여 이를 섭취한 영 · 유아가 사망한 사건을 대표적

표 1. 주요 불량식품 관련 사건

년도	주요식품 사건	불량식품 유형
2017	살충제 계란	유해 물질 기준 · 규격에 부적합한 식품
2014	가짜 백수오 사건	제품의 성분(함량), 품질, 가격 등으로 속이는 식품
2013	가짜 홍삼 사건	제품의 성분(함량), 품질, 가격 등으로 속이는 식품 성분, 영양가, 신고사항 등 허위표시 식품
2012	라면 스프 발암물질 논란	유독 · 유해한 물질이 함유된 위해 우려 식품 유해 물질 기준 · 규격에 부적합한 식품
2010	낙지머리 중금속 논란	유해 물질 기준 · 규격에 부적합한 식품
2009	참기름 중 벤조피렌 검출	유독 · 유해한 물질이 함유된 위해 우려 식품 유해 물질 기준 · 규격에 부적합한 식품
2008	분유 중 멜라민 검출	유독 · 유해한 물질이 함유된 위해 우려 식품 유해 물질 기준 · 규격에 부적합한 식품

* Correspondence to: Prof. Kyong Su Kim, PhD.
Department of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 61452, South Korea.
Tel: +82-62-230-7724 Fax: +82-62-224-8880 E-mail address: kskim@chosun.ac.kr

인 불량식품의 사례로 들 수 있다. 이 사례는 우리나라뿐만 아니라 전세계적으로 수입식품에 대한 안전성을 강조하고 불량식품에 대한 경각심을 고조시켰다. 2012년 라면스프에서 발암물질로 널리 알려진 벤조피렌의 검출여부가 기사화되었고 그 후 정부기관에서 무해하다는 정정보도를 하였으나 이미 큰 경제적 손해와 더불어 가공식품에 대한 소비자의 불안감은 증폭되었다. 2013년 가짜 홍삼사건은 고가인 홍삼 가공식품 및 건강기능식품 중 인삼이 아닌 값싼 다른 원료로 도라지, 칡 등을 사용하여 제조함으로써 제품의 성분, 품질, 가격 등을 속였으며, 성분표에 표기하지 않고 진한 색을 내기 위해 사용된 카라멜 시럽은 성분, 신고사항 등 허위표시한 식품의 대표적인 사례이다. 또한 백수오 제품에 안전성이 미확인된 원료로서 식품으로 사용할 수 없는 이엽우피소를 백수오 건강기능식품의 원료로 제조한 가짜 백수오 사건이 발생하였다. 이 사건 또한 생산성이 낮은 백수오 대신 생산율이 높은 이엽우피소를 대체하여 사용함으로써 발생되었고 국내 건강기능식품산업에 큰 타격을 주었다. 이외에도 전세계적으로 다양한 불량식품 특히 경제적 이익을 위한 사건들이 빈번하게 발생되고 있다.

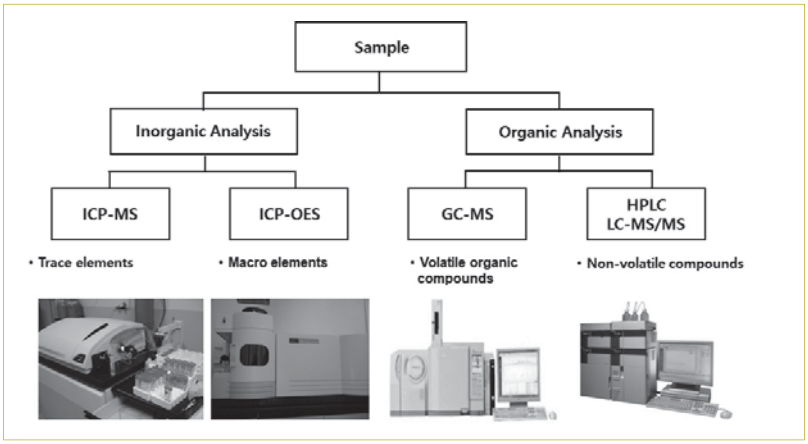

그림 1. 다중표적 프로파일 기법에 활용된 분석체계도 및 분석기기

일련의 불량식품의 문제가 사회적 이슈화되면서 안전한 식품의 구매 및 섭취에 대한 소비자의 욕구를 증가시켰다. 따라서 소비자가 안심하고 식품을 구매하고 섭취할 수 있도록 불량식품의 제조를 사전에 방지하고 규제 할 수 있는 제도를 마련함으로써 식품 산업의 신뢰도 향상과 식품에 대한 전반적인 안전성을 확보해야 한다. 특히, 불량식품의 여부를 확인하는 정교하고 과학적인 분석방법의 중요성이 강조되고 있다(6-7). 불량식품을 판별하는 분석방법을 개발함으로써 사전에 차단하고 편이하게 규제할 수 있는 근거가 마련되고 있다.

유전자 분석은 불량식품을 판별하는데 간편하게 활용될 수 있으나, 대부분의 가공식품 제조시 고온과 고압 등 다양한 처리에 의하여 유전자가 파괴될 수 있는 단점이 있어 모든 가공식품에 적용하기에는 어려움이 있다. 따라서 제조과정을 거쳐도 분석이 가능한 이화학적 지표성분을 분석하고 최적 분석조건을 확립한다면 식품원료와 더불어 가공식품까지 적용가능하다. 분석법 개발에 있어서 다음에 제시하는 5가지 성질인 1) 판별의 명확성 2) 높은 정확도와 재현성 3) 전처리 과정 등의 간편성 4) 분석장비의 보편성 5) 적은 분석비용은 매우 중요하게 여겨지고 있다. 또한, 분야의 전문가가 아니라도 누구나 쉽게 사용할 수 있는 분석방법을 개발해야 한다. 따라서 대부분의 분석기관에서 보유하고 있는 보편적 분석장비를 이용한 불량식품 판별법 개발이 절실하다.

본 논문에서는 이러한 일련의 분석법 개발 조건에 따라 식품의약품안전처에서 정의한 불량식품 유형 중 '유형을 속인 식품'에 해당하는 식품원료에만 존재하는 지표물질을 탐색하고자 각 시료의 미량 및 다량 무기성분, 휘발성 유기성분, 비휘발성 유기성분을 분석하는 다중 표적 프로파일 기법을 적용하여 진행하는 판별법 개발 과정에 대해 불량 홍삼 판별법 개발 과정을 예로들어 소개하고자 한다.

수많은 식품 중에서 한국을 대표하는 식품으로 전세계에 널리 알려진 인삼(*Panax ginseng*)과 이를 가공하여 제조되는 홍삼(red ginseng)은 유익한 효능으로 원료와 더불어 다양한 형태의 가공식품으로 제조되어 판매되고

있다(8, 9). 제조 과정 중 인삼 대신 의도적 또는 비의도적으로 혼합되어 사용가능한 유사원료를 판별하는데 한계가 있어 더 다양하고 과학적인 접근 방법이 필요하였다. 따라서 인삼과 홍삼을 주원료로 제조하는 일반식품 및 건강기능식품 중 형태학적으로 유사한 품종의 혼입여부를 확인할 수 있는 이화학적 판별법을 마련하고자 다중 표적 프로파일링 기법을 적용하여 유사원료인 더덕(*Codonopsis lanceolata*), 도라지(*Platycodon grandiflorum*), 칡(*Pueraria lobata*)의 혼입여부를 판별할 수 있는 분석법 개발을 위한 연구를 진행하였다.

본론

빈번하게 발생되며 소비자의 식품안전을 해하는 불량식품을 판별해내기 위하여 유사원료의 이화학적 성분들을 탐색하고 지표성분을 확립하여 최적의 분석법을 확립하고자 다중 표적 프로파일링 기법을 활용하여 접근하였다. 다중 표적 프로파일링 기법이란 일반적으로 특정 물질을 분석하고 결과를 정리하는데에서 더 나아가 특정한 성분을 목표로하지 않고, 한 식품에만 존재하는 미지의 지표성분을 검출하기 위하여 이화학적 분석으로 접근가능한 다양한 경로를 모두 적용하여 분석하고 최적의 분석조건 및 결과를 도출하는 것으로 정의할 수 있다.

따라서 인삼 및 홍삼과 외형이 유사한 더덕, 도라지 그리고 칡으로 제조된 홍삼 가공식품 즉, 원료를 속인 불량 홍삼 판별법을 개발하기 위하여 다중 표적 프로파일링 기법을 적용하여 각 시료에 대한 미량 및 다량 무기성분, 휘발성 유기성분 및 비휘발성 유기성분 분석을 모두 진행하였고, 유사원료인 더덕, 도라지, 칡 각각의 지표물질을 확립함으로써 불량홍삼을 판별가능토록 연구를 진행하였다.

인삼, 더덕, 도라지, 칡의 시료는 생시료로 사용하였고, 생시료들을 홍삼을 제조하는 과정과 동일하게 진행하여 증숙시료를 각각 제조하였으며 각각의 시료를 각 시료를 무기성분과 휘발성 유기성분과 비휘발성 유기성분으로 분류하여 이화학적으로 분석할 수 있는 모든 화합물을 분석하고자 하였다.

1. 무기성분 분석 및 결과

인삼과 유사원료간의 무기원소의 차이를 확인하기 위하여 습식분해법 중 하나인 microwave digestion 방법으로 반도체급 질산 7 mL와 과산화수소 1 mL를 사용하여 시료를 완전히 분해하여 시험용액을 제조한 후 유도결합플라즈마-질량분석기(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS)를 이용하여 미량무기원소와 유도결합플라즈마-분광분석기(inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy, ICP-OES)로 다량 무기원소를 분석하였다.

미량무기성분 19종(Li, Cs, Bi, Pb, Mn, Ni, Rb, Co, V, Sr, Cd, Ba, Cr, Cu, Ga, Se, Zn, Tl, Be)과 다량무기성분 6종(Na, Ca, K, Mg, Fe, Al)의 분석 결과 인삼, 더덕, 도라지 및 칡의 주요 무기원소는 K, Ca, Mg, Zn, Mn 그리고 Ba 이었다. 특이적으로 칡에서 미량무기원소 중 Ba과 Sr이 188 및 281 mg/kg으로 다른 시료들보다 유의적으로 높게 검출되었다. 이는 토양에 존재하는 무기성분의 조성에 따른 차이로 추정되며, Ba과 Sr 함량은 화강암 지역에서 재배될 경우 높게 나타난다고 보고되었던 근거가 있다(10). 생시료와 가공처리에 의한 증숙시료간의 유의적 차이는 없었으며 무기성분의 경우 함량의 차이만 존재하여 시료간의 판별이 어렵다고 판단하였다. 동일한 품종일지라도 재배시기와 지역의 토양의 특성에 따라 무기원소의 함량 차이가 나타날 수 있기 때문에(10) 무기원소의 함량으로 판별하는데는 어려움이 있었으며, 특이적으로 한 원료에만 존재하는 무기성분 또한 없으므로 무기원소만으로는 불량홍삼을 판별하기에 부적절하였다.

2. 휘발성 유기성분 분석 및 결과

휘발성 유기성분 추출방법 중 가장 현장적용성 및 간편한 solid phase micro extract(SPME) 방법을 이용하였으며, 80℃ 조건하에서 100 μm polydimethylsiloxane(PDMS) fiber에 휘발성 유기성

분을 흡착시킨 후 기체크로마토그래피-질량분석기(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)의 250℃ injector에서 5분간 탈착 후 다음과 같은 조건으로 실행하였다; Column, ZB-5MS(0.25 mm I.D. × 60 m L, 0.25 μm film thickness; carrier gas, helium, 유속, 1.0 mL/min; 주입량, 1 μL; 시료의 이온화 방법, electron impact ionization(EI)방법; ionization voltage, 70 eV; ion source 온도, 230℃. 각각의 시험용액마다 1 μL의 내부표준물질 *n*-butyl benzene을 첨가하여 정량에 이용하였다.

휘발성유기성분을 GC-MS로 분석한 크로마토그램 결과를 그림 2에 제시하였다. 각 시료별 휘발성 유기성분의 함량은 인삼 16,654 mg/kg으로 가장 많았고, 더덕 9,578 mg/kg, 도라지 13,227 mg/kg, 칡 3,169 mg/kg, 홍삼 10,592 mg/kg, 증숙된 더덕 2,550 mg/kg, 증숙된 도라지 6,368 mg/kg 그리고 증숙된 칡 1,223 mg/kg으로 확인되었다. 인삼의 유사원료인 더덕, 도라지, 칡의 생시료에서만 1-hexanol이 검출되었으며, 도라지와 더덕 생시료에는 (E)-2-hexen-1-ol과 barbatene으로 확인되었다. 인삼 분석결과 동정되지 않았던 화합물인 *g*-maaliene은 1,159 mg/kg의 함량으로 홍삼에서 다량 함유됨을 확인하였다. 증숙시료의 경우 더덕만 유일하게 furaneol이 동정되었으나 홍삼과 도라지, 칡 간의 원료의 차이를 확인할 수 있는 화합물은 없었다. 휘발성 유기성분은 저분자에 민감한 화합물들로 구성되어 있기 때문에 재현성이 떨어지는 단점이 있으며, 유일하게 증숙더덕의 예상 지표성분인 furaneol은 매우 미량이기 때문에 분석 및 결과 해석에 어려움이 컸다. 무기원소와 같이 휘발성유기성분은 인삼, 홍삼의 가공식품 중 더덕 등의 유사원료 혼입을 판별하는데 적용하기에는 무리가 있었다.

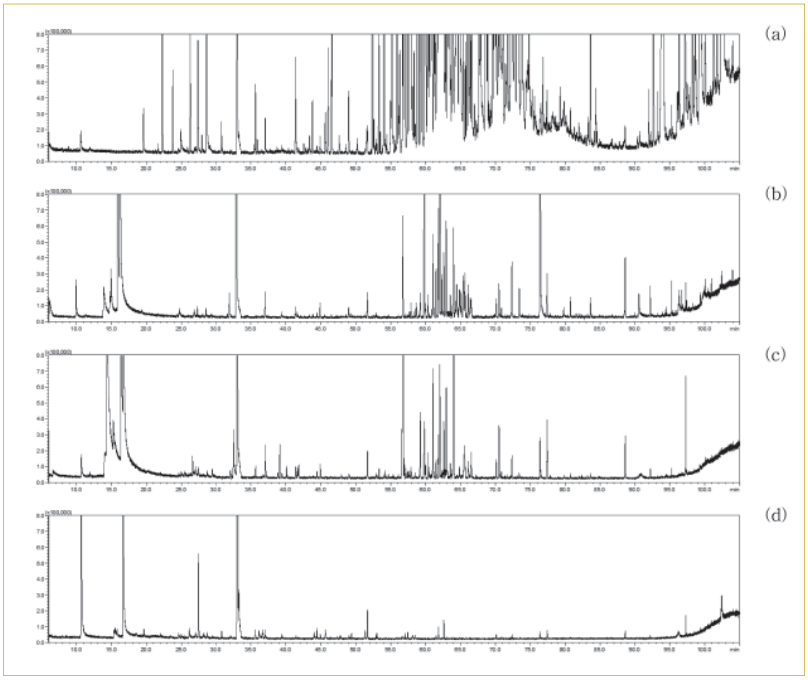

그림 2. 인삼(a), 더덕(b), 도라지(c) 그리고 칡(d)의 휘발성 유기성분 GC-MS 크로마토그램
*현재 투고중인 data 임

3. 비휘발성 유기성분 분석 및 결과

인삼, 더덕, 도라지 그리고 칡의 methanol 추출물을 시험용액으로 제조한 후 다음과 같은 고성능액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)의 조건으로 분석하였다; 검출기, diode array detector(DAD); 주입량, 10 μL; column, 5C_{18}-PAQ column(4.6 mm I.D. × 250 mm L., 5 μm), column oven 온도, 40℃; 검출파장, 203 nm; 이동상, water(a), acetonitrile(b), gradient elution method; 유속, 1.6 mL/min; 총 분석시간, 40 min. HPLC를 이용하여 화합물을 확인한 후 각 시료별 지표성분 설정을 위한 화합물의 동정을 위하여 액체크로마토그래피-질량분석기(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)를 이용하여 다음의 조건으로 진행하였다; LC, UPLC; MS/MS, ESI-TOF/MS; LC/MS column, Shim-Pack XR-ODS Ⅱ

표 2. 더덕, 도라지 및 칡의 예상 지표성분의 LC-MS/MS 분석 결과

Sample	RT (min)	λ_{max} (nm)	Meas. m/z	Ion	Meas. Molecular	Diff. (mDa)	Formula	Identification
C. lanceolata, *P.grandiflorum* (peak 1)	6.58	254, 267, 283	419.1674	$[M+Na]^+$	396.1782	−0.2	$C_{20}H_{28}O_8$	Lobetyolin
			435.1453	$[M+K]^+$	396.1821	3.7		
			815.3464	$[2M+Na]^+$	396.1786	0.2		
P. lobata (peak 2)	7.51	251	431.1337	$[M+H]^+$	430.1269	0.5	$C_{22}H_{22}O_9$	Ononin
			453.1153	$[M+Na]^+$	430.1261	−0.3		
			469.0888	$[M+K]^+$	430.1256	−0.7		
			883.2406	$[2M+Na]^+$	430.1261	−0.3		

(3.0 mm I.D. × 100 mm L., 2.2 μm); 이동상, 0.1% trifluoro acetic acid가 함유된 water(a), 0.1% trifluoro acetic acid가 함유된 acetonitrile(b), gradient elution mode; 총 분석시간, 20 min; capillary voltage, 4.5 ~ 3.5 kV; nebulizing gas, nitrogen gas; 유속, 1.5 L/min; detection voltage, 1.67 kV.

미지의 지표성분을 탐색하고 확립하는 것이 목적이기 때문에 190 ~ 600 nm의 넓은 파장범위로 분석하였으며 인삼 및 홍삼에는 화합물이 검출되지 않고 유사원료에만 확인되는 peak를 선정하고자 하였다. 그 결과 더덕과 도라지에서 같은 RT와 UV spectrum을 갖는 화합물(peak 1)을 확인하였다. 도라지와 더덕의 예상 지표성분은 동일한 화합물일 것으로 추정하였으며, 칡에서만 유일하게 검출된 화합물(peak 2)이 존재하였다. 유사원료의 예상 지표성분이 가공처리에도 안정한지 확인하기 위하여 홍삼농축액 및 동일한 제조과정을 통해 유사원료별 농축액을 제조한 후 메탄올에 녹여 동일한 HPLC 조건으로 분석한 결과 고온, 고압 등에 의한 처리에 영양을 받지 않고 각각의 예상 지표성분이 검출됨을 확인하였다.

혼합물의 성분 또는 구조 분석에 널리 사용되는 LC-MS/MS를 이용하여 분석하였고, positive mode에서 유사원료 각각의 예상 지표성분의 full-scan mass spectrumm과 MS/MS spectrum을 측정하였다. 더덕과 도라지는 동일 예상 지표성분 분석결과 m/z 419.1674 $[M+Na]^+$, m/z 435.1453 $[M+K]^+$ 및 m/z 815.3464 $[2M+Na]^+$로 해당물질은 lobetyolin으로 나타났다. 칡의 예상 지표성분의 mass 결과값은 m/z 431.1337, m/z 453.1153 이온은 각각 $[M+H]^+$와 $[M+Na]^+$으로 확인되었으며 m/z 883.2406은 $[2M+Na]^+$으로 확인되어 ononin으로 예상하였다(표 2). Lobetyolin과 ononin의 표준물질 분석결과 RT와 UV spectrum이 더덕, 도라지 및 칡의 예상지표물질과 동일하여 최종적으로 더덕과 도라지의 동일 지표성분으로 lobetyolin, 칡의 지표성분으로 ononin을 확립하였다. 203 nm의 파장으로 분석할 경우 인삼의 지표성분으로 널리 알려진 ginsenoside의 일부인 ginsenoside Rg1, Rb1, Rb2 및 Rb3가 정성되었다. 더덕, 도라지, 칡 각각의 지표성분의 최대흡수파장은 다르나 모두 203 nm에서 검출되었다. 따라서 인삼, 더덕, 도라지 및 칡의 각각의 지표성분을 동시에 분석할 수 있도록 분석파장을 203 nm로 선정하였다. 불량홍삼 판별법의 유효성 검증을 위하여 lobetyolin과 ononin의 정량한계, 검출한계, 정확성, 정밀성 그리고 안전성을 검증한 후 맹검실험을 진행하여 개발된 분석법의 신뢰성을 확보하였다.

4. 불량홍삼 판별법 확립

불량홍삼 판별법을 확립하기 위하여 다중 표적 프로파일링 기법을 이용한 결과 미량무기원소, 다량무기원소, 휘발성 유기성분 분석은 명확한 판별에 어려움이 있었으나 각 시료별 기초적인 이화학적 자료를 수집하는데 의의가 있었다. 결론적으로 HPLC 및 LC-MS를 이용하여 인

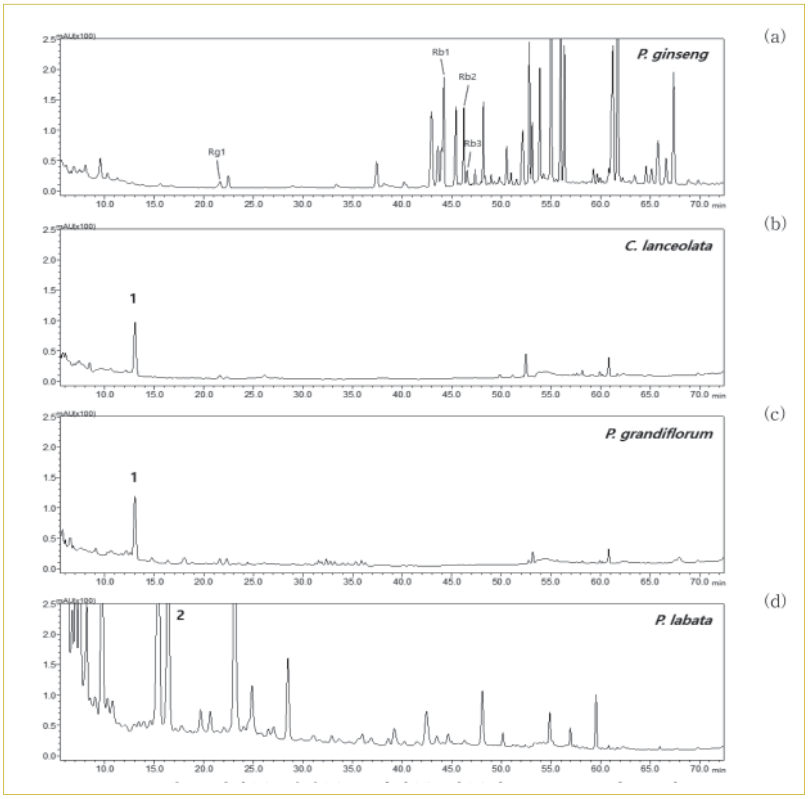

그림 3. 인삼(a), 더덕(b), 도라지(c), 칡(d)의 HPLC 크로마토그램.
* 현재 논문 투고중인 data임.

삼 및 홍삼가공식품 내에 의도적 또는 비의도적으로 혼입 될 수 있는 더덕, 도라지 및 칡의 존재여부를 판별하는 분석법 개발하고 검증하였다. 동시분석으로 인삼, 홍삼, 더덕, 도라지 그리고 칡의 사용여부를 확인할 수 있다는 장점이 있으며, 더덕, 도라지 그리고 칡의 지표성분 확립으로 각각의 유사원료 및 이를 이용한 가공식품의 품질검사에도 활용가능할 것이다. 다중 표적 프로파일링 기법을 활용하여 불량홍삼 외에도 다양한 불량식품을 판별할 수 연구의 기반이 되었을 것으로 사료된다.

결론

불량식품의 유무를 판별가능한 식품원료의 지표물질 분석법 개발을 위하여 다중 표적 프로파일링 기법을 적용하였다. 미량무기원소, 다량무기원소, 휘발성유기성분, 비휘발성 유기성분으로 세분류하여 적용한 결과, 특정 식품원료에만 존재하는 지표물질을 선정함으로써 식품원료의 구별뿐만 아니라 가공식품에 실제 식품원료가 사용되었는지의 여부까지 확인하였다. 다중 표적 프로파일링 기법은 이화학적으로 실험할 수 있는 모든 성분을 분석함으로써 불량식품의 판별에 적용가능함과 동시에 각 식품원료별 이화학적 기초자료를 수집하는데에도 의의가 있다. 각 원료별 지표성분 분석법 확립으로 가공식품의 주원료가 아닌 타원료의 혼입 여부를 확인하여 불량식품을 판별할 수 있음과 더불어 원료를 사용한 가공식품의 품질검사에도 활용가능할 것이다. 다중 표적 프로파일링 기법을 활용하여 다수의 불량식품 판별법을 개발함으로써 불량식품의 의도적 발생 및 사고 위험을 감소시켜 선의의 제조업체와 소비자를 보호하고 상시로 시중에 유통되는 가공식품들을 감시하는데 유용하게 사용 될 것이다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전평가원(14162불량식971 & 17162미래사065)에 의해 지원되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. Feligini, M., Bonizzi, I., Cubric Curik, V., Parma, P., Greppi, G. F., & Enne, G. (2005). Detection of adulteration in Italian mozzarella cheese using mitochondrial DNA templates as biomarkers. *Food technology and biotechnology*, 43(1), 91-95.

2. Spink, J., & Moyer, D. C. (2011). Defining the public health threat of food fraud. *Journal of food science*, 76(9), 157-163.

3. Everstine, K., Spink, J., & Kennedy, S. (2013). Economically motivated adulteration (EMA) of food: common characteristics of EMA incidents. *Journal of food protection*, 76(4), 723-735.

4. Hong, E., Lee, S. Y., Jeong, J. Y., Park, J. M., Kim, B. H., Kwon, K. & Chun, H. S. (2017). Modern analytical methods for the detection of food fraud and adulteration by food category. *Journal of the science of food and agriculture*, 97, 3877-3896.

5. Johnson, R. (2014). Food fraud and economically motivated adulteration of food and food ingredients.

6. Grundy, H. H., Kelly, S. D., Charlton, A. J., Donarski, J. A., Hird, S. J., & Collins, M. J. (2012). Food authenticity and food fraud research: achievements and emerging issues. *Journal of the association of public analysts* (online), 40, 65-68.

7. Oh, C. H., Kim, B. H., Ahn, S., & Kim, K. S. (2014). Development of physicochemical methods for the characterization of adulterated foods. *Food science and industry*, 47(2), 20-45.

8. Attele, A. S., Wu, J. A., & Yuan, C. S. (1999). Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochemical pharmacology*, 58(11), 1685-1693.

9 Ha, D. C., & Ryu, G. H. (2005). Chemical components of red, white and extruded root ginseng. *Journal of the Korean society of food science and nutrition*, 34(2), 247-254.

10. Song, S. H., & Min, E. S. (2009). Characteristics of the inorganic element contents or the Korean ginsengs from various soils of Keumsan. *Journal of ginseng research*, 33(1), 13-25.