Microwave를 이용한 예열 처리가 조리한 쇠고기 패티에서의 Heterocyclic Amines 형성에 미치는 영향

정경희 · 신한승*

동국대학교 식품공학과 및 Lotus기능성식품소재연구소

Influence of Microwave Pretreatment on the Formation of Heterocyclic Amines in Fried Beef Patties

Kyung-Hee Jung and Han-Seung Shin*

Department of Food Science and Technology and Institute of Lotus Functional Food Ingredient,
Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

Abstract

Heterocyclic aromatic amines (HCAs) are potent mutagens and possible human carcinogens that are formed during the heating of protein-rich foods. The effects of preheating treatment of beef patties using a microwave prior to frying at 220°C for 10 min on each side on the reduction of HCAs (amino-carbolines and amino-imidazo-azaarenes) were evaluated. The amount of HCAs was then evaluated by solid-phase extraction and high pressure liquid chromatography (HPLC) analysis. The beef patties were treated by microwaving for various times (0, 1, 1.5, 2, or 3 min) before pan-frying. The results revealed the presence of 3-amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (Trp-P-2), 3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido-[4,3-*b*]indole (Trp-P-1), 2-amino-6-methyldipyrdo[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazole (Glu-P-1), 2-aminodipyrdo[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazole (Glu-P-2), 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (Norharman), 1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole (Harman), 2-amino-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole (AαC), 2-amino-3,8 dimethylimidazo[4,5-*f*]-quinoxaline (MeIQx) and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]-pyridine (PhIP) in all samples. However, microwave pretreatment for 1 min inhibited the formation of these HCAs by up to 90% when compared to the control.

Key words: heterocyclic amine, beef patty, reduction, microwave, pretreatment

서 론

헤테로고리 아민(Heterocyclic amine, HCA)은 높은 돌연변이성과 발암 가능성을 가진 물질로, 단백질 함량이 높은 식품의 가열 중 생성된다(Sugimura, 1982). HCA는 화학구조에 따라 amino-carbolines류와 amino-imidazo-azaarenes류로 분류할 수 있는데, amino-carbolines류는 300°C 이상에서 생성되고, amino-imidazo-azaarenes류는 300°C 미만의 조리조건에서 생성된다(Hatch *et al.*, 1982; Sugimura *et al.*, 1982). HCAs는 단백질을 함유하는 육류, 어류, 가공류 등에서 널리 검출되는 물질로 보고되었으며(Skog *et al.*, 1998; Zimmerli *et al.*, 2001; Busquets *et al.*,

2008; Salmon *et al.*, 2006) 그 외에도 특정 대상집단과 식품군에 대한 HCAs 노출량을 평가하는 연구가 현재에도 이루어지고 있다. Byrne 등(1998)에 의하면 미국의 Brigham과 Boston지역에서 이루어진 HCAs의 섭취량 평가에서 NHS(Nurses' health study)그룹과 HPFS(health professionals follow-up study)그룹의 2-amino-3,8 dimethylimidazo[4,5-*f*]-quinoxaline(MeIQx) 섭취량은 각각 하루 평균 33.0 ng, 44.8 ng이었고, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]-pyridine(PhIP)의 섭취량은 285.5 ng, 457.9 ng이었다. Stockholm에서 남녀 총 500명 이상을 대상으로 이루어진 Augustsson 등(1997)의 HCAs 섭취량 평가에서 amino-imidazo-azaarenes 그룹의 섭취량에 대해, 여성그룹 중 한 명이 하루동안 섭취하는 평균함량은 117 ng, 남자 그룹의 평균 섭취함량은 201 ng이었다. Busquets 등(2004)의 연구에서 한 사람이 하루동안 섭취하는 HCAs 중, 닭 가슴살에 의해 섭취되는 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole(Norharman), 1-methyl-9*H*-pyrido

*Corresponding author : Han-Seung Shin, Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea. Tel: 82-2-2260-8590, Fax: 82-2-2290-1352, E-mail: spartan@dongguk.edu

[3,4-*b*]indole(Harman), PhIP의 함량은 각각 99 ng, 49 ng, 307.0 ng으로, 닭 가슴살이 다른 대상식품보다 높은 HCAs를 함유한 것으로 평가되었다.

국제암연구센터(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서는 HCA 그룹 중 amino-imidazo-azaarenes에 속하는 IQ는 2A그룹(인체발암추정물질)로, 2-amino-3,4dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoline(MeIQ), MeIQx, PhIP는 2B그룹(인체발암가능물질)로 분류하였다. 이들은 동물실험에서 공통적으로 간세포 선종 또는 암종을 일으킨다고 보고되었고, 그 외에도 폐 선종, 작은 창자와 큰 창자의 선암, 피부에 나타나는 평편상피세포 암종, 임파종 또는 혈액암의 증상이 나타났다. 특히 IQ, MeIQ, MeIQx는 *n*-nitrosoamine와 함께 작용하여 실험동물의 간조직에 병변을 일으켰다(IARC, 1997). Ohgaki 등(1986)에 의하면 쥐를 대상으로 한 임상실험에서 Glu-P-1, Glu-P-2, MeAαC, AαC에 의해 혈관내피종(hemangioendothelial sarcomas)이 발생하였다. Hatch 등(1982)은 Norharman과 Harman을 제외한 amino-carbolines를 pyrolytic mutagen으로 분류하였다. 그러나 Totsuka 등(1998)과 Wakakayashi 등(1997)은 β-carbolines인 Norharman 또한 co-mutagen으로서 신체 내에서 돌연변이를 일으킬 수 있음을 보고하였다. 발암 위험성을 가진 HCAs들이 가정에서의 조리과정에서도 발생할 수 있다는 사실이 알려지면서 조리 중 HCAs의 생성량을 줄이기 위한 저감화 방안이 지속적으로 연구되었다. HCAs의 생성 저감화를 위해 현재까지 HCAs가 생성되는 조리조건의 분석(Ahn and GrÜn, 2005a; Salmon *et al.*, 2000; Sinha *et al.*, 1998)과 첨가물에 의한 HCAs의 생성 억제(Ahn and GrÜn, 2005b; Cheng *et al.*, 2007; Shin and Ustunol, 2004; Shin *et al.*, 2002) 등과 같은 연구가 진행되었다.

HCA에 대한 연구가 진행됨에 따라 주요 전구물질인 free amino acid, creatine 또는 creatinine, glucose가 HCAs의 생성에 영향을 미친다는 사실이 규명되었고, 전구물질들을 첨가하거나 제거하여 HCA의 생성량 변화를 평가하는 model system을 이용한 연구가 이루어졌다(Bordas *et al.*, 2004; Skog *et al.*, 2000; Taylor *et al.*, 1986). 특히, Felton 등(1994)은 microwave를 이용한 preheating 처리가 육류에 함유되어 있는 HCAs 전구물질(creatine, creatinine, amino acid)의 함량을 감소시킴으로써 HCAs 생성을 억제하였다는 연구 결과를 보고하였다. 그러나 Felton 등(1994)의 실험에서 주된 분석대상 물질은 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline(IQ), 4,8-DiMeIQx, PhIP이었으며, Felton 등(1994)의 연구 이후로 microwave를 사용하여 형성을 억제하는 연구가 이루어지지 않았다. 본 실험에서는 IQ, 4,8-DiMeIQx, PhIP 외의 amino-carbolines류와 amino-imidazo-azaarenes류에 속하는 15가지의 HCAs를 대상으로, 쇠고기 패티를 microwave로 preheating 처리를 한 후

가열조리를 하였을 때 생성되는 발암우려물질인 HCAs의 함량을 평가하고 저감화 효과를 고찰하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

Heterocyclic amines 표준물질 15종 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline(IQ), 2-amino-3,4dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoline(MeIQ), 2-amino-3,8 dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline(MeIQx), 2-amino-3,4,8 trimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline(4,8-DiMeIQx), 2-amino-3,7,8 trimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline(7,8-DiMeIQx), 2-amino-3,4,7,8-tetramethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline(TriMeIQx), 3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole(Trp-P-1), 3-amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole(Trp-P-2), 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazole(Glu-P-1), 2-aminodipyrido[1,2-*a*:3',2'-*d*]imidazole(Glu-P-2), 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine(PhIP), 2-amino-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole(AαC), 2-amino-3-methyl-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole(MeAαC), 1-methyl-9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole(Harman), 9*H*-pyrido[3,4-*b*]indole(Norharman))은 Toronto Research Chemicals Inc.(Toronto, Canada)에서 구입하였다. 표준용액은 표준물질을 HPLC급 메탄올에 녹여 1 mg/g의 농도로 조제하였으며, 분석하기 전 50 µg/g의 농도 이하로 희석하여 사용하였고 내부표준물질인 caffeine은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Polysulfonic acid(PRS) Bond Elute columns(500 mg), C-18 cartridge(100 mg), Extrelut-20 columns은 Varian(Harbor City, CA, USA)사로부터 구입하여 사용하였다. 실험에 사용된 모든 유기용매는 Fisher Scientific(Fair Lawn, NJ, USA)사의 HPLC등급을 사용하였다. 쇠고기 패티를 제조하기 위해 사용한 쇠고기는 호주산으로 부위는 등심(loin)이었다.

조리조건

분쇄한 쇠고기의 100 g을 패트리디쉬에 넣어 정형화하고, 가열조리 전 microwave(Fasion M-M 209 FP, LG co., Korea)로 preheating 처리를 하였다. 이때 패티 별로 1분, 1.5분, 2분, 3분 동안 각각 가열한 다음, 표면 온도가 220°C인 teflon-coated electric frying pan(Cheflone Corp., Korea)에 기름 없이 양면 10분씩 가열 조리하여 제조하였다. HCAs의 감소 정도를 비교하기 위한 control로서 microwave preheating 처리를 하지 않은 쇠고기 패티를 위 시료들과 같은 조리 조건(220°C에서 양면 각 10분 간 가열)으로 조리하였다. 가열 온도의 측정을 위해서 프라이팬의 표면온도는 철 표면온도계로 측정하였고 쇠고기 패티의 내부온도는 조리 시간 중 패티 중심에 surface temperature thermometer(Trend Instruments Inc., Lawrenceville, GA, USA)의

탐침을 넣어 측정하였다.

HCAs 추출방법

가열된 쇠고기 패티의 HCAs는 Gross 등(1992)의 방법을 변형하여 추출하였다. 일정한 조건에서 조리한 패티를 냉동고에서 보관한 후 동결건조기(Labconco, Kansas City, MO, USA)를 이용하여 건조시킨 다음, 분쇄하였다. 분쇄한 시료 4 g을 취하여 1 M NaOH 16 mL에 넣고 3시간 동안 sonication(JAC Ultrasonic 2010, Kodo Co., Japan) 한 뒤, 30분 동안 homogenizer(Omni macro homogenizer, Omni Co., USA)로 균질화시켰다. 이 과정에서 내부표준 물질인 caffeine(5 µg/mL)을 spiking하였다. 균질화된 용액을 Chem Elut extraction cartridges에 넣고 10분 동안 흡착시킨 뒤 0.1 M HCl 6 mL과 0.1 M MeOH:0.1 M HCl (6:4, v/v)을 5 mL씩 3번에 나누어서 총 15 mL을 가한 후 2 mL H₂O를 첨가하여 preconditioning 시킨 Bond-Elut PRS 컬럼을 통과하도록 하였다. 그 후 Chem Elut extraction cartridges에 20 mL씩 3번에 나누어서 총 60 mL의 CH₂Cl₂:toluene(95:5, v/v)를 가하여 용출된 분석물이 Bond-Elut PRS 컬럼을 통과하도록 하였다. 그 다음 Bond-Elut PRS 컬럼을 H₂O 15 mL(5 mL씩 3회 나누어서 사용)로 washing 하고, 미리 MeOH 5 mL와 H₂O 5 mL로 preconditioning시킨 C-18 cartridges를 Bond-Elut PRS 컬럼에 연결하였다. 그 후 Bond-Elut PRS 컬럼에 0.5 M AcONH₄(pH 8) 20 mL을 가하여 용출시켰다. 용출이 끝나면 연결을 해제하고 H₂O 2 mL를 C-18 cartridges에 흘려보내었다. 마지막으로 C-18 cartridges에 남은 분석물을 MeOH:NH₃(9:1, v/v) 0.8 mL로 용출시키고 이 용출액을 40°C에서 질소 농축(MGS-2200, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)하였다. 농축된 분석물은 1 mL의 MeOH로 부피를 맞춘 후에 LC/MS에 주입하였다.

HCAs 분석 조건

사용된 HPLC 장비는 Agilent 1100 series(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. 식품 중 HCAs의 분석을 위한 크로마토그래피 분리를 위한 LC 분석조건으로 Zorbox RX-C8 column(Agilent Technologies, Narrow-Bore 2.1×150 mm, 5 µL)을 사용하였으며 column temperature는 25°C이었다. 시료의 injection volume은 5 µL이었다. 각 표준물질에 대한 분리를 위해 0.2 mL/min의 유속으로 이성분 시스템을 사용하였으며, 이동상 A는 30 mM ammonium formate buffer(pH 3.7)를 사용하였고 이동상 B는 acetonitrile이었으며 기울기 용매 조건을 사용하였다. 기울기 용매 조건은 초기에 A가 88%이었으며 0-15분 동안 88%, 15-25분 동안에는 50%, 25-33분 동안에는 88%로 흘러주었으며, 컬럼의 재평형을 위해 15분간 88%로 흘러주었다. 사용된 질량 분석기는 이온포집(ion trap)형태의

Agilent 1100 series LC/MSD Trap이었으며, 이온화는 양이온(positive ion) 방법의 전자 분무 이온화(electrospray ionization, ESI)이었다. 질량분석기는 quadrupole mass analyzer와 연결된 분석기를 사용하였다. Capillary voltage와 nebulizer pressure는 4 kV과 30 psi(pounds per square inch)이었고, drying gas flow와 drying gas temperature는 600 L/hr과 350°C이었다.

통계처리

모든 실험 data는 3회 반복한 것이며 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Windows용 Sigma-Stat 2.0(Jandel Co., San Rafael, CA, USA)를 이용하였다. 각 군간의 측정치 비교는 one way analysis of variance(ANOVA)를 시행하였으며 유의성은 신뢰구간 $p < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다. 상관관계는 Student-Newman-Keuls 방법에 의해 도출하였다.

결과 및 고찰

LC/MS 분석으로 분리된 15종의 HCAs의 total ion current(TIC)와 HCAs 15가지 물질의 특성분자 이온 charge인 m/z값에 대한 selective ion recording(SIR)을 Fig. 1에 나타내었다. 표준물질을 이용하여 분석한 HCAs의 retention time과 mass spectrometer의 특성이온 분자량은 Table 1에 나타내었다. Myoung(2007)에 의하면 HCAs는 이동상의 조성에 비해 강한 염기성 물질이기 때문에 분자 구조에 양성자 1개가 붙은 $[M+H]^+$ 와 메틸기가 떨어진 $[M+H-CH_3]^+$ 가 기준이온(base ion)으로 검출된다. 본 실험에서는 이 기준이온의 분자량을 이용하여 15가지 HCAs를 검출하였고, 해당 m/z 값은 Table 1에 나타내었다.

본 실험방법의 회수율을 도출하기 위하여, 15가지 HCAs의 농도가 각각 500 ng/mL가 되도록 표준용액을 혼합시킨 혼합용액을 쇠고기 4 g에 spike하고 전처리를 한 후 분석하였으며, 동일한 농도의 HCAs 표준물질을 LC/MS에서 분석하여 피크 면적비를 비교하여 회수율을 평가하였다. Solid-phase extraction 방법에 의한 전처리 과정에서 Tri-MeIQx, Norharman, Harman는 약 15-26%의 낮은 회수율을 나타내었고, AαC, MeIQx, IQ, Glu-P-2, MeAαC는 회수율이 60% 이상이었다(Table 1). 본 실험에서 사용하고 있는 solid-phase extraction 방법과 LC/MS 분석의 유효성을 검증하기 위해 Harris(2007)의 방법에 따라 LOD(Limit of detection)와 LOQ(Limit of quantification)를 계산하였다. LOD는 대부분의 HCAs가 0.2-2.1 ng/mL이었으며 AαC와 MeAαC의 LOD는 비교적 높은 수치인 3.8 ng/mL과 7.2 ng/mL이었다. LOQ는 대부분의 HCAs가 4.0 ng/mL 이하이었고, Glu-p-1, Norharman, Trp-P-1는 4.2-7.2 ng/mL, IQ와 AαC는 9.7, 12.6 ng/mL, MeAαC는 23.9 ng/mL이었다. 시료로 meat juice를 사용한 실험과 실제 meat 내의

Fig. 1. Total ion current (A) and selective ion recordings (B) in 15 HCAs mixture (500 ng/g). 1) Glu-P-2, 2) IQ, 3) caffeine, 4) MeIQx, 5) Glu-P-1, 6) 7,8-DiMeIQx, 7) MeIQ, 8) 4,8-DiMeIQx, 9) Norharman, 10) Harman, 11) Tri-MeIQx, 12) Trp-P-2, 13) Trp-P-1, 14) PhIP, 15) A α C, 16) MeA α C.

Table 1. Retention time, molecular weight of characteristic ions (m/z) and recovery of the 15 HCAs analysis

HCA	Retention time	m/z	Recovery rate (%) ¹⁾
Glu-P-2	6.2	185	68.7 $\pm$ 1.4
IQ	7.3	199	66.3 $\pm$ 7.6
MeIQx	7.8	214	64.0 $\pm$ 5.1
Glu-P-1	8.9	199	48.7 $\pm$ 1.1
7,8-DiMeIQx	10.9	228	40.9 $\pm$ 2.8
MeIQ	11.0	213	51.6 $\pm$ 0.6
4,8-DiMeIQx	14.1	228	35.9 $\pm$ 3.3
Norharman	15.3	169	25.0 $\pm$ 1.8
Harman	19.5	183	25.6 $\pm$ 0.3
Tri-MeIQx	20.4	242	15.7 $\pm$ 0.7
Trp-P-2	22.9	198	74.7 $\pm$ 0.2
Trp-P-1	23.7	212	57.1 $\pm$ 0.3
PhIP	25.8	225	54.3 $\pm$ 2.3
A α C	26.4	184	62.3 $\pm$ 4.3
MeA α C	28.7	198	74.6 $\pm$ 5.0

¹⁾ Data represent the mean and standard deviation of three analysis per treatment (n=3).

HCAs를 분석한 많은 연구 결과에서 amino-carbolines류와 amino-imidazo-azaarenes류인 HCAs가 함께 검출되었다

(Borgen *et al.*, 2001; Busquets *et al.*, 2004; Busquets *et al.*, 2008; Solyakov *et al.*, 1999; Messner *et al.*, 2004). Microwave로 preheating 처리를 한 조리한 쇠고기 패티에서의 amino-carbolines류 HCAs의 함량은 Table 2에, amino-imidazo-azaarenes류인 HCAs의 함량은 Table 3에 나타내었다. 본 실험의 동일한 조리조건에서 실험을 한 Messner와 Murkovic(2004)에 의한 연구에서는, 쇠고기를 220°C에서 10분간 조리하였을 경우 Trp-P-1이 36 ng/g, A α C가 28 ng/g 정도로 비슷한 함량이 검출되었고, MeA α C는 검출되지 않았다. Bordas 등(2001)에 의한 model system 실험에서, free amino acid, creatine, creatinine, glucose가 함유된 고기 추출물을 dry condition인 open dish에서 200°C로 10분간 가열한 경우, Norharman은 209 ng/g, Harman은 175 ng/g이 생성되어 본 실험에서 검출된 Norharman과 Harman보다 높은 함량을 나타내었다. 본 실험에서 검출된 amino-carbolines류 HCA의 대부분은 가열조리 전, microwave에 1분간 처리하였을 때 가장 효과적으로 생성량이 감소하였다. Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2는 1분 동안 microwave preheating 처리시 검출한도 이하까지 함량이 감소하였고, 무처리 대조군에서 비교적 높은 함량이 검출된 Norharman

(91.29 ng/g)과 Harman(92.00 ng/g)은 90% 이상의 감소율을 나타내었다. Amino-carboline 그룹 중 특이적으로 Trp-P-1은 1.5-3분 처리시 유의적인 감소를 나타내었고, A α C는 처리시간에 따른 감소경향이 나타나지 않았다. MeA α C의 경우 대조군 시료와 그 외 실험군 시료에서는 검출되지 않았다. Hatch 등(1982)과 Sugimura 등(1982), Murkovic 등(2004)에 의하면 amino-carboline 그룹은 대부분이 tryptopan, glutamic acid, lysine, phenylalanine, ornithine과 같은 유리 아미노산들과 casein, albumin, gluten, soybean globulin과 같은 단백질류의 열분해(pyrolysis) 과정에 의해 생성된다. 즉, amino-carboline 그룹의 생성은 시료 내의 유리 아미노산들과 단백질류에 의해 큰 영향을 받는다. Skog 등(2000)의 연구에서 meat juice에 유리 아미노산(Trp)을 2배, 5배로 첨가하여 가열하였을 때, closed aqueous 조건(175°C에서 10분간 가열)과 open dry 조건(200°C에서 30분 가열)에서 아미노산의 첨가에 의존적으로 Harman과 Norharman의 함량이 증가하였다. 이 결과를 통해, microwave를 이용한 preheating 처리가 쇠고기 패티 내의 유리 아미노산과 단백질의 함량을 감소시켜 amino-carboline 그룹의 생성을 저해한 것으로 추론된다.

Amino-imidazo-azaarenes류 HCAs는 300°C 이하의 비교적 낮은 온도에서 발생하는 HCAs로, Arvidsson 등(1997)의 model system 실험에서 200°C 이상의 온도에서 10분 이상 가열한 경우 amino-imidazo-azaarenes류 HCAs의 함

량이 감소하거나 더 이상 생성량이 증가하지 않았다. MeIQx와 PhIP를 제외한 amino-imidazo-azaarenes류 HCAs는 고온의 조리조건(220°C에서 양면 10분씩 pan-fry인 가열조리)에서 생성이 억제되거나 일부는 분해된 것으로 추측된다. 본 실험 결과에서, amino-carbolines류 HCAs와 마찬가지로 amino-imidazo-azaarenes류의 MeIQx와 PhIP의 함량이 microwave preheating에 의해 감소하는 경향을 나타내었다(Table 3). 본 실험과 동일한 조리조건인 실험(Messner and Murkovic, 2004)에서는 amino-imidazo-azaarenes류인 IQ, 4,8-DiMeIQx, MeIQx, PhIP가 검출되었는데, 그 중 MeIQx의 함량은 30 ng/g이고, PhIP의 함량은 390 ng/g이었다. Amino-carbolines류 HCAs와 마찬가지로 1분간 preheating 처리를 하였을 때, MeIQx의 함량은 검출한도 이하로 감소하였고, PhIP는 26.32 ng/g으로 생성량이 감소하였다. Amino-carbolines류와는 달리 microwave preheating 처리 시간이 증가할수록 쇠고기 패티의 HCAs 생성 저감화 효과도 증가하였다. PhIP의 저감화율은 microwave preheating 처리를 2분간 하였을 때 가장 높았다. Felton 등(1994)의 연구에서는 쇠고기 패티를 1.5분 또는 그 이상의 시간으로 preheating 하였을 때 creatine의 함량이 효과적으로 감소하였고, MeIQx, DiMeIQx, PhIP 또한 1분 또는 1.5분 동안 가열하였을 때 가장 적게 생성되었다. 그밖에 Model system 연구와 가열된 육류를 대상으로 HCAs를 분석한 실험에서 MeIQx와 PhIP의 생성은 시료 내의 creatine,

Table 2. Effect of microwave preheating on the formation of amino-carbolines in hamburger patties fried in at 220°C for 10 min¹⁾ (ng/g)²⁾

	Trp-P-1	Trp-P-2	Glu-P-1	Glu-P-2	Norharman	Harman	A α C	MeA α C
0 min	45.61 $\pm$ 8.92 ^b	15.32 $\pm$ 4.87	25.17 $\pm$ 7.28	8.60 $\pm$ 2.06	91.29 $\pm$ 9.95 ^b	92.00 $\pm$ 12.69 ^c	16.68 $\pm$ 4.63 ^a	ND
1 min	37.90 $\pm$ 0.55 ^b	ND	ND	ND	3.62 $\pm$ 1.50 ^a	4.25 $\pm$ 1.68 ^a	17.46 $\pm$ 5.70 ^a	ND
1.5 min	11.81 $\pm$ 2.34 ^a	ND	ND	ND	5.85 $\pm$ 0.75 ^a	4.53 $\pm$ 0.66 ^a	17.77 $\pm$ 3.38 ^a	ND
2 min	12.94 $\pm$ 12.94 ^a	ND	ND	ND	2.85 $\pm$ 2.85 ^a	25.84 $\pm$ 5.09 ^b	ND	ND
3 min	10.18 $\pm$ 2.71 ^a	ND	ND	ND	0.49 $\pm$ 0.85 ^a	7.84 $\pm$ 3.01 ^a	64.28 $\pm$ 44.42 ^b	ND

¹⁾Values are expressed on a cooked ground beef basis.

²⁾Means in the same column s bearing different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Data represent the mean and standard deviation of three analysis per treatment (n=3).

ND = not detectable with these methods.

Table 3. Effect of microwave preheating on the formation of amino-imidazo-azaarenes in hamburger patties fried at 220°C for 10 min¹⁾ (ng/g)²⁾

	IQ	MeIQ	MeIQx	PhIP	Tri-MeIQx	4,8-DiMeIQx	7,8-DiMeIQx
0 min	ND	ND	38.16 $\pm$ 9.57	264.20 $\pm$ 26.28 ^b	ND	ND	ND
1 min	ND	ND	ND	26.32 $\pm$ 5.08 ^a	ND	ND	ND
1.5 min	ND	ND	ND	24.27 $\pm$ 1.36 ^a	ND	ND	ND
2 min	ND	ND	ND	8.26 $\pm$ 1.74 ^a	ND	ND	ND
3 min	ND	ND	ND	8.77 $\pm$ 1.23 ^a	ND	ND	ND

¹⁾Values are expressed on a cooked ground beef basis.

²⁾Means in the same rows bearing different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Data represent the mean and standard deviation of three analysis per treatment (n=3).

ND = not detectable with these methods.

creatinine 함량이 높을수록 증가하는 경향이 있었다 (Arvidsson *et al.*, 1997; Bordas *et al.*, 2004; Skog *et al.*, 2000; Taylor *et al.*, 1986; Zochling *et al.*, 2002). Felton 등(1994)에 의하면 microwave를 이용한 preheating 처리에 의해 쇠고기 패티에서 빠져나오는 수분과 함께 수용성인 발암 전구물질들이 육류로부터 유출되었다고 보고하였다. Shinha 등(1998)의 실험에서 쇠고기를 구웠을 때, 구운 쇠고기에서는 HCAs가 발견되지 않았지만, 유출된 육즙에서 MeIQx와 DiMeIQx, PhIP가 검출되었다. 위 결과와 타 논문에서의 결과를 비교하여 미루어 볼 때, 220°C에서 가열 조리된 쇠고기 패티에서 생성되는 HCAs는 microwave를 이용한 preheating 처리로 생성을 억제시킬 수 있으며, 이는 microwave 처리로 인해 육류 내부로부터 HCAs 생성에 관여하는 전구물질들이 유출되었기 때문인 것으로 여겨진다.

요 약

헤테로고리 아민은 높은 돌연변이성과 발암 가능성을 가진 물질로, 단백질이 높게 함유된 식품의 가열 중 발생한다. 본 실험에서는 220°C에서 양면을 10분씩 가열 조리한 쇠고기 패티를 microwave를 이용하여 예열처리를 하였을 때 나타나는 HCAs의 생성량에 대한 영향을 분석하였다. 헤테로고리 화합물의 분석을 위해 전처리 과정에서 solid-phase extraction 방법을 이용하였고, LC/MS로 정량과 정성분석을 하였다. 시료에서는 9개의 HCAs(Trp-P-2, Trp-P-1, Glu-P-1, Glu-P-2, Norharman, Harman, AαC, MeIQx, PhIP)가 검출되었으며 이 중 Norharman, Harman, PhIP가 상대적으로 높은 함량이었다. 1분 동안의 microwave 예열 처리는 검출된 대부분의 HCAs 생성을 무처리 대조군에 비해 90% 이상 감소시켰다. Amino-carbolines류의 HCAs 경우, 1분의 microwave preheating 처리가 가장 효과적이었고 PhIP가 대부분의 함량을 차지하는 amino-imidazoazaarens류는 microwave preheating 시간이 증가할수록 뛰어난 HCAs 감소효과를 나타내었다.

참고문헌

- Ahn, J. and Grün, I. U. (2005a) Heterocyclic amines: 1. Kinetics of formation of polar and nonpolar heterocyclic amines as a function of time and temperature. *Food Chem. Toxicol.* **70**, 173-179.
- Ahn, J. and Grün, I. U. (2005b) Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *Food Chem. Toxicol.* **70**, 263-268.
- Augustsson, K., Skog, K., Jagerstad, M., and Steineck, G. (1997) Assessment of the human exposure to heterocyclic amines. *Carcinogenesis* **18**, 1931-1935.
- Arvidsson, P., Vanboekel, M. A. J. S., Skog, K., and Jägerstad, M. (1997) Kinetics of formation of polar heterocyclic amines in a meat model system. *J. Food Sci.* **62**, 911-916.
- Arvidsson, P., Boekel, M. A. J. S. V., Skog, K., Solyakov, A., and Jägerstad, M. (1999) Formation of heterocyclic amines in a meat juice model system. *J. Food Sci.* **64**, 216-221.
- Augustsson, K., Skog, K., Jagerstad, M., and Steineck, G. (1997) Assessment of the human exposure to heterocyclic amines. *Carcinogenesis* **18**, 1931-1935.
- Bordas, M., Moyano, E., Puignou, L., and Galceran, M. T. (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system: Effect of temperature, time and precursors. *J. Chromatogr. B* **802**, 11-17.
- Borgen, E., Solyyakov, A., and Skog, K. (2001) Effects of precursor composition and water on the formation of heterocyclic amines in meat model systems. *Food Chem.* **74**, 11-19.
- Busquets, R., Bordas, M., Toribio, F., Puignou, L., Galceran, M. T. (2004) Occurrence of heterocyclic amines in several home-cooked meat dishes of the Spanish diet. *J. Chromatogr. B* **802**, 79-86.
- Busquets, R., Mitjans, D., Puignou, L., and Galceran, M. T. (2008) Quantification of heterocyclic amines from thermally processed meats selected from a small-scale population-based study. *Mol. Nutr. Food Res.* **52**, 1408-1420.
- Byrne, C., Sinh, R., Platz, E. A., Giovannucci, E., Colditz, G. A., Hunter, D. J., Speizer, F. E., and Willett, W. C. (1998) Predictors of dietary heterocyclic amine intake in three prospective cohorts. *Cancer. Epidem. Biomar.* **7**, 523-529.
- Cheng, K. W., Wu, Q., Zheng, Z. P., Peng, X., Simon, J. E., Chen, F., and Wang, M. (2007) Inhibitory effect of fruit extracts on the formation of heterocyclic amines. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 10359-10365.
- Felton, J. S., Fultz, E., Dolbeare, F. A., and Knize, M. G. (1994) Effect of microwave pretreatment on heterocyclic aromatic amine mutagens/carcinogens in fried beef patties. *Food Chem. Toxicol.* **32**, 897-903.
- Gross, G. A. and Grüter, A. (1992) Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in food products. *J. Chromatogr.* **592**, 271-278.
- Harris, D.C. Quantitative Chemical Analysis. 7th ed. W. H. Freeman and Company, New York, pp. 78-95.
- Hatch, F. T., Felton, J. S., Stuermer, D. H., and Bjeldanes, L. F. (1984) Identification of mutagens from the cooking of food. *Chem. Mutagens* **9**, 111-164.
- IARC (1997) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol. 56. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, France, pp. 165-242.
- Messner, C. and Murkovic, M. (2004) Evaluation of a new model system for studying the formation of heterocyclic amines. *J. Chromatogr. A* **802**, 19-26.
- Murkovic, M. (2004) Chemistry, formation and occurrence of genotoxic heterocyclic aromatic amines in fried products. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **106**, 777-785.
- Myung, S. W. (2007) An analytical method of heterocyclic

- amines by LC/MS. *Anal. Sci. Technol.* **20**, 115-123.
21. Ohgaki, H., Hasegawa, H., Kato, T., Suenaga, M., Ubukata, M., Sato, S., Takayama, S., and Sugimura, T. (1986) Carcinogenicity in mice and rats of heterocyclic amines in cooked foods. *Environ. Health Perspect.* **67**, 129-134.
 22. Salmon, C. P., Knize, M. G., Felton, J. S., Zhao, B., and Seow, A. (2006) Heterocyclic aromatic amines in domestically prepared chicken and fish from singapore chinese households. *Food Chem. Toxicol.* **44**, 484-492.
 23. Salmon, C. P., Knize, M. G., Panteleakos, F. N., Wu, R. W., Nelson, D. O., and Felton, J. S. (2000) Minimization of heterocyclic amines and thermal inactivation of *Escherichia coli* in fried ground beef. *J. Natl. Cancer Inst.* **92**, 1773-1778.
 24. Shin, H. S., Rodgers W. J., Strasburg G. M., and Gray, J. I. (2002) Reduction of heterocyclic aromatic amine formation and overall mutagenicity in fried ground beef patties by organosulfur compounds. *Food Chem. Toxicol.* **67**, 3304-3308.
 25. Shin, H. S. and Ustunol, Z. (2004) Influence of honey-containing marinades on heterocyclic aromatic amine formation and overall mutagenicity in fried beef steak and chicken breast. *Food Chem. Toxicol.* **69**, 147-153.
 26. Sinha, R., Rothman, N., Salmon, C. P., Knize, M. G., Brown, E. D., Swanson, C. A., Rhodes, D., Rossi, S., Felton, J. S., and Levander, O. A. (1998) Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food Chem. Toxicol.* **36**, 279-287.
 27. Skog, K. I., Johansson, M. A. E., and Jägerstad, M. I. (1998) Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem. Toxicol.* **36**, 879-896.
 28. Skog, K., Solyakov, A., and Jägerstad, M. (2000) Effects of heating conditions and additives on the formation of heterocyclic amines with reference to amino-carbolines in a meat juice model system. *Food Chem.* **68**, 299-308.
 29. Solyakov, A., Skog, K., and Jägerstad, M. (1999) Heterocyclic amines in process flavours, process flavour ingredients, bouillon concentrates and a pan residue. *Food Chem. Toxicol.* **37**, 1-11.
 30. Sugimura, T. (1982) Mutagens, carcinogens, and tumor promoters in our daily food. *Cancer* **49**, 1970-1984.
 31. Sugimura, T., Nagao, M., and Wakabayashi, K. (1982) Metabolic aspects of the comutagenic action of norharman. *Adv. Exp. Med. Biol.* **136b**, 1011-1025.
 32. Taylor, R. T., Fultz, E., and Knize, M. (1986) Mutagen formation in a model beef supernatant fraction. IV. Properties of the system. *Environ. Health Persp.* **67**, 59-74.
 33. Totsuka, Y., Hada, N., Matsumoto, K., Kawahara, N., Murakami, Y., Yokoyama, Y., Sugimura, T., and Wakabayashi, K. (1998) Structural determination of a mutagenic aminophenylnorharman produced by the co-mutagen norharman with aniline. *Carcinogenesis* **19**, 1995-2000.
 34. Wakabayashi, K., Totsuka, Y., Fukutome, K., Oguri, A., Ushiyama, H., and Sugimura, T. (1997) Human exposure to mutagenic-carcinogenic heterocyclic amines and comutagenic β -carbolines. *Mutat. Res.* **12**, 253-259.
 35. Zimmerli, B., Rhyn, P., Zoller, O., and Schlatter, J. (2001) Occurrence of heterocyclic aromatic amines in the Swiss diet: analytical method, exposure estimation and risk assessment. *Food Addit. Contam.* **18**, 533-551.
 36. Zöchling, S. and Murkovic, M. (2002) Formation of the heterocyclic aromatic amine PhIP: identification of precursors and intermediates. *Food Chem.* **79**, 125-134.

(Received 2009.9.10/Revised 2009.11.18/Accepted 2009.11.20)