식품공학 학사학위논문

감자칩 속 아크릴아마이드의 저감화 연구

목포대학교 공과대학

식품공학과

황 현 준

박 유 지

윤 은 지

최 희 윤

지도교수: 김 현 중

2024년 2월

감자칩 속 아크릴아마이드 저감화 연구

이 논문을 식품공학 학사학위 논문으로 제출함

목포대학교 공과대학

식품공학과

황 현 준

박 유 지

윤 은 지

최 희 윤

지도교수 김현중

상기자의 식품공학 학사학위 논문을 인준함

심사위원장 김 정 목 (인)

심사위원 김 현 중 (인)

2024년 2월

목 차

국문초록

제1장 서 론 ····· 1

제2장 재료 및 방법 ····· 5

1) 실험 재료 ····· 5

2) 실험 방법 ····· 6

제3장 결과 및 고찰 ····· 10

1) 환원당 정량을 위한 표준곡선의 작성 ····· 10

2) 증류수 침지에 따른 환원당 감소 결과 ····· 13

3) *Bacillus subtilis*와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765(Canada) 처리한 감자의 환원당 감소 결과 ····· 15

4) 1%, 5% Lactic acid 처리에 의한 감자의 환원당 감소 ····· 17

5) *Bacillus subtilis*와 *Acetobacter cerevisiae* 균 접종 후 1% Lactic acid 처리 뒤 환원당 감소 ····· 19

6) 최종 실험조건에 따른 아크릴아마이드 분석 결과 ····· 21

참고문헌 ····· 23

감자칩 속 아크릴아마이드 함량 저감화 연구

황 현 준, 박 유 지, 윤 은 지, 최 희 윤

목포대학교 공과대학 식품공학과

(지도교수 : 김 현 중)

(초록)

세계보건기구(WHO) 산하국제암연구소(IARC)에서 인체 발암우려물질로 규정하고 있는 아크릴아마이드는 감자나 시리얼 같은 탄수화물 식품에 160℃ 이상의 고온에서 가열 할 때 급속도로 생성되며 가열시간이 길어질수록 양이 더 늘어난다고 보고 되어지고 있다. 아크릴아마이드는 튀김류나 과자 등의 섭취를 많이 하는 현대사회에서 가까운 미래에 많은 문제를 일으킬 수 있으며 저감화를 위해 여러 연구를 하고있지만 실제 공정에서 적용하기 어려움을 겪는 기업들이 있다고 보고되어 있다. 이에 본 연구에서는 효율적으로 쉽게 식품 가공 공정에 적용할 수 있는 아크릴아마이드의 저감화 방법을 연구하였으며, 아크릴아마이드 전구체인 환원당을 감소시켜 최종적으로 아크릴아마이드의 함량을 감소하고자 하였다. 유기산인 Lactic acid와 발효 균주 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765, *Bacillus subtilis* KACC 14549을 사용하여 환원당을 감소시키고 DNS법을 변형하여 감소율을 측정하였다. 감자를 1% Lactic acid 용액에 침지하여 환원당의 감소율을 확인한 결과 15분, 30분 침지 하였을 때, 대조군과 비교하여 82.25%, 87.8% 수준으로 환원당이 감소하였다. *A. cerevisiae* 균에 60분 반응시킨 경우, 83.98% 수준으로 감소하여 높은 환원당 감소율을 나타내었다. 1% Lactic acid와, *A. cerevisiae* 균을 같이 반응한 경우, 아크릴아마이드의 함량을 비교 분석한 결과 아크릴아마이드가 95.29% 감소한 것을 확인하였다. 본 연구 결과를 통하여 식품 산업체에서 효율적으로 손쉽게 아크릴아마이드 저감화를 실현할 수 있을 것으로 기대한다.

제1장 서 론

감자(*Solanum tuberosum*)는 전 세계 100개 이상의 국가에서 연간 약 4억 톤 정도가 생산되고 있다. 채소인 서류에 속하지만 쌀, 밀, 옥수수 등과 함께 중요한 식량자원으로 자리 잡은 식재료이기도 하다. 유럽의 재배 면적 감소로 세계 감자 면적은 다소 감소하지만 생산성 향상으로 생산량은 꾸준히 증가하고 있다. 특히 아시아의 감자 생산량은 빠른 증가 추세를 보이며, 2017년 약 2억톤으로 2000년에 비해 61.1% 증가한 것으로 나타났다. 중국과 인도 등 상대적으로 소득수준이 낮고 인구가 많은 국가에서 식량안보를 위한 작물로 생산을 장려하며 생산량 증가를 주도하고 있다. 이들 국가는 재배 기술과 기계화가 미흡해 생산성이 낮지만 향후 기술 발전으로 효율적인 생산이 이루어질 경우 세계 감자 생산에서 차지하는 비중은 더욱 커질 것으로 전망된다. 세계 1인당 감자 소비량은 2017년 51.4kg으로 2000년 대비 2.1% 감소하였다. 같은 기간 세계 생산량이 20.3% 증가했지만 인구 증가 폭이 22.9%로 생산량 증가 폭을 따라잡지 못해 1인당 소비량이 감소한 것으로 나타났다. 세계 감자산업에서 주목할 또 다른 점은 가공 상품의 수요가 증가한다는 것이다. 현재까지 아시아의 가공감자 소비량은 유럽 등에 비해 매우 적은데 소득 증가와 식생활 패턴의 변화에 따라 가공 감자의 수요는 꾸준히 증가할 것으로 전망된다(1).

감자는 쌍떡잎식물 통화나물목 가지과의 여러해살이 식물로, 벼, 밀, 옥수수와 함께 세계 4대작물에 해당한다. 또한 고구마, 옥수수와 함께 대표적인 구황작물로 인류를 기아의 공포에서 구제한 고마운 작물이기도 하다(2). 또한, 감자는 아일랜드와 독일 등 전세계 많은 지역에서 주식으로 사용 되어지고 있으며 다양한 요리에서 식재료로 사용되고 있다. 또한 포테이토칩과 프렌치프라이 등으로 인해 현대인들에게 매우 친숙한 식재료에 속한다. 전세계 총생산량은 2020년 기준 약 3억 6천만톤이며 금액으로 볼 때 40조원 정도의 시장을 형성하고 있다. 최대 생산국은 중국으로 7천 8백만톤, 이는 전세계 총생산량의 22%를 차지한다. 한국의 경우 매년 약 25,000헥타르(ha)(7천6백만평) 땅에서 재배가 이루어지고 있으며, 연간 생산량은 약 70여만톤으로 총생산량 중 강원특별자치도에서 33%, 제주도

에서 22%를 재배하고 있으며 전체 생산량의 80%를 점유하고 있는 품종은 수미 감자이다.

대한한국 내 감자 생산량의 80%를 차지하는 수미(秀美)는 찐득한 느낌이 드는 점질 감자로 알이 단단하여 저장성이 높으며, 고소하고 단맛이 나는 것이 특징이다. 1961년 미국에서 육성된 품종으로 한국에는 1975년 도입되었고 1978년 장려품종으로 선정되어 전국으로 보급되었다. 녹말 함량과 섬유질이 많아 식용 또는 칩 가공용으로 봄과 여름에 재배한다. 중만생종으로 생육기간이 90~100일이고 휴면기간은 80~90일이며 한국 전역 어디에서나 재배할 수 있다. 감자에는 같은 양의 쌀밥보다 더 많은 철분이 들어있어 철분 섭취가 중요한 빈혈 환자에게 좋다. 수박이나 사과보다 4배 이상 많이 들어있는 칼륨은 나트륨의 배출을 도와 고혈압 환자와 당뇨환자들에게 좋다. 특히 염분이 많은 음식을 많이 먹는 한국인들은 많이 섭취할 수록 좋다고 보고하였다. 또한 칼슘을 포함하고 있어 산성이 강한 육식의 섭취량이 증가하고 있는 현대인들에게는 알칼리성으로 몸을 유지시키는데 도움이 된다(3). 식물성 섬유질인 펙틴은 변비에 특효가 있으며 감자는 염증 완화, 화상, 고열, 편도선이나 기관지염에 효과가 있다고 오래전부터 알려져 왔다.

2002년 4월 스웨덴 국립식품청 SNFA(SwedishNationalFoodAdministration)에서 2002년 4월에 감자칩 등 탄수화물을 많이 함유하는 식품 원료를 고온에서 가열처리시 발암 의심물질인 아크릴아마이드(acrylamide)가 검출되었다는 분석결과를 발표하면서 이에 대한 국제적인 관심이 집중되었다. 우리나라 식품의약품안전처는 제품 속 아크릴아마이드 성분에 대해 영·유아용 식품이나 시리얼류에는 0.3mg/kg 이하, 인스턴트 커피나 볶은 커피 등에 대해서는 0.8mg/kg 이하, 과자나 감자튀김, 곡류 가공품 등에는 1mg/kg 이하라는 기준을 적용하고 있다. 전세계적으로 식품 내 아크릴아마이드의 잔류량을 규제하는 국가는 없었으나, 유럽연합은 2018년 4월부터 식품 내 기준을 설정하고 법적으로 규제하고 있고 벨기에에서 판매되는 감자칩에서 아크릴아마이드가 과다 검출되어 제품을 회수 조치하였다(4).

아크릴아마이드는 주요 생성기전이 환원당과 아스파라긴의 'maillard reaction' 과정에 있으며 감자 등과 같은 고탄수화물 식품을 고온에서 조리가공 할 때 생

성되는 것으로 알려져 있다. 실제 감자 등의 식품을 가열처리한 스낵류, 튀김류, 빵류 등에 그 함량이 상당히 높은 것으로 보고되고 있으므로 식품 내 아크릴아마이드 존재 보고는 인간 건강에 대한 우려감을 고조시켰을 뿐 아니라 스낵과 과자류의 판매부진과 일부제품의 생산중단을 야기하였으며 그 주원인 식품으로 알려진 감자의 생산량을 약 10% 정도 저하시킨다고 보고되었다. 아크릴아마이드는 환원당(Fructose, Glucose ete,)이나 반응성 카르보닐이 아스파라긴과 고온에서 maillard reaction을 할 때 부산물로 생성되거나 또 다른 생성 메커니즘으로 살충제의 중점제로 사용되는 폴리아크릴아마이드가 열과 빛에 의해 아크릴아마이드로 분해되는 것으로 알려져 있으며 쥐 등의 동물실험을 통해 고농도 시 신경계, 갑상선, 유방조직, 자궁 등에서 암을 유발하는 것으로 밝혀져 그 인체 유해성에 대한 관심이 매우 증폭되어 있다. 특히 식품 중 아크릴아마이드 함량이 높은 수준에 이르는 감자칩류와 후렌치 후라이류는 일주일에 1~2회 이상 섭취하는 어린이들이 27.2%에 이틀 정도로 어린이들이 즐겨 먹는 식품으로, 이로 인한 건강 피해가 우려되고 있다. 미국 FDA는 기존 아크릴아마이드 함유 식품 이외에도 black olive, prune 주스와 같은 새로운 아크릴아마이드 함유 식품을 확인하였으며, 고탄수화물 가공식품이 아크릴아마이드 위해 가능성이 높은 식품으로 확인함으로써 식품 내 아크릴아마이드가 국민 건강에 미치는 위해성을 평가하는데 있어서 다양한 식품의 연구뿐만이 아니라 시료의 적절한 선택이 선행되어야 한다. 식품 내 아크릴아마이드 함량을 분석하고 실태를 파악하는 것은 관련 연구분야의 토대를 마련하는 기초자료로서 중요할 뿐 아니라 식품 중 아크릴아마이드 섭취에 의한 인체 내 위해 가능성이 제시되고 있는 시점에서 국민 보건을 위해 매우 중요하다(5).

2019년 3월 국제암연구소(IARC)는 아크릴아마이드가 암을 유발하는 게놈 돌연변이와 관련이 있다는 연구 결과를 게재하며 아크릴아마이드와 암 발생 간의 잠재적 연관성에 대한 추가연구가 필요하다고 밝혔다(1). 아크릴아마이드는 동물실험에서 매우 높은 양으로 노출시킬 경우 발암을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 특정량 이상 섭취시 동물과 사람의 신경계에 독성을 나타낼 수 있다. 주로 작업 및 흡연시 노출되는 아크릴아마이드가 문제시 되었으나 아직까지 식품에서 발생되는 낮은 수준의 아크릴아마이드가 공중보건에 어떠한 영향을 미칠지에 대한 결

정은 아직 연구 중에 있다. 2002년 4월, 스웨덴 식품규격청(Swedish National Food Authority)에서 특정식품을 고온 조리할 경우 아크릴아마이드의 생성량이 높을 수 있다는 사실을 보고된 바 있다. 이후, 네덜란드, 노르웨이, 스위스, 영국 및 미국에서도 고온에서 조리 및 가열처리한 식품에서 아크릴아마이드가 검출됨이 확인되었다(6).

김(7)에 의하면 콜드칩 가공용 감자 계통을 선발하고자, 47계통과 대조구 품종인 대서, 수미, 구이벨리를 수확 후, 4℃, 8℃ 저온저장 및 20℃ 가온 조정처리에 따른 포도당 함량, 아크릴아마이드 함량 및 두 형질 간의 상관성을 비교 분석하였다. 저온처리에도 낮은 포도당 함량을 나타낸 H7, H13, H16, H40 계통들이 낮은 함량의 아트릴아마이드 함유한 것으로 나타나 콜드 칩 가공용 우수 감자 계통으로 선발할 수 있었다는 연구 내용을 확인하였다.

본 연구에서는 이러한 특성을 이용하여 아크릴아마이드의 생성 원인이 되는 환원당을 미생물을 이용하여 감소시켜 최종적으로 아크릴아마이드 저감화를 실현하고자 한다. 기존의 연구 결과로 6시간 동안 *Bacillus subtilis*의 발효가 환원당의 함량을 낮추고 최종적으로 아크릴아마이드의 감소를 나타내었다고 보고하였다. 본 연구팀에서는 아크릴아마이드에 대한 국제적인 연구 동향을 살펴봄으로써 감자를 튀길시 단시간 내에 생성 가능한 아크릴아마이드 함량을 발효균 *Acetobacter cerevisiae*와 및 *Bacillus subtilis* 1%, 5% Lactic acid를 이용한 유기산 처리로 실험을 진행하여 아크릴아마이드 함량을 낮추는 방법을 연구하고 산업적으로 적용이 가능한지 시도하려 한다. 최종적으로 아크릴아마이드 저감화를 시도하려고 한다. 이에 따라 감자칩 제조 시 미생물과 유기산을 시간대별로 처리하여 최적 조건을 선정하여 아크릴아마이드의 저감화 정도를 평가하려고 한다.

제2장 재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용한 감자는 제주 김제평야에서 수확한 수미햇감자 품종으로 온라인 쇼핑몰을 통해 구입하였다. 환원당 정량에 사용한 DNS(3,5-Dinitrosalicylic acid) 시약은 덕산약품에서 구매하여 사용하였다.(덕산약품, Cat. No. 609-99-4, 경기도, 대한민국) 발효균으로는 농원진흥청 산하의 국립농업과학원 씨앗은행에서 분양받은 *Bacillus subtilis* KACC 14549와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765를 사용하였다.(씨앗은행, Korean Agricultural Culture Collection, 전라북도, 대한민국). 발효균으로 사용되어진 균들은 TSB(Tryptic Soy Broth, MB-T1053, 대한민국)에 접종하여 *Bacillus subtilis* KACC 14549 균주는 24시간 동안 34°C 배양기에서 배양하였고 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 균주는 28°C에서 48시간 배양한 뒤 실험에 활용하였다. DL-Lactic acid(Fluka, CAS. Number: 20-21-5, USA)와 Acetic acid는 (Sigma, CAS. Number: 64-19-7, 대한민국) 1%와 5%로 증류수에 희석해서 사용하였다.

2. 실험방법

1) DNS(3,5-Dinitrosalicylic acid) 시약 제조 및 환원당 정량

식품에서 아크릴아마이드 함량은 아스파라긴과 포도당과 같은 환원성이 있는 당류 중 낮은 함량을 가진 물질(제한 요소)의 농도와 비례하여 증가하는 것으로 알려져 있다(8). 본 연구팀에서는 감자에 존재하는 환원당의 일종인 포도당(0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1 mg)을 표준물질로 DNS와 반응시키고 흡광도 550 nm에서 측정한 표준곡선을 이용하여 측정하였다. 감자의 무게와 DNS시약을 사용하여 흡광도로 측정하였으며 DNS(3,5-Dinitrosalicylic acid) 시약 제조는 식품공전을 참고하여 증류수 1L 기준으로 3,5-dinitrosalicylic acid 5.3 g과 수산화나트륨 9.9 g을 증류수 708 mL에 용해한 후 potassium sodium tartarate(Sigma, CAS No.: 304-59-6 서울, 대한민국) 153 g, 페놀 3.8 mL, sodium metabisulfite(Sigma, CAS Number: 7681-57-4, 서울, 대한민국) 4.15 g을 넣고 용해하였다. 용해된 시약은 호일로 표면을 감싸서 빛을 차단하였고 4℃ 냉장고에 하루 이상 보관된 용액을 사용하였다. 표준곡선을 그리기 위해서 control tube 1 ml 1개를 준비하였으며 시험하려는 포도당의 양을 함유하고 있는 1 ml를 준비하였다. 준비된 포도당 용액에 DNS 시약 9 ml를 가하였고 수분 증발 방지를 위해 tube 윗부분을 파라필름으로 밀봉하였다(5). 항온수조 100℃에서 5분간 발색시켜 적갈색이 나오게 하였으며 흐르는 물에 10분간 냉각하였다. 분광광도계(UV-Spectrophotometer, Biochrom, Ultraspec 2100 *pro* User Manual, Holliston, USA) 550nm에서 흡광도를 측정하여 환원당 정량을 위한 DNS 시약의 표준곡선을 작성하였다.

2) 감자의 환원당 측정

표준물질인 포도당의 표준곡선을 작성하여 환원당을 알기 위해서 환원당 정량 방법을 번형하여 DNS 시약이 5 ml 담긴 튜브를 항온수조 100℃에 5분 발색시킨 후 흐르는 물에 10분간 실온에서 냉각하였고 분광광도계(UV-Spectrophotometer, Biochrom, Ultraspec 2100 *pro* User Manual, Holliston, USA) 550nm에서 흡광도(UV-Spectrophotometer, Biochrom, Ultraspec 2100 *pro* User Manual, Holliston, USA)를 측정하였으며 포도당의 환원당 표준곡선을 이용하여 감자 0.25 g에 함유되어 있는 환원당 양을 확인하였다.

3) 감자의 물침지 처리

감자는 포도당 등 환원당이 주요 당으로 존재하는 식품으로 적용되고 있다. 감자를 튀길시 발생되는 아크릴아마이드 속 환원당 함량을 알아내기 위해 감자칩 형태의 감자 0.25 g이 완전히 잠길 정도의 증류수를 준비하여 1시간, 2시간, 4시간 침지하여 DNS 시약과 분광광도계(UV-Spectrophotometer, Biochrom, Ultraspec 2100 *pro* User Manual, Holliston, USA)흡광도를 측정하였으며 감자 0.25 g에 함유되어있는 환원당 양과 감소율을 확인하였다.

4) 감자의 유기산 처리

Lactic acid 유기산의 농도를 100 ml 메스플라스크에 1 ml로 정용하였고 1%로 증류수에 희석된 용액을 이용하여 실험 진행하였다. 일반감자의 환원당 감소율을 확인하기 위하여 1% 또는 5% 유기산에 감자를 침지하여 감자 무게 0.25

g을 1시간, 4시간 침지하였다.

5) 감자의 미생물 처리

농원진흥청 산하의 국립농업과학원 씨앗은행에서 분양받은 *Bacillus subtilis* KACC 14549와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765를 발효 균주로 선정하였다. *Bacillus subtilis* KACC 14549와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765는 TSB(Tryptic Soy Broth, MB-T1053, 대한민국)에 접종하여 35℃에서 24시간 동안 incubator에서 배양하였다. 미생물을 각각 Round bottom tube 1 ml에 PBS 9 ml을 넣어 정용하였고 희석배수 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}로 실험 진행하였다. Colony 수를 확인한 결과 10^{-6}가 적합하다고 판단하였으며 분광광도계(UV-Spectrophotometer, Biochrom, Ultraspec 2100 *pro* User Manual, Holliston, USA) 550 nm에서 O.D. 값을 0.3으로 설정하였다.

6) 감자의 유기산과 미생물 처리

Acetobacter cerevisiae KACC 23765와 1% DL-Lactic acid(Fluka, CAS. Number: 20-21-5)를 실험방법 1)에 표기한 실험방법으로 동일하게 실험 진행하였고 50 ml conical tube에 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 균을 1 ml과 증류수 10 ml를 넣어 정용하여 60분 침지한 후 표면이 닿지 않게 증류수로 세척하였다. 1% DL-Lactic acid(Fluka, CAS. Number: 20-21-5) 1 ml와 증류수 10 ml가 담긴 onical tube에 60분 침지하였다. 감자 시료의 환원당 측정은 2) 실험방법과 동일하게 진행하였다.

7) 아크릴아마이드 분석

한국고분자시험연구소에 일반감자, 1% Lactic acid + *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 60분 처리한 감자, 시중에 파는 감자를 감자칩 형태로 180℃에서 2분 유탕처리한 50 g을 의뢰하였고 LC-MS/MS 기기로 분석 진행하였다. 균질화 한 감자칩 형태의 시료 일정량을 정밀히 취하여 50 mL 폴리프로필렌 튜브에 넣고 내부표준용액 1 mL와 정제수 9 mL를 가하여 20분간 진탕 후 원심분리기를 이용하여 20,000 ×g로 30분간 원심분리하였다. 이후 원심분리하여 얻어진 정제수 층 5 mL를 0.45 μg 막여과지(PVDF membrane filter)로 여과하여 시험용액 A로 한다. 메탄올 3.5 mL와 정제수 3.5 mL로 활성화시킨 HLB카트리지에 A액 1.5 mL를 넣어 통과시킨 후 정제수 0.5 mL는 흘려버리고 정제수 1.5 mL를 용출시켜 모아 B 액을 얻는다. 메탄올 2.5 mL와 정제수 2.5mL로 활성화시킨 SCX / SAX 혼합 SPE 카트리지에 B액 1.5 mL를 넣어 처음 유출되는 0.5 mL를 흘려버리고 이후 얻어진 1 mL를 액체크로마토그래프의 시험용액으로 하여 분석하였다.

제3장 결과 및 고찰

1) 환원당 정량을 위한 표준곡선의 작성

환원당의 정량 측정법을 확립하기 위하여 DNS 환원당 정량 방법을 활용하여 준비되어진 환원당(포도당) 용액 시료에 DNS 시약의 변색을 분광광도계를 이용하여 550 nm에서 측정하였다. 모든 실험은 3반복으로 수행하였고 평균값으로 작성하였다. Table 1과 같이 환원당의 양이 늘어남에 따라 DNS 시약의 흡광도가 늘어나는 것을 확인하였으며 본 실험 결과로 작성한 표준곡선은 Fig 1. 과 같다. 흡광도는 환원당에 따라 정량적으로 반응하는 것을 확인하였으며 흡광도(x축)에 따른 환원당(y축)의 양은 $y=1.7947x+0.0652$ 식과 같이 나타내었으며 $R^2=0.993$으로 높은 정확도를 나타내었다.

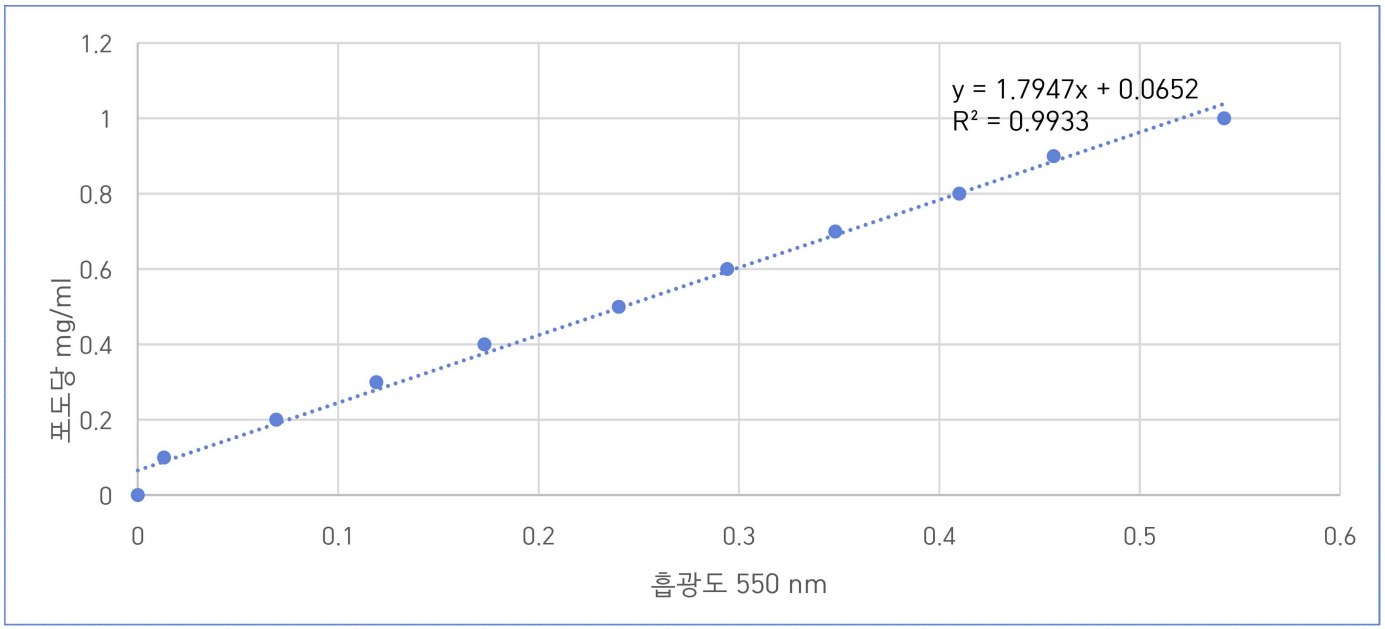


Fig 1. Standard curve for Amount of reducing reducing sugar(glucose)

Table 1. Absorbance(O.D.$_{A550nm}$) of DNS reagent reacted with glucose for standard curve preparation of reducing sugar contents

Amount of glucose(mg%)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
Absorbance(550nm)	0	0.013	0.069	0.119	0.173	0.24	0.294	0.348	0.41	0.457	0.542

2) 증류수 침지에 따른 환원당 감소 결과

본 실험을 진행하기 전에 증류수 침지로 환원당 감소율을 확인하기 위해서 감자칩 형태의 감자 0.25 g이 완전히 잠길 정도의 증류수를 준비하였고 1시간, 2시간, 4시간 침지하였다. 아무 처리하지 않은 일반감자와 물침지 한 감자를 분광광도계 550nm에서 흡광도 값에 따른 환원당 감소 결과를 확인하였다.(Table 2). 1시간 침지한 경우 환원당이 45.93%, 2시간 침지는 42.48%, 4시간 침지는 38.64% 환원당이 감소하는 것을 확인할 수 있었으나 침지시간에 따른 환원당의 함량 변화는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

Table 2. Reducing percentage(%) of reducing sugar in potato submerged under distilled water by submersion time

	Non-treated potato	submerged potato under distilled water		
		1 hour	2 hour	4 hour
Absorbance(O.D.$_{A550nm}$)	0.487	0.205	0.187	0.167
Amount of reducing sugar	0.94	0.43	0.40	0.36
Reducing percentage(%) of reducing sugar	0	45.93	42.48	38.64

3) *Bacillus subtilis* KACC 14549와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 처리한 감자의 환원당 감소 결과

농원진흥청 산하의 국립농업과학원 씨앗은행에서 분양받은 *Bacillus subtilis* KACC 14549와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765를 발효 균주로 선정하였으며 각각 15분, 30분, 60분 실험한 결과 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 60분으로 발효할 때 아크릴아마이드가 가장 높은 감소율을 나타내었다. 60분 침지를 각각 비교해보았을 때 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 균은 82%, *Bacillus subtilis* KACC 14549는 환원당이 76%로 감소되어 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 균이 더 높은 감소율을 보여주고 있다(Table 3).

Table 3. Reducing percentage(%) of reducing sugar in potato by immersion time in culture of *Acetobacter cerevisiae* and *Bacillus subtilis*

	Non-treated potato	*Acetobacter cerevisiae*			*Bacillus subtilis*		
		15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min
Amount of reducing(mg/ml)	0.86±0.06[a]	0.28±0.01[de]	0.20±0.02[bc]	0.16±0.03[b]	0.27±0.02[cde]	0.30±0.05[e]	0.21±0.03[bcd]
Reducing percentage(%) of reducing sugar	0	67	77	82	68	65	76

[a]Values are represented as mean ± SD (n = 4), differences of reducing sugar were tested using one-way ANOVA and Duncan's multiple range test (p <0.05).

4) 1%, 5% Lactic acid 처리에 의한 감자의 환원당 감소

감자 껍질을 박피한 후 감자칩 형태로 두께 1mm, 무게 0.25 g으로 일정하게 세절하여 일반감자, 1%, 5% Lactic acid 용액에 각각 15분, 30분, 60분 동안 증류수에 침지하였다. 일반감자를 제외한 1%, 5% Lactic acid 용액에 침지한 감자를 증류수로 세척하였고 DNS 시약 10 ml가 담긴 tube에 넣어 항온수조 100℃에 5분간 가열시킨 다음 흐르는 물에 10분간 냉각시켰다. 분광광도계 550 nm에서 흡광도 값을 측정한 결과 1% Lactic acid 60분 침지에서 환원당이 가장 효과적으로 감소되는 것을 확인하였고 5% Lactic acid와 비교해보았을 때 차이가 크지 않아 1% Lactic acid가 환원당을 충분히 효율적으로 저감화될 것으로 판단하였다(Table 4).

Table 4. Reducing percentage(%) of reducing sugar in potato by immersion time in lactic acid

	Non-treated potato	1% Lactic acid treated potato			5% Lactic acid treated potato		
		15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min
Amount of reducing(mg/ml)	0.85±0.01[a]	0.18±0.01[d]	0.14±0.02[bc]	0.14±0.02[b]	0.16±0.00[cd]	0.13±0.02[b]	0.12±0.01[b]
Reducing percentage(%) of reducing sugar	0	75	81	89	77	89	88

[a]Values are represented as mean ± SD (n = 4), differences of reducing sugar were tested using one-way ANOVA and Duncan tests (p <0.05).

5) *Bacillus subtilis*와 *Acetobacter cerevisiae* 균 접종 후 1% Lactic acid 처리 뒤 환원당 감소

최종 실험조건으로는 감자를 *Bacillus subtilis* KACC 14549와 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765를 발효한 뒤 최적 유기산 1% Lactic acid로 15분, 30분, 60분 동안 침지하여 환원당 감소율을 나타낸 결과 *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 균은 60분, 1% Lactic acid는 30분과 60분에서 환원당이 가장 효과적으로 감소하였다(Table 5). *Bacillus subtilis* + 1% Lactic acid 60분 침지한 감소율과 *Acetobacter cerevisiae* + 1% Lactic acid 60분 처리한 감소율이 비슷하지만 15분 처리에서 *Acetobacter cerevisiae*+ 1% Lactic acid가 더 높이 감소되는 경향을 나타내었다.

Table 5. Reducing percentage(%) of reducing sugar in potato by immersion time in culture of *Acetobactercerevisiae* and *Bacillus subtilis* with 1% lactic acid

	Non-treated potato	*Acetobacter cerevisiae* + 1% Lactic acid			*Bacillus subtilis* + 1% Lactic acid		
		15 min	30 min	60 min	15 min	30 min	60 min
Amount of reducing(mg/ml)	0.89±0.07[a]	0.15±0.01[b]	0.16±0.01[b]	0.07±0.00[b]	0.18±0.01[b]	0.14±0.03[b]	0.08±0.00[b]
Reducing percentage(%) of reducing sugar	0	79	77	87	75	81	87

[a]Values are represented as mean ± SD (n = 4), differences of reducing sugar were tested using one-way ANOVA and Duncan tests (p <0.05).

6) 최종 실험조건에 따른 아크릴아마이드 분석 결과

한국고분자시험연구소에 일반감자, 1% Lactic acid + *Acetobacter cerevisiae* KACC 23765 60분 처리한 감자, 시중에 파는 감자를 감자칩 형태로 180℃에서 2분 유탕처리한 50 g을 의뢰하였고 LC-MS/MS 기기로 분석 진행한 결과 일반 감자 대조군에 비해 아크릴아마이드 함량이 95.29%까지 감소하는 높은 감소율을 나타내었다(Table 6). 이중재 등(2016)의 논문에 따르면 감자 슬라이스를 2시간 발효시켜 감자칩을 제조한 뒤 아크릴아마이드 함량이 96.1%로 가장 많이 감소했다는 결과를 보고하였고(9) 엄지윤 등(2004)의 논문 내용에 따르면 감자를 박피한 후 일정한 크기로 세절하여 유기산 1%와 5% Acetic acid 용액에 각각 30분, 120분 동안 침지한 후 아크릴아마이드 함량 변화를 관찰한 결과 1% Acetic acid 용액 60분은 73.31%, 1% Acetic acid 용액 120분은 88.37% 감소되었고, 5% Acetic acid 60분은 76.28%, 5% Acetic acid 120분은 91.48%가 감소되었다는 것을 보고하였다(10). 본 연구팀에서는 시간을 단축시키면서 유기산 첨가에 대한 맛의 개선과 보다 효율적으로 아크릴아마이드를 저감화하였다. 이는 식품 산업체에서 효율적으로 손쉽게 아크릴아마이드 저감화를 실현할 수 있을 것으로 기대한다.

Table 6. Analyzed acrylamide contents of non-treated potato and potato treated with *Acetobacter cerevisiae* + 1% lactic acid(60 mins)

	Non-treated potato	*Acetobacter cerevisiae* + 1% Lactic acid
Acrylamide(mg/kg)	0.73	0.08

참고문헌

1. 윤선희. 세계 감자산업 동향 세계농업 227, 31-53 (2019)

2. 김승일. 인간을 지배한 음식 21가지. 예문 (1997)

3. 우석훈. 음식국부론. 생각의 나무 (2005)

4. 이상희. 식품 중 아크릴아마이드 실태조사 및 위해평가 (2011)

5. 식품 중 아크릴아마이드 안전실태조사. 한국 소비자원 안전감시국 식의약안전팀 (2019)

6. 식품의약품안전청 위해예방정책국, (사)한국식품안전연구원 편집

7. 김성무. 아크릴아마이드 저감화된 콜드칩 가공용 우수감자 계통 선발. 원예과학기술지 30(5), 603-612 (2012)

8. 임경택. 아크릴아마이드 유해성 및 사용실태를 기초로 한 근로자 건강장해 예방방안. 대한산업보건협회, 산업보건 (2017.1월호)

9. 이중재. Bacillus sp. 발효를 이용한 감자 칩의 아크릴아마이드 저감화. 한국식품영양과학회지 45(3), 460-465 (2016)

10. 엄지윤. GC/MS를 이용한 식품 중 아크릴아마이드 분석과 유기산 처리가 아크릴아마이드 형성에 미치는 영향. 국내석사학위논문 서울産業大學校 産業大學院, 서울 (2004)