J. Fd Hyg. Safety
Vol. 25, No. 4, pp. 289~293 (2010)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

식품 중 결합형 3-MCPD 오염실태조사

강영운 · 박성국 · 서정혁 · 김동술*
식품의약품안전평가원 식품위해평가부 오염물질과

Survey of Contaminants of Bound 3-MCPD in Food

Young-Woon Kang, Sung-Kug Park, Jung-Heok Seo, and Dong-Sul Kim*
Food Contaminants Division, Food Safety Evaluation Department, Seoul, Korea
(Received March 21, 2010/Revised May 6, 2010/Accepted November 1, 2010)

ABSTRACT - 3-MCPD created in manufacture process was regulated in our country about soy sauce and HVP. The latest paper reported that Bound 3-MCPD is created as intermediate. Germany common risk assesment reported that Bound 3-MCPD must be reduced because Bound 3-MCPD can be created in estimation circle when this is hydrolyzed in human body, but the data about the toxity of Bound 3-MCPD is lack. Therefore, We analysis about 209 items food such as soy sauce, seasoning food and meat-eating manufactured goods using bound 3-MCPD analysis method developed recently. As result of survey, bound 3-MCPD detected in 8 items among 44 traditional sauce (0.02~0.28ppm), 8 of soup 12 items (0.01~0.96ppm), in 22 items of sauce 60 items (0.01~0.55ppm), in 16 items of meat-eating manufactured foods 30 items (0.04~0.18ppm), in 20 items of snack cookies 28 items (0.09~1.43ppm), in 8 in roasted oil foods 10 items (0.04~1.22ppm), in 6 items of peanut processed food 10 items (0.06~0.25ppm), in 1 of vegetable cream 15 items (0.05ppm). Detected level was lower than the result of monitored by other countries.

Key word : 3-MCPD, Bound-MCPD, 3-MCPD fatty acid esters, GC/MS

3-MCPD (3-Monochloropropane-1,2-diol)는 식품 가공과정 중 생성되는 위해물질로 1978년에 보고되었고[1], 식물성 대두단백질 가수분해물(acid-HVP, Hydrolysed vegetable proteins)와 대두소스에서 3-MCPD가 처음 발견된 후, 간장 및 소스류 뿐 아니라 다양한 식품에서 발견되고 있다. 소량의 지방을 함유한 단백질을 산분해할 때 탈지대두에 함유된 지방의 글리세롤에 결합되어있던 지방산이 떨어져 나가고 그 자리에 염소반응기가 결합하여 생성되는데, 국내에서는 지난 1985년 8월 및 1996년 2월에 발생한 소위 '산분해간장파동'의 원인물질로 인체 유해성 논란[2]으로 산분해간장 및 혼합간장과 산분해단백질(HVP)에 대하여 기준을 각각 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg으로 설정하여 관리하고 있다. 결합형 3-MCPD(Bound 3-MCPD)는 3-MCPD 지방산 에스테르(3-MCPD fatty acid esters) 또는 3-MCPD에스테르(3-MCPD esters)라고도 불리는데, 고온에서 지방과 염소이온이 가수분해 반응을 통해 생성된다[3-4]. 이 결합형 3-MCPD가 식품형태로 사람이 섭취했을때 소화 등 대사작용에 의해 3-MCPD로 전환될 수 있다는 보고[5]에 의해 JECFA의 우선순위 평가대상물질로 선정되었으나 사람의 생체내에서 결합형 3-MCPD가 100% 3-MCPD로 전환될 가능성에 대한 과학적 근거자료가 미약하며, 분석방법에 대한 validation이 필요하다고 평가되었다[6]. 따라서, 현재 기준이 설정되어 관리하고 있는 나라는 없으며 우리나라도 관리 기준이 없으나, 독일연방위해평가원(BfR)에서는 만약 결합형 3-MCPD가 100% 3-MCPD로 전환된다면, 영유아 식품의 경우 TDI의 20배 내지 30배를 넘는 수준의 위해도가 평가됨에 따라 저감화가 필요하다고 보고하고 있다[5]. 따라서, 본 연구는 이와 같은 국제 연구동향에 발맞추어 식품의 안전성을 확보하기 위해 최근에 개발된 분석법들[7-8]을 이용하여 현재 우리나라에서 가공 · 생산되는 식품 중 결합형 3-MCPD의 오염실태를 조사하였다.

*Correspondence to: Dong-Sul Kim, Food Contaminants Division, 194 Tongil-ro, Eunpyung-gu, Seoul, 122-704, Korea
Tel : 02-380-1669, Fax : 02-357-4735
E-mail : dongsul@korea.kr

재료 및 방법

실험재료

3-MCPD 및 결합형 3-MCPD의 검출개연성이 높은 식품과 국민영양조사표를 참고하여 섭취량이 많은 식품을 선정하였다. 간장과 된장 등의 장류제품, 소스와 스프와 같은 즉

석조리식품, 조미식품, 식육가공품, 과자제품 등 총 8종 209건의 식품을 대형할인매장에서 구입하여 실험에 사용하였다.

표준품 및 시약

실험에 사용된 3-MCPD(순도 98%) 표준물질은 Sigma-Aldrich사(USA)에서 구입하여 사용하였고, 내부표준물질(d5-3-MCPD)은 CDN Isotopes사(Canada)에서 구매하여 사용하였다. Aluminum oxide, sodium sulfate anhydrous, sodium methoxide 및 유도체화 시약인 HFBA (heptafluorobutyric anhydride)는 Sigma-Aldrich사에서 구매하여 사용하였다. 용매로 물, 에틸아세테이트, 디클로로메탄, 에테르, 이소옥탄, 메탄올 등을 사용하였는데 모두 HPLC grade를 사용하였다.

표준용액 및 시약의 제조

5M sodium chloride 용액은 272.2 g의 NaCl을 녹여 1리터로 만들어 제조하였다. Internal standard는 1 mg/ml의 3-MCPD-d5 1 ml를 에틸아세테이트에 녹여 100 ml로 희석하여 사용하였다. 3-MCPD 표준품은 1 g을 1리터의 에틸아세테이트에 녹여 1 mg/ml (1,000ppm)로 만들어, stock solution으로 만들고, 적정한 농도까지 희석하여 사용하였다. 포화 탄산수소나트륨($NaHCO_3$)은 과량의 탄산수소나트륨을 증류수에 녹여 제조하였으며, 2% 황산용액은 H_2SO_4 2 g을 methanol 98 g에 녹여 사용하였다.

결합형 3-MCPD의 분석

시료 중의 결합형 3-MCPD를 디에틸에테르로 추출한 후 3-MCPD로 가수분해시킨다. 가수분해되어 생성된 3-MCPD를 정제하고 HFBA (heptafluorobutyric anhydride)로 유도체화하여 기체크로마토그래피/질량분석기(GC/MS)로 분석하였다.

추출 및 가수분해

균질화한 시료 5 g을 정확히 달아 디에틸에테르(diethyl ether) 15 ml로 2회 추출하여 40°C이하의 온도에서 감압농축하였다. 농축된 플라스크에 THF 1 ml를 넣어 잘 씻어서, 마개가 있는 시험관으로 옮기고, 다시 2% H_2SO_4 (methanol) 용액 1 ml로 2회 씻어서 시험관으로 옮긴다. 마개를 닫고 60°C에서 4시간동안 가수분해 반응을 시켜주고, 반응이 끝나면 상온으로 식힌다. 반응을 중지시키고 pH를 맞추기 위해서 포화 $NaHCO_3$ 0.5 ml를 사용하여 중화시킨다. 중화된 시료에 하얀 침전이 분산되어 있기 때문에 원심분리기를 사용하여, 4500rpm, 5min, 4°C 조건으로 분리한다.

정제

층액 1 mL를 취해 알루미늄옥사이드 2 g과 내부표준용액 10 μL를 첨가하여 혼합한 후 Reservore (Varian, 6 mL)에 충진한다. 그리고, 충진물 상단에 무수황산나트륨 약 1 g을 가한 뒤 디클로로메탄 30 mL를 분당 약 2 mL 정도로 용출하였다. 용출액을 농축플라스크에 모아 35°C의 수욕조에서 1 mL로 감압농축 한 후 농축액을 파스퇴르 피펫을 이용하여 눈금이 있는 시험관으로 옮긴 후 플라스크에 남아있는 잔류물을 디클로로메탄으로 씻어 시험관에 합친 후, 30°C의 수욕조에서 건고되지 않도록 질소 농축하고 이소옥탄으로 0.5 mL이 되도록 하였다. 단, 지방함량이 많은 시료는 크로마토그래프용 유리칼럼 용출단계에서 먼저 헥산 20 mL로 과량의 지방성분을 제거한 후 디클로로메탄으로 용출하여 상기와 같은 방법으로 농축과정을 한번 더 거쳤다.

유도체화

위의 농축 시험관에 이소옥탄 0.5 mL 및 HFBA 90 μL를 첨가하여 마개를 닫고 60°C의 수욕조에서 교반하며 30분간 반응시킨 후 상온에서 10분간 방치한 다음 증류수 5 mL를 가하고 가볍게 흔든 후 정치하였다. 상층의 유기용매층을 취하여 소량의 무수황산나트륨이 들어있는 시험관에 넣어 가볍게 흔들어 정치시킨 다음 상층액을 취하여 GC/MS로

Table 1. The analytical conditions for GC/MS

Devices	Parameters		Conditions
GC	Ccolumn		DB-5MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
	Oven program		50°C → raising to 84°C with rate of 2°C/min → raising to 280°C with rate of 30°C/min and holding 4min
	inlet		250°C
	split mode		splitless
	carrier gas and flow		He (1.0 ml/min)
MS	electron impact mode		70eV
	selected ion	3-MCPD	253* 278 294 296 456
		3-MCPD-d5	257* 275 289 291 453
	MS source		200°C
	MS quad		150°C

* Quantifier ion

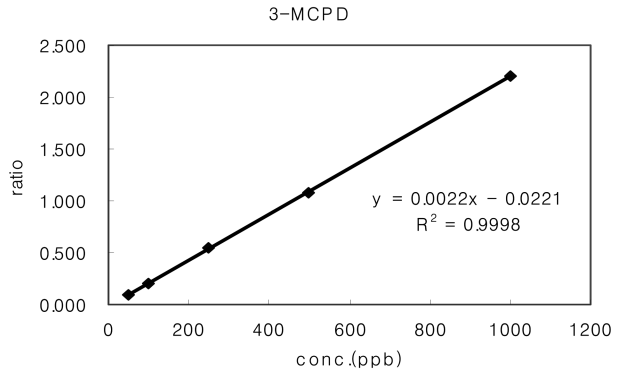

Fig. 1. Calibration curve of 3-MCPD.

분석하였다. 표준시험용액은 마개가 있는 시험관에 농축용액 대신에 이소옥탄 900 μL와 농도가 다른 4개의 표준용액 100 μL 및 HFBA 90 μL를 첨가하여 상기와 같은 순서로 유도체화한 용액을 사용하였다.

GC/MS 분석

GC 분석조건으로 컬럼은 DB-5MS (30 m × 250 μm, 0.25 μm, J & W Scientific, Folsom. CA)을 사용하였고, oven 온도는 50ºC에서 분당 2ºC씩 84ºC 까지 올려준 다음 5분간 유지한 뒤 분당 30ºC씩 280ºC 까지 올려준 다음 4분간 유지하였다. 캐리어가스는 constant flow mode로 helium을 1.0 ml/min로 흘려주었다. 이때 GC inlet의 온도는 250ºC이고 splitless mode로 시료를 주입하였다. MS 분석조건은 electron impact mode로 70eV 이온화에너지를 사용하였고 특성이온(m/z)으로 정성·정량하였다. 이 때 ion source 온도는 200ºC였다(Table 1).

결과 및 고찰

결합형 3-MCPD 분석

검량선 작성

3-MCPD 표준원액을 0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 ug/mL로 희석된

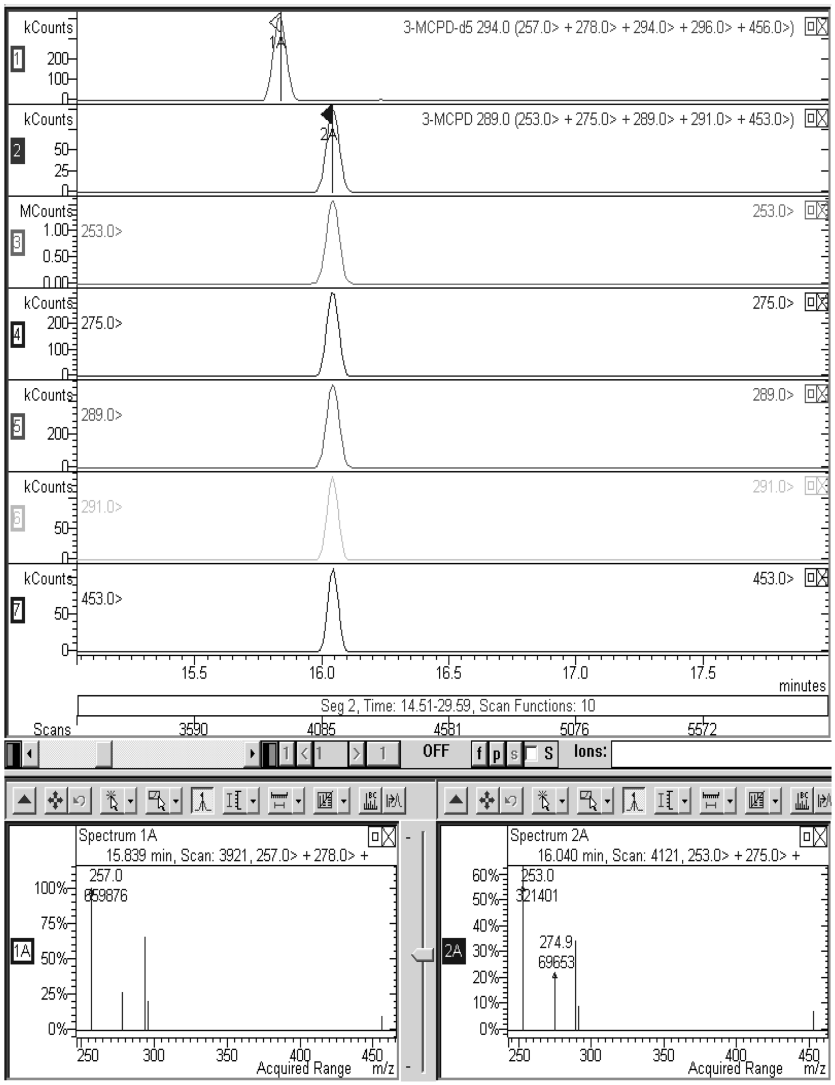

Fig. 2. Chromatogram and mass spectrum of HFBA derivatives of 3-MCPD and 3-MCPD-d5.

표준용액들에 이소옥탄 900 μL 및 HFBA 90 μL를 첨가하여 시험용액과 같은 방법으로 유도체화하여 GC/MS로 분석하였다. 그 결과 상관계수(R^2)가 0.9998로서 양호한 직선성을 나타내었다(Fig. 1).

GC/MS 분석

시료의 크로마토그램 상의 각 정성이온의 피크 머무름 시간(Retention time)이 각 표준물질의 정성이온의 피크 머무름 시간과 일치하는지 확인하였다(Fig. 2). 시험용액의 특성이온 m/z 253, 275, 289, 291 및 453이 확인되어야 하고 특성이온 m/z 453과 253, 275, 289 및 291간 4개의 반응세기의 비(Response ratio)를 3-MCPD 표준물질의 선택이온 간 반응세기의 비와 비교하여 2개 이상의 반응세기의 비가 ±20% 이내에서 일치할 때 3-MCPD로 확인하였고, 이온들 중 가장 감도가 높은 m/z 253을 정량이온으로 선택하여 정량하였다.

식품 중 결합형 3-MCPD 오염도

결합형 3-MCPD는 장류에서 8건이 검출되었고, 최저 0.02~최대 0.28 mg/kg이 검출되었고, 스프는 12건 중 8건에서 최소 0.01 mg/kg에서 0.96 mg/kg이 검출되었다. 소스류의 경우 60건 중에서 22건이 검출되었고, 최저 0.01 mg/kg에서 최대 0.55 mg/kg까지 검출되었고, 식육가공품은 30건 중에서 16건이 검출되었으며, 최저 0.04 mg/kg에서 최고 0.18 mg/kg까지 검출되었다. 특히 스낵과자류의 경우 28건의 검체 중에서 20건에서 검출이 되었고, 검출량도 최소 0.09 mg/kg에서 최대 1.43 mg/kg이었다. 유탕면 분말스프에서는 10건 중 8건에서 0.04 mg/kg에서 1.22 mg/kg까지 검출되었다. 견과류가공품의 경우 10건 중 6건에서 최소 0.06 mg/kg에서 0.25 mg/kg까지 검출되었다(Table 2).

결 론

국내에서 소비되고 있는 식품들 중 식용유지 및 지방이 함유되어 있는 식품들을 위주로하여 결합형 3-MCPD의 오염도를 조사한 결과 총 209건 중 89개 제품에서 결합형 3-MCPD가 검출되어 43%의 검출빈도를 나타내었다. 결합형 3-MCPD의 검출량 중 최대값은 1.43 ppm으로서 검출 수준은 외국에 비하여 낮은 수준이었지만, 검출빈도는 다소 높은 수준이었고, 특히 스낵과자의 경우 검출빈도가 상대적으로 높은 수준이었다. 따라서, 비록 결합형 3-MCPD의 독성에 대한 연구자료가 미미하지만, 3-MCPD의 전환가능성을 고려할 때 저감화를 위한 노력이 필요하다고 사료된다.

Table 2. Monitering result of Bound 3-MCPD in food

Food categories	No.	Positive No.	Detected range (mg/kg)
Traditional sauce	44	8	0.02~0.28
Soup	12	8	0.01~0.96
Sauce	60	22	0.01~0.55
Meat processed food	30	16	0.04~0.18
Vegitable cream	15	1	0.05
Snack cookies	28	20	0.09~1.43
Roasted oil food	10	8	0.04~1.22
Nut processed food	10	6	0.06~0.25
Total	209	89	0.01~1.43

요 약

식품을 제조, 가공하는 과정 중 생성되는 3-MCPD (3-Monochloropropane-1,2-diol)는 식품 중 미량 존재하는 유해물질로 우리나라에서는 산분해간장 및 혼합간장과 산분해 단백질(HVP)에 기준을 설정하여 관리하고 있다. 3-MCPD 지방산에스테르라고도 불리는 결합형 3-MCPD는 지방산과 글리세라이드가 반응하여 생성되는 중간물질로서, 독일 연방위해 평가원(BfR)에서는 3-MCPD 지방산에스테르 자체의 독성이나 위해성에 대한 자료는 부족하지만, 인체내에 식품형태로 들어가서 가수분해될 때 3-MCPD가 생성될 수 있으므로 저감화 대책이 필요하다고 보고하고 있다.

따라서, 본 연구에서는 최근에 개발된 결합형 3-MCPD 분석법을 이용하여, 간장 등 장류 식품, 조미식품과 식육가공품 등 209건에 대해 결합형 3-MCPD 함량조사를 실시한 결과, 전체 209건의 검체 중에서 장류의 경우 44건의 검체 중에서 8건에서 결합형 3-MCPD가 검출되었고(0.02~0.28ppm), 스프 12건 중 8건에서 결합형 3-MCPD가 검출되었다(0.01~0.96ppm). 소스는 60건 중 22건에서 결합형 3-MCPD가 검출되었으며(0.01~0.55ppm), 식육가공품의 경우 총 30건의 검체 중 16건에서 결합형 3-MCPD가 검출되었다(0.04~0.18ppm). 스낵과자에서는 28건 중 20건에서 결합형 3-MCPD가 검출되었고(0.09~1.43ppm), 유탕면제품 10건 중 8건에서 검출되었다(0.04~1.22ppm). 견과류가공품 10건 중 6건에서 결합형 3-MCPD가 검출되었으며(0.06~0.25ppm), 식물성크림에서는 15건 중 1건에서 결합형 3-MCPD가 0.05ppm이 검출되었다. 이상의 검출수준은 제외국과 비교할 때 낮은 수준이었다.

참고문헌

1. Velisek J., Davidek J., Hajslova J., Kubelka V., Janicek G., Mankova B. : Chlorohydrins in protein hydrolysates. *Z. Lebensmit. Untersuch. Forsch.*, **167**, 241-244, 1978.
2. 신동환, 오재호, 김신희, 황명실, 임철주, 염영나, 양기화, 조대현 : 3-MCPD의 일반독성 시험에 관한 연구, *식품의약품안전청연구보고서*, **6**, 749, 2002.
3. W. SEEFELDER, N. VARGA, A. STUDER, G. WILLIAM-

SON, F. [SCAM;AM. & R, H, STADLER, Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: Significance in the formation of 3-MCPD, *Food Addit. Contam.*, **25(4)**, 391-400, 2008.
4. Z. Zelinkova, O. Novotny, J. Schurek, J. Velisek, J. Hajslova and M. Dolezlal, Occurence of 3-MCPD fatty acid esters in human breast milk, *Food Addit. Contam.*, **25(6)**, 669-676, 2008.
5. Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters, BfR Opinion No. 047/2007, 11 December, 2007.
6. Jhon Christian Larsen : 3-MCPD esters in food product, International Life Sciences Institute ILSI summary report, 2009.
7. Sameer abu-El-Haj, Maciej J. Bogusz, Zuhoor Ibrahim, Huda Hassan, Mohammed Al Tufail, Rapid and simple determiantion of chloropropanols (3-MCPD and 1,3-DCP) in food products using isotope dilution GC_MS, *Food Control*, **18**, 81-90, 2007.
8. CVERONIKA DIVIONVA, BLANKA SVEJKOVSKA, MAREK DOLEZAL and JAN VELISEK, Determination of Free and Bound 3-chloropropan-1,2-diol by Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection using Deuterated 3-Chloropropane-1,2-diol as Internal Standard, *Czech J. Food Sci.* **22(5)**, 182-189 (2004).