J. Fd Hyg. Safety
Vol. 24, No. 3, pp. 211~216 (2009)

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

LC-MS/MS를 이용한 나일론수지제 주방기구 중 4,4'-Diaminodiphenylmethane 이행량 실태조사

엄미옥 · 윤혜정 · 최현철 · 전대훈 · 김형일 · 성준현 · 박나영 · 이은준 · 이영자*
식품의약품안전청 식품평가부 용기포장과

4,4'-Diaminodiphenylmethane Migration from Nylon Kitchen Utensils using LC-MS/MS

Miok Eom, Haejung Yoon, Hyuncheol Choi, Daehoon Jeon, Hyungil Kim, Junhyun Sung, Nayoung Park, Eunjoon Lee, and Youngja Lee*
Food Packaging Division, Department of Food Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration
(Received December 2, 2008/Revised April 30, 2009/Accepted July 9, 2009)

ABSTRACT − In order to cope with risk issues of overseas on 4,4'-diaminodiphenylmethane (4,4'-MDA) known to used in the production of polyamide resins, we investigated on 4,4'-MDA migration from plastic cooking utensils. 93 samples of plastic cooking utensils were collected from the retail markets in 7 major cities of Korea during March to June, 2007 and 4,4'-MDA levels migrated to food simulants, water, 4% acetic acid, 20% ethanol and n-heptane, on plastic cooking utensils was quantified by liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). 4,4'-MDA was detected in 14 samples, and the levels of 4,4'-MDA migrated to food simulants were in the range of 0.001 ~ 0.026 ppm. Among them, the 4,4'-MDA migration amounts of 2 samples were above 0.01 ppm defined by the EU.

Key words: 4,4'-MDA, PAAs, nylon, utensils, migration

4,4'-Diaminodiphenylmethane (4,4'-MDA)(Fig. 1)은 일차 방향족아민 (primary aromatic amine, PAA)류의 일종으로 합성수지제 중 나일론재질의 식품용 기구 등을 제조할 때 착색제로 사용되는 안료 등에 포함되어 식품으로 이행될 가능성이 있는 물질이다. 국제암연구기구 (IARC)에서 그룹 2B (possible human carcinogen)로 분류하고 있는 4,4'-MDA는 동물에 대하여 간 종양, 갑상선 종양 및 눈, 피부 자극을 유발하는 물질로 알려져 있다[1,2,3]. 미국 NTP (National Toxicology Program)의 동물시험 (long term oral toxicity study) 결과로부터 4,4'-MDA에 대한 LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level)값은 9 mg/kg로 설정되어 있다[1].

최근 EU의 신속경보체계 (RASFF : Rapid Alert System for Food and Feed) 2005년도 보고서에는 중국산 수입 나일론 재질의 주방용 국자, 주걱 등에서 4,4'-MDA의 검출 사례가 다수 보고하고 있으며, 조리기구로부터 이행된 4,4'-MDA는 제품에 사용된 검은색 염료로부터 기인하는 것으로 추정보고 하였다[4]. 2006년이후 최근까지 RASFF 4,4'-MDA의 검출사례는 0.00084 ~ 9.78 mg/kg의 범위에서 약 40여건이 보고되고 있다[5]. 또한, 덴마크 (DFVF, Danish Institute for Food Research)에서는 검정색 나일론 재질의 조리기구 11건 중 5건에서 4,4'-MDA가 이행되었으며, 그 수준은 5.7 - 29.7 mg/kg이라고 보고하였다[6]. 스위스에서도 나일론 재질의 조리기구 20종 중 2종에서 조리기구로부터 침출용매인 물로 0.3 mg/L 및 1.7 mg/L의 4,4'-MDA가 이행되었다고 보고하였다[7]. Perharic 등[8]은 2년간 용기포장재 383건 중 검정색 플라스틱으로 만들어진 주방기구 14건에서 4,4'-MDA와 같은 특정 PAA가 0.033 - 5.090 mg/kg의 범위에서 이행되었다고 보고하였다.

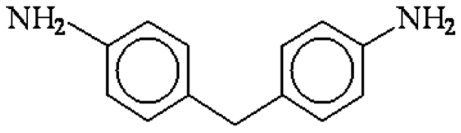

Fig. 1. The chemical structure of 4,4'-MDA (4,4'-Diaminodiphenylmethane, 4,4'- Methylenedianiline).

*Correspondence to: Youngja Lee, Food Packaging Division, Department of Food Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, 194 Tongilno, Eunpyunggu, Seoul, 122704, Korea
Tel: 82-2-380-1695, Fax: 82-2-352-0525
Email: snoopy7@kfda.go.kr

Table 1. LC/MS/MS conditions for the determination of 4,4'-MDA

Parameters	Conditions
Column	C8 (UG 120, 5 μm particle size, 4.6 mm I.D., 150 mm length)
Mobile Phase	Methanol : Water = 75 : 25 (v/v)
Column Flow Rate	0.3 mL/min
Injection Volume	20 μL
Column Temp.	40°C
Ionization Mode	Positive ion electrospray
Capillary Temp.	350°C
Collision Gas	Ar
Collision Voltage	23 V
Precursor Ion	199.123 m/z
Fragment Ion	106.065 m/z

현재, 유럽[9]에서는 식품용 용기포장으로부터 4,4'-MDA 이행기준을 불검출 (검출한계 : 0.01 ppm)로 규정하고 있고 미국[10]에서는 21CFR §175.300 resinous and polymeric coatings, §177.1680 polyurethane resins, §177.2280 thermosetting epoxy resins 등에서 용기포장에 사용할 수 있는 원료물질로 수재하고 있으나, 4,4'-MDA에 대해 별도의 규격을 설정하고 있지 않다. 국내에서는 나일론 재질의 식품용 기구 및 용기포장에 대해 카프로락탐 등 식품으로 이행될 우려가 있는 원료물질에 대해 규격이 설정되어 관리되고 있으나, 4,4'-MDA에 대한 별도의 규격은 설정되어 있지 않고 있으며 관련 연구도 전무한 실정이다.

4,4'-MDA를 비롯한 방향족 아민류의 분석에는 GC, HPLC, CE 등 다양한 분석기기가 사용되고 있으며[11,12,13], 최근 Mortensen 등[14]은 시료전처리의 편리성과 검출한계가 우수한 LC/MS/MS를 이용한 분석법을 개발하여 발표하였다.

따라서 본 연구에서는 4,4'-MDA에 대한 유럽 등 외국의 연구동향 및 검출사례 등을 조사하여 4,4'-MDA의 분석법을 확립하고, 국내에서 유통되고 있는 나일론재질의 조리기구에 대해서 4,4'-MDA의 이행량 실태를 파악함으로써 안전관리 방안을 마련을 위한 기초 자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

2007년 3월 ~7월 국내 7개 대도시에서 유통 중인 국자, 뒤지개 등의 나일론 수지제 조리기구를 대형 할인매장, 재래시장 및 백화점에서 구입하여 사용하였다. 표준물질로 사용한 4,4'-MDA (4,4'-Methylenediamine)는 Aldrich사 (St. Louis, USA) 제품을 사용하였으며, methanol 등 그 외의 모든 시약은 HPLC용 또는 특급시약을 사용하였다. Syringe filer 및 cartridge는 MILLEX사의 HN 25 mm 0.45 μm 및 Waters사의 Sep-Pak plus C18을 사용하였다.

표준용액의 조제 및 검량선의 작성

4,4'-MDA 0.1 g을 정밀히 달아 메탄올 1 L에 녹여 100 ppm의 표준원액을 만들고, 이 표준원액을 메탄올로 희석하여 각각의 농도가 0.1, 1, 5, 10, 25, 50, 100 ppb가 되도록 표준용액을 만들어 검량선 작성에 이용하였다.

시험용액의 조제

국내 유통 중인 나일론수지 조리기구에 대하여 식품유사용매로서 물 및 4% 초산의 경우에는 조리기구를 자른 후 표면적 1 cm^2당 2 ml의 식품유사용매를 가하여 95°C에서 30분간 방치한 액을 시험용액으로 각각 사용하였다. 식품유사용매로서 20% 에탄올의 경우에는 표면적 1 cm^2당 2 ml의 20% 에탄올을 가하여 60°C에서 30분간 방치한 액을 시험용액으로 하였다. 또한 n-헵탄을 사용한 경우에는 표면적 1 cm^2당 2 ml의 n-헵탄을 가하여 상온에서 1시간 방치한 후 4% 초산을 사용하여 2회 추출하고, 4% 초산 50 ml로 정용한 액을 시험용액으로 사용하였다.

분석장비 및 조건

4,4'-MDA 표준용액과 시험용액을 Table 1의 기기분석 조건에 따라 LC/MS/MS(TSQ Quantum, Thermo electron Inc. UK)를 이용하여 분석하였다. 4,4'-MDA($C_{13}H_{14}N_2$, MW = 198.3)의 product ion 중 m/z = 106을 선택하여 정량하였다(Fig. 2). 또한 국내 유통 중인 합성수지제 조리기구의 재질 확인을 위하여 MIRacle™ ATR이 장착된 FT-IR Spectrometer를 이용하여 4000~650 cm^{-1}의 파장범위에서 흡광도를 측정하여 얻어진 spectrum을 IR spectrum library(Spectrum Std V6, PerkinElmer)와 비교하였다.

결과 및 고찰

직선성, 검출한계 및 정량한계

LC/MS/MS를 이용한 4,4'-MDA 표준용액 및 시험용액에 대한 크로마토그램은 Fig. 3과 같았고 4,4'-MDA의 머무름 시간은 4.6분대로 나타났다. 표준용액으로부터 얻어진 크로마토그램으로부터 S/N 비가 3에 해당하는 0.1 ppb를 검출한계(Limit of Detection, LOD)로, 10에 해당하는 0.3 ppb를 정량한계(Limit of Quantification, LOQ)로 정하였다. 또한, 4,4'-MDA 표준용액의 피크 면적으로 검량선을 작성한 결과, 1~100 ppb의 농도범위에서 0.9999의 우수한 직선성을 나타내었다(Fig. 4).

재현성 및 회수율

4,4'-MDA 표준용액을 가지고 각 농도에서 재현성을 시

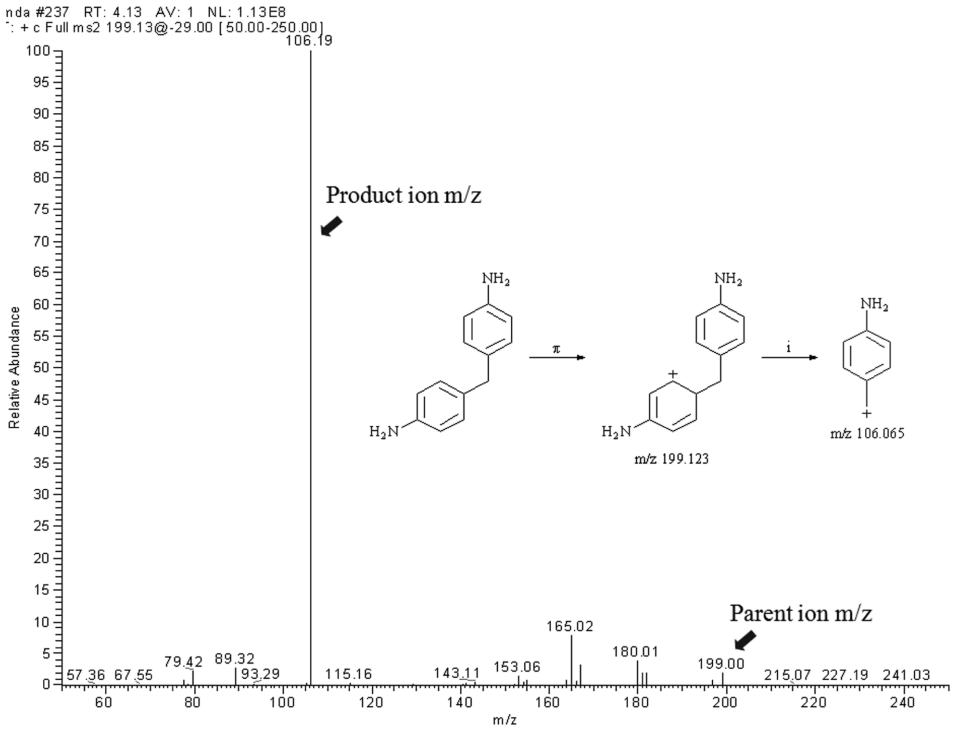

Fig. 2. Positive ion trap tandem mass spectrum of 4,4'-MDA in methanol.

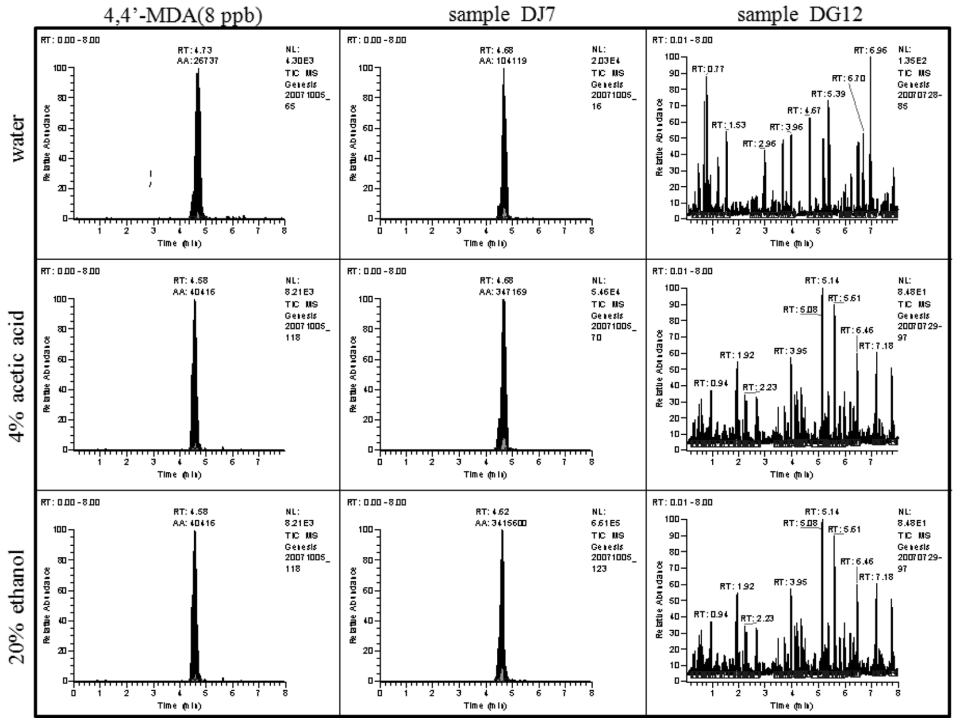

Fig. 3. Chromatograms of 4,4‘-MDA standard and samples in food simulants, water, 4% acetic acid and 20% ethanol.

험한 결과, 피크 면적에 대한 상대표준편차백분율(RSD(%))는 5.0% 이내로 우수한 재현성을 나타내었다. 또한, 각 식품유사용매별에 따른 4,4‘-MDA의 회수율을 검증하기 위하여 식품유사용매인 물, 20% 에탄올, 4% 초산, n-헵탄에 4,4‘-MDA가 최종 1 ppb (침출용매로서 물, 4% 초산 및 20% 에탄올의 경우) 또는 4 ppb (침출용매로서 n-헵탄의 경우)를 가한 후 LC/MS/MS로 분석하여 회수율을 검증한 결과, 물, 4% 초산, 20% 에탄올, 및 n-헵탄 각각에 대하

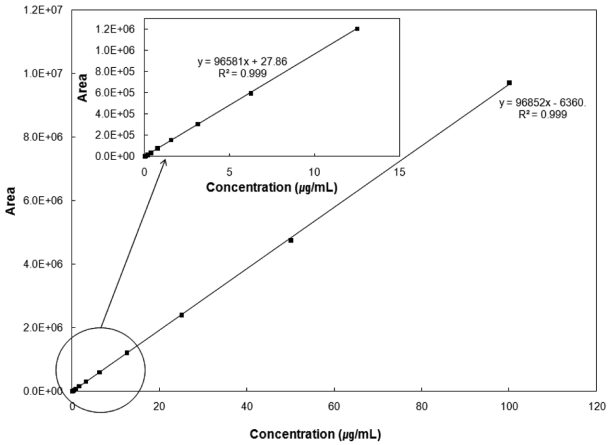

Fig. 4. Calibration curve for quantititation of 4,4'-MDA by LC-MS/MS.

Table 2. Recovery of 4,4'MDA from food simulants using LC/MS/MS

food simulants	spiked conc. (ppb)	recovery (%)	RSD (%)
water		98.0	9.7
4% acetic acid	1	100.2	2.8
20% ethanol		97.2	7.5
n-heptane	4	87.6	4.5

여 98.0%, 100.2%, 97.2% 및 87.6%의 우수한 회수율을 얻었다(Table 2).

국내 유통 중인 합성수지제 조리기구 중 4,4'-MDA 모니터링

국내에서 유통되고 있는 제품의 표시사항 외에 FT-IR

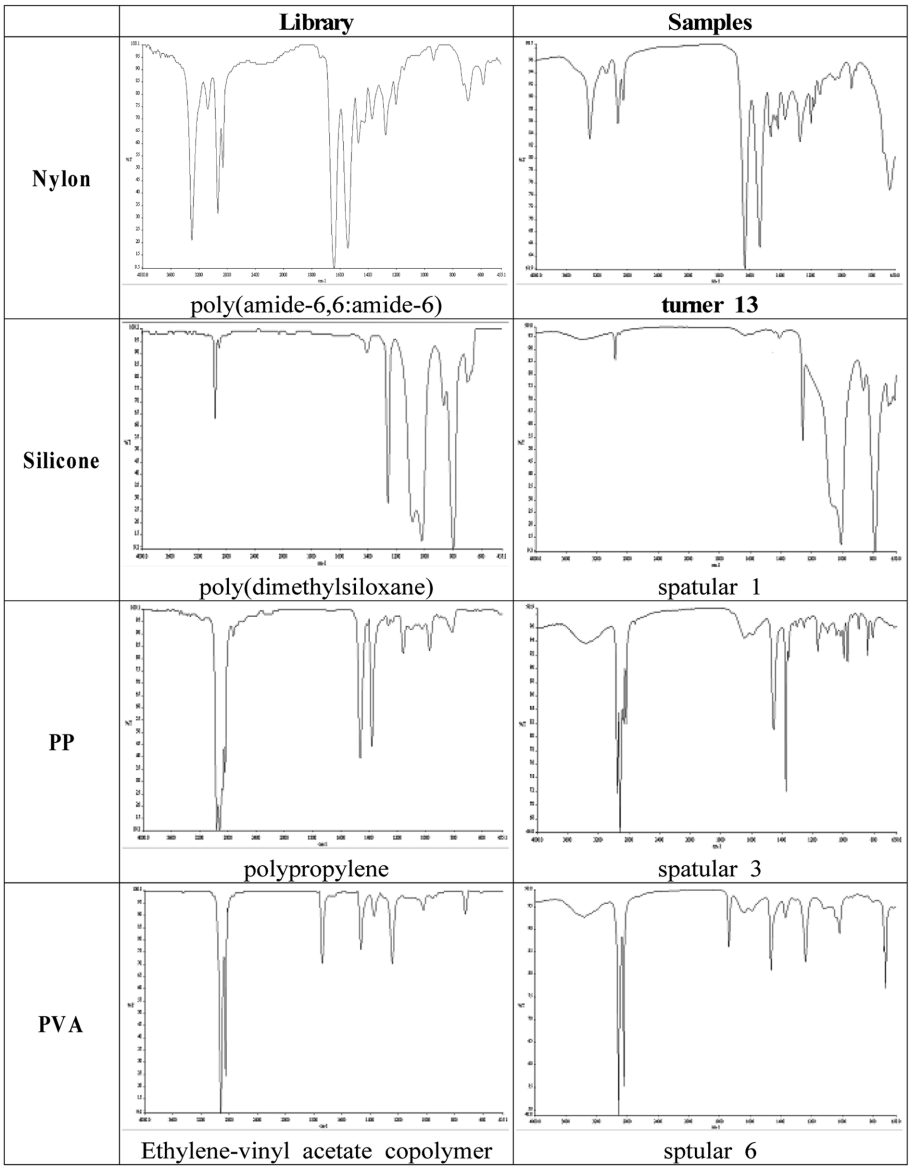

Fig. 5. IR absorption spectra of plastic cooking utensils samples.

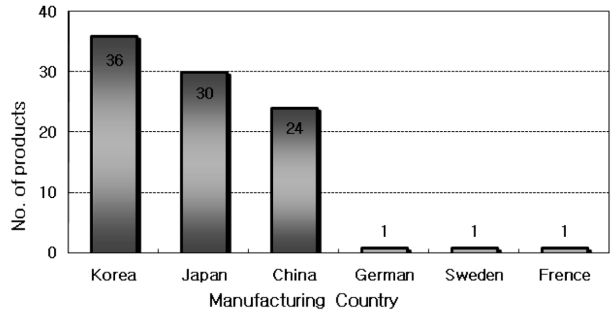

Fig. 6. Distribution of country of origin for analyzed nylon cooking utensils samples.

spectrometer를 사용하여 Fig. 5와 같이 나일론수지로 확인된 93개 품목만을 분석대상으로 하였다. 또한, 나일론수지 재질로 확인된 93개 제품은 주로 한국 (38.7%), 일본 (32.3%), 중국 (25.8%)에서 제조된 것으로 조사되었다(Fig. 6).

나일론재질의 합성수지제 조리기구로부터 식품유사용매로의 4,4‘-MDA 이행량 실태를 조사하기 위하여 식품유사용매로서 물, 4% 초산, 20% 에탄올 및 n-헵탄을 사용하였다. 4가지 식품유사용매별 4,4‘-MDA 이행율은 Table 3에서 보는 바와 같이 물, 4% 초산, 20% 에탄올 및 n-헵탄에 대하여 각각 ND~0.026 ppm (11개 제품에서 검출), ND~0.021 ppm (14개 제품에서 검출), ND~0.017 ppm (14개 제품에서 검출), ND~0.001 ppm (1개 제품에서 검출)로 조사되었다. 지방성식품에 대한 식품유사용매인 n-헵탄의 경우 다른 3가지 식품유사용매에 비해 검출된 검체수가 적게 나타났는데, 이는 4,4'-MDA의 유기용매에 대한 용해도가 낮은 물질 특성에 기인한 것으로 추정된다. 또한, 조사대상 93품목중 2품목에서의 이행량은 유럽연합의 4,4‘-MDA 이행기준[9]인 0.01 ppm을 초과한 것으로 나타났다. 따라서 나일론재질 조리기구로부터 식품으로 이행될 수 있는 4,4'-MDA의 안전성 평가를 위하여 4,4'-MDA 동물시험자료[1,2] (LOAEL 9 mg/kg b.w/day)로부터 불확실성계수 100을 사용하여 추정내용일일섭취량 (TDI, Tolerable Daily Intake)을 0.09 mg/kg b.w/day로 산출하였다. 또한 우리나라 성인의 평균몸무게 60 kg, 성인의 1일 식품 섭취량을 3 kg이라고 가정[15]하였을 때, 유럽연합에서 사용하는 포장재 중 잔존하는 특정물질이 식품으로 이행될 때 안전하다고 여겨지는 최대이행량 (SML : Specific Migration Limit)은 1.8 mg/kg food로 추정되었다. 따라서 본 연구결과에서 얻어진 나일론재질 조리기구로부터 식품유사용매로 이행된 4,4‘-MDA의 최대 이행량인 0.026 ppm은 추정 SML인 1.8 mg/kg food의 약 1.4%수준으로 안전한 것으로 평가되었다. 그러나, 4,4‘-MDA가 발암성이 의심되는 물질임을 감안하여 나일론수지제 식품용 기구류로부터 4,4‘-MDA가 식품으로 이행되어 국민건강에 위해를 줄 수 있으므로 4,4‘-MDA에 대한 안전관리기준을 유럽수준으로 설정관리가 필요한 것으로 사료된다.

요 약

4,4‘-diaminodiphenylmethane (4,4‘-MDA)는 일차방향족 아민 (primary aromatic amine, PAA)류의 일종으로, 최근 유럽에서는 RASFF를 통하여 나일론 재질의 주방용 국자, 주걱 등에서 4,4‘-MDA 이행 사례를 보고하고 있어 국내 유통 합성수지제 조리기구 중 4,4‘-MDA 이행량 실태를 조사하였다. 4,4‘-MDA의 분석을 위하여 0.3 ppb의 정량한계 및 87.6% 이상의 우수한 회수율을 나타내는 LC/MS/MS를 이용한 분석방법을 확립하였다. 식품유사용매 물, 4% 초산, 20% 에탄올 및 n-헵탄에 대하여 4,4‘-MDA 이행여부를 조사한 결과, 4% 초산 및 20% 에탄올인 경우에는 분석대상 100 품목 중 나일론 재질 14 품목에서, 물인

Table 3. Monitoring of 4,4‘-MDA from nylon cooking utensils

Samples		4,4'-MDA, ppm (No. of samples)			
type	number	water	4% acetic acid	20% ethanol	n-heptane
potato masher	1	ND	ND	ND	ND
slotted spoon	6	ND	ND	ND	ND
soup ladle	15	ND	ND	ND	ND
turner	61	ND (50) 0.001-0.026 (11)	ND (48) 0.001-0.021 (13)	ND (48) 0.001-0.017 (13)	ND (60) 0.001 (1)
spoon	4	ND	ND (3) 0.002 (1)	ND (3) 0.001 (1)	ND
tong	4	ND	ND	ND	ND
knife	1	ND	ND	ND	ND
fork	1	ND	ND	ND	ND
total	93	ND(82) 0.001-0.026 (11)	ND(79) 0.001-0.021 (14)	ND(79) 0.001-0.017 (14)	ND(92) 0.001 (1)

경우에는 나일론 재질 11 품목에서 식품유사용매로 4,4‘-MDA가 이행되는 것으로 나타났으나, n-헵탄을 사용한 경우에는 1개 품목에서만 미량의 4,4‘-MDA가 이행되었다. 이중 유럽연합 기준인 0.01 ppm을 초과하는 제품은 2 품목이었다.

참고문헌

1. OECD SIDS : Risk Assessment 4,4'-Methylenedianiline, UNEP Publications, 1999.
2. U.S. Department of Health and Human Services : Toxicological profile for methylenedianiline, 1998.
3. International Agency for Research on Cancer (IARC) - Summaries & Evaluations, 39: 66, 1986.
4. Health & Consumer Protection Directorate-Genera : The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report, 2005.
5. http://europa.eu.int/comm/food/food/rapidalert/index_en.htm.
6. Danish Institute for Food and Veterinary Research(DFVF) : Menorandum for an acute case of primary aromatic amines migrating from cooking utensils, 2004.
7. State Laboratory of the Canton, Basel City : Plastic cooking utensils / aromatic amines, 2004.
8. Perharic, L., Golja, V., Zoric, A. and Luci, M : Primary aromatic amines in kitchen utensils in Slovenia, *Toxicol Lett*, **164S**, S278, 2006.
9. Commission Directive 2007/19/EC, Official Journal of the European Union, L 91-36, 2007.
10. http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx_07/21cfrv3_07.html
11. Pinheiro, H.M., Touraud, E. and Thomas, O. : Aromatic amines from azo dye reduction; status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry waste waters, *Dyes and Pigments* **61**: 121-139, 2004.
12. Krull, I. and Swartz, M., : Determining limits of detection and quantitation. *LCGC* **16**(5), 464-465, 1998.
13. Luu, H.D. and Hutter, J.C. : Pharmacokinetic modeling of 4,4'-Methylenedianiline released from reused polyurethane dialyzer potting materials, *Inc. J biomed Mater Res* **53**, 276-286, 2000.
14. Mortensen, S.K., Trier, X.T., Foverskov, A. and Petersen, J.H. : Specific determination of 20 primary aromatic amines in aqueous food simulants by liquid chromatography - electrospray ionization - tandem mass spectrometry, *J Chromatogr A*, **1091**, 40-50, 2005.
15. 식품용 용기포장 원료물질 관리체계 구축 연구(I), 식품의약품안전청 연구보고서, 2006.