

## 한국 전통 발효식품 중의 Ethyl Carbamate 정량

정현정 · 권훈정

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과

### Fermentation Specific Carcinogen Ethyl Carbamate in Korean Traditional Foods

Hyun-Jung Chung and Hoon-Jeong Kwon

*Department of Food and Nutrition, Seoul National University*

#### ABSTRACT

Diet is generally accepted as one of the important factors in human cancer development. Ethyl carbamate has been associated with cancer for several decades and mainly found in the fermented beverages and foodstuff. The relationship between ethyl carbamate and the human health cannot be ignored especially in the areas where fermented foods consists of regular food consumption. To investigate the ethyl carbamate exposure level in Korean population, commercial fermented food samples were collected from local markets in Seoul area and home-made varieties were collected throughout the country. Following partial purification, the concentration of ethyl carbamate was determined by GC/MS. The concentration of ethyl carbamate ranged to 70 ppb in soysauce, to 10 ppb in soybean paste, and to 5 ppb in vinegars. Korean traditional alcoholic beverages showed small amount of ethyl carbamate. The estimated daily exposure of Korean population was 0~1900ng/day. It would be prudent to put efforts to minimize the formation of ethyl carbamate since the risk from the higher range exposure cannot be ignored.

Key words: Ethyl carbamate, Cancer, Fermented food.

#### I. 서론

한국의 1992년 사망 원인 중 암이 차지하는 비율은 전체의 21%에 이르고, 40대와 50대의 사망 원인 중 1위를 암이 차지하며, 암에 의한 사망률은 꾸준

히 증가하는 추세이다<sup>1)</sup>. 암의 발생은 환경 인자와 유전 인자 모두 관여한다고 받아들여지는데, Doll과 Peto는 이 중 식이에 의한 발암률을 전체의 약 30% 정도까지 예측하고 있다<sup>2)</sup>. 간암과 위암의 비중이 매우 큰 한국 특유의 발암 유형을 고려할 때, 발암 요인 중 식품이 차지하는 비중이 폐암 발병률이 높은

서구보다 상대적으로 크리라 기대되나, 한국인 암 발생에 대한 뚜렷한 원인은 아직 알려져 있지 못하다. 한국 식단의 특징은 다량의 곡류와 두류 식품 섭취를 들 수 있으며, 많은 종류의 발효 식품 섭취도 특징 중 하나로 들 수 있다. 발효 식품과 암과의 상관 관계에 대한 연구보고는 제한되어 있으나, 중국의 젓갈과 후두암과의 관계를 대표적인 예로 들 수 있다. Yu 등은 중국 광둥 지역의 생선 젓갈의 섭취량과 후두암의 발생 빈도가 양의 상관 관계를 나타내는 것을 역학적으로 밝혀 보고하였으나, 원인이 되는 화합물은 밝혀지지 않았다<sup>3-4)</sup>.

Ethyl carbamate (urethane,  $\text{NH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ , CAS No. 51-79-6)는 1940년대 처음 실험 동물에 대한 발암성과 변이원성이 보고된 이후 현재 동물의 여러 조직에 대한 발암원으로 인정되고 있다<sup>5)</sup>. 동물 실험의 결과로부터 인체에 대한 위해도를 추정하면, 어른의 경우  $18\sim 80\text{ng/kg/day}$ 의 ethyl carbamate 섭취가 생애 발암 위험 증가율  $10^{-6}$ 에 대한 안전한 섭취량으로 추정된다<sup>6)</sup>. 즉, 매일 이 정도의 ethyl carbamate를 섭취하는 사람 백만 명 중 한 사람 정도가 이 화합물에 의해 암이 발생할 수 있다. 이 화합물은 태아나 신생아 세포 조직에서 배설이 훨씬 느리고 placental barrier를 통과하므로, 태어나 신생아의 경우에는 그 위해도가 10배 정도 증가한다. 1976년 빵과 주류에서 검출되므로써<sup>7)</sup>, 식품 내에 자연적으로 존재하는 것이 알려져 인체에 직접적인 영향을 주는 화합물로 주목을 받기 시작한 ethyl carbamate는 1985년도에 Canada에서 주류의 잔류 허용량을 규제 받기 시작하였다.

Ethyl carbamate는 ethanol과 carbamyl기를 가진 물질 (carbamyl phosphate, urea, citrullin 등)의 반응으로 생성되기 때문에<sup>8,9)</sup> 어떤 식품에서나 이 화합물의 존재 가능성을 배제할 수는 없으나, 특히 발효 식품의 경우는 발효가 진행됨에 따라 arginine을 포함한 유리 아미노산이 증가하고, ethanol과 여러 질소 화합물들이 미생물 대사 산물로 생성되며, 또한 산도가 낮아지므로 ethyl carbamate를 형성하기에 매우 좋은 조건을 제공하여 준다. 서구인에게 노출되는 ethyl carbamate는 주로 주류에 의한 것이며, 연구 보고된 비주류 식품의 경우는 간

장만이 우려될 정도의 함량을 나타내고 있다<sup>10)</sup>.

한국의 전통 발효 식품에는 각종 김치, 장류 및 젓갈류를 대표적으로 꼽을 수 있다. 한국의 발효 식품은 숙성 및 저장 기간이 상대적으로 긴 것이 특징이다. 오랜 숙성 저장 기간 중 ethyl carbamate생성이 계속 진행될 것인가 파괴가 진행될 것인가에 대한 보고는 없으나, 두 가지 모두 배제할 수 없는 가능성이다. 따라서 한국 식생활의 주요 부분을 차지하는 발효 식품에 대한 조사가 요구되었으므로, 이들 중 섭취 빈도와 양이 가장 많은 주요 발효식품을 대상으로 하여 ethylcarbamate의 존재 여부를 확인하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시약

Aluminum oxide는 Jenssen Chimica에서 구입하여 수분함량을 측정 후 총 수분이 10.0%가 되도록 증류수를 가하여 불활성화 시켰으며, Celite 545는 Shinyo Pure Chemical에서 구입하여 700℃에서 16시간 이상 건조시킨 후 사용하였다. C18 수지는 Waters에서 Preparative용 Bulk packing material (125Å)을 구입하였고, 이외의 시약은 모두 특급을 사용하였다.

### 2. 시료수집

간장 시료는 국내 5개 회사의 시판 양조간장 3가지, 산분해 간장 2가지와 김천, 서산, 대전, 광주 4지역의 재래식 간장을 수집하였고, 된장시료로는 국내 4개 회사의 시판된장 4가지와 재래시장의 된장 3가지를 수집하였다. 이외에 시판중인 식초 5가지와 전통주 10가지를 구입하여 분석에 사용하였다.

### 3. 부분정제 및 정량

부분정제는 김치에서 ethyl carbamate 정량을 위해 본 실험실에서 개발한 과정 기준으로 하여, 각 식품의 구성요소에 따라 변형시켜 사용하였다<sup>11)</sup>. 균질화한 고체 시료를 ethylacetate를 첨가하여 30분간 교반하고 원심분리하여 4번 반복 추출하였다. 감압 농축한 추출물을 저압 관 크로마토그래피를 위한

C18 수지에 흡착시키고, 증류수로 씻은 후 100% 메탄올을 사용하여 ethyl carbamate 분획을 용출시켰다. Alumina와 무수황산나트륨을 순차적으로 충전시켜 놓은 유리칼럼에 감압 농축시킨 용출액을 celite와 섞어 제일 위층에 충전시켰다. Methylene chloride로 용출시킨 분획을 다시 감압 농축한 후 florisil 수지에 흡착시키고 씻은 후, 7% methanol/methylene chloride 액으로 용출시켰다. 이와 같이 세 단계에 걸친 부분 정제를 거친 분획을 마지막으로 감압 농축한 후 최종 부피가 0.1ml이 되도록 methylene chloride에 재 용해시킨 후 가스크로마토그래피-질량분석기를 사용하여 정량하였다.

위의 과정은 된장과 김치의 부분정제에 사용하였으며, 간장 시료의 경우는 간장을 celite와 섞어 직접 alumina 수지에 흡착시키므로써 용매추출과 C18 고체상 추출을 생략하였다. 식초는 pH 8이 되도록 중화한 후 추출하고, 주류는 황산칼륨으로 포화시킨 후 추출하여 C18 수지에 의한 고체상 추출을 생략하였다.

Ethyl carbamate의 정량에는 FFAP (50m×0.2mm×0.33 $\mu$ m)칼럼을 장착한 Hewlett Packard 5890 II 가스크로마토그래피와 Hewlett Packard 5988 질량분석기를 과학기술원 기초과학지원센터 서울 분소에서 임차하여 사용하였다. 가스크로마토그래피 오븐은 100 $^{\circ}$ C에서 4분간 유지한 후 10 $^{\circ}$ C/min으로 240 $^{\circ}$ C까지 승온하였다. 주입구의 온도는 220 $^{\circ}$ C, 검출구의 온도는 240 $^{\circ}$ C를 유지하였으며, splitless mode를 사용하였다. 질량분석을 위해서는 70eV의 에너지로 electron impact 이온화법을 사용하였다. 먼저 주사법을 사용하여 표준 용액과 대표 시료의 총이온 크로마토그램을 얻은 뒤, 분리된 ethyl carbamate 봉우리를 머무름 시간과 토막이온을 이용하여 성분을 확인하고, 선택이온 측정법을 이용하여, 질량 대 전하 비율 62에서 농도를 측정하였다. 간장과 된장 시료의 경우 propyl carbamate를 내부 표준물질로 첨가하여 내부 표준물질 봉우리 와 ethyl carbamate 봉우리의 비를 이용하여 농도를 결정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 수집된 식품 내의 Ethyl carbamate 함량

한국에서 섭취되고 있는 음식 중의 ethyl carbamate 함량에 대하여는 1995년 Kim 등이 탁주를 분석하여 2 ppb를 보고하였고<sup>12)</sup>, 비주류 식품에 대하여는 김치에서 0~4.6 ppb의 ethyl carbamate가 검출·보고된 바 있다<sup>11)</sup>. 그러나, 한국인에 대한 이 화합물의 위해도를 추정하려면, 광범위한 식품 중의 분포가 확인되어야 하므로 현재 소비자가 섭취하고 있는 식품을 수집하여, ethyl carbamate의 존재 여부를 확인하였다. 간장의 경우, 가정에서 수집한 시료와 시중에 판매되는 시료를 모두 분석하였으며, 된장, 주류, 식초의 경우는 시판되는 시료를 분석하였다.

Table 1에서 볼 수 있듯이 시판 양조간장의 경우 9~30 ppb까지의 분포가 확인되었다. 가정에서 남아 사용하는 재래간장 4시료 중 세 시료에서는 무시할 수 있을 정도의 양이 검출되었으나, 수십년간 계속 보충해 가며 저장해 왔다는 광주 지방의 간장에서 최고 73 ppb까지 검출되었다. 이는 저장 기간에 따른 ethyl carbamate의 증가를 암시한다 하겠다. 실제 실험실에서 제조한 간장의 경우 저장 기간에 따라 ethyl carbamate의 생성이 계속 증가하는 것이 관찰되었다<sup>12)</sup>. 김치의 경우는 이보다 적어 최고

**Table 1.** Concentration of ethyl carbamate in soysauce consumed Korea

Soysauce	Ethyl carbamate (ppb)	
Commercial : Fermented	1	14.2
	2	9.5
	3	30.0
Acid hydrolyzed (80%)	1	n.d <sup>a)</sup>
	2	19.5
Traditional home-made	1	0.5
	2	73.3 <sup>b)</sup>
	3	0.6
	4	n.d

<sup>a)</sup> n.d : not detected.

<sup>b)</sup> This particular soysauce was kept several decades with annual refill of freshly prepared soysauce.

**Table 2.** Concentration of ethyl carbamate in soybean paste consumed in Korea

Soybean paste	Ethyl carbamate (ppb)	
National brand :	1	7.9
	2	n.d.
	3	1.0
	4	4.0
Traditional type bought in local markets	1	0.2
	2	3.0
	3	n.d.

n.d : not detected.

**Table 3.** Concentration of ethyl carbamate in commercial vinegar<sup>a1</sup>

Vinegar	Ethyl carbamate(ppb)
Onion	1.0
Persimmons	1.9
Wheat	0.3
Rice	0.3
Apple	2.5

<sup>a1</sup> These samples were analyzed in the absence of internal standard and the values were not corrected for the recovery.

4.6 ppb 까지 검출이 보고되었으나, 내부 표준 물질 을 첨가하여 정제과정의 회수율을 고려한 결과 11 ppb 까지 ethyl carbamate가 검출되었다. 된장에서 김치와 비슷한 수준으로 시판 된장에서는 7.9 ppb까지, 가정에서 담근 것은 3.0 ppb 까지 검출되었으며, 식초에서는 이보다 낮은 최고 2.5 ppb 검출되었다. (Table 2, 3). 탁주를 제외한 전통주 분석 결과 분석된 10개 전통주 중 3시료 미 검출, 6시료는 6 ppb 이하였으며, 한 시료만이 15 ppb를 나타내어, 20,000 ppb 까지 보고된<sup>10)</sup> 외국 주류와 비교하여 볼 때, 한국 전통주의 ethyl carbamate 함량은 매우 낮은 수준이다 (Table 4). 주류의 종류에 따른 차이는 관찰되지 않았으며, 탁주에서도 비슷한 양이 보고되어<sup>13)</sup>, 한국 전통주 발효 과정에서 생성되는 ethyl carbamate의 양은 주류의 종류와 관계없이 상대적으로 매우 낮은 것으로 나타났다. 식초와 전통주의 경우 정제 과정상 회수율을 고려하지 않은 수치이므로 실제 함량은 이보다 약간 높은 수준일 것으로 예

**Table 4.** Concentration of ethyl carbamate in Korean style alcoholic beverages<sup>a1</sup>

Alcoholic beverage	Ethyl carbamate (ppb)	
Simple distilled spirit	1	n.d.
	2	n.d.
Distilled spirit with herb and spice	1	n.d.
	2	0.6
	3	1.0
	4	3.1
	5	3.7
Mixed	6	3.9
	7	5.9
	1	15.4

n.d : not detected.

<sup>a1</sup> : These samples were analyzed in the absence of internal standard and the values were not corrected for the recovery.

측되나, 식초의 섭취량이 낮고 높은 양이 검출되지 않았으므로 위해도 추정에는 큰 영향을 미치지 못할 것으로 사료된다. 그러나, 높은 양의 ethyl carbamate가 검출된 간장과 이보다 낮은 양이 검출되었으나 섭취량이 많은 김치가 ethyl carbamate로 인한 위해도에 가장 큰 영향을 줄 수 있는 식품으로 사료된다.

국민 영양 조사보고서에 의하면, 한국인 하루 평균 간장 섭취량은 개량간장과 조선간장 혼합하여 7.7g, 김치 섭취량은 116.7g, 된장 섭취량은 6.5g, 식초 섭취량은 0.7g 이므로<sup>14)</sup> 이 값과 조사된 식품의 ethyl carbamate의 값을 이용하여 일일 노출량을 계산하였다. 주류의 섭취를 제외하고 위의 네 종류 식품에서 0~1,900ng의 ethyl carbamate를 하루에 섭취하게 된다. 이를 단위 체중당 노출량으로 환산하면 0~31ng/kg/day로 Schlatter와 Lutz<sup>6)</sup>가 추정한 virtually safe dose 20~80ng/kg/day에 가까운 양으로 식품의 선택에 따라 무시할 수 없는 양의 ethyl carbamate에 노출되는 것으로 나타났다.

#### IV. 요약 및 결론

현재 가정에서 섭취하고 있는 각종 발효 식품을 시장과 가정에서 수집하여 유기용매로 ethyl car-

bamate를 추출, 고체상 추출법으로 부분 정제한 후 가스 크로마토그래피-질량분석기로 정량하였다. 그 결과 간장의 경우 시판 산분해 간장보다 양조 간장에서 더 높은 양의 ethyl carbamate가 검출되었으며, 가정에서 담근 재래 간장의 경우 두 개의 시료는 0.5, 0.6 ppb의 낮은 함량을 보였으나, 수십년간 묵힌 간장은 73.3 ppb로 높은 ethyl carbamate 함량을 나타내어 저장 중 ethyl carbamate의 증가를 암시하였다. 된장과 식초는 각각 10 ppb, 5 ppb 이하의 낮은 농도로 검출되었다. 외국에서 다량의 ethyl carbamate가 검출되어 규제를 받고 있는 주류의 경우, 우리나라 전통 주류는 종류에 관계없이 낮은 수준이 검출되었다. 이들 시료들에서 측정된 ethyl carbamate 농도와 이미 보고된 김치내의 농도, 국민영양조사의 식품일일 섭취량을 사용하여 추정된 일일 평균 ethyl carbamate 노출량은 0~1,900ng으로 Schlatter와 Lutz가 추정된 virtually safe dose와 가까운 양이었다.

본 보에서는 제한된 시료의 분석 결과를 보고하였으나, 시료에 따른 함량의 차이가 매우 크므로 이 화합물이 미치는 건강 위험도(risk assessment)를 정확히 추정하기 위해서는 더욱 광범위한 시료의 분석이 필요하다. 또한 김치, 간장, 된장의 여러 항암 인자들이 보고되고 있으나, 개인의 식습관에 따라 섭취량의 차이가 크므로 이 물질의 생성을 최소화하여 이 화합물에 의한 위험도를 최소화하기 위하여, 생성(억제) 조건의 계속적 연구가 필요하다고 사료된다.

## V. 참고문헌

- 통계청: 사망원인통계연보, 1993.
- Doll, R. and Peto, R.: The causes of cancer: Quantitative estimates of available risks of cancer in the United States today, *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 1191-1308, 1981.
- Yu, M. C., Ho, J. H. C. and Henderson, B. E.: Cantonese style salted fish as cause of nasopharyngeal carcinoma: report of a case control study in Hong Kong. *Cancer Res.*, 46: 956-961, 1986.
- Yu, M. C., Ho, J. H. C. and Henderson, B. E.: Diet and nasopharyngeal carcinoma: a case control study in Guagzhou, China. *Int. J. Cancer*, 43: 1077-1082, 1989.
- Zimmerli, B. and Schlatter, J.: Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. *Mutation Res.* 259: 325-350, 1991.
- Schlatter, J. and Lutz, W. K.: The carcinogenic potential of ethylcarbamate (urethane): Risk assessment at human dietary exposure levels. *Food Chem. Toxicol.*, 28: 205-211, 1990.
- Ough, C. S.: Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethyl carbamate. *J. Agric. Food Chem.*, 24: 323-328, 1976.
- Ough, C. S., Crowell, E. W., and Gutlove, B. R.: Carbamyl compound reactions with ethanol. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39: 239-242, 1988.
- Ough, C. S., Crowell, E. W. and Mooney, L. A.: Formation of ethylcarbamate precursors during grape juice (Chardonnay) fermentation. I. *Am. J. Enol. Vitic.*, 39: 243-249, 1988.
- Bataglia, R., Conacher, H. B. S. and Page, B. D.: Ethylcarbamate (urethane) in alcoholic beverages and foods: a review. *Food Add. Contam.* 7: 477-496, 1990.
- 고은미, 권훈정: 김치에서 발효식품 고유발암원 Ethyl carbamate 검출, *한국식품과학회지* 28: 421-427, 1996.
- 정현정: 재래간장의 제조조건에 따른 ethyl carbamate 생성, *서울대학교 석사학위 논문*, 1996.

13. Kim, E. J., Kim, D. K., Lee, D. S., Lee, T. S. and Noh, B. S., Application of acid urease to prevent ethyl carbamate formation in Takju processing. *Foods and Biotechnology* 4: 34-38, 1995.
14. 보건복지부: 국민영양조사보고서, 1993.