

## 가속화용매추출기를 이용한 히드록시프로필인산이전분의 프로필렌클로로히드린 분석방법에 관한 연구

이명자 · 신영민 · 정의한 · 최태진\* · 정숙현\*\* · 안원근\*\*\*†

부산지방식품의약품안전청 시험분석실, \*부경대학교 미생물학과,  
\*\*동서대학교 식품생명공학과, \*\*\*경북대학교 생물학과

### Analysis of Propylene Chlorohydrin in Hydroxypropyl Distarch Phosphate by Accelerated Solvent Extractor (ASE)

Myung-Ja Lee, Yeong-Min Sin, Eui-Han Jeong, Tae-Jin Choi\*,  
Sook-Hyun Chung\*\* and Won-Gun An\*\*\*†

Test & Analytical Lab., Pusan Regional Food & Drug Administration, Busan 608-829, Korea

\*Dept. of Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

\*\*Dept. of Food Biotechnology, Dongseo University, Busan 616-716, Korea

\*\*\*Dept. of Biology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

#### Abstract

Accelerated solvent extraction (ASE) was used for a rapid and simple extraction of propylenechlorohydrin (PCH) residue in hydroxypropyl modified starch. The effects of temperature, pressure and extraction solvent on the extraction efficiency were investigated to find the optimal condition of ASE. The optimal conditions for PCH extraction in hydroxypropyl modified starch were static time of 50 min, purge time of 300 sec, heating time of 5 min, temperature of 120°C, pressure of 2500 psi, flush (%) with 100 volumes, and ethylacetate as an extraction solvent. The recovery (96.1%) of this method was higher than that (76.4%) of Code of Food Additive. Therefore, the ASE was a good method in both aspects of efficiency and effectiveness.

**Key words:** accelerated solvent extraction (ASE), propylenechlorohydrin (PCH), hydroxypropyl modified starch

#### 서 론

변성전분은 천연전분을 화학적, 물리적 및 특수처리를 하여 전분의 성질을 변화시킨 것으로서 천연전분이 가지고 있지 않은 식품가공상의 불리한 성질(과도한 점도, 이력현상, 빈약한 내약품성 및 내기계성, 약한 피막형성 등)을 개선할 뿐만 아니라 변성정도에 따라 다양한 성질을 가진 전분을 만들 수 있다. 변성방법에 따라 화학적, 물리적, 효소적 변성으로 나눌 수 있는데 주로 화학적 변성이 많이 사용되고 있다. 화학적 변성방법에는 분해반응과 유도체반응으로 나누어지는데 분해전분은 전분의 점도를 감소시켜 농도가 좋은 호화액을 만들 수 있고 분자사슬을 가교시킨 가교전분은 전분분자 내에 견고한 고분자골격이 형성되어 전분의 내전단성, 내열성, 내산성 등의 성질을 갖게 된다(1,2).

우리나라 식품첨가물공전(3)에서는 JECFAC(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)에 수록되어 있는 변성전분 중 산화전분, 아세틸아디핀산전분 아세틸인산이

전분, 옥테닐호박산나트륨전분, 인산전분류, 초산전분, 히드록시프로필인산이전분 및 히드록시프로필전분만을 사용하도록 허용하고 있으며, 이들의 안전한 이용을 위한 성분규격을 정하고 있다(4). 이중 히드록시프로필전분은 알칼리 촉매하에서 프로필렌옥사이드를 첨가하여 주로 glucose 단위 2번 탄소위치에 히드록시프로필기를 alkylation시켜 얻어지는 변성전분으로 동결/해동 안정성, 저장성 및 투명도를 크게 개선시키는 장점을 가지고 있어 다양하게 이용되고 있는데 주로 여러 식품의 농후제(thickening agent)로서 많이 사용되고 있다(5,6).

그러나 이러한 첨가 시약들이 변성전분 제조시 반응이 제대로 일어나지 않거나 세정이 불충분하여 인체에 유해한 프로필렌클로로히드린(propylene chlorohydrin, PCH)이 잔류할 수 있다. 이것은 chlorinated alcohol의 일종으로 쥐의 LD<sub>50</sub>값은 경구투여 0.22 mL/mg, 피부를 통해서서는 0.48 mL/mg의 독성을 가지고 있다. PCH에 대한 독성은 잘 알려져 있지 않으나 최근 monochloropropanediol(MCPD) 및 dichloro-propanol(DCP)가 인체의 정자수 감소 등을 유발하는 내분비계 장애물질의 일종

†Corresponding author. E-mail: wgan@knu.ac.kr  
Phone: 82-53-950-5353. Fax: 82-53-953-3066

으로 알려져 있어, Cl을 함유한 알콜 구조를 가지는 PCH도 이러한 위험성을 가질 가능성이 있는 것으로 추정된다(7,8).

현행 식품첨가물 공전의 PCH의 검사방법(3)은 강산의 상태에서 전분을 끓는 수욕상에서 가열할 때 전분입자의 호화로 인해 여과과정에서 많은 시간이 걸리고 에테르 추출과 정제과정 등 복잡한 절차에 의한 회수율의 손실과 용매낭비 및 시간적으로 비경제적이며 개선의 요지가 많다.

최근 가속화용매추출기(accelerated solvent extractor, ASE)는 주로 농산물 중의 잔류농약, 식품중의 첨가물 및 주류 중의 유기산의 분석 등 다양한 대상시료 중의 추출 및 전처리에 많이 응용되고 있다. 이를 이용한 추출법은 미국 환경청 EPA Method 3545에 유기인계 농약, 제조제, PCBs, 유기염소계 농약 등의 추출방법으로 공인되었고, 식품 등의 추출에는 요거트 중의 vanillin, 치즈 등의 지방, 햄 중의 질산염, 육류 중의 아미노산, 꿀 및 생선에서의 PCBs, 건 살구 중의 황산염, 바나나 중의 잔류농약, 빵 중의 브롬화염, 설탕 중의 보존료 등의 추출에 이용되는 등 그 응용범위가 점점 높아지고 있는 실정이다(9-16). ASE 추출법은 고온과 고압을 사용하여 적은 용매로도 빠른 시간에 추출을 가능하게 할 뿐만 아니라 온도를 올려 추출효율을 동역학적으로 더 가속시킬 수 있으며, 압력을 올려 추출용매의 기화를 방지할 수 있어 추출효율을 극대화할 수 있으며 추출의 자동화가 가능하여 추출 소요시간을 단축시킬 수 있다(17, 18).

따라서 본 연구에서는 기존의 액-액 추출로 이루어지던 히드록시프로필기 치환전분 중의 PCH 추출을 ASE를 이용하여 온도, 압력, 추출용매에 따른 회수율의 변화를 살펴봄으로써 최적 추출조건을 확립하여 현재의 검사방법을 개선하고 이런 유형의 물질 추출에 실제 적용해 봄으로써 ASE 이용의 가능성을 조사하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용된 표준품인 propylenechlorohydrin은 Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, USA)로부터 구입하였고, 히드록시프로필인산이전분은 (주)농심에서 제공한 것을 사용하였으며, 천연전분인 옥수수 전분은 시중에 유통 중인 것을 구입하였다. 추출에 사용한 초산에틸, 아세톤, 헥산 및 에테르는 HPLC grade 이상을 사용하였고, 실험에서 사용한 기타 모든 시약은 특급을 정제없이 그대로 사용하였다.

### 식품첨가물공전에 따른 분석법

변성전분시료를 50 g을 취하고 표준농도를 구하기 위해서 천연전분(옥수수전분)에 PCH를 0~5 ppm의 농도가 되게 첨가하여 각각을 압력병에 넣고, PCH의 끓는점이 130°C정도이므로 가압 상태에서 황산으로 추출한 후 에테르로 재추출하고 다시 정제칼럼으로 정제한 후 5 mL가 되게 농축하여, 이것을 10% carbowax 20M packed column이 장착된 가스크로마토

그래피(GC, HP5890 II plus; oven temp, 110°C; flow rate, 25 mL/min; Detector, FID)로 분석하였다.

### ASE에 의한 분석법

PCH의 추출에는 가속화용매추출기(accelerated solvent extractor, Dionex ASE 200, USA)와 10 cm 원통형 추출관을 사용하였다. PCH를 함유한 히드록시프로필인산이전분을 제조하였다. 제조과정은 변성전분 50 g에 2.17 ppm의 PCH가 함유되도록 PCH 표준품을 첨가하고 초산에틸 200 mL를 가하여 2시간 동안 저어준 후 감압건조하여 용매를 제거하고 잔류물은 양량이 되도록 건조기에서 약 60°C로 건조하였다. 이 과정으로 제조된 PCH를 함유한 히드록시프로필인산이전분을 추출압력, 추출온도 및 추출용매의 유전률에 따른 회수율을 측정하는 시료로 사용하여 ASE로 추출하였다. ASE의 압력은 1000~3000 psi 범위로 사용 가능하며, 온도는 50~300°C 범위로 작동 가능하며, 물을 포함하여 거의 대부분의 용매가 추출액으로 사용 가능하다 (9,11,17). 본 실험에서는 static time 50분, purge time 300초, heating time 5분, flush(%) 100 mL로 고정하였다. 추출된 시료액을 5 mL로 농축하여 GC를 이용하여 분석하였다(Table 1).

### 온도에 따른 PCH의 회수율

ASE의 추출관에 PCH가 2.17 ppm 함유된 히드록시프로필인산이전분 5 g을 넣고 압력을 2500 psi로 고정한 후 추출관의 온도를 각각 40, 60, 80, 90, 100, 120 및 150°C로 조정하여 초산에틸로 각각 5회씩 50분간 추출하여 얻어진 추출액 20 mL를 40°C 수욕상에서 3 mL가 될 때까지 감압·농축한 후 초산에틸로써 5 mL로 한 것을 GC로 분석하여 상대적인 평균 회수율을 측정하였다.

### 압력에 따른 PCH의 회수율

ASE의 추출관에 온도를 120°C로 고정하고 추출관의 압력을 각각 1000, 1300, 1500, 1700, 2000, 2300, 2500 psi로 조정하여 초산에틸로 각각 5회씩 20분간 추출하여 추출액 20 mL를 얻었다. 이 추출액을 40°C 수욕상에서 3 mL가 될 때까지 감압·농축한 후 초산에틸 5 mL로 한 후 GC로 분석하여 평균 회수율을 측정하였다.

### 추출용매에 따른 PCH의 회수율

ASE의 추출관에 압력과 온도를 각각 2500 psi, 120°C로 고

**Table 1. GC conditions for detecting propylene chlorohydrin after accelerated solvent extraction**

Parameter	Conditions
Column	HP-FFAP (0.32 mm×50 m×0.17 μm)
Oven temp.	60°C (5 min)→10°C/min→80°C (15 min)→20°C/min→220°C (10 min)
Flow rate	3 mL/min
Injection volume	2 μL
Injection type	splitless
Injector temp.	220°C
Detector temp.	230°C
Detector	FID (flame ionization detector)

정하고 헥산, 아세톤, 디에틸에테르, 메탄올 및 초산에틸로 각각 5회씩 50분간 추출한 후 추출액 20 mL를 얻었다. 이 추출액을 40°C 수욕상에서 약 3 mL가 될 때까지 감압농축한 후 초산에틸로 5 mL로 한 것을 GC로 분석하여 회수율을 측정하였다. 또한 초산에틸을 식품첨가물공전 방법으로 전처리하여 ASE를 이용한 분석법과의 회수율을 비교하였다.

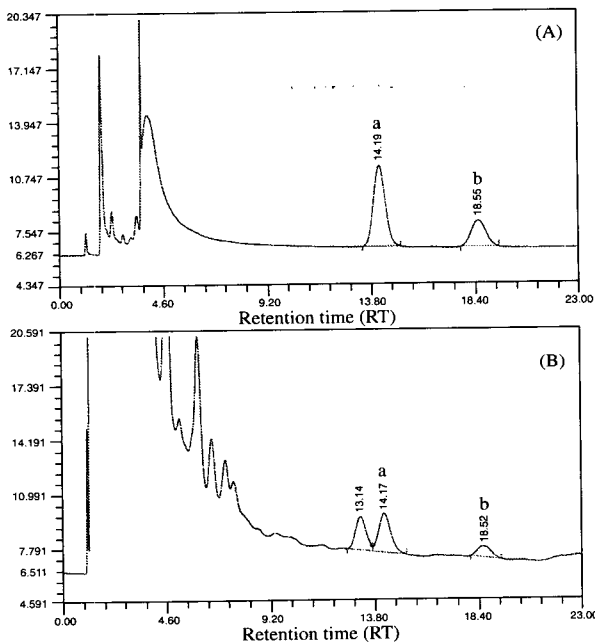
**결과 및 고찰**

**공전방법에 의한 PCH의 회수율**

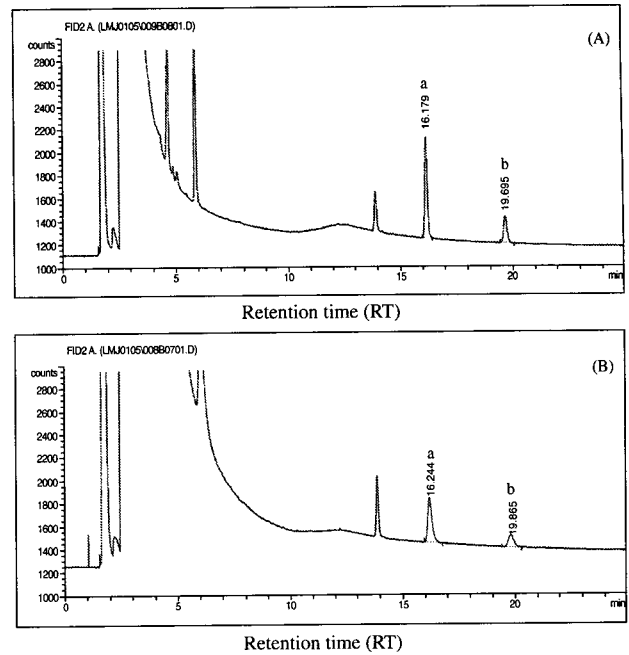
현행 식품첨가물공전 방법으로 실험하였을 때, 강산 상태의 전분을 수욕조에서 가열함으로써 전분입자가 호화되어 여과가 힘들고 다시 에테르 추출 및 정제과정을 거침으로써 다량의 용매가 사용되어, 전처리 과정이 복잡하고 비효율적이었다. 이때의 회수율은 PCH를 변성되지 않은 옥수수전분(50 g)에 1.10 ppm, 3.294 ppm 및 5.490 ppm이 되도록 첨가하였을 때 각각 73.8%, 75.2%, 74.8%로 평균 74.6%였다. 기기분석에서는 carbowax 20M(3 m×3.2 mm) packed 칼럼을 사용하였는데, 크로마토그램의 peak가 broad하고 tailing현상이 나타나 분리능이 떨어졌다(Fig. 1).

**ASE에 의한 PCH의 회수율**

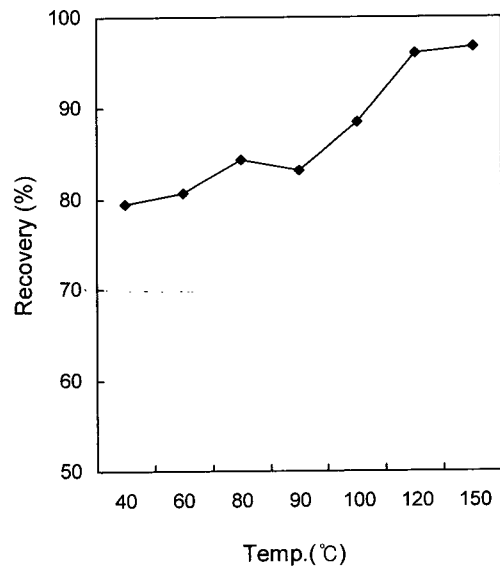
**온도에 따른 PCH의 회수율:** 온도에 따른 PCH의 회수율은 온도가 증가할수록 회수율이 조금씩 높아져 80°C에서는 84.5%에 이르고 150°C에서는 95.4%에 도달하여 온도가 높아질수록 용매의 침투력이 증가되어 회수율이 상승하는 것으로 나타났다(Fig. 2, 3). 본 실험에서는 분리능을 증가시키기 위하여 cross-



**Fig. 1. GC chromatograms of PCH recovery by the analysis of Code of Food additive.** (A) standard (54.9 ppm). (B) sample recovery. a: 1-chloro-2-propanol. b: 2-chloro-1-propanol.



**Fig. 2. GC chromatograms of PCH recovery by ASE.** (A) standard (4.3 ppm). (B) sample recovery. a: 1-chloro-2-propanol. b: 2-chloro-1-propanol.



**Fig. 3. Effect of extraction temperature on PCH recovery from hydroxypropyl distarch phosphate.**

linked-FFAP(0.32 mm×50 m)를 사용하여 다른 방해물질로부터 PCH를 분리하였고, 이때 표준곡선의 상관관계계수는 0.999 이상의 높은 값을 얻었다.

150°C 이상의 온도에서는 PCH의 구조적 변화나 분해가 일어날 가능성이 있기 때문에 회수율 96.1%를 나타내는 120°C를 최적 추출온도로 정하였다.

**압력에 따른 PCH의 회수율:** 압력에 따른 PCH의 회수율은 온도가 증가할수록 높게 나타났다(Fig. 4). 1000 psi에서 1500

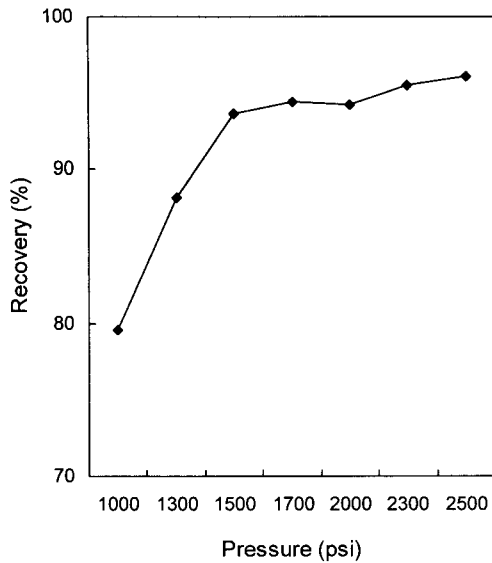


Fig. 4. Effect of extraction pressure on PCH recovery from hydroxypropyl distarch phosphate.

psi까지는 압력의 증가에 따라 회수율이 증가하여 1500 psi에서는 93.6%였고, 2500 psi에서는 96.1%로 나타나 1500 psi 이상의 압력에서는 거의 일정한 회수율을 나타내었다. 압력의 증가에 따라 회수율이 증가하는 것은 압력이 높아질수록 PCH의 증발이 억제되고 추출용매의 침투력이 증가되어 추출효율을 높이기 때문인 것으로 생각된다.

추출용매에 따른 PCH의 회수율

각 추출용매에 따른 PCH의 GC 크로마토그램을 비교하여 볼 때 극성이 높은 메탄올을 사용하면 baseline상에서 피크의 tailing현상이 약간 나타나 PCH의 선택적 추출에는 적당하지 않는 것으로 나타났다.

추출용매에 따른 PCH의 회수율은 Table 2에서 보는 바와 같이 아세톤>디에틸에테르>초산에틸>메탄올>헥산 순으로 나타났다. 헥산의 경우 회수율이 14.1%로 추출용매로는 부적합한 것으로 나타났고 아세톤은 가장 높은 회수율을 나타내었으나 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)가 8.6%으로 가장 높게 나타나 추출의 재현성이 다소 떨어지는 것을 알 수 있다. 또한 디에틸에테르는 회수율과 RSD 각각 98.7%, 5.5%로 우수하나 인화점이 낮고 가압에 따른 폭발 위험이 있어 ASE의 추출용매로는 부적절한 것으로 생각된다. 초산 에틸은

Table 2. Effect of extraction solvent on PCH recovery from hydroxypropyl distarch phosphate

Extraction solvent	Recovery (%)	RSD (%)
Ethyl acetate (Code of Food Additive)	0	
Hexane	14.1	6.5
Ethyl acetate	96.1	5.6
Acetone	104.7	8.6
Methanol	87.3	6.8
Diethyl ether	98.7	5.5

아세톤과 디에틸에테르에 비해 회수율은 다소 떨어지나 94.7%의 비교적 높은 회수율을 보였고 RSD 또한 5.6%으로 추출용매 중 가장 낮아 PCH의 추출에 가장 적합한 용매임을 알 수 있다. 그러나 상온 상압에서 PCH의 진탕추출시에는 회수율이 검출한계 미만으로써 PCH가 거의 검출되지 않아 PCH의 추출에는 ASE에 의한 가온 및 가압이 필수적임을 알 수 있다.

이상의 결과와 같이 PCH는 염소가 치환된 알콜류로서 이들 물질의 ASE에 의한 추출에는 온도, 압력 뿐만 아니라 추출용매의 특성에도 크게 의존함을 알 수 있다. 특히 추출용매의 특성은 용매의 분자구조, 끓는점 및 PCH와의 상호작용 등 여러 요인에 따른 영향이 있겠으나, 대개는 추출용매의 유전상수( $\epsilon$ )에 의존할 것으로 판단되어진다. 최근 Kim 등(19)은 PCBs의 SCW(subcritical water)에서 추출용매인 물이 임계압력 근처에서는 용매의 유전상수가 매우 낮아지는 것을 보고하였다. 이와 같이 추출과정의 여러 요인 중에서 용매의 유전상수가 매우 중요한 변수임을 알 수 있다(20).

이상의 결과에서 ASE를 이용한 히드록시프로필치환전분 중 PCH의 최적 추출법을 모색하기 위하여 온도, 압력 및 추출용매에 따른 추출 효율을 검토한 결과 온도 120°C, 압력 2500 psi에서 초산에틸을 사용하였을 때 가장 최적이었으며, 이때 회수율은 96.1%로 나타났다. 이는 현행 식품첨가물공전법에서의 74.6%보다 우수한 결과를 보였을 뿐만 아니라 간단한 전처리 조작, 짧은 추출시간 및 적은 용매 사용 등을 감안할 때보다 실용적이고 효율적인 분석방법으로 판단된다.

요 약

염소를 함유한 알콜류의 추출 및 분석은 일반적인 알콜류에 비해 비등점이 높아 휘발 또는 증류법을 적용하기 어렵고 특히 히드록시프로필치환전분 중 PCH의 추출은 전분입자와의 에멀전을 형성하므로 어려움이 있다. 따라서 용매를 가온, 가압하여 추출효율을 높이고, 전분의 물성적인 특성으로 인한 여과의 어려움을 해소할 수 있는 가속화추출기(ASE)를 사용하여 PCH 분석을 하였다. 온도 40~150°C의 변화에 따른 회수율을 측정할 결과 온도 상승에 따라 회수율이 증가하는 경향을 나타내어 120°C에서는 96.1%의 회수율을 나타내었다. 압력 변화에 따른 추출효율을 검토한 결과 1500 psi까지는 압력 상승에 따른 회수율의 증가가 뚜렷하여 93.6%였으나 이후에는 완만하게 증가하여 2500 psi에서는 96.1%로 나타났다. 추출용매(초산에틸, 메탄올, 아세톤, 디에틸에테르 및 헥산)에 따른 PCH의 회수율을 측정할 결과 아세톤, 디에틸에테르, 초산에틸은 94% 이상의 회수율을 나타내었고 메탄올 87.3%, 헥산 14.1%로 나타났다. RSD(%)는 초산에틸이 5.6%로 가장 우수하였다. ASE를 이용한 히드록시프로필치환 전분 중 PCH의 최적 추출조건은 온도, 120°C; 압력, 2500 psi; 추출용매, 초산에틸; static time, 50분; purge time, 300초; heating time, 5분; flush(%), 100 mL였으며, 이때 회수율은 96.1%이었다.

## 문헌

1. 中村道徳, 鈴木繁男. 1977. 澱粉科學ハンドブック. 朝倉書店, 東京. p 496-522
2. Banwart GJ. 1998. *Basic food microbiology*. AVI Publishing Company, INC. Westport, Connecticut. p 642-646.
3. 식품의약품안전청. 2000. 식품첨가물공전. p 270-277.
4. (주)대상 전분당사업본부. 2001. 전분일반 및 변성전분.
5. Perera C, Hoover R. 1999. Influence of hydroxypropylation on retrogradation properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Chemistry* 64: 361-375.
6. Reddy I, Seib PA. 2000. Modified waxy wheat starch compared to modified waxy corn starch. *J Cereal Science* 31: 25-39.
7. Daniels DH, Warner CR, Birkel TJ. 1981. Use of close-system vacuum distillation for isolation of moderately volatile compounds. *AOAC* 64: 769-771.
8. Wurzburg OB. 1989. *Modified starches: Producties and uses*. CRC press, Inc, Florida. p 90-91.
9. Richter BE, Ezzell JL, Felix D, Roberts KA. 1995. An accelerated solvent extraction system for rapid preparation of environmental organic compounds in soil. *American Laboratory* 27: 24-31.
10. Bowers A, Ballew R, Chancey J, Gregory T, Hinson M, Hunnicutt S, Richardson E, Thompson E, Watson W. 1997. A comparison of the total extractable content of sized warp-yarns by AATCC method 97-1995 to that obtained using a water ASE, Solvent ASE procedure. Proceedings of the 1997 interational conference & exhibition.
11. Lou XW, Janssen HG, Cramers CA. 1997. Parameters affecting he accelerated solvent extraction of polymeric samples. *Analytical Chemistry* 69: 345-351.
12. Popp P, Keil P, Moder M, Paschke A, Thuss U. 1997. Application of accelerated solvent extraction followed by gas chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, chlorinated pesticides and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in solid waters. *J Chromatography A* 774: 203-211.
13. Bandh C, Bjorklund E, Mathiasson L, Naf C, Zebuhr Y. 1998. Determination of PCBs in Baltic sear sediments using accelerated solvent extraction (ASE). Proceedings of the 18th Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants 17-19.
14. Draisci R, Marchiafava C, Ferretti E, Palleschi L, Catellani G, Anastasio A. 1998. Evaluation of musk contamination of freshwater fish in Italy by accelerated solvent extration and gas chromatography with mass spectrometric detection. *J Chromatography A* 814: 187-197.
15. Schafer K. 1998. Accelerated solvent extraction of lipids for determining the fatty acid composition of biological material. *Analytica Chimica Acta* 358: 69-77.
16. Wang GD, Lee AS, Lewis M, Kamath B, Archer RK. 1999. Accelerated solvent extraction and gas chromatography mass spectrometry for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food samples. *J Agric Food Chem* 47: 1062-1066.
17. Richter BE, Jones BA, Ezzel JL, Porter NL, Avdalovic N. 1996. Accelerated solvent extraction - a technique for sample preparation. *Analytical Chemistry* 68: 1033-1039.
18. Lehotay SJ, Lee CH. 1998. Evaluation of a fibrous cellulose drying agent in supercritical fluid extraction and pressurized liquid extraction of diverse pesticides. *J Chromatography A* 785: 313-327.
19. Kim YB, Lee SI, Cho SY, Jeong CH, Jeong GH. 1998. The analysis of polychlorinated biphenyls with subcritical water extraction. *J Korea Soc Environ Anal* 1: 197-201.
20. Robert C. Weast. 1986. *Handbook of chemistry and physic*. CRC press, Inc, Florida. p 49-57.

(2002년 5월 25일 접수; 2002년 8월 5일 채택)