

다소비 식품 중, ethyl carbamate의 분포측정 및 위해성 평가

홍권표 · 노이우 · 강윤석 · 정동채 · 박새롬 · 윤지호 · 배동호*

건국대학교 생명공학과

Monitoring and Risk Assessment of Ethyl Carbamate in Korean Major Foods

Kwon Pyo Hong, I Woo Roh, Yoon Seok Kang, Dong Chae Jung, Sae Rom Park, Ji Ho Yoon and Dong Ho Bae*

Division of Bioscience and Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Received September 20, 2006; Accepted December 29, 2006

Levels of ethyl carbamate, a potential carcinogen produced naturally during fermentation, in major Korean fermented foods and some selected alcoholic beverages were determined by GC/MS/SIM, and their average daily intake and excess cancer risk of Korean people were estimated. In GC/MS/SIM analysis average 1.41, 19.44, 3.00 and 170.88 µg/kg of ethyl carbamates were detected in *Baechu kimchi*, Japanese soy sauces, *Soju* and fruit brandy, respectively. The average and maximum daily exposures to ethyl carbamate through major Korean fermented foods and alcoholic beverage consumption were 9.42 and 35.75 ng/kg bw/day for Korean female aged 20-64 years, and 12.73 and 48.87 ng/kg bw/day for Korean male respectively, which were mainly contributed by *Baechu kimchi*, Japanese soy sauces, *Soju* and fruit brandy. The average and maximum excess cancer risks were 4.7×10^{-7} and 1.8×10^{-6} for Korean female, and 6.4×10^{-7} and 2.4×10^{-6} for Korean male. Therefore, the industries related to fermented foods and alcoholic beverages need to make an effort to reduce the amount of ethyl carbamate in their products.

Key words: ethyl carbamate, monitoring, excess cancer risk

서 론

Ethyl carbamate(urethane, NH₂COOCH₂CH₃, CAS No. 51-79-6)는 carbamic acid의 ethyl ester로 IARC(International Agency for Research on Cancer)에서는 인간에게 암을 일으킬 가능성이 있는 물질인 Group 2B의 발암물질로 분류하고 있다.¹⁾ Ethyl carbamate가 대사되는 것에는 두 가지 다른 경로가 있고 그것의 90% 이상을 차지하는 것은 microsomal esterase와 amidase에 의해 ethyl carbamate가 에탄올, 암모니아, 이산화탄소로 되는 것이다. 또 다른 경로는 시토크롬 P450 2E1을 통하여 ethyl carbamate가 2-hydroxyethyl carbamate가 되고 이것은 N-hydroxyethyl carbamate와 vinyl carbamate로 변환되는 것이다. 이들은 에폭시화를 거쳐 핵산과 결합해 발암성을 나타내는 것으로 평가되는 vinyl carbamate epoxide로 차례로 변환된다.²⁾ 그러므로 ethyl carbamate는 체내에 흡수되어 vinyl carbamate로 산화되자마자 epoxide를 거쳐 DNA 및 RNA 고분자와 adduct

를 형성하여 시토크롬 산화계가 있는 간이나 폐, 신장에서는 직접 DNA에 작용하여 돌연변이를 일으키는 암 유발제로 작용하기도 하며, 다른 조직에서는 종양발생의 촉진제로도 작용한다. Ethyl carbamate의 발암성 및 DNA adduct 형성에 관한 메커니즘을 연구한 논문에서 Sakano 등³⁾은 ethyl carbamate의 대사물질로서 N-hydroxyurethane은 Cu(II)-mediate DNA 손상을 가져오며 특히 티아민과 시토신 잔기에서 많이 나타났다고 하였다.

이러한 ethyl carbamate는 식품성분의 알코올 발효 중에 자연 발생하는 것으로 알려져 있다. Ough⁴⁾와 Park과 Lee⁵⁾는 포도주에서 urea, cyanate, 시트룰린, carbamyl phosphate가 에탄올과 반응하여 ethyl carbamate를 생성한다고 하였다. 그 중 arginase에 의한 아르기닌의 분해산물인 urea는 주요한 전구체라고 보고하였다. Tonon와 Lonvaud-Funel⁶⁾의 연구에서도 와인에서 발견되는 *Lactobacillus hilgardii*가 와인에서 풍부하게 함유되어 있는 아르기닌을 arginine deaminase(ADI) 경로를 통해 분해하는데, 그 첫 번째 단계에서 시트룰린이 형성되어 자발적으로 ethanol과 반응해서 ethyl carbamate가 형성된다고 보고되었다. 또한, 아르기닌이 lactic acid bacteria에 의해 ADI 경로에 따라 분해되면 암모니아, 오르니틴, ATP, carbamyl phosphate, 시트룰린을 형성하게 되는데 carbamyl기를 가지는 carbamyl

*Corresponding author
Phone: 82-2-450-3756; Fax: 82-2-456-7011
E-mail: donghoya@konkuk.ac.kr

phosphate도 carbamate의 전구체가 될 수 있다고 보고되었다.⁷⁾ 그러므로 이 물질은 식품의 원료에 들어있는 성분 특히 요소 등 질소 화합물이 발효과정을 거치면서 미생물 대사에 의해서 변화하여 생긴다는 것이 일반적인 보고이며, 주로 발효식품인 빵, 요구르트, 치즈, 간장과 포도주를 비롯한 각종 술, 그리고 담배와 담배연기에도 상당히 많은 양이 있는 것으로 밝혀져 있다.^{8,12)} 이에 따라 California Proposition 65에서는 ethyl carbamate의 'NSRL(no significant risk level)'을 0.7 µg/day로 규정하여 일일섭취량이 그 이하가 되도록 권고하고 있다.¹³⁾

한편, 우리나라에서는 발효식품 및 주류의 소비량이 많아 ethyl carbamate에 의한 영향이 클 것으로 예측되어 발효식품산업체의 ethyl carbamate 저감화 노력 혹은 발효식품 내에서의 ethyl carbamate 함량 규제 등의 대책이 필요할 것으로 생각되나 현재 국민이 ethyl carbamate에 노출되어 있는 정도도 체계적으로 파악되어 있지 않은 실정이다.¹⁴⁾ 따라서 본 연구에서는 국민식단의 91% 이상을 차지하는 100대 국민 다소비 식품 중, 주류를 포함한 발효식품 내의 ethyl carbamate 함량을 분석하여 ethyl carbamate에 대한 일일 인체 노출량을 계산하고 위해도를 평가하여 ethyl carbamate에 대한 정책수립에 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시료수집. 국민식단의 91% 이상을 차지하는 100대 국민 다소비 식품 중,¹⁴⁾ ethyl carbamate가 발생하여 있을 것으로 의심되는 식품(김치 5종, 장류 5종, 발효유제품 3종, 주류 3종)과 그 외 100대 국민 다소비 식품에는 포함되지 않으나 ethyl carbamate의 함량이 높은 것으로 보고되고 있는 주류 4종을 선정하여 각 품목에 있어서 시장 점유율 상위 90% 이상을 차지

하는 상품을 3개씩 수집하였다. 김치류와 된장의 경우 지방에 따라 첨가하는 양념의 종류 및 그 배합비율이 다르기 때문에 서울, 인천, 대전, 대구, 부산, 광주 6개 광역시의 재래시장에서 시장제품도 수집하였다. 배추김치의 경우, 시장점유율이 높은 8개의 상품과 각 지역의 시장에서 구입한 6개의 상품을 각각 3개씩 수집하여 총 42개의 시료를 분석하였다. 수집된 상품 수는 Table 1에 표시하였다.

시료의 전처리와 표준용액. GC/MS 분석을 위한 시료의 전처리는 Mastudo 등,¹⁵⁾ Hasegawa 등,¹⁶⁾ Canas 등,⁹⁾ Koh와 Kwon,¹⁷⁾ Kim 등¹¹⁾의 방법에 따라 회수율을 고려하여 수행하였다.

주류는 동일한 알코올 함량을 유지하기 위하여 증류수로 알코올 함량을 5%로 보정하였다. 각 시료 50 g을 250 ml에 30 g의 NaCl을 첨가하여 포화용액이 되도록 충분히 용해시킨 후 dichloromethane 75 ml를 첨가하여 1분간 다시 혼합하였다. 이 용액을 2,000 × g에서 원심분리하여 층을 분리하였다. Dichloromethane층을 피펫으로 취한 후 무수황산나트륨 40 g을 첨가하여 filter paper(whatman No.1)를 사용하여 500 ml evaporator flask 안으로 여과하였다. 이러한 추출과정을 3회 반복하였다. Dichloromethane 추출액에 ethyl acetate 3 ml를 첨가하고 총량이 1 ml가 되도록 감압 하에 28°C에서 농축하였다. 이 과정에서 dichloromethane은 완전히 제거되고 추출액은 ethyl carbamate의 손실을 줄이기 위하여 완전히 건조되지 않게 농축시켰다. 이 용액을 2 ml vial병에 옮기고 플라스크에 남아 있는 농축액은 1 ml의 ethyl acetate로 행구어 잘 혼합하여, 2 µl를 gas chromatography에 주입하여 분석하였다.

김치나 장류의 고체 시료 분석을 위해 우선 시료 20 g을 증류수로 균질화한 후, 동량의 ethyl acetate를 첨가하여 1분간 교반하였다. 원심분리(2,000 × g)로 층을 분리한 후, ethyl acetate 층을 취하여 무수황산나트륨 40 g을 첨가한 filter paper

Table 1. Collected samples and their daily intakes by adults (g/day)

Food items	Number of collected brands	Daily consumption (min.-max. (mean))	
		Female	Male
<i>Baechu kimchi</i>	14	80.0-109.1 (102.7)	106.0-128.1 (120.0)
<i>Kkakdugi</i>	2	9.3-11.2 (10.3)	14.6-20.0 (17.3)
<i>Chonggak kimchi</i>	11	5.0-12.4 (9.8)	5.6-10.0 (8.1)
<i>Nabak kimchi</i>	1	6.4-12.4 (9.1)	3.9-11.0 (7.6)
<i>Dongchimi</i>	7	2.5-4.9 (3.8)	1.5-6.4 (3.8)
Japanese soy sauce	7	5.8-15.4 (10.1)	7.3-16.1 (11.6)
Traditional soy sauce	4	4.1-5.0 (4.6)	5.3-6.4 (5.9)
<i>Doenjang</i>	12	3.0-4.8 (4.0)	4.8-7.4 (6.5)
<i>Ssamjang</i>	4	1.3-1.8 (1.5)	1.6-2.9 (2.2)
<i>Gochujang</i>	7	1.2-1.8 (1.6)	1.4-2.4 (1.8)
Plain yoghurt	19	5.4-5.8 (5.6)	3.4-6.7 (5.1)
Liquid yoghurt	11	1.4-4.2 (2.6)	1.2-2.0 (1.6)
Processed cheese	9	0.1-0.5 (0.4)	0.2-0.5 (0.4)
Beer	6	5.4-33.8 (22.7)	17.7-80.6 (54.0)
<i>Soju</i>	7	7.7-9.8 (8.5)	37.6-57.9 (50.1)
<i>Takju</i>	7	0.0-8.0 (3.1)	6.6-20.6 (12.2)
Fruit brandy	7	0.0-0.1 (0.1)	0.3-0.9 (0.7)
Whisky	5	0.3-1.1 (0.5)	0.1-1.1 (0.5)
<i>Cheongju</i>	5	0.1-0.6 (0.4)	0.4-0.7 (0.6)
Wine	3	0.1-0.4 (0.3)	0.0-0.9 (0.4)

(whatman No. 1)를 사용하여 500 ml/ evaporator flask 안으로 여과하였다. 이러한 추출과정을 3회 반복하였다. Ethyl acetate 추출액을 10 ml가 되도록 감압 하에 28°C에서 rotary evaporator로 농축한 후, celite 15 g을 첨가하였다. Ethyl carbamate 부분은 불활성 알루미나, 무수황산나트륨으로 충전된 glass column(3 × 40 cm)를 methylene chloride 150 ml로 용리시켰다. 그리고 농축된 celite 시료를 1 ml가 되도록 감압 하에서 농축시켰다. 이 용액을 2 ml vial 병에 옮기고 플라스크에 남아 있는 농축액은 ethyl acetate 1 ml로 헹구어 잘 혼합하여, 2 µl를 gas chromatography에 주입하여 분석하였다. 간장과 발효 유제품의 분석은 ethyl acetate 추출만을 생략하고 고체 시료의 분석과 동일하게 시료를 전처리하였다. 치즈는 Sep-Pak florisil cartridge(Water Associate, Milford, MA, USA)로 지방을 제거한 후, 고체 시료와 동일한 방법으로 전처리하였다.

본 연구에 사용한 표준물질 ethyl carbamate(Sigma, USA)는 ethyl acetate를 용매로 하여 표준원액을 조제하였다. 먼저 ethyl carbamate 100 mg을 ethyl acetate에 용해시켜 1,000 ppm의 표준원액을 조제한 후 이 용액을 단계별로 희석하여 각 농도별로 조제한 것을 scan mode상에서 ethyl carbamate 성분 확인 후, 정량분석에 사용하였다.

GC/MS/SIM 분석. Ethyl carbamate 분석은 Ma 등¹⁸⁾과 Lachenmeier 등¹⁹⁾의 방법에 따라 Agilent 6890 Gas Chromatography/5973N Mass Spectrometer(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 이용하여 각 시료 당 3회 반복 수행하였다. GC 분석조건은 다음과 같다. 분석 칼럼은 DB-INNOWAX capillary column(30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 µm film thickness)을 사용하였고 운반 가스는 헬륨 0.7 ml/min의 유속으로 흘러주었다. 칼럼 온도는 80°C에서 1분간 유지한 다음 5°C/min으로 승온하여 120°C에서 15분간 유지시킨 후, 다시 20°C/min로 250°C까지 올렸다. 그리고 injector는 25°C였다. MS분석조건으로 이온화방식은 200°C, 이온화 에너지는 70 eV로 전하이온화(electron impact)법을 사용하였다. SIM모드로 m/z 는 62, 74, 89를 선택하였고, m/z 62, 74, 89에 포함된 peaks는 ethyl carbamate로 간주하였다. 정량평가는 m/z 62에서 이루어졌다.

일일 노출량과 위해성 평가. 일일 노출량 및 위해성 평가는 주류 및 발효식품의 섭취가 많아 ethyl carbamate에 대한 노출 빈도가 높을 것으로 예측되는 20세 이상 64세 이하의 남녀를 대상으로 수행하였다. 수집된 식품을 통한 ethyl carbamate 일일 평균섭취량(노출량)을 각 시료의 ethyl carbamate함량과 국민건강영양조사서¹⁴⁾의 각 시료의 일일섭취량으로부터 다음 방정식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Human exposure (ng/kg/ bw/day)} = \sum_{i=1}^n (C_i \times CR_i / BW)$$

C_i 는 i 식품의 ethyl carbamate함량(µg/kg), CR_i 는 i 식품의 일일섭취량(g/day)이며, BW는 한국표준과학연구원(2001년 7차 개정)으로부터 얻은 20세 이상 64세 이하 남녀의 평균체중(남: 66 kg, 여: 54 kg)이다. n 은 분석된 식품시료의 수이다.

Ethyl carbamate는 여러 자료^{1,7,20,21)}에서 이미 동물에 대한 발암 위험성이 확인되어 있으므로 위해성 평가는 초과발암위해도

(excess cancer risk)를 측정하는 것으로 진행하였다. 현재까지 ethyl carbamate의 인체노출허용치(RfD)는 아직 밝혀져 있지 않다. 그러나 0.0001%의 발암가능성을 의미하는 VSD(virtually safe dose)가 Schlatter와 Luts²²⁾에 의해서 추정되었다. 그들의 rat, mice, rabbit을 이용하여 ethyl carbamate의 위해성을 밝힌 보고에서 virtually safe dose(VSD)를 20-80 ng/kg bw/day로 나타내었다. 이에 따라 본 연구에서는 ethyl carbamate에 가장 민감한 동물의 VSD인 20 ng/kg bw/day과 발암독성이므로 평생발암위해도 기준을 10^{-6} 으로 하여 아래의 식에서와 같이 발암력(cancer potency, $Q1^*$)을 산출하였으며 그 $Q1^*$ 값을 이용하여 다음의 식으로 국민의 초과발암위해도를 산출하였다.

$$10^{-6} = Q1^* \times VSD \quad (\therefore) Q1^* = 5 \times 10^{-2} \text{ pg/kg bw/day}$$

$$\text{Excess cancer risk} = Q1^* \times \text{Human exposure}$$

결과 및 고찰

분석 식품의 ethyl carbamate 함량. GC/MS로 ethyl carbamate를 분석하기 위하여 얻어진 검정곡선은 표준용액의 농도범위에서 R^2 값이 0.999 이상을 나타내었다. Propyl carbamate를 internal standard로 하여 각 시료의 회수율을 분석한 결과, 김치류 72%, 장류 82%, 발효유제품 75%, 치즈 83%, 간장 84%, 주류 92%의 회수율을 보였다. 고체시료, 특히 김치에서 다소 낮은 회수율을 보였으며 이러한 결과는 타 연구^{4,9,16,17,23)}에서의 ethyl carbamate 분석결과와 유사한 것으로 나타났다. 시중에 판매되는 포장 김치류와 재래시장에서 판매되는 김치류를 배추김치, 깍두기, 총각김치, 동치미, 나박김치 5종류로 구분하여 그 중에 함유되어 있는 ethyl carbamate 함량을 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 동치미의 경우, ethyl carbamate가 검출

Table 2. Amounts of ethyl carbamate present in collected samples

Food items	Ethyl carbamate content (µg/kg) (min.-max. (mean ± SD))	
Baechu kimchi	0.12-4.26	(1.41 ± 1.51)
Kkakdugi	0.00-0.34	(0.17 ± 0.24)
Chonggak kimchi	0.00-2.17	(0.72 ± 0.79)
Nabak kimchi	trace	trace
Dongchimi	0.00-0.06	(0.01 ± 0.02)
Japanese soy sauce	3.60-58.90	(19.44 ± 20.30)
Traditional soy sauce	1.40-49.20	(16.69 ± 21.91)
Doenjang	0.00-3.76	(1.06 ± 1.22)
Ssamjang	0.00-1.00	(0.46 ± 0.48)
Gochujang	0.00-1.10	(0.56 ± 0.48)
Plain yoghurt	0.00-0.33	(0.10 ± 0.12)
Liquid yoghurt	0.00-0.14	(0.02 ± 0.04)
Processed cheese	0.00-0.18	(0.08 ± 0.06)
Beer	0.51-0.77	(0.50 ± 0.11)
Soju	0.83-10.10	(3.00 ± 3.27)
Takju	0.40-0.93	(0.60 ± 0.17)
Fruit brandy	3.48-689.87	(170.88 ± 245.84)
Whisky	13.85-30.00	(20.08 ± 7.64)
Cheongju	8.42-30.30	(20.19 ± 9.44)
Wine	1.67-11.70	(5.23 ± 5.61)

된 시료보다 검출되지 않은 시료의 수가 더 많았으며 나박김치의 경우, ethyl carbamate를 거의 함유하지 않은 것으로 나타났다. 배추김치에서는 평균 ethyl carbamate 함량이 1.41 µg/kg 로서 가장 높은 함량을 나타내었고, 김치 중에서 일일섭취량(Table 1)이 가장 많기 때문에 한국인에 대한 ethyl carbamate 노출량에 있어서 비교적 높은 기여도를 보일 것으로 예상되었다. 이러한 ethyl carbamate의 함량은 Kim 등¹¹⁾의 결과보다는 다소 낮은 함량이며 Ko와 Kwon¹⁷⁾의 결과와는 유사한 결과이다. 그러나 포장김치와 재래시장김치 간의 차이는 뚜렷이 나타나지 않았다. Ko와 Kwon¹⁷⁾의 짓갈첨가에 따른 김치의 ethyl carbamate 분포 분석에서, 짓갈 비침가군의 경우 모두 1 µg/kg 이하의 ethyl carbamate 함량을 나타낸 반면 1-5 µg/kg까지의 ethyl carbamate 분포를 나타내는 김치는 모두 짓갈을 첨가한 것으로 나타난 것으로 보고하였다. 이 결과를 본 연구와 비교해 볼 때, 짓갈이 비교적 많이 들어간 배추김치에서 다른 종류의 김치시료보다 높은 ethyl carbamate 함량을 나타낸 것과 비슷한 결과라고 할 수 있다. 이는 발효식품 내에 ethyl carbamate가 형성되기 위해서는 arginine과 같은 아미노산이 필요하기 때문에 짓갈에서 이러한 아미노산이 충분히 공급되기 때문인 것으로 해석된다. 또한 숙성된 김치일수록 ethyl carbamate의 농도가 높은 경향을 보였다. 따라서 김치의 경우 ethyl carbamate의 생성에 있어 첨가되는 짓갈의 양과 숙성 조건 및 기간이 중요한 원인이라고 생각된다.

왜간장과 재래간장에서 매우 높은 ethyl carbamate가 검출되어 간장류에 대한 ethyl carbamate 저감화 연구가 필요함을 시사하였다. 특히 간장의 경우, 김치와는 달리 소아의 섭취량도 높기 때문에 그 필요성은 매우 시급한 것으로 생각된다. Matsudo 등²³⁾은 간장의 열처리 시간에 비례하여 ethyl carbamate의 생성량이 증가한다고 보고하였다. Chung과 Kwon²⁴⁾은 간장의 숙성기간에 따라 ethyl carbamate의 농도가 증가하는 양상을 나타내며 원료메주의 질소량에 큰 영향을 받는다고 하였는데, 이 주장은 Foulke²⁵⁾의 포도주의 ethyl carbamate 함량을 낮추기 위해서 포도밭에 질소비료의 사용을 억제하여야 한다는 보고가 뒷받침하고 있다. 그 외, 염의 농도, pH, 빛의 조사 등과 같은 간장제조 조건은 ethyl carbamate와의 상관관계를 찾아볼 수 없었다고 하였다.¹⁶⁾ 된장, 쌈장, 고추장은 매우 낮은 ethyl carbamate 함량을 보였다. 농후발효유(호상/드링크)와 액상 발효유 및 치즈에 있어도 매우 낮은 ethyl carbamate 함량을 나타내어 Carias 등⁹⁾의 결과와 일치함을 보였다.

주류에 있어서 ethyl carbamate의 함량은 간장을 제외한 일반 발효식품보다 다소 높은 경향을 보였다. 높은 알코올 함량이 ethyl carbamate 생성에 좋은 조건을 제공하였던 것으로 추측된다. 소주의 경우에는 ethyl carbamate의 함량이 타 주종에 비하여 높은 편은 아니었으나 제품에 따라 그리고 같은 제품 내에서도 다소 편차가 큰 편이었다. 현재 각 소주생산업체에서는 동일한 주정생산기업체로부터 주정을 공급받아 각자의 소주를 생산하고 있다. 이와 같이 동일한 주정으로 가공된 소주들의 ethyl carbamate 함량이 다른 것은 소주가공 및 저장방법에 따라 ethyl carbamate 생성이 영향 받는 것을 의미하므로 제조자의 노력에 의해 소주의 ethyl carbamate 함량이 감소될 수 있을 것

으로 생각된다. 맥주와 탁주에서는 주목할 정도의 ethyl carbamate가 발생하지 않은 것으로 나타났다. 본 연구에서 분석된 맥주의 ethyl carbamate 함량은 Canas 등⁹⁾이 보고한 0.1-3.5 µg/kg와 Dennis 등²⁶⁾이 보고한 0.1-1.1 µg/kg보다 다소 낮은 값을 보였으나 그 범위에 포함되었다. 과일주, 특히 매실주에서는 상당히 높은 함량의 ethyl carbamate(3.48-689.87 µg/kg)가 검출되었다. 그러나 이와 같은 과일주의 높은 ethyl carbamate 함량은 일반적인 경향으로 Foulke²⁵⁾는 과일주에서 1,200 µg/kg의 ethyl carbamate 검출을 보고한 바도 있다. Boulton²⁷⁾은 체리와 아프리카트 등과 같은 과일의 씨앗이 과일주의 제조 시에 혼입되지 않도록 권하고, 과일이 분쇄될 경우에는 씨앗에서 자연적인 화학반응으로 인해 더욱 많은 ethyl carbamate가 생성된다고 보고하였다. 위스키에서는 Canas 등⁹⁾과 Dennis 등²⁶⁾이 보고한 50, 44 µg/kg보다 다소 낮은 함량인 13.85-30.00 µg/kg의 ethyl carbamate가 검출되었다. 청주에서는 알코올 함량이 비슷한 와인에서 보다 다소 높은 함량의 8.42-30.30 µg/kg가 검출되었으나 일본식 청주인 sake (300 µg/kg)보다는 훨씬 낮은 함량이었다.²⁵⁾ 와인의 경우에는 1.67-11.70 µg/kg의 ethyl carbamate 함량을 보였으며 이 중, 국산 와인의 함량이 가장 낮은 것으로 나타났다. 와인 내의 ethyl carbamate 함량은 1987년 13 ppb, 1991년 10 ppb로 제조업자의 노력으로 점차 낮아지고 있는 추세에 있다.²⁵⁾

Ethyl carbamate에 대한 1일 인체 노출량. 국민건강·영양 조사를 활용하여 각 발효식품 및 주류의 성인 1일 평균섭취량을 Table 1에 나타내었다. Table 1의 식품평균섭취량과 최대섭취량을 Table 2의 평균 ethyl carbamate 함량과 최대 함량에 각각 곱하여 각 식품에 의해 1일 노출되는 ethyl carbamate 평균량과 최대량을 Table 3에 나타내었다. 그리고 각 식품에 의해 노출되는 ethyl carbamate의 양을 모두 합한 총 노출량과 이를 체중에 따라 나눈 체중당 노출량도 함께 표시하였다. 그 결과, 성인 여성의 경우, 1일 평균 508.7 ng/day, 최대 1,930.5 ng/day 이하의 ethyl carbamate를 섭취하는 것으로 나타났고, 성인 남성의 경우에는 1일 평균 840.0 ng/day, 최대 3,225.3 ng/day 이하의 ethyl carbamate를 섭취하는 것으로 나타났다. 이 수치를 California proposition 65에서 제시한 NSRL(no significant risk levels)¹³⁾인 0.7 µg/day = 700 ng/day와 비교해 보았을 때, 많은 양의 ethyl carbamate를 함유한 제품을 많이 섭취하는 여성에게는 ethyl carbamate가 건강상의 문제를 야기할 가능성이 있으나 평균량의 ethyl carbamate를 함유한 식품을 평균적으로 섭취한 여성의 경우에는 일생동안 영향을 미치지 않을 것으로 분석되었다. 그러나 남성의 경우에는 최대의 경우뿐만이 아니라 평균 ethyl carbamate 함량을 지닌 식품을 평균적인 양으로 섭취한 경우(840.0 ng/day)일지라도 안전하지 않은 것으로 나타났다. 그러나 Schlatter와 Lutz²²⁾에 의해서 추정된 가장 민감한 동물의 VSD(virtually safe dose) = 20 ng/kg bw/day와 비교하였을 때에는 남녀 공히, 많은 양의 ethyl carbamate를 함유한 제품을 많이 섭취한 경우(여: 35.75 ng/kg bw/day, 남: 48.87 ng/kg bw/day)에는 ethyl carbamate가 건강상의 문제를 야기할 가능성이 있으나 평균량의 ethyl carbamate를 함유한 식품을 평균적으로 섭취한 경우(여: 9.42 ng/kg bw/day, 남: 12.73 ng/kg bw/day)에

Table 3. Human exposure to ethyl carbamate by consumption of collected samples (ng/day)

Food items	Exposure (min.-max. (mean))	
	Female	Male
<i>Baechu kimchi</i>	9.6-464.8 (144.8)	12.7-545.7 (169.2)
<i>Kkakdugi</i>	0.0-3.8 (1.8)	0.0-6.8 (2.9)
<i>Chonggak kimchi</i>	0.0-26.9 (7.1)	0.0-21.7 (5.8)
<i>Nabak kimchi</i>	trace	trace
<i>Dongchimi</i>	0.0-0.3 (0.0)	0.0-0.4 (0.0)
Japanese soy sauce	20.9-907.1 (196.3)	26.3-948.3 (225.5)
Traditional soy sauce	5.7-246.0 (76.8)	7.4-314.9 (98.5)
<i>Doenjang</i>	0.0-18.0 (4.2)	0.0-27.8 (6.9)
<i>Ssamjang</i>	0.0-1.8 (0.7)	0.0-2.9 (1.0)
<i>Gochujang</i>	0.0-2.0 (0.9)	0.0-2.6 (1.0)
Plain yoghurt	0.0-1.9 (0.6)	0.0-2.2 (0.5)
Liquid yoghurt	0.0-0.6 (0.1)	0.0-0.3 (0.0)
Processed cheese	0.0-0.1 (0.0)	0.0-0.1 (0.0)
Beer	2.8-26.0 (11.4)	9.0-62.1 (27.0)
<i>Soju</i>	6.4-99.0 (25.5)	31.2-584.8 (150.3)
<i>Takju</i>	0.0-7.4 (1.9)	2.64-19.2 (7.3)
Fruit brandy	0.0-69.0 (17.1)	1.0-620.9 (119.6)
Whisky	4.2-33.0 (10.0)	1.4-33.0 (10.0)
<i>Cheongju</i>	0.8-18.2 (8.1)	3.4-21.2 (12.1)
Wine	0.2-4.7 (1.6)	0.0-10.5 (2.1)
Total exposure	50.5-1,930.5 (508.7)	95.1-3,225.3 (840.0)
Exposure per body weight (ng/kg bw/day)	0.94-35.75 (9.42)	1.44-48.87 (12.73)

는 일생동안 영향을 미치지 않을 것으로 분석되었다. 즉, 각 식품에 있어서 평균량의 ethyl carbamate를 함유한 제품들은 국민 건강에 해를 입히지 않으나 평균함량보다 월등히 많은 ethyl carbamate를 함유한 몇몇 제품들이 국민건강에 해를 입힐 가능성이 있다는 것이다. 왜간장은 평균 ethyl carbamate 함량을 채택하였을 경우, 남녀 전체 ethyl carbamate 섭취량의 각각 38.6과 26.8%를 차지하여 ethyl carbamate 노출에 가장 많은 영향을 미치는 식품이다. 그러나 최대 ethyl carbamate 함량을 채택하였을 경우에는 남녀 전체 ethyl carbamate 섭취량의 각각 47.0과 29.4%를 차지하게 된다. 이는 평균 왜간장의 ethyl carbamate 함량은 19.44 µg/kg이나 몇몇 제품의 경우에는 ethyl carbamate 함량이 특히 높아 58.90 µg/kg에 달하였기 때문이다. 그러므로 이와 같이 ethyl carbamate 함량이 높은 제품이 자체적인 관리 혹은 규제로 인해 평균값 정도의 ethyl carbamate 함량을 유지할 수 있다면 전체 국민의 ethyl carbamate에 대한 노출량은 안전한 수준을 유지할 수 있게 된다.

평균 노출량으로서 성인남녀의 전체 노출량에 두 번째로 큰 영향을 미치는 식품은 배추김치이다(남: 20.1%, 여: 28.5%). 배추김치의 ethyl carbamate 함유량은 평균 1.41, 최대 4.26 µg/kg로 비교적 높은 양은 아니나 식품섭취량(남: 120 g/day, 여: 102.7 g/day)이 많기 때문에 전체 노출량에 대한 기여도가 높은 것으로 보인다. 그리고 현재 가정에서 직접 가공하여 소비하는 경우가 많기 때문에 규제에 의해 배추김치에 의한 ethyl carbamate 노출량의 저감화는 어려울 것으로 생각된다. 평균 노출량(150.3 ng/day)으로 보았을 때 성인 남자에게 세 번째로 큰

영향을 미치는 식품은 소주인 것으로 나타났다. 그러나 최대 노출량(584.8 ng/day)으로 표시하면 배추김치보다도 노출량이 더 높은 것으로 나타난다. 소주 또한 간장에서와 같이 ethyl carbamate의 함량이 높은 소수의 제품에 의해 최대 함량이 높아졌기 때문인 것으로 분석된다. 비록 소주의 ethyl carbamate 함유량이 비슷한 알코올 함량을 가진 타 주류에 비하여 높진 않으나 국민의 섭취량이 많은 식품이므로 왜간장의 경우와 같이 ethyl carbamate의 함량이 평균치보다 월등히 높은 소수의 제품의 경우에는 자체적인 관리 혹은 규제로 ethyl carbamate 함량을 유지할 필요가 있는 것으로 보인다. 더구나 앞서 언급한 바와 같이 소주의 ethyl carbamate 함유량은 가공조건 및 저장방법의 개선에 의해 저감화가 가능할 것이므로 업계의 노력이 절실하다. 과일주의 경우에는 성인 남성의 최대 섭취량이 0.9 g/day로 매우 낮은 편이나 최대 노출량으로 보았을 때에는 왜간장에 이어 두 번째로 전체 노출량에 큰 영향을 미치는 식품이다. 이는 타 식품에 비해 월등히 높은 ethyl carbamate 함량(689.87 µg/kg)때문인 것으로 생각된다. 더구나 과일주의 소비량이 높은 고위험군에 있어서는 심각한 상황이므로 대책마련이 시급하다. 이를 위하여서는 업계의 자체적인 저감화 노력이 우선 되어야 할 것이다.

식품에 의한 ethyl carbamate의 위해성 평가. 본 연구에서 수행된 노출량 평가, Schlatter와 Luts²²⁾의 동물실험 외삽자료에 의한 ethyl carbamate의 발암력을 통한 위해성 평가는 ethyl carbamate의 고위험 연령대인 20세에서 64세까지의 한국인 성인 남녀를 대상으로 하여 초과발암위해도를 분석함으로써 위해성을 평가하였다. 그 결과, 성인 남녀의 평균초과발암위해도는 각각 6.4×10^{-7} (백만 중 6.4건 발생)과 4.7×10^{-7} , 최대초과발암위해도는 2.4×10^{-6} 과 1.8×10^{-6} 로 나타났다. 평균초과발암위해도는 ethyl carbamate의 위해성이 심각하지 않은 것으로 평가되나 최대초과발암위해도의 경우에는 남녀 공히 일생위해수준(Lifetime Risk)인 10^{-6} 을 초과하여 ethyl carbamate의 위해성이 높은 것으로 평가된다. 더욱이 본 위해성 평가는 100대 다소비 식품과 일부 선택된 식품만을 대상으로 하여 분석한 결과이므로 그 외 커피 및 담배 등의 영향까지 고려한다면 ethyl carbamate의 위해성은 더욱 높아질 것으로 추측된다. 또한, Table 1의 1일 주류섭취량은 음주자와 비음주자의 평균값들을 표시한 것이기 때문에 음주자의 경우에는 ethyl carbamate의 고위험군에 속한다고 할 수 있다. 그러나 전술한 바와 같이 위해성이 있다고 판단되는 것은 최대초과발암위해도이므로 ethyl carbamate의 함량이 높은 제품을 식품업체에서 자발적으로 관리함으로써 이러한 상황을 극복할 수 있다.

이미 김치 및 간장에서의 ethyl carbamate 저감화 연구^{17,24)}는 이루어져 있으며, 미국 FDA의 Foulke²⁵⁾도 미국과 유럽 양조업계의 ethyl carbamate 저감화 노력을 소개하고 그 성과가 나타나고 있음을 보고하였다. 이와 같은 저감화 연구를 토대로 업계에서 스스로 제품 내의 ethyl carbamate 함량을 줄이려는 노력이 최우선적으로 중요하며 필요에 따라서는 국가기관의 관여도 필요하다. 1985년 캐나다보건기구는 알코올음료에 ethyl carbamate가 존재한다고 발표한 후 알코올음료에 첨가하는 요소의 사용을 금지하고 ethyl carbamate 농도를 제한하는 가이드

라인을 제시하였다. 그 내용을 보면 알코올 함량이 14% 이하인 table wine은 ethyl carbamate 농도를 30 ppb, 알코올 함량이 14% 이상인 dessert wine(port, sherry)은 100 ppb, 주정은 150 ppb, 과일주와 liqueur는 400 ppb, sake는 200 ppb 이하로 규제하였으며¹⁰⁾ 미국 California¹³⁾에서는 1일 ethyl carbamate 섭취량을 0.7 µg/day 이하로 할 것을 권유하고 있다. 그러므로 우리 정부에서도 업계에 ethyl carbamate 저감화를 권고하고 필요에 따라서는 규제를 제정하여 국가차원의 지속적인 모니터링으로 관리할 필요가 있다.

초 록

국내 다소비 식품과 선택된 주류 내의 발효 중에 자연발생하는 발암가능물질인 ethyl carbamate의 함량과 일일섭취량, 초과발암위해도를 GC/MS/SIM으로 분석하였다. 배추김치, 왜간장, 소주, 과일주에 각각 평균 1.41, 19.44, 3.00, 170.88 µg/kg이 함유되어 있는 것으로 분석되었다. 20-64세 여성의 경우, 국내 다소비 식품과 주류에 의해 ethyl carbamate 노출량은 평균 9.42 ng/kg, 최대 35.75 ng/kg으로 나타났고, 남성의 경우, 평균 12.73 ng/kg, 최대 48.87 ng/kg으로 나타났으며 이는 주로 배추김치, 왜간장, 소주, 과일주에 의한 것으로 밝혀졌다. 한국 여성의 초과발암위해도는 평균 4.7×10^{-7} 최대 1.8×10^{-6} , 남성은 평균 6.4×10^{-7} 최대 2.4×10^{-6} 로 위해성이 있는 것으로 평가되어 식품업계의 ethyl carbamate 저감화 노력이 필요한 것으로 판단된다.

Key words: 에틸카르바메이트, 모니터링, 초과발암위해도

감사의 글

이 논문은 2005학년도 건국대학교의 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- IARC. (1974) IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. *International Agency for Research on Cancer* 7, 111.
- Hubner, P., Groux, P. M., Weibel, B., Sengstag, C., Horlbeck, J. and Leong-Morgenthaler, P. M. (1997) Genotoxicity of ethyl carbamate (urethane) in salmonella, yeast and human lymphoblastoid cells. *Mutat. Res.* **390**, 11-19
- Sakano, K., Oikawa, S., Hiraku, Y. and Kawanishi, S. (2002) Metabolism of carcinogenic urethane to nitric oxide is involved in oxidative DNA damage. *Free Rad. Biol. Med.* **33**, 703-714.
- Ough, C. S. (1976) Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. II. Possible formation of ethyl carbamate from diethyl dicarbonate addition to wine. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 328-331.
- Park, G. B. and Lee, S. G. (2002) Quantitative analysis of ethyl carbamate in Korean alcoholic beverages by chromatography with mass selective detection. *Anal. Sci. Technol.* **15**, 26-30.
- Tonon, T. and Lonvaud-Funel, A. (2002) Arginine metabolism by wine Lactobacilli isolated from wine. *Food Microbiol.* **19**, 451-461.
- Arena, M. E., Saguir, M. C. and Nadra, M. (1999) Arginine, citrulline and ornithine metabolism by lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **52**, 155-161.
- Battaglia, R., Conacher, H. B. S. and Page, B. D. (1990) Ethyl carbamate (Urethane) in alcoholic beverages and foods. *Food Addit. Contamin.* **4**, 477-496.
- Canas, B. J., Harvey, D. C., Robinson, L. R., Sullivan, M. P., Joe, F. L. and Diachenko, G. W. (1989) Ethyl carbamate levels in selected foods and beverages. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* **72**, 873-876.
- Conacher, H. B. S., Page, B. D., Lau, B. P. Y., Lawrence, J. F., Bailey, R., Calway, P., Hanchay, J. P. and Mori, B. (1987) Capillary column gas chromatographic determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages with confirmation by gas chromatography/mass spectrometry. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* **70**, 749-751.
- Kim, Y. K. L., Koh, E., Chung, H. J. and Kwon, H. (2000) Determination of ethyl carbamate in some fermented Korean foods and beverages. *Food Addit. Contamin.* **17**, 469-475.
- Ough, C. S. (1976) Ethyl carbamate in fermented beverages and food. Naturally occurring ethyl carbamate. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 323-328.
- California Environmental Protection Agency. (2004) Proposition 65 Status Report Safe Harbor Levels: No significant risk levels for carcinogens and maximum allowable dose levels for chemicals causing reproductive toxicity. California Environmental Protection Agency, C.A., USA.
- KHID. (2002) Korean health and nutrition survey and the report. Ministry of Health and Welfare, Gwacheon, Republic of Korea.
- Matsudo, T., Aoki, K., Fokuta, N., Sasaki, M. and Uchida, K. (1993) Determination of ethyl carbamate in soy sauce and its possible precursor. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 352-356.
- Hasegawa, Y., Nakamura, T., Tonogai, Y., Terasawa, S., Ito, Y. and Chiyama, M. (1990) Determination of ethyl carbamate in various fermented foods by selected ion monitoring. *J. Food Prot.* **53**, 1058-1061.
- Koh E. M. and Kwon, H. J. (1996) Determination of fermentation specific carcinogen, ethyl carbamate, in kimchi. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **28**, 421-429.
- Ma, Y. P., Deng, F. Q., Chen, D. Z. and Sun, S. W. (1995) Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages by capillary multi-dimensional gas chromatography with thermionic specific detection. *J. Chromatogr. A* **695**, 259-265.
- Lachenmeier, D. W., Frank, W. and Kuballa, T. (2004) Application of tandem mass spectrometry combined with gas chromatography to the routine analysis of ethyl carbamate in stone-fruit spirits. *Rapid Commun. Mass Sp.* **19**, 108-112.
- U.S. Department of Health and Human Services. (1993) Hazardous Substances Databank (HSDB, online database). National Toxicology Information Program, Washington, DC, USA.
- U.S. Environmental Protection Agency. (1999) Integrated Risk Information System (IRIS) on Ethyl Carbamate. National

- Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC, USA.
22. Schlatter, J. and Lutz, W. K. (1990) The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. *Food Chem. Toxicol.* **28**, 205-211.
 23. Matsudo, T., Aoki, K., Fokuta, N., Sasaki, M. and Uchida, K. (1993) Determination of ethyl carbamate in soy sauce and its possible precursor. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 352-356.
 24. Chung H. J. and Kwon, H. J. (1997) Dependence of ethyl carbamate formation on the fermentation variables in Korean traditional soy sauce. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **13**, 92-98.
 25. Foulke, J. E. (1993) Urethane in alcoholic beverages under investigation. U. S. FDA/CFSAN Consumer Report. Washington, USA.
 26. Dennis, M. J., Howarth, N., Key, P. E., Pointer, M. and Massey, R. C. (1989) Investigation of ethyl carbamate levels in some fermented foods and alcoholic beverages. *Food Addit. Contamin.* **6**, 383-390.
 27. Boulton, R. B. (1992) The formation of ethyl carbamate from isocyanate and ethanol at elevated temperatures. In *Elaboration et Connaissance des Spiritueux*, BNIC, Cognac, France.