

## 3-Monochloropropane-1,2-diol(3-MCPD) 저감화를 위한 아미노산 간장의 제조조건

정용일 · 이지수 · 이현규\*  
한양대학교 식품영양학과

### Preparation Conditions of Hydrolyzed Vegetable Protein Soy Sauce for the Reduction of 3-Monochloropropane-1,2-Diol (3-MCPD)

Yong Il Chung, Ji-Soo Lee, and Hyeon Gyu Lee\*  
Department of Food and Nutrition, Hanyang University

**Abstract** The principal objective of this study was to assess the effects of various manufacturing conditions of soy sauce containing hydrolyzed vegetable protein (HVP) (HVP-soy sauce) on 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) contents. Various HVP soy sauces were prepared under different conditions of alkaline treatment and retention process. Derivatives of heptafluorobutylimidazole (HFBI) 3-MCPD were determined via GC/MS below 0.010 µg/g, which was sensitive with a good recovery rate. The quantity of 3-MCPD decreased with the pH and temperature of alkaline treatment, and the time and temperature of the retention process increased. Alkaline treatment at pH 10.0-10.5 and a 72 hr retention process were shown to reduce effectively the 3-MCPD contents of HVP-soy sauces. This result indicates that the manufacturing process, particularly alkaline treatment, and retention process would be critical steps in managing 3-MCPD contents in HVP-soy sauce.

**Key words:** 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD), soy sauce, HVP-soy sauce, acid hydrolysis, alkaline treatment

## 서 론

간장은 한국을 비롯한 여러 아시아 국가들의 식생활에 필수적인 전통 조미식품으로, 일반적으로 제조방법에 따라 양조간장과 아미노산 간장(산분해 간장)으로 구별되고 있다. 양조간장은 맛과 향 등의 관능적 특성은 우수하지만, 발효에 소요되는 긴 시간과 설비로 인해 많은 제조비용을 필요로 한다. 반면, 아미노산 간장은 양조간장에 비해 관능적 특성은 우수하지 못하지만 제조 기간을 7-10일 정도로 단축시킬 수 있으므로, 대량생산이 가능하고 경제적인 측면에서 훨씬 유리한 제품이라 할 수 있다(1).

아미노산 간장은 단백질 또는 탄수화물이 함유되어 있는 탈지대두 등을 염산으로 산분해한 후, 알칼리 처리로 중화하여 얻은 여액을 가공 처리하여 제조된다. 아미노산 간장의 제조과정 중, 산분해공정은 제조기간의 단축을 위해 필수적인 동시에 관능적 특성을 좌우하는 주요한 공정의 하나이다. 이 과정에서 클로로프로판올류(chloropropanols)의 일종인 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD, C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>Cl)이 탈지대두의 산분해 부산물로서 생성된다는 것이 보고되어왔다(2,4). 즉, 염산에 의해 식물성기수분해단백질(hydrolyzed vegetable protein, HVP) 생성 시 잔존하는 지방이 지방산과 글리세린으로 분해되고, 글리세린은 염산과 반응하여

대두 내에 함유된 triglyceride의 구조내의 지방산에 염산의 염소가 치환되어 생성되는 물질이 3-MCPD이다(2).

3-MCPD는 일종의 환경호르몬인 내분비계 장애의심물질(5)로써 정자수 감소, 정자수의 기능 감퇴 등의 불임을 유발하는 인체에 매우 유해한 물질로 분류되어 있다(6-9). 3-MCPD에 대한 독성연구 보고서는 이미 수십 년 전부터 다양한 분야에서 발표되어왔는데, 생식독성에 관한 자료가 가장 많았으며, 유전독성과 신경 및 신장독성에 이르기까지 다양한 독성효과에 대하여 보고되어왔다(5-9).

따라서 국내외적으로 3-MCPD에 대한 규제를 강화하여 가능한 기술수준에서 제품내의 함량을 최대한 줄이도록 권고하고 있다(10,11). 2002년 3-MCPD에 대한 우리나라의 잠정허용기준치는 0.3 mg/kg 이하로 설정되었으며(10), 이 수치는 유럽의 허용기준치인 0.02 mg/kg 이하보다 약 15배 높은 수준이다(11). 2007년 식약청에서는 우리나라의 간장섭취를 통한 3-MCPD의 1일 평균 인체노출량은 0.0009-0.0026 µg/kg b.w/day로 현재 간장섭취에 의한 3-MCPD의 위해는 우려되지 않는 상황이라고 발표하였다(12). 하지만 양조간장이 주종을 이루는 다른 아시아 국가들과는 달리, 국내에서는 양조간장보다는 아미노산 간장을 포함하고 있는 혼합간장이 상대적으로 높은 시장 점유율을 차지하고 있으므로(13) 우리나라 대부분의 소비자는 아미노산 간장의 제조과정 중 생성되는 3-MCPD에 어느 정도 노출되어 있는 것이 현실이다. 따라서 3-MCPD에 대한 인체 노출위험에 근본적으로 대처하기 위해서는 아미노산 간장의 생산과정 자체에서 3-MCPD의 함량을 저감화할 수 있는 방법에 대한 연구가 시급하다.

Hamlet과 Sadd(14), 그리고 Brown 등(15)에 의해 3-MCPD가 pH와 온도에 매우 민감하여 이들 조건의 변화에 의해 저감화될

\*Corresponding author: Hyeon Gyu Lee, Department of Food and Nutrition, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea  
Tel: 82-2-2220-1202  
Fax: 82-2-2292-1226  
E-mail: hyeonlee@hanyang.ac.kr  
Received June 4, 2008; revised September 4, 2008;  
accepted September 5, 2008

수 있다고 보고된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 일반적인 아미노산 간장의 제조공정상에서 3-MCPD의 함량에 영향을 줄 것으로 예측되는 산분해 이후 공정들의 조건을 변화시킴으로써, 보다 실질적인 3-MCPD의 저감화 방안을 강구하고자 하였다. 즉, 아미노산 간장의 제조과정 중, 알칼리 처리시의 pH와 온도, 그리고 알칼리처리 이후 유지되는 온도와 시간을 다양하게 함으로써, 3-MCPD 함량 변화에 대한 각 제조조건들에 의한 영향을 파악하여 제조공정 개선에 의한 3-MCPD의 저감화 가능성을 검토하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 연구에 사용한 탈지대두(조지방 함량 0.4%, 총질소 7.5%, 수분 9.4%)는 대한장류협동조합(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 3-MCPD는 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한 *d*<sub>5</sub>-3-MCPD와 heptafluorobutylimidazole(HFBI)은 CDN isotopes(Point Claire, Quebec, Canada)와 Thermo Scientific(Waltham, MA, USA)에서 각각 구입하였다.

### 아미노산 간장의 제조

아미노산 간장을 제조하기 위하여 탈지대두 3.1 kg에 17.5% HCl 3.6 L를 가하여 72시간 동안 가수분해한 후, 50% NaOH를 사용하여 임의로 결정된 조건에서 알칼리 처리를 하였다. 이 반응액을 일정 온도와 기간 동안 유지시킨 후 35% HCl을 이용하여 pH 5.0로 조정하였으며, 이를 여과하여 실험의 시료로 사용하였다. 알칼리 처리 pH와 유지시간이 3-MCPD의 함량에 미치는 영향을 연구하기 위하여, 알칼리 처리 pH는 8.7-10.7범위에서 0.2 단위로 조정하였으며 각 pH 조건에서 0, 24, 48, 72, 96, 120시간 동안 유지시켰다. 또한 알칼리 처리시의 pH와 온도 그리고 유지온도에 따른 3-MCPD 함량의 변화를 파악하기 위하여, 알칼리 처리 시 온도를 60과 90°C로 각각 유지하면서 pH를 9.5, 10.0, 10.5가 되도록 조정하였고, 유지온도는 25와 40°C로 조정하여 각각 72시간 동안 유지시켰다.

### 3-MCPD spiking 용액 제조

3-MCPD spiking 용액은 3-MCPD의 농도가 2 µg/mL와 20 µg/mL이 되도록 각각 제조하며, 중수소치환 3-MCPD(*d*<sub>5</sub>-3-MCPD)를 내부표준물질(internal standard, ISTD)로 사용하였다. 3-MCPD 분석의 회수율 및 재현성을 확인하기 위하여, 제조된 3-MCPD spiking 용액 100 µL를 3-MCPD가 존재하지 않는 양조간장 8 g에 첨가하여 3-MCPD 분석의 시료로 사용하였다.

### 3-MCPD 정량 방법

시료의 전처리 및 분석 조건은 Hamlet(16,17)의 방법을 수정 보완하여 실시하였다. 즉, 8 g의 시료에 내부표준물질인 *d*<sub>5</sub>-3-MCPD(10 µg/mL) 100 µL와 5 M NaCl 용액 12 g을 첨가하여 15분간 초음파발생장치를 사용하여 균질화하였다. 시료 정제용 흡착제인 Extrelut NT 20을 첨가하여 잘 혼합한 후 컬럼에 충전하였다. 추출용액에 존재할 수 있는 수분을 제거하기 위하여 무수 황산 나트륨 20 g을 컬럼 상층에 충전하였다. 또한 hexane:ethyl ether(9:1) 혼합용액 75 mL를 컬럼에 통과시켜 비극성화합물을 제거하였다. 준비된 컬럼에 ethyl ether를 8-10 mL/min의 이동속도로 흘려주어 3-MCPD를 추출하였다. 추출액중의 수분을 제거하기 위하여 30 g의 무수 황산 나트륨을 넣고 5분간 방치한 후 여과

Table 1. GC/MS conditions for determination of 3-MCPD

Gas chromatography	
GC	Varian CP-8400
Column	DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 µm, Agilent)
Carrier gas	He (99.99%)
Inlet temperature	250°C
Pressure	10 psi (constant pressure)
Injection method	Split ratio 30:1 Injection Vol.: 2 µL
Oven program	50°C (1 min) 2°C/min to 90°C (0 min) 40°C/min to 270°C (10 min)
Mass spectrometry	
Mass	Varian Saturn 2200 Ion-trap type
Ionization method	Electron Ionization (EI)
Temperature	Ion-trap (200°C) Manifold (80°C) Xferline (220°C)
Electron multiplier voltage	1,850 volts

(Whatman No. 4)하였다. 35°C에서 감압 농축된 추출액을 ethyl ether로 10 mL로 정용한 후, 2 mL를 취하여 질소가스로 완전히 농축하였다. 여기에 iso-octane(2,2,4-trimethylpentane) 1 mL와 HFBI 50 µL를 첨가한 후 70°C에서 20분간 반응시켜 3-MCPD-HFBI 유도체를 형성하였다. 과량 첨가된 HFBI를 제거하기 위하여 반응액을 5분간 상온에서 냉각한 후 증류수 1 mL를 혼합하여 증류수층과 iso-octane 층이 분리되도록 하였다. Iso-octane 층을 GC 분석용 용기로 옮기고 무수 황산나트륨 약 0.1 g을 첨가하여 수분을 제거한 후 GC/MS로 분석하였다. GC/MS 분석조건은 Table 1과 같다.

### 불확도 추정 방법

시험분석결과에 대한 정확도를 표현하기 위하여 국제표준화기구 ISO(International Organization for Standardization)에서 제시한 측정불확도 표현지침(Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement: GUM)에 분석결과를 통계처리하였다. 시험방법에 따라 발생할 수 있는 불확도 요인은 Fig. 1에 도식화하였다. 시험측정에 의하여 발생할 수 있는 불확도는 식 (1)을 적용하여 A type으로 산출하였다. 무게 측정과 피펫 및 용량플라스크와 같은 부피의 안정성 등의 반복시험에 대한 불확도는 공통(pooled) 실험표준편차 방법에 따라 식 (2)와 (3)을 적용하여 A type 불확도를 구하였다. 시험기구 및 장비에 의하여 발생할 수 있는 불확도는 B type으로 산출하였다. 최종결과의 합성표준불확도는 ISO guide에 따라 측정된 각각의 표준불확도를 합성하여 식 (4)를 이용하여 구하였으며, 확장불확도는 포함인자 k와 계산된 합성표준 불확도를 곱하여 식 (5)를 이용하였다. 포함인자 k는 식 (6)과 식 (7)을 이용하여 감응계수와 유효자유도를 구한 후 95% 신뢰수준에서 포함인자 k값을 2로 기준하여 확장불확도를 계산하였다. 이러한 불확도 계산 방법에 따라 시험방법상의 발생할 수 있는 시료측정에 대한 불확도는 식 (8), 3-MCPD 표준품에 대한 불확도는 식 (9)와 (10), internal standard에 대한 불확도는 식 (11), 검량선에 대한 불확도를 식 (12)를 이용하여 구하였다. 최종 합성표

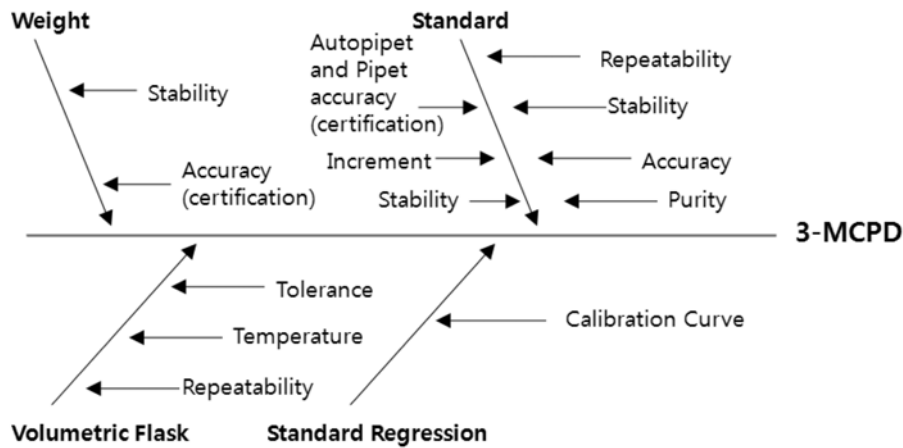


Fig. 1. Uncertainty sources in 3-MCPD analysis.

준불확도는 식 (13)을 이용하여 구하였다.

$$u(x_i) = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

$$u(x_i) = \frac{s_p}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

$$s_p = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^M v_i s_i^2}}{\sqrt{\sum_{i=1}^M v_i}} \quad (3)$$

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i) \quad (4)$$

$$U(y) = k u_c(y) \quad (5)$$

$$C_i \approx \frac{\partial f}{\partial x_i} \approx \frac{(\Delta y)}{\Delta x_i} \quad (6)$$

$$v_{eff} = \frac{u_c^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{[c_i u(x_i)]^2}{v_i}} \quad (7)$$

$$U_{sample} = \text{conc.} \sqrt{\left( \frac{U_{weight8g}}{\text{weight8g}} \right)^2 + \left( \frac{U_{weight20g}}{\text{weight20g}} \right)^2 + \left( \frac{U_{vol.}}{\text{vol.}} \right)^2 + \left( \frac{U_{m.p}}{\text{m.p}} \right)^2} \quad (8)$$

$$U_{stdstockA} = \text{conc.} \mu\text{g/L} \sqrt{\left( \frac{U_{pipet}}{\text{pipet}} \right)^2 + \left( \frac{U_{stock}}{\text{stock}} \right)^2 + \left( \frac{U_{vol.}}{\text{vol.}} \right)^2} \quad (9)$$

$$U_{stdstockB} = \text{conc.} \mu\text{g/L} \sqrt{\left( \frac{U_{pipet}}{\text{pipet}} \right)^2 + \left( \frac{U_{stock}}{\text{stock}} \right)^2 + \left( \frac{U_{vol.}}{\text{vol.}} \right)^2} \quad (10)$$

$$U_{istd} = \text{conc.} \mu\text{g/L} \sqrt{\left( \frac{U_{pipet}}{\text{pipet}} \right)^2 + \left( \frac{U_{stock}}{\text{stock}} \right)^2 + \left( \frac{U_{vol.}}{\text{vol.}} \right)^2} \quad (11)$$

$$U_{stdcurve} = u(x_{obs}, y) = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{a^2(n-2)} \left( 1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_{obs} - \bar{y})^2}{a^2(\sum x_i)^2 - (\sum x_i)^2/n} \right)} \quad (12)$$

$$U_{expanded} = 2 \times \sqrt{\left( \frac{U_{std}}{\text{std}} \right)^2 + \left( \frac{U_{sample}}{\text{sample}} \right)^2 + \left( \frac{U_{stdcurve}}{\text{stdcurve}} \right)^2} \quad (13)$$

$n$ : Number of measurements

$S_p$ : Pooled standard deviation

$U$ : Expanded uncertainty

$k$ : Coverage factor

$V_{eff}$ : Effective degree of freedom

$V_i$ : Degree of freedom

$C_i$ : Sensitive coefficient

$U_{m.p}$ : Uncertainty of micropipet

$U_{vol.}$ : Uncertainty of volumetric flask

## 결과 및 고찰

### 3-MCPD 분석의 재현성 평가

HFBI는 3-MCPD를 안정적으로 유도체화 시키며, -OH와 -NH기를 가진 모든 추출물들을 휘발시킬 수 있으므로 GC 칼럼과 GC 주입구로부터 발생할 수 있는 오염을 최소화시킬 수 있다고 보고되었다(17). 또한 유도체화하기 위하여 과량 첨가된 HFBI는 증류수에 의해 쉽게 제거될 수 있는 특징을 가지고 있다. 3-MCPD-HFBI의 mass spectra는 알킬화합물이나 phenyl boronic acid보다 많은 fragment ion을 가지고 있다(17). 관측된 EI mass spectra chromatogram(Fig. 2)에 따르면 3-MCPD-HFBI의 fragment ion은 m/z 253과 m/z 453이며, 내부표준물질  $d_5$ -3-MCPD의 fragment ion은 m/z 257와 m/z 456이다.

양조간장에 spiking된 3-MCPD 표준용액의 최종 농도는 0.020 g/mL과 0.200 g/mL이었으며, 이를 이용하여 회수율을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 100회 반복 실험한 결과, 확장불확도가 각각  $\pm 0.001$  g/mL와  $\pm 0.008$  g/mL로 측정되었다. 또한 각각의 농도에서 표준편차가  $\pm 0.002$ ,  $\pm 0.005$ 이며, 회수율 또한 95% 이상으로 시험방법에 대한 신뢰도가 우수한 것으로 확인되었으며, 검출 한

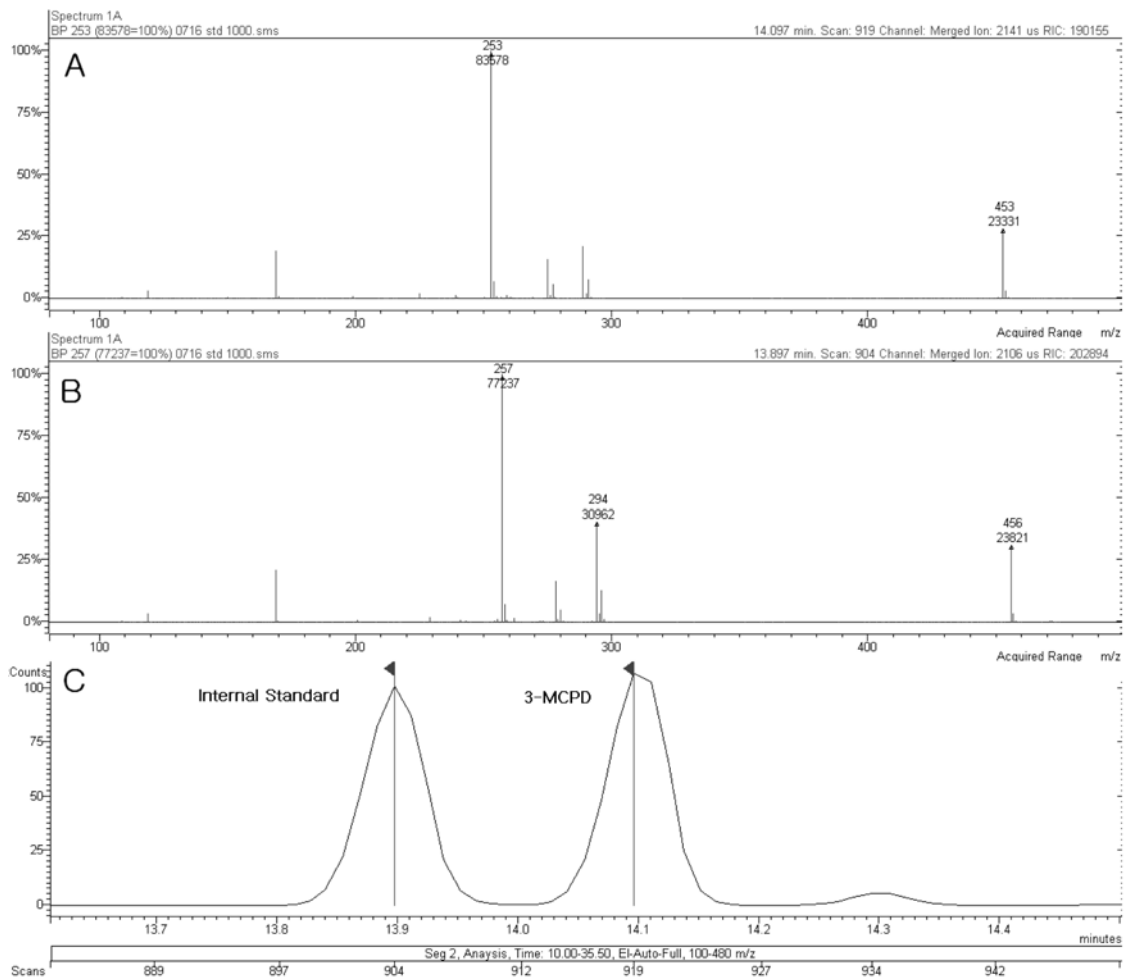


Fig. 2. EI mass spectra of 3-MCPD derivative (A) and  $d_5$ -3-MCPD (internal standard) derivative (B) with HFBI, and chromatogram (C) of 3-MCPD and  $d_5$ -3-MCPD derivative with HFBI.

Table 2. Uncertainty of measurement for the determination of 3-MCPD with one hundred repeatability

Spiking concentration	Standard deviation	Variance	CSU <sup>1)</sup>	EU <sup>2)</sup>	Confidence level
0.020 µg/mL	$7.81 \times 10^{-4}$	$6.11 \times 10^{-7}$	0.0005	±0.001	95.0% (K=2)
0.200 µg/mL	$2.01 \times 10^{-3}$	$4.05 \times 10^{-6}$	0.0041	±0.008	95.0% (K=2)

<sup>1)</sup>Combined standard uncertainty

<sup>2)</sup>Expanded uncertainty

계는 0.010 µg/g 이하로 확인되었다. 따라서 본 연구에서 사용된 분석방법의 민감도는 우리나라의 현 기준보다 엄격한 EU의 허용기준인 0.020 µg/g 이하를 분석하는데 문제가 없는 것으로 판단된다. 본 연구에 사용되었던 extrelut NT 추출방법에 의한 3-MCPD 분석방법은 현재 EU에서 보편적으로 사용하는 방법(17)이며 최근 식품의약품안전청의 고시(제2008-51호)의 식품 중 3-MCDP 시험법과 유사한 방법으로 재현성 및 정밀성이 우수한 것으로 확인되었다.

#### 알칼리처리 pH 및 유지시간에 따른 3-MCPD함량 변화

3-MCPD의 함량에 영향을 미치는 인자들로 산분해 공정 이후의 알칼리처리와 유지시간의 조건들로 추정되었다. 그중 먼저 아미노산 간장의 일반적인 제조과정 중 알칼리처리 pH와 유지시간에 따른 3-MCPD의 함량 변화를 측정하기 위하여, 산분해된 아미노산 간장의 pH를 8.7-10.7 범위에서 0.2 단위로 조정된 후 유

지시간을 0에서 120시간까지 다양하게 하여 시료를 제조한 후, 3-MCPD의 함량을 측정하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. 전 반적으로 pH가 증가함에 따라 3-MCPD의 함량은 감소하는 뚜렷한 경향을 나타내었으며, 특히 pH 10.0 이상에서는 3-MCPD가 거의 검출되지 않았다. 또한 아미노산 간장의 pH를 알칼리화한 후 유지시간이 증가함에 따라 3-MCPD의 함량이 유의적으로 감소되는 경향이 관측되었으며 이러한 경향은 관측된 모든 pH에서 동일하게 나타났다. 이러한 결과들은 다음과 같은 현상으로 설명될 수 있다. 아미노산 간장의 제조 과정 중, 산분해시 염소기와 글리세린이 반응하여 3-MCPD가 생성되는데(2), 용액의 pH가 증가하고 유지시간이 길어짐에 따라 NaOH의 -OH기가 3-MCPD의 chloride와 치환되어 다시 glycerine으로 환원되어 가는 것으로 추정된다. 이러한 결과는 80°C 이상에서 3-MCPD가 불안정하다고 보고했던 Hamlet와 Sadd(14)의 결과와도 일치하는 것이다. 이상의 결과에 따르면, 3-MCPD의 함량이 낮은 아미노산 간장을 생

**Table 3. Concentration of 3-MCPD in HVP soy sauces prepared under different pH of alkaline treatment and retention time**(Unit:  $\mu\text{g/g}$ )

pH of alkaline treatment	Retention time (hr)					
	0	24	48	72	96	120
8.7	2.640 <sup>a1)</sup>	0.828 <sup>b</sup>	0.677 <sup>c</sup>	0.491 <sup>d</sup>	0.485 <sup>d</sup>	0.455 <sup>e</sup>
8.9	1.654 <sup>a</sup>	0.980 <sup>b</sup>	0.885 <sup>c</sup>	0.751 <sup>d</sup>	0.684 <sup>e</sup>	0.652 <sup>f</sup>
9.1	1.141 <sup>a</sup>	0.714 <sup>b</sup>	0.628 <sup>c</sup>	0.495 <sup>d</sup>	0.324 <sup>e</sup>	0.182 <sup>f</sup>
9.3	0.887 <sup>a</sup>	0.413 <sup>b</sup>	0.124 <sup>c</sup>	0.051 <sup>d</sup>	0.030 <sup>e</sup>	0.019 <sup>f</sup>
9.5	0.738 <sup>a</sup>	0.320 <sup>b</sup>	0.087 <sup>c</sup>	0.044 <sup>d</sup>	0.027 <sup>e</sup>	0.021 <sup>f</sup>
9.7	0.204 <sup>a</sup>	0.134 <sup>b</sup>	0.053 <sup>c</sup>	0.031 <sup>d</sup>	0.018 <sup>e</sup>	0.010 <sup>2)</sup>
9.9	0.028	0.014	ND <sup>3)</sup>	0.002	ND	ND
10.1	0.002	0.003 <sup>4)</sup>	ND	0.001	ND	ND
10.3	0.002	0.001	ND	0.001	ND	ND
10.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10.7	ND	ND	0.002	ND	ND	ND

<sup>1)a-f</sup>Means within a row with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).<sup>2)</sup>LOQ (Limit of Quantification):  $< 0.010 \mu\text{g/g}$ <sup>3)</sup>Not detected<sup>4)</sup>LOD (Limit of Detection):  $< 0.003 \mu\text{g/g}$ **Table 4. Concentration of 3-MCPD in HVP soy sauces prepared under different pH and temperature of alkaline treatment and retention temperature**(Unit:  $\mu\text{g/g}$ )

pH of alkaline treatment	Temperature of alkaline treatment ( $^{\circ}\text{C}$ )	Retention temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	
		25	40
9.5	60	0.952	0.096
	90	0.096	0.039
10.0	60	0.020	0.007
	90	0.012	0.001
10.5	60	0.002	0.003
	90	0.004	0.000

산하기 위해서는 pH를 높이고 유지시간을 증가하는 것이 바람직하다고 판단된다. 그러나 pH 조정 시 첨가되는 NaOH의 양이 증가하면 이를 다시 식용 가능한 pH 5.0으로 조절하기 위해 첨가되는 HCl의 양 또한 증가하게 되어 제조원가의 상승을 초래하게 된다. 더욱이, 3-MCPD의 함량을 낮추기 위해 pH를 높게 조정할 경우 제품의 풍미에서 산분해취가 강하게 발생하여 거부감을 유발시키는 문제점을 가지고 있다. 따라서 3-MCPD를 저감화하는 동시에 관능적 특성상으로도 우수한 아미노산 간장을 제조하기 위해서는 3-MCPD의 분석과 함께 반드시 관능검사를 병행 실시하여야 할 것으로 판단된다.

#### 알칼리 처리시의 pH 및 온도, 유지 온도에 따른 3-MCPD의 함량 변화

알칼리 처리시의 조건(pH와 온도)과 유지온도가 3-MCPD 함량에 미치는 영향을 관측한 결과는 Table 4와 같다. pH 9.5와 90 $^{\circ}\text{C}$  조건에서 알칼리 처리한 후 40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 유지되었을 경우, 3-MCPD의 함량은 0.039  $\mu\text{g/g}$ 이었으나 알칼리처리 온도 및 유지 온도가 각각 60과 25 $^{\circ}\text{C}$ 로 낮아짐에 따라 3-MCPD의 함량은 0.952  $\mu\text{g/g}$ 으로 약 24배로 급격히 증가되었다. 그러나 pH를 10.0 이상으로 조정하였을 때 관측된 알칼리처리 온도 및 유지 온도에 관계없이 0.020  $\mu\text{g/g}$  이하로 현격한 감소를 나타내었다. 이상과 같은 결과에 따르면, 알칼리처리 및 유지시의 온도증가에 의한 3-MCPD

감소 경향보다는 pH 증가에 의한 3-MCPD 감소경향이 더욱 뚜렷한 것으로 판단된다. 특히 pH 10.0 이상에서 알칼리 처리하였을 때 3-MCPD의 잔류함량이 현저하게 감소되는 경향이 확인되었다. 이와 같은 조건에서 알칼리 처리하였을 때 보다 효율적인 3-MCPD의 저감화 방안으로써 유용할 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 3-MCPD의 함량을 신뢰할 수 있는 결과값의 도출을 위하여 HFBI 유도체화 방법을 이용하였다. 3-MCPD가 검출되지 않은 양조간장에 3-MCPD를 0.020과 0.200  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 spiking하여 그 결과 값을 측정할 결과, 회수율이 95% 이상으로 우수하였으며 분석의 재현성 및 정밀성 또한 우수하였다.

아미노산 간장의 제조 조건 중 3-MCPD의 함량에 영향을 미칠 것으로 추정되는 조건 즉, 알칼리 처리시의 pH와 온도, 그리고 유지 시의 온도와 시간을 다양하게 하여 시료를 제조 한 후, 3-MCPD의 함량을 측정하였다. 그 결과, 알칼리 처리시의 pH와 온도가 높고, 유지 온도와 시간이 증가됨에 따라 3-MCPD의 함량이 감소되는 뚜렷한 경향을 나타내었다. 또한 알칼리 처리 온도와 유지 온도에 대한 영향보다는 알칼리 처리시의 pH가 3-MCPD의 함량에 미치는 영향이 더욱 큰 것으로 판명되었으며, 특히 pH 10.0 이상에서 알칼리 처리를 하였을 경우는 알칼리 처리 온도나 유지시간 및 유지온도 등의 다른 조건들에 상관없이 3-MCPD의 함량이 0.020  $\mu\text{g/g}$  이하로 현저히 낮아지는 경향을 보였다. 본 연구의 결과에 따르면 일반적인 아미노산 간장의 제조 공정 조건에 변화를 줌으로써 실질적으로 생성되는 3-MCPD의 함량을 현저하게 낮출 수 있음을 알 수 있었으며, 이러한 결과는 아미노산 간장의 3-MCPD 저감화 방안을 강구하기 위한 기초 자료로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년도 식품의약품안전청 연구용역사업(08072기 타사602)의 지원에 의해 수행한 연구결과의 일부로써 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Yoon BK, Park JS, Park CH, Choi YJ, Jun MJ. Changes of MCPD and chemical components in soy sauce made of acid-hydrolyzate of defatted soy protein by fermenting the soy sauce *koji*. Korean J. Food Sci. Technol. 30: 419-424 (1998)
2. Collier D, Cromie DD, Davis AP. Mechanism of formation of chloropropanols present in protein hydrolysates. J. Am. Oil Chem. Soc. 68: 785-790 (1991)
3. Velisek J, Ledahudcova K, Hajslova J, Pech P, Kubelka V, Viden I. New 3-chloro-1,2-propanediol derived dihydroxypropylamines in hydrolyzed vegetable proteins. J. Agr. Food Chem. 40: 1389-1392 (1992)
4. Velisek J, Davidek T, Davidek J, Hamburg, A. 3-chloro-1,2-propanediol derived amino alcohol in protein hydrolysates. J. Food Sci. 56: 136-138 (1991)
5. Kim MG, Kim YS, Lee MJ, Kim JK, Kim KA, Park EM, Ko HU, Son JS. Survey of Contaminants of 3-MCPD and 1,3-DCP in soy sauce using GC/MSD. J. Food Hyg. Safety 21: 153-158 (2006)
6. Lee BM. Safety and risk assessment of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD). J. Toxicol. Pub. Health 18: 1-11 (2002)
7. Coppola JA. An extragonadal male antifertility agent. Life Sci. 8: 43-48 (1969)
8. Pez GF, Homonnai ZT. A direct effect of  $\alpha$ -chlorohydrin on rat epididymal spermatozoa. Int. J. Androl. 5: 308-316 (1982)
9. Ban Y, Asanabe U, Inagaki S, Sasaki M, Nakatsuka T, Matsumoto H. Effect of alpha-chlorohydrin on rat sperm motions in relation to male reproductive functions. J. Toxicol. Sci. 24: 407-413 (1999)
10. Korea food and drug administration: Korea food code (2005)
11. European Commission. Commission Regulation (EC) No 466. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. (2001)
12. Korea Food & Drug Administration. 3-MCPD (3-monochloro-1,2-propanediol). Available from: <http://www.kfda.go.kr/index.html>. Accessed May 28, 2008.
13. Song HS, Lee BM. Analysis of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in soy sauce products in Korea. J. Toxicol. Pub. Health 18: 191-194 (2002)
14. Hamlet CG, Sadd PA. Kinetics of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) degradation in high temperature model systems Eur. Food Res. Technol. 215: 46-50 (2002)
15. Brown DA, van Meeteren HW, Simmons JD. Process for preparing improved hydrolysed protein. Eur. patent 0.310,595 B1 (1989)
16. Hamlet CG, Sutton PG. Determination of the chloropropanols 3-chloro-1,2-propanediol and 2-chloro-1,3-propanediol in hydrolysed vegetable protein and seasonings by gas chromatography ion trap tandem mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Sp. 11: 1417-1424 (1997)
17. Hamlet CG. Analytical methods for the determination of 3-chloro-1,2-propanediol and 2-chloro-1,3-propanediol in hydrolysed vegetable protein, seasonings and food products using gas chromatography/ion trap tandem mass spectrometry. Food Addit. Contam. 15: 451-465 (1998)