

## 곡류 및 견과 종실류 중 안식향산, 소브산, 프로피온산의 함유량 조사

윤상순 · 이상진 · 임도연 · 임호수 · 이근영 · 김미경\*

식품의약품안전평가원 첨가물포장과

### Monitoring of Benzoic, Sorbic and Propionic Acid in Cereal Grains, Nuts and Seeds

Sang Soon Yun, Sang Jin Lee, Do Yeon Lim, Ho Soo Lim, Gunyoung Lee, and MeeKyung Kim\*

Food Additives and Packaging Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Korea

(Received November 28, 2018/Revised January 9, 2019/Accepted January 15, 2019)

**ABSTRACT** - This study was aimed at investigating the levels of the natural preservatives of benzoic, sorbic and propionic acids in cereal grains, nuts and seeds. Benzoic and sorbic acid were analyzed by high-performance liquid chromatography with a diode-array detector (HPLC-DAD) and further confirmed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), whereas propionic acid was analyzed using a gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) and further confirmed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Benzoic, sorbic and propionic acids were found in 44, 22, and 550 samples out of 702 samples, respectively. From the total of 702 samples. The concentrations of benzoic, sorbic and propionic acid were ranged from not detected (ND) to 23.74 mg/L, from ND to 7.90 mg/L, and from ND to 37.39 mg/L in cereal grains, nuts and seeds, respectively. The concentration ranges determined in this study could be used as standard criteria in the process of inspecting cereal grains, nuts and seeds for preservatives as well as to address consumer complaints or trade disputes.

**Key words** : Cereal grains, Nuts and seeds, Benzoic acid, Sorbic acid, Propionic acid

우리나라의 식품첨가물공전 중 주용도가 보존료인 식품첨가물은 나타마이신, 니신, 테히드로초산나트륨, 소브산, 안식향산, 프로피온산, 파라옥시안식향산메틸, 아질산나트륨 등 26종이 지정되어 있다<sup>1)</sup>. 그 중에서 안식향산, 소브산, 프로피온산과 같은 일부 보존료는 식품원료에 천연적으로 함유되어 있거나, 식품의 발효과정 중 생성되는 경우가 있다<sup>2,5)</sup>. 이러한 이유로 식품 제조시에 보존료를 사용하지 않았음에도 불구하고 보존료가 검출되어 시판되지 못하는 경우가 발생할 수 있다. 따라서 식품공전에서는 품질이 양호한 원료에서 불가피하게 유래되었음을 공인된 자료, 문헌으로 입증할 경우 천연유래로 인정하여 첨가물 사용기준에 제한을 받지 않도록 규정하고 있다<sup>6)</sup>.

식품원료에 대한 천연유래 보존료에 관한 연구는 일본과 우리나라에서 주로 연구되었다<sup>7,12)</sup>. 식품 중 천연유래 보존료 검출관련 연구는 안식향산과 프로피온산이 대부분이며, 레

몬, 라임, 아로니아 등 일부 과일류에서는 소브산이 검출되는 경우도 있다<sup>13-15)</sup>. 안식향산은 크랜베리, 블루베리, 아로니아 등 베리류에서 높은 농도로 검출되며, 계피, 정향, 카더몬과 같은 일부 향신료에서도 높은 농도로 검출되며<sup>15,16)</sup>, 녹차, 감초, 땅콩 등에서도 검출된다고 보고되어 있다<sup>4)</sup>. 프로피온산은 발효과정에 미생물에 의해서나 아미노산의 분해 등에 의해서 생성되는 것으로 알려져 있다<sup>17,18)</sup>. 유가공품 중에서는 치즈에서, 젓갈류와 된장, 청국장 등에서 프로피온산 함량이 높게 검출되는 것으로 보고되어 있다<sup>14,19)</sup>. 또한, 고등어, 명태, 조기 등 어류에서도 검출되었고 두리안, 체리, 코코넛 등 과일류와 후추, 생강, 월계수 등 향신료에서도 검출되는 등 많은 식품원료에서 프로피온산이 검출되는 것으로 보고되어 있다<sup>15,20)</sup>. 식품은 제조가공 하는 도중에 건조 또는 농축의 과정을 거치는 경우가 많기 때문에 원료 중에 천연적으로 존재하던 낮은 농도의 보존료가 가공된 식품에서 높은 농도로 검출되는 사례가 발생하기도 한다. 실제로 식품 제조 가공시에 첨가하지 않은 보존료가 가공식품에서 검출되어 천연 유래 보존료 인정에 대한 문제가 발생되곤 한다. 따라서 식품 원료에 존재하는 천연 유래 보존료의 분석방법은 매우 낮은 농도까지 검출할 수 있는 방법 마련이 필요하다.

\*Correspondence to: MeeKyung Kim, Food Additives & Packaging Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Chungcheongbuk-do 28159, Korea  
Tel.: +82-43-719-4351, Fax.: +82-43-719-4350  
E-mail: mkim@korea.kr

식품원료에 대한 천연유래 보존료 관련 연구는 그동안 많은 연구가 진행되었지만 식품원료가 다양하다 보니 아직까지도 부족한 실정이다. 식품의약품안전처에서는 식품원재료 분류에 따라 천연유래 보존료 함유량 관련 연구를 진행해 오고 있으며, 이번 연구에서는 국내에 유통되고 있는 곡류 및 견과 종실류를 대상으로 안식향산, 소브산, 프로피온산에 대한 모니터링을 실시하여 천연유래 여부를 판단할 수 있는 근거자료를 마련하고자 하였다.

## Materials and Methods

### 실험재료

대상 시료는 식품공전에 명시된 식품원재료 분류에 따라 쌀(백미, 현미, 찰쌀), 보리, 밀, 메밀, 조, 수수, 옥수수, 귀리, 호밀, 울무, 기장, 퀴노아, 와일드라이스 등 곡류 18종 275건과 밤, 호두, 은행, 잣, 땅콩, 아몬드, 피칸, 케슈너트, 개암, 마카다미아, 피스타치오, 도토리, 참깨, 목화씨, 해바라기씨, 호박씨, 들깨, 달맞이꽃씨, 유채씨, 홍화씨, 커피원두, 카카오원두, 과라나 등의 견과 종실류 26종 427건을 대상 시료로 선정하여 총 44종 702건을 구입하였다<sup>6)</sup>. 시료의 구입은 전국 산지 및 유통현황을 파악하여 백화점, 대형마트 및 약재시장에서 2016년 3월부터 10월경 구입하였고, 분쇄기(Blixer 5 plus, Robot Coupe, Vincennes, France)를 이용하여 잘게 분쇄 후 -20°C 냉동고에 보관하면서 보존료 함유량 분석에 사용하였다.

### 표준품 및 시약

보존료 함량 조사를 위해 안식향산(benzoic acid), 소브산(sorbic acid), 프로피온산(propionic acid) 표준품은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 전처리용 추출용매는 에탄올(ethanol)과 아세토니트릴(acetonitrile)은 Merck사(Frankfurt, Germany)

의 제품을 사용하였고, 테트라뷰틸암모늄(tetrabutylammonium hydroxide, TBA-OH), 인산(phosphoric acid)은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 정제수는 Mili-Q ultrapure water purification system (US/A56210-857, Milipore Co., Danvers MA, USA)을 이용한 18 MΩ-cm 수준의 정제수를 사용하였다.

### 표준용액 조제

안식향산, 소브산 및 프로피온산 표준품 100 mg을 정밀히 칭량하여 100 mL 용량 플라스크에 각각 넣고 에탄올을 가하여 완전히 혼합 후 100 mL로 정용하여 1,000 mg/kg가 되도록 하였다. 이를 에탄올로 희석하여 안식향산과 소브산은 표준용액의 농도가 0.5-50 mg/kg가 되도록 조제하여 사용하였고 프로피온산은 0.1-50 mg/kg가 되도록 조제하여 사용하였다.

### 전처리 방법

전처리 방법은 축산물의 가공기준 및 성분규격에서 보존료 동시분석법의 전처리 방법을 응용하였으며, 용매추출 후 농축과정이 포함된 방법으로 식품원료에서 미량의 보존료 함량까지 분석 가능한 전처리 방법을 확립하였다<sup>21)</sup>. 전처리는 시료 4.0 g을 정밀히 달아 50 mL용량플라스크에 넣고 에탄올 40 mL을 가한 후 초음파로 30분간 추출한 후 원심분리기를 이용하여 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상등액 10 mL를 질소 미세 농축 후 에탄올을 추가하여 1 mL가 되게 한 후 0.22 μm syringe filter (Teknokroma, Spain)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다. 시험용액의 검출 농도가 검량선 범위를 초과 하였을 경우에는 에탄올로 검량선 내의 농도가 되게 희석하여 재측정하였다.

### 기기분석

안식향산과 소브산의 정량 및 정성 분석을 위하여 HPLC-

**Table 1.** HPLC-DAD conditions for analysis of benzoic and sorbic acid

|                    |   |     |     |     |      |       |      |
|--------------------|---|-----|-----|-----|------|-------|------|
| Instrument         | HPLC-DAD (Agilent Technologies 1200 series)                 |     |     |     |      |       |      |
| Column             | Capcell pak MF-C <sub>8</sub> (4.6 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)  |     |     |     |      |       |      |
| Mobile phase       | A: 0.1% Phosphoric acid in 0.01 M TBA-OH<br>B: Acetonitrile |     |     |     |      |       |      |
|                    | Time (min)  | 0.0 | 2.5 | 7.0 | 12.0 | 12.10 | 17.0 |
|                    | A (%)   | 75  | 75  | 65  | 60   | 10    | 10   |
|                    | B (%)   | 25  | 25  | 35  | 40   | 90    | 90   |
| Wavelength         | 235 nm  |     |     |     |      |       |      |
| Flow rate          | 1 mL/min  |     |     |     |      |       |      |
| Injection volume   | 10 μL   |     |     |     |      |       |      |
| Column temperature | 40°C  |     |     |     |      |       |      |

**Table 2.** LC-MS/MS conditions for analysis of benzoic and sorbic acid

|   |  |     |     |     |      |      |      |
|---|--|-----|-----|-----|------|------|------|
| Instrument                                | HPLC (Agilent Technologies 1200 series)<br>Mass Spectrometry (Agilent Technologies 6410 Triple Quad) |     |     |     |      |      |      |
| Ionization mode                           | Electrospray ionization (ESI, negative)  |     |     |     |      |      |      |
| Column                                    | Zorbax XDB-C <sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 1.8 μm)  |     |     |     |      |      |      |
| Column temperature                        | 40°C   |     |     |     |      |      |      |
| Flow rate                                 | 0.2 mL/min   |     |     |     |      |      |      |
| Injection volume                          | 10 μL  |     |     |     |      |      |      |
| Mobile phase                              | A: 0.2 mM Ammonium acetate<br>B: Acetonitrile  |     |     |     |      |      |      |
|   | Time (min)   | 0.0 | 3.0 | 7.0 | 10.0 | 10.1 | 12.0 |
|   | A (%)  | 90  | 90  | 10  | 10   | 90   | 90   |
|   | B (%)  | 10  | 10  | 90  | 90   | 10   | 10   |
| Gas                                       | N <sub>2</sub>   |     |     |     |      |      |      |
| Gas temperature                           | 325°C  |     |     |     |      |      |      |
| Analysis mode                             | MRM  |     |     |     |      |      |      |
| Capillary voltage                         | 4000 V   |     |     |     |      |      |      |
| Cone voltage                              | 80 V (benzoic acid), 75 V (sorbic acid)  |     |     |     |      |      |      |
| Collision energy                          | 3 eV (benzoic acid), 2 eV (sorbic acid)  |     |     |     |      |      |      |
| Precursor/product ion (m/z) <sup>1)</sup> | 121/77 (benzoic acid), 111/67 (sorbic acid)  |     |     |     |      |      |      |

<sup>1)</sup>Derived from [M-H]**Table 3.** GC-FID conditions for analysis of propionic acid

|                       |  |
|-----------------------|--|
| Instrument            | GC-FID (Shimadzu GC-2010 Plus)         |
| Column                | HP-FFAP (0.32 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm) |
| Oven temperature      | 80°C (3 min)→12°C/min→180°C (5 min)    |
| Injection temperature | 200°C                                  |
| Detector temperature  | 200°C                                  |
| Injection volume      | 1 μL                                   |
| Split ratio           | 5:1                                    |
| Carrier gas, flow     | Nitrogen, 0.81 mL/min                  |

DAD (1200 series; Agilent co., Santa Clara, CA, USA), LC-MS/MS (6410 Triple Quad; Agilent co., Santa Clara, CA, USA)를 사용하였다. HPLC-DAD의 분석용 컬럼은 Capcell pak MF-C<sub>8</sub> (4.6 mm i.d. × 150 mm, 5 μm, Phenomenex co.)을 사용하였으며 온도는 40°C로 설정하였다. 이동상은 0.1% phosphoric acid가 함유된 0.01 M TBA-OH (A)와 acetonitrile (B)를 사용하였으며, HPLC-DAD 크로마토그램 상의 피크 머무름 시간(retention time)은 소브산 4.1분, 안식향산 5.6분이었다(Table 1). LC-MS/MS의 분석용 컬럼은 Zorbax XDB-C<sub>18</sub> (4.6 i.d. × 150 mm, 1.8 μm, Agilent co.)을 사용하였으며 온도는 40°C로 설정하였고 이동상은 0.2 mM ammonium acetate (A)와 acetonitrile (B)를 사용하였다. 질량분석기로는 전기 분무 이온화(electrospray

**Table 4.** GC-MS conditions for analysis of propionic acid

|                           |  |
|---------------------------|--|
| Instrument                | GC (Shimadzu GC-2010)<br>Mass spectrometry<br>(Shimadzu GC-MS-QP2010 Plus) |
| Column                    | HP-FFAP (0.32 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm)                                     |
| Oven temperature          | 80°C (3 min)→12°C/min→180°C (5 min)  |
| Injector temperature      | 200°C  |
| Interface temperature     | 200°C  |
| Injection volume          | 1 μL   |
| Split ratio               | 5:1  |
| Carrier gas, flow         | Helium, 1.45 mL/min  |
| Ionization mode           | EI   |
| Electron impact mode      | 70 eV  |
| Selected ion (m/z)        | 74, 57, 45   |
| MS ion source temperature | 240°C  |

ionization, ESI) 방식을 이용하였으며, MRM 조건은 안식향산의 precursor ion (m/z)이 121, product ion (m/z)은 77 이었고 소브산의 precursor ion (m/z)이 111, product ion (m/z)은 67을 선정하여 분석하였으며, 이외의 product ion은 감도가 낮아서 선정에서 제외하였고 자세한 분석조건은 Table 2에 나타내었다. 프로피온산의 정성 및 정량 분석을 위하여 GC-FID (GC-2010 Plus; Shimadzu Co.,

Kyoto, Japan), GC-MS (GCMS-QP2010 Plus; Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하였다. 프로피온산 분석에 사용한 분석용 컬럼은 HP-FFAP (0.32 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm, Agilent Co.)이었고 크로마토그램 상의 피크 머무름 시간은 10.5분이었다(Table 3). GC-MS는 GC-FID와 동일한 HP-FFAP (0.32 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm, Agilent Co.) 컬럼을 사용하였고 세부 조건은 Table 4와 같다. GC-MS의 정성 확인은 프로피온산 표준용액의 특성이온(m/z)간의 이온세기의 비(response ratio)와 시험용액의 이온세기의 비를 비교하여 이온세기의 비가 국제식품위협회(CODEX)에서 제시하는 ±30%<sup>22)</sup>이내에서 일치하고 크로마토그램 상의 피크 머무름 시간과 일치할 때 정성 확인하였다.

### 시험법 유효성 검증

시험법의 유효성 검증은 AOAC guideline에 따라 직선성(linearity), 검출한계(limit of detection)와 정량한계(limit of quantitation), 회수율(recovery)을 구하여 유효성을 평가하였다<sup>23)</sup>. 유효성 검증에 관련된 실험은 모두 3반복으로 수행하였다. 안식향산과 소브산은 0.5-50 mg/kg, 프로피온산은 0.1-50 mg/kg의 농도에서 검량선을 작성하여 직선성을 평가하였으며, 직선성의 결과는 상관계수(correlation coefficient,  $r^2$ )로 표현하였다. 검출한계와 정량한계는  $3.3 \times \sigma/s$ ,  $10 \times \sigma/s$  ( $\sigma$ : standard deviation,  $s$ : slope)로 산출하였다<sup>20)</sup>. 분석방법의 정확한 평가를 위한 분석성분의 회수율 시험은 밀, 아몬드, 해바라기씨 3종의 시료에 1, 5, 25 mg/kg이 되도록 표준물질을 첨가한 후 전처리 과정을 거쳐 3회씩 분석하여 각 농도를 구한 다음 첨가 농도 대비 회수된 농도를 계산하여 회수율을 측정하였다.

## Results and Discussion

### 시험법 유효성 검증 결과

안식향산, 소브산과 프로피온산의 직선성은 상관계수( $r^2$ ) 값이 0.999 이상으로 우수한 직선성을 나타내었다. 안식향산과 소브산의 검출한계는 0.3 mg/kg이었고 정량한계는 1.0 mg/kg이었으며, 프로피온산은 검출한계가 0.07 mg/kg, 정량한계는 0.21 mg/kg으로 측정되었다. 회수율은 안식향산의 경우 90.7-106.5%, 소브산은 92.7-104.9%, 프로피온산은 83.3-110.4%의 범위로 측정되었고, 3회 반복하여 얻은 표준편차를 평균치로 나눈 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)는 5.7%이하로 양호한 결과를 보였다(Table 5). 이러한 결과는 AOAC guideline에서 제시하는 회수율과 상대표준편차의 범위를 만족하였으며, 식품공전에서 제시하는 안식향산, 소브산, 프로피온산의 정량한계가 각각 1.0, 1.5, 1.0 mg/kg으로 이보다는 작거나 같기 때문에 곡류 및 견과 종실류 중 안식향산, 소브산, 프로피온산 함량을 측정하기에 적합한 분석법이라 판단된다<sup>6,23)</sup>.

### 안식향산 함량

곡류 및 견과 종실류 시료에 대해 안식향산의 검출 시료 수, 검출범위 및 검출량 결과를 품목에 따라 곡류는 Table 6에 견과 종실류는 Table 7에 나타내었다. 안식향산은 곡류 275건 중 21건이 검출되어 곡류 중 검출률은 약 6.3%이었고 품목별 검출범위는 곡류 18품목 중 9품목에서 와일드드라이스(ND-3.47 mg/kg), 귀리(ND-2.45 mg/kg), 조(ND-2.26 mg/kg), 수수(ND-1.61 mg/kg), 퀴노아(ND-1.58 mg/kg), 현미(ND-1.31 mg/kg), 기장(ND-1.30 mg/kg), 맥아(ND-1.06 mg/kg), 보리(ND-1.03 mg/kg) 순으로 높게

**Table 5.** Linearity ( $r^2$ ), limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) and recovery of benzoic, sorbic and propionic acid

| Instrument | Compound       | $r^2$  | LOD <sup>1)</sup><br>(mg/kg) | LOQ <sup>2)</sup><br>(mg/kg) | Concentration<br>spiked (mg/kg) | Recovery (%)±RSD <sup>3)</sup> (%) (n=3) |           |                |
|------------|----------------|--------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--|-----------|----------------|
|            |                |        |                              |                              |                                 | Wheat                                    | Almond    | Sunflower seed |
| HPLC-DAD   | Benzoic acid   | 0.9996 | 0.3                          | 1.0                          | 1                               | 100.0±3.4                                | 106.5±0.9 | 103.5±4.1      |
|            |                |        |                              |                              | 5                               | 101.1±1.7                                | 100.9±1.7 | 102.3±1.8      |
|            |                |        |                              |                              | 25                              | 90.7±2.0                                 | 95.2±0.8  | 90.8±1.0       |
|            | Sorbic acid    | 0.9996 | 0.3                          | 1.0                          | 1                               | 104.3±1.4                                | 92.7±1.6  | 97.8±4.2       |
|            |                |        |                              |                              | 5                               | 104.8±2.3                                | 104.4±1.6 | 103.7±1.0      |
|            |                |        |                              |                              | 25                              | 104.9±0.8                                | 104.8±0.4 | 102.0±1.0      |
| GC-FID     | Propionic acid | 0.9998 | 0.07                         | 0.21                         | 1                               | 110.4±2.8                                | 86.1±5.7  | 90.6±2.7       |
|            |                |        |                              |                              | 5                               | 94.7±4.7                                 | 103.7±1.9 | 93.7±4.4       |
|            |                |        |                              |                              | 25                              | 83.3±0.8                                 | 84.0±0.4  | 85.9±1.1       |

<sup>1)</sup>LOD: Limit of detection=3.3  $\sigma/S$ .

<sup>2)</sup>LOQ: Limit of quantitation=10  $\sigma/S$ .

$\sigma$ =the standard deviation of the response.

S=the slope of the calibration curve.

<sup>3)</sup>RSD (%): Relative standard deviation

검출되었다. 견과 종실류 427건 중 23건이 검출되어 검출률은 약 5.4%이었고 품목별 검출범위는 견과 종실류 26 품목 중 7품목에서 참깨(ND-23.74 mg/kg), 목화씨(ND-4.77 mg/kg), 홍화씨(ND-4.07 mg/kg), 흑임자(ND-3.60 mg/kg), 땅콩(ND-1.91 mg/kg), 잣(ND-1.18 mg/kg), 해바라기씨(ND-1.10 mg/kg) 순으로 높게 검출되었다. 이외의 곡류 및 견과 종실류에서는 안식향산이 검출되지 않았다. 이러한 결과는 일본의 농산물과 농산물 가공품 중의 안식향산을 분석한 Nagayama 등<sup>8)</sup>의 연구결과와 비교 시 곡류에서는 보리에서 평균 0.3 mg/kg, 맥아에서 평균 0.8 mg/kg의 안식향산이 검출되었고, 견과 종실류에서는 땅콩에서 평균 1.7 mg/kg, 참깨에서 평균 0.2 mg/kg의 안식향산이 검출되었다고 보고하였는데 이는 이번 연구결과의 검출범위 안에 포함되었다.

### 소브산 함량

곡류 및 견과 종실류 시료에 대해 소브산의 검출 시료 수, 검출범위 및 검출량 결과를 품목에 따라 곡류는 Table 6에 견과 종실류는 Table 7에 나타내었다. 소브산은 곡류 275건 중 12건이 검출되어 곡류 중 검출률은 약 4.4%이었

고 품목별 검출범위는 곡류 18품목 중 5품목에서 백미(ND-4.83 mg/kg), 퀴노아(ND-2.69 mg/kg), 율무(ND-2.49 mg/kg), 맥아(ND-1.94 mg/kg), 현미(ND-1.43 mg/kg) 순으로 높게 검출되었다. 견과 종실류 427건 중 10건이 검출되어 검출률은 약 2.3%이었고 품목별 검출범위는 견과 종실류 26 품목 중 3품목에서 해바라기씨(ND-7.90 mg/kg), 아몬드(ND-3.58 mg/kg), 목화씨(ND-1.84 mg/kg) 순으로 높게 검출되었다. 이외의 곡류 및 견과 종실류에서는 소브산이 검출되지 않았다. 이는 2010년 Kubota 등<sup>9)</sup>이 피스타치오에서 소브산이 검출되지 않은 것 등은 본 연구의 결과와 일치하였다.

### 프로피온산 함량

곡류 및 견과 종실류 시료에 대해 프로피온산의 검출 시료 수, 검출범위 및 검출량 결과를 품목에 따라 곡류는 Table 6에 견과 종실류는 Table 7에 나타내었다. 프로피온산은 곡류 275건 중 220건이 검출되어 곡류 중 검출률은 80.0%이었고 곡류 18품목 중 18품목 모두에서 검출되었으며, 검출범위는 현미(ND-20.74 mg/kg), 아마씨(ND-13.57 mg/kg), 기장(0.44-11.97 mg/kg), 대마씨(ND-6.88 mg/kg), 옥수수(ND-

**Table 6.** Range and mean concentration of benzoic, sorbic and propionic acid in cereal grains (275 samples of 18 commodities)

| Commodity       | No. of Sample | Benzoic acid    |               |                 | Sorbic acid     |               |                 | Propionic acid  |               |                 |
|-----------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|
|                 |               | Detected sample | Range (mg/kg) | Mean±SD (mg/kg) | Detected sample | Range (mg/kg) | Mean±SD (mg/kg) | Detected sample | Range (mg/kg) | Mean±SD (mg/kg) |
| Adlay           | 15            | 0               | ND            | ND              | 1               | ND-2.5        | 0.2±0.6         | 11              | ND-2.0        | 0.8±0.6         |
| Barley          | 19            | 1               | ND-1.0        | 0.1±0.2         | 0               | ND            | ND              | 15              | ND-2.0        | 0.9±0.5         |
| Buckwheat       | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 9               | ND-0.8        | 0.4±0.3         |
| Corn            | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 14              | ND-4.2        | 1.2±2.0         |
| Glutinous rice  | 10            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 5               | ND-1.1        | 0.4±0.4         |
| Hemp seed       | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 14              | ND-6.9        | 2.6±1.6         |
| Italian millet  | 15            | 3               | ND-2.3        | 0.3±0.7         | 0               | ND            | ND              | 13              | ND-3.6        | 1.0±0.9         |
| Linseed         | 20            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 10              | ND-13.6       | 1.8±3.2         |
| Malt            | 15            | 2               | ND-1.1        | 0.1±0.4         | 1               | ND-2.0        | 0.1±0.5         | 9               | ND-4.2        | 1.2±1.4         |
| Millet          | 15            | 3               | ND-1.3        | 0.2±0.5         | 0               | ND            | ND              | 15              | 0.4-12.0      | 4.1±3.5         |
| Oat             | 16            | 3               | ND-2.5        | 0.3±0.7         | 0               | ND            | ND              | 14              | ND-4.1        | 1.1±0.9         |
| Quinoa          | 15            | 3               | ND-1.6        | 0.3±0.5         | 6               | ND-2.7        | 0.7±0.9         | 14              | ND-2.0        | 1.1±0.5         |
| Rice            | 20            | 0               | ND            | ND              | 2               | ND-4.8        | 0.5±1.4         | 16              | ND-3.3        | 1.1±0.8         |
| Rye             | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 13              | ND-1.5        | 0.7±0.6         |
| Sorghum         | 15            | 1               | ND-1.6        | 0.1±0.4         | 0               | ND            | ND              | 15              | 0.3-3.8       | 1.5±1.0         |
| Unpolished rice | 20            | 1               | ND-1.3        | 0.1±0.3         | 2               | ND-1.4        | 0.1±0.4         | 16              | ND-20.7       | 3.3±5.9         |
| Wheat           | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 12              | ND-1.1        | 0.5±0.3         |
| Wild rice       | 5             | 4               | ND-3.5        | 2.4±1.3         | 0               | ND            | ND              | 5               | 1.75-3.8      | 2.7±0.9         |
| Total           | 275           | 21              | ND-3.5        | 0.2±0.5         | 12              | ND-4.8        | 0.1±0.2         | 220             | ND-20.7       | 2.2±3.2         |

SD: standard deviation, ND: not detected.

**Table 7.** Range and mean concentration of benzoic, sorbic and propionic acid in nuts and seeds (427 samples of 26 commodities)

| Commodity             | No. of Sample | Benzoic acid    |               |                 | Sorbic acid     |               |                 | Propionic acid  |               |                 |
|-----------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|
|                       |               | Detected sample | Range (mg/kg) | Mean±SD (mg/kg) | Detected sample | Range (mg/kg) | Mean±SD (mg/kg) | Detected sample | Range (mg/kg) | Mean±SD (mg/kg) |
| Acorn                 | 14            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 13              | ND-5.2        | 1.4±1.7         |
| Almond                | 22            | 0               | ND            | ND              | 6               | ND-3.6        | 0.1±0.5         | 19              | ND-4.7        | 1.1±1.0         |
| Black sesame          | 20            | 5               | ND-3.6        | 0.6±1.2         | 0               | ND            | ND              | 15              | ND-2.2        | 0.6±0.6         |
| Brazilnut             | 14            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 3               | ND-1.0        | 0.2±0.4         |
| Cacao nibs            | 20            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 4               | ND-7.1        | 0.6±1.6         |
| Cashew nut            | 20            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 15              | ND-1.6        | 0.8±0.5         |
| Chest nut             | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 13              | ND-2.7        | 1.1±0.8         |
| Coffee bean           | 20            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 8               | ND-5.0        | 0.8±1.3         |
| Cotton seed           | 5             | 2               | ND-4.8        | 1.6±2.0         | 2               | ND-1.8        | 0.6±1.9         | 5               | 1.1-6.2       | 3.7±2.0         |
| Evening primrose seed | 5             | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 4               | ND-1.5        | 0.9±0.5         |
| Ginkgo nut            | 13            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 11              | ND-5.0        | 2.1±1.5         |
| Guarana               | 4             | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 1               | ND-0.8        | 0.2±0.4         |
| Hazel nut             | 14            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 10              | ND-1.7        | 0.9±0.5         |
| Macadamia             | 16            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 15              | ND-2.0        | 0.9±0.4         |
| Peacan                | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 12              | ND-1.6        | 0.8±0.5         |
| Peanut                | 26            | 2               | ND-1.9        | 0.1±0.5         | 0               | ND            | ND              | 22              | 0.7-2.8       | 1.3±0.5         |
| Perilla               | 22            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 16              | ND-3.0        | 0.7±0.8         |
| Pine nut              | 20            | 1               | ND-1.2        | 0.1±0.3         | 0               | ND            | ND              | 20              | 0.6-1.3       | 1.0±0.2         |
| Pistachio             | 15            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 14              | ND-2.8        | 1.3±0.7         |
| Pumpkin seed          | 20            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 19              | ND-4.7        | 1.4±1.2         |
| Rapeseed              | 3             | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 1               | ND-0.3        | 0.2±0.1         |
| Roasted coffee bean   | 20            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 20              | 10.4-37.4     | 25.8±7.2        |
| Safflower seed        | 18            | 4               | ND-4.1        | 0.6±1.3         | 0               | ND            | ND              | 13              | ND-4.3        | 1.4±1.5         |
| Sesame                | 20            | 7               | ND-23.7       | 5.4±7.8         | 0               | ND            | ND              | 11              | ND-1.7        | 0.6±0.6         |
| Sunflower seed        | 20            | 2               | ND-1.1        | 0.1±0.3         | 2               | ND-7.9        | 0.6±0.8         | 20              | 0.4-4.2       | 1.5±0.8         |
| Walnut                | 26            | 0               | ND            | ND              | 0               | ND            | ND              | 26              | 0.4-1.7       | 1.0±0.3         |
| Total                 | 427           | 23              | ND-23.7       | 0.3±1.1         | 10              | ND-7.1        | 0.1±0.2         | 330             | ND-37.4       | 2.0±4.8         |

SD: standard deviation, ND: not detected.

4.21 mg/kg) 등 순으로 높게 검출되었다. 견과 종실류 427건 중 330건이 검출되어 검출률은 약 77.3%이었고 견과 종실류 또한 26품목 중 26품목 모두에서 검출되었으며, 검출범위는 커피원두(10.39-37.39 mg/kg), 카카오원두(ND-7.12 mg/kg), 목화씨(1.08-6.22 mg/kg), 도토리(ND-5.22 mg/kg), 은행(ND-5.02 mg/kg) 등 순으로 높게 검출되었다. 이렇게 대부분의 곡류 및 견과 종실류 시료에서 프로피온산이 검출된 것은 프로피온산의 경우 박테리아 발효<sup>17)</sup>, 지방산의 산화에 의한 중간 대사산물<sup>24)</sup>, 아미노산이 분해되면서 생성되는 대사산물 중 하나로 보고<sup>25)</sup>된 것에 기인하여 미량이지만 대부분 시료에서 프로피온산이 검출된 것으로 사료된다.

#### 곡류 및 견과 종실류 중 안식향산, 소브산, 프로피온산 함량 분포

곡류 및 견과 종실류 중 안식향산, 소브산, 프로피온산 함량 분포를 Fig. 1에 나타내었다. 안식향산은 총 702건 중 44건(약 6.3%)에서 검출되었으며, 정량한계 이상 검출되면서 5 mg/kg이하의 낮은 농도로 검출된 건수는 37건(약 5.3%)이었고 5 mg/kg이상 높은 농도로 검출된 건수는 참깨에서만 7건(약 1.0%)으로 최대 23.74 mg/kg이 검출되었다. 소브산은 22건(약 3.1%)에서 검출되어 안식향산이나 프로피온산에 비해 검출률이 가장 낮았다. 정량한계 이상 검출되면서 5 mg/kg이하의 낮은 농도로 검출된 건수가 21건(약 3.0%)이었고 5 mg/kg이상 높은 농도로 검출된 건

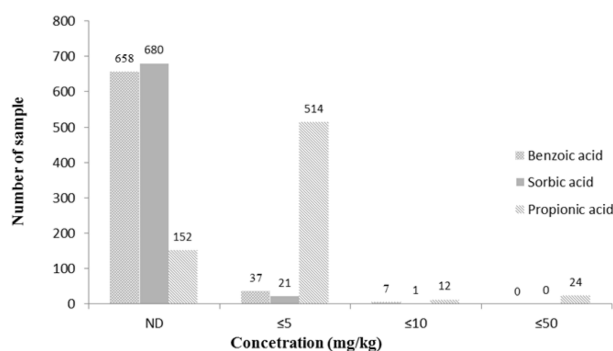


Fig. 1. Distribution of the concentration of benzoic, sorbic and propionic acids with the number of samples.

수는 해바라기씨 1건으로 최대 7.90 mg/kg이 검출되었다. 프로피온산은 총 702건 중 550건(약 78.3%)이 검출되어 많은 시료에서 정량한계 이상 검출되었으나 대부분 5 mg/kg 이하의 낮은 농도로 검출(514건, 약 73.3%) 되었고 5 mg/kg 이상 10 mg/kg 이하 농도로 검출된 시료는 12건(약 1.7%)이었으며 10 mg/kg 이상 농도로 검출된 시료는 24건(약 3.4%)으로 커피원두에서 최대 37.39 mg/kg이 검출되었다. 식품첨가물공전에서의 안식향산, 소브산, 프로피온산의 사용기준은 식품의 종류에 따라 상이하지만 최소 50 mg/kg 부터 최대 3000 mg/kg까지 사용할 수 있다<sup>1)</sup>. 이번 연구 결과에서 천연유래로 검출되는 보존료의 검출량은 사용기준 보다는 현저하게 적게 검출되는 것을 알 수 있었다. 그러나 프로피온산의 경우 발효과정이 포함된 치즈류의 경우 일부 문헌에서 사용기준인 3000 mg/kg이상 검출되는 경우도 보고되어 있다<sup>6)</sup>.

### Acknowledgement

본 연구는 2016년도 식품의약품안전처 연구개발사업(16161MFDS012)으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 국문요약

본 연구에서는 곡류 및 견과 종실류 중 천연유래 보존료의 함유량을 조사하기 위하여 안식향산, 소브산 및 프로피온산의 함유량을 분석하였다. 곡류 및 견과 종실류 중 보존료 분석을 위하여 분석법을 확립하였다. 보존료 분석을 위하여 안식향산 및 소브산은 HPLC-DAD를 이용하여 정성 및 정량 분석 하였고 LC-MS/MS를 이용해 확인 분석하였다. 프로피온산은 GC-FID를 이용하여 정성 및 정량 분석 하였고 GC-MS를 이용해 확인 분석하였다. 보존료 분석법의 유효성을 검증하기 위해서 직선성, 회수율, LOD, LOQ를 검토한 결과, 모든 항목에서 양호한 결과를 나타내었다. 대상 시료는 곡류(백미, 보리, 밀 등) 275건,

견과 종실류(땅콩, 참깨, 커피원두 등) 427건을 수거하여 총 702건이었다. 함유량 조사 결과 안식향산은 대상시료 702건 중 44건의 시료에서 검출되었으며, 검출범위는 ND-23.74 mg/kg의 범위로 검출되었다. 소브산은 대상시료 702건 중 22건의 시료에서 검출되었고, 검출범위는 ND-7.90 mg/kg의 범위로 검출되었다. 프로피온산은 대상시료 702건 중 550건의 시료에서 검출되었으며, 검출범위는 ND-37.39 mg/kg의 범위로 검출되었다. 안식향산, 소브산, 프로피온산이 가장 높게 검출된 품목은 각각 참깨(23.74 mg/kg), 해바라기씨(7.90 mg/kg), 커피원두(37.39 mg/kg)이었다. 본 연구의 결과를 통해 곡류 및 견과 종실류 중 안식향산, 소브산, 프로피온산 분석법을 확립하였고 함유량조사 결과는 향후 식품 검사 시 보존료 사용기준 위반 판정으로 인한 민원제거나 국가 간 무역마찰 시 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

### References

1. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS): Korean food additives codes, Standards and specifications of food additives. (Notice 2018-71).
2. Goldfine H., Stadtman, E.R.: Propionic acid metabolism. *J. Biol. Chem.*, **235**, 2238-2245 (1960).
3. Gobbetti, M., Corsetti, A.: *Lactobacillus sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium. A Review. *Food Microbiol.*, **14**, 175-187 (1997).
4. Kim, M.C., Park, H.K., Hong, J.H., Lee, D.Y., Park, J.S., Park, E.J., Kim, J.W., Song, K.H., Shin, D.W., Mok, J.M., Lee, J.Y., Song, I.S.: Studies on the naturally occurring benzoic acids in foods. Part(I) - Naturally occurring benzoic acid and sorbic acid in several plants used as teas or spices. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **31**, 1144-1152 (1999).
5. Lück, E., Jager M., Raczek, N.: Ashford's dictionary of industrial chemicals. third edition, 8482 (2011).
6. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS): Korean food codes, Standards and specifications of foods. (Notice 2018-34).
7. Nagayama, T., Nishijima, M., Yasuda, K., Saito, K., Kamimura, H., Ibe, A., Ushiyama, H., Nagayama, M., Naoi, Y.: Benzoic acid in fruits and fruit products. *J. Fd Hyg. Safety.*, **24**, 416-422 (1983).
8. Nagayama, T., Nishijima, M., Yasuda, K., Saito, K., Kamimura, H., Ibe, A., Ushiyama, H., Naoi, Y., Nishima, T.: Benzoic acid in agricultural food product and processed foods. *J. Food Hyg. Saf.*, **27**, 316-325 (1986).
9. Kubota H, Ohtsuki T, Hara T, Hirakawa Y, Iizuka T, Tanaka M, Iwamura M, Sato K, Kawamura Y.: Search for benzoic acid and sorbic acid in fruits, nuts, spices, and their processed foods. *Jpn. J. Food Chem. Safety.*, **17**, 54-61 (2010).
10. Park, E.R., Lee, S.K., Hwang, S.H., Mun, C.S., Gwak, I.S., Kim, O.H., Lee, K.H.: Monitoring of natural preservative levels in food products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **37**, 1640-1646 (2008).

11. Lee, H.J., Ahn, H.J., Kang, C.S., Choi, J.C., Choi, H.J., Lee, K.G., Kim, J.I., Kim, H.Y.: Naturally occurring propionic acid in foods marketed in South Korea. *Food Control.*, **21**, 217-220 (2010).
12. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS): Contents monitoring of natural preservatives in raw materials of functional foods. The Annual Report of MFDS. (2013).
13. Korea Food and Drug Administration (KFDA): Study on preservatives as origin of natural in food. The Annual Report of KFDA. (2007).
14. Korea Food and Drug Administration (KFDA): The naturally occurring levels of food preservatives in raw materials and fermented foods. The Annual Report of KFDA. (2010).
15. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS): Monitoring of food additives produced naturally in fruits and spices. The Annual Report of MFDS. (2015).
16. Yun, S.S., Lee, S.J., Lim, D.Y., Lim, H.S., Lee, G., Kim, M.: Monitoring of benzoic acid, sorbic acid, and propionic acid in spices. *J. Food Hyg. Saf.*, **32**, 381-388 (2017).
17. Code of Federal Regulation (CFR): Title 21, Food and drugs, parts 170 to 199, §184.1018 Propionic acid, Revised as of April 1. (2013).
18. Gonzalez-Garcia R.A., McCubbin T., Navone L., Stowers C., Nielsen L.K., Marcellin E.: Microbial propionic acid production. *Fermentation*, **3**, 21 (2017).
19. Lee, S.H., Lee, M.Y., Lim, S.R., Bae, J.H.: Determination of amounts of benzoic acid and propionic acid in fermented soybean products. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **45**, 565-570 (2013).
20. Kim, D.B., Jang, G.J., Yoo, M., Lee, G., Yun, S.S., Lim, H.S., Kim, M., Lee, S.: Sorbic, benzoic and propionic acids in fishery products: a survey of the South Korean market. *Food Addit. Contam. Part A.*, **35**, 1071-1077 (2018).
21. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS): Livestock product in the processing standards and ingredient specifications. (Notice 2015-94).
22. CODEX Alimentarius Commission. Guidelines on the use of mass spectrometry (MS) for identification, confirmation and quantitative determination of residues, CAC/GL 56. (2005).
23. Association of Official Analytical Chemistry (AOAC): Official methods of analysis, Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements. (2012).
24. World Health Organization (WHO): Food Additives Series 5, Propionic acid and its calcium, potassium and sodium salts. (1974).
25. Environmental Protection Agency (EPA): Reregistration eligibility document propionic acid and salts list D case 4078. (1991).
26. Thierry, A., Maillard, M., Hervee, C., Richoux, R. Ortal, S.: Varied volatile compounds are produced by *P ropionibacterium freudenreichii* in Emmental cheese. *Food Chem.*, **87**, 439-446 (2004).