

김치에서 발효 식품의 고유 발암원 Ethyl Carbamate 검출

고은미 · 권훈정
서울대학교 식품영양학과

Determination of Fermentation Specific Carcinogen, Ethyl Carbamate, in *Kimchi*

Eunmi Koh and Hoonjeong Kwon

Department of Food and Nutrition, Seoul National University

Abstract

Ethyl carbamate is an animal carcinogen and a suspected human carcinogen found in fermented foods and beverages. For the determination of ethyl carbamate in typical Korean diet, an analytical method was established for the food as complex as *kimchi*. *Kimchi* samples collected from various locations in the country were homogenized and extracted four times with ethyl acetate. Following concentration and reconstitution with water, the extract was loaded onto C_{18} column. Fraction containing ethyl carbamate was eluted with methanol, while most of the red pigment of the sample was retained on the column. The eluent was further purified with alumina, followed by Florisil column. The final eluent was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry in the selected ion monitoring mode. None of the twenty *kimchi* samples showed ethyl carbamate level higher than 4.6 ppb without correction for the recovery. The concentration of ethyl carbamate in *kimchi* increased as pH decreased, suggesting fermentation dependent formation of ethyl carbamate.

Key words: *kimchi*, ethyl carbamate, fermented food, carcinogen

서 론

Ethyl carbamate (urethane: $NH_2COOCH_2CH_3$)는 발효 과정에서 생성되는 부산물로서, 알코올 음료를 포함한 발효 식품에 함유되어 있는 발암물질로 알려져 있다⁽¹⁾. 특히 알코올 음료인 포도주, 청주, 위스키 등에 많이 함유되어 있으며, 발효 식품의 경우 간장, miso, natto, 요구르트, 치즈, 차에는 미량 존재함이 보고되었다^(2,3,4,5). Ethyl carbamate는 섭취 후 체내에서 vinyl carbamate로 대사된 후 epoxidation을 거쳐 DNA adduct를 형성하여 돌연 변이성을 나타낸다고 알려져 있으며, 주요 대상 기관은 폐, 간, 유선으로 여러 기관에 작용하는 발암물질이다⁽⁶⁾. 과일 주스에 살균제로 이용되는 diethyl dicarbonate가 암모니아와 반응하여 ethyl carbamate를 형성한다고 알려진⁽⁷⁾ 후, 1972년 미국의 Federal Food, Drug and Cosmetic Act는 diethyl dicarbonate 사용을 금지하였으며⁽⁸⁾, Joint FAO/WHO Ex-

pert Committee on Food Additives는 청량음료에서 ethyl carbamate 농도를 제한하였다. 1985년 캐나다 보건 기구는 효모 영양분으로 요소를 첨가하여 발효시키는 포도주와 증류주에 고농도의 ethyl carbamate가 존재한다고 발표한 뒤 알코올 음료에 첨가하는 요소의 사용을 금지하고 알코올 음료에 대한 ethyl carbamate의 농도를 규제하였으며⁽⁹⁾, 미국의 FDA는 1987년 주류 협회들에서 제시한 ethyl carbamate에 대한 자율 규제안을 받아들였다⁽⁸⁾.

식품에서 ethyl carbamate를 정량하기 위해서는 추출과 부분 정제를 포함하는 전처리 과정이 필요하다. 알코올 음료 및 서양의 발효식품에 적용되던 방법으로는 알코올 농도 희석, 빵과 우유의 염산 처리, 시료 균질액의 염 포화 등의 전처리 후^(7,9,10,11), 아세톤 추출물을 유기용매와 염화나트륨을 혼합하여 유기층으로 추출하거나 직접 디클로로메탄, 클로로포름, 페트롤리움 에테르로 추출하였다^(4,7,9,11,12). 액체 시료의 경우 시료를 직접 Extrelut cartridge에 흡착시킨 후 용출된 분획을 Florisil로 재정제하거나 또는 직접 분석한 보고도 있다^(10,13,14). 추출 후 정제 단계에서는 alumina 또는 Florisil을

Corresponding author: Hoonjeong Kwon, Department of Food and Nutrition, Seoul National University, San 56-1, Shillim-dong, Kwanak-ku, Seoul 151-742, Korea

사용하는 것이 보편적이었으나, 흡착 후 세척과 용출에 쓰이는 용매는 실험실에 따른 차이를 보이고 있다. 세척에는 클로로포름, 펜탄 등 비극성 용매를 사용하고 용출에는 메탄올의 농도를 조절하여 극성을 높은 용매 혼합물을 사용한 것이 보고되었다^(3,5,10,13).

국민 영양 조사에 의하면 한국인의 하루 음식 섭취량 중 발효식품(김치류, 간장, 된장, 고추장, 젓갈류, 탁주)이 차지하는 비율이 13.7%(87년), 15.1%(90년), 12.8% (91년), 13.8%(92년)이었으며, 특히 김치의 하루 섭취량은 90 g(1973-81년), 106 g(87년), 139 g(90년), 115 g(91년), 129 g(92년)으로 발효식품 중에서 가장 높은 비중을 차지하였다⁽¹⁵⁾. 또한 김치의 숙성 과정 중 당 발효에 의해 에탄올이 생성되며, 발효 최적기에 아르기닌 함량이 크게 증가하여 총 유리 아미노산 함량에 대한 비율이 11%라는 보고가 있었다⁽¹⁶⁾. 따라서, 김치 숙성 중 생성된 에탄올과 아르기닌의 대사물인 요소가 반응하여 ethyl carbamate가 형성될 수 있다고 추정되므로, 김치 소비량이 높은 한국인에 대한 ethyl carbamate의 영향을 추정하기 위하여, 김치에 적용할 수 있는 ethyl carbamate 측정법을 정립하고, 각 지방에서 배추김치를 수집하여 ethyl carbamate의 존재 여부를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

김치 수집

현재 가정에서 섭취되고 있는 배추김치를 각 지방에서 15개, 시중 판매점에서 5개를 수집한 후, 김치의 최적 숙성도로 알려진 pH 4.2⁽¹⁷⁾ 정도로 냉장고에서 숙성시킨 뒤 건더기와 국물을 16:3의 비율로 취하여 증류수를 첨가하여 blender로 균질화하여 -50°C에 저장하였다.

시약

Ethyl carbamate는 Janssen Chimica (Geel, Belgium)에서 구입하였다. 중성 알루미늄(activated, neutral, 50-200 micron for column chromatography, Janssen Chimica)는 사용 전 수분 함량을 측정하여, 본래의 수분 함량과 첨가한 증류수가 10.0%(w/w)가 되도록 증류수를 첨가하고 격렬하게 흔들어 불활성화시켰다. Celite 545 (not acid washed)는 Shinyo Pure Chemicals (Osaka, Japan)에서 구입하여 700°C에서 16시간 이상 건조시켰다. Florisil (60-100 mesh)은 Mallinckrodt Specialty Chemicals Co. (Paris, KY)에서 구입하였다. C₁₈수지 (Preparative, 125Å, bulk packing material)는

Waters (Milford, MA)에서 구입하여 사용 전에 유리 칼럼(1.5×2.5 cm)에 충전한 후 100% 메탄올, 50% 메탄올, 증류수를 순차적으로 통과시켜 미리 활성화시켰다. 이외의 모든 시약은 특급 시약을 사용하였다.

Ethyl carbamate의 부분 정제와 정량

김치에서 ethyl carbamate의 부분 정제는 Canas 등⁽¹⁸⁾과 Conacher 등⁽⁹⁾이 알코올 음료와 발효식품에 적용한 방법을 기준으로 하여 유기용매로 추출한 후 고체상 추출을 이용한 부분 정제를 시도하였으며, 정립된 정제법은 다음과 같다. 김치 균질액을 동량의 에틸아세테이트로 4번 추출한 후, 유기용매 층을 농축시켜 수용액 상태로 재용해시켰다. C₁₈을 채운 유리 칼럼(1.5×2.5 cm)에 추출액을 넣고, 증류수로 씻은 후 100% 메탄올로 ethyl carbamate를 용출시켜 감압 농축시켰다. 농축액을 Celite와 섞어 불활성화시킨 알루미늄나와 부수 황산나트륨의 유리 칼럼(3×15 cm) 윗층에 충전한 후 디클로로메탄으로 용출시킨 후 감압 농축시켰다. Florisil을 유리 칼럼(0.9×8.8 cm)에 충전시킨 뒤 디클로로메탄으로 미리 세척시키고, 농축액을 칼럼에 흡착시켜 디클로로메탄으로 씻어 내고 7% 메탄올/디클로로메탄으로 ethyl carbamate를 용출시켜 감압 농축시켰다. 질소 가스를 이용하여 0.1 mL로 농축한 후 1 μL를 Table 1과 같은 조건에서 gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)의 scan mode로 표준 용액과 김치의 total ion chromatogram을 얻은 후 분리된 ethyl carbamate 피크를 MS를 이용하여 성분을 확인하였으며, 일상적인 정량을 위해서는 select-

Table 1. Gas chromatography-mass spectrometric parameters

Gas chromatography	
Instrument	Hewlett Packard 5890 Series II
Carrier gas	He, 2 mL/min, 8.5 psi
Column	30 m × 0.32 mm DBWax (J&W Scientific Co.) film thickness : 0.25 μm
Temperature gradient	70°C held for 2 min; 8°C/min to 150°C, 20°C/min to 250°C, held for 10 min
Injector	210°C
Detector	210°C
Mass spectrometry	
Instrument	JEOL-JMS-AX 505 WA
Ion source	200°C
Fragmentation mode	Electron Impact at 70 eV
Scan range	50-200 a.m.u.
SIM	m/z 62, 74, 89
Injection mode	splitless

ed ion monitoring (SIM) mode로 m/z 62에서 농도를 측정하였다.

염도 측정

Mohr법에 준하여 원심분리한 김치 시료를 10배 희석한 후, 10% potassium chromate (K_2CrO_4) 0.5 ml를 첨가하여 0.1 N 질산은 용액으로 적갈색 침전이 생기는 점까지 적정하였다.

Urea 측정

Crocker⁽¹⁸⁾와 Matsudo 등⁽⁵⁾의 방법을 보완하여 김치 5 g에 증류수 20 ml를 첨가하여 여과(Toyo No.2)하였으며, 증류수로 반복하였다. 여과액을 DOWEX 50W-X8 cation exchanger column (1.5×6 cm)에 흘리고 증류수 100 ml로 용출시킨 후, 45°C에서 3 ml로 감압 농축시켰다. Acid reagent, color reagent (SIGMA, U.S.A., BUN reagent)를 각각 1.5 ml, 1.0 ml씩 취하여 교반한 후 농축액 60 μ l와 교반하였다. 100°C에서 정확히 10분 반응시키고, 수돗물에서 3~5분 냉각하여 발색시킨 후, 분광 광도계(HITACHI U-1000, Japan)를 이용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

김치에서의 ethyl carbamate 측정법 정립

Ethyl carbamate의 부분 정제 방법은 Canas 등⁽⁵⁾이 사용한 디클로로메탄 용매 추출과 알루미늄, Florisil 고체상 추출을 기본으로 하였으나, 김치의 재료 특성상 많은 보안을 필요로 하여 각 단계별 효율을 검색한 후 이를 기준으로 수정·보완하였다. 각 정제 단계별 효율을 알아보기 위하여 김치에 ethyl carbamate 용액을 89 ppb가 되도록 첨가한 후 각 시료 처리 단계 후 시료 내 ethyl carbamate 잔존량을 측정, 회수율을 계산하였다. 첫 단계로는 김치에 함유되어 있는 불용성 고분자 물질과 수용성 물질을 제거하기 위하여 Canas 등⁽⁵⁾의 방법에 준하여 균질화시킨 김치를 분액 깔때기에 넣고 디클로로메탄으로 추출하였다. 3번 반복 추출한 결과 세 시료 평균 20%의 회수율을 나타내었다. 효율을 개선하기 위하여 추출 매체를 ethyl carbamate와 구조가 유사하며 물보다 비중이 낮은 에틸아세테이트로 전환하고 30분간 교반 추출한 후 2,500 g에서 6분 동안 원심분리시켜 상을 분리하였다. 잔여 수용액 층의 추출 과정을 4번 반복한 후 상층액을 모아 농축시킨 결과 회수율이 93%로 증가하였다. 두 번째 단계로 추출액을 Celite 545와 완전히 혼합한 후 불

활성화시킨 알루미늄과 무수 황산나트륨 칼럼 윗층에 충전시킨 뒤 디클로로메탄으로 용출시킨 결과 회수율은 90%이었다. 세 번째 단계로 Florisil 칼럼에 용출액을 흡착시킨 후 디클로로메탄으로 비극성 물질을 씻어 내고, 흡착된 ethyl carbamate를 7% 메탄올/디클로로메탄으로 용출시킨 결과 효율이 68%이었다.

알코올 음료의 ethyl carbamate 추출법을 부분 수정한 위의 방법은 ethyl carbamate의 회수율을 5배 정도 증가시켰으나, 김치에 적용하기에는 여러 문제점이 계속 존재하였다. 배추김치의 주요 부재료인 고추가루로부터 유래된 안토시아닌, 카로티노이드 등의 색소를 비롯한 여러 소수성 화합물이 잔류하여 피크 감도를 낮추고 GC 칼럼을 오염시킬 뿐만 아니라 점도가 높아 ethyl carbamate의 검출 시간이 일정하지 않은 원인이 되었다.

따라서, 이들 소수성 물질들을 상대적으로 극성이 큰 ethyl carbamate로부터 선택적으로 제거하기 위해, 극성 차이에 의한 분리를 시도, C_{18} 수지를 이용한 고체상 추출을 정제 과정에 포함시켰다. 에틸아세테이트 추출 단계 후, 농축된 시료를 수용액 상태로 C_{18} 칼럼에 흡착시킨 후 극성 용매인 메탄올로 용출한 결과, 소수성 색소들은 흡착된 상태로 ethyl carbamate 분획이 선택적으로 용출됨이 확인되었다. 이 분획을 앞의 방법과 같이 계속적으로 알루미늄, Florisil 칼럼을 거친 후 GC를 사용하여 ethyl carbamate를 검출하였다.

위의 방법으로 부분 정제된 김치 추출액을 GC로 분리하여 불꽃이온검출기(FID, 680D 영인 GC)로 검출하였을 때 검출 한계 농도는 8.9 ng/ μ l 이었으나, ethyl carbamate 피크 근처에 상이한 두개의 피크가 근접되어 나타나 baseline이 불안정하고 잔존 화합물이 많아 ethyl carbamate의 농도가 상대적으로 낮은 김치에서 ethyl carbamate를 검출하기에는 감도가 너무 낮다고 관찰되었다. 따라서 감도가 높은 질량 분석기를 검출기로 사용하기로 결정하고, 50에서 200까지의 원자 질량 범위에서 주사된 총 이온 가스 크로마토그램을 얻은 결과, ethyl carbamate가 다른 피크와 분리되었다.

표준 ethyl carbamate 피크와 검출된 김치 내의 ethyl carbamate 피크의 질량 분석 스펙트럼(EI)을 비교한 결과(Fig. 1), 분자 이온 m/z 89, 메틸기가 제거된 토막 이온 m/z 74와 McLafferty 자리 옮김 반응 산물인 m/z 62 토막 이온이 두 스펙트럼에서 공통적으로 나타남을 확인할 수 있었으며, 이 외의 토막 이온은 상대적으로 매우 적어 피크의 순도를 보여 주었다. 그중 카르보닐 화합물의 특징인 McLafferty 토막 이온(ethyl carbamate의 경우 m/z 62)이 주 봉우리로 나타

나 높은 감도와 선택 효과로 정량에 적합하게 관찰되었는데 이는 Brumley 등⁽¹⁹⁾과 일치하는 결과이다. 따라서 정량에는 선택성과 감도가 높은 m/z 62 토막 이온을 이용하여 선택 이온 모드(SIM)에서 외부 표준 물질과 비교하여 농도를 측정하였다. 그러나 아직도 불순물이 많이 남아 있고 ethyl carbamate의 상대적 농도가 매우 낮으므로, 내부표준물질을 사용하는 방법으로 대체하고, 효율을 유지하며 다른 화합물을 제거할 수 있는 방법을 추가로 사용하여 ethyl carbamate 측정 감

도를 더 높일 수 있는 방법이 계속 연구되어야 하겠다. Ethyl carbamate 표준 용액과 부분 정제한 김치 추출액의 질량분석 가스크로마토그램(GC-MS-SIM)을 Fig. 2에 제시하였다.

김치의 ethyl carbamate 농도

앞에 정립된 방법을 이용하여, 전국에서 수집된 김치 시료의 ethyl carbamate 농도를 측정하여 Table 2에 제시하였으며, ethyl carbamate 농도 범위는 검출 한계 농도인 0.3 ppb 이하부터 4.6 ppb까지 분포하였다. 이는 정제 효율을 고려하지 않은 농도이며, 약 40%에 달하는 총 회수율을 고려하면 최고 10 ppb 이상의 ethyl carbamate가 김치에서 측정되었다고 하겠다.

김치 시료와 같이 수집된 자료 중 몇몇 첨가에 따라

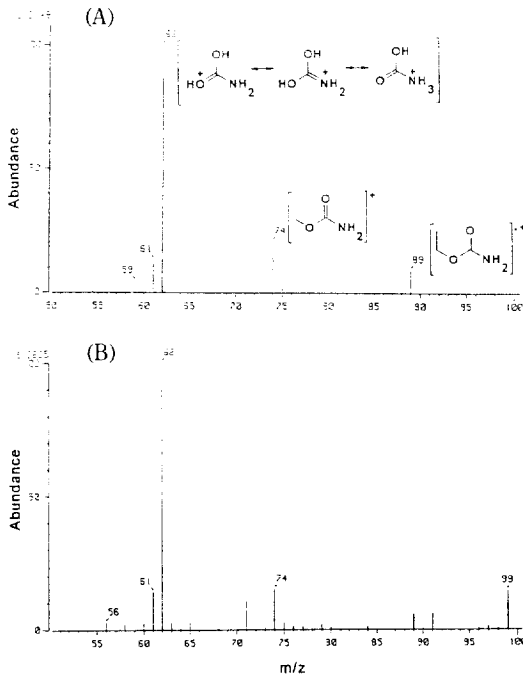


Fig. 1. Mass spectral fragmentation pattern of ethyl carbamate standard (A) and peak at the same retention time from kimchi extract (B)

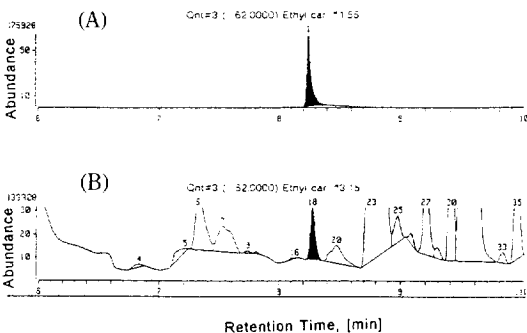


Fig. 2. GC-MS-SIM chromatogram of ethyl carbamate standard (A) and kimchi extract (B) monitored at the m/z 62

Table 2. Ethyl carbamate concentration in collected kimchi samples

No.	Province	Ethyl carbamate (ppb) ⁽¹⁾	No.	Province	Ethyl carbamate (ppb)
1	Kyunggi	0.8	11	Cheju	0.8
2	Seoul	n.d. ⁽²⁾	12	Cheju	0.5
3	Chungchung	0.8	13	Cheju	0.7
4	Chungchung	n.d.	14	Kangwon	3.9
5	Chungchung	4.6	15	Kangwon	1.0
6	Chunra	1.2	16	Local market ⁽³⁾	0.7
7	Chunra	n.d.	17	Local market	0.5
8	Chunra	0.4	18	Local market	0.4
9	Kyungsang	1.1	19	National brand	1.2
10	Kyungsang	0.8	20	National brand	0.3

⁽¹⁾Ethyl carbamate concentrations were not corrected for the recoveries during the partial purification steps

⁽²⁾n.d.: not detected

⁽³⁾Local market: Home-made variety sold in the conventional market in Seoul

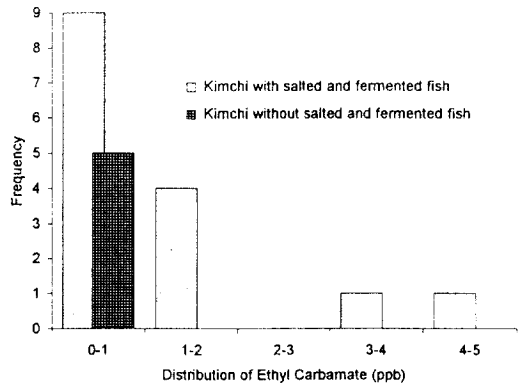


Fig. 3. Dependence of ethyl carbamate concentration on the presence of salted and fermented fish in kimchi

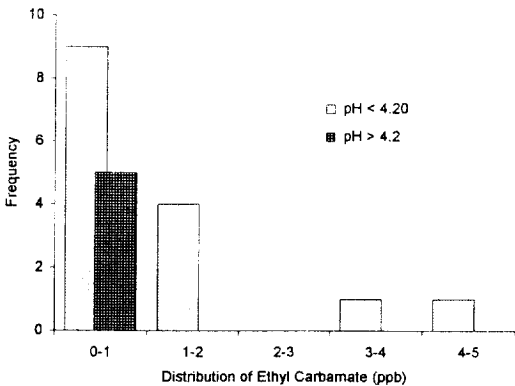


Fig. 4. Dependence of ethyl carbamate concentration on pH of kimchi

김치를 분류하고 이에 따른 ethyl carbamate의 분포를 Fig. 3에 나타내었다. 그림에서 쉽게 볼 수 있듯이 젓갈 비침가군의 경우 모두 1 ppb 이하의 ethyl carbamate 함량을 나타낸 반면 1 - 5 ppb까지의 ethyl carbamate 분포를 나타내는 김치는 모두 젓갈을 첨가한 것으로 나타났다.

Ethyl carbamate의 함량과 김치내 화학적 지표

Ough 등⁽³⁾은 포도주 내의 ethyl carbamate 생성에 관한 연구에서 pH에 따라 ethyl carbamate 형성이 증가한다고 보고하였다. 따라서 김치에서 숙성의 지표로 사용되는 pH와 숙성 정도에 영향을 준다고 보고된 염도와 김치 내의 ethyl carbamate 농도와의 관계를 추정하고자 염도와 pH를 측정하여, Table 3에 제시하였다.

Fig. 4는 김치의 pH와 ethyl carbamate 분포 관계에 대한 Table 3의 자료를 재구성한 것이다. pH와 ethyl carbamate 농도에서 유의적인 비례 관계는 찾을 수 없었으나, Table 3과 Fig. 4에 나타나듯이 ethyl carbamate 농도가 검출 한계 이하인 3개의 김치 시료는 모두 pH 4.2 이상의 미숙성 시료이었으며, 1.0 ppb 이상인 시료 6개 중 2시료는 pH 4.00 - 4.05, 4시료는 pH 3.6 - 4.0으로 숙성이 된 시료에서 나타나 김치 숙성과 ethyl carbamate의 농도와의 양의 상관 관계를 추정하게 하였다.

염도는 1.19-4.95%로서 시료에 따라 다양하였다. 염도가 1.40%인 김치는 ethyl carbamate가 4.6 ppb, 염도가 2.70%인 김치는 ethyl carbamate가 1.2 ppb, 염도가 4.95%인 김치의 ethyl carbamate 농도가 0.8 ppb로 염도가 높아질수록 ethyl carbamate가 감소하는 경향을 보였으나 이 경우도 유의적인 비례 관계는 없었다. 이는 각 시료마다 염도는 다르지만 숙성 정도는 비슷하

Table 3. Selected fermentation indices for the kimchi samples utilized in ethyl carbamate determination

No.	pH	Salt content (% w/v)	Urea (ppm)	Ethyl carbamate (ppb)
1	3.90	3.24	23.8	0.8
2	5.07	3.80	35.4	n.d.
3	3.99	3.67	24.8	0.8
4	4.62	3.50	12.1	n.d.
5	4.03	1.40	26.3	4.6
6	3.94	3.02	26.4	1.2
7	4.22	3.49	33.9	n.d.
8	4.24	2.18	34.7	0.4
9	3.99	4.42	22.0	1.1
10	3.90	4.95	25.5	0.8
11	5.85	3.97	19.0	0.8
12	3.57	1.19	29.0	0.5
13	3.82	1.94	46.9	0.7
14	3.81	2.93	39.2	3.9
15	4.04	2.86	42.3	1.0
16	3.98	3.00	43.9	0.7
17	3.80	2.74	43.7	0.5
18	4.09	2.83	15.3	0.4
19	3.65	2.70	32.9	1.2
20	3.68	2.04	13.3	0.3

기 때문에 나타난 결과로 관찰되며, 다양한 염도에서 일정한 기간 숙성시켰다면 시료에 따라 숙성 정도가 달라지고, 결국 ethyl carbamate의 전구체인 요소와 에탄올의 생성량이 영향을 받을 수 있으므로 염도와 ethyl carbamate 농도가 관계없다고 단정지을 수는 없다.

Ethyl carbamate 전구체의 하나인 요소는 아르기닌이 대사되어 요소가 생성되는데, 아직까지 김치 내의 요소 양에 대한 보고가 없었다. 그러나, 김치 내의 단백질이 발효가 진행되면서 효소에 의하여 분해되어 생성된 발효 최적기에 아르기닌 함량이 크게 증가하여 총 유리 아미노산에 대한 함량 비율이 11%이었다는 연구 결과⁽⁴⁾가 있어 최적 숙성기 이후에 요소 농도가 증가할 것이라고 추측하였다. 따라서 Matsudo 등⁽⁵⁾이 간장에 적용한 방법을 수정하여 김치 시료를 여과한 다음 양이온 교환 수지에 통과시켜서 흡광도에 영향을 주는 시트룰린, 오르니틴 등을 포함하는 아미노산을 제거시킨 후 Crocker⁽⁶⁾의 방법에 따라 요소와 diacetylmonoxime의 복합체를 형성하게 하여 분홍색으로 발색시켜 요소 함량을 측정하였다. 측정된 요소 범위는 12 - 47 ppm이었으며, Table 3에 제시한 요소 농도와 ethyl carbamate의 관계는 대체적으로 요소 함량이 높은 시료가 높은 양의 ethyl carbamate 분포를 보였지만, 유의적인 비례 관계는 나타나지 않았다.

포도주의 경우 질소를 강화한 토양에서 재배하여 숙성시킨 포도주의 ethyl carbamate 농도는 숙성 후 남아 있는 요소와 상관관계를 나타내었다⁽²¹⁾. 간장은 요소를 첨가할수록 ethyl carbamate가 더 많이 형성되었지만 실제 간장에 함유된 요소는 3.5 - 7.8 ppm인 반면 첨가된 요소 양이 12.5 - 200 ppm으로 다량이었기 때문에 실제 간장에서 요소 함량에 따른 영향이 있다고 결론지을 수 없었다⁽⁶⁾. 이와 같이 ethyl carbamate와 그 전구체인 요소와의 관계는 요소를 첨가하였거나 질소를 강화한 토양에서 자란 시료에 국한되어 있고 원래 존재하는 요소의 영향은 아직 보고되지 않았다. 본 실험은 강화되지 않은 김치 내에 함유된 잔류 요소 양을 분석하였으므로 비례 관계가 나타나지 않은 것으로 생각된다.

조사 대상 김치 시료 중 ethyl carbamate 함량이 가장 높은 4.6 ppb는 회수율을 고려하면 실제량은 11.5 ppb로 추정된다. 이는 92년 1일 평균 김치 섭취량⁽¹⁵⁾과 1994년 제 6차 개정⁽²²⁾ 표준 체중을 근거하여 추정된 결과 하루에 김치로부터 섭취하는 ethyl carbamate 양은 1.4 µg, 체중 kg당 섭취량은 남자는 23.3 ng, 여자는 27 ng이었다. 이러한 농도는 캐나다 정부가 보고하였던 허용할 수 있는 하루 섭취량인 체중 kg당 300 ng과 비교하였을 때 약 10배 정도 낮았으나, Schlatter와 Lutz⁽²³⁾가 사람에게 실질적으로 안전한 하루 섭취량 (virtually safe dose)을 체중 kg당 20~80 ng이라고 추정 한 양과, California's Proposition 65⁽²⁴⁾에 제시된 큰 위험이 없는(no significant risk) ethyl carbamate의 하루 섭취량인 0.7 µg 보다는 높은 양으로 동물 실험 결과를 외삽하는 방법에 따라 무시할 수 없는 위해도를 나타낸다고 생각된다.

이상의 결과를 종합하였을 때 숙성된 김치에 존재하는 ethyl carbamate 함량은 대부분의 김치가 그 자체 만으로는 커다란 유해 요인으로 작용할 수는 없으나, 김치에 따라서 ethyl carbamate의 함량이 차이가 날 뿐 아니라 김치 섭취량이 개인에 따라 큰 차이가 있으며, 김치에 첨가하는 재료의 종류와 그 양에 따라 ethyl carbamate 함량이 증감할 수 있고, 김치 이외의 발효식품에서 유래하는 ethyl carbamate의 양은 위의 추정치에 포함되어 있지 않으므로, 여러 종류의 발효식품이 많은 한국 식단의 경우 식생활에서 유래되는 ethyl carbamate에 의한 인체에 대한 위해성 여부를 무시할 수는 없다 하겠다.

이 논문에서는 김치 중 현재 가장 많이 섭취되는 종류인 배추김치 내의 발암원 ethyl carbamate의 존재 여부를 확인하기 위하여 그 정량법을 정립하고, 실제 한

국인이 섭취하고 있는 김치를 수집하여 그 존재를 확인함으로써 국민 보건에 영향을 미칠 수 있는 건강 저해 요인을 확인하는 데에 그 목적을 두었다. 그러나, 이 화합물의 위해도를 정확히 추정하기 위해서는 김치 이외의 다른 식품에서의 정량도 필수적이며, 형성 조건이나 과정 등을 밝히는 총체적인 연구가 필요하다 하겠다.

요 약

한국의 발효식품 중 가장 많이 섭취되고 있는 김치 중에서 배추김치를 각 지방에서 15개, 시중에서 판매되고 있는 5개를 수집하여 김치의 특성을 고려하여 ethyl carbamate의 부분 정제를 시도하였다. 단계별 효율을 검색하면서 에틸아세테이트로 추출하여 불용성 고분자 물질과 수용성 물질을 제거하고, C₁₈ 수지로 소수성 색소를 제거한 후 알루미늄, Florisil을 순차적으로 통과시켜서 수분과 비극성 물질을 제거하는 부분 정제법을 정립하였다. 가스 크로마토그래프 상에 분리된 표준 ethyl carbamate 피크와 같은 시간에 검출된 김치 추출액의 피크의 질량 분석 스펙트럼을 비교한 결과, 분자 이온 m/z 89와 m/z 74, 62 토막 이온이 공통적으로 나타났다. 선택 이온 모드로 감도와 선택성이 가장 좋은 McLafferty 토막 이온 m/z 62에서 정량한 결과, ethyl carbamate의 범위는 검출 한계 농도 이하부터 4.6 ppb까지 분포하였으며, 김치의 숙성이 진행될수록 ethyl carbamate 농도는 증가하는 경향을 보였다. 이 양은 다른 식이성 고려하지 않고 김치에서만 하루에 섭취하는 ethyl carbamate 양으로 추정하였을 때, 사람에게 실질적으로 안전하다고 보고된 양 정도의 수준에 미치는 것으로 나타났다.

감사의 말

본 연구는 서울대학교 발전기금 포철 학술 연구비의 지원으로 수행되었으며, 이에 포항종합제철에 감사드립니다.

문 헌

1. Zimmerli, B. and Schlatter J.: Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. *Mutation Research*, **259**, 325 (1991)
2. Battaglia, R., Conacher, H.B.S. and Page, D.: Ethyl carbamate (urethane) in alcoholic beverages and foods: a review. *Food Add. Contam.*, **7**, 477 (1990)

3. Canas, B.J., Harvey, D.C., Robinson, L.R., Sullivan, M. P., Joe Jr. F.L. and Diachenko, G.W.: Ethyl carbamate levels in selected foods and beverages. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, **72**, 873 (1989)
4. Hasegawa, Y., Nakamura, Y., Tonogai, Y., Terasawa, S., Ito, Y. and Chiyama, M.: Determination of ethyl carbamate in various fermented foods by selected ion monitoring. *J. Food Prot.*, **53**, 1058 (1990)
5. Matsudo, T., Aoki, T., Abe, K., Fukuta, N., Sasaki, M. and Uchida, K.: Determination of ethyl carbamate in soy sauce and its possible precursor. *J. Agric. Food chem.*, **41**, 352 (1993)
6. Mirvish, S.S.: The carcinogenic action and metabolism of urethane and N-hydroxyurethane. *Adv. Cancer Res.*, **11**, 1 (1968)
7. Ough, C.S.: Ethyl carbamate in fermented beverages and foods. I. Naturally occurring ethyl carbamate. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 323 (1976)
8. Diachenko, G.W., Canas, B.J., Joe, F.L. and DiNovi, M.: Ethyl carbamate in alcoholic beverages and fermented foods. In *Food Safety Assessment*, Finley, J.W., Robinson, S.F. and Armstrong, D.J. (Ed.). American Chemical Society, Washington, DC. p.419 (1992)
9. Conacher, H.B.S., Page, B.D., Lau, B.P.Y., Lawrence, J. F., Bailey, R., Calway, P., Hanchay, J.P. and Mori, B.: 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 (1987)
10. Dennis, M.J., Howarth, N., Key, P.E., Pointer, M. and Massey, R.C.: Investigation of ethyl carbamate levels in some fermented foods and alcoholic beverages. *Food Add. Contam.*, **6**, 383 (1989)
11. Cairns, T., Siegmund, E.G., Luke, M.A. and Doose, G. M.: Residue levels of ethyl carbamate in wine and spirits by gas chromatography and mass spectrometry/mass spectrometry. *Anal. Chem.*, **59**, 2055 (1987)
12. Joe, F.L.Jr., Kline, D.A., Miletta, E.M., Roach, J.A.G., Roseboro, E.I. and Fazio, T.: Determination of urethane in wines by gas-liquid chromatography and its confirmation by mass spectrometry. *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, **60**, 509 (1977)
13. Faulh, C., Catsburg, R. and Wittkowski, R.: Determination of ethyl carbamate in soy sauces. *Food Chemistry*, **48**, 313 (1993)
14. Ough, C.S., Stevens, D., Sendovski, T., Huang, Z. and An, D.: Factors contributing to urea formation in commercially fermented wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **41**, 68 (1990)
15. 보건사회부: 국민영양조사보고서 (1987, 1990, 1991, 1992)
16. 이진희: 김치의 부재료가 발효 과정 중 물리화학적 및 미생물학적 특성에 미치는 영향. 서울대 박사학위 논문 (1994)
17. Mheen, T.I. and Kwon, T.W.: Effect of temperature and salt concentration on kimchi fermentation. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **16**, 443 (1984)
18. Crocker, C.L.: Rapid determination of urea nitrogen in serum or plasma without deproteinization. *Am. J. Technol.*, **33**, 361 (1960)
19. Brumley, W.C., Canas, B.J., Perfetti, G.A., Mossoba, M. M., Sphon, J.A. and Corneliusen, P.E.: Quantitation of ethyl carbamate in whiskey, sherry, port, and wine by gas chromatography/tandem mass spectrometry using a triple quadrupole mass spectrometer. *Anal. Chem.*, **60**, 975 (1988)
20. Ough, C.S.: Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. II. Possible formation of Ethylcarbamate from diethyl dicarbamate addition to wine. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 328 (1976)
21. Ough, C.S., Stevens, D. and Almy, J.: Preliminary comments of effects of grape vineyard nitrogen fertilization on the subsequent ethyl carbamate formation in wines. *Am. J. Enol. Vitic.*, **40**, 219 (1989)
22. 유태영, 최중명, 박순영, 이종미: 한국인의 체위 기준치. 한국영양학회 추계 심포지움 초록, p.77 (1994)
23. Schlatter, J. and Lutz, W.K.: The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assesment at human dietary exposure levels. *Food Chem. Toxicol.*, **28**, 205 (1990)
24. Kilgore, W.W.: California's proposition 65, Extrapolating animal toxicity to human. *Am. J. Ind.*, **18**, 491 (1990)

(1995년 11월 6일 접수)