

발효 중 생성되는 유해물질: 에틸카바메이트

고 은 미

서울여자대학교 식품영양학과

I. 서론

발효식품은 미생물의 작용에 의해 유기물이 분해되어 새로운 성분을 합성하는 ‘발효’라는 과정을 통해 만들어진 식품을 총칭한다. 발효식품은 미생물의 종류 및 식품의 재료에 따라 다양해지는데, 우리 국민이 섭취하는 대표적인 발효식품으로는 간장, 된장, 고추장, 김치류, 장아찌류, 젓갈류, 식초, 요구르트 등이 있다. 또한, 곡류 또는 과일의 발효에 의해 탁주, 약주, 포도주, 매실주 등의 알코올음료가 제조된다. 발효과정에서 식품의 영양가, 기호성, 저장성 등이 증진되는 이로운 점이 있는 반면에, 유해물질인 에틸카바메이트(ethyl carbamate), 곰팡이독소, 바이오제닉아민류(biogenic amines)가 생성되기도 한다.

식품을 제조·가공·조리하는 과정에서 생성 및 잔류되는 유해물질이 미량일지라도 음식물을 통해 일생 동안 섭취되기 때문에 안전성에 대한 관심이 높아지고 있다. 언론 등에서 제조 및 가공 중 발생하는 유해물질에 대하여 식품안전 문제를 이슈화함으로써 먹거리에 대한 국민들의 불안감이 고조되고 소비자의 불신이 가중되고 있다. 따라서, 발효식품에 존재하는 것으로 보고된 유해물질들 중에서 수 년 동안 에틸카바메이트에 대한 연구를 수행한 경험을 바탕으로 에틸카바메이트의 식품 중 함량, 독성기전, 저감화방법, 국내외 동향 등을 요약하고자 한다.

II. 에틸카바메이트

에틸카바메이트($\text{H}_2\text{NCOOC}_2\text{H}_5$, urethane)는 식품의 저장 및 숙성 과정에서 자연적으로 생성되는 화합물이다. 섭취된 에틸카바메이트는 CYP2E1에 의해 vinyl carbamate로 대사된 후 epoxidation을 거쳐 DNA, RNA 및 단백질과 adduct를 형성하여 실험동물의 다양한 기관(간, 폐, 난소, 유선 등)에서 종양(tumor)을 유발한다고 알려져 있다. 지금까지 실험동물의 발암증거는 충분하지만 인체에 대한 발암증거가 제한적이기 때문에, 국제암연구소(International Agency of Research on Cancer, IARC)는 에틸카바메이트를 ‘인체발암추정물질(probably carcinogenic to human)’을 의미하는 Group 2A로 분류하였다(IARC 2007).

제외국의 경우를 보면, 알코올음료 중 포도주, 청주, 위스키에서 높은 농도의 에틸카바메이트가 검출되었는데, 특히 핵과류(stone fruits, 살구, 매실, 체리 등)로 제조된 브랜디와 증류주에서 매우 높게 검출된 사례가 있다(Weber and Sharypov 2009). 이러한 결과는 미국, 캐나다, 프랑스, 독일, 체코 등이 포도주, 증류주, 청주, 브랜디에 에틸카바메이트의 허용기준치를 설정하는 계기가 되었다. 알코올음료의 종류에 따라 국가 별 관리기준은 약간 다르지만 일반적으로 허용기준치는 다음과 같다: 포도주(30 $\mu\text{g/kg}$), 알코올강화포도주(100 $\mu\text{g/kg}$), 증류주(150 $\mu\text{g/kg}$), 청주(200 $\mu\text{g/kg}$), 과일브랜디(400 $\mu\text{g/kg}$). 우리나라는 포도주(포도를 원료로 하여 제조된 알코올함량 15% 미만인 제품에 한하며, 다른 과실 등이 첨가된 포도주는 제외)에만 에틸카바메이트 기준치가 30 $\mu\text{g/kg}$ 이하로 설정되어 있다. 또한, 발효식품인 요구르트, 간장, 식초, 푸딩, 효모추출물, 치즈, 빵, 토스트, 과일쥬스 등에서도 에틸카바메이트가 미량 검출되었다(IARC 2010).

우리나라는 1996년부터 학계와 국가기관이 에틸카바메이트에 대한 관심을 갖게 되면서 관련 연구가 시작되었다. 식품의약품안전청이 2007-2008년에 국가용역과제로 발효식품의 안전성 확보를 위해 에틸카바메이트를 모니터링한 결과를 보면, 장류, 김치류, 젓갈류 등 총 218건 시료 중 29건에서 에틸카바메이트가 검출되었으며 검출 수준은 불검출-240 ppb (평균 2 ppb)이었고, 김치류, 젓갈류, 치즈에서는 검출되지 않았다(식품의약품안전청 보고서 2007, 2008). 우리나라의 대형 유통매장에서 95개 주류(탁주, 청주, 약주, 과실주, 소주, 리큐르, 브랜디)를 수집하여 에틸카바메이트 함량을 분석한 연구에서 탁주(0.63 ppb)에 비해 약주(7.01 ppb)와 청주(14.11 ppb)에서 약간 높았으며 소주에서는 검출되지 않았다(김동호 등 2013). 복분자주와 포도주는 각각 1.66 ppb, 2.64 ppb로 포도주에 대한 허용기준치인 30 ppb와 비교하였을 때 안전한 수준이었다. 하지만, 조사 대상 주류 중에서 핵과류인 매실이 주원료인 매실주에서는 에틸카바메이트 평균 농도가 79.18 ppb로 가장 높았다. 90일 동안 설탕만으로 숙성한 매실엑기스에서는 에틸카바메이트가 검출되지 않은 반면에 알코올과 숙성하였을 때는 60일부터 에틸카바메이트가 검출되었다고 보고되었다(김난영 등 2013). 매실 과육만으로 매실주를 제조하였을 때는 에틸카바메이트가 생성되지 않은 반면에 매실씨로 제조된 경우에는 에틸카바메이트가 생성되었다(황래홍 등 2009). 핵과류의 씨에 주로 함유되어 있는 시안배당체는 효소반응으로 시안화수소산으로 분해된 후 산화되어 cyanate를 생성하는데, 이 화합물이 에탄올과 반응하여 에틸카바메이트를 생성하는 것으로 알려져 있다. 매실의 침출기간이 길어질수록 침출온도가 높을수록 에틸카바메이트 생성량이 증가하는 것으로 보고되었다(국세청기술연구소, 2007). 또한, 매실을 침출하는 동안 자외선의 양이 많으면 암실이나 냉장고에 보관했을 때 보다 에틸카바메이트 생성량이 많아졌다고 한다.

에틸카바메이트는 N-carbamyl 화합물(요소, 시트룰린, 카바밀포스페이트) 또는 cyanate가 에탄올과 반응하여 생성된다. 포도주의 발효에 관여하는 젖산발효 미생물인 *Oenococcus oeni*, *Lactobacillus hilgardii*, *X1B*, *Leuconostoc oenos*, *Lactobacillus buchneri*가 아르기닌을 대사시켜 에틸카바메이트 전구체인 요소 등을 생성하는 것으로 알려져 있다(Arena 등 2005). 간장의 경우에는 내염성 미생물인 *Pediococcus halophilus*가 아르기닌을 대사시켜 에틸카바메이트 전구체인 시트룰린을 생성한다고 보고되었다(Matsudo 등 1993). 당 발효로 생성되거나 원료로 첨가된 에탄올이 아르기닌 대사로 생성된 N-carbamyl 화합물과 반응하여 에틸카바메이트를 생성한다. 또한, 발효온도, 빛, 저장기간 등이 에틸카바메이트 생성에 영향을 주는 인자로 밝혀졌으며, 일부 금속이온이 에틸카바메이트 생성을 촉매한다고 알려져 있다(Weber & Sharypov 2009).

지난 20여년 동안 발효식품과 알코올음료에서 에틸카바메이트 생성을 낮추기 위한 다양한 방법이 시도되어 왔다. 포도주에서 에틸카바메이트의 전구체인 요소를 적게 생성하는 균주를 이용하거나 발효 중 생성된 전구체인 요소를 분해할 수 있는 효소인 acid urease를 이용하는 방법이 고안되었으며, 실제로 알코올음료의 제조공정에 적용되기도 하였다. 미국 FDA와 캘리포니아양조협회는 포도주의 에틸카바메이트 함량을 낮추기 위해 'Ethyl Carbamate Preventative Action Manual'을 작성하여 포도주 제조업자들에게 보급하고 에틸카바메이트 생성을 저감화 할 것을 권고하고 있다(Butzke and Bisson, 1997). 유럽 식품안전청은 2010년 3년(2010~2012년) 동안 핵과류 증류주의 에틸카바메이트 농도를 모니터링하기 위해 관련업체에 생산된 제품의 에틸카바메이트 함량을 보고하도록 하였다(Commission Recommendation 2010/133/EU).

식품의약품안전청은 2011년에 국내외 에틸카바메이트 저감화와 관련된 자료를 정리하여 에틸카바메이트 생성을 줄일 수 있는 제조 공정 및 방법을 '주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼'로 작성하여 배포하였다. 에틸카바메이트 저감화 전략으로 시안화합물 등의 에틸카바메이트 전구체의 생성을 억제하여 저감화(핵과류 씨앗에서 시안배당체가 술덧으로 침출되지 않도록 함, 효모에 의해 요소 및 N-carbamyl 화합물이 생성되지 않도록 함, 젖산균에 의해 시트룰린이 생성되지 않도록 함)시키는 방법과 제조공정 및 유통기간과 증류방법을 개선(빛에 최소한 노출, 25℃ 이하로 온도 유지, 발효기간 단축)하는 방안을 주류 별로 권고하고 있다(식품의약품안전청 2011). 식품의약품안전청에서는 매실주를 제조 시 에탄올 함량을 50% 이하로 낮추고, 매실의 침출기간이 길어질수록 매실 씨앗에 포함된 시안화합물의 용출이 높아질 수 있으므로 매실의 침출기간을 100일 이내로 할 것을 권장하고 있다(식품의약품안전청 2011). 또한, 핵과류의 침출 시 침출온도를 낮게 유지시키고 침출기간을 줄여야 하며, 침출액을 저장할 때 상온 이하의 햇빛이 들지 않는 장소에 보관하면서 숙성해야 에틸카바메이트 생성량을 줄일 수 있다고 하였다.

FAO/WHO의 식품규격위원회(JECFA)는 2005년에 에틸카바메이트의 발암성과 관련된 동물실험 결과를 용량-반응(dose-response)으로 모델링하여 인체에 영향을 미치지 않는 안전기준치는 0.25 mg/kg bw/day (BMDL₁₀ for alveolar and bronchiolar adenoma or carcinoma)으로 추정하였다. 또한, 발효식품과 비알코올음료의 섭취에 따른 에틸카바메이트의 1인 1일 평균섭취량을 1 µg로 산출하였으며, 이는 대략 15 ng/kg bw/day에 해당된다. Schlatter 등(2010)은 BMDL₁₀을 이용하여 노출력(Margin of Exposure, MOE)을 산출한 결과, 16,600으로 우려할 수준은 아니라고 하였다(일반적으로 특정물질의 노출력이 10,000 이하이면 위험이 우려되는 노출수준으로 간주된다). 하지만 알코올음료가 포함되면 에틸카바메이트의 평균섭취량이 80 ng/kg bw/day로 크게 증가되어 노출력은 3,125으로 급감하면서 우려되는 수준에 도달된다고 보고하였다. 이후에 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA)도 에틸카바메이트 섭취에 의한 노출력을 산출하였는데, 알코올음료를 제외한 식품으로부터는 18,000, 알코올음료를 함께 섭취하는 경우는 5,000, 과일브랜드를 과다 섭취하는 경우에는 600 이하가 된다고 보고하였다(EFSA 2007). 이러한 결과는 알코올음료의 섭취에 의해 에틸카바메이트의 위험도가 크게 증가됨을 보여준다.

국내에서는 식품의약품안전청(2008)에서 알코올음료와 간장을 제외한 발효식품으로부터의 한국인의 에틸카바메이트 섭취량은 1.98 ng/kg bw/day이고, 노출역(MOE)은 151,515이라고 하였다. 이러한 수치는 유럽이나 미국에서 발표한 자료와 비교하면 위험은 상대적으로 낮은 편이다. 하지만 김치류, 장류,

젓갈류, 알코올음료 등의 발효식품을 평생 섭취할 뿐만 아니라 각 발효식품에 대한 개인별 섭취량이 크게 다르다는 점을 고려할 때, 에틸카바메이트에 대한 우리 국민의 인체 위해 가능성을 배제할 수 없으므로 지속적인 모니터링이 필요할 것이다.

III. 국내 동향

식품의약품안전처는 ‘식품 유해물질 저감화 5개년 종합계획’ (2013.09~2018.07)을 수립하여 제조, 가공, 조리 중 자연적으로 발생하는 유해물질 23종(에틸카바메이트가 포함됨)에 대한 총식이조사(Total Diet Study)를 실시하여 실태조사 및 위해평가를 수행하고 있다. 연구결과는 에틸카바메이트에 대한 식품 별 허용기준을 설정할 때 과학적 근거자료로 활용될 수 있으며, 식품의 수출입이 점점 세계화되는 추세에 맞추어 국제적 기준치에 부합되는 제품생산을 위한 관리의 필요여부를 판단하는데 중요한 자료로 활용될 수 있을 것이다.

IV. 참고문헌

1. 국세청기술연구소, 주류 품질개선 연구보고서, 2007
2. 김난영, 엄미나, 도영숙, 김중범, 강석호, 윤미혜, 이정복 (2013) 알코올 농도 및 담금비에 따른 숙성 기간별 매실주의 에틸카바메이트 함량조사. 한국식품저장유통학회지 20: 429-434.
3. 김동호, 장한섭, 최규일, 김현정, 김호진, 김효린, 김근성 (2013) 가스크로마토그래피/질량분석기(GC/MS/MS)를 이용한 주류 중 에틸카바메이트 잔류량 조사. 한국식품위생안전성학회지 28: 63-68.
4. 식품의약품안전청 (2007) 식품 중 에틸카바메이트 모니터링 및 위해 평가.
5. 식품의약품안전청 (2008) 발효식품 중 에틸카바메이트 실태조사 및 위해평가.
6. 식품의약품안전청 (2011) 주류 중 에틸카바메이트(EC) 저감화 매뉴얼.
7. 황래홍, 김애경, 박경애, 김지영, 황인숙, 채영주 (2009) 매실주 숙성 중 매실부위, 알콜농도 및 trans-resveratrol이 에틸카바메이트 생성에 미치는 영향. 한국식품위생안전성학회지 24: 194-199.
8. Arena ME, de Nadra MCM (2005) Influence of ethanol and low pH on arginine and citrulline metabolism in lactic acid bacteria from wine. Res Microbiol 156: 858-864.
9. Butzke CE, Bisson LF (1997): US Food and Drug Administration: Ethyl Carbamate Preventive Action Manual. Available from <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/EthylCarbamateUrthane/ucm078546.htm>
10. European Food Safety Authority (EFSA) (2008) Ethyl carbamate and hydrocyanic acid in food and beverages - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants. The EFSA Journal 551: 1-44.
11. IARC (2010) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 96: Ethyl Carbamate pp.1281-1307. Available from <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol96/mono96-7A.pdf>.
12. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (2005) JECFA 64th Meeting, Rome 8-17 February 2005. Food Additives Series 55, pp.205-316.
13. Matsudo T, Aoki T, Abe K (1993) Determination of ethyl carbamate in soy sauce and its possible precursor. J Agr Food Chem 41: 352-356.
14. Schlatter J, Divovi M, Setzer RW (2010) Application of the margin of exposure (MoE) approach to

substances in food that are genotoxic and carcinogenic example: Ethyl carbamate (CAS 51-79-6). Food Chem Toxicol 48: S63-S68.

15. Weber JV, Sharypov VI (2009) Ethyl carbamate in foods and beverages: a review. Environ Chem Lett 7: 233-247.