

LC-MS/MS를 이용한 캔과 병제품의 Bisphenol A 정량 및 위해성평가

서울시보건환경연구원 기획검사팀

최부철 · 정소영 · 신재민 · 장민수 · 김나영 · 이상미 · 김정현 · 채영주

Quantification of Bisphenol A in Canned & Bottled Products by LC-MS/MS and Risk Assessment

Project Inspection Team

**Bu-chuhl Choe, So-young Jung, Jae-min Sin, Min-su Chang,
Na-young Kim, Sang-mi Lee, Jung-hun Kim and Young-zoo Chae**

Abstract

Bisphenol A(2,2'-bis(4-hydroxyphenyl)propane), known as BPA, is an organic compound with the chemical formula $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{C}_6\text{H}_4\text{OH})_2$. Having two phenol functional groups, it is used to make polycarbonate polymers and epoxy resins, as well as other materials used to make plastics, and is used as an antioxidant in PVC plastics. The purpose of this study was to develop an analytical method for detecting BPA using liquid chromatography- electrospray ionization-tandem mass spectrometry(LC-ESI-MS/MS) and to monitor the BPA concentration in canned and bottled food using this method. The precursor ion(Q1) was 227 Da, and the quantitative ion was 211.8 Da(Q3). Each sample was extracted in a mixture of hexane and acetonitrile with bisphenol-d₁₆ as an internal standard, and cleaned with HLB cartridge. The LOD of this method for BPA was 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the LOQ was 0.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries ranged from 94.46~111.13%. We analyzed 181 commercial food samples(128 samples of canned food and 53 samples of bottled food) to determine their BPA contamination levels. BPA was detected in 124 out of 181 samples. The value of BPA in canned(using iron) food, canned(using aluminum) food, and bottled food was 0.3~332.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.2~14.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0.3~60.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The TDI of BPA is 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ per day in Europe(EFSA, 2008). So the TDI of BPA is 3000 $\mu\text{g}/60$ kg bw in adult. These results indicate that the detection levels of BPA in commercial canned food and bottled food were less than the European TDI.

Key words : Bisphenol A, HLB cartridge, LC-MS/MS, Canned food, Bottled food

서 론

Bisphenol A(2,2'-bis(4-hydroxyphenyl)propane, BPA)는 phenol 두 분자와 acetone 한 분자가 축합되어 만들어지는 물질로서 폴리카보네이트 플라스틱(polycarbonate plastic)과 에폭시레진(epoxy resin)합성의 기본원료로 사용된다. 폴리카보네이트 플라스틱은 자동차 부품, 유아용 젖병, 플라스틱 그릇, 안경렌즈 등에 사용되며, 에폭시레진은 식품용기의 캔, 병마개, 식품포장용기, 치과용 수지 등에 사용된다. 이렇게 다양한 분야에서 사용되는 BPA는 내분비계장애물질로 알려져 있는데 일반적으로 인체노출은 통조림캔과 유리병의 마개에 내부코팅제로 사용되는 에폭시페놀릭수지(에폭시레진의 일종)에 의해 주로 일어나며(1), 식품용기 내부에서 접촉되는 식품에 흡수되어 인체에 노출된다. 특히 통조림캔과 유리병은 장기간 저장이 필요한 식품에 사용되기 때문에 멸균을 위한 고온처리가 필요하고 BPA의 녹는점이 150~155°C 인 점을 감안하면 식품으로의 이행가능성이 높을 것으로 사료된다.

BPA의 생산 및 수입현황을 살펴보면 2006년 28만톤을 생산하던 것이 2009년 54만톤으로 두 배 가량 증가하였고, 수입량도 2006년 2만 3천톤에서 2009년 7만 6천톤으로 세 배 가량 증가하였다(1). 환경부에서 실시한 화학물질유통실태조사에 따르면 BPA의 배출·이동량은 2006년 193.1톤, 2007년 91.5톤, 2008년 132.1톤, 2009년 139.1톤, 2010년 143.5톤으로 꾸준한 양이 사용되고 있음을 알 수 있다(2). 이는 국내에서 BPA가 꾸준히 사용되고 있으며 그 결과 국민들이 지속적으로 BPA에 노출되고 있음을 시사한다.

식품의약품안전청에서는 탄산음료, 다류, 커피, 주스, 맥주, 참치, 육제품 등 캔식품에서의 BPA 잔류량을 조사하였는데 그 결과 0.13~13.66 µg/kg으로 조사되었고 그중 고등어와 참치, 콩치, 커피류에서 각각 4.08~12.41 µg/kg, 3.72~13.66 µg/kg, 6.43~7.47 µg/kg, 6.15~9.45 µg/kg으로 다른 식품에 비해 비교적 높은 농도로 검출되었다. 그러나 이러한 결과는 포장에 사용된 캔을 재질별로

분류하여 조사하지 않은 결과이고, 마개가 철 재질로 되어있는 유리병제품에 대해서도 조사가 이루어지지 않았다(3). 따라서 위의 결과가 캔을 재질별(철, 알루미늄)로 분류하여 조사하고, 철 재질로 된 마개를 사용하는 유리병제품에 대해서도 조사할 경우 어떤 변화가 있을지 검토할 필요가 있다.

BPA의 독성에 대해 National Toxicology Program(NTP)에서 2008년 발표한 자료에 따르면 급성독성은 LD₅₀이 래트의 경구투입시 3,300~4,100 mg/kg bw이고, 마우스의 경구투입시 4,100~5,200 mg/kg bw, 토끼의 경구투입시 2,230 mg/kg bw으로 나타났다.

또한 식품의약품안전청에서 2009년에 발표한 자료에 따르면 임신11~18일째 된 마우스에 10 µg/kg bw/day의 BPA에 노출시킨 결과 암컷 F1에서도 과민 시스템과 관련있는 'D-amphetamine-related reinforcing 효과'가 감소하였으며 이는 뇌의 성적 분화기에 노출되었기 때문에 신경행동 기능에 영향을 주었을 것이라고 보고하고 있다(1). 한편 생식과 발생에 영향을 주는 BPA의 농도는 10 µg/kg/day 보다 낮은 저농도이고, 특히 출생전후기의 노출에 따른 발생 독성 영향이 있는 것으로 추정된다고 보고하고 있다(4). 에스트로젠성(Estrogenicity)에 대한 연구결과 습관성 유산의 경력이 있는 45명의 여성환자의 혈청에서 BPA의 농도(2.59 ± 5.23 ng/mL)가 control(0.77 ± 0.38 ng/mL)에 비해 현저히 높고 항핵항체의 농도가 높은 것으로 나타났다(5). 또한 BPA가 남성호르몬 안드로겐과 유사한 작용을 한다고 보고되었다(6). 미국국립독성프로그램(National Toxicology Program, NTP)은 위해성의 우려수준을 serious concern > concern > some concern > minimal concern > negligible concern 5단계로 분류하고 있으며 BPA의 위해성은 some concern에 분류된 것이 두 분야로 첫 번째가 태아, 영유아, 어린이의 신경, 행동에 영향을 끼칠 가능성이 있고 두 번째가 태아, 영유아, 어린이의 전립선에 영향을 끼칠 가능성이었다. minimal concern에 분류된 것은 첫 번째가 직업적인 노출로 높은 농도에 노출된 근로자에 끼치는 영향이었고 두 번째가 태아, 영유아, 어린이의 유선과 성 조숙 현상에 영

향을 끼칠 가능성이었다. 이 같은 분류를 볼 때 BPA의 위해성은 태아, 영유아, 어린이에 주로 관련이 있음을 알 수 있다.

Health Canada에 따르면 BPA의 잠정내용일일섭취량(Provisional Tolerable Daily Intake, PTDI)는 0.025 mg/kg bw/day이며(7), 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA)은 TDI를 0.05 mg/kg bw/day 로 제시하고 있다(8). 미국 환경보호청(Environmental Protection Agency, EPA)에서는 Reference Dose(RfD)로 0.05 mg/kg bw/day을 제시하고 있으며(9), 일본의 경우도 TDI로 0.05 mg/kg bw/day를 제시하는 등 주요국가들에서 대체로 25~50 µg/kg/day를 설정하고 있다.

따라서 본 연구는 LC-MS/MS를 이용한 BPA 분석법을 확립하고, 서울지역에서 유통되는 병포장 제품과 캔포장 제품을 포장용기재질별(철과 알루미늄)로 내용물의 BPA 함량을 분석하였다. 이를 근거로 캔 및 병포장제품의 3회제공량을 통해 섭취되는 BPA 양과 각 국가에서 제시한 PTDI-TDI를 비교했을때 시민건강의 위해 가능성이 있는지를 알아보려고 한다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 실험에 사용한 시료는 2011년 8월-2011년 9월 중 서울지역 대형마트에서 통조림제품을 캔제품과 유리병제품으로 분류하여 수거하였으며, 수거된 제품군은 영유아식, 수산물통조림, 과채통조림, 커피 및 음료류, 식육통조림, 잼류, 곡류가공품 등이었다.

BPA 표준품은 ALDRICH Chemistry(Missouri, USA)를 사용하였고 내부표준물질로 사용된 bisphenol - d₁₆는 KANTO CHEMICAL(Tokyo, Japan)를 사용하였다.

전처리에 사용된 cartridge는 HLB cartridge (Hydrophilic-Lipophilic Balance Sorbent reversed-phase sorbent, Waters Milford,

Massachusetts, USA)를 사용하였고, 유기용매는 acetonitrile(J. T. Baker, NJ, USA)과 n-Hexane(J. T. Baker)을 사용하였으며, 그 외에 Sharkskin filter와 NaCl(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)이 사용되었고, 농축과정에는 EYELA MG-2200(EYELA CO., Tokyo, Japan) 질소농축기를 사용하였다.

2. 전처리방법

시료 중의 BPA 분석은 식품의약품안전처 연구결과보고서 제 2세부연구개발과제 연구결과에서 제시한 방법과(3), Gallart-Ayala H 등의 방법(10), Ana BG 등의 방법(11), Bing S 등의 방법(12)을 검토하여 용매와 카트리지별로 회수율을 재검정한 후 개선하여 사용하였으며 세부적인 요약내용은 그림 1과 같다. 시료의 채취방법은 식품의약품안전처(Ministry of Food & Drug Safty, MFDS)에서 제작한 식품공전에 따라 실시하였고(13), 전처리과정은 다음과 같다. Blixer 5-plus(Robot-Coupe, France)을 이용하여 마쇄, 30 g을 분액여두에 칭량, 내부표준물질(bisphenol - d₁₆)을 첨가, acetonitrile 50 ml와 n-hexane 50 ml를 10분간 혼합, sharkskin filter로 여과, NaCl 10 g이 담긴 사각병에서 혼합 및 층분리, 분리된 acetonitrile층 10 ml 분취, 질소농축기에서 50°C 증발건고, 1 ml methanol에 용해하고 증류수 9 ml와 혼합, HLB cartridge (MeOH 5 ml, 초순수 5 ml로 미리 conditioning)에 loading, HLB cartridge cleaning(5 ml 초순수, 5 ml 40% methanol, 1 ml methanol 순서로), 3 ml methanol로 용출, 증발건고, 70% acetonitrile 1 ml에 재용해하여 시험용액(시료의 농축계수는 6)으로 하였다.

3. 기기 및 분석조건

분석기기는 Agilent Technologies 1200series (Foster City, CA, USA) HPLC와 LC-3200 Q TRAP MS/MS(Applied Biosystem, Singapore) 질량분석기를 사용하였으며, 분석에 사용한 컬럼은 Phenomenex Luna C₁₈(150 mm × 2.0 mm ×

3 μm , CA, USA)이다. 분석조건은 전처리방법을 선정하는 과정과 동일한 참고문헌의 내용을 개선하여 사용하였다. 분석에 사용된 이동상은 acetonitrile과 distilled water를 gradient조건으로 사용하였고, 유속은 0.5 ml/min, precursor ion은 bisphenol A가 227 m/z이고 bisphenol -d₁₆은 241 m/z, product ion으로는 BPA가 211.8과 132.9 m/z이고 bisphenol -d₁₆은 223과 142 m/z이다. 세부적인 분석조건은 표 1과 같다.

4. 분석법 검증

BPA의 검출한계(Limit of detection, LOD), 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)는 BPA 표준품을 각각 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 농도로 조제하여 각 농도별로 3회 반복하여 측정 한 후 International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human use(ICH)에서 제시한 Q2B guideline의 Text and Methodology(Q2R1)에 따라 각 농도에 따른 Slope와 Intercept 및 Intercept의 표준편차를 이용하여 측정하였다(14).

검량선은 BPA 표준품을 70% acetonitrile에

희석하여 10.0, 50.0, 100.0, 500.0, 1000.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도가 되도록 표준용액을 조제하고, 농도별 피크의 면적을 이용하여 단순 선형회귀곡선 형태로 작성하였으며(그림 1), 작성된 검량선의 r² 값이 0.99이상인 경우 검량선으로 사용하였다. 또한 시료에서의 BPA의 농도가 검량선의 범위를 벗어나는 경우에는 단계별로 희석하거나 시료량을 조절하여 검량선 범위내에서 분석되도록 조치하였다.

정확도(accuracy)는 회수율(recovery)로 평가하였으며 회수율의 측정방법은 BPA가 검출되지 않은 시료 30 g에 BPA 표준액을 500.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 농도로 만들어 1 ml와 0.1 ml를 첨가한 후 acetonitrile 층 50 ml에서 10 ml를 취하여 전처리 하고 최종 1 ml로 조제하였다. 따라서 회수율 시험액의 농도는 각각 10.0 $\mu\text{g}/\text{L}$, 100.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 이며 시료의 분석방법과 동일하게 5회 반복 실험하여 측정하였다. 회수율실험은 캔제품 1종류와 병조림제품 2종류, 병음료 1종류를 실시하였는데, 캔포장제품의 경우 대부분 BPA가 검출되어 회수율실험에 사용할 수 없어서 캔포장제품과 동일한 내용물이 비닐로 포장된 것(스팸, 소스, 피클)과 PET병으로 포장된 것(매실음료)를 별도로 구매하여 사용하였다.

Table 1. Analytical conditions of HPLC for BPA

Column	Phenomenex Luna(150 × 2.0 mm × 3 μm)(USA)						
Mobile Phase Flow rate	Time	Distilled Water			Acetonitrile		
	3min	30%			70%		
	4min	0%			100%		
	7min	0%			100%		
	8min	30%			70%		
MS/MS Parameter	Polarity	Negative					
	Curtain gas(psi)	20.00					
	Collision gas	Medium					
	Ion spray voltage(V)	-4500					
	Temperature(°C)	600					
	Ion source gas 1, 2(psi)	50.0, 50.0					
	STD / ISTD	Q1	Q3	DP	CE	EP	CXP
	Bisphenol A(m/z)	227	211.8	-55	-24	-6.0	-2.0
		227	132.9	-55	-30	-6.0	-2.0
	Bisphenol -d ₁₆ (m/z)	241	223	-43	-27	-6.0	-1.0
	241	142	-43	-35	-6.0	-1.0	

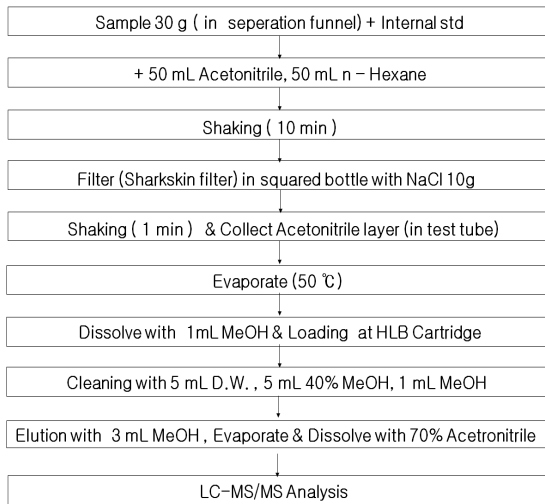


Fig. 1. Flow chart of pretreatment procedure.

정밀도는 회수율 측정시 일내정밀도(intra-day)와 일간정밀도(inter-day)의 RSD(Relative standard deviation, %)를 측정하여 평가하였는데 일내정밀도는 하루에 실험을 5회 실시하여 측정하였고, 일간정밀도는 5일간 동일실험을 반복하여 측정하였다. 회수율 측정시 내부표준물질(Internal standard)로 bisphenol - d₁₆를 사용하여 편차를 보정하였다.

결과 및 고찰

1. 분석법 검증

위 분석방법에 의해 BPA의 LOD($\mu\text{g}/\text{kg}$)와 LOQ($\mu\text{g}/\text{kg}$)를 측정된 결과 LOD는 $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이

었으며 LOQ는 $0.9 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 그러나 시료 전처리과정에서 발생한 농축계수 6을 고려하면 시료에서 측정할 수 있는 농도는 LOD는 $0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이고 LOQ는 $0.15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 이다.

검량선 작성을 위하여 10.0, 50.0, 100.0, 500.0, 1000.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 농도의 standard 용액을 제조하여 농도별 peak의 면적을 측정하고 검량선을 작성하였다 그 결과 검량선의 상관계수(r^2)값은 0.9998이었으며 회귀식은 $y=915x-0.00285$ 이고 검량선은 그림 2와 같다.

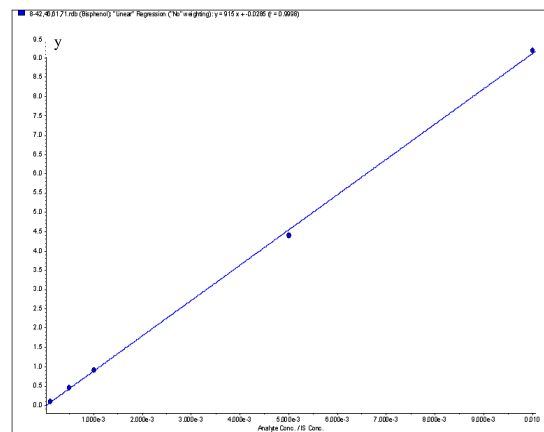


Fig. 2. Calibration curve of BPA.

회수율 측정을 위하여 $10.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 와 $100.0 \mu\text{g}/\text{L}$ 농도에서 제품별로 측정된 회수율은 각각 스팸이 98.56~111.13%, 소스가 100.13~110.10%, 피클이 101.79~107.73%, 매실음료가 94.46~96.13%였다(표 2).

Table 2. Recoveries of BPA for product

Product	Concentration	Intra-day(n=5)		Inter-day(5 days)	
		Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)
Spam	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	105.27	3.83	98.56	6.02
	100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	111.13	3.02	100.09	3.99
Source	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	108.13	2.96	100.13	1.12
	100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	110.10	4.01	100.60	1.35
Pickle	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	103.57	3.49	101.79	1.99
	100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	107.73	1.02	103.18	3.41
Plum juice	10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	95.93	3.16	94.46	7.86
	100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	94.97	3.89	96.13	5.67

정밀도 평가를 위하여 10.0 $\mu\text{g/L}$ 와 100.0 $\mu\text{g/L}$ 농도에서 제품별로 측정한 일내 RSD는 각각 스램이 3.02%와 3.83%, 소스가 2.96%와 4.01%, 피클이 3.49%와 1.02%, 매실음료가 3.16%와 3.89%이었고, 일간 RSD는 각각 스램이 6.02%와 3.99%, 소스가 1.12%와 1.35%, 피클이 1.99%와 3.41%, 매실음료가 7.86%와 5.67%였다(표 2). 본 연구의 chromatogram은 그림 3에

서 BPA의 product ion인 211.8 m/z, bisphenol -d₁₆의 product ion인 223 m/z를 standard와 시료의 MRM(Multiple Reaction Monitoring)으로 각각 제시하였고, 그림 4와 그림 5에서는 TIC (Total Ion Chromatogram)로 BPA의 product ion인 211.8, 132.9 m/z와 bisphenol -d₁₆의 product ion인 223, 142 m/z를 standard와 시료로 각각 제시하였다.

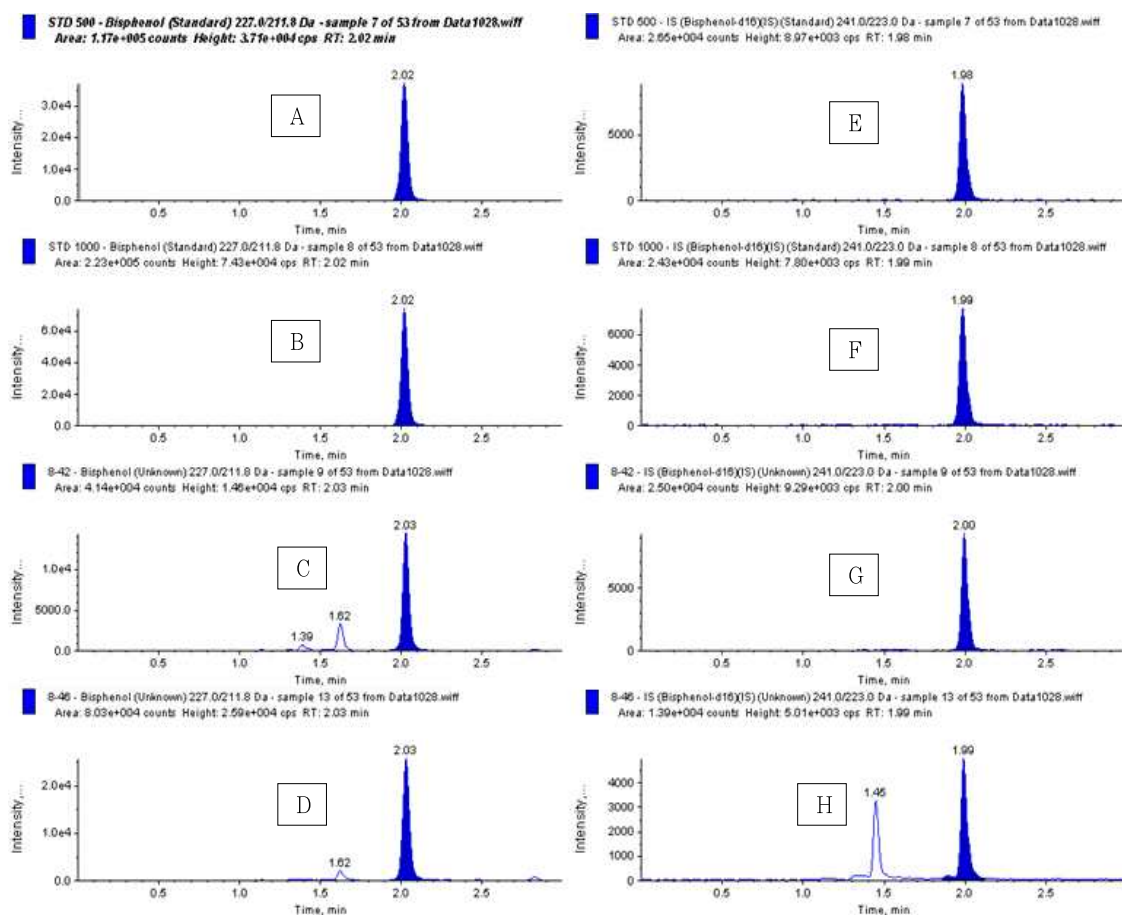


Fig. 3. MRM chromatogram of BPA & bisphenol -d₁₆ product ion by LC-MS/MS.

- A : MRM chromatogram of BPA product ion(211.8 Da) for STD(1000 ppm)
- B : MRM chromatogram of BPA product ion(211.8 Da) for STD(500 ppm)
- C : MRM chromatogram of BPA product ion(211.8 Da) for sample 9
- D : MRM chromatogram of BPA product ion(211.8 Da) for sample 13
- E : MRM chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(223 Da) for STD(1000 ppm)
- F : MRM chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(223 Da) for STD(500 ppm)
- G : MRM chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(223 Da) for sample 9
- H : MRM chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(223 Da) for sample 13

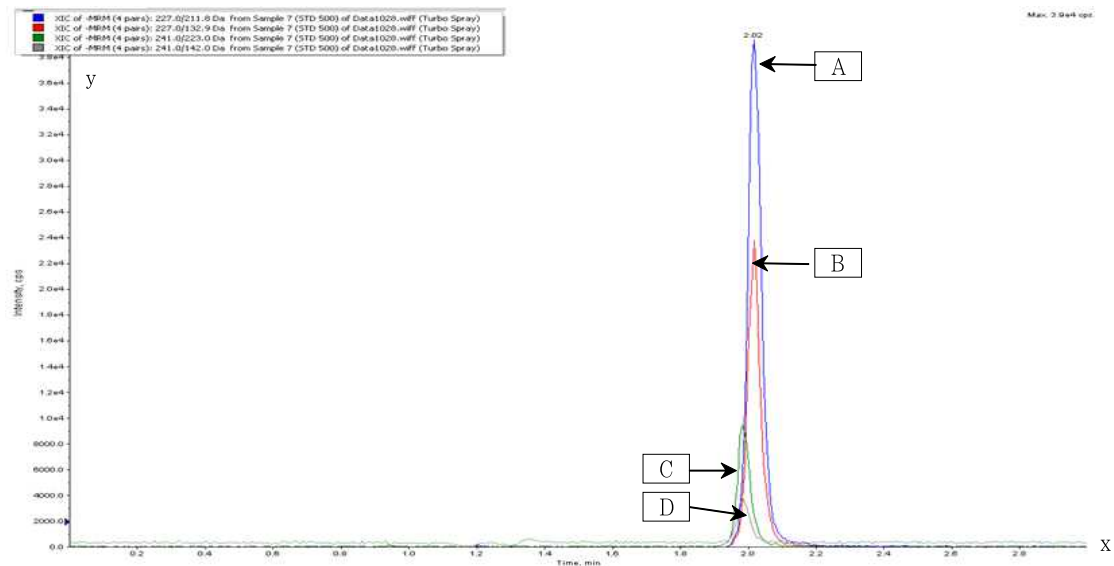


Fig. 4. TIC chromatogram of BPA & bisphenol -d₁₆ standard by LC-MS/MS.

A : TIC chromatogram of BPA product ion(211.8 Da) for STD(500 ppm)

B : TIC chromatogram of BPA product ion(132.9 Da) for STD(500 ppm)

C : TIC chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(223 Da) for STD(500 ppm)

D : TIC chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(142 Da) for STD(500 ppm)

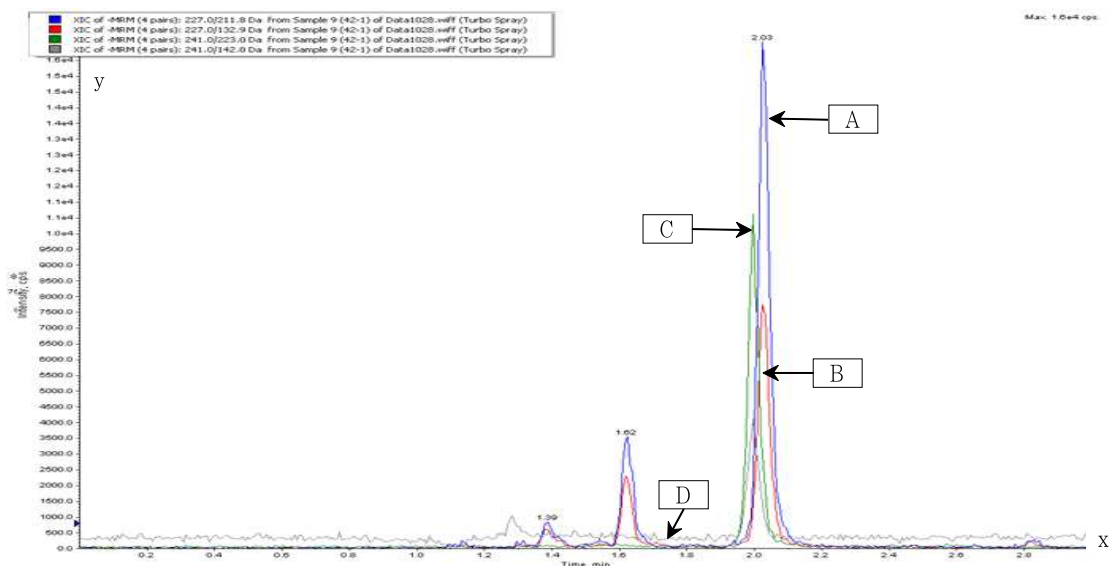


Fig. 5. TIC chromatogram of BPA & bisphenol -d₁₆ for Pacific saury by LC-MS/MS.

A : TIC chromatogram of BPA product ion(211.8 Da) for sample(Pacific saury)

B : TIC chromatogram of BPA product ion(132.9 Da) for sample(Pacific saury)

C : TIC chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(223 Da) for sample(Pacific saury)

D : TIC chromatogram of bisphenol -d₁₆ product ion(142 Da) for sample(Pacific saury)

2. 시료별 bisphenol A 함유량

시료별 BPA 함량을 철 캔제품, 알루미늄 캔제품과 유리병제품으로 분류하여 조사한 결과 철 캔제품은 108개의 시료 중 96개에서 BPA가 검출(88.89%의 검출률)되었으며 검출농도는 0.3~332.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 알루미늄 캔제품은 20개 시료 중 10개에서 검출(50.0%의 검출률)되었고 검출농도는 0.2~14.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 유리병제품은 53개의 시료 중 18개에서 검출(33.96%의 검출률)되었으며 검출농도는 0.3~60.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이었다. 철 캔제품과 알루미늄 캔제품 및 유리병제품의 BPA 평균농도는 각각 34.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 5.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 나타나 철 캔제품이 알루미늄 캔제품과 유리병제품의 7배에 달하는 수치를 보였다(표 3).

분석한 시료를 식품유형별로 분류하여 BPA의 농도와 검출률을 비교하여 보았다. 철 캔제품의 BPA 평균농도는 34.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 인데 그 중 과채가공품의 평균농도가 9.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 나타나 비교적 낮은

수치를 보였다. 그러나 식육가공품과 수산물가공품의 평균농도는 각각 42.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 42.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 철 캔제품의 평균보다 높은 수치를 보였다. 그런데 참기름의 경우 철 캔제품에 포장되어 있었음에도 시료 7개에서 모두 BPA가 검출되지 않았다. 알루미늄 캔제품을 식품유형별로 분류하여 조사한 결과 식육가공품 시료 5개 중 4개에서 BPA가 검출되어 80%의 검출률을 보여 알루미늄 캔제품의 평균검출률 50%에 비해 높게 나타났다. 또한 유리병제품의 경우 두유제품이 시료 6개 중 4개에서 BPA가 검출되어 66.7%의 검출률을 보였는데 유리병제품이 평균 33.96%의 검출률을 보인것과 비교하면 두배에 가까운 검출률을 보였다.

3. 위해성평가

세계보건기구(WHO)에서는 BPA의 최대무작용량(또는 무독성량, No Observed Adverse Effect Level, NOAEL)을 5 mg/kg bw/day로 정하고 있다. 즉 60 kg 성인 1인당 1일 BPA를 최대 300

Table 3. Concentration of BPA in canned(iron) food, canned(Aluminum) food, bottled food

Product	No. of sample	No. of sample detected	Detection range ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Average ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Canned(iron) food	108	96	0.3~332.0	34.5
Canned(Aluminum) food	20	10	0.2~14.3	5.0
Bottled food	53	18	0.3~60.0	5.8
Total	181	124		

Table 4. Tolerable Daily Intake(TDI) of BPA

Product	concentration (mg/kg)	serving size	BPA intake amount by 3 serving size	PTDI-TDI	%PTDI-%TDI by 3 serving size
Clam chowder	0.3320	239 g	0.238 mg		15.87~7.93
Meat products average	0.0421	100 g	0.0126 mg		0.84~0.42
Marine products average	0.0425	100 g	0.0128 mg	0.025~0.05 mg/kg bw/day (1.5~3.0 mg/60kg/day)	0.85~0.43
Losepam	0.0143	100 g	0.0043 mg		0.29~0.14
Freshian water tuna	0.0600	100 g	0.018 mg		1.2~0.6

mg 섭취하여도 독성을 나타내지 않는다는 것이다. 그러나 미국 FDA에서는 BPA의 허용기준에 대해 EPA의 reference dose(RfD)를 적용하여 0.05 mg/kg/day로 제시하고 있는데 이는 BPA가 식품첨가물이나 이물질이 아니기 때문에 일일섭취 허용량(Acceptable Daily Intake, ADI)을 제시할 수 없으므로 EPA의 기준을 적용한 것이다. 그 밖에 유럽식품안전청(EFSA)에서는 TDI를 0.05 mg/kg bw/day로 제시하고 있고, Health Cadana에서는 PTDI를 0.025 mg/kg bw/day로 제시하는 등 대체로 0.025~0.05 mg/kg bw/day를 제시하고 있다. 이를 성인 60 kg으로 환산하면 1.5~3.0 mg/day이다. 본 실험을 통해 얻은 시료의 BPA 농도를 1회제공량과 곱하고 일일 3회 섭취한다는 가정하에 3회제공량당 60 kg의 성인이 노출되는 BPA의 양을 산출한 후 위에서 제시한 기준(PTDI-TDI) 1.5~3.0 mg/60 kg day와 비교하였다(표 4). 전체 제품중에 가장 높은 농도가 검출된 제품은 C**soup로서 0.3320 mg/kg이었다. 이를 1회제공량인 239 g과 곱한 후 3회 제공량당 BPA의 양을 계산하면 0.238 mg이다. 이는 1.5~3.0 mg/60 kg/day의 15.87~7.93%에 해당하는 양이다. 또한 캔제품(철) 중 비교적 높은 농도를 보인 식육가공품과 수산물가공품의 평균농도 42.1 µg/kg과 42.5 µg/kg을 3회제공량에 적용하면 각각 0.0126 mg과 0.0128 mg으로 PTDI-TDI의 0.84~0.42%, 0.85~0.43%를 나타낸다. 알루미늄 캔제품 중 가장 높은 농도로 검출된 L**햄은 0.29~0.14%, 유리병제품 중 가장 높은 농도로 검출된 F**tuna는 1.2~0.6%로 나타나(표 4) 건강상의 위해가능성은 크지 않은 것으로 사료된다.

그러나 생식과 발생에 영향을 주는 BPA의 농도가 10 µg/kg bw/day 보다 낮은 저농도인 것을 고려해보면(4), 임산부 60 kg인 경우 0.6mg/60 kg bw/day에 해당하고 시료 중 가장 고농도로 검출되었던 C**soup의 3회 제공량에서 섭취되는 BPA가 0.238 mg이므로 39.7%에 해당하는 BPA를 섭취한다고 할 수 있다. 따라서 C**soup를 극단섭취하는 임산부의 경우는 생식과 발생에 영향을 주는 BPA농도에 근접할 수 있으므로 충분한 주의가 필요하다 하겠다.

요 약

1. 본 연구에서는 LC-MS/MS를 이용하여 BPA를 분석하였다. 전처리에서 acetonitrile과 n-Hexane을 이용하여 식품 중의 BPA를 추출하였고 HLB cartridge를 사용하여 정제하였으며 내부표준물질로 bisphenol - d₁₆를 사용하였다. LC의 분석조건은 이동상으로 acetonitrile과 distilled water를 사용하였고, 유속은 0.5 ml/min였으며, MS/MS조건은 product ion으로 BPA가 211.8과 132.9 m/z이고 bisphenol -d₁₆은 223과 142 m/z이었다. 위 분석방법에 의해 측정된 BPA의 LOD(µg/kg)와 LOQ(µg/kg)는 각각 0.3 µg/kg과 0.9 µg/kg이었다. 농축계수 6을 고려하면 시료에서 측정할 수 있는 농도는 각각 0.05 µg/kg과 0.15 µg/kg이다. 10.0, 50.0, 100.0, 500.0, 1000.0 µg/kg 농도에서 작성한 검량선의 상관관계수(r²)값은 0.9998이었고, 10.0 µg/L와 100.0 µg/L 농도에서 측정된 회수율은 스펀이 98.56~111.13%, 소스가 100.13~110.10%, 피클이 101.79~107.73%, 매실음료가 94.46~96.13%였다. 정밀도 평가에서 일내 RSD는 1.02~4.01%이고, 일간 RSD는 1.12~7.86%였다.
2. 시료별 BPA 검출률은 철 캔제품이 88.89% (108개 중 96개), 알루미늄 캔제품은 50.0% (20개 시료 중 10개), 유리병제품은 33.96% (53개 중 18개)였고, 검출농도는 각각 0.3~332.0 µg/kg, 0.2~14.3 µg/kg, 0.3~60.0 µg/kg이며, 평균농도는 각각 34.5 µg/kg, 5.0 µg/kg과 5.8 µg/kg으로 철 캔제품이 알루미늄 캔제품과 유리병제품의 7배 이상의 높은 평균농도를 보였다. 식품유형별로 분류해보면 철 캔제품 중 과채가공품의 평균농도가 9.8 µg/kg로 나타나 비교적 낮은 수치를 보였으나 식육가공품과 수산물가공품의 평균농도는 각각 42.1 µg/kg과 42.5 µg/kg으로 철 캔제품의 평균보다 높게 나타났고 참기름은 시료 7개 모두에서 모두 검출되지 않았다. 알루미늄캔제품은 식육가공품이 80%의 검출률을, 유리병제품의 경우 두유제품이 66.7%의 검출률을 보였다.

3. 캔제품(철, 알미늄)과 유리병제품 중 농도가 높은 제품과 식품군을 선정하여 3회 제공량당 섭취량을 PTDI-TDI(3.0~1.5 mg/60 kg/day)와 비교하였다. 그 결과 C**soup(철, 캔제품)는 PTDI-TDI(3.0~1.5 mg/60 kg/day) 대비 15.87~7.93%를 나타냈으며 L**Ham(알루미늄 캔제품)은 0.29~0.14%를, F**tuna(유리병제품)은 1.2~0.6%를 나타냈다. 식품유형별로 분류한 경우 평균이 가장 높았던 식육가공품(철 캔제품)은 0.84~0.42%, 수산물가공품(철 캔제품)은 0.85~0.43%를 나타내 비교적 안전하다고 할 수 있다. 그러나 생식과 발생에 영향을 주는 농도인 10 µg/kg bw/day 보다 낮은 저농도의 경우를 적용하면, C**soup의 3회 제공량에서 39.7%에 해당하는 양을 섭취하므로 임산부가 극단섭취하지 않도록 충분한 주의를 기울여야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Ministry of Food & Drug Safty. 유해물질 총서-비스페놀 A.
<http://www.foodnara.go.kr/foodnara/index.do>
2. 화학물질 배출·이동량(PRTR) 정보시스템
<http://ncis.nier.go.kr/prtr/bcid/bcid04data.do>
3. Ministry of Food & Drug Safty. Use rationalization of the product which is endocrine disruptor inclusion possibility and pollution level change investigation research. p394~401, 2007.
4. Sekzawa, J : Low-dose effects of bisphenol A. J. Toxicol. Sci. 33:389~403, 2008.
5. Sugiura, OM, Ozaki, Y, Sonta, S, Makino, T and Suzumori, K : Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. Hum. reprod., 20(8):2325~2329, 2005.
6. Wetherill, YB, Petra, CE, Monk, KR, Puga, A and Knudsen, KE : The xenoestrogen bisphenol A induces inappropriate androgen receptor activation and mitogenesis in prostate adenocarcinoma cells. Mol Cancer Ther., 1:515~524, 2002.
7. Health canada.
http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/secureit/packag-embal/bpa/bpa_hra-ers-eng.php
8. European Food Safety Authority.
<http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol.htm>
9. Environmental Protection Agency.
<http://www.epa.gov/iris/subst/0356.htm>
10. Gallart, AH, Moyano, E and Galceran, MT : Fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of bisphenol A-diglycidyl ether, bisphenol F-diglycidyl ether and their derivatives in canned food and beverages. J of Chromatography A, 1218:1603~1610, 2011.
11. Ana, BG, Soledad, R and Dolores, PB : Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. J. of Chromatography A, 1216:449~469, 2009.
12. Bing, S, Hao, H, Dongmei, L, Yalu, M, Xiaoming, T and Yonging, W : Analysis of alkylphenol and bisphenol A in meat by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Food Chemistry, 105:1236~1241, 2007.
13. Korea Food and Drug Administration. Food Code, Seoul, Korea. p.10-4-1, 2009.
14. ICH Q2B Quality Guideline. Validation of Analytical Procedures : Methodology, www.ich.org/.
15. Korea Centers for Disease Control & Prevention. Korea National Health & Nutrition Examination Survey(5th).
<http://knhanes.cdc.go.kr/>.