



에틸렌옥사이드 및 2-클로로에탄올 분석방법 개선 및 국내 즉석라면에서의 잔류량 조사

박건우* · 김은형 · 여운형 · 박경호 · 김상구 · 이상윤

(주)풀무원, 풀무원기술원

Analytical Method Development and Determination of Residual Levels for Ethylene Oxide and 2-chloroethanol in Instant Noodles of Korean Market

Geon-Woo Park*, Eun-Hyeong Kim, Un-Hyung Yeo, Kyung-Ho Park, Sang-Gu Kim, Sang-Yun Lee

Corporate Technology Office, Pulmuone. Co. Ltd.,

29, Osongsaengmyeong 10-ro, Osong-eup, Heungdeok-gu, Cheongju 28220, Republic of Korea

(Received on May 17, 2022. Revised on June 14, 2022. Accepted on June 15, 2022)

Abstract Polar and non-polar columns were compared to verify their effectiveness for the analysis of ethylene oxide and its reaction product 2-chloroethanol as specified by the European Union and Ministry of Food and Drug Safety. The residual levels of the target ingredient were determined in Korean instant noodles. Ethylene oxide has the same retention time, molecular ions and quantitative ions as acetaldehyde. Therefore, it is difficult to analyze alone. ethylene oxide was subsequently derivatized into 2-bromoethanol and analyzed using GC-MS-MS. DB-WAX and DB-5MS were selected as the polar and non-polar columns, respectively. In DB-WAX, separation of ethylene oxide and 2-chloroethanol was confirmed at 5 - 6 min, whereas in DB-5MS, these analytes were separated within 3 min. The component retention time in DB-5MS was shorter than that in DB-WAX; however, both components were detected without interference. Validation results with the DB-5MS column indicated a limit of detection at 0.002 mg kg⁻¹, limit of quantitation at 0.006 mg kg⁻¹, and good linearity (R²=0.999) within the range of 0.01 to 0.1 mg kg⁻¹. The recovery rate of four products, including the finished product, noodles, soup, and dried vegetable mix, was good (between 82% and 109%). The residual levels of ethylene oxide and 2-chloroethanol were investigated in domestically distributed instant noodles (31 samples: finished product, noodles, soup, and dried vegetable mix). Ethylene oxide was found to be non-detectable in all samples, whereas 2-chloroethanol was non-detectable in the finished product and noodles, at - 0.03 mg kg⁻¹ in soup, and at - 0.05 mg kg⁻¹ in dried vegetable mix. Under the column comparison conditions of this study, the same non-polar column as that applied to the multi-component test method for pesticide residues in the Food Standards can be applied to the ethylene oxide analysis method. In summary, this method can be used to increase analysis efficiency and verify target component detection.

Key words 2-chloroethanol, ethylene oxide, fumigant, instant noodles, polar pesticide

서 론

Ethylene oxide (EO, CAS 번호 75-21-8)는 poly ethylene glycol의 합성 원료로, 의약, 식품에 이르기까지 다양한 분야

에서 활용되는 성분이다(Herzberger et al., 2016). 해당 물질은 인도, 캐나다 및 미국과 같은 여러 국가에서 세균성 병원체를 비롯한 광범위한 미생물과 해충을 제어하기 위한 훈증제로 사용하는 것이 허용하고 있다(Kowalska and Manning 2022). 그러나 ethylene oxide는 급성 노출 시 호흡기 자극 및 폐 손상, 두통, 메스꺼움, 구토, 설사, 숨가쁨 및 청색증을 유발할 수 있고, 만성 노출 시 암의 발생, 생식 돌연변이, 신

*Corresponding author
E-mail: gwpark@pulmuone.com

경독성 등과 관련이 있다(ATSDR 1990). 특히 국제 암 연구 기관(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서 인체 발암물질(Group 1)로 분류하고 있고, 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection Agency, U.S. EPA) 및 유럽연합의 경우 발암물질로 지정하여 관리하고 있다(IARC 2008, EPA 2016, EU 2015). 따라서 유럽으로 제품 수출 시 유럽연합의 농약잔류허용기준(Maximum Residue Limit, MRLs)을 준수해야 한다(EU 2015).

Ethylene oxide는 높은 휘발성(비등점 10.4°C)으로 인해 빠르게 소멸되지만 주변 조건에서 염화물과 반응하여 휘발성이 상대적으로 낮은 대사 산물인 2-chloroethanol (2-CE, CAS 번호 99-107-07 비등점 129°C)이 생성된다. 따라서 유럽연합의 ethylene oxide 잔류물 정의는 ethylene oxide에 2-chloroethanol를 더한 값을 뜻한다(EU 2005).

유럽연합의 식품사료신속경보(Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) 포털을 통해 ethylene oxide의 법적기준 초과 시 이슈에 대해 알려주고 있다. 2020년 9월, 유럽으로 수입된 인도산 참깨에 ethylene oxide 검출 수준이 법적기준을 초과하는 이슈가 있었다(RIVM and WSFR 2020). 해당 이슈에 대한 경제적 파급 효과는 상당하여 빵, 소스 및 참깨가 포함된 기타 식품과 같은 다양한 제품의 회수로 이어졌다(European Parliament Note 2021). 유럽 위원회는 인도에서 수입되는 모든 참깨에 0.05 mg kg⁻¹로 설정된 기준을 준수하도록 요구하는 규정을 신속하게 시행했다. 또한 인도에서 회원국으로 수입되는 화물의 50%는 입국 시 규정 준수 여부를 확인하는 등 강화된 조치를 하였다(EU 2020). 그리고 2021년 8월 유럽으로 수입된 한국산 라면에서 2-chloroethanol이 법적기준을 초과하였다. 해당 이슈는 유럽연합의 식품사료신속경보에 게시되었고, 자세한 내용은 Table 1에 제시하였다. 2021년 10월 EU 회원국 전문가 회의인 Summary of the meeting on ethylene oxide (ETO): Regulatory and technical aspects에서 라면과 같은 복합 식품과 관련하여 부적합 성분의 사용에 대한 정보가 없으면

기본적으로 0.02 mg kg⁻¹을 잔류허용기준으로 적용되어야 한다고 명시하였다. 공중 보건을 보호하기 위해 유럽연합 집행위원회는 2021년 12월에 시행 규정(EU) 2021/2246을 발표하여 한국에서 수입된 라면에 대한 검사 강화와 수출국에 공식 인증서를 제출하도록 요구하였다(EU 2021). 국내에서도 식품에 사용이 금지된 ethylene oxide는 농약허용물질목록고시제(Positive List System, PLS)에 따라 잔류허용기준 미설정 농약에 대한 잔류허용기준인 0.01 mg kg⁻¹을 적용하여 관리하고 있으며, 2-chloroethanol은 2021년 8월 식품위생심의위원회 전문가 심의를 거쳐 농, 축, 수산물 및 가공식품(깁슬제외)에 30 mg kg⁻¹ 이하, 영 유아를 섭취 대상으로 하는 식품은 10 mg kg⁻¹ 이하로 잠정기준을 설정하였다(MFDS, 2022). 이러한 이슈에 따라 국내시장 즉석라면의 잔류량 확인 및 위해성 평가에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

복합식품에서 미량 수준의 ethylene oxide의 분석은 간단하지 않으며, 지금까지 라면과 같은 다양한 매트릭스에 대한 방법은 설정되어 있지 않았다. 분석 방법은 주로 곡물, 견과류, 허브, 향신료와 같은 건조식품에 대해 개발되었다(Jensen 1988, Tateo and Bononi 2006, Ueta et al., 2009). Ethylene oxide는 acetaldehyde와 머무름 시간과 분자이온 및 정량이온이 모두 같아 단독으로 분석하는 데 한계가 있다(EURL SRM 2020). 과거에는 식품 내 2-chloroethanol 성분을 ethylene oxide로 전환 후 sodium iodide로 처리하여 ethylene Iodohydrin로 전환 후 GC-ECD로 분석하는 방법이 있었다(Woodrow et al., 1995). 이후 시료 중 ethylene oxide를 2-chloroethanol로 전환해 총합으로 분석하거나, ethylene oxide에 Br와 반응시켜 2-bromoethanol로 전환 후 분석하는 방법을 활용하고 있다(Stefanovic et al., 2021). 식품 중 ethylene oxide 및 2-chloroethanol의 분석법에 대해 Fig. 1에 나타내었다. ethylene oxide는 고리형 에폭사이드 구조인 극성 물질로 Fig. 1에 나타낸 분석법은 극성 칼럼인 DB-WAX를 사용하고 있다. 대사 산물인 2-chloroethanol 및

Table 1. EU RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) portal ethylene oxide issue search Korean instant noodle 5 notifications

Ref.	Subject	Date	Country	Hazard	Analytical results
2022.1935	Exceedance of the maximum level of ethylene oxide in Vegetable-mushroom flakes in instant noodles from Republic of Korea	1 APR 2022	Germany	2-chloroethanol	1,078 mg kg ⁻¹
2022.1620	ethylene oxide (0,17 ± 0,085 mg kg ⁻¹) in instant noodle soup from South Korea	18 MAR 2022	Poland	2-chloroethanol	0,17 mg kg ⁻¹
2022.1119	ethylene oxide in noodles from South Korea	25 FEB 2022	Norway	2-chloroethanol	0,35 mg kg ⁻¹
2021.7098	Unauthorized substance ethylene oxide in vegetable flakes of an instant noodle ready meal from Korea, via the Netherlands	23 DEC 2021	Germany	2-chloroethanol	2,8 mg kg ⁻¹
2021.4204	ethylene oxide in prepared food from the Republic of Korea	6 AUG 2021	Germany	2-chloroethanol	5,0 mg kg ⁻¹ & 7,4 mg kg ⁻¹

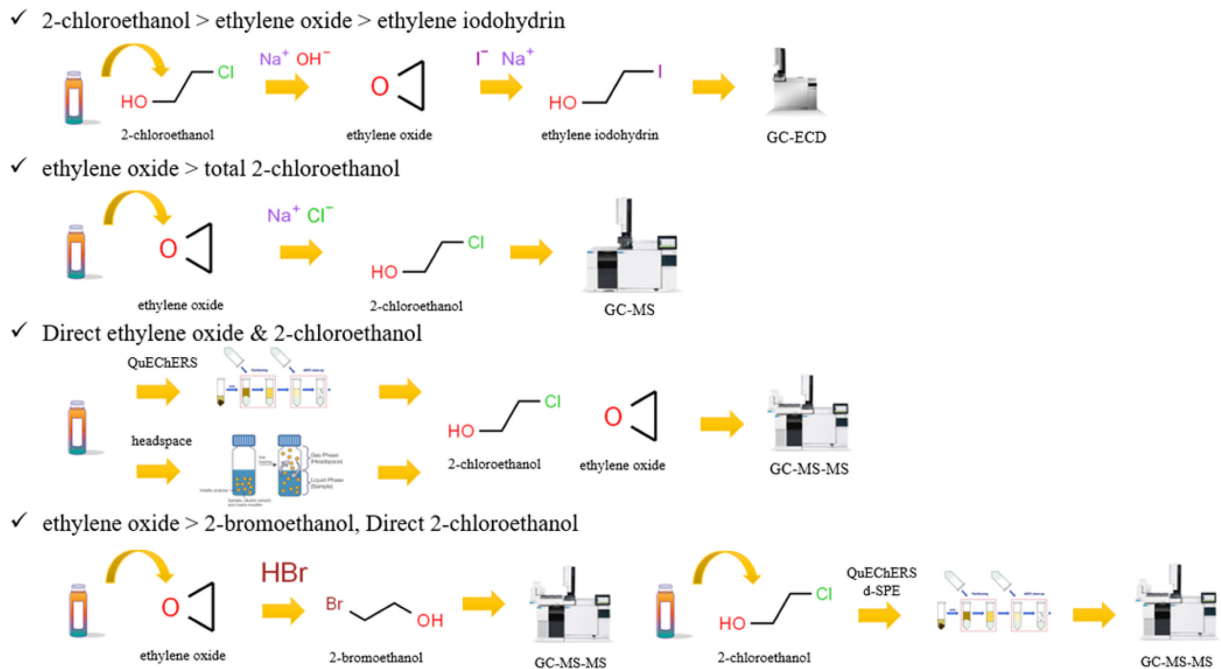


Fig. 1. Selected analytical approaches for the analysis of ethylene oxide in foodstuffs.

유도체화 산물인 2-bromoethanol 또한 극성 물질이나, 성분 간 극성 및 옥탄올-물 분배계수(octanol-water partition coefficient, K_{ow})의 차이가 있으며 서로 다른 할로젠 원소가 결합하고 있다는 점에서 비극성 칼럼의 적용이 가능할 것으로 사료된다.

본 연구는 ethylene oxide와 주요 잔류물 분석에 있어 극성 및 비극성 칼럼에서 유효성 검증, 분리 최적화를 통해 폭넓은 칼럼 선택을 제시하고 국내시장의 즉석라면에 대한 혼증제인 ethylene oxide와 주요 잔류물인 2-chloroethanol의 잔류량을 조사하여, 국내외 잔류허용기준에 적합여부와 위해성을 평가하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

시험약제 및 시료

국내시장 즉석라면에서 ethylene oxide 및 2-chloroethanol 잔류특성을 검증하기 위하여 선정된 농약 ethylene oxide (50 mg/mL in methanol) 및 2-chloroethanol (2 mg/mL in methanol), 2-bromoethanol (2 mg/mL in methanol)의 표준품은 Sigma-Aldrich (Buchs, Switzerland)의 제품을 구입하여 사용하였다. 국내시장 즉석라면은 국내 대형 마트 및 온라인 쇼핑몰을 통해 판매 중인 즉석라면 31품목을 구입하여 사용하였다.

시약 및 용매

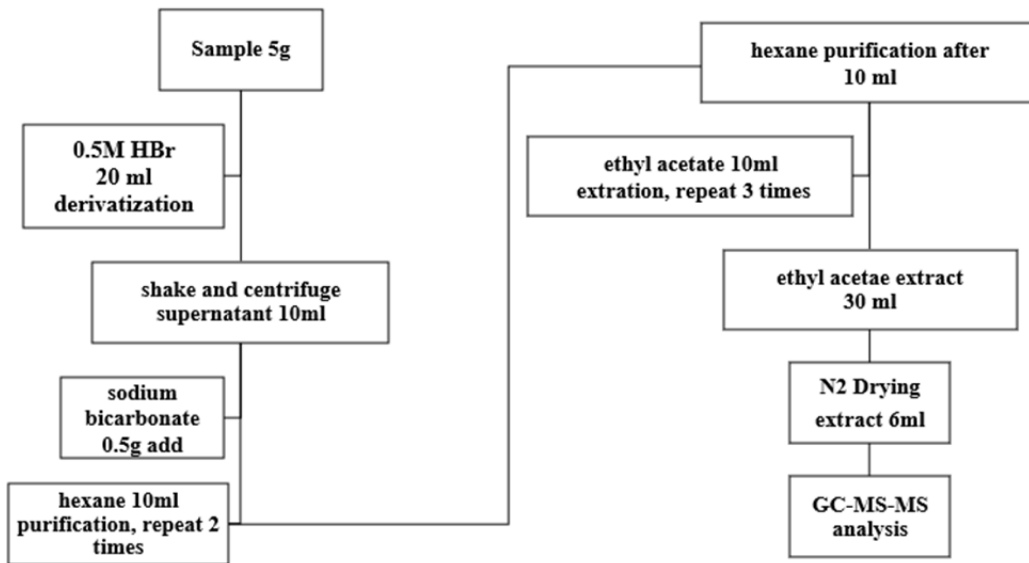
잔류농약 분석에 사용한 용제인 acetonitrile (purity 99.9%,

HPLC), ethyl acetate (purity 99.9%, HPLC, GC), hexane (purity 97.0%, HPLC)은 Merck (Darmstadt, Germany)에서, hydrobromic acid (purity 99.99%), sodium bicarbonate (purity 99.7%), sodium sulfate (purity 99.0%)는 Sigma-Aldrich (Buchs, Switzerland)의 제품을 구입하여 사용하였다. QuEChERS 추출염(containing 4 g of magnesium sulphate, 1 g of sodium chloride, 1 g of sodium citrate, and 0.5 g of disodium citrate sesquihydrate) 및 정제염(containing 25 mg PSA, 25 mg C18, and 150 mg magnesium sulfate)는 Agilent (Geneva, Switzerland)의 제품을 구입하여 사용하였다.

잔류농약 분석

Ethylene oxide를 2-bromoethanol로 전환하여 분석하는 방법과 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol을 분석하는 방법 총 2가지 방법으로 진행하였으며, 시험용액 조제 과정은 Fig. 2에 나타내었다. Ethylene oxide를 2-bromoethanol로 유도체화하여 분석하는 방법은 시료 5 g을 50 mL 원심분리관에 넣고 0.5 M hydrobromic acid 용액 20 mL을 넣어 30분간 흔들어 추출한 후 4°C, 4,000 G에서 10분간 원심분리하여 상층액 10 mL를 취하여 별도의 원심분리관에 옮겼다. Sodium bicarbonate 0.5 g을 넣어 중화한 후 hexane 10 mL 넣어 1분간 흔들고 5분간 원심분리하여 상층액(hexane)을 버리는 과정을 2회 반복하였다. Hydrobromic acid 용액층에 ethyl acetate를 10 mL 넣어 20분간 흔들어 10분간 원심분리하고 상층액(ethyl acetate)을 취하는 과정을 3회 반복하여 별도로 모은 ethyl acetate추출액을 sodium sulfate 1 g에 통

✓ ethylene oxide sample preparation



✓ 2-chloroethanol, 2-bromoethanol sample preparation

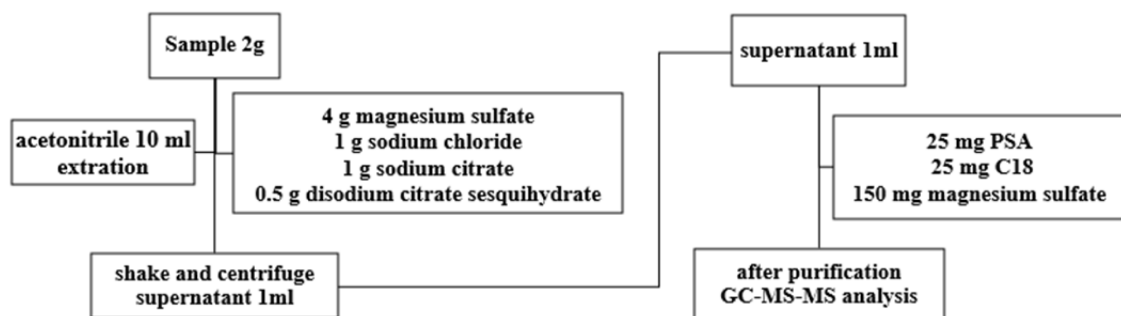


Fig. 2. Flowchart depicting sample preparation and analysis of ethylene oxide.

과시켜 탈수한 후 30 mL로 정용하였다. 추출액 중 6 mL를 취하여 질소 가스로 0.5 mL가 남도록 농축한 후 ethyl acetate를 넣어 1 mL로 정용하여 멤브레인 필터(Nylon, 0.2 μ m)로 여과한 후 GC-MS-MS에 2 μ L 주입하였다.

2-Chloroethanol 및 2-bromoethanol을 분석하는 방법은 시료 2 g을 50 mL 원심분리관에 넣고 acetonitrile 10 mL을 넣어 15분간 흔들어서 쉬고 magnesium sulfate 4 g과 sodium chloride 1 g, disodium citrate sesquihydrate 0.5 g, sodium citrate 1 g을 넣고 1분간 흔들어서 쉬은 다음 10분간 원심분리하여 상층액 1 mL를 취하였다. Magnesium sulfate 150 mg, PSA 25 mg, C18 25 mg이 미리 담겨 있는 2 mL 원심분리관에 상층액 1 mL를 넣고 30초간 흔들어서 쉬은 다음 원심분리로 층을 분리한 후 상층액을 멤브레인 필터(Nylon, 0.2 μ m)로 여과한 후 GC-MS-MS에 2 μ L 주입하였다. 정량분석을 위한 표준검량선은 표준품을 무처리 시료로 희석하여 0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1 mg kg⁻¹이 되도록 조제하여

GC-MS-MS에 2 μ L 주입하였다. Ethylene oxide 정량은 ethylene oxide을 2-bromoethanol로 전환하여 분석한 값 (A)에서 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol을 분석하는 방법으로 분석한 2-bromoethanol 분석값 (B)를 빼어 산출하였다.

$$\text{Ethylene oxide 잔류량} = A - (B \times \text{환산계수}^*)$$

*환산계수 = 0.35 (ethylene oxide 분자량 44.05/2-bromoethanol 분자량 124.96)

2-Chloroethanol 정량은 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol을 분석하는 방법에서 분석한 2-chloroethanol의 피크의 면적을 검량선에 대입하여 정량 하였다.

GC-MS-MS 기기분석 조건 및 칼럼비교 분석

기기분석조건 및 MRM 조건은 Table 2에 나타내었다. 분석은 Agilent 7010 GC Triple Quad 기기에서 수행하였다.

Table 2. GC-MS-MS and MRM conditions for residual analysis of ethylene oxide

Parameter		Conditions			
Column	DB-WAX (30 m × 0.25 mm × 0.5 μm) DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)				
Carrier	He at 1.0 ml/min				
Oven Temp.	80°C (2 min) > 16°C/min > 200°C (2 min)				
Split ratio	Pulsed split mode (3:1)				
Injector Temp.	220°C				
Transfer line	260°C				
Ionization mode	Electron impact at 70 eV				
Injection rate	2 μL				

Compound	MW (m/z)	Exact mass (m/z)	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision energy (eV)
2-bromoethanol	124.9	125.0	124	45	10
				31	10
				44	10
2-chloroethanol	80.5	80.5	80	31	5
				44	5
				82	31

칼럼은 극성칼럼 DB-WAX (30 m × 0.25 mm × 0.5 μm)와 비극성칼럼 DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)를 선정하였다. 오븐 조건은 80°C에서 2분간 유지한 후 200°C까지 16°C/min 승온 후 2분간 유지하도록 설정하였다. 주입모드는 pulsed split mode 3:1 분할 비율로 수행하였고, 주입량은 2 μL 주입하였다. 검출기 온도는 260°C로 전자 충격(EI) 70 eV이며, 데이터 수집 및 후속 데이터 처리는 각각 Agilent mass hunter data analysis B.07.06.2704 및 Agilent mass hunter workstation software version B.09.00을 사용하여 수행하였다.

회수율, 실험내, 실험간 재현성 시험

회수율 시험은 무처리 완제품, 면, 스포, 건조야채믹스 4가지 시료에 시험 농약의 표준용액을 정량한계(limit of quantitation, LOQ) 0.01 mg kg⁻¹, 정량한계의 5배인 0.05 mg kg⁻¹, 정량한계의 10배인 0.1 mg kg⁻¹ 수준이 되도록 처리하여 동일한 전처리 방법으로 3반복 분석하였으며, 정량한계는 아래의 식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{정량한계 (mg kg}^{-1}\text{)} =$$

$$\text{최소검출량 (ng)} \times \text{최종정용량 (mL)} / \text{시료주입량 (μL)} \times \text{희석배수} / \text{시료무게 (g)}$$

재현성 검증을 위해 완제품 샘플로 회수율과 같이 0.01, 0.05, 0.1 mg kg⁻¹이 되도록 처리하여 5반복 분석하였고 (intra assay), 동일 샘플을 1일, 3일, 5일, 7일, 10일로 나누어 분석을 진행하여 검증하였다(inter assay).

위해성 평가

즉석라면 중 ethylene oxide 및 2-chloroethanol의 위해성 평가는 위험성 확인, 위험성 결정, 노출평가 및 위해도 결정에 따라 수행하였다. 노출평가 및 위해도 결정은 분석결과를 토대로 적용하기 위해 하루에 한국인(전 연령)이 라면 1개를 먹는다고 가정하고 노출량을 추정하였다. 즉석라면의 일일1회섭취량에 최대 잔류량을 곱한 후 한국인의 평균 체중(한국인 전 연령 평균 체중 63.09 kg)으로 나누어 일일1회노출추정량을 산출하였다. 산출한 일일1회노출추정량을 인체노출허용량으로 나누어 위해도(ADI 대비 %)를 평가하였다(NIER 2021, KHIDI, 2022, KOSIS, 2022).

$$\text{일일1회노출추정량 (mg kg}^{-1}\cdot\text{b.w. day}^{-1}\text{)} =$$

$$\text{최대 잔류량 (mg kg}^{-1}\text{)} \times \text{일일1회섭취량 (kgday}^{-1}\text{)} / \text{한국인 평균체중 (b.w.)}$$

$$\text{위해도 (ADI 대비 \%)} =$$

$$\text{일일1회노출추정량 (mg kg}^{-1}\cdot\text{b.w. day}^{-1}\text{)} / \text{인체노출허용량 (mg kg}^{-1}\cdot\text{b.w. day}^{-1}\text{)} \times 100$$

결과 및 고찰

분석방법 및 칼럼별 성분 분리 최적화

본 연구에서는 ethylene oxide의 높은 휘발성과 극성 특성을 가지고 있다는 점을 고려하여 ethylene oxide (비등점 10.4°C)를 2-bromoethanol (비등점 150°C)로 전환한 후 정제, 추출하여 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol을 분석하였다. 분석하고자 하는 두 성분 모두 극성인 특성을 지니고

있지만, 옥탄올-물 분배계수가 차이가 있다(2-chloroethanol, $\log K_{ow}$ 0.03; 2-bromoethanol, $\log K_{ow}$ 0.23). 두 성분의 극성 정도가 다르고 서로 다른 할로겐 원소가 결합되어 있기 때문에 극성칼럼이 아닌 비극성칼럼에서 성분간 분리가 가능할 것으로 판단하였다.

극성칼럼 DB-WAX와 비극성칼럼 DB-5MS의 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol 두 성분의 분리 경향을 Fig. 3에 나타내었다. DB-WAX의 경우 2-chloroethanol은 5.2분, 2-bromoethanol은 6.3분으로 1.1분 차이로 분리가 되었고, DB-5MS의 경우 2-chloroethanol은 3.0분, 2-bromoethanol은 3.2분으로 0.2분 차이로 분리가 되었다. DB-WAX 대비 DB-5MS의 성분 간 분해능이 감소하였으나, 잠재적 간섭물

질의 피크와 겹치지 않았고, baseline 또한 일정하게 유지됨을 확인하였다. 특히 동일한 0.01 mg kg^{-1} 농도 측정 시 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol의 31 m/z 조각 이온의 크로마토그램에서 DB-WAX 대비 DB-5MS에서 감도가 향상됨을 확인할 수 있었다. 이는 칼럼의 컨디션 및 특성에 영향을 받은 것으로 사료된다.

유효성 검증

2-chloroethanol 및 2-bromoethanol의 검량선은 표준품을 무처리 시료로 희석하여 $0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ 의 농도가 되도록 하였고, 두 성분 모두 상관계수 0.999 이상으로 양호한 결과를 보였다. 또한 2-chloroethanol 및 2-

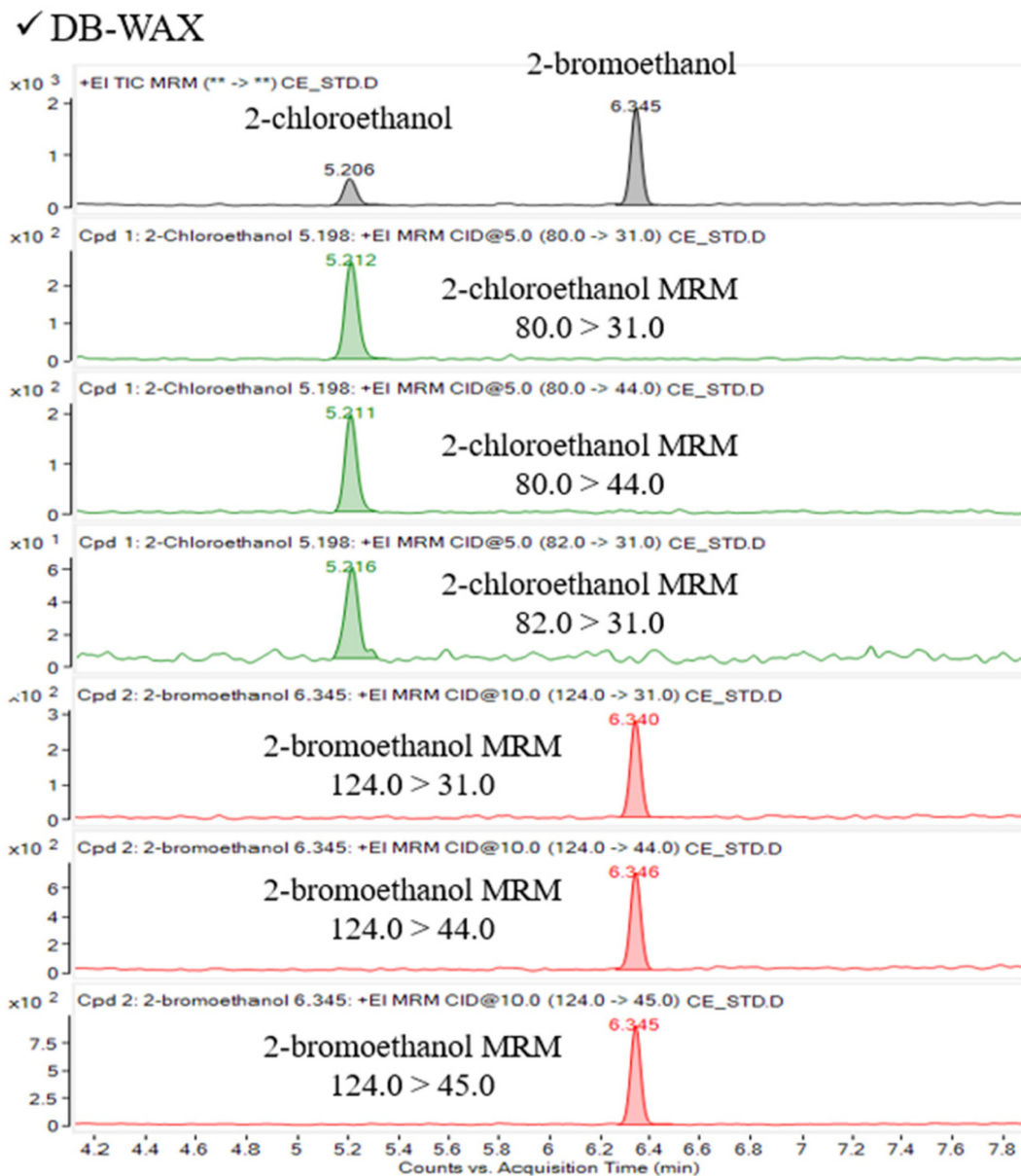


Fig. 3. GC-MS-MS chromatograms of a standard and comparison by column (DB-WAX (up), DB-5MS (down)).

✓ DB-5MS

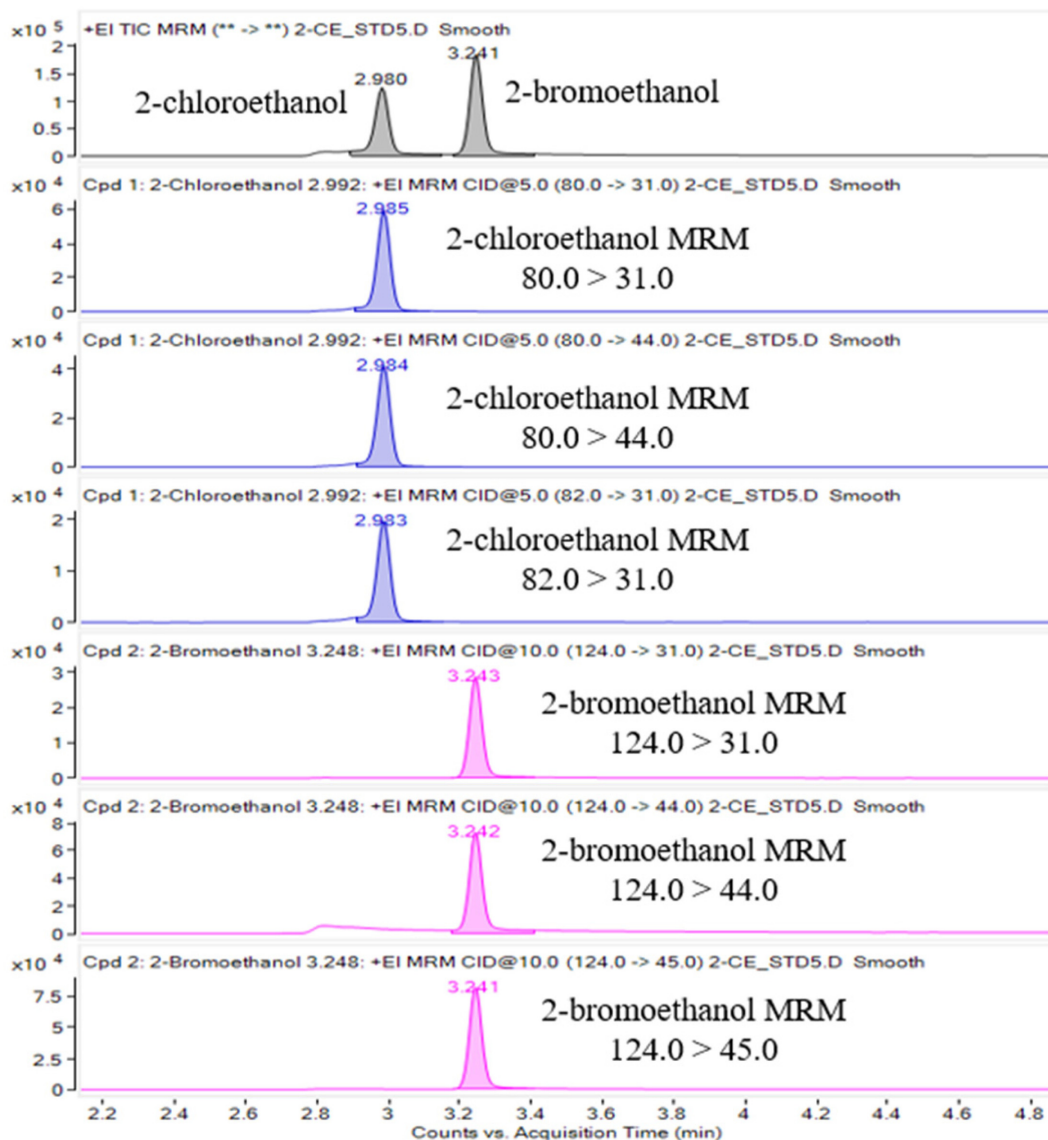


Fig. 3. continued.

bromoethanol 검출 한계는 0.002 mg kg^{-1} , 정량 한계는 0.006 mg kg^{-1} 수준이었다. 시험 회수율을 추정하기 위해 무처리 시료에 $0.01, 0.5, 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ 을 첨가하여 산출했을 때 완제품에서 82.12 - 96.11%, 면에서 102.25 - 109.01% 스프 82.43 - 95.11%, 건조야채믹스 89.24 - 109.00% 수준으로 이는 잔류성 시험의 기준인 회수율 범위 70 - 120%를 나타내어 잔류농약 분석법 기준을 만족하였다.

또한 실험 내(intra assay), 실험 간(inter assay) 재현성 검증 결과 2-chloroethanol 및 2-bromoethanol 유사한 경향을 보였다. 동일 샘플을 5반 반복 분석한 결과 RSD (%) 값이 3.85 - 12.30% 였고, 1일, 3일, 5일, 7일, 10일 나누어 분석한 결과 RSD (%) 값이 4.20 - 10.79% 수준으로 잔류성 시험의

기준인 RSD (%) 범위 15% 이하 기준을 만족하였다. 직선성 및 0.01 mg kg^{-1} 에서 크로마토그램, 각 매트릭스별 회수율 및 실험내, 실험간 재현성은 Fig. 4와 Table 3로 나타내었다.

국내 즉석라면의 잔류량 조사

국내시장에 유통 중인 즉석라면 31개 시료를 대상으로 ethylene oxide 및 2-chloroethanol 잔류량을 조사한 결과 ethylene oxide은 전 시료에서 불검출, 2-chloroethanol은 면 및 완제품에서 불검출, 스프에서 불검출 $\sim 0.03 \text{ mg kg}^{-1}$, 건조야채믹스는 불검출 $\sim 0.05 \text{ mg kg}^{-1}$ 수준으로 검출되었다. 2-chloroethanol 검출 수준은 국내 잠정기준 이내로 적합하

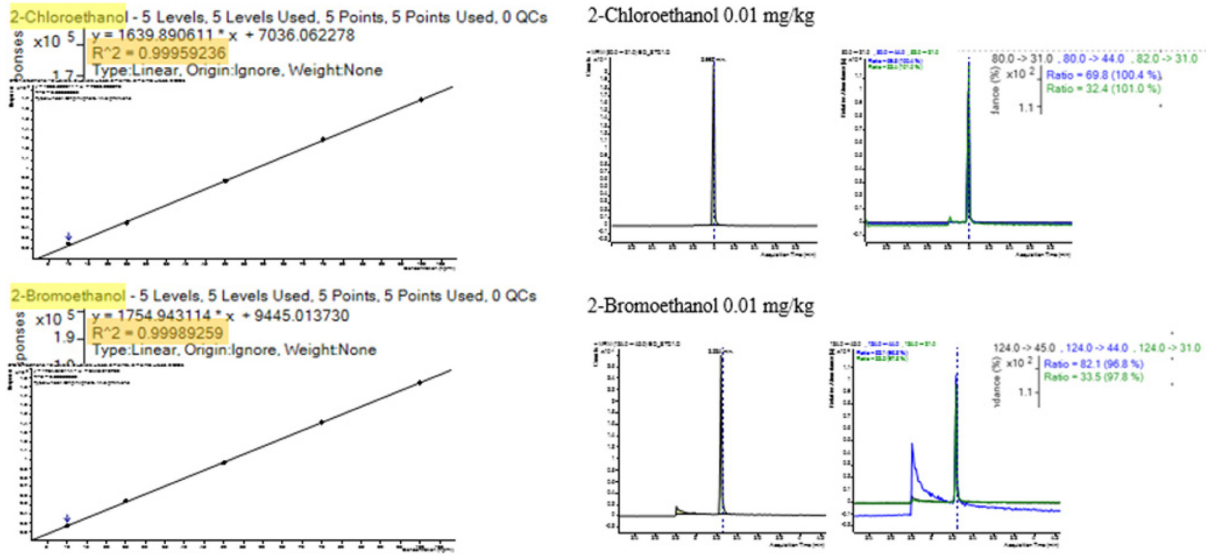


Fig. 4. Calibration curves of 2-bromoethanol and 2-chloroethanol and GC-MS-MS limit of quantitation chromatography (0.01 mg kg⁻¹).

Table 3. Recovery & Single-laboratory precisions (intraday, interday) studies of 2-bromoethanol and 2-chloroethanol in finished product, noodles, soup, and dried vegetable mix samples

		2-bromoethanol (%) ± RSD*			2-chloroethanol (%) ± RSD		
		0.01	0.05	0.1	0.01	0.05	0.1
Recovery (n=3)	Finished Product	82.12 ± 5.91	94.82 ± 4.51	94.92 ± 5.91	82.51 ± 5.41	96.11 ± 2.31	90.71 ± 4.01
	Noodles	103.42 ± 2.94	103.55 ± 2.15	104.62 ± 4.01	102.25 ± 2.31	109.01 ± 5.41	105.11 ± 6.71
	Soup	82.43 ± 5.36	91.86 ± 2.48	95.11 ± 5.84	89.48 ± 2.45	83.87 ± 3.17	85.39 ± 4.68
	Dried Vegetable Mix	90.42 ± 5.44	90.45 ± 4.98	109.00 ± 3.97	89.24 ± 4.84	90.74 ± 3.56	101.57 ± 5.87
		2-bromoethanol (mg kg ⁻¹)			2-chloroethanol (mg kg ⁻¹)		
		0.01	0.05	0.1	0.01	0.05	0.1
Intraday- Finished Product (n=5)	10day-1	0.007	0.041	0.079	0.006	0.043	0.078
	10day-2	0.006	0.040	0.074	0.007	0.045	0.082
	10day-3	0.007	0.039	0.081	0.007	0.040	0.074
	10day-4	0.007	0.040	0.082	0.006	0.041	0.088
	10day-5	0.006	0.037	0.075	0.008	0.039	0.083
mean value		0.007	0.039	0.078	0.007	0.042	0.081
standard deviation		0.001	0.002	0.004	0.001	0.002	0.005
RSD (%)		8.299	3.849	4.557	12.304	5.789	6.533
Interday- Finished Product (n=1)	1day	0.008	0.046	0.098	0.008	0.044	0.085
	3day	0.009	0.044	0.083	0.008	0.044	0.088
	5day	0.008	0.046	0.084	0.007	0.043	0.083
	7day	0.008	0.044	0.081	0.008	0.041	0.081
	10day	0.007	0.041	0.073	0.007	0.040	0.079
mean value		0.008	0.044	0.084	0.008	0.042	0.083
standard deviation		0.001	0.002	0.009	0.001	0.002	0.003
RSD (%)		8.839	4.637	10.786	7.207	4.284	4.198

* RSD (%) = standard deviation / mean value * 100. Acceptable variability: <15%

Table 4. Residual levels of ethylene oxide and 2-chloroethanol in 31 samples of instant noodles

	Sample	ethylene oxide Conc. (mg kg ⁻¹)	2-chloroethanol Conc. (mg kg ⁻¹)
Sample 1	Finished Product	*ND	ND
	Noodles	ND	ND
	Soup	ND	ND
	Dried Vegetable Mix	ND	0.02
Sample 2	Finished Product	ND	ND
	Noodles	ND	ND
	Soup	ND	0.03
	Dried Vegetable Mix	ND	ND
Sample 3	Finished Product	ND	ND
	Noodles	ND	ND
	Soup	ND	ND
	Dried Vegetable Mix	ND	0.05
Sample 4	Finished Product	ND	ND
	Noodles	ND	ND
	Soup	ND	ND
	Dried Vegetable Mix	ND	0.04
Sample 5	Finished Product	ND	ND
	Noodles	ND	ND
	Soup	ND	ND
	Dried Vegetable Mix	ND	0.02
Sample 6	Finished Product	ND	ND
	Noodles	ND	ND
	Soup	ND	ND
	Dried Vegetable Mix	ND	0.01
Sample 7 - 31		ND	ND

*ND: Not detected or low intensity under limit of detection.

였고, 유럽연합 건조농산물(허브류) 기준 0.05 mg kg⁻¹ 이내로 적합하였다. 잔류량 조사 결과는 Table 4에 나타내었고 스프는 1제품에서, 건조야채믹스는 5제품에서 검출되는 경향을 보였다. Table 1에 게시된 한국산 라면의 2-chloroethanol 검출 내역 중 건조야채믹스에서 높은 수준의 2-chloroethanol이 검출된 현황을 보았을 때 건조야채믹스에서 잔류특성이 높은 것으로 판단하였다.

위해성 평가

Ethylene oxide는 국제 암 연구기관(International Agency for Research on Cancer, IARC)에서 인체 발암물질(Group 1)로 분류하고 있고, 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection Agency, U.S. EPA)에서 흡입 노출경로에 의한 인체 발암성이 있다고 알려져 있다(IARC 2008, EPA 2016). 또한 유럽연합의 경우 돌연변이 유발물질, 발암물질로 지정하여 관리하고 있어 유해성이 알려져 있다(EU 2015). 2-chloroethanol의 경우 1960년대 경구 독성 및 발암성에 대해 조사되었고 발암성은 없는 것으로 보고되었다(Wesley et al. 1965). 1980년대에 피부 노출에 대한 발암성 연구도 음성으로 조사되었다(NTP 1985). 독일 BfR은 2-chloroethanol에 대한 예비 독성학적 평가를 수행했고 돌연변이 가능성이 낮다고 보고되었다(BfR 2020).

위해성 평가를 위하여 위해평가의 방법 및 절차에 관한 규정, 위해평가지침서에 따라, 위험성 확인, 위험성 결정, 노출평가, 위해도 결정의 순서로 진행하였다(NIFDS 2016). 위험성 결정을 위해 ethylene oxide 및 2-chloroethanol의 최대무독성량(No Observed Adverse Effect Level, NOAEL)을 조사하였다. Ethylene oxide는 7.5 mg kg⁻¹·b.w. day⁻¹, 2-chloroethanol은 82.4 mg kg⁻¹·b.w. day⁻¹로 조사하였다(NIFDS 2016, EPA 2020). 1일 섭취허용량(Acceptable Daily Intake, ADI)을 산출하기 위해 최대무독성량에 안전계수 100을 적용하여 산출하였다(MFDS 2017). 총 식이조사를 통한 노출량을 산출해야 하지만 제한적으로 하루에 한국인(전 연령)이 라면 1개를 먹는다고 가정하고 노출량을 추정하였다.

국내 즉석라면의 잔류량 조사 중 최대로 검출된 2-chloroethanol에 대해 위해도 평가를 하였다. 건조야채믹스의 평균 1회 제공량 3.3 g과 전 연령 평균 체중 63.09 kg을 적용하였고, Table 5와 같이 나타내었다. 2-chloroethanol 최대검출량인 건조야채믹스의 0.05 mg kg⁻¹을 대상으로 위해성 평가 진행 시 % ADI 대비 전 연령 0.0003% 수준이었다(KHIDI, 2022, KOSIS, 2022). 추가로 2-chloroethanol 잠정 기준 30 mg kg⁻¹을 적용하였을 때 % ADI 대비 0.1904%, ethylene oxide 기준 0.01 mg kg⁻¹을 적용하여 위해성 평가를 진행하였을 때 % ADI 대비 0.0007% 수준이었다.

본 연구에서 ethylene oxide의 분석방법 검토를 통해 최적화된 분석법을 선정하였고, 극성농약에 대한 칼럼 선택의 유효성 검증을 통해 분석법을 개선하였다. 특히 비극성 칼럼인 DB-5MS 칼럼은 식품공전의 잔류농약 다성분 시험법에 적용 중인 칼럼과 동일한 특성을 가지고 있는 칼럼으로 칼럼별 유효성 검증을 통해 다성분 잔류농약과 ethylene oxide 검증을 동시에 진행할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 칼럼의 교체 및 안정화 소요 시간 단축, 장비의 trouble shooting 발생 가능성을 감소시켜 분석 효율성을 증대시킬 수 있을 것으로 기대한다. 국내 즉석라면의 ethylene oxide

Table 5. Risk Assessment of ethylene oxide and 2-chloroethanol of instant noodle

Compound	NOAEL ^{a)} (mg kg ⁻¹ ·b.w. day ⁻¹)	ADI ^{b)} (mg kg ⁻¹ ·b.w. day ⁻¹)	Residual level (mg kg ⁻¹)	serving size (kg)	b.w. ^{c)} (kg)	EDI ^{d)} (mg kg ⁻¹ ·b.w. day ⁻¹)	% ADI ^{e)}
ethylene oxide	7.5	0.075	0.01 (Pesticide MRLs)			5.2×10^{-7}	0.0007
2-chloroethanol	82.4	0.824	0.05 (maximum result) 30 (Provisional Pesticide MRLs)	0.0033	63.09	2.6×10^{-6} 1.6×10^{-3}	0.0003 0.1904

^{a)}NOAEL: No Observed Adverse Effect Level

^{b)}ADI: Acceptable Daily Intake

^{c)}b.w.: body weight

^{d)}EDI: Estimated Daily Intake

^{e)}(EDI/ADI) × 100

잔류량 조사 결과 스프 및 건조야채믹스에서 기인하였을 가능성이 높다 판단된다. 검출 시료에 대한 위해성 평가를 진행하였고 2-chloroethanol의 노출 수준을 보았을 때 위해 우려가 낮다고 평가하였다. 해당 결과를 토대로 ethylene oxide 이슈가 발생하고 있는 다른 제품군에 대한 잔류량 조사 및 잔류허용기준 분석법 설정에 대한 자료로 충분히 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

Author Information and Contributions

Geon Woo Park, Corporate Technology Office, Pulmuone Co. Ltd., Researcher, <https://orcid.org/0000-0002-5664-5620>

Eun Hyeong Kim, Corporate Technology Office, Pulmuone Co. Ltd., Researcher, <https://orcid.org/0000-0002-3819-0167>

Un Hyung Yeo, Corporate Technology Office, Pulmuone Co. Ltd., Researcher, <https://orcid.org/0000-0001-5254-5553>

Kyung Ho Park, Corporate Technology Office, Pulmuone Co. Ltd., Food Safety Team Manager, <https://orcid.org/0000-0001-7027-6510>

Sang Gu Kim, Corporate Technology Office, Pulmuone Co. Ltd., Food Safety Division Manager, <https://orcid.org/0000-0002-8392-2267>

Sang Yun Lee, Corporate Technology Office, Pulmuone Co. Ltd., Holdings Technology Officer, <https://orcid.org/0000-0002-7652-5714>

이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

Literature Cited

ATSDR 1990. Agency for Toxic Substances and Disease

Registry (ATSDR), 1990. Toxicological profile for ethylene oxide. Atlanta, GA, USA.

BfR 2020. Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), 2020. Opinion No 056/2020, Health risk assessment of ethylene oxide residues in sesame seeds. 23 December 2020.

EPA 2016. U.S. Environmental Protection Agency (EPA) 2016. Evaluation of the Inhalation Carcinogenicity of Ethylene Oxide (CASRN 75-21-8) In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development. Washington, DC.

EPA 2020. U.S. Environmental Protection Agency (EPA) 2020. Ethylene Oxide Draft Human Health and Ecological Risk Assessment, November 3, 2020, Washington, DC.

EU 2005. Official Journal of the European Union, 2005. REGULATION (EC) NO 396/2005 of the European Parliament and of the Council on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC. European Union.

EU 2015. Official Journal of the European Union, 2015. REGULATION (EC) NO 868/2015 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for 2,4,5-T, barban, binapacryl, bromophos-ethyl, camphechlor (toxaphene), chlorbufam, chloroxuron, chlozolinat, DNOC, di-allate, dinoseb, dinoterb, dioxathion, ethylene oxide, fentin acetate, fentin hydroxide, flucycloxuron, flucythrinate, formothion, mecarbam, methacrifos, monolinuron, phenothrin, propham, pyrazophos, quinalphos, resmethrin, tecnazene and vinclozolin in or on certain products. European Union.

EU 2020. Official Journal of the European Union, 2020. REGULATION (EC) NO 1540/2020 amending Implementing Regulation (EU) 2019/1793 as regards sesame seeds originating in India European Union.

EU 2021. Official Journal of the European Union, 2021. REGULATION (EC) NO 2246/2021 amending Implementing Regulation (EU) 2019/1793 on the temporary increase of official controls and emergency measures governing the entry into the Union of certain goods from certain third

- countries implementing Regulations (EU) 2017/625 and (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council. European Union.
- EURL SRM 2020. EU Reference laboratories for residues of pesticides single residue methods, 2020. EURL-SRM-Analytical Observations Report, Analysis of Ethylene Oxide, and its Metabolite 2-Chloroethanol by the QuOil or the QuEChERS Method and GC-MS/MS. European Union.
- European Parliament Note 2021. Recalls of sesame seed products due to pesticide residues. European Union.
- Herzberger J, Niederer K, Pohlit H, Seiwert J, Worm M, et al., 2016. Polymerization of ethylene oxide, propylene oxide, and other alkylene oxides: synthesis, novel polymer architectures, and bioconjugation. *Chem. Rev.* 116(4):2170-2243.
- IARC 2008. International Agency for Research on Cancer (IARC) 2008. 1,3-Butadiene, ethylene oxide and vinyl halides (vinyl fluoride, vinyl chloride and vinyl bromide). *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 97:1-510.
- Jensen KG, 1988. Determination of ethylene oxide residues in processed food products by gas-liquid chromatography after derivatization. *Z. Lebensm Unters Forsch* 187:535-540.
- KHIDI, 2022. National nutrition statistics_food intake. <https://www.khidi.or.kr> (Accessed May. 6. 2022).
- KOSIS, 2022. Average weight distribution by gender by age. <https://kosis.kr/search/search.do> (Accessed May. 6. 2022).
- Kowalska A, Manning L, 2022. Food safety governance and guardianship: The role of the private sector in addressing the EU ethylene oxide incident. *Foods*. 11(2):204.
- MFDS 2017. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2017. Food, etc. standards Setting Principle, 11-1471000-000075-01.
- MFDS 2021. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2021. Ethylene oxide and 2-chloroethanol test method in food, etc., <https://www.mfds.go.kr/> (Accessed May. 6. 2022).
- MFDS 2022. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2022. Notification of the Ministry of Food and Drug Safety, Notification No. 2022-7. <https://www.law.go.kr> (Accessed May. 6. 2022).
- NIER 2021. National Institute of Environmental Research (NIER), 2021. Notification of the National Institute of Environmental Research, Notification No. 2021-13. <https://www.law.go.kr> (Accessed May. 6. 2022).
- NIFDS 2016. National Institute of Food and Drug Safety Evaluation (NIFDS), 2016. Risk Assessment of Ethylene Oxide, 11-1471057-000220-01.
- NTP 1985. National Toxicology Program (NTP), 1985. Toxicology and Carcinogenesis studies of 2-chloroethanol (ethylene chlorohydrin) (CAS No. 107-07-3) in F344/N rats and Swiss CD-1 mice (dermal studies). National Toxicology Program, Technical Report Series No. 275.
- RIVM and WSFR 2020. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) and Wageningen Food Safety Research (WSFR), 2020. Risk assessment of ethylene oxide in sesame seeds. Front office food and product safety. Netherlands.
- Stefanovic S, Katanic N Jankovic S, 2021. Extraction procedure optimization of the method for detecting ethylene oxide and 2-chloroethanol in sesame seed. *Earth Environ. Sci.* 854:012095.
- Tateo F, Bononi M, 2006. Determination of ethylene chlorohydrin as marker of spices fumigation with ethylene oxide. *Journal of Food Composition and Analysis* 19(1):83-87.
- Ueta I, Saito Y, Ghani NBA, Ogawa M, Yogo K, et al., 2009. Rapid determination of ethylene oxide with fiber-packed sample preparation needle. *J. Chromatogr. A* 1216(14): 2848-2853.
- Wesley F, Rourke B, Darbishire O, 1965. The formation of persistent toxic chlorohydrins in foodstuffs by fumigation with ethylene oxide and with propylene oxide. *J Food Sci.* 30(6):1037-1042.
- Woodrow JE, McChesney MM, Seiber JN, 1995. Determination of ethylene oxide in spices using headspace gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 43(8):2126-2129.

에틸렌옥사이드 및 2-클로로에탄올 분석방법 개선 및 국내 즉석라면에서의 잔류량 조사

박건우* · 김은형 · 여운형 · 박경호 · 김상구 · 이상윤

(주)풀무원, 풀무원기술원

요약 본 연구는 유럽연합 및 식품의약품안전처에서 제시하고 있는 ethylene oxide와 반응 산물인 2-chloroethanol의 분석법에 명시된 극성 칼럼 및 이와 성질이 다른 비극성 칼럼을 검토하여 유효성 검증을 하였고, 이를 토대로 국내 즉석라면 중 목표성분에 대해 잔류량 조사를 실시하였다. Ethylene oxide는 acetaldehyde와 머무름 시간과 분자이온 및 정량 이온 등 모두 같이 단독으로 분석하는 데 어려운 한계가 있어 2-bromoethanol로 유도체화 하여 분석하였다. 분석 장비는 GC-MS-MS를 사용하였으며 극성 칼럼은 DB-WAX, 비극성 칼럼은 DB-5MS를 선정하였다. DB-WAX에서 2-bromoethanol 및 2-chloroethanol 성분이 5 - 6분에서 분리가 됨을 확인하였고 DB-5MS는 3분 초반에 각각 분리되었다. DB-5MS 칼럼에서 DB-WAX 대비 해당 성분의 머무름 시간이 짧았으나 두 성분 모두 간섭 없이 검출되었다. DB-5MS 칼럼을 적용하여 유효성 검증을 진행한 결과 검출 한계는 0.002 mg kg^{-1} , 정량 한계는 0.006 mg kg^{-1} 수준이었고, $0.01 - 0.1 \text{ mg kg}^{-1}$ 범위 내의 직선성 (R^2) 0.999 이상으로 양호하였다. 회수율 또한 완제품, 면, 스프, 건조야채믹스 4가지 시료로 각각 검토한 결과 82 - 109% 사이로 양호한 수준임을 확인하였다. 이를 토대로 국내 시장에 유통 중인 즉석라면 31품목에 대해 완제품, 면, 스프, 건조야채믹스 4부분으로 나누어 ethylene oxide 및 2-chloroethanol의 잔류량을 조사하였다. 잔류량 조사 결과 ethylene oxide는 전 시료에서 불검출이었고 2-chloroethanol은 완제품과 면에서 불검출, 스프에서 불검출 - 0.03 mg kg^{-1} , 건조야채믹스는 불검출 - 0.05 mg kg^{-1} 수준으로 검출됨을 조사하였다. 본 연구의 칼럼 비교 조건을 활용한다면 식품공전의 잔류농약 다성분 시험법에 적용 중인 비극성 칼럼과 동일한 칼럼을 ethylene oxide 분석법에 적용할 수 있다고 사료되며, 이로 인한 분석업무의 효율성 증대 및 목표 성분의 검출 여부를 확인하는 척도로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

색인어 2-클로로에탄올, 에틸렌옥사이드, 훈증제, 즉석라면, 극성농약