Journal of Food Hygiene and Safety 9(1), 43-48(1994)

분말상 식품에 있어서 Enthylene Oxide의 잔류성과 이차생성물 분석

권중호 · 김석원* · 변명우* · 조한옥* · 이기동
경북대학교 식품공학과, *한국원자력연구소

Determination of Ethylene Oxide Residue and its Secondary Products in Powdered Food

Joong-Ho Kwon, Suc-Won Kim*, Myung-Woo Byun*
Han-Ok Cho* and Gee-Dong Lee
Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University
**Korea Atomic Energy Research Institute*

ABSTRACT–Instrumental determination was performed for the analysis of residues of ethylene oxide(EO), ethylene chlorohydrin(ECH) and ethylene glycol(EG) in white ginseng powders which were deaerated for 30 min after EO fumigation. Gas chromatographic data showed that EO residues were 570 ppm in the immediate samples after deaeration and 170 ppm in the stored ones for 8 days at 30± 1℃, respectively, showing a decreasing tendency with elapsed time. On the other hand, ECH and EG residues in samples as the secondary products of EO were 17,650 ppm and 727 ppm stored for one month, and 9,595 ppm and 221 ppm stored for 3 months, respectively.

Keyword □ Ethylene oxide residue, secondary products, powdered food.

식품의 위생적인 품질개선과 저장기간의 연장을 위해 1940년대 이후 사용되고 있는 ethylene oxide (EO, C_2H_4O)훈증제에 의한 살균방법은 여러가지 문제점이 지적되어 세계적으로 그 사용이 규제 또는 금지되는 추세에 있다.[1,2] 우리나라에서는 EO훈증제 처리가 향신료, 분말곡류, 건조야채, 건조수산물, 코코아, 인삼 등 식료품의 살균, 살충을 목적으로 사용되었으나 1991년 금지된 바 있으며,[3] 의료용품, 의약품, 수술용품 등의 멸균에는 계속 사용되고 있다. Ethylene oxide는 무색의 폭발성 휘발가스(bp_{760} 10.7℃)로 멸균기작은 미생물 세포의 단백질과의 반응, 즉 −OH, −COOH, $-NH_2$, −SH기의 불안정한 수소원자가 hydroxyethyl기에 의해 치환이 일어나는 것으로 설명할 수 있으나 모든 산의 수소원자에 대한 EO의 높은 반응성으로 인하여 미생물뿐 아니라 식품성분과의 반응이 유발된다.[2,4]

EO훈증처리 후 생성되는 잔류 화합물은 EO의 물리적인 흡착, 식품성분의 염화무기물 또는 ethylene bromohydrin의 생성, 저급 지방산과의 반응에 의한 1,2−diolmonohydrin의 생성, 수분과의 반응에 의한 ethylene glycol 및 diethylene glycol의 생성, hydroxyethyl화 유도체 등이 생성된다.[2] 이 중 가장 문제시되고 있는 EO 및 2차 생성물인 ethylene chlorohydrin(ECH)과 ethylene glycol(EG)의 반응식은 아래와 같으며 이에 대한 유해성을 살펴보면 EO는 만성노출 및 EO 처리식품의 장기섭취시 염색체의 변형발생을 증가시켜 자연유산, 돌연변이, 기형아 출산, 백혈병 및 암을 유발시킬 가능성이 있고 ECH와 EG 또한 발암성 물질로 이 발암성의 90%가 돌연변이 유발성과 관계가 있는 것으로 보고되어 있다.[2,5,6]

$$(CH_2)_2O \xrightarrow{Cl^-} ClCH_2CH_2OH$$
(ECH)

$$(CH_2)_2O \xrightarrow{H^+,-HO} CH_2OHCH_2OH$$
(EO)

선진 각국에서는 이들 유해물질의 유효 최대허용치를 법적으로 규제하고 있다. 미국 및 소련에서는 1일 최대 환경허용치를 1 ppm으로 제한하고 있으며, 미국 식품·의약품 관리국에서는 식품 및 의료용품에 따라 ECH 및 EG의 최대 한계량을 ECH 10-250 ppm, EG 10-5,000 ppm으로 규정하고 있다.[7]

본 연구에서는 식품, 의료용품 등의 멸균방법으로 아직 많은 나라에서 사용되고 있는 EO훈증법에 대한 안전성 검토의 측면에서, 훈증처리 후 인위적으로 30분간 탈기시킨 분말상 식품에 대하여 EO의 잔류량과 그 이차생성물의 함량을 기기분석법에 의하여 측정하였다.

재료 및 방법

훈증처리 시료

EO 훈증처리에 사용된 분말상 시료는 백삼분말(120 mesh)을 사용하였고, polyethylene bag에 약 100 g씩 넣고 포장의 상부를 개봉한 상태에서 처리하였다. 훈증처리 조건은 상업적으로 사용되었던 조건으로서 gas혼합비 (EO : CO_2) 3 : 7(w/w%), 온도 55℃, 상대습도(RH) 40-50%, 압력 0.8 kg/cm^2, 가스밀도 1.77 kg/m^{2}의 chamber내에서 처리하였고, 탈기는 30분간만 실시하였다. 훈증이 끝난 시료는 밀봉하여 30±1℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

Ethylene oxide(EO)잔류량 측정

표준검정 : 3 M 염화나트륨(Kanto Chem. Co.) 수용액을 크로마토그래프용 증류수를 사용하여 조제한 후 refrigerating circulator에서 −20℃를 유지시키면서 9.9 ml 바이알에 넣고 측량하였다. 주사기를 사용하여 −20℃의 ethylene oxide(순도 99.8%, Fluka Chemie AG) 0.1 ml를 바이알에 넣어 혼합 후 측량하여 EO의 용량을 계산한 후(4,394 ppm) 10배, 20배, 100배 등으로 희석하였다. 이 시험액 2 ml씩을 20 ml 나사마개 바이알에 넣고 teflon-lined septum으로 마개하였다. Internal standard로서 아세톤(GR, Merck) 12 ppm을 함유한 3 M 염화나트륨 수용액 50 μl씩을 미량주사기에 의해 각 바이알에 넣은 후 head space autosampler(Hamiltom 701-1)에 장전하고 가스 크로마토그래프에 연결하였다. 동일농도의 시료를 세번 측정한 평균치를 사용하였으며, 이 때 EO 43.94 ppm에 대한 chromatogram(Fig. 1A)과 GC 조건(Table 1)을 사용하였다. 또한 head space sampler condition으로 equilibration time 2 min : 0 sec, pressure 0 : 3, 0 : 13, vent/fill loop 0 : 15, 0 : 25, inject 0 : 27, prove inject 3 : 29, bath temp. 60℃, valve/loop temp. 65℃, sampling interval 10 min, carrier flow 1.8 bar, aux. pressure 1.5 bar, loop size 1 ml, run time 10 min 등이었다. 한편 internal standard area에 대한 EO area의 용적비와 EO의 양(ppm)과의 상호관계에서 검정곡선 방정식

Table 1. Gas chromatographic conditions for the determination of ethylene oxide(EO), ethylene chlorohydrin(ECH) and ethylene glycol(EG)

	EO	ECH	EG
	(Head space method)	(Solvent extract method)	
Column:	HP-FFAP (polyethylene glycol-TPA modified, 50m×0.2mm i.d.)		
Temp : Column oven	: 40℃ 80℃(2 min)/5℃/190℃/40℃/220℃		
Injection port	: 150℃	200℃	
Detector	: 150℃	200℃	
Gas flow(splitless) :			
Carrier(He)	: 1.5 ml/min		
Hydrogen	: 20 ml/min		
Air	: 400 ml/min		
make-up	: 20 ml/min		
Sample size	: 1 ml	5 μl	1 μl

을 구하여 시료의 정량에 이용하였다(Fig. 2).

시료채취 : 훈증처리된 백삼분말 1.5000 g을 15 ml시험관에 넣고 −20℃인 10 ml의 3 M 염화나트륨을 가하여 10분간 진탕하였다. 10 ml 나사마개 바이알에 상기 상층액 2 ml와 50 μl의 internal standard를 넣고 60℃ 실리콘 오일 욕조에서 30분간 가온한 후 head space autosampler에 장전하고 가스 크로마토그래프에 연결하였다. 이 때 GC chromatogram(Fig. 1B)을 얻었고 검정곡선 방정식을 이용하여 chromatogram의 용적비로서 EO의 잔류량을 역산하였다. 시료는 EO 처리 후 0일, 2일, 6일 및 8일간 30±1℃에 보관된 백삼분말을 사용하였다.

Ethylene chlorohydrin(ECH) 및 ethylene glycol (EG)의 정량

표준검정 : 50ml 메스 플라스크에 약 25 ml의 메탄올(Duk San Pharm. Co., Ltd.)을 넣고 ethylene glycol(순도 99.5%, Fluka Chemie AG) 약 10 mg와 ethylene chlorohydrin(순도 99.5%, Fluka Chemie AG) 약 100 mg을 각각 정확히 청취하여 (0.0376 g, 0.2290 g) 메탄올을 표선까지 채워서 혼합하였다(EG 752 ppm, ECH 4,580 ppm). 이 용액을 10배, 20배, 50배 등으로 희석한 후 1 ml씩을 3 ml의 reacti−vial에 넣고 teflon-lined septum으로 마개하였다. Internal standard로서 n-butanol(GR, Merck) 10 ppm을 함유한 메탄올 용액 10 μl씩을 미량주사기를 이용하여 각 바이알에 넣은 후 가스 크로마토그래프에 사용하였으며, 동일 농도의 시료 triplet로 하여 평균치를 이용하였고, 이 때 GC조건(Table 1)은 전과 같이 하여 GC chromatogram을 얻었다(Fig. 3).

이 때 internal standard area와 ECH 및 EG량(ppm)과의 상호관계에서 검정곡선 방정식을 구하여 시료의 정량에 이용하였다 (Fig. 4).

시료채취 : 훈증처리된 백삼분말 0.5000 g을 시험관에 넣고 15 ml의 메탄올을 가한 후 15분간 진탕하고 1일간 방치하였다. 2,500 rpm에서 5분간 원심분리 후 상층액을 희석 표정하고 1 ml를 3 ml의 reacti-vial에 넣어 teflon-lined septum으로 마개하였다. 여기에 10 μl의 internal standard를 넣고 가스 크로마토그래프에 주입하였으며 이때 GC chromatogram은 Fig. 3과 같고 검정곡선 방정식을 이용하여 ECH, EG의 잔류량을 역산하였다.

기구 : Flame ionization detector가 부착된 Hewlett-Packard 5890 gas chromatograph(U.S.A.)를 사용하였고, column은 HP-FFAP(polyethylene glycol TAP modified, 50 m×0.2 mm i.d.)였다. Head space 방법에는 100 μl 및 50 μl Hamilton gas-tight syringe를 가스 시료채취에 사용하였고, teflon-lined septum의 20 ml의 나사마개 바이알을 시료용기로 사용하였으며, −20℃시료 전처리에 refrigerating circulator (Lauda, F.R.G.)가 이용되었다. 용매추출 방법에는 3 ml 용량의 reacti-vial을 사용하였고, Hewlett-Packard model 7633A automatic sampler와 integrator가 사용되었다.

결과 및 고찰

Ethylene oxide의 잔류성

본 연구에서는 gas chromatograph를 이용하여 EO, ECH 및 EG의 잔류량을 다음과 같이 정량하였다. EO의 표준시료 제조는 EO의 휘발성 (bp_{760} 10.7℃)으로 인한 오차를 줄이기 위하여 −20℃의 circulator

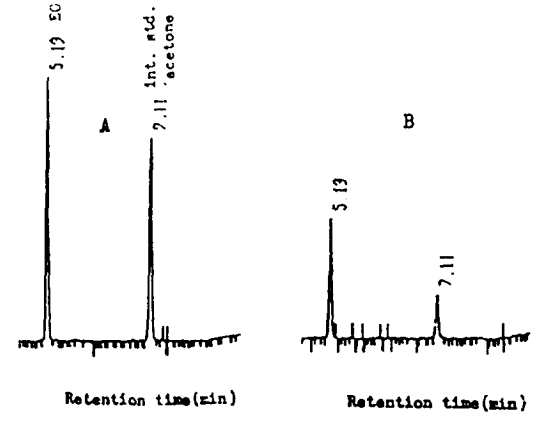

Fig. 1. Gas chromatograms of ethylene oxide(EO). A, standard(43.94 ppm); B, white ginseng powders ethylene oxide fumigated.

에서 실험하였으며, 이때 사용한 용매인 증류수의 빙점강하를 위해 NaCl을 첨가하고 농도별로 실험하여 −20℃에서 응고되지 않는 농도를 3 M로 정하였다. EO의 낮은 비등점으로 인하여 head space method를 이용하여 시료를 주입하였을 때 retention time이 5.19 min이었고 internal standard(acetone)는 7.11 min인 chromatogram을 얻었다(Fig. 1). 시료농도 439.4 ppm, 219.7 ppm, 43.94 ppm, 4.394 ppm 및 0.4394 ppm을 3회씩 주입하여 internal standard의 peak area에 대한 EO의 peak area의 ratio를 구하여 검정곡선을 작성하였고(Fig. 2), 방정식을 구한 결과 다음의 식을 얻었다.

본 실험에서 linearity는 이상적인 값이었으며 실험치로 인정 가능한 범위이고, detector limit는 50 ppb이었다. Retention time을 연장하고 injection 및 oven

$$Y_{ED}=0.1398X_{ED}-1.816 \qquad R_{ED}=0.997$$

X_{ED} : concentration(ppm) of EO

Y_{ED} : ratio(area of EO/area of internal standard)

R_{ED} : linearity

detection limit를 낮추는 것이 용이할 것으로 사료된다.

EO의 잔류량 정량에서와 동일한 백삼분말 시료를

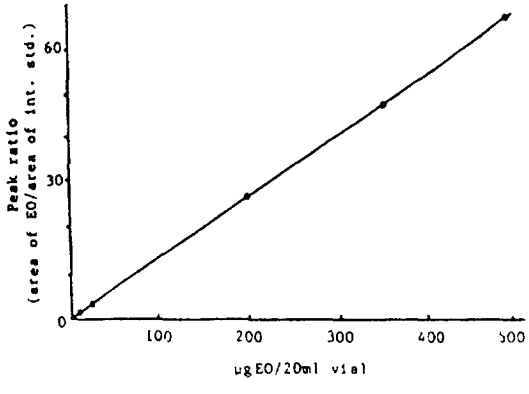

Fig. 2. Calibration curve of ethylene oxide by head space method.

Table 2. Residue of ethlyene oxide(EO) in white ginseng powders after EO fumigation[a]

Time after EO fumigation days, 30± 1℃	Residue(ppm)
0	570
2	323
6	179
8	170

[a]Deaeration time after EO fumigation was 30 min.

30±1℃에서 3개월간 저장하면서 실험에 사용하였다. EO처리 1개월과 3개월 후인 백삼분말의 ECH는 temperature를 올려 보았으나 다른 peak가 발견되지 않아 3 M NaCl용매에서의 다른 영향이 없었음을 확인하였다. 상기 검정곡선 방정식은 시료농도를 십단위 이하에서 여러가지 농도로 적용하고 0 ppm을 감안하면 linearity가 좋은 식을 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

백삼분말을 통상의 상업적 조건으로 EO처리한 후 탈기를 30분으로 적게 시켜 과량의 EO 잔류가 예상되는 상태에서 30±1℃에 저장중 경시적으로 정량한 결과, EO처리 0, 2, 6 및 8일 후의 잔류량을 570, 323, 179 및 170 ppm으로 저장초기에는 급속히 감소하는 경향을 보여 주었다(Table 2). 이 때 과량의 EO가 잔류한 것은 EO처리 후 탈기시간이 식품에 따른 통상의 8~48시간보다 짧은 시간에 의한 것으로 사료되며, 보통 식품저장의 어떤 조건이라도 EO는 2~7주 이내에 잔류량이 없어지는 것으로 알려져 있다.[2,5,6]

EO잔류량을 측정하는 방법으로는 colorimetry, gavimetry, titrimetry 및 효소의 활성측정 등의 방법이 있으며 가장 정량적으로 측정하는 방법으로는 capillary column을 이용한 gas chromatogaphy방법으로 고찰된 바 있다.[2,6]

Ethylene chlorohydrin 및 ethylene glycol의 잔류성

ECH 및 EG의 분석에는 용매추출 방법으로 시도하였다. 이미 알려진 acetone, CS_2, DMF, acetone $+H_2O$, acetonitrile 등의 용매보다 다루기 용이한 메

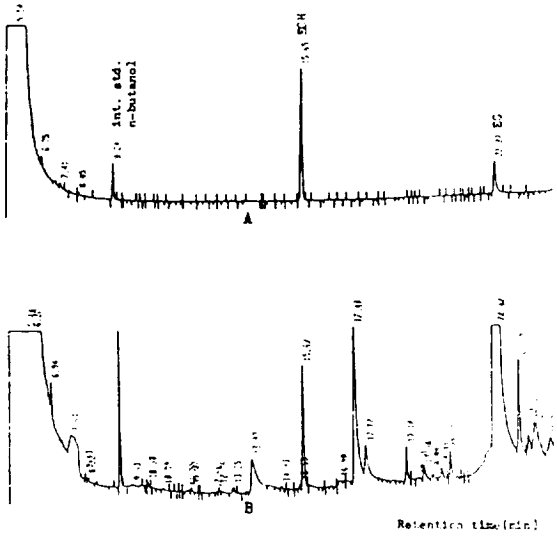

Fig. 3. Gas chromatograms of ethylene chlorohydrin(ECH) and ethylene glycol(EG). A, standard ; B, white ginseng powders ethylene oxide fumigated.

탄올을 사용하여 retention time을 연장시켜 peak를 분리한 결과, 문제점이 없어 그대로 표준용매로 사용하였다. Chromatogram 상의 retention time은 internal standard(n-BuOH) 9.24, ECH 15.65 및 EG 22.27 min이었다(Fig. 3). 시료농도 403.8, 170.6, 40.38, 10.09, 4.038 ppm 등에서 3회씩 주입하여 internal standard의 peak area에 대한 ratio를 구하여 검정곡선(Fig. 4)을 작성하였고 방정식을 구한 결과 ECH 및 EG 각각에 대하여 다음의 식을 얻었다.

$Y_{ECH}=0.01162X_{ECH}+0.02752$ $R_{ECH}=0.9999$

$Y_{EG}=0.02139X_{EG}-1.123$ $R_{EG}=0.992$

X_{ECH}, X_{EG} : concentration(ppm) of ECH or EG

X_{ECH}, Y_{EG} : ratio(area of ECH or EG/area of internal standard)

X_{ECH}, X_{EG} : linearity

이 때 linearity는 ECH의 경우 이상적인 값을 가지며 EG의 경우는 실험치내의 합리적인 범위로 볼 수 있다. Detection limit는 ECH에 대해 1 ppm이고 EG에 대해 3 ppm이었다. GC조건 및 용매를 고려하여 각각 17,650 ppm 및 9.595 ppm, EG는 727 ppm 및 221 ppm으로 EO에서와 마찬가지로 과량 검출되었으나 시간이 경과하면서 감소하는 경향을 보여 주었다. (Table 3). ECH와 EG는 비등점이 각각 bp_{760} 128~130℃와 bp_{760} 197.6℃인 비휘발성 화합물로 식품성분의 염소이온과 EO를 생성하여[2,5,6] 그대로 잔류되며 장기간 저장할 경우 자연분해 되어진다.

식품내의 EO의 잔류 및 ECH와 EG의 생성속도는 식품내의 염화무기물 함량의 차이에 의한 영향보다는 EO훈증처리 시간 및 탈기 시간에 비례하여 그 생성량이 달라지게 된다. 또 식품내의 수분함량에 비례하여 촉진되며, 식품입자가 가늘때 용이하게 부착된다.[2,5,6] 잔류물질을 감소시키기 위해서는 EO가스의 적절한 처리조건(온도 습도, gas 농도, 압력, 멸균시

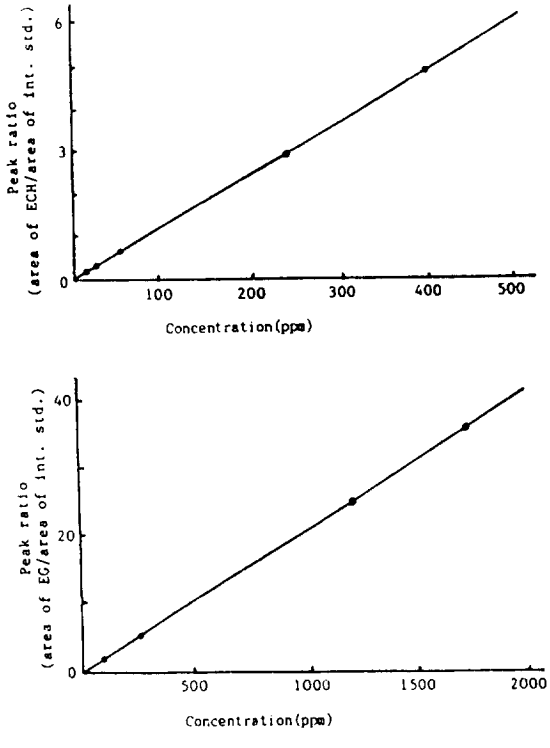

Fig. 4. Calibration curves of ethylene chlorohydrin(upper) and ethylene glycol(lower).

Table 3. Residue of ethlyene chlorohydrin(ECH) and ethylene glycol(EG) in white ginseng powders after ethylene oxide(EO) fumigation[a]

Time after EO fumigation (months, 30±1℃)	Residue(ppm)	
	ECH	EG
1	17,650	727
3	9,595	221

[a]Deaeration time after EO fumigation was 30 min.

간 등)의 선택이 필요하고 충분한 환기시간을 주어 EO가 가능한 한 제거되도록 하여야 하기 때문에,[9] 미국 식품·의약품 관리국에서는 EO사용시의 guide line을 설정하고 있다.

본 실험에서는 보고된 바 없는 새로운 용매를 사용하여 EO, ECH 및 EG의 잔류량을 gas chromatograph로 정량하였으며, EO 표준용매 제조의 정확성 및 detection limit를 개선하면 유해 잔류물질을 용이하고 정확하게 검량하는 기초자료가 될 것으로 기대된다.

국문 요약

훈증처리된 백삼분말 시료의 ethylene oxide(EO) 잔류성과 그 이차생성물인 ethylene chlorohydrin (ECH) 및 ethylene glycol(EG)의 잔류량을 GC에 의하여 분석하였다. EO 훈증처리 후 30분간 탈기시킨 분말시료의 EO 잔류량은 처리 직후가 570 ppm, 30±1℃에서 8일간 보관된 시료가 170 ppm으로 점차 감소하는 경향이었다. ECH와 EG의 경우에는 그 잔류량이 EO처리 1개월 후에 17,650 ppm과 727 ppm, 저장 3개월 후에는 9,595 ppm과 221 ppm으로 매우 높은 농도의 유해 물질이 상당기간 잔류됨을 확인하였다.

참고 문헌

1. IAEA : FAO/IAEA/WHO/ITC-UNCTAD/GATT international conference on the acceptance, control of and trade in irradiated foods. *Food Irradiation Newsletter*, **11**, 34 (1987).
2. WHO : Ethylene oxide. *Environmental Health Criteria* **55** (1985).
3. 보건사회부 : 식품첨가물 규격기준 개정내용(1991. 5. 28)
4. Winarno, F.G. and Stumbo, C. R. : Mode of action of ethylene oxide on spores of *Clostridium botulinum*. 62A. *J. Food Sci.*, **36**, 892 (1971).
5. Wesley, F., Rourke, B. and Darbishire, O. : The formation of persistent toxic chlorohydrins in foodstuffs by fumigation with ethylene oxide and with propylene oxide. *J. Food Sci.*, **30**, 1037 (1965).
6. Ragelis, E.P., Fisher, B. S., Klimeck, B.A. and Johnson, C. : Isolation and determination of chlorohydrins in foods fumigated with ethylene oxide or with propylene oxide. *J.A.O.A.C.* **51**, 709 (1968).
7. Anonymous : Federal Register. **43**, 27474 (1978).
8. 권중호, 조한옥, 변명우, 김석원, 양재승, 유영수, 진준하, 이영근, 박순철 : 인산제품의 품질개선을 위한 방사선 이용기술개발. 과학기술처 특정연구사업보고서. *KAERI/RR-905/90*, p.86 (1990).
9. 최재호, 유영수, 정해원, 진준하 : 한국원자력연구소 기술현황분석보고서, *KAERI/370/EG-37/80*, p.11 (1980).