

양식어류 중 Ethoxyquin과 Ethoxyquin dimer의 잔류분석 및 위해평가

최영희^{1,*} · 고숙경¹ · 류승희¹ · 진영희¹ · 광재은¹ · 이명숙¹ · 김복순¹ · 황인숙¹
¹서울시보건환경연구원 강남농수산물검사소

Residue analysis and risk assessment of ethoxyquin and ethoxyquin dimer in farmed fish

Young-Hee Choi^{1,*}, Suk-Kyung Ko¹, Seung-Hee Ryu¹, Young-Hee Jin¹, Jae-Eun Kwak¹,
Myung-Sook Lee¹, Bog-Soon Kim¹, and In-Sook Hang¹

¹Department of Gangnam Agricultural and Fishery Product Inspection,
Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment

Abstract In the present study, liquid chromatography tandem-mass spectrometry was used to conduct a risk assessment of ethoxyquin and ethoxyquin dimer residues in 288 farmed fish sold in wholesale and traditional markets in Seoul. The detection range (detection rate) of ethoxyquin and ethoxyquin dimer was 0.005~0.309 mg/kg (4.9%) and 0.001~2.828 mg/kg (69.8%), respectively. Ethoxyquin was detected only in freshwater eels, loaches, catfish, and flatfish, whereas ethoxyquin dimer was present in all fish species. To estimate the dietary exposure levels of ethoxyquin and ethoxyquin dimer, the hazard index, calculated using the acceptable daily intake and estimated daily intake, ranged from 0.001 to 0.300%. Our results indicate that there is no significant exposure risk to humans from these farmed fish despite 10 farmed fish samples exceeding the maximum residue level (1.0 mg/kg as the sum of ethoxyquin and ethoxyquin dimer).

Keywords: ethoxyquin, ethoxyquin dimer, risk assessment, LC-MS/MS, hazard index

서 론

에톡시퀸(ethoxyquin, 1,2-dihydro-6-ethoxy-2,2,4-trimethylquinoline)은 지질 산패 방지를 목적으로 동물 사료의 항산화제로 가장 널리 사용되고 있고, 배합 사료의 주원료인 어분의 해양 운송 과정 중 자연발화 방지를 위한 발화 억제제로써 국제적으로 사용되고 있다(Andreas 등, 2019). 에톡시퀸은 항산화제 특성상 사료 저장 기간 중 산소의 존재로 쉽게 여러 대사산물로 전환되고, 동물이 섭취한 후에도 다른 형태로 전환될 수 있다. 에톡시퀸 다이머(ethoxyquin dimer, 6,6'-diethoxy-2,2,2',2',4,4'-hexamethyl-1',2'-dihydro-2H-1,8'-biquinoline)가 주된 대사산물이고 그 이외에도 dehydrodemethylethoxyquin, dihydroethoxyquin, quinone imine 등 여러 형태의 대사산물이 생성된다(Sylvain 등, 2019).

에톡시퀸을 첨가한 사료로 양식한 어류가 첨가하지 않은 사료로 양식한 어류에 비해 높은 사료 섭취량을 나타내었고, 무게 증가 및 성장률도 높았고(Patrick 등, 2001), 지방 함량뿐만 아니라 다중불포화지방산의 함량도 더 높게 나타나 사료의 에

톡시퀸 첨가 필요성을 제시하기도 하였다(Jun 등, 2010). 하지만, 국내뿐만 아니라 국제적으로도 식품 첨가물로 허가되어 있지 않은 항산화제인 에톡시퀸을 동물사료에 첨가함으로써 에톡시퀸이 사료로부터 양식 어류에게 이행되고, 이를 섭취한 사람에게까지 전달됨으로써 잠재적인 부작용이 우려되기 시작하였다. 따라서 유럽에서는 모든 동물 사료에 에톡시퀸 단일 또는 부틸하이드록시아니솔(BHA), 부틸하이드록시톨루엔(BHT)과 병행하여 그 사용량을 150 mg/kg으로 상한치를 설정하였고, 국내 사료 등의 기준 및 규격에서도 에톡시퀸을 포함한 항산화제의 허용기준을 수산 동물용의 경우 배합사료 1톤당 300 g 이하로 설정되어 있다. 또한 식품에 있어서는 유럽의 경우 잔류허용기준이 설정되어 있지 않지만, 미국의 경우 식육의 근육 0.5 mg/kg, 지방 5 mg/kg (가금류 제외), 가금류의 간 및 지방 3 mg/kg, 달걀 0.5 mg/kg, 일본의 경우 어류 1.0 mg/kg, 갑각류 0.2 mg/kg의 기준을 적용하고 있다. 국내의 경우 에톡시퀸의 잔류허용기준을 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 합으로써 어류 중 1.0 mg/kg, 갑각류 0.2 mg/kg으로 설정하고 있고, 배와 사과에 대해 3.0 mg/kg 잔류농약 기준이 설정되어 있다.

근래 들어 동물뿐 아니라 인체에 대해서도 에톡시퀸에 대한 우려가 높아지면서 양식어류 또는 동물 중 에톡시퀸 및 그 대사물질에 대한 분석법 연구(Andreas 등, 2019; Jun 등, 2010; Shin 등, 2016; Yoichi 등, 2010), 잔류량 및 그에 따른 위해성 연구자료(Ajay 등, 2020; Aoki 등, 2010; Choi 등, 2020; Sylvain 등, 2019)가 보고된 바 있다. 하지만 에톡시퀸뿐만 아니라 에톡시퀸 대사물질에 대해서 소비자 노출에 초점을 맞춘 데이터 및 연구 자료의 부족으로 Commission

*Corresponding author: Young-Hee Choi, Department of Gangnam Agricultural and Fishery Product Inspection, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul 05699, Korea
Tel: +82-2-3401-6292
Fax: +82-2-3401-6742
E-mail: cyhseoul@seoul.go.kr
Received February 3, 2021; revised March 22, 2021; accepted March 22, 2021

Implementing Regulation EU 2017/962에서는 2017년 6월에 사료 첨가제로 에톡시퀸 사용허가를 보류하였고, 우리나라는 2021년 6월까지 에톡시퀸 저감화 조치를 적극적으로 시행한다는 전제로 식품의약품안전처에서는 어류 중 에톡시퀸 잔류 허용기준을 유예하여 운영하고 있다.

따라서 본 연구에서는 서울 시내 도매시장 및 재래시장에서 유통되는 양식 어류를 대상으로 에톡시퀸 및 에톡시퀸 다이머의 잔류실태를 조사함으로써 사료로부터 이행되는 잔류량을 분석하고, 인체노출량을 고려하여 위해평가를 수행하고자 한다.

재료 및 방법

시료 및 시약

2020년도 서울지역 농수산물도매시장 및 재래시장에서 유통되는 양식 어류 288건을 대상으로 껍질과 내장을 제거한 근육만을 분쇄하여 시험용 시료로 하였다.

에톡시퀸(99%) 표준품은 Sigma-Aldrich (Augsburg, Germany), 에톡시퀸 다이머(ethoxyquin dimer, 98%) 표준품은 TRC (Toronto, Canada)로부터 구입하여 사용하였다. 아세토니트릴(acetonitrile, J.T.Baker, Phillipsburg, NJ), 메탄올(Methanol, J.T.Baker), Primarysecondaryamine (PSA, Agilent Technology, San Jose, CA), C₁₈ (J.T.Baker), 개미산 암모늄(ammonium formate, Sigma-Aldrich), 아스코르브산(ascorbic acid, Sigma-Aldrich), 아스코르브산 나트륨(sodium ascorbate, Sigma-Aldrich), 구연산 나트륨(sodium citrate, Sigma-Aldrich), 염화나트륨(sodium chloride, Junsei, Tokyo, Japan), 황산마그네슘(magnesium sulfate, Junsei), sodium sesquihydrate (Sigma-Aldrich) 등은 특급 또는 분석용을 사용하였다.

표준원액 및 표준용액의 조제

에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 표준품을 각각 100 mL 용량플라스크에 메탄올(에톡시퀸), 아세토니트릴(에톡시퀸 다이머)로 정용하여 100 mg/L이 되도록 표준원액을 조제하여 갈색 유리병에 담아 냉동고에 보관하였다. 또한 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머가 검출되지 않은 넙치 시료에 표준용액의 최종 농도가 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 mg/L 되도록 첨가하여 시험용액 조제 방법과 동일하게 전처리하여 검량선을 작성하였다.

시험용액의 조제

식품공전 시험법 제 8. 일반시험법 7. 식품 중 잔류농약 분석법 7.3.2. 단성분 분석법 7.3.2.29 에톡시퀸 시험법에 따라 균질화한 시료 약 2 g을 정밀히 달아 50 mL 폴리프로필렌 재질의 시험관에 취하고 아스코르브산 및 아스코르브산 나트륨 혼합용액 500 µL를 첨가하여 가볍게 진탕한다. 물 5 mL와 아세토니트릴 10 mL를 넣고 15분간 진탕한 다음 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe) 시약 6.5 g (sodium citrate 1 g, NaCl 1 g, MgSO₄ 4 g, sodium sesquihydrate 0.5 g)을 넣어 1분간 진탕한 후 4,700×g, 4°C에서 5분간 원심분리한다. 상층액을 150 mg PSA, 150 mg C₁₈과 900 mg MgSO₄가 담겨진 50 mL 폴리프로필렌 재질의 튜브에 취한 후 1 분간 진탕하고, 4,700×g, 4°C에서 5분간 원심분리한다. 원심분리한 상층액 1 mL를 취하여 0.2 µm 멤브레인 필터(nylon membrane filter)로 여과하여 시험용액으로 한다.

기기분석

액체크로마토그래피-질량분석기(UPLC/MS/MS, Ultra-Performance Liquid-Chromatography/Mass Spectrometer, Waters, Xevo-TQ, Milford, MA, USA)를 이용하여 Table 1의 조건으

Table 1. Analytical conditions of LC/MS/MS for ethoxyquin and ethoxyquin dimer

Instrument	Parameter	Condition																				
UPLC	Column	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ (1.7 µm, 2.1×100 mm)																				
	Mobile phase	A: 10 mM Ammonium formate, B: Acetonitrile																				
	Flow rate	0.3 mL/min																				
	Gradient	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time (min)</th> <th>0</th> <th>1</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>9.5</th> <th>12</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Solvent A (%)</td> <td>40</td> <td>40</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>40</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>Solvent B (%)</td> <td>60</td> <td>60</td> <td>100</td> <td>100</td> <td>60</td> <td>60</td> </tr> </tbody> </table>	Time (min)	0	1	8	9	9.5	12	Solvent A (%)	40	40	0	0	40	40	Solvent B (%)	60	60	100	100	60
Time (min)	0	1	8	9	9.5	12																
Solvent A (%)	40	40	0	0	40	40																
Solvent B (%)	60	60	100	100	60	60																
MS/MS	Ionization mode	ESI positive																				
	Capillary voltage	3.5 kV																				
	Desolvation Temp.	350 °C																				
	Desolvation gas flow	800 L/h																				
	Cone gas flow	50 L/h																				

Table 2. MRM (Multiple reaction monitoring) condition for ethoxyquin and ethoxyquin dimer

Compound	Retention time	Molecular weight	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Collision energy (eV)
Ethoxyquin	2.97	217	218	148^{a)}	20
				134	20
				176	18
Ethoxyquin dimer	8.77	432	433	216	25
				230	25
				375	29

^{a)}The bold text expressed as quantification ions.

로 분석하였고, 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 분석을 위한 정량 및 정성 이온의 MRM (multiple reaction monitoring) 조건은 Table 2와 같다.

시험방법에 대한 유효성 검증

에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머가 검출되지 않은 넙치 시료에 표준용액의 최종 농도가 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 mg/L 되도록 첨가하여 시험용액 조제 방법과 동일하게 전처리하여 검량선을 작성하여 직선성을 확인하고, 혼합표준용액을 5회 반복 측정하여 그 기울기와 표준편차를 이용하여 정성한계(limit of detection, LOD) 및 정량한계(limit of quantification, LOQ)를 구하였다. 또한 50 mL conical tube에 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머가 검출되지 않은 돔 시료에 혼합표준용액을 첨가하고, 그리고 시료 없이 혼합표준용액만을 첨가하여 회수율 및 변이계수를 구하여 CODEX 가이드라인(CAC/GL-71)에 따른 분석법 유효성 검증을 하였다.

$$\text{LOD}=3.3*s/S$$

$$\text{LOQ}=10*s/S$$

s: 절편의 표준편차
S: 기울기의 평균

위해 평가

분석 결과를 바탕으로 식품 중 위해오염물질 위해평가 실무 표준 매뉴얼(식품의약품안전평가원, 2019)에 따라 에톡시퀸 및 에톡시퀸 다이머의 잔류량 합과 어종별 섭취량의 특정 값을 선택하여 위해도를 산출하는 결정론적 노출평가를 이용하여 위해 평가를 실시하였다. 양식어류에서 검출된 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 합량의 평균 잔류량과 국민영양통계에서 해당 어류의 일일 섭취량을 적용하여 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머에 대한 일일 섭취량을 산출하고, 한국인 평균 체중 60 kg을 고려한 후 일일섭취추정량(estimated daily intake, EDI)을 산출하였다. 또한 우리나라는 아직 에톡시퀸에 대한 인체안전 기준인 일일섭취허용량(acceptable daily intake, ADI)이 설정되어 있지 않아 1998년 JMPR (Joint of FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues)의 결정에 따라 0.005 mg/kg b.w./day를 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 합량의 ADI로 이용하였고, 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 잔류량 합량의 EDI와 ADI를 이용하여

위해도(hazard index, HI, %)를 평가하였다. 위해평가지 실제 분석데이터에서 불검출에 대한 처리는 GEMS/Food (Global Environment Monitoring System/Food)-EURO에 따라 어종별 평균 잔류량을 산출하였다.

$$\text{*EDI (mg/kg b.w./day)}$$

$$= \frac{\text{평균 잔류량(mg/kg)} \times \text{일 식품섭취량(kg/day/person)}}{\text{한국인 평균 체중(60 kg/person)}}$$

$$\text{*Hazard index (\%)} = \frac{\text{EDI (mg/kg b.w./day)}}{\text{ADI (mg/kg b.w./day)}} \times 100$$

통계 분석

데이터 통계처리를 위해 IBM SPSS Statistics 20 (SPSS Inc. Chicago, IL, USA)를 이용하였고, 어중에 따른 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 잔류량의 평균비교를 위해 분산분석(ANOVA, Analysis of variance)을 수행하고, 사후 검정으로 Duncan의 다중검정을 이용하였다.

결과 및 고찰

시험방법에 대한 유효성 검증(Verification)

넙치 시료에 혼합표준용액의 최종 농도가 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 mg/L 되도록 첨가하여 시험용액 조제 방법과 동일하게 전처리하여 검량선을 작성한 결과, 결정계수(r^2)가 0.99이상으로 양호한 직선성을 나타내었고, LOD 및 LOQ는 에톡시퀸의 경우 0.001, 0.004 mg/kg, 에톡시퀸 다이머의 경우 0.001, 0.003 mg/kg이었다. 또한 돔 시료에 표준용액을 첨가하였을 때와 시료 없이 표준용액만 첨가하여 시험용액 조제 방법과 동일하게 전처리하였을 때 모든 농도 수준에서 회수율 70-120%, 변이계수(coefficient of variation, CV) 30% 이하로 나타나 CODEX 가이드라인(CAC/GL-71)에 따른 분석법 유효성 검증 조건을 만족하여 정확성 및 정밀성을 확보하였다.

양식 어류 중 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 잔류량

양식어류 288건에 대해 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 잔류량을 분석한 결과, 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 검출률은 각각 4.9, 69.8%로 나타났다. 에톡시퀸은 미꾸라지, 민물장어,

Table 3. Recovery rate (%) and coefficient of variation (CV) of ethoxyquin and ethoxyquin dimer

Concentration (mg/kg)	Sample (snapper)		Non-sample		
	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	
Ethoxyquin	0.01	99.4	1.80	96.8	5.87
	0.02	92.4	3.76	88.5	0.22
	0.05	94.9	0.54	90.0	2.22
	0.10	95.7	0.49	93.4	2.03
	0.20	104.0	2.05	99.1	2.50
Ethoxyquin dimer	0.01	86.0	1.64	102.0	2.77
	0.02	89.4	0.91	103.1	1.51
	0.05	94.5	3.53	104.2	2.55
	0.10	88.8	1.42	100.7	0.42
	0.20	89.8	3.55	96.5	0.73

Table 4. Detection rate and residue concentration of ethoxyquin and ethoxyquin dimer in farmed fish

Compound	Species	Sample number	Detection number (rate, %)	Min (mg/kg)	Max (mg/kg)	Mean (mg/kg)	Standard deviation (mg/kg)		
Ethoxyquin	Freshwater eel	24	9 (37.5)	0.005	0.037	0.134	0.010		
	Loach	19	1 (0.1)	0.010	0.010	0.010	-		
	Freshwater fish	Catfish	11	1 (9.1)	0.309	0.309	0.309	-	
		Snakehead	9	-	-	-	-	-	
		Korean bullhead	7	-	-	-	-	-	
		Total	70	11 (15.7)	0.005	0.309	0.040	0.090	
	Ethoxyquin	Snapper	75	-	-	-	-	-	
		Flatfish	50	2 (4.0)	0.009	0.024	0.016	0.011	
		Marine fish	Rockfish	38	-	-	-	-	-
			Bass	36	-	-	-	-	-
			Sea bass	12	-	-	-	-	-
		Diamond back	7	-	-	-	-	-	
		Total	218	2 (2.5)	0.009	0.024	0.016	0.011	
	Total	288	14 (4.9)	0.005	0.309	0.036	0.082		
Ethoxyquin dimer	Freshwater eel	24	23 (95.8)	0.014	1.975	0.521 ^{ab}	0.422		
	Loach	19	19 (100.0)	0.030	1.983	0.438 ^{ab}	0.603		
	Freshwater fish	Catfish	11	11 (100.0)	0.025	1.225	0.414 ^{ab}	0.334	
		Snakehead	9	4 (44.4)	0.002	0.250	0.131 ^a	0.133	
		Korean bullhead	7	6 (85.7)	0.078	2.828	0.941 ^b	1.144	
		Total	70	63 (90.0)	0.002	2.828	0.492	0.183	
	Ethoxyquin dimer	Snapper	75	52 (69.3)	0.001	0.620	0.112 ^a	0.143	
		Flatfish	50	39 (78.0)	0.001	1.790	0.123 ^a	0.338	
		Marine fish	Rockfish	38	14 (36.8)	0.002	0.580	0.074 ^a	0.155
			Bass	36	20 (55.6)	0.001	0.441	0.058 ^a	0.096
			Sea bass	12	7 (58.3)	0.003	0.090	0.033 ^a	0.039
		Diamond back	7	6 (85.7)	0.008	0.641	0.327 ^b	0.284	
		Total	218	138 (63.3)	0.001	1.790	0.109	0.662	
	Total	288	201 (69.8)	0.001	2.828	0.229	0.407		

The small letters show difference at $p < 0.05$ between groups based on ANOVA test

Table 5. Dietary exposure assessment of the sum of ethoxyquin and ethoxyquin dimer residued in 5 kinds of farmed fish

Farmed fish	Food consumption ¹⁾ (g/day/person)	Average detection value ²⁾ (mg/kg)	EDI ³⁾ (mg/kg b.w./day)	ADI ⁴⁾ (mg/kg b.w./day)	HI ⁵⁾ (%)
Freshwater eel	1.78	0.505 ^b	1.5E-05		0.301
Loach	1.08	0.439 ^b	0.8E-05		0.159
Snapper	0.07	0.079 ^a	0.1E-06	0.005	0.002
Flatfish	1.45	0.098 ^a	0.3E-05		0.050
Rockfish	0.58	0.029 ^a	0.3E-06		0.007

¹⁾Korea Health Industry Development Institute (KHIDI), National nutrition statistics (2018)

²⁾Average detection value is calculated by the residue amount of a sum of ethoxyquin and ethoxyquin dimer. The LOD/2 value is used for all non-detectables (ND) according to GEMS/Food-EURO

³⁾Estimated daily intake(mg/kg b.w./day)= $\frac{\text{Average concentration (mg/kg)} \times \text{daily food intake (kg/day/person)}}{60 \text{ kg/person}}$

⁴⁾Acceptable daily intake (mg/kg b.w./day)=0.005 mg/kg b.w./day

⁵⁾Hazard index (%)=EDI/ADI×100

The small letters show difference at $p < 0.05$ between

메기, 넙치에서만 검출된 반면, 에톡시퀸의 주된 분해산물인 에톡시퀸 다이머의 경우 민물어류 5종 및 해양어류 6종에서 검출되었다. 이는 에톡시퀸을 첨가한 사료로 연어를 90일간 양식한 다음 90일의 정화기간을 두고 에톡시퀸의 변화를 관찰하였을 때, 에톡시퀸의 반감기를 7.8일, 에톡시퀸 다이머의 반감기는 71일로 예측한 연구 결과(Berntssen 등, 2019)와 에톡시퀸 함유 사료로 연어를 양식한지 12일 후에 에톡시퀸 다이머의 잔류량이 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 합이 98%까지 차지할 수 있다는 연구 자료(Victoria 등, 2008)처럼 사료로부터 이행된 에톡시퀸이 양식하는 동안 어류 체내에서 에톡시퀸 원래 형태보다는 에톡시퀸 다이머 형태로 잔류하고 있음을 확인할 수 있었다.

에톡시퀸 다이머의 경우 민물어류에서는 0.002-2.828 mg/kg, 평균 0.492 mg/kg 농도로 잔류하였고, 해양어류에서는 0.001-1.790 mg/kg, 평균 0.109 mg/kg 농도로 잔류하였고, 강도다리가 6종 해양어류 중 가장 높게 나타났으며($p < 0.05$), 해양어류보다 민물어류에서 에톡시퀸 다이머 잔류량이 더 높게 나타났다. 또한 미꾸라지 3건, 민물장어 2건, 동자개 2건, 넙치 2건, 메기 1건이 에톡시퀸 및 에톡시퀸 다이머 합이 국내 기준인 1.0 mg/kg을 초과하였다. 해양어류에 비해 민물어류에서 에톡시퀸 및 에톡시퀸 다이머의 검출량 및 검출률이 높게 나타난 것은 어류의 크기 및 성장률에 따른 사료 섭취량, 수조의 사육밀도, 유수량 등 양식 환경의 차이에서 기인된 것으로 예측된다. Choi 등(2020)은 양식 어류에서 에톡시퀸이 0.0001-0.0242 mg/kg, 에톡시퀸 다이머가 0.0001-0.315 mg/kg로 검출되어 본 연구결과보다 낮은 농도로 검출되었지만, Lundebye 등(2010)은 연어에서 0.350-1.620 mg/kg, 송어에서 0.219-1.760 mg/kg, 넙치에서 0.122-2.607 mg/kg 수준으로 검출되어 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

Victoria 등(2008)은 노르웨이에서 어류 양식에 대한 의무 정화기간 14일이 에톡시퀸 및 에톡시퀸 다이머 제거를 위해서는 충분하지 않다고 제안하였고, Berntssen 등(2019)은 사료로부터 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머가 연어 근육부로의 전이를 연구한 결과, 에톡시퀸 다이머가 없는 연어를 얻기 위해서는 약 3-6 개월이 요구된다고 하였다. 또한 이번 연구 결과를 기초로 사료에 첨가된 에톡시퀸이 어류로 전이되어 인체로 유입되는 것을 방지하기 위해서는 사료에서의 에톡시퀸 첨가량 조절, 또는 양식 어류의 정화기간 조율 등의 조치가 요구된다.

에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 위해평가

국내 축수산물의 잔류물질 허용기준에서 에톡시퀸은 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 합으로써 1.0 mg/kg 이하의 기준을 적용하고 있다. 따라서 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머 잔류량 합이 평균 잔류량과 국민영양통계(2018)에 따른 1일 어류섭취량(kg/day/person)을 이용하여 EDI를 산출하고 위해평가를 실시하였다. 또한 어종별 평균 잔류량 산출에서 불검출 데이터의 처리는 GEMS/Food (Global Environment Monitoring System/Food) EURO에 따라 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 각각의 LOD/2 값을 이용하였다. 위해 평가 대상 어종으로써는 시료 수와 검출률을 고려하여 민물어류 중 미꾸라지와 민물장어, 해양어류 중 돔, 넙치, 우럭을 선정하였다.

민물장어와 미꾸라지의 위해도가 각각 0.301, 0.159%로 다른 어종에 비해 높게 나타났고, 넙치 0.050%, 우럭 0.007%, 돔류 0.002%로 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머에 노출된 어류 섭취로 인한 잠재적인 인체 위해도가 낮은 것으로 나타났다.

또한 돔류의 경우, 평균 잔류량은 넙치, 우럭과 유사한 수준이었지만($p > 0.05$), 섭취량이 넙치와 우럭에 비해 낮아 가장 낮은 위해도를 나타내었다.

Sylvain 등(2019)은 EU의 사료 기준인 150 mg/kg 이하의 에톡시퀸 함유 사료로 양식한 연어를 섭취한다면 연어 소비량과 EDI를 이용한 인체노출평가에서 ADI를 초과하지 않는다고 하였고, Lundebye 등(2010)은 60 kg 성인 대상으로 에톡시퀸의 이론적 최대 섭취량을 연어 1인분(300 g)당 에톡시퀸 ADI의 15%에 해당한다고 보고하였다. 하지만 Choi 등(2020)은 4개의 시나리오로 위해평가를 수행하였는데 어류 평균 섭취량으로 산출하였을 때는 0.06-0.18% 위해도를 나타내어 평균 섭취량으로 위해도를 평가한 본 연구결과와 유사한 수준으로 평가되었다.

요 약

서울시내 도매시장 및 재래시장에서 판매되는 양식어류 288건에 대해 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 잔류량을 LC-MS/MS로 분석하고 위해평가를 수행하였다. 에톡시퀸과 에톡시퀸 다이머의 검출 범위(검출률)는 각각 민물어류의 경우 0.005-0.309 mg/kg (15.7%), 0.002-2.828 mg/kg (90.0%), 해양어류의 경우 0.009-0.024 mg/kg (2.5%), 0.001-1.790 (63.3%)로 나타났다. 에톡시퀸은 민물장어, 미꾸라지, 동자개, 넙치에서만 검출된 반면 에톡시퀸 다이머는 민물어류 5종 및 해양어류 6종에서 검출되었다. 식이노출평가를 위해 ADI와 EDI를 이용하여 미꾸라지, 민물장어, 돔, 넙치 우럭을 대상으로 HI를 계산한 결과 0.002-0.301%로 나타났다. 본 연구 결과, 10건의 양식 어류가 잔류물질 허용기준 1.0 mg/kg을 초과하였지만, 인체 건강에 잠재적인 위해성이 매우 적은 것으로 나타났다. 하지만 이번 연구 결과는 식품에 허가되어 있지 않는 항산화제인 에톡시퀸 및 에톡시퀸 다이머가 사료로부터 양식어류에 이행되어 인간에게 노출되고 있음을 과학적으로 입증할 수 있는 근거 자료가 되었다.

References

- Ajay P, Ceyhun B, Lea M, Justine D, Per-Eric O. The food preservative ethoxyquin impairs zebrafish development, behavior and alters gene expression profile. *Food Chem. Toxicol.* 135: 110926 (2020)
- Andreas K, Paul WE. Determination of the synthetic antioxidant ethoxyquin its metabolites in fish and fishery products using liquid chromatography-fluorescence detection and stable-isotope dilution analysis-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 67: 6650-6657 (2019)
- Aoki, YA, Miyazawa N, Uchida, K, Igarashi Y, Hirayama N, Kusu F. Determination of ethoxyquin by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and its application to the survey of residues in food products of animal origin. *J. AOAC Int.* 93: 277-283 (2010)
- Berntssen MHG, Hoogenveen R, Bernhard A, Lundebye AK, Ormstrud R, Zeilmaker MJ. Modelling of the feed-to-fillet transfer of ethoxyquin and one of its main metabolites, ethoxyquin dimer, to the fillet of farmed Atlantic salmon (*Salmon salar L.*). *Food Addit. Contam. A*, 36: 1042-1054 (2019)
- Choi SY, Kwon NJ, Kang HS, Kim JH, Cho BH, Oh JH. Residues determination and dietary exposure to ethoxyquin and ethoxyquin dimer in farmed aquatic animals in South Korea. *Food Control* 111: 107067 (2020)
- Commission Implementing Regulation (EU). 2017/962 of 7 June 2017 suspending the authorization of ethoxyquin as a feed addi-

- tive for all animal species and categories. Off. J. Eur. Union, L145: 13-17 (2017)
- Kang GJ, Choi JD, Kwon JU, An TH, Shin MS, Shin YU, Chun SY, Kim SH. Practical standard manual for risk assessment of hazardous substances and contaminants in food. National Institute of Food and Drug Safety evaluation (NIFDS), Cheongju, Korea. pp. 3-12 (2019)
- Korea Health Industry Development Institute. National nutrition statistics 2018. Available from: <https://www.khidi.or.kr/kps/dhraStat/result2?menuId=MENU01653&gubun=age2&year=2018>. Accessed Oct. 27, 2020.
- Jun W, Qinghui A, Kangsen M, Wei X, Houguo X, Wenbing Z, Xiaojie W, Zhiguo L. Effects of dietary ethoxyquin on growth performance and body composition of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture 306: 80-84 (2010)
- Lundebye AK, Hove H, Mage A, Bohne VJB, Hamre K. Levels of synthetic antioxidants (ethoxyquin, butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole) in fish feed and commercially farmed fish. Food Addit. Contam. 27: 1625-1657 (2010)
- Patrick K, Eric V, Charles M, Pascal F, Paul BB. Growth and nutritional status of Eurasian perch *Perca fluviatilis* fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin. Aquaculture 203: 85-99 (2001)
- Shin DS, Chae YS, Kang HS, Lee SB, Cho Yj, Cheon SY, Jeong JY, Rhee GS. Development of LC-MS/MS quantitation method for ethoxyquin in fishery products. J. Food Hyg. Saf. 31: 432-438 (2016)
- Sylvain M, Jorge R, Marc HGB, Rita H, Robin Q, Noelia N. Identification of ethoxyquin and its transformation products in salmon after controlled dietary exposure via fish feed. Food Chem. 289: 259-268 (2019)
- Victoria J, Berdikova B, Anne-Katrine L, Kristin H. Accumulation and depuration of the synthetic antioxidant ethoxyquin in the muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Food Chem. Toxicol. 46: 1834-1843 (2008)
- Yoichi A, Akira K, Naomi M, Kazunari U, Yu I, Norio H, Hideki H, Jumiyo K. Determination of ethoxyquin by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and its application to the survey of residues in food products of animal origin. J. AOAC Int. 93(1): 277-283 (2010)