pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 32, No. 5, pp. 424~433 (2017)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2017.32.5.424

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 기구 · 용기 · 포장 유래 산화방지제 분석 및 안전성평가

최희주 · 최재천 · 배인애 · 박세종 · 김미경*
식품의약품안전평가원 첨가물포장과

Analysis and Safety Assessment of Antioxidants Migrated from Polyethylene and Polypropylene Food Packaging Materials into Food Simulants

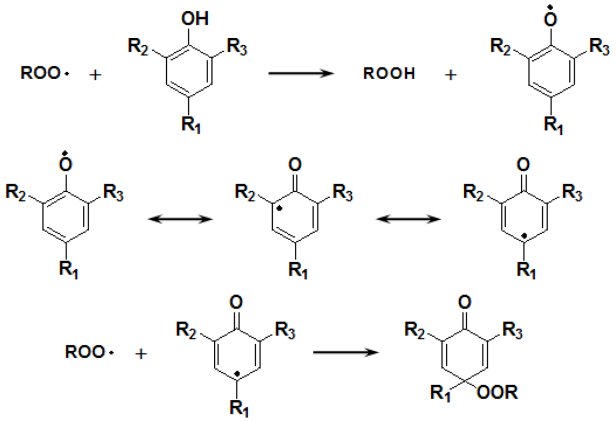
Heeju Choi, Jae Chun Choi, In-Ae Bae, Se-Jong Park, and MeeKyung Kim*
Food Additives and Packaging Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju, Korea
(Received July 27, 2017/Revised August 5, 2017/Accepted September 14, 2017)

ABSTRACT - Antioxidants are used in the manufacturing of commercial food packages made of polyolefin plastic such as polyethylene and polypropylene for the purpose to delay the oxidation reaction of the polymer due to oxygen or traces of ozone in the atmosphere. Additives in plastics may be migrated from the packaging materials into foods, thereby presenting a potential health risk to the consumer. Therefore, it is necessary to determine migration level of antioxidants from food packaging materials to foodstuffs in order to take proactive management. In this study, we have developed a method for the analysis of 10 antioxidants, which are butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), Cyanox 2246, 425 and 1790, Irgafos 168, and Irganox 1010, 1330, 3114 and 1076, migrated from the food packaging materials into four food simulants for aqueous, acidic, alcoholic and fatty foods. The antioxidants were determined by reversed-phase high-performance liquid chromatograph-ultraviolet detector with 276 nm after solid-phase extraction with a hydrophilic-lipophilic balance (HLB) cartridge or dilution with isopropanol. The analytical method showed a good linearity of coefficient ($R^2 \geq 0.99$), limits of detection (0.11~0.41 mg/L), and limits of quantification (0.34~1.24 mg/L). The recoveries of antioxidants spiked to four food simulants ranged from 71.3% to 109.4%. The migrated antioxidants in this study were within the safety levels that resulted from the safety assessment by the estimated daily intake to the tolerable daily intake.

Key words : Polyethylene, Polypropylene, Antioxidants, Migration, Safety Assessment

합성수지 제조 시 품질개량과 가공성, 물성향상, 장기적인 안정성 유지를 위해서 다양한 첨가제를 사용한다. 그 중 산화방지제는 올레핀계 합성수지의 열화(분해, 변색)를 방지하기 위하여 사용하는 첨가제로, 합성수지를 제조할 때 품질저하를 방지하고, 생산효율을 향상시키는 동시에 품질을 유지하고자 하는 목적으로 사용되며, 일반적으로 폴리프로필렌 및 폴리에틸렌 등 올레핀계 수지에 사용되는 첨가제를 의미한다[1]. Macholz 등[2]은 합성수지 필름에 일반적으로 수지 원료량의 약 0.05~1% 수준으로 산화방지제가 첨가된다고 보고한 바 있다.

공기 중에는 20.9%의 산소가 존재하고 대부분의 재료는 공기와 접촉했을 때 표면에서 산화반응이 쉽게 일어난다. 합성수지와 같은 고분자의 경우, 고분자의 압출 및 성형과 같은 가공 중간에 열 또는 기계적 전단력(shear stress)



R_1, R_2, R_3 = alkyl or aryl

Fig. 1. Reaction of the phenol type antioxidants.

*Correspondence to: MeeKyung Kim, Food Additives & Packaging Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongju 28159, Korea
Tel: 82-43-719-4351, Fax: 82-43-719-4350
E-mail: mkim@korea.kr

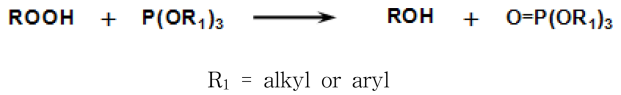
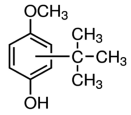
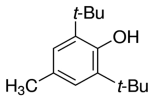
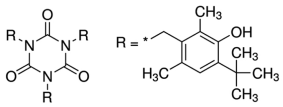
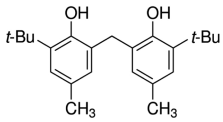
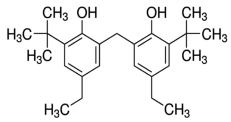
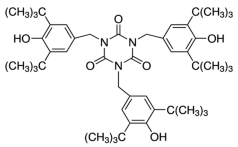
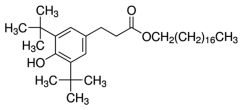
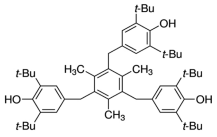
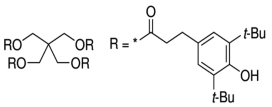
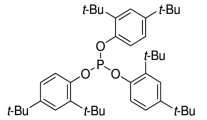


Fig. 2. Peroxide decomposition reaction of the phosphite type antioxidants.

등에 의해 알킬 라디칼이 생성된다. 생성된 라디칼은 산소 및 잔류 금속 성분 등에 의해 급속하게 산화되고 고분자의 외관 및 형태의 변화뿐만 아니라 화학구조 및 물성의 변화를 가져온다. 이러한 변화를 막기위한 산화방지제는 1차와 2차 산화방지제로 나누어 볼 수 있다. 1차 산화방지제는 합성수지 내에 생성된 라디칼과 반응하여 합성수지를 안정화시키는 라디칼 소거제(radical scavenger)로서의 기능을 하며, 대표적인 종류로는 페놀(phenol)계와 아민(amine)계가 있다. 이들은 자신이 가지고 있는 수소를 방출하여 라디칼을 안정화시키고 그 자신이 라디칼로 변하게 되는데 공명효과 또는 전자의 재배열을 통하여 안정한 형태로 잔류하게 된다(Fig. 1). 페놀계 산화방지제는 산화방지제 전체 수요량의 대다수를 차지하고 있을 정도로 많이 사용되고 있으며, 열가소성 합성수지에 가장 많이 사

Table 1. Chemical structures of 10 antioxidants

Types	Chemical name	Trade name	Formula	Structure
Phenol	4-hydroxy-3-tert-butylanisole	BHA	$C_{11}H_{16}O_2$	
Phenol	3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene	BHT	$C_{15}H_{24}O$	
Phenol	1,3,5-tris(4-tert-butyl-3-hydroxy-2,6-dimethylbenzyl)-1,3,5-triazine-2,4,6(1H,3H,5H)-trianone	Cyanox 1790	$C_{42}H_{57}N_3O_6$	
Phenol	2,2'-methylene bis(4-methyl-6-tert-butylphenol)	Cyanox 2246	$C_{22}H_{32}O_2$	
Phenol	2,2'-methylene bis(4-ethyl-6-tert-butylphenol)	Cyanox 425	$C_{25}H_{36}O_2$	
Phenol	1,3,5-tris(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl)-1,3,5-triazine -2,4,6(1H,3H,5H)-trione	Irganox 3114	$C_{48}H_{69}N_3O_6$	
Phenol	octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate	Irganox 1076	$C_{35}H_{62}O_3$	
Phenol	1,3,5-trimethyl-2,4,6-tris(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl) benzene	Irganox 1330	$C_{54}H_{78}O_3$	
Phenol	pentaerythritol tetrakis[3(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionate]	Irganox 1010	$C_{73}H_{108}O_{12}$	
Phosphite	tris(2,4-di-tert-butylphenyl)ester	Irgafos 168	$C_{42}H_{63}O_3P$	

용되는 안정제이다. 아민계 산화방지제는 페놀계 산화방지제에 비해 산화방지 효과가 우수하나, 첨가하였을 때 변색되기 때문에 고무분야에서 주로 사용되고 합성수지 분야에서는 거의 사용되지 않고 있다. 2차 산화방지제는 라디칼에 의해 생성되는 과산화물을 안정된 형태의 분자로 분해하는 과산화물 분해제(peroxide decomposer)로서의 기능을 수행하며, 대표적인 종류로는 인(phosphite)계와 유황(thioester)계가 있다. 2차 산화방지제는 1차 산화방지제와 병용할 때 상승효과가 있다. 인계 산화방지제는 과산화물을 분해하여 알코올을 만들고, 포스파이트 자신은 포스페이트로 변화한다(Fig. 2). 인계 산화방지제는 페놀계 산화방지제의 착색성을 방지해주는 역할을 하여 병용으로 사용할 때 상승효과가 있다. 유황계 산화방지제는 장기간 열에 노출되는 응용분야에서 매우 효과적인 과산화물 분해제이나, 자극적인 냄새로 인하여 식품 포장 및 용기류 용으로는 적합하지 않다[3].

유럽연합 등 제외국에서는 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 재질에 사용될 수 있는 Irganox[예, Irganox 3114, 1,3,5-tris (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl)-1,3,5-triazine-2,4,6 (1H,3H,5H)-trione] 등[4]의 산화방지제에 대한 허용물질 목록(Positive list) 및 관리 기준이 있으나, 우리나라는 별도의 기준・규격이 설정되어 있지 않은 실정이다. 따라서, 국제기준과의 조화 및 최근 증가하고 있는 식품용 기구 및 용기・포장에 대한 사회적 관심 등을 반영하여 사전예방적 관리 차원에서 식품용 기구 및 용기・포장으로부터 식품으로 이행되는 산화방지제에 대한 분석법을 확립할 필요가 있다. 본 연구에서는 high performance liquid chromatograph-ultraviolet detector (HPLC-UVD)를 이용하여 산화방지제 10종(Table 1)의 동시분석법 확립 및 폴리에틸렌, 폴리프로필렌 재질의 기구 및 용기・포장에서 식품유사용매로 이행되는 산화방지제의 이행량을 조사한 후, 그 결과를 기구 및 용기・포장 노출량평가 시나리오[4]에 적용하고 tolerable daily intake (TDI)와 비교하여 위해도를 산출하여 안전성을 평가하고자 하였다.

Materials and Methods

대상시료

국내 유통 중인 위생백, 지퍼백, 우유팩, 주스팩, 가공식품용 포장지, 밀폐용기, 일회용기 등 폴리에틸렌(78건) 및 폴리프로필렌(122건) 재질의 식품용 기구 및 용기・포장 제품 총 200건을 전국의 대형할인매장, 재래시장, 그릇도매상, 업체협조 등을 통해 구입하여 시료로 사용하였다.

시약 및 재료

본 연구에 사용한 표준물질 10종 가운데 BHA, BHT, Cyanox 1790, Cyanox 2246, Cyanox 425, Irganox 1076, Irganox 1330, Irganox 1010, Irgafos 168은 AccuStandard (New Haven, CT, USA)사의 제품을 사용하였고, Irganox 3114의 경우 BASF (Ludwigshafen, Rheinland Pfalz, Germany)사를 통해 제공받아 사용하였다. 아세톤, 아세토니트릴, 이소프로필알코올, 에탄올 및 *n*-헵탄은 Merck (Darmstadt, Frankfurter, Germany)사에서 구입하였고, 테트라히드로퓨란과 초산은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사에서 구입하여 사용하였다. 증류수는 Millipore (Billerica, MA, USA)사의 Milli-Q ultrapure water purification system을 이용하여 18.2 mΩ 수준으로 정제하여 사용하였다. 또한, 고체상 추출(Solid Phase Extraction) 전처리를 위한 Oasis HLB (hydrophilic lipophilic balance) 카트리지(6 cc, 200 mg)와 진공매니폴드(Vacuum Manifold)는 Waters (Milford, MA, USA)사의 제품을 사용하였다. HPLC 주입전에 사용한 시린지 필터는 Whatman (Maidstone, Kent, England)사의 PTFE (polytetrafluoroethylene) 재질 0.45 μm사이즈를 사용하였다. 또한 본 연구에서 사용된 바이알 등의 모든 초자는 분석대상 물질인 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌과 동일한 재질일 경우 공시험(blank test)을 거쳐 오염여부를 확인한 후에 사용하였다.

분석조건

분석대상 시료의 재질 확인에는 PerkinElmer (Waltham, MA, USA)사의 FT-IR (fourier transform infrared) spectrometer (Spectrum 100)를, 산화방지제 분석에는 Shiseido (Minato, Tokyo, Japan)사의 SI-2 3023 오토샘플러, SI-2 3004 컬럼오븐, SI-2 3202 펌프와 이동상탈기장치로 이루어진 시스템에 ThermoFisher (Waltham, MA, USA)사의 Accela PDA 80Hz detector를 장착한 HPLC-UVD를 사용하였으며, 분석조건은 Table 2에 요약하였다.

Table 2. HPLC analytical condition of 10 antioxidants

HPLC condition						
Instruments	Shiseido HPLC (SI-2 3023, 3004, 3202) Thermo Fisher Detector (Accela PDA 80Hz)					
Column	Capcell pak C_{18} UG120 (4.6 mm × 250 mm × 5 um, Shiseido)					
Mobile phase	(A) Acetonitrile, (B) Distilled water					
Gradient	Time (min)	0	13	35	40	45
	Solvent A (%)	40	0	0	40	40
	Solvent B (%)	60	100	100	60	60
Wavelength	276 nm					
Oven temperature	50°C					
Flow rate	1.5 mL/min					
Injection volume	10 uL					

표준용액의 조제

10종의 산화방지제를 각각 아세톤에 녹여 1000 mg/L의 표준원액을 제조하였다. 각각의 표준원액을 희석하여 100 mg/L의 혼합표준원액을 제조하고, 이를 희석하여 검량선 작성을 위해 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50 mg/L의 혼합표준용액을 제조하였다.

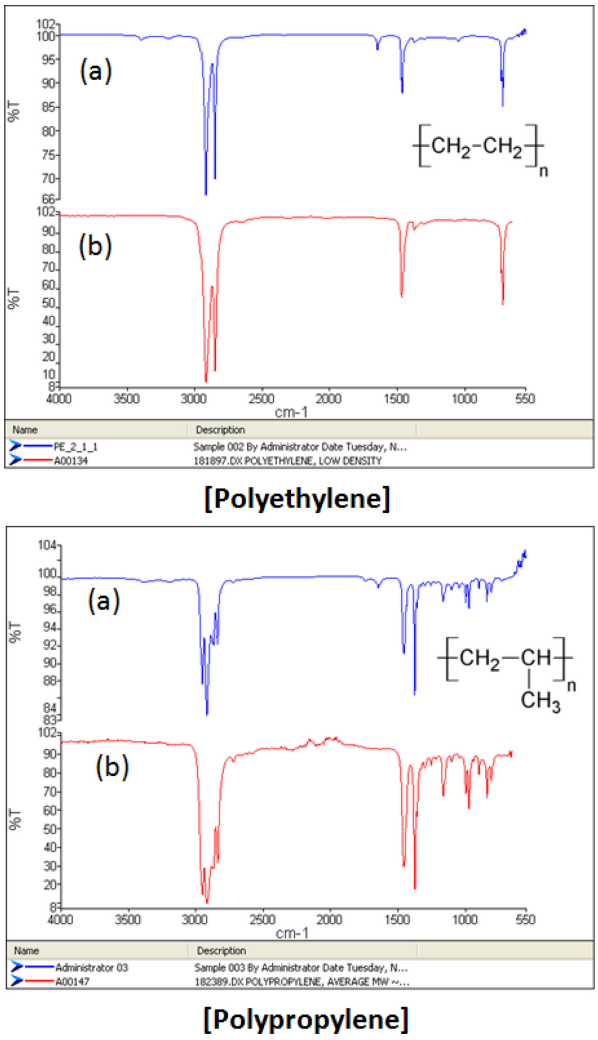


Fig. 3. FT-IR absorption specta of polyethylene and polypropylene. (a) spectra of polyethylene and polypropylene sample, (b) reference spectra of library.

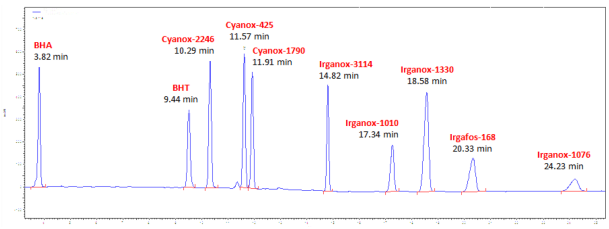


Fig. 4. HPLC chromatogram of 10 antioxidants (10 mg/L).

시험용액의 조제

폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 시료는 「식품용 기구 및 용기·포장 공전」 IV. 기구 및 용기·포장의 시험법 2-6. 재질별 용출시험용액의 조제에 따라 용출시험용액을 조제하였다. 식품유사용매로는 물, 4% 초산, 50% 에탄올 및 *n*-헵탄을 사용하였으며, 액체를 넣을 수 있는 시료는 식품유사용매를 가득 채워서, 액체를 넣을 수 없는 시료는 식품과 접촉하는 면에 대하여 표면적 1 cm^2 당 2 mL 비율로 식품유사용매에 담가 단면용출시험용액을 조제하였다. 물, 4% 초산을 침출용액으로 하여 용출한 경우에는 100°C에서 30분, 50% 에탄올을 침출용액으로 하여 용출한 경우에는 70°C에서 30분, *n*-헵탄을 침출용액으로 하여 용출한 경우에는 25°C에서 1시간 방치한 액을 시험용액으로 하였다. 시험용액의 조제에 따라 조제한 액 10 mL를 미리 아세토니트릴 5 mL와 물 5 mL로 활성화시킨 HLB 카트리지(6 cc, 200 mg)에 흡착시키고 감압하여 분당 1 mL로 용출하여 버린다. 이어서 아세토니트릴 8 mL 및 테트라하이드로퓨란 2 mL를 순차적으로 가하여 용출한 액에 아세토니트릴·테트라하이드로퓨란 혼합액[8 : 2(v/v)]을 가하여 10 mL로 정용한 액을 시린지 필터(0.45 μm, PTFE)로 여과하여 최종 시험용액으로 하였다. 다만, 시험용액의 조제에 따라 조제한 액 중 *n*-헵탄을 사용하여 조제한 시험용액의 경우 별도의 전처리 없이 이소프로필알코올로 3배 희석한 액을 시린지 필터(0.45 μm, PTFE)로 여과하여 최종 시험용액으로 하였다.

Results and Discussion

시료의 재질확인 및 크로마토그램

분석대상 시료의 재질을 FT-IR spectrometer로 분석하여 해당 스펙트럼(a)이 기기에 내장된 library의 폴리에틸렌 및

Table 3. Linearity, limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the analytical method for 10 antioxidants (n = 3)

Antioxidant	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	Linearity (R^2)
BHA	0.25	0.75	0.9990
BHT	0.34	1.02	0.9994
Cyanox-2246	0.14	0.43	0.9985
Cyanox-425	0.17	0.51	0.9986
Cyanox-1790	0.32	0.97	0.9991
Irganox-3114	0.13	0.38	0.9995
Irganox-1010	0.11	0.34	0.9998
Irganox-1330	0.31	0.93	0.9998
Irgafos-168	0.41	1.24	0.9980
Irganox-1076	0.33	1.00	0.9997

Table 4. Recovery and precision of the analytical method for 10 antioxidants spiked to 4 simulants (Spiked Level : 2 mg/L)

Antioxidants	Simulants	Recovery (%) (n = 3)	Precision (RSD%)	
			Intra-day (n = 3)	Inter-day (n = 9)
BHA	Water	80.91 ± 7.86	9.71	8.07
	4% Acetic acid	80.00 ± 7.75	9.69	7.68
	50% Ethanol	83.68 ± 6.64	7.94	6.41
	n-Heptane	93.89 ± 3.62	3.86	3.15
BHT	Water	77.06 ± 3.78	4.91	6.30
	4% Acetic acid	80.26 ± 8.08	10.07	9.87
	50% Ethanol	91.10 ± 5.66	6.22	5.92
	n-Heptane	103.12 ± 4.35	4.22	3.24
C-2246	Water	87.85 ± 4.63	5.27	3.65
	4% Acetic acid	87.99 ± 10.06	10.43	10.50
	50% Ethanol	81.24 ± 6.32	7.78	6.33
	n-Heptane	89.88 ± 2.60	2.89	2.49
C-425	Water	86.68 ± 7.10	8.19	7.85
	4% Acetic acid	82.84 ± 5.90	7.13	7.94
	50% Ethanol	84.78 ± 3.70	4.36	4.20
	n-Heptane	92.51 ± 4.89	5.29	3.63
C-1790	Water	80.32 ± 1.90	2.37	4.03
	4% Acetic acid	82.92 ± 2.47	2.98	2.26
	50% Ethanol	82.25 ± 3.34	4.06	5.14
	n-Heptane	89.94 ± 3.75	4.17	3.73
I-3114	Water	75.75 ± 9.92	10.09	9.46
	4% Acetic acid	76.39 ± 4.78	6.26	5.41
	50% Ethanol	78.69 ± 5.83	7.41	7.98
	n-Heptane	91.24 ± 6.20	6.80	3.81
I-1010	Water	71.56 ± 8.42	10.76	9.83
	4% Acetic acid	77.91 ± 3.36	4.31	3.87
	50% Ethanol	82.61 ± 8.10	9.80	7.83
	n-Heptane	99.96 ± 2.71	2.71	3.94
I-1330	Water	79.85 ± 5.06	6.33	7.71
	4% Acetic acid	78.75 ± 4.44	5.64	5.31
	50% Ethanol	83.40 ± 2.59	3.10	5.05
	n-Heptane	89.55 ± 0.68	0.76	2.89
I-168	Water	71.35 ± 7.22	10.12	7.63
	4% Acetic acid	75.44 ± 3.73	4.95	7.33
	50% Ethanol	78.11 ± 8.22	10.52	8.35
	n-Heptane	90.76 ± 1.94	2.13	3.06
I-1076	Water	71.27 ± 9.57	10.43	8.59
	4% Acetic acid	71.85 ± 3.18	4.42	8.01
	50% Ethanol	82.88 ± 3.22	3.88	5.58
	n-Heptane	96.68 ± 4.69	4.85	3.75

폴리프로필렌 스펙트럼(b)과 일치하는지를 확인하였고, 이를 Fig. 3에 나타내었다. 또한, HPLC-UVD로 분석한 10 mg/L 농도의 산화방지제 표준물질 10종의 크로마토그램을 Fig. 4에 나타내었다. 이러한 결과는 일본 금원출판사의 위생시험법・주해에 기재된 폴리에틸렌과 폴리프로필렌의 적외선 흡수 스펙트럼의 흡수 특징 및 자외선흡수제의 분

Table 5. Concentrations and uncertainty values of 10 antioxidants

Antioxidants	Concentration (mg/L)	Relative uncertainty (ur)	Combined standard uncertainty (u)	Effective degree of freedom	Coverage factor (k)	Expended uncertainty (mg/L)[1)]
BHA	9.92	0.05	0.54	13.44	2.16	1.18
BHT	9.95	0.05	0.51	22.40	2.07	1.05
C-2246	10.00	0.06	0.57	11.71	2.20	1.25
C-425	10.00	0.05	0.51	9.68	2.26	1.16
C-1790	9.91	0.05	0.50	11.89	2.20	1.10
I-3114	9.79	0.05	0.47	27.57	2.05	0.96
I-1010	9.68	0.04	0.38	40.67	2.02	0.77
I-1330	9.64	0.04	0.40	36.33	2.03	0.81
I-168	10.00	0.06	0.59	16.69	2.12	1.26
I-1076	9.88	0.04	0.40	27.61	2.05	0.82

[1)]Basis of 95% confidence

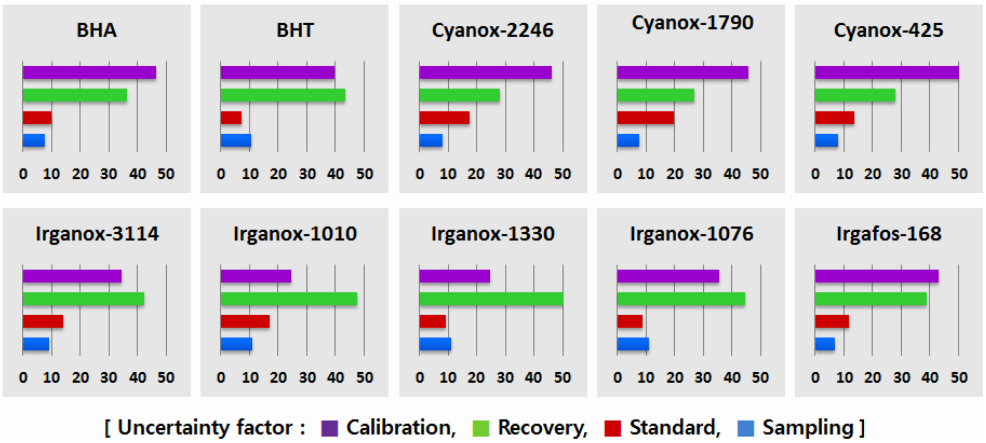


Fig. 5. Uncertainty contributions (%) of the analytical method for 10 antioxidants.

리 특성과 잘 일치하는 것으로 나타났다[5)].

분석법 검증

10종 산화방지제의 혼합표준용액을 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50 mg/L의 농도로 HPLC에 주입하여 얻은 표준곡선의 상관계수(R^2) 값은 0.9980~0.9998로 양호한 직선성을 나타내었다(Table 3). 검출한계는 검출한계라고 예상되는 농도를 3회 반복 분석한 피크의 면적으로부터 표준편차를 구하였으며 이에 3.3을 곱한 값에 대하여 검량선의 기울기로 나눈 값을 검출한계로 나타냈었다. 정량한계는 정량한계로 예상되는 농도를 3반복 분석한 피크의 면적으로부터 표준편차를 구하였으며 이에 10을 곱한 값에 대하여 검량선의 기울기로 나눈 값을 정량한계로 제시하였다(Table 3)[6)]. 10종 산화방지제의 검출한계는 0.11~0.41 mg/L, 정량한계는 0.34~1.24 mg/L를 나타내었다. 회수율은 식품유사용매인 물, 4% 초산, 50% 에탄올 및 *n*-헵탄을 이용해 폴리프로필렌 재질의 시료에 10종의 산화방지제를 2, 20, 50 mg/L의 농도가 되도록 표준용액을 첨가한 후, 각각을 시험용액의 조제에 따라 용출한 후 고체상 추출로 전처리하여 측정하고, 첨가한 농도 대비 측정된 농도를 계산하여 회수율을 구하였다. 분석 결과는 Table 4와 같으며 71.3~109.4%의 회수율을 보였다. 또한 정밀성을 확인하기 위해 하루 동안 3반복 분석한 결과의 상대표준편차(Relative Standard Deviation, RSD)로부터 일내(Intra-day) 재현성을, 3일 동안 분석한 결과의 상대표준편차로부터 일간(Inter-day) 재현성을 검증하였다. Table 4에서 보이는 것과 같이 intra-day간의 RSD(%) 값이 0.52~10.54%, inter-day간의 RSD(%) 값이 1.13~10.5%로 나타나 만족할 만한 수준이었다. 측정불확도는 GUM[7)]과 EURACHEM[8)]에 근거하여 10종 산화방지제에 대한 모델관계식을 설정하고 각각의 불확도 요인들로부터 불확도를 추정하였다. HPLC를 이용한 10종 산화방지제 분석법에 대한 측정불확도를 산출하기 위하여 측정 모델량을 선정하고 불확도 인자를 검토한 후 요인별 표준불확도 및 자유도 계산을 통해 합성불확도를 구하였

다. 불확도 요인은 크게 시료전처리, 표준용액제조, 회수율 및 검량선으로 나누어 각각의 상대불확도와 자유도를 구하였다. 이렇게 얻은 합성불확도와 포함인자(k)를 이용하여 확장불확도를 계산하여 측정불확도를 산출하였다. 합성표준불확도는 측정결과가 여러 개의 다른 입력량으로부터 구해질 때 이 측정 결과의 표준불확도를 불확도 전파의 법칙에 따라 구하였으며, 유효자유도는 합성표준불확도의 유효자유도를 Welch-Satterthwaite식으로 구한 후 포함인자(κ)를 산출하였다. 확장불확도는 산출된 합성표준불확도에 약 95% 신뢰수준에 상당하는 포함인자를 곱하여 산출하였다. 산출된 확장불확도는 BHA 9.92 ± 1.18 mg/L, BHT 9.95 ± 1.05 mg/L, Cyanox-2246 10.00 ± 1.25 mg/L, Cyanox-425 10.00 ± 1.16 mg/L, Cyanox-1790 9.91 ± 1.10 mg/L, Irganox-3114 9.79 ± 0.96 mg/L, Irganox-1010 9.68 ± 0.77 mg/L, Irganox-1330 9.64 ± 0.81 mg/L, Irgafos-168 10.00 ± 1.26 mg/L 및 Irganox-1076 9.88 ± 0.82 mg/L이었다(Table 5). 각 요인이 전체 불확도에 미치는 영향은 Fig. 5와 같으며, 이러한 결과는 기구 및 용기・포장 중 산화방지제 이행량 측정 시험 수행 시 가장 많은 불확도가 검량선 및 회수율에서 기인함을 알 수 있었다.

시료의 이행량 모니터링 및 안전성 평가 결과

폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 재질의 기구 및 용기・포장 시료 200건에 대해 4가지 식품유사용매로의 산화방지제 이행량을 조사하고, 이행량 결과를 바탕으로 산화방지제의 일일추정섭취량(estimated daily intake, EDI, mg/kg bw/day)을 산출하였으며, 일일섭취한계량(TDI, mg/kg bw/day)과 비교하여 안전성을 평가하였다. 시험용액의 조제에 따라 용출한 액을 고체상 추출법(SPE)을 통한 전처리를 하여 HPLC-UVD로 분석한 결과, 물, 4% 초산, 50% 에탄올에서는 200건의 검체 모두 산화방지제가 검출되지 않았고, *n*-헵탄에서만 Irganox 1010, Irgafos 168, Irganox 1076 총 3종의 산화방지제가 검출되었다. Irganox 1010은 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 재질 모두에서 검출되었으나, Irgafos 168과 Irganox 1076은 폴리프로필렌 재질의 시료에서만 검출되었다. 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 재질의 품목별 검출량과 이행량은 Table 6과 같다. Irganox 1010의 경우 폴리에틸렌 재질 78건 중 5건에서 ND~1.444 mg/L 검출되었고, 폴리프로필렌 재질 122건 중 41건에서 ND~3.106 mg/L 검출되었다. Irgafos 168은 폴리프로필렌 재질 122건 중 34건에서 ND~3.635 mg/L 검출되었고, Irganox 1076은 폴리프로필렌 재질 122건 중 28건에서 ND~4.752 mg/L 검출되었다. 이와 같은 이행량은 유럽연합의 특정이행한계량인 SML (Specific migration limits)기준인 Irganox 1010 (60 mg/L), Irgafos 168 (60 mg/L), Irganox 1076 (6 mg/L)에 미치지 못하는 수준이었다[9].

폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 기구 및 용기・포장에서 10종의 산화방지제 중 BHA나 BHT 등이 검출되지 않고, Irganox 1010, Irganox 1076 및 Irgafos 168이 검출된 결과는 폴리올레핀 필름에 대하여 속슬렛 추출법을 사용하여 Irganox 1010 (123~387 ppm), Irganox 1076 (90~286 ppm) 및 Irgafos 168 (253~751 ppm) 등의 검출결과를 확인한 Lee 등[10]의 결과 및 동일한 조건에서 고분자 산화방지제는 저분자 산화방지제 비하여 이행량이 낮다는[11,12] 선행연구와 유사한 결과를 나타내었다. 속슬렛 추출법은 용출시험이 아닌 재질에서 직접 추출하는 시험법이라 본 연구의

Table 6. Levels of antioxidants migrated from polyethylene (PE) and polypropylene (PP) food packaging materials into n-heptane at 25°C for 1hr

Simulant	Antioxidant	Material	Detection rate (%), (Detection/ Number of sample)	Sample	Number of positive sample	Migration level (mg/L)	EU SML[1] (mg/L)
n-Heptane	Irganox 1010	PE	6.4 (5/78)	Food packaging films	2	1.293, 1.444	60
				Milk &juice cartons	1	1.155	
				Disposable bags	2	1.145, 1.204	
		PP	33.6 (41/122)	Confectionary packaging films	2	3.095, 3.106	
				Storage containers	36	0.595-3.051	
				Cup, dish, others	3	0.794, 0.820, 1.655	
	Irgafos 168	PP	27.9 (34/122)	Storage containers	33	1.256-3.635	60
				Cup, dish, others	1	1.301	
	Irganox 1076	PP	23.0 (28/122)	Storage containers	18	1.214-4.752	6
				Cup, dish, others	10	1.100-1.788	

[1]COMISSION REGULATION (EU) No 10/2011 of 14 January 2011

Table 7. Results of safety assessment regarding antioxidants from polyethylene (PE) and polypropylene (PP)

	Irganox 1010		Irganox 1076	Irgafos 168
	PE	PP	PP	PP
EDI (mg/kg bw/day)	2.0×10^{-4}	2.2×10^{-4}	1.8×10^{-4}	2.0×10^{-4}
TDI (mg/kg bw/day)	3	3	0.1	1
Risk (%)[1)]	0.0067	0.0073	0.1800	0.0200

[1)]Risk (%) = (estimated daily intake, EDI/tolerable daily intake, TDI) × 100

용출시험 결과 값과는 차이가 있으나, 최근 합성수지 포장재에 저분자 산화방지제인 BHT 등의 사용이 줄어들고 대신 고분자 산화방지제인 Irganox 1010, Irganox 1076 및 Irgafos 168로 대체되어 가고 있는 추세를 확인할 수 있다고 보고한 Lee 등[10]의 연구결과와 유사하였다. 참고로, BHT가 고분자 제조 시 산화방지제로서 제한적인 이유는 고온 공정이 어렵고, 휘발성이 있으며, 합성수지의 탈색을 유발하기 때문인데, 이러한 제한 때문에 최근에는 Irganox 1010 및 1076이 BHT의 사용을 추월하였고, 인계 산화방지제는 주로 페놀계 산화방지제와 조합해서 사용되는데, 고분자의 안정화 및 착색이 생기지 않기 때문에 백색 및 투명 제품에 사용되고 있다고 한다[1)]. 본 연구의 분석결과에서도 Irgafos 168의 경우 단독으로 산화방지제로 쓰이기보다는 Irganox 1010 또는 1076과 함께 검출되는 것으로 보아 2차 산화방지제로서 조합해서 사용되고 있었고, Irganox 1010 및 1076은 단독으로 또는 혼합해서 사용되는 것을 확인할 수 있었다. Till 등[13]은 HDPE에서 산화방지제 BHT의 이행량을 조사하였는데, 물, 옥수수유, *n*-헵탄과 같은 다양한 식품유사용매 중 이행정도는 수용성보다는 지방성 식품유사용매 및 오일에서 더 높은 속도로 이행되었다고 보고하였다. 아울러, Park 등[14]은 폴리올레핀계 식품포장재를 유럽의 식품유사용매인 에탄올(40°C, 10일)과 우리나라의 식품유사용매인 *n*-헵탄(25°C, 60분)으로 추출하여 이행량을 비교하였는데, 국내 기준에 준하여 시험한 포장재의 특정이행량이 유럽기준에 준하여 시험한 포장재보다 비교적 많은 이행량을 보였고, 이는 *n*-헵탄의 강한 추출력에서 기인한 것으로 추정하였다. 이러한 선행 연구결과처럼 본 연구결과에서 4가지 식품유사용매 중 지방성 식품을 대신하는 *n*-헵탄에서만 산화방지제가 검출되는 이유도 수용성, 산성, 알콜성 식품유사용매보다 지방성 식품유사용매에 산화방지제가 더 잘 이행되는 성질 때문인 것으로 판단된다. Dopico-García 등[15]의 연구에서는 재질에서 직접 추출한 마이크로웨이브 추출 시험법과 식품유사용매로 용출하여 이행량을 분석한 실험결과를 비교하였는데, 마이크로웨이브 추출과 달리 식품유사용매로 용출한 분석결과는 모든 검체에서 불검출 또는 정량한계 이하로 미량 검출된 것으로 보고하였다. 또한, 식약처 보고서[16]에 따르면 PE 필름 및 PP 용기에 직접 Irganox 1010을 첨가하여 제작한 시료에 대해 xylene으로 재질에서 직접 추출한 결과와 수용성, 산성, 알콜성 및 지방성 simulant를 이용하여 용출조건에 따라 시험한 결과를 보았을 때, PE 필름은 재질 자체에 52 mg/kg, PP 용기는 645 mg/kg을 함유하고 있었지만, 용출시험에서는 지방성 simulant에서 Irganox 1010의 흔적이 나타났으나 그 외 모든 simulant에서는 검출한계 이하 또는 불검출로 나타났다고 보고하였다. 이러한 결과는 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 기구 및 용기·포장을 제조할 때 산화방지제가 사용되지만 첨가한 모든 양이 그대로 용출되는 것은 아니며, 본 연구 결과와 마찬가지로 지방성 식품유사용매로의 이행량이 가장 많은 것으로 나타났다.

안전성평가는 이행물질에 대한 일일추정섭취량(EDI)과 일일섭취한계량(TDI)을 비교하여 위해도를 평가함으로서 이루어진다[17]. 이를 통해 해당 기구에 식품을 담아 먹거나 해당 용기・포장재에 포장된 식품을 섭취하였을 경우 안전성이 보장될 수 있는지 여부를 판단하게 된다. EDI는 식이 중 이행물질 농도와 사람이 하루에 섭취하는 식이의 무게의 곱으로 얻어진다[4)]. 이 때, 식이 중 이행물질 농도는 하루 식품 섭취량 중에서 특정 재질과 접촉할 것으로 예상되는 식이가 차지하는 양인 소비계수와 특정재질이 식품유형(수성, 산성, 알코올성, 지방성)별로 접촉하는 비율인 식품유형분배계수를 고려하여 산출한다. 즉, 현행 식품용 기구 및 용기・포장 공전에 따라 식품유사용매(물, 4% 초산, 50% 에탄올 및 *n*-헵탄)별로 용출시험 후 얻어진 이행량에 식품유형분배계수를 곱한 후, 특정 재질의 소비계수를 곱하면 식이 중 이행물질의 농도를 얻을 수 있다. 결론적으로 식품용 기구 및 용기・포장 중 산화방지제의 EDI는 산화방지제 이행량 × 식품유형분배계수 × 소비계수 × 하루에 섭취하는 식이의 무게로 산출된다. 본 연구에서는 FDA 가이드라인[6)]의 산출식에 따라 소비계수는 폴리에틸렌과 폴리에프로필렌에 해당하는 0.31과 0.04를, 식품유형분배계수는 폴리올레핀에 해당하는 물 0.67, 4% 초산 0.01, 50% 에탄올 0.01 및 *n*-헵탄 0.31을 적용하고, 국민평균체중과 평균섭취량은 우리나라 국민건강조사자료를 이용 59.34 kg과 1.54 kg를 적용하여 검출된 Irganox 1010, Irganox 1076 및 Irgafos 168에 대해 일일추정섭취량을 계산하고 위해도를 산출한 후 안전성을 평가하였다. 그 결과 각각의 일일추정섭취량은 폴리에틸렌 재질에서 Irganox 1010 2.0×10^{-4} mg/kg bw/day이었고, 폴리프로필렌 재질

에서는 Irganox 1010 2.2×10^{-4} mg/kg bw/day, Irganox 1076 1.8×10^{-4} mg/kg bw/day, Irgafos 168 2.0×10^{-4} mg/kg bw/day 이었다. Irganox 1010, Irganox 1076 및 Irgafos 168 각 산화방지제의 TDI 값은 3, 0.1 및 1 mg/kg bw/day으로 산화방지제의 TDI 대비 위해도는 폴리에틸렌 중 Irganox 1010은 0.0067%, 폴리프로필렌 중 Irganox 1010, Irganox 1076 및 Irgafos 168은 0.0073%, 0.1800% 및 0.0200%의 수준을 보였다(Table 7). 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 기구 및 용기・포장 중 식품유사용매로 이행되는 산화방지제의 일일추정섭취량과 위해도 결과는 TDI 값과 비교하여 안전한 수준임을 확인하였다. 다만, 유럽연합의 용출기준을 초과하지는 않지만 지방성 식품유사용매에서의 산화방지제 이행량이 많은 것으로 보아, 가정에서 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 재질의 식품용 기구 및 용기・포장을 사용할 때 너무 뜨거운 온도의 지방성 식품을 바로 담거나 하지 않도록 주의할 필요가 있다. 본 연구에서 확립한 식품용 기구 및 용기・포장으로부터 식품유사용매(물, 4% 초산, 50% 에탄올, *n*-헵탄)로 이행된 10종 산화방지제의 동시분석법은 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 식품용 기구 및 용기・포장의 안전관리를 위해 적합한 시험법으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처 연구개발사업의 연구비지원(15161MFDS019)으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

국문요약

본 연구에서는 식품용 기구 및 용기・포장으로부터 식품유사용매로 이행되는 10종의 산화방지제(butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), Cyanox 2246, 425 and 1790, Irgafos 168, 및 Irganox 1010, 1330, 3114 and 1076)의 분석법을 확립하였다. 식품유사용매 중 물, 4% 초산, 50% 에탄올의 경우 hydrophilic-lipophilic balance (HLB) 카트리지로 고체상 추출(SPE, Solid Phase Extraction)을 하였고, *n*-헵탄의 경우 이소프로필알콜로 희석하여 HPLC-UVD (276 nm)로 산화방지제의 이행량을 분석하였다. 확립된 분석법으로 위생백, 지퍼백, 우유팩, 주스팩, 가공식품용 포장지, 밀폐용기, 일회용기 등 국내 유통 폴리에틸렌(78건) 및 폴리프로필렌(122건) 재질의 식품용 기구 및 용기・포장 200건으로부터 식품유사용매로 이행되는 10종의 산화방지제 이행량 조사 결과, 총 78건의 폴리에틸렌 식품용 기구 및 용기・포장 중 5건에서 Irganox 1010이 ND~1.444 mg/L 검출되었고, 총 122건의 폴리프로필렌 식품용 기구 및 용기・포장 중 41건에서 Irganox 1010이 ND~3.106 mg/L, 28건에서 Irganox 1076이 ND~4.752 mg/L, 34건에서 Irgafos 168이 ND~3.635 mg/L 검출되어 총 3종의 산화방지제가 검출되었다. 검출된 Irganox 1010, Irganox 1076, Irgafos 168에 대해 일일추정섭취량(EDI)을 계산하고 일일섭취한계량(TDI)과 비교하여 위해도를 평가한 결과, 폴리에틸렌 재질 중 Irganox 1010은 TDI 대비 0.0067%, 폴리프로필렌 재질 중 Irganox 1010, Irganox 1076, Irgafos 168은 TDI 대비 0.0073%, 0.1800%, 0.0200%로 안전한 수준임을 확인하였다. 본 연구에서 확립된 폴리에틸렌 및 폴리프로필렌 식품용 기구 및 용기・포장 중 산화방지제 분석법 및 안전성 평가 결과는 앞으로 기구 및 용기・포장의 안전관리를 위한 과학적인 근거자료로 활용될 것으로 판단된다.

References

1. Kim S.D.: Recent trends of antioxidant market and development in the Korea and world, Cischem.com Co., Ltd. (2010).
2. Macholz R., Lewerenz H.J.: Lebensmitteltoxikologie. Springer-Verlag, Berlin, 543 (1989).
3. Murphy J.: Additives for plastcs handbook. 2nd Edition, Elsevier Science Ltd. (2001).
4. European Commission, Commission Regulation (EU) No 10/2011. (2011).
5. Methods of Analysis in Health Science, Kanehara, Co., Ltd(http://www.kanehara-shuppan. co.jp) (2010).
6. Guidance for industry: Preparation of premarket submission for food contact substances: Chemistry recommendations, US FDA (2007).
7. Guidance for industry: Validation of analytical procedures: Methodology, US FDA (1999).
8. Evaluation of measurement data-Guide to the expression of uncertainty in measurement. JCGM, 100:2008 (2010).
9. Elison S.L.R., Williams A.: Quantifying uncertainty in analytical measurment, EURACHEM, London UK. 1-141 (2012).
10. Lee C.S., Lee G.T., Lee K.H.: Migration of additives from domestic plastic food contact materials and application of alternative fatty food simulant. *J. Food Hyg. Saf.,* **12**(2), 132-140 (1997).
11. Ashraf-Khorassani M., Levy J.M.: Quantitive analysis of polymer additives in low density polyethylene using suoercritical fluid extraction/supercritical fluid chromatography. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **13**, 742-747 (1990).
12. Cotton N.J., Bartle K.D., Clifford A.A., Ashraf S., Moulder R.: Analysis of low molecular weight constituents of polteth-ylene and other polymeric materials using on-line SFE-SFC. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **14**, 164-168 (1991).
13. Till D.E., Ehntholt D.J., Schwartz P.S., Sidman K.R., Schwope A.D., Whelan R.H.: Migration of BHT antioxidant from high density polyethylene to foods and food simulants. Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev. **21**, 106-113 (1982).
14. Park Y.J.: Migration and analysis of antioxidants from poly-

olefin food contact materials. Kangnung National University 1-47 (1995).
15. Dopico-García M.S., López-Vilariño J.M., González-Rodríquez M.V.: Antioxidant content of and migration from commercial polyethylene, polypropylene, and polyvinyl chloride packages. *J. Agric. Food Chem.,* **55**, 3225-3231 (2007).
16. Ministry of Food and Drug Safety, Korea, Studyoffoodsimulantsformigrationtestofutensils,containersandpackagingforfoodproducts (2013).
17. Jerome H. Heckman: Food packaging regulation in the united states and the european union, The online resource for packaging law.com (2005).