

근적외선 분광광도법을 이용한 PVC포장재 중 DEHP 정량법에 관한연구

김재관* · 윤미혜 · 박포현 · 김기철
경기도보건환경연구원

A method for quantitative analysis of DEHP in PVC packing material by Near-Infrared Spectroscopy

Jae-Kwan Kim · Mi-Hye Yoon · Po-Hyun Park · Ki-Chul Kim
Gyeonggi-do Institute of Health and Environment, Suwon 440-290, Korea

Abstract

NIRS(Near-infrared spectroscopy) scanning from 1300nm to 2400nm was applied for the DEHP(di-(2-ethylhexyl)phthalate) in PVC(polyvinyl chloride)packing material.

All samples were divided into calibration group and validation group. As a result of conducting the multiple regression analysis on the correlation between the NIR spectrum data and chemical assay value obtained by the Korea Food Sanitation Act.

The validation model for measuring the DEHP content had R of 0.997, SEC of 0.132, SEP of 0.176 by MLR and R of 0.996, SEC of 0.142, SEP of 0.198 by PLS and the detection limit was 0.1%.

The obtained results indicate that the NIR procedure can potentially be used as a nondestructive analysis method for the purpose of rapid and simple measurement of DEHP in PVC packing material.

Key word : NIRS, DEHP, PVC, MLR, PLS.

I. 서론

내분비계장애 추정물질로 알려진 디에틸헥실폴타레이트(di-(2-ethylhexyl)phthalate, DEHP)는 플라스틱의 가공성, 유연성등을 증가시키기 위해 첨가되는 가소제로서 염화비닐수지(polyvinyl chloride, PVC)에 주로 사용되고 있으며 식품포장 용도로 이용시 식품으로 직접 이행되어 인체에 유해한 영향을 줄 수 있다는 점에서 사회적으로 문제시

되고 있다.¹⁻³⁾ 특히 질적 안정성을 추구하는 식생활의 급격한 변화에 따라 유해물질에 대한 관심 또한 크게 증가되어 과학적인 품질관리 및 신속한 검사결과가 요구되고 있는 추세이다. 따라서 짧은 시간에 많은 수량의 시료를 분석할 수 있는 방법이 요구되고 있다.

현재 식품위생법에 의한 DEHP의 확인 및 정량 시험에는 GC를 이용하고 있다.⁴⁾ 이는 시료의 전처리로부터 최종분석에 이르기까지 여러 단계의 시

협과정을 거쳐 그 과정이 까다롭고 장시간의 분석시간이 필요하여 지속적인 분석비용의 지출과 숙련된 검사인력을 필요로 하고 있다. 또한 시료의 전처리 과정에서 인체에 유해한 유기용매를 사용하여 실험자의 건강이 우려되고 실험후 폐액이 발생되는등 적지 않은 문제점이 있다. 이에 따라 신속하고 정확한 새로운 분석방법이 요구되는데 그 방법으로 비파괴 분석법중 광학적 성질을 이용한 기술로 현재 많은 연구가 이루어지고 있는 근적외 분광분석법(near infrared spectroscopy, NIRS)이 가장 적합하다고 할 수 있다.

Norris에 의해 개발된 근적외 분광분석법은 빛을 조사했을 때 내부의 성분이 그 빛을 흡수하거나 반사, 투과하는 등의 성질을 이용하여 물질을 파괴하지 않고 내부성분의 빛에 대한 흡광도를 가지고 간접적으로 정량하는 방법으로 동시에 여러 분석항목을 신속하게 측정할 수 있으며 시료의 전처리가 간단하거나 거의 필요없는 장점이 있어 식품이나 농·축산물, 의약 화학분석 분야에서 눈부신 발전을 거듭하여 정성, 정량 분석법의 한 분야로서 자리잡게 되었다.⁵⁻¹⁴⁾

본 연구는 결과의 신속성과 실험환경을 개선하기 위해 PVC 포장재의 NIR스펙트럼특성을 연구하였으며 그 결과로부터 DEHP의 분석법을 개발하여 정량시험에 적용코자 하였다. 여러 가지 통계처리기법중 다중회귀분석법(MLR : Multiple Liner Regression) 및 부분최소자승법(PLS : Partial Least Square Regression)을 사용하여 정량분석을 위한 최적의 검정선을 개발하였고 화학적 분석법에 의한 DEHP의 결과와 비교하여 본 분석법의 타당

성을 검증하였다. 그리고 본 분석법을 시중에서 유통되고 있는 PVC식품포장재에서 DEHP의 정량에 이용하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 시료는 2001년 6월부터 2002년 6월까지 경기지역에서 유통되고 있는 것을 대상으로 하였다. PVC로 표기된 식품포장재 238건을 검사하여 검량선 개발용 시료군(calibration group)에 164건, 개발된 검량선의 정확도를 검증하는 미지시료군(validation group)에 32건을 사용하였으며 나머지 42건은 폴리에틸렌테레프탈레이트(polyethylene terephthalate, PET)로 분류되어 본 연구에 사용하지 못하였다.

2. 시약

헥산, 사염화탄소, 아세톤등 추출용매 및 시약은 모두 HPLC grade이상을 사용하였다. DEHP 표준품은 wako사 제품을 구입하여 사용하였으며 최종 농도가 50, 100, 150ppm이 되도록 아세톤으로 희석하여 표준용액으로 사용하였다.

3. 분석기기

근적외선분광광도계는 NIRS 4500 spectrometer (FOSS NIR System Inc, U.S.A)를 사용하였으며 가동 및 통계프로그램은 WINISI II(InfraSoft international U.S.A v1.50)를 사용하였다. 이화학적인

Table 1. Analysis condition of GC

Detector	FID(Hewlett Packard, U.S.A)
Column	DB-1301 capillary column (30m×0.25mm×0.25 μ m film)
Gas Flow Rate	Split ratio : 1/10 Carrier gas(N ₂) : 1ml/min Air : 350ml/min H ₂ : 30ml/min
Temperature	Injection port : 270 $^{\circ}$ C Detector : 280 $^{\circ}$ C Oven : 150 $^{\circ}$ C for 3min \Rightarrow increasing by 15 $^{\circ}$ C/min \Rightarrow 270 $^{\circ}$ C for 15min

방법에 의한 DEHP정량은 GC(HP-6890 system)를 사용하였으며 분석조건은 Table 1과 같다.

4. 분석방법

1) NIR 스펙트럼의 측정

시료를 적당한 크기로 잘라서 1300~2400nm의 범위에서 2nm의 간격으로 반사도(R : reflectance)를 측정후 검량선 개발을 위하여 흡광도(log1/R : ab sorbance)로 변환시켰다.

2) 이화학적 방법에 의한 성분 분석

스펙트럼을 측정한 시료를 약 5mm×5mm의 크기로 세절하였다. 약 5g정도를 원통여지에 넣고 속실텐추출기에 장치하여 사염화탄소를 가하여 6시간 가열환류하여 추출하였다. 다음 사염화탄소를 제거하고 추출물을 105℃에서 3시간 건조한 후 데시케이터에서 방냉하였다. 잔류물을 n-헥산으로 용해하고 여과하여 25ml로 하였다. 미리 실리카겔 10g을 n-헥산과 같이 기포가 없도록 크로마토칼럼에 채우고 n-헥산용액 50ml를 흘린다. 이어서 앞의 n-헥산용액 2ml를 가하여 흘린후 헥산, 사염화탄소:헥산(1:1), 사염화탄소, 아세톤:사염화탄소(1:9), 아세톤을 각각 30ml씩 순차로 흘려 각 유출용액을 분취하였다. 아세톤:사염화탄소(1:9)의 분리액과 아세톤 분리액을 2ml로 농축하여 시험용액으로 하였다. 모든 시험은 3회 분석하였으며, 그 평균치를 구하여 화학적 분석치로 하였다.

5. 검량선개발 및 검증

근적외선 분광분석법으로 DEHP의 함량을 측정하기 위해서는 검량선의 작성이 필요하다. 검량선의 상관성을 높이기 위해서는 일반적으로 함량이 다른 시료를 별도로 조제하여 사용한다. 그러나 포장지 두께와 착색여부등 시료제조에 어려움이 있고 그에 따라 스펙트럼도 조금씩 다르기 때문에 데이터의 신뢰성이 부족한 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 좀더 양호한 검량선을 얻기 위하여 검량선용 시료를 별도로 제조하지 않고 시판되는 제품을 구하여 NIR스펙트럼을 얻었다. 검량

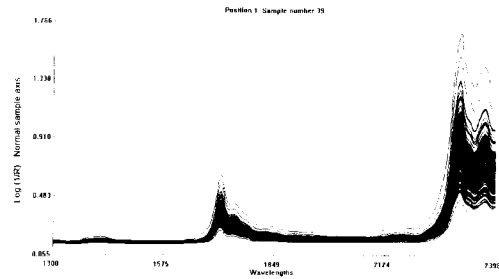


Fig. 1. Raw spectrum of PVC by NIRS at 1300~2400nm.

선 작성(calibration)데이터로 164개의 시료를 사용하였으며 검량선 검증(validation)에 32개의 시료를 사용하였다.

이화학적 분석방법에 의해 측정된 DEHP 함량을 종속변수로 하고 각 포장에서의 흡광도와 각 포장별 흡광도들의 1차 미분값을 독립변수로 하여 상관분석하였으며, 다중회귀분석(MLR) 및 부분최소자승법(PLS)을 이용하여 검량선을 개발하고 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 스펙트럼의 특성

시료를 1300~2400nm 파장까지 측정하여 수학적 처리를 하지 않은 log(1/R)형태의 흡광도로 표현된 스펙트럼은 Fig. 1과 같다. 스펙트럼은 1714nm, 1752nm, 2144nm 근방에서 흡광이 이루어지고 있다. 또한 1575~2200nm영역의 파장에서 PET(Fig. 2)와 쉽게 구별되는 특징을 보였다. 그러나 이 스펙

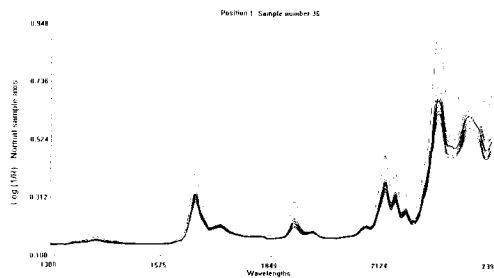


Fig. 2. Raw spectrum of PET by NIRS at 1300~2400nm.

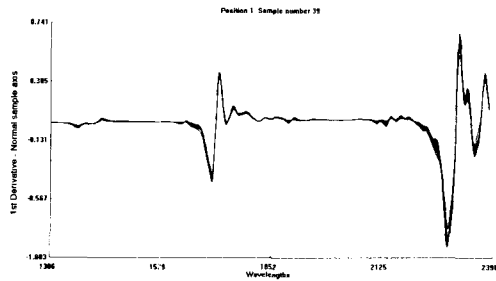


Fig. 3. First derivative spectrum of PVC by NIRS at 1300~2400nm.

펙트럼은 특정성분에 기인하는 각각의 band들이 심하게 중첩되어 있으므로 1차 미분처리한 값에 대한 스펙트럼 Fig. 3을 분석에 이용하였다.

3. 검량선 개발

총 196개의 시료에 대한 흡광 스펙트럼과 DEHP 함량을 측정하였다. 이중 164건을 calibration group로 하여 크게 차이가 나는 것은 지워가면서 검량선 개발용 시료로 사용하였으며, 32건을 validation group로 검증용 시료로 이용하였다. Table 2는 이화학적 분석결과를 단순 통계처리한 것으로 검량선 개발용 시료와 검증용 시료간의 평균값과 표준편차를 나타내고 있으며 검량선은 MLR과 PLS를 이용하여 각각 비교, 검토하였다.

1) MLR 모형

Table 3. Result of verifying calibration expression for respective DEHP by MLR

Wavelength used(nm)		Calibration			Validation	
		R	SEC	Bias	R	SEP
Step up	2124	0.871	0.875	0.2175	0.884	0.942
	2124 1948	0.933	0.628	0.2146	0.894	0.942
	2124 1948 2260	0.956	0.513	0.2189	0.981	0.458
	2124 1948 2260 1652	0.974	0.391	0.2189	0.981	0.458
	2124 1948 2260 1652 1460	0.986	0.281	0.0932	0.975	0.448
Step wise	1620 2308 1372 1764 2060	0.997	0.132	0.0319	0.995	0.1759
	2260 1652 2188					

R : Coefficient of determination
 SEC : Standard Error of Calibration
 SEP : Standard Error of Prediction
 Bias : Mean difference

Table. 2 Statistical comparison of DEHP between calibration group and validation group

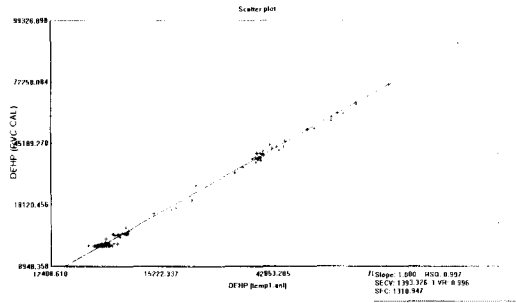
	Calibration group	Validation group
Max.(%)	11.6874	8.9483
Min.(%)	0	0
Mean.(%)	2.1274	3.3459
SD	2.4929	2.6265

SD : Standard Deviation

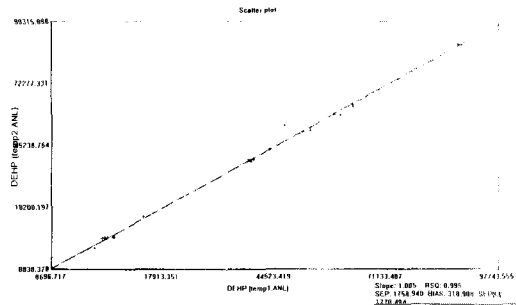
파장을 증가(step-up)또는 감소(stepwise)시키는 방법으로 검량선을 작성하였다(Table 3). Step -up으로 크게 차이가 나는 것은 지워가면서 상관계수와 표준오차의 변화를 고찰한 결과 2124/1948/2260/1652/1460nm의 5파장을 선택했을 때 상관계수(R)은 0.986 SEC는 0.281이었다. 이 검량선을 검증하였을때 SEP는 0.448로 나타났다. 한편 step wise로 검량선을 작성한 결과 1620/2308/1372/1764/2060/2260/1652/2188nm의 8파장이 선택되었고 R은 0.996 SEC는 0.132, SEP는 0.176으로 나타나 step -up에 비해 좋은 검량선을 얻었다. 이와같은 결과는 개발된 검량선이 DEHP정량이 가능함을 보여준다.

Fig. 4는 화학적 분석법으로 DEHP 함량을 구한 후 stepwise방법으로 검량선을 작성한(a) 것과 미지 시료를 이용하여 그 검량선을 검증한(b) 것이다.

2) PLS 모형



a) Calibration



b) Validation

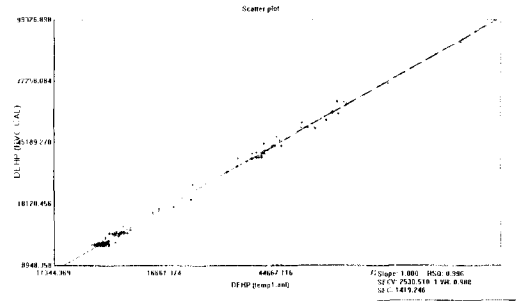
Fig. 4. Relationship between NIR calculated value for calibration group and the food sanitation act of DEHP by MLR.

PLS에서 최적의 검량선은 SECV(표준교차검정 오차) 및 SEC값이 최소로 나타나는 factor의 수인 것으로 보고 되어있다. 파장 1300~2400nm에서 PLS regression을 실행한 결과는 Table. 4와 같으며 factor가 9일때 상관계수(R) 0.996, SEC는 0.142로 매우 양호한 검량선을 얻을 수 있었다. 이 검량선을 이용하여 미지시료의 DEHP함량을 예측하였을 때 상관계수(R) 0.995의 좋은 직선성과 bias 0.053, SEP 0.198의 낮은 오차를 얻을 수 있었다.

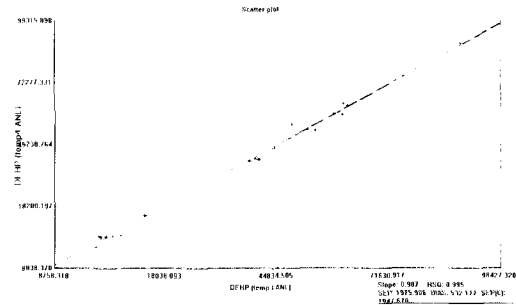
Fig. 5(a)는 화학적 분석법으로 DEHP 함량을 구하여 검량선을 작성한 것이고 Fig. 5(b)는 작성

Table 4. Result of verifying calibration expression for respective DEHP by PLS

Math	calibration			validation	
	no. of factor	R	SEC	Bias	SEP
1st der.	9	0.996	0.142	0.053	0.198



a) Calibration



b) Validation

Fig. 5. Relationship between NIR calculated value for calibration group and the food sanitation act of DEHP by PLS.

한 검량선을 이용하여 검증용 데이터를 적용한 결과이다.

3) 검량선 평가

Calibration에 이용되지 않은 시료를 이용하여 검량선을 검증(validation)하고 예측된 값들에 대한 R, SEC, SEP로 검량선을 검증하여 타당성을 평가 하였다.

MLR과 PLS로 얻은 검량선을 사용하여 검증용 시료 32건에 대한 적용결과 DEHP함량과 근적외 영역의 흡광도와의 상관관계는 전반적으로 상당히 높게 나타났음을 알 수 있었다. MLR의 경우 step up으로 5파장을 선택했을 때 R은 0.986, SEC 0.281, SEP 0.448이었고 stepwise로 8파장을 선택 했을때 R은 0.997, SEC 0.132, SEP 0.176으로 나타났다. PLS는 Factor의 수를 9로 했을때 상관계수(R) 0.996, SEC 0.142% SEP 0.198%로 나타났

Table 5. Detection amount of DEHP from PVC packing material

No. of samples	DEHP Contents(%)								
	Mean	Max.	Min.	N.D	Less than 0.1%	Over 0.1%~ Less than 4%	Over 4%~ Less than 7%	Over 7%	Remark ¹⁾
196	2.3	11.7	N.D	78(39.8)	33(16.8)	34(17.4)	44(22.4)	7(3.6)	118(60.2) ²⁾

N.D.: Not detected

Max. : Maximum

Min. : Minimum

¹⁾ Number of samples of DEHP used in PVC²⁾ Parenthesis is percent of DEHP used in PVC

다. 한편 MLR과 PLS에 의해 3개의 검량선을 만들어 DEHP의 정성 및 정량에 적용한 결과 검출한계는 0.1%였다. 0.1%이하의 농도에서는 3개의 검량선에 대한 분석치가 서로 다르게 나왔으나 0.1% 이상의 농도에서는 거의 일치된 결과를 보여 DEHP의 사용유무를 알 수 있었으며 1%이상의 농도에서는 화학적인 분석치와 비슷한 결과를 보였다. 이로서 작성된 검량선은 모두 제품검사에 직접 응용이 가능한 것으로 평가되었다.

4. DEHP의 사용실태

PVC로 표시된 식품포장재 238건에 대하여 DEHP함량을 분석하였다. GC로 정량분석하기 전 NIR로 정성분석한 결과 PVC는 196건으로 나타났고 PET가 42건이었다(Fig. 3). 이는 DEHP가 사회 문제화 되면서 포장재를 PET로 교체하고 있으나 표기사항을 수정하지 않은 것으로 사료된다.

Table. 5와 같이 196건중 118건에서 검출되어 60.2%의 높은 검출율을 보였고, 검출량은 N.D~11.7%로 평균 2.3%를 사용한 것으로 나타났다. 39.8%인 78건이 DEHP를 전혀 사용하지 않았으며 0.1%미만이 33건(16.8%), 0.1~4%미만으로 사용한 것이 34건(17.4%), 4~7%사이가 44건(22.4%)으로 가장 많았고 7%이상 사용한 것도 7건(3.6%)으로 나타났다. 특히 지속적인 검사 및 홍보로 인해 DEHP를 사용한 PVC포장재는 계속 감소하고 있는 것으로 나타났으나 아직도 10%를 상회하는 높은 검출률을 보여 보다 효과적인 검사와 홍보가 필요한 것으로 사료된다.

결론

근적외선 분광광도법을 이용하여 PVC 식품포장재 중 DEHP를 신속하게 정량할 수 있는 방법을 개발하였다. 검량선용 시료를 제조하지 않고 시중 유통되는 시료를 구입하여 검량선 및 검증용 시료로 나누어 사용하였으며, MLR 및 PLS로 회귀 분석하여 우수한 결과를 얻었다. MLR의 경우 검정의 R은 0.997, SEC는 0.132, SEP는 0.176이었다. PLS는 R 0.996, SEC 0.142, SEP 0.198이었으며 검출한계는 0.1%로 나타나 기존의 화학적 분석법을 대신하여 신속하게 검사할 수 있는 방법으로 이용 가능성이 입증 되었다.

본 연구에서 개발한 방법은 포장재의 착색정도 및 두께등에 따라 검량선을 따로 작성해야하는점이 있으나 시료 전처리 없이 바로 측정하므로 방법이 간단하고 시약 등 시험기자재의 소모가 거의 없는 장점이 있다. 따라서 다수의 시료를 검사해야 하는 검사기관과 특정한 제품을 취급하는 기업체, 생산현장에서 예비시험법으로 활용하여 1차적으로 검출된 제품에 한하여 정밀시험을 함으로써 보다 빠른 검사결과를 도출할 수 있고 실험 후 폐액이 없는 친환경적 실험환경을 조성하여 인력, 분석시간, 예산절감등의 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

참고 문헌

1. 고환옥, 김기철 : 식품용기포장재중 내분비계장애물질에 관한연구, 경기도보건환경연구원, 2000.

2. 고훈욱, 김기철, 김양희, 박포현, 최옥경 : 식품 용기포장재중 내분비계 장애물질에 관한 연구 (II) 경기도보건환경연구원, 2001.
3. 김기철, 문수경, 박포현 : 식품포장재중 프탈레이트화합물에 대한 조사연구, 경기도보건환경연구원, 2002.
4. 식품의약품 안정청 : 식품공전, 2002.
5. 고훈욱, 김양희 : 다소비 식품의 최단분석기법 개발. 경기도보건환경연구원, 2000.
6. 차기원, 제금련, 윤미옥, 이수정, 최현철, 김호정, 김효진 : 근적외선 분광도법을 이용한 페노바르 비탈정제의 정량법에 관한연구, 한국분석과학회지, 15(2), 102-107, 2002.
7. 홍진환, 최재천, 최현철, 강명희, 최장덕, 양창숙, 김광수, 백성열, 김보경, 오해성, 이희식, 조래광 : 근적외분광분석법에 의한 옥배유, 팜유, 돈지의 산가, 요오드가, 비누화가 측정, 식품의약품안전청연보 1, 123-129, 1997.
8. B. G. Osborne and T. Fearn : Near infrared spectroscopy in food analysis. Longman scientific and technical, 77-120, 1986.
9. T. Sato, S. Kawano and M. Iwamoto : Near infrared spectral patterns of fatty acid analysis from fats and oils. J. Am. Oil Chem. Soc., 68, 827-833, 1991.
10. Bewig, K. M., Clrke, A.D., Roberts, C. and Unklesbay, N. : Discriminant analysis of vegetable oils by near-infrared reflectance spectroscopy. JAOCS, 71(2) 195-200, 1994.
11. B. A. Rasco, C. E. Miller, and T. L. King : Utilization of NIR Spectroscopy To Estimate the Proximate Composition of Trout Muscle with Minimal Sample Pretreatment. J. Agric. Food Chem. 39, 67-72, 1991.
12. Jeffrey W. Hall,a Denise E. Grzybowskib and Stephen L. Monfreh : Analysis of polymer pellets obtained from two extruders using near infrared spectroscopy. J. Near Infrared Spectrosc. 1, 55-62 1993.
13. K.B. Bradfield and R.A. Forbes : Development and validation of an analytical method for identification of granulated nicarbazin by near infrared reflectance spectroscopy. J. Near Infrared Spectrosc. 5, 41-65 1997.
14. T. Huth-Fehre, R. Feldhoff, F. Kowol, H. Freitag, S. Kuttler, B. Lohwasser and M. Oleimeulen : Remote sensor systems for the automated identification of plastics. J. Near Infrared Spectrosc. 6, 7-11 1998.