

소비자제품 중 구아니딘계 올리고머의 정량을 위한 Eosin Y를 이용한 흡광분석법의 최적화

최상현¹ · 배정은² · 오한빈² · 권정환^{1,†}

¹고려대학교 환경생태공학부, ²서강대학교 화학과

Optimization of the Spectrophotometric Method using Eosin Y for the Quantification of Guanidine Oligomers in Consumer Products

Sang-Hyun Choi¹, Jeong-Eun Bae², Han Bin Oh², and Jung-Hwan Kwon^{1,†}

¹Division of Environmental Science and Ecological Engineering, Korea University, Seoul 02841, Korea

²Department of Chemistry, Sogang University, Seoul 04107, Korea

Received February 25, 2016/Revised March 10, 2016/Accepted March 11, 2016

A spectroscopic method using a specific interaction between guanidine groups and 2,4,5,7-tetrabromo-6-oxido-3-oxo-3H-xanthen-9-yl)benzoate (Eosin Y) for quantifying guanidine oligomers from consumer products was optimized. Specifically, reaction time, detection wavelength, pH condition, and solid-phase extraction were optimized with the method detection limits of 0.133, 0.155, and 0.195 mg/L for polyhexamethylene guanidine (PHMG), polyhexamethylene biguanidine (PHMB), poly(2-(2-ethoxy)ethoxyethyl guanidium hydrochloride (PGH), respectively. Using the method, the content of guanidine oligomers were determined from various consumer products (wet tissues, contact lens cleaners, and make-up removers). This method can be used for detecting the existence of guanidine oligomers from consumer products as a screening tool.

Key words: Guanidines, Analytical method, Spectrophotometry, Consumer products

1. 서 론

구아니딘계열의 polyhexamethylene guanidine (PHMG), polyhexamethylene biguanidine (PHMB), poly(2-(2-ethoxy)ethoxyethyl guanidium hydrochloride (PGH)는 구아니딘(guanidine) 작용기를 함유하고 있고, 이 작용기가 세포막의 Ca^{2+} 를 대체함으로써 세포막 붕괴를 일으켜, 세포를 사멸하는 기능을 이용하여 살생물제로 활용하기 위해 개발된 물질이다.^{1,2)} 이들 물질들은 살균력이 높고 수용성 높고 피부독성이 낮은 것으로 알려져 세정 및 살균 등의 목적으로 물티슈, 샴푸, 각종 세척제 등 다양한 생활화학제품에 함유되어 사용되어왔다.³⁻⁵⁾ 이 가운데 PHMG와 PGH성분은 국내에서 가습기 수조에 직접 주입하는 형태로 사용하는 살균제 성분

으로 사용되어 왔으며, 2011년 역학조사 결과 치명적인 폐손상을 유발하는 위험요인으로 밝혀졌다.⁶⁻⁹⁾ 이후 원 인규명을 위한 연구를 통해서 PHMG는 실험동물에 있어 호흡기계 독성을 유발하는 것이 확인되었다. PHMG-phosphate 용액을 0.9 mg/kg과 1.5 mg/kg 수준으로 랫트(rat)의 폐에 직접 주입하고 7, 14일 경과 후 염증이 관찰되었다.³⁾ 또한 SD-랫트(Sprague Dawley-rat)를 이용하여 0, 20, 80, 300 mg/m³ 농도의 PHMG-인산염에 4시간 노출한 결과 염증세포병소, 섬유증 등의 병변을 육안으로 관찰하였다. 이 시험조건에서의 반수치사농도 (LC50)는 암·수컷 각각 300 mg/m³보다 낮은 것으로 확인되었다. 반복 흡입독성연구에서도 PHMG-phosphate를 0, 0.15, 0.50, 1.60 mg/m³의 용량으로 6시간/회, 5회/1주, 총 4주간(20회) 노출한 결과 폐, 후두 및 비강

[†]To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-2-3290-3041, Fax: 82-2-953-0737, E-mail: junghwankwon@korea.ac.kr

에서 독성학적 영향을 뚜렷하게 관찰할 수 있었으며, 무영향관찰농도(no-observed adverse effect level; NO-AEL)은 암수 각각 0.15 mg/m³ 용량 이하로 확인되었다.¹⁰⁾ Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS)의 2015년 보고서¹¹⁾에 따르면 0, 0.025, 0.25, 2.5 mg/m³의 용량으로 PHMB에 6시간/1일, 5일/1주, 총 4주간(20회) 반복 흡입 노출된 쥐들 중 고농도 군의 폐에서 염증이 관찰되었으며, NOAEL은 0.0239 mg/m³으로 확인되었다. PGH의 반복흡입독성은 쥐에 0, 0.10, 0.50, 2.00 mg/m³의 용량으로 4주간 반복 비부흡입노출로 실시하였다. 이 실험에서는 용량상관적인 특이적 증상이 관찰되지는 않았지만 고농도 노출군의 암수컷 폐에서 변색, 병소 및 부종이 관찰되었다. 이 실험에서 NOAEL은 수컷의 경우 0.10 mg/m³ 및 암컷의 경우 0.50 mg/m³로 확인되었다.¹²⁾

생활화학용품을 사용하는 과정에서 의도치 않게 제품에 포함된 화학물질이 인체에 흡수되어 피해를 일으킬 수 있다. 제품의 안전한 사용을 위해서는, 생활화학용품으로부터 화학물질의 노출경로, 독성을 포함한 안전성에 대한 구체적인 평가가 요구된다.¹²⁾ 구아니딘계 올리고머는 가슴기살균제 사건의 원인물질로 판정되어 화학물질의 등록 및 평가 등에 관한 법률 제2조 및 제34조에 따른 위해우려제품의 지정 및 안전·표시기준에 의거하여 8종의 생활화학제품군에서 스프레이형에 대해 사용제한물질로 지정되었다.¹³⁾ 그러나, 신뢰할 수 있는 분석법이 없이는 생활화학제품에 함유된 구아니딘계 올리고머를 유효하게 관리할 수 없다. 생활화학제품에서 구아니딘계 물질인 PHMG, PHMB, PGH를 분석하는 표준분석법이 아직 제정되지 않았다. PHMG의 분석법으로는 (2,4,5,7-tetrabromo-6-oxido-3-oxo-3H-xanthen-9-yl)benzoate (Eosin Y)와 구아니딘계 물질의 발색반응을 이용한 UV-Vis 흡광법과 matrix-assisted laser desorption ionization - time of flight (MALDI - TOF) 질량분석법을 이용한 분석법이 개발되었다.¹⁴⁻¹⁶⁾ PHMB의 경우에는 Eosin Y와 발색 반응, 고성능액체 크로마토그래피(high-performance liquid chromatography; HPLC), MALDI-TOF를 이용한 질량 분석이 사용되었다.¹⁷⁻²¹⁾ PGH의 경우 독립적인 분석법이 개발된 사례를 찾을 수 없었으며, PHMG와 동일한 분석법을 이용하여 분석되었다.²²⁾ 이들 구아니딘계 올리고머를 분석하는 방법 가운데 Eosin Y를 이용한 발색법은 구체적인 물질을 확인하기 어렵고, 시료의 매트릭스 효과를 줄 수 있다는 단점이 있으나, 질량분석법에 비해 적은

시간이 소요되고, 대부분의 실험실에서 어렵지 않게 갖출 수 있는 장비를 활용하므로, 생활화학제품에 함유된 구아니딘계 올리고머를 빠른 시간 내에 스크리닝하기에 매우 유용하다.

그러므로 본 연구에서는 생활화학제품 중 구아니딘계 올리고머의 함유여부를 스크리닝하기 위한 시험법으로 구아니딘기와 Eosin 염료(Eosin Y와 4',5'-dibromo-3',6'-dihydroxy-2',7'-dinitro-1-spiro[isobenzofuran-3,9'-xanthene]one (Eosin B))와의 발색반응을 통한 UV-vis 흡광분석법을 최적화하고자 하였다. 대상 구아니딘계 올리고머로는 PHMG, PHMB, PGH를 선정하였고, 이들 세 물질에 대한 흡광도법을 이용한 최적의 고체상추출법, pH, 발색시간 등의 분석조건을 도출하였다. 마지막으로 PHMG가 함유된 것으로 확인된 물티슈와 PHMB가 함유된 것으로 확인된 렌즈세척제와 화장제거제를 대상으로 최적화한 시험법을 통해 함유량을 분석하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 대상 올리고머

본 연구에 사용된 구아니딘계 올리고머(PHMG, PHMB와 PGH)의 구조는 Fig. 1에 나타내었다. 구아니딘계 올리고머는 다양한 분자량을 가지는 여러 다른 형태의 올리고머로 존재하며, 상업적으로는 개별 올리고머를 분리하여 사용하지 않는다. 또한, 단일 형태의 올리고머 표준물질을 제조하거나 판매하는 곳이 없으므로, 본 연구에서는 통상 산업적으로 사용되는 분말형태의 PHMG-chloride (99%), PHMB-hydrochloride (99%), PGH (99%)를 Shanghai Scunder Industrial Co., Ltd. (Shanghai, China)에서 구매하였다. 분말의 순도를 100%로 가정하고, 이를 3차 증류수에 용해한 용액을 분석을 위한 표준물질로 간주하였다.

2.2. 시약 및 기구

직접 제조한 PHMG, PHMB, PGH의 표준용액을 이용하여 3차 증류수로 희석하여 사용하였으며 표준정량곡선, 방법 검출 한계 및 회수율 시험에 사용하였다. Eosin Y, Eosin B와 글라이신(glycine, 98.5%)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였다. 염산(hydrochloric acid, 35%)은 대정화금(시흥, 경기도, 대한민국)에서 구매하였다. 대상 소비자 제품은 PHMG, PHMB가 들어 있는 물티슈, 렌즈 세척제, 화장제거제

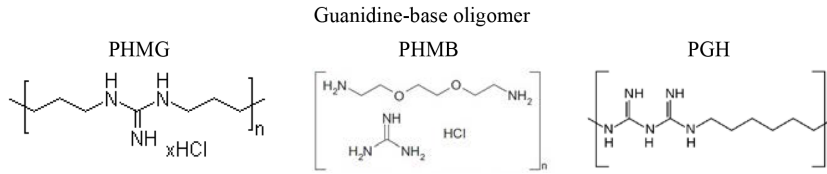


Fig. 1. Structure of target guanidine-base oligomer.

선택되었다. 제품은 국내의 대형 마트와 소형 할인마트 등 주변에서 쉽게 접할 수 있는 장소 또는 중국의 온라인쇼핑몰에서 구매하였으며, 대상 물질을 포함하고 있는 거의 여부를 확인한 후 구매하였다. 구매한 소비자 제품들은 구아니딘계 올리고머의 함유정보만 제공할 뿐 구체적인 함량에 대해서는 표기되어 있지 않았다. 흡광도는 DR/4000U UV/Vis 흡광광도계(Hach Co., Loveland, CO, USA)를 이용하여 측정하였다.

2.3. 흡광분석법 최적화

Eosin Y-PHMG 유도체 용액의 흡광도 스펙트럼은 PHMG 존재 하에서, Eosin의 최대흡수파장 ($\lambda_{\max}$ 520 nm)이 Eosin Y-PHMG 유도체의 최대흡수파장($\lambda_{\max}$ = 535 nm)으로 이동하며, 두 스펙트럼의 흡광도의 차이는 549 nm 부근에서 가장 크다. 이는 polyelectrolyte associate (PHMG-Eosin Y)가 형성되기 때문이라고 알려져 있다.¹⁴⁾ 따라서 Eosin Y를 이용한 PHMG 수용액의 분석법(Fig. 2)을 바탕으로 PHMB, PGH 흡광도 비교 분석 실험을 실시하였다. 또한 구아니딘계 물질의 분석법을 확립하고 표준화하고자 혼화시간, 혼합용액의 pH, 적정시약 Eosin 염료의 종류와 농도에 따른 흡광도를 비교 분석하였다. Eosin 염료와 대상물질 PHMG, PHMB, PGH 수용액의 반응을 통한 흡광도를 비교하

기 위하여 Eosin Y를 이용한 PHMG 수용액의 분석법을 바탕으로 PHMG, PHMB, PGH 수용액을 분석하였다. 또한 적정시약의 최적화를 위하여 Eosin Y를 이용한 PHMG 수용액의 흡광분석법에 Eosin Y 대신 유사 염료인 Eosin B를 적정시약으로 염료의 농도를 변화하여 흡광도를 비교 분석하였다. 완충용액 제조 및 혼합 용액의 pH에 따른 분석 대상 물질의 흡광도는 Eosin Y를 이용한 PHMG 수용액의 분석법을 바탕으로 PHMG, PHMB, PGH 수용액을 분석하여 비교하였다. 완충용액은 글라이신으로 제조하였으며 염산으로 완충용액의 산도(pH= 2.5, 2.97, 3.51 3.95, 4.38)를 결정하였다. 대상물질 PHMG, PHMB, PGH와 Eosin Y 염료와의 발색시간에 따른 흡광도의 차이를 확인하기 위해 1 mg/L로 제조된 표준시료에 0.05% Eosin Y염료를 첨가한 뒤 일정시간(즉시~60분)을 두어 흡광도를 측정하였다.

2.4. 검정곡선 작성

PHMG, PHMB, PGH의 검정곡선은 표준물질의 농도와 흡광도를 비교하는 외부표준물질법(external standard method)을 이용하였다. 각 농도 0.2-6 (0.2, 0.4, 0.6, 1, 2, 4, 6) mg/L로 제조된 표준용액 1mL에 0.2 M 글라이신 완충용액을 1 mL를 혼합하여 볼텍스 믹서를 이용하여 혼합용액(pH @ 3.6)을 제조한다. 혼합용액에 0.05% (w/w) Eosin Y염료를 0.1 mL 넣어 다시 볼텍스 믹서로 혼합한 뒤 10분 뒤에 549 nm의 파장에서 흡광광도계를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도와 농도에 대한 1차 직선식을 이용하여 검량곡선을 작성하였다.

2.5. 검출한계

방법검출한계(method detection limit, MDL)은 직접 제조한 0.2 mg/L의 PHMG, PHMB, PGH 표준용액에 Eosin Y 흡광분석의 방법과 절차를 동일하게 하여 7회 반복 실험하여 계산되는 표준편차에 3.143을 곱하여 산정하였다.²³⁾

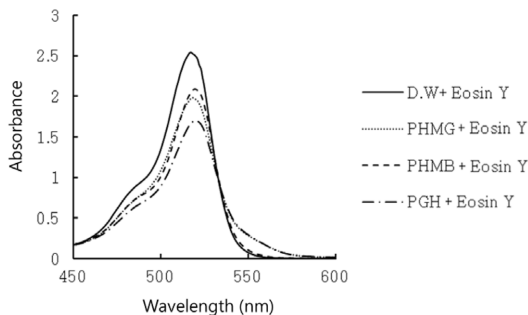


Fig. 2. Absorption spectra of aqueous solution containing Eosin Y, and Eosin Y with PHMG, PHMB, PGH.

2.6. 생활화학제품 전처리 및 분석

생활화학제품 내 구아니딘계 화학물질 분석을 위하여 고체상추출법으로 시료를 전처리 후 최적화된 Eosin Y 흡광법을 분석하였다. 대상 생활화학제품은 제품이 국내 대형 마트와 소형 할인 마트 등 주변에서 쉽게 접할 수 있는 장소에서 구매하거나, 온라인 구매를 통해 해외에서 구입하였다. 제품 구입 시, 대상 물질의 포함여부를 사전에 조사하였다. 선택된 제품은 PHMG가 함유된 것으로 확인된 물티슈와 첨가물질을 확인할 수 없는 제품을 포함한 물티슈 6종과 PHMB가 함유된 것으로 확인된 렌즈세척제, 화장제거제 각 6종, 5종을 선택하였다. 제품 중 구아니딘계 화학물질의 분석을 위해서 물티슈 제품은 일회용 주사기를 이용하여 액체성분을 짜내어 분석에 사용하였고, 렌즈세척제와 화장제거제의 경우 액체성분을 추가적인 처리 없이 고체상추출법에 적용하였다.

생활화학제품 내에 첨가되어 있는 구아니딘계 화합물의 분석을 위해 시료 내 존재하는 바탕물질의 제거목적으로 고체상추출(Solid phase extraction; SPE)법을 이용하였다. 여러 고체상추출법 가운데 강/약 양이온 교환용 혼합 모드의 MCX 카트리지(Oasis MCX column 1 cc, Waters, Milford, MA, USA)와 WCX 카트리지(Oasis WCX column 1 cc, Waters)를 이용한 방법이 생활화학제품에 많이 첨가되어 있는 계면활성제 등의 간섭물질의 제거를 위해 선택하였다. 선택된 각 컬럼에 시료를 적용하기 위하여 4 mL로 분취한 시료에 0.1% HCl/MeOH를 3 μ L를 가하여 시료를 산성화하고, 3 mL 메탄올을 넣은 뒤 볼텍스 믹서를 이용해 1분간 잘 혼합해 시료를 준비하였다. 컬럼의 안정화(conditioning)을 위해 3 mL의 메탄올을 흘려준 뒤 0.1% HCl/MeOH을 3 mL 흘려 주었다. 안정화된 컬럼에 준비된 시료를 1 mL씩 4회 흘려주었다. 시료가 통과된 뒤, 분석하고자 하는 물질 외의 불순물을 제거하기 위해 0.1% HCl/MeOH 용액 3 mL를 흘려주어 세척하였다. 세척이 끝난 컬럼에 2 M HCl을 1 mL씩 2회 흘려 추출하였다. 추출된 용액을 질소가스를 이용하여 완전히 농축 후 증류수 1 mL를 넣고 혼합한 후 Eosin Y 흡광 분석법에 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 구아니딘계 올리고머 표준물질의 흡광도분석

Eosin Y를 이용한 PHMG 수용액의 분석법을 바탕으로 PHMB, PGH 수용액의 흡광도 스펙트럼을 분석하

였다. PHMB와 PGH 모두 PHMG와 같은 구아니딘의 하부구조를 가지고 있으므로 이들 물질은 Eosin Y 염료와 반응을 통해서 PHMG와 유사한 발색이 일어난 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 흡광도법의 적정시료의 최적화를 위하여 실시한 Eosin Y와 유사 염료인 Eosin B의 흡광도 스펙트럼을 비교 분석한 결과 Eosin Y와 Eosin B의 최대흡수파장이 515 nm으로 동일함을 보였다. 또한 PHMG, PHMB, PGH와 염료의 반응에 의해 생성된 polyelectrolyte associate (guanidine-Eosin Y or B)에 의한 최대 흡수파장이 535 nm으로 동일하게 이동된 것을 보였지만 Eosin Y와 비교하여 상대적으로 Eosin B가 낮은 흡광도를 보였다(Fig. 3). 따라서 Eosin-PHMG, PGH, PHMB 유도체 용액에 대한 흡광도 스펙트럼의 확대와 이동을 비교 분석하기 위하여 본 실험은 0.05% (w/w)의 Eosin Y를 염료를 선택하여 사용하였다.

대상물질인 PHMG, PHMB, PGH와 0.05% Eosin Y 염료와의 발색시간에 따른 흡광도의 차이를 비교하기 위하여 549 nm에서 측정하였으며 결과는 Table 1과 같다. 혼화 과정이 없이 바로 분석한 혼합용액과 1분간 혼화한 뒤 시료를 발색시간 60분 경과한 분석한 흡광도는 다른 발색시간을 둔 혼합용액의 흡광도와는 약간의 차이가 있었지만 5, 10, 15, 30분의 발색시간에 따른 흡광도의 차이는 매우 낮았다. 완충용액 제조 및 혼합 용액의 pH에 따른 분석 대상 물질의 흡광도의 결과는 Table 2~4와 같다. 실험결과 Eosin Y와 반응한 PHMB, PHMG, PGH 수용액의 흡광도는 모두 pH에 영향을 받을 수 있었다. PHMG와 PHMB의 경우 pH 3.51의 혼합용액에서 최대 흡광도 보여주었으며, PGH의 경우 pH 2.95에서 최대 흡광도를 보여주었다. 하지만 Eosin Y를 이용한 흡광법에서 PHMG, PGH,

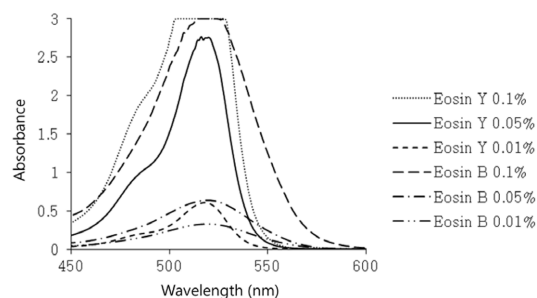


Fig. 3. Absorption spectra of aqueous solution containing Eosin Y with PHMG, and Eosin B with PHMG with varying concentrations of Eosin Y and B.

Table 1. Absorbance measured after various reaction times of Eosin Y with PHMG, PHMB, and PGH

Chemical	Absorbance (at 549 nm)					
	Time (min)					
	0 (non vortex)	5 (vortex 1 min)	10 (vortex 1 min)	15 (vortex 1 min)	30 (vortex 1 min)	60 (vortex 1 min)
PHMG (1 mg/L)	0.059	0.062	0.061	0.062	0.061	0.058
PHMB (1 mg/L)	0.063	0.053	0.054	0.054	0.054	0.051
PGH (1 mg/L)	0.067	0.064	0.069	0.065	0.064	0.059

Table 2. Absorbance at various pH after the reaction between Eosin Y and PHMB

Sample	Absorbance (at 549 nm)						
	PHMB Conc. (mg/L)						
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	2	4
D.W.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
pH 2.52	0.002	0.008	0.018	0.027	0.045	0.098	0.137
pH 2.97	0.004	0.013	0.021	0.033	0.056	0.117	0.164
pH 3.51	0.006	0.014	0.021	0.032	0.054	0.114	0.171
pH 3.95	0.005	0.014	0.020	0.033	0.055	0.104	0.166
pH 4.38	0.002	0.013	0.011	0.033	0.053	0.117	0.164

Table 3. Absorbance at various pH after the reaction between Eosin Y and PGH

Sample	Absorbance (at 549nm)						
	PGH Conc. (mg/L)						
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	2	4
D.W.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
pH 2.52	0.009	0.023	0.025	0.050	0.058	0.115	0.218
pH 2.97	0.010	0.025	0.038	0.056	0.066	0.112	0.222
pH 3.51	0.010	0.024	0.038	0.056	0.064	0.111	0.214
pH 3.95	0.010	0.023	0.038	0.056	0.065	0.111	0.212
pH 4.38	0.009	0.022	0.032	0.047	0.054	0.092	0.176

Table 4. Absorbance at various pH after the reaction between Eosin Y and PHMG

Sample	Absorbance (at 549 nm)						
	PHMG Conc. (mg/L)						
	0.2	0.4	0.6	0.8	1	2	4
D.W.	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
pH 2.52	0.004	0.012	0.017	0.022	0.028	0.059	0.124
pH 2.97	0.013	0.026	0.032	0.040	0.050	0.111	0.233
pH 3.51	0.012	0.032	0.041	0.056	0.070	0.139	0.306
pH 3.95	0.010	0.032	0.038	0.050	0.062	0.130	0.299
pH 4.38	0.011	0.028	0.035	0.045	0.057	0.120	0.228

PHMB의 흡광도는 pH 범위 2.97~3.95에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

0.99, 0.98, 0.99의 우수한 값을 나타내었다(Fig. 4).

3.2. 검정곡선 작성

검량선 범위 0.2~6 (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 4, 6) mg/L의 8개의 농도단계에서 PHMG, PGH, PHMB 검량의 직선성을 확인한 결과 결정계수(R^2)의 값이 각

3.3. 검출한계

방법검출한계를 도출하기 위하여 직접 제조한 PHMG, PHMB, PGH 표준용액을 분석 방법과 절차를 동일하게 하여 7회 반복 실험하였으며, 계산되는 표준편차에 3.143을 곱하여 산정하였다. PHMG, PHMB, PGH의

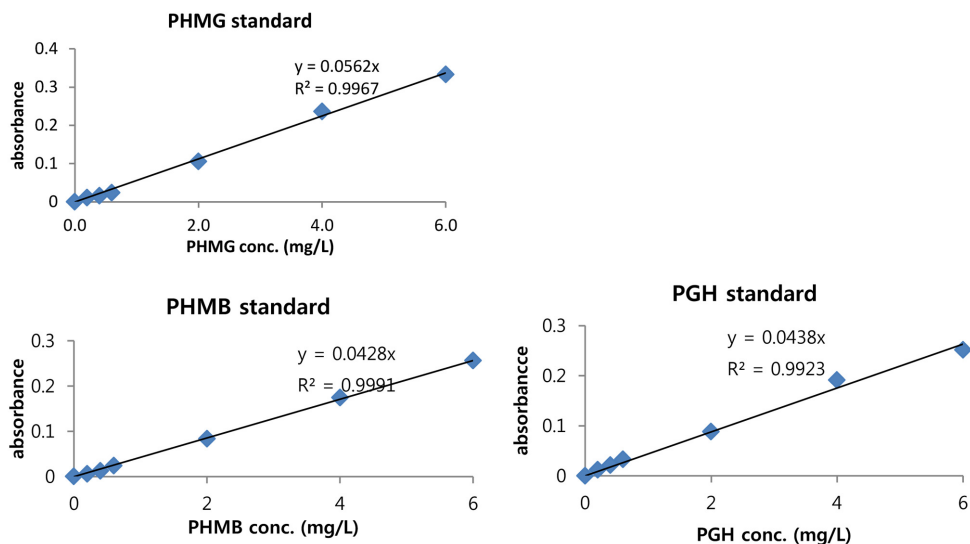


Fig. 4. Examples of calibration curves using external standards of PHMG, PHMB, and PGH.

방법검출한계는 각각 0.155, 0.133, 0.195 mg/L로 확인되었다. 아래에 기술한 것처럼 생활화학제품에 구아니딘계 올리고머가 첨가되는 경우 농도는 본 시험법의 검출한계보다 높은 수준으로 첨가되므로 이 시험법을 이용하여 생활화학제품에 존재하는 구아니딘계 올리고머의 함유량을 스크리닝할 수 있을 것으로 판단된다.

3.4. 간섭물질의 영향 최소화를 위한 고체상추출법

고체상추출법은 혼합물에 원하고자 하는 물질을 분리하는데 유용한 방법으로써 처리시간이 짧으며, 조작이 간편하다는 이점으로 다량의 시료를 신속하고 정확하게 처리해야 하는 식품 및 환경분야 등에서 많이 사용되고 있다. 실험에 선택된 생활화학제품인 물티슈, 렌즈세척제, 화장제거제에는 폴리에틸렌글리콜(polyethylene glycol; PEG)과 같은 계면활성제 성분이 포함되어 있다. 본 연구에서 SPE 방법을 이용한 0.4, 2, 6 mg/L로 제조된 PHMG, PHMB의 표준물질에 대해 MCX는 각 57~61%, 58~70% 회수율을 보였고, WCX는 87~122%, 65~105%의 회수율을 보였다. 또한 MCX 카트리지를 이용하여 추출한 물티슈, 렌즈세척제, 화장제거제를 흡광도계를 이용하여 분석한 결과 바탕물질에 의한 흡광도의 간섭이 제거됨을 확인하였다(Fig. 5). Fig. 5에 나타난 것처럼 생활화학제품 시료에 고체상추출법을 적용하면, 흡광도의 간섭을 크게 줄일 수 있지만, Eosin Y 존재 하에서 일어나는 흡수파장의 이동이 구아니딘계열

물질에 의한 것임을 확인할 수는 없다. 따라서 이 방법은 제품에 함유된 구아니딘 계열물질의 스크리닝에 사용되는 것이 바람직하고, 엄밀한 정성에는 MALDI-TOF 분석법^{15,16)}과 같은 질량분석법이 수행되어야 할 것이다.

3.5. 생활화학제품 분석

생활화학제품은 물티슈 6종, 렌즈세척제 6종, 화장제거제 5종에 대해 고체상추출법을 이용하여 시료를 전처리 후 최적화된 Eosin Y 흡광법을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 Table 5에 나타내었다. 대상 제품 모두 Eosin Y 흡광법을 통하여 구아니딘계 화합물이 존재하는 것을 확인하였다. 이 가운데 중국에서 구매한 물티슈(W2)제품은 국내에서 제조된 제품이 아닌 중국에서 제조된 제품으로 다른 생활화학제품에 비하여 PHMG가 매우 높은 농도로 함유되어있는 것을 확인하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 다양한 생활화학제품에 첨가되어 사용된 PHMG, PHMB, PGH를 대상으로 Eosin 흡광법을 이용한 분석방법의 최적화하였다. 또한 최적화된 분석방법을 이용하여 생활화학제품 내 대상물질을 분석하였다.

Eosin 흡광법은 549 nm의 파장에서 Eosin B염료에 비해 Eosin Y 염료가 흡광도 분석에 용이하였다. Eosin 흡광법에서 혼화시간에 따른 차이는 시료 제조 후 5~

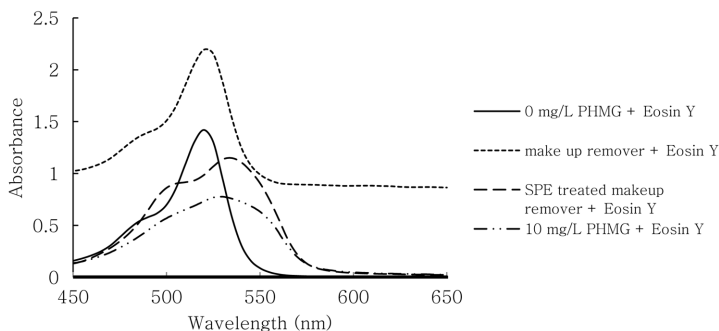


Fig. 5. Absorption spectra of aqueous solutions containing negative control (no PHMG), positive control (10 mg/L PHMG), makeup remover samples with or without SPE treatment with Eosin Y.

Table 5. Measured concentration of guanidine-based oligomers in wet wipes (W1-6), lense cleaners (L1-6), and makeup removers (M1-5)

Consumer product	Guanidine content (mg/L as PHMB)	Guanidine content (mg/L as PHMG)
W1 ^a	7	5
W2 ^a	1959	1492
W3 ^a	452	344
W4 ^a	32	24
W5 ^a	441	336
W6 ^a	152	115
L1 ^b	42	-
L2 ^b	50	-
L3 ^b	28	-
L4 ^b	40	-
L5 ^b	24	-
L6 ^b	8	-
M1 ^b	271	-
M2 ^b	73	-
M3 ^b	289	-
M4 ^b	250	-
M5 ^b	325	-

^aNo ingredient label. Thus, concentration was calculated mg/L as PHMB or as PHMG

^bProduct labels indicated that PHMB was added.

30분에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 분석을 위한 혼합용액제조에 있어서 pH의 차이는 흡광도에 큰 영향을 주었으며, pH 약 3~3.5에서 높은 흡광도를 보였다. PHMG, PHMB, PGH의 MDL은 각각 0.133, 0.155, 0.195 mg/L로 나타났다. MCX 카트리지를 사용한 고체상추출법의 PHMG와 PHMB의 회수율은 각각 57~61%, 58~70%의 범위였으며, 상대표준편차(RSD)는 각각 18.4, 13.6%으로 나타났다. 고체상추출을 통해 추

출한 시료를 최적화된 Eosin Y을 이용하여 분석한 물티슈, 렌즈세척제, 화장제거제 모두 구아니딘계 물질이 검출되었으며, 1개의 물티슈 제품(W2)에서 PHMG가 약 1500 mg/L의 농도로 분석되었다. 본 연구 결과에서 제시한 Eosin Y 흡광법을 이용한 구아니딘계 화합물질 분석법 및 추출법을 이용하면 생활화학제품 내에 미량으로 존재하는 구아니딘계 올리고머의 첨가 여부를 신속하게 스크리닝이 가능할 것으로 판단되며, 향후 생활화학제품내 구아니딘계 물질 피해의 재발 방지를 위한 안전관리 체계 구축 및 제도적 보완에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 한국환경산업기술원의 “생활공감환경보건 개발사업”과 기술표준원 “제품안전기술기반 조성사업”의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. B. Wang, B. Liu, G. Peng, X. Meng, Z. Jiang, and H. Chen, “Synthesis and antimicrobial properties of a guanidine-based oligomer grafted with a reactive cationic surfactant through Michael addition”, *Journal of Applied Polymer Science*, **2013**, 130, 3489-3497.
2. P. Gilbert and L. E. Moore, “Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet”, *Journal of Applied Microbiology*, **2005**, 99, 703-715.
3. J. A. Song, H.-J. Park, M.-J. Yang, K. J. Jung, H.-S. Yang, C.-W. Song, and K. Lee, “Polyhexamethyleneguanidine phosphate induces severe lung inflammation, brosis, and thymic atrophy”, *Food and Chemical*

- Toxicology*, **2014**, 69, 267-275.
4. E. Y. Aleshina, T. N. Yudanova, and I. F. Skokova, "Production and properties of polyvinyl alcohol spinning solutions containing protease C and Polyhexamethylene guanidine", *Fibre Chemistry*, **2001**, 33, 421-423.
5. A. D. Lucas, "Environmental fate of polyhexamethylene biguanide", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **2012**, 88, 322-325.
6. 질병관리본부, "주간 건강과 질병", **2011**, 제4권, 817.
7. H.-K. Cheong, M. Ha, and J.-H. Lee, "Unrecognized bomb hidden in the babies' room: fatal pulmonary damage related with use of biocide in humidifiers", *Environmental Health and Toxicology*, **2012**, 27, e2012001.
8. J.-H. Lee, Y.-H. Kim, and J.-H. Kwon, "Fatal misuse of humidifier disinfectants in Korea: Importance of screening risk assessment and implications for management of chemicals in consumer products", *Environmental Science & Technology*, **2012**, 46, 2498-2500.
9. H. J. Kim, M.-S. Lee, S.-B. Hong, J. W. Huh, K.-H. Do, S. J. Jang, C.-M. Lim, E. J. Chae, H. Lee, M. Jung, Y.-J. Park, J.-H. Park, G.-Y. Kwon, J. Gwack, S.-K. Youn, J.-W. Kwon, B.-G. Yang, B.-Y. Jun, Y. Kim, H.-K. Cheong, B. C. Chun, H. Kim, K. Lee, and Y. Koh, "A cluster of lung injury cases associated with home humidifier use: An epidemiological investigation", *Thorax*, **2014**, 69, 703-708.
10. 국립환경과학원, "기존화학물질관리를 위한 안전성연구 (I)", **2013**, 1-204.
11. SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), "OPINION ON the safety of poly(hexamethylene) biguanide hydrochloride (PHMB)", European Commission, **2015**, 1-72.
12. 국립환경과학원, "생활화학용품 함유 유해화학물질 건강 영향연구", **2014**, 1-153.
13. 국가법령정보센터, <http://www.law.go.kr/admRulLsInfoP.do?admRulSeq=2100000016805#AJAX>, 2015년 4월.
14. Y. B. Monakhova, T. Kuballa, J. Leitz, and D. W. Lachenmeier, "Determination of diethyl phthalate and polyhexamethylene guanidine in surrogate alcohol from Russia", *International Journal of Analytical Chemistry*, **2011**, 704-795.
15. H. J. Hwang, J. Nam, S. I. Yang, J.-H. Kwon, and H. B. Oh, "MALDI-TOF Analysis of polyhexamethylene guanidine (PHMG) oligomers used as a commercial antibacterial humidifier disinfectant", *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2013**, 34, 1708-1714.
16. D. Yoon, D. Lee, J.-H. Lee, S. Cha, and H. B. Oh, "Quantitative analysis of polyhexamethylene guanidine (PHMG) oligomers via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry with an ionic-liquid matrix", *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, **2015**, 29, 213-219.
17. M. Küsters, S. Beyer, S. Kutscher, H. Schlesinger, and M. Gerhartz, "Rapid, simple and stability-indicating determination of polyhexamethylene biguanide in liquid and gel-like dosage forms by liquid chromatography with diode-array detection", *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **2013**, 3, 408-414.
18. A. D. Lucas, E. A. Gordon, and M. E. Stratmeyer, "Analysis of polyhexamethylene biguanide in multi-purpose contact lens solutions", *Talanta*, **2009**, 80, 1016-1019.
19. L. P. O'Malley, K. Z. Hassan, H. Brittan, N. Johnson, and A. N. Collins, "Characterization of the biocide polyhexamethylene biguanide by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry", *Journal of Applied Polymer Science*, **2006**, 102, 4928-4936.
20. N. A. Turner, A. D. Russell, J. R. Furr, and D. Lloyd, "Resistance, biguanide sorption and biguanide-induced pentose leakage during encystment of *Acanthamoeba castellanii*", *Journal of Applied Microbiology*, **2004**, 96, 1287-1295.
21. D. Ziórkowska, I. Syrotynska, and A. Shyichuk, "Quantitation of polyhexamethylene biguanide by photometric titration with Naphthol Blue Black dye", *Polimery*, **2014**, 59, 160-164.
22. 국립환경과학원, "생활화학용품 함유 유해화학물질 노출 평가를 위한 실태조사", **2014**, 1-120.
23. J. A. Glaser, D. L. Foerst, G. D. McKee, S. A. Quave, and W. L. Budde, "Trace analyses for wastewaters", *Environmental Science & Technology*, **1981**, 15, 1426-1435.