

유통 화장품 중 내분비계 장애물질 탐색 및 규명에 관한 연구

구희수[†] · 나영란 · 이승주 · 민상기
약품분석과

Study on Investigation and Identification of Endocrine Disruptors in Commercial Cosmetics

Koo Hee-soo[†], Na Young-ran, Lee Seung-ju, Min Sang-kee
Drug Analysis Division

Abstract

This study aimed to identify characteristics of phthalates (DMP, DEP, DBP, DEHA, BBP, DEHP, and DNOP) and heavy metals such as Pb, Cd, Hg which may be endocrine disruptors in cosmetics and cosmetics containers. We analyzed 65 cosmetics (18 cases of perfumes and colognes, 12 cases of hair products, 11 cases of infants cosmetics, 10 cases of nail products, 8 cases of deodorants, 6 cases of basic cosmetics), which were purchased from online and offline stores in Busan. We developed the simultaneous analysis method for phthalates by GC-FID. As the results, DBP, DEHP and DEP were detected as 20.0 %, 7.7 %, 1.5 %, respectively out of total 65 cosmetics. But DMP, BBP, DEHA, DNOP were not detected. The amount of DBP, DEHP from 18 samples were less than 100 $\mu\text{g/g}$ as regulated by Regulations of Cosmetic Safety Standards in Korea. DBP was detected the most frequently in commercial cosmetics. On the other hand, DEP was detected in most of the hair spray. In order to investigate whether phthalates elutes from the cosmetic container or not, dissolution test was conducted with extraction solution such as water, n-heptane, 20 % ethanol, 50 % ethanol and 4 % acetic acid which were prepared with difference of pH, alcohol content and fat content according by Korea Standards and Specifications for Utensils, Containers and Packaging. As the results, DMP, DBP, DEHA, BBP, DEHP, and DNOP were not detected at all but DEP was detected from the plastics such as PE, PP and OTHER when using 50 % alcoholic solvent. Phthalates may not be eluted from cosmetic containers if not packaged with 50 % alcohol constituent above. Also we analysed concentration of heavy metals such as Pb, Cd, Hg using ICP-OES after microwave digestion. Concentration was below the regulated level and was the range of 0 $\mu\text{g/g}$ (ND) ~ 2.710 $\mu\text{g/g}$ for Pb, 0 $\mu\text{g/g}$ (ND) ~ 0.310 $\mu\text{g/g}$ for Cd, 0 $\mu\text{g/g}$ (ND) ~ 0.014 $\mu\text{g/g}$ for Hg, respectively.

Key Words : cosmetics, phthalate, heavy metal, endocrine disruptors, GC-FID, ICP-OES

서 론

프탈레이트는 플라스틱에 유연성을 증가시키기 위해 사용되는 유기화합물의 한 종류이며, 현재 약 30여종이 사용되고 있으며, 열전도율이 높아 쉽게 녹아나오며 기화성이 높아서 환경 속에 쉽게 방출된다^{1,2)}. 폴리머 산업에

서 가소제, 용제 및 색소와 향료의 안전화제로 공업적으로 널리 사용되고 있다. 즉, 화장품, 약품, 페인트, 접착제 및 PVC 플라스틱으로 만든 의료장비 등 사용 범위가 광범위하다³⁾. 그러나 프탈레이트는 환경과 먹이연쇄에서 호르몬으로 작용할 수 있고 인체의 자연적인 내분비 반응을 자극하여 호르몬의 정상 작용을 방해하여 신체의 가장

[†] Corresponding author, E-mail : hskoo@korea.kr

Tel : +82-51-309-2815, Fax : +82-51-309-2819

기본적인 생리 조절 작용에 영향을 준다. 그래서 프탈레이트는 발암유발, 기형유발, 돌연변이 유발 등을 일으키는 내분비계 장애물질로 사람에게 미치는 영향에 대해 우려가 큰 물질이다. 내분비계 장애물질은 당대 뿐만 아니라 다음세대까지 악영향을 줄 가능성이 있다는 것 때문에 프탈레이트류 등의 내분비계 장애물질에 대한 안전성 논란은 아직도 전 세계적으로 계속되고 있다^{3,4)}.

화장품은 많은 사람들에게 매일 사용되는 생활필수품이 되었지만, 간간히 언론보도를 통해 화장품에 내분비계 장애물질인 프탈레이트, 중금속 등이 함유되었다는 소식은 모든 시민들의 불안요소가 되었다. 과거에 프탈레이트는 화장품 제조 시 보조성분으로 첨가되어 희석제, 연화제 및 피부 침투 강화제로 사용되었다³⁻⁵⁾. 특히, 일부 향수제품, 네일제품, 헤어스프레이제품에서 프탈레이트 검출 사례가 있었다⁶⁾. 지금은 사용할 수 없는 원료로 지정되어 있지만, 화장품의 용기나 부자재에서 용출될 경우가 있고, 제조 공정상에 오염가능성도 있기 때문에 식품의약품안전처는 기존 2009년의 고시를 폐지하고 전면 개정하여 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 프탈레이트 3종(BBP, DBP, DEHP)을 추가하고 그 잔류기준을 총합으로서 100 µg/g 이하로 설정하였다⁷⁾.

이에 본 연구에서는 내분비 장애 유발물질로 알려진 프탈레이트 7종(Dibutyl phthalate, Benzyl butyl phthalate, Bis(2-ethylhexyl) phthalate, Dimethyl phthalate, Diethyl phthalate, Bis(2-ethylhexyl) adipate, Di-n-octyl phthalate) 및 중금속 3종(Pb, Cd, Hg)에 대한 화장품 내 잔류량을 조사하기 위해 Gas Chromatography-Flame ionization detector (GC-FID) 및 Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES), Mercury analyzer 분석 장비를 사용하여 정성·정량 조건을 탐색하였다.

이를 토대로 부산시 관내에 유통되는 화장품을 대상으로 내분비계 장애물질 모니터링을 수행하여, 유통 전후 화장품의 품질관리에 활용하고, 관련 분야에 기초자료를 제공하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 검체는 부산지역 화장품 매장 및 인터

넷 쇼핑몰에서 판매 중인 화장품 65건을 조사대상으로 하였다. 화장품 유형별로는 방향용 제품(샤워코롱, 향수 등) 18건, 두발용 제품(헤어스프레이, 헤어미스트 등) 12건, 영유아용 제품 11건, 네일 제품 10건, 체취 방지용 제품(테오드란트) 8건, 기초화장용 제품(스킨, 로션 등) 6건이다.

표준품 및 시약

프탈레이트 표준물질은 Dibutyl phthalate(Sigma, USA), Benzyl butyl phthalate (Fluka, Germany), Bis(2-ethylhexyl) phthalate (Fluka, Germany), Dimethyl phthalate (Fluka, Germany), Diethyl phthalate (Fluka, Germany), Di-n-octyl phthalate (Fluka, Germany), Bis(2-ethylhexyl)adipate (Fluka, Germany)을 사용하였고, 시료 준비 및 기기분석을 위하여 n-hexane (Merck, Germany, GC grade), Acetone(Merck, Germany, GC grade), Acetic acid(Merck, Germany), Ethanol(Merck, Germany), n-Heptane(Junsei, Japan)을 사용하였다. 중금속 표준품은 ICP-multi-element standard solution XVI (As, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V, Zn 100 mg/L, Merck KGaA, Germany)을 사용하였고, Hg은 Mercury standard solution 1000 mg/L (KANTO CHEMICAL, Japan)을 사용하였다. 중금속 전처리에는 질산, 염산(Matsunoen Chemicals LTD, Japan, 유해금속분석용), 황산(Merck, Germany)을 사용하였다. 시험에 사용한 증류수는 ELGA Water purification system (ELGA, UK)을 통하여 제조하였다.

기기 및 분석조건

프탈레이트 분석에 사용되는 모든 실험 기구는 유리로 된 제품을 사용하였고, 이를 미리 아세톤, 헥산으로 세정하고 200 °C에서 수 시간 가열해 건조한 것을 사용하였다. 용출시험에 사용하는 유리기구는 미리 침출용액인 n-헵탄으로 세정하거나 또는 180 °C ~ 200 °C에서 수 시간 가열한 것을 사용하였다⁸⁾. GC-FID 분석은 Agilent 7890A GC (Agilent, USA)를 사용하여 실험을 실시하였으며 ChemStation 소프트웨어를 사용하여 크로마토그램과 분석결과를 산출하였다.(Table 1) 또한 프탈레이트 검출된 경우 정확한 확인을 위해 GC-MSD (Bruker, USA)로 분석하였다.(Table 2)

화장품의 프탈레이트 분석은 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 따라 수행하였고 화장품 용기별 프탈레이트 분석은 「식품용 기구 및 용기포장 공전」 중 IV. 기구 및 용기·포장의 시험법의 ‘디부틸프탈레이트, 벤질부틸프탈레이트, 디에틸헥실프탈레이트, 디-n-옥틸프탈레이트, 디이소노닐프탈레이트, 디이소데실프탈레이트 및 디에틸헥실아디페이트 시험법’에 따라 수행하였다⁸⁾. 시료의 전처리에는 초음파세척기(Powersonic 420, 화신테크), 원심분리기(MF-80, 한일), pH 측정기(SevenCompact pH/Ion, Mettler-toledo AG, Switzerland)를 사용하였다.

중금속 분석에 사용된 기구들은 중금속 오염을 방지하기 위하여 세척 후 30 % 질산에 6시간 담근 뒤 1차 및 3차 증류수로 세척 후 건조시켜 사용하였다. 중금속 분석을 위하여 시료는 Microwave 장치(CEM MAR6, Agilent, USA)를 이용하여 시료 전처리하였고, ICP-OES (Optima 7000DV, PerkinElmer, USA) 및 수은 자동분석기(MA-3000, NIC, Japan)를 사용하여 분석하였다.(Table 3)

검량선 작성

각각의 프탈레이트 표준물질을 hexan-2-one 혼합액(8 : 2)에 녹여 표준원액을 만든 후, 각각의 표준품을 혼합 희석하여 0.1 ug/mL, 0.25 ug/mL, 0.5 ug/mL, 1.0 ug/mL, 5.0 ug/mL, 10.0 ug/mL, 25.0 ug/mL 범위의 혼합표준액을 제조하여 GC-FID로 분석하고, 검량선을 작성하였다. 분석기기의 데이터 분석 프로그램(ChemStation) 상에서 신호 대 잡음비율(S/N, Signal to Noise)이 10이 되는 농도를 예상 정량 한계농도로 설정하였다. 이후 예상 정량 한계농도를 포함하여 그것의 10배 농도 사이에서 3개 농도의 혼합 표준용액을 제조하였고, 이를 분석하여 얻은 검량선의 기울기(S)와 예상정량한계농도를 7회 연속 분석하여 얻은 피크면적의 표준편차(δ)로 하여 정량한계(Limit of Quantification, LOQ, $10 \delta \times S^{-1}$)와 검출한계(Limit of Detection, LOD, $3.3 \delta \times S^{-1}$)를 산출하였다. 중금속 분석을 위하여 Pb, Cd를 포함하는 ICP-multi-element standard solution XVI 100 mg/L (Merck KGaA, Germany)을 3 % 질산으로 희석하여 25 ug/L, 50 ug/L, 100 ug/L, 200 ug/L, 500 ug/L로 각각 조제하여 검량선을 작성하였다. 작성된 검량선으로 부터 각 성분에 대하여 검출한계(Limit of Detection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantification, LOQ)를 산출하였다. Hg는 Mercury

standard solution 1000 mg/L(KANTO CHEMICAL, Japan)을 0.01 % L-cystein으로 희석하여 3 ng, 6 ng, 9 ng 농도로 검량선을 작성하였고 검출한계(Limit of Detection, LOD)와 정량한계(Limit of Quantification, LOQ)를 산출하였다.

Table 1. Analytical conditions of GC-FID

Instrument	Agilent GC 7890
Column	DB-1701 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m)
Carrier gas	N ₂ , 1.0 mL/min
Inlet temp.	250 °C
Oven temp.	120 °C (1min) → 50°C/min → 150 °C (2min) → 10 °C/min → 260 °C(15min)

Table 2. Analytical conditions of GC-MSD

Instrument	BRUKER (SNS-40)
Column	HP-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m)
Carrier gas	He, 1.0 mL/min
Oven temp.	80 °C (1 min) → 15 °C/min → 250 °C (1 min) → 5 °C/min → 300 °C (10 min)
Source temp.	250 °C
Ion source	EI mode
Scanning range	50 m/z ~ 500 m/z

Table 3. The analytical conditions of ICP-OES and mercury analyzer

Insturment	Parameter	Operating conditions
ICP-OES	RF Power	1,400 watts
	Nebulizer flow	0.55 L/min
	Auxiliary flow	0.2 L/min
	Plasma flow	17.0 L/min
	Sample flow	1.5 L/min
	Plasma viewing	Axial
	Processing mode	Area
	Wavelength	Pb (220,353 nm), Cd (228,802 nm)
Mercury Analyzer	Drying temp	150 °C
	Drying time	60 sec
	Decomposition temp	550 °C
	Decomposition time	120 sec
	Wavelength	253.7 nm
	Carrier gas	O ₂ , 0.2 L/min

시료 전처리

식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 따라 화장품 1.0 g을 정밀히 달아 헥산·아세톤 혼합액(8 : 2)을 넣어 정확하게 10 mL로 하고 초음파로 충분히 분산시킨 다음 3,000 rpm으로 20 min 원심 분리한다. 그 상등액 5 mL을 정확히 취해 엑산·아세톤 혼합액(8 : 2)을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 시험액으로 하였다.

화장품 용기별 시험은 침출용액을 지방 함유 화장품과 지방 함유 이외의 화장품으로 구분한 후 지방 함유 많은 화장품과 접촉하여 사용되는 용기에는 n-헥탄을 침출용액으로 하여 2-6 재질별 용출시험용액의 조제에 따라 조제한 액을 시험용액으로 하였다. 또한 지방 함유하는 화장품 이외의 화장품과 접촉하여 사용하는 기구 및 용기·포장의 경우는 20 % 에탄올, 50 % 에탄올, 4 % 초산, 물을 침출용액으로 사용하여 2-6 재질별 용출시험용액의 조제에 따라 조제한 액 25 mL를 분액여두에 옮겨 아세톤·헥산혼합액[1 : 1(v/v)] 50 mL를 가하여 5분간 격렬하게 진탕한 후 정치하여 아세톤·헥산층을 250 mL 플라스크에 옮기고 남은 여액에 아세톤·헥산혼합액 50 mL를 가하고 위와 동일하게 2회 조작하여 아세톤·헥산층을 위의 플라스크에 합하여 감압농축한 후 잔류물을 아세톤에 녹여 25 mL로 한 액을 시험용액으로 하였다. 따로, 시료 대신 침출용액을 사용하여 동일하게 조작하여 얻은 액을 공시험 용액으로 하였다.

중금속 중 납은 시료 200 mg을 microwave 전용용기에 취하고 질산 7 mL, 염산 2 mL, 황산 1 mL를 첨가한 후 4 시간 이상 방치한 후, microwave 장비를 이용하여 최대파워 1,000 w, 최고온도 200 ℃, 분해시간 35 min의 조건으로 분해하였다. 카드뮴은 시료 200 mg을 microwave 전용용기에 취하고 질산 7 mL, 불화수소산 2 mL를 첨가한 후, microwave 장비를 이용하여 최대파워 1,000 w, 최고온도 200 ℃, 분해시간 20 min의 조건으로 분해하였다. 상온으로 식힌 다음 뚜껑을 열고 희석

시킨 4 % 붕산 20 mL을 넣고 뚜껑을 닫은 다음 용기를 microwave 장비에 장착하여 최대파워 1,000 w, 최고온도 180 ℃, 분해시간 10 min의 조건으로 분해하여 불소를 불활성화시켰다. 증류수로 용기 및 뚜껑을 씻은 후 침전물이 있을 경우 여과하고 전체량을 50 mL로 하여 시험용액으로 하였다. 중금속 중 수은은 시료 50 mg을 정밀히 달아 검액으로 하였다. 따로 시료 없이 검액과 동일하게 조작하여 공시험액으로 하여 결과 보정에 사용하였다.

회수율

프탈레이트 표준물질 7종 모두가 검출되지 않은 시료 중 로션타입 화장품 1건과 스킨타입 화장품 1건을 바탕 시료로 하여 바탕시료 100 mg에 표준용액 20 ug/ml 1 mL과 중금속 혼합표준액 100 ug/mL 100 uL를 각각 첨가한 시험액과 바탕시료의 시험액에 대하여 확립된 전처리와 분석방법으로 동일하게 처리하여 프탈레이트와 중금속의 회수율을 구하였으며, 3회 반복시험하였다.

결과 및 고찰

내분비계장애물질 프탈레이트 검출

1. 동시분석조건

본 연구에서는 「화장품 안전기준 등의 관한 규정」에 기준규격으로 설정된 프탈레이트류(Dibutyl phthalate, Benzyl butyl phthalate, Bis(2-ethylhexyl) phthalate)와 기준규격 미설정 프탈레이트류(Dimethyl phthalate, Diethyl phthalate, Di-n-octyl phthalate, Bis(2-ethylhexyl) adipate)의 7종 프탈레이트를 동시 분리하기 위하여 GC-FID를 이용하여 검체 도입부, 컬럼 등의 적절한 온도 조건을 탐색하였다. (Table 1) 또한 검출된 프탈레이트의 정성 확인시험을 위한 GC-MSD의 적절한 조건도 탐색하였다.(Table 2) 확

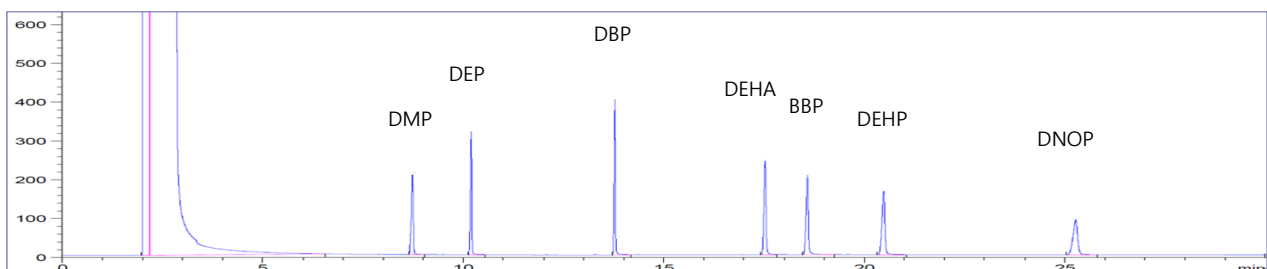


Fig 1. The chromatogram of 7 phthalates standards by GC-FID.

립된 분석조건으로 7종의 성분을 30 min 이내에 동시분석 할 수 있었다.(Fig 1, 2) 혼합표준액 0.1 ug/ml, 0.25 ug/ml, 0.5 ug/ml, 1, 5 ug/ml, 10, 25 ug/ml 농도를 가지고 작성된 검량선의 직선상관계수(R^2)는 모두 0.999 이상이었다. 또한 각 프탈레이트의 LOD는 0.0013 ug/g ~ 0.0093 ug/g, LOQ는 0.0048 ug/g ~ 0.0028 ug/g로 나타났다.(Table 4)

2. 정량 및 검출한계, 회수율 결과

화장품 1.0 g을 정밀히 달아 헥산아세톤 혼합액(8:2)을 넣어 정확하게 10 mL로 하고 초음파로 충분히 분산시킨 다음 3,000 rpm으로 20 min 원심 분리한다. 그 상등액 5 mL을 정확히 취해 헥산아세톤 혼합액(8 : 2)을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 시험액으로 하였다. 바탕으로 1.0 g에 프탈레이트 표준용액을 첨가하여 동일한 전처리 조건으로 회수율을

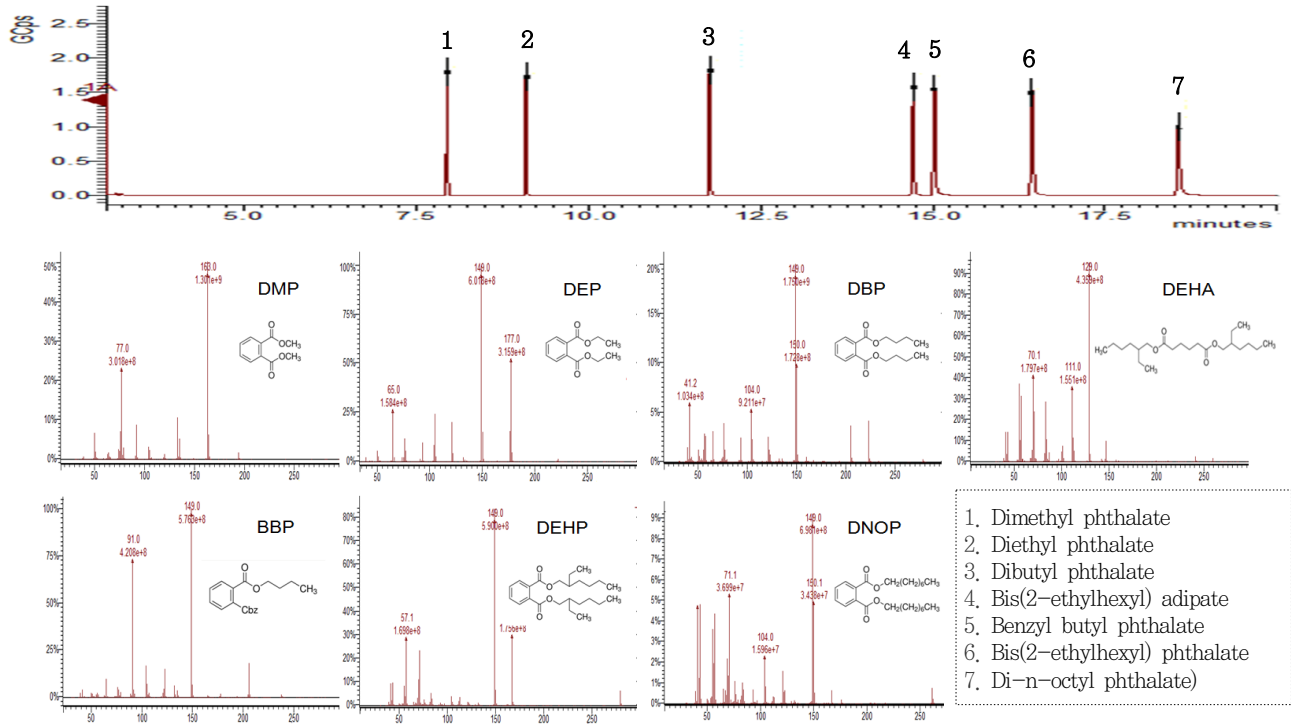


Fig. 2. The chromatogram of 7 phthalates standards by GC-MSD.

Table 4. The regression data of phthalates by GC-FID

phthalates	$R^{2a)}$	LOD ^{b)} ($\mu\text{g/g}$)	LOQ ^{c)} ($\mu\text{g/g}$)	Average recovery rate (%, n=3)	
				Lotion	Skin
Dimethyl phthalate	0.99979	0.0016	0.0048	88.6	93.2
Diethyl phthalate	0.99973	0.0080	0.0243	88.5	91.2
Dibutyl phthalate	0.99980	0.0013	0.0039	90.8	94.8
Bis(2-ethylhexyl) adipate	0.99980	0.0015	0.0046	91.6	94.3
Benzyl butyl phthalate	0.99957	0.0093	0.0281	91.1	92.8
Bis(2-ethylhexyl)phthalate	0.99980	0.0029	0.0088	84.8	89.4
Di-n-octyl phthalate	0.99979	0.0033	0.0101	82.3	86.1

a) Coefficient of correlation(R^2)
 b) Limit of Detection, LOD (LOD = 3.3 x δ /S)
 c) Limit of Quantification, LOQ (LOQ= 10 x δ /S)
 δ : the standard deviation of the response
 S : the slope of the calibration curve

확인한 결과 로션제형 화장품 82.3 % ~ 91.6 %, 스킨제형 화장품 86.1 % ~ 94.8 %로 양호하였다.(Table 4)

3. 화장품 중 프탈레이트의 확인

시중에서 유통되는 화장품 65건 중 18개 제품(27.7 %)에서 DBP, DEP, DEHP 순으로 3종의 프탈레이트가 검출되었으나 그 외 DMP, BBP, DEHA, DNOP는 모든 시료에서 검출한계 이하(불검출)로 나타나 오염이 없는 것으로 나타났다.(Table 5) 검출된 프탈레이트는 GC chromatogram상의 머무름 시간과 GC-MSD로 확인하였다.(Fig 3) 분석결과 수거된 시료의 프탈레이트는 모두 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등의 관한 규정」에 규정된 DBP, DEHP의 검출기준인 100 ug/g 이하로 검출되었다.

화장품 유형별로 볼 때 네일제품의 경우 전체 10건 중 6건(60.0 %)에서 DBP 검출 및 1건에서 DEHP 검출, 기초화장품의 경우 전체 6건 중 2건(33.3 %)에서 DEP 및 DBP가 각각 검출, 방향용 제품의 경우 전체 18건 중 5건(27.8 %)에서 DBP가 검출, 두발용 화장품의 경우 전체 12건 중 3건(25.0 %)에서 DEP가 검출, 체취 방지용화장품의 경우 전체 8건 중 1건(12.5 %)에서 DBP검출, 영유아용 화장품의 경우 전체 11건 중 1건(9.1 %)에서 DEP가 검출되었다.

조사대상 프탈레이트류 중 DBP가 전체 화장품 중에서 가장 많이 검출되었으며, DEP는 헤어스프레이에서 가장 높은 농도로 검출되었다. 따라서 DBP, DEP는 피부접촉을 통한 인체 노출 가능성이 가장 큰 물질인 것으로 판단되었다.(Table 6)

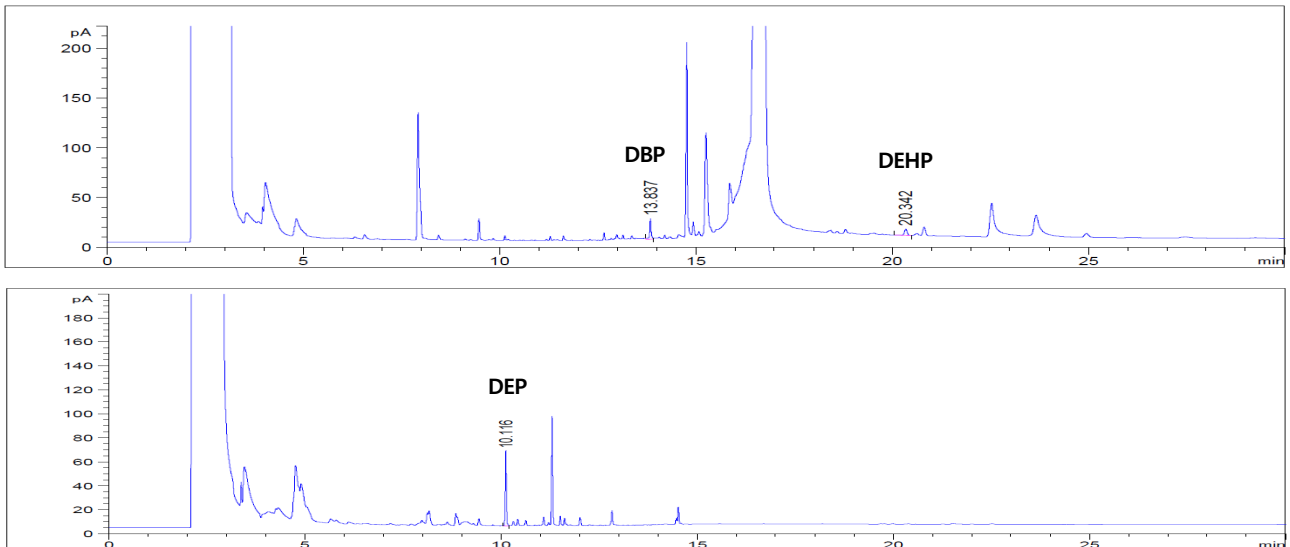


Fig. 3. The chromatogram of phthalates in cosmetics by GC-FID.

Table 5. Detected phthalates according to 6 different types of cosmetics

Phthalates	Type						
	Total	Basic	Hair	Perfumes Colognes	Nail	Infant	Deodorant
No. of specimen	65	6	12	18	10	11	8
No. of detection (%)	18* (27.7%)	2 (33.3%)	3 (25.0%)	5 (27.8%)	6* (60.0%)	1 (9.1%)	1 (12.5%)
Dimethyl phthalate	0	0	0	0	0	0	0
Diethyl phthalate	5	1	3	0	0	1	0
Dibutyl phthalate	13	1	0	5	6	0	1
Bis(2-ethylhexyl)adipate	0	0	0	0	0	0	0
Benzyl butyl phthalate	0	0	0	0	0	0	0
Bis(2-ethylhexyl)phthalate	1	0	0	0	1	0	0
Di-n-octyl phthalate	0	0	0	0	0	0	0

* : SA1(Nail cosmetics) detected DBP & DEHP

4. 화장품 용기 중 프탈레이트의 확인

화장품의 용기에서 용출된 프탈레이트류의 함유 가능성을 알아보기 위해, 화장품 용기 재질별 프탈레이트 분석은 「식품용 기구 및 용기포장 공진」 중 IV. 기구 및 용기·포장의 시험법의 ‘디부틸프탈레이트, 벤질부틸프탈레이트, 디에틸hex실프탈레이트, 디-n-옥틸프탈레이트, 디이소노닐프탈레이트, 디이소데실프탈레이트 및 디에틸hex실아디페이트 시험법’에 따라 수행하였으며, 화장품 용기별 시험은 침출용액을 지방 함유 화장품과 지방 함유 이외의 화장품으로 구분한 후 지방 함유량이 많은 화장품과 접촉하여 사용되는 용기에는 n-헵탄을 침출용액으로 하여 25 ℃를 유지하면서 1시간 방치한 액을 시험용액으로 했다. 또한 지방 함유이외의 화장품과 접촉하여 사용하는 기구 및 용기·포장의 경우는 알코올 함량과 pH에 따라 20 % 에탄올, 50 % 에탄올, 4 % 초산, 정제수를 침출용액으로 하여 60 ℃로 미리 가온한 후 침출용액을 해당 용기에 내용물만큼 채운 후 60 ℃를 유지하면서 30 분간 방치한 액을 시험용액으로 했다. 이 시험용액 25

mL를 분액여두에 옮겨 아세톤·hex산혼합액[1 : 1(v/v)] 50 mL를 가하여 5분간 격렬하게 진탕한 후 정치하여 아세톤·hex산층을 250 mL 플라스크에 옮기고 남은 여액에 아세톤·hex산혼합액 50 mL를 가하고 위와 동일하게 2회 조작하여 아세톤·hex산층을 위의 플라스크에 합하여 감압 농축한 후 잔류물을 아세톤에 녹여 25 mL로 한 액을 시험용액으로 하였다. 따로, 시료 대신 침출용액을 사용하여 동일하게 조작하여 얻은 액을 공시험용액으로 하였다.

화장품 용기에서 용출된 시험용액으로 7종의 프탈레이트 분석결과 DMP, DBP, DEHA, BBP, DEHP, DNOP는 모두 불검출이었으며, DEP 1종만 검출되었다.(Fig 4)

검출된 화장품 용기는 플라스틱 중 PE, PP, OTHER로 표기된 용기이었으며, 이때의 용출시험액은 50 % 알코올 용매로 용출시험한 액에서 검출되었고, 그 농도는 0.37 ug/g ~ 0.64 ug/g 이었다. 본 연구의 알코올 함유 20 % 이상 제품은 대부분 유리용기를 사용하였고 그 외 몇 건은 알루미늄용기, PET용기를 사용하였다.

따라서 알코올 함유 20 % 이상 제품은 플라스틱 용기

Table 6. Amount of phthalates detected in cosmetics by GC-FID

Phthalates	No. of samples (%)	Amount ^{a)} (ug/g)	Average ^{b)} (ug/g)
Diethyl phthalate	5 (7.7 %)	70.24 - 255.19	170.14
Dibutyl phthalate	13 (20.0 %)	7.44 - 59.54	25.27
Bis(2-ethylhexyl)phthalate	1 (1.5 %)	39.21	39.21

a) Amount(%) of phthalates in samples

b) Average concentration

Table 7. Detected phthalates according to extraction solution and types of cosmetics container by GC-FID

extraction solution	type of cosmetics container					
	OTHER	PET	PE	PP	Glass	Aluminum
Water	N.D	N,D	N,D	-	-	N,D
4 % Acetic acid	N,D	N,D	N,D	-	-	-
20 % EtOH	N,D	N,D	-	N,D	N,D	-
50 % EtOH	DEP	N,D	DEP	DEP	N,D	-
n-Hetane	N,D	N,D	-	-	-	N,D

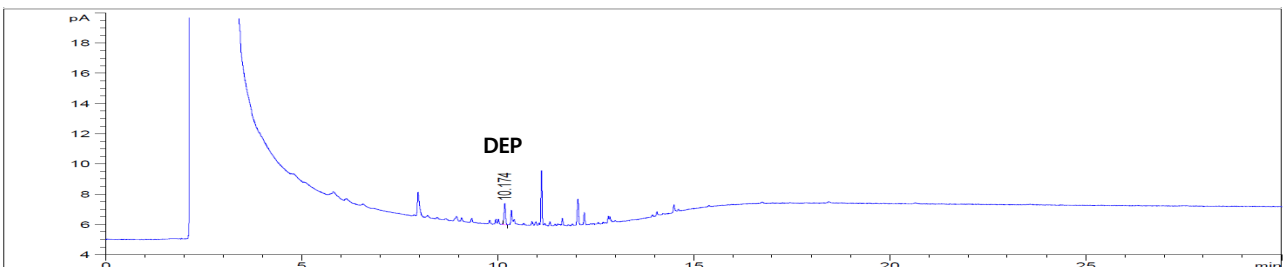


Fig. 4. The chromatogram of phthalates in cosmetics container by GC-FID.

에 포장되지 않는다면, 화장품 용기로부터의 화장품 내용 물로의 오염은 거의 없다고 볼 수 있었다.(Table 7)

내분비장애유발물질 중금속 검출

일본 국립의약품식품위생연구소 분류에 따르면 내분비 계 장애물질 140여종 중 중금속은 납, 카드뮴, 수은 3종이다. 납은 부드럽고 순응성이 뛰어나고 유연하여 가공이 쉬울 뿐 아니라 색깔 조성이 잘 되어서 페인트 안료, 도자기 유약, 포장지, 화장품, 학용품 등 산업계에서 다양하게 이용되며, 물, 식품, 대기 등의 다양한 경로를 통해 노출된다⁴⁾. 납은 모든 신체조직에 영향을 미치지만 특히 신장과 면역체계에 손상을 가져다주며 신경조직에 가장 심각한 손상을 일으킨다. 인체의 축적 독성이 강하고, 헤모글로빈 결핍으로 인한 빈혈, 신경장애 등을 일으키며 일본 국립의약품식품위생연구소에서 내분비계장애 추정물질로, 미국 일리노이주 환경청에서는 가능성있는 물질로, 국립암연구기관(IARC)에서는 Group 2B (사람에 대해 발암성이 의심됨)으로 분류되었다⁹⁻¹¹⁾.

카드뮴은 인체에 급성 또는 만성질환을 일으키는 중금속으로써 산업의 발달로 대기 및 수질오염에 의하여 미량이지만 섭취시 치명적인 질병을 일으킨다⁴⁾. 특히, 카드뮴은 반감기가 대단히 길기 때문에 체내에 들어오면 배출되지 않고 몸속에 남아있게 되므로 비록 적은 양이라도 장기간 지속적으로 노출될 경우 건강상 위해를 일으킬 수 있다¹¹⁾. 또한 일본 국립의약품식품위생연구소에서 내분비계장애 추정물질로, 미국 일리노이주 환경청에서는 가능성있는 물질로, 국립암연구기관(IARC)에서는 Group 1 (사람에 대해 발암성 있음)으로 분류되었다⁹⁻¹¹⁾.

수은은 공장폐수, 도시하수, 수은계 농약, 페인트, 안료 등에 함유되어 있는 수은의 자연 탈기로 방출되며 인체에

누적될 경우 신경계통에 치명적인 피해를 주는 중금속이다. 또한 일본 국립의약품식품위생연구소에서 내분비계장애 추정물질로, 미국 일리노이주 환경청에서는 가능성있는 물질로, 국립암연구기관(IARC)에서는 Group 3 (사람에 대한 발암성 여부에 대해 분류할 수 없음)으로 분류되었다⁹⁻¹¹⁾.

1. 분석법의 정량 및 검출한계, 회수율 측정

화장품 시료를 microwave법으로 분해한 후 내분비계 장애를 유발하는 것으로 보고되어진 Pb, Cd에 대해 ICP-OES를 이용하여 분석하였다. Pb, Cd 중금속 혼합 표준액에서 2종 중금속의 검량선은 모두 0.9999 이상의 R²를 보였다. 검출한계(LOD, Limit of detection)는 Pb 0.0089 ug/L, Cd 0.0019 ug/L이었고, 정량한계(LOQ, Limit of quantitation)는 Pb 0.0269 ug/L, Cd 0.0057 ug/L이었다. Hg은 휘발성을 갖는 금속으로¹¹⁾ 산으로 전처리 없이 자동 시료주입기가 부착된 Mercury analyzer(Model MA-2, Nippon Instruments Co., Japan)를 사용하였다. 시료 50 mg을 정밀히 달아 고온으로 가열 분해하여 수은을 기화시켜 다공성물질의 표면에 금을 코팅한 수은 포집기에 포집, 농축하여 측정하는 금아말감법(Combustion-Gold Amalgamation Method)으로 분석하였다. 수은 표준원액은 1000 mg/kg (Kanto Chemical Co., Japan)을 0.01 % L-cystein용액으로 희석하여 0.01 mg/kg 표준용액을 만들고 30 uL, 60 uL, 90 uL로 주입하여 검량선을 작성하였다. 회수율은 중금속이 검출되지 않은 바탕시료에 중금속 혼합 표준용액을 첨가하고 시료와 동일한 조건으로 시험하여 측정하였다. 로션제형과 스킨제형을 바탕시료로 하여 분석한 Pb의 회수율은 94.5 % ~ 99.1 %, Cd의 회수율은 98.9 % ~ 100.8 %, Hg의 회수율은 99.3 % ~ 100.6 %로

Table 8. Regression data of heavy metals by ICP-OES and mercury analyzer

Heavy metals	R ^{2(a)}	LOD ^{b)} (ug/L)	LOQ ^{c)} (ug/L)	Average recovery rate (%, n=3)	
				Lotion	Skin
Pb	0.99994	0.0089	0.0269	94.5	99.1
Cd	0.99993	0.0019	0.0057	98.9	100.8
Hg	0.99990	0.0009	0.0026	99.3	100.6

a) Coefficient of correlation(R²)

b) Limit of Detection, LOD (LOD = 3.3 x δ/S)

c) Limit of Quantification, LOQ (LOQ= 10 x δ/S)

δ : the standard deviation of the response

S : the slope of the calibration curve

양호하였다.(Table 8)

2. 시료에서의 Pb, Cd, Hg의 검출

Pb은 신경장애의 급성 증상과 창백한 피부, 두통, 식용 감퇴 등의 만성증상을 일으키는 것으로 알려져 있다⁹⁻¹¹⁾. 이번에 조사한 화장품 중의 납 함량은 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 규격 설정된 기준(20 ug/g)에 낮은 수준으로 나타났다. 조사된 화장품의 납에 대한 분석결과는 평균값 0.061 ug/g이며 최대값 2.7 ug/g으로 기준의 7배 이하 수준이었다.(Table 9)

Cd은 적은 양으로도 신장독성을 일으키며, 초기증상은 단백뇨를 일으키며 장기간 노출시 골조직에서 칼슘과 인 대사 불균형을 초래하며 골다공증, 비장의 기능장애, 기형발생 등을 일으키는 것으로 알려져 있다⁹⁻¹¹⁾. 조사결과, 화장품 중의 카드뮴 함량은 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 규격 설정된 기준(5 ug/g)에 낮은 수준으로 나타났다. 조사된 화장품의 카드뮴에 대한 분석결과는 평균값 0.011 ug/g, 최대값 0.31 ug/g로 기준 이하 수준이었다.(Table 9)

Hg은 그 자체로도 쓰이고, 각종 원소들과 결합하여 화합물의 형태로도 많이 사용된다. 수은에 의한 급성독성은 설사, 신장 기능장애 등이 올 수 있으며, 만성중독시 과민 증상, 손 떨림 등의 증상이 보고된 바 있다¹¹⁾. 수은의 섭취는 중추신경계 이상을 초래하여 보행장애, 수족마비,

중추신경계 이상 등을 초래한다⁹⁻¹¹⁾. 이번에 조사한 화장품 중의 수은 함량은 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 규격 설정된 기준(1 ug/g)보다 낮은 수준으로 나타났다. 조사된 화장품의 수은에 대한 분석결과는 평균값 0.003 ug/g, 최대값 0.014 ug/g로 기준 이하 수준이었다.(Table 9)

결론

내분비계장애물질로 알려진 프탈레이트류 7종과 중금속 3종을 선정하여 신속한 동시 분석방법을 확립하고, 부산시 관내 제조회장품 및 수입화장품 판매점과 인터넷 쇼핑몰에서 유통 중인 화장품 65건을 대상으로 내분비계장애물질의 검출 실태를 확인하여 관련분야에 기초자료를 제공하고자 본 연구를 실시하였다.

1. 문헌고찰을 통하여 내분비계장애물질로 알려진 여러가지 물질 중 Dimethyl phthalate, Diethyl phthalate, Dibutyl phthalate, Bis(2-ethylhexyl) adipate, Benzyl butyl phthalate, Bis(2-ethylhexyl) phthalate, Di-n-octyl phthalate 7종을 내분비계장애 유발 프탈레이트로, Pb, Cd, Hg 3종을 내분비계장애 유발 중금속으로 선정하여 분석하였다.

Table 9. Heavy metal concentrations by 6 cosmetics types

Type	No. of sample	Pb (ug/g)	Cd (ug/g)	Hg (ug/g)
Basic	6	0.220 ± 0.129 ^{a)} (0.027 ~ 0.429)	0.036 ± 0.042 (ND ^{b)} ~ 0.092)	0.006 ± 0.004 (ND ~ 0.011)
Hair	12	0.212 ± 0.103 (0.034 ~ 0.352)	0.056 ± 0.034 (ND ~ 0.126)	0.002 ± 0.002 (ND ~ 0.008)
Perfumes Colognes	18	0.237 ± 0.104 (0.084 ~ 0.463)	0.067 ± 0.049 (ND ~ 0.156)	0.002 ± 0.003 (ND ~ 0.0011)
Nail	10	0.342 ± 0.168 (0.077 ~ 0.573)	0.002 ± 0.006 (ND ~ 0.020)	0.003 ± 0.003 (ND ~ 0.010)
Infant	11	0.441 ± 0.759 (0.074 ~ 2.710)	0.079 ± 0.078 (0.027 ~ 0.310)	0.005 ± 0.005 (ND ~ 0.014)
Deodorant	8	0.171 ± 0.145 (ND ~ 0.335)	0.032 ± 0.037 (ND ~ 0.098)	0.001 ± 0.001 (ND ~ 0.003)

a) Data were expressed as mean ± Standard deviation(minimum~maximum)

b) ND : Not detected

2. 화장품 중 내분비계장애물질인 7종의 프탈레이트를 GC-FID를 이용하여 동시분석 가능한 조건으로 정량법을 확립하였고, 7종의 프탈레이트 확인시험을 위한 GC-MSD 동시분석조건을 확립하였다. 두 조건 모두 30분 이내로 신속한 분석이 가능하였다.
3. 유통 화장품 65건 중 18개 제품(27.7 %)에서 3종의 프탈레이트를 함유하고 있었다. DBP, DEP, DEHP 순으로 나타났고 그 외 모든 시료에서는 DMP, BBP, DEHA, DNOP는 검출한계 미만(불검출)로 나타나 오염이 없는 것으로 나타났다. 검출된 프탈레이트 중 2종 DBP, DEHP는 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 기준설정된 프탈레이트로써 그 검출량은 각각 7.4 $\mu\text{g/g}$ ~ 59.5 $\mu\text{g/g}$, 39.2 $\mu\text{g/g}$ 로 모두 기준(100 $\mu\text{g/g}$)이하로 검출되어 안전한 수준임을 알 수 있었다.
4. 화장품 유형별로 프탈레이트 검출율을 보면 네일제품 60 %, 기초화장품 33 %, 방향용제품(향수, 샴푸코롱)에서 28 %, 헤어제품 25 %, 체취방지용화장품 13 %, 영유아용 화장품 9 % 순이었다.
5. 조사대상 프탈레이트류 중 DBP가 전체 화장품에서 13건으로 가장 많이 검출되었으며, 5건에서 검출된 DEP의 평균 검출량은 170.1 $\mu\text{g/g}$ 로 다소 높았다. DEP는 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 기준 규격 설정되지 않은 항목으로, 향후 지속적인 모니터링 연구를 통해, 그 결과에 따라 관련 부처와 협의하여 추가기준 규격 설정이 필요한 것으로 판단되었다. 따라서 DBP, DEP가 화장품에 의한 피부 접촉을 통해 인체에 노출될 가능성이 가장 큰 프탈레이트인 것으로 판단되었다.
6. 화장품 용기별에 따른 각각의 침출조건으로 용출된 시험액을 7종의 프탈레이트 시험법을 적용한 결과 6종의 프탈레이트는 모두 불검출이었으며, DEP 1종만이 검출되었고 그 농도도 아주 낮은 수준이었다. 미량이지만 검출된 화장품 용기는 플라스틱 중 PE, PP, OTHER로 표기된 용기이었으며, 이때의 용출시험액은 50 % 알코올 용매로 용출시험한 액에서 검출되었다. 향후 용기에 대한 추가적인 검사가 있어야 하겠지만, 현재 결과로 볼때 화장품의 원료배합 비율이 알코올 20 % 이상에서는, 플라스틱보다는 유리나 알루미늄 용기를 사용한다면 프탈레이트 오염은 거의 없을 것으로 판단된다.
7. 내분비계장애물질 중금속 3종 시험 중 Pb, Cd의 경우는 microwave를 이용하여 전처리 하였고, ICP-OES

기기 분석하였으며, Hg는 Mercury analyzer를 이용하여 분석하였다. Pb, Cd, Hg에 대한 검량선은 모두 0.9999 이상의 R^2 를 보였고, 회수율 평균은 94.5 % ~ 100.8 %로 양호하였다.

8. 65종 시료에서 검출된 중금속 농도평균은 Pb 0.273 $\mu\text{g/g}$, Cd 0.049 $\mu\text{g/g}$, Hg 0.003 $\mu\text{g/g}$ 으로 식품의약품안전처 고시 「화장품 안전기준 등에 관한 규정」에 규격 설정된 기준(Pb 20 $\mu\text{g/g}$, Cd 5 $\mu\text{g/g}$, Hg 1 $\mu\text{g/g}$)에 모두 기준이하로 나타나, 중금속으로 인한 내분비계장애물질에 대한 오염은 대부분 안전한 수준으로 판단되었다.

참고문헌

1. K. K. Kim, "Contents character of phthalates in school supplies", *Analytical Science & Technology*, 25(1), pp.69~75(2012).
2. K. Becker, M. Seiwert, J. Anerer, W. Heger, H. M. Koch, R. Nagorka, E. Rokamp, C. Schluter, B. Seifert and D. Ullrich, *International J. of Hygiene and Environ. Health*, 207(5), pp.409~417(2004).
3. W. H. Park, Y. K. Kim, H. J. Jeong, B. C. Choe, K. A. Park, J. K. Lee, I. S. Yu, N. J. Chough, "Analysis of Perfumes Products for Phthalate Esters", *서울특별시 보건환경연구원보* 43, pp.174~182(2007).
4. S.R. Choi, "중금속 내분비계 장애물질과 식품", *Bulletin of Food Technology*, 20(4), pp.3~10 (2007).
5. F. Mendes, J. Amaral, "The endocrine disruptors: a major medical challenge". *Food Chem Toxicol*, 40(6), pp.781~788(2002).
6. M. K. Kim, H. J. Jung, I. S. Chang, "Simple Method in Trace Analysis of Phthalates in Cosmetics : Analytical Conditions and Skills for Better Results", *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 34(1), pp.51~55(2008).
7. Ministry of Food and Drug Safety No. 2014-199(2014.12.23.), Republic of Korea.
8. Ministry of Food and Drug Safety No. 2014-27(2014.2.13.), Republic of Korea.

9. H. A. Cha, S. H. Kang, S. B. Choe, H. K. Kim, S. T. Kang, "Hazardous Heavy Metal Contents of Mushrooms from Retail Markets in Seoul", *Korean J Food Sci Technol*, 46(3), pp.283~287 (2014).
10. J. S. Kim, S. W. Hwang, J. M. Kim, J. Y. Ma, "Monitoring Research for Heavy Metals as Endocrine Disruptors in Herbal Medicines and Ssangwha-Tang", *Korean Journal of Oriental Medicine* 6(1), pp.117~122(2000).
11. Y. S. Kim, H. J. Jeong, I. S. Chang, Heavy Metals and Cosmetics, *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 28(1), pp.15~30(2002).