

## 폐글리세롤을 이용한 친환경 가소제의 경구투여독성 및 피부자극성 시험

강수정 · 김희영 · 박상원 · 심은영 · 김진환\*

성균관대학교 고분자시스템공학과

### The oral dose toxicity test and skin irritation test of eco-friendly plasticizer using crude glycerol derived

Soo-Jung Kang · Heeyoung Kim · Sangwon Park · Eunyoung Sim · Jinhwan Kim\*

Department of Polymer Science and Engineering, Sungkyunkwan University, Republic of Korea

#### ABSTRACT

**Objectives:** The major objective of this study is the oral dose toxicity test and skin irritation test of eco-friendly plasticizer using crude glycerol derived from the biodiesel process.

**Methods:** Glyceroldiacetate laurate(GDL) was synthesized from glycerol monolaurat(GML) and acetic acid. The synthesis of the GDL plasticizer was measured with nuclear magnetic resonance spectroscopy(NMR) and FT-IR(Fourier Transform Infrared Spectrometer). To provide information on the safety of GDL, we carried out an oral dose toxicity test for GDL in Sprague-Dawley rats. Also, we carried out a skin irritation test for GDL in New Zealand White rabbits.

**Results:** The oral dose toxicity test in Sprague-Dawley rats showed that GDL is a non-toxic material. The result of the skin irritation test on New Zealand White rabbits showed that GDL is non-irritating.

**Conclusions:** From the results of oral dose toxicity test and skin irritation test, we concluded that the developed plasticizer showed excellent eco-friendly property. Based on our results, we confirmed the development of an eco-friendly non-phthalate plasticizer. Applicability for PVC toys and food and drug packaging materials was found.

**Key words:** polyvinylchloride(PVC), eco-friendly, plasticizer, oral dose toxicity test, skin irritation test

#### I. 서 론

폐기물로 처리될 수 있는 부산물의 활용은 환경문제 해결뿐만 아니라 유용한 자원으로 활용될 수 있다. Figure 1에서 보이듯이 유채유, 대두유, 팜유 등의 유지계 식물로부터 추출한 기름을 알콜과 촉매를 넣고 반응시키면 바이오디젤이 생성되며 글리세린 분리와 정제 과정을 거친 후 정유사에 보내져 경유와 혼합 연료 또는 순수 바이오디젤을 차량연료로 사용한다. 일반적으로 폐글리세롤(Crude glycerol)이라 함은 바이오디젤의 생산공정에서 발생하는 부산

물을 총칭하여 폐글리세롤이라고 하며, 바이오디젤 생산량의 약 10% 정도가 생성된다(Lee et al., 2009).

글리세롤을 함유한 부산물은 2차 오염을 유발시킬 수 있으며, 특히 다량의 폐글리세롤을 처리하는데 있어서 많은 비용이 요구되어 바이오디젤 생산 공정의 경제성을 악화시키고 있으며(Kim et al., 2002), 최근에는 바이오디젤 부산물로부터 회수되는 글리세롤 유도체들(Glycerol derivatives)의 고부가가치 물질로의 전환 연구가 많이 이루어지고 있다(Kim et al., 2002; Jun et al., 2008). 글리세롤 유도체 연구 및 적용분야로 순도와 용도에 따라 다양한 유도체 개발의

\*Corresponding author: Jinhwan Kim., Tel: 031-290-7301, E-mail: jhkim@skku.edu  
2066 Seobo-ro, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do

Received: August 30, 2015, Revised: September 9, 2015, Accepted: September 20, 2015

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

플랫폼 화학물질(Building block), 화장품 또는 일반 생활용품(예: 치약, 식음료), 폴리우레탄 제조 등에 이용되고 있다(Yang et al., 2008).

활용분야인 가소제(Plasticizer)는 산과 알코올을 촉매 존재하에 가열반응시킴으로써 만들어지는 가소성을 가지는 유기 에스테르화합물로서 고분자 물질에 첨가하여 가공성을 개선하고 물리적 성상을 변화시켜 우수한 성질을 갖도록 보조하며(Yoo & Ryu, 2007), 가격이 저렴하고 기능이 우수하여 산업 전반에 걸쳐 광범위하게 사용되는 범용수지인 PVC에 첨가제로 적용되고 있다.

PVC는 경제성, 기밀성 등 여러 가지 장점으로 다양하게 사용되고 있으나(Yoon et al., 2005), 유연성을 부여하기 위해 널리 사용되고 있는 DEHP(Bis(2-ethylhexyl) phthalate) 등의 프탈레이트 가소제가 일종의 환경호르몬으로서 생식장애 및 발암성 독성물질로 분류되면서 큰 문제가 야기되고 있다(Heudorf et al., 2007; Sampson, 2011).

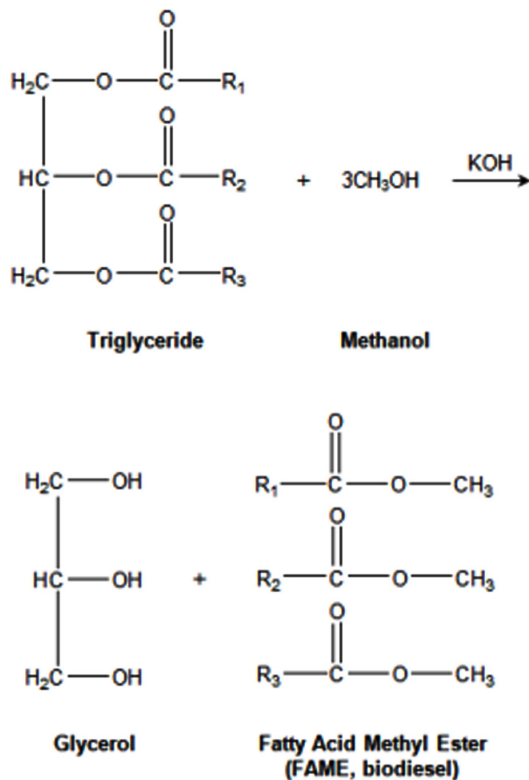


Figure 1. The reaction formula of biodiesel

프탈레이트계 가소제는 천식, 피부질환, 생식기계 질환 등을 유발하는 것으로 알려져 있으며 작업 근로자의 노출은 호흡기노출, 피부접촉이 주를 이루고 있다. 주 노출공정은 o-Xylene, Naphthalene을 원료로 하여 무수프탈산을 제조하여 포장하는 공정(탱크로리 저장과정, 분말 무수프탈산 bag저장)과 석유화학제품 제조과정의 반응공정을 들 수 있다. 또한 플라스틱제품 제조과정에서 프탈레이트계 가소제의 열분해로 인해 미량의 무수프탈산이 발생되기도 한다. 무수프탈산은 인체에 자극성이 있어 노출되면 눈물, 콧물이 나고 호흡기계에 과민성을 유발하여 알레르기성 비염과 기관지 천식을 일으킨다(Kern, 1939). 국내에서는 페인트공장에 근무하는 근로자에서 무수프탈산에 노출될 때 기관지 천식뿐만 아니라 고열, 관절통, 두통 및 근육통과 같은 전신증세를 동반한 환자를 보고된 적이 있으며(Park et al., 1991) 프탈레이트계 가소제 관련 무수프탈산을 취급하는 근로자들의 1년 후 알레르기성 질환의 변화 양상이 있음을 보고한 적이 있다(Lee&Lim, 2001).

이처럼 프탈레이트 가소제의 인체 유해성에 대한 논란이 끊임없이 제기되고 있으며, 전 세계적으로 프탈레이트 사용 규제를 강화하고 있는 실정이기에(Tstumra et al., 2001; Lee et al., 2003; Kim, 2004; Becker & Massey, 2010) 친환경가소제 개발의 중요성이 대두되고 있다.

본 연구에서는 환경호르몬의 유해성 논란이 되고 있는 프탈레이트계 가소제 대신 바이오디젤 폐기물인 글리세롤 유도체를 이용한 비프탈레이트계 가소제의 생물학적 안전성을 확인하여 무독성 친환경 가소제의 PVC 적용을 검토하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

라우르산은 순도 98.5%이상의 일본 Junsei사의 특급시약을 사용하였으며, 글라세롤은 바이오디젤 생산공정으로부터 부산물로 생성되는 페글리세롤을 정제하여 재자원화한 신흥유업(주)의 순도 95% 재생 글리세롤을 사용하였다. 산촉매는 일본 WAKO사의 순도 99% 이상의 파라 톨루엔술포산 그리고 산화방지제로서 일본 WAKO사의 순도 50%의 차아인산을

사용하여 합성하였으며, 이렇게 합성된 가소제를 생물학적 안전성 시험을 위한 재료로 사용하였다.

## 2. 글리세롤 유도체를 이용한 가소제 합성

라우르산에 글리세롤을 1:0.95 몰비로 넣고 산촉매인 파라 톨루엔술폰산 1 wt%와 산화방지제인 차아인산 0.5 wt%를 첨가하여 230℃ 정도에서 6시간 반응시킨 후 감압증류하여 순도 90%로 정제 및 농축하여 글리세롤 모노라우레이트를 합성하였다. 합성한 글리세롤 모노라우레이트와 무수 아세트산을 1:3의 몰비로 질소조건하에서 24시간, 180~200℃에서 반응시킨 후 순도 92%로 정제하여 글리세롤 디아세테이트 라우레이트(Glyceroldiacetate laurate; Dodecanoic acid, ester with 1,2,3- propanetriol diacetate)를 합성하였다.

## 3. 단회 경구투여독성시험(Single Dose Toxicity Study)

단회 경구투여독성시험은 ‘의약품 등의 독성시험기준’(식품의약품안전처 고시 제2014-136호, 2014. 7.30 개정) 및 식품의약품안전평가원의 의약품등의 독성시험기준 해설서(2012)에 의거하여 시험물질을 시험동물에 단회투여(24시간이내의 분할 투여하는 경우도 포함)하였을 때 단기간 내에 나타나는 독성을 질적·양적으로 검사하는 시험으로, 본 실험에서는 sprague-dawley 랫드를 이용한 단회 경구투여 독성시험을 진행하였다. 시험물질로는 글리세롤 디아세테이트 라우레이트를 0(음성대조군), 1,250, 2,500 및 5,000 mg/kg으로 군당 10마리(암수 각 5마리)에 단회 경구투여한 후 2주간의 사망률 및 일반증상 관찰, 체중측정, 육안적 부검조건 관찰을 실시하여 음성대조군과 비교하였다.

## 4. 피부자극시험(Skin Irritation Test)

피부자극시험은 ‘의약품 등의 독성시험기준’(식품의약품안전처 고시 제2014-136호, 2014. 7.30 개정) 및 식품의약품안전평가원의 의약품등의 독성시험기준 해설서(2012)에 의거하여 국소독성시험의 1차적인 방법으로 시험물질이 피부에 국소적으로 나타내는 자극을 검사하는 시험이다. 본 실험은 New Zealand White계 수컷 백색 토끼에 글리세롤 디아세테이트 라우레이트를 0.5 ml 적용한 후 무처리 적용

한 정상피부(비찰과피부) 및 찰과피부와 비교 평가하였다. 도포부위는 털 깎은 등부위의 피부이고, 2.5 cm×2.5 cm의 비찰과피부 2개 부위와 찰과피부 2개 부위로 하였으며, 도포 방법은 가로세로 2.5 cm의 피부에 시험물질을 적용한 후 가아제로 덮고, 가아제를 테이프로 고정하였다. 이때 가아제의 위에 시험물질의 증발을 막기 위해 침투성이 없고 반응성이 없는 고형 재질의 박지로 덮고 테이프 등을 사용하여 고정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 글리세롤 디아세테이트 라우레이트(Glyceroldiacetate laurate) 합성

Figure 2는 글리세롤 모노라우레이트(Glycerol monolaurate, GML)의 합성 결과를 보여주는 NMR(핵자기 공명분광기, nuclear magnetic resonance; Unity Inova, 500 MHz, Varian Technology, USA) 스펙트럼으로 우측 0.85~0.95 ppm 피크는 유기화합물의 양단에 메틸기(CH<sub>3</sub>-)에서 수소의 존재를 파악할 수 있는 피크이며, 1.27 ppm 부근 피크는 유기화합물 중 내부의 메틸렌기(-CH<sub>2</sub>-)에서 수소의 존재를 확인할 수 있는 피크이다. 3.6~4.2 ppm 범위에 형성된 피크들 중 강하게 나타나는 네 개의 피크는 글리세롤 모노라우레이트의 글리세릴기 중 알코올의 수소를 제외한 나머지 수소들에 의해 나타난 피크로 판단되며, 글리세롤 모노라우레이트가 성공적으로 합성되었다고 판단된다.

Figure 3은 글리세롤 디아세테이트 라우레이트(Glyceroldiacetate laurate, GDL)의 합성 결과를 보여주는 NMR 스펙트럼으로, 0.8 ppm 위치에 형성된 피크에서 유기화합물의 양단에 메틸기(CH<sub>3</sub>-)에서 수소의 존재를 파악할 수 있었고, 1.3, 1.6 및 2.3 ppm 부근에 형성된 피크는 각각 유기화합물 중 내부의 메틸렌기(-CH<sub>2</sub>-)에서 수소의 존재를 확인할 수 있는 피크들이다. 이들은 모두 라우레이트 영역이라 볼 수 있으며, 4.2~5.3 ppm 범위에 형성된 글리세롤 모노라우레이트의 글리세릴기 중 알코올의 수소를 제외한 나머지 수소들에 의해 나타난 피크로 판단되어지며, 2.1 ppm에 강하게 나타난 아세테이트 피크로 글리세롤 디아세테이트 라우레이트가 성공적으로 합성되었다고 판단된다.

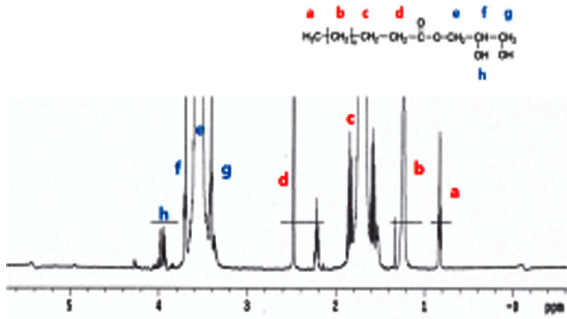


Figure 2. NMR spectra of glycerol monolaurate

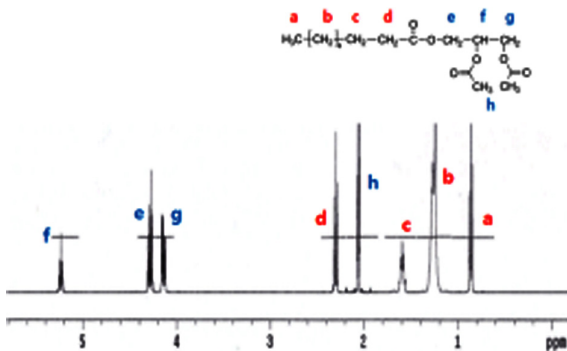


Figure 3. NMR spectra of glyceroldiacetate laurate

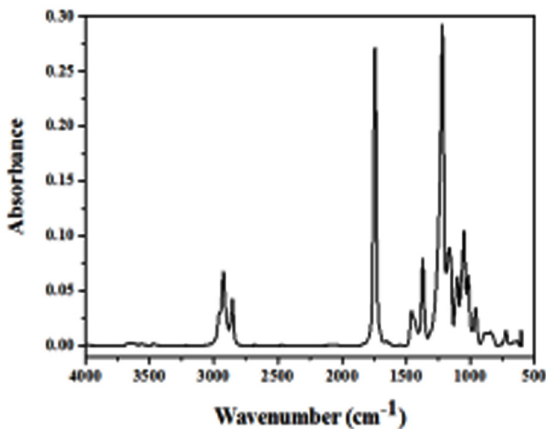


Figure 4. IR spectra of glyceroldiacetate laurate

Figure 4는 글리세롤 디아세테이트 라우레이트의 합성 결과를 보여주는 FT-IR(Fourier Transform Infrared Spectrometer) 분석스펙트럼으로 1731 cm<sup>-1</sup>의 에스테르기, 2950 cm<sup>-1</sup> 및 1469 cm<sup>-1</sup>의 알킬기 형성 여부를 확인할 수 있었다.

## 2. 단회 경구투여독성시험 결과

단회 경구투여독성시험 결과 사망동물은 관찰되지 않았으며, 일반증상 관찰결과, 시험물질 투여와 관련된 이상증상은 관찰되지 않았다. 체중변화 관찰결과, 실험기간 동안 시험물질투여군의 체중은 음성대조군과 유사하였다. 부검소견 관찰결과, 시험물질의 투여와 관련된 육안적 이상소견은 관찰되지 않았다. 이로써 개략의 치사량(Approximate Lethal Dose, ALD)은 암수 모두 5,000 mg/kg을 상회하는 것을 알 수 있었으며, 이는 글리세롤 디아세테이트 라우레이트가 무독성 물질임을 판단할 수 있다. 또한, 고용노동부고시 제2013-37호(화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준)에 따른 유해성 분류(class)의 급성독성 부분에서 실험결과치는 0.1% 이하로, 이는 한계농도 이하인 바 무독성 물질임을 확인할 수 있었다(Table 1).

## 3. 피부자극시험 결과

시험기간 중 시험물질의 적용에 기인한 일반증상 및 사망동물은 관찰되지 않았으며, 체중변화 관찰결과, 실험기간 동안 시험물질 적용에 기인한 체중의 이상은 관찰되지 않았다. 시험물질인 글리세롤 디아세테이트 라우레이트 적용 후 피부반응 관찰결과 24 시간째 grade 1인 아주 가벼운 홍반(Very slight erythema)이 2군데 관찰되었으나 72시간째는 시험물질 적용부위 및 비적용의 모든 부위에서 아무런 변화가 관찰되지 않았다. 결과치로 1차 피부 자극지수는 각각 0.17과 0.0으로

Table 1. Score table of dose toxicity

Division	limited concentration(%)
dose toxicity: grade 1-3 grade 4	0.1 1
skin irritation	1

Table 2. Score table of skin irritation

1st Skin irritation index	Division
0.0~0.5	Non-irritating
0.6~2.0	Mild irritation
2.1~5.0	Medium Irritation
5.1~8.0	Strong irritation

서 이는 비자극성에 해당한다(Table 2).

또한, 고용노동부고시 제2013-37호(화학물질의 분류·표시 및 물질안전보건자료에 관한 기준)에 따른 유해성 분류(class)의 피부자극성 부분에서 실험결과치는 1% 이하로, 이는 한계농도 이하이므로 비자극성 물질임을 확인할 수 있었다(Table 1).

#### IV. 결 론

프탈레이트 가소제의 인체 유해성에 대한 논란이 끊임없이 제기되고 있으며, 전 세계적으로 프탈레이트 사용 규제를 강화하고 있는 실정이기에 최근 친환경가소제 개발의 중요성이 대두되고 있다. 이에 본 연구에서는 바이오디젤 부산물인 폐글리세롤을 이용하여 비프탈레이트계 가소제인 GDL을 개발하여 친환경 가소제의 생물학적 안전성에 관한 시험을 수행하였다. 단회 경구투여독성시험과 피부자극시험 결과 본 연구결과의 가소제인 GDL이 무독성이면서 비자극성 물질임을 확인할 수 있었다. 이는 논란이 되고 있는 PVC 장난감을 비롯하여 PVC 제품의 프탈레이트 가소제로 인한 유해성에서 벗어날 수 있는 비프탈레이트계 친환경 가소제의 가능성을 확인할 수 있었다. 하지만, 궁극적으로 동 시험물질이 흡입 노출 및 경피노출이 주요한 경로라고 판단되어 향후 생물학적 안전성을 위한 추가연구로 유전독성시험(복귀돌연변이시험, 소핵시험 등)과 흡입독성시험 및 경피독성시험(급성 및 반복노출 등)의 추가연구가 필요한 것으로 판단된다.

#### 감사의 글

본 연구에서는 한국연구재단의 일반연구자지원사업(과제번호:NRF-2013R1A1A2065755) 지원에 의하여 이루어진 연구의 일부분으로서 이에 감사드립니다.

#### References

- Becker ME, Massey RI. Toxic Chemicals in Toys and Children's Products: Limitations of Current Responses and Recommendations for Government and Industry, Environ. Sci. Technol. 2010;44(21): 7986-7991
- Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: Toxicology and exposure, Int. J. Hyg. Environ. Health 2007;210(5):623-634
- Jun SA, Kang CH, Kong SW, Sang BI, Um YS. Biological production of 1,3-propanediol using crude glycerol derived from biodiesel process, Korean J. Biotechnol. Bioeng 2008; 23(5):413-418
- Kern RA. Asthma and allergic rhinitis due to sensitization to phthalic anhydride, report of a case. J Allergy 1939;10:164-165
- Kim SH, Kim SJ, Park KG, Rhee SK, Kim CH. 1,3-Propanediol fermentation using the by-products from fat industry, Korea J. Biotechnol. Bioeng 2002;17(3):255-260
- Kim MS. Simultaneous GC/MS analysis of total and individual Phthalic esters, Master's program in Chemistry Graduate School of Konkuk University, 2004
- Yang YM, Kim KJ, Lee YT. Glycerol separation from biodiesel byproduct, J. Korean Ind. Eng. Chem. 2005;19(6):690-692
- Lee JH, Lim HS. A Change on the allergic diseases of workers exposed to phthalic anhydride during one year, Korean public health research 2001;27(1):13-24
- Lee JH, Kim SW, Lee YT. Transition to a high value-added material using crude glycerol derived, NICE 2009; 27(4):434-440
- Lee JS, Yun YJ, Chung GW, Myoung YC, Lee SY. Analysis of Phthalate esters in Plastic Products, J. Korean Ind. Eng. Chem. 2003;14(5):609-615
- Ministry of food and drug safety, notice no.2014-136, revision July 30, 2014
- National Institute of food and drug safety evaluation, toxicity criteria commentary such as pharmaceuticals, 2012
- Park HS, Kim JW, Jung DH, Kim YJ. Studies on serum specific IgE measurements using a chemiluminescent assay in patients with respiratory allergies: A Comparative Study of the skin reactions and radioallergosorbent test results, Journal of asthma, allergy and clinical immunology 1991;11(3): 347-354
- Sampson J. DEHP-plasticised PVC: relevance to blood services, Transfusion Medicine 2011;21(2): 73-83
- Tstumra Y, Ishimitsu S, Nakamura Y, Yoshii K, Kaihara A et al. Di-(2-ethylhexyl) phthalate contamination of retail packed lunches caused by PVC gloves used in the preparation of foods, Food Additives Contaminants 2001;18(6):569-579

- Yang YM, Kim KJ, Lee YT. Glycerol separation from biodiesel byproduct, J. of Korean Ind. Eng. Chem 2008;19(6):690-692
- Yoo KH, Ryu JC. Synthesis of new aromatic ester plasticizers and their endocrine disrupting screening, J. of Korean Oil Chemists' Soc 2007;24(3):211-218
- Yoon MH, Eom MN, Do YS, Jung HR, Jeong IH et al. A study of plasticizer in food and drug PVC packaging, Korean J. Sanitation 2005;20(2):39-46