

어린이 용품 함유 프탈레이트류 -
기체크로마토그래피/질량분석법(경구노출)

2024

(Determination of release of phthalates
in saliva simulant from children's products - Gas
chromatography/mass spectrometry)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 어린이 용품에 함유되어 있는 프탈레이트류의 노출경로 중 입으로 빠는 행위 (mouthing)에 의해 전이되는 농도를 측정하기 위한 방법이다. 입으로 빠는 행위에 의한 전이는 와류진탕추출기 (head over heel rotator)를 이용하여 인공침 용액으로 시료를 추출한 후 헥세인으로 추출하여 기체크로마토그래프/질량분석기로 정성, 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험 방법은 어린이 용품에 함유되어 있는 프탈레이트류 9종(BBP, DEP, DBP, DEHA, DEHP, DINP, DNOP, DIDP, DIBP)의 전이량을 측정하는 기체크로마토그래피/질량분석법 (GC/MS, gas chromatography/mass spectrometry) 이다.

1.2.2 각 프탈레이트류의 전이량 분석방법 검출한계는 $0.005 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 을 만족해야 한다.

1.2.3 이 시험 방법에 따라 시험할 경우 정량한계는 $0.020 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 으로 한다.

1.3 간섭물질

1.3.1 분석결과에 오류를 가져올 수 있는 주요 오염원으로는 용매, 시약, 유리 기구 및 그 외 분석과정 중에 사용하는 모든 기구 등이다. 이들은 크로마토그램 상의 바탕선을 상승시키는 등 시료 분석 과정에 영향을 줄 수 있으며, 분석자료의 질을 저하시킬 수 있다. 따라서 모든 시약은 순도 및 불순물의 종류와 함량을 고려하여 엄선하고 필요한 경우 용매나 시약은 증류 및 정제하여 사용한다. 각 실험실에서는 오염원으로 인한 영향 유무나 수준에 대해 바탕시료 (reagent blank)의 측정을 통한 평가가 필요하다.

1.3.2 유리 기구류는 적절한 세척이 매우 중요하다. 잘못 세척된 유리 기구류는 분석과정 중 시료를 오염시킬 수 있으며 유리 표면에 분석 물질이 흡착될 경우 목적성분의 손실 우려가 있으므로 유리 기구류에 적합한 세척 방법은 매우 중요하다.

1.3.3 유리 기구류는 사용한 후 가능한 빨리 마지막 사용 용매로 행군 후, 세제로 씻는다. 세제 용액에 유리 기구를 넣고 30분간 초음파 세척한다.

1.3.4 세제로 세척한 후 수돗물, 정제수 순으로 행군 후 400 °C 전기로에서 (15 ~ 30)분간 가열해 준다.

1.3.5 열에 안정한 물질의 경우 정제수 세척만으로 잘 제거 되지 않기 때문에 아세톤, 헥세인의 용매 순으로 행구어 사용한다.

1.3.6 가능한 유리 재질의 기구를 사용하여야 하며, 테프론 재질도 사용할 수 있으나 바탕시험으로 오염 여부를 확인하여 사용해야 한다. 그 외 플라스틱 재질의 마개, 시린지 등의 사용을 피해야 한다.

1.3.7 시약이나 용매는 잔류농약분석급 또는 특급 이상의 것을 사용하고, 필요한 경우 증류나 정제 과정을 통해 불순물의 방해로 인한 문제를 최소화하도록 한다.

2.0 용어정의

2.1 프탈레이트 종류

분석 대상 프탈레이트는 표 1과 같다.

표 1. 분석대상 프탈레이트

물질	국문명	영문명	CAS No.
DEP	다이에틸 프탈레이트	Diethyl phthalate	84-66-2
DBP	다이뷰틸 프탈레이트	Dibutyl phthalate	84-74-2
BBP	뷰틸 벤질 프탈레이트	Butyl benzyl phthalate	85-68-7
DEHA	다이에틸헥실 아디페이트	Di(2-ethylhexyl) adipate	103-23-1
DEHP	다이-2-에틸헥실 프탈레이트	Di(2-ethylhexyl) phthalate	117-81-7
DNOP	다이-n-옥틸 프탈레이트	Di-n-octyl phthalate	117-84-0
DINP	다이아이소노닐 프탈레이트	Diisononyl phthalate	28553-12-0
DIDP	다이아이소데실 프탈레이트	Diisodecyl phthalate	26761-40-0
DIBP	다이아이소뷰틸프탈레이트	Diisobutyl phthalate	84-69-5

2.1 내부표준물질

내부표준물질은 분석하고자 하는 물질과 유사한 화학적 구조나 화학적 성질을 가지며 시료 매질 중에서는 발견되지 않는 유기화합물로 분석방법의 재현성 및 정확성을 알아보기 위해 시료 전처리 전 또는 기기분석 이전에 첨가하여 사용한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 와류진탕추출기

와류진탕추출기 (head over heel rotator)는 250 mL 유리병을 고정할 수 있고, 실험하는 동안 일정한 속도를 유지할 수 있는 것을 사용한다. 유리병의 중심 회전축으로부터 반지름이 150 mm가 되도록 하여 사용한다.



그림 1. 와류진탕추출기 (head over heel rotator)

3.2 테프론 셉텀이 있는 뚜껑이 있는 250 mL 유리병

250 mL 유리병은 바닥이 편평하고 뚜껑을 닫을 수 있으며 뚜껑에 테프론 셉텀 (PTFE, polytetrafluoroethylene septum)이 있는 것을 사용한다.

3.3 액-액 추출장치

액-액 추출장치 (liquid-liquid extraction device)는 수직 진탕기와 분액 깔때기로 이루어져 있으며, 수직 진탕기는 여러 개의 분액 깔때기를 한꺼번에 수직으로 진탕할 수 있는 것으로 진탕속도 및 시간 조절이 가능한 것을 사용한다.

3.4 질소 농축기

질소 농축기는 질소가스가 연결될 수 있는 미세관과 테프론으로 코팅된 바늘, 기체의 유량조절이 가능한 유량계, 시료용기를 고정할 수 있는 장치로 구성되어야 한다. 시료의 농축에 앞서 농축기의 바늘 부분은 아세톤 및 헥세인으로 3회 이상 세척하여 교차오염 등을 방지하고, 농축 시 질소가스의 유속 세기에 의해 시료가 시료용기 외부로 유출되지 않게 항상 주의한다.

3.5 기체크로마토그래프 바이알

기체크로마토그래프 바이알 마개는 테프론 (PTFE) 재질을 사용한다.

3.6 기체크로마토그래프

3.6.1 컬럼

길이 30 m, 안지름 0.25 mm, 두께 0.25 μm 의 DB-5MS 모세관 컬럼 또는 이와 동등 이상의 분리능을 가진 것을 사용한다.

3.6.2 운반기체

순도 99.999 % 이상의 헬륨 가스

3.6.3 운반기체 유속

1.0 mL/min

3.6.4 온도

주입구 온도 : 300 $^{\circ}\text{C}$

검출기 온도 : 250 $^{\circ}\text{C}$

컬럼 온도 : 100 ~ 270 $^{\circ}\text{C}$

3.6.5 주입량

1 μL 비분할(splitless)

3.6.6 질량분석기

이온화부 : 전자충격이온화법 (EI, electron impact ionization), 선택 이온 모니터링 방식 (SIM, selected ion monitoring)

분 석 부 : 사중극자형 질량 분석과 (quadrupole mass filter)

[주 1] 검출기, 컬럼 등의 조건은 기기 및 분석에 따라 일부 변경될 수 있다.

3.7 전자저울

소수 넷째자리까지 g 단위의 무게를 잴 수 있는 것을 한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 헥세인 (hexane, C_6H_{14} , 86.18)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.2 아세톤 (acetone, C_3H_6O , 58.08)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.3 무수황산소듐 (sodium sulphate anhydrous, Na_2SO_4 , 142.04)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 프탈레이트 표준원액 (1 000 mg/L)

각 표준 물질 약 100 mg을 0.001 g까지 정확히 무게를 재어 100 mL 부피 플라스크에 옮긴 후 헥세인으로 녹이고, 눈금까지 헥세인으로 채우고 잘 흔들어 섞는다. 이 용액을 표준 원액으로 한다.

[주 2] 이와 동등한 농도로 제조되어 시판되는 표준원액을 사용할 수 있다.

4.2.2 프탈레이트 표준용액

표준 원액을 희석하여 (0.1 ~ 20) mg/L 농도의 표준용액을 제조한다. 일반적으로 5개 ~ 6개의 용액을 준비한다.

4.2.3 내부표준물질 용액

내부표준물질 원액 (플로란센-d₁₀)을 250 mg/L으로 희석하여 기기분석 시 첨가되도록 준비한다.

4.3 인공침 용액 (simulated saliva salt solution)

약 900 mL 정제수에 포타슘염과 소듐염을 녹인 다음 칼슘염과 마그네슘염을 첨가한다. 희석된 염산용액 (3 M)으로 pH 6.8이 되도록 조정한다. 용액을 1 L 부피플라스크에 옮기고, 정제수로 전체량을 1 L로 하여 최종 인공침 용액의 조성이 표 2와 같이 되도록 조제한다.

표 2. 인공침 용액의 조성

화합물	구조식	mmol/L	mg/L
염화 마그네슘	MgCl ₂	0.82	166.7
염화 칼슘	CaCl ₂	1.0	147.0
인산수소다이하포타슘	K ₂ HPO ₄	3.3	753.1
탄산 포타슘	K ₂ CO ₃	3.8	525.2
염화 소듐	NaCl	5.6	327.3
염화 포타슘	KCl	10.0	745.5

4.3.1 염화마그네슘 육수화물 (magnesium chloride, hexahydrate, MgCl₂ · 6H₂O, 203.3)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.2 염화칼슘 이수화물 (calcium chloride, dihydrate, CaCl₂ · 2H₂O, 147.02)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.3 인산수소다이하포타슘 (potassium phosphate, dibasic, trihydrate, K₂HPO₄ · 3H₂O, 228.2)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.4 탄산포타슘 (potassium carbonate, K_2CO_3 , 138.2)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.5 염화소듐 (sodium chloride, NaCl, 58.44)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.6 염화포타슘 (potassium chloride, KCl, 74.55)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.7 염산 (hydrochloric acid, HCl, 36.46)

시약급 이상의 시판되는 35 % 염산을 3 M 염산용액으로 희석하여 사용한다.

5.0 시료 준비 및 관리

5.1 시료의 준비

5.1.1 시료를 재질별로 구별하여 시료를 준비를 하며, 신체와 직접 접촉되는 부분으로 준비한 시료의 두께가 (1 ~ 2) mm 이내로 가능한 편평한 부분을 선택하여 앞, 뒤면적의 합이 약 10 cm² 넓이가 되도록 시편을 만든다.

[주 3] 시료의 두께가 (1 ~ 2) mm 이상일 경우 옆면의 표면적을 측정하고 기록해 둔다.

[주 4] 자른 시편 표면에 입자들이 붙어 있다면 핀셋을 이용하여 정제수와 인공침 용액을 넣은 비커에 수 초 동안 행구어 사용한다.



그림 2. 전이량 분석용 시료의 준비

6.0 품질보증/품질관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계(MDL, method detection limit)

본 분석의 방법검출한계는 프탈레이트가 함유되어 있지 않은 매질에 프탈레이트 표준 용액을 정량한계 수준의 농도가 되도록 첨가하여 7회 반복 실험하여 측정값의 표준편차에 3.14를 곱한 값으로부터 구한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

시료군마다 1개의 방법바탕시료를 측정한다. 방법바탕시료는 프탈레이트가 없는 것으로 확인된 매질을 사용하여 시료와 동일하게 전처리·측정하며 측정값은 방법검출한계 이하 이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선은 정량범위 내 0점을 제외하고 최소 5개 이상의 농도로 작성하여야 하며, 검정곡선의 직선성은 결정계수 (R^2) 값이 0.99 이상이어야 하며, 허용범위를 벗어나면 재작성하도록 한다.

6.3.2 분석 중에 분석대상 시료 20개당 1개 이상의 표준용액 (중간 농도)을 검정곡선에 적용하여 분석하고, 분석농도가 당초 표준용액 농도의 15 % 이내에서 일치하여야 하며, 이를 벗어나는 경우에는 재작성 하여야 한다.

6.4 정확도 관리

6.4.1 유사한 매질의 인증표준물질 (CRM, certified reference material) 또는 이에 상응하는 표준물질을 사용하여 시료와 동일한 방법으로 전처리 및 분석하여, 4회 이상 반복한 평균 회수율이 인증 값 범위 또는 (70 ~ 130) % 내에 있어야 한다.

6.4.2 모든 시험에서 바탕시험을 실시하여 시료 측정결과를 보정해 주어야 한다.

6.5 정도관리 주기

내부 정도관리 주기는 분기별 1 회 이상 측정하는 것을 원칙으로 하며, 분석 조건의 변화 (장비 수리, 장비 부품 교체, 기기 조건 변화, 분석자의 변경 등) 시에는 수시로 실시한다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 미리 잘라둔 시편을 금속 핀셋을 사용하여 50 mL 인공침 용액이 담긴 250 mL 유리병에 넣고 마개를 막는다.

[주 5] 인공침 용액과 250 mL 유리병은 사용하기 전 37 °C 온도를 유지되어야 한다.

[주 6] 시료면적 1 cm² 당 5 mL의 인공침 용액을 사용하며, 시료량에 따라 인공침 용액의 양을 늘려 시험할 수 있다. 인공침 용액의 양에 따라 추출에 사용하는 유리병의 크기를 달리할 수 있다.

7.1.2 와류진탕추출기 (head over heel rotator) 안에 유리병을 넣고 고정된 뒤 37 °C, (60 ± 5) rpm, 30 ± 1분의 조건으로 추출한다. 추출이 끝나면 핀셋을 사용하여 즉시 시편을 유리병에서 제거하고 인공침 추출액을 250 mL 분액 깔때기에 옮긴다.

7.1.3 1차 추출이 끝난 유리병에 새 인공침 용액과 1차 추출한 시편을 넣고 7.1.2와 동일한 조건에서 2차 추출을 한다. 추출이 끝나면 핀셋을 사용하여 즉시 시편을 유리병에서 제거하고 인공침 추출액을 250 mL 분액 깔때기에 옮겨 1차 추출액과 합한다.

7.1.4 인공침 추출액을 비운 유리병에 20 mL 헥세인을 첨가하여 마개를 닫고 강하게 흔들어 내벽을 씻어 낸 후 인공침 추출액을 모아둔 250 mL 분액 깔때기에 넣어준

다.

7.1.5 인공침 추출액을 모은 분액 깔때기에 시린지를 사용하여 내부표준물질 (플로란센-d₁₀)을 10 µg 첨가한 후 압력을 방출하면서 강하게 약 (2 ± 0.5) 분 동안 진동 교반하고 헥세인층이 충분히 분리될 때까지 정치시켜 둔다.

7.1.6 층분리 후 하층의 인공침 추출액은 앞의 유리병에 받고, 상층의 헥세인층은 50 mL 부피플라스크에 받는다. 그 후 인공침 추출액을 다시 분액 깔때기에 옮긴 후 반복 추출한다.

7.1.7 2회 반복한 추출액을 50 mL 부피 플라스크에 넣고 헥세인으로 액량을 맞춘 후 무수황산소듐을 (1 ~ 2) g 첨가하여 수분을 제거해 준다.

7.1.8 50 mL 부피 플라스크의 헥세인추출액을 20 mL 취하여 낮은 온도(<40 °C)에서 약 4 mL까지 질소 농축하여 기체크로마토그래프 바이알에 옮겨 분석용 시료로 한다.

7.2 측정방법

시험 용액 1 µL를 기체크로마토그래프에 주입한다. 동일한 조건에서 프탈레이트 표준용액에 대하여 기체크로마토그래프 분석을 실시한다. 프탈레이트 표준용액의 피크 면적을 이용하여 검정곡선을 작성한 뒤, 내부표준법으로 정량한다.

7.3 시료분석결과

7.3.1 정성분석

7.3.1.1 각 분석물질 별 두 개의 선택 이온이 정해진 머무름 시간에서 나타나야 한다.

7.3.1.2 각 분석물질들을 검출하기 위해서 크로마토그램 피크에 대한 신호 대 잡음비 (S/N, signal/noise)는 2.5보다 커야 한다.

7.3.2 정량분석

7.3.2.1 내부표준법

7.3.2.1.1 검정곡선 방법을 사용해서 내부표준물질에 대한 분석물질의 농도를 정량한다.

$$C_s = \frac{\left[\frac{A_s}{A_{is}} - b \right] C_{is}}{a} \quad (\text{식 1})$$

여기서, C_s : 내부표준법에 의한 분석물질의 농도

A_s : 분석물질의 피크 면적

A_{is} : 내부표준물질의 피크 면적

C_{is} : 내부표준물질의 농도, mg/L

a : 검정곡선의 기울기

b : 검정곡선의 절편

7.3.2.1.2 내부표준법 의하여 구한 분석물질의 농도에 공시험결과를 제하고 아래 (식 3)에 따라 환산하여 시료 중 분석물질의 농도를 결과로 한다.

$$C_M(\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}) = \frac{C_s(\mu\text{g}/\text{mL}) \times V(\text{mL})}{A(\text{cm}^2) \times T(\text{min})} \times F \quad (\text{식 2})$$

여기서, C_s : 검정곡선에 의한 프탈레이트류 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)

C_M : 시편의 단위 면적당 용출시간 당 프탈레이트 전이 농도 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)

V : 최종액량 (mL)

A : 시편 면적 (cm^2)

T : 인공침 용출시간 (min)

F : 농축단계 계수 (factor for concentration step)

7.3.2.1.3 만약 시료 중 대상물질의 농도가 검정곡선의 정량범위를 넘어갈 경우, 시료를 묽혀서 정량 범위 내에 들어오도록 농도를 조절해야 한다. 이때 내부표준물질은

회석하여 농도를 조절한 시료에 첨가하여야 하며, 회석에 의한 대상물질의 농도와 검출한계 등은 조절되어야 한다.

8.0 결과 보고

8.1 분석결과 보고

8.1.1 시료 채취 관련 자료

시료 목록, 시료 번호, 시료 채취 일자 등을 보고한다.

8.1.2 분석방법 자료

분석 일자, 시료량, 추출 과정, 분석기기 및 분석조건, 사용한 표준물질 등에 대한 자료를 보고해야 한다.

8.1.3 분석결과 자료

8.1.3.1 검정곡선 작성, 질량검정, 표준물질 및 바탕시료의 크로마토그램을 분석시료의 크로마토그램과 함께 보고한다.

8.1.3.2 방법검출한계, 방법정량한계 및 산출근거를 보고한다.

8.1.3.2 분석결과 농도를 보고한다.

8.2 결과의 표시

8.2.1 프탈레이트류 농도 측정 결과는 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 로 표기하며 유효숫자 넷째 자리까지 구하고 반올림하여, 결과는 셋째 자리로 표시한다.

8.2.2 모든 농도결과는 정량한계를 적용하여 나타내고 정량한계 미만은 불검출로 표시하며 정량한계 값을 같이 제시한다.

9.0 참고자료

9.1 EU Joint Research Centre(JRC), Standard Operation Procedure for the Determination of Release of Di-Isononylphthalate(DINP) in Saliva Simulant from Toys and Childcare Articles using a Head Over Heels Dynamic Agitation Device, EUR 19899 EN, 2001

9.2 RIVM, Application of in vitro digestion models to assess release of lead and phthalate from toy matrices and azo dyes from textile, report 320102003, 2004

9.3 METHOD 3510C, Separatory funnel liquid-liquid extraction, US EPA, 1996

9.4 유해물질 함유 어린이용품의 위해성평가기법 정립과 관리방안 수립(I), 국립환경과학원, 2007

9.5 유해물질 함유 어린이용품의 위해성평가기법 정립과 관리방안 수립(II), 국립환경과학원, 2008

9.6 환경오염공정시험기준 심의위원회 운영규정 (국립환경과학원예규 제823호, 2021.11.16.)

10.0 부록

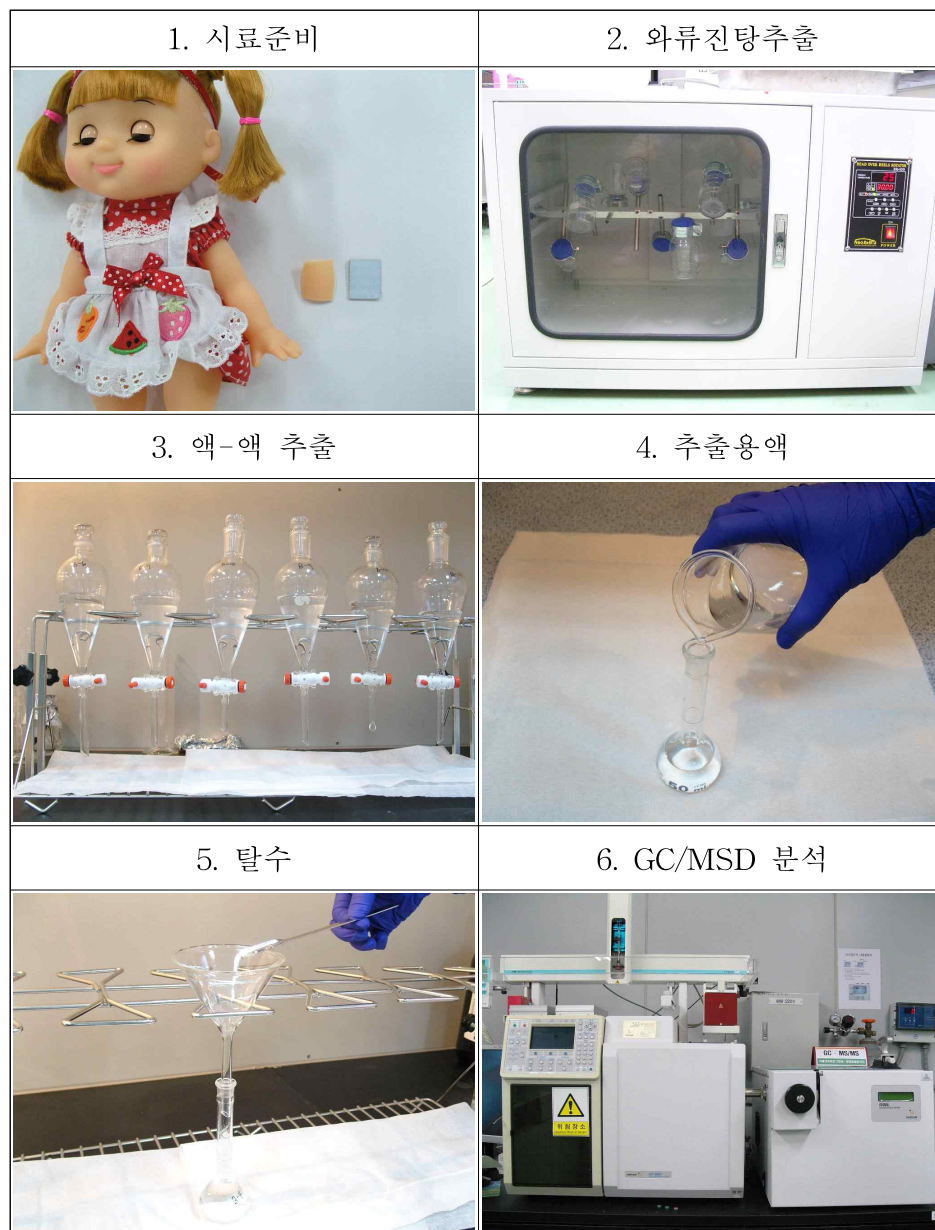


그림 3. 어린이 용품의 프탈레이트류 전이량 분석 절차

표 3. 정도관리 목표값

정도관리 항목	정도관리 목표
방법검출한계	0.005 µg/cm ² /min
정량한계	0.020 µg/cm ² /min
검정곡선	결정계수 (R ²) > 0.99 또는 감응계수의
바탕시료	상대표준편차 15 % 이내
정밀도	정량한계 미만 20 %

표 4. 대상 표준물질 품명

표준물질 종류	항목
프탈레이트류	DEP, DBP, BBP, DEHA, DEHP, DNOP, DINP, DIDP, DIBP
내부표준물질	Fluoranthene-d ₁₀ 등

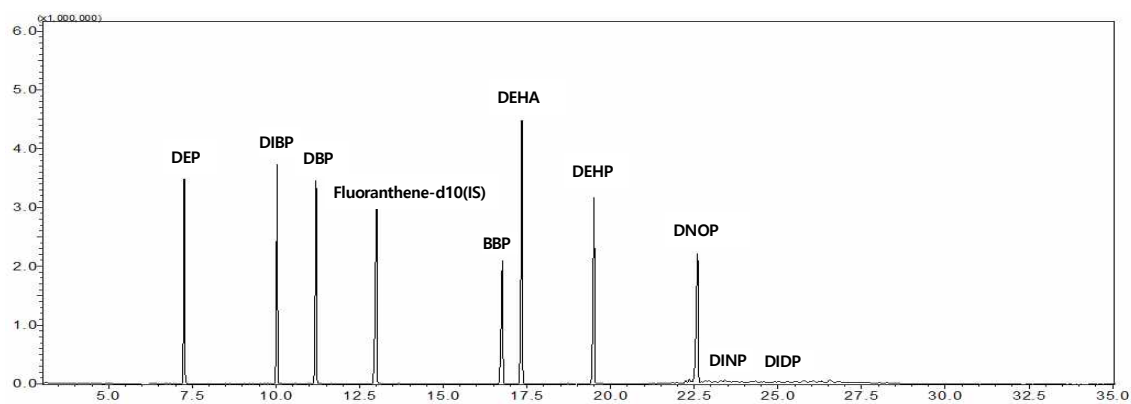
표 5. 분석대상물질의 선택 질량이온과 머무름 시간

Compound	머무름 시간 (min)	정량이온 (m/z)	정성이온 (m/z)
Fluoranthene-d ₁₀ (IS)	13.000	212	213
DEP	7.275	149	177
DBP	11.225	149	223
BBP	16.783	149	206
DEHA	17.358	129	147
DEHP	19.525	149	167
DNOP	22.633	149	279
DINP	21.350 ~ 26.083	293	149
DIDP	22.933 ~ 29.583	307	149
DIBP	10.050	149	223

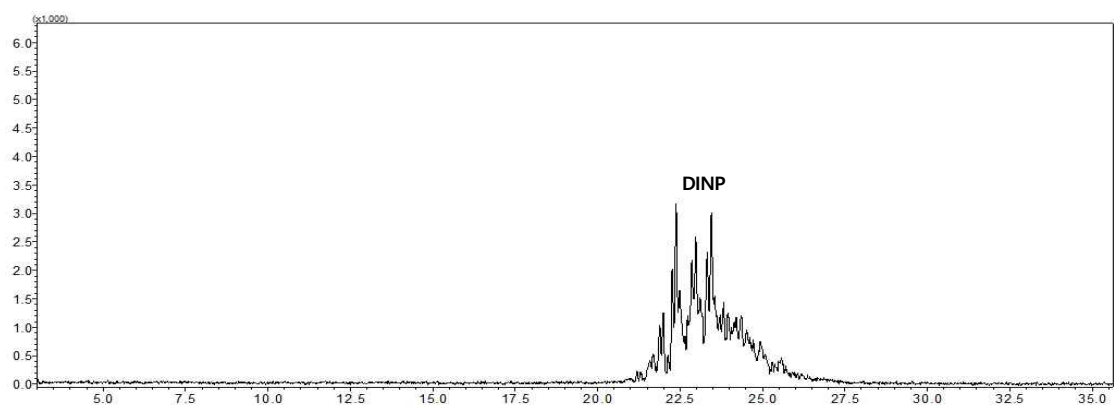
※ 분석대상물질의 선택 질량이온을 149로 넣을 때, 동일한 선택 질량이온을 갖는 물질 중 하나가 과량으로 검출될 경우 같은 머무름 시간을 갖는 다른 이온을 확인하기 어려울 수도 있다. 이때는 두 번째 선택질량 이온인 M1만 설정하는 것이 더 정확할 수도 있다.

표 6. 프탈레이트류 분석을 위한 기체크로마토그래프/질량분석기 조건

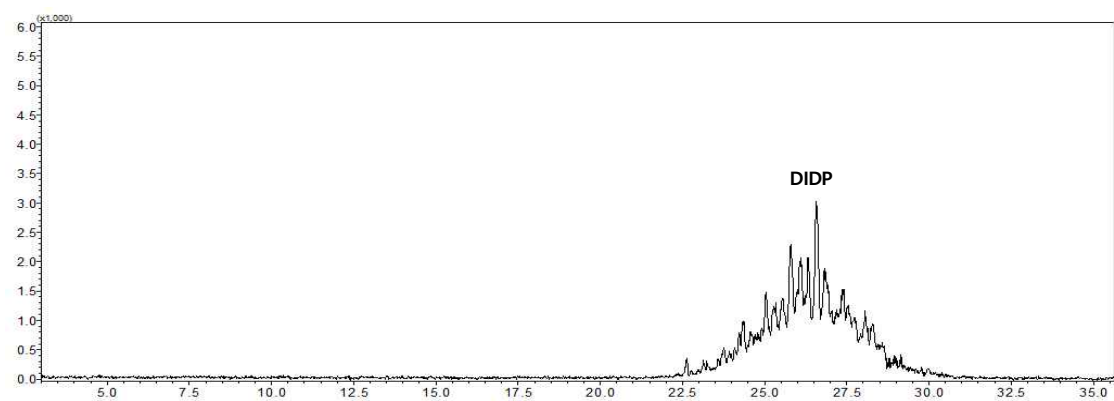
기기분석 조건		
기체크로마토그래프	컬럼	DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
	운반기체	He(99.999%) at 1.0 mL/min
	주입구 온도	300 °C
	주입방식	비분할(splitless)
	승온조건	100 °C→15 °C/min→200 °C→5 °C/min→ 270 °C (15 min)
질량분석기	이온원 온도	250 °C
	연결부 온도	280 °C
	이온화 방식	EI, SIM mode
	검출기 형식	사중극자형 (quadrupole)



<프탈레이트류 혼합 표준용액의 총 이온 크로마토그램 (TIC)>



<DINP (m/z 293)의 이온 크로마토그램 (EIC)>



<DIDP (m/z 307)의 이온 크로마토그램 (EIC)>

그림 4. 프탈레이트류 표준용액 크로마토그램

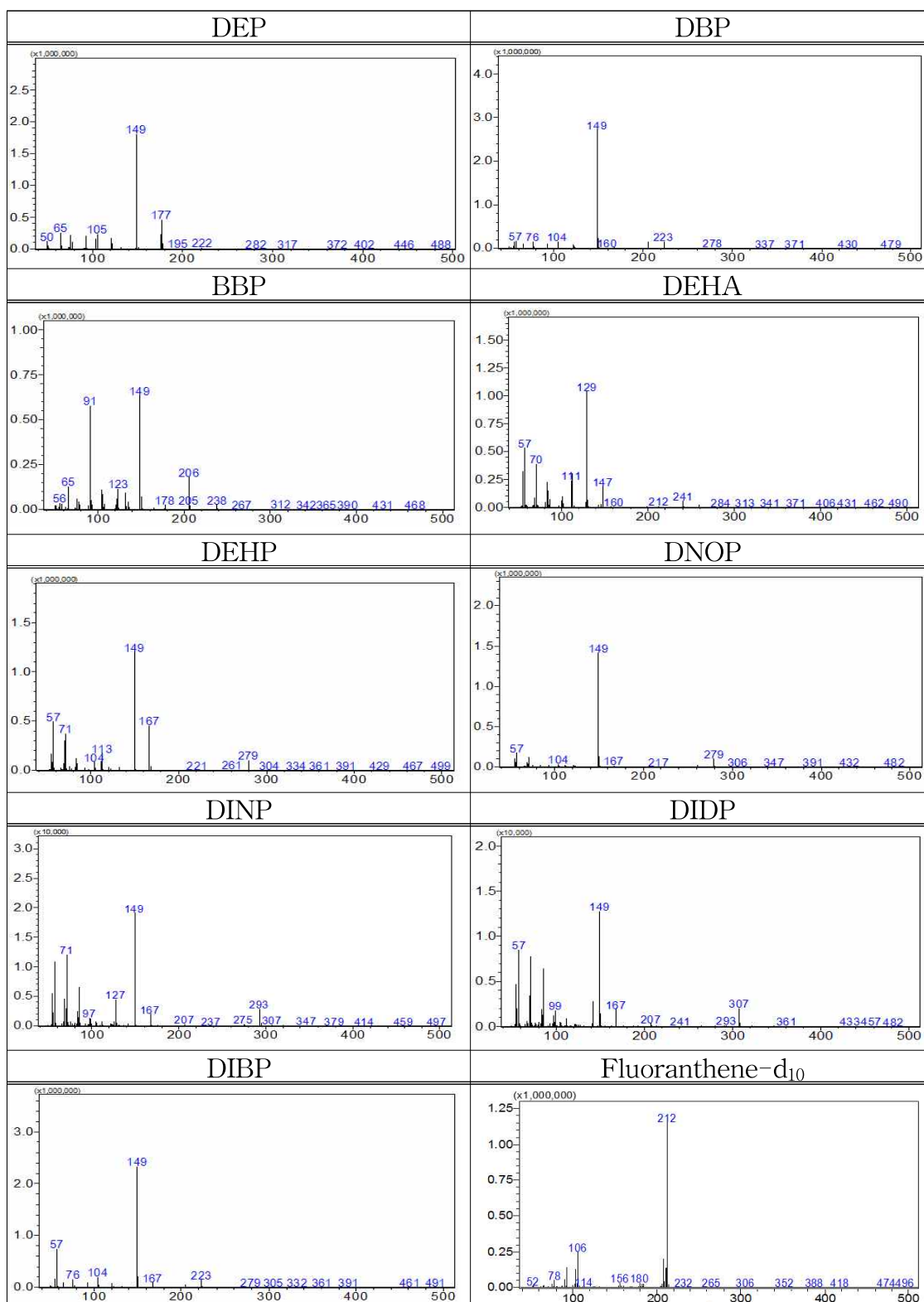
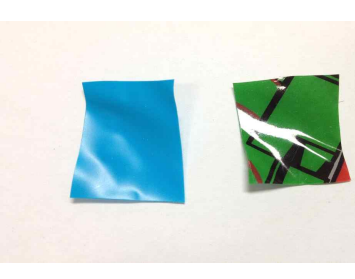


그림 5. 프탈레이트류의 GC/MS EI 질량 스펙트럼

표 7. 시료 분석결과보고 양식(예시)

어린이 용품 중 프탈레이트류 분석결과

시료번호		11-O-1
제품명		○○○
원산지		한국
제조사 / 판매사		○○○ / ○○○
제조년월		2011. 1.
제품 바코드		0 000000 000000
KC 마크	표시여부	○
	확인기관	○○○
	신고필증번호	00000000-00000-00
제품 재질		○○○
시료조제사진		
본체	부분시료	분쇄 후
		

<붙임>

1. 분석크로마토그램
2. 각 분석물질별 농도 결과 표