

어린이 용품 함유 비스페놀 A -
액체크로마토그래피/형광검출법(함량)

2025

(Determination of bisphenol A content in toys and
childcare articles - Liquid chromatograph/Fluorescence)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 어린이 용품에 함유되어 있는 비스페놀 A의 농도를 측정하기 위한 방법이다. 비스페놀 A가 함유되어 있는 플라스틱 시료를 다이클로로메테인 또는 테트라하이드로퓨란에 넣어 용해시킨 후 여과하여 액체크로마토그래프/형광검출기 (LC/FLD, liquid chromatograph/fluorescence detector)로 정성 및 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험 방법은 어린이 용품에 함유되어 있는 비스페놀 A를 측정하는 액체크로마토그래피/형광검출기 분석 방법이다.

1.2.2 비스페놀 A의 방법검출한계는 0.5 mg/kg 이하의 값을 만족해야 한다.

1.2.3 이 시험 방법에 따라 시험할 경우 정량한계는 1.5 mg/kg 이하의 값을 만족해야 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 시료분석 과정에 영향을 줄 수 있으며, 분석 자료의 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 시약이나 용매는 특급 이상의 것을 사용하고, 필요한 경우 증류나 정제 과정을 통해 불순물의 방해로 인한 문제를 최소화하도록 한다.

2.0 용어의 정의

2.1 비스페놀 A

분석대상 비스페놀 A는 표 1과 같다.

표 1. 분석대상 물질

No	국문명	영문명	CAS No.
1	비스페놀 A	Bisphenol A	80-05-7

3.0 분석기기 및 기구

3.1 액체크로마토그래프/형광검출기

3.1.1 컬럼

길이 250 mm, 안지름 4.6 mm, 필름두께 5 μm 의 C_{18} 컬럼 또는 이와 동등 이상의 분리능을 가진 것이어야 한다.

3.1.2 이동상 : 아세토나이트릴 (A), 물 (B)

[주 1] A:B (60:40)에서 필요에 따라 적절히 조절한다.

3.1.3 유속 : 1.0 mL/min

3.1.4 온도 : 25 °C

3.1.5 주입량 : 20 µL

3.1.6 검출기 : 형광검출기 (Ex : 225, Em : 317 nm)

[주 2] 검출기, 컬럼 등의 조건은 기기 및 분석에 따라 일부 변경될 수 있다.

3.2 삼각플라스크

300 mL의 내열 유리 재질의 것을 사용한다.

3.3 전자저울

소수 넷째 자리까지 g 단위의 무게를 잴 수 있어야 한다.

3.4 회전증발농축기

수욕조로 온도를 유지하며 진공으로 농축하는 것으로 한다.

3.5 주사기 필터

0.45 µm 이하, 테프론 (polytetrafluoroethylene) 재질의 유기용매 전용필터를 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 다이클로로메테인 (dichloromethane, CH₂Cl₂, 84.93)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.2 테트라하이드로퓨란 (tetrahydrofuran, C_4H_8O , 72.11)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.3 메탄올 (methanol, CH_3OH , 32.04)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 비스페놀 A 표준원액 (100 mg/L)

비스페놀 A를 10 mg으로 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다.

[주 3] 이와 동등한 농도로 제조되어 시판되는 표준원액을 사용할 수 있다.

4.2.2 비스페놀 A 표준용액

표준원액을 단계별로 취하여 메탄올로 희석하여 5개 ~ 6개의 표준용액을 준비한다.

5.0 시료 준비 및 관리

5.1 시료의 준비

5.1.1 가위 등을 이용하여 시험편을 3 mm를 넘지 않는 크기로 자른다.

5.1.2 분쇄한 시료는 다른 시료와 섞이지 않도록 주의하고 적당한 용기에 분리하여 보관한다.

5.1.3 각 시료별 고유번호 또는 시료명 등 정보를 기록하고 상세한 정보는 별도의 기록지에 같이 기록한다.

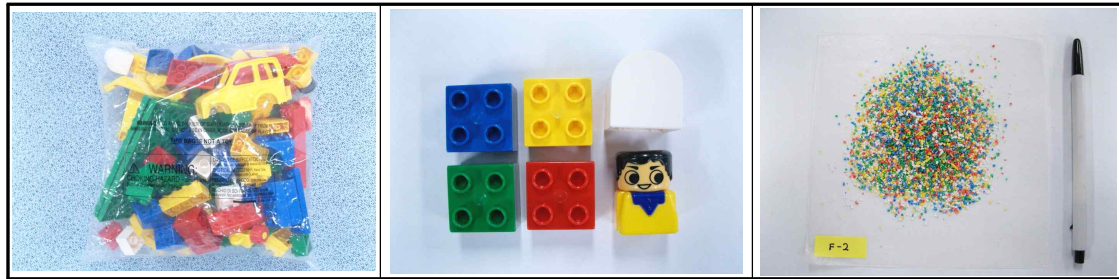


그림 1. 함량 분석용 시료의 준비

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 (MDL, method detection limit)

본 분석의 방법검출한계는 비스페놀A가 함유되어 있지 않은 매질에 비스페놀 A 표준 용액을 정량한계 수준의 농도가 되도록 첨가하여 시료와 동일한 순서로 7회 반복 실험하여 측정값의 표준편차에 3.14를 곱한 값으로부터 구한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

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

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선의 작성 및 검증은 정량범위 내의 5개 이상 농도에 대해 검정곡선을 작성하고, 얻어진 검정곡선의 결정계수 (R^2) 값이 0.98 이상 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차가 15 % 이내이어야 하며 결정계수나 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재작성하도록 한다.

6.3.2 검정곡선의 감응계수의 검증은 검정곡선의 중간 농도 값을 갖는 표준용액의 농도를 측정한다. 측정된 농도 값과 표준용액의 농도값 간의 차이가 15 % 이내에서 일치하여야 한다. 만약 이 범위를 넘는 경우, 검정곡선을 재작성한다.

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 인증값 범위 또는 70 % ~ 130 % 내에 있어야 한다.

6.4.2 모든 시험에서 바탕시험을 실시하여 시료 측정결과를 보정해 주어야 한다.

6.5 내부정도관리 주기

6.5.1 방법검출한계, 정량한계, 정확도는 연 1회 이상 산정하는 것을 원칙으로 하며, 분석자의 교체, 분석 장비의 수리 및 이동 등의 주요 변동사항이 생길 경우에는 다시 실시한다. 단, 장비의 청소 및 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

6.5.2 검정곡선 검증은 각 시료군마다 실시하며, 고농도의 시료 다음에는 방법바탕시료를 측정하여 오염여부를 점검한다.

7.0 분석절차

7.1. 전처리

7.1.1 분쇄한 시험 시료 약 1.00 g를 0.0001 g까지 정확히 무게를 재어 300 mL 삼각플라스크에 넣는다.

7.1.2 다이클로로메테인 20 mL를 넣어 용해시키고 이 용액에 자석 막대를 넣고 교반기에서 교반시키면서 메탄올 20 mL를 서서히 떨어뜨리면서 고분자 물질을 석출시킨 후 여과지로 거른다.

[주 4] 완전히 용해되지 않을 경우 1시간 이상 충분히 교반하거나 테트라하이드로퓨란 등으로 용매를 교환할 수 있다.

7.1.3 거른 용액을 회전증발농축기로 건조한 후 잔류물에 메탄올 15mL를 넣어 용해한다.

7.1.4 7.1.3의 시험액을 20 mL 부피플라스크에 옮기고 메탄올로 표선을 맞춘 다음 0.45 μm 여과 주사기로 여과한다.

7.2 측정 방법

시험 용액 20 μL 를 액체크로마토그래프에 주입한다. 동일한 조건에서 비스페놀 A 표준용액에 대하여 기체크로마토그래프 분석을 실시한다. 비스페놀 A 표준용액의 피크 면적을 이용하여 검정곡선을 작성한 뒤, 절대검정곡선법으로 정량한다.

7.3 시료분석결과

7.3.1 정성분석

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

7.3.2 정량분석

7.3.2.1 절대검정곡선법

7.3.2.1.1 비스페놀 A 표준용액에 대하여 최소 5점 이상의 농도를 선택하여 검정곡선을 작성한다. 검정곡선으로부터 표준물의 농도에 대한 기기의 감도(피크의 면적 또는 높이)의 선형회귀 분석을 얻을 수 있다. 이 회귀 분석은 다음 식과 같이 기울기와 절편으로 된 선형식을 사용한다.

$$y = ax + b \quad (\text{식 } 1)$$

여기서, y : 기기감도(피크의 면적 또는 높이)

a : 검정곡선의 기울기

x : 표준물질의 농도

b : 검정곡선의 절편

7.3.2.1.2 위의 선형회귀식으로 구한 분석물질의 농도에 공시험결과를 제하고 아래 (식 2)에 따라 환산하여 시료 중 분석물질의 농도를 결과로 한다.

$$C_T = \frac{A(\text{mg/L}) \times V(\text{mL})}{W(\text{g})} \times F \quad (\text{식 2})$$

여기서, C_T : 시료 중 비스페놀 A의 농도 (mg/kg)

A : LC 분석으로부터 검출된 비스페놀 A의 농도 (mg/L)

V : 최종 추출물의 양 (mL)

W : 시료의 무게 (g)

F : 회석배수(검정곡선의 범위를 벗어날 경우)

7.3.2.1.3 만약 시료 중 대상물질의 농도가 검정곡선의 정량범위를 넘어갈 경우, 시료를 묽혀서 정량 범위 내에 들어오도록 농도를 조절해야 한다. 이때 회석에 의한 대상물질의 농도와 검출한계 등은 조절되어야 한다.

8.0 결과 보고

8.1 분석결과 보고

8.1.1 시료채취관련 자료

시료목록, 시료번호, 시료채취 일자 등을 보고한다.

8.1.2 분석방법 자료

분석일자, 시료량, 추출과정, 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.

8.1.3.3 분석결과 농도를 보고한다.

8.2 결과의 표시

8.2.1 농도 측정 결과는 mg/kg으로 표기하며 유효숫자는 소수점 이하 둘째 자리까지 구하고 반올림하여, 결과는 첫째 자리로 표시한다.

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

9.0 참고자료

9.1 KS M 1997, 폴리카보네이트 식품용기 중의 바이스페놀 A 분석 방법, 2010

9.2 국립환경과학원, 어린이용품의 노출평가 시험방법(I), 2009

9.3 식품의약품안전청, 식품공전 제 7. 기구 및 용기·포장의 기준·규격, 2010

9.4 TNO report, Hazardous chemicals in consumer products, 2003

9.5 Danish EPA, Survey and Health Assessment of the exposure of 2 year-olds to chemical substances in Consumer Products, 2009

9.6 Japan Nation Institute of Health Science, Migration of bisphenol A from poly carbonate products, 1998

10.0 부록

1. 시료준비	2. 고분자 석출
	
3. 여 과	4. 농 축
	
5. 여 과	6. LC/FLD 분석
	

그림 2. 어린이 용품의 비스페놀 A 함량 분석 절차

표 2. 정도관리 목표값

정도관리 항목	정도관리 목표
방법검출한계	0.5 mg/kg
정량한계	1.5 mg/kg
검정곡선	결정계수 (R^2) 값이 0.98 이상 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차가 15 % 이내
바탕시료	방법검출한계 이하
정밀도	상대표준편차가 20 % 이내
정확도	70 % ~ 130 %

표 3. 비스페놀 A 분석을 위한 액체크로마토그래피/형광검출기 조건

기기분석 조건		
액체크로마토그래피	컬럼	Waters Sunfire™ C ₁₈ (3.5 μ m, 4.6×150 mm)
	이동상	A : acetonitrile, B : water
		A : B = 60:40, isocratic mode
	유량	1 mL/min
	오븐 온도	25 °C
	주입량	20 μ L
	선택 파장	Ex = 225 nm, Em = 317 nm

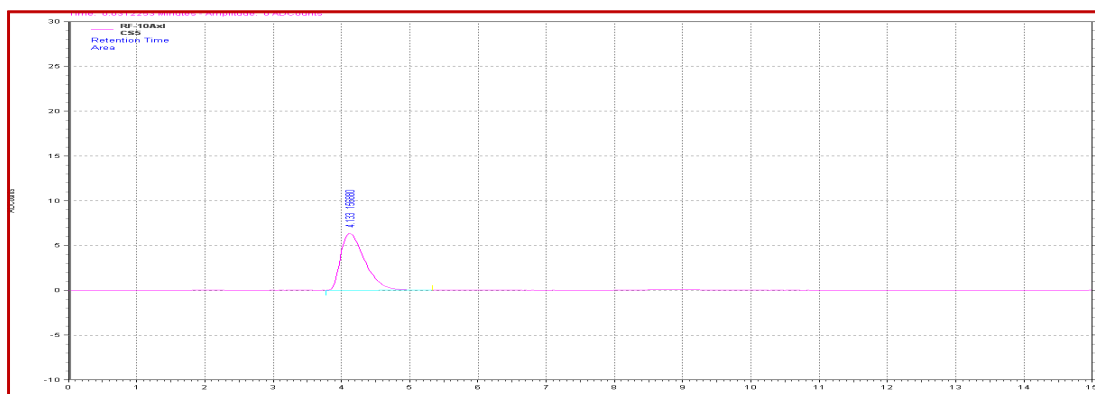


그림 3. 비스페놀 A 표준용액 분석 크로마토그램