

어린이 용품 함유 노닐페놀 -

2018

기체크로마토그래피/질량분석법(경구노출)
(Determination of release of nonylphenol in saliva simulant
from children's products - gas chromatography/mass
spectrometry)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 어린이 용품에 함유되어 있는 노닐페놀의 노출경로 중 빠는 행위(mouthing)에 의해 전이되는 농도를 측정하기 위한 방법이다. 빠는 행위에 의한 전이는 노닐페놀을 와류진탕추출기(head over heel rotator)를 이용하여 인공침으로 시료를 추출한 후 액-액 추출하여 기체크로마토그래피/질량분석법(gas chromatograph/mass spectrometer, GC/MS)으로 정성 및 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 노닐페놀의 분석방법 검출한계는 $0.00005 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 이하의 값을 만족해야 한다.

1.2.2 이 시험 방법에 따라 시험할 경우 정량한계는 $0.00015 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 이하의 값을 만족해야 한다.

1.3 간섭 물질

1.3.1 분석결과에 오류를 가져올 수 있는 주요 오염원으로는 산, 시약, 유리 기구 및 그 외 분석 중에 사용되는 모든 기구 등이다. 모든 시약은 순도 및 불순물의 종류와 함량을 고려하여 사용한다. 각 실험실에서는 정제수 바탕시료(reagent blank)의 측정을 통해 오염원의 영향 유무나 수준에 대하여 평가한다.

1.3.2 유리 기구류의 적합한 세척은 매우 중요하다. 잘못 세척된 유리 기구류는 분석과정 중 시료를 오염시킬 수 있으며 유리표면에 분석물질이 흡착될 경우 목적성분이 손실될 우려가 있으므로 적합한 세척방법을 사용해야 한다.

1.3.3 유리 기구류는 마지막 사용 용매로 한번 행구어 준 후 바로 세제로 씻는다. 세제 용액에 유리 기구를 넣고 30분간 초음파 세척한 후, 뜨거운 물, 수돗물, 정제수 순으로 행군다. 열에 안정한 물질의 경우 증류수 세척만으로는 잘 제거되지 않기 때문에 다시 아세톤, 헥세인의 용매 순으로 각각 3회 행군 후 105 °C 오븐에서 1시간 이상 건조하여 사용한다.

1.3.4 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 노닐페놀

분석대상 노닐페놀은 표 1과 같다.

표 1. 분석대상 노닐페놀

물질	영문명	CAS number
노닐페놀	nonylphenol	25154-52-3

2.2 내부표준물질

내부표준물질은 분석하고자 하는 물질과 유사한 화학적 구조나 화학적 성질을 가지며 시료 매질 중에서는 발견되지 않는 유기화합물로 분석방법의 재현성 및 정확성을 알아보기 위해 사용한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 와류진탕추출기 (head over heel rotator)

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



그림 1. 와류진탕추출기(Head over heel rotator)

3.2 테프론 셉텀으로 된 뚜껑이 있는 250 mL 유리병

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

3.3 기체크로마토그래피/질량분석기 (GC/MS, gas chromatography/mass spectrometer)

3.3.1 컬럼

길이 30 m, 안지름 0.25 mm, 두께 0.25 μm 의 DB-5ms 모세관 컬럼 또는 이와 동등 이상의 분리능을 가진 것이어야 한다.

3.3.2 운반기체 : 순도 99.999 % 이상의 헬륨 가스

3.3.3 운반기체유속 : 1.0 mL/min

3.3.4 온도

주입구 온도 : 250 °C

검출기 온도 : 280 °C

컬럼 온도 : 100 °C ~ 300 °C

3.3.5 주입량 : 1 µL, 비분할 (splitless)

3.3.6 검출기 : 질량분석기

이온화부 : 전자이온화법 (EI), 선택이온검출방식 (SIM)

분석부 : 사중극자형 (quadrupole)

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

3.4 액-액 추출기

액-액 추출장치는 수직 진탕기와 분별깔때기로 이루어져 있으며, 수직 진탕기는 여러 개의 분별깔때기를 한꺼번에 수직으로 진탕할 수 있는 것으로 진탕속도 및 시간 조절이 가능한 것을 사용한다.

3.5 질소농축기

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 바늘부분은 아세톤 및 헥세인으로 3회 이상 세척하여 교차 오염 등을 방지하고, 농축 시 질소가스의 유속 세기에 의해 시료가 시료용기 외부로 유출되지 않게 항상 주의한다.

3.6 기체크로마토그래피용 바이알

기체크로마토그래피용 바이알 마개는 테프론 (polytetrafluoroethylene) 재질을 사용한다.

3.7 전자저울

소수 넷째자리까지 g 단위의 무게를 잴 수 있어야 한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 헥세인 (n-hexane, C_6H_{14} , 86.18)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.2 다이클로로메테인 (dichloromethane, CH_2Cl_2 , 84.93)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.3 무수 황산소듐 (sodium sulfate, Na_2SO_4 , 142.04)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 노닐페놀 표준원액 (1,000 mg/L)

노닐페놀을 다이클로로메테인으로 희석하여 1,000 mg/L의 표준용액으로 만들어 사용한다.

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

4.2.2 노닐페놀 표준용액 (10 mg/L)

표준 원액을 다이클로로메테인으로 희석하여 10 mg/L의 희석 표준용액으로 제조한다. 표준용액을 단계별로 취하여 5개 ~ 6개의 표준물질로 준비한다.

4.2.3 내부표준물질 용액

내부표준물질 원액(페난트렌-d10)을 다이클로로메테인으로 희석하여 10 mg/L으로 제조

한다.

4.3 인공침 용액 (simulated saliva salt solution)

약 900 mL의 증류수에 인산 수소 이포타슘, 탄산 포타슘, 염화 포타슘과 염화소듐을 녹인 다음 염화칼슘과 염화 마그네슘을 첨가하고, 용액을 1 L가 되도록 증류수로 표선을 맞춘다. 희석된 염산용액 (3 M)을 사용하여 pH 6.8이 되도록 조정한다. 인공침 용액의 조성은 다음 표 2와 같다.

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
인산 수소 이포타슘	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 염화칼슘 이수화물 (calcium chloride, dihydrate, CaCl₂ · 2H₂O, 147.02)

특급 이상의 것을 사용한다.

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

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.3 탄산포타슘 (potassium carbonate, K₂CO₃, 138.2)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.4 염화포타슘 (potassium chloride, KCl, 74.55)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.5 인산포타슘 삼수화물 (potassium phosphate, dibasic, trihydrate, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 228.2)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.6 염화소듐 (sodium chloride, NaCl, 58.44)

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 시료채취 및 관리

5.1 시료의 준비

5.1.1 페인트 코팅 제품 및 금속류

표면 코팅이나 금속장신구 등과 같은 재질의 시료와 같이 시료의 특성상 균일한 표면적의 시편을 얻을 수 없는 경우에는 일정량의 시료를 채취하고 (약 2 g), 채취한 시료의 가로, 세로, 두께를 별도로 기록하여 표면적을 계산한다.

5.1.2 플라스틱, 종이류 및 기타류

플라스틱이나 종이 및 그 외 기타류 같은 재질의 시료는 시료의 두께가 1 mm ~ 2 mm 이내로 가능한 편평한 부분을 선택하여 앞, 뒤 면적 합이 약 10 cm² 넓이가 되도록 시편을 만든다.

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

[주 4] 자른 시편 표면에 입자들이 붙어 있다면 핀셋을 이용하여 증류수와 인공침을 넣은 비커에 수초 동안 행귀서 사용한다.

5.1.3 각 시료별 고유번호 또는 시료명 등 정보를 기록하고 상세한 정보는 별도의 기록

지에 같이 기록한다.

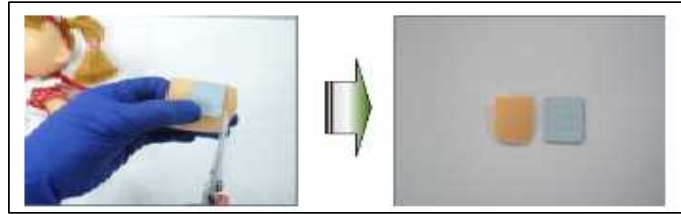


그림 2. 노닐페놀 전이량 시료의 준비

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 (MDL, Method detection limit)

본 분석의 방법검출한계는 노닐페놀이 함유되어 있지 않은 매질에 노닐페놀 표준용액을 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 노닐페놀이 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 이상 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차가 $\pm 15\%$ 이내 이어야 하며, 결정계수나 감응계수의 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재작성하도록 한다.

$$RF = \frac{(A_s)(C_{is})}{(A_{is})(C_s)} \quad (\text{식 1})$$

여기서, A_s : 측정할 분석물질의 면적

A_{is} : 내부표준물질의 면적

C_{is} : 내부표준물질의 농도

C_s : 측정할 분석물질의 농도

6.3.2 분석 중에 분석대상 시료 20개당 1개 이상의 표준용액(중간농도)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 상당하는 표준물질을 사용하여 시료와 동일한 방법으로 전처리 및 분석하여, 4회 이상 반복한 평균 분석값이 인증값 범위 또는 인증값의 70 % ~ 130 % 내에 있어야 한다.

6.4.2 모든 시험에서 정제수 바탕시험을 실시하여 시료 측정결과를 보정해주어야 한다.

6.5 내부정도관리 주기 및 목표

6.5.1 방법검출한계, 정량한계, 정밀도 및 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, 컬럼의 교체 시와 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

6.5.2 검정곡선 검증 및 시약바탕시료의 분석은 각 시료군마다 실시하며, 고농도의 시료 다음에는 방법바탕시료를 측정하여 오염여부를 점검한다.

6.5.3 각 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표 값은 표 3와 같다.

7.0 분석절차

7.1 시료전처리

7.1.1 미리 잘라둔 시료를 100 mL 인공침 용액이 담긴 250 mL 유리병에 옮겨 담은 후 잘 혼합한다.

[주 5] 인공침 용액은 사용하기 전 37 °C 온도로 유지되어야 한다.

7.1.2 와류진탕추출기 (head over heels rotator)안에 유리병을 넣고 고정한 뒤 37 °C, 60 rpm, 60분의 조건으로 추출한다. 추출이 끝나면 시편은 핀셋을 사용하여 시료용기에 서 제거하고 인공침 추출액을 250 mL 분별깔때기에 옮긴다.

7.1.3 인공침 추출액을 비운 유리병에 20 mL 헥세인 또는 다이클로로메테인을 첨가하여 마개를 닫고 강하게 흔들어 내벽을 씻어 낸 후 인공침 모아둔 250 mL 분별깔때기에 넣어준다. 내벽을 다시 동일한 과정을 시행한 후 250 mL 분별깔때기에 넣어준다.

7.1.4 인공침 추출액을 모은 분별깔때기에 시린지를 사용하여 내부표준물질을 첨가하여 압력을 방출하면서 강하게 약 2분 동안 진동 교반하고 헥세인 또는 다이클로로메테인 층이 충분히 분리될 때까지 정치시켜둔다.

7.1.5 층 분리 후 하층의 인공침 추출액은 앞의 유리병에 받고, 헥세인 또는 다이클로로메테인을 300 mL 둥근 플라스크에 넣은 다음 무수황산소듐 1 g ~ 2 g을 첨가하여 수분을 제거한다.

7.1.6 회전증발 농축기로 약 5 mL까지 농축한 후 남은 액을 10 mL 눈금 있는 튜브로 옮기고 상온에서 질소가스를 불어 주어 1 mL로 농축한다. 농축액을 2.0 mL 바이알에 옮긴 후 분석용 시료로 한다.

7.2 측정방법

시험 용액 1 µL를 기체크로마토그래프/질량분석기에 주입한다. 따로 노닐페놀 표준용액에 대하여 동일 조건에서 기체크로마토그래프로 측정한다. 표준물질의 피크 면적으로부터 검정곡선을 작성하여 내부표준법으로 정량한다.

7.3 시료분석결과

7.3.1 정성분석

7.3.1.1 두 선택이온의 비가 표준물질의 비와 일치해야하며, 각 분석물질 별 두 개의 선택이온이 정해진 머무름 시간에서 나타나야 한다.

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

7.3.2 정량분석

7.3.2.1 내부표준법

7.3.2.1.1 검정곡선 방법을 사용해서 내부표준물질에 대한 분석물질의 농도를 정량한다. 아래와 같이 검정곡선을 재배열할 수 있다.

$$C_s = \frac{[\frac{A_s}{A_{is}} - b] C_{is}}{a} \quad (\text{식 } 2)$$

C_s : 내부표준법에 의한 분석물질의 농도

A_s : 분석물질의 피크 면적 또는 높이

A_{is} : 내부표준물질의 피크 면적 또는 높이

C_{is} : 내부표준물질의 농도

a : 검정곡선의 기울기

b : 검정곡선의 절편

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

$$C_M (\mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{min}) = \frac{C_s (\mu\text{g}/\text{mL}) \times \text{최종액량} (\text{mL})}{A (\text{cm}^2) \times T (\text{min})} \quad (\text{식 } 3)$$

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

C_M : 시편의 단위 면적당, 용출시간당 노닐페놀의 전이농도($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)

A : 시편 면적(cm^2)

T : 용출시간(min)

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

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

8.0 결과보고

8.1 분석결과 보고

8.1.1 시료채취관련 자료

시료목록, 시료번호, 시료채취 일자 등을 보고한다.

8.1.2 분석방법 자료

분석일자, 시료량, 분해과정, 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 분석결과를 분석시료의 분석결과와 함께 보고한다.

8.1.3.2 방법검출한계, 정량한계 및 산출근거를 보고한다.

8.2. 결과의 표시

8.2.1 노닐페놀 농도 측정 결과는 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 으로 표기하며 소수점이하 여섯째자리까지 구하고 반올림하여, 결과는 다섯째자리로 표기한다.

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

9.0 참고문헌

- 9.1 KS M 1994, 종이 중의 알킬페놀 분석방법, 2009
- 9.2 Danish EPA, Survey as well as health assessment of chemical substances in school bags pencil cases and erasers, 2007
- 9.3 국립환경과학원, 어린이용품의 노출평가 시험방법(I), 2009
- 9.4 Loy-Rosales et al, Migration of nonylphenol from plastic containers to water and a milk surrogate, 2004
- 9.5 K.Bouma et al, Migration of nonylphenols from polymer packing materials into food (2009)
- 9.6 Votavova et al, Migration of nonylphenols from polymer packing materials into food simulants(Czech J. Food Sci., Vol 27(4), 293-299), 2009
- 9.7 Kawamura et al, nonylphenol in food contact plastics and toys, 食衛誌 41(3), 212-218

10.0 부록

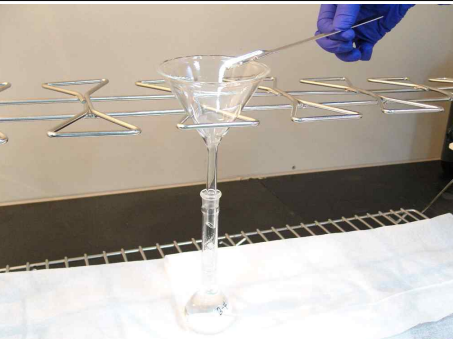
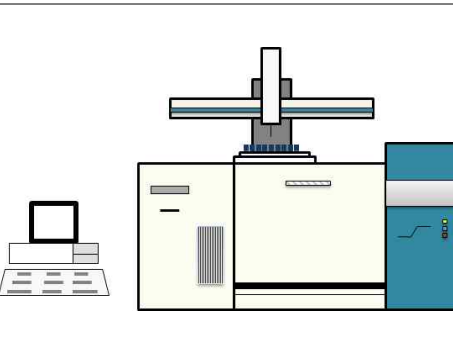
1. 시료준비 	2. 와류진탕 추출 
3. 액체-액체 추출 	4. 탈수 
5. 농축 	6. GC/MS 분석 

그림 3. 어린이 용품 노닐페놀 전이량 절차

표 3. 정도관리

정도관리 항목	정도관리 목표 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$)
검출한계	0.00005
정량한계	0.00015
검정곡선의 직선성	결정계수 0.99 이상
방법바탕시료	방법검출한계 미만
정밀도	15 %

표 4. 분석대상물질의 선택 질량이온 (예시)

분석대상물질	대상이온	
	정량이온	확인이온
nonylphenol	135	107, 121
phenanthren-d10	188	188, 160

표 5. 기체크로마토그래피/질량분석기 조건 (예시)

구분	기기분석조건	
기체크로마토그래피	컬럼	DB-5ms (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
	운반기체	He (99.999 %) at 1.0 mL/min
	주입부 온도	250 °C
	주입방식	비분할 (splitless)
	승온조건	100 °C (2 min) → 15 °C/min → 280 °C (5 min) → 300 °C (10 min)
질량분석기	이온원 온도	250 °C
	연결부 온도	280 °C
	이온화 방식	전자이온화법 (EI) 선택이온방식 (SIM mode)
	검출기 형식	사중극자형 (quadrupole)

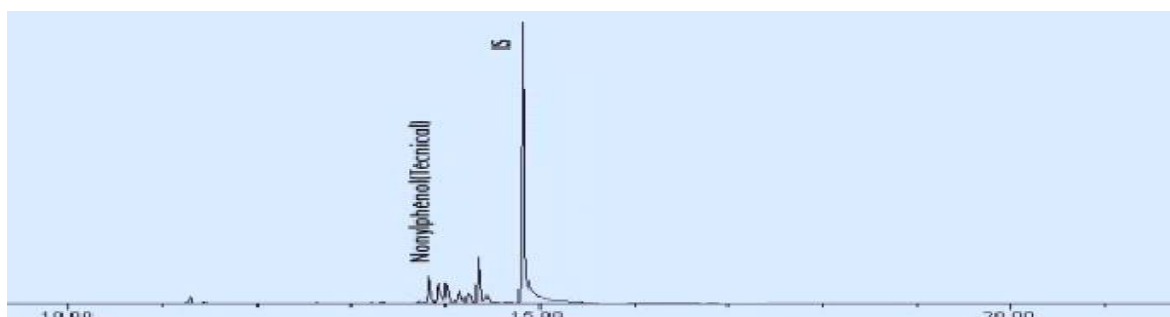
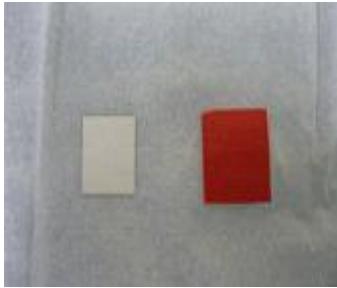


그림 4. 노닐페놀 표준물질 크로마토그램 (예시)

표 6. 시료 분석결과보고 양식 (예시)

어린이 용품 중 노닐페놀 분석결과

시료번호		18-I-12-Y
제품명		○○○
원산지		한국
제조사 / 판매사		○○○ / ○○○
제조년월		2017. 10.
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