

어린이 용품 함유 스티렌 -
기체크로마토그래피/질량분석법(경피노출)
(Determination of release of styrene
in sweat simulant from toys and childcare articles - Gas
chromatograph/Mass spectrometry)

2014

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 어린이 용품에 함유되어 있는 스티렌이 노출경로 중 경피노출에 의해 전이되는 농도를 측정하기 위한 방법이다. 경피노출에 의한 전이는 스티렌을 와류진탕추출기(Head over heel rotator)를 이용하여 인공땀 용액으로 시료를 추출하여 기체크로마토그래피/질량분석기(Gas chromatograph/mass spectrometry, GC/MS)로 정성 및 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 스티렌의 분석방법 검출한계는 $0.013 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 의 값을 만족해야 한다.

1.2.2 이 시험 방법에 따라 시험할 경우 정량한계는 $0.039 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 의 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 저하시

킬 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 용어정의

2.1 스티렌

분석대상 스티렌은 표 1과 같다.

표 1. 분석대상 물질

No	국문명	영문명	CAS No.
1	스티렌	Styrene	100-42-5

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 시료 전처리 전 또는 기기분석 이전에 첨가하여 사용한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래피/질량분석기

3.1.1 컬럼

길이 30 m, 안지름 0.25 mm, 두께 0.25 μ m의 DB-5ms 모세관 컬럼 또는 이와 동등

이상의 분리능을 가진 것이어야 한다.

3.1.2 운반기체 : 순도 99.999 % 이상의 헬륨 가스

3.1.3 운반기체의 유속 : 1.0 mL/min

3.1.4 온도

주입구 온도 : 250 °C

검출기 온도 : 250 °C

컬럼 온도 : (30 ~ 300) °C

3.1.5 주입량 : 1 µL(Split mode, 30:1)

3.1.6 검출기 : 질량분석기

이온화부 : 전자이온화법(EI), 선택이온검출방식(SIM mode)

분 석 부 : 사중극자형(Quadrupole)

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

3.2 전자저울

소수 넷째자리까지 g 단위의 무게를 잴 수 있어야 한다.

3.3 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.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

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

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.2 아세톤(Acetone, C_3H_8O , 58.08)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.3 무수 황산나트륨(Sodium sulfate, Na_2SO_4 , 142.04)

특급이상 시약을 사용한다.

4.1.4 정제수

이온수(3차 증류수)를 사용 한다.

4.2 표준용액

4.2.1 스티렌 표준원액(100 mg/L)

스티렌을 헥산으로 희석하여 100 mg/L의 표준용액으로 만들어 사용한다.

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

4.2.2 스티렌 표준용액(10 mg/L)

표준 원액을 헥산으로 희석하여 10 mg/L의 희석 표준용액을 제조한다. 표준용액을 단계별로 취하여 5~6개의 표준물질을 준비한다.

4.2.3 내부표준물질 용액

내부표준물질 원액(페난트렌 *d*-10)을 헥산으로 희석하여 10 mg/L으로 제조하여 기기

분석 시 첨가되도록 준비한다.

4.3 인공땀 용액 (Artificial sweat solution)

약 900 mL의 증류수에 요소 1 ± 0.01 g, 염화나트륨 5 ± 0.01 g, 젖산 940 ± 20 μ L을 녹인다. 희석된 암모니아 용액(1%)으로 pH 6.5 ± 0.10 이 되도록 조정한다. 용액을 1 L 부피 플라스크에 옮기고, 증류수로 전체량을 1 L로 하여 최종 인공땀 용액의 조성이 표 2.와 같이 되도록 조제한다.

표 2. 인공땀 용액의 조성

물 질	조 성
요소(urea)	0.1 %
염화나트륨(NaCl)	0.5 %
젖산(lactic acid)	0.1 %

4.3.1 요소(urea, $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$, 60.06)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.2 염화나트륨(Sodium chloride, dihydrate, NaCl, 58.44)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.3 젖산(Lactic acid, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$, 90.08)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.4 암모니아 용액(Ammonia, NH_3 , 17.03)

특급 이상의 것을 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, 뒤 면적 합이 약 10 cm² 이상 넓이가 되도록 시편을 만든다.

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

[주 3] 자른 시편 표면에 입자들이 붙어 있다면 핀셋을 이용하여 증류수와 인공땀을 넣은 비이커에 수초 동안 헹구어 사용한다.

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

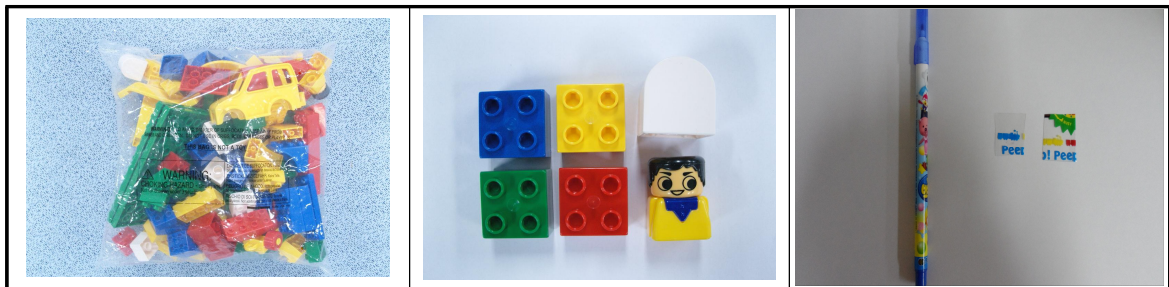


그림 1. 전이량(경피) 시료의 준비

6.0 품질보증/품질관리(QA/QC)

6.1 방법검출한계(MDL, Method Detection Limit)

본 분석의 방법검출한계는 스티렌이 함유되어 있지 않은 매질에 스티렌 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 스티렌이 없는 것으로 확인된 매질을 사용하여 시료와 동일하게 전처리·측정하며 측정값은 방법검출한계 이

하 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)가 0.98 이상 또는 감응계수(RF)의 상대표준편차가 15 % 이내이어야 하며 결정계수나 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 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 재 작성한다.

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 미리 잘라둔 시료를 250 mL 유리병에 옮긴 후 100 mL 인공땀을 첨가한다.

[주 4] 인공땀 용액은 사용하기 전 37℃ 온도로 유지되어야 한다.

7.1.2 와류진탕추출기(Head over heel rotator) 안에 유리병을 넣고 고정한 뒤 37℃, 90rpm, 1시간의 조건으로 추출한다. 추출이 끝나면 액을 시편은 핀셋을 사용하여 시료 용기에서 제거하고 인공땀 추출액을 250 mL 분별깔대기에 옮긴다.

7.1.3 인공땀 추출액을 비운 유리병에 20 mL 헥산을 첨가하여 마개를 닫고 강하게 흔들어 내벽을 씻어 낸 후 인공땀 모아둔 250 mL 분별깔대기에 넣어준다. 내벽을 다시 동일한 과정을 시행한 후 250 mL 분별깔대기에 넣어준다.

7.1.4 인공땀 추출액을 모은 분별깔대기에 방출하면서 강하게 약 2분 동안 진동 교반하고 헥산 층이 충분히 분리될 때까지 정치시켜둔다.

7.1.5 층 분리 후 하층의 인공땀 추출액은 앞의 유리병에 받고, 상층의 헥산을 무수황산나트륨을 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 1.0 mL로 농축하여 내부표준물질을 첨가한 후 분석용 시료로 사용한다.

7.2 측정 방법

시험 용액 1 μL를 기체크로마토그래프에 주입한다. 동일한 조건에서 스티렌 표준 용액에 대하여 기체크로마토그래피 분석을 실시한다. 스티렌 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 잡신호비(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.

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

C_s : 내부표준법에 의한 스티렌의 농도

A_s : 스티렌의 피크 면적 또는 높이

A_{is} : 내부표준물질의 피크 면적 또는 높이

C_{is} : 내부표준물질의 농도, mg/L

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.

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

C_s : 검정곡선에 의한 스티렌의 농도

C_M : 시편의 단위 면적당, 용출시간 당 스티렌의 전이농도($\mu g/cm^2/min$)

A : 시편 면적 (cm^2)

T : 용출시간 (min)

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 희석하여 농도를 조절한 시료에 첨가하여야 하며, 희석에 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 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 으로 표기하며 유효숫자 넷째자리까지 구하고 반올림하여, 결과는 셋째자리로 표시한다.

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

9.0 참고자료

9.1 European Committee For Standardization, EN 71 "Safety of toys" part 10 : Organic chemical compounds - Sample preparation and extraction, 2005

9.2 European Committee For Standardization, EN 71 "Safety of toys" part 11 : Organic chemical compounds - Methods of analysis, 2005

9.3 국립환경과학원, 어린이용품의 노출평가 시험방법(I), 2009

9.4 DEPA, Survey, emission and health assessment of chemical substances in baby products, 2008

10.0 부록

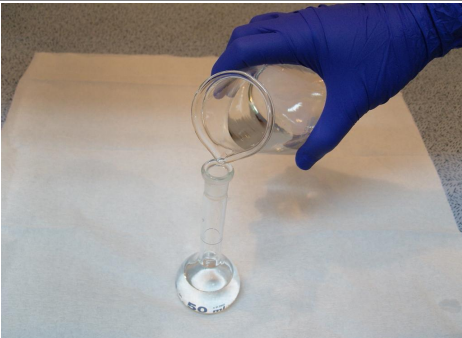
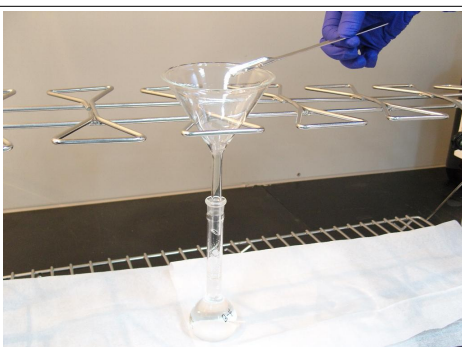
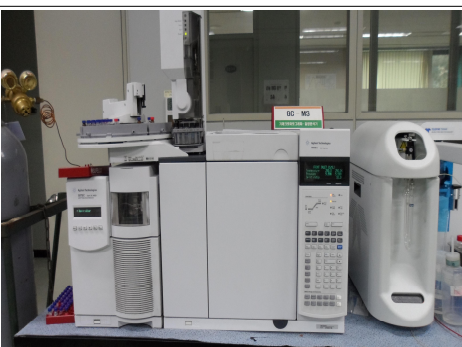
1. 시료준비 	2. 와류진탕 추출 
3. 액-액 추출 	4. 추출용액 
5. 탈수 	6. GC/MSD 분석 

그림 2. 어린이 용품의 스티렌 전이량 분석 절차

표 3. 정도관리 목표값

정도관리 항목	정도관리 목표
방법검출한계	0.013 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$
정량한계	0.039 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$
검정곡선의 직선성	결정계수 0.98 이상
바탕시료	정량한계 미만
정밀도	20 %

표 4. 스티렌 분석을 위한 기체크로마토그래피/질량분석기 조건

기기분석 조건		
기체크로마토그래피	컬럼	DB-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
	운반기체	He(99.999 %) at 1.0 mL/min
	주입부 온도	250 $^{\circ}\text{C}$
	주입방식	split(30:1)
	승온조건	30 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)→10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →70 $^{\circ}\text{C}$ →15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →250 $^{\circ}\text{C}$
질량분석기	이온원 온도	250 $^{\circ}\text{C}$
	연결부 온도	280 $^{\circ}\text{C}$
	이온화 방식	전자이온화법(EI)
	검출기 형식	사중극자형(quadrapole)

표 5. 분석대상물질의 선택 질량이온과 머무름 시간

No	Compound	CAS No.	RT(min)	MW	선택 질량이온1 (m/z)	선택 질량이온2 (m/z)
1	Styrene	100-42-5	8.7	104	104	78

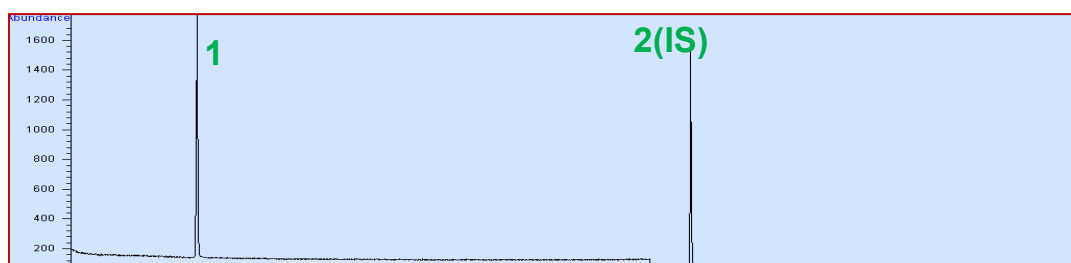


그림 3. 스티렌 표준용액 분석 크로마토그램

표 6. 시료 분석결과보고 양식(예시)

어린이 용품 중 스티렌 분석결과

시료번호		11-I-12-Y
제품명		○○○
원산지		한국
제조사 / 판매사		○○○ / ○○○
제조년월		2014. 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