

어린이용품 함유 염료에서
생성된 방향족 아민류 -
기체크로마토그래피/질량분석법(경피노출)
(Determination of release of aromatic amines in sweat
simulant from children's products - Gas
chromatography/mass spectrometry)

2024

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 어린이용품에 함유되어 있는 염료로부터 방향족 아민류가 인체로 전이되는 양을 측정하기 위한 방법이다. 시료를 인공땀 용액을 이용하여 방향족 아민류를 추출하여 규조토 컬럼으로 정제한 후 기체크로마토그래프/질량분석기(GC/MS, gas chromatograph/mass spectrometer)로 정성 및 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 방향족 아민류의 분석방법 검출한계는 $0.0003 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 이하의 값을 만족해야 한다.

1.2.2 이 시험 방법에 따라 시험할 경우 정량한계는 $0.001 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 의 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 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 분석 과정 중 시료를 오염시킬 수 있으며, 유리 표면에 분석 물질이 흡착될 경우 목적 성분이 손실될 우려가 있으므로 적합한 세척 방법을 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 정제수 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 특급 이상의 것을 사용하고, 필요한 경우 증류나 정제 과정을 통해 불순물의 방해로 인한 문제를 최소화하도록 한다.

2.0 용어정의

2.1 방향족 아민류

분석 대상 방향족 아민류는 표 1과 같다.

표 1. 분석 대상

물질	영문명	CAS No.
4-아미노 아조벤젠	4-Amino azobenzene	60-09-3
파라-(다이메틸아미노)아조벤젠	p-(Dimethylamino)azobenzene	60-11-7
아닐린	Aniline	62-53-3
2,6-다이메틸아닐린	2,6-Dimethylaniline	87-62-7
오쏘-아니시딘	o-Anisidine	90-04-0
2-나프틸아민	2-Naphthalamine	91-59-8
3,3'-다이클로로벤지딘	3,3'-Dichlorobenzidine	91-94-1

(표 계속)

물질	영문명	CAS No.
4-아미노다이페닐	4-Aminodiphenyl	92-67-1
벤지딘	Benzidine	92-87-5
오쏘-톨루이딘	o-Toluidine	95-53-4
2,4-다이메틸아닐린	2,4-Dimethylaniline	95-68-1
4-클로로-오쏘-톨루이딘	4-Chloro-o-toluidine	95-69-2
4-메틸-1,3-벤젠다이아민	4-Methyl-1,3-benzenediamine	95-80-7
2-메틸-4-[(2-메틸페닐)아조]벤젠아민	2-Methyl-4-[(2-methylphenyl)azo]benzenamine	97-56-3
5-나이트로-오쏘-톨루딘	5-Nitro-o-toluidine	99-55-8
n-메틸벤젠아민	n-Methylbenzenamine	100-61-8
3,3'-다이클로로-4,4'-다이아미노다이페닐메탄	3,3'-Dichloro-4,4'-diaminodiphenyl methane	101-14-4
4,4'-메틸렌다이아닐린	4,4'-Methylenedianiline	101-77-9
4,4'-옥시비스벤젠아민	4,4'-Oxybisbenzeneamine	101-80-4
4-메톡시아닐린	4-Methoxyaniline	104-94-9
파라-클로로아닐린	p-Chloroaniline	106-47-8
3,3'-다이메톡시벤지딘	3,3'-Dimethoxybenzidine	119-90-4
3,3'-다이메틸벤지딘	3,3'-Dimethyl benzidine	119-93-7
2-메톡시-5-메틸벤젠아민	2-Methoxy-5-methylbenzenamine	120-71-8
다이페닐아민	Diphenylamine	122-39-4
2,4,5-트라이메틸아닐린	2,4,5-Trimethylaniline	137-17-7
4,4'-티오다이아닐린	4,4'-Thiodianiline	139-65-1
4-메톡시-메타-페닐렌다이아민	4-Methoxy-m-phenylenediamine	615-05-4
4,4'-메틸렌 다이-오쏘-톨루이딘	4,4'-Methylene di-o-toluidine	838-88-0

2.2 내부표준물질

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

[주 1] 벤지딘-d₈(Cas No. 92890-63-6), 나프탈렌-d₈(Cas No. 1146-65-2), 안트라센

-d₁₀(Cas No. 1719-06-8) 등).

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래프/질량분석기 (GC/MS, gas chromatograph/mass spectrometer)

3.1.1 컬럼

컬럼 길이 30 m, 안지름 0.25 mm, 두께 0.25 μ m의 DB-35ms 모세관 컬럼 또는 이와 동등 이상의 분리능을 가진 것이어야 한다.

3.1.2 운반기체 : 순도 99.999 % 이상의 헬륨 가스

3.1.3 운반기체유속 : 1.0 mL/min

3.1.4 온도

주입구 온도 : 250 °C

검출기 온도 : 200 °C

컬럼 온도 : 65 °C ~ 280 °C

3.1.5 주입량

1 μ L, 비분할 (splitless)

3.1.6 질량분석기

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

분석부 : 사중극자형 질량 분석관 (quadrupole mass filter)

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

3.2 규조토 컬럼

규조토 컬럼은 내경 (25 ~ 30) mm, 길이 (140 ~ 150) mm, 20 g 의 규조토를 충전할 수 있어야 한다. 이와 동등한 성능을 갖는 시판되는 SPE 컬럼(Chromabond XTR, 70 mL, 14.5 g 등)도 사용할 수 있다.

3.3 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 교차오염 등을 방지하고, 농축 시 질소가스의 유속 세기에 의해 시료가 시료용기 외부로 유출되지 않게 항상 주의한다.

3.4 회전증발농축기

수욕조로 온도를 유지하며 진공으로 농축하는 것으로 한다.

3.5 기체크로마토그래프용 바이알

기체크로마토그래프용 바이알 마개는 테프론 (polytetrafluoroethylene) 재질을 사용한다.

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 tert-부틸메틸에테르 (tert-butyl methyl ether, $C_5H_{12}O$, 88.15)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.3 메탄올 (methanol, CH₃OH, 32.04)

잔류농약 분석급 또는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.4 정제수

탈이온수 (3차 증류수)를 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 방향족 아민류 표준원액 (1 000 mg/L)

각 시료를 메탄올로 희석하여 1 000 mg/L의 표준용액으로 만들어 사용한다.

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

4.2.2 방향족 아민류 표준용액 (100 mg/L)

표준원액을 메탄올로 희석하여 100 mg/L의 희석 표준용액을 제조한다. 표준용액을 단계별로 취하여 5개 ~ 6개의 표준물질을 준비한다. 교정곡선 작성용 표준용액은 시험 당일 제조하여 사용한다.

4.2.3 내부표준물질 용액

내부표준물질 (벤지딘-d₈ 등) 원액을 tert-부틸메틸에테르로 희석하여 10 mg/L으로 제조하여 기기분석 시 첨가되도록 준비한다.

4.3 인공땀 용액 (artificial sweat solution)

약 900 mL의 정제수에 요소 (urea) (1 ± 0.01) g, 염화소듐 (sodium chloride) (5 ± 0.01) g, 젖산 (lactic acid) (940 ± 20) μ L를 녹인다. 희석된 암모니아 용액 (1 %)으로 pH (6.5 ± 0.10)이 되도록 조정한다. 용액을 1 L 부피플라스크에 옮기고, 정제수로 전

체량을 1 L로 하여 최종 인공땀 용액의 조성이 표 2와 같이 되도록 조제한다.

표 2. 인공땀 용액의 조성

물질	조성
요소 (urea)	0.1 %
염화소듐 (NaCl)	0.5 %
젖산 (lactic acid)	0.1 %

4.3.1 DL-젖산 (lactic acid)

밀도 1.21 g/mL, 88 %의 젖산을 사용한다.

4.3.2 요소 (urea)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.3 염화소듐 (sodium chloride, NaCl, 58.44)

특급 이상의 것을 사용한다.

4.3.4 암모니아 용액 (ammonia solution)

밀도 0.91 mg/L, 25 %의 암모니아 용액을 1 % 암모니아 용액으로 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 및 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 면적의 합이 약 10 cm² 넓이가 되도록 시편을 만든다.

[주 4] 시료의 두께가 1 mm ~ 2 mm 이상일 경우 옆면의 표면적을 측정하고 기록해 둔다.

[주 5] 자른 시편 표면에 입자들이 붙어 있다면 핀셋을 이용하여 정제수와 인공침을 넣은 비커에 수 초 동안 행귀서 사용한다.

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

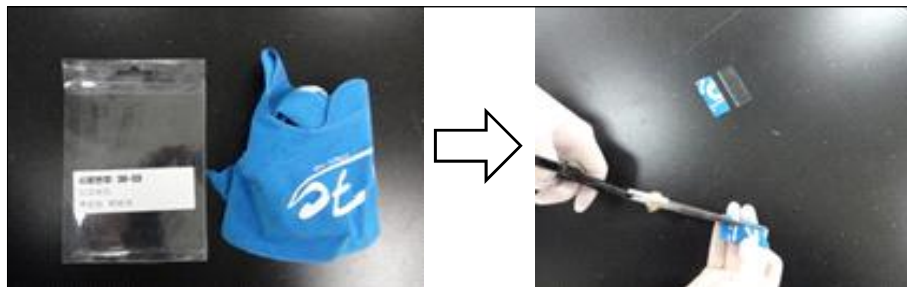


그림 1. 전이량 시료의 준비

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 (MDL, method detection limit)

본 분석의 방법검출한계는 방향족 아민류가 함유되어 있지 않은 매질에 방향족 아민류 표준용액을 정량한계 수준의 농도가 되도록 첨가하여 시료와 동일한 순서로 7회 반복 실험하여 측정값의 표준편차에 3.14를 곱한 값으로부터 구한다.

6.2 방법바탕시료의 분석

시료군마다 1개의 방법바탕시료를 분석한다. 방법바탕시료는 방향족 아민류가 없는 것

으로 확인된 매질을 사용하여 시료와 동일하게 전처리·측정하며 측정값은 방법검출한계 이하 이어야 한다.

6.3 교정곡선의 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 상당하는 표준물질을 사용하여 시료와 동일한 방법으로 전처리 및 분석하여, 4회 이상 반복한 평균 분석값이 인증값 범위 또는 인증값의 70 % ~ 130 % 내에 있어야 한다.

[주 5] o-Toluidine, 4-Methyl-1,3-benzenediamine, 4-Methoxy-m-phenylenediamine의 경우, 물질 특성에 따라 70 % 미만의 인증값이 확인될 수 있다.

6.4.2 모든 시험에서 바탕시험을 실시하여 시료 측정결과를 보정해 주어야 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 변동 사항이 생길 경우에는 다시 실시한다. 단, 장비의 청소, 컬럼 교체 시와 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

6.5.2 교정곡선 검증 및 방법바탕시료의 분석은 각 시료군마다 실시하며, 고농도의 시료 다음에 방법바탕시료를 측정하여 오염 여부를 점검한다.

6.5.3 각 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표값은 표 3과 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 미리 잘라둔 시료 (10 cm²)를 25 mL 인공땀 용액이 담긴 용기에 넣고 마개를 막는다.

[주 6] 인공땀 용액은 사용하기 전 37 °C 온도로 유지되어야 한다.

7.1.2 온도 조절이 가능한 항온조 또는 건조기 안에 시료용기를 넣고 40 °C에서 4시간 동안 두어 추출한다. 추출이 끝나면 핀셋을 사용하여 즉시 시편을 제거하고 여과하여 인공땀 추출액을 얻는다.

7.1.3 추출액을 규조토 컬럼에 흘려보내주고 아민류가 컬럼에 흡수되도록 20분간 정치시킨다. 이 후 컬럼으로 tert-부틸메틸에테르 40 mL을 2회 걸쳐 흘려 보내어 100 mL 둥근바닥플라스크에 아민류를 모은다.

[주 7] 첫 번째 tert-부틸메틸에테르 40 mL은 10, 10, 20 mL으로 나누어서 먼저 10 mL를 반응이 끝난 섬유가 들어있는 튜브에 넣고 격렬히 흔든 다음 컬럼으로 흘려보내준다. 나머지 10, 20 mL도 동일하게 해준다. 두 번째 tert-부틸메틸에테르 40 mL은 컬럼에 바로 흘려보내준다.

7.1.4 아민류를 추출한 tert-부틸메틸에테르를 회전증발농축기를 이용하여 50 °C 이하의 약한 진공 상태에서 5 mL까지 농축한다. 농축액을 2.0 mL 바이알에 옮긴 후 시험용액으로 한다.

[주 8] 회전증발농축기를 이용하여 농축하는 경우 tert-부틸메틸에테르가 완전히 휘발되면 상당량의 아민류가 손실될 수 있다.

[주 9] 아민류의 회수율은 염화수소산염에 화학반응을 일으켜 높아질 수 있다.

7.2 측정방법

시험용액 1 µL를 기체크로마토그래프에 주입한다. 따로 방향족 아민류 표준용액에 대하여 동일조건에서 기체크로마토그래프로 측정한다. 표준물질의 피크 면적으로부터 교

정곡선을 작성하여 정량한다.

7.3 시료분석결과

7.3.1 정성분석

7.3.1.1 두 선택이온의 비가 표준물질의 비와 일치해야 하며, 각 분석 물질 별 두 개의 선택이온이 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 교정곡선 방법을 사용해서 내부표준물질에 대한 분석 물질의 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 : 교정곡선의 기울기

b : 교정곡선의 절편

7.3.2.1.2 내부표준법에 의하여 구한 분석 물질의 농도에 공시험 결과를 제하고 아래 (식 2)에 따라 환산하여 시료 중 분석 물질의 농도를 결과로 한다.

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

여기서, C_S : 교정곡선에 의한 방향족 아민류의 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)

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

V : 최종액량 (mL)

A : 시편의 면적(cm^2)

T : 용출시간(min)

7.3.2.2 만약 시료 중 대상물질의 농도가 교정곡선의 정량범위를 넘어갈 경우, 시료를 묽혀서 교정곡선 범위 내에 들어오도록 농도를 조절해야 한다. 이때 희석에 의한 대상물질의 농도와 검출한계 등은 조절되어야 한다.

8.0 결과보고

8.1 분석결과 보고

8.1.1 시료 채취 관련 자료

시료 목록, 시료 번호, 시료 채취 일자 등을 보고한다.

8.1.2 분석 방법 자료

분석 일자, 시료량, 분해 과정, 분석기기 및 분석 조건, 사용한 표준물질 등에 대한 자료를 보고해야 한다.

8.1.3 분석결과 자료

8.1.3.1 교정곡선 작성, 질량교정, 표준물질 및 바탕시료의 분석 결과를 분석시료의 분석 결과와 함께 보고한다.

8.1.3.2 방법검출한계, 정량한계 및 산출 근거를 보고한다.

8.2 결과의 표시

8.2.1 농도 측정 결과는 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ 으로 표기하며 소수점 이하 넷째 자리까지 구하고 반올림하여 셋째 자리로 표기한다.

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

9.0 참고자료

9.1 ES 12332.1, “어린이용품 함유 아조염료류 - 기체크로마토그래피질량분석법(경구 노출)”, 국립환경과학원, 2018

9.2 KS K 0147, “염료 및 염색물의 아릴아민 시험방법”, 한국표준협회, 2021

9.3 ISO 14362-1:2017, Textiles, Methods for determination of certain aromatic amines derived from azo colorants, Part 1: Detection of the use of certain azo colorants accessible with and without extracting the fibres

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

10.0 부록

표 3. 정도관리

정도관리 항목	정도관리 목표
방법검출한계	0.0003 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$
정량한계	0.001 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$
검정곡선의 직선성	결정계수 0.99 이상
바탕시료	방법검출한계 미만
정밀도	15 %

표 4. 분석대상물질의 선택 질량이온 (예시)

분석대상물질	대상이온	
	정량이온 (m/z)	확인이온 (m/z)
4-아미노 아조벤젠	92	197, 120
파라-(다이메틸아미노)아조벤젠	120	225, 77
아닐린	93	66, 65
2,6-다이메틸아닐린	121	106, 77
오쏘-아니시딘	108	123, 80
2-나프틸아민	143	115, 71
3,3'-다이클로로벤지딘	252	254, 253
4-아미노다이페닐	169	84, 141
벤지딘	184	92
오쏘-톨루이딘	106	77, 53
2,4-다이메틸아닐린	121	106, 77
4-클로로-오쏘-톨루이딘	106	141, 77
4-메틸-1,3-벤젠다이아민	122	94, 105
2-메틸-4-[(2-메틸페닐)아조]벤젠아민	106	225, 91
5-나이트로-오쏘-톨루딘	152	106, 77
n-메틸벤젠아민	106	107, 77
3,3'-다이클로로-4,4'-다이아미노 다이페닐메탄	231	266, 195
4,4'-메틸렌다이아닐린	198	106, 182
4,4'-옥시비스벤젠아민	200	108, 171
4-메톡시아닐린	108	123, 80
파라-클로로아닐린	127	65, 92
3,3'-다이메톡시벤지딘	244	201, 229
3,3'-다이메틸벤지딘	212	106, 213
2-메톡시-5-메틸벤젠아민	122	137, 94
다이페닐아민	169	168, 84
2,4,5-트라이메틸아닐린	135	120, 91
4,4'-티오다이아닐린	216	184, 215
4-메톡시-메타-페닐렌다이아민	123	138, 95
4,4'-메틸렌 다이-오쏘-톨루이딘	226	211, 120

표 5. 기체크로마토그래프/질량분석기 조건 (예시)

구분		기기분석조건
기체크로마토그래프	컬럼	DB-35ms (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
	운반기체	He (99.999 %) at 1.0 mL/min
	주입구 온도	250 ℃
	주입방식	비분할 (Splitless)
	승온조건	65 ℃(0.5 min) → 25 ℃/min → 220 ℃(0.5 min) → 25 ℃/min → 240 ℃(0.5 min) → 25 ℃/min → 280 ℃(8 min)
질량분석기	이온원 온도	200 ℃
	연결부 온도	250 ℃
	이온화 방식	전자충격 이온화법 (EI), 선택이온 모니터링 방식 (SIM mode)
	검출기 형식	사중극자형 (quadrupole)

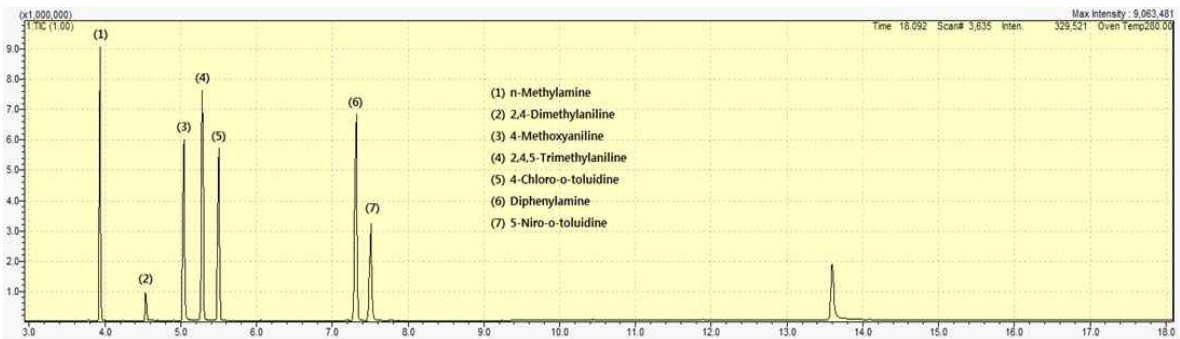


그림 3. 표준물질 크로마토그램 (예시)