

6가 크롬-이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광법
(Hexavalent chromium-ion chromatography-ultraviolet/visible
spectrometry)

2018

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 토양 중 6가크롬을 이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광법(IC-UV/VIS, ion chromatography-ultraviolet/visible spectrometry)으로 측정하는 방법이다. 시료 중에 6가크롬을 분리컬럼을 이용하여 분리한 후 디페닐카르바지드(diphenyl carbazide, DPC)와 반응시켜 생성되는 적자색의 착화합물을 540 nm에서 측정하여 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 방법은 토양 중에 6가크롬의 측정에 적용된다.

1.2.2 이 방법에 의한 토양 중 6가크롬의 정량한계는 0.5 mg/kg이다.

1.3 간섭 물질

“내용 없음”

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광계

이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광계(IC-UV/VIS, ion chromatograph-ultraviolet/visible spectrometer)의 구성은 용리액 저장조, 액송펌프, 시료주입부, 분리컬럼, Post column reactor(PCR), UV/VIS 검출기 및 기록계로 되어 있다(그림 1). 이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광계의 운영은 사용장비의 매뉴얼에 따른다.

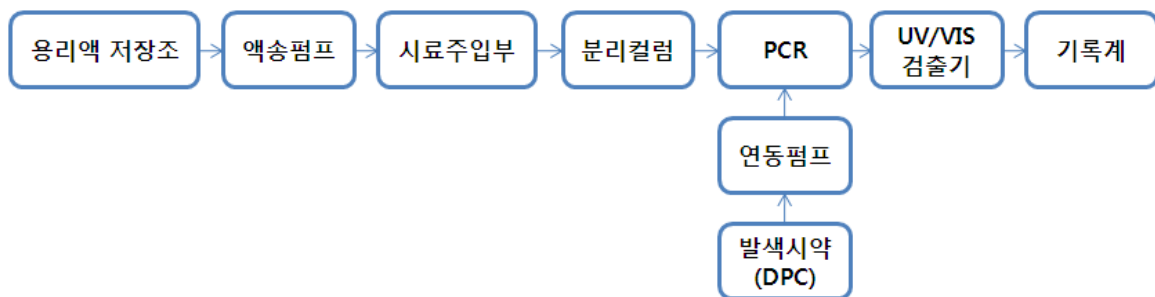


그림 1. 이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광계 모식도

3.1.1 액송펌프

분리컬럼 중의 이온교환체의 입자는 약 10 μ m 이하의 매우 작은 입자로서 용리액 및 시료를 고압 하에서 전개시키지 않으면 요구되는 유속을 얻기가 어렵다. 따라서 펌프는 14.7 MPa ~ 34.3 MPa 압력에서 사용될 수 있어야 하며, 작동 중 맥동이 일어나서는 안된다.

3.1.2 시료주입부

일반적으로 미량의 시료를 사용하기 때문에 루프 밸브에 의한 주입방식이 많이 이용되며 시료주입량은 보통 250 μ L ~ 2000 μ L이다. 정량한계에 따라 시료주입량은 변화시킬 수 있다.

3.1.3 분리컬럼

PEEK 혹은 에폭시 수지로 만든 관에 quaternary ammonium 작용기를 포함한 폴리비닐알코올(polyvinyl alcohol)로 채워진 음이온 교환 컬럼 또는 동등한 분리성능을 가진 컬럼을 사용한다.

3.1.4 Post Column Reactor(PCR)

분리컬럼에서 분리가 이루어진 시료 중 6가크롬이 PCR을 거치면서 발색시약(DPC)과 반응하여 적자색을 띠게 된다.

3.1.5 검출기 및 기록계

6가크롬 분석에는 UV/VIS 검출기를 사용한다. 광원부의 광원으로 가시부와 근적외부의 광원으로는 텅스텐 램프를 사용하고 자외부의 광원으로는 중수소 방전관을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 질산

진한 질산(nitric acid, HNO_3 , 63.01)을 사용한 바탕실험결과에서 금속류가 검출되어서는 안된다.

4.1.2 질산용액(5 M)

1 L 부피플라스크에 정제수 500 mL를 넣은 다음 진한 질산(nitric acid, HNO_3 , 63.01) 320 mL를 넣고 흔들어 섞어 준 뒤 정제수로 1 L를 채운다. 제조 후 20 °C ~ 25 °C 암소에 보관한다.

4.1.3 분해용액

수산화나트륨(sodium hydroxide, NaOH , 40.0) 20.0 g과 탄산나트륨(sodium carbonate,

Na_2CO_3 , 105.99) 30.0 g을 정제수로 녹여 1 L로 제조 후 PE(polyethylene) 용기에 담아 20 °C ~ 25 °C에 보관한다. 매월 조제하며, pH 11.5 이상을 만족하지 못하면 사용하지 않는다.

4.1.4 인산완충용액(0.1 M)

1 L 부피플라스크에 정제수 700 mL를 넣은 다음 인산수소칼륨(dipotassium phosphate, K_2HPO_4 , 174.18) 87.09 g과 인산이수소칼륨(monopotassium phosphate, KH_2PO_4 , 136.09) 68.04 g을 넣고 녹인 후 정제수로 1 L를 채운다.

4.1.5 용리액

1 L의 부피플라스크에 황산암모늄(ammonium sulfate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 132.14) 33 g과 수산화암모늄(ammonium hydroxide, NH_4OH , 35.00) 6.5 mL를 넣고 정제수를 표선까지 채워서 완전히 녹인다. 또는 1 L의 부피플라스크에 수산화리튬(lithium hydroxide, LiOH 23.00)을 1.197 g, 황산리튬(lithium sulfate, Li_2SO_4 , 108.00)를 1.099 g 넣고 정제수를 표선까지 채워서 완전히 녹인다. 용리액 제조 조건은 사용장비의 매뉴얼을 따를 수 있다.

4.1.6 완충용액

아래의 완충용액 중 선택하여 용액을 제조하여 보관해야 하며, 이때 pH는 9~9.5이어야 한다. 완충용액 제조 조건은 사용장비의 매뉴얼을 따를 수 있다.

4.1.6.1 100 mL의 부피플라스크에 황산암모늄(ammonium sulfate, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 132.14) 33 g과 수산화암모늄(ammonium hydroxide, NH_4OH , 35.00) 6.5 mL를 넣고 정제수를 완전히 녹인 후 표선까지 채운다. 제조된 완충용액은 희석용액(표준용액 제조 및 고농도 시료 희석) 제조를 위해 정제수의 pH 조절용 용액(pH 9 ~ pH 9.5)으로 사용한다.

4.1.6.2 1 L의 부피플라스크에 수산화리튬(lithium hydroxide, LiOH 23.00) 1.197 g과 황산리튬(lithium sulfate, Li_2SO_4 , 108.00) 1.099 g을 넣고 정제수를 완전히 녹인 후 표선까지 채운다. 제조된 완충용액은 표준용액 제조 및 고농도 시료의 희석용액으로 사용한다.

4.1.7 디페닐카르바지드용액(DPC, diphenyl carbazide)

1 L의 부피플라스크에 0.5 g의 1,5-diphenylcarbazine를 넣고 100 mL methanol(HPLC 급)로 완전히 녹인다. 정제수 500 mL를 같은 플라스크에 넣고 98 % H_2SO_4 28.5 mL를 넣고 표선까지 정제수로 채운다. 제조 후 갈색병에 빛과 공기를 차단하여 보관한다. 시약의 보관기한은 4 일 ~ 5 일이 바람직하며, 시약의 색이 변하면 사용하지 않는다.

4.2 표준용액

4.2.1 6가크롬 표준원액(100 mg/L)

크롬산나트륨(sodium chromate, $\text{Na}_2\text{CrO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 234.03) 0.450 g을 1 L 부피플라스크에 넣고 정제수로 녹인 후 표선까지 맞추어 제조하여 사용하거나 시판용 표준용액을 사용한다.

4.2.2 6가크롬 표준용액(10.0 mg/L)

6가크롬 표준원액(100 mg/L) 10.0 mL를 100 mL 부피플라스크에 넣어 희석용액으로 표선까지 가하여 제조한다.

4.2.3 6가크롬 표준용액(1.0 mg/L)

6가크롬 표준용액(10.0 mg/L) 10.0 mL를 100 mL 부피플라스크에 넣고 희석용액으로 표선까지 가하여 제조한다.

5.0 시료채취 및 관리

토양시료의 채취 및 조제는 ES 07130.c 시료의 채취 및 조제 방법에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계(MDL, method detection limit) 및 정량한계(LOQ, limit of quantification)는 ES 07001.a 정도보증/정도관리에 따라 산정한다. 시약바탕시료(reagent blank)에 표 1의 정량한계 부근의 농도가 되도록 6가크롬 표준용액을 첨가한 시료 7 개를 준비하여 각 시료를 7.0항의 실험절차와 동일하게 분석하여 표준편차를 구한다.

6.1.2 표준편차에 3.14를 곱한 값을 방법검출한계로, 10을 곱한 값을 정량한계로 나타낸다. 측정된 정량한계는 표 1에서 제시한 정량한계 이하의 값이어야 한다.

6.2 시약바탕시료의 분석

ES 07001.a 정도보증/정도관리에 따라 시료군마다 1 개의 시약바탕시료(reagent blank)를 분석한다. 시약바탕시료는 7.0항의 실험절차와 동일하게 전처리·측정하며, 측정값은 방법검출한계 이하이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선의 작성 및 검증은 ES 07001.a 정도보증/정도관리에 따른다.

6.3.2 7.2항의 검정곡선의 작성에서 제시한 농도 범위 내에서 3 개 이상의 농도(정량한계 이상)에 대해 검정곡선을 작성하고 얻어진 검정곡선의 결정계수(R^2)가 0.98 이상 또는 감응계수(RF)의 상대표준편차가 10 % 이내이어야 하며 결정 계수나 감응계수의 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재작성하도록 한다.

6.4 정밀도 및 정확도

6.4.1 정밀도(precision) 및 정확도(accuracy)는 ES 07001.a 정도보증/정도관리에 따라 산정한다. 동일한 매질의 인증표준시료 또는 표 2 정량한계의 1 배 ~ 10 배의 같은 농도로 표준물질을 첨가한 시료를 4 개 이상 준비하여 7.0항의 절차에 따라 분석하여 평균값과 표준편차를 구한다.

6.4.2 정밀도는 측정값의 상대표준편차(% RSD)로 산출하며 그 값이 30 % 이내이어야

한다.

6.4.3 정확도는 첨가한 표준물질의 농도에 대한 측정 평균값의 상대 백분율로서 나타내고 그 값이 70 % ~ 130 % 이내이어야 한다.

6.5 내부정도관리 주기 및 목표

6.5.1 방법검출한계, 정량한계, 정밀도 및 정확도는 연 1 회 이상 산정하는 것을 원칙으로 하며, 분석자의 교체, 분석 장비의 수리 및 이동 등의 주요 변동사항이 생길 경우에는 다시 실시한다.

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

6.5.3 각 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표 값은 표 2와 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 ES 07130.a 3.0 시료의 조제방법에 따라 조제한 분석용 시료 2.5 g을 정확히 취하여 250 mL 분해플라스크에 넣고 미리 온도를 90~95 °C로 맞추어 놓은 분해용액 50 mL를 넣는다. 여기에 염화마그네슘(무수) 0.4 g과 완충용액(0.1 M) 0.5 mL를 함께 넣고 시계접시로 분해플라스크를 덮고 5 분간 교반하여 시료와 분해용액 등이 잘 혼합되도록 한다.

7.1.2 온도를 일정하게 유지할 수 있는 가열식 자력교반기 등을 이용하여 90 °C ~ 95 °C가 되도록 유지하면서 60 분간 지속적인 교반과 함께 분해를 하여 토양시료 중 6가크롬이 모두 용출되도록 한다. 분해가 끝나면 시료용액의 온도가 실온이 될 때까지 방치하여 냉각한다.

7.1.3 시료용액을 0.45 µm 막여과지로 여과한다. 이때 토양시료가 모두 여과장치에 옮겨지도록 분해플라스크를 정제수로 3 번 세척하여 주고 세척액도 여과장치에 옮긴다. 이

때 토양입자 등으로 인해 여과가 여의치 않을 경우 먼저 GF/B 또는 GF/F 여과지로 1차 여과 후 0.45 μm 막여과지로 2차 여과한다.

7.1.4 여과용액을 100 mL 비커에 옮긴 후 질산(5 M)으로 여과용액의 pH를 9 ~ 9.5로 맞춘다. pH 교정이 끝나면 여과용액을 100 mL 부피플라스크에 옮기고 정제수로 표선을 맞춘 후 검액으로 사용한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 6가크롬 표준용액(1.0 mg/L) 0 mL ~ 10.0 mL를 단계적으로 100 mL 부피플라스크에 넣고 희석용액으로 표선까지 가하여 제조한다. 단, 정량한계 이상 농도를 3 개 이상 포함하여야 한다.

7.2.2 이하 7.3과 같은 방법으로 측정하여 6가크롬의 농도(mg/L)를 가로축(x 축)에, 6가 크롬의 흡광도를 세로축(y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

7.3 측정법

7.3.1 측정시 pH에 영향을 받으므로 검액을 희석하거나 보관할 때에는 희석용액(pH 9 ~ pH 9.5)을 사용해야 한다. 기기 측정 전 검액의 상태에 따라 0.45 μm 막여과지로 여과하여 분석한다.

7.3.2 이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광계를 작동시켜 UV/VIS 검출기를 540 nm로 고정하고 용리액의 유속을 1.0 mL/min, 발색시약의 유속을 0.4 mL/min로 조정 후 용리액 및 발색시약을 흘려보내면서 펌프의 압력 및 검출기의 전도도 값이 일정하게 유지될 때까지 기다린다. 이때 용리액 및 발색시약의 유속 등은 사용장비의 매뉴얼을 따를 수 있다.

7.3.3 펌프의 압력이 일정하게 유지되고 용리액의 전도도 및 기록계의 기준선이 안정화 되면 시료를 주입하여 크로마토그램을 작성하고 6가크롬의 머무름 시간을 확인한다.

7.3.4 미리 작성한 검정곡선으로부터 6가크롬의 농도(mg/L)를 계산한다. 이때 측정농도가 검정 범위를 벗어날 경우 희석용액으로 적절히 희석하여 다시 측정한다.

8.0 결과보고

검정곡선에서 얻어진 시료의 6가크롬 농도를 사용하여 다음의 식으로부터 토양시료 중에 6가크롬 농도를 계산한다.

$$\text{토양 중 6가크롬의 농도(mg/kg)} = \frac{(C_1 - C_0)}{W_d} \times f \times V \quad (\text{식 1})$$

여기서, C_1 : 검정곡선에서 얻어진 분석시료의 6가 크롬 농도(mg/L)

C_0 : 검정곡선에서 얻어진 시약바탕시료의 6가 크롬 농도(mg/L)

f : 희석배수(검정곡선의 범위를 벗어날 경우)

V : 시험용액의 부피(여기서는 0.1 L)

W_d : 토양시료의 건조중량(kg)

9.0 참고문헌

9.1 US EPA Method 218.6, 1994, Determination of dissolved hexavalent chromium in drinking water, ground water, and industrial wastewater effluents by ion chromatography.

9.2 US EPA Method 3060A, 1996, Alkaline digestion for hexavalent chromium.

9.3 US EPA Method 7199, 1996, Determination of hexavalent chromium in drinking water, groundwater, and industrial wastewater effluents by ion chromatography.

10.0 부록

표 1. 이온크로마토그래피-자외선/가시선 분광계 실험조건의 예

항 목	조 건
Column	Dionex IonPack AS7, Metrosep A Supp 10 - 100, Metrosep A Supp 5 - 150 또는 동등 이상의 성능을 가진 컬럼
Guard Column	Dionex IonPac NG1, Metrosep RP 2 Guard 또는 동등 이상의 성능을 가진 컬럼
Mobile phase	50 mM LiOH / 10 mM Li ₂ SO ₄ 또는 250 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ / 100 mM NH ₄
Flow rate	1.0 mL/min
PCR reagent	2.0 mM 1,5-Diphenylcarbazine(DPC) / 10% Methanol / 98% H ₂ SO ₄
PCR Flow rate	PCR : 0.4 mL/min
Injection volume	250 µL
Wavelength	540 nm
Column temperature	50.0 °C
Buffer solution	5mM LiOH / 10mM Li ₂ SO ₄ 또는 250 mM (NH ₄) ₂ SO ₄ / 100 mM NH ₄

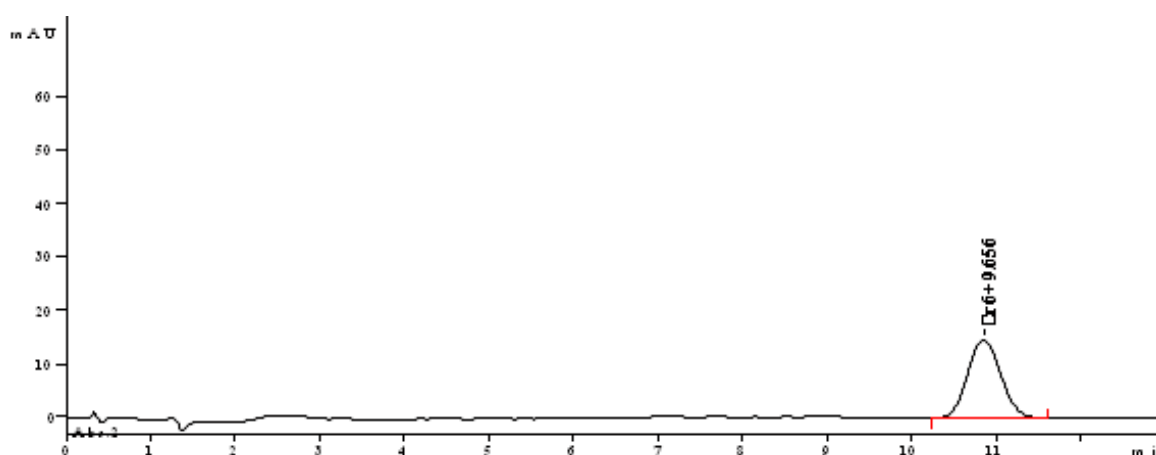


그림 1. 6가크롬의 크로마토그램

표 2. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.5 mg/kg
검정곡선	결정계수(R^2) > 0.98 또는 감응계수(RF)의 상대표준편차 < 20 %
정밀도	상대표준편차가 30 % 이내
정확도	70 % ~ 130 %