

유기인화합물-기체크로마토그래피

(Organophosphorus pesticides-gas chromatography)

2018

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 토양 중 유기인화합물(이피엔, 파라티온, 메틸디메톤, 다이아지논 및 펜토에이트)의 측정방법으로서, 유기인 화합물을 기체크로마토그래프로 분리한 다음 질소인검출기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험기준은 토양 중 유기인화합물(이피엔, 파라티온, 메틸디메톤, 다이아지논 및 펜토에이트)의 분석에 적용한다.

1.2.2 이 시험기준은 기체크로마토그래프로 분리한 다음 질소인검출기 또는 불꽃광도검출기로 측정하는 방법으로 정량한계는 각 항목별 0.05 mg/kg이다.

1.3 간섭 물질

1.3.1 해당 매질 또는 추출 용매 안에 함유하고 있는 불순물이 분석을 방해할 수 있다. 이 경우 방법바탕시료나 시약바탕시료를 분석하여 확인할 수 있다. 방해물질이 존재하면 용매를 증류하거나 정제용 컬럼을 이용하여 제거한다. 고순도의 시약이나 용매를 사용하면 방해물질을 최소화할 수 있다.

1.3.2 초자류는 사용 전에 아세톤, 분석 용매 순으로 각각 3 회 세정한 후 건조시킨 것을 사용하여 오염을 최소화할 수 있다.

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래프

3.1.1 컬럼은 안지름 0.20 mm ~ 0.35 mm, 필름두께 0.1 μ m ~ 0.50 μ m, 길이 15 m ~ 60 m의 cross-linked methylsilicon(DB-1, HP-1 등) 또는 cross-linked 5 % phenylmethylsilicon(DB-5, HP-5 등) 모세관이나 동등한 분리성능을 가진 모세관으로 분석 대상 물질의 분리가 양호한 것을 택하여 시험한다.

3.1.2 운반기체는 부피백분율 99.999 % 이상의 헬륨(또는 질소)을 사용하며 유량은 0.5 mL/min ~ 4 mL/min, 시료도입부 온도는 200 $^{\circ}$ C ~ 250 $^{\circ}$ C, 컬럼온도는 40 $^{\circ}$ C ~ 300 $^{\circ}$ C로 사용한다.

3.1.3 질소인검출기 또는 불꽃광도검출기

질소인검출기(NPD, nitrogen phosphorus detector) 또는 불꽃광도검출기(FPD, flame photometric detector)는 질소나 인이 불꽃 또는 열에서 생성된 이온이 루비듐 염과 반응하여 전자를 전달하여 이때 흐르는 전자가 포착되어 전류의 흐름으로 바꾸어 측정하는 방법으로 유기인화합물 및 유기질소화합물을 선택적으로 검출할 수 있다.

[비고 1] 검출기는 불꽃광도검출기 대신에 불꽃열이온검출기(FTD, flame thermionic detector) 또는 전자포착검출기(ECD, electron capture detector)를 사용할 수 있다.

3.1.4 기체 크로마토그래프의 분석조건은 표 1과 같이 설정할 수 있다.

3.2 농축장치

구테르나다니쉬(K.D.) 농축기(그림 1) 또는 회전증발농축기를 사용한다.

3.3 정제용 컬럼

다음 중 한 종류를 선택하여 사용한다.

3.3.1 실리카겔 컬럼

3.3.1.1 크로마토그래프용 실리카겔 1.0 g을 노말헥산 10 mL를 넣어 혼합한다.

3.3.1.2 관의 밑바닥에 헥산 전개액으로 습윤시킨 탈지면 또는 유리섬유를 깔고 그 위에 혼합물을 흘려 넣는다. 소량의 헥산 전개액으로 관의 내벽을 씻어 주고 하부의 콕을 열어 헥산 전개액을 유출시킨다.

3.3.1.3 혼합물이 침착하여 안정화되고 헥산 전개액의 액면이 혼합물의 상단에 이르면 콕을 닫는다(그림 2).

3.3.2 플로리실 컬럼

3.3.2.1 안지름 10 mm, 길이 300 mm의 유리관 하부에 콕을 부착한 것으로 밑바닥에 탈지면 또는 유리섬유를 깔고 크로마토그래프용 노말헥산 10 mL로 관의 내부를 씻어준 다음 헥산이 탈지면 또는 유리섬유의 위까지 잠기도록 한다.

3.3.2.2 플로리실 3 g을 비커에 넣고 크로마토그래프용 노말헥산 10 mL를 넣어 유리 봉으로 저으면서 기포를 제거한 다음 크로마토그래프용 노말헥산과 함께 유리관에 충전한다.

3.3.2.3 플로리실층이 안정화되면 그 위에 크로마토그래프용 무수황산나트륨 1 g을 넣고 소량의 크로마토그래프용 노말헥산으로 관의 내벽을 씻어준 다음 하부의 콕을 열어 노말헥산이 무수황산나트륨의 상단에 이를 때까지 유출시킨다.

3.3.3 활성탄 컬럼

3.3.3.1 안지름 15 mm, 길이 300 mm의 유리관 하부에 콕을 부착한 것으로 바닥에 탈지면 또는 유리섬유를 끼우거나 유리 여과판으로 된 관에 다르코 G-60(Darco G-60) 미

결정 셀룰로오스 분말(1+10) 5 g을 비커에 넣고 크로마토그래프용 아세톤으로 잘 섞어서 충전한다.

3.3.3.2 콕을 열어 충전제 상단까지 아세톤을 유출시키고 크로마토그래프용 무수황산나트륨 3 g을 넣는다. 아세톤 약 10 mL로 크로마토그래프용 컬럼 내벽에 묻은 무수황산나트륨을 씻어 아래로 떨어뜨리고 콕을 열어 아세톤이 무수황산나트륨의 상단에 이를 때까지 유출시킨다.

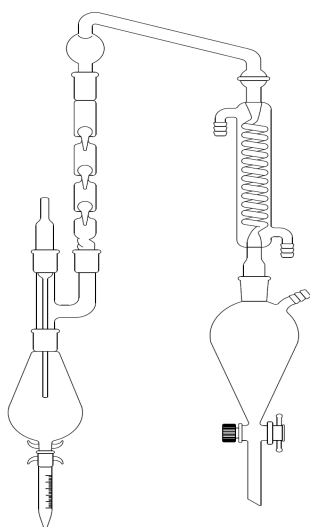


그림 1. 구데르나다니쉬(K.D.) 농축기

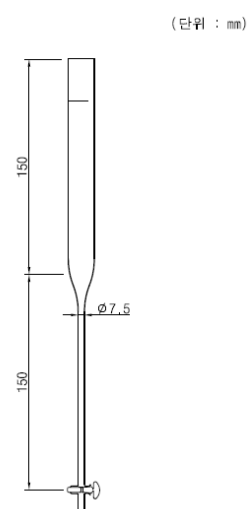


그림 2. 정제컬럼

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 염산용액(1 N)

100 mL 부피플라스크에 정제수 60 mL를 넣은 다음 염산(hydrochloric acid, HCl, 36.46) 8.3 mL를 넣고 흔들어 섞어 준 뒤 정제수로 100 mL를 채운다.

4.1.2 노말헥산

노말헥산(n-hexane, C_6H_{14} , 86.17)은 바탕시험 할 때 표준물질의 피크부근에 불순물 봉

우리가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 무수황산나트륨

무수황산나트륨(sodium sulfate, Na_2SO_4 , 142.04)은 순도 98 % 이상의 시약용을 사용하며 사용하기 전에 400 °C에서 4 시간 이상 구워서 사용한다.

4.1.4 아세톤

아세톤(acetone, CH_3OCH_3 , 58.08)은 바탕시험 할 때 분석화합물의 피크 부근에 불순물 봉우리가 없는 것을 사용한다.

4.1.5 디클로로메탄

디클로로메탄(methylene chloride, CH_2Cl_2 , 84.93) 100 mL를 약 1~5 mL로 농축한 것을 5 μL 취하여 기체크로마토그래피에 주입할 때 표준물질의 봉우리부근에 불순물봉우리가 없는 것을 사용한다.

4.1.6 디클로로메탄과 노말헥산의 혼합(15:85)

디클로로메탄(methylene chloride, CH_2Cl_2 , 84.93) 150 mL와 노말헥산(n-hexane, C_6H_{14} , 86.17) 850 mL 섞어 사용한다.

4.1.7 정제수

시약용 정제수를 사용하거나, 3차 정제수를 사용하며 바탕시험 할 때 분석물질의 봉우리부근에 불순물 봉우리가 없는 것을 사용한다.

4.1.8 실리카겔

실리카겔(Silicagel, $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$)은 크로마토그래피용 70 메쉬 ~ 230 메쉬의 것으로 130 °C 4 시간 이상 건조 후 데시케이터에서 30 분간 방치하여 냉각한 것을 사용한다.

4.1.9 플로리실

플로리실(florisil)은 크로마토그래피용 60 메쉬 ~ 100 메쉬의 것으로 130 °C 4 시간 이상 건조 후 데시케이터에서 30 분간 방치하여 냉각한 것을 사용한다.

4.1.10 활성탄

활성탄(activated carbon, Darco G-60)은 크로마토그래피용으로서 60 메쉬 ~ 100 메쉬의 것으로 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 혼합표준원액(1,000 mg/L)

잔류농약시험용 이피엔($C_{14}H_{14}NO_4PS$), 파라티온($C_{10}H_{14}NO_5PS$), 메틸디메톤($C_6H_{15}O_3PS_2$), 다이아지논($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$), 펜토에이트($C_{10}H_{19}O_6PS_2$) 각 50 mg을 정확히 취하여 각각 50 mL 부피플라스크에 넣고 아세톤을 넣어 50 mL로 한다 (이 용액 1 mL는 유기인이 각각 1 mg을 함유한다).

4.2.2 혼합표준용액(100.0 mg/L)

100 mL 메스플라스크에 혼합 표준원액 10.0 mL를 넣고 아세톤을 넣어 100 mL로 한다(이 용액 1 mL는 유기인이 각각 100.0 μg 을 함유한다).

5.0 시료채취 및 관리

토양시료의 채취 및 보관은 ES 07130.c 시료의 채취 및 조제에 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. 유기인화합물이 없는 것으로 확인된 토양에 표 2의 정량한계 부근의 농도가 되도록 유기인화합물표준용액을 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. 측정한 정량한계는 표 2에서 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 20 % 이내이어야 하며 결정계수나 감응계수의 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재작성하도록 한다.

6.3.3 시료분석을 연속으로 수행할 경우에는 일주일에 1 회 검정곡선을 작성하고, 그 기간 중 검정곡선을 검증하기 위하여 매일 1 개의 표준용액(검정곡선 작성 중간농도)을 측정하여 검정인자(CF, calibration factor)를 구한다. 이 값이 초기 검정곡선 작성 시 구하여진 검정인자와 비교했을 때 편차백분율이 ± 20 % 이내일 때는 원래의 검정곡선을 이용하여 시료중의 농도를 정량하며, 편차백분율이 ± 20 % 이상일 때는 새로운 검정곡선을 작성하여야 한다. 이때 편차 백분율은 다음과 같이 구한다.

$$\text{편차백분율(\%)} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100 \quad (\text{식 } 1)$$

여기서, R_1 : 초기검정곡선의 $CF = \frac{\text{개별성분의 높이 또는 면적}}{\text{개별성분 주입량(ng)}}$ (식 2)

R_2 : 초기검정곡선 확인용 $CF = \frac{\text{개별성분의 높이 또는 면적}}{\text{개별성분 주입량(ng)}}$ (식 3)

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 추출

7.1.1.1 토양 시료 20 g을 100 mL 원심분리관에 넣고 1 N 염산용액 10 mL를 가하여 잘 혼합하여 섞고 다시 노말헥산 40 mL를 가하여 10 분간 격렬히 진탕하고 이것을 원심 분리한 후 헥산 층을 분액깔때기에 옮긴다. 다시 노말헥산 40 mL를 원심분리관에 가하고 위와 동일한 방법으로 조작하여 얻어진 헥산층을 250 mL 분액깔때기에 합한다.

7.1.1.2 헥산층을 정제수로 20 mL 씩 2 회 이상 씻어주고 소량의 크로마토그래프용 무수황산나트륨으로 탈수한 다음 탈지면 또는 건조여지로 여과하여 농축기의 플라스크에 옮긴다.

7.1.1.3 분액깔때기와 무수황산나트륨을 소량의 노말헥산으로 씻은 다음 위에서 사용한 여과장치로 여과하여 농축기의 플라스크에 합한다.

7.1.1.4 K.D. 농축기 또는 회전증발농축기를 40 °C 이하 감압상태에서 작동하여 헥산 층의 대부분을 증발시키고 실온에서 조심하여 질소를 불어넣어 잔류 헥산층을 모두 증발 건조시킨다.

[비고 2] 노말헥산으로 추출할 경우 메틸디메톤의 추출율이 낮아질 수도 있다. 이때에는 노말헥산 대신 디클로로메탄과 노말헥산의 혼합액(15:85)을 사용한다.

7.1.2 정제

7.1.2.1 추출조작에서 얻은 잔류물을 노말헥산 2 mL를 넣어 녹여 앞에서 준비한 정제 컬럼 중 하나를 선택하여 아래와 같이 수행한다.

7.1.2.2 이 액을 피펫으로 흡입하여 조심하여 컬럼의 상부에 넣고 노말헥산 2 mL로 농축기의 플라스크를 세척하여 같은 방법으로 컬럼의 상부에 넣는다. 컬럼하부의 콕크를 열고 액면이 무수황산나트륨의 상단에 이를 때까지 유출시켜 10 mL 눈금실린더에 받는다.

7.1.2.3 다음에 노말헥산 70 mL를 컬럼에 조심스럽게 넣어 콕크를 열고 매초 한방울의 속도로 유출시켜 수기의 액량이 5 mL가 되면 버리고 다른 100 mL 눈금실린더에 유출액

70 mL를 받는다.

7.1.2.4 유출액을 농축기에 옮기고 추출조작에서와 같은 방법으로 농축하여 용출액을 모두 휘산시킨다. 잔류물에 크로마토그래프용 아세톤 10 mL를 정확히 넣어 녹이고 시료 용액으로 한다.

[비고 3] 방해물질을 함유하지 않은 시료일 경우에는 정제조작을 생략하고 추출조작에서 얻어진 잔류물을 유기인 정제용 컬럼 용출액 일정량으로 녹여서 시험용액으로 한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 혼합표준용액(100.0 mg/L) 0.01 mL ~ 5.0 mL를 단계적으로 취하여 10 mL 부피 플라스크에 넣고 크로마토그래프용 아세톤을 넣어 표선까지 채운다. 단, 정량한계 이상 농도를 3 개 이상 포함하여야 한다.

7.2.2 이하 7.3과 같은 방법으로 측정하여 각 유기인의 농도(mg/L)를 가로축(x 축)에, 각 화합물에 해당하는 봉우리 면적을 세로축(y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

[비고 4] 봉우리의 면적 대신 봉우리의 높이를 사용할 수 있으나 봉우리 면적을 사용하는 것이 바람직하다.

7.3 측정법

7.3.1 추출물 1 μ L ~ 3 μ L를 취하여 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

7.3.2 크로마토그램으로부터 각 분석성분의 머무름시간(retention time)에 해당하는 봉우리로부터 면적을 측정한다.

8.0 결과보고

시료용액의 농도로부터 아래의 식을 사용하여 토양시료 중 유기인화합물의 농도를 계

산할 수 있다. 결과는 각 성분별 농도를 합산하여 유기인화합물의 농도로 표시한다.

$$\text{토양 중 유기인화합물의 농도(mg/kg)} = \sum \frac{C_1}{W_d} \times V \quad (\text{식 4})$$

여기서, C_1 : 검정곡선에서 얻어진 분석시료의 각 항목별 농도(mg/L)

V : 시험용액의 부피(여기서는 0.01 L)

W_d : 수분 보정한 토양시료의 건조중량(kg)

9.0 참고문헌

9.1 US EPA Method 614, 1982, The Determination Of Organophosphorus Pesticides In Industrial And Municipal Wastewater.

9.2 US EPA Method 507, 1989, Determination Of Nitrogen And Phosphorus Containing Pesticides In Water By Gas Chromatography With A Nitrogen Phosphorus Detector.

9.3 US EPA Method 8141A, 1994, Organophosphorus Compounds By Gas Chromatography: Capillary Column Technique.

9.4 Standard Method 6410, 2000, Extractable base/neutrals and acids.

9.5 KS I ISO 0031, 2017, 가스크로마토그래프의 분석을 위한 통칙.

9.6 KS I ISO 10382, 2005, 토양의 질 - 유기 염소계 농약과 폴리클로리네이티드비페닐 (PCBs) 측정 - 전자 포획 검출기 장착 가스 크로마토그래프 방법.

9.7 환경부, 2007, 폐기물공정시험방법-유기인.

9.8 환경부, 2008, 토양오염공정시험기준-유기인.

10.0 부록

표 1. 유기인화합물의 기체크로마토그래피 기기분석 조건 예

항 목	조 건
컬럼	Ultra-2 (Cross-linked 5 % phenylmethylsilicon, 30 m 길이 x 0.2 mm 안지름 x 0.33 μ m 필름두께)
운반기체 (유속)	헬륨 (1.0 mL/min)
분획비	1/10
주입구온도	300 $^{\circ}$ C
검출기 온도	280 $^{\circ}$ C
오븐온도	초기온도 초기시간 승온속도 최종온도 최종시간
	($^{\circ}$ C) (min) ($^{\circ}$ C/min) ($^{\circ}$ C) (min)
	50 3 10 300 5

표 2. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	각 항목별 0.05 mg/kg
검정곡선	결정계수(R^2) > 0.98 또는 감응계수(RF)의 상대표준편차 < 20 %
정밀도	상대표준편차가 30 % 이내
정확도	70 % ~ 130 %