

지방산류 - 고체상 미량추출 -

2022

기체크로마토그래피
(volatile fatty acid - SPME - GC method)

1.0 개요

1.1 목적

1.1.1 이 시험기준은 환경 대기 중에 존재하는 지방산의 농도를 측정하기 위한 시험기준이다.

1.1.2 알카리 함침 여과지법 및 알카리 수용액 흡수법을 시료채취 방법으로 하고 채취된 시료의 지방산 성분을 헤드스페이스법을 이용하여 휘발시켜 기체크로마토그래프를 사용하여 분석한다.

1.2 적용범위

환경 대기 중에 존재하는 지방산으로서 프로피온산, *n*-뷰틸산, *n*-발레르산, *i*-발레르산을 대상으로 하며 지정악취물질로서 시료는 부지경계선에서 채취한다.

1.3 “내용 없음”

2.0 용어 정의

2.1 헤드스페이스 (head space)

시료를 바이알에 넣고 일정 온도로 유지시킨 다음 바이알 안에서 고체나 액체상 시료 위 공간의 기체상과 상평형을 이룬 기체상 부분

2.2 알카리 함침 여과지

직경 47 mm의 (구멍 크기 0.3 μm) 유리 (glass) 재질이나 석영 재질의 여과지에 0.5 N 수산화포타슘 용액을 1 mL 가한 뒤 건조시킨 여과지

2.3 모세관 컬럼 (capillary column)

기체크로마토그래프에 사용되는 속이 빈 모세관 컬럼의 일종으로 내경이 0.25 mm ~ 0.75 mm의 것을 말한다. 정지상은 모세관 컬럼의 내벽에 도포되거나 화학 결합으로 고정되어 있다.

2.4 고체상 미량추출 (SPME)

일정한 두께로 흡착 코팅한 파이버와 일반적인 주사기를 변형한 모양으로 되어 있다. SPME 파이버는 carboxen/polydimethyl-siloxane (CAR/PDMS)이 75 μm ~ 85 μm 로 입혀진 파이버를 사용한다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래프

전처리 농축된 시료는 모세관 컬럼을 사용하여 분리할 수 있어야 한다. 검출기로서 질량분석기 (MS)를 갖고 있는 것이어야 한다.

3.2 헤드스페이스 바이알 (head space vial)

마개 뚜껑은 실리콘 재질 이어야 하며 부피 15 mL 바이알을 사용한다. 시료 접촉부 재질은 시료의 오염 방지를 위해 불소수지 (PTFE) 재질이어야 한다. 시료 기체의 누출 방지를 위하여 알루미늄 뚜껑으로 시료 용기를 밀봉한다.

3.3 시료채취장치

3.3.1 알카리 함침 여과지 시료채취장치

3.3.1.1 알카리 함침 여과지

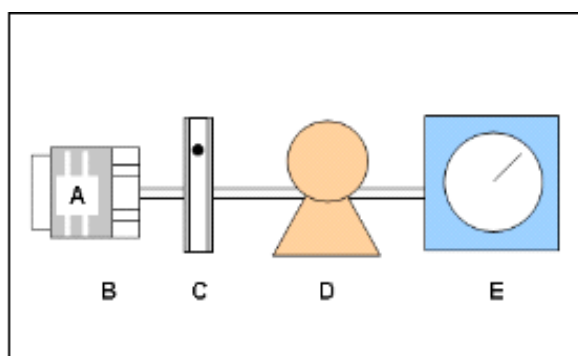
알카리 함침 여과지는 직경 47 mm의 유리 (glass) 재질이나 석영 재질의 것을 사용한다. 필터에 0.5 N 수산화포타슘 용액을 1 mL 가하여 함침시킨다. 이를 다시 제습 기능을 갖춘 건조 용기에서 5 시간 이상, 진공 오븐에서 80 ℃로 2 시간 이상 건조하여 완전 건조 여부를 확인한 뒤 사용한다. 건조된 여과지는 한 장씩 유리 혹은 플라스틱 페트리 접시에 담아 파라필름으로 밀폐한 후 냉장 보관한다.

3.3.1.2 알카리 함침 여과지 홀더

여과지 홀더는 직경 47 mm 알카리 함침 여과지에 맞는 크기의 것으로 2 단 여과지 홀더를 사용한다. 여과지 홀더의 재질은 알칼리에 부식되지 않는 것을 사용한다.

3.3.1.3 흡입 펌프

시료채취에 사용하는 흡입 펌프는 2 L/min ~ 20 L/min의 유량 범위를 갖는 것을 사용해야 하며, 흡입 유량의 안정성은 시료채취 동안 5 % 이내의 유속을 유지할 수 있어야 한다.



A: 알카리 함침 여과지, B: 2 단 필터 홀더, C: 유량계, D: 펌프, E: 가스미터

그림 1. 알카리 함침 여과지 시료채취장치

3.3.2 알카리 수용액 시료채취장치

이 방법은 흡수병 속의 흡수액에 기체가 채취되는 것을 이용하는 방법으로 채취장치는 그림 2와 같이 흡착관, 흡입 펌프 및 유량계로 구성한다.

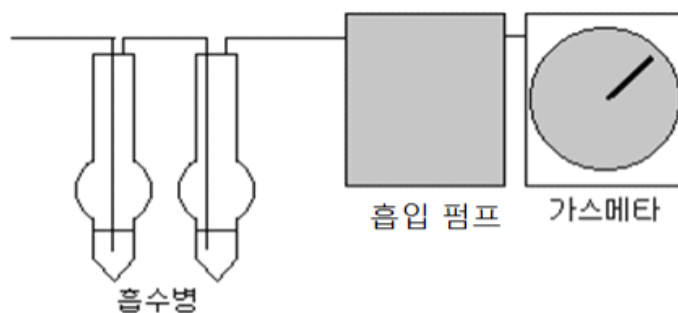


그림 2. 알카리 수용액 시료채취장치

3.3.2.1 흡수병

흡수병은 부피 200 mL의 경질유리 재질로 여과구가 장치되어 있는 것을 사용하고, 흡수병 안에 흡수액을 넣어 2 개를 직렬로 연결시킨 것이어야 한다. 흡수액과 기체가 통과하는 부분은 버블러 (bubbler) 형태로 사용하는 것을 권장한다.

3.3.2.2 흡입 펌프

시료채취에 사용하는 흡입 펌프는 1 L/min ~ 5 L/min의 유량 범위를 갖는 것을 사용해야 하며, 흡입 유량의 안정성은 시료채취 동안 5 % 이내의 유속을 유지할 수 있어야 한다.

3.3.2.3 유량계

유량계는 시료를 흡입할 때의 유량을 측정하기 위한 것으로 적산유량계 또는 순간 유량계를 사용한다. 사용하는 유량계는 정기적으로 유량 교정을 실시해야 한다.

3.4 헤드스페이스 - SPME 파이버 (fiber) 추출장치

3.4.1 헤드스페이스 바이알

불소수지/실리콘 재질의 고무마개 (septum)가 달린 15 mL 바이알을 사용한다.

3.4.2 고체상 미량추출 (SPME)

SPME 장치는 일정한 두께로 흡착 코팅한 파이버와 일반적인 주사기를 변형한 모양으로 되어 있다. SPME 파이버는 Carboxen/Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS)이 85 μm 으로 입혀진 파이버를 사용한다. 파이버는 사용 전에 기체크로마토그래프 주입구에서 250 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1 시간 가열하여 열세척을 한 후 사용한다.

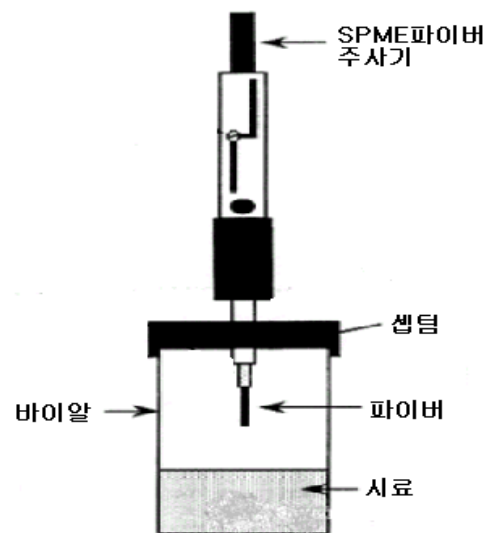


그림 3. 헤드스페이스 - 고체상 미량추출 장치 (HS - SPME)

4.0 시약 및 표준물질

4.1 시약

4.1.1 수산화포타슘 (KOH) 함침 용액

함침에 사용되는 용액은 특급 시약의 수산화포타슘을 정제수 (비저항 > 18 M Ω)에 녹여 0.5 N 로 조제하여 사용한다.

4.1.2 황산 (H_2SO_4)용액

97 % H_2SO_4 2 mL를 정제수에 용해시켜 100 mL로 맞추어 사용한다.

4.1.3 염산 (HCl)

35 % HCl로서 산 분해를 위해 pH 1 로 맞추는데 사용한다.

4.1.4 염화소듐 (NaCl)

시약의 불순물 제거를 위해 500 °C의 오븐에서 염화소듐을 12 시간 이상 가열처리 한다.

4.1.5 흡수액 조제

수산화소듐 (NaOH) 0.4 g을 정제수에 녹여 100 mL로 하여 0.1 N NaOH 수용액을 조제한다.

4.2 표준용액

4.2.1 고농도 표준용액

메틸알코올을 사용하여 중량법으로 조제하거나 조제된 혼합 표준용액을 사용한다.

4.2.2 저농도 표준용액

저농도 표준용액은 고농도 표준용액을 메틸알코올을 사용하여 단계별로 희석하여 사용한다.

4.2.3 메틸알코올

기체크로마토그래프에 주입하여 표준물질의 봉우리의 머무름 시간 (RT)에서 불순물 봉우리를 나타내지 않는 것이어야 한다.

5.0 시료채취 및 관리

시료채취지점은 배출구에서 측정하지 않는 한 배출구의 영향을 받지 않는 곳에서 측

정하고 측정지점과 배출구가 관계된 상황을 기록지에 기록한다. 강한 풍속, 나쁜 기상 상태 및 입자상의 영향을 방지하기 위해 보호막 (shelter)을 설치한다.

5.1 알카리 함침 여과지를 이용한 시료채취

5.1.1 2 단 필터 지지대에 알카리 함침 여과지를 2 단으로 설치한다. 그 뒤에 유량계와 흡입 펌프, 가스 미터의 순서로 시료채취장치를 연결한다.

5.1.2 유량계는 2 L/min ~ 20 L/min의 유량을 측정할 수 있어야 한다. 흡입 펌프는 알카리 함침 여과지를 2 단으로 필터 지지대에 설치한 상태에서 10 L/min으로 5 분 이내에 시료 기체를 알카리 함침 여과지에 채취한다. 시료채취가 완료된 여과지는 플라스틱 혹은 유리로 된 페트리 접시에 담아 밀폐한 후 분석 전 까지 냉장 보관한다.

5.2 알카리 수용액 흡수 방법을 이용한 시료채취

시료채취장치의 흡수병 속에 흡수액 10 mL씩 넣고 2 L/min의 유량으로 5 분간 시료를 흡입하여 채취한다.

6.0 정도관리/정도보증 (QA/QC)

6.1 분석기기의 설치 조건

6.1.1 설치 장소

설치 장소는 진동이 없고 분석에 사용되는 유해물질을 안전하게 처리할 수 있어야 한다. 이를 위해, 부식 기체나 먼지가 적고, 실온 5 °C ~ 35 °C, 상대습도 85 % 이하로서 직사광선이 쏘이지 않는 곳으로 한다.

6.1.2 전기 관계

전기 관계는 다음과 같은 조건을 갖추어야 한다.

6.1.2.1 공급 전원은 지정된 전력 용량 및 주파수이어야 하고, 전원 변동은 지정 전압의 10 % 이내로서 주파수의 변동이 없는 것이어야 한다.

6.1.2.2 전자기 유도는 대형 변압기, 고주파 가열로와 같은 것으로부터 전자기의 유도를 받지 않는 것이어야 한다.

6.1.2.3 접지 저항 10 Ω 이하의 접지점이 있는 것이어야 한다.

6.2 분석 전 준비

6.2.1 장치의 고정 설치 여부 확인

6.2.1.1 장치를 설치하고 기체류의 배관을 한 다음, 기체의 누출이 없는가를 확인한다. 이때 기체통은 화기가 없는 실외의 그늘진 곳에 넘어지지 않도록 고정하여 설치한다.

6.2.1.2 장치에 전원을 배선하고 접지점에 접지선을 연결한다. 또 필요한 부분의 배선을 확인한다.

6.2.2 모세관 컬럼의 부착 및 기체 누출시험

각 분석방법에 규정된 방법에 따라 조제된 모세관 컬럼을 장치에 부착한 후, 운반가스의 압력을 사용 압력 이상으로 올리고, 모세관 컬럼 등의 접속부에 누출시험을 하며 누출이 없음을 확인한다.

6.2.3 시료의 준비

분석하는 시료를 분석방법에 규정된 방법에 의하여 준비한다.

6.3 분석 결과의 기재

6.3.1 일반사항

6.3.1.1 시료채취일

6.3.1.2 시료채취자 명

6.3.1.3 시료채취 장소

6.3.2 분석조건

6.3.2.1 전처리 장비 : 전처리 방식, 온도 설정, 유로 구성 등

6.3.2.2 시료주입장치 : 시료주입장치의 종류와 특성을 명기한다.

6.3.2.3 시료 및 표준물질 주입량과 주입방법

6.3.2.4 기체크로마토그래프 분석조건을 명기. 모세관 컬럼의 종류 및 제원, 오븐의 조건, 유속, 유량, 검출기의 종류, 분할 조건

6.3.2.5 검출기 조건 및 검출 방식

6.3.3 분석 결과의 기재

6.3.3.1 성분의 확인 방법 : 표준물질 및 시료의 크로마토그램에서 각 봉우리의 머무름 시간과 분리도를 나타낸다.

6.3.3.2 표준물질 및 시료의 정량 결과를 나타낸다. 표준물질 및 시료의 분석 크로마토그램에서의 봉우리 적분량 결과와 표준물질의 검정곡선결과를 나타낸다.

6.3.3.3 시료의 측정결과 검정곡선에 따른 시료의 측정농도의 결과를 나타낸다.

6.3.4 정량법 : 표준물질의 종류 및 순도를 명기하고, 혼합물일 경우에는 농도 범위 및 조제방법을 명기한다.

6.4 내부정도관리 방법

6.4.1 방법검출한계 측정

방법검출한계 (MDL)를 결정하기 위해서는 검출한계에 다다를 것으로 생각되는 지방산 표준용액을 헤드스페이스 장치에 주입하여 7 번 반복 측정한 후 이 농도 값을 바탕으로 하여 얻은 표준편차에 3.14를 곱하여 구한다. 방법검출한계 값은 환경대기 중 프로피온산의 농도로 5 ppb 이하 이어야 한다.

6.4.2 정밀도 평가 및 검정곡선 작성

표준용액을 전처리 장치를 통하여 주입하고 기체크로마토그래프로 동일한 조건으로 3 회 반복 분석한 결과 크로마토그램의 봉우리의 적분 넓이와 머무름 시간의 정밀도를 확인한다. 분석 정밀도는 3 회 반복 분석의 상대표준편차로서 구하고 이 값은 500 $\mu\text{g/L}$ 의 농도에서 상대표준편차 (RSD)는 10 % 이내로 한다. 검정곡선의 결정계수는 프로피온산은 표준용액 200 $\mu\text{g/L}$ ~ 1 000 $\mu\text{g/L}$, *n*-뷰틸산, *n*-발레르산, *i*-발레르산은 표준용액 50 $\mu\text{g/L}$ ~ 1 000 $\mu\text{g/L}$ 범위에서 $R^2 = 0.98$ 이상 이어야 한다.

6.4.3 회수율 측정

표준용액을 전처리 장치인 헤드스페이스 바이알에 주입하여 기체크로마토그래프로 측정한 결과와 같은 양의 표준용액을 기체크로마토그래프에 직접 주입하여 얻은 결과값의 비를 측정하여 프로피온산으로서 회수율은 70 % 이상이어야 한다. 전처리 장치인 헤드스페이스에 500 $\mu\text{g/L}$ 의 프로피온산 표준용액을 주사기를 사용하여 바이알에 5 mL 넣고 (알카리 함침 여과지인 경우에는 여과지 1/4에 첨가함) 이하 각 시료채취 형태별로 “7.0 분석 절차”와 같이 한다.

6.4.4 시료채취용 펌프의 유량 보정

지방산의 정확한 농도를 분석하기 위해서는 현장에서 정확한 시료의 양이 필요하다. 그렇기 때문에 정확한 시료채취를 위해서는 시료채취용 펌프의 유량을 1 차 유량계로 교정하여야 한다. 1 차 유량계도 교정기관에서 주기적 교정을 받아 사용한다. 펌프의 유량교정은 시료를 채취측정지점으로 이동하기 전 오염물질이 없는 곳에서 실시한다. 흡입 펌프는 유량 1 L/min ~ 20 L/min으로 시료가 채취되는 일정시간 동안 유속 안정성은 5 % 이내를 유지할 수 있어야 한다.

6.4.5 정도관리 주기

내부정도관리 주기는 연 1 회 이상 측정하는 것을 원칙으로 하며 분석기기의 주요 부품 교체, 수리 분석자의 변경 시 등 수시로 한다.

6.4.6 정도관리 결과 보관

내부정도관리 측정결과 산출된 측정결과와 측정 시 얻어진 기초자료는 정도관리철에 같이 보관하여야 한다.

7.0 분석 절차

7.1 전처리

표준용액 및 분석용 시료의 분석은 다음과 같은 전처리 과정을 거쳐서 이루어진다.

15 mL 바이알에 알칼리염 형태로 녹아 있는 분석용 시료 또는 표준용액 5 mL를 넣고 포화 용액이 되도록 염화소듐 1.78 g을 넣은 후 염산 (HCl 35 % 수용액)을 넣어 pH 1로 맞추고 나서 테플론/실리콘 마개로 밀봉한다. 교반기를 이용하여 바이알내의 반응이 충분히 일어나게 하여 바이알 상층부 기체층으로 지방산이 균질한 상태로 분배되게 한다. SPME 파이버를 밀폐된 바이알에 꽂고, 액상시료 위의 상단부 기체 공간 (head space)에 15 분간 노출시켜 SPME 파이버에 흡착·농축되게 한다.

7.2 측정법

7.2.1 측정 원리

고체상 미량추출 (SPME)은 용매를 사용하지 않는 추출 방법이다. 용융 실리카 파이버 (fused silica fiber)에 코팅된 고분자 물질에 분석 성분을 흡착 농축한 후, 기체크로마토 그래프에서 탈착하여 목적 성분을 분리, 분석할 수 있게 되어 있다. SPME의 추출 기법은 두 과정으로 되어 있는데 한 과정은 코팅물 (흡착 정지상)과 시료 사이에서 분석 성분이 분배되는 과정이고, 또 다른 과정은 흡착된 분석 성분이 분석기기에서 탈착이

일어나는 과정이다. 본 실험은 알칼리 분해 과정에서 휘발된 아민 성분을 SPME를 이용하여 농축하고, 기체크로마토그래프에 주입하여 분석함으로서 모세관 컬럼을 사용하여 공기 중 지방산을 분석하는 방법이다.

7.2.2 기체크로마토그래프 분석

시료가 농축된 SPME 파이버를 바이알에서 꺼내고, 이를 240 °C로 가열된 기체크로마토그래프의 주입구 (injector)에 주입한다. 기체크로마토그래프에서 3 분 간 탈착시켜 분석한다. 1 회 분석이 끝날 때마다 SPME 파이버 (fiber)를 280 °C에서 10 분 동안 열세척 (baking)시켜 파이버 내에 미 탈착된 잔류 지방산을 제거한다.

표 1. SPME - 기체크로마토그래프 (질량분석기) 분석조건 (예)

분석기기	구성요소	분석조건
기체크로마토 그래프 (GC/MS)	컬럼	ECONO-CAP FFAP (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)
	컬럼 유량	2.0 mL/min
	오븐 조건	50 °C (2 분) → 10 °C/min → 200 °C
	주입부 온도	240 °C (split ratio 10:1)
	질량분석기 이온화부 온도	200 °C
	질량범위	33 amu ~ 350 amu
	SPME Fiber	85 μm Carboxen/PDMS
SPME	흡착시간	15 분
	탈착시간	3 분

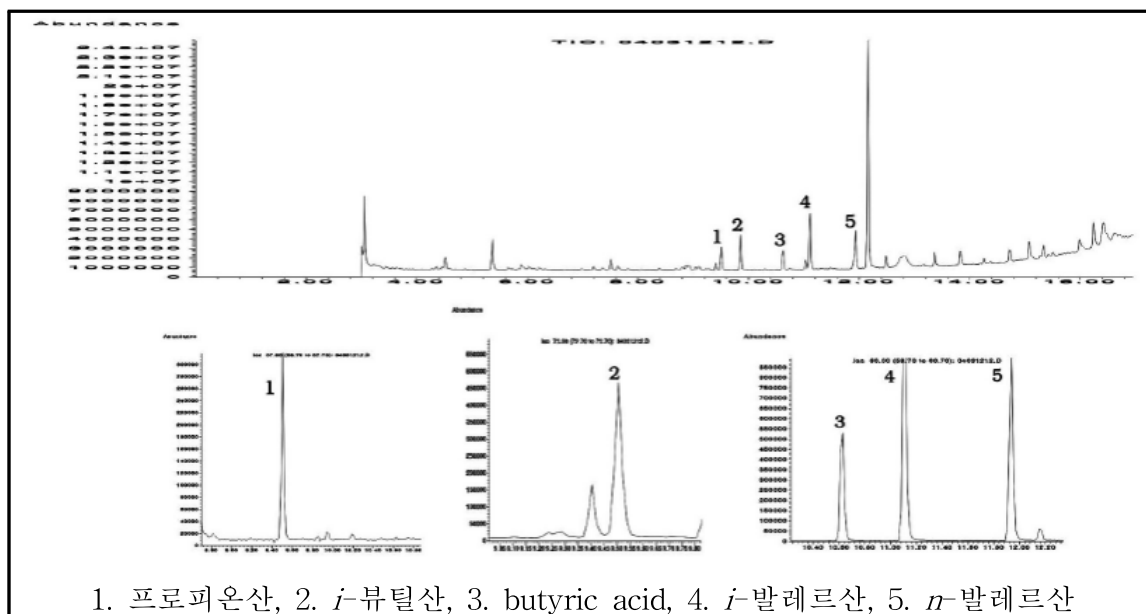


그림 4. SPME - 기체크로마토그래프 (질량분석기)

7.2.3 검정곡선의 작성

알카리 함침 여과지를 사용한 경우에는 표준용액을 일정 농도 범위 (예: 프로피온산 : 100 $\mu\text{g/L}$ ~ 1 000 $\mu\text{g/L}$, *n*-뷰틸산, *n*-발레르산, *i*-발레르산은 표준용액 50 $\mu\text{g/L}$ ~ 1 000 $\mu\text{g/L}$) 에 맞게 조제하여 알카리 함침 여과지 1/4 조각에 2 μL 주입 (spiking)한다. 알카리 수용액을 이용한 경우는 같은 양의 표준용액을 주입 한 뒤 “7.1”의 시료 전처리방법과 동일하게 전처리하여 분석한다. 준비한 표준용액을 분석하여 봉우리의 면적을 구하고 이를 이용하여 검정곡선을 작성한다.^[1]

8.0 결과보고

8.1 농도 계산

표준물질의 검정곡선에서 시료의 넓이값에 농도 ($\mu\text{g/L}$)를 구하고 다음 식에 의해 대기

[1] 검정곡선의 최저점이 시료 대기로 환산했을 때 배출허용기준보다 높으면 알카리 함침여과지 투입량을 1/4 이상 넣을 수 있다.

(표준상태 : 25 ℃, 1 기압) 중 지방산의 농도를 구한다.

$$C = \frac{m}{V_s} \times \frac{24.46}{M} \times \frac{1}{1\,000} \quad (\text{식 1})$$

여기서, C : 대기 중 지방산의 농도 (ppm : $\mu\text{mol/mol}$)
 m : 검정곡선에 의해 계산된 지방산의 양 (ng)
 V_s : 표준상태로 환산한 대기시료의 양 (L)
 M : 지방산의 분자량 (g/mol)

$$V_s = Q \times t \times \frac{298}{273 + T} \times \frac{P}{760} \quad (\text{식 2})$$

여기서, V_s : 표준상태로 환산한 대기시료의 양 (L)
 Q : 채취한 대기시료의 흡입속도 (L/min)
 t : 대기시료의 채취시간 (분)
 T : 시료채취 시 온도 (℃)
 P : 시료채취 시 압력 (mmHg)

$$m = C_x \times V_x \quad (\text{식 3})$$

여기서, m : 검정곡선에 의해 계산된 지방산 양 (ng)
 C_x : 검정곡선에 의해 계산된 지방산 농도 ($\mu\text{g/L}$)
 V_x : 시료흡수액의 전체부피 (mL)

8.2 분석 결과의 정리

분석 결과는 다음 사항을 정리 기재한다.

8.2.1 시험일

8.2.2 기기 명

8.2.3 조작자 명

8.2.4 시료 명 및 시료 주입량 (μL 또는 mL)8.2.5 운반가스의 종류 및 유량 (mL/min) 또는 유속 (cm/s)과 모세관 컬럼 입구 압력 (kg/cm^2)8.2.6 모세관 컬럼의 재질, 반지름 (mm) 및 길이 (m), 모세관 컬럼 온도 ($^{\circ}\text{C}$)8.2.7 시료 주입구 및 기타 필요한 부분의 온도 ($^{\circ}\text{C}$)

8.2.8 질량분석기 조작 조건

8.2.9 방법검출한계

8.2.10 결과의 표시

지방산류의 분석결과는 ppm 단위로 다음 표 2에 따라 표시한다.

표 2. 결과의 표시

(단위 : ppm)

물질명	결과 표시	유효자리 수	수치맺음 법
프로피온산	0.000	0.0000	KS Q 5002에 따름
<i>n</i> -뷰틸산	0.000	0.0000	
<i>n</i> -발레르산	0.0000	0.00000	
<i>i</i> -발레르산	0.000	0.0000	

8.3 기록 사항

채취 시료마다 채취 장소, 채취일, 여과지 번호, 채취 시작 및 종료 시간, 기타 성적에 참고가 될 만한 기상요소 (일기, 온도, 습도, 풍향, 풍속 등) 및 시료채취자의 성명을 기록해 놓는다.

9.0 참고자료

- 9.1 G.Manni and F.Caron, Calibration and determination of volatile fatty acids in waste leachates by gas chromatography, Journal of Chromatography A, Volume 690, Issue 2, 237-242, (1995).
- 9.2 A.Keshav, K.L.Wasewar, and S.Chand, Recovery of propionic acid from and aqueous stream by reactive extraction: effect of diluents, Desalination, Volume. 244, 12-23, (2009).
- 9.3 우진춘, 측정 및 분석 결과의 불확도(I) - 국제 규범(GUM)에 맞는 불확도 산출 및 표현, 한국분석과학회지, 13(2), pp. 19A-26A, (2000).

10.0 “내용 없음”