

유기인

2022

-용매추출/기체크로마토그래피
(Organophosphorus Pesticides-Liquid Extraction/Gas
Chromatography)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 물속에 존재하는 유기인계 농약성분 중 다이아지논, 파라티온, 이피엔, 메틸디메톤 및 펜토에이트를 측정하기 위한 것으로, 채수한 시료를 헥산으로 추출하여 필요시 실리카겔 또는 플로리실 컬럼을 통과시켜 정제한다. 이 액을 농축시켜 기체크로마토그래프에 주입하고 크로마토그램을 작성하여 유기인을 확인하고 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

이 시험기준은 지표수, 폐수 등에 적용 할 수 있으며, 각 성분별 정량한계는 0.0005 mg/L이다.

1.3 간섭물질

1.3.1 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 재질이 아닌 튜브, 봉합제 및 유속조절제의 사용을 피해야 한다.

1.3.2 높은 농도를 갖는 시료와 낮은 농도를 갖는 시료를 연속하여 분석할 때에 오염이 될 수 있으므로, 높은 농도의 시료를 분석한 후에는 바탕시료를 분석하는 것이 좋다.

1.3.3 실리카겔 컬럼 정제는 산, 염화페놀, 폴리클로로페녹시페놀 등의 극성화합물을 제거하기 위하여 수행하며, 사용 전에 정제하고 활성화시켜야 하거나 시판용 실리카 카트리지를 이용할 수 있다.

1.3.4 플로리실 컬럼 정제는 시료에 유분의 관찰 또는 분석 후 시료 크로마토그램의 방해성분이 유분의 영향으로 판단될 경우에 수행하며 시판용 플로리실 카트리지를 이용할 수 있다.

2.0 “내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래프 (gas chromatograph)

3.1.1 컬럼은 안지름 0.20 mm ~ 0.35 mm, 필름두께 0.1 μ m ~ 0.5 μ m, 길이 30 m ~ 60 m의 DB-1, DB-5 등의 모세관 컬럼이나 동등한 분리능을 가진 것을 택하여 시험한다.

3.1.2 운반기체는 순도 99.999 % 이상의 질소 또는 헬륨으로서 유량은 0.5 mL/min ~ 3 mL/min, 시료도입부 온도는 200 $^{\circ}$ C ~ 300 $^{\circ}$ C, 컬럼온도는 50 $^{\circ}$ C ~ 300 $^{\circ}$ C, 검출기온도는 270 $^{\circ}$ C ~ 300 $^{\circ}$ C로 사용한다.

3.1.3 검출기는 불꽃광도검출기 (FPD, flame photometric detector) 또는 질소인검출기 (NPD, nitrogen phosphorous detector)를 사용한다.

3.1.4 기체크로마토그래프 분석은 표 2와 같이 수행할 수 있다.

3.2 농축장치

구테르나다니쉬 (K.D.) 농축기 또는 회전증발농축기를 사용하거나 이와 동등 이상의 성능을 가진 것을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 노말헥산

노말헥산 (n-hexane, C_6H_{14} , 분자량 : 86.17)은 바탕시험 할 때 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.2 무수황산나트륨

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

4.1.3 실리카겔 (silicagel, $SiO_2 \cdot nH_2O$)

크로마토그램용 0.063 mm ~ 0.200 mm(70 mesh ~ 230 mesh)의 것을 사용한다. 실리카겔을 크로마토그래프용 노말헥산으로 씻은 다음 여과하여 비커에 넣고 층의 두께를 10 mm 이하로 하여 130 °C에서 4 시간 건조한 다음 데시케이터 안에서 30 분간 식힌다. 또는 시판용 실리카 카트리지 제품을 사용할 수 있다.

4.1.4 아세톤

아세톤 (acetone, CH_3COCH_3 , 분자량 : 58.09)은 바탕시험 할 때 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.5 염산

염산 (hydrochloric acid, HCl, 분자량 : 36.46, 함량 36.5 % ~ 38.0 %)은 바탕시험 할 때 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.6 염화나트륨

염화나트륨 (sodium chloride, NaCl, 분자량 : 58.44)은 바탕시험 할 때 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.7 플로리실 (florisil, MgSiO_3)

플로리실은 입경 $147\ \mu\text{m} \sim 246\ \mu\text{m}$ 로, $130\ ^\circ\text{C}$ 에서 3 시간 건조 후 데시케이터에서 30 분간 방치하여 냉각한 것 3 g을 비커에 넣고 크로마토그래프용 헥산 10 mL를 넣어 유리막대로 저으면서 기포를 제거한다. 또는 시판용 플로리실 카트리지를 사용할 수 있다.

4.2 표준용액

4.2.1 다이아지논 표준용액 (5 mg $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{PS}_2/\text{L}$)

다이아지논 (98.0 % 이상) 적당량을 정확히 취하여 크로마토그래프용 노말헥산으로 정확히 5 mg/L로 희석한다. 또는 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.2 파라티온 표준용액 (5 mg $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}\text{O}_5\text{PS}/\text{L}$)

파라티온 (98.0 % 이상) 적당량을 정확히 취하여 크로마토그래프용 노말헥산으로 정확히 5 mg/L로 희석한다. 또는 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.3 이피엔 표준용액 (5 mg $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}\text{O}_4\text{PS}/\text{L}$)

이피엔 (98.0 % 이상) 적당량을 정확히 취하여 크로마토그래프용 노말헥산으로 정확히 5 mg/L로 희석한다. 또는 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.4 메틸디메톤 표준용액 (5 mg $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_3\text{PS}_2/\text{L}$)

메틸디메톤 (98.0 % 이상) 적당량을 정확히 취하여 크로마토그래프용 노말헥산으로

정확히 5 mg/L로 희석한다. 또는 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.5 펜토에이트 표준용액 (5 mg C₁₂H₁₇O₄PS₂/L)

펜토에이트 (98.0 % 이상) 적당량을 정확히 취하여 크로마토그래프용 노말헥산으로 정확히 5 mg/L로 희석한다. 또는 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.6 혼합표준용액

4.2.1 ~ 4.2.5의 표준용액을 동일 비율로 혼합하여 검정곡선용 혼합표준용액을 제조한다.

5.0 시료채취 및 관리

ES 04130.1c 시료의 채취 및 보존 방법에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계 및 정량한계는 ES 04001.b에 따라 측정한다. 정제수에 정량한계 근처의 농도가 되도록 분석물질을 첨가한 시료를 7 개를 준비하여 각 시료를 7.0 분석절차와 동일하게 전처리·분석하여, 표준편차를 구한다.

6.1.2 표준편차에 3.14를 곱한 값을 방법검출한계로, 10을 곱한 값을 정량한계로 나타낸다. 측정한 방법검출한계는 시험방법에서 제시한 정량한계 이하이어야 한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

ES 04001.b에 따라 시료군마다 1개의 방법바탕시료를 측정한다. 방법바탕시료는 정

제수를 사용하여 7.0 분석절차와 동일하게 전처리·분석하며 측정값은 방법검출한계 이하이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선의 작성 및 검증은 정량범위 내의 3개 이상 농도에 대해 검정곡선을 작성하고 얻어진 검정곡선의 결정계수 (R^2)가 0.98 이상 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차가 20 % 이내이어야 하며 결정계수나 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재 작성하도록 한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 각 시료군마다 1회의 검정곡선 검증을 실시하는 것이 바람직하다. 방법검출한계의 5 배 ~ 50 배 또는 검정곡선의 중간 농도에 해당하는 표준용액을 측정한다. 측정값은 검정곡선 작성 시의 값과 20 % 이내에서 일치하여야 한다. 만약 이 범위를 넘는 경우, 검정곡선의 재작성이 요구된다.

6.4 정확도 및 정밀도

6.4.1 정확도 및 정밀도는 ES 04001.b에 따라 측정한다. 정제수에 정량한계의 1 배 ~ 5 배의 농도가 되도록 동일하게 표준물질을 첨가한 시료를 4 개 이상 준비하여, 7.0 분석절차와 동일하게 측정하여 평균값과 표준편차를 구한다.

6.4.2 정확도는 첨가한 표준물질의 농도에 대한 측정 평균값의 상대 백분율로서 나타내고 그 값이 75 % ~ 125 % 이내이어야 한다.

6.4.3 정밀도는 측정값의 상대표준편차 (RSD)로 산출하며 측정한 결과 25 % 이내이어야 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 변동사항이 생길 경우에는 다시 실시한다. 단, 장비의 청소 및 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 연

제든지 측정하여 확인하여야 한다.

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

6.5.3 각 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표 값은 표 1과 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 시료 500 mL를 1 L 분별깔때기에 취한 후, 염화나트륨 5 g을 넣어 녹인다. 염산을 이용하여 시료의 pH를 3 ~ 4로 조절한다.

7.1.2 여기에 크로마토그래프용 헥산 50 mL를 넣어 약 3분간 세게 흔들어 섞고 분리하여 수층을 다른 분별깔때기에 옮긴다. 수층에 다시 크로마토그래프용 헥산 25 mL 씩을 넣어 추출조작을 2회 이상 반복하고 헥산 층을 250 mL 분별깔때기에 합한다.

[주 1] 헥산으로 추출하는 경우 메틸디메톤의 추출율이 낮아 질수도 있다. 이때에는 헥산 대신 다이클로로메탄과 헥산의 혼합용액 (15 : 85)을 사용한다.

7.1.3 헥산 층을 크로마토그래프용 증류수 2 mL 씩으로 2 회 이상 씻어주고 소량의 크로마토그래프용 무수황산나트륨으로 탈수한 다음 탈지면 또는 건조거름종이로 여과하여 농축기의 플라스크에 옮긴다. 분별깔때기와 무수황산나트륨을 소량의 크로마토그래프용 헥산으로 씻은 다음 위에서 사용한 여과장치로 여과하여 농축기의 플라스크에 합한다.

7.1.4 전체 헥산층은 농축기를 수욕상의 40 ℃이하에서 약 5 mL가 될 때까지 농축한다. 농축액은 실온에서 조용히 공기 (또는 질소)를 송기하여 잔류 헥산 층을 휘발시킨다. 잔류물에 크로마토그래프용 헥산을 넣어 정확히 1 mL를 맞추고 시험 용액으로 한다.

7.2 정제

방해물질을 함유하지 않은 시료일 경우에는 정제과정을 생략할 수 있으며, 필요시 다음과 같은 정제 작업을 선택하여 수행할 수 있다.

7.2.1 실리카겔

7.2.1.1 안지름 10 mm, 길이 300 mm의 유리관 하부에 콕을 부착한 것으로 밑바닥에 탈지면 또는 유리섬유를 깔고 크로마토그래프용 헥산을 넣어 위까지 잠기도록 한다. 크로마토그래프용 실리카겔 4 g을 크로마토그래프용 헥산 10 mL를 넣어 유리막대로 저으면서 기포를 제거하고 관의 상부로부터 충전한다.

7.2.1.2 크로마토그래프용 헥산을 넣어 관의 내벽을 씻고 실리카겔층을 안정화시킨 다음 크로마토그래프용 무수황산나트륨 1 g을 넣어 실리카겔 층의 위를 덮는다. 다시 크로마토그래프용 헥산 소량으로 피펫을 사용하여 관의 내벽을 씻고 콕을 열어 헥산층이 무수황산나트륨의 상단에 이를 때까지 유하시킨다.

7.2.1.3 헥산추출에서 얻어진 농축액을 실리카겔 컬럼의 상부에 조용히 옮기고 콕을 열어 액면이 무수황산나트륨의 상단에 이르도록 한 다음 크로마토그래프용 헥산 2 mL 씩으로 플라스크 및 컬럼의 내벽을 수 회 씻어서 넣고 컬럼의 상부에 크로마토그래프용 헥산을 넣어 분별깔때기를 연결하여 컬럼과 분별깔때기의 콕을 열고 매초 한 방울의 속도로 유출시킨다.

7.2.1.4 유출액은 실리카겔 컬럼 용출실험에서 얻어진 유기인의 유출 범위량까지 받아 농축기의 플라스크에 옮기고 물증탕에서 액량이 5 mL 이하가 될 때까지 농축한다. 유출액은 실온에서 조용히 공기(또는 질소)를 송기하여 잔류 헥산 층을 1 mL 이하로 휘발시킨다. 잔류물에 크로마토그래프용 헥산 1 mL를 정확히 넣어 녹이고 시료용액으로 한다.

[주 2] 실리카겔 컬럼 용출실험은 다음과 같이 수행한다. 유기인 혼합 표준용액을 컬럼에 조용히 넣고 콕을 열어 액면이 무수황산나트륨의 상단에 이르도록 조절한다. 크로마토그래프용 헥산 2 mL로 컬럼의 내벽을 씻어준 다음 콕을 열어 액면을 조절하고 컬럼의 상부에 크로마토그래프용 헥산 300 mL를 넣은 분별깔때기를 연결하여 컬럼과 분별깔때기의 콕을 열고 매초 한 방울의 속도로 유출시킨다. 유출액을 10 mL단위로 시험관에 분취하여 각각 순서에 따라 일정량을 기체크로마토그래프에

주입하고 크로마토그램을 작성하여 유기인의 유출시점과 종료점을 확인한다.

7.2.2 플로리실

7.2.2.1 추출액에 유분이 존재할 경우에는 다음과 같이 플로리실 컬럼을 통과시켜 유분을 분리한다. 안지름 10 mm, 길이 300 mm의 유리관 하부에 콕을 부착한 것으로 밑바닥에 탈지면 또는 유리섬유를 깔고 플로리실 3 g을 크로마토그래프용 헥산에 침적시켜 충전하고 상부에 크로마토그래프용 무수황산나트륨을 넣고 소량의 헥산으로 안정화시킨다.

7.2.2.2 농축액을 플로리실 컬럼의 상부에 조용히 옮기고 콕을 열어 액면이 무수황산나트륨의 상단에 이르도록 한 다음 크로마토그래프용 헥산 2 mL 씩으로 플라스크 및 컬럼의 내벽을 수 회 씻어서 넣고 컬럼의 상부에 크로마토그래프용 헥산 100 mL를 넣어 분별깔때기를 연결하여 컬럼과 분별깔때기의 콕을 열고 매초 1 방울의 속도로 유출시킨다.

7.2.2.3 유출액은 농축기의 플라스크에 옮기고 7.2.1.4와 동일한 조작을 실시한다.

[주 3] 플로리실 컬럼 용출실험은 7.2.1.4와 동일하게 수행하여 유기인의 유출시점과 종료점을 확인한다.

7.3 분석방법

전처리에서 얻어진 시료용액 일정량을 미량주사기를 사용하여 기체크로마토그래프에 주입하고 크로마토그램을 작성하여 같은 조건에서 작성된 각 유기인 표준액의 크로마토그램과 비교한다.

7.4 검정곡선의 작성

7.4.1 표준용액 0.5 mL ~ 10 mL를 단계적으로 취하여 10 mL 부피플라스크에 넣고 기체크로마토그래프용 헥산을 넣어 표선을 채운 다음 일정량을 미량주사기를 사용하여 기체크로마토그래프에 주입하고 크로마토그램을 작성하여 각 성분의 양과 피크의 높이 또는 면적과의 관계식을 작성한다. 미리 작성한 검정곡선식으로부터 유기인의 양 (ng)을 구한 후, 각 성분별 농도 (mg/L)를 산출한다.

7.4.2 시료분석결과 검정곡선 농도범위를 벗어나면 시료를 희석하여 재분석하여야 한다.

8.0 결과보고

8.1 각 시료 별 크로마토그램으로부터 각 물질에 해당되는 피크의 높이 또는 면적을 측정한 후 다음의 식을 사용하여 농도 (mg/L)를 계산한다.

$$\text{농도 (mg/L)} = \frac{A_s \times V_f}{W_d \times V_i} \quad (\text{식 1})$$

여기서, A_s : 검정곡선에서 얻어진 유기인의 양 (ng)

V_f : 최종액량 (mL)

W_d : 시료의 량 (mL)

V_i : 시료의 주입량 (μL)

8.2 유기인의 결과는 각 성분별 농도를 합산하여 표시한다.

9.0 참고자료

9.1 Standard methods 6000, "Individual Organic compounds."(2005)

9.2 EPA-OSW 8141B "Organophosphorus Compounds in Water, Soil, and Waste Samples by GC-FPD"

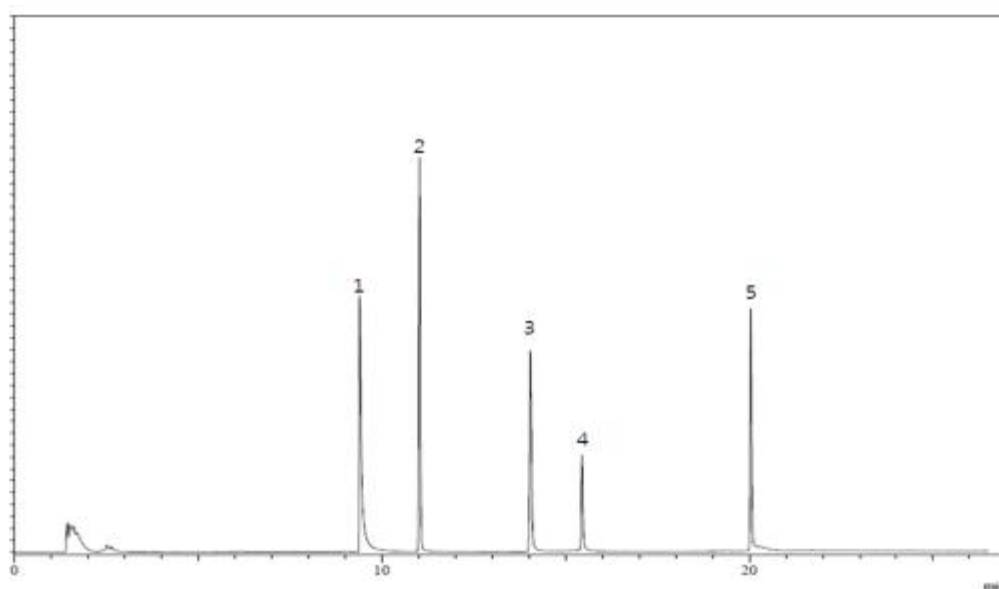
10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.0005 mg/L
검정곡선	결정계수 (R^2) > 0.98 또는 감응계수의 상대표준편차 20 % 이내
정밀도	상대표준편차가 25 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %

표 2. 유기인의 기체크로마토그래프 기기분석 조건 (예)

항 목	조 건
컬럼	DB-5 (30 m 길이 × 0.2 mm 안지름 × 0.33 μm 필름두께)
운반기체(유속)	헬륨 (1.0 mL/min)
분획비	1/10
주입구온도	250 °C
검출기 온도	FPD, 280 °C
오븐온도	초기온도 초기시간 승온속도 온도 승온속도 최종온도 최종시간
	(°C) (min) (°C/min) (°C) (°C/min) (°C) (min)
	70 2 20 200 5 280 5



1: 다이아지논, 2: 파라티온, 3: 펜토에이트, 4: 메틸디메톤, 5: EPN

그림 1. 유기인 크로마토그램 예 (FPD)