

과불화화합물-액체크로마토그래피-

2019

텐덤질량분석법

Perfluorinated Alkyl Substances (PFAS) - Liquid

Chromatography - Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS))

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 물속에 존재하는 과불화헥산술폰산 (perfluorohexane sulfonic acid, PFHxS), 과불화옥탄술폰산 (perfluorooctane sulfonate, PFOS), 과불화옥탄산 (perfluorooctanoic acid, PFOA)을 측정하는 방법으로 시료를 고상추출법 (SPE, solid phase extraction) 등 적절한 방법으로 전처리하여 액체크로마토그래피 - 텐덤질량 분석기 (LC-MS/MS)로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

이 시험기준은 하천수, 폐수 등에 적용할 수 있으며 정량한계는 0.005 µg/L 이다.

1.3 간섭물질

1.3.1 모든 유리기구에는 꼼꼼하게 세척해야 한다. 유리기구 세척은 세제로 씻은 후에 수돗물로 행구고 나서 정제수로 행군다. 부피를 측정하지 않는 유리기구의 경우에는 400 °C로 가열하거나 유기용매로 세척할 수 있다. 부피측정용 유리기구는 유기용매로 세척해야 하며, 120 °C 이상 가열하여서는 안된다. 세척한 유리기구는 보관할 때 거꾸로 두거나 마개를 닫아둔다. 과불화화합물이 알루미늄 호일에서 유리기구로 전달될 수 있으므로 보관할 때 알루미늄 호일 사용을 피한다. 분석대상물질이 유리 표면에 흡착될 수 있으므로 과불화화합물 표준물질, 추출액과 시료 등은 유리재질의 용기나 피펫 등을 이용하지 말아야 한다. 구입한 표준용액이나 내부표준용액 등이 담겨 있는 유리용기 (앰플)는 허용되지만 회

석할 때에는 폴리프로필렌 재질 또는 흡착이 일어나지 않는 재질로 확인된 용기를 이용하여야 한다.

1.3.2 방해물질들은 용매에 포함된 오염물질, 시약 (HPLC급 정제수 포함), 시료 용기와 뚜껑, 다른 시료처리 기구에서 비롯할 수 있으며 이들이 크로마토그램의 바탕선을 상승시킨다. 이 방법에 의한 분석대상물질은 일반적인 실험실 용품이나 장비, 예를 들면, 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 제품, 액체크로마토그래프 (LC) 이동상 튜빙, 메탄올, 알루미늄 호일, 고체상추출 (SPE) 시료 이송 라인 등에서도 발견될 수 있다. 이와 같이 오염 가능성이 있는 모든 용기나 기구는 정기적으로 검사하여 방해물질이 실험실 바탕시료 수준 이하로 존재하도록 하여야 한다.

1.3.3 매트릭스 방해물질은 시료에서 분석대상물질과 같이 추출된 오염물질에 의해 나타난다. 매트릭스 방해물질의 정도는 수질시료의 종류에 따라 상당히 변할 수 있다. 휴믹산이나 펠빅산이 고체상추출 과정에 같이 추출될 수 있고 높은 농도의 경우에는 이온화 소스에서 대상 화합물의 이온형성을 감소시킬 수 있으며 고체상추출의 회수율을 감소시킬 수 있다. 총유기탄소 (TOC) 농도를 측정함으로써 시료에 포함된 휴믹물질의 함량을 판단할 수 있는 지표로 사용할 수도 있다.

1.3.4 상대적으로 많은 양의 시약이 시료에 첨가되는데 이들 시약에서 미량의 오염물질이 포함될 수 있다. 시약을 새로 구입하게 되면, 시약바탕시료 분석을 실시한다.

1.3.5 고체상추출 용기도 방해물질의 원인이 될 수 있다. 현장 바탕시료와 실험실 바탕시료를 분석하면 이러한 방해물질의 존재여부를 검사할 수 있다. 사용하는 고체상추출 용기의 제조사와 제조번호에 따라서도 달라질 수 있으므로 확인하는 것이 좋다.

2.0 용어정의

2.1 표준원액

표준원액은 액상의 순수 표준시약 (pure reference materials)으로서 단일 또는 몇 가지 물질을 유기용매에 용해시킨 고농도의 표준용액 (stock solution)을 말한다.

2.2 표준용액

표준용액 (standard mixture solution)은 검정곡선 표준용액과 내부표준용액을 만들기 위한 표준혼합용액을 말하며 분석대상 물질 혹은 내부표준 물질의 표준원액을 혼합, 희석하여 조제한다.

2.3 검정곡선 표준혼합용액

동위원소 희석법에 의한 검정곡선 표준혼합용액 (calibration standard solution)은 분석대상 물질 (PFOA, PFOS, PFHxS)을 농도별로 조제한 용액에 동위원소 치환 내부표준 물질 ($^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$, $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$, $^{18}\text{O}_2\text{-PFHxS}$)이 일정농도가 되도록 혼합 조제한 것으로, 분석대상물질에 대한 기기의 감응도 평가를 위한 검정곡선 작성에 이용한다.

2.4 동위원소 치환 내부표준물질

동위원소 치환 내부표준물질은 동위원소로 치환된 물질로 만들어진 표준물질 ($^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$, $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$, $^{18}\text{O}_2\text{-PFHxS}$)로 동위원소희석법에 의한 정량방법에 사용된다.

2.4.1 정제용 동위원소 치환 내부표준물질

정제용 내부표준물질은 분석하고자 하는 물질과 유사한 화학적 구조나 화학적 성질을 가지며 시료 매질 중에서는 발견되지 않는 유기화합물로 분석방법의 신뢰성을 확인하기 위해 시료처리나 추출 이전에 첨가하여 사용한다. 본 시험방법에서는 정량분석을 위한 내부표준물질로 $^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$, $^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$, $^{18}\text{O}_2\text{-PFHxS}$ 를 전처리 단계에서 주입하여 사용한다.

2.4.2 실린지첨가용 내부표준물질

실린지 첨가용 내부표준물질은 분석하고자 하는 물질과 유사한 화학적 구조나 화학적 성질을 가지며 시료 매질 중에서는 발견되지 않는 유기화합물로 분석방법의 재현성 및 정확성을 알아보기 위해 시료전처리 후 기기분석 이전에 첨가하여 사용한다. 본 시험방법에서는 회수율을 확인하기 위하여 $^{13}\text{C}_8\text{-PFOA}$, $^{13}\text{C}_8\text{-PFOS}$ 를 기기분석 이전에 첨가하여 사용한다.

2.5 고체상추출법

고정상으로 사용되는 고체상 흡착제는 분자간 상호작용에 따라 극성, 비극성, 이온성 등이 있으며, 주로 실린지형 카트리지 또는 평면형 디스크로 상용화되어 있다. 카트리지 또는 디스크를 이용한 고체상추출법은 비교적 소량의 용매를 이동상으로 사용하므로 신속·간편하게 분석대상물질과 불순물을 분리할 수 있다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 시료용기

시료용기는 폴리프로필렌 재질의 나선형 뚜껑이 있는 1 000 mL 폴리프로필렌 일회용 용기, 4 mL 폴리프로필렌 용기, 원심분리관, 또는 폴리프로필렌 재질의 스크류 뚜껑이 있는 폴리프로필렌 자동시료주입기 용기를 사용한다.

[주 1] 일반적으로 액체크로마토그래피용 바이알 뚜껑에 있는 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 재질은 오염의 원인이 될 수 있다.

3.2 부피플라스크

폴리프로필렌 재질의 부피플라스크를 이용한다.

3.3 여과지

Glass fiber filter (GF/F)를 이용한다.

3.4 pH 종이 (pH 범위 1~14)

3.5 분석용 저울

0.0001 g까지 정확하게 달 수 있는 저울을 사용한다.

3.6 시료농축장치

고체상추출법으로 추출한 시료를 농축하기 위해 질소를 이용한 농축장치나 감압에 의한 농축장치를 사용한다.

3.7 고체상 추출장치

3.7.1 고체상추출 (SPE) 카트리지

폴리머 또는 코폴리머 재질의 카트리지 (Oasis WAX, 150 mg/6 cc 또는 동등 이상)를 이용한다.

- Styrenedivinylbenzene (SDVB) 흡착제를 함유한 Varian 1225-5021 또는 동등 이상의 제품
- Oasis WAX 또는 동등 이상의 제품
- Oasis HLB 또는 동등 이상의 제품

3.7.2 SPE 추출장치

일반적으로 SPE 추출에 사용하는 매뉴얼 타입의 매니폴더 (manifold)를 사용하거나, 자동화된 SPE 추출장치를 사용할 수 있다.

3.8 액체크로마토그래프-텐덤질량분석기

3.8.1 일정 용량의 시료를 반복적으로 주입할 수 있어야 하며, 농도 기울기 조절이 가능하고 분석 용량을 일정하게 유지할 수 있는 이단 (binary) 펌프 이상의 시스템이 요구된다. 액체크로마토그래프 시스템은 오염의 원인이 될 수 있는 기포 제거장치 (degasser)가 없이도 용매를 일정하게 조절할 수 있어야 한다.

3.8.2 LC-MS/MS

액체크로마토그래프 (LC)에서 분석하는 용량 근처에서 음이온 전자분사 이온화 (ESI)가 가능한 장비이어야 한다. 적절한 정밀도를 유지하기 위해서 크로마토그램 상의 피크당 10회 이상의 스캔을 할 수 있어야 한다.

3.8.3 권장 컬럼

적절한 분해능, 피크 모양, 정확도 및 정밀도를 가지는 역상 C₁₈ 액체크로마토그래프용 컬럼 (150 mm Length × 2.0 mm I.D., 3 µm particle size 또는 동급 이상)을 사용한다.

3.8.4 이동상

이동상은 과불화화합물 분리에 적절하도록 선택한다. 이동상 A는 5 mM 초산암모늄이 포함된 정제수, 이동상 B는 메탄올 또는 아세토나이트릴 등 적당한 용매를 이용하여 분리하고 방해물질과 분석대상물질의 피크 분리에 효과적인 기울기 용리법 (gradient elution mode)을 이용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 정제수

HPLC급 이상의 정제수를 이용하여야 한다. 분석대상물질의 피크가 검출한계의 1/5 이상 검출되지 않아야 한다. 실험실에서 제조된 3차 정제수의 경우 제조 시 18 MΩ 이상의 저항값을 유지하도록 관리해야 하며, 바탕시료 및 시료의 전처리 및 분석에 이용하기 전에 고체상추출용 카트리지를 통과시켜야 한다.

4.1.2 유기용매 (메탄올, 아세토나이트릴)

고순도 (HPLC용) 이상의 메탄올 및 아세토나이트릴을 이용하여야 한다. 신규로 구입하였을 경우에는 방해물질의 존재여부를 검사하여야 한다.

4.1.3 초산암모늄 (NH₄C₂H₃O₂, CAS# 631-61-8), 초산 (CH₃COOH, CAS# 64-19-7), 수산화암모늄 (NH₄OH, CAS# 1336-21-6)

고순도를 사용하여야 하며, 사용하기 전에 방해물질이 없음을 검사하여야 한다.

4.2 질소기체

탠덤질량분석기 (MS/MS) 장비에서 이온분사 및 충돌, 커튼가스 (Curtain gas)의 역할로 이용되며, 시료의 전처리과정에서 농축에 이용될 수 있다.

4.3 표준용액

4.3.1 동위원소 치환 내부표준물질

본 분석법에서는 3종의 ^{13}C 로 치환된 과불화화합물에 대한 내부표준물질을 이용한다. 이 물질들은 동위원소희석법에 의한 검정곡선의 작성과 시료의 전처리 전에 첨가하여 추출효율을 보정하는 데 이용되므로 가능한 다양한 종류의 동위원소 치환 내부표준물질을 이용하는 것이 좋다.

4.3.2 분석대상 표준물질

분석대상 표준물질은 제조나 판매사로부터 용액 상으로 앰플에 담겨진 것이나 순수한 물질로 된 제품을 구입하여 이용한다.

5.0 시료채취 및 관리

ES 04130.1e 시료의 채취 및 보존 방법에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계 확인

ES 04001.b에 따라 측정한다. 측정한 정량한계는 시험방법에 제시한 값 이하이어야 한다.

6.2 정확도 및 정밀도

6.2.1 정확도 및 정밀도는 ES 04001.b에 따라 측정한다. 저농도 시료에 동일하게 표준 물질을 적당량 (5~20 ng) 첨가한 시료를 4개 이상 준비하여, 7.0 분석절차와 동일하게 측정하여 평균값과 표준편차를 구한다.

6.2.2 회수율은 실린지 첨가용 내부표준물질인 동위원소가 8개 치환된 $^{13}\text{C}_8$ -PFOA, $^{13}\text{C}_8$ -PFOS로 보정하며 $^{13}\text{C}_4$ -PFHxS는 60 ~ 120 %, $^{13}\text{C}_4$ -PFOS, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA는 70~125 %의 범위를 만족하여야 하며 정제용 내부표준물질에 대한 회수율은 시료분석 결과에 대한 신뢰성 검토를 위해 시료분석 결과와 함께 제시되어야 한다.

6.3 바탕시료의 측정

6.3.1 ES 04001.b에 따라 시료군마다 1개의 방법바탕시료 (method blank)를 측정한다. 방법바탕시료는 정제수를 사용하여 7.0 분석절차와 동일하게 측정하며 측정값은 방법 검출한계 이하이어야 한다.

6.4 검정곡선의 작성 및 검증

검정곡선 작성을 위해 정제수 (HPLC급)에 표준용액을 농도에 맞게 첨가하여 시료분석과 같은 방법으로 전처리하여 분석한다. 검정곡선은 정량범위 내 5 ~ 8개의 농도로 시료군마다 작성한다. 시료 10개 당 검정곡선의 중간농도에 해당하는 표준용액을 비교 측정하여 당초 중간농도 검정곡선에서의 값과 비교하여 ± 20 %를 벗어나면 재시험한다.

6.5 방법바탕시료의 측정

방법바탕시료는 실제시료와 동일한 방법으로 전처리·분석되어야 하며 측정값은 검출한계 이하이어야 한다. 시료군 (batch)마다 1개의 방법바탕시료를 측정한다.

6.6 실험실 내부정도관리

분석 정량한계와 정밀도, 정확도를 연 1회 이상 실시하는 것을 원칙으로 하며, 분석장비의 주요부품 수리·교체, 분석자 변경 등 내부정도관리가 필요한 경우 수시로 실시하고 그

결과를 정도관리기록부에 보관하여야 한다.

7.0 분석절차

7.1 시료의 준비

7.1.1 하천수의 경우 각 시료 (채취 지점별 또는 혼합 시료)는 잘 섞어 균일하게 만든 다음 시료 적당량 (예 : 250~500 mL)을 사용한다.

7.1.2 하·폐수처리장 시료는 각 시료 (채취 지점별 또는 혼합 시료)를 잘 섞어 균일하게 만든 후 100 mL을 따로 분리하여 해당 시료의 pH와 부유물질 (SS)을 측정한다. 이때 부유물의 농도는 여과 또는 원심분리를 이용하여 측정한다. 약 100 mL의 혼합시료를 무게가 재어진 튜브 (tube)에 담은 후, 이를 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 시킨다. 상등액을 버리고 남은 부유물을 70 °C에서 건조시킨 후 함량이 유지되면 그 무게를 측정한다.

7.1.3 하·폐수처리장 시료 적당량을 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 시켜 상등액과 부유물을 분리한다. 상등액은 고체상추출법 (SPE)을 통해 추출하기 전까지 냉동 보관한다.

7.2 전처리

7.2.1 각각의 시료 (원액 또는 여과액)에 내부표준물질 혼합액 적당량 (예 : 5 ng)을 주입하여 고체상추출 방법으로 추출한다.

7.2.2 시료를 여과 (예: glass fiber filter)하여 내부표준물질 혼합액 적당량을 주입하고, 고체상추출 방법으로 추출하는 경우에는 부유물질에 대한 과불화화합물 농도를 함께 평가한다.

7.2.3 고체상을 유기용매와 물을 사용해서 활성화 시키고, 7.2.1에서 준비된 시료를 10 ~ 15 mL/min의 유속으로 카트리지를 통과시킨다. 시료 적재가 끝난 후 카트리지를 세척한다. 진공 매니폴더의 뚜껑을 열고 추출용액을 담은 15 mL 폴리프로필렌 재질의

원심분리관을 넣는다. 5 mL의 메탄올 (0.1 % 암모니아 포함 용액)을 카트리지에 통과시켜 분석대상물질을 용출시킨다. 5 mL의 메탄올 (0.1 % 암모니아 포함 용액) 용액을 이용하여 다시 용출시킨다.

7.2.4 용출된 시료는 질소기체를 이용한 농축장치나 감압농축장치를 이용하여 최종 부피가 0.5 mL 이하가 되도록 농축시킨다. 메탄올을 첨가하여 최종부피가 0.5~1 mL가 되도록 한 다음 실린지 첨가용 내부표준물질을 적당량 (예 : 5 ng)을 주입한다.

단, 장비에 시료를 주입하기 전에 나일론 필터를 사용하는 경우 나일론 필터에 의한 과불화화합물의 손실률을 확인하여야 한다.

7.3 기기 분석

7.3.1 LC-MS/MS 기기분석 방법은 각 분석대상물질별로 모분자 (Q1) 이온과 생성이온 (Q3)을 결정하고 적절한 질량분석조건을 확립한 후 다중반응모드 (MRM) 방법으로 분석한 후 정량이온의 머무름 시간과 면적비를 검사하여 각 물질들을 확인한 다음 동위원소희석법으로 정량한다. 화합물의 분리가 잘되고 감도가 최적화되도록 액체크로마토그래프의 조건을 결정하고, 이 최적의 조건을 사용하여 분석에 사용하는 모든 시료 (표준용액, 바탕시료, 실제시료)에 대해 동일하게 적용해서 사용한다.

7.3.2 바탕시료에 표준물질을 첨가하여 시행한 추출 효율성 실험을 통해 얻어진 최적 전처리 조건에 따라 실제시료를 처리한다. 이때 각 시료에 내부 표준물질을 일정 농도로 첨가 한 후 앞과 동일한 실험과정을 통해 처리된 시료를 액체크로마토그래프에 주입한다.

7.4 검정곡선 작성

동위원소희석법에 의한 “검정곡선 표준용액 (calibration standard solution)”은 분석대상물질을 농도별로 조제한 용액에 동위원소 치환 내부표준물질이 일정농도가 되도록 혼합조제한 것이며, 분석대상물질에 대한 기기의 반응도 평가를 위한 검정곡선 작성에 이용한다.

시료를 분석하기 전에 5단계 이상의 검정곡선 작성용 표준용액을 분석하여 각 선택이온에 대한 크로마토그램을 작성하여 각 표준물질의 면적과 이에 대응하는 동위원소 치환 내부표준물질의 피크 면적으로부터 상대감응계수 (RRF)를 구한다. 아래 식에 의해 상대감

응계수 (RRF)를 얻을 수 있다.

$$\frac{\text{상대감응계수}}{(RRF)} = \frac{A_{I_n}}{A_{I_S}} \times \frac{(C_{I_S})}{(C_n)} \quad (\text{식 1})$$

여기서, A_{I_n} : 표준물질의 선택이온의 피크 면적

A_{I_S} : 정량용 표준물질에 첨가된 내부표준물질의 선택이온의 피크 면적

C_{I_S} : 정량용 표준물질에 첨가된 내부표준물질의 농도

C_n : 정량용 표준물질의 농도

상대감응계수 (RRF)값을 구한 다음, 아래 식과 같이 평균 상대감응계수 ($RRF_{avg.}$)를 구하고, 이로부터 표준편차 및 상대표준편차 (RSD)를 계산한다.

$$RRF_{avg.} = \frac{\sum_{i=1}^n}{n}, \quad SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (RRF_i - RRF_{avg.})^2}{n-1}}, \quad RSD = \frac{SD}{RRF_{avg.}} \times 100 \quad (\text{식 2})$$

농도별 상대감응계수 값에 대한 상대표준편차 (RSD)가 $\pm 15 \%$ 이내인 경우는 평균 상대감응계수를 사용하여 시료를 정량하고, $\pm 15 \%$ 를 초과하면 모든 검정곡선 표준용액을 다시 측정하여 새로운 평균 상대감응계수를 구하여야 한다. 분석 종료 후, 검정곡선의 중간농도에 해당하는 표준용액을 비교 측정하여 당초 중간농도 검정곡선 상대감도계수의 상대표준편차가 $\pm 20 \%$ 를 벗어나면 재시험한다.

7.5 시료분석결과

7.5.1 정성분석

7.5.1.1 각 분석대상 물질별 정량이온 (Q1, Q3)이 정해진 머무름 시간에서 나타나야 한다. 다중으로 선정된 생성이온 (product ion) 중 분석대상 물질에 대한 방해물질이 적고 감도가 큰 이온을 정량이온으로 선정하고 다른 이온을 확인이온으로 선정하여 두 이온의 피크 면적비가 표준물질 분석에서 나타난 값과 유사할 경우 분석대상물질로 확정할 수 있다. 방해물질이 적은 일반적인 시료 분석에서는 문제가 되지 않으나 폐수 또는 방류수 시료와 같이 다양한 방해물질이 존재할 경우에는 개별 크로마토그

램을 확인한 후 정량하여야 한다.

7.5.2 정량분석

7.5.2.1 피크면적 적분

분석장비 프로그램에 내장된 소프트웨어를 이용하여 정량분석에 이용한다. 검출된 모든 피크의 적분을 모분자이온 (Q1)>생성이온 (Q3)과 머무름 시간 (RT) 및 다양한 적분을 위한 변수를 포함하는 하나의 정량방법에 의해 정량하는 것이 이상적이다. 하지만, 방해물질의 존재 피크 모양의 뒤틀림 등이 나타나면 정해진 변수에 의해 제대로 적분되지 않을 수 있다. 피크 모양 자체가 방해물질과 섞여서 구별할 수 없을 때에는 재분석하도록 하고 정성분석에서 확실한 피크를 적분하지 않았을 때에는 수동으로 적분하도록 한다.

7.5.2.2 시료 농도의 계산

정량은 검출된 분석물질과 동위원소 치환 내부표준물질의 상대비율로 정량하는 동위원소희석법으로 한다. 농도계산 방법은 다음 식과 같다.

$$C = \frac{AI_s}{AI_{IS}} \times \frac{(I_{IS})}{(RRF_{avg.})} \times \frac{I}{W} \quad (\text{식 3})$$

여기서, C : 시료 중 농도 (pg/m³ 또는 ng/m³, ng/L, ng/g)

AI_s : 시료에 함유된 이성체의 선택이온의 피크 면적

AI_{IS} : AI_s에 대응하는 시료에 첨가된 내부표준물질의 선택이온의 피크 면적

I_{IS} : 시료에 첨가된 내부표준물질의 양 (pg 또는 ng)

RRF_{avg.} : 평균 상대감응계수

W : 시료량 (L)

7.5.2.3 내부표준물질의 회수율 계산

정제용 내부표준물질에 대한 회수율은 실린지 첨가용 내부표준물질을 이용하여 구한다.

검정곡선 자료를 이용하여 실린지 첨가용 내부표준물질에 대한 정제용 내부표준물질의 상대감응계수 (RRF_{IS})를 다음과 같이 계산한다.

$$RRF_{IS} = \frac{AI_{IS}}{AI_{RS}} \times \frac{(C_{RS})}{(C_{IS})} \quad (\text{식 4})$$

여기서, AI_{IS} : 정제용 표준물질의 선택이온의 피크 면적

AI_{RS} : 실린지 첨가용 내부표준물질의 선택이온의 피크 면적

C_{RS} : 실린지 첨가용 내부표준물질의 농도

C_{IS} : 정제용 표준물질의 농도

계산된 내부표준물질의 상대감응계수, RRF_{IS} 값과 시료분석 자료를 이용하여 다음과 같이 계산한다.

$$\text{회수율 (\%)} = \frac{AI_{IS}}{AI_{RS}} \times \frac{1}{RRF_{IS}} \times \frac{(C_{RS})}{(C_{IS})} \times 100 \quad (\text{식 5})$$

여기서, AI_{IS} : 정제용 표준물질의 선택이온의 피크 면적

AI_{RS} : 실린지 첨가용 내부표준물질의 선택이온의 피크 면적

C_{RS} : 실린지 첨가용 내부표준물질의 농도

C_{IS} : 정제용 표준물질의 농도

RRF_{IS} : 내부표준물질의 상대감응계수

7.5.2.4 시료의 재분석

만약 시료 중 대상물질의 농도가 검정곡선의 정량 범위를 벗어날 경우, 시료를 묽혀서 정량 범위 내에 들어오도록 하여 다시 분석해야 한다. 또한, 내부표준물질의 피크면적이 시료군 평균보다 50 % 이상 차이를 보이면 다시 분석해야 한다.

8.0 결과보고

8.1 시료채취 관련자료

시료목록, 시료번호, 시료채취 일자, 시료채취 장소, 시료채취 방법, 시료채취 양, 시료의 운반과 보관 방법 등을 기록, 보관한다.

8.2 분석방법 자료

분석일자, 시료량, 추출과정, 농축과정, 농축량, 분석기기 및 조건, 사용한 표준원액 등에 대한 자료를 기록, 보관한다.

8.3 분석결과자료

8.3.1 검정곡선 작성, 질량 검정, 표준원액 및 바탕시료의 크로마토그램을 분석시료의 크로마토그램과 함께 기록, 보관한다.

8.3.2 방법검출한계, 정량한계 및 산출근거를 보고한다.

8.3.3 분석결과 농도 및 회수율을 보고한다.

8.4 결과보고 양식

8.4.1 시료 분석결과 실측농도는 $\mu\text{g/L}$ 로 표기한다.

8.4.2 모든 농도결과는 정량한계를 적용하여 나타내고 정량한계 미만은 불검출 (N.D.)로 표시하고 정량한계값을 같이 제시한다.

9.0 참고자료

9.1 잔류성유기오염물질 공정시험기준 “폐수시료 중 과불화화합물 (PFCs) 시험기준 -LC/MSMS (Official Method of Perfluorinated Compounds (PFCs) in Wastewater by LC/MSMS, (2017)

9.2 ASTM D7979-15, “Standard Test Method for Determination of Perfluorinated Compounds in Water, Sludge, Influent, Effluent and Wastewater by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS), (2015)

9.3 ISO 25101: 2009 (E), “Water quality-Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) -Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry”, (2009)

9.4 EPA Method 537, “Determination of selected perfluorinated alkyl acids in drinking water by solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC/MSMS)”, US EPA, (2009)

9.5 FDA: Validation of analytical procedures: Methodology, recommended for implementation at step 7 of the VICH process on 22 October 1998 by the VICH steering committee (64. guidance for industry), FDA, DHHS, (1998)

9.6 NIOSH, “Guidelines for air sampling and analytical method development and evaluation (DHHS[NIOSH])” Pub. No. 95-117 .Cincinnati, OH: NIOSH, (1995)

9.7 OSHA, “Evaluation scheme for methods that use filters as collection medium” In OSHA analytical manual, 2ed ed. Salt Lake City: OSHA, (1990)

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.005 µg/L
검정곡선	결정계수 (R^2) > 0.99 또는 감응계수의 상대표준편차 20 % 이내
정밀도	상대표준편차가 20 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %

표 2. 과불화화합물 정량분석을 위한 내부표준물질 분류 예시

분석대상물질	내부표준물질	실린지첨가용 내부표준물질
PFPeA	$^{13}\text{C}_2\text{-PFHxA}$	$^{13}\text{C}_8\text{-PFOA}$
PFHxA		
PFHpA	$^{13}\text{C}_4\text{-PFOA}$	
PFOA		
PFNA	$^{13}\text{C}_5\text{-PFNA}$	
PFDA	$^{13}\text{C}_2\text{-PFDA}$	
PFUndA	$^{13}\text{C}_2\text{-PFUnDA}$	
PFDoDA	$^{13}\text{C}_2\text{-PFDoDA}$	
PFTrDA		
PFTeDA		
PFBS	$^{18}\text{O}_2\text{-PFHxS}$	$^{13}\text{C}_8\text{-PFOS}$
PFHxS		
PFOS	$^{13}\text{C}_4\text{-PFOS}$	
PFDS		

표 3. LC-MS/MS 분석조건 (예시)

	항 목	조 건																								
LC	컬럼	ZORBAX ECLIPSE XDB-C ₁₈ (I.D 4.6 mm × L. 150 mm, 3.5 μm)																								
	컬럼온도	50 ℃																								
	이동상 (유속)	A : H ₂ O with 5 mM Ammonium acetate B : MeOH with 5 mM Ammonium acetate (0.4 mL/분)																								
	이동상 프로그램	<table><tr><td>time (min)</td><td>0</td><td>1</td><td>2.5</td><td>14.5</td><td>15</td><td>17</td><td>17.1</td></tr><tr><td>A (%)</td><td>95</td><td>95</td><td>70</td><td>5</td><td>0</td><td>0</td><td>95</td></tr><tr><td>B (%)</td><td>5</td><td>5</td><td>30</td><td>95</td><td>100</td><td>100</td><td>5</td></tr></table>	time (min)	0	1	2.5	14.5	15	17	17.1	A (%)	95	95	70	5	0	0	95	B (%)	5	5	30	95	100	100	5
	time (min)	0	1	2.5	14.5	15	17	17.1																		
A (%)	95	95	70	5	0	0	95																			
B (%)	5	5	30	95	100	100	5																			
주입량	5 μL																									
MS/ MS	이온화 모드	ESI negative																								
	Gas 1 온도	250 ℃																								
	Gas 1 유량	14 L/min																								
	Gas 2 온도	350 ℃																								
	Gas 2 유량	11 L/min																								
	Capillary voltage	4000 V																								
	Nebulizer pressure	40 psi																								

표 4. LC-MS/MS 질량분석 조건 (예시)

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)		Collision energy [eV]	
		Quan.	Confirm	Quan.	Confirm
PFPeA	269	263	218.9	8	8
PFHxA	312.9	268.9	119	8	18
PFHpA	362.9	319	169	4	12
PFOA	412.9	369	169	4	12
PFNA	462.9	419	169	4	17
PFDA	512.9	469	218.7	5	16
PFUnDA	562.9	519	218.7	5	20
PFDoDA	612.9	569	268.7	5	20
PFTTrDA	662.9	619	169	9	30
PFTeDA	712.9	669	169	9	19
PFBS	298.9	98.9	80	29	45
PFHxS	398.9	99	80	45	49
PFOS	498.9	99	80	50	50
PFDS	598.9	99	80	60	80
¹³ C ₂ -PFHxA	315	315	270	5	5
¹³ C ₄ -PFOA	417	372	172	5	35
¹³ C ₅ -PFNA	468	423	223	1	16
¹³ C ₂ -PFDA	515	515	470	5	15
¹³ C ₂ -PFUnDA	565	565	520	5	15
¹³ C ₂ -PFDoDA	615	570	270	5	20
¹⁸ O ₂ -PFHxS	403	103	84	43	65
¹³ C ₄ -PFOS	503	99	80	50	53
¹³ C ₈ -PFOA	421.1	375.9	172	6	16
¹³ C ₈ -PFOS	507	99	80	48	58

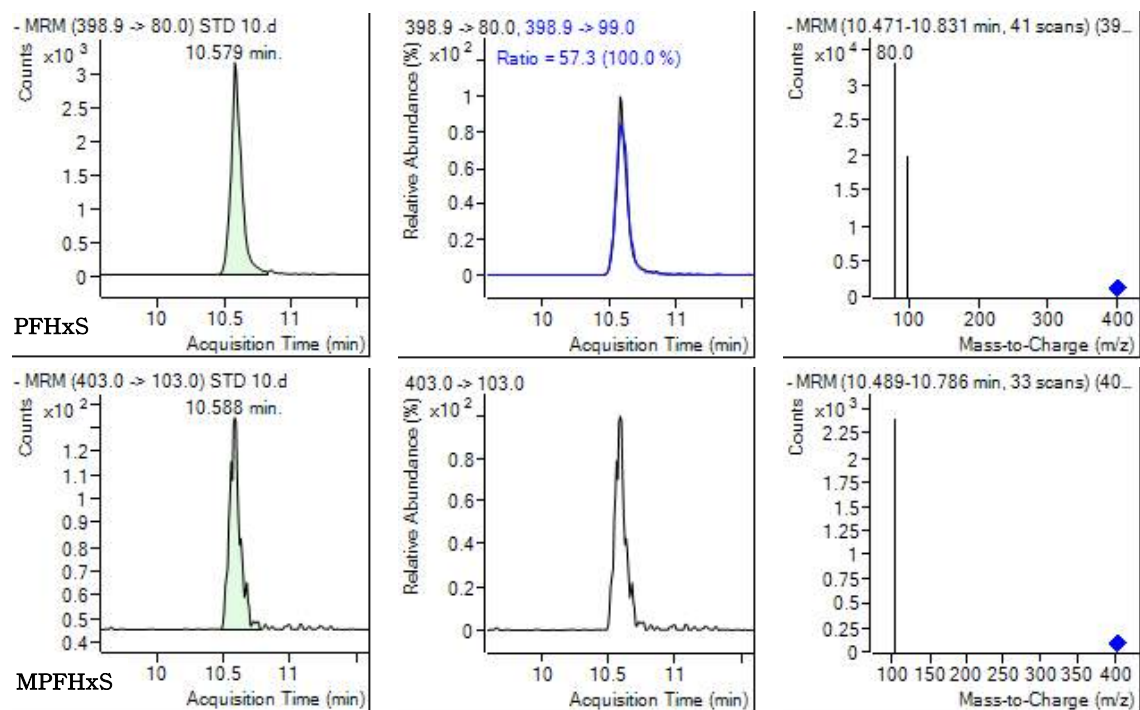


그림 1. PFHxS 표준물질 (10 ng/mL)의 LC-MS/MS 크로마토그램

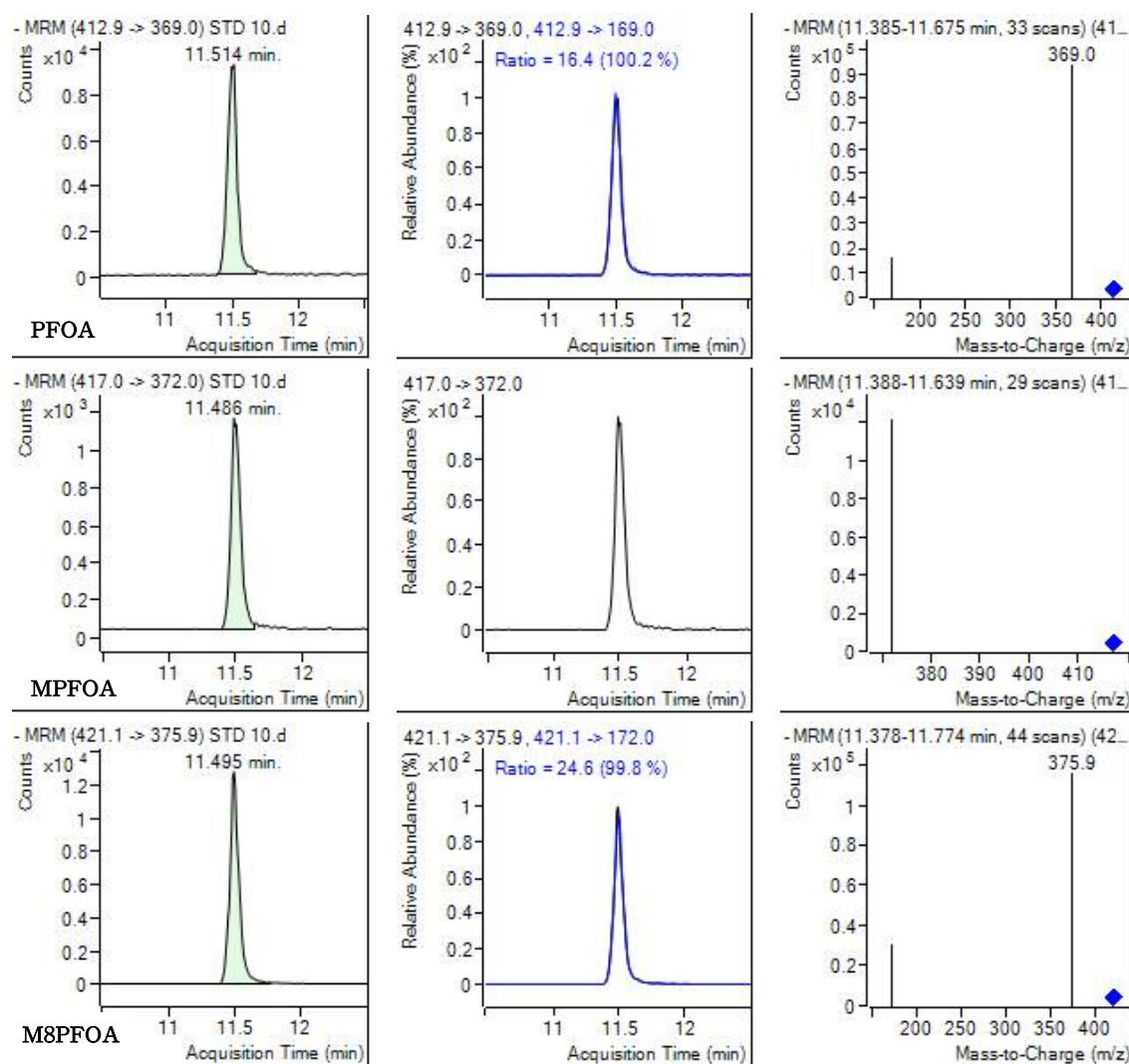


그림 2. PFOA 표준물질 (10 ng/mL)의 LC-MS/MS 크로마토그램

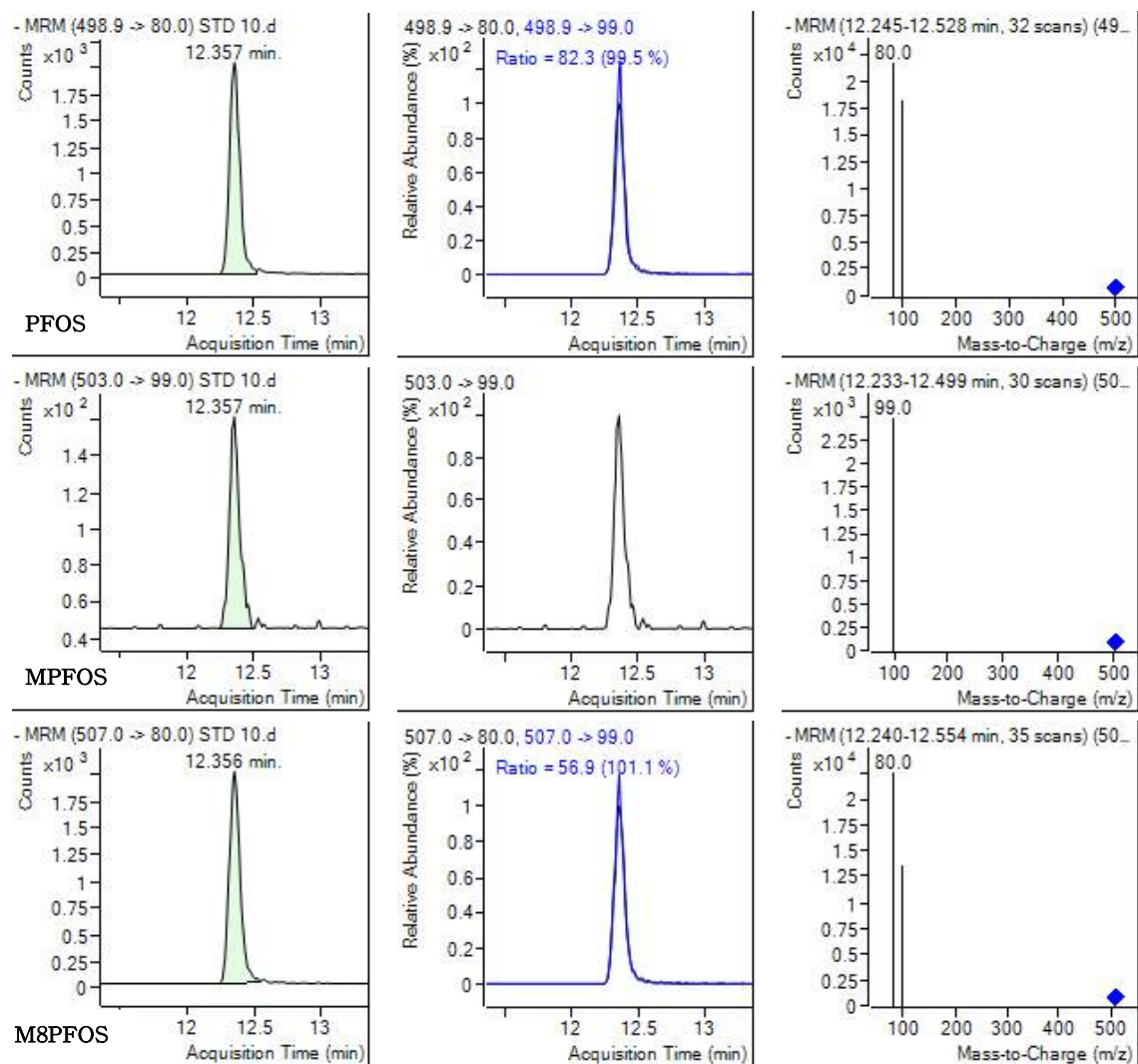


그림 3. PFOS 표준물질 (10 ng/mL)의 LC-MS/MS 크로마토그램