

폼알데하이드-고성능액체크로마토그래피

2015

(Formaldehyde-High Performance Liquid chromatography)

1.0 개요**1.1 목적**

이 시험방법은 지표수 중에 폼알데하이드의 측정방법으로서, 시료의 pH를 3으로 조절한 후 2,4-디니트로페닐하이드라진으로 유도체화한 것을 고상카트리지로 정제하여 액체크로마토그래피-자외선검출기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험방법은 지표수 중에 폼알데하이드의 분석에 적용한다.

1.2.2 이 시험방법은 고성능액체크로마토그래프로 분리한 다음 자외선검출기로 측정하는 방법이다.

1.2.3 이 방법에 의한 지표수 중에 폼알데하이드의 정량한계는 0.020 mg/L이다.

1.3 간섭 물질

1.3.1 초자류는 세정제, 수돗물, 정제수 그리고 아세톤으로 차례로 닦아준 후 400℃에서 15 ~ 30 분 동안 가열한 후 식혀 알루미늄포일로 덮어 깨끗한 곳에 보관하여 사용한다.

1.3.2 2,4-디니트로페닐하이드라진 시약에 폼알데하이드가 오염되는 일이 자주 발생하므로 2,4-디니트로페닐하이드라진을 정제하여 사용하여야 한다.

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 자외선/가시선 분광광도계 (ultraviolet/visible spectrophotometer)

3.1.1 고성능액체크로마토그래프는 아래 그림과 같이 이동상보관부, 용매전달부, 시료주입부, 분리관 및 검출부로 구성되고 검출부에서 나온 신호는 기록부에서 측정 목적에 따라 여러 가지 형식으로 보고한다.

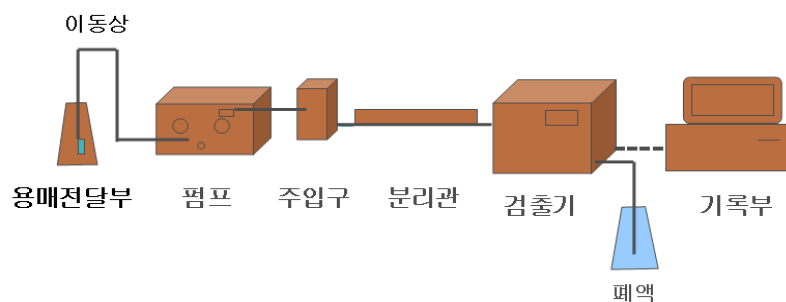


그림 1. 고성능액체크로마토그래프의 구성도

3.1.2 컬럼은 안지름 3 mm ~ 5 mm, 길이 5 cm ~ 30 cm의 스테인리스 강관에 옥타데실실릴기(ODS)를 화학결합시킨 실리카겔(입경 3 μ m ~ 10 μ m)을 충전한 것 또는 이와 동등의 분리능을 갖는 것을 택하여 시험한다.

3.1.3 이동상은 아세토니트릴과 정제수를 50 : 50으로 하여 사용한다.

3.1.4 액체크로마토그래프의 조건은 표 1과 같이 수행할 수 있다.

3.2 자외선 검출기

파장 360 nm에서 방출하는 UV검출기가 부착된 것을 사용한다.

3.3 고상카트리지

옥타데실기를 화학결합시킨 실리카겔(C_{18}) 또는 동등 이상의 성능을 가진 것으로 500 mg 이상 채운 것을 사용한다.

3.4 고상 추출장치

일반적으로 고상 추출에 사용하는 매뉴얼 타입의 매니폴드(manifold)를 사용하거나, 동등 이상의 성능을 가진 것을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 정제수

바탕 시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.2 에탄올 (ethanol, C_2H_5OH , 46.07)

바탕 시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 *n*-헥산 (*n*-hexane, C_6H_{14} , 86.17)

바탕 시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.4 메탄올 (methanol, CH_3OH , 32.04)

바탕 시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.5 아세토니트릴 (acetonitrile, C_2H_3N , 41.05)

바탕 시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.6 시트르산 (citric acid, $C_6H_8O_7$, 192.12)

4.1.7 시트르산나트륨 (sodium citrate, $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$, 294.10)

4.1.8 시트르산완충용액 (pH 3)

시트르산용액(1 M)과 시트르산나트륨용액(1 M)을 8:2 (v/v %)로 혼합한다. 필요한 경우 염산용액(6 M) 또는 수산화나트륨용액(6 M)을 넣어 pH 3으로 조정한다.

4.1.9 시트르산완충희석용액

시트르산완충용액을 정제수로 25배 희석한다.

4.1.10 2,4-디니트로페닐하이드라진용액 (0.3 %)

4.1.10.1 2,4-디니트로페닐하이드라진 (2,4-dinitrophenylhydrazine, $C_6H_6N_4O_4$, 분자량 : 198.1) 300.0 mg을 취하여 에탄올에 녹여 100 mL로 한다. 약하게 가열하여 녹이며 완전히 녹지 않은 경우에는 여과한다.

4.1.10.2 DNPH는 다음과 같이 정제하여 사용할 수 있다. 200 mL 아세토니트릴에 DNPH를 과포화 되게 넣고 1 시간을 끓인다. 상층에 부유물을 제거한 후 40 °C로 냉각시킨 후 60 °C에서 용매의 95 %를 제거한다. 용액을 제거한 후 아세토니트릴로 결정을 세 번 씻어준다. DNPH 고체상에 200 mL 아세토니트릴을 가한 후 위의 정제 과정을 반복한다. 불순물의 제거가 만족할 때에 오염이 되지 않게 보관하여 사용한다.

4.1.11 염산

바탕 시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.12 염화나트륨포화용액 (sodium chloride, NaCl, 58.44)

정제수에 염화나트륨(sodium chloride, NaCl, 분자량 : 58.44)을 과량 넣는다.

4.1.13 염화암모늄

4.1.14 파라로졸산용액 (Pararosolic acid, $C_{19}H_{14}O_3$, 290.32)

파라로졸산 (Pararosolic acid, $C_{19}H_{14}O_3$, 분자량 : 290.32) 1 g을 에탄올(95 %) 50 mL에 용해하여, 물을 더해 100 mL로 만든다.

4.1.15 아황산나트륨용액 (0.1M)

아황산나트륨(Sodium sulfite, Na_2SO_3 , 분자량 : 126.04) 1.26 g을 물에 용해시켜 100 mL로 만든다. 이는 사용할 때 제조한다.

4.2 표준용액

4.2.1 폼알데하이드 표준원액 (1,000 mg/L)

시판되는 표준원액 (1,000 mg/L)을 사용하거나, 포르말린(36.0 % ~ 38.0 %) 3 mL를 취해 물로 희석하여 1 L로 만든 후 표정하여 정확한 농도를 결정한다.

4.2.1.1 표준원액 제조 시 농도결정

4.2.1.1.1 200 mL 삼각플라스크에 0.1 M 아황산나트륨용액 25 mL를 취하고 지시약으로 로졸산용액 3 방울을 더해, 염산 (1+11)로 용액의 색이 무색이 될 때까지 넣는다.

4.2.1.1.2 이 폼알데하이드 용액 25 mL를 더해 0.1 M 염산으로 적정하여, 용액의 색이 다시 무색이 되었을 때를 종말점으로 한다. 다음 식에 따라 이 용액중의 함유된 폼알데하이드의 농도(mg/mL)를 산출한다.

$$\text{폼알데하이드 표준액(mg/mL)} = a \times f \times \frac{1}{25} \times 3.003 \quad (\text{식 1})$$

여기서, a : 적정에 요구되는 0.1 M 염산의 양 (mL)

f : 0.1 M 염산의 농도계수(factor)

3.003 : 0.1 M 염산 1 mL의 폼알데하이드상당량 (mg)

4.2.2 폼알데하이드 표준용액 (100 mg/L)

폼알데하이드 표준원액 (1,000 mg/L) 10.0 mL를 100 mL 부피플라스크에 취하고 메탄올로 표선까지 채운다. 이 용액 1 mL는 폼알데하이드 0.1 mg을 함유한다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료 채취 시 물과의 접촉면이 테플론으로 처리된 마개 또는 격막을 가진 유리병을 미리 질산 및 정제수로 씻은 다음 아세톤으로 세정하고, 130 °C에서 2시간 정도 가열하고 식힌 후 사용한다. 시료는 유리병에 기포가 생기지 않도록 채취하고, 잔류염소를 제거하기 위하여 시료 40 mL마다 20 mg의 염화암모늄을 첨가한다.

5.2 모든 시료는 채취 후 추출하기 전까지 4 °C 냉암소에서 보관하고, 채취 후 7 일 이내에 추출하고 15일 이내에 분석해야한다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계 (Method Detection Limit) 및 정량한계 (Minimum quantitation limit)는 ES 04001b 정도보증/정도관리에 따라 계산한다. 정제수에 표준용액을 0.020 mg/L가 되도록 첨가한 7 개의 첨가시료를 준비하여 7.0항의 실험절차와 동일하게 추출하여, 표준편차를 구한다.

6.1.2 표준편차에 3.14 를 곱한 값을 방법검출한계로, 10 을 곱한 값을 정량한계로 나타낸다. 측정한 정량한계는 0.020 mg/L 이하의 값이어야 한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

ES 04001b 정도보증/정도관리에 따라 시료군마다 1 개의 방법바탕시료 (Method blank)를 측정한다. 방법바탕시료는 정제수를 사용하여 7.0항의 실험절차와 동일하게 전처리·측정하며 측정값은 0.005 mg/L 이하이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선의 작성 및 검증은 ES 04001b 정도보증/정도관리에 따른다. 정량범위 내의 5 개의 농도에 대해 검정곡선을 작성하고 얻어진 검정곡선의 결정계수 (R²)가 0.98 이상 또는 결정계수의 상대표준편차가 20 % 이내이어야 하며 감응계수 (RF, response factor)나 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재 작성하도록 한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 검정곡선을 작성할 때에는 정량범위를 0.020 mg/L ~ 1.0 mg/L로 한다. 그러나 측정값이 이 농도범위를 벗어날 경우에는 시료를 묽혀서 다시 분석한다.

6.4 정밀도 및 정확도

6.4.1 정밀도 (Precision) 및 정확도 (Accuracy)의 측정은 ES 04001b 정도보증/정도관리에 따른다. 정제수에 정량한계 농도의 10 배가 되도록 동일하게 표준물질을 첨가한 시료를 4 개 이상 준비하여, 7.0항의 절차와 동일하게 측정하여 평균값과 표준편차를 구한다.

6.4.2 정확도는 인증시료를 확보할 수 있는 경우 인증표준물질을 분석한 결과값 (C_M)과 인증값 (C_C)과의 상대백분율로 나타내고, 인증시료를 확보할 수 없는 경우 이를 정확한 농도로 첨가한 시료로 대체한다. 이 때 정확도는 첨가시료를 분석한 농도 (C_{AM})와 첨가하지 않은 시료를 분석한 농도 (C_S)와의 차이에 대한 첨가농도 (C_A)의 상대 백분율로서 나타내며 그 값이 75 % ~ 125 % 이내이어야 한다.

$$\text{정확도} = \frac{C_M}{C_C} \times 100 \% = \frac{C_{AM} - C_S}{C_A} \times 100 \%$$

여기서, C_M : 인증표준물질을 분석한 농도
 C_C : 인증 농도

C_{AM} : 첨가시료를 분석한 농도
 C_S : 첨가하지 않은 시료를 분석한 농도
 C_A : 첨가농도

6.4.3 정밀도는 측정값의 % 상대표준편차 (% RSD)로 계산하며 측정값이 25 % 이내이어야 한다.

$$\text{정밀도} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (s=\text{표준편차}, \quad \bar{x}=\text{평균})$$

6.5 현장 이중시료의 측정

현장 이중시료 (field duplicate)는 동일한 시료채취 장소에서 동일한 조건으로 중복 채취한 시료로서 한 조사팀이 하루에 20 개 이하를 채취할 경우에는 1 개를 그리고 그 이상을 채취할 때에는 시료 20 개당 1 개를 추가로 취한다. 동일한 조건의 두 시료간의 측정값의 차이 ($C_2 - C_1$)에 대한 평균값 ($\bar{x}$)의 상대 백분율 (% B)로 나타내며 25 % 이하이어야 한다.

$$\% B = \frac{C_2 - C_1}{\bar{x}} \times 100 \%$$

6.6 내부정도관리 주기 및 목표

6.6.1 방법검출한계, 정량한계, 정밀도 및 정확도는 연 1 회 이상 측정하는 것을 원칙으로 하며 분석자의 교체, 분석 장비의 수리 및 이동 등의 주요 변동사항이 생길 경우에는 다시 실시한다. 단, 장비의 청소, 컬럼 교체 시와 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

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

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

7.0 분석절차

7.1 시료전처리

7.1.1 시료 100 mL를 250 mL 삼각 플라스크에 취한다.

7.1.2 시트르산완충용액 4 mL를 넣고 염산(6 M)으로 pH 3으로 맞춘 다음 2,4-디니트로페닐하이드라진용액 6 mL를 넣고 마개를 한다. 가열판에서 약하게 흔들며 주면서 40 °C에서 1 시간동안 반응시킨다.

7.1.3 반응시킨 용액에 염화나트륨포화용액 10 mL를 넣는다.

7.1.4 고상 카트리지를 활성화시키기 위해 메탄올 10 mL와 시트르산완충희석용액 10 mL를 흘려준다.

7.1.5 활성화된 고상 카트리지가 건조되기 전에 7.1.3의 용액을 고상 카트리지에 3 ~ 5 mL/분의 속도로 흘려준다. 용액이 다 통과한 후에도 약 10 분간 이상 계속 흡인하여 건조시킨다.

7.1.6 건조된 고상카트리지에 헥산 (또는 에탄올) 9 mL를 흘려주어 유출액을 10 mL 부피플라스크에 받는다.

7.1.7 헥산 (또는 에탄올)을 넣어 10 mL로 한 후 혼합하여 시험용액으로 한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 정제수 100 mL를 취하여 250 mL 삼각플라스크에 넣은 후 폼알데하이드 표준용액 (1000 mg/L) 0, 25, 50, 100 μ L를 그리고 폼알데하이드 표준용액 (100.0 mg/L) 20, 100 μ L를 단계적으로 취하여 시료에 첨가한다. 제조한 검정곡선용 표준용액의 농도는 시료 중의 농도로 계산하면 0, 0.020, 0.10, 0.25, 0.50, 1.0 mg/L에 해당되며 필요에 따라 사용하는 표준용액의 농도와 개수를 달리 할 수 있다.

7.2.2 이하 추출방법은 7.1.2 ~ 7.1.7에 따른다.

7.2.3 폼알데하이드의 농도 (mg/L)를 가로축 (x 축)에, 폼알데하이드에 해당하는 피크 면적을 세로축 (y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

7.3 측정법

7.3.1 전처리에서 얻은 시험용액 20 μ L를 취하여 고성능액체크로마토그래피에 주입하여 분석한다.

7.3.2 액체크로마토그래피부터 얻은 크로마토그램에서 폼알데하이드의 머무름시간에 해당하는 위치의 피크로부터 피크 면적을 구한다.

8.0 결과보고

폼알데하이드 피크의 면적(A_x)을 구한다음 검정곡선식의 $y(i)$ 값에 대입하여 $x(i)$ 값을 계산하면 분석물질의 농도(C_s , mg/L)를 구할 수 있다.

$$C_s = \frac{A_x - b}{a} \text{ (mg/L)}$$

여기서, A_x : 분석물질의 피크 면적

a : 검정곡선의 기울기

b : 검정곡선의 절편값

9.0 참고문헌

9.1 US EPA Method 554, "Determination of carbonyl compounds in drinking water by DNPH derivatization and high performance liquid chromatography", EPA, (1990)

9.2 US EPA Method 8315, "Determination of carbonyl compounds by high performance liquid chromatography (HPLC)", EPA, (1994)

9.3 US EPA Method 8315A, "Determination of carbonyl compounds by high

performance liquid chromatography (HPLC)”, EPA, (1996)

10.0 부록

표 1. 폼알데하이드의 고성능 액체크로마토그래피 실험조건 예

항 목	조 건
컬럼	C18 (4.6 × 150 mm, 3.5 μm)
이동상	아세토니트릴 : 정제수 (50 : 50)
유속	1.0 mL/분
검출파장	360 nm
오븐 온도	40 ℃
주입량	20 μL

표 2. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.020 mg/L
검정곡선	결정계수(R^2) ≥ 0.98
정밀도	상대편차가 ± 20 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %
현장이중시료	상대편차가 ± 25 % 이내

표 3. 폼알데하이드의 머무름 시간

물질명	머무름 시간 (min)
폼알데하이드	4.584

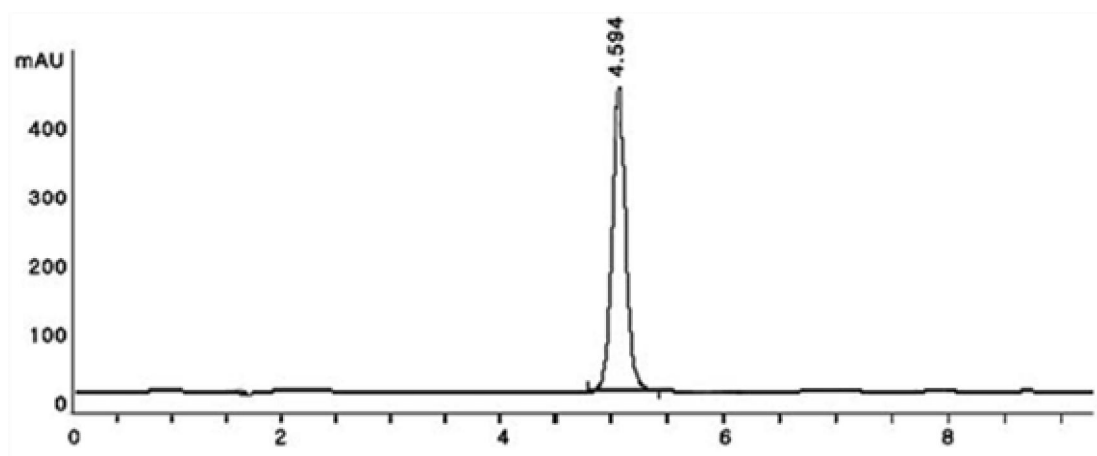


그림 1. 폼알데하이드의 고성능 액체크로마토그래피 크로마토그램 (250 $\mu\text{g/L}$)