

헥사클로로벤젠-기체크로마토그래피-질량분석법

2014

(Hexachlorobenzene-Gas chromatography-Mass Spectrometry)

1.0 개요**1.1 목적**

이 시험방법은 지표수 중에 헥사클로로벤젠의 측정방법으로서, 시료를 중성에서 다이클로로메탄으로 추출한 다음 농축한 후 기체크로마토그래프로 분리한 다음 질량분석기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험방법은 지표수 중에 헥사클로로벤젠의 분석에 적용한다.

1.2.2 이 시험방법은 기체크로마토그래피로 분리한 다음 질량분석기로 측정하는 방법이다.

1.2.3 이 방법에 의한 시료 중에 헥사클로로벤젠의 정량한계는 0.001 $\mu\text{g/L}$ 이다.

1.3 간섭 물질

1.3.1 초자류는 세정제, 수돗물, 정제수 그리고 아세톤으로 차례로 닦아준 후 400 $^{\circ}\text{C}$ 에서 15 ~ 30 분 동안 가열한 후 식혀 알루미늄포일로 덮어 깨끗한 곳에 보관하여 사용한다.

1.3.2 고순도의 시약이나 용매를 사용하면 방해물질을 최소화할 수 있다.

1.3.3 매질로부터 추출되어 나오는 방해물질이 있을 수 있는데 이는 시료마다 다르

다. 만약 방해가 심하면 추가적으로 실리카겔과 같은 고체상 정제과정이 필요하다.

2.0 용어정의

“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 μm ~ 0.50 μm , 길이 15 m ~ 60 m의 cross-linked methylsilicon 또는 cross-linked 5 % phenylmethylsilicon 등의 모세관이나 동등한 분리성능을 가진 모세관으로 대상 분석 물질의 분리가 양호한 것을 택하여 시험한다.

3.1.2 운반기체는 부피백분율 99.999 %이상의 헬륨으로서 (또는 질소) 유량은 0.5 mL/min ~ 4 mL/min, 시료도입부 온도는 200 $^{\circ}\text{C}$ ~ 300 $^{\circ}\text{C}$, 컬럼 온도는 40 $^{\circ}\text{C}$ ~ 310 $^{\circ}\text{C}$ 로 승온 조작하여 사용한다.

3.1.3 기체크로마토그래프의 조건은 <표 1>과 같이 수행할 수 있다.

3.2 질량분석기 (Mass Spectrometer)

3.2.1 이온화방식은 전자충격법 (EI, electron impact)을 사용하며 이온화에너지는 35 eV ~ 70 eV를 사용한다.

3.2.2 질량분석기는 자기장형 (magnetic sector), 사중극자형 (quadrupole) 및 이온트랩형 (ion trap) 등의 성능을 가진 것을 사용한다.

3.2.3 정량분석에는 선택이온검출법 (SIM, Selected Ion Monitoring)을 이용하는 것이 바람직하다. 선택하는 이온들은 <표 2>의 이온을 사용할 수 있다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 정제수

시약용 정제수를 사용하거나, 정제수를 사용하여 바탕 시험할 때 표준물질의 피크 부근에 간섭이 없는 것을 사용한다.

4.1.2 다이클로로메탄 (methylene chloride, CH_2Cl_2 , 84.93)

다이클로로메탄을 500배 농축하였을 때 표준물질의 봉우리 부근에 불순물 봉우리가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 메탄올 (methanol, CH_3OH , 32.04)

바탕 시험할 때 표준물질의 봉우리 부근에 불순물 봉우리가 없는 것을 사용한다.

4.1.4 무수황산나트륨 (sodium sulfate, Na_2SO_4 , 142.04)

무수 황산나트륨(sodium sulfate, Na_2SO_4 , 142.04) 100 g에 다이클로로메탄 50 mL를 흔들어 섞고 여과하여 풍건한다. 이 액 10 μL 를 마이크로실린지를 사용하여 기체크로마토그래피에 주입하였을 때 분석물질의 피크 위치에 피크가 나타나지 않는 것을 사용한다.

4.1.5 염화나트륨 (sodium chloride, NaCl , 58.44)

염화나트륨 (sodium chloride, NaCl , 58.44) 100 g에 다이클로로메탄 50 mL를 흔들어 섞고 여과하여 풍건한다. 이 액 10 μL 를 마이크로실린지를 사용하여 기체크로마토그래피에 주입하였을 때 분석물질의 피크 위치에 피크가 나타나지 않는 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 표준원액 (1,000 mg/L)

4.2.1.1 헥사클로로벤젠의 표준원액은 제조하여 판매하는 1000 mg/L 표준용액을 구입하여 사용하거나 직접 제조하여 사용한다.

4.2.1.2 이 용액은 가능한 여러 개의 바이알에 공기층(즉, head space)이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장고 (4 °C 이하)에서 보존하고, 12 개월 이내에 사용한다.

4.2.2 표준용액 (10.0 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 헥사클로로벤젠 250 µg에 해당하는 표준원액을 넣고 메탄올로 표선까지 채운 다음 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 이 용액은 가능한 여러 개의 바이알에 공기층이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장고에 보존하고, 제조 후 4 주일 이내에 사용한다.

4.2.3 표준용액 (1.0 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 표준용액 (10.0 mg/L) 2.50 mL를 넣고 메탄올로 표선까지 채운 다음 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 이 용액은 가능한 여러 개의 바이알에 공기층이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장고에 보존하고, 제조 후 1 주일 이내에 사용한다.

4.2.4 표준용액 (0.1 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 표준용액 (1.0 mg/L) 2.50 mL를 넣고 메탄올로 표선까지 채운 다음 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 이 용액은 사용할 때 만들어 사용한다.

4.3 내부표준용액

4.3.1 내부표준원액 (1,000 mg/L)

$^{13}\text{C}_6$ -헥사클로로벤젠의 표준원액은 제조하여 판매하는 1000 mg/L 표준용액을 구입하여 사용하거나 직접 제조하여 사용한다.

4.3.2 내부표준용액 (10.0 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 $^{13}\text{C}_6$ -헥사클로로벤젠 표준원액 (1,000 mg/L)을 250 μL 를 넣고 메탄올로 표선까지 채운 다음 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 이 용액은 가능한 여러 개의 바이알에 공기층이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장고에 보존하고, 제조 후 4 주일 이내에 사용한다.

4.3.3 내부표준용액 (1.0 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 내부표준용액 (10.0 mg/L) 2.50 mL를 넣고 메탄올로 표선까지 채운 다음 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 이 용액은 가능한 여러 개의 바이알에 공기층이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장고에 보존하고, 제조 후 1 주일 이내에 사용한다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료채취는 유리병을 사용하며 되도록 헤드스페이스가 없게 가득 채취한다.

5.2 모든 시료는 시료채취 후 추출하기 전까지 4 °C 냉암소에서 보관하고, 채취 후 7 일 이내에 추출하고 40 일 이내에 분석해야한다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계 (Method Detection Limit) 및 정량한계 (Limit of Quantitation)

는 정제수에 표준용액을 예상되는 방법검출한계의 농도가 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.

6.2 방법바탕시료의 측정

시료군마다 1 개의 방법바탕시료 (Method blank)를 측정한다. 방법바탕시료는 정제수를 사용하여 7.0항의 실험절차와 동일하게 전처리·측정하며 측정값은 방법검출한계 이하이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 정량범위 내의 4 개 이상의 농도에 대해 검정곡선을 작성하고 얻어진 검정곡선의 결정계수 (R^2)가 0.99 이상 또는 결정계수의 상대표준편차가 15 % 이내이어야 하며 결정계수나 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재 작성하도록 한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 정량범위를 0.001 ~ 0.10 $\mu\text{g/L}$ 로 한다. 그러나 측정값이 이 농도범위를 벗어날 경우에는 시료를 묽혀서 다시 분석한다.

6.3.3 검정곡선을 검증하기 위하여 감응계수를 비교할 때에는 검정곡선의 중간 농도에서 한 농도를 선택하여 감응계수 (RF)를 구하여 그 값의 변화가 15 % 이내에서 일치하여야 한다. 만약 이 범위를 넘는 경우, 검정곡선을 재 작성한다.

$$RF = \frac{A_s \times C_{is}}{A_{is} \times C_s}$$

여기서, A_s : 측정할 분석물질의 면적

A_{is} : 내부표준물질의 면적

C_{is} : 내부표준물질의 농도

C_s : 측정할 분석물질의 농도

6.4 정밀도 및 정확도

6.4.1 분석성분이 검출되지 않는 하천수에 일정 농도가 되도록 표준물질을 첨가한 시료를 4개 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 % ~ 120 % 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.

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

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 3과 같다.

7.0 분석절차

7.1 시료전처리

7.1.1 시료 0.5 L를 정확히 취하여 1.0 L 분액깔때기에 취하고, 내부표준용액 (0.1 mg/L)을 정확히 100 μ L를 취하여 시료에 첨가한다.

7.1.2 시료의 pH가 약 7인지를 확인한 후 염화나트륨 40 g을 넣은 후 잘 녹인 다음 다이클로로메탄 20 mL를 넣고 10 분간 격렬히 흔들어 준다.

7.1.3 층 분리가 완전히 될 때까지 기다린 후 아래층의 다이클로로메탄 용액을 시험관에 옮긴다.

7.1.4 시료에 다이클로로메탄 20 mL를 한 번 더 넣고 10 분간 격렬히 흔들어 준 다음 층 분리가 완전히 될 때까지 기다린 후 아래층의 다이클로로메탄 용액을 앞의 추출액과 합친다.

7.1.5 이 추출용액에 무수황산나트륨 2 g을 넣고 잘 섞어 수분을 제거한 다음 추

출액을 증발농축기에 옮기고 0.1 mL까지 농축시킨 다음 이를 시험용액으로 한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 정제수 0.5 L를 취하여 1.0 L 분액깔때기에 넣은 후 헥사클로로벤젠 표준용액 (0.1 mg/L) 50, 125, 250, 500 μ L를 그리고 헥사클로로벤젠 표준용액 (0.01 mg/L) 0, 50 μ L를 단계적으로 취하여 넣고 내부표준용액 (0.1 mg/L)을 정확히 100 μ L를 취하여 시료에 첨가한다 (제조한 검정곡선용 표준용액의 농도는 시료 중의 농도로 계산하면 0, 0.001, 0.010, 0.025, 0.050, 0.10 μ g/L에 해당되며 필요에 따라 사용하는 표준용액의 농도와 개수를 달리 할 수 있다).

7.2.2 이하 추출방법은 7.1.2 ~ 7.1.5에 따른다.

7.2.3 분석물질의 농도 (C_x)를 취하여 가로축 (x 축)에, 분석물질의 피크 면적 (A_x)과 내부표준물질의 피크면적 (A_i)과의 비 (A_x/A_i)를 세로축 (y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

7.3 측정법

7.3.1 추출액 2 μ L를 취하여 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

7.3.2 크로마토그램으로부터 각 분석물질 및 내부표준물질의 피크 면적을 측정하여 분석물질의 피크 면적 (A_x)과 내부표준물질의 피크면적 (A_i)과의 비 (A_x/A_i)를 구한다.

8.0 결과보고

각 분석물질별로 내부표준물질에 대한 면적 비 (A_x/A_i)를 구한다음 검정곡선식의 $y(i)$ 값에 대입하여 $x(i)$ 값을 계산하면 분석물질의 농도 (C_s , μ g/L)를 구할 수 있다.

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

여기에서 a =검정곡선의 기울기; b =검정곡선의 절편 값

9.0 참고문헌

9.1 US EPA Method 525.2, “Determination of organic compounds in drinking water by liquid-solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry”, EPA, (1995)

9.2 US EPA Method 625, “Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater”, EPA, (1994)

9.3 US EPA Method 8270C, “Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)”, EPA, (1996)

9.4 US EPA Method 8270D, “Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)”, EPA, (1998)

10.0 부록

표 1. 헥사클로로벤젠의 기체크로마토그래피 실험조건

항목	조건				
컬럼	Cross-linked 5% phenylmethylsilicon, 60 m x 0.25 mm I.D. x 0.25 um 필름두께				
운반기체	He 1.0 ml/min.				
분할 비	펄스 비분할(Pulsed Splitless)				
주입구 온도	280 ℃				
연결관 온도	280 ℃				
오븐온도	초기온도 (℃)	초기시간 (min.)	승온속도 (℃/min.)	온도 (℃)	시간 (min.)
	80	5	10.0	180	10
			10.0	310	15
작동 후 시간 (post run time)	310 ℃, 15 min				

표 2. 헥사클로로벤젠의 선택이온들

물질명	제1선택이온, m/z	제2선택이온, m/z
Hexachlorobenzene	284	286, 282
¹³ C6-Hexachlorobenzene	290	292, 288

표 3. 헥사클로로벤젠의 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.001 µg/L
검정곡선	결정계수(R ²) ≥ 0.98 또는 결정계수의 상대표준편차가 ±20 % 이내
정밀도	상대편차가 ± 25 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %
현장이중시료	상대편차가 ± 25 % 이내

표 4. 헥사클로로벤젠의 머무름 시간

성분명	머무름 시간(분)
Hexachlorobenzene	21.892

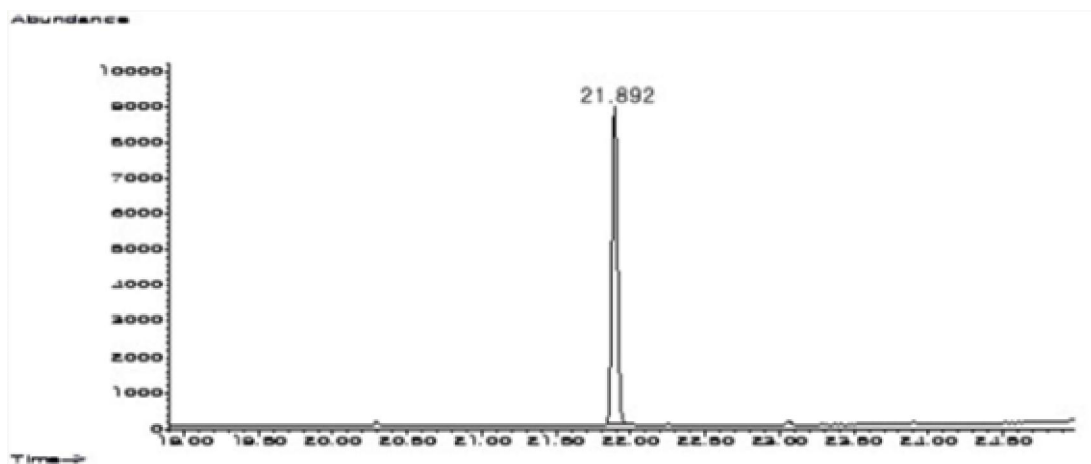


그림 1. 헥사클로로벤젠의 기체크로마토그래피-질량분석기 크로마토그램 (0.02 $\mu\text{g/L}$)

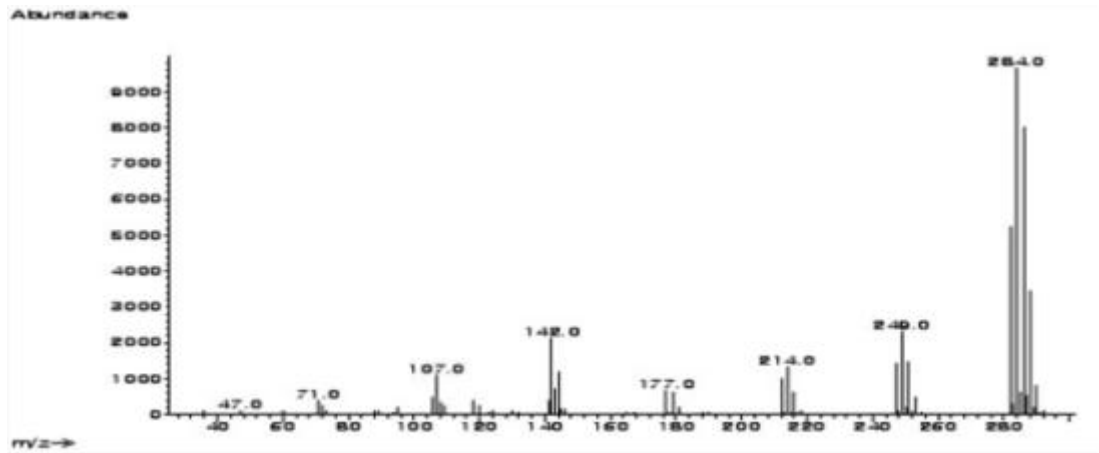


그림 2. 헥사클로로벤젠의 질량 스펙트럼