

아크릴아미드-기체크로마토그래피-질량분석법

2025

(Acrylamide/Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 아크릴아미드의 이중결합을 브롬화 반응을 통해 브롬으로 치환하여 생성된 2,3-dibromopropionamide를 에틸아세테이트로 황산소듐 염석효과를 사용하여 추출 및 농축한 후, 기체크로마토그래프-질량분석기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

이 시험기준은 하·폐수 또는 아크릴아미드의 농도가 비교적 높은 지표수, 지하수 등에 적용하며, 정량한계는 0.005 mg/L이다.

1.3 간섭물질

유도체화 반응물질인 브롬화포타슘 (potassium bromide)속의 불순물은 플로리실 컬럼 (florisil column)을 통과시켜 제거한다.

2.0 용어 정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래프 (gas chromatograph)

3.1.1 컬럼은 안지름 0.20 mm ~ 0.53 mm, 필름두께 0.25 μ m ~ 3.0 μ m, 길이 20 m ~ 60 m의 cross-linked 6 % cyanopropylphenol / 94 % dimethyl polysiloxane, (5 %-phenyl)methylpolysiloxane 또는 동등한 분리 성능을 가진 모세관 컬럼 (capillary column)으로 대상 분석 물질의 분리가 양호한 것을 택하여 시험한다.

3.1.2 운반기체는 순도 99.999 % 이상의 질소 또는 헬륨으로서 유량은 0.5 mL/min ~ 5 mL/min, 시료주입구 온도는 220 $^{\circ}$ C, 컬럼 온도는 60 $^{\circ}$ C ~ 220 $^{\circ}$ C로 사용한다.

3.1.3 미량주사기는 1 μ L ~ 25 μ L 부피의 기체크로마토그래피용을 사용한다.

3.1.4 주입구의 격막은 얇은 디스크 형태의 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 격막을 사용하거나 폴리테트라플루오로에틸렌을 얇게 입힌 실리콘 고무 격막을 사용한다.

3.2 질량분석기 (mass spectrometer)

3.2.1 질량분석기는 사중극자형 (quadrupole) 또는 이와 동등 이상의 성능을 가진 것을 사용한다.

3.2.2 이온화방식은 전자충격법 (EI, electron impact)을 사용하며 이온화 에너지는 70 eV을 사용한다.

3.2.3 검출방법은 선택이온검출법 (SIM, selected ion monitoring)을 사용하고, 이온 질량수는 표 3을 참고한다.

3.3 농축장치

구테르나테니쉬농축기 또는 회전증발농축기를 사용하거나 이와 동등 이상의 성능을 가진 것을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 정제수

시약용 정제수나 당일 정제된 유기물질이 없는 3차 증류수를 사용한다. 바탕시험시 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.2 에틸아세테이트

에틸아세테이트 (ethyl acetate, $C_2H_5CO_2C_2H_5$, 분자량 : 74.12)은 바탕시험시 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 아세톤

아세톤 (acetone, CH_3COCH_3 , 분자량 : 58.08)은 바탕시험시 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.4 메탄올

메탄올 (methanol, CH_3OH , 분자량 : 32.04)은 바탕시험시 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.5 디에틸에테르

디에틸에테르 (diethyl ether, $C_2H_5OC_2H_5$)는 과산화물 (peroxide)이 없는 등급을 사용한다.

4.1.6 무수황산소듐

무수황산소듐 (sodium sulfate anhydrous, Na_2SO_4 , 분자량 : 142.04)은 바탕시험시 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용하거나 오븐에서 500 °C ~ 700 °C로 8시간 정도 가열한 후 방냉하여 사용한다.

4.1.7 1 M 티오황산소듐

티오황산소듐 (sodium thiosulfate, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 분자량 : 158.11) 158.11 g을 정제수에 녹여 1 L로 한다.

4.1.8 포화 브롬수

유기물질이 제거된 정제수를 99.0 % 이상의 순도를 가진 브롬 (bromide) 시약과 섞은 후, 4 °C 빛이 없는 곳에서 1시간 동안 수용액을 분리한 후에 사용한다.

4.1.9 브롬화포타슘

브롬화포타슘 (potassium bromide, KBr, 분자량 : 119.02)은 99.0 % 이상의 순도인 것을 사용한다.

4.1.10 브롬화수소산

브롬화수소산 (hydrobromic acid, HBr, 분자량 : 80.91)은 48 % 수용액을 사용한다.

4.1.11 벤젠

벤젠 (benzene, C_6H_6 , 분자량 : 78.11)은 바탕시험시 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

[주 1] 벤젠은 독성이 있으므로 환기가 잘 되는 실험실 후드에서만 사용해야 한다.

4.1.12 다이메틸프탈레이트

다이메틸프탈레이트 (dimethyl phthalate, $\text{C}_6\text{H}_4(\text{COOCH}_3)_2$, 분자량 : 194.18)는 99.0 % 이상의 순도인 것을 사용한다.

4.1.13 플로리실

플로리실은 입경 150 μm ~ 250 μm 로, 130 °C에서 최소 3시간 건조 시킨 후 데시

케이터에서 방랭하여 냉각한 것을 5 g을 비커에 넣고 벤젠 10 mL를 넣어 유리막대로 저으면서 기포를 제거한다. 또는 시판용 플로리실 카트리지를 사용할 수 있다.

4.2 표준용액

4.2.1 아크릴아미드 표준원액(1 000 mg/L)

4.2.1.1 아크릴아미드 (acrylamide, C_3H_5NO , 분자량 : 71.08)는 고순도(99.0 % 이상)의 시약을 사용하여 아래와 같이 제조하여 사용할 수 있다. 또한 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.1.2 100 mL 부피플라스크를 저울에 놓고 영점을 맞춘 다음, 아크릴아미드를 약 0.1 g을 넣고 무게를 잰다. 메탄올로 표선까지 채운 다음 마개를 하고 플라스크를 조심히 흔들어서 혼합한다. 정확한 원액의 농도를 계산하여 라벨에 써넣는다.

4.2.1.3 갈색 유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 마개로 밀봉하여 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보존하고, 제조 후 6개월 이내에 사용한다. 사용 전에 증발 또는 변질여부를 확인한다.

4.2.2 아크릴아미드 표준용액(50 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 표준원액 1.25 mL를 넣고 메탄올로 표선까지 채운다. 마개를 하고 플라스크를 조심히 흔들어서 혼합한다. 용액을 갈색 유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 마개로 밀봉하여 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에 보존한다.

4.2.3 내부표준원액(1 000 mg/L)

내부표준물질로 권장하는 물질은 다이메틸프탈레이트 (dimethyl phthalate)이다. 다이메틸프탈레이트 0.1 g을 취하여 디에틸에테르에 녹여 100 mL로 한다. 이 용액은 여러 개의 바이알에 공기층이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장 보관한다.

4.2.4 내부표준용액(100 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 내부표준원액 2.5 mL를 넣고 디에틸에테르로 표선까지 채운다. 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 용액을 갈색 유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 마개로 밀봉하여 -10 °C에 보존한다. 검정곡선의 범위 및 분석기기의 감응도를 고려하여 내부표준 용액의 농도를 단계적으로 희석하여 사용할 수 있다.

4.2.5 내부표준용액(10 mg/L)

25 mL 부피플라스크에 내부표준용액(100 mg/L) 2.5 mL를 넣고 디에틸에테르로 표선까지 채운다. 마개를 하고 플라스크를 흔들어서 혼합한다. 용액을 갈색 유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 마개로 밀봉하여 -10 °C에 보존한다.

5.0 시료채취 및 관리

염산(1 + 1), 인산(1 + 10) 또는 황산(1 + 5) 적당량을 가하여 약 pH 2로 조절하고 4 °C 냉장소에서 보관한다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계, 정량한계, 검정곡선, 검정곡선 검증, 정밀도 및 정확도의 측정과 내부정도관리 주기는 ES 04001.c 정도보증/정도관리에 따른다.

6.2 정도관리 목표 값은 표 1을 따른다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 브롬화 유도체화

7.1.1.1 시료 50 mL를 취하여 250 mL 플라스크에 넣는다.

7.1.1.2 시료에 브롬화포타슘 (potassium bromide) 7.5 g을 저어 주면서 녹인다.

7.1.1.3 이 용액의 pH를 브롬화수소산으로 pH 1 ~ pH 3 사이로 조절한다.

7.1.1.4 플라스크를 알루미늄 호일로 감싸 차광하고 포화 브롬수 2.5 mL를 저어주면서 첨가한 후 암소에서 최소 1시간 동안 4 °C에 냉장 보관한다.

7.1.1.5 이 용액을 최소 1시간 동안 반응시킨 후 1 M 티오황산소듐 (sodium thiosulfate) 용액을 무색이 될 때까지 한 방울씩 첨가하여 시료 내의 과량의 브롬을 제거한다.

7.1.1.6 무수황산소듐 15 g을 넣고, 자석식 교반기를 이용해서 격렬하게 섞어준다.

7.1.2 추출

7.1.2.1 브롬화 반응이 끝난 반응액을 250 mL 분별깔때기로 옮기고, 용기에 남은 잔류물은 유기물질이 제거된 정제수로 3번 씻은 후 분별깔때기에 옮겨 합한다.

7.1.2.2 수용액을 옮긴 분액깔때기에 에틸아세테이트 10 mL를 주입하고 교반한다. 교반액의 층분리가 일어나도록 정치한 후, 상부의 유기층을 삼각플라스크에 분리하여 놓고 이 방법을 1회 반복하여 총 2회 추출한다. 분리된 에틸아세테이트와 분별깔때기의 여액을 소량의 에틸아세테이트로 씻어내어 합한 뒤 무수황산소듐 1 g을 통과시켜 수분을 제거한다.

7.1.2.3 무수황산소듐에 통과시켜 수분이 제거된 추출액을 회전증발농축기 또는 구데르나테니쉬농축기로 약 5 mL 이상 농축 후 전액 분취하여 질소 농축으로 1 mL가 되도록 농축하고 분석용 바이알에 옮긴 후 내부표준물질을 넣어 기기분석을 실시한다.

7.1.3 정제

7.1.3.1 간섭현상이 확인된 경우에, 필요에 따라 아래의 방법으로 정제한다.

7.1.3.2 농축한 용액을 벤젠 15 mL와 혼합하여 3 mL가 될 때까지 재농축한다.

7.1.3.3 플로리실컬럼은 안지름 10 mm, 길이 300 mm의 유리관 하부에 콕을 부착된 것으로 밑바닥에 탈지면 또는 유리섬유를 깔고 준비한 벤젠에 넣은 플로리실 5 g을 충전한다. 충전한 플로리실이 안정화되면 그 위에 무수황산소듐을 1 cm 두께로 넣어준다. 소량의 벤젠으로 관의 내벽을 씻고 콕을 열어 무수황산소듐의 상단에 이를 때까지 유하시킨다.

7.1.3.4 벤젠을 이용한 농축액을 플로리실컬럼의 상부에 조용히 옮기고 벤젠 50 mL를 이용하여 3 mL/min의 속도로 플로리실컬럼을 통과시킨다. 그 다음 다이에틸 에테르/벤젠(1:4) 50 mL를 5 mL/min 속도로 용출시켜 전부를 버리고 아세톤/벤젠(2:1) 25 mL를 2 mL/min 속도로 용출시켜 용출액을 받는다. 이 용출액을 1 mL로 농축시킨 후 과량의 에틸아세테이트를 넣어 용매를 치환한 후 다시 1 mL로 농축한다. 이 농축액에 내부표준물질을 첨가하여 측정에 사용한다.

7.2 분석방법

7.2.1 전처리에서 추출, 농축한 시험액 일정량을 미량주사기를 사용하여 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

7.2.2 크로마토그램과 질량스펙트럼으로부터 분석성분의 피크면적 (A_x)과 내부표준물질의 피크면적 (A_i)을 측정하고 피크면적 비 (A_x/A_i)를 구한다.

7.3 검정곡선의 작성

7.3.1 정제수 50 mL를 취하여 250 mL 플라스크에 넣은 후 아크릴아미드 표준용액 (5 mg/L) 0 μ L, 50 μ L, 100 μ L를 그리고 아크릴아미드 표준용액(50 mg/L) 50 μ L, 100 μ L, 250 μ L, 500 μ L를 단계적으로 취하여 정제수에 첨가한다(제조한 검정곡선용 표준용액의 농도는 시료 중의 농도로 계산하면 0, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 mg/L에 해당되며 필요에 따라 사용하는 표준용액의 농도와 개수를 달리 할 수 있다).

7.3.2 7.1 ~ 7.2의 분석절차에 따라 브롬화 유도체화한 후에 추출한 각각의 표준용액을 일정량 주입하고, 기기의 반응을 기록한다.

7.3.3 표준용액의 농도 (Cx)를 가로축 (x 축)에, 각 표준용액에 해당하는 피크 면적 (Ax)과 내부표준물질의 피크면적 (Ai)과의 비 (Ax/Ai)를 세로축 (y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

8.0 결과보고

분석물질과 내부표준물질에 대한 면적 비 (Ax/Ai)를 구할 경우 검정곡선식의 y(i) 값에 대입하여 x(i) 값을 계산하면 분석물질의 농도 (mg/L)를 구할 수 있다.

$$\text{농도}(mg/L) = \frac{\frac{A_x}{A_i} - b}{a} \quad (\text{식 1})$$

여기서, Ax/Ai : 분석물질과 내부표준물질의 피크 면적 비

a : 검정곡선의 기울기

b : 검정곡선의 절편 값

9.0 참고자료

9.1 EPA, Method 8032A, “Acrylamide in Aqueous Matrices Using Gas Chromatography”, US EPA, (1996)

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.005 mg/L
검정곡선	결정계수 (R^2) > 0.98 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차 25 % 이내
검정곡선 검증	측정값의 ± 25 % 이내
정밀도	25 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %

표 2. 아크릴아미드의 기체크로마토그래프 기기분석 조건(예)

항목	조 건				
컬럼	cross-linked 6 % cyanopropylphenol / 94 % dimethyl polysiloxane, 60 m 길이 × 0.25 mm 안지름 × 1.4 μm 필름두께				
운반기체(유속)	헬륨(1.2 mL/min)				
분할비	50 : 1				
주입구 온도	220 °C				
검출기 온도	230 °C				
오븐 온도	초기온도	초기시간	승온속도	최종온도	최종시간
	(°C)	(min.)	(°C/min.)	(°C)	(min.)
	60	3	20	220	15

표 3. 유도체화된 아크릴아미드 및 내부표준물질의 질량스펙트럼 이온

물질명	분자량	제1선택이온(m/z)	제2선택이온(m/z)
2,3-dibromopropionamide (아크릴아미드 유도체화 물질)	230.89	44	150, 152
Dimethyl phthalate	194.18	163	77, 164

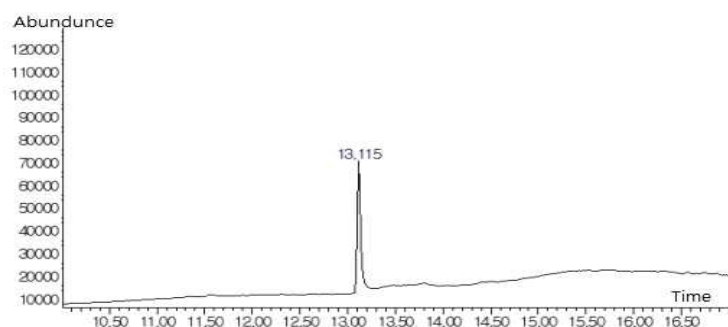


그림 1. 2,3-dibromopropionamide의 크로마토그램(예)

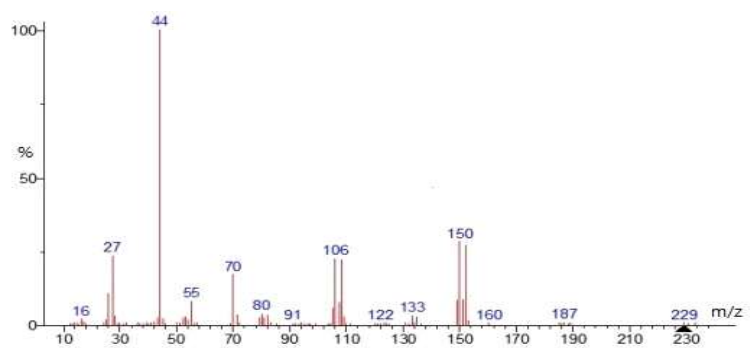


그림 2. 2,3-dibromopropionamide의 질량스펙트럼(예)

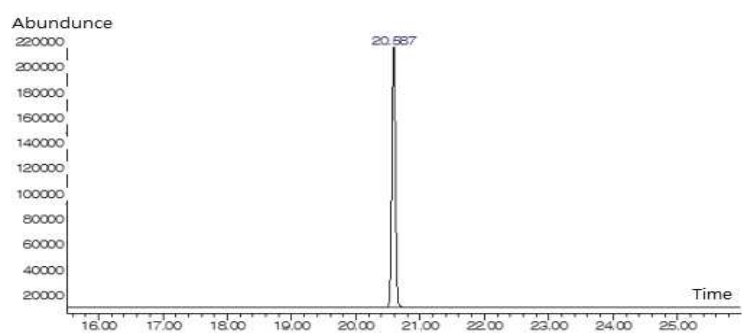


그림 3. 내부표준물질 Dimethyl phthalate의 크로마토그램(예)

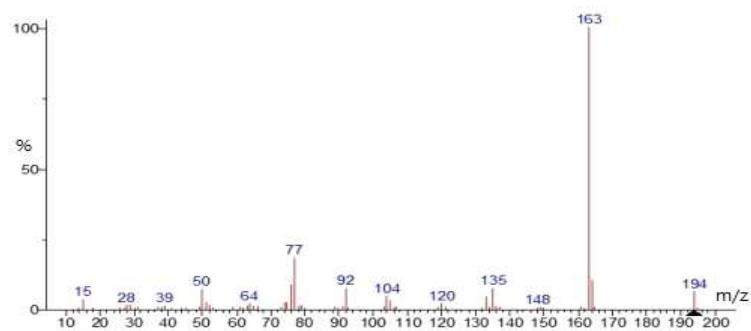


그림 4. 내부표준물질 Dimethyl phthalate의 질량스펙트럼(예)