

페놀-용매추출/기체크로마토그래피

2016

-질량분석법

(Phenol-Liquid Extraction/Gas Chromatography

-Mass Spectrometry)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 물속 존재하는 페놀을 측정하기 위한 것으로 pH를 조정한 후 다이클로로메탄으로 추출 및 농축한 후, 기체크로마토그래프-질량분석기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

이 시험기준은 지표수, 지하수, 폐수 등에 적용하며, 정량한계는 0.005 mg/L이다.

1.3 간섭물질

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

1.3.2 고순도 시약이나 용매를 사용하면 방해물질을 최소화할 수 있다.

1.3.3 알칼리성에서 실험하면 페놀의 회수율이 줄어든 수 있다.

2.0 용어정의

“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 ~ 100 m의 cross-linked methylsilicon 또는 cross-linked 5 % phenylmethylsilicon 등의 모세관이나 동등한 분리성능을 가진 모세관으로 대상 분석물질의 분리가 양호한 것을 택하여 사용한다.

3.1.2 운반기체는 순도 99.999 % 이상의 질소 또는 헬륨으로서 유량은 0.5 mL/min ~ 5 mL/min, 시료주입구 온도는 280 $^{\circ}$ C, 컬럼 온도는 60 $^{\circ}$ C ~ 240 $^{\circ}$ 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 35 eV ~ 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 3차 정제수를 사용한다. 바탕시험 할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.2 다이클로로메탄

다이클로로메탄 (dichloromethane, CH_2Cl_2 , 분자량 : 84.93)은 바탕시험 할 때 분석물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 메탄올

메탄올 (methanol, CH_3OH , 분자량 : 32.04)은 바탕시험 할 때 분석물질의 피크부근에 불순물피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.4 무수황산나트륨

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

4.1.5 염화나트륨

염화나트륨 (sodium chloride, NaCl , 분자량 : 58.44)은 바탕시험 할 때 표준물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용하거나 오븐에서 500 °C ~ 700 °C로 8시간 정도 가열한 후 사용한다.

4.1.6 인산이수소칼륨

인산이수소칼륨 (potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4 , 분자량 : 136.09)은 바탕시험 할 때 표준물질의 피크부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 페놀 표준원액 (1,000 mg/L)

4.2.1.1 페놀 (phenol, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, 분자량 : 94.11)은 고순도 (99 %이상)의 시약을 사용하여 아래와 같이 제조하여 사용할 수 있다. 또한 증명서가 첨부된 시판의 표준용액을 구입하여 사용할 수 있다.

4.2.1.2 페놀 표준물질 10 mg을 아세톤 또는 적절한 용매에 녹여 10 mL로 한다. 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE, polytetrafluoroethylene) 마개로 밀봉하여 냉장고에 보관하고, 제조 후 6개월 이내에 사용한다.

4.2.2 페놀 표준용액 (10 mg/L)

페놀 표준원액 (1,000 mg/L) 0.25 mL를 취하고 다이클로로메탄을 첨가하여 25 mL로 한다.

4.2.3 내부표준원액 (1,000 mg/L)

내부표준물질로 권장하는 물질은 페난트렌- d_{10} (phenanthrenre- d_{10} , $\text{C}_{14}\text{H}_{10}$, 분자량 : 188.29) 또는 페놀- d_5 (phenol- d_5 , $\text{C}_6\text{HD}_5\text{O}$ 분자량 : 99.14)로 고순도 (99% 이상) 10 mg을 다이클로로메탄에 녹여 10 mL로 한다. 이 용액은 여러 개의 바이알에 공기층이 남지 않도록 나누어 넣은 다음 밀봉하여 냉장보관하고, 4주일 이내에 사용한다.

4.2.4 내부표준용액 (10 mg/L)

내부표준원액 (1,000 mg/L) 0.25 mL를 취하고 다이클로로메탄을 첨가하여 25 mL로 한다.

5.0 시료채취 및 관리

미리 질산 및 정제수로 씻은 유리병에 시료를 채취하며 채취 전에 시료로 세척하지 말아야 한다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계 및 정량한계는 ES 04001b에 따라 측정한다. 정제수에 정량한계 부근의 농도가 되도록 분석물질을 첨가한 7개의 시료를 준비하고 각 시료를 7.0 항의 실험절차와 동일하게 측정하여 표준편차를 구한다.

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

6.2 방법바탕시료의 측정

ES 04001b 정도보증/정도관리에 따라 시료군마다 1개의 방법바탕시료를 측정한다. 방법바탕시료는 정제수를 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 , response factor)의 상대표준편차가 25 % 이내이어야 하며 결정계수 또는 감응계수의 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재작성 하도록 한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 각 시료군마다 1회의 검정곡선 검증을 실시하는 것이 바람직하다. 방법검출한계의 5배 ~ 50배 또는 검정곡선의 중간 농도에 해당하는 표준용액을 측정한다. 선택한 표준용액의 측정값은 검정곡선 작성할 때 해당 값과 25 % 이내에서 일치하여야 한다. 만약 이 범위를 넘는 경우, 검정곡선의 재작성이 요구된다.

$$RF = \frac{As \times C_{is}}{A_{is} \times C_s} \quad (\text{식 1})$$

여기서, As : 측정할 분석물질의 면적

A_{is} : 내부표준물질의 면적

C_{is} : 내부표준물질의 농도

C_s : 측정할 분석물질의 농도

6.4 정확도 및 정밀도

6.4.1 정확도 및 정밀도의 측정은 ES 04001b 정도보증/정도관리에 따라 측정한다. 정제수에 정량한계 농도의 1배 ~ 5배의 농도가 되도록 동일하게 표준물질을 첨가한 시료를 4개 이상 준비하고, 7.0 항의 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 인증시료를 정확히 첨가한 시료로 대체한다. 이때 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.

$$\text{정확도} = \frac{C_M}{C_C} \times 100 \% = \frac{C_{AM} - C_S}{C_A} \times 100 \% \quad (\text{식 2})$$

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.

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, 컬럼 교체 시와 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

6.5.2 검정곡선 검증 및 시약바탕시료의 분석은 각 시료군마다 실시하며, 고농도의 시료 다음에는 시약바탕시료를 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 분액깔대기에 취하고 인산이수소칼륨을 넣어 pH 4.5로 조절한다.

7.1.2 시료에 내부표준용액인 페난트렌- d_{10} (10 mg/L) 또는 페놀- d_5 (10 mg/L)를 0.2 mL 주입한다.

7.1.3 시료에 염화나트륨 20 g을 넣은 후 다이클로로메탄 20 mL를 넣고 10분간 세계 흔들어 추출한 후 2회 더 반복하여 총 3회 추출한다. 추출한 다이클로로메탄 층을 무수황산나트륨 2 g을 통과시켜 수분을 제거한다.

7.1.4 무수황산나트륨에 통과시켜 수분이 제거된 추출액을 구테르나테니쉬농축기, 회전증발농축기 또는 질소농축기로 1 mL가 되도록 농축하고 분석용 바이알에 옮긴 후 기기분석을 실시한다.

7.2 분석방법

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

[주 1] 주입구, 라이너 등은 페놀류와 반응하지 않는 재질을 사용하여야 하며 주기적으로 점검하여 적절한 감도가 유지되도록 한다. 라이너는 시료 및 기기의 감도를 고려하여 주기적으로 교체하는 것이 바람직하며 라이너 교체시 격막(septum)을 항상 같이 교체하는 것이 바람직하다.

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

7.3.1 500 mL 부피플라스크에 표준용액 (10 mg/L) 0.2 mL ~ 2 mL를 단계적으로 취하여 넣고 정제수로 표선까지 채운다. 검정곡선의 감응계수가 유지되는 범위 내에서 보다 고농도의 표준용액을 사용할 수 있다. 검정곡선용 표준용액을 7.1 전처리 조작과 같이 추출, 농축한 다음 7.2 에 따른다.

7.3.2 표준용액의 농도 (C_x)를 가로축 (x 축)에, 각 표준용액에 해당하는 피크 면적 (A_x)과 내부표준물질의 피크면적 (A_i)과의 비 (A_x/A_i)를 세로축 (y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

8.0 결과보고

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

$$\text{농도}(mg/L) = \frac{\frac{A_x}{A_i} - b}{a} \quad (\text{식 } 2)$$

여기서, A_x/A_i : 분석물질과 내부표준물질의 피크 면적 비

a : 검정곡선의 기울기

b : 검정곡선의 절편 값

9.0 참고자료

9.1 US EPA Method 604, 1991, Phenols.

9.2 US EPA Method 625, 1991, Base/Neutrals and Acid.

9.3 Standard Methods 6420 C, 1995, Liquid-Liquid Extraction Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Method.

9.4 환경부, 2016, 먹는물 수질 감시항목 시험방법(페놀류).

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.005 mg/L
검정곡선	결정계수 (R^2) ≥ 0.98 또는 감응계수의 상대표준편차 25 % 이내
정밀도	상대편차가 ± 25 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %

표 2. 페놀의 기체크로마토그래프 기기분석 조건 예

항목	조 건				
컬럼	Cross-linked 5% phenylmethylsilicon, 길이 30 m × 안지름 0.25 mm × 필름두께 0.25 μ m				
운반기체(유속)	헬륨 (1.0 mL/min)				
분획비	10 : 1				
주입구 온도	280 $^{\circ}$ C				
검출기 온도	280 $^{\circ}$ C				
오븐 온도	초기온도	초기시간	승온속도	최종온도	최종시간
	($^{\circ}$ C)	(min)	($^{\circ}$ C/min)	($^{\circ}$ C)	(min)
	60.0	1.0	10.0	240	1

표 3. 페놀 및 내부표준물질의 질량스펙트럼 이온

물질명	분자량	제1선택이온(m/z)	제2선택이온(m/z)
페놀	94.11	94	65, 66
페난트렌-d ₁₀	188.29	188	189, 94
페놀-d ₅	99.14	99	70, 71

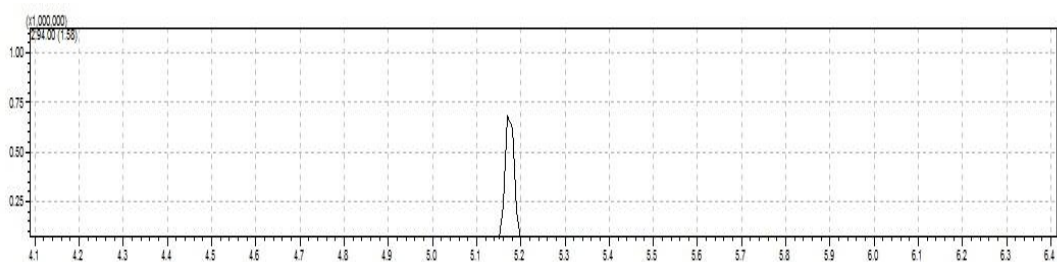


그림 1. 페놀의 크로마토그램 (0.040 mg/L)

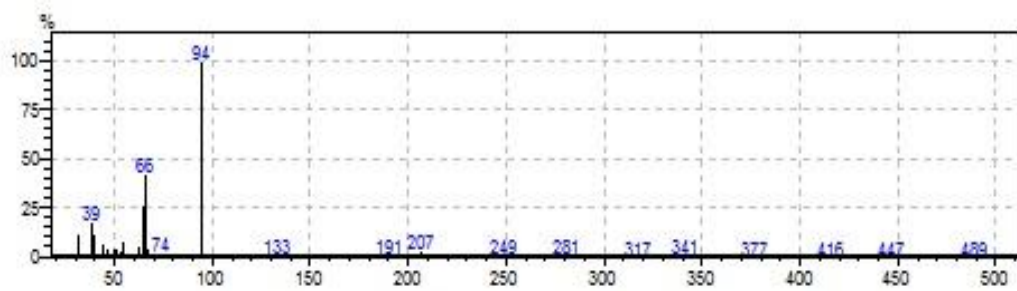


그림 2. 페놀의 질량스펙트럼

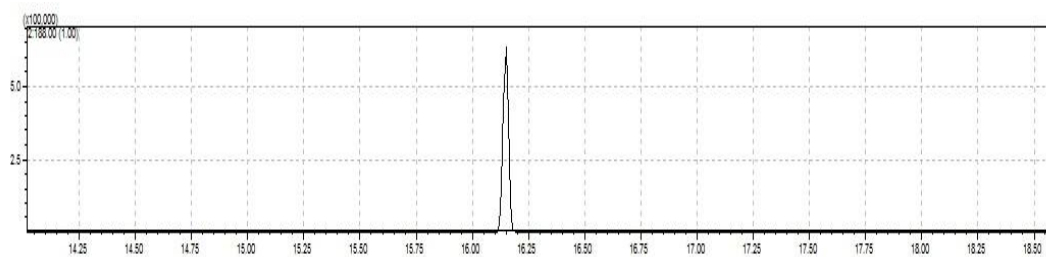


그림 3. 내부표준물질 페난트렌-d₁₀의 크로마토그램 (0.020 mg/L)

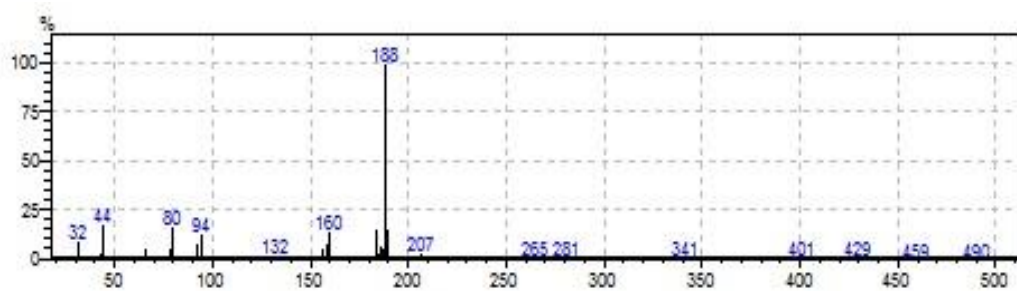


그림 4. 내부표준물질 페난트렌-d₁₀의 질량스펙트럼