

옥틸페놀-

2018

기체크로마토그래피-질량분석법
(Octylphenol-Gas Chromatography-Mass Spectrometry)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준은 물속에 존재하는 옥틸페놀을 측정하기 위하여 시료를 pH 2 이하의 산성으로 만들고 다이클로로메탄으로 추출하여 농축·정제한 후, 기체크로마토그래피-질량분석기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험기준은 폐수 또는 옥틸페놀의 농도가 비교적 높은 지표수, 지하수 등에 적용할 수 있다.

1.2.2 옥틸페놀의 정량한계는 0.002 mg/L이다.

1.3 간섭물질

1.3.1 추출 용매에 함유된 불순물이 분석을 방해할 수 있다. 이 경우 방법바탕시료나 시약바탕시료를 분석하여 확인할 수 있다. 방해물질이 존재하면 용매를 증류하거나 정제용 칼럼을 이용하여 제거한다. 고순도의 시약이나 용매를 사용하면 방해물질을 최소화할 수 있다.

1.3.2 유리기구류는 세정제, 수돗물, 정제수 그리고 아세톤으로 차례로 닦아준 후 300℃에서 15분 ~ 30분 동안 가열한 후 식혀 알루미늄박(箔)으로 덮어 깨끗한 곳에 보관하여 사용한다.

1.3.3 매트릭스로부터 추출되어 나오는 방해물질이 있을 수 있는데 이는 시료마다 다르다. 만약 방해가 심하면 추가적으로 플로리실(Florisil) 등을 사용한 고체상 정제를 할 수 있으며 이 경우에는 바탕시험으로 결과 보정이 필요할 수 있다.

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 기체크로마토그래프

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 methylsilicone (DB-1 또는 동등한 성능의 제품), cross-linked 5 % phenylmethylsilicone (DB-5 또는 동등한 성능의 제품) 등의 모세관이나 동등한 분리성능을 가진 모세관으로 대상 분석 물질의 분리가 양호한 것을 택하여 시험한다.

3.1.2 운반기체는 부피백분을 99.999 % 이상의 헬륨 (또는 질소)을 사용하며 유량은 0.5 mL/min ~ 4 mL/min, 시료도입부 온도는 260 $^{\circ}\text{C}$ ~ 300 $^{\circ}\text{C}$, 컬럼온도는 50 $^{\circ}\text{C}$ ~ 320 $^{\circ}\text{C}$ 로 사용한다.

3.2 질량분석기 (mass spectrometer)

3.2.1 이온화 방식은 전자충격법 (EI, electron impact)을 사용하며 이온화 에너지는 35 eV ~ 70 eV를 사용한다.

3.2.2 질량분석기는 자기장형 (magnetic sector), 사중극자형 (quadrupole) 및 이온트랩형 (ion trap), 오비트랩(Orbitrap) 등 분석에 필요한 성능을 가진 것을 사용한다.

3.2.3 정량분석에는 선택이온검출법 (SIM, selected ion monitoring)을 이용하는 것이

바람직하다. 선택하는 이온들은 표 3의 이온을 사용할 수 있다.

3.3 농축기

쿠데르나다니쉬 (K.D.) 농축기, 회전증발농축기 또는 질소농축기를 사용하거나 이와 동등 이상의 성능을 가진 것을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 염화나트륨

염화나트륨 (sodium chloride, NaCl, 분자량 : 58.45) 30 g을 정제수 500 mL에 녹이고 추출용매 10 mL를 넣고 흔들어 혼합한 다음 추출용매 2 μ L 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.2 n-헥산

n-헥산 (n-hexane, C₆H₁₄, 분자량 : 86.17) 100 mL를 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을 2 μ L 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 아세톤

아세톤 (acetone, CH₃COCH₃, 분자량 : 58.08) 100 mL를 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을 2 μ L 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.4 메탄올

메탄올 (methanol, CH₃OH, 분자량 : 32.04) 100 mL를 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을

2 μL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.5 다이클로로메탄

다이클로로메탄 (methylene chloride, CH_2Cl_2 , 분자량 : 84.93) 100 mL를 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을 2 μL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 추출용매로 사용한다.

4.1.6 9 M 황산

황산 (sulfuric acid, H_2SO_4 , 비중 : 1.84, 분자량 : 98.08, 함량 : 95 %이상) 을 정제수에 천천히 넣어 섞어 조제하며 식혀서 사용한다.

4.1.7 무수황산나트륨

무수황산나트륨 (anhydrous sodium sulfate, Na_2SO_4 , 분자량 : 142.04) 100 g에 추출용매 50 mL를 넣고 흔들어 섞은 다음 여과하여 무수황산나트륨을 분리한다. 분리한 무수황산나트륨에 다시 추출용매 25 mL를 넣고 흔들어 섞은 다음 여과하여 분리한 무수황산나트륨을 후드 내에서 건조시킨다. 두 번째 분리하여 얻은 추출용매 2 μL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 옥틸페놀 표준원액 (1,000.0 mg/L)

고순도 옥틸페놀 (98.0 % 이상) 시약을 사용하여 크로마토그래피용 메탄올로 정확히 1,000 mg/L 를 조제하거나 품질보증서 (certificate)가 첨부된 시판 표준용액을 사용할 수 있다. 갈색유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 마개로 밀봉한 후 냉장 보관하며 사용한다.

4.2.2 옥틸페놀 표준용액 (100.0 mg/L)

10 mL 부피플라스크에 옥틸페놀 표준원액 1 mL를 넣고 메탄올 또는 적절한 용매로 표선까지 채운다. 마개를 하고 플라스크를 천천히 흔들어서 혼합한다. 용액을 갈색유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 마개로 밀봉하여 냉장 보관한다.

4.3 대체표준용액

4.3.1 대체표준원액 (1,000.0 mg/L)

고순도 4-*n*-Nonylphenol (98.0 %) 시약을 사용하고 크로마토그래피용 메탄올로 정확히 1,000 mg/L 를 조제하거나 품질보증서 (certificate)가 첨부된 시판 표준용액을 사용할 수 있다. 갈색유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 마개로 밀봉한 후 냉장 보관하며 사용한다.

4.3.2 대체표준용액 (10.0 mg/L)

100 mL 부피플라스크에 대체표준원액 1 mL를 넣고 메탄올 또는 적절한 용매로 표선까지 채운다. 마개를 하고 플라스크를 천천히 흔들어서 혼합한다. 용액을 갈색유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 마개로 밀봉하여 냉장 보관한다.

4.4 내부표준용액

4.4.1 내부표준원액 (1,000.0 mg/L)

고순도 phenanthrene- d_{10} (98.0 % 이상) 시약을 사용하여 크로마토그래프용 메탄올로 정확히 1,000 mg/L 를 조제하거나 품질보증서 (certificate)가 첨부된 시판 표준용액을 사용할 수 있다. 갈색유리병에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 마개로 밀봉한 후 냉장 보관하며 사용한다.

4.4.2 내부표준용액 (10.0 mg/L)

100 mL 부피플라스크에 내부표준원액 1 mL를 넣고 메탄올 또는 적절한 용매로 표선까지 채운다. 마개를 하고 플라스크를 천천히 흔들어서 혼합한다. 용액을 갈색유리병

에 옮기고 폴리테트라플루오로에틸렌 (PTFE) 마개로 밀봉하여 냉장 보관한다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료채취는 아세톤 등으로 세척되거나 사전 채적이 인증된 유리병을 사용하며 세제를 사용하지 않아야 한다.

5.2 황산 적당량을 가하여 pH 2로 조절하여 추출하기 전까지 0 °C ~ 4 °C 냉암소에서 보관한다. 시료는 28일 이내에 추출하고 40일 이내에 분석한다.

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 정량한계 부근의 농도가 되도록 첨가한 7개의 첨가시료를 준비하고 7.0항의 실험절차와 동일하게 분석하여 표준편차를 구한다.

6.1.2 표준편차에 3.14를 곱한 값을 방법검출한계로, 10을 곱한 값을 정량한계로 나타낸다. 측정한 방법검출한계와 정량한계는 표 1에서 제시한 정도관리 목표값을 만족할 수 있어야 한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

ES 04001b 정도보증/정도관리에 따라 시료군마다 1개의 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 검정곡선의 작성 및 검증은 정량범위 내의 3개 이상 농도에 대해 검정곡선을 작성하고 얻어진 검정곡선의 결정계수 (R^2)가 0.98 이상 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차가 25 % 이내이어야 하며, 결정계수나 감응계수의 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 다시 작성한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 검정곡선을 작성할 때에는 정량범위를 0.5 mg/L ~ 10 mg/L 범위에서 3개 이상의 농도가 포함되어야 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 25 % 이내에서 일치하여야 한다. 만약 이 범위를 넘는 경우, 검정곡선을 다시 작성한다.

6.4 회수율

6.4.1 회수율이라 함은 대체표준물질의 회수율을 말하며 시료분석결과에 대한 신뢰성 검토를 위해 시료분석결과와 함께 제시한다.

6.4.2 검정곡선 작성용 표준용액(0.5 ~ 10 mg/L)을 분석하여 얻은 각 대체표준물질과 내부표준물질간의 상대감응계수(RRF)를 이용하여 시료에서의 대체표준물질의 회수율을 아래와 같이 계산하며 50 ~ 120% 범위를 만족하여야 한다.

$$\text{회수율(\%)} = \frac{(A_s)}{(A_l)} \times \frac{1}{\text{RRF}} \times \frac{(C_l)}{(C_s)} \times 100$$

여기서, A_s : 대체표준물질의 정량이온의 피크 면적

A_l : 내부표준물질의 정량이온의 피크 면적

C_l : 내부표준물질의 농도

C_s : 대체표준물질의 농도

RRF : 상대감응계수

6.5 정밀도 및 정확도

6.5.1 정확도 (accuracy) 및 정밀도 (precision)의 측정은 ES 04001b 정도보증/정도관리에 따른다. 정제수에 정량한계의 10배 농도가 되도록 동일하게 표준물질을 첨가한 시료를 4개 이상 준비하고 7.0항의 절차와 동일하게 측정하여 평균값과 표준편차를 구한다.

6.5.2 정확도는 인증시료를 확보할 수 있는 경우 인증표준물질을 분석한 결과 값과 인증 값과의 상대백분율로 나타내고, 인증시료를 확보할 수 없는 경우 이를 정확한 농도로 첨가한 시료로 대체한다. 이 때 정확도는 첨가시료를 분석한 농도와 첨가하지 않은 시료를 분석한 농도와의 차이에 대한 첨가농도의 상대백분율로서 나타내며 그 값이 75 % ~ 125 % 이내이어야 한다.

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

6.6 현장 이중시료의 측정

현장 이중시료(field duplicate sample)는 동일한 시료채취 장소에서 동일한 조건으로 중복 채취한 시료로서 한 조사팀이 하루에 20개 이하를 채취할 경우에는 1개를 그리고 그 이상을 채취할 때에는 시료 20개당 1개를 추가로 취한다. 동일한 조건의 두 시료간의 측정값의 편차는 25 % 이하이어야 한다.

6.7 내부정도관리 주기 및 목표

6.7.1 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 및 측정 장비의 감도가 의심될 때에는 언제든지 측정하여 확인하여야 한다.

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

6.7.3 각 정도관리 항목에 대한 정도관리 목표 값은 표 1과 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 시료 500 mL를 1 L 분별깔때기에 취하여 대체표준용액을 첨가하고 9 M 황산 용액을 이용하여 시료를 pH 2 이하의 산성상태로 만든 후 염화나트륨 약 30 g을 넣어 녹인다. 시료채취 후 보존을 위하여 pH 2로 조절하여 pH의 변화가 없는 경우에는 산성상태 조절이 필요하지 않다.

7.1.2 추출용매인 다이클로로메탄 50 mL를 넣어 5분간 강하게 흔들어 섞은 다음 가만히 두었다가 추출용매 층을 다른 분별깔때기(B)에 취한다.

7.1.3 시료 500 mL 에 추출용매 50 mL를 넣어 같은 방법으로 2회 더 반복 추출한다.

7.1.4 7.1.2와 7.1.3의 추출물을 합하여 무수황산나트륨을 이용하여 수분을 제거한다.

7.1.5 7.1.4에서 수분이 제거된 추출액을 회전증발농축기와 질소 농축기를 이용하여 농축 후, 내부표준용액을 첨가하여 부피를 1.0 mL로 하여 분석한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 표준용액(100.0 mg/L) 0, 5, 10, 20, 50, 100 μ L를 단계적으로 취하여 넣고 대체표준용액(10.0 mg/L)과 내부표준용액(10.0 mg/L)을 각각 정확히 50 μ L를 취하여 1 mL 바이알에 넣고 각각 메탄올로 1 mL가 될 때까지 채운다. 제조한 검정곡선용 표준용액의 농도는 0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mg/L에 해당되며 필요에 따라 사용하는 표준용액의 농도와 개수를 달리 할 수 있다.

[주 1] 시료분석결과가 검정곡선의 농도범위를 벗어나면 시료를 묽혀서 재분석한다.

7.2.2 시료를 분석하기 전에 제조한 검정곡선 작성용 표준용액(0.5 mg/L ~ 10 mg/L)을 분석하여 각 선택이온에 대한 크로마토그램을 작성하여 각 표준물질의 면적과 이에 대응하는 내부표준물질의 피크 면적으로부터 상대감응계수(RRF)를 구한다. 아래 식에

의해 상대감응계수(RRF)를 얻을 수 있다.

$$RRF = \frac{(A_n)}{(A_l)} \times \frac{(C_l)}{(C_n)}$$

여기서, A_n : 표준물질의 정량이온의 피크 면적

A_l : 내부표준물질의 정량이온의 피크 면적

C_l : 내부표준물질의 농도

C_n : 표준물질의 농도

위의 식에 의해 농도별 상대감응계수(RRF)값을 구한 다음, 평균 상대감응계수(RRF_{ave})와 상대표준편차(RSD)를 계산한다.

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

농도별 상대감응계수 값에 대한 상대표준편차가 25% 이하인 경우는 평균 상대감응계수를 사용하여 시료를 정량하고, 25%를 초과하면 모든 검정곡선 표준용액을 다시 측정하여 새로운 평균 상대감응계수를 구하여야 한다.

7.3 측정법

7.3.1 최종 농축한 시료 중 2 μ L를 취하여 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

7.3.2 기체크로마토그래프로부터 얻은 크로마토그램에서 각 분석성분 및 내부표준물질의 머무름 시간에 해당하는 위치의 피크들로부터 피크 면적을 구한다.

7.3.3 시료 추출물에서 각 분석물질들을 검출하기 위하여 기체크로마토그래프의 피크에 대한 신호 대 잡음 (signal to noise, S/N)의 비는 3보다 커야 한다.

8.0 결과보고

정량은 검출된 분석물질과 동위원소 치환 내부표준물질의 상대비율로 정량하는 내부표준법으로 평균 상대감응계수(RRF_{ave})법에 의해 정량한다. 농도계산 방법은 다음 식과 같다.

$$C = \frac{(A_s)}{(A_i)} \times \frac{(I_i)}{(RRF_{avg})} \times \frac{1}{V}$$

여기에서, C : 시료 중 농도(mg/L)

A_s : 시료에 함유된 분석물질의 정량이온의 피크 면적

A_i : A_s 에 대응하는 시료에 첨가된 내부표준물질의 정량이온의 피크 면적

I_i : 시료에 첨가된 내부표준물질의 양(mg)

RRF_{avg} : 평균 상대감응계수

V : 시료량(L)

9.0 참고자료

9.1 ASTM D7065-06, Determination of Nonylphenol, Bisphenol A, p-tert-Octylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate and Nonylphenol Diethoxylate in Environmental Waters by Gas chromatography Mass Spectrometry

9.2 ISO24293, Water quality determination of individual isomers of nonylphenol

9.3 JIS_K_00450_020_010_2006_e_ed10_i4, Determination of AP using GCMS with TMS derivatization

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.002 mg/L
검정곡선	결정계수 (R^2) ≥ 0.98 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차 $\leq 25\%$
정밀도	상대표준편차가 $\pm 25\%$ 이내
정확도	75% ~ 125%

표 2. 기체크로마토그래프 실험조건(예)

항 목	조 건
컬럼	cross-linked 5 % phenylmethylsilicone, 30 m 길이 x 0.25 mm 안지름 x 0.25 μ m 필름두께
운반기체 (유속)	헬륨 (1.0 mL/min)
분획비(주입법)	Splitless(정량한계 등 만족시에 split mode 사용 가능)
주입구 온도	290 $^{\circ}$ C
인터페이스 온도	280 $^{\circ}$ C
오븐온도	50 $^{\circ}$ C (2 min) $\rightarrow$ 10 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 160 $^{\circ}$ C (0 min) $\rightarrow$ 5 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 200 $^{\circ}$ C (2 min) $\rightarrow$ 30 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 320 $^{\circ}$ C (3 min)

표 3. 물질별의 선택이온

물질명	분자량	제1선택이온 (m/z)	제2선택이온 (m/z)
Phenanthrene-d ₁₀ (IS)	188	188	187
4-n-Nonylphenol (SS)	220	107	220
Octylphenol	206	135	107

표 4. 각 표준물질의 머무름 시간(예)

물질명	머무름 시간 (min)
Phenanthrene-d ₁₀ (IS)	18.96
4-n-Nonylphenol (SS)	20.50
Octylphenol	16.19

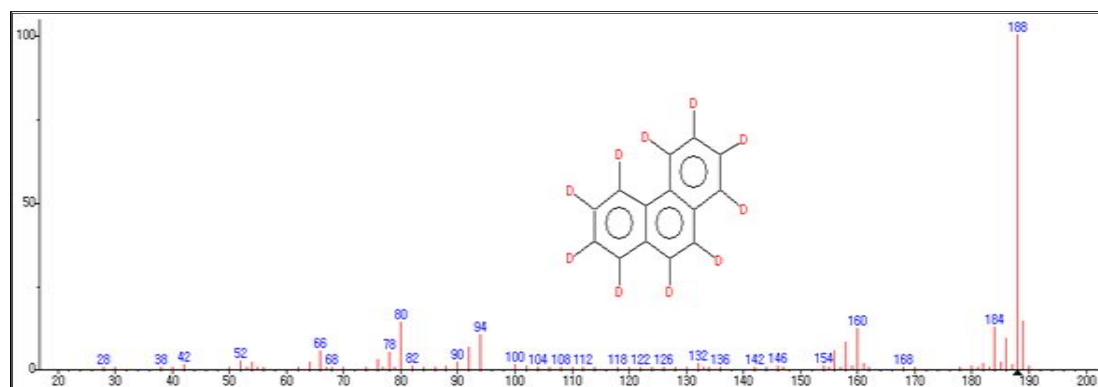
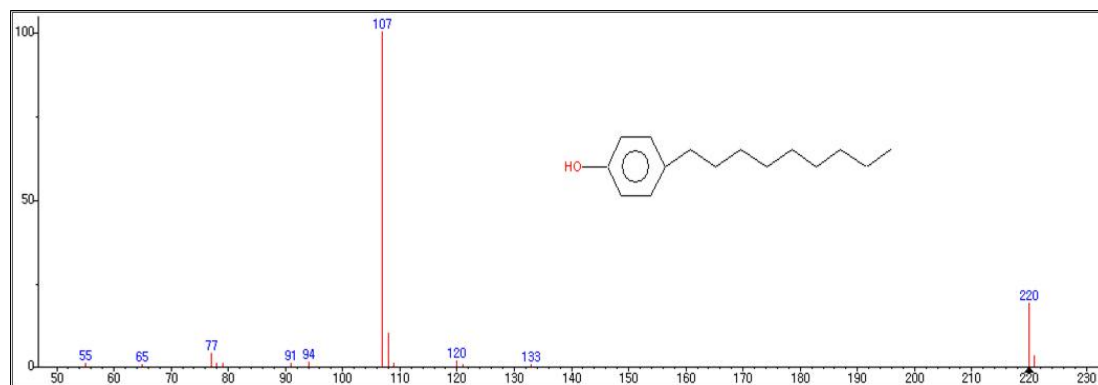
그림 1. Phenanthrene-d₁₀(IS)의 질량스펙트럼 (예)

그림 2. 4-n-Nonylphenol(SS)의 질량스펙트럼 (예)

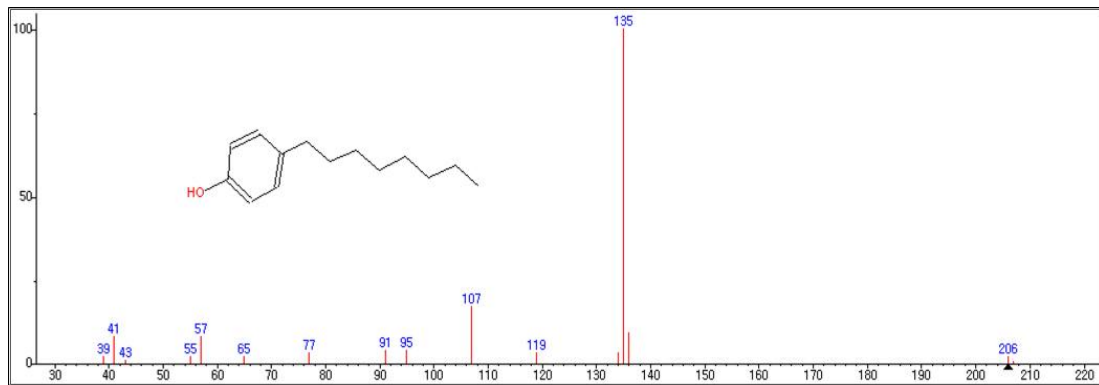


그림 3. Octylphenol의 질량스펙트럼 (예)