유기인계농약-고상추출-기체크로마토그래피

2024

(Organophosphorus Pesticides-Solid Phase Extraction(SPE)-Gas Chromatography)

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 먹는물, 샘물 및 염지하수 중에 유기인계농약류의 측정방법으로서, 먹는물 중에 다이아지논, 파라티온, 페니트로티온을 고상카트리지에 통과시켜 흡착시킨 후 에틸아세테이트로 용출시켜 추출하여 농축한 후 기체크로마토그래프로 분리하여 질소-인 검출기로 분석하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험기준은 먹는물, 샘물 중에 유기인계농약류인 다이아지논(diazinon), 파라티온 (parathion), 페니트로티온 (fenitrothion)의 분석에 적용한다.

1.2.2 이 시험기준은 기체크로마토그래프로 분리한 다음 질소-인 검출기로 측정하는 방법이다.

1.2.3 이 시험기준에 의한 먹는물, 샘물 중에 각 유기인계농약류의 정량한계는 0.0005 mg/L이다.

1.3 간섭물질

1.3.1 추출 용매 안에 함유하고 있는 불순물이 분석을 방해할 수 있다. 이 경우 바탕시료나 시약바탕시료를 분석하여 확인할 수 있다. 방해물질이 존재하면 용매를 증류하거나 컬럼 크로마토그래프를 이용하여 제거한다. 고순도의 시약이나 용매를 사용하면 방해물

질을 최소화할 수 있다.

1.3.2 유리기구류는 세정제, 수돗물, 정제수 그리고 아세톤으로 차례로 닦아준 후 400 ℃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 플로리실과 같은 고체상 정제과정이 필요하다.

2.0 "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, HP-1 등) 또는 cross-linked 5 % phenylmethylsilicone (DB-5, HP-5 등) 등의 모세관이나 동등한 분리성능을 가진 모세관으로 대상 분석 물질의 분리가 양호한 것을 택하여 시험한다.

3.1.2 운반기체는 부피백분율 99.999 % 이상의 헬륨 (또는 질소)을 사용하며 유량은 0.5 mL/min ~ 4 mL/min, 시료도입부 온도는 200 ℃ ~ 250 ℃, 컬럼온도는 40 ℃ ~ 280 ℃로 사용한다.

3.1.3 질소-인 검출기

질소-인 검출기 (NPD, nitrogen phosphorus detector)는 질소나 인이 불꽃 또는 열에서 생성된 이온이 루비듐염과 반응하여 전자를 전달하며 이 때 흐르는 전자가 포착되어 전류의 흐름으로 바꾸어 측정하는 방법으로 유기인화합물 및 유기질소화합물을 선택적으로 검출할 수 있다.

3.1.4 기체크로마토그래프의 조건은 표 2와 같이 수행할 수 있다.

3.2 농축기

3.3 고상카트리지

C_{18} 카트리지 또는 이와 동등 이상의 성능을 지닌 것을 사용한다.

3.4 고상추출장치

일반적으로 고상추출에 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

시약용 정제수를 사용하거나, 순수제조장치로 정제된 물을 사용한다. 단, 바탕시험 할 때 분석화합물의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.2 메탄올 (methanol, CH_3OH, 분자량 : 32.04)

메탄올 (methanol, CH_3OH, 분자량 : 32.04) 100 mL를 약 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을 2 µL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.3 아세톤 (acetone, CH_3COCH_3, 분자량 : 58.08)

아세톤 (acetone, CH_3COCH_3, 분자량 : 58.08) 100 mL를 약 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을 2 µL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.4 에틸아세테이트 (ethyl acetate, $C_4H_8O_2$, 분자량 : 55.11)

에틸아세테이트 (ethyl acetate, $C_4H_8O_2$, 분자량 : 55.11) 100 mL를 약 1 mL ~ 5 mL로 농축한 것을 2 µL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.1.5 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 바람에 말린다. 2번째 분리하여 얻은 추출용매 2 µL 취하여 기체크로마토그래프에 주입할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 농약표준원액 (1000 ㎎/L)

잔류농약시험용 다이아지논, 페니트로티온, 파라티온 각 50 mg을 정확히 취하여 각각의 50 mL 부피플라스크에 넣고 아세톤을 넣어 50 mL로 한다. 이 용액 1 mL는 유기인계농약을 각각 1 mg씩 함유한다. 시판되는 농약표준원액을 사용할 수 있다. 이 용액은 갈색 바이알에 넣어 냉장 보관한다.

4.2.2 농약혼합표준용액 (10 ㎎/L)

100 mL 부피플라스크에 각각의 다이아지논, 페니트로티온 및 파라티온 농약 표준원액 1 mL를 넣고 아세톤을 넣어 100 mL로 한다. 이 용액 1 mL는 다이아지논, 페니트로티온 및 파라티온 10 µg을 함유한다.

4.3 내부표준용액

4.3.1 내부표준원액 (1000 mg/L)

트리페닐포스페이트 (TPP, triphenylphosphate) 100 mg을 정확히 취하여 100 mL 부피플라스크에 넣고 아세톤을 넣어 100 mL로 한다. 이 용액 1 mL는 TPP 1 mg을 함유한다.시판되는 내부표준원액을 사용할 수 있다. 이 용액은 갈색 바이알에 넣어 냉장 보관한다.

4.3.2 내부표준용액 (10 mg/L)

100 mL 부피플라스크에 내부표준원액인 TPP 1 mL를 넣고 아세톤을 넣어 100 mL로 한다. 이 용액 1 mL는 TPP 10 μg을 함유한다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료채취는 유리병을 사용하며 채취 전에 시료로서 세척하지 말아야 한다.

5.2 시료가 잔류염소를 함유하고 있다면 잔류염소 4 mg/L 이하인 시료 1 L 기준으로 티오황산나트륨 (80 g/L) 1 mL에 준하여 첨가한다.

5.3 모든 시료는 시료채취 후 추출하기 전까지 1 ℃ ~ 5 ℃ 냉암소에서 보관하고 7일 이내에 추출하고 40일 이내에 분석한다.

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계 (MDL, method detection limit) 및 정량한계 (LOQ, limit of quantitation)는 ES 05001 정도보증/정도관리에 따라 계산한다. 정제수에 표준용액을 0.0005 mg/L가 되도록 첨가한 7 개의 첨가시료를 준비하고 7.0 분석절차와 동일하게 측정하여 표준편차를 구한다.

6.1.2 표준편차에 3.14를 곱한 값을 방법검출한계로, 10을 곱한 값을 정량한계로 나타

낸다. 측정한 정량한계는 표 1에서 제시한 정량한계 이하이어야 한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

ES 05001 정도보증/정도관리에 따라 시료군마다 1 개의 방법바탕시료 (method blank)를 측정한다. 방법바탕시료는 정제수를 사용하여 7.0 분석절차와 동일하게 측정하며 측정값은 방법검출한계 이하이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선의 작성 및 검증은 ES 05001 정도보증/정도관리에 따른다. 정량범위 내의 5 개의 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 재작성한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 검정곡선을 작성할 때에는 정량범위를 0.0005 mg/L ~ 0.01 mg/L로 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 구하고 그 값의 변화가 25 % 이내에서 일치하여야 한다. 만약 이 범위를 넘는 경우, 검정곡선을 재작성한다.

6.4 정밀도 및 정확도

6.4.1 정밀도 (precision) 및 정확도 (accuracy)의 측정은 ES 05001 정도보증/정도관리에 따른다. 정제수에 정량한계 농도의 10 배가 되도록 동일하게 표준물질을 첨가한 시료를 4 개 이상 준비하고, 7.0 분석절차와 동일하게 측정하여 평균값과 표준편차를 구한다.

6.4.2 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.

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

6.5 현장 이중시료의 측정

현장 이중시료 (field duplicate sample)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 편차는 25 % 이하이어야 한다.

6.6 내부정도관리 주기 및 목표

6.6.1 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, 컬럼의 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 1과 같다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 시료와 표준용액을 냉장고에서 꺼내어 상온으로 한다.

7.1.2 고상카트리지를 고상추출장치에 연결한다.

7.1.3 5 mL 메탄올을 1 분간 정치하여 카트리지를 적신 후 통과시킨다.

7.1.4 에틸아세테이트 5 mL, 정제수 5 mL 순으로 각 1 분간 정치하여 카트리지를 적신 후 통과시킨다.

7.1.5 시료 500 mL에 내부표준용액 (10 mg/L) 50 µL를 첨가한다, 20 mL/min 이하의 속도로 카트리지를 통과시킨 후, 5 분간 진공으로 말린다.

7.1.6 에틸아세테이트 5 mL로 용기를 세척한 후, 진공으로 말린 고상카트리지에 내려 유출액을 시험관에 받는다.

7.1.7 에틸아세테이트 3 mL 씩 3 회로 고상카트리지에 내려 7.1.6과 같은 시험관에 받는다.

7.1.8 7.1.6과 7.1.7을 통한 유출액은 무수황산나트륨을 통과시켜 둥근바닥플라스크에 수집한다.

7.1.9 농축기를 사용하여 전량 농축한다.

7.1.10 아세톤 5 mL을 플라스크에 넣어 용매를 아세톤으로 치환하여 이를 시험용액으로 한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 농약 혼합표준용액 (10 mg/L)을 정제수 500 mL에 0.0005 mg/L ~ 0.01 mg/L까지 단계적으로 첨가하고, 내부표준용액 (10 mg/L)을 50 µL 첨가하여 7.1.2 ~ 7.1.9의 방법으로 분석한다.

[주 1] 시료분석결과 이 검정곡선 농도범위를 벗어나면 시료를 희석해서 재분석하여야 한다.

7.2.2 분석성분의 농도 (C*x*)를 취하여 가로축 (x축)에, 분석성분의 피크 면적 (*Ax*)과 내부표준물질의 피크 면적 (*Ai*)과의 비 (*Ax*/*Ai*)를 세로축 (*y*축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

[주 2] 피크의 면적 대신 피크의 높이를 사용할 수 있으나 피크 면적을 사용하는 것이

바람직하다.

7.3 측정법

7.3.1 추출액 1 μL ~ 3 μL를 취하여 기체크로마토그래프에 주입하여 분석한다.

7.3.2 크로마토그램으로부터 각 분석성분 및 내부표준물질의 피크 면적을 측정하여 농약류의 피크 면적 (Ax)과 내부표준물질의 피크 면적 (Ai)과의 비 (Ax/Ai)를 구한다.

8.0 결과보고

8.1 계산

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

$$C_s\ (mg/L) = \frac{\frac{A_X}{A_i} - b}{a} \qquad \text{(식 1)}$$

여기서, Ax/Ai : 분석물질과 내부표준물질의 피크 면적 비
a : 검정곡선의 기울기
b : 검정곡선의 절편 값
Cs : 분석물질의 농도 (mg/L)

8.2 결과보고

행정사항과 관련된 항목별 시험결과의 표시는 ES 05003의 먹는물 수질기준의 표시한계 및 결과표시에 따른다.

9.0 참고자료

9.1 US EPA Method 3535A, “Solid-Phase Extraction (SPE)” (2007)

9.2 US EPA Method 525.2 “Determination of Organic Compounds in Drinking Water Liquid-Solid Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/Mass Sectrometry” (1995)

9.3 US EPA Method 8141B, “Organophosphorus Compounds by Gas Chromatograghy: Capillary Column Technique” (2000)

10.0 부록

표 1. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	0.0005 mg/L
검정곡선	결정계수 (R^2) ≥ 0.98 또는 감응계수 (RF)의 상대표준편차 ≤ 25 %
정밀도	상대표준편차 ± 25 % 이내
정확도	75 % ~ 125 %
현장이중시료	상대편차백분율 ± 25 % 이내

표 2. 유기인계농약의 기체크로마토그래피 실험조건 (예)

항 목	조 건				
컬럼	HP-5 (cross-linked 5 % phenylmethylsilicone, 30 m 길이 x 0.32 mm 안지름 x 0.25 μm 필름두께)				
운반기체(유속)	질소 (1.5 mL/min) 또는 이와 동등한 컬럼				
분획비	5 : 1				
주입구 온도	250 ℃				
검출기 온도	290 ℃				
오븐온도	초기온도 (℃)	초기시간 (min)	승온속도 (℃/min)	최종온도 (℃)	시간 (min)
	70	2	15	200	-
			10	250	3
			10	280	5