유해화학물질공정시험기준 ES 08406.1

노닐페놀류-고성능액체크로마토그래피

2019

Nonylphenols-High Performance Liquid Chromatography

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 가정용 세척제 및 잉크 중의 노닐페놀류 측정방법으로서, 가정용 세척제 및 잉크 중에 대상물질을 디클로로메테인으로 추출한 후, 탈수·농축하여 액체크로마토그래피로 분리한 후 자외선 검출기로 정량하는 방법이다.

1.2 적용범위

1.2.1 이 시험방법은 가정용 세척제 및 잉크 중 노닐페놀(nonylphenol, CAS No: 25154-52-3), 4-노닐페놀(4-nonylphenol, CAS No: 104-40-5) 및 4-노닐페놀 에톡실레이트(4-nonylphenol ethoxylate, CAS No: 9016-45-9)의 분석에 적용한다.

1.2.2 이 방법에 의한 가정용 세척제 및 잉크 중에 노닐페놀류 각각의 정량한계는 30 mg/L이다.

1.3 간섭 물질

1.3.1 유리기구류는 세정제, 수돗물, 정제수 그리고 아세톤으로 차례로 닦아준 후 105 ℃에서 건조한 후 식혀 알루미늄포일로 덮어 깨끗한 곳에 보관하여 사용한다.

1.3.2 용매, 시약, 유리기구, 그 외 분석과정 중에 사용되는 모든 기구가 분석결과에 오류를 가져올 수 있는 주요 오염원이 된다. 따라서 모든 시약은 순도 및 불순물의 종류와 함량을 고려하여 엄선하고 필요한 경우 용매나 시약은 증류 및 정제하여 사용한다.

2.0 용어정의

“내용 없음”

3.0 분석기기 및 기구

3.1 고성능액체크로마토그래프

3.1.1 고성능액체크로마토그래프는 이동상보관부, 용매전달부, 시료주입부, 분리관 및 검출부로 구성되고 검출부에서 나온 신호은 기록부에서 측정목적에 따라 여러 가지 형식으로 보고한다.

3.1.2 컬럼은 안지름 3 mm ~ 5 mm, 길이 5 cm ~ 30 cm의 스테인리스 강관에 옥타데실실릴기(ODS)를 화학 결합시킨 실리카겔(입경 3 μm ~ 10 μm)을 충전한 것 또는 이와 동등의 분리능을 갖는 것을 택하여 시험한다.

3.1.3 이동상은 아세토나이트릴 : 물(20 : 80)을 사용한다.

3.1.4 고성능액체크로마토그래프의 조건은 표 1과 같이 수행할 수 있다.

3.2 자외선 검출기

파장 210 nm에서 방출하는 자외선 검출기가 부착된 것을 사용한다.

3.3 원심분리기

원심분리기는 3,500 rpm 이상 가능한 것을 사용한다.

3.4 농축장치

구데르나다니쉬(KD) 농축기 또는 회전증발농축기를 사용한다.

3.5 수직 진탕기

수직 진탕기는 여러 개의 분액깔때기를 한꺼번에 수직으로 진탕할 수 있는 것으로 진탕속도 및 시간 조절이 가능한 것을 사용한다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

4.1.1 물

시험에 쓰는 물은 따로 규정이 없는 한 증류수 또는 정제수로 사용한다.

4.1.2 메테인올

메테인올(methanol, CH_3OH, 분자량 : 32.04)은 바탕 시험할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.3 디클로로메테인

디클로로메테인(dichloromethane, CH_2Cl_2, 분자량 : 84.93)은 바탕 시험할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.4 노말헥세인

노말-헥세인(hexane, C_6H_{14}, 분자량 : 86.17)은 바탕 시험할 때 표준물질의 피크 부근에 불순물 피크가 없는 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.5 아세톤

아세톤(aceton, CH_3COCH_3, 분자량 : 58.08)은 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.6 무수 황산소듐

무수 황산소듐(sodium sulfate, Na_2SO_4, 분자량 : 142.04)은 특급 이상의 것을 사용한

다.

4.1.7 아세토나이트릴

아세토나이트릴(acetonitrile, C_2H_3N, 분자량 : 41.05)은 특급 이상의 것을 사용한다.

4.1.8 염산

염산(hydrochloric acid, HCl, 분자량 : 36.46)은 특급 이상의 것을 사용한다.

4.2 표준용액

4.2.1 노닐페놀 표준원액(CAS No.25154-52-3, 1,000 mg/L)

50 mL 부피플라스크에 노닐페놀(Nonylphenol, $C_{15}H_{24}O$, 분자량 : 220.35) 50 mg을 정확히 취하여 메테인올에 녹여 50 mL로 한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관한다.

4.2.2 4-노닐페놀 표준원액(CAS No.104-40-5, 1,000 mg/L)

50 mL 부피플라스크에 4-노닐페놀(4-Nonylphenol, $C_{15}H_{24}O$, 분자량 : 220.35) 50 mg을 정확히 취하여 메테인올에 녹여 50 mL로 한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관한다.

4.2.3 4-노닐페놀 에톡실레이트 표준원액(CAS No.9016-45-9, 1,000 mg/L)

50 mL 부피플라스크에 4-노닐페놀 에톡실레이트(4-Nonylphenol ethoxylate, C_9H_{19}-$C_6H_4(OC_2H_4)_nOH$, 분자량 : 680) 50 mg을 정확히 취하여 메테인올에 녹여 50 mL로 한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관한다.

4.2.4 노닐페놀 표준용액(200 mg/L)

50 mL 부피플라스크에 노닐페놀 표준원액(1,000 mg/L) 10 mL를 취해 메테인올로 표선까지 채운다. 이 용액 1 mL는 노닐페놀 0.2 mg을 함유한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관하고 6주 이내에 사용한다.

4.2.5 4-노닐페놀 표준용액(200 mg/L)

50 mL 부피플라스크에 4-노닐페놀 표준원액(1,000 mg/L) 10 mL를 취해 메테인올로 표선까지 채운다. 이 용액 1 mL는 노닐페놀 0.2 mg을 함유한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관하고 6주 이내에 사용한다.

4.2.6 4-노닐페놀 에톡실레이트 표준용액(200 mg/L)

50 mL 부피플라스크에 4-노닐페놀 에톡실레이트 표준원액(1,000 mg/L) 10 mL를 취해 메테인올로 표선까지 채운다. 이 용액 1 mL는 4-노닐페놀 에톡실레이트 0.2 mg을 함유한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관하고 6주 이내에 사용한다.

4.2.7 노닐페놀류 혼합표준용액(5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L 및 40 mg/L)

100 mL 부피플라스크에 노닐페놀 표준용액(200 mg/L), 4-노닐페놀 표준용액(200 mg/L) 및 4-노닐페놀 에톡실레이트 표준용액(200 mg/L)을 각각 2.5 mL, 5 mL, 10 mL 및 20 mL를 취해 넣고 메테인올로 표선까지 채운다. 이 용액 1 mL는 각각 노닐페놀, 4-노닐페놀 및 4-노닐페놀에톡실레이트 0.005 mg, 0.010 mg, 0.020 mg 및 0.040 mg을 함유한다. 이 용액은 4 ℃에서 냉장 보관하고 4주 이내에 사용한다.

5.0 시료채취 및 관리

5.1 시료 채취 시 접촉면이 테프론으로 처리된 마개 또는 격막을 가진 유리병에 공간이 없도록 채취하여 밀봉한다.

5.2 모든 시료는 시료채취 후 추출하기 전까지 4 ℃ 냉암소에서 보관하고, 채취 후 7일 이내에 추출하고 14일 이내에 분석해야 한다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계

6.1.1 방법검출한계 및 정량한계는 ES 08001 정도보증/정도관리에 따라 계산한다. 정제수에 각각의 표준용액을 30 mg/L가 되도록 첨가한 7개의 첨가시료를 준비하여 7.0 분석절차와 동일하게 추출하여, 표준편차를 구한다.

6.1.2 표준편차에 3.14를 곱한 값을 방법검출한계로, 10을 곱한 값을 정량한계로 나타낸다. 측정한 정량한계는 각각 30 mg/L 이하의 값이어야 한다.

6.2 방법바탕시료의 측정

ES 08001 정도보증/정도관리에 따라 시료군마다 1개의 방법바탕시료를 측정한다. 방법바탕시료는 노닐페놀이 없는 것으로 확인된 세척제 및 잉크를 사용하여 7.0 분석절차와 동일하게 전처리·측정하며 측정값은 방법검출한계 이하이어야 한다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

6.3.1 검정곡선은 검정곡선 작성 농도 범위 내의 5개 이상의 농도에 대해 작성하고 얻어진 검정곡선의 결정계수 (R^2)가 0.98 이상 또는 결정계수의 상대표준편차가 15 % 이내이어야 하며 결정계수나 상대표준편차가 허용범위를 벗어나면 재작성 하도록 한다.

6.3.2 검정곡선의 직선성을 검증하기 위하여 검정곡선을 작성할 때에는 검정곡선 작성 농도 범위를 10 mg/L ~ 100 mg/L로 한다. 그러나 측정값이 이 농도범위를 벗어날 경우에는 시료를 묽히거나 농축하여 다시 분석한다.

6.4 정밀도 및 정확도

6.4.1 정확도 및 정밀도의 측정은 ES 08001 정도보증/정도관리에 따른다. 정제수에 정량한계 농도의 10 배가 되도록 동일하게 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 첨가

하지 않은 시료를 분석한 농도(C_S)와의 차이에 대한 첨가농도(C_A)의 상대 백분율로서 나타내며 그 값이 80 % ~ 120 % 이내이어야 한다.

$$\text{정확도} = \frac{C_M}{C_C} \times 100\ \% = \frac{C_{AM} - C_S}{C_A} \times 100\ \% \qquad \text{(식 1)}$$

여기서, C_M : 인증표준물질을 분석한 농도(mg/L)

C_C : 인증농도(mg/L)

C_{AM} : 첨가시료를 분석한 농도(mg/L)

C_S : 첨가하지 않은 시료를 분석한 농도(mg/L)

C_A : 첨가농도(mg/L)

6.4.3 정밀도는 측정값의 %상대표준편차로 계산한 값이 20 % 이내이어야 한다.

$$\text{정밀도} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\ \% \qquad \text{(식 2)}$$

여기서, s : 표준 편차

$\bar{x}$: 평균

6.5 내부정도관리 주기 및 목표

6.5.1 방법검출한계, 정밀도·정확도 및 회수율의 측정은 연 1회 이상 측정하는 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 확인한다.

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 2와 같다.

7.0 분석절차

7.1 시료전처리

7.1.1 균질화된 시료 1.0 g을 정확히 100 mL 부피플라스크에 취하고 메테인올로 눈금까지 채운 다음 혼합한다.

7.1.2 1 M 염산 용액으로 pH를 3으로 조정한 후, 시료용액 2 mL를 취하여 250 mL 분액깔대기에 넣고 디클로로메테인 50 mL를 가하여 수직진탕기로 10분간 추출한다.
[주 1] 디클로로메테인 대신 용매를 n-헥세인이나 메테인올로 대체할 수 있다.

7.1.3 추출 조작을 2회 반복한 후 디클로로메테인 층을 합하여 무수황산소듐으로 탈수하고 농축기로 약 4 mL가 되도록 농축한다.

7.1.4 남은 액을 10 mL 눈금 있는 튜브로 옮기고 상온에서 질소가스를 불어 주어 완전히 건고시킨 후, 메테인올 2 mL로 녹여 2 mL 바이알에 옮긴 후 시험용액으로 한다.
[주 2] 정제가 필요한 경우, 전처리 용액을 실리카겔 컬럼에 넣고 액면을 컬럼베드까지 내린다. 약 0.5 mL 디클로로메테인으로 추출물을 녹이고, 이 용액을 실리카겔 컬럼에 넣고 헥세인 100 mL를 유출시켜 용출 용액을 버린다. 다음에 아세톤 100 mL를 유출시킨다. 아세톤 용출 용액을 농축기 및 질소가스를 불어넣어 약 2 mL까지 농축하여 시험용액으로 한다.

7.2 검정곡선의 작성

7.2.1 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L의 노닐페놀류 혼합표준용액 및 바탕시험액 각각을 7.1.1 ~ 7.1.3와 동일하게 전처리하고 7.3의 측정법에 따라 분석한다

7.2.2 노닐페놀의 농도(mg/L)를 시료 중의 농도로 계산하여 가로축(x 축)에, 노닐페놀류에 해당하는 피크 면적을 세로축(y 축)에 취하여 검정곡선을 작성한다.

7.3 측정법

7.3.1 추출액 10 μL를 취하여 액체크로마토그래피에 주입하여 분석한다.

7.3.2 액체크로마토그래피로부터 얻은 크로마토그램에서 노닐페놀류의 머무름 시간에

해당하는 위치의 피크로부터 피크 면적을 구한다.

8.0 결과보고

8.1 계산

8.1.1 노닐페놀 피크의 면적(Ax)을 구한다음 검정곡선식의 y(i)값에 대입하여 x(i)값을 계산하면 분석물질의 농도(Cs, mg/L)를 구할 수 있다.

$$Cs = \frac{A_X - b}{a} \text{ (mg/L)} \qquad \text{(식 3)}$$

여기서, C_s : 노닐페놀 농도(mg/L)

A_X : 노닐페놀 피크 면적

a : 검정곡선의 기울기

b : 검정곡선의 절편 값

8.2. 결과의 표시

8.2.1 시험결과는 정량한계와 같은 자릿수까지 표기하며, 이하는 반올림한다.

8.2.2 모든 농도결과는 정량한계를 적용하여 나타내고 정량한계 미만은 불검출로 표시한다.

9.0 참고문헌

9.1 ISO 18857-2, Water quality -Determination of selected alkylphenols -Part2: Gas chromatographic-mass spectrometric determination of alkyphenols, their ethoxylates and bisphenol A in non-filtered samples following solid-phase extraction and derivatisation, (2009).

9.2 KS M 1994, 종이 중의 알킬페놀 분석방법

9.3 KS I ISO 18857-1, 수질-선택적 알킬페놀류의 측정-제1부: 액-액추출과 가스크로마토크래프/질량선택검출기를 이용한 비여과 시료의 분석방법

9.4 ASTM D 7065 -06, ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States, Standard Test Method for Determination of Nonylphenol, Bisphenol A, p-tert-Octylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate and Nonylphenol Diethoxylate in Environmental Waters by Gas Chromarography Mass Spectrometry, (2007).

9.5 ASTM D 7485 -09, ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, United States., Standard Test Method for Determination of Nonylphenol, p-tert-Octylphenol, Nonylphenol Monoethoxylate and Nonylphenol Diethoxylate in Environmental Waters by Liquid Chromatography//Tandem Mass Spectrometry, (2009).

9.6 T. V. Morales, M. E. T. Padro′n, Z. S. Ferrera and J. J. S. Rodriguez, Determination of alkylphenol ethoxylates and their degradation products in liquid and solid samples, Trends in Analytical Chemisty, Vol. 28, No. 10, 1186 - 1200. (2009).

9.7 T. Katase, K. Okuda, Y. S. Kim, H. S. Eun, H. Takada, T. Uchiyama, H. Saito, M. Makino and Y. Fujimoto, Estrogen equivalent concentration of 13 branched para-nonylphenols in three technical mixtures by isomer-specific determination using their synthetic standards in SIM mode with GC-MS and two new diasteromeric isomers, Chemosphere 70, 1961 - 1972, (2008).

9.8 L. Nunez, E. Turiel and J. L. Tadeo, Determinaion of nonylphnol and nonylphenol ethoxylates in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection, Journal of Chromatography A, 1146, 157 - 63, (2007).

9.9 T. Tsuda, K. Suga, E. Kaneda and M. Ohsuga, Determination of 4-nonylphenol,

nonylphenol monoethoxylate, nonylphenol diethoxylate and other alkylphenols in fish and shellfish by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, Journal of Chromatography B, 746, 305 - 09, (2000).

9.10 C. Y. Cheng and W. H. Ding, Determination of nonylphenol polyethoxylates in household detergents by high-performance liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 968, 143 - 150, (2002).

9.11 H. Chunyan, R. C. Timothy, E. M. Raymond, G. K. Brenda and D. M. Chris, Mass spectrometric study of persistent acid metabolites of nonylphenol ethoxylate surfactants, Journal of Mass Spectrometry. 35, 818 - 830, (2000).

9.12 X. Li, G. G. Ying, H. C. Su, X. B. Yang and L. Wang, Simultaneous determination and assessment of 4-nonylphenol, bisphenol A and triclosan on tap water, bottled water and baby bottles, Environmnet International 36, 557-562, (2010)

9.13 내분비계장애물질 측정분석방법, 국립환경과학원, (2002).

10.0 부록

표 1. 노닐페놀류의 고성능액체크로마토그래피 분석조건

항 목	조 건
컬럼	C_{18} Hypersil gold (I.D. 4.6 mm, 길이 15 cm, 입경 5 μm)
이동상	Acetonitrile : Water(80 : 20), Isocratic
유속	1 mL/분
검출파장	210 nm
오븐온도	20 ℃

표 2. 정도관리 목표 값

정도관리 항목	정도관리 목표
정량한계	30 mg/L
방법검출한계	10 mg/L
검정곡선	결정계수(R^2) ≥ 0.98 또는 감응계수(RF)의 상대표준편차 ≤15 % 이내
정밀도	상대표준편차 ± 20 % 이내
정확도	80 % ~ 120 %

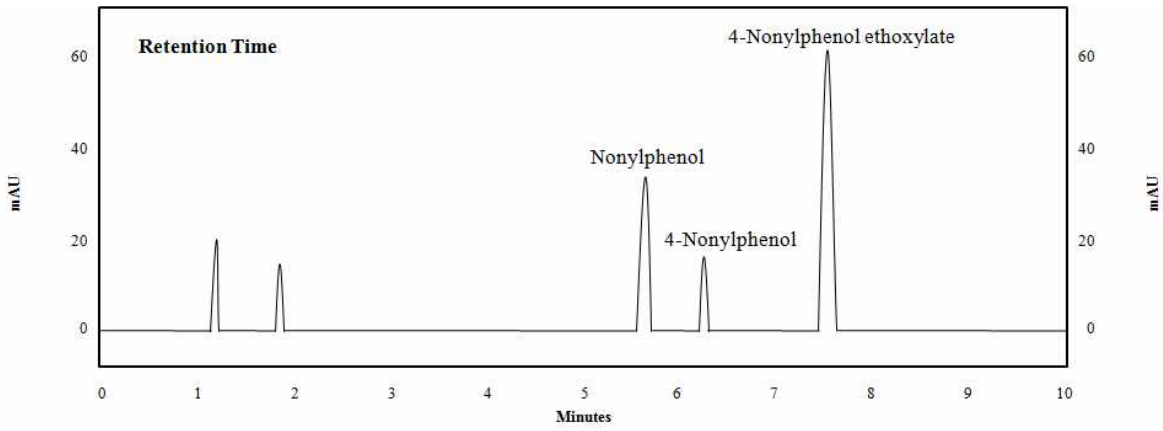


그림 1. 노닐페놀류 혼합표준용액(10.0 mg/L)의 크로마토그램