

잔류성유기오염물질 공정시험기준

ES 10913.1

모유 시료 중 유기염소계 농약류 동시
시험기준-HRGC/HRMS

2017

Official Method of Organochlorine Pesticide in
Milk-HRGC/HRMS

1.0 개요

1.1 목적

이 시험기준의 목적은 모유 시료 중 유기염소계 농약 18종을 동시 분석함에 있어, 시료채취, 추출, 정제 그리고 기기분석 등 제반 절차의 정확과 통일을 기하는데 있다.

1.2 적용범위

1.2.1 모유 시료 중 알드린(aldrin), 디엘드린(dieldrin), 엔드린(endrin), 클로르단(chlordane), 디디티(DDT), 헥사클로로벤젠(hexachlorobenzene), 헵타클로르(heptachlor), 마이렉스(mirex) 등 잔류성유기오염물질 중 유기염소계 농약류 8종 및 이성질체 포함하여 총 18종의 물질을 기체크로마토그래프/고분해능 질량분석계(HRGC/HRMS, high resolution gas chromatograph/high resolution mass spectrometer)로 분석하는 방법에 적용한다.

1.2.2 회수율은 50 % ~ 120 %의 범위를 만족하고, 분석방법검출한계는 0.03 ng/g ~ 0.50 ng/g을 만족하여야 한다.

1.3 간섭물질

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 1.3항에” 따른다.

2.0 용어정의

2.1 표준원액

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 2.1항에” 따른다.

2.2 표준용액

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 2.2항에” 따른다.

2.3 검정곡선 표준용액

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 2.3항에” 따른다.

2.4 동위원소 치환 내부표준물질

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 2.4항에” 따른다.

3.0 분석기기 및 기구

3.1 추출장치

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 3.1항에” 따른다.

3.2 농축장치

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 3.2항에” 따른다.

3.3 정제용 컬럼장치

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 3.3항에” 따른다. 단, 알루미늄컬럼은 사용하지 않는다.

3.4 분석용 저울

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 3.4항에” 따른다.

3.5 미량주사기

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 3.5항에” 따른다.

3.6 기체크로마토그래프/고분해능 질량분석계

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 3.6항에” 따른다.

4.0 시약 및 표준용액

4.1 시약

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 4.1항에” 따른다.

4.2 표준용액

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 4.2항에” 따른다.

5.0 시료채취 및 관리

ES 10105 생체시료의 시료채취 및 보존 방법에 따른다.

6.0 정도보증/정도관리(QA/QC)

6.1 방법검출한계 및 정량한계 확인

방법검출한계 및 정량한계는 ES 10001 정도보증/정도관리에 따라 측정한다. 측정된 방법검출한계는 시험기준에 제시한 값 이하이어야 한다.

6.2 정밀도 및 정확도 확인

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 6.2항에” 따른다.

6.3 검정곡선의 작성 및 검증

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 6.3항에” 따른다.

6.4 실험실 내부정도관리

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 6.5항에” 따른다.

7.0 분석절차

7.1 전처리

7.1.1 추출

7.1.1.1 냉동 보관된 모유시료를 12시간 정도 냉장고에서 해동시키고 상온에서 모유시료를 교반시켜 균질화 시킨다.

7.1.1.2 저울에 미리 세척한 유리관을 놓고 무게를 측정하고, 피펫을 이용하여 모유 2 mL를 유리관에 옮겨 무게를 측정한다.

7.1.1.3 정제용 표준물질을 모유에 첨가하고, 유리관의 마개를 막아 15초 ~ 20초간 교반한 후, 15분간 방치하여 균일하게 한다. 다시 증류수 1 mL를 넣고 교반한다.

7.1.1.4 포름산 2 mL를 첨가하고, 교반하여 기체가 빠지도록 30분간 방치하는데, 포름산과 모유가 30분 이상 반응하게 되면 젤라틴과 같은 물질이 생성하여 C₁₈ 고체상 카트리지를 추출을 어렵게 만든다. 다시 증류수 1 mL를 넣고 교반하여 기체를 제거한다.

7.1.2 C₁₈, NH₂카트리지 활성화

7.1.2.1 500 mg C₁₈ SPE 카트리지를 SPE 진공장치에 장착하고, SPE 진공장치 안에는 유리관을 설치한다.

7.1.2.2 메탄올 6 mL를 2회 처리한 다음, 증류수 6 mL를 2회 반복 처리하여 카트리지를 활성화시킨다. 이 과정에서 카트리가 마르지 않도록 용매가 충전제 표면에 도달하기 전에 용매를 넣고, 증류수가 충전제 표면 위에 도달하면 카트리지를 밸브를 잠그고 진공을 끈다.

7.1.2.3 500 mg NH₂ SPE 카트리지를 SPE 진공장치에 장착 후 헥세인 6 mL를 2회 반복 처리하여 활성화 시킨다. 이 과정에서 카트리가 마르지 않도록 용매가 충전제 표면에 도달하기 전에 용매를 넣고, 헥세인이 충전제 표면 위에 도달하면 카트리지를 밸브를 잠그고 진공을 끈다.

7.1.3 C₁₈, NH₂ 카트리지 추출

7.1.3.1 위 모유시료를 C₁₈ 카트리지에 옮기고, 증류수 1 mL로 모유를 담았던 유리관을 세척하여 카트리지에 옮긴다.

7.1.3.2 모유시료가 카트리지를 완전히 통과하도록 하며, 이때 진공을 사용해서는 안 되고, 중력으로 통과하도록 한다.

7.1.3.3 증류수 1 mL로 다시 카트리지를 세척한 후, 진공 (10 psi ~ 15 psi)을 켜고 60 분 정도 C₁₈ 카트리지를 건조시킨다.

7.1.3.4 SPE 진공장치에 아래부터 NH₂ SPE 카트리지, 무수황산나트륨 카트리지, C₁₈ 카트리지 순서로 장착하여 진공장치에 설치하고 헥세인 16 mL(4 mL × 4회)를 카트리지에 흘려서 분석물질을 용출시킨다. 이때 진공은 5 psi 이하로 유지한다.

7.2 정제

7.2.1 실리카겔/플로리실 복합카트리지 정제

7.2.1.1 SPE 진공장치에 하단에 플로리실 카트리지를 장착하고 상단에 실리카겔 카트리지를 장착하여 복합 카트리지로 제작한다. SPE 진공장치 안에는 유리관을 설치한다.

7.2.1.2 복합 카트리지에 다이클로로메테인(1) : 헥세인(1) 혼합용매, 헥세인 순서로 용매를 흘려 활성화 시킨 후, C₁₈ 카트리지를 통과한 용출액 16 mL를 복합 카트리지에 넣고, 최소의 진공을 사용하여 통과시킨다.

7.2.1.3 다이클로로메테인(1) : 헥세인(1) 혼합용매 12 mL(4 mL × 3회)를 통과시킨 용출액을 유리관에 합쳐서 모은다.

7.2.2 농축

7.2.2.1 용출액을 담은 유리관을 온도 35 °C 이하, 압력 8 psi ~ 10 psi에서 질소농축기를 이용하여 0.5 mL까지 농축시켜 미리 세척한 파스퇴르 피펫으로 농축액을 소량 용기에 옮긴다. 다시 혼합용매로 유리관을 행구고 소량용기에 합한다.

7.2.2.2 농축액이 들어있는 소량용기를 지지대에 고정시키고 상온의 후드 안에서 자연 건조 시키고, 시료가 완전히 건조되면 뚜껑을 닫고 분석 전까지 4 °C 이하에서 보관한다.

7.2.3 실린지 첨가용 내부표준물질의 첨가

실리카겔/플로리실 복합카트리지 정제 농축액에 실린지 첨가용 내부표준물질을 적당량 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 약 40 μL ~ 100 μL 로 농축한 것을 최종 기기분석용 시료로 한다. 분석용 시료는 필요에 따라서 소량의 최종 액량으로 조제한다.

7.3 기기분석방법

분석은 기체크로마토그래프/고분해능 질량분석계의 전자이온화방식을 사용하며, 정성 분석은 각 동족체의 2개 이온을 선택이온검출법 (SIM, selected ion monitoring)과 선택이온 머무름 시간으로 하고 정량분석은 그 선택이온의 면적비를 계산한 상대감응계수 (RRF, relative response factors)법 또는 내부표준법으로 한다.

7.3.1 기체크로마토그래프 분석조건

화합물의 분리가 잘되고 감도가 최적화되도록 기체크로마토그래프의 조건을 설정하고, 이 최적의 조건을 모든 시료(표준용액, 바탕시료, 실제시료)에 대해 동일하게 적용한다.

7.3.2 고분해능 질량분석기 분석조건

7.3.2.1 질량설정

고분해능 질량분석기는 분해능 10,000(10 % 계곡(valley) 기준) 이상의 상태를 유지해야 하며 선택이온법으로 각 동족체마다 2개 이상의 선택이온, 즉 분자질량(M^+) 이온 및 감도가 높은 질량($(M+2)^+$ 또는 $(M+4)^+$) 이온을 소수점 넷째 자리까지 이용한다.

7.3.2.2 검정곡선 작성

분석은 동위원소 치환 내부표준물질을 이용한 내부표준분석법으로 상대감응계수(RRF)법에 의해 정량한다. 시료를 분석하기 전에 5단계 이상의 검정곡선 작성용 표준용액(CS1 ~ CS5)을 분석하여 각 선택이온에 대한 크로마토그램을 작성하여 각 표준물질(native)의 면적과 이에 대응하는 동위원소 치환 내부표준물질(isotope labelled standards)의 피크 면적으로부터 상대감응계수(RRF)를 구한다. 아래 식에 의해 상대감응계수(RRF)를 얻을 수 있다.

$$RRF = \frac{(AI_n + A2_n)}{(AI_l + A2_l)} \times \frac{(C_l)}{(C_n)} \quad (\text{식 1})$$

여기서, $A1_n, A2_n$: 표준물질의 1, 2차 선택이온의 피크 면적

$A1_l, A2_l$: 정량용 표준물질에 첨가된 내부표준물질의 1, 2차 선택이온의 피크 면적

C_l : 정량용 표준물질에 첨가된 내부표준물질의 농도

C_n : 정량용 표준물질의 농도

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

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

농도별 상대감응계수 값에 대한 상대표준편차가 $\pm 15\%$ 이내인 경우는 평균 상대감응계수를 사용하여 시료를 정량하고, $\pm 15\%$ 를 초과하면 모든 검정곡선 표준용액을 다시 측정하여 새로운 평균 상대감응계수를 구하여야 한다.

7.4 시료분석

7.4.1 7.3.1 항과 7.3.2 항의 방법에 따라 분석기기의 조건을 설정한다.

7.4.2 검정곡선과 시료에 대한 기기분석은 유기염소계 농약류에 대한 해당 CS1 ~ CS5의 표준용액과 시료가 부합되도록 나누어 기체크로마토그래프에 주입한다. 또한,

바탕시료에 대한 분석도 동일한 실험과정을 진행하여 분석한다.

7.5 시료분석결과

7.5.1 정성분석

7.5.1.1 분석하기 위해 질량수 및 질량형태를 구분하고 선택한 각 분석물질별 두 개의 m/z 이온이 정해진 머무름 시간에서 나타나야 한다.

7.5.1.2 시료 추출물에서 각 분석물질들을 검출하기 위하여 기체크로마토그래프의 피크에 대한 신호 대 잡신호 비(S/N)는 2.5보다 커야 한다.

7.5.2 정량분석

7.5.2.1 정량은 검출된 분석물질과 동위원소 치환 내부표준물질의 상대비율로 정량하는 동위원소희석법으로 한다. 농도계산 방법은 다음 식과 같다.

$$C = \frac{(AI_s + A2_s)}{(AI_i + A2_i)} \times \frac{(I_i)}{(RRF)} \times \frac{1}{W} \quad (\text{식 3})$$

여기서, C : 시료 중 농도(pg/g 또는 ng/g)

A1_s, A2_s : 시료에 함유된 이성체의 1, 2차 선택이온의 피크 면적

A1_i, A2_i : A1_s와 A2_s에 대응하는 시료에 첨가된 내부표준물질의 1, 2차 선택이온의 피크 면적

I_i : 시료에 첨가된 내부표준물질의 양(pg 또는 ng)

RRF : 상대감응계수

W : 시료량(g)

8.0 결과보고

8.1 분석결과 보고

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 8.1항에” 따른다.

8.2 결과보고 양식

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 8.2항에” 따른다.

9.0 참고문헌

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 9.0항에” 따른다.

10.0 부록

“모유 시료 중 잔류성유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 10.0항에” 따른다.

주 해

“모유 시료 중 잔류성,유기오염물질 동시 시험기준-HRGC/HRMS 주해에” 따른다.