

환경대기 중 알데하이드류 -

2016

고성능액체크로마토그래피법

(Aldehydes in Ambient Air -
High Performance Liquid Chromatography)

1.0 개요

1.1 적용범위

알데하이드류 화합물은 광화학 오존형성에 중요한 작용을 한다. 특히 폼알데하이드와 다른 특정한 알데하이드는 단기적인 노출로 눈 피부 그리고 인공호흡기관의 점액질 막을 자극시키는 원인으로 밝혀져 있다. 알데하이드류를 측정하기 위한 시험법으로서 알데하이드 물질을 2,4-다이나이트로페닐하이드라진 (이하 DNPH라 함) 유도체를 형성하게 하여 고성능액체크로마토그래피 (HPLC, high performance liquid chromatography)로 분석한다.

1.2 시험방법의 종류

1.2.1 DNPH 유도체화 액체크로마토그래피 (HPLC/UV) 분석법

이 시험방법은 카보닐화합물과 DNPH가 반응하여 형성된 DNPH 유도체를 아세토나이트릴 (acetonitrile) 용매로 추출하여 고성능액체크로마토그래피 (HPLC)를 이용하여 자외선 (UV)검출기의 360 nm파장에서 분석한다. 그림 1에는 알데하이드와 케톤을 포함하는 유기카르보닐 화합물과 DNPH가 반응하여 DNPH 유도체가 생성되는 반응식을 나타내었다.

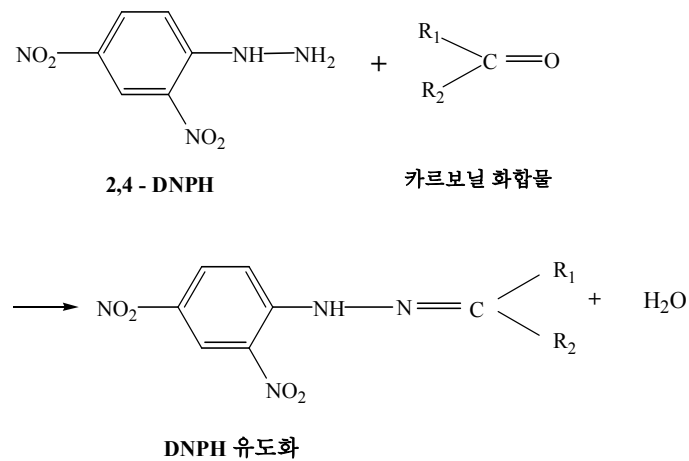


그림 1. DNPH 유도화 과정

2.0 용어 정의

2.1 DNPH 유도화 카트리지

알데하이드의 DNPH 유도화 과정을 입상실리카겔에 표면처리를 하여 현장에서 실체시료 채취를 위해 제조된 유도화 카트리지.

3.0 측정장치 및 기구

3.1 시료채취장치

3.1.1 DNPH 유도화 카트리지

폴리프로필렌 튜브에 DNPH-실리카가 충전된 카트리지로서 상용화된 카트리는 아래 조건에 준하거나 그 이상의 성능을 갖추어야 한다. 이 때 카트리의 DNPH 충전량은 사전 예비실험을 통하여 고농도 시료의 경우 돌파 (breakthrough)가 일어나지 않도록 충분한 양이 충전된 카트리를 사용하여야 한다. DNPH는 알데하이드 뿐만 아니라 아세톤과 같은 케톤류 화합물과도 쉽게 반응하므로 시료 중 카보닐

화합물의 총량이 사용한 카트리지의 허용 범위를 초과하지 않도록 시료채취 유량과 시간을 적절히 조절하여야 한다.

3.1.2 오존스크러버

약 1.5 g의 KI가 충전된 오존 스크러버를 DNPH 카트리지 전단에 장착한다. 공기 시료 중에는 오존이 항상 존재하므로 반드시 오존 제거용으로 사용하여야 하며, 한번 사용 후 새로이 충전된 스크러버를 사용하여야 한다.

3.1.3 시료흡인펌프

시료의 흡인펌프는 시료의 흡착과 오염의 방지를 위하여 격막식 펌프로 구성되며 측정 유량을 정확히 채취할 수 있도록 100 ~ 1500 mL/min 범위내의 유량조절장치가 부착된 것을 사용한다.

3.1.4 유량계

측정 재현성 5 % 미만의 전자식 유량계를 사용한다.

3.1.5 온·습도계

시료채취시간 동안의 주변대기의 온도와 습도를 정확히 측정 할 수 있어야 한다.

3.1.6 시료 추출장치

스탠드, 클램프, 마이크로 피펫 (1 mL), 피펫 팁 (1 mL), 스포이드, 갈색 바이얼 (5 mL), 농축 바이얼 (10 mL), Luer type 주사기 (10 mL), 디스펜서 (10 mL)

3.1.7 농축관

구테르나다니쉬 농축관 또는 증발장치

3.1.8 강 양이온 교환수지

강 양이온 교환수지관은 미반응의 2,4-DNPH를 포착하기 위해 사용된다. DNPH 카트리지로부터 아세토나이트릴을 써서 용출시킨 용액 중에 미반응의 과잉의 2,4-DNPH를 제거하여 시료의 크로마토그램을 좋게 할 수도 있다. 강 양이온 교환수지는 입경 40 ~ 100 μm 의 다공성 친수성 비닐폴리머 또는 이것과 등등 이상의 성능을 지닌 것을 사용한다.

3.1.9 흡인여과장치

고성능액체크로마토그래피의 이동상용매의 여과를 위한 용매필터장치, 흡인펌프, 여과지 설치장치

3.2 측정 장치

3.2.1 고성능액체크로마토그래프 (HPLC) 분석장치

시료분석에 필요한 HPLC는 다음의 조건을 구비하고 있는 장치이어야 한다. 장치의 구성은 시료주입장치, 펌프, 컬럼 및 검출기 (자외선 검출기)로 이루어져야 한다. 컬럼은 비극성 흡착제가 코팅된 역상 컬럼 (ODS 계통 컬럼)을 사용하고 이동상 용매를 혼합비율에 따라 조절할 수 있어야 한다. 주입구 (injector)의 샘플루프 (loop)는 대상 시료의 농도에 따라 20 ~ 100 μL 의 범위 내의 것을 사용한다.

3.2.1.1 초음파 세척기, 이동상 탈기장치 (아스퍼레이터) : 이동상 기포제거용

3.2.1.2 메스실린더 (1 L), 갈색 병 (1 L, 4 L) : 이동상 준비 및 보관용

3.2.1.3 마이크로 피펫 (25 μL , 250 μL), 피펫 팁 (25 μL , 250 μL) : 표준시료 및 현장시료 희석용

3.2.1.4 주사기 (100 μL) : 시료 주입용

3.2.1.5 유리병 (4 L) : 분석 후 발생하는 이동상 폐수보관용

3.2.1.6 유리병 (350 mL) : 시료주입용 주사기 세척 및 폐수용

3.2.1.7 이동상 불순물 여과용 필터 : 스테인레스 스틸 필터

4.0 시약 및 표준용액

4.1 표준물질

표준물질로는 DNPH 유도화된 알데하이드 (혹은 케톤)이 아세토나이트릴에 용해된 표준물질을 사용한다. 아세트알데하이드, 프로피온알데하이드, 뷰티르알데하이드, n-발레르알데하이드 및 iso-발레르알데하이드의 2,4-다이나이트로페닐하이드라진 유도체화물 단일물질 또는 일정농도로 희석된 혼합 표준용액을 준비한다.

4.2 용매

4.2.1 아세토나이트릴 (acetonitrile : 시료 추출 및 이동상 용매, HPLC 등급)

4.2.2 증류수 (HPLC 이동상 용매, HPLC 등급)

4.2.3 테트라하이드로퓨란 (tetrahydrofuran : HPLC 이동상 용매, HPLC 등급)

알데하이드와 케톤류의 HPLC 분리능 향상에 도움을 주므로 사용을 권장한다.

4.2.4 에틸아세테이트 (ethylacetate)

기체크로마토그래프에 주입 (1 μ L를 주입한다)하였을 때 알데하이드 화합물이 유도체화된 2-4-다이나이트로페닐하이드라진의 머무름 시간에서 피크를 나타내지 않는 것이어야 한다.

5.0 시료채취 및 관리

시료의 채취는 현장에서 DNPH 카트리지를 사용하여 채취할 수 있다

5.1 시료채취방법

5.1.1 현장에서 DNPH 카트리지로 시료공기를 유속 약 1 ~ 2 L/min으로 이루어 지도록 한다.

5.1.2 시료채취 시 공기 중 오존에 의한 방해물을 제거하기 위해 내경 1.0 cm × 길이 4 cm의 폴리프로필렌 튜브에 KI 결정을 채운 오존 스크러버를 그림 2와 같이 DNPH 카트리지 앞에 연결하여 시료를 채취 한다.

5.1.3 채취된 시료는 알루미늄 호일로 포장하여 외부공기와 차단할 수 있는 비닐 봉지 (예시: 지퍼백)에 이중으로 밀봉하여 저온, 차광, 밀봉 상태로 보관 (10 ℃ 이하)하여 운반하며 용매로 추출하기 전까지 냉장 (4 ℃ 이하) 보관 한다. 시료가 저장되는 냉장고는 실험에 사용되는 시약이나 기타 오염물질에서의 오염의 영향이 없는 곳 이어야 한다.

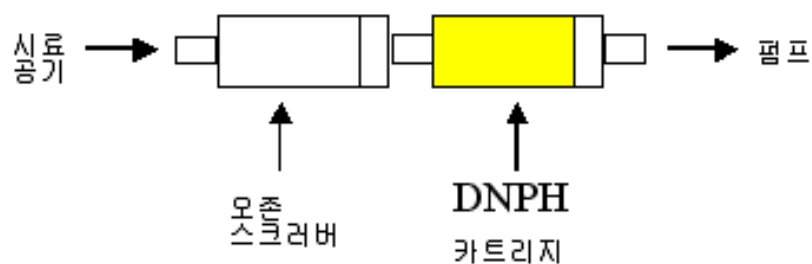


그림 2. 시료채취도

6.0 정도보증/정도관리 (QA/QC)

6.1 분석기기의 설치조건

6.1.1 설치장소

설치장소는 진동이 없고 분석에 사용되는 유해물질을 안전하게 처리할 수 있으며 부식 기체나 먼지가 적고, 실온 5 ~ 35 °C, 상대습도 85 % 이하로서 직사광선이 쏘이지 않는 곳으로 한다.

6.1.2 전기관계

전기관계는 다음과 같은 조건을 갖추어야 한다.

6.1.2.1 공급전원은 지정된 전력용량 및 주파수이어야 하고, 전원변동은 지정전압의 10 % 이내로서 주파수의 변동이 없는 것이어야 한다.

6.1.2.2 전자기유도는 대형변압기, 고주파가열로와 같은 것으로부터 전자기의 유도를 받지 않는 것이어야 한다.

6.1.2.3 접지저항 10 Ω 이하의 접지점이 있는 것이어야 한다.

6.2 분석전 준비

6.2.1 장치의 고정설치 여부 확인

6.2.1.1 장치를 설치하고 기체류의 배관을 한 다음, 기체의 누출이 없는가를 확인한다. 이때 가스통은 화기가 없는 실외의 그늘진 곳에 넘어지지 않도록 고정하여 설치한다.

6.2.1.2 장치에 전원을 배선하고 접지점에 접지선을 연결한다. 또 필요한 부분의 배선을 확인한다.

6.2.2 컬럼의 부착 및 기체 누출시험

각 분석방법에 규정된 방법에 따라 제조된 컬럼을 장치에 부착한 후, 운반기체의 압력을 사용압력 이상으로 올리고, 컬럼 등의 접속부에 누출시험을 하며 누출이 없음을 확인한다.

6.2.3 시료의 준비

분석하는 시료를 분석방법에 규정된 방법에 의하여 준비한다.

6.3 분석결과의 기재

6.3.1 일반사항

6.3.1.1 시료채취일

6.3.1.2 시료채취자명

6.3.1.3 시료채취장소

6.3.2 분석조건

6.3.2.1 전처리장비 : 전처리 방식, 온도설정, 유로구성 등

6.3.2.2 시료주입장치 : 시료주입장치의 종류와 특성을 명기 한다

6.3.2.3 시료 및 표준용액 주입량, 및 주입방법 .

6.3.2.4 HPLC분석조건을 명기. 컬럼 종류 및 제원, 오븐의 조건, 유속, 유량, 검출기의 종류, split 조건.

6.3.2.5 검출기 조건 및 검출방식

6.3.3 분석결과

6.3.3.1 성분의 확인방법 : 표준용액 및 시료의 크로마토그램에서 각 피크의 머무름 시간과 분리도를 나타낸다.

6.3.3.2 표준용액 및 시료의 정량결과를 나타낸다. 표준용액 및 시료의 분석크로마토그램에서의 피크 적분량 결과와 표준용액의 검정곡선 결과를 나타낸다.

6.3.3.3 시료의 측정결과 검정곡선에 따른 시료의 측정농도의 결과를 나타낸다.

6.3.3.4 정량법, 표준물질의 종류, 순도와 혼합물일 경우에는 농도범위 및 제조방법을 명기 한다.

6.4 내부정도관리방법

6.4.1 방법검출한계

방법검출한계 (MDL, method detection limit)는 알데하이드류 표준용액을 측정하며 i-발레르알데하이드로서 1 ppb 이하 이어야 한다. 방법검출한계를 결정하기 위해서는 검출한계에 다다를 것으로 생각되는 농도의 표준시료를 7 번 반복 측정한 후 이 농도값을 바탕으로 하여 얻은 표준편차에 3.14^[1]를 곱한다. 정량한계는 방법검출한계값의 3 배를 곱한 농도를 말한다.

6.4.2 현장 공 시료 (field blank)의 평가

현장 공 시료는 실제 공기에 노출되지 않는다는 점 이외에는 시료의 운송과 저장 및 분석과정에서 실제시료와 항상 동일하게 취급한다.

6.4.3 정확도 및 검정곡선

동일한 시간동안 동일한 조건에서 3 회 반복 분석하여 크로마토그램의 적분면적과 피

[1] 7 회 반복분석에 대한 99 % 신뢰구간에서의 자유도 값

크 (peak)의 머무름 시간 (RT: retention time)의 정밀도를 확인한다. 모든 분석과정을 통한 측정 · 분석의 정밀도는 3 회 반복 분석의 표준편차로서 구하고 이 값은 표준용액 1 mg/L의 농도에서 10 % 이내로 한다. 직선성은 0.1 ~ 10 mg/L 범위에서 $r^2 = 0.98$ 이상이어야 한다.

6.4.4 정도관리 주기

내부정도관리주기는 연간 1 회 이상 측정하는 것을 원칙으로 하며 분석장비의 주요부품 교체, 수리 분석자의 변경 시 등 수시로 한다.

6.4.5 정도관리 결과 보관

내부정도관리 측정결과 산출된 측정결과와 측정 시 얻어진 기본자료는 정도관리철에 같이 보관 하여야 한다.

7.0 분석절차

7.1 DNPH 유도체화 액체크로마토그래프 (HPLC/UV) 분석법

7.1.1 시료추출방법

7.1.1.1 추출에 사용하는 모든 유리기구들은 아세토나이트릴로 세척한 후 60 ℃ 이상에서 건조한다.

7.1.1.2 스탠드에 10 mL 주사기 (Luer type)를 고정시키고, 눈금이 매겨진 시험관 (혹은 표선이 있는 부피플라스크)를 바닥에 고정시킨다.

7.1.1.3 주사기에 채취된 DNPH 카트리지를 끼운다.

7.1.1.4 디스펜서 (10 mL 용량)를 이용해 주사기에 아세토나이트릴을 3 ~ 5 mL 범위의 일정량을 주입한다. 이 때 추출용액 주입량은 채취된 시료 량에 따라 조절할 수 있다.

7.1.1.5 주입한 아세토나이트릴 용매로 약 1 분 동안 DNPH 유도체를 추출하여 눈금 있는 시험관 (혹은 부피플라스크)에 받는다.

7.1.1.6 추출된 용액에 아세토나이트릴을 조금 더 첨가하여 정확히 5 mL가 되도록 맞춘다.

7.1.1.7 시험관 (혹은 부피 플라스크)의 DNPH 유도체 추출물 일정량을 피펫을 이용하여 갈색 바이얼에 옮긴다.

7.1.1.8 공 시료는 시료채취에 사용되지 않은 새로운 DNPH 카트리지에 대하여 위와 같이 추출한다.

7.1.1.9 갈색 바이얼에 옮긴 시료는 밀봉하여 냉장 보관하며, 추출된 시료는 특별한 사유가 없는 한 2 주일 이내에 분석한다.

7.1.2 표준용액 제조

7.1.2.1 고농도 표준물질을 이용하여 0.1 ~ 10 mg/L 범위 내에 3 ~ 5 개의 다른 농도 수준으로 아세토나이트릴로 희석하여 검정곡선을 작성하는데 사용한다.

7.1.2.2 DNPH 유도체 혼합용액 중의 알데하이드 개별물질의 농도는 아래 식을 이용하여 환산한다.

$$\text{알데하이드농도}(mg/L) = \frac{\text{알데하이드분자량}(g)}{\text{DNPH유도체의분자량}(g)} \times \text{DNPH유도체의농도} \quad (\text{식 1})$$

7.1.3 HPLC 분석 방법

7.1.3.1 용출된 DNPH 유도체는 자외선 영역에서 흡광성이 있으며 350 ~ 380 nm에서 최대의 감도를 가지므로 자외선검출기의 파장을 360 nm에 고정시켜 분석한다.

7.1.3.2 고정상으로는 C₁₈ 컬럼 (4.6 mm × 150 mm)을 사용하거나 피크 (peak)분리능

이 동등하거나 우수한 컬럼을 사용한다.

7.1.3.3 이동상으로는 분당 1 mL의 유량으로 아세토나이트릴 (이동상 A)과 증류수, 아세토나이트릴, 테트라하이드로퓨란 혼합용액 (50:45:5, 이동상 B)을 사용 할 수 있다.

7.1.3.4 이동상 B의 혼합비율은 기기 감도나 컬럼 종류에 따라 조절해야 한다.

7.1.3.5 HPLC 구성과 운전조건에 관한 일례는 표 3과 같다.

7.1.4 검정곡선 작성

7.1.4.1 표준물질을 이용하여 0.1 ~ 10 mg/L 범위 내에 3~5 개의 다른 농도 수준으로 아세토나이트릴로 희석하여 측정하고 검정곡선을 작성 한다.

7.1.4.2 검정곡선 작성 시 x축은 표준물질의 피크면적을 나타내며, y축은 표준용액의 농도 (μg/mL)를 나타낸다. 만약, 공 시료에 측정대상물질이 검출되면 그 양만큼 실제 시료에 대해서 이를 보정한다. 이 때, 표준용액의 농도는 "7.1"의 DNPH 유도체의 농도가 아닌 측정 대상 알데하이드로 환산된 농도를 적용하여야 한다.

8.0 결과보고

8.1 농도계산

8.1.1 알데하이드 농도는 다음 식을 이용하여 계산 한다 (0 ℃, 1기압 기준).

$$\text{알데하이드 농도 (ug/m}^3\text{)} = \frac{A_a - A_b}{V_m \times \frac{P_a}{760} \times \frac{298}{273 + T_a}} \quad (\text{식 2})$$

여기서,

A_a : 시료 중 알데하이드류 량 (ng)

A_b : 공 시료 중 알데하이드류 량 (ng)

V_m : 측정된 온도와 압력 하에서 총 공기시료 부피 (L)

P_a : 평균 대기압력 (mmHg)

T_a : 평균 대기온도 (°C)

8.1.2 부피 농도(ppb)는 다음 식을 이용하여 환산 한다 (0 °C, 1기압 기준).

$$\text{시료농도}(ppb) = \text{시료농도}(\mu\text{g}/\text{m}^3) \times \frac{22.4}{\text{분자량}(g)} \quad (\text{식 } 3)$$

9.0 참고자료

9.1 Methods TO-11A EPA 625/R-96-010b, "Compendium of Methods for the Determination of Toxic Organic Compounds in Ambient Air", US EPA, (1999).

10.0 부록

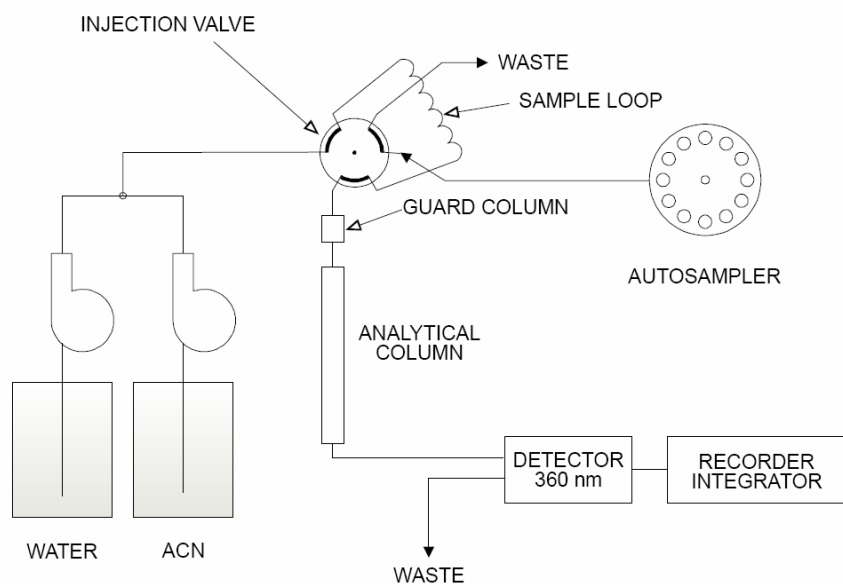


그림 3. 알데하이드류 측정분석 예시

표 1. 시료채취용 DNPH 카트리지의 조건

조 건	시료 중 알데하이드 화합물의 허용 총량			
	75 μg 이하	225 μg 이하	640 μg 이하	6400 μg 이하
입자크기	150 ~ 250 μm	좌동	좌동	좌동
카트리지 당 DNPH 충전량	1 mg	3 mg	8.6 mg	86 mg
베드 (Bed) 무게	약 350 mg	좌동	약 1 g	약 10 g
바탕 오염도	0.1 μg 이하	좌동	좌동	좌동

표 2. 표준 혼합용액 중 DNPH 유도체와 알데하이드 개별 물질의 상응 농도 환산표

물 질 명	분자량 (g)	DNPH 유도체 분자량 (g)	DNPH 유도체 1 mg/L에 상응하는 각 알데하이드의 농도 (mg/L)
아세트알데하이드	4.1	224.2	0.196
프로피온알데하이드	58.1	238.2	0.244
뷰티르알데하이드	72.1	252.4	0.286
발레르알데하이드	86.1	266.2	0.324

표 3. HPLC 구성 및 운전 조건 (예시)

주입기	20 μ L 샘플 루프 (sample loop)
분석 컬럼	ODS (C ₁₈) 4.6 mm \times 250 mm (가드 컬럼과 함께 사용 권장)
컬럼 온도	상온
검출기	자외선 검출기
이동상	이동상 A : 아세토나이트릴 100 (V %) 이동상 B : 물/아세토나이트릴/테트라하이드로퓨란 50/45/5 (V %)
용리 기울기	0 ~ 2 분 : 용매 B (100 %) 2 ~ 25 분 : 용매 A (0 %에서 50 %로 증가), 용매 B (100 %에서 50 %로 감소) 25 ~ 30 분 : 용매 A (100 %)
이동상 용매 유량	1.0 mL/분
시료 주입량	20 μ L
검출 파장	흡광도 360 nm

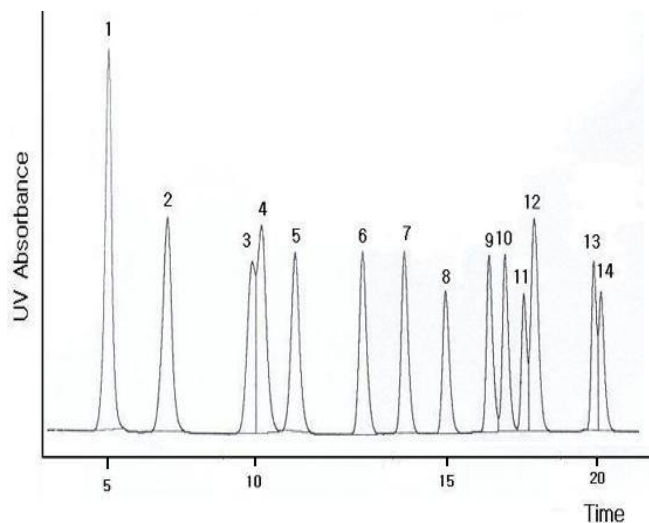


그림 4. 알데하이드 및 케톤화합물 표준 혼합용액의 HPLC 크로마토그램(예시)

표 4. 주요 알데하이드 및 케톤화합물 표준 혼합용액

No.	명 칭	CAS No.	화 학 식	분 자 량
1	폼알데하이드(formaldehyde)	50-00-0	CH ₂ O	30.03
2	아세트알데하이드(acetaldehyde)	75-07-0	CH ₃ CHO	44.05
3	아크롤레인(acrolein)	107-02-8	CH ₂ CH ₂ CHO	56.06
4	아세톤(acetone)	67-64-1	CH ₃ COCH ₃	58.05
5	프로피온알데하이드(propionaldehyde)	123-38-6	C ₂ H ₅ CHO	58.05
6	크로톤알데하이드(crotonaldehyde)	4170-30-3	CH ₃ CHCHCHO	70.09
7	뷰틸르알데하이드(butyraldehyde)	123-72-8	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CHO	72.11
8	벤잘알데하이드(benzaldehyde)	100-52-7	C ₆ H ₅ CHO	106.12
9	i-발레르알데하이드(iso-valeraldehyde)	590-86-3	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CHO	86.13
10	n-발레르알데하이드(n-valeraldehyde)	110-62-3	CH ₃ (CH ₂) ₃ CHO	86.13
11	o-톨루엔알데하이드(o-tolualdehyde)	529-20-4	CH ₃ C ₆ H ₄ CHO	120.15
12	m-톨루엔알데하이드(m-tolualdehyde)	620-23-5	CH ₃ C ₆ H ₄ CHO	120.15
13	p-톨루엔알데하이드(p-tolualdehyde)	104-87-0	CH ₃ C ₆ H ₄ CHO	120.15
14	헥사알데하이드(hexaldehyde)	66-25-1	CH ₃ (CH ₂) ₄ CHO	100.16
15	다이메틸벤잘알데하이드(2,5-dimethylbenzaldehyde)	5779-94-2	(CH ₃) ₂ C ₆ H ₃ CHO	134.18