

유해물질 측정을 위한 공정시험방법에 관한연구

1992



한국산업안전공단
산업보건연구원

제 출 문

한국산업안전공단 이사장 귀하

본 보고서를 “유해물질 측정을 위한 공정시험 방법에 관한 연구”의 연구보고서로 제출합니다.

1992.12

원 장 : 정 규 철

연구책임자 : 오 도 석

목 차

제 1 장 서 론	2
제1절 연구배경 및 목적	2
제2절 Arylmethyl halides 및 관련물질	3
1. 제조방법, 성질 및 용도	3
2. 유해성 및 독성	6
3. Arylmethyl halide 및 관련물질들의 포집 및 분석	10
4. 검출한도	12
제 2 장 실험	16
제1절 분석기기 및 실험기구	16
제2절 측정조건	16
제3절 시약 및 시액	18
제4절 흡착시료의 조제 및 탈착	20
제 3 장 결과 및 고찰	21
제1절 Arylmethyl halides 및 관련물질들의 분석	21
1. 저장방법에 따른 안정성	21
제2절 GC 분석	23

1. 추출용매의 영향	23
2. Column 온도의 영향	26
3. 검량선	28
4. 재현성	30
5. 검출한도	31
6. 탈착시험	32
 제3절 HPLC 분석	 34
1. 용매 및 이동상의 영향	34
2. 검량선	36
3. 재현성	38
4. 탈착시험	39
5. 검출한도	42
 제 4 장 결 론	 43
References	46

- Abstract -

Determination of arylmethyl halides and related compounds by GC and RP-HPLC

Dos Suk Oh

Industrial Hygiene Research Laboratory, Industrial Health Research Institute,
Korea Industrial Safety Corporation.

Arylmethyl halides(benzyl chloride,BZYC; benzal chloride,BZAC; benzotrichloride,BZTC) and related compounds(benzyl alcohol,BZYA; benzoyl chloride,BZOC) were determined by GC using capillary column and reversed phase-high performance liquid chromatograph, RP-HPLC. Detailed results are as follows.

1. In methanol solvent containing the trace quantity H_2O ,benzotrichloride was slowly transferred to benzoyl chloride by hydrolysis.
And so benzotrichloride solution should be prepared just before analysis.

2. GC analysis

Tenax-GC was used to absorbent and desorption solvent was CCl_4 .
Arylmethyl halides were analyzed within 7.5min without interference with related compounds.

The calibration curve(ca.15-80ppm in soln.), the repeatability($n=10$) and the desorption efficiency were good.
Limit of detection by NIOSH method was about 0.003ppm for each arylmethyl halides.

3. RP-HPLC analysis

Tenax-GC was used to absorbent and desorption solvent was methanol.
Arylmethyl halides was analyzed within about 8min. without interference with related compounds.
The calibration curve(ca. 10-60ppm in soln.), the repeatability($n=10$) and the desorption efficiency were good.
Limit of detection by NIOSH method was 0.002ppm for each arylmethyl halides, and LOD of benzotrichloride by RP-HPLC analysis was better than GC.

As the result, to analysis arylmethyl halides and related compounds in working place GC and RP-HPLC analyzing methods are anticipated to be used effectively.

제 1 장 서 론

제1절 연구배경 및 목적

60년대 초부터 현재에 이르기까지 중화학공업은 급속한 발전을 이룩하였으나 이로 인해 파생된 산물중 가장 심각한것은 환경오염과 직업병이다. 특히 80년대 중반이후 모든 산업분야에서 각종 유해화학물질에 의한 환경오염과 직업병이 큰 사회문제로 대두되었으며 이러한 심각성으로 인해 작업장에서의 산업안전보건을 다루고 있는 산업안전보건법전문이 개정(1990.1.13, 법률 제4220호)되었다. 이것은 각종 유해작업환경개선과 유해물질에 노출된 작업자를 보호하는 법적 근거를 강화함으로써 직업병을 근본적으로 예방 및 감소시키는데 그 목적이 있다.

따라서 본 연구에서는 법적으로 규제된 유해물질중 사용빈도 및 량은 적지만 작업환경중 낮은 농도에서도 암을 유발할 가능성이 높은 arylmethyl halides의 일종인 benzotrachloride(BZTC)및 benzyl chloride(BZYC)를 선정하여 이들 물질의 분석방법을 개선 및 개발하고자 하였다. arylmethyl halides중 BZTC는 특히 “제조 또는 사용허가를 받아야 하는 유해물질(산업안전보건법 시행령, 1990)”중의 하나로 독성이 대단히 강해 폐암을 유발할 수 있으며, 노동부고시(제91-21)에 허용농도가 정해진 BZTC도 암을 유발 할수 있는 물질이다. 한편 이 두 물질을 분석하는데 방해될 줄수있는 arylmethyl halide인 benzal chloride(BZAC), 관련물질 (related compound)인 benzyl alcohol(BZYA)및 benzoyl chloride(BZOC)도 연구대상에 포함하여 검토하였으며, 이 물질들에 대한 작업환경중의 유해성도 상세히 조사하였다.

본 연구의 목적은 첫째 이 물질들을 분석하는데 현재 packed column을 사용하는 가스크로마토그래피 방법을 capillary column을 사용하여 개선하고, 또한 현재까지 이 물질들을 분석하는데 보고되지 않은 역상고성능액체크로마토그래프(RP-HPLC, reversed-phase high performance liquid chromatograph)를 사용하여

이 물질들을 분리, 정량 할 수 있는 방법을 개발하고, 둘째 작업환경중의 BZTC와 BZYC의 포집에 사용되는 흡착제(adsorbent)와 포집된 이 물질들을 탈착 (desorption)시키는 적합한 용매를 검토하여, 가스크로마토그래프 및 RP-HPLC에 의해 작업환경중의 BZTC 및 BZYC를 측정하는 방법을 표준화하여 보급하는데 있다.

제 2 절 Arylmethyl halides 및 관련물질

1. 제조방법, 성질 및 용도

arylmethyl halides를 제조하는 여러가지 방법중 가장 중요한 방법은 광선조사하에서 할로겐화하는 free-radical halogenation반응이다. 이들의 간단한 제조과정은 그림 1과 같다. 이 물질들은 그림 1에서와 같이 benzyl chloride는 NaOH용액 중에서 benzyl alcohol로 되고, benzal chloride가 황산과 철분하에서 가수분해 되면 benzaldehyde를 얻을 수 있으며, benzotrichloride를 FeCl₃ 촉매하에서 가수분해 하면 benzoyl chloride를 제조 할 수 있다. 이중 중요한 물질들의 성질 (CINFO disc, 1989: CHEM Data/PRODUCTS CHEMIQUES, 1989) 및 용도(유삼건, 1991: G.D stoner, 1987: European patent Application, 1981)는 각각 표1 및 표 2와 같다.

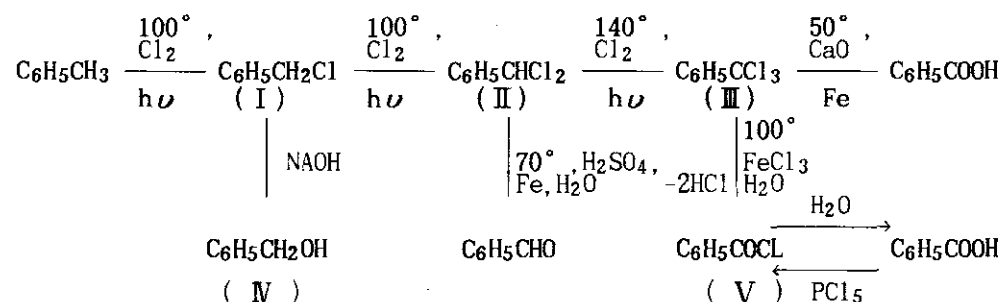


Fig. 1. Perparation of side-chain aromatic halogan compounds by substitution reaction of free-radical halogenation: I, benzyl chloride; II, benzal chloride; III, benzotrichloride; IV, benzyl alcohol; V, benzoyl chloride.

Table.1 Physical properties of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride, benzoyl chloride and benzyl alcohol

item \ compd	benzyl chloride	benzal chloride	benzotrichloride	benzoyl chloride	benzyl alcohol
formula	$C_6H_5CH_2Cl$	$C_6H_5CHCl_2$	$C_6H_5CCl_3$	C_6H_5COCl	$C_6H_5CH_2OH$
molecular weight	126.59	161.03	195.48	140.57	108.13
appearance & odor	colorless liquid ; irritating odor	very refractive liquid pungent odor ; fumes in air	clear, colorless to yellowish, oily liquid; penetrating odor;	clear, colorless liquid; penetrating odor	liquid ; faint aromatic odor
boiling point at 760 mmHg	179°C	205°C	220.8°C	197.2°C	204.7°C
melting point	- 43 ~ - 48°C	- 17°C, solidify	- 5.0°C	- 1.0°C	- 15.19°C
specific gravity (relative density)	1.10 ($H_2O = 1$)	1.26	1.3756 ($H_2O = 1$)	1.21 ($H_2O = 1$)	1.04535
refractive index	1.5415 (n_D^{15})	-	1.55789 (n_D^{20})	1.55369 (n_D^{20})	1.54035 (n_D^{20})
solubility	negligible (< 0.1%) in H_2O ; miscible with alcohol, $CHCl_3$, ether	insol in H_2O ; freely sol in alcohol, ether	insol, decomposes in H_2O ; sol in alcohol, benzene, ether, other organic sol- vents. unstable; avoid H_2O	decomposes in H_2O ; miscible with ether, benzene, CS_2 , oils. stable; avoid heat, H_2O	miscible with abs., and 94% alcohol ether, $CHCl_3$
vapor density	4.4 (air = 1)	(5.59)	6.77	4.88 (air = 1)	3.72 (air = 1)
conversion factor at 25°C	1 ppm = 5.17 mg/m ³	1 ppm = 6.5 mg/m ³	1 ppm = 7.99 mg/m ³	1 ppm = 5.76 mg/m ³	(1 ppm = 4.42 mg/m ³)
saturation vapor concentration	6.2 g/m ³ at 20°C	-	0.7 % at 75°C	-	-
vapor pressure	1 mmHg at 20°C	-	1 mmHg at 45.8°C	1 mmHg at 20°C	-

Table 2. Use for benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride, benzoyl chloride and benzyl alcohol.

Compound	usage
benzyl chloride	- 농 약 : 살충제, 살균제 제조 - 가소제원료 : benzyl alcohol ($C_6H_5CH_2OH$) - 향료 원료 : benzyl alcohol, benzyl benzoate $\begin{array}{c} O \\ \\ (C_6H_5COCH_2C_6H_5) \end{array}$ - 의약 원료 : benzonitrile($C_6H_5CH_2CN$) - 계면활성제 : quaternary ammonium chloride $(C_6H_5CH_2^+N(R_2R_1)Cl^-)$
benzal chloride	benzaldehyde의 제조
benzotrichloride	- benzoyl chloride의 제조 - 농약원료 - 염료중간체 : benzotrifluoride의 제조 - 자외선 흡수제 : hydroxybenzophenone - 유기합성원료 - to reduce or prevent fog in negative-working silver halide emulsions
benzoyl chloride	- 농 약 : 살충제 - 플라스틱 첨가제 : - 중합촉매, 가교제 $\begin{array}{c} O \quad O \\ \quad \\ benzoyl\ peroxide(C_6H_5C-OO-C-C_6H_5) \\ O \\ \\ t-butyl\ peroxybenzoate(C_6H_5COOC(CH_3)_3) \end{array}$ - 자외선 흡수제 $\begin{array}{c} O \\ \\ C_6H_5CC_6H_3(OH)(OC_8H_{17}) \end{array}$ 2-hydroxy-4-n-octhyl benzophenone, $\begin{array}{c} O \\ \\ C_6H_5CC_6H_3(OH)(OCH_3) \end{array}$ 2-hydroxy-4-methoxy benzophenone, - 의약원료 : benzophenone ($\begin{array}{c} O \\ \\ C_6H_5CC_6H_5 \end{array}$)
benzyl alcohol	- manufactured other benzyl compds. - solvent for gelatin, casein - used in perfumery and in flavoring

2. 유해성 및 독성

arylmethyl halides 및 관련물질(benzoyl halides)은 유해성 및 독성이 강하기 때문에 이들 물질들을 사용하는 작업장에서는 직. 간접적으로 폭로되지 않도록 세심한 주의를 요한다. 이들 물질들의 침투경로, 손상부위, 발암성 및 독성(CINFO disc, 1989: CHEM Data/PRODUCT CHEMIQUES, 1989: European Patent Application, 1981: I. Chu 등, 1984)은 표 3에 보여진다. 따라서 이들 물질들의 폭로한도(CINFO disc, 1989: Guide To Occupational Exposure Values, 1990: 유해물질의 허용농도, 1991)를 규정하는 것이 중요하다. 이 물질들의 폭로한도는 표 4에 보여진다. 그러나 표 4에서와 같이 benzal chloride, benzotrichloride 및 benzoyl chloride의 폭로한도는 아직까지 선정되어 있지 않으며 이 물질들의 직업성 노출정도의 조사는 NOES(National occupation exposure survey, 1983)와 NOHS(National occupation hazard survey, 1974)가 있다.(표 5)

산업안전보건법에 특정화학물질 제1류로 분류되어 있는 BZTC는 표3에서 보여진 바와 같이 4가지 물질중 독성이 가장 강한 물질로 이 물질로 인한 직업병 발생 사례(Hiroyuki Yosimura 등, 1986)를 조사하였다. benzotrichloride(BZTC)는 주로 benzoyl chloride(BZOC)을 제조하는 과정에서 생성된다. 일본에서는 1954~73년 사이에 BZOC를 제조하는 공장의 작업자(약20명, 근속시간 6~17년)로부터 3례의 폐암과 1례의 악성임파종이 발생되었다. 또한 별도로 BZTC 및 benzoyl peroxide의 제조공장의 작업자(약40명, 작업기간 5, 17년)에게서 2례의 폐암이 발생되었다고 보고하였다. 현재까지 폐암 6례가 직업병으로 인정되었다. BZOC의 제조공정에서 사람의 암발생 주원인은 BZTC와 BZOC의 흡인에 의한 것으로 추정되며, BZTC는 BZOC 제조의 주요한 중간체로 폭로의 기회가 많다. BZTC와 BZOC의 발암성을 비교하면 BZTC 흡인폭로의 편이 폐종양, 악성임파종(자혈증), 피부종양의 어느 것이든 발생율이 높다. 그래서 BZOC는 폭로직후 세포내에 침입하기전에 물과 단백질 등의 조직성분에 의해 가수분해를 하여 불활성화 된다고 생각된다. 한편, BZTC는 물과의 반응이 느려 가수분해보다 BZOC를 경유하며 benzoic acid로 분해된다. 이런

것으로 부터 세포내로의 침입도와 세포내의 산성과 단백질등에 대한 화학적인 면은 BZTC가 크다고 추정되어, 발암성도 강할것으로 생각된다. 또한 변이원성시험에서도 BZOC에 비하여 BZTC가 강한 발암성이 있는 것으로 시사되었다. 농약, 향료, 의약품 및 유기합성등의 직접원료나 중간체를 제조하는데 사용되는 이 물질들의 수입량 및 사용처(유삼건,1991)는 표 6에 보여진다.

Table 3. Health hazard data of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride and benzoyl chloride

compd iteme	benzyl chloride	benzal chloride	benzotri chloride	benzoyl chloride
primary routes of entry	inhalation, ingestion, eye contact, skin contact	-	-	inhalation ingestion, skin contact, eye contact
target organs	respiratory system, eye skin	-	-	respiratory system lungs, eyes, skin, central nervous system
investigation	tumorigen , mutagen reproductive effector	tumorigen mutagen	tumorigen, mutagen, pri- mary irritant	tumorigen, mutagen
carcinogenici- ty	anticipated to be a carc- inogen: IARC- 2B, MAK-B	IARC-2B, MAK-2B	IARC-2B MAK-2B, NTP-2	not considered to be a carcin- ogen by NTP, IARC, OSHA
CFR classifi- cation	corrosive material(101) poison(102)	poison B	corrosive material	corrosive material
toxicity by inhalation, LD ₅₀	rodent-rat 150ppm/2H	rodent-rat 61ppb/2H	rodent-rat 19ppm/2H	rodent-rat 1870ppm/2H

IARC : international agency for research on cancer

MAK : federal republic of germany maximum concentration values in the
workplace

NTP : national toxicology program

Table 4. Exposure limit of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride and benzoyl chloride

compd. ref.	benzyl chloride	benzal chloride	benzotri- chloride	benzoyl chloride
ACGIH TLVs	TWA: 1ppm (5.2mg/m ³)	-	not established	none
OSHA PELs	TWA: 1ppm (5mg/m ³)	-	-	none
NIOSH RELs	STEL/CELL: C 5mg/m ³	-	-	none
노동부 고시 제91-21호	TWA: 1ppm (5mg/m ³)	-	-	-

ACGIH TLVs : American conference of governmental industrial hygienists
threshold limit values

OSHA PELs : Occupational safety and health administration permissible
exposure limit

NIOSH RELs : National institute for occupational safety and health
recommended exposure limit

Table 5. Occupational exposure survey data of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride and benzoyl chloride

compd. classification	benzyl chloride	benzal chloride	benzotri- chloride	benzoyl chloride	
No. of factories	NOHS(1974) 172 (estimated)	-	NOES(1983) 1 (estimated)	NOHS(1974) 117 (estimated)	NOES(1983) 5 (estimated)
No. of industries	5	-	43	5	148
No. of occupations	10	-	1	6	30
No. of employees	30504 (estimated)	-	171 (estimated)	1008 (estimated)	6871 (estimated)
No. of female employees	-	-	-	-	2826 (estimates)

Table 6. Imported quantities and main user of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride and benzoyl chloride

compd. \ year	'87(kg)	'88(kg)	'89(kg)	main user
benzyl chloride	1,598,149	956,787	1,037,042	영우화학 이화산업 등
benzal chloride	-	-	-	-
benzotrichloride	-	401,430	581,104	-
benzoyl chloride	-	447,540	246,912	영우화학

3. Arymethyl halides와 관련물질들의 포집 및 분석

arymethyl halides 및 관련물질들을 포집하는데는 charcoal(C.L.Fraust 등, 1966: NIOSH Analytical Method for set U, 1977: W. Bertsch, 1975), silicagel(E.E Campbell 등, 1966) porous polymer bead(Porapak N, Tenax GC etc.)(Hiroyuki Yosimura 등, 1986: M.W. Dietrich 등, 1978: Hidetsuru Matsushita 등, 1979: 多田 治 등, 1980.), porous polymer resin(XAD-2)(G.A. Junk, 1974.), polyurethane(B.C. Turner 등, 1977.) 및 직접포집방법(多田 治 등, 1980: 作業環境測定 ガイドブック, 1980.) 등이 사용되었다. 또한 일반적으로 chlorinated hydrocarbon(F.W. Williams 등, 1968: J.P. Mieux 등, 1973: T.A. Bellar 등, 1974: Claire Vidal-Madjar 등, 1978) 물질들은 위에서 언급한 흡착제를 사용하여 포집한다. 직접포집방법을 제외한 흡착제에 포집된 물질들을 탈착하는 방법은 열이나(M.W. Dietrich 등, 1978: Wolfgang Bertsch 등, 1974: J.S. Parsons 등, 1975: J.W. Russell, 1975) 용매(Hiroyuki Yosimura 등, 1986: Hidetsuru Matsushita 등, 1979: 多田 治 등, 1980)가 사용되었다. arymethyl halides와 관련물질들의 분석은 적정법(Wolfgang Kirsten, 1953: Cho Yoshimura 등, 1984)과 분광분석법(Zavod Lab, 1988)을 이용한 분석법이 보고된 바 있다. 그러나 일반적으로 가스크로마토그래프를 많이 사용하였으며, 이때 검출기는 TCD(thermal conductivity detector), FID(flame ionization detector)(Hiroyuki Yosimura 등, 1986: M.W. Dietrich 등, 1978. Hidetsuru Matsushita 등, 1979. 多田 治 등, 1980. G.A. Junk 등, 1974: 作業環境測定 가이드ブック, 1980. J.Y. Yang, 1970.), ECD(electron capture detector)(James S. Persons 등, 1975.) 및 FPD(flame photometric detector)가 사용되었다. 그러나 가스크로마토그래프로 arymethyl halides 및 관련물질들을 분석시 분리능(resolution)이 좋지 않아 온도프로그래밍법(temperature programming method)을 응용하고(Hidetsuru Matsushita 등, 1979), 등온분석(isothermal analysis)(作業環境測定 가이드ブック, 1980) 시도 유보시간(retention time)이 약 20분 가량 소요

된다. 또한 가스크로마토그래프로 분석시 일반 실험실에서는 상승된 온도에서 기화된 arymethyl halides 및 관련물질이나 분해물질들에 분석자가 노출되어 나쁜 영향을 받을 수 있으므로 (potential health hazard) 이러한 문제점을 해결하기 위해 기존의 GC분석방법을 개선하고, RP-HPLC를 이용하여 새로운 분석방법을 개발 및 확립하는것이 본 연구의 첫째 목적이다. 또한 법적규제물질인 BZTC와 BZYC에대한 작업환경중의 농도를 측정하기 위하여 시료포집에 사용되는 흡착제 (absorbent)와 포집된 물질을 탈착(desorption)시키는 용매를 검토하여 GC및 RP-HPLC에 의한적합한 측정방법(sampling and analytical method)을 표준화하여, 작업환경중의 BZTC 및 BZYC의 측정방법으로 활용 할 수 있도록 하는것이 두번째 목적이다.

제 4 절 검출한도(limit of detection)

화학적 또는 생물학적인 matrices속에서 특별한 분석방법을 사용하여 미량성분 (trace element or molecule)을 정량하는데 있어서 검출한도(LOD, limit of detection)의 개념은 대단히 중요하다. 1975년 IUPAC에서는 LOD를 다음과 같이 정의하였다.

"The limit of detection expressed as a concentration C (or amount, gr) is derived from the smallest measure, X, that can be detected with reasonable certainty for a given analytical procedure"

ACS에서는 1980년에 IUPAC이 정의한 개념을

"The limit of detection is the lowest concentration of an analyte that an analytical process can reliably detect"

라고 더욱더 명확히 하였다. (Gary L. Long, 1983; William R. Porter 등, 1983: Principles of Environmental analysis, 1983) ACS의 정의를 인용한 것을 보면 시료에 대한 측정값을 S 라 하고 blank에 대한 측정값을 S_b , 이들 측정에 대한 표준편차를 σ 라 하면, 분석신호(analyte signal)는 $S - S_b$ 이다. 정규분포에서 $(S - S_b) > 3\sigma$ 일때 99% 신뢰수준에서 $(S - S_b) > 0$ 임을 보여준다. 따라서 LOD의 권고치 (recommended value)는 3σ 로, 정량한도 (LOQ, limit of quantitation)의 권고치는 10σ 로 하였다. LOD와 LOQ의 개념은 Fig 2에 보여진다. 3σ 이하의 신호는 "not detected"(ND)라 하며, 3σ to 10σ 는 "region of less certain quantitation"이라 하고 실제 분석에 있어 "trace"라는 용어로 "T" 또는 "tr"로 표시한다.

J.E. Knoll(1985)은 분석물질의 농도와 신호응답(signal response)사이의 관계를 결정하는 과정이 상대적으로 간단하다 하더라도 background noise의 표준편차의 측정은 간단하지가 않다. chromatographic noise가 감도가 높은 전압측정기나 발전된 data handling equipment를 사용하여 측정할 수가 있지만 이런 장치는 평균적으로 모든 chromatographer에게 이용되지 않는다. 이런 이유로 background noise를 특징지우기 위해 chromatographic chart에서 관측된

fluctuation에 대한 연구가 많이 이루어졌다. 하지만 이 방법들은 몇몇 문제점을 가지고 있다. 첫째 측정을 하는데 있어 chart interval의 선정을 어디서부터 할 것인가에 대한 기준의 결여이고, 또다른 문제는 noise가 기준선(baseline)주위에서 정규분포한다는 가정을 한 것이다. 이 가정은 조심스럽게 다루어진 조건하에서 유효할 수 있지만 대부분은 보정을 필요로 한다. chromatographic noise는 line voltage에 spikes를 넣음으로 생기거나, 대략 전기적인 기계로 부터의 방해 및 검출기에 운반체나 연료(carrier or fuel)의 흐름에 있어서의 불안전성에 기인한 fluctuation을 포함한다. 그러나 이들 어느정도 정규분포를 따르지 않는다. J.E.Knoll은 noise measurement interval을 system의 최대 능력(max. information capacity)로 결정짓고, noise를 Bienayme-Tchebychhoff inequality의 Camp-Meidell extension을 이용하여 특성을 기술하고, 결론적으로 아래와 같은 검출한도(C_{LOD})와 정량한도(C_{LOQ}) 계산식을 얻었다.

$$C_{LOD} = K_{LOD} h_n C_s / h_s$$

$$C_{LOQ} = K_{LOQ} h_n C_s / h_s$$

여기에서 K_{LOD} 와 K_{LOQ} 는 constant로 측정간격(measurement interval)에 따라 결정되며(표 7), h_n 값은 그림 3에서와 같이 측정된다.

검출한도를 계산하기 위하여

1. 검량선을 작성하기 위한 시료를 분석한다. 검량선 기울기로 부터 C_s/h_s 가 얻어진다.
2. 검량선 범위내 크로마토그램으로 부터 $1/2h$ 에서의 피크폭(W_h)를 구한다.
3. 차트에 W_h 의 간격으로 선을 분할하고, 공시험을 실시하고 가장 큰 noise fluctuation(h_n)의 높이를 측정한다.
이때 K_{LOD} 는 W_h 의 곱에 따라 결정다.
4. 위 계산식에 K_{LOD} , h_n 및 C_s/h_s 를 대입하여 C_{LOD} 를 계산한다.

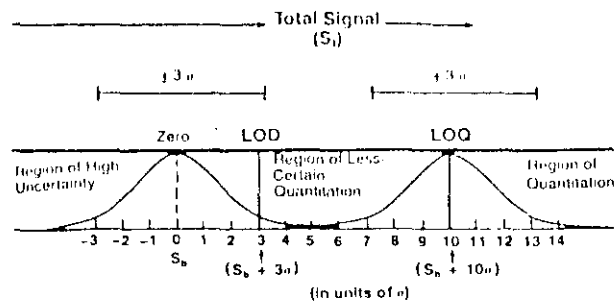


Fig.2 Relationship of LOD and LOQ to signal strength. The LOD is located 3σ above the measured average difference in the total(S_t) and blank(S_b) signals; the LOQ is 10σ above S_b .

Table 7. multiplier constants limit for detection and limit of quantification calculations

peak width multiple	K_{LOD}	K_{LOQ}
10	1.9718	5.755
20	1.4309	4.150
50	1.9194	2.656
100	0.6536	1.885

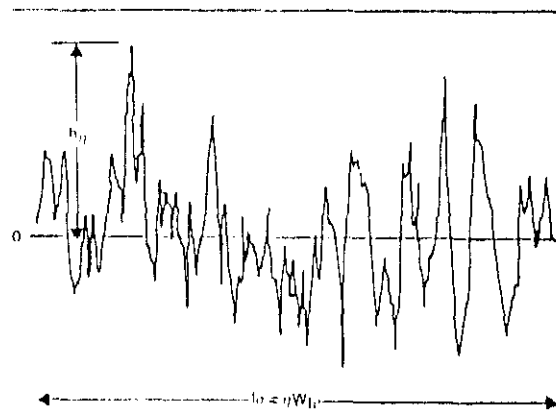


Fig 3. noise output chart recording

한편 작업환경중의 유해물질의 분석에 대한 검출한도의 개념을 NIOSH에서는 “background로 부터 구별되는 분석물질의 가장 작은량”이라고 정의하였으며, 계산방법은 검량선 graph의 기울기(slope)에 의해 나누어진(분석물질의 단위 농도나 질량당 기계의 reading) 검량선 graph의 표준오차(standard error)의 3배로 하고 정량한도는 표준오차의 10배로 하였다. OSHA에서는 분석과정의 검출한도를 “baseline 높이의 약5배의 높이를 줄수있는 분석물질의 량”이라고 정의하였으며 계산방법은 첫째, baseline noise가 시료의 일상분석(routine analysis)에 사용되는 이상으로 증폭되더라도 가능한한 측정할 수 있는 수준으로 증폭하여 계산한다. 둘째, 만약 baseline noise가 얻어지지 않으면 다른 reference가 선택되어야 한다. 이것은 reagent matrix에의한 noise의 peak라고도 고려될 수 있다.

따라서 실제 분석시 baseline 의 noise를 수량화 하는것이 용이하지 않기 때문에 본 연구에서는 얻어지는 크로마토그램으로 부터 계산할 수 있는 J.E.Knoll 방법과 OSHA방법, 검량선 data로부터 계산할 수 있는 NIOSH방법을 검토하여 실제적으로 가장 용이하게 응용될 수 있는 방법을 선정하고 채취공기량을 10L로 가정하여 이에 따른 arylmethyl halides의 작업환경중의 검출한도를 계산하였다.

제 II 장 실험

제1절 분석기기 및 실험기구

본 연구에 사용되는 분석기기는 고성능액체크로마토그래프(HPLC) 및 가스크로마토그래프(GC)를 사용하였다. HPLC는 Spectra-Physics사의 제품으로 Extended Range LC Pump는 SP 8700XR, Scanning Detector는 SP8480XR(파장변경 가능), Solvent Organizer는 SP 8750XR, Computing Integrator는 SP 4200, Column Temperature Controller 및 Column Heater는 Bioanalytical System의 LC-22A, LC-23A를 사용하였으며, 그외 시료추출, Solvent의 degasing을 위해 BRANSON Ultrasonic Cleaner를, 용매여과를 위해 Waters사의 Solvent clarification kit를, 시료여과를 위해 sample clarification kit를, 시린지는 Hamilton의 50 μ l 주사기를 사용하였다. column은 ODS-1 (10 μ m, 25cm $\times$ 4.6mm, SS)이 이용되었다. 또한 GC는 Varian제품으로 Varian 3300을, Integrator는 Varian 4290을 사용하였다. 분석에 사용된 Column은 일반적으로 쓰이는 Methyl silicone을 Liquid phase로한 DB-1(막두께 0.25 μ m, 길이 $\times$ 구경 30m $\times$ 0.32mm I.D.)을 사용하였고, Injector는 Split mode를 사용하였다.

제2절 측정조건

본실험에서 사용된 분석기기들의 측정표준조건은 다음과 같다.

HPLC ;

Mobile Phase	MeOH/D. W.	75/25
Flow rate	1ml/min	
Degasing gas	He(1Kg/cm ² , 2nd regulator)	

Column Temperature	30° C
Wave Length	UV 254nm
Range	0,125 AUFS
Attenuation	2
Chart speed	0,25cm/min

GC ;

Temperature	Column	100° C isothermal
	Detector	200° C
	Injector	200° C
Flow Rate	N ₂ Detector	28,5ml/min
	Column	1.5ml/min
	make-up	30 ml/min
	Air	300 ml/min
	He	60 ml/min
Injection Volume	1μl (split ratio 1/20)	
Attenuation	1	
Chart speed	0,25cm/min	
Detector	FID	

제3절 시약 및 시액

본 실험에서 시료로 사용된 arylmethyl halides는 benzyl chloride(Junsei Chemicals; Extra-pure), benzal chloride(WAKO Pure chemical industry, LTD. ; reagent), benzotrichloride(Aldrich Chem. Co. Inc.;Gold lable)을 구입하여 사용하였으며, arylmethyl halides의 관련물질로 benzyl alcohol(Junsei Chemicals;Guranted Reagent)와 benzyl chloride(Junsei Chemicals; Extra-pure)는 특별한 처리없이 사용하였다.

한편, Stock solution은 위에 열거한 5가지 시약을 각각 1ml씩 Volumetric pipette으로 취하여 미리 약 50ml의 methyl alcohol(or CCL₄)이 들어있는 100ml Volumetric flask에 넣고 methyl alcohol(or CCL₄)로 표선한후 4° C 냉장고에 보관하면서 필요시 사용하였다. 표준액의 조제는 다섯개의 약 5ml vial에 volumetric 피펫으로 methyl alcohol(or CCL₄)를 각각 2ml를 가하고 즉시 마개를 덮고 각 vial에 μ -syringe를 이용하여 stock solution을 각각 1.5, 3, 6, 9, 12 μ l를 취해 넣어 조제하였으며 용매의 휘발에 의한 농축과 물질의 분해성을 고려하여, 제조된 표준용액은 실험당일에만 사용하였다. 편의상 낮은 농도로부터 ST1, ST2, ST3, ST4 및 ST5로 표기하였다. 이들 각 표준용액의 용액중 농도와 공기중 농도는 표8과 같다. 이들 각 용액의 농도를 공기중의 농도로 환산하기위한 조건은 NPT(normal temperature pressure;25° C, 1기압)를 사용하였고 이때 각 물질 1mole 의 부피는 24.46l를 사용하였으며, 채취된 공기량은 일반적으로 solvent vapor를 흡착시 채취하는 표준량인 10L를 기준한 농도이다.

Table 8. Standard concentration in solution($\mu\text{g/mL}$) and air($\mu\text{L/L}$) for benzyl alcohol(BZYA), benzoyl chloride(BZOC), benzyl chloride(BZYC), benzal chloride(BZAC) and benzotrichloride(BZTC)

ST. No.	Concentration: soln. (air ¹)				
	BZYA	BZOC	BZYC	BZAC	BZTC
ST. 1	7.8(0.18)	9.1(0.16)	8.3(0.16)	9.5(0.14)	10.3(0.13)
ST. 2	15.7(0.36)	18.2(0.32)	16.5(0.32)	18.9(0.29)	20.6(0.26)
ST. 3	31.4(0.71)	36.3(0.63)	33.0(0.64)	37.8(0.57)	41.3(0.52)
ST. 4	47.0(1.06)	54.5(0.95)	49.5(0.96)	56.7(0.86)	61.9(0.77)
ST. 5	62.7(1.42)	72.6(1.26)	66.0(1.28)	75.6(1.15)	82.5(1.03)

1 : The volume sampled, 10L was supposed.

제4절 흡착시료의 제조 및 탈착

흡착시료는 benzyl chloride, benzal chloride 및 benzotrichloride 시약을 사용하여 조제한 stock solution을, 흡착제는 charcoal 및 Tenax-GC를 사용하였다. charcoal tube(SK, USA; front side 100mg, back side 50mg)의 경우 stock solution을 microsyringe로 $3\mu\text{l}$ (BZC 33 μg , BZTC 41.3 μg 에 해당)를 취하여 charcoal tube의 전단부분을 약 5mm 자른 후 수직으로 세워 100mg의 중앙부위에 주사기를 넣은 후 순간적으로 microsyringe의 plunger를 눌러 시료용액을 넣고 즉시 Lab. sealing film(Watman)으로 봉하고 plastic cap을 씌워 4°C 냉장고 보관하면서 사용하였다.

Tenax-GC는 tube가 상품화된 것이 없어 실험용 유리관을 잘라 제작(구경 4mm, 길이 7cm)하여 세척 및 건조한 후 한쪽에 유리솜을 약 1cm 정도 넣어 막고 sealing film으로 봉하고 plastic cap을 한 후 반대편 입구를 통해 Tenax-GC 100mg을 넣은 후 유리솜으로 약 1cm 정도 막은 후 charcoal tube에서와 같은 방법으로 조제 하였다.

탈착은 RP-HPLC를 이용하기 위해서는 조제된 charcoal tube는 전단의 100mg과 후단의 50mg을 각기 다른 약 5ml의 vial에 취한 후 methyl alcohol(or CCL₄)를 각각 1ml를 정확하게 넣은 후 cap을 굳게 닫은 후 sealing film을 3-4회 감은 후 ultrasonicator에서 vial의 약 반(2.5cm)이 물에 잠기도록 한 후 30분간 추출한다. Tenax-GC tube도 100mg을 약 50ml의 vial에 넣은 후 charcoal 추출시와 같이 실시한다. 30분간 추출된 시료용액은 HPLC에 injection 바로전 유기용제 filter(0.5 μm)를 이용하여 여과후 분석에 사용한다. 특히 추출 및 여과시 용매의 취발에 각별한 주의를 기울여야 한다. GC를 이용하여 분석할 때에도 동일한 용매(CCL₄ or MeOH)를 사용하여 추출과정은 위와 동일하다. HPLC와 같이 특히 추출 및 여과과정에서 용매의 취발에 유의하여야 한다.

탈착효율(desorption efficiency)는 다음과 같다.

$$\text{Desorption efficiency(\%)} = \frac{\text{area of analyte}}{\text{area of standard}} \times 100$$

제 III 장 결과 및 고찰

제1절 Arymethyl halides 및 관련물질들의 분석

가. 저장방법에 따른 안정성

benzyl alcohol, benzoyl chloride, benzyl chloride, benzal chloride 및 benzotrichloride를 각 물질별로 volumetric pipette를 사용하여 1ml를 취하여 미리 methanol이 약 50ml씩 들어 있는 다섯개의 100ml volumetric flask에 각각 넣은후 methanol로 포선한후 4° C 냉장고에 보관하면서 사용하였다. 사용된 100ml flask는 냉장고에 보관중 냉장고의 가시광선 영향을 검토하기 위하여 무색투명한 것과 갈색의 두 그룹으로 나누어 검토하였다. 저장기간별 각 물질의 분해정도 실험은 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 30일의 경과일에 따라 분석을 실시 하였다. 분석을 위한 용액의 조제는 분석당일 조제하였다. 이들 각 물질의 경과기간에 따른 안정성은 표9 및 10(Hidetsuru Matsushita등, 1979)에 보여진다.

표 9에서 보듯 methanol 용액중에서 30일동안 4° C 냉장고에 보관하는 동안 benzyl alcohol, benzoyl chloride, benzyl chloride 및 benzal chloride는 거의 분해되지 않고 안정한 것으로 사료되나, benzotrichloride는 제조시부터 분해가 되기 시작하여 5일후에는 약 7.5%, 10일후에는 약 13%, 15일후에는 약 17%, 30일후에는 약 20%가 분해되는 것으로 나타났으며 냉장고 내의 빛(light)에 의한 영향을 검토하기 위한 colorless flask 와 brown flask의 차는 없는 것으로 사료된다. benzotrichloride가 분해되는 것을 확인하기 위하여 자외선-가시광선분광분석기(UV-Visible spectrophotometer)를 이용하여 350nm에서부터 200nm까지, scanning 하여 spectrum bend를 확인하였다.

이것은 benzotrichloride가 용매중의 미량의 수분에 의해 가수분해 되어 benzoyl chloride로 변환되는 것으로 생각되며 benzotrichloride가 benzoic acid로 전환되는 것도 배제 할 수 없으므로 이를 확인하기 위하여 benzoic acid의 용액을 조제하여 같은 분석조건에서 분석결과 benzoic acid는 머무는 시간이 약

2.9분대로 나타났으며, 경과일에 따른 benzotrichloride용액의 분석시 benzoic acid는 검출되지 않아 benzoic acid로는 분해되지 않은 것으로 판단된다.

Table 9. Stability of benzal alcohol(BZYA), benzoyl chloride(BZOC), benzyl chloride(BZYC), benzal chloride(BZAC) and benzotrichloride(BZTC) in methanol solution.

Compound		Elapsed day				
		0	5	10	15	30
BZYA	a	98.9	99.0	98.4	98.3	98.5
	b	89.9	98.3	-	98.2	98.3
BZOC	a	98.0	98.1	98.0	97.9	98.1
	b	98.0	98.0	-	-	97.9
BZYC	a	98.0	97.9	100.0	99.7	98.2
	b	98.0	100.0	-	-	98.1
BZYA	a	98.0	96.4	97.5	96.7	97.2
	b	98.0	97.9	-	-	97.5
BZTC	a	99.0	91.6	86.0	81.6	78.6
	b	99.0	91.4	-	82.4	79.8

a: Colorless bottle, 4° C

b: Brown bottle, 4° C

Table 10. Stability of benzyl chloride(BZYC), benzal chloride(BZAC) and benzotrichloride(BZTC) in CCl solution.

		1	2	3	4 weeks
BZYC	a	99	97	97	96
	b	101	97	97	96
	c	100	97	96	96
BZAC	a	101	99	98	98
	b	102	99	98	98
	c	101	99	98	98
BZTC	a	100	99	98	98
	b	101	99	97	97
	c	101	99	97	97

a: room temp. , b: 4° C c: -20° C

Taken from Hidetsuru et al., Industrial Health, 17, 199, 1979.

제2절 GC를 이용한 분석

1. 추출용매의 영향

본 연구에서 사용된 추출용매는 arylmethyl halides의 용해성을 참고하여 CCL₄, CS₂, CHCl₃, methanol(MeOH), dimethylforamide(DMF), dimethylsulfoxide(DMSO), benzene(C₆H₆) 및 toluene(C₆H₅CH₃)를 검토하였다. 이들 용매들의 적합성 여부는 표 11에 보여진다. 흡착제로 charcoal을 사용시 검토된 용매중 CCL₄, CS₂, CHCl₃, MeOH benzene 및 toluene에는 arylmethyl halides가 거의 추출되지 않았으며, DMF와DMSO는 용매자체의 크로마토그램이 broad하여 arylmethyl halides 분리정량에 적합하지 않았다. 또한 흡착제로 Tenax-GC(Poly(2,6-diphenyl-1,4-phenylene onide);P₃O)를 사용하고, 탈착용매로 CCL₄, CS₂, CHCl₃, benzene 및 toluene을 사용시 Tenax-GC가각 용매에 분산상으로 존재하여 분석을 하기 위해서는 여과 및 원심분리하는 과정이 필요하고 또한 여과 및 원심분리도 용이하지 않아 탈착용매로 적합하지 않았다. 그러나 CCL₄에 대해서도 비슷한 어려움이 있었지만 기보가 된 방법이고 타용매에 비해 약간 어려움이 덜해 CCL₄를 사용하는 방법은 그대로 채택하여 GC에 응용하였다. 한편 Methanol을 사용시는 Tenax-GC가 crumbling 되지않아 간단한 여과과정을 통해 바로 GC분석에 활용 할 수 있었다. 여과를 위해 사용된 filter는 재질이 PTFE/polypropylene이고 pore size는 0.5 μ m로 유기용매에 사용되는 filter이다.

특히 실험중에는 사용되는 유기용매가 전처리 과정중 휘발되는 것을 최대로 방지하기 위한 세심한 주위가 필요하다. 이런 목적을 달성하기 위해 Cap이 달린 2ml vial을 사용하여 최대한으로 용매의 휘발에 의한 영향을 최소화 하였으며, 이로인한 영향은 실험오차내에 있음으로 여과중 다른 특별한 과정은 필요하지 않았다. 이렇게하여 선정된 용매인 CCL₄와 MeOH에 arylmethyl halides를 용해한 표준액을 표준분석조건하에서 분석한 chromatogram은 그림 4와 같다.

Table 11. Suitability of solvents to extract arylmethyl halides from absorbent.

Solvent	Absorbent	
	Charcoal	Tenax-GC
CCl ₄	low desorption;not suitable	<u>crumbled:suitable¹</u>
CS ₂	low desorption;not suitable	crumbled;not suitable
CHCl ₃	low desorption;not suitable	crumbled;not suitable
CH ₃ OH	low desorption;not suitable	<u>not crumbled:suitable²</u>
Dimethylformamide	solvent effect;not suitable	solvent effect;not suitable
Dimethylsulfoxide	solvent effect;not suitable	solvent effect;not suitable
Benzene	low desorption;not suitable	crumbled;not suitable
Toluene	low desorption;not suitable	crumbled;not suitable

1 : suitable for GC

2 : suitable for HPLC

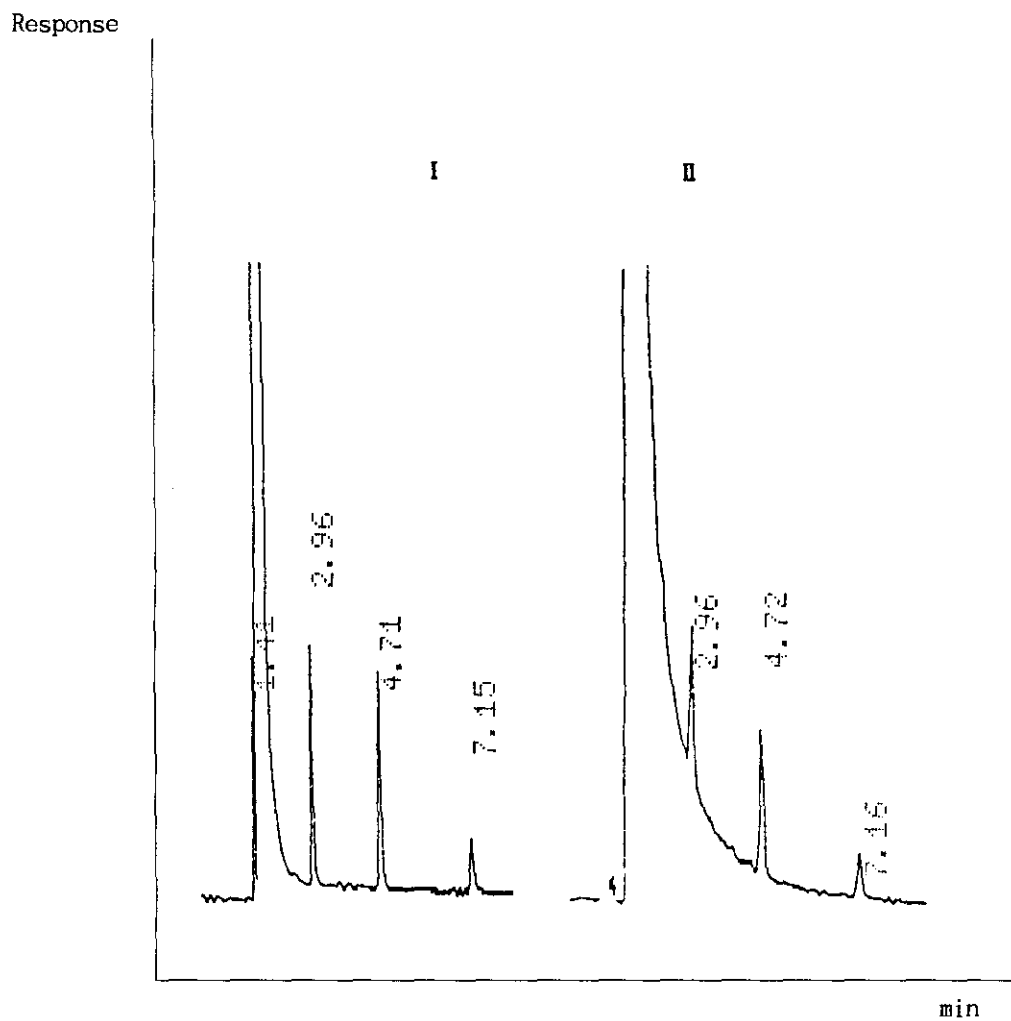


Fig. 4 Chromatograms of benzyl chloride(2.96 min), benzal chloride(4.71 min) and benzotrichloride(7.15 min) at 100° C with CCl_4 (I) and methanol (II) by GC.

2. Column 온도의 영향

본 연구에 사용된 5가지 물질을 CCL₄에 용해한 표준액 ST3를 이용하여 전술한 표준분석조건에서 분석한 크로마토그램은 그림 5에 보여진다. 온도를 10° C씩 상승시 110° C에서 BZYA(2.64min)와 BZYC(2.57min)가 중첩되어 두 물질을 각각 정량하기 곤란 하였으며, 120° C에서는 BZYA와 BZYC가 머무른 시간이 2.33분으로 완전히 중첩되었다.

그러나 다른 세가지 물질은 120° C까지 baseline분리를 보였으며, 140° C까지도 약간의 baseline drift를 보였으나 세가지 물질은 중첩되지 않아 정량가능 하였다. 150° C이상에서는 BZTC 이외는 서로 중첩되어 정량 곤란 하였다. 따라서 작업환경중의 시료를 채취시 benzoyl chloride나 benzyl alcohol이 혼재되어 있을 경우는 Column의 온도를 100° C로 하여 각성분을 분리 정량하는 것이 바람직하다.

한편 benzoyl chloride나 benzyl alcohol의 혼재 가능성이 거의 없는 상태의 작업환경중의 시료를 채취시는 BZYC, BZAC 및 BZTC 세물질을 혼합한 표준용액(ST3)를 사용하여 분석하며, Column의 온도를 110° C~120° C 하는것이 편리하다. 또한 140° C까지도 baseline의 drift는 있지만 정량가능하다. 특히 BZTC만을 분석대상으로 할때는 140° C에서 분석하여도 같이 검토된 4가지 물질에 전혀 방해없이 BZTC를 약 3분내에 분리정량 할 수 있다.

Response

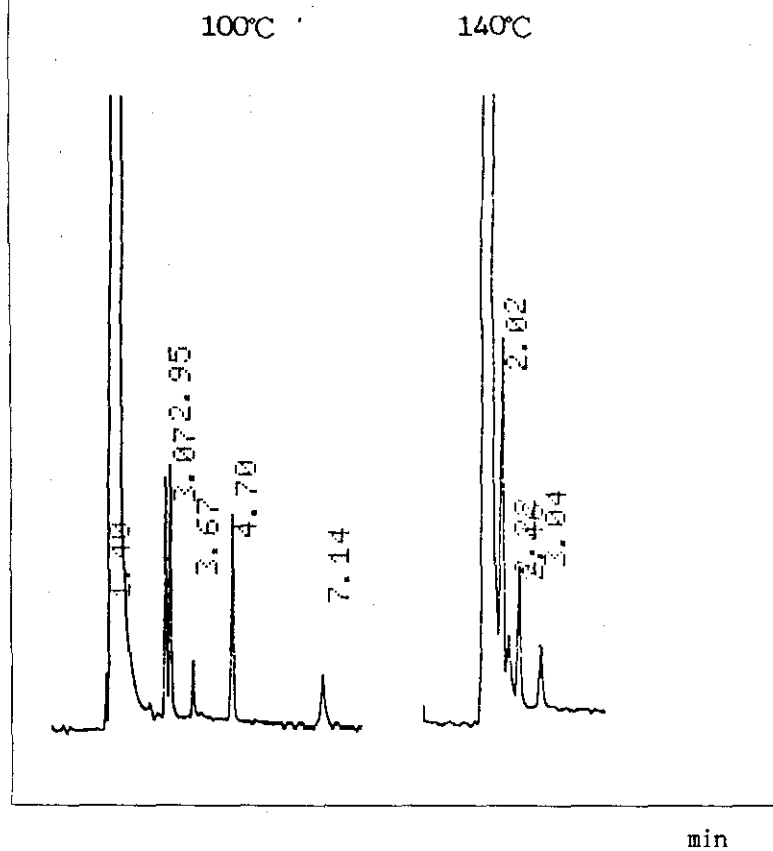


Fig.5 Chromatograms of benzyl chloride(2.95 min), benzyl alcohol(3.07 min) benzoyl chloride(3.67 min), benzal chloride(4.70 min) and benzotrichloride(7.15 min) at 100° C and 140° C with CCl₄ by GC.

3. 검량선

arylmethyl halides 일정량을 CCL₄ 용액에 녹여 저장용액을 제조후 일정량을 취해 methanol용매에 희석하여 조제한 표준용액의 각 arylmethyl halides의 농도범위는 benzyl chloride 16.5-66.0ppm(0.32~1.28ppm in air), benzal chloride는 18.9-75.6ppm(0.29~1.15ppm in air) 및 benzotrichloride는 20.6-82.5ppm (0.26~1.03ppm in air)이다. 이 농도범위에서 GC의 표준분석 조건으로 검량선을 작성한 결과 각물질에 대해 주어진 농도범위에서 직선성이 양호하였다. 각 물질에 대해 주어진 농도범위에서의 상관계수(r)는 BZYC 0.9963, BZAC 0.9989 및 BZTC가 0.9918이었다. 이들에 대한 결과는 표 12와 그림 6에 보여진다. BZYC와 BZTC를 정량하는데 있어 각 물질에 대해 외삽법(extrapolation method)과 BZAC를 내부표준 물질로 사용한 내부표준법(internal standard method)를 사용 할 수 있으나 본 실험에서는 외삽법을 사용하였다.

Table 12 Calibration data of benzyl chloride(BZYC:16.5~66.0 ppm), benzal chloride(BZAC:18.9~75.6 ppm) and benzotrichloride(BZTC:20.6~82.5 ppm) in CCl₄ solution by GC.

ST. No.	BZYC		BZAC		BZTC	
	conc., ppm	area	conc., ppm	area	conc., ppm	area
ST. 2	16.5	551	18.9	641	20.6	202
ST. 3	33.0	985	37.8	1098	41.3	413
ST. 4	49.5	1582	56.7	1597	61.9	620
ST. 5	66.0	2228	75.6	2161	82.5	959
reg. eq.	34.1 χ - 70.5		26.8 χ + 109.5		12.0 χ - 70.9	
cor. coeff., r	0.9963		0.9989		0.9918	
slope(SE)	2.09		0.90		1.09	

area : mean of n=2

slope(SE) : standard error of slope

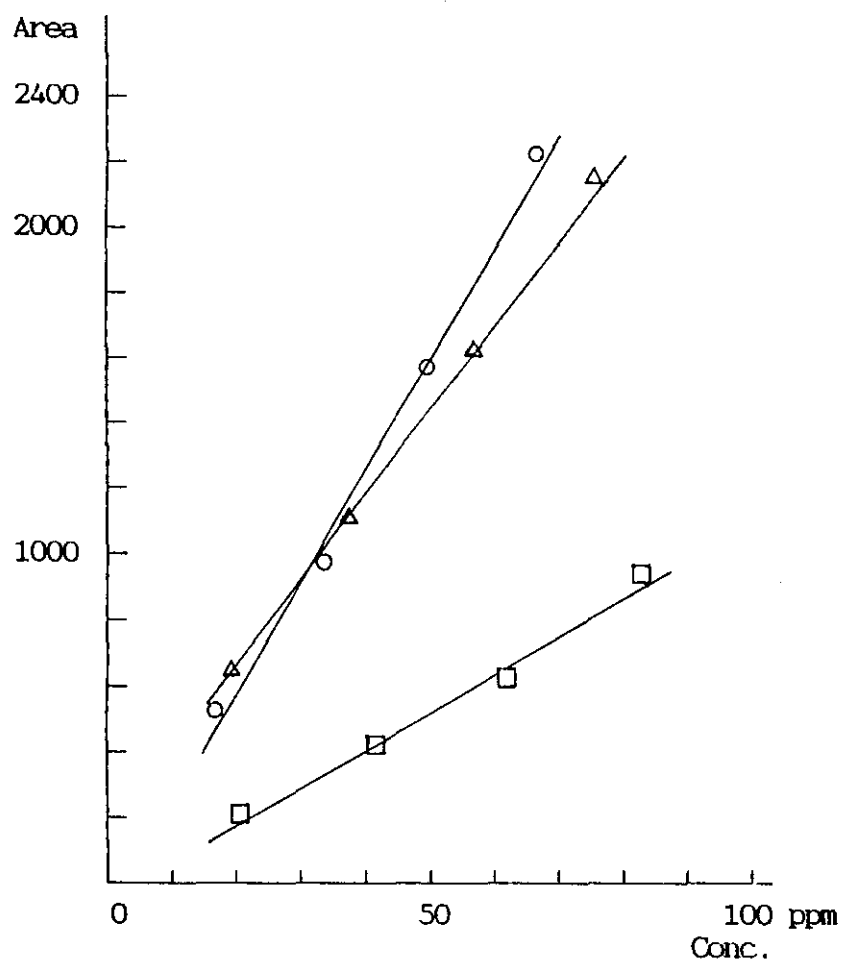


Fig.6 Calibration curve of benzyl chloride(○ ,16.5~66.0), benzal chloride (△ ,18.9~75.6 ppm) and benzotrichloride(□ ,20.6~82.5 ppm) in CCl_4 solution by GC.

4. 재현성

arylmethyl halides를 CCL₄용매에 녹여 조제한 표준용액(ST3:BZYC:33.0ppm, BZAC:37.8ppm, BZTC:41.3ppm)을 이용하여 GC의 표준분석조건하에서 10회 반복 분석한 결과 BZYC에대한 표준편차는 8.6%, BZAC는 5.3% 및 BZTC는 8.5%를 보였다. 이표에 대한 결과는 표 13에 나타내었다.

Table 13. Repeatability by using ST.3 in CCl₄ solution by GC analysis.

Test No.	Area		
	benzyl chloride	benzal chloride	benzotrichloride
1	842	1049	340
2	821	1023	336
3	951	1035	405
4	917	1062	338
5	951	1141	410
6	864	1006	346
7	977	1100	401
8	897	1025	418
9	1059	1138	394
10	1085	1185	363
$\bar{x}$	937	1086	375
σ	81	58	32
r. s. d. (%)	8.6	5.3	8.5

5. 검출한도 및 정량한도

실제 실험에서 chromatographic 방법으로 물질을 분석시 background의 값을 수량화하는 것은 용이하지 않다. 따라서 본 실험에서는 서론에서 소개한 방법중 실험실에서 분석과정에 대한 검출한도(LOD) 및 정량한도(LOQ)를 계산 할 수 있는 J.E.Knoll방법, OSHA방법 및 NIOSH 방법에 대해 표준분석 조건으로 분석한 크로마토그램과 검량선 data로부터 검출한도와 정량한도를 계산하였다. 이 결과에 대한 비교는 표 14에 보여진다. 검량선 data를 사용한 NIOSH방법으로 계산한 결과 BZYC, BZAC 및 BZTC의 각 검출한도는 공기중 농도로 $0.002-0.003\mu\text{L/L}$ 로 지금까지 보고된 것보다 약 3-5배 좋은 편이나 실제 분석크로마토그램을 고려시 실용성이 없었고, OSHA방법도 LOD가 과대평가 된 것으로 사료된다. 한편 J.E.Knoll방법에 의해 계산된 LOD는 실제 분석크로마토그램과 비교시 세가지방법중 가장 타당한 것으로 생각된다. 그러나 J.E.Knoll 방법은 실제 크로마토그램의 높이(H), 반치폭($W_{H/2}$) 및 noise높이(h_n)등의 측정과 계산이 복잡한 단점이 있다.

Table 14. Comparison data among the calculation methods for limit of detection(LOD, $\mu\text{L/L}$) and limit of quantitation(LOQ, $\mu\text{L/L}$) of benzyl chloride(BZYC), benzal chloride(BZAC) and benzotrichloride(BZTC) in air¹ by GC analysis.

Compound	J. E. Knoll		NIOSH		OSHA	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
BZYC	0.02	0.05	0.003	0.01	0.12	-
BZAC	0.02	0.06	0.002	0.005	0.12	-
BZTC	0.08	0.24	0.003	0.01	0.46	-

1 : The air volume sampled, 10L was supposed.

6. 탈착시험

앞서 설명한 추출용매의 영향에서와 같이 흡착제로 charcoal을 사용시 적합한 추출용매가 없었기 때문에 charcoal에 대한 탈착실험은 할 수 없었으며, Tenax-GC (60/80mesh, Alltech Associate, Inc)에 대해서만 탈착실험을 검토하였다. arylmethyl halides를 CCL₄ 용액에 넣어 조제한 표준용액 (ST3:BZYC, 33.0ppm; BZAC, 37.8ppm; BZTC, 41.3ppm)을 Tenax-GC 100mg이 들어있는 유리관에 microsyrinhe로 6 μ l를 취해 Tenax-GC가 들어있는 중간부위에 분산시킨후 sealing film으로 봉하고 plastic cap을 하여 4° C 냉장고에 24시간 보관후 5ml vial에 Tenax-GC를 취한후 CCL₄(또는 MeOH)를 2ml를 넣고 cap을 닫고 ultrasonicator에서 30분간 추출후 용매가 휘발되는 것에 유의하면서 여과한후 GC로 분석하였다. 시료는 동일한 조건하에서 6개를 조제하여 각시료를 2회 반복분석한 결과는 표 15와 같다.

작업환경 측정분석 manual인 NIOSH와 OSHA에서는 위와같이 조제한 시료에 대한 탈착효율이 75%이상이면 탈착방법으로 사용할 수 있다고 되어있다. 본 실험결과 각 물질에 대한 탈착효율은 CCL₄용매를 사용시 BZYC가 93.2%, BZAC는 97.1%, BZTC는 91.4%였고, MeOH를 사용시 BZYC가 95.5%, BZAC는 97.9%, BZTC는 94.4% 였다. 탈착효율면에서는 MeOH이 CCL₄보다 좋고, 상대표준편차는 CCL₄가 MeOH보다 좋다. 그러나 MeOH의 경우는 온도를 100° C이상으로 할때 용매자체 Chromatogram이 arylmethyl halides에 더 큰 영향을 줄것이 우려되므로 GC로 분석할 경우는 MeOH보다 CCL₄를 선택하여 분석을 하였다. 이러한 탈착효율을 실제작업환경측정시 대상물질을 정량하는데 보정계수(Corrction factor)로 사용될수 있다.

Table 15. Desorption efficiency of benzyl chloride(BZYC), benzal chloride (BZAC) and benzotrichloride(BZTC) with CCL₄ and MeOH from Tenax-GC absorbent by GC analysis.

Sample No.	CCl ₄			MeOH		
	BZYC	BZAC	BZTC	BZYC	BZAC	BZTC
1	89.6	98.0	87.2	100.3	97.4	94.6
2	89.0	98.1	88.5	97.2	102.0	100.0
3	93.6	98.1	95.2	98.9	96.9	89.3
4	94.3	97.3	88.0	94.5	100.2	101.1
5	94.0	93.2	92.8	91.9	98.3	94.9
6	98.6	97.7	96.5	90.4	92.6	86.2
$\bar{x}$	93.2	97.2	91.4	95.5	97.9	94.4
σ_{n-1}	3.51	1.92	4.00	3.94	3.21	5.83
r. s. d(%)	3.8	2.0	4.4	4.2	3.3	6.2

제3절 HPLC를 이용한 분석

1. 용매 및 이동상의 영향

1차 GC를 이용하여 검토된 용매중 선택된 CCL₄와 MeOH에 대해 HPLC의 표준분석조건에서의 영향을 검토한 결과 CCL₄를 추출용매로 사용하여 분석시 CCL₄용매자체 크로마토그램이 benzal chloride의 머무는 시간과 거의 같고 커서 benzal chloride앞에서 분리되는 benzoyl chloride와 benzyl chloride의 분리정량에 영향을주어 사용할 수 없었으며, methanol을 추출용매로 사용시는 검토된 5가지물질의 분리정량에 영향을 미치지 않아 용매로 적합하였다. 또한 표준용액에 함유된 CCL₄의량은 ST1-ST5의 범위에서 methanol ml당 0.75-6 μ l를 함유하고 있으며, 표준분석조건으로 분석시 benzal chloride와 거의 같은 유보시간(retention time)을 갖기 때문에 benzal chloride와 중첩되지만 공시험(blank test)을 실시하여 보정(correction)해 줌으로서 해결할 수 있었다. 이러한 분석 Chromatogram이 그림 7에 보여진다. 그림 7의 II에서 arylmethyl halides간의 분리인자(separation factor)는 BZYC 및 BZAC에서 1.24, BZAC 및 BZTC에서 2.06으로 양호한 편이었으나, 분리능(resolution)은 BZYC와 BZAC간에 약 0.8로 약간 낮았다. 그러나 BZYC와 BZAC의 분리능을 증가시키기위해 사용된 이동상(MeOH/H₂O)의 methanol의 부피를 줄일경우 BZYC와 BZAC간의 분리능이 좋아지지만 전체적 분리시간이 길어져 비효율적이다. 단 이런경우 분리능변화를 최소화 하면서 머무름시간을 단축시키기위해 이동상의 흐름속도를 증가시킬 수 있다. 그러나 이 경우는 column의 압력이 증가하여 column손상의 우려가 있으며 분석조건이 변화가 있어 정량이 문제될 수 있다. 따라서 본 연구에서는 arylmethyl halides의 분리정량을 위해 분리능은 약간 낮지만 분석시간, column의 효능, 분석조건을 유지등을 고려하여 MeOH/H₂O의 혼합비율을 75/25로 하였고 이동상의 흐름속도는 1ml/min로 하였다. 만약 benzotrichloride만을 분석하고자 할때는 MeOH/H₂O혼액중 MeOH의 부피비를 증가시키므로써 분석시간을 줄이고 감도도 증가시킬 수 있다.

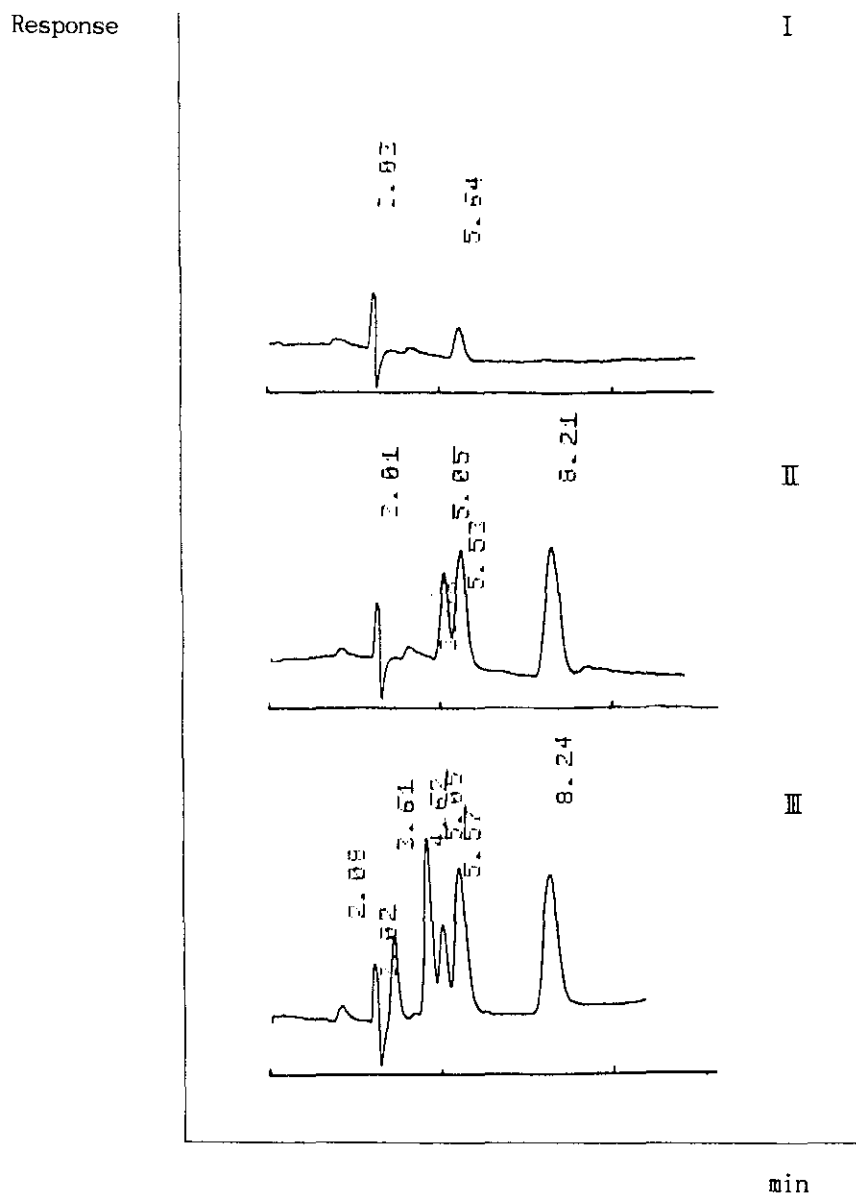


Fig.7 Chromatograms of I(CCl_4 , 5.64 min), II(arylmethyl halides: benzyl chloride, 5.05 min: benzal chloride, 5.53 min: benzotrichloride, 8.21 min) and III(arylmethyl halides and related compounds: benzyl alcohol, 3.61 min: benzoyl chloride, 4.62 min) with mobile phase, MeOH/D.W. (75/25) by HPLC.

2. 검량선

각 arylmethyl halides 일정량을 CCl_4 용매에 녹여 저장용액을 조제후 다시 일정량을 취해 methanol용매에 희석하여 조제한 표준용액의 농도범위는 benzyl chloride 8.3-49.5ppm(0.16~0.96 ppm in air), benzal chloride 9.5-56.7 ppm (0.14~0.86 ppm in air) 및 benzo-trichloride 10.30~61.9 ppm(0.13~0.77 ppm in air)이다. 이 용액을 이용하여 RP-HPLC의 표준분석 조건으로 분석하여 검량선을 작성한 결과 각 물질에 대해 주어진 농도범위에서 상관계수(r)은 BZYC는 0.9985, BZAC는 0.9974 및 BZTC는 0.9977 이었으며 이들 data 및 검량선은 표16과 그림 8에 보여진다.

Table 16. Calibration data of benzyl chloride(BZYC:8.3~49.5 ppm), benzal chloride(BZAC:9.5~56.6 ppm) and benzo-trichloride(BZTC:10.3~61.9 ppm) in methanol solution with mobile phase MeOH/D.W. by HPLC.

ST. No.	BZYC		BZAC		BZTC	
	conc., ppm	area	conc., ppm	area	conc., ppm	area
ST. 1	8.3	1515	9.5	1946	10.3	3498
ST. 2	16.5	2823	18.9	3857	20.6	7025
ST. 3	33.0	6059	37.8	7785	41.3	14076
ST. 4	49.5	8553	56.7	10679	61.9	19397
reg. eq.	$173.8\chi + 75.8$		$186.7\chi + 329.8$		$310.3\chi + 596.5$	
cor. coeff., r	0.9985		0.9974		0.9977	
slope(SE)	6.77		9.54		14.9	

area : mean of n=2

slope(SE) : standard error of slope

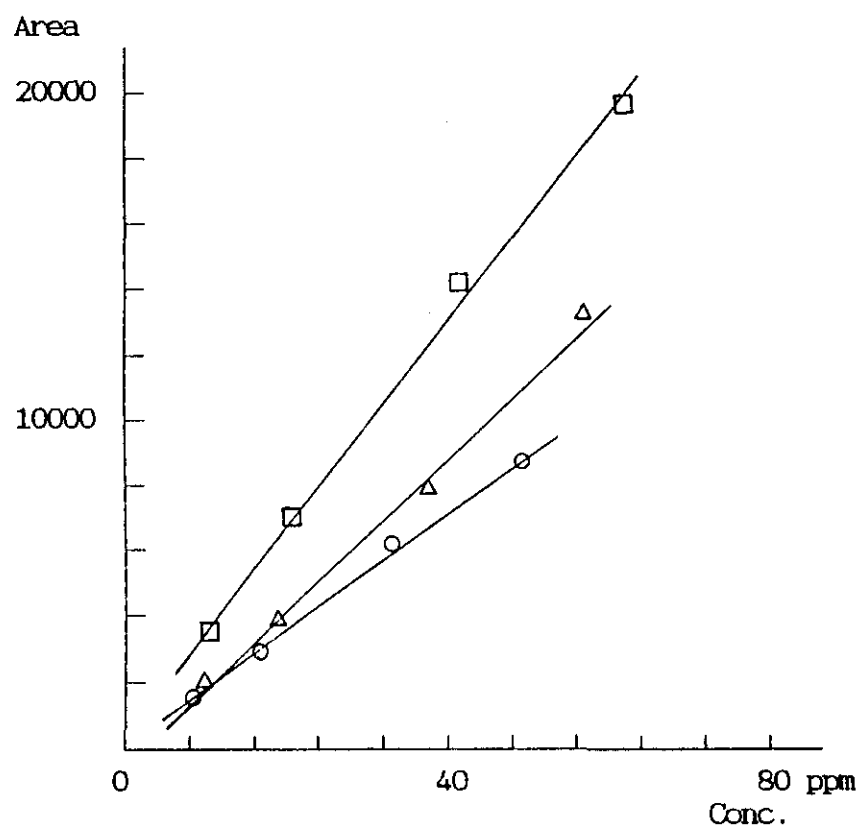


Fig. 8 Calibration curve of benzyl chloride(○, 8.3~49.5 ppm), benzal chloride(Δ, 9.5~56.6 ppm) and benzotrichloride(□, 10.3~61.9 ppm) in methanol solution with mobile phase, MeOH/D.W. (75/25) by HPLC.

3. 재현성

arlmethyl halides를 CCl_4 용매에 녹여 조제한 표준용액(ST.3: BZYC: 33.0 PPm, BZAC: 37.8PPm, BZTC: 41.3PPm)을 이용하여 RP-HPLC의 표준분석조건하에 10회 반복분석한 결과 상대표준편차는 BZYC가 7.4%, BZYC가 4.0% 및 BZYC가 2.8% 였고 이들에 대한 결과는 표17에 보여진다.

Table 17. Repeatability by using ST. 3 in methanol solution with mobile phase, MeOH/D.W. (75/25) by HPLC.

Test No.	Area		
	benzyl chloride	benzal chloride	benzotrichloride
1	4817	7758	15121
2	5505	7970	15198
3	4797	7476	14434
4	5708	8071	14492
5	5672	8223	15433
6	5583	8193	15311
7	4767	7484	15233
8	5299	7722	14102
9	4835	7331	14740
10	5653	8142	14990
$\bar{x}$	5264	7836	14905
σ	391	313	419
r. s. d. (%)	7.4	4.0	2.8

4. 탈착시험

Tenax-GC(60/80 mesh, Alltech Associate, Inc)흡착제가 100mg 들어있는 유리관에 표준용액ST3(BZYC: 33.0ppm, BZAC: 37.8ppm, BZTC: 41.3ppm)를 microsyringe로 3 μ l를 취해 Tenax-GC가 들어있는 중간부위에 분산시킨후 sealing film으로 봉하고 plastic cap을 하여 4° C 냉장고에 24시간 보관후 5ml vial에 Tenax-GC를 취한후 methanol 1ml를 넣고 cap을 하고 sealing film으로 봉한후 Ultrasonicator에서 30분간 추출후 실온으로 식힌다음 휘발에 유의하면서 여과한후 HPLC를 이용하여 분석한 Chromatogram과 결과는 그림 9와 표 18에 보여진다. 그림 9에서 저장용액(stock solution)으로부터 연유된 CCL₄의 크로마토그램은 머무름시간이 약5분내로 benzal chloride와 중첩되고 Tenax-GC로부터 methanol에 용해되어 나타나는 크로마토그램은 약8분대로 benzotrichloride와 겹쳐진다. 따라서 CCL₄용매와 Tenax-GC흡착제로 인해 arylmethyl halides중 benzal chloride와 benzotrichloride의 분리정량에 미치는 영향은 공시험(blank test)를 실시하여 보정하였다. 표18에서 보여지는 것과 같이 탈착시료 6개를 조제하여 한 시료를 2회 반복분석한 결과 탈착률은 benzyl chloride가 92.6%, benzal chloride는 98.8%이었고, benzotrichloride는 93.3%였다. 이러한 탈착률은 실제 작업환경중의 arylmethyl halides를 분석시 보정계수로 사용할 수 있다. 본 실험에서는 한가지 농도에 대해 탈착률을 계산하였으나 NIOSH 방법에 의해 세가지 농도에 대해 각각 최소 6개의 시료에대해 탈착률을 계산하면 더욱 정확한 보정계수를 구할 수 있다.

그러나 각 실험의 분석자, 분석기기, 사용시약등에 따라 약간씩 달라질수 있으며 본 연구에서는 일차 탈착률을 보정계수로 사용할 수 있는지를 확인하기 위하여 한가지 농도에 대해 6개의 탈착시료를 제조하여 실험을 하였다.

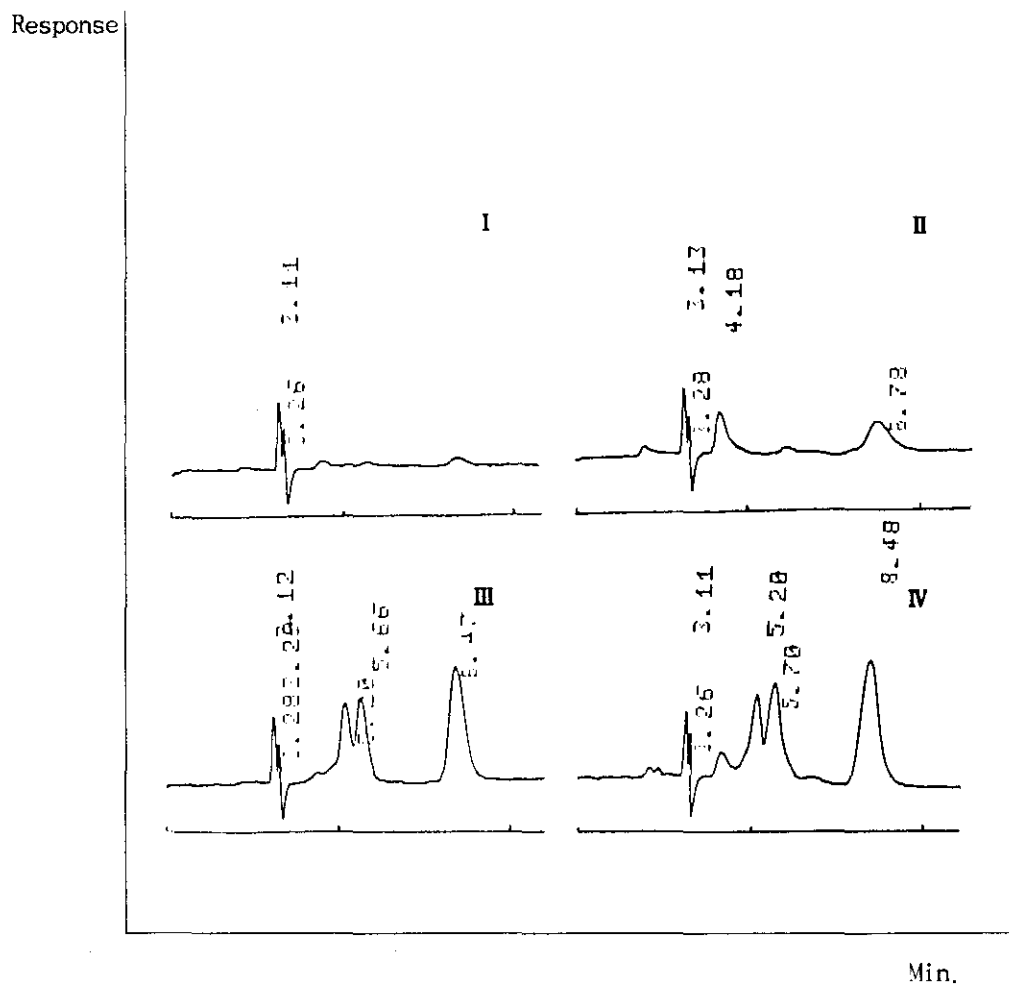


Fig. 9 Chromatograms of I (MeOH), II (Tenax-GC, 8.78 min), III (arylmethyl halides) and IV (arylmethyl halides with Tenax-GC absorbent) with mobile phase MeOH/D.W. (75/25) by HPLC.

Table 18. Desorption efficiency of benzyl chloride(BZYC), benzal chloride (BZAC) and benzotrichloride(BZTC) with MeOH from Tenax-GC absorbent by HPLC analysis.

sample No.	BZYC	BZAC	BZTC
1	95.3	100.4	92.3
2	102.1	98.3	89.4
3	90.1	100.8	99.2
4	89.2	99.5	91.0
5	92.3	100.6	97.5
6	86.3	93.2	90.4
$\bar{x}$	92.6	98.8	93.3
σ_{n-1}	5.57	2.89	4.06
r.s.d. (%)	6.0	2.9	4.4

5. 검출한도

GC분석에 의한 검출한도(LOD) 및 정량한도(LOQ)와 마찬가지로 HPLC를 이용한 분석에서도 J.E.Knoll방법, OSHA방법 및 NIOSH방법으로 LOD와 LOQ를 계산한 결과를 표 19에 나타내었다. 비교된 세가지 방법중 NIOSH방법은 LOD가 $0.002\mu\text{L/L}$ 로 지금까지 보고된 것보다 약5배 양호하였으며, OSHA방법은 약간 높게 계산된 것으로 사료되며, J.E.Knoll방법으로 계산된 값이 실제 분석 크로마토그램을 고려시 실용적으로 평가된 것으로 사료된다. 또한 GC분석후 J.E.Knoll방법으로 계산된 것과 비교시 benzyl chloride와 benzal chloride는 GC분석이 HPLC분석보다 약간 양호한 편이나 benzo-trichloride는 GC보다 HPLC분석이 약 3배 양호하게 나타났다. 이것은 benzo-trichloride의 경우 HPLC로 분석하는 것이 GC분석보다 감도가 훨씬 높다는 것을 의미한다. 따라서 arylmethyl halides를 분석시 BZYC와 BZAC는 GC로 분석하는 것이 타 arylmethyl halides나 관련물질들의 방해없이 GC보다 훨씬 좋은 감도 및 거의 같은 분석시간(약 5분)내에서 분석할 수 있다. 이때에 HPLC에 사용되는 이동상의 혼합비는 MeOH/H₂O(85/15)까지 MeOH의량을 증가시켜도 타물질들의 영향을 받지 않는다.

Table 19. Comparison data among the calculation methods for limit of detection(LOD, $\mu\text{L/L}$) and limit of quantitation(LOQ, $\mu\text{L/L}$) of benzyl chloride(BZYC), benzal chloride(BZAC) and benzo-trichloride(BZTC) in air¹ with mobile phase, MeOH/D.W. (75/25) by HPLC analysis.

Compound	J.E. Knoll		NIOSH		OSHA	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
BZYC	0.03	0.10	0.002	0.008	0.17	-
BZAC	0.04	0.11	0.002	0.008	0.17	-
BZTC	0.03	0.08	0.002	0.006	0.10	-

1: The air volume sampled, 10L was supposed.

IV 결론

작업환경중의 arylmethyl halides(benzyl chloride:BZYC, benzal chloride:BZAC 및 benzotrichloride:BZTC)를 분석하기 위해 arylmethyl halides와 관련물질(benzyl alcohol 및 benzoyl chloride)에 대해 이 물질들을 분리정량할 수 있는 분석방법을 RP-HPLC를 이용하여 개발 하였으며, 기존 GC분석방법에 대해서도 Cappillary column을 이용하여 분석방법을 개선하였다. 또한 이 두가지 분석방법을 활용하기 위하여 arylmethyl halides의 stock solution의 안정성(stability), 흡착제(adsorbent), 탈착용매(desorption solvent), 탈착효율(D.E., desorption efficiency), 검량선(calibration curve), 반복성(respatability) 및 검출한도(LOD, limit of detection)등을 실험하였으며 이들에 대한 실험결과는 아래와 같다.

1. 검토된 5가지 물질을 일정농도로 methanol에 녹여 무색과 갈색병에 넣어 4° C 냉장고에 보관하면서 최소 5일간은 매일, 나머지 30일까지는 5~15일 간격으로 HPLC를 이용하여 분석하면서 안전성을 검토한 결과 benzotrichloride는 최소 5일간 매일 평균 1.5%씩 분해되어 benzoyl chloride로 전환되었다. 이 분해성은 methanol 중에 함유된 수분에 의해 이루어진 것으로 사료되며 이를 피하기 위하여 methanol을 이용한 저장용액은 당일에 제조하여 사용하는 것이 바람직하다. 본 연구에서는 특별하게 methanol을 사용할 때를 제외하고는 CCL₄를 사용한 저장용액을 조제하여 분석에 활용하였다.

2. GC를 이용한 분석

1)흡착제로 charcoal과 Tenax-GC를 이용하고 탈착용매로 CCL₄, CS₂, CHCl₃, MeOH, DMF, DMSO, benzene 및 toluene를 검토한 결과 흡착제는 Tenax-GC가, 탈착용매는 CCL₄ 와 MeOH가 적합하였다.

2)arylmethyl ahlides에 대한 검량선은 각각 benzyl chloride 16.5-66.0ppm (0.32~1.28ppm in air), benzal chloride 18.9-75.6ppm(0.29~1.15ppm in air) 및

benzotrachloride 20.6-82.5ppm(0.26~1.03ppm in air)에서 직선성이 잘 성립하였으며, 각각의 상관계수(r)는 0.9963, 0.9989 및 0.9918이었다.

3) 조제한 표준용액을 동일 분석 조건하에서 10회 반복 분석한 결과 각 물질의 상대표준편차(r.s.d)는 benzyl chloride 8.6%, benzal chloride 5.3% 및 benzptrychloride 8.6%였다.

4)표준분석조건으로 분석한 크로마토그램과 검량선 data로부터 계산된 검출한도 (LOD, limit of detection)는 J.E.Knoll방법으로 계산시 공기중 농도로 BZYC 0.02ppm, BZAC 0.02ppm 및 BZTC 0.08ppm이었고, NIOSH방법으로 계산시 BZYC 0.003ppm, BZAC 0.002ppm 및 BZTC는 0.003ppm이었다.

5)Tenax-GC 흡착제와 CCL₄ 및 MeOH를 탈착용매로 사용시 탈착효율은 CCL₄에서 BZYC 93.2%, BZAC 97.1% 및 BZTC는 91.4%였고, MeOH를 사용시는 BZYC 95.5%, BZAC 97.9% 및 BZTC는 94.4%였다.

3. HPLC를 이용한 분석

1)표준분석 조건하에서 MeOH/H₂O(75/25)를 이동상으로 사용시 검량선은 BZYC 8.3 -49.5ppm(0.16~0.96ppm in air), BZAC 9.5-56.7ppm(0.14~0.86ppm in air) 및 BZTC 10.3-61.9ppm(0.13~0.77ppm in air)범위에서 직선성이 잘 성립하였으며, 각각 상관계수는 0.9985, 0.9974 및 0.9977이었다.

2)조제한 표준액을 동일 분석조건하에서 10회 반복 분석한 결과 각 물질의 상대표준편차(r.s.d)는 BZYC 7.4%, BZAC 4.0% 및 BZTC는 2.8%였다.

3)표준분석조건으로 분석한 크로마토그램과 검량선 data로부터 계산된 검출한도 (LOD, limit of detection)는 J.E.Knoll방법으로 계산시 공기중 농도로 BZYC 0.03ppm, BZAC 0.04ppm 및 BZTC 0.03ppm이었고, NIOSH방법으로 계산시 BZYC, BZAC 및 BZTC에 대해 각각 0.002ppm이었다.

4)Tenax-GC흡착제와 MeOH를 탈착용매로 사용시 탈착효율은 BZYC 92.6%, BZAC 98.8% 및 BZTC 93.3%였다.

4. 검출한도

arylmethyl halides 분석시 BZYC와 BZAC에 대해서는 GC분석방법이 HPLC분석방법보다 약간 양호하다. 그러나 BZTC에 대해서는 HPLC분석방법이 GC분석방법보다 검출한도(J.E.Knoll 방법)면에서 약 3배정도 높다.

그러므로 본 연구에서 개선 및 개발된 GC 및 HPLC분석방법을 활용하여 작업환경 중 arylmethyl halides 및 관련물질들의 농도를 좀더 정확하게 낮은 농도까지 측정함으로써 직업병 예방 및 감소에 기여할 수 있을것으로 사료된다.

References

- 산업안전보건법 시행령 제30조, 1990
- CINFO disc, MSDS/FTSS, A-1(91-3), Canadian Center for Occupational Health and Safety, 1989.
- CHEM Data/PRODUCTS CHEMIQUES, A-2(91-3) Canadian Center for Occupational Health and Safety, 1989.
- 유삼건 저, 한국 Finechemicals 용도별 시장분석, 한국화인케미칼 기술정보센터, 1991.
- G.D Stoner, H.A.J. Schut, N. Shivapurkar, I-C. Hsu, Report No. EPA/600/1-87/010, 1987.
- European Patent Application, Publication No. 0045570 A1, Use of organic halogen compounds to reduce or prevent fog in negative-working silver halides emulsions, 1981.
- I. Chu, S.Y. Shen, D.C. Villeneuve, V.E. Secours, J. Environ. Sci. Health, B19(2) 183-191, 1984.
- Guide to Occupational Exposure Values-1990, American conference of Government Industrial Hygienists, Inc., 1990.
- 유해물질의 허용농도, 노동부고시 제91-21호, 1991
- Hiroyuki Yosimura, Kazuo Takemoto, Kazuo Fukuda and Hidetsuru Matsushita, SONGYO IGAKU Vol.28, No.5, 1986.
- C.L. Fraust, and E.R. Hermann, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 27, 68, 1966.
- NIOSH analytical Method for Set U, Report No. NIOSH-SCP-S-318, Accepted September 29, 1977.
- W. Bertsch and E. Anderson, J. Chromatogr, 112 703, 1975.
- E.E Campbell and H.M. Ide, Am. Ind. Hyg. Assoc. J., 27, 323, 1966.
- M.W. Dietrich, L.M. Chapman and J.P. Mieure, Am. Ind. Assoc. J., 39, 5, 1978.

- Hidetsuru Matsushita and Sei-ichiro Kanno, Industrial Health, 17, 199, 1979.
- 多田 治, 中明賢二, 環境有害物質 の 測定 と 評価, 下巻, 277, 1980.
- G.A.Junk et al., J.Chromatogr., 99, p745, 1974.
- B.C.Turmer and D.E.Glorfelty, Anal.Chem. 49, 7, 1977.
- 作業環境測定 ガイドブック, 2, 日本作業環境測定協会, p290, 1980.
- Fredrick W. Williams and Merle E Umstead, Anal.Chem.Vol. 40, No.14, December, p2232, 1968.
- J.P. Mieure, M.W.Dietrich, J.Chromatogr. Sci., Vol.11, p559, 1973.
- T.A. Bellar and J.J. Lichtenberg, Journal AWWA, Research, p740, 1974.
- Claire Vidal-Madjar, et al., J.Chromatogr. Sci., Vol.16, p190, 1978.
- Wolfgang Bertsch, Ray C. Chang and Albert Zlatkis, J.Chrom. Sci., Vol.12, 175, 1974.
- James S. Parsons, and Stanley Mitzner, Environmental Science & Technolog Vol. 9, No.12, p1053, 1975.
- John W. Russell, Environmental Science & Technology, Vol.9, No.13, p1175, 1975.
- Wolfgang Kirsten, Anal. Chem., Vol.25, No.1, Jan. 1953.
- Chozo Yoshimura, Taichi Hasegawa, and Toshihiko Nishiguchi, The Chemical Society of Japan, No.9, p1476-1477, 1984.
- Zavod Lab. Vol.54, No.6, p26, 1988.
- D.A. Solomons and J.S.Ratcliffe, J.Chromatogr, 76, p101, 1973.
- R.Ramkrishnan and N.Subramanian, J.Chroamtogr, 114, p247, 1975.
- J.Y.Yang, et al., Ind. Eng. Chem., Process Res Deuelop., 9, 214, 1970.
- Gary L.Long; J.D.Winefordner, Anal.Chem., Vol.55, No.7, June 173A-724A, 1983
- William R.Portor, Anal.Chem., Vol.55, No.13, November 1290A, 1983

- Principles of Environmental Analysis, Anal.Chem.55, 2210-2218,1983
- J.E.Knoll, J.Chromatogr. Sci,Vol.23,Sep. 422-425, 1985

유해물질 측정을 위한
공정시험 방법에 관한 연구
(92 - 4 - 11)

발 행 일 : 1992. 12

발 행 인 : 정 규 철

발 행 처 : 한국산업안전공단 산업보건연구원

인천직할시 북구 구산동 34 - 3

전 화 : (032) 518-0861

인 쇄 인 : 김 재 극

인 쇄 처 : 문 원 사

<비매품>