

Solid Phase Microextraction 및 Purge & Trap을 이용한 생물시료 중 휘발성 유기화합물의 GC/MS 분석비교

안윤경 · 서종복 · 홍종기*
한국기초과학지원연구원 유해물질분석연구원
(2001. 9. 11. 접수)

Comparison Solid Phase Microextraction with Purge & Trap on the GC/MS Analysis of Volatile Organic Compounds in Biota Samples

Yun-Gyong Ahn, Jong-Bok Seo, Jongki Hong*
Hazardous substance research team, Korea Basic Science Institute, Seoul, 136-701, Korea
(Received Sep. 11, 2001)

요 약 : 생물시료에 존재하는 휘발성 유기화합물 중 n-butylbenzene과 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP)를 기체크로마토그래피/질량분석기-선택이온검색법에 의해 수행하였다. 시료 중 휘발성 유기화합물은 100 μ m polydimethyl siloxane (PDMS) fiber를 사용하여 headspace solid phase microextraction (SPME) 및 purge & trap방법에 의해 추출 및 비교하였다. SPME에 의한 회수율은 n-butylbenzene의 경우 85.8%, DBCP의 경우 92.4%로 나타났고 검출한계는 각각 0.15 μ g/kg, 0.05 μ g/kg로 나타났다. 반면, purge & trap의 경우 회수율은 n-butylbenzene의 경우 115.2%, DBCP의 경우는 80.9%로 나타났고 검출한계는 각각 0.04 μ g/kg 및 0.70 μ g/kg로 나타나 두 방법에 있어 국내에서 규제하는 검출한계측면에서 큰 차이는 없었다.

Abstract : The analysis of n-butylbenzene and 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) as volatile organic compounds in biota samples was performed by gas chromatography/mass spectrometry-selected ion monitoring mode. The target compounds, n-butylbenzene and DBCP, in biota samples were extracted by headspace solid phase microextraction (SPME) with 100 μ m polydimethyl siloxane (PDMS) fiber and purge & trap method. The extraction recoveries of these compounds obtained by SPME was 85.8% for n-butylbenzene and 92.4% for DBCP, respectively. Each value of method detection limit were 0.15 μ g/kg and 0.05 μ g/kg, respectively. While in the case of purge & trap method, the extraction recovery was 115.2% for n-butylbenzene, 80.9% for DBCP and method detection limit were 0.04 μ g/kg and 0.70 μ g/kg, respectively. The extraction yields and detection limits of these compounds obtained by purge & trap were equivalent to those by SPME.

Key words : VOCs, SPME, purge & trap, 100 μ m PDMS, GC/MS-SIM, biota sample

1. 서 론

휘발성 유기화합물은 그 특성상 증기압이 높아 대

기중 이동성이 강해 쉽게 휘발하여 악취의 발생원인이 될 뿐만 아니라 인체에 미치는 영향으로는 피부 접촉 또는 호흡기로 흡입되어 신경계 등에 장애를 일으킬 수 있고 일부 물질의 경우 발암물질로 확인되어 있다.

우리나라의 경우 1995년 대기환경보전법에 휘발성 유기화합물에 대한 규제 항목이 신설되어졌고 2000년

★ Corresponding author
Phone : +82+(0)2-920-0790, Fax : +82+(0)2-920-0789
E-mail : jongki@kbsi.re.kr

에는 배출원별 처리시설을 갖추도록 규제방안을 강구하고 있다. 일본 후생성은 휘발성 유기화합물중 방향족 화합물인 *n*-butylbenzene과 유기할로젠화합물인 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP)을 내분비계 장애물질로 규정하고 이들에 대한 환경 중 모니터링에 심혈을 기울이고 있다. 특히 *n*-butylbenzene의 경우 합성 중간체 및 액정제조용으로 많이 사용되고 있으며, 다양한 경로를 통하여 환경에 확산되어 있다. DBCP의 경우 농약 등 살충제로 생활에 활용되어지고 있는데 인체 내 발암성에 관여하는 것으로 알려져 있으며 생체 내 축적되어질 수 있다.¹ 일본 후생성, WWF (world wildlife fund) 와 미국 CERCLA (The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act)의 유해물질로 등록되어 있으며², 또한 내분비계장애물질로 의심되는 물질로 규정되어 있다. 우리나라의 경우도 이들 화합물을 내분비계 장애 의심물질로 규정하고 1999년부터 환경부 주도로 환경시료 및 생물시료에 대한 영향조사를 시작하는 단계에 이르렀다.

지금까지 알려진 휘발성 유기화합물의 추출방법으로는 통상적인 static headspace 및 purge & trap방법이 있으며 준 휘발성 물질은 액체-액체 추출법 (liquid-liquid extraction)과 고체상 추출법 (solid phase extracton)을 사용하여 왔으나 이러한 추출법의 한계로 인하여 최근에는 실험의 편리성 및 정확성을 고려하여 SPME (solid phase microextraction)방법이 널리 사용되고 있다.

특히 액체-액체 추출법은 많은 양의 시료와 다량의 용매를 소모하여 비경제적이며 시료를 처리하는데 시간과 처리과정이 복잡하고 추출과정에서 오염되기 쉽다.³ 또한 추출 후 용매의 농축 과정에서 많은 양의 휘발성 분석물질이 함께 손실되는 경우가 발생하여 정확한 정량값을 얻기 어려운 점이 있다. 고체상 추출법은 다양한 고체상의 개발로 다양한 매질을 갖는 환경시료에 적용하여 추출에 사용되고 있으나 휘발성화합물의 추출에는 많은 문제점을 안고 있다.⁴ 또한 headspace법은 시료의 농도가 높아야 하고 가온 또는 실온조건에서 추출하는 과정에 정량적인 오차를 가져오기도 한다.⁵ 이러한 단점을 보완하기 위하여 purge & trap방법이 개발되어 높은 감도를 가지고 있어 널리 쓰이기는 하였으나, 장치의 가격이 비싸고 장치 운용을 하는데 있어 많은 조건을 맞추어야 하는 단점을 가지고 있다.⁶ 또한 시료분석시 분석물질의 농도가 높을 경우, trap이 나 연결관이 쉽게 오염되는 단점을 가지고 있다.

이와 비교하여 SPME방법은 빠르고 시료준비과정이 간단하며 매우 적은 시료양에 적용시킬 수 있는 장점과 더불어 유기용매의 사용없이 추출할 수 있는 매우 경제적인 방법으로 환경오염물질 분석에 널리 사용되고 있다.⁷⁻¹⁰ 또한 추출과 농축이 한꺼번에 이루어질 수 있으므로 다양한 매질로부터 휘발성이 강한 유기화합물의 분석에 적합한 방법이다.¹¹ SPME분석방법은 고정상으로 코팅된 fiber를 사용하여 유기물질을 흡착시키고 흡착된 유기물의 fiber를 gas chromatograph (GC)의 높은 온도의 주입구 (injection port)에 주입하여 열탈착시키는 방법이다.

일반적으로 휘발성 유기물질의 분석장비로는 기체 크로마토그래피 (gas chromatography, GC)에 화합물의 화학적 구조에 따라 다양한 검출기가 사용되었다. 예를 들어 휘발성의 탄화수소물의 경우 불꽃이온화 검출기 (flame ionization detector)가 주로 사용되었고, 방향성 벤젠고리를 가진 휘발성 화합물질의 경우는 광이온화 검출기 (photoionization detector) 및 화합물이 할로젠원소를 포함하고 있을 경우는 전자포획검출기 (electron capture detector)를 사용하여 높은 감도와 선택성을 높이기도 한다. 최근에는 EPA 방법을 비롯하여 대부분의 휘발성 물질의 공인분석법의 검출방식은 기체크로마토그래피/질량분석법 (GC/Mass spectrometry, GC/MS)을 사용하고 있다. 이는 질량분석기를 사용하였을 때 휘발성 화합물에 대한 정성분석의 정확성과 정량분석의 정밀성을 함께 보유하기 때문이다.

본 연구에서는 양서류 및 어류 내에 존재하는 휘발성 유기화합물 중 *n*-butylbenzene과 DBCP를 headspace-SPME 및 purge & trap방법으로 추출하여 기체크로마토그래피/질량분석기-선택이온검색법으로 정성 및 정량 분석을 하고 두 방법 간의 추출율 및 검출한계를 비교 검토하였다.

2. 실험 및 방법

2.1 시약 및 기기

본 연구에서 사용된 모든 용매는 J. T. Baker사 (Phillipsburg, NJ, USA)의 잔류농약 분석용을 사용하였으며, 분석대상인 표준물 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) 및 *n*-butylbenzen, 내부표준물질인 4-bromofluorobenzene은 Supelco사 (Bellefonte, PA, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

Table 1. Gas chromatographic conditions of SPME and purge & trap methods

GC condition	SPME	purge & trap
Column	DB-5MS (30m × 0.25mm × 0.25 μ m)	DB-5MS (30m × 0.25mm × 0.25 μ m)
Column temperature	60 $^{\circ}$ C (5min)-20 $^{\circ}$ C/min-80 $^{\circ}$ C (5min)-20 $^{\circ}$ C/min-100 $^{\circ}$ C	40 $^{\circ}$ C (5min)-7 $^{\circ}$ C/min-150 $^{\circ}$ C -20 $^{\circ}$ C/min-230 $^{\circ}$ C (5min)
Injection temperature	250 $^{\circ}$ C	230 $^{\circ}$ C
Carrier gas	He	He
Linear velocity	40cm/sec	39cm/sec

질량분석기는 Hewlett-Packard HP6890 gas chromatography / HP5973 mass selective detector를 사용하였으며, MS의 이온화 방식으로 전자충격 이온화 (electron impact)법을 사용하였고 이온화 에너지는 70 eV 이었으며, 이온화 전류는 300 μ A, 이온원의 온도는 230 $^{\circ}$ C로 하였다. 본 실험에서 감도를 높이기 위하여 선택이온검색법 (selected ion monitoring, SIM)을 사용하였으며, 사용된 이온으로는 DBCP의 경우, m/z 75와 157 이온, n-butylbenzene의 경우 m/z 91 및 134 이온, 그리고 내부표준물질인 4-bromofluorobenzene의 경우 m/z 174 이온을 선택하여 검색하였다.

Purge & trap장치는 Hewlett Packard사의 HP 7695 모델을 사용하였으며, purge 기체로는 helium을 사용하였고, trap의 흡착제로는 Tenax TA를 사용하였다. SPME 장치는 Supelco사의 manual holder와 100 μ m polydimethyl siloxane (PDMS) fiber를 사용하였으며 주입관 (injection port liner)의 내경은 0.75mm (Supelco)가 사용되어졌다. 두 방법 모두 분석 칼럼은 DB-5MS cross linked 5% phenylmethylsilicone fused silica capillary column (30m × 0.25mm × 0.25 μ m)을 사용하였으며, 운반기체로는 헬륨을 사용하였다. 두 실험방법에 대한 기체크로마토그래피 분석기기 조건을 Table. 1에 기술하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 표준검정곡선의 작성

각 화합물의 표준용액은 혼합표준용액으로 1000 μ g/ml의 농도를 0.25ng/ml-250 μ g/ml로 희석하여 5개의 검정용 표준혼합물을 만들고 내부표준용액은 1000 μ g/ml의 농도를 10 μ g/ml이 되도록 메탄올을 사용하여 희석하여 제조하였다. 5개의 혼합한 표준용액에 내부표준물질 4-bromofluorobenzene 1 μ l를 첨가한 후 GC/MS-SIM로

분석하여 시료별 검정곡선을 얻었다.

2.2.2 생물 시료의 전처리

호모게나이저로 교반한 생물 시료 10g을 원심관에 취하여 4000rpm에서 20분간 원심분리하고 상등액을 버린다. 잔유물에 메탄올 5ml를 넣고 3분간 교반한 후 4000rpm에서 10분간 원심분리하여 액층을 메스플라스크에 옮긴다. 잔유물에 메탄올 5ml를 넣고 초음파 추출기를 사용하여 20분간 추출한다. 4000rpm에서 20분간 원심분리하여 액층을 앞의 메스플라스크에 합하고 10ml를 시료 전처리액으로 한다.

2.2.3 purge & trap의 실험과정

시료 전처리액 0.1ml를 증류수 4.9ml와 합하여 purge병에 넣은 후 purge & trap 시료관에 주입한다. 이때 purge 기체로 헬륨을 사용하여 35 $^{\circ}$ C에서 10분간 purge한다. 수분제거를 위한 건조 purge를 2분간 수행한 다음 흡착제에 흡착되어 있는 휘발성 물질을 탈착시키기 위하여 trap의 온도를 220 $^{\circ}$ C로 올리고 3분간 유지한다. 또한 흡착제에 흡착되어 있는 방해물질 제거를 위한 trap 굽는 온도는 230 $^{\circ}$ C에서 20분간 유지한다. 흡착제에서 탈착되어 나온 휘발성 물질의 크로마토그래피 감도를 향상시키기 위하여 액체질소로 저온 응축 (cryogenic focuss)시켜 GC 주입구로 보낸다.

2.2.4 SPME의 실험과정

시료 전처리액 0.1ml를 4ml vial에 증류수와 함께 2ml가 되도록 채우고 10mm x 3mm magnetic stirring bar를 넣은 후 teflon-faced septum으로 된 뚜껑을 닫아 밀봉하였다. 밀봉된 vial에 SPME fiber를 septum을 뚫고 넣어 시료용액을 headspace 부분에 위치하게 하고 50 $^{\circ}$ C로 맞추어진 heating block에 vial을 넣고 1,000rpm의 속도로 교반하여 30분간 노출시켜 분석 대상물을 흡착시킨다. 분석 대상물이 흡착된 fiber는 GC의 주입구 250 $^{\circ}$ C 안에 주입하여 탈착시킨다.

3. 결과 및 고찰

생물시료 중 휘발성 유기화합물을 추출하기 위해서는 많은 주의를 하여야 한다. 대부분의 휘발성 유기화합물은 끓는점이 200°C 이하이고 물에 녹지 않거나 또는 약간 녹는 성질을 가지고 있다. 따라서 추출에 사용되는 유기용매를 과량 사용하였을 때 이들의 농축 과정에서 휘발성 물질이 함께 제거되는 현상을 나타낸다. 따라서 생물시료는 우선 초고속 원심분리관을 사용하여 4000rpm에서 원심분리하면 수분과 소량의 지질성분이 상등액층으로 올라온다. 이 액을 제거한 후 잔유물을 메탄올 5ml로 원심분리하여 추출하고, 다시 5ml의 메탄올을 사용하여 초음파추출기로 추출한 용액을 합쳐 10ml의 추출액을 만든다. 이 액에 휘발성 유기화합물이 추출되어 있어 추출액을 농축하기 쉽지가 직접 농축 및 분석할 수 있는 방법으로 purge & trap과 SPME를 사용한다.

추출 매질로부터의 휘발성 유기화합물의 분석방법 중 purge & trap 과 SPME를 비교해 보면 purge & trap 방법은 시료를 비활성 기체로 퍼지한 후 휘발된 유기물을 트랩에 흡착, 탈착한 후 GC또는 GC/MS에 도입시켜 화합물을 분석 처리하는 방법으로서 일반적으로 SPME보다 시료 전처리 시간이 많이 들고 장치의 운영이 복잡하며 비용이 많이 소요된다고 알려져 있다.¹² 또한 시료분석시 trap이나 연결관이 쉽게 오염되는 단점을 가지고 있지만 휘발성 유기화합물의 분석에 일반적으로 많이 쓰이고 있는 방법이다. 반면 SPME의 경우 빠르고 시료준비과정도 간단하며 장치가 purge & trap의 경우보다 복잡하지 않아 편리하며 headspace-SPME방법을 사용하면 시료로부터의 방해물에 의한 영향을 받지 않고 분석대상물질을 추출할 수 있다.

purge & trap방식에 의한 휘발성 물질을 추출할 경우, 많은 실험조건에 의해 영향을 받을 수 있다.¹³ 특히 purge 시간, dry purge 시간 및 시료 purge 온도 등에 영향이 있을 수 있으며, 단순한 시료 매트릭스로부터 휘발성 물질의 추출은 등속도의 purge 기체의 양과 시간에 비례한다고 볼 수 있다. 그러나, 끓는점이 낮은 휘발성 물질인 경우 purge 효율이 짧은 시간내에도 높지만 반면 trap에서 쉽게 탈착되어지는 현상을 보여준다. 이는 purge 시간을 길게 할 경우 휘발성 물질과 trap간에 흡착과 탈착의 평형이 이루어지지 않고 purge

기체에 의해 탈착되는 현상을 보여주기 때문이다. 그러나 110 - 130°C의 끓는점을 갖는 휘발성 물질의 경우 purge 시간에 크게 영향을 받지 않는다. 또한 시료 purge 온도의 경우, 온도를 증가시키면 전반적인 휘발성 물질의 purge 효율은 증가가 되나 시료 매트릭스로부터 다른 방해물질도 함께 증가하며 아울러서 trap에 흡착되는 수분의 양도 증가되는 단점을 가지고 있다. 이처럼 trap에 흡착된 수분을 제거하기 위하여 dry purge 시간을 증가시키면 효율적으로 수분이 제거가 되나 동시에 trap에 흡착된 휘발성 물질도 함께 제거되는 현상을 나타낸다. 따라서 purge 효율의 최적조건을 잡기 위해서는 각 실험 파라미터의 조합을 효율적으로 택하여야 한다. 본 실험에서도 purge 시간, 온도 및 dry purge 시간을 각각 10분, 35°C 및 2분으로 정하였다.

휘발성 물질이 purge된 후 trap에 흡착이 되는데 trap관은 일반적으로 길이 25cm, 내경 2.6mm인 관으로 1/3은 2,6-diphenylene dioxide polymer (Tenax-GC)로 채워져 있고, 중간부분의 1/3은 실리카겔, 마지막 1/3은 활성탄 (charcoal)으로 충전되어 있다. Trap은 처음 사용하기 전에 20ml/min의 유속으로 헬륨을 흘려 주면서 180°C에서 밤새 가열하여 활성화시킨 다음 사용한다. 이때 유출물이 GC 컬럼으로 유입되는 것을 주의하여야 한다. 탈착 및 온도도 분석에 매우 중요한 요소가 되는데 너무 높은 온도에서 탈착하는 경우 시료의 분해를 유발시키기도 하며, 충전제의 효율을 급격히 떨어뜨릴 수 있다.

SPME실험에서도 시료추출시간 및 온도, 시료의 양, 탈착 온도 및 시간 그리고 염의 첨가 등에 따라 최적 조건을 잡을 수 있다. 일반적으로 시료 매트릭스로부터 휘발성 물질을 SPME의 fiber로 흡착시키는데 있어 시료의 온도를 높이면 fiber 흡착제로 흡착되는 양은 증가한다. 수용액층에 있는 휘발성 물질의 확산도 역시 온도에 따라 증가함을 보여준다. 매트릭스로부터 fiber로의 물질이동 (mass transfer)은 온도의 증가에 따라 함께 증가하는 성질을 가지지만 무조건적으로 온도를 증가시키면 흡착효과를 오히려 떨어뜨릴 수 있다. 이때 fiber의 선택은 분석하고자 하는 유기물에 따라 코팅재질과 두께 등을 결정하여야 하는데 일반적으로 polydimethylsiloxane (PDMS), polyacrylate, carboxen 및 carbowax 등이 상품화되어 널리 사용되고 있다.¹⁴⁻¹⁶ 극성이 강한 시료를 흡착하는데 있어서는 polyacrylate가 효과적이고 향기성분 분석에는 carboxene/PDMS 혼합

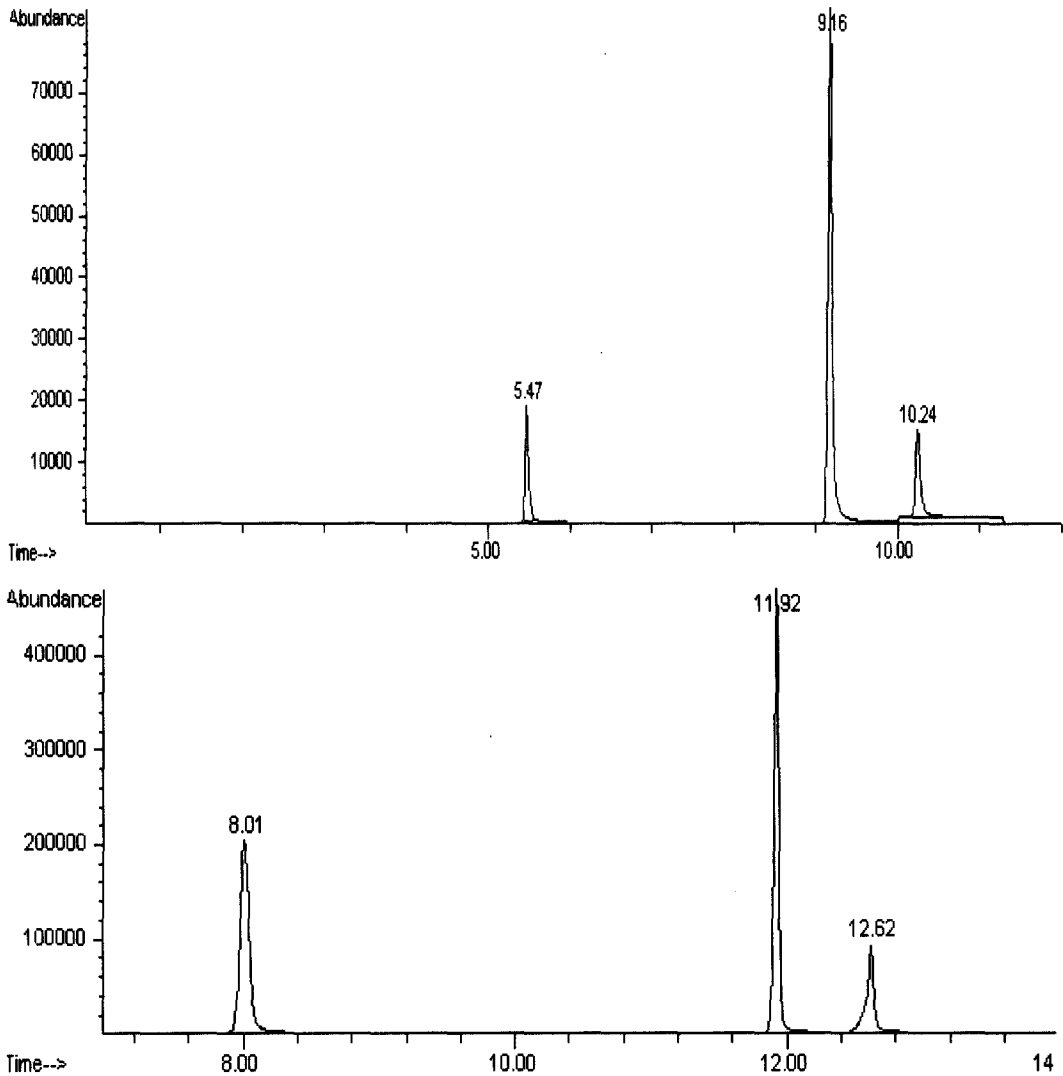


Fig. 1. Total ion chromatogram of each compound by SPME (upper trace) and purge & trap (lower trace). Peaks are indicated according to their elution time as given in Table 3.

흡착제를 사용하고 carbowax의 경우 극성의 물질을 HPLC로 분석하는데 효과적이다. 현재 SPME 방식에서 가장 널리 사용되는 PDMS의 경우 다양한 코팅두께가 개발되어 100, 30, 7 μ m가 있는데, 이 중 100 μ m polydimethylsiloxane fiber는 저분자량 및 휘발성 유기 화합물의 분석에 보편적으로 사용되고 있다. 코팅두께가 30과 7 μ m의 fiber는 semivolatle 화합물의 분석에 유용하게 쓰인다.

시료추출방법으로는 immersion과 headspace법¹⁷⁻¹⁹이

있는데 이 두 방법은 서로 다른 동력학 특성을 가지고 있다. immersion방법은 분석하고자 하는 물질이 fiber에 더 빨리 확산되기 때문에 평형속도가 빠른 반면 headspace방법은 fiber가 직접 sample에 닿지 않으므로 방해물에 의한 영향이 적고, fiber의 수명이 길어진다는 장점을 가지고 있다.^{20,21} 본 실험에서도 immersion 방법보다는 headspace방법이 더 효과적이었고, 다수의 시료를 반복적인 방법으로 분석해야 할 경우 더 적합한 방법이 될 수 있었다.

SPME과정에서 시료의 교반은 fiber 흡착제와 휘발성 물질간의 평형을 빠른 시간 내에 도달시킬 수 있는 장점이 있어 시료추출시간을 단축할 수 있었고, 또한 휘발성 물질의 확산속도를 증가시킬 수 있는 장점이 있다. 사용되는 시료의 양도 검출한계를 낮출 수 있는 요인이지만 SPME의 경우 적은 양의 시료로도 이들의 검출이 가능한 장점을 가지고 있다

본 실험에서 SPME 및 purge & trap을 이용하여 분석대상물질에 대한 total ion chromatogram을 Fig. 1에 실었다. Fig. 1에서 보듯이, 내부표준물질인 4-bromofluorobenzene과 분석물질인 n-butylbenzene 및 DBCP가 잘 분리되었으며 크로마토그램상에서 n-butylbenzene이 DBCP에 비하여 높은 감도를 나타내었다. Table. 2에서와 같이 같은 농도의 내부표준물질 및 분석 대상물질을 GC/MS-SIM방식으로 계산한 상대감응비 (relative response factor, RRF)를 통해서 n-butylbenzene이 DBCP에 비해 약 3.6배 높은 감응을 보여줌을 알 수 있었다.

Table 2. Relative response factors of n-butylbenzene and DBCP obtained by GC/MS-SIM mode

Compound	RRF
n-butylbenzene	2.30
DBCP	0.64

Relative response factors (RRF) were calculated by the peak area of 100ng of each analyte into the peak area of 100ng of 4-bromofluorobenzene (IS) using GC/MS-SIM mode.

$$RRF = (\text{concentration of each analyte} / \text{concentration of 4-bromofluorobenzene}) \times (\text{area of 4-bromofluorobenzene} / \text{area of each analyte})$$

Table 3. Retention times (RT) and selected ion groups of VOCs in GC/MS-SIM mode by SPME and purge & trap methods

Compound	Retention time (min)		Selected ion
	SPME	purge & trap	
4-bromofluorobenzene ^a	5.47	8.01	174
n-butylbenzene	9.16	11.92	91, 134
DBCP	10.24	12.62	75, 157

^a Internal standard

Table 4. Equations of calibration curves by SPME and purge & trap methods

Compound	Equation		Linear coefficient	
	SPME	purge & trap	SPME	purge & trap
n-butylbenzene	y=0.0189x-0.008	y=0.1862x-0.003	0.9971	0.9993
DBCP	y=0.0038x-0.006	y=0.0073x-0.023	0.9973	0.9980

또한 SPME 및 purge & trap을 이용했을 때 분석대상물질에 대한 비극성 컬럼 DB-5MS에서의 머무름 시간을 Table. 3에 비교하여 실었다. Table. 3에서 보는 바와 같이 SPME를 이용할 경우 본 연구에서 수립한 분석조건으로 각 표준물질들은 12분내에 잘 분리되었고 purge & trap의 경우보다 더 빠르게 분석될 수 있었다.

전자충돌방식 (electron impact, EI)의 질량스펙트럼에서 n-butylbenzene (m/z 134)은 분자이온의 rearrangement에 의한 m/z 92 form이 형성되거나 또는 α -cleavage에 의해 m/z 91이 생성될 수 있는데 높은 에너지 상태에서는 m/z 91 form이 우세하게 생성된다. 이온화에너지 70eV에서의 n-butylbenzene의 질량스펙트럼은 α -cleavage에 의한 m/z 91이온이 우세하게 생성되어 기준피크 (base peak)로서 분자이온과 함께 나타난다. DBCP의 경우 분자이온은 나타나지 않고, 특성이온은 $[M-Br]^+$ 이었다.

일반적으로 휘발성 유기물질의 분석에 있어서 정확한 정량분석 결과를 얻기 위해서는 내부표준물질법 (internal standard method)을 이용하여 검량선이 작성되어야 한다. 이러한 휘발성 유기화합물의 분석에 있어서 주로 사용되는 내부표준물질로는 hexafluorobenzene 이나 4-bromofluorobenzene 등이 있다. 이들 물질의 특성은 휘발성이 매우 높아야 하고 화학적으로 안정하며 환경에서 잘 검출되지 않는 화합물이어야 한다. 또한 분석에 있어서 GC에서 다른 휘발성 유기화합물과 겹치지 않아야 하며, 질량분석기에서 특성이온

을 잘 나타낼 수 있어야 한다. 본 연구에서도 이러한 요구에 맞는 물질로 4-bromofluorobenzene을 내부표준 물질로 정하였다. n-butylbenzene과 DBCP의 정량분석을 위한 표준검정곡선 작성은 0.25ng - 250ng범위에서 5개값을 선정하여 GC/MS-SIM로 분석하여 각 화합물의 이온크로마토그램에서 나타난 피크와 내부표준물질인 4-bromofluorobenzene 피크의 면적비를 구하여 선형 회귀곡선을 얻고 검정곡선의 비교를 위하여 SPME 및 purge & trap 방식에 의해 작성된 직선식을 Table. 4에 실었다. Table. 4에서 보듯 두 방법에 의해 작성된 n-butylbenzene과 DBCP의 검정곡선은 모두 상관계수가 0.99이상의 높은 직선성을 나타내었다.

회수율을 조사하기 위하여 어류시료에 각 화합물을 25ng를 첨가하여 SPME 및 purge & trap 전처리 방법으로 3회 반복하여 실험한 결과를 Table.5에 실었다. SPME를 이용한 n-butylbenzene과 DBCP의 평균회수율은 각각 85.8%, 92.4%이었고 상대 표준편차는 9.6%와 5.3%이었다. purge & trap의 경우 평균 회수율은 n-butylbenzene의 경우 115.2%, DBCP의 경우는 80.9%로 나타났고 각각의 상대 표준편차는 12.3%와 10.5%이었다. 두 방법 모두 일본 후생성과 미국 EPA에서 제시하는 회수율 규제 수준 이내의 결과를 얻었다. 이처럼 두 방법의 회수율에 대하여 약간의 차이는 있으나 재현성에 있어서 SPME방법이 좀더 우수한 것으로 나타났다.

검출한계 (method detection limit, MDL)값을 구하기 위하여 바탕실험 (blank test)을 하였는데 7회 실시한 결과 n-butylbenzene의 경우 0.15 μ g/kg이 검출되었다. 이는 purge & trap에 있어서 purgeable 부품에서 오는 것일 수 있는데 이를 피하기 위해서는 purge가 완료된 후 헬륨을 통한 역세척을 수행함과 동시에 trap을 가열해 줌으로서 trap된 오염물을 탈착시켜야 하고 또한 고농도 시료인 경우 희석을 통하여 purge & trap 장치의 오염을 막아야 한다.¹⁹ SPME방법의 경우와 마찬가지로

시료 vial의 septum seal을 통한 휘발성 물질의 확산에 의해 오염되어질 수 있다. 또한 SPME방법의 경우 fiber를 통해서 오염되어질 수 있기 때문에 fiber를 처음 사용할 경우 선택되어진 fiber의 종류에 따라 적합한 활성화 조건을 만들어 주어야 한다. 본 실험에서 사용한 PDMS fiber는 250 $^{\circ}$ C에서 1시간동안 가열해 사용하였고 매번 분석이 완료된 후 열처리를 실시하였다. 일반적으로 fiber가 오염되면 유기용매로 세척하거나 열처리를 할 수 있는데 액체상으로 코팅된 PDMS fiber는 유기용매에 의해 망가질 수 있으므로 열처리를 실시하였다. 또한 fiber의 상태를 자주 점검하여 세척으로도 오염물을 완전히 제거할 수 없다면 교체해 주어야 한다. 검출한계값을 구하는 과정은 n-butylbenzene의 경우 바탕실험에서 검출된 관계로 전체조작바탕시험을 시행하였고, DBCP의 경우 10ng을 생체시료 10g에 첨가하는 첨가회수실험을 7회 시행하였다. 이렇게 해서 구한 평균 회수율과 검출한계를 Table 5에 실었다. SPME방법의 경우 검출한계 (method detection limit, MDL)는 n-butylbenzene이 0.15 μ g/kg, DBCP가 0.05 μ g/kg이었으며 purge & trap방법의 경우는 n-butylbenzene이 0.04 μ g/kg, DBCP의 경우가 0.70 μ g/kg이었다. purge & trap에 의한 DBCP의 추출율이 낮은 것은 물에 대한 용해도가 0.123g/100ml인 DBCP의 purging 효율이 좋지 않은 것에 기인하며 회수율에도 영향을 미치고 검출한계도 높은 결과값을 갖게 되는 것이다.²² 그러나 전체적인 분석값은 일본 후생성이 제시하는 검출한계인 1 μ g/kg보다 낮은 값으로서 미량분석이 가능함을 알 수 있었다.

4. 결 론

생물시료에 극미량으로 존재하는 휘발성 유기물질의 분석방법에서 headspace-SPME방법으로 n-butylbenzene과 DBCP의 평균회수율 85.8%, 92.4%를 얻을 수 있었으

Table 5. Recoveries and method detection limits of n-butylbenzene and DBCP extracted from biota samples obtained by SPME and purge & trap methods

Compound	Recovery (%)		Method detection limit (μ g/kg)	
	SPME (%rsd)	purge & trap (%rsd)	SPME	purge & trap
n-butylbenzene	85.8 (9.6)	115.2 (12.3)	0.15	0.04
DBCP	92.4 (5.3)	80.9 (10.5)	0.05	0.70

며 각각의 상대표준편차는 9.6%와 5.3%이었다. 또한 검출한계의 경우는 n-butylbenzene이 0.15 μ g/kg, DBCP는 0.05 μ g/kg이었다. 반면, purge & trap의 경우 평균 회수율은 n-butylbenzene의 경우 115.2%, DBCP의 경우는 80.9%로 나타났고 각각의 상대 표준편차는 12.3%와 10.5%이었으며 검출한계는 각각 0.04 μ g/kg, 0.70 μ g/kg이었다. 두 방법에 있어서 실험결과값은 큰 차이가 없으나 SPME 분석방법을 이용할 경우 시료를 소비하는 용매 없이 더 빠르게 분석할 수 있으며 추출과 농축을 한꺼번에 수행하므로써 생물시료뿐 아니라 다양한 매질로부터 휘발성이 강한 유기화합물의 분석을 용이하게 수행할 수 있다. 위의 방법은 어류, 쇠고기 시료 외에 지방성분을 함유하는 식품, 돼지고기 등에 존재할 수 있는 다른 휘발성분의 분석에도 적용할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 국립환경연구원의 '01 내분비계 장애물질에 의한 생태영향 조사사업으로 수행된 연구결과의 일부이며, 지원하여 주신 국립환경연구원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Second Annual Report on Carcinogens, *Environmental Health Information Service*.
2. 1999 CERCLA List of Priority Hazardous substances, *Agency for toxic substances and disease registry*.
3. G. A. Eiceman, J. T. McConnon, M. Zaman, C. Shuey and D. Earp, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **24**, 143 (1986)
4. G. A. Junk and J. Richard, *J. Anal. Chem.*, **60**, 451 (1998)
5. J. C. Schnable, B. Dussert and I. H. Suffet, *J. Chromatogr.*, **513**, 47 (1990)
6. J. W. Eichelberger, T.A. Bellar, J.P. Donnelly and W.L. Budde, *J. Chromatogr. Sci.*, **28**, 460 (1990)
7. C. L. Arthur, J. Pawliszyn, *J. Anal. Chem.*, **62**, 2145 (1990)
8. C. L. Arthur, L.M. Killan, S. Motlagh, M. Lim, D.W. Potter, J. Pawliszyn, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 979 (1992)
9. A. A. Boyd-Boland, M. Chai, Y.Z. Luo, Z. Zhang, M.J. Yang, J. Pawliszyn, T. Gorecki, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 569A (1994)
10. Z. Zhang, M. J. Yang, J. Pawliszyn, *J. Anal. Chem.*, **66**, 844-853A (1994)
11. Maria Llompert, Ken Li, Merv Fingas, *J. Chromatogr.*, **824**, 53-61A (1998)
12. Minoo D. F. Askari, Michael P. Maskarine, Stacy M. Smith, Paul M. Beam, *J. Anal. Chem.*, **68**, 343 1-3433 (1996)
13. L.H. Wartelle, W.E. Marshall, C.A. Toles, M.M. Johns, *J. Chromatogr.*, **879**, 169-175A (2000)
14. M. Abalos, J.M. Bayona, J. Pawliszyn, *J. Chromatogr.*, **873**, 107-115A (2000)
15. F. Augusto, J. Koziel, J. Pawliszyn, *J. Anal. Chem.*, **73**, 481-486 (2001)
16. Mani, V. Properties of Commercial SPME Coatings. In *Applications of Solid Phase Microextraction*, J. Pawliszyn, ed. (1999)
17. Z. Zhang, J. Pawliszyn, *J. Anal. Chem.*, **65**, 1843-1852 (1993)
18. Z. Zhang, J. Pawliszyn, *J. Anal. Chem.*, **67**, 34-43 (1995)
19. F.J. Santos, M.N. Sarrion, M.T. Galceran, *J. Chromatogr.*, **771**, 181-189A (1997)
20. Z. Zhang, J. Pawliszyn, *J. High Resolut. J. Chromatogr.*, **16**, 689 (1993)
21. J. B. Czerwinsky, B. Zygmunt, J. Namiesnik, Fresenius, *J. Anal. Chem.*, **356**, 80 (1996)
22. Test methods for evaluating solid waste. EPA / 600-SW-846, 3rd ed.