한국환경보건학회지, 제32권 제1호(2006)
Kor. J. Env. Hlth., Vol. 32, No. 1, pp 67~70(2006)

헤드스페이스-가스크로마토그래피-질량분석법에 의한 체모 중 포름알데하이드 측정법 연구

신호상† · 안혜실*
공주대학교 환경교육과 약물남용연구소, *공주대학교 환경과학과 대학원

The Study on the Measurement of Formaldehyde in Hair by HS-GC-MS

Ho-Sang Shin† · Hye-Sil Ahn*
Department of Environmental Education, Drug Abuse Research Center, Kongju National University, Kongju 314-701, Korea
**Department of Environmental Science, Kongju National University, Kongju 314-701 Korea*
(Received December 6, 2005/Accepted January 10, 2006)

ABSTRACT

A gas chromatography/mass spectrometric method was developed for the determination of formaldehyde in hair. 0.3 mg of hair was placed in 10 m*l* headspace vial. 1.5 mM pentafluorophenylhydrazine solution (pH 2) in 0.03 M phosphoric acid and 20 μ*l* of 500 mg/*l* acetone-d_6 as internal standard were added in vial and sealed tightly with cap. The solution was heated for 30 min at 90℃ in heating block. The extraction, the derivatization and the evaporation were performed simultaneously. After heating of the solution, 0.5 m*l* of headspace was taken up and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Low limit of detection (LOD) and Low limit of quantitation (LOQ) of formaldehyde were 0.5 and 1.5 ng/g, respectively. The method was used to analyze formaldehyde in rat hair after oral exposure. The developed method may be valuable to be used to analyze formaldehyde in human hair.

Keywords: gas chromatography-mass spectrometer, formaldehyde, hair, exposure indicator

I. 서 론

포름알데하이드는 화학적으로 반응성이 매우 높은 가연성 무색기체로 합판, 우레아폼 단열재(urea formaldehyde foam insulation), 접착제 등의 용도로 다양하게 사용되어 실내에서 서서히 발산되어 실내공기를 오염시키며 특히 새로 지어진 건물에서 많이 발생되는 것으로 알려져 있다. 이 화합물은 사람들에게 지속적으로 노출되어 천식, 알레르기성 비염과 같은 질환을 유발하는 것으로 보고 되어있고 사람의 혈액, 뇨 및 타액 중에 자주 검출이 되는 화학물질이다.[1,2]

지금까지 포름알데하이드의 분석법은 공기 중에 존재하는 포름알데하이드에 집중되어 왔다. 공기 중에 이러한 유해물질의 농도를 측정하는 것은 노출의 양을 직접적으로 아는 것이 아니므로 보다 노출정도를 정확히 알 수 있는 방법의 개발이 요구되어진다. 노출평가를 위한 생체시료로는 혈액, 뇨 및 타액을 사용할 수 있으나 그 중 혈액은 시료 채취가 어려워 모니터링을 위한 시료로는 적합하지 않다.

생체 시료 중에 포름알데하이드의 측정법에 관한 논문은 많지 않다. 혈액 중에 포름알데하이드의 액체 크로마토그래프법,[3] 혈액 중에 포름알데하이드의 가스크로마토그래프-질량분석법,[4] 뇨 중에 포름알데하이드의 액체 크로마토그래프법,[5] 타액 중에 포름알데하이드의 얇은막크로마토그래프법[6]이 알려져 있을 뿐이다. 그러나 체모 중에 포름알데하이드의 분석법은 전무한 상태이다.

본 연구에서는 포름알데하이드에 의한 중 · 장기 노출 정도를 쉽게 판단하기 위해 고통 없이 간단히 시료

†Corresponding author : Department of Environmental Education, Drug Abuse Research Center, Kongju National University
Tel: 82-41-850-8811, Fax: 82-41-850-8810
E-mail : hshin@kongju.ac.kr

채취가 가능한 체모 시료 중 포름알데하이드의 고감도 가스크로마토그래프-질량분석법을 제시하고자 한다.

II. 실 험

1. 표준물질 및 시약

본 연구에 사용된 모든 용매는 분석용 순수 시약을 사용하였으며 포름알데하이드 용액(37%)과 내부표준물질(ISTD)인 acetone-d_6 그리고 fentafluorophenyl hydrazine은 Sigma(St. Louis, MO, USA)사로부터 구입하여 사용하였다. 각각의 표준물질은 적정 농도가 되도록 초순수 물로 묽혀 사용하였다.

2. 분석 장비 및 조건

본 연구에 사용한 가스크로마토그래프-질량분석기는 Agilent 6890 gas chromatography (GC)와 Agilent 5973N MSD이었다. Data system으로는 HP GG1701AA MSD Chemstation을 이용하였다. Electron multiplier는 auto-tune 값보다 300 V 증가시켜 사용하였으며 dwell time은 100 msec로 조절하였으며 정량을 위해 특성이온(characteristic ion)만을 선택하여 분석하는 selected ion-monitoring (SIM) 방법을 이용하였다.

자세한 분석 조건들은 Table 1과 같다.

3. 시료채취

Blank로 사용한 체모 시료는 특별한 약을 투여한 경력이 없는 건강한 사람의 체모를 사용하였고 쥐의 체모는 먹는물에 포름알데하이드로 일정 농도가 되게 조제 후 투여 후 채취하여 사용하였다.

4. 동물실험 설계

Female Sprague-Dawley rat 4마리를 다물과학(주)에서 공급받아, 일주일 동안 온도와 습도를 각각 18℃, 30~70%를 유지하면서 물과 사료를 자유롭게 주며 적응시켰다.

대조군은 포름알데하이드를 투여하기 전에 각각 rat의 체모를 얻어 사용하였으며, 투여군은 4마리의 rat를 2마리씩 나눠 포름알데하이드를 생수에 각각 200 ng/ml (R-01, R-02) 및 500 ng/ml(R-03, R-04)로 조제한 음용수를 15일간 투여하였다. 1마리씩 metabolite-cage에서 사육하여 투여 마지막 날 대조군 시료를 얻은 부위에서 다시 자란 체모를 잘라서 시료로 하였다.

5. 시험방법

체모 중 포름알데하이드의 분석은 headspace vial에 체모 10 mg을 넣고 내부표준물질인 acetone-d_6를 10 ug 첨가하여 골고루 섞이도록 흔들어 준 후 정치시킨다. 0.03 M phosphoric acid에 1.5 mM이 되도록 만든 유도체 시약인 pentafluorophenylhydrazine solution을 3 ml를 넣어 pH를 2로 조정하여 leak가 없도록 알루미늄 캡으로 막은 후 90℃에서 30분간 반응시켜 gas-tight syringe로 500 μl 취하여 GC-MS에 주입하였다.

Table 1. Operating conditions of GC-MS for analysis of formaldehyde in hair

Instrument		Conditions			
GC	· column	HP-5MS(Cross-linked 5% phenylmethylsilicon), 30 m × 0.25 mm I.D. × 0.25 μm F.T			
	· carrier gas	He at 1.0 ml/min			
	· injection port temp.	250℃			
	· injection mode	split ratio 10:1			
	· oven temp	50℃	10℃/min →	170℃	300℃ (3 min)
MS	· interface temp.	280℃			
	· ionization mode	EI mode			
	· electron energy	70 eV			
	· ion source temp.	230℃			
	· analyzer	Mass Spectrometer			
	· detection mode	Selected Ion Monitoring (SIM)			
	· SIM	Group	Start time (min)	Compound	Selected Ions, m/z
		1	6.0	FA-PFPH	182, 210
		2	9.5	Acetone-d_6-PFPH	182, 244

III. 결과 및 고찰

1. 크로마토그램

대조군 체모와 대조군에 포름알데하이드를 첨가한 후 개발된 방법에 의해 시료 처리한 후 얻은 GC-MS 크로마토그램을 Fig. 1에 도시하였다. Formaldehyde-PFPH 피크는 주변에 특별한 방해 피크 없이 대칭적인 모양을 보였다.

2. 검량선

검량선은 포름알데하이드를 matrix에 작업농도(workong range)로 첨가하여 이를 시료처리하는 방법과 동일하게 추출 및 측정한 후 피크면적을 포름알데하이드의 농도 간 상관성으로 작성하였다.

포름알데하이드의 농도를 0, 500, 1000, 2000 ng/g와 내부표준물질인 acetone-d_6를 1000 ng/g이 되게 체모에 첨가한 다음 검량선을 작성한 결과 직선방정식은 $y = 0.0131x - 0.2596$이었고, corelation coefficient 값은 0.997의 좋은 직선성을 나타내었다.

3. 검출한계

Low limit of detection(LOD)는 reagent blank 속에서 formaldehyde가 99% 신뢰도로서 측정될 수 있는 최소농도로서 처리한 시료의 신호와 잡음(signal/noise) 비가 3.0에 해당되는 농도값으로 구하였을 때 0.5 ng/g이었다. Low limit of quantitation(LOQ)는 LOD*3.0으로 계산하였을 때 1.5 ng/g이었다.

4. 정밀 · 정확도

Blank 체모 5개의 시료에 500과 1,000 ng/g의 농도로 첨가한 후 시료 전처리를 거쳐 측정 값의 상대표준편차(RSD)를 정밀도로 측정값과 참값 사이의 차이를 정확도(accuracy)로 나타내었을 때 그 결과 Table 2와 같았다. 측정값들은 매질에 첨가한 양에 비해 평균 263

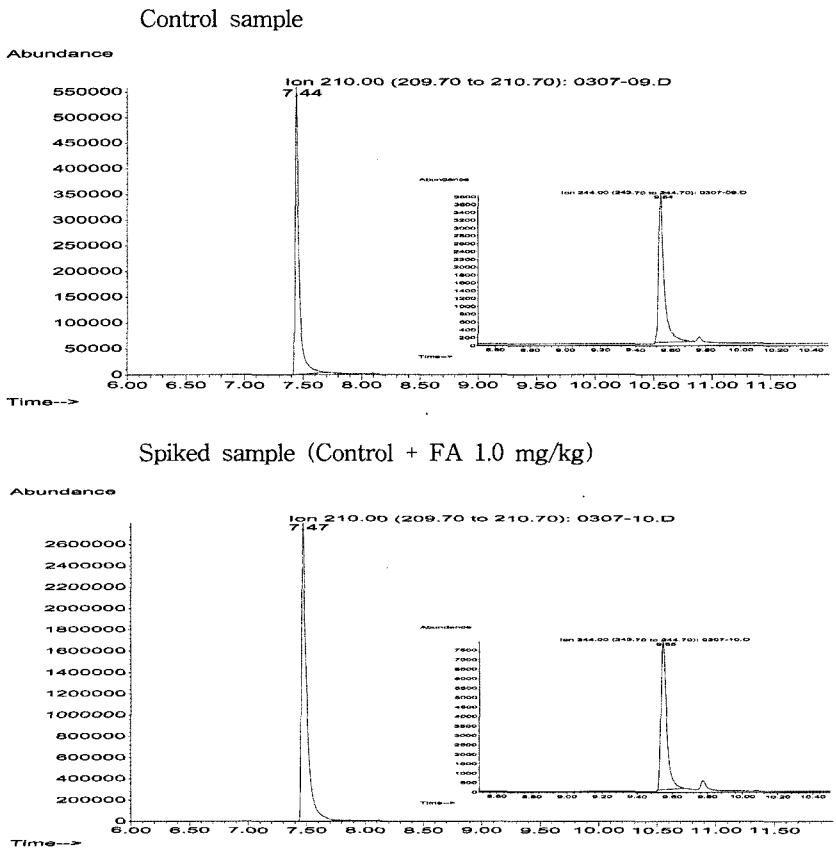

Fig. 1. GC-MS chromatogram after extraction and derivatization of formaldehyde in hair (1 = formaldehyde-PFPH; 2 = acetone-d_6-PFPH).

Table 2. Precision & accuracy by the extraction and the derivatization of formaldehyde in hair

Spiked Conc. (ng/g)	Measured Conc. (ng/g)				Mean ± SD (RSD%)	
500	860	724	668	762	704	744 ± 73 (9.9)
1,000	1350	1190	1260	1323	1287	1282 ± 62 (4.8)

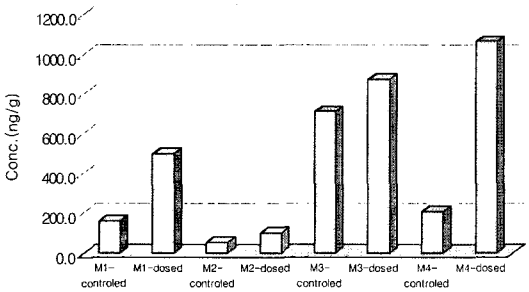

Fig. 2. The concentration of formaldehyde in rat hair before and after oral exposure (R-01 and R-02 were dosed as the concentration of 200 μg/*l*, and R-03 and R-04 as the concentration of 500 μg/*l* formaldehyde in drinking water).

ng/g 증가하였는데 이는 본래 체모 중에 존재하는 포름알데하이드의 농도 때문으로 판단된다.

5. 동물실험 분석결과

동물실험 설계에 따라 포름알데하이드를 투여 전 (Fig. 2에서 control에 해당)과 먹는물 중에 200과 500 μg/*l*의 농도로 투여 후 체모 중 포름알데하이드를 분석하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이 각각의 실험 개체에서는 포름알데하이드의 농도가 투여하기 전보다 증가하는 경향이 있으나 개체 간 농도 편차가 매우 컸다.

위의 결과로부터 쥐의 경우 포름알데하이드를 노출시킨 후 체모 내 포름알데히드의 농도변화는 생기나 개체 간 차이가 커서 체모 중 포름알데하이드의 농도로 중 · 장기 노출 지표물질로 활용하기는 어려운 것으로 판단되나 보다 많은 시료분석이 요구된다.

IV. 결 론

가스크로마토그래프-질량분석기를 사용한 체모 중 포름알데하이드의 분석법이 확립되었다. 이 방법은 시료 중에서 pentafluorophenyl hydrazine을 사용하여 유도체화하여 헤드스페이스법으로 가스크로마토그래프-질량분석기로 주입하여 측정하는 방법이다. 이때 LOD와 LOQ는 각각 0.5와 1.5 ng/g이었으며 검량선의 직선성이 매우 좋았다. 이 방법은 체모 시료 중에 포름알데히드를 분석하는데 좋은 방법으로 사료된다.

개발된 방법을 사용하여 쥐에 포름알데하이드를 일정 농도로 노출시킨 후 분석한 결과 체모 포름알데하이드의 농도변화는 발생되나 개체 간 차이가 컸다. 이는 포름알데하이드가 체내에서 신속하게 대사가 되기 때문으로 판단되며,[7] 따라서 체모 중 포름알데하이드의 농도를 중 · 장기 노출 지표물질로 활용하기는 어려운 것으로 판단되나 보다 많은 대상과 장기적인 연구가 필요하다.

감사의 글

이 연구는 환경기술진흥원에서 지원을 받아 수행하였으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kim, J. G. and Shin, H. S. : A study on the evaluation of the stop-smoking program for active smoking- and passive smoking students. *Korean Society of. Environmental Health*, **28**(3), 26-33, 2002.
2. Conaway, C. C., Whysner, J., Verna, L. K. and Williams, G. M. : Formaldehyde mechanistic data and risk assessment. *Pharmacol. Ther*, **71**, 29-55, 1996.
3. Luo, W., Li, H., Zhang, Y. and Ang, C. Y. W. : Determination of formaldehyde in blood plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B*, **753**, 253-257, 2001.
4. Casanova, M., d'A. Heck, H., Everitt, J. I., Harrington, W. W. and Popp, J. A. : Formaldehyde concentrations in the blood of rhesus monkeys after inhalation exposure. *Food & Chem. Toxicol*, **26**, 715-716, 1988.
5. De Andrade, J. B., De Andrade, M.V., Pinheiro, H. L. C., Martins, R. A. and Borges, E. L. : Determination of formaldehyde and acetaldehyde in urine by HPLC. *Am. Lab.*, **31**, 22, 1999.
6. Rozylo, T. K., Zabinska, A., Rozylo-Kalinowska, I. and Tvihak, E. : Quantitative determination of formaldehyde in human saliva by OPLC. *Chem. & Environ.. Research*, **10**, 315-319, 2001.
7. Casanova-Schmitz, M., Starr, T. B. and Heck, H. d'A. : Differentiation between metabolic incorporation and covalent binding in the labelling of macromolecules in the rat nasal mucosa and bone marrow by inhaled [^{14}C]$^{-}$ and [^{3}H] formaldehyde. *Toxic. Appl. Pharmac.*, **76**, 26, 1984.