

Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS를 이용한 먹는물 내 PFAS(per/polyfluoroalkyl substances) 분석

저자

Tarun Anumol
Agilent Technologies, Inc.
Wilmington, DE, USA

Dan-Hui Dorothy Yang,
Theresa Sosienski,
Patrick Batoon
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA, USA

개요

PFAS(per/polyfluoroalkyl substances)는 환경에 대한 우려를 불러일으키고 있는 화합물의 한 종류입니다. 미국 환경청(US EPA)은 먹는물에 대해 보건 관점에서 perfluorooctanoic acid(PFOA)와 perfluorooctanesulfonic acid(PFOS)의 합이 70ng/L를 넘지 않아야 한다고 발표했습니다. 여러 주에서 특정 종류의 PFAS에 대해 보다 낮은 수준의 보건 가이드라인 수치를 발표했습니다. 이 응용 자료는 Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS를 이용해 개발된 분석법으로 US EPA Method 537에서 지정한 14종 PFAS 포함 총 17종 PFAS의 분석을 소개합니다. 추출을 포함한 분석법은 US EPA Method 537의 기준을 준수하며 수행되었습니다. 모든 분석물질이 US EPA 분석법에서 지정한 것보다 낮은 수치에서 검출되었으며, 보다 짧은 분석 시간과 절반의 주입 부피로 진행되었습니다.

소개

PFAS(per/polyfluoroalkyl substances)는 계면활성제, 난연재, 방수제, 코팅제, 얼룩방지제 등에 널리 사용되는 인공 화합물입니다. PFAS는 그 독특한 성질로 인해 환경 및 동물 체내에서 사라지지 않고 잔류됩니다. 연구 결과에 따르면 PFAS는 생식 및 발달 문제를 일으킬 수 있으며, 간, 신장, 면역계 및 콜레스테롤 변화에 악영향을 미칠 수 있습니다. 여러 연구를 통해 8개 이상의 탄소 사슬을 보유한 PFAS가 생물학적으로 농축되면 가장 위험한 것으로 드러났습니다¹.

때문에 미국 환경청(US EPA)은 먹는물에 대해 보건 관점에서 두 종류 PFAS, 즉 perfluorooctanoic acid(PFOA)와 perfluorooctanesulfonic acid(PFOS)의 합이 70ng/L를 넘지 않아야 한다고 발표했습니다. 뉴저지, 미네소타를 포함한 여러 주에서는 PFOA와 PFOS를 포함한 수중 특정 PFAS에 대한 보건학적 가이드 수치를 보다 낮은 14-35ng/L 수준으로 정했습니다. US EPA Method 537은 고정상 추출(SPE)과 LC/MS/MS를 이용한 14종 PFAS 분석을 위한 분석법이 기술되어 있습니다². 그러나 현재 다른 PFAS도 사용 중이며, 모니터링이 필요합니다.

이 응용 자료는 Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS를 이용해 개발된 분석법으로 US EPA Method 537(표1)에서 지정한 14종 PFAS 포함 총 17종 PFAS 분석을 소개합니다. 모든 분석물질이 US EPA 분석법에서 지정한 것보다 훨씬 낮은 수준에서 검출되었으며, 소요 시간은 22분 이내였습니다.

Ultivo는 놀랍도록 강력한 성능과 현저하게 작은 크기를 자랑합니다. Triad Technologies(T³): Vortex Collision Cell, Cyclone Ion Guide, VacShield 등의 혁신 덕분에 까다로운 높은 처리량의 시료 분석에서 필요한 감도, 견고성, 신뢰성, 성능 등을 성취할 수 있습니다. 또한 Ultivo는 첫 번째 스택형 애질런트 삼중 사중극자 LC/MS로, 질량분석기를 액체 크로마토그래피 스택에 포함시켜 설치 공간을 줄였습니다.

실험

용액 및 표준물질 준비

모든 PFAS 표준물질은 Wellington Laboratories(Ontario, Canada)에서 구입하였으며, 용액은 아세트니트릴 또는 메탄올을 이용해 2-25mg/L로 준비되었습니다. 표준물질은 96:4(v/v) 메탄올:물로 희석하여 검량 표준물질에 필요한 농도로 조절했습니다. LC/MS 등급의 메탄올과 아세트니트릴은 Honeywell(Muskegon, MI), 아세트산 암모늄은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)에서 구입하였습니다. 초순수는 18.2MΩ의 순도로 Millipore 시스템을 이용해 준비하였습니다.

시료 전처리

US EPA Method 537을 준수하기 위해, 표준물질 첨가 시료와 실제 먹는물 시료(모두 250mL)가 Agilent SampliQ Weak Anion Exchange(WAX) 카트리지를(p/n 5982-3667)를 통해 추출되었습니다. 추출 조건은 US EPA Method 537의 내용과 유사했습니다. 추출된 시료는 가열된 수조에서 질소를 이용해 건조 농축되었으며, 그 후 96:4(v/v) 메탄올:물로 1mL 부피를 만들었습니다. 그 다음 내부 표준물질(IS)을 첨가했습니다.

LC/MS/MS 분석

Agilent 1290 Infinity II 고속 펌프와 Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS가 LC/MS/MS 분석에 사용되었습니다.

PFAS는 제조 과정에서 일반적으로 사용되기 때문에, 액체 크로마토그래피의 일반적인 작동에 사용되는 용매, 튜브, 피팅, 필터 등으로부터 LC/MS/MS 시스템이 오염되어 있을 수 있습니다. 플루오로폴리머는 모든 주요 (U)HPLC 시스템에 사용되며, 이는 LC/MS/MS 분석 과정에서 PFAS 오염에 대한 잠재적인 원인이 될 수 있습니다. 펌프 시스템에 PFAS를 가두기 위해 지연 컬럼(Agilent Eclipse Plus C18, 4.6 × 50mm, 3.5μm)이 혼합 밸브와 자동 시료 주입기(autosampler) 사이에 설치되었습니다. PFAS가 유리 바이알에 흡착되는 것을 막기 위해 1.0mL의 크림프 탑 폴리프로필렌 바이알(p/n 5182-0567, 100/pk)과 폴리프로필렌의 스냅 캡(p/n 5182-0542, 100/pk)이 사용되었습니다.

LC 시스템의 잠재적 PFAS 오염원과 Agilent 1260 Infinity II 또는 Agilent 1290 Infinity II 시스템에서 PFAS의 바탕 간섭을 줄일 수 있는 솔루션에 대한 더 자세한 정보는 애질런트 발행물 5991-7863EN을 참고하십시오³.

표 1. 상중 사중극자 dMRM 수집 파라미터를 이용해 분석된 PFAS 및 내부 표준물질(IS). US EPA Method 537에 포함되지 않은 화합물은 파란색으로 강조 표시

Compound	Acronym	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	RT (min)	Fragmentor (V)	Collision energy
Perfluorotetradecanoate	PFTeDA	712.9	669	14.8	100	7
Perfluorotetradecanoate	PFTeDA	712.9	169	14.8	100	23
Perfluorotridecanoate	PFTrDA	663	619	14.3	91	7
Perfluorotridecanoate	PFTrDA	663	169	14.3	100	23
Perfluorododecanoate	PFD ¹³ DoA	614.9	570	13.9	79	4
Perfluorododecanoate	PFD ¹³ DoA	613	569	13.9	79	4
Perfluorododecanoate	PFD ¹³ DoA	613	268.7	13.9	100	15
Perfluorodecylsulfonate	PFDS	598.9	99	12.2	100	45
Perfluorodecylsulfonate	PFDS	598.9	80	12.2	100	60
N-Ethyl-N-((heptadecafluorooctyl)sulfonyl)glycine	N-EtFOSAA	584	525.9	13.3	115	15
N-Ethyl-N-((heptadecafluorooctyl)sulfonyl)glycine	N-EtFOSAA	584	418.9	13.3	115	15
N-((Heptadecafluorooctyl)sulfonyl)-N-methylglycine	N-MeFOSAA	570	482.9	13.0	115	12
N-((Heptadecafluorooctyl)sulfonyl)-N-methylglycine	N-MeFOSAA	570	418.9	13.0	115	15
Perfluoroundecanoate	PFUdA- ¹³ C ₂	565	520	13.3	73	4
Perfluoroundecanoate	PFUdA	563	519	13.3	73	4
Perfluoroundecanoate	PFUdA	563	218.7	13.3	100	15
Perfluorooctanoate	PFDA- ¹³ C ₂	514.9	469.9	12.7	81	3
Perfluorooctanoate	PFDA	513	469	12.7	81	3
Perfluorooctanoate	PFDA	513	218.7	12.7	100	12
Perfluorooctylsulfonate	PFOS- ¹³ C ₄	502.9	99	11.9	100	38
Perfluorooctylsulfonate	PFOS- ¹³ C ₄	502.9	80	11.9	100	38
Perfluorooctylsulfonate	PFOS	498.9	99	11.9	100	38
Perfluorooctylsulfonate	PFOS	498.9	80	11.9	100	38
Perfluorononanoate	PFNA- ¹³ C ₅	468	423	12.75	66	3
Perfluorononanoate	PFNA	463	419	11.9	66	3
Perfluorononanoate	PFNA	463	169	11.9	66	13
Perfluorooctanoate	PFOA- ¹³ C ₄	416.9	371.9	11.0	69	3
Perfluorooctanoate	PFOA	413	369	11.0	69	3
Perfluorooctanoate	PFOA	413	169	11.0	69	9
Perfluorohexylsulfonate	PFHxS- ¹⁸ O ₂	403	103	10.0	100	34
Perfluorohexylsulfonate	PFHxS	398.9	99	10.0	100	34
Perfluorohexylsulfonate	PFHxS	398.9	80	10.0	100	37
Perfluoroheptanoate	PFHpA	362.9	319	9.9	72	0
Perfluoroheptanoate	PFHpA	362.9	169	9.9	72	9
Perfluorohexanoate	PFHxA- ¹³ C ₂	315	270	8.5	70	6
Perfluorohexanoate	PFHxA	313	268.9	8.5	70	6
Perfluorohexanoate	PFHxA	313	119	8.5	70	14
Perfluorobutylsulfonate	PFBS	298.9	98.9	7.0	100	22
Perfluorobutylsulfonate	PFBS	298.9	80	7.0	100	34
Perfluoropentanoate	PFPeA	263	218.9	6.5	60	6
Perfluorobutanoate	PFBA- ¹³ C ₄	217	172	3.9	60	6
Perfluorobutanoate	PFBA	213	168.9	3.9	60	6

표 2는 LC 조건을 나타냅니다. Ultivo의 강화된 감도 덕분에 US EPA Method 537에 기술된 10µL 대신 5µL 시료가 LC 시스템에 직접 주입되었습니다.

표 3은 Agilent Jet Stream(AJS) 이온화원 파라미터 및 MS 조건을 나타냅니다. 화합물은 동적 다중 반응 모니터링(dMRM)을 이용해 분석되었습니다. 표 1은 모니터링 대상 PFAS 화합물 각각의 삼중 사중극자 dMRM 수집 파라미터를 나타냅니다. 전구 이온, 생성 이온, fragmentor 전압, 충돌 에너지 등을 포함한 모든 파라미터가 각 분석물질을 위해 최적화되었습니다. 모니터링된 머무름 시간 창은 2분이었으며, Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS 셀 가속 전압(CAV)은 모든 분석물질에 대해 9V로 설정되었습니다.

기기 제어 및 데이터 수집에는 Agilent MassHunter Acquisition Software C.01이 사용되었습니다. 데이터 처리와 분석에는 Agilent MassHunter Quantative Analysis Software(B.09)와 Quant-My-Way 기능이 사용되었습니다.

검량선 직선성은 1개월 이상 평가되었습니다. 1ppb 농도의 연속 검량 검증(continuous calibration verification, CCV) 시료 11개의 상대 표준 편차(%RSD)는 26시간 이상의 분석 배치에서 계산되었습니다.

표 2. LC 조건

파라미터	값												
액체 크로마토그래피 시스템	Agilent 1290 Infinity II high speed pump (G7120A) Agilent 1290 Infinity II multisampler with cooler (G7167B) Agilent 1290 Infinity II multicolumn thermostat (G7116B)												
지연 컬럼	Agilent Eclipse Plus C18, 4.6 × 50 mm, 3.5 µm (p/n 959943-902)												
분석 컬럼	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.0 × 50 mm, 1.8 µm (p/n 959757-302)												
주입량	5 µL												
컬럼 온도	50 °C												
이동상	A) 5 mM ammonium acetate in water B) 5 mM ammonium acetate in 95 % MeOH												
유량	0.4 mL/min												
이동상 변화도	<table> <tr> <th>Time (min)</th><th>%B</th></tr> <tr> <td>0.0</td><td>10</td></tr> <tr> <td>0.5</td><td>10</td></tr> <tr> <td>2.0</td><td>30</td></tr> <tr> <td>14.0</td><td>95</td></tr> <tr> <td>14.5</td><td>100</td></tr> </table>	Time (min)	%B	0.0	10	0.5	10	2.0	30	14.0	95	14.5	100
Time (min)	%B												
0.0	10												
0.5	10												
2.0	30												
14.0	95												
14.5	100												
분석 시간	16.5 min												
사후 시간	5.5 min												

표 3. AJS ESI 이온화원 파라미터 및 MS 조건

파라미터	값
질량분석기	Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS with Agilent Jet Steam ESI source
이온화 모드	Negative
가스 온도	230 °C
가스 유량	5 L/min
Nebulizer	15 psi
모세관 전압	2,500 V
Sheath 가스 온도	350 °C
Sheath 가스 유량	12 L/min
노즐 전압	0 V

결과 및 토의

크로마토그래피 성능

US EPA Method 537은 35-37분의 분석 시간이 기술되어 있습니다. 1ppb 표준 용액의 MRM 크로마토그램(그림 1)은 우수한 크로마토그래피 피크 모양 및 신호 대 잡음비(S/N)가 16.5분만에 얻어질 수 있음을 나타내고 있습니다. 이는 US EPA 분석법에 기술된 소요 시간의 절반도 되지 않습니다.

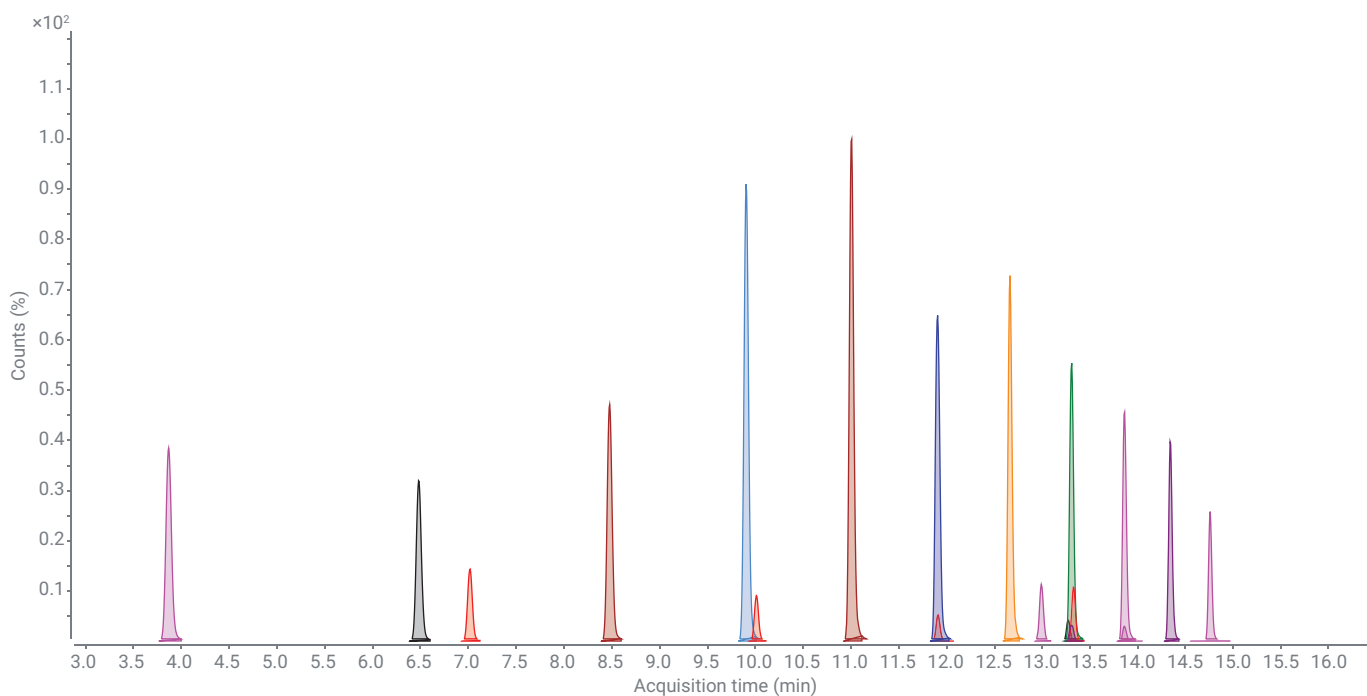


그림 1. 17종 PFAS 1ppb 표준 용액 분석의 MRM 크로마토그램

반응의 직선성 및 재현성(%RSD)

모든 17종 PFAS 분석에 대해 $R^2 > 0.99$ 의 직선성 검량선이 얻어졌습니다(표 4). R^2 는 1개월 동안 분석된 0.2-100ppb(0.2, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 100ppb)의 8개 농도 검량선 3개의 평균값을 기반으로 계산되었습니다. 1개월 이상 테스트된 직선성은 매우 안정적이었습니다.

US EPA Method 537은 매 10개 시료 분석 이후 검량 시료를 주입 및 분석하도록 요구합니다. 1ppb 농도의 CCV 시료 11개의 %RSD는 26시간의 분석 배치에서 계산되었습니다. 1종(N-EtFOSAA)을 제외한 모든 분석물질이 5%RSD 미만으로 나타났습니다(표 4). 그림 2는 IS로 보정되지 않은 상대 반응이 26시간 이상 분석된 11개 CCV 시료에 대해 안정적임을 보이고 있습니다.

표 4. 26시간 이상 측정된 1ppb 연속 검량 검증 (CCV) 시료의 직선성(R^2) 및 %RSD

Compound	R^2	CCV RSD (%)
PFBA	0.9965	2.1
PFPeA	0.9996	2.7
PFBS	0.9964	3.1
PFHxA	0.9988	3.0
PFHpA	0.9985	3.4
PFHxS	0.9995	1.7
PFOA	0.9971	1.2
PFOS	0.9991	1.9
PFNA	0.9811	3.7
PFDA	0.9941	3.6
N-MeFOSAA	0.9999	3.6
PFDS	0.9999	2.3
PFUdA	0.9940	2.3
N-EtFOSAA	0.9996	5.2
PFDoA	0.9974	3.6
PFTrDA	0.9984	3.5
PFTeDA	0.9986	3.2

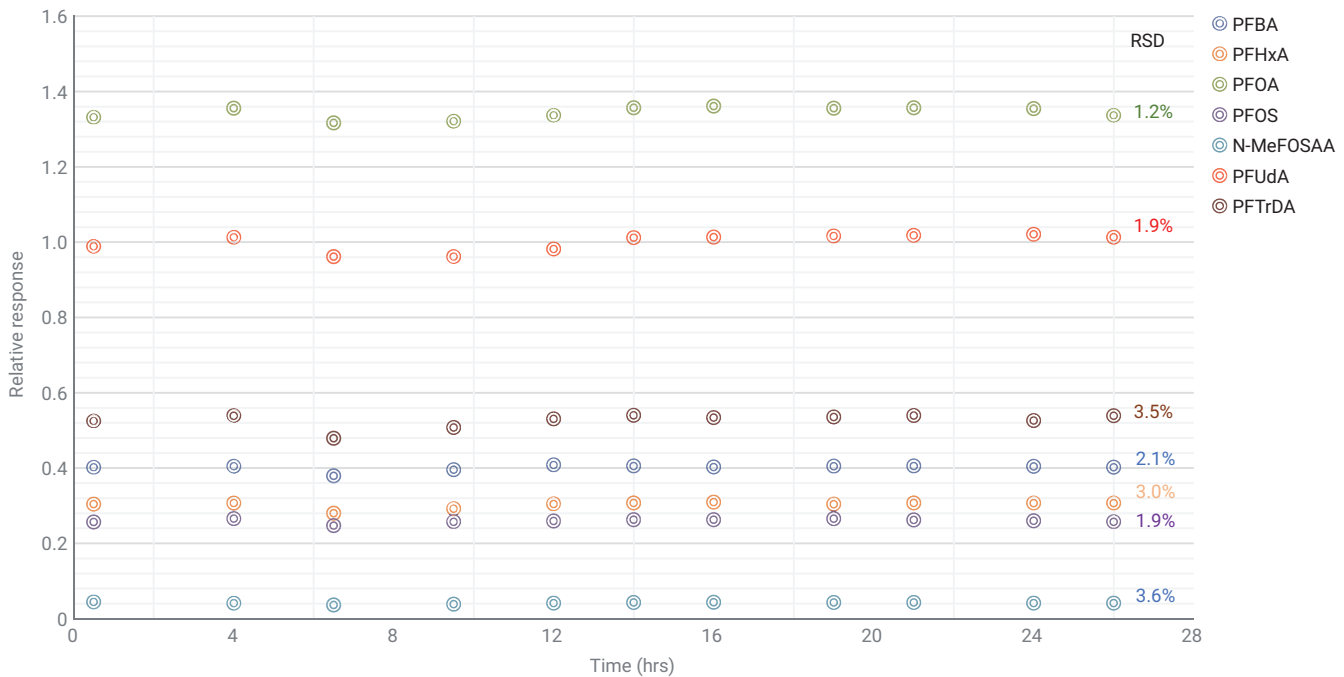


그림 2. 26 시간 동안 11개 CCV 시료 내 7종 PFAS의 상대 반응(IS로 보정되지 않음)

실제 먹는물 시료 분석

미국 캘리포니아에서 채취한 먹는물 시료를 17종 PFAS에 대해 위와 같은 분석법을 이용해 분석하였습니다. 그림 3은 시료 중 하나에서 PFBS, PFOS, PFOA, PFNA가 각각 10, 4, 0.6, 8ng/L로 검출되었음을 나타냅니다. Ultivo triple quadrupole

LC/MS를 사용해 US EPA Method 537에 따라 시료 추출 후 낮은 ng/L 농도의 PFAS를 검출할 수 있었으며, 검출 농도는 대부분의 엄격한 미국 주 규정보다 낮았습니다. 이는 이 분석법이 실제 먹는물 시료 분석에 대해 우수한 감도와 견고성을 가지고 있음을 의미합니다.

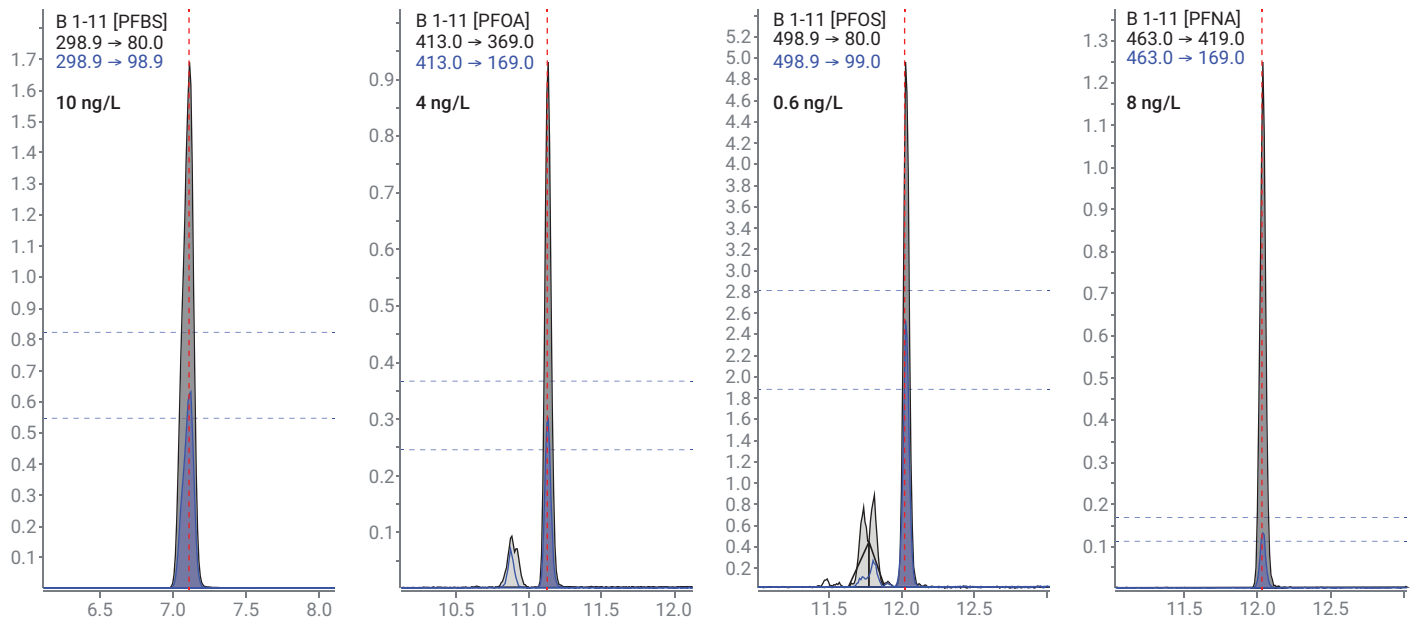


그림 3. 실제 먹는물 시료 내에서 낮은 ng/L 농도로 검출된 4종 PFAS

결론

이 응용 자료는 Agilent Ultivo triple quadrupole LC/MS를 이용해 US EPA Method 537에서 지정한 14종 PFAS 포함 총 17종 PFAS 분석을 소개했습니다. 모든 PFAS가 US EPA 분석법에서 명시된 것보다 현저히 낮은 수준에서, 낮은 주입 부피 및 보다 빠른 속도로 분석되었습니다.

Ultivo triple quadrupole LC/MS는 먹는물 내 PFAS의 정량에 우수한 감도, 신뢰성, 견고성을 제공합니다. 1ppb 농도의 PFAS 분석은 이상적인 크로마토그래피 피크 모양 및 우수한 S/N을 보였습니다. 8개 농도 (0.2-100ppb)에서 PFAS 반응은 1개월 이상 0.99 이상의 R^2 값을 통해 안정적임이 드러났습니다. 26시간의 분석 배치에서 진행된 EPA Method 537에 따른 CCV 시료 분석은 1종을 제외한 모든 분석물질에서 5 %RSD 미만으로 나타났습니다.

참고문헌

1. United States Environmental Protection Agency. Research on Per- an Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). Retrieved October 11, 2017. <https://www.epa.gov/chemical-research/research-and-polyfluoroalkyl-substances-pfas>
2. *Method 537. Determination Of Selected Perfluorinated Alkyl Acids In Drinking Water By Solid Phase Extraction. And Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Version 1.1. September 2009.* J. A. Shoemaker US EPA, Office of Research and Development.
3. Anumol, T.; et al. Recommended Plumbing Configurations for Reduction in Per/Polyfluoroalkyl Substance Background with Agilent 1260/1290 Infinity (II) LC Systems, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7863EN.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 2월 2일, 한국에서 발행
5991-8969KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국에질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr