

토양 추출물 내 PFAS (Per-Polyfluoroalkyl Substances) 분석

시료 전처리 분석법 개발을 위한 워크플로 접근법

저자

Matthew Giardina, PhD
Agilent Technologies, Inc.

개요

PFAS(Per-Polyfluoroalkyl Substances) 분석의 가장 큰 난점은 표적 화합물의 잠재적 흡착 또는 시료 처리 과정에서의 간섭 발생입니다. 이와 같은 문제는 현장 시료의 최초 수집에서부터 시료 전처리, 분석에 이르는 시료 워크플로의 과정 중 언제든지 발생할 수 있습니다. 결과적으로 시료 처리와 분석 과정에서 특정 물질을 피하는 것이 일반적인 작업 관례입니다. 예를 들어 ISO 및 EPA 분석법에서는 시료 전처리 과정에서 미처리 유리 및 PTFE(perfluorotetraethylene) 포함 물질을 피하고 대신 폴리프로필렌이나 폴리에틸렌을 사용할 것을 권장합니다. 간섭 또는 흡착 현상이 일어나지 않는다면 다른 물질도 사용할 수 있습니다. 최근에 이르러서야 다양한 물질의 영향에 대한 체계적 연구가 수행되고 논문으로 출판되기 시작했습니다. 그러나 이러한 문제를 실험실 워크플로의 맥락에서 바라본 정보가 출판된 경우는 별로 없습니다. 이 응용 자료에서는 토양 내 PFAS 분석을 위한 일반 시료 전처리 워크플로 관점에서 흡착 및 간섭의 영향을 연구했습니다. 흡착 및 간섭은 설펜산, 카르복시산, 설펜아마이드 등을 포함한 PFAS 화합물의 각 등급을 대표하는 25개 분석물질을 추출, 여과, 분석하는 과정에서 발생할 수 있습니다. 모범적 실험 수행에 대한 권장 사항도 상세하게 다루었습니다.

서론

PFAS 분석의 난제

환경 추출물 내 PFAS 분석은 여러모로 어려운 부분이 있습니다. 실험실 장비와 공급품에 널리 쓰이는 PTFE는 시료 추출물을 오염시킬 수 있습니다.¹ 또한 일부 PFAS 화합물은 유리, 일부 폴리머에 흡착되는 것으로 알려져 있으며, 이는 회수율 손실로 이어질 수 있습니다.² 분석자들은 공기와 물 인터페이스 사이의 막 형성에 대해서도 인지하고 있어야 합니다.³ 이에 더해 규제 기관에서는 ppt(part-per-trillion) 중반에서 초반까지의 저농도 보고 한계를 요구하기 때문에 PFAS 분석은 한층 더 어려워집니다.

PFAS 오염 및 손실의 가능성을 줄이기 위해 시료 처리 및 분석 과정에서 위와 같은 물질은 사용을 피하는 것이 일반적인 관례입니다. 예를 들어 EPA 및 8327^{4,5}

분석법에서는 시료 전처리 과정에서 미처리 유리 및 PTFE 물질을 피하고 대신 폴리프로필렌이나 폴리에틸렌을 사용할 것을 권장합니다. 간섭 또는 흡착 현상이 일어나지 않는다면 다른 물질도 사용할 수 있습니다. 최근에 이르러서야 다양한 물질의 영향에 대한 체계적 연구가 수행되고 논문으로 출판되기 시작했습니다.⁶ 그러나 이러한 문제를 실험실 워크플로의 맥락에서 바라본 정보가 출판된 경우는 별로 없습니다.

직접 분석 방법

고체상 추출을 사용하지 않고 시료 추출물을 직접 분석하는 데 의존하는 여러가지 분석법이 있습니다. 여기에는 EPA 분석법 8327⁴, ASTM 분석법 D7968-17a⁷ 및 D7979-19이 포함되어 있습니다.⁸ 이 분석법들은 시료에 추출 용매 첨가, 염기성화, 교반, 원심분리, 여과, 산성화, 분석 등의 서로 유사한 시료 워크플로 절차를 따릅니다. 일반적으로 정량은 LC/MS/MS를 사용한 외부 검량을 사용해 수행합니다.

그림 1에 표현된 바와 같이 직접 분석법의 시료 워크플로에서 소모품은 매우 중요합니다. 원심분리 튜브는 시료 추출과 여과된 상층액 수집에 사용됩니다. 시린지와 시린지 필터는 원심분리 이후 미세 부유 입자를 제거하는 데 사용됩니다. 부피 용기 및 자동 시료 주입기 바이알은 표준물질 전처리와 보관에 사용됩니다. 또한 액체 크로마토그래피와 질량 분석에 관련된 소모품들도 있습니다. 각 소모품은 절차의 각 단계마다 시료 손실, 오염될 유입, 간섭 현상 등을 일으키는지 평가되어야 합니다. 이 응용 자료에서는 시료 보관, 추출, 여과, LC 분리, MS/MS 검출 등 워크플로의 각 단계 최적화에 대해 자세하게 설명합니다.



그림 1. PFAS 직접 분석 워크플로에 사용된 소모품.

실험

추출 및 분석 절차는 ASTM 및 EPA 분석법에 설명된 절차를 충실히 따릅니다.^{4,5,7,8}

스파이킹 용액 전처리

PFAS 분석 물질과 동위원소 표지 대체 표준물질은 Wellington Labs로부터 2µg/mL 농도의 혼합물 및 50µg/mL 농도의 개별 성분으로 구입하였습니다 (표 1). 대체 표준물질 스파이킹 용액은 동위원소 표지 대체 표준물질을 95/5 아세토니트릴/물과 혼합해 20µg/L의 농도로 만들어 준비했습니다. 중간 PFAS 스파이킹 용액은 표적 화합물을 95/5 아세토니트릴/물과 혼합해 20µg/L의 농도로 만들어 준비했습니다. 중간 PFAS 스파이킹 용액은 95/5 아세토니트릴/물을 이용해 2µg/L의 농도로 더 희석하여

최저정량한계(LLOQ) 스파이킹 용액으로 준비하였습니다. 20µg/L의 대체 표준물질 스파이킹 용액 및 PFAS 스파이킹 용액은 전처리 후 50mL 폴리프로필렌 부피 플라스크에 보관하였습니다. 2µg/L 중간 스파이킹 용액은 1mL 폴리프로필렌 자동 시료 주입기 바이알에서 전처리되어(표 2) 즉시 사용되었습니다.

검량 표준물질 전처리

가장 고농도의 검량 표준물질(200ng/L)은 50mL의 폴리프로필렌 부피 플라스크 (표 2)에 각 대체 표준물질 및 PFAS

스파이킹 용액 500µL를 첨가하고, 1:1의 메탄올:물로 희석하여 준비했습니다. 200ng/L 검량 용액은 1:1의 메탄올:물로 더 희석하여 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5ng/L의 검량 용액으로 준비하였습니다. 200ng/L 검량 표준물질은 6°C의 온도에서 50mL 폴리프로필렌 부피 플라스크에 보관하였습니다. 검량 표준물질은 전처리 즉시 사용되었습니다.

표 2. 시료 전처리 소모품.

설명	애질런트 부품 번호
Polypropylene autosampler vials and snap caps	5182-0567 및 5182-0542
50mL Polypropylene volumetric flask	9301-1424
Captiva disposable syringes (10mL)	9301-6474
Captiva premium syringe filters, regenerated cellulose, 25mm diameter, 0.2 µm pore size	5190-5110
Centrifuge tubes and caps (15mL)	5610-2039

표 1. 화합물 리스트.

표적 물질	대체 표준물질
Perfluorobutyl sulfonic acid (PFBS)	Perfluoro-1-[1,2,3- ¹³ C3] hexyl sulfonic acid (M3PFHxS)
Perfluorohexyl sulfonic acid (PFHxS)	Perfluoro-1-[¹³ C8] octyl sulfonic acid (M8PFOS)
Perfluorooctyl sulfonic acid (PFOS)	Perfluoro- <i>n</i> -[¹³ C4] butanoic acid (M4PFBA)
1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorohexane sulfonic acid (4:2 FTS)	Perfluoro- <i>n</i> -[¹³ C5] pentanoic acid (M5PFPeA)
1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorodecane sulfonic acid (8:2 FTS)	Perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4,6- ¹³ C5] hexanoic acid (M5PFHxA)
Perfluoro-1-pentanesulfonic acid (PFPeS)	Perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4- ¹³ C4] heptanoic acid (M4PFHpA)
Perfluoro-1-heptanesulfonic acid (PFHpS)	Perfluoro- <i>n</i> -[¹³ C8] octanoic acid (M8PFOA)
Perfluoro-1-nonanesulfonic acid (PFNS)	Perfluoro- <i>n</i> -[¹³ C9] nonanoic acid (M9PFNA)
Perfluoro-1-decanesulfonic acid (PFDS)	Perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4,5,6- ¹³ C6] decanoic acid (M6PFDA)
Perfluorobutanoic acid (PFBA)	Perfluoro- <i>n</i> -[1,2,3,4,5,6,7- ¹³ C7] undecanoic acid (M7PFUnA)
Perfluoropentanoic acid (PFPeA)	Perfluoro- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C2] dodecanoic acid (MPFDoA)
Perfluorohexanoic acid (PFHxA)	Perfluoro- <i>n</i> -[1,2- ¹³ C2] tetradecanoic acid (M2PFTeDA)
Perfluoroheptanoic acid (PFHpA)	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluoro-(1,2- ¹³ C2) hexyl sulfonic acid (M2-4:2 FTS)
Perfluorooctanoic acid (PFOA)	1H, 1H, 2H, 2H-Perfluoro-1(1,2- ¹³ C2) decyl sulfonic acid (M2-8:2 FTS)
Perfluorononanoic acid (PFNA)	N-Methyl-d3-perfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid (d3-N-MeFOSAA)
Perfluorodecanoic acid (PFDA)	N-Ethyl-d5-perfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid (d5-N-EtFOSAA)
Perfluoroundecanoic acid (PFUdA)	Perfluoro-1-[¹³ C8] octanesulfonamide (M8FOSA)
Perfluorododecanoic acid (PFDoA)	
Perfluorotridecanoic acid (PFTTrDA)	
Perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA)	
N-Ethylperfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid (NEtFOSAA)	
N-Methylperfluoro-1-octanesulfonamidoacetic acid (NMeFOSAA)	
Perfluoro-1-octanesulfonamide (FOSA)	

바탕시료

시료 전처리 워크플로에서 각 성분에 대한 잠재적인 오염물질 또는 간섭 현상을 측정하기 위해 바탕시료를 이중으로 준비하였습니다. 15mL 원심분리 튜브와 일회용 시린지(표 2)에 10mL의 1:1 메탄올: 물 혼합물을 첨가하고 수산화암모늄 용액을 이용해 pH를 8.5~9.0으로 조절했습니다. 튜브와 시린지 뚜껑을 닫은 후 1시간 동안 회전기로 돌렸습니다. 회전 처리 후 용액은 아세트산을 이용해 pH 3.5~4.0로 산성화하였습니다. 이 시료의 분취액을 LC/MS/MS로 분석했습니다. 시린지 필터(그림 2)의 사용 가능성을 평가하기 위해 시린지를 10mL의 1:1 메탄올:물로 채우고 pH를 8.5~9.0으로 조절하였습니다. 10mL 전부를 시린지 필터로 통과시키고 15mL 원심분리 튜브에 이를 수집했습니다. 여과 물질의 pH를 3.5~4.0으로 조절 후, LC/MS/MS로 분석하였습니다.

시약 샌드를 바탕시료 분석법으로 분석하여 오염물질 또는 간섭물질의 존재를 측정했습니다. 15mL 원심분리 튜브에 2g의 깨끗한 샌드 롬(CLNISOIL3, Supelco)을 0.1g 단위까지 맞춰 측정해 넣고 대체 표준물질 첨가 용액 40μL를 첨가해 400μg/kg의 농도를 만들었습니다. 10mL의 1:1 메탄올:물 용액을 원심분리 튜브에 첨가했습니다. 그 후 수산화 암모늄을 이용해 pH를 8.5~9.0으로 조절하고 튜브를 1시간 동안 회전기로 돌렸습니다. 회전 처리 후에 튜브를 1,900rpm에서 10분 동안 원심분리했습니다. 상층액을 시린지 필터가 설치된 시린지에 넣어 통과시키고 15mL의 깨끗한 원심분리 튜브에 여과하였습니다. 해당 용액을 아세트산으로 산성화해 pH를 3.5~4.0으로 조절하고, 이 시료의 분취액을 LC/MS/MS로 분석했습니다.

저농도 스파이킹

저농도 스파이킹은 시료 전처리 워크플로에서 각 성분에 대해 일어날 수 있는 모든 종류의 손실을 측정하고 최저정량한계(LLOQ)를 확인하기 위해 준비하였습니다. 15mL 원심분리 튜브, 시린지, 시린지 필터의 사용 가능성을 평가하기 위해 위의 이중 바탕 전처리 과정에서 설명된 것과 동일한 절차를 사용했습니다. 10mL 추출 용액을 첨가하고 PFAS 표적 물질 및 대체 표준물질의 농도를 첨가하여 각각 5ng/L와 80ng/L의 농도로 만들었습니다.

시약 샌드를 PFAS 표적 물질 및 대체 표준물질에 스파이킹하여 LLOQ를 확인했습니다. 위의 이중 바탕 전처리

과정에서 설명된 것과 동일한 추출 절차를 사용해 2g의 깨끗한 샌드를 첨가하고 PFAS 표적 물질 및 대체 표준물질의 농도를 강화시켜 각각 25ng/kg 및 400ng/kg을 만들었습니다.

기기 분석법

최적화된 LC 조건은 표 3에, 최적화된 MS 조건은 표 4에 나열되어 있습니다. 애질런트 옵티마이저 소프트웨어를 사용해 측정한 fragmentor 및 충돌 에너지 전압은 부록 A의 표 A1에 일부 전구 이온, 생성 이온, 머무름 시간과 함께 나열되어 있습니다. 그림 2는 해당 분석법 조건에서 일반적으로 생성되는 크로마토그램을 보여줍니다.

표 3. LC 조건

파라미터	값			
LC	Agilent 1290 Infinity II LC			
분석 컬럼	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100mm, 1.8μm (p/n 959758-902)			
지연 컬럼	Agilent InfinityLab PFC 지연 컬럼(p/n 5062-8100)			
컬럼 온도	30°C			
주입량	30μL			
이동상	A) 20mM 암모늄 아세테이트 함유 95% 물과 5% 아세트니트릴 B) 10mM 암모늄 아세테이트 함유 95% 물과 5% 아세트니트릴			
그라디언트	시간(분)	%A	%B	유속(mL/분)
	0	100	0	0.3
	1	70	30	0.3
	6	50	50	0.3
	13	15	85	0.3
	14	0	100	0.4
	17	0	100	0.4
	18	100	0	0.4
	21	100	0	0.4

표 4. MS 조건

파라미터	값
MS	Agilent 6470 QQQ LC/MS 및 Agilent Jet Stream ESI Source
소스 파라미터	
극성	음이온화
건조 가스	230°C, 4L/분
Sheath 가스	250°C, 12L/분
Nebulizer 가스	15psi
캐필러리 전압	2,500V
노즐 전압	0V
수집	
주기 시간	500ms
총 MRM	61
최대 Concurrent MRM	30
Min/Max Dwell	14.18ms/247.76ms

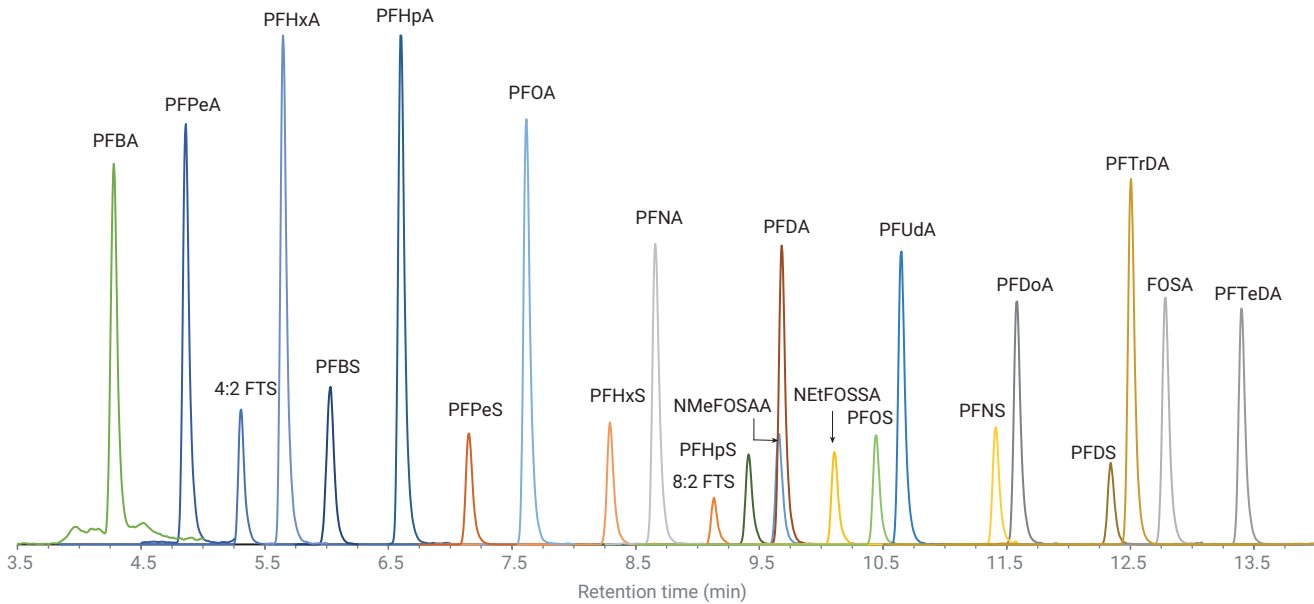


그림 2. 100ng/L 검량 표준물질 내 PFAS 표적 물질의 크로마토그램.

기기 검량

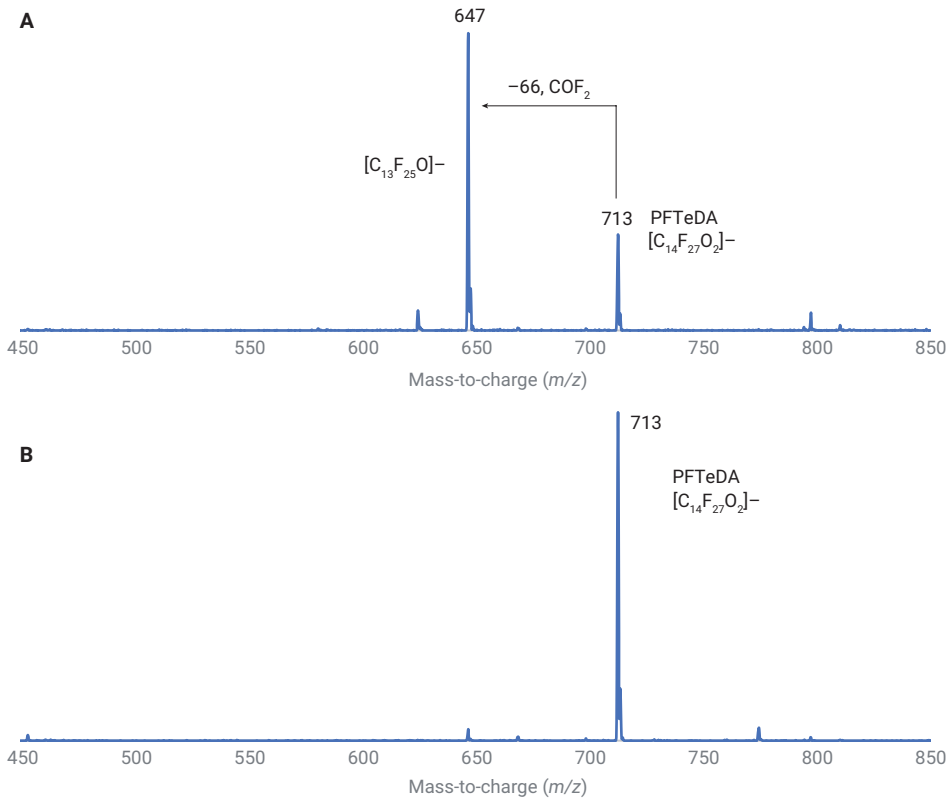
외부 검량을 사용해 농도의 역수($1/x$)로 가중치가 곱해진 선형 최소 제곱법 회귀를 모든 표적 물질 및 대체 표준물질에 적용하였습니다. 분석법에 따르면 검량의 허용 기준은 회귀 모델의 예측 가능성에 따라 결정됩니다. 가장 낮은 농도의 표준물질에서 계산된 농도는 실제 농도의 50~150%여야 합니다. 그 외의 다른 표준물질에서는 계산된 농도가 실제 농도의 70~130%여야 합니다. 부록 A의 표 A2 및 A3에는 각 검량 농도에서 각 PFAS 표적 물질 및 대체 표준물질의 정확도 및 결정계수가 나와 있습니다. 모든 화합물은 검량 허용 기준을 통과하였습니다.

결과 및 토의

이온 소스 sheath 가스 온도

기기 분석법 최적화 과정에서 높은 sheath 가스 온도가 가분자 전구 이온의 열 분해를 야기하며, 특히 카르복시산의 열 분해가 많이 일어난다는 것이 관찰되었습니다. 예를 들어 그림 3은 sheath 가스 온도가 350°C일 때와 250°C일 때 수집된 PFTeDA 스펙트럼을 비교하고 있습니다. 350°C에서 전구 이온 (m/z 731)으로부터의 carbonyl difluoride (질량 66)의 중성 손실은 m/z 647의 베이스 피크 이온을 생성했습니다. Sheath 가스 온도를 250°C까지 낮춰 원하는 베이스 피크 이온 m/z 713을 성취할 수 있었습니다.

열적 불안정성은 지방족 탄소 사슬의 길이가 길어짐에 따라 증가한다는 것이 밝혀졌습니다. 그림 4A에서는 sheath 가스 온도가 각각 250, 300, 350°C일 때 전구 이온의 상대 감응을 탄소 수에 대한 함수로 표시하였습니다. 플롯에 표시된 바와 같이 전구 이온의 손실은 탄소 수 및 온도 증가에 따라 늘어났습니다. 그림 4B에서는 sheath 가스 온도가 각각 250, 300, 350°C일 때 중성 손실 생성의 상대 감응을 탄소 수에 대한 함수로 표시하였습니다. 중성 손실 생성 역시 비슷하게 탄소 수 및 온도 증가에 따라 늘어났습니다. 250°C의 sheath 가스 온도가 저농도 검출을 위한 효율적인 이온 전송 제공 및 전구 이온 농도를 최대화하여 재현성 있는 정량을 위한 최적의 온도인 것으로 나타났습니다.



용액 보관

표준 용액은 전처리 후 50mL의 폴리프로필렌 부피 플라스크에서 보관하였습니다(표 2). EPA Method 8327에서 권장한 바에 따라 폴리프로필렌 용기는 $\leq 6^\circ\text{C}$ 에서 보관하였으며, 사용 전에 실온에 둔 뒤 vortex 처리하였습니다. 그러나 이 프로토콜은 용기 표면으로부터 더 긴 사슬을 가진 산을 회수하기에는 적합하지 않았습니다. 이 손실을 회수하기 위해 폴리프로필렌 용기를 50°C 까지 30분에 걸쳐 가열한 후, vortex 혼합 처리를 하였습니다. 그림 5는 원액으로부터 전처리한 표준 용액을 실온에 두었을 때와 전처리된 표준 용액을 50°C 까지 가열했을 때를 비교하고 있습니다. 가열을 통해 분석법 지정 한계($\pm 30\%$) 내의 회수율을 성취할 수 있었습니다.

그림 3. sheath 가스 온도 350°C (A)와 250°C (B)에서 PFTeDA 스펙트럼.

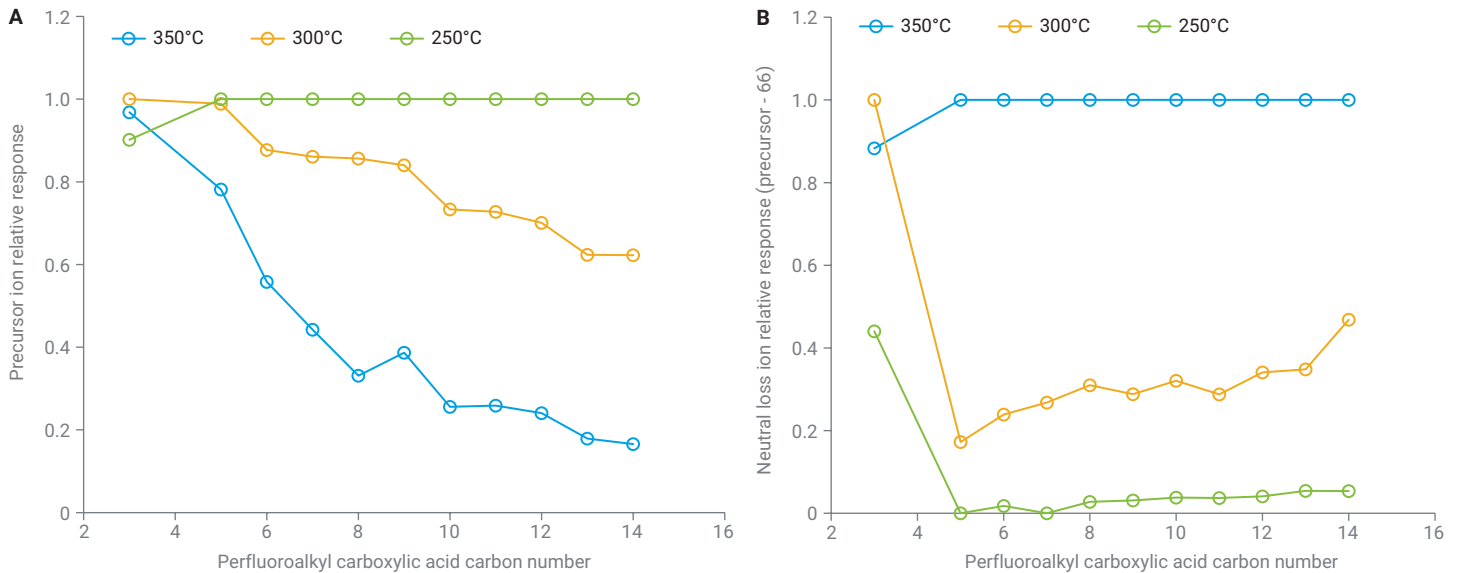


그림 4. sheath 가스 온도의 함수로서의 250, 300, 350°C 에서의 전구 이온 상대 감응(A). sheath 가스 온도의 함수로서의 250, 300, 350°C 에서의 중성 손실 생성 상대 감응(B).

반복된 가열 사이클로 인해 50mL의 부피 플라스크에서 용매가 증발하여 시간이 흐름에 따라 회수율 증가를 야기할 수 있다는 점이 우려의 대상이 된 적이 있습니다.

그러나 이러한 현상은 관찰되지 않았습니다. 그림 6은 41일 동안 총 5회의 가열/냉각 사이클을 거친 PFAS 및 대체 표준물질 용액의 중간 농도 표준물질 회수율을 모두

보여주고 있습니다. 모든 분석 물질의 회수율이 분석법에서 지정한 한계($\pm 30\%$) 내에 있습니다.

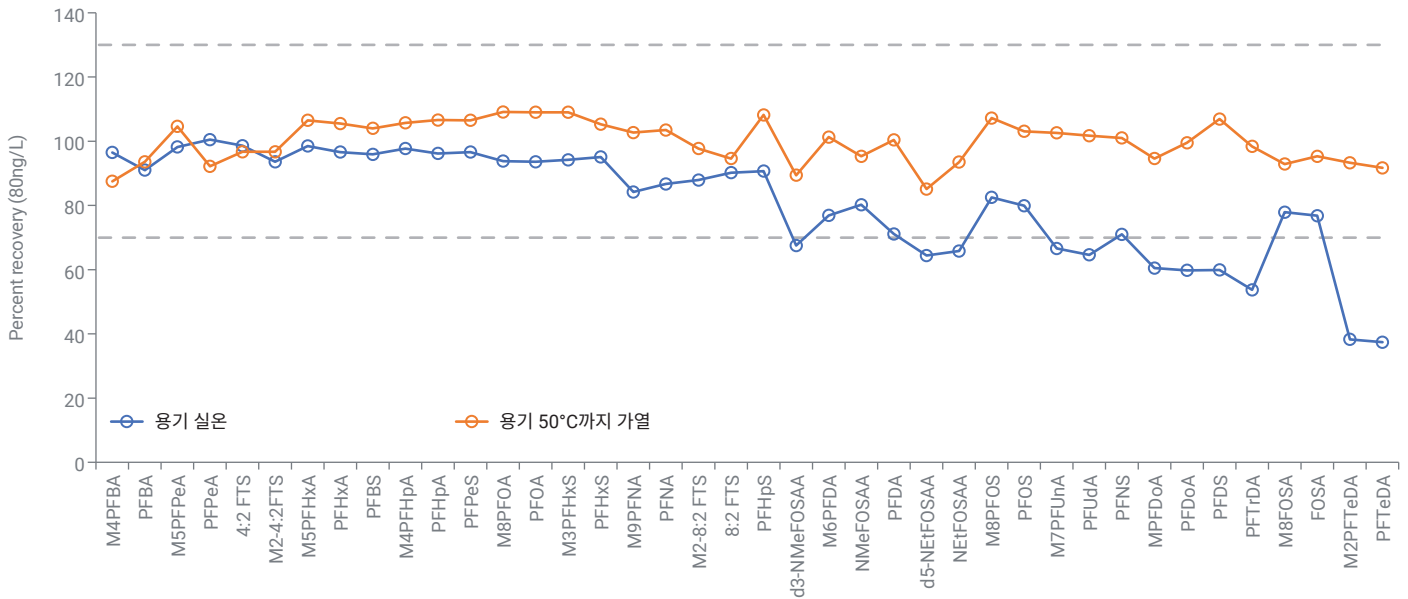


그림 5. 원액을 이용해 전처리한 중간 농도 표준물질(80ng/L)의 회수율.

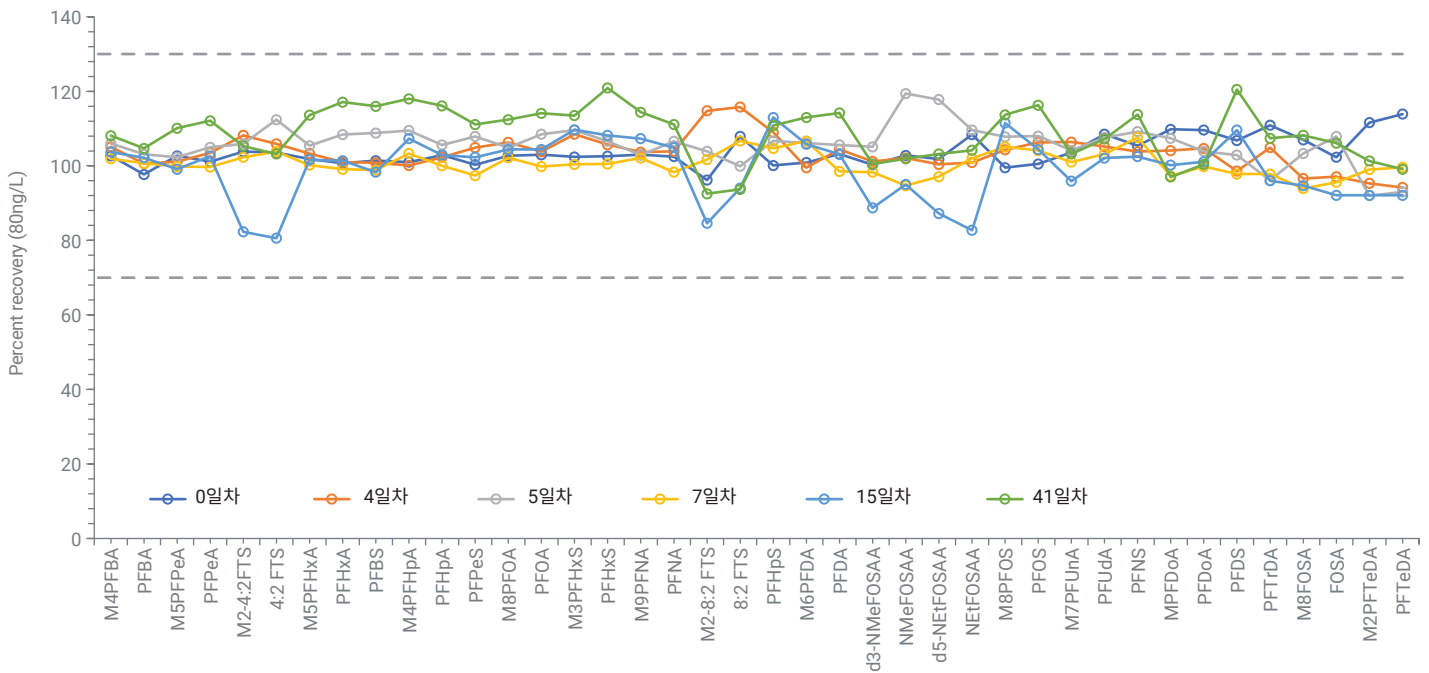


그림 6. 41일만에 걸쳐 5회 가열/냉각 사이클을 반복한 원액 전처리 표준물질의 회수율.

그림 7에는 가열 사이클 동안 용기의 모양과 가열의 방식이 용매 증발을 방지했을 수도 있다는 가설이 표현되어 있습니다. 용기의 아래 부분을 수조에 담그고 플라스크의 목 부분은 실온에 노출시킴으로써 용매가 응결되고 다시 용기 내 용매에 합류할 수 있었다는 가설입니다. 가열 후 수행한 vortex 혼합은 용액의 균질화를 보장하였습니다. 플라스크는 개봉 전 약 10분간 냉각되었습니다. 플라스크 개봉 시 압력이 축적되었다는 징후는 보이지 않았습니다.

15mL 폴리프로필렌 원심분리 튜브 평가

첫 번째 실험으로서 15mL 폴리프로필렌 원심분리 튜브에 대해, 표적 또는 대체 표준물질 감응을 간섭할 수 있는 PFAS 잔여물 또는 명목 질량 동중원소 존재 여부 검사를 수행하였습니다. 그림 8은 5개 원심분리 튜브의 이중 바탕 측정 결과를 보여줍니다. 플롯에는 LLOQ 농도(녹색 점선)와 LLOQ의 절반(적색 점선) 수치가 나타나 있습니다. 분석법에 따르면^{4,5,7,8}, 시료는 LLOQ의 절반 미만 농도일 경우 바탕으로 보고될 수 있습니다. 모든 표적 물질과 대체 표준물질에 대해 바탕 측정 결과는 LLOQ의 1/2보다 현저히 낮아 튜브가 매우 낮은 백그라운드를 가졌음을 확인해주었습니다.

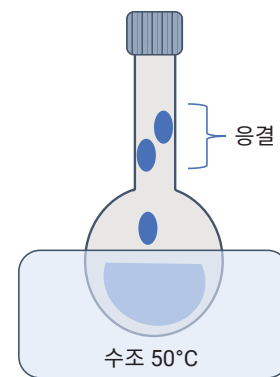


그림 7. 부피 플라스크에서 원액을 가열하기 위한 설정도.

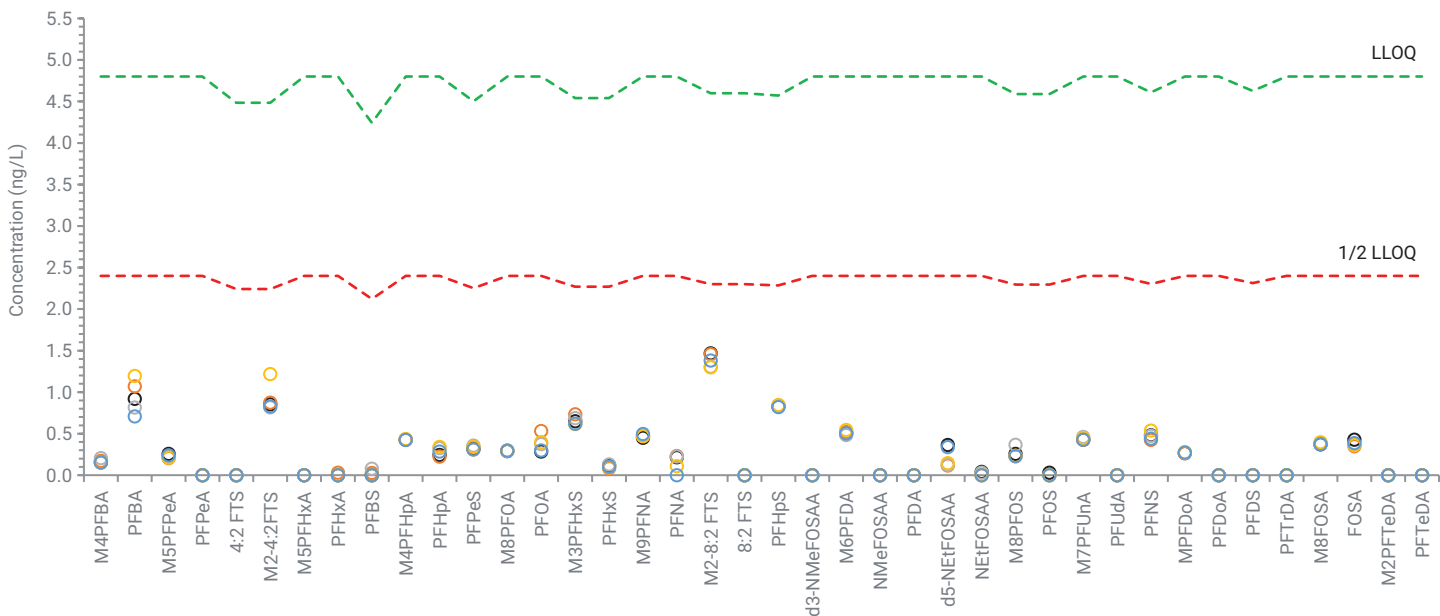


그림 8. 5개 원심분리 튜브의 이중 바탕 측정. LLOQ 및 1/2 LLOQ 농도가 녹색 및 적색 점선으로 각각 표시됨.

표면 흡착은 저농도에서 문제가 될 수 있습니다. 표면 흡착이 저농도 회수율에 영향을 끼치는지를 알아보기 위해, 5개의 튜브에 LLOQ 농도로 5ng/L의 저농도 표준물질 및 80ng/L의 대체 표준물질을 첨가하였습니다. 평균 회수율은 그림 9에 나타나 있습니다. 모든 화합물에 대해 표적 물질의 LLOQ 농도에서 회수율은 분석법 지정 한계 범위인 50~150%로 나타났으며, 대체 표준물질의 회수율 역시 70~130%로 나타났습니다. 대체 표준물질 M2-8:2 FTS의 평균 회수율은 다른 대체 표준물질에 비해 높았습니다. 이 화합물과 다른 텔로머 설폰산염이 문제가 될 수 있으며, 종종 QC 실패의 원인이 되기도 합니다.⁴

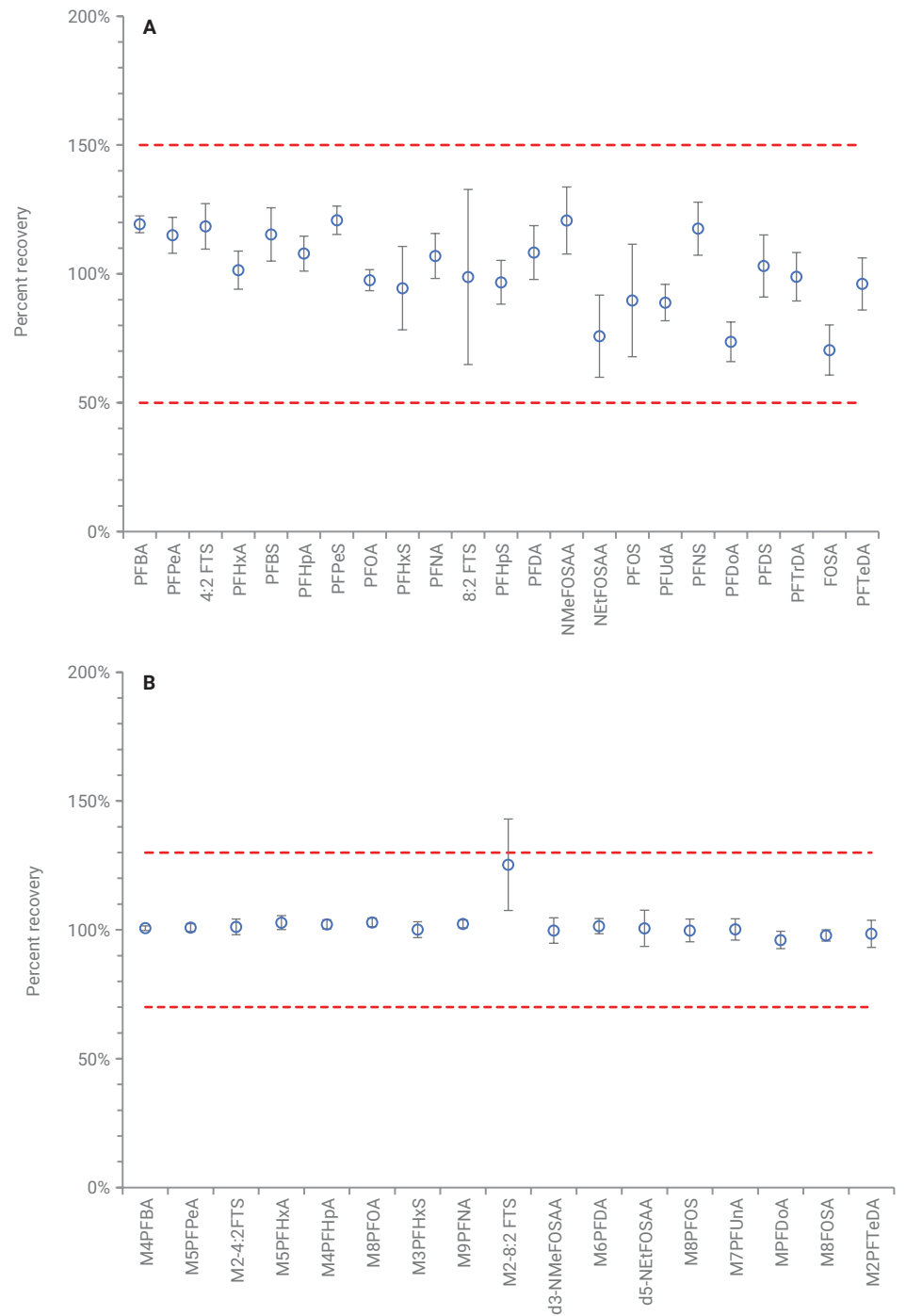


그림 9. 15mL 원심분리 튜브에 5회 반복으로 LLOQ의 용매를 5ng/L 및 80ng/L로 스파이킹한 PFAS 표적 물질(A) 및 대체 표준물질(B) 각각에 대한 평균 회수율. 오류 바는 1의 표준 편차를 의미합니다.

10mL 폴리프로필렌 시린지 평가

분석법에서는 여과를 돕기 위해 재사용 가능한 유리 시린지 또는 폴리머 시린지의 사용을 지정하고 있습니다. 재사용 가능한 시린지는 첫 사용 전 및 각 여과 사이 철저한 세척이 필수입니다. 예를 들어 EPA 분석법 8327에서는 시린지를 뜨거운 수돗물에 담근 후 50mL의 초순수, 30mL의 아세토니트릴, 30mL의 메탄올로 헹굴 것을 권장하고 있습니다. 세척 절차에는 오랜 시간이 걸릴 수 있으며, 다량의 고순도 용매가 필요합니다. 많은 시료를 다루고 있다면

더더욱 그렇습니다. 일회용 시린지는 시간 절약, 용매 비용 절약, 용매 폐기물 절감 효과를 가져다 줄 수 있습니다. 그러나 백그라운드 간섭과 흡착 손실이 발생하지 않는 일회용 시린지여야 합니다.

그림 10은 포장에서 바로 꺼낸 후 헹굼 절차를 거치지 않은 5개 시린지에 대한 이중 바탕 측정 결과를 보여줍니다. 플롯에는 LLOQ 농도(녹색 점선)와 LLOQ의 절반(적색 점선) 수치가 나타나 있습니다. 모든 표적 물질과 대체 표준물질에 대해 바탕 측정 결과는 LLOQ의 1/2보다 현저히 낮아

시린지가 매우 낮은 백그라운드를 가졌음을 확인해주었습니다.

시린지가 흡착 손실을 야기하는지 알아보기 위해, 5개의 시린지에 LLOQ 농도로 5ng/L의 명목 표적 물질 및 80ng/L의 대체 표준물질을 스파이킹하였습니다. 평균 회수율은 그림 11에 나타나 있습니다. 모든 화합물에 대해 표적 물질의 LLOQ 농도에서 회수율은 분석법 지정 한계 범위인 50~150%로 나타났으며, 대체 표준물질의 회수율 역시 70~130%로 나타났습니다.

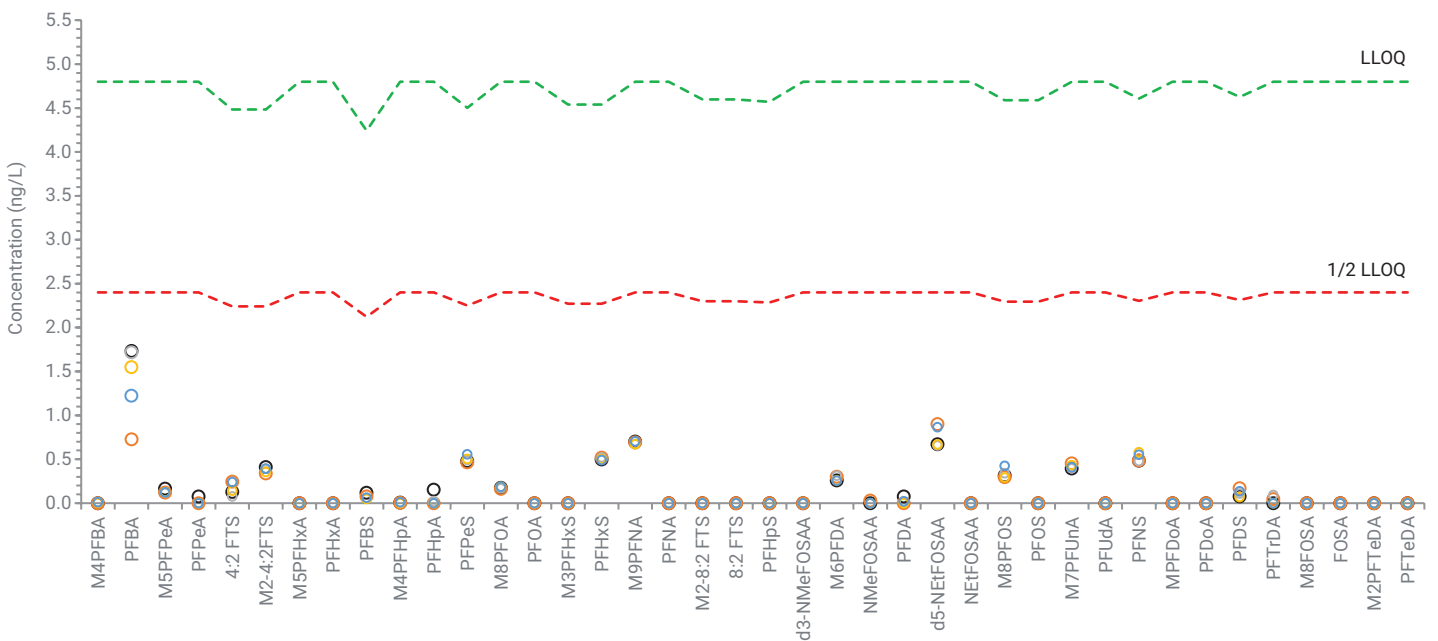


그림 10. 5개 원심분리 튜브의 이중 바탕 측정. LLOQ 및 1/2 LLOQ 농도가 녹색 및 적색 점선으로 각각 표시됨.

시린지 필터 평가

아마도 시료 전처리 절차 중 가장 중요한 단계는 필터 처리 단계일 것입니다. 추출 용액과 높은 표면적의 필터 매질 사이의 예측할 수 없는 접촉은 시료 오염 또는 손실의 가능성을 가지고 있습니다. 0.2µm 이중층 폴리프로필렌/유리 마이크로파이버 시린지 필터로 EPA 분석법과 ASTM 분석법을 검증하였습니다. 모든 분석법은 사용 전 잠재적 오염물 제거를 위해 필터를 헹굴 것을 권장하고 있습니다. 예를 들어 EPA 8327은 시료 여과 전, 모든 시린지 필터를 10mL의 아세토니트릴에 2회, 10mL의 메탄올에 2회 헹굴 것을 권장합니다. 그림 12는 이중층 폴리프로필렌/유리 마이크로파이버 시린지의 헹구기 전과 후 비교를 5회 반복 실험으로 보여주고 있으며, 이를 보면 분석법의 권장 사항을 이해할 수 있습니다. 이 수치에서 보이는 바와 같이 PFBA, PFHxA, PFOA, NMeFOSSA 오염이 상당한 수준이며, PFBS, PFHpA, PFDoA, PFTeDA 농도도 높은 편입니다.

시린지의 세척 절차에는 상당한 시간과 많은 용매가 소모될 수 있으며, 특히 추출 수가 많을 경우에는 더 그렇습니다. 이에 대한 대안을 고려하기 위해, Agilent Captiva RC 시린지 필터에 대해 판매 상태 그대로의 오염 상태를 평가하였습니다. 그림 13은 헹굼 절차를 거치지 않은 해당 필터의 5개 카트리지에 대한 이중 바탕 추출 결과를 보여줍니다. PFAS 표적 물질 및 대체 표준물질 농도는 LLOQ의 절반 미만이었습니다. 이는 이 필터를 헹굼 절차 없이 바로 사용할 수 있으며, 이로 인해 시료 워크플로 절차의 효율성이 크게 향상될 수 있음을 의미합니다. 그림 13. Agilent Captiva RC 시린지 필터의 이중 바탕 추출.

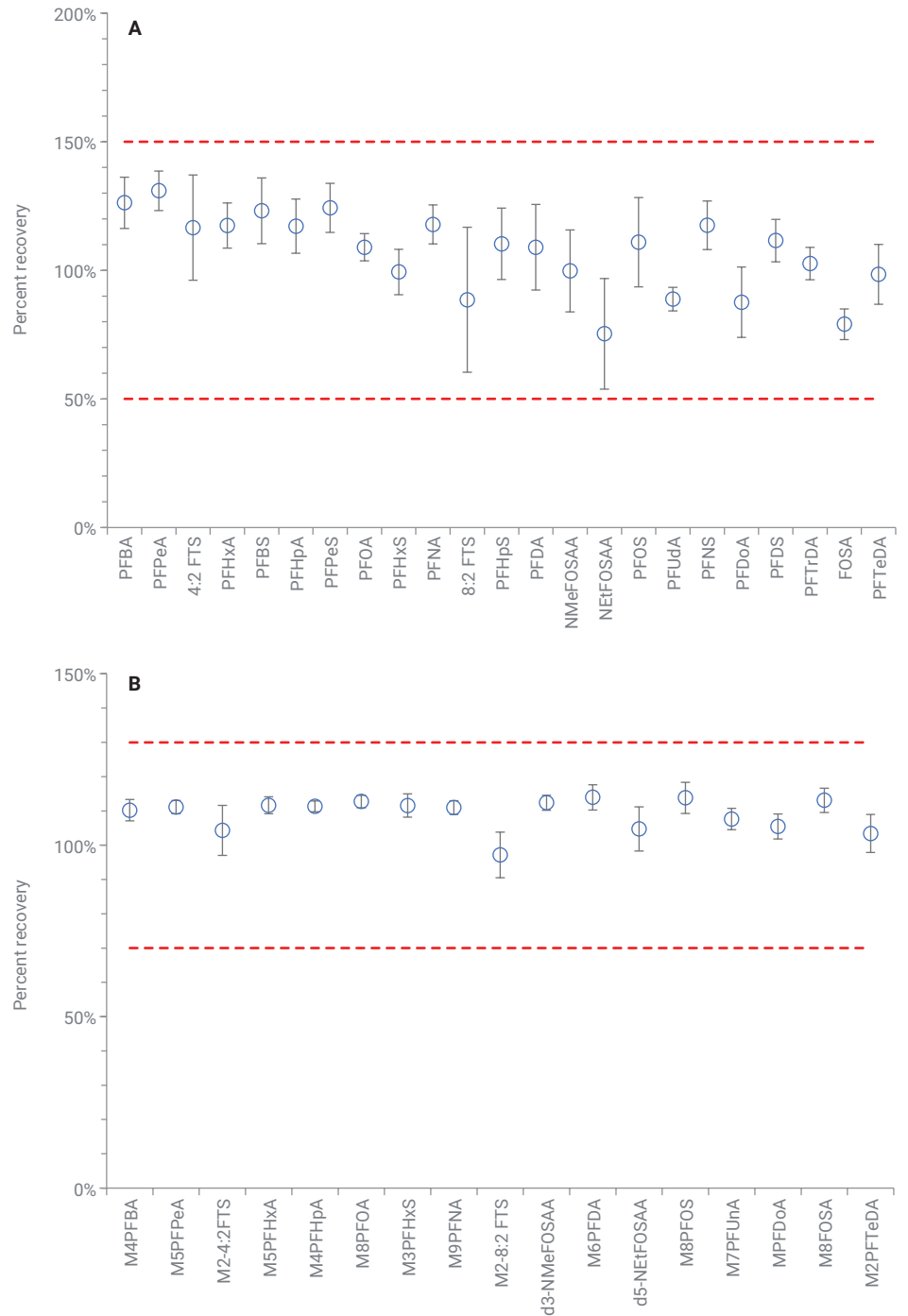


그림 11. 시린지에 5회 반복으로 LLOQ의 용매를 5ng/L 및 80ng/L로 스파이킹한 PFAS 표적 물질(A) 및 대체 표준물질(B) 각각에 대한 평균 회수율. 오류 바는 1의 표준 편차를 의미합니다.

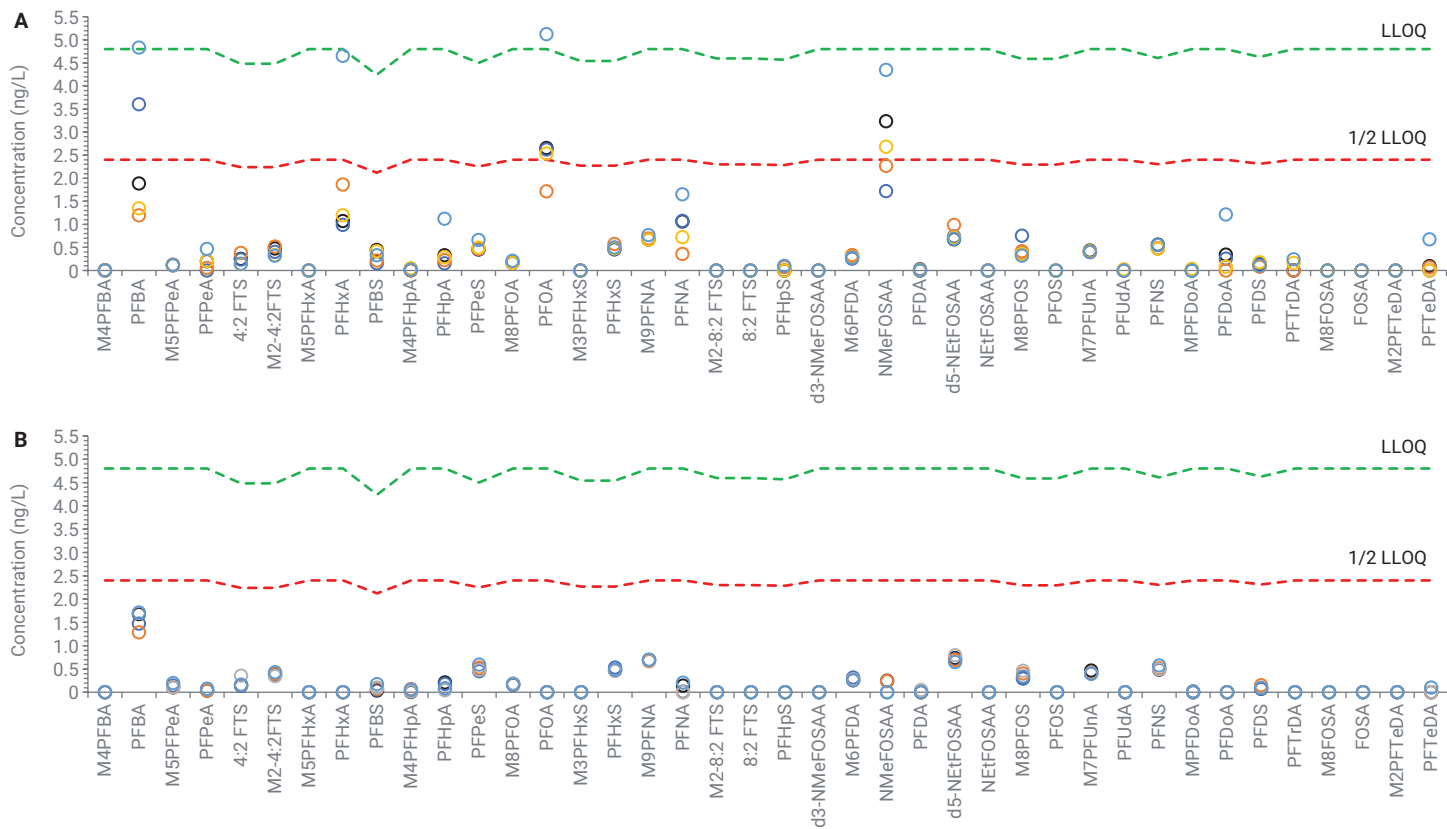


그림 12. 행금 전(A)과 후(B) 이중층 폴리프로필렌/유리 마이크로파이버 비교.

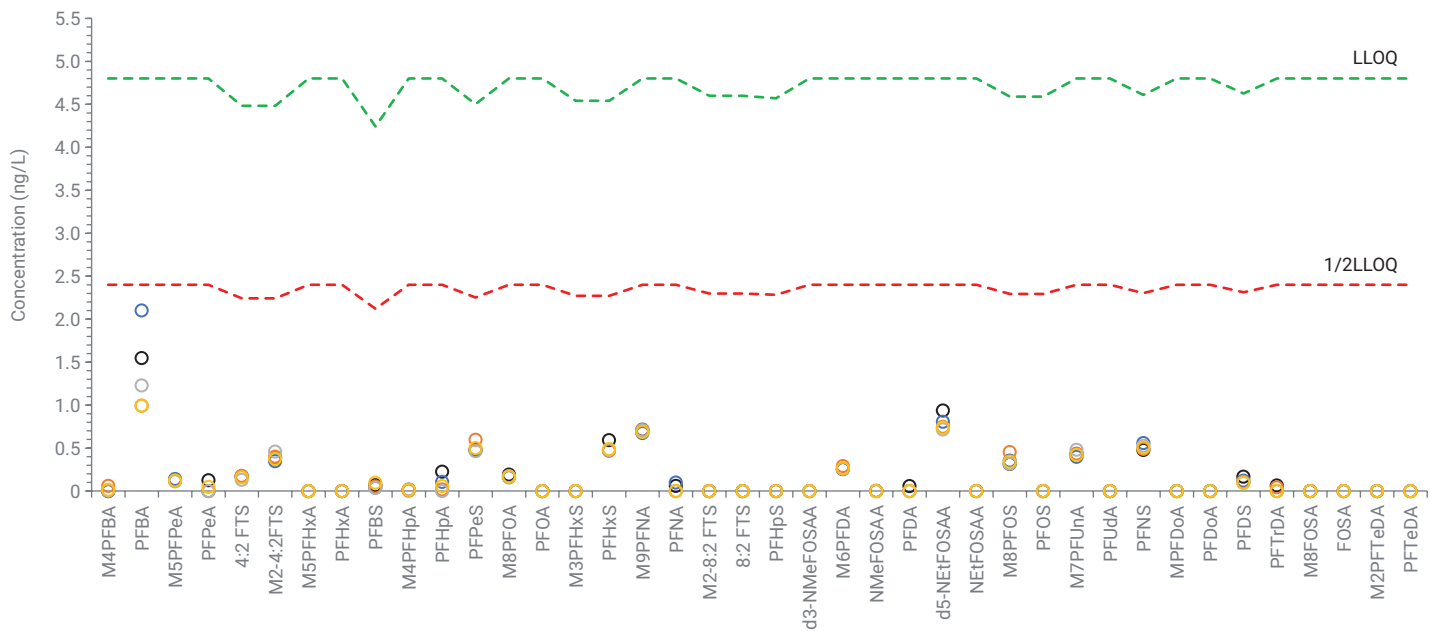


그림 13. Agilent Captiva RC 시린지 필터의 이중 바탕 추출.

시린지 필터 사용 가능성 평가를 위한 다음 단계는 필터가 흡착 손실을 일으키지 않는지 알아보기 위한 저농도 스파이킹 회수율 측정입니다. 그림 14는 LLOQ 농도로 5ng/L의 저농도 표준물질 및 80ng/L의 대체 표준물질을 스파이킹한 5회 반복 스파이킹 실험의 회수율을 보여줍니다. 모든 화합물에 대해 표적 물질의 LLOQ 농도에서 회수율은 분석법 지정 한계 범위인 50~150%로 나타났으며, 대체 표준물질의 회수율 역시 70~130%로 나타났습니다.

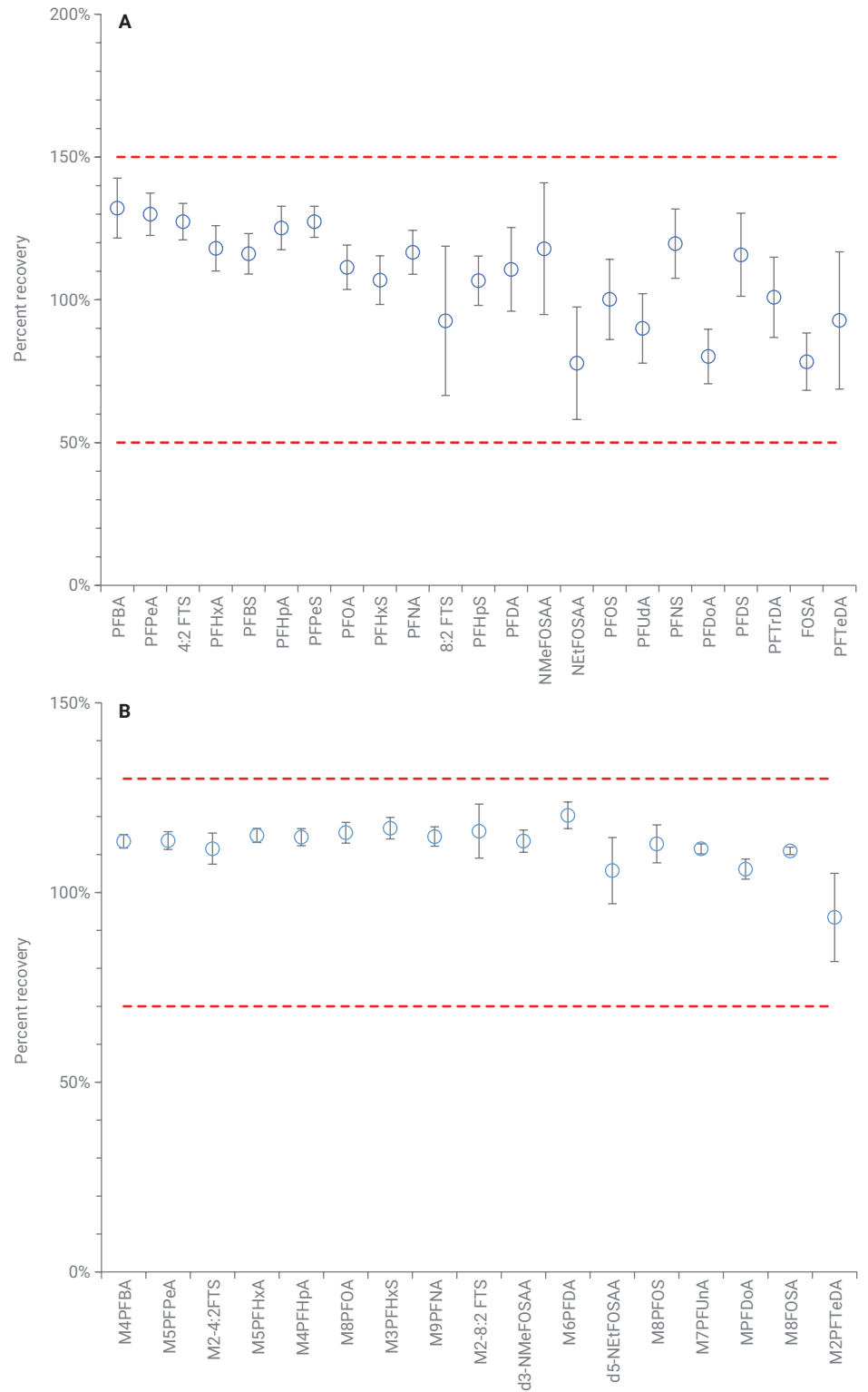


그림 14. 5ng/L 및 80ng/L의 LLOQ 용매 첨가물을 Agilent Captiva RC 필터 5회 반복 통과, PFAS 표적 물질(A) 및 대체 표준물질(B) 각각에 대한 평균 회수율. 오류 바는 1의 표준 편차를 의미합니다.

시료 매트릭스 추출

분석법의 바탕으로는 로미 샌드(Loamy sand)가 사용되었습니다. 6회 반복 추출의 결과는 그림 15에 나타나 있습니다. LLOQ 임계값을 초과하는 상대적으로 높은 농도의 PFAS, PFBA, PFHxA, PFOA가 나타났으며, PFHpA, PFNA, 8:2 FTS, PFDoA, PFTrDA, FOSA, PFTeDa 역시 높은 편으로 나타났습니다. 흥미롭게도 대체 표준물질의 회수율은 대략 2배의 상승을 보인 M2-8:2FTS만을 제외하고는 모두 70~130% 범위 내로 나타났습니다. 이는 매트릭스 이온화 증가로 인한 것으로 보이며, 다음 섹션에서 이에 대한 더 자세한 내용을 다루고 있습니다.

그림 16은 평균 6회 반복 실험을 수행한 LLOQ(25ng/kg)에서의 백그라운드가 제거된 로미 샌드 매트릭스 스파이킹 회수율을 보여줍니다. 모든 회수율은 매트릭스 유도 이온화 증가로 인해 8:2 FTS를 제외하고는 50~150%로 나타났습니다.

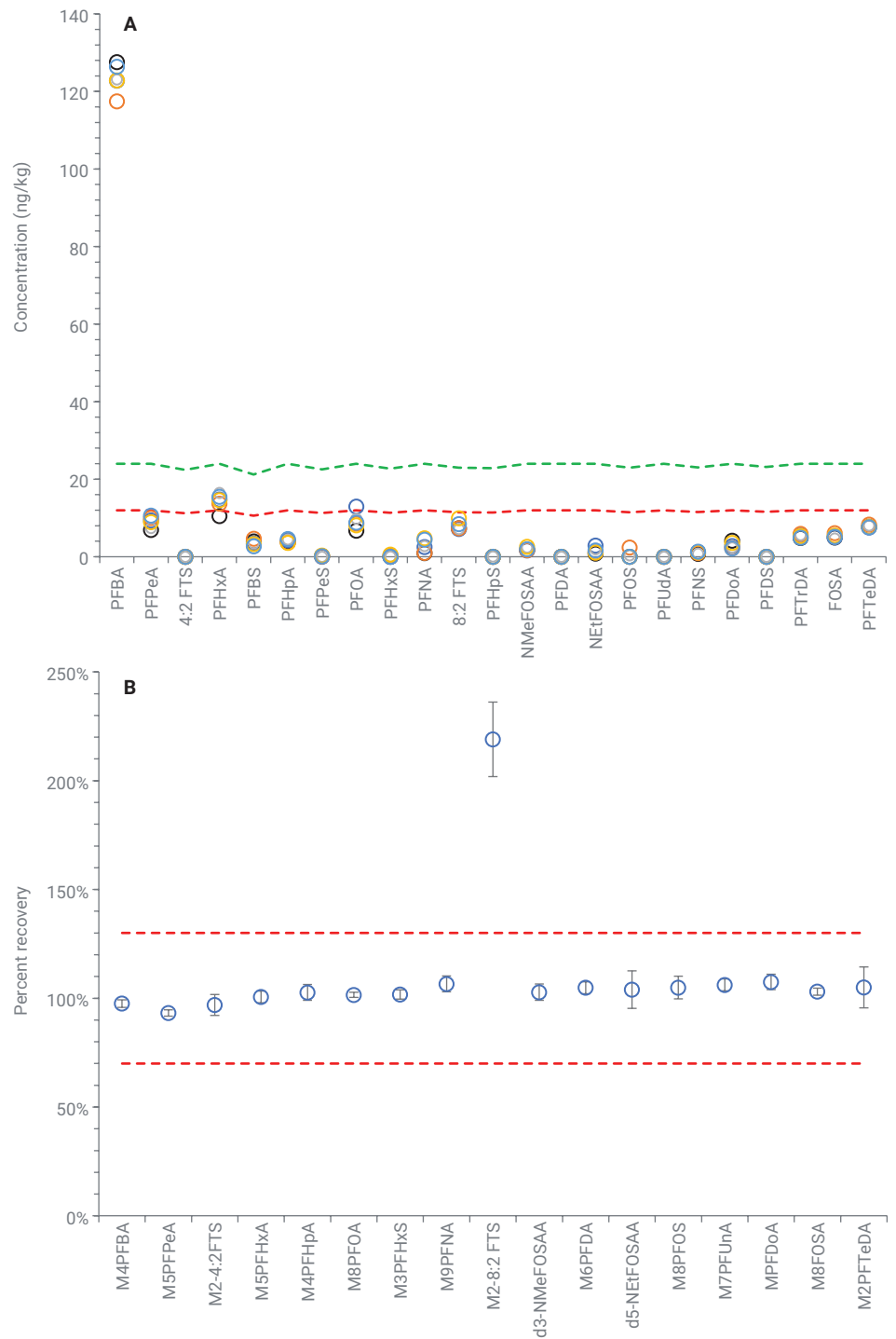


그림 15. 로미 샌드로부터의 분석법 바탕 추출물 6회 반복 분석 결과, PFAS 표적 물질 회수율(A)과 대체 표준물질 회수율(B).

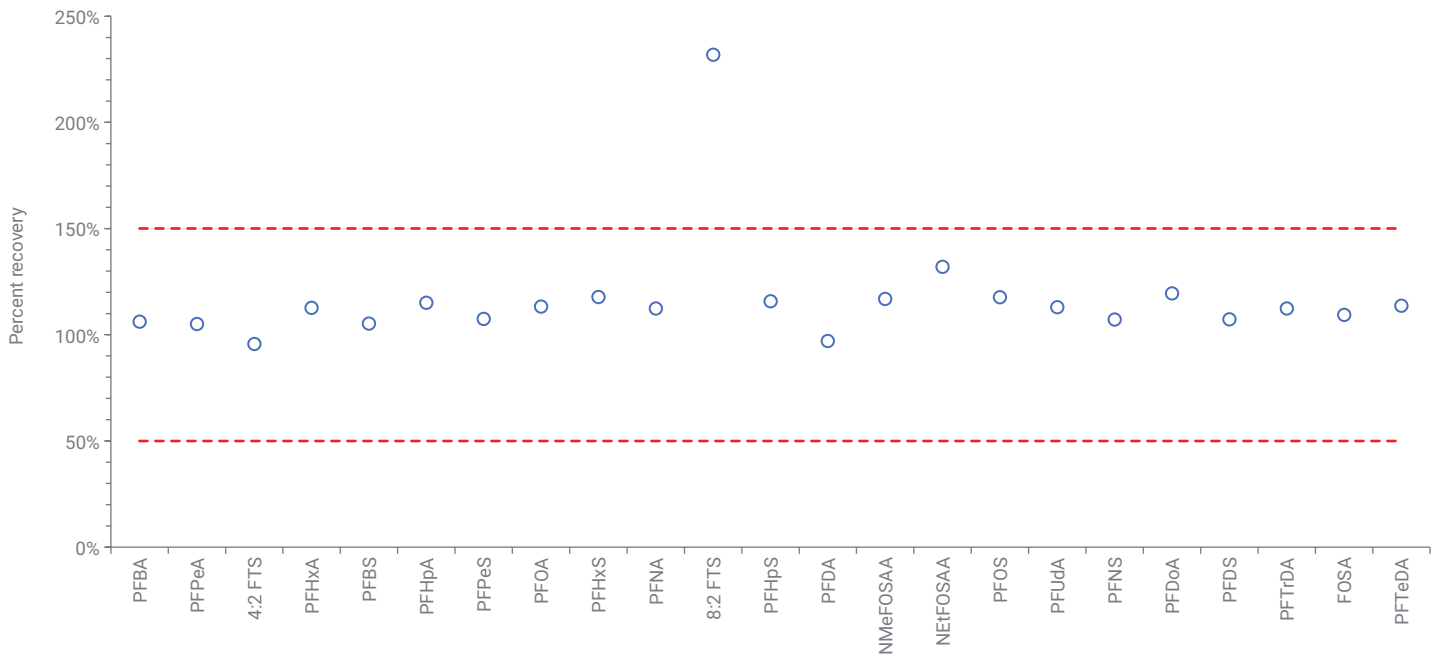


그림 16. LLOQ(25ng/kg)에서의 로미 샌드 매트릭스 스파이킹 회수율.

매트릭스 유도 이온화 증가

일부 PFAS 화합물은 이온화에서 매트릭스 효과에 취약한 것으로 여러 연구에서 보고되었습니다.^{9,10} 매트릭스 이온화 증가는 간접 성분의 동시 용리가 전자분무 액체 방울이 분열되며 분석 물질의 공간 분포가 변하면서 표준물질과 추출물 간

감응이 달라질 때 발생할 수 있습니다. 이로 인해 로미 샌드 추출물 내에서 8:2 FTS의 높은 회수율이 관찰된 것으로 여겨집니다 (그림 15와 16). 이 가설을 살펴보기 위해 표준물질과 추출물을 스캔 모드로 분석하여 동시 용리가 일어났는지 알아보았습니다. 그림 17A는 M2-8:2 FTS (m/z -529)의

추출된 이온 오버레이와 미지의 동시 용리 피크(m/z -445)를 보여줍니다. 반대로 그림 17B는 분석 표준물질 내 M2-8:2 FTS의 감응을 보여주며, 여기에서는 매트릭스 유도 이온화 증가의 증거인 미지의 동시 용리 피크가 나타나지 않았습니다.

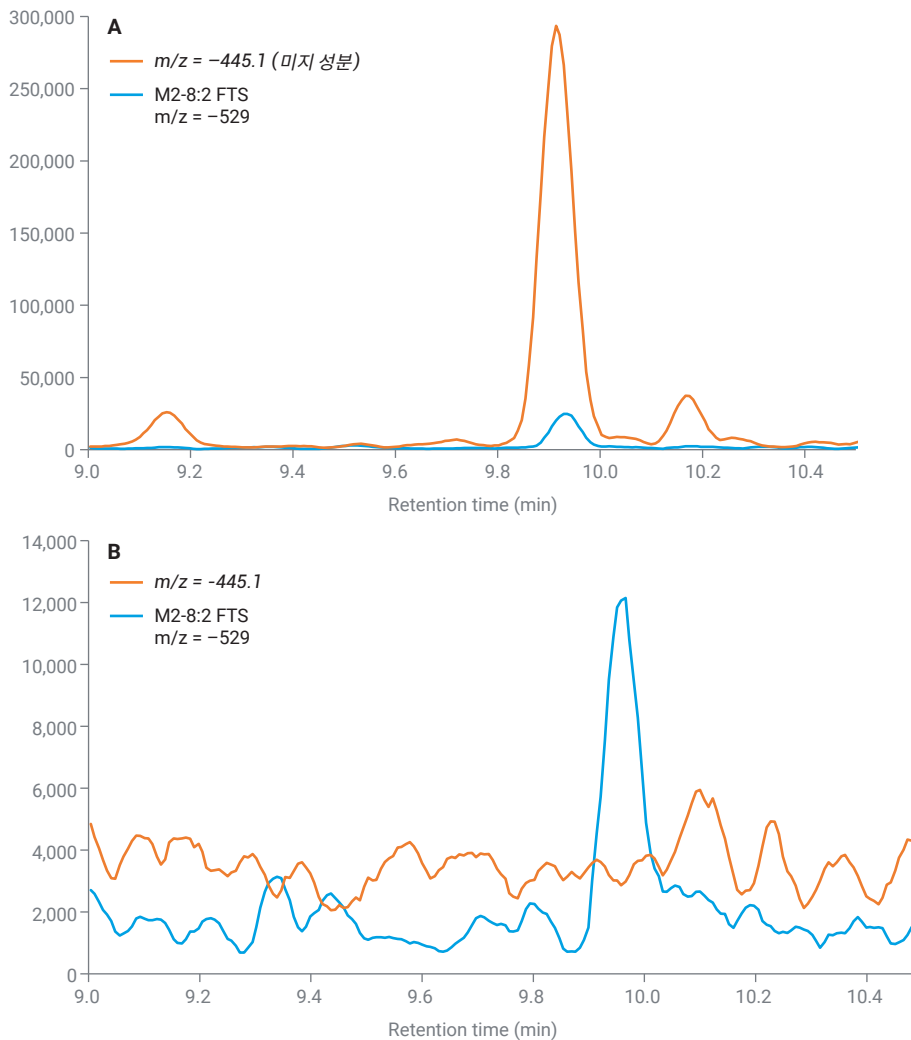


그림 17. M2-8:2 FTS 및 미지의 피크 동시 용리가 나타난 샌디 롬 추출물(A)과 분석 표준물질(B) 비교.

결론

믿을 수 있는 소모품의 사용은 EPA 8327, ASTM D7968-17a, D7979-19에서 규정하는 PFAS 분석의 시료 전처리 워크플로의 성패에서 매우 중요한 역할을 합니다. 이 응용 자료에서는 애질런트 15mL 원심분리 튜브, Agilent Captiva 일회용 시린지, Agilent Captiva 재생 셀룰로오스 시린지 필터가 PFAS 분석 시 특히 문제가 될 수 있는 간섭 및 손실 현상을 일으키지 않는다는 것을 보여주었습니다. 또한 소모품 사용 전 행금 과정을 생략할 수 있어 최적의 분석 성능을 유지하면서도 동시에 시간과 용매 사용량을 절약할 수 있었습니다.

참고 문헌

1. Prevedouros, K. et al. Source, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environmental Science & Technology* **2006**, 40(1), 32–44.
2. Lath, S. et al. Sorption of PFOA onto Different Laboratory Materials: Filter Membranes and Centrifuge Tubes. *Chemosphere* **2019**, 222, 671–678.
3. Schaefer, C. E. et al. Uptake of Poly- and Perfluoroalkyl Substances at the Air-Water Interface. *Environmental Science & Technology* **2019**, 53, 12442–12448.
4. Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Using External Standard Calibration and Multiple Reaction Monitoring (MRM) Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); SW-846 Method 8327; U.S. *Environmental Protection Agency*, **2019**.
5. PFAS Soil Validation Study, https://response.epa.gov/site/site_profile.aspx?site_id=12634 (Accessed May 20, 2020).

6. Söregård, M. *et al.* Losses of Poly- and Perfluoroalkyl Substances to Syringe Filter Materials. *J. Chromatog. A.* **2020**, 1609, 460430.
7. Standard Test Method for Determination of Polyfluorinated Compounds in Soil by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); D7968-17a; *ASTM International*, **2017**.
8. Standard Test Method for Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Water, Sludge, Influent, Effluent, and Wastewater by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS); D7979-19; *ASTM International*, **2019**.
9. Gao, Y. *et al.* Simultaneous Determination of Legacy and Emerging Per- and Polyfluoroalkyl substances in Fish by QuEChERS Coupled with Ultrahigh Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Methods* **2018**, 10, 5715–5722.
10. Nakayama, S. F. *et al.* Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Maternal Serum: Method Development and Application in Pilot Study of the Japan Environment and Children. *J. Chromatog. A* **2020**, 460933.

부록 A

표 A1. 화합물 MRM 파라미터.

화합물	전구 이온	생성 이온	머무름 시간(분)	Fragmentor (V)	충돌 에너지(V)
M4PFBA	217	172	4.333	61	8
PFBA	213	169	4.335	64	8
M5PFPeA	268	223	4.902	64	4
PFPeA	263	219	4.902	64	4
4:2 FTS	327	307	5.339	129	20
4:2 FTS	327	81	5.339	129	32
M2-4-2FTS	329	309	5.339	135	20
M5PFHxA	318	273	5.676	67	8
PFHxA	313	269	5.676	67	8
PFHxA	313	119	5.676	67	20
PFBS	299	99	6.114	141	32
PFBS	299	80	6.114	141	36
M4PFHpA	367	322	6.619	70	8
PFHpA	363	319	6.619	70	8
PFHpA	363	169	6.619	70	16
PFPeS	349	99	7.224	157	36
PFPeS	349	80	7.224	157	44
M8PFOA	421	376	7.613	76	8
PFOA	413	369	7.622	76	8
PFOA	413	169	7.622	76	20
M3PFHxS	402	80	8.369	166	48
PFHxS	399	99	8.370	166	40
PFHxS	399	80	8.370	166	48
M9PFNA	472	427	8.659	86	8
PFNA	463	419	8.660	89	8
PFNA	463	219	8.660	89	16
8:2 FTS	527	507	9.119	169	32
8:2 FTS	527	81	9.119	169	40
M2-8-2FTS	529	509	9.127	172	32
PFHpS	449	99	9.483	126	44
PFHpS	449	80	9.483	126	52
d3-NMeFOSAA	573	419	9.629	135	20
NMeFOSAA	570	483	9.638	129	16
NMeFOSAA	570	419	9.638	129	20
M6PFDA	519	474	9.674	89	8
PFDA	513	469	9.682	92	8
PFDA	513	219	9.682	92	16
d5-NEtFOSAA	589	419	10.081	132	20
NEtFOSAA	584	483	10.090	129	16
NEtFOSAA	584	419	10.090	129	20
M8PFOS	507	80	10.505	194	56
PFOS	499	99	10.506	194	48
PFOS	499	80	10.506	194	56

화합물	전구 이온	생성 이온	머무름 시간(분)	Fragmentor (V)	충돌 에너지(V)
M7PFUnA	570	525	10.643	101	8
PFUdA	563	519	10.644	95	8
PFUdA	563	269	10.644	95	20
PFNS	549	99	11.476	209	52
PFNS	549	80	11.476	209	56
MPFDoA	615	570	11.589	95	12
PFDoA	613	569	11.589	101	12
PFDoA	613	169	11.589	101	28
PFDS	599	99	12.420	209	56
PFDS	599	80	12.420	209	80
PFTTrDA	663	619	12.518	110	12
PFTTrDA	663	169	12.518	110	32
M8FOSA	506	78	12.858	160	36
FOSA	498	78	12.859	157	36
FOSA	498	48	12.859	157	80
M2PFTeDA	715	670	13.429	107	12
PFTeDA	713	669	13.430	110	12
PFTeDA	713	169	13.430	110	32

표 A2. 1/x 가중치의 선형 최소 제곱법 회귀를 사용한 표적 물질의 검량 정확도.

농도 (ng/L)	퍼센트 정확도																						
	PFBA	PFPeA	4:2FTS	PFHxA	PFBS	PFHpA	PFPeS	PFOA	PFHxS	PFNA	8:2 FTS	PFHpS	PFDA	NMeFOSAA	NEtFOSSA	PFOS	PFUdA	PFNA	PFDaA	PFDS	PFTrDA	FOSA	PFTeDA
5	99	95	101	99	100	92	89	99	96	94	101	73	87	95	113	94	88	91	102	90	105	107	103
10	103	103	114	101	96	106	98	94	101	106	95	107	110	105	87	105	102	98	97	105	90	92	94
20	99	99	83	95	100	99	109	102	101	92	98	114	88	96	85	94	95	98	85	93	87	95	82
40	98	99	98	102	100	99	103	101	99	103	100	103	107	100	103	104	108	106	110	107	113	103	118
60	99	103	99	101	104	102	103	102	100	102	101	104	109	102	108	100	104	106	101	101	98	102	97
80	98	101	104	101	101	103	100	103	103	103	108	100	103	103	108	101	109	105	110	107	111	102	114
100	106	101	103	103	101	101	100	101	104	103	101	104	102	101	105	107	101	101	99	103	100	101	98
150	99	100	100	101	102	102	101	101	101	99	100	97	100	103	97	100	99	99	100	100	102	101	99
200	100	98	99	97	97	97	97	97	97	98	96	97	95	96	96	96	95	96	96	95	94	97	95
R ²	0.999	1.000	0.998	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.998	0.997	0.996	0.999	0.995	0.998	0.997	0.998	0.996	0.997	0.994	0.999	0.991

표 A3. 1/x 가중치의 선형 최소 제곱법 회귀를 사용한 대체 표 물질의 검량 정확도.

농도 (ng/L)	퍼센트 정확도																
	M4PFBA	M5PFPeA	M2-4:2FTS	M5PFHxA	M4PFHpA	M8PFOA	M3PFHxS	M9PFNA	M2-8:2 FTS	M6PFDA	d3- NMeFOSAA	d5- NEtFOSAA	M8PFOS	M7PFUnA	MPFDoA	M8FOSA	M2PFTeDA
5	96	98	103	99	97	95	104	109	90	91	102	101	93	96	94	111	105
10	103	101	97	101	102	104	88	94	113	101	89	99	102	96	103	87	91
20	96	95	93	97	99	98	104	88	93	99	102	94	99	96	91	94	85
40	101	104	102	100	99	101	100	105	113	108	104	107	103	108	107	103	114
60	103	100	102	102	100	101	104	100	93	102	108	102	104	104	100	102	100
80	103	103	104	102	101	103	102	103	96	101	100	102	100	104	110	107	112
100	103	102	101	101	104	103	100	103	104	101	97	97	101	101	98	99	99
150	100	101	99	101	101	99	103	102	95	102	99	99	102	99	104	100	101
200	97	97	99	98	97	98	96	97	103	96	99	100	97	97	94	98	94
R ²	0.999	0.999	0.999	1.000	0.999	0.999	0.998	0.998	0.996	0.998	0.999	0.999	0.999	0.998	0.996	0.998	0.994

www.agilent.com/chem

DE44169.3621875

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 1월 27일, 한국에서 인쇄
5994-2999KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com