

Fiber내 유도체화/HS-SPME를 이용한 수용액 시료 중 휘발성 지방산의 분석

안윤경¹ · 이지연¹ · 김지형² · 홍종기^{1,*}

¹한국기초과학지원연구원 유해물질분석연구팀

²고려대학교 토목환경공학과

(2003. 10. 8. 접수, 2003. 11. 10 승인)

Determination of Volatile Fatty Acids in Aqueous Samples by HS-SPME with In-Fiber Derivatization

Yun Gyong Ahn¹, Jee Yeon Lee¹, Jeehyeong Kim² and Jongki Hong^{1,*}

¹Hazardous substance research team, Korea Basic Science Institute, Seoul, 136-701, Korea

²Department of Civil Environment Engineering, Korea University, Anam-Dong, Sungbuk-Ku, Seoul, Korea

(Received Oct. 8, 2003, Accepted Nov. 10, 2003)

요 약 : 수용액 시료 중 휘발성 지방산을 HS (headspace)-SPME (Solid phase microextraction)를 이용하여 간편하고 빠르게 분석하는 방법에 대하여 연구하였다. 1-Pyrenyldiazomethane (PDAM)을 이용한 화이버 내 유도체화를 통하여 휘발성 지방산의 검출감도를 향상시킬 수 있었으며, SPME 추출조건으로 pH, 염 효과 및 초음파 추출에 대하여 조사하였다. 본 연구에서 개발된 방법을 기반으로 실제 폐수 중 휘발성 지방산을 추출하여 기체크로마토그래피/질량분석기-선택이온검색법으로 정량 분석하였다.

Abstract : The HS (headspace)-SPME (Solid phase microextraction) as rapid and simple method was performed for the determination of volatile fatty acids (VFAs) from the aqueous samples. In-fiber derivatization of VFAs with 1-Pyrenyldiazomethane (PDAM) was applied to improve their sensitivity of detection. In SPME procedure, typical parameters such as effects of solution pH, and salting out reagent and ultrasonication were investigated to improve the extraction efficiency. Based on the developed method, VFAs in wastewater samples were determined by gas chromatography / mass spectrometry-selected ion monitoring (GC/MS-SIM) mode.

Key words : VFAs, HS-SPME, In-fiber derivatization, PDAM, GC/MS-SIM

1. 서 론

C₂-C₅까지의 휘발성 지방산 (Volatile Fatty Acids; VFAs)은 생물학적 처리과정에서 대사산물이나 중간생성물로 발생되며 acetic acid, propionic acid, 이성질체를 포함한 butyric acid과 valeric acid가 이에 해당된

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)2-920-0790 Fax : +82+(0)2-920-0789

E-mail : jongki@kbsi.re.kr

다.¹ 환경시료 중 VFAs의 측정은 중요한 의미를 가지는데 폐수처리나 매립지의 관리에 있어서 이들의 존재는 황화합물과 휘발성 아민류와 함께 냄새를 유발시키며 소각시설에서는 pH값을 낮추어 중금속을 용출시킬 수 있으므로 지속적인 모니터링이 필요하다.^{2,4} 또한 인 제거를 목적으로 한 폐수처리에 있어서는 이러한 지방산들이 미생물의 탄소원(carbon source)으로 쓰이기도 하므로 여러 가지 매질에 대한 이들의 측정은 필수적이라 볼 수 있다.⁵

현재까지 보고된 이들의 측정방법에는 적정법이 있으며 이는 지방산의 종(species)별 함량은 알 수 없고 VFAs의 전체함량만을 계산할 수 있다. 가장 일반적으로 사용되는 검출법은 기체크로마토그래피가 이용되고 있으며, 추출법으로는 액체-액체 추출법,⁶ 증류법,⁷ 퍼지 앤 트랩(purge & trap)⁸이 활용될 수 있다. 그러나 이들 지방산의 화학적, 물리적 특성은 강한 극성으로써 물에 대한 용해도가 크고 휘발성이 크기 때문에 수용액 시료로부터의 추출에 어려움이 있다.⁹

최근에는 추출조건을 다양하게 적용시켜 효율을 높일 수 있는 고체상 미량추출법(solid phase microextraction; SPME)이 많이 적용되고 있으나 물에 대한 용해도가 큰 이들의 추출시간을 크게 줄이진 못하였다.¹⁰ 또한 실제 환경시료에 있어서 이들 휘발성 지방산의 분리는 매질에 존재하는 방해물질들로 인하여 그 확인조차 쉽지 않은 경우가 있다. 폐수 중 지방산과 유사한 진단이온(diagnostic ion)을 가지며 칼럼에서의 머무름 시간(retention time)이 비슷한 방해물질들의 존재는 GC-FID나 GC/MS에 의한 분석을 불가능하게 하는 경우도 있기 때문이다.¹¹⁻¹²

본 연구에서는 이들 지방산의 유도체화를 통하여 보다 확인에 쉬운 진단이온을 갖는 유도체화물을 만들어서 방해물질로부터 분리와 확인을 용이하게 할 수 있었으며 검출감도를 높일 수 있었다. 또한 사용 온도에 제한을 가지며 수명이 짧은 폴리에틸렌 글리콜(polyethylene glycols; PEG)과 같은 극성 칼럼 대신 폴리실록산(polysiloxanes) 정지상의 안정한 정지상을 갖는 비극성 칼럼을 효과적으로 활용할 수 있었다.¹³ 유도체화 시약으로는 1-Pyrenyldiazomethane (PDAM)을 사용하여 휘발성 지방산의 유도체화 반응과 그 외 부가반응을 조사함으로써 이들에 대한 유도체화 효율을 알아보고자 하였다. SPME 절차로는 초음파 추출(ultrasonic extraction)을 통하여 수용액 시료 중 휘발성

지방산의 추출시간을 줄였으며, 염에 의한 영향(salting out effect)과 pH와 같은 추출조건을 최적화하였다. 이러한 추출조건을 가지고 실제 폐수시료에 적용하여 봄으로써 추출과 동시에 유도체화 반응에 의한 정량이 가능함을 보였다.

2. 실험방법

2.1. 시약 및 기기

본 연구에서 사용된 acetic acid (99.9%) 및 propionic acid (99.5%) 원액은 Aldrich (Seelze, Germany)에서 구입하였고 butyric acid (99%)과 valeric acid (99%)은 Fluka (Buchs SG, Switzerland)에서 구입하여 사용하였다. 유도체화 시약으로 1-Pyrenyldiazomethane (PDAM)은 Molecular Probes사(Eugene, OR, USA)에서, bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA)는 Supelco사(Bellefonte, PA, USA)에서 구입하였다. 사용된 모든 유기용매는 J. T. Baker사(Phillipsburg, NJ, USA)의 잔류농약 분석용이었다.

기체크로마토그래프 / 질량분석기는 Agilent (Palo Alto, CA, USA) HP6890 gas chromatograph / HP5973 mass selective detector를 사용하였으며, MS의 이온화 방식으로 전자충격 이온화(electron impact)법을 사용하였다. 이때 이온화 에너지는 70 eV 였으며, 이온원의 온도는 230 °C 였다. 사용된 칼럼은 J&W Scientific사 (Palo Alto, CA, USA)의 (5%-phenyl)-methylpolysiloxane (HP-5MS) 용융 실리카 모세관 컬럼으로 안지름이 0.25 mm, 길이 30 m, 막두께 0.25 μm인 것이었다. 칼럼의 온도 조건은 스캔 모드(scan mode)에서 운영할 때는 초기온도 40 °C에서 5분간 머무르고 분당 10 °C씩 승온하여 최종온도를 300 °C로 올려서 휘발성 지방산의 유도체화 반응과 그 외 부가반응물을 얻었다. 휘발성 지방산의 유도체화물은 비교적 높은 온도에서 검출되므로 빠른 분석과 정량을 위한 감도 높은 분석에 사용된 선택이온검색모드에서는 180 °C에서 2분간 머무르고 분당 10 °C씩 승온하여 최종온도를 300 °C로 올려 사용하였다. 이때 GC 주입구 온도는 280 °C 였으며 선속도는 40 cm⁻¹로 하였다. SPME 장치는 Supelco의 manual holder와 85 μm polyacrylate (PA) 화이버(fiber)를 사용하였으며 안지름 0.75 mm의 injection port liner가 사용되었다.

2.2. 유도체화/SPME 실험과정

고체상태로 존재하는 유도체화 시약, PDAM은 핵산에 녹여 5 mg/mL 로 만들어 사용하였다. PA 화이버는 사용 전에 300 °C에서 2시간 열처리하였으며 분석 완료시 같은 온도에서 열세척하여 사용하였다. 이 화이버를 소량의 PDAM 용액에 60분 동안 담그어 화이버에 PDAM이 포화되도록 만들었다. Trimethylsilyl 유도체 반응을 위해 사용한 BSTFA는 원액을 같은 방법으로 화이버에 포화시켰다. 유도체화/SPME의 추출조건을 얻기 위하여 pH 2, pH 4, pH 7, pH 10의 완충용액과 Na₂SO₄가 사용되었다. 4 mL vial에 혼합표준용액이 0.01~100 ppm이 되도록 수용액을 2 mL 취하고 테프론 처리된 고무마개를 닫아 밀봉하였다. 유도체화 반응 전에 초음파 세척기(Branson 5510 model; Redding, CA, USA)에 시료용기를 넣고 휘발성 지방산을 20분간 추출한 후 유도체화 시약으로 포화된 PA 화이버를 고무마개를 통해 조심스럽게 찢어 넣는다. 휘발성 지방산은 40분간 헤드 스페이스(headspace) 부분에 위치한 유도체화 시약으로 포화된 화이버에 의해 추출과 유도체화 반응을 동시에 일으킨다. 추출된 유도체화물을 GC의 주입구 280 °C 안에 주입하여 탈착시킨다. 이와 같은 실험조건으로 VFAs의 정량분석을 위한 검량선을 얻기 위하여 0.01~100 ppm 농도범위에서 5개 농도를 분석한 결과 r^2 는 0.99이상의 좋은 직선성을 보였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 휘발성 지방산의 유도체화 특성

수용액 시료 중 휘발성 지방산의 분석으로 HS-SPME방법을 이용하여 추출과 유도체화 반응을 동시에 수행하였다. 유도체화 반응은 유도체화 시약으로 입혀진 SPME 화이버에서 휘발성분의 흡착과 동시에 이루어지며 시료 용기 내에서 화이버는 헤드 스페이스에 위치하게 하였다. 유도체화를 위해 사용된 시약은 PDAM과 BSTFA였다.

휘발성 지방산의 유도체화 반응 목적은 분석물질의 극성을 줄이고 열적으로 안정한 유도체화물을 만들어서 크로마토그래피에서 보다 감도 높은 분석을 할 수 있게 하기 위함이다.¹⁴⁻¹⁶ 본 연구에서는 우선 VFAs의 유도체화 반응의 여부에 따른 GC/MS분석에서 감도 차이를 조사하였다. Fig. 1에서 보듯이 acetic acid과

propionic acid은 칼럼에서 같이 용출되어 나온 휘발성 추출 물질들로 인해 분리가 되지 않았다. 또한, 각 VFA의 피크 모양이 매우 넓게 나타나며 매우 낮은 감도를 보여주었다. 반면 PDAM을 이용한 유도체반응 후, GC/MS로 분석한 total ion chromatogram(TIC)를 Fig. 2에 도시하였다. PDAM유도체화 반응을 한 후 VFAs의 피크 꼬리끌림(peak tailing) 현상도 없고 매우 높은 감도를 보여주었다. 또한 acetic acid-PDAM 및 propionic acid-PDAM은 앞서 휘발성 물질들과 확연히 분리되어 나오므로 방해물질에 의한 간섭을 전혀 받지 않는 장점이 있으며 더 낮은 농도에서도 휘발성 지방산을 보다 감도 높게 분석할 수 있음을 알 수 있었다.

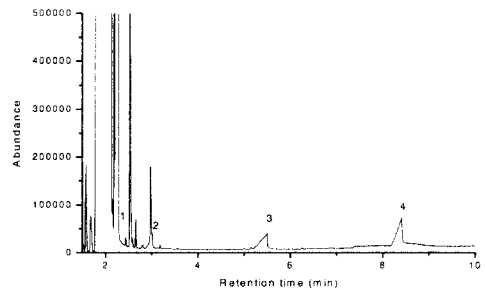


Fig. 1. Total ion chromatogram of VFAs (each 50 ppm) obtained by HS-SPME without derivatization. Peak's identity as follows: 1. acetic acid, 2. propionic acid, 3. butyric acid, 4. valeric acid.

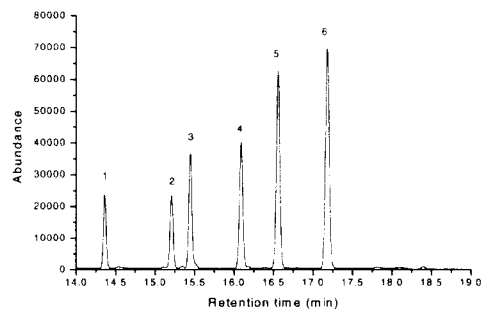


Fig. 2. GC/MS-SIM of VFA (each 4ppm) after PDAM derivatization by HS-SPME Peak's identity as follows: 1. acetic acid/PDAM ester, 2. propionic acid/PDAM ester, 3. iso-butyric acid/PDAM ester, 4. n-butyric acid/PDAM ester, 5. iso-valeric acid/PDAM ester, 6. n-valeric acid/PDAM ester.

다음으로 VFAs의 PDAM 유도체화물의 질량스펙트럼을 살펴보았다. 대표적인 예로서 Fig. 3에 나타내었듯이 propionic acid-PDAM 유도체화물의 질량스펙트럼을 살펴보면, 분자이온(molecular ion)이 m/z 288과 pyrenylmethyl 그룹이 떨어져서 생기는 m/z 215가 특성적으로 나타난다.¹⁷ 일반적으로 propionic acid 자체의 질량 스펙트럼에서는 낮은 분자이온과 조각이온들이 나타나므로 이들 이온을 선택이온으로 선정하였을 때, 폐수 중에 있는 많은 방해물질에 의한 영향을 받기 때문에 정확한 정량분석이 용이하지 않다. 그러나 PDAM으로 유도체화된 VFAs의 질량스펙트럼에서는 높은 세기의 분자이온과 특성적인 pyrenylmethyl ion이 공통적으로 나타나며 이들 두 이온을 선택이온 검색법으로 정량분석을 하면 확인 및 정량분석을 보다 쉽게 수행할 수 있다.

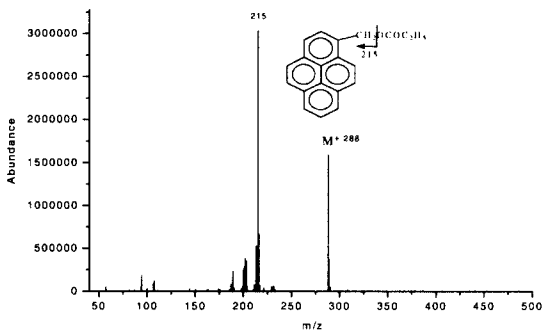


Fig. 3. Mass spectrum of propionic acid derivatized with PDAM.

PDAM과의 유도체화 반응을 통해 얻어지는 VFAs의 GC/MS 분석결과에 나타난 머무름 시간(retention time, RT)과 특성이온을 Table 1에 실었으며, 이성질체가 존재하는 butyric acid와 valeric acid의 경우 이들의 머무름 시간을 통하여 확인 및 정량이 가능하다. VFAs류의 PDAM 유도체화 반응을 Fig. 4에 도식화 하였다. 지방산은 PDAM과 에스테르화 반응을 통하여 유도체화물을 만들고, 이는 diazomethane으로 carboxylic acid의 에스테르화 반응과 매우 유사한 생성 메커니즘을 따른다.¹⁸ 그러나 수용액 중에 존재하는 VFAs를 SPME 방법으로 추출하는 과정에서 미량의 수분이 화이버에 흡착되고 이들이 반응에 참여하여 methylpyrene, pyrenealdehyde, pyrenebezylalcohol과 같은 부산물이 생성된다.

Table 1. Retention time and mass spectral characteristic ions of VFAs derivatives with PDAM

Compound	Retention time (min)	molecular ion (m/z)	fragmented ion (m/z)
acetic acid	14.4	274	
propionic acid	15.2	288	
iso-butyric acid	15.5	302	215
n-butyric acid	16.1		
iso-valeric acid	16.6	316	
n-valeric acid	17.2		

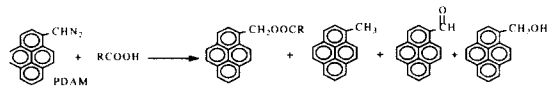


Fig. 4. Reaction scheme of the PDAM with fatty acids from aqueous phase.

Fig. 5는 수용액상의 매질에 휘발성 지방산을 첨가하여 형성된 휘발성분이 화이버에 포화상태로 입혀진 유도체화 시약 PDAM과 반응하여 생성된 화합물들의 TIC를 나타낸 것이다. Fig. 5의 4~9번 피크는 유도체화 반응을 통해 생성된 VFAs 유도체화물(acid/PDAM esters)이고, 1~3번 피크는 미량의 수분에 의해 생성된 화합물들이다. Fig. 5에서 보듯 스캔 모드에서 유도체화 되지 않은 지방산의 피크가 없음을 통해 휘발된 지방산은 충분히 포화된 시약으로부터 완전한 유도체화 반응을 일으킨 것으로 보인다. 또한 유도체화된 VFAs도 열이나 기타 부산물에 의한 반응을 보이지 않는 안정한 생성물을 형성한다. 이와 같은 사실은 PDAM의 유도체화 반응을 통한 VFAs 분석이 재현성 있는 결과를 보일 수 있음을 제시해 준다.

본 연구에서는 SPME 전처리 과정 중 시료 용기 내 헤드 스페이스에서 유도체화 반응이 가능하므로 유도체화 반응속도가 빠른 silylation 반응을 함께 시도하여 보았다. 그러나 PDAM이 지방산과의 반응으로 하나의 유도체화물을 생성하는 것과는 달리 BSTFA의 경우 지방산과의 반응으로 지방산-TMS ester이외 trifluoroacetamide와 trifluorotrimethylsilylacetylacetamide를 동시에 생성한다.¹⁹⁻²⁰ 또한 헤드 스페이스 내 미량 수분의 존재도 부가적인 반응들로 인해 수용액 시료 중 VFAs의 분석에는 적합하지 않았다. 이러한 결과로 볼 때 VFAs의

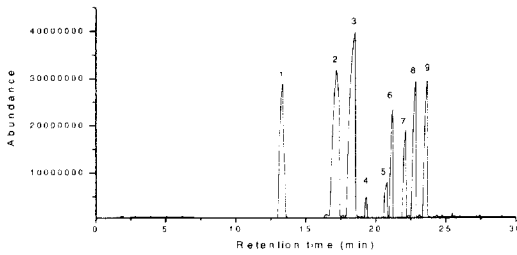


Fig. 5. Total ion chromatogram of PDAM derivatized VFAs by HS-SPME. Peak's identity as follows: 1. methylpyrene, 2. pyrenaldehyde, 3. pyrenbezyalcohol, 4. acetic acid/PDAM ester, 5. propionic acid/PDAM ester, 6. *iso*-butyric acid/PDAM ester, 7. *n*-butyric acid/PDAM ester, 8. *iso*-valeric acid/PDAM ester, 9. *n*-valeric acid/PDAM ester.

PDAM 유도체화는 TMS 유도체화 반응보다 어느 정도 습한 실온조건에서도 반응이 안정적이며 유도체화를 위한 반응 온도에도 크게 영향을 받지 않아서 더 효과적임을 알 수 있었다. 그러나 PDAM은 상온에서 고체 상태로 존재하기 때문에 유도체화 반응을 위해서는 비양성자성 용매 (aprotic solvent)를 선택하여야 한다.²¹ 여기서는 5 mg/mL 의 핵산에 녹여 사용하였다. 유도체화를 위해 사용되어지는 PDAM 용액은 소량으로도 SPME 화이버를 포화시키기에 충분하므로 경제적으로 사용되어질 수 있다.

VFAs를 분석한 다른 연구결과들에서는 비유도체화에 따른 여러 가지 제한점을 보였다. 우선 폴리 에틸렌 글리콜과 같은 극성 정지상 칼럼의 사용은 폴리실록산 칼럼보다 덜 안정적이고, 사용온도에 제한이 있으며 사용수명이 짧은 단점을 가진다. 또한 칼럼을 가용 온도범위 내에서 사용하지 못한 경우나 산소에 노출될 경우 사용수명은 짧아지고, 잦은 피크 꼬리 끌림 현상을 보이는 것은 극성 정지상 칼럼에서 일반적으로 볼 수 있는 문제점이다.²² M. Abalos 등의 연구^{10,23}에 따르면 비유도체화 SPME 방법으로 VFAs을 분석하여 각 화합물별 ppm농도의 비교적 높은 수치의 검출한계값을 얻었으며, 그 중에서도 acetic acid의 검출한계는 0.6 ppm으로써 그 이하로 존재하는 환경시료에서는 정확한 측정이 어렵다고 보고하였다. 또한 실제 폐수 중 VFAs의 분석에 있어 방해물질들의 존재로 인해 휘발성 지방산의 정성, 확인이 GC-FID는 물론 GC-EI-MS로도 어려웠음을 밝혔다. 따라서 본 연구

는 매질에서 발생하는 휘발성 방해물질로부터 VFAs를 효과적으로 분리해 내고 보다 극미량의 분석을 할 수 있는 방법으로 SPME 화이버내 유도체화 방법이 효율적임을 보여 주었다.

3.2. 유도체화/HS-SPME 분석 조건

휘발성 지방산은 그 친수성으로 인해 물에 대한 용해도가 큰 특징을 가지고 있으며 특히 acetic acid, propionic acid, butyric acid의 물에 대한 용해도는 무한대로 알려져 있다.²⁴ 이러한 성질은 수용액 중 이들의 분석이 통상적인 액-액 추출법으로는 한계가 있어 추출할 용매의 선택이 어려울 뿐 아니라 유도체화 반응 또한 용매의 존재로 인해 생기는 부산물 때문에 선택성이 떨어진다. 그러나 HS-SPME 방법을 이용할 경우 빠르고 간편한 추출 뿐 아니라 유도체화 반응을 동시에 할 수 있어서 시료 처리 시 생길 수 있는 분석대상물질의 손실을 줄일 수 있을 뿐 아니라 추출된 휘발성분은 헤드 스페이스상의 화이버 내에서 유도체화 되므로 다른 성분과의 부산물을 줄일 수 있다.

본 연구에서는 분석물질의 용해도로 인한 매질로부터 추출 문제는 유도체화 이전에 초음파를 가하여 추출효율을 높이고자 하였다. 초음파는 몇 시간씩 걸리는 추출시간을 수분으로 줄일 수 있어서 다양한 매질에 적용되었던 방법^{25,26}으로써 SPME 추출조건과 같이 추가적으로 사용하였을 때 더 효과적인 것으로 나타났다. SPME 추출조건 중 추출시간은 1시간 이상 꾸준히 늘려도 휘발성 지방산의 감도는 크게 증가하지 않으나 Fig. 6에서와 같이 시료에 초음파를 10~50분까지 10분 간격으로 추출시간을 주었을 때 20분에서 가장 많은 추출이 이루어짐을 알 수 있었다. 이는 초음파에 의한 온도상승 영향으로 시간이 증가 할수록 매질로부터의 VFAs 추출율은 증가하나 20분 이상에서는 화이버 주위 온도 또한 상승하여 화이버에 의해 흡착되었던 분석물질이 다시 탈착되는 것으로 보여진다.

Fig. 7은 SPME 실험조건으로 용액의 pH와 염 첨가 (salting out effect)에 의한 추출효과를 나타낸 것이다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 pH가 낮아질수록 추출효율은 더 증가함을 알 수 있다. 휘발성 지방산의 해리 상수 pKa 값은 4.5~4.9로써¹⁸ pKa 보다 낮은 pH 영역에서는 RCOO⁻보다 RCOOH가 더 우세하게 존재하여 휘발에 의한 추출에 더 효과적인 것으로 나타났다. 염을 첨가했을 때의 추출효과를 알아보기 위하여 pH 2인

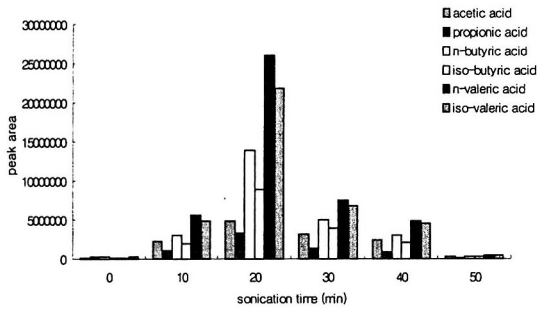


Fig. 6. The effect of sonication time with PDAM without pH control.

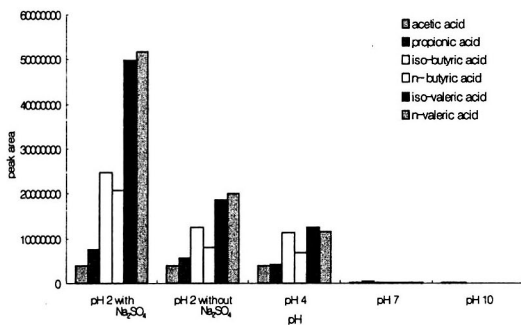


Fig. 7. The effect of pH and adding salt with 20 min of sonication.

수용액에 Na_2SO_4 를 2.11 M이 되도록 첨가하였다. 염은 수용액에 포화상태로 첨가 되었으며 수용액의 이온세기 (ionic strength)증가는 Fig. 7에서와 같이 추출율에 있어서 pH에 의한 효과보다 더 큰 것으로 나타났다. 또한 염을 첨가했을 때의 추출 효과는 지방산의 탄소수가 증가함에 따라 더 커진다는 것을 알 수 있었으며 acetic acid과 propionic acid의 경우 염 첨가 효과가 비교적 적은 반면 valeric acid에서는 매우 효과적인 것을 알 수 있었다. pH 조절과 염 첨가와 더불어 초음파 추출을 사용할 경우 전체적인 휘발성 지방산의 추출감도는 Fig. 6과 7에서와 같이 크게 증가하는 것으로 나타났다.

실제 환경시료에 대한 이러한 유도체화/SPME 조건의 적용성을 알아보기 위하여 도시 하수를 채취하여 휘발성 지방산을 분석하였다. 채취한 시료는 배수 형태가 다른 분류식, 합류식에서 나온 하수로서 시료의 pH는 5.7~6.9였다. 이러한 시료에 염산을 이용하여 pH 2로 조절하였고, 4 mL 시료 용기에 염을 첨가한 후 시료 2 mL을 채취하였다. 20분간 초음파 추출을

가한 시료 용기에 유도체화 시약 PDAM으로 포화되어진 PA 화이버를 꽂아서 화이버내 추출과 유도체화 반응이 동시에 일어날 수 있도록 40분간 방치하였다. 이 화이버를 280 °C의 GC 주입구에 꽂아 유도체화물을 탈착시켜 얻은 결과는 Fig. 8과 같았고, 시료별 농도는 Table 2와 같았다. 분류식 형태의 하수에서는 각 휘발성 지방산이 모두 검출된 반면, 오수와 우수를 한꺼번에 배수하는 합류식 형태의 하수에서는 acetic acid만이 검출되었다. Fig. 8에서 볼 수 있듯 유도체화 반응에 의한 폐수 중 휘발성 지방산은 초기 용출되는 방해물에 의한 영향 없이 모두 분리가 가능했으며, 두 시료 모두 acetic acid가 가장 높은 농도로 존재함을 알 수 있었다. 폐수 중 휘발성 지방산의 분석은 이러한 면으로 볼 때 유도체화를 이용한 SPME 분석 방법이 보다 효과적으로 사용될 수 있으리라 판단된다.

Table 2. Concentration of VFAs derivatives with PDAM obtained from wastewater sample

Compound	Concentration (mg/L)	
	Sample 1 (separated system)	Sample 2 (combined System)
acetic acid	13.23	2.07
propionic acid	10.15	N.D
iso-butyric acid	0.12	N.D
n-butyric acid	0.48	N.D
iso-valeric acid	0.11	N.D
n-valeric acid	0.06	N.D

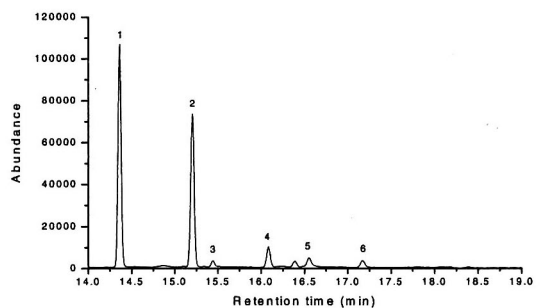


Fig. 8. Total ion chromatogram of VFAs derivatives with PDAM by HS-SPME extracted from wastewater sample. Peak's identity as follows: 1. acetic acid/PDAM ester 2. propionic acid/PDAM ester, 3. iso-butyric acid/PDAM ester, 4. n-butyric acid/PDAM ester, 5. iso-valeric acid/PDAM ester, 6. n-valeric acid/PDAM ester

4. 결 론

수용액 시료 중 휘발성 지방산의 분석으로 화이버 내 추출과 유도체화 반응을 동시에 수행하였다. 유도체화 시약으로 사용한 PDAM과 BSTFA 중 시료 매질에 의한 영향이 적고 안정한 유도체화물을 만드는 PDAM이 유도체화에 적절한 시약으로 선택되었다. PDAM은 SPME 화이버에 적은 양으로 쉽게 포화되어 추출과 동시에 유도체화가 가능하였다. SPME 조건으로는 초음파를 이용하여 20분간 추출하였고 용액의 pH를 2로 조절하였을 때와 염을 첨가하였을 때 추출 효율이 가장 좋은 것으로 나타났다. 이러한 조건으로 실제 폐수 분석에 적용하여 본 결과 휘발성 지방산에 따라 0.06~13.2 ppm의 농도로 존재하는 것을 알 수 있었다. 특히 acetic acid와 propionic acid의 감도는 유도체화 반응을 통해 크게 증진될 수 있었으며, 추출과 유도체화 반응을 동시에 이용한 이러한 방법은 다양한 매질에서 극성화합물의 분석에 쉽게 활용될 수 있을 것이다.

참고 문헌

1. A. Tangerman, F. M. Nagengast, *Anal. Biochem.*, **236**, 1-8(1996)
2. G. Manni, F. Caron, *J. Chromatogr A.*, **690**, 237-242(1995)
3. Z. H. Huang, C. C. Sweeley, *Anal. Chim Acta*, **259**, 185-192(1992)
4. D. W. Rhodes, *Soil Sci. Am. Proc.*, **21**, 389-392(1957)
5. P. D. Ahlfield, M. M. John and F. P. George, *Water Res.* **9**, 77-84(1986)
6. M. C. Wentzel, G. A. Ekama and G. Marais, *Water Sci. Technol.*, **23**, 555-568(1995)
7. A. E. Greenberg, R. R. Trussell and L. S. Clesceri, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 16th Ed., p. 504, American Public Health Association, Washington, DC, U.S.A., 1985
8. T. J. Clark, J. E. Bunch, *J. Chromatogr. Sci.*, **35**, 206-219(1997)
9. A. Vairamurthy, K. Mopper, *Anal. Chim Acta*, **237**, 215-221(1990)
10. M. Abalos, J. M. Bayona and J. Pawliszyn, *J. Chromatogr A.*, **873**, 107-115(2000)
11. M. Abalos, J. M. Bayona, *J. Chromatogr A.*, **891**, 287-294(2000)
12. I. Murad, H. Helalh, S. Fujii and T. Korenaga, *Talanta*, **54**, 1039-1047(2001)
13. G. E. Bailescu, V. A. Ilie, "Stationary Phases in Gas Chromatography", B. M. Trost, I. Fleming, Ed., Pergamon Press, Oxford, UK, 1975
14. I. Murad, H. Helalh, Y. Takabayashi, S. Fujii and T. Korenaga, *Anal. Chim Acta*, **428**, 227-234(2001)
15. J. G. Andrew, Groen L. A. and M. E. Johnson, *J. Chromatogr A.*, **849**, 541-552(1999)
16. G. Gmeiner, P. Gartner, C. Krassnig and H. Tausch, *J. Chromatogr B.*, **766**, 209-218(2002)
17. L. Pan and J. Pawliszyn, *Anal. Chem.*, **69**(2), 196-205(1997)
18. S. H. Pine, "Organic Chemistry," 5th Ed., p. 272, McGraw-Hill, New York, U. S. A., 1985
19. Wang, Y. *Ph. D. Thesis : A study of solid phase microextraction and headspace sampling.*, University of virginia, 1997.
20. Y. Jianzhen, C. F. Richard and H. S. John, *Environ. Sci. Technol.* **32**(16), 2357-2370(1998)
21. J. Schneede, P. M. Ueland, *Anal. Chem.*, **64**, 315-319(1992)
22. O. Pinho, I. M. Ferreira and M. A. Ferreira, *Anal. Chem.*, **74**(20), 5199-5204(2002)
23. J. A. Cruwys, R. M. Dinsdale, F. R. Hawkes and D. L. Hawkes, *J. Chromatogr A.*, **945**, 195-209(2002)
24. L. Pan, M. Adams and J. Pawliszyn, **67**(23), *Anal. Chem.*, 4396-4403(1995)
25. T. Lewis, P. D. Nichols and T. A. McMeekin, *Microbiological Methods*, **43**, 107-116(2000)

26. M. Mecozzi, M. Amici, G. Romanelli, E. Pietrantonio, and A. Deluca, *J.Chromatogr A.*, **963**, 363-373(2002)