

환경 및 생체시료 중 과불화 화합물의 분석 동향

이원웅 · 장원희 · 표희수¹ · 강태석² · 홍종기[★]

경희대학교 약학대학 약학과 & 경희동서약학연구소
¹한국과학기술연구원 융합오믹스센터, ²식품의약품 안전청
(2010. 4. 16. 접수, 2010. 7. 4. 승인)

Analytical trend of perfluorinated compounds in environmental and biota samples

Won-Woong Lee, Won-Hee Chang, Heesoo Pyo¹, Tae Seok Kang² and Jongki Hong[★]

College of Pharmacy & Kyung Hee East-West Pharmaceutical Research Institute,
Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

¹Bioanalysis and Biotransformation Research Center, Korea Institute of Science
and Technology P.O. Box 131, Seoul 130-650, Korea

²Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-713, Korea

(Received April 16, 2010; Accepted July 4, 2010)

요 약: 과불화 화합물(perfluorinated compounds, PFCs)은 열과 산성, 염기 등과 같은 화학적 조건에 높은 안정성을 갖고 있을 뿐만 아니라 발수성, 발유성, 방오성과 제품 친화적인 특징 때문에 다양한 산업 소재로 활용되고 있으며, 근래에 이르러서는 대규모로 생산되고 있는 산업제품이다. 그러나 난분해성으로 인하여 환경 내에 잔류하여 전세계적으로 널리 분포하고 있을 뿐만 아니라 인체나 동식물에 이르는 생물체에 이르기까지 오염되어 분포하고 있다. 또한 인체를 비롯한 생물체에 장기적으로 축적될 시 암 등을 유발할 가능성이 있다고 보고됨에 따라 이에 대한 관심이 증가하고 있다. 최근 스톡홀름 협약에서 과불화 화합물을 새로운 환경지속성오염물질(persistent organic pollutants, POPs)로 규정함에 따라 이에 대한 분석법의 중요성이 대두되고 있다. 본 연구에서는 다양한 환경 및 생체 시료 내에서 과불화 화합물의 분석법에 대한 연구의 중요성 및 문제점과 더불어 최근 연구 동향을 소개하였다.

Abstract: Perfluorinated compounds have characteristics of resistance to heat, acidic, basic conditions and also resist water, oil, grease, pollutant. Furthermore they are used by various industrial material, nowadays, they produced in large scale for industrial and commercial areas. However, they also resist metabolizing and degrading in environmental system (plant, animal, even human body). Moreover, in animal's bodies, PFCs can be accumulated in organ (eg; liver) and lead to liver cell necrosis even oncogenesis. Perfluorinated compounds are newly registered as new persistent organic pollutants (POPs) on Stockholm convention in 2009. Therefore necessity for analytical methodology for determination of PFCs in various environmental samples is even more increased. This study discussed sample preparation and instrumental conditions for the analysis of PFCs in environmental and biota samples.

Key words: perfluorinated compounds, sediments, sludge, blood, plasma, serum, LC-MS, LC-MS/MS

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-961-9255 Fax : +82-(0)2-961-0357

E-mail : jhong@khu.ac.kr

1. 서 론

불화유기화합물은 탄소와 불소 원자로 이루어져 있으며 자연계에 일반적으로 존재하는 불화유기화합물보다 산업적으로 생산된 불화유기화합물이 더 많은 불소 원자를 포함하고 있다.^{1,2} 인공적으로 만들어진 불화유기화합물인 과불화 화합물(perfluorinated compounds; PFCs)은 열, 기름, 녹, 유지, 물에 대한 저항성을 가지고 있어 산업적으로 널리 사용되어 왔다. 이러한 과불화 화합물은 생산 및 사용에서부터 폐기로 인한 전 과정에 걸쳐 자연 환경계로 유입되고 있다. 그러나 이 물질들은 안정한 화학적 구조로 인해 자연 생태계에서 분해성이 낮아 오랫동안 잔류하는 특성과 생체 내에서 쉽게 대사되지 않고 생물 농축을 유발시키는 특성이 있다. 최근에 과불화 화합물이 쥐와 같은 설치류를 이용한 실험에서 간 독성을 유발한다는 것이 밝혀졌고 청둥오리와 같은 조류를 이용한 실험에서 용량에 따라 급성 독성이 유발되는 것을 확인하였다.^{3,4} 이러한 유발 기전은 아직 정확히 밝혀지지 않았지만 인체에 대한 독성 유발 가능성도 내포하고 있고 설치류나 조류에 비해 사람의 체내에서 반감기가 더 길어 그 위해 정도가 더 심각할 것으로 예측되고 있다.⁵

따라서 과불화 화합물을 주변 환경에서 저감 및 제어할 수 있도록 하는 대책이 시급하게 요구되고 있다. 그러나 과불화 화합물을 포함한 환경오염물질들은 장거리 이동성을 가지고 있어 어느 한 지역 및 국가에 국한되는 문제가 아니라 여러 국가에서 협동적으로 진행하여야만 성공적인 성과와 해결책을 얻어낼 수 있다. 따라서 PFC에 대한 생산, 사용 및 국가간 모니터링에 대한 범국가적인 노력이 절실히 요구되고 있다. 그 대표적인 예로 국제연합환경계획(United Nations Environment Programme; UNEP)에서 잔류성유기오염물질(persistent organic pollutants; POPs)을 규정하여 국제적으로 규제하도록 하는 스톡홀름협약(Stockholm convention)을 대표적인 범국가적 협의체로 협의체로 볼 수 있으며 과불화 화합물은 2009년 5월에 있었던 회의에서 새로운 관리대상물질로 부속서에 새롭게 등재되었다.⁶

이와 같이 범국가적인 대비 및 해결 노력이 증대되고 있는 동시에 이를 다양한 환경매체로부터 분리 추출하여 분석할 수 있는 기술도 다양하게 발전하고 있다. 또한 이와 동시에 다양한 환경 매체 및 생체 시료에서 PFC의 모니터링이 진행되어 각 매체와 인체 동물에서 얼마나 분포되어 있는지 조사 중에 있다. 최

근 국내에서도 “식품의약품안전청” 및 환경부 산하 기관에서 분석법의 개발과 모니터링을 위한 노력이 다각적으로 진행되고 있다. 그러므로 정부산하 기관에서 진행되어진 결과들을 비교 검토하고 그에 따른 문제점을 파악하고 실질적인 모니터링을 위한 분석법의 개발이 이루어질 수 있다. 따라서 본 논문에서는 과불화 화합물의 특성과 생산 및 규제 동향과 다양한 환경 매체에서 시료 전처리 방법 및 기기분석 방법과 실제 분석과정에서 발생하는 바탕 시료의 오염 문제에 대해서 고찰하고자 한다.

1.1. 과불화 화합물의 생산 및 규제

과불화 화합물을 생산하는 곳이 얼마나 많은지 정확히 알려져 있지는 않지만 미국과 유럽(이탈리아, 스위스, 영국)과 일본에서 대량 생산이 되는 것으로 알려져 있다. 최근 몇 년간 매년 약 4,500톤의 perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) 관련 화합물들이 생산됐으며 그 중 미국 3M이 최대 생산회사로 알려져 있다. 그러나 2000년에 3M은 향후 오십 년 간 PFOS 관련 화합물의 생산을 단계적으로 감축할 것이라고 발표하였다.²

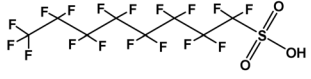
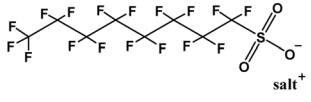
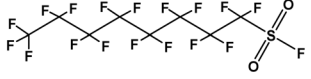
또한 2000년 10월 미국 환경보호청(U.S. Environmental Protection Agency; US EPA)에서 88개의 PFOS 관련 화합물에 관한 새롭고 중대한 법률안을 공고하였다.⁷ 이에 따라 PFOS 관련 화합물을 수입하거나 생산하는 경우 생산 90일 전에 EPA에 그 사실을 통보하도록 하여 조사를 통하여 수입과 생산을 제한하겠다고 발표하였다. 국제회의인 OECD 회의에서도 2000년부터 과불화 화합물의 생산과 사용을 금지하는 것보다는 각 나라의 정부측에서 이와 관련된 제품의 생산자와 접촉하여 PFOS와 관련 화합물들에 대한 생산을 단계적으로 줄이는 계획을 세울 것을 결정하였다.⁸

이 외에 유럽연합에서도 환경오염물질의 시장 판매와 사용에 대한 규제법안 Council Directive 76/769/EEC를 2006년 PFOS와 관련 화합물을 포함하도록 개정하였다.⁹ 이와 더불어, 2009년 5월 스톡홀름협약을 통해 PFOS 및 관련 화합물을 POPs 물질 중 하나로 선정하고 등재부속서 중 하나인 Annex B에 추가하여 국제적 규제가 진행되고 있다.⁶

1.2. 과불화 화합물(Perfluorinated compounds, PFCs)의 특성

과불화 화합물로 코팅된 표면은 화학적인 공격에 대한 저항성이 매우 크고 이로 인해 전형적인 계면활

Table 1. PFOS and related compounds on Annex B on Stockholm convention on persistent organic pollutants (POPs)

Name	CAS No.	Formula	Structure
PFOS (perfluorooctane sulfonic acid)	1763-23-1	$C_8HF_{17}O_3S$	
PFOS's salts	2795-39-3 29457-72-5 29081-56-9 70225-14-8 56773-42-3 251099-16-8 etc.	$C_8F_{17}O_3S^- \text{ salt}^+$	
PFOS-F (perfluorooctane sulfonyl fluoride)	307-35-7	$C_8F_{18}O_2S$	

성제들을 사용하지 못하는 물질의 매개체에도 사용될 수 있다.¹⁰ 다른 일반적인 화학물질들이 급격하게 분해되는 조건인 열과 극산성, 염기 조건에서 뿐만 아니라 산화제, 환원제 존재 하에서도 강한 저항성을 보이므로 과불화 화합물은 산업제품의 주요 소재로 사용되고 있다. 또한, 물과 기름에 반발하며, 표면장력을 줄이는 성질이 있어 다분자화나 고분자화 반응의 촉매로 널리 사용되고 있다.¹¹ 이러한 PFC의 독특한 화학적 물리적 성질로 인하여 높은 온도에서 불을 끄는 소방용 발포제로의 활용이 가능케 되었다.¹²⁻¹⁴ 과불화 화합물로 만들어진 살충제, 화장품, 접착제, 그리스, 윤활제는 그 독특한 특징으로 인하여 다른 화학약품으로 대체할 수 없을 정도에 이르게 되었다. 그러나 과불화 화합물은 극한 화학적, 물리적 환경 뿐 아니라 생화학적 분해과정에서도 안정하여¹⁵ 환경적으로 분해되지 않는 물질이며 포유류에 대한 독성을 나타내며 생체축적물질로 알려져 있다.¹⁶

퍼플루오로옥탄설폰산(perfluorooctanesulfonic acid; PFOS)와 퍼플루오로옥탄산(perfluorooctanoic acid; PFOA)은 주요 과불화 화합물로서 대부분의 PFOS 유도체는 전기화학적 불소화 반응에 의해 얻어진 과불화 옥탄 설폰플루오라이드(perfluorooctane sulfonyl fluoride)로부터 발생된다. 염기촉매 하에서 불소화합물의 가수분해는 PFOS와 다양한 불소화합물의 염을 발생시키고, 또한 반응성이 높은 플루오라이드의 반응을 통해서 설폰아마이드 유도체가 발생할 수 있다.¹⁷ 퍼플루오로알킬레이티드 설폰노아미도알콜(perfluoroalkylated sulfonoamidoalcohol)은 전기화학적 불소화 반응에 의해 생성된다.¹⁸ 이 물질은 다양한 표면처리 과정에 사용되며 포유류와 어류의 체내에서 대사된다.¹⁹

PFOS와 PFOA를 생성할 수 있는 관련 화합물들은 광범위한 생산·사용과 강한 독성으로 인해 환경오염물질로 규정되었다.²⁰ 스톡홀름 협약에서 새로운 POPs 물질로 등재된 PFOS와 관련 화합물을 Table 1에 실었다.

PFOA의 암모니아염은 테프론이라 불리우는 폴리테트라플루오로에틸렌(polytetrafluoroethylene; PTFE)과 폴리비니리딘 플루오라이드(polyvinylidene fluoride; PVDF)같은 플루오로폴리머 합성에 필수적이다. 이들은 플루오로폴리머(fluoropolymer)의 유화고분자 반응의 유화제로 사용되고 있다.²¹

플루오로텔로머 알코올(fluorotelomer alcohols; FTOHs)도 역시 광범위한 산업 생산품의 원료로 사용되고 있다. 대표적으로 소방 발포제나 흙, 녹과 유지를 방지하기 위한 코팅, 카펫, 타일, 종이, 가죽 등에 광범위하게 이용되고 있으며 이러한 화합물들은 아직 미확인된 과불화 화합물의 전구물질이 될 수 있는 후보물질이다.²² 일부 연구에서는 FTOHs로부터 분해과정을 거쳐 PFOA로 전환된다고 발표하였다.²³⁻²⁵

2. 시료 전처리 방법

2.1. 바탕 시료 오염 문제

과불화 화합물의 분석 시 어려운 점 중 하나는 바탕 시료 내에서의 오염 문제이다.^{19,20,26} 실험실 내에서 과불화 화합물의 오염원은 여러 가지 가능성이 있지만 아직 정확히 분류되지 못하고 있다. 그러나 뚜렷하게 대별되는 오염원으로 분석 장비에 의한 것과 실험 절차에서 발생된다고 유추하고 있다. 실험 절차상의 오염원 중 주요 발생원은 실험 도구로부터 기인한 것

이다. 폴리테트라플루오로에틸렌이나 퍼플루오로알콕시 화합물(perfluoroalkoxy compounds)과 같은 불소중합체로 만들어지거나 이들을 포함하는 실험 도구를 사용하였을 때 과불화 화합물이 용출되어 오염이 발생될 수 있다¹⁸ 따라서 환경 시료나 생체 시료 내에서 과불화 화합물을 분석함에 있어서 이러한 불소중합체로 구성된 실험 기구의 사용과 접촉을 피해야 한다.²⁷

목적 분석 물질에 의한 실험 과정과 장비 상에서 나타나는 오염을 확인하기 위해서 해양수를 분석하였을 경우 ppt (parts-per-trillion) 혹은 ppq (parts-per-quadrillion) 농도수준 미만의 과불화 산이 분석의 방해 요인으로 나타났다.²⁷ 시료 채취와 저장에 사용된 용기의 조사 결과 폴리프로필렌 튜브에서는 오직 PFOA만이 검출되었으며, 다른 용기에서는 상당량의 과불화 화합물이 용출되는 것으로 나타났다. 시료 추출과 정제에 널리 사용되는 OASIS HLB와 Sep-Pak (C18)의 두 개의 SPE 카트리지를 조사하였을 시 Sep-Pak 카트리지에서 PFOA와 PFOS가 상당한 양으로 검출되었고 OASIS HLB 카트리지의 경우에는 PFOS, PFOA, PFHxS (perfluorohexane sulfonate)와 PFBuS (perfluorobutane sulfonate)가 검출되었으나 Sep-Pak 카트리지에 비해 비교적 낮은 농도 수준으로 검출되었다.²⁷ 따라서 과불화 화합물의 추출 및 정제과정에 있어서 주로 OASIS HLB-SPE 카트리지를 사용하는 것을 추천하고 있다.

정제된 증류수 또한 분석의 오염원으로 작용할 수 있는데 Yamamoto 증류장치, Milli-Q 및 시판되는 HPLC 등급의 정제수를 비교 조사하였다.²⁷ 사용된 모든 정제수에서 과불화 화합물이 검출되었는데 이 중에서 HPLC 등급의 시판 정제수가 가장 적합하였는데 그 이유는 오염 수준의 변화량이 가장 적기 때문이다. LC-MS/MS법을 통해 분석하기 전에 미세 입자들을 제거하기 위해 사용하는 나일론 주사기 필터를 비교하였을 경우 세 종류의 필터에서 모두 PFOA가 검출되었지만 필터의 사용 전에 세척을 통하여 제거시킬 수 있었다.²⁷ 반면에 다른 연구에서는 공시료를 통한 시료의 전처리 과정 중 마지막 추출물에서 PFOS, PFOA, PFDA (perfluorodecanoic acid) 및 PFUnDA (perfluoroundecanoic acid)와 같은 과불화 알킬 화합물이 수 pg/mL의 수준으로 검출되었다고 보고하였다.¹⁸ 그러나 다른 연구에서는 Milli-Q 정제수, 플라스틱 시험관 및 liquid chromatograph (LC) 장비 상에서 PFOS, PFOA 및 PFOSA (perfluorooctane sulfonamide)의 오염 정도를 조사한 결과 검출한계 미만으로 거의 영향

이 없다고 보고하였다.²⁸ 따라서 실험실에서 사용하는 모든 실험기구 및 SPE, 용매에 대한 PFC의 용출 여부를 정확히 조사한 후 사용하는 것이 바람직하고 그 검출수준을 항상 점검해야 한다.

2.2. 퇴적물 및 하수 오물 시료의 분석

소수성을 띠는 유기 오염 물질은 환경계 내에서 최종적으로 퇴적층으로 이동되는 경향이 있어 퇴적물의 분석을 통해 소수성 오염 물질의 모니터링이 수행되고 있다.²⁹ 대표적으로 PCBs와 같은 소수성 오염 물질은 수용성 계면에서 침전물로 이동되므로 퇴적물에서 자주 검출되는 물질이다. 소수성과 친수성을 모두 갖는 알킬벤젠 설포네이트(alkylbenzene sulfonate)와 같은 계면활성제도 마찬가지로 침전물에 흡착되는 것이 보고되고 있다.³⁰ 아직 계면활성제의 흡착에 관여하는 요인들이 잘 알려져 있지 않지만 음이온성 과불화 화합물들이 환경 내의 고형 물질에 흡착되는 현상과 동일한 메카니즘으로 생각된다.

침전물 내 과불화 화합물의 검출을 위해 사용된 분석법에 따르면 추출하기 전에 앞서 얼린 침전물 시료를 실온에서 해동시킨 뒤 일반 공기 중에서 건조시켰다.³¹ 건조 후, 시료를 막자사발에 넣고 막자로 갈아 균질화 시킨 후 음이온성 과불화 화합물을 침전물로부터 추출해내는 단순하고 효율적인 추출법을 적용시켰다. 초산을 이용한 세척 단계를 포함한 이 방법에서는 메탄올(methanol)과 1% 아세트산을 포함한 Milli-Q 증류수 수용액을 90:10 (v/v)의 비율로 섞은 혼합 용액을 이용하여 산성화시킨 침전물 시료를 반복적으로 추출하였다. 세척과 추출은 가온된 초음파 수욕상(60 °C)에서 행해졌다. 추출물을 C18-SPE 카트리지(500 mg)를 이용하여 분석방해물질을 제거하는 정제 과정을 거쳤다. 추출된 시료는 LC-MS/MS를 이용하여 분석하였는데 흥미로운 사실은 PFOS가 항상 잔류량이 제일 높은 물질이 아니라는 결과를 보여주었다. 이 연구 결과에 따르면 시료 내에서 가장 검출 빈도가 높은 화합물은 PFOS (≤ 3.76 ng/g), PFDS (perfluorodecane sulfonate) ($< 0.4-2.70$ ng/g), N-MeFOSAA (N-methylperfluorooctanesulfonamidoacetic acid) (≤ 1.67 ng/g), PFOA ($< 0.1-0.390$ ng/g), and PFDA (≤ 1.67 ng/g)로 보고되었다.³¹

하수 오물 내의 과불화 화합물의 검출은 2가지 분석법으로 수행되었는데 그 중 하나는 앞서 언급한 퇴적물 시료의 분석법과 동일한 방법³¹을 사용하였다. 다른 추출방법으로 속슬렛, 고온의 증기를 이용한 추출법

및 가압 액체 추출법(pressurized liquid extraction; PLE)에 대해 비교 실험하였다.¹⁵ 가압 액체 추출법이 속슬랫과 고온의 증기를 이용한 추출법에 비해 우수한 추출 방법으로 보고하였다. 하수 오물의 추출물은 정제 과정 없이 농축하여 LC-MS를 이용하여 분석하였는데 액체크로마토그래피법을 이용하는 대신 흐름주입분석법(flow injection analysis, FIA)-MS를 이용하여 음이온, 비이온성 불소화 계면활성제에 대하여 검출을 시도하였다. 그러나 FIA-MS를 이용한 정량은 내부표준 물질이 첨가된 하수 오물 시료에 가압 액체 추출법을 통해 얻은 추출물에 적용하지 못하였다. 그 이유는 추출법을 통해 동시에 추출된 퇴적물 내의 다른 분석 방해물질들이 고농도로 주입되어 선택 이온의 검출이 매우 불안정하게 되기 때문이다. 심지어 좀 더 선택적으로 전구 이온(precursor ion)만을 검출하는 SIM방법을 이용하거나 혹은 FIA-MS/MS를 통해 생성 이온(product ion)만을 검출하도록 하는 MRM방법을 이용할 경우에도 PLE를 통해 시료로부터 같이 추출된 이성질체 혹은 동중원소의 존재로 인하여 선택성이 감소하게 되어 정확한 정량, 정성 분석이 용이하지 않는 것으로 나타났다.¹⁵ 따라서 MS로 검출하기에 앞서 LC에 의한 분리는 기저 시료로부터 분석방해물질의 영향을 최소화시키는데 필수적으로 사용되어야 한다. 그러나 정제 과정없이 내부표준물질을 시료에 첨가하여 역상컬럼을 통하여 크로마토그램상의 분리를 행하는 것 역시 만족스럽지 못한 방법으로 나타났다. 이는 하수 오물 시료 내의 불특정 화합물이 같이 검출되어 비정상적으로 높은 회수율을 보이기 때문이다. 이러한 방해물질을 제거하기 위해서 불소화 계면활성제의 높은 안정성을 이용하여 하수 오물 시료 추출물에 산화제를 첨가하여 분석을 시도하였으나 과불화 화합물의 열과 산화제에 대한 높은 안정성에도 불구하고 이 방법은 하수 오물 시료 내의 다른 분석방해물질 뿐만이 아니라 불소화 계면활성제도 일부 파괴하여 분석 방법으로써 적용하기가 어려웠다. 시료 내의 정량적 분석의 장애 요인은 LC를 통한 분석물질의 분리를 새로운 불소화 역상 물질을 이용한 컬럼을 적용하여 해결할 수 있을 것으로 보인다. 불소화 RP-C8 컬럼을 이용한 이 방법은 어떠한 시료 정제 과정 없이도 모든 가압 액체 추출법을 통한 추출물을 LC로 효과적인 분리를 할 수 있었다.¹⁵

80개의 실제 하수 오물 시료를 분석한 연구 결과에서 심각한 오염이 우려되는 검출 사례는 발견되지 않았다. 앞서 설명한 다른 연구보다 좀 더 높은 검출한

계(건조 시료에서 비이온성 과불화 화합물인 FAEO (fluorinated alkylethoxylate)의 경우는 10 µg/g이었고 음이온성 물질인 PFOS, PFOA의 경우는 6 µg/g이었다.)로 불소화 계면활성제의 농도를 조사하였다.¹⁵ 전술한 다른 연구 방법은 감도가 더 좋은 방법으로 분해된 하수 오물 시료에서 과불화 화합물의 농도의 총량이 176-3,390 ng/g의 범위에서 검출되었다고 보고하였다.³¹ 위에서 언급한 퇴적물 시료 및 하수 오물에 대한 과불화 화합물 분석법에 대한 내용은 Table 2에 요약하여 나타내었다.

2.3. 혈액 및 생체 시료의 분석

과불화 화합물의 양쪽성(친수성 및 소수성) 성질로 인해 생체 조직 내에서 지방 조직에 축적되기 보다는 특정 단백질과 결합된 형태로 나타난다고 보고되었다.³² 따라서 환경계에서 계면활성제들이 퇴적물이나 하수 오물로 이행되는 것과는 달리 과불화 화합물은 단순히 지질층과 같은 소수성 계면 내에 혹은 친수성 계면인 체액 속에 머무르는 원리에 적용되지 않는 것으로 알려져 있다.

PFOS 및 관련 물질은 주로 혈액이나 간, 담즙에 함유되어 있다.^{27,33,34} 이러한 혈액 및 생체 시료의 분석을 위해서 시료는 반드시 폴리프로필렌 용기에 준비되고 보관되어야 한다. 이는 잠재적으로 용기 표면에 용출된 과불화 화합물이 시료로 흡수될 수 있기 때문이다.^{34,35} 또한 반대로 시료의 보관 및 분석 시에 유리류의 시험 도구와의 접촉을 피해야 하는 데 과불화 화합물이 유리 표면에서 흡착되는 현상이 있기 때문이다.²¹ Fig. 1에서 보듯이 과불화 화합물을 각각 유리 바이알과 폴리프로필렌 용기에 보관하였을 시 유리 바이알에서 장기간 보관하면 그들의 상당량이 유리 표면에 흡착되는 것이 관측되었다. 일부 연구에 따르면 인체 혈장 단백질은 잠재적으로 분석기기의 다른 금속 부품의 표면에 비가역적으로 흡착될 수 있다고 보고하였다. 따라서 혈장 중 과불화 화합물의 분석에 있어서 우선적으로 단백질을 제거하는 과정이 필요하다.³³ 아세토니트릴(ACN)과 트리클로로아세트산(TCA)은 단백질을 침전시킬 수 있는 유기용매로 쓰여왔다.^{26,33} 그러나 TCA는 종종 소수성 산성 물질과 공침하여 질량스펙트럼 상에서 심각한 클러스터의 형성을 보여주는데 이 클러스터는 분석물질과 동일한 질량스펙트럼 영역 대에서 나타나 정확한 정량 및 정성 분석에 장애를 유발시킬 수 있다고 보고되었다.³³ 일부 연구에서는 시료 전처리 과정을 단순화하기 위한

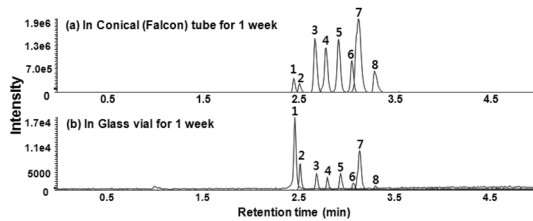


Fig. 1. Total ion chromatograms of PFCs stored in (A) Falcon tube and (B) glass vial for 1 week (peak identity 1; PFBA (perfluorobutanoic acid), 2; PFPA (perfluoropropanoic acid), 3; PFHpA (perfluoroheptanoic acid), 4; PFOA (perfluorooctanoic acid), 5; PFNA (perfluorononanoic acid), 6; PFDA (perfluorodecanoic acid), 7; PFOS (perfluorooctane sulfonic acid), 6; PFTDA (perfluorotetradecanoic acid))

단백질 침전작업 대신에 혈청의 단백질과 분석대상물질의 상호작용을 방지하기 위하여 포름산을 첨가하여 혈청 시료를 희석시키고 초음파처리로 대체하였다.³⁴ 또 다른 연구에서는 효율적인 단백질 제거 용매로 ACN, TCA, 포름산을 사용하여 분석대상물질의 회수율을 조사하였다.²⁶ 이 중 포름산을 사용한 경우에 단백질을 제거하여 고체상 추출법(SPE)에 적용할 때 SPE 컬럼의 막힘을 방지할 뿐만 아니라 분석물질이 흡착제와 극성 상호작용을 할 수 있도록 만들어 주어 가장 회수율이 높은 방법으로 평가되었다.²⁶ 시료를 직접적으로 주입하여 분석하는 방법도 보고되었지만, 시료 전처리 과정들은 원심분리와 여과 과정을 포함하고 있거나,³⁶ 혹은 이온쌍 추출 전에 테트라부틸암모늄(tetrabutylammonium; TBA)이나 카보네이트 완충용액을 사용하여 pH를 조절하는 추출방법이 보고되고 있다.²⁸

추출 과정에 있어서 몇 가지 방법들이 적합한 추출 용매의 사용과 추출물의 완전한 건조 후 methyl-tert-butylether (MTBE)와 같은 유기용매를 사용하는 이온쌍 추출법(ion-pairing extraction; IPE)이 이용되고 있다.^{18,19,37-42} 그러나 과불화 화합물의 화학적 물리적 성질을 고려했을 때, 이온쌍 추출법은 시간과 노력을 많이 요구하고 실험실 기구에 접촉되었을 시 흡착이 일어나 손실현상이 일어날 수 있다. 또한 분배계수의 차이를 이용한 액체-액체 추출법(liquid-liquid extraction; LLE)의 특성은 많은 용매가 소모되어 고체상 추출법에 비해 비환경적이고 비경제적이다. 최근에 보고된 논문에서는 혈장 내의 과불화 화합물의 분석을 위하여 on-line Oasis HLB (hydrophilic-lipophilic balance) 카트리지를 사용하는 추출법을 발표하였다.^{33,36} 반면

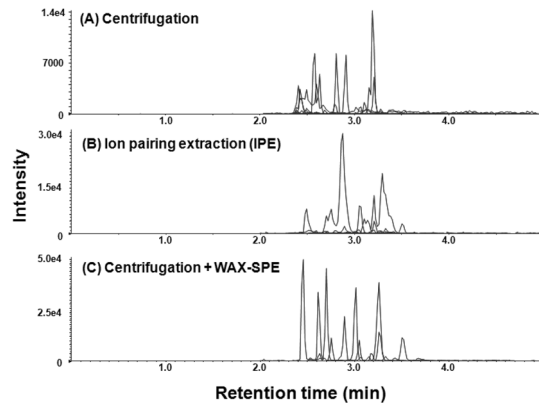


Fig. 2. Total ion chromatograms of PFCs in serum according to different sample preparations.

에 짧은 사슬체인을 가진 과불화산이나 플루오로텔로머산, 플루오로텔로머알코올의 추출 정제를 위하여 off-line SPE로 Sep-Pak C18, Oasis HLB, WAX (weak anion exchanger)와 같은 다양한 SPE 카트리지를 비교 조사하였다. 이들 중 음이온 교환수지를 사용한 WAX-SPE는 가장 좋은 회수율을 보였다.¹⁸

본 연구에서는 위에서 언급되었던 방법들 중 ACN을 이용하여 단백질 제거 방법과 이온쌍 추출법과 WAX-SPE법의 추출 및 정제 효율을 비교 검토하였다 (Fig. 2). 추출 정제시료는 LC-MS/MS를 이용하여 분석하였는데 각각의 TIC (total ion chromatogram)에서 보듯이 ACN 처리 후 원심분리(centrifuge)과정만을 통한 분석에서는 일부 분석방해물질이 시료 내에 남아서 크로마토그램 상에서 분석물질의 분리에 영향을 주는 것을 확인할 수 있었다. 또한 이온쌍 추출법에서도 유사한 방해현상이 나타났는데 이는 실험 과정상 높은 농도의 염의 일부가 잔류하여 분리 상에 영향을 미치거나 추출 과정에서 분석방해물질이 완벽히 제거되지 않은 것으로 유추할 수 있다. 마지막으로 위에서 언급했던 방법상에서도 가장 우수한 방법으로 언급되었던 WAX-SPE 방법이 실제 크로마토그램 상에서도 정제 효율이 가장 뛰어난 것을 확인할 수 있었다.

불소화합물 화학산업에 종사하는 사람, 즉 과불화 화합물에 장기적으로 또는 단기적으로 노출된 사람들의 혈청과 조직 시료에서 상당량의 과불화 화합물들이 검출되었다. 미국과 유럽 아시아에서 입수된 모든 혈청 시료에서 PFOS가 검출되었는데 과불화 화합물의 산업적인 생산 전에 일어난 한국전쟁 당시에 참전한 미국 군인의 혈액 시료에서만 PFOS가 검출되지 않았다.^{16,43} 일상적인 생활환경 내에서 일반적인 수준

Table 2. Overview of analytical methods for the measurement of PFCs in sediment and sewage sludge samples

Analyte	Sample	Sample preparation	Stationary phase	Mobile phase	Detection	Concentration range	LOD-LOQ	Ref.
PFOS PFOA PFHS N-MeFOSAA N-EtFOSAA	Sediments	Thawed and air dried + 3 extractions with 90:10 (v/v) MeOH and 1% HOAc + SPE (C18, 500 mg)	Targa Sprite C18 (40×2.1 mm) (5 µm-pore size)	MeOH-water (2 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	n.d.-3.76 ng/g n.d.-0.625 ng/g n.d.-0.072 ng/g n.d.-1.67 ng/g n.d.-3.94 ng/g	0.109 ng/L-NR 0.011 ng/g-NR 0.041 ng/g-NR 0.122 ng/g-NR 0.109 ng/g-NR	[31]
PFOS PFOA PFHS N-MeFOSAA N-EtFOSAA	Sewage sludge	Thawed and air dried + 3 extractions with 90:10 (v/v) MeOH and 1% HOAc + SPE (C18, 500 mg) + dilution adding 6 mL 70:30 (v/v) MeOH/aqueous ammonium hydroxide (0.01%)	Targa Sprite C18 (40×2.1 mm) (5 µm-pore size)	MeOH-water (2 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	14.4-2,610 ng/g n.d.-29.4 ng/g n.d.-3.18 ng/g <6-154 ng/g <11-544 ng/g	0.9 ng/g - NR 1.0 ng/g - NR 2.2 ng/g - NR 0.8 ng/g - NR 0.6 ng/g - NR	[31]
Anionic Non-ionic	Sewage sludge	PLE [EtOAc/DMF(8:2) MeOH/H3PO4(99:1) MeOH/H3PO4(99:1)] 150 °C, 10,714 kPa	PF-C8 column (150 ×4.6 mm) filled with spherical perfluorinated RP-C8 material (5 µm)	MeOH-MeOH/water (20:80) (2 mM diethyl ammonium)	LC-ESI-MS (anionic) LC-APCI-MS (non-ionic)	> n.d. (higher than 6-10 mg/kg)	6-10 mg/kg (PFOS, PFOA anionic) 10-20 mg/kg (FAEO, non-ionic)	[15]

LOD = limit of detection, LOQ = limit of quantification, n.d. = not detectable, NR = not reported

Table 3. Overview of analytical methods for the measurement of PFCs in blood and biota samples

Analyte	Sample	Sample preparation	Stationary phase	Mobile phase	Detection	Concentration range	LOD-LOQ	Ref.
PFOS PFOA PFOSA PFHS	Human and rat plasma and milk	1 mL sample + 3 mL formic acid + sonication + automated SPE (Oasis HLB)	Keystone Betasil C8 (3 × 50 mm)	MeOH-water (20 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	3.6-164 ng/mL 0.2-164 ng/mL < LOD-1.4 ng/mL 0.4-11.2 ng/mL (serum)	Plasma: 0.4 ng/mL-NR 0.1 ng/mL-NR 0.2 ng/mL-NR 0.3 ng/mL-NR Milk: 0.3 mg/mL-NR 0.2 ng/mL-NR 0.7 ng/mL-NR 0.3 ng/mL-NR	[35]
PFOS PFOA PFOSA	Human plasma	Centrifuge (3,000 rpm) + filter (0.45 m). On-line SPE (Oasis HLB)	Inertsil C8-3 (2.1×150 mm) and RP-18GP precolumn	ACN-water (10 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS	10.8-31.9 ng/mL n.d.-4.1 ng/mL n.d.	0.05-0.5 ng/mL 0.05-0.5 ng/mL 0.25-1 ng/mL	[36]
PFOS PFOA PFOSA	Human maternal cord blood	On-line SPE (Oasis HLB)	Inertsil C8-3 (2.1×150 mm) and RP-18GP precolumn	ACN-water (1.0 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS	4.9-17.6 ng/mL (1.6-5.3) n.d.-2.3 ng/mL (n.d.) n.d.(n.d.)	NR-0.5 ng/mL NR-0.5 ng/mL NR-1 ng/mL	[28]
PFBS PFHA PFHS PFOA PFOS PFNA PFDA PFDS PFOSA PFUnDA PFDoDA PFTDA	Human blood	Addition of formic acid SPE (C18 HF)	Discovery HS C18 (50×2.1 mm)	Water-Methanol (2 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS	NR < 0.3-1.6 ng/mL 0.4-2.8 ng/mL (4.0) 0.8-12 ng/mL (2.9) 4.6-37 ng/mL (19.4) < 0.1-1.9 ng/mL (1.9) < 0.1-0.6 ng/mL < 0.5-4.5 ng/mL 0.4-23 ng/mL (4.7) < 0.1-0.7 ng/mL < 0.1-0.3 ng/mL < 0.1-0.5 ng/mL	2-3 ng/mL 0.3-0.7 ng/mL 0.1-0.3 ng/mL 0.5-0.8 ng/mL 0.1-0.4 ng/mL 0.1-0.5 ng/mL 0.1-0.5 ng/mL 0.5-0.9 ng/mL 0.1-0.5 ng/mL 0.1-0.5 ng/mL 0.3-0.9 ng/mL 0.1-0.5 ng/mL	[26]

Table 3. Continued

Analyte	Sample	Sample preparation	Stationary phase	Mobile phase	Detection	Concentration range	LOD-LOQ	Ref.
PFOS PFHS PFOA PFOSA	Serum, liver	Serum and liver: sample + TBA (pH10) + 0.25 sodium carbonate (buffer_ + MTBE (ion pairing extraction) + evaporation MTBE extract + filtration (0.2 µm nylon)	Keystone Betasil C18 (50×2 mm)	MeOH-water (2.0 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	< 19-650 ng/g ww < 7.5-34 ng/g ww < 19-21 ng/g ww < 75-215 ng/g ww	Liver: 1 ng/g ww-NR NR-1 to 86 ng/g ww NR-2.5 to 180 ng/g ww NR-1 to 38 ng/g ww	[38- 40, 46]
PFOS PFOA PFOSA PFHS	Serum, liver	Serum: serum + TBA (pH10) + 0.25 sodium carbonate (buffer) + MTBE (ion pairing extraction) + evaporation MTBE extract + filtration (0.2 µm nylon) Liver: liver + Milli-Q water + MTBE (ion pairing extraction) + evaporation MTBE extract + filtration (0.2 µm nylon)	Keystone Betasil C18 (50×2 mm)	MeOH-water (2.0 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	6.7-81.5 ng/mL < 5-35.2 ng/mL < 1.5-2.2 ng/mL < 1.5-21.4 ng/mL (serum)	Serum 1.7 ng/mL-NR 1.0 ng/mL-NR 1.5 ng/mL-NR 2.0 ng/mL-NR Liver 8.5 ng/g-NR 5.0 ng/g-NR 3.5 ng/g-NR 2.0 ng/g-NR	[42]
PFOS PFOSA	Human plasma	Protein precipitation (ACN) + centrifuge (13,000 rpm) + reduce ACN content with N2 + dilute with water + centrifuge (13 rpm). On-line extraction system	Kromasil C-18 (0.32×100 mm)	ACN/water (10:90)- ACN/water (90:10) (10 mM ammonium acetate)	LC-ESI-IT-MS	33 ng/mL n.d.	NR	[34]
PFOS PFOSAA M556 PFOA PFHS	Serum	Serum + 50 mM NH4Ac + ion pairing extraction (MTBE)	Genesis Lightning C18 (2×50 mm)	MeOH-water (20 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	< 3.4-175 ppb < 1.6-21.1 ppb < 1.0-6.6 ppb NR < 1.4-16.7 ppb < 1.4-40.3 ppb	NR-1 and 4 ppb	[41]

Table 3. Continued

Analyte	Sample	Sample preparation	Stationary phase	Mobile phase	Detection	Concentration range	LOD-LOQ	Ref.
10:1 FTOH						< 0.08 ng/mL(<0.03)		
7:1 FTOH						< 0.04 ng/mL(<0.16)		
8:2 FTCA						< 2 ng/mL(<0.79)		
8:2 FTUCA						< 0.08 ng/mL(<0.03)		
PFOA						3.49 ng/mL(0.29)		
PFOS						87.5 ng/mL(133)		
PFHS						2.75 ng/mL(2.03)		
PFBS						< 0.08 ng/mL(<0.03)		
PFOSA			Guard column: XDB-C8	A: water		3.47 ng/mL(0.82)		
PFOcDA	Blood and liver	Biota sample + KOH digestion-WAX extraction	Column: Betasil C-18 (2.1×50 mm)	(2 mM ammonium acetate) B: MeOH	LC-ESI-MS/MS	< 0.04 ng/mL(<0.16)	LOD from 0.03 to 3 ng/g	[20]
PDHxDA						< 0.04 ng/mL(<0.16)		
PFTeDA						< 0.04 ng/mL(<0.16)		
PFDoDA						< 0.04 ng/mL(0.29)		
PFUnDA						1.57 ng/mL(1.21)		
PFDA						1.27 ng/mL(0.63)		
PFNA						4.46 ng/mL(1.12)		
PFHxA						< 0.04 ng/mL(<0.16)		
PFPeA						< 2 ng/mL(<0.79)		
PFBA						< 2 ng/mL(7.28)		
THPFOS	< 0.08 ng/mL(<0.03)							
N-EtFOSA	Biota sample	Solution of liver microsome isolation and in vitro incubation + TBA (pH 10) + 0.25 sodium carbonate (buffer) + MTBE (ion pairing extraction) + evaporation MTBE extract + filtration (0.2 m nylon)	Supelcosil C8 (50×2.1 mm)	MeOH-water (2 mM ammonium acetate)	LC-ESI-MS/MS	NR	NR	[18]
PFOS								
PFOA								

LOD = limit of detection, LOQ = limit of quantification, M556 = perfluorooctanesulfonamidoacetate, n.d. = not detectable, NR = not reported, ww = wet weight

으로 과불화 화합물에 노출된 사람의 경우 PFOS는 6.7~81.5 µg/L, <nd(1.5)~21.4 µg/L의 PFHxS, <nd(1.5)~PFOA, <nd(1.5)~2.2 µg/L의 PFOSA 및 관련 화합물 생산에 종사하여 직업적인 환경으로 인하여 노출된 사람의 경우 250~12,800 µg/L의 PFOS와 840~6,400 µg/L의 PFOA의 측정치를 보였다.^{42,45}

야생동물에서의 노출 현황을 파악한 연구에서는 산업화된 지역의 동물이나 북극과 북태평양과 같은 동떨어진 지역의 야생동물의 조직 및 장기에서 과불화 화합물의 검출을 보고하였다.¹⁶ 일반적으로 이 화합물의 농도는 오지에 사는 것보다 도시화된 지역에 사는 야생동물의 조직과 장기 시료에서 몇 배 정도 높은 농도 수준으로 검출되는 것으로 보고되었다.¹⁶ 대표적인 예로써 야생동물의 조직에서 검출된 농도범위는 수십에서 수천 ng/g (ppb) 수준이었다.^{37-39,46,47} 위에서 언급한 혈액 및 생체 시료에 대한 과불화 화합물 분석법에 대한 내용은 Table 3에 요약하여 나타내었다.

3. 기기적 분석 방법

자연계 시료의 과불화 표면 활성화 분석은 LC-MS 혹은 다른 LC 검출기(UV 또는 형광검출기), ¹⁹F NMR이나 GC-MS같은 장비에 의해서 수행되었다. 최근 이들 화합물의 분석은 LC-MS에 의해 수행되는 것이 주류를 이루고 있다.^{16,48}

자연계의 물 시료 내에서 과불화 계면활성제는 ¹⁹F NMR에 의해 검출될 수 있다.^{10,13} 그러나 ¹⁹F NMR 스펙트럼에서는 과불화 알칸설포네이트(perfluoroalkanesulfonates)나 과불화 카르복실레이트(perfluorocarboxylates)의 스펙트럼을 구분하기 어렵다. 또한 과불화 계면활성제의 말단에 존재하는 CF₃ 피이크가 공통적으로 나타나기 때문에 이 피이크를 정량 피이크로 설정하였는데 이로 인하여 시료 내에 CF₂나 CF₃같은 물질의 존재도 같이 검출하기 때문에 과불화 계면활성제만을 검출하는 특수성을 띠지 않는다.¹³ 동일한 연구에서 ¹⁹F NMR을 이용하여 물 시료 내의 과불화 화합물의 전체 함량을 정량하고 이것을 LC-MS/MS에 의해서 얻어진 데이터와 비교를 시도하였다. 그 결과 적용된 두 가지 방법으로 얻어진 결과는 일치하지 않음을 보여주었다. 결과에서는 ¹⁹F NMR에 의해서 측정된 과불화 화합물의 전체 양이 LC-MS/MS에 의해서 계산된 결과보다 높았다. 이러한 차이는 먼저 ¹⁹F NMR 스펙트럼 상에서 정량이온으로 선택한 CF₃ 피이크가 지표수 내에 존재하는 다른 물질이 CF₃ 피이

크 주변에서 유사하게 나타나거나 NMR에 사용되는 용매가 양쪽성의 과불화 화합물이 가지고 있는 CF₃가 스펙트럼 상에서 피이크로 나타나는 정도를 다르게 했을 가능성 때문이라고 설명하고 있다.

Gas chromatography (GC) 법에서는 높은 기압에서 설펜아마이드나 FTOHs 같은, 직접적인 과불화 화합물 중 휘발성 물질과 중성 물질에 대한 검출에 이용되었다.^{23,48,49} 그러나 일부 비휘발성, 극성 과불화 화합물의 GC-MS 분석에 있어서는 유도체화 기술의 도입은 불가피하며, 몇 가지 유도체방법을 적용하여 극성 화합물의 분석에 성공적으로 이용되었다.^{12,35,50} 지히수 중에서 과불화 카르복실레이트를 분석하기 위하여 메틸에스터 유도체화하고 이 유도체들은 전자이온화법(electron impact ionization; EI)을 이용한 GC-EI-MS 또는 음이온 화학이온화법(negative ion chemical ionization; NCI)을 이용한 GC-NCI-MS에서 검출함으로써 정량적인 검출을 수행할 수 있다.^{12,51} 그러나 PFOS와 같은 물질은 메틸에스터 반응을 도입하더라도 GC-MS에 의해서 검출되지 않는다.⁵¹ 이는 유도체화 과정에서 과불화 알칸설포네이트의 에스터가 형성이 되는데 과불화 알칸설포네이트가 에스터기로 부터 쉽게 잘 떨어지는 성질 때문에 불안정하기 때문이다.^{52,53} 따라서 GC-MS에 의하여 수행한 몇 가지 과불화 계면활성제(설펜아마이드)의 분석에 성공적으로 이용되었어도 이 유도체화법은 반복적인 환경 시료의 모니터링에 적용할 수 없을 것으로 보고되었다.⁵⁴

위에서 언급한 ¹⁹F NMR과 GC-MS의 기술의 한계와 약점은 LC법을 적용함으로써 개선될 수 있다. 즉 유도체화 과정이 필요없고, 모든 종류의 과불화 화합물에 대해 분리분석이 가능하다는 점, 또한 고감도 및 높은 선택성으로 검출할 수 있는 방법이 도입될 수 있다는 조건 하에서도 가능하다. 그러나 LC 검출기의 사용에 있어서 대부분의 과불화 화합물의 경우 발색단을 포함하고 있지 않기 때문에 UV 검출기는 미량물질에 대한 적절한 선택성과 감도를 보여줄 수 없다.³³ 이러한 과불화 화합물의 극성그룹에 특정형광을 나타낼 수 있는 기능기의 도입으로 on-column 또는 post-column 반응을 도입하여 진행시킬 수 있을 것이다. 최근의 연구는 시료 전처리의 간편성과 유도체화 방법의 도입없이 분석이 가능한 LC-MS나 LC-MS/MS와 같은 방법으로 과불화 화합물을 검출하는 방법이 우선적으로 진행되고 있다. LC-MS에 의한 분석 방법은 뒤에 자세히 기술하고자 한다.

3.1. 표준품에 의한 문제

과불화 화합물의 분석에 있어서 우선적으로 HPLC 분리에 가장 널리 사용되는 역상 컬럼이 가장 널리 사용되고 있는데, 특히 과불화 화합물의 표준품 분석 시 크로마토그램 상에서 주 피이크를 제외하고 인접한 피이크가 나타나는 특징이 있다. 이러한 현상은 시중에서 판매되는 대부분의 표준품들이 선형 이성질체(linear isomer)와 곁가지 사슬 이성질체(branched isomer)가 혼합물로 이루어져있기 때문이다. 그리고 대부분의 주 피이크는 약 70% 이상이 선형 이성질체로 구성되어 있다(Fig. 3(a)).¹¹ 또한 이런 이성질체의 분석장비에 대한 감응 지수(response factor)는 동일하고 실제 시료 상에서 나타나는 물질에 대하여 유사한 패턴을 나타낸다고 생각되고 있다.⁵⁵ 이러한 분석 물질들에 대한 농도는 피이크들의 면적 값의 합으로 계산한다. 그러나 MRM 모드에 의한 검출에 있어서 이성질체에 따라 조각 이온들의 스펙트럼 상의 경향이 다르게 나타날 수 있으며, 이에 따라 장비에 대한 감응지수는 이성질체마다 동일하지 않을 수도 있다는 것을 보여주었다.⁵⁶ 일반적으로 내부 표준품으로 구매되는 ¹³C이나 중수소로 치환된 표준품의 경우 과불화 화합물의 분석법에 대한 품질 보증에 도움을 줄 수 있다. 그러나 몇몇 시료의 경우에서 바탕 시료에 ¹³C으로 치환된 물질이 내부표준품으로 적절치 않을 수 있으므로 각 시료에 따른 선택이 필요하다.⁴⁹

분석법의 타당성을 평가함에 있어서 신뢰할만한 표준품을 구입할 수 없으므로 인하여 보증된 참조 물질이 없는 것 또한 문제점이라고 할 수 있다. 이러한 문제점을 해결할 수 있는 대안으로 실험실간 비교 실험의 결과를 활용하기도 하였다.⁵⁷ 그러나 실험실간 비교 실험 결과에서도 합의 도출된 값에 대해서 오차가 심해 주요 화합물인 PFOS와 PFOA에서도 상대 표준편차(RSD) 값이 각각 20%, 68%로 나타났다.⁵⁷

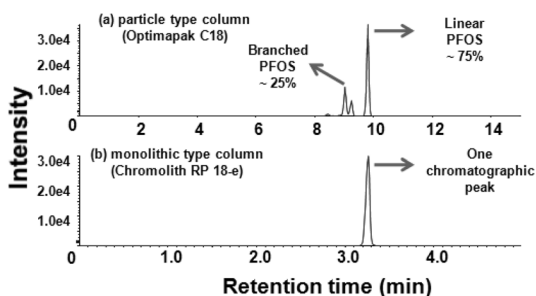


Fig. 3. Total ion chromatograms of PFOS separated by (a) C18 column and (b) monolithic type column.

3.2. 장비 내의 오염 문제

전술한 바와 같이 시료 오염은 시료 전처리 과정에서 발생할 수 있고 또한 분석장비에 의해서 유발되기도 한다. 장비로 인한 과불화 화합물의 오염은 HPLC-MS/MS의 다양한 잠재적 오염원으로부터 유발될 가능성이 있다. PFOS와 PFOA를 유기계 오염 물질 분석용 메탄올에 녹인 후 10 μ L를 바이알로부터 장비로 주입하여 분석하였는데 HPLC의 시료 주입구에 잔류하여 반복적인 분석에 영향을 미치는 정도는 공시료와 용매의 연속적인 주입 시 오히려 점진적으로 피이크의 누적량이 감소하는 것으로 확인하였다. 따라서 시료 주입구의 잔류로 인한 오염은 쉽게 해결할 수 있었다.²⁷ 그러나, HPLC의 용매관, 과불화 폴리머 재질의 부속품과 바이알 뚜껑의 주입구 부분은 과불화 화합물의 오염에 대한 잠재적인 원인으로써 확인되었다. 따라서 PTFE 재질의 HPLC 용매관은 스테인리스 스틸과 PEEK 재질의 관으로 교체하고 과불화 폴리머로 코팅한 HPLC의 가스 제거기와 용매선택 밸브는 HPLC로부터 분리시키는 것이 이들로부터 발생된 과불화 화합물의 영향을 줄이는 방법이다. 또한 용매 주입 필터의 경우도 스테인리스 스틸 재질로 교체하는 것이 과불화 화합물의 오염 농도를 크게 줄일 수 있는 HPLC 변용법이 될 수 있다. 이외에도 시료 바이알 뚜껑의 주입 부분도 테플론(Teflon)이나 Viton과 같은 과불화 폴리머 재질도 polyethylene (PE)재질로 변경 시 과불화 화합물의 양을 크게 줄일 수 있는 것으로 보여졌다.²⁷ 다른 실험에서는 HPLC 중 과불화 화합물의 분석 시에 스테인리스 스틸의 용매관을 PEEK 재질의 용매관으로 교체하였고 그래파이트 테플론 피스톤 실(seal)을 PTFE가 제거된 실로 교체하였다.^{26,58} 또 다른 연구에서는 HPLC의 잠재적인 오염원에 대한 조사에서 장비로 인한 오염문제가 검출한계 미만이므로 고려할 정도의 값이 아니라고 보고하기도 하였다.²⁸

3.3. Liquid chromatograph 분석 조건

과불화 화합물의 LC 분리분석은 역상 C-18 혹은 C-8 컬럼을 통해 이루어지고 있다. 그러나 RP-C18 컬럼 대신 perfluorinated RP-C8 컬럼을 사용하면 하수오물을 PLE 추출 후 어떠한 정제 과정 없이도 바탕시료의 분석방해물질에 대한 문제를 해결할 수 있는 것으로 나타났다.¹⁵ 그러나 동일 실험에서 이와 같은 바탕 시료에 의한 영향이 큰 문제가 되지 않아 RP-C18 컬럼으로 분석을 하였다. 또한 RP-C18 컬럼을 통한 분석에서 과불화 화합물은 알킬 체인의 길이만으로

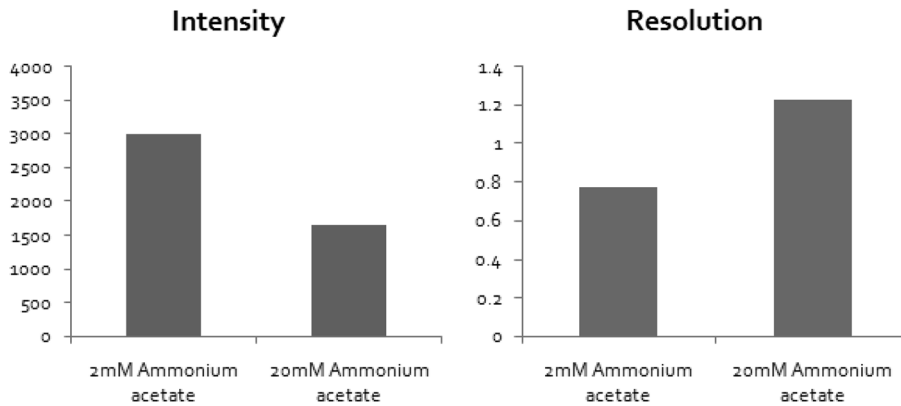


Fig. 4. Effect of mobile phase on the peak responses and peak resolution (resolved with PFHpA) of PFOA (m/z 413⁺369)

분리가 되는 것이 아니라 이성질체의 구조에 의한 분리로 인한 영향도 일어나는 데 이러한 현상은 PFOS의 표준품 시료를 통한 실험을 통해 분명하게 확인할 수 있다(Fig. 3(a)).^{15,59} 역상 컬럼의 사용에 있어서 더 짧은 알킬 체인을 가진 컬럼을 사용 시에 이와 유사한 이성질체의 분리는 일어나지만 분리능은 약간 감소한다고 보고되었다.³⁴ 그리고 이성질체의 분리를 최소화하기 위하여 컬럼의 온도를 35 °C 내지 40 °C에서 분석하기도 하였다.^{58,60} 이러한 이성질체의 분리로 인하여 과불화화합물의 정량적인 문제점은 모노리틱(monolithic)타입의 컬럼을 사용함으로써 해결할 수 있는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 즉 모노리틱 컬럼의 장점인 빠른 용출과 낮은 역압력으로 과불화화합물들을 분리시킬 수 있으며, Fig. 3에서 보듯이 이성질체들의 분리가 나타나지 않아 선형 및 비선형의 이성질체가 하나의 피크로 나타남으로써 보다 효율적인 정량을 수행할 수 있는 장점이 있다. 과불화 화합물은 C-18 컬럼이나 페닐 컬럼을 사용했을 때 보다 C-8 컬럼을 사용했을 경우 컬럼에서의 머무름이 더 길게 나타난다. 더욱이 C-8 컬럼과 end-capped C-8 컬럼의 머무름 시간의 비교를 통해 C-8 컬럼의 친수성 잔기인 실라놀기가 과불화 화합물의 머무름과 분리에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다.¹⁵ 이동상으로써는 아세트니트릴과 증류수 혹은 메탄올과 증류수의 혼합 용매를 사용하는데 1 mM에서 20 mM 사이의 암모늄 아세테이트 염을 사용하여 LC 상의 분리와 MS 상의 감도를 개선시키는 데 이용하였다. 암모늄 아세테이트 염의 농도에 따른 PFOS (m/z 499), PFOA (m/z 369), PFOSA (m/z 498)의 감도를 조사한 연구에서는 1 mM의 암모늄 아세테이트일 때가 가장

좋은 감응을 보였다.³⁶ 그러나 염의 농도를 감소시킬 경우에는 피크의 분리도(resolution)에 영향을 미치므로 감도와 분리도에 대한 영향을 고려하여 염의 농도를 선정하여야 한다(Fig. 4).

3.4. LC-MS와 LC-MS/MS의 분석 조건

환경 시료 중의 과불화 화합물의 분석은 앞서 언급한 주요 물질인 PFOS, PFOA의 비휘발성으로 인하여 LC법으로 분석이 되고 있으며 그와 더불어 주로 질량 분석기로 검출하고 있다.

주로 언급되어진 연구들에서는 LC-MS 혹은 LC-MS/MS에 의해서 과불화 화합물을 정량하였다. 환경 시료 중에서는 시료 내에 다양한 물질이 혼재하는 특성으로 인하여 매트릭스 상에서 다양한 분석방해물질이 분석 물질의 검출 시에 나타난다. 최근에는 매트릭스에 의한 방해물질의 문제점을 해결하기 위하여 LC-MS/MS의 MRM법을 이용하여 분석 물질의 전구 이온에서 생성되는 product ion을 선정하여 좀 더 선택적으로 분석하기도 한다. 그러나 tandem MS를 이용한 분석법에서도 정밀한 정제방법을 거치지 않으면 이온화 단계에서 분석방해물질로 인하여 이온화에 영향을 받거나 이온이 MRM 과정 중 전이 단계에서도 영향을 받기도 한다. 특히 복잡한 매트릭스 속에 존재하는 극미량의 PFC의 정확한 분석을 위하여 정밀한 추출 및 정제방법의 개발과 선택적이며 고유성과 감도 높은 검출방법이 함께 적용되어야 한다.

환경 시료 중 환경오염 물질을 분석하기 위하여 LC-MS와 LC-MS/MS 에서 사용하고 있는 대기압 이온화법에는 전자분무이온화(ESI) 방법과 대기압화학이온화(APCI) 방법이 가장 널리 이용되고 있다. APCI

방법이 기체상에서 이온화하기 때문에 매트릭스로 인한 영향은 ESI보다 덜 받는다고 인식되고 있다. 그러나 APCI는 ESI 이온화법에 비해 환경 분석법에 있어서 덜 적용되고 있는데 그 이유는 분석될 수 있는 화합물의 극성과 분자량의 크기에 있어서 제한적이기 때문이다. 특히 PFOS를 비롯한 과불화 화합물의 경우 이온성 물질이므로 APCI에 의한 이온화가 비효율적인 것으로 나타났다.

일반적으로 ESI 이온화방법에 의한 음이온성 과불화 화합물을 분석할 경우 음이온(negative ion) 모드에서 수행한다. 음이온 모드로도 과불화 설펜아마이드류와 같은 중성 분자를 효율적으로 검출할 수 있다. 반면에 APCI의 사용은 단지 양이온(positive ion) 모드에서와 같이 일부 몇몇 경우에서 비이온성 물질 및 PFOS의 검출을 위해서 사용했다.^{15,61}

정량적 검출을 위해서 LC-MS/MS에서 사용되는 분무 기체 등의 압력이나 이온원의 온도, 이온화 전압량이나 충돌 에너지와 같은 값들을 최적화하여 전구 이온이나 product ion을 가장 잘 검출할 수 있도록 해야 하지만 실제로 이들 파라미터에 대한 최적화는 사용하는 장비에 따라 변화가 있으므로 특정조건을 선정

하여 함께 사용할 수 없다.^{36,62} MRM transition 선정 시에는 과불화 카르복실산의 경우에는 충돌유발분해(collision induced dissociation, CID) 시에 decarboxylation이 유발된 $[M-H-CO_2]^-$ 이온의 세기가 크기 때문에 $[M-H]^- \rightarrow [M-H-44]^-$ 이온을 MRM transition으로 정한다(Fig. 5(a)). 과불화 설펜산의 경우에도 CID 시 생성된 설펜네이트 $[SO_3]^-$ 인 m/z 80와 플루오르 설펜네이트 $[SO_3F]^-$ 인 m/z 99 이온의 세기가 높아 이를 선정하여 주로 사용하지만 두 생성 이온 중에서도 설펜네이트 $[SO_3]^-$ 인 m/z 80가 더 생성량이 많아 주로 $[M-H]^- \rightarrow 80$ 을 MRM transition으로 선정하여 사용하고 있다(Fig. 5(b)).^{60,58} 그러나 과불화 설펜산 중 PFOS의 경우 499 \rightarrow 80를 선정할 경우 체내 내이온성 물질 중 하나인 taurodeoxy cholate도 m/z 80 이온이 생성되어 중복 검출될 수 있고 PFHxS의 경우에는 isopregnanalone sulfate가 m/z 399 \rightarrow 80이 발생되므로, m/z 399 \rightarrow 99의 MRM transition에서 동일하게 결과 값을 가지므로 이보다 이온 세기가 더 낮은 생성 이온을 선정하여 분석하기도 하였다.⁶³ 따라서 극미량의 PFC의 분석에 있어서는 시료의 추출 및 정제과정에 대한 연구, LC에 의한 분리, MS에 의한 효율적인 검출에 대하여 복합적으로 고려해야 한다.

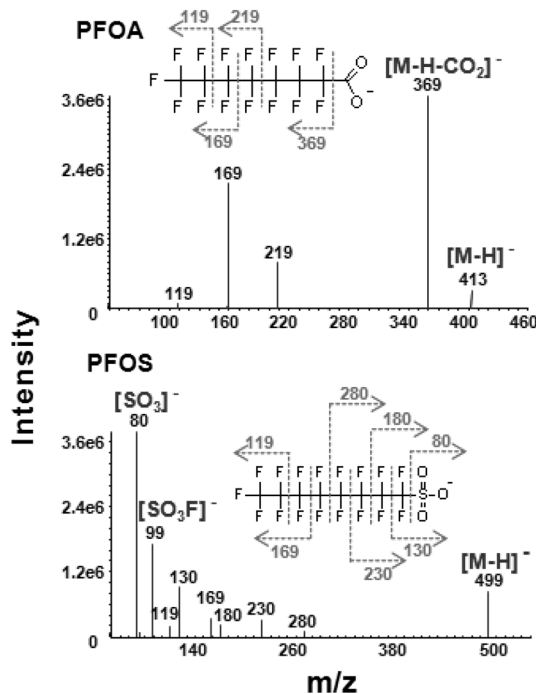


Fig. 5. Typical ESI-MS/MS spectra of PFOA and PFOS compounds in negative ion mode.

감사의 글

본 연구는 2009년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구 개발비 지원(09182유해물608)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. B. D. Key, R. D. Howell and C. S. Criddle, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 2445(1997).
2. R. Renner, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 154A(2001).
3. L. Cui, Q. Zhou, C. Liao, J. Fu and G. Jiang, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **56**, 338(2009).
4. J. L. Newsted, S. A. Beach, S. P. Gallagher and J. P. Giesy, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **50**, 411(2006).
5. C. Lau, K. Anitole, C. Hodes, D. Lai, A. Pfahles-Hutchens and J. Seed, *Toxicol. Sci.*, **99**(2), 366(2007).
6. Stockholm convention, Perfluorooctane sulfonic acid (PFOS), its salts and perfluorooctane sulfonyl fluoride (PFOS-F), decision SC-4/17, Annex B, Stockholm convention, Geneva, Switzerland, 2009.

7. US EPA, Perfluorooctyl sulfonates. Proposed significant new use rule, 40 CFR Part 721, US EPA, Washington DC, 2002.
8. OECD, Co-operation on existing chemicals-Hazard assessment of perfluorooctane sulfonate and its salts. Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, 2002.
9. EU, Directive 2006/122/ECOF, the European Parliament and of the Council, *Off. J. Eur. Union*, **L372**, 32(2006).
10. E. Kissa, Fluorinated surfactants: synthesis, properties, applications. Marcel Dekker, New York, 1994.
11. 3M, Sulfonated perfluorochemicals in the environment: Sources, dispersion, fate and effects. 3M, St. Paul, MN, 2000.
12. C. A. Moody and J. A. Field, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2800(1999).
13. C. A. Moody, W. C. Kwan, J. W. Martin, D. C. G. Muir and S. A. Mabury, *Anal. Chem.*, **73**, 2200(2001).
14. C. A. Moody, J. W. Martin, W. C. Kwan, D. C. G. Muir and S. A. Mabury, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 545(2002).
15. H. F. Schrder, *J. Chromatogr. A*, **1020**, 131(2003).
16. M. M. Schultz, D. F. Barofsky and J. A. Field, *Environ. Eng. Sci.*, **20**, 487(2003).
17. E. Kissa, Fluorinated surfactants and repellents. Marcel Dekker, New York, 1994.
18. G. T. Tomy, S. A. Tittlemier, V. P. Palace, W. R. Budakowski, E. Braekevelt, L. Brinkworth and K. Friesen, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 758(2004).
19. S. Taniyasu, K. Kannan, U. Horii, N. Hanari and N. Yamashita, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 2634(2003).
20. S. Taniyasu, K. Kannan, M. K. So, A. Gulkowska, E. Sinclair, T. Okazawa and N. Yamashita, *J. Chromatogr. A*, **1093**, 89(2005).
21. M. Villagrasa, M. L. Alba and D. Barcel, *Anal. Bioanal. Chem.*, 386, 953(2006).
22. H. Lehmler, *Chemosphere*, **58**, 1471(2005).
23. M. J. A. Dinglasan, Y. Ye, E. A. Edwards and S. A. Mabury, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 2857(2004).
24. N. L. Stock, F. K. Lau, D. A. Ellis, J. W. Martin, D. C. G. Muir and S. A. Mabury, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 991(2004).
25. D. F. Hagen, J. Belisle, J. D. Johnson and P. Venkateswarlu, *Anal. Biochem.*, **118**, 336(1981).
26. A. Krrman, B. Bavel, U. Jrnberg, L. Hardell and G. Lindstrm, *Anal. Chem.*, **77**, 864(2005).
27. N. Yamashita, K. Kannan, S. Taniyasu, Y. Horii, T. Okazawa, G. Petrick and T. Gamo, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 5522(2004).
28. K. Inoue, F. Okada, R. Ito, S. Kato, S. Sasaki, S. Nakajima, A. Uno, Y. Saijo, F. Sata, Y. Yoshimura, R. Kishi and H. Nakazawa, *Environ. Health. Perspect.*, **112**, 1204(2004).
29. R. G. Luthy, G. R. Alken, M. L. Brusseau, S. D. Cunningham, P. M. Gschwend, J. J. Pignatello, M. Reinhard, S. J. Traina, Jr. W. J. Wever and J. C. Westall, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 3341(1997).
30. J. C. Westall, H. Chen, W. Zhang, and B. J. Brownawell, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 3110(1999).
31. C. P. Higgins, J. A. Field, C. S. Criddle and R. G. Luthy, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 3946(2005).
32. P. D. Jones, W. Hu, W. Coen, J. L. Newsted and J. P. Giesy, *Environ. Toxicol. Chem.*, **22**, 2639(2003).
33. A. Holm, S. T. Wilson, P. Molander, E. Lundanes and T. Greibrokk, *J. Sep. Sci.*, **27**, 1071(2004).
34. Z. Kuklennyik, J. A. Reich, J. S. Tully, L. L. Needhan and A. M. Calafat, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 3698(2004).
35. J. Belisle and D. F. Hagen, *Anal. Biochem.*, **101**, 369(1980).
36. K. Inoue, F. Okada, R. Ito, M. Kawaguchi, N. Okanouchi and H. Nakazawa, *J. Chromatogr. B*, **810**, 49(2004).
37. K. Kannan, K. J. hansen, T. L. Wade and J. P. Giesy, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **42**, 313(2002).
38. K. Kannan, J. C. Franson, W. W. Bowerman, K. J. Hansen, P. D. Jones and J. P. Giesy, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 3065(2001).
39. K. Kannan, J. Koistinen, K. Beckmen, T. Evans, J. F. Gorzelany, K. J. Hansen, P. D. Jones, E. Helle, M. Nyman and J. P. Giesy, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1593(2001).
40. K. Kannan, J. W. Choi, N. Iseki, K. Senthilkumar, D. H. Kim, S. Masunaga and J. P. Giesy, *Chemosphere*, **49**, 225(2002).
41. G. W. Olsen, T. R. Church, E. B. Larson, G. Belle, J. K. Lundberg, K. J. Hansen, J. M. Burris, J. H. Mandeland L. R. Zobel, *Chemosphere*, **54**, 1599(2004).

42. K. J. Hansen, L. A. Clemen, M. E. Ellefson and H. O. Johnson, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 766(2001).
43. US EPA, Perfluorooctane sulfonate: Current summary of human sera, health and toxicology data (Doc: AR226-0048). US EPA, Washington DC, 1999.
44. G. W. Olsen, K. J. Hansen, L. A. Stevenson, J. M. Burris and J. H. Mandel, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 888(2003).
45. US EPA, Draft of hazard assessment of perfluorooctanoic acid and its salts (Doc: AR226-1079). US EPA, Washington DC, 2002.
46. J. P. Giesy and K. Kannan, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1339(2001).
47. K. Kannan, J. Newsted, R. S. Halbrook and J. P. Giesy, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2566(2002).
48. P. de Voogt and M. Sez, *Trends. Anal. Chem.*, **25**, 326(2006).
49. J. W. Martin, D. C. G. Muir, C. A. Moody, D. A. Ellis, W. C. Kwan, K. R. Solomon and S. A. Mabury, *Anal. Chem.*, **74**, 584(2002).
50. G. Yamamoto, K. Yoshitake, T. Sato, T. Kimura and T. Ando, *Anal. Biochem.*, **182**, 371(1989).
51. C. A. Moody and J. A. Field, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3864(2000).
52. M. Hudlicky and A. E. Pavlath, Chemistry of organic fluorine compounds II: A critical review. American Chemical Society, Washington DC, 1995.
53. J. March, Advanced organic chemistry, 3rd edn. Wiley, New York, 1985.
54. D. W. Kuehl and B. Rozynov, *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, **17**, 2364(2003).
55. K. J. Hansen, H. O. Johnson, J. S. Eldridge, J. L. Butenhoff and L. A. Dick, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1681(2002).
56. I. Langlois and M. Oehme, *Organohalogen Compd.*, **66**, 3973(2004).
57. G. Lindström, A. Krrman and B. Bavel, *J. Chromatogr. A*, **1216**, 394(2009).
58. M. M. Schultz, D. F. Barofsky and J. A. Field, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 289(2006).
59. N. Riddell, G. Arsenault, J. P., Benskin, B. Chittim, J. W. Martin, A. McAlees and R. McCrindle, *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 7902(2009).
60. B. Boulanger, J. Vargo, J. L. Schnoor and K. C. Hornbuckle, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 4064(2004).
61. C. Sottani and C. Minoia, *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, **16**, 650(2002).
62. M. Takino, S. Daishima and T. Nakahara, *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, **17**, 383(2003).
63. E. Chan, M. Sandhu, J. P. Benskin, M. Ralitsch, N. Thibault, D. Birkholz and J. W. Martin, *Rapid. Commun. Mass. Spectrom.*, **23**, 1405(2009).