

간섭물질이 혼재된 시료의 미세플라스틱 분석을 위한 Py-GC-MSMS의 활용

저자

김병호¹⁾, 김주혜²⁾, 김영민^{2)*}
¹⁾ 한국애질런트테크놀로지스(주),
²⁾ 대구대학교

개요

플라스틱은 우리의 생활환경 곳곳에 널리 사용되어 오늘날 플라스틱이 없는 환경을 생각해 보기 어려울 정도입니다. 플라스틱 중 지름 5mm 이하인 것을 미세플라스틱(micro-plastic)이라고 하며, 이러한 미세플라스틱은 수질, 토양, 대기 환경 뿐만 아니라 식품 및 생체 내에서도 검출되고 있다는 보고들이 나오면서 오염 현황과 독성에 관한 많은 연구들이 진행되고 있습니다.

이러한 연구에 있어서 미세플라스틱의 분석기법은 매우 중요하고, IR이나 Raman과 같은 분광 장치를 이용하여 미세플라스틱의 종류, 형태, 사이즈, 개수를 분석하는 방법과 Py(Pyrolysis)나 TED(Thermo Extraction Desorption)와 같이 열분석 장치를 이용하여 미세플라스틱의 종류별 양을 분석하는 방법 등이 활용되고 있습니다. Py-GCMS는 최근 국제 공인시험법인 ASTM 방법으로 인정되면서 먹는 물 중 미세플라스틱 분석을 위해 많이 활용되고 있으나, 매트릭스가 복잡한 환경 시료나 식품 시료의 경우에는 전처리 부담 및 분석대상 피크에 간섭이 발생될 수 있어서 고감도 및 보다 정확한 분석법의 필요성이 있습니다. 이에 본 응용자료에서는 Py-GC-MSMS(MRM mode)를 미세플라스틱 분석에 적용하여 간섭물질이 혼재된 시료의 미세플라스틱 분석에 활용 여부를 확인하고자 하였습니다.

설정된 Py-GC-MSMS(MRM mode) 조건으로 분석한 결과 미세플라스틱 11종이 혼합된 표준물질(RM)을 동시 분석하여, 각 미세플라스틱 종류별로 수백 ng에서 수 µg 정도의 범위에서 검량선의 직선성 R2값이 대부분 0.99 이상을 나타냈습니다.

Scan(Target EIC) 모드에 비해 MRM 모드로 분석 시 Noise가 낮아지며, 이에 따라 MRM 모드로 분석 시 SN비가 높아져 보다 좋은 감도로 미세플라스틱을 검출할 수 있었습니다. 또한 시료 분석 시 매트릭스 간섭이 있는 경우 MRM 모드의 적용으로 보다 정확한 정량결과를 얻을 수 있었습니다. 이와 같이 복잡한 매질의 시료 및 극미량의 미세플라스틱 정량을 위해 Py-GC-MSMS(MRM mode)는 매우 유용하게 활용될 수 있습니다.

서론

화장품, 의류, 식품 포장, 플라스틱 폐기물 등 다양한 제품에서 자연 생태계로 유입되어 오염을 유발하는 미세플라스틱은 수질, 토양, 대기 환경 뿐만 아니라 식품 및 생체 내에서도 검출되고 있다는 보고들이 나오면서 오염 현황과 독성에 관한 많은 연구들이 진행되고 있습니다. 5mm 이하의 입자 크기를 갖는 플라스틱 조각으로 정의되는 미세플라스틱은 제조시부터 5mm 이하인 1차 미세플라스틱과 플라스틱이 환경 내에서 자연 풍화 과정을 거쳐 분해되면서 생성되는 2차 미세플라스틱으로 분류됩니다. 2차 미세플라스틱은 오랜 시간에 걸쳐 생성되고 많은 유기체와 조직내로 섭취 및 흡수 과정을 통해 축적될 가능성이 있으며, 세포의 염증 반응과 같은 독성 효과도 있다는 보고가 나오면서 미세플라스틱의 오염 실태와 영향을 연구하기 위해 최근 많은 분석기법이 개발되고 있습니다.

미세플라스틱은 입자 사이즈가 큰 경우 유관이나 현미경 관찰을 통해서도 확인이 가능하지만, 사이즈가 작은 경우 관찰이 어렵고 플라스틱 종류별 정량 분석이 어렵기 때문에 최근에는 IR이나 Raman과 같은 분광 장치나 Py-GCMS¹⁰나 TED-GCMS와 같은 열분석 장치를 활용한 기법들이 널리 사용되고 있습니다. IR과 Raman 분석의 경우 시료를 전처리한 후 여과 과정을 거쳐 회수된 필터 위에 올려진 미세플라스틱의 종류, 형태, 사이즈, 개수를 분광학적 기법을 이용하여 확인할 수 있으며, Py(Pyrolysis)-GCMS나 TED(Thermal Extraction Desorption)-GCMS의 경우에는 회수된 필터위에 올려진 미세플라스틱을 열분해 하여 얻어지는 화합물을 GCMS로 분석함으로써 미세플라스틱의 종류별 (무계단위로) 정량 분석할 수 있는 기법입니다. Py-GCMS는 최근 국제 공인시험법인 ASTM 방법으로 인정되면서 먹는 물 중 미세플라스틱 분석을 위해 많이 활용되고 있으나 매트릭스가 복잡한 환경 시료나 식품 시료의 경우에는 유기물 제거 및 밀도 분리 이후에도 상당량의 복잡한 매트릭스가 미세플라스틱과 함께 혼재할 경우가 많고, Py-GCMS 분석 시 매트릭스의 열분해 생성물이 미세플라스틱의 열분해 생성물 피크와 분리되지 않아 간섭을 주고 Target ion까지 중첩되는 경우가 발생할 수 있습니다.

이에 본 응용자료에서는 Py-GC-MSMS(MRM mode)를 미세플라스틱 분석에 적용하여 복잡한 매트릭스가 혼재된 시료에서도 미세플라스틱의 정확한 정량분석이 가능한지 여부를 확인하고자 하였습니다.

실험

표준물질 및 시료

실험에 사용된 표준물질(reference material, RM9))은 미세플라스틱 11종(PMMA, Nylon-6, Nylon-6,6, SBR, PP, PET, PVC, PC, PE, ABS, PS)이 비활성화 처리된 SiO₂에 일정 농도로 희석된 Microplastics Calibration Standard(Py1-4940, Frontier Laboratories LTD.)를 사용하였고, 검량선 작성을 위해 RM 0.05, 0.1, 0.5, 1.0mg을 각각 Pyrolyzer 시료컵에 넣은 후 Py-GC-MSMS로 분석하였습니다.

실제 시료는 천일염을 사용하였고, 각 천일염 시료 100g을 증류수에 녹인 후 20µm 사이즈의 SUS 필터를 이용하여 거른 후 여러 번 접어서 Pyrolyzer 시료컵에 넣은 후 Py-GC-MSMS로 분석하였습니다.

분석 기기 및 조건

분석 장치로는 Frontier Lab사의 Pyrolyzer(Py-3030D)와 Agilent사의 8890 GC-7000E MSMS를 사용하였습니다. Pyrolyzer의 온도는 아래 표 1.에 나타낸 것과 같이 600°C 로 설정하였으며, 열분해에 의해 생성된 성분들은 GC inlet(320°C, Split 50:1)을 지나 Microjet Cryo Trap에서 비활성화된 메탈 케필러리 컬럼(UA-5, 30m x 0.25mm x 0.25µm)의 앞단부에 가해지는 액화질소에 의해 Cryo Focusing되고 약 3분 후 GC 오븐 온도 프로그램에 의해 분리되어 질량분석기로 이동하게 하였습니다. 분석조건은 각각 아래의 표 1, 2, 3, 4와 같습니다.

표 1. Frontier Lab 3030D Pyrolyze 분석조건.

파라미터	값
분석 기기	Frontier Lab 3030D Pyrolyze
모드	Single shot
Furnace 온도	600°C

표 2. Agilent 8890 GC 분석조건.

파라미터	값
분석 기기	Agilent 8890 가스 크로마토그래피
주입구	분할주입모드, 분할비 50:1
주입구 온도	320°C
컬럼	UA-5 (30m x 250µm x 0.25µm)
컬럼 유량	1mL/분(일정한 유량, He)
오븐	40°C에서 5분간 유지 20°C/분으로 320°C까지 올려서 6분간 유지
Transfer line 온도	300°C

표 3. Agilent 7000E MSMS 분석조건.

파라미터	값
분석 기기	Agilent 7000E MSMS
이온 소스	전자 이온화(EI)
전자 에너지	70 eV
소스 온도	230°C
사중극자(1, 2) 온도	150°C
검출기 설정	Gain 1
모드	MS1 Scan(m/z 29~300) and MRM

표 4. MRM 조건.

Polymer in RM	Compound (Indicator Peak)	RT (min)	MRM Mode (Transitions)			
			Target Ion m/z	Precursor Ion m/z	product Ion 1 Main m/z (CE, eV)	product Ion 2 Support m/z (CE, eV)
PMMA	Methylmethacrylate	3.228	99	99	43 (10)	71 (10)
Nylon-6,6	Cyclopentanone	5.595	84	84	55 (5)	41 (30)
SBR	4-Vinylcyclohexene	6.833	54	54	39 (10)	-
PP	2,4-Dimethyl-1-heptane	7.045	126	126	83 (5)	55 (20)
PET	Benzoic acid	11.197	122	122	105 (10)	77 (20)
PVC	Naphthalene	11.523	128	128	102 (20)	78 (20)
Nylon-6	Caprolactam	11.987	113	113	85 (5)	56 (10)
PC	p-isopropenylphenol	12.319	134	134	119 (10)	91 (20)
PE	1-Tetradecene	12.938	84	84	55 (10)	69 (5)
ABS	2-Phenethyl-4-phenylpent-4-enenitrile (SAS)	17.427	170	170	128 (20)	143 (10)
PS	5-Hexene-1,3,5-triyltribenzene (SSS)	18.604	117	117	115 (15)	91 (20)

결과

크로마토그램

Microplastics Calibration Standard(MPCS)를 Scan 모드와 MRM 모드로 분석한 크로마토그램은 아래 그림 1.과 같습니다. Scan TIC는 11종의 미세플라스틱에 대하여 Pyrogram이 혼합되어 나타내며, 각 미세플라스틱의 Indicator Peak에 대한 Target Ion(m/z)의 EIC를 확인할 수 있습니다. 이와 같이 각 미세플라스틱의 Indicator Peaks에 대한 농도별 area로 검량선을 작성하고, 시료 내 미세플라스틱의 정량분석에 적용할 수 있습니다.

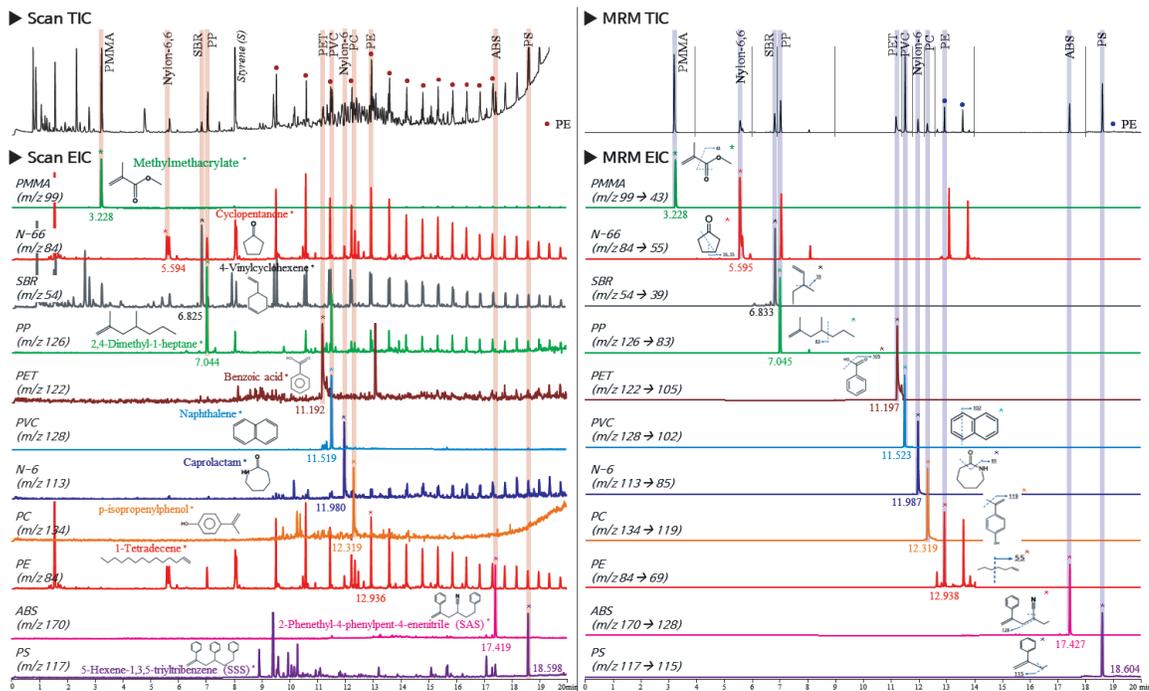


그림 1. Microplastics Calibration Standard(MPCS)를 Scan 모드와 MRM 모드로 분석한 크로마토그램(TIC 및 EIC).

추가적으로 앞에서 언급한 바와 같이 MRM을 이용하여 간섭을 줄이고, 보다 좋은 감도로 분석할 수 있기 때문에 해당 Indicator Peaks에 대한 MRM 조건을 설정 하였고, 설정된 MRM 모드로 분석한 크로마토그램은 위의 그림 1.의 오른쪽과 같습니다.

검량선

Microplastics Calibration Standard(MPCS)를 Ultra Micro Balance를 이용하여 0.05, 0.1, 0.5, 1.0mg을 정확히 달아 Pyrolyzer 시료컵에 취하고 검량용 표준시료로 분석하였습니다.



그림 2. 미세플라스틱 검량선 작성 워크플로.

Scan 모드로 분석하여 농도별 Indicator Peak에 대한 Target Ion(m/z)의 area로 검량선을 작성한 결과 미세플라스틱 11종의 검량선은 아래 그림 3.과 같습니다.

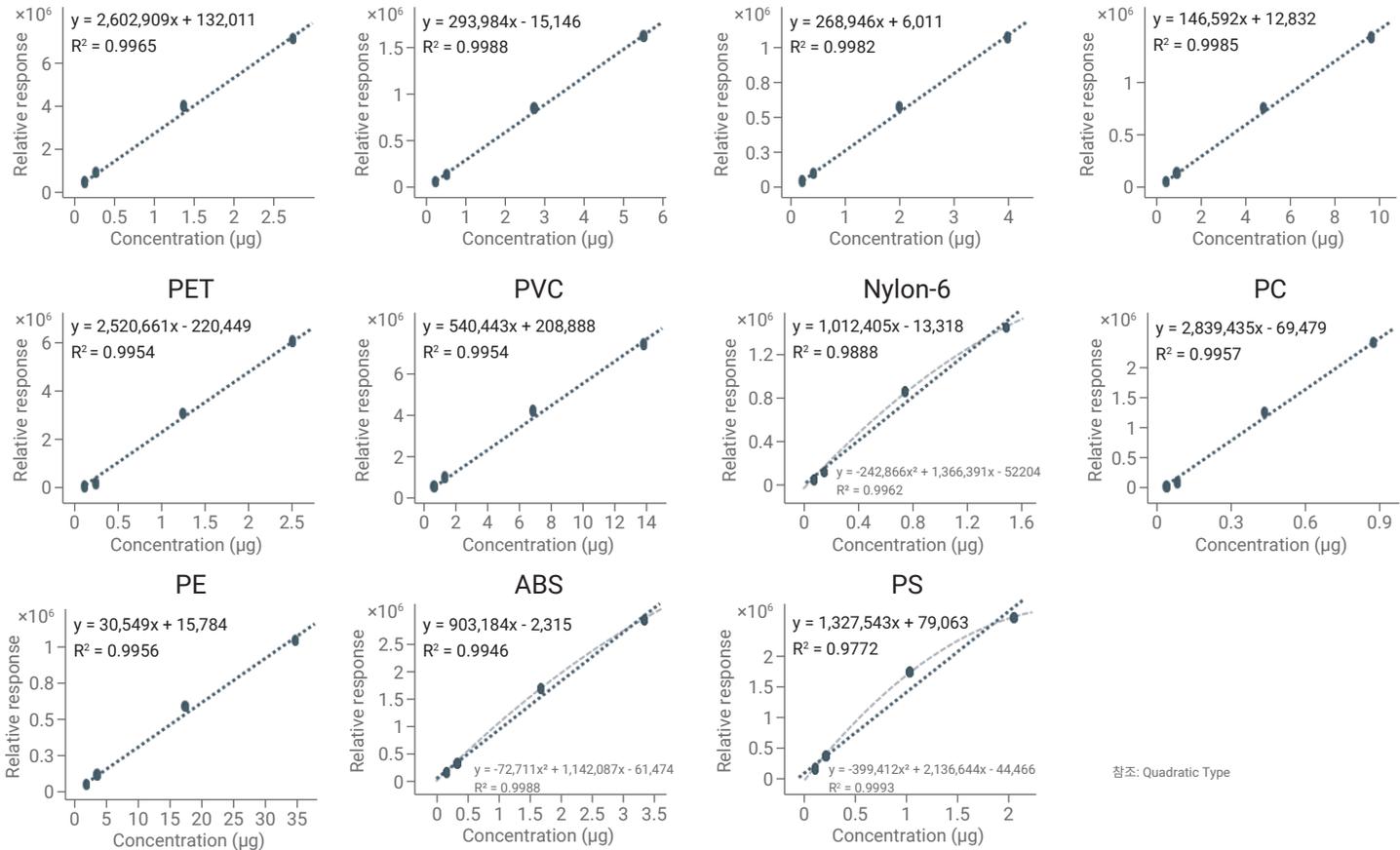


그림 3. 미세플라스틱 11종의 Scan 모드(Target EIC) 검량선.

또한 MRM 모드로 분석하여 작성한 검량선은 아래 그림 4.와 같습니다.

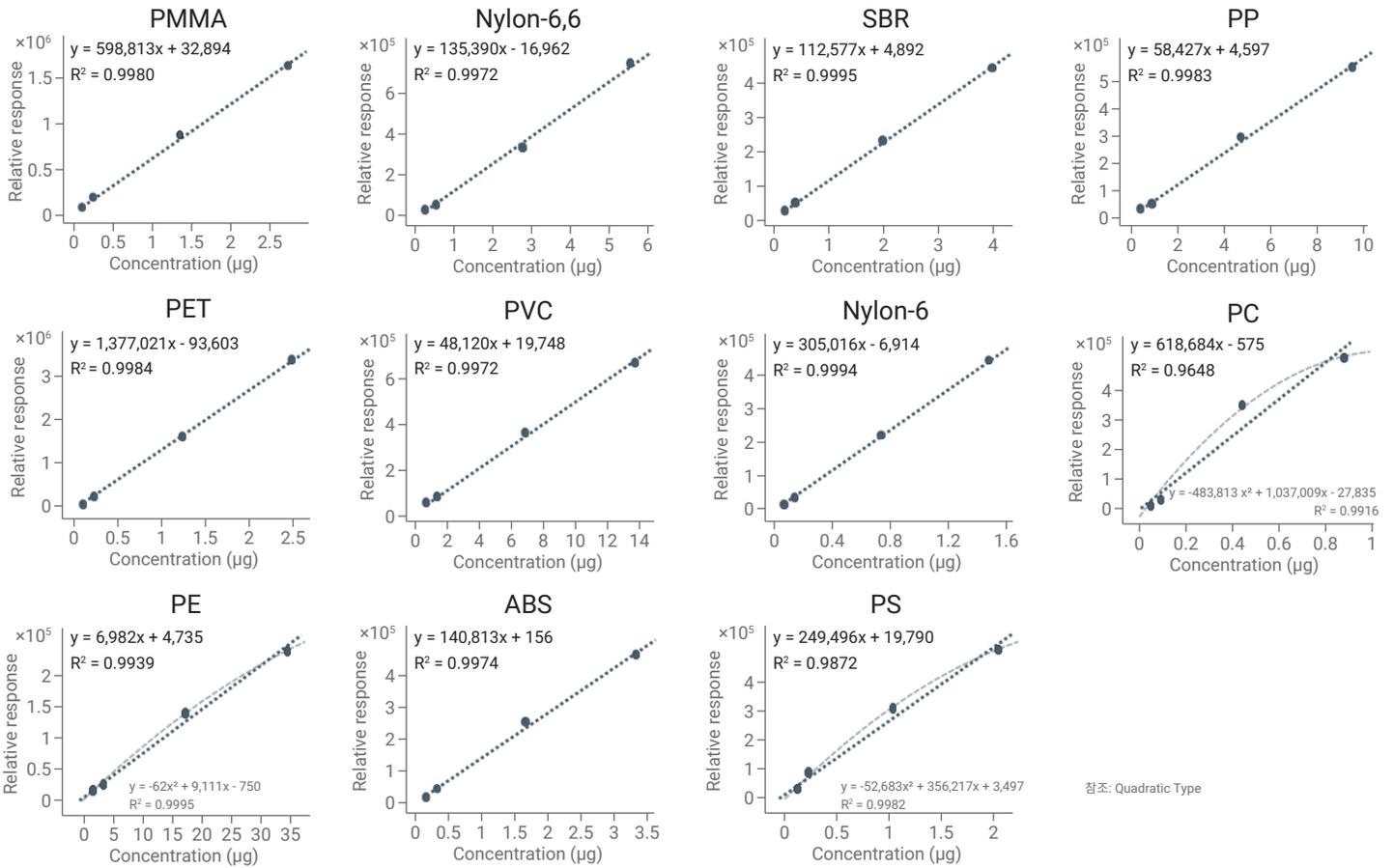


그림 4. 미세플라스틱 11종의 MRM 모드 검량선.

위의 그림 3, 4와 같이 PS 및 일부 Quadratic type을 보인 경우 직선성이 비교적 낮게 나타나는 경우가 있지만, 미세플라스틱 11종에 대하여 수백 ng에서 수 µg 정도의 범위에서 혼합된 RM 분석으로 동시에 검량선 작성이 가능하였고, 아래 표 5와 같이 Scan 모드와 MRM 모드 각각의 검량선 식을 확인할 수 있었습니다.

표 5. 미세플라스틱 11종의 Scan 및 MRM 모드 분석 검량선 정리 표.

Material	Mode	Regression Equation	R ²	Quantitative range (µg)
PMMA	Scan	y = 2,602,909x + 132,011	0.9965	0.14 ~ 2.73
	MRM	y = 598,813x + 32,894	0.9980	
Nylon-6,6	Scan	y = 293,984x - 15,146	0.9988	0.28 ~ 5.53
	MRM	y = 135,390x - 16,962	0.9972	
SBR	Scan	y = 268,946x + 6,011	0.9982	0.20 ~ 3.98
	MRM	y = 112,577x + 4,892	0.9995	
PP	Scan	y = 146,592x + 12,832	0.9985	0.48 ~ 9.55
	MRM	y = 58,427x + 4,597	0.9983	
PET	Scan	y = 2,520,661x - 220,449	0.9954	0.13 ~ 2.50
	MRM	y = 1,377,021x - 93,603	0.9984	
PVC	Scan	y = 540,443x + 208,888	0.9954	0.68 ~ 13.68
	MRM	y = 48,120x + 19,748	0.9972	
Nylon-6	Scan	y = 1,012,405x - 13,318	0.9888	0.07 ~ 1.48
	MRM	y = 305,016x - 6,914	0.9994	
PC	Scan	y = 2,839,435x - 69,479	0.9957	0.044 ~ 0.88
	MRM	y = 618,684x - 575	0.9648	
PE	Scan	y = 30,549x + 15,784	0.9956	1.73 ~ 34.60
	MRM	y = 6,982x + 4,735	0.9939	
ABS	Scan	y = 903,184x - 2,315	0.9946	0.166 ~ 3.33
	MRM	y = 140,813x + 156	0.9974	
PS	Scan	y = 1,327,543x + 79,063	0.9772	0.10 ~ 2.05
	MRM	y = 249,496x + 19,790	0.9872	

Scan 모드에서는 Nylon-6, PS 그리고 MRM 모드에서는 PC, PS 를 제외하고, 미세플라스틱 11종은 각각의 검량범위에서 검량선의 직선성 R²값이 대부분 0.99 이상을 나타냈습니다.

SN비(감도) 비교

가장 낮은 검량레벨(RM 0.05mg)에서 미세플라스틱 11종에 대해 Scan 모드와 MRM 모드 분석 시 정량이온 Peak의 Noise 및 SN비 (signal-to-noise ratio)를 비교하였습니다.

표 6. 검량 Level 1 정량이온 Peak의 감도.

Polymer in RM	RM in SiO2 0.05mg	Scan Mode (× marke)		MRM Mode (○ marke)	
	each amount (µg)	Noise*	SNR**	Noise*	SNR**
PMMA	0.14	155.5	1583.3	3.3	15618.8
Nylon-6,6	0.28	73.7	2399.8	2.2	4511.7
SBR	0.20	171.3	147.8	88.3	184.6
PP	0.48	556.1	77.7	10.9	1791.3
PET	0.13	94.5	733.6	1.1	8611.6
PVC	0.68	875.6	476.8	105.9	394.2
Nylon-6	0.07	202.5	97.4	26.0	284.6
PC	0.04	343.8	41.2	34.0	148.0
PE	1.73	221.3	228.4	111.2	122.6
ABS	0.17	824.2	87.8	62.6	226.5
PS	0.10	216.6	426.9	39.3	570.4

* Noise was defined to RMS (root-mean-square) noise algorithm.

**SNR is a signal for a specific range noise calculated by RMS.

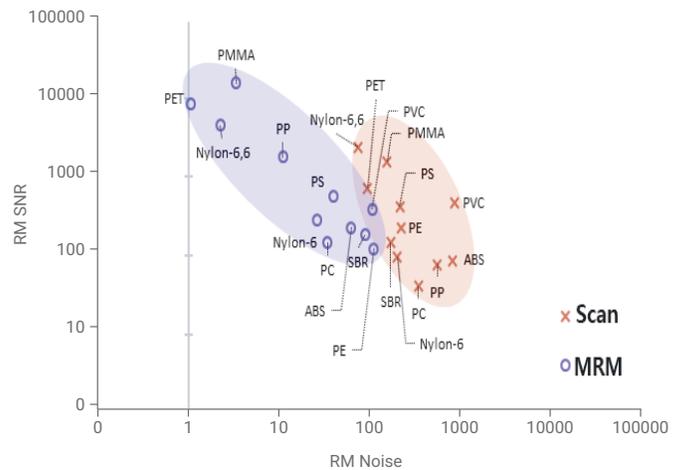


그림 5. 검량 Level 1 정량이온 Peak의 Noise 및 SN비 비교.

먼저 Scan(Target EIC) 모드에 비해 MRM 모드로 분석 시 Noise가 약 두배~수십배 정도 낮아지는 것을 확인할 수 있습니다. 이에따라 MRM 모드로 분석 시 SN비가 높아져 보다 좋은 감도로 미세플라스틱을 검출할 수 있습니다. 또한 실제 시료 분석 시 매트릭스 간섭이 있는 경우 이러한 Noise 및 SN비의 차이는 보다 더 커질 수 있고, MRM 모드의 적용이 탁월한 감도와 정확한 정량 결과를 얻을 수 있게 해 줍니다.

참고로 아래의 그림 6.과 같이 실제 시료 분석 시 매트릭스 간섭이 거의 없는 경우 Scan(Target EIC)모드와 MRM 모드로 분석한 PE 정량결과 값은 유사했지만, 간섭이 큰 경우 Scan(Target EIC) 모드로 분석한 값이 MRM 모드로 분석한 값에 비해 과대평가 됨을 확인했습니다.

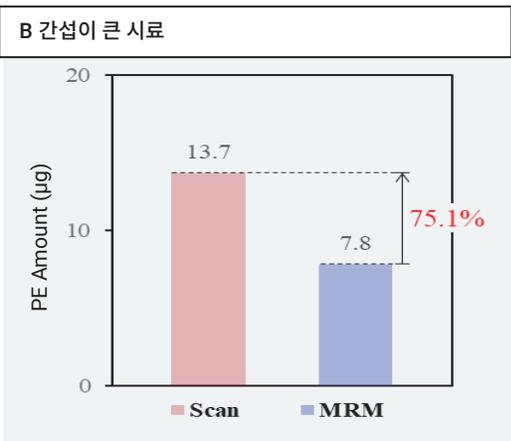
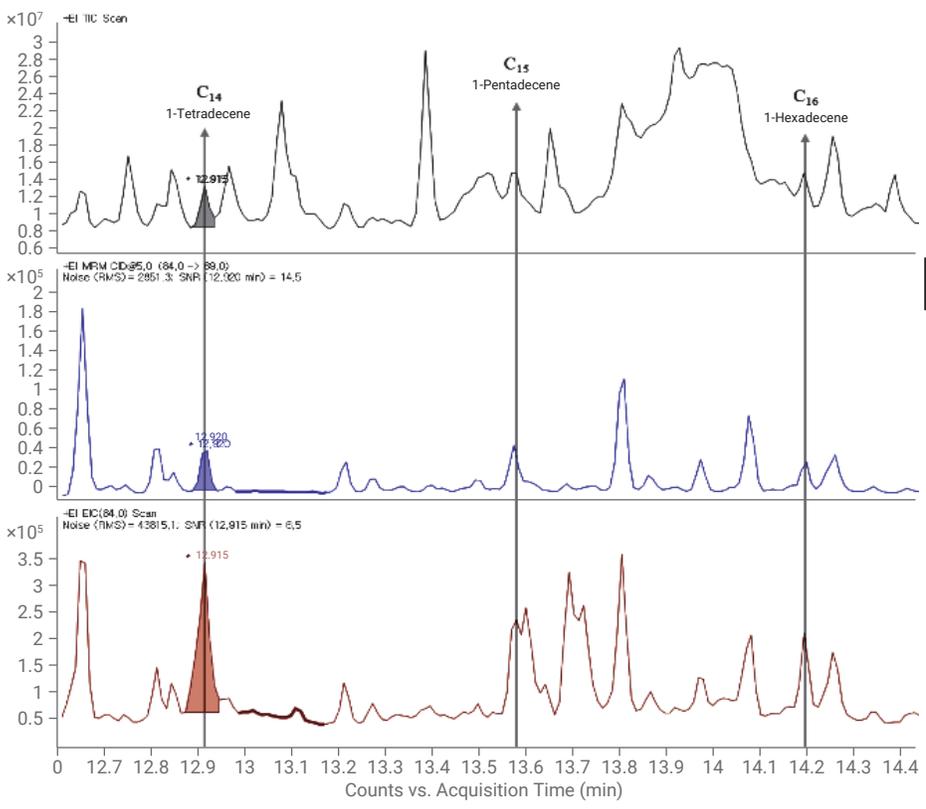
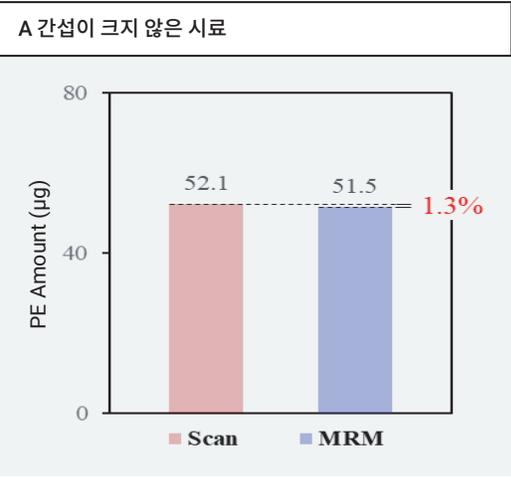
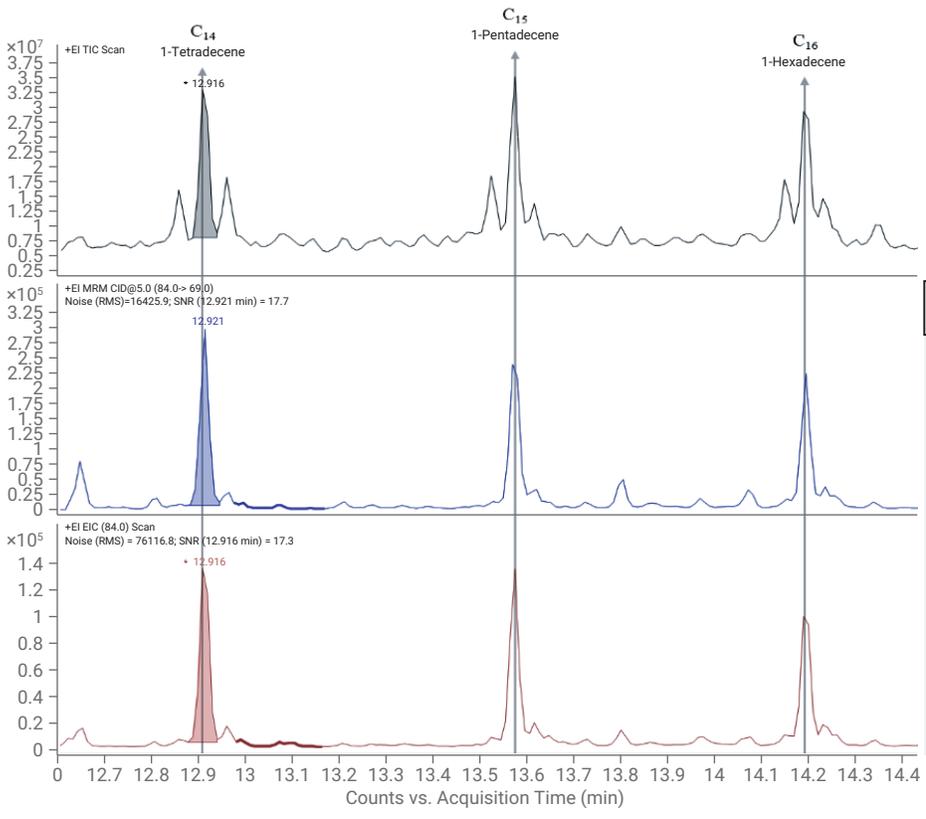
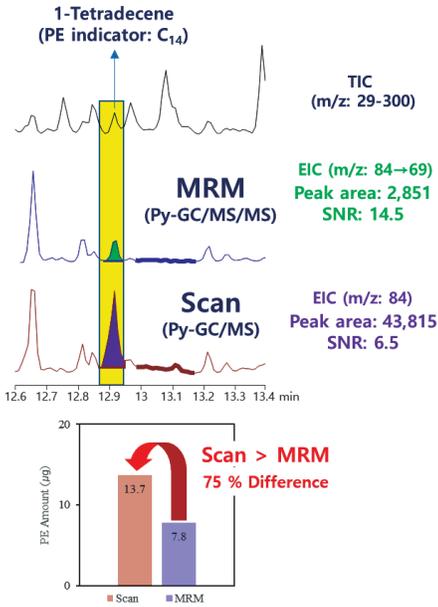


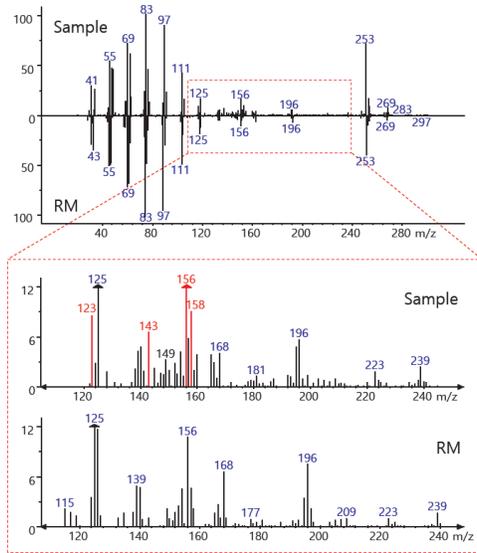
그림 6. 간섭에 따른 Scan 모드와 MRM 모드의 정량결과 차이.

Target 1-Tetradecene CCCCCCCCCCCC

A Comparison of MRM and Scan data in High Matrix



B Comparison of Mass Spectrum (TIC Component RT: 12.915)



C Merged TIC & EIC Chromatogram

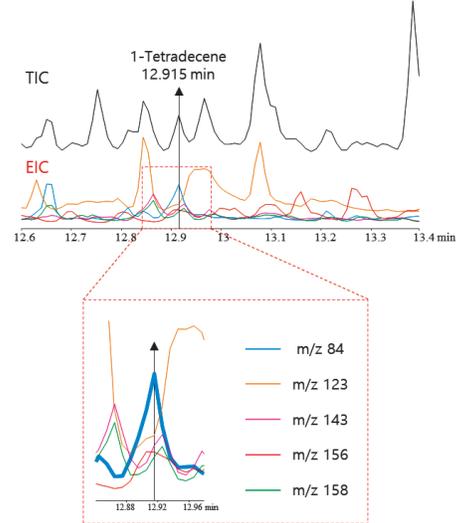


그림 7. 간섭이 큰 시료(그림 6. B)의 PE 분석 결과

위의 그림 7.A와 같이 PE의 Target 피크에 간섭이 있는 시료를 MRM 모드 분석을 통해 조각이온을 선택적으로 검출함으로써 Scan(Target EIC)모드 보다 15배 낮은 Noise와 약 2배 높은 SN비를 얻을 수 있었습니다. 이와 같이 MRM 모드 분석을 통해 보다 정확한 정량분석과 동시에 좋은 감도를 확인할 수 있었습니다.

그림 7. B에서 확인된 시료의 스펙트럼에서 붉게 표시된 ion(m/z)은 목적 성분의 검출 시간에 목적 성분 외 다른 물질이 존재함을 보여줍니다. 이와 같이 RM 분석 시와는 달리 실제 시료 분석에서 그림 7.C와 같이 디콘볼루션되는 EIC 스펙트럼의 확인으로 PE가 아닌 다른 화합물의 간섭이 존재함을 확인할 수 있었습니다.

결론 및 고찰

복잡한 매질의 시료 및 극미량의 미세플라스틱 정량분석을 위해 Py-GC-MSMS(MRM mode)를 이용한 미세플라스틱 정량분석법을 설정하였습니다.

설정된 Py-GC-MSMS(MRM mode)조건으로 분석한 결과 미세플라스틱 11종에 대해 각각 수백 ng에서 수 µg 정도의 범위에서 작성된 검량선의 직선성은 우수한 수준(R² > 0.99)을 보였습니다. Scan(Target EIC) 모드에 비해 MRM 모드로 분석 시 Noise가 두배~수십배 정도 낮아지며 이에 따라 MRM 모드로 분석 시 SN비가 높아져 보다 좋은 감도로 미세플라스틱을 검출할 수 있었습니다. 또한 시료 분석 시 매트릭스 간섭이 있는 경우 MRM 모드의 적용으로 보다 정확한 정량결과를 얻을 수 있었으며, 이와 같이 복잡한 매질의 시료 및 극미량의 미세플라스틱 정량을 위해 Py-GC-MSMS(MRM mode)가 매우 유용하게 활용될 수 있습니다.

참고 문헌

1. Jackie Whitecavage, John R. Stuff and Laurel Vernarelli. Determination of Microplastics using Pyrolysis Gas Chromatography Mass Spectrometry, *GERSTEL 응용 자료*, No.212, 2020.
2. George Dierkes, Susanne Becher, Heike Schumacher, and Corinna Földi German Federal Institute of Hydrology, Koblenz, Germany Tim Lauschke, and Thomas Ternes. Cigana, hilip L. Wylie. Quantification of Microplastics in Environmental Samples Using Pyrolysis and GC/MSD. *Agilent Technologies 응용 자료*, 5994-2199EN, 2020.
3. Ulrike Braun, Paul Eisentraut, Korinna Altmann, Maria Kittner, and Erik Dümichen Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Accelerated Determination of Microplastics in Environmental Samples Using Thermal Extraction Desorption-Gas Chromatography/Mass Spectrometry (TED-GC/MS). *Agilent Technologies 응용 자료*, 5994-2551EN, 2020.
4. 유혜원, 김윤석, 이선홍, 유지수, 최재원. 담수 물환경 중 미세플라스틱 분석방법 및 검출에 대한 고찰. *환경분석학회, 환경분석과 독성보건 제23권*, 2020.
5. Nick Jones, Juergen Wendt, Stephanie Wright, Elena Hartner, Thomas Groeger. Analysis of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis/Thermal Desorption-(GC)xGC-TOFMS. *CHROMATOGRAPHY*, 2021.
6. Irene Coralli, Valerio Giorgi, Ivano Vassura, Alessandro G. Rombola, Daniele Fabbri. Secondary reactions in the analysis of microplastics by analytical pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2022.
7. Rosa Penalver, María Dolores Pérez-Alvarez, Natalia Arroyo-Manzanares, Natalia Campillo, Pilar Vinas. Determination of extractable pollutants from microplastics to vegetables: Accumulation and incorporation into the food chain. *Chemosphere Volume 341*, November 2023.
8. Kenji Harata, Shinya Kitagawa, Yoshinori Iiguni, Hajime Ohtani. Identification of polymer species in a complex mixture by pyrolysis-gas chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-high resolution time-of-flight mass spectrometry as a basis for environmental microplastic analysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, Volume 148*, June 2020.
9. Mai Matsueda, Marco Mattonai, Itsuko Iwai, Atsushi Watanabe, Norio Teramae, William Robberson, Hajime Ohtani, Young-Min Kim, Chuichi Watanabe. Preparation and test of a reference mixture of eleven polymers with deactivated inorganic diluent for microplastics analysis by pyrolysis-GC-MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, Volume 154*, March 2021.
10. Takahisa Ishimura, Itsuko Iwai, Kazuko Matsui, Marco Mattonai, Atsushi Watanabe, William Robberson, Anna-Marie Cook, Harry L. Allen, William Pipkin, Norio Teramae, Hajime Ohtani, Chuichi Watanabe. Qualitative and quantitative analysis of mixtures of microplastics in the presence of calcium carbonate by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, Volume 157*, August 2021.

www.agilent.com/chem

DE84459763

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

©Agilent Technologies, Inc.2024
2024년 07월 03일, 한국에서 발행
5994-7637KOKR

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

