

# SPE-GC/MSD 자동화 장비를 이용한 콜타르와 피치제품 중 Benzo[a]pyrene과 Benz[a]anthracene 분석



## 개요

해당 응용자료는 SPE-GC/MSD를 이용하여 타르 증류제품 내 benzo[a]pyrene과 benz[a]anthracene을 자동으로 측정하는 방법을 수록하고 있다. 시료를 먼저 tetrahydrofuran (THF)에 녹인 다음 바이알에 담고, 내부표준물질도 첨가한다. 바이알은 오토샘플러 트레이에 놓으면 추후 진행되는 SPE정제과정을 포함한 모든 시료 전처리 과정과 GC/MSD로 최종시료 주입이 자동으로 진행된다. 각 시료는 8번 반복분석하여 상대표준편차는 0.8 ~ 2.6%를 나타냈다. 분석결과는 기준법인 LC-FLD의 결과와 비교하였다. 두 방법 모두 benzo[a]pyrene에 대해 최대 편차 +6.7 ~ -11.3%로 동등한 결과를 가졌다.

이러한 데이터는 개발된 SPE-GC/MSD분석법이 정밀하고 정확하다는 것을 보여준다. SPE시스템은 하루에 대략 40개 시료를 분석할 수 있도록 최대 시료처리량을 위해 크로마토그래피 분석이 진행되는 동안 그 다음 시료의 시료전처리를 진행한다.

## 서론

콜타르의 증류공정은 산업적 용도로 화학물질을 생산하기 위해 수행된다. 증류의 분류 수집에 따라 결과물은 점성이 있는 검은색 액상 또는 검은색 고상이 된다. 이러한 제품들은 도로 건설, 전극과 내화물의 바인더 역할로서 주입 및 밀봉에 사용된다.

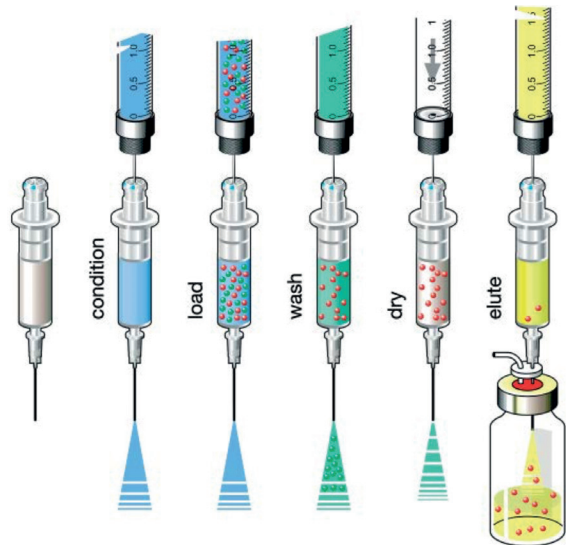
품질 관리 과정 중 일부로, benzo[a]pyrene과 몇몇 제품 중 benz[a]anthracene의 농도는 측정할 필요가 있다. Benzo[a]pyrene의 예상값은 대략 10 ~ 1,000 mg/kg (ppm), benz[a]anthracene은 대략 20 mg/kg 내에 있다. 해당분석은 표준법에 따라 LC/FLD에 의해 수행될 수 있다. 일반적으로 매트릭스 성분들의 높은 함량은 간섭, 시그널 억제와 분석시스템의 오염을 야기할 수 있기 때문에 분석하는데 꽤 어려움이 있다. 응용자료는 대체가능한 분석 방법인 SPE-GC/MSD 자동화를 기반으로 소개하고 있다. 시료 분획과 실리카겔 카트리지에서 정제과정은 GC주입구 라이너, 컬럼과 MS를 깨끗한 상태로 유지하여 유지보수 간격을 연장시키는 데 도움을 준다.

## 실험

장바 시료 전처리과정은 SPE 모듈이 장착된 MPS Dual Head에서 수행되어진다. MPS는 하기 <그림 1>과 같이 GC/MSD시스템에 장착된다.



<그림 1> 타르 증류제품 내 benz[a]pyrene과 benz[a]anthracene의 자동화 분석에 사용된 MPS Dual Head-GC/MSD 시스템



<그림 3> GERSTEL SPE모듈의 SPE 전처리 자동화 워크 플로우

오른쪽 오토샘플러 타워(머리)는 모든 시료 전처리 단계에 사용되는 5mL 실린지가 장착되어있다.; 왼쪽 타워는 GC로 주입용으로 사용되는 10uL 실린지가 장착된다. 모든 용매와 시료는 제어되고 반복적인 SPE카트리저로의 흐름을 제공하는 5mL 실린지에 의해 옮겨진다. 일반적인 SPE카트리저에서 뒷쪽 빈 공간이 잘려 운반용 어댑터와 실린지 바늘이 장착되어있는 SPE카트리저는 추출을 위해 사용된다 <그림 2>. 이러한 카트리저는 제조사 Bekulot에서 공급받을 수 있다. 전체적인 과정은 GERSTEL MAESTRO 소프트웨어를 사용하여 편리하게 제어할 수 있다.



<그림 2> 위: GERSTEL MPS용 SPE카트리저, 아래: 일반적인 SPE카트리저

전반적인 워크플로우는 <그림 3>에 나와있다. 밀봉된 바이알과 카트리저는 용매 손실 및 시료 오염의 위험을 최소화하기 위해 사용된다.

MPS는 GC/MS분석을 위해 Agilent사 7890GC/5977MSD에 장착된다. 시료 도입은 냉각주입시스템 (CIS6; PTV 타입의 GC 주입구)에 의해 진행된다. 분석 컬럼은 Rxi-5ms 30m, di = 0.25 mm, df = 0.25 um (Restek)이 사용되었다.

재료 및 용매 다섯가지 다른 유형의 타르 기반 시료를 분석하였다.

- 시료A: 피치 제품 - 내화 벽돌 생산용 바인더
- 시료B: 피치 제품 - 내화 벽돌용 바인더
- 시료C: 콜타르 제품
- 시료D: 콜타르 제품
- 시료E: 안트라센유

시료는 SiOH SPE 카트리저(1,000mg) 6mL로 정제한다. 흡착된 물을 제거하기 위해 사용하기 전 110°C에서 가열하고, 건조제 위에 저장한다. SPE카트리저는 SPE자동화를 용이하게 하기 위해 이동형 어댑터와 실린지 니들이 장착된 형태로 구매할 수 있다. 모든 용매는 분석용 등급으로 사용하였다.

표준물질 및 시료용액 준비 내부표준물질 benzo[a]pyrene-d12와 benz[a]anthracene-d12용액은 두 성분의 정확한 양을 칭량한 후 tetrahydrofuran (THF)로 1,000mL까지 채워 준비한다. 그 결

과 benzo[a]pyrene-d12은 9.9 ng/uL 과 benz[a]anthracene-d12의 경우, 10.0 ng/uL 농도로 제조된다.

표준물질은 <표 1>에 따라 acetonitrile (NIST1647d)에 인증된 레퍼런스 PAH 표준물질을 내부 표준물질과 acetonitrile과 혼합하여 준비했다. 표준물질은 MPS를 사용하여 자동적으로 준비되어 높은 정밀도와 정확성을 제공한다.

단계	Cal 1	Cal 2	Cal 3	Cal 4	Cal 5	Cal 6	Cal 7
NIST 1647d 표준물질 부피 (uL)	5	10	10	15	20	30	50
Benzo[a]pyrene-d12용액 부피 (uL)	60	30	10	10	10	10	10
Benz [a]anthracene-d12 용액 부피 (uL)	60	30	10	10	10	10	10
ACN부피(uL)	7795	3890	1290	1285	1280	1270	1250
총 부피(uL)	7920	3960	1320	1320	1320	1320	1320
Benzo[a]pyrene 농도(pg/uL)	3.10	12.4	37.2	55.8	74.4	111	186
Benzo[a]anthracene 농도(pg/uL)	2.58	10.3	31.0	46.5	62.0	93.0	155
Benzo[a]pyrene-d12 농도(pg/uL)	75.4	75.4	75.4	75.4	75.4	75.4	75.4
Injection	75.9	75.9	75.9	75.9	75.9	75.9	75.9

<표 1> benzo[a]pyrene과 benz[a]anthracene의 정량을 위한 표준 용액



시료	A	B	C	D	E
시료 무게 (mg)	151.8	204.7	31.8	2494.3	1994.7
시료 부피 (mL)	50	50	50	50	50
시료 농도 (mg/mL)	3.036	4.094	0.636	49.886	39.894
SPE로 주입된 시료 양 (mL)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
용출액 부피 (mL)	7.92	7.92	7.92	7.92	7.92

<표 2> 시료 용액 준비

SPE정제 후 용출액에서 두가지 내부표준물질의 농도는 약 75 pg/uL였으며, 이는 표준용액 내 내부표준물질의 농도와 잘 부합한다. 교정작업은 SPE 정제없이 표준물질의 액상 주입에 의해 수행되었다.

#### 시료 전처리 - 매뉴얼 작업

+ 각 시료용액 약 1.5mL를 2mL 바이알에 넣고 밀봉된 바이알을 MPS 트레이에 놓는다.

#### 시료 전처리 - 자동화 작업

+ SPE카트리지를 8mL acetonitrile로 컨디셔닝하기

+ SPE카트리지로 0.6mL 시료 로딩하기

+ 8mL acetonitrile로 분석물질 용출시키기

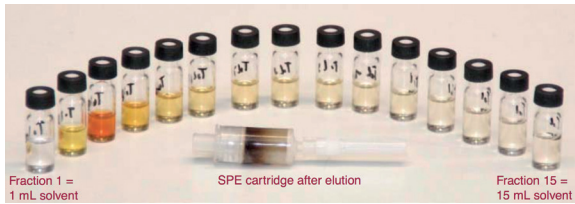
### 분석 조건

MPS	
실린지 볼륨	10 uL
주입양	1.5 uL
CIS	
온도	40 °C; 12 °C/s; 350 °C (15분)
기체역학	비분할, 5분
라이너	Glass beads
GC	
기체역학	1.2 mL/min He, 연속적 흐름
오븐	45 °C (1분); 10 °C/min; 325 °C (1분)
컬럼	30 m Rxi-5ms (Restek) di = 0.25 mm, df = 0.25 µm
트랜스퍼 온도	320 °C
MSD	
모드	선택적 이온 모니터링 (SIM)
소스 온도	320 °C
쿼드 온도	180 °C
SIM 질량	
Benzo[a]anthracene	m/z 252/250/126
Benzo[a]pyrene-d <sub>12</sub>	m/z 264/260/132
Benzo[a]anthracene	m/z 228/229/226
Benzo[a]anthracene-d <sub>12</sub>	m/z 240/241/236

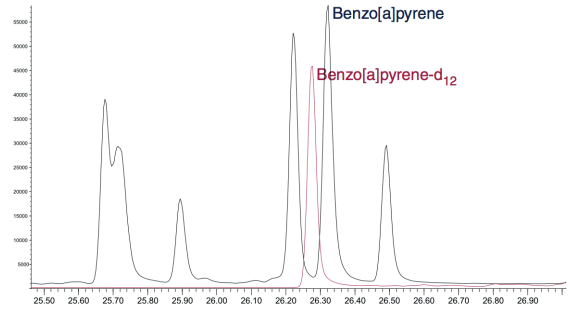
### 결과 및 토의

실리카겔 SPE 카트리지의 정제과정을 테스트하기 위해, 각 1mL 용매로 시료 B의 분할 용출과정을 수행하였다 <그림 4>. <그림 5>에서 시료 A의 깨끗한 전체 스캔 크로마토그램을 볼 수 있기 때문에 훌륭한 정제 효과를 보여준다. 백그라운드는 특히 benz[a]

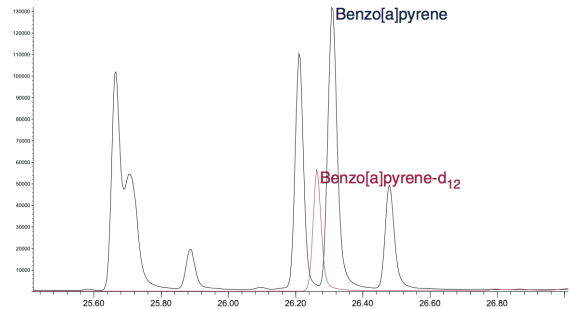
anthracene과 benzo[a]pyrene의 용출 범위에서 상대적으로 낮았다. 분석물질과 내부표준물질 피크는 <그림 6-11>과 같이 백그라운드 시그널로부터 잘 분리되었다. 비록 시료는 잘 정제되었지만, 내부표준물질은 매트릭스 영향을 보정하고 정확한 정량을 얻을 필요가 있다.



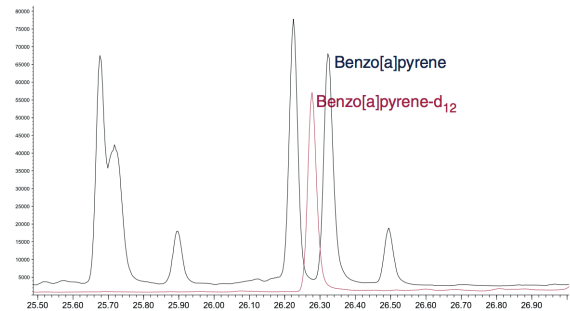
<그림 4> 실리카겔 SPE카트리지에서 로딩된 분할된 시료 B의 용출액



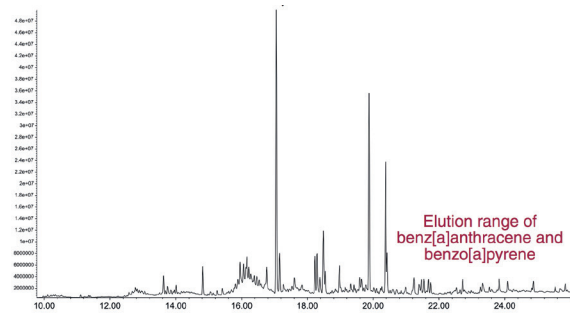
<그림 7> 시료 B 중 benzo[a]pyrene, SIM, m/z 252; 264



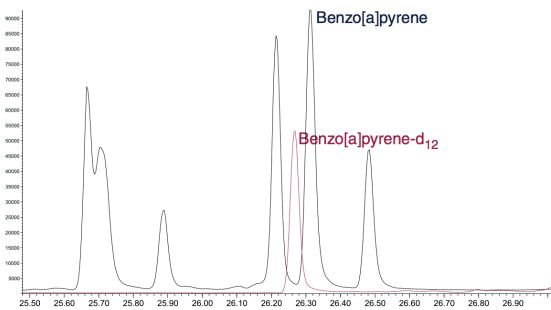
<그림 8> 시료 C 중 benzo[a]pyrene, SIM, m/z 252; 264



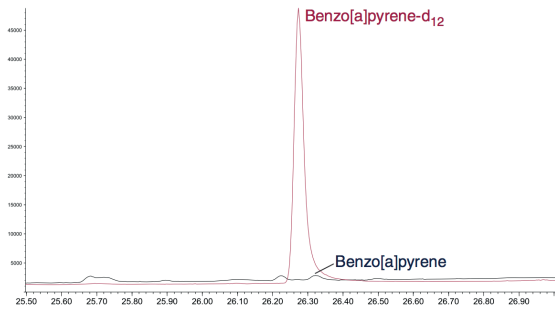
<그림 9> 시료 D 중 benzo[a]pyrene, SIM, m/z 252; 264



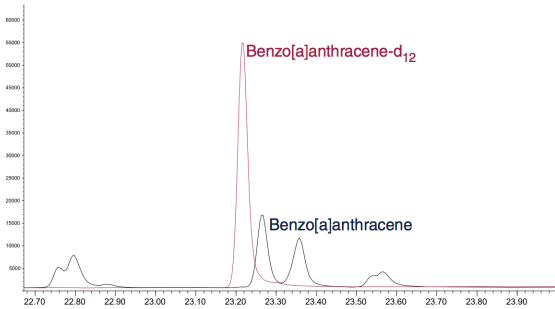
<그림 5> SPE 정제과정 후 시료 A의 full scan chromatogram



<그림 6> 시료 A 중 benzo[a]pyrene, SIM, m/z 252; 264

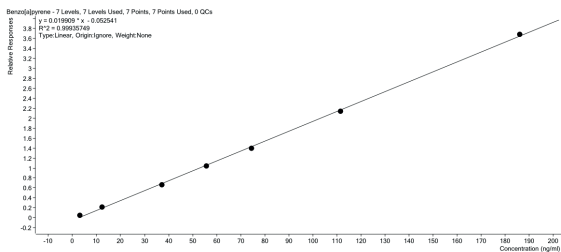


<그림 10> 시료 E 중 benzo[a]pyrene, SIM, m/z 252; 264

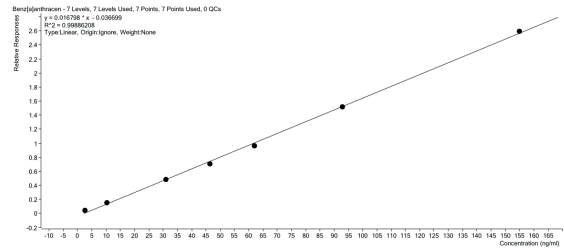


<그림 11> 시료 E 중 benz[a]anthracene, SIM, m/z 228; 240

사용 장비와 개발된 분석방법의 견고성을 보여주기 위해 다섯가지 다른 유형의 시료를 8번 반복 분석하였다. 분석결과는 LC/FLD 표준법 결과와 비교하였다. 순수 용제에서 제조된 내부표준물질을 포함한 표준물질의 표준곡선은 두가지 분석물질 모두에서 수행되었다 <그림 12>.



<그림 12> benzo[a]pyrene 표준곡선 (3.1 ~ 186 ng/mL)



<그림 13> benz[a]anthracene 표준곡선 (2.6 ~ 155 ng/mL)

Benzo[a]pyrene에 대한 분석 값은 <그림 14>에 공식에 따라 계산되었고, LC/FLD법에 의해 결정된 수치와 잘 일치하는 것(benzo[a]pyrene의 경우, +6.7 ~ -11.3%)으로 나타났다 <표 3>.

$$\text{Analysis value} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right] = \frac{\text{Concentration in eluate} \left[ \frac{\text{ng}}{\text{mL}} \right] \cdot \text{Eluate volume} [\text{mL}] \cdot \text{Sample volume} [\text{mL}]}{\text{Sample volume injected into SPE} [\text{mL}] \cdot \text{Sample weight} [\text{mg}]}$$

<그림 14> 농도 계산식

시료 및 분석물질	SPE-GC/MS재현성 RSD(%)	SPE-GC/MS분석값 (mg/kg)	LC/FLD 분석값 (mg/kg)
<b>A</b> benzo[a]pyrene	1.5	411	413
<b>B</b> benzo[a]pyrene	0.8	226	217
<b>C</b> benzo[a]pyrene	1.1	2791	3105
<b>D</b> benzo[a]pyrene	1.6	17	16
<b>E</b> benzo[a]pyrene	2.6	1.2	<20
<b>E</b> benz[a]anthracene	2.0	6.6	26

<표 3> 다른 타르 증류 제품의 분석결과 및 상대표준편차 (8회 반복분석, SPE-GC/MS 자동화장비로 분석)

큰 차이점은 안트라센유 중 benz[a]anthracene으로 확인되었다. 해당 분석물질의 경우, LC/FLD법은 완전히 최적화되어있지 않아 분석값이 너무 높다. 개발된 방법의 재현성은 분석물질과 내부표준물질에 대한 절대 피드면적의 상대표준편차(RSDs)가 1.1 ~ 11.4 %사이로 뛰어났다 (예, 표 4와 5 참조).

시료	피크면적 Benzo[a] pyrene	피크면적 Benzo[a] pyrene-d <sub>12</sub>	피크면적 Benz[a] anthracene	피크면적 Benz[a]anthracene- d12anthracene-d <sub>12</sub>
시료 A, 1	119557	89467	99641	N/A
시료 A, 2	119235	87711	104777	N/A
시료 A, 3	118082	88502	103307	N/A
시료 A, 4	115506	86074	93944	N/A
시료 A, 5	118003	87055	105633	N/A
시료 A, 6	116768	87628	105262	N/A
시료 A, 7	117380	88627	103254	N/A
시료 A, 8	118863	88381	102542	N/A
평균	117924	87931	102295	N/A
RSD[%]	1.1	1.2	3.8	N/A

<표 4> 시료 A의 반복분석 데이터

시료	피크면적 Benzo[a] pyrene	피크면적 Benzo[a] pyrene-d <sub>12</sub>	피크면적 Benz[a] anthracene	피크면적 Benz[a]anthracene- d12anthracene-d <sub>12</sub>
시료 E, 1	2068	94226	29967	99096
시료 E, 2	1788	99819	32132	104494
시료 E, 3	1643	91228	28585	94965
시료 E, 4	1708	90828	28432	96208
시료 E, 5	1465	85542	25768	88963
시료 E, 6	1553	94615	29150	98857
시료 E, 7	1516	94294	28973	99535
시료 E, 8	1664	92371	28330	98326
평균	1676	92865	28917	97556
RSD[%]	11.4	4.4	6.1	4.6

<표 5> 시료 E의 반복분석 데이터

분석값에 대한 상대표준편차는 0.8 ~ 2.6 % <표 3>로 분석법의 높은 정밀도를 보여준다.

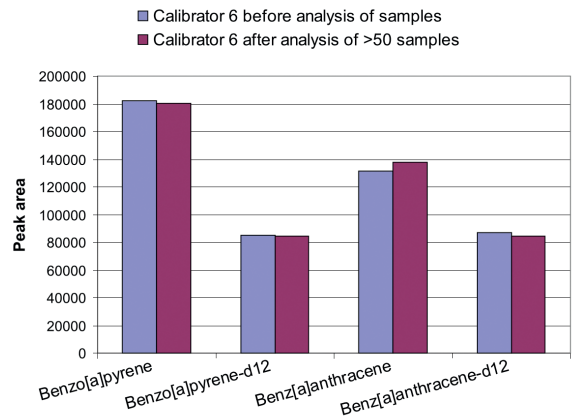
시료 정제과정을 주입구 라이너, 컬럼과 MS시스템을 깨끗하게 유지시켜 유지보수 간격을 연장시킬 수 있도록 도움을 준다. 시료를 50번이상 분석한 전/후 주입구 라이너의 차이를 <그림 15>에서 확인할 수 있다.



<그림 15> 50번 이상 시료분석하기 전과 후의 CIS GC주입구 라이너 (위: new, 아래: >50번 분석)

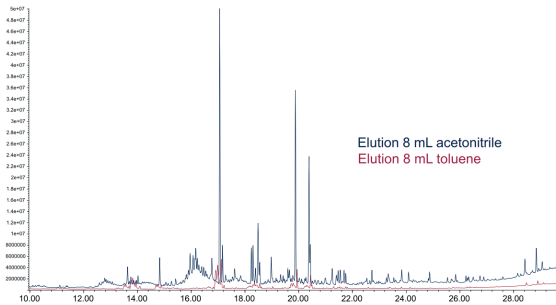
그리고 시료분석 전/후 표준물질의 피크면적을 <그림 16>에서 비교할 수 있다.

Calibrator before and after sample analysis



<그림 16> 교정 표준물질의 피크면적은 50개이상의 시료를 분석한 후에도 일정하게 유지됨

Acetonitrile보다 toluene으로 용출한 크로마토그램이 더 깨끗하다는 걸 보여준다 <그림 17>.



<그림 17> acetonitrile와 toluene을 이용하여 추출한 실리카겔 SPE카트리지의 용출액 크로마토그램 비교 (시료 A의 full scan chromatogram)

Agilent ChemStation 또는 MassHunter와 통합된 GERSTEL MAESTRO 소프트웨어는 시료 전처리 과정 전반을 통제한다. 시료 전처리와 크로마토그램 분석의 자동 오버랩핑 기능을 통해 다음 시료가 항상 준비되고, GC/MSD 분석이 완료될 때마다 시료주입될 준비가 되어 있기 때문에 GC/MSD 시스템이 최대 용량으로 작동할 수 있다. GC 분석시간 30분과 냉각시간 5분을 추가하면 하루에 대략 총 40개의 시료를 처리할 수 있다 (표준보정, QC표준물질과 블랭크 테스트 제외).

## 결론

각기 다른 타르 종류 제품 중 benzo[a]pyrene과 benz[a]anthracene을 확인하기 위해 SPE-GC/MSD분석법이 개발되었다.

시료는 THF내 용해되고, 내부표준물질(benzo[a]pyrene-d12와 benz[a]anthracene-d12)고 첨가하였다. 용액은 바이알에 옮겨지고 오토샘플러 트레이에 위치시켰다. 여기서부터 전과정이 자동화로 진행되었다. 시료는 실리카겔 SPE 카트리지 (6 mL/1g)를 사용하여 정제되고, 그중 일부가 GC/MS시스템으로 주입된다. 매뉴얼 시료 전처리는 일반적으로 실험실 작업자에게 상당한 작업량을 제공하며 잠재적으로 독성을 가진 용매 및 시약에 대한 노출을 수반한다. 게다가, 매뉴얼 과정에서, 오류는 작업자와 작업자 간의 차이만큼 발생할 가능성이 더 높다. 따라서 분석 자동화를 선호하는 경우가 많다.

SPE-GC/MSD 자동화 방법을 기반으로 얻은 분석결과는 상대표준편차가 0.8 ~ 2.6%로 정확하다. 또한 LC/FLD 표준 분석방법과

잘 부합한다. 하루에 40개 정도의 시료를 처리할 수 있다. MPS는 표준교정 용액을 자동으로 준비하여 높은 정밀도와 정확성을 제공한다. 분석 시스템은 매우 유연하고, 추가 SPE방법을 자동화할 수 있는 가능성을 열어준다. 만약 추가모듈을 장착하면, 다른 유형의 전처리법 또한 자동화 할 수 있다. ⚙️