

Application News

No. SSK-LCMS-2101

Liquid Chromatography Mass Spectrometry

고체상 추출법을 이용한 혈액 중 과불화화합물(PFCs) 분석

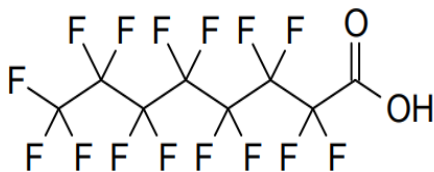
Analysis of Perfluorinated Compounds (PFCs) in Human Blood using Offline SPE LC-MS/MS



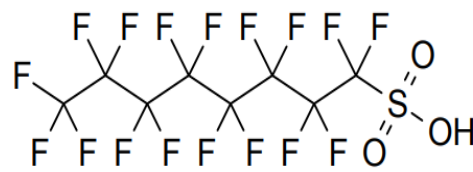
□ 연구 배경

과불화화합물(Perfluorinated Compounds, PFCs)은 탄화수소의 기본 골격 중 수소가 불소로 치환된 형태의 물질로, 탄소가 6 개 이상인 과불화술폰산류, 탄소가 7 개 이상인 과불화지방산류 등 여러 가지 화합물이 있다. 과불화화합물에는 17 종 이상의 대사체 및 분해산물 등이 존재하며, 대표적으로 과불화옥탄산(PFOA)과 과불화옥탄술폰산(PFOS)이 알려져 있다. <그림 1>

과불화화합물은 아웃도어 제품 및 종이컵, 프라이팬 등의 생활용품에 주로 사용되고 있으나, 잘 분해되지 않는 특성 때문에 한 번 환경에 노출되면 수 백 년간 남게 되어 환경 오염의 원인이 되기도 한다. 또한 인체를 비롯한 생물체에 장기적으로 축적될 경우, 암 등을 유발할 가능성이 있는 것으로 보고되고 있어 이에 대한 관심이 증가하고 있다.^[1] 또한, 스톡홀름 협약에서 과불화 화합물을 새로운 환경지속성오염물질(Persistent Organic Pollutants, POPs)로 규정함에 따라 과불화화합물에 대한 분석법의 중요성이 대두되고 있다.^[2] 이에 이 뉴스레터에서는 고체상 추출법을 이용한 혈액 중 과불화화합물 분석법을 소개하고자 한다.



과불화옥탄산 (PFOA, Perfluorooctanoic acid)



과불화옥탄술폰산 (PFOS, Perfluorooctanesulfonic acid)

그림 1. 대표적인 과불화화합물

□ 시험 방법

이 분석은 혈청 중 16 종의 과불화화합물(PFCs) 및 내부표준물질 9 종에 대한 것으로, 각 성분에 대한 MRM 조건 및 기기 분석 조건은 <표 1>, <표 2>에 나타내었다.

표 1. MRM 조건

Target compound			Internal STD			
Name	Precursor m/z	Product m/z (1)	Product m/z (2)	Name	Precursor m/z	Product m/z
PFPeA	263	219	-			
PFHxA	313	269	119	MPFHxA	315	270
PFHpA	363	319	169			
L-PFBS	299	80	99	M3PFBS	302	99
PFOA	413	369	169	MPFOA	417	372
L-PFHxS	399	80	99	MPFHxS	403	103
PFNA	463	419	219	MPFNA	468	423
PFDA	513	469	219	MPFDA	515	470
L-PFOS	499	80	99	MPFOS	503	80
L-PFDS	599	80	99			
PFUdA	563	519	319	MPFUdA	565	520
PFDoA	613	569	169			
PFTTrDA	663	619	169			
PFTeDA	713	669	169	MPFDoA	615	570
PFHxDA	813	769	169			
PFODA	913	869	269			

표 2. LC-MS/MS 분석 조건

Liquid Chromatography	
System	: Nexera X3
Column	: ACE5 C18-PFP (150 mm × 2.1 mm I.D., 5 μm)
Mobile phase A	: 20 mM ammonium acetate in water
Mobile phase B	: Acetonitrile
Flow rate	: 0.4 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
Gradient (min)	: 25 %B (0.0-1.0 min) - 45 %B (3.0 min) - 80 %B (14 min) - 98 %B (14.1-17.0 min) - 25 %B (17.1-20.0 min)
Mass spectrometry	
System	: LCMS-8050
Interface	: Electrospray (ESI), Negative
Nebulizing gas	: 3 L/min
Drying gas	: 5 L/min
Heating gas	: 10 L/min
Interface temp.	: 300 °C
Desolvation line temp.	: 100 °C
Heat block temp.	: 200 °C

전처리 방법

혈청시료의 전처리는 SPE 카트리지를 이용하여 진행하였다. 검량선 작성 및 품질관리(QC)를 위한 시료는 혈청에 표준품을 첨가하여 준비한 후, <그림 1>과 같이 전처리를 진행하였다.^{[3][4]}

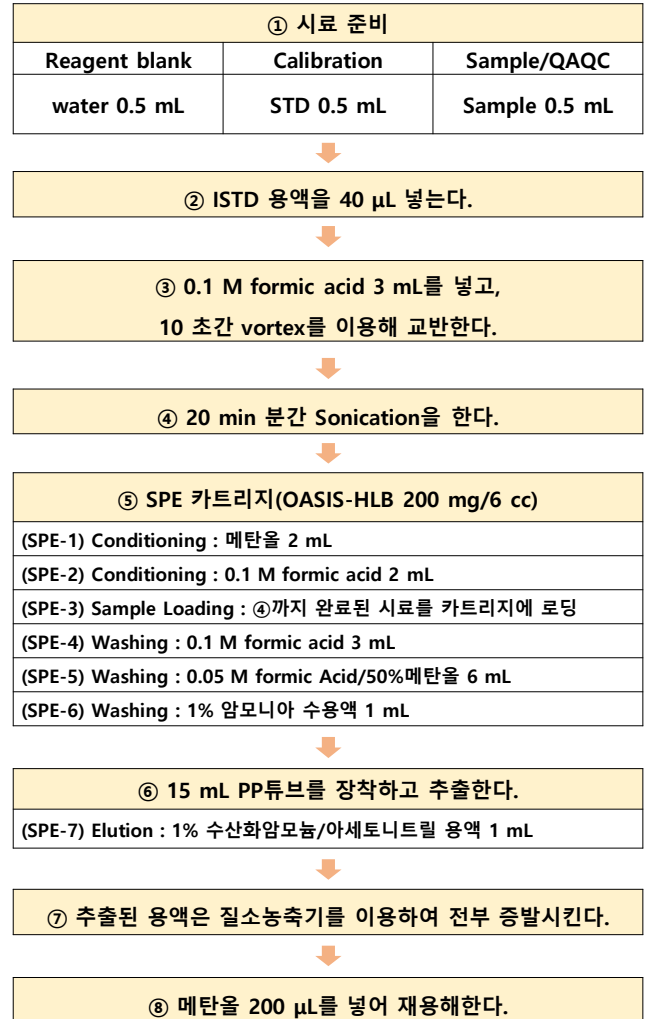


그림 2. SPE 전처리 방법

□ 시험 결과

크로마토그램

과불화화합물(PFCs) 16 종을 C18-PFP 컬럼을 이용하여 분석하였으며, 크로마토그램을 <그림 3>에 나타내었다.

검정곡선

검량선 작성을 위한 표준용액은 (0.05 – 10) ng/mL 농도 범위에서 <그림 2>와 같이 전처리하여 준비하였다. 과불화화합물(PFCs) 16 종에 대한 검정곡선은 <그림 4>에 나타내었으며, 전 성분에 대한 회귀인자(r^2)는 <표 3>과 같이 0.99 이상으로 우수한 직선성을 보였다.

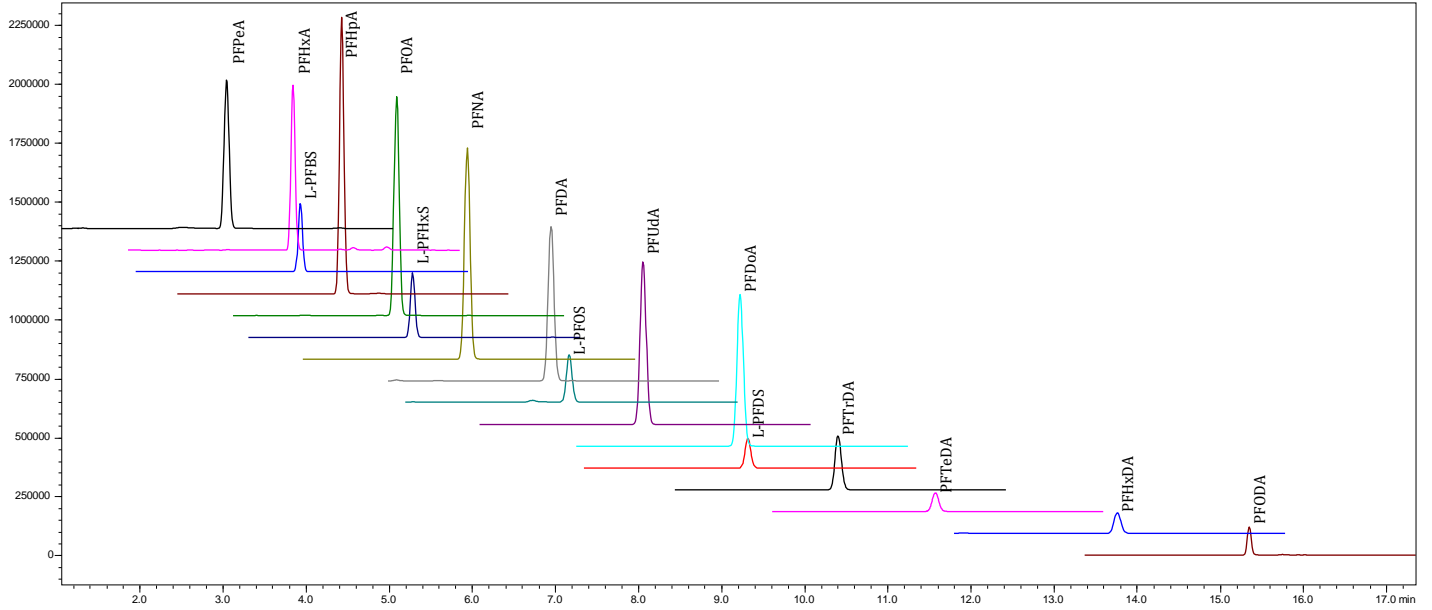


그림 3. 과불화화합물(PFCs) 16 종의 크로마토그램

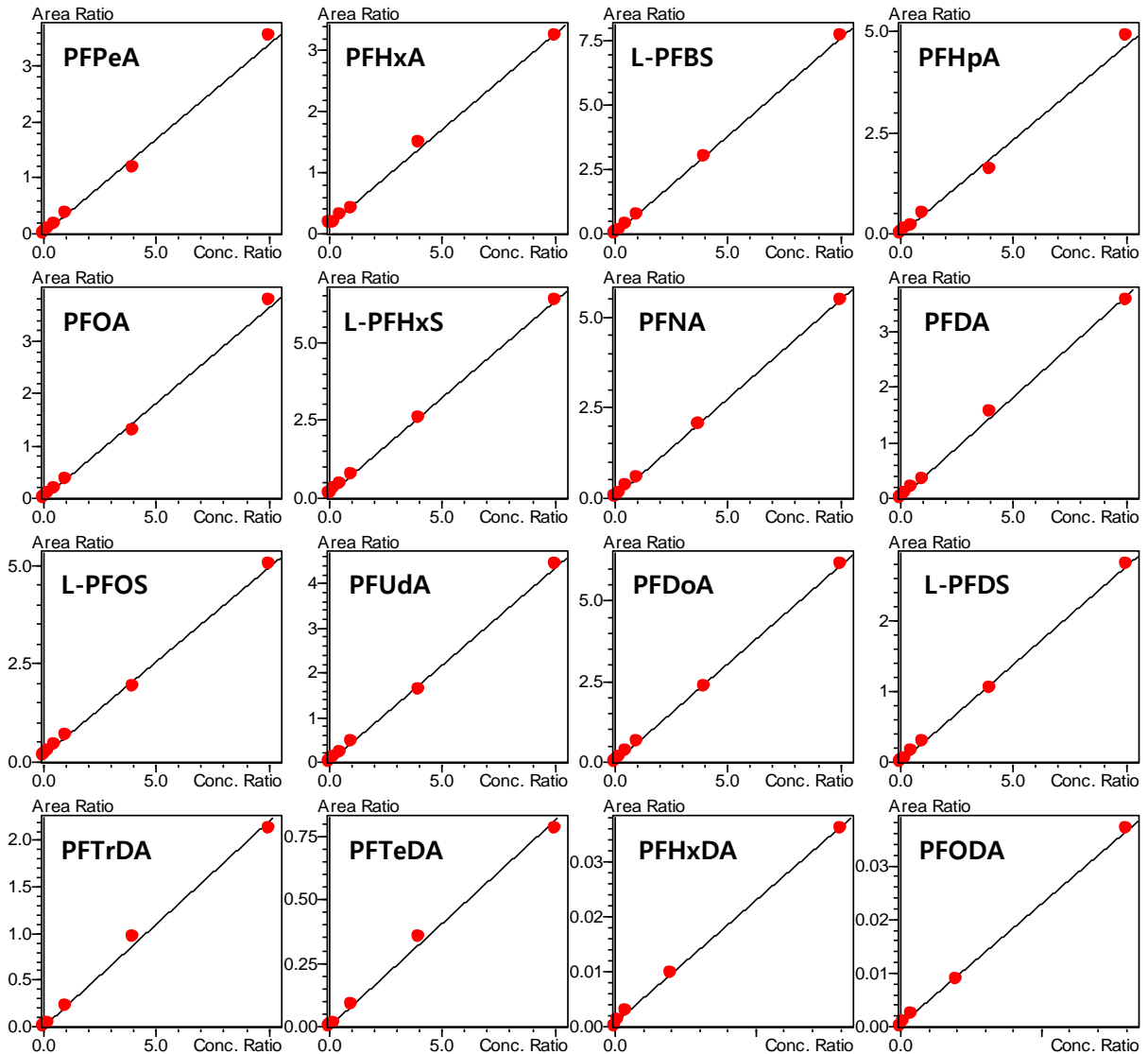


그림 4. 과불화화합물(PFCs) 16 종에 대한 검정곡선

품질관리(QC) 시료 분석

품질관리(QC) 시료는 저농도 (1 ng/mL)와 고농도 (2.5 ng/mL) 두 개의 시료를 3 개씩 제조하여 분석하였다. 정확도는 3 개 시료의 평균으로 산출하였으며, <표 3>에서와 같이 83 % - 124 % 범위에 분포하는 것으로 나타났다.

정량한계 (LOQ)

혈청 중 과불화화합물(PFCs) 16 종에 대한 정량 한계는 S/N=10 을 기준으로 산출하였으며, <표 3>과 같이 (0.01 - 0.05) ng/mL 수준으로 나타났다.

표 3. 검정곡선과 정확도 및 정량한계

성분	머무름 시간 (min)	r ²	정확도 (%), 품질관리(QC) 시료 (n=3)		정량한계 (ng/mL) (S/N=10)
			저농도	고농도	
PFPeA	3.03	0.993	93	91	0.03
PFHxA	3.83	0.993	121	119	0.05
L-PFBS	3.93	1.000	107	98	0.01
PFHpA	4.42	0.991	87	83	0.01
PFOA	5.10	0.995	115	114	0.01
L-PFHxS	5.33	0.999	114	102	0.05
PFNA	5.97	0.999	106	101	0.03
PFDA	6.99	0.998	107	100	0.03
L-PFOS	7.26	0.996	105	100	0.05
PFUdA	8.12	0.999	114	112	0.01
PFDoA	9.30	0.999	116	111	0.01
L-PFDS	9.45	0.998	90	83	0.01
PFTrDA	10.49	0.996	110	99	0.01
PFTeDA	11.67	0.996	84	91	0.03
PFHxDA	13.87	0.997	83	126	0.03
PFODA	15.34	0.997	101	108	0.03

□ 결론

시마즈 Nexera X3 및 LCMS-8050을 이용하여 혈액 시료 중 과불화화합물(PFCs) 16종을 동시 분석하였다. 검정곡선의 직선성은 모든 성분에 대해서 r²>0.99 이상으로 나타났으며, 정확도는 (83 - 124) % 수준으로 나타났다. 또한, 정량한계는 성분에 따라 (0.01 - 0.05) ng/mL 수준으로 나타났다.

□ 참고문헌

- [1] Analytical trend of perfluorinated compounds in environmental and biota samples, ANALYTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY Vol. 23, No. 4, 331-346, 2010
- [2] 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
- [3] Automated Solid-Phase Extraction and Measurement of Perfluorinated Organic Acids and Amides in Human Serum and Milk. Environ. Sci. Technol. 2004, 38, 13, 3698
- [4] Evaluation of Pretreatment Method for Analysis of Perfluorinated Compounds in Human Blood and Breast Milk Samples , The Korean Society for Environmental Analysis, 2011 45 - 54(10 pages)



SHIMADZU Scientific Korea Corp.
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China.
This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "@". Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "@". Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.