

# Application News

## No.M293K

### Gas Chromatography Mass Spectrometry Liquid Chromatography Mass Spectrometry

### 미세플라스틱에 흡착된 독성화학물질의 분석

### Analysis of Toxic Chemical Substances Adsorbed on Microplastics

환경분야에서는 미세플라스틱(MPs)에 흡착된 독성 화학물질이 MPs로부터 탈착되어 살아있는 유기체의 몸으로 이동, 그 유기체들에 축적되는 등, 생태계에 영향을 미칠 가능성이 지적되어 왔습니다.

시마즈는 MPs 분석의 일환으로 MPs에 화학 물질의 흡착 특성에 대한 평가에 관여해 왔습니다.

여기서는 독성 및 생체역학 성질을 가진 것으로 알려진 다순환 방향족 탄화수소(PAHs)와 PFAS(Per-fluoroalkyl mater)의 MPs 흡착 특성에 대한 평가의 예를 소개합니다. 상업적으로 이용 가능한 미립자 폴리프로필렌(PP), 폴리스티렌(PS), 폴리에틸렌(PE)을 MPs 샘플로 사용하여, 각종 플라스틱에 대한 물에서 PAH와 PFAS의 흡착량을 GC-MS/MS와 LC-MS/MS로 정량적으로 평가하였습니다.

#### ■ MPs 샘플






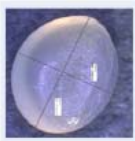
실험을 위한 샘플은 다음과 같은 세 가지 유형의 플라스틱 입자를 사용하였습니다.

- 1) Polypropylene (PP)
- 2) Polystyrene (PS)
- 3) Polyethylene (PE)

각 입자의 긴 쪽과 짧은 쪽의 직경을 현미경 영상으로 계산하여, 사용된 시료들의 크기가 5mm 미만임을 확인하였습니다. Table 1.은 위에 언급한 플라스틱 입자 1)~3)의 모양과 현미경의 이미지 그리고 무작위로 표본 추출한 10개 입자의 평균 크기를 보여줍니다. 측정에는 다음과 같은 계측기가 사용되었습니다.

- Microscope digital camera system : Moticam 1080
- Stereoscopic microscope : STZ-171-TP

Table 1 MPs Samples Used in Experiment

Material	PP	PS	PE	
Appearance				
Microscopic image				
Size [mm]	Long diameter	4.899 ± 0.151	3.191 ± 0.149	4.331 ± 0.194
	Short diameter	3.606 ± 0.151	2.888 ± 0.144	3.564 ± 0.125

#### ■ 테스트 방법

먼저 MPs 샘플에 대한 PAHs 및 PFAS (per- and polyfluoroalkyl substances)<sup>(\*)</sup>의 흡착 시험이 실시되었습니다. Fig 1은 흡착 시험의 개요를 보여줍니다. MPs는 PAHs나 PFAS가 첨가된 물에 담갔으며, 흡착을 촉진하기 위해서 물을 24시간 동안 부드럽게 저였습니다. MPs에 첨가된 양은 초순수 증류수 300mL에 PAH 100ng, PFAS 8ng 입니다. Fig 2는 실험 개요를 보여줍니다. 흡착 테스트 후, MPs를 테스트 시스템에서 제거하고 건조시켰습니다. 일부의 시료를 PAHs를 위해 hexan에 의한 초음파 추출, PFAS를 위한 메탄올에 의한 초음파 추출에 사용하였습니다. 여기서 얻은 추출물은 PAHs와 PFAS의 정량적 분석을 위하여 각각 GC-MS/MS와 LC-MS/MS에 주입하였습니다.

(\*) 아날로그의 경우 EPA method 537.1과 EPA method 533을 참조하십시오.

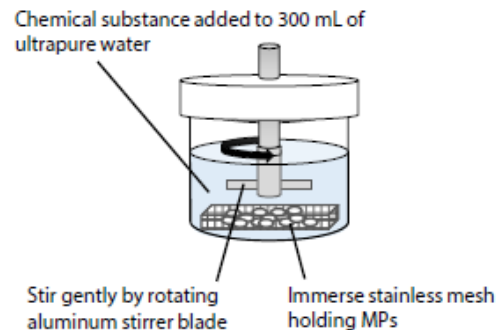


Fig. 1 Outline of Adsorption Test System

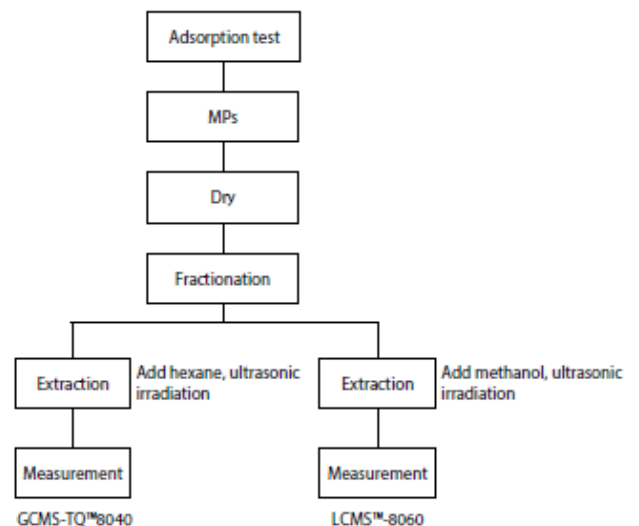


Fig. 2 Outline of Test Flow

■ GC-MS/MS를 이용한 PAHs의 측정

PAHs 측정에는 GCMS-TQ8040 트리플 퀴드러플 가스 크로마토그래프 질량분석기(Fig 3)가 사용되었습니다. Table 2는 GCMS-TQ8040의 측정 조건을 보여줍니다.

측정은 고감도 MRM모드에서 수행되었습니다. 검정곡선 직선성과 피크 S/N비를 바탕으로, 화합물의 정량한계는 0.5~2ng/mL로 가정하였습니다. Fig 4는 PAHs 표준 용액의 MS 크로마토그램 (각각 2ng/mL)을 보여줍니다. 정량적 계산은 내부 표준법에 의해 수행되었습니다.



Fig. 3 GCMS-TQ™8040 Triple Quadrupole Gas Chromatograph Mass Spectrometer

Table 2 GCMS-TQ8040 Measurement Conditions

GC					
Column	DB-5ms (Agilent Technologies/J&W) (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm)				
Column oven temp. program	60 °C (1 min) – 15 °C/min – 200 °C (0 min) – 8 °C/min – 320 °C (10 min)				
Injection mode	Splitless				
Vaporizing chamber temp.	300 °C				
Injection volume	2 μL				
Carrier gas	Helium (1.0 mL/min)				
MS					
Ionization method	EI				
Ionization voltage	70 V				
Interface temp.	300 °C				
Measurement mode	MRM				
Measured ions (m/z)					
Compound (target substance)	Quantitative ion	Reference ion	Compound (internal standard)	Quantitative ion	Reference ion
Naphthalene	128>128	128>102	Naphthalene-d <sub>8</sub>	136>136	136>108
Acenaphthylene	152>152	152>151	Acenaphthylene-d <sub>8</sub>	160>160	160>158
Acenaphthene	153>153	153>152	Acenaphthene-d <sub>10</sub>	162>162	162>160
Fluorene	165>165	165>164	Fluorene-d <sub>10</sub>	174>174	174>171
Anthracene	178>178	178>152	Anthracene-d <sub>10</sub>	188>188	188>160
Phenanthrene	178>178	178>152	Phenanthrene-d <sub>10</sub>	188>188	188>160
Fluoranthene	202>202	202>200	Fluoranthene-d <sub>10</sub>	212>212	212>208
Pyrene	202>202	202>200	Pyrene-d <sub>10</sub>	212>212	212>208
Benzo[a]anthracene	228>228	228>226	Benzo[a]anthracene-d <sub>12</sub>	240>240	240>236
Chrysene	228>228	228>226	Chrysene-d <sub>12</sub>	240>240	240>236
Benzo[b]fluoranthene	252>252	252>250	Benzo[b]fluoranthene-d <sub>12</sub>	264>264	264>260
Benzo[k]fluoranthene	252>252	252>250	Benzo[k]fluoranthene-d <sub>12</sub>	264>264	264>236
Benzo[a]pyrene	252>252	252>250	Benzo[a]pyrene-d <sub>12</sub>	264>264	264>260
Benzo[ghi]perylene	276>276	276>274	Benzo[ghi]perylene-d <sub>12</sub>	288>288	288>284
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	276>276	276>274	Indeno[1,2,3-cd]pyrene-d <sub>12</sub>	288>288	288>284
Dibenzo[a,h]anthracene	278>278	278>276	Dibenzo[a,h]anthracene-d <sub>14</sub>	292>292	292>288
-	-	-	Hexachlorobenzene- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	292>292	292>292

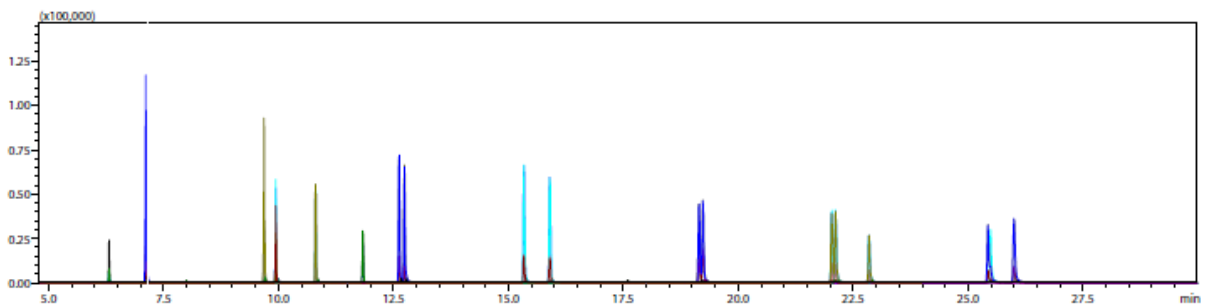


Fig. 4 MRM Chromatogram of PAHs Standard Solution (2 ng/mL Each) (Only Target Substances)

■ LC-MS/MS 를 이용한 PFAS 의 측정

PFAS 측정에는 LCMS-8060 트리플 쿼드러플 액체 크로마토그래프 질량분석기(Fig 5)가 사용되었습니다. Table 3은 측정 조건을 보여줍니다.

측정은 고감도 MRM모드에서 수행되었습니다. 검정곡선 직선성과 피크 S/N비를 바탕으로, 화합물의 정량한계는 0.01~0.5ng/mL로 가 정하였습니다. Fig 6는 PFAS 표준 용액의 MS 크로마토그램 (각각 0.5ng/mL)을 보여줍니다. 정량적 계산은 내부 표준법에 의해 수행되 었습니다.



Fig. 5 LCMS™-8060 Triple Quadrupole Liquid Chromatograph Mass Spectrometer

Instruments	LC : Nexera™ X2 MS : LCMS-8060 triple quadrupole liquid chromatograph mass spectrometer				
<b>LC</b>					
Column	Inertsil ODS-SP (GL Sciences) (150 mm × 2.1 mm I.D., 3 μm)				
Column temp	40 °C				
Injection volume	10 μL				
Mobile phase A	10 mmol/L ammonium acetate aqueous solution				
Mobile phase B	Acetonitrile				
Mobile phase flow rate	0.2 mL/min				
Gradient	B conc. 0% (0 min) → 10% (1 min) → 40% (7 min) → 95% (31-38 min) → 10% (47 min)				
<b>MS</b>					
Ionization method	ESI				
Polarity	Negative				
Measurement mode	MRM				
<b>MRM transition</b>					
Compound (target substance)	Quantitative ion	Reference ion	Compound (internal standard)	Quantitative ion	Reference ion
PFHxA	313>269	313>119	PFHxA- <sup>13</sup> C <sub>5</sub>	318>273	318>121
PFHpA	363>319	363>169	PFHpA- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	367>322	367>169
PFOA	413>369	413>169	PFOA- <sup>13</sup> C <sub>8</sub>	421>376	421>172
PFNA	463>419	463>219	PFNA- <sup>13</sup> C <sub>9</sub>	472>427	472>223
PFDA	513>469	513>219	PFDA- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	519>474	519>219
PFUnDA	563>519	563>269	PFUnDA- <sup>13</sup> C <sub>7</sub>	570>525	570>274
PFDoDA	613>569	613>269	PFDoDA- <sup>13</sup> C <sub>2</sub>	615>570	615>169
PFTTrDA	663>619	663>169	-	-	-
PFTeDA	713>669	713>169	PFTeDA- <sup>13</sup> C <sub>2</sub>	715>670	715>169
PFHxDA	813>769	813>169	PFHxDA- <sup>13</sup> C <sub>2</sub>	815>770	815>169
PFOcDA	913>869	913>169	-	-	-
PFBS	299>80	299>99	PFBS- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	302>80	302>99
PFPeS	349>80	349>99	-	-	-
PFHxS	399>80	399>99	PFHxS- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	402>80	402>99
PFHpS	449>80	449>99	-	-	-
PFOS	499>80	499>99	PFOS- <sup>13</sup> C <sub>8</sub>	507>80	507>99
PFNS	549>80	549>99	-	-	-
PFDS	599>80	599>99	-	-	-
PFDoS	699>80	699>99	-	-	-

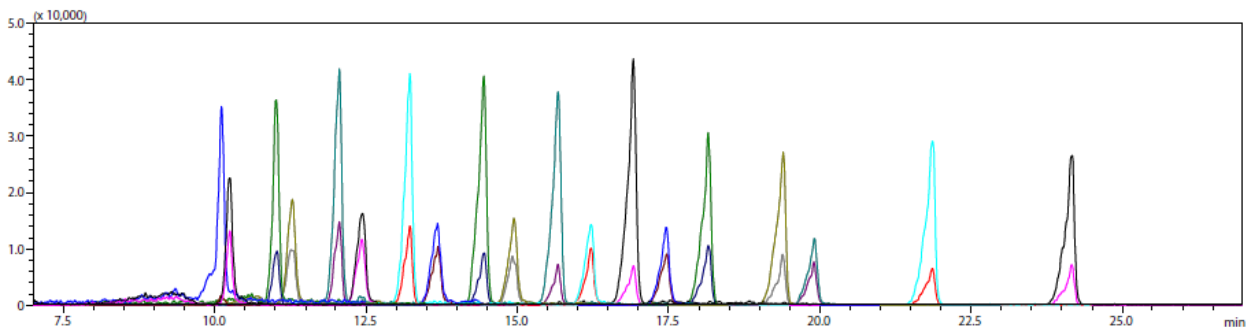


Fig. 6 MRM Chromatogram of PFAS Standard Solution (0.5 ng/mL Each) (Only Target Substances)

■ 분석 결과

Fig 7은 GC-MS/MS에 의한 PAHs 분석 결과를 나타내고, Fig 8은 LC-MS/MS에 의한 PFAS 분석 결과를 나타냅니다. 모든 PAHs 물질과 일부 PFAS 물질의 MPs에 대한 흡착이 확인되었습니다. PP와 PE의 PAHs 흡착이 큰 경향을 보였습니다. 그러나 PFAS의 흡착량은 각 화학물질마다 다른 경향이 있었습니다. 이러한 결과를 바탕으로, MPs의 흡착 특성이 화학물질에 따라 다르기 때문에 몇몇은 MPs 재료에 의해 쉽게 영향을 받는다고 생각됩니다.

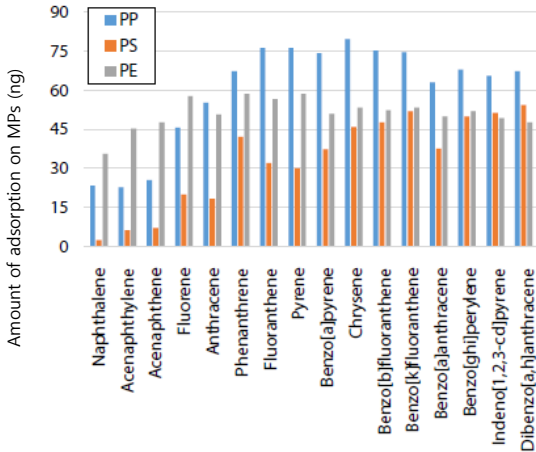


Fig. 7 GC-MS/MS Analysis Results: PAHs

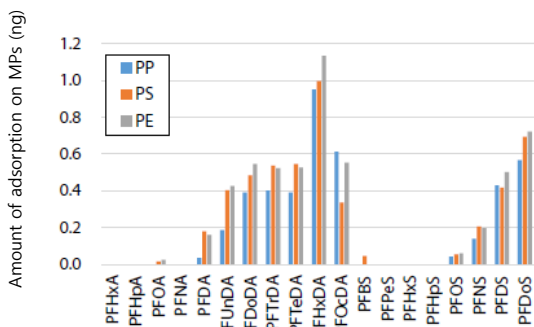


Fig. 8 LC-MS/MS Analysis Results: PFAS

■ 분석 결과

MPs의 화학물질 흡착 특성을 명확히 하기 위해서 물속의 MPs에 대한 PAHs와 PFAS의 흡착량을 GC-MS/MS와 LC-MS/MS를 이용하여 정량적으로 평가하였습니다.

이 결과 MPs의 흡착 특성은 화학 물질마다 다른 것으로 나타났습니다. 또한, 개별 화학 물질의 소수성(hydrophobicity)이 전달 비율의 결정적인 요소라는 의견도 제시되었습니다.

MPs의 화학 물질을 흡착은 주로 소수성 상호작용에 의존하는 것으로 간주됩니다. 따라서 화학 물질의 소수성(hydrophobicity)을 나타내는 Log Kow(\*1)와 Log D(\*2)의 상관관계와 MPs에 대한 화학 물질 전달 비율을 조사를 실시하였습니다. MPs로의 전달 비율은 MPs에 흡착된 PHA 또는 PFAS의 양을 물에 첨가된 화학물 양으로 나누어 얻은 값으로 정의되었습니다. Fig 9는 화학 물질의 소수성과 MPs에

대한 전달 비율 사이의 관계를 보여줍니다. 위부터 순서대로 이 그림은 PP, PS, PE에 대한 전달 비율을 보여줍니다. 이 결과에서 전달률은 MPs 종류에 관계없이 Log Kow와 Log D의 값이 높을수록 증가하는 경향을 보였습니다.

(\*1) Log Kow : octanol/water 파티션 계수

(\*2) Log D : Log Kow는 물에서 전해분해(이온화)의 영향을 고려하는 화학 물질의 파티션 계수. 여기서 이 계수는 시험 당시 pH 6.4가 있는 물에 대해 계산.

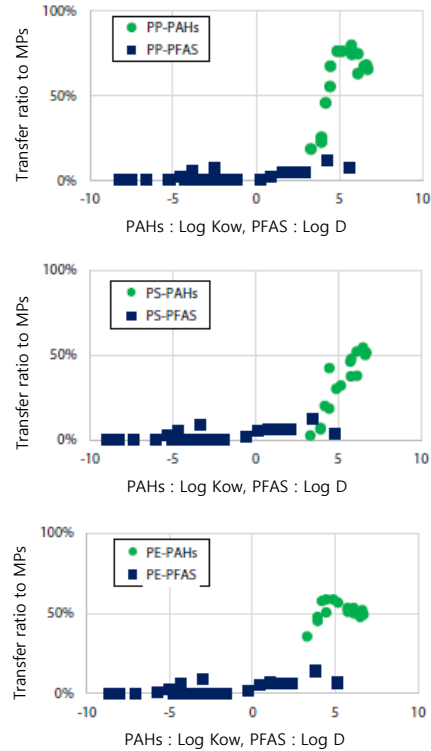


Fig. 9 Hydrophobicity of Chemical Substances and Transfer Ratios to MPs (Top: PP, Middle: PS, Bottom: PE)

<References>

- (1) Makoto Yasojima, Haruna Mizuka, Takaki Mine, Hiroaki Takemori, Shinji Takeuchi, Yoshihide Yasui, "Adsorption Characteristics of Chemical Substances on Microplastics," Proceedings of the 22<sup>nd</sup> Symposium of the Japan Society on Water Environment (2019)
- (2) Makoto Yasojima, Haruna Mizuka, Takaki Mine, Hiroaki Takemori, "Existence of Unknown Chemical Substances Adsorbed on Microplastics Immersed in Rivers and Adsorption Characteristics of Chemical Substances on Microplastics," Proceedings of the 56<sup>th</sup> Environmental Engineering Research Forum (2019)