

연구노트

## Dynamic SPME를 이용한 공기 중 지방산 분석

유미선\* · 양성봉 · 하남기

울산대학교 화학과

(2010년 10월 8일 접수; 2010년 11월 20일 수정; 2010년 12월 3일 채택)

## Analysis of Volatile Fatty Acids in Air by Dynamic SPME

Mee-Seon Yu\*, Sung-Bong Yang, Nam-ki Ha

*Department of Chemistry, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea*

(Manuscript received 8 October, 2010; revised 20 November, 2010; accepted 3 December, 2010)

### Abstract

In this study, the detection limits of lower fatty acids in air were investigated by using Dynamic SPME(Solid Phase Micro-Extraction), i.e. improved Head Space - SPME method(HS-SPME). This Dynamic SPME, called SPDE(Solid Phase Dynamic Extraction), is the analytical method for volatile compounds in air with the extraction by using a stainless steel needle of which inner surface is coated with adsorption material and following the gas chromatographic analysis by inserting the needle into a injection port of GC and subsequently, desorption of the volatile compounds into a gas- chromatographic column. Extraction was carried out by passing the sample air through the needle with a suction pump which has been used for a detection tube. The result of measurement for the 6 lower fatty acids showed that the detection limits ranged from 0.10 ppm to 0.44 ppm and the linear correlation coefficients were over 0.99. Relative standard deviations obtained from 5 analytical repetition of a ca. 1.6 ppm standard mixture were in the range of 1.87%~2.47%. This method has been shown to be a adequate for the measuring C2~C5 fatty acids in air in the concentrations of over several hundreds ppb.

**Key Words** : Environmental analysis, Volatile fatty acids, Dynamic SPME, SPDE

### 1. 서론

휘발성 지방산(Volatile Fatty Acids, VFAs)은 탄소 수 6개까지의 분자량이 낮은 카복실 산을 의미하며, 이러한 화합물은 미생물에 의한 유기화합물의 호기성 대사과정에서 흔히 발생된다(Abalos와 Bayona, 2000). 따라서 저급지방산(Lower Fatty Acids)은 하수, 하수 슬러지, 매립장 침출수(Crowys 등, 2002) 뿐만 아니라 양돈, 양계와 같은 가축사육에서 발생하는

냄새의 중요원인 성분으로 생각되고 있다(양 등, 2004). 일본의 경우 이러한 저급지방산이 일본의 악취방지법에 사업장 부지경계에서의 규제농도가 명시되고 있으며, 따라서 이에 대한 측정법도 일본의 악취공정시험법으로 명시하고 있다. 우리나라도 김(2008)에 의하면 2010년부터는 저급지방산을 악취방지법상의 법정 악취관리물질로 지정하고 이에 대한 공정시험법이 정해질 예정으로 알려져 있다.

폼산(Formic acid), 아세트산(Acetic acid), 프로피온산(Propionic acid), n-뷰틸산(n-Butyric acid), i-뷰틸산(i-Butyric acid), n-발레릭산(n-Valeric acid), i-발레릭산(i-Valeric acid)으로 알려진 이들 휘발성 저급 지방산은 최소후각감지농도가 매우 낮아 악취물질로

\*Corresponding author : Mee-Seon Yu, Department of Chemistry, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea  
Phone: +82-52-259-2340  
E-mail: msyuuou@ulsan.ac.kr

알려져 있으며(일본환경청 대기보전국, 1994), 이 중 프로피온산, n-뷰틸산, n-발레릭산, i-발레릭산은 우리나라 약취방지법의 2010년 신규 지정물질로 지정될 예정이다. 그러나 이러한 지방산의 분리 분석법은 이들 화합물이 물에 잘 녹거나(프로피온산과 n-뷰틸산은 물에 어떤 비율로도 녹음), 끓은 점이 높다는 점(n-발레릭산의 끓은 점은 187°C) 때문(일본환경청 대기보전국, 1994)에, 특히 공기 중 이들 성분을 재현성 있게 분석하기에는 여러 가지 어려움이 있어서 그 측정 사례는 많지 않는 실정이다.

저급지방산의 분석으로서 물 속에 녹아 있는 저급 지방산의 측정으로는 그 사례가 몇 가지 알려져(안 등, 2003; Brrondz와 Iliia, 2002; Yo, 1999)있으나, 공기 중 지방산을 공기 시료부터 측정하는 예는 일본의 약취공정시험법(Hoshika, 1978)과 열탈착기를 이용하는 방법(김 등, 2008; 양 등, 2003), 그리고 HS-SPME 법(Alanis 등, 2008) 등 그 예가 많지 않다.

일본의 약취공정시험법은 수산화스트론튬(strontium hydroxide)를 유리구슬에 코팅한 것을 유리관에 채워 지방산이 시료공기를 흡인하여 휘발성 지방산을 스트론튬의 염으로 고착화시킨 다음, 이 유리관을 GC에 주입구에 연결하여 폼산 수용액(aqueous formic acid)를 위로부터 주입하여 지방산 염을 다시 휘발성 산으로 바꾸어 GC 컬럼으로 도입하여 분석하는 방법이다. 일본의 약취공정시험법으로 알려진 alkali beads를 이용한 지방산의 농축 및 GC분석법은 비록 일본의 공정시험법으로 자리잡고 있지만 학술 문헌상에 보고된 측정사례(양 등, 2003)는 매우 적은 상황이다.

본 연구에서는 공기 중 저급지방산의 분석법으로서 Head Space Solid Phase Micro extraction(HS SPME)을 개량한 Dynamic SPME 법을 검토하였다. 정 등(2007)에 의한 지방산의 HS SPME에 의한 분석법은 알칼리함침 필터에 공기 중 지방산을 반응시켜 수용액으로 만든 후 황산을 넣어 바이알의 헤드 스페이스(head space)부분에 발생하는 휘발성 지방산을 GC로 분석하는 방법 등이 알려져 있지만, 실측사례가 많지 않으며, 일본의 알칼리 비즈법과 같이 대기 중 지방산을 일단 염(salt)으로 고정해야 한다는 번거로움이 있다.

SPME fiber를 지방산의 흡착체로 사용하여 바로 GC로 분석한 사례로는, 이 방법을 정립한 Orzechowska 등(2005), 그리고 이 방법을 측사에서 발생하는 저급지방산의 발생량 측정으로의 이용(Alanis 등, 2008)한 예가 있지만, SPME를 이용한 측정은 재현성 있는 측정결과를 얻기 위해서 시료공기와 fiber의 접촉시간 등 시료채취 조건을 동일하게 해야만 한다는 지적(Kataoka, 2005; Orzechoska와 Paulson, 2005; Pagst, 2007)이 있었다.

본 연구의 검토 대상인 Dynamic SPME법은 일반적인 SPME법이 흡착체(adsorbent)인 파이버(fiber)를 일정시간 시료 공기 중에 머물게 함으로써 공기 중 지방산 혹은 특정성분을 흡착 농축시키는 것에 비해, 흡착체를 주사바늘의 내부에 코팅하고 주사바늘을 주사기 혹은 흡인펌프에 연결한 다음 일정 공기를 바늘 속에 흡인 통과시킴으로써 지방산 혹은 특정성분을 바늘 송의 흡착체에 농축시키는 방법이다. 이 방법은 시료공기의 접촉량과 접촉시간을 일정하게 유지시킬 수 있어서 재현성이 향상된 분석결과를 얻을 수 있을 것으로 기대되고 있다.

Lipinski(2001)는 이 Dynamic SPME법은 줄여서 SPDE(Solid Phase Dynamic Extraction)법이라 명명하였으며, 본 연구에서는 Lipinski(2001)가 농약의 분석법으로 이 방법을 이용한데 반해, 저급지방산을 대상으로 하고 또한 흡인 수단으로서 주사기 실린지(syringe)대신 검지관용 흡인펌프(suction pump)를 이용한 것이 다른 점이다.

## 2. 재료 및 방법

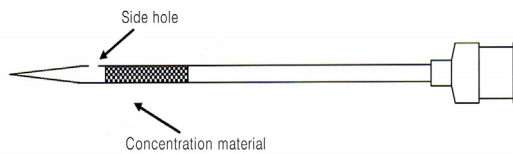
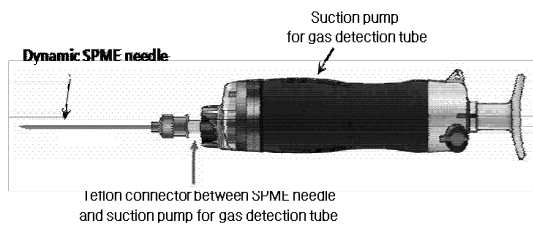
### 2.1. 시약 및 Dynamic SPME

저급지방산 표준물질은 우리나라에서도 지정 약취물질로 예고되고 있는 propionic acid, n-butyric acid, n-valeric acid, i-valeric acid의 4종외에, acetic acid, i-butyric acid를 포함하여 6가지 물질로 하였으며, 모두 Aldrich사의 특급제품을 사용하였다. 사용된 저급 지방산 시약에 대한 물리적 정보를 Table 1에 나타내었다.

**Table 1.** Physical properties of lower fatty acids

Compound	Molecular formula	Mw(g)	d (g/mL)	m.p (°C)	b.p (°C)	Solubility
Acetic acid	CH <sub>3</sub> COOH	60.05	1.049	16.6	117.8	∞
Propionic acid	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	74.08	0.999	-22	141	∞
<i>n</i> -Butyric acid	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	88.11	0.959	-5.7	163.5	∞
<i>i</i> -Butyric acid	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCOOH	88.11	0.95	-47	153	∞
<i>n</i> -Valeric acid	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH	102.14	0.939	-34.5	187.0	3.7 g/100 g H <sub>2</sub> O
<i>iso</i> -Valeric acid	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> COOH	102.14	0.928	-37.6	176.5	4.2 g/100 g H <sub>2</sub> O

공기 중 저급지방산 채취를 위해 사용되는 SPME needle(일본, Shinwa Kakou사, NeedLEX 지방산 농축용)은 내경 0.5 mm, 외경 0.7 mm, 길이 85 mm의 크기이며, 내부에 지방산 농축매체가 충전되어 있다(Fig. 1). 그리고 흡인펌프는 일본 키타가와(Kitagawa)사 제품(검지관 흡인용 펌프, Fig. 2)을 사용하였으며, 저급지방산의 분석으로는 GC/FID(도남, 한국)이 이용되었다. 한편 표준가스 제조용 Tedlar bag(OMI, Japan)은 5.0L의 것을 사용하였으며, 사용 전에 깨끗한 질소 가스로 세척하였다.

**Fig. 1.** Dynamic SPME needle for lower fatty acids.**Fig. 2.** Sampling equipment for dynamic SPME.

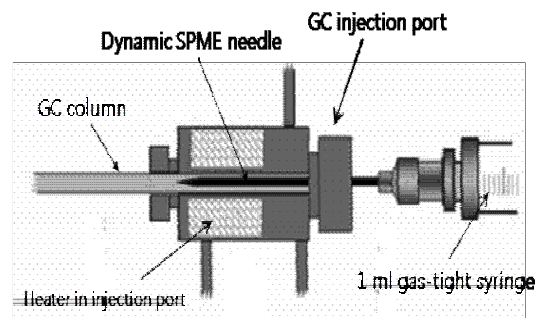
## 2.2. 표준가스 제작

검량선 작성을 위한 표준가스를 제조하기 위해 미리 깨끗이 씻어 말린 1.25L 표준병에 각 지방산을

10.0 μl씩 주입한 후 90°C로 약 1시간 가열하여 완전히 기화시켰다. 표준병을 상온까지 식혀 이를 지방산 표준 가스로 하였다. 준비된 유리병내의 지방산 표준 가스를 VOC가 제거된 질소가 주입된 Tedlar bag에 일정한 농도가 되도록 주입량을 조정하여 단계별로 희석하였으며, 이를 지방산 검량선 작성용 표준가스로 하였다.

## 2.3. 검량선 작성

우선, Active SPME용 바늘을 검지관용 흡인펌프에 끼우고, 앞서 준비한 검량선 작성용 지방산 표준가스가 든 Tedlar bag에 SPME 바늘을 꽂아(Fig. 2) 100ml를 흡인시켰다. 표준가스가 완전히 흡착되면 SPME 바늘을 흡인펌프로부터 분리한 후, VOC를 제거한 질소 1.00ml를 gas tight syringe에 취하여 저급 지방산 표준물질을 농축시킨 SPME 바늘을 끼워 GC/FID 주입구에 삽입하여 질소가스를 주입하였다(Fig. 3).

**Fig. 3.** Desorption of VFA's in GC injection port.

이 때 주입구의 열로 탈착된 시료가 gas tight syringe 내의 질소가스와 함께 GC로 도입되어 분석되도록 하였다. GC/FID에 의한 분석조건은 Table 2와 같으며, 일본 약취공정시험법에서의 알칼리비즈법에 의한 분석조건과 동일하게 하였다.

**Table 2.** Experimental condition for GC/FID

Description	Condition
Column	Glass packed column ID : 3.2mm, L : 1.5m
Column packing	FFAP(0.3%)+H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (0.3%) Support : graphite carbon 60/80 MAX. TEMP. : 250 °C
Temperature	Injector 230 °C Column 100 °C ~ 200 °C, Rate : 10 °C/min Detector 250 °C Glass beads tube 180 °C
Carrier gas flow rate	N <sub>2</sub> , 50 mL/min

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 검량선 작성

6종의 휘발성 저급지방산 표준가스로 분석한 결과로부터 얻은 상관도 R<sup>2</sup>(correlation coefficient)은 0.986~0.995의 좋은 직선성을 나타내었으며, 그 결과를 Table 3에 나타내었다. 각 휘발성 지방산의 검출한계를 산정하기 위해 각 표준물질의 선형회귀식의 표준편차( $s_b$ )를 그하고, 여기에 3배를 곱한  $3 \times s_b$ 을 검출한계량으로 하였다.

각 휘발성지방산의 검출한계량을 구하기 위해 이 용된 계산식은 아래와 같다.

$$s_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right\}^{1/2} \quad s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (\text{Equation 1})$$

각 저급지방산의 측정결과를 바탕으로 검출한계를 검토한 결과, acetic acid는 0.44 ppm, propionic acid 0.12 ppm, i-butyric acid 0.14 ppm, n-butyric acid 0.17 ppm, i-valeric acid 0.10 ppm, n-valeric acid 0.38 ppm로 산정되었으며, acetic acid와 n-valeric acid의 검출한계가 다른 휘발성 지방산에 비해 다소 높은 경향을 나타내었다.

실제 분석 시 peak의 모양이 acetic acid부터 propionic acid까지는 sharp한 대칭성을 보이는 반면, n-과 i-butyric acid에서 valeric acid로 갈수록 peak의 모양은 broad해지면서 작아지는 경향을 볼 수 있었다. 이러한 이유로 다른 휘발성지방산에 비해 다소 높은 검출한계를 가진 것이라 여겨졌다. Fig. 4와 Fig. 5에 각 휘발성 지방산류의 검량곡선과 검량선 작성을 위해 분석된 크로마토그램을 나타내었다.

#### 3.2. 재현성(반복성) 실험

각각의 휘발성 저급지방산을 5.0 μl씩 1.24 L 표준병에 넣어 기화시켜 준비한 후 이를 5회 반복 · 분석하여 시료 중 휘발성지방산 농도를 산정하여 Table 4와 같이 정리하였다.

**Table 3.** Calibration equations of standard volatile fatty acids

Volatile fatty acids	Calibration equation	R <sup>2</sup>	Detection limit(ppm)
Acetic acid	$y = 3 \times 10^7 x + 2 \times 10^7$	0.995	0.44
Propionic acid	$y = 6 \times 10^8 x + 2 \times 10^7$	0.994	0.12
i-Butyric acid	$y = 3 \times 10^8 x + 3 \times 10^7$	0.997	0.14
n-Butyric acid	$y = 5 \times 10^8 x + 7 \times 10^7$	0.992	0.17
i-Valeric acid	$y = 6 \times 10^7 x + 1 \times 10^7$	0.995	0.10
n-Valeric acid	$y = 4 \times 10^6 x + 3 \times 10^6$	0.986	10.38

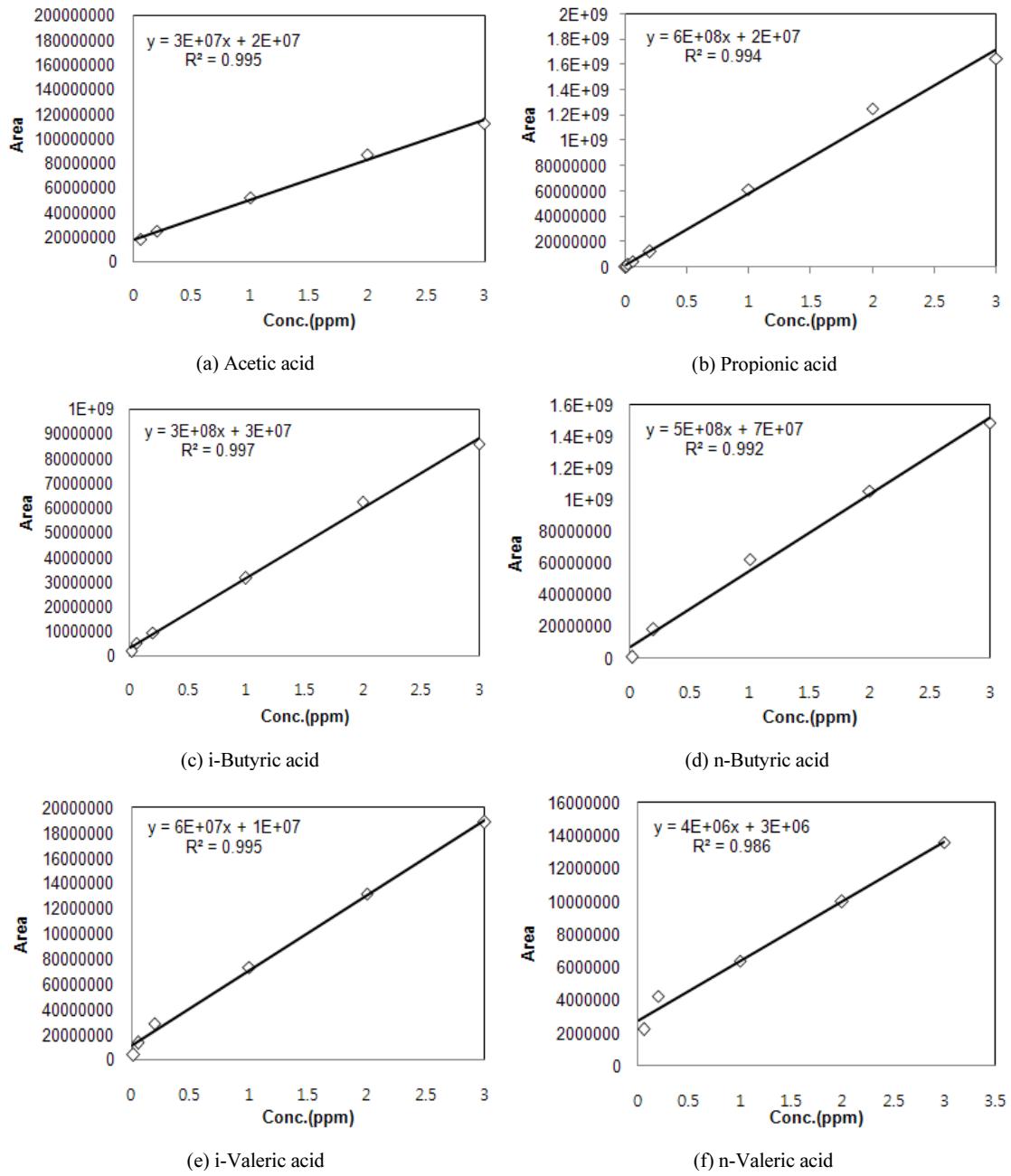


Fig. 4. Calibration lines of volatile fatty acids by active SPME.

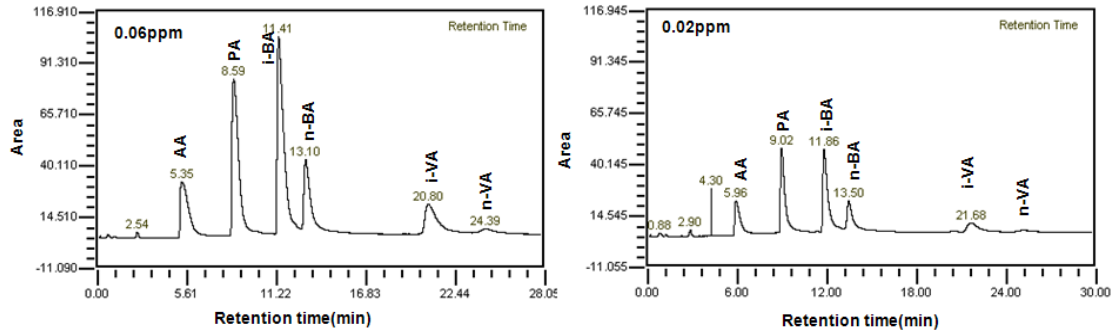


Fig. 5. Fatty acids Chromatogram by active SPME(AA, Acetic acid; PA, Propionic acid; i-BA, i-Butyric acid; n-BA, n-Butyric acid; i-VA, i-Valeric acid; n-VA, n-Valeric acid).

Table 4. RDS of standard amine solutions

Volatile Fatty acids	Fatty acids amount of sample (ppm)					Average (ppm)	RSD(%)
	1st	2nd	3th	4th	5th		
Acetic acid	1.60	1.55	1.57	1.63	1.61	1.59±0.03	2.01
Propionic acid	1.63	1.61	1.61	1.57	1.56	1.60±0.04	2.26
i-butyric acid	1.59	1.56	1.56	1.57	1.63	1.58±0.03	1.87
n-butyric acid	1.56	1.59	1.63	1.63	1.58	1.60±0.03	1.95
i-valeric acid	1.62	1.58	1.63	1.54	1.56	1.59±0.04	2.44
n-valeric acid	1.56	1.53	1.54	1.60	1.62	1.57±0.04	2.47

각 측정결과의 표준편차는 평균값의  $\pm 0.03 \sim 0.04$  ppm으로 매우 낮은 수준을 나타내었으며, 전체적으로 1.87%~2.47%의 낮은 변동계수를 나타내어 분석 오차가 적을 것으로 사료되었다. 하지만, Fig. 5에서 보는 바와 같이 valeric acid의 경우 i-valeric acid은 약 20 ppb에서도 쉽게 검출됨을 확인할 수 있지만, 이것의 형태이성질체인 n-valeric acid은 20 ppb에서 검출되지 않았음을 확인할 수 있었다. 그러나 특별히 n-valeric acid의 검출이 필요하다면 흡인펌프를 여러 번 반복하여 농축량을 늘려줌으로써 이러한 문제는 해결될 것으로 기대되었다.

#### 4. 결론

일본의 악취공정시험법으로 채택된 alkali beads법이나 최근에 검토된 HS SPME법은 공기 중 지방산을 일단 지방산의 염으로 농축해야 하는 전처리과정에

따른 번거로움이 있었다. 또한 SPME를 이용하여 공기 중 지방산을 파이버에 바로 흡착하여 지방산을 분석하는 방법은 정량적인 실험결과를 얻기 위해서는 흡착조건이 동일해야한다는 지적이 있었다. 이러한 단점을 보완하기 위해, 본 연구에서는 대기시료 혹은 악취시료 중에 포함된 휘발성 지방산류의 시료채취 및 측정법으로 Dynamic SPME법을 검토하였으며, 그 결과를 정리하면 아래와 같다.

1. 지방산 분석용 Dynamic SPME는 이미 needle 내부에 흡착매체로 충전되어 있어 지방산물질만을 선택적으로 흡착할 수 있고, 스텐인레스 재질로 되어 유리된 alkali beads 농축관에 비해 보관의 편리함을 가지고 있다.
2. Alkali beads법에 의한 분석에서는 방해물질을 제거하는 전처리단계와 이후 가열탈착과 이를 제어하는 탈착장치를 갖추어야 함에 비해,

dynamic SPME는 직접 GC의 주입구 온도로 탈착시켜 분석함으로써 저급지방산 분석에 따른 경비를 절감할 수 있다.

3. 시료채취 시 현장에서 직접 시료채취할 경우 alkali beads법은 유량계, 펌프 등의 시료채취장비를 필요로 하지만, Dynamic SPME법은 검지관용 흡입펌프로 시료를 채취함으로써 장비의 보관 및 후대가 간편하다는 장점을 가진다.
4. 현장에서 직접채취 혹은 시료채취 백으로부터의 시료채취가 가능하며, dynamic SPME로의 농축량을 조절한다면 수백 ppb ~수십 ppm까지 측정이 가능할 것으로 여겨진다.
5. Dynamic SPME은 금속제의 비교적 가는 needle 내 흡착제에 농축시킴으로 기존 일본공정시험법의 alkali beads에 비해 다소 농축시간이 길다는 단점을 가지지만, 검지관용 흡입펌프를 이용한 농축방법을 이용하기 때문에 비교적 정확한 시료농축량을 가진다는 점이 특징적이다.
6. 또한, Alkali beads법은 다소 굵은 유리컬럼만을 사용하여 농축된 피검물질이 모두 GC로 주입시켜 분석토록 하는데 비해, dynamic SPME법은 유리컬럼 뿐만 아니라 모세관컬럼에서도 모두 분석이 가능하다는 장점을 가지고 있다.

이러한 6가지의 특징 외에 본 연구에서 검토되지는 않았지만, dynamic SPME는 모세관 컬럼을 이용한 분석이 가능함으로써 GC/MSD로의 분석도 가능할 것으로 사료됨으로 향후 휘발성 지방산 분석에 많은 도움이 될 것으로 사료되었다.

### 감사의 글

이 논문은 정부(농촌진흥청)의 재원으로 15대 어젠더 연구개발사업(과제번호 20100401-032-017-001-03-00)에 의해 수행된 연구이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

### 참고 문헌

김중보, 김태현, 김태화, 주도원, 임문순, 2008, On-line 열탈착기와 GC/FID를 이용한 환경대기 중 유기산

성분[프로피온산, n-부티르산, n-발레르산, i-발레르산]들의 분석방법 연구, 한국냄새환경학회지, 7(4), 231-237.

양성봉, 황희찬, 김태우, 유미선, 한진석, 2003, 알칼리 beads법에 의한 대기 중 저급 지방산 농도분포에 관한 연구, 한국냄새학회지, 2(2), 286-293.

안윤경, 이지연, 김지형, 홍종기, 2003, Fiber내 유도체화/HS-SPME를 이용한 수용액 시료 중 휘발성 지방산의 분석, Anal. Sci. Technol., 16(6), 458-465.

양성봉, 안정수, 유미선, 2004, 후각과 냄새물질, (주)수도PEC출판부, 69.

일본 환경청 대기보전국, 1994, 악취물질측정 메뉴얼, 150-169.

정탁교, 장미옥, 정영립, 김만구, 이민도, 2007, 헤드스페이스-GC/FID를 이용한 대기 중 휘발성 지방산 분석법개발, 6(2), 87-95.

Abalos, M., Bayona, J. M., 2000, Application of gas chromatography coupled to chemical ionization mass spectrometry following headspace solid-phase microextraction for the determination of free volatile fatty acids in aqueous samples, J. Chromatography A, 891, 287-294.

Alanis, P., Sorenson, M., Beene, M., Krauter, C., Shamp, B., Hasson, A. S., 2008, Measurement of non-enteric emission fluxes of volatile fatty acids from a California dairy by solid phase microextraction with gas chromatography/mass spectrometry, Atmos. Environ., 42, 6417-6424.

Brondz, I., 2002, Development of fatty acid analysis by HPLC, GC, and related techniques, Anal. Chim. Acta, 464, 1-37.

Cruwys, J. A., Dinsdale, R. M., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L., 2002, Development of a static headspace gas chromatographic procedure for the routine analysis of volatile fatty acids in wastewaters, J. Chromatogr. A, 945, 195-209.

Kataoka, H., 2005, Recent Advances in solid-phase microextraction and Related Techniques for Pharmaceutical and biomedical analysis, Curr. Pharm. Anal., 1, 65-84.

Lipinski, J., 2000, Automated multiple solid phase micro extraction. An approach to enhance the limit of detection for the determination of pesticides in water, Fresen. J. Anal. Chem., 367, 445-449.

Orzechowska, G. E., Paulson, S. E., 2005, Photochemical

- Sources of Organic Acids. 1. Reaction of Ozone with Isoprene, Propene, and 2-Butenes under Dry and Humid Conditions Using SPME, *J. Phys. Chem. A*, 109, 5358-5365.
- Pragst, F., 2007, Application of solid-phase micro extraction in analytical toxicology, *Anal. Bioanal. Chem.*, 388, 1393-1414.
- Hoshika, Y., 1978, Gas Chromatographic determination of lower fatty acid in air at part per billion Levels, *Anal. Chem.*, 54, 2433-2438.
- Yo, S. P., 1999, Analysis of volatile fatty acids in wastewater collected from a pig farm by a solid phase microextraction methods, *Chemosphere*, 4, 823-834.