

연구논문

LC-HRMS를 활용한 대기 중 먼지 입경별 유리 아미노산 분석 연구

고민정^{1,2} · 전준호^{1†}

¹국립창원대학교 환경공학과
²낙동강유역환경청 측정분석과

A Study of Free Amino Acids Analysis in the Atmosphere Using LC-HRMS

Minjeong Ko^{1,2} and Junho Jeon^{1†}

¹Department of Environmental Engineering, Changwon National University, Changwon, 51140, Korea

²Monitoring and Division, Nakdong River Basin Environmental Office Measurement, Changwon, 51439, Korea

Received December 11, 2024 / Revised January 17, 2025 / Accepted April 02, 2025

This study aims to investigate both qualitative and quantitative methods for the simultaneous multi-component and trace analysis of free amino acids (FAAs) in atmospheric particulate matter using LC-HRMS. The method was applied by collecting samples to assess the actual occurrence of FAAs in the atmosphere. The analytical technique utilized was LC-HRMS (Orbitrap), with a focus on the Amino Acid column, which demonstrated excellent separation performance, with peak detection beginning approximately five minutes after sample injection. A total of 15 FAA species were analyzed within a 20-minute run time. Accelerated solvent extraction (ASE) was effective, and the relatively low recovery rate was compensated for by using 15 internal standards. The matrix test confirmed that the method can be applied to actual particulate matter (PM) samples. Analysis of 13 PM samples collected over a two-month period revealed that L-valine was the most abundant FAA. FAAs in fine particulate matter accounted for approximately 6% of the total FAA, with 72% of this fraction found in ultrafine dust particles. This study advances the analytical method for trace-level detection of FAAs, facilitating their identification and quantification in atmospheric particulate matter.

Key words: LC-HRMS, Orbitrap, Free amino acids, Ultrafine dust, Cloud condensation nuclei

1. 서 론

대기 중 에어로졸(atmospheric aerosol)인 미세먼지(particulate matter, PM)는 광범위한 연구 대상으로서 대기질에 영향을 미치고 나아가 기후변화에도 중요한 역할을 하며 최근 주목을 받고 있다.¹⁾ 산업활동(industry combustion), 바이오매스 소각(biomass burning), 해양(ocean), 축산업(animal husbandry) 등과 같은 인위적이거나 자연적인 배출원에 의해서 다양한 물질이 대기 중에 방출된다. 그중 미세먼지는 배출원에서 대기로 입자 물질이 직접 방출되는 1차 생성 먼지(primary particulate matter)와 대기 중에 기체상으로 배출된 전구물질이 물리

·화학적인 반응을 통해 입자 물질을 형성하는 2차 생성 먼지(secondary particulate matter)로 분류된다.²⁾ 2차 생성 먼지의 전구물질은 황산화물(SO_x), 질소산화물(NO_x) 그리고 암모니아(ammonia, NH₃)가 있으며, 이는 국내에서 2019년 미세먼지 저감을 위한 특별관리 물질로도 지정되었다. 선행연구에 따르면, 중국의 베이징에서는 2차 생성 먼지가 대기 중의 80~90%를 차지할 정도로 많은 양을 차지하는 것으로 확인되었다.³⁾ 이렇게 생성된 1차·2차 미세먼지는 입사하는 태양광을 직접적으로 반사하여 기후변화에 영향을 주거나⁴⁾, 강한 친수성(hydrophilicity)을 띠는 입자 물질에 의해 구름 응결핵(cloud condensation nuclei, CCN)의 역할을 하여 주변의 수증기를 끌어모아

[†]To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-55-213-3748, E-mail: jjh0208@changwon.ac.kr

구름을 형성하고 태양광을 반사하는 등 기후변화에 간접적인 영향을 줄 수 있다고 알려져 있다.⁵⁾

극미세먼지(ultrafine dust, PM1.0)는 입경 1 μm 이하의 입자로 사람의 머리카락 단면에 입자가 대략 60개 정도 들어갈 수 있는 매우 작은 입자이다.⁵⁾ 최근 연구에 따르면, 극미세먼지는 PM2.5와 생성량 및 화학적 조성 변화가 유사하고 화학적 조성 비율이 비슷하여, 극미세먼지의 입자 성장과 지속적인 산화 반응에 의해 PM2.5로 전환되는 것으로 판단하였다.⁶⁾ 또한, 극미세먼지는 차량 연소 및 2차 생성 먼지에 의해 발생하는 경우가 많으므로 차량 이동과 산업활동이 많은 도시 환경에서 발생하는 미세먼지의 90% 이상은 극미세먼지일 것으로 추정했다.⁶⁾ 그렇기에 PM10이나 PM2.5보다 작은 입자인 극미세먼지는 기존에 알려지지 않은 물질이 있을 수 있으며, 이에 따라 인체에 어떤 유해한 영향을 미칠지 알 수 없다. 하지만 입자의 크기가 작을수록 비표면적이 크기 때문에 폐세포의 생물학적 상호작용에 사용될 가능성이 크고, 유해물질의 운반체로 작용하여 같은 농도의 미세먼지라도 입자 크기가 작을수록 인체 위해성(human health risk)은 증가한다.⁷⁾ 또한, 극미세먼지가 구름 응결핵으로 작용하여 구름의 생성에 기여한다고 추정하였으나 국제적으로 이를 증명하는 연구는 적었다.⁸⁾ 2020년 국내 유일의 극지 연구 전문 국가기관인 해양수산부(Ministry of Oceans and Fisheries) 산하 극지연구소(Korea Polar Research Institute, KOPRI)는 북극의 극미세먼지 생성 주요 원인으로 북극 내륙에서 배출되는 전구물질(2차 생성 먼지를 돕는 가스상 물질을 꼽았으며, 지구 온난화로 지구 표면 온도가 상승하면서 배출되는 전구물질의 양이 증가해 극미세먼지 생성속도가 빨라지게 된다고 하였다.⁹⁾ 그리고 극미세먼지가 구름 응결핵 증가의 직접적인 원인이라 증명하였다.¹⁰⁾

최근 연구에 따르면, 국내에서 PM1.0은 계절적 비교에서 모두 압모습 rich condition으로 관측되었고, 습도가 높은 여름철 습식 반응에 의해 암모니아가 amine 형태로 전환될 것으로 보았다.⁶⁾ 또한, 대기 중 아민과 같은 질소 유기 화합물의 비율이 상대적으로 높아지고, PM2.5 내의 질소 유기 화합물 중 아미노산(amino acid)은 평균 32% 존재할 수 있다고 연구되었다.¹¹⁾ 따라서 대기 에어로졸에서의 아미노산은 2차 생성 미세먼지에 영향을 미칠 것으로 예상되며, 미세먼지 내 성분으로서 분석이 요구된다.

아미노산의 화학적 구조는 아미노기(amino, $-\text{NH}_2$)와 카복실기(carboxyl, $-\text{COOH}$)를 모두 가진 분자로, 광학 이성질체(optical isomer)인 L-형과 D-형으로 나눈다. 본

연구에서 분석될 15종의 아미노산은 L-형으로, 자연에 존재하는 생명체의 단백질을 형성하는 아미노산 대부분은 L-형이다.¹²⁾ 일반적으로 아미노산 분석은 액체크로마토그래피(liquid chromatography, LC)를 가장 많이 이용하고 있으며, 검출기는 UV-Vis 또는 FLD(fluorescence detector) 그리고 MS(mass spectrometer) 등이 이용되지만, 국내 대기 중에 아미노산을 분석한 연구는 적다.¹³⁻¹⁵⁾ 미세먼지 내에 아미노산은 미량에 불과하여 현재 분석기술로는 정성정량에 어려움이 있는 실정이다. 뿐만 아니라, 유도체화를 통한 분석으로 인해 전처리 과정에서 아미노산 분석에 상당한 시간이 소요된다. 이에 미량 분석에 적합하며, 분석 시료의 간섭현상을 최소화할 수 있는 선진화된 분석기술을 접목한 분석법 연구가 요구된다. 또한, 강한 친수성을 띠는 미세먼지의 발생원 규명 및 이동 경로에 관한 연구가 진행되기 위해서는 미량으로 존재하는 개별 물질별 분석법 및 대기 중 농도분포에 관한 연구가 필요하다.

본 연구는 대기 중 미세먼지 내 미량 존재하는 유리 아미노산(free amino acids, FAAs)을 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)와 고분해능 질량분석기(high resolution mass spectrometer, HRMS)를 활용하여 분석법을 마련하기 위해 수행되었다. 이러한 방법으로 분석시간을 단축하고, 정량한계를 낮추며, 다성분 동시분석을 통해 분석 효율을 향상시키는 정성정량 분석법을 도출하고자 하였다. 또한, 먼지를 입경별로 채취하여 유리 아미노산 15종의 동시 분석법에 대한 실제 대기 시료 적용 가능성을 확인하고, 산업시설과 주거지역이 다양하게 분포하고 있는 창원시 내 대기 중의 유리 아미노산의 농도분포 정보를 분석하여 향후 연구의 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료채취

대기 중에 부유하고 있는 입자상의 유리 아미노산은 고용량 공기시료채취기(high volume air sampler, HIVOL PLUS; Tisch, USA)를 사용해 채취하였다. 세부 시료 채취 방법은 국내 대기오염공정시험기준의 환경대기 시료 채취 방법(ES 01604.1, 2016)을 준수하여 실시하였다. 그리고 여러 입경의 미세 입자를 동시에 채취할 수 있도록 다단 입경분리장치(cascade impactors, Model 235 Five stage; Tisch, USA)를 고용량 공기시료채취기에 장착하여 Fig. 1과 같이 총 6단계의 입자 크기 별(7.2, 3.0, 1.5, 0.95, 0.49 μm 그리고 back filter($<0.49 \mu\text{m}$))로 분리 채

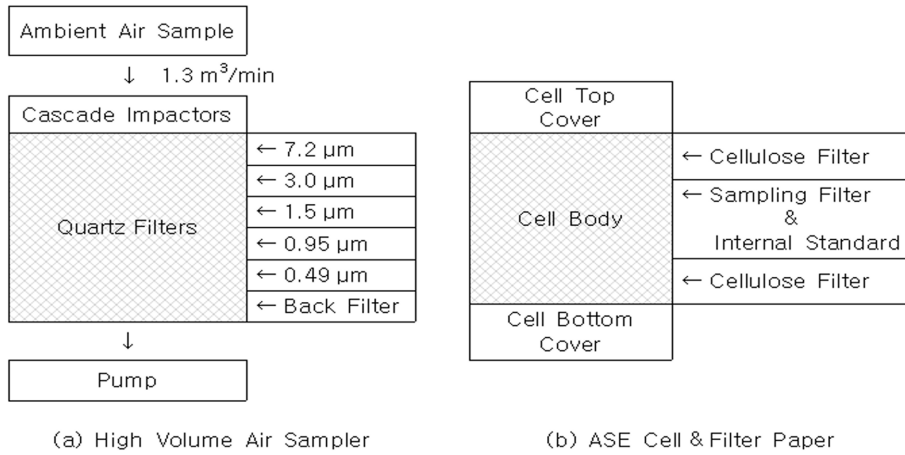


Fig. 1. High volume air sampler and structure of the ASE system.

취하였다. 채취 유량은 다단 입경분리장치의 고유 설계 유속에 맞춰 약 1.13 m³/min(40 cubic feet per minute)이 되도록 하였고, 시료 채취 시 매년 표준유량계를 이용하여 유량을 교정하여 사용하였다.

시료 채취는 2024년 8월 13일부터 10월 13일까지 약 두 달간 Fig. 2에 나타난 경상남도 창원시 도심지역에 위치한 낙동강유역환경청 건물 옥상(위도: 35°14'4.83"N, 경도: 128°41'23.71"E 높이: 20 m)에서 진행하였다. 해당 측정소는 근교에 국가산업단지가 위치해 있고, 제품 제조시설과 무역 및 농업 등 다양한 산업과 주거지역이 위치해 있다. 환경 대기 시료는 72시간 동안 평균 4,853 m³이 채취되었다. 이를 측정 기간 동안 총 13회 반복하였고, 회당 6개의 여과지를 사용하여 총 78개의 시료를 확보하였다.

2.2. 시약 및 표준물질

대기 중 유리 아미노산 시료를 분석하기 위해 표준물질과 내부표준물질의 목표 물질을 사용하였다. 표준물질은 Sigma-aldrich사(USA)의 고순도 혼합표준물질(AA-S-18)을 사용하였으며, 내부표준물질은 Cambridge Isotope Laboratories사(USA)의 혼합내부표준물질(MSK-CAA)을 사용하여 각 15종을 분석하였다(Table 1). 표준물질은 사용 전 앰플을 개봉하여 1 mL vial에 분취한 후 100 nmol/mL로 희석하여 사용하였다. 고상 시약인 내부표준물질은 사용 전 앰플을 개봉하여 제조사의 조제법에 따라 0.1N HCl에 녹여 분취한 후 100 nmol/mL의 농도로 희석하여 사용하였다. 표준물질 및 조제한 내부표준물질 모두 테프론 마개가 있는 10 mL 갈색 병(amber vial)에 넣어 4±2°C에서 냉장보관 하였다. 전처리 및 분석에 사

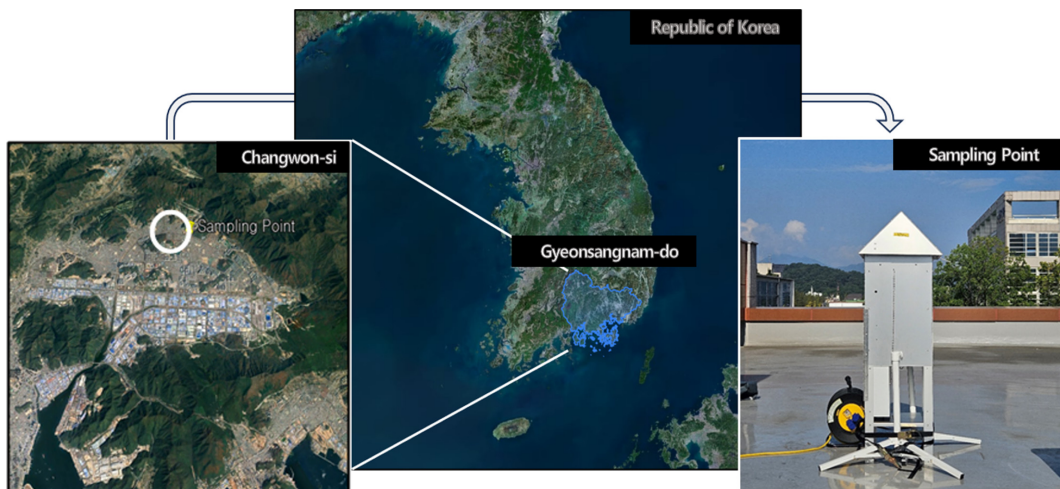


Fig. 2. Sampling points in Changwon areas.

Table 1. Standard and internal standard compounds used in the analysis

	Free amino acids	Abbreviation	Mass(m/z)	Internal standard
1	L-Serine	Ser	106.05022	L-Serine-13C3,15N
2	L-Proline	Pro	116.07083	L-Proline-13C5,15N
3	L-Valine	Val	118.08654	L-Valine-13C5,15N
4	L-Threonine	Thr	120.06580	L-Threonine-13C4,15N
5	L-Isoleucine	Ile	132.10202	L-Isoleucine-13C6,15N
6	L-Leucine	Leu	132.10201	L-Leucine-13C6,15N
7	L-Aspartic acid	Asp	134.04492	L-Aspartic acid-13C4,15N
8	L-Lysine	Lys	147.11279	L-Lysine-2HCl-13C6,15N2
9	L-Glutamic acid	Glu	148.06052	L-Glutamic acid-13C5,15N
10	L-Methionine	Met	150.05849	L-Methionine-13C5,15N
11	L-Histidine	His	156.07687	L-Histidine-HCl-H2O-13C6,15N3
12	L-Phenylalanine	Phe	166.08635	L-Phenylalanine-13C9,15N4
13	L-Arginine	Arg	175.11905	L-Arginine-HCl-13C6,15N4
14	L-Tyrosine	Tyr	182.08131	L-Tyrosine-13C9,15N
15	L-Cystine	Cys	241.03122	L-Cystine-13C6,15N2

용된 용매 시약은 water(J.T.Baker, USA) HPLC급, methanol(Supelco, Germany) LC급, hydrochloric acid (Supelco, Germany) ACS급, acetonitrile(Supelco, Germany) LC급, ammonium formate(Fisher Scientific, USA) LC/MS급, formic acid(Fluka, USA) ACS급 그리고 n-hexane(Sigma-aldrich, USA) ACS급 용매를 사용하였다.

2.3. 시료 전처리방법

시료 채취 여과지로는 석영 여과지(quartz filter)를 선택하였다. 그리고 대기 시료 채취 중 대기 습도에 의한 오차를 줄이기 위해 시료 채취 전 여과지를 25±5°C 습도 50% 이하의 데시케이터에서 항량이 될 때까지 24시간 이

상 보관하여 사용하였다. 항량된 여과지는 0.01 mg의 감도를 갖는 분석용 전자저울로 0.1 mg까지 채취 전 무게를 기록하였다. 채취 후 여과지는 다단 입경분리장치에서 조심히 분리하여 부유입자 채취면이 안으로 향하게 접은 후 n-hexane으로 처리한 호일에 감쌌으며, 채취 전과 동일한 방법으로 데시케이터에 24시간 이상 보관한 다음 무게를 측정하였다.

여과지에 포집된 아미노산을 LC-HRMS로 분석하기 위해 MS detector를 이용한 선행연구¹⁵⁻¹⁷의 전처리를 참고하여 수행한 전처리절차를 Fig. 3에 나타냈다. 먼저 입경별로 분리된 각각의 여과지를 테프론 가위를 이용해 대략 1 cm²로 절단하여 전처리에 사용하였고, 절단된 여과

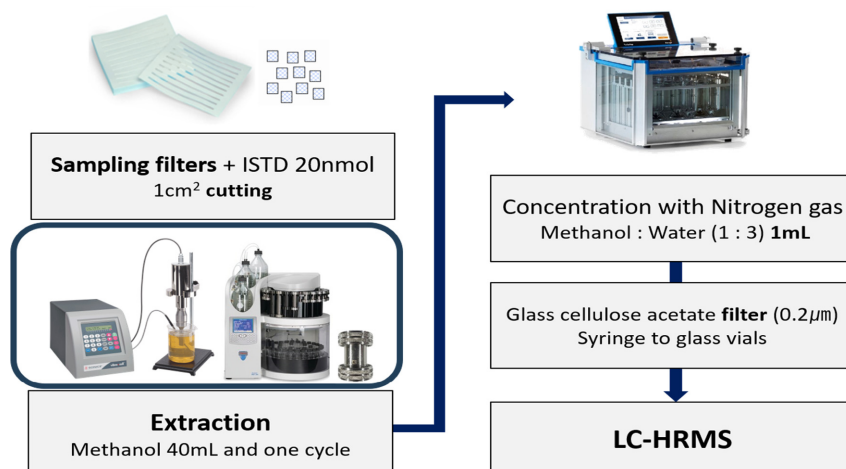
**Fig. 3.** Sample preprocessing schematic diagram.

Table 2. LC-HRMS instrument operating conditions

Instrument	UHPLC-Orbitrap HRMS(Q Exactive Plus)					
Column	Poroshell 120 EC-C18 column, 2.1 × 150 mm, 4.0 μm			Intrada Amino Acid column, 3.0 × 150 mm, 3.0 μm		
Mobile phase	A: Water/Formic acid = 100/0.1 B: Methanol/Formic acid = 100/0.1			A: 100 mM Ammonium formate/Acetonitrile = 80/20 B: Acetonitril/ Formic acid = 100/0.3		
	Time(min)	A(%)	B(%)	Time(min)	A(%)	B(%)
	0	95	5	0	15	85
	5	Stop Run		1	15	85
Gradient				10	40	60
				17	100	0
				19	100	0
				19.1	15	85
				20	Stop Run	
Flow rate	0.6 mL/min		Scan type	Positive		
Injection volume	5 μL		Spray voltage	3,500 V		
Column temp.	40°C		Capillary temp.	325°C		

지는 내부표준물질 200 μL를 주입한 후 추출 장비를 통해 액상으로 추출하였다. 추출에 필요한 장비는 가속용매 추출장치(accelarated solvent extractor, ASE), 초음파 추출기 등으로 이를 이용한 다양한 고상 추출법이 존재한다. 이에 적절한 추출법을 선정하기 위해서 ASE(ASE 350; Thermo Fisher, USA)와 초음파 추출기(VCX750; Sonics, USA)를 각각 사용하였고, 회수율 및 추출 시간 등을 비교해 효율이 더 높은 추출 장비를 분석 시료 전 처리에 사용하였다. 추출된 시료 용액은 질소농축기(TurboVap LV; Biotage, Sweden)를 이용하여 농축하고, 분석용 시료 용액으로 용매 치환(methanol:water=1:3)하여 최종 분석 시료의 부피가 1 mL가 되도록 하였다.

2.4. 기기분석

사용한 분석기기는 UHPLC-ESI-HRMS인 Thermo Fisher Scientific Vanquish 와 Q Exactive Plus Orbitrap mass spectrometry(Thermo Fisher Scientific, USA)이다. 액체크로마토그래피에 적용할 컬럼을 선정하기 위해 두 가지 컬럼을 사용하여 비교하였다. 사용된 컬럼은 Poroshell 120 EC-C18 column(2.1 × 150 mm, 4.0 μm; Agilent, USA)과 Intrada Amino Acid column(3.0 × 150 mm, 3.0 μm; Imtakt, USA)이다. 이동상으로 EC-C18 column의 경우 A: water/formic acid = 100/0.1 와 B: methanol/formic acid = 100/0.1를 사용하였으며, Amino Acid column의 경우 A: 100 mM ammonium formate/acetonitrile = 80/20와 B: acetonitrile/formic acid = 100/0.3를 사용하여 분석을 진행하였다. 자세한 분석 조건은

Table 2에 나타났다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 분석조건 설정

3.1.1. Column 선택

15종 유리 아미노산의 정량 성능을 비교분석하기 위해 적용한 두 컬럼의 chromatogram 결과는 Fig. 4와 같다. 먼저 가장 보편적으로 사용하는 EC-C18 column의 경우 시료 주입 1분 이내에 peak가 발생하고 이동상 기울기에 변화를 주어도 peak 분리에 변화가 없었다. 이는 유리 아미노산이 컬럼의 영향을 받지 않고 그대로 흘러 지나가기 때문인 것으로 판단된다. 반면에 Amino Acid column은 시료 주입 5분 이후부터 모든 peak가 관찰되기 시작했고 분리능도 우수했다. 그리고 주입 유속이나 이동상 기울기 변화에 retention time(RT)과 peak가 변하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 이성질체인 leucine과 isoleucine의 baseline 분리가 가능하였다. 이 방법은 유도체화 전처리 없이 분석할 수 있는 장점이 있어 분석 시간을 줄일 수 있었다. 따라서 Amino Acid column을 이용해 20분간의 run time으로 분석하는 방법을 사용하여 15종의 유리 아미노산을 정량 분석하고자 한다.

3.1.2. MS/MS 확인

위 방법으로 선택된 column과 LC-HRMS 분석 조건을 이용하여 총 15종의 유리 아미노산 물질을 target 하였으며, 개별 peak를 얻을 수 있다. 본 연구에서는 정확한 정

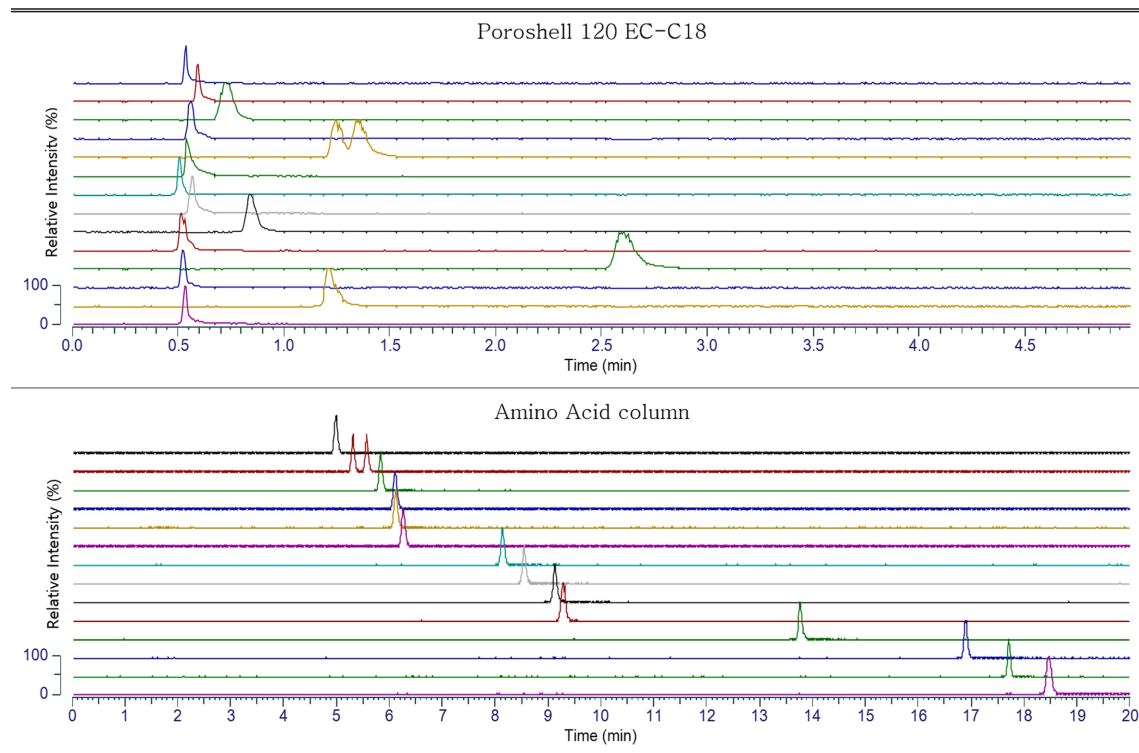


Fig. 4. Chromatograms of free amino acids using EC-C18 and Amino Acid columns.

성·정량을 하기 위해 확인된 15종의 유리 아미노산의 MS2 정보를 얻었다. collision energy(CE)를 각각 세 가지의 에너지(15, 35, 50 V)로 구분하여 전구 이온(precursor ion)을 깨뜨렸으며, 생성 이온(product ion)은 Orbitrap 질량분석기를 이용하여 확인했다. FAAs 물질별 생성이온

의 Top 5 m/z 값을 Table 3에 나타냈으며, 이를 정성분석에 사용하였다. 또한, 시료 정량분석 시 isotopes 및 library 매칭이 되는 것을 확인할 수 있도록 분석조건을 설정하였다.

Table 3. Product ions of free amino acids identified by LC-HRMS

FAAs	Adduct	CE(V)	Product ion(m/z)				
Ser	M + H	15	60.05	89.06	88.08	70.07	106.09
Pro		35	70.07	116.07	71.07	117.07	114.09
Val		50	72.08	55.06	70.07	73.08	118.09
Thr			74.06	56.05	102.06	120.10	58.07
Ile			86.10	69.07	87.10	130.16	57.07
Leu			86.10	87.10	130.16	57.07	74.10
Asp			136.02	74.02	89.06	88.04	132.90
Lys			84.08	130.09	85.08	149.02	148.09
Glu			84.05	149.02	102.06	130.05	121.03
Met			56.05	104.05	61.01	133.03	152.12
His			110.07	156.08	95.06	111.08	83.06
Phe			120.08	121.08	103.05	131.05	166.09
Arg			70.07	60.06	175.12	116.07	130.10
Tyr			182.19	100.11	136.08	83.09	183.19
Cys			151.98	120.01	74.02	122.03	241.03

3.2. QA/QC

정량분석을 하기 전 15종의 유리 아미노산 물질에 대한 QA/QC를 실시하였다. 검정곡선(calibration curve)은 15종의 유리 아미노산이 혼합된 2,500 nmol/mL의 농도도의 표준용액을 이용하였다. 매 분석 시 표준용액을 희석하여 0.125, 0.25, 0.5, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 nmol/mL의 9개의 농도로 조제하고, 여기에 100 nmol/mL의 내부표준용액을 200 μ L 주입하여 최종 1 mL가 되게 하여, 최종적으로 검정곡선을 작성하였다. 예상 정량한계(limit of quantification, LOQ) 농도를 각 7개 조제하여 반복 측정된 결과로부터 표준편차를 구하였고, 방법검출한계(method detection limit, MDL) 및 정량한계는 표준편차에 각각 3.14와 10을 곱하여 산출하였다. % 상대표준표차(precision, % RSD)를 구하기 위해 예상 정량한계의 2배 값의 농도를 각 4개 조제하여 반복 측정된 결과로부터 표준편차를 구하여 % 상대표준편차를 산출하였다. 검정곡선 검증(calibration curve verification, CCV)을 위해 검정곡선의 중간 값에 해당하는 표준용액을 조제하여 그 분석 값이 10% 이내에서 일치하도록 하였다. 검정곡선 검증의 주기는 시료 20개 단위로 실시하였다. 그리고 매 분석 시 공여지를 이용하여 실제 시료와 동일한 전처리 방법으로 방법비탕시료(method blank)를 분석하였고 방법검출한계 이하 값이 되도록 하였다.

그 결과, 모든 물질의 검정곡선의 상관계수(correlation coefficient)가 0.999이상으로 우수한 직선성을 보였다. 방법검출한계는 최저 0.03 nmol/mL(L-arginine)에서 최고

0.22 nmol/mL(L-serine)까지 분석되었다. 정량한계는 최저 0.09 nmol/mL(L-arginine)에서 최고 0.70 nmol/mL(L-serine)까지 분석되었다. 또한, 표준물질 및 내부표준물질의 % 상대표준표차 20% 이내를 보였으며, 검정곡선 검증 시료는 그 분석 값이 10% 이내에서 일치하였다. 각 물질의 검정곡선 결과와 QA/QC의 결과를 Table 4에 표기하였다.

3.3. Recovery

3.3.1. 추출 방법 선정

적절한 추출 장비를 선정하기 위해 초음파 추출기와 ASE를 비교하였다. 표준용액 5 nmol/mL 주입한 여지에 methanol을 사용해 추출하여 분석하였다. 초음파 추출기와 ASE의 평균 회수율은 각각 85%(min = 81%, max = 96%, S.D. = 4%), 70%(min = 65%, max = 76%, S.D. = 2%)로 초음파 추출기의 추출 성능이 우수한 것으로 나타났다. 그럼에도 적은 용매 사용량과 일정한 추출 효율 그리고 적은 추출시간 등을 고려하였을 때 ASE 추출기를 사용하는 것이 효율적이라고 판단하였다. 다만 비교적 낮은 회수율은 15종의 내부표준물질을 사용하여 보완하였다.

3.3.2. Matrix recovery

본 연구에서 채취하는 시료는 실제 대기 중의 입자 물질이며, 채취 및 전처리 과정에서 발생하는 간섭영향으로 인해 고순도 표준물질 시약과 분석 반응이 다를 수 있다. 따라서 분석 적용성을 확인하기 위해 매트릭스 물질

Table 4. QA/QC results for free amino acids (FAAs)

FAAs	RT	Cal level (nmol/mL)	r ²	MDL (nmol/mL)	LOQ (nmol/mL)	RSD (%)	CCV (%)
Ser	9.29	1.250-40	0.9997	0.22	0.70	0.11	0.91
Pro	6.10	0.125-40	1.0000	0.10	0.33	0.16	1.03
Val	6.26	0.250-40	1.0000	0.09	0.25	14.73	0.37
Thr	8.15	0.250-40	0.9998	0.06	0.18	2.80	0.05
Ile	5.58	0.250-40	0.9996	0.05	0.17	4.11	2.31
Leu	5.31	0.250-40	0.9998	0.08	0.25	4.26	2.13
Asp	9.13	0.500-40	0.9994	0.15	0.45	4.53	0.35
Lys	17.71	0.250-40	0.9997	0.06	0.19	0.67	1.05
Glu	8.55	0.500-40	0.9998	0.09	0.30	2.10	0.50
Met	5.83	0.250-40	0.9996	0.04	0.13	2.10	1.80
His	16.89	0.125-40	0.9995	0.04	0.12	1.38	1.88
Phe	4.99	0.125-40	0.9999	0.04	0.11	3.33	0.54
Arg	18.47	0.125-40	0.9999	0.03	0.09	1.92	1.52
Tyr	6.12	0.250-40	0.9996	0.06	0.20	2.07	0.71
Cys	13.79	0.125-40	0.9998	0.05	0.16	1.85	0.74

을 이용하여 그 회수율을 확인하였다. 매트릭스 물질로 Urban Dust(SRM 1649b; National Institute of Standard and Technology, USA)를 사용하였으며, 반으로 나눈 깨끗한 석영 여과지의 각 면에 SRM 시료 100 mg을 골고루 분포하였다. 그리고 한 면에만 표준물질 10 nmol과 내부표준물질 200 μ L를 주입하고, high volume air sampler에 10분간 가동하여 회수 결과를 확인하였다. 그 결과, 평균 105%(min = 91%, max = 116%, S.D. = 10%) 회수율을 보였으며, 해당 분석법으로 유리 아미노산을 추출하여 정량분석이 가능함을 확인하였다.

3.4. FAAs 입경별 농도

3.4.1. 대기 중 FAAs 확인

채취한 실제 대기 중 PM 시료 내 유리 아미노산을 정성·정량하기 위해서 다음과 같이 확인 단계를 거쳤다. 먼저 분석물질의 chromatogram 적분 값에서 RT가 오차 범위 ± 0.2 min 내에 들어오고, 내부정도관리를 통해 얻은 MS2 product ion 정보에서 2가지 이상 일치하면 해당 물질로 판단하였다. 또한, isotopic pattern 및 library matching score를 부수적인 수단으로 이용하여 최종 정량하였다. Fig. 5에 L-serine의 실제 시료 peak와 조각 이온(fragment ions), isotopic pattern 그리고 library search 정보를 예시로 나타냈다. 다만 L-tyrosine은 library

matching이 되지 않았으며, 추후 이에 대한 원인 파악이 필요할 것으로 판단된다. L-histidine은 검출되지 않아 제외되었다.

3.4.2. 채취 기간별 FAAs 농도

본 연구에서 채취된 15종의 유리 아미노산의 농도를 합하여 각 일자별로 Fig. 6과 같이 나타냈다. 그 결과, 9월 중 6일부터 24일까지 채취된 3개 event에서 가장 높은 농도인 26.02 ng/m^3 (9월 9일), 22.75 ng/m^3 (9월 6일) 그리고 14.79 ng/m^3 (9월 24일) 순으로 검출되었다. 이는 채취 지점에서 8월 누적 강수량 74.1 mm, 9월 누적 강수량 10.6 mm로 큰 차이를 보인 것으로 보아, 8월에 내린 높은 강수량으로 인해 대기의 오염물질이 씻겨 내려 8월 유리 아미노산 농도가 낮았고, 이후 강수량이 감소함에 따라 대기 중의 전구물질이 2차 반응으로 유리 아미노산을 생성하며 고농도로 검출된 것으로 판단된다. 다만, 10월의 채취 기간이 짧아 해석에 다소 어려움이 있지만, 국내 선행 연구⁵⁾에 의하면 PM1.0 농도는 가을이 가장 낮은 경향을 보인다. 이를 고려할 때, 본 연구에서도 10월의 유리 아미노산 농도가 8월, 9월에 비해 낮을 것으로 예상된다.

3.4.3. 각 물질당 입경별 농도

채취된 시료에서 유리 아미노산을 각 항목당 입경 크

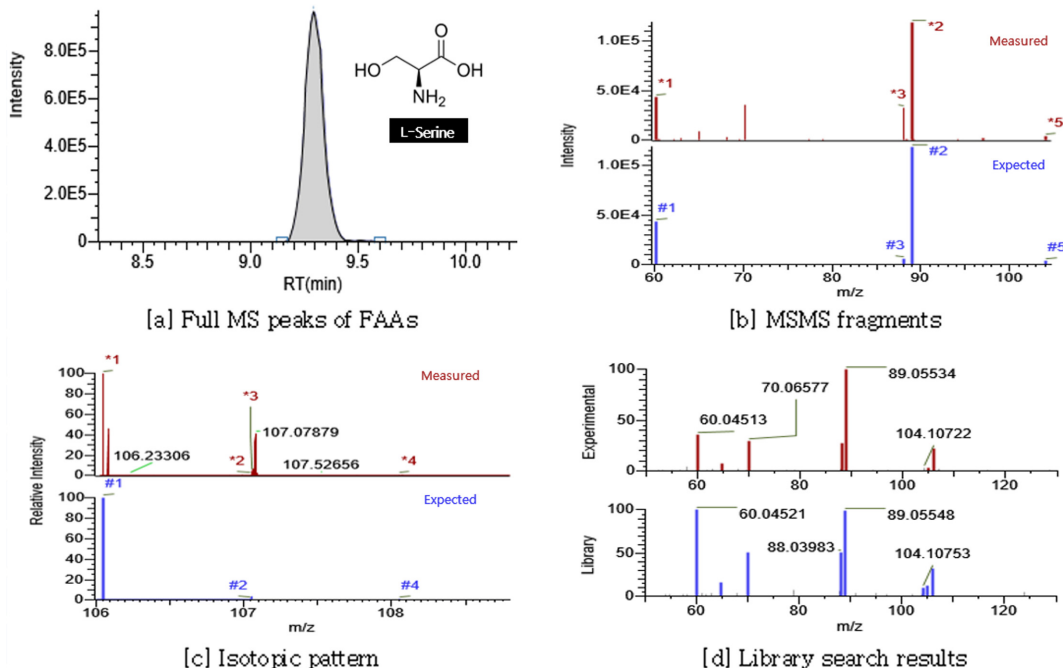


Fig. 5. [a] Full MS peaks of FAAs, [b] MSMS fragments, [c] isotopic pattern, and [d] library search results.

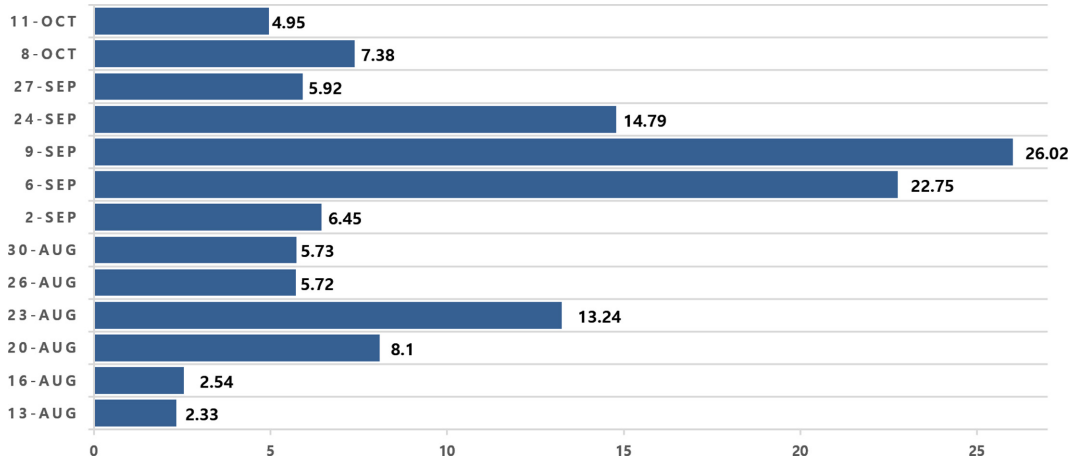


Fig. 6. Total FAA concentration detected during the sampling period. (unit: ng/m³)

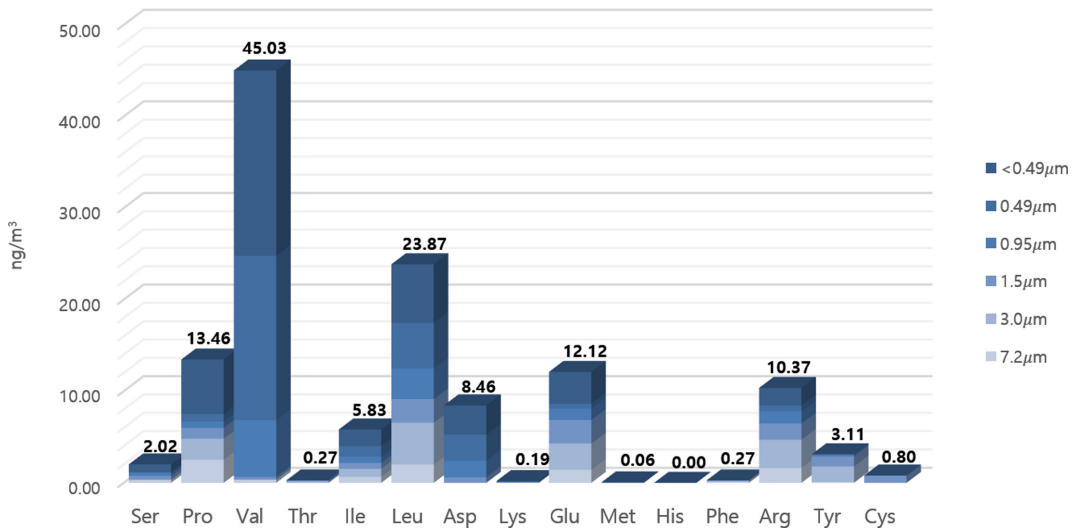


Fig. 7. Cumulative FAA concentrations detected during the sampling period.

기별로 합산하여 Fig. 7과 같이 누적 그래프로 나타내었다. 가장 많은 양으로 채취된 물질은 L-valine으로 45.03 ng/m³ 검출되었고, L-leucine이 23.87 ng/m³으로 두 번째로 많이 검출되었다. 전체적으로 입경 크기 구분 없이 골고루 검출되는 형태로 나타났다. 다만 L-valine과 L-aspartic acid의 경우, 극미세먼지(입자 지름 1 µm 이하)에 해당하는 입경 크기(0.95, 0.49 µm 그리고 <0.49 µm)에서 높은 비율로 검출되었다. 극미세먼지가 구름 응결핵에 직간접적인 영향을 줄 수 있는 입경 크기이기 때문에, 이 두 물질은 구름 응결핵에 영향을 줄 가능성이 다른 물질에 비해 높을 것으로 판단된다.

선행연구와 비교하였을 때, 평균 FAAs의 농도는 PM10

기준 일본¹³⁾ 약 48 ng/m³(L-leucine, L-lysine, L-tyrosine 그리고 L-cystine을 제외한 FAA 16종), PM2.5 기준 국내¹⁸⁾ 약 12 ng/m³(L-proline 제외한 FAA 16종)이다. 본 연구는 TSP 기준 10 ng/m³으로 분석대상의 먼지 입경 사이즈나 항목이 다르므로 비교에 한계가 있지만, 선행 연구와 낮거나 비슷한 수준이었다.

3.4.4. 먼지 내 FAAs 비율

다음으로 채취된 미세먼지 무게 값을 모두 합산하여 그 중 유리 아미노산이 차지하는 비율을 Fig. 8과 같이 비교하였다. 그 결과, 미세먼지 내 유리 아미노산은 약 6%의 비율을 차지하였으며, 국외 연구 사례와 비교하였을 때 조

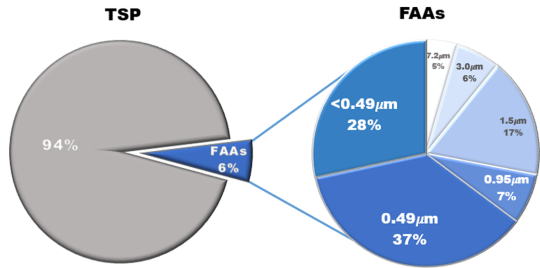


Fig. 8. FAAs detection rate in fine dust during the sampling period.

금 낮은 수준이었다. 이는 시료를 정성·정량할 때, 4단계 (RT, MS2 ions, isotopic pattern, library matching)에 거쳐 물질을 걸러내면서 검출량이 적어졌기 때문인 것으로 판단된다. 그리고 유리 아미노산은 미세먼지 내에서도 극미세먼지 구간에서 72%(0.95 μm 7%, 0.49 μm 37% 그리고 <math><0.49\mu\text{m}</math> 28%)를 차지하는 것으로 나타났다. 이는 유리 아미노산이 PM1.0 증가에 영향이 있을 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구는 대기 중 미세먼지 내 유리 아미노산을 HPLC-HRMS(고분해능 액체크로마토그래피 질량분석기)를 활용하여 다성분 동시분석 및 미량분석을 위한 정성·정량 분석 효율을 향상하고자 수행되었다. 세부적으로는 총 15종의 유리 아미노산 물질을 파악하고자 했으며, 물질을 분리하기 위해 가장 보편적으로 사용하는 C18 column보다 분리능이 우수하고 유도체화 하지 않고도 분석할 수 있는 Amino Acid column을 사용하여 기기분석 조건을 설정했다. 또한, 정확한 정성·정량을 하기 위해 확인된 15종의 유리 아미노산의 MS2 정보를 얻었다. CE를 각각 세 가지의 에너지(15, 35, 50 V)로 구분하여 전구 이온(precursor ion)을 깨뜨렸으며, 생성 이온(product ion)은 Orbitrap 질량분석기를 이용하여 FAAs 물질별 생성이온의 Top 5 m/z 값을 정성분석에 사용하였다. 위 방법을 활용한 QA/QC 결과 모든 물질의 검량곡선의 R^2 가 0.999 이상으로 직선성을 보였으며, 방법검출한계는 최저 0.03 nmol/mL(L-arginine)에서 최고 0.22 nmol/mL(L-serine)까지 분석되었다. 정량한계는 최저 0.09 nmol/mL(L-arginine)에서 최고 0.70 nmol/mL(L-serine)까지 분석되었다. 적절한 추출 장비를 선정하기 위해 초음파 추출기, ASE를 비교하였다. 회수율을 비교하였을 때 초음파 추출기가 우수했지만, 적은 용매 사용량과 일정한 추출 효율

그리고 적은 추출시간 등을 고려하였을 때 ASE 추출기를 사용하는 것이 효율적이라고 판단하였다. 다만, 비교적 낮은 회수율은 15종의 내부표준물질을 사용하여 보완하였다. 또한, 분석 적용성을 보기 위해 매트릭스 물질인 Urban Dust 시료를 이용하였고, 평균 105% 회수율을 보여 해당 분석법이 대기 중 먼지에 함유된 유리 아미노산의 추출 및 정량분석에 적용 가능함을 확인하였다.

대기 중에 부유하고 있는 입자상의 유리 아미노산을 채취하기 위해 창원시 내에서 채취를 진행하였으며, 국내 대기오염공정시험기준을 준수하여 cascade impactors를 고용량 공기시료채취기에 장착하여 사용하였고, 총 6단계의 입자 크기 별로 분리 채취하였다. 총 시료 채취 기간(24년 8월 13일~10월 13일)까지 창원권 내에서 채취된 15종의 유리 아미노산의 농도의 합을 비교했을 때, 9월 중 3개 event(6일, 9일, 24일)에서 가장 높은 농도로 검출되었다. 이는 8월에 내린 높은 강수량으로 인해 대기의 오염물질이 씻겨 내려 8월 유리 아미노산 농도가 낮았고, 이후 강수량이 감소함에 따라 대기 중의 전구물질이 2차 반응으로 유리 아미노산을 생성하며 고농도로 검출된 것으로 판단된다.

유리 아미노산 각 항목을 입경 크기별로 합산하여 비교하였을 때, 가장 많은 양으로 채취된 물질은 L-valine으로 45.03 ng/m³이고, 다음으로 L-leucine이 23.87 ng/m³ 검출되었다. 전체적으로 입경 크기 구분 없이 골고루 검출되는 형태이지만, L-valine과 L-aspartic acid의 경우 극미세먼지(입자 지름 1 μm 이하)에 해당하는 입경 크기(0.95, 0.49 μm 그리고 <math><0.49\mu\text{m}</math>)에서 높은 비율로 검출되었다. 또한, 미세먼지 내 유리 아미노산은 약 6%의 비율을 차지하였으며 그중 극미세먼지 구간에서 72%를 차지하는 것으로 나타났다. 이는 대기 중 미세먼지 내 유리 아미노산이 구름 응결핵의 역할을 하여 PM1.0 증가에 영향을 미칠 것으로 판단된다.

본 연구에서는 미량으로 검출되는 물질에 대한 개선된 분석법을 제시함으로써 이를 통해 미량 검출되는 유리 아미노산의 검출을 용이하게 하였으며, 국내 유리 아미노산의 존재를 확인하였다. 이를 활용하여 지속적인 모니터링을 한다면 지역·산업별 발생원인 및 농도 현황을 파악할 수 있을 것으로 기대된다. 다만 극미세먼지와 유리 아미노산은 계절적 영향을 받는 물질인 만큼 1년 이상의 장기간 추적 분석이 필요할 것으로 사료된다. 또한, 미세먼지 내 상당한 미지 오염물질이 존재할 수 있으므로 HRMS를 활용하여 이를 연구할 예정이다. 추후 국내 다른 지역에서 지속적인 모니터링과 더불어, 다른 미량 물

질을 추적하여 환경 기초자료를 제공하고자 한다.

감사의 글

이 논문은 2025~2026년도 창원대학교 자율연구과제 연구비 지원으로 수행된 연구결과임.

참고문헌

1. S. Fuzzi, U. Baltensperger, K. Carslaw, S. Decesari, H. Denier van der Gon, M. C. Facchini, D. Fowler, I. Koren, B. Langford, U. Lohmann, E. Nemitz, S. Pandis, I. Riipinen, Y. Rudich, M. Schaap, J. G. Slowik, D. V. Spracklen, E. Vignati, M. Wild, M. Williams, and S. Gilardoni, "Particulate matter, air quality and climate: lessons learned and future needs", *Atmospheric chemistry and physics*, **2015**, 15(14), 8217-8299.
2. 오성남, "대기의 미세먼지가 기후변화에 미치는 영향", *한국환경산업기술원 환경동향보고서*, **2016**.
3. M. Kulmala, L. Dada, K. R. Daellenbach, C. Yan, D. Stolzenburg, J. Kontkanen, E. Ezhova, S. Hakala, S. Tuovinen, T. V. Kokkonen, M. Kurppa, R. Cai, Y. Zhou, R. Yin, R. Baalbaki, T. Chan, B. Chu, C. Deng, Y. Fu, M. Ge, H. He, L. Heikkinen, H. Junninen, Y. Liu, Y. Lu, W. Nie, A. Rusanen, V. Vakkari, Y. Wang, G. Yang, L. Yao, J. Zheng, J. Kujansuu, J. Kangasluoma, T. Petaja, P. Paasonen, L. Jarvi, D. Worsnop, A. Ding, Y. Liu, L. Wang, J. Jiang, F. Bianchi, and V. Kerminen, "Is reducing new particle formation a plausible solution to mitigate particulate air pollution in beijing and other chinese megacities?", *Faraday discussions*, **2020**, 226, 334-347.
4. R. Zhang, G. Wang, S. Guo, M. Zamora, Q. Ying, Y. Lin, W. Wang, M. Hu, and Y. Wang, "Formation of urban fine particulate matter", *Chemical reviews*, **2015**, 115(10), 3803-3855.
5. 권수진, 임형배, 신혜정, 이상진, 최성득, 이지이, "서울 대기 중 PM1.0의 계절별 화학조성 특성", *한국대기환경학회지*, **2022**, 38(6), 852-868.
6. 국립환경과학원, "극미세먼지(PM1) 관측 기반 구축 연구(III)", **2023**, NIER-SP2023-315.
7. 국립환경과학원, "극미세먼지(PM1) 관측 기반 구축 연구(I)", **2021**, NIER-SP2021-324.
8. L. Alexander, U. Sydney, S. Allen, B. Lee, and F. Breon, "Climate change 2013: The physical science basis", *Intergovernmental panel on climate change(IPCC)*, **2014**, 3-29.
9. J. Park, M. Dall'osto, K. Park, Y. Gim, H. Kang, E. Jang, K. Park, M. Park, S. Yum, J. Jung, B. Lee, and Y. Yoon, "Shipborne observations reveal contrasting arctic marine, arctic terrestrial and pacific marine aerosol properties", *Atmospheric chemistry and physics*, **2020**, 20(9), 5573-5590.
10. J. Park, H. Kang, Y. Gim, E. Jang, K. Park, S. Park, C. Jung, D. Ceburnis, C. O'dowd, and Y. Yoon, "New particle formation leads to enhanced cloud condensation nuclei concentrations on the antarctic peninsula", *Atmospheric chemistry and physics*, **2023**, 23(21), 13625-13646.
11. Q. Zhang, C. Anastasio, and M. Jimenez-cruz, "Water-soluble organic nitrogen in atmospheric fine (particles PM2.5) from northern California", *Journal of geophysical research: Atmospheres*, **2002**, 107(D11), AAC-3.
12. Y. Li, H. Han, J. Yin, T. Li, and Y. Yin, "Role of 345 D-aspartate on biosynthesis, racemization, and potential functions: A mini-review", *Animal nutrition*, **2018**, 4(3), 311-315.
13. K. Matsumoto, S. Kim, and A. Hirai, "Origins of free and combined amino acids in the aerosols at an inland urban site in Japan", *Atmospheric environment*, **2021**, 259, 118543.
14. Q. Zhang; and C. Anastasio, "Free and combined amino compounds in atmospheric fine particles(PM2.5) and fog waters from northern California", *Atmospheric environment*, **2003**, 37(16), 2247-2258.
15. 배민석, 박다정, 이권호, 조승식, 이광열, 박기홍, "LC-MSMS를 이용한 대기 중 PM2.5 유리아미노산 분석 방법 연구", *한국대기환경학회지*, **2017**, 33(1), 54-63.
16. E. Scalabrin, R. Zangrando, E. Barbaro, N. M. Kehrwald, J. Gabrieli, C. Barbante, and A. Gambaro, "Amino acids in Arctic aerosols", *Atmospheric Chemistry and Physics*, **2012**, 12(21), 10453-10463.
17. P. D. Filippo, D. Pomat, C. Riccardi, F. Buiarelli, V. Gallo, and A. Quaranta, "Free and combined amino acids in size-segregated atmospheric aerosol samples", *Atmospheric Environment*, **2014**, 98, 179-189.
18. 박다정, 조인환, 배민석, "HPLC-FLD를 이용한 겨울철 PM2.5 중 아미노산 성분 분석", *한국대기환경학회지*, **2017**, 31(5), 482-492.