

원소분석기와 연계된 동위원소질량분석기(EA-IRMS)를 이용한 탄소안정동위원소비 정확도 · 정밀도 연구

김보경¹ · 남용재¹ · 이원석¹ · 한진석² · 황종연^{1,†}

¹국립환경과학원 환경측정분석센터, ²국립환경과학원 환경기반연구부

The Study on Accuracy and Precision of Carbon Isotope Using Elemental Analyzer-Isotope Ratio Mass Spectrometer (EA-IRMS)

Bo-kyong Kim¹, Yong-jae Nam¹, Won-seok Lee¹, Jin-seok Han², and Jong-yeon Hwang^{1,†}

¹Environmental Measurement & Analysis Center, National Institute of Environmental Research,
Environment Research Complex, Incheon 404-708, Korea

²Fundamental Environment research Department, National Institute of Environmental Research,
Environment Research Complex, Incheon 404-708, Korea

Received September 18, 2012/Revised December 26, 2012/Accepted December 31, 2012

The reproducibility as the standard deviation or standard error of analytical data is used to estimate the performance ability of the isotope ratio mass spectrometer (IRMS). The standard deviation of $\delta^{13}\text{C}$ value of a sample is not supposed to be the same on a wide range of sample weights. In order to determine the suitable sample amounts required for high precision and accuracy and the factors required for optimal equipment conditions, certified reference materials were repeatedly measured with various weight ranges using an elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer (EA-IRMS). The measured $\delta^{13}\text{C}$ values of the standards EMA-P1 and EMA-P2 fell within the certified value $\pm 2\sigma$ with the minimum carbon contents of 102.107 μg and 116.879 μg , respectively. In addition, for the two standards, the peak height ratios calculated by the $\text{CO}_2(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ peak height of the sample to the working standard were 62.8% and 66.8%, respectively. The isotopic composition change was also investigated by the fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ and did not show a large difference in a wide range of sample weight for the two standards. We suggest that carbon isotope composition needs to be determined by considering several factors such as element contents, standard deviation of $\delta^{13}\text{C}$ value, peak height ratio(or peak height) and fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$.

Key words: EA, IRMS, $\delta^{13}\text{C}$ value, carbon isotope, precision, accuracy, element contents, peak height, fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$

1. 서 론

동위원소질량분석법(Isotope Ratio Mass Spectrometry)을 활용한 안정동위원소연구는 지질학, 환경학, 수문학, 토양학, 생명과학, 의학 등 다양한 학문 분야에서 폭넓게 활용되고 있다. 안전한 식품관리를 위한 쇠고기 원산지 및 사료연구¹⁾, 벌꿀의 지역적 경향성조사²⁾, 헤로인이나 코카인 및 주원료인 모르핀의 생산지 식별³⁾, 특정 기업의 의약품 진위여부 판별⁴⁾, 머리카락

을 채취분석하여 지리적 영향과 영양 습관을 조사⁵⁾하는 등 식품분야, 법의학 분야에서도 많이 활용되고 있다. 특히, 환경 분야에서는 무기물의 기원과 거동에 관한 연구뿐 아니라 염소계 농약류의 생물농축연구⁶⁾, 해양지역과 영양단계와의 상관관계연구⁷⁾, n-alkane과 polycyclic aromatic hydrocarbons(PAH)를 개별 화합물로 분리하여 탄소안정동위원소비값($\delta^{13}\text{C}$)의 변동을 관찰⁸⁾하거나 퇴적물에서 PAH의 $\delta^{13}\text{C}$ 값으로부터 오염원 추적⁹⁾등 유기물에 대한 연구도 다양하게 진행되어 왔

[†]To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-32-560-8389, Fax: +82-32-560-7905, E-mail: hjy6711@korea.kr

다. 아울러, 빙하가 녹아 형성된 호수와 주변 지하수, 빗물의 수소와 산소안정동위원소비값($\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$)을 측정함으로써 고기후 복원 연구에 이용되고 있으며¹⁰⁻¹²⁾ 청색증을 유발하는 질산염(nitrate, NO_3^-)의 산소와 질소안정동위원소비값($\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{15}\text{N}$)을 측정하여 오염원이 가축분뇨인지 또는 생활하수인지 구분하는 연구가 상당히 많이 진행되어왔다¹³⁻¹⁷⁾. 유기물질(OM, organic matter)의 C/N ratio 및 $\delta^{13}\text{C}$ 값, $\delta^{15}\text{N}$ 값은 호수의 부영양화 진행정도¹⁸⁾, 해양 퇴적물의 계절적 변동¹⁹⁾, 내부기원 또는 외부기원 유추²⁰⁾등도 해석하고 있다.

동위원소질량분석법에서는 동위원소질량분석기(IRMS, Isotope Ratio Mass Spectrometer)로 측정된 측정값의 표준편차(standard deviation, σ)나 표준오차(standard error, σ_{mean})로써 장비의 성능 또는 데이터의 신뢰성을 나타내는 것이 보편적이다.

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x - x_{\text{mean}})^2}{(n-1)}} \quad (1)$$

$$\sigma_{\text{mean}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum (x - x_{\text{mean}})^2}{n(n-1)}} \quad (2)$$

x 는 측정값, x_{mean} 은 평균측정값, n 은 측정횟수이다. 그러나 표준편차나 표준오차로 표현되는 반복성(reproducibility)에 있어 시료의 종류(표준물질 또는 환경시료), 시료의 전처리 방법, 사용된 시료량, 기기의 조건 등에 따른 세부적 기술사항은 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 (1) 표준물질을 사용하여 동위원소질량분석기(IRMS)로 측정된 안정동위원소비값의 표준편차가 사용하는 시료의 양(amount of sample)에

따라 어떻게 달라지는지를 확인하여 (2) 신뢰성 있는 데이터를 생산하기 위해 고려해야 할 인자들(factors)을 제시하고자 한다.

2. 연구방법

2.1. 시료준비

실험실에서 사용하는 안정동위원소 측정용 작업용표준물질인 이산화탄소 가스의 탄소안정동위원소비값($\delta^{13}\text{C}$)을 국제표준물질인 Pee Dee Belemnite(PDB) 기준으로 보정하기 위해 국제원자력기구(IAEA)에서 제공하는 USGS 24를 국제표준물질로서 사용하였다. Elemental Microanalysis 제조사의 인증표준물질인 EMA-P1과 EMA-P2를 70°C에서 24시간 오븐 건조시켜 동위원소질량분석기 정확도·정밀도 시험에 사용하였다. Elemental 제조사의 원소분석용 표준물질인 sulfanilamide를 동일한 조건에서 건조시켜 원소분석기로 측정하였다. Table 1은 IAEA 국제표준물질과 Elemental Microanalysis가 제공하는 인증표준물질의 안정동위원소비값이며 Table 2는 인증표준물질과 원소분석용 표준물질의 원소함량을 나타내었다.

2.2. 탄소안정동위원소비 분석

시료는 무게를 측정된 후 Tin boat(4 mm×4 mm×11 mm)에 담아 밀봉한 뒤 1150°C 산화튜브와 850°C 환원튜브로 설정된 C, N, S 원소분석기(Vario Micro Cube)에서 연소시켰다. 연소가스로는 99.995% 이상의 고순도 산소를 사용하였고 운반가스로는 99.9999% 이

Table 1. The isotopic composition of an IAEA international reference standard and two certified reference materials

Material	$\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}^{\text{a}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}^{\text{b}}$	$\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}^{\text{b}}$	$\delta^{34}\text{S}_{\text{V-CDT}}^{\text{c}}$	$\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}^{\text{d}}$
USGS 24	-16.049‰				
EMA-P1	-27.85‰ (0.12‰) ^e	+20.99‰ (0.72‰) ^e	-25.30‰ (5.10‰) ^e	-3.01‰ (0.54‰) ^e	
EMA-P2	-28.19‰ (0.14‰) ^e	+26.88‰ (1.88‰) ^e	-87.80‰ (2.20‰) ^e		-1.57‰ (0.19‰) ^e

(a) Vienna Pee Dee Belemnite(V-PDB), (b) Vienna Standard Mean Ocean Water(V-SMOW), (c) Vienna Canyon Diablo Troilite(V-CDT), (d) Atmospheric nitrogen(AIR), (e) standard deviation(1σ)

Table 2. Element contents of two certified reference materials and a lab standard used for elemental analysis

Material	C	O	H	S	N
EMA-P1	61.51%	20.87%	3.46%	13.85%	
EMA-P2	68.35%	19.91%	2.9%		7.46%
sulfanilamide	41.81%		4.65%	18.62%	16.25%

상의 초고순도 He가스를 180 mL/min 속도로 흘려보냈다. 시료는 CO₂로 가스화가 되어 동위원소질량분석기(Isoprime 100, Isoprime Ltd., UK)로 주입되고 작업용표준물질인 고순도 이산화탄소(99.995%) 가스도 다른 시간차로 동위원소질량분석기에 주입되었다. 작업용표준물질의 동위원소면적비와 시료의 동위원소면적비로부터 δ¹³C값을 산정하였다.

$$\delta^{13}C = \left(\frac{R_x - R_{std}}{R_{std}} \right) \times 1000 \quad (3)$$

여기서 R은 가벼운 동위원소 존재량에 대한 무거운 동위원소 존재량의 비로서 ¹³C/¹²C을 의미하며, x는 시료, std는 표준물질(standard)의 약어이다.

2.3. 원소함량 분석

Sulfanilamide는 무게를 측정 후 Tin boat(4 mm×4 mm×11 mm)에 넣어 밀봉한 뒤 C, N, S 원소분석기(Vario Micro Cube, Elementar Analysensysteme GmbH., Germany)로 측정하였다. 원소분석기 내부의 열전도도검출기(TCD, thermal conductivity detector)는 sulfanilamide의 CO₂에 감응하여 농도에 따라 서로 다른 전기적인 신호 세기로 전환시키므로 원소분석용 검 · 교정 물질로 사용하였다. 인증표준물질 EMA-P1과 EMA-P2의 탄소도 C, N, S 원소분석기(Vario Micro Cube)로 측정하여 원소함량을 측정하였다.

2.4. Fractionation factor ε_{applied}

Fractionation factor ε는 반응물과 생성물 사이의 화학반응식으로부터 fractionation factor α(식 (4))를 계산하고 fractionation factor ε로 전환한다. ε > 0이면 무거운 동위원소(¹³C)가 반응물에 비해 생성물에 더욱 풍부하게 존재하는 것을 의미한다. 본 연구는 식 (4)를 응용해 작업용표준물질과 시료 사이의 fractionation factor α_{applied}(식 (5))로부터 fractionation factor ε_{applied}(식 (6))를 계산하였다. R은 탄소안정동위원소비(¹³C/¹²C)를 의미한다.

$$\alpha = \frac{R_{product}}{R_{reactant}} \quad (4)$$

$$\alpha_{applied} = \frac{R_{sample}}{R_{working\ standard}} \quad (5)$$

$$\epsilon_{applied} = 10^3 \times \ln \alpha_{applied} \quad (6)$$

3. 결과 및 고찰

3.1. EMA-P1의 탄소안정동위원소값과 탄소함량

여러 시료무게(시료량)에 따라 δ¹³C값 변동을 관찰하였고 그 측정값을 Table 3에 요약하였다. 시료무게가 가장 큰 시료(41번~43번)의 평균 δ¹³C값과 표준편차는 각각 -27.904‰과 0.017‰이며 시료무게가 가장 작은 시료(1번~4번)의 평균 δ¹³C값과 표준편차는 각각 -27.639‰과 0.061‰로 측정되었다. 넓은 범위의 시료무게를 갖는 모든 시료(1번~43번)의 평균 δ¹³C값과 표준편차는 각각 -27.802‰과 0.086‰를 나타내었다. Torres¹⁸⁾와 Mützel(Rauch)⁵⁾가 보고한 탄소정밀도 0.1%, Hyodo²¹⁾와 Marín-Guirao²²⁾가 보고한 탄소정밀도 0.2%, Serrano⁶⁾가 보고한 0.25‰와 비교하면 넓은 시료무게 범위(1번~43번)에서도 0.086‰로 측정반복성이 정밀하였다. 그러나 Aguiñiga¹⁹⁾가 보고한 탄소정밀도 0.08‰와 비교하면 시료무게의 범위가 좁은 시료들(1번~4번, 5번~8번, 9번~12번, 13번~16번, 17번~19번, 20번~22번, 23번~26번, 27번~31번, 32번~34번, 35번~37번, 38번~40번, 41번~43번)이 정밀하였다.

Grassineau는 탄소안정동위원소비 분석은 GF 흑연물질의 경우 0.008 mg에서 0.115 mg 범위가 최적 시료무게로 보고하였다. 그리고 탄소무게함량이 약 12%인 탄산염 시료는 최적시료무게가 0.63 mg에서 0.78 mg 범위이며 탄소무게함량이 약 0.3%인 암석시료는 최적 시료무게가 30 mg으로 제시하였다²³⁾. 따라서 분석에 사용한 시료무게가 δ¹³C값 변동에 영향을 줄 것으로 판단하여 측정된 δ¹³C값과 인증된 δ¹³C값을 비교하는 정확도 시험을 실시하였다(Fig. 1). Table 1에서 EMA-P1의 인증된 δ¹³C값은 -27.85±0.12‰(1σ)로 시료 10번~43번이 -27.85±0.12‰(1σ) 범위 안에 존재하였다. 시료 2번~43번은 -27.85±0.24‰(2σ) 범위 안에 δ¹³C값이 존재하여 일정수준 이상의 시료무게에서는 대부분 정확성 있는 탄소안정동위원소비를 보여주고 있다.

또한 사용한 시료무게가 원소분석결과에도 영향을 줄 것으로 판단되어 각각의 시료마다 측정된 탄소함량을 인증된 탄소함량(61.51%)과 비교하였다(Fig. 2). 원소분석기 내부의 열전도도검출기(TCD)에 감응하는 표준물질 sulfanilamide의 CO₂ 가스농도와 피크세기로부터 시료 EMA-P1의 CO₂ 가스농도에 대응하는 탄소함량을 측정하였다. 시료무게가 작은 시료(1번~12번)는 정확성과 정밀성이 낮으며 시료 27번은 인증된 탄소함량과 전혀 다른 측정값(30.41%)을 나타내었다.

Table 3. $\delta^{13}\text{C}$, standard deviation of $\delta^{13}\text{C}$, peak height ratio and fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ measured by the IRMS with different carbon contents of CRM EMA-P1^a

Sample number	Sample weight (mg)	Carbon contents ^b (μg)	$\delta^{13}\text{C}$ ($\%$)	sd ($\%$)	peak height ratio ^c (%)	fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ ^d
1	0.148	91.035	-27.548	0.061	46.771	2.4572
2	0.166	102.107	-27.668		62.843	2.3314
3	0.167	102.722	-27.664		59.392	2.3652
4	0.193	118.714	-27.678		68.067	2.4385
5	0.206	126.711	-27.667	0.042	81.634	2.3770
6	0.262	161.156	-27.708		93.723	2.3802
7	0.290	178.379	-27.701		110.088	2.3889
8	0.297	182.685	-27.767		111.656	2.3159
9	0.310	190.681	-27.676	0.042	122.244	2.5045
10	0.325	199.908	-27.765		123.615	2.3962
11	0.340	209.134	-27.764		132.857	2.3994
12	0.392	241.119	-27.740		139.813	2.4247
13	0.403	247.885	-27.747	0.031	141.711	2.3997
14	0.426	262.033	-27.753		150.822	2.4334
15	0.440	270.644	-27.806		160.815	2.4071
16	0.460	282.946	-27.802		164.682	2.4242
17	0.528	324.773	-27.794	0.030	193.328	2.4530
18	0.542	333.384	-27.770		196.926	2.4724
19	0.593	364.754	-27.830		218.801	2.4413
20	0.601	369.675	-27.812	0.013	222.103	2.4487
21	0.625	384.438	-27.804		221.048	2.4461
22	0.660	405.966	-27.829		247.587	2.4807
23	0.710	436.721	-27.833	0.022	247.895	2.4795
24	0.715	439.797	-27.825		246.651	2.4580
25	0.754	463.785	-27.782		264.549	2.5115
26	0.770	473.627	-27.814		261.451	2.5026
27	0.839	516.069	-27.797	0.044	154.222	2.4062
28	0.875	538.213	-27.817		306.587	2.4983
29	0.882	542.518	-27.877		301.670	2.4558
30	0.931	572.658	-27.852		325.876	2.4310
31	0.969	596.032	-27.904		315.656	2.4592
32	1.009	620.636	-27.858	0.016	341.213	2.4805
33	1.023	629.247	-27.856		342.887	2.5404
34	1.055	648.931	-27.885		347.153	2.4964
35	1.136	698.754	-27.918	0.008	388.931	2.4921
36	1.151	707.980	-27.903		379.644	2.4642
37	1.157	711.671	-27.908		380.754	2.4742
38	1.215	747.347	-27.874	0.011	386.865	2.5027
39	1.238	761.494	-27.891		398.485	2.4968
40	1.289	792.864	-27.893		401.658	2.4813
41	1.317	810.087	-27.887	0.017	430.206	2.4623
42	1.339	823.619	-27.907		423.146	2.4822
43	1.340	824.234	-27.919		430.488	2.4694

(a) 원소분석기에서 발생한 CO_2 를 동위원소질량분석기에 주입되기 전에 He가스로 희석하는 diluter를 사용한 측정값($\delta^{13}\text{C}$)이다. (b) 탄소함량은 Table 2 EMA-P1의 원소함량(%)으로부터 질량단위(μg)로 환산한 값이다. (c) 피크높이비는 작업용 표준물질에 대한 EMA-P1의 $\text{CO}_2(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 가스 피크높이 비율이다. (d) fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 작업용 표준물질 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 에 대한 EMA-P1 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 의 비율 α_{applied} 를 산정한 후 계산한다.

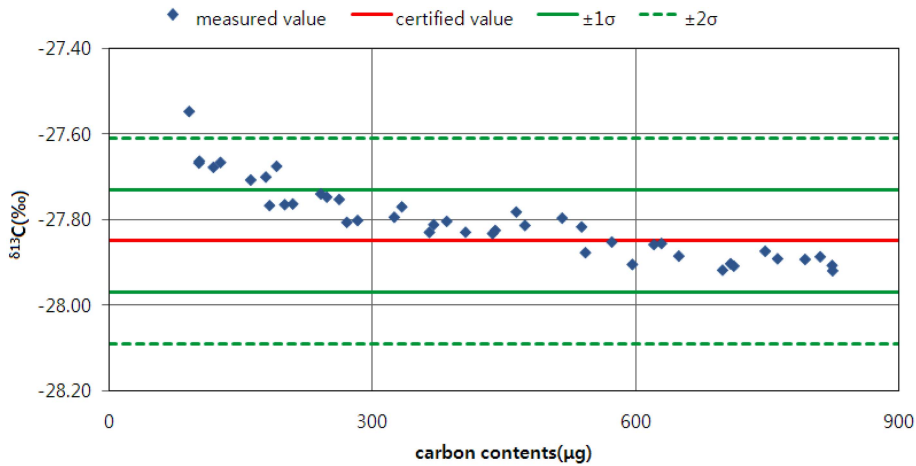


Fig. 1. Comparison of $\delta^{13}\text{C}$ values of EMA-P1 under different extracted carbon contents with the certified value.

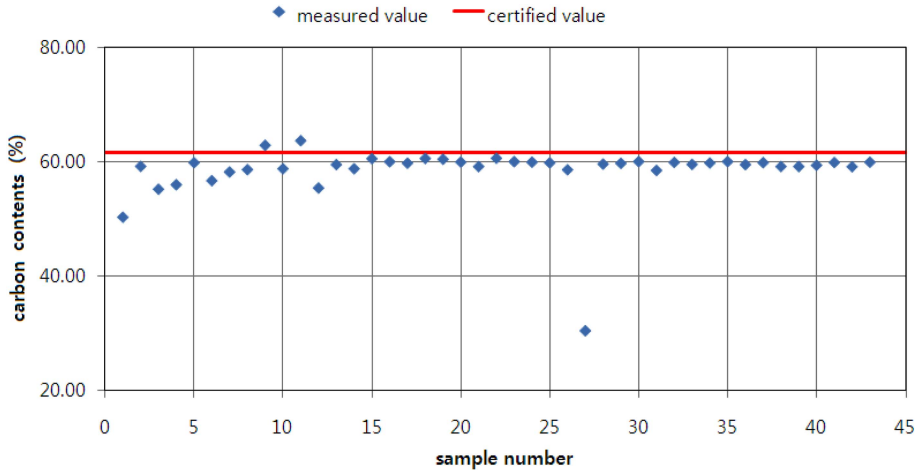


Fig. 2. Carbon contents measured by the elemental analyzer (The diamond marks mean carbon contents of each sample and the line means the certified value of 61.51%).

Santamaria-Fernandez는 의약품을 동위원소질량분석기로 측정할 때 주 피크인 $m/z = 44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 와 $m/z = 28(^{14}\text{N}^{14}\text{N})$ 의 세기를 각각 4~6 V, 2.5~5 V 이내의 신호가 되도록 시료무게를 선택하여 분석하였다⁴⁾. 그리고 Grassineau는 시료의 피크 크기와 작업용표준물질의 피크 크기가 등가인 시료무게를 사용할 것을 제시한바 있다²³⁾. 본 연구도 $\delta^{13}\text{C}$ 값의 신뢰범위를 설정하기 위해 시료의 $m/z = 44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 피크높이를 작업용표준물질의 $m/z = 44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 피크높이와 비교하여 그림으로 도식화하였다(Fig. 3).

Fig. 3의 시료 27번은 사용한 시료무게에 비해 낮은 피크높이를 나타내 Fig. 2에서 시료 27번의 탄소함량(30.41%)이 낮은 현상과 일치한다. 이는, 시료가 원소

분석기 산화튜브에서 완전히 연소되지 않아 CO_2 의 농도가 감소되고 원소분석기 열전도도검출기(TCD)와 동위원소질량분석기(IRMS) collector에 낮은 농도로 감응되어 측정된 원소함량(%)과 피크높이(nA)가 감소된 것으로 설명된다.

시료 27번은 Table 3에서 제시한 $\delta^{13}\text{C}$ 값이 -27.797‰로서 Fig. 1에 도시한 $-27.85 \pm 0.12\text{‰}(1\sigma)$ 범위 안에 포함돼 동위원소질량분석기(IRMS)의 높은 정확도를 보여주고 있다. 따라서 시료 27번은 탄소안정동위원소비($R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)의 변동이 없을 것으로 예상되어 fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ 를 계산하였다(Table 3, Fig. 3). 넓은 시료무게 범위(1번~43번)의 평균 $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 2.4472이며 시료 27번이 비록 CO_2 가스농도가 낮더라도

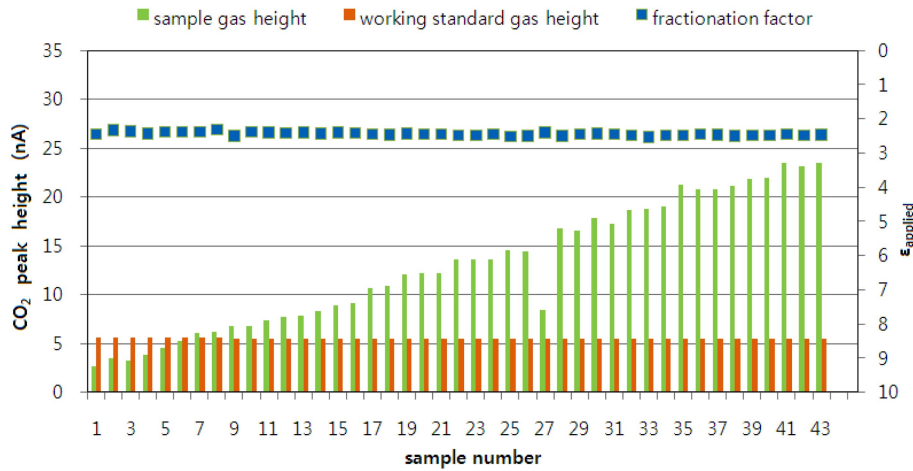


Fig. 3 Fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ and peak height ($m/z = 44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$) of working standards and samples.

고 $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 2.4062로 계산되었다(Table 3). 시료 27번의 $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 평균 $\epsilon_{\text{applied}}$ 와 거의 일치하므로 $\delta^{13}\text{C}$ 값의 차이는 없는 것으로 판단된다.

$\delta^{13}\text{C}$ 값이 인증값 $\pm 2\sigma$ 범위에 존재하는 시료 2번~43번은 3.491~23.437 nA 피크높이를 나타냈으며 $\delta^{13}\text{C}$ 값이 인증값 $\pm 1\sigma$ 범위에 존재하는 시료 10번~43번은 6.817~23.437 nA로 나타났다. 그리고 43개의 작업용표준물질의 평균피크높이는 5.498 nA로 각각의 시료마다 작업용표준물질의 신호세기는 일정하게 유지되었다(Fig. 3). 작업용표준물질에 대한 시료 2번, 10번, 43번의 피크높이비(%)는 각각 62.843%, 123.615%, 430.488%로 계산되었다. 탄소안정동위원소비 분석에 필요한 시료무게는 크로마토그래프의 피크높이비율이 62.843~430.488% 범위이거나 탄소함량이 102.107~824.234 μg 범위가 되게 사용량을 준비할 것을 제안한다(Table 3).

3.2. EMA-P2의 탄소안정동위원소값과 탄소함량

EMA-P2는 EMA-P1과 동일하게 여러 시료무게(시료량)로 $\delta^{13}\text{C}$ 값 변동을 관찰하였다(Table 4). 시료무게가 가장 큰 시료(81번~84번)의 평균 $\delta^{13}\text{C}$ 값과 표준편차는 각각 -28.233‰과 0.050‰이며 시료무게가 가장 작은 시료(1번~4번)의 평균 $\delta^{13}\text{C}$ 값과 표준편차는 각각 -27.869‰과 0.040‰로 측정되었다. 넓은 범위의 시료무게를 갖는 모든 시료(1번~84번)는 평균 $\delta^{13}\text{C}$ 값과 표준편차가 각각 -28.097‰과 0.091‰를 나타내었다. EMA-P2는 EMA-P1과 동일하게 넓은 범위의 시료무게에서도 Torres¹⁸⁾와 Mützel(Rauch)⁵⁾가 보고한 탄소정밀

도 0.1‰보다 작은 표준편차를 보여주었다.

Grassineau는 시료가 연소되는 동안 분별(fractionation)이 일어나 산화되는 과정 중에 안정동위원소비 변동은 피할 수 없다고 보고한 바 있다. 다만 사용하는 시료의 무게범위를 줄인다면 불필요한 분별을 피할 수 있으며 평균반복성이 모두 약 $\pm 0.1\%$ 로 향상될 수 있다고 설명하였다²³⁾. 따라서 본 연구도 Grassineau와 일치하는 결과로서 각각의 좁은 시료무게 범위에서는 정밀한 $\delta^{13}\text{C}$ 값을 보여주고 있다.

EMA-P2도 정확도 시험을 위해 인증된 $\delta^{13}\text{C}$ 값과 측정된 $\delta^{13}\text{C}$ 값을 비교하여 그림으로 도식화하였다(Fig. 4). Table 1에서 EMA-P2의 인증된 $\delta^{13}\text{C}$ 값은 $-28.19 \pm 0.14\%$ (1σ)로 시료 27번~84번은 $-28.19 \pm 0.14\%$ (1σ) 범위 안에 존재하고 시료 4번~84번은 $-28.19 \pm 0.28\%$ (2σ) 범위 안에 존재하였다. EMA-P1과 동일하게 일정 수준 이상의 시료무게에서는 정확성 있는 탄소안정동위원소비를 보여주고 있다.

원소함량 정확도 시험은 표준물질 sulfanilamide를 산화시켜 CO_2 가스농도와 피크세기로부터 시료 EMA-P2의 CO_2 가스농도에 대응하는 탄소함량을 측정하였다. 그리고 인증된 탄소함량 68.35%와 측정된 탄소함량을 비교하였다(Fig. 5). 시료 6번~84번은 $68.35\% \pm 3.00\%$ 범위에 있으나 시료 22번, 39번, 56번은 $68.35\% \pm 3.00\%$ 범위에 비해 낮은 측정값을 나타내었다. EMA-P1과 유사하게 EMA-P2의 22번, 39번, 56번 시료도 $\delta^{13}\text{C}$ 값이 $-28.19 \pm 0.28\%$ (2σ) 범위 안에 존재하지만 원소분석기에서 완전히 연소되지 않아 CO_2 의 가스농도가 낮아지고 동위원소질량분석기(IRMS) collector에서도 낮

Table 4. $\delta^{13}\text{C}$, standard deviation of $\delta^{13}\text{C}$, peak height ratio and fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ measured by the IRMS with different carbon contents of CRM EMA-P2^a

Sample number	Sample weight (mg)	Carbon contents ^b (μg)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	sd (‰)	Peak height ratio ^c (%)	Fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ ^d
1	0.121	82.704	-27.872	0.040	51.137	2.1955
2	0.127	86.805	-27.835		54.584	2.3155
3	0.150	102.525	-27.846		57.015	2.3523
4	0.171	116.879	-27.924		66.896	2.2102
5	0.204	139.434	-27.966	0.015	81.594	2.2029
6	0.227	155.155	-27.948		95.678	2.2116
7	0.241	164.724	-27.954		99.475	2.2775
8	0.280	191.380	-27.983		107.107	2.2607
9	0.316	215.986	-28.030	0.016	127.737	2.2437
10	0.332	226.922	-28.024		136.999	2.2258
11	0.336	229.656	-27.995		143.053	2.2685
12	0.393	268.616	-28.008		158.721	2.2748
13	0.414	282.969	-28.018	0.008	167.398	2.2780
14	0.427	291.855	-28.000		167.723	2.2986
15	0.427	291.855	-28.014		176.858	2.2876
16	0.451	308.259	-28.012		178.851	2.2999
17	0.517	353.370	-27.999	0.027	214.805	2.3312
18	0.518	354.053	-28.011		212.478	2.3354
19	0.524	358.154	-28.060		210.688	2.2805
20	0.598	408.733	-28.027		242.979	2.3292
21	0.625	427.188	-28.050	0.015	242.812	2.3144
22	0.628	429.238	-28.048		240.937	2.3124
23	0.633	432.656	-28.065		251.919	2.3011
24	0.638	436.073	-28.079		231.247	2.3428
25	0.716	489.386	-28.062	0.016	278.746	2.3083
26	0.730	498.955	-28.039		281.910	2.3444
27	0.749	511.942	-28.073		295.394	2.3163
28	0.759	518.777	-28.073		292.402	2.3114
29	0.814	556.369	-28.081	0.021	311.041	2.3191
30	0.815	557.053	-28.096		303.777	2.3509
31	0.834	570.039	-28.049		326.990	2.3654
32	0.866	591.911	-28.090		326.162	2.3263
33	0.907	619.935	-28.084	0.025	337.711	2.3239
34	0.919	628.137	-28.085		337.370	2.3196
35	0.944	645.224	-28.099		356.152	2.3110
36	0.967	660.945	-28.137		330.726	2.3471
37	1.002	684.867	-28.105	0.029	370.184	2.3207
38	1.050	717.675	-28.113		376.413	2.3149
39	1.061	725.194	-28.078		352.943	2.3404
40	1.061	725.194	-28.147		364.011	2.3308
41	1.132	773.722	-28.067	0.016	413.881	2.3537
42	1.139	778.507	-28.079		411.383	2.3603
43	1.149	785.342	-28.091		412.754	2.3463
44	1.194	816.099	-28.106		409.444	2.3673

Table 4. Continued

Sample number	Sample weight (mg)	Carbon contents ^b (μg)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	sd (‰)	Peak height ratio ^c (%)	Fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}^{\text{d}}$
45	1.211	827.719	-28.108	0.015	427.594	2.3244
46	1.213	829.086	-28.119		428.866	2.3319
47	1.254	857.109	-28.085		438.650	2.3601
48	1.260	861.210	-28.111		432.124	2.3490
49	1.306	892.651	-28.144	0.019	451.766	2.3394
50	1.331	909.739	-28.171		439.295	2.3479
51	1.356	926.826	-28.127		459.374	2.3289
52	1.373	938.446	-28.162		461.021	2.3019
53	1.431	978.089	-28.121	0.053	489.345	2.3339
54	1.451	991.759	-28.108		487.223	2.3555
55	1.463	999.961	-28.227		462.115	2.3063
56	1.474	1007.479	-28.145		475.273	2.3173
57	1.504	1027.984	-28.134	0.021	511.664	2.3417
58	1.535	1049.173	-28.103		516.413	2.3580
59	1.544	1055.324	-28.134		521.500	2.3383
60	1.585	1083.348	-28.155		518.886	2.3414
61	1.620	1107.270	-28.124	0.036	533.152	2.3370
62	1.631	1114.789	-28.184		524.431	2.3174
63	1.667	1139.395	-28.157		543.690	2.3191
64	1.688	1153.748	-28.103		552.485	2.3539
65	1.714	1171.519	-28.098	0.036	559.786	2.3607
66	1.719	1174.937	-28.181		558.176	2.3484
67	1.728	1181.088	-28.143		567.674	2.3372
68	1.775	1213.213	-28.166		577.907	2.3322
69	1.851	1265.159	-28.134	0.047	582.982	2.3551
70	1.851	1265.159	-28.194		577.455	2.3267
71	1.856	1268.576	-28.109		593.543	2.3646
72	1.889	1291.132	-28.205		581.492	2.3337
73	2.012	1375.202	-28.212	0.059	613.249	2.3406
74	2.029	1386.822	-28.210		606.720	2.3445
75	2.080	1421.680	-28.146		640.730	2.3446
76	2.082	1423.047	-28.290		609.580	2.2926
77	2.209	1509.852	-28.207	0.048	666.278	2.3392
78	2.217	1515.320	-28.155		671.683	2.3482
79	2.230	1524.205	-28.272		658.853	2.3141
80	2.264	1547.444	-28.223		680.763	2.3044
81	2.402	1641.767	-28.246	0.050	677.890	2.3713
82	2.405	1643.818	-28.297		690.696	2.3396
83	2.427	1658.855	-28.188		708.730	2.3524
84	2.432	1662.272	-28.200		708.121	2.3347

(a) 원소분석기에서 발생한 CO_2 를 동위원소질량분석기에 주입되기 전에 He 가스로 희석하는 diluter를 사용한 측정값($\delta^{13}\text{C}$)이다. (b) 탄소함량은 Table 2 EMA-P2의 원소함량(%)으로부터 질량단위(μg)로 환산한 값이다. (c) 피크높이비는 작업용 표준물질에 대한 EMA-P2의 $\text{CO}_2(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 가스 피크높이 비율이다. (d) fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 작업용 표준물질 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 에 대한 EMA-P2 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 의 비율 α_{applied} 를 산정한 후 계산한다.

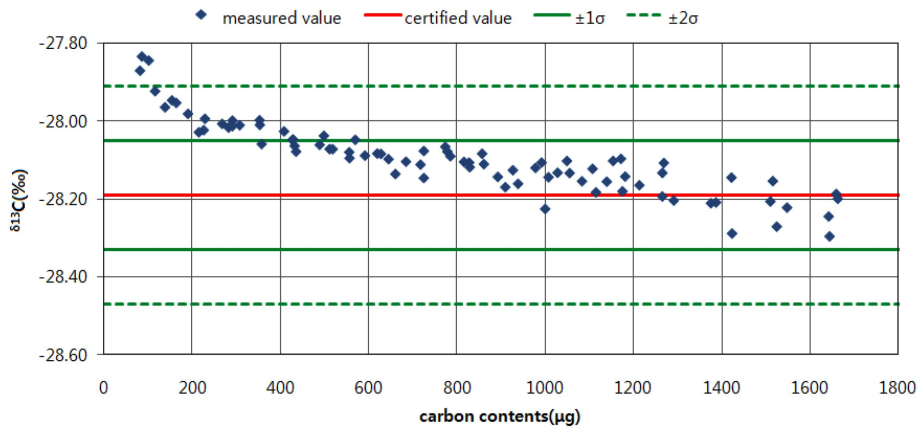


Fig. 4. Comparison of $\delta^{13}\text{C}$ values of EMA-P2 under different extracted carbon contents with the certified value.

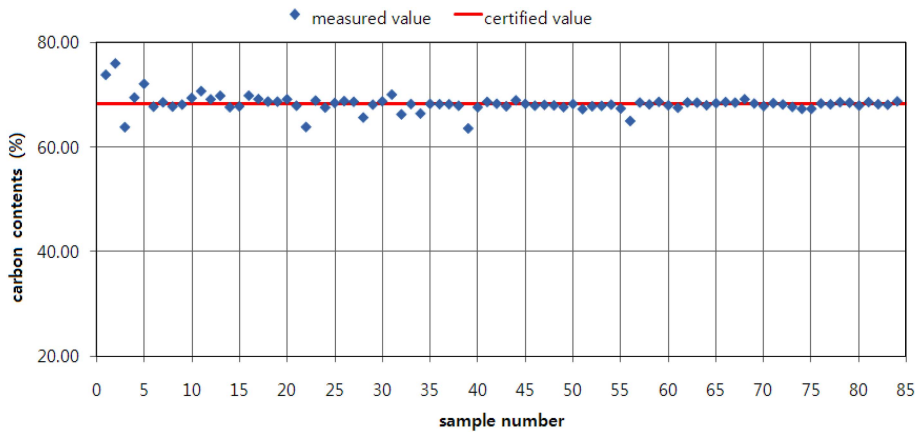


Fig. 5. Carbon contents measured by the elemental analyzer (The diamond marks mean carbon contents of each sample and the line means the certified value of 68.35%).

은 농도로 감응되는 것으로 예측된다. 피크높이($m/z = 44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$)로 도시한 Fig. 6에서도 상대적으로 낮은 신호세기를 확인할 수 있었다.

시료 22번, 39번, 56번의 $\delta^{13}\text{C}$ 값이 인증값 $\pm 2\sigma$ 범위안에 있으므로 탄소안정동위원소비($R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)가 일정할 것으로 예상되어 fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ 로 작업용표준물질에 대한 시료의 무거운 동위원소(^{13}C) 존재량의 변동을 관찰하였다(Table 4, Fig. 6). 넓은 시료 무게 범위(1번~84번)의 평균 $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 2.3204로 시료 22번, 39번, 56번이 낮은 가스농도로 질량분석기에 유입되어도 $\epsilon_{\text{applied}}$ 는 각각 2.3124, 2.3404, 2.3173로 계산되었다. 평균 $\epsilon_{\text{applied}}$ 와 거의 일치하므로 $\delta^{13}\text{C}$ 값의 차이는 없는 것으로 판단된다.

$\delta^{13}\text{C}$ 값이 인증값 $\pm 2\sigma$ 범위에 존재하는 시료 4번~84번은 3.718~38.391 nA 피크높이를 나타냈으며 $\delta^{13}\text{C}$ 값이 인증값 $\pm 1\sigma$ 범위에 존재하는 시료 27번~84번은

16.223~38.391 nA로 나타났다. 그리고 84개의 작업용 표준물질의 평균피크높이는 5.498 nA로 각각의 시료마다 작업용표준물질의 신호세기는 일정하게 유지되었다(Fig. 6). 작업용표준물질에 대한 시료 4번, 27번, 84번의 피크높이비(%)는 각각 66.896%, 295.394%, 708.121%로 계산되었다. 탄소안정동위원소비 분석에 필요한 시료무게는 크로마토그래프의 피크높이비율이 66.896~708.121% 범위이거나 탄소함량이 116.879~1662.272 μg 범위가 되게 사용량을 준비할 것을 제안한다(Table 4).

4. 결 론

동위원소질량분석기(IRMS)로 측정된 결과값($\delta^{13}\text{C}$)이 높은 정확도와 정밀도를 나타내는 최적의 시료 사용량 또는 최소 시료 사용량을 제안하고자 본 실험을 수행

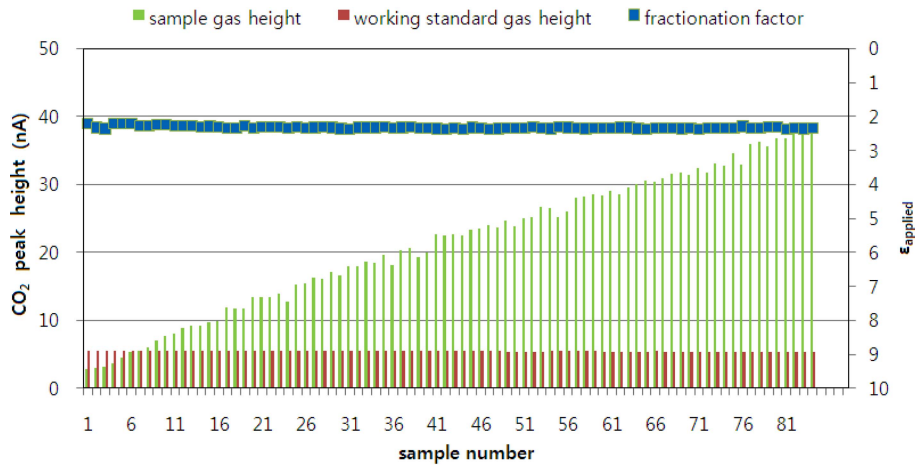


Fig. 6. Fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ and peak height ($m/z = 44(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$) of working standards and samples.

하였다. 신뢰할 수 있는 결과값을 산출하기 위해 고려해야 할 인자로 $\delta^{13}\text{C}$ 값의 정확도, $\delta^{13}\text{C}$ 값의 정밀도(표준편차), 원소분석기의 원소함량(μg), 피크높이비(작업용표준물질에 대한 시료의 $\text{CO}_2(^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O})$ 피크높이비), fractionation factor $\epsilon_{\text{applied}}$ 등이 있다.

EMA-P1과 EMA-P2의 탄소안정동위원소비는 시료의 무게범위가 넓은 측정값에서도 높은 정밀도를 나타내었다. 측정된 $\delta^{13}\text{C}$ 값이 인증값 $\pm 2\sigma$ 범위내에 해당되는 원소함량이 EMA-P1과 EMA-P2 각각 102.107 μg 과 116.879 μg 이상으로 두 물질은 거의 유사한 사용량 이상에서 정확성 있는 $\delta^{13}\text{C}$ 값을 보여주었다. 피크높이비는 EMA-P1이 약 62.8%, EMA-P2가 약 66.8% 이상의 시료들이 인증값 $\pm 2\sigma$ 범위에 해당되었으므로 시료의 피크높이는 작업용표준물질의 피크높이보다 약간 작거나 등가 이상인 시료를 사용할 것을 제안한다.

안정동위원소분석은 동위원소질량분석기의 종류(EA-IRMS, GC-IRMS, LC-IRMS 등), 동위원소질량분석기의 조건, 목적원소(탄소, 질소, 황, 수소, 산소)의 종류, 분석방법의 종류, 분석시료의 화학적·물리적 성질, 실험실환경에 따라 동위원소비(isotope ratio)는 변동될 수 있다. 따라서 탄소안정동위원소비 분석은 신뢰범위에 존재하는 시료량을 선택하되 사용무게 범위를 좁히거나 시료의 피크높이를 작업용표준물질의 피크높이와 등가로 설정하여 $\delta^{13}\text{C}$ 값 변동을 최소화하는 시료준비가 필요할 것으로 판단된다.

참고문헌

- O. Schmidt, J. M. Quilter, B. Bahar, A. P. Moloney, C. M. Scrimgeour, I. S. Begley, F. J. Monahan, *Food Chemistry*, **2005**, 91, 545-549.
- G. F. Pang, C. L. Fan, Y. Z. Cao, J. J. Zhang, X. M. Li, Z. Y. Li, G. Q. Jia, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2006**, 86, 315-319.
- J. R. Ehleringer, D. A. Cooper, M. J. Lott, C. S. Cook, *Forensic Science International*, **1999**, 106, 27-35.
- R. Santamaria-Fernandez, R. Hearn, J. C. Wolff, *Science and Justice*, **2009**, 49, 102-106.
- E. Mützel (Rauch), C. Lehn, O. Peschel, S. Hlmann, A. Roßmann, *International Journal of Legal Medicine*, **2009**, 123, 35-40.
- R. Serrano, M. A. Blanes, F. J. Lopez, *Science of the Total Environment*, **2008**, 389, 340-349.
- K. H. Elliott, L. S. Cesh, J. A. Dooley, R. J. Letcher, J. E. Ellitt, *Science of the Total Environment*, **2009**, 407, 3867-3875.
- V. P. O'Malley, R. A. Burke, W. S. Schlotzhauer, *Organic Geochemistry*, **1997**, 27, 567-581.
- M. Kim, M. C. Kennicutt II, Y. Qian, *Science of the Total Environment*, **2008**, 389, 367-377.
- C. E. Jonsson, M. J. Leng, G. C. Rosqvist, J. Seibert, C. Arrowsmith, *Journal of Hydrology*, **2009**, 376, 143-151.
- A. K. Henderson, D. M. Nelson, F. S. Hu, Y. Huang, B. N. Shuman, J. W. Williams, *Earth and Planetary Science Letters*, **2010**, 300, 205-214.
- N. M. Kortelainen, J. A. Karhu, *Journal of Hydrology*, **2004**, 285, 143-157.
- D. Xue, J. Botte, B. D. Baets, F. Accoe, A. Nestler, P. Taylor, O. V. Cleemput, M. Berglund, P. Boeckx, *Water Research*, **2009**, 43, 1159-1170.
- B. Shormar, K. Osenbrck, A. Yahya, *Science of the Total*

- Environment*, **2008**, 389, 164-174.
15. K. S. Lee, Y. S. Bong, D. Lee, Y. Kim, K. Kim, *Science of the Total Environment*, **2008**, 395, 117-124.
 16. M. Itoh, Y. Takemon, A. Makabe, C. Yoshimizu, A. Kohzu, N. Ohte, D. Tumurskh, I. Tayasu, N. Yoshida, T. Nagata, *Science of the Total Environment*, **2011**, 409, 1530-1538.
 17. C. Fenech, L. Rock, K. Nolan, J. Tobin, A. Morrissey, *Water Research*, **2012**, 46, 2023-2041.
 18. I. C. Torres, P. W. Inglett, M. Brenner, W. F. Kenney, K. R. Reddy, *Journal of Paleolimnology*, **2012**, 47, 693-706.
 19. S. Aguiñiga, A. Sanchez, N. Silverberg, *Continental Shelf Research*, **2010**, 30, 1692-1700.
 20. M. A. Goni, N. Monacci, R. Gisewhite, A. Ogston, J. Crockett, C. Nittrouer, *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **2006**, 69, 225-245.
 21. F. Hyodo, N. Tsugeki, J. Azuma, J. Urabe, M. Nakanishi, E. Wada, *Science of the Total Environment*, **2008**, 403, 139-147.
 22. L. Marín-Guirao, J. Lloret, A. Marin, *Science of the Total Environment*, **2008**, 393, 118-130.
 23. N. V. Grassineau, *Applied Geochemistry*, **2006**, 21, 756-765.