

## 원소분석기와 연계된 동위원소질량분석기(EA-IRMS)를 이용한 질소안정동위원소비 측정의 정확도 · 정밀도 연구

김보경 · 황종연 · 이상욱 · 김민섭 · 이원석<sup>†</sup>

국립환경과학원 환경측정분석센터

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

Bo-kyong Kim, Jong-yeon Hwang, Sang-uk Lee, Min-seob Kim, and Won-seok Lee<sup>†</sup>

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

Received January 18, 2013/Revised February 5, 2013/Accepted March 11, 2013

To estimate the performance ability of an elemental analyzer-isotope ratio mass spectrometer (EA-IRMS), the reproducibility of analytical data on a standard material was evaluated. In order to determine the suitable sample amounts required for high precision and accuracy and the factors required for optimal equipment conditions, a certified reference material EMA-P2 was repeatedly measured with varying sample weights. The  $\delta^{15}\text{N}$  values were measured about 1‰ higher than the certified value. The copper reagent reducing an excess of oxygen and removing oxygen from  $\text{NO}_x$  in reduction tube of elemental analyzer (EA) was replaced with new copper material. Consequently, the measured  $\delta^{15}\text{N}$  values of the EMA-P2 fell within the certified value  $\pm 2\sigma$  with the minimum nitrogen contents of 18.650  $\mu\text{g}$  and minimum peak height ratio of 14.820%. The factor  $\epsilon_{\text{applied}}$  calculated with nitrogen isotope ratio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) of the sample to the working standard had a wide range within the certified value  $\pm 2\sigma$ . However, the factor  $\epsilon_{\text{applied}}$  showed the narrow range from 0.3130 to 0.7344 within the certified value  $\pm 1\sigma$ . We suggest that nitrogen isotope composition needs to be determined by considering several factors such as nitrogen contents, standard deviation of  $\delta^{15}\text{N}$  value, peak height ratio (or peak height) and factor  $\epsilon_{\text{applied}}$ .

**Key words:** EA, IRMS,  $\delta^{15}\text{N}$  value, Nitrogen isotope, Precision, Accuracy, Element contents, Peak height, Factor  $\epsilon_{\text{applied}}$

### 1. 서 론

질소안정동위원소비는 생물체의 영양단계<sup>1,2)</sup>를 이해하고 탄소안정동위원소비와 더불어 자연환경에서의 유기물의 거동과 기원을 규명하는 도구로 이용되고 있다. 질소와 탄소의 질량비(C/N비)<sup>3,4)</sup>는 육상, 하천, 호수, 강 어귀, 해양생태에 적용돼 해양 중 육상의 기여도나 담수 내에 외부기원(allochthonous) 유기물질과 자생기원(autochthonous) 유기물질의 상대적 비율<sup>5)</sup>을 예측하는

데 활용된다. 이에 질소 · 탄소안정동위원소비와 질소 · 탄소함량 모두를 정확하게 측정하는 것은 매우 중요하다.

특히 분석물질을 퇴적상유기물질(SOM, sediment organic matter)<sup>6,7)</sup> 입자성유기물질(POM, particle organic matter)<sup>8,9)</sup> 용존성유기물질(DOM, dissolved organic matter)<sup>10)</sup>로 구분하고  $\delta^{15}\text{N}$ 값,  $\delta^{13}\text{C}$ 값, C/N비와 같은 지표들(indicators)를 이용하여 육상기원과 해양기원을 유추하는 연구가 상당히 많이 진행되어왔다. 예를

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

들어, 강기슭, 삼각주(만), 연안의 토양이나 퇴적물은  $\delta^{15}\text{N}$ 값,  $\delta^{13}\text{C}$ 값, C/N비를 분석하여 유기물의 기원을 결정하고 육상과 해양의 기여도를 계절적·공간적으로 평가하기도 한다.<sup>11)</sup> 강 하구역의 입자성 유기물질의 경우도 입자크기별<sup>12)</sup>로 동물성 플랑크톤, 식물성 플랑크톤, 분해된 식물체·동물체 조각, 배설물 입자, 박테리아 등 유기체가 차지하는 biomass를 예측하고  $\delta^{13}\text{C}$ 값, C/N비를 활용하여 육상과 해양 기원규명에 이용되기도 한다.<sup>13,14)</sup> 따라서 각종 무기물질 및 유기물질의 기원(source)을 식별하고 거동을 예측하기 위해 정확도가 높은 동위원소질량분석기(IRMS, isotope ratio mass spectrometer)와 원소분석기(EA, elemental analyzer) 측정기술이 매우 중요하게 요구되어진다.

본 연구는 Kim<sup>15)</sup>이 수행한 탄소안정동위원소비값( $\delta^{13}\text{C}$ )의 정확도·정밀도와 탄소함량(carbon contents)에 대한 정확도 연구를 기초로 하여 질소안정동위원소비값( $\delta^{15}\text{N}$ )의 정확도·정밀도와 질소함량(nitrogen contents)의 정확도 분석을 일련의 연구과제로 진행하였다. 동위원소질량분석기(IRMS)로 측정된 질소안정동위원소비값의 표준편차가 사용하는 시료의 양(amount of sample)에 따라 어떻게 달라지는지를 확인하고 신뢰성 있는 데이터를 생산하기 위해 적절한 시료 사용량과 고려해야 할 인자들(factors)을 제시하고자 하였다.

## 2. 연구방법

### 2.1. 시료준비

실험실에서 측정에 사용하는 작업용 표준물질인 질소가스의 질소안정동위원소비값( $\delta^{15}\text{N}$ )을 국제표준물질인 Atmospheric nitrogen(AIR)기준으로 보정하기 위해 국제원자력기구(IAEA)에서 제공하는 IAEA N-2를 국제표준물질로 사용하였다. Elemental Microanalysis 제조

사는 인증표준물질인 EMA-P2(고분자 물질)를 70°C에서 24시간 오븐 건조시켜 동위원소질량분석기 정확도·정밀도 시험에 사용하였다. Elemental 제조사의 원소분석용 표준물질인 sulfanilamide도 동일한 조건에서 건조시켰다. Table 1은 IAEA 국제표준물질과 Elemental Microanalysis가 제공하는 인증표준물질의 안정동위원소비값이며, Table 2는 인증표준물질과 원소분석용 표준물질의 원소함량을 나타내었다.

### 2.2. 질소안정동위원소비 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, Elementar Analysensysteme GmbH, Germany)에서 연소시켰다. 연소가스로는 99.995% 이상의 고순도 산소를 사용하였고 운반가스로는 99.999% 이상의 초고순도 He가스를 180 mL/min 속도로 흘려보냈다. 시료는 N<sub>2</sub>로 가스화가 되어 동위원소질량분석기(Isoprime 100, Isoprime Ltd., UK)로 주입되고 작업용 표준물질인 고순도 질소(99.999%) 가스도 다른 시간차로 동위원소질량분석기에 주입되었다. 작업용 표준물질의 안정동위원소비와 시료의 안정동위원소비로부터  $\delta^{15}\text{N}$ 값을 산정하였다(식 (1)).

$$\delta^{15}\text{N} = \left( \frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \right) \times 1000 \quad (1)$$

여기서 R은 가벼운 동위원소 대한 무거운 동위원소 존재비로서 <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N을 의미한다.

### 2.3. 원소함량 분석

Sulfanilamide의 무게를 측정된 후 Tin boat(4 mm × 4 mm × 11 mm)에 담아 밀봉한 뒤 C, N, S 원소분석기

**Table 1.** The isotopic composition of an IAEA international reference standard and a certified reference material

material	$\delta^{13}\text{C}_{\text{V-PDB}}^{\text{a}}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{V-SMOW}}^{\text{b}}$	$\delta^2\text{H}_{\text{V-SMOW}}^{\text{b}}$	$\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}^{\text{c}}$
IAEA N-2				20.3‰
EMA-P2	-28.19‰ (0.14‰) <sup>d</sup>	+26.88‰ (1.88‰) <sup>d</sup>	-87.80‰ (2.20‰) <sup>d</sup>	-1.57‰ (0.19‰) <sup>d</sup>

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

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

material	C	O	H	S	N
EMA-P2	68.35%	19.91%	2.9%		7.46%
sulfanilamide	41.81%		4.65%	18.62%	16.25%

(Vario Micro Cube, Elementar Analysensysteme GmbH, Germany)로 측정하였다. 원소분석기 내부의 열전도도 검출기(TCD, thermal conductivity detector)는 sulfanilamide의 N<sub>2</sub>에 감응하여 농도에 따라 전기적인 신호 세기로 전환시킨다. 인증표준물질인 EMA-P2도 C, N, S 원소분석기(Vario Micro Cube)로 측정하여 원소함량을 계산하였다.

#### 2.4. 반복성(reproducibility)

동위원소질량분석기(IRMS, Isotope Ratio Mass Spectrometer)는 일반적으로 측정값의 표준편차(식 (2))로 장비의 성능과 데이터의 신뢰성을 나타낸다.

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

$\sigma$ 는 표준편차,  $x$ 는 측정값,  $x_{mean}$ 은 평균측정값,  $n$ 은 측정횟수이다. 측정반복성(reproducibility)은 시료량이 유사한 4개의 시료마다 구분하여 표준편차로서 제시하였다.

#### 2.5. 분별계수의 응용

분별계수(fractionation factor)는 두 가지 상(phase)에서 안정동위원소비의 상대적 비율을 수치로 계산한 파

라미터다. 본 연구에서는 반응물과 생성물 사이의 fractionation factor  $\alpha$ (식 (3))와 fractionation factor  $\epsilon$ (식 (4))를 응용하여 작업용 표준 물질과 시료 사이의  $\alpha_{applied}$ (식 (5))와  $\epsilon_{applied}$ (식 (6))를 계산하였다. 여기서,  $R$ 은 질소안정동위원소비(<sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N)를 의미한다.

$$\alpha = \frac{R_{product}}{R_{reactant}} \quad (3)$$

$$\epsilon = 10^3 \times (\alpha - 1) \approx 10^3 \times \ln \alpha \quad (4)$$

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

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

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 질소안정동위원소값의 정확도와 정밀도

여러 시료무게(시료량)에 따라  $\delta^{15}\text{N}$ 값 변동을 관찰하였고 그 측정값을 Table 3에 요약하였다. 시료무게가 가장 큰 시료(81~84번)의 평균  $\delta^{15}\text{N}$ 값과 표준편차는 각각 -1.579‰과 0.043‰이며, 시료무게가 가장 작은 시료(1~4번)의 평균  $\delta^{15}\text{N}$ 값과 표준편차는 각각 -2.762‰과 1.226‰이다. 반면 넓은 범위의 시료무게를 갖는

**Table 3.**  $\delta^{15}\text{N}$ , standard deviation of  $\delta^{15}\text{N}$ , peak height ratio and factor  $\epsilon_{applied}$  measured by the IRMS with different nitrogen contents of CRM EMA-P2

sample number	sample weight (mg)	nitrogen content <sup>a</sup> ( $\mu\text{g}$ )	d <sup>15</sup> N (‰)	sd (‰)	peak height ratio <sup>b</sup> (%)	$\epsilon_{applied}$ <sup>c</sup>
1	0.115	8.579	-3.586	1.226	6.909	-3.0906
2	0.128	9.549	-1.831		7.907	-2.7934
3	0.136	10.146	-4.033		7.342	-2.7383
4	0.140	10.444	-1.602		8.193	-2.3643
5	0.203	15.144	-1.234	0.381	11.396	-1.7948
6	0.230	17.158	-1.142		12.305	-1.2629
7	0.250	18.650	-1.884		14.820	-1.1530
8	0.254	18.948	-1.803		15.344	-0.9405
9	0.302	22.529	-1.858	0.073	16.836	-0.8263
10	0.307	22.902	-1.892		17.525	-1.1852
11	0.320	23.872	-1.723		19.286	-1.0946
12	0.374	27.900	-1.832		22.006	-0.6804
13	0.412	30.735	-1.586	0.207	24.464	-0.1471
14	0.414	30.884	-1.418		28.613	0.0784
15	0.442	32.973	-1.901		25.880	-0.3148
16	0.465	34.689	-1.739		27.354	-0.1164
17	0.502	37.449	-1.860	0.116	29.037	-0.5281
18	0.527	39.314	-1.848		30.571	-0.0556
19	0.547	40.806	-1.632		32.056	0.0502

**Table 3.**  $\delta^{15}\text{N}$ , standard deviation of  $\delta^{15}\text{N}$ , peak height ratio and factor  $\epsilon_{\text{applied}}$  measured by the IRMS with different nitrogen contents of CRM EMA-P2 (Continued)

sample number	sample weight (mg)	nitrogen content <sup>a</sup> ( $\mu\text{g}$ )	$\delta^{15}\text{N}$ ( $\text{‰}$ )	sd ( $\text{‰}$ )	peak height ratio <sup>b</sup> ( $\text{‰}$ )	$\epsilon_{\text{applied}}$ <sup>c</sup>
20	0.573	42.746	-1.682		33.254	0.2107
21	0.658	49.087	-1.644	0.071	37.808	0.0981
22	0.658	49.087	-1.680		38.289	0.2172
23	0.665	49.609	-1.680		37.662	0.1697
24	0.669	49.907	-1.806		38.183	0.1636
25	0.729	54.383	-1.729	0.086	43.370	0.0611
26	0.732	54.607	-1.835		42.258	0.3794
27	0.762	56.845	-1.872		44.500	0.2962
28	0.762	56.845	-1.691		44.594	0.3941
29	0.803	59.904	-1.817	0.093	46.455	-0.0474
30	0.810	60.426	-1.691		47.643	0.4167
31	0.828	61.769	-1.603		48.948	0.5061
32	0.841	62.739	-1.644		48.860	0.4311
33	0.906	67.588	-1.781	0.026	52.434	0.3944
34	0.940	70.124	-1.808		54.321	0.3839
35	0.966	72.064	-1.745		56.152	0.4756
36	0.968	72.213	-1.778		56.427	0.3879
37	1.023	76.316	-1.568	0.022	60.792	0.5460
38	1.030	76.838	-1.557		61.998	0.4747
39	1.043	77.808	-1.599		62.578	0.4500
40	1.056	78.778	-1.550		64.273	0.5037
41	1.105	82.433	-1.642	0.088	66.807	0.4902
42	1.119	83.477	-1.560		69.649	0.5679
43	1.122	83.701	-1.496		69.449	0.6059
44	1.176	87.730	-1.695		72.405	0.4631
45	1.201	89.595	-1.654	0.048	73.775	0.3130
46	1.220	91.012	-1.660		73.830	0.5917
47	1.240	92.504	-1.664		76.517	0.4776
48	1.270	94.742	-1.565		77.604	0.5607
49	1.330	99.218	-1.635	0.078	75.094	0.4921
50	1.339	99.889	-1.560		76.658	0.6099
51	1.342	100.113	-1.532		80.861	0.6498
52	1.351	100.785	-1.705		80.050	0.5160
53	1.413	105.410	-1.657	0.028	82.466	0.5540
54	1.413	105.410	-1.669		82.676	0.4804
55	1.414	105.484	-1.612		84.243	0.5161
56	1.417	105.708	-1.672		83.709	0.5393
57	1.530	114.138	-1.584	0.033	89.961	0.6082
58	1.531	114.213	-1.570		89.940	0.5723
59	1.552	115.779	-1.638		90.966	0.5102
60	1.565	116.749	-1.628		88.842	0.4956
61	1.619	120.777	-1.451	0.069	108.459	0.6903
62	1.625	121.225	-1.555		94.755	0.6390
63	1.640	122.344	-1.597		95.705	0.6332
64	1.671	124.657	-1.600		99.622	0.6322
65	1.704	127.118	-1.681	0.028	97.927	0.5464
66	1.718	128.163	-1.613		100.866	0.6059
67	1.721	128.387	-1.647		99.812	0.6450

**Table 3.**  $\delta^{15}\text{N}$ , standard deviation of  $\delta^{15}\text{N}$ , peak height ratio and factor  $\epsilon_{\text{applied}}$  measured by the IRMS with different nitrogen contents of CRM EMA-P2 (Continued)

sample number	sample weight (mg)	nitrogen content <sup>a</sup> ( $\mu\text{g}$ )	$\delta^{15}\text{N}$ ( $\text{‰}$ )	sd ( $\text{‰}$ )	peak height ratio <sup>b</sup> ( $\text{‰}$ )	$\epsilon_{\text{applied}}$ <sup>c</sup>
68	1.721	128.387	-1.652		97.455	0.4410
69	1.821	135.847	-1.630	0.044	102.690	0.4439
70	1.838	137.115	-1.538		107.549	0.6923
71	1.842	137.413	-1.573		110.832	0.6404
72	1.852	138.159	-1.534		106.842	0.6356
73	1.902	141.889	-1.582	0.026	109.977	0.6100
74	1.907	142.262	-1.600		112.605	0.6279
75	1.909	142.411	-1.542		110.392	0.6855
76	1.919	143.157	-1.594		109.461	0.5949
77	2.021	150.767	-1.658	0.084	116.777	0.5338
78	2.053	153.154	-1.475		118.815	0.7344
79	2.056	153.378	-1.495		112.810	0.7279
80	2.070	154.422	-1.577		117.748	0.6841
81	2.129	158.823	-1.615	0.043	119.787	0.5823
82	2.145	160.017	-1.592		123.651	0.6638
83	2.158	160.987	-1.517		126.081	0.7028
84	2.174	162.180	-1.591		124.697	0.7088

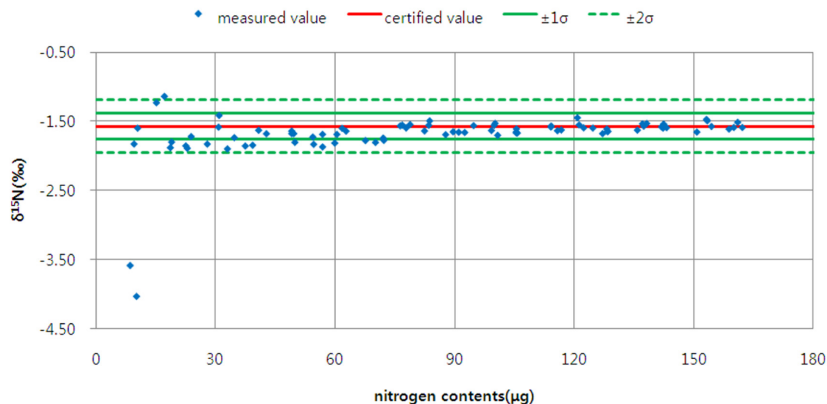
<sup>a</sup>Nitrogen content was obtained from sample weight reflected on the nitrogen content 7.46% (Table 2)

<sup>b</sup>Peak height ratio was calculated by the  $\text{N}_2$  ( $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ ) peak height of sample to working standard

<sup>c</sup>The  $\epsilon_{\text{applied}}$  was calculated by the nitrogen isotope ratio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) of sample to working standard

전체 시료(1~84번)의 평균  $\delta^{15}\text{N}$ 값과 표준편차는 각각  $-1.696\text{‰}$ 과  $0.358\text{‰}$ 이다. Torres<sup>5)</sup>가 보고한 질소안정동위원소 정밀도  $0.3\text{‰}$ , Mützel(Rauch)<sup>16)</sup>, Marín-Guirao<sup>17)</sup>, Hyodo<sup>18)</sup>가 보고한 질소안정동위원소 정밀도  $0.2\text{‰}$ 과 비교하면 넓은 시료무게 범위를 갖는 전체 시료(1~84번)는 정밀도가 낮았다. 그러나 Aguiñiga<sup>19)</sup>가 보고한 질소 정밀도  $0.14\text{‰}$ 와 비교하면 시료무게 범위가 좁은 시료(9~12번, 17~20번, 21~24번, 25~28번, 29~32번, 33~36번, 37~40번, 41~44번, 46~48번, 49

~52번, 53~56번, 57~60번, 61~64번, 65~68번, 69~72번, 73~76번, 77~80번, 81~84번)가 측정반복성이 더욱 정밀하였다. Bebout는 GC-IRMS로 질소화합물의 질소안정동위원소비를 측정하였고 질소 5 ppm 이상의 시료농도에서는 불확도가  $0.15\text{‰}$ 인 반면 1~2 ppm 사이의 시료농도에서는 불확도를  $0.6\text{‰}$ 로 보고하였다<sup>20)</sup>. 본 연구에서는 특정 질소함량  $37.45\text{ }\mu\text{g}$ (17번 시료) 이상에서는 Aguiñiga가 보고한  $0.14\text{‰}$ 보다 높은 정밀도를 나타내었다.

**Fig. 1.** Comparison of  $\delta^{15}\text{N}$  values of EMA-P2 under different nitrogen contents with the certified value.

넓은 시료무게 범위로 측정된  $\delta^{15}\text{N}$ 값을 EMA-P2 인증값(-1.57‰)과 비교하여 그림으로 도식화하였다(Fig. 1). 시료 37~84번은  $-1.57 \pm 0.19\%$ ( $1\sigma$ ) 범위 안에 존재하고 시료 7~84번은  $-1.57 \pm 0.38\%$ ( $2\sigma$ ) 범위 안에 존재하므로, 질소함량이 18.65  $\mu\text{g}$  (시료 7번) 수준 이상일 때 정확성 있는  $\delta^{15}\text{N}$ 값을 나타내었다.

그러나 동일한 기기조건에서 수행한 초기 질소안정동위원소비 정확도 · 정밀도 연구에서는 측정된  $\delta^{15}\text{N}$ 값이 인증된 값에 비해 약 1% 정도 높게 나타나며 일관된 측정값을 보이지 않았다(Fig. 2). Gentile은 분석물질의 흡착, 희석, 용융, 휘발, 풍화, 매질의 간섭 등 화학적 · 물리적 성질 뿐만 아니라 수집, 보관, 전처리 방법에 따라 동위원소 분별(isotope fractionation)이 일어날 수 있다고 보고하였다.<sup>21)</sup> 따라서 Gentile이 제시한 매질간섭(matrix interference)이 원인인 것으로 예측하여 다른 새로운 인증표준물질 EMA-P2를 재분석하였다. 그러나 측정값( $\delta^{15}\text{N}$ 값)은 Fig. 2와 동일하게 인증값에서 1% 정도 높게 나타났다.

Benson은 EA-IRMS로 벌크시료(bulk sample)를 분석하면 산화튜브(1000~1700°C)에서  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ 를 생성하고 약 600°C 환원튜브에서  $\text{NO}_x$ 가  $\text{N}_2$ 로 환원되거나 과량의 산소를 제거해준다고 보고하였다.<sup>22)</sup> 본 연구에서는 인증표준물질 EMA-P2를 산화튜브에서 산화제( $\text{WO}_3$ )로 연소시키며 환원튜브에서 환원제(Cu)를 이용하여  $\text{NO}_x$ 를  $\text{N}_2$ 로 전환시킨다. C, N 동시분석결과  $\delta^{13}\text{C}$ 값은 높은 정확도를 나타내는 반면  $\delta^{15}\text{N}$ 값은 인증값에서 약 1% 정도 높게 나타났다(Fig. 2). 이에, 산화능력보다 환원능력이 감소된 것으로 판단되어 Cu를 교체하여 재측정한 결과, Table 3과 Fig. 1

에 일치하는 결과값( $\delta^{15}\text{N}$ 값)을 얻을 수 있었다. 따라서 안정동위원소비를 측정하기 이전에 원소분석기의 산화제와 환원제의 용량과 수명을 미리 점검할 필요가 있는 것으로 사료된다.

### 3.2. 질소함량의 정확도

EMA-P2의 인증된 질소함량은 7.46%(Table 2)이며, 본 연구에서는 동위원소질량분석기(IRMS)에 연계된 원소분석기(EA)가 산출하는 질소함량(%)과 비교하였다(Fig. 3). Table 3에서  $\delta^{15}\text{N}$ 값이  $-1.57 \pm 0.38\%$ ( $2\sigma$ ) 범위로 측정된 시료 7번의 질소함량은 15.57%로 인증값(7.46%)에 비해 8.11% 높은 원소함량을 나타냈다. 반면  $\delta^{15}\text{N}$ 값이  $-1.57 \pm 0.19\%$ ( $1\sigma$ ) 범위에 존재하는 시료 37번은 원소함량이 8.02%로 인증값(7.46%)과 유사하였다. 시료 37~69번(질소함량 76.32~135.85 $\mu\text{g}$ )의  $\delta^{15}\text{N}$ 값은  $-1.57 \pm 0.19\%$ ( $1\sigma$ ) 범위 내에 존재하고 동시에 질소함량은  $7.46 \pm 0.56\%$  범위 내에 존재하므로, 이들 값은 정확성 있는 안정동위원소비값(‰)과 원소함량(%)을 얻을 수 있는 무게범위라고 판단된다.

### 3.3. 작업용 표준물질에 대한 시료의 주요 질소안정동위원소 $\text{N}_2$ ( $m/z = 28$ ( $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ )) 피크높이비

Santamaria-Fernandez는 주요 안정동위원소인  $\text{CO}_2$ ( $m/z = 44$ ( $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ ))와  $\text{N}_2$ ( $m/z = 28$ ( $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ ))의 신호세기를 각각 2.5~6 V와 2.5~5 V로 제시하였다.<sup>23)</sup> 본 연구도  $\delta^{15}\text{N}$ 값의 신뢰범위를 신호세기로 설정하기 위해 시료와 작업용 표준물질의 주요 질소안정동위원소인  $\text{N}_2$ ( $m/z = 28$ ( $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ )) 피크높이를 그림으로 도식화하였다(Fig. 4).

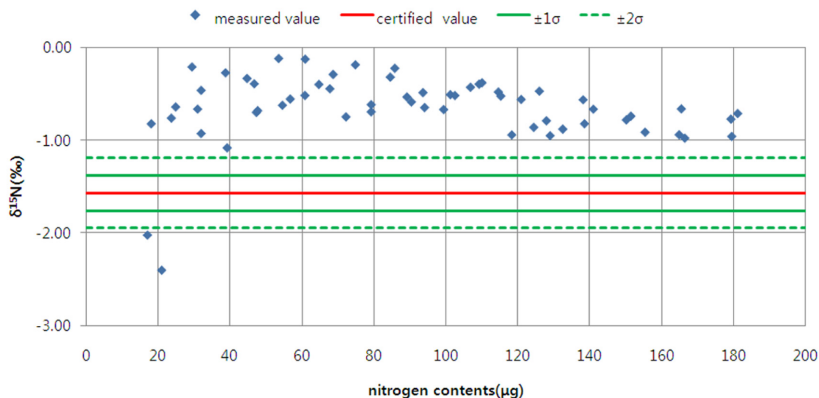


Fig. 2. Comparison of  $\delta^{15}\text{N}$  values, which were measured without replacing the reagent Cu in reduction tube, of EMA-P2 under different nitrogen contents with the certified value.

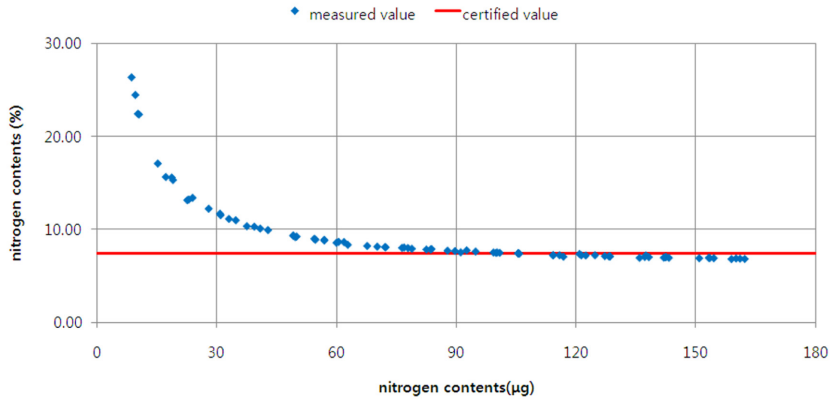


Fig. 3. Nitrogen contents measured by the elemental analyzer (The diamond marks mean nitrogen contents of each sample and the line means the certified value of 7.46%).

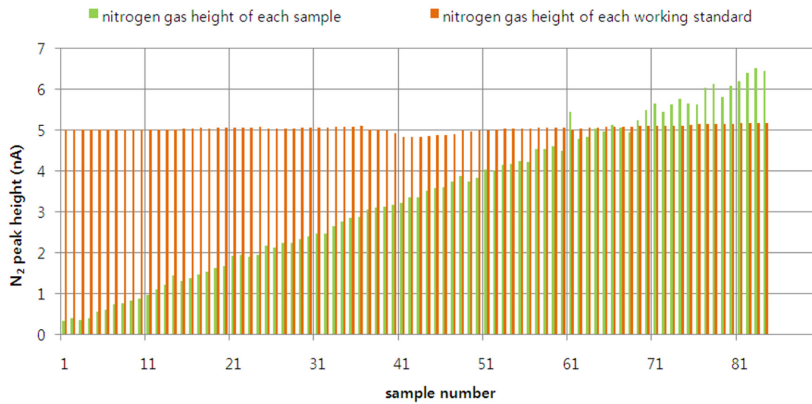


Fig. 4. Peak height ( $m/z = 28(^{14}N^{14}N)$ ) of working standards and samples.

$\delta^{15}N$ 값이 인증값  $\pm 2\sigma$  범위에 존재하는 시료 7~84번은 0.744~6.457 nA 피크 높이를 나타냈으며  $\delta^{15}N$ 값이 인증값  $\pm 1\sigma$  범위에 존재하는 시료 37~84번은 3.053~6.457 nA로 나타났다. 고순도 질소가스인 작업용 표준물질은  $N_2(m/z = 28(^{14}N^{14}N))$ 의 평균피크높이가 5.046 nA로 일정한 신호세기를 유지하는 것을 확인할 수 있다(Fig. 4). 작업용 표준물질에 대한 시료의 피크높이비(%)는 각각 14.820%(시료 7번), 60.792%(시료 37번), 124.697%(시료 84번)로 산출되었다(Table 4). 따라서 본

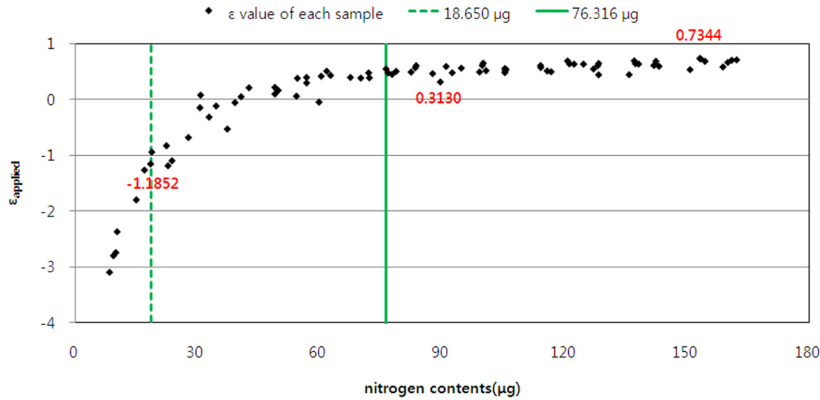
연구장비인 EA-IRMS로 질소안정동위원소비를 측정할 경우 필요한 크로마토그래프 피크높이비로는 14.820~124.697% 범위이고 질소함량으로는 18.650~162.180  $\mu g$  범위가 된다(Table 3, 4).

### 3.4. 분별계수의 응용

시료 EMA-P2가 작업용 표준물질에 비해 무거운 질소안정동위원소( $^{15}N$ )가 차지하는 비율( $\alpha_{applied}$ )을 조사하여  $\epsilon_{applied}$ 를 산정하였다. 질소함량에 따라  $\epsilon_{applied}$ 를 그

Table 4. Peak height( $m/z = 28(^{14}N^{14}N)$ ) of three samples and three working standards and peak height ratio (%) calculated with each sample to working standard

sample number	sample weight (mg)	nitrogen contents ( $\mu g$ )	peak height of sample (nA)	peak height of working standard (nA)	peak height ratio (%)
7	0.250	18.650	0.744	5.023	14.820
37	1.023	76.316	3.053	5.022	60.792
84	2.174	162.180	6.457	5.178	124.697



**Fig. 5.** The  $\epsilon_{\text{applied}}$  calculated with nitrogen isotope ratio ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) of sample to working standard under different nitrogen contents.

림으로 도식화하였다(Fig. 5).  $\delta^{15}\text{N}$ 값이 인증값  $\pm 2\sigma$  범위에 존재하는 시료 7~84번(18.650~162.180  $\mu\text{g}$ )은  $\epsilon_{\text{applied}}$ 값이 최소 -1.1852, 최대 0.7344로 그 차이가 1.9196이다.  $\delta^{15}\text{N}$ 값이 인증값  $\pm 1\sigma$  범위에 존재하는 시료 37~84번(76.316~162.180  $\mu\text{g}$ )은  $\epsilon_{\text{applied}}$ 값이 최소 0.3130, 최대 0.7344로 그 차이가 0.4214이다.  $\delta^{15}\text{N}$ 값이 인증값  $\pm 1\sigma$  범위에 존재하는 시료들이 일정한  $\epsilon_{\text{applied}}$ 값을 나타내었다.

### 3.5. QA/QC

Kang은 측정 정확성을 확인하기 위해 peptone과 urea를 internal standard로 사용하였다.<sup>8)</sup> 장비의 견고성 및 측정 정확성을 확인하기 위하여 continuing calibration check(CCC, 중간점검) 표준물질로 Kang이 제시한 urea를 선정하였다. Urea는 시료를 분석하기 전과 매 12개 시료마다 측정하여  $\delta^{15}\text{N}$ 값의 변동을 관찰하였다(Table 5). 초기 urea는  $\delta^{15}\text{N}$ 값이 -1.340‰이며 매 12개 시료

마다 측정 한 값은 -1.371‰, -1.354‰, -1.352‰, -1.360‰, -1.465‰, -1.420‰로 순차적으로 확인되었다. 표준편차는 0.045‰로 정밀하였다.

## 4. 결 론

동위원소질량분석기(IRMS)로 측정 한  $\delta^{15}\text{N}$ 값이 높은 정확도와 정밀도를 나타내는 최적의 시료 사용량 또는 최소 시료 사용량을 제안하고자 본 연구를 수행하였다. 신뢰할 수 있는 결과값을 산출하기 위해 고려해야 할 인자로는 정확도, 정밀도, 주요 질소안정동위원소( $m/z = 28(^{14}\text{N}^{14}\text{N})$ )의 피크높이 (또는 작업용 표준물질에 대한 시료의 피크높이비), factor  $\epsilon_{\text{applied}}$  등이 있다.

$\delta^{15}\text{N}$ 값의 정확도(인증값  $\pm 1\sigma$ )가 높은 시료라 할지라도 질소함량이 반드시 인증값  $\pm 0.56\%$  범위에 존재하는 것은 아니었다. 원소분석기(EA)와 연계된 동위원소질량 분석기(IRMS)는 각각의 장비가 갖는 성능과 신뢰범위

**Table 5.** The  $\delta^{15}\text{N}$  value of ureas used as continuing calibration check standards (The initial  $\delta^{15}\text{N}$  value was measured prior to 84 samples and the others were collected continuously after measuring every 12 samples)

check standard	acquisition date (year-month-day)	peak retention time (sec)	peak height (nA)	nitrogen content (%)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	average (‰)	sd (‰)
urea <sup>a</sup>	12-10-17 3:17 PM	183.9	13.423	39.626	-1.340	-1.380	0.045
urea <sup>b</sup>	12-10-17 6:25 PM	183.2	11.345	39.613	-1.371		
urea <sup>b</sup>	12-10-17 10:11 PM	186.7	11.866	40.200	-1.354		
urea <sup>b</sup>	12-10-18 9:28 AM	185.4	13.736	39.600	-1.352		
urea <sup>b</sup>	12-10-18 1:56 PM	186.7	12.875	39.661	-1.360		
urea <sup>b</sup>	12-10-18 5:28 PM	184.9	15.139	39.723	-1.465		
urea <sup>b</sup>	12-10-18 8:43 PM	187.7	13.302	39.287	-1.420		

<sup>a</sup>urea before measuring 84 samples

<sup>b</sup>urea after measuring every 12 samples of EMA-P2

가 서로 다른 것으로 판단된다. 본 연구에서는 질소함량이 76.32~135.85  $\mu\text{g}$  범위인 시료에서는 신뢰성 있는 질소함량(인증값  $\pm 0.56\%$ )과  $\delta^{15}\text{N}$ 값(인증값  $\pm 1\sigma$ )을 나타내는 것으로 평가되었다.

EMA-P2의  $\delta^{15}\text{N}$ 값은 Kim<sup>15)</sup>의  $\delta^{13}\text{C}$ 값에 비해 신뢰할 수 있는 최소 시료 사용량이 낮게 나타났다. EMA-P2는 C:N비가 9.16:1로 탄소함량이 68.35%를 차지한다(Table 2). 탄소안정동위원소비 측정은 과량의 이산화탄소가스가 동위원소질량분석기(IRMS)에 주입되기 전 He가스로 희석시키는 Diluter를 사용하였다.<sup>15,24)</sup> 인증값  $\pm 2\sigma$  범위의 최소탄소함량은 116.879  $\mu\text{g}^{15)}$ 이지만 Diluter를 생략한 최소질소함량은 18.650  $\mu\text{g}$ 로 기록되었다.

또한,  $\delta^{15}\text{N}$ 값의 정밀도는 EMA-P2시료 0.115~2.174 mg 무게범위에서 0.358‰로 측정되었고  $\delta^{13}\text{C}$ 값의 정밀도는 EMA-P2시료 0.121~2.432 mg 무게범위에서 0.091‰<sup>15)</sup>로 기록되었다. 질소안정동위원소비 측정은 탄소안정동위원소비 측정보다 반복성(reproducibility)이 상대적으로 낮은 것으로 나타났다.

본 연구는 인증표준물질인 고분자물질을 대상으로 정확도·정밀도를 평가한 결과이므로 실제 환경시료에서는 적용가능한 기기조건과 시료 사용량이 상이할 것으로 예측된다. 따라서 질소안정동위원소비 분석이 실제 환경시료에 적용되기 위하여 적절한 표준물질을 선택하고 분석물질에 대한 정보를 미리 수집할 필요가 있다<sup>24)</sup>. 즉, 표준물질은 오랜 시간동안 안정성을 유지하고 분석물질의  $\delta^{15}\text{N}$ 값, 질소함량과 유사한 물질로 선정한다. 분석물질은 시료채취·보관·전처리과정 중 발생하는 fractionation을 평가하여  $\delta^{15}\text{N}$ 값 변동을 최소화하는 선행 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## 참고문헌

1. T. S. Adams, R. W. Sterner, *Limnology and Oceanography*, **2000**, 45, 601-607.
2. M. J. DeNiro, S. Epstein, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **1981**, 45, 1885-1894.
3. E. M. Perdue, J. Koprivnjak, *Coastal and Shelf Science*, **2007**, 73, 65-72.
4. A. C. Ruiz-Fernández, C. Hillaire-Marcel, B. Ghaleb, M. Soto-Jiménez, F. Páez-Osuna, *Environmental Pollution*, **2002**, 118, 365-377.
5. I. C. Torres, P. W. Inglett, M. Brenner, W. F. Kenney, K. R. Reddy, *Journal of Paleolimnology*, **2012**, 47, 693-706.
6. S. Dubois, N. Savoye, A. Grémare, M. Plus, K. Charlier, A. Beltoise, H. Blanchet, *Journal of Marine Systems*, **2012**, 94, 64-73.
7. P. Choudhary, J. Routh, G. J. Chakrapani, *Science of the Total Environment*, **2009**, 407, 2783-2795.
8. C. Kang, E. Choy, Y. Hur, J. Myeong, *Aquatic Biology*, **2009**, 6, 289-302.
9. T. Usui, S. Nagao, M. Yamamoto, K. Suzuki, I. Kudo, S. Montani, A. Noda, M. Minagawa, *Marine Chemistry*, **2006**, 98, 241-259.
10. C. L. Osburn, C. A. Stedmon, *Marine Chemistry*, **2011**, 126, 281-294.
11. F. Yu, Y. Zong, J. M. Lloyd, G. Huang, M. J. Leng, C. Kendrick, A. L. Lamb, W. W.-S. Yim, *Coastal and Shelf Science*, **2010**, 87, 618-630.
12. F. Akamatsu, S. Kobayashi, K. Amano, S. Nakanishi, Y. Oshima, *Hydrobiologia*, **2011**, 669, 183-197.
13. P. Cresson, S. Ruitton, M. Fontaine, M. Harmelin-Vivien, *Marine Pollution Bulletin*, **2012**, 64, 1112-1121.
14. A. L. Lamb, G. P. Wilson, M. J. Leng, *Earth-Science Reviews*, **2006**, 75, 29-57.
15. B. Kim, Y. Nam, W. Lee, J. Han, J. Hwang, *Journal of the Korean Society for Environmental Analysis*, **2012**, 15, 245-255.
16. E. Mützel (Rauch), C. Lehn, O. Peschel, S. Hölmann, A. Roßmann, *International Journal of Legal Medicine*, **2009**, 123, 35-40.
17. L. Marín-Guirao, J. Lloret, A. Marin, *Science of the Total Environment*, **2008**, 393, 118-130.
18. F. Hyodo, N. Tsugeki, J. Azuma, J. Urabe, M. Nakanishi, E. Wada, *Science of the Total Environment*, **2008**, 403, 139-147.
19. S. Aguiñiga, A. Sanchez, N. Silverberg, *Continental Shelf Research*, **2010**, 30, 1692-1700.
20. G. E. Bebout, B. D. Idleman, L. Li, A. Hilkert, *Chemical Geology*, **2007**, 240, 1-10.
21. N. Gentile, L. Besson, D. Pazos, O. Delémont, P. Esseiva, *Forensic Science International*, **2011**, 212, 260-271.
22. S. Benson, C. Lennard, P. Maynard, C. Roux, *Forensic Science International*, **2006**, 157, 1-22.
23. R. Santamaria-Fernandez, R. Hearn, J. C. Wolff, *Science and Justice*, **2009**, 49, 102-106.
24. T. Hansen, A. Burmeister, U. Sommer, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **2009**, 23, 3387-3393.