

## 해저 퇴적물 내 여러고리 방향족 화합물의 신속한 분석법

홍종기, 유미란\*, 김강진\*, 고철환\*\*

기초과학지원연구소 질량분석그룹, \*고려대학교 화학과, \*\*서울대학교 해양학과

## Rapid Analytical Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Sediments

Jongki Hong, Mi-Ran Yoo\*, Kang-Jin Kim\* and Chul-Hwan Koh\*\*

*Mass Spectrometry Group, Korea Basic Science Institute*

Yusung-gu Eoeun-dong 52, Taejeon 305-333, Korea

*\*Department of Chemistry, Korea University*

Seongbuk-gu Anam-dong, Seoul 136-701, Korea

*\*\*Department of Oceanography, Seoul National University*

Kwanak-gu Sinlim-dong Mt 56-1, Seoul 151-742, Korea

The present study describes an analytical method for the quantification of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in sea sediments by gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS) with use of deuterium labeled analogues as internal standards. PAHs are extracted twice from 10 g samples of the sediments with 50 mL methylene chloride using ultrasonic agitation for 20 min. The extracts are purified with a 2 g silica-cartridge to remove polar interferences. The purified extracts are analyzed by GC/MS using both selected ion monitoring (SIM) for quantification of PAHs and partial scan mode for qualification of PAHs. The overall recovery yields of PAHs are above 90% under these experimental conditions.

**Key Words** : PAHs, sea sediment, sonication extraction, SPE cartridge, GC/MS, SIM and partial scan mode

### 1. 서론

여러고리 방향족 화합물(polynuclear aromatic hydrocarbons, PAHs)들은 산업공정 과정, 산불, 생물학적 과정, coar tar 생산 공장, 쓰레기 소각시 및 자동차 배기가스에서 생성 배출 된다고 보고되고 있다.<sup>1-3</sup> 이들 중 몇몇 여러고리 방향족 탄화수소들은 매우 강한 독성을 가지고 있으므로 발암성 및 변이원성을 나타내고 있다.<sup>4</sup> 일반적으로 여러고리 방향족 탄화수소들은 물에 대한 용해도가 비교적 낮고, 입자나 토양 및 해저 퇴적층 등에 강하게 흡착되어 수질환경을 오염시키고 있다.<sup>5</sup> 따라서 여러고리 방향족 탄화수소들은 해저 환경에서 환경오염의 기준이 되는 척도로 사용되고 있다. 실제 이들은 화학적, 물리적으로 매우 안정한 성질을 가

지고 있어 화학적으로 쉽게 분해되거나 체내에서 대사화 되지 않으므로 생물체 내에 축적되는 현상을 나타내고 있다.

환경 시료 중에서 여러고리 방향족 탄화수소류의 정량 및 정성 분석에 관한 논문은 많이 보고되고 있다. 특히 기체 크로마토그래프(gas chromatograph, GC)는 분리도가 좋기 때문에 복잡한 매트릭스를 갖는 환경시료 중의 여러고리 방향족 탄화수소류를 검출하는 데 유용한 분석 장비이다.<sup>6,7</sup> 일반적으로 PAH류의 분석에 사용되는 불꽃 이온화 검출기(flame ionization detector, FID)는 단지 머무름 시간(retention time)에 의해서만 물질을 확인하는 단점이 있으므로 그의 적용은 최근에 들어 매우 미미한 편이다.

고성능 액체 크로마토그래프(high performance

liquid chromatograph, HPLC)에 형광 검출기 (fluorescence detector)를 연결한 방법은 복잡한 매트릭스로 부터 여러고리 방향족 탄화수소류를 확인하는 데 매우 좋은 방법이나<sup>8,9</sup> 액체 크로마토그래프 자체의 낮은 분해능과 몇몇 이성질체의 여러고리 방향족 탄화수소류를 구분할 수 없으므로 그의 적용은 제한적이다.

따라서 기체 크로마토그래프 - 질량분석기(gas chromatography - mass spectrometer, GC/MS) 방법을 사용하면 분자량에 따른 각각의 여러고리 방향족 탄화수소를 비교적 정확히 확인할 수 있으며 선택적 이온 검출(selected ion monitoring, SIM) 방법을 이용하면 극미량의 여러고리 방향족 탄화수소들까지 정량분석이 가능하며, 또한 동위원소 치환된 내부 표준물질(isotope labeled internal standards)을 사용하면 매우 정확한 정량분석 결과를 얻어낼 수 있는 장점이 있어 가장 널리 사용되고 있다.<sup>10,11</sup>

이와 같이 고감도의 분석 기기를 사용한다 하더라도, 환경시료 중 여러고리 방향족 탄화수소들을 분석하기 위해서는 시료의 추출 및 정제과정이 필수적이다. 시료의 전처리는 시료의 종류에 따라 다양한 방법들이 개발되어 있다. 우선 시료의 추출과정은 속슬레(S Soxhlet)<sup>12,13</sup> 추출방법이 널리 사용되고 있다. 그러나 이 방법은 추출율이 높은 반면, 많은 유기 용매의 사용과 추출시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 최근에 개발된 방법으로는 용매 가속화 추출법(accelerated solvent extraction, ASE)<sup>14,15</sup>과 초임계 유체 추출법(supercritical fluid extraction, SFE)<sup>16,17</sup>이 있다. 이들 추출법은 유기 용매를 적게 사용하고 추출 시간이 단축된다는 장점이 있는 반면, 높은 추출율을 얻기 위하여 온도와 압력을 잘 조절해야 하며 또한 적절한 용매의 선택도 중요한 요인이 되며, 약간의 수분이 있어도 회수율이 급격히 떨어지는 단점이 있다. 초음파 추출법은 속슬레 추출법과 회수율의 차이는 별로 없고, 추출시간은 용매 가속화 방법이나 초임계 유체 추출법보다는 길지만, 속슬레 추출법보다는 짧다. 초음파 추출법은<sup>18,19</sup> 약간의 수분이 있어도 회수율에는 영향이 적고, 복잡한 추출조건 없이 쉽게 추출을 할 수 있다.

또한 시료의 성상에 따라 다양한 정제방법이 있으나 고체상 시료의 정제방법으로는 비교적 극성이 강한 고정상을 가진 프러리실(Fluorisil)<sup>20</sup>, 실리카젤(silica gel)<sup>21</sup> 및 알루미나(alumina)<sup>22</sup> 컬럼 방법이 많이 사용되고 있다. 이들은 비교적 비극성인 여러고리 방향족 화합물과 극성 방해물질의 분리에 매우 효과적이다. 그러나, 이들 컬럼을 준비하고 활성화시키는 데 많은 시간이 걸리는 단점이 있으므로, 상업적으로 판매하는 고체상 카트리지가 방법을 사용하면 적절한 정제효율과 분석시간을 단축시킬 수 있는 장점이 있다.

본 실험의 목적은 해저 퇴적물 내에 존재하는 극미량의 여러고리 방향족 탄화수소류를 초음파 추출법과 실리카 카트리지가 정제법을 이용한 간편한 방법으로 정확하고 신속한 분석방법을 개발하고, 실제 시료에 적용하여 여러고리 방향족 탄화수소류를 정확하게 정량 분석하는 데 있다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시 약

사용된 여러고리 방향족 탄화수소의 표준물질과 내부 표준물질, 회수율 표준물질은 Supelco사의 표준물질 혼합용액과, 중수소로 치환된 여러고리 방향족 탄화수소인 naphthalene-d<sub>8</sub>, acenaphthene-d<sub>10</sub>, phenanthracene-d<sub>10</sub>, chrysene-d<sub>12</sub> 및 perylene-d<sub>12</sub>을 사용했고, 이 표준물질 혼합용액을 실험에 적당한 농도로 만들어 사용하였다. 실험에 사용된 추출용매인 이염화메탄(methylene chloride)은 B&J사의 HPLC grade를 사용하였고, 용리 용매로 사용된 헥산(hexane)과 에틸아세테이트(ethyl acetate), 톨루엔(toluene)도 B&J사의 HPLC grade를 사용하였다. 해저 퇴적물 층에서 많이 발견되는 황 원소와 유기 황 화합물을 제거하기 위해서 사용한 구리 분말은 Junsei Chemical Co, Ltd의 것을 사용하였다. 구리 분말을 사용하기 전에 활성화시키기 위하여 6N HCl과 n-헥산으로 불순물을 제거한 후 100°C 오븐에 보관한다. 본 실험에서 사용된 모든 유리기구들은 세정제로 세척하고, 아세톤, 메탄올 및

hexane)으로 세척하여 유기물을 제거하고 180°C 오븐에 건조하여 사용하였다.

## 2.2. 추출과 정제

고운 분말(mesh size 200 정도)로 만든 해저 퇴적물 10 g을 취했다. 여기에 활성화시킨 구리 분말 0.5 g을 넣어 주었다. 구리 가루는 모든 퇴적물 층에 존재하는 황 원소나 유기 황 화합물을 제거하기 위해서 사용하였다. 준비한 침전물과 구리 가루에 50 ml 이염화메탄을 넣고 20분씩 두 번 초음파 추출기(5210R-DTH Branson Inc. Co)로 추출하였다. 추출시 휘발성이 강한 여러고리 방향족 탄화수소의 손실을 줄이기 위해서 알루미늄 호일을 이용해서 비이커 윗 부분을 막아주었다. 추출이 끝나면 거름종이를 이용해서 여과한 후 Buchi의 회전농축기(rotary vacuum evaporator)로 농축시켰다.

농축시킨 유기 추출액에서 불순물을 제거하기 위해서 고체상 추출 카트리지를(solid-phase cartridge, Sep-Pak silica-2g, Waters Co.)로 정제하였다. 정제하기 전 고체상 추출 카트리지를 활성화시키기 위하여 hexane과 에틸아세테이트를 8:2로 섞은 용액 30 ml로 흘려준 후에 다시 hexane 30 ml로 흘려주었다. 고체상 추출 카트리지를 완전히 건조시킨 후 농축시킨 유기 추출액을 적하시켰다. hexane 40 ml를 이용하여 용리시켰다. 용리시킨 용매를 회전농축기를 사용하여 2 ml정도 남을 때까지 농축시키고 5 ml 바이알(vial)로 옮겼다. 바이알에 질소를 약하게 불어 넣어서 농축시킨 후 용매를 toluene으로 바꿔 주었다. 이때 질소를 세게 불어 넣어주게 되면 휘발성이 강한 여러고리 방향족 탄화수소의 손실이 커지게 되므로 주의를 요한다.

## 2.3. 기체 크로마토그래피 / 질량 분석기

기체크로마토그래피 - 질량분석기로는 Fisons-8000 시리즈 기체 크로마토그래피와 Trio-1000 사중극자분석관(quadrupole) 질량분석기(Fisons Inst., Manchester, U.K.)로 구성되어진 것을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 컬럼은 DB-5MS cross linked 5% phenyl methylsilicone fused-silica capillary

column(30m x 0.25 mm I.D., 0.25um film thickness)을 사용하였다. 컬럼은 이온원과 직접 연결되어 있다. 오븐 온도는 처음에 100°C에서 3분 동안 머물게 한 후 1분당 15°C씩 올려 230°C까지 올린 후 다시 1분에 5°C씩 올려 260°C까지 올리고 3분 동안 머물게 하였다. 다시 1분당 10°C씩 올려 310°C까지 올리고 10분 동안 머물게 하였다.

시료 주입방법은 비분할 주입법(splitless)을 사용하였다. 운반기체는 헬륨(99.999%)을 사용했고, 유속은 0.9 ml/min로 흘려주었다. 시료 주입구의 온도, 연결부분의 온도, 이온원의 온도는 각각 260°C, 270°C, 200°C로 맞추었다. 이온화 전압을 70 eV 가하여 생성된 이온들은 일정 질량 범위를 검색하는 부분 스캔(partial scan) 방법과 특정 질량을 가지는 이온만을 선택하여 검출하는 방법(selected ion monitoring, SIM)을 사용하여 분석하였다. SIM 방법에서 사용된 이온들은 각 화합물의

**Table 1.** Four selected ion groups used in SIM mode.

Group 1.	5.0 min - 8.0 min naphthalene (m/z 128), naphthalene-d <sub>8</sub> (m/z 136)
Group 2.	8.0 min - 13.5 min acenaphthylene (m/z 152), acenaphthylene (m/z 154), fluorene (m/z 166) and acenaphthylene-d <sub>10</sub> (m/z 164) anthracene (m/z 178) phenanthracene (m/z 178) and phenanthracene-d <sub>10</sub> (m/z 188)
Group 3.	13.5 min - 22.0 min fluoranthene and pyrene (m/z 202), benzo[a]anthracene and chrysene (m/z 228), chrysene-d <sub>12</sub> (m/z 240)
Group 4.	22.0 min - 30.0 min benzo[a]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, benzo[e]pyrene, benzo[a]pyrene and perylene (m/z 252), and perylene-d <sub>12</sub> (m/z 264), indeno(1,2,3-cd)pyrene and benzo(g,h,i)perylene (m/z 276), dibenz(a,h)anthracene (m/z 278)

Molecular ions, m/z values, were used in selected ion monitoring (SIM) mode.

분자이온(molecular ion)을 선택하였고, 이들의 감도를 높이기 위하여 머무름(retention time)에 따라 4 개의 그룹으로 나누어 검색하였다. Table 1은 SIM 방법에서 사용한 선택 이온들을 실었다.

### 3. 결과 및 고찰

PAH류의 GC/MS 분석에 있어서, 이들의 기체 크로마토그래프 성질은 초기온도 및 사용된 용매에 많은 영향을 받는다. 특히 분자량이 큰 PAH류는 용매에 따라 그들의 감도가 100 배 까지 차이나는 경향을 보이고 있다. Fig. 1은 각 20 ng 씩 함유하는 표준물질 18 가지의 PAH류 혼합물을 각각 이염화메탄과 톨루엔을 용매로 사용하여

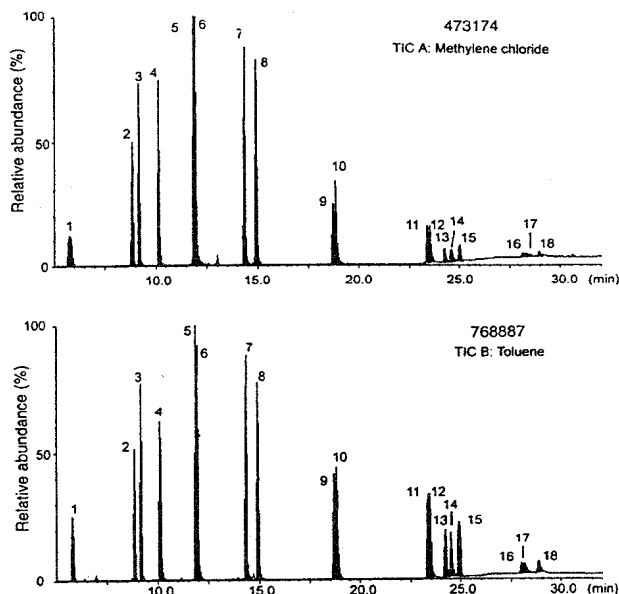


Fig. 1. Total ion chromatograms of each 20 ng of PAHs mixture dissolved in (a) methylene chloride and (b) toluene, respectively.

Identify : 1) naphthalene 2) acenaphthylene  
3) acenaphthene 4) florene  
5) anthracene 6) phenanthracene  
7) fluoranthene 8) pyrene  
9) benzo[a]anthracene 10) chrysene  
11) benzo[b]fluoroanthene 15) perylene  
16) indeno(1,2,3-cd)pyrene  
17) dibenzo(g,h)anthracene  
18) benzo(g,h,i)perylene

GC/MS 스캔방식으로 얻은 크로마토그램이다. 이 염화메탄을 사용하였을 때, 4 개 이상의 방향족 고리(aromatic ring)를 가진 PAH류는 매우 낮은 감도를 나타내었고, 특히 6 개 고리구조를 갖는 PAH류는 매우 낮은 감도를 나타내었다. Fig. 1에서 보듯이, 톨루엔을 사용하였을 때와 이염화메탄을 사용하였을 때를 비교해 보면 4 개의 고리를 갖는 PAH류에 비해 약 2.5 배, 5 개의 고리를 갖는 PAH류에 비해 약 3.5 배, 6개의 고리를 갖는 PAH류는 5 배 정도로 톨루엔을 사용하면 높은 감도를 보여준다. 따라서 시료 전처리 후 GC/MS로 분석할 때 최종 용매를 톨루엔으로 사용하는 것이 바람직하다. Table 2는 본 연구에서 사용한 PAH류의 기체 크로마토그래프 머무름 시간과 질량분석기에서 얻어진 특성 토막이온들에 대한 정보를 실었다. 이들의 머무름 시간은 그들의 화학적 구조, 즉 고리의 개수가 증가함에 따라 증가한다. 이들의 머무름 시간 거동은 van der Waals 상호작용 과 분자구조에 밀접한 관계가 있다고 보고되었다.<sup>23</sup> 본 실험 조건에서도, 같은 분자량과 환의 개수를 갖는 이성질체들이 잘 분리되었다. Inden(1,2,3-cd)pyrene과 dibenzo(g,h,i)anthracene이 크로마토그램상에서 약간 겹쳐서 나타나지만, 이들은 질량 스펙트럼상에서 서로 다른 분자이온을 나타내므로 정량과 정성분석시 상호간의 간섭에 따른 영향을 받지 않는다.

PAH류에 대한 질량 스펙트럼들은 많은 연구자들에 의해 널리 보고되었다.<sup>24-26</sup> 특히 전자충돌(electron impact, EI) 이온화 방식으로 얻어진 PAH류의 스펙트럼들은 주로 분자이온과  $(M-1)^+$  또는  $(M-2)^+$  이온들이 매우 강한 세기로 나타나고, 다른 토막이온들은 매우 약한 세기로 나타나는 특성이 있다. 이는 방향족 화합물의 이온들이 매우 안정한 양이온을 가지고 있기 때문이다. 같은 분자량을 갖고 같은 고리 수를 갖는 PAH류 이성질체들은 (예를 들면, anthracene과 phenanthracene, chrysene과 benzoanthracene, benzofluoroanthene과 benzopyrene, indenopyrene과 benzoperylene) 거의 같은 질량 스펙트럼들을 나타내지만, 기체 크로마토그래프상에서 서로 다른 머무름 시간을 갖기 때문에 이들의 구분이 가능하다. 실제 퇴적물

**Table 2.** Retention times (RT) and mass spectral characteristic ions of PAHs.

Compound	RT(min)	M.W.	Characteristic Ion(m/z, %)
1. naphthalene	5.78	128	128(100)
IS naphthalene-d <sub>8</sub>	5.77	136	136(100) 108(12)
2. acenaphthylene	8.85	152	152(100) 76(14)
3. acenaphthene	9.17	154	154(100) 153(85) 76(31)
IS acenaphthene-d <sub>10</sub>	9.14	164	164(100) 162(78) 132(12)
4. fluorene	10.13	166	166(100) 165(75) 82(22)
5. anthracene	11.83	178	178(100) 176(12) 89(11)
6. phenanthracene	11.93	178	178(100) 176(12) 89(11)
IS phenanthracene-d <sub>10</sub>	11.84	188	188(100) 160(20)
7. fluoranthene	14.33	202	202(100) 101(22) 200(15)
8. pyrene	14.88	202	202(100) 101(21) 200(14)
9. benzo[a]anthracene	18.73	228	228(100) 114(20) 224(19)
10. chrysene	18.85	228	228(100) 226(24) 113(14)
IS chrysene-d <sub>12</sub>	18.75	240	240(100) 120(30)
11. benzo[b]fluoranthene	23.42	252	252(100) 250(22) 126(13)
12. benzo[k]fluoranthene	23.52	252	252(100) 126(28) 250(20)
13. benzo[e]pyrene	24.46	252	252(100) 126(25) 250(23)
14. benzo[a]pyrene	24.60	252	252(100) 126(23) 250(22)
15. perylene	24.81	252	252(100) 126(24) 250(24)
IS perylene-d <sub>12</sub>	24.74	264	264(100) 262(25)
16. inden(1,2,3-cd)pyrene	28.17	276	276(100) 138(33) 274(18)
17. dibenz(a,h)anthracene	28.34	278	278(100) 139(28)
18. benzo(g,h,i)perylene	28.99	276	276(100) 138(32) 274(21)

M.W.: molecular weight, ( ): relative abundance, %

시료에서는 PAH류가 수 ppb(parts per billion) 또는 ppt(parts per trillion)로 존재하므로, 이들의 검출을 위하여 각 PAH의 분자이온을 선택하여 연속적으로 검색하는 선택이온 검색법(selected ion monitoring, SIM)이 매우 유용하다. SIM법은 이온의 선택성으로 방해물질들의 피이크들은 크게 감소시키고 반면 PAH류의 피이크의 감도는 크게 증가시킨다. 따라서 본 실험에서 각 PAH들의 검출한계(detection limit)를 부분스캔방식 과 선택이온 방식에 의한 얻은 값을 Table 3에 실었다. Table 3에서 보듯이, 여러고리 방향족 탄화수소류의 구조와 분자량의 크기에 밀접한 관계가 있는 것으

**Table 3.** Detection limits of 18 PAHs obtained with GC-MS-scan mode and -SIM mode at signal to noise ratio 5.

Compound	scan(ng)	SIM(pg)	RRF
1. naphthalene	0.5	7.3	0.76
2. acenaphthylene	0.5	7.5	0.53
3. acenaphthene	0.5	7.2	0.61
4. fluorene	0.6	8.9	0.48
5. anthracene	0.2	6.7	1.01
6. phenanthracene	0.2	7.4	1.10
7. fluoranthene	0.3	8.8	0.87
8. pyrene	0.3	9.4	0.79
9. benzo[a]anthracene	0.5	16.5	0.48
10. chrysene	0.4	16.8	0.49
11. benzo[b]fluoranthene	0.6	31.5	0.37
12. benzo[k]fluoranthene	0.4	33.1	0.35
13. benzo[e]pyrene	0.5	45.5	0.19
14. benzo[a]pyrene	0.5	46.0	0.18
15. perylene	0.4	41.2	0.20
16. inden(1,2,3-cd)pyrene	1.6	97.6	0.028
17. dibenz(a,h)anthracene	2.3	112.9	0.007
18. benzo(g,h,i)perylene	1.7	92.5	0.031

Relative response factors (RRFs) were calculated by the peak area of 10 ng of each PAH into the peak area of 10 ng of anthracene-d<sub>10</sub> using GC-MS-partial scan mode.

RRF = (concentration of each standard PAH / concentration of anthracene-d<sub>10</sub>) x (area of anthracene-d<sub>10</sub> / area of each standard PAH)

로 나타났다. 또한 검출한계는 주입된 시료의 양 과 시료 주입시 분할 또는 비분할 방식에 따라서도 많은 영향을 받는다. 부분 스캔방식으로는 약 0.2 - 2.3 ng 정도였고, 방향족 고리 6 개를 갖는 indeno(1,2,3-cd)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene 및 benzo(g,h,i) perylene들이 높은 검출한계의 값을 나타냈다. 또한, SIM 방식으로 얻은 검출한계 값은 선택되는 이온들의 갯수나 그룹의 수에 따라 변화될 수 있다. 현 실험 조건에서 SIM 방식은 부분 스캔방식에 비해 100 배정도 높은 감도를 나타내고, 부분 스캔모드와 비슷하게 방향족 고리 6 개를 갖는 PAHs류가 높은 검출한계를 보여주었다. 또

한 Table 3에서 anthracene-d<sub>10</sub>을 사용하여 각 PAH류에 대한 상대 감응도(relative response factor, RRF)를 계산하였다. 상대 감응도의 계산 결과 anthracene과 phenanthracene이 가장 높은 감도로 나타났고, PAH류의 이성질체들의 상대 감응도는 구조에 따라 비슷한 결과를 보여주었다.

초음파 추출법으로 추출한 유기 용매를 정제과정과 활성 구리 분말 처리 없이 농축 후 기체 크로마토그래프-질량분석기로 분석하였을 때, 얻어진 TIC(total ion chromatogram)을 Fig. 2에 보여 주었다. Fig. 2 A에서 보듯이, 활성 구리 처리 없이 얻어진 TIC에서는 황 분자(sulfur molecule, S<sub>8</sub>)가 머무름 시간 12-14.2 분에 걸쳐 상당히 많은 양이 검출되었고, 이 화합물은 PAH류의 검출에 있어서 주요 방해물질로 존재한다. 일반적으로 이러한 황 화합물은 모든 해저갯벌 시료에 존재하고 있으며, 이들의 제거는 tetrabutylammoniumhydrogen sulfate<sup>27</sup>, element mercury<sup>28</sup> 및 activated copper<sup>29</sup>의 처리로 가능하다. 그러나 tetrabutylammoniumhydrogen sulfate은 시료 전처리 후 GC/MS 분석 시 크로마토그램 상에서 방해물질로 나타날 수 있으며, element mercury는 독성이 있으므로 사용하기 어려운 점이 있다. Fig. 2 B는 활성화 구리 처리 후 얻어진 TIC이다. 활성화 구리 처리로 대부분의 황 분자는 제거되었고, 이는 구리와 황이 쉽게 반응하여 Cu-S 착화합물이 형성됨으로서 쉽게 제거할 수 있을 것으로 보여진다. 황 화합물 외에, alkylphenols, aliphatic chain aromatic 화합물 및 alkylcyclohexadiene류 등 여러 가지 방해물질들이 존재하고 있다. 따라서, 이들 방해물질과 PAH류의 분리는 실리카 컬럼에 비교적 비극성 용매를 사용하면 많은 방해 물질의 제거가 가능하였다. 실리카 컬럼은 실리카 기질에 많은 수산화기(hydroxyl group)가 치환되어 있어 초음파 추출기에서 추출된 극성 화합물들은 수산화기와 강한 상호작용을 하고 있으므로 낮은 극성의 용매로는 용출되지 않는다. 반면 PAH류는 비극성이므로 실리카 컬럼과 매우 약한 상호작용을 하고 있으므로 비교적 약한 극성을 갖는 용매로 용출시키면 극성 방해물질과 분리가 가능하다.

회수율 실험을 위하여, 유기 화합물이 제거된 모

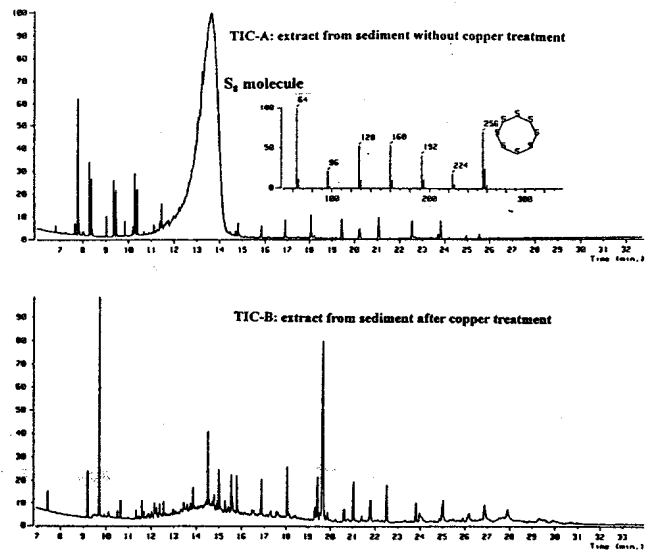


Fig. 2. Total ion chromatograms obtained from sediment extracts without copper treatment (A) and after copper treatment (B).

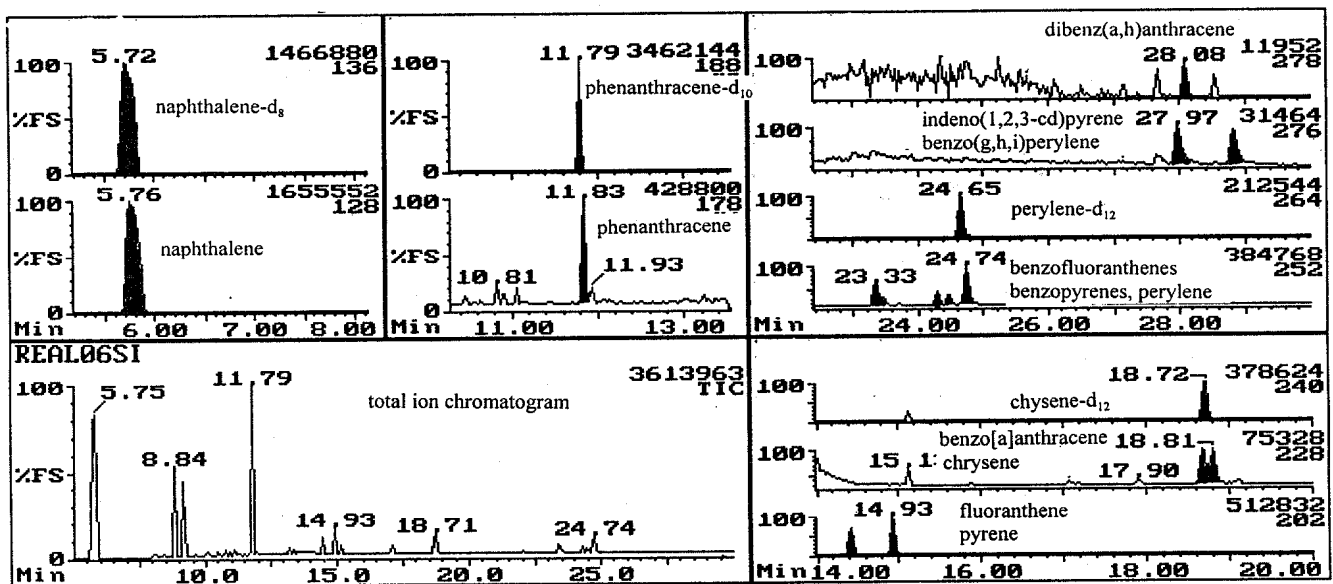
래 시료에 각 100 ng을 함유하는 18 가지 PAH류 혼합액을 첨가한 후 50 mL 이염화메탄을 추출 용매로 사용하고, 초음파 추출기로 추출하고 실리카 카트리지를 통해 정제하였을 때, Table 4에서 보듯이 모두 90% 이상의 회수율을 얻었다. 톨루엔은 PAH류에 대한 용해도가 좋은 반면 끓는 점이 높아, 추출액을 회전 진공 농축기로 농축시키는 과정에서 휘발성이 강한 naphthalene 및 acenaphthylene은 약 50% 이상의 손실이 생기므로, 따라서 톨루엔은 본 실험의 추출 용매로서 적합하지 않았다. 반면에 이염화메탄을 추출용매로 사용하면, 시료 농축시간이 짧아지고, 휘발성이 강한 PAH류의 손실이 적어진다. 그러나, 이들 추출액을 완전히 건조시키면 이들 화합물의 손실이 생기므로 약 3 mL 정도 남았을 때, 다른 10 mL 시험관으로 옮기고 약한 질소로 건조시키면 이러한 현상을 막을 수 있다. 그러나, 비교적 끓는 점이 높은 화합물은 시료 농축과정에서 큰 영향을 받지 않았다. 현실 실험방법으로 전체적으로 90% 이상의 회수율을 얻을 수 있었으며, 이 방법으로 복잡한 매트릭스를 갖는 해저갯벌시료에 적용하였을 때 좋은 회수율과 많은 방해물질을 제거하여 PAH류의 정확한 정량 및 정성분석을 하는데 효과적이었다.

**Table 4.** Recovery yields of PAHs in spiked sandy samples by GC-MS-SIM mode.

Compound	recovery ± rsd (%)
1. naphthalene	91.2 ± 4.1
2. acenaphthylene	93.7 ± 3.1
3. acenaphthene	95.5 ± 2.5
4. fluorene	94.5 ± 2.5
5. anthracene	95.7 ± 7.6
6. phenanthracene	96.2 ± 6.2
7. fluoranthene	94.4 ± 7.7
8. pyrene	96.8 ± 11.1
9. benzo[a]anthracene	106.8 ± 2.8
10. chrysene	94.2 ± 3.6
11. benzo[b]fluoranthene	113.6 ± 5.3
12. benzo[k]fluoranthene	94.3 ± 4.9
13. benzo[e]pyrene	99.2 ± 5.3
14. benzo[a]pyrene	107.1 ± 4.2
15. perylene	91.8 ± 5.3
16. inden(1,2,3-cd)pyrene	128.6 ± 9.3
17. dibenz(a,h)anthracene	118.2 ± 5.8
18. benzo(g,h,i)perylene	113.0 ± 1.3

rsd: relative standard deviation

본 실험 방법을 국내 실제 해저 퇴적물 시료에 적용하여 효율성을 검사하였다. Fig. 3은 해저 퇴적층 시료를 본 실험 방법으로 추출 및 정제 후 GC/MS-SIM방식으로 얻어진 TIC와 SIM 크로마토그램이다. Fig. 3에서 보듯이, PAH류의 피크들이 방해물질 피크에 간섭받지 않고 잘 분리되었다. Fig. 3의 이온 크로마토그램(ion chromatogram) m/z 128과 m/z 136에서 보듯이, GC-MS-SIM 검색에서 그룹 1에 속하는 naphthalene의 경우 m/z 128 이온 크로마토그램에서 5.76min과 그의 내부 표준물질인 naphthalene-d<sub>8</sub>이 m/z 136 이온 크로마토그램에서 5.72 min에 검출되었다. 그룹 2의 PAH류 중 phenanthracene의 m/z 178 이온 크로마토그램에서 머무름 시간 11.83 min에서 검출되었고 그의 중수소 치환 내부 표준물질인 phenanthracene-d<sub>10</sub>이 m/z 188 이온 크로마토그램에서 11.79 min에서 검출되었다. 그룹 3에서는 m/z 202 이온 크로마토그램에서 fluoranthene과 pyrene이 각각 18.78과 18.81 min에서 검출되었고, benzo[a]anthracene과 chrysene이 m/z 228 이온 크로마토그램에서 검출되었고 그의 내부 표준물질인 chrysene-d<sub>12</sub>가 m/z 240 이온 크로마토그램에서 18.72 min에서 검출되었다. 그룹 4에서는 m/z



**Fig. 3.** Typical SIM chromatograms of PAHs detected in a real sediment sample.

252 이온 크로마토그램에서 5 가지의 PAH류가 검출되었는데 그들은 각각 benzo[a]fluoranthene, benzo[k]fluoranthene, benzo[a]pyrene, benzo[e]pyrene 및 perylene이다. 그리고 6 개의 환구조를 갖는 indeno(1,2,3-cd)pyrene과 benzo(g,h,i)perylene은 m/z 276 이온 크로마토그램에서 매우 적은 양으로 검출되었고, dibenz(a,h)anthracene은 m/z 278에서 28.08 min에서 매우 적은 양으로 검출되었다. Fig. 3에서 보듯이, 추출 및 정제된 PAH류가 다른 방해 물질에 전혀 영향받지 않고 매우 잘 검출되었다. 따라서 GC/MS-SIM 방식으로 PAH류의 감도를 높일 뿐만 아니라 선택성을 높일 수 있었다.

GC/MS-SIM 방법으로 검출된 피크를 보다 정확한 정성분석을 하기 위하여 질량스캔을 100-300 amu 범위로 조사하면, 그들의 분자이온 범위에서 강한 세기의 스펙트럼을 관찰 후 정성분석의 좀 더 확실한 확인이 가능하다. 때때로, 낮은 질량 토막이온은 PAH류를 확인에 도움을 주지만, 실제 시료에서는 매우 낮은 농도로 존재하기에 토막이온들을 볼 수 없다. 한 예로써 Fig. 4는 해저 바닥 층에서 추출 정제한 피크의 GC/MS-부분스캔 방법으로 얻어진 질량 스펙트럼들이다. Fig. 4에서 보듯이, naphthalene, phenanthracene, chrysene 및

perylene의 분자이온(molecular ion) 피크인 각각 m/z 128, 178, 228 및 252에서 강하게 관측되어 GC/MS-SIM 방식에서 검출된 피크를 보다 확실히 정성분석이 가능하다. 이와 같이 GC/MS-부분스캔방식으로 검색하면 환경시료 중 수 ppb 수준으로 존재하는 다환 방향족 탄화수소류의 분자이온 스펙트럼을 확연히 볼 수 있으므로 이 방법을 다양한 환경시료에 적용하여 보다 확실한 정성분석이 가능하다.

실제 해저 퇴적물 시료 내에 존재하는 미량의 PAH류의 정량분석은 GC/MS-SIM 방식으로 검출된 각 이온 크로마토그램상에서 검출된 PAH류의 피크의 면적과 각 중수소 치환된 내부 표준물질 피크의 면적의 비를 계산함으로써 정확한 정량값을 얻을 수 있다. 각 그룹에서 사용된 내부 표준물질을 1ug을 넣고 PAH류의 농도를 0.1 ug - 50 ug 범위에서 검량선을 최소자승법(least square method)으로 얻은 결과를 Fig. 5에 실었다. Fig. 5에서 보듯이, 중수소치환 내부 표준물질을 사용하여 대표적인 4 가지 PAH류에 대해서 넓은 농도범위에서 좋은 직선성을 얻었다. 일반적으로 동위원소로 치환된 내부 표준물질을 사용하면 분석하고자 하는 화합물과 화학적, 물리적 성질이 거의 비

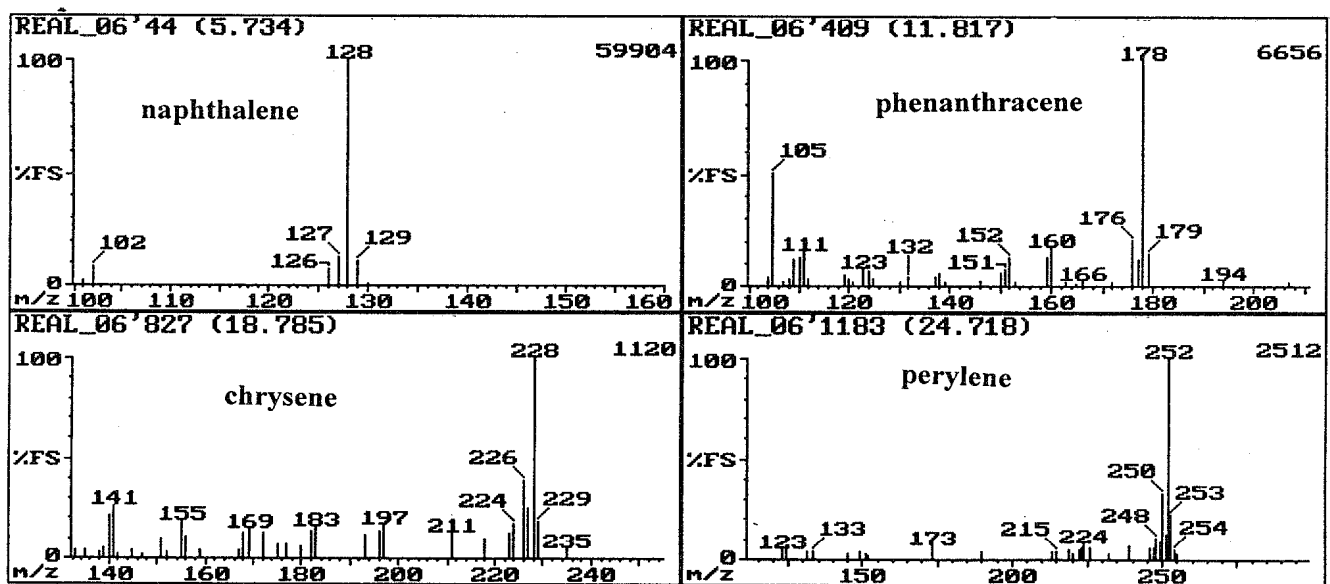


Fig. 4. Mass spectra of naphthalene, phenanthracene, chrysene and perylene obtained from a real sediment sample using partial scan mode.

숫하기 때문에 GC/MS 정량분석에서 비교적 정확한 정량분석 값을 얻을 수 있었다. 이와 같이 본 분석법으로 실제 해저 퇴적물 시료 내에 존재하는 PAH류를 비교적 정확하게 정량, 정성분석하여 해저 환경의 영향 평가를 하는 데 사용할 수 있다.

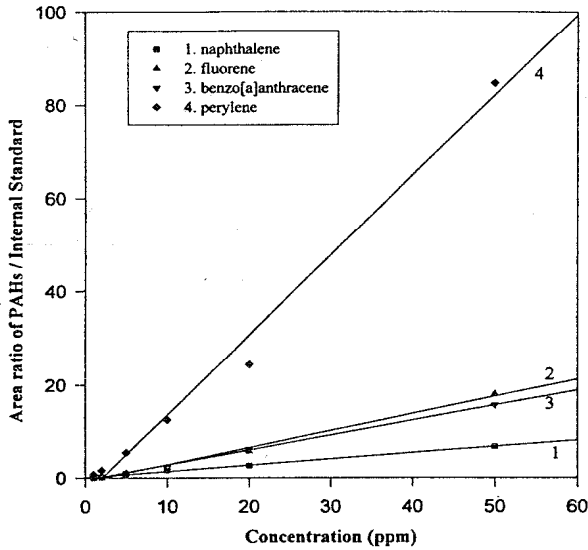


Fig. 5. Calibration curves of typical PAHs constructed using by dueterium labeled internal standards.

#### 4. 결론

18 종의 여러고리 방향족 화합물들은 기체크로마토그래프 조건에서 모두 잘 분리되었고, 30분 내에 모두 용리되었다. 이들 화합물은 기체 크로마토그래프 성질은 용매에 매우 민감하게 의존하였고, 이염화메탄과 톨루엔을 비교하였을 때 톨루엔이 매우 좋은 감도를 나타내었다. 본 분석 방법인 초음파 추출법과 상업용 실리카 카트리지를 정제방법은 분석시간을 크게 줄일 수 있었으며, 실제 환경 시료인 해저 퇴적물 시료에서 만족할 만한 회수율과 정제를 이룰 수 있었다. 또한 분석의 정확성을 높이기 위해 내부 표준물질로 중수소 치환된 화합물을 사용하였고, 이들의 검출을 위해 기체 크로마토그래프-질량분석기-선택이온 검색법으로 정량분

석을 하였으며, 또한 기체 크로마토그래프-질량분석기-선택이온 검색법에서 검출된 피이크를 확인하기 위하여 부분스캔 방법을 이용하여 이들의 분석 정확성을 높였다. 본 실험방법에서는 고리 수에 따른 5 가지의 중수소 치환 내부 표준물질을 사용하여 각 PAH들의 농도를 비교적 정확히 측정할 수 있었다. 따라서, 본 분석법은 해저퇴적물 시료 외에 토양, 소각장의 바닥재, 분진 등 다양한 환경 시료에 존재하는 극 미량 PAH류를 분석하는 데 적용할 수 있을 것이다. 이러한 정확한 정량 및 정성분석 결과를 토대로 환경오염 영향 평가에 기여할 수 있을 것이다

#### 감사의 글

본 연구는 환경부의 '98 연안 지서환경 건강 영향평가 기술(과제번호: 98-9412)로 수행된 연구 결과의 일부이며, 지원하여 주신 환경부에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1. G. Grimmer and H. J. Brunce, *Natl. Cancer Inst.*, **1987**, 78(5), 935.
2. J. Konig, E. Balfanz, W. Funcke and T. Romanowski, *Anal. Chem.*, **1983**, 55, 599-603.
3. J. G. Andelman and J. E. Snodgrass, "Incidence and Significance of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the Water Environment" *CRC Critical reviews in environmental control*, **1974**, 4, 69.
4. J. J. Freeman, R. H. McKee and R. D. Phillips, *Toxicol. Ind. Health*, **1990**, 6(3-4), 475-483.
5. M. T. Strosher and G. W. Hodgson, "Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Lake Water and Associated Sediments. Analytical Determination by GC/MS" Philadelphia, American Society for Testing and Materials, **1975** (Water Quality Parameters, *ASTM STP* 537 pp. 259-270).
6. C. Yan, R. Daddo and R. N. Zare, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 2026-2029.
7. T. C. Gerbino, G. Castello and U. Pettinati, *J.*

- Chromatogr.*, **1993**, 634, 338-344.
8. D. T. Rossi, D. J. Destilets and H. L. Pardue, *Anal. Chim. Acta*, **1984**, 161, 191-199.
  9. L. W. Hershberger, J. B. Cellis and G. D. Christian, *Anal. Chem.*, **1981**, 53, 971-975.
  10. W. C. Brumley, C. M. Browndigg and G. M. Brilis, *J. Chromatogr.*, **1991**, 558, 223-233.
  11. S. L. VanOrden, M. E. Malcomson and S. W. Buckner, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 246, 199-210.
  12. V. Lopez-Avila, K. Bauer, J. Milanes and W.F. Beckert, *J. AOAC Int.* **1993**, 76, 864-880.
  13. M. Moller and I. Alfheim, *Environ. Sci. & Technol.*, **1982**, 16, 221-225.
  14. B. E. Richter, B. A. Jones, J. L. Ezzell, N. L. Porter, N. Advalovic and C. Pohl, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 1033-1039.
  15. M. D. David and J. N. Seiber, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 3038-3044.
  16. T. S. Oostdky, R. L. Grob, J. L. Snyder and M. McNally, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 596-600.
  17. S. B. Hawthorne, *Anal. Chem.*, **1990**, 62, 633A-642A.
  18. G. A. Eiceman, A. C. Viau and F. W. Karasek, *Anal. Chem.*, **1980**, 52, 1492-1496.
  19. C. Golden and E. Sawichi, *Anal. Lett.*, **1978**, A11, 1051-1062.
  20. H. G. Kicinski, S. Adamel and A. Kettrup, *Chromatographia*, **1989**, 28, 203-209.
  21. Ph. Garrigues and J. Bellocq, *J. High Resolut. Chromatogr.*, **1989**, 12, 400-406.
  22. R. Leeming and W. Maher, *Org. Geochem.*, **1990**, 15, 469-475.
  23. V. A. Gerasimenko and V. M. Nabivach, *J. Chromatogr.*, **1990**, 498, 357-366.
  24. J. W. Childer, N. K. Wilson and R. K. Barbour, *Appl. Spectrosc.*, **1989**, 43, 1344-1349.
  25. M. Seym and H. Parlar, *Toxicol. Environ. Chem.*, **1991**, 31/32, 227-232.
  26. J. A. Lebo, J. L. Zajicek, T. R. Schwartz, L. M. Smith and M. P. Beasley, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **1991**, 74, 538-544.
  27. M. D. Ericson, **1986**, "Analytical Chemistry of PCBs", Butterworth Publishers, pp 164-165.
  28. L. M. Smith, D. L. Stalling and J. L. Johnson, *Anal. Chem.* **1984**, 56, 1830-1842.
  29. P. E. Mattson and S. Nygren, *J. Chromatogr.*, **1976**, 124, 265-275.