

PCDD/Fs 및 coplanar PCBs를 포함한 POPs에 대한 다성분 분석법의 개선과 생물시료에의 응용

崔宰源* · 中村裕史** · 松田宗明* · 河野公榮* · 関丙允*** · 脇本忠明*

*愛媛大學 環境計測學, **三浦工業(株) 三浦環境研究所, ***慶南大學 環境保護學科

Development of Trace Multiresidue Analytical Method of Persistent Organic Pollutants (POPs) including PCDD/Fs and Coplanar PCBs, and its Application to Biological Samples

Jae Won Choi*, Hirofumi Nakamura**, Muneaki Matsuda*, Masahide Kawano*,
Byung Yoon Min*** and Tadaaki Wakimoto*

Department of Environment Conservation, Ehime University
Tarumi 3-5-7, Matsuyama 790-8566, Japan

Department of Environmental Protection, Kyungnam University
Weolyoungdong 490, Masan 631-701, Korea

MIURA CO. LTD.

Tsuji 864-1, Hojo 799-2430, Japan

Our laboratory improved a multiresidue analytical method and applied to biological samples to determine persistent organic pollutants (POPs). A basic conception for the development of this method was to obtain the maximum information on POPs residue from the limited volume of biological samples contaminated with various pollutants. Previous method was used to only human adipose tissues and milk samples. In present study, the modified method was applied to waterfowl egg sample contained much of organic matrices. In the new method, activated carbon mixed with silicagel and solid cartridge (silicagel) were tested and applied to the further clean up.

For the determination of black-tailed gull eggs, fat was extracted in Soxhlet apparatus with CH_2Cl_2 . The recoveries of non-ortho PCBs and PCDD/Fs in fortified samples were between 54 and 122% (n=5). The residue levels of POPs in all egg samples analyzed in this study followed the order of PCBs > DDTs > CHLs = HCHs > HCB > non-ortho PCBs > PCDD/Fs. From the analysis results, relative proportions of total TEQs between non-ortho PCBs and PCDD/Fs were compared. The large proportion (>70%) of the TEQs in the eggs of black-tailed gulls from the breeding island was related to non-ortho PCBs, rather than PCDD/Fs. This implies that non-ortho PCBs are important compounds in terms of the toxicological aspects in black-tailed gull eggs.

Key words : POPs, PCDD/Fs, non-ortho PCBs, TEQ, egg.

1. 서 론

잔류유기오염물질 (Persistent organic pollutants, POPs)은 폐기물의 연소과정^{1,2)}과 화학물질의 제조

과정에서 부산물^{3,4)}로 생성되는 다이옥신류 (Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, 이하 PCDD/Fs로 표기)외에 PCBs, DDTs 등 적어도 12종이상의 화학물질이 이에 해

당된다.⁵⁾ 이 화합물들은 환경 중에 미량으로 널리 분포하고 있으며,⁶⁾ 안정된 지용성 화합물⁷⁾로서 생물환경에 있어서 먹이사슬을 통해 정점에 있는 고차 소비자인 조류, 포유류 등에게 생물농축되는 경향을 가지고 급성독성을 비롯하여 내분비계 장애 등 다양한 만성영향을 미친다.^{8,9)} 한편, 이러한 유해한 영향으로부터 POPs의 유해성 평가를 수행하는데, 미량분석의 필요성은 매우 중요하다.

POP스 중에선 특히 독성과 축적성이 강하며 측정 및 평가의 필수화합물이 되어가고 있는 PCDD/Fs와 PCB 이성체 중에서 PCDD/Fs와 유사한 물리·화학적 구조¹⁰⁾를 가지고 생물체에 잔류성과 강한 독성을 가지고 있는 것으로 알려진 coplanar PCBs (non-, mono-ortho PCBs)를 함께 분석하여 TEQ를 평가하는 방안이 WHO/IPCS에 의해 제시되고 있다.¹¹⁾ 하지만 POP스 중에는 TEQ로 평가되지 못하는 DDTs, HCHs, HCB 등의 농약류와 클로데인 화합물(CHLs) 등 수많은 유해 화합물이 환경시료에 혼합되어 잔류하고 있고, 이들의 평가를 위한 분석시간 및 경제성을 고려할 때, 한정된 시료로부터 측정하고자 하는 화학종은 점차 증가하는 추세에 있다. 또한 최근에는 GC-MS의 검출감도 및 분해능이 향상되었으나, POP스의 농도는 한 시료 내에서도 화합물에 따라 10^3 - 10^6 배나 축적농도가 다를 수 있기 때문에, 상대적으로 미량으로 존재하는 화합물과 그렇지 않은 화합물간의 분리가 매우 중요하다. 이전에 본 연구실에서 개발했던 다성분 분석법¹²⁾은 지금까지 PCDD/Fs의 분석과정에서 분리만을 목적으로 정량을 행하지 않았던 다른 유기염소화합물 (PCBs, DDTs 등)의 분석에 주목하여 이들의 정량조건을 검토하게 된 것이 그 배경이다. 이 분석의 장점은 1) 한가지 분석법을 통해 다수의 유기염소계 화합물을 검출할 수 있다는 것과 2) 비교적 클린업 단계가 적다는 것이었다.

본 연구는 팽이갈매기 번식지에 대한 POP스의 오염평가를 수행하는데 있어, 이전의 다성분 분석법에 대한 개선을 시도하였다. 기존의 대상 화합물에 대하여 새로 추가된 물질은 클로데인 화합물(chlodanes, CHLs)과, 독성등가계수(toxic equivalent factor, TEF)를 갖는 non-ortho PCBs(PCB 81, 77, 126, 169), 그리고 염화나프탈렌(polychlor-

inated naphthalenes, PCNs)이다. 또한 클린업에 있어서는 활성탄(실리카겔 혼합형) 및 고상카트리지(실리카겔) 단계를 추가하여 다이옥신류 분획 내의 교잡물을 최대한 제거하였고, 개선된 방법을 환경시료인 팽이갈매기의 알에 적용한 결과를 보고하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 각 POP스의 표준물질의 분획실험에 필요한 기구 및 클린업 제제, 표준물질

분석법은 기존의 방법¹²⁾에 근거하였고, 각 클린업 제제 및 사용된 표준물질은 다음과 같다.

2.2. 기구

크로마토컬럼 (10 mm i.d.×300 mm, 10 mm i.d.×120 mm), 컬럼헤드 (300 ml), 시험관 (10 ml), 파스퇴르 피펫, 삼각플라스크, 유리솜 등.

2.3. 클린업 시약

분획에 사용된 시약은 다음과 같다.

○ 실리카겔

Wakogel S-1(for PCB), Lot : WTP 7718.

○ 알루미늄나

MERCK Aluminium oxide 90 active basic, Lot : TA115376 618.

○ 활성탄(실리카겔 혼합형)

실리카겔은 Wakogel S-1(for PCB), Lot : WTP 7718, 활성탄은 Wako의 Charcoal, Activated, Powder, Lot : WTK 0788.

○ 固相 카트리지

Waters, Sep-Pak Silica Classic type, Lot : W8334C1.

2.4. 표준물질

각 클린업 제제에 분획용으로 첨가된 표준물질

은 다음과 같다.

- 유기염소계 농약
DDTs(*p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDD), 10ppm.
HCHs (α -, β -, γ -, δ -HCH), 10ppm.
CHLs(oxy-, trans-, cis-, trans-nona-CHL), 10ppm. HCB, 10ppm.
- PCBs(polychlorinated biphenyls)
Kanechlor 300:400:500:600 = 1:1:1:1, 10ppm.
- non-ortho PCBs(PCB 81, 77, 126, 169), 1ppm.
- PCNs (polychlorinated naphthalanes), 0.7ppm.
- PCDD/Fs (polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans) 2, 8-D2CDD, O8CDD 각 5ppm.

2.5. 환경시료 및 지방 추출법

1997년 4월에 채취된 꿩이갈매기 알 5 개를 이용하였다. 지방 추출법으로서는 알칼리성에서 추출하는 방법과 산성에서의 추출법, pH를 조정하지 않고 유기용매로 추출하는 중성법 등이 있는데, 알칼리분해법은 분석시에 방해가 되는 지질등의 분해, 제거가 가능하고 액-액분배로 추출가능한 이점이 있어, PCBs와 PCDD/Fs류의 분석에 사용되고 있다. 그러나, 농약인 DDT, BHC 등은 알칼리성 용액중에서 일부의 분해 및 소실이 확인되었기 때문에 다성분 분석법에서는 사용할 수 없었다. 또한 석유에테르와 디에틸에테르는 추출효과는 우수한 것으로 알려져 있지만, 인화성이 강한 용매를 가능한한 사용하지 않는 것이 실험의 안정성 측면에서 바람직할 것으로 생각되어, 본 연구는 비교적 지방 추출력이 강한 디클로로메탄을 추출용매로 이용하는 지방 추출법을 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 실리카겔의 분획조작 및 결과

Wakogel S-1, 3.5 g을 오븐(130°C)에 넣어 3시간 동안 활성화시킨다. 그 사이 크로마토컬럼을 준비한다. 속슬릿 장치를 이용하여, 톨루엔으로 24시간 세정하여 건조시킨 유리솜을 크로마토컬럼의

바닥에 깔고, 무수황산나트륨(Na_2SO_4 , anhydrous)으로 3-4 mm 정도의 높이로 채운다. 컬럼에 헥산을 소량 첨가하여 둔 뒤, 활성화종료시간이 되면 오븐에서 실리카겔을 꺼낸 즉시, 제제에 수분이 함유되지 않은 상태에서 헥산이 20 ml가 담긴 비이커(50 ml)에 3.1 g의 무게를 달아둔다. 컬럼의 꼭을 열고, 실리카겔을 충전한다. 파스퇴르피펫으로 비이커 속의 실리카겔을 모두 씻어 넣은 뒤, 컬럼 속의 실리카겔위에 다시 무수황산나트륨을 3-4 mm 정도 채운다. 컬럼충진이 끝나면, 헥산 4 ml에 포함된 표준물질들을 파스퇴르피펫으로 첨가하고 헥산으로 1 ml씩 3회, 3 ml를 1회씩 각각 표준물질이 들어있던 시험관을 세척하여 첨가한다. 이 과정이 끝나면 컬럼의 꼭을 열어 유속을 1 drop/sec으로 맞추어 용출시키고, 시료의 액면이 실리카겔의 윗면에 올 무렵, 헥산 200 ml를 채운 컬럼헤드를 장착하여 시험관에 10 ml 씩 받아 제 1분획을 용출한다. 각 시험관은 질소기류하에 농축하여 GC-ECD를 이용해 용출결과를 확인하였다. 각 표준물질의 용출결과는 Fig. 1과 같다.

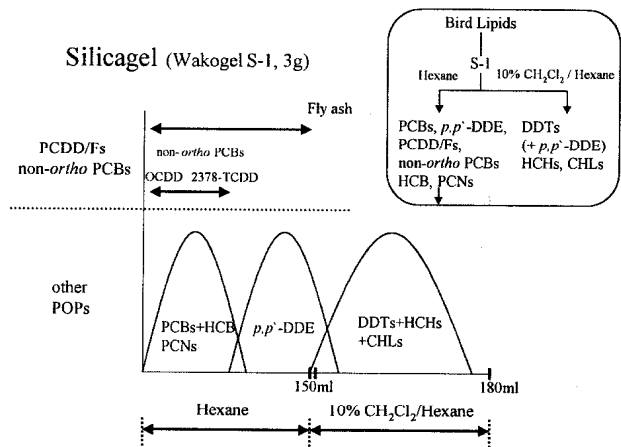


Fig. 1. Elution pattern of compounds on the silicagel column.

제 1분획의 조건에서는 D2CDD, O8CDD, PCBs (non-ortho PCBs 포함), PCNs, HCB가 헥산 150 ml 에서 용출이 종료되었다. 단, 극성이 낮은 *p,p'*-DDE는 용출이 미처 종료되지 않아서, 제 2분획에서도 한번 더 정량해야 하는 문제점이 있다. 한편, 제 1분획의 *p,p'*-DDE는 ECD의 크로마토그

램상에서 일부의 PCB 이성체와 중복되지만, 대상시료인 조류와 알시료는 *p,p'*-DDE가 고농도로 축적되어¹³⁾ 있기 때문에 실제 정량에 크게 문제되지는 않는 것으로 밝혀졌다. 이를 개선하려면 GC-MS에서 SIM모드로 측정하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 제 2분획은 디클로로메탄:헥산 = 1:9 (v/v)로 용출시키면 나머지 농약류들 (HCHs, DDTs, CHLs)은 180 ml에서 용출이 종료됨을 확인하였다. 실제 생물시료에 대해선 제 1분획은 Kuderna-Danish 농축관을 이용하여 농축 (이하 KD농축으로 표기함)하고, 질소기류하에 농축하여 4 ml로 맞춘 뒤, 알루미늄 클린업에 이용하고, 제 2분획은 농축 후, GC-ECD에서 정성 및 정량하였다.

3.2. 염기성 알루미늄의 분획조작 및 결과

이전의 분석결과¹³⁾로부터, 대상시료인 꿩이갈매기나 그 알과 같은 시료에는 PCBs가 비교적 고농도로 잔류하고 있을 것으로 예상되었다. 염기성 알루미늄의 사용목적은, PCBs와 PCDD/Fs를 분리시키는 것이며 이는 PCDD/Fs의 분석에서 매우 중요하다.¹²⁾ MERCK Aluminium oxide 90 active basic은 활성도 I인 것을 사용하였으며, 제제 5.0 g을 평량하고, 헥산 20 ml가 담긴 비이커(50 ml)에 넣어 사용하였다. 컬럼에의 충전방법은 실리카겔과 동일하며, 질소기류하에서 헥산 4 ml로 맞춘 표준물질들을 컬럼에 첨가하고, 1 drop/sec의 유속으로 제 1분획은 헥산을 300 ml 용출시켰다. 그 결과, 헥산 270 ml에서 PCBs, HCB와 *p,p'*-DDE의 용출이 종료되었음을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 제 2분획의 용매로서는 D2CDD, OCDD, non-ortho PCBs 및 PCNs의 용출을 위하여 디클로로메탄:헥산 = 1:1 (v/v)의 혼합용액을 만들어 용출하였으며, 80 ml에서 이들 화합물의 용출이 종료되었다. 제 1분획 (PCBs, HCB, *p,p'*-DDE)은 KD농축하여 GC-ECD에서, 혹은 TEF를 가지는 mono-ortho PCBs까지 피크를 분리하여 정량하고자 하면, GC-MS에서 SIM모드로 정성 및 정량하는 것이 좋을 것으로 판단된다. 또한 제 2분획 중의 PCNs도 이 단계에서 농축하여 GC-MS에서 SIM모드로 정량하였다. 본 연구에서 이용한 GC-ECD, GC-MS 및 HRGC-HRMS에

대한 기기분석조건은 Table 1과 같다. 한편, GC-MS에서의 PCBs 및 PCNs의 모니터 이온은 Table 2, 3과 같다.

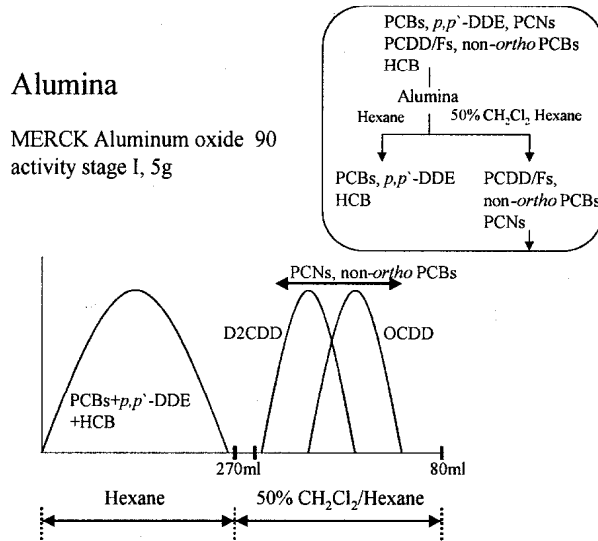


Fig. 2. Elution pattern of compounds on the alumina column.

3.3. 활성탄 (실리카겔 혼합형)의 제작 및 분획결과

실리카겔과 혼합시킨 활성탄은 다이옥신류와 같은 평면구조 화합물의 선택적인 흡착과 매트릭스 제거에 탁월한 효과를 가지고 있고,¹⁴⁾ 안정된 회수율을 얻을 수 있기 때문에 구입하여 사용하는 것은 편리하지만, 고가의 시약이다. 본 연구에서는 활성탄과 실리카겔을 각각 구입하여 혼합, 세정 후 사용하는 경제적인 방법을 사용하였다. 활성탄은 막자사발에서 갈아, 분급하여(300 mesh), 실리카겔:활성탄 = 50:1의 비율로 균일하게 섞고, 속슬렛 장치에서 24시간 세정하여 용매를 완전 건조시킨 후, 분획실험에 이용하였다. 이 제제는 다소 짧은 크로마토컬럼 (10 mm i.d.×120 mm)을 이용하여, 건조컬럼(1 g 사용)을 만들어, 0.3 ml까지 질소기류하에서 농축한 표준물질을 첨가하였다. 시료충진은 다른 컬럼과 동일한 조작이나, 콕을 열어준 상태에서 조작하며, 시료첨가종료 후, 액면이 바닥의 무수황산나트륨에 닿지 않게 하는 점이 실리카겔이나 알루미늄의 충전방법과는 다르다.

Table 1. Analytical conditions of GC-ECD, GC-MS and HRGC-HRMS.**Instrument**

GC-ECD (HP5890II GC), GC-MS (HP5890II GC - JMS-GC mate),
HRGC-HRMS (HP5890II GC - JEOL SX-102A MS)

Capillary Column

DB-1 (100% Dimethylpolysiloxane), J&W Scientific.

30m×0.25mm i.d., 0.25 μm (film thickness)

For PCBs, DDTs, HCHs, CHLs, HCB on GC-ECD (HP5890II GC)

70°C (1min)→ 180°C(20°C/min, 1min hold)→260°C(2°C/min, 7.5min hold)

Injector temp 250°C, Detector temp 300°C

For PCBs on GC-MS (HP5890II GC - JMS-GC mate)

70°C (1min)→ 180°C(20°C/min, 1min hold)→238°C(2°C/min, 3.5min hold)

Injector temp 250°C, Interface temp 250°C

DB-5 (5%-Phenyl, 95%-methylpolysiloxane), J&W Scientific.

30m×0.25mm i.d., 0.25 μm (film thickness)

For H₇CDD/Fs, O₈CDD/F on HRGC-HRMS (HP5890II GC - JEOL SX-102A MS)

100°C (1min)→ 200°C(20°C/min, 1min hold)→270°C(2°C/min)

Injector temp 250°C, Interface temp 250°C

For coplanar PCBs on GC-MS (HP5890II GC - JMS-GC mate)

100°C (1min)→ 200°C(10°C/min, 5min hold)→252°C(4°C/min, 5min hold)

Injector temp 250°C, Interface temp 250°C

For PCNs on GC-MS (HP5890II GC - JMS-GC mate)

70°C (1min)→ 180°C(5°C/min, 1min hold)→280°C(4°C/min, 1min hold)

Injector temp 250°C, Interface temp 250°C

CP-Sil 88 for dioxins (100% cyanopropyl polysiloxane), CHROMPACK.

50m×0.25mm i.d., 0.20 μm (film thickness)

For T₄CDD/Fs, P₅CDD/Fs, H₆CDD/Fs on HRGC-HRMS

(HP5890GC - JEOL SX-102A MS)

100°C (1min)→ 180°C(20°C/min, 1min hold)→240°C(4°C/min, 26.5min hold)

Injector temp 250°C, Interface temp 250°C

HRMS condition

Ion Source EI ion source

Ion Source Temp 250°C

Ionization Voltage 70eV

Accel. Voltage 10kV

Resolution ≥ 10,000 (10% valley)

Carrier Gas : He (Total flow 45ml/min), Injection Volume : 2 μl

Table 2. Monitor ions for PCBs.

Congener	Native Ions	
D ₂ CBs	222.0003	223.9975
T ₃ CBs	255.9613	257.9585
T ₄ CBs	289.9224	291.9195
P ₅ CBs	325.8805	327.8776
H ₆ CBs	359.8415	361.8386
H ₇ CBs	393.8025	395.7996
O ₈ CBs	427.7636	429.7606
N ₉ CBs	461.7246	463.7217
D ₁₀ CB	497.6827	499.6798

Table 3. Monitor ions for PCNs.

Congener	Native Ions	
M ₁ CNs	162.024	164.021
D ₂ CNs	195.985	197.982
T ₃ CNs	229.946	231.943
T ₄ CNs	263.907	265.904
P ₅ CNs	299.865	301.862
H ₆ CNs	333.826	335.823
H ₇ CNs	367.787	369.784
O ₈ CN	401.748	403.745

제 1분획에 대해서는 정성 및 정량의 대상화합물인 PCDD/Fs와 non-ortho PCBs를 제외한 디페닐 에테르류나 생체유래의 방해성분¹⁵을 제거하기 위하여 디클로로메탄:헥산 = 1:3 (v/v)의 혼합용액 40 ml를 만들어 용출하였다. 이 과정에서의 개선전과 차이점은 용출용매의 양이 이전의 60 ml에서 40 ml로 20 ml를 줄인 점이다. 그 이유는 non-ortho PCBs 중에서 PCB 77의 용출개시점이 40 ml에서 시작되었기 때문이다. 제 2분획은 톨루엔을 250 ml 용출시켜 D2CDD, O8CDD 및 4 개의 non-ortho PCBs 이성체가 200 ml에서 용출이 종료됨을 확인하였다(Fig. 3).

3.4. 고상 카트리지의 분획조건 및 결과

Waters사의 Sep-Pak (Silica, Classic type)을 이용하였으며, 본 카트리지의 사용목적은 주로 전단

Activated carbon - silicagel mixed

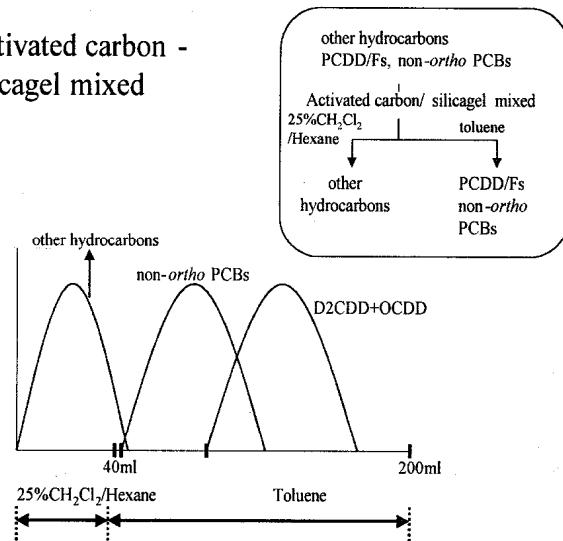


Fig. 3. Elution pattern of compounds on the activated carbon (silicagel mixed) column.

제인 활성탄 컬럼에서 유출될 가능성이 높은 미세 활성탄 입자의 제거에 있다고 할 수 있다. 활성탄 입자가 화합물을 흡착한 상태로 모세관 컬럼에 유입되면 크로마토그램의 백그라운드 및 모세관컬럼 자체의 수명을 단축시키는 악영향을 미칠 우려가 있어 이 점을 고려하였다. 헥산 약 10 ml로 내부층 진물질을 조정하고, 질소기류하에서 표준물질을 1 ml로 맞추어 첨가한 후, 헥산 1 ml로 3회 시험관을 세정하여, 컬럼에 주입하고 헥산 10 ml로 용출하여 PCDD/Fs 및 non-ortho PCBs가 이 범위에서 용출이 종료됨을 확인하였다. 이 화합물들은 미량 농축 관으로 이전된 후, HRGC-HRMS를 이용한 SIM모드로 측정하였으며, PCDD/Fs 및 non-ortho PCBs의 측정이온은 Table 4 및 5와 같다. 또한 개선된 다성분 분석법의 전체적인 흐름을 Fig. 4에 나타내었다.

3.5. 다성분의 분리·동정에 대한 고찰

각 컬럼의 정제 과정에 있어서 표준물질의 첨가량에 대한 각 화합물의 회수율에 있어서 농약류인 HCHs, DDTs, CHLs, HCB, 와 PCBs, PCNs에 대해서 90% 이상, PCDD/Fs 및 non-ortho PCBs는 70-125%의 범위로, 개선된 다성분 분석법이 양호

Table 4. Monitor ions for PCDD/Fs.

	Congeners	Monotor Ions	
Native Ions	T ₄ CDDs	319.8965	321.8936
	P ₅ CDDs	355.8546	357.8516*
	H ₆ CDDs	389.8158	391.8127*
	H ₇ CDDs	423.7766	425.7737
	O ₈ CDD	457.7377	459.7348
	T ₄ CDFs	303.9016	305.8987
	P ₅ CDFs	339.8598	341.8567
	H ₆ CDFs	373.8209	375.8178
	H ₇ CDFs	407.7818	409.7789
	O ₈ CDF	441.7428	443.7399
¹³ C ₁₂ -labeled ions	¹³ C ₁₂ T ₄ CDDs	331.9368	333.9339
	¹³ C ₁₂ P ₅ CDDs	367.8949	369.8919
	¹³ C ₁₂ H ₆ CDDs	401.8559	403.8530
	¹³ C ₁₂ H ₇ CDDs	435.8169	437.8140
	¹³ C ₁₂ O ₈ CDD	469.7780	471.7750
	¹³ C ₁₂ T ₄ CDFs	315.9419	317.9389
	¹³ C ₁₂ P ₅ CDFs	351.9000	353.8970
	¹³ C ₁₂ H ₆ CDFs	385.8610	387.8580
	¹³ C ₁₂ H ₇ CDFs	419.8220	421.8191
¹³ C ₁₂ O ₈ CDF	453.7830	455.7801	

* Possible same fragments in PCBs.

Table 5. Monitor ions for coplanar PCBs.

	Congeners	Monotor Ions	
Native Ions	T ₄ CBs	289.9224	291.9194
	P ₅ CBs	325.8804	327.8776
	H ₆ CBs	359.8415	361.8386
	H ₇ CBs	393.8025	395.7995
¹³ C ₁₂ -labeled ions	¹³ C ₁₂ T ₄ CBs	301.9626	303.9597
	¹³ C ₁₂ P ₅ CBs	337.9207	339.9178
	¹³ C ₁₂ H ₆ CBs	371.8817	373.8788
	¹³ C ₁₂ H ₇ CBs	405.8428	407.8398

한 회수율을 얻은 것을 알 수 있었다. 하지만, 한가지 분석법을 통해 많은 화합물을 검출하는 방법인 만큼 문제점이 존재한다. 실리콘의 분획에서는 우선 PCBs, PCDD/Fs와 농약을 분리하는 것이 목적이었던 점에서는 분리된 것으로 판단되었지만, *p,p'*-DDE를 2회 정량하여 합산해야 되는 문제가 있다. 또한 *p,p'*-DDE는 앞서 지적한 것처럼, ECD의 크로마토그램에서 IUPAC no. 85 (2,2',3,4,4'-CB)와 중복되었다. GC-MS에서 확인한 결과, 대상시

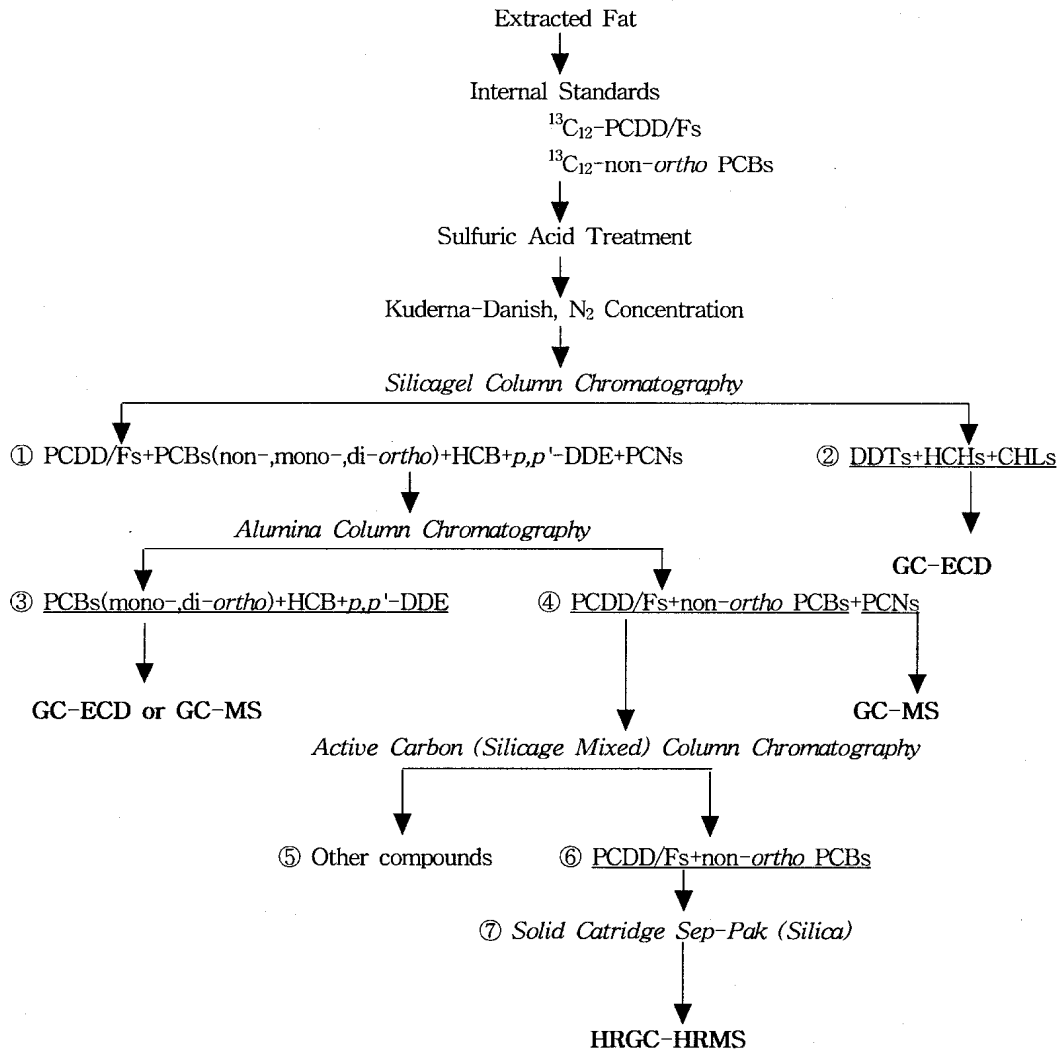
료인 조류와 알에서는 PCB 85가 거의 검출되지 않았고, *p,p'*-DDE가 고농도로 잔류하고 있기 때문에 이 방법을 사용한 정량은 문제가 되지 않을 것으로 판단되었다. 하지만, 이를 개선하고 PCBs 중의 mono-, di-*ortho* 이성체를 정량하여 TEQ 평가를 가능케하는 정량방법으로는 알루미늄 제 1분획을 농축하여 GC-MS에서 SIM모드로 측정하는 것이 바람직한 것으로 사료된다.

알루미늄을 이용한 정제 및 분획은 팽이갈매기와 같은 조류에 수 ppm이라는 상대적으로 고농도로 잔류하는 PCBs와 ppt 수준으로 잔류하는 PCDD/Fs를 분리하는 것이 목적이었으나, PCBs를 분리하는 과정에서 다량의 용매를 소비하는 점이 밝혀졌다. 이를 개선하기 위해 헥산에 5%의 디클로로메탄을 첨가하면 비교적 소량의 용매범위에서 PCBs는 분리되었으나, PCN 이성체가 동시에 용출되는 문제점이 있었다. 또한 지금까지 분획시험을 실시한 결과, 알루미늄 제제는 실리콘겔이나 활성탄에 비해 제 품번호에 따라 용출 용매의 양에 많은 차이가 있음이 밝혀졌다. 특히 mono-*ortho* 치환이성체가 알루미늄 제제에 강한 흡착을 보이는 것이 확인된 바 있다.

따라서 PCN의 정량을 고려하지 않는다면 후자의 방법인 디클로로메탄을 혼합하는 방법이 용매를 절약하고 비교적 소량의 용량범위에서 이 화합물들을 분리하는 방법이라 사료된다. 한편, 제조번호에 따라 알루미늄 시약자체에서 유래하는 미지의 방해물질들이 캐필러리 컬럼의 백그라운드 영향을 줄 수 있다고 판단되어, 금후 실리콘겔혼합형 활성탄의 제조사와 마찬가지로 속슬렛에서 톨루엔으로 충분히 세정하여, 건조후 분획시험에 사용하는 것이 바람직할 것으로 사료된다. 또한, 위에서 실시하고 제시한 조건들은 아직 다량의 용매를 필요로 하므로 알루미늄에 대한 고상 카트리지가 생물시료에 적용될 수 있는지의 여부에 대한 검토도 필요할 것으로 판단된다.

3.6. 다이옥신류의 정성 및 정량에 대한 고찰

PCDD/Fs분석을 위한 모세관 컬럼에 대해선, T₄-H₆CDD/Fs에는 SP-2331이 많이 이용되나, 본 연



- ① Hexane 150ml, ② 10% Dichloromethane/Hexane 180ml, ③ Hexane 270ml,
- ④ 50% Dichloromethane/Hexane 80ml, ⑤ 25% Dichloromethane/Hexane 40ml, ⑥ Toluene 200ml,
- ⑦ Hexane 10ml.

Fig. 4. Modified fractionation method of multiple analysis for persistent organic pollutants.

구에서는 이 컬럼의 성질에 거의 상응하는 극성이 강한 CP-Sil 88(100% cyanopropyl polysiloxane)을 사용하였다. 또한 H₇CDD/Fs, O₈CDD/F 및 non-ortho PCBs에 대해선 무극성 컬럼인 DB-5(5% Phenylmethylpolysiloxane)를 사용하였다. 또한 각 이성체의 피크 판정 및 모니터 이온의 설정에 대해서는 특히 조각 이온에서 유래하는 겹침 현상이 지적되고 있는데,¹⁵⁾ 본 연구에서는 이를 예방하기 위해서 7,8염소치환체 PCDD/Fs과 non-ortho PCBs는 별

도로 측정하였다. HRGC-HRMS의 분해능에 대해서는, 인체나 조류와 같은 시료에서 2,3,7,8-염소치환체의 PCDD/Fs외에는 거의 검출되지 않는 것으로 알려져 있기 때문에 분해능을 5,000으로 설정해도 충분히 분리된 17 개의 이성체에 대한 크로마토그램을 얻을 수 있었지만, 본 실험에서 사용한 GC의 승온 조건으로는 ¹³C₁₂-O₈CDF의 (M+6)⁺가 자연 O₈CDD와 유사한 질량을 가짐으로 인해 피크가 중복되는 문제점이 발견되었다. 이 경우는 분해능이

10,000이상인 조건에서 분리되었기 때문에 질량분석부의 고분해능을 유지하는 것이 중요하다고 판단되었다. 高菅 등¹⁵⁾은 자연 PCDD/Fs에 영향을 주는 $^{13}\text{C}_{12}$ -내부 표준물질 등의 질량수 등을 제시하였는데, 이들 중에서 실제 측정시에도 가장 문제가 되는 것으로는, 특히 $^{13}\text{C}_{12}$ -T₄CDF의 (M+4)⁺가 자연 T₄CDD에, $^{13}\text{C}_{12}$ -O₈CDF의 (M+6)⁺가 자연 O₈CDD에, 그리고 PCB가 PCDD/F와 잘 분리되지 못했을 때, 자연 H₆CB의 M⁺가 자연 P₅CDD의 (M+4)⁺와 거의 동일한 질량수를 가져 이들을 완전분리하는 것은 거의 불가능한 것으로 지적하였다.

한편, 본 연구의 대상시료인 꿩이갈매기의 알과 같은 해조류나 알에서는 Pastor 등 (1995)의 보고¹⁶⁾를 제외하고는 비교적 O₈CDD/F의 농도가 불검출 또는 검출한계에 가까운 경향으로 보고되고 있고,¹⁷⁻²⁰⁾ 2,3,7,8-염소치환체 중심의 잔류조성을 가지고 있어서 개선된 다성분분석법에 대한 적용은 무리가 없을 것으로 판단되었다.

3.7. 생물시료에 대한 적용 및 다이옥신류의 TEQ 평가

개선된 다성분 분석법을 이용하여 대상시료인 꿩이갈매기의 알에 적용하였다. 알 시료는 속슬렛 장치와 디클로로메탄(300 ml)을 추출용매로, 6시간(24회전 이상) 동안 추출 후, 용매를 농축하여 지방함량을 계산하였다. 꿩이갈매기의 지방함량은 평균 $10.68 \pm 0.55\%$ 였으며, 실제로 전처리된 지방량은 6.1-7.2 g이었다. 지방시료는 내부 표준물질 ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCDD/Fs, $^{13}\text{C}_{12}$ -non-ortho PCBs)을 첨가한 핵산이 들어있는 갈매기에서 12N 황산에 의한 유기물 분해 후, 농축하여 실리카겔, 알루미늄, 활성탄(실리카겔 혼합형) 컬럼 및 고상 카트리지를 이용하여 정제, 분획 및 분리하였으며, 분석대상 화합물 중 (HP 5890II GC)를 이용하였고 PCBs는 GC-ECD에서 정성 및 정량하였다. PCDD/Fs 및 non-ortho PCBs는 HRGC/HRMS(HP 5890II-JEOL SX102A) 모세관 컬럼은 GC-ECD에는 Ultra-1 및 DB-1을 사용하였고, HRGC/HRMS에서는 저염소치환체(tetra-hexachlorinated) PCDD/Fs는 CP-Sil 88(CHROMPACK), 고염소치환체(hepta, octachlori-

nated)와 non-ortho PCBs의 분석에는 무극성컬럼인 DB-5(J&W SCIENTIFIC)을 각각 사용하였다. 또한 비산재(fly ash)의 추출물을 2차 표준물질로 사용하여 피크의 머무름 시간 및 M⁺, (M+2)⁺ 또는 (M+4)⁺와의 이온세기비를 비교에 이용하여 피크를 확인하였다. 꿩이갈매기 알에 대한 내부 표준물질의 회수율은 PCDD/Fs와 non-ortho PCBs에서 54-122%였다. S/N은 동축체의 크로마토그램의 백그라운드 상태에 따라 2.5에서 3이상의 피크를 판정하였으며, 검출한계는 이성체에 따라 0.1-2.6 pg/g였다. 꿩이갈매기의 알에 대한 PCDD/Fs의 크로마토그램 중, P₅CDD/Fs, H₆CD/Fs를 Fig. 5에, non-ortho PCBs의 크로마토그램을 Fig. 6에 나타내었다.

분석결과, 검출된 화합물의 농도순위는 PCBs > DDTs > CHLs = HCHs > HCB > non-ortho PCBs > PCDD/Fs였다(Fig. 7, PCNs은 제외). PCDD/Fs는 주로 2,3,7,8-염소치환체가 중심으로 잔류하였으나, 비산재 추출물과의 비교로부터 일부의 비 2,3,7,8-염소치환체도 검출됨을 알 수 있다(Fig. 5). 또한 non-ortho PCBs의 경우, 4 개 이성체 중에서 PCB 126의 기여가 평균 50.4%였다.

위와 같은 결과로부터, 본 분석법은 다양한 화합물의 검출뿐 아니라, 다양한 농도범위에도 대응하는 방법임을 알 수 있었다. 또한 다이옥신류의 TEQs에 대한 기여도는 Fig. 8과 같다. 개선된 분석법을 이용하여 TEQs를 평가한 결과, 꿩이갈매기의 알에는 PCDD/Fs보다 non-ortho PCBs의 기여가 월등히 큰 것을 알 수 있다. 따라서 기존에 PCDD/Fs만으로 평가해왔던 수조류의 TEQs¹³⁾는 과소평가된 것으로 사료된다.

감사의 글

꿩이갈매기의 알시료를 구하는데 도움을 주신 경희대학교 유정칠 교수님, 국립중앙과학관 백운기 박사님, 한국조류보호협회 오동세 선생님께 감사를 표합니다.

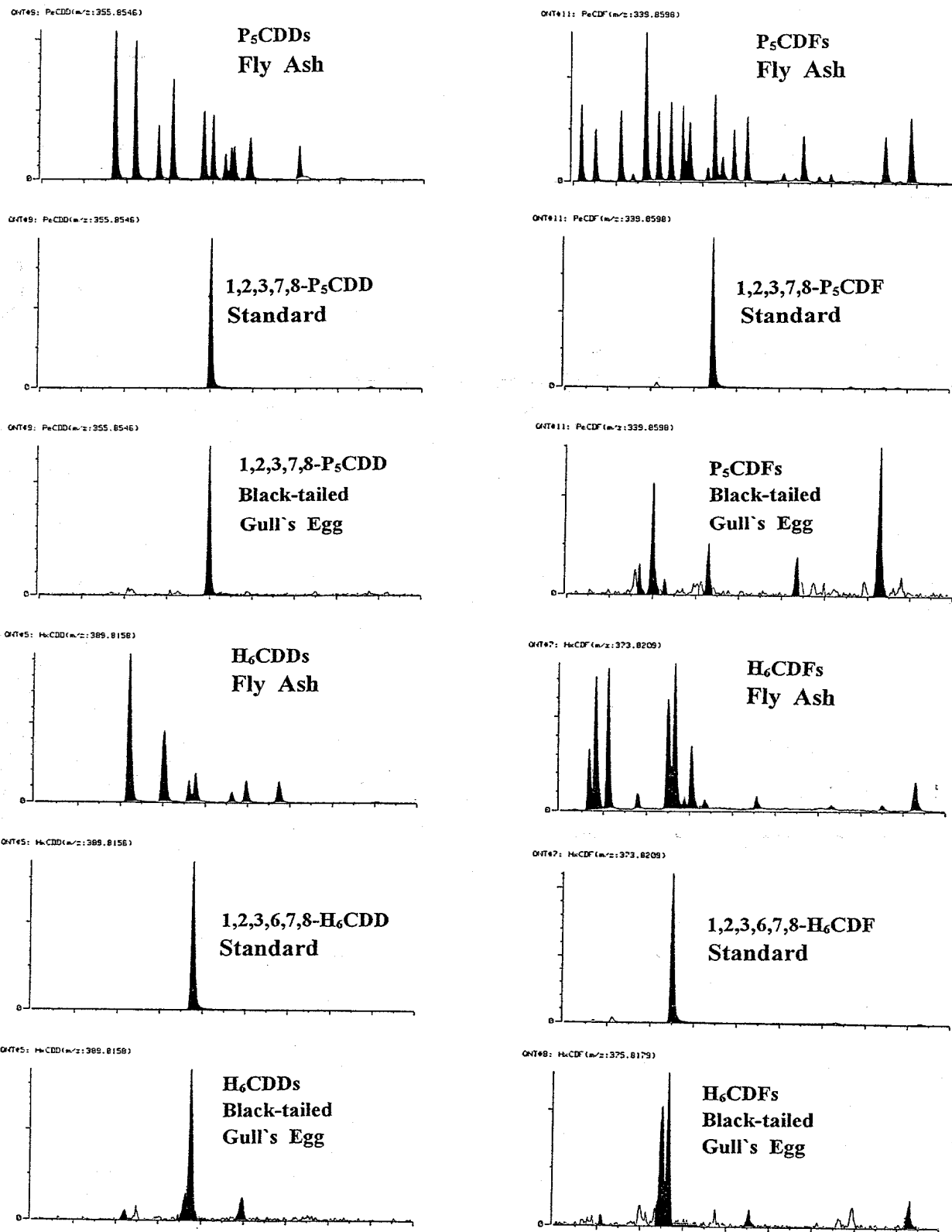


Fig. 5. SIM chromatograms for P₅CDD/Fs and H₆CDD/Fs in black-tailed gull eggs.

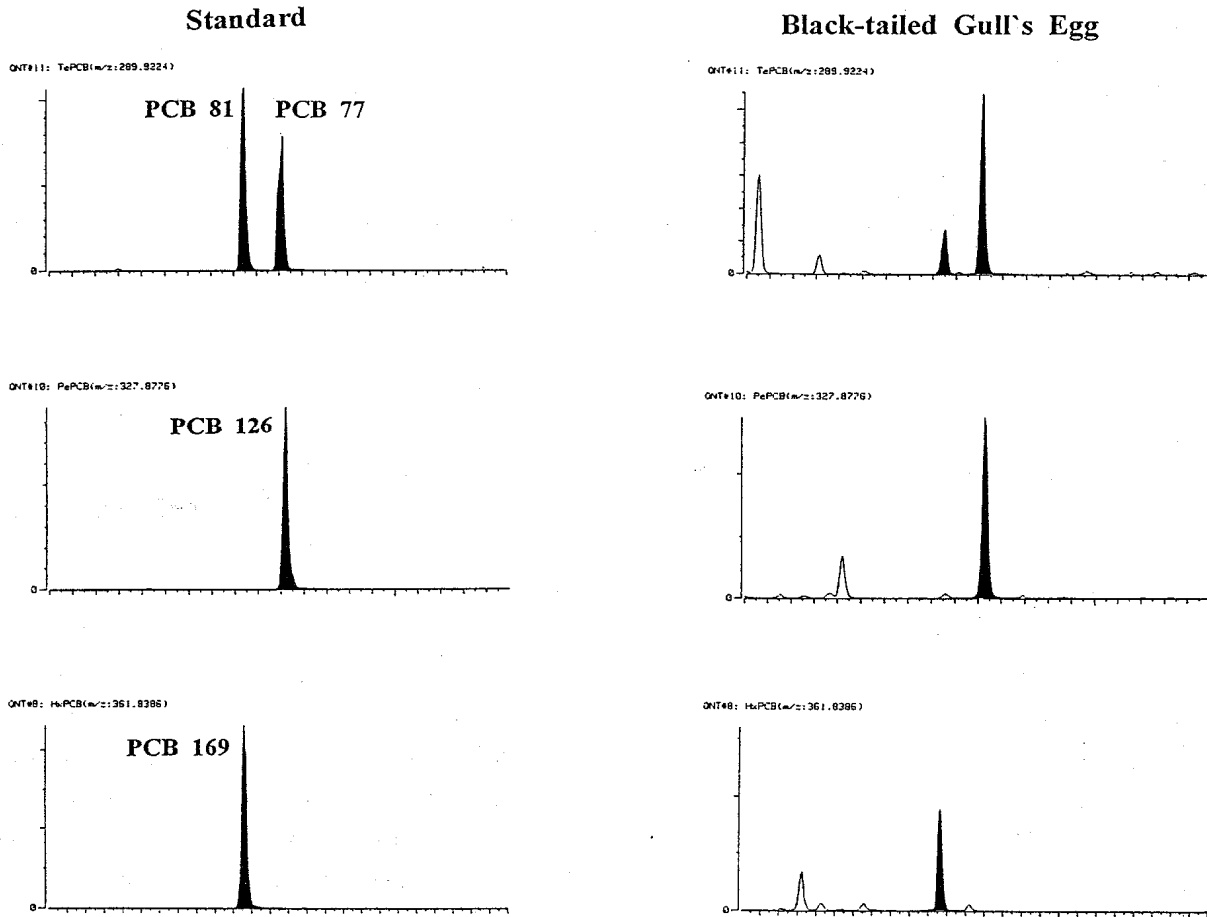


Fig. 6. SIM chromatograms for non-ortho PCBs in black-tailed gull eggs.

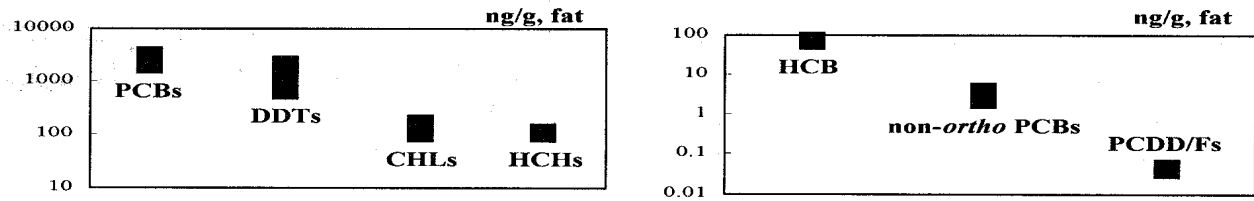


Fig. 7. Concentration range of each persistent organic pollutant in eggs of black-tailed gull(ng/g, fat wt).

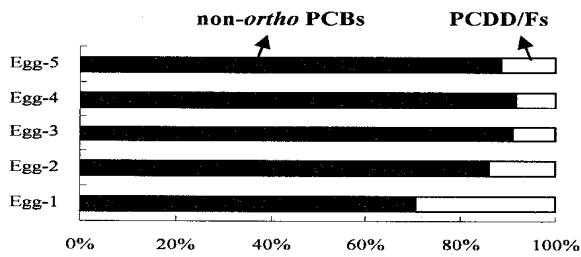


Fig. 8. Contributions of non-ortho PCBs and PCDD/Fs to TEQs using WHO-TEFs for birds.¹¹⁾

참 고 문 헌

- 1) K. Olie, P. L. Vermeulen and O. Hutzinger, *Chemosphere*, 1977, 6, 455-459.
- 2) P. W. Cains, L. J. Maccausland, A. R. Fernandes and P. Dyke, *Environ. Sci. Technol.*, 1997, 31, 776-785.
- 3) T. Wakimoto, N. Kannan, M. Ono and R. Tatsukawa, *Chemosphere*, 1988, 17, 743-750.

- 4) O. Hutzinger, M. J. Blumich, M. V. G. Berg and K. Olie, *Chemosphere*, **1985**, 6-7, 581-600.
- 5) <http://irptc.unep.ch/pops/>
- 6) F. Wania, J. Axelman and D. Broman, *Environ. Pollut.*, **1998**, 102, 3-23.
- 7) R. E. Alcock and K. C. Jones, *Environ. Sci. Technol.*, **1996**, 30, 3133-3143.
- 8) A. T. C. Bosveld, J. Gradener, A. J. Murk, A. Brouwer, M. Van Kampen, E. H. G. Evers and M. Van den Berg, *Environ. Toxicol. Chem.*, **1995**, 14, 99-115.
- 9) T. J. Kubiak, H. J. Harris, L. M. Smith, T. R. Schwartz, D. L. Stalling, J. A. Trick, L. Sileo, D. E. Docherty and T. C. Erdman, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **1989**, 18, 706-727.
- 10) S. Safe, S. Bandiera, T. Sawyer, L. Roverson, L. Safe, A. Parkinson, P. E. Thomas, D. E. Ryan, L. M. Reik, W. Levin, M. Denomme and T. Fujita, *Environ. Health Perspect.*, **1985**, 60, 47-56.
- 11) M. Van den Berg, L. Birnbaum, A. T. C. Bosveld, B. Brunstrom, P. Cook, M. Feeley, J. P. Giesy, A. Handberg, R. Hasegawa, S. W. Kennedy, T. Kubiak, J. C. Larsen, F. X. Rolf van Leewen, A. K. Dijen Liem, S. Nolts, R. E. Peterson, L. Plellinger, S. Safe, D. Schrenk, D. Tillit, M. Tysklind, M. Younes, F. Waern and T. Zacharewski, *Environ. Health Perspect.*, **1998**, 106, 775-792.
- 12) H. Nakamura, M. Matsuda, H. T. Quynh, H. D. Cau, H. T. K. Chi and T. Wakimoto, *Organohalogen Compounds*, **1994**, 21, 71-76.
- 13) 崔宰源, 関丙允, 松田宗明, 河野公榮, 脇本忠明, *Proceedings of the annual meeting of Korea Society of Environmental Analysis*, **1998**, 96-100.
- 14) L. M. Smith, D. L. Stalling and J. L. Johnson, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 1830-1842.
- 15) 高菅卓三, 井上毅, 大井悦雅, *環境化学*, **1992**, 2, 599-613.
- 16) D. Pastor, X. Ruiz, D. Barcelo and J. Albaiges, *Chemosphere*, **1995**, 31, 3397-3411.
- 17) M. Van den Berg, B. L. H. J. Craane, T. Sinnige, S. van Mourik, S. Dirksen, T. Boudewijn, M. van der Gaag, I. J. Lutke-Schipholt, B. Spenkelink and A. Brouwer, *Environ. Toxicol. Chem.*, **1994**, 13, 803-816.
- 18) J. Koistinen, J. Koivusaari, I. Nuuja and J. Paasivirta, *Chemosphere*, **1995**, 30, 1671-1684.
- 19) W. M. Jarman, W. J. Sydeman, K. A. Hobson and P. A. Bergovist, *Environ. Toxicol. Chem.*, **1997**, 16, 1010-1013.
- 20) J. E. Elliott, R. W. Butler, R. J. Norstrom and P. E. Whitehead, *Environ. Pollut.*, **1989**, 59, 91-114.