

## 고상추출법과 액액추출법을 이용한 수질 시료 중 Hexabromocyclododecanes (HBCDs) 분석법 연구

이두희<sup>1</sup> · 정인영<sup>2</sup> · 이혜리<sup>1</sup> · 김혁<sup>2</sup> · 박상아<sup>1</sup> · 김일규<sup>2</sup> · 도영선<sup>2</sup> · 이원석<sup>1,†</sup> · 최종우<sup>1</sup>

<sup>1</sup>국립환경과학원 환경측정분석센터, <sup>2</sup>국립환경과학원 화학물질연구과

### Analytical Method for Determination of Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in Water Samples using Solid-Phase Extraction and Liquid-Liquid Extraction

Doo-Hee Lee<sup>1</sup>, In-Young Chung<sup>2</sup>, Hyeri Lee<sup>1</sup>, Hyuk Kim<sup>2</sup>, Sang-Ah Park<sup>1</sup>,  
Il-Gyu Kim<sup>2</sup>, Young-Sun Do<sup>2</sup>, Wonseok Lee<sup>1,†</sup>, and Jongwoo Choi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Environmental Measurement and Analysis Center, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Korea

<sup>2</sup>Chemicals Research Division, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Korea

Received February 29, 2016/Revised March 19, 2016/Accepted March 22, 2016

In this study, we evaluated analytical methods for the determination of three hexabromocyclododecane diastereomers ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -HBCD) using solid-phase extraction (SPE) and liquid-liquid extraction (LLE). Instrumental analysis was conducted using high-performance liquid chromatography with a triple-quadrupole mass spectrometer (LC/MS/MS), and the hydrophilic-lipophilic balance (HLB) cartridge was used for SPE. SPE showed the highest recovery when using ethyl acetate as the eluent, and 40% methanol was used as the clean-up solvent. In LLE, a multilayer column using AgNO<sub>3</sub> showed a low recovery rate. The respective method detection limits (MDLs) and the limits of quantitation (LOQs) of HBCDs in water were 0.068-0.145 ng/L and 0.217-0.462 ng/L for SPE, and 0.043-0.293 ng/L and 0.135-0.932 ng/L for LLE. The accuracy ranged from 96.3% to 104.3% for SPE and 99.3% to 101.2% for LLE. The precision values for both SPE and LLE were less than 5.98%.

**Key words:** Hexabromocyclododecane, Water, Solid phase extraction, Liquid-liquid extraction

## 1. 서 론

브롬화난연제(Brominated Flame Retardants, BFRs)는 대상물질에 발화를 방지하거나 지연시키는 목적으로 사용되는 화합물이다.<sup>1)</sup> 대표적인 BFRs은 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polybrominated biphenyls (PBBs), hexabromocyclododecanes (HBCDs) 및 tetrabromobisphenol A (TBBPA) 등으로써 산, 염기, 열 빛 등에 강하며 공기 중에 잘 분해되지 않는 특징을 가지기 때문에 건물의 단열제, 직물 표면 보호제 및 전

기 제품의 피복물 등에 첨가되어 사용된다.<sup>2)</sup> 이 중 HBCDs는 브롬화 반응을 통해 합성된 지방족 사이클릭 탄화수소로써 구조상 총 16개의 이성질체를 가질 수 있으나, 상업적으로는  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -HBCD의 형태로써 사용된다.<sup>3)</sup> 또한, HBCDs는 다른 잔류성유기오염물질(persistent organic pollutants, POPs)과 동일한 소수성(hydrophobic) 및 친지질성(lipophilic) 특성으로 인하여 환경 중에서 PBT (persist, bioaccumulative and toxicity) 특성을 가지며 조류, 표유류 및 어류 등에 축적된다고 알려져 있다.<sup>4)</sup> 이러한 이유로 HBCDs는 2013년

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

6차 스톡홀름 협약 총회에서 부속서 A에 채택되었으며 이에 따라 HBCDs를 관리하기 위하여 환경매체에 대한 지속적인 모니터링이 필요하다. 하지만, 이러한 중요성에도 불구하고 국내에서 실시한 HBCDs에 대한 연구는 대부분이 퇴적물 및 생체 시료에 한정되어 있다. 대표적으로 김태승 등<sup>5)</sup>은 국내 12개 지점의 퇴적물에 대한 HBCDs 잔류실태 조사를 실시하였으며, 국립환경과학원 연구보고서<sup>6)</sup> 및 이수민 등<sup>7)</sup>의 연구결과에서는 국내 주요 강에 서식하는 붕어 및 퇴적물에 대한 HBCDs 잔류실태 조사를 실시하였다. 반면, 국내에서 수질, 대기 및 토양 등의 환경매질에 대한 HBCDs 연구결과는 아직까지 부족한 실정이며, 이에 환경 중 HBCDs 모니터링을 위한 표준 분석법 확립이 요구된다.

환경매질 중 수질시료에 대한 HBCD 분석 방법은 몇몇 연구자들에 의하여 제시되어 왔다. Covaci 등<sup>8)</sup>은 문헌조사를 통해 수질 시료에 대한 HBCDs 전처리법은 대표적으로 액추출법(liquid-liquid extraction, LLE)<sup>9)</sup>과 고상추출법(solid phase extraction, SPE)<sup>10,11)</sup>를 제시하였다. LLE는 수질 시료 전처리시 보편적으로 사용되며 다이클로로메탄 및 헥산 등과 같이 물과 섞이지 않는 비극성 용매를 첨가하는 방법으로써 손쉽게 추출할 수 있다는 장점을 가지지만, 비교적 많은 용량의 용매가 사용되기 때문에 장시간의 농축과정이 필요하고, 추출 후 추가적인 정제과정이 필요하다. SPE는 분배, 흡착, 친화력 또는 이온교환을 근거로 하여 SPE 카트리지에 물을 포집한 후 용매로 추출하는 방법이다. SPE는 LLE에 비하여 손쉽게 포집할 수 있으며, 용매 사용

량이 적고 정제과정도 함께 할 수 있는 장점이 있으나, 시료의 양에 따라 포집 시간이 증가하고 고가의 가격으로 비용이 증가하는 단점을 가진다. 따라서 수질 시료에 대한 HBCDs 분석은 두 가지 분석방법에 대한 고려가 필요하다.

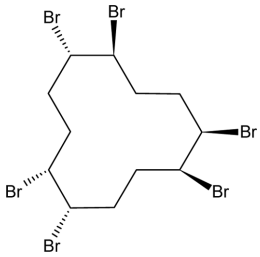
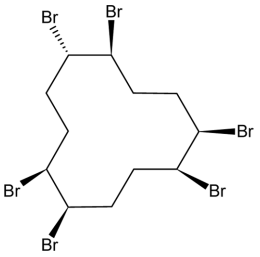
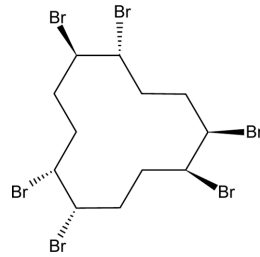
이에 본 연구에서는 수질 시료 중  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD 등 3종의 HBCD의 분석법을 확립하기 위하여 LLE 및 SPE를 수행하였으며, 방법검출한계(MDL), 정량한계(LOQ), 회수율(Recovery) 및 정밀도(RSD) 등 정도 관리를 통하여 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료

본 연구에서 사용된 HBCDs의 표준물질(native standard)은 Wellington Laboratories 사(Canada)에서 구매한  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD) 3종을 사용하였다. 또한, 정제용내부표준물질(surrogate standard)은  $^{13}\text{C}_{12}$ - $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane ( $^{13}\text{C}_{12}$ - $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD) 3종을 사용하였으며 시린지 첨가용 표준물질(internal standard)로는 d- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane (d- $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD) 3종을 Wellington Laboratories 사(Canada)에서 구매하여 사용하였다. 시료 추출을 위해 사용된 SPE 카트리지는 Waters 사(USA)의 Oasis HLB (6 cc/ 200 mg)를 사용하였다. 시료의 전처리 과정 및 기기분석에 사용된 용매는 헥산(pesticide

**Table 1.** Physicochemical properties of hexabromocyclododecanes (HBCDs)

	$\alpha$ -HBCD	$\beta$ -HBCD	$\gamma$ -HBCD
Molecular structure			
Molecular structure	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Br}_6$		
Molecular mass	641.7 g/mol		
Density <sup>12)</sup>	3.26-2.37 g/mL		
Melting point <sup>13)</sup>	179~181°C	170~172°C	207~209°C
Boiling point <sup>13)</sup>	Decomposes at > 190°C		
Vapor pressure <sup>14)</sup>	$6.27 \times 10^{-6}$ Pa		
Water solubility <sup>15)</sup>	48.8 $\mu\text{g/L}$	14.7 $\mu\text{g/L}$	2.08 $\mu\text{g/L}$
Log Kow <sup>15)</sup>	5.07	5.12	5.47

residue analysis grade, PRA 급), 아세톤(PRA 급), 디클로로메탄(PRA 급), 및 에틸아세테이트(PRA 급) 등으로써 모두 Wako 사(Japan)에서 구매하였으며, 메탄올, 아세토나이트릴 및 3차 증류수는 Honeywell B&J 사(USA)에서 HPLC 급 이상으로 구매하여 사용하였다. 정제용 실리카겔 컬럼에 사용된 중성 실리카겔(0.063~0.200 mm, 70~230 mesh)은 Merck Millipore 사(Japan)에서 구매하였으며, 무수황산나트륨과 염화나트륨은 Kanto Chemical사(Japan)에서 구매하여 사용하였다. 44% 산성 실리카겔, 10% AgNO<sub>3</sub> 실리카겔, 2% KOH 실리카겔은 모두 Wako 사(Japan)을 구매하여 사용하였다. 유리솜(glass wool)은 450°C에서 2시간 이상 건조 후 데시케이터 안에서 방냉하여 사용하였고, 실험에 사용된 유리초자는 깨끗하게 세척 및 수분을 건조 후 회화로를 이용하여 450°C에서 2시간 이상 구운 후 아세톤, 헥산, 다이클로로메탄 순으로 각각 2회씩 행구어 준비하였다. 고성능액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)의 이동상의 완충용액으로 사용한 암모늄아세테이트는 Junsei 사(Japan)에서 구입하여 사용하였다.

## 2.2. 고상추출법

수질 시료 분석을 위한 SPE의 분석법을 확립하기 위하여 HLB 카트리지를 이용하여 시료를 포집한 후 메탄올, 아세토나이트릴, 아세톤:헥산(1:1), 아세톤:다이클로로메탄(1:1), 에틸아세테이트 및 다이클로로메탄 등 다양한 추출액에 대한 회수율 시험을 하였다. 시료의 포집은 5 mL 다이클로로메탄, 5 mL 메탄올, 10 mL 3차 증류수로 차례로 통과시켜 컨디션닝을 실시한 후 정제용 내부표준물질(<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-α-, β-, γ-HBCD) 100 ng/mL를 100 μL 첨가한 3차 증류수 1 L를 정량펌프(Ismatec MCP 8 channel, Switzerland)를 이용하여 분당 3 mL의 속도로 카트리지에 포집하였다. 이후 카트리지에 포집된 극성 시료에 대한 정제를 위하여 3차 증류수 5 mL을 흘린 후 0, 20, 40, 60, 80, 100%의 비율로 조제된 메탄올을 10 mL를 추가적으로 흘려서 최적의 정제 조건을 확인하였다. 정제가 완료된 시료는 진공펌프를 이용하여 카트리지에 존재하는 수분을 완전히 제거한 후 앞서 제시한 추출액을 10 mL 첨가하여 15 mL 유리원심관에 용출하였다. 용출된 시료는 질소농축기를 이용하여 농축하였으며 시린지표준물질(d-α-, β-, γ-HBCD) 50 ng/mL를 100 μL 첨가 후 최종 1 mL로 조정하여 LC/MS/MS로 분석하였다.

## 2.3. 액액추출법

수질 시료 분석을 위한 LLE 방법은 내부표준물질(<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-α-, β-, γ-HBCD) 100 ng/mL를 100 μL 첨가한 3차 증류수 1 L와 염색 효과를 주기 위한 염화나트륨 20 g을 2L 분액깔때기에 함께 첨가하여 충분히 녹인 후 실시하였다. 이후, 추출 용매로 다이클로로메탄을 100 mL를 각각 넣어 10분간 진탕하여 추출하고 다이클로로메탄 층을 합하여 무수황산나트륨으로 탈수하였다. 이를 2회 반복하였으며 마지막으로 다이클로로메탄 대신에 에틸아세테이트를 50 mL 첨가하여 실시하였다. 이 후 회전식 감압농축기를 사용하여 농축하고 헥산으로 용매 전환하여 최종 1 mL까지 농축하였다.

액액추출법에 의해 추출된 시료의 정제는 다층실리카겔 컬럼을 이용하여 실시하였다. 시험전 충전 물질에 따른 정제 효율 테스트를 위하여 충전 물질의 구성을 (i) 실리카겔 + KOH 실리카겔 + AgNO<sub>3</sub> 실리카겔, (ii) 실리카겔 + KOH 실리카겔, (iii) 실리카겔 등으로 나누어 평가하였다. 자세한 충전물의 구성은 정제용 유리 컬럼(LD 15 mm × 300 mm)에 유리 솜을 끼우고 (i) 중성실리카겔 1 g, 2% KOH 실리카겔 3 g, 중성 실리카겔 1 g, 44% 산성 실리카겔 8 g, 중성실리카겔 1 g, 10% AgNO<sub>3</sub>실리카겔, 무수황산나트륨 1 g, (ii) 중성실리카겔 1 g, 2% KOH 실리카겔 3 g, 중성 실리카겔 1 g, 44% 산성 실리카겔 8 g, 중성실리카겔 1 g, 무수황산나트륨 1 g, (iii) 중성 실리카겔 1 g, 44% 산성 실리카겔 8 g, 중성 실리카겔 1 g, 무수황산나트륨 1 g을 하단에서부터 순차적으로 충전하였다. 이후, 헥산과 함께 습식 충전하고 컬럼 내에 존재하는 공기층을 제거하였으며, 헥산을 무수황산나트륨 층에 맞추고 헥산:다이클로로메탄(35:65, v:v) 200 mL로 용출시켰다. 용출액은 감압농축과 질소농축하고 메탄올로 용매 전환 후 시린지첨가표준물질(d-α-, β-, γ-HBCD) 50 ng/mL를 100 μL 첨가 후 최종 1 mL로 조정하여 LC/MS/MS로 분석하였다.

## 2.3. 기기분석

HBCD 분석은 HPLC-MS/MS를 이용하여 실시하였다. HPLC는 Surveyor MS pump (Thermo, USA)를 사용하였으며, 질량분석기는 TSQ Quantum triple quadrupole mass spectrometer (Thermo, USA)를 사용하였다. 1회 주입하는 시료의 양은 10 μL이었으며, 분석 컬럼은 Cortex C<sub>18</sub> (100 × 4.6 mm ID, 2.7 μm particle size; Waters, USA)으로 하였다. 이동상은 Morris

등<sup>16)</sup>이 제시한 연구 결과를 참고하여 10 mM 암모늄아세테이트가 함유된 3차 증류수와 메탄올을 선정하여 시간에 따라 비율을 변화시켜 사용하였다. 메탄올의 비율이 초기에는 5%이었으며, 6분 후에 80%, 13분 후 100%로 15분까지 유지하였으며, 17분에 5%로 낮추어 최종 20분까지 유지시켰다. 이동상의 유속은 400  $\mu\text{L}/\text{min}$ 이었으며, 컬럼 오븐의 온도는 35°C로 고정하였다.

#### 2.4. 정성 및 정량 분석

HBCDs의 정성분석은 표준물질을 이용하여 다중반응모니터링방법(multiple reaction monitoring, MRM)을 이용하여 질량조건을 설정한 후 컬럼 테스트를 통하여 피크를 분리한 후 머무름 시간(retention time, RT)과 비교하여 선정하였다. MRM 조건은 HBCDs에서 641 > 79, 81로 설정하였으며 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCDs 및 d-HBCDs는 각각 652 > 79, 81과 657 > 79, 81로 설정하였다. HBCD의 정량분석은 표준물질의 농도와 피크면적을 내부표준물질의 면적비를 이용한 내부표준법(internal standard method)을 이용하였으며 5  $\mu\text{g}/\text{L}$  농도의 내부표준용액이 첨가된 0.5  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 1  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 2  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 5  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 20  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 50  $\mu\text{g}/\text{L}$  및 100  $\mu\text{g}/\text{L}$ 의 농도의 표준용액에 대한 1차 직선식을 이용하여 작성하였다.

#### 2.5. 방법검출한계 및 정량한계

방법검출한계(method detection limit, MDL) 및 정량한계(limit of quantification, LOQ)는  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ -HBCD를 기기감도에 따라 각각 20 ng/mL, 5 ng/mL 및 10 ng/mL의 농도 100  $\mu\text{L}$ 을 1 L 3차 증류수에 첨가하여 SPE 및 LLE를 실시하였다. 자세한 방법은 앞서 제시한

전처리 방법과 동일하였으며 이를 7반복하였다. 방법검출한계의 계산은 환경부 유해화학물질공정시험기준 총칙<sup>17)</sup>에 제시된 방법에 따라 7반복된 표준편차에 3.14를 곱하여 산정하였으며, 정량한계는 표준편차에 10을 곱하여 산출하였다.

#### 2.6. 정확도 및 정밀도

HBCDs에 대한 정확도 및 정밀도 시험은 100 ng/mL의 농도 100  $\mu\text{L}$ 을 1 L 3차 증류수에 첨가하여 SPE 및 LLE를 실시하였으며 이를 5반복하였다. 정확도의 계산은 5반복된 평균값과 원농도의 비율에 100을 곱하여 산출하였으며 정밀도는 5반복된 값의 표준편차와 평균값의 비율에 100을 곱하여 산출하였다.

#### 2.7. 결과 산출

결과 산출은 내부표준법에 의하여 도출한 분석물질의 농도를 아래에 따라 환산하여 분석물질의 농도를 계산하였다

$$C_w = \frac{C_s \times V}{1000 \times A}$$

여기서  $C_w$ 는 시료 중의 분석물질의 농도(ng/L),  $C_s$ 는 내부표준법에 의한 분석물질의 농도( $\mu\text{g}/\text{L}$ ),  $V$ 는 최종 추출물의 부피(mL) 그리고  $A$ 는 시료의 양(L)을 나타낸다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 정성분석 및 검정곡선작성

HBCDs 분석을 위한 분석기기는 HPLC/UV-vis, LC/

**Table 2.** Multiple reaction monitoring (MRM) of hexabromocyclododecanes (HBCDs)

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Retention time (min)	Cone voltage (V)	Collision Energy (eV)
Native standard					
$\alpha$ -HBCD	641	79, 81	15.6	75	51
$\beta$ -HBCD	641	79, 81	16.2	75	51
$\gamma$ -HBCD	641	79, 81	16.7	75	51
Internal standard					
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> - $\alpha$ -HBCD	652	79, 81	15.6	75	60
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> - $\beta$ -HBCD	652	79, 81	16.2	75	60
<sup>13</sup> C <sub>12</sub> - $\gamma$ -HBCD	652	79, 81	16.7	75	60
Syringe standard					
d- $\alpha$ -HBCD	657	79, 81	15.5	75	65
d- $\beta$ -HBCD	657	79, 81	16.0	75	65
d- $\gamma$ -HBCD	657	79, 81	16.5	75	65

MS/MS 및 GC/MS 등 다양하게 존재한다. 이중 GC/MS는 LC에 비하여 높은 감도를 보이지만 190 이상에서 HBCDs의 이성질체가  $\alpha$ -HBCD의 형태로 화학적 이동(chemical shift)이 일어나거나 분해되기 때문에<sup>14)</sup> GC/MS 분석시 모든 HBCDs는  $\alpha$ -HBCD 형태로 나타난다. 예로써 Gerecke 등<sup>18)</sup>은 어류 체내에 존재하는 HBCDs 분석을 위하여 LC/MS와 GC/MS를 비교한 결과 LC/MS에서는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD가 분리되어 측정이 되지만

GC/MS에서는 동일한 머무름 시간에 나타남을 확인하였으며, 이를 통해 HBCDs 분석에서는 GC/MS보다 LC/MS가 적합한 장비임을 제시하였다. 이에 본 연구에서는 HBCDs 정성 및 정량 분석을 위하여 LC/MS/MS를 사용하였으며 Fig. 1은 정성 분석에 대한 MS 및 MS/MS 스펙트럼을 나타낸 것이다. 분석 결과, MS 스펙트럼은  $[M-H]^-$ 의 형태로써 HBCD,  $^{13}C_{12}$ -HBCD 및 d-HBCD가 각각 640.8  $m/z$ , 652.2  $m/z$  및 657.3  $m/z$ 에서 최대값을

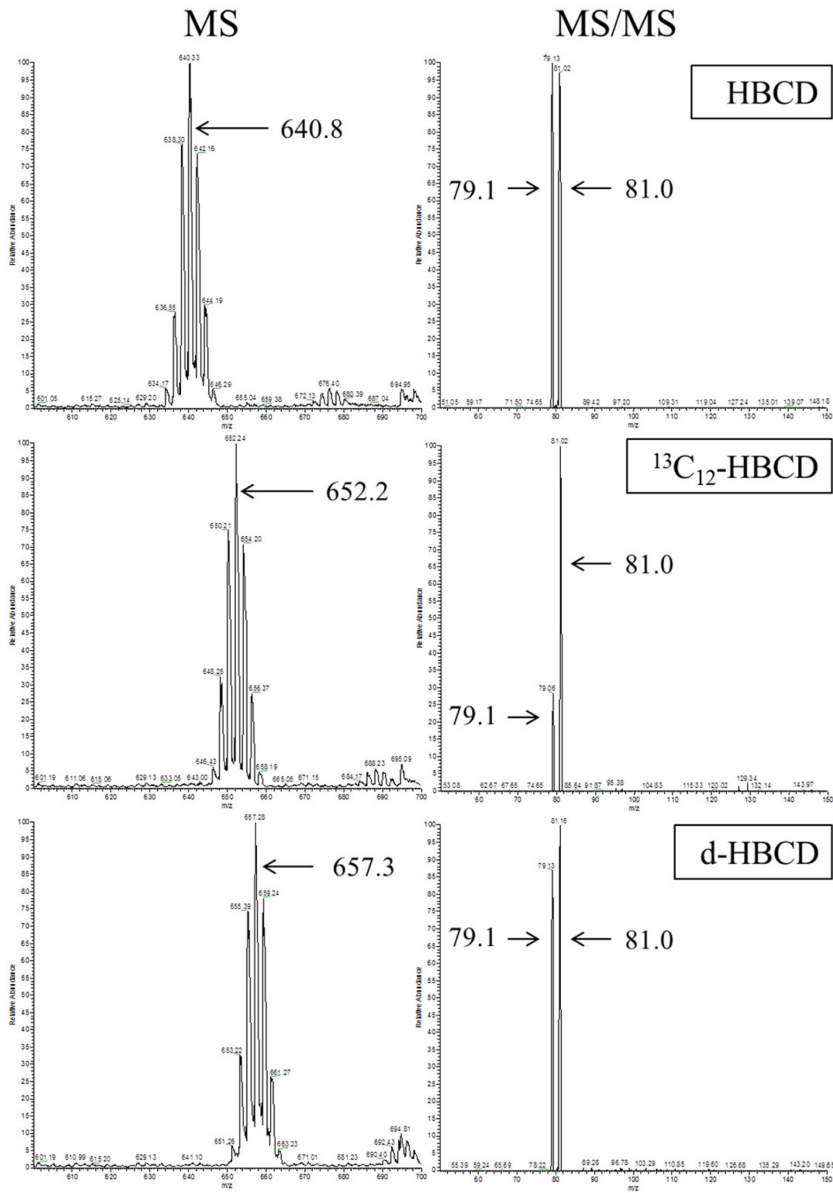


Fig. 1. MS and MS/MS fragmentation for HBCDs,  $^{13}C_{12}$ -HBCDs and d-HBCDs.

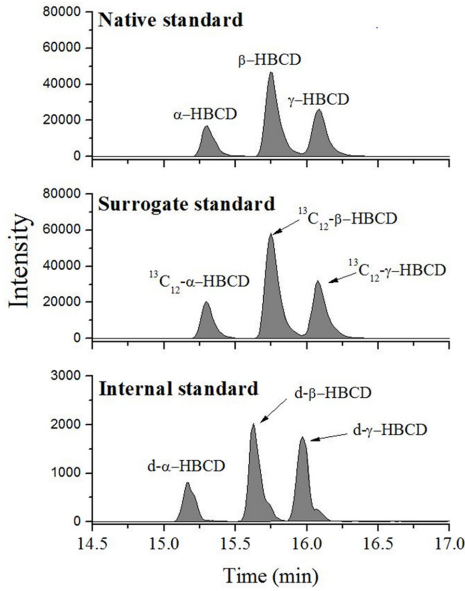


Fig. 2. LC/MS/MS TIC chromatogram for HBCDs, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCDs and d-HBCDs.

보였으며 ±6 m/z의 범위에서 가우시안 형태의 피크를 보였다. MS/MS 스펙트럼은 HBCDs, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCDs 및 d-HBCDs 모두 Br 형태인 79.1 m/z과 81.0 m/z의 쪼개짐 이온을 확인하였다. 이를 바탕으로 HBCDs,

<sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCDs 및 d-HBCDs의 MS/MS 조건은 각각 641 m/z > 79 m/z, 81 m/z, 652 m/z > 79 m/z, 81 m/z 및 657 m/z > 79 m/z, 81 m/z로 설정하였다. Fig. 2는 MS/MS 조건 설정 후 컬럼 테스트를 통해 분리한 HBCD의 LC/MS/MS 크로마토그램을 나타낸 것이다. 그림에 제시한 바와 같이 α-, β-, γ-HBCD에 대한 표준물질의 머무름 시간은 각각 15.6 분, 16.2 분 및 16.7 분으로 나타났으며 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-α-, β-, γ-HBCD도 같은 시간대로 나타났다. d-α-, β-, γ-HBCD의 머무름 시간은 15.5 분, 16.0 분 및 16.5 분으로써 α-, β-, γ-HBCD보다 빠른 시간을 보였으며 이는 Hu 등이 제시한 연구 결과와 동일하였다.<sup>19)</sup> 한편, Fig. 1에 d-HBCD 스펙트럼에 제시한 바와 같이 최대 피크인 657 m/z 이외에도 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCD 조건인 652 m/z 위치에서 약 10%의 감도를 보이기 때문에 Fig. 3에 제시한 바와 같이 d-HBCD의 농도가 높을 경우 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCD 크로마토그램에 간섭하게 된다. 따라서, d-HBCD의 농도가 <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCD에 영향을 미치지 않는 농도에 대한 선정이 필요하며 본 연구에서는 d-HBCD의 농도를 5 µg/L로 선정하였다.

Fig. 4는 α-, β-, γ-HBCD 검정곡선의 직선성을 정성 분석 결과를 바탕으로 실시한 결과를 나타낸 것으로써 α-, β-, γ-HBCD 모두 결정계수(r<sup>2</sup>)가 0.998 이상으로 우수한 직선성을 보였다.

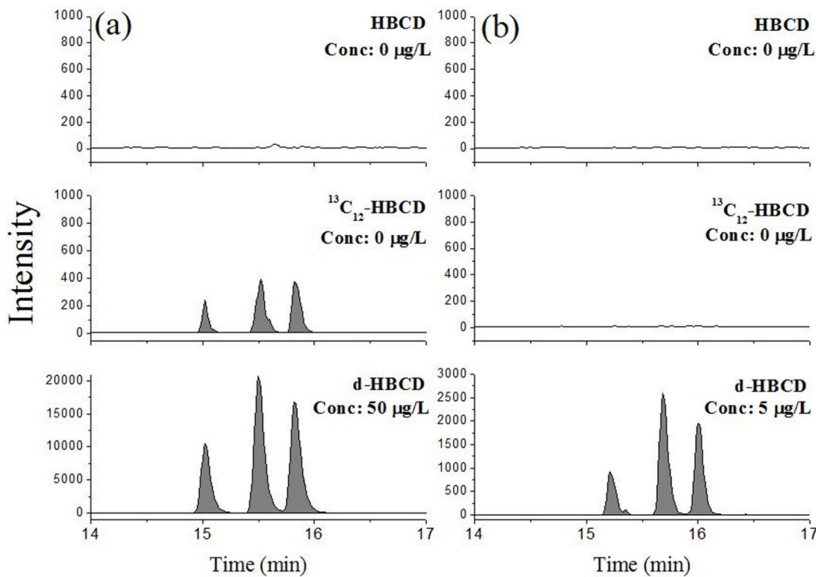


Fig. 3. LC/MS/MS chromatogram for HBCDs, <sup>13</sup>C<sub>12</sub>-HBCDs and d-HBCDs at (a) 5 µg/L and (b) 50 µg/L concentration of d-HBCDs.

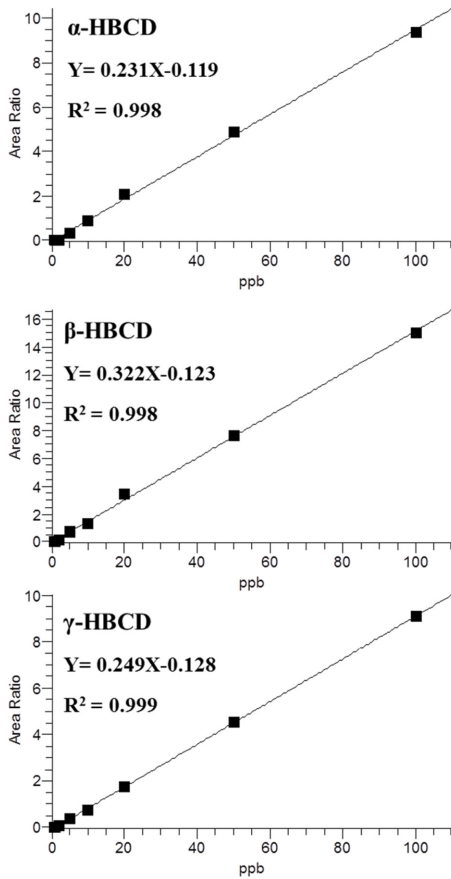


Fig. 4. Calibration curve of hexabromocyclododecanes (HBCDs).

### 3.2. SPE 테스트

Table 3은 SPE 추출을 위한 최적의 용리액을 도출하기 위하여 메탄올, 아세토나이트릴, 아세톤:헥산(1:1), 아세톤:다이클로로메탄(1:1), 에틸아세테이트 및 다이클로로메탄에 대하여 회수율 시험을 실시한 결과를 나타낸 것이다. 분석 결과 비교적 극성용매인 메탄올 및 아세토

나이트릴에서 HBCDs의 회수율은 40.6~60.4%의 범위를 보였다. 아세톤:헥산(1:1)과 아세톤:다이클로로메탄(1:1)에서 HBCDs의 회수율은 62.9~86.6%의 범위를 보였으며  $\alpha$ -HBCD에서 낮은 값을 보였다. 에틸아세테이트는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD 모두 높은 회수율을 보였으며 다이클로로메탄은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD가 각각 69.7%, 81.1%, 99.6%로써,  $\gamma$ -HBCD에서 높은 회수율을 보인 반면,  $\alpha$ -HBCD에서는 상대적으로 낮은 값을 보였다. 이는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 추출 회수율이 각각 77%, 88%, 92%로 나타난 Suzuki와 Hasegawa의 연구<sup>9)</sup>와 유사한 경향으로써 다이클로로메탄을 이용한 SPE 추출방법은 시험에 적용하기 적합한 회수율을 보이나, 에틸아세테이트를 이용한 추출방법이 안정적임을 알 수 있다. 따라서 본 연구를 통해서 SPE 포집 후 사용하는 추출용매는 에틸아세테이트로 선정하여 사용하였다. 한편, 본 연구에서 실시한 6종의 용리액뿐만 아니라 다양한 극성 용매와 비극성 용매를 순서대로 흘려주는 방법도 있으며 이에 대하여 차후 추가적인 연구가 필요하다.

한편, 실제 환경시료는 분석하고자 하는 물질 이외에도 다양한 화합물로 구성되어 있기 때문에 SPE에 대한 정제과정이 필요하다. 이에 본 연구에서는 다양한 비율의 메탄올을 이용하여 정제 테스트를 실시하였으며, 그 결과를 Fig. 5에 제시하였다. 분석결과  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD 모두 메탄올의 비율이 40%까지는 회수율이 100%에 가깝게 나타났지만 메탄올 비율이 60%에서는  $\alpha$ -HBCD의 회수율이 약 90%로써 SPE 카트리지에서 용출됨을 확인하였다. 본 결과에 따라 SPE를 이용한 수질시료 전처리 정제는 메탄올 비율을 40%에서 실시하였다.

### 3.3. LLE 테스트

Fig. 6은 LLE 추출 후 최적의 정제 조건을 알아보기 위하여 다이클로로메탄과 에틸아세테이트로 순차적으로 추출된 시료를 대상으로 정제컬럼 테스트를 실시한 결과를 나타낸 것이다. 분석 결과,  $\text{AgNO}_3$  실리카겔을 첨

Table 3. Recovery and coefficient of variation (CV) for hexabromocyclododecanes (HBCDs) using six eluents (n=3)

Eluents	$\alpha$ -HBCD		$\beta$ -HBCD		$\gamma$ -HBCD	
	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)
MeOH	57.4	4.67	52.6	5.88	40.6	3.64
ACN	60.4	3.38	47.5	6.83	47.5	3.43
ACT:Hx (1:1)	62.9	4.03	84.1	5.60	78.7	6.24
ACT:DCM (1:1)	75.8	7.14	86.6	6.67	80.1	4.60
EtAC	98.1	4.92	97.6	2.82	98.4	2.78
DCM	69.7	2.40	81.1	5.83	99.6	4.09

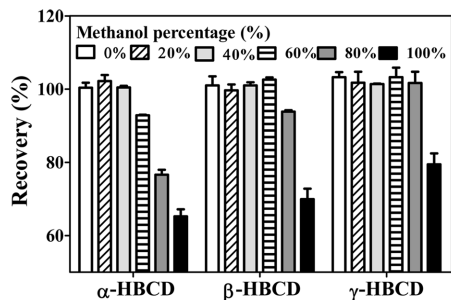


Fig. 5. Clean up test for hexabromocyclododecanes (HBCDs) using different methanol percentage in HLB cartridge.

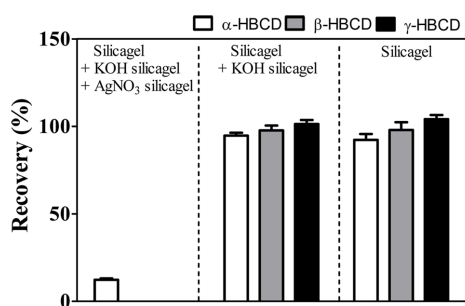


Fig. 6. Clean up test for hexabromocyclododecanes (HBCDs) in a multilayer column.

가하여 실시한 정제 테스트에서는  $\alpha$ -HBCD에서 약 10%의 회수율을 보였으며  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD에서는 회수되지 않았다. 이와 반대로  $\text{AgNO}_3$  실리카겔을 첨가하지 않고 산성실리카겔, 중성실리카겔 및 KOH 실리카겔을 첨가한 정제컬럼과 산성실리카겔, 중성실리카겔을 첨가한 정제컬럼은 모든 HBCD에서 90% 이상의 회수율을 보였다. 본 결과를 통해 LLE 추출 후 정제컬럼 통과시  $\text{AgNO}_3$ 를 첨가되면 HBCD가 분해가 되어 회수가 되지 않음을 확인하였으며, KOH 실리카겔 첨가 유무에 따른 차이를 보이지 않았다. 따라서 본 연구를 통해서 정제를

위한 다층컬럼은 산성실리카겔 및 중성실리카겔 첨가한 다층컬럼으로 선정하였다. 또한, 본 연구 결과는  $\text{AgNO}_3$  실리카겔을 첨가하여 전처리하는 PBDE 분석법<sup>20)</sup>과는 차이가 있기 때문에 차후 브롬화난연제 물질을 동시에 전처리시 고려되어야 하는 사항이라 판단된다.

### 3.4. 방법검출한계 및 정량한계

방법검출한계 및 정량한계를 도출하기 위한 시료량은 실제 하천수를 대상으로 실시한 Kowalski와 Mazur<sup>21)</sup>와 Oh 등<sup>22)</sup>이 제시한 이전연구를 참고하여 1 L로 선정하였다. 시료의 전처리는 앞선 테스트 결과에 따라 제시된 SPE 및 LLE 방법을 이용하여 실시하였으며, 그 결과를 Table 4에 제시하였다. SPE에서  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 방법검출한계는 각각 0.145 ng/L, 0.068 ng/L, 0.090 ng/L이며 정량한계는 0.462 ng/L, 0.217 ng/L, 0.287 ng/L로 나타났다. LLE는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 방법검출한계 및 정량한계가 각각 0.293 ng/L, 0.043 ng/L, 0.193 ng/L 및 0.932 ng/L, 0.135 ng/L, 0.615 ng/L로 나타나 SPE 결과와 유사하였다. 본 연구 결과는 기존에 실시한 Xu 등<sup>23)</sup>이 제시된 값(MDLs: 0.18~0.21 ng/L, LOQs: 0.35~0.72 ng/L) 및 Zhao 등<sup>11)</sup>이 제시된 값(MDLs: 515 ng/L)과 보다 높은 감도를 보였다. 하지만 MDL 도출과정(표준편차  $\times$  3.14 혹은 S/N  $\times$  3), 물 시료의 성상, 사용된 물의 양에 차이가 있기 때문에 직접적인 비교는 어려우며 차후 추가적인 연구가 필요하다. 한편, 본 연구 결과는 UHPLC/UV-vis로 분석한 Kowalski와 Mazur의 연구 결과(MDLs: 0.317  $\mu\text{g/L}$ , LOQ: 0.949  $\mu\text{g/L}$ )<sup>21)</sup>보다 수천배 높은 감도를 나타내었으며, 이를 통해 LC/MS/MS가 HBCDs 분석을 위한 최적의 기기임을 확인하였다.

### 3.5. 정확도 및 정밀도

수질 시료 중 HBCDs 분석을 위한 전처리 과정의 정확도 및 정밀도를 도출하기 위하여 1 L의 3차 증류수를 대상으로 앞선 테스트 결과에 따라 제시된 SPE 및 LLE 방법을 이용하여 실시하였으며 그 결과를 Table 5

Table 4. Method detection limit (MDL) and limit of quantitation (LOQ) for hexabromocyclododecanes (HBCDs) in water using SPE and LLE (n=7)

	Solid Phase Extraction		Liquid-Liquid Extraction	
	MDL (ng/L)	LOQ (ng/L)	MDL (ng/L)	LOQ (ng/L)
$\alpha$ -HBCD	0.145	0.462	0.293	0.932
$\beta$ -HBCD	0.068	0.217	0.043	0.135
$\gamma$ -HBCD	0.090	0.287	0.193	0.615

**Table 5.** Accuracy and precision for hexabromocyclododecanes (HBCDs) in water using SPE and LLE (n=5)

	Solid Phase Extraction		Liquid-Liquid Extraction	
	Accuracy (%)	Precision (%)	Accuracy (%)	Precision (%)
$\alpha$ -HBCD	96.3	3.35	99.3	4.25
$\beta$ -HBCD	98.1	4.01	100.4	2.32
$\gamma$ -HBCD	104.3	3.57	101.3	5.98

에 제시하였다. 분석 결과, SPE에서  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 정확도는 96.3~104.3%, 정밀도는 3.35~4.01%로 나타났으며 LLE는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 정확도 및 정밀도는 각각 99.3~101.2% 및 2.32~5.98%로 나타났다. Zhao 등<sup>8)</sup>이 수질 시료를 대상으로 SPE를 실시한 연구를 통하여 88.5~98.3%의 정확도를 보임을 제시하였으며 이는 본 연구 결과와 유사하였다. 한편, Suzuki와 Hasegawa<sup>9)</sup>의 정확도 시험 결과  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 정확도가 각각 85%, 67%, 54%로써  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD에서 낮은 정확도를 보였다. 이는 카트리지를 종류, 포집 후 건조 과정 및 사용한 용출액에 따른 차이 등으로 판단되며 이상의 결과로 종합해 볼 때 본 연구에서 제시한 HBCDs에 대한 SPE 및 LLE 분석방법은 실제 수질 시료에서의 모니터링 적용이 가능할 것으로 판단된다. 하지만 본 연구에서는 3차 증류수를 대상으로 실시한 결과이기 때문에 산업폐수나 축산폐수와 같이 오염이 심한 수질시료에서는 적용이 어려움이 있을 것으로 판단되며 차후 추가적인 연구가 필요하다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 신규 POPs의 일종인 3종의 HBCDs ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD)를 대상으로 수질 시료에 대한 분석을 실시하기 위하여 LC/MS/MS를 이용한 기기 조건과 고상추출법 및 액액추출법에 대한 분석방법을 검토하였다.

SPE에 사용된 카트리지에는 HLB이며 추출 용리액 테스트 결과 에틸아세테이트에서 최적의 회수율을 보임을 확인하였다. 메탄올을 이용한 정제 테스트 결과 메탄올의 비율이 60%에서부터  $\alpha$ -HBCD의 회수율이 90%로써 SPE 카트리지에서 용출됨을 확인하였으며 정제 시 메탄올의 비율이 40%가 적합함을 확인하였다. LLE 분석시 사용된 추출액은 다이클로로메탄, 에틸아세테이트를 순차적으로 사용하여 실시하였다. LLE 추출시료에 대한 정제컬럼 테스트 결과  $\text{AgNO}_3$ 가 첨가되면 HBCD가 분해되고 KOH 실리카겔 첨가 유무에 따른 차이를 보이지 않았으며 이를 통하여 산성실리카겔과 중성실리카겔 첨

가한 다층컬럼으로 선정하였다. HBCD에 대한 방법검출 한계 및 정량한계는 SPE에서 각각 0.068~0.145 ng/L 및 0.217~0.462 ng/L로 나타났으며, LLE는 각각 0.043~0.293 ng/L 및 0.1352~0.932 ng/L로 나타났다. 정확도 및 정밀도는 SPE에서  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 정확도는 96.3~104.3%, 정밀도는 3.35~4.01%로 나타났으며 LLE는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -HBCD의 정확도 및 정밀도는 각각 99.3~101.2% 및 2.32~5.98%로 나타났다.

본 연구 결과는 3차 증류수를 대상으로 실시한 결과이기 때문에 산업폐수나 축산폐수와 같이 오염이 심한 수질시료 적용에 어려움이 있다. 하지만 차후 이점을 보완하면 SPE 및 LLE 방법은 수질 시료 중 HBCDs를 분석에 적용하여 정확한 분석 및 모니터링이 가능할 것으로 판단되며 잔류성유기오염물질 공정시험기준 개정 에 기초자료로 활용될 것으로 기대된다.

#### 참고문헌

1. World Health Organization, "Frame retardants: A general introduction", IPCS, Environmental Health Criteria 192, 1997, WHO, Geneva.
2. C. Lassen S. Løkke and L. I. Andersen, "Brominated flame retardants substance flow analysis and assessment of alternatives", *Danish Environmental Protection Agency*, 1999.
3. R. J. Law, M. Kohler, N. V. Heeb, A. C. Gerecke, P. Schmid, S. Voorspoels, A. Covaci, G. Becher, K. Janák, and C. Thomsen, "Hexabromocyclododecane challenges scientists and regulators", *Analytical Environmental science & Technology*, 2005, 39, 281A-287A.
4. C. de Wit, "An overview of brominated flame retardants in the environment", *Chemosphere*, 2002, 46, 583-624.
5. 김태승, 신선경, 오정근, 박종은, "퇴적물 중 브롬화난연제 농도분포 특성에 관한 연구", *한국분석과학회지*, 2012, 25, 242-249.
6. 환경부 국립환경과학원, "수생태계 과불화화합물 모니터링 및 어류의 브롬화방염제 잔류량 조사", 2011, 56-98.

7. 이수민, 김성욱, 정기호, “우리나라 하천에 서식하는 붕어와 주변 퇴적토에 축적된 HBCDs의 분포 특성”, *한국분석과학회지*, **2014**, 27, 321-332.
8. A. Covaci, S. Voorspoels, L. Ramos, H. Neels, and R. Blust, “Recent developments in the analysis of brominated flame retardants and brominated natural compounds”, *Journal of Chromatography A*, **2007**, 1153, 145-171.
9. S. Suzuki and A. Hasegawa, “Determination of hexabromocyclododecane diastereoisomers and tetrabromobisphenol A in water and sediment by liquid chromatography/mass spectrometry”, *Analytical Sciences*, **2006**, 22 469-474.
10. S. N. Zhou, E. J. Reiner, C. Marvin, T. Kolic, N. Riddell, P. Helm, F. Dorman, M. Misselwitz, and I. D. Brindle, “Liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometry for analysis of 36 halogenated flame retardants in fish”, *Journal of Chromatography A*, **2010**, 1217, 633-641.
11. R. Zhao, C. Hu, J. Zhou, J. Yuan, S. Wang, and X. Wang, “Preconcentration and sensitive determination of hexabromocyclododecane diastereoisomers in environmental water samples using solid phase extraction with bamboo charcoal cartridge prior to rapid resolution liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2011**, 400, 1189-1195.
12. Albemarle corporation “Saytex 9006L Flame Retardant”, *Albemarle Corporation*, **2000**, 2.
13. European Chemicals Agency, “Member State Committee Support Document for Identification of Hexabromocyclododecane and all Major Diastereoisomers Identified as a Substance of Very High Concern”, *ECHA*, **2008**.
14. Chemical Manufacturers Association Brominated Flame Retardant Industry Panel. “Hexabromocyclododecane (HBCD): Determination of the vapour pressure using a spinning rotor gauge”, *Wildlife International, Ltd, Project No. 439C-117*, **1997**, 44.
15. European Brominated Flame Retardant Industry Panel, “Determination of water solubility of hexabromocyclododecane (HBCD) using a generator column method”, *Wildlife International, Ltd, Project No. 439C-138*, **2004**, 51.
16. S. Morris, P. Bersuder, C. R. Allchin, B. Zegers, and J. P. Boon, “Determination of the brominated flame retardant, hexabromocyclododecane, in sediments and biota by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry”, *TrAC Trend in Analytical Chemistry*, **2006**, 25, 343-349.
17. 환경부, “유해화학물질공정시험기준”, **2012**, 개정판, 7-12.
18. A. C. Gerecke, M. Kohler, M. Zennegg, P. Schmid, and N. V. Heeb, “Detection of  $\alpha$ -isomer dominated HBCD (hexabromocyclododecane) in Swiss fish at levels comparable to PBDEs (polybrominated diphenyl ethers)”, *Organohalogen Compounds*, **2003**, 61, 155-158.
19. X. Hu, D. Hu, Q. Song, J. Li, and P. Wang, “Determinations of hexabromocyclododecane (HBCD) isomers in chammel catfish, crayfish, hen eggs and fish feeds from China by isotopic dilution LC-MS/MS”, *Chemosphere*, **2011**, 82, 698-707.
20. 환경부, “잔류성유기오염물질 공정시험기준 ES 10373.1: 하천수/호소수 시료 중 폴리브롬화비페닐 시험방법-HRGC/HRMS”, **2013**, 개정판, 1477-1503.
21. B. Kowalski and M. Mazur, “The simultaneous determination of six flame retardants in water samples using SPE pre-concentration and UHPLC-UV method”, *Water, Air & Soil Pollutant*, **2014**, 225, 1866.
22. J. K. Oh, K. Kotani, S. Managaki, and S. Masunaga, “Levels and distribution of hexabromocyclododecane and its lower brominated derivative in Japanese riverine environment”, *Chemosphere*, **2014**, 109, 157-163.
23. J. Xu, Y. Zhang, C. Guo, Y. He, L. Li, and W. Meng, “Levels and distribution of tetrabromobisphenol A and hexabromocyclododecane in Taihu Lake, China”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **2013**, 32, 2249-2255.