

소나무잎중 PCDD/Fs 정량시 SPMDs와 GPC를 이용한 지질 제거법 비교

김태욱 · 천만영[†]
환경대학교 환경공학과

Comparison Between Lipid Removing Methods Using SPMDs and GPC for the Analysis of PCDD/Fs in Pine Needles

Teawook Kim and Man Young Chun[†]

Department of Environmental Engineering, Hankyong National University, Ansong, Suckjung-dong 67, Kyonggido, Korea

This study is on a comparison between GPC and SPMDs methods, the popular ones for removing lipid from pine needles which have been used for bio-monitoring of atmospheric persistent organic pollutants (POPs), such as PCDD/Fs, PCBs, PAHs, PBDEs and so on, and is fatty enough to make the analysis difficult. The results are the following: 1. The average ¹³C PCDD/Fs recovery of SPMDs was 98.6% (81.1-127.5%), 19.1% higher than that of GPC, 79.5% (72.2-86.2%). 2. The residual lipid in samples after SPMDs was about one half as much as that after GPC. 3. During the supplementary procedure using multi-layer silica to remove the residual lipid, the samples after SPMDs consumed 12% more solvent and 47% less silica than those after GPC did. The amount of relatively expensive and toxic DCM consumed after SPMDs, however, was 31% less than that after GPC, which shows that the SPMDs method was frugal and good for safety in work. 4. It took 48 hours to dialyze during SPMDs, while it took 4-5 hours to elute during GPC. Although the SPMDs method takes longer for a single or several samples, there is a good advantage in using the SPMDs method for the large number of samples since it may dialyze several scores of samples at the same time.

Key words: PCDD/Fs, pine needles, bio-monitoring, lipid removal, GPC, SPMDs

1. 서 론

HRGC/HRMS로 시료중 PCDD/Fs를 정량하기 위해서는 많은 단계의 전처리 과정이 필요한데, PCDD/Fs는 친지질성으로 동·식물의 지방에 축적되므로 전처리 과정 중에서도 제일 먼저 해야 할 일은 시료 중에 포함되어 있는 지방을 제거하는 일이다. 시료중 지질을 제거하는 방법 중에서 제일 많이 사용되는 방법으로는 황산을 이용하여 지질등 방해물질을 파괴시키는 방법과 분자의 크기를 이용하여 방해물질을 분리·제거하는 GPC(Gel Permeation Chromatography)법이 있다. 황산을 이용한 전처리법은 산과 알칼리에 안정한 물질인 PCDD/Fs, PCBs, PBDEs 및 PCNs 등은 문제가 없지만 PAHs나 일부 유기염소계 농약을 파괴시키기 때

문에 시료에서 이러한 성분을 분석해야 할 경우에는 사용할 수 없는 방법이고, 강산이므로 위험하며 시료중에 방해물질이 많을 경우 수십 번 황산으로 추출해야 하기 때문에 작업량이 엄청나게 많아진다는 문제점을 가지고 있다. GPC는 분석대상물질을 파괴하지 않고 방해물질로부터 분리해 내는 방법이지만 분석대상물질과 분자크기가 비슷한 방해물질은 분리해 내기가 곤란한 단점이 있다. 현재는 한 시료에서 산과 알칼리에 안정한 물질과 불안정한 성분을 동시에 추출하여 분석하는 경우가 많으므로 황산처리법보다는 GPC를 사용하는 경우가 더 많다.

SPMDs(Semipermeable Membrane Devices)는 Huckins 등이 처음 사용한 방법인데, 반투성 저밀도 polyethylene 막을 이용하여 시료중 PCDD/Fs, PCBs,

[†]To whom correspondence should be addressed.

PBDEs와 PAHs 등 POPs(persistent organic pollutants)를 지질등 방해물질로 부터 투석으로 분리해 내는 방법으로 간편하고 경제적이며 효율적인 방법이다. SPMDs의 pore size는 약 10Å으로 분자 크기가 약 550 Da(dalton) 이하인 분자는 막을 통과하지만 600 Da 이상의 큰 분자는 막을 통과할 수 없다. 또 SPMDs는 친지질성이기 때문에 친지질성인 PCDD/Fs, PCBs, PBDEs나 PCNs 등 POPs는 막을 통과시키지만 물이나 친수성 성분은 막을 통과할 수가 없다. 그러므로 SPMDs는 시료중 분자량이 큰 지질이나 친수성 물질로 부터 분석대상물질인 POPs를 분리하는데 응용되고 있다. 특히 SPMDs는 특별하거나 비싼 장비가 필요하지 않으며, 분석대상물질인 POPs를 파괴하지 않기 때문에 산과 알칼리에 불안정한 PAHs나 일부 유기염소계 농약의 전처리에도 사용할 수가 있다.

PCDD/Fs 등 POPs는 대기를 통하여 장거리 이동되며 식물, 토양, 수계에 건식 및 습식 침착되므로 대기중의 POPs 농도를 아는 것은 POPs의 환경 중에서의 순환을 이해하는데 대단히 중요하다. 소나무잎은 세계의 많은 지역에서 자생하고 있어 시료의 채취가 용이하고, 상피(cuticle)에 지질(lipid)이 충분히 분포되어 있어서 친지질성인 POPs의 침착이 쉽다. 또 잎의 특성상 대기중 POPs가 잎에 누적침착되므로 장기간의 대기중 POPs 농도변화에 대한 정보를 얻을 수 있고, 상록수로서 겨울에도 시료 채취가 가능하므로 대기중 POPs의 모니터링을 위해서 가장 많이 이용되고 있다. 그런데 소나무잎에는 다른 시료에 비하여 지질이 많으므로 지질 제거 과정이 대단히 어렵다.

이 연구는 대기중 POPs의 passive sampler로 많이 이용되고 있는 소나무잎중 PCDD/Fs 정량시 방해물질인 지질을 제거하기 위하여 현재 가장 많이 이용되고 있는 방법인 GPC법과 SPMDs를 이용한 방법을 서로 비교 검토한 것이다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료채취

채취한 시료는 알루미늄 호일에 싸서 PE 지퍼백에 넣어 밀봉한 후 아이스박스에 담아 실험실로 운반하였으며, 분석 시까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

2.2. 추출

소나무잎 약 50 g을 3-4 cm 길이로 잘라서 500

ml 플라스크에 넣었다. 그리고 여기에 toluene:acetone (8:2, v/v) 혼합용매 250 ml를 채운 후 회수율 측정을 위하여 surrogate internal standard(CIL Inc., EDF-957-A)를 주입하고 밀봉한 다음 초음파 추출기(Branson, Model 5210)에서 2시간 연속하여 추출하였다. 추출 용매를 다른 플라스크로 옮기고 다시 새로운 용매를 넣어 1시간 더 추출하여 추출액을 합하여 시료로 사용하였다. 공시료에는 triolein(99%, Sigma-Aldrich) 100 mg을 넣어 시료와 동일한 방법으로 하였다.

2.3. 정제

시료의 정제는 Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2389 method에 따랐다(Ikonomou *et al.*, 2001). 분석법을 다시 간단히 정리하면 추출액을 회전증발 농축기에서 약 2-3 ml까지 농축한 후 시험관으로 옮겨 질소로 약 100 l까지 농축한 다음 hexane으로 용매 전환하였다. 그 다음 시료의 정제과정은 GPC 칼럼 또는 SPMDs, 다층실리카 칼럼, 알루미늄 칼럼 및 Carbon fiber chromatography를 이용하여 시료를 정제하였다.

2.3.1. GPC 칼럼

내경 40 mm 칼럼에 Biobeads 70 g을 충전하여 hexane:DCM(1:1, v/v)으로 용출하였는데, 처음 160 ml는 왁스, 지질등 방해물질이 포함되어 있으므로 버리고 350 ml를 시료로 사용하였다.

2.3.2. SPMDs

Low density polyethylene layflat tubing(두께 104.4 m, 폭 29 mm, Cope Plastics, Inc., Fargo, ND, USA)을 30 cm로 잘라서 heat sealer로 한쪽 끝을 밀봉하고 플라스크에 넣어 hexane 400 ml를 채워 24시간 동안 방치하여 세척하였다. 여기에 시료를 넣고(총량 약 5-6 ml) 다시 heat sealer로 한쪽 끝을 밀봉한 다음 플라스크에 넣은 후 hexane 400 ml로 24시간 투석하였다. 이 용매를 다른 플라스크로 옮긴 뒤 다시 새로운 hexane 400 ml를 채워 24시간 투석한 뒤 두 용매를 합하여 시료로 사용하였다.

2.3.3. 다층실리카칼럼

유리관에 아래로 부터 염기성실리카(1N NaOH 26%, w/w), 중성실리카, 산성실리카(H₂SO₄ 33%, w/w), 중성

실리카를 무게비로 2:1:4:1로 충전하여 hexane:DCM (1:1, v/v)으로 시료를 용출하였다. 산성실리카가 착색이 되면 착색이 없어질 때까지 반복하여 다층실리카칼럼으로 지질을 완전 제거하였다.

2.3.4. 알루미늄 칼럼

알루미늄 10 g을 내경 10 mm 유리관에 충전하고 hexane 25 ml로 시료중 극성방해물질을 제거하고 hexane:DCM(1:1, v/v) 60 ml로 PCDDs/PCDFs를 용출하였다.

2.3.5. Carbon fiber chromatography 칼럼

내경 5 mm stainless steel 칼럼에 grass filter paper 600 mg(124 mm P100 prefilter sn. 211707, Nucleopore Corp.)과 50 mg PX-21 carbon(BP Amoco Chemicals)을 혼합하여 충전하고, HPLC를 이용하여 benzene : ethyl acetate(1:1, v/v) 62 ml로 PCBs등 방해물질을 제거하고 칼럼을 거꾸로 하여 toluene 90 ml로 PCDDs/PCDFs를 용출하였다. 이 용출액을 회진증발 농축기와 질소로 농축하여 surrogate recovery standard(CIL Inc., EDF-5999)를 주입한 후 분석시료로 하였다.

실험에 사용된 모든 용매는 잔류농약급을 사용하였고, 실리카(100-200 mesh)와 알루미늄(neutral, super 1 activity)는 170°C에서 12시간 이상 활성화시킨 후 사용하였다. 또 무수황산나트륨은 500°C에서 12시간 이상 구운 것을 사용하였다. 아래 Fig. 1은 소나무잎의 GPC와 SPMDs 두 전처리 방법에 대한 도식표이다.

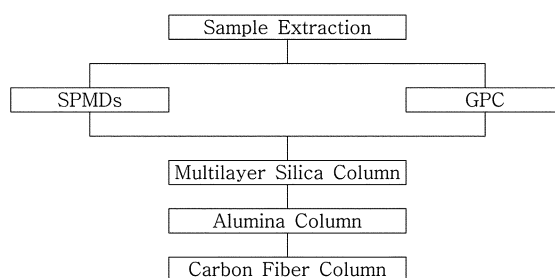


Fig. 1. Schematic diagram of clean-up and fractionation procedure of pine needles.

2.4. 분석

시료중PCDD/Fs는 HRGC/HRMS로 분석하였으며 분석 조건은 아래 Table 1과 같다.

2.5. QA/QC

QA/QC는 Environment Canada's Method와 EPA method 1613에 기초하여 Canada IOS에서 정한 PCDD/Fs 분석 매뉴얼에 따랐다(Ikonomou *et al.*, 2001).

3. 결과 및 고찰

3.1. 투석용매와 투석조건

Meadow 등은 SPMDs를 이용한 투석 실험에서 용매의 종류와 투석시간에 따라 POPs의 회수율과 지질의 통과율(carry over rate)이 서로 다르다는 것을 알았다. DCM, hexane 및 hexane:DCM(8:2)의 3가지 용매로 투석실험을 행한 결과 회수율과 지질통과율 모두 hexane:DCM(8:2)>hexane>DCM 순으로 높았으

Table 1. HRGC/HRMS conditions for determination of PCDDs/PCDFs

HRGC	HP5890 Splitless
Injector	Splitless
Carrier Gas	He(25 psi, 35 cm/sec)
Injection Volume	1 µl
Column	DB-5(60 m × 0.25 mm I.D × 0.1 µm film thickness)
Temp. program	100 °C(2 mins) 200 °C(20 °C/min, 0 min) 215 °C(1 °C/min, 7 mins) 300 °C(4 °C/min, 3 mins)
Injector Temp.	282 °C
HRMS	VG-AutoSpec-S
Ionization mode	EI
Detection mode	SIM
Ionization Voltage	28 - 35 eV
Accel. Voltage	6 - 8 kV
Resolution	>10,000(10% valley)

며, 또 투석시간이 길수록 회수율과 지질통과율이 높다는 사실도 발견하였다. 또 Meadow는 투석시 회수율은 온도 변화에 큰 영향을 받지 않으나 지질통과율은 온도가 높을수록 증가하며, 시료양과 투석용매양과의 관계에서는 시료양에 비해서 투석용매량이 많을수록 회수율과 지질통과율이 증가한다고 하였다.

Meadow의 실험 결과 hexane:DCM(8:2) 혼합용매를 사용했을 경우 회수율은 가장 높았지만 지질통과율 또한 가장 높고 DCM의 환경적 위해성 때문에 이 번 연구에서는 hexane을 투석용매로 사용하였으며, 투석시 온도는 특별히 조정하지 않고 실온에서 행하였다. 그리고 시료량에 대한 투석용매량은 65-80배, 투석시간은 24시간 투석 후 용매를 교체한 후 다시 24시간 투석하였다.

일반적으로 SPMDs로 시료중 지질을 제거할 경우 약 94 - 96%의 지질이 제거되는데 HRGC/HRMS로 시료를 분석하기 위해서는 지질을 완벽하게 제거하여야 하므로 다층실리카 칼럼을 이용한 추가적인 지질제거 과정을 거쳐야 한다. 특히 소나무잎 중에는 다른 시료보다 지질이 많아서 반드시 추가적인 clean-up 과정이 필요하였다.

3.2. 회수율

Table 2와 Fig. 2는 소나무잎을 추출한 후 지질을 제거하기 위하여 GPC와 SPMDs로 전처리한 소나무잎 중 PCDD/Fs internal surrogate standard의 회수율을 나타낸 것이다. SPMDs를 이용한 전처리법에서 평균 회수율은 98.6%(81.1 - 127.5%), GPC에서는 79.5%(72.2 - 86.2%)로 GPC보다 SPMDs에 의한 평균 회수율이 평균 19.1% 더 높았다. SPMDs에서 ¹³C-OCDD의 회수율은 평균 127.5%(109 - 144%)로 대단히

높았으므로 ¹³C-OCDD를 제외하고 다른 congener의 평균 회수율을 살펴본 결과 94.9%(81.1 - 107.4%)로 GPC보다 역시 평균 회수율이 15.4%가 높은 대단히 양호한 결과를 보였다. 각 시료의 회수율에 대한 평균 표준편차는 SPMDs가 5.6(3.1 - 11.7), GPC가 5.4(3.7 - 7.6)으로 두 방법 모두 대단히 양호하였다. SPMDs, GPC 두 방법 모두 시료중 지질 제거법으로는 회수율 및 안정성(표준편차) 면에서 우수한 방법이나 SPMDs가 회수율 측면에서 훨씬 더 우수하였다.

3.3. 제거된 지질양

소나무잎 50 g중 지질의 무게는 약 500 mg이었으며 SPMDs와 GPC를 이용하여 지질을 제거한 후 시료 중에 잔류하는 지질의 양은 SPMDs가 31.5 mg, GPC가 45.7 mg으로 SPMDs가 GPC보다 지질을 약 45% 정도 더 제거하였다.

소나무잎 50 g중 지질을 제거하는데 사용된 용매량은 다층실리카 칼럼을 포함한 과정에서 SPMDs가 약 2,620 ml (hexane 1,720 ml, DCM 900 ml)가 소요되었고, GPC에서는 2,360 ml(hexane 및 DCM 각각 1,180 ml)가 소요되었다. 또 다층실리카 칼럼에 사용된 실리카의 양은 SPMDs가 약 95 g, GPC가 약 140 g이 소요되었다. 소모된 용매와 실리카의 가격을 계산하면 SPMDs가 GPC보다 더 경제적인 방법이며, 환경적인 측면에서도 hexane은 DCM보다 위해성이 적은 용매이므로 SPMDs가 GPC보다 더 우수한 방법이라 판단된다.

3.4. 실험시간 소요시간

SPMDs는 투석시 24시간 씩 2회, 총 48 시간이 소

Table 2. PCDD/Fs isotope recovery of SPMDs and GPC

Congener	SPMDs											GPC								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	mean	S.D	1	2	3	4	5	mean	S.D
13C-2,3,7,8-TeCDD	94	83	87	93	97	90	94	94	91	89	92	91.3	3.9	83	70	80	80	75	77.6	5.1
13C-1,2,3,7,8-PeCDD	112	93	104	108	109	106	114	104	102	100	104	105.1	5.8	95	75	88	90	83	86.2	7.6
13C-1,2,3,6,7,8-HxCDD	81	77	76	84	83	77	83	85	83	80	83	81.1	3.1	73	68	77	80	67	73	5.6
13C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	105	96	101	110	112	94	113	119	112	112	107	107.4	7.7	83	83	90	85	75	83.2	5.4
13C-OCDD	126	109	113	128	143	114	137	144	131	132	125	127.5	11.7	95	82	93	93	82	89	6.4
13C-2,3,7,8-TeCDF	88	78	82	89	89	80	89	89	86	87	88	85.9	4.0	77	65	73	73	73	72.2	4.4
13C-1,2,3,7,8-PeCDF	105	89	97	103	103	98	107	101	100	99	100	100.2	4.8	87	72	80	85	80	80.8	5.8
13C-1,2,3,4,7,8-HxCDF	95	88	87	96	100	91	93	97	91	90	96	93.1	4.1	87	75	80	77	83	80.4	4.8
13C-1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	96	86	91	97	100	88	99	105	99	96	94	95.5	5.5	78	68	75	72	72	73	3.7
Mean	90	80	84	91	94	84	94	95	90	90	90	98.6	5.6	76	66	74	74	70	79.5	5.4

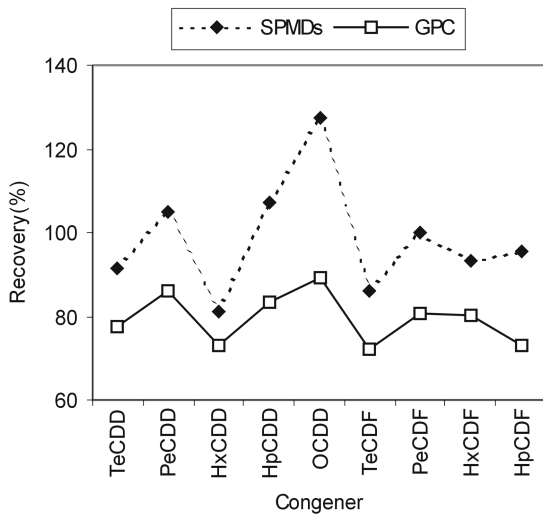


Fig. 2. PCDD/Fs isotope recovery of SPMDs and GPC.

요되는 반면 GPC는 약 4-5 시간 소요되므로 실험에 소요되는 시간은 SPMDs가 더 많다. 그러나 시료 수가 많을 경우 SPMDs는 수 십개의 시료를 동시에 투석시킬 수 있으므로 오히려 실험에 소요되는 시간에서도 GPC보다 유리하다.

4. 결 론

대기중 POPs의 바이오 모니터링에 많이 이용되고 있는 소나무잎은 지질이 많아 정량시 전처리가 힘들다. 이 연구는 소나무잎중 PCDD/Fs 정량시 방해물질인 지질을 제거하는 방법중 현재 많이 이용되고 있는 비파괴법인 GPC와 SPMDs를 비교한 것으로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. ¹³C PCDD/Fs의 평균 회수율은 SPMDs가 98.6% (81.1 - 127.5%), GPC는 79.5 % (72.2 - 86.2%)로 GPC보다 SPMDs에 의한 평균 회수율이 19.1% 더 높았다
2. 지질 제거율은 SPMDs가 GPC보다 약 45 % 정도 더 우수하였다.
3. 지질제거 후 다층실리카를 이용하여 시료에 잔류

하는 지질을 추가로 제거하는 과정에서 소요된 용매량은 SPMDs가 GPC보다 약 12% 더 소모되었으나 실리카의 양은 약 47%가 적게 사용되었다. 그리고 용매중 hexane보다 위해성이 크고 가격이 비싼 DCM의 소모량이 GPC법에 비하여 약 31 %가 적게 소모되어 SPMDs가 GPC보다 더 경제적이고 환경적인 방법임을 알 수 있었다.

4. SPMDs는 투석시 24시간 씩 2회, 총 48시간이 소요되는 반면 GPC는 약 4-5시간이 필요하므로 시료 1개당 실험에 소요되는 시간은 SPMDs가 더 길다. 그러나 SPMDs는 수 십개의 시료를 동시에 투석시킬 수 있어 시료 수가 많을 경우 GPC보다 더 유리하다.

참고문헌

1. 정예표, 최민규, 여현구, 천만영, *한국환경농학회지*, **2001**, 20, 79 - 85.
2. J.N. Huckins, M.W. Tubergen, J.A. Lebo, R.W. Gale and T.R. Schwartz, *J. of Assoc. Off. Anal. Chem.*, **1990**, 73, 290 - 293.
3. J. Meadows, D. Tillitt, J. Huckins and D. Schroeder, *Chemosphere*, **1993**, 26, 1993 - 2006.
4. B. Strandberg, P.A. Bergqvist and C. Rappe, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 526 - 533.
5. P.A. Bergqvist, B. Strandberg and C. Rappe, *Chemosphere*, **1999**, 38, 933 - 943.
6. A.L. Rantalainen, N.F. Crewe and M.G. Ikonou, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **1999**, 75, 1-17.
7. A.L. Rantalainen, "Semipermeable Membrane Devices in Monitoring Persistent Organic Pollutants in the Environment" *Ph.D dissertation*, **2000**, 1-58, University of Jyväskylä, Finland.
8. M.G. Ikonou, T.L. Fraser, N.F. Crewe, M.B. Fischer, I.H. Rogers, P.J. Sather, and R.F. Lamb, "A Comprehensive Multiresidue Ultra-Trace Analytical Method, Based on HRGC/HRMS, for the Determination of PCDDs, PCDFs, PCBs, PBDEs, PCDEs, and Organochlorine Pesticides in Six Different Environmental Matrices." *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2389*, **2001**. Canada.