

## 유기환경시료의 분석

신 동 천

연세대학교 의과대학 예방의학교실  
 환경공해연구소

### 1. 환경시료 분석의 중요성

현대 사회를 일컬어 'Chemicalized society'라 하기도 하며 우리가 사는 환경을 'Sea of chemicals'라고 표현할 정도로 우리 인류는 화학물질의 홍수 속에 살고 있다.

1970년대 이래로 환경오염이 사회문제로 대두되면서 환경기준의 설정과 평가를 위하여 위해성평가(Risk assessment)의 방법론이 발전해 왔다. 위해성평가란, 인간이 환경적 위협에 노출되었을 경우 발생할 수 있는 건강장해를 예측하는 것으로, 위험성 확인(hazard identification), 용량-반응평가(dose-response), 노출평가(exposure assessment), 위해도 결정(risk characterization)의 네 단계를 통해 수행된다.

그 가운데 노출평가는 Fig. 1에서와 같이 사람이 현 환경 중에 존재하는 원인물질에 노출되는 강도, 빈도 및 기간을 측정 평가하는 과정으로, 정확한 노출량의 측정은 모든 다른 과정의 기본이 되기 때문에 위해성 평가에 있어 가장 중요한 과정으로 취급된다. 정확한

노출량을 측정하기 위해서는 환경 중의 오염수준을 정확하게 분석해야 하므로 환경오염물질 분석의 방법론은 전체 위해성평가에 있어 매우 중요하다.

그러나 환경오염물질의 분석은 쉽지 않다. 환경분석이 어려운 이유는 대상 시료가 매우 가변적(variability)이기 때문이다. 환경시료는 시시각각으로 변화되기 때문에 시료의 선택에서부터 어려우며 분석조작 과정 중에 시료의 손실이 있었다면 다시는 되돌이킬 수 없기에 분석에 있어 매우 조심스럽다. 환경은 수많은 화학물질의 복합적(complex mixture) 기질이기 때문에 우리가 관심 있는 몇 가지의 물질만을 정확하게 동정, 분석한다는 것은 매우 어렵다. 또한 환경 중 오염물질은 대개가 매우 미량으로 존재하기 때문에 검출한계를 최대한 낮추어야만 하는 고도의 분석기술을 요구하게 된다.

특히 환경분석에 있어 환경분석자가 반드시 고려해야 할 것은 어떻게 결과를 사용할 것(연구의 목적)인가, 다양한 환경시료 중 어떤 기질(environmental media)을 선택하여 어디에서, 언제, 어떤 방법으로 채취하여 측정할 것인가, 이때 얼마만큼의 양을 분석 대상으로 삼아 분석의 정확도(accuracy), 민감도(precision)를 고려할 것인가이며, 이때 연구의 제한점으로서 인력이나 시간, 경비 등을 고려하지 않을 수 없다.

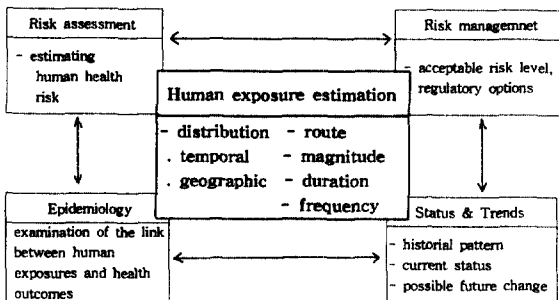


Fig. 1. Components of health risk assessment process

### 2. 환경중 다환방향족 유기물질(polycyclic organic matters)

물질의 불완전 연소과정에서 생성되는 다환방향족 유기물질(polycyclic organic matter; 이하 POM)에 의한 인체 발암영향은 이미 18세기부터 알려져 이에

대한 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있다. 이러한 화합물들은 주로 도시 교통기관, 산업장, 소각시설 등에서 배출되는데, NAS(National Academic Science)의 보고(1983)에 따르면 도시지역에서는 차량이 매우 중요한 오염원으로 작용한다.

POM은 크게 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), aza arenes(arenes containing a ring nitrogen), iminoarenes(ring nitrogen with a hydrogen), carbonyl arenes, dicarbonyl arenes, hydroxy carbonyl arenes, oxa arenes and thia arenes, polychloro compounds 등과 같이 화학적으로 2개 이상의 벤젠고리를 갖고 있는 많은 유기 복합체로 구성되어 있다(US EPA, 1979).

환경 중의 POM이 큰 관심이 되고 있는 이유는 동물 및 인체에 미치는 발암능력(carcinogenic activity)과 환경 중의 다양한 분포성(ubiquity), 환경 중의 오랜 지속성(persistence) 때문이다(Saxena 등, 1977).

IARC(International Agency for Research on Cancer, 1983)에서는 benzo[a]pyrene(이하 BaP)을 비롯한 몇몇 PAHs를 사람에게 대한 유력한(probable) 또는 가능한(possible) 발암물질로 구분하고 있으며, PAHs를 함유하고 있는 코크 생성물, 담배연기, 타르 등에 대해서는 사람에게 대한 발암물질이라고 규정하여 관리하고 있다.

POM 화합물은 석탄연소, 자동차 배기가스, 폐·하수와 같이 다양한 범위에서 방출되고 있다는 것이 자

연수, 공기, 폭로된 동물조직 등으로부터 POM을 검출해냄으로써 증명되었다. 일반적으로 작은 분자량을 가진 POM은 상재적으로 급격히 생분해되나 2개 이상의 벤젠고리를 가지고 있는 POM은 매우 안정하기 때문에 자연 중에 오래 남아 있게 된다(US EPA, 1979).

환경시료 중의 POM 분석은 수많은 이성질체와 화학적 구조의 유사성으로 인해 완전한 정성분리가 어렵다는 문제점을 가지고 있다. 그러나 이러한 각각의 화합물을 분리하여 확인하는 것은 매우 중요한데, 그 이유는 화학적으로 약간 다른 구조를 가진 이성체가 끼치는 그 잠재적 발암능력과 건강위해 정도는 매우 다르게 나타나기 때문이다(US EPA, 1979). PAHs와 nitroarenes류는 대부분이 높은 용점과 끓는 점을 가지고 있는 강한 불용성 물질이며 고리 수가 증가함에 따라 휘발성이 유의하게 낮아지는 성질 때문에 입자상 물질로 존재한다. 또한 자외선을 강하게 흡수하면서 강한 형광을 발하는 특성을 가지고 있다. 화합물들의 일반적 특성들이 이들 화합물의 분석에 필수적으로 요구되기 때문에 대상 항목에 대한 물리·화학·구조적 특성을 Fig. 2, Table 2에 간단히 나타내 보았다.

3. 다환방향족 유기오염물질의 일반적 분석원리

환경 중의 POM을 분석하기 위한 일반적 개요는 Fig. 3과 같다.

시료 채취기를 이용해 포집한 환경시료 중의 유기물

Table 1. IARC grouping of PAHs and of mixture containing PAHs

| Group 1          | Group 2A               | Group 2B                 |
|------------------|------------------------|--------------------------|
| Coal tar pitches | Benz[a]anthracene      | Benzo[b]fluoranthene     |
| Coal tar         | Benzo[a]pyrene         | Benzo[j]fluoranthene     |
| Coke production  | Cresotes               | Benzo[k]fluoranthene     |
| Mineral oils     | Dibenz[a, h]anthracene | Carbon black extracts    |
| Shale oils       |                        | Dibenz[a, e]pyrene       |
| Soots            |                        | Dibenz[a, i]pyrene       |
| Tobacco smoke    |                        | Dibenz[a, h]pyrene       |
|                  |                        | Dibenz[a, l]pyrene       |
|                  |                        | Indeno[1,2,3-cd]pyrene   |
|                  |                        | 5-Methylchrysene         |
|                  |                        | Dibenz[a, h]acridine     |
|                  |                        | Dibenz[a, j]acridine     |
|                  |                        | 7H-Dibenz[c, g]carbazole |

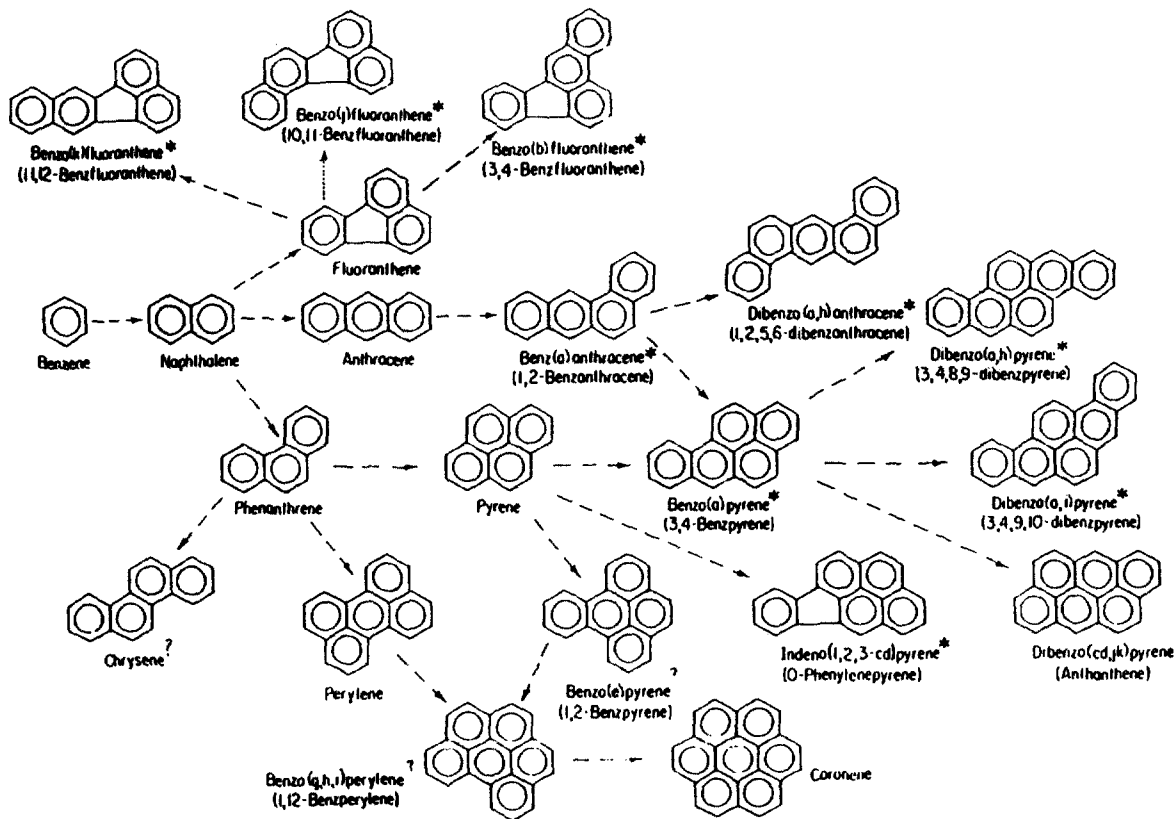


Fig. 2. Structure interrelationship of PAHs encountered in the environment.

(Compounds with asterisks have been clearly demonstrated to be carcinogenic, while those with question marks are marginally active)

질을 추출하기 위해서는 보통 soxhlet, sonication, shaking 방법을 이용한다. 추출에 사용하는 추출용매의 선택은 분석에 있어서 매우 중요한데, 일반적으로 dichlorometane, acetone, benzene, benzene : metanol (4 : 1), cyclohexane / dichloromethane / acetone, diethylether : cyclohexane (8 : 2), cyclohexane 등을 사용한다.

방해물질의 제거 및 물질의 특성별 분획을 위해 사용되는 방법으로는 용매추출법(solvent extraction), 컬럼 크로마토그래피(column chromatography), PC (Column Chromatography), TLC(Thin layer chromatography) 등의 방법을 이용한다. 이때 분배 용매로는 methanol/water, tetramethyl uric acid/methanol, acetonitrile, dimethylformamide, nitromethane, DMSO 등이 있으며 column chromatography

에 사용되는 충전제로는 보통 alumina, silical gel, florosil, cellulose acetate, gel materials 등이 있다.

POM을 액성별로 분획화한 각 중성, 염기성, 산성 분획의 성분은 다음과 같다.



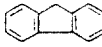

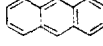


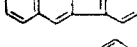
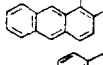
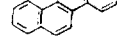
중성 분획(Neutral fraction)

- saturated hydrocarbons
- unsaturated hydrocarbons
- benzene, naphthalene, and their derivatives
- polycyclic aromatic hydrocarbons
- pesticides
- oxiganated neutral compounds
- n-Nitrosamines

산성 분획(Acidic fraction)

- nonvolatile aliphatic and aromatic fatty acids

Table 2. Physicochemical characteristics and carcinogenicity of nitroarenes

|                           | chemical structure                                                                | M.W.   | M.P./<br>B.P.(°C) | carcinogenicity                 |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------|-------------------|---------------------------------|
| 1-nitropyrene             |  | 247.25 | 151~152/ -        | sarcoma<br>(rat)                |
| 1, 8-dinitropyrene        |  | 292.25 | 299~300/ -        | -                               |
| 5-nitroacenaphthene       |  | 199.21 | 100~101/ -        | Distal tumors<br>(hamster)      |
| 9-nitroanthracene         |  | 223.23 | -                 | -                               |
| 2-nitronaphtalene         |  | 180.20 | -                 | Bladder tumors<br>(dog, moncky) |
| 1-nitroacenaphthylene     |  | 173.17 | 59~60/304         | -                               |
| 2-nitrofluorene           |  | 211.22 | -                 | Distal tumors<br>(rat)          |
| 3-nitro-9-fluorenone      |  | 225.20 | 220~225/ -        | -                               |
| 2, 7-dinitrofluorene      |  | 270.20 | -                 | -                               |
| 2, 7-dinitro-9-fluorenone |  | 256.22 | -                 | -                               |

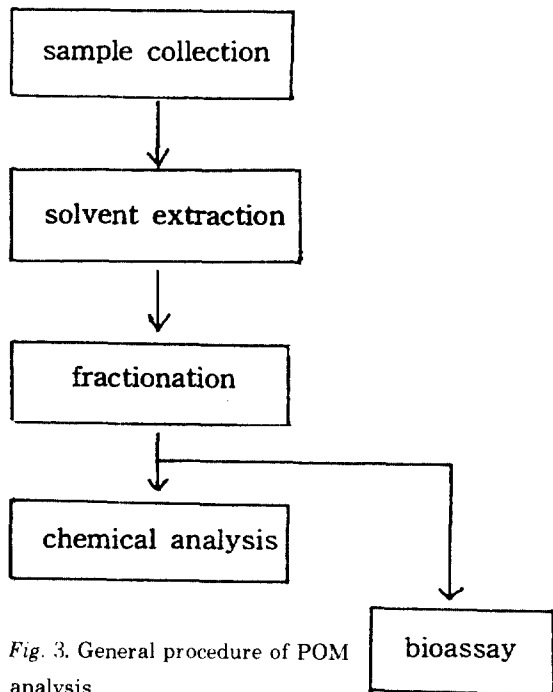


Fig. 3. General procedure of POM analysis

- nonvolatile phenols
- polyphenols
- 염기성 분획(Basic fraction)
  - azaarenes
  - nonvolatile amines

#### 4. 대기 중에서의 다환방향족 유기오염물질의 분석

High volume cascade impactor(Andersen Sierra-352, US)에 항량으로 건조시킨 유리섬유여지(glass fiber filter : General metal works, US)를 사용하여 포집된 분진은 여지를 조대 입자(coarse particulates)와 미세 입자(fine particulates)로 분리하여, diethyl-ether : cyclohexane(4 : 1, v/v)을 가해, 초음파 추출기로 추출한다. 추출된 유기물은 염기성 용액(2N-NaOH)은 산성 성분을 추출하고 산성 용액(2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)은 염기 성분을 추출하여 분리하는 방법(liquid-liquid extraction)을 이용하여 중성 분획(neutral fraction)을 취한다. 중성 분획 중 PAHs와

Table 3. Analytical conditions of gas chromatography for the determination of PAHs and nitroarenes.

| Item             | Conditions                                                     |                                                                |
|------------------|----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
|                  | PAHs                                                           | Nitroarenes                                                    |
| GC               | Shimadzu GC-7AG(Japan)                                         |                                                                |
| Detector         | FID(Flame Ionization Detector)                                 |                                                                |
| Integrator       | Youngin D510 B                                                 |                                                                |
| Flow rate        | 35 ml/min                                                      |                                                                |
| Attenuation      | 4                                                              |                                                                |
| Chart speed      | 5 mm/min                                                       |                                                                |
| Injection volume | 2 $\mu$ l                                                      |                                                                |
| Column           | BP-1<br>(25cm $\times$ 0.33mm, 0.25 $\mu$ m)                   | PTE-5<br>(30cm $\times$ 0.25mm, 0.25 $\mu$ m)                  |
| Inject. temp.    | 270 $^{\circ}$ C                                               | 300 $^{\circ}$ C                                               |
| Detect. temp.    | 270 $^{\circ}$ C                                               | 300 $^{\circ}$ C                                               |
| Oven temp.       | 130 $^{\circ}$ C (2min) $\rightarrow$ 270 $^{\circ}$ C (15min) | 140 $^{\circ}$ C (4min) $\rightarrow$ 300 $^{\circ}$ C (15min) |
| Temp. rate       | 2 $^{\circ}$ C/min                                             | 2 $^{\circ}$ C/2min                                            |

nitroarenes를 분리하기 위하여 박층 크로마토그래피 (Thin Layer Chromatography)법을 이용하며, 이 때 고정상으로는 silica gel G-60 (0.5mm, 20cm  $\times$  20cm, Merck)을 사용하고, 이동상으로는 n-hexane : cyclohexane : toluene : benzen (8 : 36 : 4 : 53, v/v)을 사용한다. PAHs 분석을 내부표준물질 4-azafluorene과 1-pyrene-aldehyde를 첨가한 benzene으로 용해시키고 nitroarenes 분석은 PAHs 가운데 비교적 빠른 머무름 시간을 갖고 있으면서도 휘발성이 없는 anthracene을 내부표준 물질로 하여 기체 크로마토그래피 (Gas chromatography : GC)로 동정 및 정량한다. 이 때의 GC 분석조건은 Table 3에 나타내었다.

분석 대상 항목은 POM 가운데, 독성 정도와 대기 중 분포량을 고려하여 PAHs 21종(Supelco, USA)과 nitroarenes 10종(Supelco, USA)을 선정하였으며, 각 표준물질과 분진시료에서 검출된 크로마토그램을 Fig. 4에, Fig. 5~7은 측정된 농도를 보여 준다.

#### 5. 음용수에서의 다환방향족 탄산수소류(polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) 분석

음용수에서 지적되는 폭로 오염원으로서의 평가는 전체 환경 중에 분포하는 PAHs량의 1% 정도이기 때문에 매우 적은 가치를 가질 수도 있겠으나 인간이 매

일 2L씩 평생 마시고 있는 물이 잠재적으로 인체에 암을 유발시킬 수 있다는 점에서 그 중요성이 간과되어서는 안 된다. 더불어 음용수를 통해 섭취하는 PAHs 화합물을 조절하기 위해서는 음용수 중에 존재하는 그들의 수준을 확인하는 것이 필요불가결한 문제이다. 1978년 Basu와 Saxena의 연구 결과에서는 미국 음용수 중의 benzo[a]pyrene, 총 PAHs의 농도가 0.55ng/l, 13.5ng//l로 이것을 1일 섭취량으로 계산하였을 때 0.0011 $\mu$ g, 0.0027 $\mu$ g이 된다고 하였다. 유병률과 관련된 음용수에서의 PAHs에 관한 역학적 연구는 없었으나 Poel(1963)의 연구에서는 비록 저농도이지만 음용수를 통한 발암성 PAHs의 지속적인 폭로는 잠재적 위험을 내포하고 있다고 지적하였다. 물 중의 PAHs는 석탄연료의 연소로 발생되어 대기 중에 존재하는 PAHs에 의해 가장 큰 영향을 받으며 지하수보다 5~10000배 이상 높은 농도를 함유한 폐수와 오염된 하천수가 다시 상수원으로 사용된다. Borneff(1977)는 1.0 $\mu$ g/l 이상의 PAHs를 함유한 원수는 처리 뒤에도 음용수로서 안전하지 못하다고 하였다.

액상 시료 중의 PAHs를 측정하기 위해서는 크게 다음과 같은 3단계를 거치는 것이 일반적이다. 분석의 첫 단계는 시료 기질로부터 PAHs를 비롯한 유기물을 농축·추출하는 것이고, 두번째 단계는 추출된 유기물 가운데에서 다른 방해성분들을 제거하는 것이며, 세번째

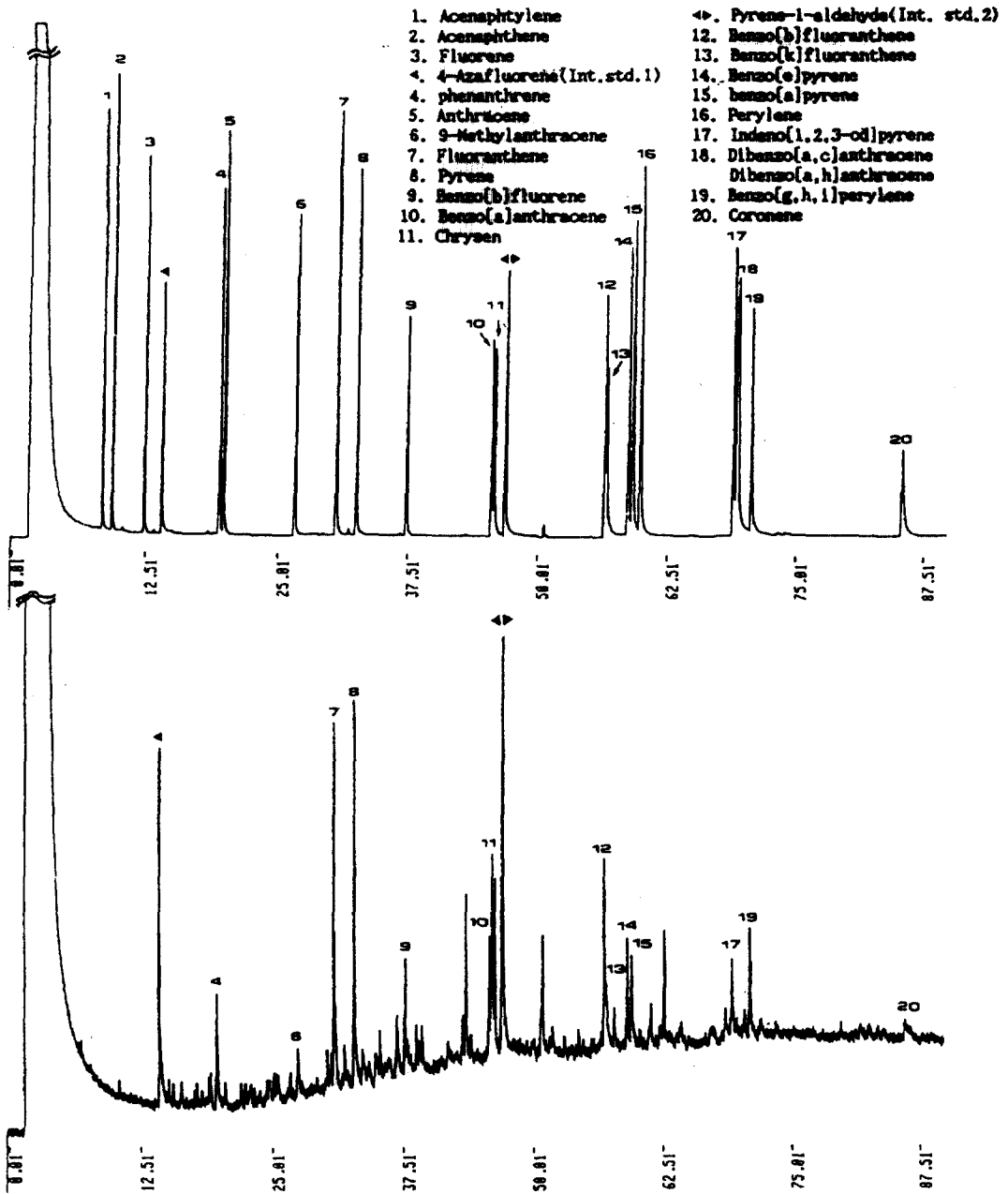


Fig. 4. Chromatograms of PAHs standards and a sample fraction

는 적절한 분석기기로 PAHs에서 각 이성질체들을 분리하는 것이다. 먼저 유기물의 수집은 적절한 media 흡착제에 의한 농축 방법으로 가능하며 추출된 유기물은 산성, 염기성, 중성 분획으로 각각 나누어지는데,

PAHs의 양은 매우 적기 때문에 세밀한 정제과정을 거치게 된다. 중성과 염기성 분획은 주로 용매 분배를 통하여 분리하며 중성 분획 중의 방해물질은 TLC(thin layer chromatography)로 대부분 제거한다.

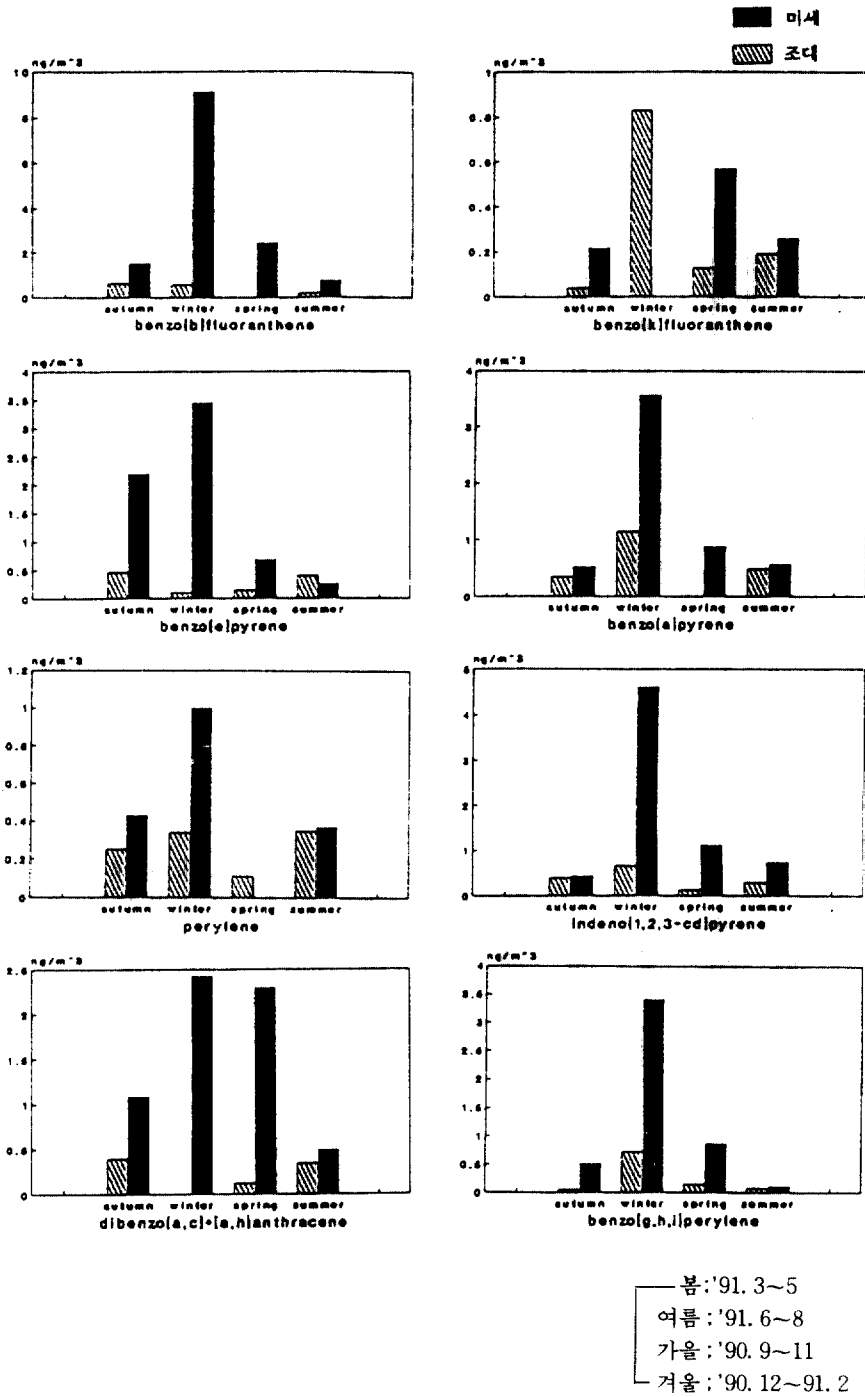
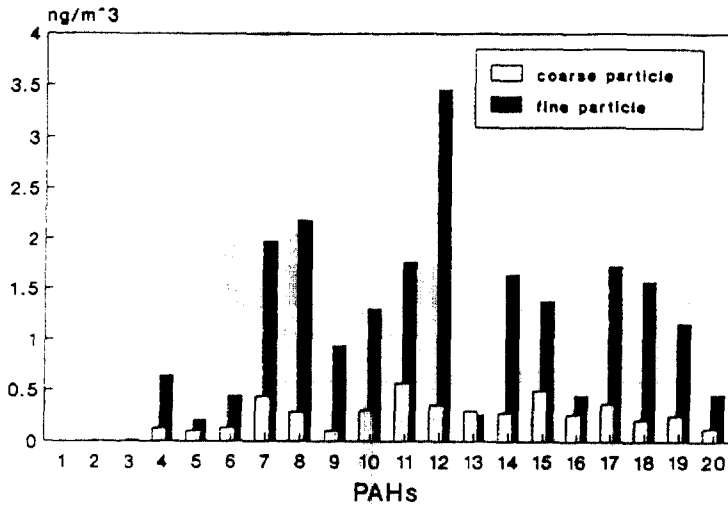
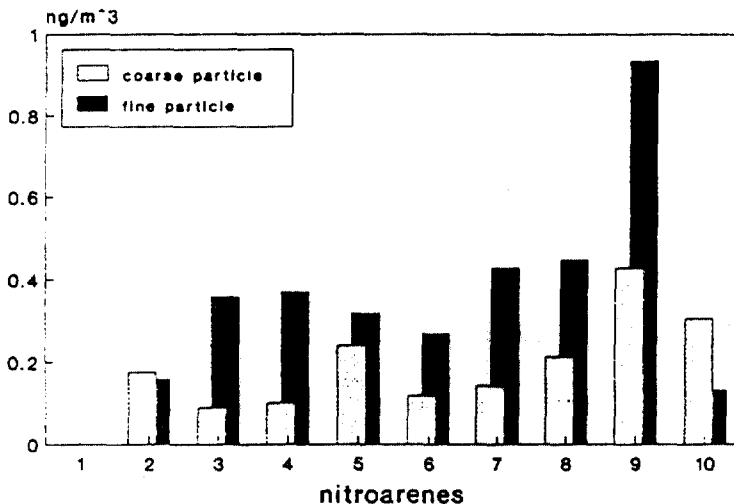


Fig. 5. The seasonal variation of PAHs



1. Acenaphthylene
2. Acenaphthene
3. Fluorene
4. Phenanthrene
5. Anthracene
6. 9-methylanthracene
7. Fluoranthene
8. Pyrene
9. Benzo[b]fluorene
10. Benzo[a]anthracene
11. Chrysene
12. Benzo[b]fluoranthene
13. Benzo[k]fluoranthene
14. Benzo[e]pyrene
15. Benzo[a]pyrene
16. Perylene
17. Indeno[1,2,3-cd]pyrene
18. Dibenzo[a,c]+[a,h]anthracene
19. Benzo[g,h,i]perylene
20. Coronene

Fig. 6. The yearly average concentration of PAHs



1. 1-nitroacenaphthylene
2. 2-nitronaphthalene
3. 3-nitro-9-fluorenone
4. 5-nitroacenaphthene
5. 9-nitroanthracene
6. 2-nitrofluorene
7. 1-nitropyrene
8. 2,7-dinitro-9-fluorenone
9. 2,7-ditrofluorene
10. 1,8-dinitropyrene

Fig. 7. The yearly average concentration of nitroarenes

PAHs는 대부분이 높은 어는 점과 끓는 점을 가지고 있는 강한 불용성 물질로, 고리 수가 증가함에 따라 휘발성이 유의하게 낮아지는 성질 때문에 입자상 물질과 관련되며 PAHs 화합물의 1/3은 큰 부유입자에서, 1/3은 미세 분산입자에서, 1/3은 용해된 형태로 존재한다. 또한 자외선을 강하게 흡수하면서 강한 형광을 발하는 특성을 가지고 있어 이러한 특성들을 이용한 미량 분석 방법을 적용하게 된다.

일반적 분석 개요는 Fig. 8과 같다.

물 중 PAHs 추출에 사용한 수지는 polystyrenedi-vinylbenzene copolymer resin, XAD-2이 널리 사용되어 왔으며, 오랜 기간 동안 안정하다는 것이 증명되어 왔다. 사용하기 전에 활성화시킨 Amberlite XAD-2 (20~60 mesh) 수지를 채운 흡착 컬럼에 유기물을 흡착, 농축시키기 위한 장치는 Fig. 9에 나타낸 바와 같이 세 부분으로 나누어졌다.



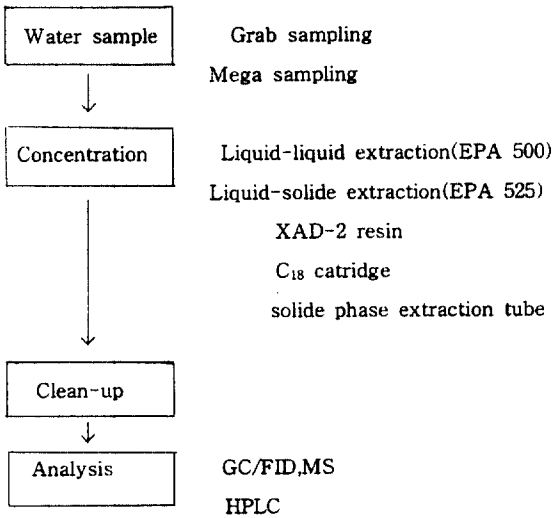


Fig. 8. General procedure of POM analysis in water

- (A) 1-liter reservoir
- (B) 24/40 joint
- (C, E) silane treated glass wool
- (D) XAD-2 resin colum (0.8cm-I, D 10cm)
- (F) teflon stopcock

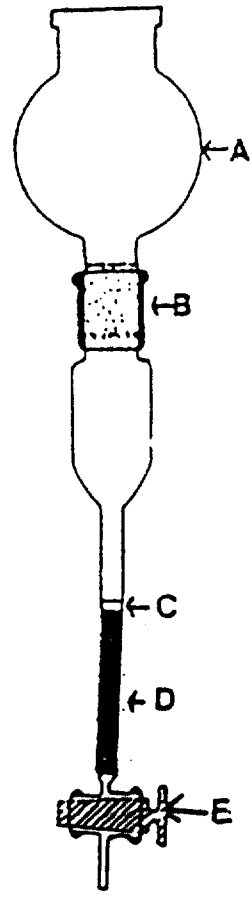


Fig. 9. PAHs adsorbtion apparatus

Table 4. The comparison of upper bound unit risk estimates

| Method                     | BaP<br>(1ng/m <sup>3</sup> )                                               | EOM<br>(1μg/m <sup>3</sup> )        |                             |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| Animal study               | <sup>a</sup> 1.1 × 10 <sup>-6</sup><br><sup>b</sup> 4.4 × 10 <sup>-6</sup> |                                     | Inhalation<br>Intratracheal |
| Human study                |                                                                            | <sup>c</sup> 6.2 × 10 <sup>-4</sup> | Coke-oven emissions         |
| Comparative potency method |                                                                            | <sup>d</sup> 4.2 × 10 <sup>-5</sup> | Automobile(gasoline)        |
|                            |                                                                            | <sup>e</sup> 2.3 × 10 <sup>-4</sup> | Automobile(diesel)          |
|                            |                                                                            | <sup>f</sup> 1.9 × 10 <sup>-4</sup> | Automobile(Seoul)           |

<sup>a,b</sup> : Collins et al.(1991)

<sup>c</sup> : Continuous exposure to 1μg/m<sup>3</sup> of benzene-soluble compounds of coke-oven emissions in ambient air, EPA(1984)

<sup>d</sup> : gasoline, Lewtas(1992)

<sup>e</sup> : diesel, Lewtas(1992)

<sup>f</sup> : 21% gasoline, 79% diesel emission in Seoul, 4.2 × 10<sup>-5</sup> × (0.21) + 2.3 × 10<sup>-4</sup> × (0.79) = 1.9 × 10<sup>-4</sup>

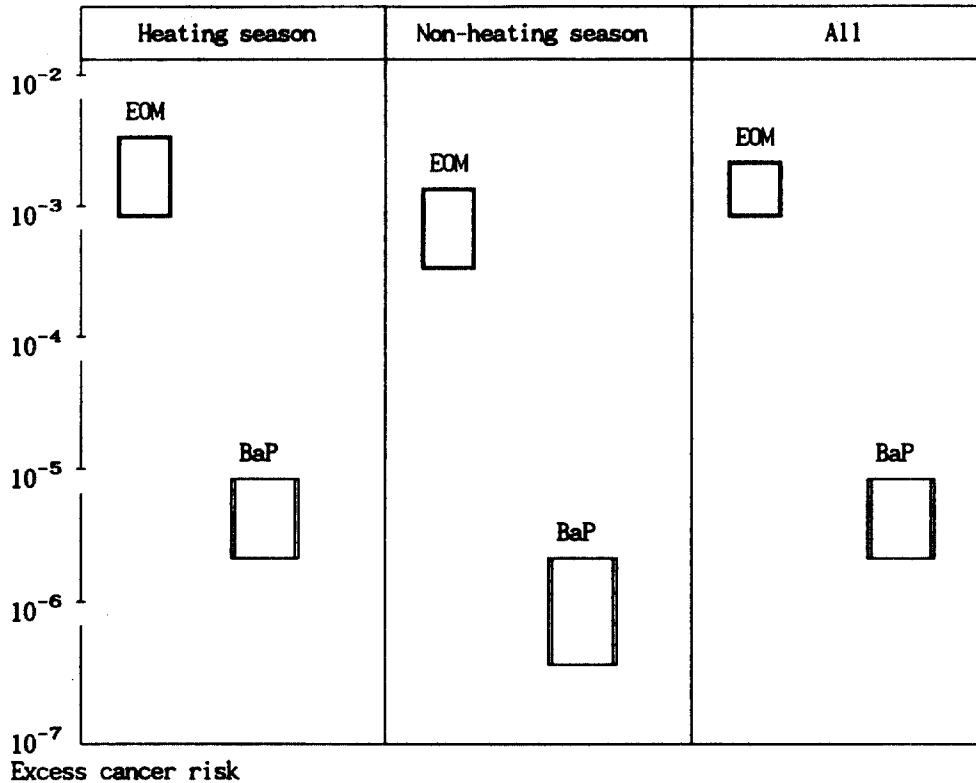


Fig. 10. The comparison of excess cancer risk between heating and nonheating season

1L 플라스크를 컬럼에 연결시킨 후 증류수를 플라스크에 채운 뒤 코크를 열어 3 bed vol/min의 유속으로 시료를 통과시킨 다음 acetonitrile, diethylether를 이용하여 용출시키고, L-L extraction, TLC를 사용하여 PAHs 분획을 얻은 후에 GC로 정량분석한다. 높은 끓는 점을 가지고 있는 PAHs의 특성상 검출기의 온도는 매우 높아야 하므로 고온 능력을 가지고 있는 FID가 더욱 적합하며 FID는 대부분의 PAHs에 대하여 직선성의 다양한 동적인 범위를 갖는 것으로 알려져 있다.

6. 유기오염물질에 대한 발암 위해성 평가

앞에서 서술한 바와 같이 일련의 과정을 거쳐 분석된 대기 분진 중의 대표적 발암 물질은 EOM 및 benzo(a)pyrene에 의한 인체의 위해성을 평가해 볼 수 있다. 이 때 사용할 수 있는 단위 위해도 추계치는 Table 4와 같으며, 추계된 위해도의 범위는 Fig. 10과 같다.

참 고 문 헌

1. Borneff J. Fate of carcinogens in aquatic environments. In: Fate of Pollutants in the Air and water Environments, Parts 2, I. H. Suffet. J Wiley & Sons (1977).
2. Collines et al. Risk assessment for benzo[a]pyrene, *Regle toxico and pharma.*, 13:180-184(1991).
3. International Agency for Reserch on Cancer(1983) International Agency for Research on Cancer Benzo[a]pyrene, *IARC Momogr Eval Carciiong Risk chem. Hum.*, 32, 211-224.
4. Joseph Santodonato et al. Health and ecological risk assessment of polynuclear aromatic hydrocarbons. Center for chemical hazard assessment Syracuse research corporation Syracuse, New York, 13210(1981).
5. Lewtas J. Carcinogenic risks of polycyclic organic matter. In: chemical risk assessment in the DoD

- science, police and practice. Cincinnati, Ohio American Conference of Governmental Industrial Hygienists Inc.(1992).
6. National Academy Sciences. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Evaluation of sources and effects, National Academy press. Washigton DC(1983).
  7. Saxena J et al. Monitoring of PAHs in water 1. Extraction and Recovery of Benzo(a)pyrene with porous polyurethane foam. *EST*, 11(7), 683-685(1977).
  8. Stern AC. Air pollution 3rd edit. (1977).
  9. US EPA. Multimedia health assessment document for polycyclic organic matter(1979).