

## 고성능 액체크로마토그래피(HPLC)를 이용한 3가, 6가 크롬의 동시정량에 관한 연구

연세대학교 의과대학 산업보건연구소

노재훈 · 김치년 · 김춘성 · 김규상

— Abstract —

### Simultaneous Determination of Chromium(III) and Chromium(VI) by High Performance Liquid Chromatography(HPLC)

Jae Hoon Roh, Chi Nyon Kim, Choon Sung Kim, Kyoo Sang Kim

*Institute for Occupational Health, Yonsei University College of Medicine*

Analytic methods for Cr(VI) level in industrial hygienic field were suggested by the National Institute for Occupational Safety and Health(NIOSH method 7600, 7604). There were growing needs for measurement of Cr(III) and Cr(VI) levels simultaneously. Two analytical methods were suggested to determine Cr(III) and Cr(VI) levels simultaneously. The one is method by using reversed phase high performance liquid chromatography(HPLC) and the other is by using ion exchange HPLC. The purpose of this work was to evaluate the usefulness of these two analytical methods. For the difference of ionic charges of Cr(III)-ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA) chelate and  $\text{CrO}_4^{2-}$ , we could detect them simultaneously by ion exchange HPLC. Also, we attempted to determine the levels of Cr(III) and Cr(VI) chelated with sodium diethyldithiocarbamate(NaDDTC) by using reversed phase HPLC. The confirmation of Cr(III) and Cr(VI) were checked by fraction collector and flameless atomic absorption spectrometer. The optimal conditions for the formation of Cr(III)-EDTA chelate were two hours incubation period with pH 5. Cr(III)-EDTA and Cr(VI) in EDTA solution were successfully separated by anion exchange column using  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaOH}$  mixture as mobile phase. Peaks of Cr(III)-EDTA and Cr(VI) in EDTA were identified at 5 minutes and 7 minutes of retention time respectively by the ion exchange HPLC. The formation of Cr(III)-NaDDTC and Cr(VI)-NaDDTC chelates were twelve hours incubation period. Cr(III)-NaDDTC and Cr(VI)-NaDDTC chelates were separated by reversed phase column using methanol and water mixture as mobile phase. Peaks of Cr(VI)-NaDDTC and Cr(III)-NaDDTC chelates were identified at 13 minutes and 26 minutes of retention time.

※ 본 연구는 1994년도 대한산업보건협회와 산업보건연구소의 연구비로 이루어졌음.

tion time respectively by the reversed phase HPLC. Due to reduction of Cr(VI) to Cr(III), it seems to be not suitable for simultaneous determination of Cr(III)-NaDDTC and Cr(VI)-NaDDTC chelates by reversed phase HPLC. Simultaneous determination of Cr(III) and Cr(VI) by ion exchange HPLC was more accurate and simple method.

**Key Words** : Ion exchange HPLC, reversed phase HPLC, Trivalent Chromium (Cr III), Hexavalent Chromium(Cr VI), Ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA), Sodium diethyldithiocarbamate(NaDDTC).

## 1. 서 론

크롬 또는 크롬화합물들은 크롬합금, 크롬도금, 스테인레스의 용접과 연삭, 도료 및 색소생산 그리고 목재보존 등 여러 산업 분야에서 사용되고 있으며(NIOSH, 1975) 특히 국내에서는 노동 집약적이며 영세성을 보이는 도금업의 열악한 작업환경에서 근무하는 근로자들에게 각종 산업재해 및 직업병이 유발되고 있다(문영환, 1989).

크롬은 산화상태, 그리고 수용성 또는 불용성이나에 따라서 인체에 대한 유해작용이 다르며 특히 우리나라의 노동부와 미국정부 산업위생전문가협회(American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)에서 발암성 물질(A<sub>1</sub>)로 불용성 6가 크롬과 크롬산 아연(zinc chromate) 그리고 발암성추정물질(A<sub>2</sub>)로 크롬산 칼슘(calcium chromate)과 크롬산 납(lead chromate)을 규정하고 있다(노동부, 1991; ACGIH, 1993). 또한 크롬은 산화상태에 따라 -2가에서 +6가까지 존재하며 일반적인 형태는 0, 2, 3, 6가이다. 2가는 불안정하여 작업장내 공기중에서 즉시 산화가 이루어져 3가가 되며 근로자들에게 주로 유해작용을 하는 것은 3가와 6가이다. 크롬화합물은 원자가에 따라 독성이 크게 다르며, 동물실험을 통하여 6가의 물질이 3가의 물질보다 독성이 강하다고 알려졌으며(Mathur등, 1997; Suzuki등, 1984) 3가와 6가 크롬의 허용기준을 각각 다르게 0.5mg/m<sup>3</sup>, 0.05mg/m<sup>3</sup>으로 정하였다(노동부, 1991; ACGIH, 1993).

현재 수용성 크롬 6가를 일반적으로 분석할 때 s-diphenylcarbazide와 CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>를 복합체로 형성시켜 분광광도계(Spectrophotometer)로 측정하는 방법

(NIOSH, 1984)을 사용하는데 이러한 방법은 실제 시료분석에서 산화환원작용의 영향이 있고 철, 니켈, 구리 등의 영향을 받아 정확한 분석이 이루어지지 않는 경우가 있으며(Thomsen과 Stern, 1979) 크롬 3가를 직접 분석하거나 총크롬에서 6가를 빼고 난 값으로 계산하는 방법은 누적되는 오차와 신뢰성이 결여될 수가 있다. 이러한 분석상의 문제점을 제거하기 위하여 많은 관심을 가지게 되어 크롬 6가의 분석을 전도도검출기를 이용한 이온크로마토그래피법(Ion chromatography)을 발표하였다(NIOSH, 1989). 또한 촉매반응법(Catalytic method)을 이용한 크롬 6가 분석, (±)-trans-1,2-diaminecyclohexane-N,N, N',N'-tetraacetic acid와 6가 크롬을 착물화하거나 2-(2-thienylazo)-5-diethylaminophenol과 3가 크롬을 착물화하여 역상액체 크로마토그래피(reversed phase liquid chromatography)로 분석을 하였으며(Shaopu 등, 1992; Valle 등, 1992) 이러한 연구들은 크롬 3가와 6가를 각각 분석한 것이다. 크롬에 의해서 유발되는 작업장 유해요인의 정확한 평가에 바람직한 크롬 3가와 6가의 동시 정량에 관한 연구에서는 시료가 분리관을 통과하기 전에 pyrolydinyldithiocarbamate(APDC)나 sodium diethyldithiocarbamate(NaDDTC) 그리고 ethylenediaminetetraacetic acid-disodium salt(EDTA)로 착물화하여 액체크로마토그래피로 분석을 하였고(Tande등, 1980; Suzuki와 Serita, 1985; Yao등, 1991) 크롬 3가, 6가를 용매추출법을 이용하거나 액체크로마토그래피 분취법(Fractional collection)으로 각각을 분리하여 원자흡광 광도법으로 정량을 하였다(Syty등, 1988; Subramunian과 Kunnath, 1988).

그러나 우리나라에서는 현재 크롬에 관한 분석을

원자흡광광도계를 이용하여 총크롬을 측정하거나 크롬 6가를 분석하기 위하여 s-diphenylcarbazide와 착물화하여 분광광도계로 분석하는 것에 의존하고 있어 인체의 유해작용에 중점을 둔 분석이 이루어지고 있지 않아 동시 정량 방법이 시급히 요망된다.

본 연구에서는 액체크로마토그래피를 이용한 분석 방법으로 지금까지 알려진 크롬 3가, 6가의 동시정량 두 분석방법을 비교평가하고 산업위생 분야에 적용 가능성을 타진하려 한다. 즉, 이온교환 액체크로마토그래피를 이용한 동시 분석법과 역상 액체크로마토그래피를 이용한 동시 분석방법을 전처리 시간, 분리도, 회수율 등을 평가하여 크롬 3가, 6가 동시 분석법에 대한 기초 자료를 제공하는데 목적을 두었다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험기기 및 시약

액체크로마토그래피는 시료 분취기(fraction collector)가 부착된 GILSON사 제품을 사용하였고, 컬럼은 SHODEX사 제품인 ICI-524A (4.6mm×10cm), RAININ사 제품인 C18(4.6mm×25cm) 그리고 YMC사 제품의 Polymer C18(4.6mm×25cm)를 사용하였다. 검출기로는 GILSON사 제품의 UV Detect와 SHODEX사 제품인 Conductivity Detector를 사용하였다. 자외-가시광영역 분광광도계는 SHIMADZU사 제품의 UV-Vis 160A를 이용하였다. 또한 크롬이 분리된 것을 확인하기 위하여 VARIAN사 제품인 SpectraAA 300(Flameless)를 사용하여 분리를 확인하였다.

본 실험에서 사용된 표준물질은 분석용 특급시약을 그대로 사용하였으며 EDTA와 NaDDTC 등, 모든 시약은 Sigma사 제품을 사용하였다. 액체크로마토그래피의 이동상(mobile phase)으로 사용된 용리액(eluent)은 크로마토그래피용 JT Baker사 제품으로 질소 가스를 주입시키면서 초음파 처리를 하여 용매내의 기포 발생을 최소화하였다.

### 2. 실험방법

1) 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용한 크롬 3가, 6가의 동시정량

(1) 크롬과 NaDDTC의 착물화 반응

3가 크롬과 6가 크롬의 표준원액(1mg Cr/ml)은 각각 Cr(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O과 K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>을 증류수로 희석하여 제조하였다. 크롬 표준용액(20μg Cr/ml)은 각각의 표준 원액을 증류수로 희석하여 제조하였다. 실험의 처음 단계로 표준 용액을 각각 1ml씩 취하여 비이커(beaker)에 넣고, 완충용액(0.2M acetate buffer solution)을 사용하여 시료의 수소이온농도를 변화시켰다. 그 다음 5% NaDDTC용액 1ml씩을 가한 후, 실온에서 12시간 동안 방치하였다. 이와 같이 항온반응이 끝난 반응 혼합물을 클로로포름(chloroform)으로 2회 추출하였다. 그리고 추출물에서 클로로포름을 감압하(under reduced pressure)에서 증발시켰다. 증발 과정이 끝난 후, 잔류물을 1ml 아세토나이트릴(acetonitrile)로 용해시켜서 시료 용액으로 하였다.

(2) 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용한 분리정량 및 확인

착물화 반응이 이루어진 시료용액을 표 1과 같이 역상액체크로마토그래피 작동조건과 분석조건으로 하여 분석하였다.

Table 1. Reversed phase HPLC operation condition

| Description    | Condition                 |
|----------------|---------------------------|
| Column         | Polymer C18(4.6mm×25cm)   |
| Mobile phase   | Methanol : Water(80 : 20) |
| Flow rate      | 1.0ml/min                 |
| Detection      | UV detector, 254nm        |
| Injection Vol. | 20μl                      |
| Chart speed    | 0.5cm/min                 |

역상 액체크로마토그래피를 이용한 크롬 3가, 6가의 동시정량을 확인하기 위하여 검출기를 통과한 시료를 시험관 1개당 2분 동안 분리하여 받아 비불꽃 원자흡광 광도계로 표 2와 같은 분석 조건으로 분석하였다.

Table 2. Atomic spectrometer operation condition

| Description         | Time(sec) | Condition |
|---------------------|-----------|-----------|
| Lamp Wavelength(nm) |           | 357.9     |
| Slit Width(nm)      |           | 0.2       |
| Lamp Current(mA)    |           | 7         |
| Dry Temp.(°C)       | 20        | 120       |
| Ashing Temp.(°C)    | 7         | 1000      |
| Atomize Temp.(°C)   | 5.2       | 2500      |

2) 이온교환 고성능액체크로마토그래피를 이용한 크롬 3가, 6가의 동시정량

(1) 크롬 3가와 EDTA의 착물화 반응

크롬 3가의 표준원액 (1mg Cr/ml)은  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 증류수로 희석하여 제조하였고 이 표준원액을 증류수로 희석하여 크롬 3가와 표준용액 (20 $\mu\text{g}$  Cr/ml)으로 사용하였다. 크롬 3가와 EDTA의 착물 형성을 관찰하기 위하여, 크롬 3가 표준용액과 증류수에 같은 양의 EDTA를 각각 가한 후 항온기(incubator)에서 온도 50 $^{\circ}\text{C}$ 로 1시간 동안 항온하여 자외-가시광 영역 분광광도계로 흡수파장(wavelength)범위 200~700nm의 스펙트럼을 관찰하였다.

수소이온농도(pH)에 따른 착물화 반응을 관찰하기 위하여 pH조절액으로 0.1N NaOH 용액을 사용하여 크롬 3가와 EDTA 혼합용액의 pH를 각기 다르게 변화시켜, 파장 542nm와 394nm에서 pH에 따른 흡광계수의 변화를 관찰하였다.

착물화 반응의 항온기간(incubation period)의 존성을 관찰하기 위하여 크롬 3가 표준용액과 과량의 EDTA의 혼합용액을 항온 기간을 달리하여 항온시킨 후, 파장 542nm와 394nm에서의 흡광계수를 살펴보았다.

크롬 3가와 EDTA의 착물화 반응에서 크롬 3가와 EDTA의 중량비가 다른 여러 혼합용액을 각각 제조한 후, 완충용액( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot \text{HCl}$ , pH 5)으로 혼합용액의 pH를 일정하게 유지시키고 2시간동안 항온하여 파장 542nm에서의 흡광계수를 관찰하였다.

(2) 이온교환 고성능액체크로마토그래피를 이용한 분리정량 및 확인

크롬 3가, 6가의 동시정량을 위한 파장을 선택하기 위해서, 크롬용액 (20 $\mu\text{g}$  Cr/ml)을  $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 와  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 를 7.0mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 와 0.5mM NaOH의 혼합 수용액으로 희석하고 이 혼합액에 EDTA를 가하여 크롬 3가, 6가 그리고 EDTA의 혼합 수용액을 제조한 후, 파장 200~400nm범위의 스펙트럼을 관찰하였다.

그리고, 예비 실험 결과를 바탕으로 최적의 조건이라고 결론을 내린 이온교환 액체크로마토그래피의 작동 조건과 분석 조건을 표 3과 같이 하여 EDTA 착물을 형성시킨 크롬 3가와 크롬 6가를 분석하였다.

Table 3. Ion exchange HPLC operation condition

| Description    | Condition                                  |
|----------------|--|
| Column         | IC(4.6mm × 10cm)                           |
| Mobile phase   | 7.0mM $\text{Na}_2\text{CO}_3$ /0.5mM NaOH |
| Flow rate      | 0.5ml/min                                  |
| Detection      | UV detector, 240nm                         |
| Injection Vol. | 20 $\mu\text{l}$                           |
| Chart speed    | 0.5cm/min                                  |

이온교환 액체크로마토그래피를 이용한 3가, 6가 크롬의 동시정량을 확인하기 위하여 검출기를 통과한 시료를 분취기를 이용하여 시험관 1개당 0.5분 동안 분리하여 받아 비블꽃 원자 흡광광도계로 표 2와 같은 분석조건으로 실험을 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용한 크롬 3가, 6가의 동시정량

1) 크롬과 NaDDTC의 착물화 반응

중금속과 NaDDTC의 반응은 혼합물의 수소이온농도(pH) 범위 4.0에서 4.5사이에서 일반적으로 이루어진다(Tande등, 1980). 본 실험결과 크롬 3가의 경우, 혼합물의 수소이온농도(pH) 범위 4.0에서 5.0사이에서는 반응이 안되고, 5.0에서 6.0사이에서는 NaDDTC와의 반응이 이루어졌다. 크롬 6가의 경우에는 수용액에서 NaDDTC와 반응이 빠르게 진행되었지만 반응 결과, 한가지 이상의 부산물을 확인하였다. 이러한 현상은 킬레이팅 에이전트(chelating agent)에 의해 크롬 3가로의 환원 반응이 진행되기 때문이다. 결국 크롬 화학종과 NaDDTC의 착물화 반응은 크롬의 산화상태와 혼합물의 수소이온농도(pH)에 크게 의존하여 착물화 반응여부가 결정되었으며 예비 실험을 시행한 결과, 크롬과 NaDDTC의 착물화 반응에서 항온 온도를 실온으로, 항온 기간을 12시간으로 하는 것이 크롬과 NaDDTC의 착물형성이 잘 되었다.

2) 역상 고성능액체크로마토그래피를 이용한 분리정량 및 확인

그림 1은 크롬 3가 착물을 역상 액체크로마토그래피로 분리하여 자외선 검출기 파장 254nm로 검출한 크로마토그램이다. 크롬 3가와 NaDDTC 혼합용액

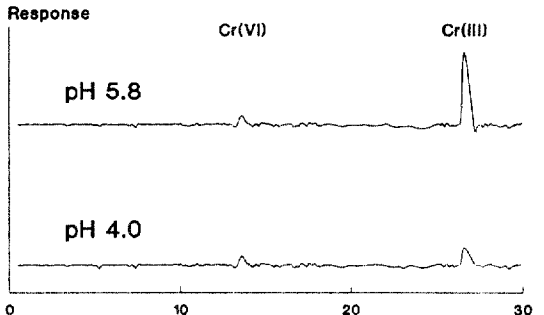


Fig. 1. Chromatogram of Cr(III) by reversed phase HPLC

의 수소이온농도가 4.0일때의 크로마토그램에서는 크롬착물의 피크가 나타나지 않아 3가와 NaDDTC와의 반응이 진행되지 않는 것을 알 수 있었다. 혼합용액의 수소이온농도 5.8에서는 26분에서 크롬착물의 피크가 나타나 크롬 3가와 NaDDTC와의 착물반응의 결과인 크롬 착물의 피크를 확인할 수 있었다.

그림 2는 크롬 6가 착물의 크로마토그램이다. 혼합물의 수소이온농도가 4.0일때의 크로마토그램을 보면, 13분에서 크롬 6가 착물 피크가 나타났으나, 26분에서도 크롬 3가 착물피크가 나타났다. 이 피크는 크롬 6가가 크롬 3가로 환원되었기 때문에 나타난 피크이다. 수소이온농도 5.8일때의 크로마토그램에서는 크롬 6가 착물 피크가 수소이온농도 4.0인 경우 보다는 면적(area)이 커졌으나, 26분에 크롬 3가 피크가 나타나는 것으로 보아 환원 반응이 진행된 것을 알 수 있었다.

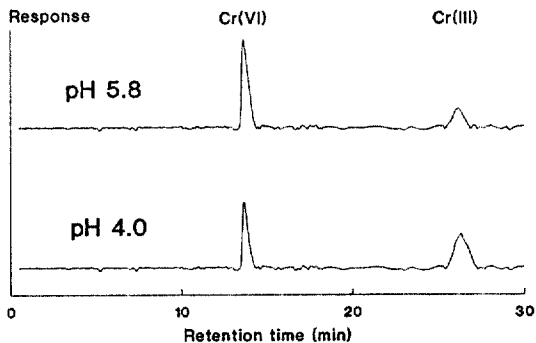


Fig. 2. Chromatogram of Cr(VI) by reversed phase HPLC

그림 3과 그림 4는 크롬 착물의 형성 및 분리를

확인하기 위하여 역상 액체크로마토그래피를 통하여 분리된 시료를 시간별로 채취하여 비불꽃 원자 흡광광도계로 분석한 결과이다.

그림 3에서 크롬 3가와 NaDDTC 혼합용액의 수소이온농도가 4.0일때는 분취시간 28분 근처에서 거의 크롬이 나오지 않아 크롬착물이 형성되지 않은 것을 확인할 수 있었다. 그러나 수소이온농도 5.8에서는 28분 근처에서 크롬이 나와 크롬 착물이 형성되어 분리된 것을 알 수가 있었다. 그림 4는 크롬 6가와 NaDDTC와의 착물형성 및 분리되는 것을 확인하기 위한 것인데, 수소이온농도 4.0에서는 분취 시간 16분 근처에서 높은 크롬의 양을 볼 수 있지만 28분 근처에서도 크롬이 나왔다. 이것은 크롬 6가가 크롬 3가로 환원되어 크롬 3가 착물이 형성된 결과이다. 수소이온농도 5.8에서는 4.0에서보다 16분 근처의 크롬의 양은 더 크지만, 수소이온농도 5.8에서도 크롬 3가 착물이 형성되었음을 알 수 있었다.

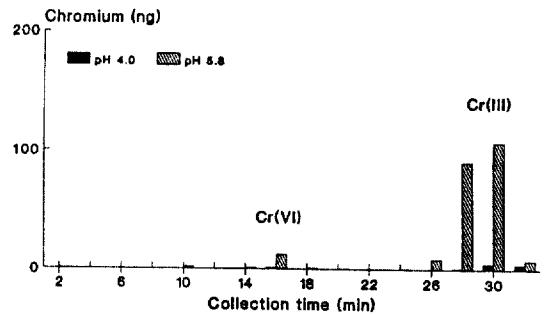


Fig. 3. Identification of Cr(III) by furnace-AAS after reversed phase HPLC with fractional collector

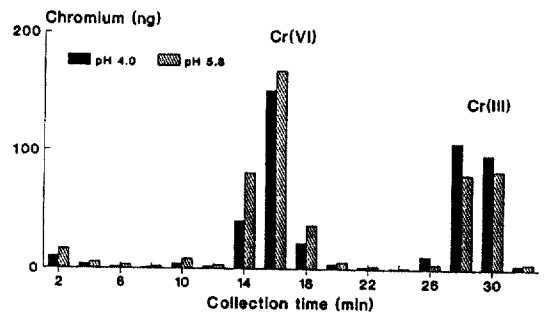


Fig. 4. Identification of Cr(VI) by furnace-AAS after reversed phase HPLC with fractional collector

## 2. 이온교환 고성능액체크로마토그래피를 이용한 크롬 3가, 6가의 동시정량

### 1) 크롬 3가와 EDTA의 착물화 반응

크롬 3가 용액(20 $\mu$ g Cr/ml)과 증류수에 과량의 EDTA를 각각 가한 혼합용액을 항온기에서 50 $^{\circ}$ C로 1시간동안 항온상태를 유지한 결과, EDTA와 증류수의 혼합 용액에서는 아무런 색이 나타나지 않았지만 크롬 3가 혼합용액의 색은 진보라색으로 변화하였으며 각각의 혼합 용액을 200nm에서 700nm의 흡수파장범위로 얻은 흡수 스펙트럼이 그림 5와 그림 6과 같이 나타났다.

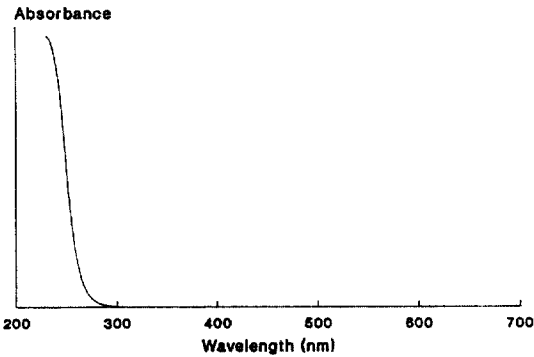


Fig. 5. UV-Vis spectrum of EDTA

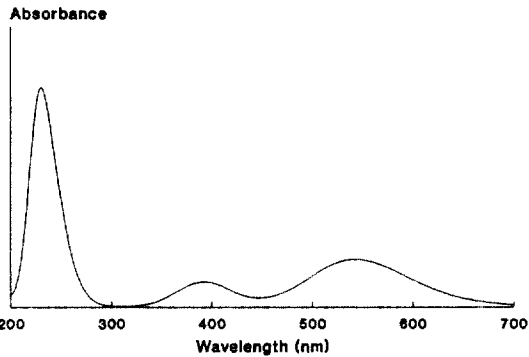


Fig. 6. UV-Vis spectrum of Cr(III)-EDTA

EDTA 수용액을 항온시킨 후 얻은 그림 5의 스펙트럼을 보면 230nm 부근에서 흡광도가 높게 나타나고, 크롬 3가와 EDTA 착물의 스펙트럼인 그림 6에서는 542nm와 394nm에서 높은 흡광도를 보였으며 542nm의 흡광도가 394nm보다 높게 나타나 최대 흡수파장은 542nm로 평가되었다.

크롬 3가와 EDTA의 착물형성시 항온시간과 pH

의 변화에 따른 파장 542nm와 394nm에서의 몰흡광계수의 변화가 그림 7과 같이 나타났다.

그림 7을 살펴보면 수소이온농도가 5인 반응 혼합물에서의 몰흡광계수가 제일 높은 경향을 보여주었으며 크롬 3가와 EDTA착물 형성시 항온시간에 따른 몰흡광계수의 변화를 보면 항온 시간이 2시간에서 가장 높은 몰흡광계수를 보여주고 있다. 그러므로 착물화 반응의 최적의 조건은 pH 5로 하여 항온 시간을 2시간으로 유지하는 것이 최적의 조건으로 평가되었다. 파장 542nm와 394nm에서의 몰흡광계수를 비교하면 파장 394nm보다 파장 542nm에서의 흡광도가 거의 2배에 가까운 수치로 높게 나타났으며 크롬 3가와 EDTA 착물반응의 지표로 파장 542nm를 사용하는 것이 바람직하다.

그림 8은 크롬 3가와 EDTA의 중량비(w/w)에 따른 몰흡광계수의 변화를 파장 542nm에서 본것인데 중량비 10에서 30까지는 낮은 몰흡광계수를 나타내고 중량비 50에서 최고의 몰흡광계수를 보이다가 중량비 200에서는 약간 감소하는 결과를 보여준다. 그러므로 중량비 50이상인 크롬 3가와 EDTA 착물형성을 위한 최적의 반응조건인 것으로 판단되었다.

### 2) 이온교환 고성능액체크로마토그래피를 이용한 분리정량 및 확인

그림 9는 용리액(7.0mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/0.5mM NaOH)에 크롬 3가와 EDTA의 착물과 6가 크롬을 넣은 시료의 자외선 흡수스펙트럼을 보여주고 있다. 그림 9를 살펴보면 자외선 검출기를 이용한 동시정량에서는 240nm의 파장을 선택하는 것이 바람직하다.

자외선 검출기를 이용한 이온교환 액체크로마토그

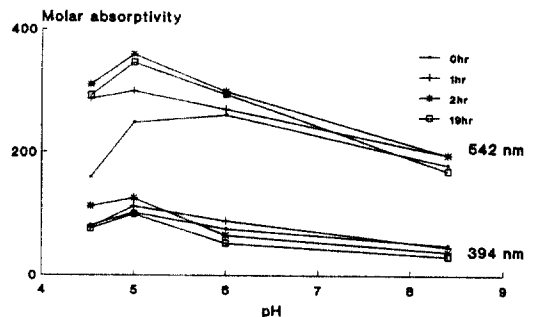


Fig. 7. Effects of pH and incubation period on chelation of Cr(III) with EDTA

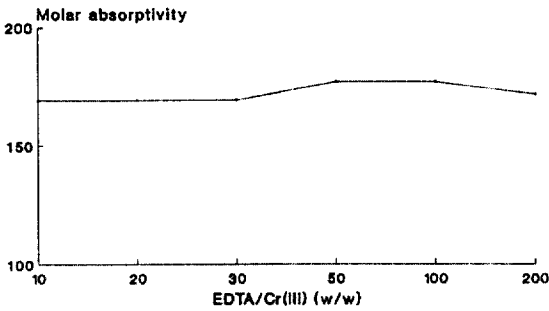


Fig. 8. Effect of weight ratio(EDTA/Cr(III)) on chelation Cr(III) with EDTA

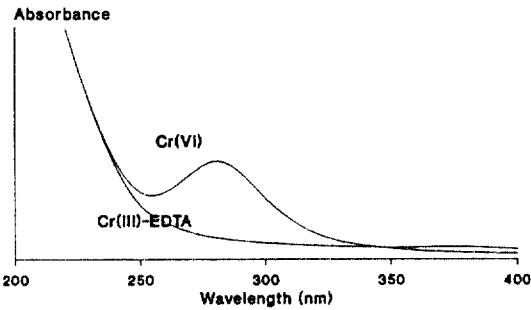


Fig. 9. UV spectrum of Cr(III)-EDTA and Cr(VI) in 7.0mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/0.5mM NaOH solution

래피의 분석에서 예비 실험결과를 토대로 분리도를 평가한 결과, 최적의 이온교환 액체크로마토그래피의 분석 조건은 음이온교환 분리관(SHODEX ICI-524A, 4.6mm×10cm)을 사용하고 7.0mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>과 0.5mM NaOH의 용리액용 유속 0.5ml/min으로 용리시키는 방법이었다. 이러한 분석조건을 이용하여 얻은 크로마토그램이 그림 10과 같이 최적의 분리를 나타내었다. 또한, 검출기를 전도도 검출기를 이용하여 분석한 결과, 감도는 좋았으나 많은 피크(peak)가 나타나 크롬 피크의 정확한 판단을 하기가 어려웠다.

크롬 3가와 크롬 6가의 검량선은 피크의 면적(peak area)대 크롬 표준용액의 농도를 도시하여 그림 11과 그림 12와 같이 나타내었다. 검량선의 직선성(linearity)을 보면, 크롬 3가, 6가의 검량선 모두 거의 직선에 가까운 그래프(graph)를 보여주고 있다.

크롬의 분리를 확인하기 위하여 검출기를 통과한

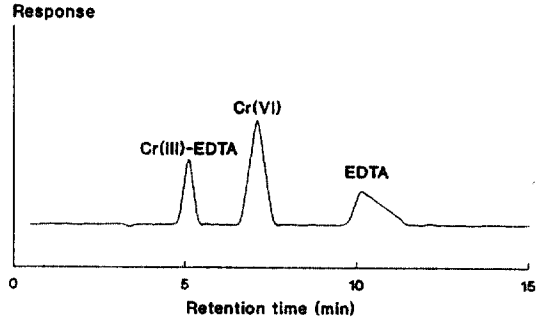


Fig. 10. Chromatogram of Cr(III)-EDTA, Cr(VI), and EDTA by ion exchange HPLC

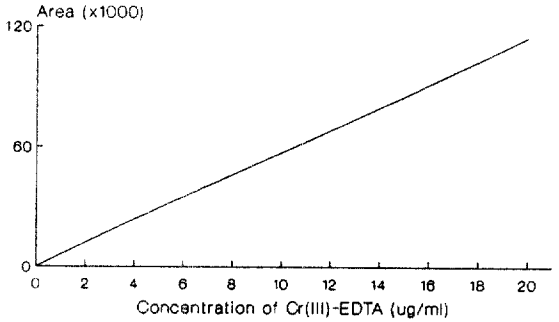


Fig. 11. Calibration curve of Cr(III)-EDTA by ion exchange HPLC with UV detector

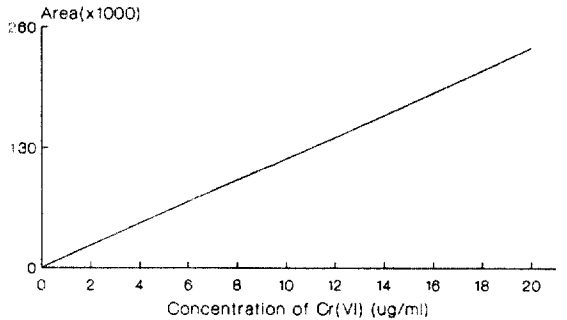


Fig. 12. Calibration curve of Cr(VI) by ion exchange HPLC with UV detector

시료를 분취기를 이용 시간별로 채취하여 비불꽃 원자흡광광도계로 분석한 결과 그림 13과 같이 나타났으며 이온교환 크로마토그래피에서의 머무른 시간(retention time)과 같은 시간대에서 흡광도가 높게 나타나 크롬 3가 착물과 크롬 6가의 분리를 확인하였다.

현재 산업위생분야에서 일반적으로 사용하고 있는

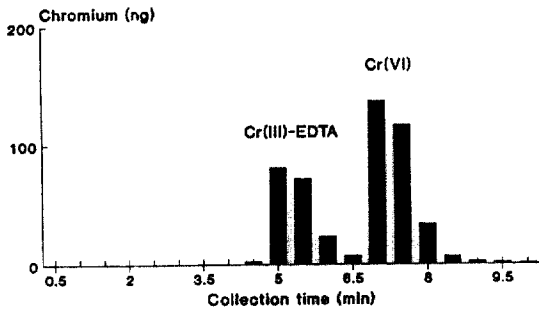


Fig. 13. Identification of Cr(III)-EDTA and Cr(VI) by furnace-AAS after ion exchange HPLC with fractional collector

s-diphenylcarbazid 방법(NIOSH method 7600)과 전도도검출기를 이용하여 이온크로마토그래피로 분석한 것은(NIOSH method 7604) 크롬 6가만을 분석하는 방법이고 이미 오래전부터 선진외국에서는 크롬 3가와 6가를 동시 정량하기 위해서, (±)-trans-1, 2-diaminecyclohexane-N, N, N', N'-tetraacetic acid와 크롬 6가를 착물화하거나, 2-(2-thienylazo)-5-diethylaminophenol과 크롬 3가를 착물화하여 역상 액체크로마토그래피(reversed phase liquid chromatography)로 분석을 하였다(Shaopu 등, 1992; Valle 등, 1992). 이러한 연구들은 대부분이 착물화 형성을 전처리로 하여 액체크로마토그래피로 분석을 한 것으로 크롬 3가와 크롬 6가의 동시정량에서 착물화방법이 유용함을 알 수 있다.

그러나 이러한 분석법들은 착물화 반응시약의 구입이나 분석방법이 복잡한 경향을 보여 산업위생분야에 직접 적용하기에 문제점이 있다. 본 연구에서는 간단한 분석방법을 제시하기 위하여 일반적인 시약인 EDTA와 NaDDTC를 착물화 시약으로 선정하여 실험한 결과 EDTA를 착물화 반응 시약으로 사용하는 것이 다른 분석법들보다 간편하고 분석시간이 짧라, 시료 포집 후 빠른 시간내에 분석이 이루어져야 하는 산업위생분야에서 크롬 3가와 6가를 동시에 정량하기에 적합한 것으로 판단되었다.

#### IV. 결 론

크롬 3가와 EDTA의 착물형성은 혼합용액을 pH

5로 하여 2시간 동안 50℃에서 항온시키는 것이 가장 좋았으며 EDTA의 첨가량은 EDTA와 크롬 3가의 중량비로 50(w/w)이상으로 하는 것이 최적의 반응조건으로 나타났다.

이온교환 액체크로마토그래피의 분석조건은 자외선 검출기 파장은 240nm로 하고 용리액의 조성은 7.0mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 0.5mM NaOH의 혼합용액으로 하여 분리관은 음이온 교환 컬럼을 이용하는 것이 가장 적합하였으며, 이러한 분석조건으로 크롬 3가와 6가의 혼합용액을 실험을 통하여 분리한 다음 분취기로 채취하여 비블꽃 원자흡광도계로 확인을 하였다. 또한 동시정량을 위하여 NaDDTC로 킬레이트화하여 역상 액체크로마토그래피로 분석하는 방법을 종합적으로 평가한 결과 EDTA를 사용한 방법이 분석시간이 짧으며 간편하고 정확한 것으로 판단되었다.

크롬 3가와 6가의 우리나라 허용기준을 살펴보면 0.5mg/m<sup>3</sup>과 0.05mg/m<sup>3</sup>이며 이는 일반적인 포집공기량 0.4m<sup>3</sup>을 고려하면 포집시료량이 200μg과 20μg을 의미하며 이러한 값은 실험결과에서 제시한 크롬 3가와 6가의 검량선 범위안에 있어 작업환경측정 시료분석에 적합하다. 아울러 자외선 검출기의 검출한계 이하에 해당하는 극미량의 크롬 3가와 6가를 분석할 때는 본 연구에서 제시한 분석방법에 의하여 이온교환 액체크로마토그래피로 분리하고 분리된 시료(크롬 3가, 6가)를 각각 분취기로 회수하여 비블꽃 원자흡광도계로 분석을 하면 된다.

본 연구에서 제시한 분석법은 착물화의 전처리과정이 있어 다소 분석시간이 길다는 단점이 있다. 앞으로의 연구는 용리액에 반응시약을 첨가하여 직접 분석이 가능한 분석방법 개발에 관심을 가져야 할 것으로 생각되며 이온교환 액체크로마토그래피 외에 더욱 간단한 분석방법에 의한 동시정량이 이루어지도록 하여야 할 것으로 사료된다.

#### 참 고 문 헌

- 문영한: 도금사업장의 건강장해 예방대책, 안전보건정보, 1989; 1: 69
- 노동부: 유해물질의 허용농도: 노동부고시 제91-21호, 노동부, 1991.
- American Conference of Governmental Industrial



- Hygienists(ACGIH) : *Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices for 1993-1994*, Cincinnati, Ohio, ACGIH, 1993.
- Mathur AK, Chandra SV, Tandon SK : *Comparative toxicity of trivalent and hexavalent chromium to rabbits-Morphological change in some organ. Toxicology 1977 ; 8: 53.*
- National Institute for Occupational safety and Health(NIOSH) : *Criteria for a Recommended standard-Occupational Exposure to Chromium (VI)*, Washington, U.S. Department of Health Education and Welfare, 1975.
- NIOSH : *NIOSH Manual of Analytical Methods (Method NO. 7600)*, 3rd ed., DHHS(NIOSH) Publication NO. 84-100, Cincinnati, Ohio, NIOSH, 1984.
- NIOSH : *NIOSH Manual of Analytical Methods (Method NO. 7604)*, 3rd ed., DHHS(NIOSH) Publication No. 84-100, Cincinnati, Ohio, NIOSH, 1989.
- Shaopu L, Mingqiao z, chuanyue D : *Separation and determination of trace amounts of vanadium(V) chromium(III) and iron(III) with 2-(thienylazo)-5-diethylaminophenol chelates by high performance liquid chromatography. J Chromatogr 1992 ; 598 : 298.*
- Subramunian, Kunnath S : *Determination of (Cr<sup>+3</sup>) and (Cr<sup>+6</sup>) by ammonium pyrrolidinecarbodithioate-methyl isobutyl ketone-furnace atomic absorption spectrometry. Anal Chem 1988 ; 60(1) : 11.*
- Suzuki Y, Homma K, Minami M, Yoshikawa H : *Distribution of chromium in rats exposed to hexavalent chromium and trivalent chromium aerosols. Ind Health 1984 ; 22 : 261.*
- Suzuki Y, Serita F : *Simultaneous determination of water-soluble trivalent and hexavalent chromium by anion exchange high-pressure liquid chromatography. Ind Health 1985 ; 23 : 207-220.*
- Syty A, Christensem RG, Rains TC : *Determination of added Cr(III) and Cr(VI) in natural water by ion-pairing HPLC with detection by atomic absorption spectrometry. J Anal At Spectrom 1988 ; 3(1) : 193.*
- Tande, T., Pettersen, J.E. and Torgrimsen, T : *Simultaneous determination of Cr(III) and Cr(VI) in water by reversed phase HPLC, after chelating with sodium diethyldithiocarbamate. Chromatographia 1980 ; 13 : 607.*
- Thomsen E, Stern RM : *A simple analytical technique for the determination of hexavalent chromium in welding fumes and other complex matrices. Scand J Work Environ Health 1979 ; 5 : 386.*
- Valle AI, Gonzalez MJ, Marina ML : *Separation and quantitation of some metal ions by reversed phase high performance liquid chromatography using in situ complexation with (±)-trans-1,2-diaminocyclohexane-N,N,N',N'-tetraacetic acid. J Chromatogr 1992 ; 706 : 207.*
- Yao XD, Liu JC, Cheng JK, Zeng Y : *Speciation study of trace elements by reversed phase high performance liquid chromatography I Simultaneous determination of chromium(III) and chromium(VI). Chem Res Chin univ 1991 ; 7(1) : 37.*