

수동 및 자동화 액체 크로마토그래피 칼럼에 의한 PCDDs/Fs 및 다이옥신과 유사한 PCBs의 용출 패턴 비교

안윤경 · 신정화 · 유선영 · 김지형* · 홍종기*

한국기초과학지원연구원, 유해물질분석연구팀

*고려대학교 사회환경시스템공학과

(2004. 9. 30 접수, 2004. 10. 19 승인)

Comparison of the elution patterns for polychlorinated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans (PCDDs/Fs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) by manual open columns and automatic parallel LC columns

Yun Gyong Ahn, Jeoung Hwa Shin, Sun Young Yoo, Jeehyeong Khim* and Jongki Hong*

Hazardous Substance Research Team, Korea Basic Science Institute, Seoul, 136-701, Korea

*Department of Civil Environment Engineering, Korea University, Anam-Dong, Sungbuk-Ku, Seoul, Korea

(Received Sep. 30, 2004, Accepted Oct. 19, 2004)

요 약 : 본 연구에서는 다이옥신류의 정제과정으로 수동 및 자동 액체 크로마토그래피 칼럼을 이용하여 PCDDs/Fs 17종과 다이옥신과 유사한 PCB 12종의 용출 패턴을 비교, 분석하였다. 수동 알루미나 칼럼에서는 29종의 화합물이 같이 용출되어 분리되지 않았으나 자동화 칼럼의 경우 mono-ortho-PCB로부터 PCDDs/Fs 및 non-ortho PCB를 분리할 수 있었다. PAR (Precision And Recovery) 표준용액으로 조사한 다이옥신류와 PCB의 회수율은 각각 수동 액체 크로마토그래피 칼럼에서 61.9 ~ 96.0%, 70.4 ~ 79.0%였으며, 자동화 칼럼의 경우는 71.8 ~ 104.5%, 61.3 ~ 120.3% 이었다. DB-5MS 칼럼에서 분리되지 않는 #169-HxCB와 1,2,3,7,8-PeCDD은 EPA 1613 방법 중 선택이온의 비를 M+2/M+4 대신 M/M+2로 변경하여 HRGC/HRMS 분석에서 1,2,3,7,8-PeCDD와 #169-HxCB의 구분이 가능하도록 하였다.

Abstract : The elution patterns of seventeen 2,3,7,8-substituted PCDDs/Fs and 12 dioxin-like PCBs were studied by both manual open columns and automatic parallel LC columns in cleanup procedure. PCDDs/Fs and non-ortho-PCBs from other mono-ortho-PCBs were separated on automatic LC column, whereas they were not separated on an open manual column. The elution study on two cleanup methods was carried out using the PAR solution of unlabeled congeners and checked the recovery of each congener. Total recoveries of cleanup fractionation were ranged between 61.9 ~ 96.0% for PCDDs/Fs and 70.4 ~ 79.0% for PCBs by manual open columns and 71.8 ~ 104.5% for PCDDs/Fs and 61.3 ~ 120.3% for PCBs by automatic parallel LC columns, respectively. Unfortunately, #169-HxCB and

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)2-920-0790 Fax : +82+(0)2-920-0789

E-mail : jongki@kbsi.re.kr

1,2,3,7,8-PeCDD were not separated on DB-5MS capillary column. The ions of 1,2,3,7,8-PeCDD were selected at M/M+2 instead of M+2/M+4 suggested by EPA method 1613. It is possible to discriminate 1,2,3,7,8-PeCDD and PCB #169 in HRGC/HRMS analysis.

Key words : PCDDs/Fs, dioxin-like PCBs, manual open columns, automatic parallel LC columns, HRGC/HRMS

1. 서 론

폴리염화디벤조-과라-다이옥신 및 폴리염화디벤조 퓨란류 (polychlorinated dibenzo-p-dioxins dibenzofurans ; PCDDs/Fs)와 더불어 다이옥신과 유사한 폴리염화 비페닐 (polychlorinated biphenyls ; PCBs)은 환경에서의 높은 지속성과 독성 때문에 미량 분석법이 지대한 관심의 대상이 되어 왔다. 다이옥신류의 경우 2,3,7,8 위치에 염소가 치환된 17종의 이성질체와 다이옥신과 독성학적 특성이 매우 유사한 12종의 PCB류는 환경 내에서 지속적인 모니터링이 필요한 화합물이다.¹⁻⁵ 특히 유럽연합 (EU)의 경우 최근 여러 가지 식품과 사료 내 17종의 독성 다이옥신류의 최대 잔류농도를 독성등가 환산농도로 표시하여 규제하고 있으며 다이옥신과 유사한 12종의 독성 PCB류에 대한 최대 잔류농도도 도입되어 규제될 예정이다.⁶ PCB의 경우 세계보건기구인 WHO (World Health Organization)에서 4종의 non-ortho co-planar PCB #77, #81, #126, #169 및 8종의 mono-ortho co-planar PCB의 독성등가계수 (Toxicity Equivalency Factor, TEF)로 평가하고 있지만, 3종의 non-ortho co-planar PCB (#77, #126, #169)가 PCB 독성등가 환산농도 (TEQ)의 대부분을 차지하고 있기 때문에 이들에 대한 독성 평가만을 초점으로 하는 주장이 제기되기도 하였다.⁷

일반적으로 환경시료에서 PCDDs/Fs와 다이옥신과 유사한 PCBs의 분석은 추출 및 정제 과정이 용이하지 않으며 정제과정에서 정확하게 분리되지 않을 경우, 분석결과에 오차를 유발시킬 수 있다. 이들 두 화학종은 화학적 성질이 비슷하여 추출과정에서 함께 추출되며, 일반적인 정제칼럼 과정에서 쉽게 분리되지 않으므로 HRGC/HRMS 분석시 분해이온들이 서로 방해할 일으킬 수 있는 요인이 된다. 따라서 정제과정에서 분리되지 않은 화합물의 경우 특히 분석과정 중에서 GC 칼럼에 의한 분리가 절대적으로 필요하다. 이는 총 독성등가 환산농도로 표시되는 TEQ값이 각기 다른 TEF값을 가진 화합물로부터 평가되므로 칼럼에서의 겹침이 환산

농도값에 큰 차이를 나타낼 수 있기 때문이다.

시료의 정제과정은 시료 내 존재하는 PCDDs/Fs를 함께 추출된 방해물질들로부터 분리시키는 과정으로써 주로 많이 쓰이는 칼럼 정제법은 산, 염기, 중성-실리카겔, 알루미늄 및 활성탄이다. 알루미늄의 경우 표면에서의 전자밀도 분포에 의해 화합물들과 상호 작용하는 흡착제로 이중결합을 갖는 탄소화합물이나 방향족 화합물들의 분리에 효과적이며 흡착제의 양 및 표면 활성 정도와 사용하는 용매의 부피, 극성도에 따라 PCDDs/Fs와 PCB류의 용출패턴이 달라진다. 특히 알루미늄의 활성 정도는 정제 효율에 크게 영향을 미칠 수 있으므로 주기적인 점검이 필요하다.^{8,9} 최근에는 다이옥신류의 분리를 위해 알루미늄 칼럼보다는 활성탄을 이용한 분리조건들이 많이 연구되고 있으며 그 중에는 활성탄의 종류에 따라 분리정도와 회수율이 다른 결과들도 있다.¹⁰⁻¹² 활성탄의 경우 사용되어 지는 용매를 조절하여 동시에 용출되는 방해물질들을 제거하고 톨루엔의 비율을 늘리거나 또는 순수한 톨루엔으로 다이옥신류의 회수율을 높이기도 한다. 이때 활성탄 칼럼에서 회수되는 다이옥신류는 역 용출 (reverse elution), 또는 환류 (reflux) 조건에 의해 얻어지기도 한다.

그 밖에 겔 투과 크로마토그래피 (gel permeation chromatography)법은 지질이나 단백질 제거에 효과적이며, 식품, 생체시료와 더불어 생물체를 포함할 수 있는 폐수나 토양, 지질시료에도 수월하게 이용될 수 있다.¹³⁻¹⁵ 이와 같은 정제과정은 시료에 포함된 오염물질에 대한 고려 뿐만 아니라 시료형태에 맞게 조합하여 사용하는 것이 바람직하다. 그러나 이러한 정제 과정을 통해서 고농도로 존재하는 다이옥신류와 유사한 화합물로부터 수 ppb이하의 저농도 수준까지 존재할 수 있는 다이옥신류를 완전하게 분리해 내는 것은 어려운 일이다.

최근에는 복잡하고 장시간이 소요되는 시료 전처리 과정을 생략하고 기존 1차원 기체크로마토그래피 (one-dimensional GC)법 대신 2차원 기체크로마토그래피 (GC x GC)법을 이용하여 분석과정에서 이들 29종의 화합물

을 분리해 내는 방법들이 개발되기도 하였으나 정제과정에서 제거되지 않은 화합물들로 인해 GC 칼럼 수명이 단축될 수 있는 단점이 있다.^{6,16-18}

본 연구에서는 다이옥신류의 정제과정으로 수동 및 자동 액체 크로마토그래피 칼럼을 이용하여 PCDDs/Fs 17종과 다이옥신과 유사한 PCBs 12종의 용출 패턴을 비교, 분석하였다. 수동 칼럼의 경우는 다이옥신류와 PCBs의 분리가 예상되는 알루미늄 칼럼에서의 분획실험을 중점적으로 살펴 보았으며, 별도의 장치를 통해 역용출이 필요한 활성탄 칼럼은 생략하였다. 자동화 액체 크로마토그래피 칼럼의 경우는 상용화된 실리카, 알루미늄, 활성탄 칼럼을 사용하여 용출 용매에 따라 분리되는 패턴을 살펴 보았다. 분석과정으로는 DB-5MS 칼럼에서 분리되지 않은 1,2,3,7,8-PeCDD와 #169-HxCB같은 화합물의 경우 EPA 1613 HRGC/HRMS 분석¹⁹ 방법의 일부 수정을 통하여 #169-HxCB에 영향을 받지 않고 1,2,3,7,8-PeCDD를 분석 할 수 있었으며 실제 시료 분석에 있어서도 효과적으로 적용될 수 있었다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기구

모든 유기용매는 J. T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA) 사의 특급 잔류농약 분석용 시약을 사용하였고, 다이옥신 표준시약은 Wellington Laboratories 사의 제품을 사용하였다. 정제용 황산은 98% 순도의 Merck사 (Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다.

수동 정제용 칼럼은 다층 실리카의 경우 300 mm 길이, 2 mm 내경의 유리재질의 것으로 1 g Na₂SO₄/ 2 g 중성 실리카/ 5 g 산 실리카/ 1 g 중성 실리카 / 3 g 염기 실리카/ 1 g 중성 실리카/ 1 g Na₂SO₄ 순으로 충전하여 사용하였고 알루미늄 칼럼의 경우 300 mm 길이, 1 mm 내경의 유리 소결막 여과관이 장착된 것으로 염기성 알루미늄 6 g을 충전하여 사용하였다. 정제용 컬럼에 충전하는 황산나트륨은 Wako (Osaka, Japan)사 제품을, 실리카겔 분말은 0.063 mm - 0.200 mm (70 - 230메쉬)의 것으로 Merck (Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다. 알루미늄의 경우 (활성도 1, 염기성) 0.063 mm - 0.200 mm (70 - 230메쉬)의 것으로 Aldrich (Millwaukee, WI, USA)사에서 구입하였으며 정제용 시약은 모두 사용에 앞서 디클로로메탄으로 속실험 추출하여 정제한 후 180 °C에서 약 18시간 건조 후 방냉하여 곧바로 사용하였다.

자동 정제용 액체 크로마토그래피 칼럼의 경우 177 mm 길이, 11 mm 내경의 다층 실리카와 염기성 알루미늄이 미리 채워진 테프론 재질의 것으로 다층 실리카의 경우 4 g 산 실리카 (30% 황산), 2 g 염기 실리카 (1 N 수산화 나트륨)와 중성실리카로 구성되어 있는 것으로 Bio-Rad Laboratories (Richmond, CA, USA) 사 제품을 사용하였고, 알루미늄 칼럼의 경우 12.5 g 염기성 알루미늄으로 채워진 칼럼을 Scientific Adsorbents (Atlanta, GA, USA) 사에서 구입하여 사용하였다. 활성탄 칼럼의 경우는 10 mm 길이, 11 mm 내경의 것으로 AX-21 carbon/celite로 채워진 것으로 Anderson Development (Adrian, MI, USA) 사 것을 구입하여 사용하였다.

2.2. 시료의 추출

소각재 표면에 흡착된 다이옥신류의 추출효율을 높이기 위하여 시료 10 g에 시료채취용 내부표준물질 ³⁷Cl-2,3,7,8-TCDD를 1 ng 첨가한 후 2 N 염산으로 5시간 이상 처리하였다. 깔때기로 여과한 여액은 디클로로메탄 용매로 추출하고 고형분은 속실험 장치를 이용하여 톨루엔으로 24시간 추출하였다. 추출액을 모아 농축한 후 15종의 ¹³C-라벨된 표준물질을 0.1 ng 첨가하고 황산 처리하여 유기물과 착색물질을 제거한 뒤 증류수로 세정하였다.

2.3. 각 칼럼에서의 정제과정

먼저 수동 및 자동 정제용 칼럼에서 17종의 다이옥신류와 12종의 PCB 용출패턴을 조사하기 위하여 2,3,7,8 위치에 염소 치환된 다이옥신 표준용액 (1613PAR, 40 ~ 400 ng/mL) 5 µL와 PCB 표준용액(68A-PAR, 2000 ng/mL) 2 µL를 사용하여 정제과정에서의 회수율과 분획실험을 하였다. 수동 정제용 알루미늄 칼럼에서 표준용액은 제 1분획에서 헥산 40/40/20/20 mL씩 (총 120 mL) 4개 용출액에 대하여 분석하였고, 제 2 분획에서는 디클로로메탄-헥산 (50:50 v,v) 용액을 10 mL씩 (총 60 mL) 6개의 용출액에 대하여 분석하였다. 자동 정제용 칼럼에서는 다층 실리카 칼럼을 거친 표준용액을 알루미늄 칼럼에서 분당 10 mL로 60 mL의 디클로로메탄-헥산 (2:98, v,v)으로 용출된 용액을 받았고 (E1), 활성탄 칼럼을 거친 용액으로 디클로로메탄-헥산 (50:50, v,v)을 분당 10 mL 속도로 80 mL를 용출시켰으며 (E2), 에틸아세테이트-벤젠 (50:50 v,v) 4 mL은 분당 10 mL의 속도로 용출시켰다 (E3). 다시 역방향으로 분당 5 mL의 속도로 톨

루엔 40 mL를 용출시켜 다이옥신류 분획을 얻었다 (E4). 이와 같은 추출조건과 정제조건은 Fig. 1과 같았다.

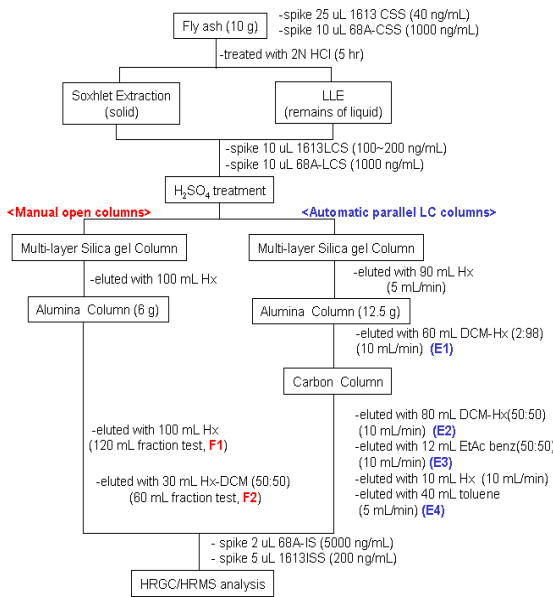


Fig. 1. Analytical procedures of PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in fly ash.

2.4. HRGC/HRMS의 분석조건

정제과정을 마친 시료는 최종적으로 10 µL로 농축한 후, HRGC/HRMS에 주입하여 EPA Method 1613와 1668 법 (Isotope Dilution HRGC-HRMS)에 의하여 분석하였다. 본 연구에서 사용한 분석기기는 Agilent 6890 기체크로마토그래프 (Palo Alto, CA, USA)와 Jeol사의 MStation JMS-700D 고분해능 질량분석기 (Akishima, Tokyo, Japan)가 연결되어 있는 장비를 사용하였다. 컬럼은 다이옥신 분석용으로 Supelco사 (Bellefonte, PA, USA)의 극성 컬럼인 SP-2331 과 J&W Scientific사 (Palo Alto, CA, USA) 제품의 비극성인 DB-5MS 용용 실리카 모세관 컬럼을 사용하였으며, PCB류 분석에는 J&W Scientific사의 DB-1을 사용하였다. 다이옥신과 PCB를 분석하기 위한 HRGC/HRMS 분석조건은 Table 1과 같다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 정제용 칼럼에서의 PCDDs/Fs 및 다이옥신과 유사한 PCBs의 용출패턴

정제용 칼럼에서의 용출패턴은 총 17종의 PCDDs/Fs와 12종의 PCB의 PAR 표준용액으로 조사하였는데 이들에 대한 WHO-TEF값과 농도를 Table 2에 실었다. 실리카

Table 1. The experimental conditions of HRGC/HRMS

GC	Injection mode	splitless
	Injector Temp.	DB-1 : 280 °C, DB-5MS : 290 °C, SP-2331 : 250 °C
	Carrier gas	He, 1 mL/min (DB-1, DB-5MS), 1.2 mL/min (SP-2331)
	Column	DB-1 : 100% dimethylpolysiloxane 60 m(length) × 0.25 mm (I.D) × 0.25 µm (film thickness)
		DB-5MS : 5% phenylmethylpolysiloxane 60 m(length) × 0.32 mm (I.D) × 0.25 µm (film thickness)
		SP-2331 : cyanopropyl polysiloxane 60 m(length) × 0.32 mm (I.D) × 0.2 µm (film thickness)
	Temp. program	DB-1 : 100 °C (1 min)-20 °C/min-200 °C (2 min)-5 °C/min-250 °C (5 min)-5 °C/min-310 °C (3 min) DB-5MS : 160 °C (1.0 min)-5 °C/min-200 °C (2 min)-5 °C/min-220 °C (15 min)-5 °C/min-235 °C (5 min)-5 °C/min-310 °C (3 min) SP-2331 : 100 °C (1.0 min)-20 °C/min-200 °C-2.0 °C/min-250 °C (29 min)
MS	Ionization mode	Electron impact (EI)
	Detection mode	Selected ion monitoring (SIM)
	Ionization voltage	38 eV
	Ionization current	500 µA
	Accel. voltage	10 kV
	Resolution	10,000

Table 2. Specification of PAR solution and WHO-TEF values

PCDD/F congener	Conc. (ng/mL)	TEF	PCB congener	Conc. (ng/mL)	TEF
Dibenzo-p-dioxins			Non-ortho CBs		
2,3,7,8-TCDD	40	1	3,3',4,4'-TCB (#77)	2000	0.0001
1,2,3,7,8-PeCDD	200	1	3,4,4',5-TCB (#81)	2000	0.0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	200	0.1	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	2000	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	200	0.1	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	2000	0.01
1,2,3,7,8,9-HxCDD	200	0.1			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	200	0.01			
OCDD	400	0.0001	Mono-ortho CBs		
Dibenzofurans			2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	2000	0.0001
2,3,7,8-TCDF	40	0.1	2,3,4,4',5-PeCB (#114)	2000	0.0005
1,2,3,7,8-PeCDF	200	0.05	2,3',4,4',5-PeCB (#118)	2000	0.0001
2,3,4,7,8-PeCDF	200	0.5	2',3,4,4',5-PeCB (#123)	2000	0.0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	200	0.1	2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	2000	0.0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	200	0.1	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	2000	0.0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	200	0.1	2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	2000	0.00001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	200	0.1	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	2000	0.0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	200	0.01			
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	200	0.01			
OCDF	400	0.0001			

겔 칼럼에서 핵산용액에 의한 용출조건은 기존의 문헌과 실험을 통하여 용매의 양(100 mL)을 결정하였고 수동 정제용 칼럼에서는 17종의 PCDDs/Fs와 12종의 PCB에 대하여 알루미늄 칼럼에서의 분획실험을 수행하였다. 분획조건에 따라 용출된 용액은 각각 정량용 내부표준물질 (^{13}C -labeled internal standard)을 첨가하여 회수율을 알아 보았다. 총 120 mL의 핵산을 사용한 제 1분획에서는 핵산 100 mL에서 2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)가 가장 먼저 용출되었고, 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)가 120 mL 핵산 분획에서 다음으로 용출되었다. Table 3과 Fig. 2의 (a)에서 보듯 거의 대부분의 PCB와 PCDDs/Fs는 제 2분획인 디클로로메탄-핵산 (50:50 v,v) 용액 20 mL에서 모두 용출되어 다이옥신과 유사한 12종의 PCB와 다이옥신류의 분리가 불가능하였다. 또한 2,3,7,8-TCDD의 경우 다른 화합물보다 알루미늄 활성표면에 가장 강하게 흡착되어 늦게 용출되는 것을 알 수 있었다. 각 분획으로부터 얻어진 PCB류의 총 회수율은 Table 3과 같이 70.4 ~ 79.0%이었으며 17종의 PCDDs/Fs는 61.9 ~ 96.0%였다.

일반적으로 다이옥신류의 분리를 위한 알루미늄 칼럼 사용의 경우 가격이 저렴하고, 간편하여 많이 활용되고 있으나, 활성화 온도등 기타 조건에 불안정하기

때문에 실제 환경시료 분석 시 먼저 분획실험을 하는 것이 바람직하다. 이에 반해 활성탄 칼럼의 경우 습도에 덜 영향을 받기 때문에 동시에 용출되는 PCDDs/Fs나 non-ortho-PCBs가 알루미늄 칼럼에서 보다 안정적이다.²⁰ 또한 활성탄내 그래파이트(graphite)벽은 비평면형 분자(non-planar molecular) 보다 PCDDs/Fs와 같은 평면형 분자(planar molecular)와의 상호작용이 더 크므로 mono-ortho-PCB로 부터 PCDDs/Fs와 non-ortho-PCB를 분리해 낼 수 있다.²¹⁻²² 최근에는 PCDDs/Fs과 다이옥신과 유사한 PCB를 분리하기 위한 조건으로 물리적인 특징이 다른 활성탄이 이용되기도 하였다.²² 활성탄의 경우 비표면적과 공극 크기(pore size)와 같은 물리적인 차이가 PCDDs/Fs와 다이옥신과 유사한 PCB의 흡착능력을 결정하는 요인으로 작용할 수 있으며 이에 따라 다른 용출패턴을 보이기도 한다. 그러나 활성탄 칼럼의 수동 조작 시 다량의 톨루엔 용매가 소비되고 별도의 장치를 통해 역용출 해야 하는 번거로움으로 실험실에 따라 생략하기도 한다.

본 연구에서는 활성탄 칼럼을 생략한 수동 알루미늄 칼럼과 자동화 전처리 장비로 활성탄 칼럼까지 사용했을 때의 PCDDs/Fs와 PCB의 분리정도를 비교하여 보았다.

Table 3. Recovery of each fraction obtained by manual alumina column

Compound	Recovery (%)				
	F1-3	F1-4	F2-1	F2-2	Total
3,3',4,4'-TCB (#77)	-	-	67.1	4.6	71.7
3,4,4',5-TCB (#81)	-	-	75.0	2.9	78.0
3,3',4,4',5-PeCB (#126)	-	-	67.4	3.5	71.0
3,3',4,4',5,5'- HxCB (#169)	-	-	74.6	2.9	77.5
2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	-	-	71.0	1.4	72.4
2,3,4,4',5-PeCB (#114)	-	-	71.8	0.9	72.7
2,3',4,4',5-PeCB (#118)	-	-	74.5	1.1	75.5
2',3,4,4',5- PeCB (#123)	-	-	69.6	0.8	70.4
2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	-	-	77.9	1.1	79.0
2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	-	-	75.9	1.3	77.2
2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	2.7	6.4	69.2	0.7	79.0
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	-	2.4	69.3	1.0	72.6
2,3,7,8-TCDD	-	-	16.5	59.2	75.7
1,2,3,7,8-PeCDD	-	-	72.5	8.3	80.8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	71.5	7.2	78.7
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	-	75.2	7.2	82.3
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	63.2	10.5	73.7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	83.8	8.9	92.7
OCDD	-	-	82.3	12.1	94.5
2,3,7,8-TCDF	-	-	71.5	18.3	89.8
1,2,3,7,8-PeCDF	-	-	70.7	11.9	82.6
2,3,4,7,8-PeCDF	-	-	74.7	8.8	83.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	-	72.2	8.0	80.2
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	-	74.4	7.2	81.6
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	50.8	15.5	66.3
2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	-	70.2	9.7	79.9
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	56.3	5.6	61.9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	62.7	12.7	75.5
OCDF	-	-	85.2	10.8	96.0

Table 4는 자동화 전처리 장비로부터 얻어진 PAR의 총 회수율을 나타낸 것이다. Fig. 2의 (b)는 알루미늄 칼럼 (E1)과 활성탄 칼럼 (E2,E3,E4)으로부터 얻어진 PCDDs/Fs와 PCB의 용출패턴을 나타낸 것이다. 알루미늄 칼럼의 디클로로메탄-헥산 (2:98, v,v) 용액 60 mL에서는 mono-ortho-PCB 중 #114,#118,#123-PeCB/#167-HxCB/#189-HpCB가 50%이상 용출되었으며 활성탄 칼럼의 정방향으로 흘려준 디클로로메탄-헥산 (50:50, v,v) 80 mL에서 완전히 용출되어 나왔다. 또한 mono-ortho- PCB 중 나머지 #105-PeCB, #156-HxCB, #157-HxCB도 주로 디클로로메탄-헥산 (50:50, v,v) 용액에서 용출되어

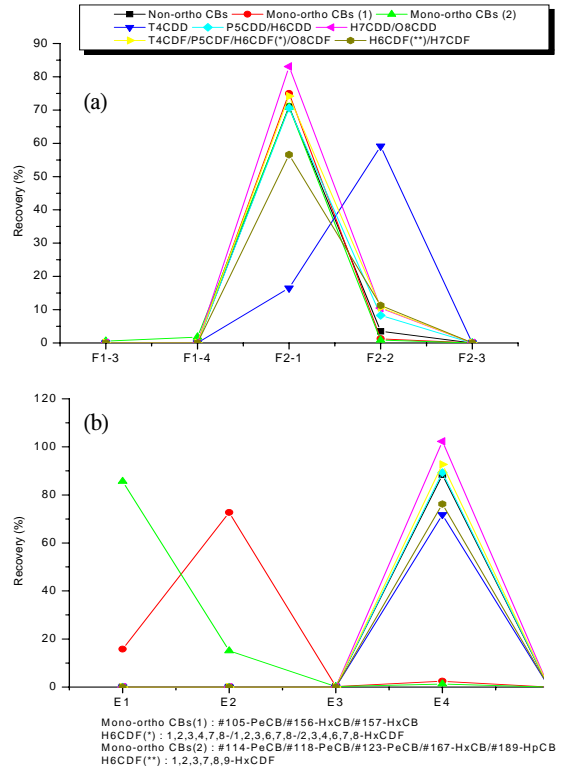


Fig. 2. Elution patterns of PCDDs/Fs and dioxin-like PCBs. (a) Manual alumina column, (b) Automatic parallel LC columns.

PCDDs/Fs와 non-ortho-PCB와는 분리가 가능하였다. 그러나 활성탄 칼럼에서 역방향으로 톨루엔 40 mL을 흘려준 결과 4종의 non-ortho PCB와 PCDDs/Fs류가 같이 용출되어 활성탄 칼럼에서도 PCDDs/Fs와 non-ortho-PCB의 분리는 불가능하였다. Fig. 2에서와 같이 17종의 PCDDs/Fs류와 12종의 PCB류는 수동 알루미늄 칼럼과 자동화 장치에서 알루미늄 및 활성탄 칼럼을 거친 용출 패턴이 확연히 다른 결과를 보여 주었다. 수동 알루미늄 칼럼에서는 PCDDs/Fs와 12종의 PCB가 거의 비슷한 조건에서 용출되어 분리가 불가능하지만 자동화 정제용 칼럼에서는 mono-ortho-PCB도 구조에 따라 일정한 용출패턴을 보여서 구분이 가능했고 PCDDs/Fs 및 non-ortho PCB와는 확연히 분리가 가능하였다. 비슷한 점은 두 과정 모두 퓨란류 중 1,2,3,7,8,9-HxCDF와 2종의 HpCDF의 회수율이 다른 화합물에 비해 낮은 것으로 분석되었다. 이러한 결과로 볼 때 본 연구의 수동 조작 칼럼에서는 제외되었지만 17종의 PCDDs/Fs류와 12종의

Table 4. Recovery of each fraction obtained by automatic parallel LC columns

Compound	Recovery (%)				
	E1	E2	E3	E4	Total
3,3',4,4'-TCB(#77)	0.2	0.1	0.3	60.7	61.3
3,4,4',5-TCB(#81)	0.2	0.1	0.2	64.0	64.5
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	-	-	0.5	108.2	108.7
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	-	-	-	120.3	120.3
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	2.8	89.7	0.2	0.3	92.9
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	99.9	15.2	0.5	0.4	116.0
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	93.7	19.6	0.2	0.1	113.6
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	78.7	14.3	0.2	0.4	93.6
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	28.3	61.7	0.2	2.0	92.1
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	16.3	66.7	0.2	5.0	88.2
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	97.8	5.4	0.2	0.1	103.5
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	58.0	21.0	-	5.3	84.3
2,3,7,8-TCDD	-	-	-	71.8	71.8
1,2,3,7,8-PeCDD	-	-	-	100.4	100.4
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-	-	-	87.0	87.0
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-	-	-	88.1	88.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-	-	-	81.7	81.7
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-	-	-	104.5	104.5
OCDD	-	-	-	100.2	100.2
2,3,7,8-TCDF	-	-	-	101.2	101.2
1,2,3,7,8-PeCDF	-	-	-	91.8	91.8
2,3,4,7,8-PeCDF	-	-	-	89.2	89.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-	-	-	86.4	86.4
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-	-	-	89.2	89.2
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	71.9	71.9
2,3,4,6,7,8-HxCDF	-	-	-	87.2	87.2
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-	-	-	72.0	72.0
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	84.6	84.6
OCDF	-	-	-	103.8	103.8

PCB류의 분리가 필요한 경우 활성탄 칼럼의 사용이 필수적임을 알 수 있었다.

3.2. HRGC/HRMS에 의한 분리

정제과정을 거친 시료는 GC칼럼에서 ^{13}C -라벨드된 표준물질 및 머무름 시간 (retention time)을 통해 확인 가능하였으며 칼럼에서의 용출순서는 Window defining solution의 분석에 의해 미리 파악하였다. Window defining solution은 GC칼럼에서 시작과 마지막에 용출되는 다이옥신류 각 이성질체의 순서를 확인할 수 있는 용액으로써 독성 다이옥신류 이외의 이성질체가 포함되어 있어 칼럼의 분리정도 또한 확인이 가능하다. 한편, 수

동 알루미늄 칼럼과 자동 정제용 칼럼 모두에서 분리되지 않은 1,2,3,7,8-PeCDD는 non-ortho PCB 중 HxCB에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다. Fig. 3은 17종의 PCDDs/Fs와 12종의 PCB PAR 표준용액을 수동 알루미늄 칼럼으로 정제한 후 SP-2331과 DB-5MS 칼럼으로 분석한 1,2,3,7,8-PeCDD의 결과이다. Fig. 3의 (a)와 같이 SP-2331 칼럼의 경우 4개의 HxCB와 1,2,3,7,8-PeCDD가 완전하게 분리되었으나 (b)에서와 같이 DB-5MS 칼럼 분석 결과 #169-HxCB와 1,2,3,7,8-PeCDD는 거의 같은 머무름 시간에 칼럼에서 용출되어 나오므로 두 피크가 분리되지 않아 정량 값에 큰 차이를 보일 수 있다. 특히 Table 2에서 보는 바와 같이 1,2,3,7,8-PeCDD와 #169-

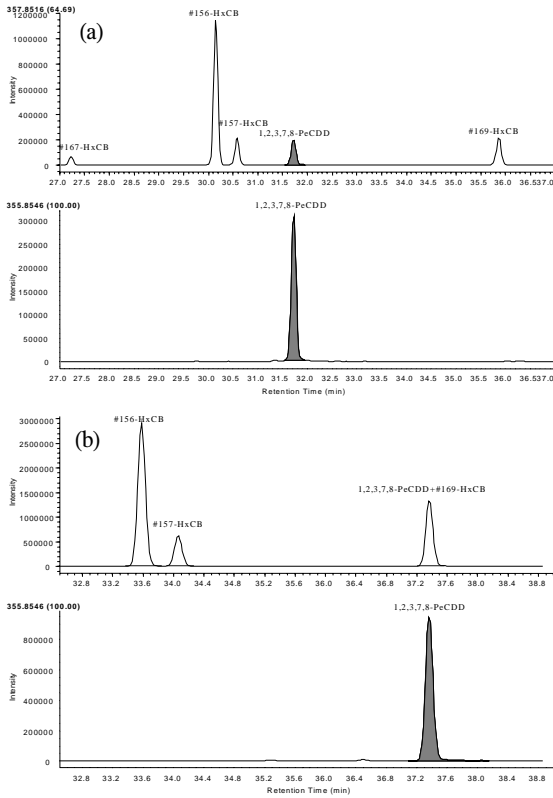


Fig. 3. The SIM chromatogram of PeCDD in standard mixtures after eluting the manual alumina column. (a) SP-2331 column, (b) DB-5MS column.

HxCB의 TEF값이 각각 1과 0.01로써 총 독성 등가 환산 농도(TEQ)로 환산할 경우 정량은 실제값 보다 과대평가되어질 수 있다. EPA 1613방법 중 HRGC/ HRMS 분석에 따르면 1,2,3,7,8-PeCDD의 선택이온은 M+2 (m/z 355.8546)와 M+4 (m/z 357.8516)로써 이론적인 이들의 비율(M+2/M+4=1.55)로부터 1,2,3,7,8-PeCDD를 확인하고 정량한다. 그러나 이들 중 M+4의 경우 HxCB의 분자이온(M)과 질량 값이 일치하기 때문에 1,2,3,7,8-PeCDD의 선택이온모드에서 같이 검출되고 DB-5MS 칼럼에서는 같은 시간에 용출되어 분리되지 않는다. 그러므로 EPA 1613방법을 수정하여 1,2,3,7,8-PeCDD의 선택이온 중 M+4 (m/z 357.8516)를 HxCB의 분자이온과 겹치지 않는 M (m/z 353.8576)으로 변경하였고 이들의 비율을 M+2/M+4 (1.55)에서 M+2/M (1.61)로 수정하여 분석한 결과 Fig 4의 (b)와 같이 HxCB에 의한 영향을 제거할 수 있었다. 또한 이러한 분석조건 변화가 실제 환경시

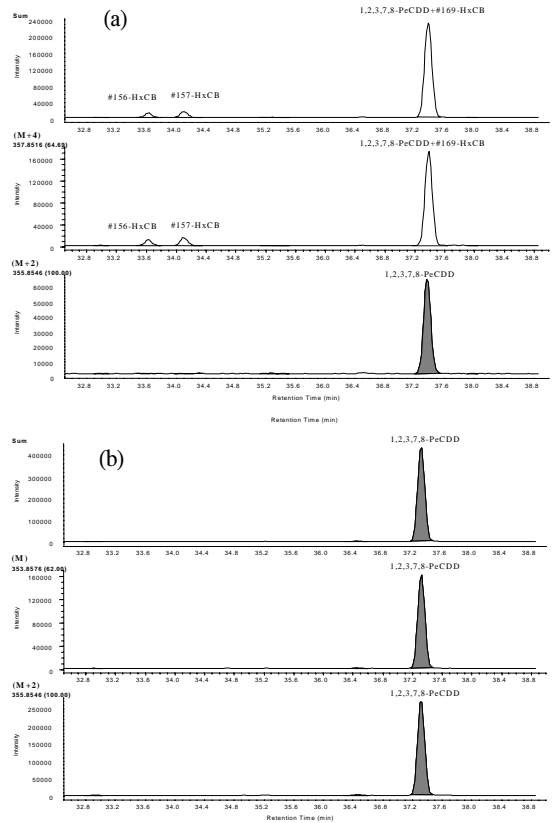


Fig. 4. The channel view of monitoring ions for PeCDD on DB-5MS column obtained by (a) EPA 1613 method and (b) changing m/z types.

료의 분석에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위해 Fig. 1과 같은 추출 및 정제조건으로 처리된 시료에 대해 1,2,3,7,8-PeCDD의 선택이온을 수정하기 전과 후에 대한 분석 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 실제 환경에서 존재할 수 있는 PeCDD의 이성질체의 수는 13개로 알려져 있으며 Fig. 5의 (a)에서와 같이 1,2,3,7,8-PeCDD외에 다른 이성질체 역시 HxCB에 의해 영향을 받을 수 있음을 알 수 있다. 이와 같이 환경시료의 분석에 있어서 정제 과정에서 분리되지 않은 방해물질의 경우 분리에 영향을 주는 선택이온을 수정하여 정량과정에서 방해물질의 영향을 제거할 수 있다.

4. 결론

정제용 칼럼으로 수동 및 자동화 액체크로마토그래

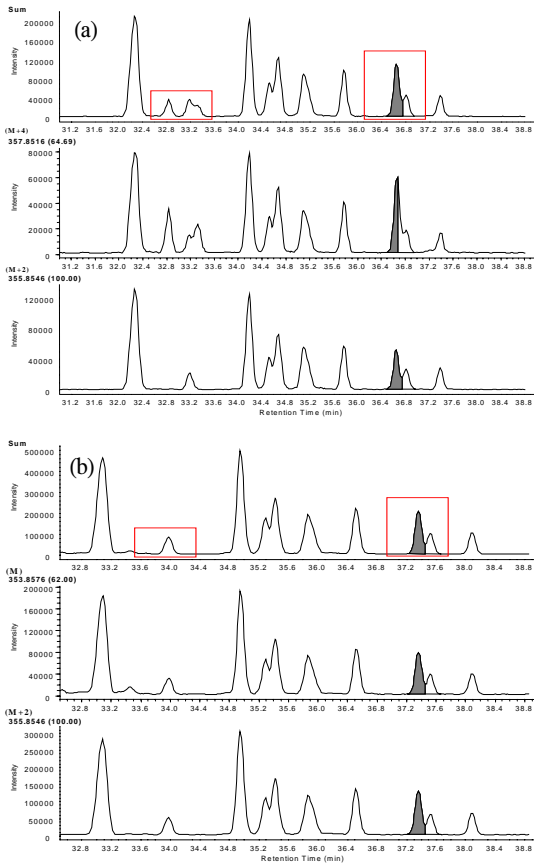


Fig. 5. The chromatograms of PeCDD extracted from fly ash on DB-5MS column obtained by (a) EPA 1613 method and (b) changing m/z types.

피 칼럼을 이용하여 17종의 PCDDs/Fs와 12종의 다이옥신과 유사한 PCB의 용출패턴을 비교하였다. 분획실험을 통한 수동 알루미늄 칼럼의 경우 29종의 화합물이 같은 조건에서 용출되어 분리되지 않았으나 자동화 칼럼의 경우 활성탄 칼럼에서 소량 톨루엔의 역용출로 mono-ortho-PCB로부터 PCDDs/Fs 및 non-ortho PCB를 확연히 분리할 수 있었다. 또한 non-ortho PCB 중 #169-HxCB는 DB-5MS 칼럼에서 1,2,3,7,8-PeCDD와 분리 되지 않으나 선택이온의 질량설정을 일부 수정하여 분리 가능하였다. 이와 같이 정제과정이나 분석과정에서 독성 PCB 및 다이옥신류의 분리를 위한 조건을 제시하였다. 따라서 본 연구를 통하여 얻어진 독성 다이옥신류와 PCB류의 효율적인 분리 및 정제방법을 실제 환경시료 및 식품시료에서 활용할 수 있을 것이다.

참고 문헌

1. A. Schecter, M. Pavuk, R. Malisch, J. J. Ryan, *J. Toxicol. Environ. Health A*, **66**, 1391-1404(2003).
2. J. Knutzen, B. Bjerkeng, K. Naes, M. Schlabach, *Chemosphere*, **52**, 745-760(2003).
3. E. Eljarrat, J. Caixach, J. Rivera, *Chemosphere*, **51**, 595-601(2003).
4. D. Santillo, A. Fernandes, R. Stringer, R. Alcock, M. Rose, S. White, K. Jones, P. Johnston, *Food Addit. Contam.*, **20**, 281-290(2003).
5. M. Schuhmacher, M. Rodriguez-Larena, J. Diaz-Ferrero, J. L. Domingo, *Chemosphere*, **48**, 187-193 (2002).
6. P. Korytar, C. Danielsson, P.E.G. Leonards, P. Haglund, J. de Boer, U. A. Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*, **1038**, 189-199(2004).
7. C.-Y. Chen, J. R. Hass, P. W. Albro, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 5172-5176(2000).
8. J.-G Kim, J.-S Lee, H.-T Hong, *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, **19**, 983-996(1997).
9. L. Ramos, L. M. Hernandez, M. J. Gonzalez, *J. Chromatogr. A*, **759**, 127-137(1997).
10. A. Kocan, J. Petrik, J. Chovancova, B. Drobná, *J. Chromatogr. A*, **665**, 139-153(1994).
11. K. P. Feltz, D. E. Tillitt, R. W. Gale, P. H. Peterman, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 709-718 (1995).
12. E. Abad, J. Saulo, J. Caixach, J. Rivera, *J. Chromatogr. A*, **893**, 383-391(2000).
13. P. Furst, C. Furst, W. Groebel, *Chemosphere*, **20**, 787-792(1990).
14. P. O'Keefe, L. Wilson, C. Buckingham, L. Rafferty, *Chemosphere*, **20**, 1277-1284(1990).
15. L.-O. Kjeller, S.-E. Kulp, S. Bergek, M. Bostrom, P.-A. Bergqvist, C. Rappe, *Chemosphere*, **20**, 1489-1496(1990).
16. J. Beens, R. Tijssen, J. Blomberg, *J. Chromatogr. A*, **822**, 233-251(1998).
17. M. Harju, C. Danielsson, P. Haglund, *J. Chromatogr. A*, **1019**, 111-126(2003).
18. P. Korytar, L. L. P. van Stee, P. E. G. Leonards, J. de Boer, U. A. Th. Brinkman, *J. Chromatogr. A*,

- 958**, 179-189(2003).
19. EPA, Method 1613, Tetra through octachlorinated dioxins and furans by isotopic dilution HRGC-HRMS, Washington DC, 1994.
 20. C. Schroijen, I. Windal, L. Goeyens, W. Baeyens, *Talanta*, **63**, 1261-1268(2004).
 21. A. Kocan, J. Petrik, J. Chovancova, B. Drobna, *J. Chromatogr. A*, **665**, 139-153(1994).
 22. Y. Kemmochi, K. Tsutsumi, A. Arikawa, H. Nakazawa, *J. Chromatogr. A*, **977**, 155-161(2002).