

ASE와 SPMDs를 이용한 퇴적물중 PCDD/Fs의 전처리법 개발

천 만 영*

한경대학교 환경공학과

Pretreatment Method Development of PCDD/Fs in Sediment Using ASE and SPMDs

Man Young Chun*

Department of Environmental Engineering, Hankyong National University,
67 Seockjungdong, Anseong, Kyongido 456-749, Korea

ABSTRACT

Three kind of ASE (Accelerated Solvent Extraction) and SPMDs (Semi-Permeable Membrane Devices) combined methods (ASE-SPMDs, ASE-accelerated SPMDs and SPMDs without extraction) and general Soxhlet-GPC were compared each other for the analysis of PCDD/Fs in sediment. The average recovery rate of three types ASE and SPMDs combined methods (108.1%) were higher than that of the Soxhlet-GPC (79.5%) for three samples in each method using surrogate internal standards. The average coefficient of variation (10%, 2.1~25.2%) for each congener of PCDD/Fs shows the reasonable results. Total PCDD/Fs concentrations after SPMDs without extraction were quite low, but those after ASE-SPMDs and ASE-accelerated SPMDs methods were close to the Soxhlet-GPC. Thus, the ASE-SPMDs and ASE-accelerated SPMDs methods are considered as the excellent pre-treatments method because they need less solvent and time without quality degradation.

Key words : PCDD/Fs, sediment, ASE, SPMDs, Soxhlet, GPC

서 론

HRGC/HRMS로 시료중 다이옥신/퓨란(PCDD/Fs)를 정량하고자 할 경우 시료 중에 공존하는 지질, 색소, 단백질 및 기타 무기물질이 정량을 방해하므로 이 방해물질들을 제거하기 위해서는 여러 단계의 복잡한 전처리 과정이 필요하다(U.S. EPA,

1994; 김종국, 1996, 1997; Ikonou, 2001; 국립환경연구원, 2002; 김태욱, 2005; 천만영, 2005). 복잡한 전처리를 위해서는 많은 시간과 노력, 고가의 시약과 용제가 다량 필요하므로 복잡한 전처리 과정을 보다 간단하게 줄이는 것은 PCDD/Fs 연구에서 대단히 중요한 일이다.

전통적으로 시료중 PCDD/Fs를 추출할 때는 속슬렛(Soxhlet)이나 초음파 추출기에서 추출한다. 그러나 속슬렛은 추출시간이 오래 걸리는 단점이 있으며 초음파 추출기는 속슬렛에 비하여 추출시간은 짧지만 시료에 따라 추출율이 낮은 단점이 있

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: +82-31-670-5172, Fax: +82-31-672-6073
E-mail: mychun@hknu.ac.kr

다(U.S. EPA, 1994; 김종국, 1996, 1997; Ikonou, 2001; 국립환경연구원, 2002; 김태욱, 2005; 천만영, 2005). 그리하여 현재는 추출시간과 추출에 필요한 용매량을 줄이기 위하여 Accelerated Solvent Extraction (ASE)법이 이용되고 있다. ASE법은 고온, 고압에서 소량의 용매로 짧은 시간에 시료중 분석 대상물질을 추출해 낼 수 있는 방법이다(Wenzel, 2004).

시료 중에 포함되어 있는 지질, 단백질 및 색소 등은 황산을 이용하여 파괴하거나 GPC를 사용하여 분리, 제거한다(U.S. EPA, 1994; 김종국, 1996, 1997; Ikonou, 2001; 국립환경연구원, 2002; 김태욱, 2005; 천만영, 2005). 황산은 산에 안정한 PCDD/Fs, PCBs 및 PCNs 전처리에는 별 문제가 없지만 PAHs나 일부 유기염소계 농약은 황산에 의하여 파괴되므로 시료에 이러한 분석대상물질이 공존할 경우에는 사용하지 못하는 단점이 있다. 또 지질 등의 방해물질의 농도가 높은 시료는 같은 작업을 수 십번 반복하여야 하므로 다량의 황산 사용과 시간 및 노력이 필요하며, 황산을 다량 사용함으로써 실험자의 안전에도 문제가 된다. GPC법은 비파괴법이지만 분자 크기를 이용하여 분석대상물질과 방해물질을 분리하므로 용매가 다량 사용되며 방해물질과 분자 크기가 비슷한 분석대상물질은 분리에 어려움이 있다(Lantalainen, 1999; Ikonou, 2001; Wenzel, 2004).

Semi-Permeable Membrane Devices (SPMDs)는 Huckins (1990) 등이 처음 사용한 방법으로 저밀도 low-density polyethylene membrane (LDPE)를 이용하여 시료중 Persistent Organic Pollutants (POPs)를 지질 등 방해물질로 부터 분리해 내는 방법으로 간편하고 경제적이며 안전하고 효율적인 방법이다. LDPE는 pore size가 약 10\AA 이므로 분자크기가 550 Dalton (Da) 이하인 POPs 분자는 통과시키고 600 Da 이상인 지질은 통과시키지 않으며, 친지질성 (lipophilic)이므로 POPs는 통과시키지만 물이나 친수성인 각종 무기이온들은 통과를 시키지 않는다. 또 SPMDs는 특별하거나 비싼 장비가 필요하지 않으며 POPs를 파괴하지 않는 비파괴 방법이므로 PCDD/Fs를 비롯한 POPs의 전처리에 아주 좋은 방법이다(Meadows, 1993; Lantalainen, 1999; Wenzel, 2004).

퇴적물(sediment) 중에는 PCDD/Fs 정량을 방해

하는 지질, 단백질, 색소 뿐만 아니라 황 및 각종 무기물질이 다량 포함되어 있어서 다른 시료에 비하여 추출과 전처리가 더 어렵고 복잡하다. 이 연구는 전통적으로 사용되고 있는 Soxhlet-GPC 방법과 ASE와 SPMDs를 조합한 세 가지 방법을 이용하여 퇴적물 중에 포함된 PCDD/Fs의 추출 및 전처리 방법을 비교·연구하였다.

실험 및 방법

시료로 사용된 퇴적물은 2002년과 2003년 전 세계 81개 실험실과 77 실험실에서 실험실간 분석치를 비교하기 위하여 네덜란드의 강바닥에서 채취한 퇴적물을 냉동·건조한 후 제조된 Certified Reference Materials (RCMs)을 사용하였으며, 분석에는 RCMs 약 2g을 사용하였다.

1. 추출 및 정제

시료의 추출 및 정제는 전통적인 방법인 Soxhlet-GPC법과 ASE와 SPMDs를 조합한 세가지 방법(ASE-SPMDs, ASE-accelerated SPMDs and SPMDs without extraction)의 총 4가지 방법을 상호 비교하였다. Fig. 1에 이 방법들을 간단히 도식화 하였고, 각 단계별 상세한 분석방법은 아래와 같다.

1) 균질화(Homogenization) : 시료 약 2g에 surrogate internal standard (CIL Inc., EDF-957-A)를 spike하고 무수황산나트륨 (Mallincrodt Baker, Inc., Paris, Kentucky) 30g을 넣어 막자사발에서 잘 갈아서 균질화 하였다.

2) Soxhlet 추출 : 균질화한 시료를 glass thimble에 넣고 toluene : acetone (80 : 20) 300 mL로 약 20시간 추출하였다.

3) GPC column : 내경 40 mm 칼럼에 Biobead 70g을 충전하여 hexane : dichloromethane (DCM) (1 : 1, v/v)으로 용출하였는데, 처음 160 mL는 지질 등 방해물질이 포함되어 있으므로 버리고 그 다음에 용출되는 350 mL를 시료로 사용하였다.

4) ASE : Cellulose thimble에 균질화한 시료를 넣고 여기에 무수황산나트륨을 thimble 입구까지 채워 ASE(Dionex, ASE 200) cell에 넣어 용매로 추출하였다. Table 1은 ASE 추출조건을 나타낸 것이다.

5) SPMDs : SPMDs에 사용된 LDPE layflat tube

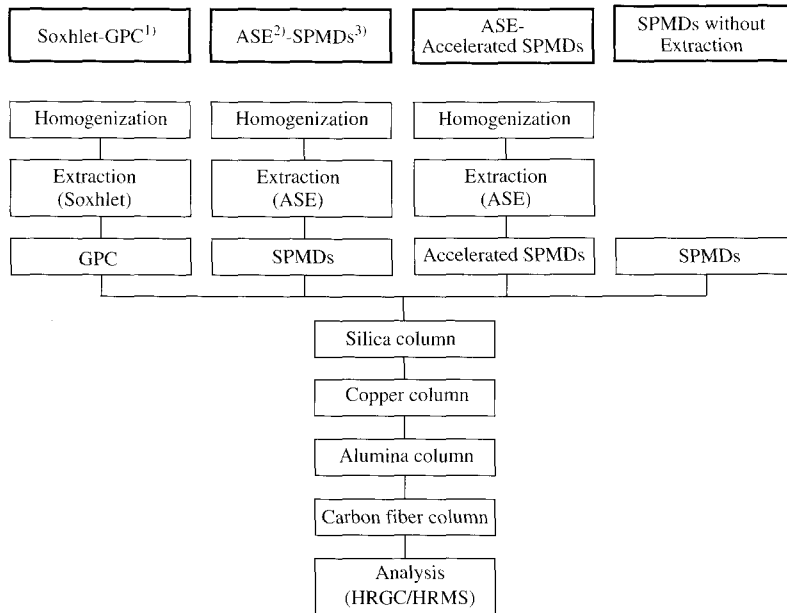


Fig. 1. Flow chart of PCDD/Fs pretreatment methods. ¹⁾GPC: Gel-Permeation Chromatography, ²⁾ASE: Accelerated Solvent Extraction, ³⁾SPMDs: Semi-Permeable Membrane Devices.

Table 1. ASE parameters for sediment extraction

Solvent	80 : 20 toluene : acetone (v/v)
Oven temperature	180°C
Cell pressure	2,000 psi
Static time	5 minutes (after a 9 minute preheat equilibrium)
Total flush volume	100% (33 mL)
Nitrogen purge time	60 seconds
Number of static cycles	2
Total solvent volume	55 ~ 60 mL
Rinse between samples	1 mL

Table 2. ASE parameters for accelerated SPMDs

Solvent	Hexane
Oven temperature	50°C (after a 5 minute preheat equilibrium)
Cell pressure	500 psi
Static time	10 minutes
Total flush volume	50% (16.5 mL)
Nitrogen purge time	60 seconds
Number of static cycles	4
Total solvent volume	49 mL/vial × 4 vials
Rinse between samples	1 mL (only when changing samples)

는 폭 29 mm, 두께 104.4 μm (Cope Plastics, Inc., Fargo, ND, USA)를 길이 300 mm로 잘라 사용하였다. LDPE layflat tube는 사용 전에 한쪽 면을 heat sealer로 밀봉하고 유리병(glass jar)에 넣어 hexane으로 24시간 세척하여 사용하였다. 추출한 시료를 회전증발 농축기에서 0.5 mL까지 농축한 다음 LDPE layflat tube에 옮긴 후 hexane : DCM (1 : 1) 0.5 mL로 3회 씻어 정량적으로 옮겨 총 2 mL가 되게 한 다음 다시 한 쪽 끝을 heat sealer로 밀봉하였다. 이 LDPE를 유리병에 넣고 hexane 450 mL로

24시간 투석(dialysis)한 다음 용매를 옮기고 다시 hexane 450 mL로 투석하여 용매를 합한 후 1 mL까지 농축하였다.

6) Accelerated SPMDs : 추출한 시료를 회전증발 농축기에서 0.5 mL까지 농축한 다음 heat sealer로 한 쪽을 밀봉한 110 mm LDPE layflat tube에 옮긴 후 hexane : DCM (1 : 1) 0.5 mL로 3회 씻어 정량적으로 옮겨 총 2 mL가 되게 한 다음 다시 한 쪽 끝을 heat sealer로 밀봉하였다. 이것을 SUS mesh망을

넣어 투석을 용이하게 한 ASE cell에 넣고 Table 2의 조건으로 투석하였다.

7) SPMDs without Extraction : 이 방법은 추출과정 없이 300 mm LDPE 튜브에 시료 2 g을 넣고 hexane 2 mL를 주입하여 5)와 동일한 방법으로 투석을 행하였다.

8) Silica column : 내경 10 mm 유리관에 아래로부터 염기성실리카(1 N NaOH 26%, w/w) 2 g, 중성실리카 1 g, 산성실리카(H_2SO_4 33%, w/w) 4 g, 중성실리카 1 g을 순서대로 충전하여 hexane : DCM (1 : 1, v/v) 60 mL로 시료를 용출하였다.

9) Copper column : Cu 10~40 mesh 5 g을 직경 10 mm 칼럼에 충전하고 1 M HCl로 씻었다. 그 다음 toluene으로 처리한 물로 칼럼을 씻은 후 다시 acetone으로 씻어 수분을 제거하였다. 여기에 시료를 넣고 hexane 30 mL로 용출하여 시료로 사용하였다. 만약 Cu의 색깔이 전체적으로 암갈색으로 변하면 이 과정을 다시 반복하였다.

11) Alumina column : Alumina (Al_2O_3) 10 g을 내경 10 mm 유리관에 충전하고 hexane 25 mL로 시료 중 극성방해물질을 제거하고 hexane : DCM (1 : 1, v/v) 60 mL로 PCDD/Fs를 용출하였다.

12) Carbon fiber chromatography column : 내경 5 mm stainless steel column에 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 PCBs 등 방해물질을 제거하고 칼럼을 거꾸로 하여 toluene 90 mL로 PCDD/Fs를 용출하였다. 이 용출액을 회전증발 농축기와 질소로 농축하여 surrogate recovery standard (CIL Inc., EDF-5999)를 spike한 후 분석시료로 하였다.

실험에 사용된 모든 용매는 잔류 농약급을 사용하였고, 실리카(Mallinckrodt Baker., Paris, Kentucky, 100~200 mesh)와 알루미늄(ICN Biomedicals, Eschwege, Germany, neutral, super 1 activity, 100~200 mesh)는 170°C에서 12시간 이상 활성화 시킨 후 사용하였다. 또 무수황산나트륨은 450°C에서 12시간 이상 구운 것을 사용하였다

2. 분석

시료중 PCDD/Fs는 HRGC/HRMS로 분석하였으

며 분석 조건은 아래 Table 3과 같다.

3. QA/QC

PCDD/Fs의 정량시 크로마토그램의 높이가 노이즈의 3배 이상인 것만 정량에 포함시켰으며, 각 방법당 시료는 3개씩(triplicate) 분석하였다. 기타 정량 및 QA/QC는 Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2389 method (Ikonomou *et al.*, 2001)에 따랐다.

결과 및 고찰

1. 내부표준물질의 회수율 평가

Fig. 2는 4가지 전처리 방법에 의한 surrogate internal standard의 회수율을 나타낸 것으로 ASE와 SPMDs 조합에 의한 세 가지 방법의 평균 회수율(108.1%, 87.1~133.6%)이 Soxhlet-GPC법에 의한 평균 회수율(79.5%, 72.2~89.0%)보다 훨씬 더 높았다.

천만영 등(2005)이 수행한 소나무 잎중 PCDD/Fs 전처리법 연구에서도 초음파-GPC법(평균 79.5%, 72.2~86.2%)보다 초음파-SPMDs법(평균 98.6%, 81.1~127.5%)에서 surrogate internal standard의

Table 3. HRGC/HRMS conditions for determination of PCDDs/PCDFs

HRGC	HP5890 splitless
Injector	Splitless
Carrier gas	He (25 psi, 35 cm/sec)
Injection volume	1 μ L
Column	DB-5 (60 m \times 0.25 mm I.D. \times 0.1 μ m 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)

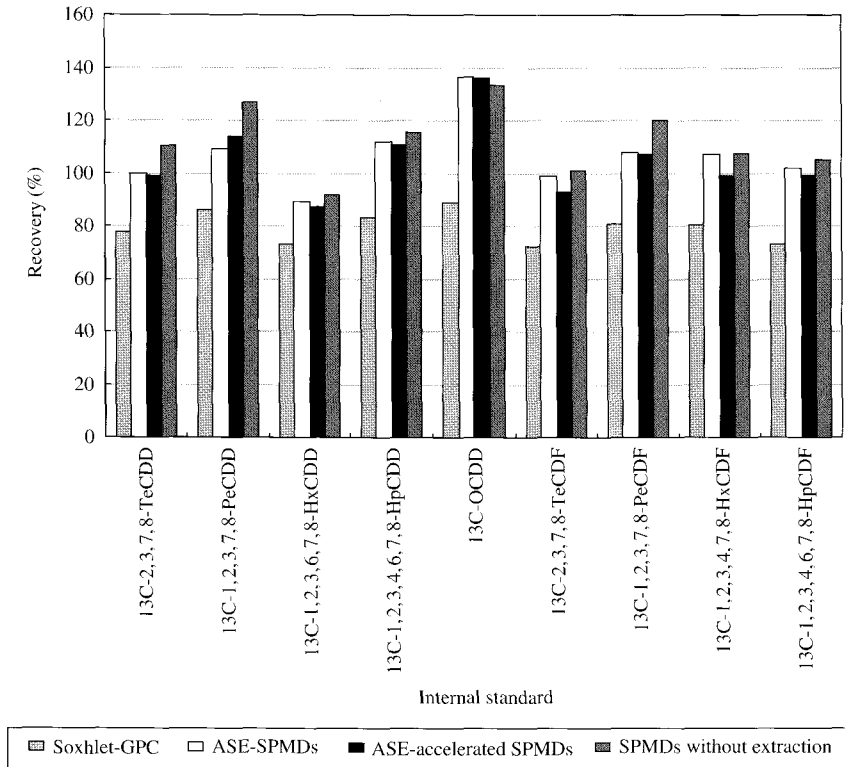


Fig. 2. Recovery of PCDD/Fs surrogate internal standard from sediment samples.

회수율이 훨씬 더 높게 나타났다.

2. 전처리 방법에 따른 PCDD/Fs 농도

각 방법당 시료를 세 개씩 전처리하여 분석하였는데 (triplicate) 각 방법당 PCDD/Fs congener의 변이계수(Coefficient of Variation)의 평균 값은 10% (2.1~25.2%)로 대체로 양호한 편이었다.

Fig. 3은 4가지 방법으로 분석한 퇴적물중 PCDD/Fs의 농도를 나타낸 것이며, Fig. 4는 ASE와 SPMDs 조합에 의한 세 가지 방법으로 구한 PCDD/Fs congener 농도에서 Soxhlet-GPC법으로 전처리한 PCDD/Fs congener 농도를 나눈 값을 나타낸 것이다.

Fig. 3과 4에서 보듯이 각 전처리 방법당 PCDD/Fs의 총농도는 ASE-SPMDs (2,153.7 pg/g dry) > Soxhlet-GPC (2,117.3 pg/g dry) > ASE-Accelerated SPMDs (2,039.0 pg/g dry) > SPMDs without Extraction (1,220.9 pg/g dry) 순이었다. ASE-SPMDs법은

로 전처리한 PCDD/Fs의 총농도는 Soxhlet-GPC법 농도의 101.7%였고, ASE-Accelerated SPMDs법에 의한 농도는 96.3%이었다. 두 방법 모두 Soxhlet-GPC법과 비슷한 농도를 보였으나, SPMDs without Extraction법에 의한 농도는 Soxhlet-GPC법에 의한 농도의 57.7%로 상당히 낮게 나타났다.

특히 ASE-SPMDs와 ASE-Accelerated SPMDs 법에서는 PCDDs congener의 농도가 Soxhlet-GPC법에서 보다 더 높게 나타났으나 PCDFs congener들은 거의 비슷한 농도를 보였다. 그러나 SPMDs without Extraction법은 Soxhlet-GPC법보다 모든 PCDD/Fs congener에서 더 낮게 나타났다. SPMDs without Extraction법에서 각 PCDD/Fs congener의 농도가 낮게 나타난 것은 추출과정 없이 SPMDs로 투석만 시켰기 때문에 PCDD/Fs congener와 퇴적물과의 결합력이 투석력보다 더 컸기 때문으로 생각된다.

Surrogate internal standard를 이용한 회수율 평가

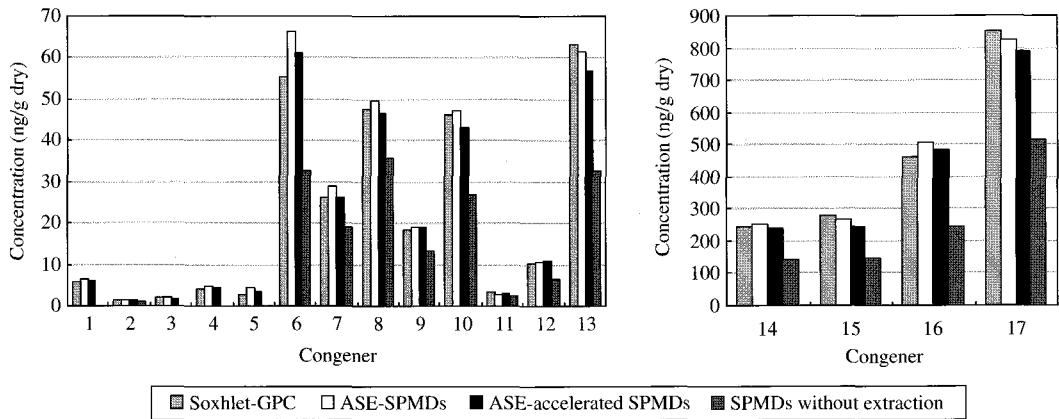


Fig. 3. PCDD/Fs concentration in Sediment of each method. 1: 2, 3, 7, 8-TeCD, 2: 1, 2, 3, 7, 8-PeCDD, 3: 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD, 4: 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD, 5: 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD, 6: 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD, 7: 2, 3, 7, 8-TeCDF, 8: 1, 2, 3, 7, 8-PeCDF, 9: 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF, 10: 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF, 11: 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF, 12: 2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF, 13: 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF, 14: 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF, 15: 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF, 16: OCDD, 17: OCDF.

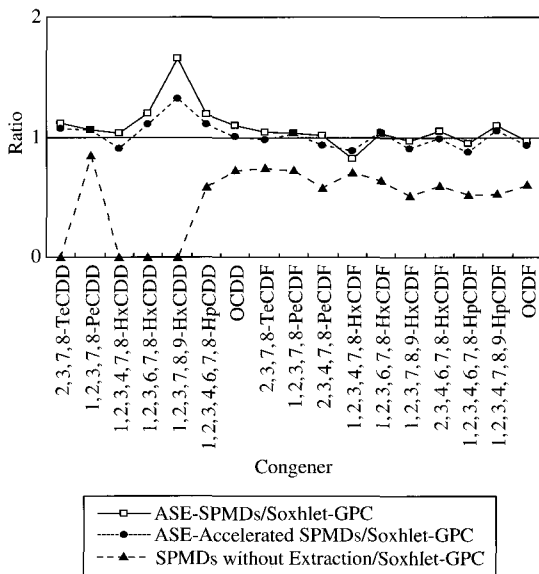


Fig. 4. Ratio of PCDD/Fs congeners of ASE-SPMDs, ASE-Accelerated SPMD and SPMDs without Extraction method to Soxhlet-GPC method.

에서는 ASE-SPMDs, ASE-Accelerated SPMDs 및 SPMDs without Extraction법이 모두 높은 회수율을 보였다. 그러나 시료중 PCDD/Fs 농도는 ASE-SPMDs와 ASE-Accelerated SPMDs법에서는 높은 농도를 보였지만 SPMDs without Extraction법에서

는 현저히 낮은 농도를 보였는데 이것은 spike한 surrogate internal standard는 시료에 강하게 흡착되지 않아 투석이 가능했지만 시료중 PCDD/Fs는 시료에 강하게 흡착되어 추출과정 없이 투석만으로는 시료에서 분리가 어려웠기 때문으로 생각된다. 그러므로 시료중 PCDD/Fs를 비롯한 POPs를 추출할 때 surrogate internal standard의 회수율이 높다고 하여 시료에 결합되어 있는 분석대상물질의 추출율도 높다고 판단하는 것은 잘못된 결론을 유도할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

결론

강바닥에서 채취한 퇴적물중 PCDD/Fs의 분석을 위하여 ASE와 SPMDs을 조합한 3가지 전처리 방법(ASE-SPMDs, ASE-Accelerated SPMDs법 및 SPMDs without Extraction법)과 전통적으로 이용되고 있는 Soxhlet-GPC법과의 결과를 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) Surrogate internal standard를 이용한 회수율 측정에서 ASE-SPMDs, ASE-Accelerated SPMDs와 SPMDs without Extraction법의 평균 회수율은 108.1%로 Soxhlet-GPC법의 평균 회수율 79.5%보다 훨씬 더 높았다.
- 2) 퇴적물중 PCDD/Fs congener 농도는 각 방법

당 3개의 시료 (triplicate)를 분석한 결과 변이계수 (Coefficient of Variation)의 평균 값은 10% (2.1~25.2%)로 대체로 양호하였다.

그러나 ASE-SPMDs와 ASE-Accelerated SPMDs 법에 의한 농도는 Soxhlet-GPC법에 의한 분석농도와 거의 비슷하였으나 SPMDs without Extraction법에 의한 농도는 현저히 낮았다.

그러므로 ASE-SPMDs와 ASE-Accelerated SPMDs법은 전통적인 Soxhlet-GPC법과 비교하여 거의 동일한 분석 결과를 얻을 수 있으며 시료 추출시간과 용매량은 획기적으로 줄일 수 있는 좋은 전처리 방법이라고 생각된다.

참 고 문 헌

김종국, 박상숙, 김환기. 수환경에서 다이옥신류의 농도분포와 생물농축에 관한 연구, 대한환경공학회지 1996; 18(11): 1417-1428.

김종국, 김환기, 조봉연. 해양저질과 생물체의 다이옥신 오염특성에 관한 연구, 대한환경공학회지 1997; 19(5): 569-580.

김태욱, 천만영. 소나무잎중 PCDD/Fs 정량시 SPMDs와 GPC를 이용한 지질 제거법 비교, 한국환경분석학회지 2005; 8(1): 13-17.

국립환경연구원. 내분비계장애물질 측정분석방법, 2002.

천만영, 여현구. 소나무잎과 토양에 침착된 PCDD/Fs 특성, 한국환경농학회지 2005; 24(3): 280-288.

Huckins JN, Tubergen MW, Lebo JA, Gale RW and Sch-

wartz TR. Polymeric Film Dialysis in Organic Solvent Media for Cleanup of Organic Contaminants, J Assoc Off Anal Chem 1990; 73: 290-293.

Ikonomou MG, Fraser TL, Crewe NF, Fischer MB, Rogers IH, Sather PJ and Lamb RF. 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.

Meadows J, Tillitt D, Huckins J and Schroeder D. Large scale Dialysis of Sample Lipids Using a Semipermeable Membrane Device, Chemosphere 1993; 26(11): 1993-2006.

Rantalainen AL, Crewe NF and Ikonomou MG. Comparison of Three Techniques for Lipid Removal from Seal Blubber : Gelpermeation, Acid Treatment, and Dialysis with Semipermeable Membrane, Intern J Environ Anal Chem 1999; 75(1-2): 1-17.

Rantalainen AL. SPMDs in monitoring persistent organic pollutants in the environment. Academic Dissertation for Degree of Doctor of Philosophy, Department of Chemistry, University of Jyväskylä, Finland, 2000.

U.S. Environmental Protection Agency. Method 1613 : Tetra-through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS, 1994.

Wenzel KD, Vrana B and Hubert A Schüürmann G. Dialysis of Persistent Organic Pollutants and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Semipermeable Membranes. A Procedure Using an Accelerated Solvent Extraction Device, Anal Chem 2004; 76: 5503-5509.