

액체크로마토그래피를 이용한 수돗물 중 nitrosamine 화합물 분석의 최적화

한기찬 · 김희갑*

강원대학교 환경과학과

(2010. 7. 21. 접수, 2010. 11. 8. 승인)

Optimization of analytical conditions for the determination of nitrosamines in chlorinated tap water by high performance liquid chromatography

Kichan Han and Hekap Kim*

*Department of Environmental Science, Kangwon National University,
Chuncheon, Kangwon-do 200-701, Korea*

(Received July 21, 2010; Accepted November 8, 2010)

요약: 본 연구는 칼럼 전 유도체화와 HPLC-형광검출을 이용해 염소 소독 음용수 중 7가지 nitrosamine 화합물을 분석하는 방법을 추출 과정(액-액 추출 vs. 고상 추출)과 형광 유도체화 과정(denitrosation 및 dansylation)으로 나누어 평가하여 확립하였다. 최적화된 유도체화 방법으로 두 가지의 추출법을 비교하였을 때, Ambersorb 572를 이용한 고상 추출에 대한 회수율과 재현성(상대표준편차, RSD)이 각각 54.4-88.7%와 1.9-19.4%로 액-액 추출의 51.4-87.7%와 4.2-33.3%에 비해 더 좋게 나타났다. 확립된 방법은 기존의 HPLC를 이용한 분석 방법에 비해 회수율과 재현성 모두 개선되었으며, 방법검출한계(method detection limits, MDLs)는 0.5-4.4 ng/L이었다. 이 방법으로 춘천의 염소로 소독하는 두 곳의 정수장과 10 곳의 수도꼭지에서 채취한 물 시료 중 nitrosamine 화합물을 분석한 결과, *N*-nitrosodimethylamine (NDMA)이 주요 화합물이었으며, 농도 범위는 26.1-112 ng/L이었다.

Abstract: This study was conducted to establish an analytical method for the determination of seven nitrosamines in chlorinated tap water by precolumn derivatization followed by high performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection. The derivatization procedure was optimized for denitrosation and dansylation, and then two extraction methods, liquid-liquid extraction (LLE) with dichloromethane and solid phase extraction (SPE), were compared. The SPE method employing the optimized derivation procedure showed higher extraction recovery (54.4-88.7%) and reproducibility (1.9-19.4%) than the LLE method (51.4-87.7% and 4.2-33.3%, respectively). The method detection limits were between 0.5 and 4.4 ng/L. When chlorinated water samples were collected from two treatment plants and ten household taps, and analyzed for nitrosamines, *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) was the major compound found between 26.1 and 112 ng/L.

Key words: chlorinated tap water, dansylation, HPLC, nitrosamines, solid-phase extraction

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)33-250-8577 Fax : +82-(0)33-251-3991

E-mail : kimh@kangwon.ac.kr

1. 서 론

화학적으로 염소 또는 클로라민으로 소독 처리된 수돗물에서 발견되는 nitrosamine 화합물은 전 세계적으로 환경 및 공중보건상의 새로운 이슈로 떠오르고 있다. 그 이유는 많은 nitrosamine 화합물이 발암물질로 Group B2 (probable human carcinogen)로 분류되어 있기 때문이다.^{1,2} 특히 *N*-nitrosodimethylamine (이하 NDMA)은 1995년에 캐나다에서 Graham 등에 의해 처음으로 보고된 이래,³ chloramination^{4,5}뿐만 아니라 chlorination⁷과정에서도 생성되는 것으로 확인되었다. 따라서 미국 캘리포니아 주에서는 독성에 근거하여 음용수 중 NDMA에 대한 action level을 10 ng/L로 설정하였으며,⁸ 캐나다의 Ontario 주는 quality standard를 9 ng/L로 설정하였다. 미국은 정부 차원에서 아직 기준치를 설정해 놓고 있지는 않지만, 인터넷 독성정보시스템인 IRIS를 통해 10만 분의 일(10^{-5})의 확률로 암이 발생할 농도를 7 ng/L로 평가하였다.²

수돗물 중 nitrosamine 화합물의 분석을 위해 dichloromethane (이하 DCM)을 용매로 사용한 액-액 추출법 (liquid-liquid extraction, 이하 LLE)을 NDMA에 대해 시도한 적이 있다. 그렇지만, 낮은 옥탄올-물 분배계수 ($\log K_{ow}$, -0.57), 즉 낮은 지용성 때문에 세 번의 반복 추출에도 불구하고 $21 \pm 10\%$ 의 낮은 회수율과 재현성을 나타냈다.⁷ 이를 개선하기 위해 pH 11의 조건 하에서 1 L의 물 시료를 100-300 mL의 DCM으로 6-18시간 동안 연속적으로 액-액 추출한 결과 60% 정도의 회수율을 얻기도 하였다.⁹ 그러나 이와 같은 LLE 추출 방법은 긴 추출 시간, 많은 용매의 사용, 낮은 회수율과 재현성 등의 이유로 실제 시료 분석에 적용하는 데에는 한계가 있다. 이에 대한 대체 방법으로 코코넛 charcoal,¹⁰ Ambersorb 572,^{11,12} LiChrolut EN과 Ambersorb 572의 두 가지 흡착제^{13,14} 등을 사용한 고상 추출법 (solid phase extraction, 이하 SPE)이 시도되었다. 특히 Ambersorb 572는 다른 흡착제에 비해 회수율이 높고 높은 회수율과 친수성을 갖고 있기 때문에 물 중 nitrosamine 화합물의 분석에 적합한 것으로 알려져 있어,¹⁵ 이 연구에서도 동일한 흡착제를 사용하여 추출 효율을 개선하고자 하였다.

Nitrosamine 화합물의 분리 및 검출 방법에는 GC를 이용한 방법과 HPLC를 이용한 방법으로 크게 나누어 볼 수 있다. GC 방법은 휘발성이 강한 화합물에는 적용이 가능하나 열에 불안정한 화합물에는 적용할 수 없다는 한계가 있으며, 더욱이 MSD를 검출기로 사용

할 경우에는 높은 검출한계 때문에 수돗물 중에서 ng/L 수준으로 존재하는 nitrosamine 화합물을 분석할 수 없다. 따라서 미국 EPA method 521에서는 GC/CI/MS/MS를 사용하여 음용수 중 NDMA를 포함한 일곱 가지의 nitrosamine 화합물을 분석하는 방법을 제시하고 있지만, 고가의 분석 장비 때문에 범용화하는 데에는 어려움이 있다. 반면에 HPLC는 UV,¹⁶ 형광 (fluorescence)^{12,17} 및 MS/MS¹⁴와 같은 검출방법과 연계하여 nitrosamine 화합물을 분석하는데 응용되어 왔다.

이 중에서도 형광을 내는 유도체를 만든 후에 분석 칼럼으로 시료를 주입하고 형광검출기 (fluorescence detector, 이하 FLD)로 분석하는 방법은 가장 주목을 받아왔으며, 특히 유도체화 방법 중 5-dimethylamino-1-naphthalenesulfonyl chloride (dansyl chloride)를 이용한 방법이 감도와 효율 면에서 좋은 것으로 평가되었다.^{12,17} 이 과정은 nitrosamine 화합물을 이차 amine 화합물로 전환하는 denitrosation 반응과 생성된 이차 amine 화합물을 dansyl chloride와 반응시켜 dansylamine 화합물을 생성하는 반응으로 나누어 볼 수 있다 (Fig. 1). 그렇지만, 이 방법은 비교적 많은 연구자들이 사용하고 있음에도 불구하고, 아직까지 그 분석 과정이 확립되어 있지 않아, 연구자들 간의 실험 조건과 결과에 있어 큰 차이를 보이기가까지 보이고 있다.

따라서 이 연구에서는 수돗물 중 nitrosamine 분석을 위한 최적의 조건을 확립하였다. 먼저 dansylamine 화합물을 만드는 과정의 각 단계에서 반응 변수별로 평가하여 최적화된 형광 유도체화 조건을 확립하였다. 이어서 nitrosamine 화합물의 추출 방법인 LLE와 SPE 각각에 대한 최적 조건을 확립한 후 비교하고 평가하였다. 확립된 방법을 사용하여 춘천시 정수장과 가정집에서부터 채취한 염소 소독 수돗물 중 nitrosamine 화합물의 농도를 측정하였다.

2. 실험 방법 및 재료

2.1. 시약 및 재료

분석에 사용된 7가지의 표준물질인 *N*-nitrosomorpholine (NMOR), *N*-nitrosodimethylamine (NDMA), *N*-nitrosomethylethylamine (NMEA), *N*-nitrosopyrrolidine (NPYR), *N*-nitrosodiethylamine (NDEA), *N*-nitrosopiperidine (NPIP) 및 *N*-nitrosodi-*n*-propylamine (NDPA) 각각은 2,000 µg/mL의 농도의 DCM 용액을 Supelco사 (USA)로부터 구입하였으며, methanol (Burdick & Jackson, USA)로 희석한 후 4 °C에서 보관하였다. HPLC의 이동상

으로는 acetonitrile (Burdick & Jackson, USA)과 비저항 18 M Ω . cm의 초순수(신한사이언텍, 한국)를 사용하였다.

Denitrosation을 위한 시약은 48% hydrobromic acid (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan) 1 mL를 10 mL 용량 플라스크에 넣은 후 glacial acetic acid (Daejung Chemical)로 표선까지 맞추어 제조한 후, 40 mL의 갈색 유리용기에 넣어 4 °C에서 보관하였으며, 2 주 이내에 사용하였다. Nitrosamine 화합물의 형광 유도체화를 위한 시약인 dansyl chloride는 Calbiochem 사(USA)로부터 구입하였으며, 25 mg의 dansyl chloride를 acetone (Burdick & Jackson, USA)에 녹여 50 mL의 용액으로 제조한 후 유도체화 반응에 사용하였다. pH 10.5의 완충용액은 초순수에 0.32 g의 NaOH (Kanto Chemical, Japan)와 2.0 g의 NaHCO₃ (Daejung Chemical, 한국)을 가하여 50 mL가 되도록 제조하였다. *n*-Hexane 및 DCM은 HPLC 등급으로 Burdick & Jackson사(USA)로부터, NaCl은 Daejung Chemical사(한국)로부터 구입하였다.

2.2. 장치 및 기구

Nitrosamine 화합물의 분석을 위해 사용된기구는 자동시료채취기(Model 410 Autosampler, Varian Inc., USA), 펌프(Prostar 210, Varian Inc., USA) 및 형광검출기(Model 470 scanning fluorescence detector, Waters

Corp.)로 구성되었으며, LC Workstation Ver. 6.20 (Varian Inc., USA)을 사용하여 정량하였다. 시료의 주입 부피는 15 μ L이었고, 화합물의 분리에 사용된 칼럼은 Microsorb-MV 100-5 C18 (250 mm \times 4.6 mm, Varian Inc.)이었으며, 이동상으로는 물과 acetonitrile의 혼합용매(45:55, v/v)를 1 mL/min의 유속으로 사용하였다. 형광검출을 위한 excitation 및 emission 파장으로는 기존의 연구 결과를¹² 토대로 각각 340 nm 및 530 nm를 선택하여 사용하였다.

2.3. 유도체화 과정 최적화

표준물질을 유도체화한 후에 nitrosamine 화합물을 분석하여 유도체화의 효율을 평가하였다(Table 1). 유도체화 과정은 크게 denitrosation과 dansylation의 두 과정으로 구분하였다. 각 조건 간에 비교를 위해 2 mL의 유리용기에 DCM 1 mL를 넣고 20 μ L/mL의 표준용액 100 μ L를 가하여 만든 용액으로 실험하였다. A set에서는 다른 조건은 고정시킨 후에 denitrosation 온도를 실온, 40, 50, 60 및 70 °C로 변화시켜 비교하였고, B set에서는 denitrosation용 시약을 건조하는 시간을 20과 80 분으로 변화시켜 평가하였으며, C set에서는 첨가하는 완충용액의 부피를 100, 150, 200, 250 및 300 μ L로 구분하여 비교하였다. 각 세트별로 3회 반복하여 실험하였다.

Nitrosamine 화합물의 유도체화 반응은 Fig. 1에 나

Table 1. Various conditions for optimizing denitrosation and derivatization reactions

Set	Denitrosation		Derivatization		
	Temperature (°C)	Reaction time (min)	Drying time (min)	Volume of buffer solution added (μ L)	Reaction time (min)
A	Room, 40, 50, 60 or 70	30	20	200	40
B	Set from Result A	30	20, 80	200	40
C	Set from Result A	30	Set from Result B	100, 150, 200, 250 or 300	40

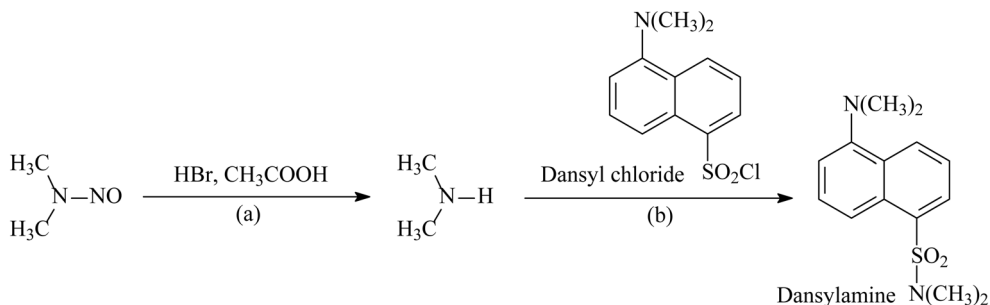


Fig. 1. Denitrosation (a) and dansylation (b) reactions in the NDMA analysis.

타냈다. 표준시료가 들어있는 유리용기에 denitrosation 시약 10 μ L를 가한 후에 용기의 마개를 막고 30 분 동안 상기의 온도 조건에서 정치하였다. 반응 종료 후 유리용기의 마개를 열고 60 °C의 수욕조에서 20 또는 80 분 동안 질소 기류 하에서 시약을 최대한 제거하였다. 용기에 pH 10.5 완충용액을 넣어 준 후 dansyl chloride (0.5 mg/mL) 용액을 150 μ L 가하고, vortex mixer를 사용하여 10 초 동안 섞어준 후 40 °C에서 30분 동안 반응시켰다. 초순수 50 μ L를 가한 후 잘 섞어주고 0.2 μ m의 syringe filter로 여과한 후 HPLC-FLD로 분석하였다.

2.4. 추출 방법 비교

2.4.1. 고상추출법

SPE에는 12-port Visiprep™ SPE vacuum manifold (Supelco, USA)를 사용하였다. 6 mL polypropylene tube (Phenomenex®, USA)에 2.0 g의 Amborsorb® 572 (Sigma-Aldrich)를 충전한 후, 위와 아래에 각각 Teflon frit (Supelco, USA)를 끼워 흡착제를 고정하였다. 다음에 *n*-hexane과 DCM을 각각 15 mL씩 흘려주어 카트리지를 세척하였고, 약 5 분 동안 진공 펌프를 사용하여 잔류 용매를 제거한 후, methanol과 초순수를 각각 15 mL씩 흘려주어 카트리지를 활성화하였다.

초순수 400 mL에 NaHCO₃ 1 g을 가하여 pH를 8.2로 맞춘 후 표준용액을 넣어 주어 nitrosamine 화합물의 농도가 50 ng/L가 되도록 시료를 제조하여 추출 실험에 사용하였다. 이 시료를 1 drop/s (5.5 mL/min)의 속도로 SPE 카트리지를 통과시킨 후, 40분 동안 감압 하에(-35 kPa) 수분을 제거하였다. Nitrosamine 화합물은 DCM과 methanol을 95:5의 비율로 혼합한 용매 30 mL를 약 3 mL/min의 유속으로 흘려주어 용출하였으며, 용출액 중 수분을 제거하기 위해 SPE 카트리지에 직렬로 연결된 Na₂SO₄ 8 g이 충전된 또 다른 카트리지를 통과시켰다. 용출액은 35 °C의 수욕조에서

회전감압농축기(Hahn-Shin Science)로 농축한 후 유리용기에 옮겨 최종 부피를 4 mL가 되도록 하였다.

2.4.2. 액-액 추출법

LLE 과정은 다음과 같았다. 먼저 물 시료의 pH 차이에 따른 추출 효율을 평가하기 위해, 고상 추출법과 동일한 농도(50 ng/L)로 제조한 시료 400 mL를 NaHCO₃의 첨가량을 조절하여 pH 7, 8, 9 및 10의 시료를 만들었다. 각 시료를 1 L의 분액깔때기로 옮긴 후 NaCl 50 g과 추출 용매로 DCM 100 mL를 넣고, 진탕기(SR-2, Taitec, 제조국)를 사용하여 1 시간 동안 흔들여 주었다. 물과 분리된 DCM은 200 mL의 삼각 플라스크에 옮기고, 100 mL의 DCM을 사용하여 추출 과정을 반복하였다. 추출액(200 mL)에 Na₂SO₄ 5 g을 첨가하여 잔류 수분을 제거하고 여과한 후, 회전감압농축기로 농축시키고 최종 부피를 4 mL로 맞추었다.

2.5. 수돗물의 nitrosamine 화합물의 농도 분포

춘천 지역에 위치하고 있고 염소를 사용하여 소독하는 정수장 2 곳(A, B)과 가정집 10 곳(1-10)으로부터 2009년 5월 1일에 물 시료를 채취하였다. 1 L의 polypropylene 용기를 현장에서 물로 3 번 세척한 후 용기 입구까지 물 시료를 가득 채우고, 즉시 Na₂S₂O₃ 0.2 g을 넣어 잔류염소를 제거하였다. 시료 용기는 아이스박스에 넣어 실험실로 운반한 후 분석 전까지 4 °C 이하에서 냉장 보관하였으며, 일주일 이내에 시료를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

기존의 연구에서 사용한 전처리 방법과 이 연구에서의 방법을 Table 2에 정리하여 비교하였으며, 또한 최종적으로 확립한 방법을 나타냈다.

Table 2. Comparison of pre-treatment steps between previous studies and this study

Pre-treatment steps	Previous studies	This study	Optimized conditions
Denitrosation temperature	- Room temp. or 40 °C	- Room temp. or 40 °C	Room temp.
Drying temperature and time	- 60 °C for 20 min followed by 40 °C for 60 min	- 60 °C for 20 min or 60 °C for 80 min	60 °C for 20 min
Volume of buffer solution	-	- 100~300 μ L	150 μ L
Extraction	- Liquid-liquid extraction or Solid phase extraction (DCM)	- Liquid-liquid extraction or Solid phase extraction (DCM-methanol mixture)	Solid phase extraction (DCM-methanol mixture)

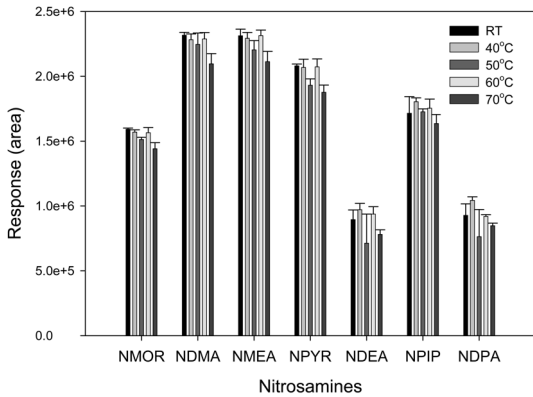


Fig. 2. Effect of reaction temperature on denitrosation efficiency (n = 3).

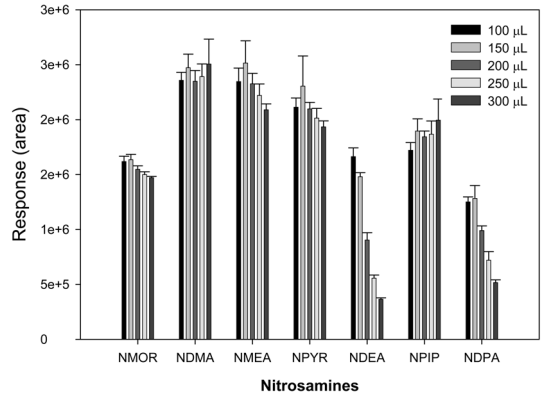


Fig. 4. Effect of buffer solution volume on dansylation efficiency (n = 3).

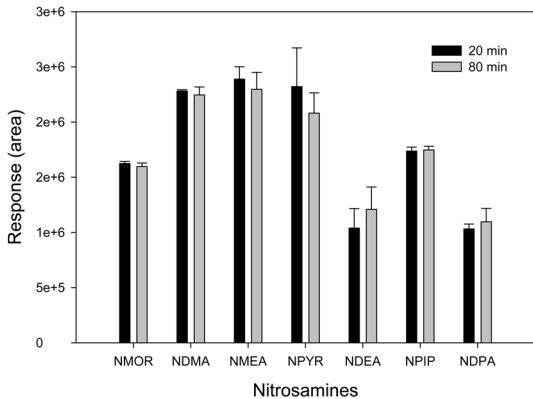


Fig. 3. Effect of drying time on dansylation efficiency (n = 3).

3.1. 유도체화 과정 최적화

3.1.1. Denitrosation 반응 온도

Denitrosation의 최적 반응 온도 조건은 온도별 기기의 반응인 면적을 비교하여 평가하였으며, 그 결과를 Fig. 2에 나타냈다. 모든 물질이 온도에 따라 큰 차이를 나타내지는 않았지만, 상온 또는 40 °C에서 가장 큰 반응을 나타냈다. 실험의 편의성을 고려하여 상온의 조건을 선택하였다. 기존의 연구에서도 상온^{12,18} 또는 40 °C¹⁷를 denitrosation의 조건으로 선택하여 사용하였다.

3.1.2. 건조 시간

Denitrosation 반응 후 60 °C의 수욕조에서 질소 기류로 denitrosation 시약을 제거하여 dansylation의 효율을 극대화하는데 적절한 시간을 비교한 실험 결과를 Fig. 3에 나타냈다. 두 가지의 시간인 20과 80 분 사이에는 거의 차이를 나타내지 않았지만, NMOR, NDMA, NMEA, NPYR 및 NPIP는 20 분 동안 건조

시 80 분 건조에 비해 약간 높거나 동일한 감도를 나타냈고, NDEA와 NDPA는 80 분 동안 건조 시 다소 높은 반응을 나타냈다. 따라서 시간의 효율성과 비용을 고려하여 20분을 최적 시간으로 선택하였다. 한편 Cha 등의 NDMA에 대한 연구에서는¹² 60 °C에서 20 분 동안 건조한 후에 40°C에서 추가로 60 분 동안 건조한 경우에 60 °C에서 20 분 건조할 때보다 약 16%의 감도가 증가하는 결과를 나타낸 반면에, 이 연구에서는 추가로 60 °C에서 20 분 동안 건조해도 별 차이가 없어서 60 °C에서 20 분 동안 건조하는 조건을 선택하였다.

3.1.3. 완충용액의 부피

Denitrosation 과정을 통해 생성된 이차 아민을 dansyl chloride와 반응시켜 형광을 나타내는 dansylamine 유도체를 만들 때 pH 9-12.5 사이에서 거의 같은 감도를 나타내는 것으로 보고되었다.¹² 이 연구에서는 반응 시 첨가하는 pH 10.5의 완충용액의 부피를 다르게 하여 감도를 비교하였다. NDEA는 완충용액의 부피가 증가할수록, 그리고 NDPA는 150 µL에서 감도가 증가하였다가 부피가 증가할수록 점차 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4). 반면에 NDMA와 NPIP는 300 µL에서, 그리고 NMOR, NMEA 및 NPYR은 150 µL에서 가장 높은 감도를 나타냈으나, 큰 차이를 나타내지는 않았다. 따라서 감도와 최종 분석시료의 부피를 감안하여 완충용액의 최적 부피로 150 µL를 선택하였다.

3.2. 추출 방법 비교

3.2.1. pH에 따른 LLE의 효율 비교

NMOR과 NDPA 두 가지 화합물에 대한 추출 효율

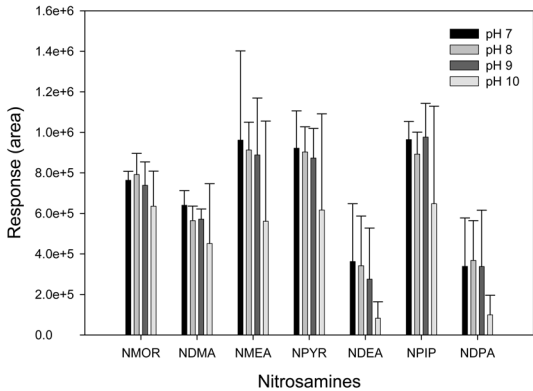


Fig. 5. pH dependence of liquid-liquid extraction efficiency (n = 3).

은 pH 8에서 가장 높은 반면에, NDMA, NMEA, NPYR 및 NDEA는 pH 7에서 추출 효율이 가장 높은 것으로 나타났다(Fig. 5). 따라서 pH에 따른 LLE의 효율을 비교하여 최적의 조건은 pH 7-8로 판단하였다.

3.2.2. SPE와 LLE 비교

두 가지의 추출 방법에 따른 NDMA의 검량선을 비교하였다. 20-250 ng/L의 농도 범위에서 다섯 수준별로 제조한 표준용액을 초순수에 가한(spike) 후에 수돗물 시료에 대한 전처리 방법과 동일한 과정으로 추출하고 유도체화하여 분석한 후 검량선을 작성하였다. SPE에 의한 검량선의 결정계수(r^2)는 $0.9942 (y = 1256.6x + 178.43)$ 로 LLE에 의한 검량선에 대한 $0.9637 (y = 978.2x + 7086.8)$ 보다 더 높았다.

최적화된 SPE와 LLE 방법에 대한 회수율과 재현성(relative standard deviation, RSD)을 Table 3에 정리하였다. 일곱 가지 화합물의 수용액 농도 수준을 50 ng/L로 설정하여 각각 세 개씩의 반복 시료를 분석한 결과, 회수율의 범위는 SPE의 경우에 평균 54-89%인 반면에 LLE의 경우에는 48-87%이었다. NMEA와 NDEA를 제외하고는 SPE 방법이 더 높은 평균 회수율을 나타냈다. SPE의 경우 NDEA와 NDPA에 대한 RSD가 각각 19.1 및 18.1%로 비교적 높은 것을 제외하고는 나머지 화합물들에 대한 RSD는 6.5% 이하로

비교적 좋은 재현성을 나타냈다. 반면에 LLE의 경우에는 NMEA와 NPYR에 대한 RSD가 모두 33% 수준으로 낮은 재현성을 나타냈다. 특히 수돗물에서의 주요 nitrosamine 화합물인 NDMA에 대해 SPE가 LLE에 비해 회수율 및 재현성이 더 좋은 것으로 평가되어, 수돗물 분석에 SPE 방법이 더 적합한 것으로 판단되었다. 또한 각 시료 당 추출 시간과 사용 용매의 총 부피를 고려할 때, SPE가 각각 140분과 75 mL로 LLE의 200분 및 200 mL에 비해 더 나은 방법임을 알 수 있었다.

이번 연구에서 NDMA (50 ng/L)의 고상 추출법의 회수율과 재현성은 각각 72.7%와 5.8%로 200 ng/L에 대한 Cha 등¹²의 60.9%와 8.6%보다 더 좋은 결과를 나타냈다. 이는 흡착제 양을 1.5 g에서 2.0 g으로 늘리고, 추출 용매로 DCM 대신에 DCM과 methanol의 혼합물(95:5)을 사용하고 용매의 부피를 이전 연구에서 사용한 15 mL보다 두 배 많은 30 mL로 하였기 때문인 것으로 생각된다.

3.3. 수돗물 중 nitrosamine 화합물 분석 방법

이 연구에서 얻은 결과를 바탕으로 확립된 수돗물 중 nitrosamine 화합물의 전처리 방법은 다음과 같다. 채취한 물 시료 400 mL에 $Na_2S_2O_3$ 0.2 g을 넣어 잔류염소를 제거하고 $NaHCO_3$ 을 가하여 pH를 약 8.2로 맞추었다. 6 mL의 PP tube에 2 g의 Ambersorb® 572을 충전한 후, n-hexane과 DCM을 각각 15 mL씩 흘려주어 흡착제를 세척하였다. 약 5분 동안에 걸쳐 진공 펌프를 사용하여 흡착제 중 잔류 용매를 제거한 후, methanol과 초순수를 각각 15 mL씩 흘려주어 카트리지를 활성화 하였다. 물 시료를 1 drop/sec (5.5 mL/min)의 속도로 카트리지를 통과시킨 후, 약 40분 동안 감압 하에 수분을 제거 하였다. 여기에 DCM과 methanol의 혼합용매(95:5) 30 mL를 3분 정도에 걸쳐 흘려주어 분석물질들을 용출하고, 용출액은 직렬로 연결한 Na_2SO_4 8 g이 충전된 또 다른 tube를 통과시켜 수분을 제거 하였다. 건조된 용출액은 35 °C의 수욕조에서 회전감압농축기로 농축한 후에 원심분리관으로 옮겨 4 mL의 부피가 되게 한 후 질소 기류로 1 mL까지 재농축 하였다. 여기에 denitrosation 시약 10

Table 3. Comparison of average percent recovery rates (%) and relative standard deviations (%) between SPE and LLE methods (n = 3)

Extraction method	NMOR	NDMA	NMEA	NPYR	NDEA	NPIP	NDPA
SPE	88.7 (5.9)	72.7 (5.8)	75.6 (1.9)	83.4 (2.6)	54.4 (19.4)	70.1 (6.4)	67.9 (18.3)
LLE	47.8 (3.9)	54.7 (7.9)	79.7 (33.1)	60.7 (33.3)	87.7 (5.1)	58.4 (4.2)	51.4 (7.4)

Table 4. Estimated method detection limits (MDL) and method quantitation limits (MQL) for the analysis of nitrosamines in chlorinated water using the solid-phase extraction method

	Nitrosamines (ng/L)						
	NMOR	NDMA	NMEA	NPYR	NDEA	NPIP	NDPA
MDL	0.5	1.4	1.3	2.6	3.1	1.4	4.4
MQL	1.7	4.7	4.3	8.7	10.3	4.7	14.7

μL 를 가한 후 용기의 마개를 닫고 상온에서 30 분 동안 정치한다. 마개를 열고 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 20분 동안 질소 기류로 잔류 용매 및 산을 제거 하였다. 여기에 pH

10.5 완충용액 $150\text{ }\mu\text{L}$ 와 0.5 mg/mL 의 dansyl chloride 용액 $150\text{ }\mu\text{L}$ 를 가한 후 vortex mixer를 이용하여 10 초 동안 흔들어주고, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 에서 30 분 동안 유도체화 반응을 실시하였다. 반응이 끝난 후 syringe filter ($0.2\text{ }\mu\text{m}$ PVDF, Whatman, USA)로 여과한 후 $15\text{ }\mu\text{L}$ 를 주입하여 HPLC/FLD로 분석하였다.

이 방법으로 수돗물 중 nitrosamine 화합물을 분석한 방법검출한계(method detection limit, MDL)와 방법정량한계(method quantitation limit, MQL)를 추정하였으며, 화합물별로 Table 4에 나타났다. MDL은 S/N비 3에 해당되는 농도로 추정하였으며, $0.51\text{-}4.4\text{ ng/L}$ 로

Table 5. Summary of the concentrations (ng/L) of some nitrosamines found in water samples collected from two water treatment plants and ten tap faucets

Descriptive statistics	Water treatment plant (n=2)				Tap water (n = 10)			
	NMOR	NDMA	NDEA	Total	NMOR	NDMA	NDEA	Total
Range	14.5*	48.8-72.6	<3.1	64.8-88.6	<0.5-16.7	26.1-112	<0.5-26.0	29.2-154
Median	14.5	60.7	<3.1	76.7	<0.5	44.7	<0.5	46.4
Average \pm sd	14.5 ± 0.0	60.7 ± 16.9	<3.1	76.7 ± 16.9	3.76 ± 5.94	52.9 ± 28.8	5.17 ± 7.80	61.8 ± 40.8

*Two measured concentrations were identical.

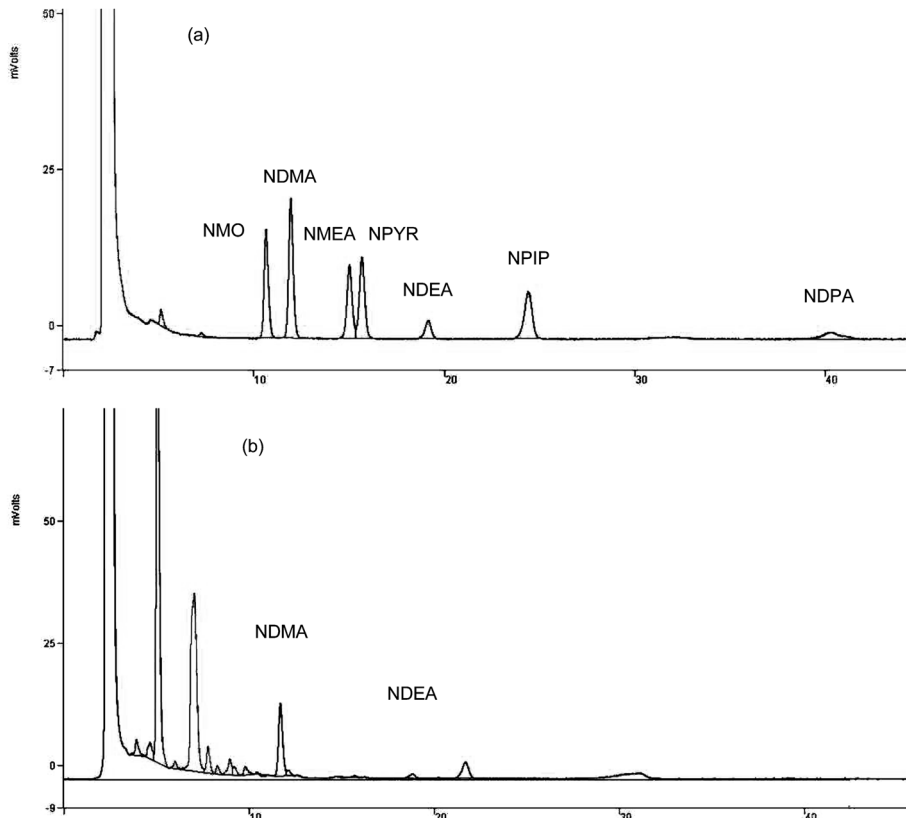


Fig. 6. HPLC chromatograms of seven nitrosamines in a standard solution (a) and a water sample (b).

화합물별로 다소 차이가 있었다. 한편 MQL은 MDL의 3배에 해당되는 값으로 추정하였으며, 그 범위는 1.5-13 ng/L이었다. NDMA에 대한 MDL은 1.4 ng/L로 기존의 유사한 방법으로 분석하여 얻은 10 ng/L¹²보다 개선된 결과를 가져왔으며, 시료의 양을 증가시킨다면 더 낮은 MDL에 도달하는 것이 가능하다.

3.4. 수돗물 중 nitrosamine 화합물의 농도

춘천시 2 곳의 정수장과 10 곳의 가정집에서 채취한 염소 처리 음용수 중 nitrosamine의 농도를 분석한 결과를 Table 5에 나타냈으며, 표준물질과 수돗물 시료에 대한 크로마토그램은 Fig. 6에 나타났다. 7 가지 물질 중에서 NMOR, NDMA 및 NDEA의 3 가지 화합물이 최소 한 개 이상의 시료에서 검출되었으며 NDMA가 주요 화합물이었다. 두 개의 정수장 물 시료 중에서 NDEA는 모두 MDL (3.0 ng/L) 이하였다. 수돗물 중 NMOR은 10 개의 시료 중 4 개의 시료에서, 그리고 NDEA는 3 개의 시료에서 각각 MDL 이상의 농도를 나타냈다. 반면에 NDMA는 모든 시료에서 검출되었으며, 그 농도의 범위는 26.1-112 ng/L이었다.

캐나다의 Albert 주에서 실시된 연구에서는¹⁹ chlorination으로 소독 처리한 8 개의 수돗물 시료 중 단 한 개의 시료에서만 NDMA의 농도가 검출한계(5 ng/L) 이상인 12 ng/L이었다. 반면에 chloramination에 의한 소독 처리 수돗물 시료에서는 11 개 중에서 5 개의 시료에서 NDMA의 농도가 최고 100 ng/L까지 보고되었다. 또한 Zhao 등의 연구에서는 chloramination으로 소독하는 정수장으로부터 송수관의 거리가 증가할수록 NDMA를 비롯한 nitrosamine 화합물의 농도가 증가하는 경향을 나타냈으며, NDMA의 최고 농도는 약 110 ng/L에 이르렀다.¹⁴

이와 같은 기존의 연구 결과로 미루어 볼 때 춘천시의 수돗물은 chlorination 방법으로 소독하기 때문에 nitrosamine 화합물의 농도는 낮을 것으로 예상하였지만, 그와 반대로 매우 높은 농도를 나타내었다. 여기에서 얻은 NDMA의 농도는 외국의 기준인 7-10 ng/L보다 최소 2.5배에서부터 최대 10배 이상 높았다. 따라서 향후 NDMA의 전국적인 농도 분포를 조사하고, 그 발생 원인을 파악하여 노출을 저감하기 위한 대책을 마련해야 할 것으로 보인다.

4. 결 론

이 연구에서 수돗물 중 nitrosamine 화합물을 HPLC-

FLD로 분석하기 위해, 형광 유도체화 반응의 최적 조건을 확립하고 추출법을 개선하여 아래와 같이 결론을 얻었다.

Denitrosation 반응의 온도는 상온, 용매 및 산 건조 시간은 20 분, 그리고 첨가하는 완충 용액의 양은 150 μ L이었으며, 선택의 기준은 좋은 감도 또는 분석의 효율성이었다. 추출 방법으로 SPE 방법이 LLE보다 회수율, 재현성, 추출 시간 및 용매 사용량에서 더 적절함을 알 수 있었다. 확립한 방법을 가지고 수돗물 시료에 적용하였을 때 NDMA의 회수율은 72.7%였으며, 추정된 방법검출한계는 1.4 ng/L이었다. 이 값은 현재 외국에서 적용하고 있는 기준치인 7-10 ng/L보다 낮아 수돗물 중 NDMA의 분석에 적용할 수 있음을 알 수 있다.

더불어 국내에서는 최초로 수돗물 중 nitrosamine 화합물에 대한 분석 결과, NDMA의 농도가 외국의 기준치를 크게 상회하고 있다. 그러므로 앞으로 이에 대한 추가적인 연구와 더불어, NDMA와 같은 극미량으로 존재하면서 인체에 미치는 영향이 큰 화합물들에 의한 건강 영향을 평가하고 노출을 저감하기 위한 방안을 수립하는 것이 절실히 요구된다.

참고문헌

1. International Agency for Research on Cancer (IARC). "IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Some N-nitroso compounds", 1978.
2. US EPA, *Integrated Risk Information System*, Office of Research and Development (ORP), National Center for Environmental Assessment, <http://www.epa.gov/iris>.
3. J. E. Graham, S. A. Andrews, G. J. Farquhar and O. Meresz, Water quality technology conference, AWWA, New Orleans, LA, pp. 757-772(1995).
4. I. Najm and R. R. Trussell, *J. Am. Water Works Assoc.* **93**, 92-99(2001).
5. J. Choi and R. L. Valentine, *Water Res.* **36**, 817-824(2002).
6. A. C. Gerecke and D. L. Sedlak, *Environ. Sci. Technol.* **37**, 1331-1336(2003).
7. W. A. Mitch and D. L. Sedlak, *Environ. Sci. Technol.* **36**, 588-595(2002).
8. California Department of Health and Services, "NDMA in California Drinking Water", <http://www/dhs.ca.gov/ddwem.chemiclas/NDMA/history.htm>.

9. W. Mitch, J. Sharp, R. Trussell, R. Valentine, L. Alvarez-Cohen and D. Sedlak, *Environ. Eng. Sci.*, **20**, 389-404 (2003).
10. US EPA, "Determination of nitrosamines in drinking water by solid phase extraction and capillary column gas chromatography with large volume injection and chemical ionization tandem mass spectrometry (MS/MS)", U.S. EPA Method 521, 2004.
11. S. W. D. Jenkins, C. J. Koester, V. Y. Taguchi, D. T. Wang, J.-P. F. P. Palmentier and K. P. Hong, *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2**, 207-210(1995).
12. W. S. Cha, P. Fox and B. Nalinakumari, *Analytica Chimica Acta.*, **566**, 109-116(2006).
13. J. W. A. Charrois, M. W. Arend, K. L. Froese and S. E. Hrudey, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 4835-4841(2004).
14. Y.-Y. Zhao, J. Boyd, S. E. Hrudey and X.-F. Li, *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 7636-7641(2006).
15. R. C. Cheng, C. Andrews-Tate, C. J. Hwang, Y. Guo, J. E. Gredel and I. H. Suffet, Water Quality Technology Conference Proceedings, American Water Works Association, Denver, CO., 2004.
16. S. S. Hecht, R. M. Ornaf and D. Hoffmann, *Anal. Chem.* **47**, 2046-2048(1975).
17. Z. Wang, H. Xu and C. Fu, *J. Chromatogr.*, **589**, 349-352(1992).
18. N. V. Komarova and A. A. Velikanov, *Anal. Chem.*, **56**(4), 359-363(2001).
19. J. W. A. Charrois, J. M. Boyd, K. L. Froese and S. E. Hrudey, *J. Environ. Eng. Sci.*, **6**, 103-114(2007).