

고체상 미량 추출법(solid phase microextraction, SPME)에 의한 토양중의 다환 방향족 탄화수소(PAHs)의 분석

유광식 · 정지영 · 정선이
화학 및 생명과학부

<요 약>

고체상 미량 추출법(solid phase microextraction)과 GC/FID를 이용하여 토양에 포함된 몇 가지 PAHs를 정량분석 하였다. 16종의 PAHs(33.22ppb)가 포함된 수용성 혼합용액에서 100 μ m PDMS fiber로 추출한 PAHs를 GC/FID로 분석한 결과, 추출시간에 따른 추출효율은 50분일때에 가장 우수하였으며, 이러한 조건에서 검정곡선을 작성했을 때 3.33ppb~66.23ppb 범위에서 좋은 직선성을 보였다. 이 검정곡선을 이용하여 임의 토양시료에 함유된 PAHs 성분들의 함량을 분석해 보았다. Phenanthrene, fluoranthene 및 pyrene은 각각 74.31ng/g, 60.68ng/g 및 47.92ng/g 등의 농도로 함유되어 있었고, benzo(a)anthracene, chrysene 및 benzo(b)fluoranthene등은 흔적량만이 검출되었다.

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in some soil by solid phase microextraction(SPME)

K. S. Yoo · J. Y. Jyoung · S. Y. Jeong
School of Chemistry and Biological Sciences

<Abstract>

The determination of some PAHs in soil samples were tried by solid phase

microextraction(SPME) followed by GC/FID.

The extraction efficiency by PDMS(100 μ m) fiber was given the best result at 50min extraction from the aqueous solution containing 16 PAHs(33.22ppb). The calibration graphs were linear at the range of 3.33ppb and 66.23ppb. The concentration of phenanthrene, fluoranthene and pyrene in certain soil samples were determined as 74.31ng/g, 60.68ng/g and 47.92ng/g, respectively by using the calibration graphs. Benzo(a)anthracene, chrysene and benzo(b)fluoranthene were found only at trace level.

1. 서론

산업과 공업이 발달함에 따라 주변 환경 중에 다양한 유기화합물들이 배출되고 있으며, 이들 화합물 중 다환 방향족 탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 인체위해성이 큰 물질로 알려져 있다⁽¹⁾. PAHs는 두 개 이상의 방향족 고리를 포함하고 있는 유기화합물로서 극성이 없고, 지방에 용해되는 성질을 가진 물질로서 피부, 폐, 또는 소화관을 통해 흡수될 수 있는 환경공해 물질이다⁽²⁾. 이탄, 갈탄, 석탄, 석유에서 자연발생적으로 생성되기도 하고, 산업공정이나 각종의 인간활동 중 유기화합물의 불완전 연소로 인해 다량 배출되기도 한다. 이렇게 발생된 PAH는 대기, 토양, 지표수, 지하수, 퇴적물, 식물, 동물이나 동물의 배설물 중에 분포되어 있는 것으로 알려져 있다⁽³⁾. PAH 화합물 중에서 많은 것이 동물 임상실험을 통해 미량으로도 암을 유발시킬 수 있는 발암성이거나 돌연변이성이 있는 물질이라는 것이 보고되어 있다⁽⁴⁾.

환경시료 중의 PAHs 분석방법으로는 액체 또는 기체 크로마토그래피법이 주로 사용되는데 액체 크로마토그래피의 검출기로는 UV 또는 형광광도법이 주로 많이 사용된다⁽⁵⁾. 기체 크로마토그래피(gas chromatography, GC)는 분리도가 좋기 때문에 환경시료 중의 PAHs를 검출하는데 유용한 분석방법이 될 수 있다.

일반적으로 불꽃 이온화 검출기(flame ionization detector, FID)를 사용하며, 기체크로마토그래피-질량분석법(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)을 이용하면 미량 수준까지 분석이 가능하다⁽⁶⁾.

환경 시료 중에 미량으로 존재하는 PAHs를 분석하기 위해서는 시료의 전처리 과정이 필요하다. 대부분의 경우에 다량의 유기용매를 사용하고, 추출 및 처리시간이 긴 soxhlet법이나 유기용매 초음파 추출법을 이용하여 추출한 후에 농축하는 복잡한 과정을 거치게 된다⁽⁷⁾. 이러한 단점을 보완할 수 있는 시료의 전처리 방법으로 유기용매를 필요로 하지 않고, 휘발성이거나 비휘발성 유기화합물을 효과적으로 추출할 수 있는 고체상 미량 추출법(solid phase microextraction, SPME)이 1989년 Pawliszyn등에 의해 소개되었다⁽⁸⁾.

SPME법은 고분자 물질로 coating되어 있는 용융 실리카 fiber에 시료 중의 분석물들을 부착시켜 추출과 농축을 동시에 수행하는 시료 전처리 기법이다⁽⁹⁾. SPME법은 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 2단계로 구성되어 있다. 첫 번째 단계는 시료와 fiber사이에서 분석물들이 분배되는 과정이고, 두 번째 단계는 fiber에 농축된 분석물들이 분석기기(GC나 HPLC)에서 탈착되는 과정이다. 분석물들을 추출하기 위해 수용액 시료를 담은 vial을 마개로 밀봉한 다음에 SPME syringe로 격막을 통해 fiber를 직접 시료에 담그거나 혹은 시료 상층부

(headspace)에 노출되도록 설치한다. 일정한 추출 시간동안에 분석물들을 fiber에 부착시키고 fiber를 원래 위치로 되돌아오도록 조절한 후에 vial에서 syringe를 제거한 다음에 분석기기에 주입한다. 다시 분석기기의 주입구내에 fiber를 노출시켜 일정한 시간동안 분석물들을 열로서 탈착시킨다.

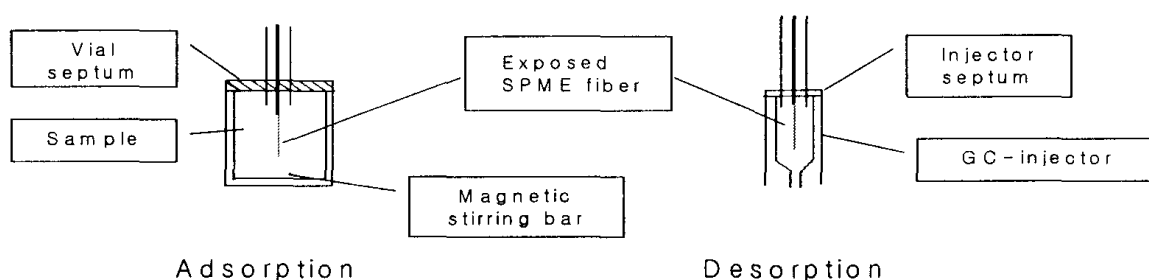


Figure 1. Operation of the SPME

SPME 기법은 추출하는 방식에 따라 직접 액체 시료 채취법(direct-immersion)과 시료 상층부 시료 채취법(headspace)으로 나뉘어 진다. 직접 채취법은 물이나 기체 시료에 포함되어 있는 polychlorinated biphenyls (PCBs)⁽¹⁰⁾, 유기 염소계 농약⁽¹¹⁾ 그리고 PAHs⁽¹²⁾ 등과 같은 휘발성 유기화합물을 추출하는 방법이고, 시료 상층부 시료 채취법은 물이나 토양 시료에 포함되어 있는 PAHs⁽¹³⁾, 유기인 농약⁽¹⁴⁾ 등을 추출할 때에 이용된다.

기체상 시료나 비교적 매트릭스가 깨끗한 물시료에서는 직접 액체시료에 fiber를 담가서 분석물을 추출할 수 있다. 고형물이나 토양시료의 경우에는 직접 fiber를 담가서 추출할 수 없기 때문에 시료 위의 공간에서 휘발성 분석물들을 추출할 필요성이 있게 된다. 가열하거나 물 또는 계면활성제를 첨가하면 시료로부터 기체상으로 분석물질들을 효과적으로 이동시킬 수도 있다⁽¹⁵⁾.

토양시료의 또 다른 SPME법은 소량의 고체 시료를 물에 분산시킨 다음에 물층에 SPME fiber를 담가서 분석물을 추출하는 방법이다. 분석물이 시료 매트릭스에 강하게 결합되어 있지 않은 경우에는 이 방법이 효과적이다.

본 실험에서는 SPME 장치를 이용하여 시료중의 PAHs 분석을 시도하였으며, SPME fiber는 PAHs 분석에 알맞은 100 μ m polydimethyl siloxane(PDMS)(red band)이 도포되어 있는 fiber를 이용하였다. 먼저 가장 효율적인 추출시간을 조사하고, 이 조건에서 검정곡선을 작성하여 US-EPA에서 규제하고 있는 16종의 PAHs 성분 중 10가지 성분을 확인하고, 이를 이용하여 토양 시료중의 PAHs 함량을 측정하려한다.

2. 실험

2.1 시약 및 기구

시료의 정량분석을 위하여 사용한 PAHs 표준용액은 US-EPA에서 규정한 16종 성분이 acetonitrile에 10 μ g/ml 농도로 함유되어 있는 Supelco(USA)사의 10ppm 혼합 표준용액이었다.

SPME holder (manual)와 100 μm polydimethylsiloxane(PDMS)으로 coating되어 있는 fiber는 Supelco(USA)사로부터 구입하였으며, fiber는 사용하기 전에 기체 크로마토그래피의 시료주입구에 주입후 250 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분동안 가열하여 정제하였다.

시료의 추출효율을 향상시키기 위해서 Branson(USA)사의 Bransonic ultrasonic cleaner를 사용하였다.

2.2 기기

본 연구에서 사용한 기체크로마토그래피는 Hewlett Packard사의 HP6890으로서 split & splitless 모세관 주입기와 불꽃 이온화 검출기(flame ionization detector, FID)가 장착되어 있다. 컬럼은 PAHs 전용 분석 컬럼인 CP5860, WCOT fused silica capillary column(30m x 0.25mm I.D. x 0.25 μm film thickness)을 사용하였으며, 운반기체인 헬륨을 1ml/min의 속도로 흘려주었다. 오븐 온도는 150 $^{\circ}\text{C}$ 에서 4분간 머물게 하고 270 $^{\circ}\text{C}$ 까지 분당 20 $^{\circ}\text{C}$ 씩 올린 후에 6분간 머무르게 하고 285 $^{\circ}\text{C}$ 까지 분당 15 $^{\circ}\text{C}$ 의 속도로 가열하고 13분동안 머물게 하였다.

시료 주입 방법은 분할 주입법을 사용하였으며, 분할비는 29 : 1이었다. 주입구 온도는 270 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지 되었으며, 검출기 온도는 350 $^{\circ}\text{C}$ 를 유지시켰다.

2.3 실험방법

2.3.1 추출시간 결정

최적 추출시간을 결정하기 위하여 증류수 3ml를 흡피펫을 이용하여 정확히 취한 다음에 5ml vial에 넣고, 10ppm의 PAH 표준혼합용액 10 μl 를 가하여 농도가 33.22ppb가 되도록 하였다. Vial을 초음파 세척기에 넣어 고정시키고, 시료 용액에 fiber가 잠기도록 설치한 다음에 초음파를 발생시켜 추출하였다. 이때 추출시간은 20분에서 90분까지 10분 간격으로 증가시켰다. 추출이 끝난 후에 fiber 끝 부분의 물기를 외부에서 건조하여 제거하고 270 $^{\circ}\text{C}$ 인 GC injection port에서 1분간 탈착시킨 후에 FID로 검출하여 크로마토그램을 얻었다. SPME의 작동과정을 Fig.2에 나타내었다.

2.3.2 검정곡선 작성

3ml의 증류수에 10ppm PAH 표준혼합용액을 1 μl 에서 20 μl 까지 가하여 최종 농도가 3.33ppb에서 66.23ppb가 되도록 하였다. 각각의 용액을 50분간 추출한 후에 GC/FID로 크로마토그램을 그리고, 농도에 대한 PAHs 성분 봉우리들의 적분 면적을 plot하여 검정곡선을 작성하였다.

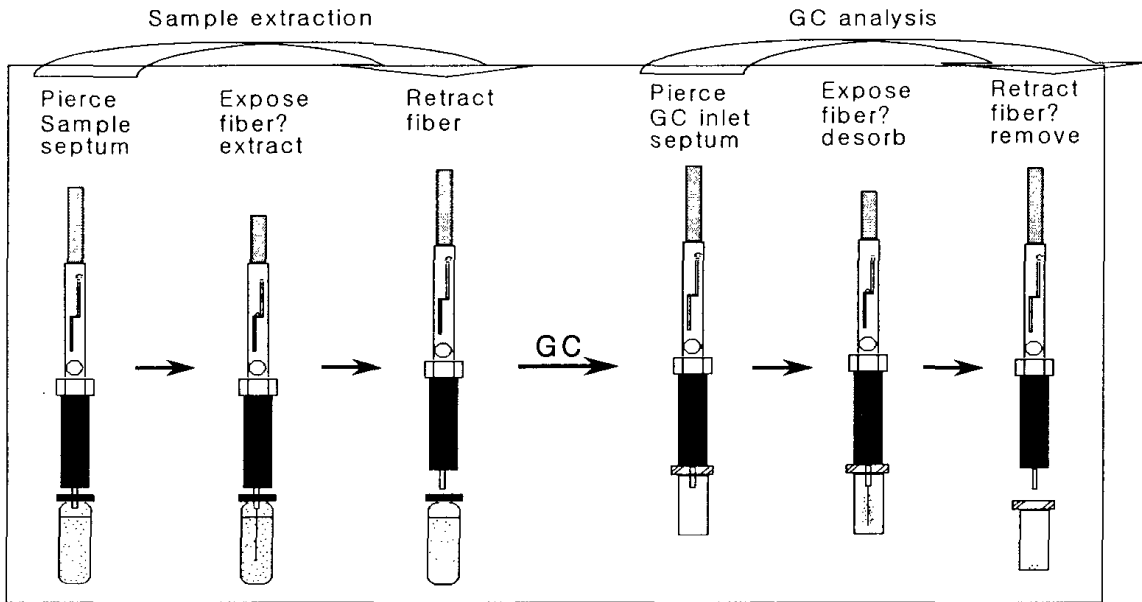


Figure 2. Solid phase microextraction process

2.3.3 토양시료 분석

상온에서 보관된 8mesh 이하의 토양시료는 토양오염공정시험방법 제2항 시료의 조제방법에서 제시한 시료의 채취방법에 따라 균일하게 혼합한 후에 원추 4분법으로 균질화하였다. 균질화 된 토양시료 약 100g을 취하여 soxhlet 추출장치에 넣고, 추출용매인 n-hexane 220ml를 500ml 둥근바닥 플라스크에 넣어 soxhlet에 고정시킨 후 콘덴서를 연결하고 가열하면서 증기를 냉각시켰다. 추출 용액은 evaporator로 1.0ml로 농축한 다음에 vial에 보관하였다.

증류수 3.0ml를 분취하여 5ml vial에 담고, 여기에 soxhlet법으로 추출한 토양 추출용액 10 μ l를 50 μ l syringe를 사용하여 첨가시켰다. 초음파를 발생시키면서 SPME fiber를 이용하여 50분간 추출한 후에 이것을 GC/FID를 사용하여 PAHs를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

16종의 PAHs가 포함된 33.22ppb 수용성 혼합용액에서 100 μ m PDMS fiber를 이용하여 20분에서 90분까지 추출시간을 변화시켜가면서 이들 성분들을 추출한 다음에 GC에 주입하고 270 $^{\circ}$ C의 injection port에서 1분간 탈착 시킨 후에 FID로 검출하여 chromatogram을 얻었다. 33.22ppb 표준혼합용액에서 50분간 추출하여 얻은 chromatogram은 Fig.3과 같았으며, 각 성분의 머무름 시간은 Table 1에 나타낸 바와 같다. 추출시간에 따른 추출효율은 Fig.4에서 보는바와 같이 성분마다 다른 경향을 보였지만 50분일때에 추출효율이 가장 우수했다.

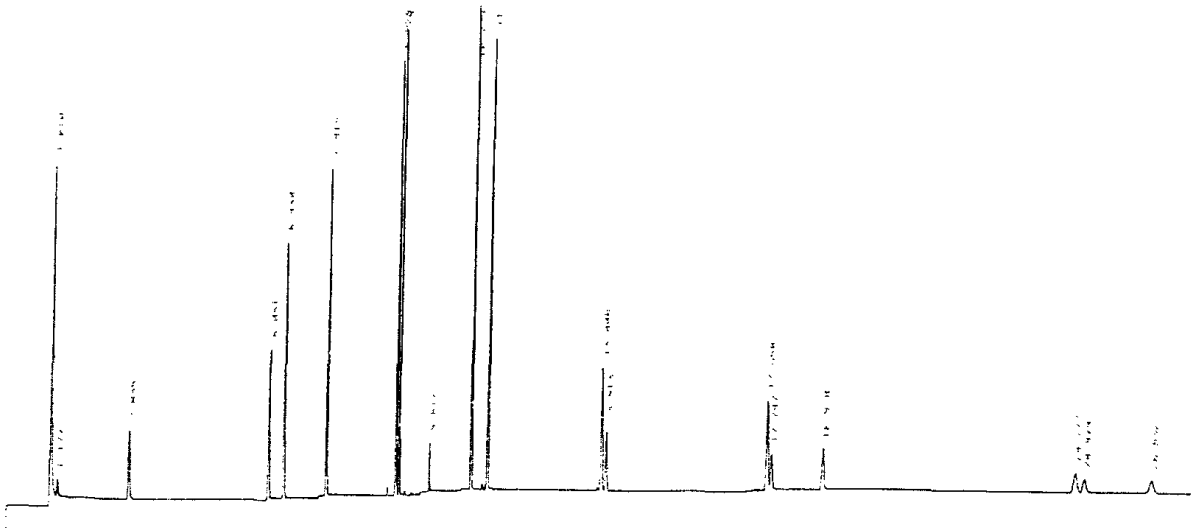
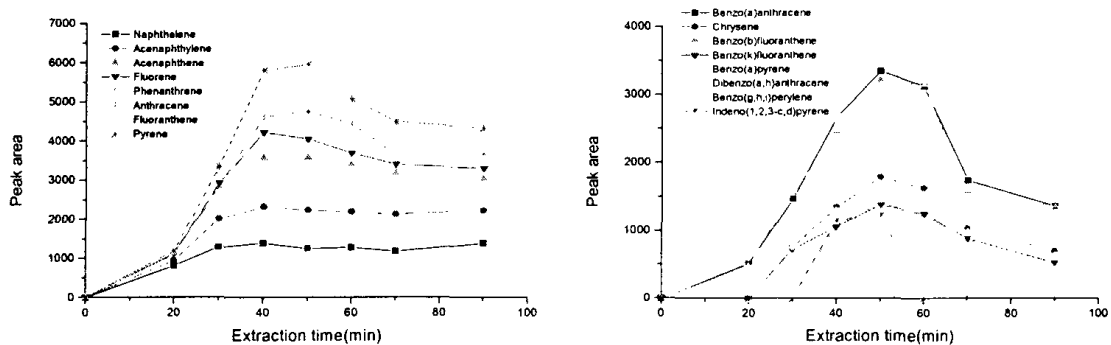


Figure 3. Chromatogram of 16 PAHs standard by GC/FID

Table 1. PAHs 각 성분의 머무름 시간

Retention time/min	Components	Retention time/min	Components
2.835	Naphthalene	13.800	Benz(a)anthracene
6.081	Acenaphthylene	13.913	Chrysene
6.430	Acenaphthene	17.650	Benzo(b)fluoranthene
7.415	Fluorene	17.747	Benzo(k)fluoranthene
9.024	Phenanthrene	18.928	Benzo(a)pyrene
9.102	Anthracene	24.772	Dibenz(a,h)anthracene
10.779	Fluoranthene	24.929	Benzo(g,h,i)perylene
11.157	Pyrene	26.532	Inndeno(1,2,3-c,d)pyrene

Figure 4. The SPME absorption efficiency for 16 PAHs on a PDMS (100 μ m) fiber.

3.33ppb에서 66.23ppb까지 농도를 변화시켜가면서 50분동안 추출한 후에 GC/FID로 크

로마토그램을 구해서 농도에 따른 각 성분들의 적분 면적을 plot하여 검정곡선을 작성하였다. 그 결과를 Fig.5와 Table 2에 나타내었다. Fig.5에서 보는바와 같이 fiber에 흡착된 분석물의 양과 용액의 농도는 비례하는 관계를 보였다. Naphthalene은 직선상관계수가 0.98836이었고, acenaphthylene, anthracene, pyrene 등 7가지 성분은 직선상관계수가 0.99 이상으로 좋은 직선관계를 보였다. Benzo(a)anthracene은 직선상관계수가 0.96686으로서 좋은 직선관계를 보이지 않았지만 benzo(a)anthracene이 환경시료에 어느 정도의 농도로 포함되어 있는지를 확인하는 데에는 유용할 것으로 사료된다.

SPME fiber를 이용한 이들 PAHs 성분들의 분석은 비교적 단 시간내에 만족할 수 있는 결과를 얻었다. 따라서 앞서 작성한 검정곡선을 이용하여 토양 시료에 함유된 PAHs 성분들의 함량을 측정하였다. 토양 시료에 함유된 PAH 성분은 주로 고리가 3개에서 4개인 화합물로 phenanthrene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene 및 benzo(b)fluoranthene 이 검출되었다. 특히 phenanthrene, fluoranthene, pyrene은 감도가 우수한 편이었는데, 이는 100 μ m PDMS fiber를 이용할 때에 이들 성분들의 추출효율이 우수하기 때문인 것으로 사료된다. 검출된 성분들의 농도는 phenanthrene, fluoranthene, pyrene이 각각 74.31ng/g, 60.68ng/g, 47.92ng/g이었으며, benzo(a)anthracene, chrysene 및 benzo(b)fluoranthene은 흔적량 검출되었다.

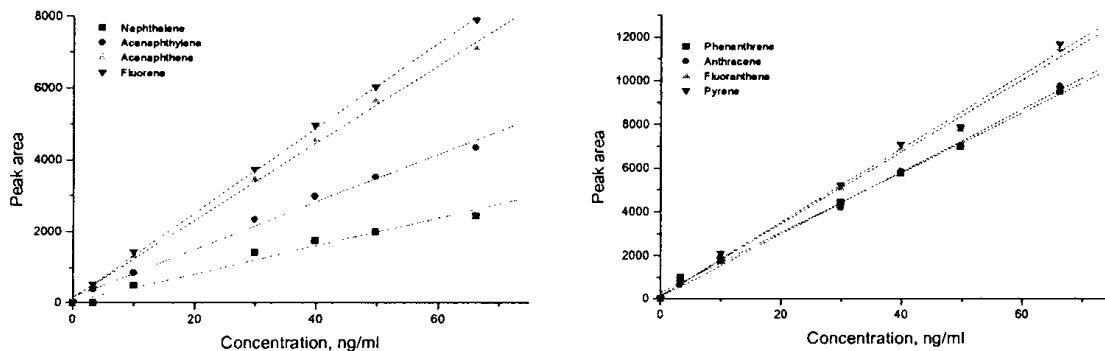


Figure 5. Calibration graphs of 16 PAHs by GC/FID

Table 2. GC/FID에 의한 PAHs 일차직선방정식 및 상관계수

Compounds	Equation	Regression coefficient (r^2)
Naphthalene	$Y= 38.78X + 53.70$	0.98836
Acenaphthylene	$Y= 66.08X + 182.06$	0.99566
Acenaphthene	$Y= 107.47X + 166.06$	0.99887
Fluorene	$Y= 118.24X + 49.83$	0.99845
Phenanthrene	$Y= 137.05X + 316.01$	0.99950
Anthracene	$Y= 142.82X + 123.23$	0.99892
Fluoranthene	$Y= 165.05X + 150.16$	0.99733
Pyrene	$Y= 168.67X + 162.72$	0.99665

4. 결 론

1) SPME를 이용하여 간단하면서도 빠르게 시료 중의 PAH를 추출할 수 있었으며, GC/FID에 의해 분석 할 수 있었다.

2) 100 μ m PDMS fiber를 이용하여 추출시간에 따른 추출효율을 조사한 결과 50분일때에 가장 우수하였다.

3) US-EPA에서 규제하고 있는 16종의 PAH 성분들에 대한 검정곡선을 작성한 결과 3.33ppb~66.23ppb 범위에서 좋은 직선성을 보였으며, 10가지 성분들을 확인할 수 있었다.

4) 토양에 함유된 PAH 성분은 주로 고리가 3개에서 4개인 화합물로서 phenanthrene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene 및 benzo(b)fluoranthene 등이 검출되었다.

5) 검정곡선을 이용하여 이들 성분들의 함량을 분석한 결과 phenanthrene, fluoranthene 및 pyrene이 각각 74.31ng/g, 60.68ng/g 및 47.92ng/g 등의 농도로 함유되어 있었고, benzo(a)anthracene, chrysene 및 benzo(b)fluoranthene등은 흔적량만이 검출되었다.

참고문헌

1. IPCS, Environmental Health Criteria 202 (Selected Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) (1998)
2. Rodriques, M. A., R. C. Tena, and F. J. G Montelongo, *Chromatographia*, **50**, 235-238 (1999)
3. Kiss, G., Z. V. Puchony, A. Gelencser, Z. Krivacsy, A. Molnar, and J. Hlavay, *Chromatographia*, **48**, 149-153 (1998)
4. Keiichi *et al.*, *Japan Soc. Air Pollut.*, **27**(4), 190-197 (1992)
5. W. Lee, J.-E. Hong, S.-J. Park and H. Pyo, *J. of Kor. Soc. Anal. Sci.*, **10**(5), 315-324 (1997)
6. E. H. Kerns *et al.*, *Anal. Chem.*, **55**, 1471 (1983)
7. Hee-Soo Pyo *et al.*, *Anal. Sci.&Tech.*, **13**(4), 453-465 (2000)
8. R. P. Belardi and J. Pawliszyn, *J. Canada*, **24**, 1501 (1989)
9. D. Louch, S. Moltagh and J. Pawliszyn, *Anal. Chem.*, **64**, 1187-1199 (1992)
10. M. Llompарт, K. Li and M. Fingas, *Anal. Chem.*, **70**, 2510 (1998)
11. S. Madgic and J. Pawliszyn, *J. Chromatogr. A.*, **72**, 111 (1996)
12. J. J. Langenfeld, S. B. Hawthorne and D. J. Miller *Anal. Chem.*, **68**, 144 (1996)
13. R. A. Doong, S. M. Chang and Y. C. Sun *J. Chromatogr. Sci.*, **38**, 528 (2000)
14. W. F. Ng, M. J. K Teo and H. A. Lakso Fresenius *J. Anal. Chem.*, **363**, 673 (1999)
15. Veronica Pino, Juan H. Ayala, Ana M. Afonso and Venerando Gonzalez, *Anal. Chim. Acta.*, **477**, 81-91 (2003)