

HS-SPME-GC/MS를 이용한 해수 내 유류계 방향족탄화수소 분석법

안준건 · 심원준 · 하성용 · 임운혁[†]
한국해양과학기술원 유류유해물질연구단

Determination of Petroleum Aromatic Hydrocarbons in Seawater Using Headspace Solid-Phase Microextraction Coupled to Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Joon Geon An, Won Joon Shim, Sung Yong Ha and Un Hyuk Yim[†]

Oil and POPs Research Group, Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST), Geoje 656-834, Korea

요 약

해수 내 유류계 방향족탄화수소인 BTEX(benzene, toluene, ethylbenzene, xylene)와 다환방향족탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons: PAHs)를 동시에 분석할 수 있는 기술 개발을 위해 GC/MS에서 고체상미량추출법(solid phase microextraction: SPME)을 이용하여 최적의 분석기법을 정립하였다. SPME 기법은 전통의 분석 방법과 비교할 때 조 작이 간단하고, 파이버를 재사용할 수 있고, 휴대하기 쉽고, 시료의 운반이나 저장하는 동안 오염을 최소화 할 수 있는 장점이 있다. 최적의 SPME 조건을 정립하기 위해 여러 변수 즉, SPME 수착제, 흡착 시간, 흡착 온도, 교반 속도, GC 탈착 시간들을 확인하였다. 다양한 SPME 수착제(100 μ m PDMS, 75 μ m CAR/PDMS, 65 μ m PDMS/DVB)를 이용하여 BTEX와 PAHs(분자량 78부터 202까지)를 동시에 분석한 결과 65 μ m PDMS/DVB를 최적의 수착제로 선정하였다. 최적의 수착제로 65 μ m PDMS/DVB 선정한 다음 순차적으로 다른 변수들을 확인하였다. 그 결과 BTEX와 PAHs 동시 분석하기 위한 최적의 SPME 조건은 흡착시간 60분, 흡착온도 50 °C, 교반속도 750 rpm, GC 탈착시간 3분으로 결정되었다. 최적화된 HS-SPME-GC/MS 분석법을 이용하여 인공오염해수 내 유류계 방향족탄화수소 분석 결과 이전 연구 방법과 유사하였다. HP-SPME-GC/MS 분석법은 기존에 유기용매를 사용한 방법이 가졌던 단점과 제한점을 보완할 수 있으며, 해수 내 유류에 의한 BTEX 및 PAHs 분석에 효율적으로 적용할 수 있다.

Abstract – The headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) followed by gas chromatography/mass spectrometry procedure has been developed for the simultaneous determination of petroleum aromatic hydrocarbons such as benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater. The advantages of SPME compared to traditional methods of sample preparation are ease of operation, re-use of fiber, portable system, minimal contamination and loss of the sample during transport and storage. SPME fiber, extraction time, temperature, stirring speed, and GC desorption time were key extraction parameters considered in this study. Among three kinds of SPME fibers, i.e., PDMS (100 μ m), CAR/PDMS (75 μ m), and PDMS/DVB (65 μ m), a 65 μ m PDMS/DVB fiber showed the most optimal extraction efficiencies covering molecular weight ranging from 78 to 202. Other extraction parameters were set up using 65 μ m PDMS/DVB. The final optimized extraction conditions were extraction time (60 min), extraction temperature (50), stirring speed (750 rpm) and GC desorption time (3 min). When applied to artificially contaminated seawater like water accommodated fraction, our optimized HS-SPME-GC/MS showed comparable performances with other conventional method. The proposed protocol can be an attractive alternative to analysis of BTEX and PAHs in seawater.

Keywords: SPME(고체상미량추출법), GC/MS(가스크로마토그래피-질량분석법), BTEX(단환방향족탄화수소), PAHs(다환방향족탄화수소), WAF(인공오염해수)

[†]Corresponding author: uhyim@kiost.ac

1. 서 론

유류는 다양한 인위적, 자연적 기원으로 해양으로 유입된다. MARPOL과 같은 국제적인 오염방지 협약과 선박기술, 운송안전에 관련된 기술향상에도 불구하고 사고와 고의적인 유출에 의한 유류오염은 지속적으로 발생하고 있다. 전세계 해양으로의 유류 유입량은 1,300,000 ton/year로 추정되고 있다(NRC[2003]). 사고로 인한 주된 유입원은 유조선 사고이고, 뒤를 이어 송유관 사고, 연안 시설 유출, 연료유 유출 그리고 유정오염사고이다. 해양오염은 해양생태계의 피해를 가져올 뿐만 아니라, 이로 인한 주변 어장이나 양식장과 같은 어업피해, 관광손실, 재산손실, 방제비용의 지출 등의 손해를 가져온다. 2007년 12월 태안에서 발생한 허베이스피리트호(12,547 kL)와 2010년 4월 미국 댈워터 호라이즌(780,000 kL) 유류 유출사고와 같이 대형유류오염 사고의 위험은 상존하고 있으며, 이에 대한 대비 또한 필요하다(Yim *et al.*[2012]; Schroppe[2011]).

해양환경에 유출된 유류는 급속하게 해수표면에 넓게 확산되고, 이와 동시에 증발, 용해, 분산, 에멀전화, 광산화, 생분해 등 복잡한 풍화과정을 겪게 된다(NRC[2003]). 유류에 다량 함유하고 있는 BTEX(benzene, toluene, ethylbenzene, xylene)와 다환방향족탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)와 같은 유류계 방향족탄화수소는 수층에서 높은 농도로 존재하여 수생 생태계에 가장 큰 독성 물질로 작용한다(Abbriano *et al.*[2011]). 이들 성분들의 용해도를 고려하면, 해양 생태계에 급만성 독성을 일으킬 수 있기 때문에 생물 독성 실험에서 유류계 방향족탄화수소의 분석은 필수적인 항목이다(Singer *et al.*[2000]).

수층 내 BTEX와 같은 휘발성 물질의 분석은 액액 추출법(liquid-liquid extraction: LLE)으로 분석이 힘들며, 주로 직접 주입법(direct aqueous injection)과 다이내믹 헤드스페이스(dynamic headspace) 방법이나 퍼지엔트랩(Purge&Trap) 기법을 사용하고 있다(Bianchi *et al.*[2002]; Zwank *et al.*[2002]; Han *et al.*[2006]; Nejad *et al.*[2011]). PAHs와 같은 반휘발성물질은 전처리 과정이 복잡하며, 많은 양의 시료가 필요하고 다량의 용매를 소모하므로 2차적인 환경오염을 유발시키는 역효과를 초래할 수 있다. 이러한 단점을 보완하기 위한 새로운 분석 방법으로 휘발성과 반휘발성화합물을 동시에 분석이 가능한 고체상미량추출법(solid phase microextraction: SPME)은 조작이 용이하고 값이 저렴하고 용매를 사용하지 않으면서 쉽게 자동화할 수 있는 방법으로 적극 활용되고 있다(Pawliszyn[1997]). 최근 SPME 기법은 환경, 식품, 의학 등의 다양한 분야에 광범위하게 적용되고 있으며, 대기 분야에서 많이 활용되고 있다(Balalubramanian and Panigrahi[2011]; Wang *et al.*[2011]; Mastrogianni *et al.*[2012]).

본 연구에서는 SPME와 기체크로마토그래피 질량분석법(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)을 이용하여 BTEX와 PAHs를 포함한 유류계 방향족탄화수소의 최적 분석 조건을 확립하고, 이를 인공오염해수(water accommodated fraction: WAF)에 적용하여 효용성을 검증하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

유류계 방향족탄화수소(BTEX+PAHs) 14종 및 내부표준물질(internal standard, IS) 7종은 Supelco사와 AccuStandard사에서 각각 구입하여 사용하였다. 표준용액 제조에 필요한 메탄올은 Burdick & Jackson사에서 구입하여 사용하였고, 실험을 위한 증류수는 Milli-RO system을 통과한 3차 증류수를 사용하였다. 실험에 사용된 이란산 원유(Iranian Heavy Crude: IHC)는 SGS KOREA를 통해 구입하였다.

실험 기구는 22 mL 투명 바이알, RPM 조절이 가능한 디지털 교반기, 테프론 교반자 10 mm를 사용하였다. SPME 장치는 Supelco사의 SPME manual holder와 3종의 수착제(100 μ m PDMS, 65 μ m PDMS/DVB, 75 μ m CAR/PDMS)를 구입하여 사용하였다.

2.2 HS-SPME 최적화 실험 방법

최적의 SPME 인자를 확인하기 위하여 유류계 방향족탄화수소 표준시료를 제조하여 사용하였다. 표준시료는 BTEX(10 μ g/mL)와 PAHs(1 μ g/mL)의 혼합용액 20 μ L를 인공해수(35%) 5 mL가 들어 있는 22 mL SPME 바이알에 교반시키면서 주입하여 제조하였다.

SPME 수착제 선택은 다른 분석조건을 일정하게 한 다음 3종의 수착제(100 μ m PDMS, 65 μ m PDMS/DVB, 75 μ m CAR/PDMS)에 표준용액을 헤드스페이스 기법으로 흡착시켜 상대적 피크면적을 비교하였다. 최적의 수착제를 선택한 이후에 다양한 분석 인자들 즉, 흡착온도(30-80 $^{\circ}$ C), 흡착시간(1-120분), 교반속도(0-1000 rpm), 탈착시간(1-10분)을 변경하며 상대적 피크 면적을 비교하였다.

SPME 흡착 실험 방법은 표준시료가 들어 있는 바이알을 증탕시키면서 교반자를 이용하여 교반시켰다. 교반과 동시에 SPME 수착제를 4 cm 나오게 한 후 시료 위 헤드스페이스의 중간 지점에서 흡착시켰다. 표준시료를 SPME 수착제에 흡착한 후에 GC 주입구로 즉시 이동하여 분석하였다.

2.3 WAF 제조

유류오염에 의한 생물독성영향평가를 위해 주로 WAF(water accommodated fraction)가 사용된다(Singer *et al.*[2000]). 본 연구에서는 WAF를 유류오염 사고 시 해수의 주요 오염형태로 가정하고, 인공오염해수로 정의하였다. WAF는 이란산 원유를 사용하여 표준화된 방법으로 제조하였다(Singer *et al.*[2000]). 이란산 원유와 여과된 해수(0.45 μ m)의 비율을 각각 1:40으로 하였으며, 교반기를 이용하여 혼합속도 120 rpm으로 24시간동안 혼합하여 제조하였다.

2.4 분석방법

기체크로마토그래피-질량분석기는 GC/MS-QP2010(Shimadzu, JAPAN)을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 캐필러리 칼럼은 DB-5-MS(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)를 사용하였으며, 라이너는 0.75 mm \times 5.0 mm \times 95 mm의 규격을 사용하였다. 오븐 온도는 시작온도 40 $^{\circ}$ C

Table 1. Operational conditions of GC/MS for the analysis of petroleum derived hydrocarbons

Instrument	GC/MS-QP2010
Separation column	DB5-MS(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
Oven temperature	40 °C (3 min)→80 °C(5 °C/min) →300 °C(10 °C/min)(10 min)
Injection temperature	250 °C
Ms source temperature	200 °C
Split ratio	10:1
Carrier gas flow	1.27 mL/min(He)
Ionization	EI (70 eV)
Data acquisition	SIM mode

에서 3분간 머물게 한 후 분당 5 °C로 80 °C까지 상승시키고 마지막 10분 동안 머물게 하였다. 시료 주입구와 검출기의 온도는 각각 250 °C와 200 °C로 하였다. 시료 주입방법은 분할 주입법(split)으로 분할 비는 10:1로 하였다. 운반기체는 고순도 헬륨(99.999%)을 사용하였고, 유속은 1.27 mL/min로 설정하였다. 이온화 에너지는 70 eV였으며 생성된 이온들은 선택적 이온 모니터링(SIM: selected ion monitoring)방법을 사용하여 정성·정량하였다. SPME 수착제에 흡착된 분석대상물질은 GC 주입구에서 탈착되어 GC 캐필러리 컬럼 내로 주입되었다. GC/MS 분석조건은 Table 1에 요약하여 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1 HS-SPME 분석법의 GC/MS 분석조건 검토

GC/MS 분석 조건에서 BTEX 6종, PAHs 8종, 그리고 내부표준 물질의 선택 이온과 머무름 시간을 Table 2에 나타내었다. 분석 대상 화합물의 확인 및 정성을 위해 스캔 모드를 이용하여 질량스펙트럼 자료를 얻었으며 정량을 위해서 선택적 이온모드를 활용하였다. 유류계 방향족탄화수소에 대한 특정 정성 이온의 선택적 크로마토그램은 Fig. 1에 나타내었다. BTEX 계열(1번부터 6번까지)은 10분 이내에 완전하게 분리되어 검출되었으며, PAHs 계열(7번부터 16번까지)은 30분 이내에 검출되었다. 벤조(a)안트라센과 크리센은 크로마토그램상에 검출은 되었으나, 물에 대한 용해도가 낮아 측정 항목에 포함시키지 않았다. 각 유류계 방향족탄화수소에 대한 특징적인 기본 피크 이온을 선정하였으며, 그 피크면적을 모니터링 하여 SPME 최적화에 사용하였다.

3.2 최적의 수착제 선택

최적의 수착제 선택은 분석화합물의 감도와 특이성을 향상시키기 위해 SPME 분석법 개발에서 가장 중요한 부분이다. 상용화된 3종의 SPME 수착제(100 μm PDMS, 75 μm CAR/PDMS, 65 μm PDMS/DVB)를 사용하여 분석대상화합물의 감도와 특이성을 비교하였다(Bianchin *et al.*[2012]).

Table 2. Physical properties and target ions of BTEX, PAHs and their internal standards analysed in this study

Peak No.	Compound	Compound Type	Solubility at 25 °C (mg/L) ^a	Log K_{ow} ^a	Target m/s
S1	Benzene-d6	ISTD*			84
1	Benzene	Target	1780	2.15	78
S2	Toluene-d8	ISTD*			98
2	Toluene	Target	535	2.69	92
S3	Ethylbenzene-d10	ISTD*			116
3	Ethylbenzene	Target	152	3.15	106
4	p-xylene	Target	200	3.15	106
5	m-xylene	Target	173	3.20	106
S4	O-xylene-d10	ISTD*			116
6	o-xylene	Target	204	2.77	106
S5	Naphthalene-d8	ISTD*			136
7	Naphthalene	Target	12.5 to 34.0	3.37	128
S6	Acenaphthene-d10	ISTD*			164
8	Acenaphthylene	Target	3.4	4.07	152
9	Acenaphthene	Target	3.5	3.98	154
10	Fluorene	Target	0.80	4.18	166
S7	Phenanthrene-d10	ISTD*			188
11	Phenanthrene	Target	0.44	4.46	178
12	Anthracene	Target	0.06	4.50	178
13	Fluoranthene	Target	0.26	4.90	202
14	Pyrene	Target	0.13	4.88	202
S8	Chrysene-d12	ISTD*			240
15	Benzo[a]anthracene	Target	0.11	5.63	228
16	Chrysene	Target	0.02	5.63	228

*Internal standard; ^aOctanol/water partition coefficient (Heath *et al.*[1993]).

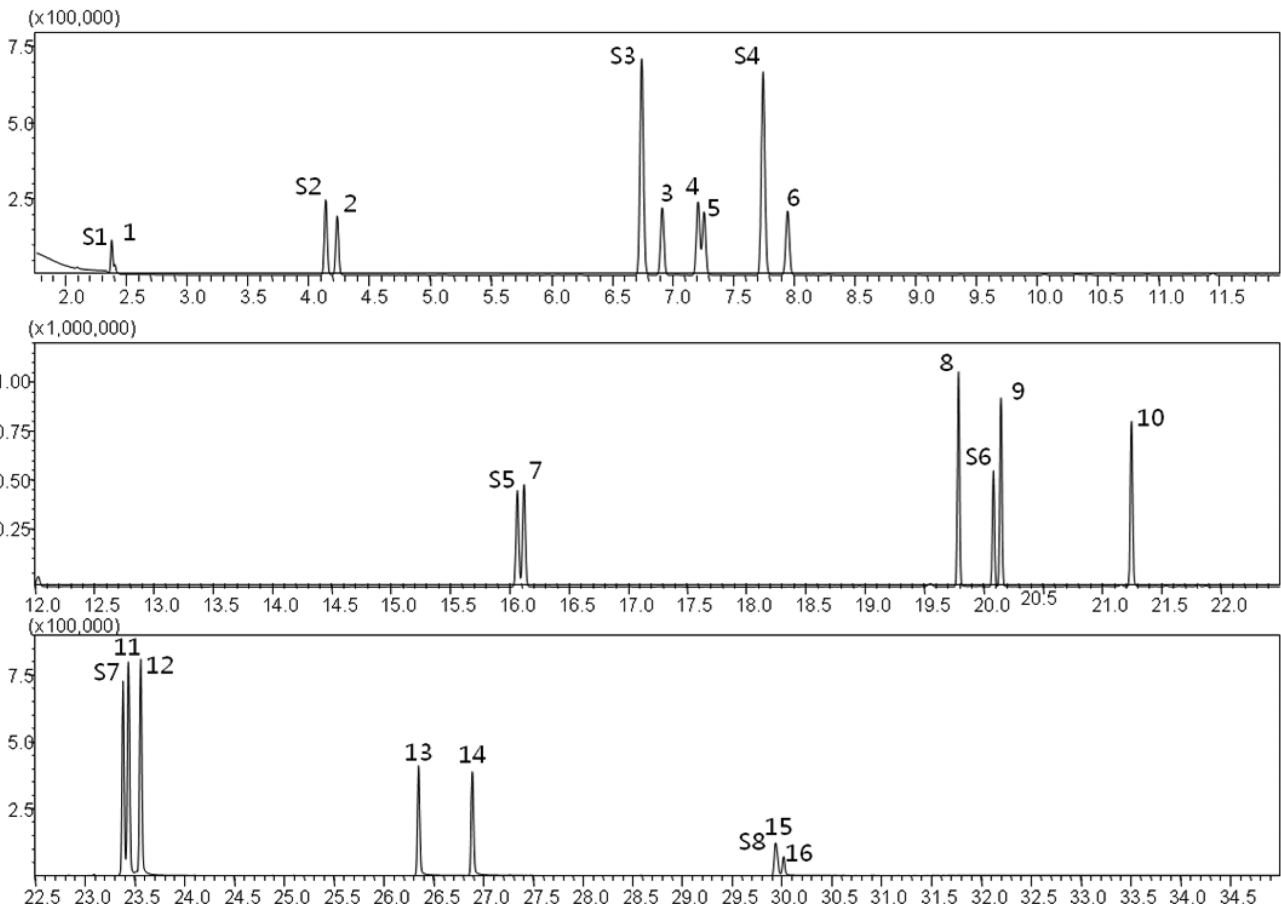


Fig. 1. GC/MS selected ion chromatograms of target BTEX(4 ng/L) and PAHs(4 ng/L). Refer to Table 2 for peak identification.

전체 유류계 방향족탄화수소(화합물 1부터 14가지)의 상대적 피크면적에 따른 평균값은 65 μm PDMS/DVB가 67%로 가장 높았으며, 75 μm CAR/PDMS가 54%, 100 μm PDMS가 50%순으로 나타났다(Fig. 2). 분석 대상 화합물 중 휘발성화합물(화합물 1에서 6가지)은 저분자량의 휘발성 화합물을 잘 흡착하는 카르복실산류

(CAR)를 함유하고 있는 75 μm CAR/PDMS가 가장 높은 피크면적을 보였다. 반휘발성화합물(화합물 11에서 14가지)은 100 μm PDMS가 가장 높은 피크면적을 보였으며, 이는 비극성 화합물을 PDMS가 잘 흡착하는 결과이다. PDMS/DVB 재질의 수착제는 화합물 7에서 10가지에서 가장 높은 흡착 수준을 보였다.

SPME 수착제의 종류에 따른 분석 대상 화합물의 상대적 피크면적은 수착제의 특성과 분석 대상 화합물의 옥탄올/물 분배계수(Log K_{ow})에 따라 차이를 보였다(Fig. 3). 옥탄올/물 분배계수가 증가함에 따라 CAR/PDMS 수착제는 감소하는 경향을 보인 반면에 PDMS와 PDMS/DVB 수착제는 증가하는 경향을 보였다. 이는 SPME의 수착제와 분석 대상 화합물간의 친화력이 크면, 분석물의 분배계수는 매우 높은 값을 가지게 되므로 흡착량이 높게 되어 감도도 좋아지기 때문이다(Zhang *et al.*[1994]). 나프탈렌의 경우 log K_{ow} 가 3.37로 BTEX와 PAHs 중간 수준의 값을 보인다. 나프탈렌에서 세가지 수착제의 흡착량의 차이가 가장 작았으며 다른 화합물에 비해 유사한 분포를 보였다. 나프탈렌을 중심으로 log K_{ow} 가 낮거나 높아짐에 따라 수착제 상호간에 흡착량의 차이를 보였다. BTEX와 저분자량 PAHs와 같이 휘발성과 반휘발성화합물의 특성을 동시에 분석하기 위해서는 극성과 비극성의 화합물을 잘 흡착할 수 있는 적합한 조합으로 코팅된 수착제를 선택하여야 한다. 본 실험 결과 다

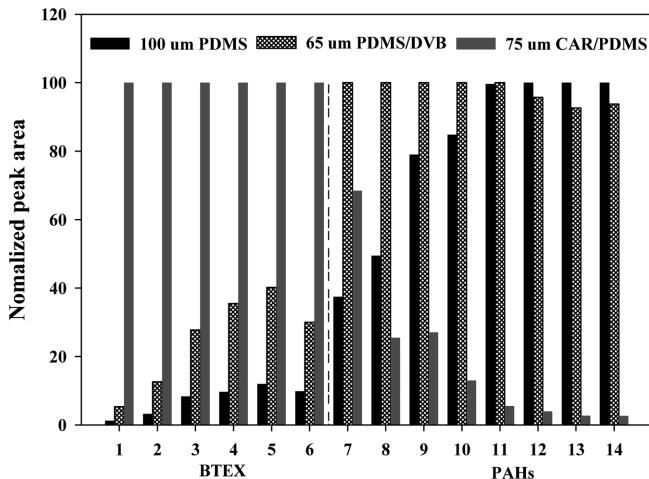


Fig. 2. Comparison of absorption capacity of three different SPME fibers.

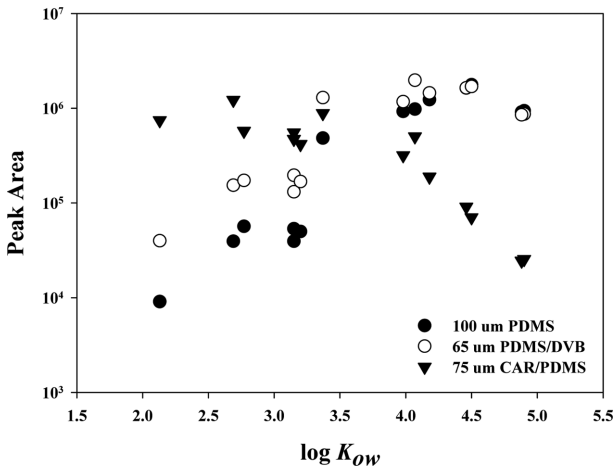


Fig. 3. Plots of $\log K_{ow}$ versus peak area for three different SPME fibers.

른 수착제와 비교할 때 휘발성화합물과 반휘발성화합물을 동시에 잘 흡착하는 65 μm PDMS/DVB가 다종의 유류기원 방향족탄화수소 분석에 최적인 것으로 판단되었다.

3.3 다양한 실험 인자의 최적화 선정

분석 대상 화합물에 따라 SPME 수착제의 흡착량을 변화시키는 실험 조건으로는 시료의 흡착온도, 흡착시간, 교반속도, GC 탈착

시간이 있다. 이들 조건은 SPME 기법의 GC 감도문제에 중요한 기여를 한다. 다양한 실험 인자에 따른 흡착량을 측정하기 위해 65 μm PDMS/DVB를 사용하고 다른 조건들을 변경하며 분석 비교하였다 (Fig. 4).

3.3.1 흡착온도 선정

최적 흡착온도 선정은 65 μm PDMS/DVB를 사용하고 그 외 다른 조건은 흡착 시간 60분, 교반속도 750 rpm, 탈착 시간 3분으로 일정하게 하고 흡착 온도를 30 $^{\circ}\text{C}$, 50 $^{\circ}\text{C}$, 80 $^{\circ}\text{C}$ 로 변화를 주어 실험 하였다(Fig. 4a).

다양한 흡착온도에 따른 각 화합물별 상대적 피크 면적을 계산한 결과 흡착온도 50 $^{\circ}\text{C}$ 에서 평균 68%로 가장 높았으며, 다음으로 흡착온도 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서 평균 58%, 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서 55%순이었다. 흡착 온도 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 분석 대상 화합물 중 1에서 6까지 가장 높은 피크 면적을 보였으며, 흡착 온도 80 $^{\circ}\text{C}$ 에서는 11에서 14까지 가장 높은 피크 면적을 보였다. 흡착온도는 추출하는 동안 SPME 수착제와 시료 사이에 평형을 이루는데 중요한 영향을 미치는 인자이다(Louch *et al.*[1992]). 분석 화합물의 온도가 상승하게 되면 확산계수는 증가되고 그 물질의 분배계수는 감소되어 결과적으로 평형시간은 짧아진다(Ai *et al.*[1997]). 그러나 일반적으로 시료의 온도 증가는 끓는점이 높은 분석물질의 감도를 증가시키지만 끓는점이 낮은 분석물질은 감도를 감소시킨다. 이번 조사 결과 흡착온도가 증가함에

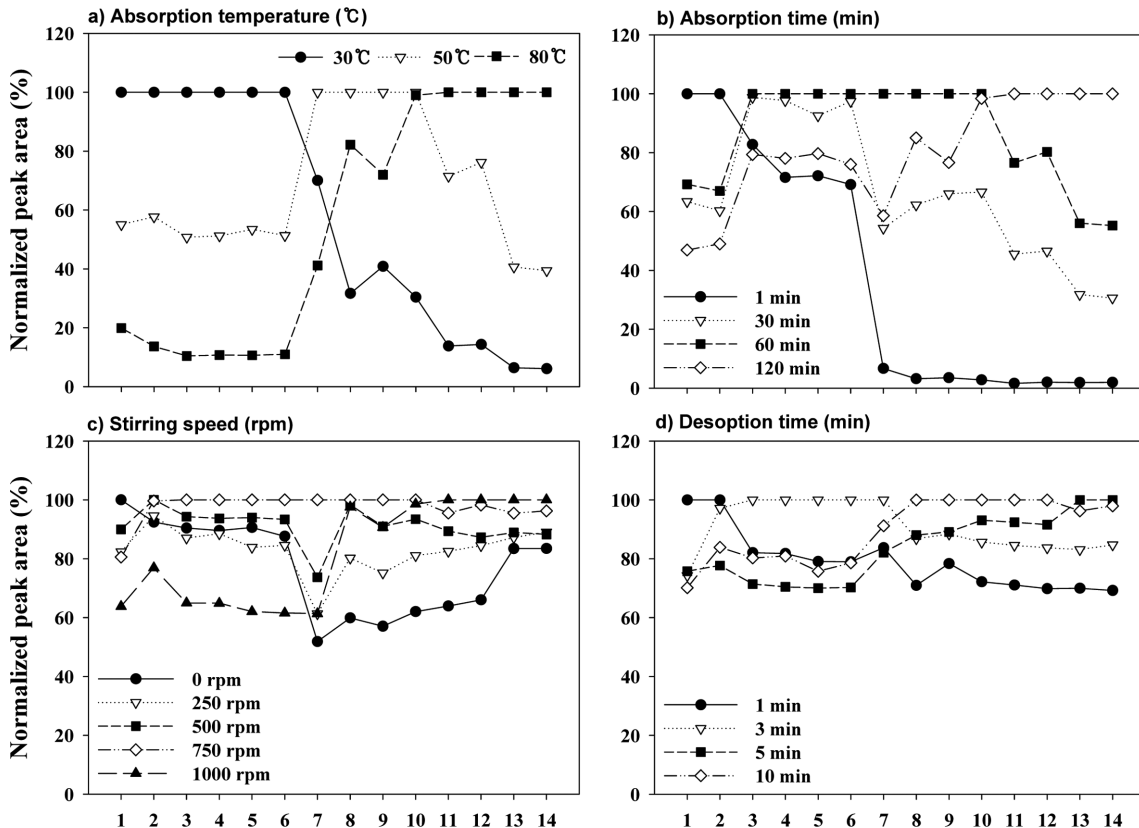


Fig. 4. Multivariate optimization of SPME extraction conditions were simultaneously optimized. (a) absorption temperature, (b) absorption time, (c) stirring speed, (d) GC desorption time.

따라 저분자량 화합물보다 고분자량 화합물을 잘 흡착하는 경향을 보였다. 시료의 온도의 증가는 고분자량 화합물에서 감도를 증가시키지만, 저분자량 화합물은 감도를 감소시켰다. 유류계 방향족탄화수소와 같이 광범위한 분자량을 동시에 분석하기 위하여 상대표준편차가 35%로 가장 낮은 50 °C가 최적 흡착 온도로 확인되었다.

3.3.2 흡착시간 선정

최적 흡착시간 선정은 65 μm PDMS/DVB를 사용하고 그 외 다른 조건은 흡착 온도 50 °C, 교반속도 750 rpm, 탈착 시간 3분으로 일정하게 하고 흡착 시간을 1분, 30분, 60분, 120분으로 변화를 주어 실험하였다(Fig. 4b).

다양한 흡착시간에 따른 각 화합물별 상대적 피크 면적을 계산한 결과 흡착시간 60분에서 평균 86%로 가장 높았으며, 다음으로 흡착시간 120분에서 81%, 30분에서 65%, 1분에서 37%순이었다. 분석 대상 화합물에 따른 상대적 흡착량은 화합물 1에서 2까지는 흡착시간 1분에서 가장 높았으며, 화합물 3에서 10까지는 60분, 화합물 11에서 14까지는 120분에서 가장 높았다. 물리 화학적 성질이 서로 다른 물질은 SPME 수착제에서 다른 흡착 양상을 보이는 것으로 알려져 있다(Ai *et al.*[1997]). 이는 최적 흡착 시간을 결정하기 위한 실험 결과에서는 각 분석 화합물마다 흡착시간의 따른 흡착량의 경향이 다르기 때문에 분석 시간과 물질의 감도를 고려하여 결정하여야 한다. 각 화합물의 신속 정확한 분석을 고려할 때 상대표준편차가 21%로 가장 낮은 60분을 최적 흡착 시간으로 선정하였다.

3.3.3 교반속도 선정

최적 교반속도 선정은 65 μm PDMS/DVB를 사용하고 그 외 다른 조건은 흡착 온도 50 °C, 흡착시간 60분, 탈착 시간 3분으로 일정하게 하고 교반속도 0 rpm, 250 rpm, 500 rpm, 750 rpm, 1000 rpm으로 변화를 주어 실험하였다(Fig. 4c).

다양한 교반속도에 따른 각 화합물별 상대적 피크 면적을 계산한 결과 교반속도 750 rpm에서 평균 98%로 가장 높았으며, 다음으로 교반속도 500 rpm, 250 rpm 1000 rpm, 0 rpm순으로 각각 91%, 83%, 81%, 77%순이었다. 교반속도가 증가함에 따라 고분자량 화합물의 흡착율이 높아졌다. 교반속도 변화에 따른 흡착량의 차이는 다른 요인들에 비해 상대적으로 낮았다. 교반효율은 액체시료의 대류 현상을 빠르게 하여 코팅물과 기체사이의 물질 전달 속도를 높일 수 있다. 실제로 시료 용액을 교반시키면 분석물의 평형이 이루어지기 위해 소요되는 시간은 정적 시료 채취법의 시간에 비해서 10 배 정도 빠르다. 휘발성분석물의 경우 시료, 기체, 수착제의 3성분 상계에서 평형 농도가 빠르게 이루어지지만, 반휘발성화합물은 시료에서 시료 상층부로의 이동이 느려 평형 시간이 길어진다. 유류계 방향족탄화수소 분석의 경우 평균값이 98%로 가장 높고 상대표준편차가 5%로 가장 낮은 750 rpm을 최적의 교반속도로 확인되었다.

3.3.4 탈착시간 선정

최적 탈착시간 선정은 65 μm PDMS/DVB를 사용하고 그 외 다른 조건은 흡착 온도 50 °C, 흡착시간 60분, 교반속도 750 rpm으로 일정하게 하고 탈착시간 1분, 3분, 5분, 10분으로 변화를 주어 실험하였다(Fig. 4d).

다양한 GC 탈착시간에 따른 각 화합물별 상대적 피크 면적을 계산한 결과 탈착시간 3분에서 평균 91%로 가장 높았으며, 다음으로 흡착시간 10분에서 90%, 5분에서 84%, 1분에서 79%의 순으로 높게 측정되었다. 화합물 1에서 2까지는 탈착시간 1분에서 가장 높은 탈착율을 보이다 감소하는 경향을 보였으며, 화합물 3에서 7까지는 3분에서 가장 높은 탈착율을 보이다 감소하였다. 화합물 8에서 14까지는 탈착시간이 증가함에 따라 탈착율도 증가하는 경향을 보였다. SPME 수착제의 경우 GC 환경에서 열적 탈착과정은 150-250 °C 사이의 온도에서 분석 대상 화합물이 탈착되는 것으로 알려져 있으나 분자량이 큰 화합물인 경우 수착제에 따라 최대 운전 온도가 310 °C 이상 가열을 하지 못하므로 수착물의 탈착에 문제가 생길 수 있다. 본 실험에서 시료 주입구 온도는 250 °C로 설정하였으며, 65 μm PDMS/DVB 수착제 운전 온도인 200-270 °C 사이의 온도에 설정되어 열적탈착을 충분히 이뤄지도록 하였다. GC 탈착시간을 증가시키기에 따라 저분자량에서 고분자량으로 탈착율이 높게 나타났다. 열적탈착과정은 GC 주입구에서 온도를 증가시킨 상태에서 수착제를 주입구에 넣게 되면 열적탈착이 일어나게 되며 분석 대상화합물이 캐리어가스에 탈착되어 컬럼안으로 일정한 속도로 주입되게 된다. 유류계 방향족탄화수소의 최적 탈착시간은 상대표준편차가 5%로 가장 낮은 3분이었다.

3.4 검량곡선 및 정확도

SPME 방법을 이용한 유류계 방향족탄화수소 분석의 검량곡선의 작성을 위해 표준 혼합물 BTEX 0.4, 4, 20, 40, 200 $\mu\text{g/L}$ 와 PAHs 0.4, 2, 4, 20, 40 $\mu\text{g/L}$ 를 분석하였으며, BTEX와 PAHs 화합물의 중간 농도 20 $\mu\text{g/L}$ 와 4 $\mu\text{g/L}$ 를 각각 7회 분석하여 재현성을 확인하였다.

유류계 방향족탄화수소와 개별 화합물의 내부 표준물질과의 상대 반응 계수(relative response factor)를 계산하여 검량선을 작성하였다(Fig. 5). 분석물의 농도가 증가할수록 농도 비례하게 65 μm PDMS/DVB 수착제에 흡착하였다.

SPME 방법에 의해 분석된 BTEX와 PAHs의 결정계수(R^2)는 0.999 이상으로 직선성이 우수하게 나타났다. 또한, 중간 농도 분석 결과 상대표준편차(RSD)는 BTEX의 경우 1.2-2.4%, PAHs의 경우 0.8-5.2%로 대부분 분석 대상물질에서 상대표준편차가 5%이하의 값을 보여 높은 재현성을 보였다(Table 3).

3.5. WAF 내 유류계 방향족탄화수소 농도

해양환경에서 유류 유출 사고가 발생 하게 되면, 유류의 일부는 수층으로 용해되어 잠재적인 독성을 유발시키나, 대부분의 유류는 해수표면에 존재하기 때문에 유류의 양과 생물독성 영향 사이의 농

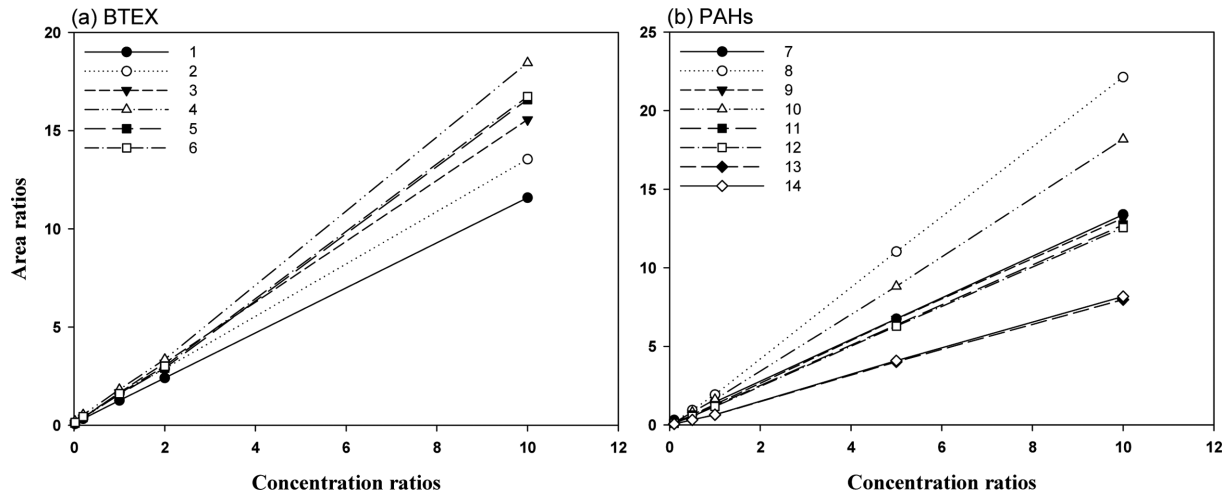


Fig. 5. Calibration curves of (a) BTEX and (b) PAHs.

Table 3. Calibration ranges, regression equation and reproducibility of target compounds analyzed by HS-SPME-GC/MS

Group	No.	Compounds	Cal. range ($\mu\text{g/L}$)	Regression eqn.	R ²	RSD (%)
BTEX	1	Benzene	0.4-200	$Y=1.149462X+0.0904$	0.9999	1.9
	2	Toluene	0.4-200	$Y=1.340251X+0.1582$	0.9998	2
	3	Ethylbenzene	0.4-200	$Y=1.547641X+0.0823$	1.0000	1.6
	4	p-xylene	0.4-200	$Y=1.836238X+0.0185$	0.9993	2.4
	5	m-xylene	0.4-200	$Y=1.659528X-0.0759$	0.9992	1.2
	6	o-xylene	0.4-200	$Y=1.670486X-0.0328$	0.9993	1.3
PAHs	7	Naphthalene	0.4-40	$Y=1.322099X+0.1568$	0.9999	1.1
	8	Acenaphthylene	0.4-40	$Y=2.230676X-0.1666$	0.9999	2.4
	9	Acenaphthene	0.4-40	$Y=1.320348X+0.0060$	0.9998	0.8
	10	Fluorene	0.4-40	$Y=1.823361X-0.1411$	0.9997	2.3
	11	Phenanthrene	0.4-40	$Y=1.274039X-0.0222$	0.9999	0.9
	12	Anthracene	0.4-40	$Y=1.262223X-0.0614$	0.9999	2.9
	13	Fluoranthene	0.4-40	$Y=0.806736X-0.0780$	0.9996	5
	14	Pyrene	0.4-40	$Y=0.827027X-0.0876$	0.9997	5.2

도와 생물 반응의 관계를 설명하기에 어렵다. 수층 내 존재하는 유류는 용존상 혹은 분산유 형태이며, 해양의 물리적 조건에 따라 이들의 양이 달라진다. 실험실에서 이들을 모사하기 위한 다양한 시도가 있었으며, 표준화된 제조방법이 부재하여 상호간의 실험결과를 비교하기 힘들었다. 유류오염 전문가들의 모임인 CROSERF (Chemical Response to Oil Spill Ecological Effects Research Forum)에서는 유류에 의한 생물영향 독성실험을 위한 인공오염 해수를 WAF로 정의하고 표준화된 프로토콜을 제시하였다(Aurand and Colho[1996]). 해양 수생 생물에 대한 WAF의 독성 연구가 이전 연구에서 진행되었으나(Couillard *et al.*[2005]), WAF 내 BTEX와 저분자량 PAHs와 같은 잠재적 독성 성분의 분석이 부족하였다. 특히, WAF 내 BTEX 계열은 PAHs에 비해 10배에서 100배 이상 존재하고 용해도가 높으며, 급만성 독성을 유발하는 화합물이므로 WAF를 이용한 생물독성 실험시 BTEX와 PAHs의 동시 분석은 필수적인 항목이다(Faksness *et al.*[2008]).

WAF 내 유류계 방향족탄화수소 농도를 최적화된 SPME법을 이

용하여 총 3회 실시한 결과를 나타내었다(Fig. 6). WAF 내 BTEX, C3-Benzene, B4-Benzene의 평균 농도는 각각 7060 $\mu\text{g/L}$, 270 $\mu\text{g/L}$, 113 $\mu\text{g/L}$ 로 측정되었으며, 모화합물 PAHs와 알킬 치환된 PAHs의 평균 농도는 각각 30.0 $\mu\text{g/L}$ 와 66.6 $\mu\text{g/L}$ 이었다. WAF 내 유류계 방향족탄화수소는 BTEX 계열이 총 PAHs 보다 70배 이상 높은 값을 보였다. WAF에서는 1개의 벤젠고리를 가진 BTEX계열이 총 유류계 방향족탄화수소의 약 94%를 차지하여 높은 조성비를 보였다. 반면, PAHs 중 분자량이 가장 낮은 나프탈렌은 총 PAHs의 90% 이상을 차지하였다. 이러한 WAF 내 유류계탄화수소 조성비는 수층, 물에 대한 용해도가 높은 저분자량 화합물이 WAF 생성시 우세하게 분포되는 결과이다.

최적화된 SPME법으로 측정된 WAF 내 PAHs 농도 결과를 액액 추출법(liquid-liquid extraction, LLE)으로 분석된 결과와 상관관계를 비교하였다(Fig. 7). 액액 추출법을 이용하여 3회 실시한 WAF 내 모화합물 PAHs와 알킬 치환된 PAHs의 평균 농도는 18.9 $\mu\text{g/L}$ 와 74.5 $\mu\text{g/L}$ 로 측정되었다. PAHs 각 화합물 별 SPME법과 액액 추

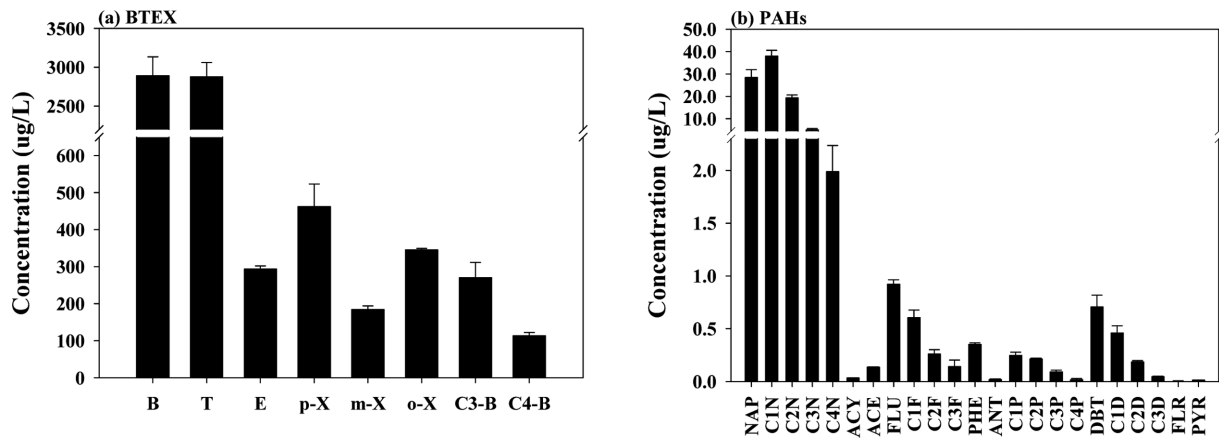


Fig. 6. Chemical composition of the WAF made from Iranian Heavy Crude oil(n=3).

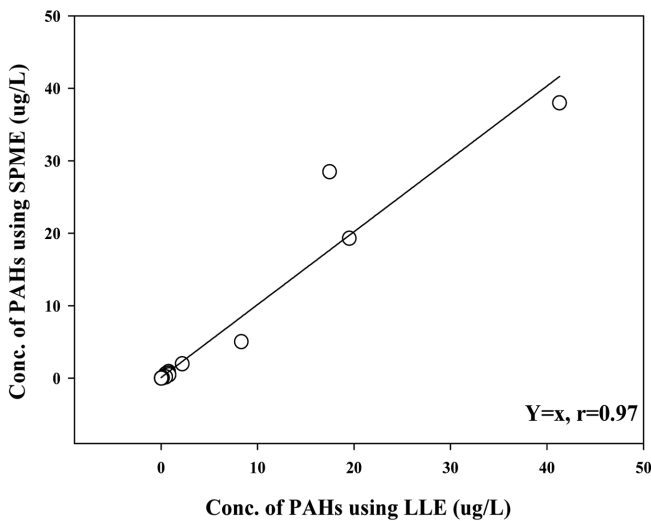


Fig. 7. Correlation between PAHs analyzed by SPME and LLE.

출법 사이의 상관계수(r)는 0.97로 높게 나타났으며, 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다($p < 0.01$). 전통적으로 실시되고 있는 액액 추출법으로 PAHs를 분석한 결과 SPME법과 유사한 결과를 보였으며, SPME법은 액액 추출법에 비해 분석 시간이 약 2배 이상 단축되는 효과가 있었다. 특히, 용매를 사용하지 않으므로 2차 오염 발생이 적고 분석 비용도 절감되었다. SPME법은 조작이 용이하고 짧은 시간에 분석할 수 있는 장점을 고려할 때 기존의 분석방법을 대체할 수 있는 유용한 방법으로 판단된다.

4. 결 론

수층으로 용해된 유출유 내 유류계 방향족탄화수소는 수생 생태계에 악영향을 미치게 된다. 해수에 용존되어 있는 유류계 방향족탄화수소의 신속 정확한 측정은 유류오염으로 인한 생태계 위해성 평가에 핵심적인 요소이다. 본 연구에서는 해수 내 유류계 방향족탄화수소를 HS-SPME와 GC/MS를 통해 분석법을 개발하고 실제 시료에 적용하였다.

HS-SPME-GC/MS 기법을 이용한 유류계 방향족탄화수소 분석의 최적 조건을 선정하기 위해 첫째, 수차제별 흡착 실험을 통하여 대상 수차제 중 65 μm PDMS/DVB가 BTEX와 PAHs 동시분석에 최적의 성능을 보임을 확인하였다. 둘째, 선정된 수차제를 이용하여 다양한 흡착 온도 및 시간, 교반 속도, GC 탈착 시간을 비교하여 신속 정확한 분석 방법을 개발하였다. 최적화된 HP-SPME-GC/MS 분석법을 이용하여 인공유류오염 해수인 WAF 내 유류계 방향족탄화수소의 농도와 조성비를 확인하였으며, BTEX와 PAHs의 동시분석이 필요함을 검증하였다. 또한 전통적으로 사용되는 액액추출법과 비교했을 때 일치하는 결과를 보였으며, 시간과 비용을 절감할 수 있었다. 결론적으로 HP-SPME-GC/MS 분석법은 기존 유기용매를 사용한 추출방법이 가졌던 단점과 제한점을 보완할 수 있으며, 해수 내 유류에 의한 BTEX 및 PAHs와 같은 유류계 방향족탄화수소의 동시 분석에 효율적으로 적용할 수 있다.

후 기

본 연구는 해양수산부(유류오염 환경영향평가 및 환경복원 연구; PM57431)의 연구비 지원을 받아 수행되었습니다.

참고문헌

- [1] Abbriano, R.M., Carranza, M.M., Hogle, S.L., Levin, R.A., Netburn, A.N., Seto, K.L., Snyder, S.M. and Franks, P.J.S., 2011, "Deepwater Horizon Oil Spill: A review of the planktonic response", *Oceanography*, Vol. 24, 294-301.
- [2] Ai J., 1997, "Solid phase microextraction for quantitative analysis in nonequilibrium situations", *Analytical Chemistry*, Vol. 69, 1230-1236.
- [3] Aurand, D.V. and Coelho, G.M., 1996, "Proceedings of the fourth meeting of the chemical response to oil spills: ecological effects research forum", Report no. 96-01, Ecosystem Management and Associates, Purcellville, VA, 50 p.
- [4] Balasubramanian, S. and Panigrahi, S., 2011, "Solid-phase microex-

- traction (SPME) techniques for quality characterization of food products: a review”, *Food and Bioprocess Thechnology*, Vol. 4, 1-26.
- [5] Bianchi, F., Careri, M., Marengo, E. and Musci, M., 2002, “Use of experimental design for the purge-and-trap-gas chromatography-mass spectrometry determination of methyl tert.-butyl ether, tert.-butyl alcohol and BTEX in groundwater at trace level”, *Journal of Chromatography A*, Vol. 975, 113-121.
- [6] Bianchin, J.N., Nardini, G., Merib, J., Dias, A.N., Martendal, E. and Carasek, E., 2012, “Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using a new sampling strategy combining different extraction modes and temperatures in a single extraction solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry procedure”, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1233, 22-29.
- [7] Couillard, C.M., Lee, K., Legare, B. and King, T.L., 2005, “Effect of dispersant on the composition of the water-accommodated fraction of crude oil and its toxicity to larval marine fish”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 24, 1496-1504.
- [8] Faksness, L.G., Brandvik, P.J. and Sydnes, L.K., 2008, “Chemical characterization of water soluble components from Arctic marine oil spills-A combined laboratory and field study”, *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 56, 1746-1754.
- [9] Han, D., Ma, W. and Chen, D., 2006, “Determination of biodegradation products from benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in seawater by purge and trap gas chromatography”, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 34, 1361-1365.
- [10] Heath, J.S., Koblis, K. and Sager, S.L., 1993, “Review of chemical physical, and toxicologic properties of components of total petroleum hydrocarbons”, *Journal of soil contamination*, Vol. 2, 1-25.
- [11] Louch, D., Motlagh, S. and Pawliszyn, J., 1992, “Dynamics of organic compound extraction from water using liquid-coated fused silica fibers”, *Analytical Chemistry*, Vol. 64, 1187-1199.
- [12] Mastrogianni, O., Theodoridis, G., Spagou, K., Violante, D., Henriques, T., Pouliopoulos, A., Psaroulis, K., Tsoukali, H. and Raikos, N., 2012, “Determination of venlafaxine in post-mortem whole blood by HS-SPME and GC-NPD”, *Forensic Science International*, Vol. 215, 105-109.
- [13] Nejad, N.F. and Zand, E.K., 2011, “A new approach to dearomatization of gasoline by ionic liquid and liquid-liquid extraction”, *Petroleum Science and Technology*, Vol. 29, 2372-2376.
- [14] NRC, 2003, *Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects*, The National Academies Press, Washington, DC.
- [15] Pawliszyn, J., Pawliszyn, B. and Pawliszyn, M., 1997, “Solid Phase Microextraction (SPME)”, *The Chemical Educator*, Vol. 2, 1-7.
- [16] Schrope, M. 2011, “Deep Wounds”, *Nature*, Vol. 472, 152-154.
- [17] Singer, M.M., Aurand, D., Bragins, G.E., Clark, J.R., Coelho, G.M., Sowby, M.L. and Tjeerdema, R.S., 2000, “Standardization of preparation and quantification of water-accommodated fractions of petroleum for toxicity testing”, *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 40, 1007-1016.
- [18] Wang, S., Oakes, K.D., Bragg, L.M., Pawliszyn, J., Dixon, G. and Servos, M.R., 2011, “Validation and use of in vivo solid phase micro-extraction (SPME) for the detection of emerging contaminants in fish”, *Chemosphere*, Vol. 85, 1472-1480.
- [19] Yim, U.H., Kim, M., Ha, S.Y., Kim, S. and Shim, W.J., 2012. “Oil spill environmental forensics: the Hebei Spirit oil spill case”, *Environmental Science and Technology*, Vol. 46, 6431-6437.
- [20] Zhang, Z., Yang, M.J. and Pawliszyn, J., 1994, “Solid-phase microextraction. A solvent-free alternative for sample preparation”, *Analytical Chemistry*, Vol. 66, 844-853.
- [21] Zwank, L., Schmidt, T.C., Haderlein, S.B. and Berg, M., 2002, “Simultaneous setermination of fuel oxygenates and BTEX using direct aqueous injection gas chromatography mass spectrometry (DAI-GC/MS)”, *Environmental Science and Technology*, Vol. 36, 2054-2059.

2013년 12월 2일 원고접수

2013년 12월 10일 심사수정일자

2013년 12월 12일 게재확정일자