

RPLC/DAD를 이용한 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon류의 분석에 관한 연구(I)

이 원 · 홍지은* · 박송자* · 표희수*

경희대학교 기초과학연구소, 문리과대학 화학과

*한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터

(1997. 3. 28. 접수)

A Study on the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by RPLC/DAD (I)

Won Lee, Jee-Eun Hong*, Song-Ja Park*, Hee Soo Pyo*

Research Instituted for Basic Science and Department of Chemistry, Kyunghee University Seoul 130-701, Korea

*Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul 136-791, Korea

(Received Mar. 28, 1997)

요약 : Benzo(a)pyrene을 비롯한 16종의 polycyclic aromatic hydrocarbon(PAHs)과 4종의 nitro-PAHs를 reversed-phase liquid chromatography/diode array detection (RPLC/DAD)를 이용하여 기용기용리법으로 분리하고, PAH류의 머무름거동에 영향을 미치는 인자들, 즉 탄소수, F 인자, L/B ratio, 물에 대한 용해도 및 방해수소원자쌍의 수와 시료의 머무름과의 상관관계를 고찰하였다. 대부분의 PAH류는 탄소원자수와 F값이 커질수록 $\log k'$ 이 증가하는 사실을 확인하였다. 그리고 몇 가지 이성체들과 nitro-PAH류들은 용해도가 크고, L/B값이 작으며, 방해수소원자쌍의 수가 많을수록 먼저 용리됨을 확인하였다. 각 PAH류의 검출한계는 100~500ng/mL 범위로 나타났으며, 실제 물시료에 대한 검출한계(method detection limit, MDL)는 0.1~0.5ng/mL 범위였다.

Abstract : The retention behaviors of 16 PAHs and 4 nitro-PAHs were studied with several parameters involved numbers of carbon atoms, F factor, aqueous solubility, L/B ratio, and numbers of interfering hydrogen atom pairs on the chemical structures of PAHs by using reversed-phase liquid chromatography/diode array detection method(RPLC/DAD) and gradient elution method. It was obtain that the $\log k'$ for most of PAHs with increasing the number of carbon and the F factor in their molecules. Chromatographic retention of PAH isomers and nitro-PAHs were examined with aqueous solubility, L/B ratio and number of interfering hydrogen atom pairs. As a result of comparison with these factors and retention times, it was found that those solutes having larger aqueous solubilities and greater L/B ratios were retained longer on stationary phase. This tendency was also occurred in the molecules having the more number of interfering hydrogen atom pairs. Detection limits of PAHs which were obtained with three times measurements by RPLC/DAD were in the range of 100~500ng/mL and method detection limit(MDL) for water sample were in the range of 0.1~0.5ng/mL.

Key words : polycyclic aromatic hydrocarbons, RPLC/DAD, retention behavior

1. 서론

유기물질의 연소과정에서 생성되는 여러고리 방향족 탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)류는 강한 발암성 물질이며, 특히 대기 중에서 NO₂ 등과의 반응에 의해 생성되는 nitro-PAH는 대단히 큰 변이성과 발암성을 나타낸다고 알려져 왔다.¹ 최근 각종 산업이 발달하면서 도시지역의 디젤기관 차량의 증가로 인한 PAH류와 nitro-PAH류의 방출이 날로 심각해지고 있다. 현재 미국 등 선진국에서는 carbon black, 대기 분진, 디젤 배기가스, 주유소 배출물, 나무의 연소, 심지어는 오염된 호수 등에 살고 있는 물고기의 조직에서도 PAH가 검출된 예가 다수 보고되고 있다는 것은 주지의 사실이다.²⁻¹²

환경시료 중에 존재하는 PAH는 종류가 매우 다양하고 극미량만으로도 인체에 치명적인 해를 주기 때문에 PAH류를 분석할 경우 이들 물질을 동시에 분리할 수 있으며, 낮은 농도까지 검출이 가능한 방법이 요구되고 있다. 현재 PAH류를 분석하는 방법은 여러 가지 보고되고 있으나 그 중에서도 PAH류들이 각각 다른 과정에서 UV의 최대 흡수를 일으키기 때문에 HPLC/DAD에 의한 동시 분리 분석이 매우 용이하며, 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.¹³ 아울러 최근 PAH류의 HPLC에서의 용리거동에 대한 연구 또한 다각적으로 수행되고 있다. 즉, Sleight 등은 PAH 내의 탄소원자수와 머무름시간과의 관계를 연구하여 이들간에 정비례의 관계가 있음을 보고하였고¹⁴, Jinno 등은 F 인자를 이용하여 몇 가지 PAH류의 머무름시간과의 관계를 연구하였다.^{15,16} 또한 Wise 등에 의해 L/B ratio와 역상 C₁₈ 컬럼에서 PAH의 머무름

시간과의 관계를 보고한 바 있다.¹⁷ 그러나 이들은 주로 몇 가지 PAH류에 대한 머무름 메커니즘을 예측하기 위하여 앞에서 언급한 여러 가지 인자들 중에서 PAH류의 종류에 따라 한두 가지 인자만으로 용리거동을 해석하였으며, 보다 다양한 화학적 구조 및 물리적 특성을 갖는 PAH류 뿐만 아니라 이들의 이성질체들과 nitro-PAH류 등의 머무름거동에 대한 종합적인 연구가 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 RPLC/DAD(diode array detector)를 이용한 방법으로 20종의 PAH류를 동시 분리하고 지금까지 독립적으로 연구된 여러 가지 인자들을 종합적으로 고려하여 이들에 대한 머무름거동을 고찰하고자 하였다. 따라서 먼저 최적 분리조건을 조사하고 이 조건에서의 검출한계를 측정하였다. 그리고 20종의 PAH류에 대한 머무름거동에 미치는 여러 가지 인자들 뿐만 아니라 특히 이성질체의 용리거동에 주된 영향을 미치는 인자들을 고찰하였다.

2. 실험

2.1. 측정 기기 및 실험 기구

본 연구에서 사용한 HPLC/DAD는 Hewlett Packard사의 HP1090M이고, 자료 분석에는 HP9000-300 computer를, 그리고 HP9133 Disc drive 및 Think Jet printer를 사용하였다.

Nitro-PAH류의 분자구조에 관한 자료들은 Insight II를 이용하여 구하였고, 이들의 용해도 및 L/B ratio 계산에는 IBM PC(Pentium)와 SAS/PC Statistic Package를 이용하였다.

Table 1. HPLC/DAD conditions

Parameters	Conditions
HPLC/DAD column	Hewlett Packard HP1090M ODS Hypersil (100mm × 4.6mm I.D., 5 μ m particles)
injection volume	5 μ L
DAD range	210~400nm
oven temp.	40°C
flow rate	1mL/min
solvent	MeOH:H ₂ O(60/40, v/v) $\xrightarrow{20\text{min}}$ MeOH:H ₂ O(80/20, v/v)

2.2. 시약

본 연구에서 사용한 PAH류를 비롯한 표준시약은 Sigma, Aldrich 및 Supelco제 특급 시약을 정제하지 않고 그대로 사용하였고, 용리액과 추출 용매는 Baker 사제의 HPLC용 시약을 사용하였다. 증류수는 Mill-Q 및 Mill-RO system을 통과한 3차 증류수를, 그리고 그밖의 시약들은 Aldrich사제를 사용하였다. PAH류의 표준용액은 각각의 PAH류를 10.0mg씩 정확히 달아 MeOH 10mL에 녹이고 농도가 1000 μ g/mL(ppm) 되게 묽혀 1차 표준용액을 만들었다. 다음 이것을 각각 일정량씩 취하여 섞은 후 혼합 용액 중의 농도가 20ppm이 되도록 2차 표준용액을 만들어 사용하였다.

2.3. 표준시료의 분리 및 검출한계 측정

먼저 PAH류 표준물질의 혼합용액(20ppm)을 5 μ L씩 HPLC에 주입하고 acetonitrile/H₂O 또는 MeOH/H₂O를 용리액으로 하여 유기용매의 조성을 50%에서 70% 또는 60%에서 80%까지 분당 0.5~1.0%의 변화율로 변화시키면서 기울기용리법으로 각 PAH류의 최적 분리조건을 조사하였다(Table 1).

다음 검출 한계를 조사하기 위해 각 PAH가 최대의 흡수를 일으키는 UV 파장을 선정한 후 표준물질의 혼합용액을 5 μ L 주입하여 최적 분리조건에서 크로마토그램을 작성하고 20종의 PAH 류에 대한 검출 한계를 구하였다. 그리고 검출한계는 각각 3회씩 측정한 크로마토그램에서 S/N비가 5 이상이 되며, 각 분석 물질의 UV 스펙트럼을 확인할 수 있는 최저 농도로 정하였다. 그리고 물시료 200mL을 취하여 200 μ L로 농축시킨 다음 검출한계의 측정방법과 같은 방법으로 처리하여 실제 시료에 대한 검출한계(method detection limits, MDL)를 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 최적 분리조건 및 검출한계 조사

본 연구에서는 20종의 PAH류를 동시에 분리하고 이들을 확인하기 위한 방법을 확립하기 위해 기울기용리법으로 최적 분리조건을 조사하였으며, 이들에 대한 검출한계를 각각 구하였다.

먼저 용리액인 AcCN/H₂O과 MeOH/H₂O의 조성을 각각 50%에서 70% 또는 60%에서 80%에서 분당

0.5% 및 1%의 변화율로 작성한 크로마토그램으로부터 각 성분의 머무름시간과 용리액의 조성을 비교하였다. Table 2에 수록된 바와 같이 AcCN/H₂O를 용리액으로 사용한 경우, AcCN의 조성을 50%에서 70%까지 분당 1%의 변화율로 증가시키면서 용리시켰을 때 가장 분리가 잘 되었다. 그리고 MeOH/H₂O를 용리액으로 사용한 경우에는 MeOH의 조성을 60%에서 80%까지 역시 분당 1%의 변화율로 증가시켰을 때 각 성분들이 가장 잘 분리됨을 알 수 있었다. 한편, 9-nitroanthracene과 acenaphthene의 경우를 보면, AcCN/H₂O 용리액으로 용리시켰을 때 거의 분리되지 않았으나, MeOH/H₂O를 용리액으로 용리시킨 결과 분리가 가능하였다. 실제로 Table 2의 5번, 6번, 7번 조건에 의해 얻어진 크로마토그램으로부터 이들의 머무름시간과 봉우리나비로부터 분리도를 구하여 본 결과 각각 643, 1.45 1.66이었다. 따라서 이들 중에서 7번 방법, 즉 MeOH의 조성이 60~80% 범위에서 분당 1%씩 변화시켜 가면서 기울기용리법으로 용리시켰을 때 가장 효과적인 분리 결과를 얻었다.

한편, 20개 PAH류의 검출한계는 diode array detector에서 각각 최대의 흡광도를 나타내는 파장을 조사하여 5개 파장을 선택한 다음 최적 분리 조건에서 각 성분별로 3회씩 용리시켜 크로마토그램을 작성하고 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 그 다음 각 성분에 대한 크로마토그램으로부터 S/N가 5가 되는 조건에서 구한 검출한계는 Table 3에 수록하였다. 결과에서 보는 바와 같이 각 화합물의 검출 한계는 0.1ppm에서 0.5ppm 범위였다. 그리고 PAH류를 200mL 물시료에서 추출하고, 농축과정을 거쳐 최종 용액을 200 μ L로 하였을 경우 구한 실제 시료에 대한 검출한계는 0.1ppb~0.5ppb 범위였다.

3.2. 머무름거동에 관한 고찰

본 연구에서는 HPLC로 PAH류를 분리할 때 영향을 주는 여러 가지 인자들과 각 PAH의 log k'값과의 상관관계를 조사함으로써 PAH류의 머무름 메커니즘을 고찰하였다. 일반적으로 HPLC에서 분석물질의 머무름에 영향을 미치는 주된 요인 중 하나는 분자와 정지상간의 인력, 즉 분자의 극성도라고 할 수 있다. 아울러 시료의 머무름과 관련된 인자로서는 분리 대상 물질에 따라 분자의 탄소원자 수, 물에 대한 용해도 및

Table 2. Retention time of PAHs by gradient elution with AcCN/H₂O and MeOH/H₂O as eluent

No.	Compounds	Retention time, min.						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Naphthalene	5.61	5.33	3.42	3.34	10.3	6.25	5.86
2	Acenaphthylene	6.72	6.26	3.92	3.81	12.5	7.70	7.03
3	2-Nitrofluorene	9.69	7.02	4.22	4.06	14.3	8.98	7.98
4	9-Nitroanthracene	8.96	8.09	5.08	4.85	16.1	10.4	8.86
5	Acenaphthene	8.96	8.09	5.08	4.85	16.6	11.4	9.83
6	Fluorene	9.37	8.32	5.08	4.85	17.2	11.8	10.1
7	Phenanthrene	10.1	8.97	5.55	5.25	18.4	12.9	10.8
8	Anthracene	11.0	9.61	5.96	5.61	19.4	14.1	11.6
9	1-Nitropyrene	12.0	10.24	6.40	5.99	20.4	15.1	12.2
10	3-Nitrofluoranthene	12.5	10.64	6.40	5.99	21.2	16.2	12.9
11	Fluoranthene	13.2	11.2	7.07	6.53	22.0	17.2	13.6
12	Pyrene	14.0	11.8	7.57	6.97	22.8	18.3	14.3
13	Chrysene	18.0	14.4	9.59	8.55	26.8	24.1	17.5
14	Benzo(a)anthracene	18.7	14.8	9.90	8.78	27.2	24.8	17.9
15	Benzo(b)fluoranthene	23.2	17.7	12.6	10.8	30.5	30.4	20.9
16	Benzo(k)fluoranthene	23.9	18.1	13.1	11.1	30.9	31.2	21.3
17	Benzo(a)pyrene	23.9	18.5	13.5	11.5	31.2	31.7	21.6
18	Dibenz(a,h)anthracene	29.0	21.0	16.2	13.2	34.3	37.4	24.6
19	Benzo(g,h,i)perylene	29.9	21.8	17.2	14.1	35.1	37.9	25.5
20	Indeno(1,2,3-cd)pyrene	29.9	21.8	17.2	14.1	35.1	37.9	25.5

1. AcCN 50% $\xrightarrow{0.5\%/min}$ 70%

2. AcCN 50% $\xrightarrow{1\%/min}$ 70%

3. AcCN 60% $\xrightarrow{0.5\%/min}$ 80%

4. AcCN 60% $\xrightarrow{1\%/min}$ 80%

5. MeOH 50% $\xrightarrow{1\%/min}$ 70%

6. MeOH 60% $\xrightarrow{0.5\%/min}$ 80%

7. MeOH 60% $\xrightarrow{1\%/min}$ 80%

보정 인자(chromatographic correlation factor, F) 등이 있으며, 분자의 입체구조도 중요한 인자가 된다고 보고된 바 있다.¹⁴⁻¹⁷ 따라서 본 연구에서는 지금까지 분리 대상 물질에 따라 독립적으로 고찰한 여러 가지 인자들을 종합하여 PAH류의 머무름시간과 분리에 미치는 영향을 조사한 다음 이들 인자들의 PAH류의 용리거동에 대한 기여도를 비교 검토하였다. 이 때 사용한 용리액은 20종의 PAH가 비교적 분리가 잘 되는 MeOH/H₂O를 선택하였고, MeOH의 조성을 60%에서 80%까지 분당 1%의 변화율로 증가시키는 기울기 용리법을 이용하여 크로마토그램을 작성하였다. 본 연구에서 구한 각 PAH류의 탄소원자 수, F 인자, 용해도, L/B ratio 및 방해수소원자수에 대한 값과 위 조

건에 의해 얻어진 PAH류의 logk'을 Table 4에 수록하였고, 이들 중 탄소원자수, F 인자 및 용해도와 치환되지 않은 PAH류의 용량인자(k')와의 관계를 Fig. 2에 나타내었다. 그리고 Table 4에 수록된 값 중에서 nitro-PAH류의 용해도와 L/B ratio는 분자 구조 및 종류와의 상관관계를 비교하여 분자구조 모델링프로그램인 Insight II와 통계처리프로그램인 SAS를 사용하여 각각 구하였다.

각 인자와 머무름시간과의 관계를 조사하기에 앞서 각 인자들간의 상관관계를 조사하였다. 먼저 탄소원자수와 F값과의 관계를 조사하여 본 결과 대부분의 PAH류는 상관계수(r^2)가 0.9917으로서 정비례관계를 잘 나타내었다. 이 때, 두 인자들 사이에서 차이가 있는

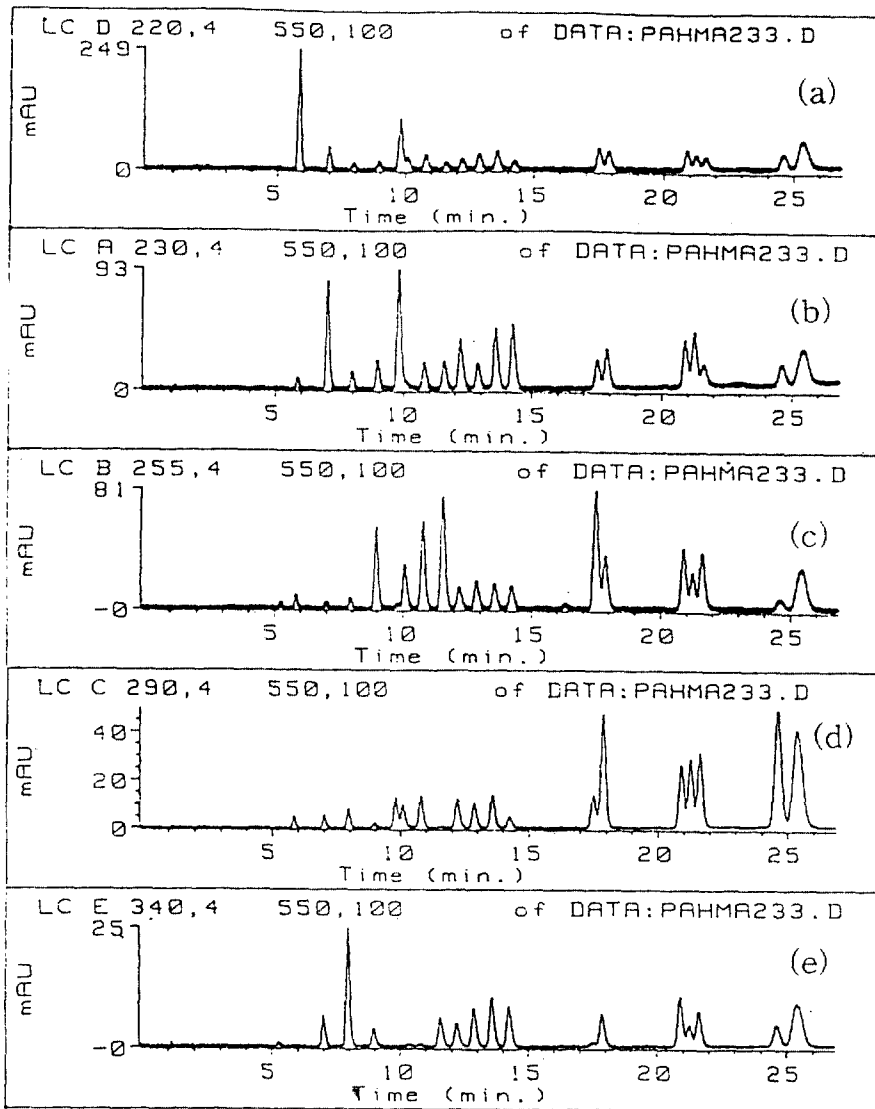


Fig. 1. Chromatograms of PAHs at selected UV wavelengths.

(a) 220nm (b) 230nm (c) 255nm (d) 290nm (e) 340nm

물질은 단지 acenaphthylene과 acenaphthene 뿐이었다. 다음 탄소수와 물에 대한 용해도의 관계는 용해도의 \log 값($\log S$)이 탄소원자수에 반비례하는 것으로 나타났고, 이 때 상관계수는 0.9408이었다. 한편, 분자량이 178인 phenanthrene과 anthracene 등 6쌍의 이성질체의 경우 탄소원자수는 같으나 용해도는 각각 1.00과 0.0446mg/kg으로서 서로 다르게 나타났으며, 이러한 관계는 F 값과 $\log S$ 사이에서도 같은 경향을 보

여 주고 있다.

다음 앞에서 언급한 각각의 인자와 시료의 머무름과의 관계를 고찰하기 위하여 첫번째 탄소원자수와 $\log k'$ 의 관계를 조사하여 본 결과 Fig. 2의 (a)에서와 같이 탄소수와 $\log k'$ 간의 상관계수는 0.9623으로서 Sleight¹⁴ 등의 연구에서와 같이 이들이 서로 정비례한다는 사실을 확인하였다. 그러나 본 연구에서 취급한 PAH류의 경우는 이성질체가 여러 종 있기 때문에 이

Table 3. Selected UV wavelengths and detection limits of PAHs

No.	Compounds	UV(nm)	D.L.(ppm)	D.L.(ppb) in water
1	Naphthalene	220	0.1	0.1
2	Acenaphthylene	230	0.1	0.1
3	2-Nitrofluorene	340	0.5	0.5
4	9-Nitroanthracene	255	0.2	0.2
5	Acenaphthene	230	0.2	0.2
6	Fluorene	255	0.2	0.2
7	Phenanthrene	255	0.2	0.2
8	Anthracene	255	0.2	0.2
9	1-Nitropyrene	230	0.2	0.2
10	3-Nitrofluoranthene	255	0.2	0.2
11	Fluoranthene	230	0.2	0.2
12	Pyrene	230	0.2	0.2
13	Chrysene	230	0.2	0.2
14	Benzo(a)anthracene	290	0.2	0.2
15	Benzo(b)fluoranthene	290	0.5	0.5
16	Benzo(k)fluoranthene	290	0.5	0.5
17	Benzo(a)pyrene	290	0.5	0.5
18	Dibenz(a,h)anthracene	290	0.5	0.5
19	Benzo(g,h,i)perylene	290	0.5	0.5
20	Indeno(1,2,3-cd)pyrene	290	0.5	0.5

D.L. : Detection limits(S/N=5), M.D.L : Method detection limits

n : Three times

Table 4. Log k' , shape Parameters, and aqueous solubility for PAHs

Elution order	Compounds	MW	log k'	NC ^a	F ^b	L/B ^c	Solubility ^d (mg/kg)	Interfering H atom pair
1	Naphthalene	128	0.919	10	5.0	1.24	31.69	0
2	Acenaphthylene	152	1.007	12	5.5	1.08	2.94	0
3	2-Nitrofluorene	211	1.067	13	7.5	1.79 ^e	982.4 ^e	0
4	9-Nitroanthracene	223	1.116	14	8.0	1.41 ^e	2.28 ^e	0
5	Acenaphthene	154	1.164	12	6.5	1.06	3.60	0
6	Fluorene	166	1.177	13	6.5	1.57	1.68	0
7	Phenanthrene	178	1.208	14	7.0	1.40	1.00	1
8	Anthracene	178	1.241	14	7.0	1.57	0.0446	0
9	1-Nitropyrene	247	1.264	16	9.0	1.08 ^e	34.81 ^e	0
10	3-Nitrofluoranthene	247	1.290	16	9.0	1.43 ^e	135.6 ^e	1
11	Fluoranthene	202	1.314	16	8.0	1.22	0.206	1
12	Pyrene	202	1.336	16	8.0	1.27	0.132	0
13	Chrysene	228	1.428	18	9.0	1.72	0.0018	2
14	Benzo(a)anthracene	228	1.438	18	9.0	1.58	0.0094	1
15	Benzo(b)fluoranthene	252	1.502	20	10.0	1.40	0.0015	2
16	Benzo(k)fluoranthene	252	1.516	20	10.0	1.48	0.0008	1
17	Benzo(a)pyrene	252	1.522	20	10.0	1.50	0.0012	1

18	Dibenz(a,h)anthracene	278	1.580	22	11.0	1.79	0.0005	2
19	Benzo(g,h,i)perylene	276	1.596	22	11.0	1.12	0.0007	1
20	Indeno(1,2,3-cd)pyrene	276	1.596	22	11.0	1.40	0.0002	1

a : no. of carbon(NC)

b : chromatographic correlation factor (ref. 16)

c : ref. 15

d : ref. 17, 19

e : calculated in this work.

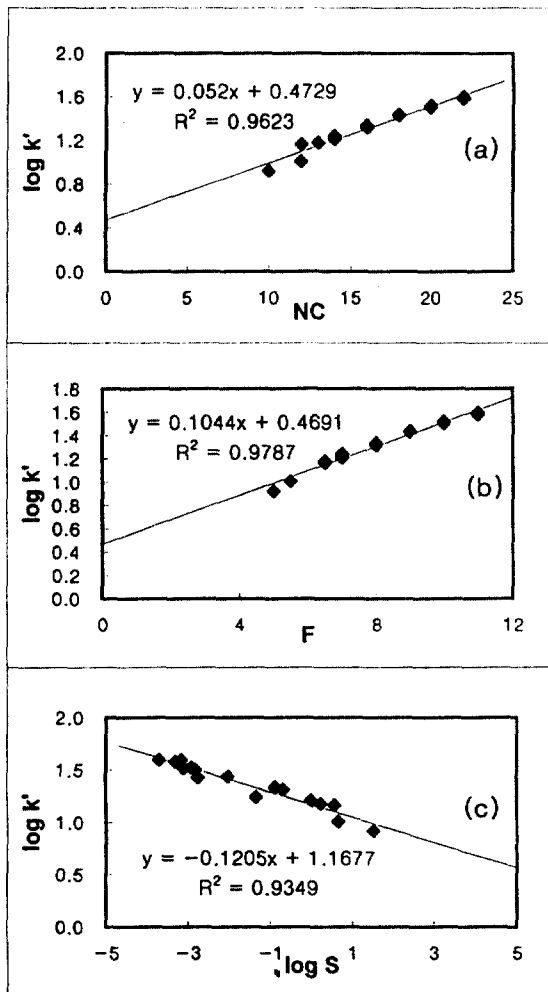


Fig. 2. Plot of $\log k'$ versus some parameters.

(a) number of carbon(NC), (b) F factor,

(c) $\log S$

것만으로는 모든 PAH의 용리거동을 설명할 수가 없었다. 또한 Pyrene과 1-nitropyrene 등과 같이 nitro-PAH와 치환되지 않은 PAH를 비교하면 탄소원

자수는 서로 같지만 $\log k'$ 은 1.336과 1.264로서 서로 차이가 있었다. 따라서 nitro-PAH류까지 포함시킨 20종의 PAH에 대한 $\log k'$ 과 탄소원자수간의 상관성 ($r^2=0.9526$)이 비교적 좋지 않았다.

두번째 분자량과 분자구조는 유사하지만 이성질체가 아닌 acenaphthylene과 acenaphthene의 용리거동을 설명하기 위하여 F 인자를 적용하여 보았는데, F 인자는 다음의 식과 같이 나타낼 수 있다.¹⁵

$$F = \text{number of double bond} + \text{number of primary and secondary carbon} - 0.5 \text{ for nonaromatic ring}$$

위 식과 같이 F 인자의 값은 분자내에 이중결합의 수와 결합자의 탄소원자수, 그리고 방향성 등을 종합하여 계산되는 값으로서 분자의 소수성과 크기에 의존한다고 할 수 있다. Acenaphthene의 F값은 6.5로서 acenaphthylene의 5.5보다 크고, 그 결과 acenaphthene의 $\log k'$ 는 1.164로서 acenaphthylene(1.007)보다 머무름이 길어짐을 알 수 있었다. 실제로 Fig. 3의 (b)에서 보는 바와 같이 F값과 $\log k'$ 와의 상관계수가 0.9787로서 F값이 탄소원자수의 경우보다 머무름에 대한 상관성이 비교적 크다는 사실을 확인하였다. 그러나 이성질체의 경우 이들의 F값은 서로 같기 때문에 이 값 역시 탄소수의 경우와 마찬가지로 F값으로 이성질체의 머무름의 상관관계를 설명하기가 곤란하였다.

따라서 이들 이성질체의 머무름거동을 설명하기 위하여 세번째로 고려해 본 인자는 물에 대한 각 성분의 용해도이다. Table 4에서 보는 바와 같이 탄소원자수가 증가하고 구조상 평면성을 나타내는 분자일수록 극성도는 감소하게 될 것이다. 따라서 물에 대한 이들의 용해도 또한 감소하게 되고, 그 결과 머무름이 길어질 것으로 예상할 수 있다. 뿐만 아니라 이성질체의 경우는

분자의 구조에 따라 극성도와 용해도의 차이가 있기 때문에, 이것이 머무름에 영향을 주게 될 것이다. 본 연구에서는 각 성분의 $\log k'$ 과 물에 대한 용해도($\log S$)를 조사한 결과 Fig. 3의 (c)에서 보는 바와 같이 이들 값 사이에는 반비례의 관계가 성립되었다($r^2=0.9349$). 이것은 용해도가 커질수록 머무름시간이 짧아진다는 것을 의미한다. 또한 이와 같은 상관관계가 본 연구에서 선택한 PAH류 중 6종의 이성질체의 경우에도 성립되는지를 확인하였다. 먼저 분자량이 178인 anthracene과 phenanthrene의 경우 anthracene의 용해도(0.0446)가 phenanthrene(1.00)보다 작으며, 이것은 곧 anthracene의 극성도가 phenanthrene보다 더 작다는 것을 의미한다. 따라서 anthracene의 $\log k'$ 값(1.241)이 phenanthrene의 경우(1.208)보다 약간 더 커진다는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 경향은 분자량이 202인 fluoranthene과 pyrene의 경우와 분자량이 278인 benzo(g,h,i)perylene, indeno(1,2,3-cd)pyrene의 경우에도 비슷한 경향을 보여 주고 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 분자량이 228인 chrysene과 benzo(a)anthracene 및 분자량이 252인 benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene 및 benzo(a)pyrene의 이성질체 뿐만 아니라 nitro-PAH류의 용리거동은 용해도인 자료써도 설명할 수가 없었다.

따라서 이들의 머무름거동에 미치는 인자를 고찰하기 위하여 L/B ratio(length-to-breath ratio)를 고려하였다. Wise¹⁷ 등은 분자의 모양, 즉 분자구조가 얼마나 길고 좁은가를 나타내는 L/B값과 머무름시간과의 관계를 설명하였다. 이것을 slot model이라 하는데, 이것은 L/B값이 큰 분자가 비극성인 컬럼의 정지상과의 인력이 더 커지기 때문에 머무름 시간이 길어진다는 것이다.^{17,18} Table 4에 수록한 각 PAH의 $\log k'$ 과 L/B값을 비교하여 보면, 먼저 분자량이 178인 phenanthrene과 anthracene의 경우 phenanthrene의 L/B값은 1.40이고 anthracene은 1.57이므로 anthracene이 더 긴 분자구조를 가지고 있다고 할 수 있다. 따라서 비극성인 정지상과의 인력이 상대적으로 더 큰 anthracene의 $\log k'$ 값(1.241)이 phenanthrene(1.208)의 경우보다 더 커진다는 것을 알 수 있다. 뿐만 아니라 분자량 202인 fluoranthene과 pyrene, 252인 benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, 276인 benzo(g,h,i)perylene과 indeno(1,2,3-cd)pyrene에서도 이와 비슷한 경향을 나타내었다.

한편, nitro-PAH류 중 이성질체인 1-nitropyrene과 3-nitrofluoranthene의 경우에도 L/B값에 의해서 머무름의 차이를 설명할 수 있었다. 즉 pyrene과 fluoranthene 중에서는 fluoranthene의 $\log k'$ 이 1.314로

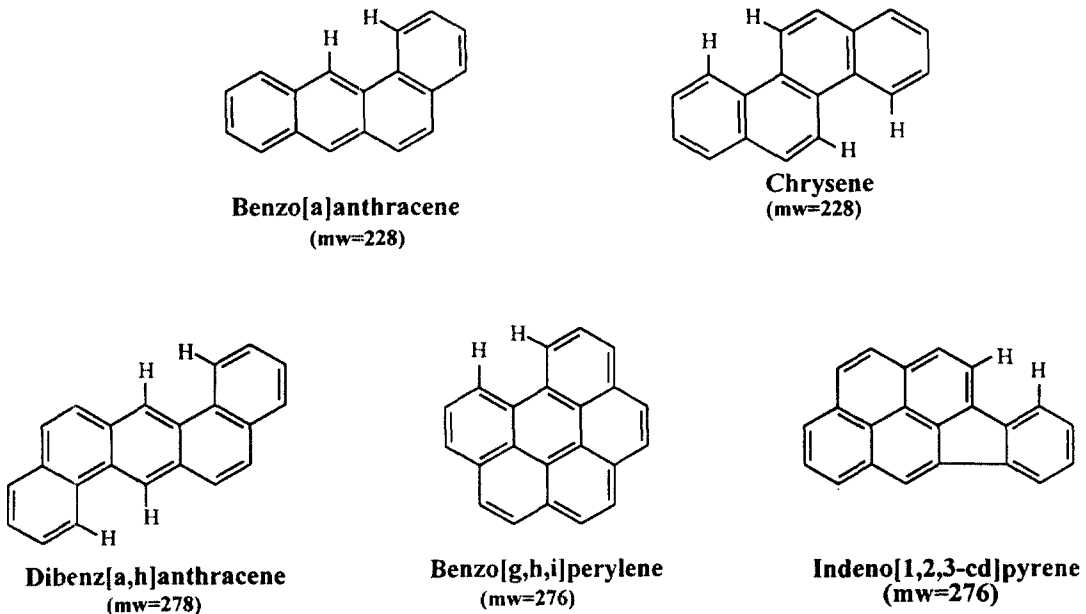


Fig. 3. Chemical structures of some PAH compounds

서 pyrene(1.336)보다 먼저 용리되었는데, 이것은 비록 fluoranthene의 용해도(0.206)가 pyrene(0.132)보다 더 크지만, 반대로 L/B값이 1.22로서 pyrene(1.27)보다 작기 때문이라고 생각된다. 이에 비해 nitro기가 치환된 경우에는 1-nitropyrene이 먼저 용리되었다. 이들의 용해도값을 비교하여 볼 때 역시 3-nitrofluoranthene이 135.6으로서 1-nitropyrene(34.81)보다 훨씬 더 크기 때문에 먼저 용리된 것으로 예상된다. 그러나 L/B값을 고려하여 보면, nitro기가 치환된 위치로 인하여 3-nitrofluoranthene의 L/B값이 1.43으로서 1-nitropyrene(1.08)보다 크기 때문에, 1-nitropyrene이 먼저 용리된 것으로 생각된다. 따라서 L/B값과 PAH류의 머무름시간과의 상관관계를 보면 용해도 등 다른 인자들의 경우보다 상대적으로 크게 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

그러나 분자량이 228인 chrysene과 benzo(a)anthracene의 경우, chrysene의 L/B값이 1.72로서 benzo(a)anthracene(1.58)보다 더 큰데도 불구하고 chrysene이 오히려 먼저 용리되는 상반된 결과를 보여 주고 있다. 이것은 단순히 분자의 길이만으로는 설명하기 곤란하고, Li 등이 보고한 바와 같이 분자의 크기가 커짐으로써 분자의 입체구조가 머무름에 영향을 줄 것으로 예상된다.¹⁸ 즉, Fig. 3의 분자구조에서 보는 바와 같이 chrysene에는 2개의 방해 수소 원자쌍이 있고 benzo(a)anthracene에는 1쌍밖에 없다. 따라서 chrysene의 고리 변형이 더 커지게 되고 이를 감소시키기 위하여 분자의 평면성이 감소하게 됨으로써 극성인 구조로 바뀌게 될 것이다. 그러므로 이것의 유효 표면적이 작아지게 되고, 그 결과 정지상과의 인력이 감소함으로써 머무름 시간이 짧아진다고 생각된다. 뿐만 아니라 dibenz(a,h)anthracene과 benzo(g,h,i)perylene의 경우에도 dibenz(a,h)anthracene에는 2개의 방해 수소 원자쌍이 있고, benzo(g,h,i)perylene에는 1쌍 뿐이기 때문에 dibenz(a,h)anthracene의 평면성이 보다 더 감소하게 될 것이다. 따라서 dibenz(a,h)anthracene의 물에 대한 용해도가 0.0005mg/kg로서 benzo(g,h,i)perylene(0.0007)보다 작을 뿐만 아니라, L/B값도 dibenz(a,h)anthracene이 1.79로서 benzo(g,h,i)perylene(1.12)보다 크지만, 평면성의 감소로 인하여 오히려 먼저 용리되는 것으로 생각된다. 이외에도 1개의 방해 수소 원자쌍을 가지고 있는 phenanthrene이나 fluo-

ranthene이 anthracene 및 pyrene보다 먼저 용리되고 방해 수소 원자쌍이 2개인 benzo(b)fluoranthene이 방해 수소 원자쌍이 1개 뿐인 benzo(k)fluoranthene보다 먼저 용리된다는 사실은 앞에서 논의한 용해도 및 L/B값과의 관계와도 비교적 잘 일치하고 있음을 알 수 있었다.

한편, nitro-PAH류인 1-nitropyrene과 3-nitrofluoranthene의 경우 3-nitrofluoranthene에는 1개의 방해 수소 원자쌍이 있고 1-nitropyrene에는 없음에도 불구하고 오히려 1-nitropyrene이 먼저 용리되는 상반된 경향을 보이고 있다. 이는 L/B값에 의한 영향과 함께 nitro기가 있는 경우 수소 원자쌍에 의한 구조 변화보다 nitro기에 의한 용해도 증가에 의한 영향이 더 크게 작용하기 때문인 것으로 생각된다. 또한, nitro-PAH류의 용리 거동을 살펴보면 4가지 nitro-PAH는 모두 치환되지 않은 PAH보다 먼저 용리되었다. 이것은 nitro-PAH가 PAH보다 분자량과 F값이 크기 때문에 머무름 시간이 길어질 것으로 예상되지만, nitro-PAH의 용해도가 다른 PAH류보다 훨씬 크기 때문에 오히려 머무름 시간이 짧아졌다고 생각된다(Table 4).

이상과 같이 대상 분석물질에 따라 독립적으로 고려한 여러 가지 머무름 인자들을 종합적으로 고찰하여 PAH류의 머무름 거동을 조사 검토하여 본 결과 탄소 원자수와 이중결합의 수가 커질수록 머무름 시간이 길어진다는 것을 확인하였다. 그러나 이들 두 가지 인자로서는 이성질체 및 nitro-PAH류의 용리 거동을 설명할 수 없었으며, 이를 설명하기 위해서 용해도, L/B ratio 및 방해 수소 원자쌍의 수와 같은 인자들을 적용시켜 보았다. 그 결과 phenanthrene과 anthracene, fluoranthene과 pyrene의 경우는 위의 세 가지 인자에 의한 해석이 모두 가능하였다. 한편, 몇 가지 이성질체 및 nitro-PAH류의 경우는 용해도 및 L/B비만으로는 설명이 곤란하며, 이들은 방해 수소 원자쌍에 의한 평면성의 감소 및 용해도 등이 분자의 용리 거동에 큰 영향을 미치고 있음을 확인할 수 있었다.

4. 결론

본 연구에서는 물시료 중에 함유된 20종의 여러 가지 방향족 탄화수소(PAH) 화합물을 액체크로마토그래피로 동시 분리 분석할 수 있는 방법과 검출한계를 조

사 검토하고, 머무름거동을 고찰한 바 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

먼저 HPLC/DAD로 PAH류 20가지를 분석한 결과 용리액으로 MeOH/H₂O를 사용하여 MeOH의 조성을 60%에서 80%로 변화시키고 분당 1%씩 증가시키면서 기용리법으로 용리시켰을 때 이들 시료의 동시 분리가 가능하였다. PAH류의 특성 UV 흡수파장으로부터 각 PAH에 대하여 구한 검출한계는 100~500ng/mL였고, 실제 물시료에 대한 검출한계(MDL)는 0.5ng~2.5ng 범위였다. HPLC에서 PAH류의 용리거동은 분자의 탄소원자수, F 인자, 용해도, L/B ratio 및 방해수소원자쌍의 수 등으로 설명할 수 있었다. 이중 탄소원자수 및 F 인자와 대부분의 PAH류의 log k'와는 직선적인 비례관계가 성립되었다. 그러나 이들 인자만으로는 이성질체와 nitro-PAH류의 머무름거동을 설명할 수 없었다. 그러나 물에 대한 용해도와 L/B값 및 방해수소원자쌍의 수를 고려하면 이들의 머무름거동을 설명할 수 있었다. 즉 용해도와 log k'와는 반비례의 관계가 성립되었고 몇 가지 이성질체의 경우도 용해도가 감소될수록 log k'가 증가하는 것을 확인하였다. 한편, Benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene 등과 같은 대부분의 이성질체의 용리거동은 L/B값들을 비교하여 해석할 수 있었는데, 실험 결과 L/B값이 큰 성분의 log k'이 증가함을 확인하였다. 또한 PAH의 분자내의 방해수소원자쌍의 수에 의한 평면성의 감소와 이성질체의 용리순서가 비교적 잘 일치한다는 사실을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 1996년도 교육부 기초과학연구소 학술연구 조성비(BSRI-96-3439)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. M. C. Bowman, "Handbook of carcinogens and hazardous substances". 1st Ed., p. 573-639, M. Oekker, New York, U.S.A, 1982
2. J. Konlg, E. Balfanz, W. Funcke and T. Romanowski, *Anal. Chem.*, **55**, 599(1983)
3. G. Grimmer, J. Jacob, K-W. Naujack and G. Dettbarn, *Anal. Chem.*, **55**, 892(1983)
4. T. Nielsen, *Anal. Chem.*, **55**, 286(1983)
5. J. B. Xu, J. P. Nachtman, J. L. Jin, E. Ta. Wei and M. Stephen, *Anal. Chim. Acta*, **136**, 163(1982)
6. P. A. Peaden and M. L. Lee, *Anal. Chem.*, **52**, 2268(1980)
7. M. D. Guillen, M. J. Iglesias, A. Dominguez, and C. G. Blanco, *J. Chromatogr.*, **591**, 287(1992)
8. D. Schetzle, T. L. Riley and T. J. Prater, *Anal. Chem.*, **54**, 265(1982)
9. T. Ramdahl, and G. Becher, *Anal. Chim. Acta*, **144**, 83(1982)
10. T. R. Henderson, J. D. Sun, R. E. Royer, C. R. Clark and A. P. Li, *Environ. Sci. Technol.*, **17**(8), 443(1983)
11. Z. Jin, S. Dong, W. Xu, Y. Li and X. Xu, *J. Chromatogr.*, **386**, 185(1987)
12. D. A. Birkholz and R. T. Coutts, *J. Chromatogr.*, **449**, 251(1988)
13. M. A. Quilliam and P. G. Sim, *J. Chromatogr. Sci.*, **26**, 160(1988)
14. R. B. Sleight, *J. Chromatogr.*, **83**, 31(1973)
15. K. Jinno and M. Okamoto, *Chromatographia*, **18**(9), 495(1984)
16. K. Jinno, Y. Saigusa, M. Kuwasima and M. Atomura, *Chromatographia*, **21**(1), 24(1986)
17. S. A. Wise, W. J. Bonnett, F. R. Guenther and W. E. May, *J. Chromatogr. Sci.*, **26**, 160(1988)
18. S. F. Y. Li, H. K. Lee and C. P. Ong, *J. Liq. Chromatogr.*, **12**(16), 3251(1989)
19. W. E. May and S. P. Wasik, *Anal. Chem.*, **50**(7), 997(1978)