

BSPE-14390-005-10

북극 환경오염물질 거동 이해를 위한
KOPRI-NPI 공동연구

KOPRI-NPI Collaboration for the understanding of
pollutants fate in Arctic



2015. 11

한국해양과학기술원
부설 극지연구소

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “북극 환경오염물질 거동 이해를 위한 KOPRI-NPI 공동연구” 과제의 2015년도 최종보고서로 제출합니다.

2015. 11



보고서 초록

과제관리번호	PE14390	해당단계 연구기간	2014.12.22 -2015.9.30	단계 구분	(1단계) / (1단계)
연구사업명	중 사업명	연구정책·지원사업			
	세부사업명	북극 환경오염물질 거동 이해를 위한 KOPRI-NPI 공동연구			
연구과제명	중 과제명				
	세부(단위)과제명				
연구책임자	김기태	해당단계 참여연구원 수	총 : 5 명 내부: 5 명 외부: 0 명	해당단계 연구비	정부: 30,000 천원 기업: 천원 계: 30,000 천원
연구기관명 소속부서명	한국해양과학기술원 부설 극지연구소 극지기후변화연구부		참여기업명	해당없음	
국제공동연구	해당없음				
위탁연구	해당없음				
KOPRI 국제연구소				보고서 면수	122
<p>우리나라는 2013년 5월 북극이사회 각료회의에서 정신 옵서버로서의 자격을 부여 받았고, 이에 따라 정부에서는 “북극정책 기본계획(‘13.12)” 및 “북극정책 시행계획(‘15.4)”등을 수립하였고 이에 따른 후속 조치의 일환으로 북극이사회 산하 워킹그룹에 적극적으로 참여하고 북극권 국가와의 연구 협력 강화가 중요 이슈로 대두되고 있다. 한국 극지연구소에서도 2014년 4월 KOPRI-NPI 극지 협력 센터를 개소하여 양국의 인력과 인프라를 이용한 공동연구 사업을 발굴하고자 하였다. 북극은 북반구에서 생성된 다양한 환경오염물질이 축적되는 장소로 스톡홀름 협약(Stockholm Convention) 및 북극이사회(Arctic Council) 산하 AMAP(Arctic Monitoring Assessment Program)를 통해 지속적으로 북극 환경 오염물질을 감시 및 규제하고 있다. 이 보고서에서는 KOPRI- NPI 극지국제협력 센터를 기반으로 북극환경오염에 관한 공동연구주제 발굴에 대한 경과에 대해 기술하고, 향후 시행될 국제공동 연구주제 및 방향에 대해 자세히 보고한다.</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한글	북극, 환경오염물질, 북극이사회, 노르웨이극지연구소, 얼음화학			
	영어	Arctic, Pollutants, Arctic council, NPI, Ice chemistry			

요약문

I. 제목

- 북극 환경오염물질 거동 이해를 위한 KOPRI-NPI 공동연구

II. 연구개발의 필요성

- 정부 “북극이사회 옵서버 진출(‘13.5)”, “북극정책 기본계획(‘13.12)” 및 “북극정책 시행계획(‘15.4)”등에 따른 후속 조치의 일환으로 북극이사회 산하 워킹그룹에 적극적으로 참여하고 북극권 국가와의 연구 협력 강화가 중요 이슈로 대두되고 있음
- 대부분의 북극 환경오염물질 관련 연구들은 현장시료 채취와 분석 및 모니터링에 중심을 둔 거시적인 연구이므로 미시적인 관점에서 북극 환경오염물질들의 생성 및 변환 특성을 이해하는데 어려움이 있음
- 북극에 잔류하고 있는 유기화합물질들은 장거리기동이 가능하고 난분해성의 특성을 지니는 등 환경오염원으로서의 특성을 지니고 있으나, 이들에 대한 정보가 부족한 실정
- 현재 KOPRI 중심 국내연구진이 보유한 북극 환경오염물질 기초연구관련 전문성과 축적된 북극 환경오염물질 연구 노하우, 로지스틱 그리고 다양한 북극 생물 및 환경매체 시료를 보유한 NPI의 경험 및 우수성을 바탕으로 하는 국제공동연구가 북극 환경오염물질의 거동을 전반적으로 이해하는데 적합할 것으로 판단됨

III. 연구개발의 최종 목표

- 북극 환경오염물질 기초화학반응 연구 관련 국제동향 파악
- 북극 환경오염물질 거동 연구를 위한 KOPRI-NPI 국제협력 계획 수립

- 극지방 환경오염물질의 거동 이해를 위한 극지모사 반응시스템 구축 및 기초 사전실험 수행

IV. 연구개발의 내용 및 범위

- 북극 환경오염물질 기초화학반응 연구 관련 국제동향 파악
 - 북극 환경오염물질 연구관련 세계적인 동향 파악
 - 극지 기초과학 연구 장비 구축을 위한 국외 선진 실험실 방문 (스페인, 스위스, 체코)
- 북극 환경오염물질 거동 연구를 위한 KOPRI-NPI 국제협력 계획 수립
 - 북극 환경오염물질 관련 NPI 관심분야 파악 및 공동연구 주제 발굴
 - NPI 보유 환경매체시료 및 생물시료 파악 및 공동 분석가능성 협의
 - 현장실험 및 현장시료 채취를 위한 NPI 지원 논의
- 극지방 환경오염물질의 거동 이해를 위한 극지모사 반응시스템 구축 및 기초 사전실험 수행
 - 북극 환경오염물질의 거동연구를 위한 북극환경모사 실험장비 구축
 - 북극 대표오염물질(잔류성유기오염물질 혹은 수은)을 이용한 기초화학 반응수행

V. 연구개발결과

- 북극 환경오염물질 기초화학반응 연구관련 국제동향 파악 및 국제공동연구 네트워크 수립
- 북극 환경오염물질 거동 연구를 위한 KOPRI- NPI 국제협력 계획수립
- 극지방 환경오염물질의 거동 이해를 위한 극지모사 반응시스템 구축 및 기초 사전실험 수행

VI. 기대성과 및 활용방안

- KOPRI-NPI 북극환경오염분야 국제공동연구 주제발굴 및 향후 공동연구의 방향성 및 기초자료 제공
- 북극권 국가인 노르웨이와 과학적 협력을 통해 북극권내 협력거점 확보 및 국제적 신뢰성 제고
- 환경오염물질 변환 특이성 관련 북극현장 및 실험실 기초실험결과는 국제학회 및 위원회(AMAP, PAME, UNEP, NySMAC)와 공유하여 국내 극지연구의 독창성 및 차별성 제고
- 북극으로 유입된 다양한 환경오염물질의 분포, 수준, 변환 특성 등을 파악하여 북극 수산자원에 대한 오염도 평가의 기초자료 제공



목 차

제출문	1
보고서 초록	2
요약문	3
목차	6
제 1 장. 연구의 필요성	8
제 1 절. 기술적 측면	8
제 2 절. 경제·산업적 측면	9
제 3 절. 사회·문화적 측면	10
제 2 장. 북극환경오염관련 연구동향	11
제 1 절. 얼음내 화학반응에 의한 오염물 독성증가_체코 마사릭 대학교 연구진	11
제 2 절. 얼음에서 급격하게 빨라지는 화학반응_일본 연구진	12
제 3 절. 극지방 대기조성의 변화_프랑스 CNRS 및 미국 퍼듀대	13
제 4 절. 얼음의 오염물 분해 작용_캐나다 토론토대 연구진	14
제 3 장 기존연구개발 실적	15
제 1 절. 얼음에서 향상된 산화물의 용출반응	15
제 2 절. 빙화학반응으로 유기오염물의 독성증가	16
제 3 절. 극지환경에서 독성증증속의 제거기작 규명	17
제 4 절. LC-HRMS기반 비표적스크리닝 분석법	18
제 5 절. 신규오염물질 분석을 위한 NTS 분석절차 제안	19
제 6 절. 신규오염물질 분석을 위한 NTS 분석절차 적용결과	20
제 4 장 KOPRI-NPI 북극 환경오염물질 공동연구주제 발굴	21
제 1 절. 북극환경오염물질의 거동연구	21

제 2 절. GC/Q-TOF에 기반한 비표적스크리닝 분석법 (Nontarget screening analysis, NTS)	24
제 3 절. LC-Orbitrap에 기반한 비표적스크리닝 분석법(Nontarget screening analysis, NTS)	74
제 4 절. 대양 및 극지환경에서의 미세플라스틱의 거동 및 동태에 대한 연구	94
제 5 절. 북극 환경내 수온의 생지화학 반응 연구	108
제 5 장 기대성과 및 활용방안	112
제 6 장 부 록	113
1. [부록 1] 중금속 연구관련 출판 논문	114
2. [부록 2] 중금속 제거관련 특허출원증	121



제 1 장. 연구의 필요성

제 1 절. 기술적 측면

- 대부분의 극지 환경오염물질 연구는 현장시료 채취와 분석 및 모니터링에 중심을 둔 거시적인 연구이므로 본 과제에서 수행하는 미시적 관점에서의 북극 환경오염물질 거동연구는 새롭고 독창적인 연구주제임
- 북극에 잔류하고 있는 유기화합물질들은 장거리기동이 가능하고 난분해성의 특성을 지니는 등 환경오염원으로서의 특성을 지니고 있으나, 이들에 대한 정보가 부족한 실정
- 북극에 존재하는 오염원의 경우, 대부분 극미량으로 존재하기 때문에, 이들에 대한 고정밀·고정확도 분석기술이 필요
- 북극 환경은 환경오염원들에 대한 다양한 물리·화학·생물학적 변환이 일어나는 곳으로, 이들에 대한 메커니즘 규명을 위해서는 transformation product에 대한 정성분석자료가 뒷받침 되어야 함
- 다양한 북극 시료를 보유하고 있고 오랜 기간 전통적인 북극환경오염물질을 모니터링을 해온 NPI 연구진의 경험과 노하우가 본 과제의 목표를 달성하는데 크게 기여할 것으로 예상됨

nature **COMMENT**

The impressive front of the Perito Moreno Glacier in southwest Argentina, part of the vast South American icefields.

Ten things we need to know about ice and snow

Understanding the molecular behaviour of frozen water is essential for predicting the future of our planet, says Thorsten Bartels-Rausch.



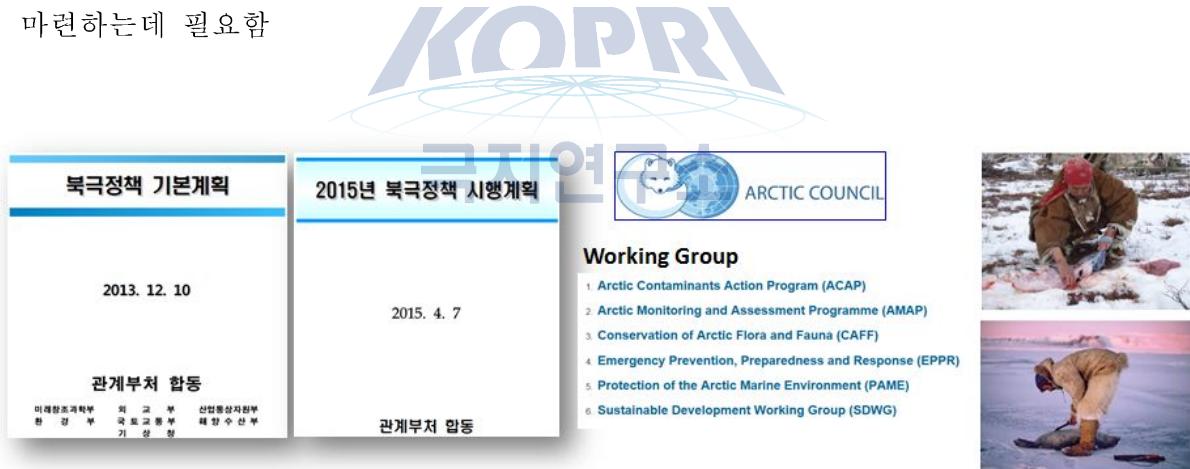
제 2 절. 경제 · 산업적 측면

- 북극으로 유입된 환경오염물질의 분포 및 수준을 파악하고 북극 얼음 매질에서 이들의 독성 증감여부를 확인하여 북극 수산자원에 대한 오염도 평가의 기초자료 제공
- 산업적으로 다양한 화학물질이 지속적으로 사용되고 있으나, 이러한 물질에 대한 극지방 내 분포와 관련된 연구는 매우 제한적임. 따라서 극지방에서의 유기오염원의 분포 및 농축 특성을 파악하여 유기화합물의 특성을 파악함이 필요
- 극지방 내에 존재하는 유기화합물의 특성을 파악한 후, 오염원의 특성에 따라 산업·정책적인 규제를 위한 기초자료를 제공함



제 3 절. 사회 · 문화적 측면

- 정부 “북극이사회 옵서버 진출(‘13.5)”, “북극정책 기본계획(‘13.12)” 및 “북극정책 시행계획(‘15.4)”등에 따른 후속 조치의 일환으로 북극이사회 산하 워킹그룹에 적극적으로 참여하고 북극권 국가와의 연구 협력 강화가 중요 이슈로 대두되고 있음
- 최근 선정된 북극이사회 정식옵저버 지위에 상응하는 북극환경 관련 연구를 통해 AMAP¹⁾/PAME²⁾ 및 SIOS³⁾에 적극적으로 참여하여 국제적 위상 제고
- UNEP 스톡홀름 조약 POPs 목록 개선 및 수은의 국제 규제에 필요한 기초자료를 제공하기 위해 북극에서 이들의 거동을 이해하는 것이 매우 중요함
- 극지방에서 일어나는 독특한 화학반응으로 인해 변형된 환경오염 물질들 및 최근 새롭게 발생되고 있는 오염물질들이 북극 생물 및 수산자원에 농축되어 이를 섭취하는 북극원주민 및 수입국 사람들에게 미치는 영향을 예측하고 대응책을 마련하는데 필요함

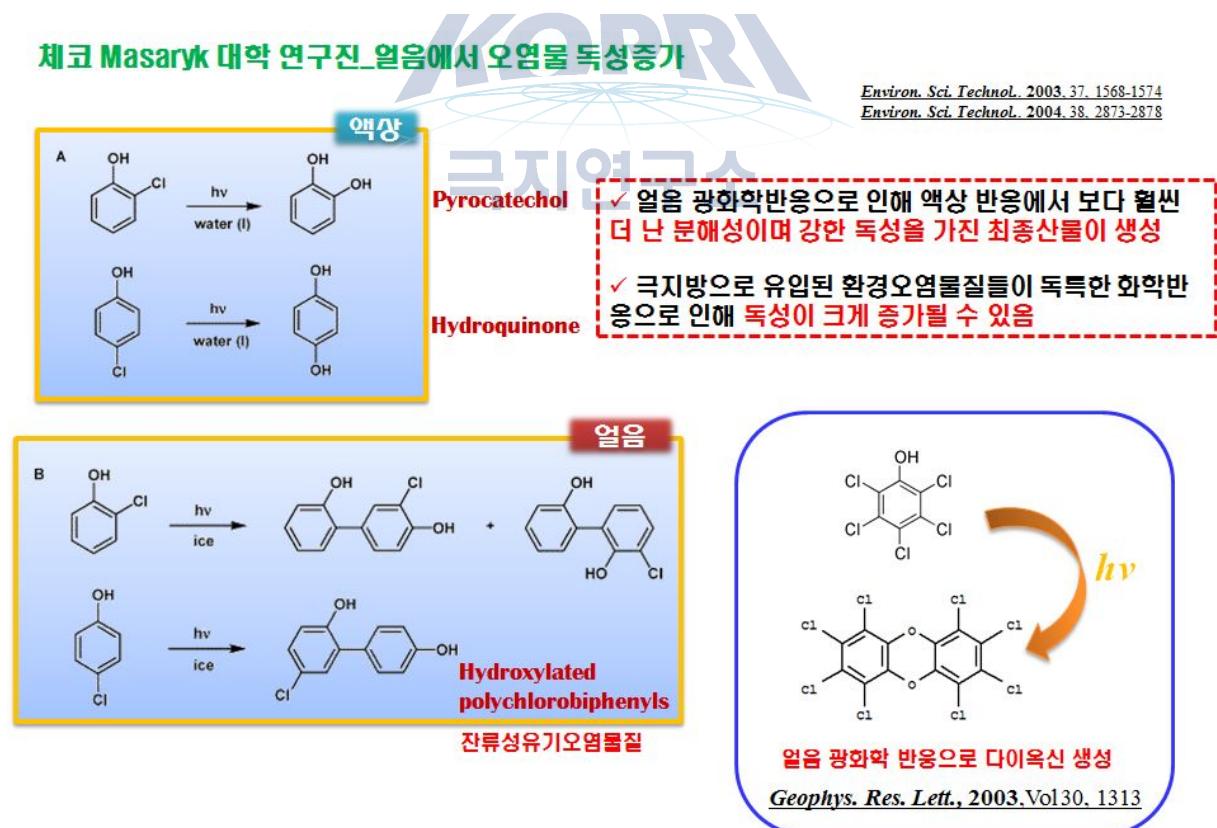


-
- 1) AMAP (Arctic Monitoring and Assessment Programme) : 북극이사회 산하 6개의 워킹그룹중의 하나로 북극 환경오염물질을 지속적으로 모니터링 및 평가하여 오염물질 규제 법제화의 기초자료를 제공
 - 2) PAME (Protection of the Arctic Marine Environment) : 북극이사회산하 6개의 워킹그룹중의 하나로 북극 해양환경보호에관한 이슈를 다루고 있음.
 - 3) SIOS (Svalbard Integrated Arctic Earth Observing System) : 노르웨이 등 28개국이 참여하여 스발바르 전역을 대상으로 수행하는 지질/환경/해양생태계등 협력연구

제 2 장. 북극환경오염관련 연구동향

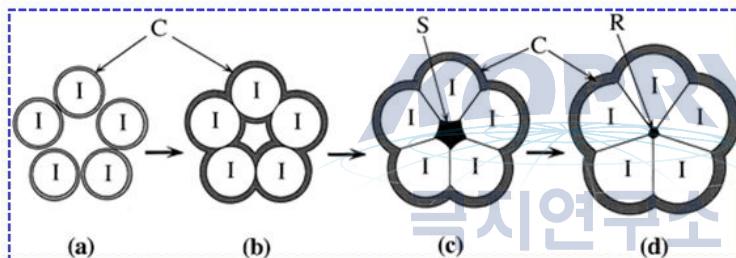
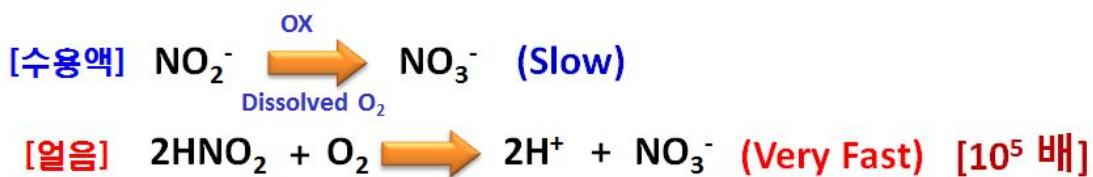
제 1 절. 얼음내 화학반응에 의한 오염물 독성증가 _체코 마사릭 대학교 연구진

체코 마사릭대학교 Petr Klan 연구진은 얼음에서 일어나는 화학반응이 액상 및 기상과 다른 반응속도 및 경로를 따르며 광화학반응의 최종 생성물이 액상의 최종 생성물보다 더 난분해성이며 강한 독성을 가질 수 있다는 것을 최초로 실험을 통해서 증명하였다. 이러한 얼음에서 일어나는 오염물질의 독성변화가 실제로 극지 환경에서 일어나는지를 증명하기 위해서 북극 니알슨 과학기지촌에서 현장실험을 수행하였으며 그 결과 실제로 얼음에서의 독특한 광화학 반응으로 인해 더 독성이 강하고 난분해성인 오염물질이 생성되는 것을 확인하였다.



제 2 절. 얼음에서 급격하게 빨라지는 화학반응_일본 연구진

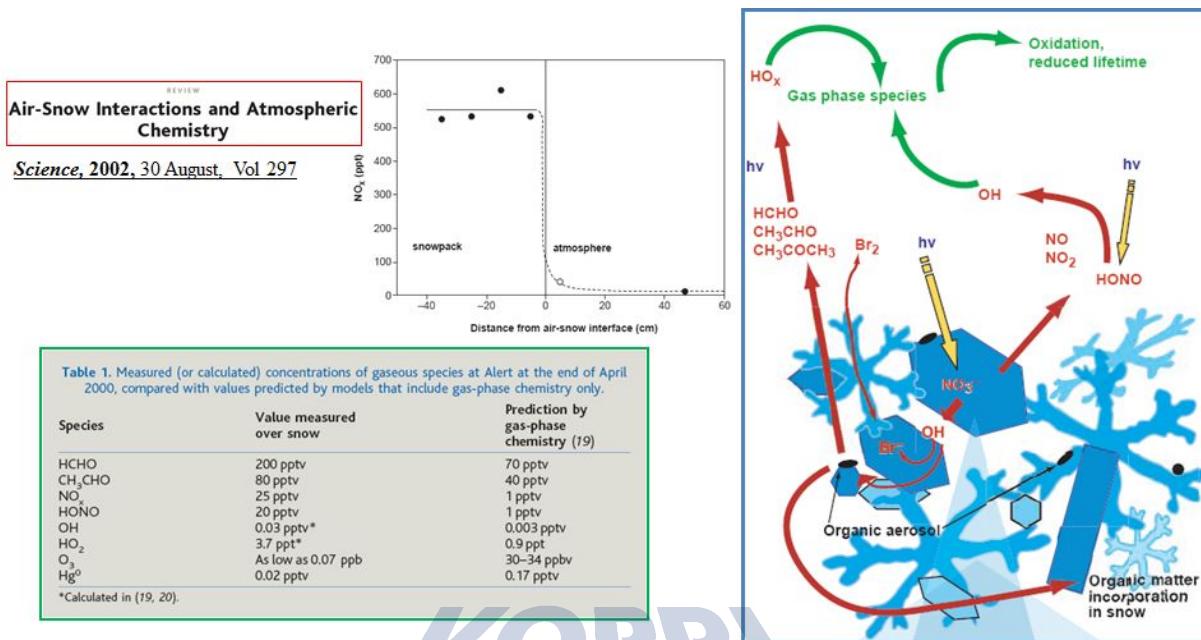
일본 Normichi Takenaka 연구그룹은 액상에서 매우 느리게 진행되는 산소에 의한 nitrite(NO_2^-)이온의 산화반응(nitrate로 산화됨)이 동결로 인해 약 10만배 가량 빨라지는 것을 최초로 실험을 통해 증명하였다. 얼음에서 급격하게 빨라진 nitrite 이온의 산화반응은 동결농축효과에 의해 높아진 수소이온의 농도(pH 강하) 및 용존 산소의 농도 때문이라고 설명하였다.



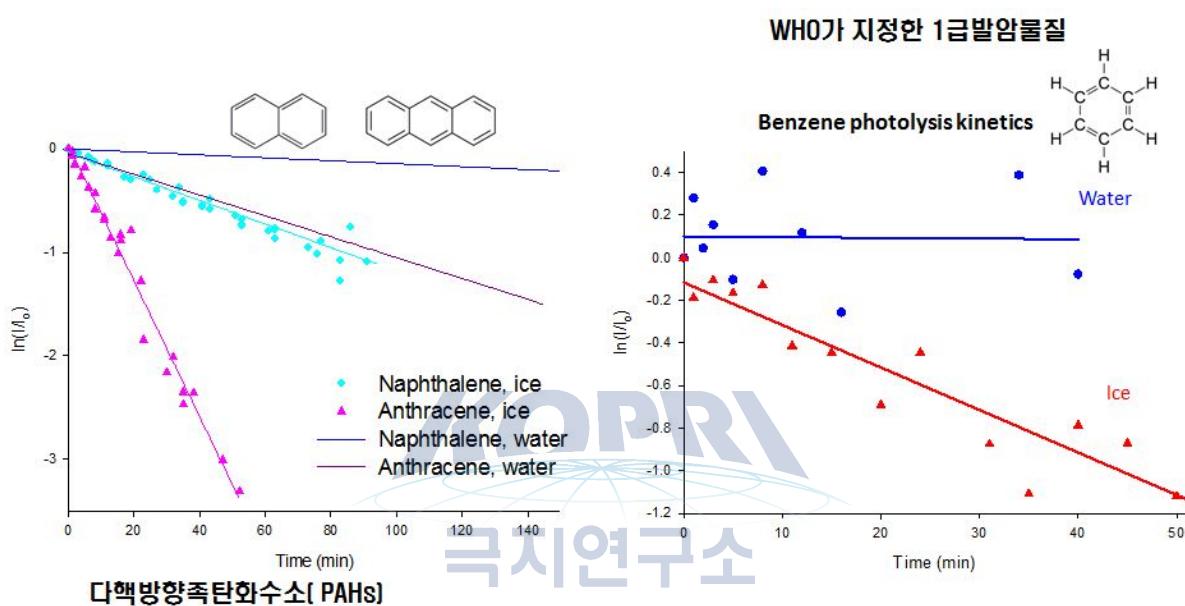
얼음결정이 형성되면서 동결농축효과에 의해 낮아진 pH($\text{NO}_2 \rightarrow \text{HNO}_2$)와 농축된 산소의 농도가 반응속도 증가의 원인!

Illustrative elucidation of acceleration mechanism by freezing. Only five single ice crystals are depicted for simplicity. I, single crystal of ice; C, concentrated phase; S, solution confined in the solution surrounded by walls of ice grains; R, concentrated solution in which the reaction is accelerated.

제 3 절. 극지방 대기조성의 변화_프랑스 CNRS 및 미국 퍼듀대



제 4 절. 얼음의 오염물 분해 작용_캐나다 토론토대 연구진



제 3 장. 기존연구개발 실적

제 1 절. 얼음에서 향상된 산화물의 용출반응

생물의 생장에 필요한 산화 철과 산화 망간의 용출반응이 극지 환경에서 생물이 이용하기 쉬운 형태로 빠르게 변화됨을 밝힘으로 극지방 얼음의 역할을 재조명 함 (*Environ. Sci. Technol.* 2010, 44, 4142-4148; *Science* Editors' Choice 2010, 328, 1077; *Atmos. Chem. Phys.*, 2012, 12, 11125-11133; *Environ. Sci. Technol.* 2012, 46, 13160-13166, *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49, 12816-12822)

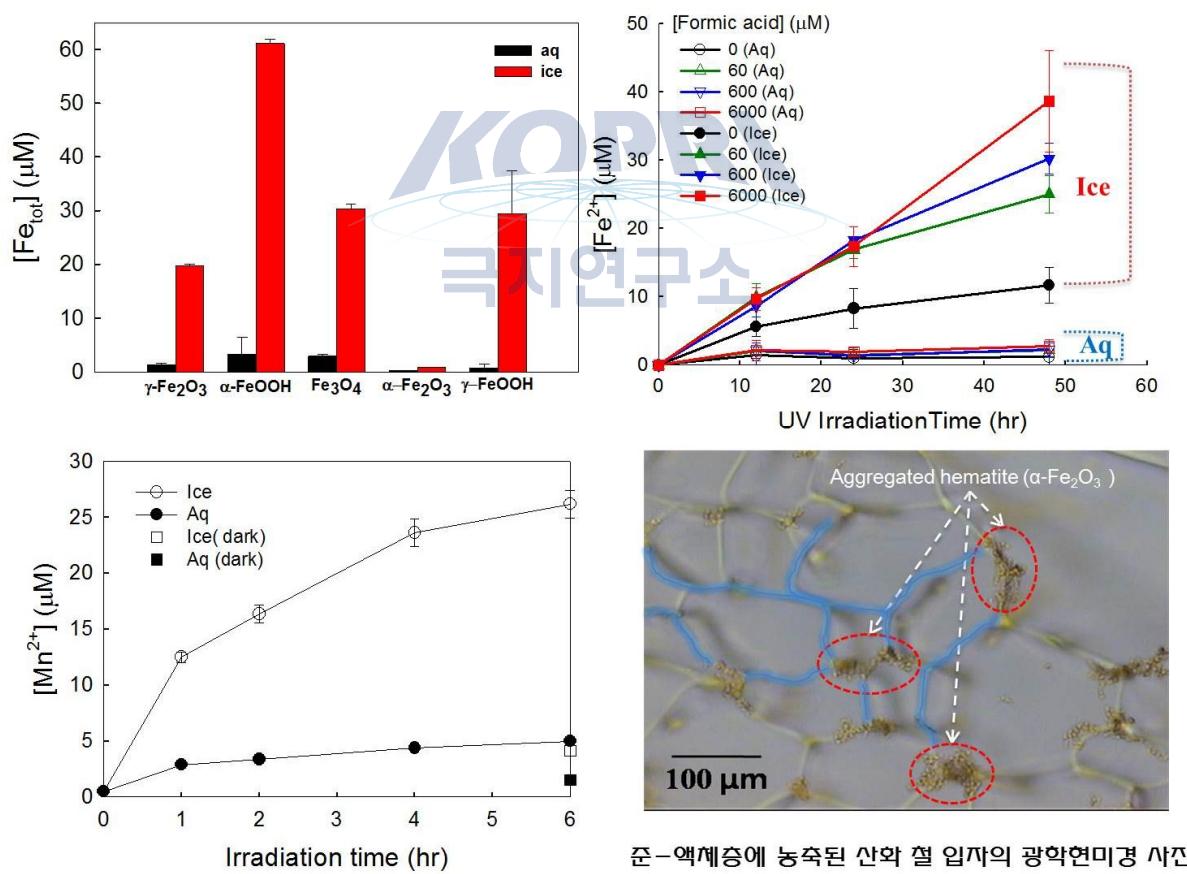


그림 XX얼음 내에서 향상된 산화 철 및 산화 망간의 용출반응 실험결과

제 2 절. 빙화학반응으로 유기오염물의 독성증가

일반 오염물질인 폐놀계 물질이 얼음 내에서 일어나는 독특한 화학반응으로 인해 매우 독성이 강한 잔류성유기오염물질(POPs)인 다이옥신 류로 변환됨을 실험을 통해 증명함.

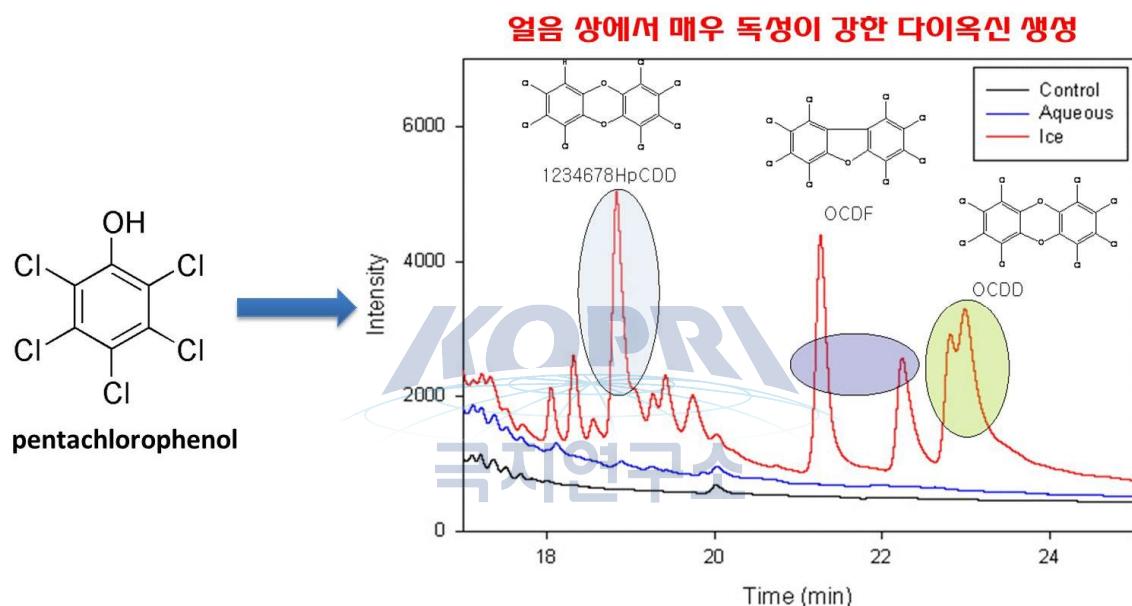
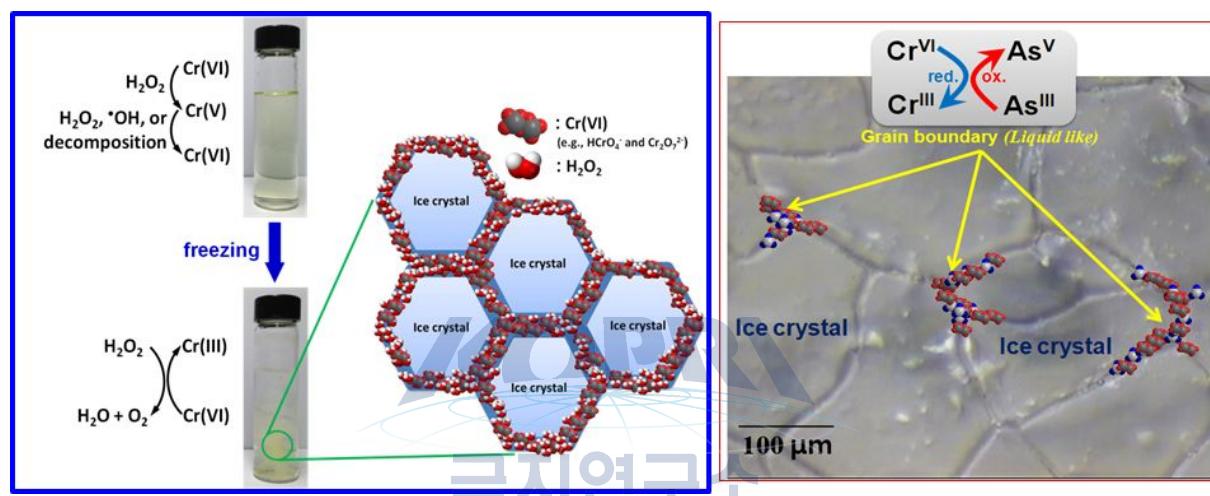


그림 XX) Pentachlorophenol의 얼음 내 광화학 반응으로 인한 다이옥신 생성반응

제 3 절. 극지환경에서 독성중금속의 제거기작 규명

크롬과 비소와 같은 독성 중금속들이 동결로 인해 독성이 약한 상태로 변형됨을 밝힘으로 극지방이 오염물을 자연적으로 정화하는 역할을 할 수 있음을 최초로 보고함
(*Environ. Sci. Technol.*, 2011, 45, 2202-2208; *Environ. Sci. Technol.*, 2015, 49, 10937-10944)



제 4 절. LC-HRMS기반 비표적스크리닝 분석법

LC-HRMS 기반 target/suspect/nontarget screening 기법을 이용한 미량오염물질 대사체(biotransformation products) 분석 및 대사경로 제시 (*Environ. Sci. Technol., 2014, 48, 2097-2098; Chem. Res. Toxicol. 2013, 26, 313-324; Anal. Bioanal. Chem. 2010, 397, 943-51; Environ. Sci. Technol., 2009, 43, 7039-7046*)

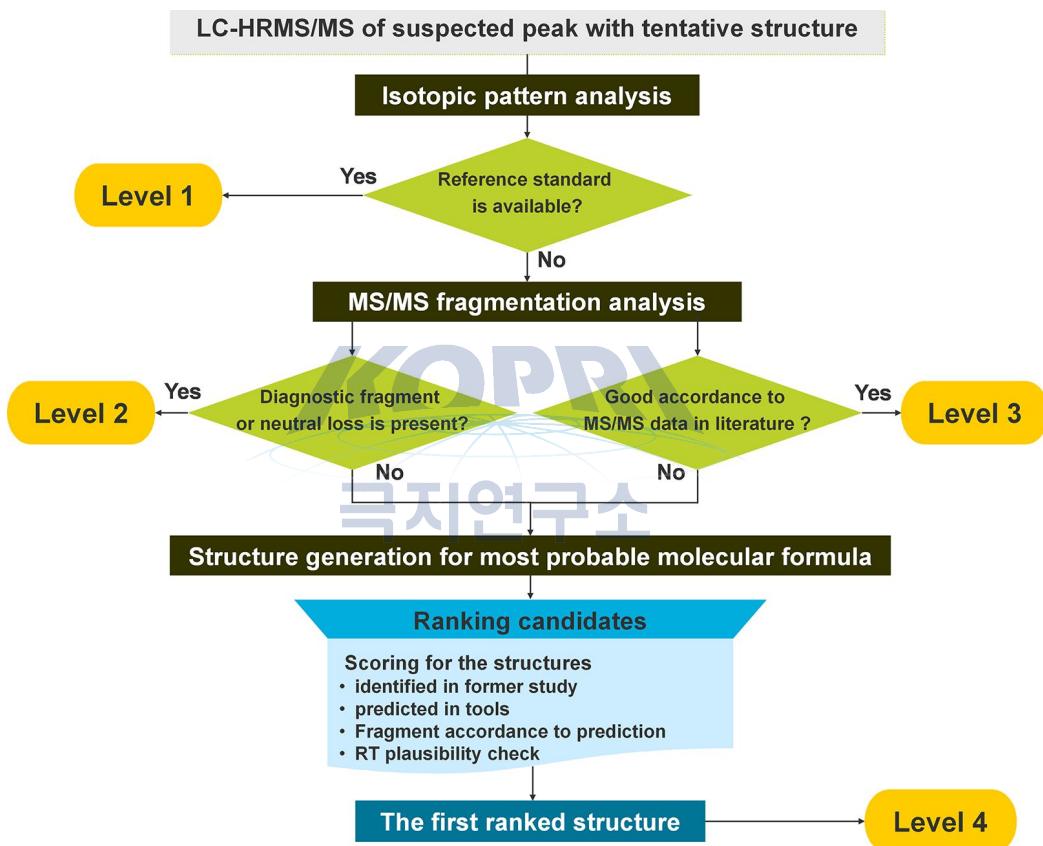


그림4) LC-HRMS를 이용한 미량오염물질 대사체 분석 및 대사경로 흐름도

제 5 절. 신규오염물질 분석을 위한 NTS 분석절차 제안

신규오염물질 및 TP 분석을 위한 target/nontarget screening 분석절차 제안
(*Trends in Analytical Chemistry* 2015, 66, 32-44)

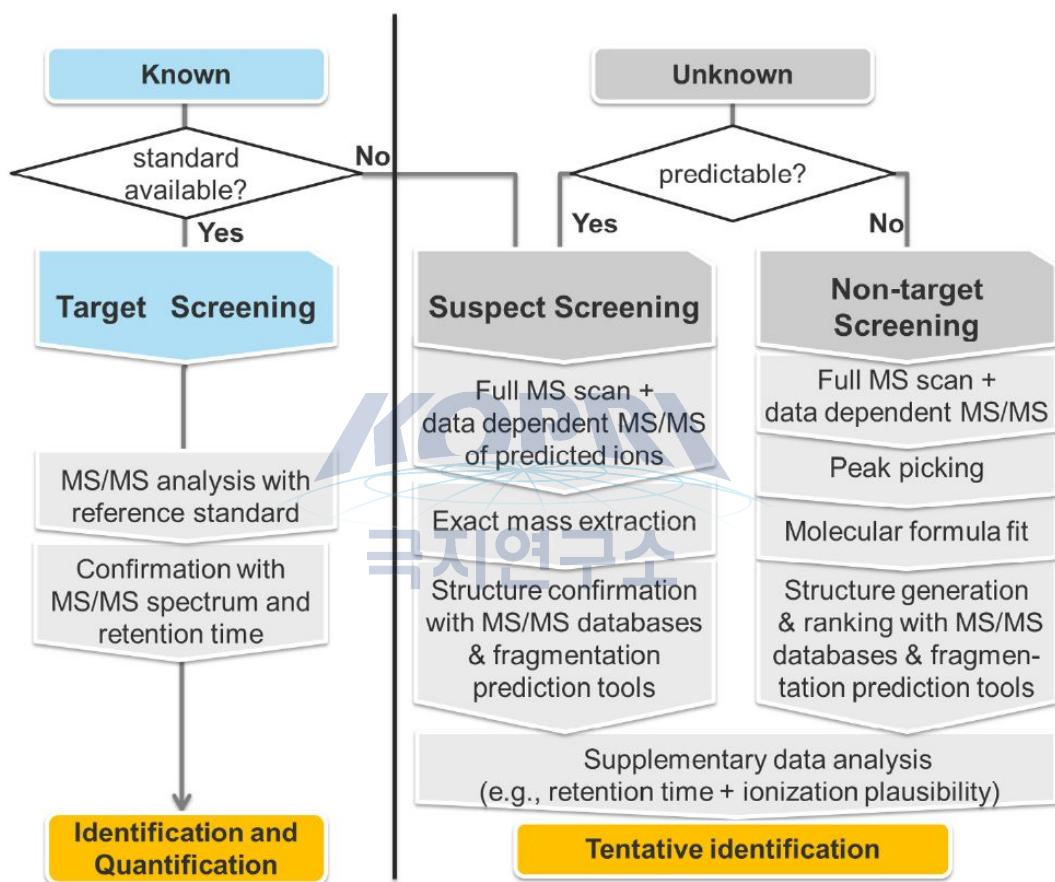


그림 5) Target/suspect/nontarget screening 분석절차 흐름도

제 6 절. 신규오염물질 분석을 위한 NTS 분석절차 적용결과

신규오염물질 및 미지물질 분석을 위한 target/non-target screening analysis 분석절차 제안 및 해양시료(해수, 퇴적물, 생물)에 대한 적용 결과 (투고 준비 중)

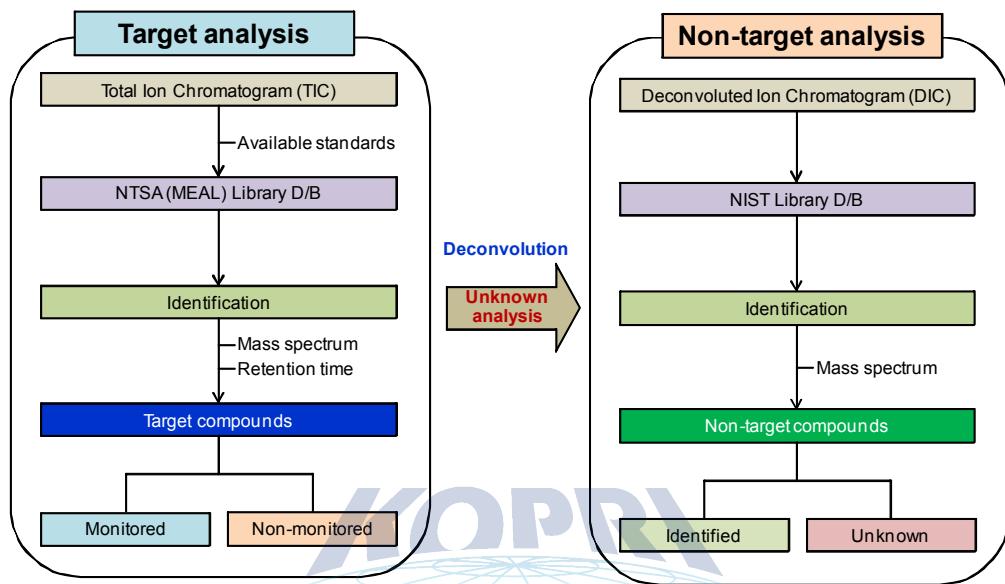


그림 6) 신규오염물질 및 미지물질 분석을 위한 Target/Non-target analysis 분석절차 흐름도

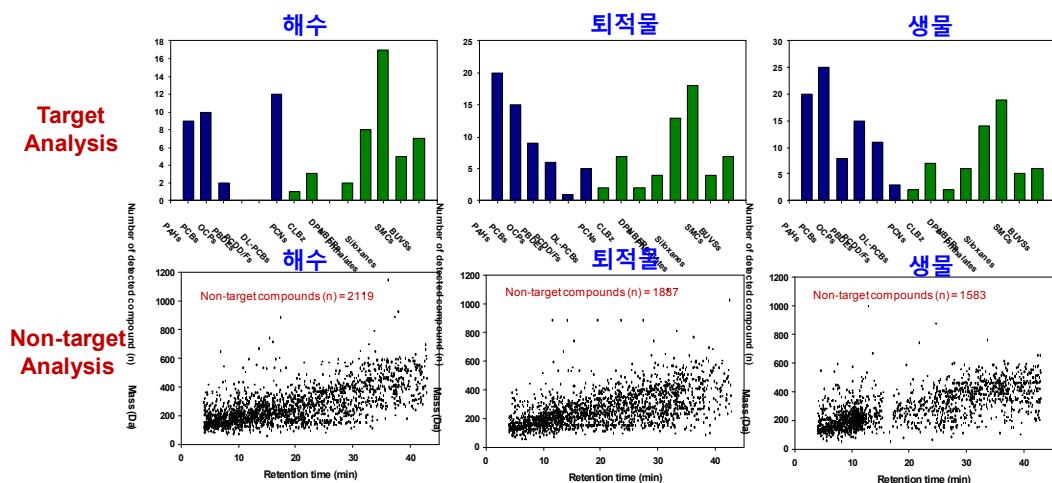


그림 7) 해양시료에 적용한 NTS에 의해 도출된 Target/Non-target 물질 결과

제 4 장. KOPRI-NPI 북극 환경오염물질 공동연구주제 발굴

제 1 절. 북극환경오염물질의 거동연구

1. 연구개발목표

- 북극 환경오염물질의 화학적 변화 메카니즘 규명

2. 연구내용

- 북극 환경오염물질 거동연구를 위한 북극환경모사 시스템 보완 및 최적화
- 북극환경모사 시스템을 기반으로 북극에 존재하는 유기오염물 및 중금속의 화학적 변화 메카니즘 규명
- 비표적스크리닝 분석법(NTSA)을 통해 분석된 북극 신규환경오염물질의 얼음내 변환 변환 메카니즘 규명



3. 수행방법

- 현재 북극에서 문제시되고 있는 환경오염물질을 중심으로 액상과 얼음상에서 일어나는 오염물의 화학적 변환 실험 수행
- 본 연구진이 고안한 얼음 (광)화학 반응기 (ice model system)를 바탕으로 북극 환경모사 시스템 보완 및 최적화
- 적정 농도의 환경오염물질을 첨가한 수용액이 담긴 석영시험관 (12×120 mm)을 에탄올을 냉매로 사용하는 순환형 저온 냉각조(-20°C)에 담구어 일정 시간 동안 얼린 후 실험을 수행
- 얼음 광화학 반응인 경우에는 동일하게 준비한 후 반응기 중간에 램프를 삽입함으로써 광화학 반응을 수행 (태양광과 비슷한 광 조사 환경을 만들어 주기 위해 300 nm 파장 이하의 빛을 pyrex jacket 으로 차단)
- 액상에서의 실험은 순환형 저온냉각조의 온도를 상온(25°C)에 고정시킨 후,

동일한 방법으로 실험을 수행

- 일정한 시간 동안 화학 반응 혹은 광화학 반응 후 얼음을 상온에서 녹여 얻은 액상 시료를 가지고 분석
- 환경오염물질의 종류와 특성에 따라 반응 후 생성물들을 HPLC, GC/ECD, GC/MS, LC/MS, NMR, IC, UV/vis spectrophotometer 등의 분석 장비를 이용하여 분석
- 실험실에서 수행된 연구결과를 바탕으로 하계철 북극 다산기지를 방문해 북극현장조건에서 북극환경오염물질의 화학적 변환 현장실험 수행
- 분석결과를 바탕으로 북극환경오염물질 화학적 변화 메커니즘 규명
- 연구결과를 바탕으로 지구온난화로 인해 북극 얼음에 존재하던 오염물이 생태계에 노출될 경우 환경독성 및 영향을 NPI 연구진과 공동 도출



4. 기대성과 및 활용방안

- 북극 다양한 얼음 매질에서 일어나는 환경오염물질의 거동을 미시적 관점에서 연구함으로 새로운 극지기초과학 연구분야를 선도하고 이로 인해 극지 환경오염물질 연구분야에서 KOPRI의 국제적 위상 제고
- 환경오염물질 변환 특이성 관련 북극현장 및 실험실 기초실험결과는

국제학회 및 위원회(AMAP, PAME, UNEP, NySMAC)와 공유하여 법적제제를 위한
기초자료 제공



제 2 절. GC/Q-TOF에 기반한 비표적스크리닝 분석법 (Nontarget screening analysis, NTS)

1. 연구의 배경, 필요성 및 목적

1.1. 연구 배경

우리나라 국민의 경우 전 세계적으로 보았을 때, 평균적으로 다량의 수산물을 섭취하고 있다(그림 1). 수산물을 통한 단백질 섭취량의 경우 전 세계 평균이 6.5%인데 반하여 우리나라 국민의 경우 17.5%로 높은 비율을 차지하고 있다(FAO, 2010). 이러한 높은 수산물 섭취와 수산물을 이용한 단백질 섭취율 증가는 결국 우리나라에서 생산되는 수산물의 수요 및 중요성이 점차 높아진다고 볼 수 있다.

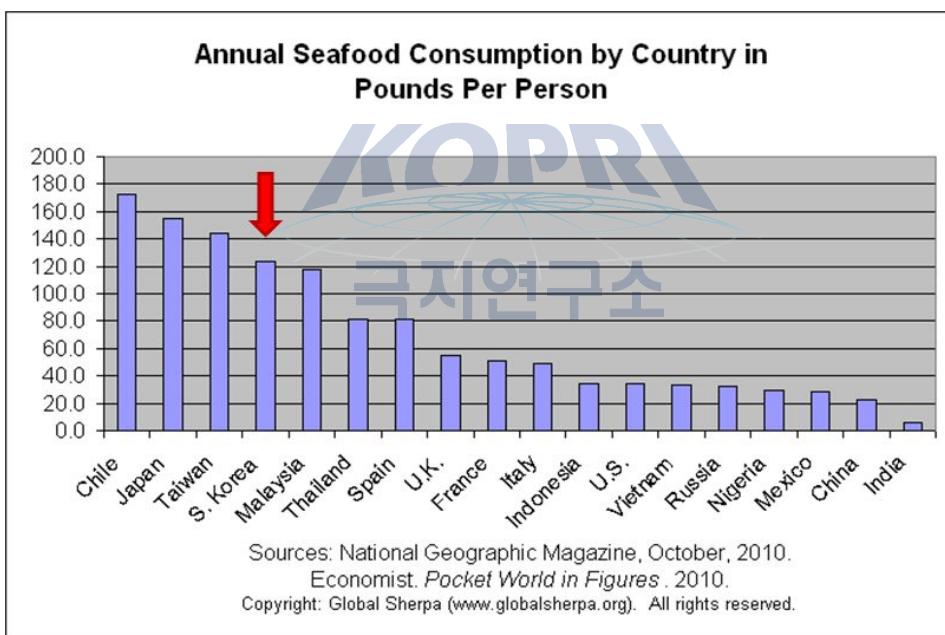


그림 1. 국가별 1인당 연간 수산물 섭취량.

지속적인 산업화와 신규 화학물질의 개발을 통해 생성된 다양한 종류의 유해화학물질이 대기, 강, 하수처리장 등을 통하여 해양으로 유입되고 있다. 해양환경으로 유입된 유해화학물질은 해수, 퇴적물에 잔류하거나 해양생물에 장기간 축적되어 영향을 주게 되며, 수산물 섭취를 통하여 인체에 노출되어 다양한 종류의 독성학적 영향을 일으킨다. 이러한 문제점은 다양한 신문기사를 통해서도 확인할 수 있는데, 수산물에서의

중금속류, 항생제류, 농약류, 기타 유류사고로 인한 오염 등으로 인하여 우리나라 국민이 섭취하는 수산물에서 유해화학물질이 검출되거나 높은 농도로 잔류하는 결과를 보이고 있다(그림 2). 이러한 결과는 우리나라 국민이 안전한 수산물을 섭취하지 못하고, 수산물 섭취에 대한 국민의 불안을 가중시키는 작용을 하고 있다.

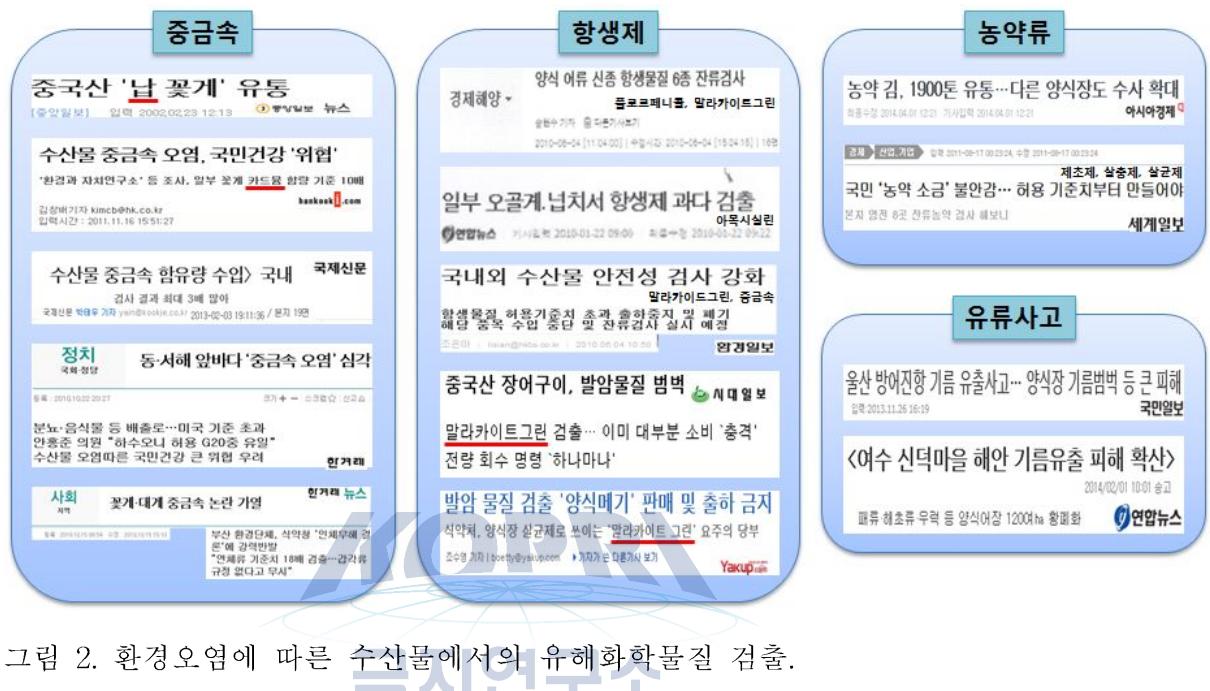


그림 2. 환경오염에 따른 수산물에서의 유해화학물질 검출.

현재까지 보고된 POPs에 의한 인체노출의 주요 경로는 해양으로부터 유래한 수산물 섭취(seafood consumption)로 알려져 있다(Domingo and Bocio, 2007; Moon and Choi, 2009). 특히, POPs 물질은 해양으로 유입되어 해수 중 그 농도가 매우 낮더라도 먹이망을 통하여 생물확대(biomagnification) 되기 때문에, 상위 포식자인 고등어, 참치, 갈치 등은 매우 높은 POPs 함유량을 보이는 특성을 가지고 있다. 따라서 일반 국민들의 건강과 POPs로 인해 발생할 수 있는 다양한 독성학적 영향을 고려하더라도, POPs로부터 해양환경을 보전하는 것은 매우 중요하며, 해양 환경에 잔류하는 POPs를 정확하게 모니터링 하는 것은 매우 중요하다.

해양생태계에서 유해화학물질의 검출은 먹이사슬을 통한

생물확대(biomagnification)으로 연결되어, 최종적으로 인간에게 수산물 섭취의 노출경로에 의해 독성학적인 영향을 주게 된다. 본 연구진이 수행한 우리나라 국민의 수산물 섭취에 의한 PCBs 및 유기염소계 농약류의 (비)발암 위험도 평가에 대한 결과를 보면(그림 3), 우리나라 국민 전 연령에서 수산물 섭취만으로도 수산물에 축적된 PCBs 및 유기염소계 농약류에 의해 암을 발생할 수 있는 연구결과가 도출되었다.

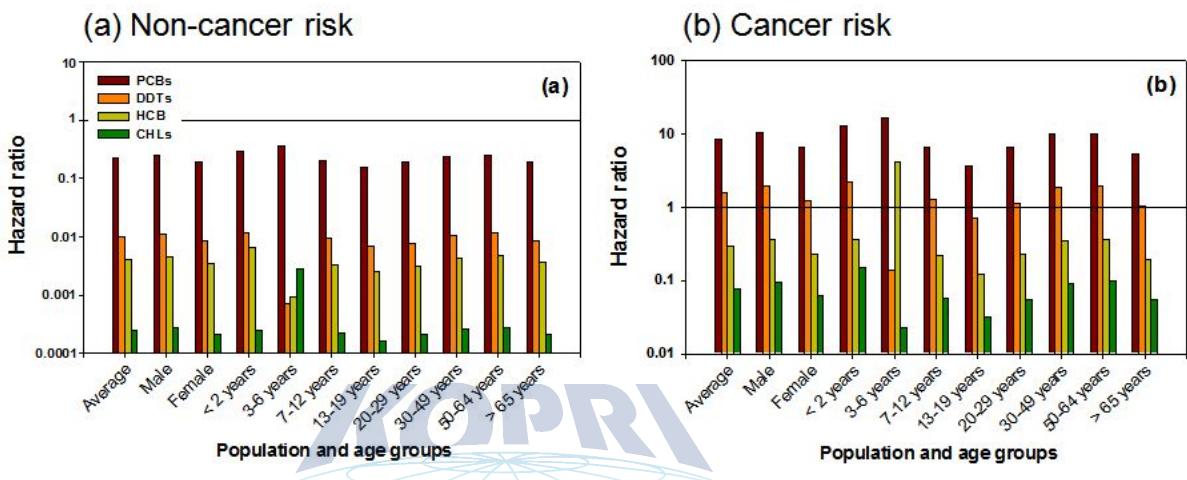


그림 3. 수산물 섭취에 의한 OCs의 (비)발암 위험도 평가.

따라서 유해화학물질에 대한 현재의 오염실태, 발생원 조사, 생태학적 위험도 평가를 통한 위해도를 결정하여 해역별, 오염물질별, 발생원별 적절한 위해도 관리 프로그램이 필요하다. 그러나, 급증하는 다양한 유해화학물질에 대한 정보가 부족하여 어떤 물질에 대한 모니터링 프로그램이 필요한지, 그 우선순위를 정하는 것은 매우 어려운 일이며, 국가에서는 이에 대한 기반 연구를 진행하여 많은 연구자들이 이용할 수 있는 환경과 정보를 제공해야 한다. 이러한 측면에서 국가가 기본적으로 해야 할 일은 해양환경 중 어장환경에 존재하는 유해화학물질에 대한 우선 모니터링 대상물질을 선정하고 관리하는 프로그램을 수행하는 것이다. 결과적으로 수산물 섭취에 대한 국민 불안감을 해소하고 수산물의 안전성이 확보될 것이다.

1.2. 연구의 필요성

우리나라 수산물에 대한 유해화학물질 모니터링이 수행되고 있으나, 대상 물질이 잔류성유기오염물질(POPs)과 중금속 등으로 제한되어 있으며, 최근 급증하는 다양한

종류의 화학물질을 고려할 때 수산물에 대한 모니터링 대상 물질의 추가 등이 필요하다. 전 세계 화학정보 데이터베이스를 관리하는 CAS(Chemical Abstract Service)에 따르면 2015년 현재 1억 종 이상의 화학물질이 존재하고 있다(그림 4).

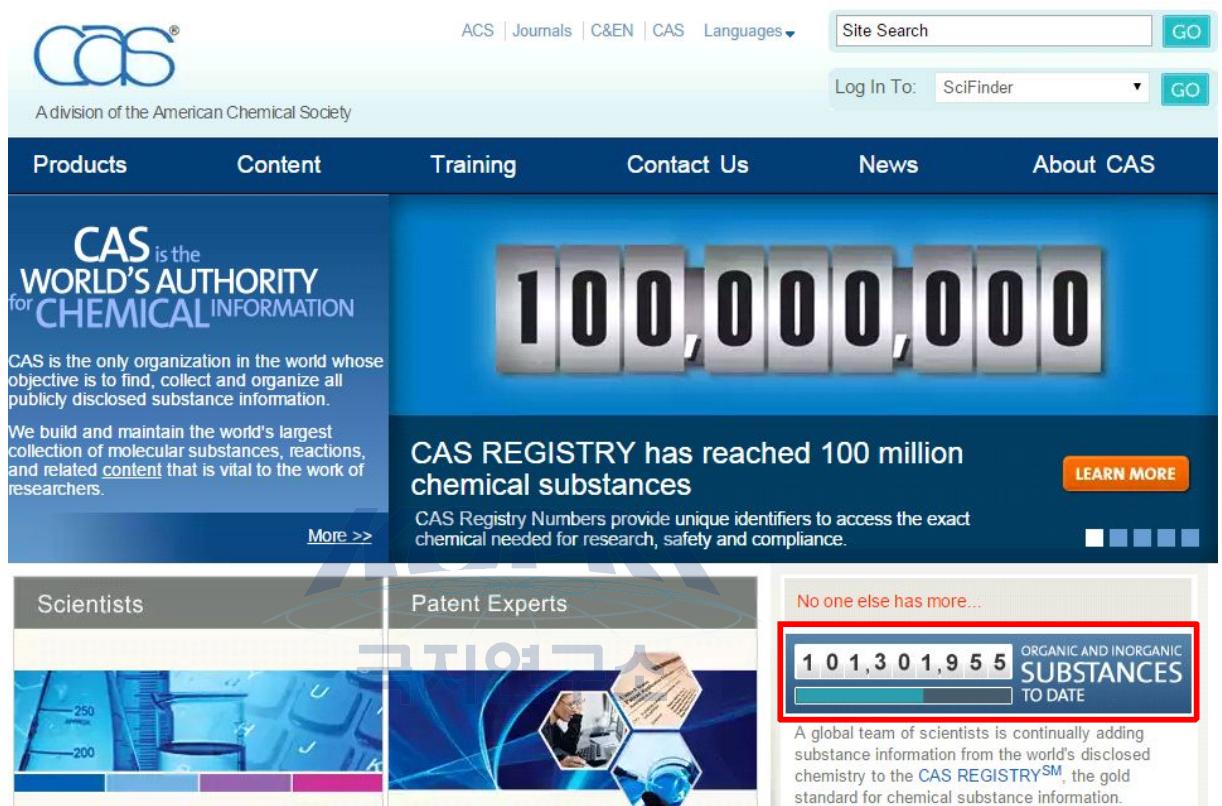


그림 4. CAS에 등록된 화학물질의 수.

이와 같이 인간은 지속적으로 화학물질을 개발하고 사용하고 있으며, 우리나라의 경우 2010년 수행된 화학물질 유통량 조사결과(환경부, 2012)를 참조하면 보고된 물질의 수만 15,840종으로 다양한 종류의 화학물질이 사용되고 있다(표 1).

표 1. 연도별 화학물질 유통량 조사 현황

구분	1차	2차	3차	4차
조사대상 연도	1998년	2002년	2006년	2010년
조사대상 업종	28업종	31업종	37업종	41업종
조사기준 량	단일물질 100kg 혼합물질 100kg		단일물질 100kg 혼합물질 1톤	
보고물질 수*	8,030종	9,358종	14,607종	15,840종
보고업체 수	13,052개	13,773개	16,404개	16,547개

*보고물질수: 물질명과 CAS No. 모두 확인된 물질을 기준으로 계산

그러나 다양한 종류의 화학물질을 사용하고 있음에도 불구하고, 국가차원에서
어장환경에 대하여 모니터링을 수행하고 있는 유해화학물질은
잔류성유기오염물질(POPs)과 일부 항생제에 불과하다. 따라서 최근 급증하는 다양한
유해물질에 대한 대응 방안이 부족한 실정이다. 수산물에 잔류하는 다양한 종류의
유해화학물질의 잔류실태를 파악하고, 수산물 관리를 위한 우선 모니터링 대상물질의
선정은 필수적이다. 우선 모니터링 대상물질의 선정은 최신의 과학적인 방법에 근거하여
진행되어야 하며, 수산물 유해화학물질의 축적에 영향을 미치는 환경인자(해수, 퇴적물)에
대한 동시 분석도 필요하다.

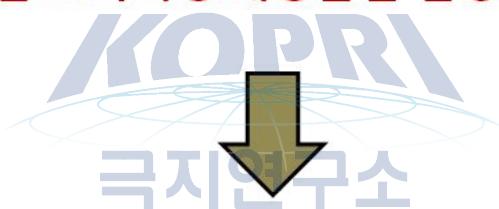
1.3. 연구의 목적

최근 신규 오염물질 모니터링 우선순위를 선정하기 위해 사용되는 비표적 스크리닝 분석법(Non-target screening analysis, NTSA)은 기체크로마토그래피/사중극자-비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용하여 수행되고 있으며, 생물의 경우 대상물질의 대사체(metabolites)까지 포함하는 광범위한 연구가 진행되고 있다.

본 과제에서는 수산물 섭취에 대한 국민 불안감을 해소하고, 안전성을 확보하기 위하여 최신의 분석방법인 GC/Q-TOF를 이용한 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)에 근거한 수산물 우선 모니터링 대상물질 선정 방법론을 개발하고자 한다(그림 5).

수산물 섭취에 대한 국민 불안감을 해소 및 안전성 확보를 위한

수산물 우선 모니터링 대상물질 선정 방법론 개발



GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 개발 및
절차서 작성

그림 5. 연구 목적.

2. 국내·외 사례

○ NTSA 기법은 유해화학물질의 우선 모니터링 대상물질 선정을 위한 방법론으로 사용할 수 있을 뿐만 아니라 유기오염물질의 거동 및 대사체 연구를 포함한 다양한 연구 목적으로 사용할 수 있는 최신의 연구 기법이다. 그러나 국내에서는 NTSA기법을 활용한 연구가 매우 제한적이다. 국외의 경우에도 일부 그룹에서 비행시간질량분석기(TOF)를 활용하여 non-target screening 연구를 진행하고 있다.

○ 아래 표 2에 국외에서 진행되고 있는 비행시간질량분석기(TOF)를 활용한 non-target screening분석에 대한 연구를 정리하였다.

○ Cervera et al. (2012)는 기체크로마토그래피/비행시간질량분석기(GC/TOF)를 이용하여 시중에 판매하는 과일 및 채소에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 물질로는 55종의 농약류에 대해서 진행하였으며, 시료 전처리에는 QuEChERS방법을 사용하였으며, 추출에 사용한 용매는 acetonitrile을 이용하였다. 대상 물질에 대한 library작업을 먼저 진행한 후, NTSA를 수행하였다. Non-target contaminant 였던 PAHs류에 대하여 디컨볼류션(deconvolution) 기법을 활용하여 채소 중에서 검출하였고 기타 농약류에 대한 스크리닝도 진행하였다.

○ Casado et al. (2013)는 기체크로마토그래피/사중극자 비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용하여 슬러지 시료에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 물질로는 9종의 자외선차단제(BUVSs)에 대해서 진행하였으며, 시료 전처리에는 MSPD방법을 사용하였다. 분석방법의 정도관리를 평가하기 위하여 다양한 용매를 이용하여 추출 및 정제를 진행하여 실험을 진행한 후, NTSA를 수행하였다. BUVSs의 대사체에 대한 non-target contaminants를 검출하였다.

○ Diaz et al. (2013)는 액체크로마토그래피/사중극자 비행시간질량분석기(UHPLC/Q-TOF)를 이용하여 하수, 인체 소변, 음식 시료에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 화합물로는 다양한 유기화합물과 금지된 약물류 등에 대하여 수행하였으며, 시료 전처리에는 HLB카트리지를 이용한 고상추출법(SPE)을 사용하여 추출 및 정제를 진행하였다. 전체적인 NTSA를 진행하기 위한 절차도를 아래 그림 6와 같이 나타내어 진행하였다. 전처리된 시료는 Post-target, Non-target screening으로 나뉘어 자료를 해석하였다. 디컨볼류션기법을 적용하였고 검출된 물질에 대해서는 정성자료를 목록화 하였다. 상용화된 표준물질이 있는 경우

NTSA를 통해 파악된 물질에 대하여 직접 확인하였고, Non-target contaminants의 경우 목록화 검색등을 통해서 대상물질을 규명하는 작업을 수행하였다.

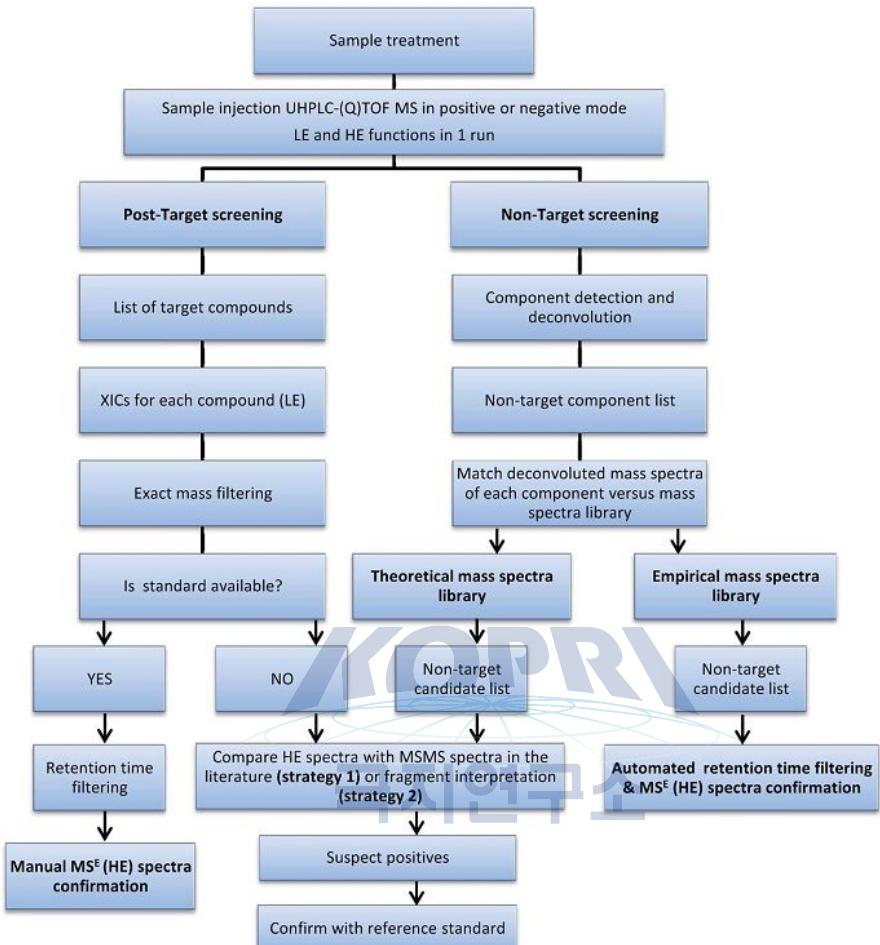


그림 6. 전체적인 스크리닝 방법의 절차도(Diaz et al., 2012).

○ Hernandez et al. (2007)는 기체크로마토그래피/비행시간질량분석기(GC/TOF)를 이용하여 표층수, 지하수, 하수시료에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 화합물로는 농약류, 폐놀류, Pentachlorobenzenes, PAHs 등 총 60여종에 대하여 수행하였다. 시료 전처리에는 SPME 방식을 사용하여 추출을 진행하였다. 분석방법의 정도관리를 평가하기 위하여 다양한 fiber를 이용하여 추출 및 정제를 진행하여 실험을 진행한 후, 60여종의 화합물에 대한 정성정보 목록화를 진행하였다.

○ Muller et al. (2011)는 액체크로마토그래피/사중극자비행시간질량분석기(HPLC/Q-TOF)를 이용하여 지하수 및 정수 시설에서 처리된 물시료에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 시료 전처리에는 Isolute ENV+카트리지를 이용한 고상추출법(SPE)을 사용하여 추출 및 정제를 진행하였다. NTSA기법을 적용하여 채취한 물시료에 대해서 아래 그림 7과 같이 Non-target screening을 진행하였다. 시간 및 장소를 다르게 채취한 물시료에 대하여 진행하였으며(그림 8), 유해화학물질의 발생원을 추적하는 목적으로 NTSA기법을 활용하였다.

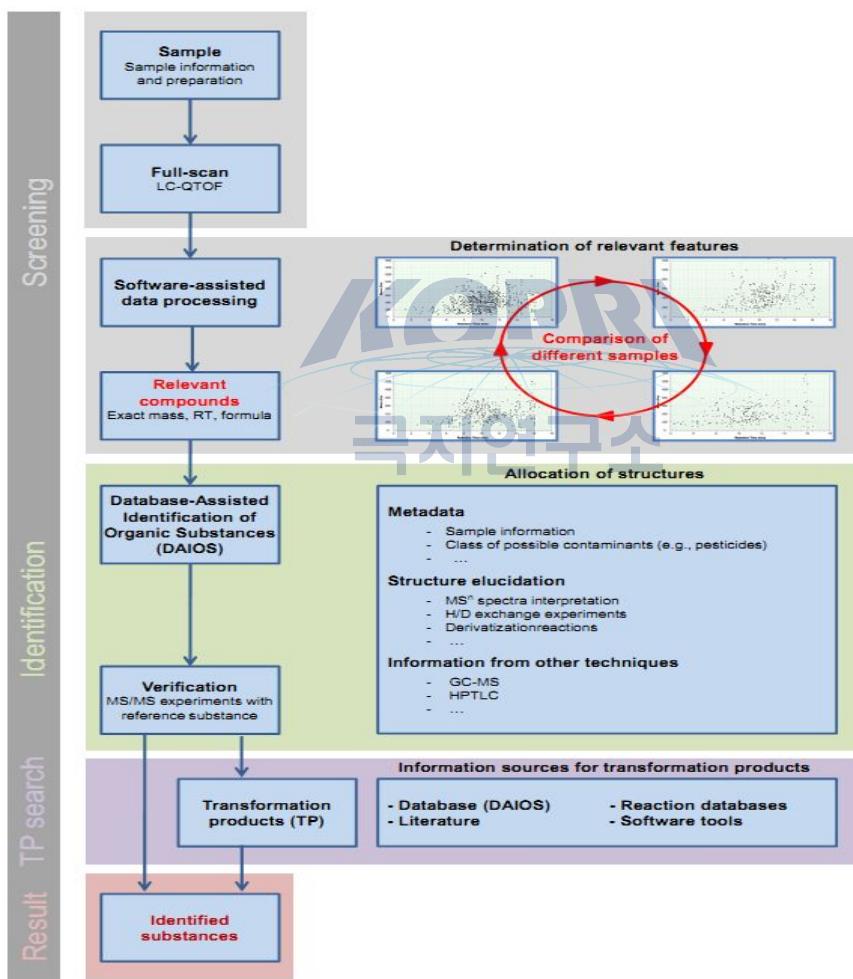


그림 7. Non-target screening을 위한 절차도(Muller et al., 2011).

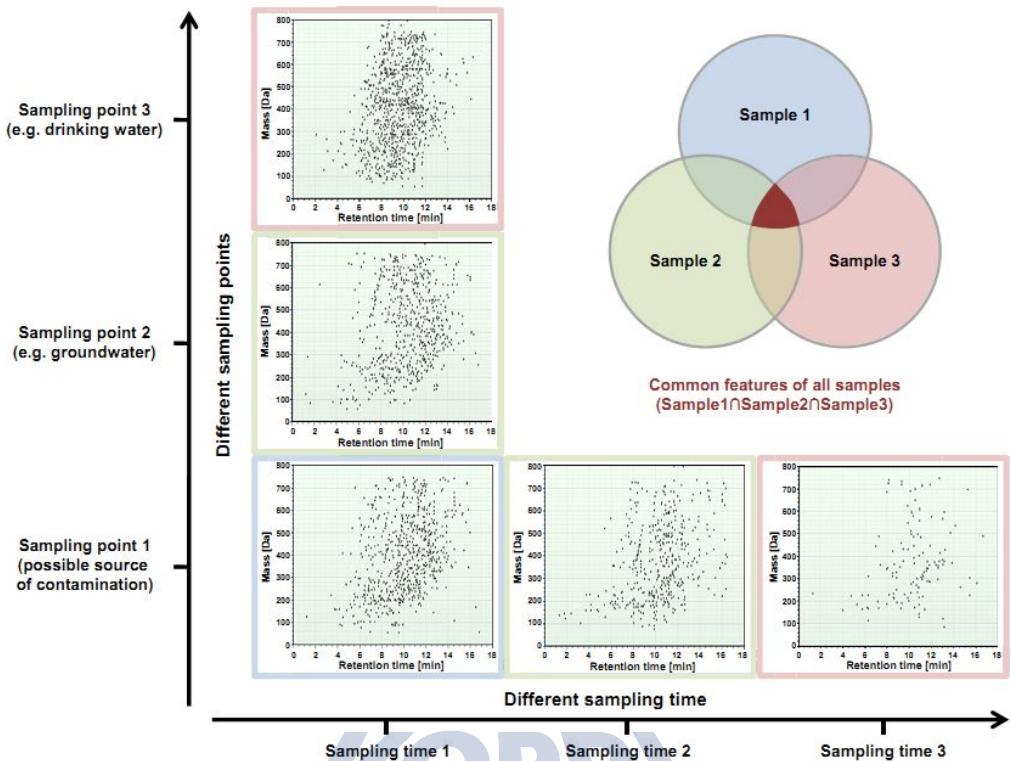


그림 8. 물시료의 시공간적 분포에 대한 벤다이어그램(Muller et al., 2011).

금지연구소

○ Hernandez et al. (2011)는 액체크로마토그래피/사중극자 비행시간질량분석기(UHPLC/Q-TOF)를 이용하여 하수시료에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)을 적용하였다. 대상 화합물로는 약물류 및 그 대사체에 대한 총 76여종에 대하여 수행하였다. 시료 전처리는 Oasis MCX카트리지를 사용한 고상추출법(SPE)을 사용하여 추출 및 정제를 진행하였으며, MeOH를 용매로 사용하였다. NTSA기법을 활용하여 대상 시료 중의 약물류에 대하여 광범위한 screening을 진행하였으며, 다양한 종류의 약물류에 대하여 검출하였다.

○ Portoles et al. (2014)는 기체크로마토그래피/사중극자 비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용하여 시중에 판매하는 과일 및 채소에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)을 적용하였다. 대상 물질로는 132종의 농약류에 대해서 진행하였으며, 시료 전처리에는 QuEChERS방법을 사용하였으며, 추출에 사용한 용매는 acetonitrile을 이용하였다. 대상 물질에 대한 library작업을 먼저 진행한 후, NTSA를 수행하였다.

○ Portoles et al. (2014)는 기체크로마토그래피/비행시간질량분석기(GC/TOF)를 이용하여 지하수 시료에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 물질로는 농약류, PAHs, 개인기호품 등에 대해서 진행하였으며, 시료 전처리에는 HLB카트리지를 사용한 고상추출법(SPE)을 사용하였으며, 추출에 사용한 용매는 MeOH을 이용하였다. 대상 물질에 대한 library 작업을 먼저 진행한 후, 디컨볼류션 등의 기법을 활용하여 NTSA를 수행하였다.

○ Zhang et al. (2014)는 기체크로마토그래피/사중극자비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용하여 시중에서 판매하고 있는 과일에 대하여 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 물질로는 165종의 농약류에 대해서 광범위한 screening을 진행하였다. 시료는 Blending하여 acetonitrile을 용매로 사용하였다. 그림 9와 같은 절차로 디컨볼류션기법, 데이터베이스 검색 등의 기법을 활용하여 NTSA를 수행하였다.

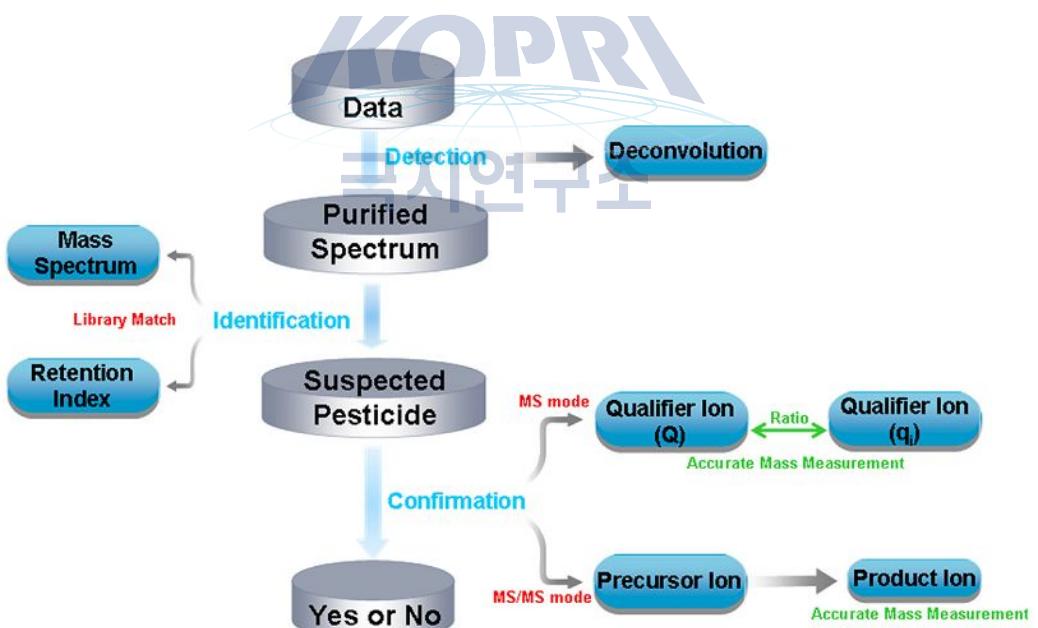


그림 9. GC/Q-TOF를 활용한 NTSA 절차도(Zhang et al., 2014).

○ Hernandez et al. (2015)는 액체크로마토그래피/사중극자비행시간질량분석기(UHPLC/Q-TOF)와 기체크로마토그래피/사중극자

비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 동시에 활용하여 이용하여 지하수 및 표층수 시료에 대하여 광범위한 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 적용하였다. 대상 화합물로는 LC의 경우 1600여종의 화학물질, GC의 경우 280여종의 화학물질류에 대하여 수행하였다. 시료 전처리는 Oasis HLB카트리지를 사용한 고상추출법(SPE)을 사용하여 추출 및 정제를 진행하였으며, MeOH를 용매로 사용하였다. 액체 및 기체그로마토그래피를 동시에 활용하여 광범위한 screening이 시도되었으며, 물시료 중 매우 다양한 오염물질에 대한 연구가 최신의 장비와 분석기법으로 가능해졌는데 큰 의미가 있다.



표 2. 국외에서 수행되었던 비행시간질량분석기(TOF)를 활용한 non-target screening 분석 연구.

Sample	Target compound	Extraction	Instrument	Reference
-Surface water -Ground water -Waste water	-Pesticides -Phenols -Pentachlorobenzenes -PAHs (total 60 analytes)	-SPME (Carbowax/divinylbenzene)	GC-TOF (EI)	Hernández et al. (2007)
-Ground water	-Illicitdrugs	-Isolute ENV+ cartridge (MeOH)	HPLC-QTOF (ESI)	Müller et al. (2011)
-Waste water	-Prescriptiondrugs -Metabolites (total 76 analytes)	-Oasis MCX cartridge (MeOH)	UHPLC-QTOF (ESI)	Hernández et al. (2011)
-Waste water -Human urine -Food		-Oasis HLB cartridge(MeOH) -Mechanicalshaking	UHPLC-QTOF (ESI)	Díaz et al. (2012)
-Fruits -Sludge	Pesticides (55 analytes) BUVSs (9 analytes)	-QuEChERS (Acetonitrile) -MSPD	GC-TOF (EI) GC-QTOF (EI)	Cervera et al. (2012) Casado et al. (2013)
-Fruits	Pesticides (132 analytes)	-QuEChERS (Acetonitrile)	GC-QTOF (APCI)	Portolés et al. (2014)
-Ground water		-Oasis HLB cartridge (MeOH)	-GC-TOF(EI) -GC-QTOF(APCI)	Portolés et al. (2014)
-Fruits	Pesticides (165 analytes)	-Blending (Acetonitrile)	GC-QTOF (EI)	Zhang et al. (2014)
-Ground water -Surface water	-1600 analytes (LC) -280 analytes (GC)	-Oasis HLB cartridge (MeOH)	-UHPLC-QTOF(ESI) -GC-QTOF(APCI)	Hernández et al. (2015)

3. 연구의 목표

본 연구의 목표는 기체크로마토그래피/사중극자

비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용하여 어장환경 매체별 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)을 개발하는 것이다(표 3). 어장환경 매체별 NTSA을 개발하기 위한 절차로서 1) GC/Q-TOF 분석조건 최적화, 2) 어장환경 매체별 NTSA 개발, 3) GC/Q-TOF를 이용한 NTSA에 의해 도출된 대상 물질 목록화 및 절차서작성을 통한 최종적인 어장환경 매체별 NTSA에 근거한 수산물 우선 모니터링 대상물질 선정 방법론을 개발하고자 하는 것이 본 연구의 목표이다.

표 3. 연구의 목표.

- 기체크로마토그래피/사중극자-비행시간질량분석기(GC/Q-TOF) 분석조건 최적화
- 매체별 GC/Q-TOF를 이용한 비표적스크리닝 분석기법(NTSA) 개발
- 기체크로마토그래피/사중극자-비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용한 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)에 의해 도출된 대상 물질 목록화 및 절차서 작성

4. 연구의 내용

본 연구의 내용은 아래 표 4와 같다. 본 연구의 첫 번째 내용은 기체크로마토그래피/사중극자 비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)에 대한 분석조건을 최적화하는 것이다. 구체적인 내용은 GC/Q-TOF를 활용하여 유해화학물질의 기기분석조건을 확립하기 위하여 모세관 칼럼, GC 온도조건, TOF 조건을 최적화 해야 한다. 이에 따라 비표적 스크리닝 분석 기법(NTSA)를 수행하기 위한 GC/Q-TOF 기본 요건을 제시할 것이다. 두 번째 내용으로 어장환경을 구성하는 매체(해수, 해양퇴적물, 수산물)별에 대하여 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA를 개발하는 것이다. 대상 매체별 각 10개 이상을 선정하여 대상 매체별로 다르게 나타나는 특성을 고려하여 전처리 기법을 최적화한다. GC/Q-TOF를 활용하여 도출된 분석 자료에 대한 Mass profiler professional(MPP) 기법과 미지성분(unidentified)에 대한 디컨볼류션(deconvolution) 기법을 적용하여 대상물질을 정확하게 판별한다. 세 번째 내용으로 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA에 의해 도출된 대상 물질에 대하여 목록화를 진행하는 것이다. 분석한 대상 매체(해수, 해양퇴적물, 수산물) 각 10개 이상에 대하여 도출된 대상 물질에 대한 정성적인 정보를 매체별, 대상물질의 종류별로 목록화한다. 그리고 Target, non-target, unidentified contaminant 그룹에 의한 분류를 진행하고 최종적으로 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA의 절차서를 작성한다. 최종적으로 개발된 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 절차서에 근거하여 수산물에 대한 우선 모니터링 대상물질 선정 방법론을 개발하려고 한다.



그림 10. 비표적스크리닝 분석기법 개발을 위한 GC/Q-TOF(좌), 실제 연구진이 보유 중인 실험실 모습(우).

표 4. 연구의 내용

- **기체크로마토그래피/사중극자-비행시간질량분석기(GC/Q-TOF) 분석조건 최적화**
 - GC/Q-TOF를 활용한 유해화학물질 기기분석조건 확립(모세관 칼럼, GC온도조건, TOF 최적화 조건)
 - GC/Q-TOF를 이용한 target, non-target, unidentified contaminants를 판별을 위한 분석 조건 최적화
- **매체별 GC/Q-TOF를 이용한 비표적스크리닝 분석 기법(NTSA) 개발**
 - 대상 매체: 해수, 해양퇴적물, 수산물(각 10개 이상)
 - 대상 매체별 특성(간섭효과 등)을 고려한 전처리 기법 최적화
 - 분석 자료에 대한 Mass profiler professional (MPP) 기법 적용
 - 미지성분(unidentified)에 대한 디컨볼류션(deconvolution) 적용기법을 이용한 대상 물질 판별(library identification)
- **기체크로마토그래피/사중극자-비행시간질량분석기(GC/Q-TOF)를 이용한 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)에 의해 도출된 대상 물질 목록화 및 절차서 작성**
 - 대상 매체: 해수, 해양퇴적물, 수산물 각 10개 이상
 - 매체별 대상 물질에 대한 정성 정보 목록화
 - 매체별 대상 물질의 종류별(예: 유기염소계, 약물류 등) 분류
 - Target, non-target, unidentified contaminants 그룹에 의한 분류
 - GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 절차서 작성

5. 과제 추진 절차

5.1. 연구 추진전략

본 연구 추진방법 및 전략의 핵심은 두 가지로 볼 수 있다. 첫 번째로는 기체크로마토그래피/비행시간 질량분석기(GC/Q-TOF)의 기기분석조건을 최적화하는 것이다. 다양한 종류의 유해화학물질에 대해서 비효적 스크리닝 분석기법(NTSA)을 적용하기 위해서는 기체크로마토그래피(GC) 뿐만 아니라 비행시간 질량분석기(Q-TOF)의 각각의 조건에 대하여 최적화 및 표준화가 필수적이다. 이에 따라 본 연구에서는 GC부분의 모세관 칼럼(capillary column), 주입부(inlet), 오븐(oven), 검출기(detector) 부분의 온도 조건 등에 대하여 기준 선행 연구를 조사하고, 국내 어장환경에서 검출될 수 있는 유해화학물질의 종류를 기반으로 최적화를 진행 할 것이다. TOF부분에서는 최종적으로 GC를 통해 분리된 시료가 검출되는 곳이기 때문에 구체적인 조건의 최적화 및 표준화가 필요하다. 예를 들어, 이온화 조건, 이온화 소스 온도, TOF 스캔 범위 및 속도, TOF 해상도(resolution) 등에 대한 구체적인 기기 조건이 제시되어야 동일한 연구실 혹은 국내·외 타 연구실에서 최종적으로 개발될 NTSA 절차서를 따라 동일한 혹은 유사한 결과를 도출할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 유해화학물질을 분석하기 위한 TOF의 세부적인 조건들에 대하여 최적화를 진행하고 기준 연구문현을 조사하여 적합성 및 국제적인 연구 기준들과의 동등성을 갖추려 한다. 본 연구에서 설정하고 있는 GC/Q-TOF를 활용한 대상물질은 아래 표 5에 나타내었다. Target 대상 물질로는 현재 어장환경모니터링 대상 유기오염물질들로 한다. 다이옥신류(PCDD/Fs), PCBs, OCPs, PBDEs, PAHs 등이 포함되어 있다. Non-target 대상 물질로는 전 세계적으로 어장환경 및 해양에서 검출되고 있는 유기오염물질들로 Phthalates, Non-PBDE brominated flame retardants(NBFRs), Organophosphorus FRs(OPFRs), Dechlorane Plus(DPs), HBCDs, 약물류 및 개인기호품을 포함하고 있다.

표 5. 본 연구에서 분석할 GC/Q-TOF를 이용한 대상 물질.

Target 물질	Non-target 물질
PCDD/Fs	Phthalates
PCBs	Non-PBDE brominated FRs(NBFRs)
OCPs	Organophosphorus FRs(OPFRs)
PBDEs	Dechlorane Plus
PAHs	HBCDs 약물류 개인기호품류
현재 어장환경모니터링 대상 유기오염물질	전 세계적으로 어장환경 및 해양에서 보고가 되고 있는 유기오염물질

본 연구의 추진방법 및 전략의 핵심, 두 번째로는 대상 매체별 특성을 고려한 최적의 전처리 기법을 확립하는 것이다. 본 연구에서는 수산물 유해화학물질 축적에 영향을 미치는 환경인자(해수, 해양퇴적물)를 포함하여 총 3가지의 매체(해수, 해양퇴적물, 수산물)에 대하여 각 10개 이상 선정할 예정이다. 해수의 경우 어장환경 주변의 해수를 직접 채취할 예정이며, 해양퇴적물 및 수산물의 경우 본 연구진이 기존에 보관하고 있는 시료를 이용하여 진행하고자 한다. 대상 매체에 따라 가지고 있는 고유한 특성 때문에 대상 매체별 특성을 고려한 전처리 기법을 최적화하는 것은 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 각 매체별로 기존 선행 연구 조사를 통하여 추출 및 정제 기법을 최적화할 것이다. 결과적으로 전처리된 시료를 GC/Q-TOF를 이용하여 분석한 후, 그 결과에 대해서 Target, non-target, unidentified contaminants에 대한 정확하고 과학적인 물질 판별이 이루어져야 한다. 특히 미지성분(unidentified)에 대한 물질을 판별하기 위해서는 디컨볼류션(deconvolution), mass profiler professional(MPP) 등의 다양한 기법을 적용하여 정확하고 과학적으로 대상물질을 판별할 수 있다(library identification).

GC/Q-TOF를 이용하여 NTSA에 의해 도출된 각각의 대상물질에 대하여 다양한 분류군을 사용하여 목록화를 진행할 것이다. 각각의 대상 매체(해수, 해양퇴적물, 수산물) 10개 이상에 대하여 정성 정보를 체계적으로 데이터베이스화를 진행할 것이다. 분류군으로는 대상 물질의 종류별(농약류, 약물류, 개인기호품류 등), 그룹별(염소계, 브롬계 등), Target, non-target, unidentified contaminants 별로 구분지어 목록화를 진행하여 체계적인 데이터베이스를 구성할 예정이다.

최종적으로 수산물에 대하여 유해화학물질 모니터링을 위한 대상물질 선정 방법론을 제안하기 위하여 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 절차서를 작성할 것이다. 전체적인 연구의 추진방법 및 전략인 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 절차서 작성 절차를 그림 11에 요약하였다. 각각의 대상매체에 대하여 최적화된 전처리 기법을 활용하여 GC/Q-TOF에 적용을 한 후, 대상물질을 판별하고, NTSA를 활용하여 대상물질에 대한 목록화 및 분류를 진행한다.

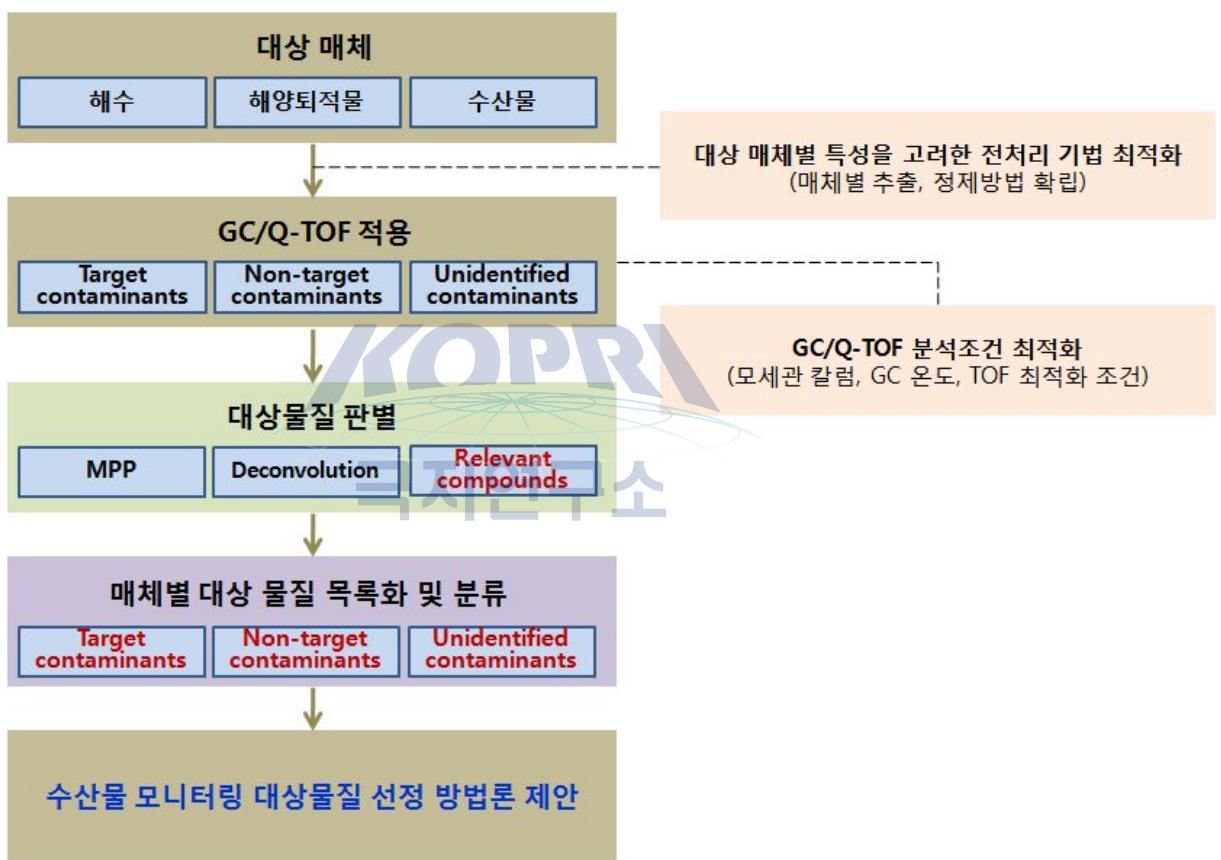


그림 11. GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 절차서 작성 절차.

매체별 대상 물질에 대한 목록화가 진행되면 아래의 표 6과 같이 각 매체별, 분류별로 유해화학물질의 데이터베이스가 구축될 것이다. 이러한 정보를 활용하여 그림 12과 같이 모든 매체에 공통적으로 포함된 유해화학물을 대상으로 한 수산물 모니터링 대상물질 선정 방법론이 확립될 것이며, 이를 기반으로 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA

절차서가 제공될 것이다.

표 6. 매체별, 그룹별 대상물질 목록화(예).

분류	대상 물질	해수 1	해수 2	...	해양퇴적물 1	해양퇴적물 2	...	수산물 1	수산물 2	...
Target	Contaminant 1		검출	...		검출	...	검출		...
	Contaminant 2	검출		...	검출		...		검출	...
	Contaminant 3	검출	...	검출			...		검출	...
	Contaminant 4	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출
	Contaminant 5	검출	...		검출	...			검출	...
Non-target	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
	Contaminant 8	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출
	Contaminant 9	검출	...	검출		검출		...
	Contaminant 10	검출		...	검출		...		검출	...
	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
Unidentified	Contaminant 13		검출	...	검출		...	검출		...
	Contaminant 14	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출	검출
	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮

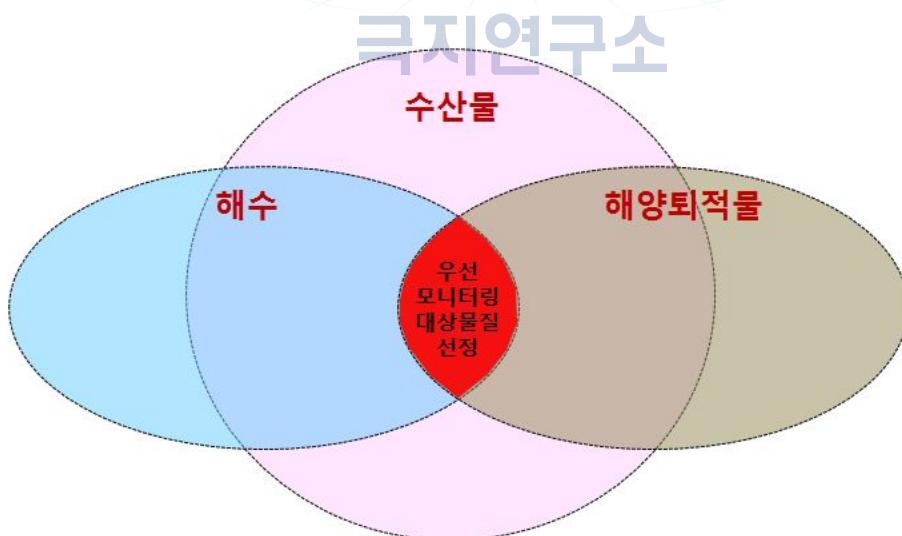


그림 12. 수산물 중 우선 모니터링 대상물질 선정 방법론.

5.2. 연구의 추진체계

본 연구를 효율적으로 운영하기 위한 연구추진전략을 그림 13에 도식화하였다.

본 연구팀은 주요 연구용역 세부 내용에 대하여 GC/Q-TOF 분석조건 최적화, 매체별

NTSA 개발, 대상물질 목록화에 대한 연구를 체계적으로 수행할 예정이며 연구의 특성상 각 단계별로 모든 연구진이 투입되어 기존 선행 연구 조사, 시료 채취, 기기분석 조건 확립, 전처리 기법 최적화 등의 과업을 제한된 과업기간 내에 정확하게 마무리 될 수 있도록 진행할 예정이다. 본 용역를 원활한 진행을 위해서 유해오염물질, 잔류성유기오염물질, 수산물 내의 유해오염물질에 대한 전문가인 자문위원(표 7)을 구성하여 연구 전반에 걸친 자문을 통해 GC/Q-TOF를 이용한 NTSA 절차서 작성에 대한 연구를 수행하고자 한다.

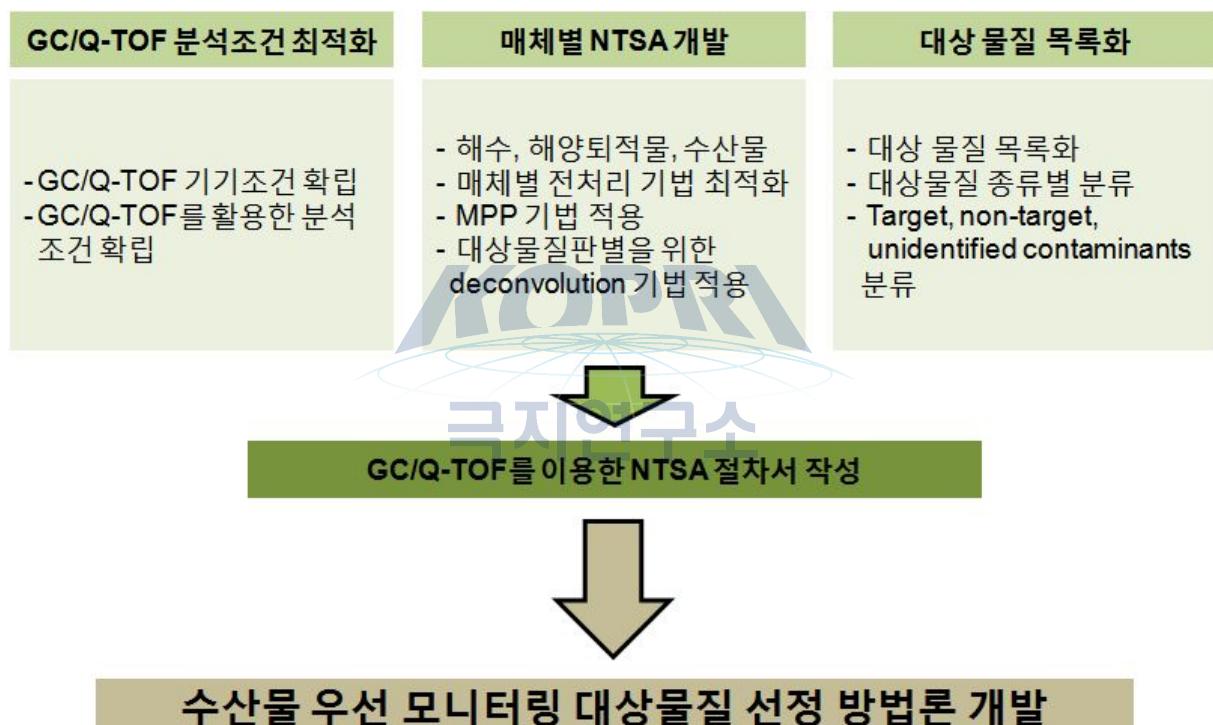


그림 13. 어장환경 매체별 비표적 스크리닝 분석기법 개발 연구의 수행체계.

표 7. 본 연구의 자문위원.

이름	소속	전공 분야	이메일
김상조 연구사	국립수산물품질 관리원	수산물 유해화학물질분 석 POPs분석	dioxin@korea.kr
오정은 교수	부산대학교 환경공학과	발생원 추적 유해물질	jeoh@pusan.ac.kr
전준호 교수	창원대학교 환경공학과	거동, 대사체	jjh0208@changwon .ac.kr
조현서 교수	전남대학교	연구 POPs분석	hscho@chonnam.a c.kr
최성득 교수	환경해양과학과 울산과학기술대 학교 도시환경공학부 한국해양과학기	생태영향 POPs분석, 거동	sdchoi@unist.ac.kr
홍상희 박사	술원 남해연구소	POPs거동	shhong@kordi.re.kr

6. 연구수행 결과

6.1. 어장환경 매체별 NTSA 절차서 개발

수산물에 존재하는 우선 모니터링 대상물질을 선정하기 위한 방법론을 개발하기 위하여 어장환경에 존재하는 각 매체(해수, 해양퇴적물, 생물)별 비효율 스크리닝 분석기법(NTSA)을 수행하기 위한 절차서를 그림 14과 같이 개발하였다.

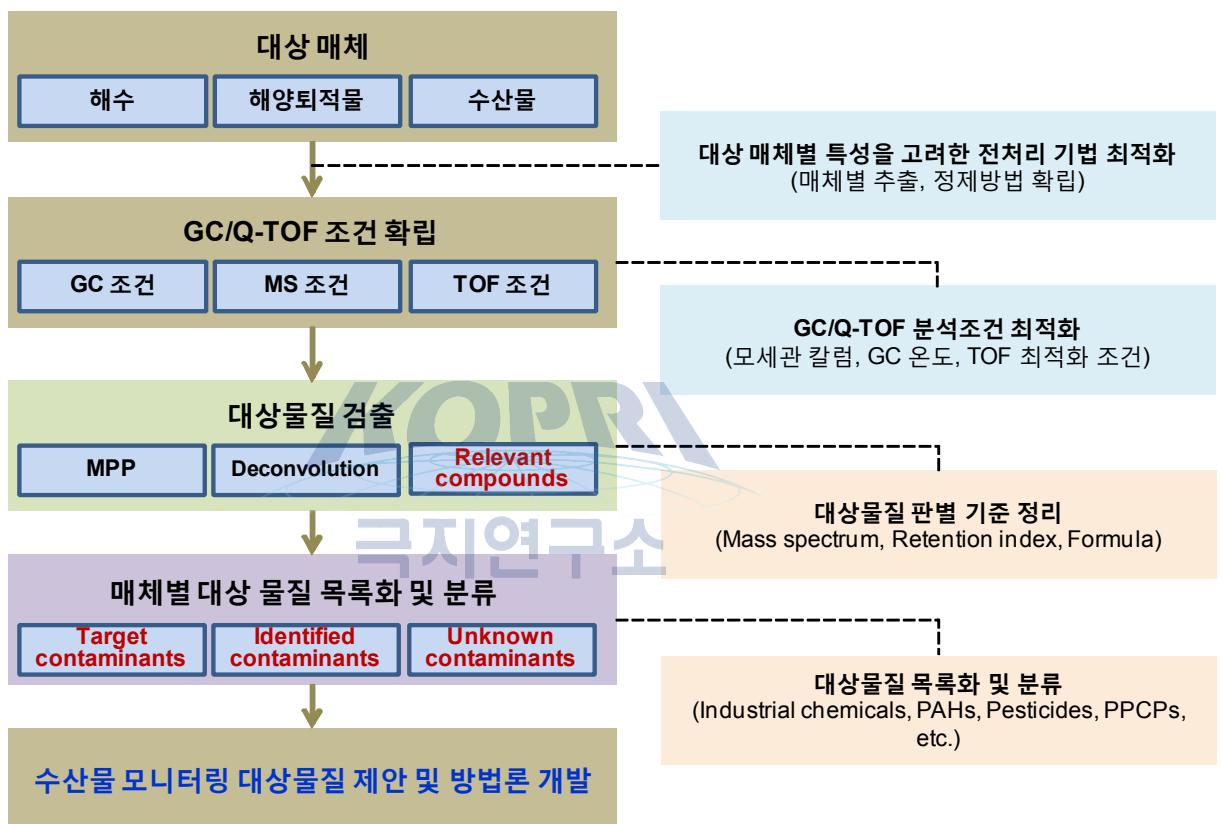


그림 14. 어장환경 매체별 NTSA 절차서 모식도.

각 매체별 NTSA를 수행하기 위하여 아래와 같은 순서로 방법론을 최적화하였다. 우선적으로 GC/Q-TOF의 각 조건을 최적화 한 후, 대상물질 검출, 목록화를 위한 개념을 설정한다. 이 후 각 본 과업의 대상물질(Target compounds)을 선정하여 NTSA 기법에 활용한다. 대상물질이 선정 된 이후, 대상물질에 대한 각 매체별 전처리 기법을 확립한 후 실제 해양시료에 대하여 확립된 NTSA 기법을 적용하기로

한다. 각 단계별 세부적인 개발 순서는 다음과 같다.

① GC/Q-TOF 조건 확립

GC 조건 설정: 분리 칼럼, GC 조건(승온 조건)

TOF 조건 설정: 스캔 범위, TOF 해상도

② 대상물질 목록화 개념 설정

③ 대상물질(Target compounds) 설정

Monitored compounds

Non-monitored compounds

④ 전처리 기법 확립

⑤ 실제 시료에 확립된 NTSA 기법 적용



6.2. GC/Q-TOF 조건 확립

GC/Q-TOF를 활용한 유해화학물질 기기분석조건 최적화를 위하여 GC조건 설정 부분의 모세관 칼럼 설정은 선행 연구 조사를 통하여 최적의 칼럼을 선정하였다. GC 온도 조건의 경우도 마찬가지로 선행연구 조사를 통하여 GC 승온 조건과 같은 온도 조건의 최적화를 진행 하였다. 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA) 적용을 위한 비행시간질량분석기(TOF) 조건의 경우 이온화 조건, TOF 스캔 범위 및 속도, TOF 해상도(TOF resolution)에 대한 최적화를 진행하였다.

6.2.1. 분리 칼럼

비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)을 활용한 다양한 선행연구 중에서 기체크로마토그래피(GC)를 기반으로 수행한 대표적인 연구에 대한 분석장비(Instrument), 모세관칼럼 종류, TOF 스캔 범위(m/z), TOF 해상도(resolution)를 표 8에 정리하였다.

표 8. GC를 기반으로 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 수행한 선행 연구 결과.

Instrument	Column	Scan range (m/z)	TOF resolution	Reference
GC-TOF (EI)	HP-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)	50-650	~7000	Hernández et al. (2007)
GC-TOF (EI)	HP-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)	50-650	6700 at m/z 264	Cervera et al. (2012)
GC-QTOF (EI)	HP-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)	90-600	- 4000 at m/z 114 - 9200 at m/z 502	Casado et al. (2013)
GCxGC-TOF (EI)	- GC Science InertCap 5MS/Sil (60 m x 0.25 mm ID, 0.1 μ m film thickness) - SGE BPX-50 (1.5 m x 0.1 mm ID, 0.1 μ m film thickness)	35-550	~6000	Hashimoto et al. (2013)
GC-QTOF (APCI)	DB-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)	50-650	~18000 at m/z 614	Portolés et al. (2014)
- GC-TOF (EI) - GC-QTOF (APCI)	HP-5MS and DB-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)	50-650	~8500 at m/z 614 (EI) ~18000 at m/z 614 (APCI)	Portolés et al. (2014)
GC-QTOF (EI)	DB-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)	50-600	~12500 at m/z 272	Zhang et al. (2014)
GC-QTOF (APCI)	DB-5MS (30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness)		NA	Hernández et al. (2015)

정리한 선행연구 중에서 주고 polysiloxane 계열의 비극성 칼럼을 이용하고 있었다. Agilent 사의 HP-5MS 혹은 DB-5MS 류의 모세관 칼럼이 주를 이루고

있었는데 위와 같은 칼럼은 가장 일반적인 고정상으로서, 넓은 범위에 응용이 가능하고 견고한 칼럼으로 알려져 있으며, 실제로도 가장 범용적으로 사용되는 GC 칼럼이다. 따라서 본 연구에서도 동일한 모세관칼럼(DB5-MS, HP5-MS)을 사용하여 기기분석을 진행하였다.

6.2.2. GC 조건

최종적으로 NTSA를 통해서 분석하게 될 유해화학물질은 GC를 기반으로 분석하고 있기 때문에 GC의 초기 온도, 승온 조건, 최종 온도 등은 기존의 선행 연구 등에서 수행한 잔류성유기오염물질(Persistent Organic Pollutants, POPs) 분석법을 참고하여 선정하였다. POPs 분석 시 사용하고 있는 칼럼의 종류 및 승온 조건을 그림 15에 나타내었다.

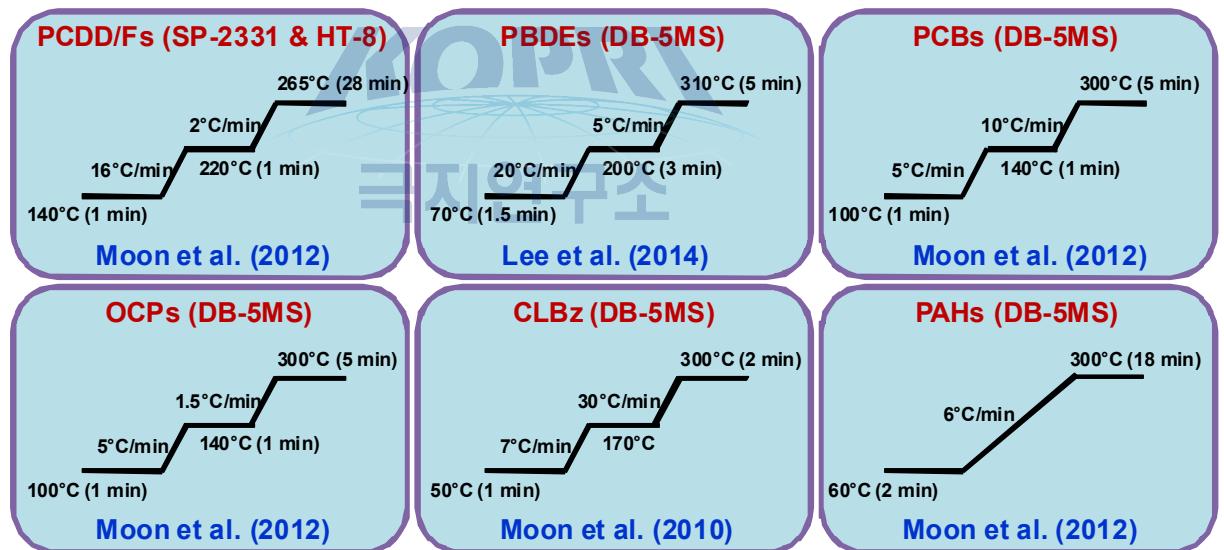


그림 15. POPs 분석 시 사용되는 칼럼 종류 및 승온 조건.

다이옥신류(PCDD/Fs)를 제외한 모든 물질(PBDEs, PCBs, OCPs, CLBz, PAHs)의 경우 이전 분리칼럼파트에서 선행연구를 조사한 바와 마찬가지로 DB-5MS 칼럼을 사용하고 있었다. 승온 조건의 경우 최저 50°C부터 초기 온도를 설정하였고, 최대

310°C까지 온도를 높이는 승온 조건을 사용하고 있었다. 따라서 본 연구에서는 일반적으로 POPs 분석 시 사용되고 있는 승온 조건에 기초하여 다음과 같은 칼럼 승온 조건을 설정하여 사용하고자 한다. 승온 조건은 80°C(1분) → 200°C(10°C/분) → 300°C(5°C/분, 10분)과 같이 설정하여 NTSA 기기조건을 최적화 하였다.

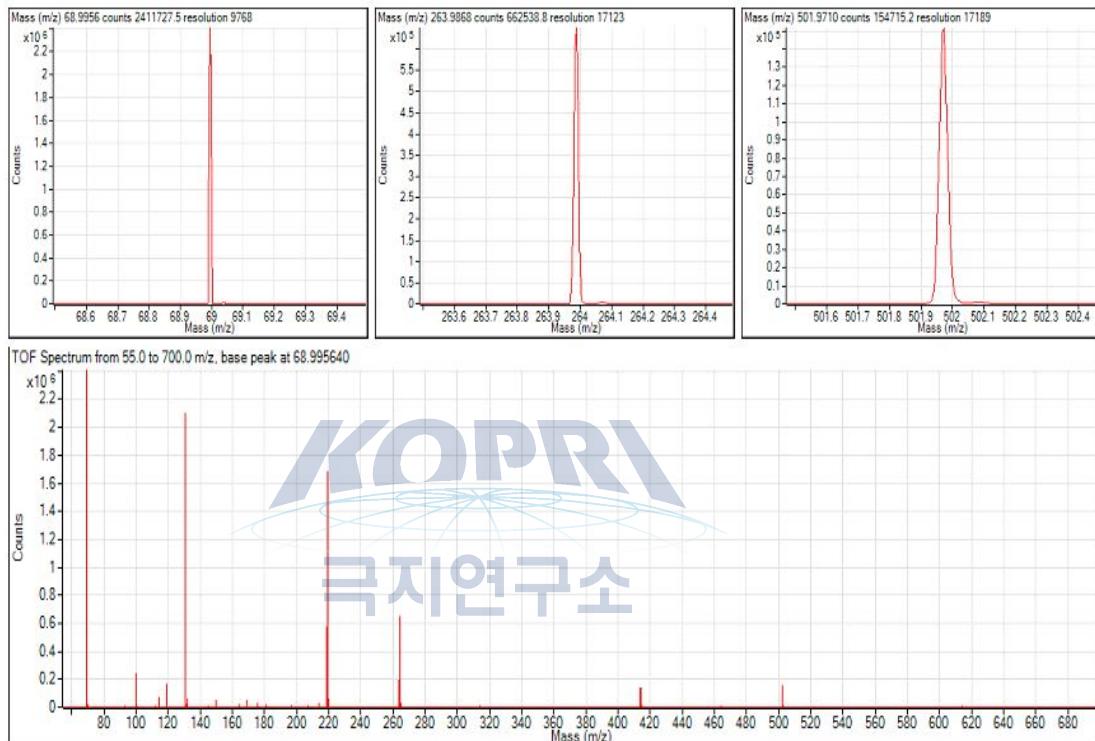
6.2.3. TOF 조건(해상도)

GC/Q-TOF를 이용하여 수행한 NTSA 선행 연구 결과(표 8)에서 TOF 조건 부분을 보면 대부분의 선행 연구에서는 스캔 범위(m/z)를 50~650의 스캔 범위를 사용하였다. 이는 GC에서 분리되어 나온 화합물을 검출할 수 있는 최적의 스캔 범위라고 생각된다. 너무 저분자의 물질은 GC의 주입구(inlet), 칼럼(column)에서 분해되거나 용매(solvent)와 접쳐서 TOF쪽으로 흘러들어오기 때문에 NTSA를 통해서 스캔하기에 무리가 있다. 또한 고분자의 물질은 환경에 존재하더라도 생물에 축적될 가능성이 낮기 때문에 NTSA를 통해서 분석할 필요성이 낮다. 따라서 본 연구에서는 선행 연구에서 수행한 방법을 토대로 50~600 m/z 의 스캔 범위를 설정하여 기기조건을 최적화 하고자 한다.

선행 연구(표 8)에서 진행된 TOF의 해상도(resolution)은 전자충격이온화(electron impact ionization, EI)에 국한지어 보았을 때, 대상 분자량 200~614 m/z 의 범위에서 6700~12500 정도의 해상도 내에서 NTSA가 진행이 되었다. NTSA를 수행함에 있어서 TOF의 해상도는 매우 중요하다. 그 이유는 대상물질(target compounds) 뿐만 아니라 수많은 미지 물질(unknown compound)에 대한 모니터링을 진행함에 있어 정해진 GC 조건하에 물질을 분리하기 위해서는 높은 해상도가 필요하기 때문이다. 본 연구에서 측정한 Q-TOF의 해상도를 그림 16에 나타내었다. 이는 기기 내부의 표준물질을 이용하여 저분자($m/z=68.9947$)부터 고분자($m/z=613.9642$)에 이르기까지 해상도 및 정확도를 측정한다.

GC/Q-TOF EI Autotune Report

Instrument Name	QTOF / US1444X001	MS Model	7200A
Tune Date & Time	10/5/2015 12:56:36 PM		
Tune File	D:\ MassHunter\ GCMS\ 1\ 7200\ atunes.ei.tune.xml		



Enabled	Target Mass	Actual Mass	Accuracy (ppm)	Abundance	Resolution	Time of Flight (ns)
selected	68.9947	68.9956	14.1	2411728.0	9768	15511.02
selected	130.9915	130.9916	0.7	2189579.0	13377	20992.90
selected	218.9851	218.9852	0.8	1741159.0	17046	26848.85
selected	263.9866	263.9868	0.9	662538.8	17123	29380.42
selected	413.9770	413.9771	0.3	145089.3	16298	36538.89
selected	463.9738	463.9745	1.6	13728.9	14024	38623.57
selected	501.9706	501.9710	0.8	154715.2	17189	40133.65
selected	613.9642	613.9642	0.0	6204.9	14400	44279.16

그림 16. 본 연구에서 측정한 Q-TOF의 해상도.

최종적으로 본 연구에서 도출된 TOF의 해상도는 표 9에 나타내었으며, 선행연구와 유사하거나 높은 TOF 해상도를 갖는 것으로 나타났다. 따라서 NTSA를

수행하는데 문제가 없을 것으로 판단된다.

표 9. 본 연구에서 측정한 TOF의 해상도.

Target Mass	Resolution
68.9947	9768
130.9915	13377
218.9851	17046
263.9866	17123
413.977	16298
463.9738	14024
501.9706	17189
613.9642	14400

6.2.4. 확립된 GC/Q-TOF 분석조건

6.2.1항부터~6.2.3항에 이르기까지 조사한 선행 연구의 결과와 본 연구에서 수행한 방법 등을 토대로 최종적으로 확립한 GC/Q-TOF의 분석조건은 아래 표 10과 같다. GC 주입구(inlet)의 온도는 250°C, 모세관 칼럼은 DB-5MS UI(길이 30m, sorud 0.25mm, 필름두께 0.25μm)를 사용하였다. GC 칼럼의 승온 조건은 80°C(1분) → 200°C(10°C/분) → 300°C(5°C/분, 10분)로 설정하였으며, 운반가스로는 헬륨을 사용하여 1.2mL/min의 속도로 흐르게 하였다. 시료의 주입량은 1μL를 splitless 주입방식을 이용하여 주입하였다. Q-TOF의 조건으로 전자충격이온화(EI)법을 사용하여 이온화를 진행하였으며, 이온화 전압 및 온도는 70eV, 230°C에서 이온화를 진행하였다. TOF의 모니터링 모드는 4Ghz High Resolution에서 모니터링을 진행하면서 50~600 m/z에 해당하는 질량수에 대하여 모니터링을 수행하였다. 모니터링 시간은 100mS/Spectrum으로 TOF의 해상도는 저분자량(m/z=131)에서 약 13,000, 고분자량(m/z=502)에서는 약 17,000에 이르는 해상도 조건하에서 분석을 진행하였다.

표 10. 확립된 GC/Q-TOF 분석조건.

기체크로마토그래피 조건	
주입구 온도	250°C
칼럼	DB-5MS UI(길이 30 m, 내경 0.25 mm, 필름 두께 0.25 텁)
승온 조건	80°C (1분)? 200°C (10°C/분)? 300°C (5°C/분, 10분)
운반가스	헬륨 (1.2 mL/min)
시료 주입량	1 ?L
Q-TOF 조건	
이온화 방법	전자충격이온화(EI)법
이온화 전압	70 eV
이온원 온도	230°C
모니터링 모드	4Ghz High Resolution
모니터링 질량수	50 - 600 m/z
모니터링 시간	100 mS/Spectrum
해상도	~13,000 at m/z 131, ~17,000 at m/z 502



6.3. NTSA를 이용한 대상 물질 목록화 개념 설정

확립된 GC/Q-TOF 분석조건을 이용하여 해양환경 시료를 분석하여 나타나는 결과에 대한 목록화 개념을 정리하고자 한다. NTSA를 이용한 검출된 물질의 목록화 방법 개념도를 그림 17에 나타내었다. 검출된 화학물질(Detected chemicals)은 크게 두 가지 형태로 나뉜다. 첫째로 본 연구에서 대상물질로 선정할 물질(Targeted)과 그 이외에 NTSA로 인하여 도출될 물질(Non-targeted)이다. Targeted 물질에는 현재 국립수산과학원(NFRDI)에서 어장환경 내 환경에서 모니터링을 수행하고 있는 물질(Monitored)과 전 세계적으로 어장환경 및 해양환경에서 보고가 증가되고 있는 신규유기오염물질(Non-monitored)로 정의될 수 있다. Non-target 물질에는 NTSA 수행 후 우리가 NIST Library 매칭과 같은 형태로 우리가 알 수 있는 물질(Identified)과 미지 물질(Unknown)로 정의될 수 있다. Target 물질과 Non-target 물질 중 일부 물질은 상업적인 표준물질과의 spectrum 비교, deconvolution, MPP 등의 소프트웨어 기능 활용, 그리고 NIST Library 매칭과 같은 형태로 우리가 알 수 있는 물질(Known chemicals)이 된다. 이 외의 Non-targeted 물질 중 미지 물질은 NTSA 결과에서 최종적으로도 미지 물질(Unknown chemicals)로 남게 된다. Known Chemicals의 경우, 각 물질 별로 분류화 과정을 거치게 되어 최종적으로 정리된다.

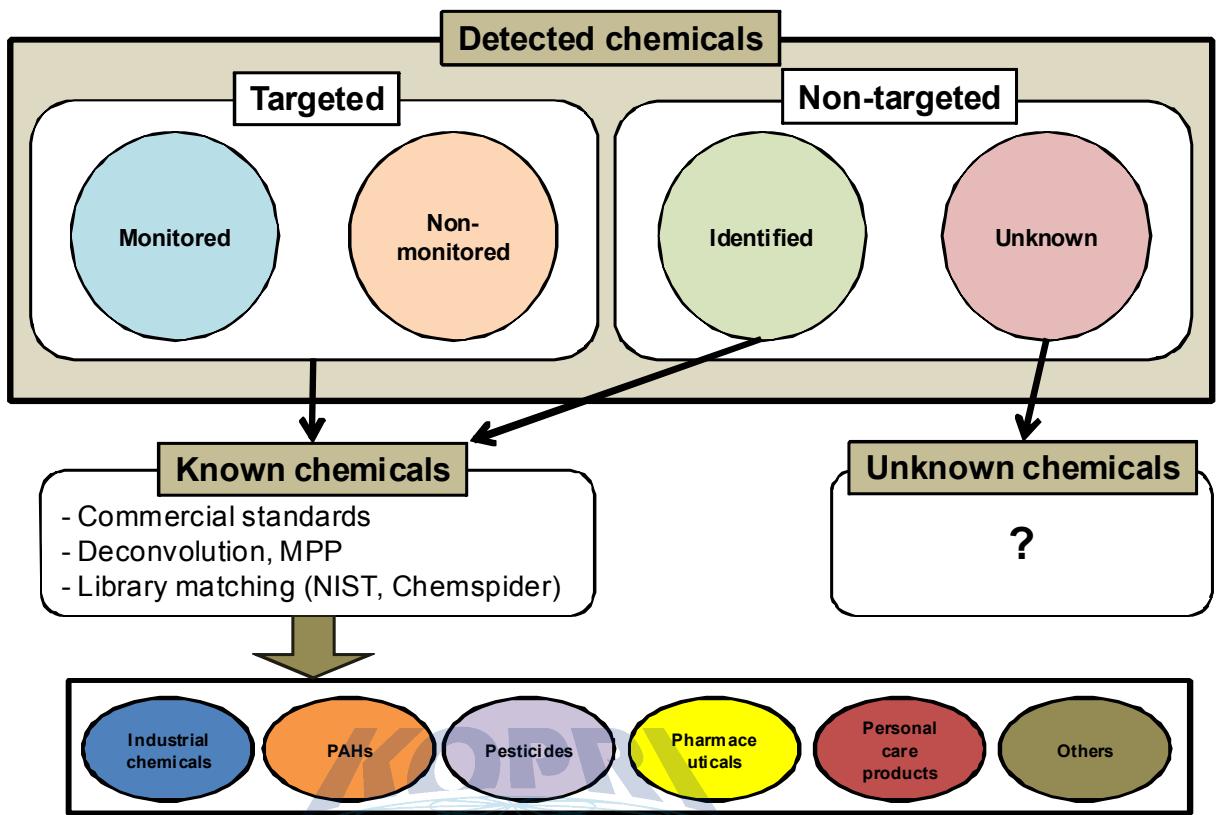


그림 17. NTSA를 이용한 물질 목록화 방법 개념도.

6.4. 대상물질(Target compounds) 선정 및 D/B화

6.4.1. 대상물질(Target compounds) 선정

본 연구에서 수행하는 NTSA에 있어 대상물질(Target compounds)을 선정하기 위하여 현재 국립수산과학원(NFRDI)에서 수행하고 있는 어장환경 및 해양환경 내 유기유해물질 모니터링 항목을 조사하여 표 11에 나타내었다. NFRDI에서는 수산환경 유해물질 모니터링의 일환으로 어장환경 내 다양한 유해물질을 모니터링하고 있으며, 대상 물질로는 PAHs, PCBs, OCPs, PCDD/Fs, TBT가 포함된다. 이러한 물질들에 대하여 전국 연안 양식장 주변 퇴적물(30정점) 및 수산생물(25개체)에 대하여 유해물질 잔류량을 조사하고 있다. 또한 어장환경 내 신규유해물질(항생제 포함)에 대한 분석기법 정립을 하고 있으며, 고래류와 같은 상위영양단계의 해양생물에 대한 POPs alc 미량금속 모니터링을 수행하고 있다. 뿐만 아니라 연안인근 양식장 환경에 미치는 유해물질 위해도 평가를 위하여 갯벌 양식장 주변 퇴적물에 대한 집중조사를 수행하고 있는데, 대상물질로는 PAHs, PCBs, OCPs, PCDD/Fs, TBT 및 중금속류가 포함되어 있다.

표 11. 국립수산과학원(NFRDI)에서 수행중인 어장환경 내 유해물질 모니터링 및 위해도 평가 항목.

어장환경 내 유해물질 모니터링 및 위해도 평가	
수산환경 유해물질 모니터링	<ul style="list-style-type: none">○ 어장환경내 유해물질 모니터링: PAHs, PCBs, OCPs, PCDD/Fs, TBT<ul style="list-style-type: none">- 전국연안 양식장 주변 퇴적물(30정점) 및 수산생물(25개체)내 유해물질 잔류량 조사○ 어장환경내 신규유해물질(항생제 포함) 분석기법 정립<ul style="list-style-type: none">- 가두리양식장 매체별(해수, 퇴적물, 양식생물) 분석기법 정립 및 스크리닝○ 고래류 유해물질 오염도 모니터링<ul style="list-style-type: none">- 고래 조직별 POPs/미량금속 모니터링
연안인근 양식장환경에 미치는 유해물질 위해도 평가	<ul style="list-style-type: none">○ 갯벌양식장주변(퇴적물 20정점)환경 집중조사<ul style="list-style-type: none">- PAHs, PCBs, OCPs, PCDD/Fs, TBT, 중금속○ 저서생물 분포도조사○ 생물독성도조사

따라서 본 연구에서는 현재 NFRDI에서 모니터링하고 있는 유기오염물질들을

'Monitored contaminants'로 정의하며, 이들 물질을 Target compounds에 포함시키도록 한다. 결과적으로 Monitored contaminants로 정의된 물질은 다이옥신류(PCDD/Fs), 폴리염화비페닐류(PCBs), 유기염소계 농약류(OCPs), 브롬화난연제(PBDEs), 다환방향족탄화수소류(PAHs), 다이옥신 유사 폴리염화비페닐류(DL-PCBs)로 구성된다(표 12).

표 12. 본 연구에서 Targeted 물질로 선정한 유기오염물질 종류.

Monitored contaminants	Non-monitored contaminants
PCDD/Fs	Phthalates
PCBs	Non-PBDE brominated FRs (NBFRs)
OCPs	Organophosphate FRs (OPFRs)
PBDEs	Dechlorane Plus (DP)
PAHs	Polychlorinated naphthalenes (PCNs)
Dioxin-like PCBs	Pharmaceuticals
	Personal care products (Siloxanes, BUVSS, SMCs)
현재 어장환경모니터링 대상 유기오염물질	전 세계적으로 어장환경 및 해양에서 보고가 증가되는 유기오염물질(연구자 제안)

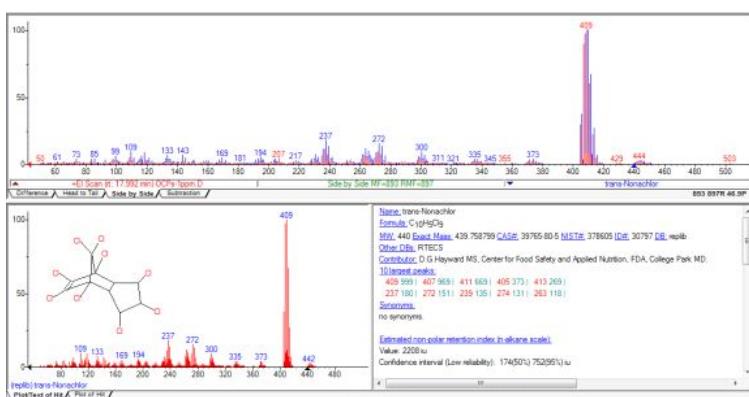
현재 어장환경모니터링 대상 유기오염물질 뿐만 아니라 전 세계적으로 어장환경 및 해양에서 보고가 증가되고 있는 유기오염물질에 대하여 'Non-monitored contaminants'로서 정의하며 Target compounds에 포함시키고자 한다(표 12). 이들 물질은 대부분 신규 유기오염물질로서 최근 그 생산과 사용이 증가하여 해양환경으로 유입이 증가되고 있는 물질들로 이루어져 있다. 해양환경에서의 검출정도가 증가됨이 보고되고 있어 차후 해양환경 뿐만 아니라 수산물까지 악영향을 줄 수 있는 물질들이기 때문에 본 연구에서는 우선적으로 해당 물질에 대하여 대상물질로 선정하여 우리나라 해양환경의 다양한 매체(해수, 해양퇴적물, 생물)에서의 검출 정도를 NTSA를 활용하여 파악해 보고자 한다.

6.4.2. 대상물질(Target compounds) 목록화

대상물질로 선정한 모든 물질에 대하여 상업적으로 이용이 가능한 표준물질에 대하여 목록화를 진행하였다. 본 연구에서 Targeted 물질로 선정한 유기오염물질(표 12)를 토대로 각 대상화합물에 대한 목록화 작업을 진행하였으며, 목록화는 본 연구에서 확립한 GC/Q-TOF의 기기조건 방법을 기준으로 각 화합물질에 대한 Total Ion Chromatogram(TIC)를 얻었다. 예를 들어 유기염소계 농약류에 대한 TIC를 그림 18에 나타내었다. 분석된 TIC를 기준으로 각 화합물에 대한 개별 Spectrum 및 CAS 번호를 정리하였다(그림 19).



그림 18. 확립된 GC/Q-TOF 기기분석법을 통해 분석된 유기염소계 농약류 22종의 Total Ion Chromatogram(TIC).



**trans-CHL
스펙트럼, 구조식,
분자량, CAS#**

그림 19. 개별 화합물에 대한 Spectrum 및 기본 정보.

위와 같은 방식으로 본 연구에서 Targeted 물질로 선정한 모든 유기오염물질에 대하여 목록화 작업을 진행 하였으며, 세부적인 물질은 표 13에 나타내었다. 최종적으로 NFRDI에서 어장환경 모니터링을 수행하고 있는 Monitored contaminants로써 대상물질 116종과 신규 후보물질로써 모니터링은 수행하고 있지 않은 Non-monitored contaminants 92종에 대하여 목록화가 진행되었으며, 총 208종의 Target 물질에 대하여 목록화가 완료되었다.



표 13. 본 연구에서 목록화한 대상물질 208종의 목록.

NFRDI 어장환경 모니터링 대상물질						신규 후보물질											
PAHs	PCBs	OCPs	PBDEs	PCDD/Fs	DL-PCBs	PCNs	CLBz	DPs	NBFRs	OPFRs	Phthalates	Siloxanes	SMCs	BUVs			
Naphthalene	PCB 8	alpha-HCH	BDE 17	2378-CDD	PCB 77	PCN 2	123-CHB	anti-DP	ATE	TEP	DMP	D5	HHCB	UV-P			
Acenaphthylene	PCB 18	beta-HCH	BDE 28	12378-CDD	PCB 81	PCN 6	124-CHB	syn-DP	PBT	TBP	DEP	D6	AHTN	UV-9			
Acenaphthene	PCB 28	gamma-HCH	BDE 47	123478-CDD	PCB 105	PCN 13	135-CHB		PBEB	TCEP	DAIP	L4	MX	UV-234			
Fluorene	PCB 29	delta-HCH	BDE 66	123678-CDD	PCB 114	PCN 27	1234-CHB		DPTE	TCPP	DnPrP	L5	MM	UV-320			
Phenanthrene	PCB 33	o,p'-DDE	BDE 71	123789-CDD	PCB 118	PCN 28	1235-CHB		HBB	TDCPP	DiPrP	L6	MK	UV-326			
Anthrene	PCB 44	p,p'-DDE	BDE 85	1234678-CDD	PCB 123	PCN 36	1245-CHB		HCDBCO	TBEP	DnBP	L7		UV-327			
Fluoranthene	PCB 52	o,p'-DDD	BDE 99	OCDD	PCB 126	PCN 46	PeCB		BTBPE	TPP	DiBP	L8		UV-328			
Pyrene	PCB 70	p,p'-DDD	BDE 100	2378-CDF	PCB 156	PCN 48			BEHTBP	EHDPP	DnPeP	L9		UV-329			
Benzo[alanthracene	PCB 87	o,p'-DDT	BDE 119	12378-CDF	PCB 157	PCN 49			EHTBB	TEHP	BBzP	L10					
Chrysene	PCB 101	p,p'-DDT	BDE 126	23478-CDF	PCB 167	PCN 50				TCP	DnHxP	L11					
benzo[b]fluoranthene	PCB 103	HCB	BDE 138	123478-CDF	PCB 169	PCN 52					DiHpP	L12					
Benzo[k]fluoranthene	PCB 110	Aldrin	BDE 153	123678-CDF	PCB 189	PCN 53					DEHP	L13					
Benzo[a]pyrene	PCB 128	Isodrin	BDE 154	234678-CDF		PCN 63					DnOP	L14					
Perylene	PCB 138	Dieldrin	BDE 183	123789-CDF		PCN 66					DCHP	L15					
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthene	PCB 153	Heptachlor enoxide	BDE 184	1234678-CDF		PCN 69						L16					
Dibenzoflanthracene	PCB 170	Heptachlor	BDE 190	1234789-CDF		PCN 72						L17					
Benzo[ghi]perylene	PCB 180	trans-CHL	BDE 191	OCDF		PCN 73						L18					
2-methyl-Naphthalene	PCB 187	cis-CHL				PCN 75						L19					
1-methyl-Naphthalene	PCB 194	trans-NonaCHL										L20					
2,6-methyl-Naphthalene	PCB 195	cis-NonaCHL															
2,3,5-methyl-Naphthalene	PCB 198	oxv-CHL															
1-methyl-Phenanthrene	PCB 199	Mirex															
	PCB 200																
	PCB 205																
	PCB 206																
	PCB 209																
22종	26종	22종	17종	17종	12종	18종	7종	2종	9종	10종	14종	19종	5종	8종			

6.5. 전처리 기법 확립

6.5.1. 전처리 기법 확립을 위한 선행연구 검토

각 매체(해수, 해양퇴적물, 생물)별 NTSA를 수행하기 위한 전처리 기법을 확립하기 위하여 선행연구를 검토하였다. 이전에 조사된 환경 물 시료에 대하여 수행한 NTSA 연구를 토대로 조사하였으며, 분석 장비는 고분해능 질량분석기(HRMS), 비행시간 질량분석기(TOF 및 Q-TOF), 오비트랩 질량분석기(Orbitrap)를 기반으로 한 연구를 바탕으로 36편에 대하여 전처리 방법을 조사하였다. 36편의 이전 연구 중에서 고상추출법(Solid phase extraction, SPE)을 사용한 연구는 32편으로 대부분 SPE를 이용한 물 시료의 추출 및 정제 방법을 사용하고 있었다. 그 중에서도 역상 카트리지인 Oasis HLB SPE 카트리지를 사용한 연구가 18편으로 가장 많이 있었으며, Oasis MCX, Oasis Max 순으로 시료 전처리에 SPE를 사용하고 있었다(표 14).

표 14. 선행 연구에서 물 시료의 전처리에 사용한 SPE 카트리지 종류 및 편 수.

카트리지 정보	카트리지 특성	편수
Oasis HLB	역상	18
Oasis MCX	역상/양이온 교환	4
Oasis Max	역상/음이온 교환	1
Strata-X-AW/Ibsolute ENV+/Oasis HLB	역상/강산성	1
Others	-	8

6.5.2. SPE 종류 선택

선행 연구에서 파악된 Oasis HLB SPE 카트리지를 포함하여
잔류성 유기오염물질(POPs)의 추출 및 정제에 주로 사용하는 다양한 SPE 카트리지를
사용하여 NTSA 전처리 기법을 확립하기 위한 실험을 진행하였다. 실험에 사용된 SPE
카트리지의 정보는 표 15에 나타내었다.

표 15. NTSA 전처리 기법 확립을 위해 사용한 실험용 카트리지 정보.

카트리지정보	카트리지특성
Oasis HLB(150 mg)	역상
Waters Silica(1 g)	역상
Waters C18(500 mg)	역상

실험용 SPE 카트리지는 그림 20과 같이 Oasis HLB(150 mg), Waters Silica(1 g),
Waters C18(500 mg), Waters Florisil(500 mg)을 사용하였다. 각 카트리지에 210여종의
Target compounds 표준물질을 일정 농도(500~2000 ng)로 첨가 한 후 동일한 조건에서
각 카트리지의 용출 정보를 확인하였다. SPE 활성화 및 용출 용매의 조건은 아래와
같다.

■ SPE 활성화 및 용출 용매 조건

Washing: 50% DCM in Hexane (12 mL)

Conditioning: Hexane (12 mL)

Loading: Sample dissolved in Hexane (1 mL)

Elution: 50% DCM in Hexane (12 mL)

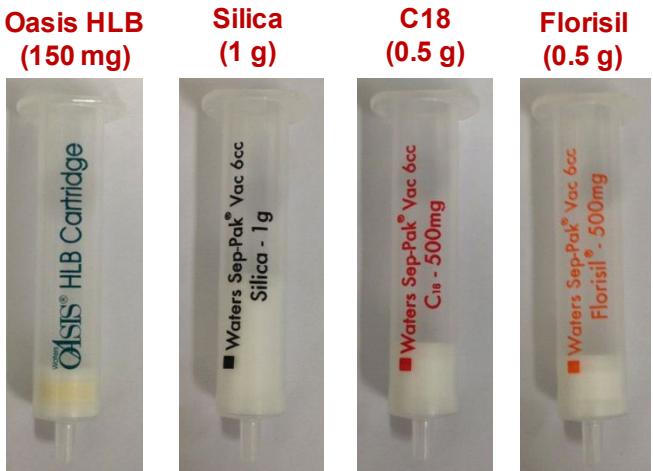


그림 20. NTSA 전처리 기법 확립을 위해 사용한 실험용 카트리지.

전처리 기법 확립을 위한 실험 결과 중 물질별, 각 카트리지에서의 회수율에 관한 결과를 그림 21과 표 16에 나타내었다. 물질별 회수율을 보면 NFRDI에서 어장환경 모니터링 대상물질(Monitored)의 경우 모든 카트리지를 대상으로 48~98%의 회수율 범위로 나타났으며, 평균 70%의 회수율로 나타났다. 신규 후보물질은 모든 카트리지를 대상으로 45~91%의 회수율 범위로 나타났으며, 평균적으로 71%의 회수율로 나타났다. 카트리지 별로 보면 HLB 카트리가 전체적으로 가장 좋은 회수율을 나타냈다. 모든 물질에 대하여 53.8%~110%의 회수율을 보였으며, C18, Silica, Florisil의 경우 각각 40.7%~97.4%, 47.5%~96.0%, 37.0~91.5%의 회수율 범위를 나타내었다. 따라서 HLB SPE 카트리지가 전체적으로 가장 양호한 회수율을 나타내는 것으로 생각된다.

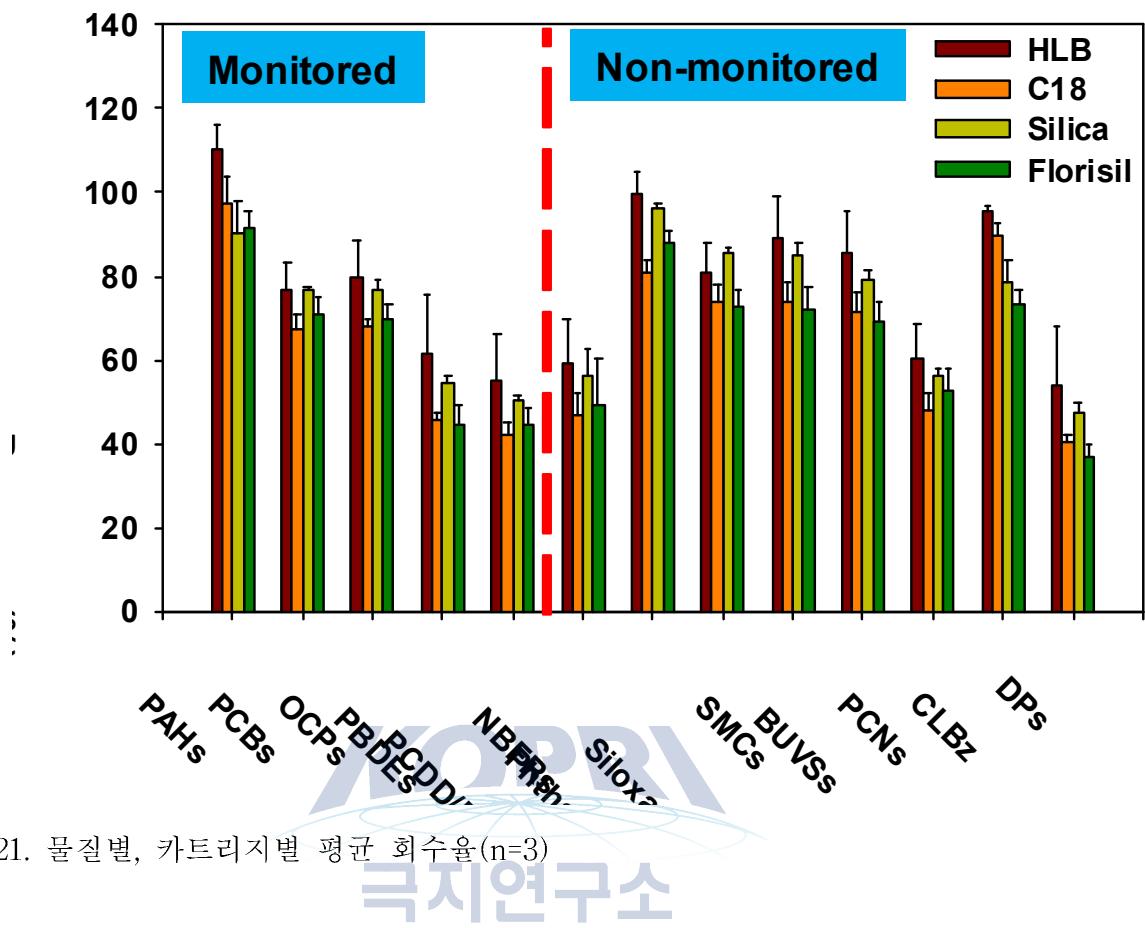


그림 21. 물질별, 카트리지별 평균 회수율($n=3$)

표 16. 물질별, 카트리지별 회수율 평균(Ave) 및 표준편차(SD).

	HLB		C18		Silica		Florisil	
	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD	Ave	SD
PAHs	110	5.6	97.4	6.3	90.0	7.8	91.5	4.0
PCBs	76.5	6.8	67.3	3.4	76.9	0.7	71.0	4.1
OCPs	79.9	8.7	67.8	1.8	76.9	2.1	69.5	4.0
PBDEs	61.5	14.0	45.4	2.1	54.6	1.8	44.6	4.9
PCDD/Fs	55.2	10.9	42.4	2.5	50.2	1.3	44.6	4.2
NBFRs	59.3	10.2	47.1	5.1	56.4	6.1	49.3	11.4
Phthalates	99.6	5.4	81.0	3.0	96.0	1.1	87.8	2.8
Siloxanes	81.1	7.0	74.0	3.8	85.6	1.4	72.8	3.7
SMCs	89.0	9.9	73.7	5.1	85.3	2.7	72.2	5.1
BUVSs	85.4	10.1	71.4	4.8	79.1	2.3	69.2	4.4
PCNs	60.5	8.4	47.8	4.2	56.5	1.5	52.4	5.4
CLBz	95.3	1.4	90.0	2.6	78.7	5.0	73.5	3.5
DPs	53.8	14.4	40.7	1.4	47.5	2.1	37.0	3.0

실험에 사용한 4종류의 카트리지별 대상물질의 평균 회수율에 대한 결과를 그림 22와 표 17에 나타내었다. 모든 카트리지에서 64.3%~77.5%의 양호한 회수율 범위를 나타내었다. 그 중에서도 Oasis HLB 카트리지가 가장 높은 회수율을 보였다. 따라서 본 연구에서는 시료의 추출 및 정제과정에 있어 실험 결과, 대상물질(약 200종의 화합물)에 대한 가장 좋은 회수율을 보인 Oasis HLB SPE 카트리지를 사용하는 것으로 전처리 기법을 확립하고자 한다.

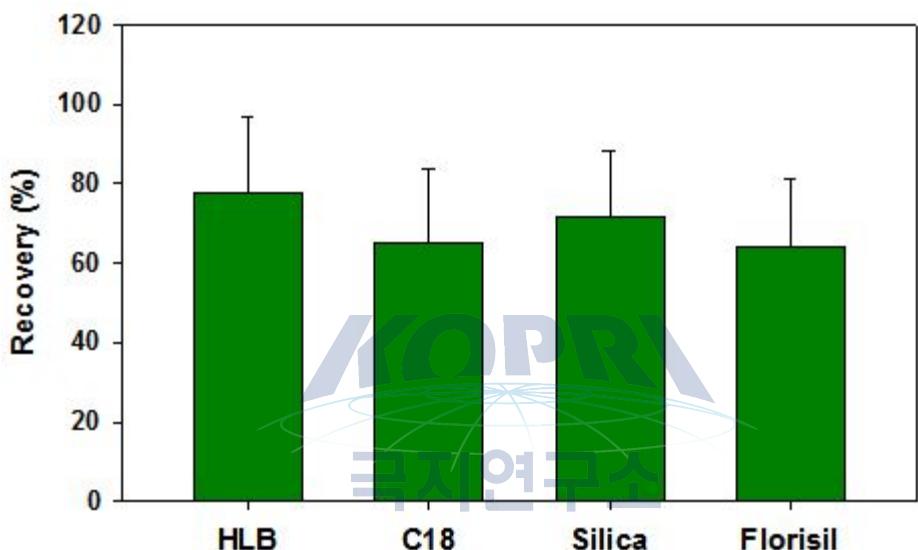


그림 22. 카트리지별 대상물질의 평균 회수율(n=3).

표 17. 카트리지별 대상물질의 회수율 평균(Ave) 및 표준편차(SD) (n=3).

	Ave	SD
HLB	77.5	19.4
C18	65.1	18.6
Silica	71.8	16.3
Florisil	64.3	17.1

6.5.3. HLB SPE 카트리지 적용

전처리과정에서 추출 및 정제에 사용할 Oasis HLB 카트리지의 매체별 간섭효과 제거 효율을 확인하기 위하여 실제 해양퇴적물시료 1g을 속실렛 추출법을 이용하여 추출하여 확인해 보았다. 추출한 해양퇴적물시료를 확립한 정제 방법에 따라 HLB(150 mg)에 적용시켜 정제과정을 거쳤다. 정제를 마친 해양퇴적물시료는 질소를 이용하여 0.5 mL까지 농축한 후, 확립한 GC/Q-TOF의 분석조건을 이용하여 분석하였다. HLB 카트리지의 매체 간섭효과를 비교하기 위하여 정제를 하기 전 GC/Q-TOF에 동일한 조건으로 분석하여 비교하였다. 그 결과 그림 23과 같은 크로마토그래프를 얻을 수 있었다. Oasis HLB를 적용하여 정제과정을 거친 시료와 거치지 않은 시료간의 차이가 확연하게 나타났다. 이는 정제에 따른 매체에 대한 간섭효과가 효과적으로 제거가 된다는 것을 의미한다. 따라서 본 연구에서는 Oasis HLB 카트리지를 활용하여 해양 시료의 추출 및 정제에 활용하기로 하였다.

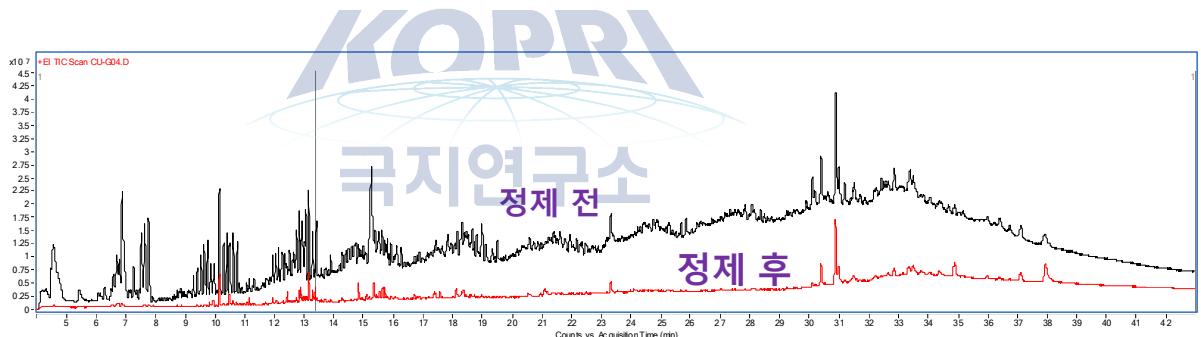


그림 23. HLB를 이용한 해양퇴적물의 정제 전・후 크로마토그램.

6.5.4. 확립된 각 매체별 전처리 기법

6.5.1항에서 6.5.3항까지 진행한 NTSA를 수행하기 위해 확립한 각 매체별(해수, 해양퇴적물, 수산물) 전처리 기법을 그림 24에 도식화 하였다. 요약하자면, 해수시료의 경우 입자상 물질을 제거하기 위하여 GF/F 필터지를 이용하여 입자물질을 여과한 후 HLB SPE를 이용하여 추출 및 정제 한다. 이후 농축하여 GC/Q-TOF로 분석한다. 해양퇴적물과 수산물시료의 경우 속실렛 추출법을 이용하여 추출한 후, HLB SPE를 이용하여 정제과정을 거치는데, 정제과정을 진행하기 전에 해양퇴적물 시료의 경우 활성화된 구리를 처리하여 황화합물을 제거하는 과정을 거치고, 수산물 시료의 경우 GPC Column을 이용하여 지방을 제거한다. 이후 과정은 해수시료와 동일하게 동축한 후, GC/Q-TOF를 이용하여 분석한다.

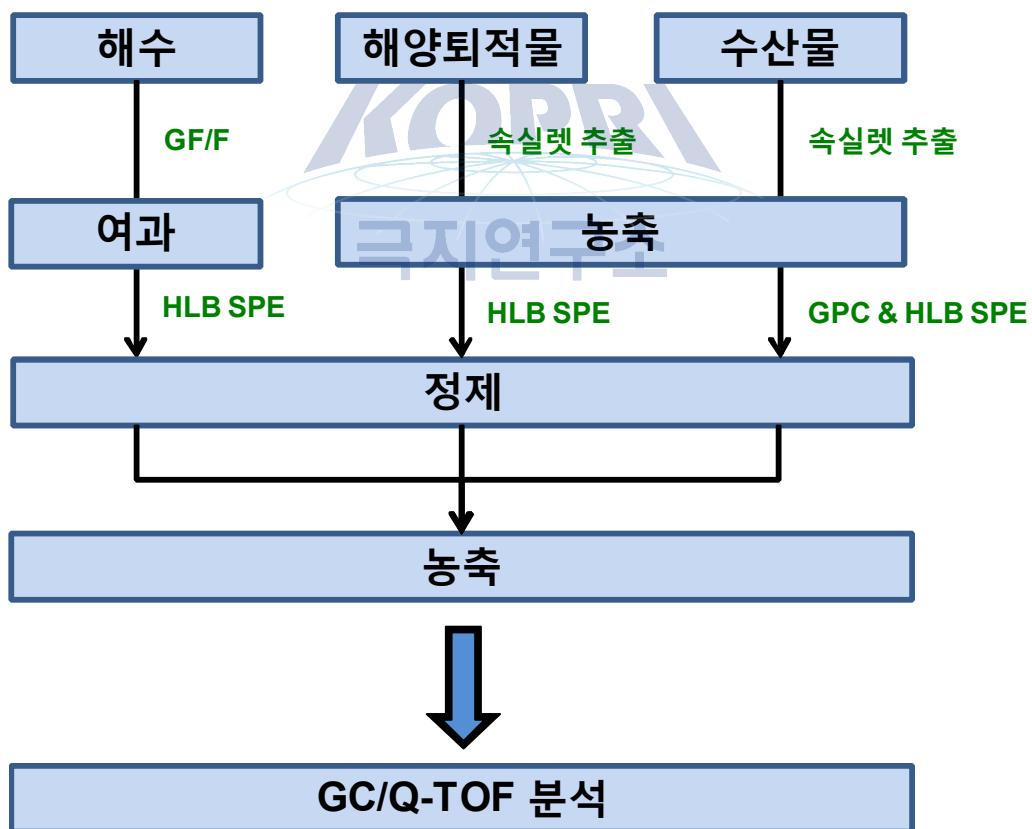


그림 24. 확립된 각 매체별 NTSA 전처리 기법

6.5.5. 확립된 전처리 기법이 포함하는 화합물질 범위

최종적으로 확립된 전처리 방법에 대하여 예비 실험에 포함한 대상물질의 분자량을 그림 25에 나타내었다. 대상물질의 분자량은 NFRDI 어장환경 모니터링에 속한 대상물질의 경우 128~722(MW)를 가지고 있으며, 3.03~9.44의 log Kow 값을 갖는다. 신규 후보 물질의 경우 162~1495(MW)의 분자량을 가지며, 0.81~12.0의 log Kow 값을 갖는다. 결과적으로 확립된 전처리 기법은 광범위한 물질에 대하여 분석이 가능함을 의미한다.

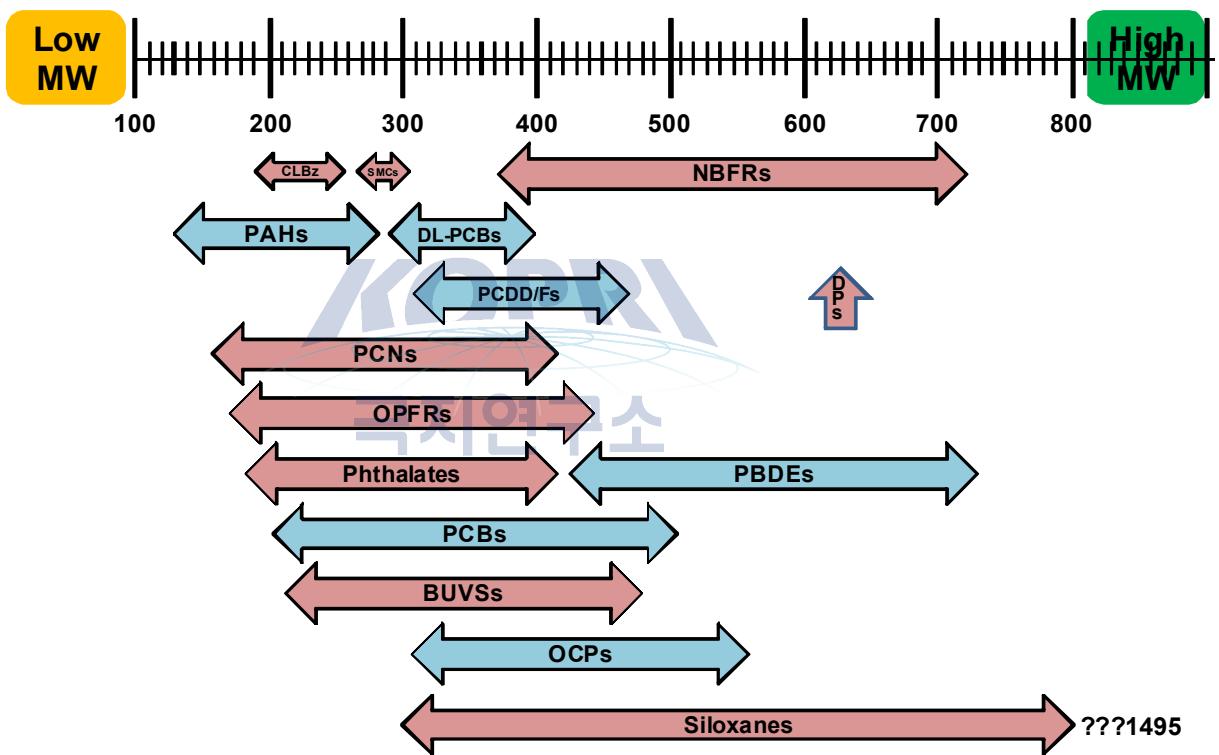


그림 25. 확립된 전처리 기법이 포함하는 화합물질 범위

6.6. 실제 시료에 NTSA 적용

6.6.1. 분석 시료 정보

비표적스크리닝 분석기법(NTSA)을 수행하기 위하여 전처리 및 기기분석 조건을 확립하였다. 확립한 조건을 토대로 실제 해양환경시료(해수, 해양퇴적물, 수산물)에 대하여 NTSA를 적용하였다. 분석에 사용한 시료의 정보는 해수의 경우 울산만 인근 해수를 1L를 사용하여 분석하였으며, 해양퇴적물의 경우도 마찬가지로 울산만 인근의 표층퇴적물 시료를 1g 활용하였다. 수산물시료의 경우 울산만 해역에 서식하는 생물로 2g의 건중량을 사용하여 NTSA에 적용하였다. 실제로 실험한 모습을 그림 26에 나타내었다. 앞서 확립한 전처리 기법을 토대로 전처리를 수행하였으며, 각 매체별로 10개의 시료에 대하여 실험을 진행 하였다.

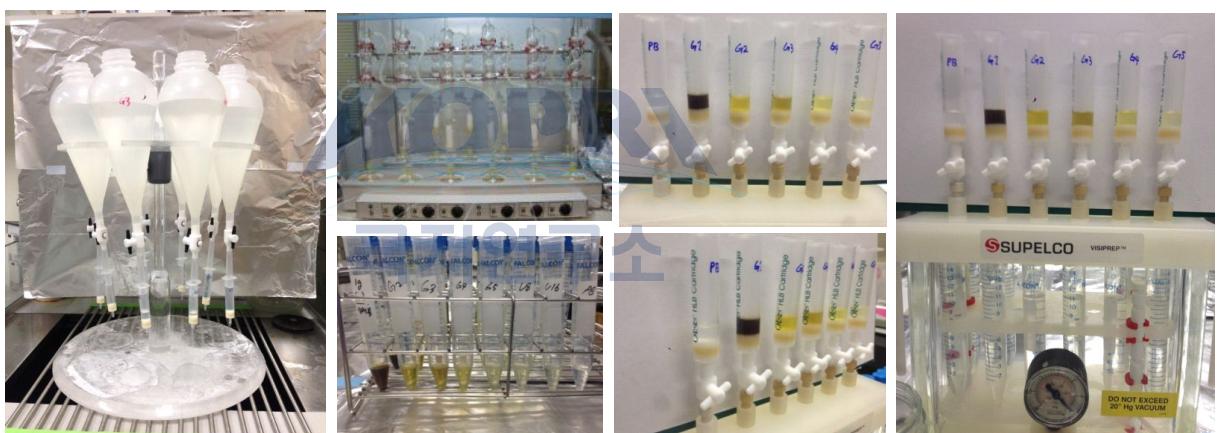


그림 26. 실제 시료에 NTSA 전처리기법을 적용한 모습.

6.6.2. 실제 시료 분석 시 TOF 정확도

실제 시료에 대하여 NTSA를 적용시키기에 앞서 Q-TOF장비의 정확도를 확인하였다. 기기분석 전 기기상태를 체크하는 것은 올바른 결과를 도출하기 위해서 필수적으로 수행되어야 한다. 그림 27과 표 18에 실제 시료 적용 시 측정한 GC/Q-TOF의 정확도 결과를 나타내었다.

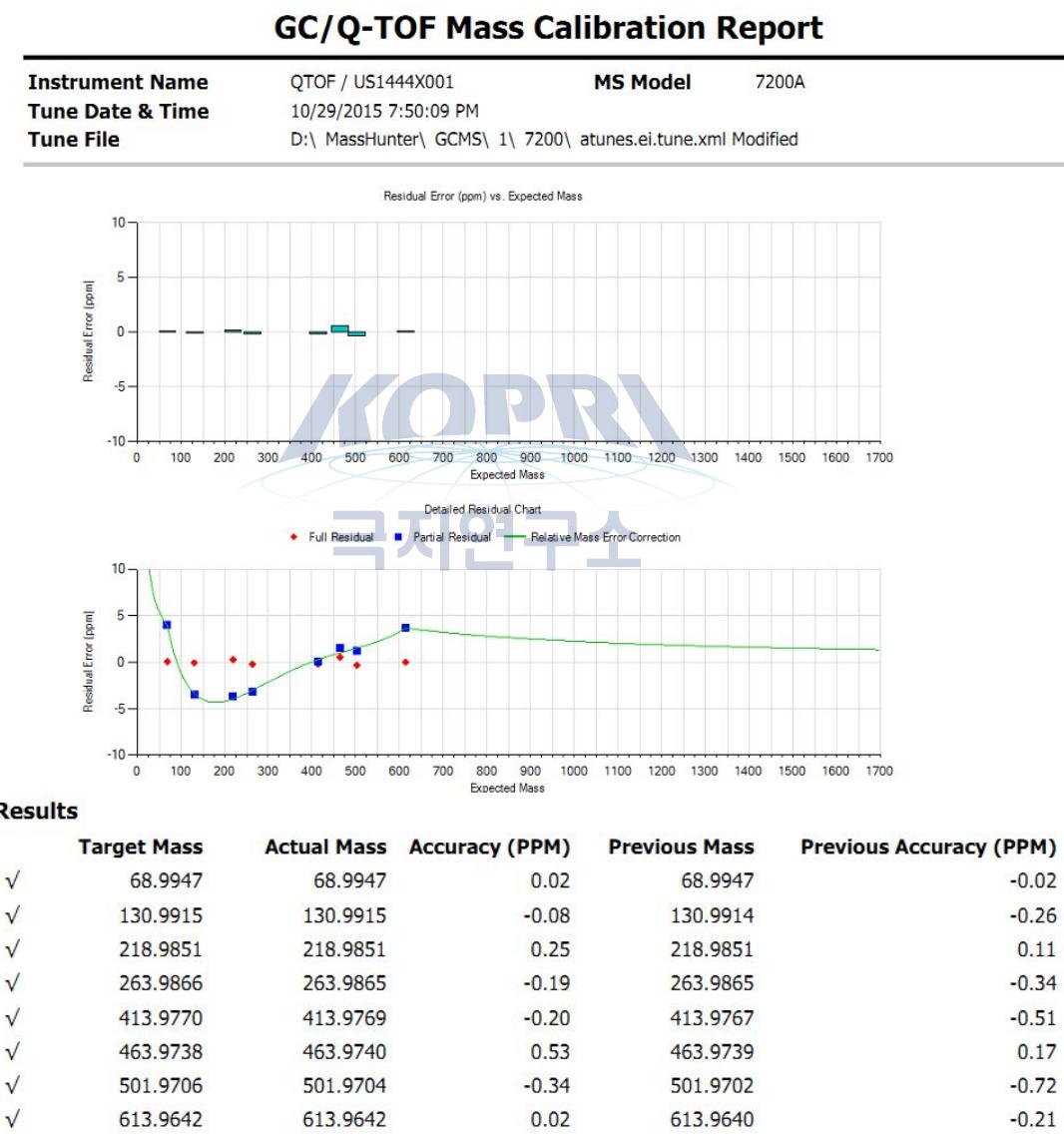


그림 27. 실제 시료 적용 시 측정한 TOF 정확도.

저분자(68.9947)에서부터 고분자(613.9642)의 내부 표준물질을 이용하여 TOF의 정확도를 측정하였는데 표준물질의 고유값과 측정값의 차이가 거의 없었다. 정확도는 0.02~0.53 PPM의 범위에서 변동을 보이고 있었다. 결과적으로 매우 우수한 정확도를 보이는 것으로 나타나 대상물질의 정확한 질량 값을 확인 할수 있는 기기상태를 만들었다. 모든 기기분석을 진행하기 전 TOF 정확도를 최적화 하기 위하여 내부표준물질을 이용하여 TOF 정확도에 대한 표준화를 수행하였다.

표 18. 실제 시료 적용 시 측정한 TOF 정확도.

Target Mass	Actual Mass	Accuracy (PPM)
68.9947	68.9947	0.02
130.9915	130.9915	-0.08
218.9851	218.9851	0.25
263.9866	263.9865	-0.19
413.977	413.9769	-0.20
463.9738	463.9740	0.53
501.9706	501.9704	-0.34
613.9642	613.9642	0.02

6.6.3. NTSA 결과 분석: Deconvolution

실제 시료에 적용한 NTSA의 결과 분석에 있어 필수적인

디컨볼루션(deconvolution) 기법을 소개한다. 실제 해양환경 시료에는 다양한 유기오염물질들이 존재하기 때문에 동일 시간대에 다양한 화합물이 혼합되어 나타난다. 따라서 다양한 물질에 대하여 디컨볼루션(deconvolution)을 적용하여 개별 화합물로 나누는 과정이 필요하다. 디컨볼루션(deconvolution)은 동일한 Total Ion Chromatogram(TIC)에 포함되어 있는 다양한 화합물을 프로그램화된 알고리즘을 통하여 개별적인 화합물로 나누어 주는 기능이다. 디컨볼루션(deconvolution)을 진행 한 예로서, 그림 28에 TIC와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC)를 나타내었다.

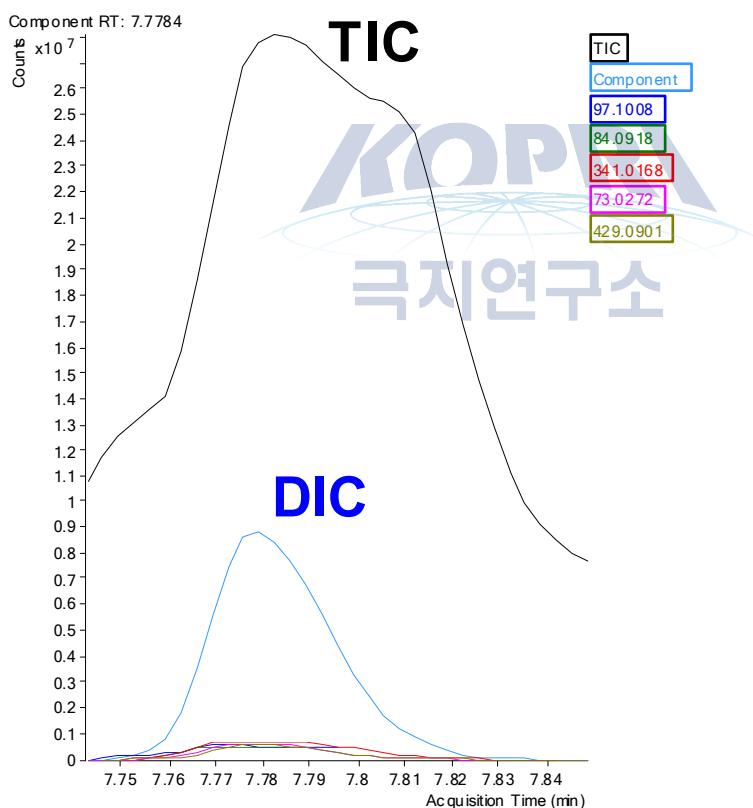


그림 28. Total ion chromatogram(TIC)와 deconvoluted ion chromatogram(DIC) 비교.

결과적으로 디컨볼루션(deconvolution)은 시료의 매체에 대한 간섭효과와 더불어 동일시간에 출현 할 수 있는 다양한 유기화합물로부터 단일 화합물로 개별 스펙트럼의

추출이 가능하게 한다. 아래 그림 29에 Total ion chromatogram(TIC)와 deconvoluted ion chromatogram(DIC)에서 추출한 물질의 개별 스펙트럼을 비교하였다. TIC에서 추출한 스펙트럼으로는 물질의 확인이 불가능하다. 그러나 DIC에서 추출한 스펙트럼을 확인해 보면 단일물질로 추출되었기 때문에 대상물질의 판별이 가능하도록 해준다.

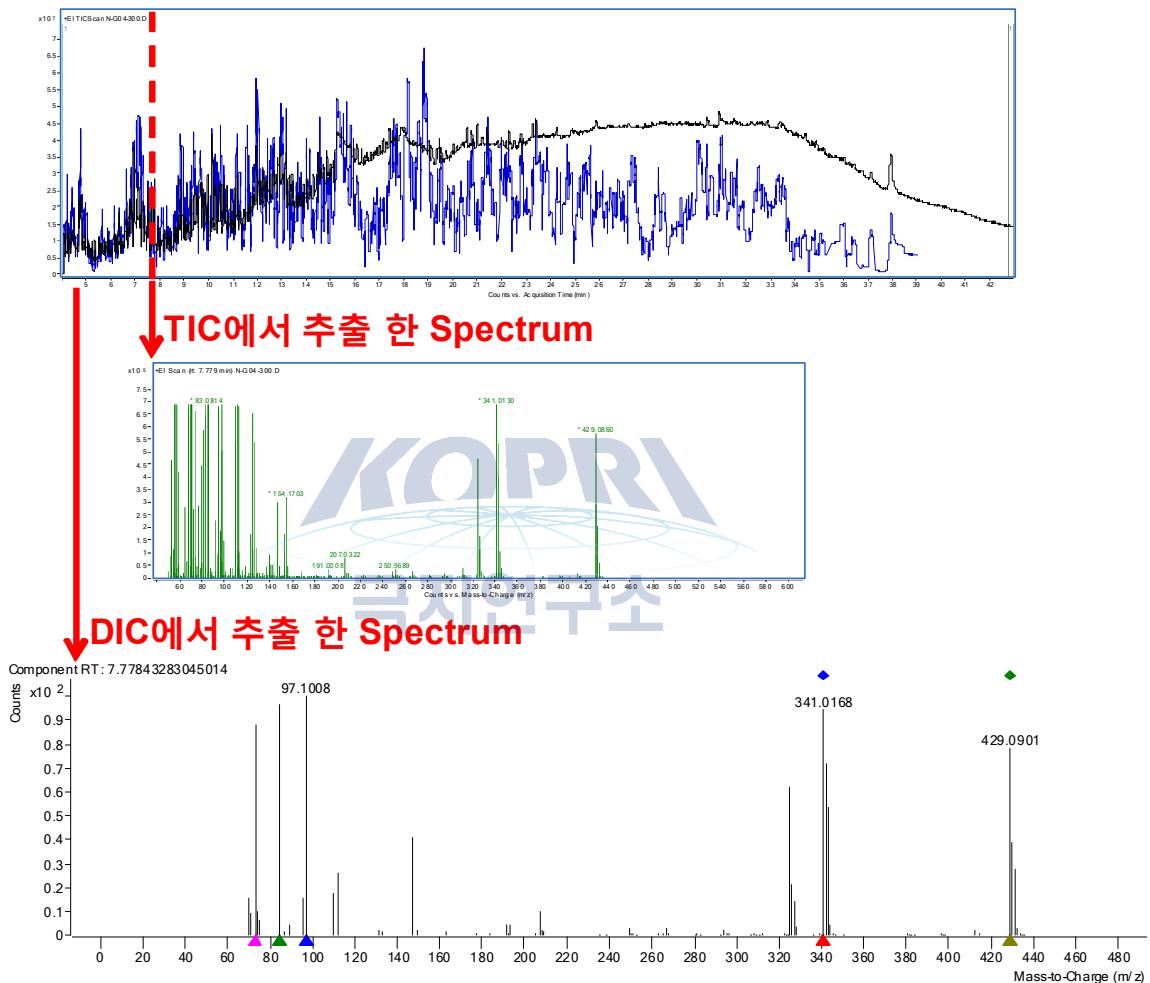


그림 29. Total ion chromatogram(TIC)와 deconvoluted ion chromatogram(DIC)에서 추출한 물질의 개별 스펙트럼 비교

6.6.4. NTSA 결과 분석: 대상 물질 확인(Library 매칭)

앞서 6.6.3장에서 설명한 디컨볼루션(deconvolution)을 통해 추출된 스펙트럼에 대하여 대상물질 확인 과정을 진행 할 수 있다. 기존에 목록화된 Library에 대하여 대상물질 확인과정을 진행 한 후, 동일한 스펙트럼이 있다면 Target 물질로써 목록화 되며, Target 대상물질에 포함되어 있지 않은 물질이라면 NIST Library 등과 비교하여 물질이 무엇인지 판별하게 된다. 아래 그림 30에는 DIC에서부터 추출된 개별 스펙트럼과 NIST Library를 통해 확인된 스펙트럼을 보여주고 있다.

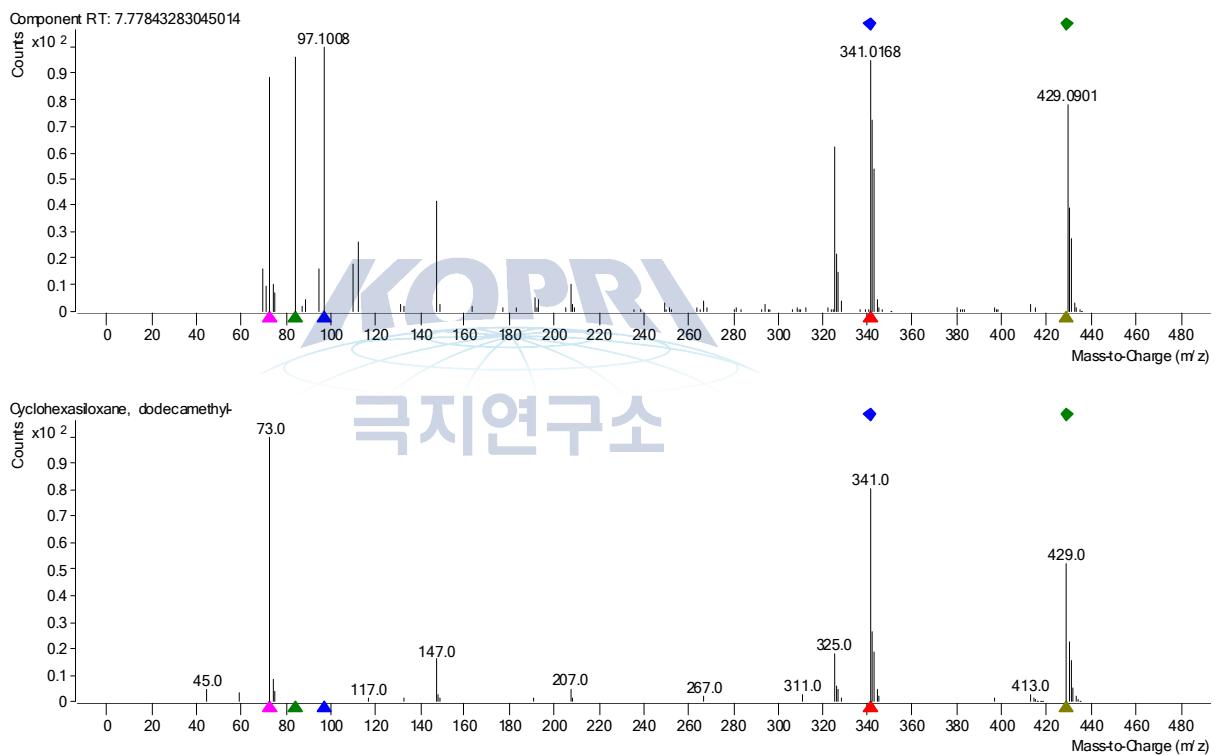


그림 30. Deconvoluted ion chromatogram(DIC)에서 추출한 물질의 개별 스펙트럼(위)과 NIST Library 통해 확인된 물질의 스펙트럼(아래).

6.7. NTSA 결과

6.7.1. 해수

해수시료에 대하여 앞서 확립한 전처리 기법 및 GC/Q-TOF 분석기법을 기반으로 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 수행하였다. GC/Q-TOF로 분석된 해수시료의 Total Ion Chromatogram(TIC)와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC)를 그림 31에 나타내었다. 분석된 TIC에서 디컨볼루션(Deconvolution) 기법을 적용하여 얻어진 DIC는 그림 31(아래)의 붉은 색으로 표시된다. 또한 디컨볼루션(Deconvolution)에 의해 도출된 개별적인 화합물은 다양한 색으로 크로마토그램을 이루고 있음을 확인할 수 있다.

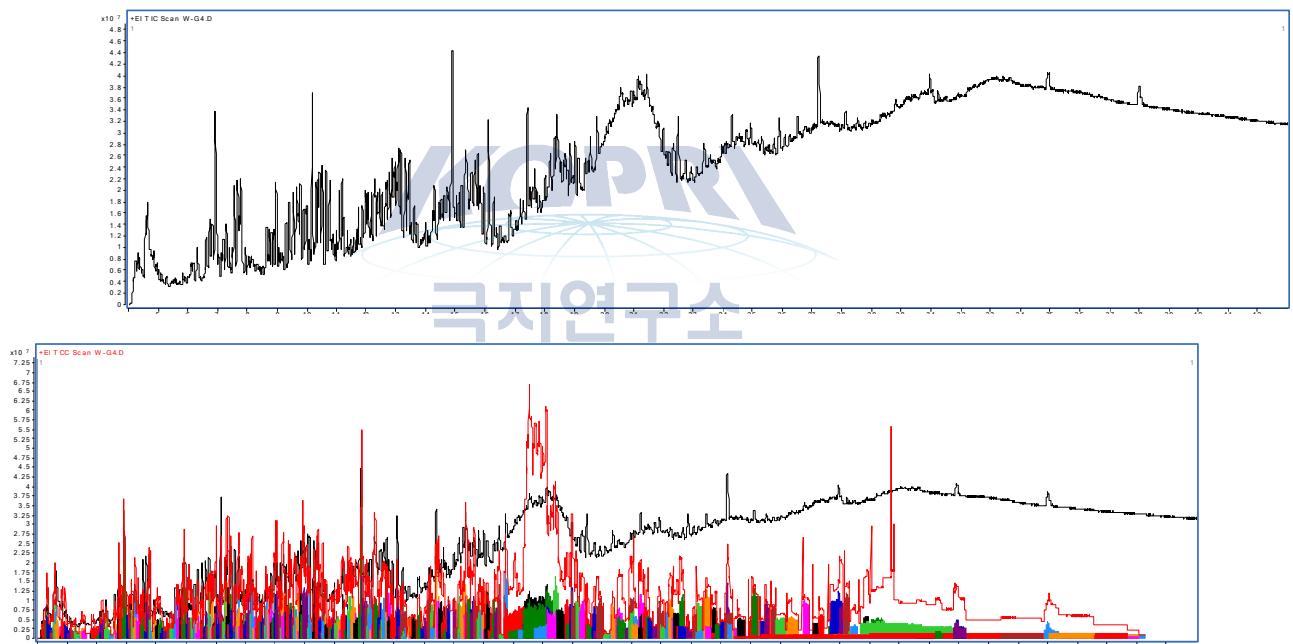


그림 31. GC/Q-TOF로 분석된 해수시료의 Total Ion Chromatogram(TIC, 위)와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC, 아래).

분석된 TIC 및 DIC를 이용하여 대상물질을 판별해 보았다. 우선 본 연구에서 Target 물질로 지정된 208종의 화합물에 대하여 대상물질을 판별한 후, 미지 물질(Unknown compounds)에 대하여 NIST Library와 매칭을 하였다. 분석한 해수시료(n=10)에 대하여 NTSA를 수행한 결과를 표 19와 그림 32에 나타내었다. 평균적으로 4209종의 화합물이 검출되었으며, 이중에서 Target 물질 중 NFRDI 어장환경모니터링 대상물질은 27종이 검출되어 전체 116종의 화합물 중에서 23.3%가 검출되었다. 그리고 92종의 신규 후보물질 중에서 41종의 화합물이 검출되어 전체의 44.5%가 검출되었다. 비표적(Non-target)으로 NIST Library와 매칭된 화합물은 2023개가 검출되었으며, 미지 물질(Unknown compounds)은 2118개가 검출되었다.

표 19. 해수시료(n=10) 중 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 통해 검출된 화합물 정리.

Result of NTSA		Number of compounds
Target	Monitored	27/116
	Non-monitored	41/92
Non-Target	Identified (Matched with NIST)	2023
	Unknown	2118
Sum		4209

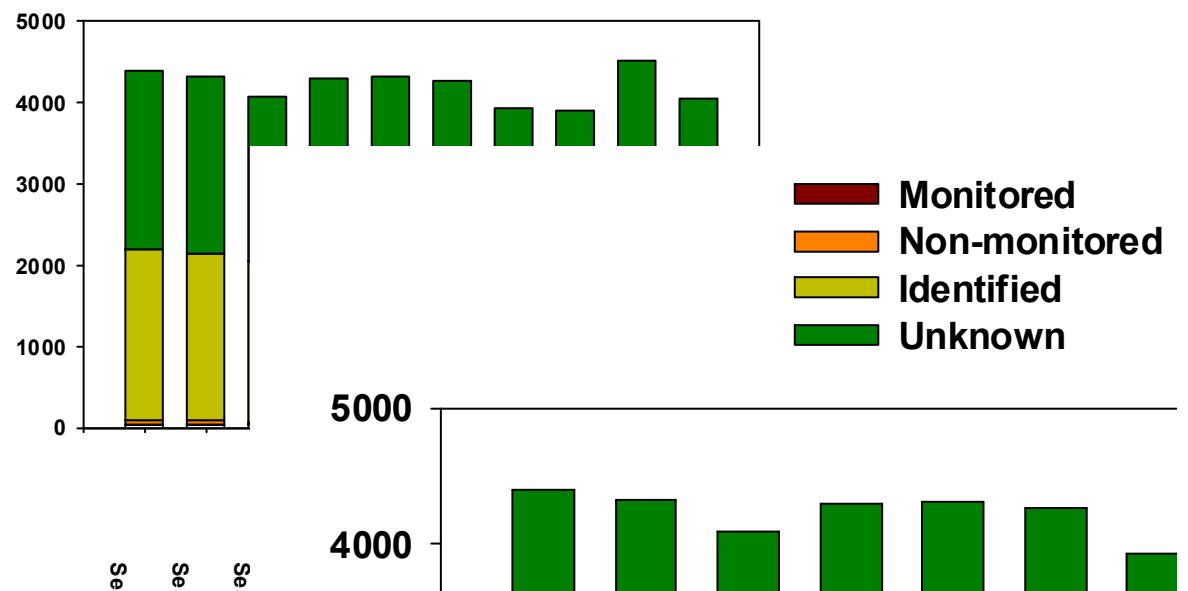


그림 32. 해수시료(n=10) 중 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 통해 검출된 화합물 개수.

대표적으로 한 정점의 해수시료에 대하여 살펴보면 2119개의 비표적(Non-target) 물질이 검출되었으며, 검출된 물질의 머무름 시간(retention time)에 따른 분자량(Da) 분포는 그림 33처럼 나타낼 수 있다. 대부분 20분 이내의 빠른 시간에 낮은 분자량을 갖는 물질로 검출되었으며, 이는 해수시료에서 나타날 수 있는 특징이라고 여겨진다.

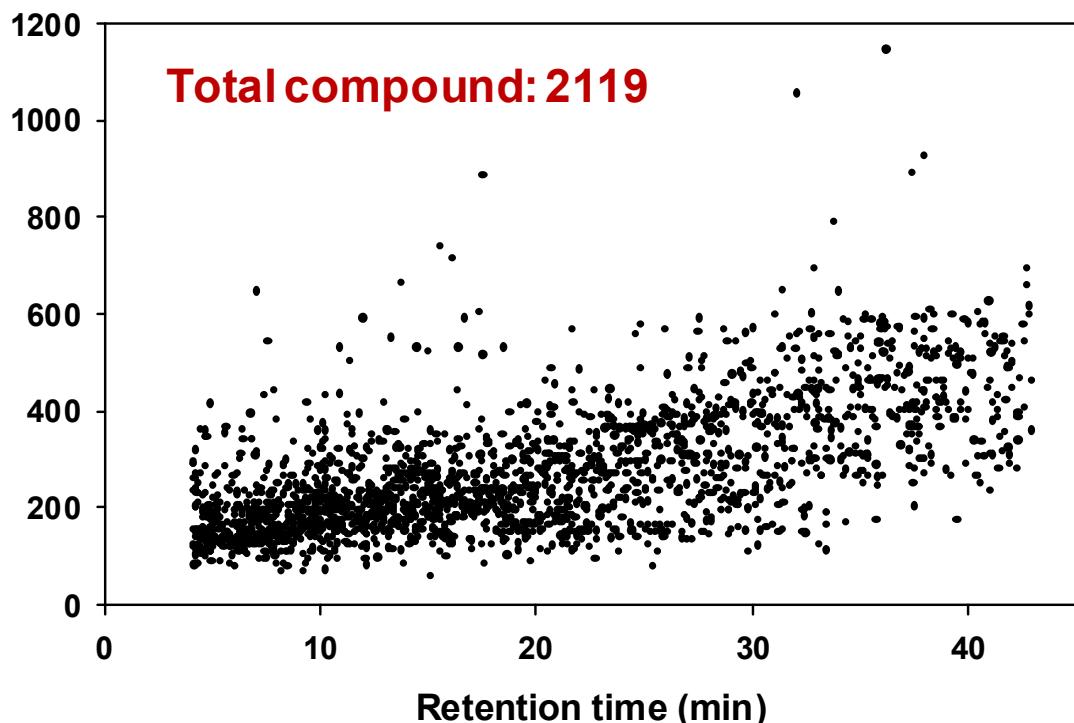


그림 33. 해수시료에서 검출된 비표적(Non-target) 물질의 머무름 시간(retention time)에 따른 분자량(Da) 분포

표적(Target) 물질의 정보 및 분류를 진행하여 그림 34에 나타내었다.

표적(Target) 물질 중에서 Siloxanes이 89.5% 검출되어 가장 높은 검출율을 보였다.

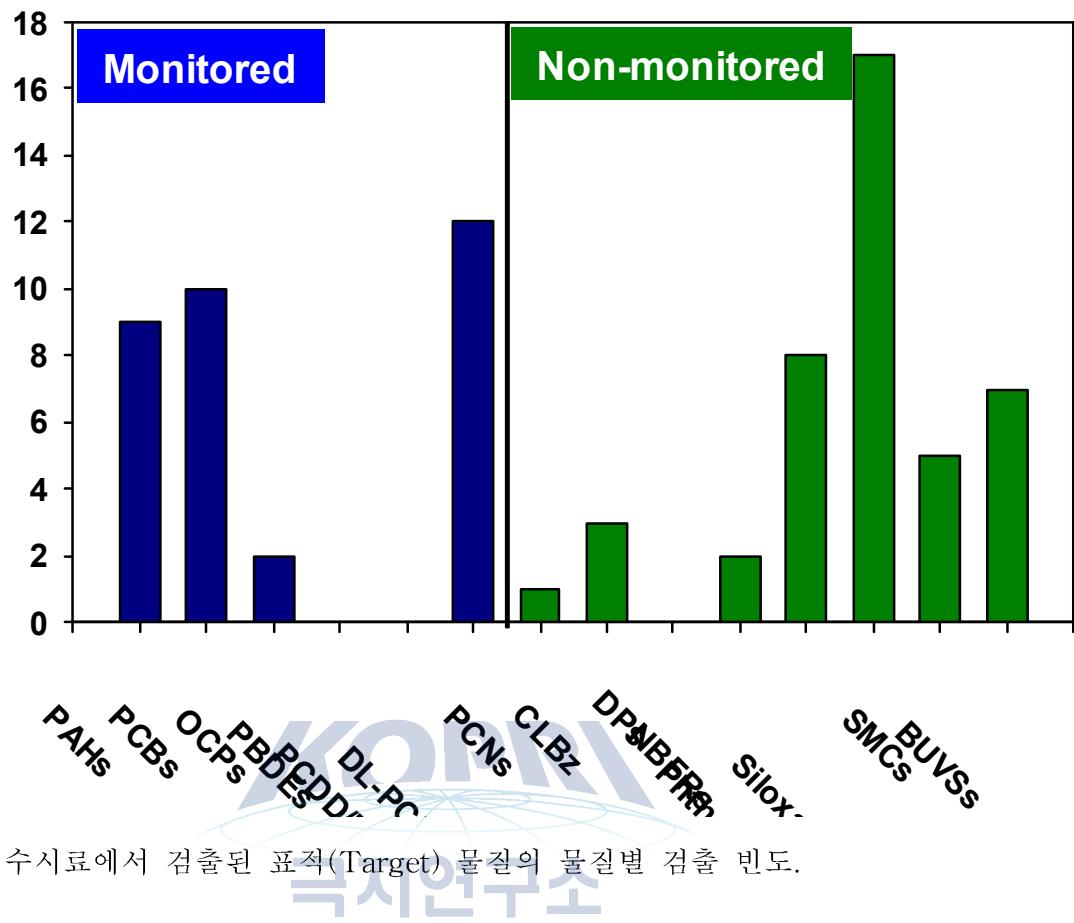


그림 34. 해수시료에서 검출된 표적(Target) 물질의 물질별 검출 빈도.

6.7.2. 퇴적물

퇴적물시료에 대하여 앞서 확립한 전처리 기법 및 GC/Q-TOF 분석기법을 기반으로 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 수행하였다. GC/Q-TOF로 분석된 해수시료의 Total Ion Chromatogram(TIC)와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC)를 그림 35에 나타내었다. 분석된 TIC에서 디컨볼루션(Deconvolution) 기법을 적용하여 얻어진 DIC는 그림 35(아래)의 붉은 색으로 표시된다. 또한 디컨볼루션(Deconvolution)에 의해 도출된 개별적인 화합물은 다양한 색으로 크로마토그램을 이루고 있음을 확인할 수 있다.

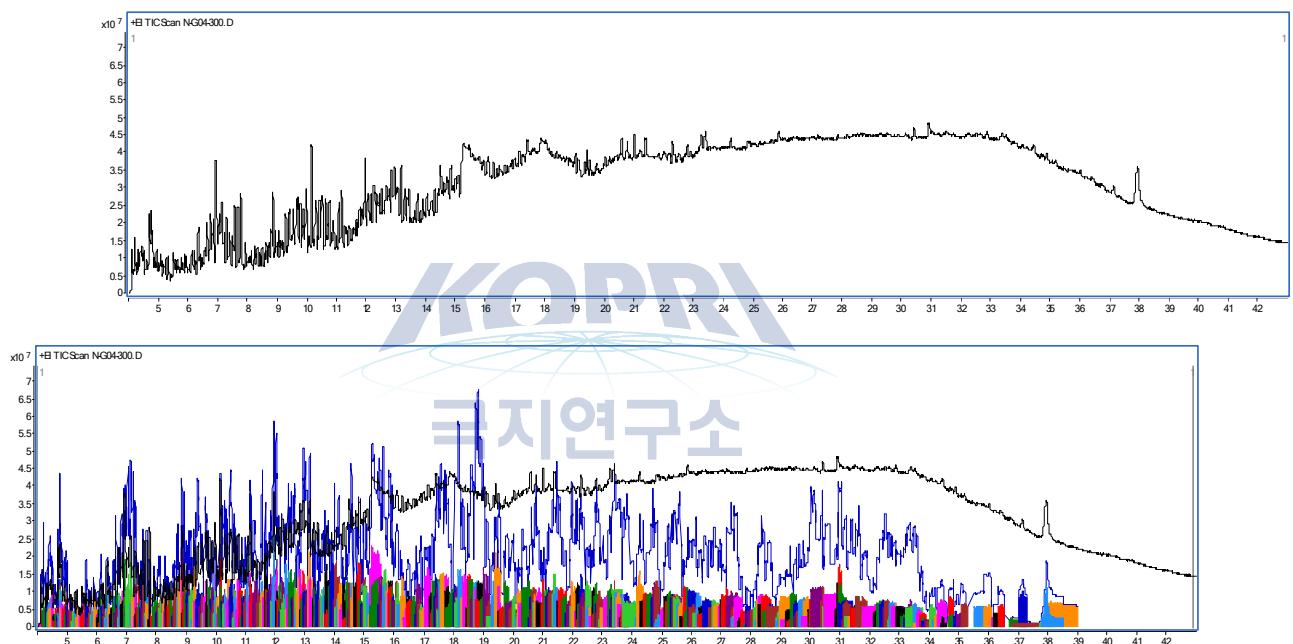


그림 35. GC/Q-TOF로 분석된 퇴적물시료의 Total Ion Chromatogram(TIC, 위)와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC, 아래).

분석된 TIC 및 DIC를 이용하여 대상물질을 판별해 보았다. 우선 본 연구에서 Target 물질로 지정된 208종의 화합물에 대하여 대상물질을 판별한 후, 미지 물질(Unknown compounds)에 대하여 NIST Library와 매칭을 하였다. 분석한 퇴적물시료(n=10)에 대하여 NTSA를 수행한 결과를 표 20와 그림 36에 나타내었다. 평균적으로 3724종의 화합물이 검출되었으며, 이중에서 Target 물질 중 NFRDI 어장환경모니터링 대상물질은 48종이 검출되어 전체 116종의 화합물 중에서 41.1%가 검출되었다. 그리고 92종의 신규 후보물질 중에서 49종의 화합물이 검출되어 전체의 53.5%가 검출되었다. 비표적(Non-target)으로 NIST Library와 매칭된 화합물은 1759개가 검출되었으며, 미지 물질(Unknown compounds)은 1869개가 검출되었다.

표 20. 퇴적물시료(n=10) 중 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 통해 검출된 화합물 정리.

Result of NTSA		Number of compounds
Target	Monitored	48/116
	Non-monitored	49/92
Non-Target	Identified (Matched with NIST)	1759
	Unknown	1869
Sum		3724

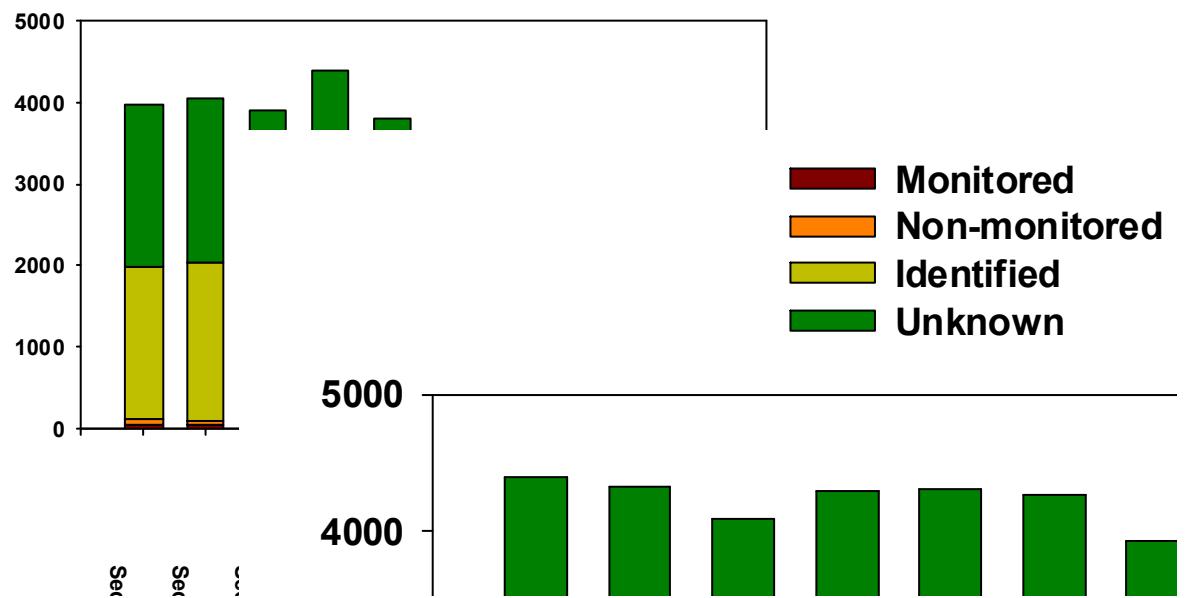


그림 36. 퇴적물시료(n=10) 중 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 통해 검출된 화합물 개수.

대표적으로 한 정점의 퇴적물시료에 대하여 살펴보면 1887개의 비표적(Non-target) 물질이 검출되었으며, 검출된 물질의 머무름 시간(retention time)에 따른 분자량(Da) 분포는 그림 37처럼 나타낼 수 있다.

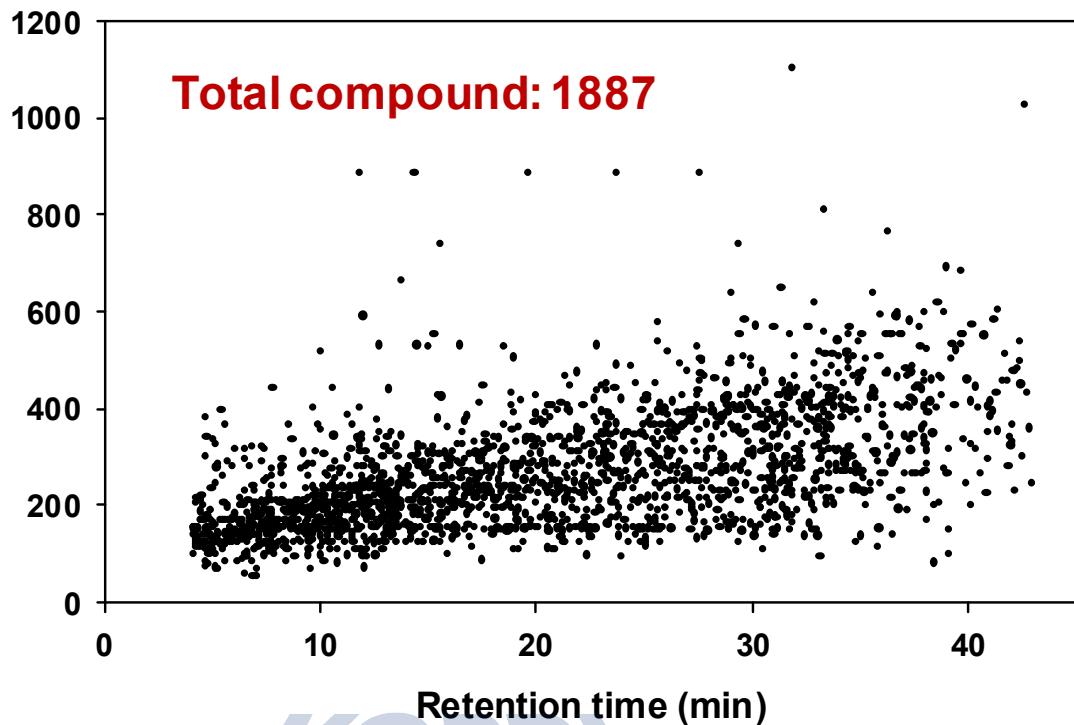


그림 37. 퇴적물시료에서 검출된 비표적(Non-target) 물질의 머무름 시간(retention time)에 따른 분자량(Da) 분포

극지연구소

표적(Target) 물질의 정보 및 분류를 진행하여 그림 38에 나타내었다.
 표적(Target) 물질 중에서 PAHs이 91% 검출되어 가장 높은 검출율을 보였다.

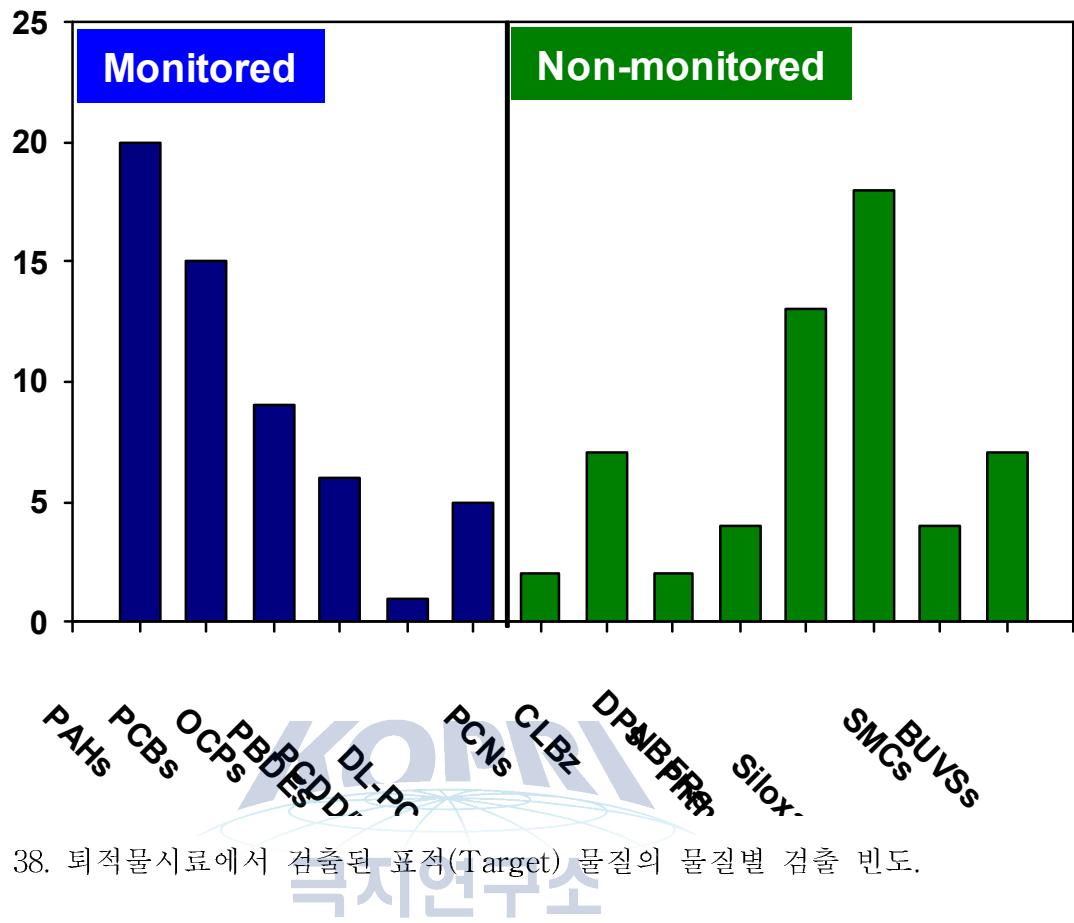


그림 38. 퇴적물시료에서 검출된 표적(Target) 물질의 물질별 검출 빈도.

6.7.3. 생물

생물시료에 대하여 앞서 학습한 전처리 기법 및 GC/Q-TOF 분석기법을 기반으로 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)를 수행하였다. GC/Q-TOF로 분석된 해수시료의 Total Ion Chromatogram(TIC)와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC)를 그림 39에 나타내었다. 분석된 TIC에서 디컨볼루션(Deconvolution) 기법을 적용하여 얻어진 DIC는 그림 39(아래)의 붉은 색으로 표시된다. 또한 디컨볼루션(Deconvolution)에 의해 도출된 개별적인 화합물을 다양한 색으로 크로마토그램을 이루고 있음을 확인할 수 있다.

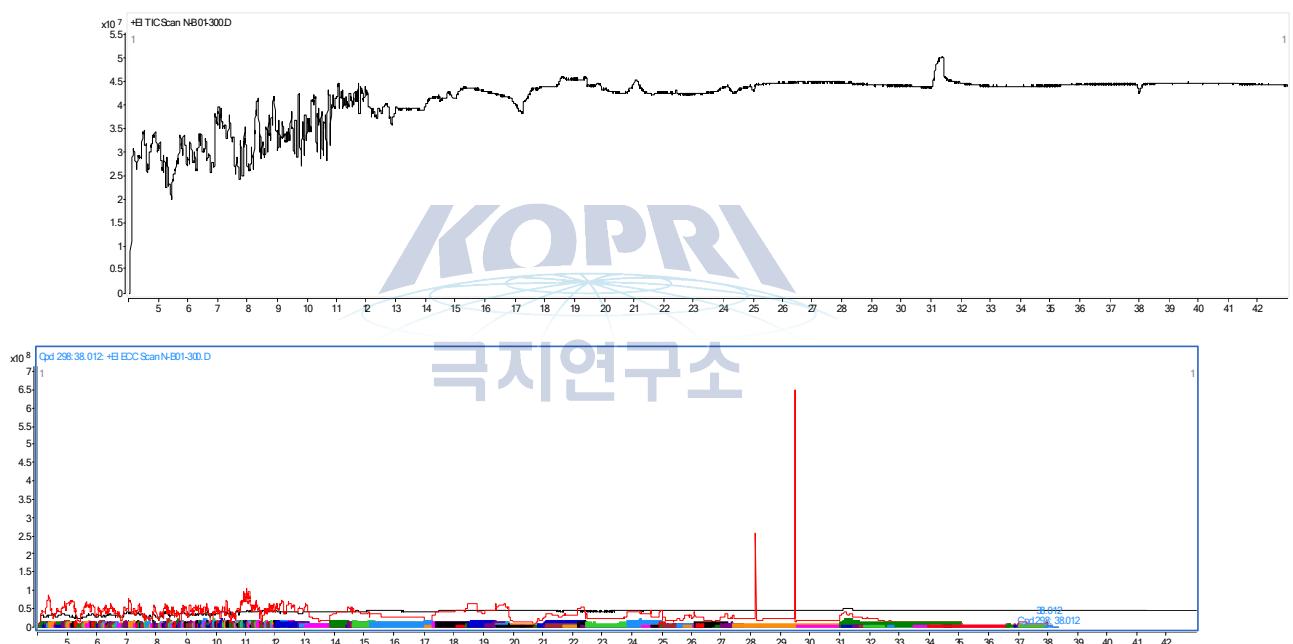


그림 39. GC/Q-TOF로 분석된 생물시료의 Total Ion Chromatogram(TIC, 위)와 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC, 아래).

분석된 TIC 및 DIC를 이용하여 대상물질을 판별해 보았다. 우선 본 연구에서 Target 물질로 지정된 208종의 화합물에 대하여 대상물질을 판별한 후, 미지 물질(Unknown compounds)에 대하여 NIST Library와 매칭을 하였다. 분석한 생물시료(n=10)에 대하여 NTSA를 수행한 결과를 표 21과 그림 40에 나타내었다. 평균적으로 3346종의 화합물이 검출되었으며, 이중에서 Target 물질 중 NFRDI 어장환경모니터링 대상물질은 58종이 검출되어 전체 116종의 화합물 중에서 49.6%가 검출되었다. 그리고 92종의 신규 후보물질 중에서 48종의 화합물이 검출되어 전체의 52.3%가 검출되었다. 비표적(Non-target)으로 NIST Library와 매칭된 화합물은 1505개가 검출되었으며, 미지 물질(Unknown compounds)은 1736개가 검출되었다.

표 21. 생물시료(n=10) 중 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 통해 검출된 화합물정리.

Result of NTSA		Number of compounds	
Target		Monitored	58/116
Non-Target		Non-monitored	48/92
	Identified (Matched with NIST)		1505
	Unknown		1736
	Sum		3346

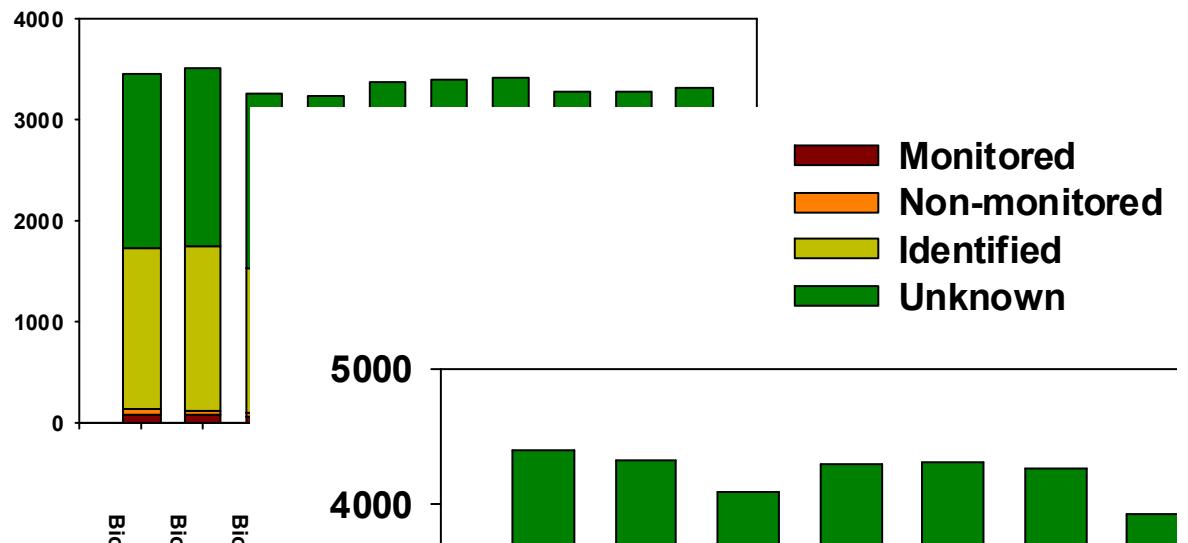


그림 40. 생물시료($n=10$) 중 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)를 통해 검출된 화합물 개수.

대표적으로 한 정점의 생물시료에 대하여 살펴보면 1583개의 비표적(Non-target) 물질이 검출되었으며, 검출된 물질의 머무름 시간(retention time)에 따른 분자량(Da) 분포는 그림 41처럼 나타낼 수 있다. 대부분 20분 이내의 빠른 시간에 낮은 분자량을 갖는 물질로 검출되었으며, 이는 생물시료에서 나타날 수 있는 특징이라고 여겨진다.

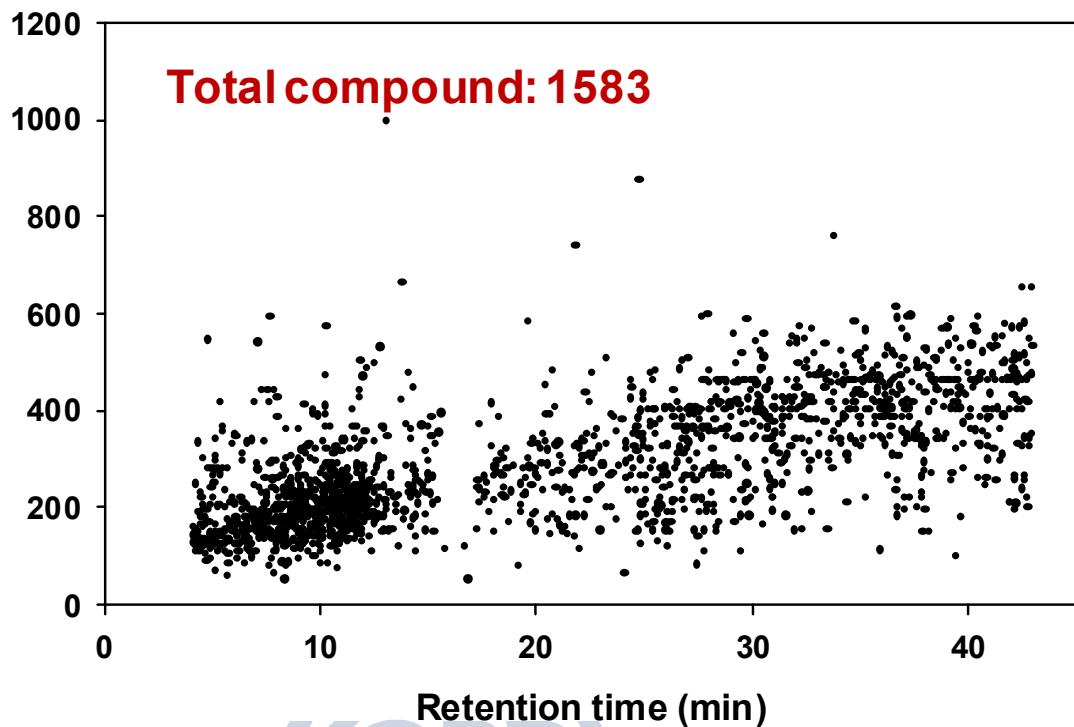


그림 41. 생물시료에서 검출된 비표적(Non-target) 물질의 머무름 시간(retention time)에 따른 분자량(Da) 분포

표적(Target) 물질의 정보 및 분류를 진행하여 그림 42에 나타내었다.

표적(Target) 물질 중에서 PCBs이 89% 검출되어 가장 높은 검출율을 보였다.

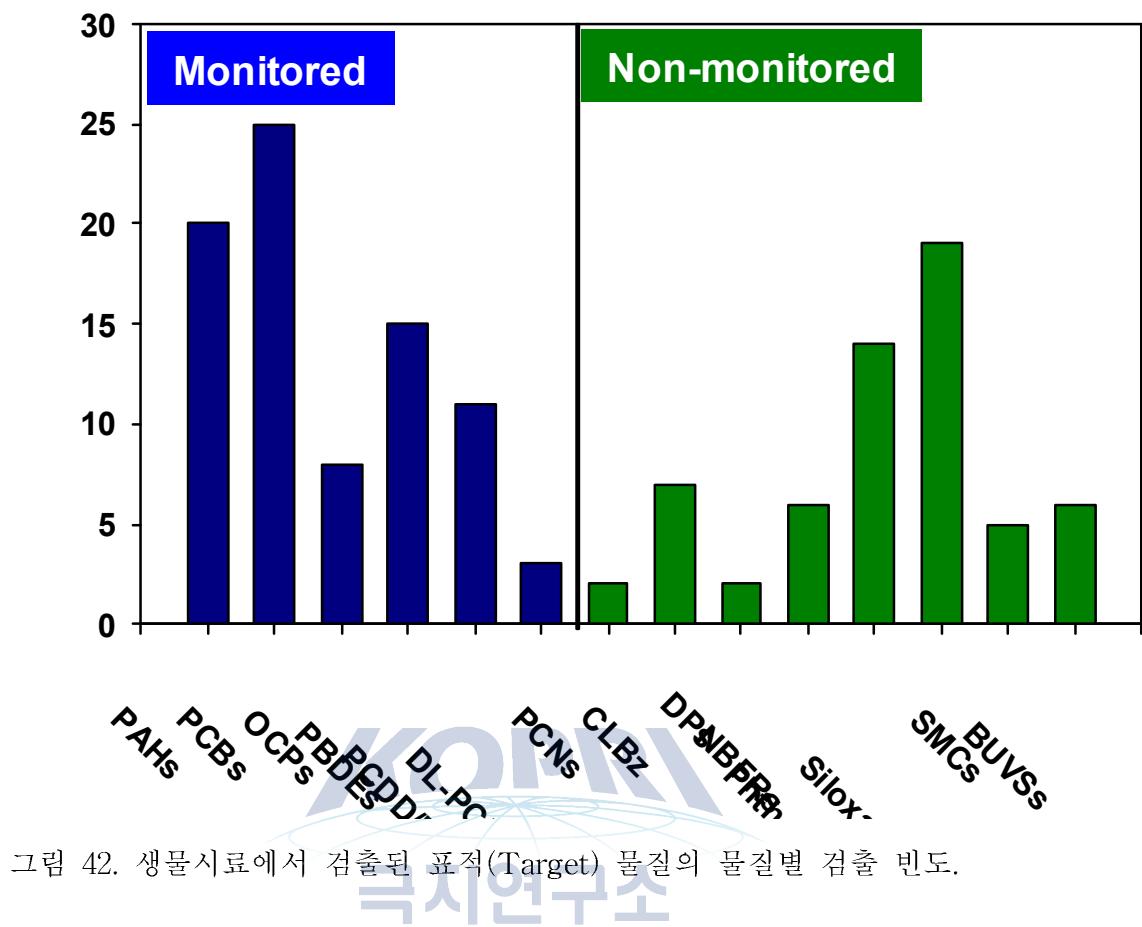


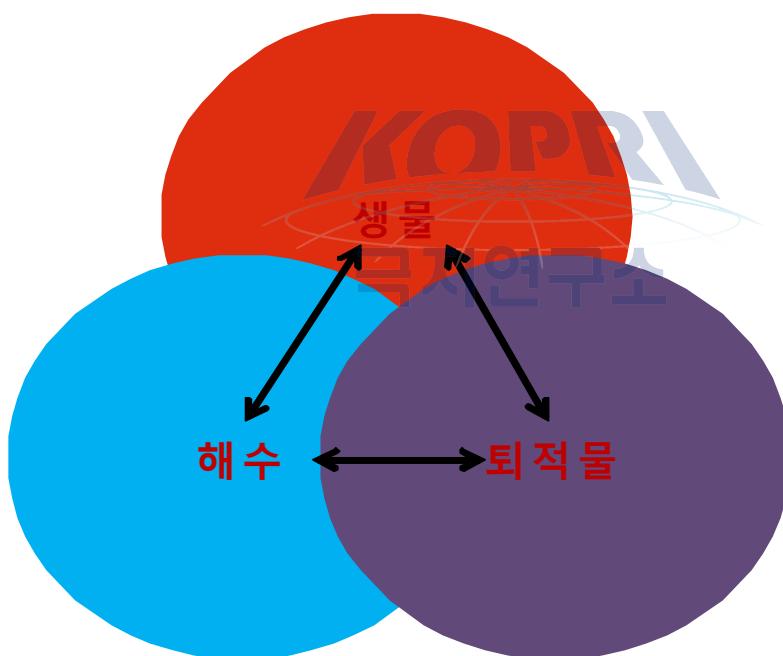
그림 42. 생물시료에서 검출된 표적(Target) 물질의 물질별 검출 빈도.

6.8. 우선모니터링 대상물질 선정 기법

수산물 우선모니터링 대상물질을 제안하기 위하여 비표적 스크리닝

분석기법(NTSA)을 활용한 물질선정 근거 모식도를 그림 43에 나타내었다. 어장환경의 해양시료(해수, 퇴적물, 생물)에 대하여 NTSA를 수행한 후, 각 매체별 검출물질을 정리한 후 정보를 비교하여 물질을 선정한다. 각 매체에서 공통적으로 검출된 물질은 해양으로 유입된 다양한 유기오염물질 중에서 해수-퇴적물-생물 사이의 다양한 물리·화학적인 상호작용을 거쳐 전 매체에서 동시에 검출되는 물질로 정리된다. 따라서 본 과정을 통하여 선정된 대상물질은 최종적으로 수산물 모니터링 대상물질로서 제안할 수 있다.

[물질 선정 근거]



[각 매체별 검출물질에 대한 정보비교]



수산물 모니터링 대상물질 제안

그림 43. NTSA를 활용한 우선모니터링 대상물질 선정 근거 모식도.

6.8.1. 대상물질 적용: Monitored & Non-monitored 물질

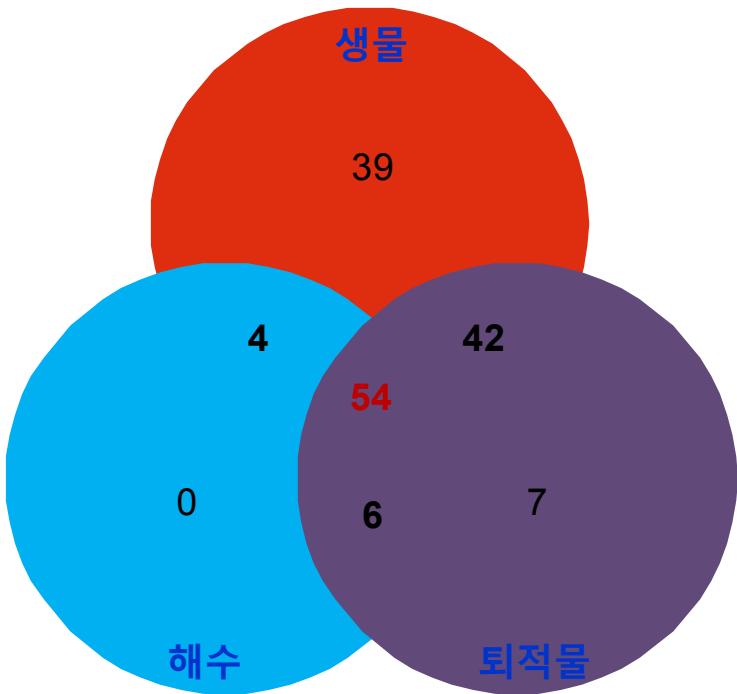


그림 44. 우선모니터링 대상물질 판별을 위한 Monitored & Non-monitored 물질 적용 예시.

우선모니터링 대상물질 판별을 위하여 NTSA로부터 도출된 결과를 토대로 표적물질 중 Monitored & Non-monitored 물질을 정리해 그림 44에 도식화 하였다. 대상표적물질 중에서 54종의 물질이 해수-퇴적물-생물 모두에서 검출되어 해당물질을 우선적으로 모니터링 해야 하는 근거로서 제시할 수 있다.

6.8.2. 대상물질 적용: Identified 물질(NIST Library)

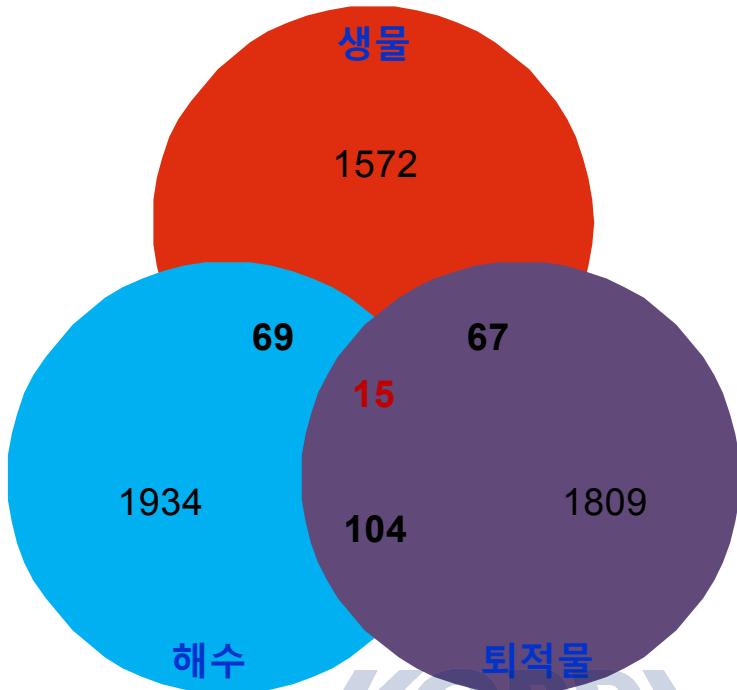


그림 45. 우선모니터링 대상물질 판별을 위한 Identified 물질(NIST Library 매칭)
적용 예시.

우선모니터링 대상물질 판별을 위하여 NTSA로부터 도출된 결과를 토대로
비표적물질 중 Identified 물질(NIST Library 매칭)을 정리해 그림 45에 도식화 하였다.
비표적물질 중에서 15종의 물질이 해수-퇴적물-생물 모두에서 검출되어 해당물질을
우선적으로 모니터링 해야 하는 근거로서 제시할 수 있다.

6.9. 개발된 NTSA 절차서

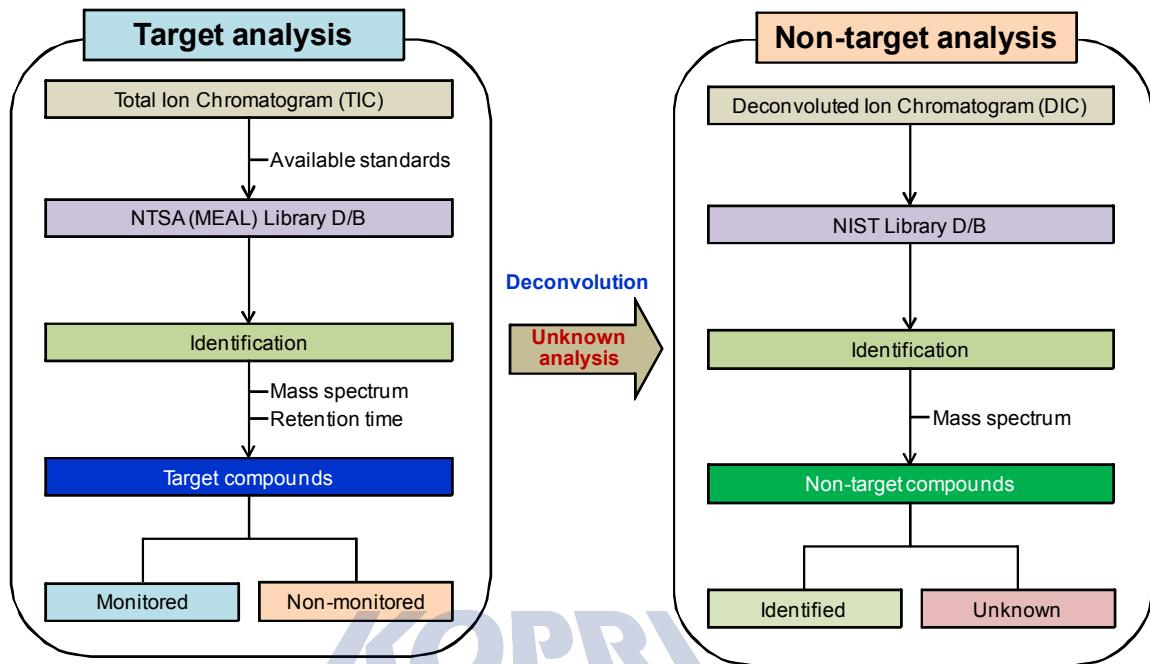


그림 46. 개발된 NTSA 절차서 모식도.

국지연구소

최종적으로 개발된 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)의 절차서를 그림 46에 요약하였다. 확립된 전처리 기법 및 GC/Q-TOF 기기분석 조건에 따라 분석한 후, 그림 46과 같은 순서로 NTSA를 수행한다. 기기분석 된 물질은 우선적으로 표적(Target) 물질에 대하여 Target analysis를 수행한다. Total Ion Chromatogram(TIC)를 이용하여 상업적으로 이용 가능한 표준물질을 이용하여 미리 구축해 놓은 NTSA(MEAL) Library를 이용하여 대상물질의 검출 유무를 판단한다. 이때 개별 물질의 스펙트럼과 머무름 시간을 지표로써 활용한다. 검출된 물질은 표적물질로서 국립수산과학원에서 현재 모니터링하고 있는 물질(Monitored)과 신규 후보유기오염물질(Non-monitored)로 나뉜다. 그 후 미지 물질(Unknown compounds)을 판별하기 위하여 디컨볼류션(Deconvolution)을 적용하여 Deconvoluted Ion Chromatogram(DIC)를 얻는다. DIC를 이용하여 각 물질을 NIST Library와 매칭하여 개별 물질의 스펙트럼을 지표로 물질을 판별한다, 판별된 물질은 비표적 물질로서 정리되며, 판별되지 않은 DIC의 물질은 Unknown물질로서 정리된다.

7. 결론 및 제언

어장환경 매체별 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)을 개발하기 위하여 본 연구진은 NTSA 절차서를 개발하였다. 절차서에 따라 NTSA 기법 확립을 위한 기기분석을 최적화하였다. 최적화된 기기분석 조건은 분석칼럼은 DB-5MS를 사용하였으며, Q-TOF 이온화 방법으로 전자충격이온화(EI)법을 사용하였다. TOF의 모니터링 질량수는 50–600(m/z)에 해당하는 물질을 대상으로 모니터링을 수행하였고 해상도 범위는 900($m/z=131$) ~ 12000 ($m/z=502$)을 사용하였다. 기기조건 확립 후, 해양시료 매체별(해수, 퇴적물, 생물) NTSA 전처리 기법을 확립하였다.

확립된 전처리 기법은 해수의 경우 GF/F 필터지를 이용하여 입자물질을 여과한 후, Oasis HLB SPE를 이용하여 추출 및 정제를 하였다. 퇴적물과 생물의 경우 속실렛 추출법을 이용하여 추출한 후, 퇴적물 시료의 경우 활성화구리 처리-Oasis HLB SPE 정제를 진행하였고, 생물 시료의 경우 GPC 정제 후 Oasis HLB SPE 정제를 수행하였다. 전처리된 각 매체별 시료에 대하여 기기분석을 완료 한 후, 목록화가 진행된 표적 대상물질에 대하여 표적분석(Target analysis)를 진행하여 목록화를 1차적으로 완료 한 후, 디컨볼루션(Deconvolution)을 통한 비표적분석(Non-target analysis)를 진행하여 NIST Library 매칭을 통한 비표적 물질 확인 및 미지물질(Unknown compounds)을 정리하여 목록화를 진행하였다.

최종적으로 수산물 우선모니터링 대상물질을 제안하기 위하여 비표적 스크리닝 분석기법(NTSA)을 수행하여 어장환경의 해양시료(해수, 퇴적물, 생물)에 대하여 NTSA를 적용한 후, 각 매체별 검출물질을 정리한 후 정보를 비교하여 물질을 선정한다. 각 매체에서 공통적으로 검출된 물질은 해양으로 유입된 다양한 유기오염물질 중에서 해수-퇴적물-생물 사이의 다양한 물리·화학적인 상호작용을 거쳐 전 매체에서 동시에 검출되는 물질로 정리된다. 따라서 본 과정을 통하여 선정된 대상물질은 최종적으로 수산물 모니터링 대상물질로서 제안할 수 있다.

8. 참고문헌

- Casado, J., Rodriguez, I., Carpinteiro, I., Ramil, R. Cela, 2013. Gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry determination of benzotriazole ultraviolet stabilizers in sludge samples. *J. Chromatography A* 1293, 126–132.
- Cervera, M.I., Portoles, T., Pitarch, E., Beltran, J., Hernandez, H., 2012. Application of gas chromatography time-of-flight mass spectrometry for target and non-target analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromatography A* 1244, 168–177.
- Hernandez, F., Portoles, T., Pitarch, E., Lopez, F.J., 2007. Target and nontarget screening of organic micropollutants in water by solid-phase microextraction combined with gas chromatography/high-resolution time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chem.* 79, 9494–9504.
- Hernandez, F., Bijlsma, L., Sancho, J.V., Diaz, R., Ibanez, M., 2011. Rapid wide-scope screening of drugs of abuse, prescription drugs with potential for abuse and their metabolites in influent and effluent urban wastewater by ultrahigh pressure liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 684, 96–106.
- Hernandez, F., Ibanez, M., Portoles, T., Cervera, M.I., Sancho, J.V., Lopez, F., 2015. Advancing towards universal screening for organic pollutants in waters. *J. Hazard. Mat.* 282, 86–95.
- Muller, A., Schulz, W., Ruck, W.K.L., Weber, W.H., 2011. A new approach to data evaluation in the non-target screening of organic trace substances in water analysis. *Chemosphere* 85, 1211–1219.
- Zhang, F., Wang, H., Zhang, L., Zhang, J., Fan, R., Yu, C., Wang, W., Guo, Y., 2014. Suspected-target pesticide screening using gas chromatography - quadrupole time-of-flight mass spectrometry with high resolution deconvolution and retention index/mass spectrum library. *Talanta*, 128, 156–163.

제 3 절. LC-Orbitrap에 기반한 비표적스크리닝 분석법 (Nontarget screening analysis, NTS)

1. 연구의 배경, 필요성 및 목적

1.1. 연구 배경

유럽과 미국 등의 자료에 따르면, 현재, 약 100,000 종의 화학물질이 관련기관에 등록되어 있고, 그 중, 약 30,000 종은 매일, 일상적으로 사용되고 있다. 사용된 화학물질은 필연적으로 환경으로 유입되어 생태계와 수자원 등을 오염시키고 있다. 그러나, 이들의 종류 및 농도에 대한 구체적인 정보가 부족한 실정이다. 최근들어, 다양한 유해화학물질이 환경중으로 유출되는 사고들이 일어나고 있고, 이는 곧, 인체 뿐만이 아니라, 환경생태 또한 많은 피해를 입었을 것으로 추정되고 있습니다. 더욱 우려스러운 것은, 환경으로 유입된 유기화합물들은 물리화학적, 혹은 생물학적 반응을 통해 끊임없이 그 형태가 변하고(chemical transformation), 생성된 물질 (transformation product, TP)의 독성을 예측, 평가하기 어렵다는 사실입니다. 따라서, 이들에 대한 통합적인 환경위해성평가를 위해서는 환경중 존재하는 모든 유해화학물질에 대한 노출평가, 즉 기기분석을 통한 정성·정량평가 선행되어야 한다. 그러나, 환경중 존재하는 유해화학물질들은 그 농도가 상대적으로 낮고, 그 숫자가 많아서 통상적인 분석법으로는 이들에 대한 정보를 충분히 얻을 수 없다. 뿐만 아니라, 여전히 상당수의 환경유해화합물이 알려져 있지 않은 물질(unknown)로 존재하며 이들에 대한 정보는 전무한 상태이다. 이러한 정보의 한계를 극복하기 위해서는 환경오염원에 대한 보다 정밀하고 정확하며 다량의 정보를 제공할 수 있는 진보된 분석기법이 요구되고 있다.

1.2. 연구의 필요성

Nontarget screening 분석기법(NTS)은 기존의 표적분석기법의 한계를 넘어서, 표적되지 않은 물질(i.e., 비표적물질)에 대한 검출을 목적으로 하는 분석기법이다. 유기화학물질은 화학물질의 휘발성에 정도에 따라 최적의 측정기기가 결정되는데, 일반적으로 수계에 잔류하는 유기화합물질의 측정을 위해서는 액체크로마토그래피 기법(Liquid chromatography)이 적합한 것으로 알려져 있다. 고분해능액체크로마토그래피 (LC-HRMS/MS)를 이용하면, 미량으로 존재하는 유기독성물질의 분자구조를 해석할 수

있고, 이를 바탕으로 독성을 예측할 수 있다. 이러한 분석시스템은 미지의 시료를 분석하기 위해 사용 될 수 있는데, 이는 오염원에 대한 사전 정보 없이도 이들을 분석해 낼 수 있는 일련의 분석과정 (nontarget screening 기법)을 포함하고 있다. 현재, 유럽을 비롯한 선진국에서는 LC-HRMS/MS를 이용한 Nontarget screening 기법을 개발, 적용하여 다종의 유해화학물질을 상시적으로 모니터링을 하고 있고, 일부 unknown 물질을 검출하여 정성평가하고 있다. 환경부를 비롯한 국내 연구기관에서도 Nontarget screening 기법에 많은 관심을 가지고 있고, 환경오염조사 및 연구를 위한 NTS 기법의 필요성이 점차 커지고 있다.

1.3. 연구의 목적

수계에 존재하는 신규 오염물질을 모니터링하고 미량으로 존재하는 다양한 유기오염원 및 unknown 물질 분석을 위하여 LC기반 고분해질량분석 시스템 구축과 이를 활용한 Nontarget screening 기법을 구축하고자 한다.

본 과제에서는 LC-Orbitrap을 기반으로 하는 비표적스크리닝 분석기법(NTSA)을 활용하여 수계 미량오염원 및 unknown 물질 분석법을 제안하고자 한다.

국지연구소

2. 국내·외 사례

<국내사례>

○ 2011년 LC-MS/MS 장비를 활용한 음식물 중 농약 잔여물에 대한 target and non-target screening 기법이 적용되었다. 음식물에 사용되는 농약은 한정적이기 때문에 non-target 기법 보다는 TIC 스캔 데이터 중 mass fragmentation 패턴을 통해 대상물질을 확인하는 post-target screening 기법의 시도로 판단되며, 2013년 고분해능 LC-MS/MS 시스템을 활용한 농약류 유사 연구가 진행되었다.

<국외사례> (라인강 수질측정소 미량오염원 모니터링 사례를 중심으로)

○ 표적 및 비표적분석기법을 이용한 라인강 화학물질 감시체계 분석
아래의 그림은 바젤 수질측정소의 LC-HRMS 기반 분석체계도를 나타내었다.
강물시료로부터 유기화합물질을 추출하기 위해 고체 상추출기법(SPE:
Solid Phase Extraction)을 사용하였고, 정량분석을 위해 140 종의
내부표준물질(Internal standard)를 사용하였다. HRMS분석에서의
질량분해능(Resolution)은 60,000이상으로 유지하여 측정된 exact mass의 신뢰성을
확보하였고, MS/MS fragmentation을 수행하여 분자의 쪼개짐 패턴 정보를 수집하였다.
HRMS분석을 통해 얻어진 정보는 정성·정량분석 소프트웨어를 통해 해석된다.
50 종의 우선순위 물질에 대해서는 장비제조사에서 제공하는 Data evaluation
소프트웨어를 이용하여 정밀 정량분석을 수행한다. 한편, EnviMass는 대용량의 HRMS
분석정보를 손쉽게 처리할 수 있는 소프트웨어로서, Eawag에서 개발·제공되었다. 바젤
수질측정소에서는 EnviMass를 이용하여 310 종의 표적물질에 대한
준정량분석(semi-quantification)을 수행하고, 이 이외에 인지된 exact mass 및 peak에
대해서는 nontarget screening 분석절차를 적용한다.

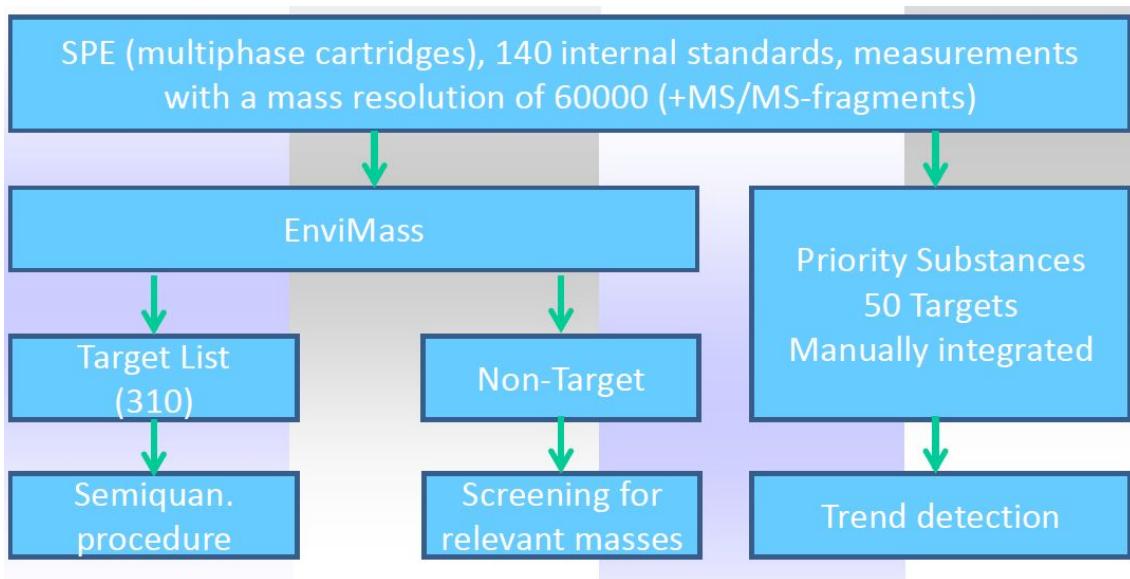


그림 76 바셀 수질측정소의 LC-HRMS 기반 미량오염물질 분석체계

아래 그림은 비표적분석기법을 통해 감지된 특정 물질의 질량 스펙트럼과 동위원소 패턴을 보여주고 있다. 141.0209 m/z 값과 그림과 같은 동위원소 패턴을 가진 물질은 C₇H₂N₄의 분자식을 가진 물질이라는 것을 알 수 있다.

Non-Target Screening: Mass 141.0209 (M-H⁻)

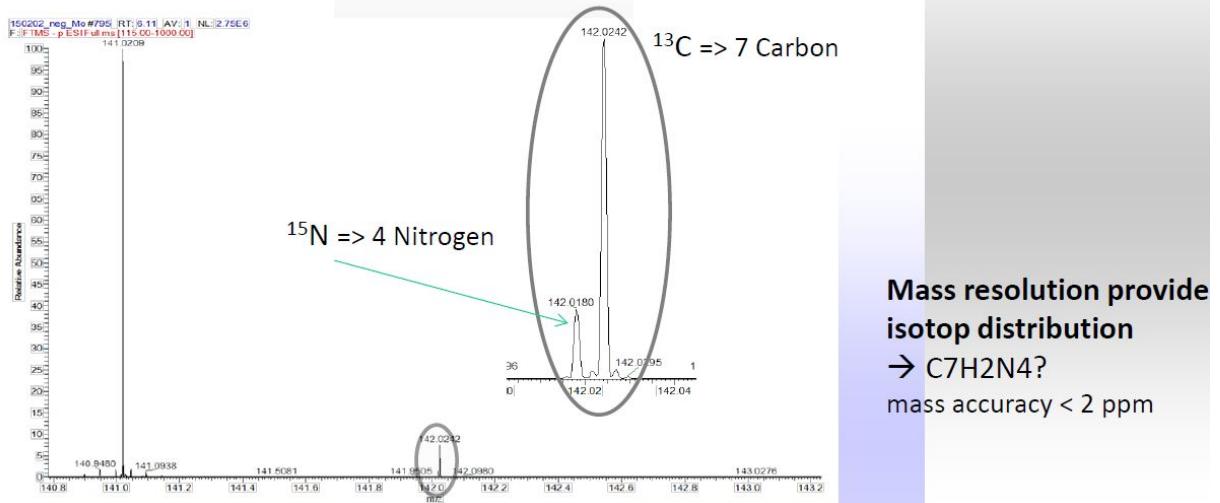


그림 77 비표적분석기법을 통해 인지된 물질의 질량스펙트럼(m/z 값 141.0209, 분자식 C₇H₂N₄)

6개월에 걸친 해당 물질 모니터링 결과를 보면(아래 그림) 재미있는 사실이 들어난다. 이 unknown 물질은 스위스 국경일 기간동안 바젤 수질측정소에서는 감지되지 않았다. 따라서, 이 물질은 국경일 기간동안 휴업을 했던 업체에서 유출되었다는 것을 알 수 있다. 이후, 추가적인 분석절차를 거쳐 해당물질은 tetracarbonitrilpropen(TCNP)으로 밝혀졌다. 비표적분석기법을 통해 인지된 Unknown 물질을 TCNP로 확인하기까지 약 2달이 소요되었다. 비록 짧지 않은 시간이 소요되었지만, 비표적분석기법이 없었다면 TCNP의 존재유무조차 파악하지 못했을 것이고, 수계 피해 및 영향평가도 제대로 이루어 질 수 없었을 것이다. 이러한 비표적분석기법을 통해서 보다 많은 수계 오염원에 대한 관리가 가능해졌다.

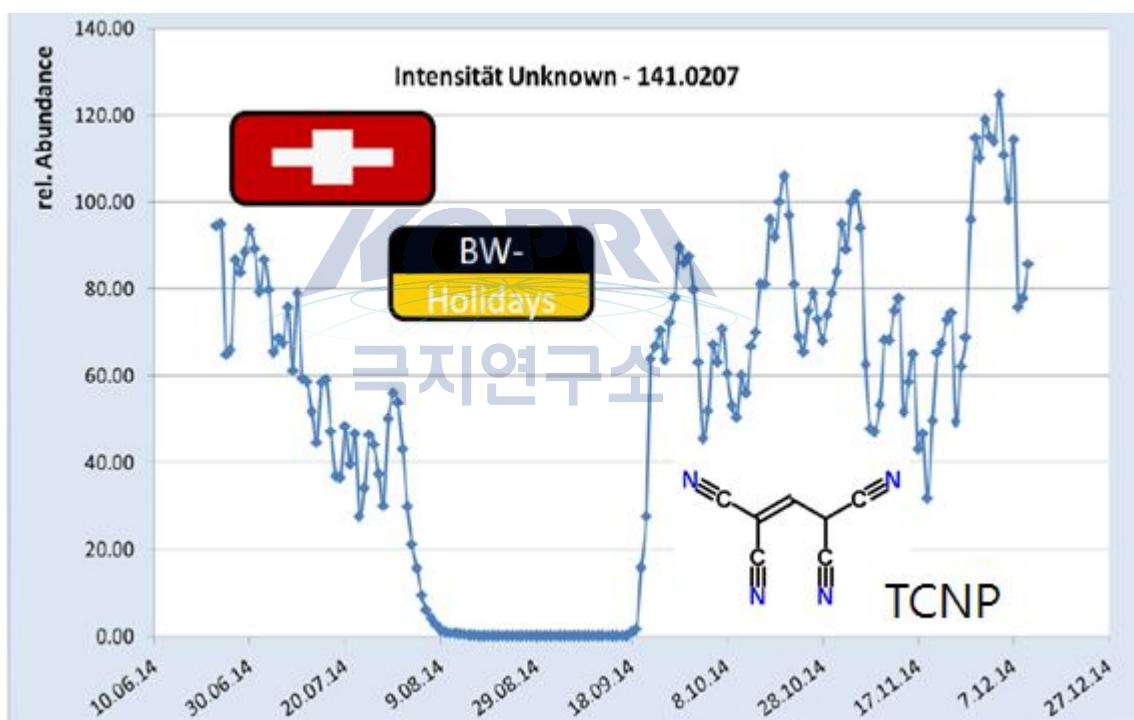


그림 78 시간에 따른 Tetracarbonitrilpropen(TCTP) 상대 강도(relative abundance) 변화

2014년 바젤 수질측정소에서는 이러한 표적/비표적분석기법을 통해 총 11종의 화학물질(6 종 by target, 5 종 by nontarget screening)에 의한 15번의 수질경보사례가 보고되었다. (아래 표)

Substance	Use	Alarms 2014	Detection	Load 2014 (kg)
Paracetamol	analgetic	14 Feb 2014/ Nov	Semi-Quant	320
Aliskiren	beta blocker	April 14 Feb / March / beginning and end March 14	Priority list	1400
Indometacin	analgetic	beginning and end March 14	Semi-Quant	170 (in 2 weeks)
2-Phenyl-2-(2-piperidin)acetamid acid	Industrial chemical	Feb - March 14	Nontarget	600
Toluol-4-sulfonic acid	Industrial chemical	Dez 14	Priority list	1500
Unknown_252		Sep 14	Nontarget	1300*
Unknown_325		May 14	Nontarget	5000*
Tizanidin	Muscle relaxant	Jun 14	Priority list	150
Mecoprop	Pesticide	Jun 14	Priority list	320
Unknown_139		Jun 14	Nontarget	70*
Tetracarbonitrilpropen	Industrial chemical	Nov 2014 (Info in Basel)	Nontarget	14000*
* load-estimation red marked substances = permanent pollutions				

표 14 2014년 바젤 수질측정소에서 보고된 수질경보사례
그 중 Aliskiren과 paracetamol (이상 의약품)이 각각 3번과 2번의 경보를

발령하였고, 3 종의 물질(i.e., unknown 252, 325, 139)은 여전히 물질확인이 안된 상태이다. 그러나, 해당 물질은 주요 관리대상 물질이 되고, 이를 통해 수계 오염배출원에 대한 관리·감독이 강화되는 효과를 얻을 수 있다.

3. 연구의 목표

본 연구의 목표는 액체크로마토그램-고분해능질량분석기(LC-Orbitrap)를 이용하여 수환경 유기오염원 분석을 위한 비표적스크리닝 분석기법(NTS)을 개발하는 것이다. 수환경 시료분석을 위한 NTS를 구축하기 위한 절차로서 1) LC-Orbitrap 분석조건 최적화, 2) NTS 분석절차 확립, 3) Unknown물질 정성분석 및 문자구조해석기법 구축 등을 하는 것이 본 연구의 목표이다.

- 액체크로마토그램-고분해능질량분석기(LC-Orbitrap) 분석조건 최적화
- LC-Orbitrap을 이용한 비표적스크리닝 분석절차(NTS) 확립
- Unknown물질 정성분석 및 문자구조해석기법 구축

표 15 연구의 목표

KOPRI
극지연구소

4. 연구의 내용

가. LC-Orbitrap 분석조건 최적화

1) 분석대상물질

물에 잔류하고 있는 유기화합물이 분석대상일 때 경우, 일반적으로 LC-MS가 GC-MS에 비해 보다 많은 종류의 유기화합물을 분석할 수 있는 것으로 알려져 있다. LC-MS의 장점은 GC-MS에 비해 시료 전처리 과정이 비교적 간단하고, 다양한 물리화학적 특성을 지닌 물질을 동시에 분석 가능하다는 것이다. 특히, 고분해능 기술을 접목한 LC-HRMS의 경우에는, 한번에 수백 종의 유기화합물을 동시에 target 분석 할 수 있으며, 그보다 더 많은 물질에 대한 nontarget 분석이 가능하다. 따라서, 다종의 수계 미량유기오염원 모니터링을 위해서는 반드시 LC-HRMS 기반 모니터링 기법이 적용되어야 한다. 분석대상이 되는 물질들은 잔류 의약품, 개인관리용품(personal care products), 살균제 (e.g., biocide 등), 농약, 준휘발성/비휘발성 유기용제, 그리고 이들의 대사체(BTP : biotransformation products 또는 metabolite) 또는 변환물질(TP: transformation products) 등이다. 특히, BTP 또는 TP의 경우, 잔류성과 친수성이 강하고, 미량으로 존재하며, 때로는 문자식 및 문자구조를 알 수 없는 경우(Unknown 물질) 있기 때문에, 이들을 분석하기 위해서는 LC-HRMS 기반 분석법이 적합한 것으로 알려져 있다.



그림 79 바젤 수질측정소에서 운용되고 있는 LC-Orbitrap 고분해능 질량분석기

현재, 스위스 바젤측정소에서 LC-HRMS (Orbitrap)을 이용하여 측정되고 있는 화학물질중에서 62 종은 정밀 정성·정량분석되고 있고, semi-quantification(준 정량) 대상물질은 280 종 정도이다. 정밀 정량분석은 표준물질을 이용한 검량선을 바탕으로 정량하는 것으로, 정확한 정량값을 보증할 수 있는 반면, Semi-quantification은 해당 물질의 RT(크로마토그램 머무름 시간)와 유사한 RT를 가지는 물질의 표준물질 검량선을 이용하여 간접적으로 농도를 유추하는 방법이다. 비록, 정밀 정량법에 비해 semi-quantification 방법의 정확도가 떨어지지만, 값비싼 표준물질의 소비를 최소화하고, 다량의 물질을 빠르고 쉽게 스크리닝 할 수 있다는 장점이 있다.

표 16 스위스 바젤측정소에서 Orbitrap 정밀 정성·정량분석 대상물질

62종

#	Compound	#	Compound	#	Compound
1	2-Naphthalinsulfonaeure	22	Dimethenamid	43	BA
2	2-Phenyl-2-(2-Piperidin)Acetamid	23	Gabapentin	44	Perfluorbutansulfonaeure_PFBS
3	4-Dimethylaminopyridin	24	zid	45	DA
4	5-Methyl-benzotriazol	25	Hydrochlorothia	46	Perfluordekansaeure_PFDDA
5	Acesulfam	26	Indomethacin	47	Perfluorheptansaeure_P
6	Aliskiren	27	Iopromid	48	FHPA
7	Atenolol	28	Isoproteruron	49	HA
8	Atrazin	29	Lamotrigin	50	Perfluorhexansaeure_PF
9	Azoxystrobinasaeure	30	Levetiracetam	51	NA
10	Benzotriazol	31	Mecoprop	52	Perfluorononansaeure_PF
11	Carbamazepin	32	MCPA	53	Perfluoroctansaeure_P
12	Carbamazepin-1,0,11-epoxid	33	Metalaxylyl	54	OA
13	Carbendazim	34	Metamitron	55	Sotalol
14	Chlortoluron	35	Metformin	56	Perfluoroctansulfonaeure_PFOS
15	Clarithromycin	36	Metolachlor	57	Terbutylazin
16	Coffein	37	rpholinon	58	Tizanidin
17	Cyproconazol	38	N,N-Didesvenla	59	Toluol-4-sulfonsaeure
18	DEET	39	faxin	60	Valsartan
		n	N-Desvenlafaxi		Valsartansaeure

19	mitron	Desamino-metaxin	40	faxin	O,N-Didesvenla	61	Venlafaxin
20		Desethylatrazin	41		Paracetamol	62	Sum of Terbutryn+Prometryn*
21		Diclofenac	42		Penconazol		

표 4a 스위스 바젤축정소에서 Orbitrap 분석 테이타 semi quantification*

대상물질 총280 종(7a, 1~100종)(*Semi-quantification은 해당 물질의 RT(크로마토그램 머무름 시간)와 유사한 RT를 가지는 물질의 표준물질 검량선을 이용하여 간접적으로 농도를 유추하는 방법)

#	Compound	#	Compound	#	Compound	#	Compound
1	2*,3*-di-O-acetyl-5*-deoxy-5'-fluorocytidin	26	Aldicarb	51	Candesartan	76	Cyprodinil
2	2,6-Dichlorbenzamid	27	ALISKIREN	52	Capecitabin	77	Cytarabin
3	2-Amino-4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin	28	Alkophen-acid o-lakton	53	Carbamazepin	78	D617
4	2-Amino-5-nitrophenol	29	Amdoph	54	Carbamazepin-10,11-dihydro-10,11-dihydroxy	79	Deet
5	2-Amino-5-nitrophenol	30	Amisulprid	55	Carbendazim	80	Deferasirox
6	2-Aminosulfonyl-benzoesaeuremethyleneester	31	Asulam	56	Carbetamid	81	Desamino-metamitron
7	2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon	32	Atenolol	57	Cetirizin	82	Desaminometribuzin
8	2-Naphthalinsulfonsaeure	33	Atenololsaeure	58	Chlorfenvinphos	83	Descyclopropyl-irgarol
9	2-N-Octyl-4-isothiazolin-3-on	34	Atomoxetin	59	Chloridazon	84	Desdimethyldiuron
10	3,5,6-Trichlor-2-pyridinol	35	Atrazin	60	Chlorpyrifos-ethyl	85	Desethylatrazin
11	3,5-Dibrom-4-hydroxybenzoesaeure	36	Azithromycin	61	Chlorpyrifos-methyl	86	Desisopropylatenolol
12	3-Phenoxybenzoesaeure	37	Azoxystrobin	62	Chlorthalonil-4-hydroxykarbonsaeureamid	87	Desisopropylatrazin
13	4,5-Dichlor-2-n-octyl-isothiazol-3(2H)-one	38	Azoxystrobinsaeure	63	Chlortoluron	88	Desmonomethyldiuron
14	4-Aminopyrin	39	Bentazon	64	Citalopram	89	Dexamethason
15	4-Chlor-2-methylphenol	40	Benzamidin	65	Clarithromycin	90	Diazepam
16	4-Dimethylamino-antipyrin	41	Benzisothiazolin-3-on	66	Climbazol	91	Diazinon
17	4-Dimethylaminopyridin	42	Benzothiazol	67	Clindamycin	92	Dichlorprop
18	4-Fluorophenoxyessigsaeure	43	Benzotriazol	68	Clomazon	93	Diclofenac
19	4-Formyl-aminoantipyrin	44	Bezafibrat	69	Clopidogrelsaure	94	Didesmethyl-isoproturon
20	4-Isopropylanilin	45	Bicalutamid	70	Clotrimazol	95	Diflufenican
21	4-Trifluormethyl-phenol	46	Bifenoxsaure	71	Codein	96	Diglyme
22	7-Diethyl-4-methylcoumarin	47	Bromacil	72	Coffein	97	Dimethachlor
23	Acesulfam	48	Bromoxynil	73	Cyclohexylsulfamidsaeure	98	Dimethachlor-ESA
24	Acetylsulfamethoxazol	49	Bronopol	74	Cymoxanil	99	Dimethachlor-OXA
25	Albuterol	50	Bupropion	75	Cyproconazol	100	Dimethenamid

표 4b 스위스 바젤측정소에서 Orbitrap 분석 데이터 semi

quantification* 대상물질 총280 종(7b, 101~200종)(*Semi-quantification은 해당 물질의 RT(크로마토그램 머무름 시간)와 유사한 RT를 가지는 물질의 표준물질 검량선을 이용하여 간접적으로 농도를 유추하는 방법)

#	Compound	#	Compound	#	Compound	#	Compound
101	Dimethenamid-ESA	126	Fluoxetin	151	Levetiracetam	176	Moclobemid
102	Dimethenamid-OXA	127	Fluroxypyrr	152	Lidocain	177	Monodesmethyl-isoproturon
103	Dimethoat	128	Flusilazol	153	Linuron	178	Monuron
104	Dimethylaminosulfan ilid	129	Foramsulfuron	154	Losartan	179	Mycophensaeure
105	Dinoseb	130	Furosemid	155	MCPA	180	N-(4-Aminophenyl)-N-methyl-acetamid
106	Diuron	131	Gabapentin	156	MCPB	181	N,N-Dimethylidicylamin-N-oxid
107	Dronedaron	132	Galaxolidon	157	Mefenaminsaeure	182	N,N-dimethyl-N-(4-methylphenyl)-sulfamid
108	Epoxyconazol	133	Hexazinon	158	Mesotriion	183	N4-Acetylsulfadiazin
109	Eprosartan	134	Hydrochlorothiazid	159	Mesotriion-MNBA	184	N4-Acetylsulfadimethoxin
110	Erythromycin	135	Hydroxy-desisopro pylprometon	160	Metalaxyl	185	N4-Acetylsulfathiazol
111	Ethofumesat	136	Ibuprofen	161	Metamitron	186	N-Acetyl-4-aminoantipyrin
112	Exemestan	137	Imidacloprid	162	Metazachlor	187	N-Acetylsulfamethazin
113	Fenamidon	138	Iminostilben	163	Metazachlor-ESA	188	Napropamid
114	Fenofibrat	139	Indomethacin	164	Metazachlor-OXA	189	Naproxen
115	Fenofibrinsaeure	140	Iodocarb	165	Metformin	190	Neotam
116	Fenpropimorph	141	Iohexol	166	Methylmetsulfuron	191	Nicosulfuron
117	Fipronil	142	Iopromid	167	Methylprednisolon	192	Orbencarb
118	Fipronil-Sulfid	143	Ioxynil	168	Metoclopramid	193	Oseltamivir
119	Fipronil-Sulfon	144	Irgarol	169	Metolachlor	194	Oseltamivir-carboxylat
120	Fluazifop	145	Iso-Chloridazon	170	Metolachlor-ESA	195	Oxazepam
121	Fluconazol	146	Isoproturon	171	Metolachlor-Morp holinon	196	Paracetamol
122	Fludioxonil	147	Ketoprofen	172	Metolachlor-OXA	197	Penconazol
123	Flufenacet	148	Kresoxim-methyl	173	Metoprolol	198	Pethoxamid
124	Flufenacet-ESA	149	Lamotrigin	174	Metribuzin	199	Phenazon
125	Flufenacet-OXA	150	Levamisol	175	Metronidazol	200	Pirimicarb

표 4c 스위스 바젤측정소에서 Orbitrap 분석 테이터 semi quantification*
 대상물질 총280 종(7c, 201~280종)(*Semi-quantification은 해당 물질의
 RT(크로마토그램 머무름 시간)와 유사한 RT를 가지는 물질의 표준물질 검량선을
 이용하여 간접적으로 농도를 유추하는 방법)

#	Compound	#	Compound	#	Compound (sum of multiple compounds*)
201	Pravastatin	230	Sulfadimethoxin	258	Sum of 1-Hydroxybenzotriazol+4-Hydroxybenzotriazol
202	Prednisolon	231	Sulfamethazin	259	Sum of 2-Hydroxyatrazin+Simeton
203	Primidon	232	Sulfamethoxazol	260	Sum of 2-Hydroxypyrazin+2-Hydroxyterbutylazin
204	Prochloraz	233	Sulfapyridin	261	Sum of 5-Methyl-Benzotriazol+1-Methylbenzotriazol
205	Propachlor	234	Sulfathiazol	262	Sum of Acetochlor+Alachlor
206	Propachlor-ESA	235	Surfynol	263	SumofAcetochlor-ESA+Alachlor-ESAX
207	Propachlor-OXA	236	Tacrolimus	264	Sum of Alachlor-ESA+Acetochlor-ESAX
208	Propanolol	237	Tebuconazol	265	Sum of Alachlor-OXA+Acetochlor-OXA
209	Propaquizafop	238	Tebutam	266	Sum of Carbamazepin-10,11-epoxid+Oxcarbazepin
210	Propiconazol	239	Telmisartan	267	Sum of Cyclophosphamid+IfosfamidX
211	Propyzamid	240	Tetraglyme	268	Sum of Desethyl-2-hydroxy-terbutylazin+2-Hydroxysimazin
212	Prosulfocarb	241	Thifensulfuron-methyl	269	Sum of Dicamba+2,4-D
213	Pyraclostrobin	242	Thiopental	270	Sum of Iomeprol+Iopamidol
214	Pyrimethanil	243	Tizanidin	271	Sum of Mecoprop+Clofibrinsaeure
215	Pyrimidinol	244	Toclophos-methyl	272	Sum of N-Methylacetanilid+2,4-Dimethylphenylforma
216	Ranitidin	245	Toluol-4-sulfonsaeure	273	Sum of O,N-Didesvenlafaxin+N,N-Didesvenlafaxin
217	Rimsulfuron	246	Triclosan	274	Sum of O-Desvenlafaxin+N-Desvenlafaxin+Tramadol
218	Ritalinsaeure	247	Triglyme	275	Sum of Phenmedipharm+Desmedipharm
219	Rivastigmin	248	Trimethoprim	276	SumofPrometon+Terbumeton
220	Rosuvastatin	249	Trimipramin	277	Sum of Ranitidin-S-oxid+Ranitidin-N-oxid
221	Roxithromycin	250	Trinexapac-ethyl	278	Sum of Simazin+Desethylterbutylazin
222	Saccharin	251	Triphenylphosphinoxid	279	Sum of Terbutylazin+Propazin
223	Sitagliptin	252	Tritosulfuron	280	Sum of Terbutrym+Prometryn
224	Sotalol	253	Valganciclovir		
225	Spiroxamin	254	Valsartan		
226	Sucralose	255	Valsartansaeure		
227	Sulcotripon	256	Venlafaxin		
228	Sulcotripon-CMBA	257	Verapamil		

아직까지, 우리나라에서는 LC-HRMS를 이용한 수계 미량오염물질 모니터링 연구가 전무하여 비교할 만한 정보가 극히 부족한 상황이다. 따라서, LC-HRMS 기반 모니터링 대상물질 선정을 위해 위의 표에 수록된 화학물질들을 참고하되, 정밀 정성·정량분석 대상물질 우선순위 선정 등을 위해 낙동강 수계에 대한 사전 정밀 모니터링이 수반되어야 할 것이다.

2) 전처리 기법

대표적 잔류성/극성 미량유기화합물에는 농약류, 의약품, 개인관리용품(personal care products), 방부·방청제, 인공감미료, 각종 산업유기용제 등이 포함되어 있고, 뿐만 아니라, 기존 모화합물(parent compounds)이 하수처리장을 통해, 또는, 환경중에서 변환된 변환물질(TP: Transformation products)등이 대포함된다. 하천 시료에 대해, 다종의 미량오염물질을 동시에 분석하고, 존재가 의심되는 물질, 또는 unknown 물질을 분석하고자 할 때에는 LC-Orbitrap 기반 Target/Suspect/Nontarget screening 분석기법이 Eawag 환경분석전문가들에 의해 제안되었다(Krauss et al, 2010). LC-MS 분석을 위한 일반적인 전처리 방법으로는 고형상추출법(SPE: Solid Phase Extraction)을 이용한 농축·추출법이 널리 사용되고 있다. SPE에 사용되는 고형흡착제는 분석대상물질의 특성에 따라 선택적으로 사용할 수 있는데, 다양한 물리화학적 특성을 지니는 다종 미량유기화합물 분석을 위해서는 Mixed-bed SPE 활용이 제안되었다(Singer et al, 2009). Mixed-bed SPE는 다양한 종류의 고형흡착제를 일정비율로 혼합하여 사용함으로써, 다양한 물리화학적 특성을 지니는 다종의 화학물질을 동시에 흡착·추출하고자 고안되었다. 이러한 전처리 방법을 활용하면 다성분 동시 target 분석이 가능할 뿐만 아니라, 비표적물질의 추출 및 분석을 위해서도 바람직한 방법으로 평가받고 있다. 이러한 Mixed-bed SPE기반 전처리 방법은 Eawag에 의해

개발·정립되었으며, 현재, 500 여 종의 유기화학물질에 대한 target 분석과 unknown 물질에 대한 nontarget screening 분석에 활용되고 있다.



그림 80 Mixed-bed SPE 전처리 이후 질소가스를 이용하여 건조

만일, online-SPE 시스템을 적용하게 되면, 전처리를 보다 쉽고 빠르게 수행할 수 있다. Online-SPE 시스템은 시료의 농축, 추출, 주입을 프로그램밍된 펌프가 자동으로 수행함으로써, 시료전처리에 소요되는 시간을 단축시킬 수 있고, 다량의 시료를 연속적으로 분석할 수 있으며, 수작업으로 인한 오차를 최소화할 수 있다. 따라서, 수계 미량유기화합물의 실시간 분석을 위해 적극적인 활용을 권장할 만 하다. 다만, 수작업을 통한 SPE 방법에 비해 추출가능물질이 제한적일 수 있고, 비극성인 물질의 분석에는 각별한 주의가 요구된다.

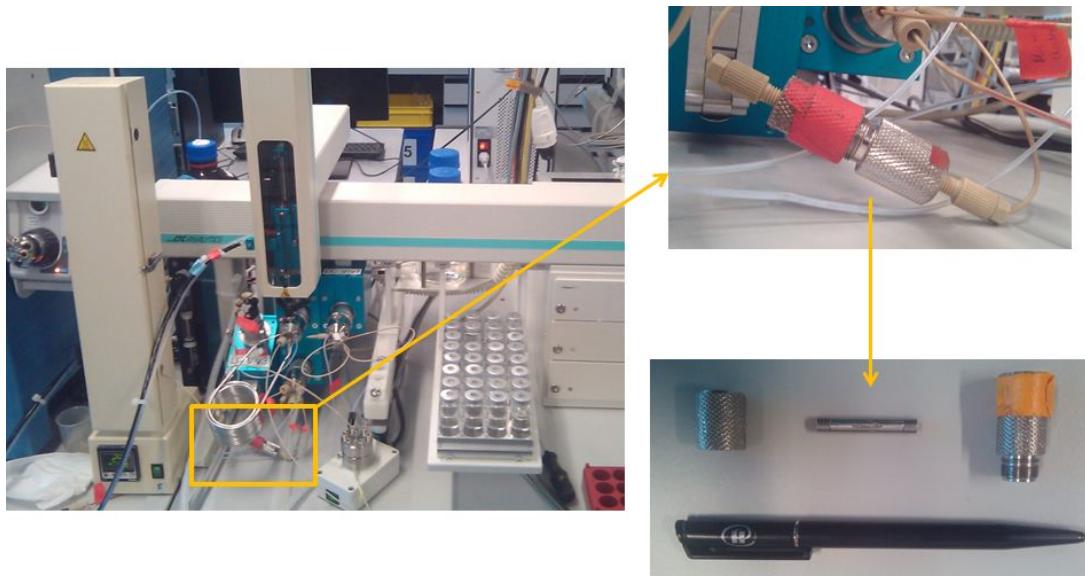


그림 81 Online-SPE 시스템에 적용된 SPE 카트리지(Eawag 제공)

나. LC-Orbitrap을 이용한 비표적스크리닝 분석절차(NTS) 확립

바젤 수질측정소의 경우, LC-HRMS를 이용하여 300 여 종의 미량유기화합물을 매일, 상시적으로 모니터링하고 있는데, 이렇게 분석하고자 하는 대상물질을 정해놓고 분석하는 기법을 Target screening (표적분석)이라고 한다. 표적분석을 위해서는 해당물질의 표준물질(reference/standard material)을 구비하여 그 물질의 exact mass, 크로마토그램상 머무름 시간(RT: Retention time), 동위원소패턴 (isotopic pattern), MS/MS fragment 등에 대한 정보를 이용하여 정성분석(qualitative analysis)하고, 표준물질의 다양한 농도에 대한 검량선을 작성하여 정량분석(quantitative analysis) 한다. 이러한 표준물질을 바탕으로 한 표적분석기법은 가장 신뢰성 있는 분석법으로 평가받고 있지만, 수계에 존재하는 수천, 수만 종의 환경오염원에 대한 표준물질을 모두 구비한다는 것은 사실상 불가능한 일이다. 표준물질이 없는 경우에는 추정/비표적분석기법(suspect/nontarget screening)을 통해 정성분석이 가능하다(아래그림 참조). 추정/비표적분석기법(suspect/nontarget screening)을 적용하기 위해서는 exact mass를 스캔할 수 있는 고분해능 질량분석장비 (HRMS: High Resolution Mass Spectrometry)가 있어야 한다. 추정분석기법(suspect screening)은 대상물질이 이미 알려져 있는 물질이고, 대상시료에 존재할 것으로 의심되는 상황이지만, 해당 표준물질이

없는 경우에 적용가능한 분석방법으로, HRMS로 측정된 피크(peak)에 대한 exact mass와 MS/MS fragment 패턴 분석 등을 통해 정성분석이 가능하다. 한편, 비표적분석기법(nontarget screening)은 시료에 존재하는 화학물질에 대한 사전 정보가 없는 경우에 적용 가능하다. 사전에 인지되지 않은 물질이지만 HRMS 측정으로 해당 exact mass가 감지되었을 경우, 해당 물질의 분자식을 예측할 수 있다. 예측된 분자식을 가지고 있는 화학물질은 해당물질 후보군이 되고, 동위원소 패턴분석, Database 비교분석, MS/MS fragment 패턴분석 등을 통해 가장 유력한 후보물질을 가려낸다. 이러한 일련의 과정을 통해 가려진 후보물질에 대해서는 해당 표준물질을 구입하여 최종 확인한다. 만일, 표준물질을 구할 수 없다면 그 물질에 대한 확증(confirmation)을 할 수 없다.

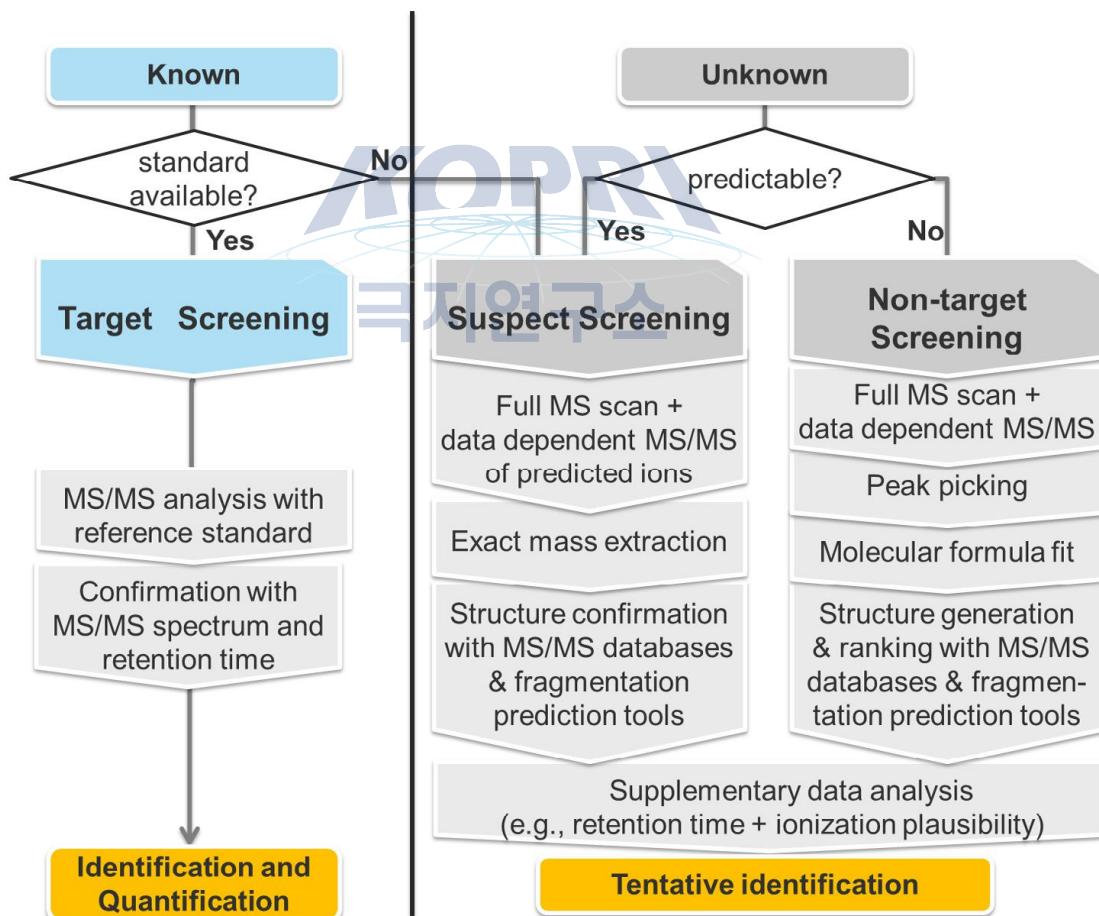


그림 82 Target/suspect/nontarget screening 기법에 대한 절차 흐름도

아래 그림은 시료에 대해 suspect/nontarget screening를 수행할 경우, 분석결과를 해석하기 위한 절차를 보여주고 있다. Orbitrap에서 생산된 full scan 데이터는 suspect 또는 nontarget screening 인지에 따라 그에 특화된 소프트웨어를 이용하여 처리해야 한다. 예를 들어, 특정 유기화합물의 대사체를 분석하고자 할 경우, 일부 대사체는 알려진 대사경로 및 대사기작을 통해 형성가능한 대사체를 쉽게 예측(또는 의심)할 수 있는데, 이러한 경우 MetWorks 등과 같은 대사체의 exact mass를 예측하는 suspect screening 용 프로그램을 이용할 수 있다. 반면, 알려져 있지 않은 대사경로를 거쳐 형성된 대사체는 그 물질의 질량을 알 수 없으므로 NTS기법을 통해 존재유무를 확인해야 한다. 이때, SIEVE와 같은 NTS 데이터처리 소프트웨어를 활용하게 되면 효율적인 데이터 처리가 가능하다.

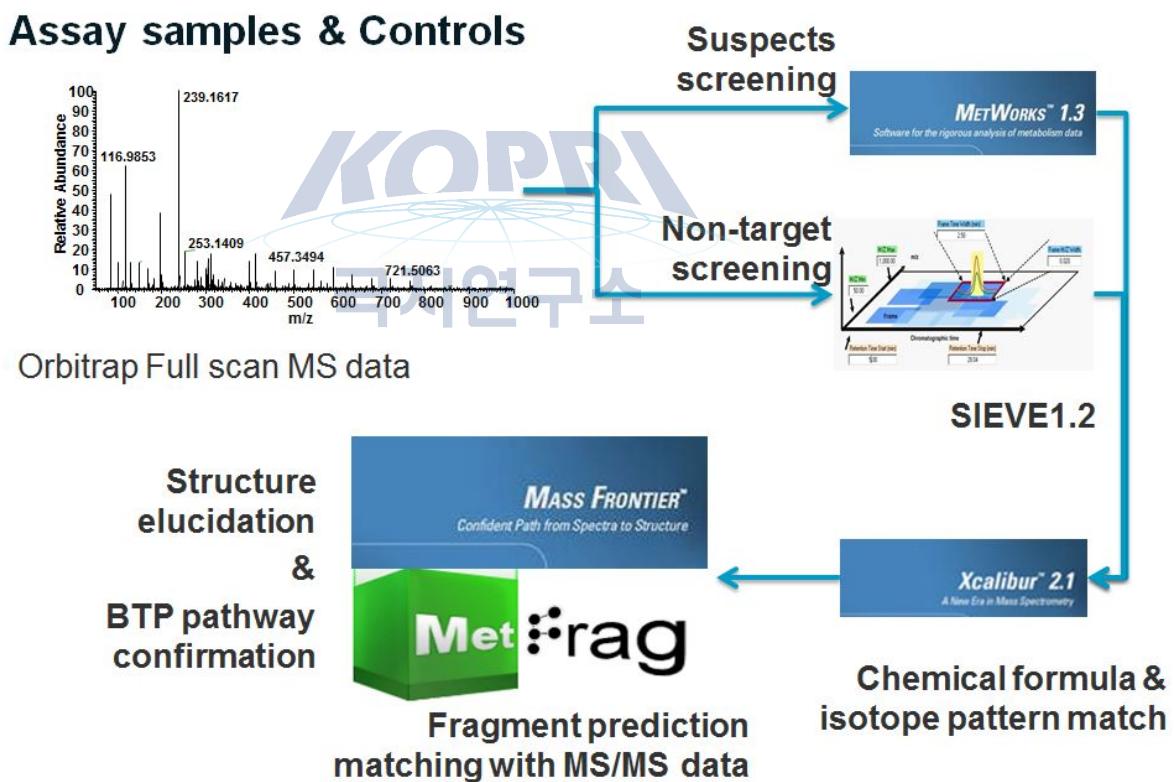


그림 83 suspect/nontarget screening을 위한 분석결과처리 절차도

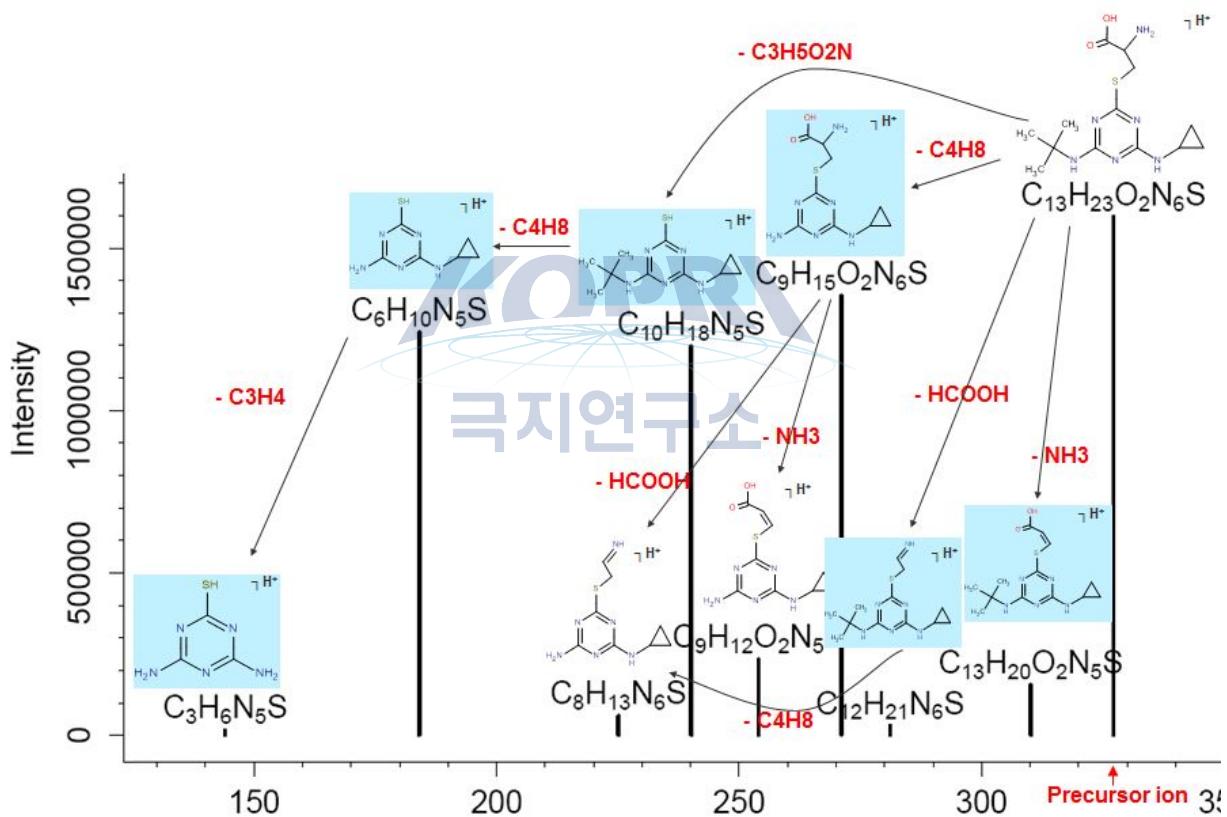
MetWorks와 SIEVE는 full scan 데이터 중에서 ‘존재가 의심되는 유기화합물의

질량스펙트럼' 정보를 제공해준다. 이러한 질량정보는 질량스펙트럼 처리 소프트웨어(ex. Xcalibur by Thermo scientific)를 통해 해당 물질에 대한 보다 구체적인 증거를 확보하는데 사용된다. 일반적으로, 질량스펙트럼 처리 소프트웨어는 질량분석기 제조회사에서 제공되는데, 이러한 프로그램을 이용하여 인지된 exact mass에 해당하는 분자식(chemical formula)을 예측할 수 있고, 측정된 질량스펙트럼의 동위원소패턴을 확인할 수 있다. 적합한 분자식이 결정되고, 동위원소패턴이 부합되면, 비로서 '의미있는 질량스펙트럼을 가진 유기화합물'의 존재가능성을 강하게 의심할 수 있다. 이후, 해당 물질에 대한 보다 명확한 정보를 얻기 위해서는 기존 질량스펙트럼 데이터베이스를 검색하거나 해당 분자의 fragmentation pattern을 분석하여 분자의 구조 및 이름을 확인할 수 있다. Unknown 물질의 인지 및 분자구조 해석을 위한 방법은 다음의 장에서 서술하였다.

다. Unknown 물질 정성분석 및 분자구조해석기법 구축

Unknown 물질을 분석하고자 할 때에는 앞서 설명한 suspect/nontarget screening 기법을 동시에 활용할 수 있다. 분석하고자 하는 시료내에 기존에 알려져 있지 않은 물질의 존재여부를 확인하고 싶을 때에는, 그 물질에 대한 '예측가능' 여부에 따라 분석절차가 달라진다. 만일, 그 존재가 의심되거나 예측이 가능하다면, 그 물질의 exact mass 정보를 활용하여 suspect screening에 적용할 수 있다. 일반적으로, Orbitrap과 같은 고분해능질량분석기의 경우, 사용자가 지정한 exact mass에 대해서는 MS/MS fragmentation(분자에 물리적 충격을 주어 깨뜨리고, 깨어진 조각의 질량스펙트럼을 측정하는 기술)을 수행할 수 있는데, 이러한 기능을 활용하여 의심되는 물질의 fragmentation 정보를 한번의 분석으로 확보할 수 있다. 따라서, 존재가 의심되는 물질들에 대한 exact mass list를 만들고, 그 리스트를 분석 프로그램에 입력시켜 놓으면 해당 물질이 일정범위 이상의 신호강도를 나타낼 때 MS/MS fragmentation을 수행하여 fragment 정보를 수집할 수 있다. 이렇게 얻어진 fragment 정보는 물질의 확인(identification)을 위해 활용될 수 있는데, 기존 논문 등에 수록된 fragment 정보를 검색하거나 massbank와 같은 fragment database를 활용하여 물질 확인을 할 수 있다. 만일, 기존 정보가 존재하는 물질이 아닌 경우 (즉, unknown 물질일 경우) fragmentation

패턴 분석을 통해 일부 분자의 구조를 해석할 수 있고, 이를 통해 물질 확인이 가능하다. 아래 그림에서는 fragment 패턴을 분석하여 분자의 구조를 해석하는 과정을 나타내었다. Fragment 패턴에서 분자의 backbone 구조와 functional group(카르복실기, 암모늄기 등)에 대한 정보를 얻을 수 있고 그러한 정보를 바탕으로 분자의 하위구조와 위치 등을 유추해 낼 수 있다. 경우에 따라서는 분자의 fragmentation 패턴을 예측하는 모델링 프로그램(ex. Mass Frontier) 등을 활용하면 보다 유용한 정보를 얻을 수 있다.



5. 참고문헌

Jahresbericht(Annual report) 2014 Teil A, RheinüberwachungsStation Weil am Rhein

Jahresbericht(Annual report) 2014 Teil B, RheinüberwachungsStation Weil am Rhein

20 Jahre Rheinüberwachung; Artikel in Aqua&Gas Nr.5/2013; in Zusammenarbeit mit der EAWAG

Rhine Monitoring Programme 'Chemistry', HPLC MS/MS Special Assay 2013, International Commission for the Protection of the Rhine (ICPR)

LC-high resolution MS in environmental analysis: From target screening to the identification of unknowns. Krauss, M. et al, 2010, Analytical Bioanalytical Chemistry, 397, p943–951

Multikomponenten-Screening für den Rhein bei Basel, Singer et al, 2009

20 Jahre Internationale Rheinüberwachungsstation Weil am Rhein: Neuentwicklungen mit Hilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie, Ruff, M. et al. 2012, Vom Wasser 110, p70–72

잔류성유기오염물질공정시험기준, 환경부, 2013

Software für den freien Download unter www.eawag.ch/forschung/uchem/software/enviMass1_2, Loos, M. et al, 2011

Memorandum regarding the protection of European rivers and watercourses in order to protect the provision of drinking water, IAWR et al, 2013

제 4 절. 대양 및 극지환경에서의 미세플라스틱의 거동 및 동태에 대한 연구

1. 연구의 필요성

플라스틱은 현대문명사회를 유지하는 가장 중요한 재질로 사용의 편의성과 저비용으로 인해 산업적 용도 및 일상생활의 소비재 용도로도 널리 사용된다. 플라스틱은 2012년 기준으로 전세계 생산량이 약 3억여톤에 달하며 매년 8%의 증가율을 보이는 것으로 알려져 있다(PlasticsEurope, 2012). 이러한 막대한 양의 플라스틱은 물질순환의 관점에서 보면 플라스틱 함유 제품의 전과정(product life-cycle)에서 상당한 양의 플라스틱이 환경으로 배출되는 것을 예상할 수 있는데, 발생한 전체 플라스틱쓰레기의 약 10%가 해양으로 유입되어 결과적으로 플라스틱은 전체 해양쓰레기의 약 60~80%를 차지하는 것으로 추정된다(Thompson, 2006; Derraik, 2002). 최근의 연구는 192개 연안국가를 통해 해양으로 배출되는 플라스틱은 2010년 기준으로 대략 4.8~12.7 백만톤이고 이 추세가 지속된다면 2025년에는 현재보다 10배이상 많은 양이 해양으로 유입될 것으로 추정하고 있다(Jambeck et al., 2015).

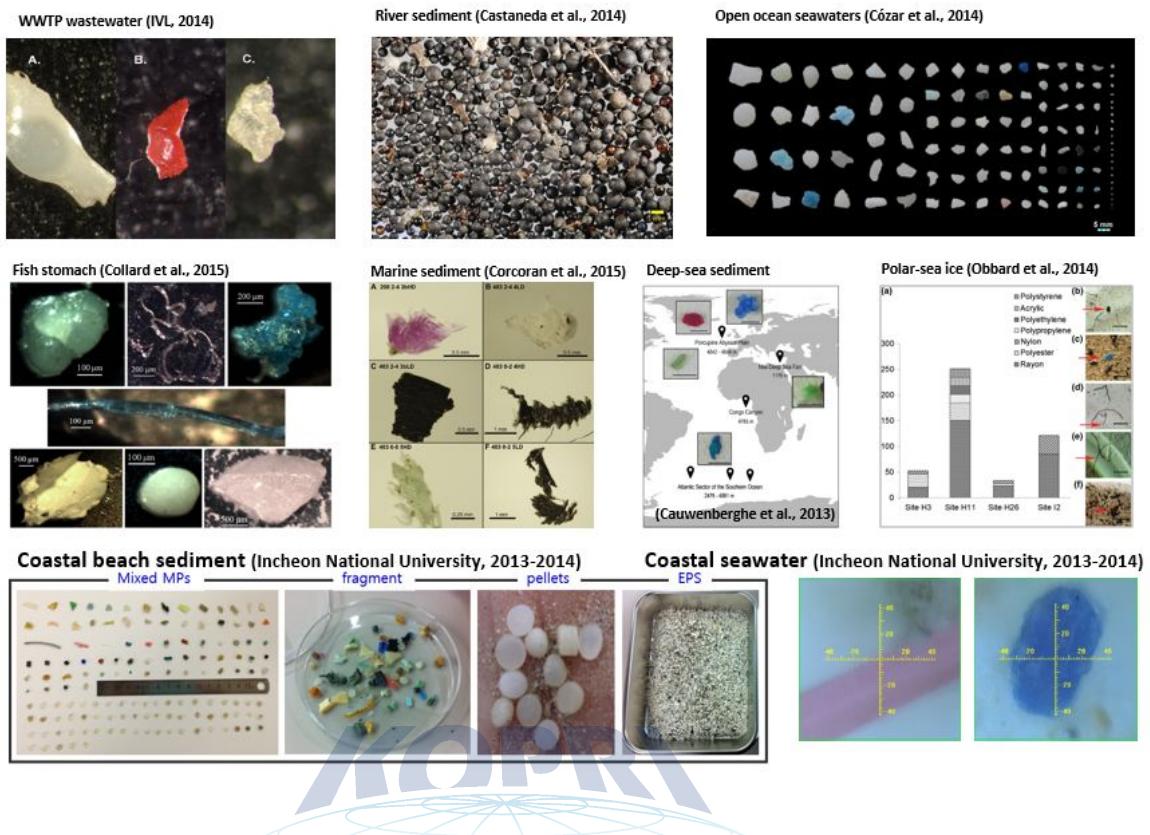
화장품 세정제, 연마제, 플라스틱산업의 원재료 등의 목적으로 인위적으로 미세하게 제작된 것이 생산, 유통, 사용, 폐기 중에 유입되는 1차오염원과 환경으로 배출된 중대형 플라스틱 쓰레기가 광분해, 생물학적 분해, 물리적 파쇄 등 자연적인 풍화과정을 거쳐 그 크기가 작아져 형성된 2차오염원 모두를 포함해 궁극적으로 이산화탄소의 형태로 무기화되기까지 수 mm 이하 크기(통상적으로 1 mm ~ 5 mm)로 존재하는 것을 통상 ‘미세플라스틱(microplastics)’이라 하며, 담수환경 및 해양환경의 수체, 퇴적물, 생물체 등 다양한 환경매체에 잔류하는 것으로 밝혀지고 있다(Figure 1).

미세플라스틱은 그 재질에 따라 다양한 밀도를 갖게 되는데 해수보다 밀도가 작은 것은 해수층에 부유하여 해류를 통해 전 대양으로 이동하여 분포할 수 있으며, 밀도가 큰 것은 저층으로 침강하여 저서퇴적물에 잔류할 수 있다. 그 결과로, 대양의 거대 환류지역(Gyre)의 해수(Cozar et al., 2014), 북극지방의 얼음(Obbard et al., 2014), 수천미터 깊이의 심해퇴적물(Cauwenbergh et al., 2013; Woodall et al., 2014)에서도 발견되고 있다.

이들 미세화된 조각의 미세플라스틱들은 해당 환경매체내 다양한 해양생물(풀랑크톤부터 거대 포유류까지)들에 의해 먹이로 오인섭취되거나 하위 영양단계에서 섭취된 미세플라스틱이 먹이사슬을 통해 상위 영양단계의 생물체로 전이될 수 있다(Provencher et

al., 2014; Collard et al., 2015; Desforges et al., 2015). 예컨대, 북동태평양 먹이그물망을 구성하는 주요 동물플랑크톤 종인 요각류 34마리 중 1마리에서 그리고 바다곤쟁이류 17마리 중 1마리에서 미세플라스틱의 섭취가 발견되었으며(Desforges et al., 2015), 북태평양 중앙환류지역에서 잡힌 어류의 35%의 장에서 미세플라스틱이 검출되었고(Boerger et al., 2010), 스코틀랜드 Clyde sea에서 채취된 저서성 갑각류인 Nephrops의 83%(Murray and Cowie, 2011)와 조사된 북극 바닷새의 87.5%(Trevail et al., 2015)에서 미세플라스틱의 섭취가 발견되었다.

생물체에 섭취된 미세플라스틱은 그 자체로써 세포/면역/발달/생식 독성을 유발할 수 있다는 많은 실험실 연구들이 발표되고 있다(Bhattacharya et al., 2010; von Moos et al., 2012; Lee et al. 2013). 한편, 플라스틱은 제조과정에서 가소제, 자외선 안정제, 산화방지제, 발포제, 착색제, 난연제, 표면처리제, 강화제 등 다양한 화학물질이 첨가되는데, 종류에 따라서 수% 수준의 함량으로 첨가될 수 있다. 한편, 폴리머구조의 미세플라스틱은 주변환경에 잔류하는 다이옥신류, PCBs류, 유기염소계농약류, PAHs 등 국제적 규제대상 오염물질이자 잔류성유기오염물질(POPs)로써 미첨가된 외인성오염물질들을 고농도로 흡착할 수 있다. 따라서, 미세플라스틱은 이들 첨가 혹은 외인성 흡착 오염물질들을 새로운 환경으로 운반하거나 먹이사슬을 통해 농축시킬 수 있는 새로운 오염원이자 매개체로 작용할 수 있다(Cole et al. 2011). 결과적으로 환경오염물질의 전지구환경 거동 및 동태로써 이해되어온 기존의 페카니즘(hopper, flier, swimmer)에 대한 새로운 해석 및 연구가 필요하다.



<Figure 1> 전세계 다양한 육상 및 해양환경 매체들에서 관측되는 미세플라스틱
(각 문현으로부터 재 정리됨)

전술한 것과 같은 해양환경내 지속적 오염증가 가능성, 장거리 이동성, 다양한 매체에서의 잔류성, 첨가/흡착성 오염물질의 전이매체로써의 작용성 등의 문제로 인해 UN 정부간 해양위원회(IOC)는 해양미세플라스틱문제를 해양건강성을 위한 3대 이슈 중 하나로 설정하였고, 전세계 저명 과학자들의 회의에서 미세플라스틱문제를 향후 지구환경에서 보존해야 할 15개 중요 이슈 중 하나로 결정하는 등 미세플라스틱문제는 해양환경보존을 위한 전세계 핵심이슈로 인식되고 있다(Sutherland et al., 2010).

해양환경에서 미세플라스틱의 거동 및 영향에 대한 중요성, 관심에도 불구하고 최근까지의 미세플라스틱에 대한 연구는 주로 연근해 해양환경(해변 퇴적물 혹은 해수)에서 검출되는 미세플라스틱의 재질, 농도, 크기분포 등을 특성화하는 것이 주류를 이뤄왔고, 대양 및 극지방에 대한 연구는 상대적으로 최근에 시도되고 있다. 특히, 플라스틱의 물질수지에 대한 최근의 검토에 따르면 플라스틱 발생량, 해양유입량, 그리고 해양잔류량

사이에 큰 차이가 관측되고 있다. 이에 대한 가능한 가설로써, 1) 해양유입량의 과대추정, 2) 심해로의 퇴적에 의한 소멸, 3) 정성정량방법의 불확실성에 의한 해양잔류량의 과소평가, 4) 자연적 풍화과정에 의한 무기화의 가속화, 5) 해양생물에 의한 섭취, 6) 극지방 얼음으로의 포획 등이 제시되고 있다. 제시된 이들 모든 과정은 ‘연안환경’에서 ‘대양환경’으로, 그리고 다시 ‘극지방’이나 ‘심해퇴적환경’으로 연결되는 메카니즘들에 대한 설명을 필요로 한다. 그러나, 제시된 가설들 모두 전지구환경에서의 미세플라스틱의 물질수지에 대한 기여라는 측면에서 여전히 큰 불확실성을 내포하고 있어 각 메카니즘의 정성정량적 이해를 위한 연구가 필요하다. 특히, 대양 및 극지방(저서환경 및 생물계 포함)에서의 미세플라스틱의 거동 및 동태에 대한 연구는 플라스틱의 물질수지라는 측면 뿐만 아니라 플라스틱 무기화를 통한 탄소수지와 첨가/흡착 환경오염물질의 전지구적 거동과 영향이라는 측면에서도 필수적으로 요구된다.

특히, 우리나라는 남북극에 연구기지를 운영하고 있으며 쇄빙선등을 통한 연구기반이 조성되어 있음에도 불구하고 우리나라 연구진에 의한 대양 및 극지방에서의 플라스틱 거동과 영향에 대한 연구는 전무한 상황이다. 따라서, 대양 및 극지방환경에서의 미세플라스틱 연구는 해당지역에서의 연구를 선도하는데 중요한 기반을 제공할 수 있으리라 기대된다.



극지연구소

2. 국내외 연구동향

2.1. 국내 동향

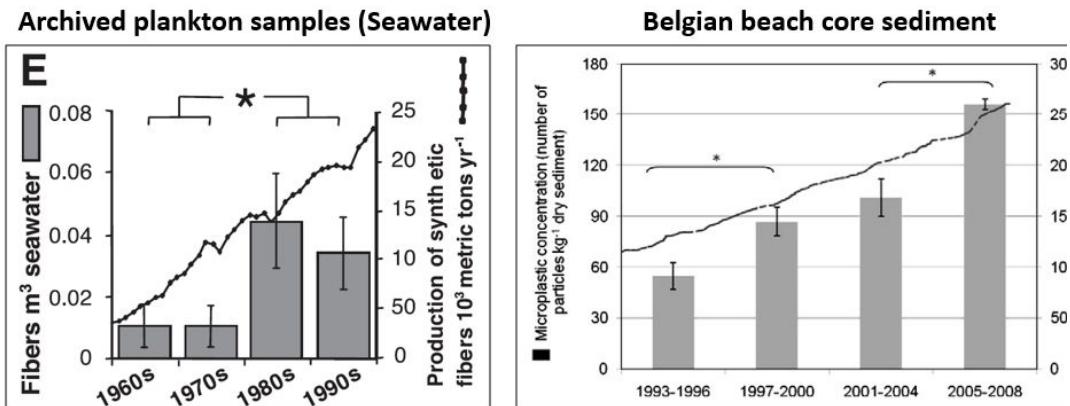
미세플라스틱이 국제적 이슈로 부각되면서 국내에서는 몇몇 연구진들에 의해 국내 환경에서의 미세플라스틱 연구가 진행되고 있다. 초기연구는 거대 해양쓰레기의 해변내 분포와 특성에 대한 현황파악이 주된 주제였으며, 10여년에 걸친 국제연안정화활동 등의 결과로 해양쓰레기 관리기본계획의 수립과 정기적인 해변쓰레기 모니터링사업이 구축될 수 있는 계기를 마련하였다. 최근에는 미세플라스틱 자체의 환경위해성에 대한 우려로 인해, 미세플라스틱의 각 연안해역별 오염도, 분포특성, 거동 및 동태, 오염물질 전이에 따른 생물영향, 배출량 등 환경위해성에 대한 연구가 해양수산환경개발사업의 일환(2015-2020)으로 진행되고 있으며, 이와 별도로 일부 연구진에 의해 육상환경에서의 미세플라스틱의 잔류특성 및 동태에 대한 연구가 한국연구재단의 연구사업으로 진행중에 있다. 그러나, 이들 연구의 모두가 육상 및 육상과 연계된 연안해양환경을 대상으로 진행되고 있고, 대양

및 극지방으로 연결되는 지구환경이라는 큰 틀에서의 거동 및 동태는 수행되고 있지 않다.

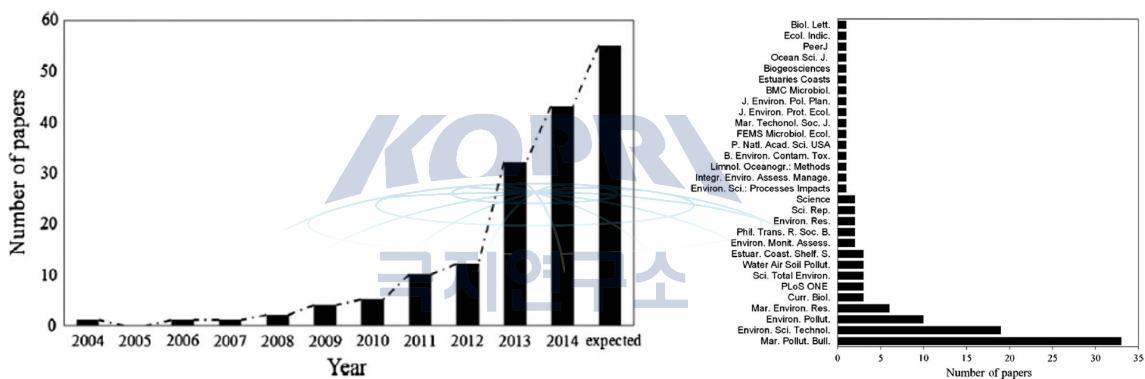
2.2. 국외 동향

해양환경 중 미세플라스틱 오염에 대한 연구는 1970년대 초에 이미 Science지를 통해 보고된 바가 있다(Carpenter and Smith, 1972; Colton et al., 1974). 그러나, 비교적 최근에 플라스틱 생산량 및 사용량의 급증과 함께 해양환경내 미세플라스틱의 오염도도 비례하여 증가하는 것을 Thompson 등이 밝히면서(Thompson et al., 2004), 그 심각성이 인식되기 시작하였다 (Figure 2). 결과적으로 해양환경에서 미세플라스틱에 대한 연구는 다른 연구분야와 달리 비교적 최근에 대두된 이슈로써 그 연구결과가 매년 기하급수적으로 증가하고 있는 상황이다(Figure 3). 그 중요성만큼 연구주제들도 다양하며, 최근의 많은 연구논문들은 Science, PNAS 등 고급저널부터 해양환경관련 저널들까지 다양하게 수록되고 있다. 미세플라스틱에 관한 연구는 초기 단계에 해당하고 참신한 연구주제로 최근 주목받고 있으며 환경 및 해양분야의 큰 규모 학회들의 특별세션으로 구성되어 활발한 연구교류가 진행되고 있고, 여러 SCI급 학술지에서도 특별호를 발간하는 등 국제적으로 큰 관심을 끌고 있다.

이들 선행연구들의 연구결과를 종합하면 미세플라스틱에 대한 향후의 연구는 기존의 연안해양환경에서의 분포특성에 대한 연구에서 ‘대양, 거동 및 동태, 생물노출, 첨가/흡착 미세플라스틱 오염물질’ 등의 키워드로 구분될 수 있는 연구들로 다변화되고 있음을 알 수 있다(Barboza & Gimenez, 2015). 이들 미세플라스틱 관련 연구들 가운데, 본 연구과제에서 제안되고 있는 주요한 연구주제는 ‘극지 및 대양 환경에서의 미세플라스틱의 거동 및 동태에 대한 연구’로써 이 분야에 대한 최근 동향을 요약하면 다음과 같다.



<Figure 2> 영국-아이스란드 사이 해협 해수(좌-Thompson et al., 2004)와 Belgian beach core sediment(Clasessens et al., 2011)에서 관측된 미세플라스틱 농도의 시계열적 증가

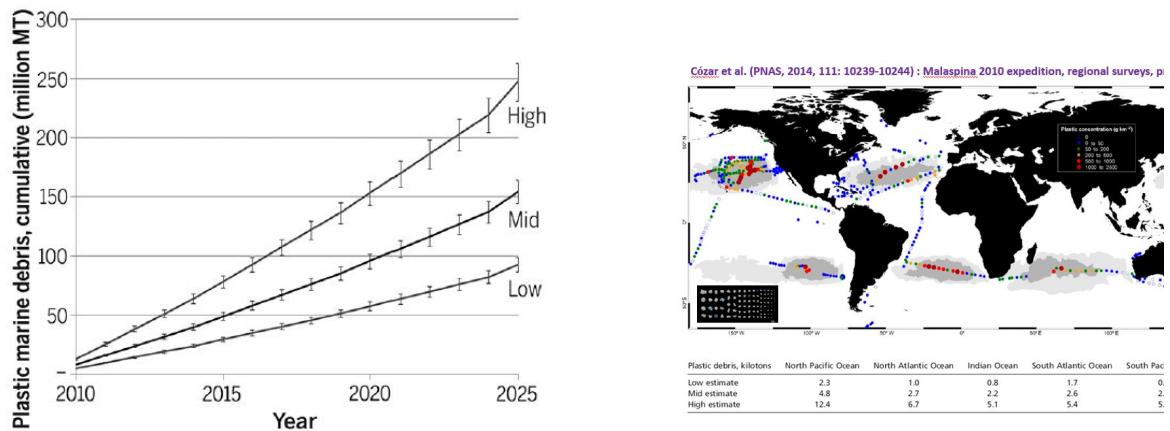


<Figure 3> 미세플라스틱 연구 편수 및 출판 연구저널의 최근 현황(2004-현재); Barboza & Gimenez, 2015)

(1) 해양환경(대양 및 극지방 환경)에서의 플라스틱 향방 및 물질수지의 불확실성 전술한 바와 같이, 초기 미세플라스틱의 연구는 연안해양환경(특히, 해변퇴적물 및 연안 해수)에 잔류하는 미세플라스틱의 분포특성에 집중되었다가 최근에 와서 대양 및 극지방에서의 연구로 확대되기 시작하였다. 지난 반세기에 걸친 플라스틱 사용량의 기하급수적 증가에 따라 해양으로의 유입량 또한 지속적으로 증가할 것으로 예측(Jambeck et al., 2015)되었고, 일부 연안해양환경에서의 잔류량 또한 증가한 것으로 관측(Thompson et al. 2004)되었다. 그러나, 최근에 진행된 대양연구의 결과에 따르면, 1986-2008년 사이의 대서양 표층수에서 진행된 모니터링 자료의 대부분에서는 시계열적 증가나 감소가 관측되지

않아서 해양으로 유입된 플라스틱의 향방에 대한 의문이 제기되었다. Cozar 등(2014)은 주요 환류지역(Gyres)을 포함한 대양 표층수에서 관측되는 a few – 2,500 g/km²의 미세 플라스틱의 잔류농도로부터 현존하는 해양 잔류량을 6.6–35.2 킬로톤으로 추정하였다. 반면, Jambeck 등(2015)은 2010년 기준 해양으로 유입된 플라스틱은 대략 4.8–12.7 백만톤으로 추정하였다 (Figure 4). 대부분의 발생량으로부터 추정되는 해양유입량에 대한 연구 결과들은 대략 1–13 백만톤인 것으로 추정되고 있다. 따라서, 해양환경으로의 유입량과 대양해수 잔류량으로부터 추정되는 해양내 현존량 사이에는 수백–수천배의 차이가 발생한다. 결과적으로, 해양환경으로 유입된 플라스틱의 상당부분이 어디로, 어떻게 이동되는지 등에 대해 설명되지 않은 상태로 남아있다.





<Figure 4> 추정되는 해양으로의 플라스틱 유입량(Jambeck et al., 2015)과 대양 표층수에서 관측된 plastic debris 농도로부터 추정되는 해양내 현존량(Cózar et al., 2014)

(2) 해양환경(대양 및 극지방 환경)에서의 플라스틱의 이동 및 동태 연구 동향
앞서 기술한 해양환경내 잔류 플라스틱의 향방과 불확실성에 대한 가능한 설명으로 전술한 바와 같이 1) 해양유입량의 과대추정, 2) 심해로의 퇴적에 의한 소멸, 3) 정성정량방법의 불확실성에 의한 해양잔류량의 과소평가, 4) 자연적 풍화과정에 의한 무기화의 가속화, 5) 해양생물에 의한 섭취, 6) 극지방 얼음으로의 포획 등이 제시되고 있으며, 이들 모든 과정은 ‘연안환경’에서 ‘대양환경’으로, 그리고 다시 ‘극지방’이나 ‘심해퇴적환경’으로 연결되는 메카니ズム에 대한 설명을 필요로 한다.

상업적/개인적 용도로 사용되는 범용 플라스틱 재질들 중에서 polyethylene (PE), polypropylene (PP), polystyrene (PS) 등이 가장 많은데 이들은 해수의 밀도($\sim 1.02 \text{ g/cm}^3$)보다 작거나 유사하여 물에 부유하기 때문에 물리적 혹은 화학적 변화없이 그 자체로는 퇴적되지 않고 부유하여 장거리 이동할 것으로 추정되었다. 그러나, 플라스틱 제품의 전과정을 통해 환경으로 배출될 수 있는 양과 비교할 때 세계 각지에서 발견된 부유성 플라스틱의 환경내 잔류 현존량(즉, 오염도(단위면적 혹은 부피 당 개수(혹은 중량))은 극히 일부분으로써 많은 양의 저밀도 플라스틱들이 미세플라스틱으로 변화하는 과정에서 물리적 특성의 변화로 인해 퇴적될 가능성이 배제될 수 없다. 예컨대, Thompson 등(2004)은 이미 수중에 부유하여 잔류하는 플라스틱을 퇴적층에서도 유사하게 발견함으로써 플라스틱 자체가 갖는 본래의 밀도가 환경내 거동에 있어서 중요한 인자가 아닐 수

있음이 제시되었고, 최근에 심해퇴적물에서의 미세플라스틱이 오염된 해수층보다 104배까지 높은 수준임이 보고되기도 하였다(Woodall et al., 2014). 저밀도 플라스틱이 심해퇴적물에 도달되는 메카니즘으로 표층의 플랑크톤이나 유기물과의 중합의 결과라는 보고도 있다(Long et al. 2015). 그러나, 실제 대양에서 미세플라스틱의 침적율과 퇴적양이 조사된 바가 없어 심해퇴적물로의 sinking이 얼마나 큰 기여를 하는지 알려져 있지 않다.

한편, 북극지방으로의 잠재적인 유입해수에 잔류하는 수준보다 수백~수천배 높은 수준의 미세플라스틱이 북극지방의 얼음에서 판측되어 극지방 얼음에 의한 미세플라스틱의 trapping이 해양에 잔류하는 미세플라스틱 현존량을 과소평가시키는 또 다른 메카니즘으로 제안되기도 한다(Obbard et al., 2014). 그러나, Ice-trapping이 해양내 잔류 미세플라스틱의 중요한 sinking mechanism으로 고려될 수 있음에도 불구하고, 북극의 얼음에서 많은 양의 미세플라스틱이 검출된 것의 원인이 1) 실질적으로 북극해로 유입되는 미세플라스틱이 많은 것에 의한 것인지, 2) 많이 유입된다면 어떤 경로(예컨대, Farm strait나 Barents Sea를 통해 대서양으로부터 유입, Bering and Chukchi shelves를 통한 북태평양으로부터의 유입, Alaskan coast에서의 형성 및 Beaufort Gyre를 통한 유입, Siberian or Canadian rivers를 통한 유입 등)를 통해 유입되는지, 3) 얼음이 어는 과정에서 발생하는 scavenging 효과가 얼마나 크며 그 메카니즘은 어떠한지 등에 알려진 바가 없다.

극지연구소

(3) 해양환경(대양 및 극지방 환경)에서의 플라스틱의 생물섭취 연구동향

해양생물의 미세플라스틱 섭취에 대한 연구는 플라스틱 함유/흡착성 오염물질의 먹이사슬을 통한 전이와 관련하여 중요하다. 이와 관련하여, 해양환경 먹이사슬의 최하층에서부터 다양한 생물군들에 대해 보고되고 있다. 이중에서 극지방에 대한 연구는 북극 바닷새를 조사한 경우인데, 조사된 종의 87.5%가 플라스틱을 위장내에 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나, 기타 극지방 해양생물들에 대한 연구는 초기단계에 있다.

(4) 해양환경(대양 및 극지방 환경)에서의 플라스틱 흡착/첨가 오염물질의 거동

미세플라스틱은 대부분 소수성 고분자구조체로 이루어져 있어서 물에 용해도가 낮은 환경오염물질에 대한 높은 수착능을 가지고 있어 수환경에 널리 퍼져 있는 미세플라스틱은 환경오염물질의 거동과 생물흡수(혹은 생이용성)에 영향을 미칠 것으로 추정된다. 전술한 바와 같이 극지방에서의 미세플라스틱의 고농도 농축가능성이 사실이라면 이를 환경오염물질의 극지방으로의 이동에 중요한 매개체로 작용함으로써 극지방 환경에서의 환경오염물질 거동에도 유의미한 영향을 끼칠 것으로 추정된다. 그러나, 미세플라스틱 자

체에 대한 극지방에서의 동태 및 물질수지에 대한 연구가 진행되지 않았기 때문에 이와 관련된 오염물질 거동연구도 진행되고 있지 못하다. 특히, 미세플라스틱에 흡착/함유된 오염물질의 생물흡수는 해당 해양환경 해수와 생물체내의 열역학적 분배로 설명될 수 있는데 이와 관련하여 미세플라스틱의 성상 및 체내 체류시간 등이 중요한 인자로 평가된다. 이에 대한 연구가 최근에 시작되고 있지만 아직 미세플라스틱이 환경오염물질의 거동 및 화학물질의 생물영향에 미치는 영향을 구체적으로 결론내리고 있지 못한 상황이다. 최근의 몇몇 연구진에 의해 미세플라스틱으로부터의 탈착과정을 설명하는 모델등이 개발되고 있다.

3. 연구목표 및 내용

○ 연구최종 목표

- 극지방 환경에서의 플라스틱 물질수지에 대한 규명
- 해양에 잔류하는 플라스틱의 물질수지에서 고려되는 주요 sinking mechanism에 대한 규명 및 이해
- 극지방환경에서의 플라스틱 기인성 오염물질의 거동에 대한 메카니즘 규명



○ 연구 내용

(1) 연구주제1 : 북극지방환경에서의 미세플라스틱의 물질수지

■ (연구배경) 극지방 환경이 해양환경내 잔류 플라스틱의 주요 sinking기작이 발생할 수 있는 곳으로 추정됨. 그러나, 극지방으로의 미세플라스틱의 주요 이동경로, 유입량, 제거량등에 대한 이해가 부족함.

■ (연구목표) (북/남) 극지방에서의 플라스틱의 물질수지에 대한 규명

■ (연구내용)

- (남)북극해수에 잔류하는 미세플라스틱의 평균 오염도 및 잔류특성 측정(계절별)
- (남)북극해로의 주요 유입경로(북극해의 경우 대서양수, 태평양수, 알래스칸 연안수 등)별 미세플라스틱 오염수준 측정 및 유입 flux 추정
- 북극 core sediment내 잔류 미세플라스틱 측정을 통한 미세플라스틱 극지방 유입의 시계열적 변화 측정 및 sinking flux 추정

- 대기를 통한 유입가능성 조사

(2) 연구주제2 : 남극지방환경에서의 미세플라스틱의 발생 및 오염현황 규명

■ (연구배경) 북극지방과 달리 남극지역은 남극순환류에 의해 남태평양 및 인도양의 subtropical Gyre에 축적된 미세플라스틱이 남극지역에 도달하기가 상대적으로 어려움. 또, 북극과 달리 icing과 melting을 반복하는 sea ice의 상대적 비율이 작아 북극처럼 미세플라스틱에 대한 ice-trapping이 발생할 가능성이 적음. 그럼에도 불구하고, 칠레 남부에서 미세플라스틱의 검출은 남극해역으로의 이동가능성을 의미함. 또, 최근의 바닷새에 대한 조사에 따르면 남극인근의 서식환경에서의 미세플라스틱 오염의 증가가능성이 예측되기도 하였음.

■ (연구목표) 남극지방에서의 플라스틱의 오염가능성 파악 및 가능유입경로 규명

■ (연구내용)

- 남극해 해수, 심해퇴적물, 생물체(조류, 포유류)에 잔류하는 미세플라스틱 연구
- 남극 sea ice에 잔류하는 미세플라스틱 연구
- Subpolar Gyre에 대한 연구
- 발견된 사실로부터 남극해로의 이동경로에 대한 추적 및 해석이 필요

극지연구소

(3) 연구주제3 : 미세플라스틱의 Ice trapping mechanism 규명

■ (연구배경) 이 연구는 결과적으로 가설로 제안되고 있는 ice-trapping이 해양내 미세플라스틱의 sinking process로 작용하는지 검증이 필요함.

■ (연구목표) 북극지방에서의 ice-trapping이 실질적으로 발생하는지, 발생한다면 그 효과가 얼마나 큰지, 그리고 그 메카니즘이 어떠한지를 밝힐 필요가 있음

■ (연구내용)

- 현장조사를 통한 연구와 실험실 연구의 병행 필요
- 현장조사에서는 icing 전후 및 ice melting 전후 극지방 표층수에서의 미세플라스틱 오염도 변화를 조사하여 ice-trapping이 실질적으로 발생하고 있는지, 또 그 효과에 대한 추적 및 규명
 - 실험실 연구에서는 다양한 미세플라스틱의 성상에 따라 ice-trapping 효과와 기작에 대한 규명

(4) 연구주제4 : 극지방에서의 icing and melting과정에서의 미세플라스틱 흡/첨가

오염물질의 거동 규명

■ (연구배경) 플라스틱은 고분자구조체로써 수착능력이 커 다양한 유기오염물질을 농축하고 또 첨가된 다양한 오염물질을 함유하고 있음. 따라서, 플라스틱의 ice-trapping이 실질적인 현상이라면 플라스틱의 ice-trapping과 연관된 오염물질의 극지 방내 거동 또한 심각하게 영향받을 수 있음. 한편, 얼음내 화학적 반응의 결과는 플라스틱 유무에 따라 얼음속 오염물질의 거동형태에도 영향을 줄 수 있음. 결과적으로 icing/melting에 따른 sea-ice가 이들 오염물질의 sinker로 작용할지 source로 작용할지는 불분명함.

연구는 결과적으로 가설로 제안되고 있는 ice-trapping이 해양내 미세플라스틱의 sinking process로 작용하는지 검증이 필요함.

■ (연구목표) 북극지방에서의 sea ice에 의한 미세플라스틱 trapping이 북극환경 내 오염물질거동에 미치는 기작 규명

■ (연구내용)

- 흡착/첨가 물질들에 따른 sea ice에 흡탈착 등을 포함한 거동기작
- 플라스틱 유무에 따른 Sea-ice내에서의 오염물질의 상변화 및 형태변화 연구
- 극지방에서의 플라스틱 marker chemical의 거동변화

5. 연구주제5 : 미세플라스틱의 심해퇴적물로의 sinking mechanism 연구

■ (연구배경) 해양에 잔류하는 플라스틱 물질수지에 있어서 또다른 missing part를 설명할 수 있는 가능한 기작이 심해퇴적물로의 sinking mechanism임. 실험실 실험을 통해 유기물과의 aggregation을 통한 침적가능성이 제기되거나 일부 심해퇴적물에서 높은 수준의 미세플라스틱이 관측되기도 하였음. 이러한 기작이 실질적인 sinking 기작으로 작용하는지는 현장조사에서 덜 불분명함. 따라서, blooming이 크게 발달하여 biofouling이 크게 발생하고 유기물의 sinking이 활발한 해역이면서 표층수내 미세플라스틱이 축적되는 지역(주요 Gyre지역?) 혹은 표층수의 downwelling이 발생하는 지역에서의 플라스틱의 sinking rate을 조사할 필요가 있음. 또, 대서양수가 Farm strait나 Barents sea를 통해 북극으로 유입할 때, 상대적으로 밀도가 큰 대서양수와 북극수 사이에 thermocline & halocline이 형성됨. 따라서, 대서양수가 북극으로 유입되기 전 sinking할 가능성 큼. 따라서, 이 지역의 심해퇴적물과 core sediment를 연구하는 것이 필요함.

■ (연구목표) 심해퇴적물로의 settling이 미세플라스틱 sinking의 주요기작인지 그리고 그 효과는 어느정도일지에 대한 규명

■ (연구내용)

- 플라스틱 농축 및 settling이 발생할 해역 선정(주요 Gyre지역, blooming 지역 등)
- 북대서양의 고염/저온의 고밀도 해수가 downwelling(sinking) 지역에서의 수층별 포집
- 선정된 주요 settling지역에서의 표층 및 core 퇴적물내 잔류 미세플라스틱 조사

(6) 연구주제6 : 극지방 서식 해양생물의 미세플라스틱 노출

■ (연구배경) 플라스틱은 다양한 오염물질이 첨가 혹은 흡착하여 잔류할 수 있고 이것은 극지방 먹이사슬을 통해 생물계로 전이 증폭될 수 있음. 현재까지 대부분의 생물 노출에 대한 연구는 바닷새(특히, 북극)를 중심으로 진행되고 있으며, 해양포유류를 포함한 극지방내 주요 어종들내 플라스틱 섭취에 대한 조사는 거의 없음. 따라서, 극지방의 먹이사슬에 따른 생물체 체내 미세플라스틱 섭취 연구가 필요함. 특히, 남극지역의 해양생물(바닷새 포함)의 미세플라스틱에 대한 노출연구는 보고된 바가 없음. 남극지방의 조류 및 해양포유류 등에 대한 연구가 필요.

■ (연구목표) 극지방 해양생물의 미세플라스틱 노출수준 및 노출경로 규명

■ (연구내용)

- 남/북극지역 해양생물(특히, 조류, 포유류 등)에서 섭취된 미세플라스틱 수준 평가
- 가능한 연구방법으로써, 남북극지역의 서식지에 관측되는 먹이 혹은 배설물내 잔류량 파악 (특정 종의 개체수에 따른 노출율 추정)
- 남(혹은 북)극 해양생물의 미세플라스틱 노출경로(미세플라스틱이 남극지방으로 이동하는지 등 포함) 대한 평가에 활용

(7) 연구주제7 : 플라스틱관련 chemical marker를 이용한 대양 및 극지방으로의 플라스틱 유입량 추정

■ (연구배경) 플라스틱 자체에 대한 연구는 포획, 정성정량 등에서 경비 및 시간의 제약이 따름. 간접적인 방법으로 플라스틱에서 기인하는 특정 화학물질을 marker로 활용할 수 있음. 이 chemical marker를 활용하여 대양 및 극지방 저서환경으로의 플라스틱 유입의 시계열적 변화를 추적할 수 있으리라 기대됨

■ (연구목표) chemical marker를 이용한 대양 및 극지방환경으로의 유입 플라스틱량에 대한 간접추정

■ (연구내용)

- 전술한 주요 대양 및 극지방 코어퇴적물 채취
- 코어퇴적물내 잔류 chemical marker의 연대별 잔류수준 측정
- 시계열적 변화 경향을 통한 해당 지역으로의 플라스틱 유입량의 상대적 변화 추정

정

(8) 연구주제8 : 기타(플라스틱내 잔류 미생물 군집조사)

■ (연구배경) 플라스틱이 해류를 통한 이동을 통해 위도별 서로다른 서식공간을 갖는 미생물이 다른 서식공간(저서 혹은 극지방)으로 이동할 개연성이 있고, 이동과정에서 유전자 및 군집변화가 발생할 가능성 있음.

■ (연구목표) 플라스틱 기인성 미생물군집 조사를 통한 플라스틱이동경로 규명

■ (연구내용)

- 각 서식환경에서 채취된 미세플라스틱내 microsphere에 대한 조사
- 서로 다른 환경으로의 유전자 풀의 이동에 대한 미세플라스틱의 기여도 조사
- microsphere에 대한 조사를 통해 획득된 biomarker정보를 활용해 미세플라스틱 이동경로에 대한 규명

4. 기대성과 및 활용방안

- 극지방 및 대양연구에 있어서 국내 연구진의 선도적 역할 및 기여가능성이 큽
- 해양에 잔류하는 플라스틱의 물질수지에 있어서 missing part에 대한 규명이 가능
- 향후 Global carbon cycle에서의 플라스틱 기여도에 대한 추정에 활용
- 오염물질의 전지구적 거동기작에 대한 새로운 패러다임 제시 가능성

제 5 절. 북극 환경내 수은의 생지화학 반응 연구

1. 연구개발목표

- 북극 눈과 얼음내에서 일어나는 수은의 산화·환원반응, 유기화·무기화 반응특이성을 이해하고 이에 영향을 미치는 요인들에 대해 규명하고자 함.

2. 연구내용

- 실험실 환경에서 제작한 얼음을 이용하여 수은의 유기화/무기화 반응 속도 및 특성 조사
- 실험실 환경에서 제작한 얼음을 이용하여 수은의 산화/환원 반응 속도 및 특성 조사
- 반응 속도에 영향을 미치는 주요 인자 조사
- 니알슨 콩스피오르드 인근 눈, 해빙, 해수, 퇴적층에서 총수은, 0가 수은, 유기수은 농도를 측정
- 연구 결과를 바탕으로 극지 눈 및 얼음 표층에서 가능한 수은의 종 변화와 거동을 정량적으로 평가



극지연구소

3. 수행방법

○ 수은 유기화·무기화 반응속도 측정

육수 또는 해수를 산세척 된 석영 튜브에 담고 적당 농도의 유기수은 또는 2가 무기수은을 주입한다. 반응속도에 영향을 미치는 주요 인자(pH, 유기물, 메틸기)는 해수에 수은을 주입하기 전 단계에 처리한다. Septa를 이용하여 밀봉한 후 에탄올이 담긴 배스에서 시료를 동결시키고 동결된 샘플은 광(UV) 조건과 암 조건에서 보관하며 산화․환원 반응을 유도한다. 동결된 샘플을 일정시간 뒤 해동하여 유기화 또는 무기화된 수은종 농도를 측정한다,

○ 수은 산화·환원 반응속도 측정

육수 또는 해수를 산세척 된 석영 튜브에 담고 적당 농도의 0가수은 또는 2가수은을 주입한다. 반응속도에 영향을 미치는 주요 인자(pH, 산화제, 환원제)는 수은을 주입하기 전 단계에 처리한다. Septa를 이용하여 밀봉한 후 에탄올이 담긴 배스에서 시료를 동결시킨다. 동결된 샘플은 광(UV) 조건과 암 조건에서 보관하며 산화·환원

반응을 유도한다. 일정시간 뒤 해동하여 산화 또는 환원된 수은 종 농도를 측정한다.

○ 0가 수은 측정

산화·환원 반응의 확인을 위해 0가 수은 농도를 측정한다. 동결된 샘플을 온수(25°C)가 담긴 배스에 넣어 해동시킨 후 액상이 된 시료를 클린벤치 안에서 bubbler에 담아 N₂ 페징하여 수은을 포집한다. 수은이 포집된 골드트랩은 Cold Vapor Atomic Fluorescence spectrometry (CVAFS)를 이용하여 정량 분석한다.



그림 3. 총수은 분석 장치 (CVAFS)

극지연구소

○ 총수은 측정

동결된 샘플을 온수(25°C)가 담긴 배스에 넣어 해동시킨 후 액상이 된 시료에 BrCl를 주입하여 유기물을 산화한다. 이후 SnCl₂를 주입하여 2가 이온 상태로 존재하는 수은을 0가 상태로 환원시킨다. 0가 수은 분석과 마찬가지로 N₂가스를 이용하여 환원수은을 골드트랩에 포집한 후 CVAFS으로 분석한다(그림3).



그림 4. 유기수은 분석장치 (GC-CVAFS)

○ 유기수은 측정

동결된 샘플을 해동시킨 후 액상이 된 시료를 클린벤치 안에서 Teflon tubing에 담은 후 APDC를 주입하고 distillation하여 정제한다. 정제된 시료에 acetate buffer를 주입하여 pH를 조절한 후 tetraethylborate를 주입하여 약 20분 간 반응시키고 이후 질소 퍼징하여 골드트랩에 수은을 포집한다. 수은이 포집된 골드트랩은 GC-CVAFS를 이용하여 정량 분석한다(그림4).

○ 안정동위원소 이용 수은 종 변화 속도 측정법

눈 또는 얼음 시료를 500 mL 테플론 바틀에 넣고 199Hg(II), Me201Hg의 수은 동위원소를 주입한다. 이때 반응속도에 영향을 미치는 주요 인자(pH, 유기물, 메틸기)는 수은을 주입하기 전 단계에 처리한다. 냉동 조건을 만들고 암조건에서 수은 동위원소 배양 실험을 진행한다. 시간별 배양 후 시료를 분취하고 산을 주입하여 반응을 정지시킨다. ICP-MS를 이용하여 Me199Hg와 201Hg(II) 농도를 측정하고 시간 별 측정 결과를 이용하여 methylation rate constant (km), demethylation rate constant (kdm)를 구한다.

$$\frac{d[MeHg]}{dt} = k_m[Hg(II)] - k_{dm}[MeHg]$$

다른 수은 동위원소를 사용하여 위와 비슷한 방법으로 수은의 oxidation rate, reduction rate을 구한다.

4. 기대성과 및 활용방안

- 북극 콩스피오르드 주변 수온분포 및 농도 데이터를 확보함으로 북극에서 진행되는 국제 공동연구(AMAP, SIOS, NysMAC) 참여 기회 확보
- UNEP 주도 국제적 수온 규제 및 협약 대비 국내 수온 모니터링 기술 확보
- 극지 수온 종 분포를 파악하여 극지 수산자원에 대한 수온 오염도 평가의 기초 자료로 활용



제 5 장. 기대성과 및 활용방안

- 본 기획과제는 극지 환경오염분야 KOPRI-NPI 공동연구 주제 개발에 기초자료 제공
- 환경오염물질 공동연구결과는 국제학회 및 위원회(AMAP, NysMAC)와 공유하여 국내
- 극지연구의 독창성 및 차별성 제고
- 스톡홀름 협약 POPs 목록 개선 및 UNEP 주도 수은의 국제 규제에 필요한 기초자료를 제공
- 북극 환경오염물질의 거동을 분자수준에서 연구함으로 북극이사회 산하 AMAP 워킹그룹에 적극적으로 참여하여 최근 획득한 북극이사회 영구 옵저버로써의 국제적 위상 제고



제 6 장. 부 록

[부록1]



Enhanced Removal of Hexavalent Chromium in the Presence of H₂O₂ in Frozen Aqueous Solutions

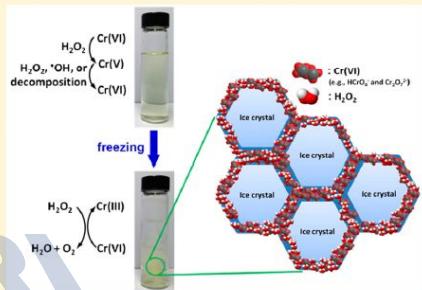
Kitae Kim,[†] Jaesung Kim,[‡] Alok D. Bokare,[§] Wonyong Choi,[§] Ho-Il Yoon,^{*,†} and Jungwon Kim^{*,‡}

[†]Korea Polar Research Institute (KOPRI), Incheon 406-840, Korea

[‡]Department of Environmental Sciences and Biotechnology, Hallym University, Chuncheon, Gangwon-do 200-702, Korea

[§]School of Environmental Science and Engineering, Pohang University of Science and Technology (POSTECH), Pohang 790-784, Korea

ABSTRACT: The reductive transformation of Cr(VI) to Cr(III) by H₂O₂ in ice was compared with that in water. The reduction of Cr(VI) was significant at -20 °C (ice), whereas the reduction efficiency was very low at 25 °C (water). This enhanced reduction of Cr(VI) in ice was observed over a wide range of H₂O₂ concentration (20–1000 μM), pH (3–11), and freezing temperature (-10 to -30 °C). The observed molar ratio of consumed [H₂O₂] to reduced [Cr(VI)] in ice was in close agreement with the theoretical (stoichiometric) molar ratio (1.5) for H₂O₂-mediated Cr(VI) reduction through proton-coupled electron transfer (PCET). The synergistic increase in Cr(VI) reduction in water by increasing the H₂O₂ and protons in the liquid brine is primarily responsible for the enhanced Cr(VI) reduction in ice. In comparison, the one-electron reduction of Cr(VI) to Cr(V) and subsequent reoxidation of Cr(V) to Cr(VI) is the major reaction mechanism in aqueous solution. The reduction efficiency of Cr(VI) by H₂O₂ in the frozen aqueous electroplating wastewater was similar to that in the frozen aqueous deionized water, which verifies the enhanced reduction of Cr(VI) by freezing in real Cr(VI)-contaminated aquatic systems.



INTRODUCTION

Chemical reactions at temperatures above the freezing point (i.e., in aqueous solution) may be different from those at temperatures between the freezing and eutectic points (i.e., in the mixture of ice crystals and liquid brine).^{1–4} Reaction rates in ice crystals are usually lower than those in aqueous solution because of the lower temperature in ice crystals. However, some chemical reactions can be accelerated and enhanced by freezing. The oxidation of nitrite to nitrate in water was markedly accelerated by freezing.^{5–7} In addition, the dissolution of metal oxides, such as iron oxide and manganese oxide, by organic compounds in frozen aqueous solution was accelerated.^{8,9} Recently, it was also reported that the reduction of chromate by organic compounds under acidic conditions is enhanced by freezing.^{10,11} These enhanced chemical reactions are mainly ascribed to the freeze concentration phenomenon, which refers to the increased concentrations of both solutes (e.g., nitrite, metal oxide particles, and organic compounds) and protons in the liquid brine by exclusion from ice crystals during the freezing process.^{1,5–7,12,13} Chemical reactions below the eutectic temperature are generally stopped because the liquid brine is completely solidified. The photochemical degradation mechanism and products of organic compounds in ice can be different from those in water because the coupling/dimerization reactions are enhanced in ice.^{14–17} The different chemical kinetics and mechanisms between ice and water required

various laboratory and field studies of chemical reactions in ice to explain the cycling and fate of contaminants in the cryosphere (e.g., permafrost, polar regions, high latitudes, and midlatitudes during the winter season) and the upper troposphere.^{1,18,19}

Various industries, such as metallurgy, wood preservation, leather tanning, metal electroplating, and pigment manufacturing, use chemical reagents containing high concentrations of chromium,²⁰ which results in a large amount of wastewater containing chromium that needs to be treated. In addition, chromium pollution can naturally occur from weathering and dissolution of chromium-bearing minerals and volcanic eruptions.²¹ Chromium is commonly found as trivalent chromium (Cr(III)) and hexavalent chromium (Cr(VI)) in water, and its toxicity, water solubility, and environmental fate are greatly dependent on the oxidation state.²² Between these two chromium species, Cr(III) and Cr(VI), Cr(VI) is more toxic, water-soluble, and difficult to remove using physical treatment processes (e.g., adsorption, ion exchange, and precipitation) than Cr(III).²³ In this regard, the pre-reduction

Received: June 2, 2015

Revised: August 25, 2015

Accepted: August 28, 2015

Published: August 28, 2015

of Cr(VI) to Cr(III) is considered a desirable process in chromium removal.

Hydrogen peroxide (H_2O_2) is ubiquitous in aquatic environments. H_2O_2 can be produced through the photochemical reactions of natural organic matter with dioxygen and by biological processes mediated by algae.^{24,25} In addition, it is well-known that H_2O_2 is present in snow/ice and plays important roles in oxidation reactions in the polar regions as an oxidant and a precursor of hydroxyl radicals ($\cdot OH$).^{26,27} The interest in redox reactions between H_2O_2 (or $\cdot OH$) and pollutants in snow/ice has increased because the concentration of H_2O_2 in snow/ice has increased by 50% over the past 200 years.²⁸ In water treatment processes, H_2O_2 has been widely used as an oxidant for the degradation of aquatic pollutants.²⁹ In addition, H_2O_2 can be used as a reducing agent for easily oxidizable metals, such as Fe(III) and Cr(VI), and kinetic and mechanistic investigations of metal reduction by H_2O_2 in water have been extensively performed.^{30–34} However, the reduction of Cr(VI) by H_2O_2 in ice has not been studied despite the high probability of the coexistence of H_2O_2 and Cr(VI). The concentrations of chromium and hydrogen peroxide in the cryosphere vary from a few to 470 ppt and 600 ppb, respectively, depending on region, season, and depth from the surface.^{35–38} The reaction between Cr(VI) (discharged from natural and anthropogenic sources) and H_2O_2 (in situ naturally generated) in frozen aqueous environment might be different from that in aqueous environment, which results in the different fate of Cr(VI) depending on region, altitude, and weather.

In this work, we investigated the reduction of Cr(VI) by H_2O_2 as a reductant in ice and compared it with the corresponding reaction in water. The reduction of Cr(VI) by H_2O_2 in water was limited, whereas it was significant in ice. The reduction process in ice and water was compared as a function of various experimental parameters, such as H_2O_2 concentration, pH, and freezing temperature. Furthermore, the reaction mechanism between H_2O_2 and Cr(VI) in ice was discussed and compared with that in water. The reduction efficiency of Cr(VI) by H_2O_2 , which is the ratio of (initial [Cr(VI)] – final [Cr(VI)])/(initial [Cr(VI)]), in the frozen aqueous electroplating wastewater containing various metals was similar to that in the frozen aqueous deionized water, which verifies the enhanced reduction of Cr(VI) by freezing in real Cr(VI)-contaminated aquatic systems.

EXPERIMENTAL SECTION

Chemicals and Reagents. The chemicals and reagents used in this work include the following: sodium dichromate dihydrate ($Na_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$, Cr(VI), Aldrich), hydrogen peroxide (H_2O_2 , Samchun chemicals), acetone (CH_3COCH_3 , Junsei), sulfuric acid (H_2SO_4 , Aldrich), 1,5-diphenylcarbazide ($C_6H_5NHNCONHNHC_6H_5$, DPC, Aldrich), benzoic acid (C_6H_5COOH , BA, Aldrich), 4-hydroxybenzoic acid ($HOC_6H_4CO_2H$, 4-HBA, Aldrich), *N,N*-diethyl-1,4-phenylenediamine (($C_2H_5)_2NC_6H_4NH_2$, DPD, Aldrich), peroxidase from horseradish (type VI-A, POD, Aldrich). All chemicals were of analytical grade. The deionized water was ultrapure (18 MΩ·cm) and prepared using a Barnstead purification system. The electroplating wastewater was obtained from a local electroplating plant in Korea.

Experimental Procedure. An aqueous solution containing the desired concentrations of Cr(VI) and H_2O_2 (usually 20 μM and 100 μM, respectively), which was adjusted to the desired

pH value using a $HClO_4$ or NaOH solution, was put in a conical centrifuge tube (15 mL). For the reaction in ice, the conical centrifuge tube was placed in a stainless steel tube rack in a cryogenic ethanol circulator cooled to the desired temperature (usually $-20^{\circ}C$) for freezing. The point when the aqueous samples were added to the cryogenic ethanol circulator was defined as time zero ($t = 0$) in the measurements of reaction kinetics. To melt the frozen aqueous samples within 10 min, the conical centrifuge tubes were placed in a beaker containing lukewarm water ($35^{\circ}C$). The Cr(VI) reduction experiments in aqueous solution were performed at $25^{\circ}C$ using the same experimental system. Multiple (two or more) experiments were performed for a given condition to confirm data reproducibility. Error bars represent one standard deviation from the mean value.

Chemical Analyses. The concentrations of Cr(VI) and H_2O_2 were measured spectrophotometrically using the DPC³⁹ and DPD⁴⁰ methods, respectively. For the DPC method, 100 μL of the DPC reagent (containing 25 mL of acetone, 250 μL of H_2SO_4 , and 0.05 g of DPC) was added to a vial containing a diluted sample (2.5 mL of deionized water and 0.5 mL of the sample solution). The vial was mixed vigorously and kept in the dark before the analysis. After 30 min, the absorbance measurements at 540 nm ($\epsilon = 6850 M^{-1} cm^{-1}$)³⁹ were performed using a UV-visible spectrophotometer (Biochrom Libra S22). For the DPD method, 0.05 mL of the DPD reagent (containing 0.1 g of DPD and 10 mL of H_2SO_4 (0.1 M)), 0.05 mL of POD solution (containing 0.01 g of POD and 10 mL of deionized water), and 0.4 mL of phosphate buffer (0.5 M, pH 6.0) were added to a diluted sample (2.0 mL of deionized water and 1.0 mL of the sample solution). The solution was mixed vigorously, and its absorbance was measured at 551 nm ($\epsilon = 21000 M^{-1} cm^{-1}$)⁴⁰ after 1 min.

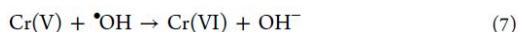
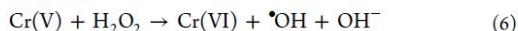
The production of hydroxyl radicals ($\cdot OH$) was indirectly monitored by measuring the concentration of 4-hydroxybenzoic acid (4-HBA), which was generated from the reaction between benzoic acid (BA) and $\cdot OH$.^{41,42} The concentration of 4-HBA was quantified by comparing the chromatography peak area of the samples with that of the authentic standard at the same retention time using high-performance liquid chromatography (HPLC, Agilent 1100) equipped with a UV-visible detector and a ZORBAX 300SB C-18 column (4.6 mm × 150 mm). The mobile phase was a binary mixture of a 0.1% phosphoric acid solution and acetonitrile (8:2 by volume) at a flow rate of 1.0 mL/min, and the detection wavelength was 254 nm.

The chemical composition of the electroplating wastewater was analyzed using inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP-OES, Thermo iCAP 6300 Duo), which was operated under the conditions of RF power 1150 W, pump rate 50 rpm, auxiliary gas flow 0.5 L/min, and nebulizer gas flow 0.7 L/min.

RESULTS AND DISCUSSION

Cr(VI) Reduction by H_2O_2 in Water and Ice. Because the eutectic temperature of H_2O_2 solution is below than $-50^{\circ}C$,⁴³ the reaction system in this study was not completely solidified. Therefore, the term “ice” in this study refers to the mixture of ice crystals and liquid brine, without indicating a fully frozen state. The reduction of Cr(VI) to Cr(III) by H_2O_2 in ice (more precisely, in the liquid brine) was compared to that in water (Figure 1a). Under the conditions of $[H_2O_2] = 100 \mu M$, $[Cr(VI)] = 20 \mu M$, and pH 3.0, the reduction of Cr(VI) by

In addition, the intermediate Cr(V) species generated from reaction 4 can react with residual H₂O₂ to regenerate Cr(VI) with producing •OH (reaction 6),^{32,47} and •OH generated from reactions 5 and 6 can reoxidize Cr(V) back to Cr(VI) (reaction 7).



These coupled redox reactions (reaction 4 + reaction 5, 6, or 7) consume H₂O₂ without the reduction of Cr(VI) to Cr(III). Because the concentration of the protons in water at pH 3.0 should not be sufficient to drive reaction 3, the reduction of Cr(VI) to Cr(III) was very small. Alternatively, Cr(V) should be primarily formed by the single-electron transfer from H₂O₂ to Cr(VI) (reaction 4) and then reoxidized back to Cr(VI) (reactions 5–7). These null reactions that occur in water limit the reduction of Cr(VI) to Cr(III) with continuously consuming H₂O₂.

To provide convincing evidence of different reaction mechanisms between Cr(VI) and H₂O₂ in water and ice (i.e., reactions 4–7 in water vs reaction 3 in ice), the production of •OH was monitored by measuring the production of 4-hydroxybenzoic acid (4-HBA) that was generated from the reaction between •OH and benzoic acid (BA) (Figure 2). If the

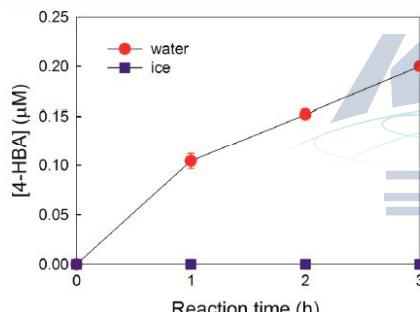


Figure 2. Time profiles of •OH production in water and ice. Experimental conditions were as follows: [Cr(VI)]_i = 20 μM, [H₂O₂]_i = 100 μM, [BA]_i = 1 mM, pH 3.0, and reaction temperatures = water at 25 °C and ice at –20 °C.

reaction between Cr(VI) and H₂O₂ is initiated through the single-electron transfer (reaction 4), •OH should be generated through the decomposition of Cr(V) (reaction 5) or the reaction between Cr(V) and H₂O₂ (reaction 6). In contrast, •OH is not produced in the course of Cr(VI) reduction by H₂O₂ through PCET reaction (reaction 3).

As shown in Figure 2, the production of 4-HBA, which is directly proportional to the production of •OH, gradually increased in the aqueous Cr(VI)/H₂O₂ system. This result indicates that the single-electron transfer from H₂O₂ to Cr(VI) (i.e., the formation of Cr(V), reaction 4) and subsequent reoxidation of Cr(V) to Cr(VI) (reactions 5–7) is favored in water. However, the formation of 4-HBA was negligible in the frozen aqueous Cr(VI)/H₂O₂ system. Therefore, the formation of Cr(V) by single-electron transfer from H₂O₂ to Cr(VI) (reaction 4) can be ruled out in ice, with the PCET reaction (reaction 3) proposed as the major reaction pathway between H₂O₂ and Cr(VI).

Cr(VI) Reduction by H₂O₂ in Various Conditions. The effect of the H₂O₂ concentration on Cr(VI) reduction was investigated in both water and ice (Figure 3a). The reduction of Cr(VI) increased with increasing H₂O₂ concentration in water. However, approximately 40% of Cr(VI) (8 μM) still remained even at [H₂O₂] = 1 mM, which should be attributed to the fact that the complete reduction through PCET reaction (reaction 3) is less favorable than the coupled redox reactions (reaction 4 + reaction 5, 6, or 7) in water. In contrast, the reduction of Cr(VI) (20 μM) was completed at [H₂O₂] ≥ 50 μM in ice. At [H₂O₂] = 20 μM and [Cr(VI)] = 20 μM, 14 μM of Cr(VI) was reduced and 20 μM of H₂O₂ was completely consumed after 2 h. Because 2 μM of Cr(VI) was reduced for 2 h in the absence of H₂O₂ (Figure 1a), the observed molar ratio of H₂O₂ to Cr(VI) (consumed [H₂O₂]/(reduced [Cr(VI)] – 2 μM)) was 1.67, which was similar to the theoretical (stoichiometric) value of 1.5 (reaction 3). This result also corroborates the proposed PCET reaction between H₂O₂ and Cr(VI) in ice.

The effect of the pH on Cr(VI) reduction by H₂O₂ was also investigated (Figure 3b). The reduction of Cr(VI) gradually decreased from pH 3 to pH 11 in both ice and water. This behavior is expected because the reduction of Cr(VI) to Cr(III) through PCET reaction is favored under acidic conditions. However, it should be noted that approximately 45% of Cr(VI) (9 μM) was reduced in the presence of 100 μM of H₂O₂ at neutral pH in ice, whereas the reduction in water was very small under the same conditions. This result implies that the enhanced reduction of Cr(VI) by H₂O₂ in ice is not particularly restricted to acidic conditions only. A significant portion of Cr(VI) in natural waters (e.g., river water, lake water, and groundwater), where the pH is generally neutral, can be reduced to Cr(III) in the presence of H₂O₂ by freezing. The reduction of Cr(VI) in ice at neutral pH was negligible in the absence of H₂O₂, which implies that the reduction of Cr(VI) is initiated only by H₂O₂ at neutral pH in contrast to acidic pH.

It has been estimated that the concentration of protons in the liquid brine increases by 2–3 orders of magnitude compared to that in aqueous solution.^{48,49} If so, the pH in water can be changed from 7.0 up to 4.0 by freezing. However, the reduction of Cr(VI) at pH 7.0 in ice was more significant than that at pH 4.0 in water, which indicates that the pH decrease by freezing is not the only reason for the enhanced Cr(VI) reduction in ice. In addition to protons, H₂O₂ can be concentrated in the liquid brine during freezing. This behavior should result in a synergistic enhancement of the Cr(VI) reduction through PCET reaction, because reaction 3 is also favored at high concentrations of H₂O₂. The alkaline aqueous solution may become more basic by freezing due to the accumulation of OH[–] in the liquid brine, which constitutes an unfavorable condition for PCET reaction (reaction 3). Therefore, the observed positive effect of freezing on Cr(VI) reduction at basic conditions should be ascribed to only the increased concentration of H₂O₂ in the liquid brine.

Figure 3c shows the temperature-dependent kinetic profiles of Cr(VI) reduction at the same [H₂O₂]. The apparent Cr(VI) reduction rate, which is the ratio of (initial [Cr(VI)] – final [Cr(VI)])/(reaction stop time), in the ice samples increased with decreasing freezing temperature (0.52 μM/min at –10 °C, 0.93 μM/min at –20 °C, and 1.21 μM/min at –30 °C). The freezing temperature should have an effect on the volume of the liquid brine by affecting the freezing speed. The size of the ice crystals should be larger at higher freezing speed (i.e., at lower freezing temperature). Therefore, the volume of the liquid

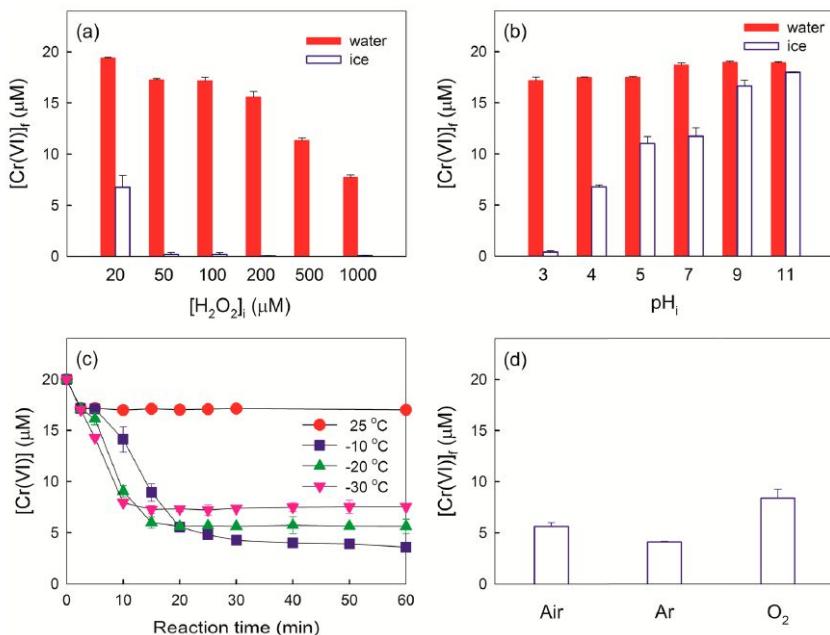


Figure 3. Effect of (a) H₂O₂ concentration, (b) pH, (c) temperature, and (d) dioxygen concentration on Cr(VI) reduction in water and ice. Experimental conditions were as follows: [Cr(VI)]_i = 20 μM, [H₂O₂]_i = 100 μM (for b, c, and d), pH_i 3.0 (for a), pH_i 4.0 (for c and d), reaction temperatures = water at 25 °C and ice at -20 °C (for a, b, and d), and reaction time = 2 h (for a, b, and d). A conical centrifuge tube containing Cr(VI) and H₂O₂ was sealed with a rubber septum. Then, Ar or O₂ (99.999%) was purged for 30 min prior to freezing (for d).

brine, which is inversely proportional to the size of the ice crystals, should be smaller at lower freezing temperatures. The smaller volume of the liquid brine (i.e., more highly concentrated H₂O₂ and protons) at lower freezing temperature increases the apparent reduction rate of Cr(VI).

The Cr(VI) reduction efficiency, which is the ratio of (initial [Cr(VI)] – final [Cr(VI)])/(initial [Cr(VI)]), seems to be independent of the freezing temperature because all experiments were performed above the eutectic temperature (i.e., the reduction of Cr(VI) was not stopped by complete solidification). However, more Cr(VI) was reduced at higher freezing temperatures (16.5 μM at -10 °C, 14.5 μM at -20 °C, and 12.5 μM at -30 °C). This result is consistent with the previous report that the freeze concentration phenomenon is more significant at higher freezing temperatures.¹¹ Highly concentrated dioxygen may completely inhibit the reduction of Cr(VI) to Cr(III) through PCET reaction (reaction 3) with Cr(III) generated from Cr(VI) reduction by reducing the driving force (i.e., E₃ value). The concentration of dioxygen should be higher at lower freezing temperatures because dioxygen can also be more confined in the smaller liquid brine.^{6,7} This can help explain why the efficiency of Cr(VI) reduction by H₂O₂ decreased with decreasing freezing temperature. In order to confirm the dioxygen concentration-dependent Cr(VI) reduction efficiency in ice, the Cr(VI) reduction efficiency at -20 °C of the sample purged with Ar or O₂ prior to freezing was measured and compared with that of the sample under air-equilibrium conditions (Figure 3d). The reduction efficiency of Cr(VI) increased by Ar purge (i.e., in relatively O₂-poor condition), but decreased after O₂ purge (i.e., in relatively O₂-rich condition). This result supports that

the faster increase of dioxygen concentration at lower freezing temperature stops the Cr(VI) reduction process earlier and then subsequently decreases the reduction efficiency of Cr(VI).

Verification of Freeze Concentration Phenomenon.

The enhanced reduction of Cr(VI) in ice should be due to the freeze concentration of H₂O₂ and protons in the liquid brine. To verify the freeze concentration phenomenon as the reason for the enhanced Cr(VI) reduction in ice, we investigated the reduction of Cr(VI) in water at high H₂O₂ (1 mM) and/or proton concentrations (pH 2.0) and compared their results to those of the reference experiment ([H₂O₂] = 100 μM and pH 3.0) (Figure 4). The reduction of Cr(VI) by H₂O₂ was enhanced when the concentration of either H₂O₂ or protons increased by 10 times. In addition, the reduction of Cr(VI) in water was more significant and comparable to that in ice when both the concentration of H₂O₂ and protons increased by 10 times. Therefore, the enhanced reduction of Cr(VI) in ice should be attributed to the freeze concentration of both protons and H₂O₂ (not protons or H₂O₂ alone) in the liquid brine.

H₂O₂-Mediated Reduction of Cr(VI) in Electroplating Wastewater in Water and Ice. To verify the enhanced H₂O₂-mediated Cr(VI) reduction by freezing in real Cr(VI)-contaminated aquatic systems, the reduction of Cr(VI) in the diluted electroplating wastewater was investigated in both water and ice (Figure 5). The electroplating wastewater was obtained from a local electroplating plant in Korea and its chemical composition is listed in Table 1. The concentration of Cr(VI) in the electroplating wastewater was ~0.6 M and the pH was ~0.4. The raw electroplating wastewater was diluted ~30,000 times with deionized water. After the addition of H₂O₂ (100

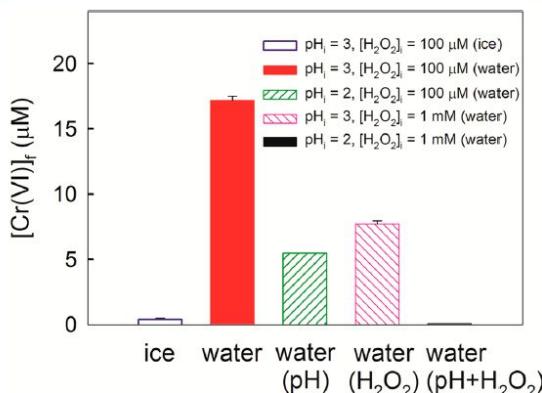


Figure 4. Effect of H_2O_2 concentration and pH on Cr(VI) reduction in water and ice. Experimental conditions were as follows: $[\text{Cr(VI)}]_i = 20 \mu\text{M}$, reaction temperatures = water at 25°C and ice at -20°C , and reaction time = 2 h.

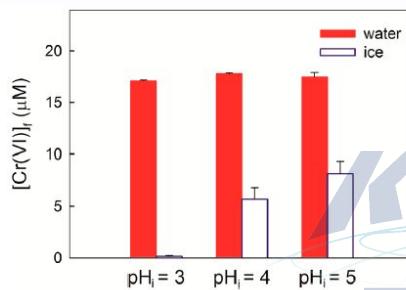


Figure 5. Reduction of Cr(VI) in the electroplating wastewater by H_2O_2 at various pH in water and ice. The electroplating wastewater was diluted to the desired concentration, H_2O_2 was added, and then the pH was adjusted with a HClO_4 solution. Experimental conditions were as follows: $[\text{Cr(VI)}]_i = 20 \mu\text{M}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 100 \mu\text{M}$, reaction temperatures = water at 25°C and ice at -20°C , and reaction time = 2 h.

mM, $100 \mu\text{L}$) to the diluted electroplating wastewater ($[\text{Cr(VI)}] \approx 20 \mu\text{M}$, 99.9 mL), the pH of the diluted electroplating wastewater containing H_2O_2 ($[\text{Cr(VI)}] = 20 \mu\text{M}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 100 \mu\text{M}$, and pH 5.1) was adjusted to the desired pH (i.e., pH 3.0, 4.0, or 5.0) with a HClO_4 solution. The reduction of Cr(VI) in the electroplating wastewater by H_2O_2 was also markedly enhanced by freezing at all pH ranges tested (pH 3–5). In addition, the reduction efficiency of Cr(VI) in the electroplating wastewater was similar to that in the deionized water despite the presence of other metals, which implies that H_2O_2 can selectively reduce Cr(VI) among the various metals.

Environmental Implications. Both Cr(VI) and H_2O_2 are ubiquitous in atmospheric water, natural waters, and soil,^{50,51} and chemical reactions in ice can occur in various geographical regions, such as permafrost, polar regions, high latitudes, and

midlatitudes during the winter season, and the upper troposphere. Therefore, the reaction in ice between Cr(VI) and H_2O_2 can significantly influence the concentrations of both Cr(VI) and H_2O_2 in the global environment. In particular, the pH of atmospheric water, such as rain and clouds, is in the range of 2–6,⁵² which is a good condition for the proposed ice/Cr(VI)/ H_2O_2 process. Therefore, the freezing of atmospheric water containing both Cr(VI) and H_2O_2 in the cryosphere and the upper troposphere can significantly reduce its toxicity and potential risk through the reduction of Cr(VI) to Cr(III).

Cr(VI) is one of the most notorious pollutants generated from various industries due to its high production volume and toxicity, and the pH of Cr(VI)-contaminated wastewaters is very low.⁵³ In addition, the pH of acid mine drainage (AMD), which contains high concentrations of chromium (up to 15 mM), is usually lower than 5.0.^{54,55} The results of this study imply that a respectable amount of Cr(VI) in Cr(VI)-contaminated wastewater and AMD can be removed by reacting with naturally generated H_2O_2 in cold environments.

We investigated the reduction of Cr(VI) by H_2O_2 in frozen aqueous solutions compared with the corresponding reaction in aqueous solutions. In water, the reaction between Cr(VI) and H_2O_2 is very slow and the intermediate Cr(V) species, which is generated from the one-electron reduction of Cr(VI) by H_2O_2 , is immediately reoxidized back to Cr(VI). Therefore, the reduction of Cr(VI) to Cr(III) by H_2O_2 was limited in water. In contrast, the reduction of Cr(VI) by H_2O_2 proceeded rapidly at pH 3.0 in ice until either Cr(VI) or H_2O_2 was completely consumed. The reaction between Cr(VI) and H_2O_2 in ice was primarily initiated by a proton-coupled electron transfer (PCET) mechanism and the observed H_2O_2 to Cr(VI) molar ratio value ~ 1.5 satisfied the theoretical (stoichiometric) requirements. The enhanced reduction of Cr(VI) in ice should be attributed to the freeze concentration of both H_2O_2 and protons in the liquid brine, which provide a better reaction medium for the reduction of Cr(VI) to Cr(III) through PCET reaction. The observed synergistic effect of higher H_2O_2 concentration and lower pH on Cr(VI) reduction in water corroborates the freeze concentration phenomenon as the reason for the enhanced Cr(VI) reduction in ice. The reduction efficiency of Cr(VI) by H_2O_2 in ice varied depending on the H_2O_2 concentration, pH, and freezing temperature. However, the reduction of Cr(VI) in ice was more significant than that in water under all experimental conditions. This study provides useful information for understanding the fate and cycling of Cr(VI) in the cryosphere and the upper troposphere. However, the exact concentrations of H_2O_2 and proton in the liquid brine are unknown at this stage. Based on precise modeling and/or in situ measurement of H_2O_2 and proton concentrations in the liquid brine during freezing, more detailed quantitative investigations of the Cr(VI) reduction kinetics in ice need to be performed.

Table 1. Chemical Composition of the Electroplating Wastewater

element ^a	Al	As	B	Ca	Cr	Cs	Cu	Fe	Mg	Mo	Na	Pb	Tl
concentration (ppm) ^a	56	100	62	306	39524	9104	281	1348	69	50	125	75	37

^aConcentrations of other elements (Ag, Ba, Be, Cd, Co, Mn, Ni, Sb, Se, Si, Ti, V, and Zn) were negligible.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Authors

(H.-I.Y.) Phone: +82-32-760-5361; e-mail: hiyoon@kopri.re.kr.
 (J.K.) Phone: +82-33-248-2156; e-mail: jwk@hallym.ac.kr.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Korea Polar Research Institute (PP15010), the Hallym University (HRF-G-2013-3), and Basic Science Research Program (NRF-2013R1A1A1007312) and Space Core Technology Development Program (NRF-2014M1A3A3A02034875) through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning.

■ REFERENCES

- Bartels-Rausch, T.; Jacobi, H.-W.; Kahan, T. F.; Thomas, J. L.; Thomson, E. S.; Abbott, J. P. D.; Ammann, M.; Blackford, J. R.; Bluhm, H.; Boxe, C.; Domine, F.; Frey, M. M.; Gladich, L.; Guzmán, M. I.; Heger, D.; Huthwelker, T.; Klán, P.; Kuhs, W. F.; Kuo, M. H.; Maus, S.; Moussa, S. G.; McNeill, V. F.; Newberg, J. T.; Pettersson, J. B. C.; Roesselová, M.; Sodeau, J. R. A review of air-ice chemical and physical interactions (AICI): liquids, quasi-liquids, and solids in snow. *Atmos. Chem. Phys.* 2014, 14, 1587–1633.
- Park, S.-C.; Moon, E.-S.; Kang, H. Some fundamental properties and reactions of ice surfaces at low temperatures. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2010, 12, 12000–12011.
- Boxe, C. S.; Saiz-Lopez, A. Influence of thin liquid films on polar ice chemistry: implications for Earth and planetary science. *Polar Sci.* 2009, 3, 73–81.
- Boxe, C. S.; Saiz-Lopez, A. Multiphase modeling of nitrate photochemistry in the quasi-liquid layer (QLL): implications for NO_x release from the Arctic and coastal Antarctic snowpack. *Atmos. Chem. Phys.* 2008, 8, 4855–4864.
- Takenaka, N.; Ueda, A.; Maeda, Y. Acceleration of the rate of nitrite oxidation by freezing in aqueous solution. *Nature* 1992, 358, 736–738.
- Takenaka, N.; Ueda, A.; Daimon, T.; Bandow, H.; Dohmaru, T.; Maeda, Y. Acceleration mechanism of chemical reaction by freezing: the reaction of nitrous acid with dissolved oxygen. *J. Phys. Chem.* 1996, 100, 13874–13884.
- Takenaka, N.; Bandow, H. Chemical kinetics of reactions in the unfrozen solution of ice. *J. Phys. Chem. A* 2007, 111, 8780–8786.
- Kim, K.; Yoon, H.-I.; Choi, W. Enhanced dissolution of manganese oxide in ice compared to aqueous phase under illuminated and dark conditions. *Environ. Sci. Technol.* 2012, 46, 13160–13166.
- Jeong, D.; Kim, K.; Choi, W. Accelerated dissolution of iron oxides in ice. *Atmos. Chem. Phys.* 2012, 12, 11125–11133.
- Dong, X.; Ma, L. Q.; Gress, J.; Harris, W.; Li, Y. Enhanced Cr(VI) reduction and As(III) oxidation in ice phase: important role of dissolved organic matter from biochar. *J. Hazard. Mater.* 2014, 267, 62–70.
- Kim, K.; Choi, W. Enhanced redox conversion of chromate and arsenite in ice. *Environ. Sci. Technol.* 2011, 45, 2202–2208.
- Betterton, E. A.; Anderson, D. J. Autoxidation of N(III), S(IV), and other species in frozen solution—a possible pathway for enhanced chemical transformation in freezing systems. *J. Atmos. Chem.* 2001, 40, 171–189.
- Heger, D.; Jirkovský, J.; Klán, P. Aggregation of methylene blue in frozen aqueous solutions studied by absorption spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* 2005, 109, 6702–6709.
- Klán, P.; Holoubek, I. Ice (photo)chemistry. ice as a medium for long-term (photo)chemical transformations-environmental implications. *Chemosphere* 2002, 46, 1201–1210.
- Klán, P.; Klánová, J.; Holoubek, I.; Čupr, P. Photochemical activity of organic compounds in ice induced by sunlight irradiation: the Svalbard project. *Geophys. Res. Lett.* 2003, 30, 1313.
- Klánová, J.; Klán, P.; Nosek, J.; Holoubek, I. Environmental ice photochemistry: monochlorophenols. *Environ. Sci. Technol.* 2003, 37, 1568–1574.
- Bláha, L.; Klánová, J.; Klán, P.; Janošek, J.; Škarek, M.; Růžička, R. Toxicity increases in ice containing monochlorophenols upon photolysis: environmental consequences. *Environ. Sci. Technol.* 2004, 38, 2873–2878.
- Grannas, A. M.; Bogdal, C.; Hageman, K. J.; Halsall, C.; Harner, T.; Hung, H.; Kallenborn, R.; Klán, P.; Klánová, J.; Macdonald, R. W.; Meyer, T.; Wania, F. The role of the global cryosphere in the fate of organic contaminants. *Atmos. Chem. Phys.* 2013, 13, 3271–3305.
- McNeill, V. F.; Grannas, A. M.; Abbatt, J. P. D.; Ammann, M.; Ariya, P.; Bartels-Rausch, T.; Domine, F.; Donaldson, D. J.; Guzman, M. I.; Heger, D.; Kahan, T. F.; Klán, P.; Masclin, S.; Toublin, C.; Voisin, D. Organics in environmental ices: sources, chemistry, and impacts. *Atmos. Chem. Phys.* 2012, 12, 9653–9678.
- Barnhart, J. Occurrences, uses, and properties of chromium. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1997, 26, S3–S7.
- Vaiopoulos, E.; Gikas, P. Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: a review. *Water Res.* 2012, 46, 549–570.
- Costa, M. Potential hazards of hexavalent chromate in our drinking water. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2003, 188, 1–5.
- Barrera-Díaz, C. E.; Lugo-Lugo, V.; Bilyeu, B. A review of chemical, electrochemical and biological methods for aqueous Cr(VI) reduction. *J. Hazard. Mater.* 2012, 223–224, 1–12.
- Clark, C. D.; De Bruyn, W. J.; Jakubowski, S. D.; Grant, S. B. Hydrogen peroxide production in marine bathing waters: implications for fecal indicator bacteria mortality. *Mar. Pollut. Bull.* 2008, 56, 397–401.
- Möller, D. Atmospheric hydrogen peroxide: evidence for aqueous-phase formation from a historic perspective and a one-year measurement campaign. *Atmos. Environ.* 2009, 43, 5923–5936.
- Neftel, A.; Jacob, P.; Klockow, D. Measurements of hydrogen peroxide in polar ice samples. *Nature* 1984, 311, 43–45.
- Kamiyama, K.; Motoyama, H.; Fujii, Y.; Watanabe, O. Distribution of hydrogen peroxide in surface snow over antarctic ice sheet. *Atmos. Environ.* 1996, 30, 967–972.
- Sigg, A.; Neftel, A. Evidence for a 50% increase in H₂O₂ over the past 200 years from a Greenland ice core. *Nature* 1991, 351, 557–559.
- Chang, K. L. B.; Tai, M.-C.; Cheng, F.-H. Kinetics and products of the degradation of chitosan by hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 4845–4851.
- Griend, D. A. V.; Golden, J. S.; Arrington, C. A., Jr. Kinetics and mechanism of chromate reduction with hydrogen peroxide in base. *Inorg. Chem.* 2002, 41, 7042–7048.
- Pettine, M.; Campanella, L.; Millero, F. J. Reduction of hexavalent chromium by H₂O₂ in acidic solutions. *Environ. Sci. Technol.* 2002, 36, 901–907.
- Perez-Benito, J. F.; Arias, C. A kinetic study of the chromium(VI)-hydrogen peroxide reaction. role of the diperoxochromate(VI) intermediates. *J. Phys. Chem. A* 1997, 101, 4726–4733.
- Liu, L.; Yuan, Y.; Li, F.-b.; Feng, C.-h. In-situ Cr(VI) reduction with electrogenerated hydrogen peroxide driven by iron-reducing bacteria. *Bioresour. Technol.* 2011, 102, 2468–2473.
- Walling, C.; Goosen, A. Mechanism of the ferric ion catalyzed decomposition of hydrogen peroxide. effect of organic substrates. *J. Am. Chem. Soc.* 1973, 95, 2987–2991.
- De Velde, K. V.; Ferrari, C.; Barbante, C.; Moret, I.; Bellomi, T.; Hong, S.; Boutron, C. A 200 year record of atmospheric cobalt, chromium, molybdenum, and antimony in high altitude alpine firn and ice. *Environ. Sci. Technol.* 1999, 33, 3495–3501.
- Gabrielli, P.; Barbante, C.; Boutron, C.; Cozzi, G.; Gaspari, V.; Planchon, F.; Ferrari, C.; Turettà, C.; Hong, S.; Cescon, P. Variations

- in atmospheric trace elements in Dome C (East Antarctica) ice over the last two climatic cycles. *Atmos. Environ.* 2005, 39, 6420–6429.
- (37) Sigg, A.; Neffel, A. Seasonal variations in hydrogen peroxide in polar ice cores. *Ann. Glaciol.* 1988, 10, 157–162.
- (38) Chu, L.; Anastasio, C. Formation of hydroxyl radical from the photolysis of frozen hydrogen peroxide. *J. Phys. Chem. A* 2005, 109, 6264–6271.
- (39) *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed.; Eaton, A. D.; Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E., Ed.; APAH: Washington, DC, 1995.
- (40) Bader, H.; Sturzenegger, V.; Hoigné, J. Photometric method for the determination of low concentrations of hydrogen peroxide by the peroxidase catalyzed oxidation of N,N-diethyl-p-phenylenediamine (DPD). *Water Res.* 1988, 22, 1109–1115.
- (41) Liu, J.; Wu, J.-Y.; Kang, C.-L.; Peng, F.; Liu, H.-F.; Yang, T.; Shi, L.; Wang, H.-L. Photo-fenton effect of 4-chlorophenol in ice. *J. Hazard. Mater.* 2013, 261, 500–511.
- (42) Joo, S. H.; Feitz, A. J.; Sedlak, D. L.; Waite, T. D. Quantification of the oxidizing capacity of nanoparticulate zero-valent iron. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 1263–1268.
- (43) Foley, W. T.; Giguère, P. A. Hydrogen peroxide and its analogues: II. phase equilibrium in the system hydrogen peroxide-water. *Can. J. Chem.* 1951, 29, 123–131.
- (44) CRC Handbook of Chemistry and Physics, 77th ed.; David, R. L., Ed.; CRC Press: New York, 1996; pp 10–189.
- (45) Peters, J. W.; Bekowies, P. J.; Winer, A. M.; Pitts, J. N., Jr. An investigation of potassium perchromate as a source of singlet oxygen. *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 97, 3299–3306.
- (46) Kawanishi, S.; Inoue, S.; Sano, S. Mechanism of DNA cleavage induced by sodium chromate(VI) in the presence of hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* 1986, 261, 5952–5958.
- (47) Bagchi, D.; Stohs, S. J.; Downs, B. W.; Bagchi, M.; Preuss, H. G. Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology* 2002, 180, 5–22.
- (48) Heger, D.; Klánová, J.; Klán, P. Enhanced protonation of cresol red in acidic aqueous solutions caused by freezing. *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 1277–1287.
- (49) Robinson, C.; Boxe, C. S.; Guzmán, M. I.; Colussi, A. J.; Hoffmann, M. R. Acidity of frozen electrolyte solutions. *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 7613–7616.
- (50) Cooper, W. J.; Zika, R. G.; Petasne, R. G.; Plane, J. M. C. Photochemical formation of hydrogen peroxide in natural waters exposed to sunlight. *Environ. Sci. Technol.* 1988, 22, 1156–1160.
- (51) Saputro, S.; Yoshimura, K.; Matsuoka, S.; Takehara, K.; Narsito; Aizawa, J.; Tennichi, Y. Speciation of dissolved chromium and the mechanisms controlling its concentration in natural water. *Chem. Geol.* 2014, 364, 33–41.
- (52) Herrmann, H. Kinetics of aqueous phase reactions relevant for atmospheric chemistry. *Chem. Rev.* 2003, 103, 4691–4716.
- (53) Chen, S.-S.; Cheng, C.-Y.; Li, C.-W.; Chai, P.-H.; Chang, Y.-M. Reduction of chromate from electroplating wastewater from pH 1 to 2 using fluidized zero valent iron process. *J. Hazard. Mater.* 2007, 142, 362–367.
- (54) Sheoran, A. S.; Sheoran, V. Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: a critical review. *Miner. Eng.* 2006, 19, 105–116.
- (55) Regenspurg, S.; Peiffer, S. Arsenate and chromate incorporation in schwertmannite. *Appl. Geochem.* 2005, 20, 1226–1239.

정진국제특허법률사무소

JUNGJIN Intellectual Property Law Firm

특허부/컨설팅

생명공학, 화학, 기계/전자, 반도체
상표부/컨설팅

Home Page: www.jjpat.com

서울특별시 구로구 구로동 197-22
에이스테크노타워5차 6층 601, 602호
(우: 152-766)

전화: (02)6677-7600
팩스: (02)2109-6901
E-mail:jungjin@jjpat.com

2015년 1월 6일

문서번호 : 정진 15-0023

당소관리번호 : 해양과학기술원1.13P

수신 : 한국해양과학기술원, 김기태 선임연구원님

귀소관리번호 : 14-023

참조 : 이채룡 선생님

제목 : 특허출원완료 알림의 건

1. 귀 사의 무궁한 발전을 기원합니다.

2. 의뢰하여 주신 국내특허출원을 하기와 같이 완료하고 관련 제출서류를 첨부하여 보내드리오니 업무에 참고하여 주시기 바랍니다.

발명의 명칭	동결을 이용한 6가 크롬의 환원방법		
출원번호	10-2015-0001455	출원일자	2015.01.06
출원인	한국해양과학기술원	발명자	김기태/윤호일
심사청구	청구	청구일자	2015.01.06
신규성의제		공개일자	
지원연구과제	PP15010	연구사업명	기관주요사업
우선권번호		우선권주장일	

3. 아울러, 본 출원과 관련된 향후 절차는 아래와 같이 진행됨을 알려드립니다.

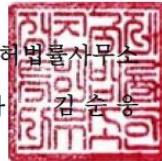
- 출원공개: 출원일로부터 1년 6개월 후
- 심사착수: 심사청구 후 약 1년 6개월 후
- 국내우선권주장 출원: 출원일로부터 1년 이내 (2016년 1월 6일까지)
- 의견제출통지: 심사 중 특허요건 등과 관련하여 의견제출통지를 받을 수 있음.
- 해외 및 PCT국제출원: 출원일로부터 1년 이내 (2016년 1월 6일까지)

4. 또한, 본 출원과 관련한 비용을 청구하오니 결제하여 주시기 바라오며, 본 사안과 관련하여 문의사항이 있으시면 당소 (담당자: 김소현 과장, 02-6677-7600, jungjin@jjpat.com)로 연락하여 주시기 바랍니다.

첨부:

1. 특허출원서류 1부.
2. 청구서 1부.
3. 전자세금계산서 별도송부. 끝.

정진국제특허법률사무소
대표변리사 김소현



JUNGJIN INTELLECTUAL PROPERTY LAW FIRM

www.jjpat.com

정진국제특허법률사무소

JUNGJIN Intellectual Property Law Firm

특허부/컨설팅
생명공학, 화학, 기계/전자, 반도체
상표부/컨설팅
Home Page: www.jjpat.com

서울특별시 구로구 구로동 197-22
에이스테크노타워5차 6층 601, 602호
(우: 152-766)

전화: (02)6677-7600
팩스: (02)2109-6901
E-mail:jungjin@jjpat.com

2015년 2월 3일

문서번호 : 정진 15-0264 당소관리번호 : 해양과학기술원1.12P
수 신 : 한국해양과학기술원, 김기태 선임연구원님 귀소관리번호 :
참 조 : 이채룡 선생님
제 목 : 특허출원완료 알람의 전

1. 귀 사의 무궁한 발전을 기원합니다.
2. 의뢰하여 주신 국내특허출원을 하기와 같이 완료하고 관련 제출서류를 첨부하여 보내드리오니 업무에 참고하여 주시기 바랍니다.

발명의 명칭	동결을 이용한 3가 비소의 산화방법		
출 원 번 호	10-2015-0014849	출 원 일 자	2015.01.30
출 원 인	한국해양과학기술원	발 명 자	김기태/윤호일
심사 청 구	청구	청 구 일 자	2015.01.30
신규성의제		공 개 일 자	
지원연구과제	PP15010	연구사업명	기판주요사업
우선권번호		우선권주장일	

3. 아울러, 본 출원과 관련된 향후 절차는 아래와 같이 진행됨을 알려드립니다.
 - 출원공개: 출원일로부터 1년 6개월 후
 - 심사착수: 심사청구 후 약 1년 6개월 후
 - 국내우선권주장 출원: 출원일로부터 1년 이내 (2016년 1월 30일까지)
 - 의견제출통지: 심사 중 특허요건 등과 관련하여 의견제출통지를 받을 수 있음.
 - 해외 및 PCT국제출원: 출원일로부터 1년 이내 (2016년 1월 30일까지)
4. 또한, 본 출원과 관련한 비용을 청구하오니 결제하여 주시기 바라오며, 본 사안과 관련하여 문의사항이 있으시면 당소 (담당자: 김소현 과장, 02-6677-7600, jungjin@jjpat.com)로 연락하여 주시기 바랍니다.

첨부:
1. 특허출원서류 1부.
2. 청구서 1부.
3. 전자세금계산서 별도송부. 끝.

정진국제특허법률사무소
대표변리사 
김기태

주 의

1. 이 보고서는 극지연구소에서 수행한 기본연구사업의
연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서
수행한 기본연구사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표
또는 공개하여서는 안 됩니다.

