Journal of the Korean Chemical Society
2008, *Vol. 52, No. 3*
Printed in the Republic of Korea

수용액에서 SPE-ACF를 이용한 특정화학물질의 신속 스크리닝 기법 연구

박 훈 · 정창희* · 이용한 · 홍대식
국방과학연구소
(2007. 10. 4 접수)

The Study on the Rapid Screening of Schedule Chemicals in Aqueous Solution Using SPE-ACF

Hoon Park, Chang-Hee Jung*, Yong Han Lee, and Dea Sik Hong
Agency for Defense Development, P.O. Box 35-5, Yuseong-gu, Daejeon 305-600, Korea
(Received October 4, 2007)

요 약. 활성탄소섬유(ACF; activated carbon fiber)를 흡착제로 사용한 고상추출법(SPE; solid phase extraction)으로 수용액 시료 중에 존재하는 특정화학물질(schedule chemicals)의 분석법을 연구하였다. 본 연구에 사용된 특정화학물질은 화학작용제류의 가수분해 생성물과 유사작용제로 사용되는 알킬포스포네이트류, 티오디글리콜 등 14종이었다. 분석을 위한 추출물의 실릴 유도체화 반응에서 피리딘을 사용하여 특히 3-quinuclidinol의 유도체화 반응 효율을 높일 수 있었다. 물 시료에서 아민류의 추출 회수율을 개선하기 위하여 SPE-ACF 튜브에 시료를 부하하기 전에 5% triethylamine/MeOH(1 mL) 용액으로 SPE-ACF 튜브를 세척한 후에 시료를 SPE-ACF에 부하하는 방법으로 추출 회수율을 증대시킬 수 있었다. 이 연구를 통해서 수용액 시료에서 특정화학물질을 신속히 검출할 수 있는 최적 조건을 선정하였다.

주제어: 고상추출, 활성탄소섬유, 특정화학물질

ABSTRACT. The study of the solid phase extraction (SPE) technique using activated carbon fiber (ACF) as a sorbent was carried out on the schedule chemicals in water. 14 different schedule chemicals, which are the hydrolysis products and simulants of chemical agents such as alkylphosphonate, thiodiglycol etc. were selected for the study. Pyridine was used as a promoter to increase the derivatization efficiency, especially to improve silylation of 3-quinuclidinol. To improve the recovery efficiency of amines in the water solution, 1 mL of 5% Et_3N/MeOH was introduced into SPE-ACF before the water sample loading. Throughout this study, the optimum condition was established to detect rapidly above chemicals in water.

Keywords: Solid Phase Extraction, Activated Carbon Fiber, Schedule Chemicals

서 론

화학무기금지협약(CWC: chemical weapons convention)이 1997년 4월 발효되면서 특정화학물질(schedule chemicals)의 검증 분석(verification analysis) 연구가 많이 수행되고 있다.[1-6] 특정화학물질은 화학작용제류(chemical warfare agents), 화학작용제 전구체 및 분해생성물 그리고 원료물질로 구성된다. 특정화학물질 중에서 대표적인 화학작용제, 가수분해물 및 유사작용제는 *Fig*. 1에 나타낸 바와 같다. 이들 화합물은 화학 구조적인 특성으로 대기 중이나 수분에 노출될 경우 대부분 쉽게 가수분해가 일어날 수 있고, 가수분해 메카니즘 및 분해산물은 잘 알려져 있다.[3] 검증분석용 환경시료에서 화학작용제류의 가수분해

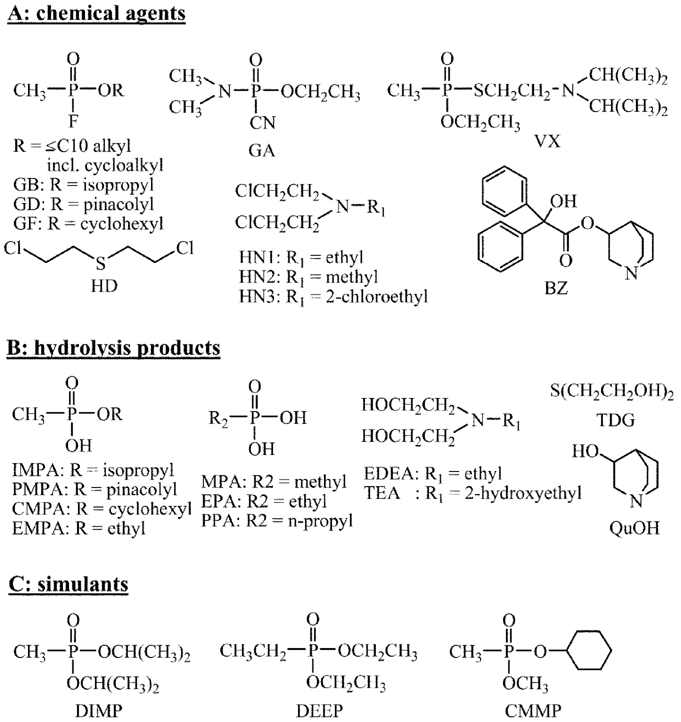

Fig. 1. Chemical structures for typical chemical agents, hydrolysis products and simulants. IMPA: isopropyl methylphosphonic acid, MPA: methylphosphonic acid, PMPA: pinacolyl methylphosphonic acid, EPA: ethylphosphonic acid, CMPA: cyclohexyl methylphosphonic acid, PPA: n-propylphosphonic acid, EMPA: ethyl methylphosphonic acid, EDEA: ethyldiethanolamine, TDG: thiodiglycol, bis(2-hydroxyethyl)sulfide, TEA: triethanolamine, QuOH: 3-quinuclidinol, DIMP: diisopropyl methylphosphonate, DEEP: diethyl ethylphosphonate, CMMP: cyclohexyl methyl methylphosphonate.

생성물을 검출하였다면 환경시료를 채취하였던 지역이 화학작용제에 의해 오염되어 있거나 오염되었던 지역임을 간접적으로 표시하는 증거가 될 수 있을 것이다. 예를 들면, 검증분석용 환경시료에서 alkyl methylphosphonic acids(AMPA; IMPA: alkyl=isopropyl, PMPA: alkyl=pinacolyl, CMPA: alkyl=cyclohexyl)를 검출하였다면 화학작용제의 알려진 가수분해 메카니즘[3]에 의거 환경시료를 채취하였던 지역이 각각 신경작용제인 GB, GD, GF에 의해 오염되어 있거나 오염되었던 지역임을 제시하는 간접적인 증거가 되는 것이다.

화학작용제의 검증분석 대상물질은 화학작용제뿐만 아니라 CWC 부속서에서 규정하고 있는 독성화학물질 및 원료물질까지 포함된다.[7] 또한 CWC 규정에 의거 환경시료 중에서의 검증분석은 특정화학물질의 정량적 분석보다 시료 중에 존재하는 물질의 화학 구조를 밝히는 정성적 분석을 원칙으로 하고 있다.[8] 화학작용제가 사용되었거나 사용이 의심시 되는 지역에서 분석자가 얻을 수 있는 검증분석용 시료는 주로 토양, 물, 공기 등의 환경시료가 될 것이다. 특히, 토양, 물 등의 시료는 검증분석을 위해 물 추출과정을 거치거나 물 시료 자체가 사용될 수 있을 것이다. 따라서 검증분석에서 수용액 시료의 신속 스크리닝은 매우 중요한 의미가 있다.

검증분석을 위한 분석 방법으로는 NMR, IR, CE, GC/MS, LC/MS, GC 등 다양한 분석기술이 이용될 수 있지만 LC/MS 및 GC/MS를 이용한 분석기술이 대표적이라 할 수 있다. 환경시료는 대부분 적용 분석 장비에 따라서 시료를 적절히 전처리하여야 분석이 가능하다. 특히, GC 분석을 위해서 alkylphosphonic acids 등의 비휘발성 물질이 포함되어 있을 경우 휘발성이 있도록 유도체화를 시켜서 분석 하여야 한다. 유도체화 방법으로는 메틸 또는 실릴 유도체화가 주로 이용되고 있다.[3] GC 분석법에 사용되는 검출기로는

FPD(flame photometric detector), NPD(nitrogen phosphorous detector 및 MS(mass spectrometer) 등이 많이 사용되고 있고, 이 중 GC/MS-EI 분석법이 가장 일반적이고 대표적인 검증 분석법의 하나로 알려져 있다.[9]

전처리 대상 환경시료 중에서 물 시료 및 물 추출물 시료를 GC/MS로 분석하기 위한 전통적인 전처리 방법은 액체-액체 추출(LLE: liquid-liquid extraction) 및 추출물을 직접 증발시키고 유도체화를 시켜서 분석하는 방법이 있으나 1980년대 이후로 고상추출법(SPE: solid phase extraction)이 많이 이용되고 있다.

일반적으로 SPE sorbent로 C18, SCX, SAX 등을 수용액 시료의 전처리에 사용할 경우 비극성, 염기성, 산성의 관심 물질들을 선택적으로 신속히 분석할 수 있다는 장점이 있다. 즉 SPE-C18을 사용할 경우 비극성물질, SPE-SCX를 사용할 경우 염기성 물질, SPE-SAX를 사용할 경우 산성물질을 선택적으로 흡착시킴으로써 대부분의 간섭물질들을 시료 부하(loading) 및 세척과정에서 제거시킬 수 있다. 그러나 수용액 시료에는 극성이 큰 산성 또는 염기성 화합물뿐만 아니라 TDG(thiodiglycol)와 같이 중성화합물의 특정화학물질도 포함된다. 대표적인 수포작용제의 가수분해물인 TDG는 극성이 큰 중성 화합물로 LLE법으로도 추출 회수율이 저조할 뿐만 아니라 SPE-C18, SPE-SCX, SPE-SAX를 조합해서 전처리하더라도 거의 스크리닝할 수 없다.

최근 활성탄소섬유(ACF: activated carbon fiber)는 금속이온, 휘발성 부유물 또는 chlorophenols 등을 흡착 제거시키는데 많이 사용되고 있다.[10-13] 수용액에서 활성탄을 사용하여 acid 류(MPA, EPA, PPA 등)의 특정화학물질을 추출한 경우[14]와 지하수에서 탄소질의 Ambersorb 572 (20-50mesh)를 사용하여 중성화합물인 TDG를 분석한 경우는 있으나[15] 아직 활성탄소섬유를 사용하여 특정화학물질을 분석한 예는 거의 보고된 바 없다.

본 연구에서는 충진제로 활성탄소섬유를 사용한 SPE 카트리지를 만들어 수용액 시료에 존재하는 특정화학물질을 신속 스크리닝 할 수 있는 분석법을 연구하였다. 특정화학물질의 추출 회수율 증대를 위해서 SPE 카트리지의 conditioning 단계 및 분석을 위한 유도체화 단계의 조건을 최적화하였다. 연구대상물질은 CWC 부속서에 규정된 물질들 중에서 주로 화학작용제류의 분해산물 및 원료물질에 해당하는 산류, 아민류 및 중성화합물류 등 14종의 특정화학물질을 선정하였다. 즉, 신경작용제류의 가수분해 생성물로 산류인 EMPA (O-ethyl methylphosphonic acid), IMPA (O-isopropyl methylphosphonic acid), PMPA (O-pinacolyl methylphosphonic acid), CMPA (O-cyclohexyl methylphosphonic acid), MPA (methylphosphonic acid), EPA (ethylphosphonic acid) 및 PPA (n-propylphosphonic acid), 수포작용제인 HN1 및 HN3의 가수분해 생성물로서 아민류인 EDEA (ethyldiethanolamine), TEA (triethanolamine), 무능화작용제인 BZ의 가수분해 생성물로서 아민류인 QuOH (3-quinuclidinol), 원료 또는 유사작용제로 분류되는 중성화합물류인 DEEP (diethyl ethylphosphonate), DIMP (diisopropyl methylphosphonate), CMMP(cyclohexyl methyl methylphosphonate 그리고 수포작용제 HD의 가수분해물로 중성화합물류인 TDG를 선정하였다.

실 험

시약 및 재료

목표 분석물질(target analyte, 이하 TA로 표기) 14종중에서 EMPA, IMPA, PMPA, CMPA, CMMP 및 내부표준물질로 사용된 TPP(tripropyl phosphate)는 합성 정제하여 사용하였고, MPA, EPA, PPA, QuOH는 Aldrich사, DIMP는 Alfa사, DEEP는 Mobile사, TDG는 Fluka사, TEA는 Merck사, EDEA는 TCI사 제품을 사용하였다. 실릴 유도체화 시약인 BSTFA(N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide)는 Supelco사, 용

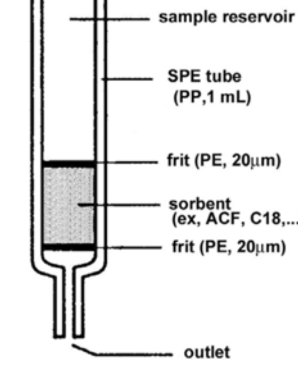

Fig. 2. Typical SPE cartridge.

매로 사용된 methanol, dichloromethane, ethyl acetate는 Merck사, triethylamine은 Aldrich사, acidic methanol (0.2N HCl/MeOH)은 문헌[16]에 따라 HCl 가스를 발생시켜 제조하여 사용하였다.

SPE 실험에 사용된 재료 ACF(activated carbon fiber)는 Anshan East Asia Carbon Fiber사(현재는 한국활성탄섬유공업(주)로 회사명이 변경), 나머지 SPE 제조용 재료는 Supelco사로로부터 구입하여 사용하였다(*Fig*. 2). Pitch 계열의 ACF는 제품명 ACF 1500-100(현재는 제품명: ACF, 규격: AP-100, 요오드흡착 1500 mg/g, fiber 절단 길이:100 μm, 비표면적: 1500 m^2/g)을 사용하였다.

분석 장비

GC/MS(gas chromatograph/mass spectrometer)는 Agilent 사의 7683 autosampler가 장착된 6890 plus GC 및 5973N MS를 사용하였다. GC 분석조건은 carrier gas로 He(1.0 mL/min, constant flow), 주입구 온도 250 °C, splitless injection mode(splitless time 0.75 min), HP-5MS 칼럼(Phase: 5% diphenyl 95% dimethylsiloxane, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 오븐 온도 40 °C(1.0 min), 10 °C/min to 220 °C(0 min), 40 °C/min to 280 °C(5 min)를 각각 사용하였고, MS(EI) 분석조건은 Quad 및 source 온도로 150 °C 및 230 °C, emission current 34.6 μA, electron energy(70 eV), scan range(30-550 m/z)를 각각 사용하였다.

실험방법

검정선. 목표 분석물질 14종의 무게를 정확히 칭량하여 아세톤에 녹여 각각 약 500 μg/mL 농도가 포함되도록 제조하여 1차 저장용액으로 사용하였다. 1차 저장 용액의 실제 제조된 각 성분의 농도는 490-544 μg/mL이었으나, 500 μg/mL로 가정하고 표준용액 및 수용액 시료 제조에 사용하였다. 1차 저장용액 10 mL를 취하여 100 mL되게 에틸아세테이트(ethyl acetate, EA)로 희석하여 2차 저장용액을 제조하였다. 표준용액은 2차 저장용액을 EA로 희석하여 제조하였으며, 각각의 표준용액 제조 및 제조 후 부피를 취하는 과정은 20 °C 항온조에서 실시하였다.

표준용액(2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 μg/mL 용액)은 제조 후 각각의 1 mL vial에 gas tight syringe로 500 μL 씩 옮기고, 각각의 vial에 피리딘 5 μL 및 BSTFA 195 μL를 넣고 잘 섞은 후 60 °C 오븐에서 60분 동안 반응시키고, 실온으로 냉각시키고 내부표준용액(IS: internal standard, TPP: tripropyl phosphate, 60 μg/mL EA 용액) 300 μL를 넣고 잘 섞은 후에 GC/MS 분석(1 μL injection, autosampler 이용)하였다.

수용액 시료 제조. 표준용액 제조에 사용한 1차 저장용액(500 μg/mL) 2.0 mL를 취하여 100 mL되게 증류수로 희석하여 수용액 시료로 사용하였다. 수용액 시료의 실제 농도는 9.8~11.1 μg/mL 농도였으나 각각의 농도를 10.0 μg/mL로 가정하고 회수율을 계산하였다. 실제 표준용액 제조와 동일한 1차 저장용액을 사용하여 수용액 시료를 제조하였으므로 회수율 계산에는 영향이 없을 것이다.

SPE-ACF 카트리지 제조. *Fig*. 2에 나타낸 1 mL용 SPE 튜브 내부에 폴리에틸렌 frit(20 μm porosity)를 주사기 끝까지 삽입시키고, 흡착제(sorbent)로 ACF 100 mg을 주사기에 넣은 후 폴리에틸렌 frit를 삽입시키고, 흡착제가 잘 충진되도록 frit를 단단히 밀어 넣어 제조하였다. ACF 흡착제를 충진시킨 주사기 카트리지를 SPE-ACF로 명명하고 회수율시험에 사용하였다.

염기 첨가에 따른 실릴화반응 영향. 표준용액(20.0 μg/mL)을 500 μL 씩 취하여 1 mL vial에 4종류(EA 10 μL와 BSTFA 190 μL; EA 5 μL, 피리딘 5 μL와 BSTFA 190 μL; 피리딘 10 μL와 BSTFA 190 μL; EA 5 μL, Et_3N 5 μL와 BSTFA 190 μL)의 시료를 제조(각 시료별 2개 제조)하고, 잘 섞은 후 60 °C 오븐에서 1시간 동안 실릴화반응을 시키고, 실온까지 냉각시킨 후에 IS(TPP 60 μg/mL) 300 μL를 넣고 GC/MS 분석하였다.

SPE-ACF에 트리에틸아민 전처리 농도 변화에 따른 회수율 영향. SPE-ACF에 먼저 0%, 2%, 5% 또는 10% Et_3N/MeOH (V/V) 용액 1.0 mL를 각각의 SPE 카트리지(각 2 sets)에 용리시키고, 25 mL 주사기로 카트리지에 세게 밀어주어 카트리지에 남아 있는 Et_3N/MeOH 용액을 제거시키고, MeOH 1.0 mL × 3회, 증류수 1 mL × 2회 용리시켜 카트리지를 세척 및 equilibrium 시켜주었다.

수용액 시료 1.0 mL를 SPE-ACF 카트리지에 loading 시킨 후 증류수 1.0 mL로 카트리지를 세척하고 25 mL 주사기를 사용해서 카트리지를 세게 여러 번 밀어주어 수분을 최대한 제거하였다. 이어서 추출을 위

해 0.2 N HCl/MeOH 용액 1.0 mL × 2회 용리시키고 용리액을 2 mL V-vial에 받아 모았다.

질소가스를 이용해서 0.2N HCl/MeOH 용리 용액을 거의 건조시킨 후에 EA 500 μL, 피리딘 5 μL, BSTFA 195 μL를 차례로 넣고 잘 섞은 후 60 °C 오븐에서 1시간 동안 실릴 유도체화반응을 시켰다. 실온까지 냉각시키고 IS(TPP 60 μg/mL) 300 μL를 넣고 GC/MS 분석하였다.

결과 및 고찰

Target analytes 의 검정선

SPE를 이용한 추출 회수율 시험을 위해서 먼저 TA(target analyte) 14종이 포함된 표준용액으로 각 화합물에 대한 검정선을 구하였다. 먼저 TA 14종이 포함된 표준용액을 BSTFA로 유도체화시켜 autosampler를 이용하여 1 μL를 GC/MS 분석하고 TA와 IS의 면적비를 구하여 면적비와 농도의 상관관계를 이용하여 각각의 화합물에 대한 검정선을 구하였다.

각각의 표준물질에 대한 TA와 IS(TPP)의 면적비는 GC/MS-EI 분석(*Fig.* 3) 후에 EIC(extracted ion monitoring chromatogram)을 이용하여 구하였다. GC/MS 분석(scan mode) 후에 각각의 화합물에 대한 EIC를 얻기 위해서 DIMP는 m/z 97, DEEP 및 CMMP는 m/z 111, EMPA-TMS, IMPA-TMS, PMPA-TMS 및 CMPA-TMS는 m/z 153, MPA-2TMS는 m/z 225, EPA-2TMS는 m/z 239, PPA-2TMS는 m/z 253, QuOH는 m/z 129, EDEA-2TMS는 m/z 174, TDG-2TMS는 m/z 116, TEA-3TMS는 m/z 262로 추출하여 IS와 면적비를 구하였다. EIC에서 선정한 이온들은 정량분석에서 다른 이온들의 간섭에 의한 영향이 최소가 되도록 각각 화합물의 특성을 나타내는 특성 봉우리(peak) 또는 주봉우리로 선정하였다. 면적비와 농도와의 상관관계를 살펴본 결과 MPA-2TMS 및 EPA-2TMS는 12.5 μg/mL 이상의 농도에서는 직선성이 약간 벗어나는 경향(saturation)을 보였으므로 1 μg/mL ~10 μg/mL의 농도에서 나머지는 2.5 μg/mL ~ 12.5 μg/mL의 농도에서 상관관계를 도시하여 각각의 화합물에 대한 검정선을 구하였다.

표준용액의 농도와 면적비를 토대로 각각의 목표분석물질에 대한 검정선을 구한 결과는 *Table* 1에 표시하였으며, 상관계수(R^2)는 0.996이상이었다. 각각의 화합물은 2.5 μg/mL ~ 12.5 μg/mL의 영역에서 실험 결과의 유의성이 있는 것으로 판단된다.

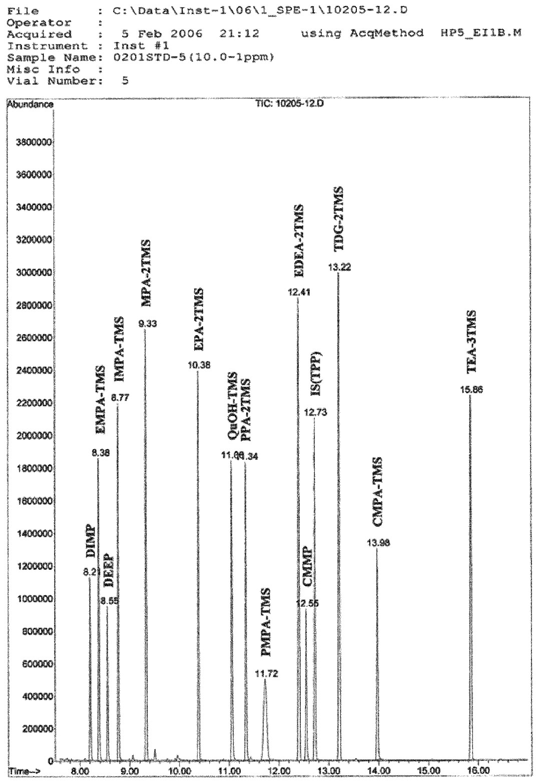

Fig. 3. Total ion chromatogram of silylated standard solution containing each 10 μg/mL of target analytes.

Table 1. Acquired linear regression parameter for target analytes at the concentration of 2.5-12.5 μg/mL

Analytes	R^2	SD	Remarks
DIMP	0.9992	0.0067	
DEEP	0.9995	0.0031	
CMMP	0.9990	0.0136	
EMPA-TMS	0.9996	0.0100	
IMPA-TMS	0.9998	0.0085	
PMPA-TMS	0.9992	0.0100	
CMPA-TMS	0.9975	0.0269	
MPA-2TMS	0.9981	0.0294	1.0-10.0 μg/mL
EPA-2TMS	0.9987	0.0178	1.0-10.0 μg/mL
PPA-2TMS	0.9995	0.0074	
QuOH-TMS	0.9966	0.0057	
EDEA-2TMS	0.9994	0.0250	
TEA-3TMS	0.9961	0.0433	
TDG-2TMS	0.9998	0.0076	

피리딘 첨가에 따른 target analytes의 실릴화반응 영향

본 연구에 사용된 target analytes(TAs) 중에서 QuOH는 다른 물질들 보다 실릴 유도체화 반응속도가 느린 경향을 보여 주었다. 특정화학물질에 대한 일반적인 실릴 유도체화 반응조건인 BSTFA 200 μL를 넣고, 60 °C에서 주로 30분 동안 반응시키는 조건에서 QuOH의 실릴화 반응이 완전하지 않음이 발견되어 반응시간을 60분으로 연장하였으나 실릴화 반응은 완전하지 않았다. 일반적으로 실릴화 반응은 피리딘과 같은 염기를 첨가[17]해 주면 반응 속도가 빨라지는 경향이 있으므로 적절한 피리딘 첨가량을 선정하기 위하여 500 μL의 표준용액(각각의 TAs 농도 10 μg/mL)에 피리딘 첨가량을 변화(0, 5, 10 μL)시켜 60 °C에서 60분 동안 실릴화 반응을 시켰다. 유도체화 반응조건 설정을 위해 EA 용매에서 제조된 표준 용액을 사용하여 실릴 유도체화 반응의 효율을 비교하였다. *Table* 2에 보인바와 같이 실릴 유도체화 반응에서 피리딘 첨가는 QuOH의 실릴화 반응에 효과적임을 알 수 있다. 즉, 피리딘 5 μL를 첨가시(전체 반응 용액 700 μL) QuOH의 실릴 유도체화 반응 효율은 피리딘 첨가 전에 비해 약 37%의 개선 효과를 보여 주었다. 또한 *Fig*. 4에 보인 바와 같이 실제 분석에서 피리딘 첨가량이 증가할수록 QuOH-TMS 피이크 (11.06분)가 커지는 것을 볼 수 있다. 그러나 *Table* 2에 보인 결과와 같이 일부 MPA와 같은 산류는 피리딘 첨가량이 증가할수록 유도체화 반응이 약간 저해되는 경향을 보였으므로 피리딘 첨가량을 QuOH의 최적반응 기준으로 증가시키지 않고 5 μL로 설정하여 다른 화합물에 영향이 최소가 되게 하였다. 피리딘 대신 다른 염기로 트리에틸아민을 사용한 경우도 실릴화 반응을 촉진시키는 결과가 나타났으나 수용액 시료를 SPE-ACF 추출 분석할 때 ACF에서 용리된 불순물 피이크가 DIMP 및 EMPA 분석에 약간의 간섭을 주었으므로 첨가제로 사용을 배제하였다. QuOH를 제외하고는 피리딘 첨가가 실릴화 반응을 거의 촉진시키지 않는 것으로 나타났다(*Table* 2). 이 결과는 QuOH 이외의 화합물은 피리딘 등의 염기첨가 없이도 실릴화 반응이 잘 진행됨을 보여 주는 결과로 해석된다.

이상의 결과를 토대로 실릴화 반응은 시료용액 500 μL, BSTFA 195 μL, 피리딘 5 μL를 넣고 60 °C에서 60분 동안 반응시킨 후 회수율을 비교하였다.

Table 2. Comparison of the silylation efficiency of target analytes as a consequence of the addition of amines

Analytes	Silylation efficiency (%)			
	Amount of pyridine			Amount of Et_3N
	0 μL	5 μL	10 μL	5 μL
DIMP	99.8	97.7	98.8	101.1
DEEP	100.5	99.1	99.4	99.6
CMMP	94.0	93.8	94.8	96.8
EMPA-TMS	96.6	94.2	94.4	95.8
IMPA-TMS	98.8	96.4	96.1	97.1
PMPA-TMS	93.9	91.8	92.0	93.2
CMPA-TMS	85.5	84.6	84.3	87.3
MPA-2TMS	82.3	80.3	79.8	80.1
EPA-2TMS	85.1	83.1	82.4	83.6
PPA-2TMS	83.6	81.4	82.5	82.2
QuOH-TMS	54.1	91.0	108.9	110.6
EDEA-2TMS	97.2	96.3	96.1	94.8
TEA-3TMS	81.0	80.5	80.2	80.0
TDG-2TMS	101.6	100.0	100.4	100.0

SPE-ACF에 트리에틸아민 전처리가 수용액시료의 회수율에 미치는 영향

SPE-ACF를 이용하여 수용액 시료에서 TAs의 회수율 시험을 계속하던 중 amine류의 분석 재현성이 떨어지는 것을 발견하였다. *Table* 3에 보인바와 같이 QuOH-TMS의 회수율이 특히 저조(28%)하고, EDEA-2TMS 및 TEA-3TMS의 회수율은 약간 낮게 회수(87%, 79%)되었다. SPE-ACF 처리 시료를 계속 분석할 경우 실릴화된 QuOH, EDEA, 및 TEA의 피이크가 거의 사라지는 경우도 경험한 바 있었다. SPE-ACF 추출 시료의 재현성 개선 방안을 연구하던 중 SPE-ACF에 시료를 loading하기 전에 트리에틸아민을 처리하면 재현성에 효과가 있음을 발견하였다. SPE-ACF 카트리지에 트리에틸아민 전처리의 최적 농도를 파악하기 위해서 SPE-ACF에 먼저 0%, 2%, 5%, 10% Et_3N/MeOH (V/V) 용액 1 mL를 흘려보낸 후에 MeOH(1.0 mL, 3회)로 SPE-카트리지를 세척하고 시료를 추출하여 회수율 비교시험을 하였다. *Table* 3 및 *Fig*. 5에 보인 바와 같이 전처리시 트리에틸아민 농도가 증가할수록 아민류(QuOH, EDEA 및 TEA)의 회수율이 증가되는 경향을 보여주었으나 일부 산류(IMPA, PMPA 및 MPA)의 회수율은 오히려 감소

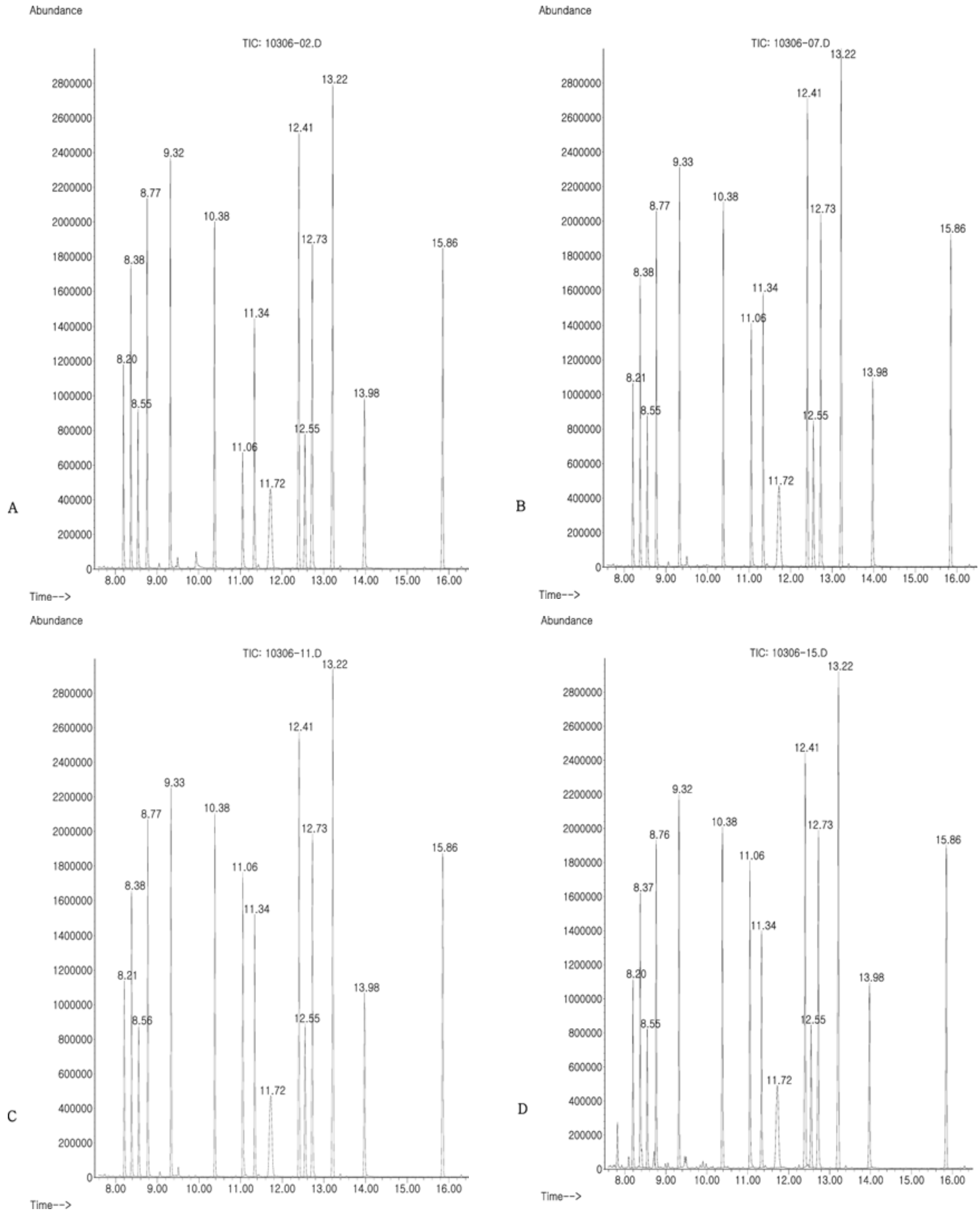

Fig. 4. Effect of the addition of base on the recovery efficiency of target analytes using SPE-ACF. A: pyridine 0 μL, B: pyridine 5 μL, C: pyridine 10 μL, D: Et_3N 5 μL.

되는 경향을 보여주었다. 이 결과를 토대로 SPE-ACF 카트리지의 전처리를 위해 5% Et_3N/MeOH (V/V) 용액 1 mL를 용리시키는 조건을 선정하였다. Et_3N/MeOH(5%, V/V) 용액으로 SPE-ACF를 전처리 후에

Table 3. Comparison of the recovery efficiency of target analytes with various amounts of Et_3N-MeOH solution as pretreatment solution

Analytes	Recovery efficiency (%)			
	Et_3N - MeOH solution			
	0 %	2 %	5 %	10 %
DIMP	59.5	48.5	28.0	21.5
DEEP	66.1	56.0	33.8	29.5
CMMP	79.5	64.3	47.6	57.5
EMPA-TMS	93.2	92.2	84.7	85.8
IMPA-TMS	92.7	90.9	80.4	83.7
PMPA-TMS	88.4	83.7	80.2	92.9
CMPA-TMS	81.0	79.7	84.6	86.0
MPA-2TMS	105.6	91.9	87.1	80.8
EPA-2TMS	99.7	96.3	95.5	94.1
PPA-2TMS	99.9	98.5	99.2	100.2
QuOH-TMS	27.6	85.6	96.8	97.3
EDEA-2TMS	87.3	94.2	93.1	94.7
TEA-3TMS	78.8	94.8	94.9	97.2
TDG-2TMS	48.6	83.5	36.0	42.9

수용액 시료를 분석한 이후로는 재현성 있는 분석 결과를 얻을 수 있었을 뿐만 아니라 추출 회수율도 우수하게 얻을 수 있었다. 본 SPE-ACF 분석법은 수용액 시료 중의 특정화학물질 검증분석을 위한 신속 스크리닝 분석법으로 유용하게 활용될 기술로 판단된다.

Table 3의 결과에서 산성 또는 염기성 화합물의 경우 휘발성이 낮아 HCl/MeOH 추출 용액의 농축 과정에서도 거의 휘발되지 않아 재현성 있는 분석 결과로 얻어지지만 중성 화합물인 DIMP, DEEP, CMMP 및 TDG의 경우 실릴 유도체화 반응을 위해서 SPE-ACF 추출 용액인 MeOH 용액을 거의 건조될 때까지 농축시키는 과정에서 함께 휘발되어 추출 회수율 재현성이 떨어지는 것으로 판단된다. 이와 같은 현상은 동일 카트리지를 디클로로메탄으로 먼저 중성 화합물을 추출하고 이어서 HCl/MeOH 용액으로 추출한 후에 디클로로메탄보다 휘발성이 낮은 HCl/MeOH 추출 용액을 먼저 거의 건조될 때까지 농축시키고, 그 vial에 디클로로메탄 용액을 옮긴 후에 디클로로메탄 용액을 농축시켜 유도체화 반응을 시킨 후에 분석한 결과 중성화합물의 회수율이 증가됨을 확인한 바 있다. 따라서 본 시료의 SPE-ACF 추출액인 MeOH 용액을 농축시키는 경우에 비해서 물 시료를 같은 방법으로 직접 농축시켜 전처리한다면 중성 화합물(휘발성이 상대적으로 큰)의 회수율은 더 큰 편차를 보여줄 것으로 예측된다. ACF 추출에서 모은 MeOH 용리액에서도 미량의 수분(약 1 방울)이 포함되어 있기 때문에 질소가스로 농축시키는 과정에서 DIMP, DEEP, CMMP 및 TDG와 같은 중성 화합물의 증발이 동반되어 회수율이 저조하게 얻어지고, 이들 화합물이 재현성이 나쁜 결과로 얻어 지는 것으로 해석된다(*Fig*. 5 D참조: 8.21, 8.55, 12.55, 13.22분). *Table* 3의 5% 및 10% Et_3N/MeOH 시료에서 얻은 회수율 결과도 같은 이유 때문인 것으로 풀이된다. SPE-ACF 추출 용액을 농축시키는 과정만 주의하면 본 조건으로 모든 대상 TAs의 회수율을 50% 이상 얻을 수 있을 것으로 판단된다. 한편, 수용액 시료의 SPE-ACF 추출과정의 단점으로 TDG(*Fig*. 5, 13.22분)가 일부 산화되어 TDG sulfoxide(*Fig*. 5, 16.19분)가 생성되었으며, 산화의 원인은 앞으로 더 연구되어져야 할 부분으로 생각된다.

상기 14종의 특정화합물질을 스크리닝 분석하기 위해서 기존의 SPE 방법으로 추출을 한다면 DIMP, DEEP, CMMP와 같은 비극성 화합물의 추출을 위해서 SPE-C18, EMPA, IMPA, PMPA, CMPA, MPA, EPA, PPA와 같은 산성 화합물의 추출을 위해서 SPE-SAX, QuOH, EDEA, TEA와 같은 아민 화합물의 추출을 위해서 SPE-SCX 그리고 극성 중성화합물인 TDG의 추출을 위해서 SPE-ambersorb 572를 사용하여야 할 것이다.

결 론

다양한 종류의 특정화학물질이 함유된 수용액 시료를 신속 스크리닝 분석하기 위해 활성탄소섬유를 충진제로 사용한 고상추출법을 개발하였다. 추출 회수율을 개선하기 위해 전처리 단계에서 SPE-ACF 카트리지에 5% 트리에틸아민-메탄올 처리하고, 추출물의 유도체화 단계에서 피리딘을 첨가하는 방법을 도입함으로써 특히 추출 회수율 및 유도체화 효율이 저조하던 3-quinuclidinol의 회수율 및 유도체화 효율을 크게 개선하였다. 본 연구팀에서 개발한 SPE-ACF 방법은 1회 분석으로 수용액 시료에서 다양한 종류의 특정화학물질, 즉 중성화합물, 산 및 아민류를 신속 스크리닝 할 수 있는 유용한 분석법이 될 수 있을 것이다.

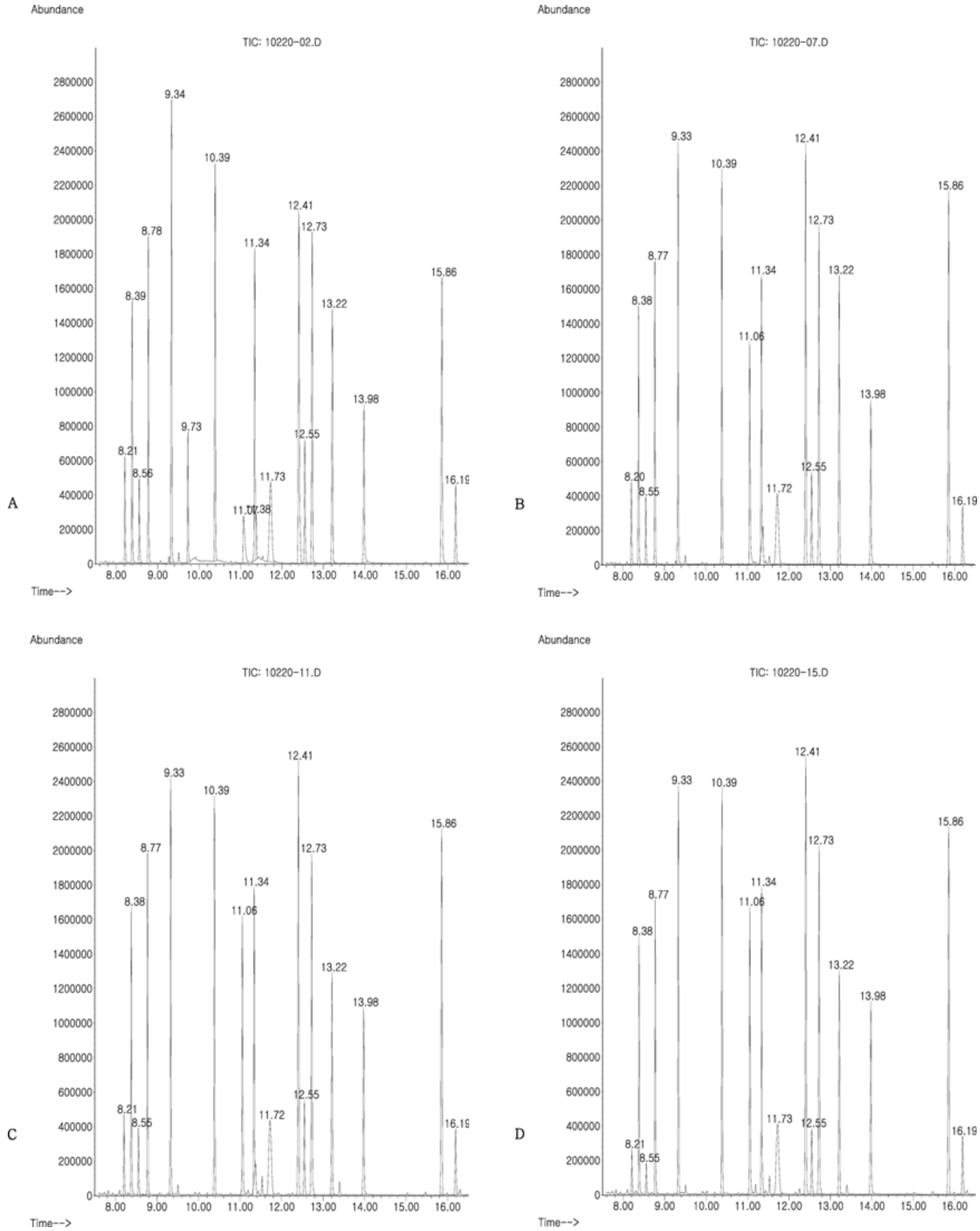

Fig. 5. Effect of the pretreatment with Et_3N/MeOH on the recovery efficiency for target analytes using SPE-ACF. A: 0%Et_3N, B: 2%Et_3N, C: 5%Et_3N, D: 10%Et_3N.

인 용 문 헌

1. Kientz, Ch. E. *J. Chromatogr. A*, **1998**, *814*, 1.
2. Hooijschuur, E. W. J.; Kientz, C. E.; Brinkman, U.A.Th. *J. Chromatogr. A*, **2002**, *982*, 177.
3. Black, R. M.; Muir, B. *J. Chromatogr. A*, **2003**, *1000*, 253.
4. Ohsawa, I.; Seto, Y. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1122, 242.
5. Kanaujia, P. K.; Pardasani, D.; Gupta, A. K.; Gupta, A. K.; Kumar, R.; Shrivastava, R. K.; Dubey, D. K. *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1141*, 151.
6. Pardasani, D.; Kanaujia, P. K.; Gupta, A. K.; Tak, V.; Shrivastava, R. K.; Dubey, D. K. *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1161*, 98.
7. Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling and use of chemical weapons and on their destruction, Technical Secretariat of the Organization for Prohibition of Chemical Weapons, The Hague, 1997. Accessible through internet http://www.opcw.nl.
8. Criteria for Acceptable Performance of Laboratory in Proficiency Testing, Conference of the State Parties, OPCW, The Hague, C-I/DEC.62, 22 May.
9. Black, R. M.; Read, R. W. *J. Chromatogr. A*, **1997**, *759*, 79.
10. Park, S.-J.; Shin, J.-S.; Shim, J.-W.; Ryu, S.-K. *J. Colloid Interface Sci.,* **2004**, *275*, 342.
11. Sun, T.; Jia, J.; Fang, N.; Wang, Y. *Analytica Chimca Acta*, **2005**, *530*, 33.
12. Wang, J.-P.; Chen, Y.-Z.; Feng, H.-M.; Zhang, S.-J.; Yu, H.-Q. *J. Colloid Interface Sci.,* **2007**, *313*, 80.
13. Lopez-Ramon, M.V.; Fontecha-Camara, M.A.; Alvarez-Merino, M.A.; Moreno-Castilla, C. *Water Research*, **2007**, *41*, 2865.
14. Vijaya Saradhi, U.V.R; Prabhakar, S.; Jagadeshwar Reddy, T.; Murty, M.R.V.S. *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1157*, 391.
15. Tomkins, B.A; Sega, G.A. *J. Chromatogr. A*, **1997**, *790*, 143.
16. Furniss, B.S.; Hannaford, A.J.; Smith, P.W.G.; Tatchell, A.R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, Longman Scientific & Technical, 5th edition, New York, 1989, pp438-439.
17. Lunn, G.; Hellwig, L. C. *Handbook of Derivatization Reactions for HPLC;* John Wiley & Sons, Inc.; New York, U.S.A., 1998, p137.