

## 중요 페놀류 11 종의 모세관 전기영동-질량분석법 연구

강성호 · 나윤철 · 지은정 · 신대호  
서울분소, 기초과학지원연구소

### Capillary Electrophoresis-Mass Spectrometry of Eleven Priority Phenols

Seong Ho Kang, Yun Cheol Na, Eun Jung Ji and Dae Ho Shin  
Korea Basic Science Institute, Seoul Branch 126-16, 5th St,  
Anam-dong, Sungbuk-Ku, Seoul, 136-701, Korea

Eleven priority phenols were separated by capillary zone electrophoresis (CZE) and detected with an on-line electrospray ionization (ESI) mass spectrometry in a negative mode. Capillary zone electrophoresis was performed under sodium tetra borate buffer (pH 10) using a bare fused-silica capillary with i.d. 50  $\mu$ m. Electrospray ionization mass spectrometer was operated in selected ion monitoring mode using a solution of water-isopropanol (20:80) containing 0.5% ammonia as the sheath liquid. In this study, CZE/ESI mass spectrometry was proved as a promising tool for analysis of phenols in waste water.

**Key words** : Capillary Electrophoresis, Electrospray Ionization Mass Spectrometry

#### 1. 서 론

대부분의 페놀류 화합물은 독성 때문에 큰 관심의 오염물질 대상이 되어왔다. 미국 EPA는 11종의 페놀을 중요 오염물질로 지정하였다. 고전적으로 기체 크로마토그래피(GC)<sup>1</sup> 혹은 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)<sup>2-4</sup>가 이러한 오염물질을 분석 및 모니터링하는데 사용되어왔다. 최근에 고분리 효율을 이용한 모세관 전기영동법(Capillary Electrophoresis)으로 일부 그룹은 페놀분석을 시도하였다.<sup>5-8</sup> 모세관 전기영동법의 검출기로서 대부분 자외선 검출기를 이용하지만 전기화학 및 형광 검출기의 이용도 보고되었다.<sup>9-11</sup> 이러한 검출기의 감도는 대부분의 경우 적절하지만 정확한 정성분석에는 충분하지 못하다. 그 이유는 모세관 전기영동법에서 머무름 시간으로 화합물을 정성분석하나 모세관 전기영동법의 머무름 시간은 기체 크로마토그래피나 고성능 액체 크로마토그래피의 경우보다 재현성이 상대적으로 떨어져서 정성분석에 위험성을 갖고 있다.

질량분석기는 낮은 검출한계, 선택성, 구조에 대

한 정보제공 때문에 기체 크로마토그래피 및 고성능 액체 크로마토그래피의 이상적인 검출기로 사용되어왔다. 최근에 전극분무이온화(Electrospray Ionization)와 대기압화학적이온화(Atmosphere Chemical Ionization)의 개발은 모세관 전기영동법과 질량분석기의 결합을 보다 용이하게 만들었다.<sup>16-20</sup> 모세관 전기영동법은 단위시간당 가장 좋은 분리효율을 갖은 기술이나 고성능 액체 크로마토그래피와 비교하여 보다 적은 시료 주입과 고분리효율 때문에 분리분취에는 어려움이 있다. 본 논문에서는 모세관 전기영동법-질량분석기를 이용하여 미국 EPA에서 선정한 중요 페놀류 11종의 분리분석 연구결과를 소개하고자 한다.

#### 2. 실험

##### 2.1. 시 약

표준페놀류 시약은 Supelco (Bellefonte, USA)로

부터 구입하였고 붕산나트륨과 2-[N-cyclohexylamino] ethanesulfonic acid (CHES)는 Sigma(St. Louis USA)로부터 구입하였다. 메탄올 및 2-프로판올은 HPLC 등급으로 Fisher-Scientific (Fair Lawn, USA)로부터 구입하였다. 물은 Millipore (Milford, USA)의 Ultra-pure water 시스템을 이용하여 정제하였다. 모세관 청소를 위하여 0.1 N NaOH를 사용하였고 모든 용액은 사용하기 전에 기체를 제거하였다.

## 2.2. 장 치

본 실험에서는 두 종류의 모세관 전기영동 시스템이 사용되었다. 첫째로 자외선 검출기를 장치한 모세관 전기영동 시스템은 Beckman P/ACE 5000 (Fullerton, USA) 모델을 사용하였다. 모세관은 57 cm x 50  $\mu$ m ID (검출기 가지 50 cm)의 내부가 코팅되지 않은 용융실리카 모세관이었다. 시료는 0.5 psi로 2초 동안 주입하였다. 사용된 완충용액은 20 mM 붕산나트륨(pH 9)이고 가해진 전압은 15 kV 이었다. 자외선 검출기의 파장은 214 nm를 사용하였고 모세관의 분위기온도는 20°C로 유지하였다. 모세관 내부의 흡착을 방지하기 위하여 시료를 주입하기 전에 0.1 M NaOH로 5분간 씻은 후 증류수로 5분간 씻고 마지막 완충용액으로 약 5분간 흘려준 후 시료를 주입하였다. 시료의 농도는 표준 페놀용액을 메탄올로 희석하여 10 ppm으로 만들어 사용하였다.

질량분석기를 검출기로 이용한 두번째 모세관 전기영동 시스템은 ATI Unicam Crystal 300 (Boston, USA)을 이용하였고 질량분석기는 Micromass Quattro II (Altrincham, UK)를 사용하였다. 실험에 이용된 모세관 전기영동-질량분석기에 대한 간략한 그림을 Fig. 1에 실었다. 이때 사용한 모세관은 120 cm x 50  $\mu$ m ID로 내부가 코팅되지 않은 용융실리카 모세관이었다. 완충용액은 전극분무이온화가 잘 되도록 휘발성이 좋은 20 mM CHES를 이용하였고 가해진 전압은 20 kV 이었다. 시료는 메탄올로 희석한 10 ppm 표준페놀을 300 mbar로 6초 동안 주입하였다. 질량분석기는 음이온 전극분무모드에서 선택이온전류(selected ion current)로 측정하였다. 이때 dwell time은 0.2초로 0.05 m/z span을 사용

하였다. 보충용매는 증류수와 2-프로판(20:80)에 0.5% 암모니아를 섞은 용액을 사용하였다. 시린지 펌프 (Harvard Apparatus)로 보충용매의 유량은 10  $\mu$ l/min로 조절하였고 분무를 위한 질소가스의 유속은 30-40 l/min를 사용하였다. 전극분무이온화를 위한 전압은 3.5 kV를 사용하여 실제로 모세관에는 23.5 kV의 전압이 작동하였다. 모세관 청소는 첫 번째와 동일한 방법을 사용하였다.

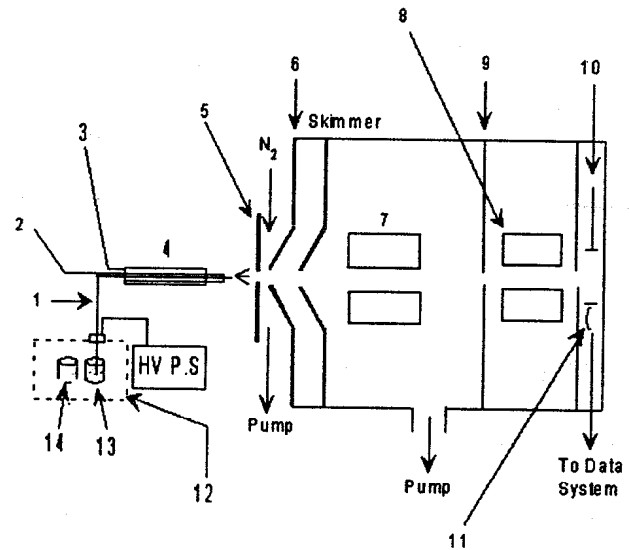


Fig. 1. The Schematic illustration of capillary electrophoresis-mass Spectrometer.

## 3. 결과 및 고찰

기본적으로 모세관 전기영동 모드(Capillary Zone Electrophoresis and Micellar Electrokinetic Chromatography)가 페놀류 분리에 사용될 수 있다. 본 연구에서는 CZE 방법은 계면활성제를 첨가하지 않으므로 MEKC 방법보다 전극분무이온화 효율이 좋으므로 CZE 방법을 이용하여 분석하였다. 자외선 검출기를 이용한 모세관 전기영동의 11종 페놀류의 electropherogram을 Fig. 2에 실었다. Fig. 2에서 완충용액의 메탄올의 첨가량을 변화시키면서 electropherogram을 조사하였다. 메탄올의 농도가 증가할수록 electropherogram의 머무름 시간 및 분리도가 증가하였다. 이러한 현상은 메탄올의 농도가 증가할수록 완충용액의 유전상수가 감소하기

때문이다.

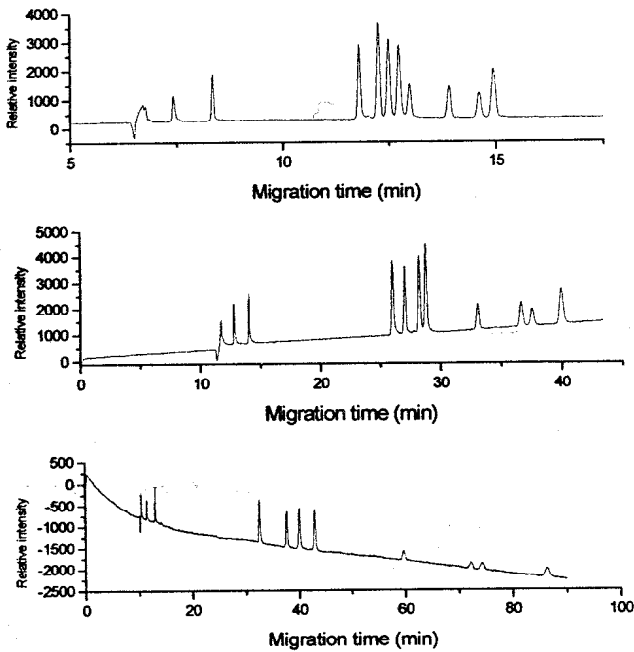


Fig. 2. Electropherogram of the eleven priority phenols; 2,4-DIMETHYLPHENOL, PHENOL, 4-CHLORO-3-METHYLPHENOL, PENTACHLOROPHENOL, 2,4,6-TRICHLOROPHENOL, 2,4-DICHLOROPHENOL, 2-METHYL-4,6-DINITROPHENOL, 2-CHLOROPHENOL, 2,4-DINITROPHENOL, 2-NITROPHENOL, 2-NITROPHENOL.

전자충격이온화(Electron Impact) 등과 같은 다른 이온화과 비교하여 모세관 전기영동-전극분무이온화 질량분석기는 대기압에서 작동하기 때문에 진공에 의하여 일어나는 역학흐름이 없는 장점이 있다. 모세관 전기영동-질량분석기를 이용한 10 ppm 페놀류 11종의 selected ion electropherogram을 Fig. 3에 실었다. 완충용액은 붕산나트륨보다 휘발성이 강한 유기 완충용액 20 mM CHES (pH 10)를 사용하여 전극분무이온화 효율을 증가시켰다. 완충용액은 염기성을 띄므로 페놀류는 음전하를 갖게 된다. 질량분석법에서는 음전극분무이온화를 이용하여 페놀류의 분자량보다 수소분자량이 적은 이온을 선택 이온 기록하였다. 모세관 전기영동에서의 유량은 수 nl/min 이어서 전극분무이온화를 위하여 보충용액이 필요하다. 음전극분무이온화를 위한 보충용액은 2-프로판올과 물의 혼합용액

(4:1)에 암모니아수를 첨가한다. 본 실험의 경우 0.5% 암모니아수를 첨가한 경우가 가장 좋은 감도를 보여주었다. 보충용액의 흐름속도는 10 ml/min으로 유지하였다. Fig. 3에서 2-M-4,6-DMP가 22.03 min에서 보여주는 봉우리는 2,4,6-TCP의 동위원소 197 m/z에 의해 생기는 봉우리이다.

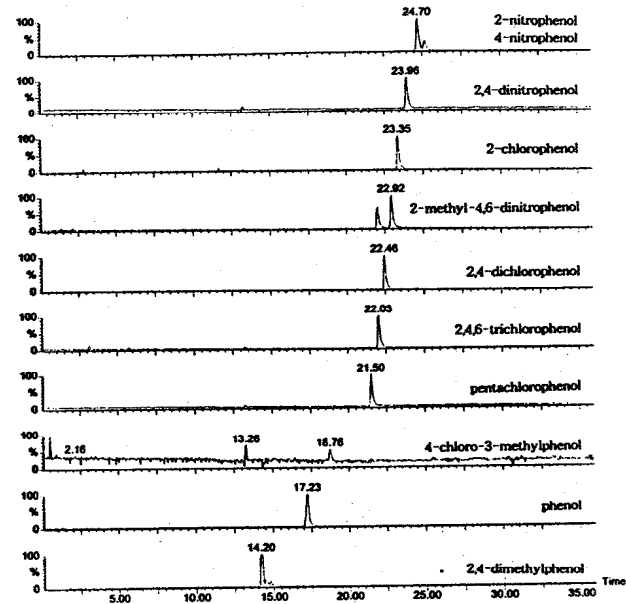


Fig. 3. Selected ion electropherogram of the eleven priority phenols.

Electropherogram의 분해능과 머무름 시간은 완충용액의 산도에 영향을 받는다. 20 mM 붕산나트륨 완충용액의 산도를 8.5에서 10.5까지 변화시키며 electropherogram의 분해능과 머무름 시간의 변화를 Fig. 4에 실었다. 산도의 값이 증가할수록 머무름시간 및 분해능이 증가하는 경향을 보였다. 이것은 산도가 증가할수록 electroosmotic flow (EOF)가 증가하기 때문에 이동 시간이 길어진다.

가해진 전압에 대한 이동 시간의 변화를 Fig. 5에 실었다. 예측한대로 전압이 증가할수록 이동 시간은 감소하였다. 전압을 증가할수록 분리효율은 증가하나 Joule열 발생의 효과가 커져 분리효율을 감소시킨다. 모세관 전기영동-전극분무이온화 질량분석법을 이용하여 분리효율을 나타내는 이론단수는 2,4-디메틸페놀 34478부터 2,4-디니트로페놀 162266까지 얻었다.

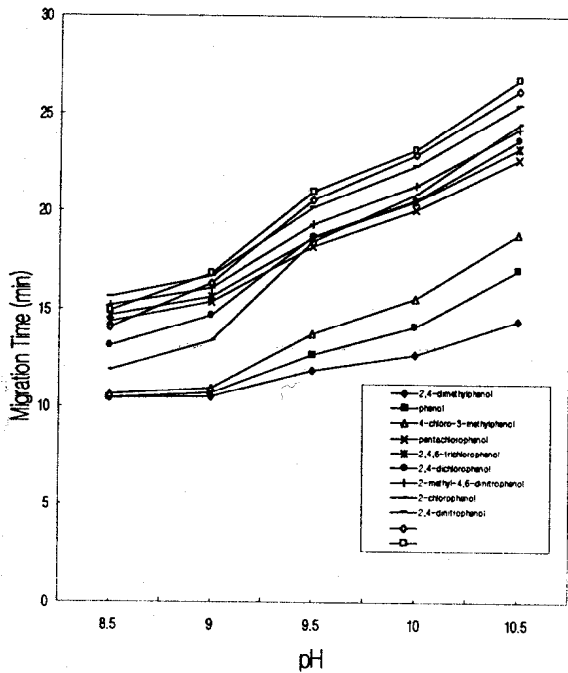


Fig. 4. Effect of pH on elution order and migration time.

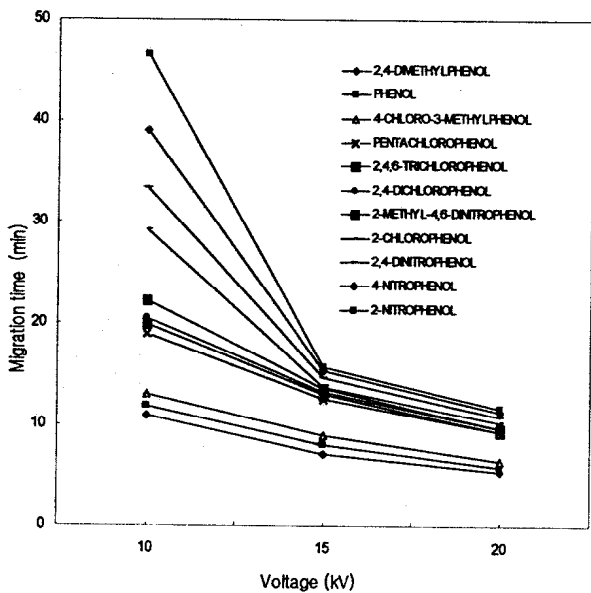


Fig. 5. Effect of applied voltage on elution order and migration time.

#### 4. 결 론

모세관 전기영동과 질량분석기의 결합은 화합물의 분리 및 질량을 이용한 정성분석에 매우 좋은 방법이다. 이 분석법에서 모세관과 sheath관의 간

격 및 보충용액의 화합물조성은 분석에서 매우 중요한 실험조건이다. 모세관전기영동-전극분무이온화 질량분석기를 이용하여 얻은 대부분의 페놀류 검출한계는 약 50 ppb 정도이었다.

#### 감사의 글

본 연구는 99년도 기초과학지원연구소 지역분소 사업(B99011)의 지원에 의한 결과로 이에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

1. R. A. Booth and J. N. Lester, *J. Chromatogr. Sci.*, **1994**, 32, 259-264.
2. N. G. Buckman, J. O. Hill, R. J. Magee and M. J. McCormick, *J. Chromatogr.*, **1984**, 284, 441-446.
3. F. P. Bigley and R. L. Grob, *J. Chromatogr.*, **1985**, 350, 407-416.
4. H. K. Lee, S. F. Y. Li and Y. H. Tay, *J. Chromatogr.*, **1988**, 438, 429-432.
5. K. Otsuka, S. Terabe and T. Ando, *J. Chromatogr.*, **1985**, 348, 39-47.
6. C. D. Gaitonde and P. V. Pathak, *J. Chromatogr.*, **1990**, 514, 389-393.
7. C. P. Ong, C. L. Ng, N. C. Chong, H. K. Lee and S. F. Y. Li, *J. Chromatogr.*, **1990**, 516, 263-270.
8. Y. C. Chao and C. W. Whang, *J. Chromatogr. A*, **1994**, 663, 229-237.
9. F. E. P. Mikkers, F. M. Everaerts and Th. P. E. M. Verheggen, *J. Chromatogr.*, **1979**, 169, 11-14.
10. S. Terabe, K. Otsuka, K. Ichikawa, A. Tsuchiya and T. Ando, *Anal. Chem.*, **1984**, 56, 111-113.
11. K. Ganzler, K. S. Greve, A. S. Cohen, B. L. Karger, A. Guttman and N. C. Cooke, *Anal. Chem.*, **1992**, 64, 2665-2671.
12. Y. E. Yik and S. F. Y. Li, *Trends Anal. Chem.*, **1992**, 11, 325-328.

13. R. A. Wallingford and A. G. Ewing, *Anal. Chem.*, **1987**, 59, 1762-1766.
14. S. Nie, R. Dadoo and R. Dadoo and R. N. Zare, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 3571-3575.
15. E. S. Yeung, D. Wang, W. Li and R. W. Giese, *J. Chromatogra.*, **1992**, 608, 73-77.
16. G. Hopfgartner, T. Wachs, K. Bean and J. Henion, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 439-446.
17. S. Jun, U. Yoshihisa, K. Akihiro and K. Ikunoshin, *Anal. Biochem.*, **1992**, 207, 1-8.
18. R. D. Smith, J. A. Olivares, N. T. Nguyen and H. R. Udseth, *Anal. Chem.*, **1988**, 60, 436-441.
19. M. A. Moseley, J. W. Jorgenson, J. Shabanowitz, D. F. Hunt and K. B. Tomer, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **1992**, 3, 289-293.
20. S. Pleasance, P. Thilbault and J. Kelly, *J. Chromatogr.*, **1992**, 591, 325-339.