

기체크로마토그래피/질량분석기에 의한 수질시료 중 benzophenone의 분석법 연구

권오승 · 이희경 · 류재천

한국과학기술연구원, 생체대사연구센터

Analysis of Benzophenone in Water by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy

Oh Seung Kwon, Hee Kyung Rhee and Jae Chun Ryu

Toxicology Lab., Bioanalysis and Biotransformation Research Center, Korea Institute of
Science and Technology,
P.O.Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea

Analytical method of benzophenone (BZP) in water was developed by gas chromatography/mass selective detector/selected ion monitoring (GC/MSD/SIM). BZP was extracted with n-hexane in the presence of sodium chloride. Hexane layer was washed with 5% sodium chloride solution. After extraction of n-hexane the residue was dissolved in 0.3 ml of n-hexane and this solution was applied to GC/MSD. The retention time of BZP was 11.12 min. Coefficient of variation (CV)% of BZP (25-50 ng/ml) within and between days was ranged from 2.5 to 15.1%. Recovery of BZP was ranged from 67 to 152% and detection limit of BZP was less than 10 ng/L.

Key words : Benzophenone, Water sample, Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).
Gas chromatography/mass selective detector/selected ion monitoring (GC/MSD/SIM), Determination, Analysis.

1. 서 론

Benzophenone(BZP)은 세계야생보호기금과 일본 국립의약품식품위생연구소 등에 의하여 내분비계 장애물질로 분류되는 물질로서 주로 비누 등의 방향 보조제 또는 의약품이나 살충제 제조의 원료로 많이 사용되고 있다. BZP의 유도체는 주로 UV과장 흡수제로서 30 년동안이나 산업 및 의약 분야에서 광범위하게 사용되어 오고 있다. 화장품, lipstick, hair spray, 모발염색제, 샴푸, 세제, 화장품 및 sunscreen 로션 등 우리들이 일상 생활에 필요로 하는 상품에서 수천만의 소비자가 BZP에 매일 노출 될 가능성이 있다. 이러한 BZP의 광친화성 성질에 기인하여 광친화성을 가지는 물질을 합성하기 위한 원료로도 많이 이용되고 있고,¹⁾ 또한 의약품 중 항불안제인 benzodiazepine 복용 후

생체에서 대사되어 형성되는 물질이기도 하다.²⁾

BZP 유도체의 분석 방법으로는 주로 high performance liquid chromatography/UV,^{3,4)} gas chromatography/electron-capture detector⁵⁾ 및 gas chromatography/mass spectrometry⁶⁾에 의한 분석 등이 보고되고 있다.

이와 같이 BZP 용도의 다양성이나 물리화학적 성질에 비추어 BZP는 물이나 토양 중의 환경으로 노출될 가능성이 높기 때문에 수질에서 이 화합물을 분석하는 방법을 연구하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 기구

수질시료중의 BZP 분석에 사용된 시약은

n-hexane (잔류농약용, J. T. Baker), 염화나트륨 (Mallinckrodt), 무수황산나트륨(분석용, J.T.Baker), benzophenone (Sigma), nitrobenzene- d_5 (Supelco) 등을 구입하여 사용하였다. 염화나트륨은 사용 전 n-hexane으로 세정하고 100°C의 oven에서 하룻밤 방치한 후 사용하였고 염화나트륨은 5% (w/v) 수용액으로 만든 후 n-hexane으로 세정하여 분석에 사용하였다. Helium gas (99.9999%)는 신양산소로부터 구입하였으며 그외 모든시약은 분석용을 사용하였다.

사용된 기구 및 장치는 분액여두 (2 L), 둥근바닥 플라스크 (250 및 500 ml), 원심분리용 초자 시험관 (15 ml), 초자 메스실린더 (50, 100, 250 및 1000 ml)등 이었으며, 이것들은 아세톤 및 n-hexane으로 세정하고 건조시킨 후 사용하였다. 그외 감압농축기 (Rotavapor Re 111, Buchi, Germany)등이 사용되었다.

2.2. 분석기기 및 분석기기의 조건

이 분석을 위하여 GC/MSD (HP5890/HP5970)와 autosampler (HP7673) 및 MS Chemstation (HP)을 사용하였고, selected ion monitoring (SIM) 방법으로 BZP를 분석하였다. GC의 주입구의 온도는 250°C, 주입방법은 splitless (0.5분 퍼지)이었고, 사용된 칼럼은 50% phenylmethylsiloxane 화학결합형 (0.2 mm, I.D. x 25 m, L. x 0.31 μ m, F.T.)이었고, GC oven의 온도는 처음 50°C에서 1분간 머무르고, 분당 20°C 씩 증가시켜 최종온도 300°C에 도달한 후 7분간 머무르게 하였다. 칼럼의 유속은 0.8 ml/min (linear velocity 40 cm/sec)이었다. MSD (mass selective detector)의 이온화법은 electron impact (EI) mode를 사용하였고, 이온화 에너지는 70 eV로 고정하였으며, transfer line의 온도는 300°C로 하였다. BZP의 정량에 사용된 이온은 주입보정용 내부표준물질로 사용된 nitrobenzene- d_5 는 m/z 128을, BZP는 m/z 105와 m/z 182를 선택하였고, BZP의 확인용 이온으로는 m/z 51, m/z 77, m/z 105 및 m/z 182를 사용하였다.

2.3. 표준용액의 조제

BZP의 표준원액은 이 물질 100 mg을 정확히 취하여 별도의 100 ml의 메스플라스크에 넣고 n-hexane에 녹인 후 정확히 100 ml로 하여 1000 μ g/ml의 표준원액을 조제하였다. 이 표준원액 10 ml 씩을 100 ml의 메스플라스크에 정확히 취하여 n-hexane을 넣어 100 ml로 하고 이 용액을 단계적으로 희석하여 10, 1, 및 0.1 μ g/ml의 용액을 제조하였다. 그리고 주입보정용 내부표준물질인 nitrobenzene- d_5 용액 (2 mg/ml in methylene chloride)은 적당한 농도로 희석시켜 사용하였다.

2.4. 검량선 작성용 표준액의 조제

BZP의 검량선을 작성하기 위하여 0, 10, 25, 50, 100 및 250 ng을 3차 증류수 1 L에 가하고 아래에 설명한 시료 전처리 방법으로 처리한 후, 최종적으로 300 μ l의 n-hexane에 용해시키고 이 용액 2 μ l를 취하여 GC/MSD에서 autosampler로 주입하고 얻어진 BZP (m/z 182)와 주입보정용 내부표준물질 (m/z 128)의 면적의 비를 구하여 검량선을 작성하였다.

2.5. 수질 중 benzophenone의 전처리

3차 증류수 1 L씩 정확히 취하여 2 L의 분액여두에 넣고 각 농도별 BZP 표준액을 가한다. 여기에 염화나트륨 50 g을 넣어 충분히 혼합하여 녹인 후 n-hexane 150 ml를 넣고 2 분간 진탕 추출한 후 정치하고 n-hexane 층을 취하였다. 다시 수층에 n-hexane 150 ml를 넣고 추출조작을 반복하였다. n-Hexane 층을 합하고 5% 염화나트륨 수용액 100 ml를 넣고 3 분간 진탕 추출한 후 정치하고 수층을 버린 후 이 조작을 반복하였다. n-Hexane 층을 무수황산나트륨으로 탈수한 후 500 ml 둥근바닥플라스크에 넣어 회전식 감압 농축기를 사용하여 (수욕온도 25°C 이하) 농축하였다. 각 시료에 주입 보정용 내부표준액 50 μ l와 n-hexane 250 μ l를 가하여 잘 용해시키고 이 용액 2 μ l를 GC/MSD에 주입하여 분석하였다.

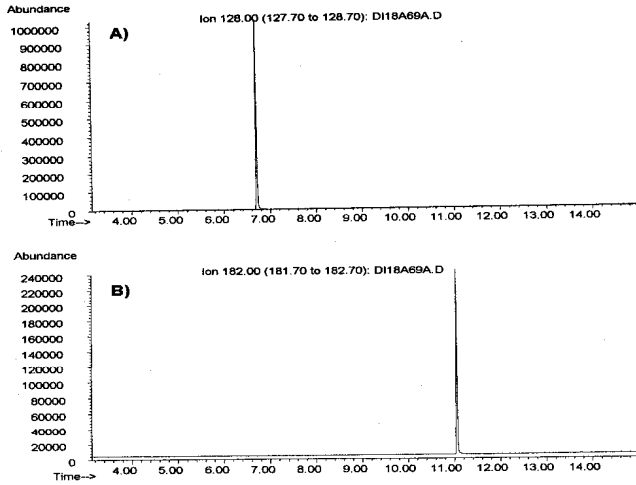


Fig. 1. Total ion chromatogram (A) and scan mass spectrum of benzophenone (B).

3. 결과 및 고찰

3.1. GC/MSD/SIM 방법에 의한 benzophenone 방법의 확립

Benzophenone (BZP)의 scan spectrum은 Fig. 1에 나타낸 것과 같다. 분자이온은 m/z 182이었으며, BZP의 base peak는 m/z 105로 관찰되었다. SIM 방법으로 BZP의 정량분석에 사용된 이온은 m/z 182와 주입 보정용 내부표준물질인 nitrobenzene- d_5 의 m/z 128을 선택하였다 (Fig. 2). 이 두 개의 이온은 모두 BZP와 nitrobenzene- d_5 의 분자이온에 해당하는 것으로 다른 방해물질로부터 쉽게 확인

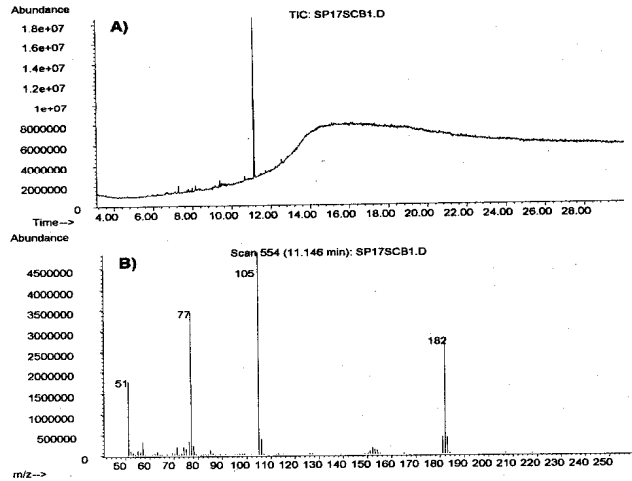


Fig. 2. SIM ion chromatograms of nitrobenzene- d_5 (A) and benzophenone (B).

하기 위하여 선택하였다.

3.2. Benzophenone-free 상태에서의 방해 peak의 확인시험

BZP의 추출분석에 사용된 기구 및 시약에 대하여 BZP의 방해 peak가 관찰되었다. Polyethylene stopper에서는 n-hexane용액 중으로 BZP와 같은 retention time에서 elution되는 peak이 관찰되었다. Polyethylene stopper를 n-hexane 용액에 하룻밤 동안 방치한 후, 위와 같은 방법으로 추출하였을 때, polyethylene stopper를 가진 분액여두를 n-hexane으로 처리하였을 때와 비교하여 약 5 배

Table 1. Various benzophenone-free tests with reagents or experimental equipment.

Benzophenone-free test (reagents or equipment)	Peak area	Amount (ng) or concentrations (ng/L) corresponded to BZP
Separatory funnel (with polyethylene stopper)+ n-hexane	17735	15.5
Separatory funnel (with glass stopper) + n-hexane	7906	7.8
polyethylene stopper + n-hexane	93627	75.2
Teflon cock + n-hexane	-	-
Sodium chloride + n-hexane	5719	6.1
Sodium sulfate + n-hexane	3211	4.1
n-Hexane (for HPLC) concentrate	-	-
n-Hexane (for residual pesticide analysis) concentrate	2029	3.2
Separatory funnel (with polychthylene stopper + distilled water + n-hexane	26540	22.5 ng/L
Separatory funnel (with glass stopper) + distilled water + n-hexane	30545	25.6 ng/L
Separatory funnel (with glass stopper) + drink-water commercially available + n-hexane	28290	23.8 ng/L

의 높은 BZP가 관찰되었고 (Table 1), 이 peak에 대한 mass scan spectrum은 BZP의 표준물질 scan spectrum과 동일하였다. 분액여두와 두 개의 다른 종류 (polyethylene 또는 glass stopper)의 마개를 사용하여 3차 증류수를 n-hexane으로 추출한 결과는 각각 평균 22.5 와 25.6 ng으로 비슷하였다. 생수를 사용하였을 때에도 23.8 ng으로 3차 증류수를 사용하였을 때와 비슷하였다 (Table 1). 따라서 수질시료로 3차 증류수 1 L를 사용하여 위와 같은 추출방법에 따라 추출하였을 때의 BZP의 농도는 평균 11 ng/L이었다. 이 결과에 의하면, BZP는 그 원인은 잘 알려져 있지 않으나, 물이나 추출장치의 마개등에 미량으로 존재하는 물질로 시사되어진다.

3.3. Benzophenone 분석법의 재현성 및 회수율

BZP의 within day와 between day 분석의 재현성을 Table 2에 나타내었다. CV%는 5 ng/ml의 BZP에서는 21~31%로 재현성이 낮았으나, 25 및 50 ng/ml에서는 2.5~15.1%로 비교적 양호한 재현성을 나타내었다. BZP의 회수율은 낮은 농도 범위

Table 2. Effects of analysis of benzophenone within days and between days on precision of this assay.

Conc. (ng/ml)	Within days		Between days	
	Amount (ng/ml) (mean±S.D., n=3)	C.V. (%)	Amount (ng/ml) (mean±S.D., n=3)	C.V. (%)
5	3.92±1.22	31.2	5.07±1.06	21.0
25	18.99±1.37	7.2	18.47±0.46	2.5
50	54.42±8.22	15.1	52.74±4.09	7.8

Table 3. Recovery of benzophenone extracted from 1 L of distilled water.

Amount added (ng)*	Amount found (ng)*	Recovery (%)
10.0	15.2	152
25.0	30.0	120
50.0	37.6	75.2
100.0	73.3	73.3
250.0	169.2	67.7

* Each value represents mean of duplicate.

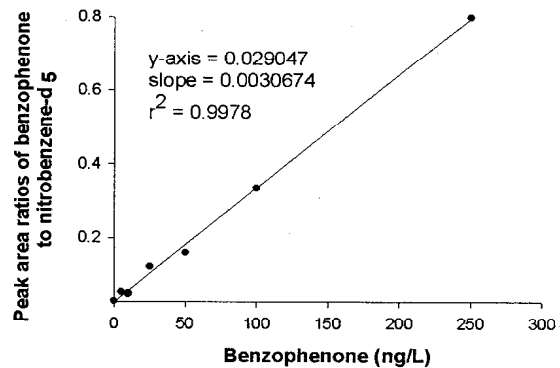


Fig. 3. Calibration curve of benzophenone obtained from extraction in distilled water spiked benzophenone.

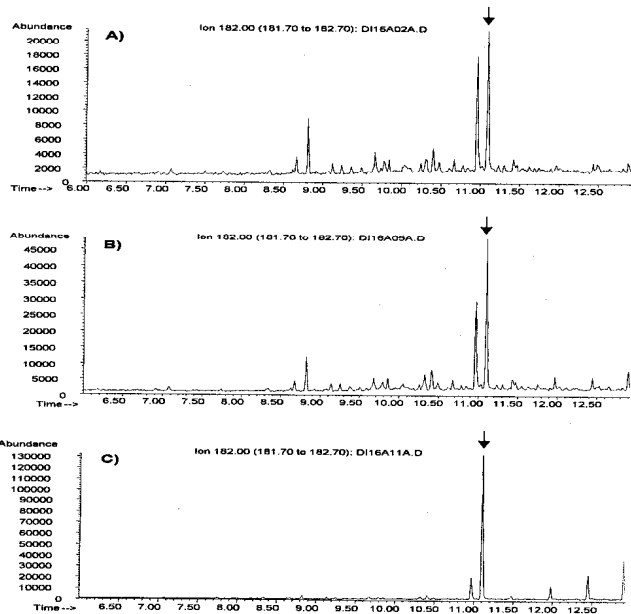


Fig. 4. SIM chromatograms of water blank (A) and authentic benzophenone standard (B, 5 ng; C, 50 ng) spiked to 1 L of distilled water.

(10~25 ng/ml)와 높은 농도 범위 (50~250 ng/ml)에서 차이를 나타내었다. 이는 바탕시료에 존재하는 BZP에 기인하는 것으로 사료된다. 50 ng/ml 이상의 BZP 농도에서 회수율은 약 67~75%이었다.

3.4. Benzophenone의 검량선 및 분석

검량선 농도 10~250 ng/L에서 얻어진 검량선을 Fig. 3에 나타내었다. 상관계수는 0.9978이었고

이 직선의 y 절편 및 기울기는 각각 0.0290 및 0.0031로 이 농도범위 안에서 양호한 직선성을 보여 주었다.

BZP-free시료 및 5 와 50 ng/L의 BZP를 가하고 위의 실험방법에서 언급한 대로 추출하여 얻은 ion chromatogram들을 Fig. 4에 보여주었다. BZP의 retention time은 50% phenylmethylsiloxane 칼럼을 사용하였을 때 11.12 min이었다. BZP를 가하지 않은 BZP-free 바탕시료에서도 BZP와 동일한 retention time에서 peak가 확인되었다.

4. 결 론

수질 중의 benzophenone의 분석방법을 GC/MSD/SIM 방법을 사용하여 연구하였다. BZP는 염화나트륨 존재하에서 n-hexane으로 추출하였고, 이 방법에 의하여 GC/MSD에서 BZP의 retention time은 11.12 min이었고 BZP의 within day 및 between day의 정확성은 2.5~15.1% 이었다. BZP-free 바탕시료에서도 평균 11 ng/L의 BZP에 해당하는 방해 peak가 관찰되었다. 이 방법에 따른 BZP의 회수율은 10~25 ng/L에서는 120~

152%, 50~250 ng/L에서는 67~75%를 나타내었고, 5~250 ng/L의 농도 범위에서 검량선은 양호한 직선성을 나타내었다. 이 방법에 따른 수질 중의 BZP의 검출한계는 약 10 ng/L 미만이었다.

참 고 문 헌

- 1) G. D. Prestwich, G. Dorman, J. T. Elliott, D. M. Marecak and A. Chaudhary, *Photochem. Photobiol.*, **1997**, 65 (2), 222-234.
- 2) M. A. Elsohly, S. Feng, S. J. Salamone and R. Wu, *J. Anal. Toxicol.*, **1997**, 21(5), 335-340.
- 3) G. Potard, C. Laugel, A. Baillet, H. Schaefer, and J. P. Marty, *Int. J. Pharm.*, **1999**, 189 (2), 249-260.
- 4) V. Vanquerp, C. Rodriguez, C. Coiffard, L. J. Coiffard, and Y. De Roeck-Holtzhauer, *J. Chromatogr.* **1999**, 832, 273-7.1
- 5) F. Guan, H. Seno, A. Ishii, K. Watanabe, T. Kumazawa, H. Hattori, and O. Suzuki, *J. Anal. Toxicol.*, **1999**, 23(1), 54-61.
- 6) 국립환경연구원, 내분비계 장애물질의 측정분석 방법 (I), 1998년 8월, 141-152.