

## 고체상 추출법 및 HPLC/DAD를 이용한 물시료 중의 diquat과 paraquat 분석법 연구

장문선 · 박송자<sup>†</sup> · 표희수 · 이원\*

한국과학기술연구원 생체대사연구센터, \*경희대학교 화학과

## Determination of Diquat and Paraquat in Water Samples by Solid-Phase Extraction and HPLC/DAD

Moon-Sun Jang, Song-Ja Park<sup>†</sup>, Heesoo Pyo and Won Lee\*

Bioanalysis and Biotransformation Research Center,  
Korea Institute of Science and Technology,  
P. O. Box 131, Cheongryang, Seoul, Korea

\*Department of Chemistry, Kyunghee University,  
Heogidong, Seoul 130-701, Korea

The quaternary ammonium compounds, diquat and paraquat, are commonly used herbicides. This method is used for the determination of diquat and paraquat in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography/diode array detector. And the molecular ion and characteristic mass ions of two compounds are confirmed by using positive ESI/MS. The concentrations and species of the ion pair reagents, column temperature, the pH and the species of the extracting sorbents were optimized to get high recoveries and good chromatographic resolution between diquat and paraquat. Extraction recoveries of diquat and paraquat were 89% and 93%, respectively by using C18 cartridge at pH 11.5 of sample and 2 ml of solvent volume, and the relative standard deviations were less than 5%. The mobile phase was adjusted to 0.05M of 1-heptanesulfonic acid at pH 5.5 and column temperature at 40°C for baseline separation of them.

**Key words:** SPE, HPLC, ESI/MS, Diquat, Paraquat

### 1. 서 론

오늘날 전세계적으로 인구증가에 따른 식량난을 해결하기 위하여 농약 개발은 꾸준히 추진되어 왔으며 그 수요가 지속적으로 증가하고 있다. 현재 우리나라에서 사용하고 있는 대표적인 농약 중의 하나인 diquat (1,1-ethylene-2,2-dipyridilium dibromide)과 paraquat (1,1'-dimethyl-4,4'- bipyridinium dichloride)은 살충제로 주로 사용되며, 또한 잡초를 제거할 때 사용하는 이온성 농약으로,<sup>1-4)</sup> 독성이 매우 강하여 인체에 흡수되면 치명적이며, 중독에 의해 가장 많은 희생자를 내는 농약중 하나이다.<sup>5)</sup> 인체노출경로는 흡입, 피부노출 및 섭취 등으로 외국의 경우에서도 상당한 중독사망의 사

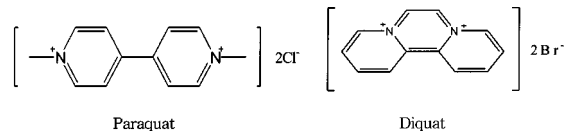


Fig. 1. Chemical structures of diquat and paraquat.

례보고가 있으며,<sup>6-8)</sup> 국내에서도 전체 사용량이 20,000톤(농약연보, 2000) 이상에 이르며 농번기에는 사용량의 증대로 인한 중독환자 및 사망 예가 상당수 보고되고 있다.<sup>9)</sup> 이들의 구조를 Fig. 1에 나타내었다.

수질이나 토양 등 환경 중에 존재하는 diquat과 paraquat은 극미량으로도 인체에 치명적인 해를 주기 때문에 ppb단위 이하의 낮은 농도까지 검출이 필요하

<sup>†</sup>Corresponding author: sjpark@kist.re.kr

며, 이들 물질들을 분석하기 위한 방법으로는 모세관 전기영동법(capillary electrophoresis), 분광광도계 및 액체크로마토그래피(liquid chromatography, LC)를 이용한 방법 등이 있다. 전기영동법은 대상분석물질의 분자량과 전하에 따라서 분리가 이루어지는 방법으로 사용이 간단하며 HPLC에 비해 용매 사용량이 매우 적고 분리시간도 짧은 장점을 가지고 있다.<sup>10-11)</sup> 그러나, 온도와 완충용액에 따라 영향을 크게 받아 diquat과 paraquat의 분리가 어려운 단점이 있다.<sup>12)</sup> 액체크로마토그래피를 이용한 방법은 ion-pair reagent와 reverse-phase column<sup>13-15)</sup> 혹은 silica column<sup>16-17)</sup>을 사용해서 UV detector로 분석하는 방법이 주로 사용되고 있다. 이 방법을 이용하여 diquat과 paraquat의 이온쌍을 형성시키면 reverse phase column상에서도 분리가 가능하며, 또한 이들은 각각 다른 과정에서 UV를 흡수하기 때문에 diode-array detector로 분석하면 감도가 좋고 검출한계도 낮은 장점이 있다.<sup>18)</sup> 또한, 최근에는 LC에 MS를 연결시켜 LC에 의해 분리되어 나온 물질들의 질량 스펙트럼을 해석함으로써 정량하는 방법들이 활발히 연구되고 있다.<sup>19-22)</sup>

이와 같은 기기분석법을 사용하기에 앞서 사용기기에 적합한 형태로 시료를 전처리 하는 과정은 필수적이다. Diquat과 paraquat은 이온성 물질로서 물-옥탄올 분배계수를 비교해보면 각각  $\log K_{ow} = -4.22$ ,  $\log K_{ow} = -3.05$ 로서 물에 대한 용해도가 매우 높은 물질이다. 따라서 유기용매에 의한 추출방법인 액체-액체 추출법으로는 추출이 용이하지 않다. 반면 비극성인 고체상에 ion-pair reagent를 사용하여 diquat과 paraquat을 흡착시킨 후 이를 분리·농축하는 방법인 고체상 추출법은 물시료 양을 수백 ml까지 신속하게 처리할 수 있으며 한번에 많은 시료처리가 가능해 diquat과 paraquat의 시료전처리에 적합한 것으로 사료된다.

본 연구에서는 수질중에 포함된 극미량의 diquat과 paraquat을 분리, 분석하기 위해 ion-pair reagent를 이용하여 고체상 추출법으로 추출하고 HPLC로 정성 및 정량 분석하는 방법을 연구하였다. 이동상의 조성 및 종류, 컬럼 온도에 따른 최적 분리조건을 조사하여 검출한계, 검정곡선을 조사하였고, 시료전처리 과정에서는 pH와 고체상 종류 및 용매의 양에 따른 추출회수율을 비교하였다. 또한 HPLC에서 검출된 각 물질들을 ESI/MS로 분석하여 각 물질의 분자량 및 특성이온들을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 분석기기

본 연구에서는 시료분석을 위해 Hewlett Packard사의 HP 1090 high performance liquid chromatograph에 자동시료주입기를 장착하여 사용하였으며, 검출기는 diode-array detector를 사용하였다. HPLC에서 분석된 각 물질들의 분자량 확인 및 구조분석을 위해서 HP 1100 high performance liquid chromatograph에 mass spectrometer가 장착된 ESI/MS를 사용하였다. 컬럼은 내경이 4.6 mm와 2.1 mm인 Agilent사의 ODS Hypersil column을 사용하였으며, 고체상 추출법은 Waters사의 Sep-Pak cartridge(C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub>)와 vacuum folder를 이용하여 추출하였다. 또한, 시료 농축을 위해 Thermolyne사의 16500 dry bath와 Zymark사의 Turbo Vap LV evaporator를 사용하였다.

### 2.2. 시약

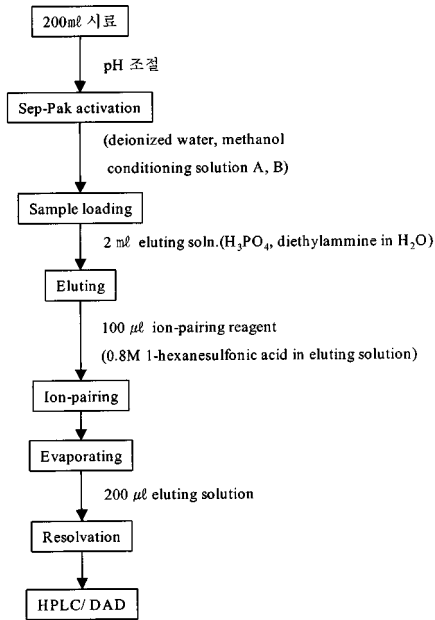
Diquat과 paraquat은 Aldrich사에서 구입하였으며 각각 0.01 g씩 달아 10 ml 메탄올에 녹여 1000 µg/ml 표준원액을 만들어서 사용하였고, ion-pair reagent는 순도가 98.5%인 Baker사의 제품을 사용하였다. Methanol을 비롯한 시료 전처리에 사용된 유기용매들은 Baker사 또는 Junsei사의 HPLC용 시약을 사용하였고, 증류수는 Milli-Q 및 Milli-RO system을 통과한 3차 증류수를 0.45 µm membrane filter로 여과한 것을 사용하였다.

#### 2.2.1 Conditioning solution A, B 제조

추출에 사용한 Sep-Pak cartridge를 활성화하기 위한 conditioning solution은 다음과 같이 제조하여 사용하였다. Conditioning solution A는 0.5 g cetyltrimethyl ammonium bromide와 5 ml ammonium hydroxide를 1부피플라스크에 넣고 증류수로 채워서 사용하였고, conditioning solution B는 20 g 1-hexanesulfonic acid sodium salt와 20 ml ammonium hydroxide를 1부피 플라스크에 넣어 증류수로 채운 후 사용하였다.

#### 2.2.2 Eluting solution 제조

500 ml 부피플라스크에 인산 6.75 ml와 디에틸아민 5.15 ml를 가하고 증류수로 채워서 사용하였다(pH 2.0).



\* Conditioning soln. A : 0.5g cetyltrimethyl ammonium bromide  
& 5 ml ammonium hydroxide in 1 l D.W.

\* Conditioning soln. B : 20g 1-hexanesulfonic acid sodium salt  
& 20 ml ammonium hydroxide in 1 l D.W.

Fig. 2. Schematic diagram of sample preparation procedure.

### 2.2.3 Ion-pairing reagent 제조

1-Hexanesulfonic acid sodium salt와 1-heptanesulfonic acid sodium salt를 각각 0.8M이 되도록 제조하여 25 ml 부피플라스크에 넣고 eluting solution으로 채워 사용하였다.

### 2.2.4 Mobile phase 제조

11 부피플라스크에 0.05 M이 되도록 1-heptanesulfonic acid sodium salt를 넣고 인산 12 ml, 디에틸아민 20.6 ml를 넣고 증류수로 채워 사용하였다 (pH 5.5).

### 2.3. 시료전처리

Diquat과 paraquat 표준혼합용액이 포함된 물시료 200 ml에서 각 물질들을 추출하기 위해 pH를 조절한다. 전처리 방법으로 고체상 추출법을 이용하였는데, 고체상을 활성화하기 위해 증류수 5 ml, 메탄올 5 ml, 증류수 5 ml, conditioning solution A 5 ml, 증류수 5 ml, 메탄올 10 ml, 증류수 5 ml, conditioning solution B 10 ml를 차례로 통과시킨다. 이어서 pH를 조절한 물시료를 활성화된 고체상에 통과시켜 이온성 물질들을 흡

Table 1. HPLC/DAD conditions.

HPLC/DAD: Hewlett Packard HP 1090 / diode-array detector
Column: ODS Hypersil column (100 mm × 4.6 mm I.D., 5 µm particles, 100 mm × 2.1 mm I.D., 5 µm particles)
Injection volume: 20 ml
Flow rate: 1 ml/min or 0.2 ml/min
Oven temperature: 40°C
Wavelength: diquat - 308 nm paraquat - 257 nm
Mobile phase: buffer (isocratic elution)
Run time: 6 min

Table 2. LC/MSD operating parameters.

Ionization: ESI/positive ion mode
Drying gas (N <sub>2</sub> ): 4 L/min
Nebulizer gas pressure: 10 psi
Source voltage: 3.5 kV
Vaporizer temperature: 325°C
Relative collision energy: 25%
Mass range: 50-800 m/z

착시키고, 고체상에 남은 수분을 제거하기 위해 진공펌프를 사용하여 수분간 고체상을 건조시킨다. 흡착된 diquat과 paraquat을 eluting solution으로 추출하여 시험관에 담고, 100 µl ion-pairing reagent를 넣어 이온쌍을 형성시킨다. 이 용액을 진공회전증발기를 사용하여 모두 증발시키고, 남은 잔사에 200 µl eluting solution을 넣어 녹이고, HPLC로 분석하였다. Fig. 2에 시료의 전처리 scheme을 나타내었다.

### 2.4. HPLC/DAD 분석

Diquat과 paraquat을 분석하기 위해 ion-pairing reagent를 이용하여 이온쌍을 형성시킨 후, 표준물질 혼합용액(10 µg/ml) 20 µl을 HPLC에 주입하여 확인하였다. 또한, 이동상에 포함된 ion-pair reagent의 종류와 농도를 변화시키면서 최적 분리조건을 조사하였으며 Table 1에 HPLC/DAD 분석조건을 수록하였다.

### 2.5. ESI/MS를 이용한 질량스펙트럼 확인

HPLC에서 검출된 각 물질들의 분자량 확인 및 구조 분석을 위해서 표준물질 혼합용액을 ESI/MS에 주입하여 각 물질의 질량스펙트럼을 확인하였다. 또한 각 물질들의 구조를 예측하기 위하여 ESI/MSD의 질량스펙트럼으로부터 구한 어미이온에 대해서 MS/MS 질량스펙트럼을 측정하였다. 이때 사용된 ESI/MS와 MS/MS

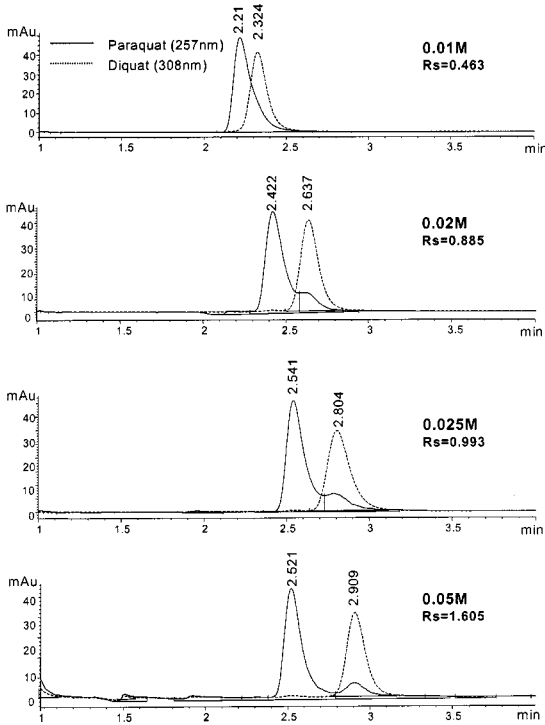


Fig. 3. Effect of the concentration of ion-pair reagent on the resolution of diquat and paraquat.

의 측정조건은 Table 2에 수록하였다.

2.6. 검량곡선 작성 및 검출한계 조사

물시료 200 ml중의 각 물질들의 농도가 0.1~10 ng/ml 가 되도록 7개의 농도를 선택하여 표준혼합용액을 첨가한 후 위 실험방법에 따라 전처리하고 HPLC/DAD로 측정하여 얻어진 크로마토그램으로부터 검량곡선을 작성하였다.

검출한계를 조사하기 위해 각 표준물질이 최고의 흡광도를 나타내는 UV 파장을 선정한 후 표준물질 혼합용액 20 µl를 주입하여 S/N=3 이상이 되며, 각 분석물질의 UV스펙트럼을 확인할 수 있는 최저 농도를 검출한계로 정하였다.

2.7. 물시료 채취

1회용 무균 채수병 1L에 전국 35개 주요 정수장에서 4회에 걸쳐 채취한 140개의 정수시료와 4대강 수계별로 2개소씩 선정하여 정수시료 채취시기와 같은 시기에 채취된 원수시료 32개를 분석하였다. 채취된 시료에 티오황산나트륨과 염산을 첨가하여 분석전까지 4°C를 유지하였고, 유기용매의 오염이 없는 냉암소에 보관

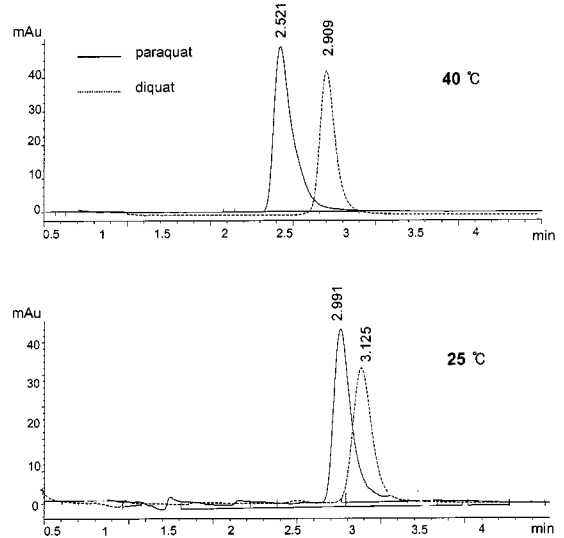


Fig. 4. Effect of the analytical column temperature in HPLC on the resolution of diquat and paraquat.

하여 채취일로부터 4주 이내에 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. HPLC에 의한 최적 분리조건 조사

HPLC로 diquat과 paraquat의 최적 분리도를 비교해 보기 위해 ion-pair reagent의 농도와 종류 및 컬럼 온도에 따른 분리도를 비교하였다. ion-pair reagent의 농도에 따른 분리도를 비교하기 위해 1-hexanesulfonic acid sodium salt의 농도가 0.01M, 0.02M, 0.025M, 0.05M이 되도록 이동상을 제조하여 HPLC로 분리하여 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과, 0.05M일 때  $R_s=1.605$ 로 가장 좋은 분리도를 나타냈으며, 두 물질이 바탕선 분리된 것을 알 수 있었다.

컬럼 온도에 따른 분리도를 알아보기 위해 25°C, 40°C에서 표준혼합용액을 HPLC로 분석하였다. 컬럼 온도의 변화는 실험적으로 매우 간편한 조작이므로 분리도를 증가시키기 위한 방법으로 큰 장점을 갖는데, 실험 결과는 40°C일 때 diquat과 paraquat이 25°C일 때보다 빨리 용리되어 나온 것을 알 수 있었다. 그러나 온도를 낮추면 diquat과 paraquat이 늦게 용리되기는 하였지만, 분리도는 오히려 감소한 것을 알 수 있었다. 즉, 컬럼의 온도를 높이면 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 시료의 k값이 감소되어 빨리 용리되고, N값이 증가하였으며, 분리도도 더 좋은 결과를 나타내었다.

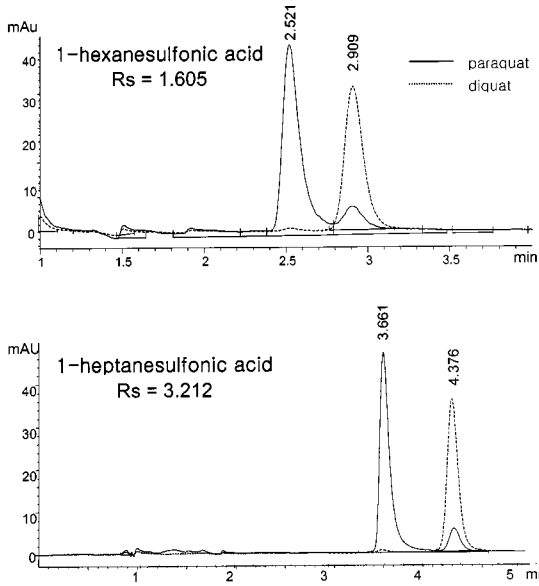


Fig. 5. HPLC chromatograms of diquat and paraquat on the two ion-pair reagents. (0.05M ion-pairing reagents)

ion-pair reagent의 종류에 따른 분리도를 보기 위해 1-hexanesulfonic acid sodium salt와 1-heptanesulfonic acid sodium salt를 사용하여 실험하였다. 그 결과, Fig. 5에 나타난 바와 같이 1-heptanesulfonic acid sodium salt를 사용하였을 때  $R_s=3.212$ 로 더 좋은 분리도를 얻을 수 있었는데, 이는 반대이온의 크기(alkyl chain 길이)가 클수록 머무름이 길어지는 것을 알 수 있었다.

3.2. 컬럼에 따른 감도 비교

컬럼 내경에 따른 diquat과 paraquat의 감도를 비교해 보기 위해 내경이 4.6 mm와 2.1 mm인 ODS Hypersil column을 각각 사용하여 분리한 크로마토그램을 Fig. 6에 나타내었다. 그 결과, 내경이 2.1 mm의 컬럼이 4.6 mm의 컬럼보다 감도가 5배 정도 증가한

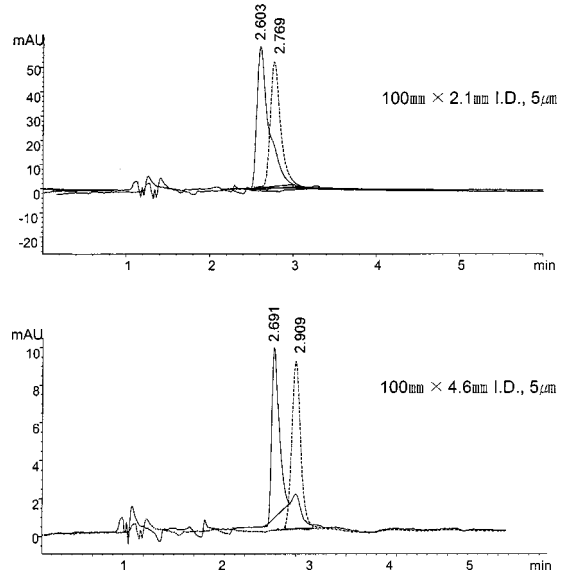


Fig. 6. HPLC chromatograms of diquat and paraquat by using the different I.D. in analytical columns.

것을 알 수 있었는데, 이것은 용리액의 양을 1 ml/min에서 0.2 ml/min으로 감소시킴으로써 detector cell을 통과할 때 시료의 농도가 농축되는 효과를 가져오기 때문인 것으로 사료된다. 내경이 작은 분리관을 사용한 결과 매우 낮은 농도까지 검출이 가능한 것으로 나타났으나, 분석 후 분리관의 평형에 도달하는 post-time이 10분 이상이나 되어 너무 길고, 수명이 짧은 단점이 있어 다수의 시료분석에는 부적합한 것으로 사료된다.

3.3. 추출회수율 조사

시료의 pH 및 고체상에 따른 diquat과 paraquat의 추출회수율을 측정하기 위하여 고체상으로  $C_{18}$ 을 사용하고, 물시료의 pH를 2, 7.5, 8.5, 11.5 및 13에서 실험한 결과 pH 11.5에서 paraquat은 93.2%(RSD

Table 3. Recoveries of diquat and paraquat by using  $C_{18}$  cartridge at various pH (n=5).

Compounds	Recovery %	pH					
		2.0	7.5	8.5	10.5	11.5	13.0
Diquat	average	9.2	17.0	55.7	75.3	89.3	4.0
	SD	2.6	3.0	14.1	4.6	4.6	1.8
	RSD	28.4	17.5	25.4	6.1	5.1	44.3
Paraquat	average	5.8	75.3	75.9	78.9	93.2	16.2
	SD	1.5	11.6	10.6	20.5	1.7	3.4
	RSD	26.0	15.6	13.4	26.0	1.8	20.9

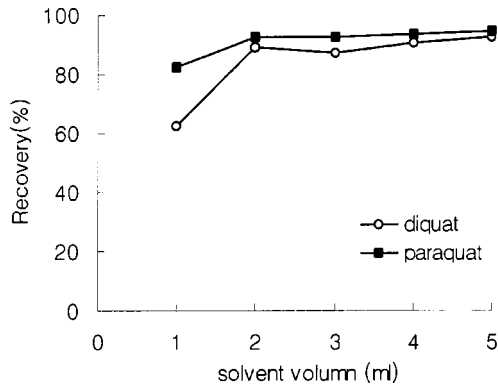


Fig. 7. Fractional extraction recoveries of diquat and paraquat on the volumn of solvent.

1.8%), diquat은 89.0%(RSD 9.7%)로 염기 조건에서 추출이 잘 되는 것을 알 수 있었다. 그러나 pH 13이 상의 강염기성에서는 오히려 추출율이 급격히 감소하고 있어 pH를 조절할 때 유의해야할 필요가 있다.

고체상에 따른 추출회수율을 비교하기 위하여 시료의 pH를 11.5로 조정하고 고체상 C<sub>8</sub>을 사용하여 실험한 결과 paraquat은 85.2%(RSD=5.0), diquat은 80.2%(RSD=8.7)의 추출회수율을 나타내고 있어 C<sub>18</sub>보다 약간 낮은 결과를 나타냈다. 이는 액체 크로마토그래피 컬럼에서의 분리와 같은 원리로 C<sub>18</sub>이 C<sub>8</sub>보다 alkyl chain의 길이가 더 길기 때문에 머무름이 커져 좋은 추출회수율을 얻은 것이라 생각된다. 마지막으로 고체상 추출법을 이용할 때 적절한 용매량을 결정할 필요가 있다. 따라서 용매의 양을 1~5 ml까지 변화시키면서 추출율을 조사한 결과를 Fig. 7에 나타내었다.

그 결과 용매의 양이 2 ml 이상부터는 90% 이상의 추출율을 나타냈는데, 추출용매의 양이 너무 많아지면 본 실험과정에서 최종 농축을 수행하는데 방해요인으로 작용할 수 있어 본 연구에서는 추출용매의 양을 2 ml로 정하였다.

이상의 결과에서 물시료의 pH를 11.5로 조정하고,

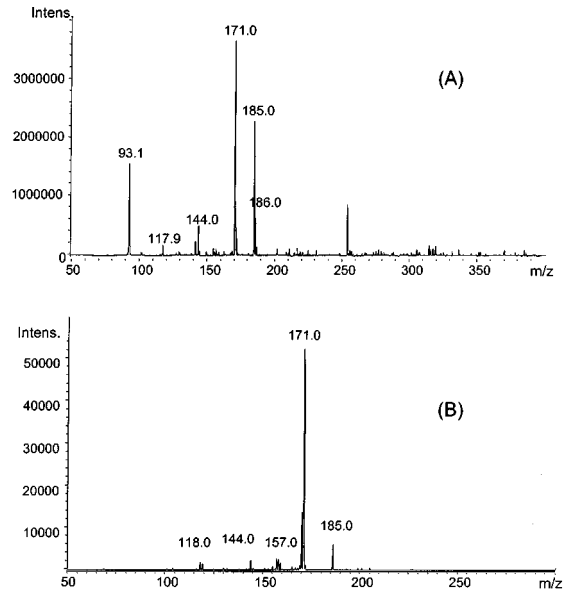


Fig. 8. ESI/MS spectrum (A) and MS/MS spectrum (B) of m/z 185 on paraquat.

C<sub>18</sub> cartridge를 사용하여 추출용매의 양을 2 ml로 추출하였을 경우 가장 좋은 실험 결과를 얻을 수 있었다.

### 3.4. 검량선 및 검출한계 조사

최적의 추출조건에서 물시료 200 ml중의 농도가 0.1~10 ng/ml가 되도록 7개의 농도를 spike하여 검량선을 작성한 결과 paraquat의 직선성은 0.997, diquat의 경우 0.999의 매우 좋은 직선성을 얻을 수 있었으며, 검출한계는 S/N 비를 3이상으로 하였을 경우 paraquat이 0.2 ng/ml, diquat은 0.1ng/ml로 결정되었다. 그 결과를 Table 4에 수록하였다.

### 3.5. ESI/MS에 의한 분석

각 물질들의 분자량 및 특성 이온들을 확인하기 위해서 양이온 질량 스펙트럼을 ESI/MS로 측정하였고, 이 스펙트럼에서 나타난 어미이온에 대한 토막이온의

Table 4. Typical calibration data and detection limits of diquat and paraquat in water.

Compounds	$\lambda_{max}$ (nm)	retention time(min)	concentration range(ng/ml)	y = ax+b			MDL (ng/ml)
				a	b	r	
paraquat	257	2.521	0.2~10.0	87.295	-39.250	0.997	0.2
diquat	308	2.909	0.1~10.0	33.596	-7.384	0.999	0.1

MDL: S/N > 3

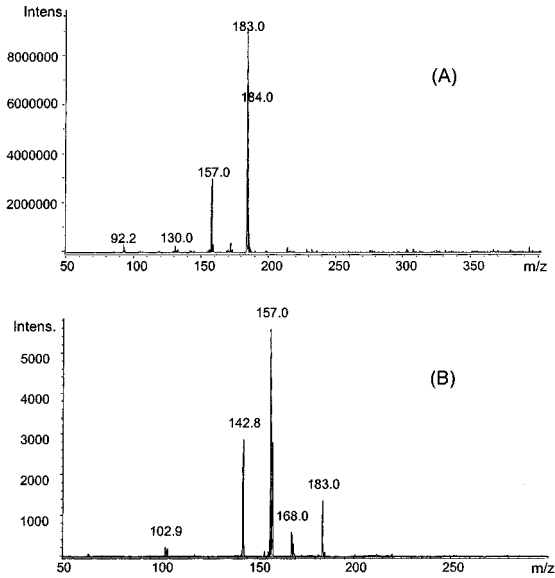


Fig. 9. ESI/MS spectrum (A) and MS/MS spectrum (B) of m/z 183 of diquat.

MS/MS 질량스펙트럼을 측정하여 그 구조를 확인하고자 하였다. Fig. 8에 paraquat의 ESI/MS 스펙트럼과 어미이온인 m/z 185(M-1 ion) 성분의 MS/MS 스펙트럼을 나타내었다.

Fig. 8에서 보면 paraquat의 분자이온인  $[\text{Cat}]^+$  m/z 186이 작게 나타났고, 분자 이온에서 수소원자가 1개 떨어진 토막이온인  $[\text{Cat}-\text{H}]^+$  m/z 185가 비교적 크게 나타났으며, methyl 이온이 떨어진  $[\text{Cat}-\text{CH}_3]^+$  m/z 171이 주 봉우리로 나타났으며, doubly charged molecular ion인  $[\text{Cat}]^{2+}$  m/z 93을 확인할 수 있었다.

Fig. 9에는 diquat의 ESI/MS 스펙트럼과 diquat의 어미이온인 m/z 183 성분의 MS/MS 스펙트럼을 나타내었다.

Fig. 9에서 살펴보면 paraquat과 마찬가지로 분자이온인  $[\text{Cat}]^+$  m/z 184가 작게 나타났고, 수소원자가 1개 떨어진 토막이온  $[\text{Cat}-\text{H}]^+$  m/z 183이 base 피크로 나타났으며, doubly charged molecular ion인  $[\text{Cat}]^{2+}$  m/z 92와  $[\text{Cat}-\text{CNH}]^+$  m/z 157이 낮은 비율로 검출되었다.<sup>23-25)</sup>

이상의 결과에서 보는 바와 같이 diquat과 paraquat 모두 분자이온( $[\text{Cat}]^+$ )이 검출되었고 수소원자가 1개 떨어진 토막 이온( $[\text{Cat}-\text{H}]^+$ )이 주 봉우리로 나타났으며 doubly charged molecular ion( $[\text{Cat}]^{2+}$ )이 낮은 비율로 검출되었다.

### 3.6. 정확도 및 정밀도

본 연구에서는 실험방법의 정확도 및 신뢰성을 검증하기 위하여 시료분석용 검량곡선과는 별도로 QC용 standard 100 µg/ml을 제조하여 물시료에 첨가하고, 위 실험방법과 동일하게 전처리한 후 HPLC로 분석, 정량하여 실제값과 비교하였다.

QC에 사용된 농도는 4 ng/ml로 결과는 Table 5와 같으며 이를 분석한 결과 모두 4~5% 이내의 오차값을 나타내어 본 실험방법으로 diquat과 paraquat의 정확한 정량분석이 가능함을 확인하였다.

### 3.7. 실제시료의 분석

2000년도 6월부터 2001년 2월에 걸쳐 전국의 35개 정수장에서 4회에 걸쳐 채취한 정수시료 140개와 4대강의 원수시료 32개 등 총 172개의 수질시료를 고체상 추출법을 이용하여 추출하고 HPLC로 분석하였다. 그 결과, 정수시료와 원수시료 모두 검출한계 이하로 검출되지 않았다.

## 4. 결 론

Diquat과 paraquat은 세계적으로 널리 쓰이는 농약이지만, 사람이나 동물에게 매우 독성이 강한 물질이다. 본 연구에서는 ion-pair reagent를 사용하여 고체상 추출법으로 추출한 후 HPLC로 정성 및 정량 분석하는 방법을 연구하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. HPLC를 이용하여 최적 분리조건을 조사한 결과 0.05M 1-heptanesulfonic acid sodium salt를 이용하고, 컬럼 온도가 40°C일 때  $R_s=3.212$ 로 좋은 분리도를 얻을 수 있었다.

Table 5. Precision and accuracy of diquat and paraquat (n=3).

Compound	Target Value (ng/ml)	Measured Value (ng/ml)		RSD (%)	Accuracy (%)
		Ave	range		
Diquat	4.00	3.76	3.58 - 3.92	4.54	93.9
Paraquat	4.00	3.83	3.79 - 3.85	0.84	95.7

2. 추출회수율을 측정한 결과 수질시료의 pH가 11.5, 추출용매 부피 2 ml로 하여 고체상 C<sub>18</sub>으로 추출할 때 paraquat 93%, diquat 89%의 좋은 추출회수율을 얻었다.

3. HPLC에서 분석된 각 물질들의 분자량 확인 및 구조분석을 위해 ESI/MS로 각 물질의 질량스펙트럼을 해석한 결과 diquat과 paraquat 모두 분자이온([Cat]<sup>+</sup>)과 수소원자가 떨어진 토막 이온([Cat-H]<sup>+</sup>)이 주 봉우리로 나타났으며 doubly charged molecular ion([Cat]<sup>2+</sup>)이 낮은 비율로 검출되었다.

4. 컬럼에 따른 감도를 비교해 보기 위해 내경이 4.6 mm와 2.1 mm인 ODS Hypersil column (100 mm × 4.6 mm ID., 5 μm particles or 100 mm × 2.1 mm ID., 5 μm particles)을 사용하여 각각을 비교한 결과, 내경이 2.1 mm인 컬럼을 사용하였을 때의 감도가 5배 이상 증가하였다.

5. Diquat과 paraquat은 독특한 UV 스펙트럼을 갖고 있기 때문에 정성 분석에 용이하며, 200 ml 시료를 사용할 경우 검출한계는 diquat 0.1 ng/ml, paraquat 0.2 ng/ml를 얻었다.

### 감사의 글

본 연구는 과기부의 국가지정연구실사업(과제번호: 2000-N-NL-01-C-045) 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 1) C. R. Worthing and S. B. Walker(Eds.), "The Pesticide Manual-A World Compendium", 8th Ed., 1987, Thornton Heath, UK: The British Crop Protection Council, 630
- 2) C. Tomlin(Ed.), "The Pesticide Manual Incorporating The Agrochemical Handbook", 10th Ed., 1995, The British Crop Protection Council and The Royal Society of Chemistry, UK.
- 3) R. Meister and C. Sine, "Farm Chemicals Handbook 96", 1996, Meister :Willoughby, OH
- 4) T. Chichila and S. Walters, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1991, 74, 961-967
- 5) Nobuyoshi Sato, Kohyu Fujii, Osafumi Yuge and Michio Morio, *J. Appl. Toxicol.* 1992, 12(5), 365-368
- 6) C. M. Bullivant, "Accidental Poisoning by Paraquat : Report of Two Cases in Man", *Br. J. Med.*, 1996, 21, 1272-1273
- 7) R. D. Fairshter and A. F. Wilson, "Paraquat Poisoning", *Am. J. Med.*, 1975, 59, 751-753
- 8) T. J. Haley, "Review of the Toxicology of Paraquat", *Clin. Toxicol.*, 1979, 14, 1-46
- 9) R. D. Kimbrough and T. B. Gaines, "Toxicity of Paraquat to Rats and Its Effect on Rat Lungs", *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1970, 17, 679-690
- 10) D. N. Heiger, "Capillary Electrophoresis", 1992, 6-39,
- 11) C. Yan, R. Daddo, H. Zhao and R. N. Zare, *Anal. Chem.*, 1995, 67, 2026
- 12) M. C. Carneior, L. Puignou and M. T. Galceran, *Analytical Chimica Acta*, 2000, 408, 263-269
- 13) M. T. Corasatini, M. C. Striongoli and G. Nistico, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, 1990, 527, 189
- 14) B. L. Worobey, *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, 1993, 76, 881
- 15) M. C. Carneiro, M. T. Galceran and L. Puignou, *J. Chromatogr. A*, 1994, 669, 217
- 16) T. M. P. Chillida and D. M. Gilvydis, *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, 1993, 76, 2323
- 17) M. Ibanez, Y. Pico and J. Manes, *J. Chromatogr. A*, 1996, 727, 245
- 18) M. A. Quilliam and P. G. Sim, *J. Chromatogr. Sci.*, 1988, 26, 160
- 19) J. C. Marr and J. B. King, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1997, 11, 479
- 20) V. Y. Taguchi, S. W. D. Jenkins, P. W. Crozier and D. T. Wang, *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 1998, 9, 830
- 21) R. Castro, E. Moyano and M. T. Galceran, *J. Chromatogr. A*, 1999, 830, 145
- 22) E. Moyano, D. E. Games and M. T. Galceran, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1996, 10, 1379
- 23) R. Castro, E. Moyano and M. T. Galceran, *J. Chromatogr. A*, 1999, 830, 145
- 24) X. Song and W. L. Budde, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 1996, 7, 981
- 25) I. Kambaphati, K. S. Roinestad, T. G. Hartman, J. D. Rosen, E. K. Fukuda, R. L. Lippincott and R. T. Rosen, *J. Chromatogr. A*, 1994, 688, 67