

## SDB-RPS 디스크 고상추출법을 이용한 정수중의 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone 분석최적화

최재원<sup>†</sup> · 문부식 · 백경희  
수돗물분석연구센터 한국수자원공사

### Development of Disk-type Extraction of 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone using SDB-RPS

Jaewon Choi<sup>†</sup>, Bushik Moon, and Kyunghee Baek

Water Analysis & Research Center, Kwater, San 6-2, Yeonchuk-dong, Daedeok-gu, Daejeon 306-711, Korea

Analytical method of 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) for water sample was optimized using SDB-RPS (or C18) disk type SPE system. High resolution mass spectrometer was applied to improve detection limits. Basic conditions for derivatization of target compounds such as derivatization agent, temperature, time were optimized. Calibration curves was performed from 0.5~200 ng/mL (500 ng/mL for internal standard) with  $R^2$  value 0.9997. In sample extractions, SDB-RPS disk showed better results than C18 disk for signal to noise ratio, detection limits and peak shape, respectively (hereafter, recoveries were improved). Results of the method validation indicated that the limits of quantification (LOQ) of tested samples ranged 0.14~0.64 ng/L.

**Key words:** halogenated mutagen, RPS disk, solid phase extraction, HRMS, water

#### 1. 서 론

수돗물의 생산과정에서 염소처리에 의한 유기염소화합물의 생성은 트리할로메탄(THM)을 비롯하여 할로초산(HAAs), 할로니트릴(HANs) 등이 대표적으로 알려져 있으며 실내생성 실험결과 등을 통해 알려진 부생성물은 약 600종을 상회한다<sup>1)</sup>. 그 중 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone는 약칭 MX로 불리며 1984년 염소계 변이원성물질의 추적과정에서 그 구조가 동정된 이후 핀란드, 미국, 일본, 중국 등의 수돗물에서 검출사례의 보고가 있었다<sup>2~6)</sup>. 이 화합물의 전구체는 원수 중에 포함된 휴믹산, 펠빅산 등으로 알려져 있으며, 처리시설 및 실내실험 등을 통해 확인되었다<sup>7)</sup>. 한편, 국내의 검출사례는 거의 없었으나 최근의 보고에 의하면 4개 정수장의 정수에서 26.3~39.4 ng/L, 수돗물에서 19.7~39.4 ng/L가 검출되었으

며, 이는 외국의 검출농도범위와 유사한 것으로 밝혀졌다<sup>8)</sup>. 현재까지 MX에 대한 국제적인 규제치는 없으나, Ames 시험결과 변이원성이 강하고, 적혈구의 산화작용, 유전독성, 세포독성, 발암성 등이 보고되고 있다<sup>9,10)</sup>. 따라서 국내에서도 정밀한 실태조사를 통한 이 화합물의 생성여부, 농도분포, 저감대책 등의 논의가 필요하다.

한편 검출사례가 적은 배경으로, 표준품의 확보가 용이하지 않고, ng/L 범위의 극미량 분석이므로 통상적인 유도체화-GC/MS 분석법으로 검출이 어려운 점이다. 검출한계의 극대화를 위하여 수질분석에서는 가장 널리 사용된 흡착 및 추출방법은 XAD수지를 이용한 대량의 시료농축 후, 다량의 용매를 사용하여 추출하는 방법이었다. 그러나 XAD수지법은 사전 세정작업, 다량농축과정 및 추출단계에서 많은 시간이 소요되고 용매의 소모량이 큰 단점을 가진다.

본 연구는 기존의 XAD수지를 이용한 20 L 추출법

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.

E-mail: choijw@kwater.or.kr

에 소요되는 노동력을 최대한 간이화하는 것을 목표로 C18 및 RPS재질의 디스크형 고상추출법을 비교하였다. 본 고상추출법은 시료장착 이후 과정은 자동화를 통한 추출방법을 적용하였으며, 시료량은 1 L로 한정하였다. 소량의 시료로 인한 감도의 부족은 고감도, 고분해능 분석장비인 고분해능 질량분석기 (high resolution mass spectrometer, HRMS)를 최적화하여 대체하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 표준물질, 내부표준물질, 추출용 디스크 및 시약

표준물질인 MX는 Wako (Tokyo, Japan), 내부표준물질인 Mucobromic acid (MBA)는 Sigma-Aldrich (MO, USA)에서 구입하였다. 고상추출시스템(solid-phase extraction, SPE)은 Horizon(CA, USA)의 SPE-DEX (47 mmID 용) 자동추출장치를 사용하였고, 고상추출 디스크는 3M (MN, USA)의 C18 및 SDB-RPS를 사용하였다. Ethyl acetate, MTBE, MeOH 등 유기용매는 J.T.Baker (NJ, USA)의 HPLC grade를 사용하였다.

### 2.2. 유도체화 시약, 온도, 시간별 최적화

MX와 내부표준물질인 MBA는 ethyl acetate에 녹여 표준원액 및 1차 희석액을 제작하여 4°C 이하의 냉장소에서 보관하였다. MX의 기기분석은 단독 주입에 의한 분석 시, 심한 꼬리끌림 현상으로 정량분석이 곤란한 구조를 가지므로 유도체화-GC/MS 방법이 가장 일반적이다. 본 연구에서는 유도체화 중 가장 일반적인 과정인 메틸화 (methylation)를 검토하였다. 메틸화는 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH 또는 MeOH 대신에 isopropanol, sec-butanol, n-butanol 등이 주로 사용되었으나, 감도와 정성분석의 용이함을 고려하여 MeOH 및 isopropanol

을 사용하여 비교하였다. 유도체화 온도는 60°C, 70°C, 80°C 및 90°C의 범위, 유도체화 시간은 30분, 1시간, 2시간으로 나누어 비교하였다.

### 2.3. 디스크 추출법 비교

본 연구에서는 디스크를 이용한 시료의 포집 및 유기용매추출 과정을 자동화한 시스템을 사용하여 MX 분석의 적용성을 검토하였다. 고상추출용 디스크는 환경분석에 범용적으로 사용되는 재질인 3M의 C18 및 SDB-RPS 를 선택하여 비교하였다.

사전에 분석 계통의 오염정도를 알아보기 위해 증류수 1L를 사용하여 두 종의 디스크를 통과한 후, 유도체화-GC/HRMS 측정을 통해 실내오염이 없음을 확인 후, 추출에 사용하였다.

디스크의 비교에는 MX 100 ng 및 MBA 500 ng 을 각각 증류수 1 L에 첨가하여 추출과정을 진행하였고 3회 반복 실험하였다. 각 디스크별 추출조건은 C18의 경우, EPA method 508.1<sup>11)</sup>, SDB-RPS는 EPA method 8141B<sup>12)</sup>를 기본조건으로 설정 후, 부분적으로 수정하여 적용하였으며, 세부 추출조건은 Table 1에 나타내었다.

### 2.4. 시료의 전처리

2.2 및 2.3에서 최적화한 분석조건을 사용하여 문헌에서 보고되는 ng/L 범위의 미량분석을 위한 적용성을 검토하기 위해 8개의 증류수에 4.6~83 ng/L가 되도록 MX 및 내부표준물질을 첨가, 최적화한 조건을 이용한 1L 시료의 디스크 추출-유도체화-GC/HRMS측정을 통해 분석법의 검출 및 정량한계를 산출하여 적용성을 검토하였고, 기존의 대량시료의 XAD추출-유도체화-GC/MS 측정체계와 비교하였다.

Table 1. Extraction conditions for automated SPE system

Extraction Procedure	EPA method 508.1	EPA method 8141B
Conditioning step 1	Ethyl Acetate	Acetone
Conditioning step 2	Methanol	Methanol
Conditioning step 3	Reagent Water	Reagent Water
	Filtration (flow rate : 60~80 mL/min)	
	Air dry filtered disk	
Extraction step 1	Ethyl Acetate	Acetone
Extraction step 2	Methylene Chloride	MTBE
Extraction step 3	Methylene Chloride	MTBE
Extraction step 4	Methylene Chloride	MTBE

## 2.5. 기기분석

최종 시료는 가스크로마토그래프/고분해능 질량분석기 (GC/HRMS)를 이용하여 정성 정량을 수행하였으며 사용한 기종은 TraceGC-Finnigan MAT95XP (Thermo) 이었다. GC의 주입구 및 이온소스의 온도는 분해를 최소화하기 위해 비교적 낮은 범위의 220~230 °C로 설정하였고, 승온조건 역시 낮은 온도에서 시작하여 MX 및 MBA의 용출시간을 지난 이후에 30°C/min 으로 300°C까지 상승시켜 컬럼 내부의 잔여 성분을 제거하는 조건을 설정하였으며, 1회 주입 시 20분에 측정이 종료되도록 설정하였다. 선택이온은 MX의 구조에서 유도체화 부분이 떨어져 나간 동위원소 질량 중 가장 크기가 센 두 종인 m/z 199, m/z 201에 대한 정밀질량수를 선택하였고, MBA에 대해서는 m/z 239, 241의 정밀질량수를 설정하였다. 질량교정용 물질은 PFK (perfluorokerosene)을 사용, 잠금질량(lock mass) 및 교정질량 (calibration mass)은 m/z 192.9883 및 242.9851 로 설정하였으며 분해능은 10,000 (10% valley)에서 측정하였다 (Table 2). 기기분석 후, 검출된 선택이온은 면적비, 체류시간, 질량교정용 표준물질의 상태 등을 확인하였다. 시료의 측정에서 산출한 분석법의 검출한계는 신호 대 잡음비 (S/N)가 3 이상을 기준으로 하였으며, 내부표준법으로 정량하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 유도체화 조건의 최적화

유도체화 시약의 비교를 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/isopropanol과 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH의 비교 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 전자인 isopropanol을 사용하는 것이 유도체화 효율에서 MeOH 보다 10.6배 좋은 것으로 나타났다. 한편, sec-butanol, n-butanol을 유도체화 시약으로 사용하는 경우, 복수의 피크 출현 또는 피크 분리도 저하 등의 단점이 있는 것으로 보고되어<sup>13-15)</sup>, 전자충격이온화 방식(EI)을 채용한 GC/MS-SIM방법에서는 isopropanol이 가장 적합한 것으로 판단되었다. 다음으로 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/isopropanol을 사용하여 60~90°C 사이의 온도

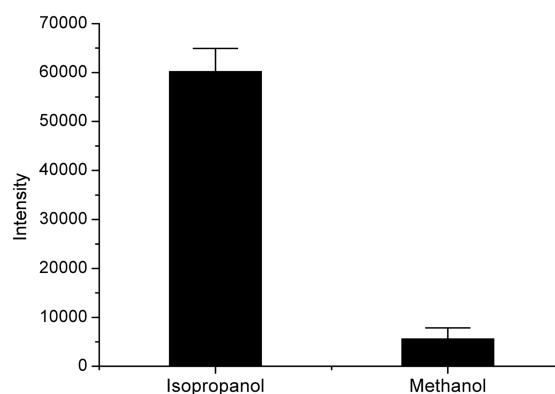


Fig. 1. Derivatization efficiency between reagent.

Table 2. HRGC-HRMS conditions

Condition for HRGC (Trace GC2000, Thermo, Germany)	
GC capillary column DB-1, 3 m × 0.25 mm I.d., 0.2 mm film thickness	
Ramp of oven temp. Injection port temp.: (220°C) 40°C(2 min)-20°C/min-120°C-6°C/min-175°C-30°C/min-300°C(0.7 min)	
Injection mode : Splitless mode	
Carrier gas : high-purity helium, above 99.9999%	
Gas flow mode: constant flow (0.7 mL/min)	
Condition for HRMS (Finnigan MAT95XP, Thermo, Germany)	
Ionizing current: 0.5 mA	Accelerating voltage: 5.0 kV
Ionizing energy: 42 eV	Ion multiplier voltage: 2.3 kV
Ion source temp.: 230°C	Resolution: R>10,000 (10% valley)
Measurement of mass: selected ion monitor(SIM) using perfluorokerosene(PFK)	
Selected ion : MX m/z 198.9883, 200.9091 MBA m/z 238.8343, 240.8323	
Lock mass : m/z 192.9883	
Calibration mass : m/z 242.9851	

범위(Fig. 2) 및 유도체화 시간별 (30분, 1시간, 2시간) 로 검토한 결과, 유의하게 좋은 조건은 관찰되지 않았으며, 이후의 검량선용 표준물질 및 분석시료의 유도체화 조건은 90°C에서 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/isopropanol로 1시간 반응하는 것으로 결정하였다.

한편, 검량선은 0.5~200 ng/mL (내부표준물질은 각 500 ng/mL)로 설정하고 각 농도별로 상기의 최적화한 조건에 따라 유도체화, 중화, 탈수 및 핵산추출과정을 거쳐 1mL를 주입하였다. 검량선의 상관계수는 R<sup>2</sup>=0.9997의 직선성을 나타내었으며 (Fig. 3), 최저농도의 표준물질 주입 시, HRMS의 장비검출한계는 MX, MBA가 각각 0.2, 0.07 pg이었다. 따라서 1L의 시료 추출 시, 정수 및 수돗물중의 극미량 분석은 ng/L~pg/

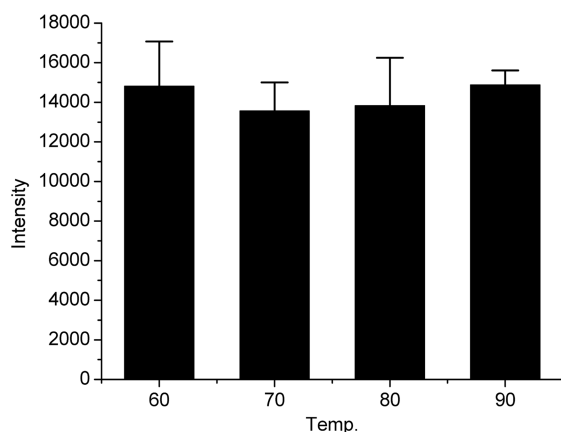


Fig. 2. Temperature dependent derivatization.

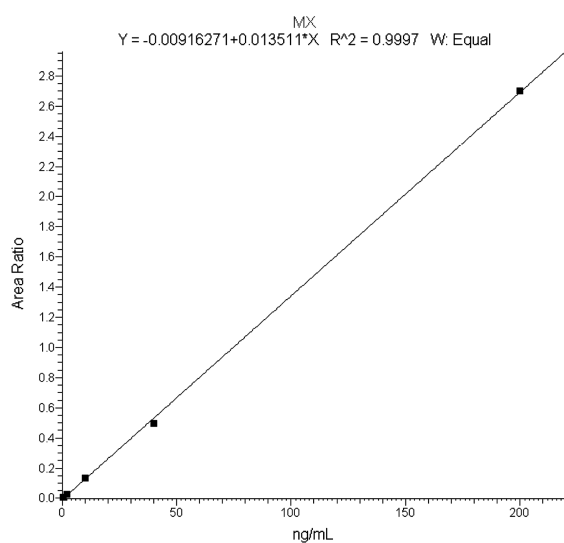


Fig. 3. Calibration curves (0.5~200 ng/mL).

L의 범위에서 달성 가능할 것으로 예상되었다.

### 3.2. 디스크 종류별 고상추출법의 비교

SDB-RPS 디스크는 스티렌디비닐벤젠을 기본으로 하며, 약친수성을 띤 화합물 또는 미세한 양이온성 물질의 역상추출에 사용하는 것을 목적으로 사용되는 재질인 동시에 대상화합물의 소수성 여부에 따라 기존의 C18을 대체할 수 있는 재질로 알려져 있다<sup>16)</sup>. 여기서는 중성 pH에서 열린 고리로 존재하며, 산성조건에서 닫힌 구조를 가지는 특성을 갖는 furanone구조를 지닌 MX에 대해 기존의 C18와 유사한 특성을 가지면서 상대적으로 약한 흡착특성을 가질 것으로 예상되는 SDB-RPS와 C18의 MX에 대한 추출 적용성을 비교하였다.

증류수 1 L를 각 3개씩 준비하여, MX 100 ng 및 MBA 500 ng을 각각 첨가하고 pH 2 이하로 산성화하여 Table 1과 같은 조건으로 자동화 고상추출장치를 이용하여 시료를 여과, 건조 및 추출 후, 3.1에서 최적화한 유도체화-액추출을 진행하여 GC/HRMS에서 분석하였다. 분석결과, SDB-RPS의 추출조건이 C18에 비하여 MX 및 MBA에 대해 신호 대 잡음비 (S/N)가 2~3배 정도 상승하였고, 크로마토그램의 형상도 우수한 것으로 나타나, 극미량의 MX 분석에 적합한 것으로 판단하였다 (Fig. 4~5). 그러나, 초기의 실험에서 평균 회수율은 SDB-RPS에서 50% (정밀도 3.3%), C18에서 66% (정밀도 6.4%)로 나타나, 후자의 경우가 16% 정도 높은 것으로 나타났으며, 이는 내부표준물질의 피크 세기의 증감이 유사하게 거동하거나 상대적으로 C18에서의 MX 대 MBA의 비율이 감소한 것에

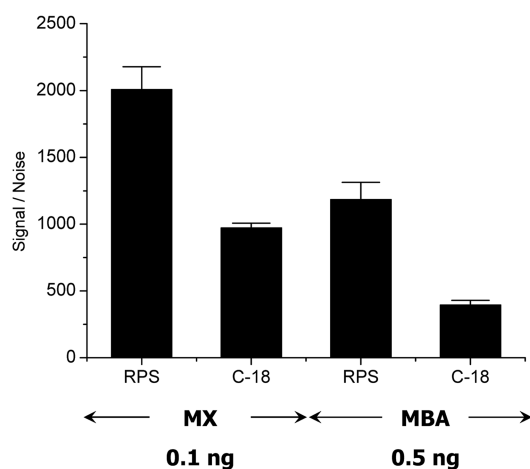


Fig. 4. Signal to noise ratio between SDB-RPS and C18 disk.

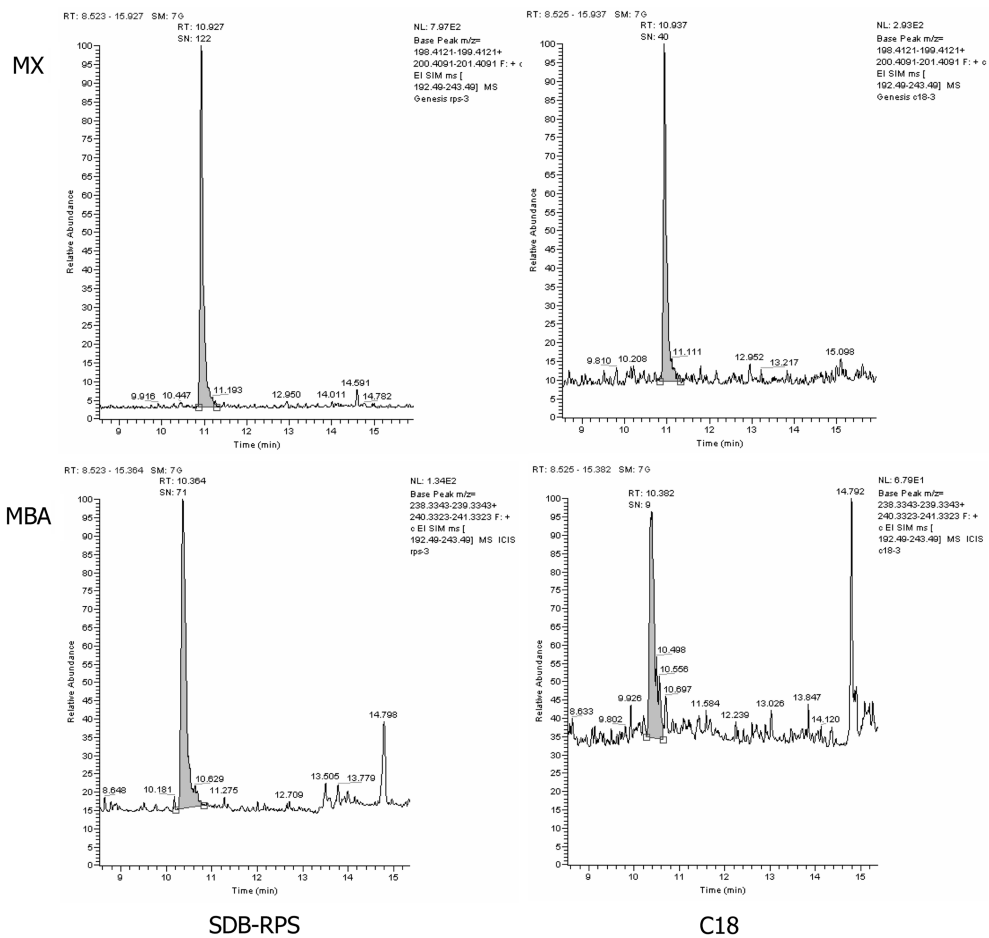


Fig. 5. Peak shape between SDB-RPS and C18 disk

기인하였다. 이후, SDB-RPS의 용출 용매조건을 acetone-ethyl acetate로 조정함에 따라 회수율은 75~86%로 향상되었다. 최종적으로 본 연구는 1 L의 시료에 pH 2 이하로 산성화한 후, SDB-RPS디스크에 60~80 mL/min의 유속으로 고상추출, 3단계 용매추출을 거쳐, 내부표준물질과 함께 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/isopropanol에 의한 유도체화, hexan에 의한 액액추출 후, GC/HRMS에서 정성,정량하는 방법을 최적화하였으며, 분석의 전과정은 Fig. 6와 같이 요약하였다. 기존의 MX 분석은 20 L 이상 대량시료의 XAD흡착과 다량의 유기용매 추출 및 복잡한 전처리 과정을 거쳐 한 시료당 약 150시간 정도가 소요되는 방법이었다<sup>6,8)</sup>. 본 연구에서 최적화한 조건을 사용 시, 한 시료당 3시간 이내로 분석이 가능하였으며, 소량의 용매사용, HRMS 측정에 의한 정확도 향상 등 장점을 가진 것으로 판단하였다.

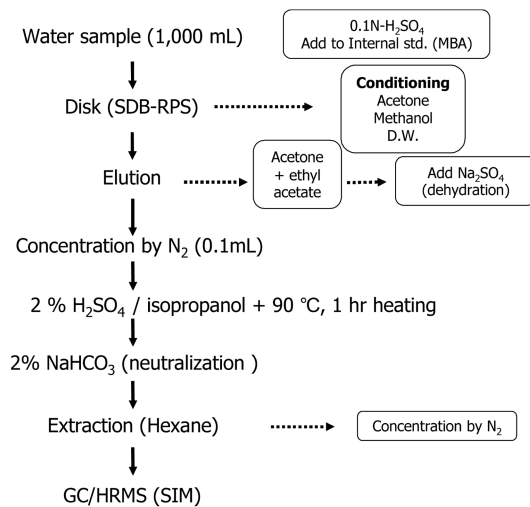


Fig. 6. Schematic diagram for the sample preparation procedure

Table 3. LOQ of the samples by SPE-GC/HRMS

Sample ID	Spiking vol. (ng)	Extraction	Derivatization	Instrumental analysis	LOQ of the sample
Test-1	4.6				0.14
Test-2	15		2% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /		0.31
Test-3	57		isopropanol		0.62
Test-4	16	SDB-RPS	↓	GC/HRMS with	0.63
Test-5	36	Extraction	LLE	10,000 resolving power	0.30
Test-6	83	(30min)	↓		0.64
Test-7	20		N <sub>2</sub> conc.		0.38
Test-8	13				0.16

### 3.3. 저농도 첨가, 회수실험 및 분석법의 정량한계

본 연구에서 검토한 분석방법을 적용하여 타 연구결과에서 보고되는 ng/L 범위의 미량분석을 위한 적용성을 검토하기 위해 8개의 증류수에 4.6~83 ng/L가 되도록 MX 및 일정량의 내부표준물질을 첨가 후, SDB-RPS 추출-유도체화-GC/HRMS 측정을 통해 분석법의 정량한계를 산출하여 Table 3에 나타내었다. 검출한계 값에 3을 곱한 각 시료의 정량한계는 0.14~0.64 ng/L이었으며, 정확도는 상대표준편차 6% 미만이었다. 한편, 기존 사례에서 보고된 정량한계<sup>8)</sup>가 5.0 ng/L임을 감안하면, 본 연구에서 제시한 방법은 대용량의 시료를 사용하지 않더라도 충분히 극미량의 분석이 가능한 것으로 판단되었다.

## 4. 결 론

수처리 공정에서 잔류염소와의 반응으로 극미량 생성되며, 변이원성을 일으키는 것으로 알려진 3-Chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone(MX)에 대해 고상추출법을 이용한 전처리의 간이화 및 고분해능 질량분석기(HRMS)를 사용한 분석법의 검토결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고감도 분석을 위한 전자충격이온화에 의한 GC/MS-SIM 측정조건에서 MX의 최적 유도체화 시약은 isopropanol이 최적인 것으로 판단되었으며, 표준물질 및 시료의 전처리에 사용한 유도체화 조건은 90°C 오븐에서 2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/isopropanol로 1시간 반응하는 것으로 결정하였다.

2. 검량선을 0.5~200 ng/mL (MBA는 각 500 ng/mL) 주입한 결과, 상관계수는 R<sup>2</sup>=0.9997의 양호한 직선성을 보였으며, HRMS의 장비검출한계는 MX, MBA가 각각 0.2, 0.07 pg으로 1L의 시료 추출 시, 정수 및 수돗물중의 극미량 분석은 ng/L~pg/L의 범위

에서 달성 가능한 것으로 산출되었다.

3. 시료의 전처리 단계에서 주요 디스크로 사용되는 제품의 비교결과, SDB-RPS는 C18에 비하여 MX 및 MBA에 대해 신호 대 잡음비(S/N)가 2~3배 정도 높은 편이고, 크로마토그램의 형상도 우수한 것으로 나타나, 극미량의 MX 분석에 적합한 것으로 판단하였다. 또한 추출용매의 개선으로 회수율이 75~86%로 향상하였다.

4. 기존의 MX 분석은 20L이상을 XAD에 흡착 후, 다량의 유기용매 추출, 복잡한 전처리 과정을 거쳐 시료당 약 150시간 정도가 소요되는 방법이었으나, 본 연구에서 최적화된 조건을 사용하면, 시료당 3시간 이내로 분석이 가능하며, 용매사용 저감화, HRMS 측정에 의한 정확도 향상, 고감도 분석 등의 장점을 가진 것으로 판단하였다.

5. 국내외의 검출사례에서 보고되는 ng/L 범위의 미량분석을 위한 적용성을 검토하기 위해 8개의 증류수에 극미량의 표준물질 및 내부표준물질을 첨가하여 분석한 결과, 시료의 정량한계는 0.14~0.64 ng/L이었으며, 정확도는 상대표준편차 6% 미만이었다. 따라서 기존의 XAD-GC/MS 방법에 비해 시료의 정량한계는 8~36배 정도 향상되었다.

## 참고문헌

1. Y.T. Woo, D. Lai, J.L. McLain, M.K. Manibusan and V. Dellarco, *Environ. Health Perspect.* **2002**, 110 (Suppl.1), 75-87.
2. B. Holmbom, R.H. Voss, R.D. Mortimer and A. Wong, *Environ. Sci. Technol.* **1984**, 18, 333-337.
3. L. Kronberg and T. Vartiainen, *Mutat. Res.* **1988**, 206, 177-182.
4. J.M. Wright, J. Schwartz, T. Vartiainen, J. Maki-Paakkanen, L. Altshul, J.J. Harrington and D.W.

- Dockery, *Environ. Health Perspect.* **2002**, 110, 157-164.
5. X. Zou, X. Xu, J. Zhang and Z. Zhu, *Chemosphere* **1995**, 30, 2219-2225.
6. N. Suzuki and J. Nakanishi, *Chemosphere* **1990**, 21(3), 387-392.
7. N. Kinae, J. Tanaka, N., Kamio, C. Sugiyama, M. Furugori, K. Shimoi and K. Tanji, *Water Sci. Technol.* **2000**, 42, 117-123.
8. 유은아, 원정인, *Anal. Sci. & Tech.* **2006**, 19(4), 290-300.
9. R.T. LaLonde, L. Bu, A. Henwood, J. Fiumano and L. Xhang, *Chem. Res. Toxicol.* **1997**, 10, 1427-1436.
10. J.R. Meier, R.B. Knohl, W.E. Coleman, H.P. Ringhand, J.W. Munch, W.H. Kaylor, R.P. Streicher and F.C. Kopfler, *Mutat. Res.* **1987**, 189, 363-373.
11. U.S. EPA Method 508.1, Determination of chlorinated pesticides, herbicides, and organohalides by liquid-solid extraction and electron capture gas chromatography, **1995**, 508.1 1-36
12. U.S. EPA Method 8141B(12), Organophosphorus compounds by gas chromatography, **1998**, 8141B 1-41.
13. 박도련, 석사학위논문, 성신여자대학교, 2001.
14. J. Nawrocki, P. Andrzejewski, H. Jele and E. Wasowicz, *J. Chromatogr. A* **1997**, 790, 242-247.
15. J. Nawrocki, P. Andrzejewski, H. Jele and E. Wasowicz, *Water Chromatogr. A* **1997**, 790, 242-247.
16. <http://solutions.3m.com/>