

## 기체크로마토그래피/질량분석기에 의한 저질 및 토양시료 중 벤조페논의 분석법 연구

권 오 승, 김 은 영, 류 재 천\*

한국과학기술연구원 생체대사연구센터 독성연구실

### Analysis of Benzophenone in Sediment and Soil by Gas Chromatography/Mass Spectrometry

Oh-Seung Kwon, Eun-Young Kim 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

#### ABSTRACT

Analytical method of benzophenone (BP) in sediment and soil was developed by gas chromatography/mass selective detector/selected ion monitoring (GC/MSD/SIM). The ultrasonic extraction of US EPA (method 3550B) method and liquid-liquid extraction for sediment and soil samples were used for the analysis of BP from sediment and soil. BP was extracted with *n*-hexane. Organic layer was washed with 5% sodium chloride solution. 1~2 µl of the concentrated solution of organic layer was applied to GC/MSD. The retention time of BP peak was 11.10 min. Recovery (%) of BP by ultrasonication from sediment and soil samples was 96.0~100.6% and 40.0~83.0%, respectively. Recovery of BP by liquid-liquid extraction was 51~59% in soil samples. The detection limit of BP in sediment and soil samples were determined to 0.1 ng/g.

**Key words :** Benzophenone (BP), Gas chromatography/mass selective detector/selected ion monitoring (GC/MSD/SIM), Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS), Analysis, Soil, Sediment

#### 서 론

Benzophenone (BP)은 세계야생보호기금과 일본 국립의약품 식품위생연구소 등에 의하여 내분비계 장애물질로 분류되어 있다. 벤조페논은 비누 등의 방향보조제 또는 의약품이나 살충제 제조의 원료로 사용되고 있다.<sup>1-3)</sup> BP의 유도체는 주로 UV 파장 흡수제로서 30년 동안이나 산업 및 의약

분야에서 광범위하게 사용되어 오고 있다.<sup>4)</sup> 따라서 모발염색제, 샴푸, 세제, 화장품, sun screen 로션 및 hair spray 등의 일상 생활에서 만나는 수 많은 소비재 상품에서 소비자가 BP에 노출될 가능성이 매우 높다. BP 유도체의 분석 방법으로는 주로 high performance liquid chromatography/UV,<sup>5,6)</sup> gas chromatography/electron-capture detector<sup>7)</sup> 및 gas chromatography/mass spectroscopy<sup>8)</sup>에 의한 분석 등이 보고되고 있다.

본 실험실에서는 수질시료에서의 BP의 분석법을 이미 보고한 바가 있고,<sup>9)</sup> 이와 관련하여 BP가

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-2-958-5070, E-mail: ryujc@kist.re.kr

우리나라의 저질 및 토양 중의 오염여부를 확인 할 목적으로 추출 방법 및 gas chromatography/mass selective detector (GC/MSD)를 이용한 기기분석 방법을 확립하기 위하여 이 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시약 및 기구

저질 및 토양시료 중의 benzophenone (BP)의 분석에 사용된 시약은 *n*-hexane (분석용, J. T. Baker), 염화나트륨 (분석용, Mallinckrodt), 무수황산나트륨 (분석용, J.T. Baker), BP (Sigma), nitrobenzene-*d*<sub>5</sub> (Supelco) 등을 구입하여 사용하였다. 염화나트륨은 사용하기 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 신양 산소로부터 구입하였으며 그 외 모든 시약은 분석용으로 사용하였다.

사용된 기구 및 장치는 둥근바닥플라스크 (250 ml), 원심분리용 초자 시험관 (15 ml), 초자 메스실린더 등이었으며 이들은 사용하기 전 아세톤 및 *n*-헥산으로 세정하고 건조하였다. 그 외 감압 농축기 (Rotavapor RE 111, Buchi, Germany)와 티탄늄 팁이 장착된 초음파 분쇄기 (550 Sonic Dismembrator, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA, USA) 등이 사용되었다.

### 2. 분석기기 및 분석기기 조건

GC/MSD (HP5890 GC/HP5970 MSD), autosampler (HP7673) 및 MS Chemstation (HP)을 사용하였고 selected ion monitoring (SIM) 방법으로 BP를 분석하였다. GC 주입구의 온도는 250°C, 주입 방법은 splitless (0.5분 퍼지)이었고, 사용된 칼럼은 50% phenylmethylsiloxane 화학결합형 (0.2 mm, I.D. × 25 m, L. × 0.31 μm, F.T.)이었으며, GC oven의 온도는 처음 50°C에서 1분간 머무르고, 분당 20°C씩 증가시켜 최종온도 300°C에 도달한 후 7분간 머무르게 하였다. 캐리어가스의 유속은 0.8 ml/min (linear velocity 40 cm/sec)이었다. MSD (mass selective detector)의 이온화법은 electron impact (EI) mode

를 사용하였고, 이온화 에너지는 70 eV로 고정하였으며, transfer line의 온도는 300°C로 하였다. BP는 *m/z* 105 및 *m/z* 182를 선택하였고 내부표준물질인 nitrobenzene-*d*<sub>5</sub>는 *m/z* 128을 사용하여 정량하였다.

### 3. 표준용액의 조제

BP의 표준원액은 표준물질 100 mg을 정확히 취하여 별도의 100 ml의 메스플라스크에 넣고 *n*-hexane에 녹인 후 정확히 100 ml로 하여 1,000 μg/ml로 하였다. 이 표준원액 10 ml를 100 ml의 메스플라스크에 정확히 취하여, *n*-hexane을 넣어 100 ml로 하고 이 용액을 단계적으로 희석하여 10, 1 및 0.1 μg/ml의 용액으로 제조하였다. 또한 내부표준물질인 nitrobenzene-*d*<sub>5</sub> 용액 (2 mg/ml in methylene chloride)은 10 μg/ml으로 희석하여 사용하였다.

### 4. 저질 및 토양 중 BP의 전처리 방법

#### 1) 초음파 분쇄기를 이용한 추출법<sup>10)</sup>

수분 함량을 보정한 저질 및 토양 각 20 g씩을 각각 250 ml의 둥근바닥플라스크에 취하고 무수황산나트륨 20 g씩을 가하여 입자를 고루 분산시킨 후 내부표준물질을 가하고 혼합 후, *n*-hexane을 50 ml씩 가하여 1분간 혼합하고 티탄늄팁이 장착된 초음파 분쇄기로 3분간 sonication 시키는 방법을 사용하여 2회 반복 추출하고 *n*-hexane층을 취하여 회전식 감압농축기 (수욕온도 45°C 이하)를 사용하여 약 0.2 ml의 부피까지 농축하였다. 각 측정용 시료액 1~2 μl를 GC/MSD에 주입하였다.

#### 2) Liquid-liquid extraction

40 ml의 원심분리 tube에 수분함량을 보정한 토양 10 g을 가하여 동일한 양의 무수황산나트륨과 혼합하였다. 여기에 내부표준물질로 benzophenone-*d*<sub>5</sub> (12.5 μg/ml × 20 μl)을 가하고 잘 혼합한 후, methanol 20 ml를 넣어 shaker (Edmund Buchler 7400, Tubingen, Germany)에서 20분동안 진탕 추출하고 1,600 g에서 15분동안 원심분리 (RT 6000B, Sorvall Inc., New town, CT, USA)를 행하였다. 상층인 methanol 용액을 100 ml의 둥근 플라스크에 옮기고 3~5 ml의 부피까지 증류기에서 증류한

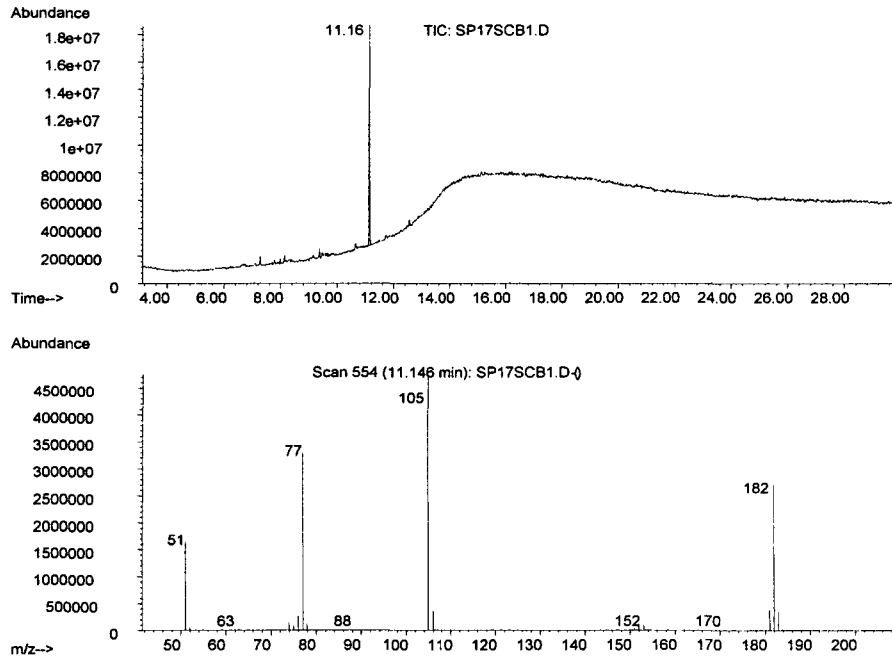


Fig. 1. Scan mass spectra of benzophenone.

후, 이 용액을 15 ml의 원심분리 tube에 옮겨 담아 1 ml까지 농축하고, 5% NaCl 용액 1 ml와 *n*-hexane 5 ml를 가하여 shaker에서 진탕한 후, 원심분리를 행하였다. 이 원심분리 tube를 methanol/acetone mixture-bathed deep freezer ( $-30^{\circ}\text{C}$ )에 넣어 상층액을 분리하여 증류기에서 농축하고 이 용액 1  $\mu\text{l}$ 를 GC/MSD에 주입하여 분석하였다.

##### 5. 검량선 작성용 표준액의 조제

BP의 농도에 따른 검량선을 작성하기 위하여 저질 및 토양 각 20 g씩 넣은 250 ml의 둥근바닥 플라스크에 0, 5, 10, 25, 50, 100 및 250 ng의 BP 표준물질을 가하고 각 플라스크에 내부표준물질로 nitrobenzene- $d_5$ 를 넣은 다음, 위의 전처리 방법에 의하여 추출하고, 이 용액 1~2  $\mu\text{l}$ 씩을 취하여 GC/MSD에 주입하고 얻어진 BP ( $m/z$  182) 크로마토그램의 피크 면적과 nitrobenzene- $d_5$  ( $m/z$  128) 크로마토그램 피크 면적의 비로부터 검량선을 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. GC/MSD/SIM 방법에 의한 BP 분석 방법의 확립

Benzophenone (BP)의 scan spectrum은 Fig. 1에 나타내었다. BP의 분자이온은  $m/z$  182이었고, BP의 base peak는  $m/z$  105로 관찰되었다. SIM 방법으로 BP의 정량분석에는  $m/z$  182, 내부표준물질인 nitrobenzene- $d_5$ 의  $m/z$  128 이온이 선택되었다(Fig. 2). 이 두 개의 이온은 모두 BP 및 nitrobenzene- $d_5$ 의 분자이온에 해당하는 것으로 다른 방해물질로부터 쉽게 확인할 수 있었다.

### 2. BP 분석법의 검출한계

BP 분석법의 기기의 검출한계를 계산하기 위한 SIM ion chromatogram을 Fig. 3에 제시하였다. 2.5 ng/ml 농도의 BP를 함유하는 용액 2  $\mu\text{l}$ (시료 주입량)을 주입하여 얻은 chromatogram으로부터 계산된 BP의 signal to noise의 비율은 약 7.6이었다.

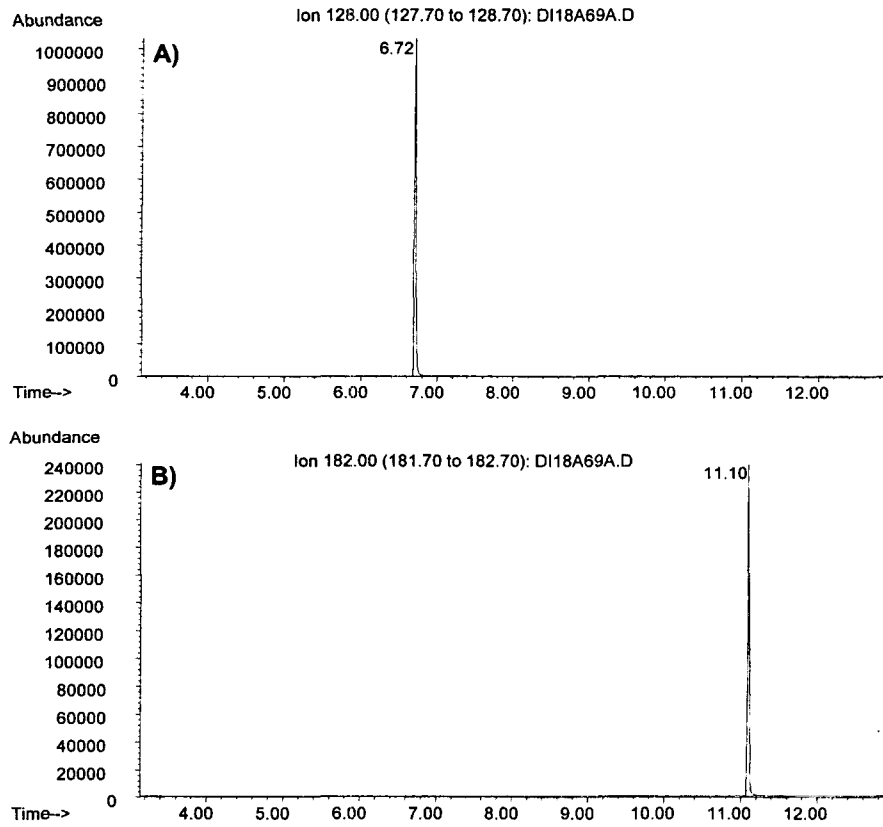


Fig. 2. SIM ion chromatograms of nitrobenzene- $d_5$  (A;  $m/z$  128) and benzophenone (B;  $m/z$  182).

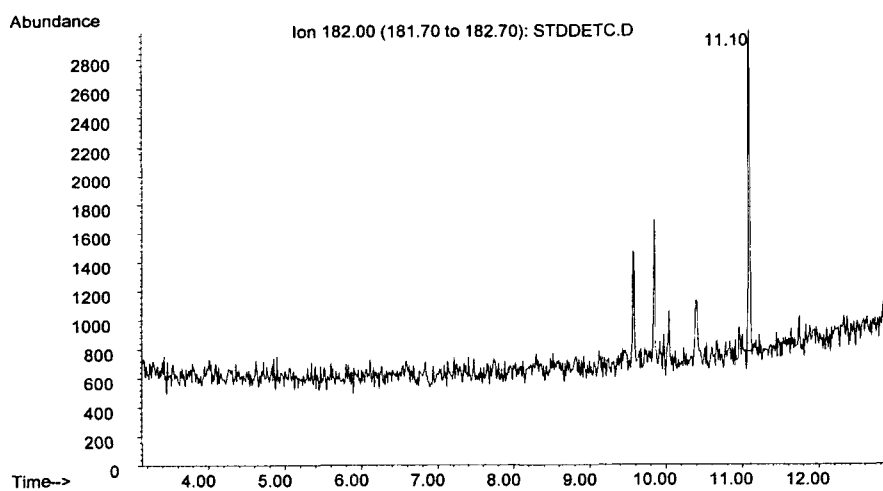


Fig. 3. Detection limits of benzophenone ( $S/N$  ratio = 7.6) in GC/MSD. 2  $\mu$ l of 2.5 ng/ml benzophenone standard was injected to a GC/MSD. The detection limits were measured 5 pg for BP as injected amount to the instrument.

### 3. BP의 검량선 및 분석

저질 및 토양시료 20 g 중에 BP 표준물질을 각각 0, 5, 10, 25, 50, 100 및 250 ng씩 가하고 이를 위의 추출방법에 따라 추출한 후 GC/MSD에 주

입하여 얻어진 검량선의 상관계수는 저질시료에서 BP에 대하여 0.9965이었고, 직선의 y절편은 각각 0.00532이었으며 기울기는 0.00457로 이 농도 범위 안에서 양호한 직선성을 보여주었다 (Fig. 4A). 토양시료에서의 검량선 작성 결과 상관계수

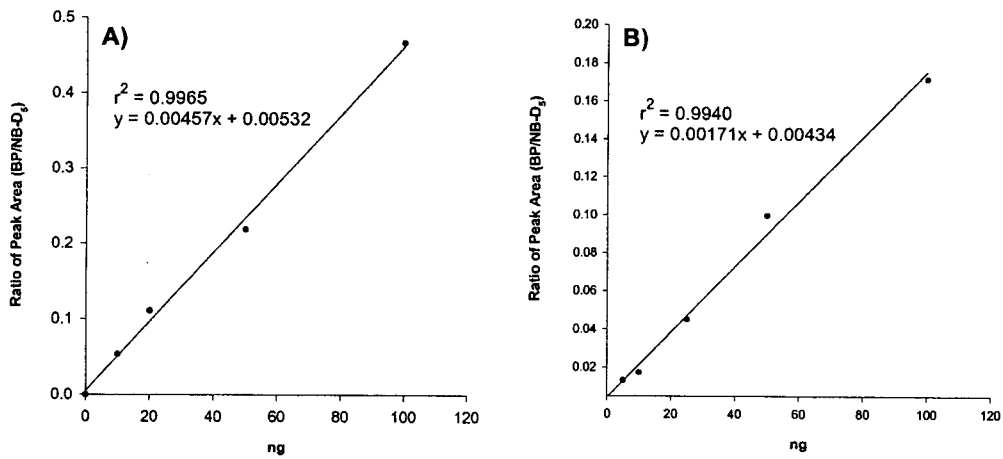


Fig. 4. Calibration curves of benzophenone obtained from extraction in sediment and soil of spiked standard. A: benzophenone in sediment, B: benzophenone in soil.

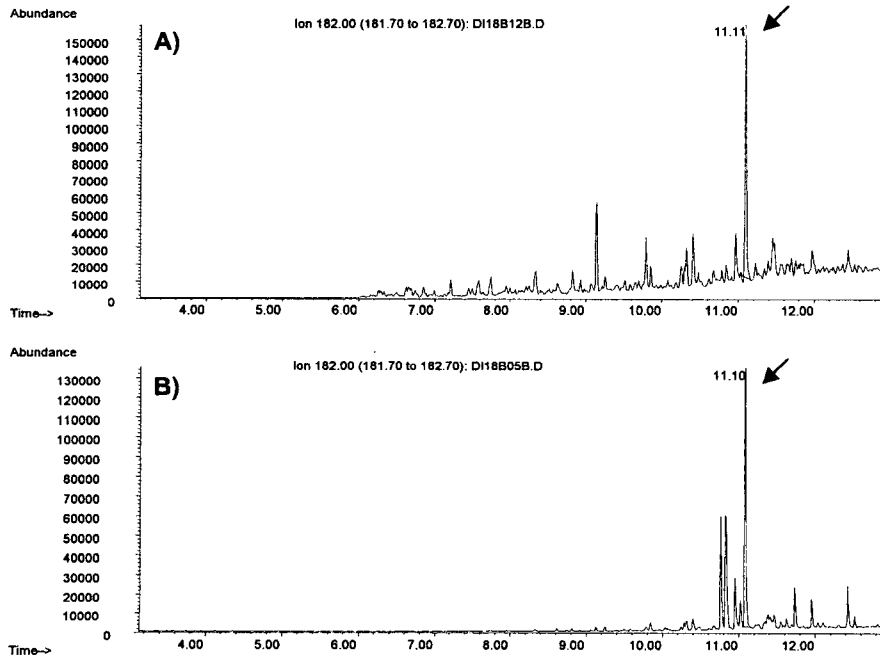


Fig. 5. SIM chromatograms of authentic 50 ng of benzophenone standard spiked to sediment (A) and soil (B).

는 BP에 대하여 0.9940으로 이 농도 범위 안에서 양호한 직선성을 보여주었다 (Fig. 4B).

Fig. 5는 위의 검량선 작성용 시료 중 2.5 ng/g (50 ng/20 g soil or sediment) 시료의 분석 결과로 얻어진 ion chromatogram을 나타낸 것이다. 저질 및 토양에서 BP의 retention time은 11.10분으로 확인되었다.

#### 4. BP의 회수율

저질 및 토양시료 20 g 중에 첨가된 BP를 *n*-hexane으로 추출한 후, GC/MSD로 분석하여 얻은 농도에 따른 표준물질의 평균 회수율을 Table 1 및 Table 2에 나타내었다. 초음파 분쇄기를 사용하여 추출하였을 때, 저질 및 토양으로부터 BP의 회수율은 96.0~100.6% 및 40.0~83.0%였다 (Table 1). 또 Table 2에 나타낸 것과 같이 Liquid-liquid extraction에 의한 토양시료에서의 회수율은 51~59%로 초음파 분쇄기에 의한 방법과 큰 차이를 나타내지 않았다. 저질 및 토양시료에서, BP에 대한 검출한계는 모두 0.1 ng/g이었다.

**Table 1.** Recovery of benzophenone (BP) extracted from 20 g sediment and soil samples by ultra-sonication

| Amount added (ng) | Sediment          |              | Soil              |              |
|-------------------|-------------------|--------------|-------------------|--------------|
|                   | Amount found (ng) | Recovery (%) | Amount found (ng) | Recovery (%) |
| 5                 | 4.8               | 96.0         | —                 | —            |
| 10                | —                 | —            | 8.3               | 83.0         |
| 50                | 49.6              | 99.2         | 25.2              | 50.4         |
| 100               | 100.6             | 100.6        | 40.0              | 40.0         |

Each represents mean of duplicate tubes

**Table 2.** Recovery of benzophenone (BP) extracted from 10 g soil samples by liquid-liquid extraction

| Amount added (ng) | Soil              |              |        |
|-------------------|-------------------|--------------|--------|
|                   | Amount found (ng) | Recovery (%) | CV (%) |
| 50                | 29.3±1.0          | 58.7±2.0     | 3.3    |
| 100               | 51.2±2.1          | 51.2±2.1     | 4.0    |

Each represents mean±S.E. of 3 experiments

## 결 론

저질 및 토양 중 benzophenone (BP)의 분석은 저질 및 토양 시료 각 10~20 g씩을 취하여 동량의 무수황산나트륨을 가하고 초음파 분쇄기와 liquid-liquid 추출법을 사용하여 *n*-hexane으로 추출하고 이를 40°C 이하에서 증발 농축시켜 GC/MSD로 분석하는 방법을 개발하였다. 이 방법에 의한 저질 및 토양에서의 BP 회수율은 초음파분쇄기에 의한 추출법을 사용하였을 때는 96.0~100.6% 및 40.0~83.0%이었고, liquid-liquid extraction 방법에 의해서는 토양에서 51~59%이었다. 이 방법에 의한 저질 및 토양 중 BP의 검출한계는 0.1 ng/g으로 이 분석법은 토양 및 저질에서 BP의 분석에 적합하다고 판단된다.

## 참 고 문 헌

1. Salvucci ME, Rajagopalan K, Sievert G, Haley BE, Watt DS. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268 : 14239-14244.
2. Krainev AK, Viner RI, Bigelow DJ. *Free Radic. Biol. Med.*, 1997; 23 : 1009-1020.
3. Wang J, Bauman S, Colman RF. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275 : 5493-5503.
4. Castle L, Offen CP, Baxter MJ, Gilbert J. *Food. Addit. Contam.*, 1997; 14 : 35-44.
5. Potard G, Laugel C, Baillet A, Schaefer H, and Marty JP. *Int. J. Pharm.*, 1999; 189(2) : 249-260.
6. Vanquero V, Rodriguez C, Coiffard C, Coiffard LJ and Y De Roeck-Holtzhauer. *J. Chromatogr.*, 1999; 832 : 273-277.
7. Guan F, Seno H, Ishii A, Watanabe K, Kumazawa T, Hattori H and Suzuki O. *J. Anal. Toxicol.*, 1999; 23(1) : 54-61.
8. 국립환경연구원, 내분비장애물질의 측정분석 방법 (I), 1998년 8월, 141-152.
9. Kwon OS, Rhee HK and Ryu JC. *J. Korea Society Environmental Analysis*, 2000; 3(1) : 1-5.
10. US Environmental Protection Agency, Test methods for evaluating solid waste, Vol. 1B: Laboratory manual physical-chemical method #3550B: Ultrasonic extraction SW-846 Update III, Revision 2 (December, 1996).