

## HPLC에 의한 토양내 화약물질 정량분석조건 최적화

조정현<sup>1</sup> · 배범한<sup>1\*</sup> · 김계훈<sup>2</sup>

<sup>1</sup>경원대학교 토목환경공학과, <sup>2</sup>서울시립대학교 환경원예학과

### Optimization of Analytical Conditions for the Quantification of Explosive Compounds in Soil using HPLC

Jung Hyun Cho<sup>1</sup> · Bumhan Bae<sup>1\*</sup> · Kye Hoon Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Civil & Environmental Engineering, Kyungwon University

<sup>2</sup>Department of Environmental Horticulture, University of Seoul

#### ABSTRACT

A series of experiments was performed to develop an optimized analytical procedure for the analysis of explosives in soil by HPLC with soil samples collected at two live-fire military shooting ranges. The minimum amount of soil to be collected, W<sub>min</sub>, for the analysis of explosive compounds was 125g, based on the segregation and homogeneity constants that account for soil heterogeneity and non-homogeneous distribution of target explosive compounds. The optimization of extraction and HPLC analytical conditions were also studied based on analytes CV values. The most effective soil/extractant ratio was estimated to be 10 g-pretreated soil/20 mL acetonitrile as extractant. The optimized HPLC elution conditions for the separation of US EPA designated 14 explosive compounds, were column temperature 30°C, eluents ratio of isopropanol : acetonitrile : water = 18 : 12 : 70, and flow rate of 0.8 mL/min at 230 nm. However, UV wavelength 254 nm was better for the analysis of NB, 2,4-DNT, 2NT, 4NT, and 3NT.

**Key words :** Detection limit, Explosives, Extraction, HPLC, Separation

#### 요 약 문

HPLC에 의한 토양내 화약물질의 분석 방법을 최적화하기 위해 현재 실사격 훈련이 진행 중인 군사격장 2곳에서 토양시료를 채취하여 분석 실험을 수행하였다. 토양과 오염물질의 불균일도를 감안하여 segregation constant 와 homogeneity constant를 기준으로 산정한 결과, 화약물질의 분석을 위한 토양시료채취 최소량은 125 g이었다. 그리고 시료 전처리 과정인 추출단계에서 필요한 적정시료량과 추출액의 비율을 CV값에 근거하여 산정한 결과 토양 10 g/ACN 20 mL가 가장 효과적이었다. 미국 EPA에서 지정한 화약물질 14종을 모두 분리하기 위한 HPLC 의 용리조건은 RP C18 칼럼을 이용하여 칼럼 온도 30°C일 때, 이동상 구성 및 유량은 isopropanol : acetonitrile : water의 비율 18 : 12 : 70, 유량 0.80 mL/min 인 경우가 최적이었다. 분석파장 결정을 위해 분석 파장 230 nm와 254 nm에서의 화약물질 14종에 대한 검출한계(detection limit) 값과 각 화약물질의 UV/VIS 스펙 트럼을 비교한 결과 254 nm보다 230 nm일 때가 더 적절하였다. 하지만 NB, 2,4-DNT, 2NT, 4NT 및 3NT는 분석 파장이 UV 254 nm일 때 더 적절하였다.

**주제어 :** 검출한계, 고속액체크로마토그래프, 분리, 추출, 화약물질

\*Corresponding author : bhbae@kyungwon.ac.kr

원고접수일 : 2008. 9. 30 심사일 : 2008. 10. 10 게재승인일 : 2009. 2. 17

질의 및 토의 : 2009. 4. 30 까지

## 1. 서 론

최근 미국기지 및 부대의 이전과 같이 과거 군부대나 군사시설로 이용되던 지역이 주거시설이나 상업시설 등과 같은 새로운 목적으로 변경되고 있으나 군사시설, 특히 군사격장 토양이나 지하수는 중금속과 화약물질로 오염되어 있다. 더구나, 기존의 군사격장에서 유출된 오염물질이 다양한 경로로 유출되어 인근지역의 인간 및 생태계에 악영향을 주고 있다. 여러 미국 군사지역의 토양에서 0.044~13,900 mg/kg의 RDX가 검출되었다(Walsh and Jenkins, 1992). 미국 환경청 기준에 의하면 대표적인 고성능화약(High Explosives)인 TNT와 RDX는 C급 발암물질로 규정되어 있으며 음용수 기준도 TNT와 RDX가 각각 2 µg/L로 매우 낮은 정도로 독성이 있고(US EPA, 1998a; US EPA, 1998b), 소량만 존재하여도 인간 및 자연생태계에 큰 악영향을 줄 수 있다. 그러나 국내 토양 중 TNT, RDX 등을 포함하는 화약물질에 관한 분석방법이 수립되어 있지 않다.

토양, 수질 및 저질(sediment) 내의 화약물질은 GC(Gas Chromatography) 및 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)로 분석할 수 있지만 일반적으로 HPLC를 사용한 분석법이 가장 널리 사용되고 있으며(Cassada et al., 1999), 이를 체계적으로 정리한 것이 미국 EPA SW-846 Method 8330이다. 이 방법은 토양/저질 시료를 건조한 다음, 내부에 함유된 화약물질(Table 1)을 acetonitrile(ACN)을 용매로 하여 sonication으로 추출하고,

염석(salting out) 및 여과 후 HPLC RP(역상, Reversed phase) C18 칼럼을 이용하여 분리하고 UV로 검출/정량하는 것을 기본으로 한다. RP C18 칼럼에서 분리된 화약물질의 확인을 위하여 CN 칼럼으로 재분석하며, CN 칼럼에서는 RP C18 칼럼에서 나타난 용리 순서의 역순으로 화약물질이 용리된다.

본 연구에서는 HPLC를 이용한 분석방법인 SW-846 Method 8330을 기본으로 하여 US EPA에서 선정한 주요 화약물질 14종을 대상으로 분석을 하되, 이 방법의 이용 시 문제가 되는 것으로 알려진 토양 시료 채취량, 화약성분 분리 방법, 분석과장 등을 보완하여, 현장에서 채취해야 하는 토양시료량을 산정하고, 분석방법을 최적화하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 토양시료 채취

실험에 사용된 토양시료는 경기도에 위치한 소규모 GN 사격장과 인근 DR 종합사격장을 선정하여 각 사격장에서 시료를 채취하였다. 실사격 훈련이 진행 중인 GN 사격장과 DR 사격장은 HMX, RDX 및 TNT와 같은 고성능 화약(High Explosives)을 포함한 포탄을 사용하며, GN 사격장 토성은 silt 및 clay 함유량이 49.49%로 높은 반면, DR 사격장은 오래된 사격훈련으로 인하여 silt 및 clay 성분비가 10.57%로 GN 사격장에 비하여 약 4.6배 낮다(Table 2). 토양의 특성과 조성이 다름에 따라 GN

**Table 1.** US EPA designated 14 explosive compounds

Compound	Abbreviation	CAS No.
Octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine	HMX	2691-41-0
Hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine	RDX	121-82-4
1,3,5-Trinitrobenzene	1,3,5-TNB	99-35-4
1,3-Dinitrobenzene	1,3-DNB	99-65-0
Methyl-2,4,6-trinitrophenylnitramine	Tetryl	479-45-8
Nitrobenzene	NB	98-95-3
2,4,6-Trinitrotoluene	2,4,6-TNT	118-96-7
4-Amino-2,6-dinitrotoluene	4-Am-DNT	1946-51-0
2-Amino-4,6-dinitrotoluene	2-Am-DNT	355-72-78-2
2,4-Dinitrotoluene	2,4-DNT	121-14-2
2,6-Dinitrotoluene	2,6-DNT	606-20-2
2-Nitrotoluene	2-NT	88-72-2
3-Nitrotoluene	3-NT	99-08-1
4-Nitrotoluene	4-NT	99-99-0

**Table 2.** Soil texture in DR and GN shooting range soils

	Coarse Sand (%)	Fine Sand (%)	Silt-Clay (%)
DR Shooting Range	47.77	41.78	10.57
GN Shooting Range	1.86	48.19	49.94

Coarse Sand: 4.75~0.425 mm; Fine Sand: 0.425~0.075 mm; Silt: 0.075~0.002 mm; Clay: <0.002mm

사격장과 DR 사격장은 토양내 화약물질이 잔류하거나 오염토양이 주위 환경으로 유출되는 경향이 서로 다르다(한국수자원공사 2002; 한국수자원공사 2005).

사격장 시료를 채취하는 방법은 다음과 같다. 우선 현장에서 포탄이 폭발한 흔적이 있는 crater 지역에 크기 30 cm × 30 cm 방형구 9개를 설치하고 각 방형구에서 동일한 중량의 토양시료를 채취하였다. 채취한 시료는 화약물질의 흡착 혹은 전환의 우려가 없는 plastic bag에 넣어 밀봉한 다음, 냉장보관하여 실험실로 운반하였다.

## 2.2. 시료 전처리

토양의 경우 Jenkins et al.(1989) EPA SW-846 Method 8330을 기초로 하여 표준 sonication 추출방법을 제안하였다. 시료를 직사광선에 대한 직접적인 노출 없이 상온에서 풍건시킨 다음 30번체(0.6 mm)로 체거름한다. 그 다음 20 mL 갈색 유리병에 2.0 g의 시료와 10 mL의 ACN을 첨가하고, PTFE lined septa를 장착한 cap으로 밀봉한다. 시료와 ACN이 첨가된 갈색 유리병을 1분간 충분히 혼합하여, sonic bath에서 18시간 동안 sonication 시켜준다. 이때 sonic bath의 온도가 30°C를 넘지 않도록 주의한다. Sonication 완료 후 30분간 침전시키고, 상등액 5.0 mL과 calcium chloride solution(5 g/L) 5.0 mL을 다른 20 mL 갈색 유리병에 첨가하고, 시료를 충분히 혼합하여 약 15분간 방치시킨다. 시료의 상등액 5 mL을 0.20 μm의 공극을 가진 PTFE syringe filter를 이용하여 여과 하여 HPLC 분석용으로 사용하였다. 이 때, 초기 용출액 3 mL은 버리고 나머지의 시료를 사용하였다.

## 2.3. HPLC 분석

토양 시료의 화약물질 분석은 photodiode array(PDA) 검출기가 장착된 Varian Prostar Gradient System(240 solvent delivery module, 335 photodiode array detector, 410 autosampler, 500 column valve module)를 사용하였다. Table 3과 같이 화약물질 분석은 RP C18 칼럼(Shiseido CAPCELL PAK-MG, 250 mm × 4.6 mm)을 사용하여 칼럼 온도 45°C, 이동상 유량 0.8 mL/min, 이동상 구성 methanol : H<sub>2</sub>O = 55 : 45, 주입 시료량 20 μL, 분석과장 230 nm의 조건에서 분석하였다. 각 시료는 2회 주입하여 분석하였으며, 시료 중 화약물질 농도는 표준 화약물질의 검량선에서 구한 값을 Galaxie Workstation v1.18에 적용하여 정량하였다. 검량선은 AccuStandard에서 구입한 표준 화약물질 14종의 농도를 0.1, 1.0, 10.0,

25.0, 50, 100.0 mg/L로 6 단계의 표준액을 만들고 2회 주입한 결과를 바탕으로 작성하였다.

## 2.4. 시료채취량 결정

Visman의 시료채취상수는 현장에서 채취해야 하는 시료의 양 결정에 사용되며 그 방법은 다음과 같다(US EPA, 1992). 최적시료채취량( $W_{opt}$ )과 최소시료채취량( $W_{min}$ )은 대상 부지에서 채취한 2 set의 시료를 분석하여 시료 채취상수(A, B)를 계산하여 결정한다. 우선 대상 부지를 9개 혹은 그 이상의 수를 가진 동일한 크기의 정사각형 혹은 직사각형 방형구로 분할한다. 각각의 방형구에서 임의로 시료 소량을 채취한다. 이후에 각각의 방형구내에서 임의로 첫 번째 시료량의 10배 이상에 해당하는 시료 다량을 채취한다. 각 시료내 분석대상물질의 농도를 분석하고 소량 및 대량 시료내 평균농도( $W_1, W_2$ )와 분산( $s_1, s_2$ )을 계산하고 다음의 식 (1), (2)을 사용하여 상수 A(Homogeneity constant)와 B(Segregation constant)를 구한다.

$$A = \frac{W_1 \times W_2 \times (s_1^2 - s_2^2)}{(W_1 - W_2)} \quad (1)$$

$$B = s_1^2 - \frac{A}{W_1} = s_2^2 - \frac{A}{W_2} \quad (2)$$

조사경비를 최소화하면서 가장 많은 정보를 줄 수 있는 최적시료채취량( $W_{opt}$ )은 식 (3)과 같다.

$$W_{opt} = \frac{A}{B} \quad (3)$$

환경시료에 대한 시료채취는 최소시료채취량( $W_{min}$ )보다 최소한 6배 이상 채취를 해야 하며, 식 (4)을 사용하여 결정하였다.

$$W_{min} = \frac{A}{(\bar{X} - BG)^2} \quad (4)$$

여기서  $\bar{X}$  = 소량시료내 대상물질의 평균농도, BG = 대상물질의 배경농도이다.

## 2.5. 적정 추출시료량 결정

전처리된 시료는 추출과정을 거치게 되지만 사용하는 토양시료/추출액 비율은 연구기관마다 다른 값을 사용한다. EPA SW-846 Method 8330법에서는 2 g의 토양과 10 mL의 ACN을 사용하며, 미국 육군에서는 20 g을 사용하고, 경우에 따라서는 5 g을 사용하여 각 연구자 혹은

실험실에 따라 일치하지 않고 있다(Jenkins et al., 1996a; Jenkins et al., 1996b). 이에 추출효율을 평가하기 위하여 추출하는 토양의 시료량과 추출용매인 ACN의 비율을 변화시키면서 사격장 토양 시료를 sonication으로 추출하고, 전처리한 시료 내 화약물질의 양을 HPLC로 분석한 다음, 각 화약물질의 평균농도와 표준편차를 산정하여 계산한 CV값을 비교하는 실험연구를 수행하였다.

DR 사격장에서 채취한 토양시료를 암소에서 풍건한 다음, 30번체로 체거름하여 막자사발에 갈아 plastic bag에 넣고 잘 교반하여 하나의 합성시료로 만들었다. 합성시료를 화학천평에서 일정량(2g, 10g, 20g) 칭량하여 40 mL 갈색유리병에 넣고, ACN을 각각 10 mL, 20 mL, 20 mL씩 가만히 넣어준 다음 PTFE lined septa를 장착한 cap으로 밀봉하였다. 이 때 각각의 처리에 대하여 7배수 실험을 하였다. 시료를 sonication 추출한 다음 HPLC로 분석하였다.

## 2.6. HPLC 분리법 시험

Methanol과 물을 이동상으로 이용하는 EPA SW-846 Method 8330 방법은 화약물질 14종을 한 번의 분석으로 분리 할 수 없다. 예를 들면, Methanol과 물의 비율이

55 : 45로 분석할 경우 TNT의 1차 환원물질인 2-Am-DNT와 4-Am-DNT가 TNT와 중첩되어 용리된다. 이는 현존하는 많은 분석 방법이 2-HADNT와 4-HADNT, 2-Am-DNT와 4-Am-DNT, 2,4-DANT와 2,6-DANT, 2,2'-azoxy와 4,4'-azoxy와 같은 isomer pair의 분리가 어려운 것과 동일한 결과 이다(Hilmi et al., 1999). ACN이나 tetrahydrofuran등을 이용한 방법이 개발되었고 비록 분석 시간이 길어지는 단점이 있지만 isopropanol을 이용한 방법이 가장 좋은 방법으로 보고되고 있다(Bouvier and Oehle, 1995). 이에 본 실험에서도 isopropanol, ACN 및 물을 이동상으로 이용하여 한 번의 분석으로 화약물질 14종을 모두 분리 할 수 있는 최적의 비율을 결정하는 실험을 하였다. 또한 최적 분석 온도, 유속 및 분석 파장을 결정하는 실험을 수행하였다(Table 3).

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 시료채취량 결정

DR 및 GN 사격장에서 채취한 토양시료를 전처리하고 HPLC로 분석한 결과를 요약하면 다음의 Table 4 및 5와 같다. Table 4와 같이 다량시료(DR W<sub>2</sub>)에 대한 분석결

**Table 3.** HPLC elution conditions for the analysis of explosive compounds

Elution conditions	
Mobile Phase	methanol : H <sub>2</sub> O = 55 : 45 or Isopropanol:Acetonitrile : H <sub>2</sub> O = 18 : 12 : 70
Column Temperature	30~50°C
Flow Rate	0.8 mL/min
Injection Volume	20 $\mu$ L
Detection wavelength	UV 230 nm or 254 nm
Column	RP C18 (Shiseido CAPCELL PAK-MG, 250 mm $\times$ 4.6 mm)

**Table 4.** Concentrations of explosive compounds in DR military shooting range soil

Explosive Compound	W <sub>1</sub>		W <sub>2</sub>	
	Average (mg/kg)	Variance	Average (mg/kg)	Variance
HMX	0.016	0.001	0.067	0.020
RDX	29.401	1301.49	34.038	607.813
TNT	0.000	0.000	1.947	17.571

**Table 5.** Concentrations of explosive compounds in GN military shooting range soil

Explosive Compound	W <sub>1</sub>		W <sub>2</sub>	
	Average (mg/kg)	Variance	Average(mg/kg)	Variance
HMX	0.243	0.026	0.162	0.018
RDX	20.573	56.090	20.947	91.043
TNT	10.677	74.357	17.769	187.765

과, DR 사격장의 HMX, RDX 및 TNT의 평균농도는 0.067 mg/kg, 34.038 mg/kg, 1.947 mg/kg으로 주된 오염 화약물질은 RDX이며, RDX(검출수/시료수, 9/9), TNT(검출수/시료수, 8/9) 및 HMX(검출수/시료수, 5/9)의 순으로 검출되었다(data not shown). 이에 반하여 소량시료(DR W<sub>1</sub>)에서는 평균농도가 29.401 mg/kg인 RDX와 0.016 mg/kg인 HMX는 검출되었으나 TNT는 모두 검출되지 않았다. 그 이유는 TNT의 경우 토양내에서 입자상으로 분포하기 때문으로 판단된다. 이는 TNT의 물에 대한 용해도가 130 mg/L로 5 mg/L와 42 mg/L인 HMX와 RDX에 비하여 크지만 토양에 잘 흡착되며, 물에 대한 용해속도가 매우 느리기 때문이다. 더불어 물에 용해된 TNT는 광화학적 작용과 생물학적 작용에 의해 분해되는 속도가 비교적 빠르기 때문이다. 또한 시료채취현장이 산 경사면에 위치한 피탄지로 식물이 자라지 못해 미세토양입자가 강우로 인해 쉽게 유출되는 지역이다. 따라서 토양시료채취량이 작은 경우, 30번체에 의한 체거름 과정에서 잔류하는 토양의 양이 작아 분석시 큰 오차가 발생할 수 있다. GN 사격장의 분석결과에서도 DR 사격장과 같이 RDX가 주된 오염물질이며, 대량시료(GN W<sub>2</sub>)의 경우 HMX, RDX 및 TNT의 평균농도는 0.162 mg/kg, 20.947 mg/kg, 17.769 mg/kg이었다(Table 5). RDX(검출수/시료수, 9/9), TNT(검출수/시료수, 9/9) 및 HMX(검출수/시료수, 8/9)의 순으로 검출되었다(date not shown). 그러나 GN 사격장은 silt질이 많으며 입도분포가 고른 관계로 오염물질의 분포가 매우 균일하다. 따라서 GN 사격장 화약물질 분석 결과 0.018~187.765 범위의 variance가 0.020~1301.49의 범위의 DR 사격장 variance에 비하여 작은 것을 알 수 있다.

DR 사격장과 GN 사격장에서 공통적으로 RDX가 각각 34.038 mg/kg, 20.947 mg/kg으로 가장 높은 농도를 보이고 있으며, 모든 시료에서 검출되었다. 그러므로 상호 비교를 위해서는 RDX를 기준물질로 설정할 필요가 있다. 이에 시료의 채취량을 결정하는 상수 A(Homogeneity constant)와 B(Segregation constant)를 RDX를 기준으로 계산 하고, 산정한 결과를 다음의 Table 6에 요약하였다.

따라서 적정시료채취량( $W_{opt}$ )은 DR 사격장의 경우 21.39 g이며, GN 사격장은 이와 비슷한 19.57 g으로 계산되었다. 그에 반하여 최소채취량( $W_{min}$ )은 DR 사격장에서는 10.55 g, GN 사격장에서는 0.86 g으로 GN 사격장이 DR 사격장의 1/10에 지나지 않는다. 이와 같은 결과는 상기에서 기술한 바와 같이, GN 사격장에서는 토양조성이 매우 균일한 반면, DR 사격장은 토양의 양은 작고 자

**Table 6.** Estimated values of A (homogeneity constant) and B (segregation constant) based on RDX concentrations in DR and GN shooting range soils

Constant	DR shooting range soil	GN shooting range soil
A	12,228.76	365.10
B	571.67	18.66
$W_{opt}$	21.39 g	19.57 g
$W_{min}$	10.55 g	0.86 g

단, 여기서 BG(Background concentration)은 0.00으로 계산

**Table 7.** Comparison of CV values in DR and GN shooting range soils

Sample	HMX CV	RDX CV	TNT CV
DR W <sub>2</sub>	208.93	72.43	215.33
DR W <sub>1</sub>	220.62	122.70	0.00
GN W <sub>2</sub>	81.62	45.55	77.11
GN W <sub>1</sub>	66.52	36.40	80.77

갈 등의 함량이 높기 때문이다. 경험적으로 채취 토양을 전처리하면 무게비로 약 20%만 남게 되므로 최소 5배 이상의 토양을 채취하는 것이 바람직한 것으로 판단된다. 따라서 125 g 정도 토양 시료를 채취하는 것이 적절할 것이다.

토양내 화약물질의 불균일 분포는 Coefficient of Variation(CV = 표준편차 / 평균 × 100)의 비교에서도 나타난다. 상기 시료에 대한 CV값을 산정한 결과는 Table 7과 같다. 전반적으로 토양내 오염물질이 불균일하게 분포하는 DR 사격장에서의 CV 값이 72.43~220.62%로 GN 사격장의 CV값 범위 36.40~81.62%에 비해 2.5배 이상 높았다. DR 사격장의 경우에는 HMX와 RDX의 CV값이 채취한 토양시료량이 많은 경우(DR W<sub>2</sub>) 208.93%, 72.43%로 채취한 토양시료량이 적은 경우(DR W<sub>1</sub>) 220.62%, 122.70%보다 작은 값을 보이고 있다. 단, TNT의 경우 소량시료에서는 전혀 검출이 되지 않아 비교할 수가 없었다. GN 사격장의 경우 최고 81.62%에서 최저 45.55%의 대량시료(GN W<sub>2</sub>) CV값과 최고 80.77%에서 최저 36.40%의 소량시료(GN W<sub>1</sub>) CV값의 변화가 크지 않다.

Crockett et al.(1997) 미국의 Superfund 지역의 오염도 분석자료를 이용하여 PCB의 CV값은 0.21~54%로 값의 변화가 크지 않았지만, 화약류 오염 토양의 분석결과에서는 TNT의 CV값이 127~335%의 변화를 보이며 median CV값이 284%이었고 RDX의 경우에는 CV값이 129~203%의 범위를 가지며 median CV값이 137%라고 보고하

였다. 본 연구에서 산정한 DR 사격장의 경우도 미국 분석결과와 동일한 경향을 보이고 있다. 그러나 GN 사격장에서는 토양의 균일성이 높은 특성에 의하여 미국 Superfund 지역에서 선정된 CV값 범위보다 훨씬 낮은 수준으로 나타났다.

이상과 같은 불균일 분포의 문제점을 해결하고 토양 시료내 화약물질량 분석의 오차를 감소시키기 위한 노력이 필요할 것이다. 대표적인 방법으로는 상기의 DR 사격장의 결과에서 보여주듯 채취시료량을 증가시키는 방법이다. 이외에도 토양시료의 채취 밀도를 증가하거나, 합성시료를 만드는 방법, 계층시료제조법(stratified sampling) 및 시료의 불균일성을 감소시키는 방법 등이 있다(Crockett et al., 1997).

### 3.2. 적정 추출시료량 결정

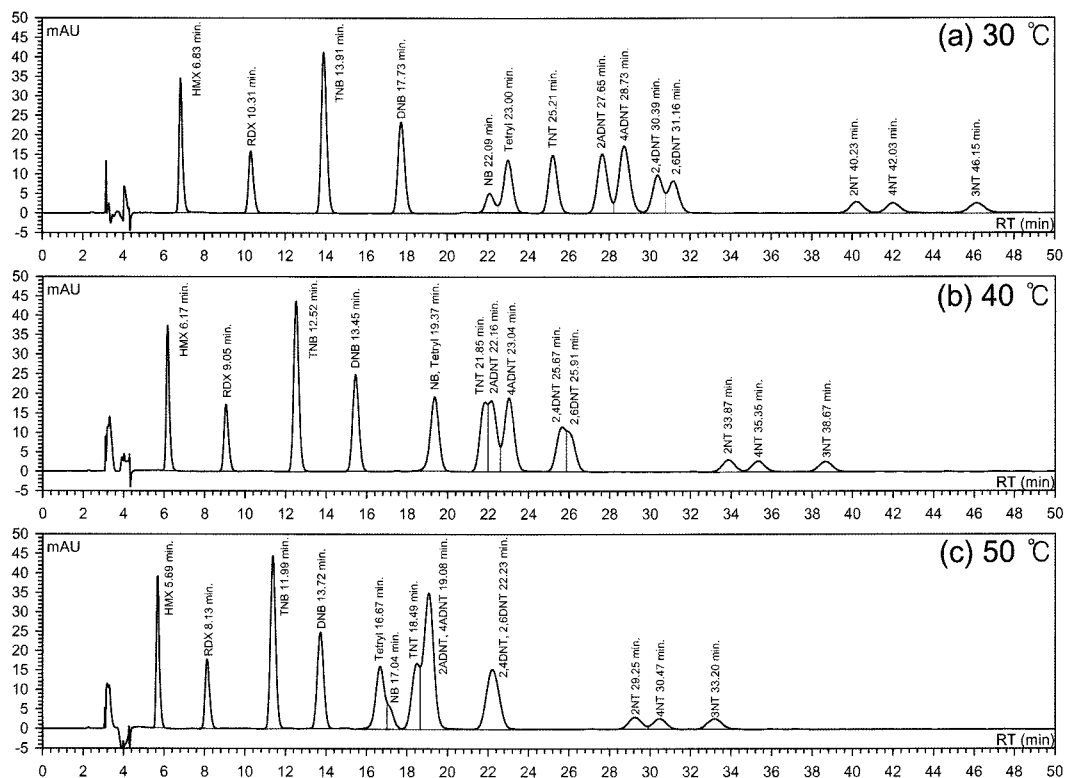
시료의 분석결과 EPA SW-846 Method 8330법에 따른 토양 2g/ACN 20 mL 처리에서는 HMX, RDX 및 TNT가 평균농도로 각각 1.017 mg/kg, 7.200 mg/kg, 8.400 mg/kg으로 나타났다. 토양 10g/ACN 20 mL를 처리한 시료에서는 HMX, RDX 및 TNT의 평균농도가 각각 0.606 mg/kg, 5.474 mg/kg, 3.754 mg/kg이었으며, 토

양 20g/ACN 20 mL의 경우에는 HMX, RDX 및 TNT의 농도가 각각 0.866 mg/kg, 5.075 mg/kg, 3.783 mg/kg으로 측정되었다. 평균농도로 비교하면 토양 2g과 ACN 10 mL을 넣은 EPA SW-846 Method 8330법에서의 화약물질 농도가 가장 높았으나, 표준편차도 가장 크게 나타났다. 분석결과의 상대비교를 위하여 CV값을 계산한 결과는 Table 8과 같다.

추출토량이 가장 작은 2g일 때의 CV값이 모든 화약물질 측정항목에서 가장 크게 나타났다. 또한 추출토량을 10배 늘려 20g인 경우가 추출토량 10g에 비하여 오히려 CV가 큰 것으로 밝혀졌다. 따라서 시료의 양이 작을 경우, 토양시료의 불균질성으로 인한 대표성 문제가 발생할 수 있으며, 시료가 너무 많을 경우에도 sonication 에너지의 전달 부족과 추출시료량/추출용매의 비율 등에 의해 추

**Table 8.** Comparison of CV values of explosive compounds based on the amount of extracted soil/extractant (acetonitrile)

	HMX CV	RDX CV	TNT CV
Soil 2 g / ACN 10 mL	62.76	45.46	124.96
Soil 10 g / ACN 20 mL	22.37	9.60	19.90
Soil 20 g / ACN 20 mL	37.70	15.86	31.86



**Fig. 1.** The effects of column temperature on the separation of 14 explosive compounds under the same analytical condition (isopropanol : acetonitrile : H<sub>2</sub>O = 18 : 12 : 70, flow = 0.8 mL/min, injection volume = 20  $\mu$ l wavelength 230 nm).

출효율이 저하되어 화약물질 분석이 부정확해 질 수 있다. 그러므로 상기의 실험결과를 바탕으로 한다면, 가장 적절한 추출토양시료량/ACN 비율은 토양 10 g/ACN 20 mL 혹은 독성을 가진 ACN의 사용량을 줄이려면 토양 5 g/ACN 10 mL의 비로 추출하는 것이 가장 바람직한 것으로 나타났다. 이는 최근 EPA SW-846 Method 8330b법의 추출토양시료량/ACN 비율을 토양 10 g/ACN 20 mL로 개정된 것과 동일한 결과이다(US EPA, 2006).

### 3.3. HPLC 분리 방법

미국 EPA에서 지정한 화약물질 14종의 분리를 위한 연구는 RP C18(Shiseido CAPCELL PAK-MG, 250 mm × 4.6 mm) 칼럼을 이용하여 수행하였다. 이 칼럼의 장점은 다른 칼럼의 평균압력(약 3800 psi)에 비하여 낮은 압력(약 2200 psi)에서 용리되어 칼럼의 수명이 연장되고 재현성이 높은 장점이 있다. 일반적으로 화약물질 분석에 사용하는 methanol과 물을 이용하였을 경우 화약물질 14종 모두를 분리할 수 없어 isopropanol, ACN 및 물을 이용하여 한 번의 분석을 통하여 화약물질 14종을 모두 분리할 수 있는 최적의 비율을 결정하는 실험을 하였다. 그 결과 Fig. 1에서와 같이 화약물질 14종의 분리가 가능하였다. 이때 화약물질 14종의 이론단수(Theoretical Plate)는 8000~20,000으로 산정되었다(Table 9). 그러나 칼럼 온도를 30°C에서 50°C로 10°C 간격으로 상승시키며 분석해 본 결과 칼럼온도가 30°C일 때 22분에서 32분 사이

에 용리되는 NB, tetryl, TNT, 2-Am-DNT, 4-Am-DNT, 2,4-DNT 및 2,6-DNT가 칼럼 온도의 상승함에 따라 1~2종의 화약물질이 중첩되어 용리되었다(Fig. 1). 이는 Borch et al.(1998)이 RP C8 칼럼과 ion-pairing agent를 사용하여 실험한 결과와는 반대현상이다. 42°C일 때 4-Am-DNT와 2,4-DNT가 중첩되어 용리되었지만 47°C와 50°C에서 실험한 결과 온도가 상승될수록 4-Am-DNT와 2,4-DNT를 포함한 화약물질의 분리도가 향상되었다.

이상의 용리 결과를 바탕으로 칼럼 온도는 30°C가 가장 적절하며, Isopropanol:Acetonitrile : Water의 비율은 18 : 12 : 70, 유량은 0.80 mL/min 인 경우가 가장 적절한 용리조건인 것으로 판명되었다.

#### 3.3.1. 분석한계값 및 분석과장 산정

상기의 분석방법을 이용하여 99% 신뢰수준에서 측정되고 보고될 수 있는 물질의 최소농도인 검출한계값(Method Detection Limit)을 산정하였다. 화약물질 14종의 표준용액을 각 분석물질에 따라 극미량(25~250 µg/L)까지 적절한 배율로 희석하고, 희석된 용액을 7회 분석한 다음, 분석값의 표준편차를 산정하여 검출한계값을 구하였다. 또한 최적의 분석과장을 산정하기 위하여 분석 과장 230 nm와 254 nm 일 때 검출한계값을 비교하였다(Table 9). 과장 230 nm에서의 HMX, RDX 및 TNT 검출한계는 각각 22 µg/L, 22 및 24 µg/L로 254 nm에서의 30 µg/L, 53 µg/L 및 62 µg/L에 비하여 약 1.5배 이상 낮았다.

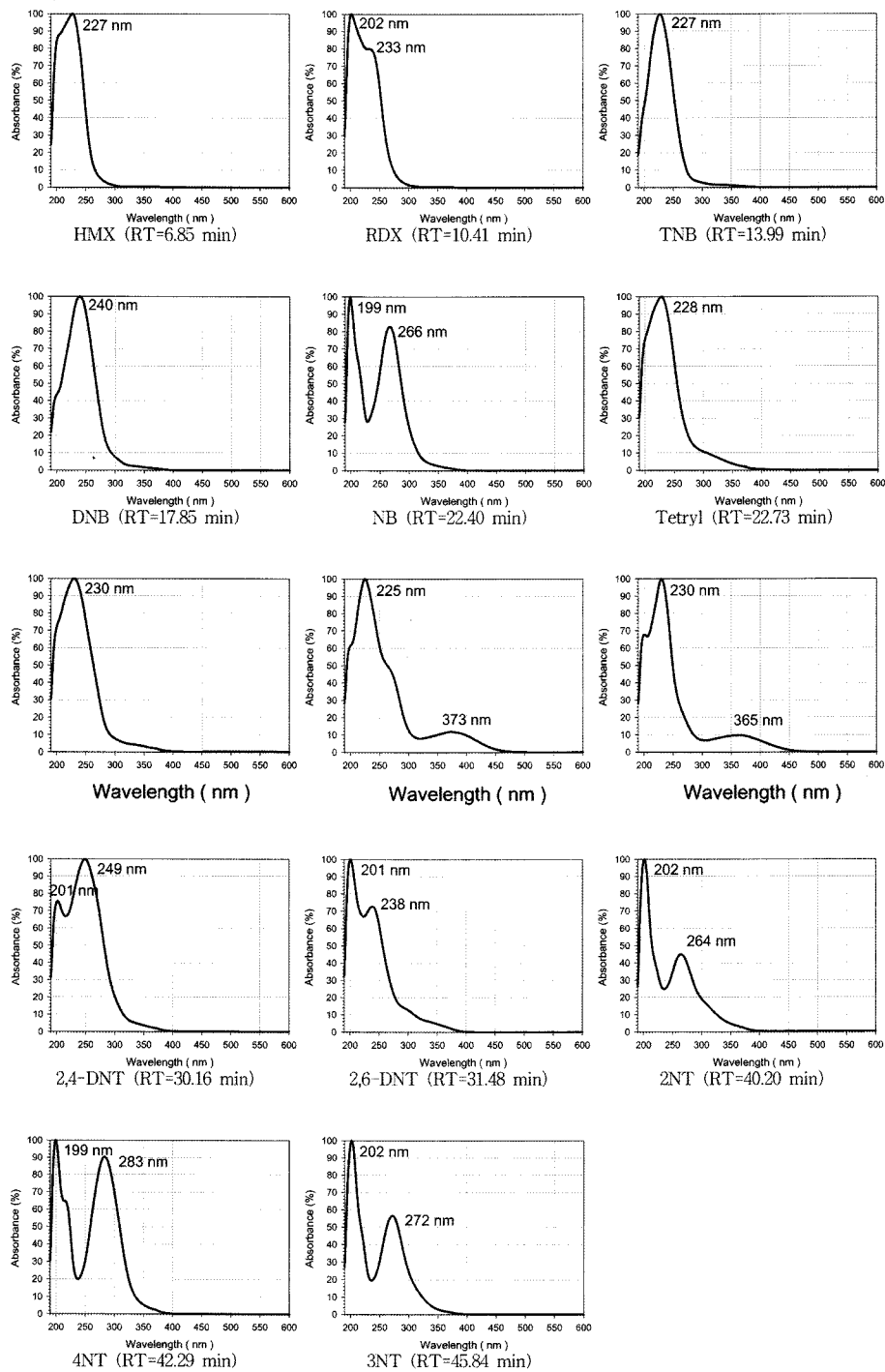
**Table 9.** The estimated detection limits of 14 explosive compounds at two different detection wavelengths (230 nm and 254 nm)

Compound	<sup>1</sup> TP (230 nm)	<sup>2</sup> STD		<sup>3</sup> MDLs (ug/L)		Max. wavelength (nm)	Optimum wavelength (nm)
		230 nm	254 nm	230 nm	254 nm		
HMX	8109	6.88	9.45	22	30	227	230
RDX	8033	7.02	16.98	22	53	202~233	230
TNB	12285	8.40	11.56	26	36	227	230
DNB	12985	7.38	6.77	23	21	240	230, 254
NB	13684	51.02	22.54	160	71	199~266	254
Tetryl	12373	3.78	13.27	12	42	228	230
TNT	15434	7.72	19.74	24	62	230	230
2-Am-DNT	13815	7.97	12.77	25	40	225	230
4-Am-DNT	13240	7.11	11.47	22	36	201~230	230
2,4-DNT	19227	10.68	3.45	34	11	201~249	254
2,6-DNT	20166	15.62	12.02	49	38	201~238	230
2NT	17466	70.43	46.46	221	146	202~264	254
4NT	18374	44.71	33.12	140	104	199~283	254
3NT	17871	66.14	20.11	208	63	202~272	254

<sup>1</sup>TP : Theoretical Plate (TP =  $16 \times (R_f/w)^2$ )

<sup>2</sup>STD : Standard Deviation

<sup>3</sup>MDLs : Method Detection Limits (MDLs =  $3.14 \times$  STD)

**Table 10.** UV/VIS Spectra of 14 Explosive compounds in EPA SW-846 Method 8330

이외의 화약물질들도 230 nm에서는 20~30  $\mu\text{g/L}$ 의 검출한계를 가졌으나, NB의 경우 160  $\mu\text{g/L}$ , 그리고 nitrotoluenes은 140~221  $\mu\text{g/L}$ 의 검출한계값이 높게 나타났다. 이와 같은 이유는 4가지 물질의 스펙트럼에서 알 수 있듯이 NB와 3종의 nitrotoluenes은 230 nm에서의 흡광도가 낮으며

200 nm 부근 및 264~283 nm에서 2개의 peak maxima 값을 갖기 때문이다(Table 10). 그 결과 Fig. 2에서와 같이 분석 파장이 230 nm와 254 nm일 때 피크의 높이를 비교하면 화약물질에 따라서 흡광도의 차이가 난다. 분석 파장이 230 nm일 때 HMX, RDX 및 TNT 등의 피크가



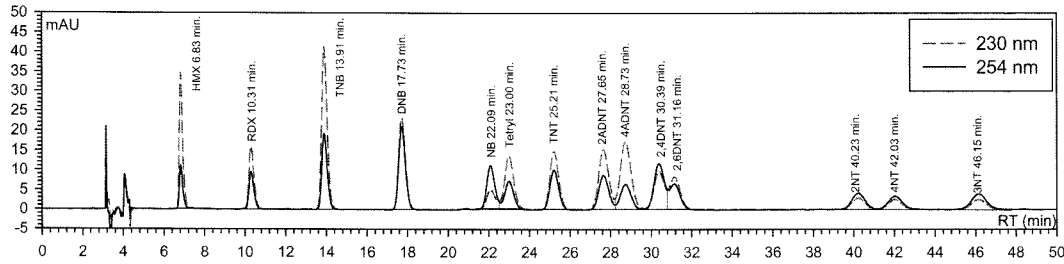


Fig. 2. The effects of detection wavelength on the peak height under the same elution conditions (Isopropanol : Acetonitrile : Water = 18 : 12 : 70, flow = 0.8 mL/min, injection volume = 20  $\mu$ L temperature 30°C).

더 높은 반면 NB, 2,4-DNT, 2NT, 4NT 및 3NT는 254 nm에서 더 높다. 또한 분석 파장 변경에 따른 검출한계값은 HMX, RDX 및 TNT 등의 경우 230 nm에서 20~30  $\mu$ g/L이며 254 nm에서는 이보다 2배 높은 30~60  $\mu$ g/L이 되는 것이다. 그러나 NB, 2,4-DNT, 2NT, 4NT 및 3NT의 경우 230 nm에서 140~220  $\mu$ g/L이며 254 nm에서 10~140  $\mu$ g/L이었다. 따라서 분석하고자 하는 물질에 따라서 적절한 분석 파장을 선택하는 것이 바람직한 것이다.

#### 4. 결 론

토양내 화약물질의 분석에는 HPLC 이외에도 GC, Electrophoresis, ELISA 등의 다양한 방법이 사용되고 있다. 그 중에서 가장 널리 사용되는 HPLC에 의한 분석법을 개발하고 국내 표준방법을 제안하기 위해 군사적장 2곳의 토양을 이용하여 시료의 채취량 및 추출량/추출액 비율을 산정하였다. 두 사격장의 토양 특성에 따라 segregation 상수와 homogeneity 상수가 서로 다른 이유는 토양의 조성 및 특성이 다르기 때문이었다. 이 결과는 어느 사격장이라도 시료채취량이 달라질 수 있다는 점을 의미한다. 따라서 향후에 정밀조사 등의 광범위한 조사가 실시될 경우, 토양 및 오염물질의 불균일 분포를 확인하기 위하여 두 상수를 먼저 결정하고 이에 의하여 시료채취량을 결정하는 것이 타당할 것으로 판단된다.

미국 EPA에서 개발한 SW-846 Method 8330법의 문제점으로 대두되었던 추출 시료량/추출액의 비율을 결정하기 위해 동일한 composite 시료를 7회 추출하여 각 화약물질의 CV값의 변화를 비교하였다. 그 결과 토양 10 g /ACN 20 mL이 가장 적절하였다. 토양의 양이 많으면 많을수록 불확실성이 줄어들겠지만, 본 연구에서는 가장 경제적이며 효율적이면서도 대폭값에 근접하며 재현성을 높이는 것을 주안점으로 두었다. 이와 같은 맥락에서, 14종의 화약물질 중에서 검출파장도 254 nm보다는 230 nm에서 검출한계값이 낮은 경우가 많아 새로운 분석파장으

로 제안하게 되었다.

현재 본 연구에서 제안한 방법은 기존의 EPA SW-846 Method 8330법 내 14종의 화약물질만을 대상으로 한 것이지만, 최근 EPA SW-846 Method 8330b법이 제시되면서 새로운 화약물질(Nitroglycerin, Pentaerythritol tetranitrate, 3,5-Dinitroaniline)이 추가되었다. 그러므로 새로 제시된 화약물질과 기존의 TNT, RDX, HMX 등의 중간산물(intermediates)에 대한 분석방안도 연구가 필요할 것으로 판단된다. 마지막으로 현재 제안된 분석법은 분석기기의 지속적인 발달과 칼럼 충전 재질의 향상을 고려하여 주기적으로 보완되어야 할 것이다.

#### 참 고 문 헌

- 한국수자원공사, 2002, 다락대 사격장내 토양오염 정밀조사를 통한 한탄강 수질예측 및 복원공법연구.
- 한국수자원공사, 2005, 군남홍수조절지 건설사업 사격장 피탄지 토양오염 정밀조사 보고서.
- Bouvier, E.S.P. and Oehrle, S.A., 1995, Sample preparation perspectives: SPE method development and troubleshooting, *LC · GC* **13**, 120-125.
- Borch, T. and Gerlach, R., 2004, Use of reversed-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection for complete separation of 2,4,6-trinitrotoluene metabolites and EPA Method 8330 explosives: Influence of temperature and an ion-pair reagent, *J. of Chromatography A*, **1022**(1-2), 83-94.
- Cassada, D.A., Monson, S.J., Snow, D.D., and Spalding, R.F., 1999, Sensitive determination of RDX, nitroso-RDX metabolites, and other munitions in ground water by solid-phase extraction and isotope dilution liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry, *J. of Chromatography A*, **844**, 87-95.
- Crockett, A.B., Craig, H.D., Jenkins, T.F., and Sisk, W.E., 1997, Field sampling and selecting on-site analytical methods for explosives, EPA/540/R-97/501.
- Hilmi, A., Long, J.H.T., and Nguyen, A.L., 1999, Determina-

- tion of explosives in soil and ground water by liquid chromatography-amperometric detection, *Journal of Chromatography A*, **844**, 97-110.
- Jenkins, T.F., Grant, C.L., Brar, G.S., Thorne, P.G., Ranney, T.A., and Schumacher, P.W., 1996a, Assessment of sampling error associated with collection and analysis of soil samples at explosive contaminated sites, Special Report 96-15, US Army Corps of Engineering, Cold Regions Research and Engineering Laboratory.
- Jenkins, T.F., Grant, C.L., Brar, G.S., Thorne, P.G., Schumacher, P.W., and Ranney, T.A., 1996b, Sample representativeness: the missing element in explosives site characterization, In: *Proceedings of the American Defence Preparedness Association's 22nd Environmental Symposium and Exhibition*, Orlando, Florida, p. 18-21.
- Jenkins, T.F., Walsh, M.E., Schumacher, P.W., Miyares, P.H., Bauer, C.F., and Grant, C.L., 1989, Liquid chromatographic method for determination of extractable nitroaromatic and nitramine residues in soil, *J. of the Association of Official Analytical Chemists*, **72**, 890-899.
- US EPA, 1992, Preparation of soil sampling protocols: Sampling techniques and strategies, Office of Research and Development, EPA/600/R-92/128.
- US EPA, 1994, SW 846 method 8330: Nitroaromatics and nitramines by high performance liquid chromatography (HPLC).
- U.S. EPA, 1998a, Health Advisory for hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) Criteria and Standard Division, Office of Drinking Water, Washington, D.C.
- U.S. EPA, 1998b, Health Advisory for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), Criteria and Standard Division, Office of Drinking Water, Washington, D.C.
- US EPA, 2006, SW 846 method 8330b: Nitroaromatics, nitramines and nitrate esters by high performance liquid chromatography (HPLC).
- Walsh, M.E. and Jenkins, T.F., 1992, Identification of TNT transformation products in soil, Technical Report CRREL-SR-92-16, Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Hanover, NH, USA.