Printed in the Republic of Korea
ANALYTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY
Vol. 18, No. 6, 453-459, 2005

유도체화와 GC/MS를 이용한 물중의 페놀류 분석

박교범 · 이석근★
한국화학연구원 화학분석센터
(2005. 7. 13. 접수. 2005. 11. 11. 승인)

Determination of phenols in water by derivatization and GC/MS

Gyo-Beom Park and Sueg-Geun Lee★
Center for Chemical Analysis Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 107, Yusong, Taejon 305-606, Korea
(Received July 13, 2005, Accepted November 11, 2005)

요 약 : 물중에 존재하는 11종의 페놀류를 benzoyl chloride를 사용하여 물에서 직접 유도체화한 후 추출하여 동시 분석하였다. 즉, 수용액 시료에 수산화나트륨 용액을 가하여 pH 13으로 조절한 다음 여기에 benzoyl chloride를 500 μL을 가하여 15분간 흔들어 반응시키고 정치한 후 diethyl ether로 추출하여 GC/MS-SIM으로 정량하였다. 검량선은 0.05-5.0 μg/mL 농도범위에서 상관계수가 r^2 = 0.9915로 직선성이 좋았으며 상대표준편차는 8.5% 이하였고 이 방법의 회수율은 58.4-114.0% 이었다.

Abstract : Phenol compounds in water were simultaneously analyzed by extractive derivatization. Aqueous solution was controlled to pH 13 with sodium hydroxide, and then 500 μL of benzoyl chloride was added to the solution. The solution was shaken for 15 minutes and extracted with diethyl ether and then analyzed using GC/MS-SIM. The calibration curves of phenolic compounds in the range of 0.05 to 5.0 μg/mL showed a good linearity having the correlation coefficient of r^2 = 0.9915 and standard deviation of ≤8.5%, respectively. The recoveries by this method ware 58.4-114.0%.

Key words : phenols, GC/MS, benzoyl chloride

1. 서 론

페놀은 석유화학이나 제지산업공정, 플라스틱 및 의약품합성[1-2] 공정 중에 발생되고, 특히 염화 페놀류는 정수장에서 페놀이 함유된 상수원의 원수를 염소 처리하는 과정[3] 이나 살충제나 제초제 같은 오염물의 분해산물로부터 유래되는 발암성물질로 농약, 목재의 방부제, 의약품, 합성수지, 염료 및 합성 중간체의 원료물질로 많이 사용되면서 토양이나 수질의 오염원이 되고 있다.

페놀류는 독성이 강하여 1970년대에 미국 EPA에서는 11종의 페놀류를 주요한 오염물질[4]로 지정하였으며, 물중에 존재하는 11종의 페놀류를 동시정량하기 위한 여러 가지 분석방법의 개발 및 모니터링이 연구되고 있다.

★ Corresponding author
Phone : +82-(0)42-860-7710 Fax : +82-(0)42) 860-7794
E-mail: leesg@krict.re.kr

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.

대부분 페놀 정량은 4-아미노안티피린[5]과 3-메칠-2-벤조티아졸린하이드라존[6]등의 화합물로 유도체화하여 UV/Vis 분광광도법에 의한 전체 페놀을 정량하는 방법[7]이었으나 크로마토그래피법은 페놀 혼합물로부터 GC[8]나 HPLC[9], 또는 GC/MS[10] 및 LC/MS[11]을 이용하여 개별적으로 분리하여 각각의 페놀을 검출하는 방법으로 우리나라를 포함한 선진국과 미국 EPA[12]에서는 여러 성분의 페놀류를 동시에 분석하기 위하여 분해능이 높은 GC/MS-SIM 방법을 채택하고 있다.

이러한 크로마토그래피법을 이용한 미량의 페놀류를 검출하기 위해서는 분석하기 전, 물이나 많은 매질로부터 분석하고자 하는 물질을 추출하고 농축하기 위한 전처리 과정이 필요하며 주로 사용되는 추출법으로는 액-액추출법[13]과 고체상 추출법[14] 등이 있으나 페놀은 휘발성이 낮고 극성이 커서 회수율이 좋지 않고 GC의 주입구나 컬럼 등에 흡착하여 감도가 매우 낮은 단점이 있어 대부분 유도체화를 하여 분석한다.

유도체화를 하므로써 페놀에 있는 -OH기의 극성을 비극성 기능기로 전환시키면 물에 대한 용해도가 감소하여 추출율이 좋아지고 휘발성과 분리능이 증가하며, 열적으로 안정하여 감도와 선택성이 높아진다. 따라서 가장 많이 사용되는 유도체화 방법으로 Acetylation,[15-17] Benzylation,[18-20] Alkylation,[21-22] Silylation,[23-24] 등이 있으며 이러한 유도체화 방법 중 Silylation 방법이 GC/MS 분석에 널리 사용되고 있으나 이 방법은 물에서 추출한 후 농축하여 수분을 제거한 다음 유도체화를 해야 하는 번거로움과 많은 시간이 소비된다.

본 연구에서는 이러한 단점을 극복하기 위하여 benzoyl chloride를 사용하여 물에서 직접 유도체화를 시도하는 방법[25-26]으로 수용액 시료에 수산화나트륨 용액을 가하여 강한 알칼리성으로 한 후 여기에 benzoyl chloride를 가하여 15분간 흔들어 반응시키고 정치한 후 diethyl ether의 유기용매로 추출하여 GC/MS-SIM으로 정량하였다.

이 방법은 물에서 직접 유도체화를 하여 분석하므로 전처리가 매우 간편하며 특히 알칼리성 수용액상태의 시료에서 페놀류를 분석하기에 적합한 방법이었다.

2. 실 험

2.1. 시약

본 연구에서 사용된 페놀류(phenols) 표준물질은 2000 μg/mL 용액으로 혼합된 phenol, 2-chlorophenol, 2,4-dimethylphenol, 4-chloro-3-methylphenol, 2,4-dichlorophenol, 2-nitro phenol, 2,4,6-trichlorophenol, 4-nitrophenol, 2,4-dinitrophenol, 4,6-dinitro-2-methylphenol, pentachlorophenol를 SPEX CertiPrep(Metuchen, USA)사의 CLPS-A를 사용하였으며 내부표준물질인 phenanthrene과 유도체화 시약으로 사용한 벤조일 클로라이드(benzoyl chloride, 99.8%)는 Sigma-Aldrich(Milwaukee, WI, USA) 사로부터 구입하였고 수산화나트륨(sodium hydroxide)과 유도체화 후 추출하기 위해 사용한 디에틸에테르(diethyl ether)는 E. Merck사(Darmstadt, Germany)에서 구입하여 사용하였다.

표준용액을 만들기 위하여 사용된 물은 Milli-Q 시스템(Millipore, Milford, USA)을 통과시킨 증류수를 사용하였다.

2.2. MS 기기 및 조건

분석에 사용한 기기는 HP5890 Series II Gas Chromatograph/HP 5971A Mass Selective Detector (Hewlett-Packard, Palo. Alto, USA)를 사용하여 MS의 이온화 방식은 전자이온화(electron impact)법을 사용하고 이온화 에너지는 70 eV로 하였다.

분석 컬럼은 J & W DB-1 (J & W Scientific, Folsom, CA) cross linked 100% dimethylpolysiloxane fused-silica capillary 컬럼(30 m×0.25 mm I.D., 0.25 μm film thickness)을 사용하였고 컬럼은 이온원에 직접 연결하고 운반 가스는 헬륨 (99.999%)을 사용하여 운반속도를 1.0 mL/min의 유속으로 흘려주었으며 transfer line 및 ion source 온도는 각각 280°C와 180°C로 하였다. 컬럼

Table 1. Retention time, characteristic ions of derivatization

Compounds	Retention time(min)	Characteristic ions(m/z)	
		Quantitation ion	Confirmation ion	
Phenol	9.09	105	77	198
ISTD[a]	10.6	178	152	176
2-Chlorophenol	10.76	105	77	232
2,4-Dimethylphenol	11.13	105	77	226
4-Chloro-3-methylphenol	12.48	246	77	105
2,4-Dichlorophenol	12.52	266	77	105
2-Nitrophenol	12.81	105	77	243
2,4,6-Trichlorophenol	13.46	105	77	300
4-Nitrophenol	13.77	105	77	243
2,4-Dinitrophenol	15.83	105	77	288
4,6-Dinitro-2-methylphenol	16.42	105	77	302
Pentachlorophenol	17.32	105	77	368

[a]Internal standard(Phenanthrene)

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.

의 온도는 120°C에서 1분간 유지한 다음 10°C/min으로 승온하여 290°C까지 올려서 10분간 머물게 하였다. 시료는 주입구의 온도를 260°C에서 1 μL를 비분할(splitless) 모드로 주입하였으며 이때 특성 이온만을 선택하여 검출하는 방법인 selected ion monitoring(SIM) 모드를 사용하여 분석하였고 SIM 방법에 사용된 표준물질과 내부 표준물질의 머무름 시간 및 특성이온은 *Table* 1에 나타냈다.

2.3. 표준용액의 제조 및 회수율 측정

페놀류의 표준용액은 위에서 구입한 2000 μg/mL 농도의 용액을 증류수로 희석하여 검정용액으로 사용했으며 검정용액의 농도범위는 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 5.0 μg/mL의 농도로 만들어 사용하였다.

내부표준용액의 제조는 Phenanthrene을 0.1 mg까지 무게로 methylene chloride를 사용하여 1000 μg/mL의 표준원액이 되도록 만들었으며 이 표준원액은 -4°C 이하의 냉장고에 보관하여 사용하였고 회수율을 측정하기 위한 용액은 혼합 표준용액을 1.0 μg/mL의 농도로 만들어 사용하였다.

2.4. 화학 유도체화 방법

검정곡선을 작성하기 위한 0.01-5.0 μg/mL의 농도 범위로 만든 표준용액과 회수율 측정을 하기 위한 1.0 μg/mL의 농도로 희석한 용액을 각각 20 mL씩 취하여 30 mL vial에 각각 넣고, 여기에 30% 수산화나트륨용액으로 pH 13 정도 되게 가하여 알칼리성 조건으로 만들었다. 여기에 benzoyl chloride를 500 μL 씩 넣은 후 15분간 세차게 흔들고 실온에서 10분간 정치한 후 diethyl ether의 유기용매를 각각 10 mL 씩 넣어 유도체화물을 추출하고 남은 물층에 염화나트륨을 가한 후 다시 diethyl ether의 유기용매 10 mL를 가하여 다시 한번 추출하여 먼저 추출물과 합친다.

합친 추출물은 30°C의 수욕조에서 1 mL로 농축하고 여기에 1000 μg/mL의 내부표준용액을 1 μL을 넣어 내부표준용액의 농도가 1 μg/mL가 되게 한 후 그중 1 μL을 GC/MS에 주입하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 검정곡선

0.05-5.0 μg/mL의 농도 범위로 만든 표준용액을 GC/MS로 분석하여 얻어진 상관 관계식과 상관계수는 *Table* 2에 나타내었다. *Table* 2에서 2,4-dichlorophenol과 같이 농도범위가 0.1-5.0 μg/mL 이상인 화합물은 감도가 좋지 않아 다른 화합물에 비하여 농도범위를 높게 설정하였다.

모든 표준용액의 농도범위에서 R^2 값이 모두 0.9915 이상을 나타냄에 따라 직선성이 매우 좋고 분석방법이 적합함을 알 수 있었다.

3.2. 회수율 측정

회수율 측정결과는 1.0 μg/mL의 농도의 용액을 만들어 위와 동일한 방법으로 유도체화를 하여 회수율을 얻었으며, 측정결과는 *Table* 3에 나타내었다.

Table 3에서 보는바와 같이 1.0 μg/mL의 농도의 회수율은 2,4-dinitrophenol 이 58.4%로 가장 낮았으며 대부분 71.2%-114.0% 사이의 회수율을 얻었으며 또한 상대표준편차(relative standard deviation, R.S.D)는 3.4-8.5%로 나타나 재현성이 좋았다.

Table 2. Simple linear regression of standard calibration for the phenols

Compounds	Concentration range(ß¹/mL)	Regression eqn.	Correlation coefficient(r)
Phenol	0.05~5.0	y = 1.3281x + 0.1338	0.9974
2-Chlorophenol	0.05~5.0	y = 0.7173x − 0.0194	0.9957
2,4-Dimethylphenol	0.05~5.0	y = 1.1902x + 0.2299	0.9961
4-Chloro-3-methylphenol	0.05~5.0	y = 1.5580x + 0.1751	0.9915
2,4-Dichlorophenol	0.1~5.0	y = 3.5980x + 0.1833	0.9985
2-Nitrophenol	0.25~5.0	y = 0.8195x − 0.1444	0.9991
2,4,6-Trichlorophenol	0.05~5.0	y = 1.4451x − 0.0553	0.9967
4-Nitrophenol	0.25~5.0	y = 0.4372x − 0.0617	0.9934
2,4-Dinitrophenol	0.25~5.0	y = 0.0357x + 0.0018	0.9959
4,6-Dinitro-2-methylphenol	0.25~5.0	y = 0.0773x − 0.0149	0.9921
Pentachlorophenol	0.05~5.0	y = 1.9329x − 0.1542	0.9974

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.

Table 3. Recovery(%) obtained from the water samples spiked with GC/MS

Compounds	Spiked level (μg/mL)	Mean[a]	
		Recovery	R.S.D(%)
Phenol	1	87.6	3.7
2-Chlorophenol	1	90.8	8.2
2,4-Dimethylphenol	1	114.0	5.4
4-Chloro-3-methylphenol	1	98.1	3.9
2,4-Dichlorophenol	1	74.8	7.8
2-Nitrophenol	1	76.8	6.2
2,4,6-Trichlorophenol	1	81.6	8.5
4-Nitrophenol	1	71.2	6.7
2,4-Dinitrophenol	1	58.4	7.1
4,6-Dinitro-2-methylphenol	1	77.6	5.6
Pentachlorophenol	1	99.2	3.4

[a]Mean value from 5 measurements

3.3. 가스크로마토그래피의 분리 및 분석결과

수용액상에 들어있는 페놀류를 낮은 농도까지 검출하기 위하여 감도와 선택성을 높이고 전처리 시간을 단축하기 위하여 수용액상에서 bezoyl chloride로 직접 유도체화를 하였다.

이 방법으로 유도체화를 하는 과정에서 과잉의 bezoyl chloride를 사용함으로써 부산물로 미량의 benzoic acid와 benzoic acid anhydride가 생성되는 것을 확인할 수 있었으며 bezoyl chloride가 반응성이 커 공기와 접촉하거나 보관하였을 경우에도 미량의 benzoic acid anhydride가 내부적으로 생성되어 유도체화 하기 전 시약자체에서 검출되는 것이 GC/MS에 의해 확인되었으며 머무름 시간은 분석코자 하는 전체 페놀류의 유도체화물과 겹치지 않고 분리가 되기 때문에 페놀류의 전체 이온크로마토그램의 분리에는 영향을 미치지 않았다.

각각의 표준물질을 benzoyl chloride을 사용하여 유도체화 후 스펙트럼을 확인하기 위하여 GC/MSD의 scan mode로 m/z 30-500까지의 mass range에서 전자충돌방식(electron impact, EI)에 의해 유도체화 하기전과 유도체화 후의 스펙트럼을 각각 개별적으로 얻어 서로 확인하였으며 대표적인 스펙트럼을 *Fig*. 1과 *Fig*. 2에 각각 나타내었다. 페놀에 대한 질량스펙트럼 *Fig*. 1과 *Fig*. 2에서 보듯이 유도체화 후 m/z 105 ($C_6H_5CO^+$)이온과 m/z 77 ($C_6H_5^+$)의 이온이 공통적으로 크게 나타났고 상대적으로 분자이온의 피크가 작게 나타난 것을 알 수 있다.

Fig. 1은 표준물질로 사용한 페놀의 유도체화 하기 전(A)의 스펙트럼으로 페놀의 분자이온이 m/z=94 임을 알 수 있으며 유도체화 후 (B)의 스펙트럼에서는 benzoyl chloride의 benzoyl기가 결합하여 phenyl benzoate의 유도체로 되면서 페놀에 m/z=105 ($C_6H_5CO^+$)만큼 질량이 증가하여 m/z= 198로 유도체화 된 것을 확인할 수 있었으며 *Fig*. 2는 표준물질로 사용한 pentachlorophenol을 유도체화 하기 전(A)과 후(B)의 스펙트럼을 나타낸 것으로 유도체화 하기 전(A)의 분자이온 m/z=266이 유도체화 하고난 후(B)의 스펙트럼에서 m/z=105 ($C_6H_5CO^+$)

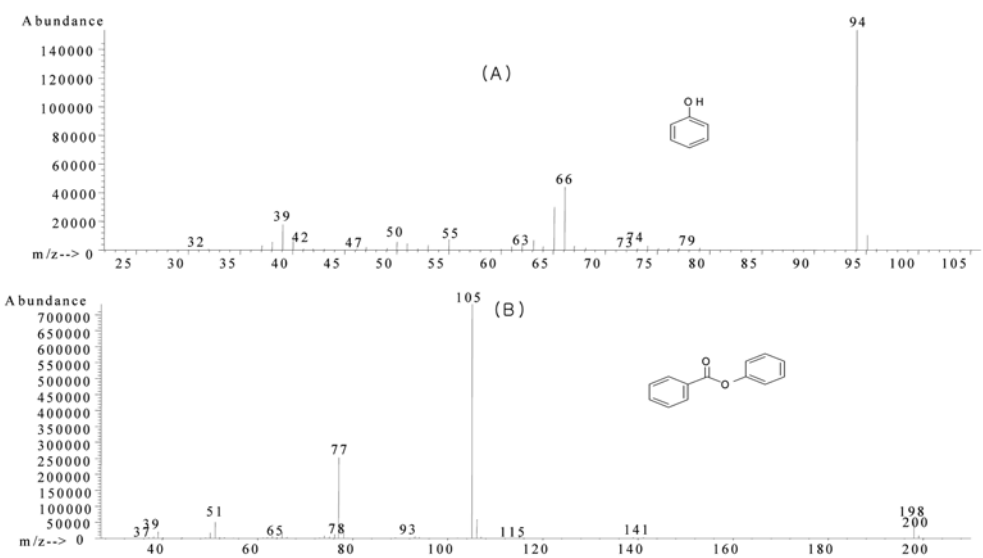

Fig. 1. Electron ionization mass spectra of (A) phenol and (B) phenyl benzoate.

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.

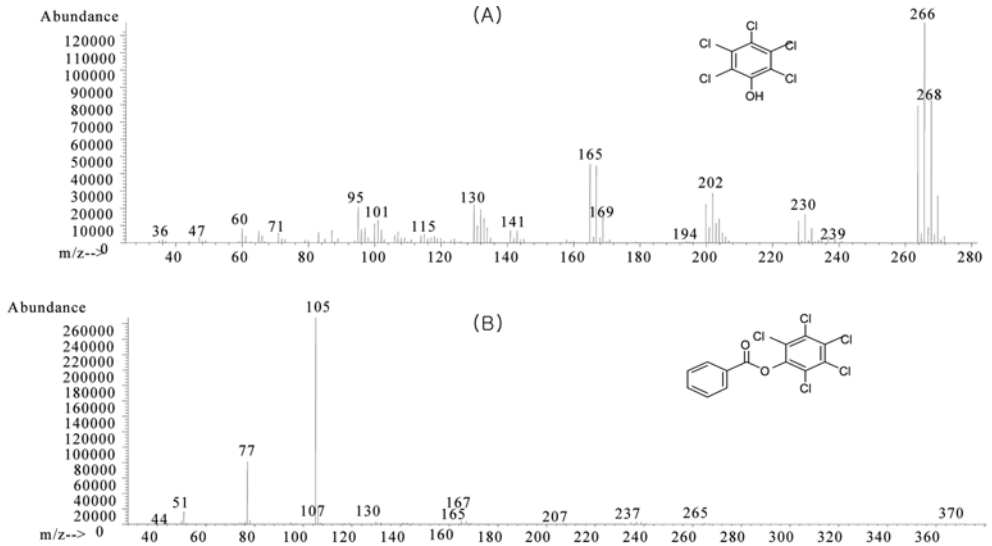

Fig. 2. Electron ionization mass spectra of (A) pentachlorophenol and (B) pentachlorophenyl benzoate.

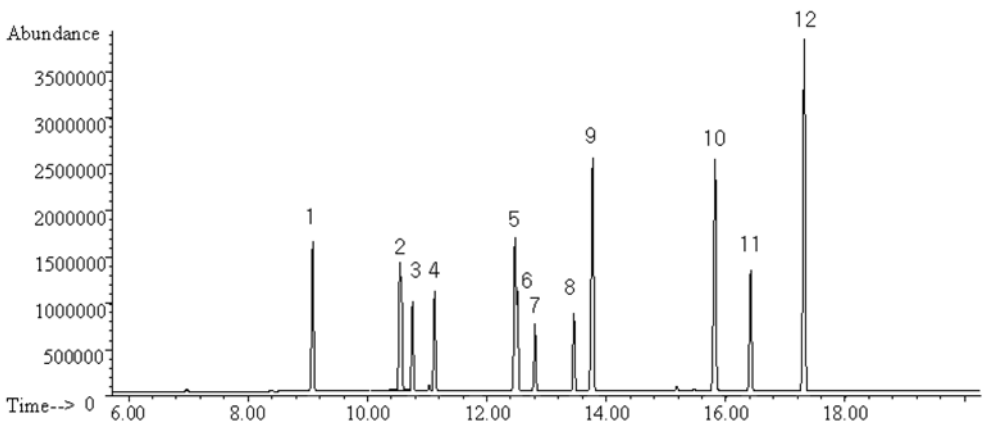

Fig. 3. Total ion chromatogram (TIC) of the derivatives of standard obtained by GC/MS-SIM. The numbered peaks are: 1 = Phenol; 2 = ISTD (Phenanthrene); 3 = 2-Chlorophenol; 4 = 2,4-Dimethylphenol; 5 = 4-Chloro-3-methylphenol; 6 = 2,4-Dichlorophenol; 7 = 2-Nitrophenol; 8 = 2,4,6-Trichlorophenol; 9 = 4-Nitrophenol; 10 = 2,4-Dinitrophenol; 11 = 4,6-Dinitro-2-methylphenol; 12 = Pentachlorophenol.

만큼 증가하여 m/z=370의 분자이온이 생성되어 유도체화가 된 것을 쉽게 확인할 수 있다. 이와 같이 11종류의 모든 페놀류를 각각 개별적으로 유도체화를 할 때 페놀의 수산기에 수소대신 benzoyl기가 결합하여 m/z=105 ($C_6H_5CO^+$)만큼 질량이 증가하는 것으로 확인하였다.

이와 같이 각각의 물질에 대한 유도체화 된 구조와 머무름 시간을 확인하고 난 후 혼합 표준물질로 사용한 11종의 페놀류를 유도체화 후 특성 이온만을 선택하여 selected ion monitoring (SIM) 모드로 분석한 표준물질의 이온크로마토그램을 *Fig.* 3에 보여주었다.

Fig. 3의 유도체화 후 분석한 페놀류 표준물질의 전체 이온크로마토그램에서 보는 바와 같이 표준물질은 본 연구에서 정립한 분석조건에서 모두 18분 이내에 피크의 모양이 대칭으로 sharp하게 분리되어 나온 것을 알 수 있었으며. 피크 5와 6은 4-chloro-3-methylphenol과 2,4-dichlorophenol 으로 머무름 시간이 거의 유사하여 완전하게 분리가 일어나지 않았으나 4-chloro-3-methylphenol의 특성 이온인 m/z 105, 77, 246에서 정량이온으로 m/z 246을 선택하였고 2,4-dichlorophenol의 특

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.

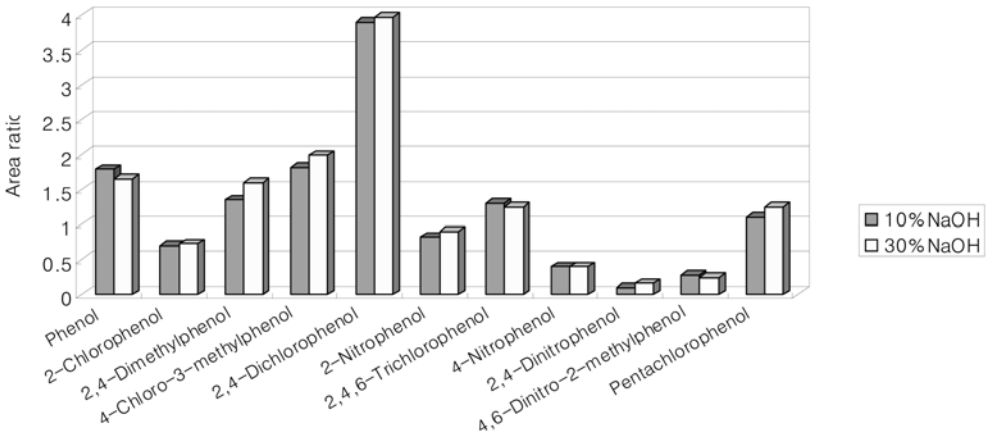

Fig. 4. Effect of sodium hydroxide content of derivatization of phenolic analytes.

성 이온은 m/z 105, 77, 266에서 정량이온으로 m/z 266을 선택하여 각각의 면적을 얻을 수 있어 정량하는데 영향을 미치지 않았다.

Benzoyl chloride를 사용하여 유도체화를 하기 위해서는 수용액상의 조성이 pH 13의 강한 알칼리성의 조건이 되어야 하는데 이러한 알칼리성의 농도가 유도체화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수산화나트륨용액의 농도를 10%와 30%로 만들어 비교하였다.

이때 유도체화를 한 후 나타난 면적비를 구하여 수산화나트륨의 농도에 따른 유도체화율을 비교하였으며 그 래프는 *Fig.* 4에 나타내었다.

Fig. 4에서 보여 주는바와 같이 전체적인 경향에서 대체로 큰 차이는 나지 않지만 phenol 및 2,4,6-trichlorophenol, 4,6-dinitro-2-methylphenol은 수산화나트륨용액의 농도가 10%일 때 약간 면적비가 큰 결과를 얻었으며 그 밖의 페놀류에서는 수산화나트륨용액의 농도가 30% 일 때 즉 알칼리성이 높은 영역에서 유도체화가 잘 된 결과를 얻었다. 따라서 수산화나트륨용액의 농도가 10% 이상의 농도에서는 유도체화에 커다란 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다.

4. 결 론

미국 환경청에서 지정한 11종의 페놀류가 함유된 수용액상 시료에 benzoyl chloride를 직접 사용하여 유도체화한 결과 반응시간이 15분 정도로, 기존의 유도체화 방법들 보다 간단하고 극성이 큰 불순물이나 무기염으로부터 간섭을 받지 않고 분리가 잘 되었으며, 회수율이 58.4~114.0%, 상대표준편차는 평균 3.4%와 8.5% 사이의 값을 얻을 수 있었다. 또한 재현성이 매우 좋고 매질의 영향을 받지 않아 수용액상에 페놀류를 스크리닝하거나 글리콜류 와 같은 화합물의 검출에도 매우 간편하고 유용한 방법이라 사료된다.

참고문헌

1. A. I. Williams, Analyst, **96**, 296 (1971).
2. W. Frenzel, J.O. Frenzel, J. Moeller, *Anal. Chim. Acta,* **261**, 253 (1992).
3. C. Schlett, B. Pfeifer, Wasser, **79**, 65 (1992).
4. Toxic Substance Control Act, US Environmental Protection Agency, Washington, DC (1979).
5. H. O. Friested, D. E. Ott, and F. A. Gumthen, *J. Anal Chem.*, **41**, 1750 (1969).
6. E. F. Mohler, Jr, and L. N. Jacob, *J. Anal. Chem.,* **29**, 1369 (1957).
7. Y. Fiamegos, C. Stalikas, G. Pilidis, *Anal. Chim. Acta,* **467**, 105 (2002).
8. J. F. cooper, J. Tourte, and P. Gros, *Chromatographia,* **38**, 147 (1994).
9. E. Pocurull, M. Calull, R. M. Marce, F. Borrull, *J. Chromatogr., A* **719**, 105 (1996).
10. M. Moder, S. Schrader, U. Franck, and P. Popp, *J. Anal. Chem.*, **357**, 326 (1197).
11. E. C. Huang, T. Wachs, J. J. Conboy, J. D. Henion, *J. Anal. Chem.*, **62**, 713A (1990).
12. “EPA method 625, Base/neutrals and acids”.
13. “EPA method 3510C, Separatory funnel liquid-liquid

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.

extraction".
14. T. Heberer and H. J. Stan, *Analytica Chim. Acta,* **341**, 21 (1997).
15. B. B. Sithole, D.T. Williams, C. Lastoria, J.L. Robertson, J. Assoc. Off. *Anal. Chem*., **69**, 466 (1986).
16. R. Herterich, *J. Chromatogr*., **549**, 313 (1991).
17. Th. J. Boyd, *J. Chromatogr., A* **662**, 281 (1994).
18. T. Herber, S. Butz, H.-J. Stan, J. Assoc. Off. *Anal. Chem.,* **77,** 1587 (1994).
19. M. Veningerova, V. Prachar, J. Uhnak, M. Lukacsova, T. Trnovec, *J. Chromatogr., B* **657**, 103 (1994).
20. J. Cheung, R.J. Wells, *J. Chromatogr., A* **771**, 203 (1997).
21. J. A. Field, *J. Chromatogr., A* **785**, 239 (1997).
22. A. Kraemer, J. Angerer, Fresenius Z. *Anal. Chem.*, **351**, 327 (1995).
23. L. Tullberg, I.-B. Peetre, B.E.F. Smith, *J. Chromatogr.,* **120,** 103 (1976).
24. T. Herberer, H.-J. Stan, *Anal. Chim. Acta,* **341**, 21 (1997).
25. Akira Kunugi and Katsumi Tabei, *J. Chromatogr*., **398**, 320 (1987).
26. Adem Asan, Ibrahim Isildak, *J. Chromatogr., A* **988**, 145 (2003).

Copyright (C) 2006 NuriMedia Co., Ltd.