

## 속 보

### 비스페놀 A의 흡착을 위한 분자각인 고분자

류재춘 · 김종훈<sup>†</sup> · 이상희\*

군산대학교 화학과

<sup>†</sup>전주대학교 환경과학기술학과

(2003. 11. 3 접수)

### Molecularly Imprinted Polymer for Adsorption of Bisphenol A

Jae Chun Ryu, Jong-Hun Kim<sup>†</sup>, and Sang Hee Lee\*

Department of Chemistry, School of Natural Science, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

<sup>†</sup>Department of Environmental Science and Technology, Jeonju University, Jeonju 560-759, Korea

(Received November 3, 2003)

**주제어:** 비스페놀 A, 고상 추출법, 분자각인 고분자

**Keywords:** Bisphenol A, Solid Phase Extraction, Molecular imprinting Polymer

Bisphenol A(BPA)는 에폭시 수지와 폴리카보네이트 플라스틱의 제조에 쓰이는 단량체이다. 이 플라스틱은 많은 식품과 유류의 포장재로 사용되는데, 수지는 캔용기, 병뚜껑, 상수관 같은 금속제품을 코팅하는 락커(lacquer)로 이용되며 치과에서 사용되는 몇몇 중합체도 BPA를 포함하고 있다.<sup>1,2</sup> 한편, BPA는 estrogenic 내분비교란물질(Endocrine Disruptors)<sup>3</sup>으로 알려져 있어 식품, 생체 및 물속에 존재하는 BPA를 효율적으로 분석하기 위한 방법들이 연구되고 있다.<sup>4-12</sup> 극미량의 BPA를 정량적으로 분석하기 위해서는 먼저 효율적으로 농축하는 과정이 필수적이다. 유기용매를 사용하여 반복적으로 추출(liquid-liquid extraction)하고 농축하는 방법은 많은 양의 유기 용매와 시간이 소요되므로 카트리지를 이용한 고체 추출법(solid phase extraction)<sup>13,14</sup>이 효율적이며 특히 자동화된 모니터링을 위해 필요하다. BPA는 비교적 극성이 큰 관계로 일반적인 흡착카트리저로는 회수율이 낮지 않으며 특히 생체시료 중의 콜레스테롤이나 인지질 등이 함께 흡착되어 정량분석에 어려움을 주기 때문에 BPA를 보다 선택적으로 강하게 흡착할 수 있는 카트리저가 요구된다. 따라서 본 연구에서는 BPA에 대한 흡착능력이 우수한 카트리저의 개발을 위하여 분자각인 고분자<sup>15</sup>를 합성하고자 한다.

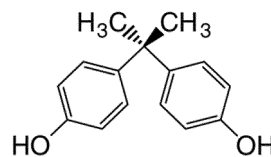


Fig. 1. Bisphenol A(BPA).

**분자각인 고분자 설계 및 합성.** 분자 각인(molecular imprinting)은 합성고분자에 인식자리(recognition site)를 만들기 위한 방법이다. 분자 각인을 위하여 많은 경우 카르복실기와 아민기간의 ionic 상호작용을 이용하지만,<sup>16-21</sup> 분자간의 수소결합을 이용한 예도 알려져 있다.<sup>22</sup> 본 연구에서는 소수성(hydrophobic) 상호작용 및 BPA의 두개의 수산기와 고분자 사이의 수소결합을 동시에 이용하고자 한다. 이러한 전략을 Scheme 1에 도시적으로 나타내었다.

고분자의 단량체로서 소수성이며 교차연결 고분자의 골격을 유지할 수 있는 divinylbenzene(DVB, 15.4 mmol)을 사용하였고 아울러 BPA와 수소결합을 할 수 있는 화합물인 N-vinylpyrrolidone(NVP, 13.2 mmol)을 사용하였다. 주형 분자 존재 하에서 공중합시킴으로서 B와 같은 소수성 주머니 안에 주형분자가 포획된 교차연결 공중합체(crosslinked copolymer)를 얻고자 하였다. 포

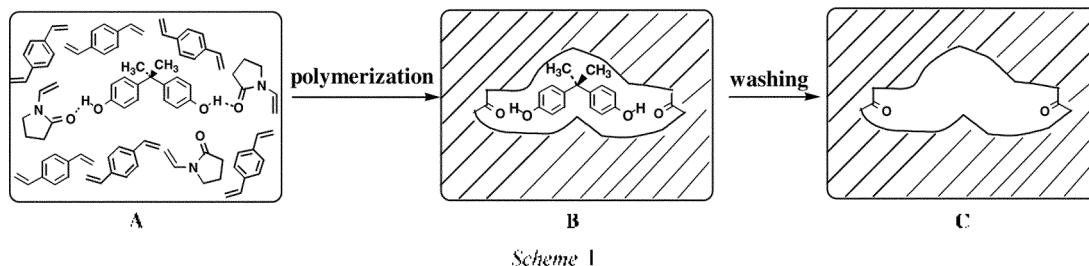


Table 1. Conditions of polymerization

polymer	II	III	IV	V	VI	VII
condition						
Polymerization	Suspension polymerization <sup>a</sup>			Solution polymerization <sup>b</sup>		
Template	3	3	4	3	3	4
Porogenic solvent(eq) <sup>c</sup>	toluene (2.4)	toluene (1.2)	toluene (2.4)	toluene (1.8)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1.8)	toluene (1.8)

<sup>a</sup> polymerization was performed at 70 °C for 20 h. <sup>b</sup> polymerization was performed at rt for 15 h under UV light. <sup>c</sup> based on the amount of monomers (DVB+NVP).

Table 2. Recovery efficiency and composition of polymers

Polymer		II	III	IV	V	VI	VII
Composition (mmole%) <sup>a</sup>	DVB	74.3	73.2	69.5	66.0	91.7	91.8
	NVP	25.7	26.8	30.5	34.0	8.3	8.2
Recovery efficiency(%)		7.1	15.5	18.1	17.4	6.8	66.5

<sup>a</sup> Determined by elemental analysis of polymers.

획된 주형분자를 유기용매로 씻어 제거함으로써 고분자 **C**를 얻었다. **C**는 소수성 주머니 안에 BPA의 수산기(-OH)가 수소결합을 할 수 있는 카르보닐기(C=O)를 적당한 위치에 갖고 있다. 따라서 크기와 모양이 적당한 고분자의 소수성 주머니와 BPA의 소수성 부분간의 비네르발스 인력 그리고 수산기와 카르보닐기간의 수소결합으로 인하여 고분자 **C**는 BPA와 매우 안정한 착물을 형성할 수 있도록 하였다.

현탁 중합(suspension polymerization)에서는 30~90 μm 크기의 구형(granular bead) 중합체를 얻을 수 있어 그대로 카트리지의 고정상으로 사용하였다. 유기용매로 toluene을 사용한 용액 중합반응<sup>2</sup>에 의하여 얻은 고분자는 막자사발로 질게 부수고 메탄올에서 방치하여 부유하는 미세입자를 제거하였다. 침전된 입자들 중 너무 큰 입자는 90 μm의 sieve를 이용해 제거하고 30~90 μm의 직경을 갖는 입자를 얻어 사용하였다. 중합 반응 조건을 Table 1에 요약하였다. 각 반응조건에서 얻어진 고분자에 함유되어 있는 단량체의 조성을 원소분석에 근거하여 결정하였고 이를 Table 2에 나타내었다. 중합반응에 사용한 두 단량체의 비율은 모두 같았지만

중합반응의 조건 및 사용한 용매에 따라 얻어진 고분자에 포함된 두 단량체의 조성에는 큰 차이를 보였다.

**주형의 설계 및 합성.** 본 연구에서 BPA를 효과적으로 인식하기 위한 분자각인 고분자를 합성하기 위해서 사용해야 하는 이상적인 주형은 BPA 자체라 할 수 있다. 그러나 phenol 계통은 라디칼 중합반응에서 중합 저해제로 작용하므로 BPA를 주형으로 사용하는 것은 불가능하다. 또한, 중합반응 시킨 후 고분자에 일부 잔류할 수 있는 BPA는 정량분석 할 때 매우 큰 오차를 유발할 수도 있다. 따라서 BPA를 대신할 수 있는 주형 분자로는 수산기를 아민기로 치환한 주형 **2**가 수소결합을 할 수 있어 먼저 생각할 수 있으나 아민 역시 라디칼 중합반응을 저해하여 중합반응이 일어나지 않았을 뿐만 아니라 화학적으로 안정성이 낮아 사용할 수가 없었다. 따라서 본 연구에서는 분자의 크기가 커지긴 하지만 분자 전체의 모양에는 큰 변화가 없고 수소결합을 할 수 있는 주형 **3**을 사용하였다. 주형 **3**을 단량체(DVB 및 NVP)와 혼합한 후 중합반응 시킬 때 70~80 °C의 온도에서는 문제가 없었으나 상온에서 중합반응 시키고자 할 때는 용해도가 낮아 균일한 용액이 만들어지

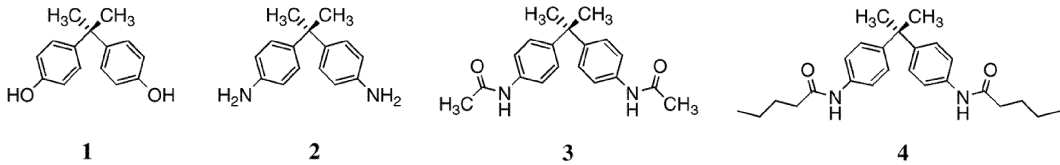
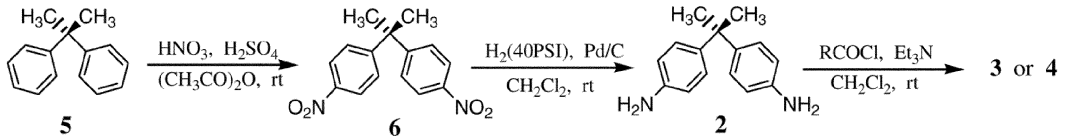


Fig. 2. Structure of the templates.



Scheme 2

지 않았다. 따라서 지은 중합반응에서는 분자의 유연성을 증가시켜 용해도 분체를 해결하기 위하여 주형 4를 사용하였다.

주형 3 및 4의 합성과정은 Scheme 2에 나타내었다. 5로부터 para 위치에 선택적으로 nitration시킬 수 있었으며, 니트로기는 Pd/C 촉매 하에서 수소화 반응시켜 아민으로 전환하여 2를 얻었다. 아민 2는 acetyl chloride 또는 valeroyl chloride와 반응시킴으로써 3 및 4를 각각 얻을 수 있었다.

**BPA 회수율 측정.** 각 고분자의 BPA에 대한 회수율 측정결과를 Table 2에 나타내었다. 여기서 회수율은 BPA(1.0 ng/ml)를 함유한 수용액 300 ml를 고분자 1.0 g에 통과시켰을 때 고분자에 흡착된 BP의 양을 %로 나

타낸 값이다. 고분자에 흡착된 BPA를 유기용매로 용출시켜 그 양을 GC/MS로 정량하여 결정하였다.<sup>25</sup> 한편 BPA와의 친화력을 높이기 위하여 주형을 사용한 경우 (II, III, IV, VI 및 VII)가 주형을 사용하지 않은 고분자 (I 및 V)에 비하여 BPA에 대한 회수율이 현저하게 증가하였다. 이러한 분자각인 효과는 현탁중합에서보다 용액중합반응에서 더욱 효과적이었는데, 이는 Fig. 3에 나타낸 바와 같이 설명할 수 있다. 현탁중합반응(a)에서는 물을 사용하므로 친수성기를 갖는 주형분자와 NVP 단량체가 표면의 물과 각각 회합을 함으로서 주형분자와 NVP간의 회합의 정도가 낮아지는 반면, 용액중합(b)에서는 물이 없으므로 두 친수성기간의 회합이 보다 용이하기 때문으로 추측된다.

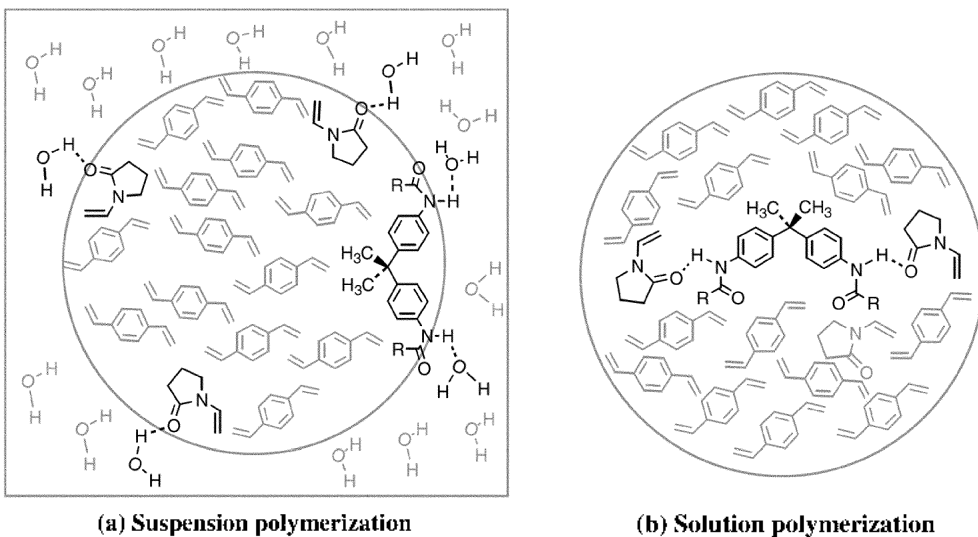


Fig. 3. Interaction between template and monomer.

다공성 유도용매(porogenic solvent)로는 주로 toluene 을 사용하였는데 사용량을 달리하여 합성한 고분자(II 와 III)의 회수율 측정결과에는 큰 차이를 보이지 않았다. 상온에서 중합반응 시키는 경우(고분자 VI)에는 주형 분자 3이 toluene에 녹지 않았으므로 용매를 chloroform 으로 바꾸었는데 그에 따라 회수율이 주형분자 4를 사용하고 용매로 toluene을 사용한 VII보다 BPA 회수율이 크게 낮아졌는데, 이러한 차이는 주형의 구조의 차이보다는 사용한 용매 및 고분자에 함유된 NVP의 함량의 차이에서 기인 한 것으로 보인다. 만약 친수성인 NVP를 적게 사용하면 고분자에 붙어 침투하기가 어려워져 결과적으로 수용액중의 환경호르몬 물질이 고분자와 접촉하기 어려워지고 흡착속도가 매우 느릴 것이다. 또한 수소결합차리가 부족하여 흡착능력이 저하될 것이다. 반대로 너무 많이 사용하면 소수성 환경호르몬 물질과의 소수성 상호작용이 약화되어 역시 흡착능력이 저하될 것이다. 이러한 점을 고려하여 NVP 및 주형분자의 사용량 등의 최적화에 대한 연구가 수행중이다.

## 인 용 문 헌

- Borotons, J. A.; Olea-Serrano, M. F.; Villalobos, M.; Fedraza, V.; Olea, N. *Environmental Health Perspective* **1995**, *103*, 608.
- Kawamura, Y.; Inoue, K.; Nakazawa, H.; Yamada, T.; Maitani, T. *J. Food Hygien. Soc. Japan* **2001**, *42*, 13.
- Munguia-Lopez, E. M.; Soto-Valdez, H. J. *Agricultural Food Chem.* **2001**, *49*, 3666.
- Krishnan, A. V.; Starbik, P.; Permeth, S. F.; Tokes, L.; Feldman, D. *Endocrinology* **1993**, *132*, 3.
- Borotons, J. A.; Olea-Serrano, M. F.; Villalobos, M.; Pedraza, V.; Olea, N. *Environ. Health Perspect.* **1995**, *105*, 70.
- Sajiki, J. *J. Chromatogr. B.* **2001**, *755*, 9.
- Kang, J.-H.; Kondo, F. *Research Veterinary Science.* **2002**, *73*, 177.
- Biles, J. E.; Meneal, T. P.; Begley, T. H. *J. Agricultural Food Chem.* **1997**, *45*, 4697.
- Horie, M.; Yoshida, T.; Ishii, R.; Nakazawa, H. *Bimseki Kagaku* **1999**, *48*, 579.
- Imanaka, M.; Sasaki, K.; Nemoto, S.; Ueda, E.; Murakami, E.; Miyata, d.; Tomogai, Y. *J. Food Hygien. Soc. Japan.* **2001**, *42*, 71.
- Inoue, K.; Kato, K.; Yoshimura, Y.; Makino, T.; Nakazawa, H. *J. Chromatogr. B.* **2000**, *749*, 17.
- Perderson, S. N.; Lindholst, C. *J. Chromatogr. A.* **1999**, *864*, 17.
- Hankemeier, T.; van Leeuwen, S. P. J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. Th. *J. Chromatogr. A.* **1998**, *811*, 117.
- Verma, K. K.; Louter, A. H. H.; Jain, A.; Pocurull, E.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U. A. Th. *Chromatographia.* **1997**, *44*, 372.
- Sellergren, B. *Trends Anal. Chem.* **1997**, *16*, 310.
- Shea, K. J. *Trends Polym Sci.* **1994**, *2*, 166.
- Wulff, G. *Angew Chem. Int Ed Engl.* **1995**, *34*, 1812.
- Vidyasankar, S.; Arnold, F. H. *Curr Opin Biotechnol.* **1995**, *6*, 218.
- Steinke, J.; Sherrington, D. C.; Dunkin, I. R. *Adv Polym Sci.* **1995**, *123*, 81.
- Haupt, K.; Mosbach, K. *Trends Biotechnol.* **1998**, *16*, 468.
- Takeuchi, T.; Haginaka, J. *J. Chromatogr. B* **1998**, *728*, 1.
- Maves, A. G.; Mosbach, K. *Trends Anal. Chem.* **1997**, *16*, 321.
- Yu, C.; Mosbach, K. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4057.
- 분자 각인 고분자 VII의 합성(solution polymerization).** Borosilicate glass 시험관에 주형 4(454.5 mg, 1.152 mmol)를 N-vinyl-2-pyrrolidone(1.05 ml, 9.91 mmol)에 가열하여 녹인 후 divinylbenzene(DVB-80, 80<sup>o</sup>, 2.04 ml, 11.52 mmol), toluene(2.2 ml) 그리고 AIBN (58.6 mg, 0.35 mmol)를 가하였다. 혼합 용액을 이과하여 소량의 녹지 않은 부분을 제거한 후 건조된 질소로 5분간 purge하였다. 시험관을 내개로 잘 막은 후 상온에서 15시간 동안 UV lamp(365 nm)로 중합반응을 하였다. 생성된 고분자를 막자사발을 이용하여 입자의 크기가 약 30-100  $\mu$ m 정도 되도록 잘아주었다. 100 ml flask에 잘아진 고분자와 CH<sub>2</sub>OH(50 ml)을 넣고 10시간 동안 교반한 후 10분간 방치하였다. 얻어진 침전물을 glass filter로 여과하고 증류수와 CH<sub>2</sub>OH 그리고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 충분히 씻어 반응에 참여하지 않은 단량체들과 주형을 제거한 후 70  $^{\circ}$ C에서 20시간 동안 건조하였다. 잘 건조된 고분자를 Standard Sieve(90  $\mu$ m)로 균질화하여 고분자 VII(1.722 g, 67.5 $^{\circ}$ )(1.5 g, 58.8 $^{\circ}$ , < 90  $\mu$ m)을 백색 고체로 얻었다. 원소분석: C(88.83 $^{\circ}$ ), H(8.11 $^{\circ}$ ), N(0.88 $^{\circ}$ ); DVB-80(91.8 mole $^{\circ}$ ), N-vinyl-2-pyrrolidone (8.2 mole $^{\circ}$ ).
- 고체 추출법 (solid-phase extraction methods):** 합성한 고분자를 주사기 컵(L95 $\times$ D12 mm)에 충전시킨 후 10 ml의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>와 10 ml의 메탄올 - 증류수(1:1)로 가볍게 씻어주었다. 여기에 약 0.01  $\mu$ g/ml의 BPA와 내부표준물질인 anthracene-d10 1  $\mu$ g/ml을 함유한 표준용액 300 ml를 부당 2 ml의 속도로 통과시켰다. BPA와 anthracene-d10이 흡착된 고분자를 40  $^{\circ}$ C에서 1시간동안 건조시킨 후 20 ml의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 추출하여 무수 황산나트륨으로 건조하고 회전식 증발기를 이용하여 약 0.2 ml로 vial에 농축하였다. 농축된 시료를 질소가스로서 purge

한 후 GC-Mass로 분석하였다.

**GC-Mass 분석.** 컬럼 오븐의 온도는 155 °C에서 1분간 유지한 후 분당 1 °C씩 온도를 올려 165 °C에서 1분간 머물게 하고, 분당 6 °C씩 올려 200 °C에서 1분간 머물게 한 다음 마지막으로 분당 10 °C씩 온도를 올려 300 °C에서 변온분석 하였다. 시료는 미세 주사기를 사

용하여 1 µl의 시료를 주입하였고, split ratio는 14:1로 하였다. 이동기체(carrier gas)는 헬륨(He, 99.999%) 기체를 사용하였고, 유속은 분당 1 ml로 조절하여 사용하였다. 주입구(injector)와 검출기(detector)의 온도는 각각 200 °C와 250 °C에서 분석하였다.