

국제표준(안) 개선을 위한 토양 중 화약물질 추출 효율성 평가

이군택* · 정인호 · 김보현 · 김동욱

서울대학교 농생명과학공동기기원

Assessment on the Extraction Efficiency of Explosive Compounds in Soil for Improving the Working Draft of International Standard

Goontaek Lee* · Inho Jung · Bohyun Kim · Dongwook Kim

National Instrumentation Center for Environmental Management, Seoul National University

ABSTRACT

The ISO document of ISO/TC/190/SC3/WG11/N11 is a working draft of international standard (WD) dealing with analytical method for the determination of explosives and related compounds using high performance liquid chromatography. The scope of this WD covers the storage of samples, preparing test portion, extraction and instrumentation. The main purpose of this study was to improve the extraction conditions which were already adopted in the WD. For this purpose, mechanical shaking method could be corresponded up to 18 hours of ultrasonic bath extraction in the WD was tested. Methanol was also tested with the intention of being added as an extracting solvent other than acetonitrile in the WD. According to the results, 16 hours of mechanical shaking method showed statistically the same effectiveness as that of 18 hours of ultrasonic bath extraction. In case of extracting solvent, methanol also showed statistically the same extraction capability as acetonitrile for DNB, TNT, 2-A-DNT and 2,4-DNT. However, the recovery rate of TNB with methanol extraction was 40% higher than that of acetonitrile extraction. Through adding mechanical shaking method into committee draft (cf. the next stage draft of the WD during the process for making international standard), ISO standard of analyzing explosives and related compounds in soil would become more useful in dealing with huge number of field samples in the laboratory. In other aspect, adopting methanol as an alternative extracting solvent would be very effective in the terms of exchangeability with GC-ECD/MS method which is being developed by German experts.

Key words : Explosive, Extraction method, Mechanical shaking extraction, Pressurised liquid extraction, Ultrasonic extraction

1. 서 론

화약류에 의한 토양오염은 일반적으로 전쟁을 경험하거나 포사격 연습장 또는 화약류 제조시설을 가지고 있는 국가라면 그 가능성을 배제할 수 없는 것이 현실이다. 국외 사례(Jenkins et al., 2001)에서 보는 바와 같이 대표적인 화약성분인 TNT, RDX 등에 의한 토양오염은 피할 수 없는 현실이 되었으며 이들이 미치는 환경적 영향에 대한 우려의 소리가 국내외적으로 높아지고 있다. TNT와 RDX는 미국 EPA에 의하여 C급 발암물질로 규정되어 있고 음용수 허용농도의 경우 2 ppb 수준으로 매우 낮게 설

정되어 있다(US EPA, 2006a). 이런 측면을 고려해 볼 때 토양 중 화약류 오염을 평가할 수 있는 분석 방법이 요구되는 것은 당연하다고 볼 수 있으며 이러한 이유로 2006년 10월 런던에서 개최된 ISO/TC 190 “Soil Quality” (토양 분석방법의 표준화를 위한 기술위원회) 총회에서 토양 중 화약성분 분석방법의 국제 규격화에 대한 필요성이 제기되었다. 한국정부는 이런 필요성에 부응하고 국제표준을 선점해 나갈 목적으로 사전 기초 연구를 수행하고(김계훈 외, 2007; 조정현 외, 2009) 이를 근거로 ISO/TC 190에 화약성분 분석 방법의 국제표준화를 위한 신규 제안서(NWIP, new work item proposal)를 제출하였다. 본

*Corresponding author : gtleee@snu.ac.kr

원고접수일 : 2012. 1. 12 심사일 : 2012. 1. 18 게재승인일 : 2012. 1. 19
질의 및 토의 : 2012. 4. 30 까지

연구는 신규제안서를 일부 보완하여 작성된 작업초안(ISO/TC190/SC3/WG11/N11, 2008) 내용 중 실험적 사실 규명이 요구되는 부분을 확인하고 반영하여 국제표준화 과정의 다음 단계인 위원회초안(CD, committee draft)을 작성하고자 수행되었다. 작업초안(WD, working draft) 방법의 개요는 공시 토양 10 g에 아세토나이트릴(ACN, acetonitrile) 20 mL를 가하고 18시간 동안 초음파 추출을 수행한 후, 이를 여과하여 시험 용액을 준비하고 시험 용액 중 화약 성분의 정성·정량 분석을 위하여 고성능액체크로마토그래피(HPLC, high performance liquid chromatography)를 사용하는 것이다. 본 연구에서는 특히 WD에 대한 국외전문가 의견 수렴 과정에서 도출된 내용과 독일 전문가가 주관하여 국제표준화를 진행하는 일부 화약류 및 관련 잔류성분에 대한 가스크로마토그래피(GC, gas chromatography) 방법(ISO/TC190/SC3/WG11/N12, 2008)과의 호환성을 고려하여 기존 ACN 추출 방법 외에 메탄올(MeOH, methanol)에 의한 추출 효율을 비교 평가하였다. 추출방식 측면에서는 미(美)환경청 방법(U.S. EPA, 2006b)에서 채택하고 있는 기계식진탕추출방법에 대한 비교평가를 중점적으로 수행하였다. 이는 각국에서 기존에 사용하고 있는 방법을 가급적 신규 국제표준에 담아냄으로써 향후 제정되는 국제표준의 적용성을 확대시킴과 동시에 연관성 있는 두 가지 시험방법의 호환성 제고라는 취지에서 검토되었다. 또한 이미 제안된 초음파추출방법과 기계식진탕추출방법의 효율을 비교 평가하여 제한된 수의 추출 장비로 다량의 시료를 보다 효과적으로 처리해야만 하는 실제 실험실 여건에 적합한 추출 방법을 도입하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시토양

본 연구에 사용된 공시 토양은 독일 연방표준과학원(BAM)으로부터 제공 받은 것으로서 화약으로 오염된 현장에서 채취한 토양을 분쇄 및 체가름 등의 과정을 거쳐 균질하게 조제한 것이다. 입경분석 결과 모래 41%, 미사 35%, 점토 24%로 구성되어 있었으며 미농무성(USDA) 토성(soil texture) 평가 방식으로 볼 때 양토로 분류되었고, pH는 7.69로 약알칼리성을 나타내었으며, 유기물 함량은 0.5%로 낮은 수준이었던 반면에 양이온교환용량(CEC)은 16.59 cmol/kg으로 우리나라 농경지토양 평균값보다 높게 나타났다. 공시토양은 주로 실험실간 비교 시험(interlaboratory comparison test)에 사용되는 표준물질(reference material) 수준의 균질성을 가지고 있어 추출 용매, 추출방법 등의 비교 평가에 매우 적절한 토양이라 판단되었다. 공시토양에 오염되어 있는 주요 화약 성분은 Trinitrobenzene(TNB), Dinitrobenzene(DNB), Trinitrotoluene(TNT), 2-Amino-4, 6-dinitrotoluene(2-A-4,6-DNT), 2,4-Dinitrotoluene(2,4-DNT)의 5종이었으며 이들의 크로마토그램은 Fig. 1에 나타난 바와 같다

2.2 추출 방식, 시간 및 용매의 종류에 따른 추출 효율 평가 시험

사용되는 추출 방식에 따른 토양 중 화약성분의 추출 효율을 평가하기 위하여 압축액추출법(PLE, pressurised liquid extraction), 초음파수조추출법(USE, ultrasonic bath extraction), 기계식진탕법(MSE, mechanical shaking extraction)을 서로 비교하였다. 동시에 용매에 의한 영향을 평

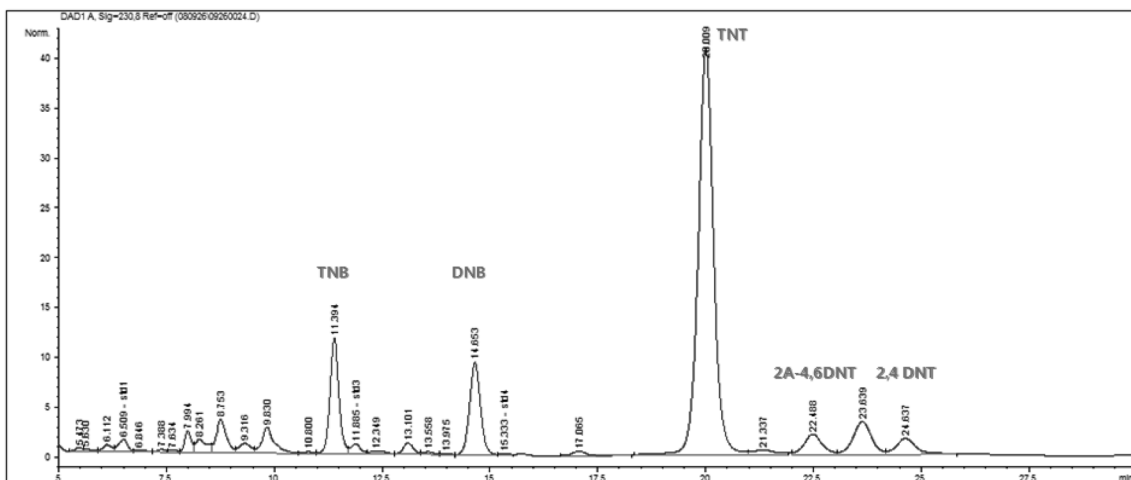


Fig. 1. Chromatogram of explosive and related compounds in test portion.

Table 1. Procedures of each extraction method

PLE	USE	MSE
<ul style="list-style-type: none"> • Amount of sample soil (20 g) + Sea sand • Parameters for PLE system <ul style="list-style-type: none"> - Solvent: MeOH - Cell dimension: 33 ml - Preheating time: 0 min - Heating time: 5 min - Static time: 15 min - Flush volume: 60% - Purge time: 200 sec - Pressure: 140 bar/2000 psi - Temperature: 100°C • After extraction, the volume of extract is measured for the calculation • The extract is analyzed using HPLC 	<ul style="list-style-type: none"> • Put 10 g of soil sample and 20 ml of ACN or MeOH in 40 ml of brown glass vial. • Extract explosive compounds from soil through ultrasonic waves (400 W, 28 kHz) for 18 hours. • Allow the soil particles to settle in the vial for 30 min • Filter an aliquot of supernatant with 0.45 µm PTFE filter • The filtrate is analyzed using HPLC 	<ul style="list-style-type: none"> • Put 10 g of soil sample and 20 ml of ACN or MeOH in 40 ml of brown glass vial. • Extract explosive compounds from soil through mechanical shaking (at 200 rpm) for 4, 8, 16 hours respectively. • Allow the soil particles to settle in the vial for 30 min • Filter an aliquot of supernatant with 0.45 µm PTFE filter • The filtrate is analyzed using HPLC

Table 2. HPLC conditions for the analysis of explosive and related compounds

HPLC conditions	
• Mobile Phase	Isopropanol : Acetonitrile : Water = 18 : 12 : 70
• Column Temperature	30°C
• Flow Rate	0.8 mL/min
• Injection volume	20 µL
• Detection wavelength	230 nm (Diode Array Detector)
• Column	C-18 column (Shiseido CAPCELL PAK-MG, 250 mm × 4.6 mm)

가하기 위하여 각각의 추출 방식에 대하여 ACN과 MeOH 두 가지 용매를 적용하여 추출 효율을 서로 비교하였으며 기계식진탕법의 경우 시간에 따른 추출 효율을 구명하고자 진탕시간을 4시간, 8시간, 16시간으로 구분하여 비교시험을 수행하였다. 각 시험방법에 대한 세부 내용은 Table 1에 나타난 바와 같다.

2.4. 고성능액체크로마토그래피(HPLC) 조건

화약성분의 HPLC(Agilent, HPLC 1100) 분석 조건은 Table 2에 나타난 바와 같이 C-18 column (Shiseido CAPCELL PAK-MG)을 사용하여 컬럼온도 30°C, 이동상 (Isopropanol:Acetonitrile : Water = 18 : 12 : 70)의 유량 0.8 mL/min, 주입 시료량 20 µL, 분석파장 230 nm의 조건에서 분석하였다. 검량선은 기존 상용화되어 있는 표준물질 (Accustandard, catalog no. M-8330-R)을 사용하여 작성한 후 사용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출 방식에 따른 추출 효율 평가

압축액추출방법(PLE)에 의한 정량값을 기준으로 초음파수조추출법(USE), 기계식진탕법(MSE)에 의한 정량값의

회수율을 표기한 결과는 Table 3에 나타난 바와 같다. USE 방법의 경우 TNT의 성분의 회수율이 89%로 가장 높았으며 MSE 방법의 경우도 TNT 성분의 회수율이 88%로 가장 높았다. TNB, DNB, TNT, 2-A-DNT, 2,4-DNT를 USE와 MSE 방식으로 추출할 때 전체 성분의 각 방식에 따른 평균 회수율은 75%로 동일하였다. 따라서 추출 효율은 PLE 방법이 가장 우수하였고 USE 결과값과 MSE16 결과값을 대상으로 짝비교 t-검정을 수행한 결과 두 시험방법간 차이의 평균값 δ 의 범위가 $-1.741 < \delta < 2.199$ 로서 0을 포함하기 때문에 95% 신뢰수준에서 USE 방법과 MSE 방법간의 차이는 유의하지 않다고 볼 수 있으므로 두 방법은 동일한 결과를 나타내는 것으로 판단된다(전홍석 외, 1998). 또한 이런 결과는 Walsh and Lambert (2006)의 기존 연구결과와도 동일한 경향을 나타내었다.

3.2. 추출 용매에 따른 추출 효율 평가

추출 용매에 따른 화약성분 추출 효율을 평가하기 위하여 ACN과 MeOH를 사용하여 비교한 결과 MeOH/ACN 측정값의 비율이 83%~107% 수준으로 나타났다(Table 4). 각 물질별로 두 용매간의 추출효율 차이를 평가하기 위하여 결과값에 대한 짝비교 t-검정을 수행한 결과 DNB($-1.030 < \delta < 1.311$), TNT($-7.033 < \delta < 4.930$), 2-A-

Table 3. Percent relative recovery of ultrasonic bath extraction (USE) and mechanical shaking extraction (MSE) based on pressurised liquid extraction (PLE) (Unit: %)

Explosive	Extractant	PLE	USE	MSE4	MSE8	MSE16
TNB	ACN	100	65	56	58	60
	MeOH	100	60	61	65	69
DNB	ACN	100	81	74	77	79
	MeOH	100	70	66	69	71
TNT	ACN	100	89	85	87	88
	MeOH	100	80	82	84	84
2-A-DNT	ACN	100	81	93	82	82
	MeOH	100	68	69	71	71
2,4-DNT	ACN	100	82	75	86	82
	MeOH	100	71	77	73	79
Mean (%)		100	75	74	75	76

Cf. MSE4: 4 hour shaking / MSE8: 8 hour shaking / MSE16: 16 hour shaking

Table 4. Analytical results according to different extractants (Unit: mg/kg)

Explosive	Extractant	PLE	USE	MSE4	MSE8	MSE16
TNB	ACN	7.39	4.79	4.11	4.23	4.44
	MeOH	9.87	5.93	6.05	6.44	6.77
	M/A ratio (%)	133	124	147	150	152
DNB	ACN	8.87	7.15	6.54	6.84	6.96
	MeOH	9.45	6.65	6.27	6.54	6.74
	M/A ratio (%)	107	93	96	96	97
TNT	ACN	58.76	52.27	49.94	51.09	51.57
	MeOH	62.52	49.50	51.18	52.47	52.71
	M/A ratio (%)	106	96	102	103	102
2-A-DNT	ACN	3.32	2.69	3.10	2.71	2.73
	MeOH	3.56	2.42	2.46	2.51	2.53
	M/A ratio (%)	107	90	79	93	93
2,4-DNT	ACN	3.60	2.94	2.69	3.09	2.93
	MeOH	3.52	2.50	2.71	2.58	2.78
	M/A ratio (%)	98	85	101	83	95

Cf. MSE4: 4 hour shaking / MSE8: 8 hour shaking / MSE16: 16 hour shaking

DNT(-0.646 < δ < 1.081), 2,4-DNT(-0.408 < δ < 0.877)로 나타났으며 이는 95% 신뢰수준에서 두 추출용매에 의한 결과값의 차이는 유의하지 않다고 볼 수 있다. TNB(-3.452 < δ < 10.562)의 경우는 두 용매간 추출효율이 유의하게 차이가 나는 것으로 나타났으며 USE 방법 적용시에는 ACN의 추출 효율이 높았고 MSE 적용시에는 추출시간에 관계없이 모두 MeOH의 추출효율이 높은 것으로 나타났다. TNT의 경우는 기존의 Jenkins and Leggett(1985)에 의한 연구에서 도출된 결과와 동일한 경향을 보였으며, TNB 역시 추출 방법에 따라 적용되는 용매의 효율성이 달라질 수 있다는 이들의 결론을 뒷받침하는 결과를 나타내었다.

3.3. 기계식진탕 시간에 따른 추출 효율 평가

기계식진탕 시간에 따른 화약성분의 추출효율을 비교한 결과 총 24개 시료 중 2개의 시료를 제외하고는 16시간 추출의 경우가 가장 높은 추출 효율을 나타내었으며 사용된 용매(ACN 및 MeOH) 간에도 유사한 결과를 나타내었다(Table 5). 4시간과 16시간의 추출을 통하여 얻어진 농도의 차이는 약 13% 이내였으며 8시간과 16시간 추출 경우의 차이는 약 5% 이내로 나타났다.

4. 결 론

본 연구는 한국에서 토양 중 화약류 분석 방법을 국제

Table 5. Concentrations of soil according to extraction time by mechanical shaker

(Unit: mg/kg)

Shaking time & Extactants	TNB	DNB	TNT	2-A-DNT	2,4-DNT
MSE4-ACN	4.107	6.535	49.937	3.098	2.691
MSE8-ACN	4.292	6.841	51.088	2.709	3.091
MSE16-ACN	4.439	6.964	51.572	2.731	2.934
MSE4-MeOH	6.050	6.269	51.182	2.455	2.711
MSE8-MeOH	6.439	6.541	52.473	2.508	2.578
MSE16-MeOH	6.763	6.738	52.709	2.530	2.775

Cf. MSE4: 4 hour shaking / MSE8: 8 hour shaking / MSE16: 16 hour shaking

표준화하기 위하여 2007년도에 제안한 신규 제안서 (NWIP, new work item proposal)를 기반으로 작성한 작업초안(WD)을 수정·보완하여 다음 단계인 위원회초안 (CD, committee draft)을 도출하기 위한 목적으로 수행되었다. 본 연구를 통하여 기계식진탕법(MSE)의 추출효율이 기존의 초음파추출법(USE)과 동등함을 확인하였으며 기계식진탕법을 사용하는 경우 약 16시간 정도의 추출시간이 최적의 추출 시간으로 나타났다. 그러나 8시간의 추출의 경우에도 16시간 추출 대비 약 5% 이내의 편차를 나타내었으므로 향후 기계식진탕기의 온도 조건을 승온하여 추출 시간을 단축시키는 추가적 방법도 고려 할만 한 것으로 판단된다. 한편 USE 및 MSE를 압출액추출방법(PLE)과 비교해 보면 USE 및 MSE 방법의 경우 PLE 방법의 약 75% 수준의 추출 효율을 나타내었다. 용매에 따른 추출 효율을 평가한 결과 본 연구에서 사용된 TNB, DNB, TNT, 2-A-DNT, 2,4-DNT 성분 중 TNB를 제외한 나머지 물질의 MeOH 및 ACN에 의한 추출효율은 동등한 것으로 나타났으며 TNB는 추출방법에 따라 ACN과 MeOH의 추출효율이 달라지는 것으로 나타났다. 본 연구를 통하여 다량 시료 분석에 취약성을 가지고 있던 USE 방법을 보완할 수 있는 MSE 방법을 추가적으로 제안함으로써 향후 제정되는 국제표준은 실제 실험실 현장에서 다량 시료분석에 대한 효율성을 제고시킬 수 있는 방법이 될 것으로 판단되며 추출 용매로서 ACN과 MeOH를 모두 포함으로써 제한적이지만 일부 화약류 및 관련 분해산물 분석용으로 국제표준화가 추진되고 있는 GC-ECD 및 GC-MS를 이용하는 방법(ISO/TC190/SC3/WG11/N12, 2008)과의 호환성도 증대될 수 있을 것이라 판단된다.

참 고 문 헌

- 김계훈, 배범한, 김호진, 김혁수, 정중환, Wu Da Bo, 1997, 토양 중 화약류 분석방법에 관한 규격 개발, 기술표준원 학술연구보고서, p. 1-6.
- 전홍석, 이재준, 고광백, 1998, 환경통계학, 동화기술, p. 163-175.
- 조정현, 배범한, 김계훈, 2009, HPLC에 의한 토양내 화약물질 정량분석조건 최적화, 지하수토양환경, **14**(1), 51-60.
- ISO/TC190/SC3/WG11/N11, 2008, Soil quality-Determination of explosive compounds: Method using HPLC, DIN
- ISO/TC190/SC3/WG11/N12, 2008, Soil quality-Determination of explosive compounds: Method using GC, DIN
- Jenkins, T.F. and Leggett, D.C., 1985, Comparison of extraction techniques and solvents for explosive residues in soil, Special Report CRREL-SR-85-22, Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Hanover, NH, USA.
- Jenkins, T.F., Pennington, J.C., Ranney, T.A., Berry Jr., T.E., Miyares, P.H., Walsh, M.E., Hewitt, A.D., Perron, N.M., Parker, L.V., Hayes, C.A., and Wahlgren, E.G., 2001, Characterization of explosives contamination at military firing ranges, Technical Report CRREL-TR-01-5, Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Hanover, NH, USA.
- U.S. EPA, 2006a, Drinking water standards and health advisories. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency. <http://epa.gov/waterscience/criteria/drinking/>
- U.S. EPA, 2006b, SW 846 method 8330b: Nitroaromatics, nitramines and nitrate esters by high performance liquid chromatography (HPLC).
- Walsh, M.E. and Lambert, D.J., 2006, Extraction kinetics of energetic compounds from training range and army ammunition plant soils, Technical Report CRREL-TR-01-5, Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Hanover, NH, USA.