

GC-TSQ CI 분석법을 이용한 제32차 OPCW 숙련도 시험 시료 분석 연구

김현석^{*,1)} · 정창희¹⁾ · 이용한¹⁾

¹⁾ 국방과학연구소 제5기술연구본부

Analysis Study on 32nd OPCW Proficiency Test Sample with GC-TSQ CI

Hyunsuk Kim^{*,1)} · Changhee Jung¹⁾ · Yonghan Lee¹⁾

¹⁾ The 5th Research and Development Institute, Agency for Defense Development, Korea

(Received 1 July 2014 / Revised 1 November 2014 / Accepted 21 November 2014)

ABSTRACT

GC-TSQ CI technique was applied for analysis of samples for the 32nd OPCW proficiency test. Eight chemical weapon convention(CWC) related chemicals were identified by product ion mode analysis with GC-TSQ in the samples. Choice of specific precursor ion made it possible to supply selective total ion chromatograms(TICs) of target molecule. GC-TSQ CI analysis technique was useful method for chemical warfare agent verification because analysis selectivity was improved by choice of mother molecule as precursor ion and gave mass spectra.

Key Words : Chemical Warfare Agent Verification, OPCW, Proficiency Test, GC-TSQ, Product Ion Scan

1. 서론

1997년 발효된 화학무기금지협약은 화학무기의 개발, 생산 및 저장을 금지하고 있는데 협약의 이행을 감독하기 위한 국제기구로 화학무기금지기구(OPCW : Organization for Prohibition of Chemical Weapons)가 설립되어 사찰활동을 수행하고 있다¹⁾. 협약 이행여부를 검증하기 위해 현장에 파견되는 사찰관들은 화학무기의 핵심 물질인 화학작용제 검증에 대한 전문성이 부

족하기 때문에 OPCW에서는 사찰 활동을 지원해줄 수 있는 전문가 집단이 필요하게 되었다. 이에 OPCW에서는 전세계 회원국을 대상으로 화학작용제 검증 능력을 평가하여 지정실험실 자격을 부여하고 있다. OPCW 지정실험실 지정요건은 국제기구 ISO가 인정하는 인정기구로부터 분석품질에 대한 인정을 획득하고 OPCW에서 주관하는 숙련도 시험에 매년 참가하여 최근 3회 성적으로 2A1B 이상을 획득, 유지하여야 한다^{2~4)}. OPCW 숙련도 시험은 OPCW에서 화학작용제 검증 능력을 평가하는 수단으로 실제 사찰활동에서 획득한 시료를 가정하여 시험을 실시하고 있다. 숙련도 시험을 위한 시료는 통상 두 종류의 matrix가 사용되며 각

* Corresponding author, E-mail: alchemist@add.re.kr
Copyright © The Korea Institute of Military Science and Technology

matrix에 따라 blank, control, sample 총 6개의 시료가 제공된다. OPCW에서는 어느 시료가 blank, control, sample인지를 알려주지 않으며 어떠한 화학작용제 관련물질이 포함되어 있는지를 밝히는 방법으로 시험이 진행된다.

OPCW 숙련도 시험에 사용되는 분석법은 크게 primary technique과 secondary technique으로 구분된다. Primary technique은 물질의 종류를 정확하게 확인하기 위한 데이터가 풍부한 분석기술을 의미하며 기존에 NMR, GC/MS EI분석, LC-MS/MS 분석에 최근 GC/MS/MS CI분석이 추가되었다. Secondary technique으로는 GC, LC, CE 등이 있다. 숙련도 시험에는 반드시 두 개 이상의 분석법을 이용한 결과를 제출하여야 하며 이때 하나 이상은 primary technique이어야 한다.

TSQ는 두 개 이상의 질량분석기가 조합된 MS/MS 분석이 가능한 tandem 질량분석기중 하나로 세 개의 quadrupole로 이루어져 있다. 이중 두 개는 이온들을 질량별로 분류하는 역할을 담당하고 그 중간에 collision cell이 장치되어 있어 첫 번째 quadrupole을 통과한 이온들에 에너지를 가하여 다시 한 번 fragmentation이 일어날 수 있도록 설계되어 있다^[5]. TSQ를 이용한 분석법은 기존의 하나의 quadrupole로 분석하는 scan 분석법과 SIM(Selected Ion Monitoring) 분석법을 포함하여 precursor ion scan, product ion scan, SRM(Selected Reaction Monitoring), neutral loss scan 분석이 가능하다. 특히 product ion scan의 경우 선택된 precursor 이온이 존재하는 경우에만 크로마토그램으로 검출되고 해당 precursor 이온이 fragmentation된 spectrum을 제공하여 선택성과 정성분석에 장점이 있다^[6].

GC를 이용한 질량분석법의 이온화 방법에는 EI(Electron Ionization)과 CI(Chemical Ionization)가 사용되고 있다. EI는 분석대상에 전자를 이용하여 radical cation을 형성하여 이온화 시키는 방법으로 높은 이온화 효율과 재현성으로 가장 널리 사용되는 이온화 방법이다. CI는 reagent gas를 이온화 시킨후 이들이 다시 분석대상과 반응을 일으켜 이온화되는 방법으로 EI 대비 이온화 효율이 낮다. EI는 강력한 이온화 방법으로 fragmentation이 많이 일어나 모분자량을 확인하기 어려운 경우가 많은 반면 CI는 fragmentation이 덜 일어나기 때문에 모분자에 대한 정보를 확인하는데 유리하다^[7].

GC-MS/MS 분석법은 복잡한 matrix에서의 선택성 있고 극미량 분석이 가능하다는 점에서 화학작용제 관

련물질 검증에서 다양한 연구가 실시되고 있다. 캐나다 DRES(Defense Research Establishment Suffield)의 D'Agostino팀에서는 GC-TSQ를 이용하여 복잡한 matrix하의 30~70 ppb 농도의 soman, sarin, sulfur mustard 및 화학 작용제 분해산물을 SRM(Selective Reaction Monitoring) 방법을 활용하여 분석하였다^[8~11]. Fredrikson 팀에서는 신경작용제의 분해산물인 methylphosphonic acid가 포함된 환경 시료 및 생체시료를 negative CI 분석법을 통한 SRM 분석을 실시하여 ppt농도의 분석이 가능함을 확인하였다^[12]. ECBC(Edgewood Chemical and Biological Center)의 Rohrbach 팀은 GC-TSQ를 이용한 EI와 CI의 product scan 분석법을 통해 신경작용제 분해산물인 methylphosphonic acid들을 분석하였다^[13].

본 연구에서는 OPCW에서 primary 분석 방법으로 선정된 GC-MS/MS CI product ion scan 방법을 OPCW 숙련도 시험에 적용함으로써 실제 환경시료의 화학작용제 검증에 해당 기술의 유용성을 확인하고자 하였다.

2. 실험

2.1 Material

GC-TSQ CI 분석에는 제 32차 OPCW 숙련도 시험을 위해 인도 Vertex에서 제조된 유기시료 321, 322, 323과 물시료 324, 325, 326중 GC-MSD 분석을 통하여 blank 시료로 확인된 323과 324를 제외한 4점의 시료가 사용되었다. 각 시료는 전처리 방법의 구분을 위해 해당 시료 번호 뒤에 전처리 방법에 따라 다른 알파벳을 부여하였으며, 동일한 전처리를 실시한 횟수에 따라 알파벳 뒤에 숫자로 분석 시료를 구분하였다.

시료의 전처리 및 분석에 사용된 dichloromethane, ethyl acetate, n-hexane, acetonitrile은 Merck사의 GC grade 제품을 사용하였다. 0.2 N hydrochloric methanol은 Sigma Aldrich사의 1.25M hydrochloric methanol(GC derivative grade)을 희석하여 사용하였다. 수분제거를 위한 magnesium sulfate(97.5%)는 삼전화학 제품을 사용하였다. 증류수는 Millipore의 Milli-Q를 이용하여 제조하였다. 시료 전처리를 위한 SPE(Solid Phase Extraction) cartridge로 Supelco사의 SCX, SAX, C18, LC-Si가 사용되었다. GC 분석을 위한 실릴화 시약으로 Supelco사의 BSTFA(*N,O*-Bis-(trimethylsilyl) tri-fluoroacetamide, 99.0+%)와 Sigma Aldrich사의 MTBSTFA(*N*-Methyl-*N*-(*t*-butyldimethylsilyl) trifluoro-acetamide, 97%)를 사용하

였고, 메틸화 시약인 diazomethane은 실험실에서 자체 제조하여 사용하였다. 비교 분석을 위한 reference 시약인 dipropylaminoethanol, N-isopropyl-N-propylaminoethanol, diethyl N-ethyl-N-methylphosphoramidate, diethyl N,N-diethyl-phosphoramidate, diisopropyl methylphosphonate-d₇(DIMP-d₇)은 실험실에서 직접 합성하여 사용하였으며 3,3-dimethyl-2-butanol(98%), pinacolyl methylphosphonate(PMPA, 97%)은 Sigma Aldrich사 제품을, diethyl phosphite(98%)은 Fluka 제품을 사용하였다.

2.2 장비 및 분석 조건

사용된 장비는 Agilent사의 7890 GC가 부착된 7000 Triple Quadrupole 질량분석기가 사용되었다.

GC 컬럼으로는 30 m × 0.25 mm id를 갖고 필름두께가 0.25 μm인 HP-5MSUI(Agilent)를 사용하였다.

전처리 시료의 분석을 위한 GC 조건은 초기 40 °C 1 분, 승온 10 °C/min, 최종온도 280 °C 5 분으로 분석을 수행하였다. Injection은 splitless mode로 실시하였고 purge time은 0.75 min으로 분석하였다.

분석을 위한 질량분석기 조건은 quadrupole 150 °C, ion source 230 °C 그리고 reagent gas로 methane을 사용하였다.

2.3 시료 전처리

시료 전처리는 SOP(Standard Operation Procedure)를 기반으로 수용액 시료와 유기용매 시료에 대해 Fig. 1의 flow chart에 따라 실시하였다.

상세한 전처리 과정은 다음과 같다.

2.3.1 유기시료

2.3.1.1 직접분석(32XA)

유기시료자체를 전처리 없이 소량 취하여 분석하였다.

2.3.1.2 BSTFA를 이용한 Silyl화(32XBS)

유기시료 0.1 mL를 취하여 BSTFA 0.05 mL를 투입 후 60 °C에서 TMS(trimethylsilyl) 유도체화 반응을 시켰다.

2.3.1.3 Diazomethane을 이용한 methyl화(32XC)

0.1 mL의 유기시료에 diazomethane이 포함된 ether 용액 0.2 mL를 첨가한 후 30분동안 실온에서 methyl 유도체화 반응을 실시한 후, 질소를 이용하여 0.1 mL로 농축하였다.

2.3.1.4 Thiolation(32XD)

0.1 mL의 유기시료에 n-BuSH/acetone 용액(BuSH 5 mg / 1 mL 아세톤) 0.1 mL를 투입하고 30분간 반응시킨 후 질소를 이용하여 0.1 mL로 농축하였다.

2.3.1.5 Silica gel을 이용한 전처리(32XE)

100 mg의 silica gel이 채워진 LC-Si 1 mL cartridge에 hexane 2.0 mL를 용리시켜 conditioning을 한 후 유기시료 0.2 mL를 loading하고 hexane 2.0 mL, dichloromethane 0.5 mL로 씻어준 후 1.0 mL의 acetone으로 용출하였다. 얻어진 용액은 질소를 이용하여 0.1 mL로 농축하였다.

2.3.1.6 ACN 추출(32XF)

유기시료 0.2 mL를 acetonitrile 0.2 mL로 두 번 추출한 후 hydrocarbon을 제거하기 위하여 hexane 0.2 mL로 세 번 씻었다. 얻어진 acetonitrile 용액은 질소를 이용하여 0.05 mL로 농축한 후 0.1 mL의 dichloromethane을 첨가하였다.

2.3.1.7 ACN 추출후 MTBSTFA를 이용한 Silyl화(32XG)

유기시료 0.3 mL를 취하여 acetonitrile 0.2 mL로 두 번 추출한 후 hydrocarbon을 제거하기 위하여 hexane

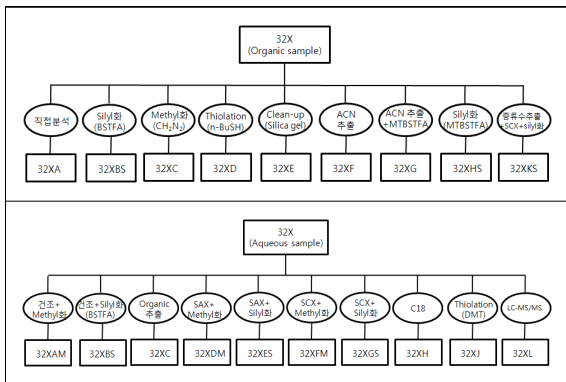


Fig. 1. Sample preparation flow chart (top) organic sample (bottom) water sample

* X는 OPCW에서 부여한 시료번호로 유기시료는 1~3, 물시료는 4~6으로 부여되었음.

0.2 mL로 두 번 씻었다. 얻어진 acetonitrile 용액은 질소를 이용하여 0.02 mL로 농축한 후 0.08 mL의 dichloromethane을 첨가 후, MTBSTFA 0.1 mL를 투입하고 70 °C에서 2 시간 동안 TBDMS(*tert*-butyldimethylsilyl) 유도체화 반응을 시켰다.

2.3.1.8 MTBSTFA를 이용한 Silyl화(32XHS)

유기시료 0.1 mL에 MTBSTFA 0.1 mL를 첨가한 후 70 °C에서 2 시간 동안 TBDMS화 반응을 실시하였다.

2.3.1.9 증류수 추출후 SCX처리(32XKS)

유기시료 0.3 mL에 0.2 N의 acidic methanol 0.03 mL를 첨가한 후 증류수 0.7 mL로 추출하고 hexane 0.2 mL로 씻어서 hydrocarbon들을 제거하였다. 추출한 수 용액층은 methanol 1.0 mL와 증류수 2.0 mL로 preconditioning된 SCX를 통과시킨 후 1.0 mL의 증류수와 1.0 mL의 methanol로 씻어준 후 acidic methanol 1.0 mL를 이용하여 용출하였다. 얻어진 용액은 질소를 이용하여 건조시킨후 BSTFA 0.07 mL와 ethyl acetate 0.08 mL를 첨가하여 60 °C에서 30 분간 반응을 진행하였다.

2.3.2 물시료

2.3.2.1 건조 후 methyl화(32XAM)

물시료 1.0 mL를 질소로 건조 시킨후 0.2 N acidic methanol 0.1 mL와 0.5 mL diazomethane ether용액을 넣고 상온에서 30 분간 반응한 후 질소로 0.1 mL까지 농축하였다.

2.3.2.2 건조 후 Silyl(BSTFA) 유도체화(32XBS)

물시료 1.0 mL를 질소로 건조 시킨후 BSTFA 0.1 mL와 0.05 mL의 ethyl acetate를 넣고 60 °C에서 30 분간 반응시켰다.

2.3.2.3 유기용매 추출(32XC)

1.0 mL의 물시료를 diethyl ether 또는 dichloromethane 0.5 mL로 두 번 추출한 후 diethyl ether 층을 magnesium sulfate를 이용하여 수분을 제거하고 질소를 이용하여 0.1 mL까지 농축하였다.

2.3.2.4 SAX 처리 후 methyl 유도체화(32XDM)

SAX cartridge를 methanol 1.0 mL와 증류수 2.0 mL를 이용하여 preconditioning한 후 물시료 1.0 mL를 loading

하였다. Loading한 cartridge는 증류수 1.0 mL와 methanol 1.0 mL로 씻어준 후 0.2 N acidic methanol로 용출한 후 0.1 mL까지 농축하고 diazomethane ether 용액 0.5 mL를 넣고 상온에서 30 분간 반응시키고 0.1 mL까지 질소로 농축하였다.

2.3.2.5 SAX 처리 후 Silyl 유도체화(32XES)

SAX cartridge를 methanol 1.0 mL와 증류수 2.0 mL를 이용하여 preconditioning한 후 물시료 1.0 mL를 loading하였다. Loading한 cartridge는 증류수 1.0 mL와 methanol 1.0 mL로 씻어준 후 0.2 N acidic methanol로 용출한 후 질소로 건조시키고 BSTFA 0.1 mL와 ethyl acetate 0.15 mL를 넣고 60 °C에서 30 분간 반응시켰다.

2.3.2.6 SCX 처리 후 methyl 유도체화(32XFM)

SCX cartridge를 methanol 1.0 mL와 증류수 2.0 mL를 이용하여 preconditioning한 후 물시료 1.0 mL를 loading하였다. Loading한 cartridge는 증류수 1.0 mL와 methanol 1.0 mL로 씻어준 후 0.2 N acidic methanol로 용출한 후 0.1 mL까지 농축하고 diazomethane ether 용액 0.5 mL를 넣고 상온에서 30 분간 반응시키고 0.1 mL까지 질소로 농축하였다.

2.3.2.7 SCX 처리 후 Silyl 유도체화(32XGS)

SCX cartridge를 methanol 1.0 mL와 증류수 2.0 mL를 이용하여 preconditioning한 후 물시료 1.0 mL를 loading하였다. Loading한 cartridge는 증류수 1.0 mL와 methanol 1.0 mL로 씻어준 후 0.2 N acidic methanol로 용출한 후 질소로 건조시키고 BSTFA 0.1 mL와 ethyl acetate 0.15 mL를 넣고 60 °C에서 30 분간 반응시켰다.

2.3.2.8 C18 처리(32XH)

C18 cartridge를 methanol 1.0 mL와 증류수 2.0 mL를 이용하여 preconditioning한 후 물시료 1.0 mL를 loading하였다. Loading한 cartridge는 증류수 1.0 mL로 씻어준 후 acetone으로 용출시키고 질소로 0.1 mL까지 농축한다.

2.3.2.9 Thiolation(32X3)

물시료 1.0 mL를 취하여 염산을 이용, pH 2.0으로 조정한 후 0.1 mL의 3,4-dimercaptotoluene acetone 용액을 넣고 상온에서 10분간 반응시켰다. 반응물은 hexane 1.0 mL로 추출한 후 0.15 mL로 농축하였다.

2.3.2.10 LC-MS/MS를 이용한 직접분석(S32XL) 전처리 없이 1.0 mL의 물시료를 취하여 LC/MS/MS로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 321시료

321시료를 별도의 유도체화 없이 분석하거나 일반적인 방법인 trimethylsilyl기로 유도체화하여 분석할 경우 대상물질 chromatogram의 RT(Retention Time)이 matrix 내의 dodecane이나 불순물로 포함된 방향족 화합물의 chromatogram과 겹쳐 대상물질 확인을 어렵게 하였다. 이에 시료를 acetonitrile로 추출한 후 MTBSTFA를 이용하여 tributylidimethylsilyl기로 유도체화 시킴으로써 대상물질 chromatogram의 RT가 matrix내의 방해물질의 영역을 벗어나도록 시도하였다(Fig. 2).

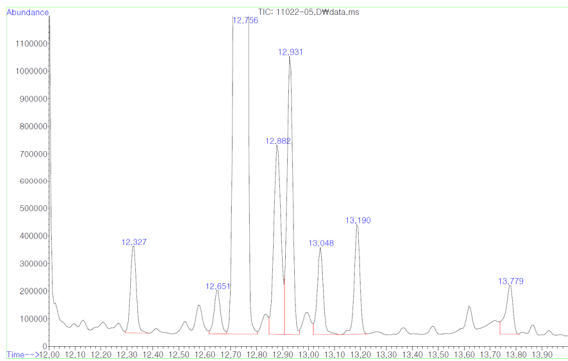


Fig. 2. GC-MSD TIC of S321G1

분석 결과 diisopropylaminoethanol과 N-isopropyl-N-propyl aminoethanol이 spiking 되어 있는 것으로 유추되는 peak를 확인하였으나 Fig. 2에서 보는 바와 같이 여전히 존재하는 방해물질들로 인해 명확한 데이터의 확보에는 어려움이 있었다. 이에 원하는 대상물질에 대한 선택성을 높여주기 위하여 시료 S321G1을 사전 GC-MSD을 이용하여 CI 분석을 실시, 모분자에 proton이 결합된 $[M+H]^+$ 의 분자량 m/z 260의 peak가 MS/MS 분석을 수행하기에 충분한 크기로 나타남을 확인하여 이를 GC-TSQ CI분석의 precursor ion으로 적용, product ion scan 분석을 실시하였다. 그 결과 matrix내의 방해물질이 제거된 깨끗한 TIC(Total Ion Chromatography)를 얻을 수 있었다(Fig. 2와 Fig. 3(b) 비교).

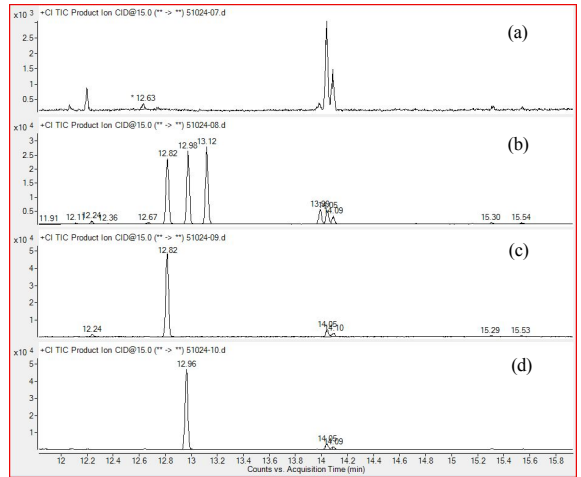


Fig. 3. TIC (a) Blank sample (b) S321G sample (c) Reference(diisopropylamino ethanol-TBDMS derivative) (d) Reference(N-isopropyl-N-propyl aminoethanol-TBDMS derivative)

321시료의 product ion scan TIC에서 3개의 peak를 확인할 수 있는데 CI의 모분자에 proton이 결합된 이온을 precursor로 이용하였고 RT가 거의 유사하다는 점으로부터 세 개의 물질의 분자량은 동일하다는 결론을 내릴 수 있었다. 세 개의 peak의 product scan spectrum은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 매우 유사하였다.

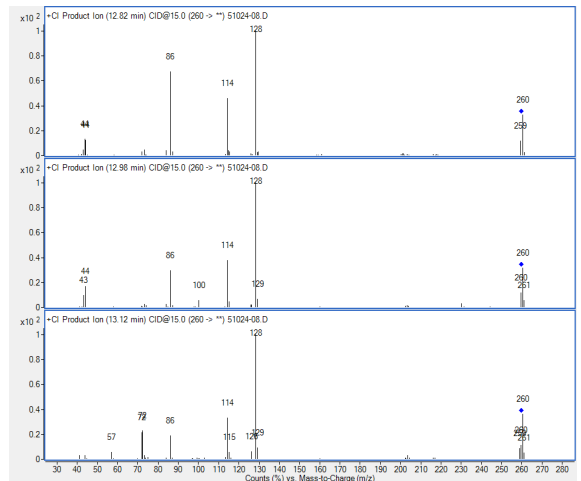


Fig. 4. Product scan spectra (top) N-isopropyl-N-propyl-aminoethanol-TBDMS derivative (center) dipropyl-aminoethanol-TBDMS derivative (bottom) N-ethyl-N-butyl-aminoethanol-TBDMS derivative

분자량을 고려하였을 때 혼동을 주기 위해 첨가된 물질은 nitrogen에 ethyl, butyl기가 결합되거나 methyl, pentyl기가 결합된 경우로 판단하였다. Fig. 4의 spectra를 상세히 비교해 보면 (bottom)의 경우 (top), (center)의 경우와 달리 m/z 72와 m/z 57의 이온이 포함되어 있는 것을 확인 할 수 있는데 Fig. 5와 같이 fragmentation 해석을 통해서 ethyl과 butyl이 치환기 일 때 해당 이온종이 생성되는 것으로 고려할 수 있다.

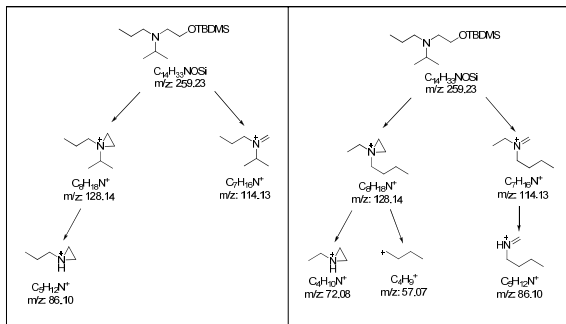


Fig. 5. Fragmentation pathway (left) N-isopropyl-N-propylamino-ethanol-TBDMS derivative (right) N-butyl-N-ethylaminoethanol-TBDMS derivative

분석 대상물질인 dialkyl aminoethanol의 TBDMS 유도체화물들은 heterolytic cleavage에 의해 O-TBDMS기가 떨어져 나가 nitronium 이온이 생성된다. 생성된 nitronium 이온은 두 가지 fragmentation이 가능한데 다시 한 번 heterolytic cleavage가 일어나서 alkyl 양이온이 형성되는 경우와 수소 이동을 동반한 heterolytic cleavage가 일어나 새로운 nitronium 이온이 생성되는 경우이다(Fig. 6).

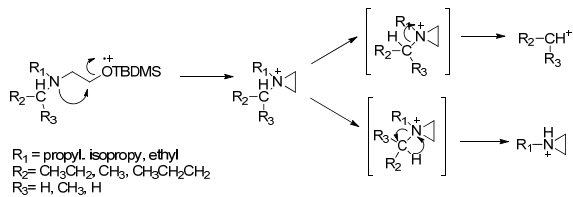


Fig. 6. Fragment mechanism of Nitronium ion

상기 fragmentation에 따르면 nitrogen과 결합되어 있는 두 개의 alkyl기가 propyl 또는 isopropyl인 경우에는 m/z 86의 propyl nitronium ion이 생성되는데 비해 두 개의 alkyl기가 ethyl과 butyl기일 경우에는 butyl기

가 떨어져나가 m/z 72의 ethyl nitronium 이온이 생성되거나 m/z 57의 butyl 양이온이 나타나므로 이로부터 방해물질은 N-butyl-N-ethyl-aminoethanol임을 판단할 수 있었다.

3.2 322시료

322시료의 경우 silica gel로 이루어진 SPE인 LC-Si를 이용하여 정제한 시료 S322E5를 GC-MSD EI 분석 결과의 library search를 통하여 3,3-dimethyl-2-butanol을 포함하고 있음을 확인할 수 있었다. 3,3-dimethyl-2-butanol은 GC-MSD CI분석 결과 탈수반응이 빠르게 일어나 모분자가 spectrum에 나타나지 않아 이를 precursor ion으로 이용할 수 없었다. 대신 탈수 반응 결과 생성되는 3,3-dimethyl-2-butyl 양이온을 precursor ion으로 이용하여 product ion scan 분석을 실시하였는데, reference와의 비교 분석결과 RT와 spectrum이 서로 일치함을 확인하였고 이로부터 해당 물질이 3,3-dimethyl-2-butanol임을 확정할 수 있었다(Fig. 7(a)).

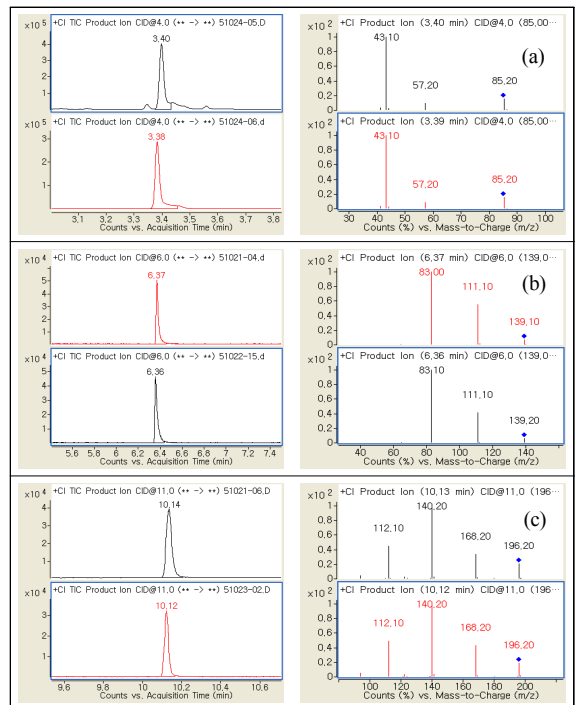


Fig. 7. Comparative analysis results of 322 sample and reference (a) S322E5 and 3,3-dimethyl-2-butanol (b) S322F5 and diethyl phosphite (c) S322F5 and diethyl N-ethyl-N-methylphosphoramidate

322시료를 acetonitrile을 이용하여 정제한 시료인 S322F5의 GC-MSD EI 분석에서는 diethyl phosphite와 diethyl N-ethyl-N-methylphosphoramidate을 확인할 수 있었다. Product ion scan 분석을 위해서 precursor ion으로 모분자에 proton이 결합된 $[M+H]^+$ 이온을 사용하였다(Fig. 7(b), (c)). Diethyl phosphite 분석에는 m/z 139, diethyl N-ethyl-N-methyl phosphoramidate 분석에는 m/z 195를 사용하였고, reference와 비교 분석 결과 RT, spectrum 모두 일치함을 알 수 있었다.

3.3 325시료

325시료를 ether를 이용하여 추출한 시료 S325C2에는 GC-MSD EI 분석을 통해 diethyl N,N-diethylphosphoramidate가 포함되어 있음을 확인하였다. Diethyl N,N-diethyl-phosphoramidate의 GC-TSQ CI 분석을 위한 precursor ion으로 $[M+H]^+$ 인 m/z 210 이온을 사용하였으며, reference를 동일조건으로 분석하여 비교한 결과 TIC와 spectrum이 일치함을 확인할 수 있었다(Fig. 8(a)).

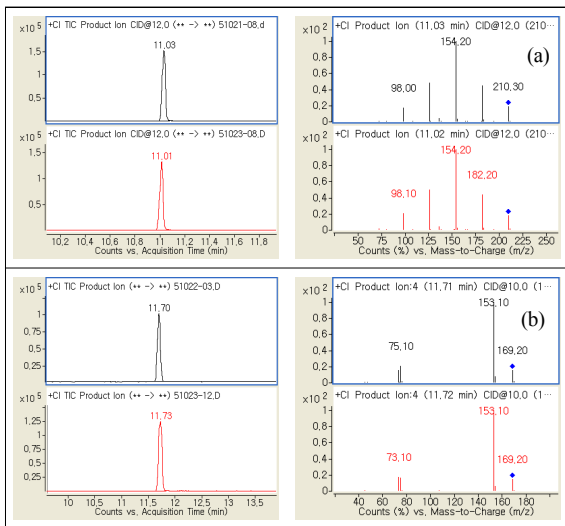


Fig. 8. Comparative analysis results of sample 325 and reference (a) S325C2 and diethyl N,N-diethylphosphoramidate (b) S325ES2 and PMPA-TMS

325시료를 음이온을 선택적으로 분리할 수 있는 SAX SPE cartridge 처리 후 GC분석이 가능토록 trimethylsilyl기로 유도체화 시킨 시료 S325ES2에서는 pinacolyl methylphosphonate가 포함되어 있음을 확인하였다. Pinacolyl methylphosphonate의 GC-TSQ CI 분석

을 위한 precursor ion으로 trimethylsilyl기로 유도체화된 해당 화합물에서 3,3-dimethylbutyl기가 떨어져 나간 trimethylsilyl methylphosphonate cation을 사용하였다. 시료와 reference를 동일한 방법으로 분석하여 비교한 결과 TIC의 RT와 spectrum의 peak들이 모두 일치하였다(Fig. 8(b)).

3.4 326시료

326시료는 dichloromethane을 이용하여 추출한 S326C3 시료를 GC-MSD EI로 분석하여 획득한 spectrum의 fragmentation 해석을 통해 deuterium으로 치환된 isopropyl기가 두 개 존재하는 diisopropyl methylphosphonate-d₁₄가 포함되어 있는 것을 추정하였고 해당 물질을 실험실에서 합성을 통하여 확보하여 GC-MSD EI로 비교 분석을 실시, 최종 확인하였다. GC-TSQ CI 분석을 위해서 precursor ion으로 GC-MSD CI분석에서 base peak로 나타나는 diisopropyl-d₇기가 떨어져나간 methylphosphonic acid-d₂ cation을 사용하였다. Reference와 같이 분석한 결과 TIC의 RT와 spectrum이 일치함을 확인하였다(Fig. 9).

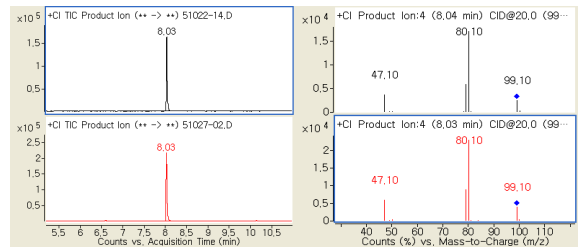


Fig. 9. Comparative analysis results of S326C3 and diisopropyl methylphosphonate-d₁₄

4. 결론

OPCW 숙련도 시험의 규정 변화에 따라 새로이 primary 분석법으로 인정된 GC-TSQ CI 분석법을 32차 OPCW 숙련도 시험에 적용해 보았다. 기존의 GC-MS CI 분석법이 분자량 확인외에 mass fragmentation에 대한 정보가 적었던 것에 반하여 GC-TSQ CI의 경우, precursor 이온의 선택에 따라서 분석하고자 하는 대상 물질을 복잡한 방해물질속에서도 선택적으로 확인할 수 있는 장점을 보여주었고 collision cell에서 precursor 이온에 에너지를 가하여 얻어진 fragmentation된

spectrum으로부터 구조해석에 유용한 정보를 얻을 수 있었다. 또한 동일한 시료에서도 물질에 따른 precursor 이온의 차이를 이용하여 원하는 물질만 선택적으로 분석할 수 있는 장점이 있음을 확인할 수 있었다.

GC-TSQ CI를 32차 OPCW 숙련도 시험에 적용해본 결과 분석 대상물에 대한 선택성을 높일 수 있다는 점에서 복잡한 matrix를 갖는 화학작용제 검증에서 활용도가 높을 것으로 판단된다.

References

- [1] OPCW, "Convention on the Prohibition of the Development, Production, Stockpiling and use of Chemical Weapons and on Their Destruction," 2007.
- [2] Markku mesilaakso, "Chemical Weapons Convention Chemicals Analysis," Wiley 2005.
- [3] V. Dubey, et. al., "Official Proficiency Tests of the Organization for the Prohibition of Chemical Weapons," *Accred Qual Assur.* 14, pp. 431-437, 2009.
- [4] OPCW C-I/DEC.60, "Proficiency Testing Leading to Cretification of Designated Laboratories," 22 May 1997.
- [5] J. Throck Watson, O. David Sprarkman, "Introduction to Mass Spectrometry," John Wiley & Sons, Ltd, pp. 187-188, 2007.
- [6] Edmond de Hoffmann, "Tandem Mass Spectrometry : A Primer," *Journal of Mass Spectrometry*, 31, pp. 129-137, 1996.
- [7] Jürgen H. Gross, "Mass Spectrometry : A Textbook 2nd Edition," Springer, pp. 223-376, 2011
- [8] P. A. D'Agostino, L. R. Provost, J. F. Anacleto, P. W. Brooks, "Capillary Column Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Detection of Chemical Warfare Agents in a Complex Airborne Matrix," *J. Chromatogr.*, pp. 259-268, 1990.
- [9] P. A. D'Agostino, L. R. Provost, P. W. Brooks, "Detection of Sarin and Soman in a Complex Airborne Matrix by Capillary Column Ammonia Chemical Ionization Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry," *J. Chromatogr.*, pp. 121-130, 1991.
- [10] P. A. D'Agostino, Lionel R. Provost, "Determination of Chemical Warfare Agents, Their Hydrolysis Products and Related Compounds in Soi," *J. Chromatogr.*, pp. 287-294, 1992.
- [11] P. A. D'Agostino, L. R. Provost, "Analysis of Irritants by Capillary Column Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry", *J. Chromatogr.*, pp. 65-73, 1994.
- [12] S. A. Fredriksson, L. G. Hammarstrom, L. Henriksson, H. A. LaksoTrace, "Determination of Alkyl Methyphosphonic Acids in Environmental and Biological Samples using Gas Chromatography/Negative-Ion Chemical Ionization Mass Spectrometry and Tandem Mass Spectrometry," *J. Mass. Spectrom.*, pp. 1133-1143, 1995.
- [13] D. K. Rohrbaugh, E. W. Sarver, "Detection of Alkyl Methylphosphonic Acids in Complex Matrices by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry," *J. Chromatogr., A.*, pp. 141-150, 1998.