한국환경분석학회지 제11권 (제3호) 217~221, 2008
J. of the Korean Society for Environmental Analysis

고성능 액체크로마토그래피를 이용한 수중에서의 Fullerene(C_{60}) 분석

장제헌† · 김정희 · 이재희
한국수자원공사 수돗물분석연구센터

Analysis Method of Fullerene(C_{60}) in Water Using High-Performance Liquid Chromatography

Je-heon Jang†, Jeong-hee Kim, and Jae-hee Lee
Water Analysis & Research Center, Korea Water Resources Corporation
560 Sintanjin-Ro, Daedeok-Gu, Daejon, Republic of Korea

The fullerene (C_{60}) is a material which is found in various areas; aerospace, environment, insulation batting material, lubricant, superconducting, macromolecular and catalyst. Analytical methods for samples with high concentration have been reported. In this article, analytical method using HPLC/DAD after liquid-liquid extraction is developed for the measurement of trace-level fullerene (C_{60}) in water. The coefficient of determination (r^2) was 0.9999 for the calibration curve in the range of 0.1 μg/L to 5.0 μg/L Method detection limit (MDL) and practical quantitation limit (PQL) was determined with replicate analysis of 0.2 μg/L spiking level were 0.028 μg/L and 0.141 μg/L, respectively. The recoveries for matrix spike sample were ranged 79 to 82% at the 0.1 μg/L and 0.2 μg/L spiked levels.

Key words : Fullerene(C_{60}), HPLC/DAD, Toluene, Liquid-liquid extraction(LLE)

1. 서 론

21세기 대표적인 나노소재인 Fullerene(C_{60})은 1985년 영국 서섹스 대학의 크로토박사와 미국 라이서스 대학의 로버트 컬 주니어 그리고 리처드 스몰리에 의해 발견되었다. Fullerene(C_{60})은 현재 전지, 우주항공, 환경, 단열소재, 윤활제, 초전도물질, 고분자, 촉매 등 다양한 응용분야에서 사용되고 있는 물질이다. Fullerne은 Smalley와 Kroto 연구팀에 의해 60개의 탄소가 축구공 모양으로 결합하여 생긴 탄소 cluster로, 구형이며 지름이 약 7Å인 비극성(non-polor)의 분자로 비극성 용매에 잘 녹으며 그 내부에는 주기율표에 있는 어떤 원소도 포함할 수 있을 정도의 공간이 존재한다고 알려져 있다[1]. 그리고 Fullerene(C_{60})이 수계에 방출될 경우 그중 일부가 NOM(natural organic matter)과 잘 결합한다는 논문이 발표되면서 새로운 신규 유해물질로 대두되고 있다[2]. 또한 Colvin 등(2005)에 의하면 Fullerene(C_{60})을 물에 넣으면 'nano-C60'이라는 콜로이드성 물질을 생성하여 20 μg/L 정도의 농도에서 사람의 피부세포와 간 악성종양세포에 세포독성이 확인되었으며[8], 현재 Fullerene(C_{60})에 의한 환경위해성 연구는 진행 중에 있다. 그리고 Fullerene(C_{60}) 화합물 분석을 위해 고농도는 핵자기공명법 또는 적외선 분광법을 사용하며, 저농도의 경우에는 CE-MS, LC-MS[3] 그리고 HPLC를 이용한 분석 방법이 많이 연구되고 있지만, 아직은 Fullerene(C_{60})을 분석하는 공인된 분석방법은 정립되어 있지 않은 상태이다. 이에 본 연구에서는 수중에 극미량 존재할 수 있는 Fullerene(C_{60})의 분석법을 정립하여 국내 수계별 대표 정수장에 대한 모니터링을 실시하였다.

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: heon@kwater.or.kr

2. 연구방법

2.1. 연구대상물질

본 실험에 이용된 Fullerene(C_{60})은 Table 1과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 물에 대한 용해도는 거의 없으며 톨루엔에 주로 녹는 물질로 알려져 있으며, 탄소원소 60개가 축구공 모양으로 결합하여 생긴 탄소 클러스터 형태를 띠고 있다.

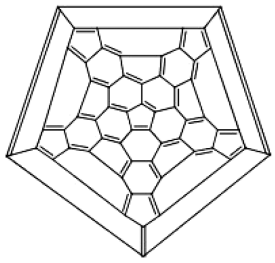
2.2. 시약 및 표준용액

본 실험에 사용된 표준물질은 Aldrich사(CA, USA)로부터 구입한 것을 사용하였으며, Fullerene(C_{60}) 표준액은 표준물질 100 mg을 톨루엔 100 mL에 녹여 표준원액 1000 mg/L를 조제하였다. 용매와 용질의 분리능을 높이기 위하여 NaCl(Wako, Osaka, Japan)은 특급 이상을 사용하였으며, 추출용매로는 톨루엔(J.T. Baker, Kentucky, USA)을 사용하였다. 또한 중간표준액 1 mg/L를 톨루엔에 조제 후 증류수에 0.1~5.0 μg/L범위로 희석하여 전처리 후 표준액 농도와 면적의 비에 따라 외부표준법에 의하여 정량하였다. 또한 정량한 결과를 가지고 Fullerene(C_{60})에 대한 검출한계, 정량한계, 정확도, 정밀도 그리고 회수율을 측정하였다.

2.3. 분석장비

본 연구에서 사용된 기기는 액체크로마토그래피(HP 1100, Agilent, California, USA)이며, Pump는 quat

Table 1. Physical and chemical properties of Fullerene (C_{60})

Name	Fullerene(C_{60})		
CAS Registry Number	99685-96-8		
Synonyms	BuckminsterFullerene(C_{60}), Fullerene(C_{60})		
Structure			
물리화학적 특성	Molecular formula	Solubility in toluene	Molecular weight
	C_{60}	3,200 mg/L	720.66

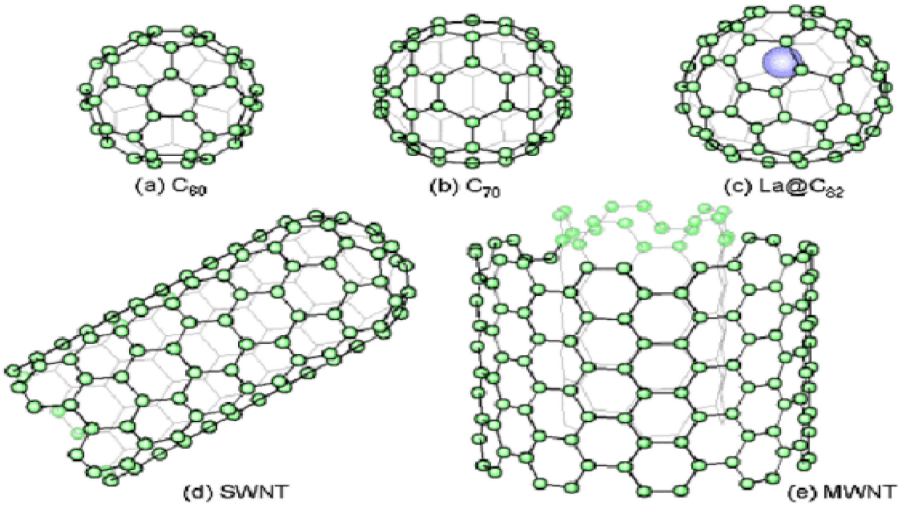


Fig. 1. Chemical structures of Fullerene.

pump(G1311A)를 이용하였고 또한 Autosampler (G1313A)와 DAD(G1315B)를 사용하였다. 분석에 사용된 컬럼은 Table 2에 나타낸 바와 같이 톨루엔 용매에 잘 견디는 Cosmosil Packed column(Waters, Massachusetts, USA)을 이용하였다.

2.4. 분석방법

본 실험에서 사용한 Fullerene(C_{60})의 물리·화학적 특성을 Table 1에 나타내었으며, 액체크로마토그래피의 분석조건은 Table 2에 제시한 바와 같이 이동상 조건을 톨루엔 100%로 하여 분석을 실시하였다. 그리고 전처리 방법은 물 시료 50 mL을 65 mL 유리 Vial에 넣은 후 500°C에서 구운 NaCl 10 g을 넣어 완전 용해한 후, 톨루엔 10 mL을 첨가하여 진탕기(Tube Shaker, JISICO, Seoul, Korea)를 이용하여 200 rpm에서 10분간 진탕하였고, 5분간 안정시킨 후 상층의 톨루엔을 취한 후 TurboVap(Zymark, Boston, USA)을 이용하여 완전 증발 건고시킨 후, 톨루엔 0.5 mL을 첨가하여 재용리하였다. 그리고 재 용리된 시료를 2 mL 바이알에 옮겨서 HPLC/DAD로 분석을 실시하였다.

Table 2. Operating conditions for the analysis of Fullerene(C_{60}) in water by HPLC/DAD

Parameter	Condition
Column	Cosmosil, Buckyprep 4.6*250 mm, 5 μm
Column Temperature	40°C
Injection volume	50 μL
Flow Rate	1.0 mL/min
Run Time	12 min
Mobile Phase	Toluene 100 %
Detector	DAD 335 nm (Ref. 360nm)

3. 결과 및 고찰

3.1. Fullerene(C_{60})의 크로마토그램 및 정량

액액추출에 의한 Fullerene(C_{60}) 분석결과는 Fig. 2와 Fig. 3에서 보는 바와 같이 UV 335 nm에서 R.T. 7.33 min에서 피크를 나타내었다. 또한 표준용액을 톨루엔에 10~500 μg/L 범위로 희석하여 작성한 검량곡선과 증류수에 0.1~5.0 μg/L 범위로 희석하여 시료와 동일하게 전처리한 후 작성한 검량곡선을 보면 두 검량곡선 모두 상관계수가 0.9999 이상의 매우 우수한 직선성을 나타내었다.

3.2. 검출한계 및 회수율 측정

위 분석방법의 유효성 검증을 위한 정확도와 정밀도 측정을 위하여 증류수에 희석한 검량곡선용 표준물질 중 0.2 ug/L 표준용액을 6회 반복 측정하여 평균, 표준편차 등을 구했고, 이를 이용하여 검출한계, 정량한계, 상대표준편차등을 작성했다. 그 결과 Table 4에 나타낸 바와 같이 정확도와 정밀도는 각각 101.9%와 4.6%를 보였다. 그리고 증류수에 0.1 μg/L와 0.2 μg/L를 첨가하여 전처리한 시료를 6번 반복 측정한 결과 79~82%

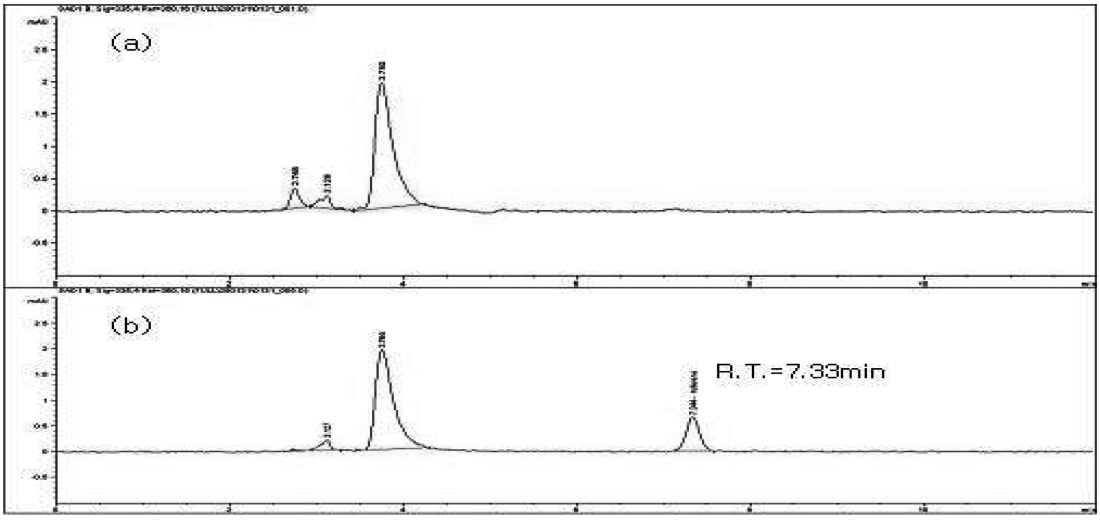


Fig. 2. Typical chromatogram of Fullerene(C_{60}). (a) Blank, (b) Spiked sample in water.

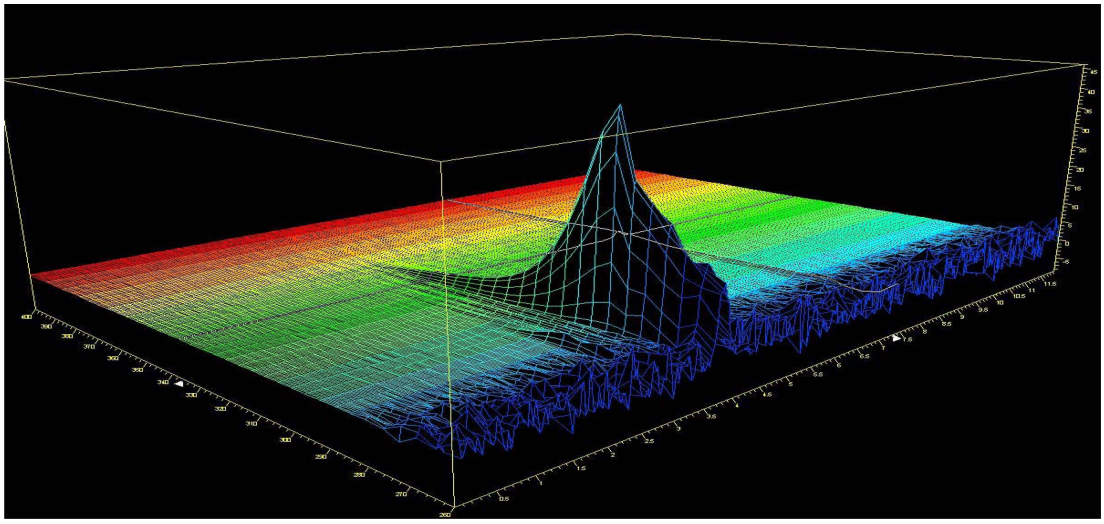


Fig. 3. 3D spectrum of Fullerene(C_{60}) chromatogram.

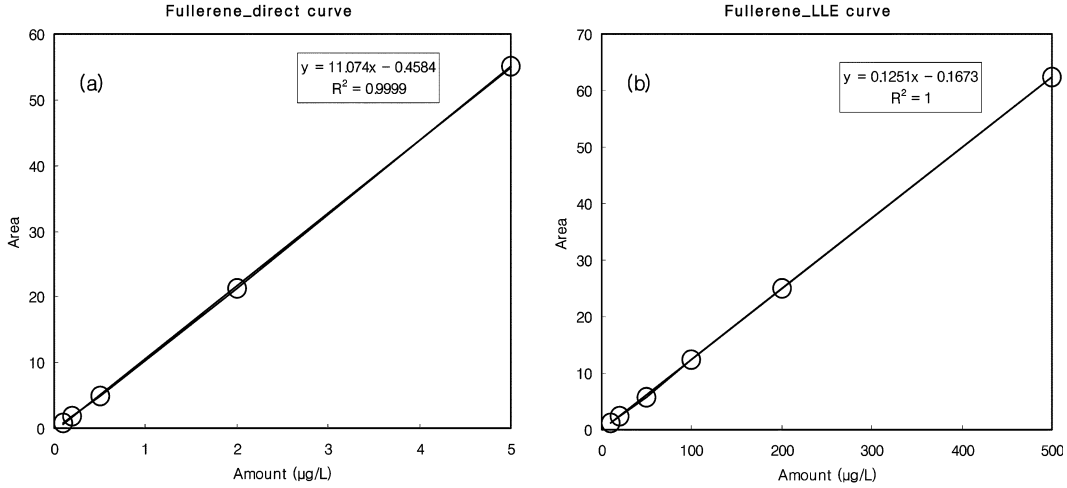


Fig. 4. Standard calibration curve of Fullerene(C60). (a) Direct curve, (b) LLE curve.

Table 3. Equation and determination coefficients(r^2) for the calibration of Fullerene(C_{60})

Analyte	Equation	Determination Coefficient(r^2)
Fullerene(C_{60})	Y = 0.1251 X - 0.1673	1.0000

(평균 80.3%)의 회수율을 얻을 수 있었다. 또한 Table 5에서 보는 바와 같이 검출한계와 정량한계는 각각 0.028 μg/L과 0.141 μg/L이었으며, signal to noise ratio는 6.1:1이었다

Table 4. Accuracy, Precision and Recovery ratio of Fullerene(C_{60})

Analyte	Retention Time (min)	STD DEV	Accuracy(%)	Precision(%)	RSD(%)	Recovery(%)
Fullerene(C_{60})	7.33	0.0094	101.9	4.6	4.6056	79~82

Table 5. Detection limit of Fullerene(C_{60})

Analyte	Fortification (μg/L)	Method Detection Limit(μg/L)	Practical Quantitation Limit(μg/L)	S/N Ratio
Fullerene(C_{60})	0.200	0.028	0.141	6.1:1

* MDL : SD*t = SD * 3.14, (n=6, 1-a=0.99), PQL : MDL * 5
(Ref : Standard methods 20th edition, 1030C Method detection level)
SD : Standard Deviation
MDL : Method Detection Limit,
PQL : Practical Quantitaion Limit

3.3. Fullerene(C_{60})의 수계별 검출 현황

잠정유해성 물질인 Fullerene(C_{60})을 수중에서의 검출현황을 알아보기 위하여 한강, 낙동강, 금강-섬진강수계별로 구분하여 분석을 실시하였는데, 한강수계는 9개 정수장의 원수와 정수에 대하여 분석을 실시하였고, 낙동강 수계의 10개 정수장과 금강-섬진강 수계의 12개 정수장 등 총 44개 정수장의 원수와 정수를 채수하여 실험을 실시하였다. 그 결과 Table 6에서 보는 바와 같이 전 수계의 정수장에서 모두 불검출로 나왔다.

Table 6. Results of typical water system

Basin	Fullerene(C_{60})
Han River(11 sites)	Not Detected
Nakdong River(17 sites)	Not Detected
Kum-Seomjin River(16 sites)	Not Detected

4. 결 론

수중의 잠정 유해성 나노물질인 Fullerene(C_{60})을 극미량으로 분석하기 위하여 톨루엔을 이용한 액액 추출, 농축 후 액체크로마토그래피-UV검출기를 이용하여 분석한 결과는 아래와 같은 결론을 얻었다.

첫째, 수중 Fullerene(C_{60})을 HPLC/DAD를 이용하여 분석한 결과 머무름 시간 7.33 min과 분석파장 335 nm이었다.

둘째, 톨루엔을 이용하여 액액추출・농축 후 회수율을 검토한 결과 약 80.3%이였으며, 0.1~5.0 μg/L의 농도범위의 시료를 증류수에 희석하여 전처리 후 검량곡선을 작성한 결과 직선성이 0.9999로 매우 우수한 직선성을 보였으며, 검출한계 및 정량한계 측정결과 0.028 ug/L, 0.1415 μg/L로 나타났다. 그리고 정확도와 정밀도는 각각 101.9%와 4.6%를 얻을 수 있었다.

셋째, 44개 정수장 원・정수에 대한 실태조사 결과 전 지점 불검출 되었다.

참고문헌

1. 이교유, 김용우, 황정호, *한국연소학회지*, **2001**, 7(4). 36-44.
2. Jaesang Lee, John D Fortner, *Environ Sci*, **2007**, 2529-2535.
3. Joel R. Deye, Amber N. Shiveley, Stuart A. Oehrle, Keith. Walters, *Journal of Chromatography A*, **2008**, 1181, 159-161.
4. Fathi Moussa, Monique Pressac, *Jornal of chromatograhy*, **1997**, 153-159.
5. Mineo Takatsuiki, Yoshiyuki Inoue, *Chemicals Evaluation and Research Institute,Japan(CERI)*.
6. James M. Treubig Jr., Phyllis R. Brown, *Journal of chromatography A*, **2002**, 960, 135-142J.
7. Sharron G. Penn, David A. Costa, Alan. L. Balch, Carlito B. Lebrilla, *International journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, **1997**, 169/170, 371-386.
8. Christie M. Sayes, Andre M. Gorbin, Kevin D. Ausman, Joe Mendez, Jennifer L. West, Vickil. Colvin, *Biomaterials*, **2005**, 26, 7587-7595.