

에틸 이소시아네이트와 프로필 이소시아네이트의 GC/FID 분석

이은정, 유 철, 최홍순, 박준호, 윤주송, 조영봉

연세대학교 보건과학대학 환경공학과 산업·환경보건실험실

The Determination of Ethyl Isocyanate and Propyl Isocyanate by GC/FID

Eunjung Lee, Chul Yoo, Hongsoon Choi, Junho Park,
Jusong Yun and Youngbong Cho

*Industrial and Environmental Health laboratory Department of Environmental engineering,
College of Health Science, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea*

Abstract

The purpose of this study is the development of the simple and precise determination method of ethyl isocyanate (EIC) and propyl isocyanate (PIC) through derivatization using secondary aliphatic amines by gas chromatography with flame ionization detector.

The urea derivatives are quantitatively and simultaneously derived from EIC and PIC with secondary aliphatic amines such as dipropylamine, dibutylamine, and dipentylamine in methylene chloride, and confirmed by thin layer chromatography and gas chromatography with mass selective detector.

For GC/FID, according to the increasing carbon atom of the amines, the retention time and peak area of the urea derivatives are increased. The instrumental detection limits for EIC and PIC were about 23.3~34.8 μg and 21.6~28.9 μg , respectively.

서 론

지방족 일급 이소시아네이트 중 ethyl isocyanate (EIC)와 propyl isocyanate (PIC)는 주로 carbamate 계열 농약 및 의약품원료 합성에 사용되고 있으며,¹⁾ Merck-Schuchardt와 Bayer AG사에서 각각 생산판매 되고 있다.²⁾

1984년 12월 2~3일 사이에 발생한 인도 보팔 시의 Union Carbide pesticide 공장의 폭발로 누출된 methyl isocyanate (MIC)로 인하여 수천 명의 사상자와 호흡기 관련 환자가 발생한 대 참사를 일으킨 바 있다.^{3),4)}

Bhopal gas폭발 사건이후 Isocyanate에 대한 호흡기계와 신경계에 대한 독성 및 역학 조사⁵⁾⁻⁸⁾ 등에 대한 연구가 활발히 이루어지게 되었다.

미국 산업안전보건청 (Occupational Safety and Health Administration, OSHA)와 미국 산업위생사 협의회 (American Conference of Governmental Industrial Hygienists, ACGIH)에서 이소시아네이트 중 MIC에 대해서만 TWA를 0.02 ppm, 0.047 mg/ m^3 (Skin)로 규정하고 있으며,^{9),10)} 그밖의 다른 일급 isocyanate에 대해서는 아직 규정하고 있지 않다.

이소시아네이트의 분석법으로는 1-(2-pyridyl)

piperazine을 이용한 HPLC/UVD 방법^{9,11)}과 fluoroescamine을 이용한 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)/Fluorescence detector 방법¹¹⁾ 등이 있다.

최근 ethyl isocyanate (EIC)나 propyl isocyanate (PIC)의 연구는 dibutylamine (DBA)을 이용한 LC/MS, GC/MS, 그리고 GC/TSD 방법¹²⁾이 있으나 저급 지방족 2급 아민을 이용한 GC/FID방법은 아직 보고된 바 없다.

이에 본 연구에서는 EIC와 PIC를 각각 저급 지방족 2급 아민인 dipropylamine (DPA), dibutylamine (DBA), 그리고 dipentylamine (DAA)과 반응시켜 얻은 요소 유도체인 N-ethyl-N',N'-dipropylurea (EDPU), N-ethyl-N',N'-dibutylurea (EDBU), N-ethyl-N',N'-dipentylurea (EDAU), N-propyl-N',N'-dipropylurea (PDPU), N-propyl-N',N'-dibutylurea (PDBU), N-propyl-N',N'-dipentylurea (PDAU) 등을 GC/FID로 분석하는 간편한 방법을 확립하였기에 제시하고자 한다.

실험 방법

1. 기기 및 시약

합성한 요소유도체를 silica gel 60 F-254 (E. Merck사)를 사용하여 검출은 자외선 검출기를 이용한 얇은막 크로마토그래피 (thin-layer chromatography, TLC)와 HP-5컬럼 (Hewlett Packard)를 장착한 Gas chromatography/Mass selective detector (GC/MSD) (Hewlett Packard 5890/5971)를 사용하여 확인하였다.

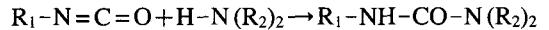
정량분석을 위하여 Gas chromatography/Flame ionization detector (DS 6200, Donam Instruments Inc. Korea)에 EC-5 (J & W) 컬럼을 장착하여 사용하였다.

본 연구에서 사용한 시약은 Aldrich사의 EIC 및 PIC 각 1급 시약과 Fluka AG사의 DPA, DBA와 DAA 각 1급 시약을 사용하였으며, 그 외 시약은 1급 시약을 그대로 사용하였다.

2. 실험방법

1) 요소유도체의 합성

EIC와 PIC의 요소유도체를 합성하기 위해서 teflon cap이 달린 vial에 0.1 mmol의 EIC (또는



Scheme 1. Synthesis of Urea Derivatives of Ethyl Isocyanate and Propyl Isocyanate
(R₁ = ethyl, n-propyl. R₂ = n-propyl, n-butyl, n-pentyl)

PIC)와 0.5 mmol의 저급 지방족 2급 아민인 DPA, DBA와 DAA를 methylene chloride에 용해시킨 용액 10 ml를 넣고 마개를 닫은 후 상온에서 교반하여 반응을 완결한 용액을 그대로 GC/MSD와 GC/FID 분석용 시료로 사용하였다.

각 유도체의 최적반응율을 구하기 위하여 EIC (또는 PIC) 0.1 mmol과 저급 지방족 2급 아민 0.1-2.0 mmol을 각각 반응시켜 요소 유도체의 생성량의 변화를 관찰하였다.

2) 요소 유도체의 합성 확인 및 정량

(1) GC/MSD에 의한 확인

상기 합성방법에서 얻은 시료에 대하여 미반응의 EIC 또는 PIC와 생성된 요소 유도체를 GC/MSD로 확인하였으며 기기의 조건은 Table 1과 같다.

(2) TLC에 의한 확인

상기 합성방법에서 얻은 시료에 대하여 전개용

Table 1. Operating conditions of GC/MSD

Description	Condition
Detector	Mass Selective Detector
Injection volume	0.4 µl (splitless)
Column	HP-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm)
Carrier gas	He
Gas flow rate	3.0 ml/min
Column temperature programing	40°C : 10°C/min to 200°C for 15 min

Table 2. Operating conditions of GC/FID

Description	Condition
Detector	Flame Ionization Detector
Injection volume	1 µl
Column	EC-5 (30 m × 0.32 mm × 0.25 µm)
Carrier gas	N ₂
Gas flow rate	1.3 ml/min
Split ratio	10 : 1
Oven temperature programing	50°C for 1 min : 10°C/min to 200°C for 10 min

매로 methylene chloride, chloroform, methanol, acetonitrile과 toluene을 사용하여 미반응의 이소시아네이트와 생성된 요소 유도체의 Rf를 검토하였다.

(3) GC/FID에 의한 각 요소 유도체의 정량분석
상기 합성방법에서 얻은 시료에 대하여 미반응의 EIC (또는 PIC)와 생성된 요소 유도체를 GC/FID로 분석하기 위한 분석 조건은 Table 2와 같다.

(4) 각 요소유도체의 검출한계

각 요소유도체의 GC/FID에서의 검출한계 (limit of detection, LOD)는 NIOSH(1995)¹³⁾가 제시한 방법에 따라 10개의 시료를 사용하여 산출하였다. 시료량과 대응하는 면적간의 선형회귀식 ($Y = mX + b$)을 작성하여 각 시료의 기대값 (y)과 표준오차 (standard error of regression, sy)를 구한 다음 아래와 같은 식으로 검출한계를 구하였다.

$$LOD = 3 sy/m \quad (m = 기울기)$$

$$sy = [\sum (y_i - Y_i)^2 / (N - 2)]^{1/2} \quad (N = 시료수)$$

결과 및 고찰

1. EIC와 PIC의 유도체화

2급 아민인 di-n-propylamine, di-n-butylamine 그리고 di-n-pentylamine 등은 각각의 이소시아네이트와 상온에서 정량적으로 요소유도체를 생성하였고 GC/FID에서의 크로마토그램의 면적은 아민의 분자량이 증가함에 따라 증가하였다.

그러나 dihexylamine과의 반응에서는 미 반응의 EIC 및 PIC가 TLC와 GC/FID에서 검출되지 않은 것으로 보아 정량적으로 반응이 이루어지지만 GC/FID에 의한 분석시 EDAU나 PDAU의 피크 면적보다 적게 나타나는 것은 아민의 분자량의 증가에 따른 증기압의 감소나 열분해에 기인한 것으로 사료된다.

Dimethylamine과 diethylamine과의 반응에서도 미반응의 isocyanate가 TLC에서 검출되지 않는 것으로 보아 정량적으로 이루어지고 있는 것으로 추측되나 상온에서 가스상 물질이어서 사용하기가 불편하였고, GC/FID에서 반응 용매인 methylene chloride와 유사한 머무름 시간을 나타내어서 그 반응성을 정량적으로 추시할 수 없었다.

EIC와 PIC 각 0.1 mmol에 대하여 각 지방족 2급 아민을 0.1~2.0 mmol로 비율로 사용하여 각각

The reaction curve of urea derivatives by quantity of secondary amines

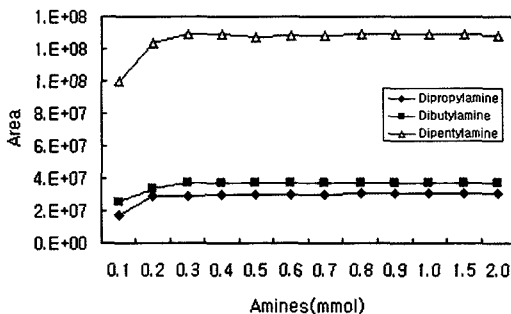


Fig. 1. The reaction ratio of EIC with secondary aliphatic amine.

The reaction ratio of urea derivatives by quantity of secondary amines

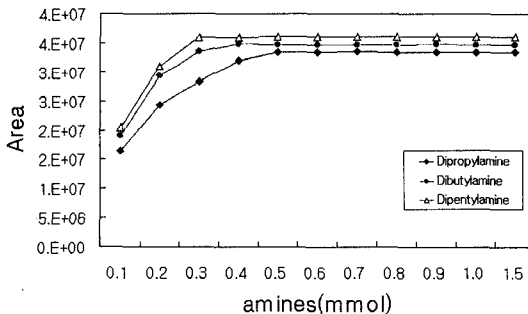


Fig. 2. The reaction ratio of PIC with secondary aliphatic amine.

Table 3. R_f values of EIC, PIC, secondary amines and urea derivatives

	Methylene chloride	Chloroform	Methanol	Acetonitrile	Toluene
Dipropylamine	0.15	0.11	0.60	0.20	0.17
Dibutylamine	0.18	0.19	0.67	0.30	0.23
Dipentylamine	0.26	0.20	0.72	0.36	0.26
EIC	0.22	0.41	0.60	0.74	0.27
EDPU	0.52	0.57	0.52	0.51	0.32
EDBU	0.56	0.68	0.56	0.57	0.40
EDAU	0.62	0.70	0.57	0.63	0.42
PIC	0.23	0.43	0.73	0.93	0.32
PDPU	0.64	0.67	0.54	0.57	0.35
PDBU	0.65	0.71	0.57	0.60	0.41
PDAU	0.68	0.72	0.59	0.76	0.45

의 요소 유도체 생성량을 검토한 결과 각 이소시아네이트와 2급 아민 (DPA, DBA, DAA)과의 비율이 각각 1:5, 1:3과 1:3에서 정량적으로 반응이 진행되었다 (Figs. 1, 2).

2. TLC에 의한 확인

각 용매에 따른 EIC, PIC, 지방족 2급 아민 (DPA, DBA, DAA)과 요소유도체 (EDPU, EDBU, EDAU, PDPU, PDBU와 PDAU)의 retardation factor (R_f)값은 Table 3과 같다. 즉 이소시아네이트, 2급아민 그리고 각 유도체들은 분자량이 증가함에 따라 R_f 값도 증가하였다.

3. GC/MS에 의한 확인

1) EIC 요소 유도체

EIC 요소 유도체인 EDPU, EDBU와 EDAU의 retention time (RT)은 각각 12.939분, 15.202분, 17.660분이었으며, 분자이온 (m/z)이 각각 172, 200, 228로 요소 유도체임이 확인되었다 (Fig. 3).

2) PIC 요소 유도체

PIC 요소 유도체인 PDPU, PDBU와 PDAU의 retention time (RT)은 각각 14.090분, 16.306분, 19.162분이었으며, 분자이온 (m/z)이 각각 186, 214, 242로 요소 유도체임이 확인되었다 (Fig. 4).

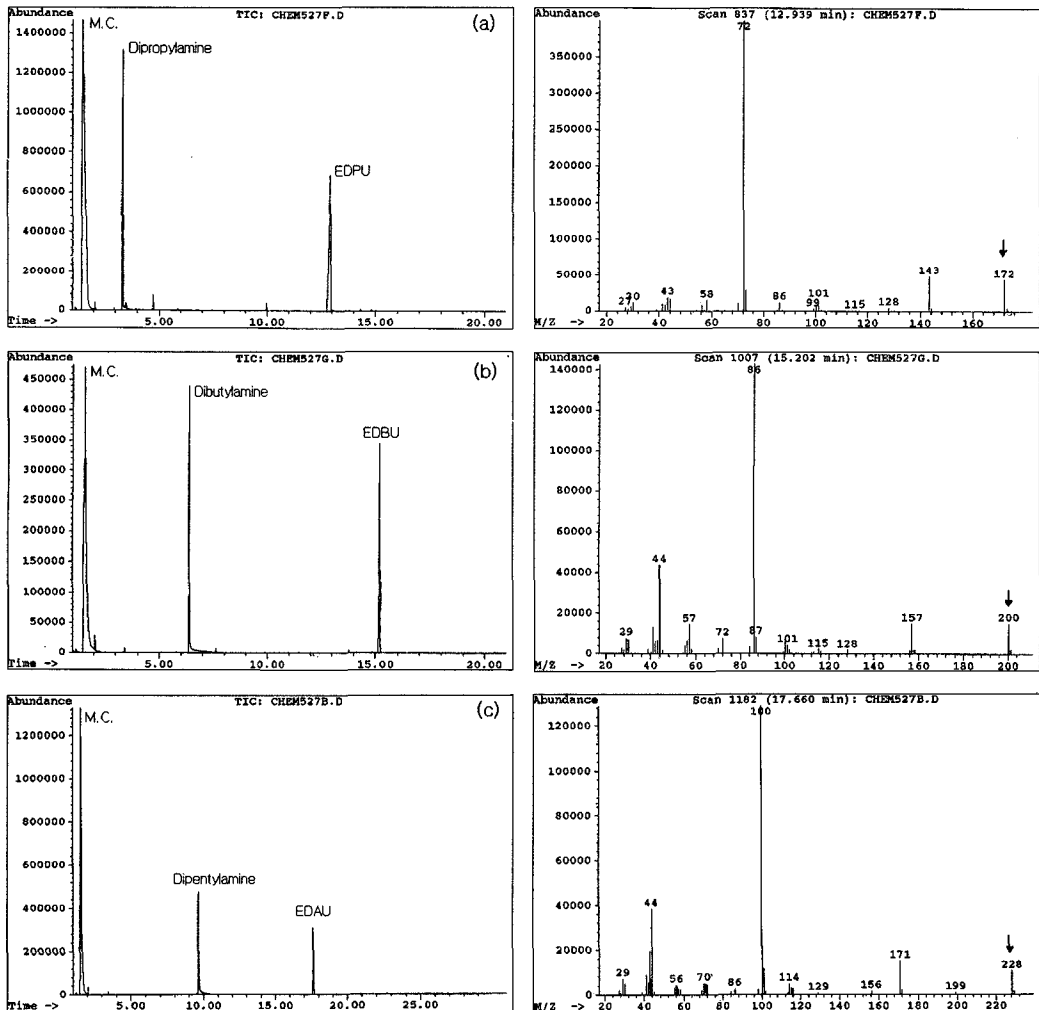


Fig. 3. Mass spectra of Urea Derivatives of EIC by GC/MS. a, EDPU ; b, EDBU ; c, EDAU

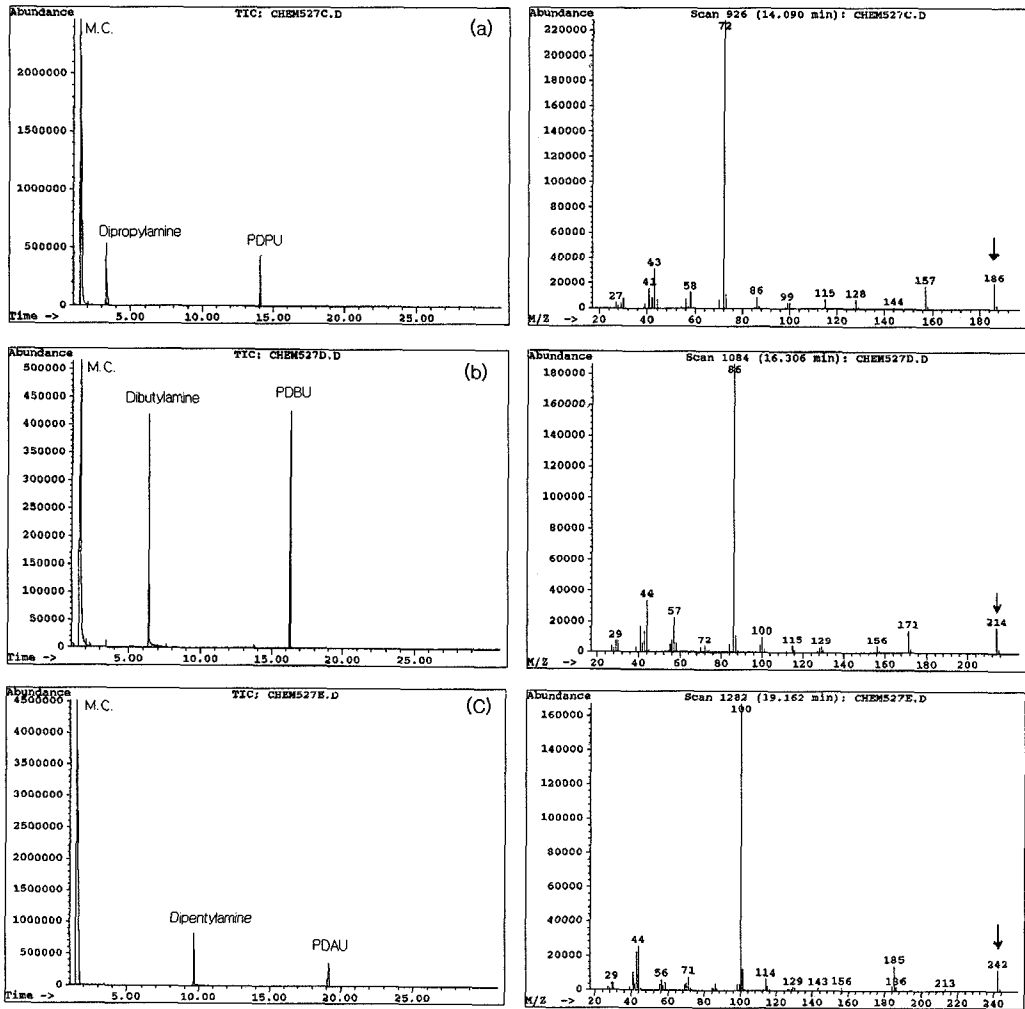


Fig. 4. The mass spectra of Urea derivatives of PIC by GC/MS. a, PDPU ; b, PDBU ; c, PDAU

Table 4. Retention time of urea derivatives by GC/FID

Urea derivatives	Retention time	Urea derivatives	Retention time
EDPU	12.884	PDPU	14.135
EDBU	15.277	PDBU	16.416
EDAU	17.821	PDAU	19.351

4. GC/FID에 의한 분리 및 정량

1) GC/FID에 의한 각 요소 유도체의 분석

GC/FID에서의 oven온도가 200°C 이하로 되었을 때는 각 요소 유도체가 분리 및 검출되지 않

았으며, wax column과 같은 극성column보다는 5% phenyl/95% methyl silicone을 사용하여 만든 EC-5 column에서의 분리가 양호하여 Table 2와 같은 최적 분석조건을 확립하였다. 지방족 2급 아민과 각 요소 유도체들의 머무름 시간을 Table 4에 나타냈으며, dipropylamine, dibutylamine 그리고 dipentylamine과 반응시켜 얻은 요소유도체의 chromatogram을 Fig. 5에 나타냈다.

EDPU < EDBU < EDAU의 순서와 PDPU < PDBU < PDAU순서로 머무름 시간의 증가와 크로마토그램의 피크면적이 증가하였다. 따라서 Daniel 등¹²⁾이 제시한 dibutylamine보다는 dipentylamine

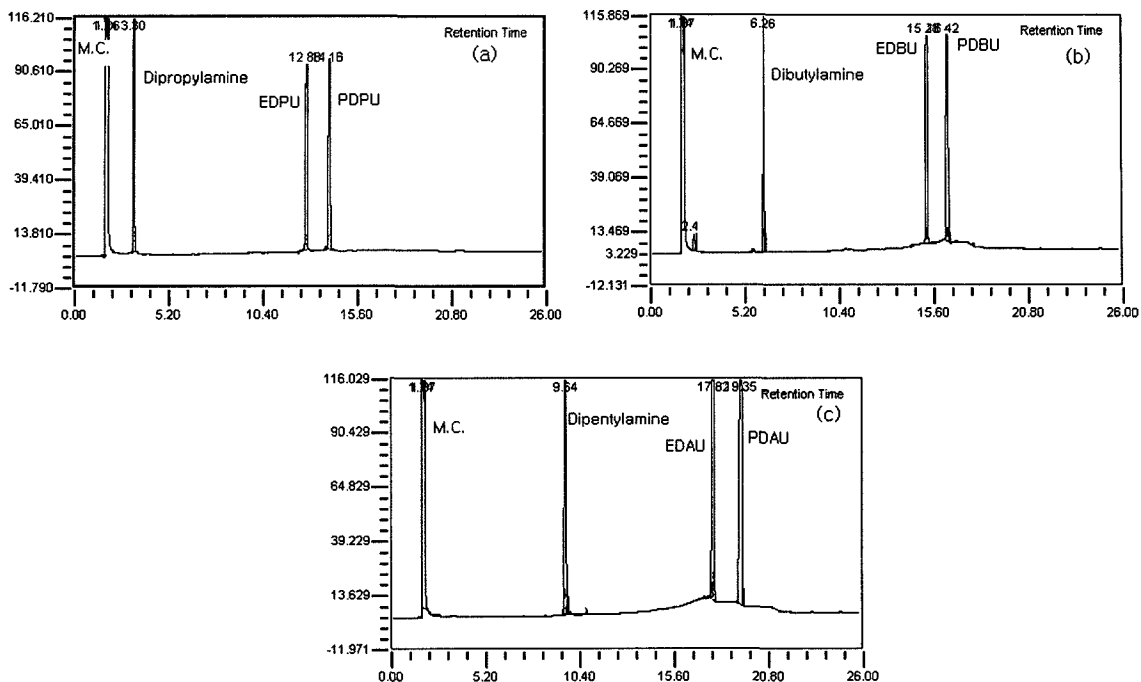


Fig. 5. The chromatograms of urea derivatives by GC/FID. a, EDPU and PDPU ; b, EDBU and PDBU ; c, EDAU and PDAU

을 사용하는 것이 유리하다고 본다.

이소시아네이트와 요소유도체의 용량-반응 관계를 0.16~0.89 mg/ml 범위에서 확인한 결과 상관계수는 각각 EIC-DPA 0.9998, EIC-DBA 0.9996, EIC-DAA 0.9991, PIC-DPA 0.9992, PIC-DBA 0.9995와 PIC-DAA 0.9996으로 높은 상관성을 나타냈다.

2) 각 요소유도체의 검출한계

각 아민과 반응하여 얻어진 EIC 요소유도체의 검출한계 (limit of detection)는 23.3~32.1 mg/l이었으며, PIC 요소유도체의 검출한계는 21.6~28.9 mg/l로 나타났다.

결 론

본 연구에서는 지방족 2급 아민인 dipropylamine, dibutylamine, 그리고 dipentylamine과 EIC와 PIC를 각각 반응시켜 정량적으로 요소유도체가 생성되었으며 이들 유도체들은 분자량이 증가함에 따라 TLC에서의 R_f값이 증가하였고, GC/FID에서의

머무름 시간 및 피크면적도 증가하였다. 또한 GC/MSD에서 EPDU, EDBU, EDAU, PDPU, PDBU와 PDAU의 분자이온 (m/z)이 각각 172, 200, 228, 186, 214, 242로 나타나 이소시아네이트가 아민과 반응하여 요소유도체를 형성하였음을 확인하였다.

앞으로 복소환식 2급 아민, 지방족 1급 아민 그리고 할로젠을 함유한 1급(또는 2급)아민 등과의 반응성을 검토함으로써 유도체화에 의한 GC/NPD나 GC/ECD 분석법 같은 고감도 분석법 개발에 대한 연구와 함께 지방족 이소시아네이트의 시료 포집방법에 대한 연구와 작업환경 중 이소시아네이트의 저감기술개발에 대한 연구가 계속 이루어져야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Kirk-Othmer. Encyclopedia of chemical thchnology. third edition. John Wiley & Sons., 1981; 13: 802.
2. <http://www.BuyersGuideChem.de/>.
3. Cullinan P, Acquilla S.D. and Dhara V.R. Respiratory morbidity 10 years after the Union Carbide gas leak at

- Bhopal; a cross sectional survey, *The International Medical Commission on Bhopal*. *BMJ*, 1997; 314(7077), 338–342.
4. Varma DR, Guest I., The Bhopal accident and methyl isocyanate toxicity, *J. Toxicology & Environmental Health*, 1993; 40(4): 513–529.
 5. Cullinan P, Acquilla S.D. and Dhara V.R. Long term morbidity in survivors of the 1984 Bhopal gas leak, *Natl Med J India*, 1996; 9(1): 5–10.
 6. Bajaj J.S., Misra A. and Rajalakshmi M *et al.*, Environmental release of chemicals and reproductive ecology, *Environmental Health perspectives. 101 Suppl*, 1993; 2: 125–130.
 7. Vijayan VK, Sankaran K, Relationship between lung inflammation, changes in lung function and severity of exposure in victims of the Bhopal tragedy, *Eur Respir J*, 1996; 9(10): 1977–1982.
 8. Jeevaratnam K., Sugendran K. and Vaidyanathan C.S. Do the hydrolysis products, methylamine and N,N'-dimethylurea, play any role in the methyl isocyanate-induced hematological and biochemical changes in rabbits?, *Human & Experimental Toxicology*, 1993; 12(2): 135–139.
 9. Occupational Safety and Health Administration (OSHA), *Analytical methods manual; Method*, 1985; 54.
 10. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), *Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices*. p.28, Cincinnati, Ohio, ACGIH, 1996.
 11. Dollberg D.D. and Verstuyft A.W. Eds. *Analytical Techniques in Occupational Health Chemistry*. American Chemical Society, Washington D.C. 1980.
 12. Daniel Karlsson, Marianne Dalene and Gunnar Skarping, Determination of complex mixtures of airborne isocyanates and amines, *Analyst*, 1998; 123: 1507–1512.
 13. NIOSH. A NIOSH technical report Guideline for air sampling and analytical method development and evaluation, DHHS (NIOSH) pub. Cincinnati, OH. 1995; 65–66.