

환경샘플 내 화학작용제 및 분해물질 분석을 위한 Liquid Phase Microextraction (LPME) 전처리 기법

김동욱[†] · 정우영 · 계영식

육군사관학교 물리화학과
(2015년 1월 23일 접수)

Liquid-phase Microextraction Pretreatment Techniques for Analysis of Chemical Warfare Agents and Their Degradation Byproducts in Environmental Aqueous Samples

Dongwook Kim[†], Wooyoung Chung, and Youngsik Kye

Department of Chemistry, Korea Military Academy (KMA) Nowon-gu, Seoul 139-799, South Korea
(Received January 23)

초 록

2013년 시리아 내전 간 사용되어 1,300명 이상의 사망자를 발생시킨 사린(GB) 등의 화학무기로 인해 화학무기에 대한 국제적 관심이 다시 한번 높아지게 되었다. 화학작용제는 자연환경에 노출이 되면 가수분해(hydrolysis) 또는 광분해(photodegradation) 과정을 거쳐 분해물질로 분해된다. 화학작용제 및 분해물질(가수분해 또는 산화된 생성물)은 통상 수 ppb 정도의 낮은 농도로 존재하기 때문에 정확한 샘플분석을 위해서는 화학작용제 및 분해물질을 환경샘플로부터 분리, 추출, 농축시키는 전처리 과정이 필요하다. 용매추출법(LLE), 고체상 추출법(SPE) 등이 화학작용제의 전처리 방법으로 많이 사용되나 최근에는 사용되는 용매의 양은 줄어들면서 분석효율은 높일 수 있는 liquid phase microextraction (LPME)이 개발 적용되고 있다. 본 리뷰에서는 화학작용제 및 그 분해물질의 전처리에 활용된 LPME 전처리 기법에 대해 살펴보고자 한다.

Abstract

International interests in chemical warfare agents (CWAs) have been increased recently because of the use of sarin (GB) in Syrian civil war which caused around 1,300 casualties in 2013. After exposing to natural environments, CWAs undergo hydrolysis or photodegrade to non-toxic degradation byproducts. Generally, CWAs and their degradation byproducts are present at very low concentration (e.g. several ppb), thus pretreatment processes including separation, extraction and concentration are required prior to any analyses. Liquid-liquid extraction and solid-phase extraction (SPE) are common techniques to pretreat environmental samples. Recently, a novel pretreatment method, liquid phase microextraction (LPME), has been applied to CWAs analysis, which could reduce amounts of solvent used but promote analytical efficiencies. Fundamental backgrounds of LPME and its application to CWAs analysis were reviewed.

Keywords: Liquid phase microextraction, chemical warfare agents, pretreatment, degradation byproducts

1. 서 론

1969년 발간된 UN Report는 화학작용제를 “사람, 동물 및 식물에 게 직접적인 독성효과를 주기 위해 사용되는 기체, 액체 또는 고체 상태의 화학물질”이라고 정의하고 있다. 화학작용제는 매우 유독한 독성 물질로 인간의 신경계, 피부 등에 작용하여 독성 작용을 일으켜 사망 또는 신체적 손상을 야기시키는 화학물질을 말한다. 이러한 화학작용제가 통제되지 않는 종교집단 또는 무력집단(예 : 오움진리교,

ISIS 등)의 손에 넘어갔을 경우의 위험성은 새삼스럽게 강조할 필요가 없다.

2013년 시리아 내전 간 사용되어 1,300명 이상의 사망자를 발생시킨 사린(GB) 등의 화학무기로 인해 화학무기에 대한 국제적 관심이 다시 한번 높아지게 되었다. 당시 시리아에서의 화학무기 사용 여부 확인을 위해 Organization for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW)에서 파견된 전문가들이 환경 및 생체샘플을 수집하여 분석을 실시하였다. 화학무기의 사용여부는 화학무기금지협약(Cheical Weapon Convention, CWC) 규정에 따라 on-site에서와 off-site에서의 분석을 통해 결정되며, 특히 OPCW 지정실험실(designated laboratory)에서 지정된 방법에 의해 분석을 통해 결정된다. 그 이유는 화학작용제가 사용되었다는 사실이 매우 민감한 국제정치적 문제를 야기할 수 있을 뿐만 아니라 화학작용제 및 그 분해물질의 분석이 매우 까다롭

[†] Corresponding Author: Department of Chemistry, Korea Military Academy (KMA) Nowon-gu, Seoul 139-799, South Korea
Tel: +82-2-2197-2835 e-mail: kami64@naver.com

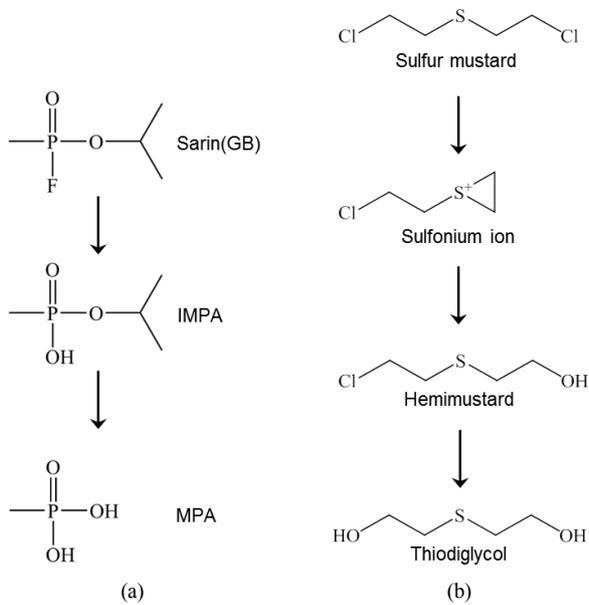


Figure 1. Hydrolysis degradation pathway of (A) nerve agent sarin and (B) blister agent sulfur mustard.

기 때문이다. 화학작용제 및 그 분해물질의 검출은 정확도와 시간을 다투는 문제이기 때문에 가장 엄격한 절차와 높은 수준의 분석기술을 사용하도록 하고 있다.

화학작용제가 사용된 후 자연환경에 노출이 되면 화학작용제는 가수분해(hydrolysis) 또는 광분해(photodegradation) 과정을 거쳐 분해물질로 분해된다. 화학작용제 자체가 샘플로부터 검출되는 경우는 당연히 화학작용제 사용의 직접적 증거가 되지만 분해물질의 존재 여부 역시 화학작용제가 사용되었다는 매우 강력하고 직접적인 증거가 된다. 왜냐하면 이러한 분해물질은 자연상태에서는 자연발생적으로 생성되지 않기 때문이다.

대표적인 신경작용제인 사린(GB)과 대표적 수포작용제인 황겨자(HD)의 가수분해 과정이 Figure 1에 나타나 있다. 이 두 작용제는 독성이 강해 가장 많이 생산되었으며, 가장 많이 실전에 적용된 화학작용제이다. 사린은 이소프로필메틸유기인산(isopropylmethylphosphonic acids; IMPA)으로 분해되며, 이후 천천히 메틸유기인산(methylphosphonic acids; MPA)으로 산화된다. HD는 티오다이글라이콜(thiodiglycol)로 산화된다. 작용제가 부산물로 분해되는 가수분해 반응의 속도는 pH, 온도 등의 환경조건에 따라 많은 차이를 보인다. 상온, 중성 조건에서는 반감기가 통상 수 시간에서 수일 정도가 되며, 염기성 조건에서는 반응속도가 빨라져 특정조건에서는 수 분 내의 반감기를 갖게 된다[1]. 이러한 가수분해반응에 의한 분해산물들은 대부분 난분해성이기 때문에 자연에 오랜 시간 머물게 되며 따라서 이 물질들을 분석해 내는 것이 화학작용제의 사용여부를 확인하는 매우 중요한 절차가 된다.

통상적으로 화학작용제의 환경샘플은 매질(matrix)이 복잡하고, 방해물질(interferences)이 존재하며, 화학작용제 및 분해물질(가수분해 또는 산화된 생성물)이 수 ppb 정도의 낮은 농도로 존재하기 때문에 분석기기로 바로 분석하는 경우 검출을 하지 못하는 경우가 많다. 게다가 화학작용제 분해물질의 경우 화학작용제보다 극성이 강하고, 휘발성이 약해 화학작용제의 분석에 일반적으로 사용되는 기체크로마토그래피(GC)로 분석하는 경우 검출되지 않는 경우가 많다. 따라서 정확한 샘플분석을 위해서는 화학작용제 및 분해물질을 환경샘플로

부터 분리, 추출, 농축시키는 전처리 과정이 필요하다.

화학작용제와 같은 유기물질의 전처리 기법으로는 액-액 추출법(liquid-liquid extraction; LLE) 또는 용매추출법(solvent extraction)으로 불리는 액체를 추출매질로 사용하는 방법과 고체를 추출매질로 사용하는 고체상 추출법(solid-phase extraction; SPE)이 가장 범용으로 활용되고 있다. OPCW가 화학작용제 및 분해물질질의 검출에 사용하는 전처리 기법도 대부분 LLE 또는 SPE이다[2].

수용액 샘플 분석에 있어 가장 전통적인 방법으로 사용되는 방법은 LLE이다. LLE에는 사염화탄소(CCl_4), 클로로폼(CHCl_3), 다이클로로메테인(CH_2Cl_2) 등의 염화물과 벤젠(C_6H_6), 헥세인(C_6H_{14}) 등의 탄화수소 용매가 추출매질로 많이 사용된다. 액-액 추출법은 환경에 유해한 용매가 과량으로 사용되며, 비용이 많이 들고, 분석시간이 오래 걸리며, 분석을 위한 샘플이 상대적으로 많이 확보되어야 하는 단점이 있다. 또한 샘플에 계면활성성분이 포함되어 있거나, 목표 성분의 농도가 매우 낮은 경우는 검출이 안 되는 경우도 많다.

이에 대한 대안으로 SPE가 제시되었다. 고체상 추출법은 화학작용제, 또는 화학작용제 분해산물에 특화된 고체상의 흡착제를 사용하여 수용액 샘플에 녹아있는 시료를 흡착한 뒤 용매를 사용하여 분리하는 방식을 사용한다. 따라서 LLE에 비해 훨씬 적은 용량의 용매를 사용한다는 장점이 있고 또한 다양한 기능기(functional group) 등을 적용한 고체상 흡착제를 쉽게 적용할 수 있다는 장점이 있어 최근에 많이 적용되고 있다. 2009년 OPCW는 SPME를 공인된 분석방법으로 채택할 수 있는지 여부를 결정하기 위해 과학자문위원회 예하에 워킹그룹을 구성하여 SPME를 평가하였다. 위원회는 SPME가 빠르고, 민감도가 좋으며, 쉽게 자동화할 수 있는 장점을 가진 기술이라는 점을 인정하였지만, 다음과 같은 단점으로 인해 현장에 적용하기에는 시기 상조라는 결론을 내렸다. 첫째, 아직까지는 파이버의 비용이 비싸고 잘 깨지고, 둘째, 재사용 시 재오염(cross contamination or carry over effect)의 위험이 있다. 셋째, 컨티셔닝 시간이 소모되며 넷째, 높은 오염농도에서 간섭이 일어날 가능성이 있다는 것이다[3-6].

최근 빠르고, 간편하며, 상대적으로 적은 양의 용매를 사용하면서 한번에 추출, 농축, 샘플주입이 가능한 liquid phase micro extraction (LPME) 기법에 대한 연구가 활발하게 진행이 되고 있다[5,7-12]. LPME는 기본적으로 LLE와 기본 원리가 동일하다. 추출효율은 분석대상물질의 용매에 대한 용해도의 차이점에 의해 결정된다. 전처리를 위한 가장 적합한 용매는 추출대상물질에 대한 높은 용해도를 가지고 있어야 하며, 환경시료와 서로 섞이지(miscible) 않은 성질을 가진 것이어야 한다.

LPME가 일반적인 용매추출법과 구분이 될 수 있는 것은 통상적인 용매추출법에 비해 소모되는 유기용매의 양을 최소화시킬 수 있는 다른 기계적 수단들이 동원된다는 점이다. LPME에 사용되는 유기용매의 양은 수 마이크로리터(μL) 수준까지 낮출 수 있어 수용액 샘플 대 유기용매의 비율을 매우 크게 만들어 유기용매에 녹아 들어가는 소수성 화학물질의 농축효율(enrichment factor)을 극대화시키는 방법을 사용한다. 화학작용제 분석에 활용된 LPME 기법은 single drop micro extraction (SDME)와 hollow fiber LPME (HF-LPME)가 있다. SDME와 HF-LPME의 차이점이 Figure 2에 도식되어 있다.

OPCW에서는 화학작용제를 연구할 수 있는 실험실의 자격을 매우 엄격하게 제한하고 있다. 따라서 화학작용제 및 그 분해물질에 대한 전처리 기법을 연구한 연구자의 수는 매우 제한적이다. 하지만 화학작용제의 분해물질과 같이 분석이 까다로운 물질에 대한 연구를 바탕으로 유기인산계 살충제 등과 같은 다른 유기오염물질에 대한 응용이

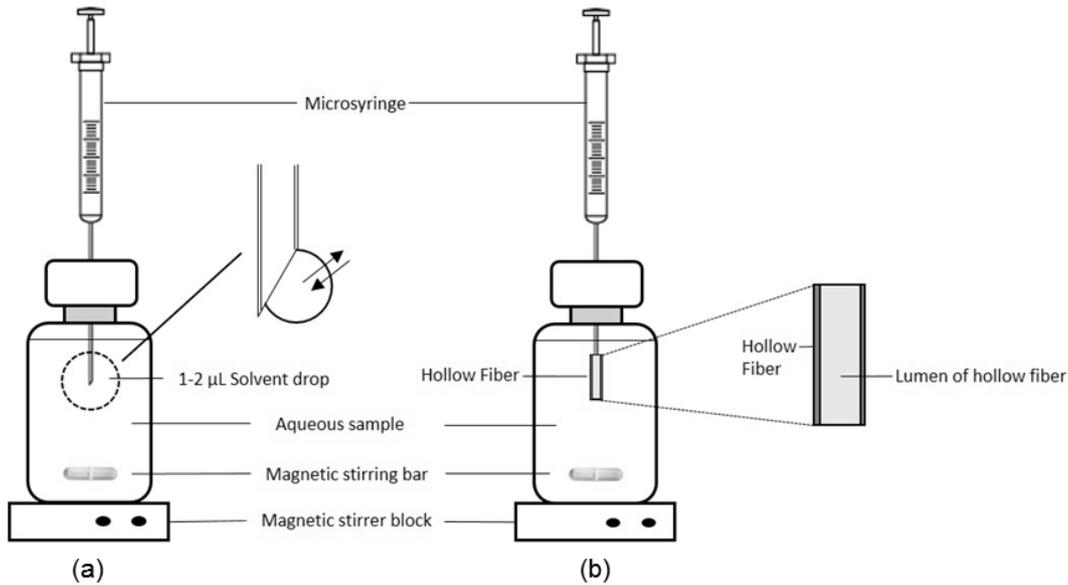


Figure 2. Schematic comparison between (a) SDME and (b) HF-LPME.

매우 다양하게 적용될 수 있으므로 본고에서는 화학작용제 및 그 분해물질(degradation and metabolization products)을 분석하기 위한 LPME 기법에 대해 살펴보고자 한다.

2. Single drop microextraction (SDME)

SDME 기법은 위에서 설명한 바와 같이 추출하는 용매방울의 양을 최소화한 뒤 수용액 샘플 대 용매방울의 비율을 매우 크게 만들어 농축효율을 극대화하는 방법이다. 일부 연구자들은 용매방울의 불안정성으로 인해 SDME가 환경샘플을 다루는 데에는 적당하지 않은 것으로 판단하고 있으나[13], 최근의 수많은 연구, 리뷰, 페이퍼의 증가 추세로 볼 때 SDME에 대한 관심이 점점 증가하고 있음을 알 수 있다 [8-12]. 특히 마이크로 주사기의 끝단에 유지되는 용매방울의 불안정성에서 기인할 수 있는 여러 불리한 점에도 불구하고 경쟁 전처리 기법인 SPE와 비교해 적지 않은 연구가 진행될 수 있는 이유는 첫째, 기존의 분석기기와 호환이 매우 용이하며, 둘째, 비용이 매우 저렴하다는 것이 그 이유이다. Jain과 Verma의 리뷰 논문에서는 2000년대 들어 이루어진 SDME의 논문 약 400여 편을 예로 들어 SDME의 효용성에 대해 논하고 있다[11].

하지만 이런 SDME의 장점에도 불구하고 화학작용제와 그 분해산물에 대해 연구한 논문은 불과 3편에 불과하다[4,6,14]. 화학작용제와 유사한 구조를 가지는 유기인산계 제초제에 대한 SDME 연구는 매우 활발하게 진행되고 있음을 고려할 때 이는 아마도 화학작용제를 다룰 수 있는 연구실이 극히 제한되기 때문인 것으로 이해된다. SDME는 인도의 Vertex 연구소에 의해 화학작용제 분석에 최초로 적용되었다. Palit 등은 클로로포름, 사염화탄소, 다이클로로메테인, 헥세인, 톨루엔 등의 용매를 사용하여 사린(GB)을 포함한 8종의 화학작용제 전구체 및 화학작용제에 대한 SDME의 효율을 측정하였다. 최적화된 조건 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CCl}_4$ (3 : 1 v/v), 30분 추출, 300 rpm 교반속도)에서 LOD는 75-100 $\mu\text{g/L}$ 였다. 무극성물질에 대한 효율은 SPME보다 낮았지만 극성물질에 대한 추출효율은 오히려 SPME보다 높았다[4]. Park 등은 4개의 신경작용제(GA, GB, GD, GF)의 분석에 SDME를 적용하였다.

LOD는 Palit 등의 연구에서보다 더 낮은 수치인 0.1-10 ng/mL 가 나왔으며, SDME를 적용하지 않았을 경우와 비교하여 농축률(enrichment factor)은 5~103배, 48~100%의 회수율을 보였다[6].

SDME의 경우 추출용매가 수용액과 섞이지 않아야 한다는 기본 전제조건 때문에 분석대상물질이 극성 분석물질보다는 무극성 또는 반극성 물질로 제한된다. 추출할 수 있는 물질의 종류가 극성에 따라 제한되고 마이크로 주사기 끝단의 추출용매 방울이 다소 불안정한 점이 단점으로 지적되고 있으나 지속적 연구개발을 통해 이를 극복할 것으로 기대되고 있다.

3. Hollow fiber LPME (HF-LPME)

HF-LPME는 SDME에서 문제가 되는 용매방울의 불안정성을 다공성의 폴리머 파이버를 이용하여 해결한 방식이다. 파이버 멤브레인 안쪽에 추출을 위한 용매방울을 채우고 이를 용액에 담지시켜 파이버 안쪽의 용매방울에 샘플의 분석물질을 추출하는 방식을 사용한다. 따라서 SDME보다 추출을 위해 사용하는 용매를 안정적인 형태로 유지할 수 있게 된다. 또한 LLE에서 흔히 문제가 되고 있는 에멀전화를 방지할 수 있다는 장점이 있다.

HF-LPME는 다른 분야에 이미 널리 활용되었지만 화학작용제의 분석에는 2006년에 최초로 적용되었다. 화학작용제 및 전구물질[15,16], 신경작용제 가수분해물질[17-21], 유기황계 살충제[22], 루이스이트[23] 등의 분석에 HF-LPME가 적용되었다. HF-LPME를 활용한 화학작용제 및 분해물질의 분석은 인도의 Vertex 연구소와 싱가포르의 DSO 국립연구소에 의해 주도되고 있다. Vertex 연구소의 Dubey 등 [15]은 자신들이 SDME를 사용하여 분석하였던 물질들에 HF-LPME를 적용하여 분석효율을 높일 수 있었다. 1 μL 의 trichloroethylene을 사용하여 1000 rpm 속도로 15 min간 30%의 염을 첨가하여 분석하였을 때 사린(GB)에 대한 LOD를 0.1 $\mu\text{g/L}$ 로 낮출 수 있었으며, 이는 이전의 LOD 값인 75 $\mu\text{g/L}$ 보다 월등히 향상된 결과로 CWAs의 분석에 HF-LPME를 적용의 가능성을 보여주었다.

싱가폴 DSO 국립연구소의 Lee 등[16]은 클로로포름을 추출용매로

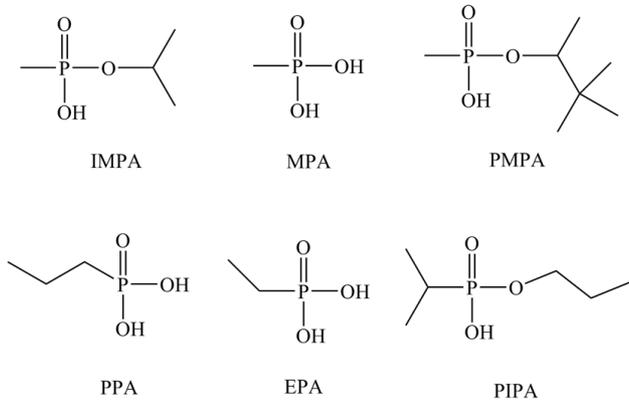


Figure 3. Structures of representative degradation products of nerve agents (alkylphosphonic acids).

사용하여 수용액과 슬러리 샘플로부터 GB, GA, GD, HD, VX 등의 화학작용제에 대한 HF-LPME의 추출성능을 측정하였다. Lee 등의 실험결과에서는 사린에 대한 LOD가 0.03 $\mu\text{g/L}$ 로 Dubey 등의 연구에서 보다 더 낮은 수치를 보였다. 동일한 조건에서 SPME와 비교하였을 때 GB, GA는 SPME보다 더 높은 추출효율을 보였으나 GD, HD의 경우는 낮은 추출효율을 보였다. 이는 GB, GA와 GD, HD의 극성물질에 대한 용해도의 차이에서 기인한 것으로 보인다. 각 물질들의 $\log K_{ow}$ 값을 비교해 보면 GB, GA는 각각 0.299, 0.384로 1보다 적으며, GD, HD는 각각 1.824, 1.37로 1보다 큰 수치를 보이고 있다. 화학작용제의 극성은 HF-LPME의 분석효율에 영향을 미치지 않았지만, SPME의 고체상 물질에 대한 흡착력의 차이가 있을 수 있기 때문에 위와 같은 결과가 나온 것으로 저자들은 주장하였다.

화학작용제에 대한 HF-LPME 적용 이후 분석이 더욱 까다로운 화학작용제 분해물질에 대한 연구들이 진행이 되었다. 화학작용제 분해물질의 경우 서론에서 설명된 바와 같이 극성이 크기 때문에 유기용매에 잘 추출되지 않는 단점이 있다. 따라서 효과적 추출을 위해서는 유기인산 형태의 물질들을 derivatization을 통해 에스터(ester)로 변환시켜 추출효율과 휘발성을 높여야 한다. 일반적으로 알킬화(alkylation) 또는 실릴화(silylation)의 변환(derivatization)과정을 거쳐 휘발성의 에스테르로 변환하게 된다[24-27]. 실제로 산성 분해물질을 derivatization 방법을 이용하여 분석한 사례가 많이 있다[28-31].

Pardasani 등[17]은 in-situ derivatization 방법을 HF-LPME에 적용하여 신경작용제의 분해산물인 알킬유기인산(alkylphosphonic acids, APAs)의 측정에 적용하였다. 실험에 사용된 *O*-isopropyl methylphosphonic acid (IMPA), *O*-pinacolyl methylphosphonic acid (PMPA), *O*-propyl isopropylphosphonic acid (PIPA), methylphosphonic acid (MPA), ethylphosphonic acid (EPA) propylphosphonic acid (PPA)의 구조가 Figure 3에 도식되어 있다. 이러한 유기인산들은 수용성이라 유기용매에 추출이 되지 않아 propyl bromide를 사용한 derivatization 방법이 적용되었다. 이 방법을 통해 Pardasani 등은 APAs에 대해 0.1-0.75 $\mu\text{g/L}$ 의 LOD를 얻을 수 있었다.

HF-LPME는 현재 산성 분해물질뿐만이 아닌 염기성 분해물질의 분석[20], 액-액-액 HF-LPME[18,21] 등으로 개선되어 화학작용제 및 분해산물의 분석에 활용되고 있다.

4. 이온결합추출법

이온결합추출법은 이온상태의 분석대상물질을 전하의 방향(+, -)이 다른 counter ion과의 pairing을 통해 전하중성물질(zero charge)로 만든 후 유기용매로 추출하는 방법이다. 신경작용제의 분해물질을 이온결합을 이용한 액-액-액 마이크로추출법으로 추출한 뒤 모세관전기영동법으로 분석[32]하거나, trimethylamine (TEA), tetrabutylammonium bromide (TBAB), 그리고 cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) 등의 이온결합 물질과 산성 분해물질을 결합한 뒤 SPE로 추출하여 분석하는 방법 등이 적용되었다[24,27].

Xu 등[32]은 신경작용제 분해물질인 methylphosphonic acid (MPA), ethyl methylphosphonic acid (EMPA), isopropyl methylphosphonic acid (IMPA) 그리고 cyclohexyl methylphosphonic acid (CMPA) 등을 tri-*n*-butyl amine을 이용하여 이온결합시킨 후 1-octanol을 이용하여 추출하였다. 1-octanol에 녹아있는 분석물질은 다시 마이크로 주사기 끝의 수용성 추출방울에 재흡수된 뒤 모세관전기영동법으로 분석되었다. 저자들은 이 방법을 통해 LOD가 수 ng/L 까지 낮아질 수 있었으며 450-11900배까지 LOD가 향상되었다고 주장하였다.

Park 등[14]은 최초로 수용액상에 ion-pairing agent와 derivatizing agent를 동시에 투입하여 in-situ 분석을 시도하였다. Derivatizing agent로는 *N*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyltrifluoroacetamide (MTBSTFA)가 유기용매와 혼합되어 사용되었고, ion pairing agents로는 cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), dodecyl trimethylammonium bromide (DTAB), octyl trimethylammonium bromide (OTAB), 그리고 tetrabutylammonium bromide (TBAB) 4가지가 사용되었다. Ion pairing agent로는 CTAB가 가장 효율이 좋았으며, 용매는 클로로폼이 가장 효율이 우수하게 나타났다. CTAB 용액이 샘플과 혼합되어 30 min 동안 교반된 뒤, MTBSTFA가 혼합되어 있는 클로로폼 용액으로 ethyl methylphosphonic acid (EMPA), pinacolyl methylphosphonic acid (PMPA), thiodiglycolic acid (TGA), 그리고 benzoic acid (BA)를 추출하였다. LOD는 0.01-0.08 ng/L 수준으로 나타났으며, 농축효율은 1.3 배에서 276.5배까지로 나타났다.

5. 결 론

이번 리뷰에서는 화학작용제 및 그 분해물질에 사용된 LPME 전처리 기법을 소개하고 그 응용사례를 몇 가지 소개하였다. LPME는 수 μL 이하의 추출용매를 사용하여 샘플 대 추출용매의 부피비를 극대화하여 농축효율을 증가시키는 방식을 사용한다. SDME로 화학작용제에 대한 전처리 기법으로서의 가능성이 확인되었으며 마이크로 주사기 끝단의 추출용매 방울의 안전성 문제를 극복하기 위해 hollow fiber가 적용되어 HF-LPME 방식으로 많은 화학작용제 및 그 분해물질에 대한 전처리 연구가 진행되어 왔다. 최근에는 극성 분해물질의 분석 효율을 높이기 위해 in-situ derivatization 방법과 ion pairing 기법을 동시에 적용하는 기술 개발이 활발하게 진행되고 있다. LPME를 이용한 화학작용제 및 그 분해물질의 전처리 기법은 빠르고, 기존의 분석 방법과 호환이 잘 되며, 미량의 용매를 사용하여 환경친화적이라는 장점이 있을 뿐 아니라, OPCW의 proficiency test에도 매우 성공적으로 적용되어 앞으로 지속적인 연구를 통해 화학작용제의 분석에 크게 기여할 것으로 기대된다.

감 사

이 리뷰는 국방화생탐지 특화연구센터를 통한 국방과학연구소의 지원을 받아 작성되었습니다(2014-2027-001).

References

1. R. L. Gustafson and A. E. Martell, A kinetic study of the copper (II) chelate-catalyzed hydrolysis of isopropyl methylphosphonofluoridate (sarin), *J. Am. Chem. Soc.*, **84**, 2309-2316 (1962).
2. J. E. Melanson, C. A. Boulet, and M. Mesilaakso, *Chemical Weapons Convention Chemical Analysis, Sample Collection, Preparation And Analytical Methods*, 89-132, Wiley, Chichester, UK (2005).
3. H.-Å. Lakso and W. F. Ng, Determination of Chemical Warfare Agents in Natural Water Samples by Solid-Phase Microextraction, *Anal. Chem.*, **69**, 1866-1872 (1997).
4. M. Palit, D. Pardasani, A. K. Gupta, and D. K. Dubey, Application of single drop microextraction for analysis of chemical warfare agents and related compounds in water by gas chromatography/mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **77**, 711-717 (2005).
5. Y. Liu, E. Zhao, and Z. Zhou, Single-drop microextraction and gas chromatographic determination of fungicide in water and wine samples, *Anal. Lett.*, **39**, 2333-2344 (2006).
6. Y.-G. Park, S. K. Kim, K. Choi, B.-H. Son, J.-S. Park, and H.-K. Kang, Analysis of chemical warfare agents in water using single-drop microextraction, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **30**, 49-52 (2009).
7. L. Kocúrová, I. S. Balogh, and V. Andruch, A glance at achievements in the coupling of headspace and direct immersion single-drop microextraction with chromatographic techniques, *J. Sep. Sci.*, **36**, 3758-3768 (2013).
8. H. Prosen, Applications of liquid-phase microextraction in the sample preparation of environmental solid samples, *Molecules*, **19**, 6776-6808 (2014).
9. Y. Yan, X. Chen, S. Hu, and X. Bai, Applications of liquid-phase microextraction techniques in natural product analysis: A review, *J. Chromatogr. A*, **1368**, 1-17 (2014).
10. M. A. Farajzadeh, S. M. Sorouraddin, and M. R. A. Mogaddam, Liquid phase microextraction of pesticides: A review on current methods, *Microchim. Acta*, **181**, 829-851 (2014).
11. A. Jain and K. K. Verma, Recent advances in applications of single-drop microextraction: A review, *Anal. Chim. Acta*, **706**, 37-65 (2011).
12. S. K. Kailasa, V. N. Mehta, and H.-F. Wu, Recent developments of liquid-phase microextraction techniques directly combined with ESI- and MALDI-mass spectrometric techniques for organic and biomolecule assays, *RSC Adv.*, **4**, 16188-16205 (2014).
13. L. Xu and H. K. Lee, Chemical warfare agents: development and applications of sample preparation approaches, in *Compr. Sampl. Sample Prep.*, **3**, 603-613 (2012).
14. Y. K. Park, W. Y. Chung, B. Kim, Y.-S. Kye, M.-S. Shin, and D. Kim, Ion-pair single-drop microextraction determinations of degradation products of chemical warfare agents in water, *Chromatographia*, **76**, 679-685 (2013).
15. D. K. Dubey, D. Pardasani, A. K. Gupta, M. Palit, P. K. Kanaujia, and V. Tak, Hollow fiber-mediated liquid-phase microextraction of chemical warfare agents from water, *J. Chromatogr. A*, **1107**, 29-35 (2006).
16. H. S. N. Lee, C. Basheer, and H. K. Lee, Determination of trace level chemical warfare agents in water and slurry samples using hollow fibre-protected liquid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1124**, 91-96 (2006).
17. D. Pardasani, P. K. Kanaujia, A. K. Gupta, V. Tak, R. K. Shrivastava, and D. K. Dubey, In situ derivatization hollow fiber mediated liquid phase microextraction of alkylphosphonic acids from water, *J. Chromatogr. A*, **1141**, 151-157 (2007).
18. V. Tak, D. Pardasani, P. K. Kanaujia, and D. K. Dubey, Liquid-liquid-liquid microextraction of degradation products of nerve agents followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1216**, 4319-4328 (2009).
19. H. S. N. Lee, M. T. Sng, C. Basheer, and H. K. Lee, Determination of degradation products of chemical warfare agents in water using hollow fibre-protected liquid-phase microextraction with in-situ derivatisation followed by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1148**, 8-15 (2007).
20. H. S. N. Lee, M. T. Sng, C. Basheer, and H. K. Lee, Determination of basic degradation products of chemical warfare agents in water using hollow fibre-protected liquid-phase microextraction with in-situ derivatisation followed by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1196-1197**, 125-132 (2008).
21. C. Desoubries, F. Chapuis-Hugon, A. Bossée, and V. Pichon, Three-phase hollow fiber liquid-phase microextraction of organophosphorous nerve agent degradation products from complex samples, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, **900**, 48-58 (2012).
22. J. Xiong and B. Hu, Comparison of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of organosulfur pesticides in environmental and beverage samples by gas chromatography with flame photometric detection, *J. Chromatogr. A*, **1193**, 7-18 (2008).
23. M. Y. Cheh, H. C. Chua, F. B. Hopkins, J. R. Riches, C. M. Timperley, and H. S. N. Lee, Determination of lewisite constituents in aqueous samples using hollow-fiber liquid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **406**, 5103-5110 (2014).
24. U. V. R. Vijaya Saradhi, S. Prabhakar, T. Jagadeshwar Reddy, and M. R. V. S. Murty, Gas chromatographic-mass spectrometric determination of alkylphosphonic acids from aqueous samples by ion-pair solid-phase extraction on activated charcoal and methylation, *J. Chromatogr. A*, **1157**, 391-398 (2007).
25. J. Wu and H. K. Lee, Injection port derivatization following ion-pair hollow fiber-protected liquid-phase microextraction for determining acidic herbicides by gas chromatography/mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **78**, 7292-7301 (2006).
26. R. M. Black and B. Muir, Derivatization reactions in the chromatographic analysis of chemical warfare agents and their degradation products, *J. Chromatogr. A*, **1000**, 253-281 (2003).
27. U. V. R. V. Saradhi, S. Prabhakar, T. J. Reddy, and M. Vairamani, Ion-pair solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometric determination of acidic hydrolysis products of chemical warfare agents from aqueous samples, *J. Chromatogr. A*, **1129**, 9-13 (2006).

28. S. Chinthakindi, A. Purohit, V. Singh, V. Tak, D. K. Dubey, and D. Pardasani, Solid supported in situ derivatization extraction of acidic degradation products of nerve agents from aqueous samples, *J. Chromatogr. A*, **1359**, 325-329 (2014).
29. S. Chinthakindi, A. Purohit, V. Singh, D. K. Dubey, and D. Pardasani, On-matrix derivatization extraction of chemical weapons convention relevant alcohols from soil, *J. Chromatogr. A*, **1311**, 170-175 (2013).
30. M. Palit and G. Mallard, Dispersive derivatization liquid-liquid extraction of degradation products/precursors of mustards and v-agents from aqueous samples, *J. Chromatogr. A*, **1218**, 5393-5400 (2011).
31. R. Subramaniam, A. Östin, C. Nilsson, and C. Åstot, Direct derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry identification of nerve agent biomarkers in urine samples, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, **928**, 98-105 (2013).
32. L. Xu, X. Y. Gong, H. K. Lee, and P. C. Hauser, Ion-pair liquid-liquid-liquid microextraction of nerve agent degradation products followed by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection, *J. Chromatogr. A*, **1205**, 158-162 (2008).