

GC/MS-SIM을 이용한 우리나라 수중 생물시료 중 알킬페놀, 클로로페놀과 비스페놀 A의 분석을 위한 냉동필터법의 응용

김 협[†] · 장철현

포항공과대학교 화학과, 한밭대학교 토목 · 환경 · 도시공학부 환경공학전공

(2007년 3월 2일 접수, 2007년 6월 13일 채택)

Application of Freezing Filtration Method to the Analysis of Alkylphenols, Chlorophenols and Bisphenol a in Korean Aquatic Biological Samples Using GC/MS-SIM

Hyub Kim[†] · Cheol-Hyeon Jang

Department of Chemistry, POSTECH, Department of Environmental Engineering, Hanbat University

ABSTRACT : A new technique was proposed for the determination of alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A in korean aquatic biological samples. The alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A in korean aquatic biological samples were extracted with acetonitrile and then acetonitrile layer was refrigerated at -60°C for 2 hours(freezing filtration method). Also, solid-phase extraction(SPE) was used to XAD-4 and subsequent conversion to isobutoxycarbonyl(isoBOC) or *tert*-butyldimethylsilyl(TBDMS) derivatives for sensitive analysis with gas chromatography/mass spectrometry-selected ion monitoring(GC/MS-SIM) mode. For isoBOC derivatization and TBDMS derivatization the recoveries were 70.1~150.6% and 93.8~108.3%, the method detection limit(MDLs) of bisphenol A for SIM were 0.062 µg/kg and 0.010 µg/kg, and the SIM respectively. When these methods were applied to korean aquatic biological samples, the concentrations of the 11 phenolic EDCs were 0.675~1.970 µg/kg.

Key Words : Freezing Filtration, isoBOC, TBDMS, GC/MS-SIM, MDL

요약 : 우리나라 수중 생물시료에 있는 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A의 정량분석을 위한 새로운 기술을 제시하였다. 우리나라 수중 생물시료에 있는 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A를 아세토니트릴로 추출한 다음 아세토니트릴 층을 2 시간동안 -60°C에 냉동하였다(냉동필터). 또한, XAD-4를 이용한 고체상 추출 후, isobutoxycarbonyl(isoBOC) 또는 *tert*-butyldimethylsilyl(TBDMS) 유도체화 한 후 가스크로마토그래피/질량분석기-선택이온 모니터링 방법을 사용하였다. isoBOC 유도체화와 TBDMS 유도체화의 회수율은 70.1~150.6%와 93.8~108.3%이었으며, 선택이온 모니터링 방법을 이용한 비스페놀 A의 분석방법 검출한계는(MDLs) 각각 0.062 µg/kg 및 0.010 µg/kg이었다. 이 방법을 우리나라 수중 생물시료에 적용하였을 때, 11가지 페놀성 내분비계장애물질의 농도는 0.675~1.970 µg/kg이었다.

주제어 : 냉동필터법, isoBOC, TBDMS, 가스크로마토그래피/질량분석기-선택이온 모니터링 방법, 분석방법 검출한계

1. 서 론

최근 현대사회의 환경문제는 전 세계적으로 심각한 문제로 대두되고 있으며, 지난 수년 동안 사람과 야생동물의 “내분비계장애물질”에 대한 관심이 증가하였다. 이러한 “내분비계장애물질”은 과학적인 원리, 자료, 유력한 증거, 예방적 원리에 근거하여 개체나 후손, 집단 및 아집단 수준에서 내분비계 기능을 변화시켜 건강장애를 유발하는 외인성 화학물질 또는 혼합물¹⁾로써 생체나 항상성 유지와 발달에 위해한 영향을 미칠 가능성이 있는, 사람과 동물에서 내분비계 기능에 이상을 일으키는 물질들을 말한다.

일본의 경우, 플라스틱 가소제로 사용되고 있는 DEHP 등

프탈레이트류와 플라스틱 첨가제 · 불순물인 비스페놀 A 등의 페놀류 및 각종 산업용 물질, 환경오염물질, 농약, 중금속, 합성 여성호르몬, 식품첨가물, 식물성 유사호르몬으로 분류하여 140종 화합물이 일본 후생성에서 관리하고 있는 반면, 미국의 경우 확실(known), 가능(probable), 의심(suspect) 화합물로 분류되어진 74종 화합물(Illinois EPA 분류) “내분비계장애물질”로 분류하여 관리하고 있다.^{2,3)}

이러한 “내분비계장애물질” 중 생리활성이 큰 알킬페놀류, 클로로페놀류, 비스페놀 A의 환경 유입경로는 알킬페놀이 공업적으로 플라스틱을 생산하는데 원료로 널리 사용되며, 특히 계면활성제의 원료인 알킬페놀 에톡시레이트(alkylphenol ethoxylate, APE)를 생산하는 원료로 많이 사용되고 있다. 이러한 APE는 자연계로 방출되었을 때, 에톡시 기(group)가 1차적인 생물분해에 의해 쉽게 떨어져나가 알킬페놀류를 생성시킨다.⁴⁾ 클로로페놀류는 농약류, 의약품 및 염료의 합성 중

[†] Corresponding author
E-mail: khlyj@postech.ac.kr
Tel: 054-279-8158

Fax: 054-279-3399

간체, 항균제로서 널리 사용되어져 왔으며, 종이 및 펄프산업에서도 표백제로 널리 사용되어져 왔다.^{5,6)} 또한 비스페놀 A는 폴리카보네이트, 에폭시 수지 및 방염제의 공업적 생산 공정에서 중간체와 접착제, 광학렌즈, 캔류의 코팅제, 자동차 유리 코팅제 및 전자부품의 포장재 등으로 산업적으로 광범위하게 사용되어지고 있다.⁷⁾ 최근 캔 음료수와 유아용 젓병에서 비스페놀 A의 검출로 인한 인체의 직접적인 흡입이 될 수 있는 가능성을 보여주었다. 이러한 생리활성이 큰 페놀성 내분비계장애물질들은 다양한 경로를 통하여 수질환경으로 유입되어 어류나 수중 생물들에 유해할 뿐만 아니라 먹이사슬을 통해 축적된 후, 최종 먹이사슬의 최상위에 있는 인간에 흡수되어진다. 인체에 흡수되어진 생리활성이 큰 페놀성 내분비계장애물질들은 표적기관에서 에스트로젠 또는 안드로젠 수용체와 직접적으로 결합하여 생체 내 호르몬의 모방, 차단 및 호르몬 의존성 유전자 발현의 변화를 일으키며 간접적으로는 호르몬의 합성, 저장, 배설, 분비 및 이동에 영향을 미침으로써 정상적인 내분비계 기능을 방해하는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ 특히, 외부로부터 노출되는 내분비계장애물질은 정소와 난소에서 스테로이드 호르몬 합성 경로에 대하여 직, 간접적으로 영향을 미칠 가능성도 제기되고 있다.⁹⁾

생물시료 중 페놀성 내분비계장애물질들의 추출, 정제 및 검출을 위한 다양한 분석법이 개발되었다.^{10,11)} 추출 방식으로 Soxhlet 방법과 용매 진탕 추출방식이 주로 많이 사용되었으며,¹²⁾ 복잡한 매트릭스를 갖는 생물시료들은 유기용매 추출 후, 많은 방해물질을 포함하고 있으므로 정제하기 위하여 다양한 컬럼 크로마토그래피 방법이 도입되었다. 일반적으로 실리카 젤, 플로리실, XAD 수지 및 알루미늄 칼륨이 대표적으로 사용되어졌다.¹¹⁾ 이러한 정제과정은 추출과정에서 분석하고자 하는 분석물질과 방해물질을 분리하는데 목적이 있으며, 극성이 강한 방해물질을 컬럼 충전물질의 고체상 표면에 흡착시키는 방식과 극성이 약한 방해물질을 먼저 용출되게 하는 방식이 있다. 또한 기름이나 지방성분과 같이 고분자 방해물질을 포함하였을 때에는 gel permeation chromatography(GPC) 방식으로 시료정제를 하였으나,¹³⁾ 본 연구실에서 최근 개발한 냉동필터법(freezing filtration method)을 사용하여 간편하게 매트릭스가 복잡한 고분자 방해물질을 제거하는 시료정제 방법이 개발되었다.¹⁴⁾

환경 시료 중 극미량 수준의 페놀성 내분비계장애물질을 검출하기 위하여 유도체화 방법을 사용하여 낮은 휘발성과 극성이 강한 hydroxyl기로 인한 분석 시 발생하는 낮은 감도와 peak 끌림 현상을 극복하고 있다. 페놀류의 유도체화 반응으로 일반적으로 사용하는 반응은 phenolic-OH의 활성수소를 silylation,¹⁵⁻¹⁷⁾ acylation,^{18,19)} cyanomethylation,²⁰⁾ benzylation²¹⁾과 isobutoxycarbonylation^{15,16,22)}을 이용하여 극성이 강한 hydroxyl기를 비극성 functional group으로 전환하고 있다.

Acylation, cyanomethylation과 benzylation은 강한 염기성 수용액에서 phenolate 이온 형태로서만 반응이 이루어지기 때문에 산화에 약한 ppt 수준의 페놀류들에 있어서 유도체화 반응의 재현성이 떨어지는 단점이 있으므로 보통 ppb 수준의

분석방법으로 많이 사용되었다.^{18,20,21)}

반면, silyl 유도체는 *tert*-butyldimethylsilyl(TBDMS) 유도체가 수분에 강하며 GC 및 mass spectrometry(MS) 분석 성질이 우수하고 유도체화 반응의 재현성도 매우 높으므로 최근에는 ppt 수준의 분석방법으로 많이 사용하였다.¹⁷⁾

그러나 acylation, cyanomethylation, benzylation, silylation은 전처리 과정인 추출과 컬럼 clean-up 이후에 남아있는 페놀류 및 극미량의 matrix에 의한 phenolic-OH functional group뿐만 아니라 hydroxyl-OH functional group과도 반응하여 false positive peak가 발생하는 단점을 가지고 있다.¹⁵⁾ 최근, 이러한 단점을 보완하기 위하여 페놀류의 phenolic-OH와 선택적으로 반응하는 isobutoxycarbonylation을 많은 matrix를 포함하는 환경시료 분석 시 이용하고 있다.^{15,16)}

페놀류의 검출 분석기기로는 gas chromatograph(GC), high performance liquid chromatograph(HPLC), GC/mass spectrometer(GC/MS) 및 LC/mass spectrometer(LC/MS)가 많이 사용되어졌으나,^{2,23-31)} 최근 일본 “Speed 98 방법”²⁾과 미국 “EPA 방법”³²⁾에서는 다 성분 페놀류의 분석 장비로 분해능이 높은 GC/MS-SIM(selected ion monitoring) 방법을 선호하고 있다. 그러나 보통 GC/MS-SIM 방법은 하나의 peak에 대하여 머무름 시간(retention time, RT)과 2개 혹은 3개의 선택이온을 선정하여 ion ratio로 정성을 한 후, 그 중 1개의 이온으로 정량하는 방식을 취하고 있으므로 false positive peak로 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 할 가능성이 매우 높다고 보고되었다.¹⁵⁾

이러한 오판을 방지하고자 미국 분석화학회(Association of Official Analytical Chemists, AOAC)에서는 2가지 이상의 서로 다른 분석방법을 사용하여 비교하도록 규정하고 있다.

본 연구에서 정확한 정성 및 정량분석법으로 사용되어지는 GC/MS-SIM 방법을 사용하여 우리나라 수중 생물시료 중 ppt 농도의 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A를 false positive peak에 의한 peak 인식 시 오인으로 인한 오판을 줄이고자 서로 다른 분석방법인 isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법을 사용하여 포화지방산과 불포화지방산을 10.4 g/100 g 포함하는 고등어 시료를 표준 수중 생물시료로 선택하여 isoBOC 유도체화 된 페놀성 내분비계장애물질들과 TBDMS 유도체화 된 페놀성 내분비계장애물질들의 분석방법검출한계(method detection limit, MDL)와 회수율, 표준편차를 검토한 참고문헌 14편 문헌의 실험방법(특허등록)을 사용하였으며, 분석조건 및 분석방법의 정밀도 및 정확도를 나타내는 고등어 시료의 회수율, 직선성등의 데이터는 그대로 인용하였다. 실제 환경 중 생물시료를 분석하기 위해 본 연구실에서 개발한 특허방법을 우리나라 수중 생물시료를 대상으로 전국 25지점에 분포하는 다양한 수중 생물시료를 채취하여 내분비계장애 영향이 있다고 추정되는 11종의 페놀성 내분비계장애물질들을 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체 분석방법으로 동시 분석한 후, 비교 정량하여 실제 수중 생물시료에 적용하였으며, 새로운 전처리법을 국내 연구자들에게 소개하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 시 약

본 연구에 사용된 모든 용매는 MERCK사(Germany)의 잔류 농약 분석용을 사용하였으며, 분석 대상 물질 9종의 페놀성 내분비계장애물질 표준물질과 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d₁₀, bisphenol A-d₁₆은 Sigma-Aldrich사(Milwaukee, WI, USA)로부터 구입하였다. 4-*n*-hexylphenol 및 4-*n*-heptylphenol은 TCI사(Tokyo, Japan)와 Acros사에서 구입하였다.

유도체화 시약은 N-methyl-N-(*tert*-butyldimethylsilyl)-trifluoroacetamide(MTBSTFA) 용액을 Pierce사(Rockford, IL, USA), isobutylchloroformate(isoBCF) 용액은 Acros사(Belgium)로부터 구입하였으며, Na₂SO₄ 및 triethylamine(TEA)은 Junsei사(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

흡착제로 사용한 20~60 mesh의 AMBERLITE XAD-4 수지는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 활성화 시킨 후 사용하였다.

2.2. 수중 생물시료 채취지점

표준 수중 생물시료로는 고등어 시료를 구입하여 사용하였다. 실제 수중 생물시료로는 우리나라를 경기도, 강원도, 충청도, 경상도, 전라도의 5개 권역으로 나누어 각 권역별 대표적인 하천 및 지선 25지점을 선정하여, 우리나라의 하천 및 강에 광범위하게 분포하는 황소개구리, 붕어, 피라미, 잉어를 대상으로 채취하였으며, 채취된 수중 생물시료의 지점과 종류는 Table 1과 같다. 모든 시료는 세척된 채취 병을 채취지역의 하천수로 3회 이상 세척한 후 채취하여 사용하였으며, 즉시 냉동보관한 후, 채취 후 14일 이내에 분석하였다.

Table 1. Sampling points in the Korean streamlet and its biological species

Point	Species	Point	Species
Anyangchun	Bullfrog	Deachangdam	Crucian carp
Onchunchun	Bullfrog	Deachangdam	Carp
Hadong	Bullfrog	Damyang	Crucian carp
Hwainggujichun	Bullfrog	Kyoungjuchun	Crucian carp
Oupo	Bullfrog	Kyoungjuchun	Carp
Juam	Bullfrog	Naju	Crucian carp
Euam	Bullfrog	Muan	Crucian carp
Anyangchun	Crucian carp	Muan	Carp
Bukhachun	Dace	Hwainggujichun	Crucian carp
Kyounganchun	Crucian carp	Mulkum	Crucian carp
Gosan	Bullfrog	Nakdong-hagu	Crucian carp
Myoungchun	Bullfrog	Musimchun	Crucian carp
Gangneung	Crucian carp	Buyeo	Crucian carp
Euam	Carp	Onchunchun	Crucian carp
Namkang	Carp	Myoungchun	Crucian carp
Namji	Carp		

2.3. 페놀성 내분비계장애물질 표준원액 및 내부 표준 원액 조제

11종의 페놀성 내분비계장애물질 표준물질들 각각을 1 mg/mL의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후 각각의 원액에서 일정량을 취하고 희석시켜 50 µg/mL 농도의 페놀성 내분비계장애물질 혼합 표준용액을 조제하였다. 표준용액은 0°C 이하의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. Phenanthrene-d₁₀과 비스페놀 A-d₁₆은 1 mg/mL의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후, 각각 0.1 mg/mL와 0.05 mg/mL의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 내부표준용액으로 사용하였다.

2.4. 수중 생물시료 전처리

표준 수중 생물시료인 고등어 시료 40 g에 페놀성 내분비계장애물질 혼합 표준용액 0.15 µg/g와 회수를 측정용 내부표준용액 비스페놀 A-d₁₆ 0.05 µg/g를 혼합하였으며, 실제 수중 생물시료에는 비스페놀 A-d₁₆만을 0.05 µg/g 혼합하여 사용하였다. 수중 생물시료에 20 g 무수 황산 나트륨을 첨가한 후, 아세토니트릴 100 mL로 20분간 두 번 초음파 추출하였다. 아세토니트릴 층을 합치어 -60°C에서 2시간 동안 냉동시킨 다음, 상온에서 5분간 방치한 후 아세토니트릴 층을 거름종이로 걸렀다. 아세토니트릴 층을 TEA 100 µL 첨가한 후, 40°C에서 증발 농축기를 사용하여 건조한 다음, 잔류물을 pH 2 물 10 mL로 녹였다. 아세토니트릴, 메탄올, *n*-hexan, 증류수, pH 2 물 각각 20 mL로 세척한 0.5 g XAD-4 컬럼에 분당 5 mL의 유속으로 pH 2 물 10 mL가 통과할 수 있도록 하였다. 통수가 끝난 후 고체상 추출 장치 [solid-phase extractor(IST, UK)]를 이용하여, XAD-4 컬럼을 낮은 진공 상태(120~250 mm Hg)로 과량의 수분을 제거한 후, 10분간 질소 가스를 불어 주면서 잔여 수분을 완전히 제거시켰다. 수분이 제거된 XAD-4 컬럼에 *n*-hexan 20 mL를 통과시켜 버린 다음 아세토니트릴 3 mL를 5분간 정체시킨 후, 분당 0.5 mL 이하의 속도로 용출시켰다. 이 조작을 1회 반복하고 아세토니트릴 층 6 mL를 균질화하게 혼합한 후, 다시 3 mL씩 각각 분취하여 isoBOC 유도체화 반응 시료와 TBDMS 유도체화 반응 시료의 전처리액으로 하였다.

2.5. 화학 유도체 방법

2.5.1. isoBOC 유도체

위의 전처리 과정을 거친 isoBOC 유도체 반응 전처리액 6 mL 중 3 mL를 취하여 테프론 코팅된 마개를 지닌 2 mL reacti-vial(Pierce Co., USA)에 triethylamine 40 µL를 첨가한 후, pressure gas blowing concentrator(EYELA, JAPAN)에서 질소가스를 불어넣어 농축을 하면서 옹겼다. 약 40 µL로 농축한 후, 다시 triethylamine 30 µL를 첨가한 후 isobutylchloroformate 20 µL를 첨가하였다. 이 용액을 5~200°C까지 조절할 수 있는 pressure gas blowing concentrator에서 100°C로 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식혔다. 유도체가 완료된 후 0.1 µg/µL의 phenanthrene-d₁₀ 10 µL를 첨가하였다.

2.5.2. TBDMS 유도체

위의 전처리 과정을 거친 TBDMS 유도체 반응 전처리액 6 mL 중 나머지 3 mL를 취하여 테프론 코팅된 마개를 지닌 2 mL reacti-vial에 triethylamine 50 μ L를 첨가한 후, pressure gas blowing concentrator에서 질소가스를 불어넣어 농축을 하면서 옮겼다. 약 50 μ L로 농축한 후, N-methyl-N-(tert-butyl-dimethylsilyl)-trifluoroacetamide 40 μ L를 첨가하였다. 이 용액을 pressure gas blowing concentrator에서 100°C에서 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식혔다. 유도체가 완료된 후 0.1 μ g/ μ L의 phenanthrene- d_{10} 10 μ L를 첨가하였다.

2.6. 회수율 측정 실험

표준 혼합물 3 μ g을 전처리 과정 없이 상기와 동일한 방법으로 회석하여 각각 isoBOC 유도체화 혹은 TBDMS 유도체를 실시하여 GC/MS-SIM으로 분석한 것과 표준 수증 생물시료인 고등어 시료에 0.15 μ g/g의 농도로 첨가된 각각의 페놀성 내분비계장애물질들을 수증 생물시료 전처리 방법과 동일한 방법으로 전처리 및 isoBOC 유도체화 방법 혹은 TBDMS 유도체화 방법을 거친 후 회수율을 알아보았다. 실제 수증 생물시료에 내부 표준물질로서 비스페놀 A- d_{16} 을 0.05 μ g/g 첨가하여 위와 동일한 전처리 방법을 거친 뒤 GC/MS-SIM으로 분석하였다.

2.7. 표준검정곡선의 작성

검정 범위는 각 물질별로 표준물질을 혼합한 5개의 검정용 표준 혼합물(10, 20, 100, 200, 400 ng)을 만들었다. 이 혼합물에 비스페놀 A- d_{16} 1 μ g를 넣고 유도체화 방법에 따라 isoBOC 유도체 혹은 TBDMS 유도체화하고 내부 표준물질로 사용한 phenanthrene- d_{10} 용액 1 μ g를 첨가한 후 GC/MS-SIM로 분석하여 시료별 검정곡선을 얻었다.

2.8. 분석기기

수증 생물시료 중 11종 페놀성 내분비계장애물질들을 측정하기 위한 GC/MS로는 HP-6890 plus 기체 크로마토그래피와 HP 5970 MS Chemstation이 연결된 5973 Network 질량분석기(Agilent Technologies, USA)로 구성되어진 것을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 컬럼은 DB-5 MS cross linked 5% phenyl methylsilicon fused-silica capillary column(30 m \times 0.25 mm I.D., 0.25 μ m film thickness)을 사용하여, 이온원과 직접 연결하였다. 오븐 온도는 처음에 60°C에서 1분 동안 머물게 한 후 1분당 10°C씩 올려 280°C까지 올리고 20분 동안 머물게 하였다.

시료 1 μ L를 비분할(splitless) 주입법을 사용(purge delay time 0.7분) 주입하였다. 운반기체는 헬륨(99.999%)을 사용했고, 유속은 0.9 mL/min로 흘려주었다. 시료 주입구의 온도, 연결 부분의 온도, 이온원의 온도는 각각 260, 230, 200°C로 맞추었다.

이온화 전압을 70 eV를 가하여 특정 질량을 가지는 이온만 선택하여 검출하는 방법(selected ion monitoring, SIM)을

사용하여 분석하였다. SIM 방법에서 사용된 이온들은 각 화합물의 특성 이온을 선택하였고(Table 4), 이들의 감도를 높이기 위하여 머무름 시간(retention time)에 따라 isoBOC 유도체화는 4개의 그룹으로 TBDMS 유도체화는 5개의 그룹으로 나누어 검색하였다.

2.9. 계산

직선성 실험, 표준 수증 생물 회수율 및 수증 생물 시료에서 검출된 페놀성 내분비계장애물질들은 내부표준물질로 사용한 phenanthrene- d_{10} 과 각 페놀성 내분비계장애물질 간의 상대적 peak 면적 비를 이용하여 직선성, 회수율과 농도를 계산하였다.

실제 수증 생물시료의 회수율은 수증 생물시료 내부표준물질로 사용한 phenanthrene- d_{10} 면적과 비스페놀 A- d_{16} 면적 간의 면적 비를 이용하여 회수율을 계산하였다.

2.10. 분석방법 검출 한계

분석방법 검출한계(method detection limits, MDLs)는 US EPA 원안에 따라 표준 수증 생물시료인 고등어 시료의 비스페놀 A에 대한 GC/MS-SIM 방법의 분석방법 검출한계는 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체 방법에 의해 유도체화 한 후, 신호 대 잡음비가 각각의 페놀성 내분비계장애물질에 대하여 2.5 정도되는 농도까지 계속 반복하여 비스페놀 A 표준용액을 회석하여 표준 수증 생물시료인 고등어 시료에 각각에 첨가한 후, 추출, 유도체화한 다음 GC/MS-SIM 분석하였으며 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체 분석방법 각각 0.5 ng/g과 0.25 ng/g 농도에서 각각 7회 연속 분석하여 계산하였다. 7회 연속 분석된 비스페놀 A의 표준편차를 구한 후, US EPA 원안에 고시된 계산법에 의해 계산하였다.

$$MDL = t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}S$$

여기서 $t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$ 는 99% 신뢰구간에서 Students' 값이며, S는 자유도 n-1에서의 표준편차이다.

3. 결과 및 고찰

정확한 환경 모니터링을 위하여 11종 페놀성 내분비계장애물질의 동시분석의 중요성이 증가하고 있다. 본 연구에서는 우리나라 수증 생물시료 중 11종의 페놀성 내분비계장애물질을 아세트니트릴로 추출한 후, -60°C에서 2시간 동안 냉동한 다음 거름종이로 거르는 조작으로 과도한 지방성분을 제거하였다. 지방성분이 제거된 아세트니트릴 층을 XAD-4로 고상 추출한 후, isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체화 한 다음 GC/MS-SIM으로 정밀하게 분석하였다.

3.1. isoBOC 유도체화 및 TBDMS 유도체화 된 11종 페놀성 내분비계장애 물질의 GC/MS 특성

isoBOC 반응 및 TBDMS 반응에서 각각의 페놀성 내분비계장애물질 성분의 연구를 위한 효율은 페놀성 내분비계장

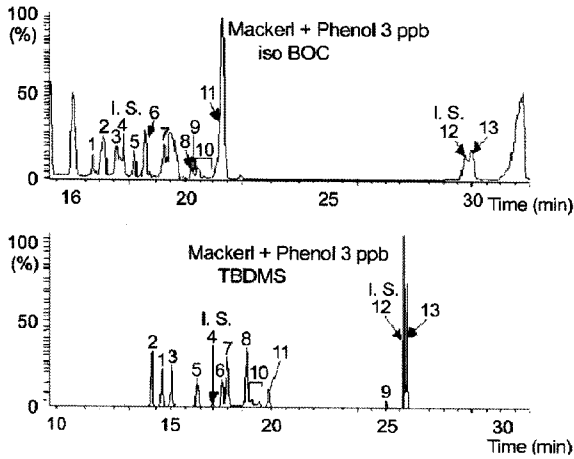


Fig. 1. SIM chromatograms obtained from spiked mackerel samples at 3 ppb of alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A after isoBOC derivatization(upper trace), and after TBDMS derivatization(lower trace), separated on a DB-5(30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 film thickness) capillary column system. Peaks; 1=2,4-dichlorophenol; 2=*t*-butylphenol; 3=*n*-butylphenol; 4= phenanthrene-*d*₁₀(I.S.); 5=*n*-pentylphenol; 6=*n*-hexylphenol; 7=*t*-octylphenol; 8=*n*-heptylphenol; 9=pentachlorophenol; 10=nonylphenol 11=*n*-octylphenol; 12=bisphenol A-*d*₁₆(I.S.); 13=bisphenol A.

에 물질들의 phenolic hydroxyl group이 isoBOC group 및 TBDMS group으로 전환되었다. 분석에 사용한 GC 조건에서 isoBOC 유도체 및 TBDMS 유도체화 된 11종 페놀성 내분비계장애물질의 분리는 Fig. 1에서 보듯이 35분 이내에 분리되었다. 펜타 클로로페놀과(peak 9) 여러개의 이성질체로

구성된 노닐페놀을(peak 10) 제외한 9종의 페놀성 내분비계장애물질의 감도는 매우 양호하였다.

GC/MS로 분리된 isoBOC 유도체 특성과 이온 전자충격법에 의한 MS 자료를 Table 2에 정리하였으며, TBDMS 유도체 특성과 이온 전자충격법에 의한 MS 자료를 Table 3에 각각 정리하였다.

페놀성 내분비계장애물질들에 대한 전자충돌방식(electron impact, EI)에 의한 질량 스펙트럼은, isoBOC 유도체인 경우 alkyloxyacetyl기가 떨어져 나간 후, 알킬페놀의 경우 benzylic 위치의 알킬기가 떨어져 나간 [M-100]⁺ 이온이 기준 ion으로 나타나는 반면, TBDMS 유도체인 경우에는 *tert*-butyl기와 여기서 떨어져 나온 methyl 기의 [M-57]⁺와 [M-15]⁺의 특징적인 ion이 동시에 나타난다.

isoBOC 유도체의 경우 *n*-알킬페놀에 있어서는 [M-100]⁺ 이온 떨어져 나간 후, 알킬 group이 추가적으로 떨어져 나간 *m/z* 107 이온이 나타나는 반면, *tert*-알킬페놀의 경우에는 [M-100]⁺ 이온 떨어져 나간 후, CH₃ 혹은 C₅H₁₉ group이 떨어져나간 *m/z* 135 이온이 *n*-형과 *tert*-형에 따라 특징적으로 나타난다.

반면, TBDMS 유도체인 경우 *tert*-butyl group과 여기서 떨어져 나온 methyl group의 [M-57]⁺와 [M-15]⁺의 2개의 특징적인 ion으로 나타난다. 클로로페놀의 경우에 있어서는 분자량 이온 peak가 약하게 나오며, 여기서 *tert*-butyl group이 떨어져나간 [M-57]⁺ 이온이 기준 ion으로 나타난다.

3.2. 선택이온 모니터링(SIM)

GC/MS에서 full-screen 방법으로는 극미량의 분석물질을 분석하지 못하는 경우가 있어, 선택이온 모니터링 방법을 사

Table 2. Relative retention times(RRT) and mass spectral characteristic ions of phenol isobutoxycarbonyl derivatives

Compound	RT	RRT	[M] ⁺	[M-100] ⁺	Other characteristic ions, <i>m/z</i> (%)
2,4-Dichlorophenol	15.29	0.910	262(0)	162(100)	166(11) 164(65)
4- <i>t</i> -Butylphenol	15.90	0.946	250(4)	150(28)	135(100) 107(15)
4- <i>n</i> -Butylphenol	16.67	0.992	250(4)	150(46)	107(100)
Phenanthrene- <i>d</i> ₁₀	16.80	1.000	188(100)		
4- <i>n</i> -Pentylphenol	17.78	1.058	264(3)	164(46)	107(100)
4- <i>n</i> -Hexylphenol	18.86	1.123	278(1)	178(53)	107(100)
4- <i>t</i> -Octylphenol	19.26	1.146	306(2)	206(1)	235(37) 135(100) 107(13)
4- <i>n</i> -Heptylphenol	19.90	1.185	292(3)	192(57)	107(100)
Pentachlorophenol	20.12	1.198	364(0)	264(62)	268(64) 266(100) 270(20)
Nonylphenol	20.01	1.191	320(1)	220(3)	121(100) 107(36) 263(30)
	20.21	1.203	320(4)	220(9)	149(100) 121(60) 135(86)
	20.30	1.208	320(1)	220(6)	135(100) 191(15) 107(10)
	20.40	1.214	320(3)	220(7)	121(100) 107(68) 177(90)
	20.66	1.230	320(2)	220(7)	149(100) 191(61) 107(67)
4- <i>n</i> -Octylphenol	20.88	1.243	306(2)	206(65)	107(100)
Bisphenol A- <i>d</i> ₁₆	31.20	1.857	442(2)	342(5)	242(15) 224(100)
Bisphenol A	31.42	1.870	428(1)	328(6)	228(17) 213(100)

Relative retention times(RRT) : RT of analyte / RT of phenanthrene-*d*₁₀

Table 3. Relative retention times(RRT) and mass spectral characteristic ions of phenol *tert*-butyldimethyl derivatives

Compound	RT	RRT	[M] ⁺	[M-15] ⁺	[M-57] ⁺	Other characteristic ions, m/z(%)
2,4-Dichlorophenol	14.71	0.875	276(3)	261(1)	219(100)	221(74) 201(36) 183(28)
4- <i>t</i> -Butylphenol	14.24	0.847	264(62)	249(27)	207(4)	193(20) 169(66) 151(100)
4- <i>n</i> -Butylphenol	15.16	0.901	264(36)	249(2)	207(7)	225(100) 208(10) 169(12)
Phenanthrene-d ₁₀	16.82	1.000	188(100)			
4- <i>n</i> -Pentylphenol	16.32	0.970	278(40)	263(2)	263(2)	221(9) 239(100) 169(20)
4- <i>n</i> -Hexylphenol	17.47	1.039	292(37)	277(1)	235(6)	253(100) 183(11) 165(28)
4- <i>t</i> -Octylphenol	17.70	1.052	320(7)	305(1)	263(1)	249(100) 73(12)
4- <i>n</i> -Heptylphenol	18.55	1.103	306(43)	291(3)	249(7)	267(100) 165(41)
Pentachlorophenol	24.93	1.482	378(1)	363(0)	321(1)	376(29) 375(100) 357(77)
Nonylphenol	18.45	1.097	334(8)	319(0)	277(96)	306(51) 267(100) 235(75)
	18.66	1.109	334(18)	319(0)	277(3)	305(37) 263(53) 249(100)
	18.73	1.114	334(23)	319(2)	277(5)	305(33) 263(74) 249(100)
	18.78	1.117	334(15)	319(2)	277(10)	249(100) 73(14)
	18.84	1.120	334(9)	319(1)	277(100)	305(18) 291(29) 235(49)
	18.99	1.129	334(2)	319(6)	277(100)	235(34) 221(26)
	19.14	1.138	334(5)	319(0)	277(1)	305(15) 263(200) 249(100)
4- <i>n</i> -Octylphenol	19.59	1.165	320(55)	305(3)	263(8)	281(100) 264(21) 165(74)
Bisphenol A-d ₁₆	25.79	1.533	470(37)	455(4)	413(0)	453(100) 217(39)
Bisphenol A	25.91	1.540	456(32)	441(100)	399(0)	207(35)

Relative retention times(RRT) : RT of analyte / RT of phenanthrene-d₁₀

용하여 낮은 검출한계를 구하는데 사용하고 있다. isoBOC 유도체 및 TBDMS 유도체화 된 노닐페놀을 제외한 나머지 10종의 페놀성 내분비계장애물질에서 [M-100]⁺와 [M-57]⁺ 이온과 추가적인 1개의 이온을 추가하여 그 중 감도가 큰 ion 1개로 정량을 한 반면, 노닐페놀의 경우 *n*- 형태와 *tert*- 형태가 동시에 존재하는 혼합물 노닐과 페놀을 알킬화 반응하여 *o*- 위치와 *p*- 위치에 1:3의 비율로 합성되므로 많은 isomer가 존재한다. isoBOC 유도체화 반응이나 TBDMS 유도체화 반응 이후에도 여러개의 peak가 검출되므로 노닐페놀을 정량할 때는 반드시 각각의 molecular ion과 isoBOC 유도체화 반응이나 TBDMS 유도체화 반응의 특징적인 ion을 반드시 확인하여야 하며, 정량 시에도 확인 ion 이외에 *n*- 형태와 이 보다 독성이 10배 정도 강한 *tert*- 형태의 정량이온을 동시에 정량하여야 한다. isoBOC 유도체화 반응의 경우 노닐페놀 ion을 *m/z* 320과 220에서 ion을 확인한 후, *m/z* 135와 149에서 각각 6개의 peak를 동시 정량하였으며, TBDMS 유도체화 반응에서는 *m/z* 334과 277에서 ion을 확인한 후, *m/z* 263과 249에서 각각 6개의 peak를 동시 정량하였다(Table 4).

3.3. 회수율, 정확도, 분석방법 검출한계

회수율 측정은 목표 분석물질의 재현성과 분석방법의 효율성을 측정하기 위해 행하여 졌다. 3개의 고등어 시료에 6 µg/40 g의 농도로 첨가된 11종의 페놀성 내분비계장애물질들을 수중 생물시료 전처리 방법과 동일한 방법으로 추출, 유도체화한 후 분석하여 회수율을 알아 본 결과, 11종 페놀성 내분비계장애물질의 회수율은 isoBOC 유도체인 결과 70.1~

Table 4. Selected ion groups of phenols for GC/MS-SIM mode analysis

Compound	Time window (min)		selected ion Dwell time (m/z)(ms per ion)		
	isoBOC	TBDMS	isoBOC	TBDMS	150
2,4-Dichlorophenol	14.00-18.10	13.50-15.50	164, 162	221, 219	150
4- <i>t</i> -Butylphenol	14.00-18.10	13.50-15.50	150, 135	264, 151	150
4- <i>n</i> -Butylphenol	14.00-18.10	13.50-15.50	150, 107	264, 207	150
Phenanthrene-d ₁₀	14.00-18.10	13.50-15.50	188	188	150
4- <i>n</i> -Pentylphenol	18.10-19.40	15.50-18.00	164, 107	278, 221	150
4- <i>n</i> -Hexylphenol	18.10-19.40	15.50-18.00	178, 107	292, 235	150
4- <i>t</i> -Octylphenol	18.10-19.40	15.50-18.00	235, 135	320, 249	150
4- <i>n</i> -Heptylphenol	19.40-22.00	18.00-20.00	192, 107	306, 249	150
Pentachlorophenol	19.40-22.00	20.50-26.00	268, 266	358, 357	150
Nonylphenol	19.40-22.00	18.00-20.00	320, 220, 149, 135	334, 277, 263, 249	150
4- <i>n</i> -Octylphenol	19.40-22.00	18.00-20.00	206, 107	320, 263	150
Bisphenol A-d ₁₆	22.00-34.00	25.50-34.00	242, 224	470, 453	150
Bisphenol A	22.00-34.00	25.50-34.00	228, 213	456, 441	150

150.6%이었으며, TBDMS 유도체인 경우 93.8~108.3%이었다. 반복 회수율 측정실험에서 표준편차는 isoBOC 유도체인 경우 3.9~34.4%이었으며, TBDMS 유도체인 경우에는 0.5~9.3%로 TBDMS 유도체가 양호하였다(Table 5). isoBOC 및 TBDMS 유도체화 분석방법은 ppt(part per trillion) 수준에서 isoBOC 유도체화 방법 중 4-*t*-옥틸페놀을 제외한 모든 유도체화 된 페놀성 내분비계장애물질들이 US EPA에서 권고한 85% 이상의 회수율을 보였다. 이러한 결과는 Tsuda 등의¹¹⁾

Table 5. Recovery of alkylphenols, chlorophenols, and bisphenol A extracted from biological samples using GC/MS-SIM mode

Compound	Recovery(%)	
	isoBOC ^a	TBDMS ^b
2,4-Dichlorophenol	144.4±11.19	103.2±4.51
4- <i>t</i> -Butylphenol	147.7±12.57	108.2±0.46
4- <i>n</i> -Butylphenol	137.0± 8.13	101.9±7.16
4- <i>n</i> -Pentylphenol	150.6±25.04	93.8±7.09
4- <i>n</i> -Hexylphenol	103.2± 6.30	106.8±6.90
4- <i>t</i> -Octylphenol	124.9±19.17	97.0±0.91
4- <i>n</i> -Heptylphenol	92.3± 3.85	107.8±7.39
Pentachlorophenol	122.6±29.47	105.5±9.29
Nonylphenol	127.0±34.44	108.3±5.77
4- <i>n</i> -Octylphenol	70.1± 6.99	97.8±1.57
Bisphenol A	128.1±11.87	100.5±1.28

^{a,b} A mackerel sample spiked with bisphenol A(0.15 µg/g)
I.S. : Phenanthrene-*d*₁₀

생물시료 중 옥틸페놀과 노닐페놀을 분석하기 위하여 생물시료를 아세트나이트릴로 용매추출 후, Florisil PR 컬럼으로 정제한 다음 농축한 후 GC/MS로 분석한 연구에서 86.0~96.4%인 회수율과 비교해 보았을 때, 냉동필터법을 사용하여 전처리 후 TBDMS 유도체화하여 분석하는 분석방법이 보다 양호한 결과를 얻을 수 있었으며, isoBOC 유도체화 방법은 서론에서 언급하였듯이 표준 수중 생물시료인 고등어 시료에서 matrix의 영향으로 인하여 isoBOC 유도체화 된 후, TBDMS 유도체화 보다 낮은 *m/z*에서 선택 이온을 정량하는 isoBOC 유도체화의 선택된 ion들과 matrix ion들과의 additive 효과로 회수율이 높게 검출된 것으로 생각되며, 실제 수중 생물시료의 분석에서는 isoBOC 유도체 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법으로 분석한 후 TBDMS 유도체화 분석방법의 결과 값만을 인용하였으며, isoBOC 유도체화 분석방법의 결과 값은 참고 값으로 하였다.

페놀성 내분비계장애물질의 정량분석을 위하여 각각의 페놀성 내분비계장애물질들을 10~400 ng 범위에서 5 point의 직선성을 구하였으며, 이때 각 화합물의 ion chromatogram에서 나타난 peak와 내부표준물질인 phenanthrene-*d*₁₀의 peak의 면적 비로 나타내어 최소자승법으로 검정곡선을 작성하여 Table 6에 실었다. Table 6에서 보듯이, 위 농도범위에서 모든 페놀성 내분비계장애물질들은 isoBOC 유도체화 분석방법은 0.9755~0.9981이었으며, TBDMS 유도체화 분석방법은 0.9908~0.9996으로 두 분석방법 모두 양호한 결과를 보였다.

분석방법 검출한계는 US EPA 원안에 따라 비스페놀 A가 신호 대 잡음비가 2.5:1인 부분인 낮은 농도에서 7회 반복 실험하여 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체 분석방법 각각 0.062 µg/kg과 0.010 µg/kg 농도였다. 이 농도는 생물시료 중 11종 페놀성 내분비계장애물질에 대한 일본 후생청 고시 분석방법 검출한계²⁾ 1 µg/kg 보다 낮은 검출한계로 생물시료를 냉동필터법으로 추출하여 XAD-4 컬럼으로 정제 후, isoBOC

Table 6. Linear regression analysis of relative response against relative weights of phenols as isoBOC & TBDMS derivatives

Compound	isoBOC			TBDMS		
	Regression line		Correlation coefficient	Regression line		Correlation coefficient
	m	b	r	m	b	r
2,4-Dichlorophenol	0.0004	-0.0082	0.9943	0.0014	0.0099	0.9963
4- <i>t</i> -Butylphenol	0.0016	-0.0164	0.9979	0.0011	0.0576	0.9928
4- <i>n</i> -Butylphenol	0.0015	-0.0340	0.9909	0.0023	0.0246	0.9991
4- <i>n</i> -Pentylphenol	0.0013	-0.0134	0.9949	0.0021	0.0235	0.9996
4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.0013	0.0463	0.9902	0.0021	0.0263	0.9995
4- <i>t</i> -Octylphenol	0.0015	0.0508	0.9900	0.0059	1.0293	0.9978
4- <i>n</i> -Heptylphenol	0.0012	0.0479	0.9981	0.0034	0.0441	0.9962
Pentachlorophenol	0.0001	0.0026	0.9958	0.0007	0.0198	0.9925
Nonylphenol	0.0010	0.0609	0.9931	0.0006	0.0308	0.9986
4- <i>n</i> -Octylphenol	0.0013	0.0289	0.9755	0.0019	0.0468	0.9908
Bisphenol A	0.0011	0.0124	0.9968	0.0085	0.139	0.9958

^am = Slop; relative mass response=mean peak area ratio of phenol × mass of I.S./mass of phenol; b = y-intercept. Calibration range; 10~400 ng

유도체 및 TBDMS 유도체화 하여 분석하는 방법이 ppt level에서 11종 페놀성 내분비계장애물질을 분석하는데 적합하다는 것을 알 수 있다. 11종 페놀성 내분비계장애물질이 첨가된 매트릭스가 다량 존재하는 고등어 시료인 경우 Fig. 1 SIM 크로마토그램에서 보듯이 isoBOC SIM 크로마토그램과 TBDMS SIM 크로마토그램을 상호 보완적으로 사용하여 매트릭스에 의한 false positive peak로 peak 인식 시 오인으로 인한 오 판을 할 가능성을 줄일 수 있다.

실제 수중 생물시료에 있어서의 회수율 측정은 내부 표준물질인 비스페놀 A-*d*₁₆과 syringe 내부표준물질인 phenanthrene-*d*₁₀이 isoBOC 유도체인 경우 이온 크로마토그램 *m/z* 224와 *m/z* 188을 TBDMS 유도체인 경우 *m/z* 453과 *m/z* 188을 선택하였다. 이들의 내부 표준물질간의 peak 면적 비를 계산하여 전체적인 회수율을 측정하여 88.6~99.9%의 결과를 얻었으며, 각각의 유도체화 분석방법은 ppt(part per trillion) 수준에서 모두 US EPA에서 권고한 85% 이상의 회수율을 보였다.

3.4. 수중 생물시료 적용

위 실험 방법을 실제 수중 생물시료로는 우리나라 5개 권역 대표적인 하천 및 지선 25지점에서 황소개구리, 붕어, 피라미, 잉어를 대상으로 하여 검출된 페놀성 내분비계장애물질만 표시한 결과(Table 7) 안양천 붕어, 황구지천 황소개구리, 의암 잉어와 낙동강 하구연의 붕어에서 4-*n*-헥실페놀과 펜타 클로로페놀이 검출되었으며, 나주 붕어에서는 4-*n*-헥실페놀이 검출되었다. 특히 펜타 클로로페놀의 경우 4지점에서 규정 검출한계 이상의 결과 값으로 검출되었다. 이와 같은 결과는 주로 물비누의 원료로 쓰이는 4-*n*-헥실페놀의 경우 물비누가 생활하수로 하천에 유입되어 수중 생물에 농축

Table 7. Concentration of target compounds in Korean aquatic biological samples

Point	Species	Compound	^a Value	^b Recovery(%)
Anyangchun	Crucian carp	4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.702	98.1
		Pentachlorophenol	1.970	
Naju	Crucian carp	4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.675	92.0
Hwainggujichun	Bullfrog	4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.768	93.0
		Pentachlorophenol	1.128	
Euam	carp	4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.757	93.3
		Pentachlorophenol	1.112	
Nakdong-hagu	Crucian carp	4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.704	92.4
		Pentachlorophenol	1.020	

^a Value : $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^a I.S. : Phenanthrene-*d*₁₀^b I.S. : Bisphenol A-*d*₁₆

된 경로와 제조제의 분해산물인 펜타 클로로페놀의 경우 제조제의 무분별한 사용으로 하천에 유입된 후, 분해되어 수중 생물에 농축된 것으로 사료된다.

특히, 낙동강 붕어, 황구지천 황소개구리, 의암 붕어에서 보 다 안양천 붕어에서 펜타 클로로페놀이 2배 정도 높게 검출된 결과는 하천이나 지선에 유입되는 제조제의 양적인 측면에서 고려할 때, 농작물 경작을 위해 사용하는 제조제보다는 과량으로 빈번히 제조제를 사용하는 골프장의 갯수와 규모에 따라서 영향을 더 많이 받은 것으로 사료된다.

4. 결론

냉동필터법을 응용한 우리나라 수중 생물시료 중 알킬페놀, 클로로페놀과 비스페놀 A의 분석하여 평가한 연구에서 얻은 결론은 다음과 같다.

1) 11종 페놀성 내분비계장애물질의 isoBOC 유도체 및 TBDMS 유도체의 GC/MS 특성은 isoBOC 유도체의 경우 [M-100]⁺ 이온이 특징적으로 나타난 반면, TBDMS 유도체인 경우 [M-57]⁺와 [M-15]⁺의 2개의 특징적인 ion으로 나타났다. [M-100]⁺와 [M-57]⁺ 이온과 추가적인 1개의 이온을 추가하여 선택이온 모니터링 방법으로 정량 분석하여 극 미량의 11종 페놀성 내분비계장애물질의 정량 값을 얻을 수 있었다.

2) 고등어 시료를 이용한 수중 생물시료의 회수율, 정확도 검증에서 11종 페놀성 내분비계장애물질의 회수율은 isoBOC 유도체인 결과 70.1~150.6%, TBDMS 유도체인 경우 93.8~108.3%이었으며, 반복 회수율 측정실험에서 표준편차는 isoBOC 유도체인 경우 3.9~34.4%, TBDMS 유도체인 경우에는 0.5~9.3%로 TBDMS 유도체가 양호하였다. 페놀성 내분비계장애물질들을 10~400 ng 범위에서 5 point의 직선성을 구하였을 때, isoBOC 유도체화 분석방법은 0.9755~0.9981이었으며, TBDMS 유도체화 분석방법은 0.9908~0.9996으로 두 분석방법 모두 양호한 결과를 보였다.

3) US EPA 원안에 따른 분석방법 검출한계는 isoBOC 유

도체와 TBDMS 유도체 분석방법 각각 0.062 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 0.010 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 농도로 법적 분석방법 검출한계 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 보다 낮은 검출한계로 수중 생물시료에 존재하는 ppt level의 11종 페놀성 내분비계장애물질을 분석하는데 적합하다는 것을 알 수 있다.

4) 실제 수중 생물시료로는 우리나라 5개 권역 대표적인 하천 및 지선 25지점에서 황소개구리, 붕어, 피라미, 잉어를 대상으로 하여 검출된 페놀성 내분비계장애물질만 표시한 결과(Table 7) 안양천 붕어, 황구지천 황소개구리, 의암 잉어와 낙동강 하구연의 붕어에서 4-*n*-헥실페놀과 펜타 클로로페놀이 검출되었으며, 나주 붕어에서는 4-*n*-헥실페놀이 검출되었다. 특히 펜타 클로로페놀의 경우 위의 4지점에서 규정 검출한계 이상의 결과 값으로 검출되었다.

5) 이러한 냉동필터법으로 시료 전처리 후, isoBOC 유도체화 방법과 TBDMS 유도체화 방법의 상호 보완적 분석방법은 수중 생물시료의 ppt 수준의 낮은 검출 한계에서 peak 인식 시 오인으로 인한 오관을 줄이고 환경 수질시료에 대한 정확한 정량분석을 할 수 있었다.

사 사

본 연구는 국립상주대학교의 지원으로 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

본 연구에서 사용한 냉동필터법은 “냉동법을 이용한 생물시료, 식품시료 및 환경시료로 부터의 페놀을 포함한 극성 물질의 분리 및 분석방법”으로 특허 등록되어 있음을 고시합니다(특허 제 0535905).

참고문헌

1. “EDSTAC, Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee(EDSTAC) Final Report,” August 1(1998).
2. “Japan Environment Agency, Strategic Programs on Environmental,” JEA, Tokyo, May, 68~77(1998).
3. “Developmental Effects of Endocrine Disrupting Chemicals in Wildlife and Humans. EHP,” *Illinois EPA Endocrine Disruptors Strategy*, **101**(5), 378~384(1993).
4. Dachs, J., Van Ry, D. A., and Eisenreich, S. J., “Occurrence of Estrogenic Nonylphenols in the Urban and Coastal Atmosphere of the Lower Hudson River Estuary,” *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2676~2679(1999).
5. Pavlov, B. and Terentyev, “Organic Chemistry,” Gordon and Breach Science Publishers, New York, 125~127 (1965).
6. Jones, P. A., “Chlorophenols and Their Impurities in the Canadian Environment,” *Environment Canada Econ. Tech. Rev. Report* EPS-3-EC-81-2, 434(2000).
7. Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G. M., Oblock S. T., and Harris L. R., “A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A,” *Chemos-*

- phere*, **36**, 2149~2173(1998).
8. Safe, S. H., "Endocrine disruptors and human health is there a problem? An update," *Environ Health Perspect*, **108**, 487~493(2000).
 9. Cook, J. C., Kaplan, A. M., Davis, L. G., and O'connor, J. C., "Development of a Tier I Screening Battery for Detecting Endocrine-Active Compound(EACs)," *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **26**, 60~68(1997).
 10. Philip, B. D., Chi-Su, C., and Joseph, J. G., "Degradation of bisphenol A in natural waters," *Chemosphere*, **16**, 1501~1507(1987).
 11. Tsuda, T., Takino, A., Kojima, M., Harada, H., and Muraki, K., "Gas chromatographic-mass spectrometric determination of 4-nonylphenols and 4-tert-octylphenol in biological samples," *J. Chromatogr. B*, **723**, 273~279 (1999).
 12. Afghan, B. K., Carron, J., Goulden, P. D., Lawrence, J., Leger, D., Onuska, F., Sherry, J., and Wilkinson, R., "Recent advances in ultratrace analysis of dioxins and related halogenated hydrocarbons," *Can. J. Chem.*, **65**, 1086~1097(1987).
 13. Hong, J., Eo, Y., Rhee, J., Kim T., and Kim K., "Simultaneous analysis of 25 pesticides in crops using gas chromatography and their identification by gas chromatography-mass spectrometry," *J. Chromatogr.*, **639**, 261~271(1993).
 14. Kim, H., Hong, J., Kim, Y. H., and Kim K. R., "Combined isobutoxycarbonylation and tert-butyl dimethylsilylation for the GC/MS-SIM detection of alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A in mackerel samples," *Arch. Pharm. Res.*, **26**(9), 697~705(2003).
 15. 김협, 김진호, "기체 크로마토그래피/질량분석기를 이용한 종이류 중 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A 정량," *환경독성학회지*, **18**(1), 45~55(2003).
 16. 김협, 홍종기, 김용화, 김경례, "기체 크로마토그래피/질량분석기를 이용한 field-screening 적용을 위한 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A의 isoBOC 유도체, TBDMS 유도체와 US EPA 방법의 비교," *분석과학회지*, **15**(3), 196~213(2002).
 17. Heberer, T. and Stan, H. J., "Detection of more than 50 substituted phenols as their t-butyl dimethylsilyl derivatives using gas chromatography-mass spectrometry," *Analytica Chimica Acta*, **341**, 21~34(1997).
 18. Masque, N., Pocurull, E., Marce, R. M., and Borrull, F., "Determination of eleven priority EPA phenolics at ng L-1 levels by on-line solid-phase extraction and liquid chromatography with UV and electrochemical detection," *Chromatographia*, **47**, 176~182(1998).
 19. Achilli, G., Celrino, G. P., d'Etil, G. M., and Bird, S., "Simultaneous determination of 27 phenols and herbicides in water by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection," *J. Chromatogr. A*, **697**, 357~362(1995).
 20. Shin, H.-S., Park, C.-H., Park, S.-J., Pyo, H.-S., "Sensitive determination of bisphenol A in environmental water by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection after cyanomethylation," *J. Chromatogr. A*, **912**, 119~125(2001).
 21. Cline, R. E., Todd, G. D., Ashley, D. L., Grainger, J., McCraw, J. M., Alley, C. C., and Hill, R. H., "Gas chromatographic and spectral properties of pentafluorobenzyl derivatives of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and Metabolite," *J. Chromatogr. Sci.*, **28**, 167~172(1990).
 22. Kim, K.-R. and Kim, H., "Gas chromatographic profiling and screening for phenols as isobutoxycarbonyl derivatives in aqueous samples," *J. Chromatogr. A*, **866**, 87~96(2000).
 23. Penalver, A., Pocurull, E., Borrull, F., Marce, R. M., "Solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in water samples," *J. Chromatogr. A*, **97**, 382~390(2002).
 24. Helaleh, M. I. H., Takabayashi, Y., Fujii, S., and Korenaga, T., "Gas chromatographic-mass spectrometric method for separation and detection of endocrine disruptors from environmental water samples," *Analytica Chimica Acta*, **428**, 227~234(2001).
 25. Rodriguez, I., Mejuto, M. C., Bollain, M. H., and Cela, R., "Evaluation of two solid-phase extraction procedures for the preconcentration of chlorophenols in drinking water," *J. Chromatogr. A*, **786**, 285~292(1997).
 26. Lee, H. B., You, R. L. H., and Fowlie, P. J. A., "Chemical derivatization Analysis of Phenols. Part VI. Determination of chlorinated phenolics in Pulp and paper effluents," *J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM.*, **72**(6), 979~984(1989).
 27. Boyd, Th. J., "Identification and quantification of mono-, di- and trihydroxybenzenes(phenols) at trace concentrations in seawater by aqueous acetylation and gas chromatographic-mass spectrometric analysis," *J. Chromatogr.*, **662**, 281~292(1994).
 28. Lee, H. B., Stokker, Y. D., and Chau, A. S. Y., "Analysis of Phenols by Chemical Derivatization. V. Determination of Pentachlorophenol and 19 Other Chlorinated Phenols in Sediments," *J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM.*, **70**(6), 1003~1008(1987).
 29. Lee, H. B., Weng, L. D., and Chau, A. S. Y., "Chemical Derivatization Analysis of Pesticide Residues. IX. Analysis of Phenol and 21 Chlorinated Phenols in Na-

- tural Waters by Formation of Pentafluorobenzyl Ether Derivatives," *J. ASSOC OFF. ANAL. CHEM.*, **67**(6), 1086~1091(1984).
30. Moder, M., Schrader, S., Franck, U., and Popp, P., "Determination of phenolic compounds in water by solid-phase micro extraction," *Fresenius J. Anal Chem.*, **357**, 326~332(1997).
31. Yergey, A. L., Edmonds, C. G., Lewis, I. A. S., and Vestal, M. L., "Liquid Chromatography/Mass Spectrometry," Plenum Press, New York(1990).
32. "EPA method 625, Base/neutrals and acids," *EPA Test Methods*, 127~139(1998).