

정밀분석용 용매 및 SPE의 Nonylphenols 오염평가 및 제거

박종민[†] · 최근형[†] · 김정임 · 홍수명 · 권오경 · 임건재 · 김진호*

농촌진흥청 국립농업과학원 유해화학과

(2011년 2월 17일 접수, 2011년 3월 16일 수리)

Investigation of Nonylphenols Contamination in Solvents and Solid-phase Extraction Cartridge, and its Removal Protocols

Jong-Min Park[†], Geun-Hyoung Choi[†], Jung-Im Kim, Su-Myeong Hong, Oh-Kyung Kwon, Geon-Jae Im and Jin Hyo Kim*

Division of Chemical Safety, National Academy of Agricultural Science, RDA

Abstract

Nonylphenols are toxic compounds classified as endocrine disruptors. We investigated the nonylphenols clean-up procedures for the contamination control in the quantitative analysis. In this research we analyzed the residual nonylphenols in the solvent and the SPE cartridges. First, at the analysis of HPLC grade solvents (n-hexane, diethyl ether, ethyl acetate and its mixture), diethyl ether was confirmed the residue as 0.963 µg/mL, and we eliminated the contaminant through the distillation with CaH₂. Second, at the analysis of SPE cartridges (silica gel and Florisil), all products were showed the residue at 0.046~13.0 µg/mL, but unfortunately the residue in the cartridge were not easily removed with referenced methods in all tested SPE cartridges except in silica gel SPE cartridge with glass ware.

Key words Nonylphenols, EDs, Contamination, Quantitative analysis

서 론

EPA에서는 내분비계장애물질(Endocrine disruptors, EDs)을 “체내의 항상성 유지와 발생과정을 조절하는 생체 내 호르몬의 생산, 분비, 이동, 대사 결합작용 및 배설을 간섭하는 외인성 물질”로 정의하고 있고(U.S. EPA, 1997), 이러한 물질군으로 알려진 알킬페놀류 중 nonylphenols(NPs)은 살충제, 제초제, 페인트, 플라스틱제품, 섬유가공과 화장품, 제지생산과 세척에 사용되어온 비이온성 계면활성제 중 하나이다(Toll 등, 1994; Khim 등, 1999). NPs는 산업폐수나 도시하수 처리공정에서 일부가 분해되지 않고 잔류하여 강이나 연안으로

유입되는 것으로 보고되고 있으며(Ahel 등, 1994), 포유동물과 어류에서 ‘estrogenic effect’ 등(Lye 등, 1999) 생태계의 내분비계 이상현상을 나타내는 것으로 보고되었다(Kahl 등, 1997; Sumpter, 1998; 이와 윤, 2002). 이 때문에 NPs에 대한 잔류분석 연구가 전 세계적으로 진행되고 있으며, 현재 우리나라에서도 알킬페놀류 등 내분비장애 추정물질 27종에 대해 취급제한 조치를 통해 사용을 제한하고 있다(국립환경연구원 1999; 환경부 2005; 환경부 2007).

NPs에 대한 분석법은 환경시료를 중심으로 다양한 분석법이 개발되어 있으며, 일반적으로 유기용매 추출 후 방해물질들을 제거하기 위한 정제과정으로 분석이 진행되고 있다. 지금까지 NPs 분석에 사용되고 있는 정제용 흡착제는 silica gel (Zhang 등, 2007), Florisil(홍 등, 2000), C₁₈ SPE(Gonzalez 등, 2004), HLB(Lian 등, 2009; Gibson 등, 2010) 등이 적용되

*연락처 : Tel. +82-31-290-0523, Fax. +82-31-290-0506
E-mail: setup75@korea.kr

[†] 본 논문의 주저자로서 공동역할을 수행함.

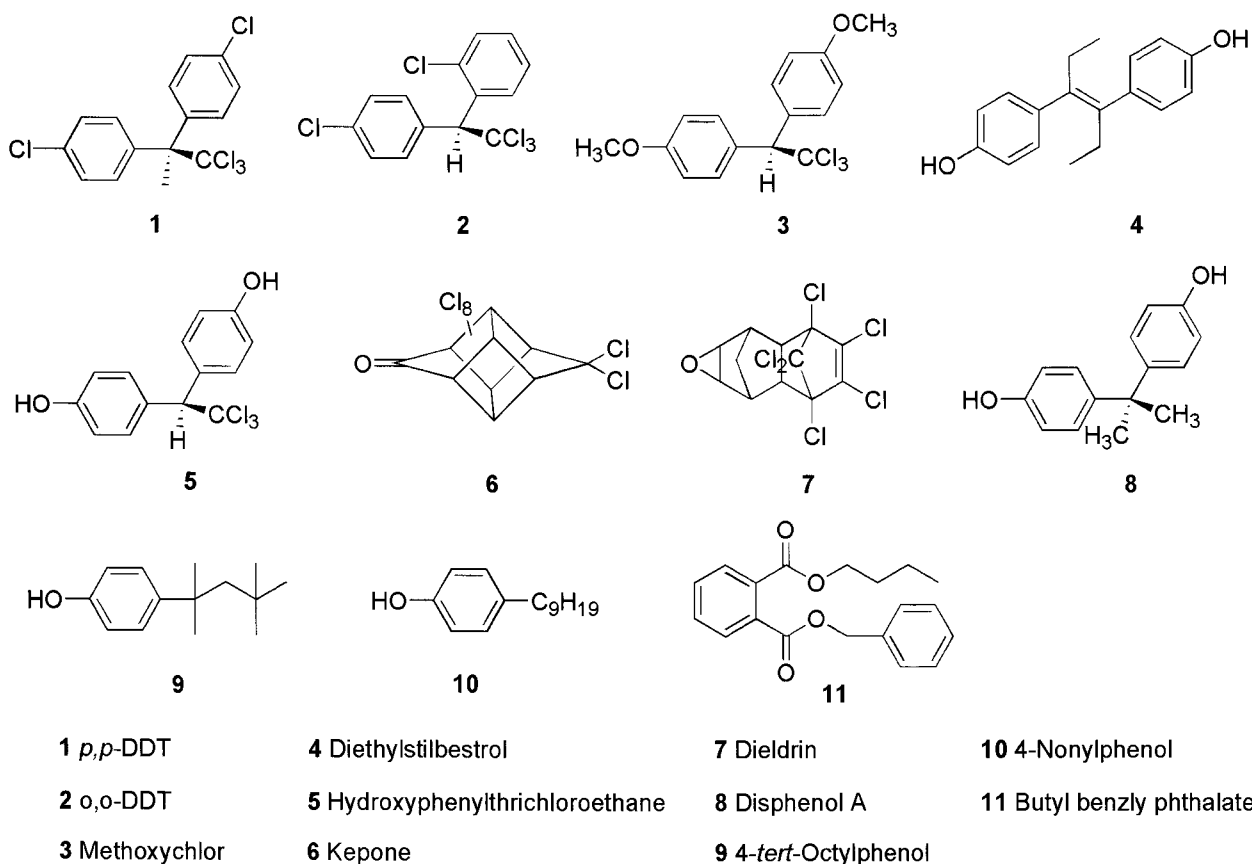


Fig. 1. The chemical structure of 11 endocrine disrupting chemicals (U.S. EPA 2001).

고 있으며, 분석기기는 GC/MSD(Heberer 등, 1997; Herterich, 1991) 및 HPLC/MSD(Clark 등, 1992; Clark 등, 1991) 등이 정성 및 정량분석을 위해 사용되고 있다. 하지만, ppb 이하 수준까지 정밀하게 검출해야만 하는 NPs에 대한 분석 및 분석환경에 관한 이해가 충분하지 못하여, 많은 연구자들이 분석환경에서 유출되는 정량 방해물질로 인해 정밀 정량분석에 많은 어려움을 겪고 있다. 따라서, 본 논문에서는 그동안 여러 논문에서 언급되지 않았던 NPs 분석과정의 오염을 최소화하기 위한 연구 수행결과를 소개하고자 한다.

재료 및 방법

용매 중 NPs 잔류량 분석

분석에 사용된 유기용매는 n-hexane(Merck SUPRA Solv. for GC grade, Germany), diethyl ether(Et₂O, Merck EMPARTA. for HPLC grade, Germany), ethyl acetate(EtOAc, J.T.Baker ULTRA Pesi-Analyzed, U.S.A)와 calcium hydride (CaH₂, Fluka Chemika Powder, Switzerland)를 이용하여 증류한 상기 용매 100 mL를 감압 농축하여 n-hexane 1 mL

로 재용해 후 Agilent사의 GC-MSD(GC 6890N, MSD 5973)로 분석하였다.

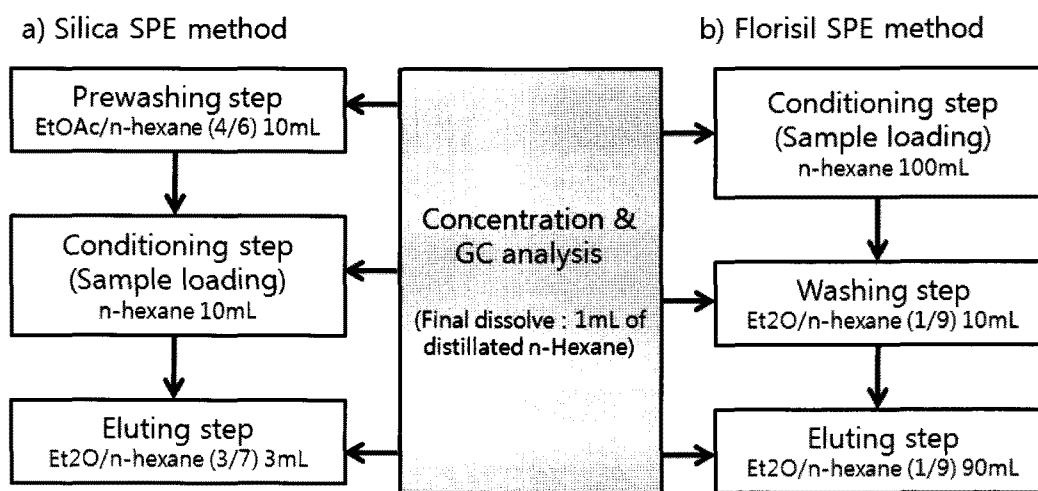
카트리지 중 NPs 잔류량분석

본 실험에 사용한 SPE 카트리지의 충전제는 토양 및 물 시료전처리에 사용되고 있는 Silica gel과 Florisil을 사용하였고, 충전량은 500~1000 mg이었다. Silica gel SPE 카트리지의 NPs 잔류오염량 분석은 Zhang 등(2007)에 의해 사용된 방법을 적용하였고, Florisil SPE 카트리지의 NPs의 잔류오염분석은 홍 등(2000)에 의해 적용된 방법을 사용하였다 (Figure 2).

- 1) Method I. Zhang에 의해 사용된 방법으로 10 mL EtOAc/n-hexane(4/6, v/v)로 silica gel 카트리지 세척 후 10 mL n-hexane으로 재충진하고, 3 mL Et₂O/n-hexane(3/7, v/v)로 용출시켰다(Zhang 등, 2007).
- 2) Method II. Method I의 방법에서 용매량을 증가시켜, 100 mL EtOAc/n-hexane(4/6, v/v)로 silica gel 카트리지를 세척한 후 100 mL n-hexane으로 재충진하고, 최종

Table 1. Analytical conditions of GC-MSD for nonylphenols analysis

Instrument	Agilent GC 6890N/MSD 5973
Column	HP-5 (30 m × 320 μm × 0.25 μm)
Injection volume	1.0 μL
Carrier gas	He (1.5 mL/min)
Oven temperature	50°C, 1 min hold → 10°C/min → 100°C → 3°C/min → 190°C → 10°C/min → 200°C, 3 min hold
MS detection mode	SIM, monitoring ion: 107, 121, 135, 149, 163, 177, 191, 220
Retention time	22~25 min

**Fig. 2.** Clean-up process with silica gel SPE cartridge (a); with Florisil prepacged SPE cartridge (b).

단계에서 100 mL Et₂O/n-hexane(3/7, v/v)로 용출시켰다.

- 3) Method III. Kim 등에 의해 사용된 방법을 다음과 같이 수정하여, 100 mL Et₂O/n-hexane(3/7, v/v)로 silica gel 카트리지를 세척 후 100 mL n-hexane으로 재충진하고, 최종단계에서 100 mL Et₂O/n-hexane(3/7, v/v)로 용출시켰다(Kim 등, 2005).
- 4) Method IV. 홍 등에 의해 사용된 방법으로 100 mL n-hexane으로 Florisil 카트리지를 세척 후 10 mL Et₂O/n-hexane(1/9, v/v)으로 재충진하고, 최종단계에서 90 mL Et₂O/n-hexane(1/9, v/v)로 용출시킨다(홍 등, 2000).

결과 및 고찰

분석용 용매 중 NPs 잔류량

NPs 분석에 사용된다고 보고된 용매인 n-hexane, Et₂O, EtOAc 및 이들의 혼합용매를 100배 농축 후 잔류량을 분석하였다. NPs 정제과정 중 사용되는 용매의 양은 최소 3 mL에서 최대 수십 mL 수준으로 그 사용범위가 넓어 이들을 모두 포함할 수 있는 용매량인 100 mL를 기준으로 농축 후 잔

류량을 분석하였다.

그 결과 n-hexane과 EtOAc에서는 NPs 잔류량이 검출되지 않았으나, 카트리지에서 NPs 용출시 가장 많이 사용하는 Et₂O에서 0.963 μg/mL가 검출되어 NPs 잔류 분석시 문제가 될 것으로 판단되었다. 이에 본 연구에서는 NPs 제거를 위하여 CaH₂를 사용하여 용매를 증류하였으며, 증류 전 후의 NPs 잔류량을 조사하였고, 그 결과 Et₂O의 잔류 NPs를 분석한계 이하로 제거할 수 있었다(Table 2).

Table 2. Residual nonylphenols in 100 mL HPLC grade solvent (μg/mL)

Solvent	Untreated solvent	Distilled solvent
n-Hexane	N.D. ^a	N.D.
Diethyl ether	0.963 ± 0.013	N.D.
Ethyl acetate	N.D.	N.D.
Ethyl acetate/n-hexane (4/6, v/v)	N.D.	N.D.
Ethyl acetate/n-hexane (1/9, v/v)	N.D.	N.D.
Diethyl ether/n-hexane (3/7, v/v)	0.221 ± 0.008	N.D.

a) N.D. means no detection at LOD (0.032 μg/mL).

정제용 카트리지 내 잔류 NPs 분석

다음으로 본 연구에서는 NPs 분석시 가장 중요하게 다루어지는 정제용 카트리지 내 NPs 잔류량을 확인하고, 이를 효과적으로 제거하기 위한 방법을 조사하였다.

우선 정제용 카트리지에 잔류하는 NPs량 조사결과, silica gel의 경우 glass ware 제품은 0.046~0.184 µg/g, plastic ware 제품은 0.119~13.0 µg/g이 잔류하는 것으로 확인되었다. 또한, Florisil의 경우 glass ware 제품은 0.055~0.075 µg/g, plastic ware 제품은 0.113~0.278 µg/g 잔류하는 것으로 확인하였다. 따라서, 이러한 제품을 사용하여 NPs를 분석할 경우에는 반드시 시료정제 전에 카트리지 내 잔류 NPs를 충분히 세척해 줄 필요가 있는 것으로 확인되었다. 전처리 단계별 정제용 카트리지 내 잔류 NPs에 대한 제거율을 silica gel 및 Florisil 제품에 대해 분석한 결과 glass ware silica gel 제품의 경우 Method I 및 II, III에서 모두 용출단계에서는 NPs가 제거되었음을 확인할 수 있었다. 그러나 plastic ware 제품의 경우 Method I에서만 카트리지에 의한 NPs 오염이 검출되지 않았으며, Method II 및 III에서 각각 모든 단

계에서 NPs가 검출되었다. 이는 카트리지 충전제에 잔류하는 NPs 외에, 다량의 용매를 사용함으로써 용매에 닿은 외장재에서 용출되는 NPs 일 것으로 판단된다.

하지만, Florisil 제품군의 경우에는 카트리지 내 잔류 NPs가 정제단계를 거치더라도 크게 제거되지 않고, 잔류하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 이러한 결과는 외장재의 차이에 따른 NPs의 잔류량에는 다소 차이가 있었으나, 본 연구에서 사용된 정제법으로는 카트리지내 잔류 NPs를 모두 제거하는데 실패하였다. 따라서, Florisil 카트리지를 이용하여 NPs를 분석하기 위해서는 별도의 카트리지 세척과정이 설정되어야만 적용이 가능할 것으로 판단되었다.

본 연구결과를 정리하면, 분석에 사용하는 용매 중 Et₂O는 HPLC grade등급이라 할지라도 잔류 NPs가 확인되었으며, 이는 CaH₂를 이용한 증류제조를 통해 NPs 오염을 최소화 할 수 있었다. 정제과정에 사용되는 SPE는 silica gel 카트리지 glass ware 제품에 한하여, 기존 정제과정을 적용할 수 있었으나, silica gel 카트리지 중 plastic ware 제품과 Florisil 제품군을 사용한 정제법을 이용하기 위해서는 특별한 주의가 요구된다.

Table 3. Residual nonylphenols in prepacked cartridge (µg/g)^a

SPE Cartridge	Silica gel		Florisil	
	Glass	Plastic	Glass	Plastic
Brand I	0.046 ± 0.001	0.119 ± 0.001	0.075 ± 0.026	0.113 ± 0.327
Brand II	N.T. ^b	0.163 ± 0.013	N.T.	0.219 ± 0.072
Brand II	N.T.	13.0 ± 0.353	N.T.	N.T.
Brand IV	0.184 ± 0.005	0.161 ± 0.005	0.055 ± 0.006	0.278 ± 0.008

a) The cartridge were washed with 100 mL Et₂O/n-hexane (3/7, v/v), and described residual nonylphenols per packing material gram weight; b) N.T. means no test.

Table 4. Nonylphenols removal efficiency during clean-up process in silica gel cartridge (µg/g)

Step	Glass ware			Plastic ware		
	Method I	Method II	Method III	Method I	Method II	Method III
Prewashing	0.155 ± 0.004	0.184 ± 0.008	0.184 ± 0.005	0.118 ± 0.008	0.169 ± 0.013	0.161 ± 0.005
Conditioning	N.D. ^a	N.D.	N.D.	N.D.	0.079 ± 0.005	0.073 ± 0.004
Elution	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.078 ± 0.003	0.08 ± 0.003

a) N.D. means no detection at LOD.

Table 5. Nonylphenols removal efficiency during clean-up process in Florisil cartridge (µg/g)

	Glass ware		Plastic ware	
	Method IV	Method III	Method IV	Method III
Conditioning	0.044 ± 0.005	0.055 ± 0.006	0.167 ± 0.020	0.278 ± 0.008
Washing	0.042 ± 0.004	0.040 ± 0.001	0.092 ± 0.005	0.093 ± 0.003
Elution	0.044 ± 0.010	0.048 ± 0.013	0.092 ± 0.004	0.092 ± 0.003

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 시험연구사업비의 지원으로 수행되었습니다.

> 인 / 용 / 문 / 헌

- 국립환경연구원 (1999), 내분비계장애물질의 이해와 대응.
 이창주, 윤용달 (2002), 내분비계장애물질이 생식과 발생에 미치는 영향, 한국발생생물학회지, 4(2):3~11.
 홍종기, 김협, 백인걸, 김도균, 서정주, 서종복, 정봉철, 포희수, 김경례, 김용화 (2000), 기체 크로마토그래피/질량분석기를 이용한 생물시료 중 알킬 페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A의 분석법, Analytical Science and Technology, 13(4):484~493.
 환경부 (2005), 제6차년도 내분비계장애물질 조사연구사업 결과 보고.
 환경부 (2007), 환경백서, p. 627.
 Ahel M., Giger W., and Koch M. (1994) Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-1. Occurrence and transformation in sewage treatment, Water Research, 28:1131~1142.
 Clark L. B., Rosen R. T., Hartman T. G., Louis J. B., Suffet I. H., Lippincott R. L., and Rosen J. D. (1992), Determination of alkylphenol ethoxylates and their acetic acid derivatives in drinking water by particle beam liquid chromatography mass spectrometry, Intern. J. Environ. Anal. Chem., 47:167~180.
 Clark L.B., Rosen R.T, Hartman T.G., Louis J.B. and Rosen J.D. (1991), Determination of nonregulated pollutants in three New Jersey publicly owned treatment works., Res. J. WPCF, 63:104~113.
 Gibson R., Duran-Alvarez J. C., Estrada K. L., Chaves A., Cisneros B. J. (2010), Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico., Chemosphere, 81(11):1437~1445.
 Gonzalez S., Petrovic M., and Barcelo D. (2004), Simultaneous extraction and fate of linear alkylbenzene sulfonates, coconut diethanol amides, nonylphenol ethoxylates and their degradation products in wastewater treatment plants, receiving coastal waters and sediments in the Catalanian area (NE Spain), J. Chromatogr. A., 1052:111~120.
 Heberer T., and Stan H. J. (1997), Detection of more than 50 substituted phenols as their t-butylidimethylsilyl derivatives using gas chromatography mass spectrometry., Anal. Chim. Acta., 341:21~34.
 Herterich R. (1991), Gas chromatographic determination of nitrophenols in atmospheric liquid water and airborne particles., J. Chromatogr., 549:313~324.
 Kahl M.D., Makynen E.A., Kosian P.A. and Ankley G.T. (1997), Toxicity of 4-nonylphenol in a life-cycle test with the midge Chironomus tentans., Ecotoxicol Environ Safe, 38:155~160.
 Khim. J.S., Villeneuve D.L., Kannan K., Lee K.T., Snyder S.A., Koh C.H. and Giesy J.P., (1999), Characterization and distribution of trace organic contaminants in sediment from Masan Bay, Korea. 1. Instrumental Analysis., Environmental Science and Technology, 33:4199~4205.
 Kim Y. S., Katase T., Horii Y., Yamashita N., Makino M., Uchiyama T., Fujimoto Y., and Inoue T. (2005), Estrogen equivalent concentration of individual isomer-specific 4-nonylphenol in Ariake sea water, Japan., Marine Pollution Bulletin, 51:850~856.
 Lian J., Liu J. X. and Wei Y. S. (2009), Fate of nonylphenol polyethoxylates and their metabolites in four Beijing wastewater treatment plants., Science of the Total Environmental, 407:4261~4268.
 Lye C. M., Frid C. L. J., Gill M. E., Cooper D. W. and Jones D. M. (1999), Estrogenic alkylphenols in fish tissues, sediment and waters from the U.K. Tyne and Tees estuaries., Environmental Science and Technology, 33:1009~1014.
 Sumpter J. P. (1998), Xenoendocrine disruptors-environmental impacts., Toxicol. Lett., 103:337~342.
 Tolls J, Kloeppersams P, Sijm D., (1994), Surfactant bioconcentration-A critical review., Chemosphere, 29:693~719.
 U.S. EPA. (1997), Special report on Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis. Office of Research and Development, EPA/630/R-96/012, Washington D.C.
 U.S. EPA. (2001), Removal of endocrine disruptor chemicals using drinking water treatment processes., Office of Research and Development, EPA/625/R-00/015, Washington D.C.
 Zhang H., Zuehlke S., Guenther G., and Spiteller M. (2007), Enantioselective separation and determination of single nonylphenol isomers., Chemosphere, 66:594~602.

정밀분석용 용매 및 SPE의 Nonylphenols 오염평가 및 제거

박종민[†] · 최근형[†] · 김정임 · 홍수명 · 권오경 · 임건재 · 김진호*

농촌진흥청 국립농업과학원 유해화학과

요 약 계면활성제인 4-alkylphenol polyethoxylate는 한국 등 여러 국가에서 매우 광범위하게 사용되어 왔으나 이들 화합물 및 분해산물이 최근 내분비계에 장애를 일으키는 환경호르몬 물질로 분류됨에 따라 농약 등의 첨가물로 사용가능한 nonylphenols(NPs)에 대한 잔류 연구가 매우 활발하게 진행되고 있다. 본 연구에서는 극미량 정밀 잔류분석기술이 필요한 nonylphenols에 대하여 분석용매 및 정제용 카트리지 선정에 필요한 전처리기술에 대해 보고하고자 한다. 분석 결과에 따르면, HPLC등급의 용매이라 할지라도, Et₂O의 경우 100배 농축 용매에서 NPs가 검출되어 시료 분석 시 방해요인으로 작용하였으며, 이의 제거를 위해 CaH₂를 사용한 증류 후 사용법을 개발하였다. 또한, 시료정제용 카트리지는 silica gel 및 Florisil 제품군, 그리고 glass ware과 plastic ware로 나누어 카트리지 내 nonylphenols 잔류량을 분석한 결과 silica gel 제품군 중 glass ware 제품이 전처리 정제용으로 적합한 것으로 확인되었다.

색인어 노닐페놀, 환경호르몬, 정량분석, 카트리지, 용매
