

생체시료 중 Octylphenol, Nonylphenol, Bis (2-ethylhexyl) phthalate의 동시정량

김 종 훈

전주대학교 응용과학부 환경공학전공
(2000. 4. 18 접수)

Simultaneous Determination of Octylphenol, Nonylphenol, Bis (2-ethylhexyl) phthalate in Biological Samples

Jong-Hun Kim

Department of Environ. Eng. & Sci. Jeonju University, Cheonju 560-759, Korea

(Received April 18 2000)

요약: 쇠고기 돼지고기 속에 포함된 nonylphenol, octylphenol, bis (2-ethylhexyl) phthalate의 동시 정량방법을 연구하였다. 이 방법에서는 밀폐된 배양시험관에서 이염화메탄을 이용하여 추출하고 용매를 이소헥산으로 바꾸고 aminopropyl 칼럼(2g)을 이용하여 분리한 후 GC/MS-SIM 방법으로 분석하였다. 다중점보정을 위한 nonylphenol (NP), octylphenol (OP), bis (2-ethylhexyl) phthalate (BEHP)의 회수율에서 NP, OP는 0.125-12.5 µg/g, BEHP는 0.0125-12.5 µg/g 범위에서 좋은 회수율을 보였다. 확립된 방법을 전주시와 전주시 근교 마트와 정육점에서 구입한 16점의 쇠고기 돼지고기 시료에 적용하였다. Nonylphenol은 4점의 시료에서 검출되었으며 bis (2-ethylhexyl) phthalate는 전 시료에서 검출되었고, 그 농도범위는 0.06-0.24 µg/g 과 0.36-2.35 µg/g이었다. Octylphenol은 어떠한 시료에서도 검출되지 않았다. 이 방법은 매우 적은량의 생체 시료에도 쉽게 적용이 가능하였다.

Abstract : A comprehensive analytical method of endocrine disruptors[i.e., nonylphenol (NP), octylphenol (OP), bis (2-ethylhexyl) phthalate (BEHP)] in meat or pork samples was developed. The method employed closed culture tube extraction with dichloromethane and solvent exchange to iso-hexane and SPE (2g) aminopropyl column, followed by determination on gas chromatography linked to mass spectrometry (GC/MS) operated in the single ion monitoring (SIM) mode. For the multipoint recovery of nonylphenol, octylphenol and bis (2-ethylhexyl) phthalate OP, NP were shown good recoveries in 0.125-1.25 µg/g range of concentration, and BEHP more good recoveries in 0.0125-12.5 µg/g wide range of concentration. The present method was applied to beef or pork samples of mart and butcher in Cheonju city and near Cheonju. The range of concentrations was respectively, 0.06-0.24 µg/g in nonylphenol (NP) and 0.36-2.35 µg/g in bis (2-ethylhexyl)phthalate (BEHP), but octylphenol (OP) was not detected in any samples. This method provides a powerful analytical tool to investigate a wide range of endocrine disruptors in biological samples of limited quantity.

Key words: simultaneous determination, nonylphenol, octylphenol, bis (2-ethylhexyl)phthalate, beef, pork

* Corresponding author

Phone : +82-(0)63-220-2522 Fax : +82-(0)63-220-2605

E-mail : mckim123@jeonju.ac.kr

1. 서 론

인공적으로 합성된 산업용 화학물질이나 농약들이 인간과 야생계 동물의 내분비계 작용기전에 비정상적인 영향(i. 호르몬 분비의 불균형, ii. 생식능력 저하 및 생식기관 기형, iii. 생장저해, iv. 암 유발, v. 면역기능 저해 등)을 미치고 있다는 과학적인 연구 결과가 발표됨에 따라 그 위해성에 대한 우려가 높아지고 있다. 환경호르몬 중에서 Dioxine, DDT, DDE, Benzo [a] pyrene, 농약류, 중금속등에 관한 연구는 국내외의 연구기관과 대학에서 많은 과학자들에 의해 연구되어졌다.¹⁻⁴ 그러나 본 연구대상물질인 nonylphenol (NP), octylphenol (OP), bis (2-ethylhexyl) phthalate (BEHP) 류 등은 이들 물질이 내분비계 장애를 일으키는 환경호르몬 물질로 분류됨에 따라 선진 각국에서 이들 물질에 대한 연구가 환경,^{1,5-9} 의학,¹ 식품학,¹⁰⁻¹² 보건 위생학,¹³⁻¹⁷ 빌생학^{1,16,18} 분야 등에서 매우 활발한 상태이며 또한 강력히 규제하고 있는 품목이다. 특히 이들 물질들은 우리의 식생활 문화에 직접적으로 영향을 줄 수 있는 공업, 농업, 생산품의 원료로 40년 이상 사용되고 있기 때문에 하천, 강, 연안해역을 오염시켜 이들 물질이 먹이사슬을 통하여 우리에게 노출되고 있으며 그 노출 정도는 매우 심각한 수준이다.^{9,19}

Alkylphenol류 중 nonylphenol의 정량은 C8 또는 C18 흡착칼럼을 이용하여 흡착시킨후 용탈과 분리 정제과정을 거쳐 HPLC^{14,20}와 GC/MS^{7,8,14,21}로의 정량이 대부분을 이루고 있다. 어류 중의 nonylphenol과 octylphenol의 동시정량에 관한 연구는 최근 일본의 Tsuda²² 등에 의해 actonitrile을 가해 분해 추출하고 hexane으로 용매를 바꾼 후 Florisil 칼럼을 통해 시료 속의 lipid를 분리 정제한 후 GC/MS 방법으로 정량하였다. Khim¹⁹ 등은 시화호 저토층의 nonylphenol과 octylphenol의 동시정량에 관한 연구를 Soxhlet 추출 후 Florisil 칼럼을 이용한 정제과정을 거쳐 형광검출기를 이용한 HPLC로 동시 정량하였다. Bis (2-ethylhexyl) phthalate의 정량은 주로 식품포장지에 의한 오염정도를 파악하기 위해 버터, 마아가린, 밀크, 아이스크림등 가소제가 함유된 포장지를 사용하는 식품에 대하여 phthalate류를 GC/MS 방법으로 연속적으로 분석하는 방법이 주류를 이루고 있다.¹⁰⁻¹²

따라서 본 연구의 목적은 우리가 매일 주식으로 사

용하며 시중에 광범위하게 유통되고 있는 쇠고기, 돼지고기(생체시료)에 포함되어 있는 상기 3가지 내분비계장애물질(환경호르몬 물질)의 잔류량을 동시 정량하고, 보다 좋은 분석방법의 개발을 통하여 또 다른 생체 시료인 어패류, 양서류의 근육, 산모의 모유, 혈액 등의 초 미세 정량까지 발전시키고자 한다.

2. 실험

2.1. 기체크로마토그래피/질량분석기

기체크로마토그래피-질량분석기로는 Fisons-8000 기체크로마토그래피와 Trio-1000 사중극자 분석관(quadrupole) 질량분석기(Fisons. Inst., Manchester, UK)로 구성되어진 것을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 칼럼은 CP Sil 8 CB cross linked 5% phenyl methylsilicone fused-silica capillary column (25 m × 0.25 mm I.D., 0.12 μm film thickness)을 사용하였다. 오븐온도는 처음에 150°C에서 1분 동안 머물게 한 후 1분당 7°C씩 올려 190°C까지 올린 후 1분 동안 머물게 한 후 다시 1분당 1°C씩 올려 200°C까지 올린 후 다시 1분당 10°C씩 올려 305°C까지 올리고 2분 동안 머물게 하였다.

시료 주입은 1 μL였고 주입 방법은 분할주입법(split)을 사용하였으며 분할비는 14:1이었다. 운반 기체는 헬륨(99.999%)을 사용했고, 유속은 1.0 mL/min로 흘려 주었다. 시료 주입구의 온도, 검출기의 온도는 각각 200°C, 300°C로 맞추었다. 이온화에너지는 70 eV 가하여 생성된 이온들은 특정질량을 가지는 이온만을 선택하여 검출하는 단일이온 검색방법(single ion monitoring, SIM)을 사용하여 분석하였다. SIM 방법에서 사용된 이온들은 각 화합물의 특정 질량 중 서로 겹치지 않는 것을 선택하였다. Table 1, 2는 SIM 방법에 의해 선택된 이온과 정량에 필요한 여러정보들을

Table 1. Three selected ion groups used in SIM mode

Group	Retention time range	Selected ions
Group 1	3.0 min-11.0 min	nonylphenol (m/z 135) octylphenol (m/z 206)
Group 2	17.0 min-23.0 min	bis (2-ethylbutyl) phthalate ester (m/z 149)
Group 3	23.0 min-28.0 min	Bis (2-ethylhexyl) phthalate (m/z 150)

Table 2. Molecular weight, characteristic ions, retention time, response factors, recoveries of EDC from 10 µg/g standard solution

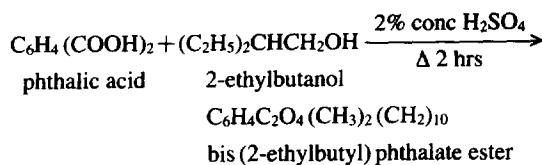
Compounds	Molecular weight	Characteristic ions	Retention time (min.)	Response factor*
Octylphenol	206	107, 108, 206, 207	7.11	0.9975
Nonylphenol	220	107, 121, 135, 149, 150, 177	(6.23-7.00)	2.8141
Bis(2-ethylbutyl) phthalate ester	334	43, 85, 149, 150, 167	19.10	
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	390	71, 113, 149, 159, 167	24.25	0.6240

* Values relatives to internal standard bis(2-ethylbutyl) phthalate ester.

실었다.

2.2. 시약 및 기구

모든 용매(dichloromethane, iso-hexane, methanol, diethyl ether)는 잔류농약분석용(Fisher)을 사용하였다. Nonylphenol, octylphenol, bis(2-ethylhexyl) phthalate의 표준용액은 Aldrich 특급 시약을 사용하였으며, 특히 bis(2-ethylbutyl)phthalate ester는 뜸은 황산용액에서 다음과 같이 반응시켜 합성하여 사용하였다.



Silica gel (70-230 mesh)은 이염화메탄(DCM)으로 세척하여 사용하였다.

2.3. 시료

시료(Table 3)는 전주시와 전라북도 지역의 마아트와 정육점에서 2000년 1월 20일-24까지 수집하여 분쇄기로 분쇄하고 냉동고에서 얼린 후 동결건조기(FD3, HETO, Denmark)로 1일간 동결 건조한 후 다시 건조기에서 50°C로 2일간 건조시켜 수분이 없도록 완전히 건조한 후 일정 무게를 유지하도록 실온에서 보관하여 사용하였다. 이때 시료의 수분 함유율은 약 70%였다.

2.4. 추출 및 정제

실온으로 유지시킨 건조실에서 건조시킨 시료를 정확히 0.5-1.0 g을 취하여 70 mL 배양관에 넣고 내부표준물질(internal standards, ISTD) bis(2-ethylbutyl) ph-

Table 3. Informations of meat and pork samples

Sample No.	Sampling site	Sampling date
1. beef	B1	2000. 1. 20.
2. beef	M1	2000. 1. 24.
3. pork	M2	2000. 1. 24.
4. beef	M3	2000. 1. 24.
5. beef	B2	2000. 1. 20.
6. pork	M4	2000. 1. 24.
7. pork	B3	2000. 1. 20.
8. beef	M5	2000. 1. 24.
9. pork	B4	2000. 1. 20.
10. beef	B5	2000. 1. 20.
11. beef	B6	2000. 1. 20.
12. beef	B7	2000. 1. 20.
13. beef	M6	2000. 1. 24.
14. beef	M7	2000. 1. 24.
15. pork	B8	2000. 1. 20.
16. pork	B9	2000. 1. 20.

thalate ester 1.25 µg/mL를 가한다. 20 mL의 이염화메탄을 가한 후 2겹의 알류미늄 은박지를 이용하여 배양관의 마개를 잠근다. Digestion block에서 50-60°C로 유지시켜 2시간 동안 추출한다. 내용물을 여과하여 여과액을 50 mL 병에 모으고 고용물을 버린다. 여과액을 35°C로 유지시킨 digestion block에서 질소가스로 완전히 건조시킨다. 4 mL iso-hexane을 병에 가하고 마개를 잠근 후 35°C로 유지시킨 digestion block에서 모든 물질이 녹을 때 까지 가열한다. 실온에서 냉각시킨 후 iso-hexane 8 mL로 활성화 시킨 2 g aminopropyl SPE (IST, UK) 칼럼에 흡착시킨다. 4 × 4 mL iso-hexane 용액으로 용리시키고 용리액은 버린다. SPE 칼럼에 흡착되어 있는 분석물질을 5 × 4 mL diethyl ether

로 용리시킨다. Diethyl ether 용리액을 질소 기체하에 서 약 1mL로 부피를 감소시킨다. 이것을 GC/MS vial 에 옮겨 질소 기체하에서 완전히 건조시킨다. 여기에 150 μL diethyl ether 가하여 GC/MS-SIM 방법으로 분석한다. 검출 한계는 스캔방식의 경우 OP 0.3, NP 0.1, BEHP 0.1 μg/mL였고, SIM 방식의 경우는 OP 1.0, NP 0.5, BEHP 0.5 ng/mL였다. 또한 시료의 기질을 고려한 검출한계는 OP 10, NP 10, BEHP 1 ng/g였다.

2.5. 정량

Octylphenol, nonylphenol, bis(2-ethylhexyl) phthalate의 정량은 추출과 정제후 GC/MS-SIM 방식으로 얻어진 bis(2-ethylbutyl) phthalate ester 내부표준물질과의 봉우리 넓이 비를 측정하여 계산하였고, 각각의 response factor는 5 ppm의 octylphenol, nonylphenol, bis(2-ethylhexyl) phthalate의 표준용액과 초기에 첨가시킨 bis(2-ethylbutyl) phthalate ester 5 ppm 내부표준 물질과의 봉우리 넓이를 비교하여 계산하였다(*Table 3*). 일반적으로 내부표준물질로는 동위원소로 치환된 fluoranthene-d₁₀, phenanthrene-d₁₀, pyrene-d₁₂ 등이 사용되며 보다 더 정확한 정량을 위해서는 동위원소로 치환된 정량화합물질이 사용되나 이를 동위원소 치환화합물은 매우 고가이며 구입하기가 매우 어렵다. 본 연구에서는 같은 phthalate ester-류로 bis(2-ethylhexyl) phthalate와 물리 화학적 성질이 매우 비슷한 bis(2-ethylbutyl) phthalate ester를 내부표준물질로 사용하였다. Nonylphenol의 경우 m/z 135에서 5개의 연속된 봉우리가 얻어졌는데 5개 봉우리 면적을 전부 합하여 내부표준물질의 면적과 비교하여 식 (1)에 의해 계산하였다. 회수율 실험은 기지의 실험용 소-폐지고기 1.0

g에 10 μg EDC 혼합물질과 0.0125, 0.125, 1.25, 12.5 μg 내부표준물을 spiking한 후 3회 이상 반복하여 추출 정량한 후 그 평균값을 식 (2)에 의해 계산하여 *Table 4*에 나타냈다.

$$\text{Conc.} =$$

$$\frac{\frac{\text{Area of NP}}{\text{Area of ISTD}} \times \frac{\text{Wt. of ISTD}(\mu\text{g})}{\text{Response factor}} - \text{Blank}(\mu\text{g})}{\text{Dry weight of sample(g)}} \quad (1)$$

$$\% \text{ 회수율} =$$

$$\frac{\text{크로마토그램으로부터 계산된 농도}(\mu\text{g/g})}{\text{spiking한 시료의 농도}(\mu\text{g/g}) + \text{spiking 하지 않은 시료의 농도}(\mu\text{g/g})} \times 100 \quad (2)$$

3. 결과 및 고찰

본 논문에서 취급하는 EDC 물질에 대한 질량스펙트럼 연구는 최근 많은 연구자들에 의해 널리 보급되고 있다.^{8, 23, 24} 환경 시료에서는 EDC 물질이 수 ppb (parts per billion) 또는 ppt (parts per trillion)로 존재하므로 이들을 검출하기 위하여 추출 분리 농축 과정을 거쳐야 한다. 특히 본 연구에서 연구하고자 하는 생체시료는 수분, 지방산, triglyceride, cholesterol, cholesterylester 등의 lipid를 포함하고 있기 때문에 특정 EDC 물질만을 검출하기 위해서는 완벽한 추출 분리 농축 과정을 거쳐 방해물질을 제거한 후 그들의 간섭을 최소화 시켜야 한다. Tsuda²² 등은 극성이 강한 Florisil 칼럼과 hexane을 이용하여 방해물질을 분리 제거하였으며, 본 연구에서도 극성이 강한 aminopropyl 칼럼을 이용하여 흡착시킨 후 방해물질인 지방산, triglyceride, cholesterol, cholesterylester 등은 iso-hexane으로 제거하였다. 불순물을 분리제거한 후 정확한 정량을 위하여는 각 EDC 물질 중 서로 겹치지 않는 질량을 갖는 조각이온을 선택하여 연속적으로 검색하는 단일이온 검색법(single ion monitoring, SIM)을 사용하였고 다중점 보정을 위한 회수율은 *Table 4*에 나타냈다. SIM법의 장점은 이온선택성으로 방해물질의 봉우리들을 크게 감소시키는 반면 정량하고자 하는 OP, NP, ISTD, BEHP의 봉우리의 감도는 크게 증가시킨다. 본 연구에서도 SIM 방식은 부분스캔방식에 비해 100배 이상 높은 감도를 나타냈고, 매질의 영향을 고려한 실제시료에서는 20배 정도 높은 감도를 나타냈

*Table 4. Multipoint recoveries of EDC from 10 μg/g standard solution by various concentration of internal standards
(Unit : %Recovery)*

ISTD	Concen-	0.0125 μg/g	0.125 μg/g	1.25 μg/g	12.5 μg/g	average
OP	Concen-	14 ± 6	130 ± 15	141 ± 18	135 ± 15	135 ± 16 ^{a)}
NP	Concen-	26 ± 10	92 ± 5	110 ± 8	130 ± 12	110 ± 8 ^{b)}
BEHP	Concen-	90 ± 7	85 ± 6	81 ± 6	89 ± 7	86 ± 7

* Recoveries calculated from the spiked 10 μg/g each EDC to 1.0 g dried beef or pork by GC/MS.

* Values as means of 3 determinations ± standard deviation.

^{a)} Values are not including 0.0125 μg/g of ISTD concentration.

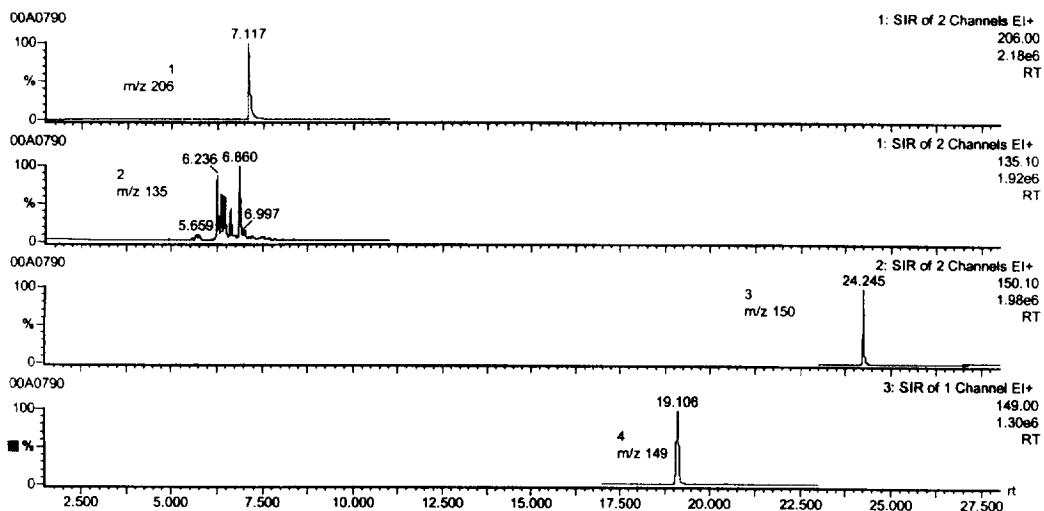


Fig. 1. Typical GC/MS-SIM chromatogram of each 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ EDC mixture; 1 : octylphenol, 2 : nonylphenol, 3 : bis (2-ethylhexyl) phthalate, 4 : bis (2-ethylbutyl) ester

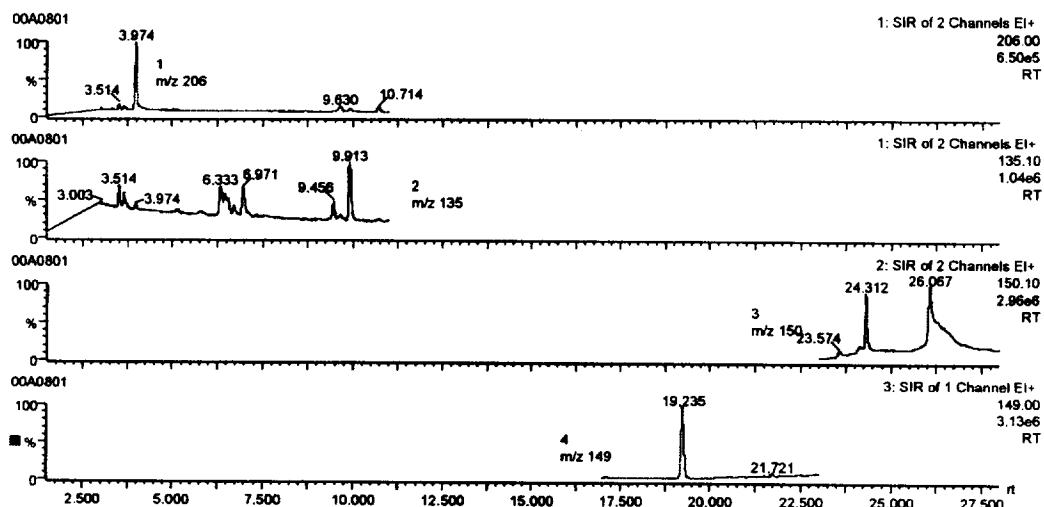


Fig. 2. Typical GC/MS-SIM chromatogram for EDC in beef and pork samples; 1 : octylphenol, 2 : nonylphenol, 3 : bis (2-ethylhexyl) phthalate, 4 : bis (2-ethylbutyl) phthalate ester.

다(2.4 추출 및 정제 참조). 5 ppm의 octylphenol, bis (2-ethylbutyl)phthalate ester, bis (2-ethylhexyl) phthalate 와 nonylphenol 표준용액을 SIM 방법으로 각각의 선택된 질량값(m/z) 206, 135, 150, 149에서 얻은 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. Fig. 1에서 머무름 시간 7.11, 6.23-7.00, 24.24, 19.10(분)에서 4개의 봉우리가 얻어

졌는데 봉우리 1, 2, 3, 4는 각각 octylphenol, nonylphenol, bis (2-ethylhexyl) phthalate와 bis (2-ethylbutyl) phthalate ester의 봉우리로 각각의 표준용액을 개별적으로 주사하여 개별 질량수를 갖는 GC/MS-SIM 크로마토그램을 통해 확인하였다. 시료를 추출 정제 후 GC/MS-SIM 방법을 이용하여 실제 시중에 유통중인

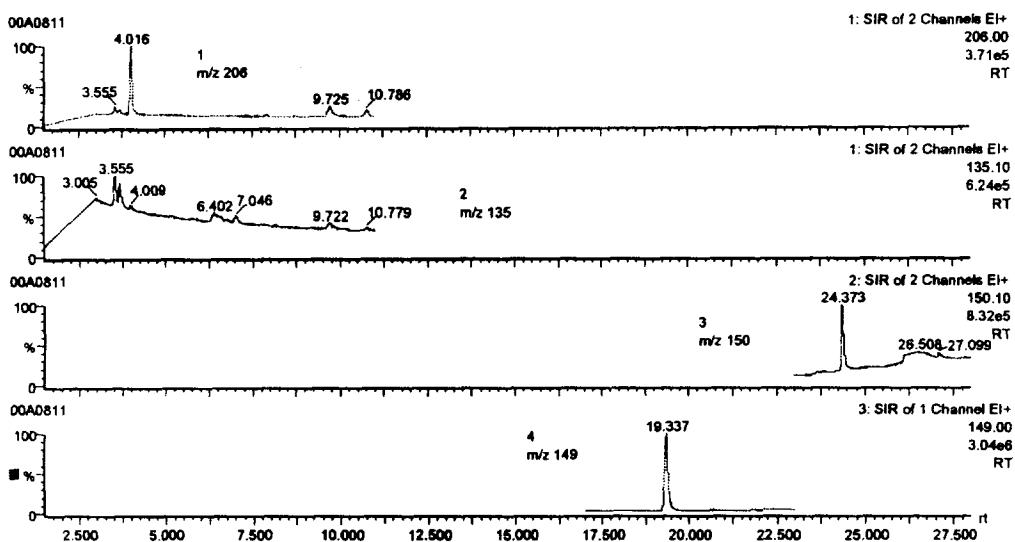


Fig. 3. GC/MS-SIM chromatogram from blank test of beef and pork samples; 1 : octylphenol, 2 : nonylphenol, 3 : bis (2-ethylhexyl) phthalate, 4 : bis (2-ethylbutyl) phthalate ester.

쇠고기 돼지고기 시료에서 얻은 크로마토그램은 Fig. 2이다. Fig. 2에서 선택된 m/z 값 206, 135, 150, 149에서 4개의 봉우리가 얻어졌는데 이들의 머무름 시간은 각각 3.97, 6.33-6.97, 24.31, 19.23(분)였다. 이것을 Fig. 1과 비교하면 선택된 m/z 값 206에서 봉우리 1의 경우는 머무름 시간이 매우 달랐고 나머지 m/z 값에서는 평균 머무름 지수값 ± 0.1 (분) 범위내의 값이었다. 따라서 Fig. 2의 봉우리 2, 3의 물질은 각각 내분비계장애물질인 nonylphenol과 bis (2-ethylhexyl) phthalate이었고 4는 내부표준물질인 bis (2-ethylbutyl) phthalate ester임을 확인할 수 있었고 octylphenol의 경우는 검출되지 않았다. 특히 Fig. 2의 m/z 135에서 nonylphenol의 경우는 연속된 5개의 봉우리가 얻어졌는데 이것은 Fig. 1의 nonylphenol 크로마토그램과 완벽하게 일치함을 알 수 있었다. 따라서 nonylphenol과 같은 내분비계장애물질이 일부 쇠고기 돼지고기에서 검출되었다는 것은 앞으로 지속적인 연구와 관찰이 필요한 시점이라 생각된다. Fig. 3은 시료의 전처리과정과 똑같이 병행한 바탕실험에 대한 크로마토그램이다. Fig. 3에서 m/z 206, 머무름시간 7.11(분)에서 어떠한 봉우리도 나타나지 않아 OP는 검출되지 않는 것으로 고려하였다. Fig. 3의 m/z 135, 머무름시간 6.40(분)은 NP이고, Fig. 3의 m/z 150, 머무름시간

24.37(분)은 BEHP 크로마토그램이고, Fig. 3의 m/z 149, 머무름시간 19.33(분)은 내부표준물질이다. 특히 BEHP의 경우는 그 바탕 봉우리가 매우 크게 나타나 우리 주변 어디에나 광범위하게 존재함을 알 수 있었고 정확한 정량을 위하여는 시료가 플라스틱 가소제로 오염되지 않아야하며 매 실험마다 항상 바탕실험을 병행해야 함을 의미한다.

Table 2에서 octylphenol, nonylphenol, bis (2-ethylhexyl) phthalate의 머무름 시간은 각각 7.11, (6.23-7.00), 24.25이었다. Bis (2-ethylbutyl) phthalate ester를 내부표준물로 하여 각각의 내분비계 장애물질에 대한 감응지수는 각각 0.9975, 2.8141, 0.6240로 OP와 BEHP는 1보다 작은 값을 나타냈고 NP는 1보다 큰 값을 나타냈으나, 이것은 각각의 물질에 대한 독특한 기기적 감응 반응 특성으로 해석된다. 농도를 알고 있는 쇠고기 돼지고기 시료로부터 여러농도의 ISTD에 의한 상기 EDC 물질의 회수율을 Table 4에 나타냈다. OP의 경우 0.125-12.5 $\mu\text{g/g}$ 범위에서 130-135% 회수율을 나타낸 반면 0.0125 $\mu\text{g/g}$ 에서는 14%의 매우 낮은 회수율을 나타냈다. NP의 경우 역시 0.125-12.5 $\mu\text{g/g}$ 범위에서 92-130%의 회수율을 나타냈으나 0.0125 $\mu\text{g/g}$ 에서는 26%의 매우 낮은 회수율을 나타냈다. BEHP는 0.0125-12.5 $\mu\text{g/g}$ 의 전 범위에 걸쳐 90

-89%의 좋은 회수율을 나타냈다. 따라서 OP, NP는 0.125-12.5 µg/g의 농도범위에서 직선성이 존재하고 0.0125µg/g의 낮은 농도에서는 낮은회수율로 인하여 그 결과를 신뢰하기가 매우 어렵다고 생각된다.

그러나 BEHP의 경우는 실험한 전 농도범위에 걸쳐 그 회수율이 항상 일정한 값을 가지므로 전 영역에 걸쳐 매우 신뢰할 만한 결과를 얻을 수 있다고 사료된다. 12.5 µg/g 내부표준물질의 농도에서 OP, NP, BEHP의 회수율은 각각 135, 130, 89%였다. OP, NP의 각각 30% 이상의 부의 오차를 수반했고, BEHP의 경우는 11%의 음의 오차를 수반 했음을 알 수 있었다. 이것은 2.4항의 추출 및 정제 과정을 거치면 NP와 BEHP는 비교적 좋은 회수율로 정량할 수 있으나 OP의 경우는 35% 이상의 부의 오차를 수반하여 그 회수율이 매우 크게 나타났는데, 이러한 이유는 이소헥산에 의한 분순물 분리과정에서 lipid 물질과 함께 구성이 약한 BEHP와 내부표준물질인 bis (2-ethylbutyl) phthalate가 일부 용리되었기 때문에 OP, NP의 회수율은 높은 반면 BEHP의 회수율은 다소 낮게 얻어진 결과로 해석된다. 이 방법을 국내 쇠고기 돼지고기에 적용하여 얻은 결과가 Table 5이다.

Table 5. Concentration (µg/g) of EDC in beef or pork samples
(Unit : µg/g dry)

Sample No.	NP	OP	BEHP
1	nd	nd	2.35±0.05
2	nd	nd	0.54±0.06
3	nd	nd	0.97±0.02
4	nd	nd	2.19±0.10
5	nd	nd	0.63±0.03
6	nd	nd	0.57±0.07
7	nd	nd	0.36±0.04
8	nd	nd	0.77±0.03
9	0.24±0.02	nd	1.83±0.05
10	nd	nd	1.91±0.06
11	nd	nd	0.54±0.02
12	0.10±0.03	nd	0.94±0.13
13	0.06±0.01	nd	1.20±0.27
14	tr	nd	1.19±0.31
15	nd	nd	0.53±0.03
16	nd	nd	0.87±0.07

Values as mean of 3 determinations ± standard deviation

tr : trace

nd : not detected

Table 5는 우리나라 전주시와 전라북도 일부 지방의 대형마트와 재래식 정육점에서 구입한 총 16점의 쇠고기 돼지고기 시료에 대한 nonylphenol, octylphenol, bis (2-ethylhexyl) phthalate의 분석결과이다. Table 5에 의하면 OP의 경우는 어떠한 시료에서도 검출되지 않았다. NP의 경우 총 16점의 시료 중 1점의 시료에서 흔적량이 검출되었고 3점의 시료에서는 그 농도범위가 0.06-0.24 µg/g이었다. BEHP의 경우는 모든 시료에서 검출되었는데 최소 0.36 µg/g에서 최대 2.35 µg/g로 평균적으로 NP의 10배 이상 검출되었다. 상기와 같이 국내에 유통되고 있는 육류에서 내분비계 장애물질로 주목 받고있는 NP와 BEHP가 일부 잔류되어 있음을 알 수 있었다. 이것을 Page 등^{10,11}이 연구한 소고기 중의 BEHP함량 (0.7 µg/g)과 비교하면 일부시료는 평균값 이상으로 다소 높은 값이라 사료된다.

결론적으로 OP, NP, BEHP의 동시 정량이 내부표준물질로 bis (2-ethylbutyl) phthalate를 이용하여 가능하나 각각의 회수율에는 다소 차이가 나는 결과를 얻었다. 보다더 신뢰성 있는 결과를 얻기 위해서는 NP, OP와 BEHP를 각각 두 구룹으로 분리하여 각기 다른 내부표준물질과 각기 다른 분리 용매와 분리칼럼을 사용하는 것이 바람직하며, 세가지 물질의 동시정량을 위해서는 분리과정중 용매의 종류와 혼합비에 따른 회수율 등에 보다 깊은 연구가 필요하다고 사료된다. 현재 저자는 이에 대한 연구를 수행 중에 있다.

4. 결 론

1. 쇠고기 돼지고기에 포함된 octylphenol, nonylphenol, bis (2-ethylhexyl) phthalate를 시험판 농축장치에서 이염화메탄을 이용하여 효과적으로 추출한 후 2 g aminopropyl 칼럼에서 이소헥산으로 분리 정제한 후 GC/MS-SIM 방법으로 30분안에 정량하였으며 다중점 회수율 측정결과 OP, NP의 경우는 0.125-12.5 µg/g에서 직선성을 보였고, BEHP는 0.0125-12.5 µg/g의 넓은 농도범위에서 좋은 직선성을 보였다.

2. 이 방법을 국내에 유통되는 육류에 적용시킨 결과 내분비계장애물질로 주목되는 nonylphenol은 극히 적은 양의 시료에서 검출되었으며, bis (2-ethylhexyl) phthalate는 0.36-2.35 µg/g이 포함되어 있었으며 이 값은 외국의 사례에 비해 다소 높은 값으로 판단된다.

3. 국내 육류에서 octylphenol은 전혀 검출되지 않았다.
4. 국내 유통되는 육류에 대한 환경호르몬물질의 잔류량에 대한 보다 광범위한 조사 연구가 필요하며 그에 따른 표준 분석방법의 연구개발과 잔류량 허용치에 대한 연구가 외국의 사례와 함께 검토되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구의 시료를 제공해준 토속식품의 조규섭 부장께 감사하며 여러 가지 실험편의를 제공해준 영국 Macaulay Land Use Research Institute의 A.Smith 박사, 재정적지원을 해 준 전주대학교, 군산대학교 새만금연구센타에 감사드립니다.

참고문헌

- P. T. C. Harrison, P. Holmes and C. D. N. Humfrey, *The Science of the Total Environment*, **205**, 97-106(1997).
- 신선경, 정영희, 이재민, *분석과학*, **12**(6), 540-549(1999).
- 장성기, 최덕일, 박선구, 김경섭, *분석과학*, **12**(6), 550-557(1999).
- G. Schade and B. Heinzel, *The Science of the Total Environment*, **215**, 31-39(1999).
- H. B. Lee and T. E. Peart, *Water Qual. Res. J. Cannada*, **34**(4), 633-652(1999).
- R. A. Rudel, S. J. Melly, P. W. Geno, G. Sun and J. G. Brody, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 861-869(1998).
- N. Kannan, N. Yaamshita, G. Petrick and J. C. Duinker, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 1747-1753(1998).
- M. A. Blackburn and M. J. Waldock, *Water Res.*, **29**(7), 1623-1629(1995).
- 김종훈, *분석과학*, **12**(3), 248-255(1999).
- B. D. Page and G. M. Lacroix, *Food Additives & Contaminants*, **12**(1), 129-151(1995).
- M. Sharman, W. A. Read, L. Castle and J. Gilbert, *Food Additives & Contaminants*, **11**(3), 375-385(1994).
- K. Grob, C. Spinner, M. Brunner, and R. Etter, *Food Additives & Contaminants*, **16**(12), 579-590(1999).
- E. J. Routledge and J. P. Sumpter, *The J. Biological Chemistry*, **272**(6), 3280-3288(1997).
- M. R. Servos, *Water Qual. Res. J. Cannada*, **34**(1), 123-177(1999).
- M. Castillo and D. Barcel, *Trend in Anal. Chem.*, **16**(10), 574-583(1997).
- T. J. Wams, *The Science of the Total Environment*, **66**, 1-16(1987).
- S. Jobling, T. Reynolds, R. White, M. G. Parker and J. P. Sumpter, *Environ. Health. Perspectives*, **103**(6), 582-587(1995).
- A. Jarosova, V. Gajduskova, J. Raszyk and K. Seleva, *VET. MED.-CZECH*, **44**(3), 61-70(1999).
- J. S. Khim, D. L. Villeneuve, K. Kannan, K. T. Lee, S. A. Synder, C. W. Koh and J. P. Giesy, *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 2424-2432(1999).
- A. K. Kvistad, E. Lundanes and T. Greibrokk, *Chromatographia*, **48**, 707-713(1998).
- N. Nakada, T. Isobe, H. Nishiyama, K. Okuda, S. Tsutsumi, J. Yamada, H. Kumata and H. Takada, *BUNSEKI KAGAKU*, **48**(6), 535-547(1999).
- T. Tsuda, A. Takino, M. Kojima, H. Harada and K. Muraki, *J. Chromatogr. B*, **723**, 273-279(1999).
- A. Motoyama, A. Suzuki, O. Shirota and R. Namba, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 2204-2208(1999).
- M. Takino, S. Daishima and K. Yamaguchi, *BUNSEKI KAGAKU*, **48**(6), 563-570(1999).