

2가지 내부표준물질을 이용하여 어류시료 중 Octylphenol, Nonylphenol, Bis(2-ethylhexyl)phthalate의 동시정량

김 종 훈*

전주대학교 자연과학부 환경과학전공
(2001. 1. 31 접수)

Simultaneous Determination of Octylphenol, Nonylphenol and Bis(2-ethylhexyl)phthalate in Fish Samples Using Two Internal Standards

Jong-Hun Kim*

Department of Environ. Sci. and Tech. Jeonju University, Cheonju 560-759, Korea
(Received January 31, 2001)

요 약 : 어류근육속에 포함된 nonylphenol(NP), octylphenol(OP), bis(2-ethylhexyl)phthalate(BEHP)의 동시 정량방법을 1-phenyldecanol(PD)과 bis(2-ethylbutyl)phthalate(BEBP) 2가지 내부표준물질을 이용하여 연구하였다. 1-phenyldecanol은 nonylphenol과 octylphenol을 정량하고, bis(2-ethylbutyl)phthalate는 bis(2-ethylhexyl)phthalate를 정량하기위해 사용하였다. NP와 OP의 경우 0.2~20 $\mu\text{g/g}$ 농도범위에서 75% 이상의 회수율을 나타냈으며, BEHP는 0.4~40 $\mu\text{g/g}$ 농도범위에서 102% 이상의 회수율을 보였다. 시료를 밀폐된 배양시험관에서 이염화메탄을 이용하여 추출하고 용매를 이소-헥산으로 바꾸고 aminopropyl 칼럼(2g)을 이용하여 분리한후 GC/MS-SIM 방법으로 분석하였다. 확립된 분석방법을 11점의 한국시료와 3점의 영국시료에 적용하였다. Nonylphenol은 2점의 한국 어류시료에서, BEHP는 9점의 한국어류시료에서 검출되었고, 그 농도범위는 각각 0.02~0.06 $\mu\text{g/g}$ 과 0.18~2.03 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 그러나 영국어류시료에서는 단 1점의 시료에서 BEHP가 검출되었고 그 농도는 2.99 $\mu\text{g/g}$ 이었다. 이 방법에 의해서 octylphenol은 어떠한 시료에서도 검출되지 않았으며, 이와 같이 2가지 내부표준물질을 이용하는 방법은 각기 다른 특성을 갖는 분석대상물질에 각각의 특성과 유사한 내부표준물질의 사용으로 매우 적은량의 생체 시료에서 보다 정확한 정량이 가능하였다.

Abstract : A comprehensive analytical method of endocrine disruptors[i.e., nonylphenol(NP), octylphenol(OP), bis(2-ethylhexyl)phthalate(BEHP)] in fish samples was developed using two internal standards. This method employed closed culture tube extraction with dichloromethane and solvent exchange to iso-hexane and SPE(2g) aminopropyl column, followed by determination on gas chromatograph linked to mass spectrometer(GC/MS) operated in the single ion monitoring(SIM) mode. The recoveries of nonylphenol and octylphenol in the range of 0.2~20 $\mu\text{g/g}$ using 1-phenyl decanol as one internal standard were over 75%, and recovery of bis(2-ethylhexyl)phthalate in the range of 0.4~

★ Corresponding author

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

E-mail : mckim123@jeonju.ac.kr

40 $\mu\text{g/g}$ using bis(2-ethylbutyl)phthalate(BEBP) as the other internal standards was showed over 102%. The present method was applied to fish samples from Korea and UK. The range of concentrations for nonylphenol(NP) and bis(2-ethylhexyl)phthalate in Korean fish were 0.02~0.06 $\mu\text{g/g}$ in 2 samples and 0.18~2.03 $\mu\text{g/g}$ in 9 samples respectively, but bis(2-ethylhexyl)phthalate(BEHP) in UK samples was found 2.99 $\mu\text{g/g}$ in just 1 sample. But octylphenol(OP) was not detected in any samples by this method. This two internal standard method provides a more precise analytical tool to investigate endocrine disruptors in a biological matrices of limited quantity.

Key words : two internal standards, nonylphenol, octylphenol, bis(2-ethylhexyl)phthalate, fish samples

1. 서 론

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 최근 5년전부터 환경,^{1,6} 의학,¹ 식품학,⁷⁻¹⁰ 보건 위생학,¹¹⁻¹⁵ 발생학^{1,14,15} 분야 등에서 매우 활발한 상태이며 또한 강력히 규제하고 있는 품목이며, 최근에는 국내에서도 이들 물질에 대한 연구도 매우 활발하다.¹⁶⁻¹⁸ 특히 이들 물질들은 우리의 의식주 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.^{6,19}

Alkylphenol류 중 nonylphenol의 정량은 C₈ 또는 C₁₈ 흡착칼럼을 이용하여 흡착시킨후 용탈과 분리 정제과정을 거쳐 HPLC^{12,20}와 GC/MS^{4,5,14,21}로의 정량이 대부분을 이루고 있다. 어류 중의 nonylphenol과 octylphenol의 동시정량에 관한 연구는 최근 일본의 Tsuda²²등에 의해 acetonitrile을 가해 분해 추출하고 hexane으로 용매를 바꾼 후 Florisil 칼럼을 통해 시료속의 지방성분을 분리 정제한 후 GC/MS 방법으로 정량하였다. Kim¹⁹등은 시화호 저토층의 nonylphenol과 octylphenol의 동시정량에 관한 연구를 Soxhlet 추출 후 Florisil 칼럼을 이용한 정제과정을 거쳐 형광검출기를 이용한 HPLC로 동시 정량하였다. 국내에서는 Hong등이¹⁸ 시료를 methanol을 이용하여 추출하고 dichloromethane으로 용매를 바꾸고 Florisil column 정제과정을 거친 후 유도체화하여 어류 양서류 시료에서 이들 물질의 정량을 GC/MS 방법으로

시도하였다. 한편으로 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.⁷⁻¹⁰ 그러나 이들 방법에서는 alkylphenol류와 phthalate류가 서로 독립적으로 정량되어졌다. 그러나 Kim등은^{23,24} 주요 내분비계 장애물질로 주목받고 있는 octylphenol, nonylphenol, bis(2-ethylhexyl)phthalate의 동시정량을 소고기 돼지고기등의 생체시료에서 한가지 내부표준물질을 이용하여 정량하였다.

본 연구에서는 어류근육(생체시료)에 포함되어 있는 상기 3가지 내분비계장애물질(환경호르몬 물질)의 미량 분석을 2가지 내부표준물질을 이용하여 동시 정량하여, 보다 정확한 분석결과를 얻고자하였다.

2. 실험

2.1. 기체크로마토그래피/질량분석기

기체크로마토그래피-질량분석기로는 Fisons-8000 기체 크로마토그래피에 AS 800 자동시료주입장치가 부착된 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 (30m x 0.25mm I.D., 0.25 μm film thickness)을 사용하였다. 오븐 온도^{6,23}는 처음에 150 $^{\circ}\text{C}$ 에서 1분동안 머물게 한 후 1분당 7 $^{\circ}\text{C}$ 씩 올려 190 $^{\circ}\text{C}$ 까지 올린후 1분 동안 머물게 한 후 다시 1분당 1 $^{\circ}\text{C}$ 씩 올려 250 $^{\circ}\text{C}$ 까지 올린후 다시 1분당 10 $^{\circ}\text{C}$ 씩 올려 305 $^{\circ}\text{C}$ 까지 올리고 2분 동안 머물게 하였다.

시료 주입은 2 μ L였고 주입 방법은 분할주입법(split)을 사용하였으며 분할비는 15:1 이었다. 운반 기체는 헬륨(99.999%)을 사용했고, 유속은 1.0 mL/min로 흘러 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 질량중 서로 겹치지 않는 것을 선택하였고 이때 확인용 이온과 정량용 이온을 구별하여 사용하였다. Table 1, 2는 SIM 방법에 의해 선택된 이온과 정량에 필요한 여러정보들을 실었다.

Table 1. Four selected ion groups used in SIM mode

Group	Measurement (m/z)	Confirmation (m/z)	
Group 1	nonylphenol octylphenol	135 206	107 108
Group 2	1-phenyldecanol	107	79
Group 3	bis(2-ethylbutyl)phthalate	149	167
Group 4	bis(2-ethylhexyl)phthalate	150	167

Table 2. Molecular weight, characteristic ions, retention time, response factors of EDC from 3 μ g/mL for OP, NP, and PD, and from 35 μ g/mL for BEBP and BEHP standard solutions

Compounds	Molecular weight	Characteristic ions	Retention time(min.)	Response factor*
Octylphenol	206	107, 108, 206, 207	8.80	0.1158
Nonylphenol	220	107, 121, 135, 149, 150, 177	7.66~8.47	0.1989
1-phenyldecanol	234	107, 79, 108, 77, 108	10.94	
Bis(2-ethylbutyl)phthalate	334	43, 85, 149, 150, 167	21.37	
Bis(2-ethylhexyl)phthalate	390	71, 113, 149, 159, 167	25.64	0.1821

+Values relatives to internal standard 1-phenyldecanol for NP and OP, and bis(2-ethylhexyl)phthalate for BEHP.

*Values as mean of 5 determinations \pm standard deviation.

2.2. 시약 및 기구

모든 용매(dichloromethane, iso-hexane, methanol, diethyl ether)는 잔류농약분석용(Rathburn, 영국, Walkerburn)을 사용하였고, Nonylphenol, octylphenol, 1-phenyldecanol, bis(2-ethylhexyl)phthalate의 표준용액은 Aldrich 특급 시약(영국, Gillingham)을 사용하였다. SPE 칼럼은 International Solute Technology(IST) (영국, Strathaven)에서 구입하였다. 특히 bis(2-ethylbutyl)phthalateester는 2% 묽은 황산용액에서 phthalic acid와 2-ethylbutanol을 2시간 동안 반응시켜 합성하여²³ 불순물을 제거하고 순도 99.9% 이상으로 유지하여 사용하였다. Silicagel (70~230 mesh)은 이염화메탄으로 세척하여 사용하였고 무수황산나트륨은 Tedia, USA를 사용하였다. 또한 모든 유리기구는 메탄올로 세척한 후 다시 이염화메탄으로 세척하고 건조하여 사용하였다.

2.3. 시 료

한국어류시료(Table 3)는 한국해양연구소에서 98년 5월~2000년 8월 사이에 수집하여 분쇄기로 분쇄하고 냉동고에서 얼린후 동결건조기(FD3, HETO, Denmark)로 1일간 동결 건조한 후 다시 건조기에서 50°C로 2일간 건조시켜 수분이 없도록 완전히 건조한 후 일정 무게를 유지토록 하고 실온에서 보관하여 사용하였다. 영국시료는 스코트란드 지방의 Frazaborough 지방의 생선 축제에서 2000년 8월 구입하여 분쇄한 후 냉동고에서 얼리고 3일간 동결건조 시킨후 다시 100°C로 건조기에서 건조하여 실온에서 보관하였다.

Table 3. Informations of fish samples

Sample No.	Sampling site	Sampling date
1. Flatfish	Masan 1	1998.05
2. Flatfish	Masan 2	1998.05
3. Flatfish	Masan 3	1998.05
4. Flatfish	Masan 4	1998.05
5. Black rockfish	Incheon Duck-jock Island	1998.05
6. Greenling	Sockcho harbour	1997.06
7. Greenling	Gohyun harbour	1997.07
8. Greenling	Kunsan out side harbour	1997.06.22
9. Greenling	LME St 1	2000.4.12
10. Skate ray	LME St 2	2000.4.12
11. Skate ray	LME St 3	2000.4.13
12. Haddock	Frazaborough UK	2000.8
13. Haddock	Frazaborough UK	2000.8
14. Haddock	Frazaborough UK	2000.8

2.4. 추출 및 정제²³

실온으로 유지시킨 건조실에서 건조시킨 시료를 0.2~0.5g 범위에서 정확한 양을 취하여 70mL 배양관에 넣고 2가지 내부표준물질(internal standards, ISTD) bis(2-ethylbutyl)phthalate 2.5 μ g/mL와 1-phenyldecanol 0.2 μ g/mL를 가한다. 여기에 20mL의 이염화메탄을 가한 후 2겹의 알루미늄 은박지를 이용하여 배양관의 마개를 잠근다. Digestion block에서 50 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C로 유지시켜 2시간 동안 추출한다. 내용물을 여과하여 여과액을 50ml 병에 모으고 고용물은 버린다. 여과액을 35 $^{\circ}$ C로 유지시킨 digestion block에서 질소가스로 완전히 건조시킨다. 4mL iso-hexane을 병에 가하고 마개를 잠근 후 35 $^{\circ}$ C로 유지시킨 digestion block에서 모든 물질이 녹을 때 까지 가열한다. 실온에서 냉각시킨 후 iso-hexane 8mL로 활성화시킨 2g aminopropyl SPE (IST,UK) 칼럼에 흡착시킨다. 4x4 mL iso-hexane 용액으로 용리시키고 용리액은 버린다. SPE 칼럼에 흡착되어 있는 분석물질을 5x4 mL diethyl ether로 용리시킨다. Diethyl ether 용리액을 질소 기체하에서 약 1ml로 부피를 감소시킨다. 이것을 GC/MS vial에 옮겨 질소 기체하에서 완전히 건조시킨다. 여기에 70 μ l diethyl ether를 가하여 다시 용해시킨 후 GC/MS-SIM 방법으로 분석한다. 이 생체시료에 대한 검출한계를 Table 4에 나타냈다.

Table 4. Detection limits of NP, OP and BEHP extracted from fish samples using GC/MS-SIM mode

EDC	Detection limits(μ g/g)
Nonylphenol	0.01
Octylphenol	0.02
Bis(2-ethylhexyl)phthalate	0.01

2.5. 정량

Octylphenol(OP), nonylphenol(NP), bis(2-ethylhexyl)phthalate(BEHP)의 정량은 추출과 정제후 GC/MS-SIM 방식으로 얻어진 1-phenyldecanol(PD)과 bis(2-ethylbutyl)phthalateester(BEBP) 내부표준물질과의 봉우리 넓이 비를 측정하여 계산하였다. 이때 PD는 OP, NP를 정량하고 BEBP는 BEHP를 정량하였다. OP, NP 감응지수는 3 mg/L의 octylphenol, nonylphenol과 3mg/L의 PD 표준용액의 면적비로, BEHP는 35mg/L의 BEHP와 BEBP의 면적비로 계산하였다(Table 2). 일반적으로 내부표준물질로는 동위원소로 치환된 fluoranthene-d₁₀, phenanthrene-d₁₀, pyrene-d₁₂등이 사용되며 보다 더 정확한 정량을 위해서는 동위원소로 치환된 정량화합물이 사용되나 이들 동위원소 치환화합물은 매우 고가이며 구입하기가 매우 어렵다. 본 연구에서는 OP, NP는 구조적으로 매우 유사한 1-phenyldecanol(Fig. 1참조)을 사용하였고,

$$\% \text{ 회수율} = \frac{\text{크로마토그램으로부터 계산된 농도}(\mu\text{g/g})}{\text{spiking한 시료의 농도}(\mu\text{g/g}) + \text{spiking 하지 않은 시료의 농도}(\mu\text{g/g})} \times 100 \quad (1)$$

bis(2-ethylhexyl)phthalate는 물리 화학적 성질이 매우 비슷한 bis(2-ethylbutyl)phthalate를 내부표준물질로 사용하였다. 다중점회수율 실험은 기지의 실험용 어류시료 0.2g 에 5 $\mu\text{g/mL}$ 의 OP, NP와 30 $\mu\text{g/mL}$ BEHP 혼합용액에 0.02, 0.2 0.6 μg 의 PD 내부표준물질과 0.25, 2.5, 7.5 μg BEBP 내부표준물을 각각 spiking한 후 3회 이상 반복하여 추출 정량한 후 그 평균값을 식 (1)에 의해 계산하여 Table 5에 나타냈다.

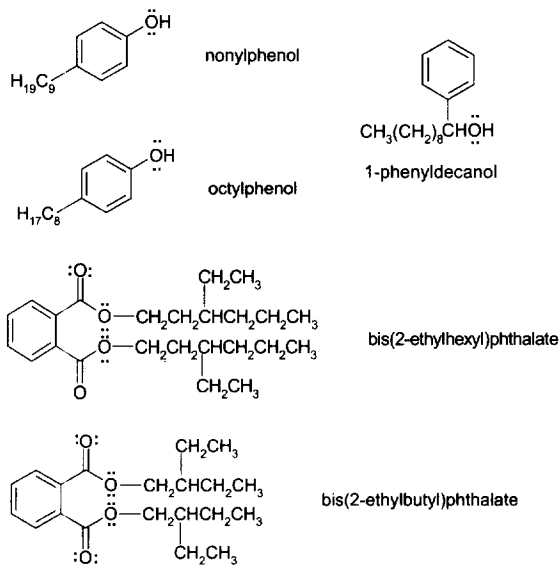


Fig. 1. Chemical structures of nonylphenol, octylphenol, 1-phenyldecanol, bis(2-ethylhexyl)phthalate and bis(2-ethylbutyl)phthalate.

3. 결과 및 고찰

본 연구에서 취급하는 내분비계장애물질(endocrine disruptor compounds, EDC)에 대한 질량스펙트럼 연구는 최근 많은 국내외 연구자들에 의해 널리 보급되고 있다.^{5,16,17,18,23-27} 환경시료에서는 EDC 물질이 수 $\mu\text{g/L}$ (parts per billion) 또는 ng/L(parts per trillion)로 존재

하므로 이들을 검출하기 위하여 추출 분리 농축 과정을 거쳐야한다. 특히 본 연구에서 연구하고자 하는 생체시료(쇠고기, 돼지고기, 양서류, 어류)는 수분, 지방산, triglyceride, cholesterol, cholesterylester 등의 지방성분을 포함하고 있기 때문에 특정 EDC 물질만을 검출하기 위해서는 완벽한 추출 분리 농축과정을 거쳐 방해물질을 제거한 후 그들의 간섭을 최소화 시켜야한다. Tsuda²²등은 극성이 강한 Florisil 칼럼과 hexane을 이용하여 방해물질을 분리 제거하였으며, 본 연구에서도 극성이 강한 aminopropyl 칼럼을 이용하여 흡착시킨후 방해물질인 지방산, triglyceride, cholesterol, cholesterylester 등은 iso-hexane 으로 제거하였다.^{23,24} 불순물을 분리제거한 후 정확한 정량을 위하여 각각의 분석물질의 특성과 유사한 2가지 내부표준물질을 사용하였고, 이들 물질중 서로 겹치지 않는 질량을 갖는 조각이온을 선택하여 연속적으로 검색하는 단일이온 검색법(single ion monitoring, SIM)을 사용하였다. 다중점 보정을 위한 회수율은 Table 5에 나타냈다. SIM법의 장점은 이온선택성으로 방해물질의 봉우리들을 크게 감소시키는 반면 정량하고자 하는 OP, NP, PD, BEHP, BEBP의 봉우리의 감도는 크게 증가시킨다. 3mg/L의 octylphenol, nonylphenol, 1-phenyldecanol 표준용액과 35mg/L BEHP, BEBP 표준용액을 GC/MS-TIC 방식으로 얻은 크로마토그램이 Fig. 2이며, GC/MS-SIM 방법으로 각각의 선택된 질량값(m/z) 206, 135, 107, 150, 149에서 얻은 크로마토그램은 Fig. 3과 같다. Fig. 3에서 머무름 시간 8.8, 7.6~8.4, 10.9, 25.6, 21.3(분)에서 5개의 봉우리가 얻어졌는데 봉우리 1, 2, 3, 4, 5는 각각 octylphenol, nonylphenol, 1-phenyldecanol, bis(2-ethylhexyl) phthalate와 bis(2-ethylbutyl) phthalate의 봉우리로 Fig. 2의 GC/MS-TIC 크로마토그램과 각각의 표준용액을 개별적으로 주사하여 개별 질량수를 갖는 GC/MS-SIM 크로마토그램을 통해 확인하였다. 시료를 추출 정제후 GC/MS-SIM 방법을 이용하여 실제 어류시료에서 얻은 크로마토그램은 Fig. 4이다. Fig. 4에서 선택된 m/z 값 206, 135, 107, 150, 149에서 5개의 봉우리가 얻어졌는데 이들의 머무름 시간은 각각 5.1, 5.1 11.2, 25.9, 21.6(분)였다. 이것을 Fig. 3과 비교하면 선택된 m/z 값

Table 5. Multipoint recoveries of EDC from various concentration of NP and OP, and BEHP by 1µg/mL internal standards[1-phenyldecanol and bis(2-ethylbutyl) phthalate]

		Unit : %Recovery			
Concentration	200µg/g	20µg/g	2µg/g	0.2µg/g	
OP	14 ± 7	94.9 ± 0.9	95.5 ± 0.2	75 ± 8	
NP	26 ± 22	123 ± 43	164 ± 1	81 ± 6	

		Unit : %Recovery		
Concentration	0.4µg/g	4µg/g	40µg/g	
BEHP	110 ± 30	102 ± 1	114 ± 3	

*Recoveries calculated from the spiked various concentration of OP and NP for 1µg phenyldecanol, BEHP for 1µg bis(2-ethylbutyl)phthalate to 1.0g dried fish by GC/MS.
 *Values as means of 3 determinations ± standard deviation.

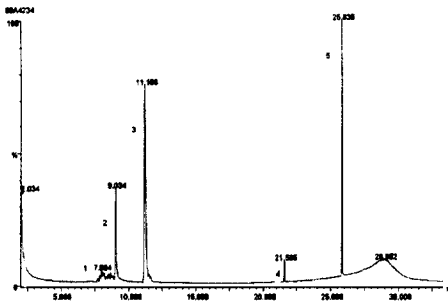


Fig. 2. GC/MS-TIC for 5µg/mL standard solution of 5 chemicals. Peaks identified as; 1 : nonylphenol, 2 : octylphenol, 3 : ISTD(1-phenyldecanol), 4 : ISTD[bis(2-ethylbutyl)phthalate], 5 : bis(2-ethylhexyl)phthalate.

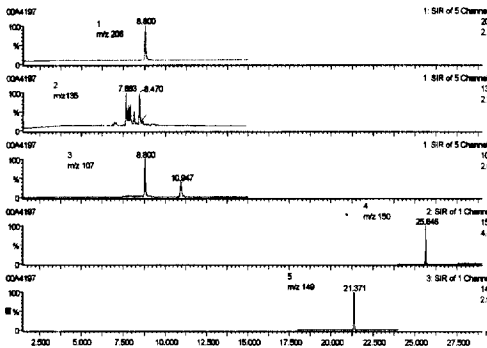


Fig. 3. Typical GC/MS-SIM chromatograms of 3µg/mL for NP, OP, PD and of 35µg/mL for BEHP and BEHP mixture; 1 : octylphenol, 2 : nonylphenol, 3 : 1-phenyldecanol 4 : bis(2-ethylhexyl)phthalate, 5 : bis(2-ethylbutyl) phthalate.

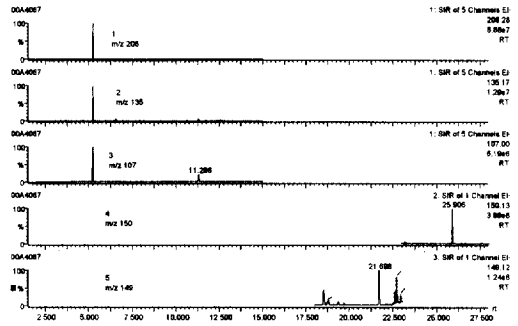


Fig. 4. Typical GC/MS-SIM chromatograms for EDC in fish samples; 1 : octylphenol, 2 : nonylphenol, 3 : 1-phenyldecanol 4 : bis(2-ethylhexyl)phthalate, 5 : bis(2-ethylbutyl)phthalate.

206, 135에서 봉우리 1, 2의 경우는 머무름 시간이 매우 달랐고 나머지 m/z 값에서는 평균 머무름 지수값 ± 0.1(분) 범위내의 값이었다. 따라서 Fig. 4의 매우 큰 봉우리 1, 2는 OP 와 NP의 봉우리가 아니다. 그러나 NP의 경우 감도를 더욱 높이면 Fig. 5와 같은 연속된 5개의 봉우리를 관찰할 수 있었다. Fig. 4의 작은봉우리 3(τ=11.296)은 내부표준물질인 PD, 4는 분석물질인 BEHP, 봉우리 5는 내부표준물질인 BEBP 임을 확인할 수 있었다.

Table 2에서 octylphenol, nonylphenol, 1-phenyldecanol, bis(2-ethylbutyl)phthalate, bis(2-ethylhexyl)phthalate의 머무름 시간은 각각 8.80, 7.67~8.47, 10.94, 21.37, 25.64 였다. PD를 내부표준물질로한 OP, NP 내분비계장애물질에 대한 감응지수는 각각 0.1158, 0.1989 이며 BEBP

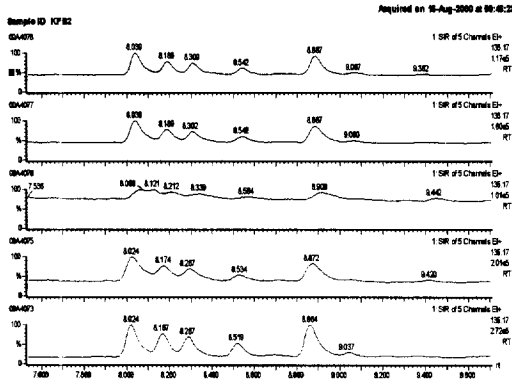


Fig. 5. Enlarged GC/MS-SIM chromatograms for NP from fish samples.

를 내부표준물질로 한 BEHP의 감응지수는 0.1821로 1보다 작은 값을 나타냈으며, 이것은 각각의 물질에 대한 독특한 기기적 감응반응 특성으로 해석된다. 농도를 알고있는 어류시료로부터 PD 내부표준물질에 의한 OP, NP 물질의 회수율과 BEBP 내부표준물질을 기준으로한 BEHP의 회수율을 Table 5에 나타냈다. OP의 경우 0.2~20 $\mu\text{g/g}$ 범위에서 75~94% 회수율을 나타냈고, NP는 같은 농도범위에서 81~123%의 회수율을 나타냈다. OP와 NP가 200 $\mu\text{g/g}$ 의 범위에서 회수율이 각각 14%, 26%로 낮은 것은 다량의 OP, NP가 분리되지 않고 그대로 SPE column을 통과하는 것으로 추측된다. 또한 2 $\mu\text{g/g}$ 에서 164%의 높은 회수율을 보인 것은 완벽하게 분리되

지 않은 일부 지방산이 정량에 관여되는 것으로 판단되며 현재 이를 위해 gel permeation chromatography법을 이용하여 완벽한 분리를 위해 연구중에 있다. BEHP의 회수율은 0.4~40 $\mu\text{g/g}$ 의 전 범위에 걸쳐 102~114%의 좋은 회수율을 나타냈다. 이 때 한 가지 내부표준물질만을 사용한 경우 BEHP의 회수율은 평균 86%이었다.²³ 따라서 각각의 분석물질과 유사하고 안정한 내부표준물질을 사용하면 좋은 회수율을 얻을 수 있다고 사료된다. 이 방법을 한국과 영국의 어류시료에 적용하여 얻은 결과가 Table 6이다.

Table 6은 한국해양연구소와 영국 Frazaborough 지방에서 구입한 총 14점의 어류시료에 대한 nonylphenol, octylphenol, bis(2-ethylhexyl)phthalate의 분석결과이다. Table 6에 의하면 OP의 경우는 어떠한 시료에서도 검출되지 않았다. NP의 경우 총 14점의 시료 중 1점의 시료에서 흔적량이 검출되었고 2점의 시료에서는 그 농도범위가 0.02~0.06 $\mu\text{g/g}$ 이었다. BEHP의 경우는 3점의 시료를 제외한 거의 모든 시료에서 검출되었는데 최소 0.28 $\mu\text{g/g}$ 에서 최대 2.99 $\mu\text{g/g}$ 로 평균적으로 NP의 10~20배 이상 검출되었다. 특히 영국어류시료 12, 13, 14중 12번 시료에서 BEHP가 최고 2.99 $\mu\text{g/g}$ 이 포함되어 있었는데 이것은 유통중 오염된 것으로 추측된다.

결론적으로 OP, NP, BEHP의 동시 정량을 2가지 내부표준물질인 PD와 bis(2-ethylbutyl)phthalate을 이용하면 한 가지 내부표준물질[bis(2-ethylbutyl)phthalate]을 이용하는 방법보다 더 좋은 회수율을²³ 나타내어 보다 정확

Table 6. Concentration($\mu\text{g/g}$) of EDC in fish samples

				Unit : $\mu\text{g/g}$ dry			
Sample No.	NP	OP	BEHP	Sample No.	NP	OP	BEHP
1	nd	nd	1.43 \pm 0.25	8	nd	nd	0.18 \pm 0.03
2	nd	nd	nd	9	nd	nd	nd
3	nd	nd	2.03 \pm 0.46	10	nd	nd	1.85 \pm 0.78
4	nd	nd	1.22 \pm 0.05	11	nd	nd	1.95 \pm 0.47
5	0.06 \pm 0.02	nd	0.47 \pm 0.14	12	nd	nd	2.99 \pm 1.28
6	tr	nd	0.24 \pm 0.09	13	nd	nd	nd
7	0.02 \pm 0.01	nd	0.78 \pm 0.32	14	nd	nd	nd

Values as mean of 3 determinations \pm standard deviation

tr : trace

nd : not detected

한 정량을 가능케 하였다.

4. 결 론

1. 한국과 영국어류시료에 포함된 octylphenol, nonylphenol, bis(2-ethylhexyl)phthalate를 2가지 내부표준물질을 이용하여 GC/MS-SIM 방법으로 30분안에 정량하였으며 PD를 내부표준물질로한 다중점회수율 측정결과 OP는 0.2~20 μ g/g에서 75% 이상의 회수율을 나타냈고, NP는 같은 농도범위에서 81% 이상의 회수율을 나타냈다. BEHP는 0.4~40 μ g/g의 넓은 농도범위에서 평균 108%의 매우 좋은 회수율을 보였다.

2. 이 방법을 한국과 영국의 어류시료에 적용시킨 결과 내분비계장애물질로 주목되는 nonylphenol은 극히 적은 양의 시료에서 검출되었으며, bis(2-ethylhexyl)phthalate는 0.18 μ g/g~2.99 μ g/g이 포함되어 있었고 한국 어류시료가 영국것에 비해 다수의 시료에서 BEHP가 검출되었다.

3. 분석결과 NP와 BEHP의 농도범위는 10배 이상 차이가 나므로 이를 위한 동시정량에서도 각각 10배 이상의 차이가나는 농도에서 회수율, 감응지수 등을 구하여 적용해야 보다 정확한 결과를 얻을 것으로 사료된다.

4. 이 방법에서는 한국과 영국어류시료에서 octylphenol은 전혀 검출되지 않았다.

5. 본 연구결과에 의하면 국내에 유통되는 어류시료에는 적은양의 NP와 많은 어류가 BEHP를 포함하고 있음을 시사하는 것이라 사료되어 이에 대한 보다 광범위한 조사 연구와 위해성평가연구등이 절실히 요망된다.

감사의 글

본 연구는 2000년 전반기 과학재단 해외방문연구비 지원으로 이루어 졌으며 과학재단과, 시료를 제공해준 한국해양연구소의 오재룡 박사, 이동호선생 여러 가지 실험편의를 제공해준 영국 Macaulay Land Use Research Institute의 A. Smith 박사께 감사드립니다.

참고문헌

1. P. T. C. Harrison, P. Holmes and C. D. N. Humfrey, *The Science of the Total Environment*, 205, 97-106 (1997).

2. H. B. Lee and T. E. Peart, *Water Qual. Res. J. Cannada*, **34**(4), 633-652(1999).

3. R. A. Rudel, S. J. Melly, P. W. Geno, G. Sun, and J. G. Brody, *Environ. Sci. Technol.* **32**, 861-869(1998).

4. N. Kannan, N. Yaamshita, G. Petrick, and J. C. Duinker, *Environ. Sci. Technol.* **32**, 1747-1753(1998).

5. M. A. Blackburn and M. J. Waldoock, *Water Res.*, **29**(7), 1623-1629(1995).

6. J. H. Kim, *Anal. Sci. & Tech.*, **12**(3), 248-255(1999).

7. B. D. Page and G. M. Lacroix, *Food Additives & Contaminants*, **12**(1), 129-151(1995).

8. M. Sharman, W. A. Read, L. Castle, and J. Gilbert, *Food Additives & Contaminants*, **11**(3), 375-385(1994).

9. G. Schade and B. Heinzow, *The science of the Total Environment*, **215**, 31-39(1999).

10. K. Grob, C. Spinner, M. Brunner, and R. Etter, *Food Additives & Contaminants*, **16**(12), 579-590(1999).

11. E. J. Routledge and J. P. Sumpter, *The J. Biological Chemistry*, **272**(6), 3280-3288(1997).

12. M. R. Servos, *Water Qual. Res. J. Cannada*, **34**(1), 123-177(1999).

13. M. Castillo and D. Barcel, *Trend in Anal. Chem.*, **16**(10), 574-583(1997).

14. T. J. Wams, *The Science of the Total Environment*, **66**, 1-16(1987).

15. S. Jobling, T. Reynolds, R. White, M. G. Parker, and J. P. Sumpter, *Environ. Health. Perspectives*, **103**(6), 582-587(1995).

16. S. W. Myung, Y. J. Chang, H. K. Min and M. S. Kim, *Anal. Sci. & Tech.*, **13**(5), 616-623(2000).

17. S. H. Nam, M. G. Kim and Y. J. Kwon, *Anal. Sci. & Tech.*, **13**(5), 683-692(2000).

18. J. Hong, H. Kim, I. Back, D. Kim, J. Seo, J. Seo, B. Chung, H. Pyo, K. Kim, and Y. Kim, *Anal. Sci. & Tech.*, **13**(4), 484-493(2000).

19. 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).

20. A. K. Kvistad, E. Lundanes and T. Greibrokk, *Chromatographia*, **48**, 707-713(1998).

21. N. Nakada, T. Isobe, H. Nishiyama, K. Okuda, S. Tsutsumi, J. Yamada, H. Kumata and H. Takada,

- BUNSEKI KAGAKU*, **48(6)**, 535-547(1999).
22. T. Tsuda, A. Takino, M. Kojima, H. Harada, and K. Muraki, *J. Chromatogr. B*, **723**, 273-279(1999).
23. J. H. Kim, *Anal. Sci. & Tech.*, **14(2)**, 95-102(2001).
24. G. L. Telfer, "Determination of endocrine disrupting compounds in some biological matrices: Development of analytical methodology", Thesis of Master, Robert Gordon University, Aberdeen UK, 2000.
25. A. Motoyama, A. Suzuki, O. Shirota and R. Namba, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **13**, 2204-2208 (1999).
26. M. Takino, S. Daishima and K. Yamaguchi, *BUNSEKI KAGAKU*, **48(6)**, 563-570(1999)
27. B. C. Blount, K. F. Milgram, M. J. Silva, N. A. Malek, J. A. Reidy, L. L. Needham, and J. W. Brock, *Anal. Chem.*, **72**, 4127-4134(2000)