

## 고체상 추출법을 이용한 Phthalate Esters의 분석방법 연구

홍성희·한개희·이찬형·이순화\*  
대구광역시 보건환경연구원·영남대학교 환경공학과  
(2002년 5월 8일 접수; 2003년 1월 6일 채택)

### A Study on Analytical Method of Phthalate Esters in Water by SPE(Solid-Phase-Extraction)

Sung-Hee Hong, Gae-Hee Han, Chan-Hyung Lee and Shun-Hwa Lee\*  
Public Health and Environment Institute of Daegu City, Daegu 706-090, Korea  
\*Department of Environmental Engineering, Yeungnam University, Kyeongbuk 721-749, Korea  
(Manuscript received 8 May, 2002; accepted 31 January, 2003)

The study was carried out to evaluate the new analytical method of phthalate esters(diethylphthalate, di-n-butylphthalate, butylbenzylphthalate, bis(2-ethylhexyl)phthalate), one of the endocrine disruptors, which were performed by GC/MS-SIM(selected ion monitoring). The phthalate esters were extracted from water samples using solid-phase extraction on C<sub>18</sub> columns. It investigated that the extraction recovery rate of phthalate esters with different solvents and solvent volume. The optimal solvent was dichloromethane and proper volume of dichloromethane for recovery of phthalate esters was 4 mL. There were good linearities(above R<sup>2</sup>=0.9975) in the range 0.01~0.50mg/L, and the detection limits were below 0.01~0.03μg/L. The recovery rates, RSD and MDLs for phthalate esters were 80~114%, 5.0~8.1% and 0.03~0.11μg/L, respectively. This method shows a good precision of phthalate esters.

Key words : Phthalate esters, Endocrine disruptor, GC/MS-SIM, Solid phase extraction

#### 1. 서 론

플라스틱은 철을 대체하면서 인간의 생활에 필수 불가결한 존재로 인식되었고 사용량이 매년 급증하고 있다. 플라스틱이 부서지지 않고 부드러움을 유지하기 위하여 가소제를 첨가하는데 가소제로는 phthalate esters 화합물이 사용되어지며, 주로 사용되는 가소제화합물은 diethyl phthalate(DEP), di-n-butyl phthalate(DBP), butylbenzyl phthalate, bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP) 등이 있다. 그러나 최근에 이런 물질들이 내분비계장애물질(환경호르몬)로 의심<sup>1,2)</sup>되어지면서 하천, 지하수 및 토양 등 자연계에 노출되는 수준이 어느 정도인지 부각되기 시작하였다. 가소제중 DEHP가 연간 생산량과 사용

량이 가장 많은 것으로 조사되었고 세계보건기구(WHO)<sup>3)</sup>와 미국의 먹는물 기준<sup>4)</sup>에 각각 0.008mg/L, 0.006mg/L로 규제되고있다. 그러나 우리 나라에는 기준이 마련되어 있지 않으며 수돗물에서 감시항목으로 모니터링을 하고 있다.

Phthalate esters를 분석하기 위한 전처리 방법은 일반적으로 액액추출법(Liquid-Liquid-Extraction, LLE)<sup>5,6)</sup>, 고상추출법(Solid-Phase-Extraction, SPE)<sup>7)</sup> 그리고 고상미세추출법(Solid-Phase-Micro-Extraction, SPME)<sup>8,9)</sup>로 나눌 수 있으며 분석방법도 연구자에 따라 다양한 방법을 이용하므로 정해진 분석방법이 없는 실정이다. 본 연구에서는 간편하면서도 정확도가 높은 분석방법을 찾고자 미국의 EPA method 525.2 정립된 방법을<sup>10)</sup>참고하였다. 이 방법은 수중에 약 150종의 유기화합물을 분석하는 방법으로 농약류와 phthalate esters를 포함하여 휘발성이 비교적 약하거나 거의 없는 화합물을 분석하는 방법이다. 분석절차는 C<sub>18</sub>이 충전된 SPE 카트리지

Corresponding Author : Chan-Hyung Lee, Public Health and Environment Institute of Daegu City, Daegu 706-090, Korea  
Phone : +82-53-760-1264  
E-mail : chlee@daegumail.net

를 사용하여 시료를 전처리하고 시료가 통수된 카트리지를 용매로 추출한 다음 이 추출액을 GC/MSD로 분석하는 방법이다. 그러나 이 방법을 본 연구에 그대로 적용할 수는 있으나 phthalate esters 만을 분석하기 위해서는 방법을 변형하는 것이 좋을 것으로 판단되었다. 즉 추출용매의 선정과 GC/MSD의 검출모드 설정으로 phthalate esters의 추출 회수율과 검출한계를 높이기 위하여 일부 변형하였다. 우선 EPA 방법에서 통수된 카트리지를 추출하는 용매로서 에틸아세테이트와 디클로로메탄을 병행하여 사용하였다. 이는 약 150종의 화합물을 모두 추출하기 위하여 용매를 병행하여 사용한 것으로 판단된다. 본 논문에서는 용매를 병행해서 사용하지 않고 phthalate esters의 추출효율이 가장 좋은 한가지 용매를 사용하기 위하여 용매별로 추출 회수율을 검토하였다. 또한 EPA 방법에서는 GC/MSD의 검출모드를 SCAN 모드를 사용하였으나 본 연구에서는 SIM(Selected Ion Monitoring)를 사용하였다. SIM 모드는 SCAN 모드와 비해 검출한계가 약 1/1000로 낮출 수 있기 때문에 수중에 미량으로 존재하는 phthalate esters를 효과적으로 분석할 수 있다고 판단된다. 따라서 본 연구에서는 EPA방법에서 변형된 분석조건을 고찰하고 최적의 분석방법을 정하여 액액추출법과 비교 검토하여 실제 하천에 적용하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시약 및 분석기기

표준물질인 diethyl phthalate(DEP), di-n-butyl phthalate(DBP), butylbenzyl phthalate, bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)는 Supelco(USA)사에서 구입한 표준시약을 사용하였다. 유기용매는 모두 1000배가 농축 보정된 잔류농약 분석용으로 헥산과 아세톤은 Cica-Merck(Japan)사 제품을 사용하였고 디클로로메탄과 에틸아세테이트는 Merck (German)사 제품을 사용하였다. 정제수는 HPLC용으로 Merck (German)사 제품을 사용하였다. 모든 초자류는 20°C에서 가열한 다음에 사용하였다. SPE column은 J. T. Baker(USA)사의 BAKERBOND™ spe Octadecyl(C<sub>18</sub>) 7020-06을 사용하였으며, 시료의 전처리 장치는 Supelco사의 Visiprep Solid Phase Extraction Vacuum Manifold 5-7030을 사용하였다. 용매 농축장치는 Zymark(USA)사의 Turbovap LV EVAPORATOR를 사용하였고 분석장비는 Agilent(USA)사의 5973N(GC/MSD) 장비를 사용하였다.

### 2.2. 전처리 방법

SPE column을 활성화하기 위해 적당한 용매 10

mL를 column에 통수시킨후 메탄올 5mL를 흘리고 정제수 5mL로 씻어 내린다. 시료는 100~500mL를 vacuum manifold 압력이 5inHg, 즉 통수유량이 10 mL/min가 넘지 않도록 통수시킨다. 적당한 용매 5 mL를 사용하여 수기에 받는다. 받은 용매는 Turbovap evaporator를 사용하여 0.5 mL까지 농축한 다음 용매로 1 mL로 맞추어 GC/MSD의 측정용 시료액으로 사용하였다.

### 2.3. 분석 조건

기체 크로마토그래프-질량분석검출기(GC/MSD)에 사용된 모세관 컬럼은 길이가 30m, 내경이 0.25 mm, 필름두께가 0.25 $\mu$ m인 HP-5MS(Hewlett Packard, U.S.A)을 사용하였고 이동상인 헬륨기체의 유속은 1.0mL/min(평균선속도 37cm/sec)이었고, 주입방식은 pulsed splitless mode(30psi. 1.5분후 퍼지)를 이용하였다. 컬럼의 온도는 60°C에서 1.5분을 유지시키면서 280°C까지 15°C/min씩 올려 주고 280°C에서 1.5분간 머물게 하였다. 주입구는 250°C, 연결장치의 온도는 270°C로 하였다. 질량분석검출기(MSD)의 이온화 방식은 전자충격법을 사용하였으며 이온화 에너지는 70eV, 이온원 온도는 230°C, 검출모드는 SIM(Selected ion monitoring)를 사용하였다. 사용된 특성이온은 Table 1에 나타내었다. 특성이온의 선정은 미리 일정농도로 조제된 표준용액을 GC/MSD에 주입하여 scan mode에서 얻어진 크로마토그램과 스펙트럼에서 작성되었다. 표준용액은 표준물질을 n-헥산에 녹여 1000 mg/L표준원액을 조제하고 이 표준원액을 n-헥산으로 희석하여 0.01, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10mg/L가 되도록 6단계로 조제하였다. 조제된 표준용액을 단계적으로 GC/MSD에 1  $\mu$ l씩 주입하였다. 검량선은 표준용액의 크로마토그램 면적과 농도의 관계로 작성하였고 실험할 때마다 작성하였다.

### 2.4. 용출용매의 선정 및 회수율

아세톤으로 희석한 표준용액을 용매로 농축하였을 때 용매 중에 phthalate ester의 농도가 1.0mg/L가 되도록 정제수에 첨가하고 전처리방법으로 SPE

Table 1. Characteristic ions for measurement and confirmation of phthalate esters

Compound	Characteristic ions(m/z)	
	Measurement	Confirmation
DEP	149	177
DBP	149	223
BBP	149	206
HEHP	149	167

column에 흡착시킨 후 여러 용매를 사용하여 추출하였다. 사용된 용매는 디클로로메탄, n-헥산, 에틸아세테이트의 3종이다. 추출된 용매는 Turbo evaporator로 0.5mL까지 농축하고 용매로 1mL로 맞추어 GC/MSD에 주입하였다. 최적용매를 선정한 후 용매의 최적사용량을 조사하였다,

2.5. 하천수에 적용

정립된 실험 방법을 낙동강 중류지역 하천수에 적용하여 phthalate ester를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 검량선 및 정도관리

검량선은 표준용액의 크로마토그램 면적과 농도와의 관계로 작성하였고 표준물질의 검량선은 농도가 0.01~10mg/L의 구간에서 저농도 구간인 0.01~0.5mg/L에서는 DEP와 DBP 2종의 화합물은 R<sup>2</sup>값이 0.9993이상으로 양호한 직선성을 나타내었으나 BBP와 DEHP 2종의 화합물은 R<sup>2</sup>값이 0.7564와 0.6542로 직선성에서 다소 벗어나고 있는 것으로 나타났다. 고농도 구간인 1~10mg/L은 4종의 화합물 모두 R<sup>2</sup>값이 0.9969이상으로 양호한 직선성을 나타냈다. 저농도와 고농도 구간에서 phthalate esters의 표준검량선을 Fig. 1과 2에 나타내었다. 검출한계(Detection Limits, DLs) 및 정량한계(Method Detection Limits, MDLs)는 기기 분석에서 일반적으로 사용하는 표준편차(S)를 이용한 방법으로 구하였으며 3×S를 DLs로 10×S를 MDLs로 정하였다. 표준물질의 표준편차는 다음과 같이 구하였다.

검량선 작성시 최저농도의 3배인 0.03mg/L가 되도록 5개 이상의 시료를 조제하여 용출용매선정에서 선택한 용매를 사용하여 전처리 방법 2.2에 따라서 분석하고 다음과 같이 시료농도를 구하고 각각의 표준편차를 구하였다.

$$\text{시료농도}(\mu\text{g/mL}) = \text{검출량}(\text{ng}) \times \frac{\text{측정용시료액의 양}(\text{mL})}{\text{주입량}(\mu\text{L})} \times \frac{1}{\text{시료의양}(\text{mL})}$$

Table 2에 그 값들을 나타내었다. 또한 EPA 방법과 MDLs도 비교하였다. Table 2에 나타난 좌와 같이 DEHP가 다른 항목 보다 MDLs이 높게 나타났다. 이는 DEHP 항목이 다른 항목에 비해 시약이나 공기 중에서 미량의 농도로 존재하기 때문에 실험과정에서 오염이 되었다고 판단되며 EPA에서도 어느 정도의 농도는 무시하도록 규정하고 있다. 또한 EPA 방법과 본 연구의 결과를 비교한 결과 MDLs이 4~6배정도 낮게 나타났다.

Table 2. DLs and MDLs data with GC/MSD

Compound	Added Conc. (mg/L)	S(n=5) (mg/L)	DLs(μg/L)	MDLs(μg/L)	
				This study	EPA
DEP	0.03	0.003	0.01	0.03	0.17
DBP	0.03	0.007	0.02	0.07	-
BBP	0.03	0.004	0.01	0.04	0.25
DEHP	0.03	0.011	0.03	0.11	-

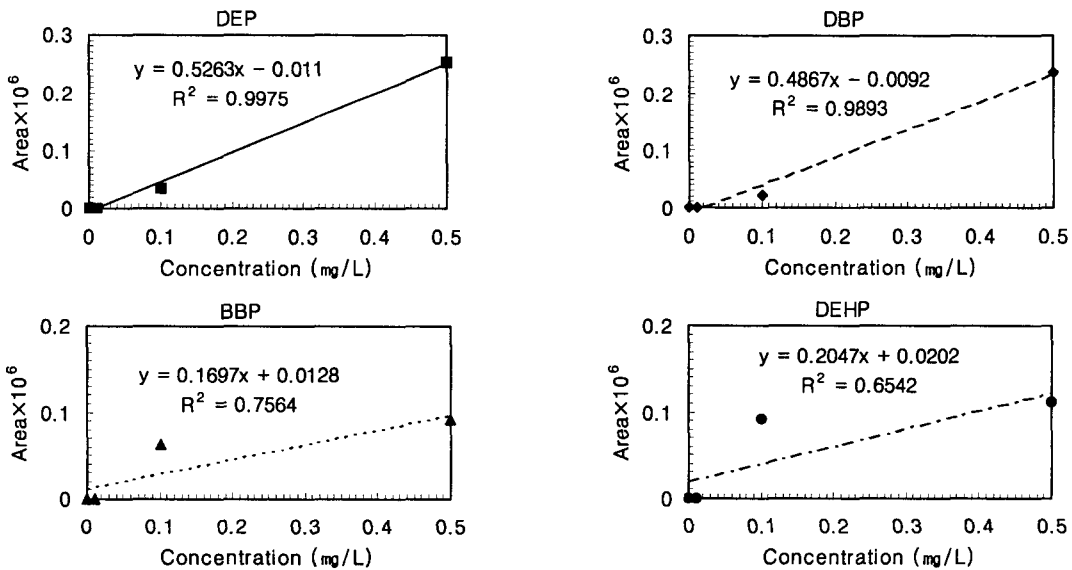


Fig. 1. Calibration curves for phthalate esters.(0.01~0.5 mg/L)

3.2. 용매별 SPE법의 회수율

용매별로 SPE column을 전처리하여 GC/MSD로 분석한 회수율을 Fig. 3에 나타내었다. 디클로로메탄은 모든 화합물에서 80~114%의 양호한 회수율을 보여주었고, n-헥산은 N.D~31%, 에틸아세테이트는 49~99%의 회수율을 보여 주었다. 용출용매로 디클로로메탄을 사용한 경우에 모든 화합물에서 회수율이 가장 높았다. 이는 phthalate esters가 중간 극성으로서 중간 극성인 디클로로메탄에 용출이 잘 된 것으로 판단된다.

가장 높은 회수율을 보인 디클로로메탄의 적정량

을 조사하기 위해 1, 2, 3, 4, 5mL 씩 용매량을 달리 하여 SPE column에 용출시킨 결과를 Fig. 4에 나타내었다.

Phthalate esters 항목 중에서 DEP와 BBP는 용매량 2mL에서 80% 이상의 회수율을 보여주고 있으나, DBP와 DEHP는 4mL 이상의 용매를 흘려주어야 80% 이상의 회수율을 보였다. 즉 SPE에 흡착된 phthalate esters를 용출하여 회수율을 80% 이상을 달성하기 위해서는 디클로로메탄의 양을 4 mL 이상으로 흘려주는 것이 바람직한 것으로 나타났다.

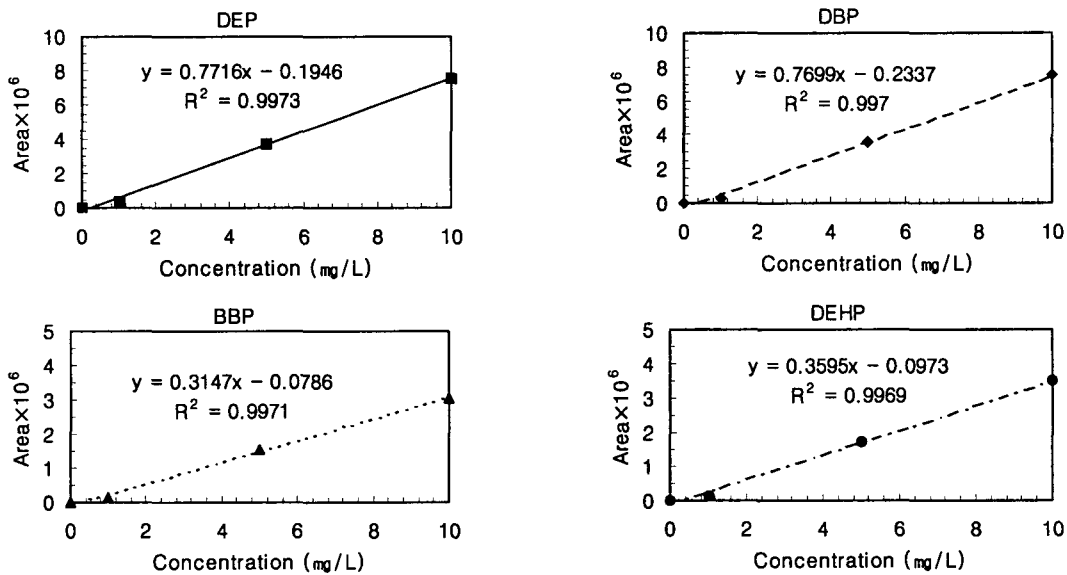


Fig. 2. Calibration curves for phthalate esters(1~10 mg/L).

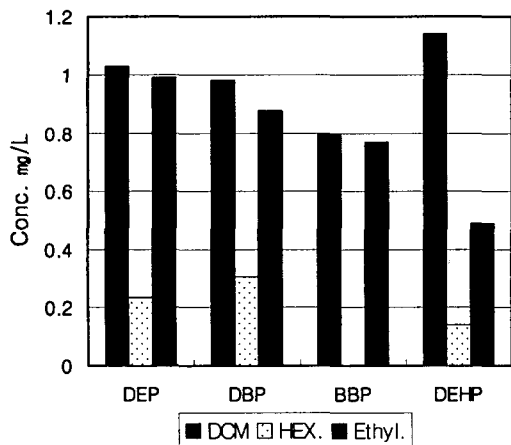


Fig. 3. Concentrations of phthalate esters after treating with solvents through the SPE column.

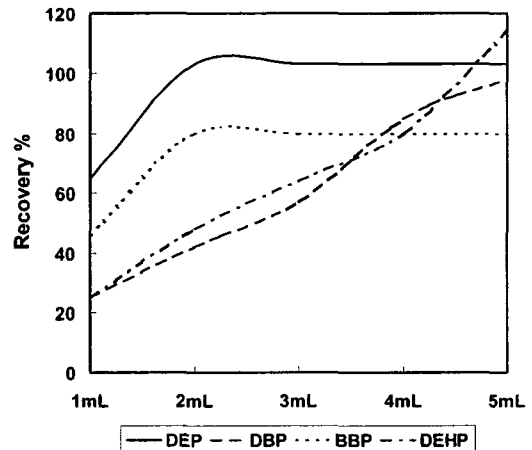


Fig. 4. Recovery rates of phthalate esters with the increase in dichloromethane volume.

Table 3. Comparison of LLE\* and SPE\*\* for recovery of phthalate esters

Method	Compound				
	DEP	DBP	BBP	DEHP	
LLE	Recovery(%)	71.2	99.6	102.0	115.0
	RSD***(%)	6.8	8.0	3.6	5.5
This study	Recovery(%)	103.0	98.0	80.0	114.0
	RSD(%)	6.2	8.1	5.0	7.8

\* LLE : Liquid-Liquid-Extraction  
 \*\* SPE : Solid-Phase-Extraction  
 \*\*\* RSD : Relative Standard Deviation

일반적으로 회수율이 70%이상이면 비교적 신뢰할 수 있는 분석결과를 얻을 수 있다고 판단되며 본 연구도 4가지 성분에 대하여 회수율을 분석한 결과 80~114%으로서 모두 70%이상의 회수율을 획득하였으며 S/N비도 10이상을 만족하였다.

다른 분석방법과의 비교분석을 위해 한국과학기술연구원(KIST)의 액액추출법(LLE)<sup>11)</sup>과 회수율 및 상대표준편차(RSD)를 비교한 결과는 Table 3에 나타내었다. DEP의 경우 본 연구의 회수율이 103%으로 KIST의 71.2%보다 상대적으로 높은 회수율을 나타내었으며 DBP와 DEHP의 경우는 두가지 방법 모두 비슷한 회수율을 나타내었다. 그러나 BBP의 경우는 본 연구가 80%로 KIST의 102%보다 낮은 것으로 나타났다. 두 방법은 각각의 항목에 대하여 상대표준편차가 10%내외로 비교적 양호한 결과를 나타내었다.

3.3. 하천수 분석

낙동강 고령지점의 하천수를 이용하여 phthalate esters 분석한 크로마토그램을 Fig. 5에 나타내었다. 검출농도는 DEP 0.10±0.05µg/L, DBP 0.21±0.08µg/L, DEHP 3.29±0.19µg/L으로 나타났다.

4. 결 론

phthalate esters를 분석하기 위해 고상추출법(SPE)을 변형한 분석방법에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) Phthalate esters의 Characteristic ions은 149, 177, 223, 206, 167m/z이었다.
- 2) 표준물질의 검량선은 저농도 구간과 고농도 구간에서 4가지 화합물 모두 직선성을 나타내고 있으나 BBP와 DEHP는 저농도 구간에서 직선성에서 다소 벗어났다.
- 3) SPE 컬럼의 용출용매로 디클로로메탄의 회수율이 가장 좋았으며, 용매량은 4mL가 적당하였다.

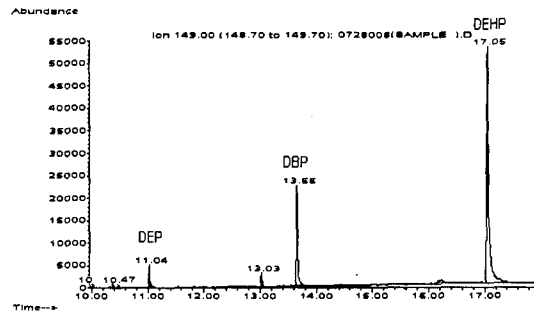


Fig. 5. EIC(Extracted Ion Chromatogram) of phthalate esters at koryong in the Nakdong river.

- 4) SPE법으로 전처리 할 경우 4가지 화합물에서 80%이상의 양호한 회수율을 나타내었으며 S/N비도 10이상을 만족하였다.
- 5) 본 분석방법은 양호한 정밀도를 나타내며 추출방법이 간편하고 검출한계도 좋은 분석방법으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Amdur, Casarett, and Doull, 1991, Toxicology, The Science of Poisons, 499pp.
- 2) IEH, 1995, Institute for Environment and Health, Leicester, UK.
- 3) WHO, 1996, Guidelines for drinking-water quality(2nd ed), WHO, Geneva, 917-949pp.
- 4) US EPA, 1996, Drinking Water Regulations and Health Advisories, EPA 822-B-96-002.
- 5) 국립환경연구원, 199, 내분비계장애물질의 측정 분석방법, 국립환경연구원, 219-231pp.
- 6) 명승운, 장윤정, 민혜기, 김명수, 2000, 수질 및 저질층의 프탈산 에스테르와 아디피산 분석, 한국분석과학회지, 5(13), 616-623.
- 7) Jara, S., C. Lysebo, T. Greibrokk, and E. Lundanesa, 2000, Determination of phthalates in water samples using polystyrene solid-phase extraction and liquid chromatography quantification, Analytica Chimica Acta, 407(1-2), 165-171.
- 8) Penalver, A., E. Pocurull, F. Borrull, and R. M. Marce, 2001, Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water, Journal of Chromatography, 922(1-2), 377-384.
- 9) Penalver, A., E. Pocurull, F. Borrull, and R. M. Marcea., 2000, Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase micro-extrac-

- tion and gas chromatography with mass spectrometric detection, Journal of Chromatography A , 872(1-2), 191-201.
- 10) EPA, 1994, Determination of organic compounds in drinking water by liquid-solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry(method 525.2) EPA.
- 11) 환경부, 1999, 수돗물에서의 미량유해물질 분석법 연구 및 함유실태조사(7차), 환경부.