

기체 크로마토그래피/질량분석기를 이용한 종이류 중 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A 정량

김 협*, 김 진 호*

국립상주대학교, TIC, *국립상주대학교, 식물자원학과

Sensitive Determination of Alkylphenols, Chlorophenols, and Bisphenol A using GC/MS-SIM in Paper Materials

Hyub Kim* and Jin-Ho Kim*

Technology Innovation Center, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

*Dept. of Plant Resources, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

ABSTRACT

The alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A were determined by gas chromatography/mass spectrometry-selected ion monitoring (GC/MS-SIM) mode followed by two work-up methods for comparison; isoBOC derivatization method and TBDMS derivatization method. Eleven phenols in paper samples were extracted with acetonitrile. Also, solid-phase extraction (SPE) with XAD-4 and subsequent conversion to isobutoxycarbonyl derivatives or *tert.*-butyldimethylsilyl derivatives for sensitive analysis with the selected ion-monitoring (SIM) mode. The SIM responses were linear with the correlation coefficient varying 0.9717~0.9995 (isoBOC derivatization), and 0.9842~0.9980 (TBDMS derivatization). The recoveries were 82.4~108.8% by area ratio of phenanthrene-d₁₀ vs bisphenol A-d₁₆. (isoBOC derivatization and TBDMS derivatization) The range of concentrations was respectively, 0.95~1.44 ng/g in 2,4-dichlorophenol, 1.01~1.17 ng/g in *t*-butylphenol, 2.17~5.84 ng/g in pentachlorophenol, 12.68~14.88 ng/g in nonylphenol and 30.84~153.72 ng/g in bisphenol A.

Key words : isoBOC derivatization, TBDMS derivatization

서 론

최근 현대사회의 환경문제는 전 세계적으로 심각한 문제로 대두되고 있으며, 인간 활동에 따른 환경 영향은 환경오염요인의 증대, 자연훼손의 심화, 확산, 자연생태계 균형파괴, 자연의 자정기능 무력화 및 인체의 내분비계에 장애를 일으키는 것으로 알려져 있다.

일명 “환경 호르몬”이라고 알려진 이들 “내분비계장애물질” (endocrine disrupting chemicals, EDCs)에 대한 분석평가 및 대체물질 개발연구가 국내에서도 활발히 진행되고 있다(한국 화학연구원, 1999).

“내분비계장애물질”의 세계규제 현황은 일본의 경우, 플라스틱 가소제로 사용되고있는 DEHP 등 프탈레이트류와 플라스틱 첨가제·불순물인 비스페놀 A 등의 페놀류 및 각종 산업용 물질, 환경오염물질, 농약, 중금속, 합성 여성호르몬, 식품첨가물,

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: 82-54-530-5149, E-mail: khlyj@sangju.ac.kr

식물성 유사호르몬으로 분류되어 140종 화합물이 일본 후생성에서 관리하고 있는 반면, 미국의 경우 확실 (known), 가능 (probable), 의심 (suspect) 화합물로 분류되어진 74종 화합물 (Illinois EPA 분류)을 관리하고 있다 (Illinois EPA Endocrine Disruptors, 1996; SPEED 98/JEA, 1998).

이러한 “내분비계장애물질” 중 생리활성이 큰 알킬페놀류, 클로로페놀류, 비스페놀 A는 식품포장재의 코팅이나 가스제 또는 식품포장용기의 재료 혹은 불순물로 혼입되어 2차적으로 식품과의 접촉으로 식품에 함유되어 경구를 통해 인체에 농축되거나 (Friend of the Earth, 2003) 호흡, 피부를 통해 직접적으로 흡수되어 농축된다 (Zakrzewski SF, 1991). 인체에 흡수되어진 생리활성이 큰 페놀류들은 모방, 봉쇄, 방아쇠, side effect의 작용기전으로 “내분비계장애물질”로 작용한다고 알려져 있다 (SPEED 98/JEA, 1998).

유럽에서는 식품포장재 중 식품에 대한 비스페놀 A의 전이한계를 최대 80 µg/kg로 설정하여 식품포장재 중 비스페놀 A의 최대 한계치를 3 µg/kg으로 설정하고 있다 (서울대학교 보건대학원 학술논집, 1999). 반면, 국내의 경우 식품포장재 기준은 “식품공전”에서 31종 합성수지 중 페놀수지와 멜라민 수지에서만 페놀 “용출규격”이 30 mg/l로 제한하고 있을 뿐이며, 식품포장재 중 식품에 전이되는 “내분비계장애물질”의 제한 기준은 없는 실정이다 (식품공전, 2002).

현대 생활이 복잡해지고, 신속성이 요구됨에 따라 식품의 포장재로 비닐 수지에서 일회용 종이류

를 선호하는 방향으로 전환되고 있으며, 식품과 직접 접촉하는 포장 종이류, 페스트푸드 포장종이류, 피부나 점막에 직접 접촉하는 화장지류 및 식품용 용기 세척 시 사용되는 종이류가 2000년 현재 국내 총 종이 생산량 670만톤 중 1백만 톤을 초과하여, 매년 평균 20%씩 증가하는 추세를 보이고 있다 (국내펄프 및 지류 생산 출하 재고현황, 2001). 종이류 중 페놀류의 혼입은 펄프제조, 원료조성, 초지제조 후 코팅 및 광택, 리와인더 후 재단 및 포장의 최종 제조과정 중 펄프제조 과정과 코팅하는 과정에서 종이류에 혼입되는 것으로 알려져 있다. 내분비계 장애를 일으키는 페놀류가 각 receptor와 세포에 작용하는 양이 ppt (part per trillion) 단위에서 작용하는 것을 고려할 때, 식품과 장기간 접촉하는 식품포장재 및 피부나 점막에 직접 접촉하는 화장지로 사용되는 종이류에 대한 극 미량 수준에서 “내분비계장애물질”로 규정 된 생리활성이 큰 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A에 대한 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 줄일 수 있는 분석법의 개발이 시급한 실정이다.

환경시료 중 알킬페놀류 (Taizo *et al.*, 1999; Mira *et al.*, 2002; Mira *et al.*, 2001), 클로로페놀류 (Mira *et al.*, 2002; Wissiack *et al.*, 2002; John *et al.*, 1997; Puig *et al.*, 1997)와 비스페놀 A (Holger *et al.*, 2001; Shin *et al.* 2001; Mira *et al.*, 2002)의 정량을 위해서 GC와 LC에 MS 혹은 HRMS (high-resolution MS) (EPA method 625, 1976; Lee *et al.*, 1984; Lee *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1989; Yergey *et al.*, 1990; Boyd *et al.*, 1994; Moder *et al.*, 1997)를 결합하여 이들 물질

Table 1. Derivatives of phenols that have been used for gas chromatographic separation

Derivatives of phenols	Advantage	Disadvantage
Acyl	1) ECD sensitivity good	1) selectivity poor 2) reproducibility poor
Benzyl	1) ECD sensitivity good	1) large amount of interfering substances 2) selectivity poor 3) reproducibility poor
Alkylsilyl	1) FID sensitivity good 2) GC/MS chromatographic property very good 3) interference effect small 4) reproducibility good	1) selectivity poor
Alkyloxycarbonyl	1) selectivity very good 2) reproducibility good 3) more retained time than TMS derivatives or TBDMS derivatives	1) interference effect

들을 선택적이고 민감하게 분석하는 것이 보고되었다. 이중 GC/MS로 분석하는 것이 가장 일반적이며, GC/MS로 분석시 클로로페놀류의 낮은 휘발성과 비스페놀 A와 같이 극성이 강한 hydroxyl기가 두 개있어 분석시 발생하는 낮은 감도와 peak 끌림 현상을 극복하고자 alkylsilylation (Fell *et al.* 1976; Heberer *et al.*, 1997; 김 등, 2002) acylation (Achilli *et al.*, 1995; Masque *et al.*, 1998) benzylation (Johnson *et al.*, 1973)과 alkyloxycarbonylation (Kim *et al.*, 2000; 김 등, 2002; 김 등, 2002) 유도체화 반응을 이용하여 비극성 기능기로 전환하여 검출한계를 낮추고 있다 (Table 1).

환경시료 분석시 재현성이 우수한 silylation과 alkyloxycarbonylation인 경우, silylation은 trimethylsilyl (TMS) 유도체와 TMS 유도체보다 수분에 안정한 *tert.*-butyldimethylsilyl (TBDMS) 유도체를 가장 많이 이용하고 있으며, silyl 유도체보다 상대적으로 머무름 시간이 길고 phenolic-OH와 선택적으로 반응하는 alkyloxycarbonylation은 isobutyloxycarbonyl (isoBOC) 유도체를 가장 많이 이용하고 있다.

본 연구에서는 TBDMS 유도체화 방법과 isoBOC 유도체화 방법을 상호 보완적으로 사용하여, 종이류에 대한 극미량 수준에서 (ppb 수준) “내분비계장애물질”로 규정된 생리활성이 큰 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A에 대한 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 줄이고 정확한 정량분석을 하고자 하였다.

실험 및 방법

1. 시약

본 연구에서 사용된 모든 용매는 J. T. Baker사 (Phillipsburg, NJ, USA)의 잔류 농약 분석용을 사용하였으며, 분석 대상 물질 9종의 표준물질과 내부 표준물질로 사용한 phenanthrene-*d*₁₀, bisphenol A-*d*₁₆는 Sigma-Aldrich사 (Milwaukee, WI, USA)로부터 구입하였다. 4-*n*-Hexylphenol 및 4-*n*-heptyphenol은 TCI사 (Tokyo, Japan)와 Acros사 (Belgium)에서 구입하였다.

유도체화 시약은 N-methyl-N-(*tert.*-butyl-di-

methylsilyl)-trifluoroacetamide (MTBSTFA) 용액을 Pierce사 (Rockford, IL, USA)에서, isobutylchloroformate (isoBCF) 용액은 Acros사 (Belgium)로부터 구입하였으며, triethylamine (TEA)은 Junsei (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

고형 흡착제로는 페놀류에 대하여 흡착력이 우수하고 탈착이 용이한 것으로 판명된 (김 등, 2002) 20~60 mesh의 AMBERLITE XAD-4수지를 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 종이시료

식품과 피부의 직접 접촉이 있는 키친 타올, 종이 컵, 햄버거 종이와 두루마리 화장지 4종의 종이류를 선택하였다.

키친 타올의 경우 시중에서 가장 많이 판매되는 서로 다른 3개 제조사의 제품을 구입하였으며, 종이컵의 경우 5개 제조사의 종이컵을 구입하였다. 햄버거 종이 경우는 5개 상호의 햄버거를 각각 구입하여 포장 종이를 취하였으며, 두루마리 화장지는 5개 제조사의 두루마리 화장지를 구입하였다.

각각의 종이시료는 각각 1cm² 이하의 크기로 세절한 후, 각 종이 종류에 따라 제조사 별로 동일한량을 취하여 각 종이 종류별로 균일하게 혼합한 후 소분하여 사용하였다.

3. 페놀 표준원액 및 내부 표준원액 조제

11가지의 페놀 표준물질들 각각을 1 mg/ml의 농도가 되도록 아세트니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후 각각의 원액에서 일정량을 취하고 희석시켜 50 µg/ml 농도의 페놀 혼합 표준용액을 조제하였다. 표준용액은 0°C 이하의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. phenanthrene-*d*₁₀과 비스페놀 A-*d*₁₆는 1 mg/ml의 농도가 되도록 아세트니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후, 각각 100 µg/ml와 50 µg/ml의 농도가 되도록 아세트니트릴에 용해시켜 내부표준용액으로 사용하였다.

4. 실제 종이류 시료 분석실험

각각의 세절된 종이시료 40 g에 종이시료가 충분히 담가지도록 아세트니트릴 700 ml와 비스페놀 A-*d*₁₆ 2 µg을 잘 섞은 후, 초음파 진탕기를 이용하

여 30분 동안 2회 추출하였다. 종이류 표면에 인쇄된 다양한 색소 등 불순물과 동시에 추출된 추출액을 거름종이에 통과시켰다. 추출액에 TEA 1 ml를 첨가하여 evaporator를 이용하여 감압 건조한 후, 건조물을 pH 2 물 10 ml로 완전 용해시킨 다음, 아세토니트릴 20 ml, 메탄올 20 ml, 증류수 20 ml와 pH 2 물 20 ml로 세척한 0.5 g XAD-4 컬럼에 분당 0.5 ml의 유속으로 통과할 수 있도록 하였다. 통수가 끝난 후 *n*-헥산 50 ml로 XAD-4 컬럼에 통과시키고 통과한 *n*-헥산은 버린 후, 고체상 추출 장치 (solid-phase extractor (IST, UK))를 이용하여 XAD-4 컬럼에 아세토니트릴 10 ml를 분당 0.5 ml의 속도로 용출시켰다. 용출액을 각각 5 ml씩 반으로 소분하여 isoBOC 유도체화와 TBDMS 유도체화한 후 GC/MS-SIM으로 분석하였다.

5. blank 실험

종이시료 40 g을 제외한 아세토니트릴 700 ml에 비스페놀 A-d₁₆ 2 µg를 첨가한 후, 4. 실제 종이류 시료 분석실험과 동일하게 전처리하여 GC/MS-SIM으로 분석하였다.

6. 화학 유도체 방법

1) isoBOC 유도체

위의 전처리 과정을 거친 용출액 5 ml를 테프론 코팅된 마개를 지닌 2 ml reacti-vial (Pierce Co.,

USA)에 triethylamine 40 µl를 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 농축을 하면서 옮긴다. 약 40 µl로 농축한 후, 다시 triethylamine 30 µl를 첨가한 후 isobutylchloroformate 20 µl를 첨가한다. 이 용액을 40 ~ 250°C까지 조정할 수 있는 derivatization reactor (Pierce Co., USA)에 넣고 100°C에서 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식힌다. 유도체가 완료된 후 100 µg/ml의 phenanthrene-d₁₀ 10 µl를 첨가하였다.

2) TBDMS 유도체

위의 전처리 과정을 거친 용출액 5 ml를 테프론 코팅된 마개를 지닌 2 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 triethylamine 50 µl를 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 농축을 하면서 옮긴다. 약 50 µl로 농축한 후, N-methyl-N-(*tert.*-butyl-dimethylsilyl)-trifluoroacetamide 40 µl를 첨가한다. 이 용액을 40 ~ 250°C까지 조정할 수 있는 derivatization reactor (Pierce Co., USA)에 넣고 100°C에서 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식힌다. 유도체가 완료된 후 100 µg/ml의 phenanthrene-d₁₀ 10 µl를 첨가하였다.

7. 표준검정곡선의 작성

검정 범위는 각 물질별로 표준물질을 혼합한 5개의 검정용 표준 혼합물(5, 20, 100, 200, 400 ng)을 만들었다. 이 혼합물에 bisphenol A-d₁₆ 1 µg를 넣고, 유도체화 방법에 따라 isoBOC 유도체 혹은 TBDMS 유도체화하고 내부 표준물질로 사용한

Table 2. Selected ion groups for phenols in SIM mode

Compound	Time range (min)		Selected ion (m/z)	
	isoBOC	TBDMS	isoBOC	TBDMS
2,4-dichlorophenol	13.50~16.50	12.50~16.00	164, 162	221, 219
4- <i>t</i> -butylphenol	13.50~16.50	12.50~16.00	150, 135	264, 151
4- <i>n</i> -butylphenol	13.50~16.50	12.50~16.00	150, 107	264, 207
phenanthrene-d ₁₀	13.50~16.50	12.50~16.00	188	188
4- <i>n</i> -pentylphenol	16.50~18.80	12.50~16.00	164, 107	278, 221
4- <i>n</i> -hexylphenol	16.50~18.80	12.50~16.00	178, 107	292, 235
4- <i>t</i> -octylphenol	16.50~18.80	16.00~20.50	235, 135	320, 249
4- <i>n</i> -heptylphenol	16.50~18.80	16.00~20.50	192, 107	306, 249
pentachlorophenol	18.80~26.00	20.50~26.00	268, 266	358, 357
nonylphenol	18.80~26.00	16.00~20.50	320, 220	334, 277
			149, 135	263, 249
4- <i>n</i> -octylphenol	18.80~26.00	16.00~20.50	206, 107	320, 263
bisphenol A-d ₁₆	26.00~30.00	20.50~26.00	242, 224	470, 453
bisphenol A	26.00~30.00	20.50~26.00	228, 213	456, 441

phenanthrene-d₁₀ 용액 1 µg을 첨가 한 후 GC/MS-SIM로 분석하여 검정곡선을 얻었다.

8. 분석기기

11종 페놀류를 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-5MS cross linked 5% phenyl methylsilicon fused-silica capillary column (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 µm 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 µl를 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 270°C, 280°C, 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, 이들의 감도를 높이기 위하여 머무름 시간(retention time)에 따라 isoBOC 유도체화는 4개의 그룹으로 TBDMS 유도체화는 3개의 그룹으로 나누어 검색하였다. Table 2은 SIM 방법에서 사용한 선택 이온들을 실었다.

9. 계산

직선선 실험 및 종이류에서 검출된 페놀류들은 I.S.로 사용한 phenanthrene-d₁₀과 각 페놀간의 상대적 피이크 면적 비를 이용하여 직선성과 농도를 계산하였다.

IsoBOC 유도체와 TBDMS 유도체 각각의 blank 실험 값으로 전처리 과정 및 GC/MS에서 발생하는 불순물 peak를 감쇄하여 농도를 보정하였다.

종이류의 회수율은 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d₁₀ 면적과 비스페놀 A-d₁₆ 면적 간의 면적 비를 이용하여 회수율을 계산하였다.

결과 및 고찰

본 실험에서 11가지 페놀류에 대한 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체의 GC/MS 분석한 결과를 Fig. 1에 실었다.

이전 보고한 연구와 같이(김 등, 2002) isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체인 경우 모두 좋은 상호보완적인 감도를 보여주고 있으며, 페놀류에 대한 전자충돌방식(electron impact, EI)에 의한 질량 스펙트럼은, isoBOC 유도체인 경우 alkyloxycarbonyl기가 떨어져 나간 후, 알킬페놀의 경우 benzylic 위치의 알킬기가 떨어져 나간 이온이 특징적인 peak로 나타난다. 반면, TBDMS 유도체인 경우에는 tert.-butyl기와 여기서 떨어져 나온 메틸기의 [M-57]⁺와 [M-15]⁺의 특징적인 peak로 나타난다.

본 연구에서는 TBDMS 유도체화 방법과 isoBOC 유도체화 방법을 상호 보완적으로 사용하여, 다양한 종이류에 대한 극미량 수준에서(ppb 수준) “내분비계장애물질”로 규정된 생리활성이 큰 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A에 대한 정확한 정량분석을 하고자 하였다.

페놀류 화합물들의 회수율을 높이고자 고체상 추출 방법(SPE)을 사용하였으며, 고품 흡착제로는 페놀류에 대하여 흡착력이 우수하고 탈착이 용이한 것으로 판명된(김 등, 2002) 20~60 mesh의 AMBERLITE XAD-4 수지를 사용하였다.

각각의 종이류 시료에 대한 isoBOC 유도체화와 TBDMS 유도체화하여 분석한 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. Fig. 2에서 보듯이 예비실험 단계에서 종이류 시료에 대하여 액체-액체 추출 후, 농축하여 각각 isoBOC 유도체화와 TBDMS 유도체화한 다음, GC/MS-SIM 방법을 이용하여 선택한 이온만 정량하는 방법은 종이 표면에 인쇄된 잉크 등 불순물로 인하여 적합하지 않았으며, 액체-액체 추출 후 XAD-4를 이용하여 불순물을 제거하는 과정을 추가하여 다양한 종이류 시료에 대하여 선택적으로 페놀류만을 추출하여 분석할 수 있었다.

종이류 시료에 대한 isoBOC 유도체화와 TBDMS 유도체화하여 분석한 각각의 분석방법의 회수율은 각각의 종이류 시료에서 11종의 페놀이 없는 표준 종이시료를 선택할 수 없었으므로 종이시료에 대한 11종 페놀 개별적인 회수율을 구할 수 없었다.

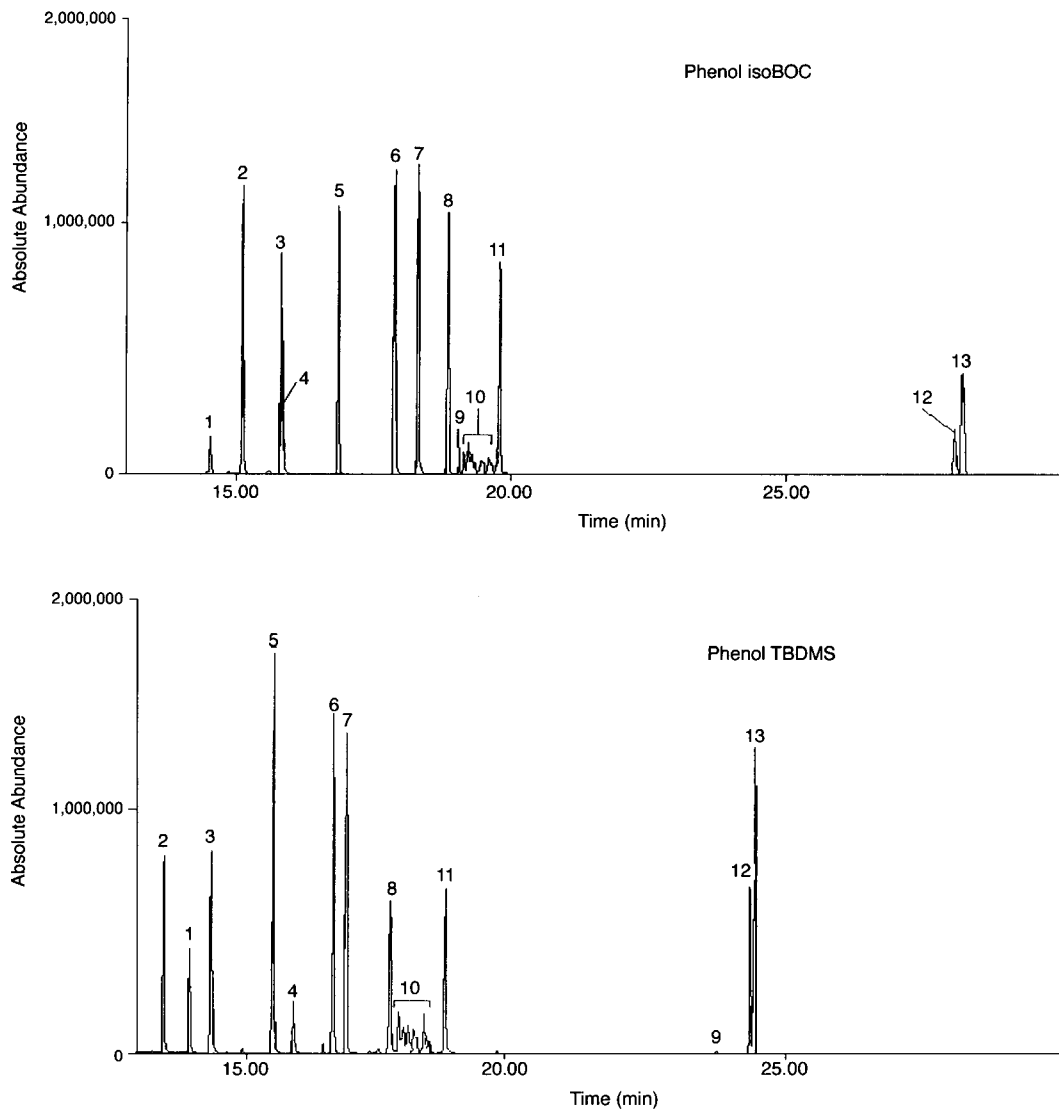


Fig. 1. Total ion chromatograms of 11 phenols as isoBOC derivatized phenols (upper trace) and TBDMS derivatized phenols (lower trace). Peaks identity as follow: 1. 2,4-dichlorophenol, 2. 4-*t*-butylphenol, 3. 4-*n*-butylphenol, 4. phenanthrene- d_{10} (internal standard), 5. 4-*n*-pentylphenol, 6. 4-*n*-hexylphenol, 7. 4-*t*-octylphenol, 8. 4-*n*-heptylphenol, 9. pentachlorophenol, 10. nonylphenol, 11. 4-*n*-octylphenol, 12. bisphenol A- d_{16} (internal standard), 13. bisphenol A.

다만, 내부 표준물질인 비스페놀 A- d_{16} 와 syringe 내부표준물질인 phenanthrene- d_{10} 이 isoBOC 유도체인 경우 이온 크로마토그램 m/z 224와 m/z 188에서 잘 나타났으며, TBDMS 유도체인 경우 m/z 453과 m/z 188에서 잘 나타났다. 이들의 내부 표준물질간의 피크 면적 비를 계산하여 전체적인 회수율을 측정하여 82.4~108.8%의 결과를 얻었으

며, 각각의 방법은 ppb (part per billion) 수준에서 모두 US EPA에서 권고한 85% 정도의 회수율을 보였다 (Table 4).

페놀류를 정량분석을 위하여 각각의 페놀을 10~400 ng 범위에서 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체에 대해서 GC/MS-SIM 방식으로 분석하였다. 이때 각 화합물의 이온 크로마토그램에서 나타난

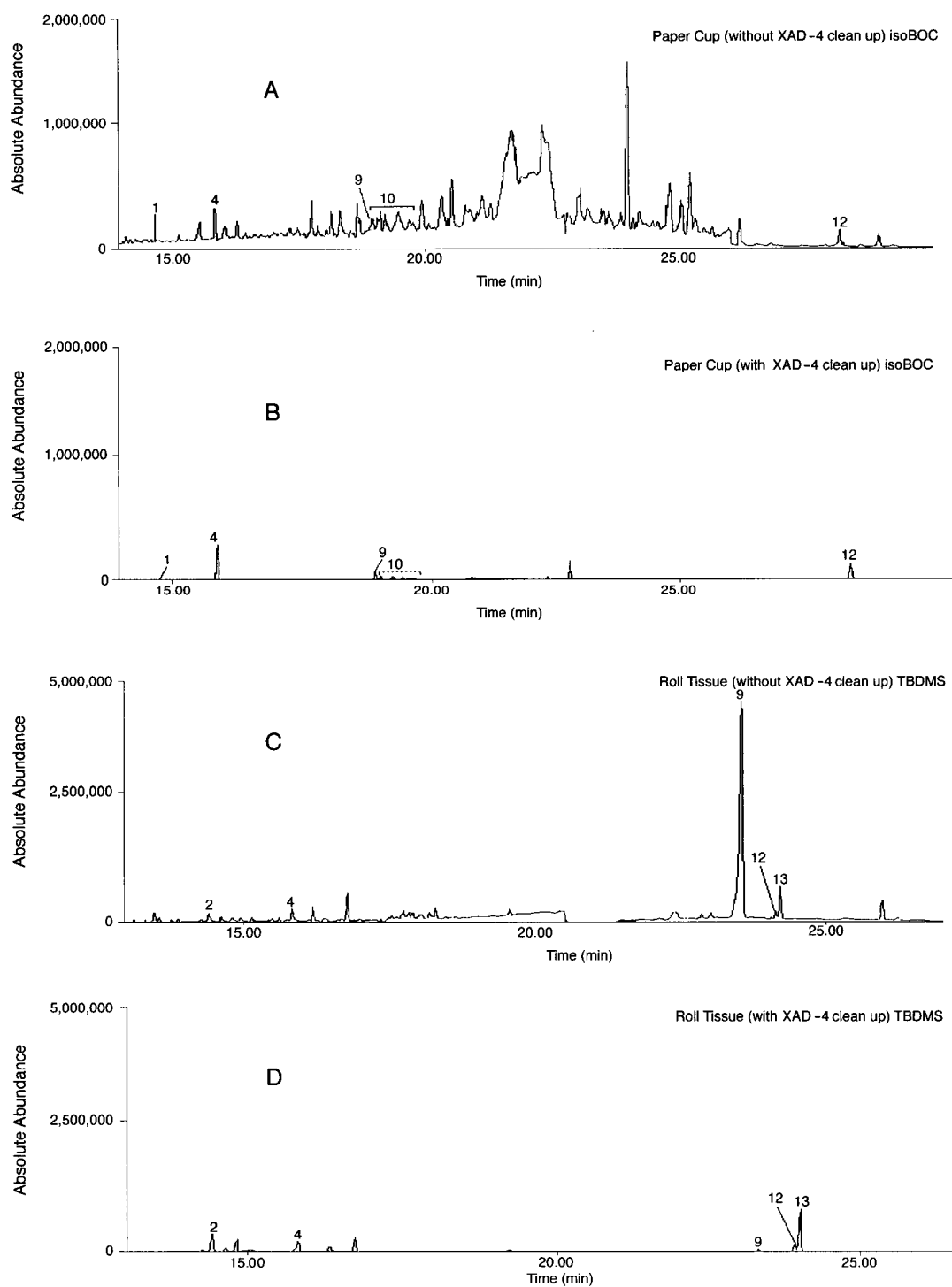


Fig. 2. Total ion chromatograms of the extracts of paper samples after isoBOC derivatization (A, B) and after TBDMS derivatization (C, D). Peaks identity as follow: 1. 2,4-dichlorophenol, 2. 4-*t*-butylphenol, 4. phenanthrene- d_{10} (internal standard), 9. pentachlorophenol, 10. nonylphenol, 12. bisphenol A- d_{16} (internal standard), 13. bisphenol A.

Table 3. Linear regression analysis of relative response against relative weights of phenols as isoBOC and TBDMS derivatives

Compound	isoBOC			TBDMS		
	Regression line ^a		Correlation coefficient	Regression line		Correlation coefficient
	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>r</i>	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
2,4-dichlorophenol	0.0003	-0.0054	0.9717	0.0004	0.0049	0.9978
4- <i>t</i> -butylphenol	0.0015	0.0027	0.9920	0.0006	0.0011	0.9922
4- <i>n</i> -butylphenol	0.0009	0.0013	0.9961	0.0012	0.0017	0.9885
4- <i>n</i> -pentylphenol	0.0014	-0.0012	0.9962	0.0018	0.0030	0.9980
4- <i>n</i> -hexylphenol	0.0016	0.0011	0.9995	0.0017	-0.0066	0.9938
4- <i>t</i> -octylphenol	0.0022	-0.0114	0.9863	0.0034	0.8175	0.9980
4- <i>n</i> -heptylphenol	0.0012	-0.0055	0.9915	0.0016	-0.0096	0.9945
pentachlorophenol	5E-6	-7E05	0.9833	0.0003	0.0042	0.9922
nonylphenol	0.0004	-0.0034	0.9931	0.0007	0.0075	0.9842
4- <i>n</i> -octylphenol	0.0016	-0.0106	0.9888	0.0012	-0.0062	0.9905
bisphenol A	0.0020	-0.0344	0.9774	0.0013	-0.0148	0.9918

^a*m* = Slope = relative mass response = mean peak area ratio of phenol x mass of I.S./mass of phenol; *b* = *y*-intercept; *r* = correlation coefficient
Calibration range; 5 ~ 400 ng

Table 4. Concentration of target compounds in paper samples and recovery

Compound	isoBOC				TBDMS			
	Paper cup	Lichen towel	Roll tissue	Hamburger paper	Paper cup	Kitchen towel	Roll tissue	Hamburger paper
	value ^a (% rsd)	value (% rsd)	value (% rsd)	value (% rsd)	value (% rsd)	value (% rsd)	value (% rsd)	value (% rsd)
2,4-dichlorophenol	1.15 (1.47)	1.22 (8.31)	ND ^b	ND	0.95 (3.74)	1.44 (6.22)	ND	ND
4- <i>t</i> -butylphenol	ND	ND	1.17 (6.55)	ND	- ^c	ND	1.01 (6.25)	ND
4- <i>n</i> -butylphenol	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	ND
4- <i>n</i> -pentylphenol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4- <i>n</i> -hexylphenol	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND
4- <i>t</i> -octylphenol	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND
4- <i>n</i> -heptylphenol	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	ND
pentachlorophenol	2.17 (5.50)	ND	5.84 (11.34)	ND	75.53 (18.65)	38.37 (11.73)	21.54 (10.36)	15760.74 (7.81)
nonylphenol	12.68 (13.78)	14.88 (20.56)	ND	ND	13.08 (11.76)	14.18 (12.88)	ND	ND
4- <i>n</i> -octylphenol	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
bisphenol A	ND	ND	134.18 (6.16)	32.99 (9.33)	ND	ND	153.72 (9.47)	30.84 (4.61)
recovery ^d (% rsd)	108.8 (4.6)	91.8 (10.0)	90.6 (5.5)	82.4 (4.7)	100.4 (6.1)	101.3 (2.6)	98.0 (2.2)	91.9 (1.5)

^avalue ; ng/g, ^bND ; not detected, ^c- ; matrix peak

^dA paper spiked with bisphenol A-d₁₆ (1 μg/20 g), ^a,^bI.S. : phenanthrene-d₁₀

피이크와 내부표준물질인 phenanthrene-d₁₀의 피이크의 면적 비로 나타내어 최소자승법으로 검정곡

선을 작성하여 Table 3에 실었다. Table 3에서 보듯이, 위 농도범위에서 모든 페놀류는 isoBOC 유도체

화 방법인 경우에는 0.9717~0.9995 이었으며, TBDMS 유도체화 방법인 경우에는 0.9842~0.9980의 좋은 직선성을 보여 주었다. 특히 노닐페놀의 경우, 여러 개의 이성질체 중 피이크 크기가 큰 6개의 피이크의 합으로 정량된 결과이다.

위 실험 방법을 국내 화장지와 식품 포장 종이류 시료에 적용하여 얻은 결과가 Table 4이다. Table 4은 국내에서 가장 많이 시판되는 3개 제조사의 키친 타올, 5개 제조사의 종이컵, 5개 상호의 햄버거 종지와 5개 제조사의 두루마리 화장지 종이시료에 대한 각 종이 종류별 11종의 페놀에 대한 분석결과를 나타내었다.

종이시료 40g을 제외한 blank 실험을 실행하여, 전처리 과정 및 GC/MS에서 발생하는 불순물 peak를 감쇄하여 농도를 보정하였다.

Table 4에서 보듯이 4-*t*-부틸페놀, 4-*n*-부틸페놀, 4-*n*-헥실페놀, 4-*t*-옥틸페놀, 4-*n*-헵틸페놀은 isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 상호 보완적으로 방해 물질을 피할 수 있었다. 펜타 클로로페놀의 경우 isoBOC 유도체화 분석방법에서는 종이컵 2.17 ng/g과 롤티슈 5.84 ng/g의 정량 값이 나온 반면, TBDMS 유도체화 분석방법에서는 4종의 종이류 시료에서 21.54~15,760.74 ng/g 값이 나왔다. 이러한 결과는 환경시료 중 다양한 기능기와 반응하는 TBDMS 유도체화 반응이 종이류 시료 유도체화 반응 시 방해물질과 반응하여 발생하는 false positive peak의 영향으로 사료된다. 2,4-디클로로페놀, 노닐페놀, 4-*n*-옥틸페놀과 비스페놀 A의 경우에는 isoBOC 유도체화 분석방법은 2,4-디클로로페놀이 종이 컵과 키친 타올에서 1.15 ng/g과 1.22 ng/g로 나온 반면, TBDMS 분석방법의 경우 0.95 ng/g과 1.44 ng/g로 상호 정량 값이 10% 이내의 정확한 정량치를 얻을 수 있었으며, 노닐페놀, 4-*n*-옥틸페놀과 비스페놀 A 또한 각각의 종이시료에서 상호 정량 값이 10% 이내의 정확한 정량 값을 얻을 수 있었다. 햄버거 종지와 롤티슈에서 비스페놀 A의 경우, 각각 isoBOC 유도체화 분석방법은 32.99 ng/g과 134.18 ng/g로 나온 반면, TBDMS 분석방법의 경우 30.84 ng/g과 153.72 ng/g로 유럽에서 정한 비스페놀 A의 최대 한계치 3 µg/kg을 10배에서 50배 정도 초과하는 결과 값으로, in vitro 실험시 human breast call에 2~5 ppb에서 “내분비계장애”가 발생한다는 보고(Bisphenol

A, 2003)를 고려할 때 매우 심각한 결과 값이다. 햄버거가 제조 후 판매되는 상황을 고려할 때, 매장에서 판매 시 40~45°C 오븐에서 보관하다 판매하는 방식으로 다른 종이류에 비하여 식품으로의 전이가 더욱 용이할 것으로 사료된다.

이러한 isoBOC 유도체화 방법과 TBDMS 유도체화 방법은 ppb 수준의 낮은 검출 한계에서 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 줄이고 종이류 시료에 대한 정확한 정량분석을 할 수 있었다.

결 론

종이류 시료중 내분비장애물질로 알려진 11가지 페놀류를 용매추출 후, SPE로 전처리하여 isoBOC 유도체화 분석방법 방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 으로 낮은 검출 한계(ppb 수준)에서 성공적으로 분석할 수 있었다. 실제 종이류 시료분석에 있어서 isoBOC유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법에서 82.4~108.8%의 높은 회수율을 보여주었다. 종이 표면에 인쇄된 잉크 등 매트릭스의 영향 큰 종이시료의 경우, isoBOC 유도체화 분석방법은 phenolic -OH와 선택적으로 반응하고, SIM 방식을 사용시 benzenic cleavage에 의해 쪼개진 이온이 페놀 자체의 분자량을 가지면서 비유도체화된 페놀류 보다 더무름 시간이 뒷 쪽에서 검출되므로 상대적으로 방해물질에 의한 선택성을 높일 수 있는 반면, TBDMS 유도체화 분석방법은 SIM 방식을 사용하므로써 분자량이 높은 이온을 선택함으로써 방해 물질에 대한 선택성을 높일 수 있었다.

실제 종이류 시료 중 4-*t*-부틸페놀, 4-*n*-부틸페놀, 4-*n*-헥실페놀, 4-*t*-옥틸페놀, 4-*n*-헵틸페놀에서 보듯이 isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 상호 보완적으로 방해 물질을 피할 수 있었으며, 펜타클로로페놀의 경우 TBDMS 유도체화 시 방해물질과 반응하여 발생하는 false positive peak에 의하여 isoBOC 유도체화 분석방법의 결과 값보다 10배에서 7,000배의 매우 큰 차이를 보였다. 2,4-디클로로페놀, 노닐페놀, 4-*n*-옥틸페놀과 비스페놀 A의 경우에는 isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 분석방법의 경우 상호 정량 값이 10% 이내의 정확한 결과 값을 얻을 수 있었

다.

결과 값을 근거로 햄버거 종이와 물 티슈에서 비스페놀 A의 경우, 유럽에서 정한 비스페놀 A의 최대 한계치를 10배에서 50배 정도 초과하는 결과 값으로 in vitro 실험시 human breast cell에서 “내분비계장애”가 발생한다는 보고(Bisphenol A, 2003)를 고려할 때 매우 심각한 결과 값이라고 사료된다.

IsoBOC 유도 방법과 TBDMS 유도체 방법을 상호 보완적으로 적용함으로써 종이류 시료에서 극미량의 내분비계장애 페놀들을 분석함에 있어서 낮은 농도(ppb)에서 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 줄일 수 있었다. 또한 실제 현장에서 환경 시료의 rapid profiling analysis를 하여 환경 모니터링 및 risk assessment의 분석방법으로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 국내펄프 및 지류 생산 출하 재고현황, http://www.hansolpaper.co.kr/report_data.
- 김 협, 홍종기, 김용화, 김경례. 기체 크로마토그래피/질량 분석기를 이용한 field-screening 적용을 위한 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A의 isoBOC 유도체, TBDMS 유도체와 US EPA 방법의 비교, 분석과학회지 2002; 15(3): 196-213.
- 김 협, 홍종기, 김용화, 김경례. 환경시료로부터 미량 페놀류의 분석을 위한 isoButoxycarbonyl 유도체화 분석방법 적용 및 최적화, 한국환경독성학회지 2002; 17(1): 37-51.
- 내분비계장애물질(EDC : 환경호르몬) 규제대응 종합기술 개발전략 Workshop 자료집, 1999.
- 서울대학교 보건대학원 학술논집, 서울대학교 보건대학원, 1999.
- 식품공전, 한국식품공업협회, 2002.
- Achilli G, Celrino GP, d'Eril GM 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, 1995; 697: 357-362.
- Bisphenol A. <http://www.foe.co.uk/>.
- Boyd ThJ. 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., 1994; 662: 281-292.
- EPA method 625, Base/neutral and acids. <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test17>.
- Fell V and Lee CR. Determination of urinary monohydric and dihydric phenols by gas chromatography of the acetate and TMS derivatives, J. Chromatogr. 1976; 121: 41-47.
- Friend of the Earth. <http://www.foe.co.uk/pubsinfo/briefings/html/19971215145307.html>.
- Heberer H and Stan HJ. Detection of more than 50 substituted phenols as their t-butylidimethylsilyl derivatives using gas chromatography-mass spectrometry, ANALYTICA CHIMICA ACTA 1997; 341: 21-34.
- Holger M and Karlheinz B. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range, Environ. Sci. Technol. 2001; 35: 3201-3206.
- Illinois EPA Endocrine Disruptors Strategy. <http://www.nihs.gov/hse/environ/illiepatable.html>.
- John AF. Accelerated solvent extraction : An evaluation for screening of soils for selected U.S. EPA semivolatile organic priority pollutants, Environ. Sci. Technol. 1997; 31: 1120-1127.
- Johnson LG. Formation of pentafluorobenzyl derivatives for the identification and quantitation of acid and phenol pesticide residues. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1973; 56: 1503.
- Kim KR and Kim H. Gas chromatographic profiling and screening for phenols as isobutoxycarbonyl derivatives in aqueous samples. J. Chromatogr. A, 2000; 866: 87-96.
- Lee HB, Stokker YD and Chau ASY. Analysis of Phenols by Chemical Derivatization. V. Determination of Pentachlorophenol and 19 Other Chlorinated Phenols in Sediments, J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM. 1987; 70(6): 1003-1008.
- Lee HB, Weng LD and Chau ASY. Chemical Derivatization Analysis of Pesticide Residues. IX. Analysis of Phenol and 21 Chlorinated Phenols in Natural Waters by Formation of Pentafluorobenzyl Ether Derivatives, J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM. 1984; 67(6): 1086-1091.
- Lee HB, You RLH and Fowlie PJA. Chemical derivatization Analysis of Phenols. Part VI. Determination of chlorinated phenolics in Pulp and paper effluents, J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM. 1989; 72(6): 979-984.
- Masque N, Pocurull E, Marce RM and Borrull F. Determi-

- nation 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* 1998; 47: 176-182.
- Mira P, Ethel E, Maria J, López de A and Damiá B. Analysis and environmental levels of endocrine-disrupting compounds in freshwater sediments. *trends in analytical chemistry*, 2001; 20: 637-648.
- Mira P, Ethel E, Maria J, López de A and Damiá B. Recent advances in the mass spectrometric analysis related to endocrine disrupting compounds in aquatic environmental samples, *J. Chromatogr. A*, 2002; 974: 23-51.
- Moder M, Schrader S, Franck U and Popp P. Determination of phenolic compounds in water by solid-phase micro extraction, *Fresenius J. Anal Chem.* 1997; 357: 326-332.
- Puig D, Silgoner I, Grasserbauer M and Barcel D. Part-per-Trillion level determination of priority methyl-, nitro-, and chlorophenols in river water samples by automated on-line liquid/solid extraction followed by liquid chromatography/mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionization and ion spray interfaces, *Anal. Chem.* 1997; 69: 2756-2761.
- Shin H, Park C, Park S and Pyo H. Sensitive determination of bisphenol A in environmental water by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection after cyanomethylation, *J. Chromatogr. A*, 2001; 912: 119-125.
- SPEED 98/JEA. http://www.env.go.jp/en/pol/speed_98/sp98.pdf.
- Taizo T, Akihiko T, Mihoko K, Hiroyuki H and Kazue M. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of 4-nonylphenols and 4-tert-octylphenol in biological samples, *J. Chromatogr. A*, 1999; 723: 273-279.
- Wissiac R and Rosenberg E. Universal screening method for the determination of US environmental protection agency phenols at the lower ng l⁻¹ level in water samples by on-line solid-phase extraction-high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry within a single run, *J. Chromatogr. A*, 2002; 963: 149-157.
- Yergey AL Edmonds CG, Lewis IAS. and Vestal ML. *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry*, Plenum Press, New York, 1990.
- Zakrzewski SF. *Principles of Environmental Toxicology*, American Chemical Society, Washington, DC. 1991; 34-35.