HPLC-MS/MS를 이용한 Bisphenol A 분석 및 초음파에 의한 분해 특성 조사

HPLC-MS/MS Detection and Sonodegradation of Bisphenol A in Water

박종성 · 윤여민* · 허남국†
Jong-Sung Park · Yeomin Yoon* · Nam Guk Her†

육군3사관학교 화학환경과학과, *미국사우스캐롤라이나대학교 토목환경공학과
Department of Chemistry and Environmental Sciences, Korea Army Academy
**Department of Civil and Environmental Engineering, University of South Carolina*

(2010년 5월 4일 접수, 2010년 6월 29일 채택)

ABSTRACT : The optimal conditions for the analysis of BPA by HPLC-MS/MS was investigated and the ultrasound degradation capacity of the BPA, with the goal to establish the proper directions for analyzing infinitesimal quantities of BPA by HPLC-MS/MS was examined. The MDL and LOQ of BPA analyzed by HPLC-MS/MS were measured 0.13 nM and 1.3 nM respectively, its sensitivity about 620 and 32 times greater than HPLC-UV (MDL: 81.1 nM, LOQ: 811 nM) and FLD (MDL: 4.6 nM, LOQ: 46 nM). In other words, the new method enables the analysis of BPA with the accuracy up to one 1,180th of the amount specified in U.S. EPA guideline for drinking water. Degradation rate of BPA by ultrasound measured over 95% under 580 kHz and 1000 kHz frequency within 30 minutes of treatment, whereas the rate showed some decrease at 28 kHz frequency. At 580 kHz of ultrasound has proven to be the most effective among others at degradation rate and k_1 value, so we concluded that this frequency of ultrasound creates hospitable condition for the combined process of degradation by pyrolysis and oxidization. With the addition of 0.01 mM of CCl_4, BPA with the initial concentration of 1 μM was degraded by more than 98% within 30 minutes, the k_1 value measured 5 minutes and 30 minutes into the experiment both showed increases by 1.4 and 1.1 times, respectively, compared with BPA without CCl_4. It is also found that the main degradation mechanism of BPA by ultrasound is oxidization process by OH radical, based on the fact that the addition of 10 mM of *t*-BuOH decreased the rate of BPA degradation by around 60%. However, 33% of BPA degradation rate obtained with the addition of *t*-BuOH implies further degradation done by pyrolysis or other sorts of radical beside OH radical.
Key Words : *Bisphenol A, HPLC-MS/MS, Ultrasound, Frequency, t-BuOH, CCl_4*

요약 : 본 연구는 극미량의 BPA 분석법을 정립하기 위하여 HPLC-MS/MS를 이용한 BPA 분석 조건을 개발하였고, 초음파를 이용한 BPA의 분해 특성을 조사하였다. HPLC-MS/MS에 의한 BPA의 MDL과 LOQ는 각각 0.13 nM과 1.3 nM로 조사되었는데, 이는 기존의 HPLC-UV (MDL: 81.1 nM, LOQ: 811 nM) 및 FLD (MDL: 4.6 nM, LOQ: 46 nM) 보다 약 620배 및 35배 우수하였으며, U.S. EPA의 음용수 권고기준(1.53 μM 혹은 350 μg/ℓ)의 약 1,180배 이하까지 정량분석이 가능하였다. 초음파 조사에 따른 BPA의 분해효율은 저주파(28 kHz)를 제외한 중·고주파 조건(580 and 1000 kHz)에서 반응 30분 이내에 95%이상 제거되었다. 특히 BPA의 분해효율 및 k1의 결과는 580 kHz에서 가장 우수하였는데, 이는 580 kHz 근처의 주파수 영역에서 최적의 초음파 공동현상 및 열분해/산화분해가 일어남을 알 수 있었다. 0.01 mM의 CCl_4를 첨가하여 분해효율을 측정한 결과 30분 이내에 BPA 초기농도(1 μM)의 98% 이상까지 제거되었으며, 반응 초기(5분)와 후기(30분)의 k_1값은 무첨가 반응에 비해 각각 1.4배 및 1.1배씩 증가하였다. 10 mM의 *t*-BuOH이 첨가된 결과 무첨가 반응에 비해 약 60% 이상 BPA 분해효율이 감소한 것을 감안할 때 BPA의 주된 초음파 기전은 OH 라디칼에 의한 산화분해임을 알 수 있었다. 그러나 *t*-BuOH이 첨가된 반응시간 동안(30분) 약 33%의 BPA가 분해가 일어난 것은 OH 라디칼 뿐 아니라 열분해 및 기타 라디칼 등에 의한 분해가 진행되었을 것으로 판단된다.
주제어 : Bisphenol A, HPLC-MS/MS, 초음파, 주파수, *t*-BuOH, CCl_4

1. 서 론

최근 화학 산업의 발달로 인체에 유해한 영향을 주는 신규 화학물질의 종류가 다양해지며 그 사용량도 점차 증가되고 있다. 이중 내분비계장애물질(Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs)은 체내 유입시 마치 호르몬처럼 작용하여 암 발생 및

†Corresponding author : E-mail : namguk@hanmail.net Tel: 054-330-4763 Fax: 054-335-5790

성 결정 방해를 일으키는 등 극미량으로도 내분비계의 정상적인 기능을 방해할 수 있는 물질로 알려지면서 많은 관심이 고조되고 있다.[1] 특히, EDCs 중 Bisphenol A (BPA)는 극소량으로도 DNA 손상을 유도하거나 염색체 변이를 일으킬 수 있어 인체에 매우 유해한 물질로 알려져 있다.[2] 이것은 폴리카보네이트 및 에폭시 수지 생산시 공업 원료로 사용되거나 산화방지를 위한 염화비닐 안정제로 사용되는 등 다양한 산업공정에 널리 이용되어 왔는데, 일정한 수용성(용해도: 140 ㎎/ℓ)을 가져 수생태계에 쉽게 노출될 우려가 있고,[3] 수생태계에 노출된 BPA는 토양 혹은 호소나 바다의 침적·퇴적한 저질 등에 흡착되거나 먹는 물을 통해 인체로 유입될 수 있다. 그 밖에도 BPA는 깡통(can) 혹은 우유병 가열시 발생하는 등 우리 일상생활에 쉽게 노출되어 인체에 유해한 영향을 줄 수 있다. 이에 따라 최근 BPA에 대한 모니터링 및 독성평가, 정수 및 응집 처리 등과 같은 관련 연구가 주목받고 있다.[4-7]

BPA 분석은 낮은 검출한계(1 ㎍/ℓ 이하)를 가진 GC-MS를 이용한 분석법이 일반적으로 사용되었다. 그러나 시료의 전처리 과정이 필요하여 분석시간이 길고 분석방법에 번거로움이 있으며, 낮은 회수율로 인한 분석의 재현성 문제가 존재해왔다. 이에 반해 UV 및 Fluorescence 검출기(FLD)를 이용한 HPLC (High performance liquid chromatography) 분석법은 시료의 전처리 과정이 매우 간단하여 수용액상의 시료분석에 많이 이용되었다.[8-10] 하지만 HPLC에 의한 분석법은 GC-MS보다 검출한계가 높아(1 ㎍/ℓ 이상) 자연계에 존재하는 미량 농도를 검출하는데 한계가 있으며, 특히 자연계에 존재하는 이온들의 방해 영향을 많이 받아 분석 감도가 낮아지는 문제가 있다. 이러한 문제를 해결하기 위하여 최근 질량분석기(Mass spectrometer)가 장착된 HPLC로 극미량의 BPA를 분석하는 방법이 개발되고 있으나[11] 아직 이에 대한 연구는 부족한 실정이다.

BPA의 유해성과 더불어 BPA로 오염된 물을 어떻게 처리할 것인지에 대한 관심이 높아지고 있다. 최근 고급산화법(AOP: Advanced oxidation processes) 중 하나인 초음파 처리 기술이 유기오염물질 분해 기술로 주목받고 있다. 초음파 분해는 기포(bubble)의 생성(nucleation), 성장(growth), 붕괴(collapse) 과정을 거치는 공동현상(cavitation)에 의해 음파에너지(sound energy)에서 화학적 에너지(chemical energy)로 전환되어 이루어진다. 이러한 과정 중 기포 붕괴시 발생되는 기포의 내·외부 조건은 고온(〈2000~5000 K) · 고압(〈500~1000 atm) 상태에 이르며 다음과 같은 초음파 분해기전을 일으킨다.[12] 첫째, 식 (1)~(6)과 같이 물로부터 산화력이 좋은 OH 혹은 HO_2 라디칼을 생성하여 반응물질의 산화분해를 유도한다.

$$H_2O \rightarrow H\bullet + OH\bullet \quad (1)$$

$$H\bullet + O_2 \rightarrow HO_2\bullet \quad (2)$$

$$O + H_2O \rightarrow 2OH\bullet \quad (3)$$

$$H\bullet + O_2 \rightarrow O + OH\bullet \quad (4)$$

$$\text{Contaminants} + OH\bullet \text{or } HO_2\bullet \rightarrow \text{Degradation} \quad (5)$$

$$OH\bullet + OH\bullet \rightarrow H_2O_2 \quad (6)$$

둘째, 반응물질이 기포 내에 직접 유입되어 고온 · 고압에 의한 열분해(pyrolysis)를 일으킨다. 위 두 기전이 일어나는 영역은 크게 기포 내부 영역(Gaseous region), 기포 내·외부 계면(Gas-liquid interface region), 기포 외부 영역(bulk liquid region)으로 분류할 수 있는데, 산화력이 좋은 라디칼들은 기포 외부 영역에서 주로 발생되고, 기포 내부로 이동할수록 열분해 효과가 커질 수 있다.[13] 따라서 소수성(hydrophobic)이며 휘발성을 가진 오염물질이 기포 내부까지 깊숙이 침투하여 열분해 및 산화분해가 일어나는 것으로 알려져 있다.[14]

이러한 초음파 분해기전을 이용하여 다양한 유기물질 분해에 관한 연구가 진행되고 있으며,[15-21] 최근에는 EDCs 처리에도 초음파를 적용시키고 있으나[6,22,26] 이에 대한 연구는 거의 진행되지 않았다.

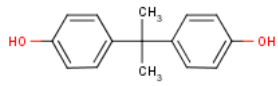
따라서 본 연구에서는 EDCs 중 극미량에도 유해한 영향을 줄 수 있는 BPA를 대상물질로 선정하여 다음과 같은 실험을 수행하였다. 첫째, 극미량의 BPA 분석법을 개발하기 위하여 HPLC-MS/MS를 이용한 BPA 분석 조건을 확립하였고, MDL (Method detection limit) 및 LOQ (Limit of quantification) 등을 산출하여 HPLC를 사용한 기존 분석법(UV 및 FLD)과 비교·평가하였다. 둘째, 초음파를 이용한 BPA의 분해 특성을 조사하기 위하여 초음파 주파수에 따른 대상물질의 분해효율 변화를 비교·분석하여 최적의 주파수를 확인하였고, *t*-BuOH 및 CCl_4 (carbon tetrachloride)등과 같은 라디칼 스캐빈저(scavenger)의 영향을 조사하여 BPA의 초음파 분해 기전을 파악하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. BPA의 물리 · 화학적 특성

BPA는 방향족 화합물로서 비휘발성(non-volatile)이며

Table 1. Physical and chemical properties of BPA[37]

Contents	Bisphenol A
Structure Descriptors	
Molecular Formula	$C_{15}H_{16}O_2$
Molecular Weight (g/mol^{-1})	228.29
Boiling Point (℃ at 4 mm Hg)	220
log K_{ow}[a]	3.32
Water Solubility (mg/L at 20~25℃)	120~200
Henry's Constant (atm-m^3/mole at 25℃)	1.00E-11
Vapor Pressure (mm Hg at 25℃)	3.91E-07

[a] Kow: Octanol-Water partition coefficient

수용성 물질이다. **Table 1**은 BPA의 물리·화학적 특성을 정리한 것이다.

2.2. 실험재료 및 장치

실험에 사용된 BPA, *t*-BuOH 및 CCl_4(순도 99.9%)는 Sigma Aldrich(U.S.A.)에서 구입하였고, 시료 전처리 및 분석용매로 사용된 Acetonitrile과 Methanol은 B&J사와 J.T Baker사의 HPLC grade 제품을 사용하였다.

본 실험에 사용된 초음파 시스템의 모식도를 Fig.1에 나타내었다. 초음파 시스템은 초음파 진동자가 연결된 발진부(Ul-tech, Korea), 배스형(Bath type) 반응조(가로 15 cm, 세로 10 cm, 높이 20 cm) 및 반응조 외벽 온도조절 순환시스템(HAAKE, German)등 크게 3가지로 구성되어 있다. 초음파 발진부는 반응조 하단에 장착된 진동자에 에너지를 전달하여 초음파를 발생시키는 형태로서, 3가지의 주파수(28, 580, 1000 kHz)를 가진 진동자에 각각 연결되어 사용되었다. 상부 덮개에는 시료채취를 위해 긴 주사기를 장착하였고, 온도계를 부착하여 외벽 물 순환시스템에 의한 반응조 내의 온도제어 상태를 확인하였다.

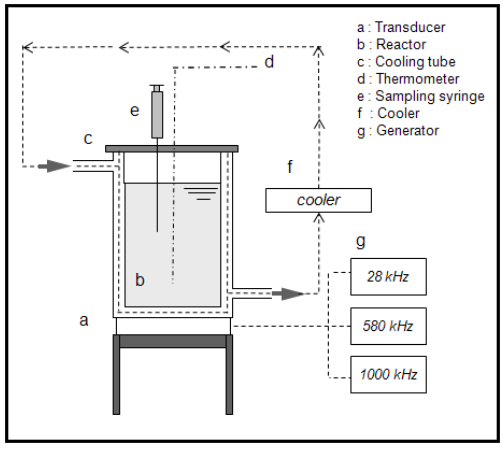


Fig. 1. Schematic diagrams of ultrasonic system.

2.3. 실험방법

2.3.1. BPA 분석 조건 결정

본 연구에서는 HPLC (Agilent 1200 series)-Triple Quadrapole Mass Spectrometer (MS/MS, Agilent 6410)를 이용하여 BPA의 극미량 분석방법을 확립하고, 현재까지 많이 사용되어온 HPLC-UV 및 FLD 분석법과 새롭게 제시된 HPLC-MS/MS 결과를 비교/분석하였다. HPLC-UV의 최적 분석파장 및 HPLC-FLD의 최대 여기(Excitation, Ex)와 방출(Emission, Ex) 파장을 결정하기 위하여 UV-spectrometer (Hewlett Packard, German)와 3-D Fluorescence (Flu., Hitachi F-2500, Japan)로 BPA 용액을 스캔(Scan)하였다. 이 때, BPA의 초기농도는 각각 10 mM (UV-spectrometer)과 1 μM (3-D Flu.)이었다.

본 연구에서 제시한 분석법(HPLC-MS/MS)과 기존 분석법(HPLC-UV와 FLD)을 비교하기 위하여 각 7개의 동일시료의 평균과 표준편차를 구한 뒤, (7)~(10)식에 의해 MDL, LOQ, %RSD, %Recovery를 산출하였다.[23] 이 때 제조된 동일 시료는 검출된 피크(peak)와 기준선(baseline)의 비율이 10:1 되는 농도, 즉 정량 가능한 피크로 인정되는 농도를 적용하였다.[24] 이 기준에 따라 적용된 시료의 농도는 BPA의 경우 HPLC-UV 분석법은 500 nM, HPLC-FLD는 25 nM, HPLC-MS/MS는 1 nM이었으며, LOQ는 MDL의 10배수로 설정하여 산출하였다.

$$MDL = Standard\ Deviation\ of\ Measured\ Concentration \times 3.143 \quad (7)$$

$$LOQ = MDL \times 10 \quad (8)$$

$$\%RSD = \frac{Standard\ Deviation\ of\ Measured\ Concentration}{Average\ Concentration} \times 100 \quad (9)$$

(Acception Range: %RSD < 20 %)

$$\%Recovery = \frac{Average\ Measured\ Concentration}{Fortified\ Concentration} \times 100 \quad (10)$$

(Acception Range: 80 % < %Recovery < 120 %)

2.3.2. 초음파 조사에 따른 BPA 분해 특성 조사

초음파 조사에 따른 BPA 분해 특성을 조사하기 위하여 두 가지 테스트를 실시하였다. 첫째, 초음파 주파수(28, 580, 1000 kHz) 변화에 따른 BPA 분해효율을 측정하여 비교·분석하였다. 이 때, BPA의 초기농도(C_0)는 1 μM, 초음파 조사밀도는 0.2 W/mL (power: 200 W, volume: 1000 mL), 온도는 20±1℃, pH는 6.8 이었다. 초음파 반응은 총 30분 동안 실시하였고, 매 5분마다 1 mL의 시료를 채취하여 분석시까지 냉장보관을 실시하였다. 둘째, 0.01 mM CCl_4 및 10 mM t-BuOH 첨가에 따른 BPA 분해효율을 측정하여 비교·분석하였으며, 초음파 반응조건은 위와 동일하게 시행하였다.

결과의 신뢰도를 높이기 위하여 실시된 모든 초음파 반응 실험은 동일조건에서 반복 실험하여 결과를 산출하였다. 초음파 처리 반응은 대부분 유사일차반응에 부합하기 때문에[17,18] 초음파 조건에 따른 BPA 분해속도를 비교하기 위해 유사일차반응 속도상수를 식 (11)에 의해 산출하여 비교하였다.

$$\ln \frac{BAP_t}{BAP_0} = -kt \qquad (11)$$

3. 결과 및 고찰

3.1. BPA 분석조건 결정

3.1.1. BPA 분석조건

BPA 분석시 각 검출기별 최적 파장 및 모분자(Precursor ion)와 자분자(Product ion)를 결정하기 위하여 UV-spectrometer, 3-D Flu. 및 HPLC-MS/MS spectrometer로 스캔(Scan)한 결과를 **Fig. 2**에 나타내었다. 그 결과 UV는 277 ㎚에서 가장 좋은 피크를 보였고(**Fig. 2(a)**), 3-D Flu.의 peak 최고점은 여기파장 280 ㎚, 배기파장 310 ㎚로 조사되었다(**Fig. 2(b)**). MS/MS 스캔 결과, 최적의 모분자로 227 (m/z), 자분자로 212와 133 (m/z)이 각각 검출되었다 (**Fig. 2(c)**).

각 검출기 최적 조건과 함께 BPA 분석을 위하여 C-18 역상 칼럼(Agilent)이 사용되었고, 시료 주입량은 10 ㎕, 칼럼 온도는 35℃의 조건으로 분석하였다. Mass spectrometer는 전자분무이온화-negative 방법이 사용되었고, Drying gas flow는 10 ㎖/min, Drying gas temperature는 350℃ 이었다. HPLC의 이동상은 Methanol과 M.Q. water를 70 :

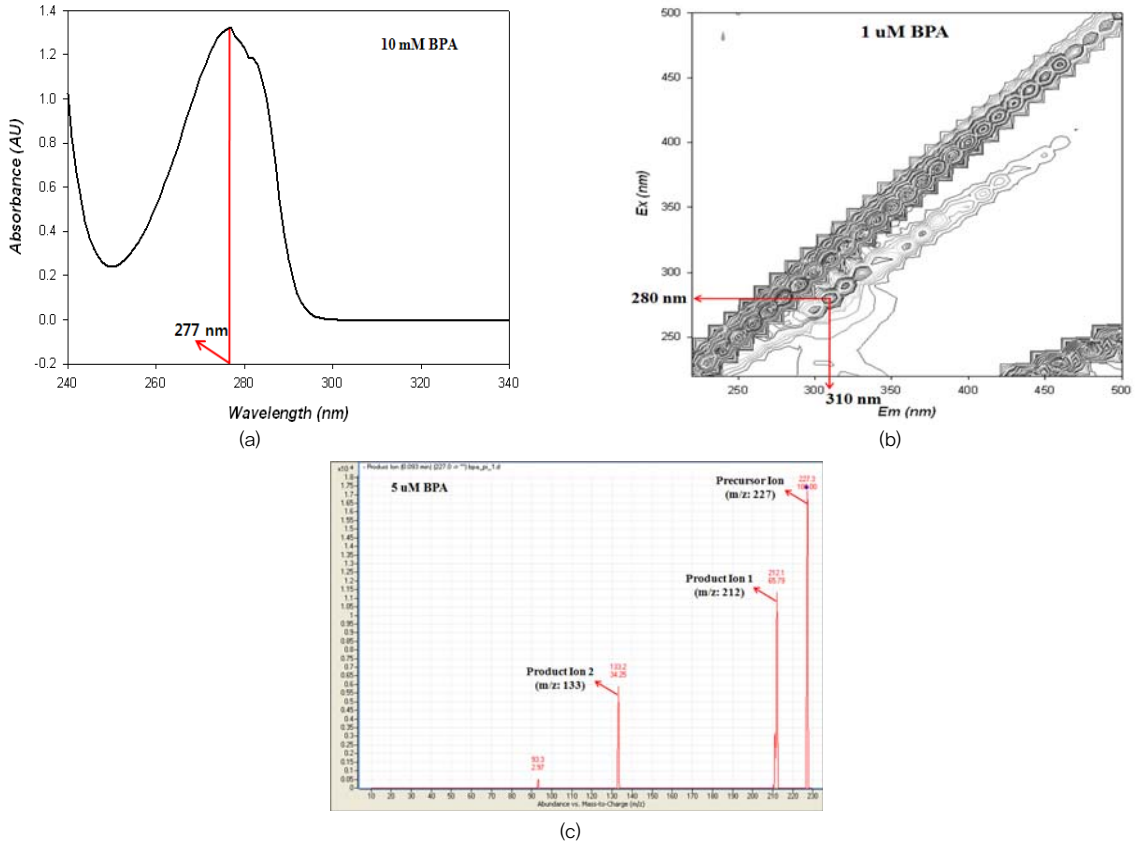


Fig. 2. Results of BPA scanning by (a) UV-spectrometer (10 mM BPA), (b) 3-D. Flu. (1 μM BPA) and (c) HPLC-MS/MS spectrometer (5 μM BPA).

Table 2. Analytical conditions of BPA by HPLC-UV, -FLD and -MS/MS

Contents	HPLC-UV	HPLC-FLD	HPLC-MS/MS
Mobile phase	Methanol : M.Q. water = 70 : 30(%/%) (isocratic mode)		
Column	C-18 reversed column (Agilent) (150 ㎜× 4.6 ㎜, i.d. 5 ㎛ particles)		
Column	35℃		
Flow rate	1 ㎖/min		
Injection volume	10 ㎕		
Detector	Diode Array Detector	Fluorescence	MS/MS Spectrometer
Wavelength	277 ㎚	Excitation: 270 ㎚ Emission : 330 ㎚	·
Precursor Ion	·	·	227 (m/z)
Product Ion	·	·	212, 133 (m/z)
Fragmentor	·	·	130 V
Collision Energy	·	·	15 V
Drying gas flow & Temp.	·	·	10 ㎖/min & 350℃
Nebulizer Pressure	·	·	50 psig

30(%/%)로 혼합하여 일정용매 조성법(Isocratic mode)으로 측정하였다. Table 2는 HPLC-UV, FLD 및 MS/MS를 이용한 BPA의 분석조건을 정리한 표이다.

3.1.2. BPA 측정을 위한 검량선

BPA 표준용액을 HPLC-UV와 FLD(5, 10, 25, 50, 100, 500, 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 nM BPA) 및 MS/MS(1, 2.5, 5, 10, 50, 100, 500, and 1,000 nM BPA)로 검출한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. UV와 FLD 검출기는 각각 3.1분, MS/MS 검출기는 3.3분에서 BPA가 검출되었고, 표준용액의 검량선을 산출한 결과 세 검출기 모두 매우 높은 상관관계(R^2=0.999)를 보여주었다(Fig. 3(a), (b)). HPLC-FLD에 의한 검량선의 기울기는 0.015로 HPLC-UV (0.001)보다 약 15배 정도 높아 더욱 우수한 감도를 나타냈으며, MS/MS는 BPA의 극미량 농도범위까지 매우 높은 감도를 보여주었다. 특히 5 nM의 미량 BPA 분석시 HPLC-MS/MS는 매우 안정한 피크를 나타냈으나 HPLC-UV와 FLD는 BPA를 검출하지 못하였다(Fig. 3(c)).

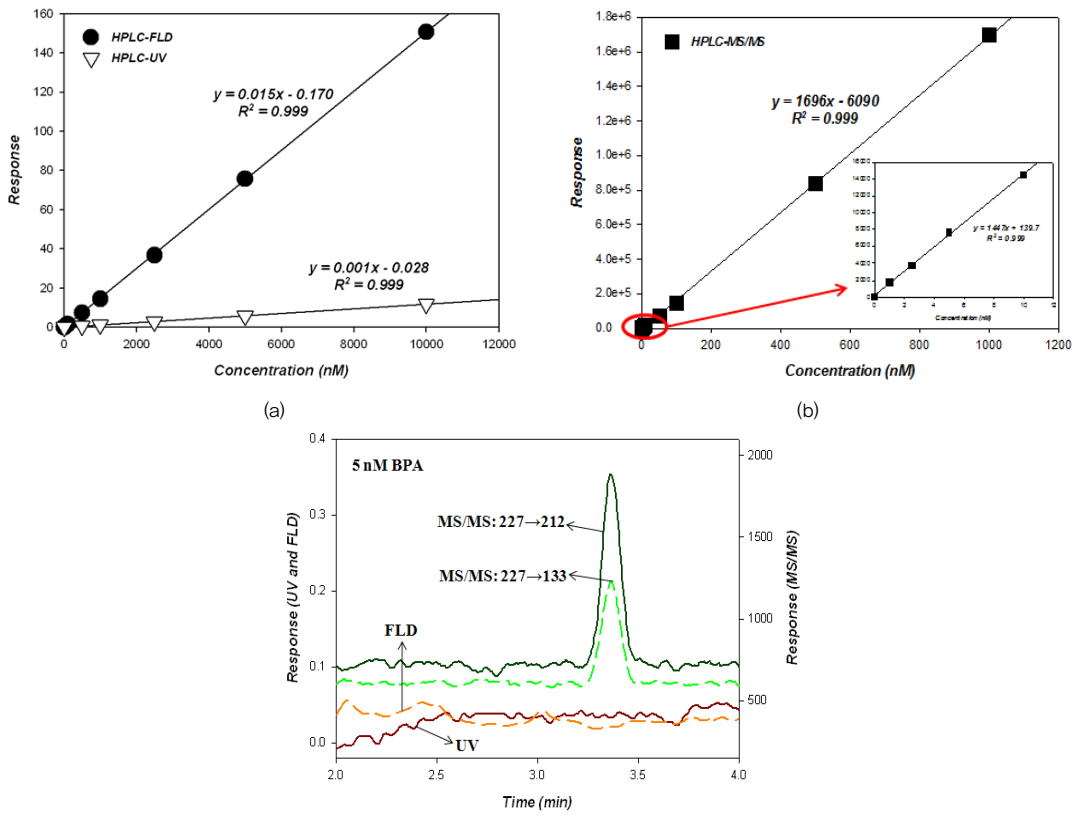


Fig. 3. Comparison of calibration curves analyzed by (a) HPLC-UV and FLD (5, 10, 25, 50, 100, 500, 1,000, 2,500, 5,000, and 10,000 nM BPA) and (b) HPLC-MS/MS (1, 2.5, 5, 10, 50, 100, 500, and 1,000 nM BPA), and (c) chromatograms of 5 nM BPA by the each detector.

3.1.3. BPA의 MDL과 LOQ 산출결과 비교

Table 3은 HPLC-UV와 FLD 및 MS/MS에 의한 BPA의 MDL과 LOQ를 비교한 결과이다. 7개의 동일한 시료 (HPLC-UV: 500 nM, HPLC-FLD: 25 nM, HPLC-MS/MS: 1 nM)를 분석한 결과, HPLC-UV의 MDL과 LOQ는 81.1 nM과 811 nM, HPLC-FLD는 4.60 nM과 46.0 nM, HPLC-MS/MS는 0.13 nM과 1.30 nM로 각각 조사되었다. 특히, HPLC-MS/MS의 MDL 및 LOQ는 HPLC-UV보다 약 620배, HPLC-FLD보다 약 35배씩 우수한 결과를 보였다 (Table 3). %RSD는 각각 5.2%(HPLC- UV), 6.3%(HPLC-FLD), 4%(HPLC-MS/MS)로 조사되어 세 검출기 모두 적합범위(〈20%) 내에 포함되었고, %Recovery도 99.8%(HPLC-UV), 92.1%(HPLC-FLD), 103%(HPLC-MS/MS)로 적합수준(80%〈x〈120%)을 만족하였다.

현재 국내·외 BPA의 법적 수질기준은 설정되어 있지 않으나 생식계 독성을 비롯한 잠재적 위해성으로 인해 미국 플로리다 주(U.S. Florida State)의 경우 음용수 수질기준(guideline regulation)을 1.53 μM(350 $\mu g/\ell$)로 권고하고 있다.[25] 일반적으로 대상물질의 분석능력은 규제기준이나 권고기준보다 최소 10~100배 이상 낮은 수준을 갖추어야 하기 때문에[24] BPA의 경우 15.3~153 nM(3.5~35 $\mu g/\ell$) 이하까지 측정되어야 한다. 본 연구결과 HPLC-UV 및 FLD에 의한 BPA의 LOQ는 811 nM 및 46 nM로 권고기준을 만족할 만한 충분한 분석능력을 갖추지 못하였다. 이에 반해, MS/MS에 의한 LOQ는 1.3 nM로서 권고기준보다 약 1,180배 이하 농도까지 정량분석이 가능하여 권고기준에 충분한 분석법임을 확인하였다. 더욱이 UV 및 FLD를 이용한 분석법은 자연계에 존재하는 이온영향을 쉽게 받아 현장 시료 분석시 피크(peak)의 검출이 부정확하거나 분석 감도가 현저히 떨어지나 질량분석기(Mass)를 이용한 분석법은 이러한 영향이 적어 매우 안정한 분석법으로 알려져 있다.[26] 결론적으로 HPLC-MS/MS를 이용한 BPA 분석은 고감도 및 낮은 검량한계를 보유하여 지하수 및 음용수 내 존재하는 극미량 BPA 분석에 매우 적합한 분석법임을 확인하였다.

Table 3. Comparison of MDL and LOQ of BPA analyzed by HPLC-UV, FLD and MS/MS. (unit : nM)

Bisphenol A	HPLC-UV	HPLC-FLD	HPLC-MS/MS
True conc. (nM)	500	25.0	1.00
Mean	499	23.0	1.03
S.D.	25.8	1.50	0.04
MDL	81.1	4.60	0.13
LOQ	811	46.0	1.30
%RSD	5.20	6.30	4.03
%Recovery	99.8	92.1	103

3.2. 초음파 조사에 따른 BPA 분해 특성

3.2.1. 주파수 변화에 따른 BPA 분해효율

Fig. 4와 Table 4는 주파수 변화에 따른 BPA의 분해효율과 유사 일차반응 속도상수(k_1)의 결과를 나타낸 것이다. 초음파 반응 30분 동안 초기농도 1 μM의 BPA는 580 kHz와 1000 kHz에서 약 97%와 94% 이상 제거되었으나 28 kHz는 약 60%로 중·고주파에 의한 분해반응에 비해 저조한 제거율을 보여주었다(Fig. 4). BPA의 초기(5분) k_1값은 580 kHz가 16.8×10^{-2} min^{-1}로 1000 kHz와 28 kHz보다 각각 1.5배와 3.7배씩 빠르게 나타났으며, 반응 후기(30분)의 경우도 580 kHz의 k_1값이 11.4×10^{-2} min^{-1}로 다른 주파수보다 각각 1.2배와 3.7배씩 빠른 것으로 조사되었다.

초음파에 의한 열분해 및 OH 라디칼에 의한 산화분해 효과를 증대하기 위해서는 최적의 공동현상 조건이 형성되어야 하는데, 이 때 기포의 생성과정은 매우 중요한 요소가 될 수 있다. 일반적으로 초음파의 주파수가 낮을수록 공동현상에 의해 발생되는 기포의 크기가 커지게 되는데, 이로 인해 저주파 조건에서 기포 붕괴로 인한 분해 강도가 더욱 커질 수 있다. 그러나 음압주기에 의한 사이클 횟수는 줄어들게 되어 중·고주파에 비해 상대적으로 적은 기포 개수를 생성하여 열분해 및 산화분해 효율을 저하시킬 수 있다. 반면 580 kHz의 조건에서는 초음파의 진폭이 작아져 기포의 크기는 줄어드나 음압주기가 빈번해져 공동현상에 의한 기포 생성이 증가한다. 즉, 기포 발생의 증가로 OH 라디칼이 더욱 많이 발생하게 되어 분해반응이 증대될 수 있다.[27] 더욱이 고주파 영역의 주파수 범위에서는 공동현상의 강도가 감소하더라도 물 분자가 열분해(pyrolysis) 될 만큼 충분한 강도를 지니고 있다면 더욱 많은 공동현상이 발생함으로써 더욱 많은 OH 라디칼이 발생될 수 있게 되어 분해효율이 증대될 수 있을 것으로 판단된다.[28-29] 또한 1000 kHz 이상의 주파수 조건에서는 음압주기의 횟수는 좀 더 빈번하여 기포수는 증가하나 공동현상의 강도가 열분해 및 OH 라디칼을 발생하기 어려울 정도로 낮아져 분해효율이 감소한 것으로 사료된다.

기존 연구에서도 본 연구결과와 비슷한 경향의 결과가 보고되었다.[30-32] Torres 등[32]은 118 μM의 BPA 수용액에 300~800 kHz의 주파수를 조사하여 분해효율을 비교한 결과, 300 kHz 부근의 주파수에서 최적의 분해효율을 관찰하였다. 또한 일반적으로 수용액에 초음파 조사시 발생되는

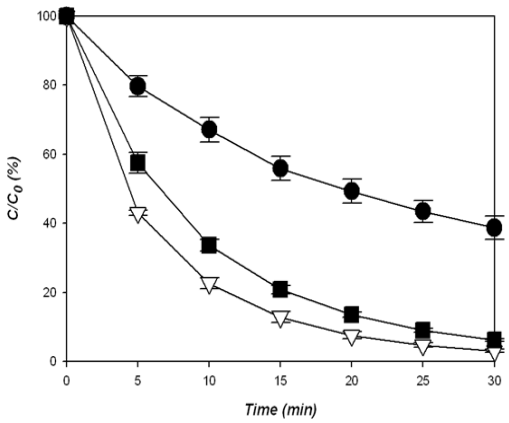


Fig. 4. Comparison of degradation rates for BPA depending on ultrasound frequency. Sonication conditions: C_0 = 1 μM; 0.2 W ml^{-1}; 20±1℃; pH 6.8; frequency: 28 (●), 580 (▽) and 1000 kHz (■).

Table 4. Pseudo first-order rate constant for the sonochemical degradation of BPA at different frequency at 0.2 W ml^{-1}, 20±1℃, pH 6.8.

Frequency	BPA	
	k1 at 5 min (min^{-1})	k1 at 30 min (min^{-1})
28 kHz	4.5×10^{-2}	3.1×10^{-2}
580 kHz	16.8×10^{-2}	11.4×10^{-2}
1000 kHz	11.0×10^{-2}	9.2×10^{-2}

H_2O_2는 OH 라디칼 발생의 간접적 정량지표로 사용되고 있는데 D.I. water에 초음파를 조사한 결과, 300~520 kHz의 H_2O_2 발생량이 28 kHz보다 우수한 것으로 보고하였다.[30] 이러한 현상은 고주파 영역일수록 기포의 붕괴가 빠르게 진행되어 공동현상의 기회가 많아지기 때문이라고 설명하였다. 또한 618 kHz 이상의 고주파 초음파 반응은 580 kHz보다 H_2O_2 발생량과 분해효율이 저하된다고 보고하였는데[31] 이것은 단위 부피당 초음파 출력의 손실(power dissipation)이 크기 때문이라고 설명하였다.

따라서 본 연구결과를 통해 BPA의 초음파 반응은 580 kHz 근처의 초음파 영역에서 최적의 열분해 및 산화분해를 일으킬 수 있는 공동현상 조건이 형성된다는 것을 확인하였다.

3.2.2. 라디칼 스캔빈저(t-BuOH and CCl4)의 초음파 영향

Fig. 5와 **Table 5**는 CCl_4 및 *t*-BuOH 첨가에 따른 BPA의 분해효율과 유사 일차반응 속도상수(k_1)의 결과를 나타낸 것이다. 0.01 mM의 CCl_4가 첨가된 결과, 반응 30분 동안 BPA의 98% 이상이 제거되었으며, 반응 초기(5분)와 후기(30분)의 k_1값 역시 23.9×10^{-2} min^{-1}과 12.9×10^{-2} min^{-1}로 무첨가 반응보다 각각 1.4 및 1.1배씩 증가하였다. 반면, 10 mM의 *t*-BuOH이 첨가된 결과 초음파 반응 30분 동안 초기농도 1 μM의 BPA는 단지 33%만 제거되었고, 반응 초기(5분)와 후기(30분)의 k_1값 역시 2.94×10^{-2} min^{-1}와 1.25×10^{-2} min^{-1}로 무첨가 반응(only BPA) 보다 각각 5.4배 및 9.1배 저조하게 분해되었다.

CCl_4의 첨가로 BPA의 분해효율이 증가된 것은 CCl_4의 H 라디칼 스캐빈저 영향과 산화력이 강한 하이포아염소산(HClO)의 생성 때문으로 예상할 수 있다. CCl_4는 대표적인 H 라디칼 스캐빈저($k=3.8\times10^7$ $M^{-1}s^{-1}$)로 알려져 있다. 초음파 반응(식 (1))에 의해 생성된 H와 OH 라디칼의 대부분(약 80%)은 식 (12)와 같이 서로 재결합하여 물이 되는데,[33] 여기에 CCl_4를 첨가하면 식 (13)과 같은 반응이 진행되어 상대적으로 식 (12) 반응이 감소하게 되며, 식 (12)에 참여하였던 OH 라디칼은 산화분해에 사용될 가능성이 증가되어 BPA의 분해효율이 향상될 수 있다.[34]

$$H\bullet + OH\bullet \rightarrow H_2O \quad (12)$$

$$CCl_4 + H\bullet \rightarrow HCl + CCl_3\bullet \quad (13)$$

$$CCl_4 \rightarrow CCl_3\bullet + Cl\bullet \quad (14)$$

$$CCl_3\bullet \rightarrow CCl_2\bullet + Cl\bullet \quad (15)$$

$$Cl\bullet + Cl\bullet \rightarrow Cl_2 \quad (16)$$

$$Cl_2 + H_2O \rightarrow HClO + HCl \quad (17)$$

더욱이 초음파 반응 중 CCl_4 첨가시 식 (13)~(17)에 의해 염소기가 포함된 라디칼($CCl_3\bullet$, $CCl_2\bullet$, $Cl\bullet$, HClO)들이 생성될 수 있다. 이들은 대부분 산화력을 가진 물질로 오염물질의 산화분해를 유도할 수 있으며, 이중 HClO은 강력한 산화력을 가진 산화제로 알려져 있다. 임명희 등[21] 연구에서는 CCl_4가 첨가된 초음파 반응 동안 유리염소(Free chlorine)의 농도를 측정하여 HClO가 증가되는 것을 간접적으로 확인하였고, 이 밖에 기존 연구결과에서도 CCl_4 첨가시 대상물질의 초음파 효율이 증가되는 경향을 나타내었다.

한편, *t*-BuOH ($k_{OH\bullet}=6.0\times10^8$ $M^{-1}s^{-1}$)은 OH 라디칼 스캐빈저로 알려져 있다.[35] 식 (1)과 같이 물에 초음파를 조사하면 H와 OH 라디칼로 나누어지는데 여기에 *t*-BuOH이 첨가되면 OH 라디칼이 감소하고 이로 인해 산화분해 효율이 저하될 수 있다. 본 연구결과 무첨가 반응에 비해 약 60% 이상 BPA 분해효율이 감소한 것을 감안할 때 BPA의

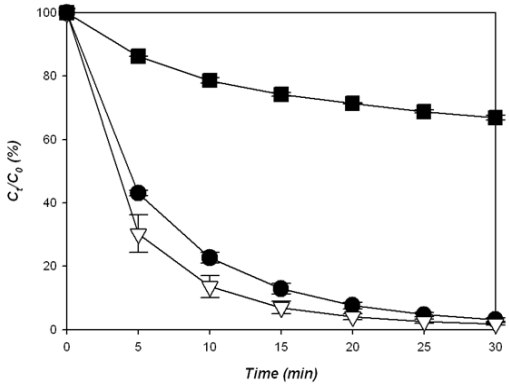


Fig. 5. Effect of radical scavenger (CCl_4 and t-BuOH) addition on the sonodegradation of BPA. Sonication conditions: C_0 = 1 μM; 0.2 W ml^{-1}; 20±1℃; 580 kHz; Symbols: BPA(●); BPA with 10 mM t-BuOH (■); BPA with 0.01 mM CCl4 (▽).

Table 5. Pseudo first-order rate constant for the sonochemical degradation of BPA on the effect of radical scavenger (CCl_4 and t-BuOH). Sonication conditions: C_0 = 1 μM; 0.2 W ml^{-1}; 20±1℃; 580 kHz

Conditions	BPA	
	k1 at 5 min (min^{-1})	k1 at 30 min (min^{-1})
Only BPA	16.8×10^{-2}	11.4×10^{-2}
BPA + 0.01 mM CCl_4	23.9×10^{-2}	12.9×10^{-2}
BPA + 10 mM t-BuOH	2.94×10^{-2}	1.25×10^{-2}

주된 초음파 기전은 OH 라디칼에 의한 산화분해임을 알 수 있다. 그러나 OH 라디칼 스캐빈저 첨가에도 반응시간 동안(30분) 약 33%의 BPA가 분해된 것은 OH 라디칼 뿐 아니라 열분해 및 기타 라디칼 등에 의해 분해되었음을 의미한다.

4. 결 론

본 연구에서는 EDCs 중 BPA를 대상물질로 선정하여 지하수 내 BPA의 미량 분석 조건 확립 및 MDL/LOQ 등을 산출하여 기존 분석법과 비교·평가하였으며, 초음파 주파수 및 라디칼 스캐빈저의 영향 조사 등 BPA의 초음파 분해특성을 연구하여 다음과 같은 결론을 도출하였다.

1) HPLC-UV와 FLD 검출기는 각각 3.1분, MS/MS 검출기는 3.3분에서 BPA가 검출되었고, 표준용액의 검량선은 세 검출기 매우 높은 상관관계(R^2=0.999 이상)를 보여주었으나 미량 농도(5 nM 이하)의 BPA 분석시 MS/MS는 매우 안정한 피크를 나타내었지만 UV 및 FLD는 BPA를 검출하지 못하였다.
2) HPLC-MS/MS로 분석한 BPA의 MDL는 HPLC-UV 및 FLD보다 각각 624배 및 35배 우수한 결과를 보였고, 특히 MS/MS의 LOQ는 1.3 nM (0.297 $\mu g/\ell$)로서 U.S. EPA의 BPA 음용수 권고기준(1.53 μM 혹은 350 $\mu g/\ell$)보다 약 1,180배 낮은 농도까지 정량분석이 가능한 것을 확인하였다. 이 외에도 %RSD 및 %Recovery 역시 모두 적합한 수준을 보였다.
3) 초음파 조사에 따른 BPA의 분해효율은 저주파(28 kHz)를 제외한 중고주파 조건(580 and 1000 kHz)에서 반응 30분 이내 95% 이상 제거되어(초음파 조건: C_0=1 μM; 0.2 W ml^{-1}; 20±1℃) BPA의 초음파 처리 가능성을 확인하였다. 특히 주파수 변화에 따른 BPA의 초음파 분해효율 및 k_1의 결과가 580 kHz에서 가장 우수하였음을 볼 때, 580 kHz 근처의 주파수 영역에서 최적의 초음파 공동현상 및 열분해/산화분해가 일어남을 알 수 있었다.
4) 0.01 mM의 CCl_4를 첨가한 후 반응 30분 동안 초기농도(1 μM)의 98% 이상이 제거되었으며, 반응 초기(5분)와 후기(30분)의 k_1값은 무첨가 반응에 비해 각각 1.4배 및 1.1배씩 증가하였다. 이것은 CCl_4의 H 라디칼 스캐빈저 영향과 하이포아염소산(HClO) 등 산화력물질의 생성 때문으로 예상할 수 있다.
5) 10 mM의 *t*-BuOH이 첨가된 결과 단지 초기농도의 33%만 제거되었고, 무첨가 반응에 비해 약 60% 이상 BPA 분해효율이 감소한 것을 감안할 때 BPA의 주된 초음파 기전은 OH 라디칼에 의한 산화분해임을 알 수 있다. 그러나 *t*-BuOH이 첨가된 반응시간 동안(30분) 약 33%의 BPA가 분해된 것은 OH 라디칼 뿐 아니라 열분해 및 기타 라디칼 등에 의한 분해가 진행되었음을 의미한다.

KSEE

사 사

본 연구는 환경부 환경기술개발사업(GAIA Project, 과제번호 02-141-081-021)의 일환으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lawrence, H. K., “Environmental Endocrine Disruptors," *John Wiley & Sons*, 261~270(1997).
2. 이명희, 김종향, 허종수, 박정웅, “자외선 에너지를 이용한 내분비계장애물질인 비스페놀-A의 분해,” 대한환경공학회 춘계학술발표회 논문집(Ⅱ), 303~306(2001).
3. Lee, H. J., Chattopadhyay, S., Gong, E. Y., Ahn, R. S., and Lee, K., “Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor," *Toxicol. Sci.*, **75**, 40~46 (2003).
4. 황갑수, “물벼룩을 이용한 bisphenol A의 급성독성 평가,” 한국환경보건학회지, **33**(5), 392~396(2007).
5. 김혜리, 이윤진, 박선구, 남상호, “정수처리공정에서 bisphenol-A의 제거에 관한 연구,” 한국환경위생학회지, **30**(1), 59~65(2004).
6. Guo, Z. and Feng, R., “Ultrasonic irradiation-induced degradation of low concentration BPA in aqueous solution," *J. Hazard. Mater*. **163**, 855~860(2009).
7. Zhang, H., Yamada, H. and Tsuno, H., “Removal of endocrine-disrupting chemicals during ozonation of municipal sewage with brominated byproducts control," *Environ. Sci. Technol*. **42**, 3375~3380(2008).
8. Gultekin, I. and Ince, N. H., “Ultrasonic destruction of bisphenol-A: The operating parameters," *Ultrason. Sonochem.*, **15**, 524~529(2008).
9. Sajiki, J., “Decomposition of BPA by radical oxygen," *J. Environ. Int*. **27**, 315~320(2001).
10. Yoon, Y., Westerhoff, P., Snyder, S. A., and Esparaza, M., “HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17b-estradiol, and 17a-ethynyl estradiol on powdered activated carbon," *Water Res.*, **37**, 3530~3537(2003).
11. Baugros, J.B., Giroud, B., Dessalces, G., Grenier-Loustalot, M.F., and Cren-Olive, C., “Multiresidue analytical methods for the ultra-trace quantification of 33 priority substances present in the list of REACH in real water samples," *Anal. Chim. Acta.*, **607** (2), 191~203(2008).
12. Adewuyi, Y. G., “Sonochemistry: Environmental science and engineering applications,” *Ind. Eng. Chem. Res*., **40**, 4681~4715(2001).
13. Riesz, P., Kondo, T., and Krishna, C. M., “Sonochemistry of volatile and non-volatile solutes in aqueous solutions: e.p.r and spin trapping studies," *Ultrasonics*, **28**, 295~303(1990).
14. Nanzai, B., Okitsu, K., Takenaka, N., Bandow, H., and Maeda, Y., “Sonochemical degradation of various monocyclic aromatic compounds: Relation between hydrophobicities of organic compounds and the decomposition rates,” *Ultrason. Sonochem.* **15**, 478~483(2008).
15. Psillakis, E., Goula, G., Kalogerakis, N., and Mantzavinos, D., “Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous solutions by ultrasonic irradiation,” *J. Hazard. Mater*., **108**, 95~102(2004).
16. Park, J. K., Hong, S. W., and Chang, W. S., “Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by ultrasonic irradiation,” *Environ. Technol*., **21**, 1317~1323(2000).
17. 박종성, 박소영, 오재일, 정상조, 이민주, 허남국, “초음파 주파수 및 반응조건 변화에 따른 나프탈렌 분해효율과 OH 라디칼의 발생량 비교,” 대한환경공학회지, **31**(2), 79~89(2009).
18. Vassilakis, C., Pantidou, A., Psillakis, E., Kalogerakis, N., and Mantzavinos, D., “Sonolysis of natural phenolic compounds in aqueous solutions: degradation pathways and biodegradability,” *Water Res.*, **38**, 3110~3118(2004).
19. Entezari, M. H., and Pretrier, C., “A combination of ultrasound and oxidative enzyme: sono-biodegradation of substituted phenols,” *Environ. Technol*., **21**, 1317~1323(2000).
20. Park, J. K., Hong, S. W., and Chang, W. S., “Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by ultrasonic irradiation,” *Environ. Technol*., **10**, 241~246(2003).
21. 임명희, 손영규, 양재근, 김지형, “초음파로 페놀 분해 시 염소계 화합물의 첨가와 음향 강도의 영향,” 한국물환경학회지, **24**(1), 118~122(2008).
22. Pétrier, C., Torres, P. R., Combet, E., Sarantakos, G., Baup, S., and Pulgarin, C., “Enhanced sonochemical degradation of bisphenol-A by bicarbonate ions," *Ultrason. Sonochem.*, **17**, 111-115(2010).
23. ACS committee on Environmental improvement and subcommittee on environmental analytical chemistry, “Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry," *Anal. Chem.*, **52**, 2242~2249(1980).
24. 박종성, 오재일, 정상조, 최윤대, 허남국, “HPLC-FLD와 MSD를 이용한 지하수 중 나프탈렌 TNT의 미량 분석법 개발,” 지하수토양환경학회지, **14**(6), 35~44(2009).
25. US EPA, Office of Water; “Federal-State Toxicology and Risk Analysis Committe(FSTRAC). Summary of Sate and Federal Drinking Water Standards and Guidelines(11/93),"
26. Mohapatra, D. P., Brar, S. K., Tyagi, R. D., and Surampalli, R.

Y., “Physico-chemical pre-treatment and biotransformation of wastewater and wastewater sludge-fate of bisphenol A," *Chemos*, 78, 923~941(2010).

27. Jiang, Y., Petrier, C., and Waite, T.D., “Sonolysis of 4-chlorophenol in aqueous solution: Effects of substrate concentration, aqueous temperature and ultrasonic frequency,” *Ultrason. Sonochem.*, **13**, 415~422(2006).
28. 박종성, 허남국, “주파수 변화 및 보조제 첨가에 따른 나프탈렌 및 페놀의 초음파 분해효율 비교,” 대한환경공학회, Preceeding (2010).
29. 이민주, 오재일, “다중 초음파 조사 반응조에서의 TCE의 초음파 분해,” 대한환경공학회지, **31**(10), 873~882(2009).
30. Chand, R., Ince, N.H., Gogate, P.R., Bremner D.H., “Phenol degradation using 20, 300 and 520 kHz ultrasonic reactors with hydrogen peroxide, ozone and zero valent metals,” *Sep. Purif. Technol.* **67**, 103~109(2009).
31. Kang, J. W., Hung, H. M., and Lin, A., Hoffmann, M.R., “Sonolytic destruction of methyl tert-butyl ether by ultrasonic irradiation: The role of O3, H2O2, frequency, and power density,” *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 3199~3205(1999).
32. Torres, R.A., Petrier, C., Combet, E., Carrier, M., Pulgarin, C., “Ultrasonic cavication applied to the treatment of BPA. Effect of sonochemical parameters and analysis of BPA by-products," *Ultrason. Sonochem.* **15,** 605~611(2008)..
33. Fisher, C. H., Hart, E. J., and Henglein, A, “H/D isotope exchange in the D2-H2O system under the influence of ultrasoud," *J. Phys. Chem.* **90**, 222~224(1986).
34. Lee, M. and Oh, J., “Sonolysis of trichloroethylene and carbon tetrachloride in aqueous solution," *Ultrason. Sonochem.*, **17**, 207~212(2010).
36. Buxton, G. V., Greenstock, W. P., Helman, A. B., Ross, W., and Tsang, “Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals in aqueous solution," *J. Phys. Chem. Ref.*, **17**, 513~886(1988).
37. NLM, United State National Library Medicine, http://www.toxnet.nlm.nih.gov.