

## 기체 크로마토그래피/질량분석기를 이용한 field-screening 적용을 위한 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A의 isoBOC 유도체, TBDMS 유도체와 US EPA 방법의 비교

김협\* · 홍종기\*\* · 김용화\*\*\* · 김경래\*\*\*\*

\* 국립상주대학교, TIC, \*\* 한국기초과학지원연구원, 유해물질분석연구팀

\*\*\* 한국화학연구소, 안전성센터, \*\*\*\* 성균관대학교, 약학대학

(2002, 1. 23 접수)

### Comparison of isoButoxycarbonyl derivatives, *tert.*-butyldimethylsilyl derivatives, with US EPA Method in the sensitivity of Alkylphenols, Chlorophenols, and Bisphenol A Potential field-screening applications of GC/MS-SIM

Hyub Kim\*<sup>★</sup>, Jong-Ki Hong\*\*, Yong-Hwa Kim\*\*\*, Kyoung-Rae Kim\*\*\*\*

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

\*\* Hazardous Substance Research Team, Korea Basic Science Institute, Seoul 136-701, Korea

\*\*\* Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea

\*\*\*\* Department of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea

(Received Jan. 23, 2002)

**요 약** : 물 시료 중 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A의 동시분석을 기체크로마토그래피/질량분석기-선택이온검색법을 사용하여, US EPA 분석방법, isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법을 비교하였다. 시료의 전처리에는 유기용매로 추출하고 농축하여 분석한 방법과 XAD-4를 이용한 액체-고체 추출 후 isoBOC 유도체화와 TBDMS 유도체화를 실시하였다. 11종의 페놀류에 대한 회수율 실험은 3차 증류수에 각각 10  $\mu\text{g/l}$  (US EPA 방법) 또는 2  $\mu\text{g/l}$  (isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법)의 농도를 대상으로 측정된 결과 각각 85.1~109.9%와 90.3~126.6%의 결과를 얻었다. 각 분석방법의 비스페놀 A에 대한 분석방법 검출한계는 US EPA 분석방법, isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법이 각각 0.732  $\mu\text{g/l}$ , 0.002  $\mu\text{g/l}$ 와 0.021  $\mu\text{g/l}$ 로 나타났으며, 5~400 ng/l의 농도 범위에서 isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 각각 0.9755~0.9981과 0.9908~0.9996의 직선성을 보였다. 폴리에틸렌 공장의 방류수를 대상으로 잔류량을 측정된 결과 일부 페놀이 검출한계 이하에서 흔적으로 나타났다.

**Abstract** : The alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A were determined by gas chromatography/mass spectrometry-selected ion monitoring mode followed by three work-up methods

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)54-530-5149, Fax : +82-(0)54-530-5152

E-Mail : khlyj@sangju.ac.kr

for comparison; EPA method, isoBOC derivatization method and TBDMS derivatization method. Eleven phenols in water samples were extracted with dichloromethane. 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 recoveries were 85.1~109.9% (EPA method) and 90.3~126.6% (isoBOC derivatization and TBDMS derivatization), respectively. The method detection limit of bisphenol A for SIM were  $0.732 \mu\text{g/l}$  (EPA method),  $0.002 \mu\text{g/l}$  (isoBOC derivatization) and  $0.021 \mu\text{g/l}$  (TBDMS derivatization). The SIM responses were linear with the correlation coefficient varying 0.9755~0.9981 (isoBOC derivatization), and 0.9908-0.9996 (TBDMS derivatization). When these methods were applied to treated wastewater sample from a polyethylene plant, the concentrations of 11 phenols were below the method detection limit.

**Key words :** method detection limit, EPA method, isoBOC derivatization, TBDMS derivatization

---

K C I

## 1. 서 론

최근 환경오염 및 내분비계장애물질로 연구대상이 되고 있는 생리활성이 큰 페놀류들 중 농약, 목재 방부제, 살균제등의 생산에 중간체로 쓰이는 클로로페놀류,<sup>12</sup> 계면 활성제의 원료인 알킬 페놀 에톡시레이트 (alkylphenol ethoxylate, APE)의 생산 원료인 알킬페놀류 (대표적인 nonylphenol 과 이 보다 내분비 장애 효과가 30 배 이상 높은 것으로 알려진 *tert.*-butylphenol)<sup>3,4,5</sup> 및 에폭시 수지 및 방염제의 중간체, 코팅제와 포장제로 사용되는 비스페놀 A<sup>6</sup> 들은 환경 중 농축에 의한 인체에 유입을 통해 내분비계장애물질로 작용하여 암 발생 및 발생기 과정에서 성 결정 (fetal sex determination) 에 영향을 주고, 야생 동물에 여러가지 문제를 야기<sup>7,8</sup> 할 뿐만 아니라 인간에게도 커다란 영향을 주리라 예상되고 있기 때문에, 환경시료 중에서 극미량 ppt (parts per trillion) 수준의 이들 오염물질을 검출할 수 있는 분석법의 개발은 국민 보건상, 환경 보호 차원에서 매우 중요하다. In vitro 시험에서의 연구된 내분비장애는 human breast cell에서 비스페놀 A가 2~5 ppb이며, octylphenol과 nonylphenol이 human oestrogen receptor에서 각각 20.6과 220 ppb 에서 내분비 교란 및 장애를 초래하는 것으로 보고되었다.<sup>9,10</sup> 이들 내분비계장애물질과 내분비계 교란 현상을 직접적으로 규명하기 위하여 in vivo 시험 수준에서 검출할 수 있는 분석법의 개발이 시급한 실정이다.

현재, 미국 환경예방청의 (US environment protection agency, EPA) 주요 오염물질 목록에 11 종의 페놀들이 올라있으며, 이들의 음용수 중 농도가 5  $\mu\text{g/l}$  이내가 되도록 규제하고있으나,<sup>11</sup> 일본 후생성에서는 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A는 내분비계장애물질로 규정되어 0.01  $\mu\text{g/l}$  (노닐페놀은 0.1  $\mu\text{g/l}$ ), 생물시료에서는 1  $\mu\text{g/kg}$  (노닐페놀은 10  $\mu\text{g/kg}$ ) 이내가 되도록 규정하고 있다.<sup>12</sup>

환경시료에서 이들 페놀류의 분석을 위하여 separatory funnel liquid-liquid extraction<sup>13</sup> 및 continuous liquid-liquid extraction<sup>14</sup>, soxhlet extraction<sup>15</sup>, microwave assisted extraction,<sup>16</sup> solid phase extraction<sup>17,31,33,35,36</sup> 등 다양한 추출법이 개발되었다. 이들 중 soxhlet extraction은 추출 효율이 높은 반면, 추출 시간이 너무 길고 많은 유기 용매를 사용해야하는 단점을 가지고 있다.

반면, 최근 개발된 고체상 추출 (solid phase extraction, SPE)은 소량의 용매를 사용하여 미량의 원하는 화합물 만을 선택적으로 추출할 수 있으며, 짧은 추출 시간의 장점을 가지고 있으므로 최근 많이 사용되고 있다.

복잡한 매트릭스를 갖는 환경 시료는 대표적인 방해 물질인 phenolic 구조의 humic acids 및 다른 방해 물질을 포함하고 있으므로 분석장비에 직접적으로 주입하여 검출할 수 없다. 따라서  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 를 첨가하여 free chlorine 과 humic acids 를 제거<sup>18,19</sup> 하였으며, 방해 물질들과 환경 오염 물질을 분리, clean-up을 위해 다양한 컬럼 크로마토그래피 방법이 도입되었다. 일반적으로 실리카 겔, 플로리실 XAD-수지 및 알루미늄아 컬럼이 대표적으로 사용되어졌다.<sup>7,17,18</sup>

페놀류의 검출 분석기기로는 gas chromatograph (GC),<sup>20,21,22</sup> high performance liquid chromatograph (HPLC),<sup>23,24,25</sup> GC/mass spectrometer (GC/MS)<sup>26,27,28,29</sup> 및 LC/mass spectrometer (LC/MS)<sup>30,31</sup>가 많이 사용되었다.

그러나 GC와 HPLC 분석은 단지 머무름 시간에 의해 정성분석을 하므로 때론 방해물질에 의해 발생된 peak를 오인하는 경우도 있으므로, 최근 들어 정확한 정성 및 정량분석법으로 GC/MS 및 LC/MS 방법이 추천되고 있으며, 일본 Speed 98 방법<sup>12</sup>과 미국 EPA 방법<sup>26</sup>에서는 다 성분 페놀류의 분석장비로 분해능이 높은 GC/MS-SIM (selected ion monitoring) 방법을 선호하고 있다. 그러나 환경 시료 중 ppt 수준의 극 미량의 페놀류를 검출하기 위해서는 유도체화 방법이 도입되어야 한다. 일반적인 페놀류의 유도체화 방법으로 페놀류의 phenolic-OH의 활성수소를 silylation<sup>7,32,33</sup>, acylation<sup>19,24</sup>과 benzylation<sup>25</sup> 등의 유도체화 반응을 이용하여 비극성 기능기로 전환한다.

Silyl 유도체를 중에서 *tert*-butyldimethylsilyl (TBDMS) 유도체는 현재 가장 널리 이용되고 있는 trimethylsilyl (TMS) 유도체보다 수분에 강하며 GC 및 mass spectrometry(MS) 분석 성질이 우수하다고 알려져 있다.<sup>33,34</sup> 또한, 페놀류의 acylation과 benzylation은 강한 염기성 수용액에서 phenolate 이온 형태로서만 반응이 이루어지기 때문에 catechol과 같은 산화에 약한 페놀류에는 부적합하다. 이러한 단점을 보완하기 위하여 아민류에 널리 이용되는 alkyloxycarbonylation (AOC) 반응은 중성 수용액에서 phenolic-OH와도 신속히 진행될 수 있으나<sup>35,36</sup> 페놀류에는 거의 활용되고 있지 않다. 새로운 분석법을 개발함에 있어서 분석법의 검증을 위하여 미국 분석화학회 (Association of Official Analytical Chemists, AOAC)에서는 새로운 분석법을 개발함에 있어 2 가지 이상의 서로 다른 분석방법을 사용하여 비교하도록 규정하고 있다.<sup>37</sup>

또한 새로 개발된 유도체화 분석방법을 실제 환경 시료에 적용함에 있어서, US EPA에서 페놀류 분석시 분석방법 검출 한계를 (method detection limit, MDL) 사용하여 사용 기기의 차이나 감도에 상관없이 같은 검출 한계 값이 나오도록 하여야 한다.

본 연구에서 정확한 정성 및 정량분석법으로 사용되어지는 gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) 방법을 사용하여 수질시료 중 ppt 농도의 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A를 동시 정량하는 새로운

유도체화 분석방법을 개발하였다.

새로운 분석방법의 검증을 위하여 새로운 isoBOC 유도체화 분석방법을 기존 US EPA 분석방법과 기존 문헌에 발표된 TBDMS 유도체화 분석방법과 비교하여, 2 가지 이상의 서로 다른 분석방법을 사용하여 비교하였다. 또한 분석방법 검출한계 (MDL)를 사용하여 검출한계 개선 여부를 증명하고자 하였으며, 각각의 회수율과 크로마토그래피 성질을 검토하였다.

## 2. 실험 및 방법

### 2.1. 시약

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

유도체화 시약은 N-methyl-N-(*tert*-butyl-dimethylsilyl)-trifluoroacetamide (MTBSTFA) 용액은 Pierce사 (Rockford, IL, USA), isobutylchloroformate (isoBCF) 용액은 Acros 사 (Belgium)로부터 구입하였으며, triethylamine (TEA)은 Junsei (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다

고형 흡착제로는 GCB로 사용한 60/80 mesh의 Carpack B, 60/80 mesh의 Chromosorb 102, Chromosorb 107 (Supelco, U.S.A.)과 80/100 mesh의 Thermosorb (Union Carbide, USA) 4 종류를 사용하였다. 흡착제로 사용한 20~60 mesh의 AMBERLITE XAD-4 수지는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2.2. 물 시료

3차 증류수와 여천 석유화학 공단 내 폴리에틸렌 고분자 공장의 방류수를 채취하였다. 모든 시료는 세척된 채취 병을 시료가 되는 물 시료로 3회 이상 세척한 후 채취하여 사용하였다.

### 2.3. 페놀 표준원액 및 내부 표준원액 조제

본 연구에서 HPLC를 이용한 최적 흡착제를 선정하기 위하여 사용한 페놀, 비스페놀 A와 노닐페놀은 각각을 1 mg/ml의 농도가 되도록 아세트니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후 각각의 원액에서 일정량씩을 취하

여 pH 2 물 1 ℓ에 회석시켜 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도의 흡착제 선정용 표준용액으로 만들었다. 또한 GC/MS 실험용 11가지의 페놀 표준물질들 각각을 1  $\text{mg}/\text{ml}$ 의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후 각각의 원액에서 일정량을 취하고 회석시켜 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도의 페놀 혼합 표준용액을 조제하였다. 표준용액은 0°C 이하의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. Phenanthrene-d<sub>10</sub>과 비스페놀 A-d<sub>16</sub>는 1  $\text{mg}/\text{ml}$ 의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후, 각각 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 내부표준용액으로 사용하였다.

#### 2.4. 흡착제 돌파부피 측정 실험

최적 흡착제를 선정하기 위하여 사용한 Chromosorb 102, 107, GCB와 TS의 흡착제를 스텐레스 컬럼에 각각 충전하였다. 충전된 컬럼들을 UV-vis detector와 펌프 사이에 연결하고 flow rate를 0.5  $\text{ml}/\text{min}$ 으로 최소 메탄올 10  $\text{ml}$ , 아세톤 10  $\text{ml}$ 와 이염화 탄소 10  $\text{ml}$ 로 각각 세척하였다. pH 2 증류수 10  $\text{ml}$ 를 흘려준 후, 흡착제 선정용 표준액 (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 UV 파장 280  $\text{nm}$ 에서 0.5  $\text{ml}/\text{min}$ 으로 흘려주면서 UV 흡광도가 0.000에서 0.001로 변화하는 시간을 초 시계를 이용하여 3 회 측정하였다.

#### 2.5. 물 시료 전처리 및 분석방법 검출한계 실험

##### 2.5.1 US EPA 분석방법 검출한계 전처리 실험

1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 pH 2로 조절한 3차 증류수 시료 3 ℓ에 페놀 혼합 표준 원액 5  $\mu\text{g}/\text{l}$ 를 첨가하고, 내부표준 물질로서 비스페놀 A-d<sub>16</sub> 용액 1  $\mu\text{g}/\text{l}$ 를 첨가한다. 균질화하게 혼합하고 그 중 1 ℓ를 분액 깔대기에 분취하여 NaCl를 포화시킨 후 이염화 탄소 50  $\text{ml}$ 로 세번 추출하여 합친다. 이 용액에 triethylamine (TEA) 100  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 회전식 감압농축기를 사용하여 질소 가스를 불어넣어 약 5  $\text{ml}$ 로 농축한다. 다음 테프론 코팅된 마개를 지닌 1  $\text{ml}$  reacti-vial (Pierce Co., USA)에 TEA 70  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후, 질소 가스를 불어넣어 농축을 하면서 옮긴다. 약 70  $\mu\text{l}$ 로 농축 건조시켜 1 번 시료의 전처리액으로 한 다음 이 용액에 ethylacetate 20  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 phenanthrene-d<sub>10</sub> 10  $\mu\text{l}$ 를 첨가하였다. 위 용액의 1  $\mu\text{l}$ 를 GC/MS에 주입하여 분석하였다. 분석 후 신호 대 잡음 비가 비스페놀 A에 대하여 5 정도되는 농도까지

계속 반복하여 페놀 혼합표준용액을 회석하여 (2.5  $\mu\text{l}$ ) 각각을 7 개의 3차 증류수 시료 3 ℓ중 분취한 1 ℓ에 첨가하여 실험하였다.

##### 2.5.2. isoBOC 유도체화 분석방법 검출한계와 TBDMS 유도체화 분석방법 검출한계 전처리 실험

남아 있는 2 ℓ의 3차 증류수 시료를 아세토니트릴 20  $\text{ml}$ , 메탄올 20  $\text{ml}$ , 증류수 20  $\text{ml}$ , pH 2 물 20  $\text{ml}$ 로 세척한 0.5 g XAD-4 컬럼에 분당 0.5  $\text{ml}$ 의 유속으로 통과할 수 있도록 하였다. 통수가 끝난 후 고체상 추출 장치 (solid-phase extractor (Supelco, Bellefonte, PA, USA))를 이용하여 XAD-4 컬럼을 낮은 진공 상태 (120 ~ 250  $\text{mm}$  Hg)로 과량의 수분을 제거한 후, 10 분간 질소 가스를 불어 주면서 잔여 수분을 완전히 제거시킨다. 수분이 제거된 XAD-4 컬럼에 아세토니트릴 3  $\text{ml}$ 를 5 분간 정체시킨 후, 분당 0.5  $\text{ml}$  이하의 속도로 용출시킨다. 이 조작을 2 회 반복하고 아세토니트릴층을 합하고 균질화하게 혼합한 후, 다시 3  $\text{ml}$ 씩 각각 분취하여 2 번과 3 번 시료의 전처리액으로 한다. 화학 유도체 방법에 의해 유도체화 한 후, 비유도체화 분석방법 (US EPA 분석방법)과 동일한 방법으로 신호 대 잡음 비가 비스페놀 A에 대하여 5 정도되는 농도까지 계속 반복하여 페놀 혼합표준용액을 회석하여 (0.06  $\mu\text{g}/\text{l}$  (isoBOC)와 0.04  $\mu\text{g}/\text{l}$  (TBDMS)) 하여 각각을 7 개의 3차 증류수 시료 3 ℓ중 분취한 2 ℓ에 첨가하여 실험하였다.

#### 2.6. 실제 환경 물 시료 응용 및 분석방법 검출한계 실험

실제 폴리 에틸렌 공장의 방류수 시료에서는 방류수 시료 1 ℓ에 비스페놀 A-d<sub>16</sub> 1  $\mu\text{g}/\text{l}$  첨가하여 US EPA 분석방법 전처리 실험방법에 따라 추출 및 농축한 다음 phenanthrene-d<sub>10</sub> 1  $\mu\text{g}$ 를 첨가 후, 용액의 1  $\mu\text{l}$ 를 GC/MS에 주입하여 분석하였다. 또한 동일 폴리 에틸렌 공장의 방류수 시료 2 ℓ에 알킬페놀류 클로로페놀류 및 비스페놀 A 각각 3  $\text{ppb}$ 와 내부표준물질 비스페놀 A-d<sub>16</sub> 1  $\mu\text{g}/\text{l}$  첨가하여 추출 후 화학 유도체 방법에 따라 isoBOC 유도체화 반응과 TBDMS 유도체화 반응을 각각 시킨 다음 phenanthrene-d<sub>10</sub> 1  $\mu\text{g}$ 를 첨가 후, 용액의 1  $\mu\text{l}$ 를 GC/MS에 주입하여 분석하였다.

또한, 동일한 폴리 에틸렌 공장 방류수 시료에 비스페놀 A를 기준으로 신호 대 잡음비가 5 정도 되는

농도까지 계속 반복하여, 페놀 혼합 표준원액을 희석 (0.06  $\mu\text{g/l}$  (isoBOC)와 0.04  $\mu\text{g/l}$  (TBDMS)) 하여 폴리 에틸렌 공장 방류수 시료 1 l에 첨가하여 각각 7 회 반복 실험하였다.

### 2.7. 고체상 용출용매 선정실험

선정된 최적 흡착제에 사용할 용출용매를 선정하고자, 흡착제 500 mg을 끝이 뾰족한 유리관 (12 mm I.D.)에 기밀하게 충전한 후, 아세트니트릴, 메탄올과 이염화 탄소를 사용하여 각각 10 ml 씩으로 세척하였다. pH 2의 3 차 증류수 10 ml를 분당 0.5 ml로 흘려 준 후, 페놀 표준 혼합용액 (50  $\mu\text{g/ml}$ ) 60  $\mu\text{l}$ 을 로딩시킨 후, 각각 아세트니트릴 메탄올과 이염화 탄소 3 ml를 컬럼에 5 분간 정체시킨 다음 분당 0.5 ml의 속도로 용출시킨다. 2회 반복 용출하여 농축 후, 화학 유도체 방법에 따라 TBDMS 유도체화 반응시켰다.

### 2.8. 화학 유도체 방법

#### 2.8.1. isoBOC 유도체

위의 전처리 과정을 거친 2 번 전처리액을 테프론 코팅된 마개를 지닌 1 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 triethylamine 40  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 농축을 하면서 옮긴다. 약 40  $\mu\text{l}$ 로 농축한 후, 다시 triethylamine 30  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 isobutylchloroformate

20  $\mu\text{l}$ 를 첨가한다. 이 용액을 40 °C ~ 250 °C까지 조정할 수 있는 derivatization reactor (Pierce Co., USA)에 넣고 100 °C에서 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식힌다. 유도체가 완료된 후 0.1  $\mu\text{g/l}$ 의 phenanthrene-d<sub>10</sub> 10  $\mu\text{l}$ 를 첨가하였다.

#### 2.8.2. TBDMS 유도체

위의 전처리 과정을 거친 3 번 전처리액을 테프론 코팅된 마개를 지닌 1 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 triethylamine 50  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 농축을 하면서 옮긴다. 약 50  $\mu\text{l}$ 로 농축한 후, N-methyl-N-(tert.-butyl-dimethylsilyl)-trifluoroacetamide 40  $\mu\text{l}$ 를 첨가한다.

이 용액을 40 °C ~ 250 °C까지 조정할 수 있는 derivatization reactor (Pierce Co., USA)에 넣고 100 °C에서 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식힌다. 유도체가 완료된 후 0.1  $\mu\text{g/l}$ 의 phenanthrene-d<sub>10</sub> 10  $\mu\text{l}$ 를 첨가하였다.

### 2.9. 분석기기

각 흡착체들의 흡착력을 측정하기 위한 HPLC는 1 head의 M930 펌프와 50 ~ 900 nm의 가변 파장의 UV-vis 검출기에 D520B적분기 (Young-Lin, Seoul, Korea)를 사용하였다.

Table 1. Selected ion groups for phenols in SIM mode

compound	time range (min)			selected ion (m/z)		
	isoBOC	TBDMS	EPA	isoBOC	TBDMS	EPA
2,4-dichlorophenol	14.00-18.10	13.50-15.50	8.00-10.80	164, 162	221, 219	164, 162
4- <i>t</i> -butylphenol	14.00-18.10	13.50-15.50	8.00-10.80	135, 107	264, 151	150, 135
4- <i>n</i> -butylphenol	14.00-18.10	13.50-15.50	10.80-13.50	150, 107	264, 225	150, 107
phenanthrene-d <sub>10</sub>	14.00-18.10	15.50-18.00	14.70-20.00	188	188	188
4- <i>n</i> -pentylphenol	18.10-19.40	15.50-18.00	10.80-13.50	164, 107	278, 239	164, 107
4- <i>n</i> -hexylphenol	18.10-19.40	15.50-18.00	13.50-14.70	178, 107	292, 253	178, 107
4- <i>t</i> -octylphenol	18.10-19.40	15.50-18.00	13.50-14.70	235, 135	320, 249	135, 107
4- <i>n</i> -heptylphenol	19.40-22.00	18.00-20.00	14.70-20.00	192, 107	306, 267	192, 107
pentachlorophenol	19.40-22.00	24.00-25.50	14.70-20.00	268, 266	375, 357	266, 264
nonylphenol	19.40-22.00	18.00-20.00	14.70-20.00	320, 220, 149, 107	334, 277, 267, 249	220, 135, 107
4- <i>n</i> -octylphenol	19.40-22.00	18.00-20.00	14.70-20.00	206, 107	320, 281	206, 107
bisphenol A-d <sub>16</sub>	22.00-34.00	25.50-34.00	20.00-34.00	242, 224	470, 453	242, 224
bisphenol A	22.00-34.00	25.50-34.00	20.00-34.00	228, 213	456, 441	228, 213

물 시료중 내분비장애 폐놀류를 측정하기위한 GC/MS로는 TRACE-GC 2000 기체 크로마토그래피와 Xcaliber 프로그램이 설치된 펜티엄 III 컴퓨터 (Gateway, USA)가 연결된 FINNIGAN POLARIS/GCQ Plus 이온 트랩 질량분석기 (Thermo Quest, Austin, USA)로 구성되어진 것을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 컬럼은 DB-5MS cross linked 5% phenyl methylsilicon fused-silica capillary column (30 m x 0.25 mm I.D., 0.25  $\mu$ m film thickness) 을 사용하여 이온 원과 직접 연결하였다. 오븐 온도는 처음에 60 °C에서 1 분 동안 머물게 한 후 1 분당 10 °C씩 올려 280 °C까지 올리고 20 분 동안 머물게 하였다.

시료 1  $\mu$ l를 비분할 (splitless) 주입법을 사용 (purge delay time 0.7 분) 주입하였으며, memory effect 를 방지하기 위하여 0.7 분 후에 purge flow는 20 ml로 하였다. 운반기체는 헬륨 (99.999%)을 사용했고, 유속은 0.9 ml/min 로 흘려주었다. 시료 주입 구의 온도, 연결 부분의 온도, 이온 원의 온도는 각각 270 °C, 280 °C, 200 °C로 맞추었다.

이온화 전압을 70 eV 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 (retention time)에 따라 EPA 방법의 경우 5 개의 그룹, isoBOC 유도체의 경우 4 개의 그룹, TBDMS 유도체의 경우 5 개의 그룹으로 나누어 검색하였다. Table 1은 SIM 방법에서 사용한 선택 이온들을 실었다.

## 2.10. 회수율 측정 실험

표준 혼합물을 전처리 과정 없이 위에서와 동일한 방법으로 희석 및 유도체화 (10  $\mu$ g/l (US EPA 분석방법), 2  $\mu$ g/l (isoBOC 유도체화 분석방법 TBDMS 유도체화 분석방법))를 실시하여 GC/MS-SIM로 분석하였다.

또한 3 차 증류수 3 l에 동일한 농도로 첨가된 각각의 폐놀류를 위와 동일한 방법으로 전처리 및 화학 유도체 방법을 거친 후 회수율을 알아보았다. 폴리에틸렌 고분자 공장 방류수에 있어서는 pH 2로 조절된 방류수 시료 3 l에 내부 표준 물질로서 bisphenol A-d<sub>16</sub>을 1  $\mu$ g/l 첨가하여 위와 동일한 전처리 방법을 거친 뒤 GC/MS-SIM로 분석하였다.

## 2.11. 표준검정곡선의 작성

검정 범위는 각 물질별로 표준물질을 혼합한 5 개의 검정용 표준 혼합물 (5, 20, 100, 200, 400 ng)을 만들었다. 이 혼합물에 bisphenol A-d<sub>16</sub> 1  $\mu$ g를 넣고 각 시료별 전처리 방법을 거친 뒤, 유도체화 방법에 따라 isoBOC 유도체화는 TBDMS 유도체화 하고 내부 표준 물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub> 용액 1  $\mu$ g을 첨가 한 후 GC/MS-SIM로 분석하여 시료별 검정곡선을 얻었다.

## 2.12. 계산

최적 흡착제 선정시 계산은 표준액의 농도 (10  $\mu$ g/ml)에 유속과 머무름 시간을 곱하여 각 흡착제 3 종류 각각의 흡착량을 계산한 뒤, 각 흡착제를 50 mg 충전한 것으로 환산하여 각 흡착제의 흡착량과 들과 부피를 계산하였다.

US EPA 분석방법 isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDS 유도체화 분석방법, 각각의 검출 한계는 US EPA의 절차에 따라 계산하였다

3 차 증류수 회수율과 직선성 실험에서는 I.S로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub>과 각 폐놀간의 상대적 피크 면적 비를 이용하여 회수율과 직선성을 계산하였다. 또한 방류수 실험에서는 I.S로 사용한 비스페놀 A-d<sub>16</sub>과의 면적과 phenanthrene-d<sub>10</sub>간의 면적 비를 이용하여 계산하였다.

## 3. 결과 및 고찰

본 실험에서 11가지 폐놀류에 대한 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체와 비유도체 (underivatived)의 GC/MS 분석한 결과를 Fig. 1에 실었다. Fig. 1에서 보듯이 폐놀류를 GC/MS로 분석하면 이들의 기체 크로마토그래프 성질은 폐놀의 화학적 구조에 따라 많은 차이를 보인다.

Fig. 1에서 보듯이, isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체 및 비유도체 형태들은 모두 분리가 잘 이루어졌으나, 전반적으로 비유도체 폐놀류는 매우 낮은 감도를 보여주고 있는 반면 isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체인 경우 모두 좋은 상호 보완적인 감도를 보여주고 있다. 본 연구에서 사용된 폐놀류에 대한 상대 감응도 (relative response factor, RRF)를 내부표준물질인 phenanthrene-d<sub>10</sub>을 사용하여 계산하였다. 특히 펜타 클로로페놀과 비스페놀 A 인 경우, 유도체화 하지 않은 상태에서는 GC의 주입구나 컬럼에서 흡착으로 인한

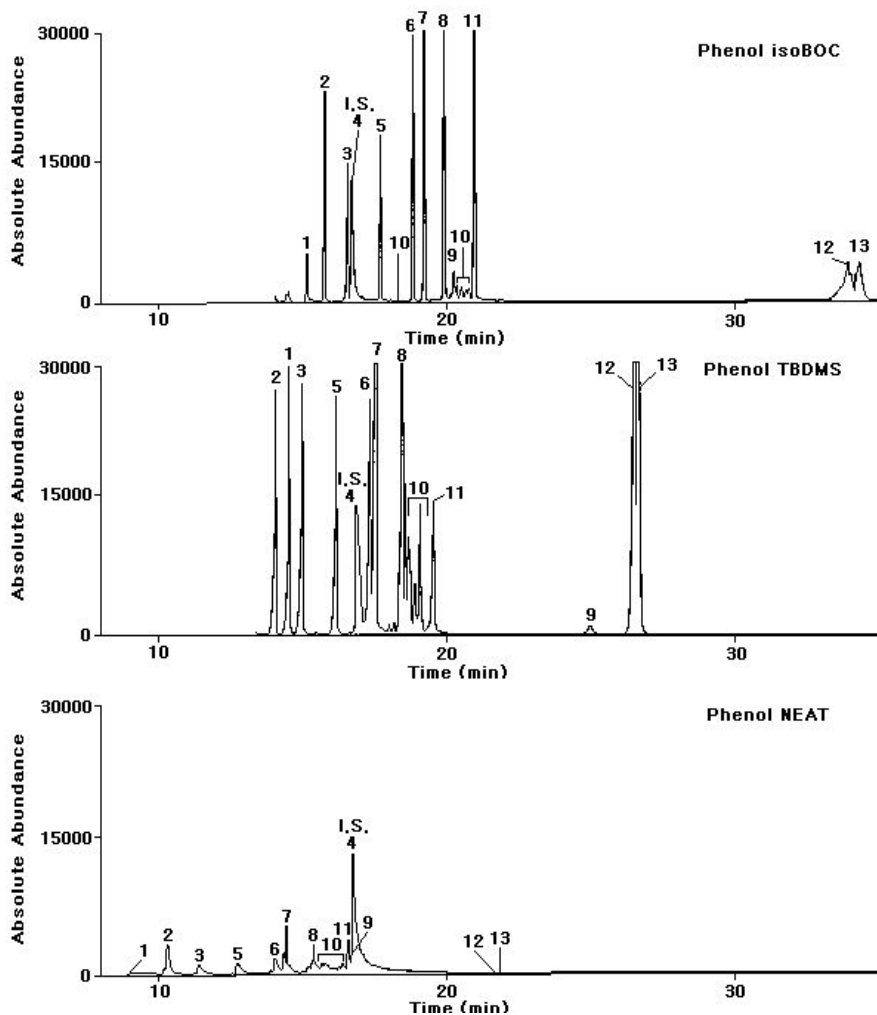


Fig. 1. Total chromatograms of isoBOC derivatized phenols (upper trace), TBDMS derivatized phenols (middle trace) and standard free phenols (lower trace). Peaks identity as follow: 1. 2,4-dichlorophenol, 2. 4-t-butylphenol, 3. 4-n-butylphenol, 4. phenanthrene-d10 (internal standard), 5. 4-n-pentylphenol, 6. 4-n-hexylphenol, 7. 4-t-octylphenol, 8. 4-n-heptylphenol, 9. pentachlorophenol, 10. nonylphenol, 11. 4-n-octylphenol. 12. bisphenol A-d16 (internal standard), 13. bisphenol A

낮은 감도와 재현성이 떨어지는 반면, isoBOC 유도체나 TBDMS 유도체인 경우에는 OH기의 극성이 감소되어 휘발성이 높아지기 때문에 매우 좋은 감도를 보인다. 노닐페놀의 경우 다양한 이성질체가 존재하므로 isoBOC 유도체나 TBDMS 유도체 모두에서 상대적으로 낮은 감도를 보인다.

페놀류의 기체크로마토그래프 머름 시간과 질량분석기에서 얻어진 특성이온들에 대한 결과를 Table

2, 3, 4에 실었다. 이들의 머름 시간은 free phenol, isoBOC 유도체와 TBDMS 유도체에서 모두 알킬페놀의 경우 페놀에 치환된 탄소의 수에 따라 증가함을 나타냈고, tert-형태가 n-형태보다 빨리 용리되어 나온다. 이것은 n-형태가 형태상 tert-형태보다 평면 구조를 가지고 있으므로 인하여 입체 장애를 받아 GC 컬럼내에서 정지상과 이동상 간에 분포되는 속도가 tert-형태보다 긴 것을 알 수 있다.



Table 2. Relative retention times (RRT) and mass spectral characteristic ions of phenols isobutoxycarbonyl derivative

compound	RT	RRT	[M] <sup>+</sup>	[M-100] <sup>+</sup>	other characteristic ion, m/z (%)
2,4-dichlorophenol	15.29	0.910	262 (0)	162 (100)	166 (11) 164 (65)
4- <i>t</i> -butylphenol	15.90	0.946	250 (4)	150 (28)	135 (100) 107 (15)
4- <i>n</i> -butylphenol	16.67	0.992	250 (4)	150 (46)	107 (100)
phenanthrene-d <sub>10</sub>	16.80	1.000	188 (100)		
4- <i>n</i> -pentylphenol	17.78	1.058	264 (3)	164 (46)	107 (100)
4- <i>n</i> -hexylphenol	18.86	1.123	278 (1)	178 (53)	107 (100)
4- <i>t</i> -octylphenol	19.26	1.146	306 (2)	206 (1)	235 (37) 135 (100) 107 (13)
4- <i>n</i> -heptylphenol	19.90	1.185	292 (3)	192 (57)	107 (100)
pentachlorophenol	20.12	1.198	364 (0)	264 (62)	268 (64) 266 (100) 270 (20)
nonylphenol	20.01	1.191	320 (1)	220 (3)	121 (100) 107 (36) 263 (30)
	20.21	1.203	320 (4)	220 (9)	149 (100) 121 (60) 135 (86)
	20.30	1.208	320 (1)	220 (6)	135 (100) 191 (15) 107 (10)
	20.40	1.214	320 (3)	220 (7)	121 (100) 107 (68) 177 (90)
	20.66	1.230	320 (2)	220 (7)	149 (100) 191 (61) 107 (67)
4- <i>n</i> -octylphenol	20.88	1.243	306 (2)	206 (65)	107 (100)
bisphenol A-d <sub>16</sub>	31.20	1.857	442 (2)	342 (5)	242 (15) 224 (100)
bisphenol A	31.42	1.870	428 (1)	328 (6)	228 (17) 213 (100)

Relative retention times (RRT) : RT of analyte / RT of phenanthrene-d<sub>10</sub>Table 3. Relative retention times (RRT) and mass spectral characteristic ions of phenols *tert*-butyldimethylsilyl derivative

compound	RT	RRT	[M] <sup>+</sup>	[M-57] <sup>+</sup>	other characteristic ion, m/z (%)
2,4-dichlorophenol	14.71	0.875	276 (3)	219 (100)	221 (74) 201 (36) 183 (28)
4- <i>t</i> -butylphenol	14.24	0.847	264 (62)	207 (4)	193 (20) 169 (66) 151 (100)
4- <i>n</i> -butylphenol	15.16	0.901	264 (36)	207 (7)	225 (100) 208 (10) 169 (12)
phenanthrene-d <sub>10</sub>	16.82	1.000	188 (100)		
4- <i>n</i> -pentylphenol	16.32	0.970	278 (40)	263 (2)	221 (9) 239 (100) 169 (20)
4- <i>n</i> -hexylphenol	17.47	1.039	292 (37)	235 (6)	253 (100) 183 (11) 165 (28)
4- <i>t</i> -octylphenol	17.70	1.052	320 (7)	263 (1)	249 (100) 73 (12)
4- <i>n</i> -heptylphenol	18.55	1.103	306 (43)	291 (3)	249 (7) 267 (100) 165 (41)
pentachlorophenol	24.93	1.482	378 (1)	321 (1)	376 (29) 375 (100) 357 (77)
nonylphenol	18.45	1.097	334 (8)	277 (96)	306 (51) 267 (100) 235 (75)
	18.66	1.109	334 (18)	277 (3)	305 (37) 263 (53) 249 (100)
	18.73	1.114	334 (23)	277 (5)	305 (33) 263 (74) 249 (100)
	18.78	1.117	334 (15)	277 (10)	249 (100) 73 (14)
	18.84	1.120	334 (9)	277 (100)	305 (18) 291 (29) 235 (49)
	18.99	1.129	334 (2)	277 (100)	235 (34) 221 (26)
	19.14	1.138	334 (5)	277 (1)	305 (15) 263 (20) 249 (100)
4- <i>n</i> -octylphenol	19.59	1.165	320 (55)	263 (8)	281 (100) 264 (21) 165 (74)
bisphenol A-d <sub>16</sub>	25.79	1.533	470 (37)	413 (0)	453 (100) 217 (39)
bisphenol A	25.91	1.540	456 (32)	399 (0)	207 (35)

Relative retention times (RRT) : RT of analyte / RT of phenanthrene-d<sub>10</sub>

Table 4. Relative retention times (RRT) and mass spectral characteristic ions of intact phenols

compound	RT	RRT	[M] <sup>+</sup>	other characteristic ion, m/z (%)
2,4-dichlorophenol	8.57	0.510	162 (83)	164 (62) 75 (18) 73 (16) 63 (100)
4- <i>t</i> -butylphenol	10.27	0.611	150 (27)	135 (100) 107 (66) 77 (22)
4- <i>n</i> -butylphenol	11.23	0.668	150 (25)	107 (100) 77 (28)
phenanthrene-d <sub>10</sub>	16.82	1.000	188 (100)	
4- <i>n</i> -pentylphenol	12.63	0.751	164 (23)	107 (100) 77 (23)
4- <i>n</i> -hexylphenol	13.96	0.830	178 (22)	107 (100) 77 (19)
4- <i>t</i> -octylphenol	14.53	0.864	206 (8)	135 (100) 107 (37)
4- <i>n</i> -heptylphenol	15.24	0.906	192 (23)	135 (9) 107 (100)
pentachlorophenol	16.71	0.993	264 (65)	266 (100) 268 (56) 270 (19)
nonylphenol	15.42	0.917	220 (4)	192 (15) 135 (16) 107 (100) 73 (22)
	15.58	0.926	220 (10)	177 (24) 163 (34) 121 (84) 107 (100)
	15.70	0.933	220 (10)	135 (100) 107 (54)
	15.79	0.939	220 (20)	149 (51) 135 (58) 121 (42) 107 (100)
	15.92	0.946	220 (19)	191 (22) 149 (49) 135 (86) 107 (100)
	16.04	0.954	220 (12)	177 (16) 135 (100) 121 (42) 107 (88)
	16.14	0.960	220 (6)	149 (48) 135 (33) 121 (41) 107 (100)
	16.26	0.967	220 (3)	149 (13) 135 (100) 121 (12) 107 (58)
	16.35	0.972	220 (5)	149 (77) 135 (50) 121 (31) 107 (100)
4- <i>n</i> -octylphenol	16.49	0.980	206 (20)	192 (12) 149 (16) 135 (13) 107 (100)
bisphenol A-d <sub>16</sub>	20.75	1.234	244 (0)	242 (25) 224 (100) 143 (26) 128 (23)
bisphenol A	20.78	1.235	228 (18)	213 (100)

Relative retention times (RRT) : RT of analyte / RT of phenanthrene-d<sub>10</sub>

페놀류에 대한 전자충돌방식 (electron impact, EI)에 의한 질량 스펙트럼은, Fig. 2, Fig. 3와 Fig. 4에서 보듯이 isoBOC 유도체인 경우 alkyloxycarbonyl 기가 떨어져 나간 후 free phenol 과 동일한 형태로 이온들이 떨어져 나가는 것을 확인할 수 있었으며, 특히 알킬페놀의 경우 benzylic 위치의 알킬기가 떨어져 나간 이온이 기준 peak로 나타난다. Fig. 2과 4에서 보듯이, *n*-형태의 경우 [M-43]<sup>+</sup>인 *m/z* 107 이온이 특징적으로 나타나고, *tert*- 형태의 경우 [M-15]<sup>+</sup>인 *m/z* 135 이온이 특징적으로 나타난다. 따라서 이들 이온의 존재로 *n*-형태인지 *tert*- 형태의 이성질체인지 분간할 수 있는 특성 이온이 된다. TBDMS 유도체인 경우에는 *tert*-butyl 기와 여기서 떨어져 나온 메틸기의 [M-57]<sup>+</sup>와 [M-15]<sup>+</sup>의 특징적인 피이크로 나타난다.

또한, TBDMS 유도체에서 본 실험에 실험한 탄소 수 4~8의 *n*-형태의 알킬페놀인 경우 각각의 경우 특이하게 [M-39]<sup>+</sup>의 피이크가 나타난다. 이것은 아마도 ion-trap 안에서 이온들이 붙잡혀 있는 동안 전기장과

자기장의 변화로 C<sub>3</sub>H<sub>3</sub> 이온이 생성되고 이것이 떨어져 나간것이 기준 피이크로 나타나는것으로 생각된다.

본 실험에서 각 실험 방법간의 회수율과 분석방법 검출 한계에 대하여 연구하였다.

페놀류 화합물들의 회수율을 높이고자 고체상 추출 방법 (SPE)을 사용하였다.

SPE 를 하기 위한 각각의 흡착제의 흡착능을 알아보기 위한 breakthrough volume 을 Table 5에 정리하였다

흡착제 Chromosorb 102, Chromosorb 107, GCB 및 TS에 대하여 구조적으로 다양한 4 종의 phenol에 대하여 각각 10 ppm의 농도로 조제하여 구한 breakthrough volume의 결과는 Chromosorb 102가 다른 세가지의 흡착제에 비하여 대략 1.5 배에서 크게는 50 배의 높은 흡착을 보여주었다. 또한 특이한 것은 GCB 의 경우 최초 컬럼에 충전하여 실험한 data와 메탄올 10 ml, 아세톤 10 ml, 이염화탄소 10 ml로 탈착 후 재 실험한 결과는 최초 실험치와 상이한 결과를 보였다.

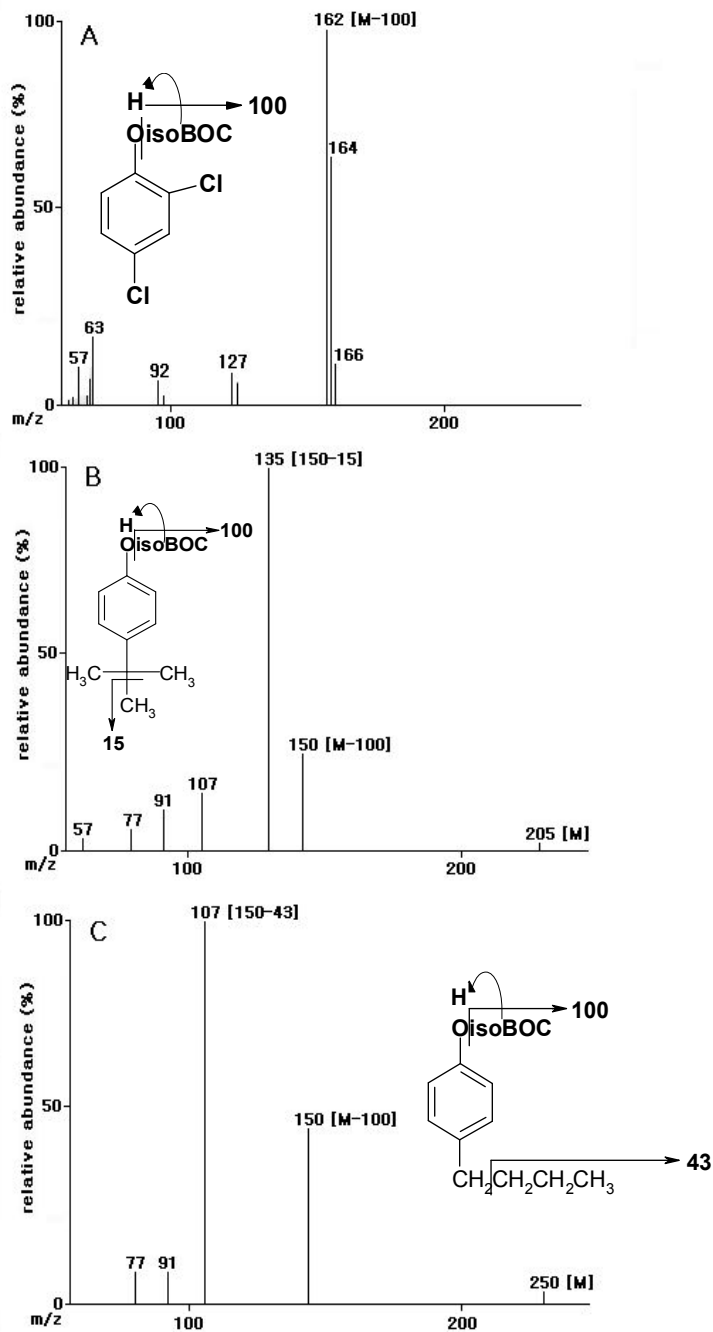


Fig. 2. EI mass spectra of isoBOC derivatized phenols.

- (A) 2,4-dichlorophenol-OisoBOC
- (B) *tert.*-butylphenol-OisoBOC
- (C) *n*-butylphenol-OisoBOC

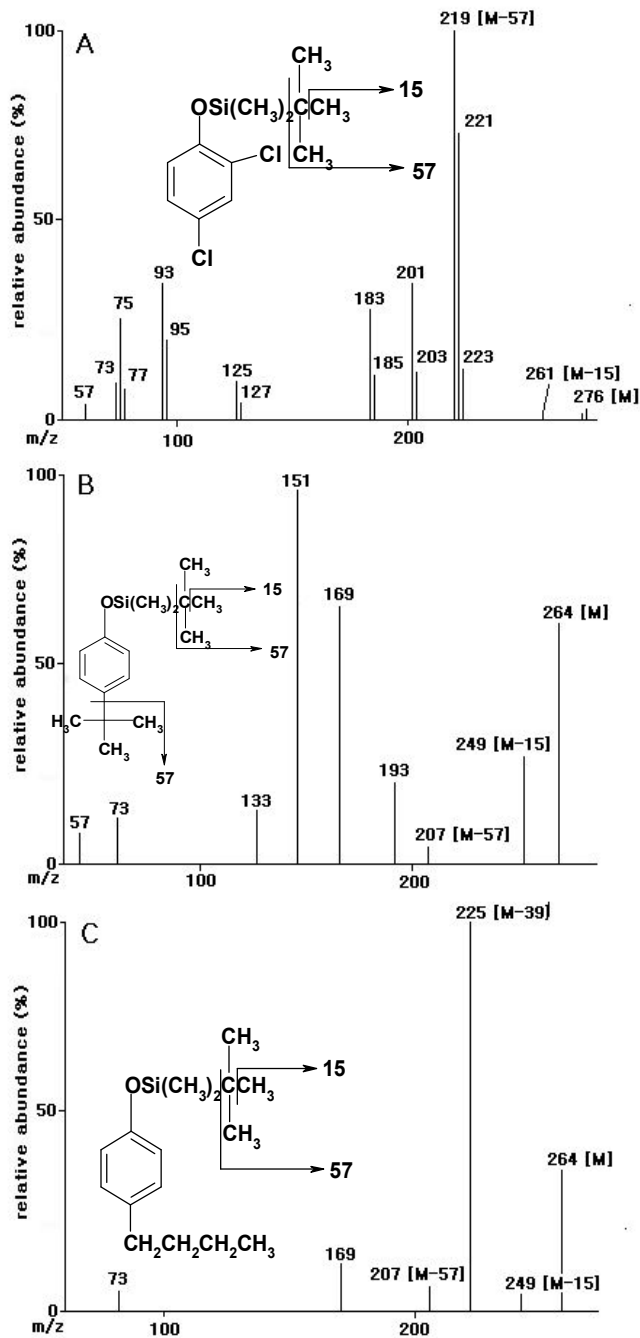


Fig. 3. EI mass spectra of TBDMS derivatized phenols.

(A) 2,4-dichlorophenol-OTBDMS

(B) *tert.*-butylphenol-OTBDMS

(C) *n*-butylphenol-OTBDMS.

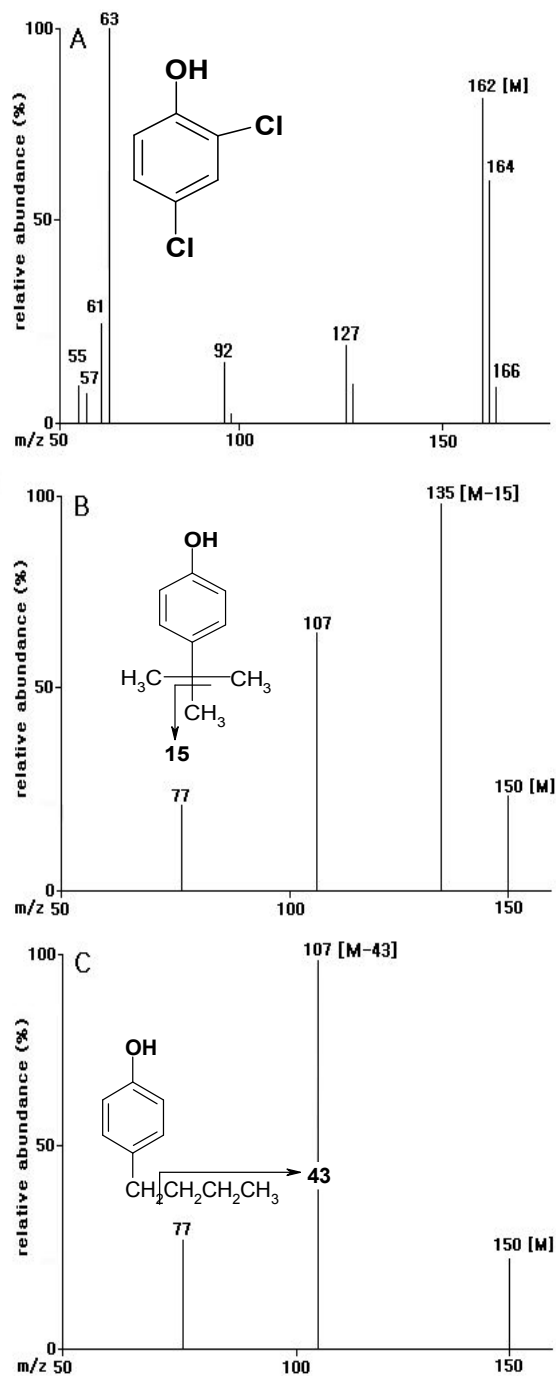


Fig. 4. EI mass spectra of free phenols.

- (A) 2,4-dichlorophenol
- (B) *tert.*-butylphenol
- (C) *n*-butylphenol.

Table 5. The breakthrough volumes for phenols<sup>a</sup> in Chromosorb 102 resin and other adsorbents

(n=3)

	Comp.	Chromosorb <sup>b</sup> 102	Chromosorb 107	GCB	TS
Breakthrough	phenol	5.61	14.34	0.11	0.37
Volume (ml)	<i>m</i> -nitrophenol	0.95	10.54	0.12	0.34
	bisphenol A	5.57	1.18	0.20	1.22
	nonylphenol	0.47	0.36	0.25	0.14
	phenol	56.1	43.4	1.1	3.7
Capacity ( $\mu\text{g}$ )	<i>m</i> -nitrophenol	9.5	5.4	1.2	3.4
	bisphenol A	55.7	11.8	2.0	12.2
	nonylphenol	4.7	3.6	2.5	1.4

<sup>a</sup>Concentration of sample in distilled water : 10 ppm

Detector : UV-vis detector

Wave length : 280 nm

<sup>b</sup>Adsorbents weight : 50 mg

이러한 결과는 최초 GCB가 페놀 구조의 -OH기와 수소결합보다는 다른 방해물질들과 페놀류 보다 강하게 흡착되어 페놀류가 흡착될 수 있는 자리가 줄어들므로 2 회 실험부터 3회 반복 실험하였을시에는 10% 이내의 좋은 재현성을 보이는 것으로 생각된다. 선정된 최적 흡착제인 Chromosorb 102 인 XAD-4 컬럼에 사용할 용출 용매 선정 실험에서는 메탄올의 경우 고상 추출 후, TEA에 남아있는 메탄올의 영향으로 페놀류의 TBDMS 유도체가 되지 않았다. 비극성 용매인 이염화탄소를 사용하였을 시 52.0~100.9% 인 반면, 극성 용매인 아세토니트릴을 사용하였을 시 93.8~108.3% 로 1.02~2.02 배 정도 회수율이 우수하였다. 이것은 기존에 발표된 styrene divinylbenzene 흡착제로 예비 농축 후 TBDMS 유도체화 하여 GC/MS-SIM으로 분석한 논문과 비슷한 결과를 얻을 수 있었다.<sup>17</sup> 이것은 XAD-4 흡착제의 -OH기가 페놀류의 -OH기와 수소결합을 하고 있으므로 극성의 페놀들을 용출시 이 -OH를 끊어 줄 수 있는 -OH 기능이 없는 극성 용매가 적합하다는 것을 의미한다.

각각의 분석방법의 회수율은 각각 액체-액체 추출 후 유도체화 하지 않은 US EPA 분석방법일 경우 85.1~109.9%이고, XAD-4에 의한 고체상 추출 후 두 가지 방법으로 유도체화한 방법은 90.3~126.6%로 각각의 방법은 ppb (part per billion) 수준에서 모두 US EPA에서 권고한 85 % 이상의 회수율을 보였다.

분석방법 검출한계를 낮추고자 유도체화 방법을 선택하였다. 분석방법 검출한계 개선 여부를 US EPA

분석방법 (비 유도체화 분석방법), isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석 방법들을 동등한 조건으로 비교하기 위해서 미국 환경청 data 처리 방법인 분석방법 검출한계 방법을 사용하였다. 즉 US EPA 분석방법, isoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 방법 각각을 3 차 증류수, 폴리에틸렌 공장 방류수 시료에 대하여 현재 내분비계장애물질로 가장 주목받고 있는 비스페놀 A에 대해서 알아보고자 내부 표준물질을 비스페놀 A-d<sub>16</sub>을 사용하여 비스페놀 A가 각 시료에서 신호 대 잡음 비가 5 정도 되는 농도로 페놀 표준혼합용액을 각각 희석하여 각각 7 회 반복 실험하였다. 비스페놀 A-d<sub>16</sub> 면적에 대한 비스페놀 A의 면적 비를 구하고 각 7 회의 면적 비에 대한 표준 편차 (s)를 구한 후, 자유도 계수 6에서 99 % 신뢰도 (t) 값인 3.143을 표준 편차에 곱한 MDL = ts 식으로 비스페놀 A의 분석방법 검출 한계를 구해 본 결과 3 차 증류수 시료 (Table 6)에서 분석방법 검출한계는 US EPA 방법인 경우에는 0.732  $\mu\text{g/l}$  인 반면에 isoBOC 유도체인 경우에는 0.002  $\mu\text{g/l}$  이었으며, TBDMS 유도체인 경우에는 0.021  $\mu\text{g/l}$  로 일본 후생성 규정인 0.01  $\mu\text{g/l}$  이하의 분석방법 검출한계를 낮출 수 있었으며, 비유도체로 분석하는 US EPA 분석방법은 더 이상의 환경 시료 중 내분비계장애물질 분석에 사용할 수 없었다. 선택적으로 phenolic -OH group만 반응하는 isoBOC 유도체화 분석방법과는 달리 다양한 group과 반응하는 TBDMS 유도체화 분석방법 방법이 3 차 증류수 시료에서 방해 물질과 반응하

Table 6. Recoveries and detection limits of alkylphenols, chlorophenols, and bisphenol A extracted from water samples using GC/MS-SIM mode

compound	recovery (%)			detection limit (ppb)		
	EPA <sup>a</sup>	isoBOC <sup>b</sup>	TBDMS <sup>c</sup>	EPA <sup>d</sup>	isoBOC <sup>e</sup>	TBDMS <sup>f</sup>
2,4-dichlorophenol	85.8±0.6	96.0±20.5	104.0±3.4			
4- <i>t</i> -butylphenol	95.3±3.9	119.2±13.0	94.7±2.9			
4- <i>n</i> -butylphenol	98.7±11.3	115.3±13.1	116.7±6.6			
4- <i>n</i> -pentylphenol	99.2±13.4	110.6±2.9	114.4±3.8			
4- <i>n</i> -hexylphenol	85.1±29.7	126.6±25.2	109.2±3.6			
4- <i>t</i> -octylphenol	95.7±2.5	95.9±4.5	111.8±4.1			
4- <i>n</i> -heptylphenol	87.8±17.6	104.9±6.1	101.2±4.2			
pentachlorophenol	87.3±8.8	90.3±2.2	108.1±19.5			
nonylphenol	89.4±20.9	93.4±5.3	99.8±15.8			
4- <i>n</i> -octylphenol	109.9±16.3	98.6±8.7	99.9±9.3			
bisphenol A	93.7±24.8	105.9±17.1	112.4±4.7	0.732	0.002	0.021

<sup>a</sup> A aqueous spiked with alkylphenols, chlorophenols, bisphenol A (10  $\mu\text{g}/\ell$ )

<sup>b,c</sup> A aqueous spiked with alkylphenols, chlorophenols, bisphenol A (2  $\mu\text{g}/\ell$ )

<sup>d</sup> Method detection limit of underivatized phenols (n=7)

<sup>e</sup> Method detection limit of phenol-OisoBOC derivatives (n=7)

<sup>f</sup> Method detection limit of phenol-OTBDMS derivatives (n=7)

<sup>a, b, c</sup> I.S. : phenanthrene- $\text{d}_{10}$

<sup>d, e, f</sup> I.S. : bisphenol A- $\text{d}_{16}$

Table 7. Linear regression analysis of relative response against relative weights of phenols as isoBOC &amp; TBDMS derivatives

compound	isoBOC			TBDMS		
	Regression line <sup>a</sup>		Correlation coefficient	Regression line		Correlation coefficient
	m	b	r	m	b	r
2,4-dichlorophenol	0.0004	-0.0082	0.9943	0.0014	0.0099	0.9963
4- <i>t</i> -butylphenol	0.0016	-0.0164	0.9979	0.0011	0.0576	0.9928
4- <i>n</i> -butylphenol	0.0015	-0.0340	0.9909	0.0023	0.0246	0.9991
4- <i>n</i> -pentylphenol	0.0013	-0.0134	0.9949	0.0021	0.0235	0.9996
4- <i>n</i> -hexylphenol	0.0013	0.0463	0.9902	0.0021	0.0263	0.9995
4- <i>t</i> -octylphenol	0.0015	0.0508	0.9900	0.0059	1.0293	0.9978
4- <i>n</i> -heptylphenol	0.0012	0.0479	0.9981	0.0034	0.0441	0.9962
pentachlorophenol	0.0001	0.0026	0.9958	0.0007	0.0198	0.9925
nonylphenol	0.0010	0.0609	0.9931	0.0006	0.0308	0.9986
4- <i>n</i> -octylphenol	0.0013	0.0289	0.9755	0.0019	0.0468	0.9908
bisphenol A	0.0011	0.0124	0.9968	0.0085	0.139	0.9958

<sup>a</sup> m=Slop=relative mass response=mean peak area ratio of phenol x mass of I.S./ mass of phenol; b=y-intercept.

Calibration range; 5~400 ng/ $\ell$

여 각 분석 데이터 간의 표준 편차 크게 발생하므로, 높은 분석방법 검출한계를 갖는 것으로 생각 된다.

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 피이크와 내부 표준물질인 phenanthrene-d<sub>10</sub>의 피이크의 면적 비로 나타내어 최소자승법으로 검정곡선을 작성하여 Table 7에 실었다. Table 7에서 보듯이, 위 농도범위에서 모든 페놀류는 좋은 직선선을 보여 주었다. 특히 노닐페놀의 경우, 여러 개의 이성질체 중 피이크 크기가 큰 6

개의 피이크의 합으로 정량된 결과이다.

위 실험 방법을 실제 폴리에틸렌 공장의 방류수 시료에 내부표준물질 비스페놀 A-d<sub>16</sub> 1 µg 첨가하여 추출 및 정제후 isoBOC 유도체화 반응과 TBDMS 유도체화 반응을 각각 시킨 후 GC/MS-SIM 방식에 의해 얻어진 SIM chromatogram을 Fig. 5과 알킬페놀류, 클로로페놀류 및 비스페놀 A 각각 3 ppb와 내부표준물질 비스페놀 A-d<sub>16</sub> 1 µg 첨가하여 추출 및 정제후 isoBOC 유도체화 반응과 TBDMS 유도체화 반응을 각각 시킨 후 GC/MS-SIM 방식에 의해 얻어진 SIM chromatogram을 Fig 6에 실었다.

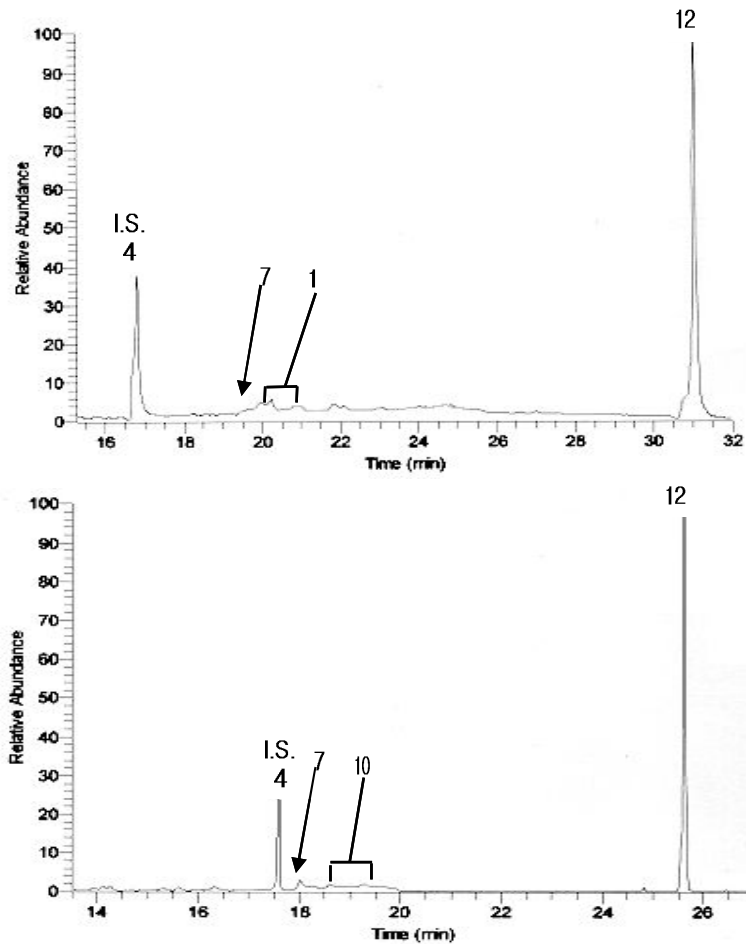


Fig. 5. SIM chromatograms obtained from polyethylene polymer plant treated wastewater sample after isoBOC derivatization (upper trace), and after TBDMS derivatization (lower trace). Peaks identity as follow: 4. phenanthrene-d<sub>10</sub> (internal standard), 7. 4-*t*-octylphenol, 10. nonylphenol, 12. bisphenol A-d<sub>16</sub> (internal standard)



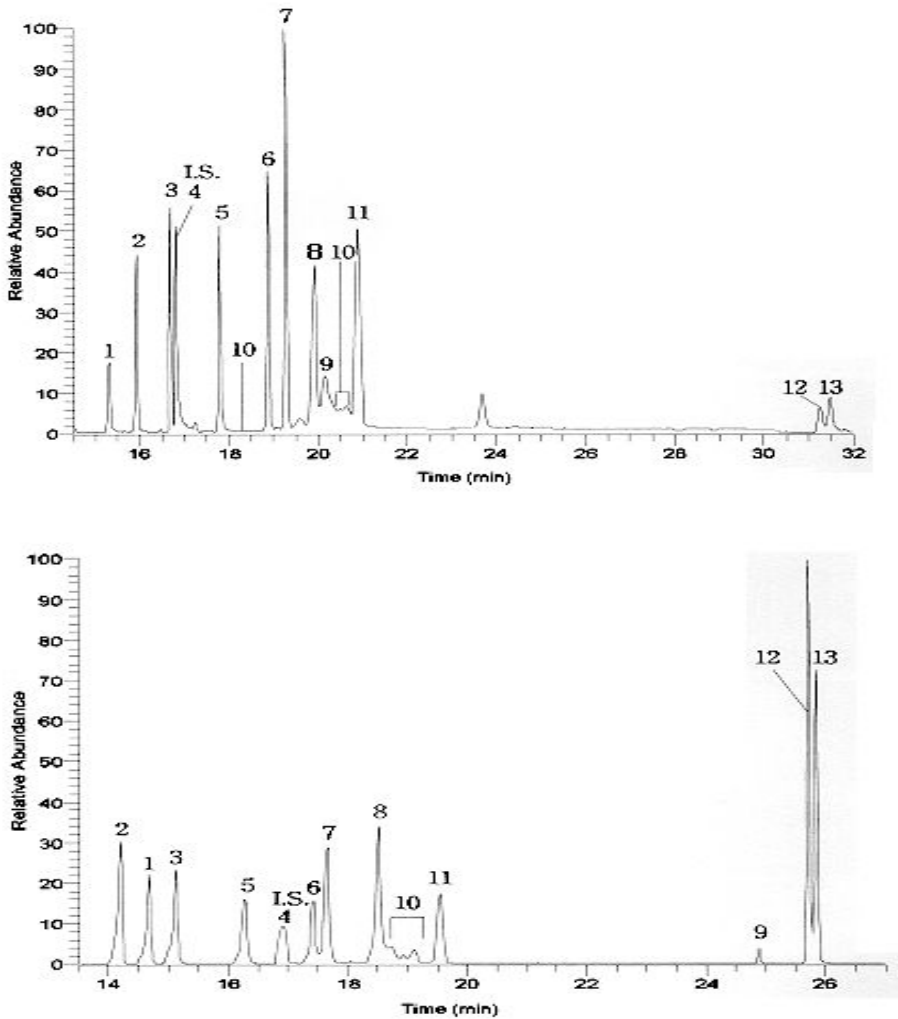


Fig. 6. SIM chromatograms obtained from spiked polyethylene polymer plant treated wastewater sample at 3 ppb of alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A after isoBOC derivatization (upper trace), and after TBDMS derivatization (lower trace). Peaks identity as follow:

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

내부 표준물질인 비스페놀 A- $d_{16}$ 와 syringe 내부표준물질인 phenanthrene- $d_{10}$ 은 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 피이크 면적비를 계산하여 전체적인 회수율을 추정할 수 있다. 이들 페놀류의 확인을 위해서 다른 하나의 확인 이온도 동시에 검색하였다.

또한 두 이온의 피이크의 면적비와 질량분석 spectrum의 선택된 이온간의 비가 이론치와 맞는지 여부를 검사해야 한다. 이 때 정량 이온 및 확인 이온간의 피이크 면적비와 질량분석 spectrum의 선택된 이온간의 비가  $\pm 20\%$  이내의 차를 보이고 예상 보류 시간의  $\pm 5$  초 이내의 피이크가 검출되는 경우를 선택하여 확인, 정량하였다.

IsoBOC 유도체화 분석방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 방법을 이용하여 폴리에틸렌 공장의 방류수를 분석해 본 결과 동일한 수준에서 분석방법 검출한계 이하에서 흔적을 보였다. (Table 8) 반면 Table 9에서 보는 바와 같이 분석방법 검출한계는 실제 폴리 에틸렌 공장 방류수 시료인 경우 isoBOC 유도체화 분석방법인 경우에는 0.023  $\mu\text{g}/\ell$  이었으며 TBDMS 유도체화 분석방법인 경우에는 0.022  $\mu\text{g}/\ell$  로 3 차 증류수 시료인 경우보다 isoBOC 유도체인 경우에는 10 배정도 분석방법 검출한계가 높게나온 반면, TBDMS 유도체인 경우에는 비슷하게 나왔다. 이것은 매트릭스의 영향이 거의 없는 3 차 증류수 일 경우에는 isoBOC 유도체가 검출 한계가 낮은 반면, 매트릭스의 영향을 받는 공장 방류수인 경우에는 유도체화 후 질량분석기에서 분자량이 크게 쪼개지는 TBDMS 유도체화 방법이 isoBOC 유도체화 방법보다 방해 물질의 영향을 적게 받으므로 낮은 검출한계를 보였다. TBDMS 유도체화 방법과 isoBOC 유도체화 방법은 ppt 수준의 낮은 검출 한계에서 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 줄일 수 있다.

Table 8. Concentration of target compounds in polyethylene polymer plant treated wastewater sample

Rtx.	compound	value	MDL	comment
isoBOC	4- <i>t</i> -octylphenol	trace	39.2 ng/ℓ	ND <sup>a</sup>
	nonylphenol	trace	318.4 ng/ℓ	ND
TBDMS	4- <i>t</i> -octylphenol	trace	27.6 ng/ℓ	ND
	nonylphenol	trace	368.6 ng/ℓ	ND

<sup>a</sup> ND ; not detected

Table. 9. Detection limits of bisphenol A extracted from the effluent of the polyethylene using GC/MS-SIM mode.

Compound	Detection limit (ppb)	
	isoBOC <sup>a</sup>	TBDMS <sup>b</sup>
bisphenol A	0.023	0.022

<sup>a,b</sup> Method detection limit of underivatized phenols (n=7)

<sup>a,b</sup> I.S. : bisphenol A-d<sub>6</sub>

#### 4. 결 론

물 시료중 내분비장애물질로 알려진 11 가지 페놀

류를 US EPA 분석방법에 비해 SPE 로 전처리하여 isoBOC 유도체화 분석방법 방법과 TBDMS 유도체화 분석방법 으로 낮은 검출 한계(ppt 수준)에서 성공적으로 분석할 수 있었으며, US EPA 분석방법을 제외한 유도체화 분석방법 방법에서는 대체로 95 % 이상의 높은 회수율을 보여주었다. 또한 실제 시료분석에 있어서 isoBOC 유도체화 분석방법은 SIM 방식을 사용시 benzenic cleavage에 의해 쪼개진 이온이 페놀 자체의 분자량을 가지면서 비유도체화된 페놀류 보다 머무름 시간이 뒷 쪽에서 검출되므로 상대적으로 방해물질에 의한 선택성을 높일 수 있는 반면, TBDMS 유도체화 분석방법 방법은 SIM 방식을 사용하므로써 분자량이 높은 이온을 선택함으로써 방해 물질에 대한 선택성을 높일 수 있었다.

3 차 증류수 시료인 경우 선택적으로 phenolic -OH 만 반응하며 TBDMS 유도체화 분석방법 방법보다 상대적인 머무름 시간이 긴 isoBOC 유도체가 방해 물질의 영향을 적게 받으므로, 다양한 group 과 반응하는 TBDMS 유도체화 분석방법 반응보다 낮은 검출한계를 얻은 반면, 환경 물 시료일 경우에는 유도체화 후 질량분석기에서 분자량이 크게 쪼개지는 TBDMS 유도체화 분석방법 방법이 isoBOC 유도체화 분석방법 보다 방해 물질의 영향을 적게 받으므로 낮은 검출한계와 높은 회수율을 얻을 수 있었다.

AOAC에서 요구하는 새로운 분석방법 개발시 기존의 방법과 비교하거나, 혹은 서로 다른 두 가지 이상의 방법으로 분석하여 검증을 하도록 되어있는 규정에 따라 환경 물 시료에서 극 미량의 내분비장애에 페놀들을 분석함에 있어 isoBOC 유도 방법과 TBDMS 유도체 방법을 상호 보완적으로 적용함으로써, 낮은 농도 (ppt)에서 peak 인식시 오인으로 인한 오판을 줄일 수 있다. 또한 실제 현장에서 환경 시료의 rapid profiling analysis를 하여 환경 모니터링 및 risk assessment 의 분석방법으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

#### 참고 문헌

1. B. Pavlov, T. Terentyev, *Organic Chemistry*, Gordon and Breach Science Publishers, New York (1965).
2. P. A. Jones, *Environment Canada Econ. Tech. Rev. Report* EPS-3-EC-81-2, p. 434 (1981).
3. J. Mannheimer, *National Environmental Protection*

- Board, Sweden, Report SNV PM 3194 (1986).
4. U. S. International Trade Commission, *Synthetic Organic Chemicals*, U. S. Production & Sales 1988, USITIC, Publication No. 2219, Washington DC, Sept. 1989 (1989).
  5. J. A. Dodge, *Pure & Appl. Chem.*, **70**, 1725-1733 (1998).
  6. C. A. staples, P. B. Dorn, G. M. Klecka, S. T. O'Block, L. Harris, *Chemosphere*, **36**, 2149-2173 (1998).
  7. G. A. Fox, A. P. Gilman, D. B. Peakall, F. W. Anderka, *J. Wildl. Manage.* **43** (3) (1978).
  8. L. J. Guillette, T. S. Gross, G. R. Masson, J. M. Matter, H. F. Percival, and A. R. Woodward, *Environ. Health persp.*, **102**, 680-688 (1994).
  9. "Bisphenol A" ; [www.foe.co.uk/](http://www.foe.co.uk/)
  10. "Alkylphenol compound" ; <http://website.lineone.net/~mwharst/ape.html>.
  11. U.S. Environmental Protection Agency, 1976, Water Quality criterion, U.S. EPA, Washington D.C. (1976)
  12. "SPEED 98/JEA"; <http://www.eic.or.jp/eanet/e/end/sp98.html>.
  13. "EPA method 3510C, Separatory funnel liquid-liquid extraction" ; <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test>
  14. "EPA method 3520C, Continuous liquid-liquid extraction" ; <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test>
  15. "EPA method 3540, Soxhlet extraction"; <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test>
  16. "EPA method 3546, Microwave Extraction" ; <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test>
  17. T. Heberer and H. J. Stan, *Analytica Chimica Acta*, **341**, 21-34 (1997).
  18. J. Ruana and I. Urbe, *J. Chromatogr.*, **655**, 217-226 (1993).
  19. N. Masque, E. Pocurull, R.M. Marce, and F. Borrull, *Chromatographia*, **47** 176-182 (1998).
  20. J. F. Cooper, J. Toune, and P. Gros, *Chromatographia* **38**, 147-150 (1994).
  21. S. M. Pendergrass, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **55**, 1051-1054 (1994).
  22. E. ballesteros, M. gallego, and M. valcarcel, *Anal. Chem.* **65**, 1773-1778 (1993).
  23. C. S. Lu and S. D. Huang, *J. Chromatogr. A.* **696**, 201-208 (1995).
  24. G. Achilli, G. P. Celrino, G. M. d'Eril, S. Bird, *J. Chromatogr. A* **697**, 357-362 (1995).
  25. E. Pocurull, M. Calull, R. M. Marce, F. Borrull, *J. Chromatogr. A* **719**, 105-112 (1996).
  26. "EPA method 625, Base/neutral and acids" ; <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test>
  27. H. B. Lee, R. L. H. You, P. J. A. Fowle, *J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM.* **72**, NO. 6, 979-984 (1989).
  28. Th. J. Boyd, *J. Chromatogr.* **662**, 281-292 (1994).
  29. M. Moder, S. Schrader, U. Franck, and P. Popp, *J. Anal. Chem.*, **357**, 326-332 (1997).
  30. A. L. Yergey, C. G. Edmonds, I. A. S. Lewis, and M. L. Vestal, *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry*, Plenum Press, New York, 1990.
  31. E. C. Huang, T. Wachs, J. J. Conboy, J. D. Henion, *Anal. Chem.*, **62**, 713A-725A (1990).
  32. E. J. Nanni, M. E. Lovette, R. D. Hicks, K.W. Fowler and M.F. Borgerding, *J. Chromatogr.*, **505**, 365-374 (1990).
  33. 김경례, 김정환, 박형국 : TBDMS 유도체로서 수용액시료중의 유기산 미량분석 연구, *대한화학회지*, **34**, 352-359 (1990).
  34. M. S. Leloux, E. G. DeJong, and R. A. A. Maes, *J. Chromatogr.*, **488**, 357-367 (1989).
  35. K. R. Kim, M. J. Paek, J. H. Kim, S. W. Dong and D. H. Chung, *Pharm. Biom. Anal.*, **15**, 1309-1318 (1997).
  36. K. R. Kim, H. Kim, *J. Chromatogr.*, **866**, 87-96 (2000).
  37. "Validation Requirements" ; <http://www.aoac.org>