

알칼리분해를 이용한 어류 중 다환방향족탄화수소의 전처리방법

허수정[★] · 이효민 · 채영주¹ · 유은아²

식품의약품안전청 국립독성연구원 식의약품위해성과

¹서울시보건환경연구원 강남농산물검사팀

²성신여자대학교 화학과

(2005. 7. 29 접수, 2005. 9. 21 승인)

Pretreatment of Fish for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons using alkali digestion

Soojung Hu[★], Hyomin Lee, Youngzoo Chae¹ and Eun-Ah Yoo²

Food & Drug Exposure Assessment Division, National Institute of Toxicological Research,
Korea Food & Drug Administration

#231 Jinheung-Ro, Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, Korea

¹Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health & Environment
Gangnam Agrocultural Products Inspection Team

202-3, Yangjae-Dong, Seocho-Gu, Seoul 137-130, Korea

²Department of Chemistry, Sungshin Women's University, 249-1 Dongseon-Dong 3ga,
Seongbuk-Gu, Seoul 136-742, Korea

(Received July 29, 2005, Accepted September 21, 2005)

요 약: 최근 내분비계장애물질로 알려진 PAHs 화합물 중 하나인 벤조피렌은 대표적인 PAHs 화합물로 음식을 조리, 가공할 때 식품의 주성분인 탄수화물, 단백질, 지방 등이 분해되어 생성되는 열분해 산물이며 토양, 공기, 물, 식품 등 전 환경매체에서 검출되고 있다. 본 연구에서는 PAHs [benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene, indeno(1,2,3-c,d)pyrene] 에 대하여 어류 중 지방의 알칼리 분해시간에 따른 분해효율, 추출 용매에 따른 추출효율, 정제컬럼의 용출량에 따른 정제효율 등을 비교 실험하여 알칼리분해를 이용한 어류 중 PAHs의 전처리방법을 확립하고자 하였다. 균질화된 시료를 알칼리 분해하여 n-hexane으로 추출하고 증류수로 세척한 후 Sep-Pak florisis cartridge로 정제하여 HPLC/FLD(고속액체크로마토그래피/형광검출기) 로 동시 정량 분석하였으며 각각의 PAHs에 대한 회수율은 약 90~106% 수준이었다.

Abstract: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) contamination arises from several sources including processing of food(smoking, direct drying, cooking) and environmental contamination of air, water, or soil, the later being considered as the most important. In this study, to establish the analytical method for some PAHs[benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-380-1783,4 Fax : +82-(0)2-380-1786

E-mail: sjhu@kfda.go.kr

anthracene, benzo(*g,h,i*)perylene, indeno(1,2,3-*c,d*)pyrene] in fish, alkali digestion time, extraction solvents, elution volume of florisil cartridge for clean-up have been optimized. The methodology involved saponification and extraction with *n*-hexane, clean-up on Sep-Pak florisil cartridges and determination by HPLC/FLD(High Performance Liquid Chromatography/Fluorescence Detector). Overall method recoveries for 8 PAHs spiked into these products ranged from 90 to 106%.

Key words : PAHs, benzo(a)pyrene, alkali digestion, fish, HPLC/FLD

1. 서 론

산업화와 고도의 경제성장에 따른 연료 소비의 증가로 인한 다량의 오염물질 배출로 인해 환경오염에 대한 심각성이 지적되고 있다. 특히, 환경 중 잔류 시간이 길며 그 독성 또한 강하여 더욱 문제화되고 있는 잔류성 유기오염물질(Persistent Organic Pollutants, POPs) 중 하나인 다환방향족탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 이하 PAHs)는 내분비장애물질로 세계적 관심의 대상 물질이 되고 있다.¹⁻³ 대표적 오염원으로 화석연료를 사용하는 산업 공정, 자동차 연료 및 배출가스, 나무의 연소, 담배 및 그을린 음식 등과 같은 인위적 발생원과 화산, 산불, 원유 등 자연적 발생원을 들 수 있으며 일반적으로 인위적 오염원이 자연적 오염원보다 훨씬 많은 양의 PAHs를 방출하고 있다.^{2,3} 이러한 환경오염 등으로 인해 농산물, 어패류 등 조리·가공하지 않은 식품에도 PAHs가 존재하며 식품의 조리·가공시 식품의 주성분인 탄수화물, 단백질, 지방 등이 분해되어 생성되기도 한다.⁴

식품 중의 PAHs를 분석하기 위해서 시료는 추출하기 전에 반드시 균질화(homogenization)시켜야 하며 추출 및 정제과정이 필수적이다. 즉, 미량의 PAHs를 함유하고 있는 식품시료 중 PAHs 검출은 추출과 정제과정을 거쳐야 분석 과정에서 불순물과 방해물질로부터 영향을 받지 않아 보다 정확한 분석 자료를 얻을 수 있다. 다양한 추출 및 정제 방법 등을 적절하게 조합하여 PAHs에 대한 분석이 이루어지고 있으나 제시된 하나의 분석법이 모든 분석대상 매질에서 최적의 분석방법이 될 수는 없으며 매질에 따라 선택되어야 한다. 식품 중 PAHs의 분리 및 분석방법은 공식적으로 제시되어 있지 않으며 주로 대기, 토양 등 환경시료에 대하여 U.S. EPA, 일본 후생성 등에서 제안한 방법이 있으며 많은 연구가 보고되고 있다.⁶

시료의 종류에 따라 다양한 추출 방법들이 개발되어 있으며 Soxhlet추출법^{7,8}이 널리 사용되고 있지만 이 방

법은 추출율이 높은 반면, 많은 유기용매의 사용과 추출시간이 오래 걸리는 단점이 있다. 최근에 개발된 방법으로는 가속용매추출법(accelerated solvent extraction, ASE)^{9,10}과 초임계유체추출법(supercritical fluid extraction, SFE)^{11,12}이 있다. ASE는 고온과 고압을 사용하여 적은 용매로도 빠른 시간에 추출을 가능하게 할 뿐만 아니라 온도를 올려 추출효율을 동역학적으로 더 가속시킬 수 있으며, 압력을 올려 추출용매의 기화를 방지할 수 있어 추출효율을 극대화할 수 있다. 또, SFE의 초임계유체(supercritical fluid)는 밀도나 압력을 변화시켜 용매의 강도를 변화시킬 수 있으며 확산계수가 크므로 고체기질에서의 질량이동효과가 커서 기존의 용매추출법에 비해 추출에 소요되는 시간을 현저히 단축시킬 수 있다. 그러나 이들 추출법은 유기용매를 적게 사용하고 추출시간이 단축된다는 장점이 있는 반면, 높은 추출효율을 얻기 위해서는 온도와 압력을 잘 조절해야 한다. 또, 적절한 용매의 선택이 중요한 요인이 되며 약간의 수분이 있어도 회수율이 급격히 떨어지는 단점이 있다. 초음파추출법(microwave extraction)은 Soxhlet추출법과 회수율 차이는 별로 없으며 추출시간은 용매가속화방법이나 초임계유체추출법보다는 길지만, Soxhlet추출법 보다는 짧다. 초음파추출법은 약간의 수분이 있어도 회수율에 영향이 적고 복잡한 추출조건 없이 쉽게 추출할 수 있지만 지방함량이 높은 식품에 적용하기는 어렵다. 지방 함량이 높은 식품은 알칼리분해(alkali digestion) 후 액-액추출법(liquid-liquid extraction)으로 식품의 지방조직 내 PAHs를 추출하는 방법이 많이 사용되고 있다. 이 방법은 비교적 추출 회수율이 높으며 식품 중 지방의 알칼리분해가 가열환류냉각장치만으로 가능하고 특별한 실험 장비가 요구되지 않는 장점이 있다.

또, 시료의 성상에 따라 다양한 정제(clean-up)방법이 있으며 고체상 시료의 정제방법으로는 비교적 극성이 강한 고정상을 가진 플로리실(florisil),¹³ 실리카겔(silica gel)¹⁴ 및 알루미늄(alumina)¹⁵ 컬럼 방법이 많이 사용되고 있다. 이들은 비극성인 PAHs와 극성 방해물질의 분

리에 매우 효과적이다. 그러나 이들 컬럼을 준비하고 활성화시키는데 많은 시간이 걸리는 단점이 있으므로 상업적으로 시판되고 있는 고체상 카트리지를 사용하면 적절한 정제효율을 얻을 수 있고 분석시간을 단축시킬 수 있는 장점이 있다.

본 연구에서는 PAHs 중 분석대상물질을 발암성에 근거하여 benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene, indeno(1,2,3-c,d)pyrene 등 8종을 선정하였으며, 어류 중 지방의 알칼리 분해시간에 따른 분해효율, 추출 용매에 따른 추출효율, 정제 컬럼(florisil cartridge)의 용출량에 따른 정제효율 등을 비교 실험하여 어류 중 PAHs의 전처리방법을 확립하고자 하였다.

2. 실험

2.1. 시약

개별 표준용액 benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene, benzo(g,h,i)perylene, indeno(1,2,3-c,d) pyrene과 내부표준용액인 3-methylcholanthrene을 Chem Service(USA)에서 구입하여 희석한 후 사용하였으며 혼합표준용액은 이들 개별 표준용액을 혼합, 조제한 후 희석하여 사용하였다. *n*-Hexane, ethanol, dichloromethane, acetonitrile 등은 HPLC용(Merck, Germany)을 사용하였으며 potassium hydroxide는 Wako 사 제품을 사용하였다. 또한, 증류수는 Milli-Q 및 Milli-RO System을 통과한 3차 증류수를 사용하였으며 시료 전처리 과정에서 수분 제거를 목적으로 사용한 sodium sulfate anhydrous는 Sigma사의 assay > 99%를 사용하였다.

2.2. 기구

추출가열기는 EME series(Barnsted, USA), 회전감압 농축기는 EYELA(Tokyo Rikakikai Co. Ltd., Japan)를 사용하였으며 질소농축기는 TurboVap(Zymark, USA)을 사용하였다. 또한, 시료의 정제과정에서는 Supelco의 Visiprep Solid Phase Extraction Vacuum Manifold를 사용하였고 florisil cartridge는 6 cc, 1 g 짜리를 사용하였다.

2.3. 기기

고성능액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography) 및 형광검출기(Fluorescence detector)는

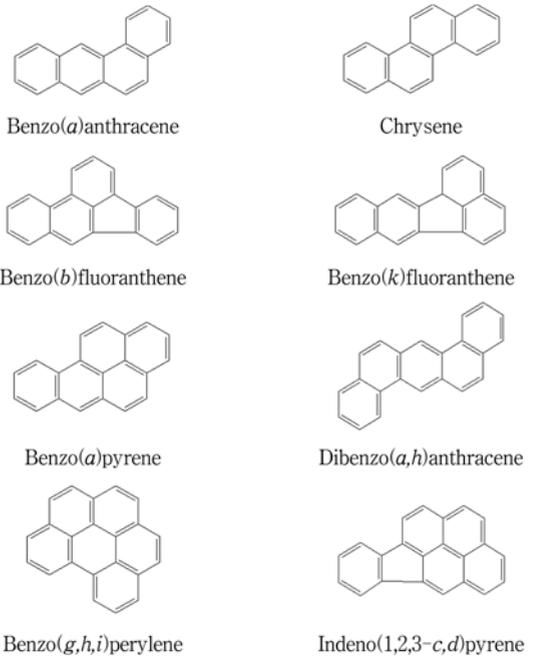


Fig. 1. List and structure of selected PAHs.

Agilent 1100 series(Agilent, USA)를 사용하였으며, 컬럼은 Supelguard LC-18(Supelco, USA)을 장착시킨 LC-PAH column(25 cm×4.6 mm, I.D. 5 μm, Supelco, USA)을 사용하였다.

2.3. 실험방법

비교실험에 사용된 참치와 고등어는 PAHs에 오염되지 않은 시료를 선정하였다. 알칼리분해시간에 따른 분해효율 실험을 위해 지방함량이 높은(약 20%) 고등어와 지방함량이 낮은(약 1%) 참치를 균질화한 후, 각각의 시료 10 g에 8종의 PAHs 혼합표준용액 및 내부표준물질(3-methylcholanthrene) 100 ng/g을 1 ml spiking한 후 1M KOH·ethanol 용액 100 ml를 넣었다. 환류냉각장치를 부착시키고 가열추출기(80°C)에서 분해시간을 1시간 간격으로 증가시키면서 알칼리 분해한 후 신속히 냉각시켰다. 냉각 후 *n*-hexane 50 ml를 환류냉각기를 통하여 넣어주고 ethanol:*n*-hexane(1:1)용액 50 ml를 이용해서 분액여두에 옮겼다. 분액여두에 50 ml의 증류수를 넣고 진탕시켜 물층과 *n*-hexane층으로 분리시킨 후 *n*-hexane층을 분리하여 다른 분액여두에 받아두고 물층에 *n*-hexane 50 ml를 넣어 추출하는 과정을 두 번 반복하여 얻은 *n*-hexane층을 모두 합쳤다. *n*-hexane층을 증류수 50 ml

로 3회 세척한 후 무수 Na₂SO₄를 통과시켜 탈수시키고 이 액을 회전감압농축기(35°C, 수욕조)를 사용하여 약 1 ml까지 농축하였다. 정제 컬럼인 florisil cartridge를 dichloromethane 10 ml와 *n*-hexane 20 ml로 활성화한 후 사용하였다. 활성화시킨 florisil cartridge에 시험용액을 가하여 *n*-hexane 8 ml와 *n*-hexane: dichloromethane (3:1) 12 ml로 차례로 용출시켰다. 정제가 끝난 용출액은 수욕조(35°C)에서 질소가스로 농축한 후 잔사를 acetonitrile로 녹여서 전량을 1 ml로 하여 이를 0.45 µm membrane filter를 통과시켜 Table 4의 조건에서 HPLC/FLD로 정량하였다.

또한 toluene, cyclohexane, *n*-hexane 등 3종류의 용매를 사용하여 추출함으로써 용매별 추출효율을 비교 실험하였다.

Florisil의 용출량에 따른 정제효율을 측정하기 위해 *n*-hexane 과 *n*-hexane: dichloromethane (3:1) 용매로 용출시켜 4 ml씩 분취하였으며, 4 ml씩 용출시킨 분취액은 농축한 후 HPLC/FLD로 정량하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 알칼리분해 시간에 따른 분해효율

식품 중 어류는 상대적으로 지방함량이 높은 식품으로, 지방조직 내에 있는 PAHs를 추출해내기 위해서는 우선 시료 중 지방의 알칼리 분해가 필수적이다. 식품의 지방함량과 알칼리 분해시간은 비례할 것으로 추측할 수 있으나 모든 시료의 지방을 충분히 분해할 수 있는 최적의 알칼리분해 시간을 조사하고자 하였다.

지방함량이 약 1%로 낮은 참치와 20%로 높은 고등어를 대상 시료로 선정하여 1시간 간격으로 알칼리분해 시간에 따른 분해효율 실험을 하였으며 그 결과를 Fig. 2, 3에 나타내었다. 참치의 경우 지방함량이 낮아 benzo(a)pyrene을 제외하고는 회수율이 약 80~100%로 알칼리 분해 시간에 따라 증가하였으며 시간에 따른 분해효율 편차가 크지 않았다. 그러나 알칼리 분해 시간에 따른 분해효율이 3시간까지는 계속 증가하는 추세를 보였으나 4시간에서는 오히려 1시간보다 낮게 나타났다. 지방함량이 높은 고등어의 경우 회수율이 60~100%로 알칼리 분해 시간에 따라 증가되었지만 시간에 따른 분해효율 편차는 참치보다 높았다. 또한, 알칼리 분해 시간에 따른 분해효율이 참치의 경우와 같이 3시간까지는 계속 증가하는 추세를 보였으나 4시간에서는 3시간보다 낮게 나타났다. 참치와 고등어 모두 최적의 분해 시간 이후의 지속적인 알칼리분해가 PAHs의 휘발 등을

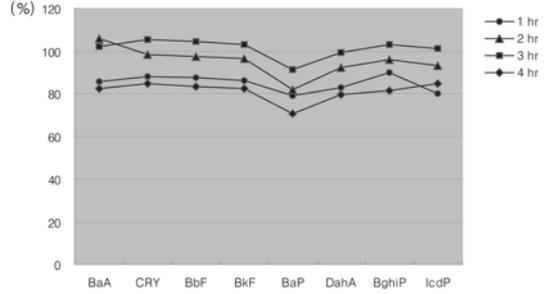


Fig. 2. Recovery for alkali digestion times in tuna.

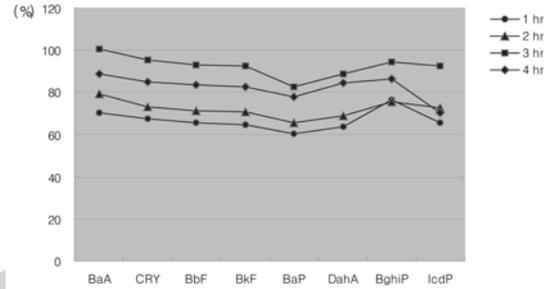


Fig. 3. Recovery for alkali digestion times in mackerel.

일으켜 분해효율의 감소 결과를 보여주었다. 이와 같은 결과로 볼 때 참치와 같이 지방함량이 낮은 시료와 고등어와 같은 지방함량이 높은 시료 모두 3시간 정도의 알칼리 분해 시간이 요구되는 것을 알 수 있었다.

3.2. 추출용매에 따른 추출효율

알칼리분해 한 시료의 추출 시 용매 종류에 따른 PAHs의 액-액 추출효율을 조사하기 위해 toluene, cyclohexane, *n*-hexane 등 3종류의 용매를 문헌 및 자료조사를 통하여 선정, 비교 실험하였다. 분석하고자 하는 PAHs는 비극성이므로 극성도가 낮은 용매에서 추출 회수율이 높을 것으로 사료됨에 따라 극성도(polarity index)를 살펴 보았으며 toluene은 2.3, cyclohexane과 *n*-hexane은 0이었다. 또, 끓는점(boiling point, °C at 1 atm)은 toluene 101.6, cyclohexane 80.7, *n*-hexane 68.7, 점도(viscosity, at 20°C)는 toluene 0.59, cyclohexane 0.98, *n*-hexane 0.31이었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 용매 종류별 PAHs의 회수율은 toluene 60~87%, cyclohexane 70~106%, *n*-hexane 75~106%로 나타났으며 용매의 종류에 따라 다소 차이가 있는 것으로 나타났다. Toluene은 약 100°C의 높은 끓는점으로 인해 추출액을 회전 진공 농축시키는 과정에서 PAHs의 손실이 발생하여 낮은 회수율을 나타내어 추출용매로서 적합하지 않았다. 또한, PAHs에 대한

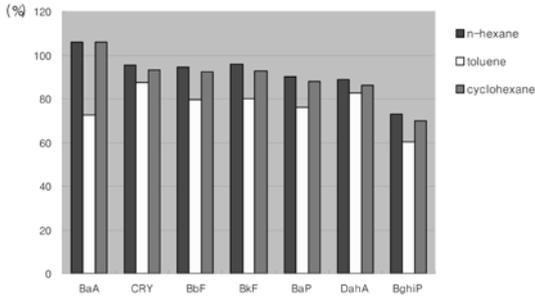


Fig. 4. Recovery of liquid-liquid extraction using various solvents.

용해도가 높은 n-hexane과 cyclohexane의 추출 회수율은 비슷했지만 실험 수행 시, cyclohexane보다 낮은 점도와 끓는점을 갖는 n-hexane이 추출용매로 적합하였다.

3.3. 정제컬럼의 분액별 용출효율

시료의 성상에 따라 다양한 정제방법이 있으나 어류의 정제방법으로는 비교적 극성이 강한 고정상을 가진 플로리실(florisil), 실리카겔(silica gel) 및 알루미늄(alumina) 컬럼을 이용한 정제 방법이 많이 사용되고 있다. 이들은 비교적 비극성인 PAHs 화합물과 극성 방해물질의 분리에 매우 효과적이다. 그러나 이들 컬럼을 준

비하고 활성화시키는데 많은 양의 용매와 시간이 요구되는 단점이 있으므로 상업적으로 시판되고 있는 고체상 카트리지를 사용하는 방법을 이용하면 정제효율과 분석시간 등을 줄일 수 있다. 문헌 및 자료조사 등으로 본 실험에서는 정제컬럼으로 florisil cartridge를 선정하였다.

PAHs는 비극성이므로 florisil cartridge와 매우 약한 상호작용을 하며, 비교적 약한 극성을 갖는 용매로 용출시키면 극성 방해물질과 분리시켜 정제할 수 있다. 용출 용매의 양을 늘리면 더 높은 회수율을 얻을 수 있리라 판단되지만 많은 양의 용출 용매를 사용하는 경우 시료를 용출하고 농축하는데 많은 전처리 시간이 요구되므로 단시간 적은 용매로 용출하는 방법을 분석법으로 선정하는 것이 더욱 효과적이다. 따라서 florisil cartridge 정제과정 중 분액별 회수율 실험을 수행함으로써 최적의 용출 용매량을 얻고자 하였으며 본 연구에서 사용된 용출 용매로는 florisil cartridge 전개용매로 많이 사용되는 n-hexane과 10% dichloromethane : n-hexane을 선정하였고 4 ml씩 단계별로 용출시켜 분액별 용출액을 HPLC/FLD로 분석함으로써 Table 2와 같은 용출 용매량 별 분석결과를 얻었다. Table 9에서 보는 바와 같이 용출 용매의 회수율이 90%이상 되는 용출

Table 1. Fractional recovery in n-hexane and 10% dichloromethane : n-hexane

PAHs	n-hexane		10% dichloromethane : n-hexane				Total recovery (%)
	0~4 ml	4~8 ml	8~12 ml	12~16 ml	16~20 ml	20~24 ml	
Benzo(a)anthracene	0.00	0.00	29.98	68.40	1.13	0.00	99.51
Chrysene	0.00	0.00	18.19	77.08	1.10	0.00	96.37
Benzo(b)fluoranthene	0.00	0.00	1.88	93.20	0.00	0.00	95.08
Benzo(k)fluoranthene	0.00	0.00	1.92	92.07	0.00	0.00	93.99
Benzo(a)pyrene	0.00	0.00	2.09	88.32	0.76	0.00	91.17
Dibenzo(a,h)anthracene	0.00	0.00	0.50	85.08	6.88	0.21	92.67
Benzo(g,h,i)perylene	0.00	0.51	1.61	79.07	5.93	0.33	87.45
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	0.00	0.47	2.56	84.84	2.56	0.00	90.43
Average							93.33

Table 2. Mean recovery(R) and coefficients of variation(CV) of PAHs spiked to mackerel samples(n=10)

Compound	Abbreviation	R(%)	CV(%)	R ²
Benzo(a)anthracene	BaA	106.3	5.1	0.9998
Chrysene	CRY	102.8	5.4	0.9998
Benzo(b)fluoranthene	BbF	103.4	3.9	0.9998
Benzo(k)fluoranthene	BkF	104.2	5.1	0.9998
Benzo(a)pyrene	BaP	103.9	3.7	0.9997
Dibenzo(a,h)anthracene	DahA	99.1	6.2	0.9998
Benzo(g,h,i)perylene	BghiP	89.6	5.8	1.0000
Indeno(1,2,3-c,d)pyrene	IcdP	100.6	4.7	0.9995

Table 3. Operating condition of HPLC/FLD

Supelcosil LC-PAH column (25 cm×4.6 mm) with Supelguard LC-18			
Column			
Flow rate	1 ml/min		
Solvent system	ACN	H ₂ O	
	0 min	80%	20%
	20 min	100%	0%
	25 min	100%	0%
	27 min	80%	20%
40 min	80%	20%	
Injection volume	20 µl		
Wavelength (Ex/Em)	0-15 min	254 nm/390 nm	
	15-26 min	260 nm/420 nm	
	26-40 min	293 nm/498 nm	

용매의 양은 20 ml로 조사되었다. benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(a)pyrene은 8~20 ml, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene은 8~16 ml, dibenzo(a,h)anthracene은 8~24 ml, benzo(g,h,i)perylene은 4~24 ml, indeno(1,2,3-c,d)pyrene은 4~20 ml의 범위에서 용출되는 것으로 나타났다. 따라서 개별 분석대상 PAH에 따른 florisil cartridge의 용출 범위를 확보하고 8종 PAHs의 최적 용출량을 20 ml로 결정하였다.

3.4. 어류 중 PAHs 전처리방법

어류 중 지방의 알칼리 분해시간에 따른 분해효율, 추출용매(toluene, cyclohexane, *n*-hexane)에 따른 추출효율, 정제컬럼(florisil cartridge)의 용출량에 따른 정제효율 등의 비교 실험으로 전처리방법을 확립하였다.

균질화된 시료를 3시간동안 알칼리 분해하여 *n*-hexane으로 추출하였으며 증류수로 세척한 후 Sep-Pak florisil cartridge를 사용하여 *n*-hexane과 *n*-hexane : dichloromethane (3:1) 20 ml로 정제하여 HPLC/FLD로 동시 정량 분석하였다. 고등어시료에 8종의 PAHs 혼합표준용액 및 내부표준물질(3-methylcholanthrene) 100 ng/g을 spiking 하여 확립된 전처리방법에 따라 HPLC/FLD로 분석한 결과, 각각의 PAH에 대한 회수율은 약 90~106% 수준이었으며 변동계수인 CV (coefficient variation)도 6.2% 이하로 만족할만한 수준이었다(Table 3).

4. 결 론

알칼리분해를 이용한 어류 중 PAHs 전처리방법 확

립을 위하여 지방의 알칼리 분해시간에 따른 분해효율, 추출용매(toluene, cyclohexane, *n*-hexane)에 따른 추출효율, 정제컬럼(florisil cartridge)의 용출량에 따른 정제효율 등의 비교 실험을 수행하였으며 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) 어류 중 지방함량이 약 1%로 낮은 참치와 20%로 높은 고등어를 대상 시료로 선정하여 1시간 간격으로 알칼리분해 시간에 따른 분해효율 실험을 한 결과 최적의 알칼리분해 시간은 3시간으로 나타났다.
- 2) 알칼리분해 한 시료의 추출 시 용매 종류에 따른 PAHs의 액-액 추출효율 실험결과 *n*-hexane이 추출용매로 적합하였다.
- 3) 정제컬럼으로 선정된 florisil cartridge의 분액별 회수율 실험 결과 최적의 용출 용매량은 20 ml로 나타났다.
- 4) 확립된 전처리방법에 따라 고등어시료에 표준용액을 spike하여 HPLC/FLD로 분석한 결과, 각각의 PAH에 대한 회수율은 약 90~106%, 변동계수인 CV(coefficient variation)는 6.2% 이하로 만족할만한 수준이었다.

참고문헌

1. U. S. EPA, U. S. EPA METHOD 610-Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (1999).
2. R. Dabestani, I. N. Ivanov, *Photochem. Photobiol.*, **41**, 10(1999).
3. T. Vo-Dinh, J. Fetzer, A.D. Campiglia, *Talanta*, **47**, 943(1998).
4. European Commission, Opinion of the scientific committee on food in the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food, SCF/CS/CNTM/PAH/29 Final, 4 December, 2002.
5. IARC, IARC Monographs in the evaluation of carcinogenic risks to humans, 1987.
6. M. S. Garcia Falcon, S. Gonzalez Amigo, M. A. Large Yusty, J. Simal Lazano, *Food Additives and contaminants*, **16(1)**, 9(1999).
7. V. Lopez-Avila, K. Baker, J. Milanes, W. F. Beckert, *J. AOAC Int.*, **76**, 864(1993).
8. M. Moller, I. Alfheim, *Environ Sci. & Technol.*, **16**, 221(1982).
9. B. E. Ritcher, B. A. Jones, J. L. Ezzell, N. L. Porter, N. Advalovic, C. Pohl, *Anal. Chem.*, **68**, 1033(1996).
10. M. D. David, J. N. Seiber, *Anal. Chem.*, **69**, 1033

- (1997).
11. T. S. Oastdky, R. L. Grob, J. L. Synder, M. McNally, *Anal. Chem.*, **65**, 596(1993).
12. S. B. Hawthorne, *Anal. Chem.*, **62**, 633A(1990).
13. H. G. Kicinski, S. Adamel, A. Kettrup, *Chromatographia*, **28**, 203(1989).
14. P. Garrigues, J. Bellocg, *J. High Resolut. chromatogr.*, **12**, 400(1989).
15. R. Leeming, W. Maher, *Org. Geochem.*, **15**, 469(1990).

K C I