

# 어류에서의 과불화합물 분석을 위한 전처리법 확립 및 모니터링 Monitoring and Development of Pretreatment Method for Perfluorinated Compounds in Fish Samples

허진주 · 이지우 · 김승규\* · 오정은<sup>†</sup>

Jin-Ju Heo · Ji-Woo Lee · Seung-Kyu Kim\* · Jeong-Eun Oh<sup>†</sup>

부산대학교 사회환경시스템공학과 · \*인천대학교 해양학과

Department of Environmental Engineering, Pusan National University

\*Department of Marine Science, Incheon National University

(2013년 1월 11일 접수, 2013년 7월 4일 채택)

**Abstract :** An efficient extraction method was developed for the analysis of 16 perfluorinated compounds (PFCs) in fish samples. We compared the recoveries from the Ion-Pairing Extraction (IPE), Liquid-Liquid Extraction (LLE), Solid-Phase Extraction (SPE), IPE + SPE method with varying the injection time of the internal standard. As a result, IPE method with the internal standard before extraction was evaluated as the most effective pretreatment method. The RPM (Revolution Per Munite) and pH in IPE-before method were additionally adjusted and the more efficient pretreatment method was established. The total 33 fish samples including liver and gut samples were collected from Korean markets and analyzed PFCs with developed pretreatment method of this study. Total 16 PFC levels in fish samples ranged from ND to 1.67 ng/g with 100% detection frequency. The average PFCs concentrations of muscle, liver and gut samples from fish were compared and showed the following trend: liver (17.8 ng/g) > gut (13.3 ng/g) > muscle (1.67 ng/g). The PFC levels in fish samples were similar or lower than other available previous results of foreign studies.

**Key Words :** Fish, Perfluorinated Compounds (PFCs), Ion-Pairing Extraction (IPE), Solid-Phase Extraction (SPE), IPE + SPE, Liquid-Liquid Extraction (LLE)

**요약 :** 본 연구에서는 어류에서 16종의 과불화합물을 분석하기 위한 최적 전처리법을 확립하고자 이온쌍 추출법(IPE)과, 액-액 추출법(LLE), 고체상 추출법(SPE), 이온쌍 + 고체상 추출법(IPE + SPE) 각각에 대하여 내부표준물질의 주입 시기를 달리하여 회수율을 비교하였다. 내부표준물질을 추출 전에 주입하는 IPE-before법이 가장 효율적인 전처리법으로 평가되었다. 추가로 RPM 및 pH 테스트를 통해 IPE-before법을 적용한 분석 전처리 효율을 더 개선할 수 있었다. 확립된 전처리법을 이용해 국내 마트에서 구입한 33개의 어류 및 어류의 간과 내장시료에서 과불화합물을 분석하였다. 16종 과불화합물의 검출범위는 ND~1.67 ng/g이었으며, 검출빈도는 100%로 나타났다. 어류의 근육부와 간, 내장을 비교 모니터링 한 결과, 간(17.8 ng/g) > 내장(13.3 ng/g) > 근육부(1.67 ng/g) 순으로 과불화합물이 검출됨을 확인하였다. 국외 선행연구 결과와 비교하였을 때, 본 연구에서의 어류의 농도는 비슷하거나 낮게 검출되었다.

**주제어 :** 어류, 과불화합물, 이온쌍추출법, 고체상 추출법, 이온쌍 + 고체상 추출법, 액-액 추출법

## 1. 서론

과불화합물(Perfluorinated Compounds, PFCs)은 탄소와 불소의 강한 공유결합으로 이루어진 탄소 화합물질로써 열이나 산성 하에서도 화학적 변화가 일어나지 않는 안정한 물질이다. 이런 독특한 물리화학적 특성으로 지난 50년간 가죽, 카펫, 종이, 자동차, 건설, 화학공정, 섬유 등 다양한 산업분야에서 널리 이용되어 왔다. 과불화합물은 가수분해, 광분해, 생물대사에 의한 분해가 어려워 환경 중으로 배출되면 오랫동안 잔류하는 특성이 있으며 생체 축적성 및 독성이 있는 것으로 보고되고 있다. 동물을 이용한 생체 위해성 평가에서 과불화합물은 혈액 내의 단백질을 응고시키는 등 내분비계를 교란시키는 환경호르몬의 특성을 나타내며, 간독성, 발암, 발육장애와 임신장애 및 태아 기형, 면역체계에 영향을 미치고, 성적인 발달을 지연시킨다고 보고된 바 있다.<sup>1,2)</sup> 이러한 과불화합물의 인체 노출 경로는 공기 중에

존재하는 과불화합물의 흡입과 과불화합물로 오염된 음식이나 물의 섭취에 의한 것으로 보고되었다.<sup>3-5)</sup> 2009년 스톡홀름 협약 제 4차 당사국 총회에서 PFOS (Perfluorooctane Sulfonate)와 PFOS의 염들, PFOSF (Perfluorooctane sulfonyl fluoride)가 관리대상물질로 부속서에 등재되면서 이들 물질에 대한 관심이 커지고 있다.

이와 같이 과불화합물에 대한 관심이 높아지면서 국외에서는 하천수와 대기와 같은 환경시료에서부터 혈액, 어류와 동물의 간이나 근육부, 식품 등과 같은 다양한 매체에서 과불화합물 관련 연구가 수행되고 있다.<sup>6,7)</sup> 식품 중에서의 과불화합물 모니터링 연구는 아직 초기 단계이나 과불화합물의 주된 노출경로가 식품인 것으로 알려지면서<sup>8)</sup> 영국의 식품 안전청이나, 캐나다 등에서 총 과불화합물 식이조사 연구(Total dietary survey, TDS)가 진행되었다. 영국의 식품안전청에서는 2008년과 2009년 2차년도에 걸쳐 어류 및 육류, 그리고 곡류 및 과채류와 그 가공식품에서 과불화합물을 모니터링하여

<sup>†</sup> Corresponding author E-mail: jeoh@pusan.ac.kr Tel: 051-510-3513 Fax: 051-582-3965

곡류 및 과채류와 가공식품에서는 과불화합물이 검출되지 않거나 낮은 수준으로 검출이 되며 어류와 육류에선 상대적으로 높은 농도 수준으로 검출이 됨을 보고하였다.<sup>9,10)</sup> 2007년에 캐나다 보건부(Health Canada)에서 어류, 육류, 패스트푸드를 대상으로 과불화합물 연구를 실시한 결과 영국의 식품 안전청에서 보고한 바와 같이 어류와 육류에서는 과불화합물이 비슷한 수준으로 검출되었고, 패스트푸드는 다소 낮게 검출된다고 보고하였다.<sup>11)</sup> 이 밖에 음식의 조리 전·후 과정에서 발생하는 과불화합물 농도를 비교하는 등 식품에서의 과불화합물에 관한 다양한 연구가 수행되고 있다.<sup>12,13)</sup>

국내에서도 하천수, 하·폐수 등과 같은 다양한 환경시료를 대상으로 한 과불화합물 연구가 2005년도부터 수행되기 시작하여<sup>14)</sup> 현재까지 꾸준한 연구가 진행되고 있으며<sup>15)</sup> 2011년 8월에는 국립환경과학원에서 하천수와 호소수 시료, 하·폐수처리장에서의 유입수와 방류수 시료, 고상폐기물 등 환경시료에서의 과불화합물 공정시험기준을 발표하였다. 또한 2012년, 이원웅<sup>16)</sup>은 혈액이나 간, 담즙과 같은 생체시료에서 과불화합물의 분석법에 대한 추출 및 정제 효율을 비교 검토하는 연구를 수행하는 등 다양한 매체에서의 과불화합물 분석에 관련된 연구가 수행되고 있으나 국내에서는 아직 식품에서의 과불화합물 분석에 관련된 연구가 전무한 실정이다.

식품 시료 중 주로 어류에 대해서 과불화합물 분석 연구가 많이 수행되어져 왔으며 어류에서의 과불화합물 분석을 위해 이온쌍 추출법(Ion-Pairing Extraction, IPE)과, 액-액 추출법(Liquid-Liquid Extraction, LLE), 고체상 추출법(Solid-Phase Extraction, SPE) 그리고 이온쌍 추출법(Ion-Pairing Extraction, IPE)과 고체상 추출법(Solid-Phase Extraction, SPE)을 결합한 IPE + SPE법 등이 주로 사용되며 현재는 IPE나 SPE법이 주로 사용되고 있다.<sup>9,10,17-20)</sup> IPE법은 생체시료(간 시료)에서 많이 사용되는 전처리법으로써 이온화를 위하여 TBA (Tetra-n-butyl ammoniumhydrogensulfate)를 넣은 후 carbonate buffer와 수산화나트륨을 이용하여 적정 pH를 조절하며,<sup>7,21)</sup> MTBE (Methyl tert-butyl ether)를 추출용매로 사용한다. 과불화합물 중에서 PFOS와 같이 상대적으로 극성이 작은 물질의 추출 효율이 높은 반면 MTBE 층에 분석을 방해하는 지질이나 에테르도 함께 추출되는 단점이 있다.<sup>22,23)</sup> 또, 이 분석방법을 적용할 때 추출 전 시료에 직접 표준물질을 주입하거나 시료와 물을 넣고 균질화한 후 그 일부를 덜어 표준물질을 주입하는 등 표준물질의 주입시점에 따라 추출효율이 서로 다르다고 보고되어 있다.<sup>18,24)</sup> LLE법은 가장 간단한 전처리법으로 시료에 메탄올이나 HPLC 이동상을 넣어 추출하는 방법으로 방해물질의 제거가 전혀 이루어지지 않고 매질의 영향을 크게 받아 일부 연구에서만 사용되었다.<sup>11)</sup> SPE법은 최근에 많이 사용되기 시작한 방법으로 LLE법을 이용하여 시료를 추출한 뒤 농축한 다음 희석하여 카트리지에 통과시킨 후 얻어진 시료를 다시 농축 후 분석하는 방법으로 주로 상대적으로 극성을 띠는 저분자 과불화합물의 회수율이 높은 것이 특징이며, 카트리지를 pH를 3.5~4.5로 조절한 암모늄아세테이트를 이용하여 세척한 후 1% 또는

2%의 약염기 용매를 용출용매로 주로 사용한다.<sup>9,19)</sup> 현재는 기존 SPE법에 흑연화 탄소 흡착제인 Envi-carb를 첨가하여 방해물질을 제거하는 방법이 널리 사용되고 있다.<sup>20,23,27)</sup> 마지막으로 IPE법과 SPE법을 결합한 IPE + SPE법은 다른 방법들에 비해 비교적 최근에 보고되어 보편화되어 있진 않지만 IPE법의 높은 추출효율과 SPE법의 방해물질 정제효과를 결합한 분석법이다.<sup>28,29)</sup>

따라서 본 연구에서는 위에서 언급한 IPE법, LLE법, SPE법, IPE + SPE법을 어류시료에 적용하여 16종의 과불화합물 분석을 위한 최적 전처리법을 확립하고 실제 국내에 유통되는 어류에서의 과불화합물의 노출정도를 파악하고자 하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 시약 및 기구

본 연구에서의 연구대상물질은 Perfluoroalkane sulfonates (PFASs) 계열 Perfluorobutane sulfonate (PFBS), Perfluorohexane sulfonate (PFHxS), Perfluorohaptane sulfonate (PFHpS), Perfluorooctane sulfonate (PFOS), Perfluorodecane sulfonate (PFDS) 5종과 Perfluorocarboxylic acids (PFCAs) 계열 Perfluorobutanoic acid (PFBA), Perfluoropentanoic acid (PFPeA), Perfluorohexanoic acid (PFHxA), Perfluoroheptanoic acid (PFHpA), Perfluorootanoic acid (PFOA), Perfluorononanoic acid (PFNA), Perfluorodecanoic acid (PFDA), Perfluoroundecanoic acid (PFUnDA), Perfluorododecanoic acid (PFDoDA), Perfluorotridecanoic acid (PFTrDA), Perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA) 11종으로 총 16종의 과불화합물이며, 내부표준물질과 회수율 확인용 표준물질은 9종의 혼합표준물질인 Perfluoro-n-[<sup>13</sup>C<sub>4</sub>]butanoic acid (MPFBA), Perfluoro-n-[1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]hexanoic acid (MPFHxA), Perfluoro-1-hexane[<sup>18</sup>O<sub>2</sub>]sulfonate (MPFHxS), Perfluoro-n-[1,2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>]octanoic acid (MPFOA), Perfluoro-1-[1,2,3,4-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>] octanesulfonate (MPFOS), Perfluoro-n-[1,2,3,4,5-<sup>13</sup>C<sub>5</sub>] nonanoic acid (MPFNFA), Perfluoro-n-[1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>] dedanoic acid (MPFDA), Perfluoro-n-[1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]undecanoic acid (MPFUnDA), Perfluoro-n-[1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]dodecanoic acid (MPFDoDA)와, 2종의 표준물질 Perfluoro-n-[<sup>13</sup>C<sub>8</sub>]octanoic acid (M8PFOA), Perfluoro-1-[<sup>13</sup>C<sub>8</sub>]octanesulfonate (M8PFOS)를 Laboratories사(Canada)의 시약을 사용하였다. 메탄올, MTBE, HPLC급 water는 J.T. Baker사(USA) 시약을 사용하였고, Tetra-n-butyl ammonium hydrogen sulfate (TBA)는 Alfa-Aesar사(UK), carbonate buffer는 탄산나트륨과 중탄산나트륨 특급 시약(Crown, Japan)을 이용하여 제조하였다. 28% 암모니아수와 1 mol/L 암모늄아세테이트는 Junsei (Japan)의 특급 시약을 사용하였고, 이밖의 모든 분석에 사용된 시약은 모두 특급 또는 HPLC 등급의 시약을 구매하여 사용하였다. 시료의 추출 및 정제를 위하여 vortex mixer (Hwashin Tech사, Korea)와 진탕배양기(Vision scientific사, Korea)를 사용하였

**Table 1.** The information of samples in this study

Category	Species	Number
Fish	Mackerel	3
	Tuna	3
	Croaker	3
	Spanish mackerel	3
	Hairtail	3
Fish liver	Mackerel	1
	Welleye	1
	Hairtail	1
	Croaker	1
	Squid	1
	Octopus	1
	Mackerel pike	1
Fish gut	Mackerel	1
	Walleye	1
	Hairtail	1
	Croaker	1
	Squid	1
	Octopus	1
	Mackerel pike	1
Total sample number		33

고, 시료의 고액분리를 위해 원심분리기(Vision scientific 사, Korea)를 사용하였다. 고체상 추출장치는 Supelco 사(USA)의 진공감압장치(Vacuum manifold)와, SPE 카트리지는 OASIS

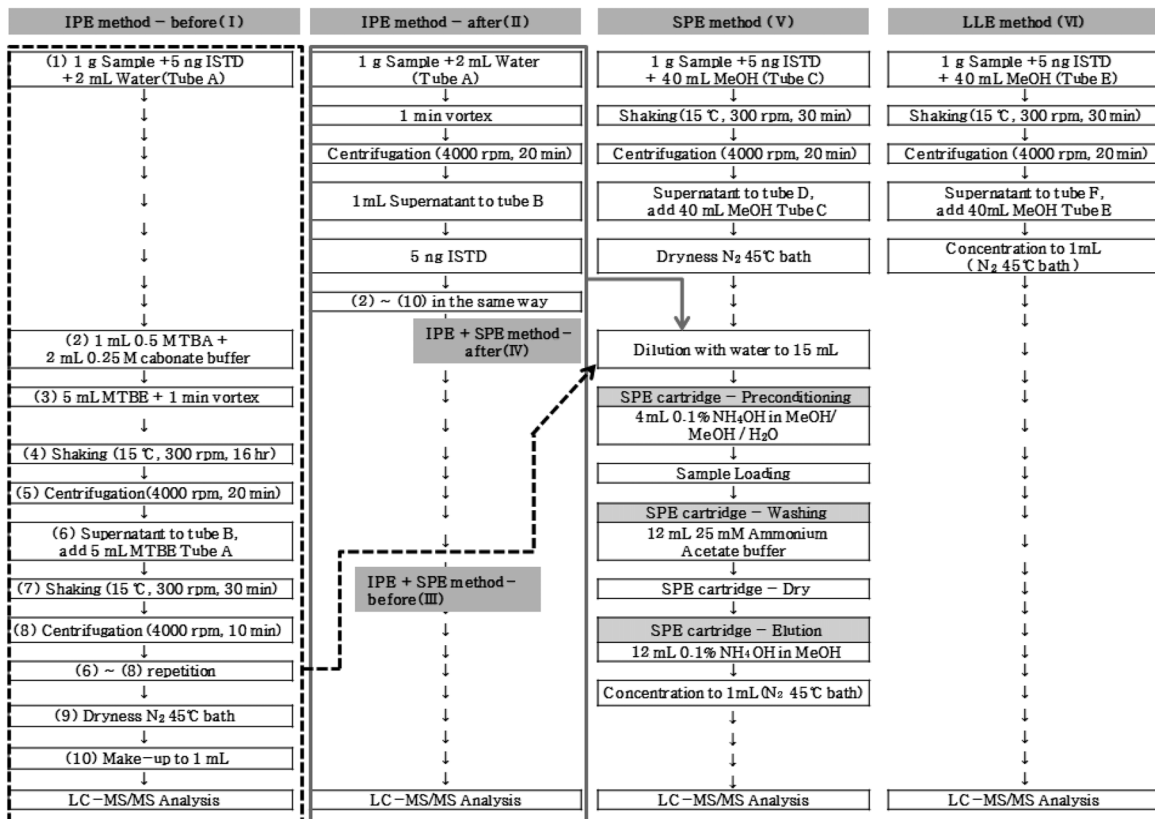
WAX (150 mg, 6 cc)를 사용하였다. 폴리프로필렌 재질의 시린지 필터(0.45 μm pore size × 13 mm, Whatman UK)와 폴리에틸렌 재질의 시린지(1 mL, Norm-ject, USA)를 사용하였다. 기기분석용 바이알은 테플론이 포함되지 않은 폴피프로필렌 재질의 La-pHa Pack 사(Germany)에서 구입하여 사용하였으며 이 밖의 모든 시험용기와 피펫 등은 과불화합물에 흡착하는 것으로 알려진 유리재질의 사용을 배제하고 폴리프로필렌이나 폴리에틸렌 재질의 기구를 이용하여 분석을 실시하였다.

**2.2. 연구대상 시료**

대상 식품 시료는 부산 시내 대형할인점 2곳 이상에서 구입하였으며, 참치와 콩치를 제외한 모든 시료는 국내산을 사용하였다(Table 1). 어류 시료 전처리법 확인을 위한 시료로는 고등어를 사용하였다. 어류 중 가식부 시료는 3개의 서로 다른 개체의 가식부를 혼합하여 하나의 시료로 사용하였으며 간과 내장 시료는 서로 다른 개체의 3~5개의 각 부위를 혼합하여 하나의 시료로 사용해 시료의 대표성을 높이고자 하였다.

**2.3. 회수율 확립을 위한 시료 전처리 방법 스크리닝 테스트**

IPE, SPE, LLE, IPE + SPE법을 사용하여 과불화합물의 추출효율을 비교하였는데, IPE법이 적용되는 경우에는 추출 전(before)과 후(after)로 내부 표준물질(MPFOS, MPFOA) 주입시점을 달리해서 비교하였다. 결과적으로, IPE-before, IPE-after, LLE, SPE, IPE + SPE-before, IPE + SPE-after 등 총 6



**Fig. 1.** Method test flow chart.

가지 전처리법에 대한 내부표준물질 회수율을 확인함으로써 어류에 적합한 전처리법을 확인하고자 하였다(Fig. 1).

### 2.3.1. IPE법

IPE법은 대상 시료 전량에 직접 표준물질을 주입한 후 추출하는 IPE-before법(I)<sup>18)</sup>과 시료와 물을 넣고 시료를 균질화한 다음 액상 일부(1 mL)를 덜어 표준물질을 주입하여 전처리를 하는 IPE-after법(II)<sup>24)</sup>으로 나뉘어 사용된다. 본 연구에서는 이 두 가지 방법에 대한 분석 회수율을 비교하였다.

IPE-before법(I)에서는 (1) 균질화한 시료 1 g에 내부표준물질(MPFOS와 MPFOA) 5 ng과 HPLC급 water 2 mL를 주입하고, (2) 0.5 M TBA 1 mL와 0.25 M carbonate buffer 2 mL를 넣어 잘 혼합한 뒤, (3) MTBE를 5 mL 넣고 1분간 vortex mixer를 이용해 혼합한다. (4) 진탕배양기(15°C, 300 rpm 이상)를 이용하여 16시간 동안 시료와 추출용액을 교반시킨 후, (5) 시료를 원심분리기를 이용해 추출액과 시료를 층 분리(4,000 g 이상, 20분)하였으며, (6) 고액분리 된 시료의 상등액을 15 mL 폴리프로필렌 튜브로 옮긴 후 5 mL의 MTBE를 주입하고, (7) 진탕배양기(15°C, 300 rpm 이상)를 이용하여 30분 동안 시료와 추출용액을 교반시킨 후 시료를 원심분리기를 이용해 추출액과 시료를 층 분리(4,000 g 이상, 10분)하여 처음 상등액을 옮겼던 폴리프로필렌 튜브에 옮겨 혼합한다. (8) 시료에 한 번 더 5 mL의 MTBE를 주입한 다음 추출과정을 반복한다. (9) 총 3번의 추출을 통해 얻어 옮긴 상등액을 Turbo-Vap 농축기를 이용하여 45°C로 맞춰 추출된 용매를 모두 건조시켰다. (10) 이를 메탄올로 1 mL를 맞추어 잘 흔든 다음 시린지 필터로 여과한 뒤 LC-MS/MS로 분석하였다.

IPE-after법(II)은 시료 무게의 2배에 상당하는 물을 넣고 균질화한 뒤 원심분리기를 이용해 고상시료와 액상시료를 분리하였다. 분리한 시료의 상등액 1 mL를 덜어 표준물질 5 ng을 주입하고 1분간 Vortex mixer를 이용해 잘 혼합한 후, 위 IPE-before법(I)의 (2)~(10)의 분석단계 과정을 동일하게 수행하여 분석하였다.

### 2.3.2. LLE법

균질화한 시료 각 1 g에 2종의 내부표준물질 5 ng을 주입 후 메탄올(40 mL)을 넣어 두 번 추출하였다. 그 추출액을 45°C로 Turbo-Vap 농축기를 이용하여 건조시킨 후 이를 다시 메탄올 1 mL로 맞추는 후 실린지 필터로 여과한 뒤 LC-MS/MS로 분석하였다.<sup>11)</sup>

### 2.3.3. SPE법

균질화한 시료 각 1 g에 내부표준물질 5 ng을 주입 후 메탄올(40 mL)을 넣어 2번 추출한 후(LLE법과 동일) 그 추출액을 45°C로 Turbo-Vap 농축기를 이용하여 건조시킨 후 이를 다시 HPLC급 water로 15 mL가 되도록 희석하였다. 0.1% 암모니아수/메탄올, 메탄올, 3차 증류수의 순으로 각 4 mL를 넣어 활성화시킨 SPE 카트리지에 시료를 통과시킨 다음 25

mM 암모늄아세테이트 12 mL로 씻은 후 10분간 건조시켰다. 건조시킨 카트리지를 0.1% 암모니아수/메탄올 용매를 이용하여 12 mL를 용출시킨 후 시료를 농축시켜 메탄올로 1 mL를 맞추고 실린지 필터로 여과한 뒤 LC-MS/MS로 분석하였다.<sup>19)</sup>

### 2.3.4. IPE + SPE법

이 방법은 IPE법으로 추출 후 기기분석 전에 SPE법을 적용하여 정제하는 방법으로 시료의 방해 물질을 제거하는데 효과적인 방법이다. 앞에서 설명한 IPE법을 실시하여 건조시킨 후 HPLC급 water로 15 mL가 되도록 희석하였다. 그 다음 SPE법에서 사용한 동일한 방법으로 SPE 카트리지를 통과시킨 후 농축하여 메탄올 1 mL로 맞추는 후 실린지 필터로 여과한 뒤 LC-MS/MS로 분석하였다.<sup>29)</sup> IPE + SPE법도 IPE법과 마찬가지로, 시료에 직접 표준물질을 주입하는 방법(III)과 시료와 물을 넣고 시료를 균질화한 다음 그 일부(1 mL)를 덜어 표준물질을 주입하여 전처리를 하는 방법(IV) 두 가지 모두를 실시하여 분석정확도를 비교하였다.

## 2.4. 기기분석 조건

본 연구에서는 과불화합물의 분석에 고성능 액체 크로마토그래피 텐덤 질량분석기(Agilent 1200 high performance liquid chromatography system with 6460 triple-quadrupole mass spectrometer, HPLC-MS/MS)를 사용하였다. 방해 물질이 많은 식품시료의 특성상 컬럼은 길이가 긴 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 mm × 160 mm, 3.5 μm, Agilent)을 사용하였으며 가드 컬럼(4.6 mm × 12.5 mm, 5 μm, Agilent)도 부착하였다. 이 동상으로 메탄올과 2 mM 암모늄 아세테이트를 사용하였고, 각 대상물질의 전구이온(precursor ion)과 생성이온(product ion)을 각각 선정하여 다중 반응 모니터링(multiple reaction monitoring, MRM) 모드로 분석하였으며, 연구 대상물질 16종에 대한 전구이온과 생성이온 정보는 PFBA (213 → 213, 169), PFPeA (263 → 263, 219), PFHxA (313 → 269, 119), PFHpA (363 → 319, 169), PFOA (413 → 369, 169), PFNA (463 → 419, 219), PFDA (513 → 469, 219), PFUnDA (563 → 519, 269), PFDoDA (613 → 569, 319), PFTrDA (663 → 619, 219), PFTeDA (713 → 669, 419), PFBS (229 → 99, 80), PFHxS (339 → 99, 80), PFHpS (449 → 99, 80), PFOS (499 → 99, 80), PFDS (599 → 99, 80)이며, 9종의 내부표준물질과 2종의 회수율 확인용 표준물질의 전구이온과 생성이온 정보는 MPFBA (217 → 217, 172), MPFHxA (315 → 315, 270), MPFOA (417 → 372, 172), MPFNA (468 → 423, 223), MPFDA (515 → 515, 470), MPFUnDA (565 → 565, 520), MPFDoDA (615 → 570, 270), MFPHxS (403 → 103, 84), MPFOS (502.9 → 99, 80), M8PFOA (421 → 376, 172), M8PFOS (217 → 217, 172)으로 위와 같은 조건에서 기기를 분석하였다.

## 2.5. 회수율 산정

최적 전처리법을 확립하기 위한 회수율 확인 실험을 위해

고등어 시료를 사용하여 각 실험법 마다 동일한 시료 두 개를 준비하여 한개 시료에는 전처리 전 시료에 동위원소로 치환된 일정량의 표준물질(MPFOS와 MPFOA)을 주입하였고, 나머지 한 개의 시료는 모든 전처리가 끝난 뒤에 동일한 표준물질을 주입하여 분석한 후 이 두 개 시료에서 검출된 과불화합물 표준물질의 면적비로 회수율을 구하였으며 회수율 식은 아래와 같다.

$$\text{회수율 (\%)} = \frac{A_{\text{after}} - A_{\text{before}}}{A_{\text{after}}} \times 100\%$$

$A_{\text{before}}$  : 전처리 전 주입한 내부표준물질의 검출 면적

$A_{\text{after}}$  : 전처리 후 주입한 내부표준물질의 검출 면적

### 2.6. 실제 식품시료의 분석

본 연구에서 분석법 확인을 위한 전처리법을 회수율 결과를 통해 선정된 분석법을 사용하여 실제 식품시료에서의 과불화합물의 농도를 파악하였다. 실제 시료를 분석 시에는 MPFOS와 MPFOA를 포함한 9종의 표준물질과 회수율 확인용 표준물질(M8PFOA, M8PFOS) 2종을 추가 주입하여 모든 시료에 대해 내부표준물질법으로 9종의 과불화합물 회수율을 확인하였다. 매 시료 배치(n=20) 당 하나 이상의 실험 공시료를 배치 및 분석하여 실험과정 중 발행하는 오염 여부를 확인한 결과 모든 시료에 대해 검출한계미만으로 나타났다. 검정표준물질은 0.05~50 ppb의 범위로 총 10단계의 검정표준물질을 이용하여 검정곡선을 작성하였으며, 검정곡선의 직선성 결정계수( $r^2$ )가 0.99 이상으로 양호한 직선성을 보였다. 정량한계는 검량용액의 신호 대 잡음비가 10에 해당하는 값으로 하였고, 시료의 농도계산 시 정량 한계미만의 경우에는 불검출로 처리하였으며, 본 연구의 정량한계는 0.009~0.066 ng/g이다.

구매한 식품 시료는 구매 후 1주일일이 되기 전에 모든 전처리 과정을 마쳤고, 전처리 전까지의 시료는 냉동보관(-5℃ 이하) 하였다. 어류 시료는 가식부 시료의 경우 머리와 꼬리, 내장, 비늘, 뼈 등을 제거하여 일반적으로 섭취하는 부위를 선택하였으며 3개의 서로 다른 개체의 가식부를 혼합하여 하나의 시료로 사용하여 2 g을 추출하였다. 내장과 간은 따로 분리하여 3개 또는 5개의 서로 다른 개체의 각 부위를 혼합하여 하나의 시료로 사용하였으며 간의 경우 0.5 g, 내장의 경우 1 g을 사용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 다양한 전처리 방법을 사용한 회수율 스크리닝 테스트

전처리법 확립을 위해 MPFOS와 MPFOA 두 물질에 대해 총 6가지 전처리법을 고등어 시료에 적용하여 얻은 회수율 결과를 Table 2에 나타내었다. SPE법에서 MPFOS는 42.3%,

**Table 2.** The recovery results of each pretreatment method (unit : %)

	Method	IPE		IPE+SPE		SPE	LLE	
		I,S injection (Number)	Before (I)	After (II)	Before (III)	After (IV)	Before (V)	Before (VI)
MPFOS	Mackerel		68.0	84.8	39.9	75.4	42.3	8.4
MPFOA	Mackerel		63.2	71.3	50.4	73.6	63.2	7.8

MPFOA는 63.2%의 회수율을 보였는데 이 값은 동일한 방법을 이용한 Ericson<sup>20)</sup>의 회수율(PFOS; 32~74%, PFOA; 61~130%)에 비해 다소 낮았다. 반면 메탄올을 추출 용매로 사용한 LLE법에서는 회수율이 10% 미만으로 본 연구에서 수행한 실험법 중 가장 낮은 회수율을 보였으며, LLE법을 사용한 Berger<sup>30)</sup>의 연구결과(64~95%)와도 큰 차이를 보였다.

추출 전 시료에 직접 표준물질을 넣어 전처리를 진행한 IPE-before법에서는 MPFOS와 MPFOA의 회수율이 63.2와 68.0%, IPE + SPE-before법에서는 각각 39.9와 50.4%로 나타나 SPE 단계를 더 거친 경우에 회수율이 다소 낮아지는 결과를 얻었다. 추출 후에 표준물질을 주입하여 전처리를 진행한 IPE-after법에서는 MPFOS와 MPFOA의 회수율이 84.8과 71.3%, IPE + SPE-after법에서는 75.4와 73.6%로 나타나 두 분석법 사이에서 차이가 없었다. IPE, IPE + SPE법에 관계없이 추출 후에 내부표준물질을 주입한 경우가 추출 전에 내부표준물질을 주입한 경우보다 회수율이 높게 나타났다. 이것은 추출과정 중 손실이 상대적으로 크게 발생할 수 있음을 의미한다. 국외 연구 결과 IPE-after법을 이용하여 어류를 분석한 연구 중 Nania<sup>31)</sup>은 PFOS는 90~113%, PFOA는 54~83%의 회수율을 보고하였고, Gulkowska<sup>24)</sup>의 경우 PFOS, PFOA에서 각각 88% (77~113%), 74%로 보고하는 등 본 연구와 비슷한 회수율 결과를 나타내었다.

본 연구에서 After법을 통해 시료와 물의 균질화 과정에서 발생하는 즉, 실제 시료에 존재하는 과불화합물이 물로 추출되는 과정에서의 손실여부를 확인할 수 있었으며, 시료 추출과정에서의 손실이 없는 시료에 직접 표준물질을 주입하는 방법인 Before법만을 비교해 본 결과, MPFOS의 회수율이 IPE법(68.0%) > SPE법(42.3%) > IPE + SPE법(39.9%) > LLE법(8.4%) 순으로 나타났으며, MPFOA는 IPE법, SPE법(63.2%) > IPE + SPE법(50.4%) > LLE법(7.8%)로 나타났다. 이를 바탕으로, 본 실험에서는 어류의 경우 IPE-Before법을 식품에 적용하기로 결정하였다.

### 3.2. RPM과 pH에 따른 IPE법 회수율 평가

IPE-before법이 최적 전처리법으로 선정되었으나 대상물질의 pKa값에 따른 추출 용매의 pH, 원심분리기의 RPM, 추출시간, 반복 추출횟수 등은 시료 전처리 과정에서 회수율에 영향을 주는 요인으로 알려져 있다.<sup>32)</sup> 기존 IPE법에서 시료에서의 추출시간과 반복 추출 횟수는 거의 동일하게 수행되어지고 있으나 용매의 RPM과 pH는 연구에 따라 약간의 차이를 보인다. 추출한 용매와 시료와의 분리를 위해

사용하는 원심분리기의 RPM은 약 3,000~11,000 g까지 다양하게 사용하고 있으나,<sup>7,33,34)</sup> 최근에 이루어진 Lacina<sup>33)</sup>의 연구를 제외하고는 대부분의 연구에서 3,000~4,500 g에서 수행되었다. 따라서 본 연구에서는 동일한 시료에 대해 4,1684 g (4,000 rpm)과 9,378 g (9,000 rpm) 따른 회수율 및 시료 편차를 비교를 통해 보다 적합한 조건을 찾고자 하였다. 한편, IPE법은 주로 MTBE를 추출용매로 사용하여 추출하는데 추출용매를 넣기 전에 0.5 M TBA를 넣어 이온화 시키며, 0.25 M carbonate buffer와 수산화나트륨으로 pH를 조절하여 pH를 8~10으로 맞추어 어류 및 육류 등 다양한 시료에 대해 전처리하거나,<sup>7,21)</sup> 0.5 M TBA로 pH를 4로 조절하는 등 다양한 연구들이 보고되고 있다.<sup>35)</sup> PFOA의 pKa 값은 2.8로 측정되었고,<sup>36)</sup> PFBA, PFHpA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFOS, PFHxS, PFOS의 pKa값은 -0.17~0.14로 추정되고 있으며<sup>36-38)</sup> 본 연구에서는 어류 시료 자체의 pH가 8~10인 점을 고려하여 어류시료에 적합한 pH를 찾고자 하였다. 이를 위해, 추출 용매 주입 전 pH를 4, 7, 10으로 조절하여 회수율을 비교를 통해 더 높은 회수율을 보이는 pH 조건을 사용하고자 하였다. 그 결과를 아래와 같이 나타내었다.

### 3.2.1. 원심분리기의 RPM에 따른 회수율 평가

회수율 확립을 위해 수행한 6가지 실험법 중 가장 회수율이 높고 적합하다고 판단되어진 IPE-before법으로 MPFOA, MPFOS를 포함한 9종의 내부표준물질을 주입하여 원심분리기의 RPM에 따라 회수율 실험을 각각의 조건에서 3회 반복하여 테스트한 결과를 Table 3에 나타내었다. 4,178 g (4,000 rpm)와 9,378 g (9,000 rpm)를 사용한 평균 회수율은 75.9, 58.8%로 4,178 g (4,000 rpm)에서 9,378 g (9,000 rpm)의 경우 보다 높은 회수율을 보였지만 3개의 동일 시료에 대한 상대표준편차(Relative Standard Deviation, RSD)가 4,178 g (4,000 rpm)의 경우 5.4~105%, 9,378 g (9,000 rpm)의 경우 2.5~26%로 나타났으며, 평균 상대표준편차가 각각  $\pm 30\%$ ,  $\pm 10\%$ 로 9,378 g (9,000 rpm)을 사용한 경우가 보다 낮은 편차를 보였

**Table 3.** The PFCs recovery results of fish samples according to RPM (unit : %)

Compound	4,168 g (4,000 rpm)	9,378 g (9,000 rpm)	
PFCAs	MPFBA	11.5 (± 105)	28.2 (± 9.5)
	MPFHxA	67.7 (± 19)	77.1 (± 26)
	MPFOA	71.2 (± 17.5)	58.9 (± 5.5)
	MPFNA	68.2 (± 5.6)	58.5 (± 7.5)
	MPFDA	72.2 (± 6.1)	59.9 (± 6.3)
	MPFUnDA	73.3 (± 5.4)	61.1 (± 13)
PFASs	MPFDoDA	74.3 (± 7.0)	52.9 (± 16)
	MPFHxS	165.8 (± 85)	69.9 (± 2.5)
	MPFOS	78.9 (± 17)	62.6 (± 4.4)
Average	75.9 (± 30)	58.8 (± 10)	
Min	11.5 (± 5.4)	28.2 (± 2.5)	
Max	165.8 (± 105)	77.1 (± 26)	

다. 따라서 원심분리기의 RPM이 높을수록 시료 간의 회수율 편차가 감소하여 실험결과의 신뢰성이 높아짐을 확인하여 본 연구에서는 9,378 g (9,000 rpm)을 적용하기로 결정하였다.

### 3.2.2. pH에 따른 회수율 평가

9,378 g (9,000 rpm)을 적용한 IPE-before법을 사용하여 추출용매의 pH를 변화시키면서 얻은 회수율 테스트 결과를 Table 4에 나타내었다. pH 4, pH 7 그리고 pH 10에서의 평균 회수율은 각각 55.5%, 40.0%, 43.4% 로 pH에 따른 큰 회수율의 차이를 보이지 않았지만 전반적으로 pH 4에서 가장 높은 회수율을 보여 추출용매의 pH를 4로 결정하였다.

**Table 4.** The average recovery results of fish according to pH (unit : %)

Compound	pH 4	pH 7	pH 10	
PFCAs	MPFBA	11.6	13.6	16.4
	MPFHxA	71.0	61.0	78.7
	MPFOA	40.8	34.3	39.2
	MPFNA	44.9	34.9	37.8
	MPFDA	48.0	35.9	38.5
	MPFUnDA	55.4	37.3	40.9
PFASs	MPFDoDA	43.9	36.6	41.3
	MPFHxS	106.6	46.6	43.0
	MPFOS	77.0	59.9	54.7
Average	55.5	40.0	43.4	
Min	11.6	13.6	16.4	
Max	106.6	61.0	78.7	

**Table 5.** The average PFCs recovery results of fish samples (unit : %)

Compound	Fish					
	Mackerel (RSD)	Tuna (RSD)	Hairtail (RSD)	Croaker (RSD)	Spanish mackerel (RSD)	
PFCAs	MPFBA	26.6 (±4.8)	45.8 (±49)	46.8 (±18.6)	50.7 (±7.4)	45.2 (±10.4)
	MPFHxA	40.4 (±12)	60 (±36.2)	38.9 (±50.8)	57.8 (±6.9)	60.5 (±5.3)
	MPFOA	46.7 (±11)	63.1 (±46.7)	57.1 (±15.5)	57.8 (±5.7)	67.5 (±6.8)
	MPFNA	44 (±11.9)	88.4 (±23.3)	54.1 (±9.8)	54.2 (±6.6)	63.1 (±9.1)
	MPFDA	38.8 (±11.9)	99 (±11.7)	46 (±8.3)	47.2 (±8)	56.1 (±9.6)
	MPFUnDA	35.8 (±14.1)	104 (±1.8)	49.1 (±9)	50.5 (±10.3)	60.4 (±11.5)
PFASs	MPFDoDA	31.0 (±2.4)	86.2 (±24.9)	43.8 (±15.9)	46.4 (±11.5)	59.4 (±15.3)
	MPFHxS	101.9 (±2.1)	79.5 (±24.7)	62.3 (±20.6)	73 (±10.7)	91.4 (±11.5)
	MPFOS	87.1 (±5.6)	92.3 (±11.3)	62 (±13.4)	62.3 (±7.8)	74.1 (±11.1)
Average	53.2 (±7.2)	84.1 (±11.9)	51.7 (±8.8)	56.2 (±5.6)	66.6 (±9.8)	

### 3.3. 확립된 전처리법을 실제 시료에 적용한 9종의 과불화합물 회수율 결과

선정된 IPE-before법으로 실제 어류에 적용하여 9종의 내부표준물질 및 회수율 확인용 표준물질 2종을 주입한 후, 실제시료를 분석한 모든 시료의 회수율을 확인한 결과를 Table 5에 나타내었다. 회수율 범위는 51.7~84.1%로 나타났고, 상대 표준편차가 12% 미만으로 나타나 시료간의 재현성 있는 회수율을 보였다.

### 3.4. 실제 식품시료에의 농도

#### 3.4.1. 어류에서의 농도

확립된 전처리법을 연구대상 시료에 적용하여 모니터링을 실시하였다. 어류시료의 16종 과불화합물의 각각의 평균농

도는 ND~16.7 ng/g-습중량의 범위에서 검출되었으며, 총 16종의 과불화합물( $\Sigma$ (PFBA~PFDS))의 평균농도는 1.67 ng/g-습중량이었다. 삼치(2.88 ng/g) > 고등어(2.04 ng/g) > 갈치(1.75 ng/g) > 조기(1.50 ng/g) > 참치(0.162 ng/g) 순으로 검출되었다. 대부분의 어류 시료의 경우 16종의 과불화합물 중 PFOS의 농도 분포가 가장 높은 것으로 나타났으며, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA 등의 상대적으로 고분자인 과불화합물이 높은 빈도로 검출되었고, 모든 시료에서 16종의 과불화합물 중 4종 이상이 검출되었다(Fig. 2, Table 6).

국외 어류 분석결과와의 비교는 16종의 과불화합물에 대한 전체 비교는 가용할 자료가 없어 불가능 하지만 일부 대표적인 과불화합물에 대해서는 가능하였다. Naile<sup>39)</sup>의 연구에서는 8종의 과불화합물(PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA,

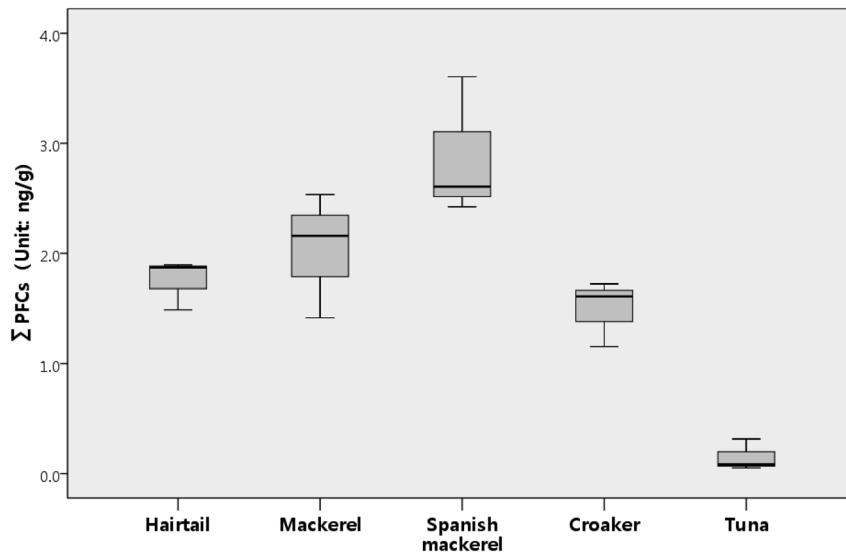


Fig. 2. Concentration range of PFCs in fish samples.

Table 6. Comparison of PFCs levels in different parts of fish sample (unit : ng/g)

(n Detection / Total)	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFTeDA	PFBS	PFHxS	PFHpS	PFOS	PFDS	$\Sigma$ PFCs
Fish Muscle																	
Mackerel (3/3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0490 ( $\pm 0,01$ )	0,4520 ( $\pm 0,07$ )	0,185 ( $\pm 0,04$ )	0,908 ( $\pm 0,39$ )	ND	ND	ND	ND	0,442 ( $\pm 0,11$ )	ND	2,04 ( $\pm 0,57$ )
Tuna (3/3)	ND	ND	ND	0,0780 ( $\pm 0,14$ )	ND	ND	0,0260 ( $\pm 0,01$ )	0,0171 ( $\pm 0,03$ )	0,0280 ( $\pm 0,03$ )	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,162 ( $\pm 0,14$ )
Hairtail (3/3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0740 ( $\pm 0,03$ )	0,316 ( $\pm 0,02$ )	0,116 ( $\pm 0,01$ )	0,640 ( $\pm 0,21$ )	0,0570 ( $\pm 0,05$ )	ND	ND	ND	0,532 ( $\pm 0,02$ )	0,0172 ( $\pm 0,03$ )	1,75 ( $\pm 0,23$ )
Croaker (3/3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0380 ( $\pm 0,01$ )	0,277 ( $\pm 0,02$ )	0,0930 ( $\pm 0,01$ )	0,522 ( $\pm 0,20$ )	0,0900 ( $\pm 0,03$ )	ND	ND	ND	0,457 ( $\pm 0,06$ )	0,0180 ( $\pm 0,03$ )	1,50 ( $\pm 0,30$ )
Spanish mackerel (3/3)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,0800 ( $\pm 0,03$ )	0,419 ( $\pm 0,11$ )	0,106 ( $\pm 0,02$ )	0,521 ( $\pm 0,11$ )	0,0870 ( $\pm 0,01$ )	ND	ND	ND	1,67 ( $\pm 0,38$ )	ND	2,88 ( $\pm 0,64$ )
Fish Part																	
Fish liver (7/7)	ND	0,111 ( $\pm 0,19$ )	ND	0,119 ( $\pm 0,32$ )	ND	0,030 ( $\pm 0,08$ )	0,068 ( $\pm 0,18$ )	2,17 ( $\pm 2,1$ )	ND	4,82 ( $\pm 4,0$ )	ND	ND	ND	ND	10,5 ( $\pm 26,0$ )	ND	17,8 ( $\pm 25,5$ )
Fish gut (7/7)	ND	1,56 ( $\pm 2,7$ )	ND	0,195 ( $\pm 0,52$ )	0,265 ( $\pm 0,48$ )	0,184 ( $\pm 0,27$ )	ND	1,54 ( $\pm 1,7$ )	ND	2,82 ( $\pm 2,7$ )	ND	0,126 ( $\pm 0,33$ )	ND	1,40 ( $\pm 3,7$ )	5,21 ( $\pm 3,7$ )	ND	13,3 ( $\pm 13,8$ )

\*ND: Not detected; <LOQ, 검출된 물질에 기준을 맞춰 평균값 계산, ND = 0로 적용

PFDoDA, PFDS, PFOS, PFOSA) 중 PFOS (8.83 ng/g) > PFUnDA (1.28 ng/g) > PFDA (0.13 ng/g) > 기타 순으로 검출되었으며, Berger<sup>30)</sup>의 연구에서는 8종의 과불화합물(PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFHxS, PFOS, PFOSA) 중 PFOS (1.12~10.1 ng/g) > PFUnDA (0.12~0.89 ng/g), PFDA (0.13~0.37 ng/g) > 기타가 다음 순으로 검출되었다. 두 연구 모두 다른 과불화합물의 경우 검출한계 미만으로 나타났다고 보고하였다.

본 연구의 결과 또한 Naile,<sup>39)</sup> Berger<sup>30)</sup>에서의 결과와 마찬가지로 PFOS가 가장 우세하게 검출되고 그 다음 PFTrDA, PFUnDA 순으로 검출되어 비슷한 경향성을 보였다.

### 3.4.2. 어류 부위별 농도

어류의 간과 내장에서서의 16종의 과불화합물 각각의 검출 범위는 각 ND~10.5 ng/g-습중량, ND~5.21 ng/g-습중량으로 오징어 시료가 가장 높게 나타났으며, 어류의 근육부와 마

찬가지로 간과 내장에서도 PFOS의 농도 분포가 가장 큰 것으로 나타났다(Fig. 3). 모든 시료에서 과불화합물이 검출되었으며, 자세한 내용은 Table 6에 나타내었다. 이를 통해 어류와 그 간과 내장에서의 총 16종의 과불화합물( $\Sigma$ (PFBA~PFDS))의 평균농도를 비교해 보았을 때, 간(17.8 ng/g) > 내장(13.3 ng/g) > 근육부(1.67 ng/g)로 나타나 어류의 간에서 가장 높게 검출됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 국내에서 이루어진 조천래 등<sup>38)</sup>의 연구는 PFOS 농도가 혈액 > 간 > 신장 > 아가미 > 근육 순으로 나타난다고 보고한 바 있고, 국외에 연구에서도 근육부에 비해 간에서의 과불화합물의 농도가 높게 보고되고 있다.<sup>31)</sup> 이것은 과불화합물이 단백질과 잘 결합하는 특성 때문인데, 이미 혈액내의 단백질과 결합하여 과불화합물이 높은 농도로 검출되어진다는 보고가 있다.<sup>41)</sup> 간의 성분 또한 단백질 함량이 근육부보다 많으며, 과불화합물 간 조직 내의 단백질 농도와 양의 상관성을 보인다는 연구결과가 있다.<sup>40)</sup>

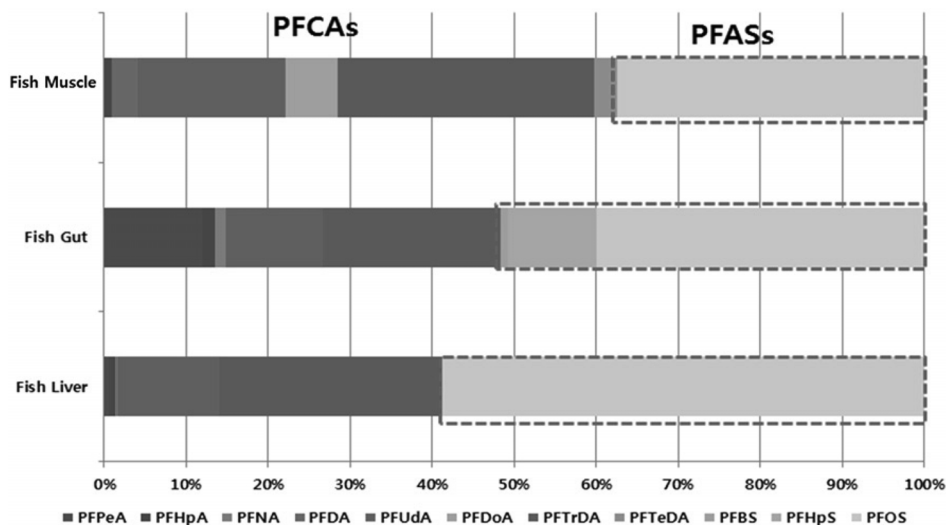


Fig. 3. Distribution patterns of PFCs in different parts of fish samples.

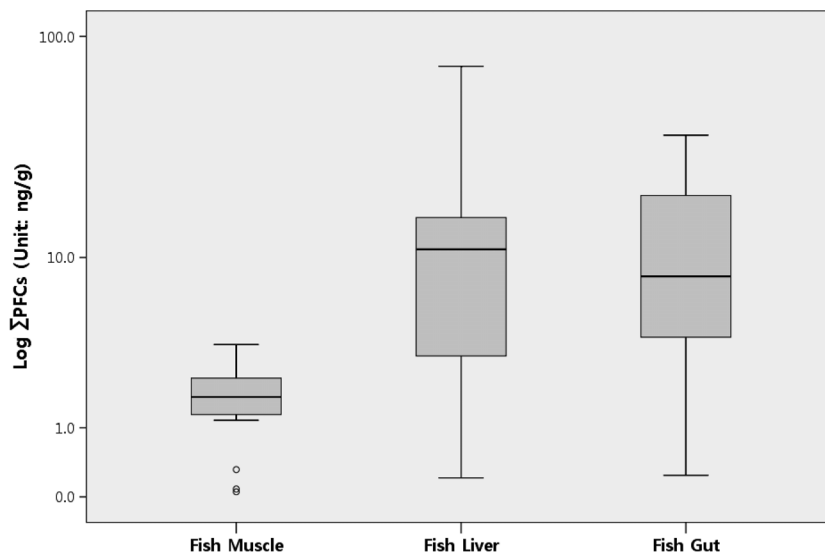


Fig. 4. Concentration range of PFCs in different parts of fish samples.



#### 4. 결론

본 연구는 첫째, 어류에 잔류하는 과불화합물의 최적분석법을 찾기 위해 IPE-before법, IPE-after법, LLE법, SPE법, IPE + SPE-before법, IPE + SPE-after법 등을 비교 검토하였다. 회수율을 비교결과, IPE-before법이 가장 높고 안정적인 회수율을 보였다. RPM과 pH 조절하여 분석한 결과, RPM은 9,378 g (9,000 rpm)에서 그리고 추출용매 주입 전 pH를 4로 맞추어 처리한 경우 가장 높은 회수율이 관측되었다. 확립된 전처리 조건(RPM-9,378 g, pH = 4)들과 분석법(IPE-before)을 이용하여 국내에서 주로 섭취하는 어류에 해당하는 식품들을 선정하여 과불화합물 잔류량을 측정하였다. 체내 잔류량은 ND~1.67 ng/g-습중량 범위였으며, 삼치에서 PFOS가 가장 높은 수준(1.67 ± 0.38) ng/g-습중량으로 검출되었다.

본 연구결과는 향후 국내에서 연구가 미비한 식품에서의 과불화합물의 분석에 바탕자료로 사용되어 다양한 식품군에서의 연구에 확장하여 적용 가능할 것으로 사료된다.

#### 사사

본 연구는 2011년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제의 연구개발비 지원(11162유해영725) 및 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한 한국연구재단의 지원(No. 2010-0026716)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

KSEE

#### 참고문헌

- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C. and Lai, D., Pfahles-Hutchens, A. and Seed, J., "Perfluoroalkyl acids: A review of monitoring and toxicological findings," *Toxicol. Sci.*, **99**(2) 366~394(2007).
- Peden-Adams, M. M., Keller, J. M., EuDaly, J. G., Berger, J., Gilkeson, G. S. and Keil, D. E., "Suppression of humoral immunity in mice following exposure to perfluorooctane sulfonate," *Toxicol. Sci.*, **104**(1), 144~144(2008).
- Kärman, A., Harada, K. H., Inoue, K., Takasuga, T., Ohi, E. and Koizumi, A., "Relationship between dietary exposure and serum perfluorochemical (PFC) levels-A case study," *Environ. Int.*, **35**(4), 712~717(2009).
- Cho, C. R., Yoon, J. H., Eom, I. C., Lee, B. C., Cho, J. C., Choi, I. S., Kim, S. J., Choi, K. H., "Characteristics of PFCs residue in fish from stream around WWTP drainage," *Environmental Health and Toxicology symposium abstract book*, 169-169(2009).
- Kim, S. K., "Environmental Distribution and Fate of Perfluorinated Compounds (PFCs) as Emerging POPs: Physico-Chemical Properties, Emission, Contamination Level, Inter-phase Distribution and Long-Range Transport," *Environ. Health Toxicol.*, **23**(3), 143-164(2008).
- Taniyasu, S., Kannan, K., Horii, Y., Hanari, N. and Yamashita, N., "A Survey of Perfluorooctane Sulfonate and Related Perfluorinated Organic Compounds in Water, Fish, Birds, and Humans from Japan," *Environ. Sci. Technol.*, **37**(12), 2634~2639(2003).
- Nakata, H., Kannan, K., Nasu, T., Cho, H. S., Sinclair, E. and Takemura, A., "Perfluorinated contaminants in sediments and aquatic organisms collected from shallow water and tidal flat areas of the Ariake Sea, Japan: Environmental fate of perfluorooctane sulfonate in aquatic ecosystems," *Environ. Sci. Technol.*, **40**(16), 4916~4921(2006).
- Fromme, H., Tittlemier, S. A., Völkel, W., Wilhelm, M. and Twardella, D., "Perfluorinated compounds-exposure assessment for the general population in western countries," *Int. J. Hygiene Environ. Health*, **212**(3), 239~270(2009).
- UK FSA Official report, "Survey of PFOS and related fluorochemicals in food," (2008).
- UK FSA, "Survey of fluorinated chemicals in food, Food survey information sheet," (2009).
- Tittlemier, S. A., Pepper, K., Seymour, C., Moisey, J., Bronson, R., Cao, X. L. and Dabeka, R. W., "Dietary Exposure of Canadians to Perfluorinated Carboxylates and Perfluorooctane Sulfonate via Consumption of Meat, Fish, Fast Foods, and Food Items Prepared in Their Packaging," *J. Agric. Food Chem.*, **55**(8), 3203~3210(2007).
- Gobbo, L. D., Tittlemier, S., Diamond, M., Pepper, K., Tague, B., Yeudall, F. and Vanderlinden, L., "Cooking Decreases Observed Perfluorinated Compound Concentrations in Fish," *J. Agric. Food Chem.*, **6**(16), 7551~7559(2008).
- Ostertag, S. K., Chan, H. M., Moisey, J., Dabeka, R. and Tittlemier, S.A., "Historic Dietary Exposure to Perfluorooctane Sulfonate, Perfluorinated Carboxylates, and Fluorotelomer Unsaturated Carboxylates from the Consumption of Store-Bought and Restaurant Foods for the Canadian Population," *J. Agric. Food Chem.*, **57**(18), 8534~8544(2009).
- Ministry of Environment, "Development of Survey System and Risk Assessment of Perfluorooctane sulfonate (PFOS)," (2005).
- Kim, S. K., Im, J. K., Kang, Y. M., Jung, S. Y., Kho, Y. L. and Zoh, K. D., "Wastewater treatment plants (WWTPs)-derived national discharge loads of perfluorinated compounds (PFCs)," *J. Hazard. Mater.*, **201-202**, 82~91(2012).
- Lee, W. W., "Rapid determination of perfluorinated compounds in human serum by solid-phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry," *Kyung hee university graduate school, a master's thesis*, pp. 1~67(2010).
- Guruge, K. S., Pathmalal, M. M., Noriko, Y., Shigeru, M., Sachi, T. and Nobuyoshi, Y., "Species-specific concentrations of perfluoroalkyl contaminants in farm and pet animals in Japan," *Chemosphere*, **73**(1), S210~S215(2008).
- Hansen, K. J., Clemen, L. A., Ellefson, M. E. and Johnson, H. O., "Compound-Specific, Quantitative Characterization of Organic Fluorochemicals in Biological Matrices," *Environ. Sci. Technol.*, **35**(4), 766~770(2001).
- Fromme, H., Midasch, O., Twardella, D., Angerer, J., Boe-

- hmer, S. and Liebl, D., "Occurrence of perfluorinated substances in an adult German population in southern Bavaria," *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, **80**(4), 313~319(2007).
20. Ericson, I., Mart-Cid, R., Nadal, M., van Bavel, B., Lindstrom, G. and Domingo, J. L., "Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: intake of perfluorinated compounds in foods from the Catalan (Spain) market," *J. Agric. Food Chem.*, **56**(5), 1787~1794(2008).
  21. Bossi, R., Riget, F. F., Dietz, R., Sonne, C., Fauser, P., Dam, M. and Vorkamp, K., "Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands," *Environ. Pollut.*, **136**(2), 323~329(2005).
  22. Tomy, G., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P. A., Stern, G. A., Friesen, K., Peer, K., Tittlemier, S. A. and Fisk, A. T., "Fluorinated Organic Compounds in an Eastern Arctic Marine Food Web," *Environ. Sci. Technol.*, **38**(24), 6475~6481(2004).
  23. Haug, L. S., Salihovic, S., Jogsten, I. E., Thomsen, C., Van Bavel, B., Lindstrom, G. and Becher, G., "Levels in food and beverages and daily intake of perfluorinated compounds in Norway," *Chemosphere*, **80**(10), 1137~1143(2010).
  24. Gulkowska, A., Jiang, Q., So, M. K., Taniyasu, S., Lam, P. K. S. and Yamashita, N., "Persistent Perfluorinated Acids in Seafood Collected from Two Cities of China," *Environ. Sci. Technol.*, **40**(12), 3736~3741(2006).
  25. Noorlander, C. W., van Leeuwen, S. P. J., Biesebeek, J. D., Mengelers, M. J. B. and Zeilmaker, M. J., "Levels of Perfluorinated Compounds in Food and Dietary Intake of PFOS and PFOA in The Netherlands," *J. Agric. Food Chem.*, **59**(13), 7496~7505(2011).
  26. Kärrman, A., Ericson, I., Van Bavel, B., Darnerud, P. O., Aune, M., Glynn, A., Lignell, S. and Lindström, G., "Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: Levels of matched human milk and serum and a temporal trend 1996-2004, in Sweden," *Environ. Health Perspect.*, **115**(2), 226~230(2007).
  27. Jogsten, I. E., Perello, G., Llebaria, X., Bigas, E., Marti-Cid, R., Kärrman, A. and Domingo, J. L., "Exposure to perfluorinated compounds in Catalonia, Spain, through consumption of various raw and cooked foodstuffs, including packaged food," *Food Chem. Toxicol.*, **47**(7), 1577~1583(2009).
  28. Wang, Y. W. and Jiang, G., "The research of human exposure to polybrominated diphenyl ethers and perfluorooctane sulfonate," *Chinese Sci. Bull.*, **53**(4), 481~492(2008).
  29. Yeung, L. W. Y., Taniyasu, S., Kannan, K., Xu, D. Z. Y., Guruge, K. S., Lam, P. K. S. and Yamashita, N., "An analytical method for the determination of perfluorinated compounds in whole blood using acetonitrile and solid phase extraction methods," *J. Chromatography A*, **1216**(25), 4950~4956(2009).
  30. Berger, U., Glynn, A., Holmström, K. E., Berglund, M., Ankarberg, E. H. and Tärnkvist A., "Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Sweden-analysis of edible fish from lake Vättern and the Baltic Sea," *Chemosphere*, **276**(6), 799~804(2009).
  31. Nania, V., Pellegrini, G. E., Fabrizi, L., Sesta, G., De Sanctis, P., Lucchetti, D., Di Pasquale, D. and Coni, E., "Monitoring of perfluorinated compounds in edible fish from the Mediterranean Sea," *Food Chem.*, **115**(3), 951~957(2009).
  32. Wasowicz, W., Nève, J. and Peretz, A., "Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage," *Clinical Chem.*, **39**(12), 2522~2526(1993).
  33. Lacina, O., Hradkova, P., Pulkrabova, J. and Hajslova, J., "Simple, high throughput ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry trace analysis of perfluorinated alkylated substances in food of animal origin: Milk and fish," *J. Chromatography A*, **1218**(28), 4312~4321(2011).
  34. Taniyasu, S., Kannan, K., So, M. K., Gulkowska, A., Sinclair, E., Okazawa, T. and Yamashita, N., "Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota," *J. Chromatography A*, **1093**(1~2), 89~97(2005).
  35. Guo, R., Reiner, E. J., Bhavsar, S. P., Helm, P. A., Mabury, S. A., Braakevelt, E. and Tittlemier, S. A., "Determination of polyfluoroalkyl phosphoric acid diesters, perfluoroalkyl phosphonic acids, perfluoroalkyl phosphinic acids, perfluoroalkyl carboxylic acids, and perfluoroalkane sulfonic acids in lake trout from the Great Lakes region," *Anal. Bioanal. Chem.*, **404**(9), 2699~2709(2012).
  36. Kissa, E., "Fluorinated Surfactants and Repellents", Second Edition, CRC Press, 2001.
  37. 3M, "Fluorochemical use, distribution and release overview," U.S. Environmental Protection Agency public docket AR226~0550(1999).
  38. OECD 2007, "Understanding the Brain: The Birth of a Learning Science," (Paris, OECD Publishing)
  39. Naile, J. E., Khim, J. S., Wang, T., Chen, C., Luo, W., Kwon, B., Park, J., Koh, C. H., Jones, P. D., Lu, Y. and Giesy, J. P., "Perfluorinated compounds in water, sediment, soil and biota from estuarine and coastal areas of Korea," *Environ. Pollut.*, **158**(5), 1237~1244(2010).
  40. Cho, C. R., Cho, J. G., Eom, I. C., Lee, B. C., Kim, S. J., Choi, K. H. and Yoon, J. H., "Bioconcentration of Perfluorinated Compounds in Fish from Gulpo Stream," *Environ. Health Toxicol.*, **25**(3), 229~240(2010).
  41. Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Oehme, G., Focardi, S. and Giesy, J. P., "Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas," *Environ. Sci. Technol.*, **36**(15), 3210~3216(2002).