

## 환경시료로부터 미량 페놀류의 분석을 위한 isoButoxycarbonyl 유도체화 분석방법 적용 및 최적화

김 협<sup>1,2,\*</sup>, 홍종기<sup>3</sup>, 김용화<sup>4</sup>, 김경례<sup>5</sup>

<sup>1</sup>국립상주대학교 TIC, <sup>2</sup>우석대학교 화학환경화공학부

<sup>3</sup>한국기초과학지원연구원 유해물질분석연구팀,

<sup>4</sup>한국화학연구소 안전성센터, <sup>5</sup>성균관대학교 약학대학

## Application and Optimization of the IsoButoxycarbonyl Derivatization method to the Analysis of Trace Level Phenols in Environmental Samples

Hyub Kim<sup>1,2,\*</sup>, Jong-Ki Hong<sup>3</sup>, Yong-Hwa Kim<sup>4</sup> and Kyoung-Rae Kim<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Technology Innovation Center, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Woosuk University, Junju 565-701, Korea

<sup>3</sup>Hazardous Substance Research Team, Korea Basic Science Institute, Seoul 136-701, Korea

<sup>4</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-600, Korea

<sup>5</sup>Department of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon, Korea

### ABSTRACT

Eleven phenols including two chlorophenols, eight alkylphenols and bisphenol A were derivatized with isobutylchloroformate to form their isobutoxycarbonyl derivatives. Standard phenol mixture was concentrated for the isobutoxycarbonyl (isoBOC) derivatization and analysed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). The recoveries of the derivatization method of alkylphenols, chlorophenols, and bisphenol A were calculated by gas chromatography/mass spectrometry-selected ion monitoring mode using two work-up methods for comparison; shaking and heating method. The linear detector responses were obtained in the concentration range of 5~400 ng, with correlation coefficients varying from 0.9755~0.9981.

Recoveries of the alkylphenols, chlorophenols, and bisphenol A were determined by gas chromatography/mass spectrometry-selected ion monitoring mode using two work-up methods for comparison; the US-EPA method and the isoBOC derivatization method. Eleven phenols in water samples were extracted with dichloromethane and then concentrated. Also, solid-phase extraction (SPE) with XAD-4 and subsequent conversion to isobutoxycarbonyl derivatives for sensitive analysis with the selected ion-monitoring (SIM) mode. The recoveries were 85.1~109.9% and 90.3~126.6% for the US-EPA method and the isoBOC derivatization method, respectively. The method detection limits of bisphenol A for SIM were 0.732 µg/l and 0.002 µg/l for the two methods above, respectively.

**Key words :**

\* To whom correspondence should be addressed.

Tel: 054-530-5149, E-mail: khlyj@dreamwiz.com

## 서 론

페놀류는 자연계 내에서 생물에 의해 생성되거나, 석유화학 공정, 제지 공업, 각종 살충제, 제초제, 그리고 제철 공업 등 다양한 공정에서 부산물로 생성되기도 하고, 계면활성제가 자연에 유출되어 분해되면서 페놀류가 생성되기도 하며, 음용수가 염소로 소독 및 살균시 발생되어진다 (Alkylphenol compound, 2001). 이러한 페놀류는 인체에 유해성이 높고, 기침, 현기증, 두통, 설사, 호흡 곤란, 구토 증상을 일으킨다. 또한 이들 페놀류 중 내분비장애물질 (endocrine disrupting chemicals, EDCs)로 지정된 11종의 페놀류들은 환경 중 농축에 의한 인체에 유입을 통해 내분비장애물질로 작용하여 암 발생 및 발생기 과정에서 성 결정 (fetal sex determination)에 영향을 주리라 예상되고 있다 (Quill TF, 1999).

그러므로, 음용수 중 페놀을 포함한 4종의 클로로페놀류와 4종의 니트로페놀류 및 2종의 메틸페놀류를 포함하는 11종의 페놀들은 미국 환경보호청 (US environment protection agency, EPA)로부터 priority pollutants로 분류되고 있었으나 (US EPA, Water Quality Criterion, US EPA, 1976), 최근 비스페놀 A와 알킬페놀 중 penta-에서 nonylphenol과 2,4-dichlorophenol과 pentachlorophenol이 내분비장애에 작용이 있음이 보고되면서 내분비장애물질로 지정되어 관심의 초점이 모아지고 있다. US-EPA에서는 11종의 페놀이 음용수 중 농도가 5 µg/l 이내가 되도록 규제하여왔으나, 현재 일본 후생성에서는 내분비장애물질로 규정된 알킬페놀류, 클로로페놀류와 비스페놀 A는 0.01 µg/l (노닐페놀은 0.1 µg/l), 생물 시료에서는 1 µg/kg (노닐페놀은 10 µg/kg)이내가 되도록 규정이 강화되었다 (SPEED 98/JEA, 1998).

따라서 수질환경 중에서 극미량의 페놀류의 분석을 위해서 많은 연구자들은 1976년 기준 방법으로 공포된 환경 시료 중 free phenol을 추출한 후 농축하여 GC/MS로 분석하는 US-EPA 분석방법을 (EPA method 625, Base/neutral and acids, 2001) 대체하여 다양한 페놀들을 동시에 분석하고 검출 한계를 낮추고자 각종 기기를 이용한 분석방법을 페놀류 화합물 분석에 시도하여 gas chro-

matography (GC), (Herterrich *et al.*, 1991; Weber, 1992; Ballesteros *et al.*, 1993; Kumar *et al.*, 1993; Cooper *et al.*, 1994; Pendergrass, 1994; Turnes *et al.*, 1994) high performance liquid chromatography (HPLC), (Lee *et al.*, 1993; Niwa, 1993; Ruana *et al.*, 1993; Schmidt *et al.*, 1993; Lamprecht *et al.*, 1994; Achilli *et al.*, 1995; Galceran *et al.*, 1995; Lu *et al.*, 1995; Landzettel *et al.*, 1995; Pocurull *et al.*, 1995; Pocurull *et al.*, 1996) GC/mass spectrometry (GC/MS) (Lee *et al.*, 1989; Boyd, 1994; Heberer Hdh, 1997) 및 LC/mass spectrometry (LC/MS)가 (Huang *et al.*, 1990; Yergey *et al.*, 1990) 많이 사용되어졌다. 이들 분석방법 중 HPLC 분석방법과 capillary electrophoresis (CE) 분석방법은 사용할 수 있는 이동상이 제한되어 있으므로, 주로 US-EPA에서 지정한 11종 페놀들을 중심으로 분석방법이 개발되었다. GC 또는 GC/MS의 경우 분해능이 우수한 캐필러리 컬럼의 사용으로 다양한 페놀류 화합물들을 분리할 수 있으므로 최근 페놀류 분석에 널리 사용되어지고 있으나, GC 분석은 단지 머무름 시간에 의해 정성 분석을 하므로 때론 방해 물질에 의해 발생된 peak를 오인하는 경우도 있으므로 최근 들어 정확한 정성 및 정량 분석법으로 GC/MS 분석방법이 선호되고 있다.

GC/MS를 이용하여 페놀류를 분석하기 위해서는 페놀류를 추출한 후에 GC로 분석할 때, 페놀의 -OH기의 영향으로 매우 낮은 감도로 나타나므로 다양한 화학 유도체 방법이 개발되었다. 지금까지 개발된 GC를 이용한 일반적인 페놀류의 유도체화 방법으로 페놀류의 phenolic-OH의 활성수소를 acylation (Ballesteros, 1993; Cooper, 1994; Pendergrass, 1994) benzylation (Boyd, 1994)과 silylation (Heberer, 1997) 등의 유도체화 반응을 이용하여 비극성 기능기로 전환한다. 그러나 지금까지 개발된 페놀류의 유도체화 방법들은 silyl 유도체인 경우 alcoholic -OH 기능기를 가진 비페놀성 화합물과도 반응함으로써 반응의 선택성이 떨어지므로 환경 시료에 적용시 많은 양의 방해물질 peak가 같이 나타난다. 반면 acyl 유도체와 benzyl 유도체는 강한 염기성 수용액에서 phenolate 이온 형태로 반응을 시킴으로써 재현성이 떨어지며 산화에 약한 페놀류에는 부적합한 단점을 가지고 있다 (Boyd, 1994; Pendergrass, 1994; Heberer *et al.*,

1997).

생체시료에서 페놀류에 대한 연구를 효과적으로 진행하기 위해서는 trimethylsilyl (TMS) 유도체의 단점을 보완하며, acylation과 benzylation의 단점을 극복할 수 있는 새로운 유도체화 방법이 개발되어야 하였고, phenolic -OH 기능기에만 선택적으로 반응하는 isobutoxycarbonyl (isoBOC) 유도체화법이 (Kyoung-Rea Kim *et al.*, 2000) 이미 보고된 바 있다. 또한 EPA에서는 페놀류 분석시 분석방법 검출 한계 (method detection limit, MDL) 이 용하여 사용 기기의 차이나 감도에 상관없이 같은 검출 한계 값이 나오도록 하여야 한다.

따라서 본 연구에서는 isoBOC 유도체 방법을 환경시료에 적용할 수 있게 하기 위하여 최적화를 시도하였다. 이때 사용한 비교 기준치로는 MDL을 사용하였다. 내분비계장애물질로 지정된 11종의 페놀류를 대상으로 가온법의 최적 조건을 구하기 위하여 최적 온도와 시간을 조사하였으며, isoBOC 유도체화 반응시 진탕법과 (Kyoung-Rea Kim *et al.*, 2000) 가온법을 비교하였다. 이렇게 설정된 최적 반응 조건을 사용하여 5~400 ng에서 isoBOC 유도체화된 페놀들의 직선성을 조사하였다. 최적 반응 조건의 isoBOC 유도체화 분석방법과 free phenol을 추출 후 농축하는 US-EPA 분석방법을 US-EPA의 분석방법 검출한계 계산법을 도입하여 검출한계를 비교하였다.

## 실험 및 방법

### 1. 시약

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

유도체화 시약은 isobutylchloroformate (isoBCF) 용액은 Acros사 (Belgium)로부터 구입하였으며, triethylamine (TEA), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 NaCl는

Junsei (Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 페놀 표준 원액 및 내부 표준원액 조제

GC/MS 실험용 11종의 페놀 표준물질들 각각을 1 mg/ml의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후 각각의 원액에서 일정량을 취하고 희석시켜 50 µg/ml 농도의 페놀 혼합 표준 용액을 조제하였다. 표준용액은 0°C 이하의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. Phenanthrene-d<sub>10</sub>과 bisphenol A-d<sub>16</sub>는 1 mg/ml의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 원액을 만든 후, 각각 100 µg/ml와 50 µg/ml의 농도가 되도록 아세토니트릴에 용해시켜 내부 표준액으로 사용하였다.

### 3. isoBOC 유도체 방법 실험

#### 1) 일 상 (one-phase), 일 단계 (one-step)

isoBOC 유도체화 방법 (가온법)의 최적화 실험 테프론 코팅된 마개가 달린 1 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 TEA 40 µl를 첨가한 후, 내부표준물질 phenanthrene-d<sub>10</sub>을 1 µg 첨가한 다음 페놀 혼합 표준용액 50 µg/ml를 6 µl 취한 후 질소가스를 불어넣어 농축한다. 약 40 µl로 농축한 다음, 다시 TEA 30 µl를 첨가한 후 isobutylchloroformate 20 µl를 첨가한다. 이 용액을 40~250°C까지 조정할 수 있는 derivatization reactor (Pierce Co., USA)에 넣고 가열한 다음 실온에서 식힌 후, GC/MS-SIM (selected ion monitoring)으로 분석하였다. 가온시 변수로 작용하는 온도와 시간을 알아보기 위하여, 11종 페놀에 대하여 30°C, 60°C, 100°C 그리고 120°C에서 위와 동일한 조작을 거친 후, 각각 30분, 60분, 120분 그리고 240분 간격으로 가열하여 isoBOC 반응시 최적의 온도와 시간을 조사하였다.

#### 2) 최적화된 이 상, 이 단계 isoBOC 유도체화 방법 (진탕법)과 일 상, 일 단계 isoBOC 유도체화 방법 (가온법)의 비교 실험

##### (1) 이 상 (two-phase), 이 단계 (two-step)

isoBOC 유도체화 방법 (진탕법) 실험 소금으로 포화되고 0.5 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 pH 2로 조정 한 pH 2 증류수 1 ml를 뚜껑이 있는 15 ml 시험관 (12 × 1.2 mm)에 넣는다. 페놀 혼합 표준용액 50

$\mu\text{g/ml}$ 를 6  $\mu\text{l}$  취하여 pH 2 증류수 1 ml에 첨가한다. IsoBCF (5  $\mu\text{l}$ )와 TEA (20  $\mu\text{l}$ )가 첨가된 이염화탄소 1 ml를 첨가한 직후 10분 동안 진탕기로 격렬하게 반응시킨다. 5 M 수산화나트륨 용액을 사용하여 pH 2 증류수를 pH 8로 올린 후 다시 10분 동안 진탕기로 격렬하게 반응시킨다. 반응이 완결된 다음 이염화탄소층만을 취하여, 테프론 코팅된 마개를 지닌 1 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 TEA 90  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 농축한다. 내부표준물질로 사용한 phenanthrene- $\text{d}_{10}$  용액 1  $\mu\text{g}$ 을 첨가한 후, GC/MS-SIM 방법으로 분석하였다.

#### (2) 일 상(one-phase), 일 단계(one-step)

##### isoBOC 유도체화 방법(가온법) 실험

페놀 혼합 표준용액 50  $\mu\text{g/ml}$ 를 6  $\mu\text{l}$  취하여, 테프론 코팅된 마개를 지닌 1 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 TEA 40  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후, 질소가스를 불어넣어 농축한다. 약 40  $\mu\text{l}$ 로 농축한 후, 다시 TEA 30  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 다음 isobutylchloroformate 20  $\mu\text{l}$ 를 첨가한다. 이 용액을 40~250°C까지 조정할 수 있는 derivatization reactor (Pierce Co., USA)에 넣고 100°C에서 1시간 동안 가열한 다음 실온에서 식힌다. 내부표준물질로 사용한 phenanthrene- $\text{d}_{10}$  용액 1  $\mu\text{g}$ 을 첨가한 후, GC/MS-SIM 방법으로 분석하였다.

#### 4. 표준검정곡선의 작성

검정 범위는 각 물질별로 표준물질을 혼합한 5개의 검정용 표준 혼합물(5, 20, 100, 200, 400 ng)을 만들었다. 이 혼합물을 넣고, 유도체화 방법 중 가온법에 따라 isoBOC 유도체화하고 내부표준물질로 사용한 phenanthrene- $\text{d}_{10}$  용액 1  $\mu\text{g}$ 를 첨가한 후 GC/MS-SIM 방법으로 분석하여 시료별 검정곡선을 얻었다.

#### 5. 실제 환경 물 시료 분석실험 및 분석방법 검출 한계 실험

##### 1) US-EPA 분석방법 실험

US-EPA에서 공시한 분석방법은 액체-액체 추출방법으로써 0.5 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 로 pH 2로 조정된 3차 증류수 시료 2에 페놀 혼합 표준원액 5  $\mu\text{g/l}$ 를 첨가하고, 내부표준물질로서 bisphenol A- $\text{d}_{16}$  용액 1

$\mu\text{g/l}$ 를 첨가한다. 균질하게 혼합하고 그 중 1 l를 분액 깔대기에 분취하여 NaCl를 포화시킨 후 이염화탄소 50 ml로 세 번 추출하여 합친다. 추출액을 둥근 플라스크에 모으고, 추출액에 TEA 50  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 회전식 감압농축기를 사용하여 약 5 ml로 농축하였다. 추출하여 농축된 시료 전처리액을 테프론 코팅된 마개를 지닌 1 ml reacti-vial (Pierce Co., USA)에 TEA 70  $\mu\text{l}$ 를 첨가한 후, 질소가스를 불어 넣어 농축을 하면서 옮긴다. 약 70  $\mu\text{l}$ 로 농축 건조시킨 후, 이 용액에 ethyl acetate 20  $\mu\text{l}$ 와 0.1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 phenanthrene- $\text{d}_{10}$  10  $\mu\text{l}$ 를 첨가하였다. 위 용액의 1  $\mu\text{l}$ 를 GC/MS에 주입하여 분석하였다. 분석 후 신호 대 잡음 비가 bisphenol A에 대하여 5 정도되는 농도까지 계속 반복하여 페놀 혼합 표준 원액을 희석(2.5  $\mu\text{g/l}$ )하여 각각을 7개의 3차 증류수 2에 첨가하여 실험하였다.

##### 2) 고체상 추출방법 실험

남아 있는 1 l의 3차 증류수 시료를 아세토니트릴 20 ml, 메탄올 20 ml, 증류수 20 ml, pH 2 물 20 ml로 세척한 0.5 g XAD-4 컬럼(I.D.: 12 × 150 mm)에 분당 0.5 ml의 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 mm Hg)로 과량의 수분을 제거한 후, 10 분간 질소 가스를 불어 주면서 잔여 수분을 완전히 제거시킨다. 수분이 제거된 XAD-4 컬럼에 아세토니트릴 3 ml를 5분간 정체시킨 후, 분당 0.5 ml 이하의 속도로 용출시킨다. 이 조작을 2회 반복하고 아세토니트릴층을 합하여 균질하게 혼합한 후, 유도체 방법 중 가온법에 따라 isoBOC 유도체화 한 후, 0.1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 phenanthrene- $\text{d}_{10}$  10  $\mu\text{l}$ 를 첨가하였다. US-EPA 분석방법(비유도체화 방법)과 동일한 방법으로 bisphenol A를 기준으로 신호 대 잡음비가 5가 되는 농도까지 계속 반복하여, 페놀 혼합 표준 원액을 희석(0.06  $\mu\text{g/l}$ )하여 각각을 7개의 3차 정제수 1 l에 첨가하여 각각 고체상 추출한 후, isoBOC 유도체화하여 실험하였다.

##### 3) 환경 물 시료 전처리 실험 및 분석방법 검출 한계 실험

실제 폴리에틸렌 공장의 방류수 시료 1 l에 bisphenol A- $\text{d}_{16}$  1  $\mu\text{g}$  첨가하여 고체상 추출방법을 사

용하여 추출한 후, isoBOC 유도체화 하였다.

Phenanthrene-d<sub>10</sub> 1 µg를 첨가 후, 용액 1 µl를 GC/MS에 주입하여 분석하였다. 또한 동일한 폴리에틸렌 공장의 방류수 시료에 bisphenol A를 기준으로 신호 대 잡음비가 5 정도 되는 농도까지 계속 반복하여, 페놀 혼합 표준 원액을 희석(0.06 µg/l)하여 폴리에틸렌 공장의 방류수 시료 1 l에 첨가하여 고체상 추출방법을 사용하여 추출한 후, 가온법에 따라 isoBOC 유도체화한 다음 phenanthrene-d<sub>10</sub> 1 µg를 첨가하여 각각 7개의 실제 폴리에틸렌 공장의 방류수 시료를 실험하였다.

### 6. 회수율 측정 실험

US-EPA 분석방법은 3차 증류수 1 l에 페놀 혼합 표준용액 10 µg를 첨가하여 고체상 추출한 다음 농축하여 액체-액체 추출방법으로 추출 후 농축하여 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub> 용액 1 µg를 첨가한 후, GC/MS-SIM 방법으로 분석하였다. 또한 isoBOC 유도체화 분석방법은 3차 증류수 1 l에 페놀 혼합 표준용액 2 µg를 첨가하여 고체상 추출방법으로 추출 후, 가온법에 따라 isoBOC 유도체화 방법을 거친 후, 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub> 용액 1 µg를 첨가하여 GC/MS-SIM 방법으로 분석하였다.

### 7. 분석기기

11종 페놀류를 측정하기 위한 GC/MS로는 HP-6890 plus 기체 크로마토그래피와 HP 5970 MS Chemstation이 연결된 5973 Network 질량분석기 (Agilent Technologies, USA)로 구성되어 있는 것을 사용하였다. GC/MS 분석을 위한 컬럼은 DB-5MS cross linked 5 % phenyl methylsilicon fused-silica capillary column (30 × 0.25 mm I.D., 0.25 µm film thickness)을 사용하여, 이온원과 직접 연결하였다. 오븐 온도는 처음에 60°C에서 1분 동안 머물게 한 후 1분당 10°C씩 올려 280°C까지 올리고 20분 동안 머물게 하였다.

시료 1 µl를 비분할 (splitless) 주입법을 사용 (purge delay time 0.7분) 주입하였다. 운반기체는 헬륨 (99.999%)을 사용했고, 유속은 0.9 ml/min로 흘러주었다. 시료 주입구의 온도, 연결 부분의 온도, 이온 원의 온도는 각각 270°C, 280°C, 200°C로 맞추었다.

이온화 전압을 70 eV를 가하여 특정 질량을 가지는 이온만 선택하여 검출하는 방법 (selected ion monitoring, SIM)을 사용하여 분석하였다. SIM 방법에서 사용된 이온들은 각 화합물의 특성 이온을 선택하였고, 이들의 감도를 높이기 위하여 머무름 시간 (retention time)에 따라 4개의 그룹으로 나누어 검색하였다. Table 1은 SIM 방법에서 사용한 선택 이온들을 실었다.

**Table 1.** Selected ion groups for phenols in SIM mode

Compound	Time range (min)		Selected ion (m/z)	
	isoBOC	EPA	isoBOC	EPA
2,4-Dichlorophenol	14.00-18.10	8.00-10.80	164, 162	164, 162
4- <i>t</i> -Butylphenol	14.00-18.10	8.00-10.80	135, 107	150, 135
4- <i>n</i> -Butylphenol	14.00-18.10	10.80-13.50	150, 107	150, 107
Phenanthrene-d <sub>10</sub>	14.00-18.10	14.70-20.00	188	188
4- <i>n</i> -Pentylphenol	18.10-19.40	10.80-13.50	164, 107	164, 107
4- <i>n</i> -Hexylphenol	18.10-19.40	13.50-14.70	178, 107	178, 107
4- <i>t</i> -Octylphenol	18.10-19.40	13.50-14.70	235, 135	135, 107
4- <i>n</i> -Heptylphenol	19.40-22.00	14.70-20.00	192, 107	192, 107
Pentachlorophenol	19.40-22.00	14.70-20.00	268, 266	266, 264
Nonylphenol	19.40-22.00	14.70-20.00	320, 220, 149, 107	220, 135, 107
4- <i>n</i> -Octylphenol	19.40-22.00	14.70-20.00	206, 107	206, 107
Bisphenol A-d <sub>16</sub>	22.00-34.00	20.00-34.00	242, 224	242, 224
Bisphenol A	22.00-34.00	20.00-34.00	228, 213	228, 213

Retention time (RT) values on DB-5 (30 × 0.25 mm I.D., 0.25 µm film thickness) capillary column programmed from 60°C for 1 min, then programmed to 280°C at a rate of 10°C min<sup>-1</sup>

## 8. 계산

최적 일 상, 일 단계 (가온법) isoBOC 유도체화 반응 선정 실험, isoBOC 유도체 반응시 진탕법과 가온법 비교 실험과 직성선 실험에서 계산은 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub>과 각 isoBOC 유도체화된 페놀간의 상대적 피이크 면적비를 이용하여 계산하였다.

3차 증류수 시료와 폴리에틸렌 공장의 방류수 시료에서 US-EPA 분석방법 (비유도체 방법)과 isoBOC 유도체화 각각의 분석방법 검출한계는 US-EPA 분석방법과 isoBOC 유도체화 분석방법 각각을 액체-액체 추출 후 농축하여 분석하는 방법과 고체상 추출 후 isoBOC 유도체화하여 분석하는 방법에 따라 7 회 실험하여 내부표준물질로 사용한 bisphenol A-d<sub>16</sub> 면적에 대한 bisphenol A의 면적 비를 구하였다. 각 7회의 면적 비에 대한 표준편차 (*s*)를 구한 후, US-EPA 계산 방법인 자유도 계수 6에서 99% 신뢰도 (*t*)값인 3.143을 표준편차에 곱한 MDL = *ts* 식으로 US-EPA 분석방법과 isoBOC 유도체화 분석방법의 bisphenol A에

대한 US-EPA의 분석방법 검출 한계를 구하였다.

3차 증류수 회수율 실험에서는 전처리 후 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub>과 각 페놀간의 상대적 peak 면적 비를 구하여, 전처리 과정 없이 분석한 각각의 방법에서 페놀들의 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub>에 의한 peak 면적비와 비교하여 회수율을 계산하였다.

## 결과 및 고찰

11종의 페놀류에 대한 isoBOC 유도체와 비유도체 (underivatized)의 GC/MS 분석한 결과는 Fig. 1과 Table 2와 3과 같다. Fig. 1에서 보듯이 GC/MS로 분석하면 각 isoBOC 유도체화된 페놀들이 양호한 분리와 감도를 보이는 반면, 비유도체인 경우 매우 낮은 감도와 흡착에 의한 꼬리끌림 현상이 나타났다. 특히 pentachlorophenol과 *n*-octylphenol이 분리 되지 않았으며, pentachlorophenol과 bisphenol A의 경우 GC의 주입구 또는 컬럼에서 흡착되어 매우 낮은 감도를 보여준다 (Herterrich,

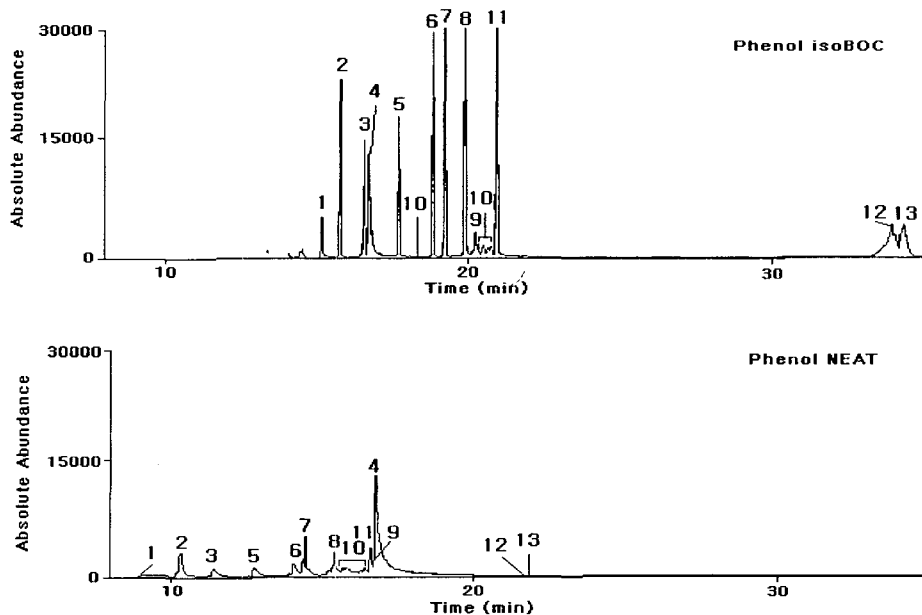


Fig. 1. Total ion chromatograms of isoBOC derivatized phenols. Peak identity as follow: 1. 2,4-dichlorophenol, 2. 4-*t*-butylphenol, 3. 4-*n*-butylphenol, 4. phenanthrene-d<sub>10</sub> (internal standard), 5. 4-*n*-pentylphenol, 6. 4-*n*-hexylphenol, 7. 4-*t*-octylphenol, 8. 4-*n*-heptylphenol, 9. pentachlorophenol, 10. nonylphenol, 11. 4-*n*-octylphenol, 12. bisphenol A-d<sub>16</sub> (internal standard), 13. bisphenol A.

**Table 2.** Gas chromatographic and mass spectral data of phenols as isobutyloxycarbonyl derivatives of phenols

Phenolic compound	GC RT (min)	Mass spectral data				
		DB-5	RRT	[M] <sup>+</sup>	[M-100] <sup>+</sup>	Other ions
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	150 (46)	107 (100)		
Pentachlorophenol	20.12	1.198	364 (0)	264 (62)	268 (64)	266 (100) 270 (20)
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)	
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)	135 (86) 121 (60)
	20.30	1.208	320 (1)	220 (6)	135 (100)	191 (15) 107 (10)
	20.40	1.214	320 (3)	220 (7)	121 (100)	177 (90) 107 (68)
	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	31.42	1.870	428 (1)	328 (6)	228 (17)	213 (100)

Retention time (RT) values on DB-5 (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm film thickness) capillary column programmed from 60°C for 1 min, then programmed to 280°C at a rate of 10°C min<sup>-1</sup>

**Table 3.** Gas chromatographic and mass spectral data of intact phenols

Phenolic compound	GC RT (min)	Mass spectral data				
		DB-5	RRT	[M] <sup>+</sup>	[M-100] <sup>+</sup>	Other ions
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)	
Pentachlorophenol	16.71	0.993	264 (65)	266 (100)	268 (56)	270 (19)
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)	
Nonylphenol	15.42	0.917	220 (4)	192 (15)	163 (15)	135 (16) 107 (100) 73 (22)
	15.58	0.926	220 (10)	177 (24)	163 (34)	121 (84) 107 (100) 77 (13)
	15.70	0.933	220 (10)	135 (100)	107 (54)	
	15.79	0.939	220 (20)	191 (32)	149 (51)	135 (58) 107 (100) 77 (14)
	15.92	0.946	220 (19)	191 (22)	149 (49)	135 (86) 107 (100) 77 (20)
	16.04	0.954	220 (12)	177 (16)	135 (100)	121 (42) 107 (88) 77 (10)
	16.14	0.960	220 (6)	177 (16)	149 (48)	135 (33) 107 (100) 77 (13)
	16.26	0.967	220 (3)	177 (1)	149 (13)	135 (100) 107 (58) 77 (11)
	16.35	0.972	220 (5)	191 (14)	163 (8)	149 (77) 135 (50) 107 (100)
4- <i>n</i> -Octylphenol	16.49	0.980	206 (20)	192 (12)	149 (16)	135 (13) 107 (100) 77 (14)
Bisphenol A-d <sub>16</sub>	20.75	1.234	244 (0)	242 (25)	224 (100)	143 (26) 128 (23) 77 (21)
Bisphenol	20.78	1.235	228 (18)	213 (100)		

Retention time (RT) values on DB-5 (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm film thickness) capillary column programmed from 60°C for 1 min, then programmed to 280°C at a rate of 10°C min<sup>-1</sup>

1991; Cooper, 1994; Pendergrass, 1994; Turnes, 1994).

IsoBOC 유도체화된 페놀류와 비유도체의 페놀류들의 머무름 시간은 알킬페놀의 경우 페놀에 치환된 탄소의 수에 따라 증가함을 나타냈고, *tert.*-형태가 *n*-형태보다 빨리 용리되어 나온다. 특히 비유도체와 isoBOC 유도체화된 경우 각 페놀들의 용출되는 정도는 -OH 기능기가 1개인 경

우 알킬페놀이나 클로로페놀에 상관없이 isoBOC 유도체의 머무름 시간이 비유도체인 경우보다 5분 정도 늦게 나오는 반면 -OH 기능기를 2개 가지고 있는 bisphenol A인 경우 isoBOC 유도체의 머무름 시간이 10분 정도 늦게 나온다. 이는 isoBOC 유도체화된 페놀류의 수소와 치환된 isobutoxycarbonyl 기능기가 컬럼에서 용출되면서 입체 장애를 받아 -OH 기능기에 치환된 isobutoxycar-

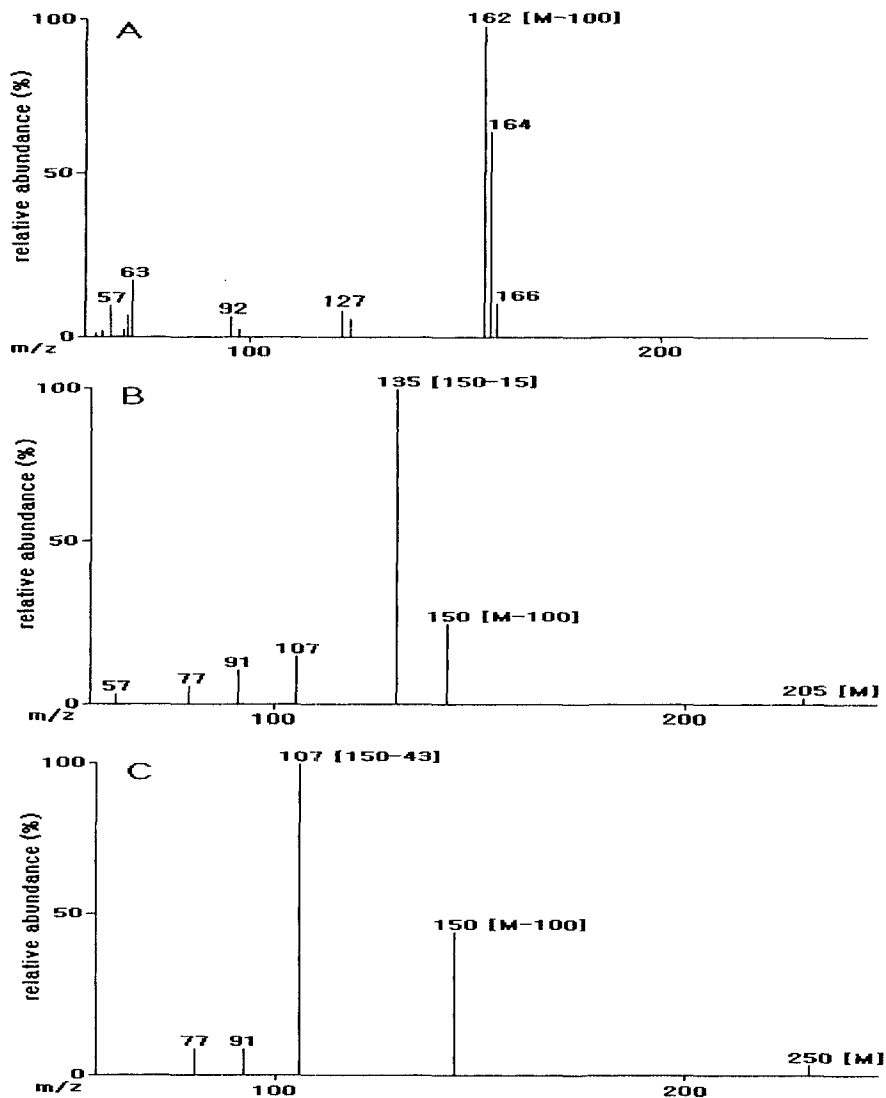


Fig. 2. EI mass spectra of isoBOC derivatized phenols. (A) 2,4-dichlorophenol-(O)isoBOC, (B) 4-*t*-butylphenol-(O)isoBOC, (C) 4-*n*-butylphenol-(O)isoBOC.



bonyl 기능기의 갯수와 비례하여 늦게 나오는 것으로 생각된다.

페놀류에 대한 전자충돌방식 (electron impact, EI)에 의한 질량 스펙트럼은 Fig. 2와 Fig. 3에서 보듯이 isoBOC 유도체인 경우 isoBOC 그룹의 탄소와 페놀의 산소간의 결합이 우선적으로 쪼개진 후, isoBOC 그룹으로부터 수소 원자가 페놀의 산소로 이동한 [M-100]<sup>+</sup>의 특징적인 이온이 나타나며, 그 후 쪼개지는 현상은 free phenol과 동일한 형태로 이온들이 떨어져 나가는 것을 확인할 수

있다.

특히 알킬페놀의 경우 benzylic 위치의 알킬기가 떨어져 나간 이온이 기준 피크로 나타난다. Fig. 2와 3에서 보듯이, *tert.*-형태의 경우 [M-15]<sup>+</sup>인 *m/z* 135 이온이 특징적으로 나타나고, *n*-형태의 경우 [M-43]<sup>+</sup>인 *m/z* 107 이온이 특징적으로 나타난다. 따라서 이들 이온의 존재로 *tert.*-형태인지 *n*-형태의 이성질체인지 분간할 수 있는 특성 이온이 된다.

본 연구에서 이 상, 이 단계 (진탕법)의 isoBOC

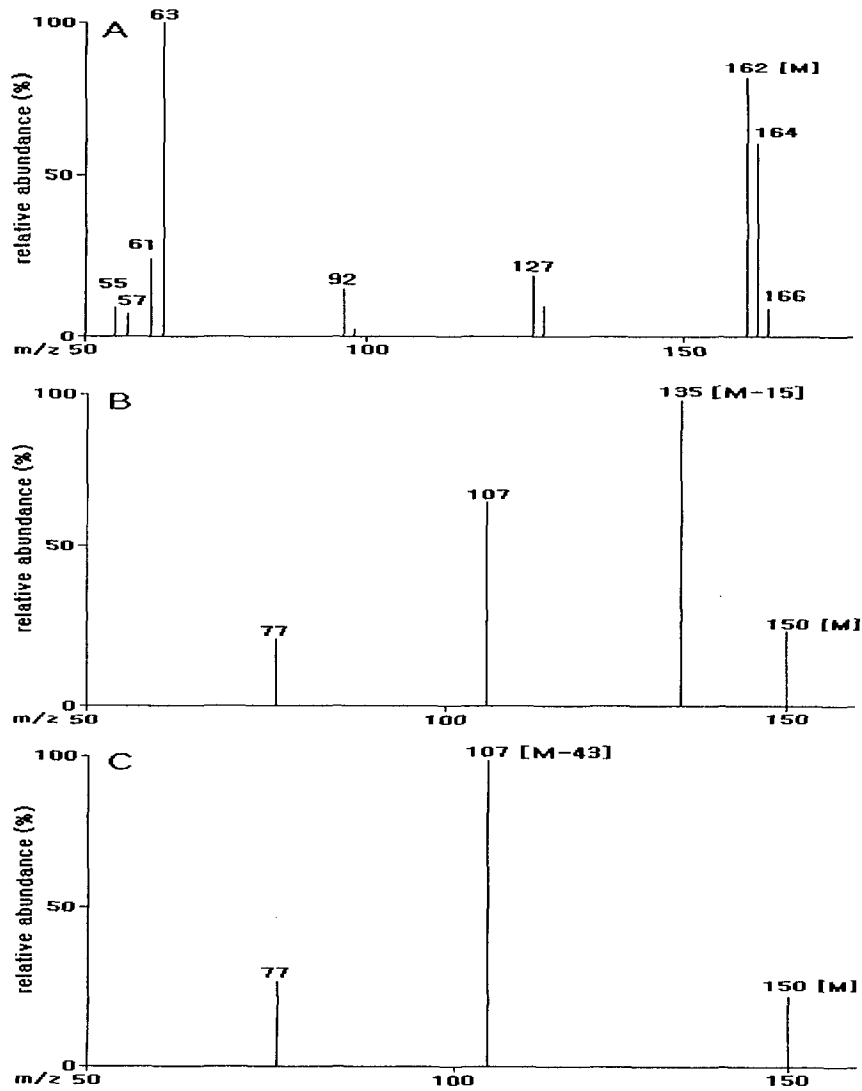


Fig. 3. EI mass spectra of free phenols. (A) 2,4-dichlorophenol, (B) 4-*t*-butylphenol, (C) 4-*n*-butylphenol.

유도체 방법을 (Kyoung-Rea Kim *et al.*, 2000) 많은 수의 환경시료에 적용시키고자 isoBOC 유도체화 하는 방법을 진탕 유도체화 반응 방법과 가온 유도체화 반응 방법을 내부표준물질 phenanthrene-d<sub>10</sub>을 사용하여 비교 실험하였다. 이 상, 이 단계 진탕 유도체화 반응 방법과 일 상, 일 단계 가온 유도체화 반응 방법을 비교 실험하기 위하여 우선적으로 일 상, 일 단계 가온 유도체화 반응 방법의 변수로 작용하는 반응 온도와 반응 시간에 대하여 조사한 결과를 Fig. 4와 5에 정리하였다. Fig. 4와 5에서 보듯이 가온 유도체화 반응 조건에서는 가온 반응시 같은 온도범위에서는 30분 동안 80% 정도 진행되었으며, 1시간 이후 부터는 -OH 기능을 1개 가지고 있는 isoBOC 유도체화 된 페놀들은 붕괴되는 것을 알 수 있다. 반면 -OH 기능을 2개 가지고 있는 bisphenol A인 경

우에는 100°C와 120°C 온도 조건에서는 60분에서 120분까지 가장 반응 효율이 좋았다. 이것은 isoBOC 유도체화 반응시 반응시약과 bisphenol A가 입체 장애를 받아 -OH 기능을 1개 가지고 있는 페놀류 보다 더 높은 온도와 더 긴 시간을 필요로 하는 것으로 생각된다. 그러나, 동시 분석하는 알킬 페놀류와 클로로페놀류를 고려하여 100°C, 60분간 가온 하는 것을 일 상, 일 단계 isoBOC 유도체화 방법의 최적 조건으로 선정하였다.

최적화된 일 상, 일 단계 (가온법) isoBOC 유도체화 방법과 본 연구실에서는 보고한 최적화된 이 상, 이 단계 (진탕법)의 isoBOC 유도체화 방법을 내부표준물질로 사용한 phenanthrene-d<sub>10</sub>에 대한 검출기 감도를 Table 4에 비교 정리하였다. Table 4에서 보듯이 isoBOC 유도체화 반응 후 농축하여 분석하는 일 상, 일 단계 (가온법) 유도체화 방법이

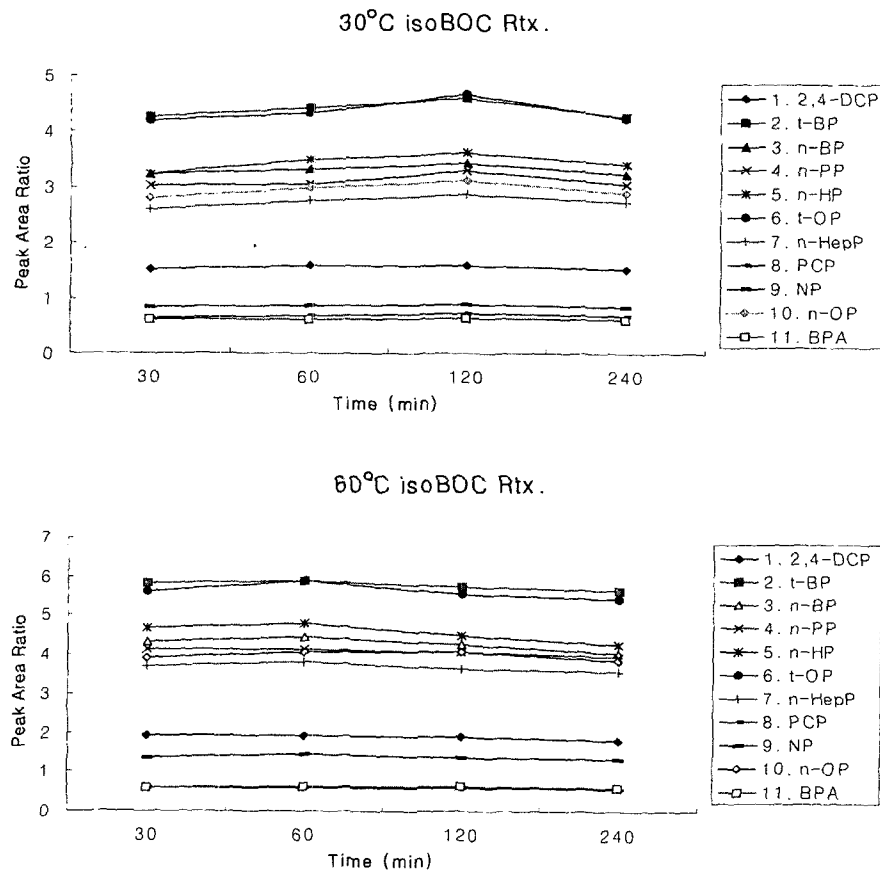


Fig. 4. Effect of reaction temperature and time of isobutoxycarbonylation at 30°C and 60°C.

휘발성이 강한 2,4-dichlorophenol과 pentachlorophenol을 제외(각각 0.75, 0.87)하고, 이 상, 일 단계 (진탕법) 유도체화 방법보다 알킬페놀류와 비스페놀 A에서는 1.03~1.52로 검출기 감도가 우수하였다. 이것은 전처리 과정에서 농축시 휘발성이 강한 클로로페놀류가 소실되는 것으로 사료되나, 알킬페놀류와 비스페놀 A에 대하여 가온 방법이 진탕 방법보다 유도체화 반응 효율이 1.5배 정도 높은 것을 알 수 있다.

또한 isoBOC 유도체화 하는 시간을 시료 100개를 기준으로 비교해 보면, 두 상 두 단계 (진탕법)의 isoBOC 유도체화 반응시 각 시료당 평균 25분이 소요되어 유도체화에만 소요되는 시간이 42시간 이상 소요되는 반면, 일 상 일 단계 (가온법)의 isoBOC 유도체화 반응에서는 농축 후 25개를 동시에 가온할 수 있는 모듈을 사용할 경우 4

시간 정도 소요되어 isoBOC 유도체화 반응 자체에 소요되는 시간을 1/10 이하로 획기적으로 줄일 수 있었다. 그러나 일 상, 일 단계 (가온법) 방법에서는 isoBOC 반응시 발생하는 HCl를 방지하기 위하여 첨가하는 TEA와 proton이 반응하여 triethylammonium chloride가 이 상, 일 단계 진탕반응에서는 물에 용해되므로 문제가 없으나, 일 상, 일 단계 가온반응에서는 reacti-vial 안에 발생하였다.

최적화된 일 상, 일 단계 가온 isoBOC 유도체화 방법으로 얻은 (O)-isoBOC 페놀 유도체들을 GC/MS에 splitless injection하여 내분비계장애물질중 페놀류의 검출 한계인 0.01 µg/l를 기준으로 생물 시료 20g을 고려하여, 10~400 ng의 농도 범위내에서 일직선의 감응을 ( $r > 0.99$ ) Table 5에 나타내었다.

또한 US-EPA 분석방법, isoBOC 유도체화 분석

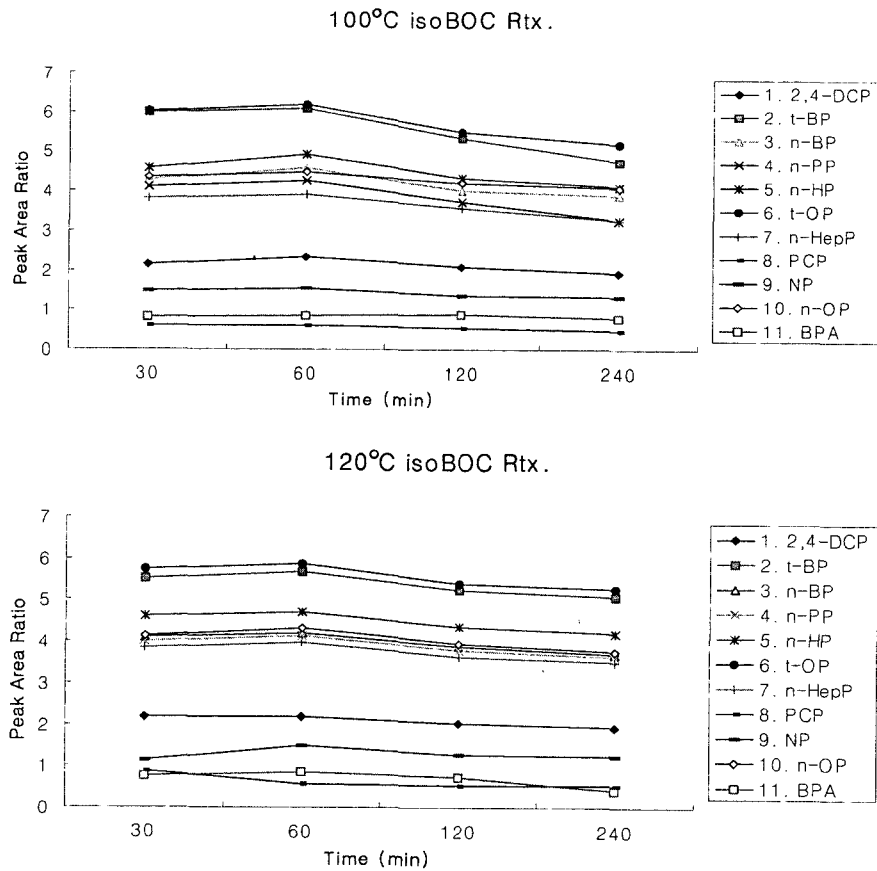


Fig. 5. Effect of reaction temperature and time of isobutoxycarbonylation at 100°C and 120°C.

**Table 4.** Detection response of phenols as isobutoxycarbonyl derivatives by heating and shaking method

Phenolic compound	Heating method (A) <sup>a</sup>	Shaking method (B) <sup>a</sup>	A of B
2,4-Dichlorophenol	1.58±0.04	1.83±0.05	0.87
4- <i>t</i> -Butylphenol	6.20±0.07	5.18±0.09	1.20
4- <i>n</i> -Butylphenol	4.22±0.09	3.42±0.12	1.24
4- <i>n</i> -Pentylphenol	2.92±0.03	2.48±0.12	1.18
4- <i>n</i> -Hexylphenol	3.00±0.06	2.50±0.06	1.20
4- <i>t</i> -Octylphenol	3.72±0.06	3.28±0.14	1.14
4- <i>n</i> -Heptylphenol	2.47±0.15	1.63±0.06	1.52
Pentachlorophenol	0.89±0.01	1.18±0.05	0.75
Nonylphenol	0.41±0.01	0.34±0.02	1.19
4- <i>n</i> -Octylphenol	2.66±0.05	2.00±0.04	1.33
Bisphenol	1.97±0.10	1.03±0.02	1.03
Bisphenol A-d <sub>16</sub> <sup>b</sup>	1.06±0.05	1.87±0.02	1.05

<sup>a</sup> A aqueous spiked with alkylphenols, chlorophenols, bisphenol A (3 µg)

<sup>a</sup> I.S.: phenanthrene-d<sub>10</sub>

<sup>b</sup> A aqueous spiked with bisphenol A-d<sub>16</sub> (1 µg)

**Table 5.** Linear regression analysis of relative response against relative weights of phenols as their isoBOC derivatives

Phenolic compound	Regression linea		
	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>r</i>
2,4-Dichlorophenol	0.0004	-0.0082	0.9943
4- <i>t</i> -Butylphenol	0.0016	-0.0164	0.9979
4- <i>n</i> -Butylphenol	0.0015	-0.0340	0.9909
Pentachlorophenol	0.0001	0.0026	0.9958
4- <i>n</i> -Pentylphenol	0.0013	-0.0134	0.9949
4- <i>n</i> -Hexylphenol	0.0013	0.0463	0.9902
4- <i>t</i> -Octylphenol	0.0015	0.0508	0.9900
4- <i>n</i> -Heptylphenol	0.0012	0.0479	0.9981
Nonylphenol	0.0010	0.0609	0.9931
4- <i>n</i> -Octylphenol	0.0013	0.0289	0.9755
Bisphenol	0.0011	0.0124	0.9968

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

Calibration range; 5~400 ng

방법 각각을 사용 기기의 차이나 감도에 영향을 받지 않는 검출 한계 값을 구하기 위하여 US-EPA에서 고시하는 분석방법 검출 한계 (method detection limit, MDL)를 이용하여 3차 증류수, 폴리에틸렌 공장 방류수에 대하여 실험해 보았다. 현재 내분비계장애물질 중 가장 주목받고 있는

**Table 6.** Concentration of target compounds in an effluent sample from a plant producing polyethylene

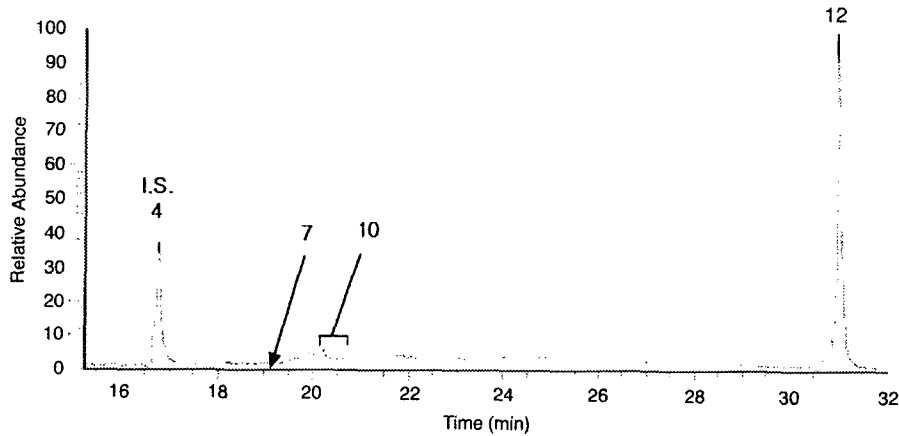
Rtx.	RT	Compound identity	Comment
isoBOC	19.26	4- <i>t</i> -octylphenol	ND <sup>a</sup>
	20.21, 20.30, 20.40	nonylphenol	ND

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

bisphenol A를 선정하여 분석방법 검출 한계를 구해 본 결과 3차 증류수 시료에서 분석방법 검출 한계는 US-EPA 분석방법인 경우에는 0.732 µg/l 인 반면 isoBOC 유도체 분석방법인 경우에는 0.002 µg/l로 300배 이상의 높은 감도를 보였으며, 일본 후생성 규정인 0.01 µg/l 이하의 분석방법 검출한계를 낮출 수 있었다. 그러므로, 비유도체로 분석하는 US-EPA 분석방법은 더 이상의 환경 시료 중 내분비계장애물질 분석에 사용할 수 없었다.

폴리 에틸렌 공장 방류수 1l를 고체상 추출하여 isoBOC 유도체화 분석방법에 따라 유도체화하여 분석해 본 결과 11종 페놀류 모두가 신호 대 잡음 비 3:1 이하에서 흔적을 보였다 (Table 6, Fig. 6). 또한, isoBOC 유도체화 분석방법에 대한 매트릭스에 의한 영향을 보고자 폴리에틸렌 공장 방류수 1l에 페놀 표준 혼합 원액을 첨가하여 전처리 및 isoBOC 유도체화하여 분석방법 검출 한계를 구하여 본 결과 0.023 µg/l로 3차 증류수 보다 10배 정도 높은 결과를 보였다. 이것은 선택적으로 phenolic -OH group만 반응하는 isoBOC 유도체화 분석방법이 폴리에틸렌 공장 방류수 중 방해 물질과 반응하여 각 분석 데이터 간의 표준 편차 크게 발생했다기 보다는 isoBOC 유도체화 후 질량분석기에서 분자량이 작게 쪼개지는 isoBOC 유도체화 분석방법이 방해 물질의 영향을 크게 받은 것으로 사료된다.

회수율 측정은 내분비계장애물질로 알려진 11종의 페놀에 대하여 pentachlorophenol의 신호대 잡음 비가 3:1 정도로 나오는 농도로 유도체화 하지 않은 US-EPA 분석방법일 경우 10 µg/l 농도를 선정하였으며, isoBOC 유도체화 분석방법은 2 µg/l 농도로 선정하였다. 액체-액체 추출 후 유도체화 하지 않은 US-EPA 분석방법일 경우 회수율이 85.1~109.9%인 반면, XAD-4에 의한 고체상 추



**Fig. 6.** SIM chromatograms obtained from an effluent sample of the polyethylene plant after isoBOC derivatization. Peak identity as follow: 1. 2,4-dichlorophenol, 2. 4-*t*-butylphenol, 3. 4-*n*-butylphenol, 4. phenanthrene-*d*<sub>10</sub> (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*<sub>16</sub> (internal standard), 13. bisphenol A.

**Table 7.** Recoveries of alkylphenols, chlorophenols, and bisphenol A extracted from water samples using GC/MS-SIM mode

Phenolic compound	Recovery (%)	
	EPA <sup>a</sup>	isoBOC <sup>b</sup>
2,4-Dichlorophenol	85.8 ± 0.6	96.0 ± 20.5
4- <i>t</i> -Butylphenol	95.3 ± 3.9	119.2 ± 13.0
4- <i>n</i> -Butylphenol	98.7 ± 11.3	115.3 ± 13.1
4- <i>n</i> -Pentylphenol	99.2 ± 13.4	110.6 ± 2.9
4- <i>n</i> -Hexylphenol	85.1 ± 29.7	126.6 ± 25.2
4- <i>t</i> -Octylphenol	95.7 ± 2.5	95.9 ± 4.5
4- <i>n</i> -Heptylphenol	87.8 ± 17.6	104.9 ± 6.1
Pentachlorophenol	87.3 ± 8.8	90.3 ± 2.2
Nonylphenol	89.4 ± 20.9	93.4 ± 5.3
4- <i>n</i> -Octylphenol	109.9 ± 16.3	98.6 ± 8.7
Bisphenol A	93.7 ± 24.8	105.9 ± 17.1

<sup>a</sup> A aqueous spiked with bisphenol A (10 µg/l)

<sup>b</sup> A aqueous spiked with bisphenol A (2 µg/l)

<sup>a, b</sup> I.S. : phenanthrene-*d*<sub>10</sub>

출 후 isoBOC 유도체화한 분석방법은 회수율이 90.3~126.6%로 유도체화 하지 않은 US-EPA 분석방법 보다 isoBOC 유도체화 한 분석방법이 5 배 낮은 농도에서 US-EPA에서 권고한 85% 이상의 회수율을 보였다(Table 7).

## 결론

본 연구실에서 새로 개발된 isoBOC 유도체화 방법을 (Kyoung-Rea Kim *et al.*, 2000) 환경 시료 중 내분비장애물질로 알려진 11종의 페놀에 대하여 적용하고자 하였다. GC/MS 분석결과 isoBOC 유도체화 분석방법에서 mono-와 dihydroxybenzene의 경우 [M-100]<sup>+</sup>, [M-200]<sup>+</sup>와 *m/z* 57의 특징적인 ion이 얻어져 페놀류들의 구조구명이 용이하였다. 일 상, 일 단계(가온법) isoBOC 유도체화 방법을 최적화하기 위하여 일 상, 일 단계(가온법) isoBOC 유도체화 방법의 반응 온도와 시간에 대한 최적 조건을 선정하였다.

선정된 일 상, 일 단계(가온법) isoBOC 유도체화 방법과 앞서 연구에서 개발한 이 상 이 단계(진탕법) isoBOC 유도체화 반응간에 검출기로 사용한 질량분석기의 감도를 비교해 보았다. 일 상, 일 단계(가온법) 유도체화 방법이 이 상, 이 단계(진탕법) 유도체화 방법보다 휘발성이 강한 2,4-dichlorophenol과 pentachlorophenol을 제외하고, 두 가지 유도체화 방법간의 비가 1.5 정도 일 상, 일 단계(가온법) 유도체화 방법의 감도가 우수하였다. 또한 실험자의 실험 시간에서도 반응시간을 획기적으로 줄일 수 있었다.

최적화된 일 상, 일 단계(가온법) isoBOC 유도체

화 방법을 10~400 ng 농도 범위내에서  $r > 0.99$ 의 좋은 직선성을 나타내었다. US-EPA에서 사용하는 분석방법 검출한계를 bisphenol A에 대하여 구하여 본 결과 3차 증류수에서 isoBOC 유도체화 분석방법이 US-EPA 분석방법(비유도체 방법) 보다 300배 이상의 높은 감도를 보였다. 또한 회수율의 경우에서도 유도체화 하지 않은 US-EPA 분석방법 보다 isoBOC 유도체화 분석방법이 5배 낮은 농도에서 US-EPA에서 권고한 85% 이상의 회수율을 보였다.

### 참 고 문 헌

- Achilli G, Celrino GP, d'Eril GM and Bird S, Simultaneous determination of 27 phenols and herbicides in water by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection. *J. Chromatogr. A*, 1995; 697 : 357-362.
- "Alkylphenol compound";  
<http://website.lineone.net/~mwarharst/ape.html>
- Ballesteros E, Gallego M. and Yalcarcel M, Automatic gas chromatographic determination of N-methylcarbamates in milk with electron capture detection. *Anal. Chem.* 1993; 65 : 1773-1778.
- Boyd J, Identification and quantification of mono-, di- and trihydroxybenzenes (phenols) at trace concentrations in seawater by aqueous acetylation and gas chromatographic mass spectrometric analysis. *J. Chromatogr.* 1994; 662 : 281-292.
- Cooper JF, Tourte J. and Gros P, Determination of pentachlorophenol residues in wine and corks by solvent extraction methodology and specific gas chromatography detection. *Chromatographia* 1994; 38 : 147-150.
- "EPA method 625, Base/neutrals and acids";  
<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test>
- Galceran MT and Jauregui O, Determination of phenols in sea water by liquid chromatography with electrochemical detection after enrichment by using solid-phase extraction cartridges and disks. *Analytica Chimica Acta*, 1995; 304 : 75-84.
- Heberer H and Stan HJ, Detection of more than 50 substituted phenols as their *t*-butyldimethylsilyl derivatives using gas chromatography-mass spectrometry. *ANALYTICA CHIMICA ACTA*, 1997; 341 : 21-34.
- Herterich R, Gas chromatographic determination of nitrophenols in atmospheric liquid water and airborne particulates. *J. Chromatogr.* 1991; 549 : 313-324.
- Huang EC, Wachs T, Conboy JJ and Henion JD : Instrumentation. *Anal. Chem.* 1990; 62 : 713A-725A.
- Kumar A and Panwar A, Gas chromatographic separation of isomeric aminophenols, aniline, phenol, benzoquinone and azobenzene on an HP-1 capillary column. *Mikrochim, Acta* 1993; 111 : 177-182.
- Kyoung-Rea Kim and Hyub Kim, Gas chromatographic profiling and screening for phenols as isobutoxycarbonyl derivatives in aqueous samples. *J. Chromatogr. A*, 2000; 866 : 87-96.
- Lamprecht G. and Huber J.F.K, Ultra-trace analysis of phenols in water using high-performance liquid chromatography with on-line reaction detection. *J. Chromatogr.* 1994; 667 : 47-57.
- Landzettel WJ, Hargis KJ, Caboot JB, Adkins KL, Strein TG, Veening H and Becker HD, High-performance liquid chromatographic separation and detection of phenols using 2-(9-anthrylethyl) chloroformate as a fluorophoric derivatizing reagent. *J. Chromatogr.* 1995; 718 : 45-51.
- Lee BL, Ong HY, Shi CY and Ong CN, Simultaneous determination of hydroquinone, catechol and phenol in urine using high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Chromatogr.* 1993; 619 : 259-266.
- Lee HB, You RLH and Fowlie PJA, Chemical derivatization Analysis of Phenols. Part VI. Determination of chlorinated phenolics in Pulp and paper effluents. *J. ASSOC. OFF. ANAL. CHEM.* 1989; 72, NO. 6. 979-984.
- Lu CS and Huang SD, Trace determination of aromatic amines or phenolic compounds in dyestuffs by high-performance liquid chromatography with on-line pre-concentration. *J. Chromatogr. A*. 1995; 696 : 201-208.
- Niwa T, Phenol and p-Cresol accumulated in uremic serum measured by HPLC with fluorescence detection. *CLIN. CHEM.* 1993; 39/1 : 108-111.
- Pendergrass SM, An alternative method for the analysis of phenol and -, m-, and -cresol by capillary GC/FID. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1994; 55 : 1051-1054.
- Pocurull E, Calull M, Marce RM and Borrull F, Determination of phenolic compounds at low g l<sup>-1</sup> levels by various solid-phase extractions followed by liquid chromatography and diode-array detection. *J. Chromatogr. A*, 1996; 719 : 105-112.
- Pocurull E, Sanchez G, Borrull F. and Marce RM, Automated on-line trace enrichment and determination of phenolic compounds in environmental waters by high-

- performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1995; 696 : 31-39.
- Quill TF, Overview of US Industry concerns and Global Activities, 내분비계장애물질 (EDC: 환경호르몬) 규제 대응 종합기술개발 전략, 1999; 한국화학연구소, KIST, pp. 29-46.
- Ruana J and Urbe I, Determination of phenols at the ng/l level in drinking and river waters by liquid chromatography with UV and electrochemical detection, Pages 217-226. *J. Chromatogr. A*, 1993; 655 : 217-226.
- Schmidt L, Sun JJ and Fritz JS, Solid-phase extraction of phenols using membranes loaded with modified polymeric resins. *J. Chromatogr.* 1993; 641 : 57-61.
- “SPEED 98/JEA”:  
<http://www.eic.or.jp/eanet/e/end/sp98.html>.
- Turnes M. I., Rodriguez I., Mejuto M. C. and Cela R, Determination of chlorophenols in drinking water samples at the subnanogram per millilitre level by gas chromatography with atomic emission detection. *J. Chromatogr. A*, 1994; 683 : 21-29.
- US EPA, Water Quality Criterion, US EPA, 1976.
- Weber L, Gas chromatographic determination of nitrophenols in atmospheric liquid water and airborne particulates. *J. Chromatogr.* 1992; 574 : 349-351.
- Yergey AL, Edmonds CG, Lewis IAS and Vestal ML : *Liquid Chromatography/Mass Spectrometry*, Plenum Press, New York, 1990.