

## UPLC-MS/MS를 이용한 소변 시료 중 내분비계 교란물질 27종 동시분석법 확립

박수빈 · 박나연<sup>†</sup> · 고영림\*  
을지대학교 식품산업외식학과  
<sup>†</sup>을지대학교 보건환경안전학과  
(접수 2024. 5. 5; 게재확정 2024. 5. 30)

### Simultaneous Analysis Method for 27 Endocrine Disrupting Chemicals in Human Urine using UPLC-MS/MS

Subeen Park, Na-youn Park<sup>†</sup>, and Younglim Kho\*

Department of Food Technology Service, Eulji University, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 13135, Korea.

<sup>†</sup>Department of Health, Environment & Safety, Eulji University, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 13135, Korea.

\*E-mail: ylkho@eulji.ac.kr

(Received May 5, 2024; Accepted May 30, 2024)

**요 약.** 내분비 교란 화학물질(EDCs)은 생체 외부로부터 유입되어 인체의 내분비 기관 내에서 호르몬 작용을 교란시키는 화학 물질이다. 파라벤, 벤조페논, 비스페놀, 프탈레이트 등이 대표적이며, 현재 광범위한 분야에서 사용되고 있다. 하지만 이들에게 지속적으로 노출되면 혈당조절, 생식, 대사, 신경계 발달, 임신, 출산, 성장 등에 부정적인 영향을 끼칠 수 있다. 본 연구에서는 EDCs의 노출정도를 파악하기 위하여 인체시료(소변)를 liquid-liquid-extraction을 사용하여 전처리한 뒤 UPLC-MS/MS로 효과적이고 빠르게 분석하였다. 이와 같이 분석조건을 확립하고, 분석법의 유효성 검증을 통해 동시분석법의 신뢰도를 평가하였다. 결과는 정확도가 75.28~122.36%, 정밀도가 2.16~22.74%의 수치를 보였다. 본 연구에서 확립된 분석법은 추후 인체시료 중 EDCs의 노출을 평가하고 모니터링할 수 있는 연구의 방법론으로 이용될 수 있을 것이다.

**주제어:** 내분비계 교란물질, 파라벤, 파라벤 대사체, 비스페놀, 벤조페논, 항균제, UPLC-MS/MS

**ABSTRACT.** Endocrine disrupting chemicals (EDCs) are compounds that come from outside the body and disrupt hormone action within the body's endocrine system. Examples include parabens, benzophenones, bisphenols, and phthalates, which are currently used in a wide range of applications. However, continuous exposure to them can have negative effects on glycemic control, reproduction, metabolism, nervous system development, pregnancy, childbirth, and growth. In this study, human samples (urine) were pretreated using liquid-liquid-extraction to determine the exposure level of EDCs and then analyzed effectively and rapidly by UPLC-MS/MS. In this way, the analytical conditions were established and the reliability of the simultaneous analysis method was evaluated through method validation. The results showed that the accuracy ranged from 75.28 to 122.36% and the precision ranged from 2.16 to 22.74%. The analytical method established in this study can be used as a methodology for future studies to evaluate and monitor the exposure of EDCs in human samples.

**Key words:** Endocrine-disrupting chemicals, Paraben, Paraben metabolites, Bisphenol, Benzophenone, Antimicrobial, UPLC-MS/MS

## 서 론

세계보건기구(WHO)가 내린 정의에 따르면 내분비계 교란물질(Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs)은 생체 외부로부터 유입되어 인체의 내분비 기관 내에서 호르몬 작용을 교란시키는 화학물질로써 파라벤, 벤조페논, 비스페놀, 프탈레이트 등이 대표적이다. 이들은 인공적으로 생

산되어 광범위한 분야에 사용되어지고 있고 지속적인 사용으로 인해 환경 및 인체에 축적된다.<sup>1</sup> EDCs의 지속적인 노출은 혈당조절, 생식기능, 대사 조절, 중추 및 말초신경계 발달, 임신부터 출산, 성장 등에 있어 악영향을 초래하게 되며, 이러한 이유로 미국, 유럽 등의 선진국들은 EDCs에 대한 기준 및 규정을 설정하여 사용을 규제하고 있다.<sup>2</sup>

미국은 EDSP (Endocrine Disruptors Screening Program)라는 EDCs 선별제도를 운영하고 있고<sup>3</sup> 유럽연합은 REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals)라는 화학물질 통합관리 제도를 통해서 화학물질을 관리하고 있다.<sup>4</sup> 우리나라 또한 유해화학물질관리법을 시행하고 있지만, EDCs에 대한 관리는 해외에 비해 매우 부족한 현실이다.<sup>5</sup>

파라벤은 식품, 약품, 화장품 등에 사용되는 살균성 보존제로 1920년 중반부터 사용되고 있으며, 4-하이드록시벤조산(4-hydroxybenzoic acid, 4-HB)의 알킬 에스터로 사슬 길이에 따라 메틸파라벤(methylparaben, MeP), 에틸파라벤(ethylparaben, EtP), 프로필파라벤(propylparaben, PrP), 부틸파라벤(butylparaben, BuP) 등이 있다. 이들은 에스트로겐의 유사활성을 가지고 있으며 내분비계장에 뿐만 아니라 유방암 발생의 위험성 또한 보고되었다.<sup>6</sup> 또 파라벤은 4-HB로 가수분해된 후 글리신, 글루쿠로나이드 및 황산염과 결합된 상태로 소변으로 배출되며 3,4-디하이드록시벤조산(3,4-dihydroxybenzoic acid, 3,4-DHB)은 4-HB의 수산화에 의해 생성된다.<sup>7,8,9</sup> MeP과 EtP이 체내에서 하이드록실화 반응을 통해 4-하이드록시 메틸파라벤(4-hydroxy methylparaben, OH-MeP)과 4-하이드록시 에틸파라벤(4-hydroxy ethylparaben, OH-EtP)으로 대사된다.<sup>10</sup>

비스페놀은 주로 가소제로 사용되며, 탄소 원자 양쪽에 페놀이 결합된 구조를 가지고 있다. 이 중 특히 비스페놀 A(bisphenol A, BPA)는 오래 전부터 플라스틱, PVC, 식품 포장 등 다양하게 이용되어 왔지만 인체의 생식기관, 유전독성, 신경 장애 및 행동 장애, 심혈관 질환, 고혈압 등에 악영향을 주는 것으로 알려져 비스페놀 S(bisphenol S, BPS), 비스페놀 B(bisphenol B, BPB), 비스페놀 F(bisphenol F, BPF) 등의 대체제가 개발되었다.<sup>11,12</sup> 따라서 현재는 BPS, BPB, BPF, 비스페놀 Z(bisphenol Z, BPZ), 비스페놀 AF(bisphenol AF, BPAF), 비스페놀 AP(bisphenol AP, BPAP), 비스페놀 P(bisphenol P, BPP)등을 사용하고 있으며 특히 소변 중 BPF가 높은 농도로 자주 검출된다.<sup>13,14</sup> 테트라브로비스페놀 A(tetrabromobisphenol A, TBBPA)는 현재 브롬계 난연제(BFR, 에폭시 및 폴리카보네이트 수지 생산 시약으로 사용되고 있고 TBBPA는 갑상선 호르몬 기능을 방해할 가능성이 높다는 보고가 있다.<sup>15,16</sup> 2,4,6-트리브로모페놀(2,4,6-tribromophenol, TrBP)도 BFR로 활용되고 있다. TrBP는 세포실험에서 림프구의 세포사멸을 유도한다는 결과가 있다.<sup>17</sup>

벤조페논은 방향족 케톤군으로 디페닐 케톤 구조를 가지고 있는 화합물이다. 벤조페논이 인체내에 축적되어 EDCs로 작용하고 벤조페논-1(benzophenone-1, BP-1), 벤조페논-2(benzophenone-2, BP-2), 벤조페논-3(benzophenone-3, BP-3),

벤조페논-8(benzophenone-8, BP-8)은 생체 외(in vitro) 및 생체 내(in vivo) 연구에서 에스트로겐 및 항안드로젠 활성을 보였다.<sup>16,18</sup>

트리클로산(triclosan, TCS)과 트리클로카반(triclocarban, TCB)은 항균제 및 살생물제로서 치약, 샴푸 같은 일반적인 생활화학제품에 많이 사용되며, 소변 시료의 4분의 3 가량에서 TCS가 검출될 정도로 노출 빈도가 크다.<sup>19,20</sup>

이와 같은 EDCs 물질들은 인체에 축적되지 않고 주로 소변을 통해 배출된다. 인체 노출량을 평가하기 위하여 많은 연구자들이 소변 중 EDCs를 분석하기 위해 다양한 방법을 시도하였다.<sup>21,22</sup> 소변 시료 전처리를 위해 고체상 추출(solid-phase-extraction, SPE), 액체-액체 추출법(liquid-liquid-extraction, LLE), 분산액체-액체 미세추출(dispersive-liquid-liquid-microextraction, DLLME) 등이 이용되었다.<sup>23,24,25</sup> 분석장비는 주로 2000년대 초반에 고성능 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC), 가스 크로마토그래피(gas chromatography, GC) 등을 사용하였지만, 최근에는 주로 고성능 액체 크로마토그래피-탠덤 질량분석기(high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometer, HPLC-MS/MS)를 사용하여 정량분석 하고 있다.<sup>26,27</sup>

인체시료의 경우, 수집에 많은 시간과 노력이 소요되기 때문에 한번의 분석에 다양한 물질을 동시 분석할 필요성이 있다. 따라서 본 연구에서는 보다 효율적인 EDCs의 인체노출평가를 위하여 초고성능 액체 크로마토그래피-탠덤 질량분석기(ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometer, UPLC-MS/MS)를 이용하여 소변 중 총 27종의 EDCs(파라벤 7종, 파라벤 대사체 4종, 비스페놀 11종, 벤조페논 3종, 항균제류 2종)를 동시에 전처리하고, 정량 분석할 수 있는 분석법을 확립하고 분석법의 유효성 검증을 실시하였다.

## 연구 방법

### 분석대상 물질 및 시약

소변 중 EDCs 분석 대상물질은 파라벤 7종, 파라벤 대사체 4종, 비스페놀 11종, 벤조페논 3종, 항균제 2종이며, 내부표준물질(internal standard, IS)은 <sup>13</sup>C 동위원소로 치환된 물질을 사용하였다. 분석에 사용된 표준물질은 Merck사(Darmstadt, Germany)에서 구입하였다. LLE와 UPLC 이동상에 사용된 증류수는 3차 증류수를 사용하였고, 아세트산에틸(ethyl acetate, EA)은 Honeywell(99.70%=HPLC)에서 구입하였다. 메탄올(methanol), 아세토니트릴(acetonitrile)은 덕산시약(99.9%=HPLC)에서 구매하였고 아세트산(acetic acid)과 아세트산암모늄(ammonium acetate)은 Merck사에

서 구입하여 사용하였다. 소변 중 글루코로나이드 결합과 황산염 에스터 가수분해를 위한 베타-글루쿠로니다아제/아릴설파타아제( $\beta$ -glucuronidase/Arylsulfatase)효소는 Merck사에서 구입하여 이용하였다.

### 소변 시료

확립된 분석법을 소변 시료에 적용시켰을 때, 결과를 확인하기 위하여 IBM 코호트 시료 68건 중 20건만 무작위로 뽑아 전처리하였다.

### 전처리 방법

소변시료 분석은 소변시료 500  $\mu$ L에 내부표준물질 50  $\mu$ L와 효소( $\beta$ -glucuronidase/Arylsulfatase) 10  $\mu$ L, 1M ammonium acetate buffer (pH5.0) 300  $\mu$ L을 넣고 혼합한다. 이후 LLE를 위해 EA 5 mL를 넣고 수직진탕기(vertical shaker SHK3, labtech®, Seoul, Korea)에서 30분간 추출하고, 10,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 상등액을 새로운 튜브에 옮겨 담는다. 이 과정을 2회 반복한다. 추출액 10 mL에 증류수 100  $\mu$ L를 넣어 준 뒤, 진공원심농축기(CVE3000, jungbiotech®, Incheon, Korea)로 100  $\mu$ L가 남을 때까지 농축하고, 50% methanol 100  $\mu$ L를 넣어 총 200  $\mu$ L로 재조성 해준 뒤 UPLC-MS/MS로 분석하였다(Fig. 1).

### 기기분석

EDCs의 분리 및 검출을 위해서 UPLC(1290 infinity || bio LC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 MS/MS (API 4000, AB Sciex, Arcade, NY, USA)를 사용하였다. 분석대상물질의 분리를 위한 컬럼은 CAPCELL PAK C18 ACR S3 (2.0 mmI.D.  $\times$  150 mm, Shiseido, Japan)을 사용하

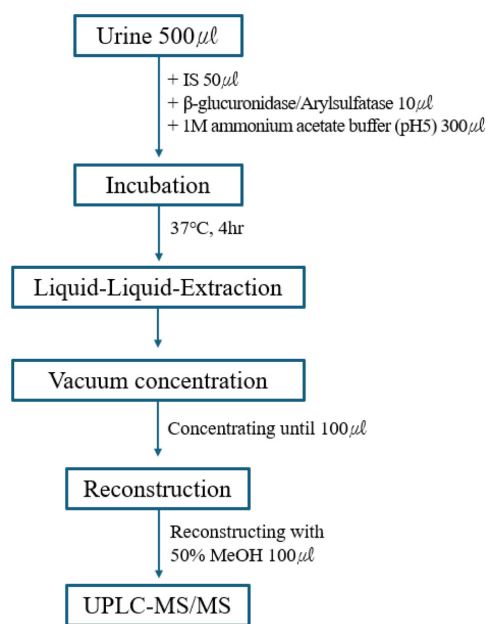


Figure 1. The process of preparation for human urine.

였다. UPLC의 이동상으로 A는 0.1% 아세트산이 포함된 증류수를 사용하였고, B는 0.1% 아세트산이 포함된 아세토니트릴을 사용하였으며, 경사용매조성법(gradient mode)을 사용하여 분리하였다. 질량분석기는 ESI negative mode로 설정하였다. UPLC 및 텐덤 질량분석기의 구체적인 작동조건은 Table 1에 나타내었다. 또한 각 표준물질과 내부표준물질들의 Q1값, Q3값 및 분석조건은 Table 2에 나타내었다.

### 분석법 유효성 검증

본 연구에서의 분석법 유효성을 검증하기 위해서 분석

Table 1. UPLC-MS/MS conditions for EDCs analysis in human urine

Parameters		Conditions						
Column		HPLC SHISEIDO Capcell pak C18 ACR (2 $\times$ 150 mm, 3.0 $\mu$ m)						
Column oven		40 $^{\circ}$ C						
Mobile Phase		A : 0.1% Acetic acid in water B : 0.1% Acetic acid in acetonitrile						
Gradient Mode	Time	0	0.5	11	12.5	15	15.1	20
	B (%)	25	25	55	100	100	20	20
Flow rate		250 $\mu$ L/min						
Injection volume		5 $\mu$ L						
Ionization mode		ESI negative						
Curtain Gas		35 psi						
Source temperature		450 $^{\circ}$ C						
Ion Spray Voltage		-4500 V						
Ion Source Gas 1		40 psi						
Ion Source Gas 2		60 psi						
Collision Gas (CAD)		8						

**Table 2.** Multiple reaction monitoring parameters of mass spectrometer for EDCs analysis in human urine

Group	Compounds	Q1	Q3	DP	CE	CXP
Paraben	MeP	151.0	136.0/92.0	-10	-18/-18	-1/-1
	EtP	164.9	136.0/92.0	-5	-22/-22	-13/-13
	nPrP	179.1	136.1/92.0	-5	-20/-20	-5/-3
	nBuP	193.1	136.0/92.0	-70	-24/-24	-11/-11
	iPrP	179.1	136.1/92.0	-5	-20/-20	-5/-3
	iBuP	193.1	136.0/92.0	-70	-24/-24	-11/-11
	BzP	226.8	136.0/92.0	-15	-20/-20	-11/-11
	MeP 13C6	157.1	98.1	-85	-28	-5
	EtP 13C6	171.2	98.3	-90	-32	-5
	PrP 13C6	185.1	97.9	-85	-32	-3
BuP 13C6	199.2	142.2	-90	-24	-5	
Paraben metabolite	4-HB	137.0	93.1/65.0	-65	-24/-44	-5/-9
	3,4-DHB	153.1	108.9	-75	-20	-5
	OH-MeP	167.0	107.8/151.9	-70	-28/-20	-5/-9
	OH-EtP	181.1	107.8	-70	-32	-5
	4-HB 13C6	143.2	99.1	-70	-22	-5
Antimicrobial	TCS	287.2	35.0	-75	-30	-3
	TCB	312.9	159.8/126.0	-75	-26/-36	-11/-11
	TCB 13C6	320.8	162.0	-85	-26	-3
Benzophenone	BP-1	212.9	134.9/91.0	-100	-22/-22	-23/-23
	BP-2	244.9	135.0/109.0	-65	-24/-24	-9/-9
	BP-8	242.8	123.0/93.2	-60	-24/-38	-9/-9
Bisphenol	BPA	227.3	212.0	-85	-26	-11
	BPAF	334.9	264.7/197.1	-70	-30/-52	-15/-3
	BPAP	289.0	274.2	-90	-28	-3
	BPB	241.3	211.9	-80	-24	-11
	BPF	199.2	93.2/104.9	-100	-30/-30	-5/-5
	BPP	345.4	330.0/315.1	-115	-38/-50	-17/-25
	BPS	248.8	108.1/92.0	-115	-32/-50	-3/-3
	BPZ	267.3	173.1/233.1	-110	-38/-44	-9/-11
	BPE	213.2	198.2	-90	-24	-9
	TBBPA	542.8	79.0/446.0	-85	-102/-48	-3/-23
	TrBP	326.9	78.9	-85	-62	-1
	BPA 13C12	241.3	223.1	-100	-28	-7
	BPS 13C12	260.9	114.0	-50	-28	-9
	BPZ 13C12	279.4	179.2	-115	-36	-9
	BPE 13C6	219.2	204.0	-115	-24	-11
BPP 13C4	349.2	333.0	-170	-36	-19	
BPAP 13C6	295.3	280.0	-140	-28	-13	
BPAF 13C12	347.1	277.0	-125	-30	-13	

Q1 is the first quadrupole, and Q3 is the third quadrupole.

DP means declustering potential energy. CE means collision energy. CXP means collision cell exit potential energy.

물질들의 검량선의 직선성, 검출한계(Limit of detection, LOD), 정량한계(Limit of quantification, LOQ), 정확도 및 정밀도 실험을 시행하였다.

검량선의 직선성을 확인하기 위한 시료는 인공뇨에 표준물질을 첨가하여 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 및 100

ng/mL가 되도록 조제하고, 소변시료와 동일한 전처리과정을 거친 후 UPLC-MS/MS로 분석하였다.

검출한계 및 정량한계의 계산은 방법검출한계(method detection limit, MDL) 개념의 NIOSH (1995)<sup>28</sup>에서 제시한 방법에 따라 산출하였다. 검량선의 선형회귀식(Linear regression

equation,  $Y = bX + a$ )과 이 회귀방정식의 표준오차(Standard error, SE)를 구한 후, 회귀방정식의 표준오차를 선형회귀식의 기울기로 나누고 3을 곱하여 검출한계를 구하였다. 정량한계는 검출한계 값에 3.3을 곱하여 계산하였다.

정확도 및 정밀도 검정을 위한 시료는 인공뇨에 0.5(저농도), 5(중농도), 20(고농도) 및 50(초고농도) ng/mL가 되도록 표준물질을 첨가하여 조제하였고, 본 연구에서 확립한 분석법을 이용하여 분석하였다. 정확도는 농도 별 평균 회수율(Recovery, %), 정밀도는 농도 별 상대 표준편차(RSD, %)를 이용하여 산출하였다.

### 결과 및 고찰

#### 분석법 검증 결과

본 연구에서 확립된 인체시료(소변) 중 내분비계 교란물질 동시분석법을 통해 얻어진 분석대상물질의 직선성은 Table 3에 나타내었으며, 검량선의 결정계수( $r^2$ )값이 모든

물질에서 0.999이상으로 우수한 직선성을 보여주었다. LOD는 파라벤류가 0.16(iPrP) ~ 0.24(nBuP) ng/mL, 파라벤류 대사체가 0.12(OH-MeP) ~ 2.05(4-HB) ng/mL, 항균제류가 0.19(TCB) ~ 0.22(TCS) ng/mL, 벤조페논류가 0.13(BP-8) ~ 0.19(BP-2) ng/mL, 비스페놀류가 0.16(BPB) ~ 0.79(BPA) ng/mL 이었다.

정확도는 75.28(BPZ) ~ 122.36(OH-MeP) %, 정밀도는 2.16(iPrP) ~ 22.74(TCS) %의 수치를 보였다(Table 4).

#### 소변시료 적용 결과

본 연구에서 확립한 분석법으로 실제 소변 시료(n=20)의 EDCs 동시 분석 결과 MeP, EtP, 4-HB, 3,4-DHB 및 OH-MeP이 100%의 검출률을 보였고 nPrP, OH-EtP이 70% 이상, BPA, BPF 및 BPS는 30% 이상의 검출률을 보였다. 검출된 농도는 4-HB(420.95) > 3,4-DHB(104.42) > EtP(71.08) > MeP(32.6) 순이었다.

**Table 3.** Results of detection limit(LOD), quantification limit(LOQ), and linearity of the EDCs analysis method in human urine through analysis method validation

Group	Compounds	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Linear equation	$r^2$
Paraben	MeP	0.20	0.67	$y=0.00367x+0.000862$	0.9997
	EtP	0.22	0.72	$y=0.0069x+0.000344$	0.9998
	nPrP	0.17	0.55	$y=0.0033x+0.000367$	0.9999
	nBuP	0.24	0.80	$y=0.0192x+0.00106$	0.9998
	iPrP	0.16	0.54	$y=0.0021x+0.000251$	0.9998
	iBuP	0.20	0.67	$y=0.0191x+0.00159$	0.9996
	BzP	0.18	0.58	$y=0.00401x+0.000219$	0.9999
Paraben metabolism	4-HB	2.05	6.76	$y=0.0116x+0.453$	0.9997
	3,4-DHB	1.18	3.90	$y=0.0346x+0.626$	0.9992
	OH-MeP	0.12	0.38	$y=0.0194x+0.000903$	0.9999
	OH-EtP	0.19	0.62	$y=0.0432x+0.00116$	0.9998
Antimicrobial	TCS	0.22	0.73	$y=0.000766x+0.00004$	0.9994
	TCB	0.19	0.61	$y=0.0279x+0.00371$	0.9998
Benzophenone	BP-1	0.18	0.58	$y=0.142x+0.00474$	0.9996
	BP-2	0.19	0.62	$y=0.012x+0.000344$	0.9999
	BP-8	0.13	0.42	$y=0.00276x+0.000248$	0.9998
Bisphenol	BPA	0.79	2.62	$y=0.012x+0.0624$	0.9994
	BPAF	0.17	0.55	$y=0.00458x+0.000258$	0.9998
	BPAP	0.17	0.56	$y=0.0156x+0.000801$	0.9995
	BPB	0.16	0.53	$y=0.000391x+0.000021$	0.9999
	BPF	0.18	0.60	$y=0.000209x+0.000588$	0.9996
	BPP	0.49	1.61	$y=0.0606x+0.00831$	0.9998
	BPS	0.26	0.87	$y=0.00221x+0.000136$	0.9997
	BPZ	0.19	0.64	$y=0.00438x+0.000401$	0.9998
	BPE	0.16	0.53	$y=0.032x+0.0163$	0.9997
	TBBPA	0.66	2.17	$y=0.00012x+0.0000378$	0.9996
	TrBP	0.50	1.65	$y=0.00159x+0.00179$	0.9997

**Table 4.** Precision and accuracy of the EDCs analysis method in human urine through analysis method validation

Group	Compounds	Precision (%) n=5				Accuracy (%) n=5			
		0.5 ng/mL	5 ng/mL	20 ng/mL	50 ng/mL	0.5 ng/mL	5 ng/mL	20 ng/mL	50 ng/mL
Paraben	MeP	16.05	2.42	3.54	4.80	102.20	108.32	98.70	99.16
	EtP	6.44	2.92	2.98	3.84	101.52	115.16	100.60	101.72
	nPrP	10.19	2.85	3.33	4.40	98.16	106.40	94.80	96.84
	nBuP	17.28	2.32	3.67	4.68	104.88	115.80	104.10	107.64
	iPrP	6.95	2.16	2.57	4.54	94.52	109.68	98.40	98.16
	iBuP	5.41	3.26	3.19	4.04	100.28	115.84	108.00	103.04
	BzP	8.22	2.37	3.23	4.10	103.96	114.20	102.70	102.48
Paraben metabolism	4-HB	–	7.11	3.13	10.14	–	105.16	104.50	102.40
	3,4-DHB	–	5.81	6.55	3.20	–	109.72	100.30	98.00
	OH-MeP	5.44	18.30	20.07	10.97	92.48	101.04	91.00	94.80
	OH-EtP	3.37	2.40	3.33	2.32	106.56	122.36	111.00	114.68
Antimicrobial	TCS	22.74	8.49	6.86	11.96	91.48	120.00	114.50	104.36
	TCB	10.09	4.91	6.60	8.24	97.04	107.28	91.70	95.36
Benzophenone	BP-1	6.34	4.85	2.90	7.62	105.28	113.20	108.80	105.24
	BP-2	4.84	4.08	4.23	6.50	99.68	108.52	96.10	91.08
	BP-8	5.50	2.54	4.45	4.66	100.92	116.40	111.40	110.72
Bisphenol	BPA	–	6.29	4.38	3.59	–	106.60	98.40	102.20
	BPAF	7.96	6.27	7.61	10.09	95.92	110.84	100.60	98.08
	BPAP	14.17	4.42	4.17	7.40	108.44	104.80	92.40	88.44
	BPB	6.21	2.92	2.78	2.60	98.04	111.72	103.30	103.24
	BPF	16.82	9.87	2.23	3.26	100.12	111.92	101.10	101.36
	BPP	7.33	4.44	6.07	4.90	95.32	114.04	99.20	97.24
	BPS	7.96	6.36	6.50	4.13	101.28	103.08	103.60	100.00
	BPZ	14.59	4.53	3.03	3.53	75.28	1112.84	99.40	103.56
	BPE	8.69	4.55	2.58	5.46	107.00	111.60	98.30	102.44
	TBBPA	–	13.67	5.51	11.47	–	103.92	101.70	94.60
	TrBP	–	5.26	7.97	2.81	–	108.40	105.80	103.96

“–” means the value that excluded from accuracy and precision results as they were either close to LOD or exceeded the LOD of 0.5 ng/mL

### 기존 연구와의 비교

최근 10년동안 소변 중 EDCs를 분석한 연구들에 대한 정보를 Table 6에 제시하였다. Kang 등(2016)<sup>29</sup>은 파라벤 4종, Jala 등(2022)<sup>30</sup>은 파라벤류 4종과 비스페놀류 8종, Chen 등(2022)<sup>31</sup>은 파라벤류 4종, 비스페놀류 3종, 항균제류 1종 및 벤조페논류 1종, Hartmann 등(2023)<sup>35</sup>은 파라벤류 6종, 비스페놀 6종, 벤조페논류 2종 및 항균제류 1종으로 총 15종의 EDCs를 소변에서 동시에 분석하였다. 소변의 전처리에는 주로 LLE,<sup>30,35</sup> SPE,<sup>29,34</sup> online-SPE<sup>32,33,36</sup> 및 지지형 액체 추출법(supported liquid extraction, SLE)<sup>31</sup> 방법을 사용하였다. 소변 시료의 사용량은 100–500  $\mu$ L였으며, LOD는 LLE 방법의 경우 0.00017(BzP)~0.17(MeP) ng/mL, SPE 방법은 0.04(BuP)~0.3(MeP) ng/mL, online-SPE 방법은 0.1(PrP)~2.3(TCS) ng/mL, SLE 방법은 0.1 ng/mL 였다.

본 연구는 LLE 방법을 통해 총 27종의 EDCs(파라벤류 7종, 파라벤 대사체류 4종, 비스페놀류 11종, 벤조페논류

3종 및 항균제류 2종)을 소변에서 동시 분석할 수 있는 방법을 확립하였으며, LOD는 0.13(BP-8) ~ 2.05(4-HB) ng/mL으로 타 연구와 비슷하거나 약간 높은 수준이었다. 하지만, 본 연구에서 확립된 분석법을 통해 타 연구보다 많은 종류의 EDCs를 동시 분석할 수 있으며, 전처리와 기기분석에 소요되는 시간 및 비용 등을 절감하는 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다. 특히, 인체시료의 경우 시료 수집에 많은 노력이 소요되는 만큼 적은 양으로 다양한 물질을 동시에 분석할 수 있다는 것은 이 연구의 가장 큰 강점이다.

### 결론

본 연구에서는 UPLC-MS/MS를 사용하여 27종의 EDCs(파라벤류 7종, 파라벤 대사체류 4종, 비스페놀류 11종, 벤조페논류 3종 및 항균제 2종)을 동시에 분석할 수 있는 전처리 방법과 기기 조건을 확립하였다. 확립된 동시 분석

**Table 5.** Comparison with other studies analyzing EDCs in human urine

Continent	Reference	Analyte	Sample amount (mL)	Preparation	LOD (ng/mL)			
Asia	Korea (This study, 2024)	7 parabens (MeP, EtP, PrP, BuP, iPrP, iBuP, BzP) 4 paraben metabolite (4-HB, 3,4-DHB, OH-MeP, OH-EtP) 11 bisphenol (BPA, BPAF, BPAP, BPB, BPF, BPP, BPS, BPZ, BPE, TBBPA, TrBP) 3 benzophenone (BP-1, BP-2, BP-8) 2 antibacterial (TCS, TCB)	0.5	LLE	0.16(iPrP) ~ 0.24(nBuP) 0.12(OH-MeP) ~ 2.05(4-HB) 0.16(BPB) ~ 0.79(BPA) 0.13(BP-8) ~ 0.19(BP-2) 0.19(TCB) ~ 0.22(TCS)			
		Korea (Kang et al., 2016) <sup>29</sup>			4 parabens (MeP, EtP, PrP, BuP)	1	SPE	0.04 (nBuP) ~ 0.3 (MeP)
		India (Jala et al., 2022) <sup>30</sup>			4 parabens (MeP, EtP, PrP, BuP) 8 bisphenol (BPA, BPF, BPB, BPS, BPZ, BPAF, BPAP, BPP)	0.5	LLE	0.01(nBuP) ~ 0.17(MeP) 0.03(BPS) ~ 0.13(BPB)
		Taiwan (Chen et al., 2022) <sup>31</sup>			4 paraben (MeP, EtP, PrP, BuP) 3 bisphenol (BPA, BPS, BPF) 1 benzophenone (BP-3) 1 antibacterial (TCS)	0.1	SLE	0.1(all analyte)
America	USA (Arya et al., 2020) <sup>32</sup>	4 paraben (MeP, EtP, PrP, BuP) 1 bisphenol (BPA) 1 benzophenone (BP-3) 1 antibacterial (TCS)	0.1	Online SPE	0.1(nPrP) ~ 1(MeP) 0.2(BPA) 0.4(BP-3) 1.7(TCS)			
		USA (Chen et al., 2022) <sup>33</sup>			3 paraben (MeP, PrP, BuP) 1 bisphenol (BPA) 1 benzophenone (BP-3) 1 antibacterial (TCS)	0.1	Online SPE	0.2(nBuP) ~ 1(MeP) 0.4(BPA) 0.4(BP-3) 2.3(TCS)
		Italy (Frigerio, G et al., 2020) <sup>34</sup>			1 bisphenol (BPA)	0.1	SPE	0.15(BPA)
Europe	Austria (Hartmann, C et al., 2023) <sup>35</sup>	6 paraben (MeP, EtP, PrP, BuP, iBuP, BzP) 6 bisphenol (BPA, BPAF, BPB, BPC, BPF, BPS) 2 benzophenone (BP-1, BP-2) 1 antibacterial (TCS)	0.2	LLE	0.0002(BzP) ~ 0.02(MeP) 0.01(BPS) ~ 0.07(BPC) 0.002(BP-1) ~ 0.01(BP-2) 0.01(TCS)			
		Norway (Vindenes et al., 2021) <sup>36</sup>			4 paraben (MeP, EtP, PrP, BuP) 3 bisphenol (BPA, BPF, BPS) 1 benzophenone (BP-3) 2 antibacterial (TCS, TCB)	0.1	Online SPE	0.1(BuP) ~ 1(MeP) 0.1(BPS) ~ 0.2(BPA) 0.4(BP-3) 0.1(TCB) ~ 1.7(TCS)

법은 인공뇨를 사용하여 분석법의 유효성 검증(정확도, 정밀도, 직선성, 검출한계 및 정량한계)을 실시하였고, 소변 중 EDCs 동시 분석에 적합한 결과를 얻었다. 본 연구에서 확립된 소변 중 EDCs 동시 분석법은 한 번의 시료 전처리로 27종의 EDCs를 분석할 수 있어 시료 사용량을 줄이고, 분석의 효율성을 증가시킬 수 있는 방법이다.

**Acknowledgments.** 본 결과물은 환경부의 재원으로 한국환경산업기술원의 환경성질환 예방관리 핵심기술개발 사업의 지원을 받아 연구되었습니다(2022003310004, RS-2022-KE002055).

## REFERENCES

- Zhou, X.; Yang, Z.; Luo, Z.; Li, H.; Chen, G. *Environmental Pollution* **2019**, *244*, 462.
- Bergman, Å.; Heindel, J. J.; Jobling, S.; Kidd, K. A.; Zoeller, T. R.; World Health Organization: *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012*; 2012.
- Lee, C.-W.; Choi, K.-H.; Jeong, S.-W.; Kim, H.-L.; Seo, Y.-R. *Journal of the Korean Society of Endocrinology* **2009**, *24*, 7.
- Yoon, J.-A. *Journal of Law and Policy Studies*, **2017**, *17*, 67.
- Cho, T.-J.; Lee, H.-Y. *Journal of Law and Policy*, **2018**, *18*, 73.
- Ahn, H. S.; Nah, W. H.; Lee, J. E.; Oh, Y. S.; Gye, M. C. *Korean Journal of Environmental Biology*, **2009**, *27*, 323.
- Ye, X.; Bishop, A. M.; Reidy, J. A.; Needham, L. L.; Calafat, A. M. *Environmental Health Perspectives* **2006**, *114*, 1843.
- Golden, R.; Gandy, J.; Vollmer, G. *Critical Reviews in Toxicology* **2005**, *35*, 435.
- Wang, L.; Kannan, K. *Environment International* **2013**, *59*, 27.

10. Zhang, H.; Quan, Q., Li, X.; Sun, W.; Zhu, K., Wang, X.; Sun, X.; Zhan, M.; Xu, W.; Lu, L.; Fan, J.; Gao, Y. *Environmental Research* **2020**, *183*, 109288.
11. Rochester, J. R. *Reproductive Toxicology* **2013**, *42*, 132.
12. Liu, J.; Wattar, N.; Field, C. J.; Dinu, I.; Dewey, D.; Martin, J. W. APrON Study Team. *Environment International* **2018**, *119*, 319.
13. Rocha, B. A.; Da Costa, B. R. B.; De Albuquerque, N. C. P.; De Oliveira, A. R. M.; Souza, J. M. O.; Al-Tameemi, M.; Campiglia, A. D.; Barbosa Jr, F. *Talanta* **2016**, *154*, 511.
14. Xiaoyun, Y.; Lee-Yang, W.; Josh, K.; Xiaoliu, Z.; Tao, J., Calafat, A. M. *Environ. Sci. Technol.* **2015**, *49*, 11834.
15. Covaci, A.; Voorspoels, S.; Abdallah, M. A. E.; Geens, T.; Harrad, S.; Law, R. J. *Journal of Chromatography A* **2009**, *1216*, 346.
16. Suzuki, T.; Kitamura, S.; Khota, R.; Sugihara, K.; Fujimoto, N.; Ohta, S. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2005**, *203*, 9.
17. Barańska, A.; Sicińska, P.; Michałowicz, J. *Molecules* **2022**, *27*, 5056.
18. Kunz, P. Y.; Fent, K. *Toxicology and Applied Pharmacology* **2006**, *217*, 86.
19. Christen, V.; Crettaz, P.; Oberli-Schrämml, A.; Fent, K. *Chemosphere* **2010**, *81*, 1245.
20. Calafat, A. M.; Wong, L. Y.; Ye, X.; Reidy, J. A.; Needham, L. L. *Environmental Health Perspectives* **2008**, *116*, 893.
21. Ao, J.; Zhang, Q.; Tang, W.; Yuan, T.; Zhang, J. *Chemosphere* **2021**, *278*, 130494.
22. Montazeri, P.; Fossati, S.; Warembourg, C.; Casas, M.; Clemente, D. B.; Garcia-Esteban, R.; Nawrot, T. S.; Vrijheid, M. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **2022**, *240*, 113909.
23. Dodson, R. E.; Setzer, R. W.; Spengler, J. D.; Brody, J. G.; Rudel, R. A.; Cedeño Laurent, J. G. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* **2022**, *32*, 885.
24. Moos, R. K.; Angerer, J.; Wittsiepe, J.; Wilhelm, M.; Brüning, T.; Koch, H. M. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **2014**, *217*, 845.
25. Vela-Soria, F.; Ballesteros, O.; Zafra-Gómez, A.; Ballesteros, L.; Navalón, A. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2014**, *406*, 3773.
26. Labat, L.; Kummer, E.; Dallet, P.; Dubost, J. P. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2000**, *23*, 763.
27. Boyd, G. R.; Palmeri, J. M.; Zhang, S.; Grimm, D. A. *Science of the Total Environment* **2004**, *333*, 137.
28. Eller, P. M.; Cassinelli, M. E. *National Institute for Occupational Safety and Health, Division of Physical Sciences and Engineering*, 1994.
29. Kang, H. S.; Kyung, M. S.; Ko, A.; Park, J. H.; Hwang, M. S.; Kwon, J. E.; Suh, J. H.; Lee, H. S.; Moon, G. I.; Hong, J. H.; Hwang, I. G. *Environmental Research* **2016**, *146*, 245.
30. Jala, A.; Varghese, B.; Dutta, R.; Adela, R.; Borkar, R. M. *Chemosphere* **2022**, *297*, 134028.
31. Chen, H. C.; Chang, J. W.; Sun, Y. C.; Chang, W. T.; Huang, P. C. *Toxics*, **2022**, *10*, 21.
32. Arya, S.; Dwivedi, A. K.; Alvarado, L.; Kupesic-Plavsic, S. *Environmental Pollution* **2020**, *265*, 114763.
33. Chen, W. J.; Robledo, C.; Davis, E. M.; Goodman, J. R.; Xu, C.; Hwang, J.; Janitz, A. E.; Garwe, T.; Calafat, A. M.; Peck, J. D. *Environmental Research* **2022**, *214*, 113897.
34. Frigerio, G.; Campo, L.; Mercadante, R.; Santos, P. M.; Missineo, P.; Polledri, E.; Fustinoni, S. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2020**, *34*, e8796.
35. Hartmann, C.; Jamnik, T.; Weiss, S.; Göß, M.; Fareed, Y.; Satrapa, V.; Braun, D.; Flasch, M.; Warth, B.; Uhl, M. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **2023**, *249*, 114123.
36. Vindenes, H. K.; Svanes, C.; Lygre, S. H. L.; Real, F. G.; Ringel-Kulka, T.; Bertelsen, R. J. *Environmental Health* **2021**, *20*, 81.