

액체크로마토그래피-탠덤질량분석법에 의한 하천수 중 남조류 독소 7종의 동시분석

이인정[†] · 김진아 · 안정민 · 양득석

국립환경과학원 낙동강물환경연구소

Simultaneous Determination of Seven Cyanobacterial Toxins in River Water by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Injung Lee[†], Jina Kim, Jung Min Ahn, and Duk-Seok Yang

Nakdong River Environment Research Center, National Institute of Environmental Research, Goryeong, 40103, Korea

Received January 24, 2018/Revised April 9, 2018/Accepted April 17, 2018

Water blooms, formed by cyanobacteria such as *Microcystis*, *Aphanizomenon*, and *Anabaena* have been occurring frequently in lakes and rivers in Korea. As such, there is a need to develop a sensitive method to determine cyanobacterial toxins to minimize potential hazards in raw water resources. In this study, we developed a highly sensitive analytical method for seven cyanobacterial toxins (microcystin-LR, -RR, -YR, -LA, anatoxin-a, nodularin, and cylindrospermopsin) using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with direct injection. The method was evaluated in terms of calibration curve linearity, limit of detection, limit of quantitation, accuracy, and precision. The limit of detection and limit of quantitation were in the range of 0.010-0.026 µg/L and 0.030-0.081 µg/L, respectively. Good accuracy and precision was also obtained. The optimized method was used to measure the concentrations of the seven cyanobacterial toxins in river water from Nakdong River, and microcystin-RR, -YR, and -LR were detected.

Key words: Cyanobacterial toxins, LC-MS/MS, Direct injection, Nakdong River

1. 서 론

최근 기후변화로 인한 이상 고온과 강수량의 감소, 영양염류의 과다유입, 댐과 보의 설치와 같은 수환경의 물리적 변화 등으로 인해 국내 주요 하천 및 호소에서 조류(algae)의 대량 증식에 따른 수화현상(water blooming)이 빈번하게 발생하고 있다.^{1,2)} 특히 초여름부터 가을까지 남조류의 대량 증식에 따라 ‘녹조라떼’라는 유행어가 생길 정도로 조류에 대한 사회적 관심과 우려가 커지고 있다. 상수원으로 이용되고 있는 하천 및 호소에서 남조류의 대량발생은 수돗물에 불쾌한 냄새와 맛을 내는 원인이 되기도 하며,^{3,4)} 일부 남조류는 독성물질을 생산하여 가축 및 인간의 건강에 심각한 위협이 될 수 있다.^{5,9)}

1870년대 호주에서 *Nodularia*에 의한 가축 피해가 최초로 보고된 이래로 미국, 캐나다, 영국, 일본 등 여러 나라에서 유독성 남조류에 의한 동물의 피해가 보고되고 있으며,⁶⁾ 2014년 미국 오하이오주, 5대호 인근 Toledo시에서는 상수원으로 사용하고 있는 Lake Erie에서 남조류의 발생으로 수돗물에서 조류독소인 microcystin이 검출되어 음용, 요리, 목욕 등에 수돗물의 사용을 금지한 바 있다.⁷⁾

독소를 생성하는 주요 남조류로는 *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Nodularia* 등이 있으며, 이들에 의해 생산되는 독소는 크게 간독소(hepatotoxin)와 신경독소(neurotoxin)로 나눌 수 있다(Table 1).^{8,9)} 독소를 생산하는 남조류 중에서 가장 널리 알려진

[†]To whom correspondence should be addressed.

Table 1. Sources and acute toxicities of cyanobacterial toxins

Toxins	Primary target organ in mammals	Cyanobacterial genera	LD50 (i. p. mouse, ug/kg body wt)
Microcystins	Liver	<i>Microcystis</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Anabaena</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Nodularia</i>	25-1000
Anatoxin-a	Nerve synapse	<i>Anabaena</i> , <i>Oscillatoria</i> , <i>Aphanizomenon</i>	250
Saxitoxin	Nerve axons	<i>Anabaena</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i> , <i>Cylindrospermopsis</i>	10-30
Nodularin	Liver	<i>Nodularia</i>	30-50
Cylindrospermopsin	Liver	<i>Cylindrospermopsis</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Lyngbya</i>	200-2100

종인 *Microcystis aeruginosa*는 국내 대부분의 하천과 호소에서 하계에 우점종으로 나타나고 있으며, microcystin이라는 대표적인 간독소를 생산한다. Microcystin은 7개의 아미노산으로 이루어진 고리형 펩타이드로 5개의 고정 아미노산과 2개의 변형 아미노산(variable amino acid)으로 구성되어있으며, 이중 2개의 변형 아미노산에 따라 다르게 명명되어진다. 현재까지 약 70여종의 동질체(congener)가 알려져 있으며, 각기 다른 분자 구조에 따라 독성에도 차이를 보인다. 이들 중 가장 흔하게 발견되는 종류는 microcystin-LR인데 2개의 변형아미노산으로 leucine(L)과 arginine(R)을 가진다. 이외에도 mic-

rocystin-RR, -YR, -LA 등이 흔하게 발견되는 종류로 알려져 있다(Fig. 1). 그 외 간독소로는 nodularin, cylindrospermopsin 등이 있으며, *Nodularia*, *Cylindrospermopsis* 등에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. Nodularin은 5개의 아미노산으로 이루어진 고리형 펩타이드로 microcystin과 유사한 구조를 가지고 있으며, cylindrospermopsin은 guanadino기와 sulfate기를 포함한 polycyclic uracil 유도체 구조를 가지고 있다(Fig. 1). 신경독소로는 anatoxin-a, anatoxin-a(s), saxitoxin 등이 있으며 *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* 등에 의해 생성되는 것으로 알려져 있다. Anatoxin-a는 *Anab-*

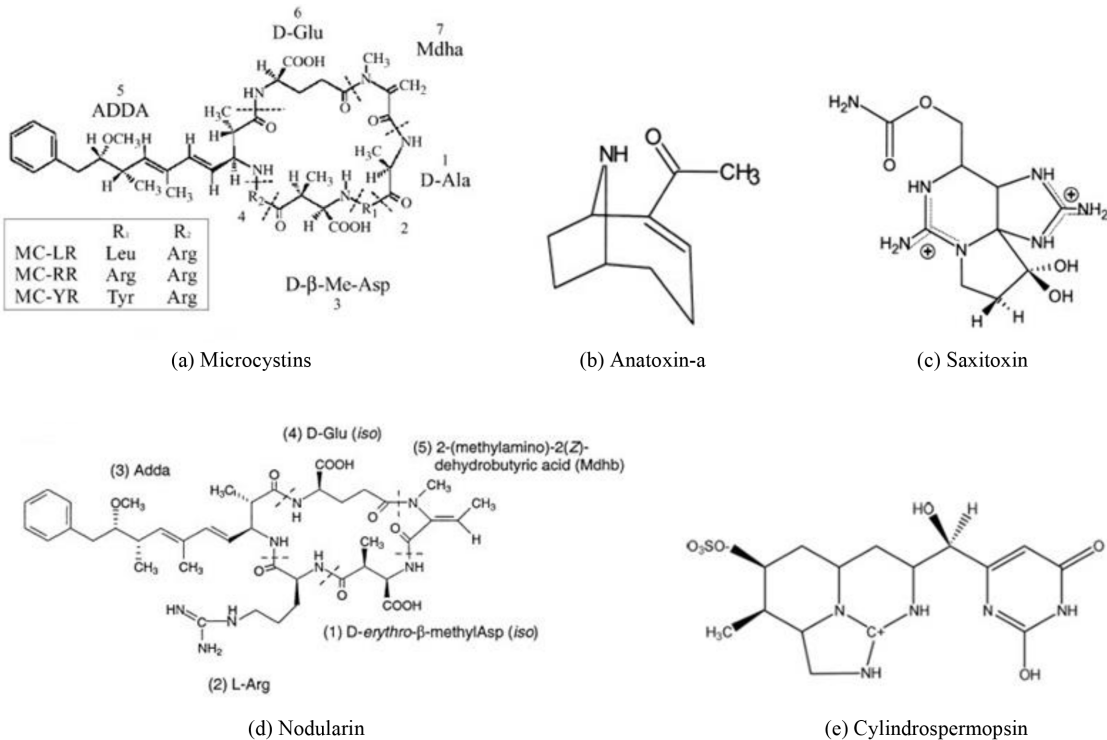


Fig. 1. Chemical structure of cyanobacterial toxins.

aena, *Aphanizomenon* 등의 남조류에서 생성되는 신경독소로 근육신경에서 신경전달물질인 아세틸콜린의 수송을 방해하며 독성을 나타낸다. Anatoxin-a는 비교적 분자량이 작은 bicyclic secondary amine 화합물이며, pKa 값은 9.6으로 환경 중에서는 주로 양이온의 형태로 존재한다(Fig. 1). Saxitoxin은 주로 해양 외편모조류 등에 의해 생성되는 독소로 마비성갑각류독(paralytic shellfish poisons, PSPs)으로 분류된다. 담수조류 중에서는 *Aphanizomenon*, *Aabaena* 등에서 생성되며, carbamate alkaloid 구조를 가지고 있다(Fig. 1).^{8,9)}

현재 남조류 독소에 대한 관리는 주로 microcystin을 중심으로 이루어지고 있으며, 세계보건기구(WHO)에서는 microcystin-LR에 대해 급성독성(1.0 µg/L)과 만성독성(0.1 µg/L) 권고기준을 정하고 있다.¹⁰⁾ 우리나라에서는 2013년부터 먹는물 감시항목으로 microcystin-LR을 추가하여 권고기준으로 1.0 µg/L로 정하고 있다.¹¹⁾ 하지만 최근 *Microcystis* 이외에 *Aphanizomenon*이나 *Anabaena* 등이 우점한 수화현상이 자주 발생하면서 microcystin 이외의 독소에 대해서도 관리가 필요한 실정이며, 이에 대한 분석방법이나 독성 등에 관한 연구들이 점차 진행되고 있다.¹²⁾

일반적으로 microcystin은 고체상 추출법(solid phase extraction, SPE)을 이용하여 추출, 농축, 정제 후 자외선/가시광선 검출기(UV/Visible detector, UVD) 또는 질량분석기(mass spectrometer, MS)를 이용한 액체크로마토그래피(liquid chromatography, LC) 방법으로 분석이 이루어지고 있으며,¹³⁻¹⁵⁾ anatoxin-a와 saxitoxin의 경우 SPE로 전처리 후 유도체화 과정을 거쳐 액체크로마토그래프/형광검출기(high performanc liquid chromatograph/fluorescence detector, HPLC/FLD) 또는 기체크로마토그래프/질량분석기(gas chromatograph/mass selective detector, MSD)를 이용한 분석방법이 일반적이다.¹⁶⁻¹⁹⁾ 그러나 이들 방법은 장비의 감도가 낮아 농축 및 유도체화 등 전처리 과정이 필요하며 이 과정에서 시료가 손실될 우려가 크고 또한, 독소 물질별로 사용되는 카트리지가 등 전처리 방법이 달라 동시분석에 어려움이 있었다.

최근 분석기술 및 장비의 발달로 방해물질의 영향을 적게 받는 고감도의 분석이 가능해짐에 따라 별도의 농축이나 정제과정 없이 시린지 필터를 이용하여 여과한 시료를 직접 액체크로마토그래프-탠덤질량분석기(liquid chromatograph-tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)에 주입하여 분석하는 방법이 이용되고 있다.²⁰⁻²²⁾ 이러한 방법은 시료에 대해 SPE와 같은 별도의 전처리 과

정이 생략되면서 전처리 과정에 따른 시료의 손실, 인력 및 화학물질의 사용을 줄일 수 있다. 또한 SPE로 전처리 시 사용하는 카트리지의 종류 등이 물질별로 다른 경우 각각 전처리하여 분석하여야 함에 반해, 이러한 방법은 여러 가지 물질의 동시분석이 가능한 장점이 있다.

본 연구에서는 microcystin 4종(microcystin-LR, -RR, -YR, -LA) 및 anatoxin-a, nodularin, cylindrospermopsin 등 7종의 남조류 독소를 직접 주입법(direct injection)을 이용한 LC-MS/MS 방법으로 동시분석하는 방법을 확립하였으며, 낙동강 수계 하천수 3개 지점에 대하여 2016년 5월부터 10월까지 남조류가 우점한 시기를 중심으로 물시료 및 조체시료에서 남조류 독소의 농도를 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약

Microcystin 4종(microcystin-LR, -RR, -YR, -LA) 및 anatoxin-a, nodularin, cylindrospermopsin 표준물질은 Enzo Life Sciences사(NY, USA)에서 구입하였으며, saxitoxin 표준물질은 Biorbyt사(Cambridge, UK)의 saxitoxin acetate 시약을 구입하여 사용하였다. 아세토니트릴은 Merck사(Darmstadt, Germany), 정제수는 Thermo Fisher Scientific사(MA, USA)의 HPLC 등급 시약을 사용하였으며, formic acid는 Sigma-Aldrich사(MO, USA)의 시약을 사용하였다.

2.2. 시료 채취 및 전처리

낙동강 수계 하천수 3개 지점에 대하여 2016년 5월부터 10월까지 남조류가 우점한 시기에 일주일 간격으로 시료를 채취하였다(Fig. 2). 시료채취는 환경부에서 운영하고 있는 조류경보제 의 2016년도부터 변경된 시료채취방법에 따라 시료채취지점의 중앙부에서 상-중-하층의 층별 통합채수를 하였다.³⁰⁾ 물속에 녹아 있는 용존(dissolved, intercellular) 독소 및 조체 세포내(intracellular) 독소 함량을 측정하기 위하여 환경부에서 고시한 먹는물 수질감시항목 운영지침상의 시험법에 준하여 전처리하여 분석하였다.¹¹⁾ 채취한 시료는 실험실로 운반하여 유리섬유여과지(glass microfiber filter grade C, GF/C)로 즉시 여과하였으며, 여과액은 용존 독소의 함량을 측정하기 위한 시료로, 0.2 µm GHP membrane 시린지 필터로 한번 더 여과한 뒤 기기에 주입하였다. 여과되는 조체 세포내 독소를 측정하기 위한 시료로, 냉동보관하

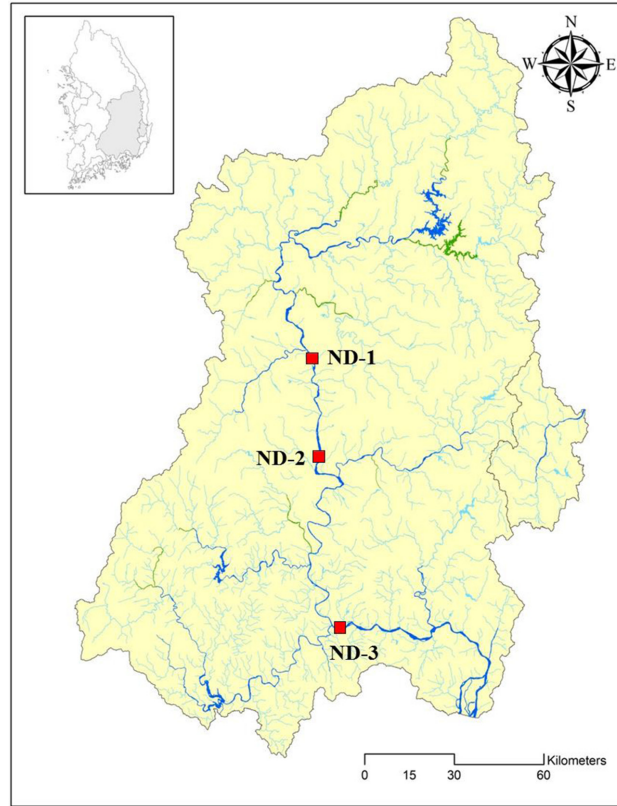


Fig. 2. Sampling site locations in the Nakdong River, Korea.

였다가 초음파 파쇄기(Sonics, VCX-750)로 세포내 독소를 추출하여 분석하였다. 여과지에 정제수 25 mL를 첨가하여 50초 동안 pulse on, 10초 동안 pulse off 과정을 30분간 ice bath를 이용하여 냉각시키면서 반복하였다. 세포의 파쇄여부를 현미경($\times 400$)으로 확인한 뒤 2900 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 0.2 μm GHP membrane 시린지 필터로 여과하여 20 μL 를 기기에 주입하였다. 고감도의 triple-quadrupole 타입의 텐덤질량분석기를 이용하여 분석함에 따라, 기존의 SPE를 이용한 전처리 과정 대신에 시료를 직접 주입구에 주입하였다.

2.3. 기기분석

LC-MS/MS 시스템으로는 Acquity UPLC-Xevo TQS tandem mass spectrometer(Waters, MA, USA)를 이용하였으며, 분석 column은 BEH C_{18} (2.1 \times 100 mm, 1.7 μm ; Waters)을 사용하였다. Positive electrospray ionization mode(+ESI)로 이온화하였으며, multiple reaction

monitoring(MRM) mode에서 7종(microcystin-LR, -RR, -YR, -LA, anatoxin-a, nodularin, cylindrospermopsin)의 남조류 독소를 동시분석하였다. LC-MS/MS 분석조건 및 MRM 조건을 Table 2~4에 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 남조류 독소의 동시분석방법 확립

과거 남조류 독소의 분석시 가장 많이 이용하는 방법은 SPE로 추출, 농축, 정제 후 HPLC/UVD 또는 HPLC/FLD, GC/MSD로 분석하는 방법이 주를 이루었지만,¹³⁻¹⁹⁾ 최근 별도의 농축이나 정제과정 없이 고감도의 LC-MS/MS에 직접 주입하여 분석하는 방법이 이용되고 있다.²⁰⁻²²⁾ 이러한 방법은 시료에 대해 SPE와 같은 별도의 전처리 과정이 생략되면서 전처리 과정에 따른 대상물질의 손실, 인력 및 화학물질의 사용을 줄일 수 있다. 또한 SPE로 전처리 시 사용하는 카트리지의 종류 등이 물질별로 다른 경우 각각 전처리하여 분석하여야

Table 2. LC conditions for the cyanobacterial toxin analysis

Parameters	Conditions
Column	ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ (2.1 mm × 100 mm × 1.7 μm)
Column temp.	40°C
Mobile phases	A: 0.1 % Formic acid in distilled water, B: 0.1 % Formic acid in acetonitrile. Gradient: 0.5 min A 95%, B 5%, 2.5 min A 80%, B 20%, 4.5 min A 35%, B 65%, 5.0 min A 20%, B 80%, 6.5 min A 95%, B 5%, 8.0 min A 95%, B 5%
Flow rate	0.2 mL/min
Injection volume	20 μL

Table 3. MS/MS conditions for the cyanobacterial toxin analysis

Parameters	Conditions
Source	electrospray ionization (ESI)
Ion mode	Positive
Capillary voltage (kV)	0.5
Cone voltage (V)	30
Desolvation temp. (°C)	350
Desolvation gas flow (L/hr)	800
Cone gas flow (L/hr)	150
Nebulizer (Bar)	7.0
Collision gas flow (mL/min)	0.13

Table 4. MRM conditions for the cyanobacterial toxin analysis

Compounds	Molecular weight	Precursor ion	Product ion	Dwell time (s)	Cone voltage (V)	Collision voltage (eV)
Cylindrospermospin	415.4	415.9	194.0, 336.0	0.080	40	34, 20
Anatoxin-a	165.2	166.0	131.0, 149.0	0.080	30	15, 15
Microcystin-RR	1038.20	520.03	127.21, 135.11	0.050	2	46, 26
Nodularin	825.0	825.65	70.07, 135.10	0.050	76	64, 52
Microcystin-YR	1045.29	1045.72	127.14, 135.30	0.050	96	80, 66
Microcystin-LR	995.17	995.72	127.17, 135.17	0.050	96	80, 70
Microcystin-LA	910.07	910.66	135.17, 213.19	0.050	12	58, 48

함에 반해, 직접주입법은 여러 가지 물질의 동시분석이 가능한 장점이 있다.

본 연구에서는 microcystin 4종(microcystin-LR, -RR, -YR, -LA) 및 anatoxin-a, nodularin, cylindrospermospin 등 7종의 남조류 독소를 직접 주입법을 이용한 LC-MS/MS로 동시분석하는 방법을 확립하였으며, 이때 분석 column으로는 BEH C₁₈(2.1×100 mm, 1.7 μm) column을 사용하였다. 남조류 독소 7종의 LC-MS/MS로 동시분석한 MRM 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었다.

Saxitoxin의 경우는 C₁₈ column을 이용하여 분석하였을 때 column에 머무름(retention)이 거의 일어나지 않고 이동상과 동시에 용리(elution)됨에 따라 직선성 및 재현성이 낮게 나타나 본 방법을 적용하여 동시에 분석하기에는 적합하지 않은 것으로 나타났다. 다른 외국의

연구에서도 saxitoxin은 주로 극성이 강한 hilic column을 이용하여 분석이 이루어지고 있는 것으로 조사되었다.²³⁻²⁶⁾

3.2. Method validation

분석방법의 유효화(method validation)를 위한 직선성(linearity), 검출한계(limit of detection, LOD), 정량한계(limit of quantitation, LOQ), 정확도(accuracy) 및 정밀도(precision) 실험은 환경부에서 고시한 수질오염공정시험기준의 정도보증/정도관리(quality assurance/quality control, QA/QC) 방법에 따라 수행하였다.²⁷⁾

정제수에 분석물질별로 0.1~1.0 μg/L 범위의 농도가 되도록 표준물질을 첨가한 5개의 시료를 분석하여 검정곡선을 작성하였으며, 전 항목에서 r² 값이 0.99 이상의 직선성을 얻을 수 있었다(Table 5).

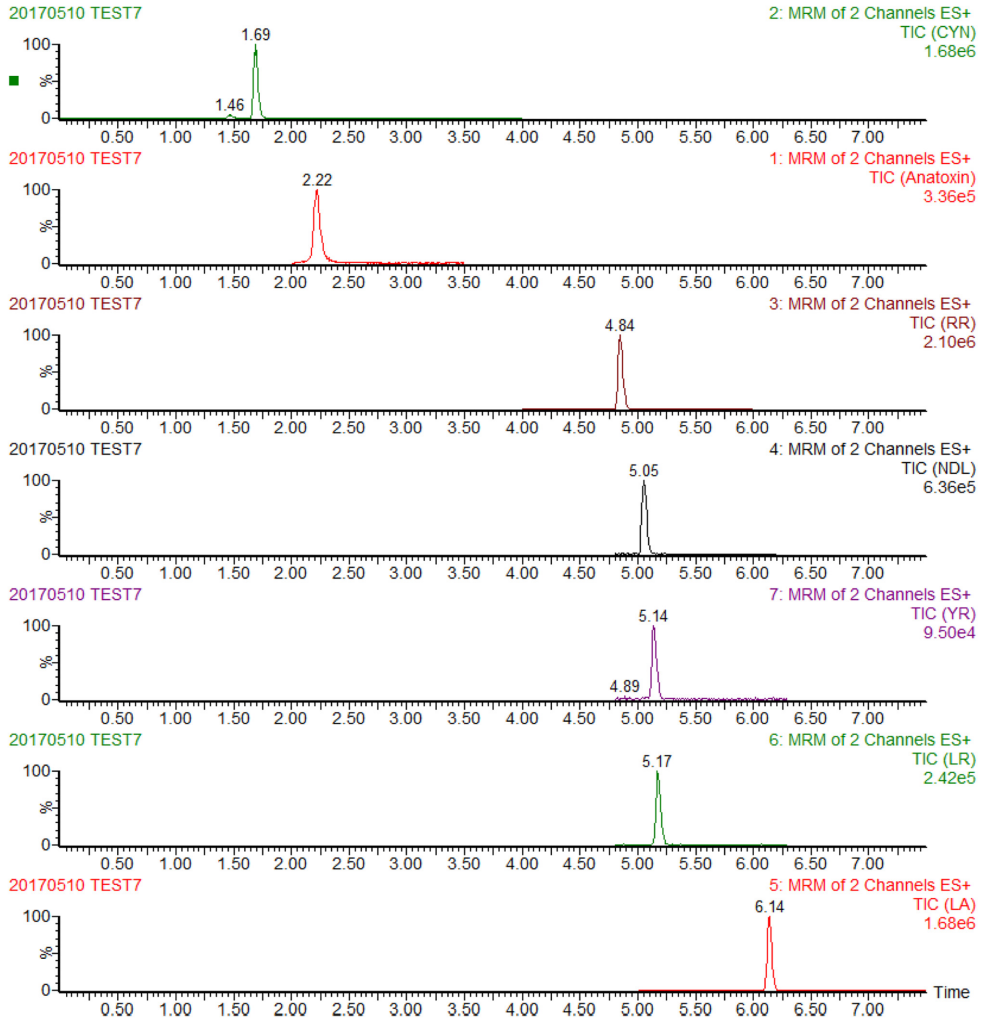


Fig. 3. LC-MS/MS MRM chromatograms of water samples spiked with cyanobacterial toxins at a concentration of 1 µg/L. The peaks in order from top to bottom are: cylindrospermopsin, anatoxin-a, microcystin-RR, nodularin, microcystin-YR, microcystin-LR, and microcystin-LA.

정제수에 예상되는 정량한계 부근의 농도가 되도록 표준물질을 동일하게 첨가한 7개 시료를 분석하여 표준편차에 3.14(7회 반복분석에 대한 99% 신뢰구간에서의 t 값)를 곱한 값을 LOD로, 10을 곱한 값을 LOQ로 계산한 결과, LOD는 0.010~0.026 µg/L, LOQ는 0.030~0.081 µg/L의 값을 구할 수 있었다(Table 6). LOQ의 목표값은 WHO 및 국내 먹는물감시항목 권고기준인 1.0 µg/L의 1/10 수준인 0.1 µg/L로 설정하였다.

정제수에 LOQ 농도의 10배 정도가 되도록 표준물질을 첨가하여 정확도 및 정밀도를 구한 결과, 정확도는 90.0~111.5%, 정밀도는 각각 0.3~10.8%의 값을 얻을

수 있었다(Table 7).

분석방법의 직선성, 정확도, 정밀도에서 모두 좋은 결과를 얻을 수 있었으며, LOD와 LOQ도 목표값 부근의 농도를 구할 수 있었다.

3.3. 실제 하천수 시료의 독소 분석

낙동강 수계 하천수 3개 지점에 대하여 2016년 5월부터 10월까지 남조류가 우점한 시기를 중심으로 물시료 및 조체시료에서 남조류 독소의 농도를 조사하였다. 조사한 7종의 남조류 독소 중 microcystin-RR, -YR, -LR 등 3종이 검출되었고, cylindrospermopsin, anatoxin-a,

Table 5. Calibration curves and linearities of the cyanobacterial toxins

Compounds	Conc. range ($\mu\text{g/L}$)	Calibration curve ($Y=aX+b$)		Linearity (r^2)
		a	b	
Cylindrospermopsin	0.1-1.0	51098.8	634.78	0.9999
Anatoxin-a	0.1-1.0	19573.7	-39.8251	0.9987
Microcystin-RR	0.1-1.0	59804.8	281.725	0.9994
Nodularin	0.1-1.0	24035.8	125.984	0.9993
Microcystin-YR	0.1-1.0	3873.84	190.077	0.9984
Microcystin-LR	0.1-1.0	7841.97	47.1844	0.9993
Microcystin-LA	0.1-1.0	15698.4	110.14	0.9996

Table 6. Limit of detection and limit of quantitation of the cyanobacterial toxins

Compounds	Spiked conc. ($\mu\text{g/L}$)	n	LOD* ($\mu\text{g/L}$)	LOQ** ($\mu\text{g/L}$)
Cylindrospermopsin	0.1	7	0.010	0.031
Anatoxin-a	0.1	7	0.013	0.041
Microcystin-RR	0.1	7	0.019	0.062
Nodularin	0.1	7	0.010	0.033
Microcystin-YR	0.1	7	0.026	0.081
Microcystin-LR	0.1	7	0.013	0.043
Microcystin-LA	0.1	7	0.010	0.030

*LOD: limit of detection ($SD*3.14$), **LOQ: limit of quantitation ($SD*10$)

Table 7. Accuracy and precision of the cyanobacterial toxins

Compounds	Spiked conc. ($\mu\text{g/L}$)	n	Accuracy (%)	Precision (RSD, %)
Cylindrospermopsin	0.4	4	103.2	2.1
Anatoxin-a	0.4	4	90.0	10.8
Microcystin-RR	0.4	4	111.5	2.3
Nodularin	0.4	4	97.1	1.6
Microcystin-YR	0.4	4	93.8	5.8
Microcystin-LR	0.4	4	99.9	2.0
Microcystin-LA	0.4	4	99.1	0.3

nodularin, microcystin-LA 등 4종은 검출되지 않았다 (Table 8).

조사시기는 대부분 유해 남조류가 우점한 시기이지만, 독소의 검출빈도나 농도는 낮게 나타났다. 실제 수생태계에서는 독소를 생산하는 종이라고 알려져 있더라도 모두 독소를 생산하는 유전자를 가지고 있는 것은 아니며, 유전자를 가지고 있더라도 생육조건이나 환경요인에 따라 생산여부와 생산량에 차이가 있는 것으로 알려져 있다.^{12,28,29} 조사대상 시료 중 남조류 독소가 검출된 시기에는 *Microcystis*가 우점한 것으로 조사되었다.

4. 결 론

기후변화로 인한 이상 고온과 강수량의 감소, 영양염류의 과다유입, 댐과 보의 설치 등 수환경의 물리적 변

화로 인해 국내 주요 하천 및 호소에서 남조류에 의한 수화현상(cyanobacterial water bloom)이 빈번하게 발생하고 있으며,^{1,2} 일부 남조류는 독성물질을 생성하는 것으로 알려져 있어 가축과 인간의 건강에 심각한 위협이 될 수 있다.⁵⁻⁹ 그동안 우리나라에서 남조류 독소에 대한 관리는 주로 microcystin을 중심으로 이루어져 왔으나, 최근 *Microcystis* 이외에 *Aphanizomenon*이나 *Anabaena* 등이 우점한 수화현상이 자주 발생하면서 microcystin 이외의 독소에 대해서도 관리가 필요한 실정이다.^{11,12}

남조류 독소를 분석하는데 있어, 최근에는 분석기술 및 장비의 발달로 방해물질의 영향을 적게 받는 고감도의 분석이 가능해짐에 따라 별도 농축이나 정제과정 없이 시료를 직접 LC-MS/MS에 주입하여 분석하는 방법이 이용되고 있다.²⁰⁻²²

본 연구에서는 microcystin 4종(microcystin-LR, -RR,

Table 8. Concentrations (water+algae) of cyanobacterial toxins in river water

Sampling site	Microcystin-RR		Microcystin-YR		Microcystin-LR	
	N _{detected} /N _{total}	Conc. (µg/L)	N _{detected} /N _{total}	Conc. (µg/L)	N _{detected} /N _{total}	Conc. (µg/L)
ND-1	0/26	-	0/26	-	0/26	-
ND-2	6/26	0.1-0.2	1/26	0.1	1/26	0.2
ND-3	5/26	0.1-1.4	3/26	0.1-0.2	4/26	0.2-1.0

1. Cylindrospermopsin, anatoxin-a, nodularin, and microcystin-LA were detected below the limit of quantitation.
 2. The sample was mixed with surface, middle, and bottom layer of the river. Sampling was performed according to “A guideline for algae alert system (Ministry of Environment, Korea, 2016)”.

-YR, -LA) 및 anatoxin-a, nodularin, cylindrospermopsin 등 7종의 남조류 독소를 직접 주입법을 이용한 LC-MS/MS 방법으로 동시분석하였으며, 확립된 분석방법에 대해 직선성, 정확도 및 정밀도를 구한 결과 비교적 좋은 결과를 얻을 수 있었으며, 검출한계와 정량한계도 목표값 부근의 농도를 구할 수 있었다.

이러한 방법은 시료에 대해 SPE와 같은 별도의 전처리 과정이 생략되면서 전처리 과정에 따른 시료의 손실, 인력 및 화학물질의 사용을 줄일 수 있다. 또한 SPE로 전처리 시 사용하는 카트리지의 종류 등이 물질별로 다른 경우 각각 전처리하여 분석하여야 함에 반해, 이러한 방법은 여러 가지 물질의 동시분석이 가능한 장점이 있다.

본 연구에서 확립된 분석방법으로 낙동강 수계 하천수 3개 지점에 대하여 2016년 5월부터 10월까지 남조류가 우점한 시기를 중심으로 물시료 및 조체시료에서 남조류 독소의 농도를 조사하였다. 조사한 7종의 남조류 독소 중 microcystin-RR, -YR, -LR 등 3종이 검출되었고, cylindrospermopsin, anatoxin-a, nodularin, microcystin-LA 등 4종은 검출되지 않았다. 조사시기는 대부분 유해 남조류가 우점한 시기이나 실제 독소의 검출빈도나 농도는 낮게 나타났다.

감사의 글

이 연구는 환경부의 재원으로 국립환경과학원의 지원을 받아 수행하였습니다(NIER-2016-5-1-011).

참고문헌

1. 이상민, 김일규, “낙동강 중하류 지역의 남조류개체수와 수질인자간의 상관관계 분석”, *상하수도학회지*, **2017**, 31, 93-101.
2. 노성유, 신유나, 최희락, 이재운, 이재안, 류덕희, “환경

변화에 따른 조류발생 변화”, *환경영향평가*, **2015**, 24, 278-286.

3. 이인정, 이경락, 임태효, 박정자, 천세억, “HS-SPME-GC/MS를 이용한 낙동강 수계 하천수 중 조류기원성 냄새물질 분석”, *Analytical Science & Technology*, **2013**, 26, 326-332.
4. R. Srinivasan and G. A. Sorial, “Treatment of taste and odor causing compounds 2-methyl isoborneol and geosmin in drinking water: A critical review”, *Journal of Environmental Sciences*, **2011**, 23, 1-13.
5. 윤효정, 서정관, 김탁수, 조아름, 김정근, 이두희, 김필제, 최경희, “마이크로시스틴의 어류내 축적성 및 인체 위해성 평가: 국내 저수지 사례연구”, *한국환경보건의학회지*, **2016**, 42, 10-18.
6. 최영아, 한난숙, 임은경, 김영민, 전창재, 이병호, “회야호의 남조류 발생특성과 남조류 독소의 농도분포특성”, *대한환경공학회지*, **2013**, 35, 943-952.
7. 전봉석, 한지선, 김석구, 안재환, 오혜철, 박호동, “남조류에서 발생하는 독소의 문제점과 대책”, *대한환경공학회지*, **2015**, 37, 657-667.
8. W. A. Wickramasinghe and G. R. Shaw, “Cyanobacterial toxins, drinking water and human health”, *Korean Journal of Environmental Health*, **2005**, 31, 192-198.
9. G. A. Codd, L. F. Morrison and J. S. Metcalf, “Cyanobacterial toxins: risk management for health protection”, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2005**, 203, 264-272.
10. I. Chorus and J. Bartram, “Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management”, WHO, **1999**.
11. 환경부, “먹는물 수질감시항목 운영지침”, **2012**, 221-234.
12. 박혜경, 김화빈, 이재정, 이재안, 이혜진, 박종환, 서정관, 윤석제, 문정숙, “한국산 유독 남조류의 독소함량을 근거로 한 조류경보제 발령기준 검토”, *한국물환경학회지*, **2011**, 27, 491-498.
13. L. N. Sangolkar, S. S. Maske and T. Chakrabarti, “Methods for determining microcystins (peptide hepatotoxins) and microcystin-producing cyanobacteria”, *Water Research*, **2006**, 40, 3485-3496.

14. J. Meriluoto, "Chromatography of microcystins", *Analytica Chimica Acta*, **1997**, 352, 277-298.
15. B. Greer, S. E. McNamee, B. Boots, L. Cimarelli, D. Guillebault, K. Helmi, S. Marcheggiani, S. Panaiotov, U. Breitenbach, R. Akcaalan, L. K. Medlin, K. Kittler, C. T. Elliott and K. Campbell, "A validated UPLC-MS/MS method for the surveillance of ten aquatic biotoxins in European brackish and freshwater systems", *Harmful Algae*, **2016**, 55, 31-40.
16. J. Osswald, S. Rellan, A. Gago and V. Vasconcelos, "Toxicology and detection methods of the alkaloid neurotoxin produced by cyanobacteria, anatoxin-a", *Environment International*, **2007**, 33, 1070-1089.
17. 이인정, 이철구, 허성남, 이재관, "액체크로마토그래피-형광검출법에 의한 호소시료의 아나톡신-a 분석", *Analytical Science & Technology*, **2011**, 24, 225-230.
18. 김학철, 최일환, "배양조류 및 댐 저수지 조체중 신경독소 Anatoxin-a, Saxitoxin류의 분석 및 수처리 방안", *환경위생공학*, **2008**, 23, 37-44.
19. K. J. James, I. R. Sherlock and M. A. Stack, "Anatoxin-a in Irish freshwater and cyanobacteria, determined using a new fluorimetric liquid chromatographic method", *Toxicon*, **1997**, 35, 963-971.
20. 장제현, 김윤석, 최재원, "온라인 시료주입과 UPLC-Orbitrap 질량분석법을 이용한 수질 조류독소의 고속분석방법 개발 및 환경시료 적용", *한국물환경학회지*, **2012**, 28, 843-850.
21. 김정희, 윤미애, 김학철, "액체크로마토그래피/질량분석기를 이용한 수중 남조독소물질 동시분석법", *한국물환경학회지*, **2009**, 25, 597-605.
22. J. Dahlmann, W. R. Budakowski and B. Luckas, "Liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry based method for the simultaneous determination of algal and cyanobacterial toxins in phytoplankton from marine waters and lakes followed by tentative structural elucidation of microcystins", *Journal of Chromatography A*, **2003**, 994, 45-57.
23. Y. Cho, S. Tsuchiya, R. Yoshioka, T. Omura, K. Konoki, Y. Oshima and M. Y. Yamashita, "Column switching combined with hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of saxitoxin analogues, and their biosynthetic intermediates in dinoflagellates", *Journal of Chromatography A*, **2016**, 1474, 109-120.
24. L. Zhuo, Y. Yin, W. Fu, B. Qiu, Z. Lin, Y. Yang, L. Zheng, J. Li and G. Chen, "Determination of paralytic shellfish poisoning toxins by HILIC-MS/MS coupled with dispersive solid phase extraction", *Food Chemistry*, **2013**, 137, 115-121.
25. A. Lajeunesse, P. A. Segura, M. Gelinac, C. Hudon, K. Thomas, M. A. Quilliam and C. Gagnon, "Detection and confirmation of saxitoxin analogues in freshwater benthic *Lyngbya wollei* algae collected in the St. Lawrence River (Canada) by liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2012**, 1219, 93-103.
26. C. D. Aversano, G. K. Eaglesham and M. A. Quilliam, "Analysis of cyanobacterial toxins by hydrophilic interaction liquid chromatography-mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2004**, 1028, 155-164.
27. 환경부, "수질오염공정시험기준", **2015**, 8-14.
28. 김화빈, 박혜경, 신교동, 문정숙, "국내산 유독 남조류의 독소생산 특성", *한국물환경학회지*, **2010**, 26, 834-840.
29. 박홍기, 정미은, 차동진, 정은영, 빈재훈, "Real-Time PCR법과 LC/MS법을 이용한 수계중의 마이트로시스틴 검출방법 비교연구", *생명과학회지*, **2010**, 20, 1201-1206.
30. 환경부, "조류경보제 운영 매뉴얼", **2016**.