

LC-HRMS 기반의 표적, 추정 및 비표적 분석기법을 활용한 우포늪 수계 내 미량오염물질 분석

강대호¹ · 전준호^{1,2†}

¹창원대학교 친환경해양플랜트FEED공학과, ²창원대학교 토목환경화학융합부

Micropollutant Analysis in Upo Wetland via Target, Suspect and Nontarget Screening using LC-HRMS

Daeho Kang¹ and Junho Jeon^{1,2†}

¹Department of FEED of Eco-Friendly Offshore structure, Changwon national University, Korea

²Department of School of Civil-Environment-Chemical Engineering, Changwon national University, Korea

Received May 25, 2018/Revised June 12, 2018/Accepted June 25, 2018

Upo Wetland, in Changnyeong-gun, Gyeongsangnam-do, is the largest inland wetland in Korea and a habitat for various species. However, due to agricultural activities in the surrounding area, diverse organic pollutants such as pesticides have flowed into the wetland ecosystem. This study analyzed the exposure of Upo wetland to organic pollutants (e.g., pesticides and pharmaceuticals) using LC-HRMS (Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry). Twenty-six pesticides and pharmaceuticals were selected and quantitatively analyzed for target screening. As a result, eight pharmaceuticals (e.g., fluconazole, lincomycin, metformin, valsartan) and eight pesticides (e.g., tebuconazole, metalaxyl) were quantitatively identified. The major pesticides were tebuconazole (230-3,900 ng/L) and metalaxyl (53-980 ng/L), whereas metformin (20-220 ng/L) was the pharmaceutical with the widest concentration range. Metabolites of the two major pesticides TEB_M324c and metalaxyl acid were identified tentatively via suspect and nontarget screening which also identified several other substances including benzotriazole, carbendazim, diazinon, hexaconazole, methabenzthiazuron, tricyclazole, niflumic acid, 2-aminobenzimidazole, 2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol, valsartan acid, and retrorsine.

Key words: Upo wetland, LC-HRMS, Suspect and nontarget screening

1. 서 론

국내에는 환경적, 지질학적 가치를 인정받아 총 43개소의 습지가 습지보호지역으로 지정되었으며, 국제 랍사르 협약에 의하여 총 22개소의 습지가 랍사르 습지로 지정되어 보호 및 관리되고 있다. 습지는 표면에 항상 물이 존재하며 하천에 비하여 상대적으로 수심이 낮고 유속이 느리다는 특징을 지닌다. 습지로 유입된 물은 습지 생태 환경과 긴 접촉 시간을 가지며 물에 존재하는 유기물과 부유물질이 습지의 바닥에 퇴적 및 침전되며 이를 이용하기 위한 다양한 생물 군집이 형성한다. 따라

서 습지는 생물들에게 다양한 서식지를 제공하며 높은 환경적 가치를 가진다¹⁾. 그러나 습지에는 다양한 오염원들이 유입되며 주요 오염원으로는 주거지역에서 발생하는 생활 하수나 농업활동에서 발생하는 농약, 산업폐수 등이 있다. 그 중 질소와 인과 같은 영양 염류는 수계로 유입되어 조류의 빠른 증식을 촉진시키며 부영양화 현상을 야기시킨다²⁾. 하지만 습지에 유입된 오염물질은 서식하고 있는 동식물들에 의해 소비·대사되거나 습지 바닥으로의 퇴적, 침전 등의 방법으로 수계로부터 제거된다³⁾. 특히 습지는 영양 염류에 대해 높은 제거효율을 가지며⁴⁾, 기존의 오염물질과 중금속 뿐만 아니라 미량으로

[†]To whom correspondence should be addressed.

유입되는 미량오염물질, 병원균에 대해서도 높은 제거효율을 가진다고 알려져 있다⁵⁻⁷⁾.

경상남도 창녕군에 위치한 우포늪은 국내 최대규모의 내륙 습지이며, 경상남도 및 부산광역시의 상수원으로 사용되는 낙동강의 배후 습지이다. 우포늪은 약 2.31 km²의 총 면적을 가지며 본류인 우포늪(1.28 km²)과 목포늪(0.53 km²), 사지포(0.36 km²), 쪽지벌(0.14 km²)로 나누어져 있다. 또한 우포늪과 목포늪의 경계부분에는 인공 제방이 형성되어 있어 분리된 수리학 경계를 형성하고 있다. 우포늪으로 유입되는 하천은 열왕산(해발 662.5 m)를 발원으로 하는 토평천이 우포늪에 유입된 후 낙동강으로 연결된다. 토평천의 유역 면적은 약 67.1 km²를 형성하고 있다. 이러한 우포늪에는 480여종의 식물과 62종의 조류, 55종의 수서곤충, 12종의 포유류, 7종의 파충류, 5종의 양서류 및 패류 등이 서식하며 다양한 생물체의 집합체 기능을 가진다. 우포늪은 1998년 3월 2일 람사르 국제 협약으로부터 그 환경적 가치를 인정받아 보존 습지로 지정되었다. 또한 2016년부터 보전

계획⁸⁾을 수립하여 우포늪을 관리하고 있다. 하지만 우포늪이 위치한 창녕군은 총 인구수 약 6만여명이 거주하고 있으며 활발한 농업활동이 이루어지고 있다. 그 중 마늘과 양파를 주요 작물로 하며 전국 생산 점유율 12%, 6% (2018년 1월 기준)를 각각 기록하고 있다. 종사 농가 수는 약 4,500호로써 창녕군 농가의 대부분을 차지한다. 따라서 농약을 비롯한 다양한 오염물질들이 우포늪으로 유입되고 있을 것으로 추정되며, 식수원으로 사용되는 낙동강으로 오염물질의 유입 또한 의심되는 실정이다.

본 연구에서는 우포늪에 존재하는 유기오염물질을 확인하기 위하여, 기존의 표적 스크리닝 방법(target screening method)과 고분해능 질량분석기(Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry, LC-HRMS)를 활용한 추정 및 비표적 기법(suspect and non-target screening method)을 적용하였다. 추정 및 비표적 기법은 고분해능 질량분석기를 이용하여 표준 물질 없이도 수계 내에 존재하는 오염물질의 존재여부를 확인할 수 있다. 정성분석으로 대상물질을 선정하고 추후

Table 1. QAQC

Compound name	R ²	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	Rel. Rec (%)	RSD (%)	ISTD
4-formylaminoantipyrine	0.9993	0.1	5	108.10	1.79	Lidocaine-(diethyl-D ₁₀)
Antipyrine	0.9923	0.5	0.5	101.07	2.27	Tramadol- ¹³ C ₃ ,D ₃
Atenolol	0.9915	5	5	101.81	2.47	Atenolol-D ₇
Caffeine	0.9976	1	1	99.18	1.24	Caffeine- ¹³ C ₃
Carbamazepine	0.9919	0.1	0.1	104.15	0.91	Pyrimethanil-D ₅
Fluconazole	0.9985	0.1	0.1	99.33	2.49	Metribuzin-(S-methyl-D ₃)
Fluoxetine	0.9943	0.1	0.1	88.71	2.73	Fluoxetine-D ₅
Lamotrigine	0.9995	1	1	89.49	2.04	Tramadol- ¹³ C ₃ ,D ₃
Lidocaine	0.9901	1	1	98.83	1.56	Antipyrine-D ₃
Lincomycin	0.9999	0.5	0.5	99.61	-	Caffeine- ¹³ C ₃
Metformin	0.9924	2	2	99.29	1.03	Acetaminophen-D ₄
Paraxanthine	0.9998	2	2	81.76	0.78	Theophylline-D ₆
Ranitidine	0.9911	2	2	100.74	1.81	Ranitidine-D ₆
Sulfamerazine	0.9994	0.1	0.5	73.79	1.38	Sulfamerazine-(phenyl- ¹³ C ₆)
Sulfamethoxazole	0.9997	0.1	0.1	100.14	1.47	Sulfamethoxazole-(phenyl- ¹³ C ₆)
Tramadol	0.9993	0.5	0.5	98.98	2.50	Tramadol- ¹³ C ₃ ,D ₃
Valsartan	0.9989	0.5	0.5	102.15	1.57	(+)-Naproxen-(methoxy- ¹³ C ₃ ,D ₃)
Atrazine	0.9904	0.5	0.5	134.49	43.97	Diuron-D ₆
Azoxystrobin	0.9999	0.1	0.1	101.00	1.09	Azoxystrobin-(cyanophenoxy-D ₄)
Carbofuran	0.9981	0.5	0.5	84.53	3.32	Carbofuran-D ₃
Difenoconazole	0.9992	0.5	0.5	94.78	19.82	Simazine-D ₁₀
Hexazinone	0.9999	1	1	112.07	0.54	Metribuzin-(S-methyl-D ₃)
Metalaxyl	0.9993	5	5	123.12	1.25	Cetirizine-D ₈
Myclobutanil	0.9999	1	1	-	0.87	Myclobutanil-(phenyl-D ₄)
Simazine	0.9969	0.5	0.5	103.63	0.57	Simazine-D ₁₀
Tebuconazole	0.9997	0.5	0.5	99.37	1.12	Tebuconazole-(trimethyl- ¹³ C ₃)

에 표준 물질을 구비하여 정량분석을 할 수 있다는 점이 이 기법의 장점이다. 따라서 본 연구에서는 고분해능 질량분석기를 활용하여 표적분석과 추정 및 비표적 기법을 통하여 우포늪에 유입된 오염물질들을 스크리닝하여 우포늪의 오염물질 노출 실태를 파악하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 표준물질

본 연구의 표적분석 대상물질은 총 26종의 의약품과 농약이 선정되었으며, 이는 Table 2에 나타내었다. 본 연구에 사용된 표준물질 중 4-formylaminoantipyrine, antipyrine, atenolol, atrazine, azoxystrobin, caffeine, carbamazepine, carbofuran, difenoconazole, fluconazole, fluoxetine hydrochloride, hexazinone, lamotrigine, lidocaine, lincomycin, metalaxyl, myclobutanil, simazine, sulfamerazine, sulfamethoxazole, tramadol, tebuconazole, valsartan은 Sigma-aldrich사(St. Louis, USA)에서 구입하였고 metformin hydrochloride, paraxan-

thine, ranitidine hydrochloride은 Toronto Research Chemicals사(Tronto, Canada)에서 구입하여 사용되었다. 사용된 내부표준물질 중 (+)-naproxen-(methoxy-¹³C, D₃), acetaminophen-D₄ solution, atenolol-D₇, azoxystrobin-(cyanophenoxy-D₄), carbofuran-D₃, diuron-D₆, fluoxetine-D₅, lidocaine-(diethyl-D₁₀), metribuzin-(S-methyl-D₃), myclobutanil-(phenyl-D₄), prochloraz-(ethylene-D₄), simazine-D₁₀, sulfamerazine-(phenyl-¹³C₆), sulfamethoxazole-(phenyl-¹³C₆, tebuconazole-(trimethyl¹³C₃), terbutryn-(S-methyl-D₃), tramadol-¹³C₃, thiocloprid-(thiazolidin ring-D₄)은 Sigma-aldrich사(St. Louis, USA)에서 구입되었으며 antipyrine-D₃, caffeine-¹³C₃, cetirizine-D₈ dihydrochloride, pyrimethanil-D₅, theophylline-D₆, ranitidine-D₆ hydrochloride는 Toronto Research Chemicals사(Tronto, Canada)에서 구입하여 사용되었다.

2.2. 시료채취 지점

시료 채취는 2017년 11월 21일에 실시되었으며, 그

Table 2. Target compounds

Compound name	Cas No.	Formula	[M+H]	RT(min)	Log _{Kow}	Class
4-formylaminoantipyrine	1672-58-8	C12H13N3O2	232.1080	2.87	-0.41	Drug
Antipyrine	60-80-0	C11H12N2O	189.1022	3.60	0.38	Drug
Atenolol	29122-68-7	C14H22N2O3	267.1703	1.83	0.16	Drug
Caffeine	58-08-2	C8H10N4O2	195.0876	2.98	-0.07	Drug
Carbamazepine	298-46-4	C15H12N2O	237.1022	6.05	2.45	Drug
Fluconazole	86386-73-4	C13H12F2N6O	307.1113	4.15	0.40	Drug
Fluoxetine	54910-89-3	C17H18F3NO	310.1413	7.13	4.05	Drug
Lamotrigine	84057-84-1	C9H7Cl2N5	256.0151	4.02	2.50	Drug
Lidocaine	137-58-6	C14H22N2O	235.1804	3.07	2.44	Drug
Lincomycin	154-21-2	C18H34N2O6S	407.2210	2.82	0.56	Drug
Metformin	657-24-9	C4H11N5	130.1087	0.79	-0.50	Drug
Paraxanthine	611-59-6	C7H8N4O2	181.0720	2.45	-	Drug
Ranitidine	66357-35-5	C13H22N4O3S	315.1485	1.77	0.27	Drug
Sulfamerazine	127-79-7	C11H12N4O2S	265.0753	2.49	0.14	Drug
Sulfamethoxazole	723-46-6	C10H11N3O3S	254.0593	3.48	0.89	Drug
Tramadol	27203-92-5	C16H25NO2	264.1958	3.71	2.40	Drug
Valsartan	137862-53-4	C24H29N5O3	436.2343	8.87	5.80	Drug
Atrazine	1912-24-9	C8H14ClN5	216.1010	6.57	2.61	Pesticide
Azoxystrobin	131860-33-8	C22H17N3O5	404.1240	7.88	2.50	Pesticide
Carbofuran	1563-66-2	C12H15NO3	222.1124	5.64	2.32	Pesticide
Difenoconazole	119446-68-3	C19H17Cl2N3O3	406.0719	11.69	4.40	Pesticide
Hexazinone	51235-04-2	C12H20N4O2	253.1659	5.58	1.85	Pesticide
Metalaxyl	57837-19-1	C15H21NO4	280.1543	6.87	1.65	Pesticide
Myclobutanil	88671-89-0	C15H17ClN4	289.1214	9.02	2.94	Pesticide
Simazine	122-34-9	C7H12ClN5	202.0853	5.52	2.18	Pesticide
Tebuconazole	107534-96-3	C16H22ClN3O	308.1524	10.65	3.70	Pesticide

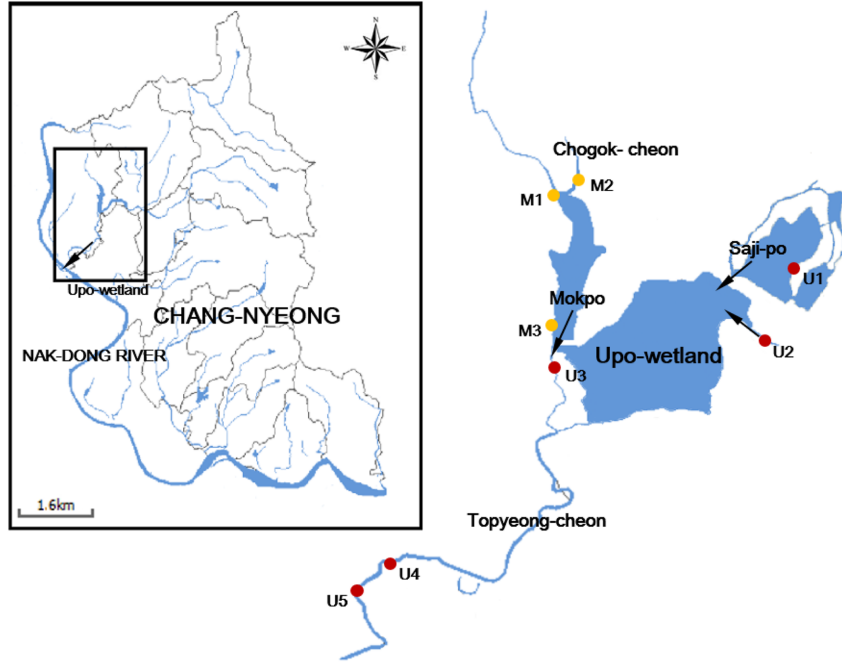


Fig. 1. Field location and sampling sites.

대상 지역은 우포늪으로 유입되는 두 지점과 토평천, 목포늪을 대상으로 총 8지점에서 실시하였다(Fig. 1). 시료 채취는 1 L 갈색 채수병을 이용한 grab sampling이 실시되었으며, 채취된 시료는 냉장 보관되어 실험실로 옮겨졌으며, 전처리 과정 전까지 4°C 냉장 보관되었다.

2.3. 시료 전처리

시료의 전처리 과정은 시료 채취 후, 1일 이내에 실시되었다. 먼저, 시료는 진공 펌프가 연결된 유리 섬유 여과제(Glass microfiber filter; 0.7 μm)를 이용하여 여과되었다. 여과된 시료는 1 L 메스실린더를 이용하여 1 L 용량으로 조정되었다. 필터 처리된 모든 시료에는 buffer (pH 7)와 31종의 내부표준물질이 각각의 필터가 완료된 시료에 100 ng씩 첨가되었다. 시료의 전처리 방법으로는 고상 추출법(Solid phase extraction; SPE)을 적용하였으며 다양한 물리 화학적 특성을 가지는 물질의 분석을 위하여 4종류의 흡착제가 전처리 과정 간에 사용되었다. 사용된 흡착제에 대한 자세한 내용은 Huntscha et al.⁹⁾(2012)에 설명되어 있다. 실험실에서 제조된 SPE 카트리지에는 12 cc용량의 SPE카트리지에 200 mg의 OASIS HLB (Water, Milford, USA)를 상층에 충전시켰으며, 150 mg의 Isolute ENV+ (Biotage; Uppsala, Swe-

den)와 각각 100 mg의 Strata-XCW (Phenomenex; Torrance, USA)와 Strata-XAW (Phenomenex; Torrance, USA) 혼합물을 하단부에 충전시켰다. 제작된 카트리지는 진공 manifold에 고정되었고 카트리지에 시료를 loading하기 전 5 mL의 메탄올과 10 mL의 증류수를 이용하여 카트리지를 conditioning하는 과정을 거쳤다. 1 L의 시료는 분당 약 10 mL의 속도로 카트리지를 통과하였으며 시료 loading이 끝난 카트리지는 고압 질소를 이용하여 1시간 동안 건조되었다. 건조가 완료된 카트리지는 추출을 위하여 6 mL의 alkaline solution (ethyl acetate/methanol 50:50 + 0.5% ammonia)와 3 mL의 acidic solution (ethyl acetate/methanol 50:50 + 1.7% formic acid)를 연속적으로 주입하여 유리관에 추출된 용액을 모은다. 모아진 추출 용액은 질소 농축기를 이용하여 35°C 온도에서 농축되었다. 농축된 추출물은 증류수를 이용하여 최종적으로 1 mL의 용량으로 하였다. 1 mL의 시료는 glass cellulose acetate filter (0.45 μm)를 이용하여 여과된 후, 2 mL vial에 담아 기기 분석 전까지 4°C 냉장보관되었다.

2.4. 분석 방법

시료에 존재하는 분석대상물질을 정확히 분석하기 위

하여 본 연구에서는 LC-HRMS(LC/ESI-MS/MS)가 사용되었다. 분석에 사용된 기기는 Ultimate 3000 ultra high performance liquid chromatography와 Q Exactive+ quadrupole-Orbitrap mass spectrometry (Thermo Fisher scientific; Waltham, USA)이다. 물질의 분리에는 Xbridge C18 column (2.1×100 mm, 3.5 μm; Waters, Milford, USA)를 사용하였다. 물질 분석 간에 pure water + 0.1% formic acid (A)와 methanol + 0.1% formic acid (B)가 이동상으로 이용되었다. 시작단계에서 (A):(B)가 90:10의 비율로 물질 분석을 시작하여 4분까지 이동상(B)의 비율을 50%까지 증가시키며 17분까지 95%로 증가시킨 후 25분까지 유지한다. 25분 후 이동상 (B)는 10%까지 급격히 감소시킨 뒤 5분간 유지시킨다. 기기에 주입되는 시료의 양은 10 μL이며 이동상의 유속은 200 μL/min으로 유지되었다. 분석대상물질의 정량분석을 위한 검정 곡선은 14단계로 구성되었으며 0.1 ng/L에서 2,000 ng/L 범위로 작성하여 정량 분석에 이용되었다.

2.5. 표적 및 정량분석에 대한 QAQC

본 연구의 분석 대상 물질에 대한 QAQC 자료와 정량 분석에 사용된 내부 표준물질은 Table 1에 수록하였다. 검출한계(Limit of detection; LOD) 및 정량한계(Limit of Quantification; LOQ)의 측정방법은 크로마토그램 상에 나타난 피크의 S/N ratio (signal to noise ratio)를 확인하여 측정하였으며 LOD의 경우 S/N ratio 값 3 이상, LOQ는 10 이상의 값을 가질 경우 각각의 한계 값으로 하였다. 또한 강물 시료 내에서의 matrix effect에 따른 분석물질의 회수율을 구하기 위하여 Moschet et al.¹⁰⁾(2014)에 제시되어 있는 방법에 따라 하천 시료 내에서 대상물질의 회수율(relative recovery)을 구하였으며, 분석의 정밀도 확인은 check standard를 이용한 개별 물질의 상대표준편차(RSD)를 구하여 계산하였다. 상대표준편차는 총 5회의 check standard 분석을 통하여 피크 area의 표준편차와 평균값의 비를 통하여 계산되었다.

2.6. 추정 및 비표적 분석방법

추정 분석은 환경 내 존재가 의심되지만 표준물질이 구비되어있지 않은 물질의 분석을 가능하게 한다. 그 존재가 예상되는 물질에 대하여 이온화 과정을 거친 후 예상되는 이온 형태와 exact mass, fragment, isotope pattern 등의 정보를 포함한 suspect list를 작성하며, HRMS의 full scan 과정 중 일정 intensity 이상 감지될 경우

MS/MS 정보를 수집하게 된다. 본 연구의 suspect list로는 Thermo scientific사에서 제공된 1,729종의 물질에 대한 정보를 포함한 EFS HRAM compound database를 사용하였다. 반면, 비표적 분석은 예상되지 못한 즉, suspect list에 포함되어 있지 않지만 시료 내에 존재하는 물질의 분석을 가능하게 한다. Full scan 중 일정 intensity 이상을 나타내는 이온에 대하여 우선적으로 MS/MS 정보가 얻어지게 되며, software (e.g., compound discoverer 2.0)가 측정된 이온의 accurate mass를 바탕으로 확률통계적 방법으로 유력한 물질 후보군을 제시하게 된다. 얻어진 isotope pattern 및 MS/MS 정보는 기존 라이브러리 및 데이터베이스(e.g., mzCloud, massBank 등)와 비교하여 물질확인에 활용되어진다¹¹⁾.

3. 결과 및 고찰

3.1. 표적 분석 결과

모든 표적물질에 대한 검량선의 R² 값은 0.99 이상으로 나타났으며, 검출한계와 정량한계는 atenolol과 metalaxyl (LOD; 5 ng/L, LOQ; 5 ng/L)을 제외한 24종의 모든 물질에서 2 ng/L 이하로 나타났다. 하천 시료 내에서 대상물질의 회수율(relative recovery)은 sulfamerazine (73.79%)을 제외한 다른 모든 물질은 75~125% 범위 안의 회수율을 나타내었다. 분석의 정밀도 위해 계산된 상대표준편차(RSD)는 atrazine(43.97%)를 제외한 모든 물질이 20% 안의 준수한 결과를 나타내었다.

시료채취 지점에 대한 표적 분석 결과 총 26종의 대상 물질 중 의약품 8종, 농약 8종이 최소 1회 이상 검출되었다. 검출된 16종의 대상 물질을 제외한 나머지 물질은 불검출된 것으로 확인되었다. 정량한계 이상으로 검출된 농약과 의약품의 지점마다의 농도와 구성비율은 Fig. 3에 나타내었다. 그 중 가장 높은 농도를 나타낸 물질은 진균제인 tebuconazole (230~3,900 ng/L)과 metalaxyl (53~980 ng/L)이었으며, 당뇨병 치료제인 metformin (20~220 ng/L)이 그 뒤를 따른다(Fig. 2). 남부지방의 경우 마늘의 파종은 9월에서 10월 사이에 시작되고, 이 시기에 병충해 방지를 위해 농약이 살포되는 데, 주로 진균제 성분의 농약들이 사용되는 것으로 알려져 있다. 또한 한국작물보호협회의 자료에 따르면 2017년도 농약생산량 19,848톤 중 진균제 성분의 농약은 5,845톤으로 약 30%를 차지하고 있으며, 출하량 또한 유사한 비율을 나타내고 있다. 본 연구의 시료 채취시기가 11월 말 경인 것을 고려하였을 때, 진균제(tebuco-

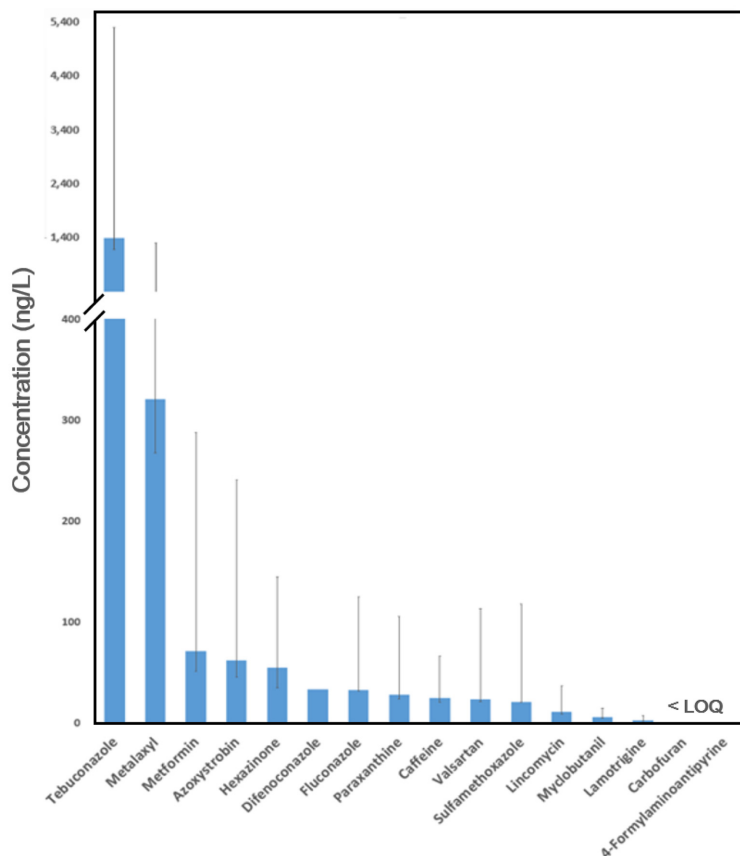


Fig. 2. Average concentration of target compounds detected above the limit of quantification (The upper error bar is the maximum concentration and the lower bar is the minimum concentration).

nazole과 metalaxyl)의 잔류 농도가 높게 나타난 것은 타당한 결과로 판단된다. 또 다른 농약류인 azoxystrobin (16~179 ng/L)과 hexazinone (20~90 ng/L)는 모든 지점(n=8)에서 검출되었다. 그 외의 농약물질로는 difenoconazole 33 ng/L (n=1), myclobutanil 1.02~9.04 ng/L (n=7), carbofuran <LOQ (n=4), 4-formylaminopyrine <LOQ (n=3) 등이 검출되었다. Tebuconazole의 경우 검출농도범위가 하수처리장 방류수 수준과 비슷하거나¹²⁾ 그보다 높게 나타났다¹²⁻¹⁴⁾. 반면, azoxystrobin, hexazinone, metalaxyl은 타 연구의 하천 내에서의 농도 결과와 비슷한 농도를 나타내었고¹⁵⁻¹⁷⁾, difenoconazole, myclobutanil은 더 낮은 농도를 나타내었다^{18,19)}.

의약품의 경우 fluconazole, lincomycin, metformin, valsartan이 8개의 모든 시료채취 지점에서 검출되었으며 그 농도범위는 fluconazole (1.1~92 ng/L), lincomycin (1.9~26 ng/L), metformin (20~220 ng/L), val-

sartan (2.6~89 ng/L)을 나타내었다. 분석된 의약품질 중 metformin이 가장 높은 농도를 나타내었으나, 타 연구의 하천수 농도에 비하여 낮은 농도를 나타내었다²⁰⁾. Fluconazole, lincomycin, 및 valsartan의 경우 하천 내에서 비슷한 수준의 농도를 나타내고 있었다^{21,22)}. 이 외에도 caffeine 3.9~41 ng/L (n=5), lamotrigine 0.71~5.3 ng/L (n=6), sulfamethoxazole <LOQ~97 ng/L (n=7)이 확인되었다. 그 중 caffeine은 타 문헌 하천 분석결과와 유사한 농도를 나타내며^{23,24)}, lamotrigine과 sulfamethoxazole은 우포늪에서 현저히 낮은 농도를 나타내었다^{24,25)}. 이러한 표적분석을 통해 우포늪이 진균제 등 농약에 의해 오염되어 있으며, 생활하수에 의해 일부 의약품 또한 습지 내로 유입되고 있음이 확인되었다.

3.2. 추정 및 비표적 분석 결과

우포늪에 대한 추정 및 비표적 분석 결과, 총 13종의

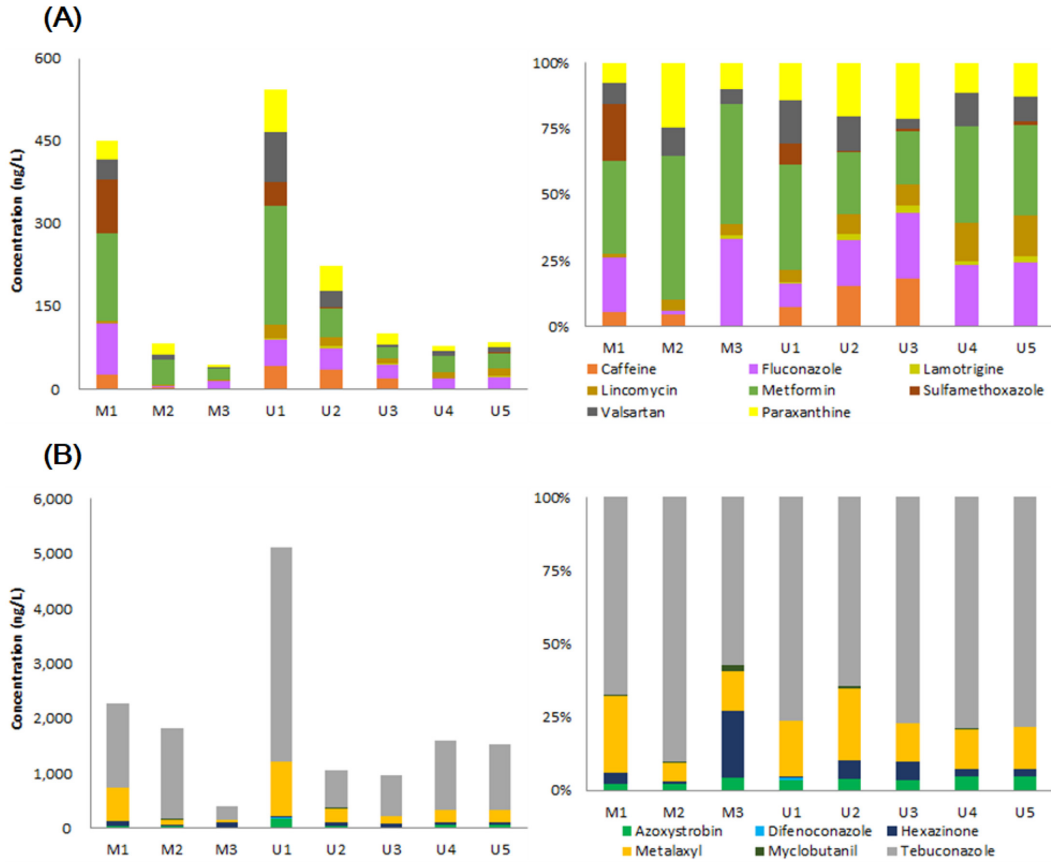


Fig. 3. Cumulative concentration and ratio for drug compounds (A) and pesticides (B) at each sampling site. Carbofuran and 4-formylaminoantipyrine are excluded; their levels were below the limit of quantification.

물질이 잠정적으로 검출되었고 그 결과는 크로마토그램에서 물질 피크와 분자식을 바탕으로 계산하여 얻어진 exact mass와 측정된 accurate mass와 이에 대한 mass error 범위, isotope pattern의 정보를 포함하여 Table 3에 수록하였다. 검출된 크로마토그램 피크에 대한 isotope pattern과 MS/MS정보는 기존 라이브러리 및 데이터베이스(e.g., mzCloud, massBank 등)를 활용하여 비교 분석하였고, 이에 대한 비교 예시를 Fig. 5에 나타내었다. mzCloud는 약 8,000종의 화학물질에 대한 정보를 제공하고 있으며, massBank는 약 5만개 이상의 MS/MS spectra를 제공하고 있다. 또한 추정 및 비표적 분석 결과에서 확인된 대사물질과 모화합물의 비율을 비교하기 위하여 크로마토그램 내에 나타난 각각의 피크 intensity를 비교하였다. 그 중 표적분석에서 가장 높은 농도를 나타낸 tebuconazole은 습지 수계 내에서 활발한 대사활동을 가질 것으로 예상되며, 그 대사물질의 습지

내의 존재 또한 강력히 의심되었다. 참고문헌^{26,27}에 따르면 tebuconazole의 대사물질로는 다양한 물질이 존재하지만 주된 경로는 triazole ring cleavage와 산화에 따른 hydroxylation이다. 그 중 탄소 구조에 hydroxylation이 형성되는 위치에 따라 TEB_M324a, TEB_M324b 및 TEB_M324c가 생성된다²⁷. 본 연구의 추정 및 비표적 분석 결과에서 MS/MS 정보를 바탕으로 확인된 tebuconazole의 대사물질은 TEB_M324c이며 모든 지점에서 검출되었다. 모든 지점에서 모화합물인 tebuconazole의 피크 intensity가 높게 나타났지만, 목포늪과 우포늪의 하류로 갈수록 각 지점마다 TEB_M324c의 피크 intensity 비율이 점점 증가하는 경향을 보였다. 이를 통하여 tebuconazole은 습지 수계를 거치며 TEB_M324c 등의 대사체로 변환되고 하류방향으로 갈수록 그 비율이 증가하는 것으로 판단된다. 또한 마늘 농작물 진균 살균제 농약의 주 성분으로 사용되는 methabenzthia-

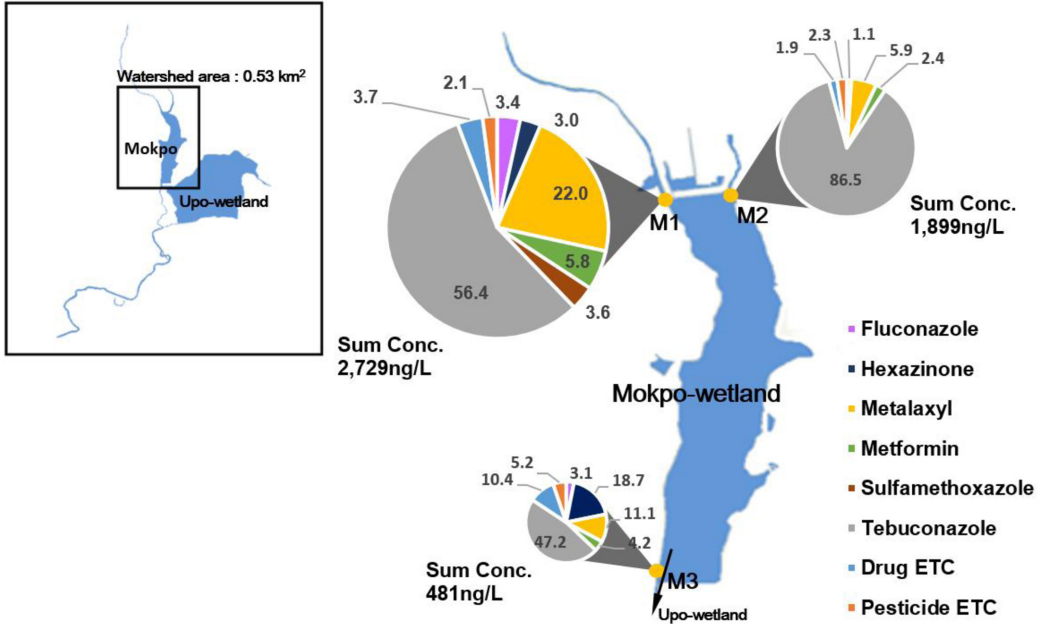


Fig. 4. Partial ratio of target compounds in Mokpo_wetland. Drug ETC; caffeine, lamotrigine, lincomycin, paraxanthine valsartan. Pesticide ETC; azoxystrobin, myclobutanil.

zuron이 모든 시료 채취 지점 8곳에서 피크를 나타내었다. 하지만 database 내에 methabenzthiazuron의 MS/MS 정보가 존재하지 않아 methabenzthiazuron 확인 간에 참고문헌²⁸⁾의 정보를 참조하여 잠정적으로 검출을 확인하였다. Methabenzthiazuron 또한 시료 채취 지점별 피크 intensity가 목포늪에서는 하류로 (M3지점으로) 갈수록, 우포늪에서는 U3지점 가까이서 낮아지는 경향을 보인다. Lányi et al.²⁹⁾(2016)에 따르면 methabenzthiazuron의 주요 대사 경로는 생물학적 분해와 광분해이며, 이를 참조할 경우 우포늪 수계 내에서 methabenzthiazuron의 활발한 대사 활동이 예상된다. 또한 마늘 종에 대한 시중에 유통되고 있는 농약 성분에는 methabenzthiazuron이 주로 함유된 농약이 사용되고 있기 때문에 methabenzthiazuron의 높은 출현 빈도는 우포늪 근처 농업 활동의 주요 산물과 시료 채취 시기를 고려했을 때 타당한 결과로 예상된다. 또한 농작물의 진균 살충제로 사용되는 carbendazim과 tricyclazole도 8곳의 모든 시료 채취지점에서 잠정 검출되었다. 2-aminobenzimidazole은 carbendazim의 주요 대사 물질로 알려져 있으며³⁰⁾ 분석 결과 모든 시료 채취지점에서 확인되었다. 각각의 시료 채취지점에서 나타난 carbendazim과 2-aminobenzimidazole의 피크 intensity를 비교했을 때, 모화합물인 car-

bendazim의 비율이 더 높지만, 목포늪의 경우 M1과 M2지점보다 우포늪으로 유입되는 M3지점에서 2-aminobenzimidazole의 피크 intensity 비율이 크게 증가하는 경향을 나타내었다. 한편, 표적 분석 결과에서 진균 살균제인 metalaxyl이 모든 지점에서 검출되었는데, 이의 주요 대사물질인 metalaxyl acid³¹⁾ 또한 모든 시료 채취 지점에서 잠정 검출되었다. Metalaxyl이 가장 높은 농도를 나타낸 M1과 U1 지점을 제외한 모든 지점에서 metalaxyl acid의 피크 intensity가 metalaxyl보다 더 높게 나타났으며 목포늪과 우포늪의 하류인 M3와 U3 지점에서 가장 높게 나타났다. 두 물질의 피크 intensity의 비율로 보아 metalaxyl은 습지 수계를 거쳐가며 지속적으로 분해되고 있는 것으로 판단된다. Valsartan의 주요 대사체인 valsartan acid 또한 metalaxyl acid와 비슷한 양상을 나타내고 있는데, 모화합물인 valsartan은 8곳의 모든 채취지점에서 검출되었으며 그 대사 물질 또한 모든 지점에서 확인되었다. U1를 제외한 모든 시료채취 지점에서 valsartan acid의 피크 intensity는 valsartan보다 높게 나타났다. 유기인계 농약 중 하나인 diazinon의 주요 대사물질로 2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol이 알려져 있다³²⁾. 하지만 다른 물질들과는 다르게 diazinon이 M1지점에서만 피크가 확인되었고, 대사물질인 2-

Table 3. Suspect and nontarget screening compounds

Compound name	Cas No.	Formula	[M+H]	RT (min)	Frequency (%) (n=8)	Class
Benzotriazole*	95-14-7	C6H5N3	120.0556	3.37	62.5	Corrosion inhibitor
Carbendazim*	10605-21-7	C9H9N3O2	192.0767	2.58	100.0	Pesticide
Diazinone*	333-41-5	C12H21N2O3PS	305.1083	10.66	12.5	Pesticide
Hexaconazole*	79983-71-4	C14H17Cl2N3O	314.0821	11.15	75.0	Pesticide
Metalaxyl acid*	87764-37-2	C14H19NO4	266.1386	6.21	100.0	TP of metalaxyl
Methabenzthiazuron*	18691-97-9	C10H11N3OS	222.0695	6.49	100.0	Pesticide
Tricyclazole*	41814-78-2	C9H7N3S	190.0433	4.63	100.0	Pesticide
TEB_M324c*	-	C16H22ClN3O2	324.1473	10.06	100.0	TP of tebuconazole
Niflumic acid	4394-00-7	C13H9F3N2O2	283.0688	10.50	100.0	Drug
2-Aminobenzimidazole	934-32-7	C7H7N3	134.0712	2.13	100.0	TP of carbendazim
2-Isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol	2814-20-2	C8H12N2O	153.1022	2.71	100.0	TP of diazinone
Valsartan acid	-	C14H10N4O2	267.0876	5.32	100.0	TP of valsartan
Retrorsine	480-54-6	C18H25NO6	352.1754	3.66	50.0	Plant toxin

*suspect screening.

isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol의 피크는 모든 시료채취 지점에서 검출되었다. 이 외에 추정 및 비표적 분석으로 확인된 물질은 의약품인 niflumic acid가 모든 지점에서 잠정 검출되었다. Niflumic acid는 근육이완제 물질의 주 성분으로 사용된다. 또한 식물 독소 성분인 retrorsine이 검출되었는데, 이는 우포늪에 서식하는 식물에서 기인한 것으로 판단된다. 결과적으로, 추정 및 비표적 분석을 통하여 우포늪 주변의 주요 작물인 마늘과 양파의 재배에 사용되는 농약의 주 성분인 methabenzthiazuron과 다양한 대사체들을 잠정적으로 확인하였으며, 이들에 대한 검증 및 정량평가를 위해서는 표준물질을 이용한 표적분석이 요구된다.

3.3. 오염물질의 목포늪 내 거동

목포늪과 우포늪 사이에는 인공 제방이 형성되어 있어 분리된 수리학적 경계를 가지며 이를 통해 목포늪이 우포늪과는 독립된 습지환경을 유지하게 한다. 목포늪은 약 300m의 폭을 가지며 약 1.5km의 길이와 0.53km²의 면적을 가지는 습지이다. 목포늪에는 초곡천 등 2개의 소하천이 북쪽에서 남쪽 방향으로 유입되고 있고, 늪의 남쪽에 우포늪으로 유출되는 수로가 연결되어 있다 (Fig. 4). 각 유입하천의 유입시작 지점 M1 및 M2와 우포늪으로 유출되기 전 지점인 M3에서 확인된 분석결과는 목포늪에서의 오염물질거동을 이해하기 위한 중요한 단서를 제공해준다. 해당 지점에서 검출된 모든 물질의 누적 농도를 Fig. 4에 나타내었다. 정량 분석된 물질의 누적 농도는 M1 지점에서 2,700 ng/L로 M2 지점의

1,900 ng/L보다 약 1.4배 가량 높은 누적 농도를 나타냈다. 이에 따라 목포늪에 미치는 영향은 초곡천보다 소하천(M1)으로부터의 영향이 더 큰 것으로 판단된다. 또한 분석된 오염물질의 구성성분 중 대부분은 농약 물질이며 그 비율은 최소 82.3%에서 최대 95.7%로 대부분을 차지하고 있다. 그 중 tebuconazole, metalaxyl 및 hexazinone의 순서로 높은 비율을 차지하고 있다. 목포늪의 상류 지점에 위치한 창녕군 이방면 안리 지역은 대부분의 토지가 농경지로 이용되고 있으며 따라서 목포늪 수계에 주된 영향을 미치는 오염원은 농업 활동에 의한 농약에 의한 것이라고 추정할 수 있다. 하지만 목포늪에서의 유속은 육안으로 판단하기에 매우 느린 속도로 흐르고 있으며 목포늪으로 유입된 오염물질은 장기간 수계에 머무르게 된다. 이는 오염물질이 습지 수계 내에 있는 미생물들과 식생에 의하여 분해될 수 있는 충분한 시간을 가지게 하며, 느린 유속은 오염물질이 부유물질 등에 부착되어 퇴적될 수 있는 여건을 제공한다. 따라서 목포 습지 수계 내에서의 오염물질의 농도 감소가 기대된다. 자연습지와 유사한 기능을 가지는 인공습지에서도 tebuconazole의 높은 제거효율이 보고된바 있다³³⁾. 이와 유사하게, 본 연구의 표적분석결과 tebuconazole은 M1와 M2 지점에서 각각 1,500 ng/L, 1,600 ng/L를 나타냈지만 최종적으로 230 ng/L의 농도로 상당한 농도의 감소를 거친 후 우포늪으로 유입되는 것을 확인할 수 있었다. 이 외에도 metalaxyl 등 일부 물질들도 tebuconazole과 비슷한 양상을 나타내고 있다. 이러한 결과는 tebuconazole 등이 목포늪에서 제거되고 있음을 확

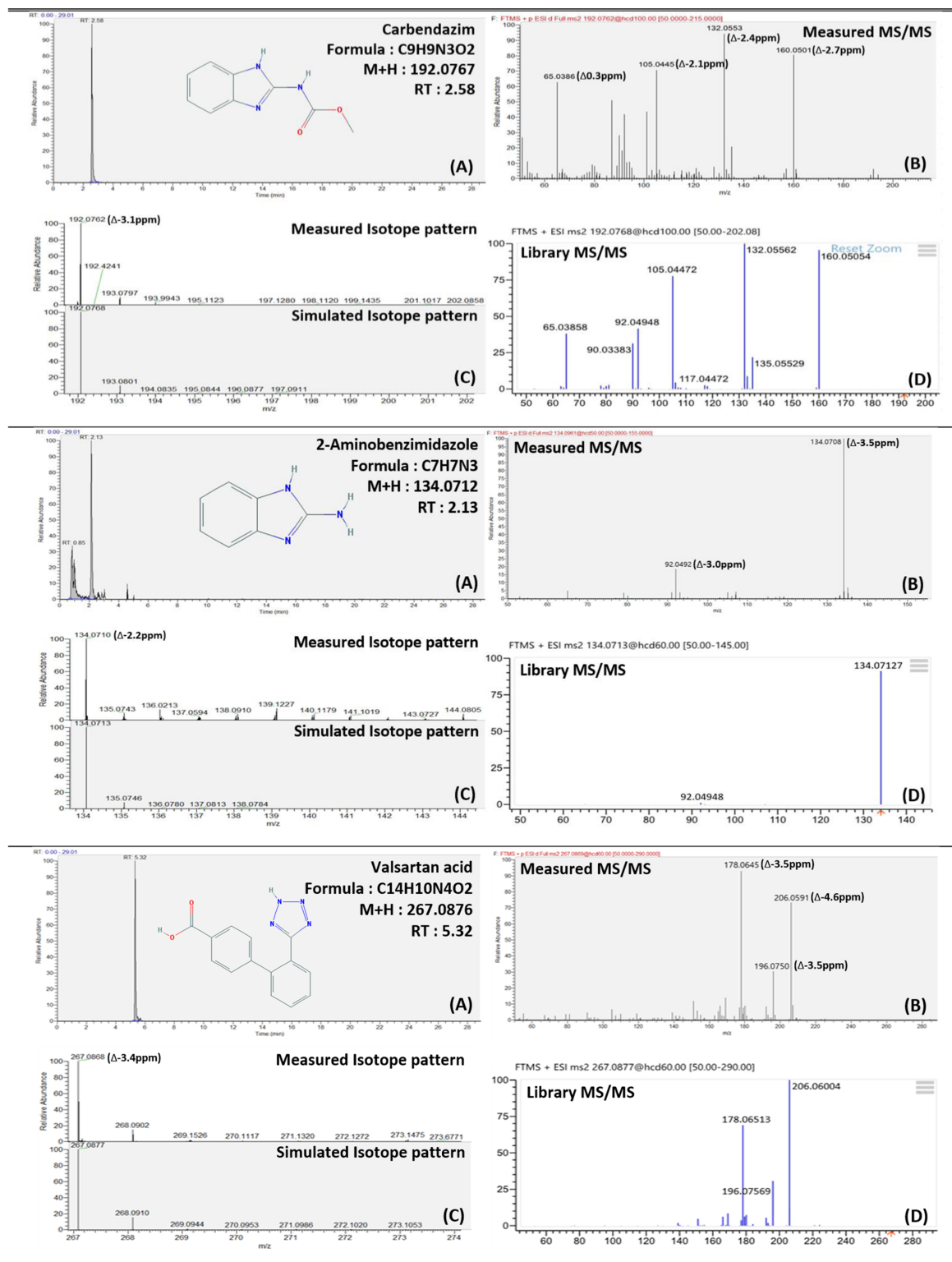


Fig. 5. Examples of suspect and nontarget screening evidences. (A); peak on a chromatogram, (B); MS/MS in sample, (C); isotope pattern in sample and simulation, (D); library MS/MS.

인할 수 있으나, 그 근저의 제거 기작 또는 원인을 확인하기 위해서는 보다 다양한 분석정보가 필요하다. 이를 위해, 추후 대사체 연구 및 목표물에 대한 물질수지 연구 등을 통해 제거 기작에 대한 확인이 필요할 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구는 경상남도 창원군에 위치한 우포늪과 부속 습지인 목포늪에 잔류하는 미량오염물질에 대하여 고분해능 질량분석기를 활용한 표적, 추정 및 비표적 분석을 통하여 그 노출실태를 파악하고자 하였다. 총 26종의 오염물질에 대한 표적분석결과 우포늪 수계로 유입되는 오염물질로는 tebuconazole, metalaxyl, metformin 등이 주요한 오염물질로 나타났으며, 진균계 계열의 농약성분의 농약이 상대적으로 높은 농도를 나타내었다. 따라서 우포늪에 대한 영향은 농업활동에 의한 농약 성분의 유입이 주된 오염원으로 판단된다. 또한, 추정 분석 결과로 benzotriazole, carbendazim, diazinone, hexaconazole, metalaxyl acid, methabenzthiazuron, tricyclazole, TEB_M324c 등이, 비표적 분석 결과로는 niflumic acid, 2-aminobenzimidazole, 2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinol, valsartan acid, retrorsine이 잠정적으로 검출되었다. 우포늪 수계로는 다양한 오염물질이 유입되지만, tebuconazole 등의 물질이 습지 수계에 체류하면서 지속적으로 제거되고 있는 것으로 나타났다. 또한 추정, 비표적 분석 결과를 통해 tebuconazole, metalaxyl, valsartan 등의 대사물질들이 잠정 검출되었고, 이는 습지 수계가 오염물질의 분해에 영향을 미치고 있음을 암시하고 있다. 추후 연구에서는 잠정 검출된 물질들에 대한 표준물질을 구비하여 존재검증 및 정량분석이 필요하며 이를 통해 우포늪에 대한 오염물질 노출 및 거동연구가 뒷받침될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2017~2018년 창원대학교 자율연구과제 연구비 지원으로 수행된 연구결과임.

참고문헌

1. R. C. Rooney, L. Foote, N. Krogman, J. K. Pattison, M. J. Wilson, and S. E. Bayley, "Replacing natural wetlands with stormwater management facilities: Bio-physical and perceived social values", *Water Research*, **2015**, 73, 17-28.
2. X. P. Huang, L. M. Huang, and W. Z. Yue, "The characteristics of nutrients and eutrophication in the Pearl River estuary, South China", *Marine Pollutant Bulletin*, **2003**, 47, 30-36.
3. T. Saeed and G. Sun, "A review on nitrogen and organics removal mechanisms in subsurface flow constructed wetlands: Dependency on environmental parameters, operating conditions and supporting media", *Journal of Environmental Management*, **2012**, 112, 429-448.
4. J. Vymazal, "Removal of nutrients in various types of constructed wetlands", *Science of the Total Environment*, **2007**, 380, 48-65.
5. A. M. Gorito, A. R. Ribeiro, C. M. R. Almeida, and A. M. T. Silva, "A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation", *Environmental Pollutant*, **2017**, 227, 428-443.
6. J. Vymazal, "Constructed wetlands for treatment of industrial wastewaters: A review", *Ecological Engineering*, **2014**, 73, 724-751.
7. R. Reinoso, L. A. Torres, and E. Bécares, "Efficiency of natural systems for removal of bacteria and pathogenic parasites from wastewater", *Science of the Total Environment*, **2008**, 395, 80-86.
8. 낙동강유역환경청, "우포늪 습지보호지역 보존계획", **2016**.
9. S. Huntscha, H. P. Singer, C. S. McArdeell, C. E. Frank, and J. Hollender, "Multiresidue analysis of 88 polar organic micropollutants in ground, surface and wastewater using online mixed-bed multilayer solid-phase extraction coupled to high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2012**, 1268, 74-83.
10. A. Moschet, S. Anliker and J. Hollender, "How a complete pesticide screening changes the assessment of surface water quality", *Environmental Science & Technology*, **2014**, 48, 5423-5432.
11. J. Jeon, N. Park, and S. Lee, "Application of target, suspect, nontarget screening methods based on high resolution mass spectrometry for the identification of micropollutants and their transformation products in aquatic environments: A review", *Journal of the Korean Society for Environmental Analysis*, **2016**, 4, 225-245.
12. N. Stamatis, D. Hela, and I. Konstantinou, "Occurrence and removal of fungicides in municipal sewage treatment plant.", *Journal of Hazardous Materials*, **2010**, 1-3, 829-835.

13. Y. Luo, W. Guo, H.Ngo, L.Nghiem, F. Hai, J. Zhang, S. Liang and X. Wang, "A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment", *Science of the Total Environment*, **2014**, 473-474, 619-641.
14. M. Kahle, J. Buerge, A. Hauser, M. Muller and T. Poiger, "Azole fungicides: Occurrence and fate in wastewater and surface waters azole fungicides: Occurrence and fate in wastewater and surface waters", *Environmental Science & Technology*, **2008**, 42, 7193-7200.
15. T. J. Reilly, K. L. Smalling, J. L. Orlando, and K. M. Kuivila, "Occurrence of boscalid and other selected fungicides in surface water and groundwater in three targeted use areas in the United States", *Chemosphere*, **2012**, 3, 228-234.
16. U.S. Geological Survey, "Pesticides in Wyoming's Rivers, 2006-10", **2011**, Fact Sheet 2011-3011.
17. A. Bermúdez-Couso, D. Fernández-Calviño, M. A. Álvarez-Enjo, J. Simal-Gándara, J. C. Nóvoa-Muñoz, and M. Arias-Estévez, "Pollution of surface waters by metalaxyl and nitrate from non-point sources", *Science of the Total Environment*, **2013**, 461-462, 282-289.
18. R. A. Rämö, P.J. van den Brink, C. Ruepert, L. E. Castillo, and J. S. Gunnarsson, "Environmental risk assessment of pesticides in the River Madre de Dios, Costa Rica using PERPEST, SSD, and msPAF models", *Environmental Science and Pollution Research*, **2016**, 14, 13254-13269.
19. E. Herrero-Hernández, M. S. Andrades, A. Álvarez-Martín, E. Pose-Juan, M. S. Rodríguez-Cruz, and M. J. Sánchez-Martín, "Occurrence of pesticides and some of their degradation products in waters in a Spanish wine region", *Journal of Hydrology*, **2013**, 486, 234-245.
20. C. Trautwein, J. D. Berset, H. Wolschke, and K. Kümmerer, "Occurrence of the antidiabetic drug Metformin and its ultimate transformation product Guanylurea in several compartments of the aquatic cycle", *Environment International*, **2014**, 70, 203-212.
21. 국립환경과학원, "잔류의약품질 분석방법 연구 및 실태조사(IV)", **2011**.
22. B. Kasprzyk-Hordern, R. M. Dinsdale, and A. J. Guwy, "The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK", *Water Research*, **2008**, 13, 3498-3518.
23. J. Robles-Molina, B. Gilbert-López, J. F. García-Reyes, and A. Molina-Díaz, "Monitoring of selected priority and emerging contaminants in the Guadalquivir River and other related surface waters in the province of Jaén, South East Spain", *Science of the Total Environment*, **2014**, 1, 247-257.
24. R. P. Deo, "Pharmaceuticals in the surface water of the USA: A review", *Current Environmental Health Reports*, **2014**, 2, 113-122.
25. I. Ferrer and E. M. Thurman, "Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2012**, 1259, 148-157.
26. D. N. Obanda and T. F. Shupe, "Biotransformation of tebuconazole by microorganisms: Evidence of a common mechanism.", *About Wood Fiber and Science*, **2009**, 2, 157-167.
27. A. Rösch, S. Anliker, and J. Hollender, "How biotransformation influences toxicokinetics of azole fungicides in the aquatic invertebrate gammarus pulex", *Environmental Science & Technology*, **2016**, 13, 7175-7188.
28. M. G. López, R. J. Fussell, S. L. Stead, D. Roberts, M. McCullagh, and R. Rao, "Evaluation and validation of an accurate mass screening method for the analysis of pesticides in fruits and vegetables using liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry with automated detection", *Journal of Chromatography A*, **2014**, 1373, 40-50.
29. K. Lányi, P. Laczay, and J. Lehel, "Effects of some naturally occurring substances on the photodegradation of herbicide methabenzthiazuron", *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2016**, 1, 123-129.
30. M. Sandahl, L. Mathiasson, and J. a. Jönsson, "Determination of thiophanate-methyl and its metabolites at trace level in spiked natural water using the supported liquid membrane extraction and the microporous membrane liquid-liquid extraction techniques combined online with high-performance liquid ch", *Journal of Chromatography A*, **2000**, 1, 123-131.
31. A. Monkiedje and M. Spiteller, "Sorption behavior of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, and their acid metabolite in typical Cameroonian and German soils", *Chemosphere*, **2002**, 6, 659-668.
32. M. S. Díaz-Cruz and D. Barceló, "Highly selective sample preparation and gas chromatographic-mass spectrometric analysis of chlorpyrifos, diazinon and their major metabolites in sludge and sludge-fertilized agricultural soils", *Journal of Chromatography A*, **2006**, 1-2, 21-27.
33. T. Lyu, L. Zhang, X. Xu, C. A. Arias, H. Brix, and P. N. Carvalho, "Removal of the pesticide tebuconazole in constructed wetlands: Design comparison, influencing factors and modelling.", *Environmental Pollution*, **2018**, 233, 71-80.