

LC-HRMS 기반의 표적, 추정 및 비표적 분석기법을 이용한 화포습지 내 미량오염물질 및 대사체 분석

황수민¹ · 전준호^{1,2,†}

¹창원대학교 환경공학과, ²창원대학교 토목환경화학공융합부

Analysis of Micropollutants and Their Metabolites in the Hwapo Wetland through Target, Suspect, and Non-target Screening Using LC-HRMS

Sumin Hwang¹ and Junho Jeon^{1,2,†}

¹Department of Environmental Engineering, Changwon National University, Changwon, Korea

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

Received November 16, 2018/Revised November 28, 2018/Accepted December 6, 2018

Located in Gimhae, Hwapo is the biggest riverine wetland in the province of Gyeongsangsam-do, Korea, and is a major habitat for various species. However, it is suspected that various pollutants enter the wetlands from agricultural and industrial areas. This study identifies major organic pollutants in this wetland and their sources using high performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry during one summer season. Forty-five substances were selected for quantitative analysis using target screening, and other non-selected compounds were screened using suspect and non-target screening methods. The results were that 21 and 17 targeted substances were detected in July and August, respectively. Major pollutants in July and August were oxadiazon (July: 17-220 ng/L, August: 66-460 ng/L), carbendazim (July: 10-110 ng/L, August: 64-520 ng/L), caffeine (July: 33-1,100 ng/L, August: 56-580 ng/L), and niflumic acid (July: 23-75 ng/L, August: 42-290 ng/L). Sampling sites S4 in July and S2 in August were the major inflow points. Ten substances (tricyclazole, hexaconazole, diuron, fexofenadine, irbesartan, simetryn, cimetidine, valsartan, tebuconazole, and benzotriazole) and four metabolites (valsartan acid, azoxystrobin acid, TEB_M324c, and 2-aminobenzimidazole) were tentatively identified through suspect and non-target screening, respectively.

Key words: Hwapo wetland, Suspect/non-target screening, Transformation product, Metabolites, LC-HRMS

1. 서 론

습지는 물과 땅의 중간단계인 지형적 특성을 가지며 특유의 느린 유속으로 주변에서 유입되는 유기물이 오랫동안 침전되어 두꺼운 퇴적층을 이루고 있는 지역이다. 이는 다양한 생물들의 서식지로 이용되어 타 지역에 비해 매우 뛰어난 생물다양성을 보이는 생태적인 가치가 높은 곳이다. 그러나 현대에는 대부분의 습지 인근에 주거지역과 농업지역, 공업지역 등이 위치하고 있으며,

이를 통해 생활하수와 농약, 산업폐수 등 다양한 오염물질들이 습지 내로 유입된다. 습지 수계 내에 유입된 오염물질들은 부영양화의 원인이 되거나 수생생물에 부정적 영향을 미칠 것으로 우려되고 있다.

화포천은 경상남도 김해시 진례면 대암산(669m)에서 발원하여 진례면-진영읍과 한림면을 거쳐 낙동강으로 유입되는 배후 습지로, 중류부터 하류까지 약 1.244 km²의 면적을 지닌 국내 최대의 하천형 습지이다. 화포천에는 422종의 식물과 조류 77종, 곤충 175종, 어류 26종,

[†]To whom correspondence should be addressed.

포유류 15종 등 총 812종의 다양한 생물종이 서식하고 있으며 세계적인 멸종위기 야생생물인 황새가 도래하는 지역¹⁾으로, 환경적 가치를 인정받아 2017년 11월 23일 환경부로부터 습지보호지역으로 지정되었다. 화포천 유역에는 1990년대를 기점으로 다수의 산업단지가 지천을 따라 들어서기 시작하였고, 그 주변에는 32,400가구(18년 9월 현재)가 거주하고 있다. 또한, 화포천 주변 용지의 약 30%가 논과 밭으로 이용되고 있는데, 주로 벼와 감 및 딸기 등의 과일농사가 주를 이루고 있다. 화포천 주변의 이러한 농업 및 농업활동은 습지에 존재하는 다양한 유해화학물질(e.g., 산업유기용제, 농약 등)의 주요 요인으로 판단된다. 뿐만 아니라, 습지 유역 내에는 3개의 골프장이 운영되고 있는데, 이곳에서 사용되는 제초제 또한 습지로 유입되고 있을 것으로 추정된다. 화포천은 경남 및 부산지역의 식수원으로 사용되는 낙동강으로 유입되기 때문에, 습지에서 검출된 유해화학물질은 필연적으로 낙동강으로 유입되어 상수원의 품질을 저해시키고 시민의 안전을 위협하고 있다.

한편, 습지에는 다양한 동식물 및 미생물이 존재하는데, 이들은 습지로 유입된 오염물질의 정화에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 예를 들어, 습지 식물의 뿌리를 통해 중금속이 제거되기도 하고²⁾, 질소 및 인을 제거한다.^{3,4)} 또한, 농약 및 의약품물질을 분해하여 환경변환물질(transformation products, TPs) 및 대사체(metabolites)를 생성해 독성을 저감시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.^{5,6)}

본 연구에서는 고성능 액체크로마토그래피와 고분해능 질량분석기(High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry, HPLC-HRMS)를 이용한 표적분석으로 2018년도 화포천의 오염물질 실태를 파악하였다. 또한, 표준물질 없이도 오염물질의 존재유무를 확인할 수 있는 추정 및 비표적분석 기법(suspect and nontarget screening method)을 이용하여, 표적분석에 제외된 오염물질에 대한 정성분석을 수행하고 이를 통해 습지에 존재하는 주요 오염물질 정보를 확대/개선하였다. 이러한 분석기법, 즉 표적/추정/비표적분석기법을 통해 화포천의 주요오염원을 파악하고, 강우 발생시 추가적으로 유입되는 오염원을 확인하였으며, 화포천으로 유입되는 지천들을 분석하여 주요 오염물질의 유입지점을 확인하고자 하였다. 이와 함께, 화포천에서 형성된 TPs 및 대사체에 대한 정성분석을 수행하여 습지의 오염물질 분해능력을 확인 및 가늠하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 표준물질

본 연구에서 시료 전처리에서 사용된 메탄올과 에탄올, 아세트산에틸, 암모니아수는 Fisher Scientific (Hampton, USA)에서 구입하였고 포름산은 Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다. 시료 내의 물질을 추출해내기 위한 카트리지는 많은 물질을 한번에 분석하기 위해 Multi-layer 카트리지를 사용하였다.⁷⁾ 카트리지 제작에 사용된 Oasis HLB는 Waters (Milford, USA), Strata-XAW와 Strata-XCW는 Phenomenex (Torrance, USA), Isolute ENV+는 Biotage (Uppsala, Sweden)에서 구입하여 사용하였다. 정량분석에 사용된 표준물질은 총 45종으로 물질에 대한 명칭과 Cas No., 분자식, m/z와 사용된 내부표준물질을 Table 1에 나타내었다. 내부표준물질은 총 34종이 사용되었으며, 이들 중 (+)-naproxen-(methoxy-¹³C, D₃), acetaminophen-D₄, acetamidrid-D₃, alachlor-D₁₃, azoxystrobin-(cyanophenoxy-D₄), bentazon-D₇, carbamazepine-¹³C₆ solution, carbofuran-D₃, diuron-D₆, fenbendazole-D₃, fluoxetine-D₅, mefenamic acid-(benzoic ring-¹³C₆), myclobutanil-(phenyl-D₄), niflumic acid-(phenyl-¹³C₆), prochloraz-(ethylene-D₄), simazine-D₁₀, sulfadiazine-(phenyl-¹³C₆), sulfamethazine-(phenyl-¹³C₆) hemihydrate, sulfamethoxazole-(phenyl-¹³C₆), sulfapyridine-(phenyl-¹³C₆), sulfathiazole-(phenyl-¹³C₆), thiacloprid-(thiazolidin ring-D₄), tramadol-¹³C, D₃ hydrochloride solution은 Sigma-aldrich (St. Louis, USA)에서 구입하였으며 theophylline-D₆, antipyrine-D₃, atenolol acid (metoprolol acid-D₅), caffeine-¹³C₃, carbendazim-D₄, diclofenac-¹³C₆, losartan-D₄, pyrimethanil-D₅, ranitidine-D₆ hydrochloride, sulphiride-D₃, venlafaxine-D₆은 Toronto research chemicals (Toronto, Canada)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 시료 채취

농촌진흥청(<http://www.nongsaro.go.kr>)에 따르면 벼농사는 주로 4월부터 9월까지 병충해가 생기며 그 중 7월과 8월에 병해충이 많이 발생하므로 해당 시기에 농약을 집중적으로 살포한다. 이를 바탕으로 시료 채취는 2018년 7월 9일과 8월 10일, 두차례에 걸쳐 수행하였다. 각 시료채취 지점에서 grab sampling방법으로 채취하였다. 기상청 자료에 따르면 7월의 시료채취가 이루어진 9일까지

Table 1. Target compound list with information on instrumental analysis and relevant QA/QC

Compound	ISTD	R ²	RT (min)	CAS No.	Formula	[M+H]	LOD	LOQ	Rel. recovery	RSD (%)
4-formylamino-antipyrine	Carbendazim-D ₄	0.9965	2.8	1672-58-8	C12H13N3O2	232.1081	0.1	5	111.39	0.4
5,6-dimethyl benzimidazole	Antipyrine-D ₃	0.9980	3.4	582-60-5	C9H10N2	147.0917	0.1	5	109.99	0.8
Acetaminophen	Acetaminophen-D ₄	0.9943	1.8	103-90-2	C8H9NO2	152.0706	0.1	2	114.01	1.8
Acetamidiprid	Acetamidiprid-D ₃	0.9966	4.0	135410-20-7	C10H11CIN4	223.0745	0.1	5	103.98	1.5
Ampicillin	Bentazon-D ₇	0.9984	4.4	69-53-4	C16H19N3O4 S	350.1169	0.1	1	96.68	0.3
Antipyrine	Antipyrine-D ₃	0.9989	3.5	60-80-0	C11H12N2O	189.1023	0.1	2	113.94	0.9
Azoxystrobin	Azoxystrobin-(Cyanophenoxy-D ₄)	0.9911	7.9	131860-33-8	C22H17N3O5	404.1241	0.1	5	97.42	0.5
Bisoprolol	Pyrimethanil-D ₅	0.9998	4.8	66722-44-9	C18H31NO4	326.2326	0.1	2	110.20	1.1
Boscalid	Fenbendazole-D ₃	0.9994	8.3	188425-85-6	C18H12Cl2N2 O	343.0400	10	20	118.71	0.2
Caffeine	Caffeine- ¹³ C3	0.9959	3.0	58-08-2	C8H10N4O2	195.0877	0.1	10	101.55	0.7
Carbendazim	Carbendazim-D ₄	0.9992	2.6	10605-21-7	C9H9N3O2	193.0768	0.1	2	122.72	0.4
Cefadroxil	Atenolol Acid (Metoprolol Acid-D ₅)	0.9973	4.7	66592-87-8	C16H17N3O5 S	364.0962	5	10	116.52	2.3
Climbazole	Pyrimethanil-D ₅	0.9984	6.3	38083-17-9	C15H17CIN2 O2	293.1051	0.1	5	98.73	1.1
Cycloate	Diclofenac- ¹³ C6	0.9943	11	1134-23-2	C11H21NOS	216.1417	0.5	2	107.55	0.4
Dimethomorph	Myclobutanil-(Phenyl-D ₄)	0.9987	8.6	110488-70-5	C21H22CINO 4	388.1310	0.1	2	87.42	1.3
Edifenphos	Prochloraz-ethylene-D ₄	0.9987	10	17109-49-8	C14H15O2PS 2	310.0246	10	10	106.04	1.0
Ethylparaben	Carbamazepine- ¹³ C6 Solution	0.9956	6.0	120-47-8	C9H10O3	153.0546	2	100	116.25	3.5
Fenbendazole	Fenbendazole-D ₃	0.9940	7.5	43210-67-9	C15H13N3O2 S	300.0801	0.1	5	119.20	0.8
Fluconazole	Pyrimethanil-D ₅	0.9996	4.1	86386-73-4	C13H12F2N6 O	307.1113	0.1	1	111.38	0.8
Fluoxetine	Fluoxetine-D ₅	0.9992	7.3	54910-89-3	C17H18F3NO	310.1413	0.1	5	115.31	1.4
Lamotrigine	Tramadol- ¹³ C, D ₃ Hydrochloride Solution	0.9995	4.1	84057-84-1	C9H7Cl2N5	256.0151	0.1	1	91.82	0.3
Lincomycin	Sulfamethazine-(Phenyl- ¹³ C6) Hemihydrate	0.9901	2.8	154-21-2	C18H34N2O6 S	407.2210	0.1	5	95.99	1.1
Losartan	Losartan-D ₄	0.9960	7.1	114798-26-4	C22H23CIN6 O	423.1695	0.1	5	106.94	2.1
Methoxyfenozide	Alchlor-D13	0.9986	8.7	161050-58-4	C22H28N2O3	369.2173	0.1	2	101.26	5.6
Myclobutanil	Myclobutanil-(Phenyl-D ₄)	0.9921	9.0	88671-89-0	C15H17CIN4	289.1215	0.1	5	102.69	1.1
Naproxen	(+)-naproxen-(Methoxy- ¹³ C, D ₃)	0.9983	8.0	22204-53-1	C14H14O3	231.1016	0.1	2	87.92	2.2
Niflumic Acid	Niflumic Acid- ¹³ C6	0.9999	11	4394-00-7	C13H9F3N2O 2	283.0689	0.1	2	109.56	1.1
Oxadiazon	Mefenamic Acid-(Benzoic Ring- ¹³ C6)	0.9916	13	19666-30-9	C15H18Cl2N2 O3	345.0767	1	5	89.80	1.3
Oxcarbazepine	Carbofuran-D ₃	0.9982	5.3	28721-07-5	C15H12N2O2	253.0972	0.1	2	101.14	1.2

Table 1. Continued

Compound	ISTD	R ²	RT (min)	CAS No.	Formula	[M+H]	LOD	LOQ	Rel. recovery	RSD (%)
Pindone	Mefenamic Acid-(Benzoic Ring- ¹³ C ₆)	0.9951	12	83-26-1	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	231.1016	0.1	5	91.30	0.4
Prochloraz	Prochloraz-ethylene-D ₄	0.9952	10	67747-09-5	C ₁₅ H ₁₆ C ₁₃ N ₃ O ₂	376.0381	0.1	10	104.20	0.7
Propachlor	Diuron-D ₆	0.9906	6.8	1918-16-7	C ₁₁ H ₁₄ C ₁ N ₁ O	212.0837	0.1	5	115.98	0.7
Propanil	Fenbendazole-D ₃	0.9983	8.0	709-98-8	C ₉ H ₉ C ₁₂ N ₁ O	218.0134	0.1	5	108.35	0.3
Ranitidine	Ranitidine-D ₆ Hydrochloride	0.9973	1.8	66357-35-5	C ₁₃ H ₂₂ N ₄ O ₃ S	315.1485	0.1	5	116.62	1.1
Simazine	Simazine-D ₁₀	0.9990	5.5	122-34-9	C ₇ H ₁₂ C ₁ N ₅	202.0854	0.1	5	109.39	1.5
Sulfachloropyridazine	Sulfamethoxazole-(Phenyl- ¹³ C ₆)	0.9938	3.3	80-32-0	C ₁₀ H ₉ C ₁ N ₄ O ₂ S	285.0208	0.1	2	103.05	1.1
Sulfadiazine	Sulfadiazine-(Phenyl- ¹³ C ₆)	0.9951	1.9	68-35-9	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	251.0597	0.1	5	115.60	0.2
Sulfamerazine	Sulfapyridine-(Phenyl- ¹³ C ₆)	0.9986	2.4	127-79-7	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	265.0754	0.1	2	118.98	0.4
Sulfamethoxazole	Sulfamethoxazole-(Phenyl- ¹³ C ₆)	0.9961	3.4	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	254.0594	0.1	5	112.99	0.3
Sulfathiazole	Sulfathiazole-(Phenyl- ¹³ C ₆)	0.9983	2.2	72-14-0	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	256.0209	0.1	5	112.04	1.0
Sulpiride	Sulpiride-D ₃	0.9992	1.6	15676-16-1	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	342.1482	0.1	2	115.89	1.5
Theophylline	Theophylline-D ₆	0.9981	2.5	58-55-9	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	181.0720	0.1	5	116.55	1.3
Thiacloprid	Thiacloprid-(Thiazolidin Ring-D ₄)	0.9995	4.4	111988-49-9	C ₁₀ H ₉ C ₁ N ₄ S	253.0309	0.1	2	104.74	1.2
Venlafaxine	Venlafaxine-D ₆	0.9978	5.0	93413-69-5	C ₁₇ H ₂₇ N ₁ O ₂	278.2115	0.1	2	115.15	0.6
Venlafaxine N-Oxide	Venlafaxine-D ₆	0.9968	5.2	1094598-37-4	C ₁₇ H ₂₇ N ₁ O ₃	294.2064	0.1	5	118.16	0.6

지의 김해시 7월 누적 강수량은 112.3 mm를 기록하였으며, 이로 인한 비점오염원의 영향이 클 것으로 예상되었다. 시료 채취 지점은 Fig. 1에 나타내었다. 시료 채취 지점은 화포천 본류 7개 지점과 농약 및 의약품이 유입되고 있을 것으로 의심되는 5개 지점을 선정하여 각 각 물 시료 1L를 채취하였다. 시료 내 물질의 광분해를 방지하기 위해 1L 용량의 amber bottle을 이용하였으며, 사용 전 해당 지점의 물로 2~3번 병을 세척한 후 기포가 발생하지 않게 시료를 가득 채웠다. 채취한 시료는 아이스박스를 이용하여 보관 후 전처리 전까지 4°C로 냉장보관하였다.

2.3. 시료 전처리

채취된 시료는 glass microfiber filter (0.7 µm)로 여과한 후 1L로 하여 buffer용액(pH 7) 80 µL와 내부표준물질(1 mg/L) 100 µL를 주입하였다. 여과를 마친 시료는 SPE (Solid Phase Extraction) 방법을 이용하여

시료를 추출하였다. SPE에 사용된 카트리지는 2개의 층으로 구성했으며, 아래층은 Isolute ENV+ (150 mg), Strata-XAW (100 mg), Strata-XCW (100 mg)의 혼합물, 위층은 Oasis HLB (200 mg)로 구성하였다. 각각의 카트리지는 매니폴드에 장착시킨 후 메탄올 5 mL와 증류수 10 mL를 순서대로 흘리며 마르지 않게 유지하였다. 그 후 카트리지에 각각의 시료 1L를 15 mL/min의 속도로 흘려주며 시료주입을 마친 카트리는 진공펌프를 이용하여 질소로 건조시켰다. 건조된 카트리는 alkaline용액(메탄올/아세트산에틸 1:1+0.5% 암모니아수) 6 mL와 acidic 용액 (메탄올/아세트산에틸 1:1+1.7% 포름산) 3 mL를 주입하여 유리관에 용출시켰다. 용출액은 질소농축기를 이용하여 농축시키며 농축 중간에 블랙스믹서로 유리관의 벽에 붙은 물질을 녹여내었다. 농축이 완료된 시료는 증류수와 메탄올을 9:1 비율로 섞은 용액을 주입하여 최종 용량을 1 mL로 맞추어 cellulose acetate filter (0.45 µm)로 여과한 후 2 mL 용량의 vial에

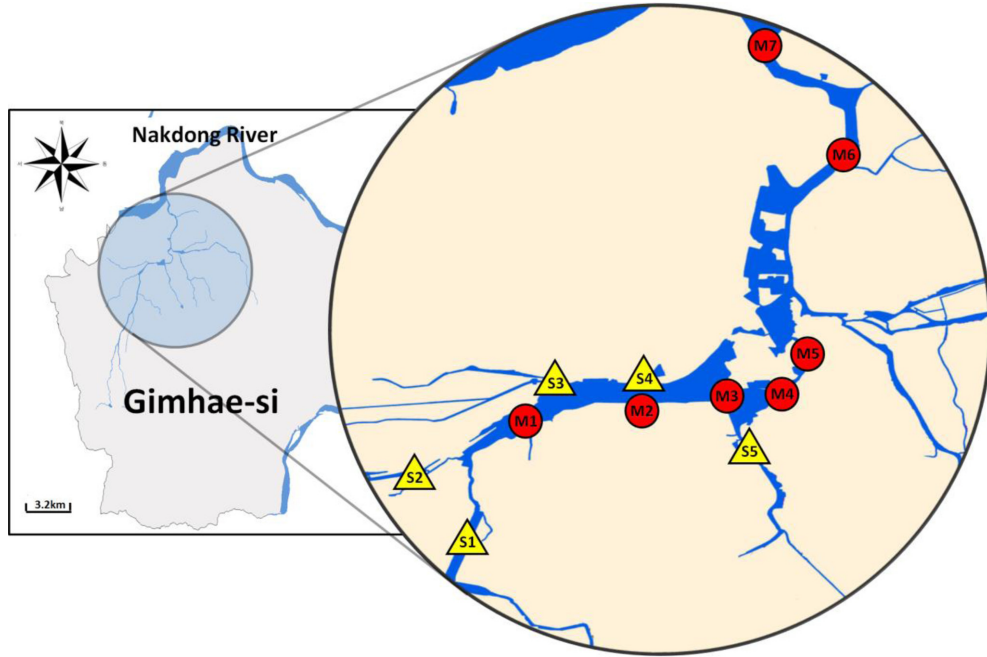


Fig. 1. Geographical location of the Hwapo wetland and sampling sites.

옮겨 담아 LC-HRMS 분석 전까지 4°C로 냉장보관하였다.

2.4. 시료분석

전처리가 완료된 시료는 UHPLC (Ultimate 3000 Ultra High Performance Liquid Chromatography, Thermo Fisher Scientific; Waltham, USA)-HRMS(Q Exactive Plus Quadrupole-Orbitrap mass spectrometry, Thermo Fisher scientific; Waltham, USA)를 사용해 분석하였다. 칼럼은 Xbridge C18 (2.1×50 mm, 3.5 μm; Waters, Milford, USA)를 이용하였으며, 이동상은 (A) 증류수(0.1% 포름산)와 (B) 메탄올(0.1% 포름산)를 사용하였다. 분석을 위한 이동상의 비율은 (A) 90%, (B) 10%로 시작해 4분까지 (A) 50%, (B) 50%, 17분까지 (A) 5%, (B) 95%으로 증가시켜 8분 동안 유지하였다. 그 후, (A) 90%, (B) 10%로 급격하게 비율을 변화하여 4분간 유지하였다. 시료 주입량은 10 μL이며, 0.2 mL/min의 속도로 흘려주었다.

표적분석 대상 물질에 대한 정도보증 및 정도관리 자료를 Table 1에 기술하였다. 검정곡선의 직선성은 0.1 ng/L에서 2,000 ng/L 사이 14단계의 농도를 제작하여

분석하였다. 검출한계(Limit of detection, LOD) 및 정량한계(Limit of quantification, LOQ)는 각 물질에 대한 크로마토그램 피크의 S/N 비(Signal to Noise ratio)를 확인하여, S/N 비가 3 이상인 경우 LOD로 나타내었으며 10 이상은 LOQ로 설정하였다. 분석의 정밀도는 시료 사이 총 3개의 quality control standard를 배치하여 분석한 후, 각 물질에 대한 peak area의 상대표준편차(Relative Standard Deviation, RSD)를 구하여 계산하였다. 또한, 하천수 내 방해물질에 따른 표적물질의 회수율(relative recovery)을 구하기 위해 Moschet et al. (2014)의 방법을 이용하였다.⁸⁾

본 연구의 추정 분석에 이용된 suspect list는 Thermo scientific에서 제공한 EFS HRAM compound database를 통해 1,729종의 물질에 대한 정보를 사용하였다. 비표적 분석의 경우, full scan으로 5E+5 이상의 피크의 세기를 나타내는 물질에 대해 MS/MS 정보를 얻으며, compound discoverer 2.0 software를 이용하여 측정된 물질의 mass를 통해 유사한 물질을 제시하였다. 이후, 각 물질의 isotope pattern 및 MS/MS 정보를 mzcloud 및 massbank와 같은 DB를 이용하여 물질을 확인하는 분석기법이다.

Table 2. Tentatively identified compounds through suspect and non-target screening

Screening method	Compound	Cas.No	Formula	[M+H]	RT (min)	Class
Suspect	Tricyclazole	41814-78-2	C9H8N3S	190.0433	4.7	fungicide
	Hexaconazole	79983-71-4	C14H17Cl2N3O	314.0821	11	fungicide
	Diuron	330-54-1	C9H10Cl2N2O	233.0243	7.1	herbicide
	Fexofenadine	83799-24-0	C32H39NO4	502.2952	6.5	antihistamine
	Irbesartan	138402-11-6	C25H28N6O	429.2397	7.5	angiotensin II receptor
	Simetryn	1014-70-6	C8H15N5S	214.1121	5.1	herbicide
	Cimetidine	51481-61-9	C10H16N6S	253.1230	1.9	antacid
	Valsartan	137862-53-4	C24H29N5O3	436.2343	9.0	hypertension treatment
	Tebuconazole	107534-96-3	C16H22ClN3O	308.1524	11	fungicide
	Benzotriazole	95-14-7	C6H5N3	120.0556	3.5	corrosion inhibitor
	Valsartan acid	-	C14H10N4O2	267.0876	5.4	TP of valsartan
Non target	Azoxystrobin acid	-	C21H15N3O5	390.1085	7.0	TP of azoxystrobin
	TEB_M324c	-	C16H22ClN3O2	324.1473	10	TP of tebuconazole
	2-aminobenzimidazole	934-32-7	C7H7N3	134.0712	4.7	TP of carbendazim

3. 결과 및 고찰

3.1. QA/QC 결과

분석에 사용된 표적물질에 대한 검정곡선의 직선성, 검출한계와 정량한계, 하천 시료 내 표적물질의 회수율 (Recovery), 상대표준편차(RSD)를 Table 2에 나타내었다. 각각의 표적물질 검정곡선의 R²는 0.99 이상으로 나타났다. 검출한계와 정량한계는 에틸파라벤(LOD 2 ng/L, LOQ 100 ng/L)과 보스칼리드(LOD 10 ng/L, LOQ 20 ng/L)을 제외한 모든 물질은 10 ng/L 이하로 양호한

수준을 나타냈다. 물질에 대한 정밀도를 확인하기 위해 분석시료 사이 quality control standard를 이용하여 개별 물질에 대한 RSD를 구하였으며, 모든 물질이 10% 이내로 나타났다. 하천수에서 표적물질에 대한 회수율은 모두 100±25% 이내로 양호한 수준을 나타내었다.

3.2. 표적분석결과

화포천 지점별 시료에 대한 표적분석결과, 검출된 물질은 2018년 7월시료에서 21종, 8월시료에서 17종이었다. 분류 7지점 및 유입원 5개 지점에서 검출된 물질의

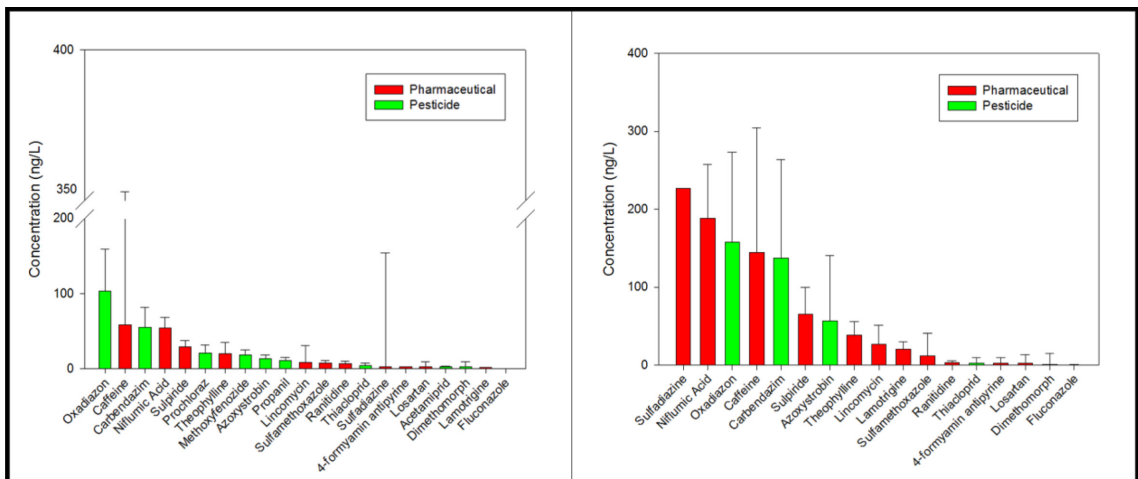


Fig. 2. Median concentration of detected target compounds in July (left), and August (right). The error bar indicates the standard deviation.

7월 및 8월 중간 농도값을 Fig. 2에 나타내었다. 두 시기 모두 의약품인 설파디아아진, 카페인, 니프록산과 농약물질 옥사디아존, 카벤다짐이 각각 최대치 410 ng/L, 1,100 ng/L, 290 ng/L와 460 ng/L, 520 ng/L의 농도로 검출되었다. 이 중 설파디아아진은 S4지점에서만 높은 농도로 검출되어 해당지점의 상류에 항생제 사용 및 배출원이 있는 것으로 의심되었다. 이를 제외한 상기 4종의 물질은 전체 12개 지점 중 11개 지점 이상에서 검출되어 화포천 수계에서 광범위하게 유입되는 주요오염물질로 판단되었다. 이들 물질에 대한 유입원 분석 및 평가결과는 다음 장에서 기술하였다.

7월 및 8월 시료에서 LOQ 이상으로 검출된 물질들의 지점별 누적농도를 Fig. 3에 나타내었다. 7월에 검출된 농약물질 중 높은 농도를 나타낸 물질은 옥사디아존, 카벤다짐, 프로클로라즈, 메톡시페노자이드, 아족시스트로빈 순으로 나타났으며, 8월은 옥사디아존, 카벤다짐, 아족시스트로빈, 티아클로프리드, 디메토모르프로 나타났다. 7월과 8월에 동시에 검출된 농약물질 중 옥사디아존, 카벤다짐 및 아족시스트로빈이 상대적으로 높은 농도를 나타내었다. 화포천 인근은 3개의 골프장과 더불어 벼농

사가 활발히 이루어지는 지역으로 여름철인 7~8월 사이 잡초 및 병해충 방지를 위해 제초제와 살균제를 살포한다. 옥사디아존과 카벤다짐은 벼를 포함한 다양한 농작물에 이용되는 농약으로, 농업활동이 활발한 여름철에 수계에서의 농도가 높게 나타나는 것으로 알려져 있다.⁹⁾ 옥사디아존(7월: 17~220 ng/L, 8월: 66~460 ng/L)과 카벤다짐(7월: 10~110 ng/L, 8월: 64~520 ng/L)의 농도는 강 및 하천수를 분석한 타 연구와 비교하여 낮거나 유사한 수준을 나타냈다.^{10,11)} 농경지에서 주로 이용되는 침투성 살균제 아족시스트로빈은 7월의 본류 평균 농도는 약 13 ng/L로 나타났으며, 8월 시료는 7월과 비교하여 약 3~25배의 고농도로 검출되었고 S3지점에서 340 ng/L로 최대치를 기록하였다. 8월 S3지점의 아족시스트로빈은 타 연구의 지하 및 지표수를 분석한 연구결과와 비교하여 비슷하거나 높은 수준을 나타내었다.^{12,13)} 이 외 검출된 농약물질로 디메토모르프(7월: < LOQ~17 ng/L, 8월: <LOQ~50 ng/L)와 티아클로프리드(7월: 2.7~14 ng/L, 8월: <LOQ~24 ng/L)이 검출되었으며, 7월 시료는 메톡시페노자이드(12~31 ng/L)와 프로클로라즈(<LOQ~37 ng/L), 프로파닐(<LOQ~18

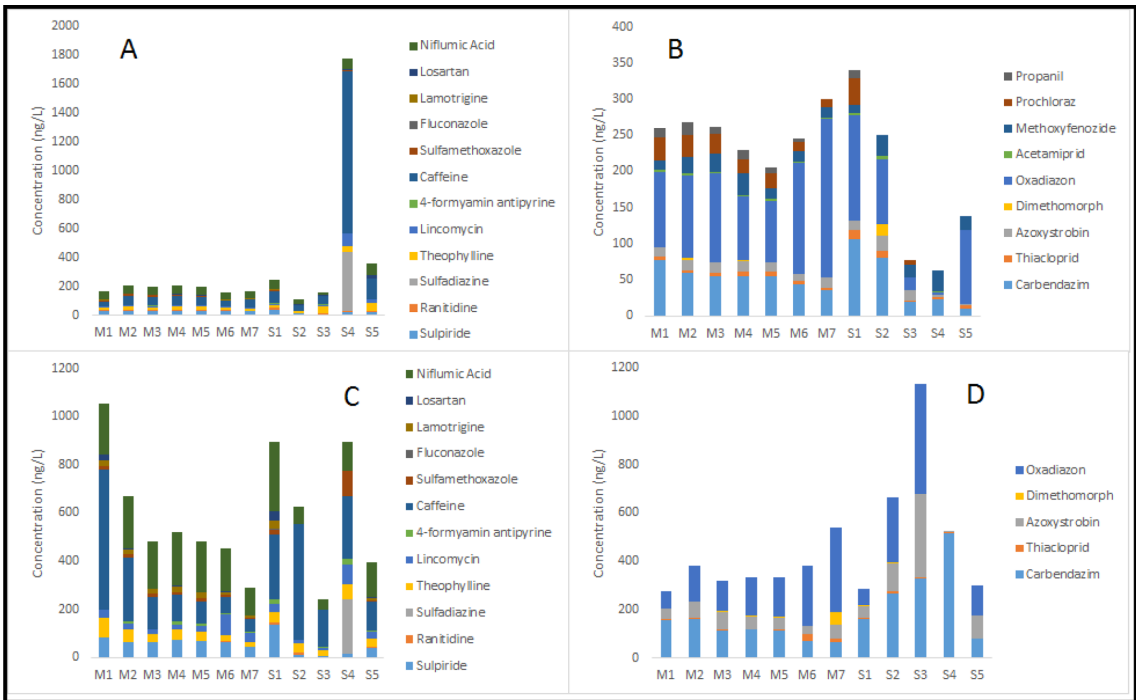


Fig. 3. Cumulative concentration of detected pharmaceuticals and pesticides in July (A and B, respectively) and August (C and D, respectively).

ng/L), 아세트아미프리트(<LOQ~6.0 ng/L)가 추가적으로 검출되었다. 디메토모르프, 티아클로프리트, 메톡시페노자이드는 지하수 및 지표수를 분석한 결과와 비교하여 낮은 수준¹⁴⁻¹⁶⁾을 보였으며, 프로클로라즈와 프로파닐은 방류수와 비슷한 농도를 나타내었다^{17,18)}

의약품의 경우, 설파디아아진이 7월 410 ng/L, 8월 230 ng/L로 높은 농도를 나타냈다. 설파디아아진은 주로 동물에게 이용하는 항균성 설폰아미이드계 의약품으로 S4지점에서 410 ng/L의 농도를 보였으며, 타 지점에서는 미검출 및 LOQ 미만으로 나타났다(Fig. 3). 설파디아아진과 같은 설폰아미이드계 의약품인 설파메톡사졸 또한 8월의 S4지점 시료에서 110 ng/L의 농도로 검출되었다. S4지점 인근에는 직선 거리 600 m 이내에 양돈장이 존재하여 설파디아아진 및 설파메톡사졸의 고농도 검출의 원인으로 의심되었다. 이 외에 검출된 의약품질로, 니프롬산(7월: 23~75 ng/L, 8월: 42~290 ng/L), 카페인(7월: 33~1,100 ng/L, 8월: 56~580 ng/L)이 상대적으로 높은 농도로 검출되었다. 니프롬산은 하수처리장의 슬러지를 분석한 연구와 비교하여 비슷하거나 높은 농도¹⁹⁾를 보였으며, 카페인이 최고 농도로 검출된 7

월 S4지점은 타 연구의 하수처리장 방류수 분석 결과와 비교하여 유사하거나 높게 나타났다.²⁰⁾ 상대적으로 높은 카페인의 농도는 생활하수가 처리되지 않은 상태로 화포천으로 유입되고 있음을 강하게 의심케 하였다. 이와 함께, 설피리드(7월: 8.9~39 ng/L, 8월: 8~140 ng/L), 테오필린(7월: 11~55 ng/L, 8월: 25~84 ng/L), 린코마이신(7월: 6.0~88 ng/L, 8월: 8.3~87 ng/L)과 라모트리진(7월: nd~2.1 ng/L, 8월: nd~36 ng/L), 로자탄(7월: nd~39 ng/L, 8월: nd~140 ng/L), 라니티딘(7월: <LOQ~14 ng/L, 8월: nd~6.5 ng/L), 플루코나졸(7월: nd~<LOQ, 8월: nd~1.3 ng/L), 4-formyl-aminoantipyrine (7월: nd~<LOQ, 8월: nd~25 ng/L) 등 다종의 의약품이 추가적으로 검출되었다. 대부분의 물질들의 농도는 시료채취 날까지 112.3 mm의 누적강수량을 기록한 7월과 비가 내리지 않은 8월에서 지점별로 차이를 보이는데, 이는 7월 시료에서 강우로 인해 비점오염원의 영향을 받았거나 또는 지나친 강우로 물질의 농도가 희석되어 농도의 차이를 보이는 것으로 추측된다.

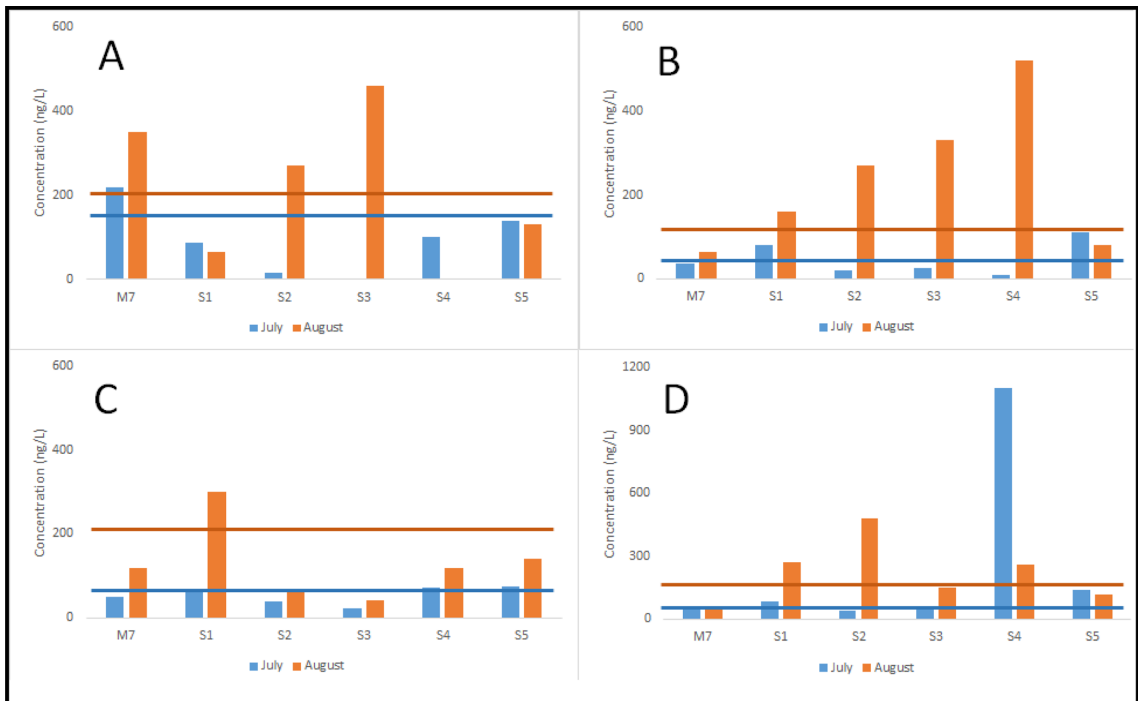


Fig. 4. Concentrations of four major compounds (A=carbendazim, B=oxadiazon, C=niflumic acid, D=caffeine) at each source in July and August. The blue and orange horizontal lines indicate the average concentrations of mainstream points (M1-M7) in July and August, respectively.

주로 유입되고 있었으며, S1지점 외 유입원은 니프롬산의 본류 평균농도(190 ng/L)와 비교하여 낮은 농도(42~140 ng/L)로 검출되었다. 커피의 주요 성분인 카페인은 7월의 S4지점에서 1,100 ng/L로 검출되었으며, 8월 S4지점의 카페인 농도와 비교하여 약 4배 높게 나타났다. 이는 S4지점 인근지역으로부터 하수가 유입되고 있는 것으로 판단된다. 그 외 지점들은 S2지점(38 ng/L)를 제외하고, 본류평균(52 ng/L)과 비교하여 높은 농도(57~140 ng/L)를 보였다. 8월의 본류 평균농도는 190 ng/L로 나타났으며, 각각 150ng/L와 120 ng/L의 농도로 검출된 S3 및 S5지점을 제외한 유입원들은 260~480 ng/L로 검출되었다. 이들 중 S2 지점이 480 ng/L의 최고농도로 검출되어 화포천의 카페인 유입에 가장 큰 기여를 하는 것으로 판단된다.

3.4. 추정 및 비표적 분석 결과

추정 및 비표적 분석 결과, isotope pattern 및 fragment 정보를 비교하여 총 14종의 물질이 잠정 검출되었다. 검출된 물질에 대한 정보를 Table 2에 나타내었다. 각 물질에 대한 fragment 정보는 mzcloud 및 massbank의 DB를 이용하여 비교하였으며, 이를 통해 확인된 물질 중 트리사이클라졸과 2-aminobenzimidazole에 대한 결과를 Fig. 5에 나타내었다.

추정 분석 결과로 1,729종의 suspect list 중 10종의 물질이 잠정적으로 검출되었다. 농약물질로는 살균제로 이용되는 테부코나졸, 트리사이클라졸, 헥사코나졸과 제초제인 디우론, 시메트린이 검출되었다. 의약품의 경우, 펙소페나딘과 이르베사르탄, 시메티딘, 발사르탄이 검출되었으며, 이 외로 부식방지제인 벤조트리아졸이 대부분의 지점에서 1.0E+8 이상의 높은 피크의 세기로 잠정 검출되었다.

비표적 분석 결과로는 총 4종의 물질이 잠정 검출되었다. 이들 중 주요물질로 나타났던 카벤다짐의 주요 TP인 2-aminobenzimidazole이 검출되었다. 벤지미다졸계 농약인 카벤다짐은 수계 내 박테리아를 통해 2-aminobenzimidazole로 생분해가 이루어진다.²¹⁾ 따라서, 2-aminobenzimidazole의 검출은 화포천 수계 내 박테리아의 활동으로 카벤다짐이 대사과정을 거친 것을 증명한다. 실제로 카벤다짐의 TP인 2-aminobenzimidazole이 대부분의 지점에서 1.0 E+08 이상의 피크의 세기로 검출되어 수계 내 카벤다짐의 대사가 활발히 이루어짐을 확인하였다. 또한, 표적분석을 통해 8월시료에서 고농도로 검출된 아зок시스트로빈의 TP인 azoxystrobin acid가

잠정 검출되었다. Azoxystrobin acid는 7월 및 8월시료 모두 모 화합물인 아зок시스트로빈과 유사한 경향을 나타내었으나, 8월의 경우 M7지점에서 피크 세기의 급격한 증가를 보여 M6와 M7지점 사이에서 아зок시스트로빈의 대사가 활발히 이루어지는 것으로 판단된다. 한편, 추정 분석을 통해 잠정 검출된 테부코나졸은 주로 산화과정에 의해 대사체가 형성되며, 산화되는 위치에 따라 TEB_M324a, TEB_M324b, TEB_M324c로 나뉘어진다.²²⁾ 비표적 분석 결과, 테부코나졸 TP의 존재를 잠정 확인하였으며, DB의 MS/MS 정보를 비교하여 TEB_M324c로 추정하였다. 발사르탄의 주요 TP인 valsartan acid가 비표적 분석을 통해 잠정 검출되었으며, 발사르탄의 분해 정도를 식[(valsartan acid 피크 면적/valsartan 피크 면적)*100(%)]을 이용하여 확인하였다. 유입 지점(7월: 13~130%, 8월 8.9~370%)의 분해 정도는 본류(7월: 97~280%, 8월: 260~810%)와 비교하여 상대적으로 낮은 비율을 나타내었다. 유입지점의 발사르탄 피크 면적은 본류와 비교하여 높게 검출되었으나, 본류에 유입 후 피크면적이 최대 17배 낮아졌다. 반면에 대사체인 valsartan acid는 유입지점과 비교하여 본류의 피크면적이 최대 20배 높아졌다. 이는 유입지점에서 높은 피크 면적으로 검출되는 발사르탄이 화포천 수계에 유입 후 분해가 이루어져 피크면적이 감소하며, 이로 인해 valsartan acid의 피크면적이 높아져 분해 정도가 상승하는 것으로 판단된다.

4. 결 론

본 연구는 HPLC-HRMS를 이용하여 표적, 추정 및 비표적 분석을 통해 경상남도 김해시에 위치한 하천형 습지인 화포천의 2018년 7월 및 8월의 미량오염물질 현황과 고농도로 나타난 물질의 주요 유입원을 확인하고자 하였다. 총 45개의 물질에 대한 표적분석 결과로 7월 20종, 8월 17종이 검출되었으며, 이들 중 옥사디아존, 카벤다짐, 카페인, 니프롬산이 주요물질로 나타났다. 옥사디아존은 7월 시료에서 S5지점을 제외한 모든 유입원이 화포천 본류보다 낮은 농도수준으로 나타났으며, 8월은 S2와 S3지점이 본류 평균농도 보다 높은 농도수준으로 검출되었다. 카벤다짐의 경우, 7월은 S1 및 S5지점이 본류보다 높은 농도로 나타나고 있으며, 8월은 S1~4지점이 높게 나타났다. 이들 중 S4지점이 카벤다짐의 최고농도로 검출되었다. 의약품인 니프롬산은 7월 시료에서 S1, S4 및 S5지점이 화포천 본류농도와 비교하여 높은 농도

를 나타내었으며, 8월은 S1지점에서만 분류 평균농도를 상회하는 결과를 보였다. 카페인인 7월에 S4지점에서 분류 평균농도의 약 21배 높은 농도로 검출되었으며, 8월에 S1과 S2, S4지점을 통해 유입이 되고 있는 것으로 판단된다. 화포천 수계 내 주요오염물질의 농도를 저감시키기 위해 옥사디아존은 S3지점, 카벤다짐은 S1~S4지점, 니프롭산 S1지점, 카페인 S2 및 S4지점에 대한 추가적인 조사와 그에 따른 관리계획수립이 필요할 것으로 판단된다.

추정 분석 결과를 통해 트리사이클라졸, 헥사코나졸, 디우론, 펙소페나딘, 이르베사르탄, 시메트린, 시메티딘, 발사르탄, 테부코나졸, 벤조트리아졸의 존재를 확인하였으며, 비표적 분석 결과 valsartan acid, azoxystrobin acid, TEB_M324c, 2-aminobenzimidazole이 잠정 검출되었다. 표적, 추정 및 비표적 분석 결과를 통해 다양한 농약물질 및 의약품이 유입되고 있음을 확인하였다. 이들 중 발사르탄, 아족시스트로빈, 테부코나졸, 카벤다짐의 TPs 및 대사체의 존재를 잠정적으로 확인하였으며, 이 결과를 통해 화포천 수계 내에서 유해물질들이 대사 혹은 변환을 하고 있는 것으로 판단된다. 추후, 추정 및 비표적 분석을 통해 잠정 검출된 물질의 표준물질을 구매하여 정량분석이 필요하며, 이를 통해 화포천 수계 내 오염물질 현황 및 환경거동연구에 중요한 단서를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 성과는 2018년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2017R1C1B2010098)

참고문헌

1. 낙동강유역환경청, “화포천 유역관리 종합대책”, 2007.
2. T. Y. Yeh, C. C. Chou, and C. T. Pan, “Heavy metal removal within pilot-scale constructed wetlands receiving river water contaminated by confined swine operations”, *Desalination*, 2009, 249, 368-373.
3. D. O. Huett, S. G. Morris, and G. Smith, N. Hunt, “Nitrogen and phosphorus removal from plant nursery runoff in vegetated and unvegetated subsurface flow wetlands”, *Water Res.*, 2005, 39, 3259-3272.
4. L. Cui, Y. Ouyang, W. Gu, W. Yang, and Q. Xu, “Evaluation of nutrient removal efficiency and microbial enzyme activity in a baffled subsurface-flow constructed wetland system”, *Bioresour. Technol.*, 2013, 146, 656-662.
5. N. Papadopoulos, E. Gikas, G. Zalidis, and A. Tsaropoulos, “Simultaneous determination of terbuthylazine and its major hydroxy and dealkylated metabolites in wetland water samples using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode-array detection”, *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55, 7270-7277.
6. V. Matamoros, A. Caselles-Osorio, J. García, and J. M. Bayona, “Behaviour of pharmaceutical products and biodegradation intermediates in horizontal subsurface flow constructed wetland. A microcosm experiment”, *Sci. Total Environ.*, 2008, 394, 171-176.
7. S. Huntscha, H. P. Singer, C. S. McArdell, 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”, *J. Chromatogr. A*, 2012, 1268, 74-83.
8. C. Moschet, I. Wittmer, and J. Simovic, “How a complete pesticide screening changes the assessment of surface water quality”, *Environ. Sci. Technol.*, 2014, 48, 5423-5432.
9. W. Ouyang, G. Cai, M. Tysklind, W. Yang, F. Hao, and H. Liu, “Temporal-spatial patterns of three types of pesticide loadings in a middle-high latitude agricultural watershed”, *Water Res.*, 2017, 122, 377-386.
10. S. Pesce, C. Fajon, C. Bardot, F. Bonnemoy, C. Portelli, and J. Bohatier, “Longitudinal changes in microbial planktonic communities of a French river in relation to pesticide and nutrient inputs”, *Aquat. Toxicol.*, 2008, 86, 352-360.
11. G. Palma, A. ?nchez, Y. Olave, F. Encina, R. Palma, and R. Barra, “Pesticide levels in surface waters in an agricultural-forestry basin in Southern Chile”, *Chemosphere*, 2004, 57, 763-770.
12. S. S. Caldas, C. Rombaldi, J. Lucas, D. O. Arias, L. C. Marube, and E. Gilberto, “Multi-residue method for determination of 58 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry”, *Talanta*, 2016, 146, 676-688.
13. T. J. Reilly, K. L. Smalling, J. L. Orlando, and K. M. Kuvila, “Occurrence of boscalid and other selected fungicides in surface water and groundwater in three targeted use areas in the United States”, *Chemosphere*,

- 2012, 89, 228-234.
14. C. Moschet, A. Piazzoli, H. Singer, and J. Hollender, "Alleviating the reference standard dilemma using a systematic exact mass suspect screening approach with liquid chromatography-high resolution mass spectrometry", *Anal. Chem.*, **2013**, 85, 10312-10320.
 15. 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", *J. Hydrol.*, **2013**, 486, 234-245.
 16. E. N. Papadakis, A. Tsaboula, A. Kotopoulou, K. Kintzioglou, Z. Vryzas, and E. Papadopoulou-Mourkidou, "Pesticides in the surface waters of Lake Vistonis Basin, Greece: Occurrence and environmental risk assessment", *Sci. Total Environ.*, **2015**, 536, 793-802.
 17. A. Masiá, J. Campo, P. Vázquez-Roig, C. Blasco, and Y. Picó, "Screening of currently used pesticides in water, sediments and biota of the Guadalquivir River Basin (Spain)", *J. Hazard Mater.*, **2013**, 263, 98-104.
 18. A. Masiá, M. Ibáñez, C. Blasco, J. V. Sancho, Y. Picó, and F. Hernández, "Combined use of liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry and liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry in systematic screening of pesticides and other contaminants in water samples", *Anal. Chim. Acta.*, **2013**, 761, 117-127.
 19. P. Gago-Ferrero, V. Borova, M. E. Dasenaki, and N. S. Thomaidis, "Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407, 4287-4297.
 20. J. L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso, and M. Callejón, "Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors", *Anal. Chim. Acta.*, **2005**, 550, 116-122.
 21. A. Kalwasińska, J. Keszy, and W. Donderski, "Biodegradation of carbendazim by epiphytic and neustonic bacteria of eutrophic Chelmyńskie lake", *Polish J. Microbiol.*, **2008**, 57, 221-230.
 22. A. Rösch, S. Anliker, and J. Hollender, "How Biotransformation Influences Toxicokinetics of Azole Fungicides in the Aquatic Invertebrate *Gammarus pulex*", *Environ. Sci. Technol.*, **2016**, 50, 7175-7188.