

LC/ESI-MS/MS를 이용한 수질 환경 시료 중 산성의약품물질 분석방법 비교

심영은 · 조현우 · 명승운*

경기대학교 이과대학 화학과
(2008. 5. 23. 접수, 2008. 6. 5. 승인)

Determination of acidic pharmaceuticals in aquatic environmental samples by LC/ESI-MS/MS

Young-Eun Sim, Hyun-Woo Cho and Seung-Woon Myung*

Dept. of Chemistry, Kyonggi University, 94-6 Yui-dong, Yeongtong-gu, Suwon, 443-760 Korea

(Received May 23, 2008; Accepted June 5, 2008)

요 약: 의약품물질(PPCPs)은 수질 환경 시료에서 새로운 오염물질로 대두되고 있다. 본 연구에서는 LC/ESI-MS/MS를 이용하여 환경 수질 시료로부터 7 종(2-퀴노사린카르복시산, 아세틸살리실산, 디클로페낙소듐, 나프록센, 이부프로펜, 메페남산, 탈니플루메이트)의 산성의약품물질을 동시 분석하는 방법을 비교하여 개선하였으며 폐수처리장의 유입수 및 방류수 그리고 연장선상의 하천수의 오염도를 측정하였다. LC/ESI-MS/MS 분석을 위해서 MCX (Mixed Cation eXchange) 카트리지와 HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) 카트리지를 연결하는 텐덤 고체상 추출법과 MCX 카트리지만을 사용하는 고체상 추출법을 이용하여 효과적인 시료 정제 및 추출을 수행하였다. 검출한계(LODs)와 방법검출한계(MDLs)는 각각 0.05~1.50 pg/mL, 0.17~4.90 pg/mL 범위를 나타내었다. 시료 중 1.0 ng/mL 농도(n=3)에서 절대 회수율은 81.9%~116.3%를 나타내었다. 수질 환경 시료에서 수 pg/mL~ng/mL의 농도로 산성의약품물질이 측정되었다.

Abstract: Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) are emerging contaminants in aquatic environmental samples. Therefore, it required rapidly and certainly analytical method for pharmaceuticals which are existed in environment. In this study, Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with electrospray ionization (ESI) was used to measure the concentrations of 7 pharmaceuticals (quinoxaline-2-carboxylic acid, acetylsalicylic acid, diclofenac-Na, naproxen, ibuprofen, mefenamic acid, talniflumate) from environmental water or aquatic samples simultaneously. Effective sample clean-up by solid-phase extraction (SPE) prior to LC-MS/MS analysis is necessary. For further purification, Mixed Cation eXchange (MCX) and Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB) solid-phase extraction (SPE) cartridges were used to eliminate the remaining interferences. LODs (Limits of Detection) and MDLs (Method Detection Limits) for the spiked sample in fresh water were in the range of 0.05~1.50 pg/mL and 0.17~4.90 pg/mL, respectively. The absolute recovery in the concentration of 1.0 ng/mL were between 81.9 and 116.3%. The acidic pharmaceuticals were detected in concentrations of 0.018~16.925 ng/mL in aquatic environmental samples.

Key words : acidic pharmaceuticals, aquatic environmental samples, LC/ESI-MS/MS

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)31-249-9647 Fax : +82-(0)31-249-9647

E-mail : swmyung@kgu.ac.kr

1. 서 론

의약품은 현대생활에 있어 매우 중요한 필수품이다. 법규에 의거 오랜 기간 테스트를 거쳐 효능과 안전성이 입증되어야만 사용할 수 있고 인간뿐 아니라 동물과 농산물 생산, 수산물 양식에도 광범위하게 사용되고 있다. 의약품은 사람이나 동물에게 투여된 후 그 일부가 그대로 또는 생체 내에서 대사체로 변환되어 소변이나 대변으로 배설되어 환경 속으로 들어가게 된다. 또한 가정에서 사용하지 않거나 사용하다가 남은 약들은 쓰레기통, 버기에 버려지고 제약회사에서 생산되어 유통기한을 넘긴 의약품은 폐기되어야 하는데 그대로 환경에 버려지는 경우도 있어서 수질 등 환경오염으로 인하여 사람의 건강에 악영향을 미치거나, 생태계를 교란할 우려가 있다.¹

최근 환경에 잔류하는 의약품이 새로운 오염물질로

거론되고 있으며, 사용과 폐기에 따른 지속적 방출로 인하여 하천 및 토양오염을 가중시킨다는 연구 결과가 국내외에서 속속 발표되고 있다. 지난 1970년대에 유럽에서는 환경오염 물질로 의약품 성분이 검출되었다고 발표하였다. 즉, 공공처리시설의 방류수와 슬러지에서 스테로이드 호르몬이 검출된 것이다. 1980년대 영국에서는 지표수와 지하수, 쓰레기 처리시설 방류수에서 여러가지 약품 성분이 극미량으로 검출되었으며 90년대 후반 이래 라인 강, 다뉴브 강 등 큰 하천 뿐 아니라 북해와 아드리아 해에서도 항생제 등이 광범위하게 검출되었다.² 그러나 의약품들이 사용된 이후, 환경 내에 방출되어 어떻게 자연 상태에서 변화되고 어느 정도의 농도로 검출되며 인체, 동식물, 자연계 등에서 그 영향이 어떻게 나타날 것인가에 대한 과학적인 관심은 2000년대에 들어서 가시화되었다.

국내에서도 환경 중 의약품질이 잔류하는 심각성을

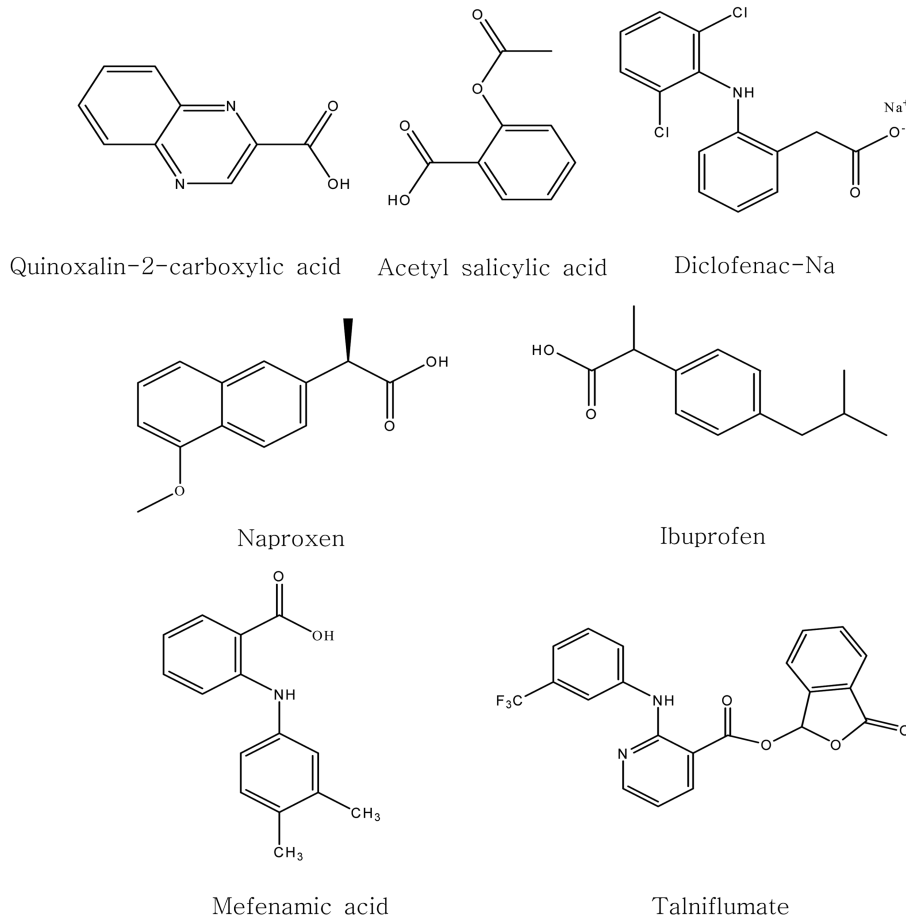


Fig. 1. The chemical structures of the pharmaceuticals.

인식하게 되었고, 광주과학기술원에서 2003~2004년 서울, 부산, 대구, 광주, 나주 등 전국 5개 도시의 하수종말처리장 수질을 분석한 결과, 무분별하게 버려지고 있는 불용의약품으로 인한 콜레스테롤 저하제, 소염 및 해열 진통제 등이 검출되었고 오염 농도는 외국의 3~8배에 이르는 상황이라고 보고한바 있다.³

물 환경 시료중의 산성 의약품질 분석은 HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance)나 MCX(Mixed Cation eXchange) 카트리지를 이용하여 시료 전처리를 한 후, SPE 정제를 거친 후 GC/MS나 LC/MS 또는 LC/MS/MS의 ESI 모드를 사용하여 수 pg/mL에서 ng/mL 농도 수준으로 분석하는 것이 일반적이다. 하지만, 이들 분석방법 중에서 GC/MS를 이용한 방법에서는 산성의약품질의 비휘발성 성질 때문에 유도체화 반응을 시켜야 하는 단점이 있다.^{4,17}

본 연구에서는 카바독스(carbadox)의 주 대사체인 2-퀴노사린카르복시산(quinoxaline-2-carboxylic acid)을 비롯하여, 아세틸살리실산(acetylsalicylic acid), 디클로페낙-소듐(diclofenac-Na), 나프록센(naproxen), 이부프로펜(ibuprofen), 메페남산(mefenamic acid), 탈니플루메이트(talniflumate) 총 7종에 의약품질에 대한 최적의 분석조건 확립 및 유효성 검증을 실시하고, 실제 시료에서의 검출을 실시하였으며 대상 의약품질의 구조는 Fig. 1과 같다.

2. 실험방법

2.1. 기구

시료의 농축을 위해 사용된 농축기는 Caliper Lifescience사(Seattle, WA, USA)의 TurboVap LV 질소 농축기를 사용하였다. 추출에 사용한 카트리는

Oasis HLB (200 mg, 6 cc), Oasis MCX (150 mg, 6 cc), Oasis MCX (60 mg, 3 cc) 카트리지를 Waters 사(Milford, Massachusetts, USA)에서 구입하여 사용하였고 또한 진공장치는 Supelco사(Bellefonte, PA, USA)의 제품을 사용하였다.

2.2. 시약

산성의약품질의 표준물질인 2-퀴노사린카르복시산, 아세틸살리실산, 디클로페낙-소듐, 이부프로펜, 나프록센, 메페남산은 Sigma-Aldrich사(St Louis, MO, USA)의 고순도 시약을 사용하였다. 탈니플루메이트는 시중 의약품에서 추출하여 사용하였다. 그리고 정제용 내부표준물질(surrogate)은 Cambridge isotope laboratories 사(Andover, MA, USA)의 ¹³C로 치환된 이부프로펜-3-¹³C과 내부표준물질인 페노프로프(Fenoprop)은 Fluka 사(Seelze, Germany)의 고순도 시약을 사용하였다.

메탄올, 헥산, 아세톤 등의 용매는 J.T. Baker 사(NJ, USA)의 HPLC 등급 시약을 사용하였고, 황산은 Junsei사(Tokyo, Japan)의 시약을 사용하였다. 증류수는 Milli-Q system을 통과한 3차 증류수를 이용하였다. 표준물질과 정제용 내부표준물질, 내부표준물질은 메탄올을 이용하여 1000 µg/mL의 농도로 만든 후 -20 °C의 냉동고에 저장하였고 메탄올로 묽혀 사용하였다.

2.3. 분석기기

사용한 LC/MS/MS는 시료 자동주입기(Agilent 1200 series G1313A Autosampler)가 장착된 Agilent 사(Palo Alto, CA, USA)의 Agilent 1200series HPLC와 결합된 Agilent 6410 Triple-quadrupole 텐덤 질량분석기(Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)이었다.

7종의 산성 의약품질과 내부표준물질, 정제용 내부

Table 1. LC/ESI-MS/MS conditions for the determination of the pharmaceuticals

Parameters	Conditions
Column	Eclipse Plus C18, 2.1 mm I.D., 100 mm length, 3 µm particle size
Mobile phase	A: 0.3% acetic acid B: 0.3% acetic acid in CH ₃ CN
Gradient	Time(min) 0 1 5 16 20 Solvent B(%) 10 10 40 90 90
Column flow rate	0.3 mL/min
Injection volume	5 µL
Column temperature	25°C
Ionization mode	Negative ion electrospray
Gas Temp.	350°C
Gas Flow	8L/min (N ₂)
Nebulizer	35 psi

표준물질은 스캔 모드(scan mode)에서 각 물질의 질량스펙트럼(full spectrum)을 확인한 다음 각 물질별 전구 이온(precursor ion)을 선택하여 최적의 생성이온(product ion) 조건을 잡은 후 MRM (multiple reaction monitoring) 방법을 사용하여 분석하였다.

HPLC 컬럼은 Agilents 사(Palo Alto, CA, USA)의 Eclipse Plus C₁₈ 컬럼(2.1 mm I.D., 100 mm length, 3 µm particle size)을 사용하였으며, 이동상으로는 0.3% 아세트산(이동상 A)과 0.3% 아세트산을 포함하는 아세트나이트릴(이동상 B)을 사용하였고 유속은 300 µL/min, 컬럼 온도는 25°C를 유지하였다. HPLC의 기울기 용매 조건은 90%의 이동상 A로 시작하여 1분간 유지시키고 5분까지 40% 이동상 B로 만든 후 16분까지 90% 이동상 B로 만든다. 그리고 20분까지 90%

이동상 B로 고정시켜준다. 재-평형은 초기 조건인 90% 이동상 A로 8분 동안 주었다. LC/MS의 이온화 방법으로는 전자분무방법(electrospray, ESI)의 음이온 모드를 사용하였으며 각종 파라미터는 Table 1에 나타내었다.

2.4. 시료 전처리

7종의 산성의약품물질의 분석방법을 대상으로 Method A와 Method B로 시료 전처리를 실시하여 LC/MS/MS로 분석함으로써 절대회수율을 측정하여 최적의 시료 전처리조건을 확립하도록 하였다.

2.4.1. Method A

부유물 등 이물질이 제거된 물 시료 500 mL를 취

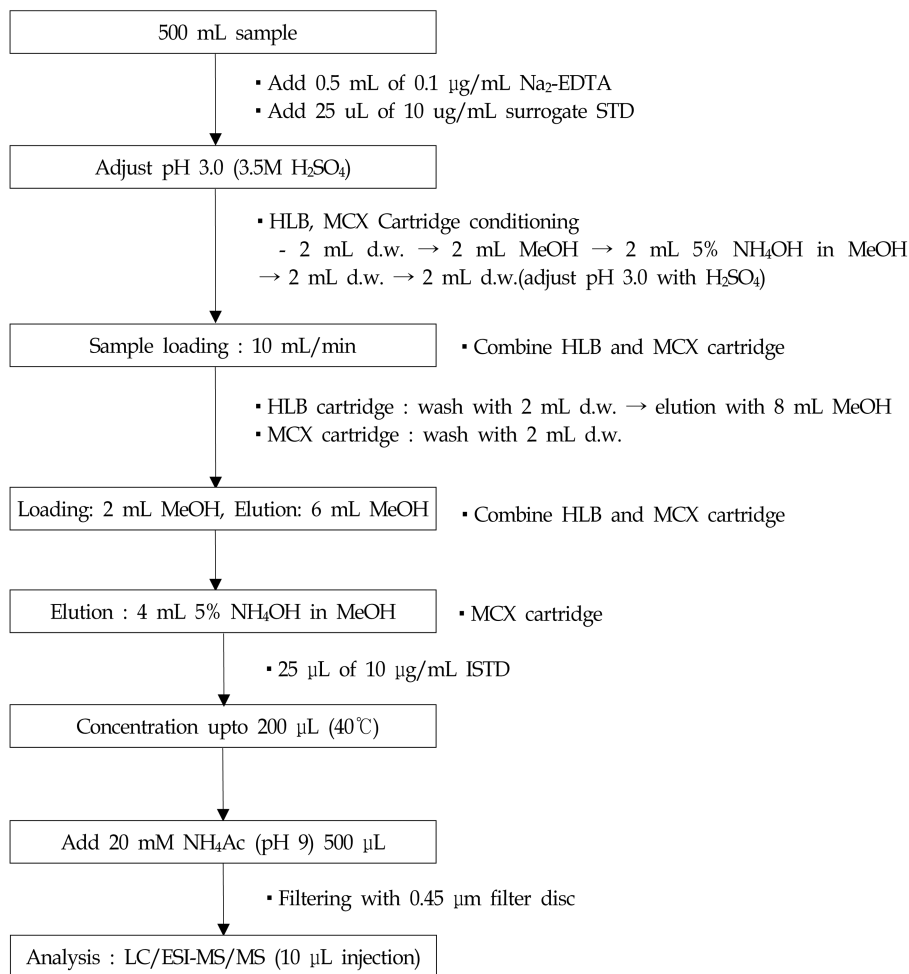


Fig. 2. Flow diagram of the sample preparation for Method A.

하여 0.1 $\mu\text{g/mL}$ $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 0.5 mL와 10 $\mu\text{g/mL}$ 정제용 내부표준물질 이부프로펜- $3\text{-}^{13}\text{C}$ 25 μL 를 첨가한 후, 3.5 M 황산을 사용해 pH를 3으로 조절하고, 추출 고체상인 HLB (200 mg, 6 cc)와 MCX (150 mg, 6 cc) 카트리지를 진공장치에 장착한 후 증류수 2 mL와 메탄올 2 mL를 흘려주고 다시 5% 암모니아수-메탄올 용액 2 mL, 증류수 2 mL, pH 3.0인 증류수 2 mL를 차례로 통과시켜서 고체상을 컨디셔닝 하였다. HLB와 MCX 카트리지를 HLB가 위에 위치하도록 연결한 다음 시료를 적재시켰다. 시료가 적재된 카트리지를 분리하여 HLB는 증류수 2 mL로 씻어준 다음 메탄올 2 mL을 적재하고, MCX는 증류수 2 mL로 씻어준 후에 두 카트리지를 다시 연결하여 메탄올 2 mL을 적재한 다음 계속해서 메탄올 6 mL(용리액 A)로 용리시켰다. HLB 카트리지를 분리하여 제거하고 MCX에 흡착된 분석물질을 5% 암모니아수-메탄올 용액 4 mL(용리액 B)로 다시 용리시켰다. 용리액 A와 용리액 B를 혼합한 후 내부표준물질인 10 $\mu\text{g/mL}$ 터부틸라진 25 μL 를 넣고 질소증발기를 사용하여 용매를 완전히 증발시킨 다음 20 mM 암모늄아세테이트 500 μL 로 잔사를 녹여 0.45 μm 여과지로 여과시킨 후 2 mL 갈색 바이알에 옮겨 LC/ESI-MS/MS에 주입하여 분석하였다(Fig. 2).

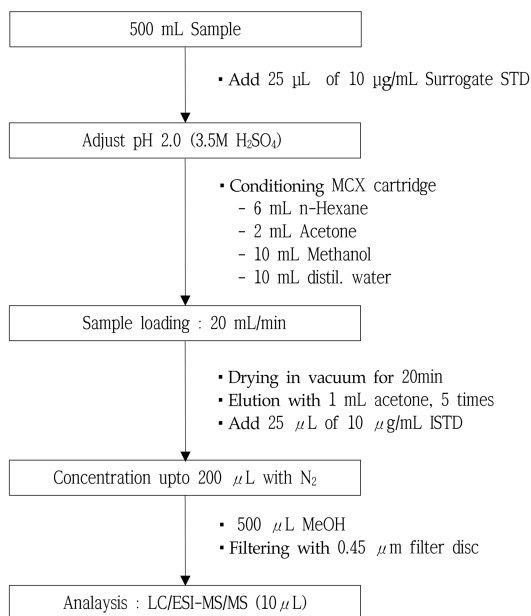


Fig. 3. Flow diagram of the sample preparation for Method B.

2.4.2. Method B

이물질이 여과된 물 시료 500 mL를 취하여 정제용 내부표준물질인 10 $\mu\text{g/mL}$ 이부프로펜- $3\text{-}^{13}\text{C}$ 25 μL 를 첨가한 후 3.5 M 황산을 사용하여 pH 2로 조절하였다. MCX 카트리지를 진공감압장치(vacuum manifold)에 장착한 후 n-헥세인 6 mL와 아세톤 2 mL을 흘려주고 메탄올 10 mL, 증류수 10 mL을 통과시켜 컨디셔닝하였다. 그리고 MCX 카트리지에 시료를 20 mL/min의 속도로 통과시킨 후 카트리지를 분리하여 진공으로 건조시킨 후에 아세톤 1 mL로 5회 용리시켰다. 이 용리액에 내부표준물질인 10 $\mu\text{g/mL}$ 페노프로프 25 μL 를 넣고 질소증발기를 사용하여 200 μL 가 될 때까지 증발시킨 후에 메탄올로 500 μL 가 되도록 보충한 후 0.45 μm 여과지를 사용하여 여과시킨 후 2 mL 갈색 바이알에 옮겨 LC/ESI-MS/MS로 분석한다(Fig. 3).

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출방법 비교

수질 중 ng/mL~pg/mL 범위의 수준으로 잔류하는 산성의약품물질을 선택적이고 감도 있게 분석하기 위해서는 수질 중에서 의약품물질의 정제 및 농축과정이 효과적으로 이루어져야한다. 이를 위해서 많은 양의 시료를 사용하여 방해물질 제거와 농축이 용이한 고체상 추출방법(SPE)을 사용하는 것이 보편적이며, 양이온 교환 메커니즘과 역상분리라는 두 가지 메커니즘을 이용하여 원하는 분석물질을 분리해내는 MCX (Mixed Cation eXchange)카트리지와 비극성 상호작용으로 중성형태의 분석물질을 분리해내는 HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance) 카트리지를 사용하는 것이 일반적인 방법이다.

Method A는 다양한 pK_a 를 가지는 의약품물질을 동시에 분석하기 위해 HLB 카트리지와 MCX 카트리지를 직렬로 연결한 텐덤 고체상 추출방법이다. pK_a 가 3.50~4.51인 산성의약품물질은 수용액의 pH를 3으로 맞춰주면 중성형태가 된다. 중성형태를 띠는 산성의약품물질은 HLB 카트리지에 흡착이 되고, HLB 카트리지에 흡착이 되지 못하고 빠져나간 산성의약품물질은 MCX 카트리지의 역상분리 메커니즘에 비극성을 띠는 구조에 다시 한번 흡착되게 되어 산성의약품물질의 손실을 줄여주는 텐덤 고체상 추출법이다. 이 방법은 전처리 단계가 복잡하며 시간이 많이 소요되며 카트리지 두 개를 사용하므로 비용도 많이 드는 방법이다.

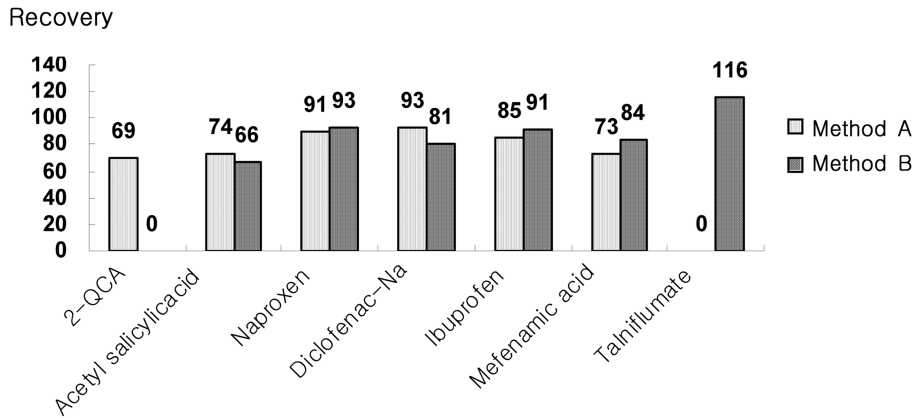


Fig. 4. Comparison of recoveries according to methods.

Method B는 시료의 pH를 2로 조절함으로써 산성의 약물질을 중성형태로 만들어준다. MCX 카트리지의 양이온 교환 기능기에는 양이온 형태의 방해물질이 흡착이 되고 산성의약물질은 비극성 구조에 흡착이 이루어진다. 여기에 비극성 구조에 흡착된 중성형태 산성의약물질의 상호작용을 아세트산을 사용하여 결합을 끊어주어 회수하는 방법이다. 이 추출방법은 Method A와 비교하여 추출 단계가 덜 복잡하고, 시간이 적게 소요되며 비용도 저렴한 방법이다.

카바독스(carbadox)의 주 대사체인 2-퀴노사린카르복시산은 Method B에서는 거의 추출이 안되었고 Method A에서 73%의 회수율을 나타내었고, 탈리플루메이트는 Method A에서는 추출이 거의 일어나지 않고 Method B에서 116%의 추출효율을 보여주었다. 한편, 다른 의약품질들은 두 가지 추출방법에서 66%에서 92%의 대체적으로 양호하며 비슷한 추출율을 나타내었지만 아세틸살리실산, 디클로페낙-소듐은 Method A 전처리 방법에서 높은 회수율을 보여주었고 나프록센, 이부프로펜,

메페남산, 탈니플루메이트는 Method B 방법에서 더 높은 회수율을 보였다(Fig. 4). 따라서, 실제 시료 분석시에는 2-퀴노사린카르복시산, 아세틸살리실산, 디클로페낙-소듐은 Method A 방법으로 추출하고, 탈리플루메이트, 나프록센, 이부프로펜, 메페남산, 탈니플루메이트는 Method B로 추출하도록 하였다.

3.2. LC/ESI-MS/MS

Method A와 Method B로 추출된 화합물은 동일한 기기분석(LC/ESI-MS/MS) 조건을 이용하여 분석하였다. Table 1에 나타난 기울기 용리 조건에서 2-퀴노사린카르복시산은 4.8분, 아세틸살리실산은 8.3분, 나프록센은 11.5분, 디클로페낙-소듐은 13.3분, 이부프로펜은 13.5분, 메페남산은 14.8분, 탈니플루메이트는 16.7분에서 용출되었으며, 내부표준물질인 페노프로프는 12.8분, 정제용 표준물질인 이부프로펜-3-¹³C은 13.5분에 검출되었다.

한편, 산성의약물질은 ESI 음이온 모드를 사용하여

Table 2. Retention time, precursor ion and characteristic ions for identification and quantification

Pharmaceuticals	R.T. (min)	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Quantitation ion (m/z)	Collision Energy (eV)	
Quinoxalin-2-carboxylic acid	4.8	173	173	102	129	8
Acetyl salicylic acid	8.3	137	-	-	93	10
Naproxen	11.5	229	185	-	170	5
Diclofenac-Na	13.3	294	294	214	250	20
Ibuprofen	13.5	205	205	-	161	5
Mefenamic acid	14.8	240	180	192	196	30
Talniflumate	16.7	413	369	341	149	15
Ibuprofen-3- ¹³ C (surrogate standard)	13.5	208	208	-	163	5
Fenoprop (ISTD)	12.8	269	161	159	197	30

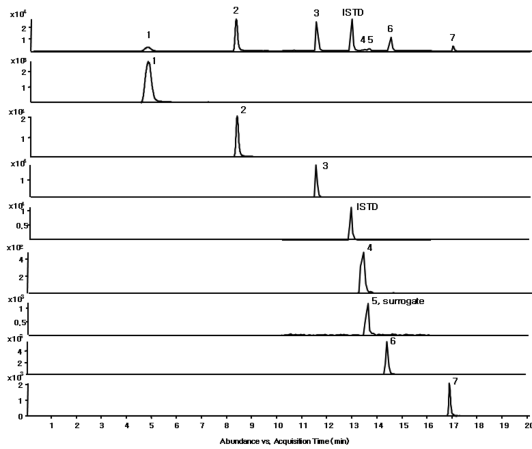


Fig. 5. Total ion chromatogram and extracted ion chromatograms of LC/ESI-MS/MS (peak identification : 1=quinoxaline-2-carboxylic acid; 2=acetylsalicylic acid; 3=naproxen; 4=diclofenac-Na; 5=ibuprofen; 6=mefenamic acid; 7=talnilflumate; ISTD=fenoprop; surrogate=ibuprofen-3-¹³C).

이온화시켰으며, 전체 스캔 스펙트럼(full scan spectrum)에서 분자 구조에 양성자 1개가 떨어진 [M-H]⁻가 유

사분자이온(pseudo-molecular ion)으로 검출되었고 [M-CH₃CO]가 특성이온으로 생성되었다.

텐덤(tandem mass spectrometry) 분석을 위해 전구이온(precursor ion)을 선택한 후 최적의 충돌 에너지(collision energy)를 선택하여 생성이온(product ion)을 생성한 후, 분석의 감도를 높이고 매트릭스에 의한 방해 효과를 최소화하기 위하여 MRM 방법을 사용하였다.

2-퀴노사린카르복시산은 m/z 173 ([M-H]⁻), 아세틸살리실산은 m/z 137 ([M-CH₃CO]⁻), 디클로페낙-소듐은 m/z 294 ([M-H]⁻), 나프록센은 m/z 229 ([M-H]⁻), 이부프로펜은 m/z 205 ([M-H]⁻), 메페남산은 m/z 240 ([M-H]⁻), 탈니플루메이트는 m/z 413 ([M-H]⁻)를 선구이온으로 선택되어 최적의 충돌에너지를 가하여 생성이온을 생성하도록 하였으며, 7종 산성의약품물질의 선구이온, 생성이온, 정량이온 및 충돌에너지를 Table 2에 나타내었으며, EIC (Extracted Ion Chromatogram)와 TIC (Total Ion Chromatogram)는 Fig. 5에 나타내었다.

3.3. 검정곡선

실제시료의 분석을 위해 2-퀴노사린카르복시산, 디

Table 3. Absolute recoveries, LODs and MDLs

Compounds	Conc.(pg/mL)		Conc. (ng/mL)	Recovery(%) (%RSD)
	LOD* _s	MDL** _s		
Quinoxalin-2-carboxylic acid	0.15	0.40	0.01	101.7(16.0)
			0.1	74.9(9.8)
			1	72.5(16.4)
Acetyl salicylic acid	0.15	0.50	0.01	129.3(9.0)
			0.1	97.8(6.5)
			1	89.1(11.5)
Diclofenac-Na	0.60	2.0	0.01	93.7(11.7)
			0.5	103.4(8.6)
			1	99.3(10.5)
Naproxen	0.05	0.17	0.01	97.5(6.9)
			0.5	93.6(2.3)
			1	81.9(6.5)
Ibuprofen	0.57	1.91	0.05	114.5(14.8)
			0.5	93.5(3.9)
			1	87.0(8.9)
Mefenamic acid	0.26	0.87	0.05	87.5(13.2)
			0.5	91.8(6.5)
			1	91.4(8.3)
Talnilflumate	1.5	4.9	0.05	131.0(6.7)
			0.5	96.7(3.2)
			1	116.3(4.8)

*LODs : Limits of Detection (at S/N > 3), **MDLs : Method Detection Limit (at 20% > RSD and S/N >10)

클로페낙-소듐, 나프록센은 시료 중 농도가 0.01~1 ng/mL의 범위가 되도록 증류수에 표준물질을 첨가하였고, 아세틸살리실산은 시료 중 농도가 0.01~0.75 ng/mL의 범위가 되도록 표준물질을 첨가하여 검정곡선을 작성하였다. 메페남산, 이부프로펜, 탈니플루메이트의 경우에는 0.05~1 ng/mL의 범위가 되도록 표준물질을 첨가하여 검정곡선을 작성하였다. 내부표준법을 사용하여 검정곡선을 작성하여 직선식과 검정곡선의 상관계수(r^2)를 구하였다.

2-퀴노사린카복시산은 $y=1.0243x+0.0287(r^2=0.9978)$, 아세틸살리실산은 $y=6.7204x-0.1259(r^2=0.9921)$, 디클로페낙-소듐은 $y=0.4247x+0.0092(r^2=0.9928)$, 나프록센은 $y=2.5432x+0.0189(r^2=0.9993)$, 이부프로펜은 $y=0.5327x+0.002(r^2=0.9962)$, 메페남산은 $y=1.0842x+0.0032(r^2=0.9976)$, 탈니플루메이트는 $y=0.2841x-0.0032(r^2=0.9975)$ 의 직선식과 0.99 이상의 양호한 상관계수를 나타내었다.

3.4. 절대 회수율, 검출한계 및 방법검출한계

표준용액을 바탕시료에 첨가시켜 표준물질의 농도 10.0 ng/mL으로부터 점차 농도를 낮춰 가면서 검출한계(limit of detection, LODs)와 방법검출한계(method detection limit, MDLs)를 구하였다. 검출한계는 신호 대 잡음비가 3 이상인 값으로 정하였으며, 방법검출한계는 상대표준편차(RSD)가 20% 이하의 값이면서 동시에 신호 대 잡음비(S/N)가 10 이상인 값으로 정하였다. 그 결과 산성의약품물질의 LODs는 0.05 pg/mL 이하였으며, MDLs는 4.9 pg/mL 이하였다.

절대 회수율(absolute recovery)은 표준물질을 바탕 시료에 첨가하여 전처리를 거친 값과 시료 전처리를 거치지 않은 최종 표준물질의 피크 면적을 비교하여 구하였다. 검정곡선의 직선 범위 이내의 작업구간에서 높은 농도, 중간 농도, 낮은 농도의 세 농도에서 측정하였으며, 회수율은 72.5%~131.0%의 값을 나타내었고, 상대표준편차(RSD)는 16.4% 이하로 매우 우

Table 4. Concentration of pharmaceuticals from wastewater treatment plants and surface water (ng/mL)

River	Site	ASA	DIC	QCA	NAP	IBU	TAL	MFA
A	A-1-1-a	4.144	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.191
	A-1-1-c	0.058	0.041	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	A-1-2-a	2.496	N.D.	N.D.	0.365	N.D.	N.D.	0.037
	A-1-2-b	5.470	N.D.	N.D.	1.362	N.D.	N.D.	N.D.
	A-1-2-c	N.D.	0.030	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.638
	A-1-3*	0.068	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	A-1-4*	0.086	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	A-1-5*	0.042	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
B	B-1-1-a	3.352	N.D.	N.D.	0.330	N.D.	N.D.	N.D.
	B-1-1-c	0.035	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.356
	B-1-2*	0.054	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	B-1-3*	0.061	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	B-1-4*	0.042	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.018
C	C-1-1-a	5.217	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C-1-1-c	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.136
	C-1-2*	0.034	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C-1-3*	0.039	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C-1-4*	0.042	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
D	D-1-1-a	1.655	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.196
	D-1-1-b	7.215	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.415
	D-1-1-c	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.325
	D-1-2*	0.029	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.024
	D-1-3*	0.031	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.050
	D-1-4*	0.039	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Abbreviation: acetylsalicylic acid(ASA), diclofenac-Na(DIC), quinoxaline-2-carboxylic acid(QCA), naproxen(NAP), ibuprofen(IBU), talniflumate(TAL), mefenamic acid(MFA).

N.D. = Not detected. -a : influent of wastewater treatment plant, -c : effluent of wastewater treatment plant, * : surface water

수하였다. Table 3에 산성의약품물질의 LODs, MDLs 및 회수율을 나타내었다.

3.5. 실제 시료의 분석

깨끗하게 세척된 4L 갈색 유리병에 채취된 시료는 분석 전까지 유기 용매의 오염이 없는 4°C 이하의 냉장소에 보관하였으며 가능한 2주 이내에 분석을 하였다. 2007년 9월 전국 수계별 4대강 유역(한강, 낙동강, 금강, 영산강)에서 일반 하수처리장과 축산폐수 처리장의 유입수, 방류수 그리고 그 연장선상에 있는 하천수를 고체상 추출법으로 전처리한 후 LC/ESI-MS/MS로 분석하였다.

일반 하수처리장에서는 아세틸살리실산(ASA)의 경우 21개 지점에서 0.034~7.2 ng/mL 농도로 검출되었으며, 디클로페낙-소듐(DIC)은 2개 지점에서 각각 0.030, 0.041 ng/mL가 검출되었고 나프록센(NAP)은 3개 지점에서 0.330~1.362 ng/mL가 검출되었다. 메페남산(MFA)는 11지점에서 0.018~0.638 ng/mL 농도 수준으로 검출되었다. 하지만, 2-퀴노사린카르복시산(QCA), 이부프로펜(IBU), 탈니플루메이트(TAL)는 검출되지 않았다(Table 4).

축산폐수처리장에서 아세틸살리실산(ASA)은 18지점에서 0.024~16.925 ng/mL 농도 수준으로 검출되었으며 디클로페낙-소듐(DIC)은 0.022 ng/mL의 농도로 한 지점에서 검출되었다. 2-퀴노사린카르복시산(QCA)은 2 지점에서 0.018, 0.035 ng/mL의 농도로 검출되었고. 메페남산(MFA)는 7지점에서 0.026~0.275 ng/mL 농도 수준으로 검출되었다. 나프록센(NAP), 이부프로펜(IBU), 탈니플루메이트(TAL)는 검출되지 않았다(Table 5).

인체용 의약품물질인 디클로페낙-소듐, 나프록센, 메페남산은 축산처리폐수장보다는 하수처리장에서 검출빈도가 높았으며, 동물용 의약품물질인 카바독스 대사체인 2-퀴노사린카르복시산은 축산폐수처리장에서만 검출되었다. 인체와 동물에 함께 사용하는 의약품물질인 아세틸살리실산은 하수처리장과 축산폐수처리장 모두 검출 빈도가 높았다.

4. 결 론

수질 중 잔류하는 7종 산성의약품물질을 분석하기 위하여 각 물질별로 최적화된 전처리 방법과 LC/ESI-

Table 5. Concentration of the pharmaceuticals from livestock wastewater treatment plants and surface water (ng/mL)

River	Site	ASA	DIC	QCA	NAP	IBU	TAL	MFA
A	A-2-1-a	5.772	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.044
	A-2-1-c	0.036	0.022	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.275
	A-2-2-a	2.594	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	A-2-2-c	0.049	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	A-2-3*	0.029	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	A-2-4*	0.067	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.087
B	B-2-1-a	16.925	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	B-2-1-c	0.032	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	B-2-2*	0.036	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	B-2-3*	0.028	N.D.	0.035	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
C	C-2-1-a	12.626	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C-2-1-c	0.049	N.D.	0.018	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C-2-2*	0.027	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C-2-3*	0.024	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
D	D-2-1-a	0.267	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.057
	D-2-1-c	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.202
	D-2-2-a	0.042	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.058
	D-2-3*	0.031	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.026
	D-2-4*	0.049	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Abbreviation: acetylsalicylic acid(ASA), diclofenac-Na(DIC), quinoxaline-2-carboxylic acid(QCA), naproxen(NAP), ibuprofen(IBU), talniflumate (TAL), mefenamic acid(MFA).

N.D. = Not detected. -a : influent of wastewater treatment plant, -c : effluent of wastewater treatment plant, * : surface water

MS/MS 기기분석 조건을 확립하였다. 2-퀴노사린카르복시산, 아세틸살리실산, 디클로페낙-소듐은 HLB 카트리지와 MCX 카트리지를 연결한 텐덱 고체상 추출법을 사용하였으며 나프록센, 이부프로펜, 메페남산, 탈니플루메이트는 MCX 카트리지만을 이용하였다. 그 결과 산성의약품질의 LODs는 0.05 pg/mL 이하였으며, MDLs는 4.9 pg/mL 이하였다. 세 가지 농도(높은농도, 중간농도, 낮은농도)에서 측정된 회수율은 72.5%~131.0%의 값을 나타내었으며, 상대표준편차(RSD)는 16.4% 이하의 정밀한 값을 나타내었다.

확립된 분석방법을 이용하여 수질 중 잔류하는 산성의약품질을 수 pg/mL~수 ng/mL의 범위로 검출할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 국립환경과학원의 2007년도 “환경 중 의약품질 분석방법 연구 및 노출실태조사(II)” 사업의 지원으로 이루어진 것이며 경기대학교 특성화사업단의 LC/MS/MS를 사용 하였기에 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. S. J. Khan and J. E. Ongerth, *Chemosphere*, **54**, 355-367(2004).
2. Environmental Risk Assessment for Veterinary Medicinal Products other than GMO-containing and Immunological Products, EMEA, London (EMEA/CVMP/055/96)(1998).
3. J. V. Holm, K. Ruge, P. L. Bjerg and T. H. Christensen, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 1415-1420(1995).
4. H. G. Choi and H. W. Jun *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, **35**, 221-231(2004).
5. V. M. Johnson, J. P. Allanson and R. C. Causon, *J. Chromatogr. B*, **740**, 71-80(2000).
6. D. Löffler and T. A. Ternes, *J. Chromatogr. A*, **1021**, 133-144(2003).
7. B. J. Vanderford, R. A. Pearson, D. J. Rexing and S. A. Snyder, *Anal. Chem.*, **75**, 6265-6268(2003).
8. L. Araujo, J. Wild, N. Vila, N. Camargo, D. Cubillan and A. Prieto, *Talanta*, **75**, 111-115(2008).
9. B. Kasprzyk-Hordern, R. M. Dinsdale and A. J. Guwy, *Talanta*, **74**, 1299-1312(2008).
10. G. H. Han and H. G. Hur and S. D. Kim, *Environ. Toxicol. Chem.*, **25**, 265-266(2006).
11. D. Fatta and Nikolaou, *Trends Anal. Chem.*, **26**, 515-533(2007).
12. M. J. Hutchinson, P. B. Young and D. G. Kennedy *J. Chromatogr. B*, **816**, 16-17(2005).
13. K. G. Karthikeyan, *Sci. Tot. Environ.*, **361**, 196-207(2006).
14. D. Löffler, *J. Chromatogr. A*, **1021**, 133-144(2003).
15. J. B. Quintana and T. Reemtsma, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 765-774(2004).
16. W. W. Buchberger, *Anal. Chim. Acta*, **593**, 129-139(2007).
17. S. Zühlke, U. Dunnbier and T. Heberer, *J. Chromatogr. A*, **1050**, 201-209(2005).