

고분해능질량분석기 기반의 표적, 추정, 비표적 분석기법을 활용한 수환경 미량오염물질 및 환경변환체 탐색: A review

전준호^{1,2,†} · 박나리² · 이선홍³

¹국립창원대학교 환경공학과, ²국립창원대학교 친환경해양플랜트FEED공학과, ³전라남도환경산업진흥원

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

Junho Jeon^{1,2,†}, Naree Park², and Sun-Hong Lee³

¹Department of Environmental Engineering, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

²Graduate school of FEED of Eco-friendly Offshore Structure, Changwon National University, Changwon 51140, Korea

³Gangjinsandan-ro 1-gil, Seongjeon-myeon, Gangjin-gun, Jeollanamdo, 59205, Korea

Received November 26, 2016/Revised December 5, 2016/Accepted December 11, 2016

Micropollutants including pharmaceuticals, personal care products, pesticides, etc., and their transformation products (TP) are widely distributed in environmental media. However, limited information on their occurrence and concentration is available, at least partially due to lack of precise, reliable analytical tools. Recently, highly advanced instrument such as high resolution mass spectrometry (HRMS) has been commercially available and applicable for the detection of micropollutants and TPs. In addition, HRMS relevant screening techniques, suspect and nontarget screening, have been developed and optimized to identify unpredictable and unknown pollutants at trace levels. In this review paper, prior micropollutants and their TPs are suggested via literature survey, and the procedure of target/suspect/nontarget screening for their identification are introduced in detail with technical steps. Finally, the applicability of HRMS-based identification methods is discussed with lessons from previous studies. Considering the accuracy and applicability, suspect/nontarget screening approaches with HRMS are expected to extend our knowledge on micropollutants and TPs under the cover.

Key words: Micropollutants, Transformation products, LC-HRMS, Suspect screening, Nontarget screening, Unknown contaminants

1. 서 론

현대인의 삶에서 화학물질의 역할은 지대하다. 농약은 화학비료와 함께 농업생산성을 높여 기근을 해결하였고, 산업현장에서 사용되는 다양한 화학물질은 공산품을 만들어내는데 필수요소이다. 비누, 샴푸, 세제, 화장품 등은 청결유지와 미용을 위해 매일같이 사용되고 있고, 효과가 개선된 신약들이 개발되어 인간의 생명연장에 기

여하고 있다. 이렇듯 우리는 화학물질 없이는 하루도 살 수 없다.

이러한 화학물질은 날로 고도화되고 다양해지고 있다. 현재 유럽 European Chemicals Agency (ECHA)에서 관리·취급되고 있는 화학물질의 수는 약 120,000종에 이르고 있다.¹⁾ 그 중, 약 30,000종은 매일, 일상적으로 사용되고 있는 것으로 보고되고 있다.²⁾ 사용된 화학물질은 필연적으로 대기, 토양, 수계 환경으로 유입되어 생

[†]To whom correspondence should be addressed.

태계 질서를 교란하고 있다. 수계에 존재하는 화학물질들은 대부분 미량으로 존재하는 오염물질(이하 미량오염물질, micropollutants)이지만, 이들 각각이 모여 형성된 오염물 혼합체(pollutant mixture)는 수생생물에겐 결코 무시할 수 없는 위협이 되고 있다.^{3,4)} 환경으로 유입된 화학물질들은 물리화학적 또는 생물학적 변환과정을 거쳐 분자구조가 바뀌게 되는데, 이러한 변환체(transformation products, TP) 또한 새롭게 인지되고 있는 환경오염원이다.^{5,7)} 그러나, 이들의 위해성을 평가하기 위해 필요한 물질의 종류 및 농도에 대한 구체적인 정보가 부족한 실정이다. 환경매체 내 미량오염물질의 존재여부(occurrence) 및 농도(concentration)에 대한 정보를 획득하기 위해서는 보다 선진화된 분석기술의 접목이 요구된다.

독일, 스위스 등 수계 모니터링 선두그룹들은 미량오염물질의 문제점을 인지하고 이에 대한 조사연구를 활발하게 진행하고 있다. 한 예로, 라인강에서는 고분해능 질량분석기(High resolution mass spectrometry, HRMS) 등을 활용하여 300 여종의 미량오염물질에 대한 정성·정량분석을 일단위로 수행하고 있다.^{8,9)} HRMS는 기존의 단위질량기반 질량분석기에 비해 질량스펙트럼 피크(mass spectral peaks)를 구별해 내는 분해능(resolving power)이 월등히 높은 장비로, 환경시료 등과 같이 수많은 물질을 동시에 분석해야 하는 경우에 그 우수성이 발휘될 수 있고, 물질에 대한 감지 민감도(sensitivity) 또한 우수하여 ng/L 수준의 미량오염원들도 분석이 가능하다. 뿐만 아니라, HRMS로 측정된 accurate mass¹⁾는 해당 분자의 원자구조(elemental composition) 및 분자식(molecular formula)의 추정을 가능케 하여 존재가 의심되는 오염물질의 탐색(e.g., 추정/비표적 분석 기법, suspect/nontarget screening)에 활용되고 있다. 이러한 최신 분석장비와 분석기법 등은 환경에 존재하는 미량오염원들에 대한 정보를 극대화시키기 위해 적극 활용 될 필요성이 있다.

본 연구에서는 수계에 존재하는 신종 환경오염물질(emerging pollutants) 중 미량 유기오염물질(organic micropollutants)들에 대한 최신 연구동향을 살펴보고, 이들의 정성·정량분석에 사용되는 최신 분석기법을 고찰하고자 한다. 특히, 액체크로마토그래피 고분해능질량분석기(Liquid Chromatography-High Resolution Mass

Spectrometry, LC-HRMS)를 활용한 suspect/nontarget screening 기법을 중심으로 수계 및 수생생물에 존재하는 환경미량오염물질 탐색방법을 모색하고자 한다.

2. 환경미량오염물질의 종류와 농도

신규 환경오염원(emerging micropollutants)으로 인지되고 있는 화학물질에는 의약품(pharmaceuticals), 개인관리용품(personal care products), 인공감미료(artificial sweeteners), 그리고 유기인계 및 카바마이트계 등의 농약류(pesticides)가 포함된다. 이와 함께, 수처리공정 또는 환경내에서 생물학적/물리화학적인 반응과정을 거쳐 형성된 변환체(transformation products) 또한 환경위해성이 의심스러운 미량오염원으로 간주되고 있다. 이들 오염물질의 대부분은 환경내에서 $\mu\text{g/L}$ 수준 이하의 미량농도로 존재하여, 과거 전통적인 분석방법으로는 이들의 존재유무를 확인하는 데에 많은 어려움이 있었다. 그러나, 2000년대 들어서면서부터 tandem MS 등 정밀분석장치들이 환경분석에 활용되면서 이들에 대한 정성정량 분석결과들이 나오기 시작하였다. 특히, 2010년을 전후로 하여 HRMS 등의 고분해능 분석장비들을 기반으로 한 다성분동시분석법 등이 개발되면서 환경내 미량오염물질에 대한 정보가 급격히 증가하기 시작하였다. Fig. 1에서는 2000년대 이후 미량오염원과 이들의 분석에 활용된 HRMS 및 추정/비표적분석에 관련된 논문수를 Scopus DB에서 검색한 결과이다. 관련 논문수를 확인하기 위해 micropollutant, high resolution mass spectrometry, orbitrap + QTOF, suspect/nontarget screening을 검색 키워드로 사용하였다. 그림에서 확인할 수 있듯이, 2001년 이후 해당 논문수는 꾸준히 증가해오고 있고, 2010년을 기점으로 대표적 HRMS인 Orbitrap 및 QTOF와 micropollutant를 키워드로 한 논문수의 증가세가 가파르다는 것을 볼 수 있다. 아래 Table 1에서는 아시아, 유럽, 미국 등에서 2010년 이후에 학술논문 및 보고서에 보고된 주요 미량오염물질을 그룹별로 구분하였다. 이들의 exact mass²⁾는 119.0478 (benzotriazole)~790.8692 (iopromide) 범위이고 중간값은 258.1978 (Galaxolide)이며, $\log K_{ow}$ 는 -2.42 (iopamidol)~6.35 (tonalide) 범위이고, 중간값은 1.71(4/5-Methyl-Benzotriazol)이다. 아래에서는 각 물질 그룹별

¹⁾일반적으로 소수점 셋째자리 또는 그 이하로 측정된 질량정보를 말하며 5 ppm 이하의 mass error 값을 가진다.

²⁾최소 소수점 아래 4자리 이상으로 정의된 분자의 질량수.

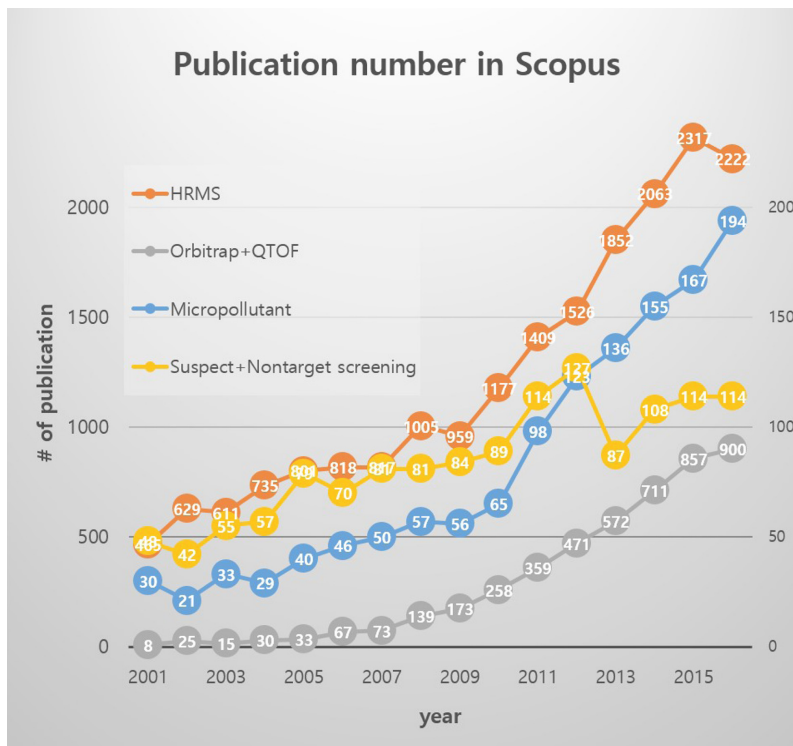


Fig. 1. Publication number in Scopus database searched with keywords, high resolution mass spectrometry (HRMS), orbitrap + QTOF, micropollutant, and suspect + nontarget screening.

출현(occurrence) 및 농도(concentration)에 대한 사례를 소개한다.

2.1. 의약품(pharmaceuticals)

의약품은 생체내 표적지점(target/binding site)에 결합하여 특정 기능을 수행하도록 설계된 기능성물질로써, 환경 내로 유출되었을 시 환경생물의 생물학적 기능을 교란할 가능성을 내재하고 있다. 의약품은 설계된 기능에 따라 구분할 수 있는데, 사용량/처방량이 상대적으로 높고 환경유출가능성이 높은 약물 그룹에 대하여 수환경 및 방류수(effluent) 농도 정보를 수집하였다.

2.1.1. 소염진통제

소염진통제는 감기몸살, 염증성 질환 등 가장 일반적인 질환에 흔히 사용되는 의약품으로, 스테로이드 계열과 비스테로이드 계열로 나뉜다. 그 중 비스테로이드 계열의 소염진통제(NSAID, Nonsteroidal anti-inflammatory drug)가 보다 많이 사용되며 ibuprofen, diclofenac, acetaminophen (타이레놀의 주요 성분) 등이 이에 포함

된다. Ibuprofen의 경우, 한강에서 23 ng/L,¹⁰⁾ 울산의 하수방류수에서는 40 ng/L의 평균농도가 검출된 바 있고,¹¹⁾ 스페인의 한 방류수에서는 최대 40,000 ng/L 가량의 농도가 검출되기도 하였다.¹²⁾

Diclofenac의 경우, 국내 울산의 방류수에서는 23 ng/L 가량의 평균농도가 검출되어,¹³⁾ 스위스(로잔, 518 ng/L)¹⁴⁾와 미국(발티모어, 90 ng/L)¹⁵⁾의 경우에 비해 낮은 수준을 나타냈다. Acetaminophen은 울산의 방류수에서 10 ng/L의 평균농도 수준을 나타낸 바 있다.¹¹⁾

기타 NSAID 물질 중, tramadol은 독일의 Gründlach의 하천에서 최대 140 ng/L가 측정되었고,¹⁶⁾ 영국 Maarsden의 방류수에서 최대 1,200 ng/L가 검출된 바 있다.¹⁷⁾ Ketoprofen은 관절염의 통증치료를 주로 사용되는 약물로, 스페인 Castellón의 방류수에서는 최대 1170 ng/L가 측정된 반면,¹²⁾ 국내 울산 및 부산의 방류수에서 각각 12 ng/L와 38 ng/L의 평균값을 나타내었다.^{11,13)} Naproxen은 국내 부산 및 울산의 방류수에서 각각 128 ng/L¹³⁾와 111 ng/L¹¹⁾의 평균농도가, 미국 볼티모어에서는 380 ng/L¹⁵⁾의 평균농도를 보인 반면, 스

페인 Castellón의 방류수에 최대 3,280 ng/L 농도가 검출되었다.¹²⁾

2.1.2. 고혈압/고지혈/심혈관 치료제

유럽 및 미국 등 선진국들을 중심으로 인구 노령화가 가속화되면서 고혈압, 고지혈, 및 심혈관 질환 치료를 위한 의약품 사용량이 증가하는 추세이다.¹⁸⁾ Beta blocker는 고혈압, 심부전증, 및 부정맥 등의 치료에 주로 사용되는데, atenolol, metoprolol, propranolol 등이 이에 속한다. 이들의 방류수 농도를 비교해 보면, atenolol의 농도가 다른 2개의 물질에 비해 상대적으로 높은 농도를 나타내며, 국내에서는 최대 2,770 ng/L,¹¹⁾ 유럽(스페인)에서는 1,030 ng/L, 미국에서는 평균 940 ng/L의 방류수 농도가 측정된 바 있다. 국내 한강의 atenolol 농도는 평균 83 ng/L가, 스위스와 스페인의 하천에서는 이와 비슷하거나 조금 낮은 수준에서 측정된 바가 있다. 한편, 고지혈 치료제인 gemfibrozil은 중국의 방류수에서 최대 6,270 ng/L가, 스페인의 하천에서는 최대 2,120 ng/L가 측정되는 등¹²⁾ 상대적으로 높은 수준의 농도분포를 나타내었다.

2.1.3. 항생제

환경 내 항생제의 배출은 환경미생물의 내성을 증가시키고, 슈퍼박테리아의 생성을 유발하는 등 다양한 환경문제를 야기한다.¹⁹⁾ 환경내 유출빈도가 높은 항생제는 크게 sulfonamide계, penicillin계, tetracycline계, 그리고 마이신(mycin)류를 포함한 macrolide계로 나눌 수 있다. 국내 축산용 항생제의 판매실적을 보면, 2013년 기준으로 tetracycline계열이 269톤, penicillin계열이 187톤, sulfonamide계열이 75톤, macrolide계열이 41톤 순으로 판매되었다.²⁰⁾ 세부 판매실적을 들여다 보면, tetracycline계열의 oxytetracycline이 약 192톤으로 가장 많이 판매되었으며, penicillin계열의 amoxicillin이 약 112톤으로 그 뒤를 이었다. Sulfonamide계열 중에서는 sulfathiazole과 sulfamethoxazole이 각각 23톤과 22톤이 판매되었다. Sulfamethoxazole의 경우 한강에서 31 ng/L의 평균농도가 검출된 바가 있다.¹⁰⁾

2.1.4. 항우울제

항우울제는 우울증 치료나 신경안정을 목적으로 사용되는 의약품으로, sulpirid, venlafaxine, fluoxetine 등이 포함된다. Fluoxetine의 경우, 낙동강과 영산강에서 각각 37 ng/L와 11 ng/L의 평균농도가 검출된 바가 있다.²¹⁾

2.1.5. X-ray 조영제

X-ray 촬영시 복용하게 되는 조영제는 주로 요오드 화합물로서, iopamidol과 iopromide 등이 이에 포함된다. 이들 대부분은 병원 폐수로부터 환경 내로 유입되는데, 생물학적 또는 물리화학적 처리과정에서 제거효율이 비교적 낮아 환경농도가 상대적으로 높은 것으로 알려져 있다.^{22,23)} 국내 조사결과에 따르면, 한강의 경우 iopromide의 평균검출농도가 1,013 ng/L, 영산강에서는 2,360 ng/L에 이르는 것으로 조사되었다.^{10,24)}

2.1.6. 기타 의약품질

기타 환경 내 검출빈도가 높은 의약품들에는 carbamazepine 등의 항경련제, ranitidine 등의 소화제 등이 있다. Caffeine은 의약품으로써, 신경자극의 목적으로 사용되기도 하나, 환경내 caffeine의 출현은 대부분 커피의 소비에서 기인한다. caffeine의 경우, 국내 하천에서 수십 ng/L 수준에서 최대 200 ng/L 이상의 농도가 검출된 바가 있다.^{10,21)}

2.2. 개인관리용품(Personal care products)

개인관리용품은 청결, 세정, 및 미용에 사용되는 제품으로 각종 비누류 및 세안제, 화장품 등이 이에 포함된다. 이러한 용품들에는 다양한 기능성 화학물질들이 포함될 수 있는데, 그 중 benzophenone과 oxybenzone 등의 UV-filter는 화장품에 사용되어 햇빛에 의한 제품의 변질도 차단하고 자외선으로부터 피부를 보호하는 기능을 한다. 그러나, 발암성, 내분비계 장애 등 UV-filter의 다양한 독성영향들이 밝혀지면서 환경 및 생태위해성이 우려되고 있다.^{10,25-27)} 한강에서는 32 ng/L의 benzophenone의 평균검출농도가 보고된 바가 있다.¹⁰⁾ 한편, 화장품, 향수, 또는 세정제 등에 좋은 향기를 내기 위해 인공사향(synthetic musk)을 사용하는데, 주로 galaxolide와 tonalide 등이 사용된다. 특히, galaxolide의 사용량이 상대적으로 많은데, 국내 하천에서의 검출농도는 260~13,920 ng/L (평균 4,910 ng/L)의 범위를 나타내었다.²⁸⁾ Climbazole은 비듬 등 피부 곰팡이류 등을 제거하는 목적으로, 주로 샴푸제품에 사용된다. 중국 베이징의 영향권에 있는 Haihe 강에서는 230 ng/L의 median값이 측정된 바 있다.

2.3. 농약류

농약은 대상생물에 따라 제초제와 살충제로 나눌 수 있으며, 화학물질의 화학성분 및 구조에 따라 유기염소

계(organochlorines), 유기인계(organophosphates), 카바마이트계(carbamate), triazole/triazine계, neonicotinoid 계로 나뉠 수 있다. 이중 organochlorine계 농약은 대부분 난분해성 및 생농축성이 강하여 환경생태위해성이 높은 것으로 알려져 있고, 이로 인해 그 사용량이 극히 제한적이다. 반면, 나머지 계열의 농약들은 organochlorine 계에 비해 비교적 환경독성이 낮고 환경내에서의 분해 속도가 빨라 그 사용량이 상대적으로 많고, 그 종류도 나날이 다양해지고 있다.^{29,30)}

2.3.1. Organophosphates

유기인계 농약은 신경계 효소인 acetylcholinesterase (AChE)의 활동성을 저해하여 곤충의 신경을 마비시키는 기작으로 해충을 제어한다.^{31,32)} Malathion, fenitrothion, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, dichlorvos 등이 대표적인 유기인계 농약이다. 물벼룩 등 수서생물에 대한 이들의 급독성농도(e.g., LC₅₀, EC₅₀ 등)는 수 µg/L 수준으로 다른 농약들에 비해 상대적으로 독성이 높은편에 속한다.^{31,33-35)} Chlorpyrifos의 경우, 국내 하천에서 50 ng/L 이상의 농도가 검출된 적이 있고, 그리스에서는 최대 101 ng/L가 측정되었다. Diazinon은 스페인에서 38~52 ng/L의 평균농도와, 스위스에서 최대 2,700 ng/L가 검출된 바가 있다.

2.3.2. Carbamates

카바마이트계 농약은 AChE 저해물질로 유기인계와 동일한 독성기작을 가지고 있으나, AChE과 카바마이트 물질의 결합은 가역적으로, 비가역적인 유기인계에 비해 독성이 낮은 특성을 가지고 있다.^{31,32)} 대표적인 카바마이트 농약은 methomyl, pirimicarb, carbofuran, carbaryl 등이 있다. 국내 하천에서는 carbofuran과 carbaryl이 각각 53 ng/L와 2.8 ng/L가 검출된 바가 있다.^{36,37)}

2.3.3. Triazoles/triazines

오각링에 3개의 질소를 포함하는 triazole류는 진균제(fungicide)로, 벤젠링에 3개의 질소를 포함하는 triazine류는 제초제(herbicide)로 주로 사용된다. Propiconazole, tebuconazole 등의 진균제들은 내분비계 장애를 일으키고, 미생물의 군집 등에 독성영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.³⁸⁻⁴⁰⁾ 제초제인 terbutylazine은 유럽의 Danube 강에서 최대 63 ng/L가 측정된 바가 있으며, terbutryn은 포르투갈의 하천 하구에서 2~5 ng/L의 농도 범위를 나타내었다.⁴¹⁾

2.3.4. Neonicotinoids

니코틴과 유사한 구조를 가지고 있는 신경계 농약인 neonicotinoid는 imidacloprid를 시작으로 1990년대 들어서면서 본격적으로 사용되기 시작했다. 곤충에 대한 박멸효과가 우수한 반면, 조류나 포유류에는 낮은 독성을 나타내어, 기존의 유기인계 및 카바마이트계 농약의 대체제로써 그 사용폭을 확대해 나갔다. 그러나, 2000년대 초반부터, 이들의 환경생태위해성이 대두되었고,^{29,42)} 특히, 벌 군집(bee population) 급감의 원인물질로 neonicotinoid계 농약이 지목되면서 많은 우려를 낳고 있다.⁴³⁻⁴⁵⁾ 이러한 이유로, 유럽연합에서는 2013년부터 imidacloprid, clothianidin, 및 thiamethoxam의 사용을 금지하고 있다.^{46,47)} 사용금지 전인 2010~2011년 스페인 및 포르투갈 하천에서 측정된 imidacloprid는 1~8 ng/L의 농도 범위를 나타내었다.^{41,48)}

2.4. 기타 미량오염물질

2.4.1. Artificial sweeteners

인공감미료는 가공식품에 사용되는 식품첨가제로써, acesulfame, neotam, saccharin, sucralose 등이 포함된다. 이러한 물질들은 거의 대부분이 하수방류수를 통해 자연하천으로 유입되고, 환경잔류성이 비교적 높고, 수환경 이동성이 높아 지하수에서도 검출되기도 한다.⁴⁹⁾ 독일의 라인강에서는 saccharin과 sucralose의 최대농도로 각각 240 ng/L와 175 ng/L가 검출되기도 하였다.⁸⁾

2.4.2. Corrosion inhibitors

Benzotriazole은 산업체 및 플랜트 공정에서 다양한 목적으로 활용되고 있는데, 주로 각종 관망 및 설비의 방청제(corrosion inhibitors)로 사용되고 있다. 또한, 세탁기나 식기세척기에 사용되는 세제에 포함되어 기기의 부식을 방지한다.⁵⁰⁾ Benzotriazole은 친수성이 강해 수처리 공정에서의 제거효율이 낮으며 환경내에서도 안정하여 수환경내에서의 농도가 상대적으로 높은 편이다.⁵¹⁾ 독일의 Elbe강에서는 benzotriazole의 농도가 최대 304 ng/L가 측정된 바가 있으며,⁵²⁾ Danube 강에서는 380 ng/L의 최대농도가 보고된 바가 있다.⁵³⁾

2.4.3. Transformation products

앞서 언급된 환경미량오염물질들의 대부분은 하폐수 처리공정 등에서 물리화학적/생물학적 처리를 거치게 되고 그 과정에서 분자구조가 바뀌게 되는데, 이렇게 형성된 분해산물 또는 대사체 등을 transformation products

(TPs)로 통칭한다. 농약의 경우, 수환경내로 유입되기 전에 특별한 처리과정을 거치지 않지만 토양미생물의 의한 생변환(biotransformation)이나 햇빛에 의한 광분해(photo degradation) 등을 거쳐 TP가 형성된다. 일반적으로, TP의 독성은 모화합물에 비해 낮으나, 일부 농약의 경우 TP의 독성이 더 증가되는 경우도 있다.⁵⁴⁾ 또한, 모화합물에 비해 친수성이 증가하여 수환경에서의 이동

성이 증가하는 경향을 보인다. Table 1에 명시된 TP의 평균 $\log K_{ow}$ 값이 1.39으로, 이들 모화합물(평균 $\log K_{ow}$ =2.35)에 비해 높은 친수성을 나타내었다. 한편, 하폐수 방류수 내 TP의 농도가 모화합물과 비슷하거나 높게 검출되는 경우도 종종 볼 수 있다. 예를 들어, 스페인의 한 하수방류수에서 측정된 venlafaxine의 평균농도는 174 ng/L였으나, TP인 O-Desmethylvenlafaxine는 468 ng/L

Table 1. Classification of micropollutants and their relevant information for chemical identification

Group	Class	Substances	CAS-No	Formula	Exact mass	$\log K_{ow}^*$
Pharmaceuticals	Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID)	Acetaminophen (or paracetamol)	103-90-2	C ₈ H ₉ NO ₂	151.0628	0.46
		Diclofenac	15307-86-5	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	295.0161	4.51
		Ibuprofen	15687-27-1	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206.1301	3.97
		Indomethacin	53-86-1	C ₁₉ H ₁₆ ClNO ₄	357.0768	4.27
		Ketoprofen	22071-15-4	C ₁₆ H ₁₄ O ₃	254.0937	3.12
		Mefenamic acid	61-68-7	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	241.1097	5.12
		Naproxen	22204-53-1	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	230.0937	3.18
	Antibiotics	Tramadol	27203-92-5	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263.1885	3.01
		Amoxicillin	26787-78-0	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₅ S	365.1040	0.97
		Ciprofloxacin	85721-33-1	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	331.1327	0.28
		Clarithromycin	81103-11-9	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	747.4763	3.16
		Clindamycin	18323-44-9	C ₁₈ H ₃₃ ClN ₂ O ₅ S	424.1799	2.16
		Erythromycin	114-07-8	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	733.4607	3.06
		Minocyclin	10118-90-8	C ₂₃ H ₂₇ N ₃ O ₇	457.1854	-0.42
		Ofloxacin	82419-36-1	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	361.1432	-2.00
		Sulfadiazine	68-35-9	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	250.0519	-0.09
		Sulfadimethoxin	122-11-2	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	310.0730	1.63
		Sulfamethazine	57-68-1	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	278.0832	0.89
Sulfamethoxazole	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253.0516	0.89		
Sulfathiazole	72-14-0	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂	255.0131	0.05		
Tetracyclin	60-54-8	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	444.1533	-1.33		
Cholesterol lowering drug/ Lipid regulator/ Beta blocker	Atenolol	29122-68-7	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	266.1625	0.23	
	Bezafibrate	41859-67-0	C ₁₉ H ₂₀ ClNO ₄	361.1075	4.25	
	Gemfibrozil	25812-30-0	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250.1563	4.77	
	Metoprolol	37350-58-6	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	267.1829	1.88	
	Propranolol	525-66-6	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂	259.1567	3.48	
Sotalol	3930-20-9	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	272.1189	0.24		
Antidepressants	Bupropion	34911-55-2	C ₁₃ H ₁₈ ClNO	239.1077	3.85	
	Citalopram	59729-33-8	C ₂₀ H ₂₁ FN ₂ O	324.1638	3.74	
	Fluoxetine	54910-89-3	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO	309.1335	4.05	
	Sulpirid	15676-16-1	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S	341.1409	0.65	
	Venlafaxine	93413-69-5	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	277.2036	3.28	
X-ray contrast media	Iopamidol	62883-00-5	C ₁₇ H ₂₂ I ₃ N ₃ O ₈	776.8535	-2.42	
	Iopromide	73334-07-3	C ₁₈ H ₂₄ I ₃ N ₃ O ₈	790.8692	-2.05	
Others	Caffeine	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194.0798	-0.07	
	Carbamazepine	298-46-4	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236.0944	2.45	
	Gabapentin	60142-96-3	C ₉ H ₁₇ NO ₂	171.1259	-1.1	
	Ranitidin	66357-35-5	C ₁₃ H ₂₂ N ₄ O ₃ S	314.1407	0.27	

Table 1. Classification of micropollutants and their relevant information for chemical identification (Continued)

Group	Class	Substances	CAS-No	Formula	Exact mass	logK _{ow} *	
Personal care products	Cosmetics and soaps	Benzophenone	119-61-9	C ₁₃ H ₁₀ O	182.0726	3.15	
		Climbazole	38083-17-9	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₂ O ₂	292.0979	3.76	
		Galaxolide	1222-05-5	C ₁₈ H ₂₆ O	258.1978	5.9	
		Oxybenzone	131-57-7	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.0781	3.79	
		Tonalide	21145-77-7	C ₁₇ H ₂₄ O	244.1822	6.35	
Pesticides	Organo-phosphates	Chlorpyrifos	2921-88-2	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	348.9263	4.7	
		Diazinon	333-41-5	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304.1005	3.81	
		Dichlorvos	62-73-7	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	219.9454	0.6	
		Dimethoate	60-51-5	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	229.0002	0.78	
		Methidathion	950-37-8	C ₆ H ₁₁ N ₂ O ₄ PS ₃	301.9624	2.57	
	Pesticides	Carbamates	Phosmet	211-987-4	C ₁₁ H ₁₂ NO ₄ PS ₂	316.9940	2.96
			Aldicarb	116-06-3	C ₇ H ₁₄ O ₂ N ₂ S	190.0776	1.13
			Methomyl	16752-77-5	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	162.0463	2.35
			Pirimicarb	23103-98-2	C ₁₁ H ₁₈ N ₄ O ₂	238.1430	2.3
			Carbofuran	1563-66-2	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221.1057	1.24
Tri-azoles/azines		Carbaryl	63-25-2	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201.0795	-0.27	
		Molinat	3337-71-1	C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₄ S	230.0356	1.4	
		Propiconazol	60207-90-1	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	341.0692	3.72	
		Tebuconazol	107534-96-3	C ₁₆ H ₂₂ ClN ₃ O	307.1446	3.7	
		Terbutryn	886-50-0	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	241.1356	3.74	
Neonicotinoids	Terbutylazin	5915-41-3	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229.1089	3.21		
	Imidacloprid	138261-41-3	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255.0523	-0.41		
Artificial sweetners	Thiacloprid	111988-49-9	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S	252.0236	1.3		
	Acesulfame	55589-62-3	C ₄ H ₅ NO ₄ S	162.9939	-1.33		
	Cyclamate	100-88-9	C ₆ H ₁₃ NO ₃ S	179.0616	-1.61		
	Neotam	165450-17-9	C ₂₀ H ₃₀ N ₂ O ₅	378.2155	2.88		
	Saccharin	81-07-2	C ₇ H ₅ NO ₃ S	182.9990	0.45		
Corrosion inhibitors	Sucralose (splenda)	56038-13-2	C ₁₂ H ₁₉ Cl ₃ O ₈	396.0146	0.68		
	4-Methyl-Benzotriazol	29878-31-7	C ₇ H ₇ N ₃	133.0635	1.71		
	5-Methyl-Benzotriazol	136-85-6	C ₇ H ₇ N ₃	133.0635	1.71		
etc	Benzotriazol	95-14-7	C ₆ H ₅ N ₃	119.0478	1.44		
	1-Hydroxy-Benzotriazol (Benzotriazol TP)	2592-95-2	C ₆ H ₅ N ₃ O	135.0433	0.11		
	1-Methyl-Benzotriazol (Benzotriazol TP)	13351-73-0	C ₇ H ₇ N ₃	133.0635	1.08		
	Atenolol/metoprolol acid (Atenolol/metoprolol TP)	56392-14-4	C ₁₄ H ₂₁ NO ₄	267.1465	-2.34		
	Carbamazepine-10,11-epoxide (Carbamazepine TP)	36507-30-9	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	252.0899	0.95		
	Galaxolidon (Galaxolide TP)	256393-37-0	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272.1771	5.26		
	Transformation products (TP)	Imidacloprid-desnitro (Imidacloprid TP)	115970-17-7	C ₉ H ₁₁ ClN ₄	210.0672	-	
	N4-Acetyl-Sulfamethazin (Sulfamethazin TP)	100-90-3	C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₃ S	320.0938	1.48		
	N4-Acetyl-Sulfamethoxazol (Sulfamethoxazol TP)	21312-10-7	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	295.0621	1.21		
	O-Desvenlafaxin (Venlafaxin TP)	93413-62-8	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	263.1885	2.72		
	Pyrimidinol (Diazinon TP)	2814-20-2	C ₈ H ₁₂ N ₂ O	152.0950	1.2		
	Ranitidin-S-oxid (Ranitidin TP)	73851-70-4	C ₁₃ H ₂₂ N ₄ O ₄ S	330.1362	-		
	Terbutylazin-desethyl (Terbutylazin TP)	30125-63-4	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201.0776	2.23		

*logK_{ow} 값은 Footprint (Exp), ChemIDplus Advanced (Exp), KowWin v. 1.67 (Est), SciFinder (Est)에 등록된 실험값 (Exp) 또는 예측값(Est)을 인용.

의 평균농도를 나타내었다. 하천내에서도 TP의 농도가 종종 높게 나타나는데, 라인강의 경우 atenolol의 농도가 2~13 ng/L로 측정된 반면, TP인 atenolol acid의 농도는 20~213 ng/L의 범위로 수십 배 높게 나타났고, terbutylazine이 1~2 ng/L인 반면, terbutylazine-desethyl은 2~3 ng/L로 검출되었다.⁸⁾ 이렇듯, TP의 출현농도와 그 독성의 불확실성을 고려할 때, 이들의 환경 및 생태위해성은 모화합물의 그것과 유사한 수준에서 고려되어야 할 것이다.^{4,5,54)}

환경미량오염물질과 TP에 대한 통합적인 환경·생태위해성 평가를 위해서는 이들에 대한 노출평가, 즉, 환경내에서의 존재여부 및 농도에 대한 평가방법이 필요하다. 그러나, TP의 형성기작 및 경로(e.g., metabolic pathway)에 대한 정보가 제한적이고, 이들에 대한 표준물질 수급에 어려움이 있는 등 관련 분석법이 미비한 실정이다.

최근, 미량으로 존재하는 이들에 대한 신뢰성 높은 분석법 구축을 위해 HRMS 등 고분해능질량분석장비가 활용되고 있다. 아래에서는 LC-HRMS를 기반으로, TP를 포함한 미량오염물질의 동시분석에 활용할 수 있는 분석기법을 소개하고, 그 절차에 대해 설명하였다.

3. 고분해능질량분석기술을 활용한 환경미량오염원 분석

일반적으로, 환경시료의 분석을 위한 질량분석기는 유기오염물질의 특성에 따라 가스크로마토그래피(Gas

chromatography, GC) 또는 액체크로마토그래피(Liquid chromatography, LC)와 연계하여 사용되어진다. 크로마토그래피를 거친 분석물질들은 이온화(ionization)과정을 거쳐 질량분석기로 보내지게 되는데, 이때 다양한 이온화 방법이 적용가능하다. Fig. 2에서는 크로마토그램 및 이온화소스의 조합과 그에 따른 분석가능대상물질 범위를 도식화하였다. Electron ionization (EI) 방식은 GC-MS 분석시 가장 일반적인 이온화 방법으로, 분자량이 상대적으로 작고, 휘발성 및 무극성(nonpolar)이 강한 물질의 분석에 적합하다.⁵⁵⁾ 이에 비해, LC는 분석가능한 분자량의 범위가 넓고 극성을 띠는 물질의 분석에 효과적인데, 이때 적용가능한 ionization 방식에는 Atmospheric pressure chemical ionization (APCI), Atmospheric pressure photoionization (APPI), electrospray ionization (ESI) 등이 있다. APCI와 APPI는 광화학적 방법을 통해 이온화하는 방식으로, 이온화 대상은 열에 안정한 물질이어야 한다. 물질의 극성도에 따라 그 적용 범위가 다소 차이가 있으나, 두 방식 모두 분자량 1,000 이하의 물질분석에 적합하다.⁵⁶⁻⁵⁸⁾ 한편, ESI는 상대적으로 넓은 범위의 물질분석에 용이하다. 특히, 의약품 및 농약류 등을 포함한 미량오염물질들과 이들의 TP는 비교적 휘발도가 낮고, 친수성이 강한 특성을 지니고 있는데, 이러한 물질의 분석에는 LC-ESI-MS 분석기가 보다 적합한 장비로 알려져 있다.⁵⁹⁻⁶¹⁾

한편, 2000년대 중반 이후, 50,000 이상의 분해능(resolution)을 가진 LC 기반 고분해능질량분석기(LC-HRMS)가 환경시료분석에 활용되면서 미량오염물질의

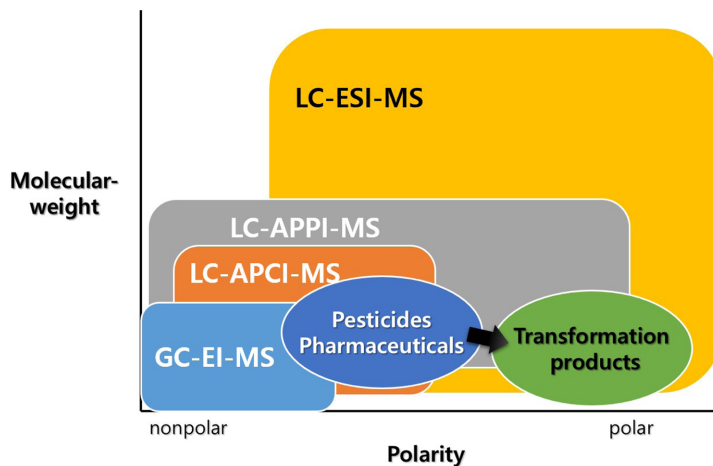


Fig. 2. Application of ionization mode coupled with GC or LC for identification of organic pollutants with varying molecular weight and polarity.

분석이 용이해졌다. 미량오염물질의 분석에 활용되는 HRMS는 장치의 질량분석원리에 따라 Time-of-Flight (TOF) 방식과 Orbitrap 방식으로 나눌 수 있다. TOF 방식은 동일한 운동에너지를 가지는 이온이 전기장 내에서 이동할 때 그 이동속도는 이온의 mass-to-charge ratio에 의해 결정되는데 이러한 원리를 이용하여 분자의 질량을 확인한다. 즉, 무거운 이온은 전기장 내에서 동일한 거리를 이동하는 데에 가벼운 이온에 비해 더 오랜 시간을 요하게 되는데, 이때 발생하는 시간차를 통해 이온의 질량을 측정하게 된다.⁶²⁾ 반면, Orbitrap은 c-trap에 수집된 이온을 내외부 전극으로 구성된 원형축모양의 트랩(orbitrap)으로 주입하고, 이때 트랩 내에 형성된 이온의 oscillation frequency를 fourier transform으로 변환하여 이온의 분자량을 계산하는 방식이다.⁶³⁾ 각각의 방식에 대한 특성 및 장단점은 다음의 논문들에 잘 정리되어 있다.⁶⁴⁻⁶⁶⁾ HRMS는 Quadrupole 또는 Ion trap 방식과 혼용하게 되면 보다 강력한 분석능력을 발휘할 수 있는데, 이러한 hybrid 방식의 HRMS로는 Quadrupole-TOF (QTOF), Linear ion trap-Orbitrap 또는 Quadrupole-Orbitrap이 대표적이다. Hybrid HRMS는 tandem 질량분석기로써, 전구이온(precursor ion) 뿐만 아니라, 이들의 조각이온(fragment 또는 daughter ion)의 accurate mass를 매우 높은 mass accuracy로 분석할 수 있다. 조각이온의 accurate mass 정보는 전구이온의 fragment 패턴분석을 통한 분자구조해석에 매우 높은 신뢰도를 보장해 준다. 환경시료에서 알려져 있지 않은 TP 또는 생물대사체의 존재여부를 확인하고 분자구조를 설명하기 위해서는 hybrid HRMS를 이용한 전구이온 및 조각이온의 accurate mass 등의 정보가 반드시 필요하다. 이러한 정보들을 이용한 미량오염물질 분석기법은 표적/의식/비표적 분석기법(Target/Suspect/Nontarget screening)으로 나눌 수 있는데 이들에 대한 설명은 아래와 같다.

4. 표적/추정/비표적 분석기법

4.1. 표적분석기법

아래 Fig. 3에서는 기존에 알려진 환경오염물질과 현재까지 인지되지 않은 미지의 물질의 분석을위해 적용 가능한 분석기법절차를 설명하고 있다.

기존에 알려진 오염물질에 대한 표준물질의 확보가 가

능할 경우 표적분석을 통해 정성·정량분석이 가능하다. 표적분석은 표준물질의 분석을 통해 확인된 m/z값, MS/MS의 fragment 패턴, retention time (RT), 그리고 isotopic pattern 등을 시료분석결과와의 비교를 통해 해당 물질의 존재를 확인하고(Qualification), 표준물질에 대한 검량선을 작성하여 정량분석을 수행할 수 있다(Quantification). 기존의 LC-MS/MS 기반 selected reaction monitoring (SRM) 방식에서는 특정된 표적물질만을 모니터링할 수 있었지만, HRMS는 full scan을 통해 사실상 모든 precursor 이온에 대한 동시 모니터링이 가능하다. 특히, hybrid HRMS를 활용하게 되면 표적물질에 대한 MS/MS 정보를 data-dependent MS/MS 기능을 통해 수집할 수 있는데, 이에 대한 자세한 사항은 추정 분석기법에서 다루고 있다.

표준물질의 분석을 통해 확인된 표적물질 분석결과를 확증된 정보(confirmation)로 간주되며, 가장 높은 수준의 신뢰도를 확보한 분석정보로 인정된다.^{67,68)}

4.2. 추정분석기법

알려진 오염물질이라 하더라도 표준물질의 확보가 불가능하다면 표적분석을 수행할 수 없다. 이 경우, 이에 대한 대체분석방법으로 추정분석기법을 활용할 수 있다. 한편, 분석을 하고자 하는 시료에 그 존재가 의심되는 물질이 있고, 그 물질의 분자식 또는 exact mass³⁾의 예측이 가능할 때 표준물질이 없이도 추정분석기법을 통해 그 존재를 확인할 수 있다.

4.2.1. 분자 및 이온 예측

추정분석법은 의심되는 물질의 예측으로부터 시작된다. TP 또는 대사체의 경우, 이들의 분자식 또는 구조를 예측할 수 있는 프로그램들이 있는데, 아래에 몇 가지를 소개한다.

University of Minnesota Pathway Prediction System (UM-PPS: <http://eawag-bbd.ethz.ch/>)⁶⁹⁾는 미생물에 의한 유기화합물의 생분해산물(biotransformation products)을 예측하는 웹기반 무료 프로그램이다. 249개의 생분해 기작과 1503개의 반응기작이 TP의 예측에 활용되고, 많은 연구자들에 의해 예측정확도와 유용성 등에 대한 평가가 이루어져 왔다.^{6,7)} 특히, 수처리과정 중 생물학적 처리과정에서 생성될 수 있는 TP를 예측하고자 할 때 유용하게 사용할 수 있다.^{70,71)} 반면, Meteor ([^{3\)}최소 소수점 아래 4자리 이상으로 정의된 분자의 질량수.](http://</p>
</div>
<div data-bbox=)

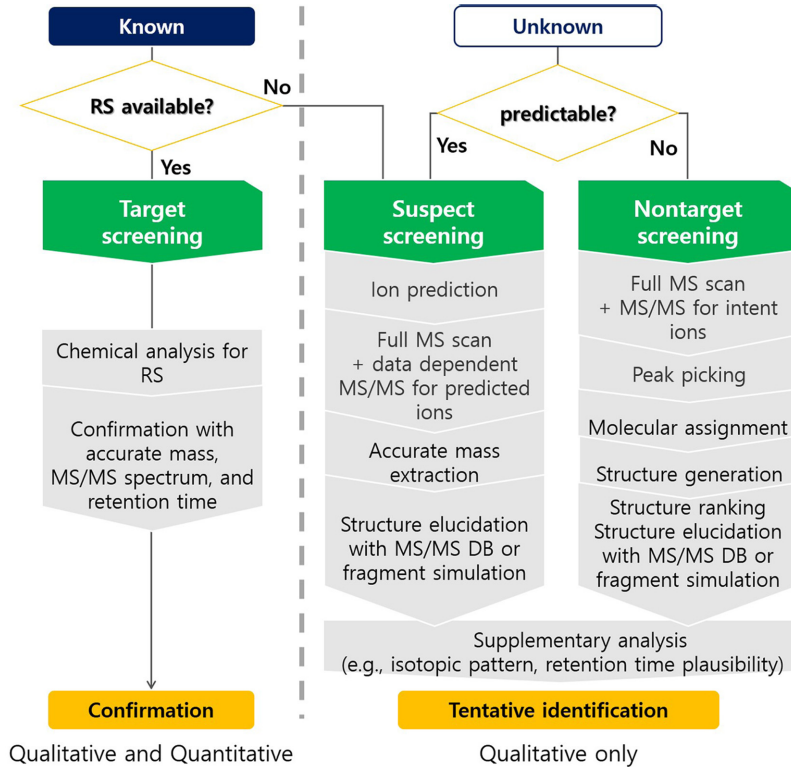


Fig. 3. Work flow of target/suspect/nontarget screening for known/unknown compounds (RS: Reference standard).

www.lhasalimited.org/products/meteor-nexus.htm)는 포유류 등 고등생물에 의해 생성된 TP, 즉, 대사체(metabolites)를 예측하는 유료 소프트웨어 프로그램이다. Meteor는 phase I과 phase II 대사체, 그리고 이 둘의 조합에 의한 대사체 모두를 예측가능하다.^{72,73)} 이 외에도 관련 문헌 등을 통해 TP의 정보를 얻거나 hydroxylation, dealkylation 등 간단한 형태의 화학반응기작을 적용하여 생성가능한 TP를 예측할 수 있다.⁷²⁾ 예측된 TP 분자는 ESI 등 이온화 소스를 통해 어떠한 형태의 이온으로 전환되는지(e.g., $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[M-H]^-$ 등) 확인하여야 하고, 최종적으로 그 이온들에 대한 리스트, 즉 suspect list가 완성된다. 작성된 suspect list는 data-dependent MS/MS 수행을 위해 활용되는데, 이에 대한 설명은 아래에 상세히 기술되었다.

4.2.2. 예측된 이온에 대한 분석

Suspect list에 나열된 예측이온들은 HRMS의 full scan 모드에서 모니터링되고, 이때 예측이온이 특정 신호강도(intensity) 이상으로 감지되면 MS/MS fragment

정보를 수집하게 되는데, 이러한 과정을 data-dependent MS/MS (ddMS2)라고 한다. 일반적으로 1회 full scan 이후 3~6회 MS/MS 정보를 얻고, 이러한 cycle을 연속적으로 수행한다. 이러한 방법의 장점은 full scan을 통해 target 및 suspect list에 있는 이온을 포함한 MS 장비 내로 들어온 모든 precursor 이온에 대한 모니터링과 원하는 이온의 MS/MS 정보를 한번의 분석을 통해 얻어낼 수 있다는 것이다.^{63,65,74)} 만일, full scan에서 suspect 이온이 검출되지 않을 경우, intensity가 가장 높은 이온에 우선순위를 두고 이에 대한 MS/MS 정보를 수집하게 되는데, 이러한 정보는 예측하지 못한 unknown 물질의 확인에 활용될 수 있다.

4.2.3. Accurate mass 추출

시료에 대한 full scan+ddMS2 분석이 마무리되면, 분석데이터에 대한 정보처리가 수행된다. HRMS의 분석데이터는 이온의 accurate mass, intensity, RT 등에 대한 방대한 양의 정보를 포함하고 있는데, 이 중에서 target 또는 suspect ion의 것으로 판단되는 정보를 추출해내야

한다. 이때, 분자식을 기초로 한 exact mass와 실제 측정된 mass 값과의 차이를 의미하는 mass error⁴ 범위를 적절히 선정해서 추출한다.⁷⁵⁾ 최신 HRMS의 경우 mass error 범위가 수 ppm⁵ 이하이므로 3~10 ppm의 mass error를 적용하여 이온정보를 추출하는 것이 일반적이다.^{8,72,76)} 장비제조사에서 번들로 제공하는 소프트웨어의 ion filter기능을 이용하여 이온추출이 가능하며, 다수의 분석데이터를 동시에 추출하기 위해서는 별도의 accurate mass 추출 프로그램(e.g., Thermo Scientific사의 Trace finder, Agilent사의 MassHunter 등)을 구입해야 한다. 만일, 상기의 추출 프로그램으로 suspect ion의 peak 정보가 성공적으로 추출되었다면, 이에 대한 검증 및 분자구조 해석을 위한 추가적인 절차가 필요하다.

4.2.4. MS/MS 비교분석을 통한 분자구조해석

Exact mass와 매우 작은 mass error를 가지는 accurate mass의 peak 정보가 성공적으로 추출되었다고 해서 그것의 존재를 확신할 수 없다. 중요한 사실은, 측정된 이온은 mass error를 내재하고 있으며, 이는 예측된 분자식의 불확실성을 의미하고 있다. Accurate mass를 기준으로 추정된 분자식이 suspect ion의 그것과 일치한다고 하더라도 동일물질로 확정할 수 없다. 이성질체(isomer)일 가능성도 있기 때문이다. 예를 들어, 제초제의 일종인 atrazine의 분자식은 C₈H₁₄ClN₅인데, 이와 동일한 분자식을 가지는 물질을 화학물질데이터베이스인 ChemSpider에서 검색해 보면 총 78개의 물질이 검색된다. 즉, 추출된 이온의 peak를 특정 화학물질의 것으로 확인(chemical identification)하기 위해서는 추가적인 절차가 필요하다. 만일, suspect ion에 대한 MS/MS spectra 정보가 ddMS2를 통해 획득되었고, 검색 가능한 문헌 또는 MS/MS database (DB) 정보가 있다면 화학물질확인에 활용할 수 있다. MassBank는 The Mass Spectrometry Society of Japan가 지원하는 MS/MS DB로 전세계 약 30개의 기관이 DB구축에 참여하고 있으며, 2016년 현재 4만 8천개 이상의 MS/MS spectra 정보를 무료로 제공하고 있다. 이 중 35% 이상이 LC-ESI-QTOF 또는 LC-ESI-ITFT (Orbitrap) 등 HRMS에서 생산된 MS/MS 정보이다. 한편, METLIN은 생체 단백질 등 대사체에 대한 MS/MS spectra DB로써, 약 7만개의 대사체에 대한 HRMS MS/MS 정보와 20만개

의 대사체에 대한 *in silico* 예측 MS/MS 정보를 제공한다. 이러한 DB에서 제공하는 MS/MS spectra 정보와 측정된 값을 비교분석하여 해당물질의 진위여부를 판단할 수 있다. 이렇게 MS/MS DB정보와의 비교를 통해 물질확인을 할 경우에는 표준물질과의 분석비교를 통한 물질의 확증(confirmation)에 비해 그 신뢰도는 낮지만, 물질확인(identification)과정으로써 상당한 신뢰도를 확보한 것으로 판단할 수 있다.^{67,68)}

만일, 문헌 또는 DB에서 측정된 MS/MS spectra와의 비교대상을 찾을 수 없는 경우에는 MetFusion (<http://msbi.ipb-halle.de/MetFusion/>), MOLGEN-MS (<http://www.molgen.de/>), ACD/MS Fragmenter (www.acdlabs.com/products/adh/ms/ms_frag), 또는 MassFrontier (www.highchem.com/index.php/massfrontier) 등 MS/MS spectra 예측프로그램을 이용하여 비교분석 할 수 있다. 이때, 확인과정의 신뢰도는 실제 MS/MS DB정보와의 비교분석에 비해 낮은 것으로 판단된다.^{67,68)}

4.3. 비표적분석기법

환경시료에는 TP 및 대사체 등 여태껏 인지되지 않은 수많은 오염물질들이 존재할 것으로 판단되지만, 기존의 분석기술로는 이들의 인지 및 확인에 많은 어려움이 있었다. 그러나, HRMS를 기반으로 한 비표적분석기법(nontarget screening)을 통해 미지물질의 인지가 어느 정도 가능해졌다. 이것이 가능해진 이유는 수 ppm 수준의 정확도를 가진 accurate mass 측정과 이에 대한 분자식 선정(molecular formula assignment)이 가능해졌기 때문이다. 앞서 추정분석기법에서 설명한 대로, 측정된 accurate mass에는 mass error가 존재하기 때문에 정확한 분자식 추정이 불가능한 것이 사실이나, 확률통계학적 방법을 통해 가장 유력한 분자식 후보군(candidates)을 가려낼 수 있다. 또한, 후보물질에 대한 MS/MS DB 등을 검색하고, 측정값과의 비교를 통해 일부 미지물질에 대한 확인이 가능하다. 이러한 비표적분석기법의 절차는 아래의 순서대로 수행될 수 있다.

4.3.1. HRMS full scan과 MS/MS 정보수집

앞서 추정분석기법에서 설명한 대로, full scan+ddMS2에서 suspect ion이 검출되지 않을 경우, 높은 intensity를 가지는 ion에 우선순위를 두어 MS/MS 정보를

⁴Mass error = exact mass - accurate mass

⁵Mass error in part per million (ppm) = mass error/exact mass * 10⁶

얻어낼 수 있고, 그 정보는 해당물질의 확인에 활용된다. 이러한 ddMS2방식은 상대적으로 높은 농도로 존재하는 precursor ion의 MS/MS fragment 정보를 한번의 분석으로 얻을 수 있다는 장점이 있다. 한편, all-ion-fragmentation (AIF 또는 data-independent MS/MS, DIMS2)은 ion filter에 인지된 모든 precursor ion들을 쪼개어 이들의 fragment 정보를 모두 기록하는 방법이다. AIF 방식은 얻어진 fragment 패턴이 어떠한 precursor ion에 의해 형성된 것인지를 직관적으로 확인할 순 없지만, 이온의 intensity에 상관없이(물질의 농도와 무관하게) 모든 이온의 fragment 정보를 기록해 둘 수 있다는 장점이 있다.^{77,78)}

4.3.2. Peak picking

Full scan과 fragmentation을 통해 얻어진 정보는 peak picking 과정을 통해 선별된다. 이는 추정분석법의 accurate mass 추출과정과 비교될 수 있는데, accurate mass 추출은 target 또는 suspect list에 명시된 이온에 대한 추출과정이라면, peak picking은 suspect list와 같은 사전정보 없이 의미있는 peak 정보를 선별해내는 과정이다.^{7,59,79)} 일반적으로, full scan을 통해 얻어진 신호 정보에는 상당한 양의 noise signal이 포함되어 있을 뿐만 아니라, 전처리 과정 및 분석장치내부에서 기인한 background peak 정보 또한 내재되어 있다.^{8,59)} 이러한 불필요한 정보들로부터 의미있는 peak를 선별하기 위해서는 peak picking 알고리즘이 마련되어야 한다. 이 선별 알고리즘을 위해 peak의 intensity 및 모양, isotopic pattern의 유무, adduct의 생성 등의 파라미터가 활용될 수 있다.^{59,76)} 이와 함께, method blank 또는 control 시료에 대한 분석결과를 바탕으로 background peak 정보를 제거하여 실제 시료에 존재하는 물질의 peak를 선별해야 한다.

4.3.3. Molecular assignment

특정 물질로 의심되는 (의미있는) peak가 선별되면, 해당 이온의 accurate mass에 대한 분자식을 예측 및 지정해야 한다. 이때, 지구상에 존재하는 모든 원소를 분자식 구성원소로 고려할 경우, 수많은 분자식 후보군이 생성되기 때문에 분자식 지정에 어려움이 있다. 이에 대한 해결책으로, Kind와 Fiehn⁸⁰⁾은 인공화학물질의 주요 구성원소인 C, H, N, S, O, P, F, Cl, Br 및 Si 만을 분자식 계산을 위한 후보원소로 설정하는 것이다. 이와 함께 7가지의 golden rule을 제시하였는데 그 내용은 아

래와 같다.

(1) 원자수의 제한 (2) LEWIS/SENIOR 법칙 적용, (3) isotopic patterns 확인, (4) H/C 비율 제한, (5) 탄소에 대한 질소, 산소, 인, 황의 비율 제한, (6) 원자가 비율 가능성 확인, (7) trimethylsilylated compounds의 존재유무.

이러한 seven golden rule을 적용할 경우, 화학물질 DB에 있는 물질을 약 98%의 확률로 분자식 지정이 가능하다.

4.3.4. Structure generation

Unknown accurate mass에 대한 분자식 지정이 성공적으로 수행이 되었다고 하더라도, 해당 분자식을 가지는 수많은 이성질체들이 존재할 수 있기 때문에, 물질 확인을 위해선 추가적인 정보가 필요하다. MOLGEN (<http://www.molgen.de>)의 경우 주어진 분자식으로 형성될 수 있는 분자의 구조 또는 substructure를 예측하는 프로그램으로, 수많은 후보 이성질체에 대한 우선순위 선정(ranking)에 활용할 수 있다.⁷⁶⁾

4.3.5. MS/MS 비교분석을 통한 structure ranking

만일, ddMS2 또는 AIF를 통해 선별된 peak에 대한 fragment 정보가 있다면, 추정분석기법과 동일한 방법으로, MS/MS DB 또는 fragment 예측프로그램 등을 통해 비교분석할 수 있다. 이러한 정보들을 바탕으로 unknown peak의 후보물질들에 대한 우선순위를 결정할 수 있다. 이와 함께, 아래와 같은 추가적인 확인과정을 통해 후보물질의 가능성을 높일 수 있다.

4.3.6. 기타 추가확인과정

후보물질에 대한 우선순위가 결정되면, 이들에 대한 추가적인 검증과정이 동반될 수 있다. 예를 들어, 예측된 분자식에 기초한 isotopic pattern과 실제 측정된 결과를 비교해 봄으로써 해당 분자식의 진위 여부를 확인할 있다. 한편, 해당 물질의 물리화학적 특성(e.g., hydrophobicity) 등을 고려하여 LC의 RT를 예측할 수 있고, 이를 실제 결과값과 비교하여 후보물질의 가능성을 타진할 수 있다.^{8,76)}

5. 추정/비표적분석을 통한 미량오염물질 추적연구사례

오염물질을 스크리닝하는 기존 방식은 대상물질의 시

료내 잔류가능성을 타진하고, 존재가 의심되는 물질에 대해 표준물질을 구입한 후 이에 대한 표적분석을 수행하는 것이다. 그러나, 이러한 방법으로는 수많은 미량오염물질을 스크리닝하기에 많은 어려움이 있다. 원하는 순도(purity)의 표준물질을 구입하기 위해서는 많은 비용과 시간이 소요된다. 특히, TP에 대한 표준물질은 확보가 어렵고, 설령 구입이 가능하다고 하더라도 비용이 만만치 않다. 만일, 표준물질 없이도 TP등의 존재 여부를 확인할 수 있다면, 오염물질의 처리효율, 환경거동 및 독성변화 등의 연구에 매우 유용한 정보를 제공할 수 있다.

최근, HRMS를 기반으로 하는 추정/비표적분석기법을 이용하여 지표수와 방류수, 그리고 수생생물에서 다양한 환경미량오염물질들의 존재가 확인되었다. 물론, 정량분석을 위해서는 표준물질 기반 표적분석을 해야 하지만, 그 전 단계로 추정/비표적기법 분석을 통해 필요한 정보를 확보할 수 있다. Table 2에서는 2009년 이후 보고된 연구논문에서 추정/비표적분석기법을 통해 측정된 미량오염물질과, 사용된 분석장비와 소프트웨어, 그리고 확인물질에 대한 신빙성/신뢰성(i.e., confidence level) 정보를 정량화하여 나타내었다. 시료분석을 위한 전처리 방법으로 대부분 solid phase extraction (SPE) 기법을 이용하여 정제 및 추출하였으며, 이후 LC-ESI-HRMS 기기를 통해 분석하였다. 이때 사용된 HRMS 기기에는 주로 Orbitrap과 일부 TOF 방식이 사용되었다. HRMS 분석데이터는 peak picking, molecular formula assignment 등을 위해 ExactFinder (Thermo Scientific), MSXelator (MsMetrix Maarssen), MZmine (open-source software), ChromaLynx (Waters), DataAnalysis (Bruker), MetWorks (Thermo Scientific), SIEVE (Thermo Scientific), MassHunter (Agilent) 등의 소프트웨어가 활용되었다. 확인된 물질정보는 인지되는 과정 및 방법에 따라 각기 다른 분석 신뢰도를 갖게 되는데, 이를 정량적으로 등급화할 수 있다.⁶⁸⁾ 가령, 추정/비표적 분석을 통해 그 존재가 인지된 물질이 추후 해당 표준물질 분석을 통해 재확인되었다면, 이는 물질 확증(confirmation)에 해당하고 최고의 신뢰도 등급(level 1)을 의미한다. 만일, 표준물질 수급이 어려워 확증이 어려운 경우, MS/MS DB 혹은 참고문헌을 조사하여 측정된 fragment 정보와 비교·분석하거나, diagnostic fragment⁶⁾의 존재여부를 확인하게 되면 해당 물질에 level 2의 신뢰

도를 부여할 수 있다. Level 3은 특정 구조를 확인할 순 없으나 분자식이 정해져 있고 이에 대한 몇몇의 후보물질이 예측되는 경우이고, level 4는 단지 분자식만이 한정될 때 주어지는 신뢰도 등급이다. Rösch 등의 연구(2016)⁸¹⁾에서는 6종의 azole fungicide에 대한 수서생물(*Gammarus pulex*)내 대사체(총 37종)를 추정/비표적분석법을 통해 level 2~4의 신뢰도로 그 존재를 확인하였다. 비록, 표준물질을 이용한 물질 확증(confirmation)을 하진 못했지만, 대상물질의 생체 내 변환과정을 이해하고 독성변화를 예측하기 위한 매우 유용한 정보를 제공하고 있다. 생체시료 뿐만 아니라, 지표수 및 방류수에서도 추정/비표적분석법으로 TP의 존재를 확인하여 이들의 환경변화과정 및 이동현상을 이해하는데 도움이 되고 있다.⁸²⁻⁸⁴⁾ 추정/비표적분석기법은 분명 환경오염원에 대한 인간의 이해를 확장하는데 매우 유용한 도구가 되고 있다.

6. 향후 연구방향

추정 및 비표적분석기법을 통해 수환경내 미량오염물질과 이들의 TP에 대한 지식 및 정보가 증가한 것은 사실이나, 이러한 정보들에 대한 정확도 및 신뢰도는 더욱 개선되어야 할 것이다. 구체적인 개선사항으로, 첫째, exact mass와 accurate mass의 간극 최소화(i.e., mass error의 최소화)를 통한 peak picking, molecular formula assignment 등의 정확도 향상이 필요하다. Mass error가 작으면 작을수록 유효한 peak의 선별이 용이해지고, 해당 후보물질수가 최소화되어 물질에 대한 identification 정확도가 향상될 것이다. 둘째, suspect list 작성을 위한 분자 예측프로그램의 정확도가 개선되어야 한다. 특히, TP를 찾아내고자 할 경우, 이들의 형성 기작 및 분자구조가 정확히/충분히 예측될 수 있다면, 복잡하고 어렵고 시간소모가 많은 nontarget screening 기법이 아닌, 보다 수월한 suspect screening 분석을 통해 TP의 존재를 인지할 수 있다. 셋째, MS/MS DB정보의 공유를 통한 물질 확인 신뢰도 향상이다. 이미, MassBank와 METLIN 등에서 환경오염물질 및 대사체 등에 대한 방대한 양의 MS/MS정보가 공유되어 있으나, 보다 더 공유되고 그 유대는 강화되어야 하며, 정보활용의 용이성(i.e., 측정정보와 DB 내 정보의 유사성을 쉽게 확인할 수 있는 방법 개발)이 보다 개선되어야 할 것이다.

⁶⁾Precursor ion의 분자구조를 특정할 수 있는 중요한 정보를 제공하는 fragment.

Table 2. Case study for identification of micropollutants and their transformation products (TP) with diverse analytical/ data processing tools

Method	Class	Place	Substance	Technical Tool	Software	Confidence	Confirmation	Ref.
Suspect screening	Pesticide	Surface water	Benthiavalicarb-isopropyl/ Carbofuran/ Chlorfenvinphos/ Fenamidone/ Fenhexamid/ Fluoxastrobin/ Kresoxim- methyl/ Mandipropamid/ Mepanipyrim/ Metalaxyl, Penconazole/ Pencycuron/ Trifloxystrobin	SPE-LC-ESI- HRMS/ MS(Orbitrap)	ExactFinder V 2.0	Level 1	Reference standard	85)
			Simazine/ chloridazon/ dimethenamide P/ metolachlor/ Terbuthylazine/ mecoprop/ N,N-Diethyl-m-toluamide (DEET)	SPE-LC-ESI- LTQ-HRMS/ MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 1	Reference standard	86)
			Fenamidone	SPE-LC-ESI- LTQ-HRMS/ MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 4	Isotopic pattern >90%	86)
	Suspect screening	Effluent	Clomazone	SPE-LC-ESI- HRMS/ MS(Orbitrap)	MZmine v2.9	Level 1	Reference standard	83)
			Carbendazim/ Diazinon/ Diuron/ Terbutryn/ Thiabendazol/ kresoxim methyl	SPE-LC-ESI- QTOF-MS/MS	ChromaLynx XS	Level 1	Reference standard	87)
			kresoxim methyl	SPE-LC-ESI- LTQ-HRMS/ MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 4	Isotopic pattern >90%	86)
	Pharma- ceuticals	Surface water	Phenazone/ caffeine/ oxazepam/ tramadol/ Valsartan/ irbesartan/ oxprenolol/	SPE-LC-ESI- LTQ-HRMS/ MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 1	Reference standard	86)
			Valsartan/ irbesartan/ oxprenolol/	SPE-LC-ESI- LTQ-HRMS/ MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 4	Isotopic pattern >90%	86)
		Effluent	4-Methyl-1-tetralone	SPE-LC-ESI- HRMS/ MS(Orbitrap)	MZmine v2.9	Level 1	Reference standard	83)
			Clarithromycin/ Codeine/ Erythromycin/ Ketoprofen 6-aminopenicillanic acid/ tris(2-chloroethyl) phosphate/ dodecanenitrile/ N- Octylpyrrolidone/ diisopropyl adipate	SPE-LC-ESI- QTOF-MS/MS	ChromaLynx XS	Level 1	Reference standard	87)
Personal care products and others	Effluent	6-aminopenicillanic acid/ tris(2-chloroethyl) phosphate/ dodecanenitrile/ N- Octylpyrrolidone/ diisopropyl adipate	SPE-LC-ESI- LTQ-HRMS/ MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 4	Isotopic pattern >90%	86)	
		Benzophenone-4 Secobarbital/ Benzothiazole	SPE-LC-ESI- HRMS/ MS(Orbitrap)	MZmine v2.9	Level 1	Reference standard	83)	

Table 2. Case study for identification of micropollutants and their transformation products (TP) with diverse analytical/data processing tools (Continued I)

Method	Class	Place	Substance	Technical Tool	Software	Confidence	Confirmation	Ref.
Suspect screening products (TPs)	Surface water		Carboxy gemfibrozil (TP of gemfibrozil)	SPE-LC-ESI-LTQ-HRMS/MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 4	Isotopic pattern >90%	86)
			Chlorothalonil-4-hydroxy (TP of Chlorothalonil)/Imidacloprid-desnitro (TP of Imidacloprid) 2-amido-3,5,6-trichloro-4-cyanobenzenesulphonic acid (TP of chlorothalonil)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	ExactFinder V 2.0,	Level 1	Reference standard	85)
			z-(2-chlorothiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-[1,3,5] oxadiazinan -4-ylidineamine(TP of thiamethoxame)/ N-(2,6-dimethylphenyl)-N-(methoxyacetyl)alanine (TP of metalaxyl)					
	Effluent		Carbamazepine 10,11-epoxide (TP of carbamazepine)	SPE-LC-ESI-LTQ-HRMS/MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 1	Reference standard	86)
			Triphenylphosphine oxide(TP of Triphenylphosphine)/2-(Methylsulfinyl)benzothiazol (TP of 2-(methylthio)benzotriazole)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS (Orbitrap)	MZmine v2.9	Level 1	Reference standard	83)
			Guanylurea (TP of metformin)	SPE-LC-ESI-QTOF-MS/MS	DataAnalysis 4.1, Target Analysis 1.3	Level 1	Reference standard	88)
			mono-ethylglycinexylidide (TP of Lidocaine)	SPE-LC-ESI-LTQ-HRMS/MS(Orbitrap)	MSXelarator	Level 4	Isotopic pattern >90%	86)
	Aquatic organisms		[Gammarus pulex] Naphtol-sulfate(TP of Carbaryl)/ 2,4-dichlorophenol-sulfate(TP of 2,4-dichlorophenol)/ 2,4,5-trichlorophenol-sulfate(TP of 2,4,5-trichlorophenol)/	SPE-LC-ESI-LTQ-HRMS/MS(Orbitrap)	Met Works	Level 1	Reference standard	89)
			[Gammarus pulex] PRZ_M353, PRZ_M325, (TP of Prochloraz)/ EP_M451, EP_M467, EP_637(TP of Epoxiconazole)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	SIEVE software version 2.1 and 2.2	Level 2	one specific structure	81)
			[Gammarus pulex] PRZ_M323b, PRZ_M323a, PRZ_M392b, PRZ_M392a, PRZ_M429, PRZ_M239, PRZ_M469, PRZ_M310(TP of Prochloraz)/ KET_M565(TP of KET)/ CP_M308b, CP_M308c (TP of Cyproconazole)/ EP_M346(TP of Epoxiconazole)/ PRP_M358a, PRP_M358b (TP of Propiconazole)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	SIEVE software version 2.1 and 2.2	Level 3	several positional isomers	81)

Table 2. Case study for identification of micropollutants and their transformation products (TP) with diverse analytical/ data processing tools (Continued II)

Method	Class	Place	Substance	Technical Tool	Software	Confidence	Confirmation	Ref.
	Pesticide	Surface water	N,N-Diethyl-m-toluamide (DEET)/	SPE-LC-ESI-QTOF-MS/MS	MassHunter B.03.01	Level 1	Reference standard	84)
	Pharmaceuticals	Surface water	1-Adamantylamine/phenazone/propyphenazone/dimethylaminoantipyrine (DMAA)/ antipruritic/ Carbamazepine	SPE-LC-ESI-QTOF-MS/MS	MassHunter B.03.01	Level 1	Reference standard	84)
		Effluent	Amantadine	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	MZmine v2.9, R 2.15	Level 1	Reference standard	83)
	Personal care products and others	Surface water	propyl paraben/Benzophenone	SPE-GC-(EI)/TOF-MS/MS	ChromaLynx XS	Level 3	NIST Library	90)
		Effluent	2-(2-Benzothiazolylthio) ethanol /5-Chloro-2,6-dimethyl-4-pyrimidinamine / 2-(Methylsulfinyl) benzothiazole	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	MZmine v2.9, R 2.15	Level 1	Reference standard	83)
			Naphthalenedisulfonic acid / 4- or 3-Chlorophenyl methyl sulfoxide	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	MZmine v2.9, R 2.15	Level 3	Chemspider, Metfrag	83)
Non-Target screening		Surface water	formylaminoantipyrine (FAA)/, 4-aminoantipyrine (AA)/ acetylaminoantipyrine (AAA) (TP of dimethylaminoantipyrine (DMAA))	SPE-LC-ESI-QTOF-MS/MS	MassHunter B.03.01	Level 1	Reference standard	84)
			Nordazepam/ Oxazepam (TP of Benzodiazepines)	LC-DAD-LTQ-FT-MS/MS(Orbitrap)	Xcalibur	Level 1	Reference standard	82)
	Transformation products (TPs)	Effluent	2-(2-Benzothiazolylthio)ethanol (TP of 2-(methylthio)benzotriazole)/ 4-Hydroxychlorothalonil(TP of chlorothalonil)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	MZmine v2.9, R 2.15	Level 1	Reference standard	83)
		Aquatic organisms	[Gammarus pulex] PRZ_M282, PRZ_M239, PRZ_M632a, PRZ_M632b(TP of Prochloraz)/ PRP_M258, PRP_M256(TP of Propiconazole)/ TEB_M388, TEB_M404(TP of Tebuconazole)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	SIEVE software version 2.1 and 2.2	Level 2	one specific structure,	81)
			[Gammarus pulex] PRZ_M298 (TP of Prochloraz)	SPE-LC-ESI-HRMS/MS(Orbitrap)	SIEVE software version 2.1 and 2.2	Level 3	6 positional isomers	81)

마지막으로, nontarget screening을 통해 unknown 물질의 존재가 인지될 경우, 해당 물질의 정보분석을 위해 전문가 그룹 등을 통한 지식·정보의 공유가 필요해 보인다.

지금까지 인지되어 온 환경오염물질은 현재 사용되고 있는 화학물질의 극히 일부분에 지나지 않는다는 사실을 고려해 볼 때, 환경오염원에 대한 정보는 보다 확장되고 진보되어야 한다. 그럼에도 불구하고, 환경내 화학물질은 존재예측의 어려움, 분석의 어려움 등으로 인해 여전히 우리의 시야에서 벗어나 있었다. 그러나, 최근 추정 및 비표적분석기법을 활용한 연구결과들은 간과되어 왔던 환경오염원을 찾아내거나,^{83,88,91} 이들의 환경내 거동을 이해하고,^{92,93} 처리과정을 이해하기 위한 유용한 정보들을 제공하고 있다.^{71,76,94,95} 비록, 정량적 분석이 어렵다는 한계를 지니고 있으나, 오염원의 존재여부, 의심스런 물질의 존재확인, 변환체의 구조분석 등 기존 분석 방법으로는 확인하기 어려웠던 정보들이 추정 및 비표적분석을 통해 생산되고 있다. 이러한 정보들은 환경오염원의 거동 및 위해성에 대한 단순 지식의 확장뿐만 아니라, 향후 환경오염원들에 대한 관리 및 규제, 그리고 정책 입안에 매우 유용하게 활용될 수 있다. 앞으로, 추정 및 비표적분석기법의 역할이 기대되는 이유이다.

감사의 글

이 논문은 2015~2016년 창원대학교 자율연구과제 연구비 지원으로 수행된 연구결과임.

참고문헌

1. European Chemicals Agency, <https://echa.europa.eu/information-on-chemicals>, 2016, October.
2. R. P. Schwarzenbach, B. I. Escher, K. Fenner, T. B. Hofstetter, C. A. Johnson, U. von Gunten, and B. Wehrli, "The challenge of micropollutants in aquatic systems.", *Science*, **2006**, 313, 1072-1077.
3. R. Altenburger, S. Scholz, M. Schmitt-Jansen, W. Busch, and B. I. Escher, "Mixture toxicity revisited from a toxicogenomic perspective", *Environmental Science and Technology*, **2012**, 46, 2508-2522.
4. A. Ginebreda, M. Kuzmanovic, H. Guasch, M. L. de Alda, J. C. López-Doval, I. Muñoz, M. Ricart, A. M. Romani, S. Sabater, and D. Barceló, "Assessment of multi-chemical pollution in aquatic ecosystems using toxic units: Compound prioritization, mixture characterization and relationships with biological descriptors", *Science of the Total Environment*, **2014**, 468-469, 715-723.
5. M. la Farré, S. Pérez, L. Kantiani, and D. Barceló, "Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment", *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, **2008**, 27, 991-1007.
6. S. Kern, K. Fenner, H. P. Singer, R. P. Schwarzenbach, and J. Hollender, "Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry", *Environmental Science and Technology*, **2009**, 43, 7039-7046.
7. D. E. Helbling, J. Hollender, H. P. E. Kohler, H. Singer, and K. Fenner, "High-throughput identification of microbial transformation products of organic micropollutants", *Environmental Science and Technology*, **2010**, 44, 6621-6627.
8. M. Ruff, M. S. Mueller, M. Loos, and H. P. Singer, "Quantitative target and systematic non-target analysis of polar organic micro-pollutants along the river Rhine using high-resolution mass-spectrometry - Identification of unknown sources and compounds", *Water Research*, **2015**, 87, 145-154.
9. M. Ruff, H. Singer, S. Ruppe, J. Mazacek, R. Dolf, and C. Leu, "20 Jahre Rheinüberwachung", *Aqua & Gas*, **2013**, 5, 16-25.
10. Y. Yoon, J. Ryu, J. Oh, B. G. Choi, and S. A. Snyder, "Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea)", *Science of the Total Environment*, **2010**, 408, 636-643.
11. S. K. Behera, H. W. Kim, J. E. Oh, and H. S. Park, "Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea", *Science of the Total Environment*, **2011**, 409, 4351-4360.
12. E. Gracia-Lor, J. V. Sancho, and F. Hernández, "Simultaneous determination of acidic, neutral and basic pharmaceuticals in urban wastewater by ultra high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2010**, 1217, 622-632.
13. W. J. Sim, J. W. Lee, and J. E. Oh, "Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea", *Environmental Pollution*, **2010**, 158, 1938-1947.
14. N. De la Cruz, J. Giménez, S. Esplugas, D. Grandjean,

- L. F. De Alencastro, and C. Pulgarín, "Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photofenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge", *Water Research*, **2012**, 46, 1947-1957.
15. J. Yu, E. Bouwer, and M. Coelhan, "Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent", *Agricultural Water Management*, **2006**, 86, 72-80.
 16. Z. Li, A. Sobek, and M. Radke, "Fate of pharmaceuticals and their transformation products in four small european rivers receiving treated wastewater", *Environmental Science and Technology*, **2016**, 50, 5614-5621.
 17. D. R. Baker, and B. Kasprzyk-Hordern, "Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2011**, 1218, 1620-1631.
 18. S. M. Shah, I. M. Carey, S. DeWilde, N. Richards, and D. G. Cook, "Trends and inequities in beta-blocker prescribing for heart failure", *British Journal of General Practice*, **2008**, 58, 862-869.
 19. K. Kümmerer, "Antibiotics in the Aquatic Environment", *Antimicrobial Resistance in the Environment*, **2011**, 325-335, John Wiley and Sons.
 20. 임숙경 외 14명, "2013년도 국가 항생제 사용 및 내성 모니터링", **2014**.
 21. 공주대학교, "잔류의약품질 분석방법 연구 및 실태조사 (IV)", **2011**.
 22. L. Kovalova, H. Siegrist, H. Singer, A. Wittmer, and C. S. McArdell, "Hospital wastewater treatment by membrane bioreactor: Performance and efficiency for organic micropollutant elimination", *Environmental Science and Technology*, **2012**, 46, 1536-1545.
 23. L. Kovalova, H. Siegrist, U. Von Gunten, J. Eugster, M. Hagenbuch, A. Wittmer, R. Moser, and C. S. McArdell, "Elimination of micropollutants during post-treatment of hospital wastewater with powdered activated carbon, ozone, and UV", *Environmental Science and Technology*, **2013**, 47, 7899-7908.
 24. J. Kim, H. Jang, and J. Kim, "Occurrence of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in surface water from Mankyung River, South Korea", *Journal of Health Science*, **2009**, 55, 249-258.
 25. M. C. Rhodes, J. R. Bucher, J. C. Peckham, G. E. Kissling, M. R. Hejtmancik, and R. S. Chhabra, "Carcinogenesis studies of benzophenone in rats and mice", *Food and Chemical Toxicology*, **2007**, 45, 843-851.
 26. K. Fent, P. Y. Kunz, A. Zenker, and M. Rapp, "A tentative environmental risk assessment of the UV-filters 3-(4-methylbenzylidene-camphor), 2-ethyl-hexyl-4-trimethoxycinnamate, benzophenone-3, benzophenone-4 and 3-benzylidene camphor", *Marine Environmental Research*, **2010**, 69, S4-S6.
 27. S. Kim, D. Jung, Y. Kho, and K. Choi, "Effects of benzophenone-3 exposure on endocrine disruption and reproduction of japanese medaka (*Oryzias latipes*)-A two generation exposure study", *Aquatic Toxicology*, **2014**, 155, 244-252.
 28. I. S. Lee, S. H. Lee, and J. E. Oh, "Occurrence and fate of synthetic musk compounds in water environment", *Water Research*, **2010**, 44, 214-222.
 29. J. C. Anderson, C. Dubetz, and V. P. Palace, "Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects", *Science of the Total Environment*, **2015**, 505, 409-422.
 30. R. C. Gupta, J. K. Malik, and D. Milatovic, "Organophosphate and Carbamate Pesticides", *Reproductive and Developmental Toxicology*, **2011**, R. C. Gupta edition, 471-486, Academic Press/Elsevier, Netherlands.
 31. A. Kretschmann, R. Ashauer, K. Hitzfeld, P. Spaak, J. Hollender, and B. I. Escher, "Mechanistic toxicodynamic model for receptor-mediated toxicity of diazoxon, the active metabolite of diazinon, in *Daphnia magna*", *Environmental Science and Technology*, **2011**, 45, 4980-4987.
 32. J. Jeon, A. Kretschmann, B. I. Escher, and J. Hollender, "Characterization of acetylcholinesterase inhibition and energy allocation in *Daphnia magna* exposed to carbaryl", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **2013**, 98, 28-35.
 33. M. I. Girón-Pérez, G. Zaitseva, J. Casas-Solis, and A. Santerre, "Effects of diazinon and diazoxon on the lymphoproliferation rate of splenocytes from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): The immunosuppressive effect could involve an increase in acetylcholine levels", *Fish and Shellfish Immunology*, **2008**, 25, 517-521.
 34. A. Kretschmann, R. Ashauer, T. G. Preuss, P. Spaak, B. I. Escher, and J. Hollender, "Toxicokinetic model describing bioconcentration and biotransformation of diazinon in *daphnia magna*", *Environmental Science and Technology*, **2011**, 45, 4995-5002.
 35. H. Bailey, and C. Digiorgio, "Development of procedures for identifying pesticide toxicity in ambient waters: Carbofuran, diazinon, chlorpyrifos", *Environ-*

- mental Toxicology and Chemistry*, **1996**, 15, 837-845.
36. 환경부, "영산강-섬진강 수계 환경기초조사사업", **2013**.
 37. 영산강물환경연구소, "Monitoring and tracking of potential hazardous compounds in the Yeongsan River basin and its tributarie", **2014**.
 38. M. B. Kjærstad, C. Taxvig, C. Nellemann, A. M. Vinggaard, and H. R. Andersen, "Endocrine disrupting effects in vitro of conazole antifungals used as pesticides and pharmaceuticals", *Reproductive Toxicology*, **2010**, 30, 573-582.
 39. J. I. Nirmal Kumar, A. Bora, and M. Kaur Amb, "Chronic toxicity of the triazole fungicide tebuconazole on a heterocystous, nitrogen-fixing rice paddy field cyanobacterium, *Westiellopsis prolifica* Janet", *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **2010**, 20, 1134-1139.
 40. J. Artigas, N. Pascual, A. Bouchez, J. Chastain, D. Debroas, J. F. Humbert, J. Leloup, R. D. Tadonleke, A. ter Halle, and S. Pesce, "Comparative sensitivity to the fungicide tebuconazole of biofilm and plankton microbial communities in freshwater ecosystems", *Science of the Total Environment*, **2014**, 468-469, 326-336.
 41. M. Gonzalez-Rey, N. Tapie, K. Le Menach, M.-H. Dévier, H. Budzinski, and M. J. Bebianno, "Occurrence of pharmaceutical compounds and pesticides in aquatic systems", *Marine Pollution Bulletin*, **2015**, 96, 384-400.
 42. M. Tomizawa, and J. E. Casida, "Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action", *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **2005**, 45, 247-268.
 43. P. R. Whitehorn, S. O'Connor, F. L. Wackers, and D. Goulson, "Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production", *Science*, **2012**, 336, 351-352.
 44. A. Decourtye, and J. Devillers, "Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees", *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **2010**, 683, 85-95.
 45. B. A. Woodcock, N. J. B. Isaac, J. M. Bullock, D. B. Roy, D. G. Garthwaite, A. Crowe, and R. F. Pywell, "Impacts of neonicotinoid use on longterm population changes in wild bees in England", *Nature Communications*, **2016**, 7, 12459.
 46. Victory for bees' as European Union bans neonicotinoid pesticides blamed for destroying bee population, <http://www.independent.co.uk/environment/nature/victory-for-bees-as-european-union-bans-neonicotinoid-pesticides-blamed-for-destroying-bee-8595408.html>, 2013, October.
 47. US EPA, Colony Collapse Disorder: European Bans on Neonicotinoid Pesticides | Pesticides, <http://www.epa.gov/pesticides/about/intheworks/ccd-european-ban.html>, 2013, October.
 48. 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)", *Journal of Hazardous Materials*, **2013**, 263, 98-104.
 49. I. J. Buerge, H. R. Buser, M. Kahle, M. D. Müller, and T. Poiger, "Ubiquitous occurrence of the artificial sweetener acesulfame in the aquatic environment: An ideal chemical marker of domestic wastewater in groundwater", *Environmental Science and Technology*, **2009**, 43, 4381-4385.
 50. H. Janna, M. D. Scrimshaw, R. J. Williams, J. Churchley, and J. P. Sumpter, "From dishwasher to tap? Xenobiotic substances benzotriazole and tolyltriazole in the environment", *Environmental Science and Technology*, **2011**, 45, 3858-3864.
 51. W. Giger, C. Schaffner, and H. P. E. Kohler, "Benzotriazole and tolyltriazole as aquatic contaminants. 1. Input and occurrence in rivers and lakes", *Environmental Science and Technology*, **2006**, 40, 7186-7192.
 52. H. Wolschke, Z. Xie, A. Möller, R. Sturm, and R. Ebinghaus, "Occurrence, distribution and fluxes of benzotriazoles along the German large river basins into the North Sea", *Water Research*, **2011**, 45, 6259-6266.
 53. R. Loos, G. Locoro, and S. Contini, "Occurrence of polar organic contaminants in the dissolved water phase of the Danube River and its major tributaries using SPE-LC-MS2 analysis", *Water Research*, **2010**, 44, 2325-2335.
 54. C. J. Sinclair, A. B. A. Boxall, S. A. Parsons, and M. R. Thomas, "Prioritization of pesticide environmental transformation products in drinking water supplies", *Environmental Science and Technology*, **2006**, 40, 7283-7289.
 55. J. Lisec, N. Schauer, J. Kopka, L. Willmitzer, and A. R. Fernie, "Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants", *Nature Protocols*, **2006**, 1, 387-396.
 56. D. B. Robb, and M. W. Blades, "Atmospheric pressure photoionization for ionization of both polar and non-polar compounds in reversed-phase LC/MS", *Analytical Chemistry*, **2006**, 78, 8162-8164.
 57. F. J. Andrade, J. T. Shelley, W. C. Wetzel, M. R. Webb, G. Gamez, S. J. Ray, and G. M. Hieftje, "Atmospheric pressure chemical ionization source. 1. Ionization of

- compounds in the gas phase", *Analytical Chemistry*, **2008**, 80, 2646-2653.
58. D. H. Russell, and R. D. Edmondson, "High-resolution mass spectrometry and accurate mass measurements with emphasis on the characterization of peptides and proteins by matrix-assisted laser desorption / ionization Time-of-Flight mass spectrometry", *Journal of Mass Spectrometry*, **1997**, 32, 263-276.
59. M. Krauss, H. Singer, and J. Hollender, "LC-high resolution MS in environmental analysis: From target screening to the identification of unknowns", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2010**, 397, 943-951.
60. T. Reemtsma, "Liquid chromatography-mass spectrometry and strategies for trace-level analysis of polar organic pollutants", *Journal of Chromatography A*, **2003**, 1000, 477-501.
61. C. E. Rostad, "Screening of polar components of petroleum products by electrospray ionization mass spectrometry", *Energy and Fuels*, **2005**, 19, 992-997.
62. I. V. Chernushevich, A. V. Loboda, and B. A. Thomson, "An introduction to quadrupole-time-of-flight mass spectrometry", *Journal of Mass Spectrometry*, **2001**, 36, 849-865.
63. R. A. Zubarev, and A. Makarov, "Orbitrap mass spectrometry", *Analytical Chemistry*, **2013**, 85, 5288-5296.
64. M. L. Gómez-Pérez, R. Romero-González, J. L. Martínez Vidal, and A. Garrido Frenich, "Analysis of veterinary drug and pesticide residues in animal feed by high-resolution mass spectrometry: comparison between time-of-flight and Orbitrap", *Food Additives & Contaminants: Part A*, **2015**, 32, 1637-1646.
65. P. Eichhorn, S. Pérez, and D. Barceló, "Time-of-Flight mass spectrometry versus Orbitrap-based mass spectrometry for the screening and identification of drugs and metabolites: Is there a winner?", *Comprehensive Analytical Chemistry*, **2012**, 58, 217-272.
66. E. van der Heeft, Y. J. C. Bolck, B. Beumer, A. W. J. M. Nijrolder, A. A. M. Stolker, and M. W. F. Nielen, "Full-scan accurate mass selectivity of ultra-performance liquid chromatography combined with Time-of-Flight and Orbitrap mass spectrometry in hormone and veterinary drug residue analysis", *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **2009**, 20, 451-463.
67. E. L. Schymanski, and S. Neumann, "The critical assessment of small molecule identification (CASMI): Challenges and solutions.", *Metabolites*, **2013**, 3, 517-538.
68. E. L. Schymanski, J. Jeon, R. Gulde, K. Fenner, M. Ruff, H. P. Singer, and J. Hollender, "Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence", *Environmental Science and Technology*, **2014**, 48, 2097-2098.
69. W. L. Gao J, Ellis LBM, "The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database: improving public access", *Nucleic Acids Research*, **2010**, 38, D488-D491.
70. S. Kern, R. Baumgartner, D. E. Helbling, J. Hollender, H. Singer, M. J. Loos, R. P. Schwarzenbach, and K. Fenner, "A tiered procedure for assessing the formation of biotransformation products of pharmaceuticals and biocides during activated sludge treatment.", *Journal of Environmental Monitoring*, **2010**, 12, 2100-2111.
71. D. E. Helbling, J. Hollender, H. P. E. Kohler, and K. Fenner, "Structure-based interpretation of biotransformation pathways of amide-containing compounds in sludge-seeded bioreactors", *Environmental Science and Technology*, **2010**, 44, 6628-6635.
72. J. Jeon, D. Kurth, and J. Hollender, "Biotransformation pathways of biocides and pharmaceuticals in freshwater crustaceans based on structure elucidation of metabolites using high resolution mass spectrometry", *Chemical Research in Toxicology*, **2013**, 26, 313-324.
73. H. T'Jollyn, K. Boussey, R. J. Mortishire-Smith, K. Coe, B. De Boeck, J. F. Van Bocxlaer, and G. Mannens, "Evaluation of three state-of-the-art metabolite prediction software packages (Meteor, MetaSite, and StarDrop) through independent and synergistic use", *Drug Metabolism and Disposition*, **2011**, 39, 2066-2075.
74. F. Xian, C. L. Hendrickson, and A. G. Marshall, "High resolution mass spectrometry", *Analytical Chemistry*, **2012**, 84, 708-719.
75. M. P. Balogh, "Debating resolution and mass accuracy", *LC-GC Europe*, **2004**, 17, 152-159.
76. A. A. Bletsou, J. Jeon, J. Hollender, E. Archontaki, and N. S. Thomaidis, "Targeted and non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products of emerging pollutants in the aquatic environment", *Trends in Analytical Chemistry*, **2015**, 66, 32-44.
77. K. Arnhard, A. Gottschall, F. Pitterl, and H. Oberacher, "Applying 'Sequential Windowed Acquisition of All Theoretical Fragment Ion Mass Spectra' (SWATH) for systematic toxicological analysis with liquid chromatography-high-resolution tandem mass spectrometry", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2015**, 407, 405-414.

78. H. Gallart-Ayala, F. Courant, S. Severe, J. P. Antignac, F. Morio, J. Abadie, and B. Le Bizec, "Versatile lipid profiling by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry using all ion fragmentation and polarity switching. Preliminary application for serum samples phenotyping related to canine mammary cancer", *Analytica Chimica Acta*, **2013**, 796, 75-83.
79. A. Raffei, and L. Sleno, "Comparison of peak-picking workflows for untargeted liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry metabolomics data analysis", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **2014**, 29, 119-127.
80. T. Kind, and O. Fiehn, "Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry.", *BMC Bioinformatics*, **2007**, 8, 105.
81. A. Rösch, S. Anliker, and J. Hollender, "How biotransformation influences toxicokinetics of azole fungicides in the aquatic invertebrate *Gammarus pulex*", *Environmental Science and Technology*, **2016**, 50, 7175-7188.
82. A. C. Hogenboom, J. A. van Leerdam, and P. de Voegt, "Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2009**, 1216, 510-519.
83. C. Hug, N. Ulrich, T. Schulze, W. Brack, and M. Krauss, "Identification of novel micropollutants in wastewater by a combination of suspect and nontarget screening", *Environmental Pollution*, **2014**, 184, 25-32.
84. A. Müller, W. Schulz, W. K. L. Ruck, and W. H. Weber, "A new approach to data evaluation in the non-target screening of organic trace substances in water analysis", *Chemosphere*, **2011**, 85, 1211-1219.
85. 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", *Analytical Chemistry*, **2013**, 85, 10312-10320.
86. R. M. A. Sjerps, D. Vughs, J. A. van Leerdam, T. L. ter Laak, and A. P. van Wezel, "Data-driven prioritization of chemicals for various water types using suspect screening LC-HRMS", *Water Research*, **2016**, 93, 254-264.
87. R. Díaz, M. Ibáñez, J. V. Sancho, and F. Hernández, "Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS", *Analytical Methods*, **2012**, 4, 196-209.
88. P. Gago-Ferrero, E. L. Schymanski, A. A. Bletsou, R. Aalizadeh, J. Hollender, and N. S. Thomaidis, "Extended suspect and non-target strategies to characterize emerging polar organic contaminants in raw wastewater with LC-HRMS/MS", *Environmental Science and Technology*, **2015**, 49, 12333-12341.
89. R. Ashauer, A. Hintermeister, I. O'Connor, M. Elumelu, J. Hollender, and B. I. Escher, "Significance of xenobiotic metabolism for bioaccumulation kinetics of organic chemicals in *gammarus pulex*", *Environmental Science and Technology*, **2012**, 46, 3498-3508.
90. T. Portolés, J. G. J. Mol, J. V. Sancho, and F. Hernández, "Use of electron ionization and atmospheric pressure chemical ionization in gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for screening and identification of organic pollutants in waters", *Journal of Chromatography A*, **2014**, 1339, 145-153.
91. A. C. Chiaia-Hernandez, E. L. Schymanski, P. Kumar, H. P. Singer, and J. Hollender, "Suspect and nontarget screening approaches to identify organic contaminant records in lake sediments", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2014**, 406, 7323-7335.
92. M. Llorca, D. Lucas, L. Ferrando-Climent, M. Badiá-Fabregat, C. Cruz-Morató, D. Barceló, and S. Rodríguez-Mozaz, "Suspect screening of emerging pollutants and their major transformation products in wastewaters treated with fungi by liquid chromatography coupled to a high resolution mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, **2016**, 1439, 124-136.
93. I. Aymerich, V. Acuña, D. Barceló, M. J. García, M. Petrovic, M. Poch, S. Rodríguez-Mozaz, I. Rodríguez-Roda, S. Sabater, D. von Schiller, and L. Corominas, "Attenuation of pharmaceuticals and their transformation products in a wastewater treatment plant and its receiving river ecosystem", *Water Research*, **2016**, 100, 126-136.
94. Y. Lee, and U. von Gunten, "Oxidative transformation of micropollutants during municipal wastewater treatment: Comparison of kinetic aspects of selective (chlorine, chlorine dioxide, ferrateVI, and ozone) and non-selective oxidants (hydroxyl radical)", *Water Research*, **2010**, 44, 555-566.
95. E. N. Evgenidou, I. K. Konstantinou, and D. A. Lambropoulou, "Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review", *Science of the Total Environment*, **2015**, 505, 905-926.