

Agilent 6545 Q-TOF LC/MS 시스템을 이용한 수중 약품 및 개인위생용품(PPCPs)의 고감도 스크리닝

응용 자료

저자

Dan-Hui Dorothy Yang¹, Mark A. Murphy², Yue Song³, Jimmy Chan³

¹Agilent Technologies Inc., 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, CA 95051, USA

²EPA Region 8 Lab, 16194 West 45th Drive, Golden, CO 80403, USA

³Agilent Technologies Co., Ltd., Shanghai, PR China

개요

Agilent 6495 Triple Quadrupole 질량 분석기⁸를 이용한 수중 약품 및 개인위생용품(PPCP)의 고감도 스크리닝에 관한 후속 응용 자료로, 본 응용 자료에서는 Agilent 6545 Q-TOF LC/MS 시스템을 이용하여 ppt 농도 수준의 수중 PPCP를 스크리닝 및 정량하는 두 가지 분석법에 대해 설명합니다. 유사하게도 이 분석법은 두 가지 분석법에 사용된 이동상 특성으로 인해 양이온 모드와 음이온 모드로 나누어 분석하였습니다. 양이온 모드의 118개 화합물과 음이온 모드의 22개 화합물은 작고 부서지기 쉬운(fragile) 유기 분자에 최적화된 Swarm tune 파라미터를 사용하여 6545 Q-TOF LC/MS로 정밀하고 정확하게 스크리닝 및 정량하였습니다. 기기 감도를 최대화하기 위해 고감도 slicer 모드를 선택하였습니다. 대부분의 PPCP는 고체상 추출(SPE)과 같이 긴 시간을 요구하는 분석물질 농축 과정 없이 검출할 수 있었습니다. 시료 전처리 범위에는, 10ppt에서 대부분 분석물질에 대해 한계가 보고된 Q-TOF LC/MS 분석을 위해, 약 3mL의 시료를 필터링하고, 필터링된 시료의 분주(aliquot) 시료 1.0mL에 내부 표준물질 첨가하여, 40 μ L의 시료를 주입하는 과정이 포함되었습니다. 대부분 분석물질에 대한 검출 한계(LOD) 및 정량 하한(LLOQ)은 10ppt보다 훨씬 낮습니다.



Agilent Technologies

소개

약품 및 개인위생용품(PPCP)은 처방약 및 일반 의약품, 수의약품, 향수, 화장품을 비롯한 수천 가지 화학 물질로 구성됩니다. 여러 연구를 통해 의약품과 그 대사 산물이 우리 수체에 존재함이 밝혀졌습니다^{1,2}. 지표수의 PPCP는 처리가 불충분하게 이루어질 경우 결국 음용수 시스템으로 들어갈 수 있습니다. EPA 및 European Water Framework와 같은 정부 기관에서는 급수 시스템을 모니터링하기 위한 규정을 제안했습니다^{3,4}. 고분해능 Q-TOF 질량 분석법과 결합된 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)는 수계에서 PPCP의 발생 및 특징을 조사하기 위한 방법으로 점점 더 많이 사용되고 있습니다. Q-TOF LC/MS로 PPCP를 분석할 경우 다음과 같은 장점이 있습니다.

- 한 번의 실행으로 다수의 분석물질 스크리닝
- 새로운 분석물질에 대한 소급적 데이터 마이닝
- 조각화 정보에 대한 개별 표준물질 필요 없음
- MS/MS 조각에 의한 구조 확인

표적 분석(예: triple quadrupole)과 비교하여, Q-TOF LC/MS에는 미지 화합물에 대한 비표적 또는 반표적 스크리닝과 같은 추가적인 이점이 있습니다.

음용수 중의 PPCP 검출한계는 일반적으로 ppt 농도로 낮습니다. 이는 분석법 및 기기에 중대한 문제입니다. 음용수 시료 중의 이 농도를 분석하기 위해서는 고체상 추출(SPE)로 시료를 농축하는 과정이 종종 필요합니다⁵. SPE는 많은 양의 시료를 필요로 하고, 용매 소비량이 많으며, 절차가

까다롭습니다. PPCP 분석은 또한, 도시 지표수 수원과 같은 심각한 오염의 복잡성 때문에 일부 PPCP가 ppb 농도 이상으로 검출되기도 합니다. 높은 분석물질 농도와 더불어, 이들 시료의 총 유기 탄소 농도도 증가합니다. 이는 분석물질에 상당한 간섭이 될 수 있습니다. PPCP 분석에 필요한 기기는 광범위한 측정 범위뿐 아니라 우수한 질량 정확도 및 분해능을 통해 정밀하고 정확한 스크리닝 및 정량을 제공해야 합니다.

Agilent 6545 Q-TOF LC/MS는 Agilent Jet Stream 이온화원과 결합하여 직접 시료 주입의 편의성과 함께 수중 PPCP의 발생 및 특징에 관한 다양한 분석 요구를 충족합니다. 6545 Q-TOF LC/MS가 일부 개선되면서 이전 모델에 비해 분석 성능이 더욱 향상되었습니다. 이러한 개선 사항 중 일부는 다음과 같습니다.

- 고감도 또는 고분해능 모드로 작동하는 옵션이 포함된 새로운 Slicer 디자인
- 질량 정확도 및 분해능을 향상한 새로운 펄서와 새로운 고성능 고압 전원장치
- 훨씬 향상된 장비 견고성을 제공하는 새로운 향상된 gain shifted 검출기
- 전구 이온 전송을 향상한 새로운 전단부 ion optics

가장 주목할 만한 변화는 Particle Swarm Optimization 기술입니다. 6545 Q-TOF LC/MS 질량 분석기를 최적화하기 위해 Particle Swarm Optimization 기술(Swarm autotune)이 처음으로 사용되었습니다. Swarm autotune은 감도 또는 질량 분리능을 최대화하기 위한 다양한 방법을

제공합니다. 첫째, 응용 요구에 따라 특정 질량 범위(예: 50~250m/z, 50~750m/z, 또는 50~1,700m/z)의 이온 전송을 최적화할 수 있습니다. 둘째, 저분자의 이온 전송을 개선하여 100m/z 이하에 대한 질량 정확도가 향상되었습니다. 마지막으로, 기기 파라미터는 분석물질의 깨지기 쉬운 특성에 따라 조정할 수 있습니다. 분석물질의 분자 질량을 유지하기 위해 좀 더 약한 이온 전달 파라미터가 필요합니다. 이러한 개선 사항과 더불어 고감도 slicer 모드를 선택할 수 있어 이전 세대 기기에 비해 신호 감응이 크게 향상되었습니다⁶.

실험 및 기기

시약 및 화학 물질

모든 시약과 용매는 HPLC 및 MS 등급을 사용하였습니다. Acetonitrile은 Honeywell(015-4)에서 구매하였습니다. 초순수는 LC-Pak Polisher와 0.22- μ m 멤브레인 point-of-use 카트리지가 장착된 Milli-Q Integral 시스템을 이용하여 제조하였습니다. Ammonium acetate 5M 용액은 Fluka(09691-250ML)에서 구매하였습니다. 아세트산은 Aldrich(338828-25ML)에서 구매하였습니다. PPCP 표준물질과 일부 내부 표준물질은 외부 협력업체로부터 제공받았습니다. 분석물질 목록 및 내부 표준물질은 양이온 모드 분석법의 경우 표 1에, 음이온 모드 분석법의 경우 표 2에 나타냈습니다. 분석물질에 대한 PCDL(Personal Compound Database Library)은 표준물질에서 얻은 머무름 시간으로 Agilent PCDL Manager(B.07.00)를 사용하여 생성하였습니다.

표 1. 양이온 모드 분석법의 분석물질 및 내부 표준물질

화합물	질량	RT(분)	화합물	질량	RT(분)
10,11-Dihydro-10-hydroxycarbamazepine	254.10553	5	MDMA	193.11028	3.91
6-Acetylmorphine	327.14706	3.72	MDMA-D5	198.14166	3.9
6-Acetylmorphine-D6	333.18472	3.71	Mefenamic acid	241.11028	8.15
Acebutolol	336.20491	4.39	Mefenamic acid-D3	244.12911	8.15
Acetaminophen	151.06333	2.92	Meperidine	247.15723	4.98
Acetaminophen-D4	155.08844	2.92	Meperidine-D4	251.18234	4.97
Albuterol	239.15214	2.77	Meprobamate	218.12666	5.15
Amitriptyline	277.18305	6.67	Meprobamate-D7	225.17059	5.14
Amitriptyline metabolite	293.17796	5.06	Metformin	129.10145	1
Amitriptyline-D3	280.20188	6.66	Methadone	309.20926	6.74
Amphetamine	135.1048	3.6	Methadone-D9	318.26576	6.71
Amphetamine-D5	140.13618	3.57	Methamphetamine	149.12045	3.82
Aripiprazole	447.14803	7.29	Methamphetamine-D11	160.18949	3.78
Aripiprazole-D8	455.19825	7.14	Methotrexate	454.17132	3.26
Atenolol	266.16304	2.88	Methotrexate-D3	457.19015	3.26
Atenolol-D7	273.20698	2.87	Methylphenidate	233.14158	4.65
Atorvastatin	558.253	7.51	Methylphenidate-D9	242.19807	4.64
Atrazine	215.09377	7.03	Metoprolol	267.18344	4.53
Atrazine-D5	220.12516	7	Mevastatin	390.24062	9.42
Benzoylecgonine	289.13141	4.01	<i>m</i> -Hydroxybenzoylecgonine	305.12632	3.73
Benzoylecgonine-D3	292.15024	4.01	Modafinil	273.08235	5.68
Buprenorphine	467.30356	8.07	Modafinil-D10	283.14512	5.65
Buprenorphine-D4	471.32867	7.72	Monoethylglycinexylidide	206.14191	3.8
Bupropion	239.10769	5.33	Montelukast	585.21044	10.88
Caffeine	194.08038	3.6	Morphine	285.13649	2.4
Caffeine- ¹³ C ₃	197.09044	3.6	Morphine-D3	288.15532	2.39
Carbamazepine	236.09496	6.28	Nifedipine	346.11649	7.57
Carbamazepine 10,11 epoxide	252.08988	5.47	Nifedipine oxidized	344.10084	7.48
Carbamazepine-D10	246.15773	6.22	Norfentanyl	232.15756	4.21
Carisoprodol	260.17361	6.75	Norfentanyl-D5	237.18895	4.19
Carisoprodol-D7	267.21754	6.72	Norfluoxetine	295.1184	6.55
Chlorpheniramine	274.12368	5.47	Norfluoxetine-D6	301.15606	6.53
Clenbuterol	276.07962	4.6	Normeperidine	233.14158	4.9
Clenbuterol-D9	285.13611	4.59	Normeperidine-D4	237.16669	4.89
Clopidogrel carboxylic acid	307.04338	4.69	Norquetiapine	295.11432	5.82
Cocaethylene	317.16271	5.42	Norsertaline	291.05815	6.87
Cocaethylene-D3	320.18154	5.41	Norsertaline- ¹³ C ₆	297.07828	6.71
Cocaine	303.14706	4.96	Norverapamil	440.26751	6.48
Cocaine-D3	306.16589	4.95	Omeprazole	345.11471	5.92
Codeine	299.15214	3.4	Oxazepam	286.05091	6.52
Codeine-D6	305.1898	3.39	Oxcarbazepine	252.08988	6.47
Cotinine	176.09496	3.69	Oxycodone	315.14706	3.68
Cotinine-D3	179.11379	3.38	Oxymorphone	301.13141	2.65
DEET	191.13101	7.1	Oxymorphone glucuronide	477.1635	1.13
DEET-D6	197.16867	7.06	Oxymorphone glucuronide-D3	480.18233	1.12
Dehydroaripiprazole	445.13238	6.87	Oxymorphone-D3	304.15024	2.63

화합물	질량	RT(분)	화합물	질량	RT(분)
Desmethylcitalopram	310.14814	5.81	Paroxetine	329.14272	6.22
Desmethylcitalopram-D3	313.16697	5.81	Paroxetine-D6	335.18038	6.21
Desmethylvenlafaxine	263.18853	4.6	Phenmetrazine	177.11536	3.74
Desmethylvenlafaxine-D6	269.22619	4.23	Phentermine	149.12045	3.97
Dextromethorphan	271.19361	5.69	Phentermine-D5	154.15183	3.94
Dextromethorphan-D3	274.21244	5.68	Phenylpropanolamine	151.09971	2.93
Diltiazem	414.16133	6.14	Phenylpropanolamine-D3	154.11854	2.93
Diphenhydramine	255.16231	5.88	Pioglitazone	356.11946	7.72
Diphenhydramine-D3	258.18114	5.88	Pregabalin	159.12593	2.73
Disopyramide	339.23106	4.87	Pregabalin-D6	165.16359	2.76
Donepezil	379.21474	5.65	Primidone	218.10553	4.43
Duloxetine	297.11873	6.47	Propranolol	259.15723	5.52
Duloxetine-D3	300.13757	6.47	Propranolol-D7	266.20117	5.5
Ecgonine methyl ester	199.12084	1.15	Pseudoephedrine	165.11536	3.3
Ecgonine methyl ester-D3	202.13967	1.15	Pseudoephedrine-D3	168.13419	3.29
EDDP	277.18305	6.31	Quetiapine	383.16675	6.27
EDDP-D3	280.20188	6.31	Quetiapine-D8	391.21696	6.17
Erythromycin	733.46124	5.78	Ritalinic acid	219.12593	3.78
Erythromycin- ¹³ C ₂	735.46795	5.78	Ritalinic acid-D10	229.1887	3.75
Erythromycin-anhydro	715.45068	6.3	Sertraline	305.0738	6.88
Escitalopram	324.16379	5.92	Sertraline-D3	308.09264	6.87
Famotidine	337.04493	2.89	Sildenafil	474.20492	6.65
Fentanyl	336.22016	5.9	Simvastatin	418.27192	10.4
Fentanyl-D5	341.25155	5.88	Sotalol	272.11946	2.93
Fluoxetine	309.13405	6.7	Sulfamethazine	278.08375	4.45
Fluoxetine-D6	315.17171	6.69	Sulfamethazine- ¹³ C ₆	284.10388	4.45
Fluticasone propionate	500.18443	9.05	Sumatriptan	295.13545	3.5
Gabapentin	171.12593	2.75	Tadalafil	389.13756	6.86
Gabapentin-D10	181.1887	2.72	Temazepam	300.06656	7.2
Glyburide	493.14382	8.27	Temazepam-D5	305.09794	7.16
Hydrocodone	299.15214	3.84	Thiabendazole	201.03607	5.18
Hydrocodone-D6	305.1898	3.84	Thiabendazole- ¹³ C ₆	207.0562	5.19
Hydromorphone	285.13649	2.9	Tramadol	263.18853	4.6
Hydromorphone-D3	288.15532	2.89	Tramadol- ¹³ C-D3	267.21071	4.58
Hydroxybupropion	255.10261	4.62	Trazadone	371.15129	5.9
Hydroxybupropion-D6	261.14027	4.61	Trazadone-D6	377.18895	5.81
Ketoprofen	254.09429	6.42	Triamterene	253.10759	4.12
Lamotrigine	255.00785	4.73	Trimethoprim	290.13789	3.95
Lamotrigine- ¹³ C ¹⁵ N ₄	259.99935	4.74	Trimethoprim- ¹³ C ₃	293.14795	3.94
Lamotrigine- ¹³ C ₃	258.01792	4.73	Tylosin	915.51915	6.12
Levorphanol	257.17796	4.43	Valsartan	435.22704	5.97
Lidocaine	234.17321	4.51	Venlafaxine	277.20418	5.19
Loratadine	382.14481	9.38	Venlafaxine-D6	283.24184	5.19
Lorazepam	320.01193	6.67	Verapamil	454.28316	6.63
Lorazepam-D4	324.03704	6.67	Zolpidem	307.16846	6.02
MDA	179.09463	3.73	Zolpidem phenyl-4-carboxylic acid	337.14264	3.93
MDEA	207.12593	4.18	Zolpidem-D7	314.2124	5.98

표 2. 음이온 모드 분석법의 분석물질 및 내부 표준물질

화합물	질량	RT(분)	화합물	질량	RT(분)
(±)11-Nor-9-carboxy- <i>delta</i> -THC	344.19876	6.568	Diclofenac 4-hydroxy	311.0116	5.067
¹³ C ₁₂ Triclosan	299.99142	6.535	Fenbufen	254.09429	5.317
¹³ C ₃ Ibuprofen	209.14074	5.965	Furosemide	330.00772	4.712
¹³ C ₆ Diclofenac 4-hydroxy	317.03173	5.066	Gemfibrozil	250.15689	6.32
¹³ C ₆ Methylparaben	158.06747	4.216	Hydrochlorothiazide	296.96447	3.341
¹³ C ₆ <i>n</i> -Butylparaben	200.11442	5.458	Ibuprofen	206.13068	5.958
¹³ C ₆ Sulfamethoxazole	259.07224	4.096	Methylparaben	152.04734	4.21
¹³ C ₆ Triclocarban	319.99818	6.512	Modafinil acid	274.06637	4.619
Bezafibrate	361.10809	5.257	Naproxen	230.09429	5.225
Celecoxib	381.07588	5.967	<i>n</i> -Butylparaben	194.09429	5.451
Chloramphenicol	322.01233	4.15	Phenobarbital	232.08479	4.184
D10 Phenytoin	262.15265	4.58	Phenytoin	252.08988	4.6
D4 Diclofenac	299.04179	5.87	Pravastatin	424.2461	4.326
D5 Chloramphenicol	327.04371	4.14	Sulfamethoxazole	253.05211	4.1
D5 Phenobarbital	237.11618	4.175	Triclocarban	313.97805	6.519
D6 Gemfibrozil	256.19456	6.304	Triclosan	287.95116	6.535
D9 (±)11-Nor-9-carboxy- <i>delta</i> -THC	353.25525	6.546	Warfarin	308.10486	5.532
Diclofenac	295.01668	5.88			

기기 및 조건

- Agilent 1290 Infinity Binary 펌프(G4220A)
- Agilent 1290 Infinity 표준 자동 시료 주입기(G4226A) 및 시료 냉각기(G1330B)
- Agilent 1290 Infinity 항온 컬럼 장치(G1316C)

UHPLC 조건은 양이온 모드의 경우 표 3에, 음이온 모드의 경우 표 4에 있습니다.

표 3. 양이온 모드 분석법을 위한 Agilent 1290 Infinity UHPLC 조건

파라미터	값
컬럼	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8μm (p/n 959758-902)
컬럼 온도	40°C
주입량	40μL
속도	추출: 100μL/분, 주입: 200μL/분
자동 시료 주입기 온도	6°C
니들 세척	5초(80% MEOH/20% water)
이동상	A) 5mM ammonium acetate 수용액 + 0.02% acetic acid B) Acetonitrile
유속	0.3mL/분
그라디언트 프로그램	Time %B 0 5 0.5 5 11 100 13 100 13.1 5
정지 시간	15분
평형 시간	1분

MS 검출

Agilent Jet Stream 전자분무 이온화원을 장착한 Agilent 6545 Q-TOF LC/MS를 사용하였습니다.

Jet Stream 이온화원 파라미터는 분석물질을 고감도로 검출하는 데 중요한 요소입니다⁷. 다중 분석물질에 대해 적용하는 경우, 파라미터는 일반적으로 검출하기 어려운 분석물질에 대하여 가중됩니다. 이 경우, triple quadrupole 데이터 및 특정 화합물에 대한 다른 연구를 기반으로 소스 파라미터에 접근하였습니다. 질량 분석기 소스 상태는 양이온 모드 분석법의 경우 표 5에, 음이온 모드 분석법의 경우 표 6에 있습니다.

소프트웨어

- Q-TOF 질량 분석기용 Agilent MassHunter Data Acquisition, 버전 B.06.01
- Agilent MassHunter Qualitative 소프트웨어, 버전 B.07.00 빌드 7.0.7024.0
- Agilent MassHunter Quantitative 소프트웨어, 버전 B.07.00 빌드 7.0.457.0

표 4. 음이온 모드 분석법을 위한 Agilent Infinity 1290 UHPLC 조건

파라미터	값
컬럼	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100mm, 1.8µm (p/n 959758-902)
컬럼 온도	40°C
주입량	40µL
속도	추출: 100µL/분, 주입: 200µL/분
자동 시료 주입기 온도	6°C
니들 세척	5초(80% MEOH/20% water)
이동상	A) 0.005% acetic acid 수용액 B) Acetonitrile
유속	0.3mL/분
그라디언트 프로그램	Time %B 0 5 0.5 5 6 100 8 100 8.1 5
정지 시간	10분
평형 시간	1분

표 5. 양이온 모드 분석법을 위한 Agilent 6545 Q-TOF LC/MS 소스 파라미터

파라미터	값
모드	2GHz 확장된 측정 범위(dynamic range), 고감도 slicer 모드
튜닝	50~250m/z; Fragile ions
건조 가스 온도	150°C
건조 가스 유량	10L/분
Sheath 가스 온도	375°C
Sheath 가스 유량	11L/분
분무기 압력	35psi
캐필러리 전압	3,500V
노즐 전압	200V
Fragmentor	125V
Skimmer	45V
Oct1 RF Vpp	750V
수집 질량 범위	100~1,000m/z(MS 전용)
수집 속도	3spectra/초
기준 이온 질량	121.050873, 922.009798

희석

분석 표준물질 및 내부 표준물질의 원액은 각 화합물에 대해 acetonitrile 25ppb로 준비 하였습니다. 모든 시료에 100ppt의 일정한 농도 내부 표준물질을 첨가하였으며, 검량 표준물질은 Milli-Q 초순수에 10ppt, 25ppt, 50ppt, 100ppt, 250ppt, 500ppt, 1,000ppt(7가지 농도)를 주입하여 제조하였습니다.

3개의 알려지지 않은 시료 중 2개는 외부 협력업체로부터 제공받았습니다. 하나는 인위적 원인이 없는 외딴 지역에서, 다른 하나는 도시 지표수 수원에서 가져왔습니다. 다른 시료는 수도물에서 바로 가져온 것입니다 (산타 클라라, 미국). 필터링 후 모든 시료에 100ppt의 내부 표준물질을 첨가하였습니다.

결과 및 토의

시스템 안정성

시스템 안정성은 1.5분 그레디언트를 갖는 70% acetonitrile에서 100ppb의 레저핀 시료를 300회 연속 주입하여 평가하였습니다. 수집은 내부 기준 질량 (m/z 121.0509 및 922.0098) 존재 시, 2spectra/초로 설정하였습니다. 질량 정확도는 Agilent MassHunter 정성 분석으로 얻었습니다. 모든 300회 주입에 대해 질량 정확도는 그림 1과 같이 0.25ppm 내에서 매우 안정적으로 유지되었습니다. 300회 주입에 대한 면적 %RSD는 3개 개별 시료 전처리 시 2.56%였습니다.

표 6. 음이온 모드 분석법을 위한 Agilent 6545 Q-TOF LC/MS 소스 파라미터

파라미터	값
모드	2GHz 확장된 측정 범위(dynamic range), 고감도 slicer 모드
튜닝	50~250m/z; Fragile ions
건조 가스 온도	200°C
건조 가스 유량	12L/분
Sheath 가스 온도	375°C
Sheath 가스 유량	12L/분
분무기 압력	35psi
캐필러리 전압	4,000V
노즐 전압	2,000V
Fragmentor	110V
Skimmer	40V
Oct1 RF Vpp	750V
수집 질량 범위	100~1,000m/z(MS 전용)
수집 속도	2spectra/초
기준 이온 질량	119.03632, 966.000725

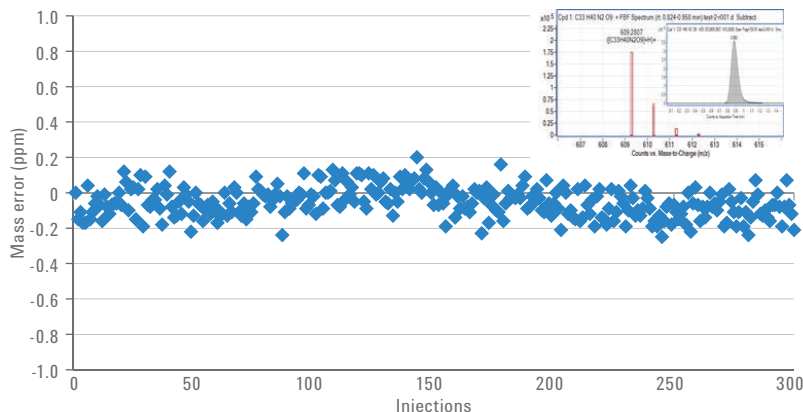


그림 1. 탁월한 시스템 안정성. 질량 정확도는 레저핀 시료를 연속 300회 주입 시 0.25ppm 이내로 유지되었으며, 2.56%의 면적 %RSD를 나타냈습니다.

향상된 분석법 성능

6545 Q-TOF LC/MS의 감도는 이 PPCP 응용을 위해 기기를 50~250m/z 범위로 튜닝하고 slicer를 고감도 모드로 설정하여 최대화하였습니다. 특히 중간범위 질량 분석기의 경우 분석물의 m/z를 기반으로 사용자가 이온 전송을 최적화할 수 있다는 것이 혁명적입니다. Fragile ion 옵션은 이온

전송 중에 유기 화합물이 분해되는 것을 방지합니다. 이러한 모든 요인은 긴 시간을 요구하는 시료 농축 과정 없이 낮은 ppt 농도로 PPCP를 고감도 검출할 수 있도록 합니다. 양이온 모드 화합물 및 음이온 모드 화합물에 대한 데이터베이스는 분석물질 및 동위원소로 표시된 내부 표준물질의 머무름 시간을 이용하여 PCDL 매니저(B.07.00)를

사용하여 생성하였습니다. 데이터는 초기에 Agilent MassHunter 정성 분석 소프트웨어(B.07.00)의 Find by Formula를 사용하여 5ppm의 질량 오차 및 ±0.5분의 머무름 시간 범위로 평가하였습니다. 그림 2는 양이온 모드에서 118개 분석물질의 감응을, 그림 3은 음이온 모드에서 25ppt의 22개 분석물질을 보여줍니다.

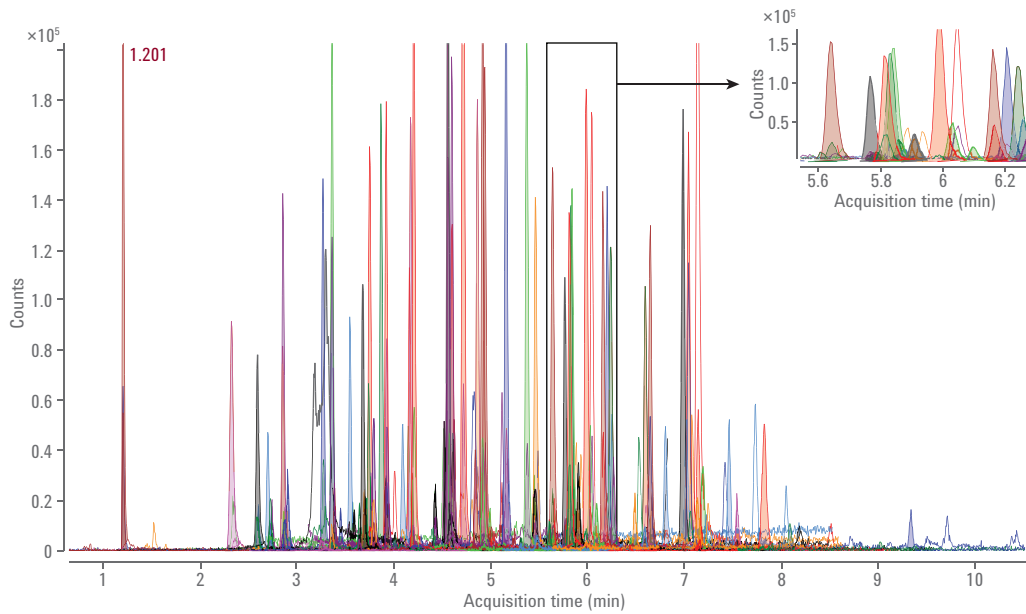


그림 2. 양이온 모드에서 신호 감응(40µL 직접 주입 시 25ppt)

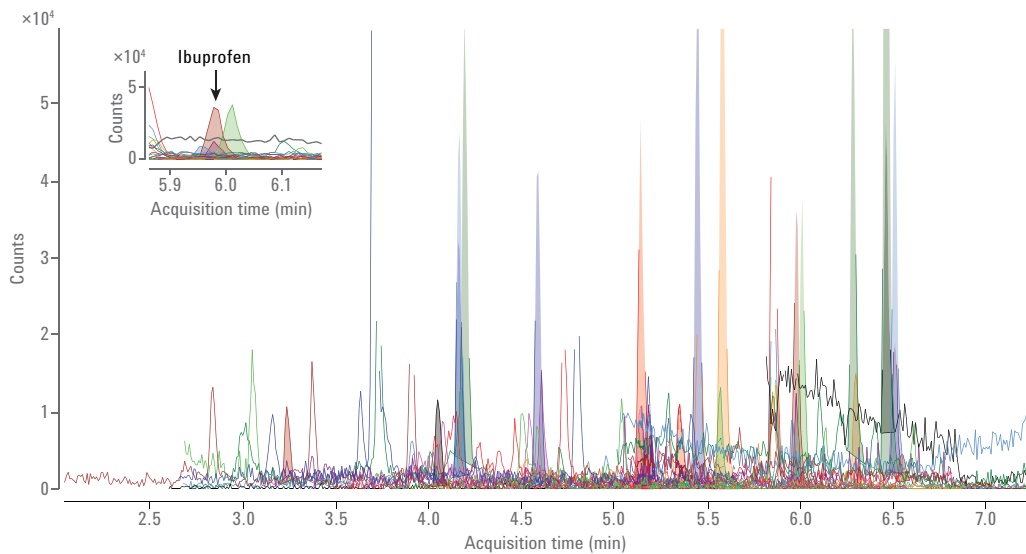


그림 3. 음이온 모드에서 신호 감응(40µL 직접 주입 시 25ppt)

대부분 화합물은 시료 농축 없이 10ppt보다 훨씬 낮은 농도로 검출할 수 있습니다. 그림 4는 5회 반복 중 3회 이상 80~120%의 정확도로 각 농도에서 정량할 수 있는 화합물의 수를 보여줍니다. 양이온 모드에서 118가지, 음이온 모드에서 22가지로 총 140가지 화합물을 정량하였습니다. Nersertraline은 모든 주입된 농도에서 검출되지 않았는데 그 이유는 표준 물질이 3개월 이상 되어 변성이 일어났기 때문일 것입니다. 10ppt에서 정량하지 못한 44가지 화합물 중 약 43%는 정량 정확도가 80~120%를 초과하였기 때문에 실패했습니다.

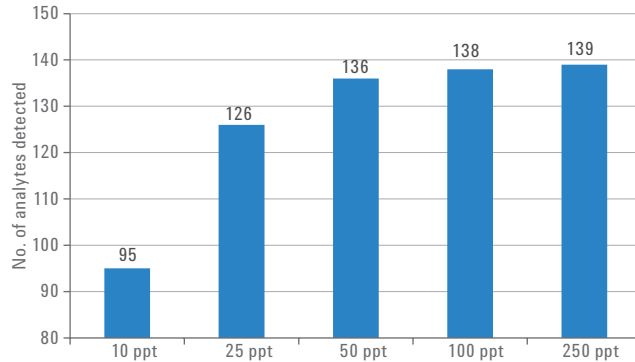


그림 4. 물 시료 40μL를 직접 주입 시 각 농도 수준에서 정량 가능한 화합물 수

질량 정확도 향상과 감도 증가, 6545 Q-TOF LC/MS 고유의 정량 정확도로 인해 질량 정확도뿐만 아니라 동위원소 존재비 및 간격에 기초하여 높은 신뢰성으로 화합물을 식별할 수 있었습니다. 그림 5에 예시를 나타냈습니다. 6-Acetylmorphine은 ~1,000배 동시용리 이온이 존재할 때 25ppt에서 100점 만점에 목표 점수 93.43점으로 식별되었습니다.

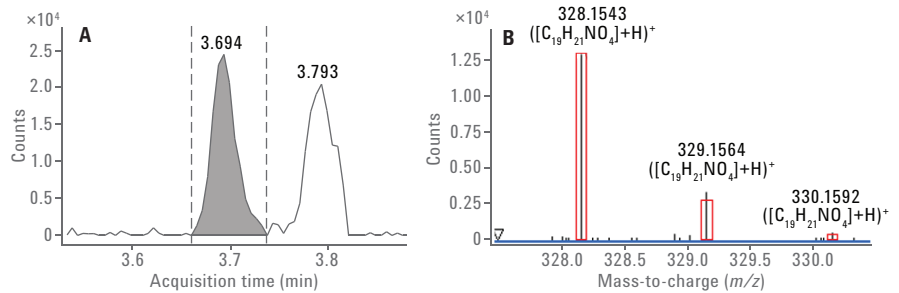


그림 5. 신뢰성 있는 식별. 25ppt의 6-acetylmorphine은 ~1,000배 동시용리 이온이 존재할 때 높은 신뢰도(100점 중 목표 점수 93.43점)로 검출될 수 있습니다

검량선

검량선은 Milli-Q 초순수에 10ppt~1,000ppt 농도 범위를 주입한 PPCP로 작성되었습니다. 일부 분석물질에는 해당 동위원소로 표시된 내부 표준물질을 첨가하였습니다. 모든 시료에는 100ppt의 일정한 농도 내부 표준물질을 첨가하였습니다. 가중치 1/x의 2차 방정식을 사용하여 원점을 지나는 검량선을 작성하였습니다. 두 극성에서 대부분 표적 분석물질에 대한 상관 계수(R^2)는 0.99 이상이었습니다. Methotrexate ($R^2 = 0.978$)과 Thiabendazole ($R^2 = 0.984$)을 제외하고는 대부분 0.995 이상이었습니다. 양이온 모드의 cotinine, 음이온 모드의 ibuprofen에 대한 검량선은 그림 6에 예시로 나타냈습니다.

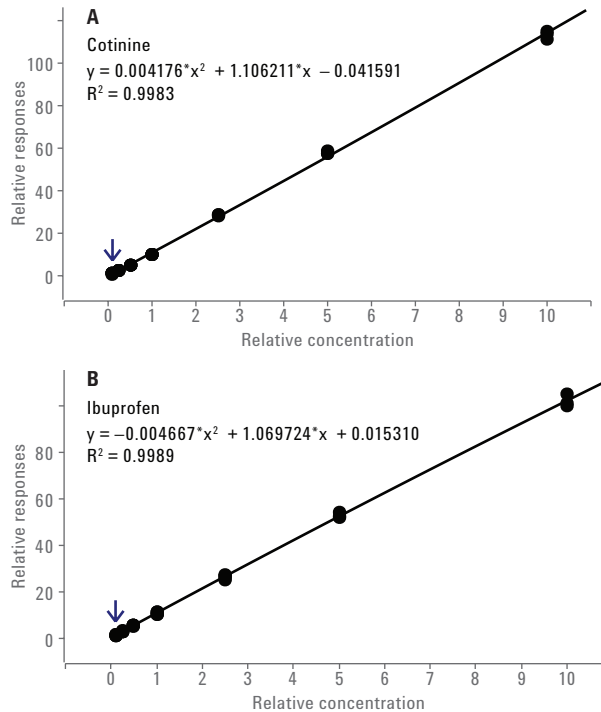


그림 6. Milli-Q 초순수에서 cotinine(양이온) 및 ibuprofen(음이온)의 검량선

정밀도 및 정확도

10ppt~100ppt(10ppt에서 95가지 화합물, 25ppt에서 31가지 화합물, 50ppt에서 10가지 화합물, 100ppt에서 2가지 화합물)로 준비된 138가지 화합물을 5회 반복 주입하는 것에 기초하여 %RSD 계산이 이루어졌습니다. %RSD 결과는 그림 7과 같습니다. 약 79%의 화합물을 10% 미만의 %RSD로 정량할 수 있었습니다. 4가지 화합물만이 %RSD를 20~25% 상승시켰습니다. 이러한 결과는 수정 작업, 고감도 slicer 모드, 빠른 데이터 수집으로 인한 6545 Q-TOF LC/MS의 정밀한 정량 능력을 분명히 보여줍니다.

우수한 질량 정확도 및 질량 분해능으로 6545 Q-TOF LC/MS의 정량 정확도는 매우 탁월합니다. 이는 시료 농축 없이 낮은 ppt 농도에서 정량할 수 있는 화합물 수로 알 수 있습니다. 분석물질이 검출 가능한 것으로 간주되는 한 가지 요건은 5회 반복 중 최소 3회에서 농도 정확도가 80~120% 이내여야 한다는 것입니다. 10ppt에서는 44가지 화합물 중 43%가 80~120%를 넘는 정량 정확도로 인해 이러한 분석물질에 대한 신호대 잡음비가 5보다 훨씬 컸음에도 불구하고 실패했습니다. 정량 정확도는 주로 피크 적분에 대한 약간의 백그라운드 영향으로 낮은 농도에서 더욱 크게 영향을 받습니다.

실제 시료

3개의 시료를 시험하였습니다. 첫 번째 시료는 수돗물에서 바로 수집했습니다. 다른 두 시료는 외부 협력업체로부터 제공받았습니다. 하나는 인위적 원인이 없는 외딴 지역에서, 다른 하나는 도시 지표수 수원에서 가져왔습니다. 각 시료를 반복 주입하였습니다. 두 번의 주입에서 평균 농도가 10ppt 이상인 화합물의 경우에 대해 결과를 나타냈습니다. 결과는 표 7~10과 같습니다. 그림 8 및 그림 9는 2~3개의 PPCP만 식별된, 알려지지 않은 두 개 시료에 대한 크로마토그래프를 나타냅니다.

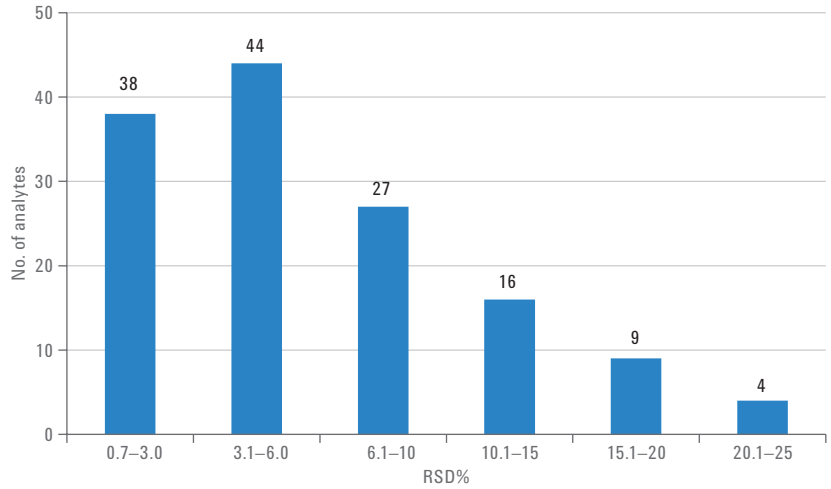


그림 7. 10ppt부터 100ppt까지의 LLOQ 수준에서 5회 반복 측정 정밀도: 분석물의 79%가 10% 미만의 %RSD였습니다.

표 7. 수돗물에서 양이온 모드 분석법으로 발견된 화합물

명칭	Inj 1 (ppt)	Inj 2 (ppt)	Avg. (ppt)
Normeperidine	28.4	30.4	29.4
Temazepam	12.4	13.9	13.2

표 8. 외딴 지역의 수원 시료에서 양이온 모드 분석법으로 발견된 화합물

명칭	Inj 1 (ppt)	Inj 2 (ppt)	Avg. (ppt)
6-Acetylmorphine	17.7	18.9	18.3
DEET	106.7	107.6	107.1
Temazepam	17.9	18.6	18.2

표 9. 도시 지표수 시료에서 양이온 분석법으로 발견된 화합물

명칭	Inj 1(ppt)	Inj 2(ppt)	Avg. (ppt)	명칭	Inj 1(ppt)	Inj 2(ppt)	Avg. (ppt)
10,11-Dihydro-10-hydroxycarbamazepine	82.5	82.3	82.4	MDMA	18.5	14.1	16.3
Acebutolol	21.1	20.5	20.8	Meprobamate	105.6	116.5	111.0
Amitriptyline	33.9	35.3	34.6	Metformin	2796.1	2774.4	2785.3
Atenolol	1590.3	1476.8	1533.5	Methadone	42.6	42.4	42.5
Atrazine	40.1	40.2	40.1	Methamphetamine	250.8	249.5	250.1
Bupropion	167.9	160.2	164.0	Metoprolol	426.4	425.3	425.9
Caffeine	719.4	660.1	689.8	Modafinil	21.0	19.8	20.4
Carbamazepine	211.2	219.2	215.2	Monoethylglycinexylidide	44.5	52.3	48.4
Carbamazepine 10,11 epoxide	62.1	56.0	59.1	Norquetiapine	56.6	59.5	58.0
Carisoprodol	31.0	29.9	30.5	Oxazepam	25.6	24.1	24.8
Chlorpheniramine	30.7	29.9	30.3	Oxycodone	94.1	94.6	94.4
Clopidogrel carboxylic acid	144.2	142.8	143.5	Oxymorphone	32.5	31.8	32.2
Cotinine	10.0	10.8	10.4	Phentermine	124.5	121.9	123.2
DEET	564.9	567.2	566.1	Pregabalin	209.3	220.5	214.9
Dehydroaripiprazole	37.1	39.3	38.2	Propranolol	57.8	57.1	57.5
Desmethylcitalopram	100.3	96.8	98.6	Pseudoephedrine	110.8	104.8	107.8
Desmethylvenlafaxine	809.2	834.5	821.9	Ritalinic acid	112.8	123.0	117.9
Dextromethorphan	53.7	49.0	51.4	Sertraline	48.5	49.1	48.8
Diltiazem	76.1	79.4	77.7	Sildenafil	29.6	31.8	30.7
Diphenhydramine	163.5	164.3	163.9	Sotalol	79.3	76.6	78.0
Disopyramide	13.9	14.2	14.0	Temazepam	115.9	110.9	113.4
EDDP	322.8	312.8	317.8	Thiabendazole	76.4	51.9	64.1
Erythromycin	38.5	39.8	39.2	Tramadol	907.5	859.8	883.6
Erythromycin-anhydro	94.1	86.8	90.5	Trazadone	28.6	27.5	28.0
Escitalopram	226.8	225.7	226.3	Triamterene	108.5	113.1	110.8
Fluoxetine	34.3	33.6	33.9	Trimethoprim	269.9	278.1	274.0
Hydrocodone	30.6	31.9	31.3	Tylosin	50.1	48.9	49.5
Hydroxybupropion	165.9	142.1	154.0	Venlafaxine	397.9	405.9	401.9
Levorphanol	184.7	180.3	182.5	Verapamil	29.5	29.4	29.4
Lidocaine	377.8	375.5	376.7	Zolpidem phenyl-4-carboxylic acid	48.9	46.3	47.6
Loratadine	17.3	18.4	17.8				

음이온 모드 분석법으로는 수돗물이나 외딴 지역의 수원 시료에서 화합물이 발견되지 않았지만, 수원 시료의 경계에서 Warfarin이 검출되었습니다. 음이온 모드로 도시 지표수 시료에서 발견된 화합물은 표 10에 나열하였습니다.

두 지표수 시료 또한 Agilent 6495 Triple Quadrupole LC/MS[®]로 시험하였지만, 두 연구는 몇 개월의 기간을 두고 수행되었으므로 시료가 분해되었을 수 있습니다. 그럼에도 불구하고, 표적 UHPLC-Triple Quadrupole 분석법 및 비표적 UHPLC-Q-TOF 분석법에서 검출된 대부분 화합물은 식별된 화합물 및 해당 농도에서 잘 검출되었습니다. 본 응용 자료는 Agilent 질량 분석기 포트폴리오가 환경 테스트를 위한 완벽한 솔루션이 될 수 있음을 분명히 보여줍니다.

결론

수중 PPCP 스크리닝을 위한 빠르고 간단한 Q-TOF LC/MS 분석법을 개발하였습니다. 이 분석법은 Agilent 6545 Q-TOF LC/MS 시스템 및 Swarm autotune의 하드웨어를 변경하여 작고 부서지기 쉬운 분자 이온을 전송하는 데 감도 개선의 이점을 최대한 활용하였습니다. 고감도 slicer 모드를 선택하여 감도를 더욱 높일 수 있습니다. 직접 주입을 통해 수중 극미량의 오염물질을 정량하기 위한 낮은 ppt 농도의 LLOQ이 가능함을 입증하였습니다. 이러한 디자인 개선을 통해 긴 시간을 요구하는 시료 농축 및 정제 과정을 줄일 수 있어, 시료 처리량이 크게 증가합니다.

표 10. 도시 지표수 시료에서 음이온 분석법으로 발견된 화합물

명칭	Inj 1(ppt)	Inj 2(ppt)	Avg. (ppt)
Celecoxib	40.2	36.6	38.4
Chloramphenicol	8.9	11.9	10.4
Diclofenac	277.2	235.2	256.2
Diclofenac 4-hydroxy	10.0	10.0	10.0
Furosemide	309.3	307.9	308.6
Gemfibrozil	223.7	225.6	224.7
Hydrochlorothiazide	532.7	539.8	536.3
Ibuprofen	47.5	46.8	47.2
Methylparaben	78.6	83.4	81.0
Naproxen	175.4	177.0	176.2
<i>n</i> -Butylparaben	10.2	12.5	11.3
Phenobarbital	43.3	26.2	34.7
Phenytoin	666.4	956.1	811.3
Sulfamethoxazole	649.8	599.2	624.5
Triclocarban	28.2	25.9	27.0
Triclosan	36.4	37.6	37.0

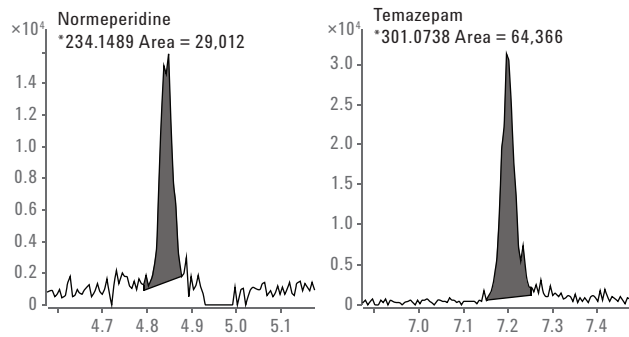


그림 8. 수돗물에서 양이온 분석법으로 발견된 PPCP의 크로마토그래프

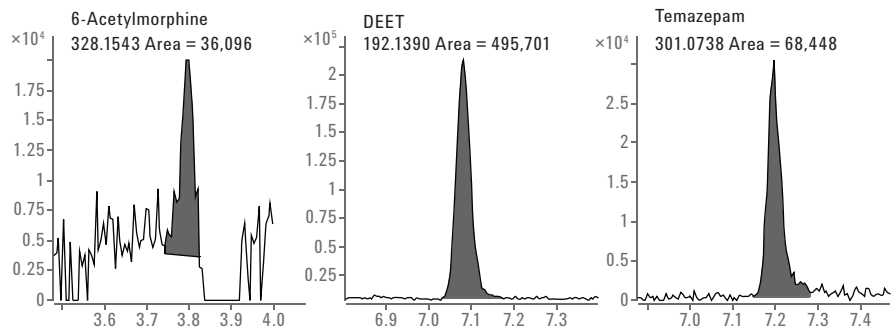


그림 9. 외딴 지역의 수원 시료에서 양이온 모드 분석법으로 발견된 PPCP의 크로마토그래프

참고문헌

1. Boyd, G. R.; *et al.* Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Surface and Treated Waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada, *Science of The Total Environment* 311 (1-3), pp 135-149.
2. Snyder, S.; *et al.* Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in Water: Implications for the Water Industry, *Environmental Engineering Science* 2003, 20(5), pp 449-469.
3. EPA Method 1694, Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS, 2007, EPA-821-R-08-002.
4. European Water Framework Directive 2000/60/EC; European Groundwater Directive 2006/118/EC.
5. Ferra, I.; Thurman, E. M.; Zweigenbaum, J.; Ultrasensitive EPA Method 1694 with Agilent 6460 LC/MS/MS with Jet Stream Technology for Pharmaceutical and Personal Care Products in Water, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-4605EN.
6. Yang, D. D.; *et al.*; Screening and Quantitation of 240 Pesticides in Difficult Food Matrices Using the Agilent 6545 QTOF Mass Spectrometer, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5485EN.
7. Cullum, N.; Optimizing Detection of Steroids in Wastewater Using the Agilent 6490 Triple Quadrupole LC/MS System with iFunnel Technology, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-9978EN.
8. Yang, D. D.; Murphy, M. A.; Zhang, S.; Highly Sensitive Detection of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Water Using Agilent 6495 Triple Quadrupole Mass Spectrometer, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5425EN.

감사의 글

프로젝트를 시작하고 조율해주신
Craig Marvin 님께 감사드립니다.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2015
2015년 6월 29일, 한국에서 발행
5991-5954KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies