

# 하수 슬러지 내 환경 오염물질에 대한 표적 정량 및 추정물질 동시 스크리닝

Agilent 6546 LC/Q-TOF

## 저자

James S. Pyke  
Agilent Technologies, Inc.  
Santa Clara CA USA

Gabrielle Black  
University of California,  
Davis CA USA

Kai Chen  
Agilent Technologies, Inc.  
Santa Clara CA USA

Tarun Anumol  
Agilent Technologies, Inc.  
Santa Clara CA USA

Thomas M. Young  
University of California,  
Davis CA USA

## 개요

환경 오염물질의 목록은 확장일로에 있고 규제는 날로 강화되고 있습니다. 여러 환경 규제 기관에서는 빠르고, 정확하며, 감도 높은 분석 도구를 요구하고 있습니다. 환경 실험실에서는 생태계 보호를 위해 독성이 높은 오염물질의 극미량 분석부터, 생산된 후 애초에 의도한 사용 기간을 넘어서 잔류하는 신종 오염물질의 대규모 라이브러리 스크리닝에 이르기까지 다양한 분석을 필요로 하는 샘플을 다룹니다. 데이터를 수집하고 정량하여 결과를 보고하는 기법과 절차는 일반적으로 표적 성분에 대한 LC-TQ 기술을 이용해 수립해왔습니다. 그러나 지속적으로 증가하는 신종 환경 오염물질을 모니터링하는 것은 환경 과학자들에게 끊임없이 어려운 과제가 되고 있습니다.

이 응용 자료에서는 Agilent 6546 LC/Q-TOF MS 시스템을 사용한 정량과 스크리닝을 결합한 워크플로를 평가합니다. 6546은 확장된 측정 범위(dynamic range)와 높은 질량 분해능을 최고의 수집 속도로 동시에 제공합니다. 애질런트의 개인 복합물 데이터베이스 및 라이브러리(PCDL, Personal Compound Database and Libraries)에서 고도로 큐레이션된 MS/MS 스펙트럼 및 머무름 시간과 업데이트된 Agilent MassHunter Quantative Analysis 소프트웨어를 조합하여, 원활한 표적물질 정량 및 추정물질 스크리닝 성능을 동시에 제공하는 워크플로를 소개합니다. 소프트웨어의 강화된 기능과 하드웨어의 성능으로, 빠르고 간편하게 규제 화합물을 정량함과 동시에 동일 주입에서 수천 가지의 신종 오염물질을 스크리닝할 수 있습니다.

## 소개

하수 슬러지는 화합물의 복잡한 농축 혼합물로, 대부분의 경우에 토양환원 방법으로 처리합니다. 소비자 제품에서 유래한 잔류성 독성 화학물질의 규제 모니터링은 토양환원 처리한 하수 슬러지에 국한되어 있습니다. 그러나 이들 중 다수 화합물의 독성 값이 알려지지 않은 상태로, 배출 처리 이후의 생태계 영향의 위험성을 연구하고 경감시켜야 할 필요성을 시사합니다. 문제는 더 많은 제품이 생산됨에 따라 독성물질 및 이러한 물질의 변형 생성물이 꾸준히 늘어나고 있다는 점입니다. 이러한 화합물들에 대한 폭넓은 스크리닝을 통해 소비자 제품에서 유래한 장기 잔존 화합물에 대한, 그리고 견고한 폐기물 처리 기법으로도 이들을 제거하지 못하는 경우 다운스트림에 끼치는 영향에 대한, 보다 전체적인 그림을 얻을 수 있습니다.

내분비계 장애물질은 호르몬으로 조절되는 생물학적 시스템을 방해하는 화학물질로서, 하수 처리 공정 과정에서 모니터링합니다. 하수 슬러지 내 내분비계 활성 유기 환경 오염물의 분석을 위한 분석법<sup>1</sup>을 업데이트하였으며, 이 분석에서 6546 quadrupole time-of-flight(Q-TOF) 시스템을 최대한 활용하였습니다. 6546 LC/Q-TOF는 확장된 측정 범위(dynamic range)와 높은 질량 분해능을 최고의 수집 속도로 동시에 제공합니다. Agilent 1290 Infinity II 액체 크로마토그래피(LC) 시스템과 함께 사용 시, 고속 LC 그레디언트를 적용해 크로마토그래피 분리능을 향상시킬 수 있으며, 높은 처리량의 작업에 적합한 분석 시간을 보장합니다.

이러한 성능의 결합을 통해, 알려진 독성물질을 신속하게 정량하는 동시에 많은 독성 추정물질의 존재를 모니터링하여 이미 진행된 작업에 가치를 더할 수 있습니다. 또한 데이터 독립 수집(DIA) 기능은 새로운 독성물질 발견 시 이에 대한 소급적 분석(retrospective analysis)을 가능케 합니다.

하수 슬러지 매트릭스에 염색한 화합물을 첨가해 6546 LC/Q-TOF 시스템의 정량 성능을 평가하였습니다. 선정된 화합물은 하수 슬러지에서 이전에 검출된 바 있고, 내분비계 활성 특성을 가진 것으로 추정되는 물질 약 50개의 목록으로 정리하였습니다. 이 화합물 중 12개의 대체 표준물질을 선택하여 분석법 검증에 사용하였으며, 이들은 넓은 범위를 갖는 전체 목록의 물리화학적 성질을 대표할 수 있는 물질들이었습니다. 첨가한 대체 표준물질이 크로마토그램 전반에 걸쳐 용출될 정도로 충분한 화학적 다양성을 갖추고 있었으므로, 이들 대체 표준물질의 머무름 시간(RT)을 동일 화합물을 측정할 기존 발표 분석법과 연관시켰습니다. 그 후 모델을 사용하여 동일한 데이터 파일에서 보다 넓은 범위의 독성물질 RT를 추정하였습니다. 또한 RT 상관 관계가 없는 화합물도 모니터링하였습니다.

첨가한 대체 표준물질에 더해 고도로 큐레이션된 MS/MS 스펙트럼을 갖춘 화합물까지, 총 4,856종의 화합물을 모니터링하였습니다. 간소화된 데이터 분석 워크플로는 높은 질량 분해능 데이터의 고도로 큐레이션된 화합물 라이브러리로부터 화합물의 알려진 전구 및 조각 질량을 추출한 후 다음을 수행합니다.

- 질량 정확도 측정 및 추출 질량의 동시용리 측정
- 알려진 이론적 동위원소 패턴과 정확히 측정된 결과를 비교
- 알려진 또는 추정한 RT를 측정 결과와 비교

SANTE 가이드라인<sup>3</sup>에서 권장한 바대로 추정 확인은 기본 식별 기준을 따르며, 소프트웨어는 처리과정 검토에 집중하여 잠재적 위양성(false positive)을 줄입니다. 기존 정량 절차(LC/TQ 워크플로와 유사한)를 통해 첨가한 대체 표준물질의 발견 및 정량으로 워크플로를 검증한 후, 고도로 큐레이션된 화합물 데이터베이스를 새로운 독성물질로 더욱 확장함으로써 의심되는 오염물질을 소급적으로 계속 발견할 수 있습니다.

## 실험

가능한 경우, 하수 슬러지 시료의 전처리 절차는 의도적으로 화학적 선택성이 없는 방법으로 이루어졌기 때문에, 광범위한 환경 오염물을 검출할 수 있었습니다. 거친 결과를 초래할 수 있는 화합물의 유입을 줄이기 위해 고품질의 용매와 소모품을 사용하였습니다.

### 시약 및 화학 물질

용매는 Agilent LC/MS 등급의 acetonitrile (p/n G2453-85050)과 formic acid (Merck, 5330020050) 및 ammonium fluoride(Sigma-Aldrich, 338869)로 준비하였습니다. 기준 질량 용액은 Agilent HP-0921 100µL, purine 200µL (p/n G1969-85001)를 100mL의 5% acetonitrile 수용액에 첨가하여 준비하였습니다. ESI-L 검량 용액은 기기 매뉴얼에 따라 준비하였습니다. 표준물질은 20% methanol 수용액으로 제조하였습니다 (UC Davis에서 수행).

## 표준물질 및 시료 전처리

표 1에 표적 화합물을 목록으로 정리하였습니다. 6546 Q-TOF LC/MS 시스템의 측정 범위(dynamic range)와 감도를 평가하기 위해, 표준물질은 20% methanol 수용액으로 제조하였습니다. 검량 농도는 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25, 10, 5, 2.5, 1, 0.5, 0.25, 0.1ppb 였습니다. 내부 표준물질을 사용하지 않고 데이터를 정규화하였습니다. 시료는 미국 캘리포니아의 하수 처리장에서 가져와 이전에 기술한 바와 같이 전처리한 후<sup>1</sup>, 시료 전처리 전후 농도가 200ppb가 되도록 표적 화합물을 첨가하여 회수율 및 시료 매트릭스 억제제를 평가하였습니다.

## 기기

표 2에 설명된 모듈로 구성된 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템을 6546 Q-TOF LC/MS 시스템(G6546A)과 결합해 사용하였습니다.

표 1. 표적 화합물

화합물	CAS	화합식	중성 질량
AHTN/Tonalide (Fixolide)	1506-02-1	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O	258.19837
Carbamazepine	298-46-4	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	236.09496
DEET/Diethyltoluamide	134-62-3	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO	191.13101
Diclofenac	15307-86-5	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	295.01668
Dihydrojasmonic acid, Methyl Ester	24851-98-7	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	226.15690
Efavirenz	154635-17-3	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>2</sub>	315.02739
Flunixin	38677-85-9	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	296.07726
Fluoxetine	54910-89-3	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> NO	309.13405
Fluvoxamine	54739-18-3	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	318.15551
Lamotrigine	84057-84-1	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>5</sub>	255.00785
Mefenamic Acid	61-68-7	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	241.11028
Metoprolol	37350-58-6	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	267.18344
Miconazole	22916-47-8	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	413.98602
Norgestrel	797-63-7	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	312.20893
Sulfamethoxazole	723-46-6	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	253.05211
Triclocarban	101-20-2	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	313.97805
Trimethoprim	738-70-5	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	290.13789
Estrone (E1)	53-16-7	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	270.16198
Ethinylestradiol (EE2)	57-63-6	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	296.17763
2-Phenylphenol (Orthophenylphenol)	90-43-7	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O	170.07316
Gemfibrozil	25812-30-0	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	250.15689
Estriol	50-27-1	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	288.17254
4-tert-Octylphenol (4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol)	140-66-9	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	206.16707

표 2. Agilent 1290 Infinity II UHPLC 조건

모듈	양이온화 파라미터	음이온화 파라미터
고속 펌프(G7120A)	용매 A1) 0.1% formic acid in water 용매 B1) 0.1% formic acid in acetonitrile	용매 A2) 1mM ammonium fluoride in water 용매 B2) acetonitrile
	유속: 0.4mL/분 최고 한계 압력: 1,300bar(작동 압력은 450bar미만이었음)	
	그레디언트: 시간(분) %B 0.00 2.00 0.50 2.00 15.50 100.00 19.50 100.00 20.00 2.00  정지 시간: 20분 사후 시간: 1분	
Multisampler (G7167B)	주입 부피: 1µL 다중세척: Seat 백플러시 및 니들 세척(100% isopropanol > 100% acetonitrile > 100% water 각각 5초간 수행)	
다중 컬럼 온도조절장치 (G7116B)	컬럼 온도: 30°C 컬럼: Agilent InfinityLab Poroshell EC-C18 2.1×100 mm, 1.9µm(p/n 685775-924)	

표 2에 기재된 파라미터를 이용해 그림 1A에 나타난 LC 그래디언트를 생성하였습니다. 하수 슬러지, 바탕시료, 검량물질에 대한 160회 주입의 펌프 압력 곡선이 오버레이되어 있습니다(그림 1B). 양이온 모드(빨간색) 및 음이온 모드(검은색)의 대표적인 총 이온 전류(TIC) 크로마토그램도 나타나 있습니다(그림 1C).

표 3은 6546 LC/Q-TOF 시스템의 DIA 모드에서 화합물을 측정하는 데 사용한 조건을 설명하고 있습니다.

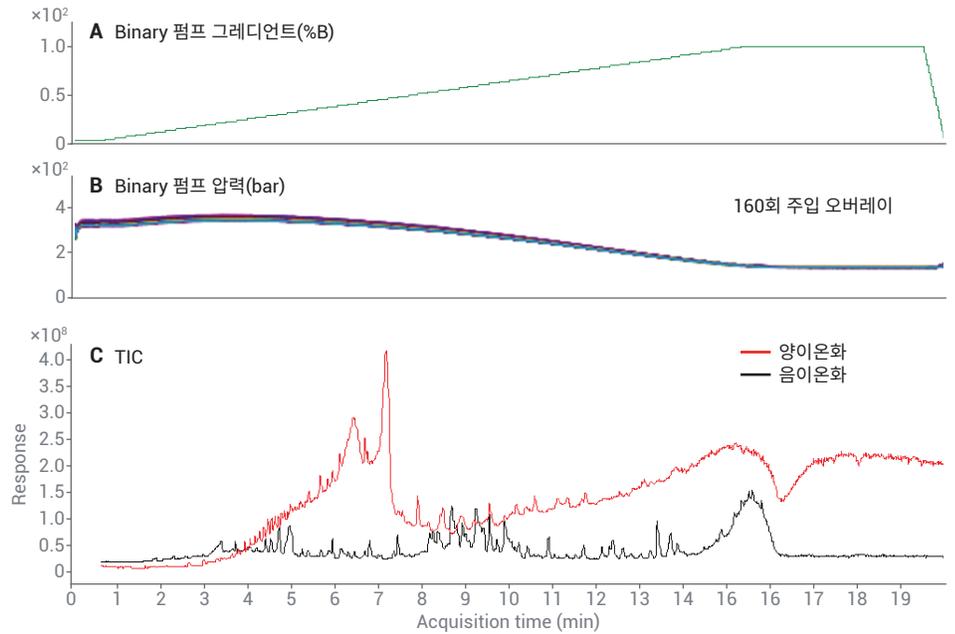


그림 1. 1290 Infinity II LC 시스템에 주입한 하수 슬러지 크로마토그래피 결과

표 3. 6546 LC/Q-TOF LC/MS 시스템(G6546A) 조건

파라미터	양이온화 파라미터	음이온화 파라미터
<b>Agilent Jet-Stream 이온화원</b>		
건조 가스 온도	225	
건조 가스 유속	12	
Nebulizer	30	
Sheath 가스 온도	350	
Sheath 가스 유속	350	
캐필러리 전압	3500	
노즐 전압	500	
Fragmentor 전압	110	
<b>Tune 모드</b>		
이온 극성	양이온	음이온
질량 범위	낮음(1,700m/z)	
슬라이서 모드	고분해능	
<b>수집 모드</b>		
	50~1,050m/z	
속도	8스펙트럼/초	
충돌 에너지	0, 10, 20, 40V	
기준 질량 보정	용기 A 사용 활성화	
기준 질량	121.050873 (M+H) <sup>+</sup> purine 부가물 922.009798 (M+H) <sup>+</sup> HP-0921 부가물	119.03632 (M-H) <sup>-</sup> purine 부가물 940.001473 (M+F) <sup>-</sup> HP-0921 부가물

그림 2는 표적 화합물의 추출 이온 크로마토그램(EICs)을 나타냅니다.

### 데이터 분석 워크플로

자동화된 일상적 워크플로는 양이온 및 음이온 모드에서 All Ions MS/MS 데이터를 수집하기 위해 Agilent MassHunter Acquisition(version 10.0.111)을 사용합니다. 이 소프트웨어는 빠르고 보다 정확한 표적물질 정량을 위해 데이터를 Agilent SureMass 기술<sup>3</sup>로 자동 처리하고, MassHunter Quantitative Analysis(TOF용, version 10.1 프로토타입)에서 추정 화합물의 동시 검출을 수행합니다.

MassHunter 정량 분석법은 애질런트의 고도로 큐레이션된 PCDL에서 화합물을 가져오기하여 설정합니다. Agilent PCDL의 데이터 품질 확인 및 추후 신규 오염물질의 추가를 위한 권장 절차를 간략히 설명한 바 있습니다<sup>4</sup>. 정량 이온은 전구 이온으로 설정하였으며, 최소 2개의 MS/MS 조각 이온을 각 화합물에 대한 정성 이온으로 설정하였습니다.

애질런트의 고도로 큐레이션된 Environmental Water Screening PCDL은 기존에 설명한 분석법으로부터 큐레이션한 RT를 포함하고 있습니다<sup>5</sup>. 그림 4의 벤 다이어그램(Venn diagram)에 해당 내용이 요약되어 있습니다.

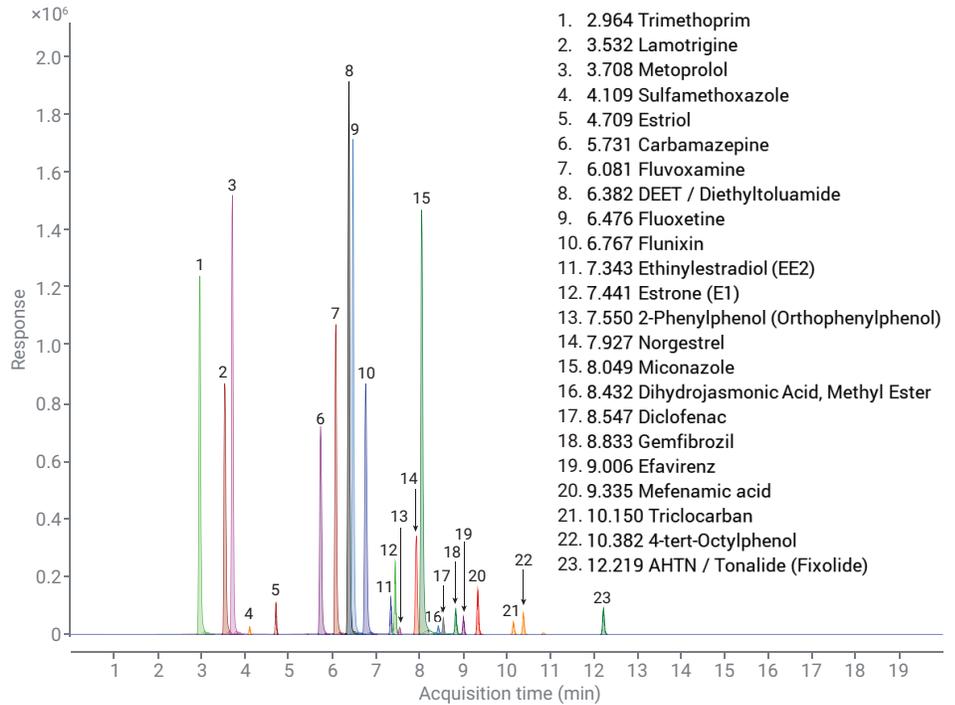


그림 2. 표 1에 정의한 표적 화합물의 추출 이온 크로마토그램(EIC)

### MassHunter Acquisition 소프트웨어 및 Study Manager



그림 3. 표적물질 정량 및 추정물질 스크리닝 워크플로

### Water Screening PCDL 내용

총 화합물 수 = 1,451

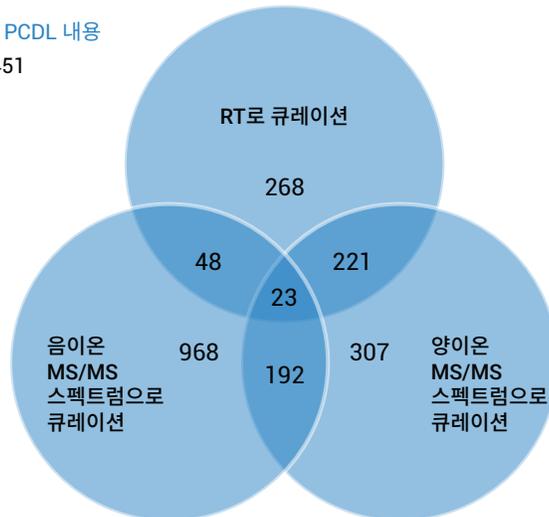


그림 4. Water Screening PCDL 내용

본 응용 자료에서 사용한 LC 분석법은 Environmental Water Screening PCDL 에서 RT를 큐레이션할 때 사용한 것과는 달랐기 때문에, 본 분석에서는 두 개의 분석에서 공통된 표적 화합물들을 사용하여 추정 화합물에 대한 RT를 모델링하였습니다. 그림 5는 두 분석법 모두에서 RT가 알려진 9종의 화합물(검은색 원)과 원점에 강제 맞추한 거둬제곱 곡선 및 이 응용자료에서 설명한 LC 분석법을 이용해 분석하였을 때 Environmental Water Screening PCDL 내의 화합물로 의심되는 RT를 보여줍니다. 추정되는 RT(파란색 원)가 의심 화합물이 검색된 RT 범위를 나타내는 오차 막대와 함께 나타나 있습니다.

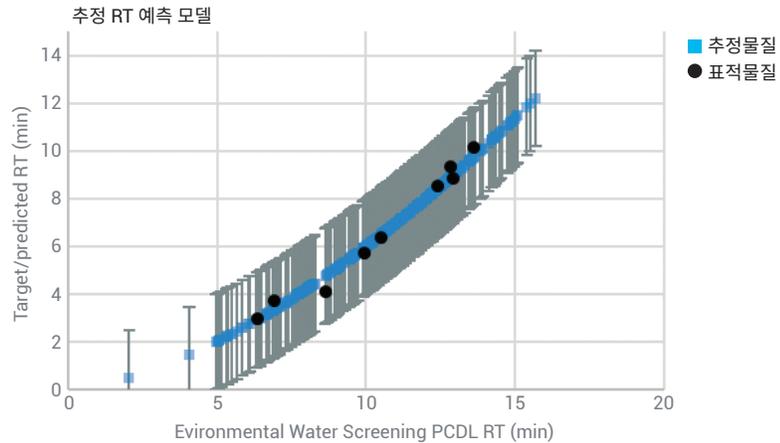


그림 5. 분석법 간 공통 대체 표준물질의 머무름 시간 상관 관계

## 결과 및 토의

### 표적물질 정량 성능

하수 슬러지 내 첨가한 대체 표준물질을 모니터링함으로써, 6546 LC/Q-TOF 시스템에 적용된 분석법의 정량 성능을 평가하였습니다. 표 4에 나열된 화합물의 선형 측정 범위(dynamic range)를 0.1~1,000ppb 범위의 검량 표준물질에 대한 선형 회귀를 통해 분석하였습니다. 신호대 잡음비(S/N)가 3 미만인 검량 농도는 배제하고, 검출한계(LLOD)를 표 4에 정리하였습니다. 가장 낮은 검량 농도는 S/N≥3으로 나타났습니다. 표 4에 보고된 포화 한계(LOS)는 선형 측정 범위(Linear Dynamic Range)의 상한값입니다. 고농도 검량 포인트는 결정 계수(R<sup>2</sup>)가 0.99 이상이 될 때까지 제거하였으며, 각 검량물질의 정량 정확도는 선형 형태의 곡선에 1/x 가중치를 적용하였을 때(x는 농도), <±20%였습니다.

표 4. 6546 LC/Q-TOF의 정량 성능

화합물	정량 이온	R <sup>2</sup>	LLOD(ppb)	LOS(ppb)
AHTN/Tonalide (Fixolide)	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	5.0	1,000
Carbamazepine	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	1.0	250
DEET/Diethyltoluamide	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.50	500
Diclofenac	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	25	>1,000
Dihydrojasmonic acid, methyl ester	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	50	>1,000
Efavirenz	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	5.0	>1,000
Flunixin	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.50	2,500
Fluoxetine	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.50	>1,000
Fluvoxamine	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	1.0	>1,000
Lamotrigine	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.10	100
Mefenamic acid	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	5.0	>1,000
Metoprolol	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.50	>1,000
Miconazole	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.50	500
Norgestrel	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	2.5	750
Sulfamethoxazole	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	50	>1,000
Triclocarban	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	50	>1,000
Trimethoprim	(M+H) <sup>+</sup>	>0.99	0.10	100
Estrone (E1)	(M-H) <sup>-</sup>	>0.99	2.5	>1,000
Ethinylestradiol (EE2)	(M-H) <sup>-</sup>	>0.99	5.0	>1,000
2-Phenylphenol (Orthophenylphenol)	(M-H) <sup>-</sup>	>0.99	25	>1,000
Gemfibrozil	(M-H) <sup>-</sup>	>0.99	5.0	>1,000
Estriol	(M-H) <sup>-</sup>	>0.99	5.0	>1,000
4-tert-Octylphenol (4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)phenol)	(M-H) <sup>-</sup>	>0.99	5.0	>1,000

대부분의 경우, 1,000ppb 검량 시료를 포함하여 선형 형태의 곡선으로 피팅하였을 때 LOS가 관찰되지 않았습니다. 그러나 화합물을 비선형 거듭제곱 곡선 회귀로

피팅하고 1/x로 가중처리하였을 때(x는 농도), Lamotrigine(효율적으로 이온화되는 화합물로 보이는)을 제외한 모든 사례에서 0.5µL 주입 시 더욱 높은 검량 포인트를

포함함으로써 화합물을 최대 1,000ppb까지 정확하게 정량할 수 있었습니다. 그림 6은 이 분석의 표적 화합물에 사용한 검량 곡선을 보여줍니다.

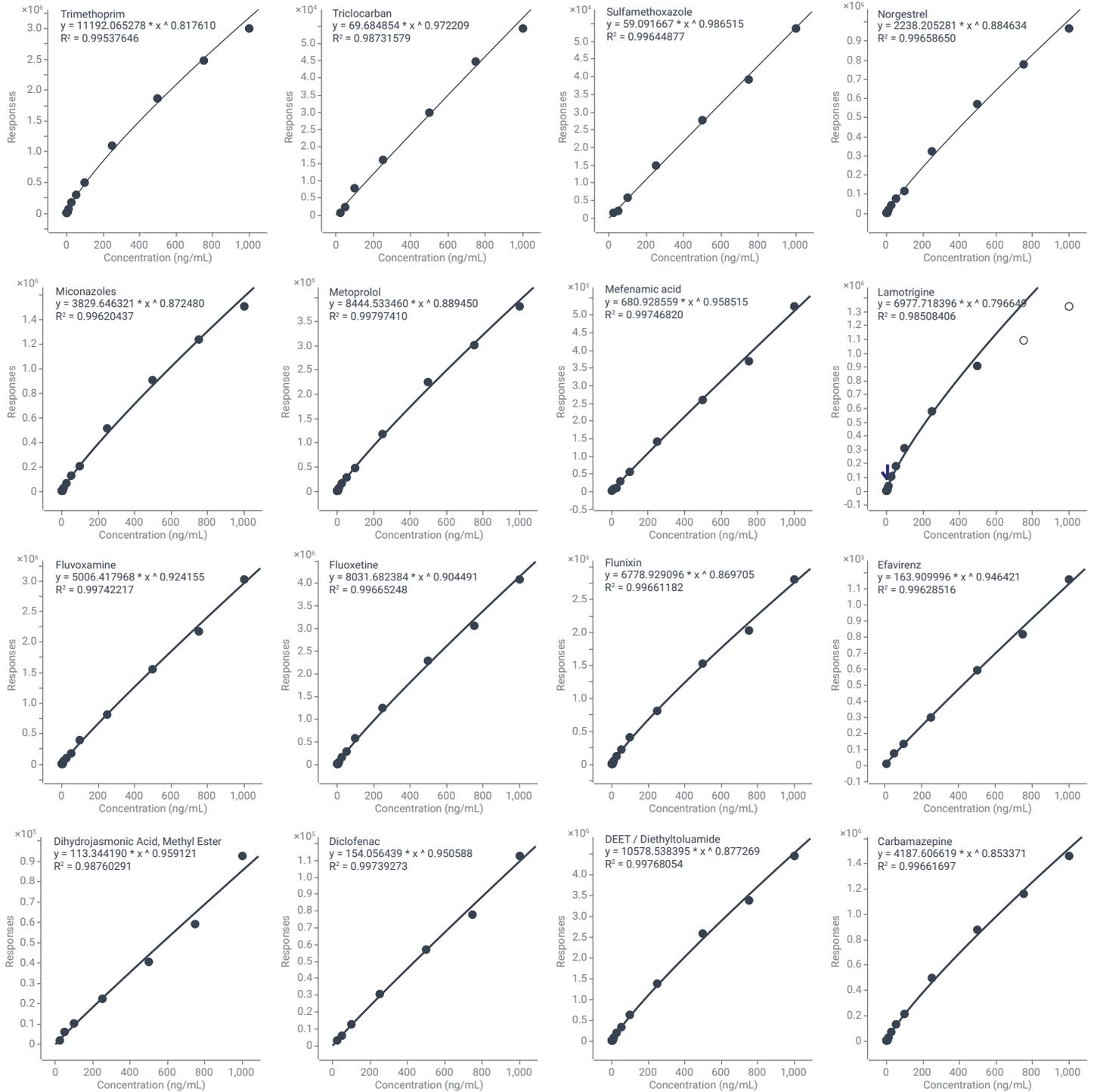


그림 6. 표적 화합물에 대한 검량 곡선

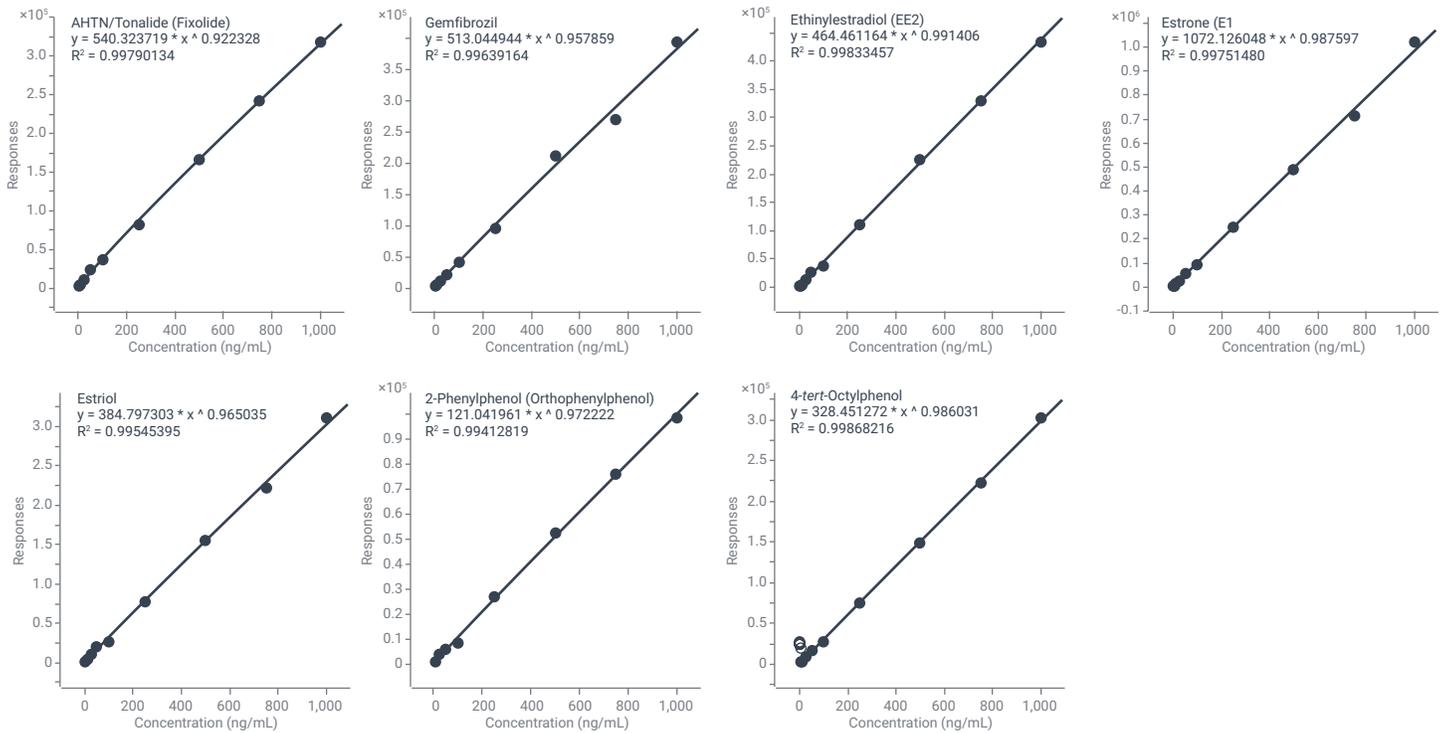


그림 6. 표적 화합물에 대한 검량 곡선(계속)

Lamotrigine의 경우, 검출 한계(LLOD)는 관찰되지 않았으며, 가장 낮은 농도(0.1ppb)의 검량물질 주입에서 S/N >3의 피크를 관찰하였습니다. 분석법에는 1.0μL의 주입 부피를 사용하였으므로, 100ppb의 농도는 컬럼에 100pg이 주입된 것과 같습니다 (100pg on-column).

표적 화합물 결과는 LC-TQ 데이터와 같은 방식으로 나타나 있습니다(그림 7 참조). 정량 이온 적분 및 예측 RT(그림 7A), 그리고 정성 이온 동시용리(그림 7B, 검량물질로부터 측정된 예상 비율에 따라 조정)는 LC/TQ와 LC/Q-TOF 수집 방법 사이에서 일반적입니다. 정확한 질량 측정을 위한 추가 소수점 자리와

함께, 알려진 화학식 및 자연 동위원소 존재비가 주어졌을 때의 예상치(그림 7C, 빨간색 상자) 대비 측정된 동위원소 패턴(그림 7C, 검은색 스펙트럼)을 비교할 수 있는 기능은 화합물 식별에 한층 높은 신뢰도를 제공합니다.

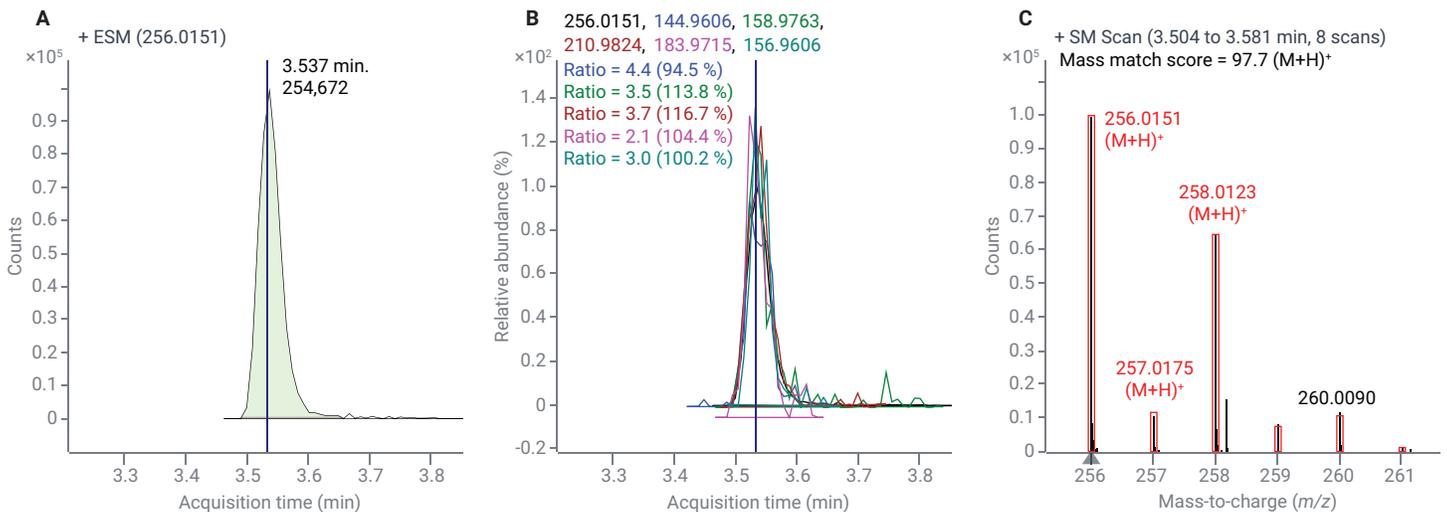


그림 7. 500ppb 첨가한 하수 슬러지 내 Lamotrigine 결과

### 추정 물질 스크리닝

MassHunter Quantitative 소프트웨어에 내장된 LC Screener 도구는 SANTE 가이드라인에 설명된 기준에 따라 추정 확인을 색 코드로 처리합니다<sup>2</sup>. 그림 8에서, 녹색은 2개 이상의 이온(전구 및/또는 조각

이온)이 원하는 질량 정확도로 측정되었고, 예상 RT 범위(알고 있는 경우) 내에서 동시용리 되었음을 나타냅니다. 또한 전구 이온의 동위원소 패턴도 검증하였습니다. 음이온 모드에서 검출될 것으로 예측했던 모든 6종의 표적 화합물을 검증하였으며,

이 또한 그림 8에 나타나 있습니다. 이와 함께 2개의 추가 화합물을 음이온 모드에서 확인하였습니다. 주황색은 검토가 필요한 화합물을 나타내며, 빨간색은 선택된 시료 내에서 검출되지 않은 화합물을 나타냅니다.

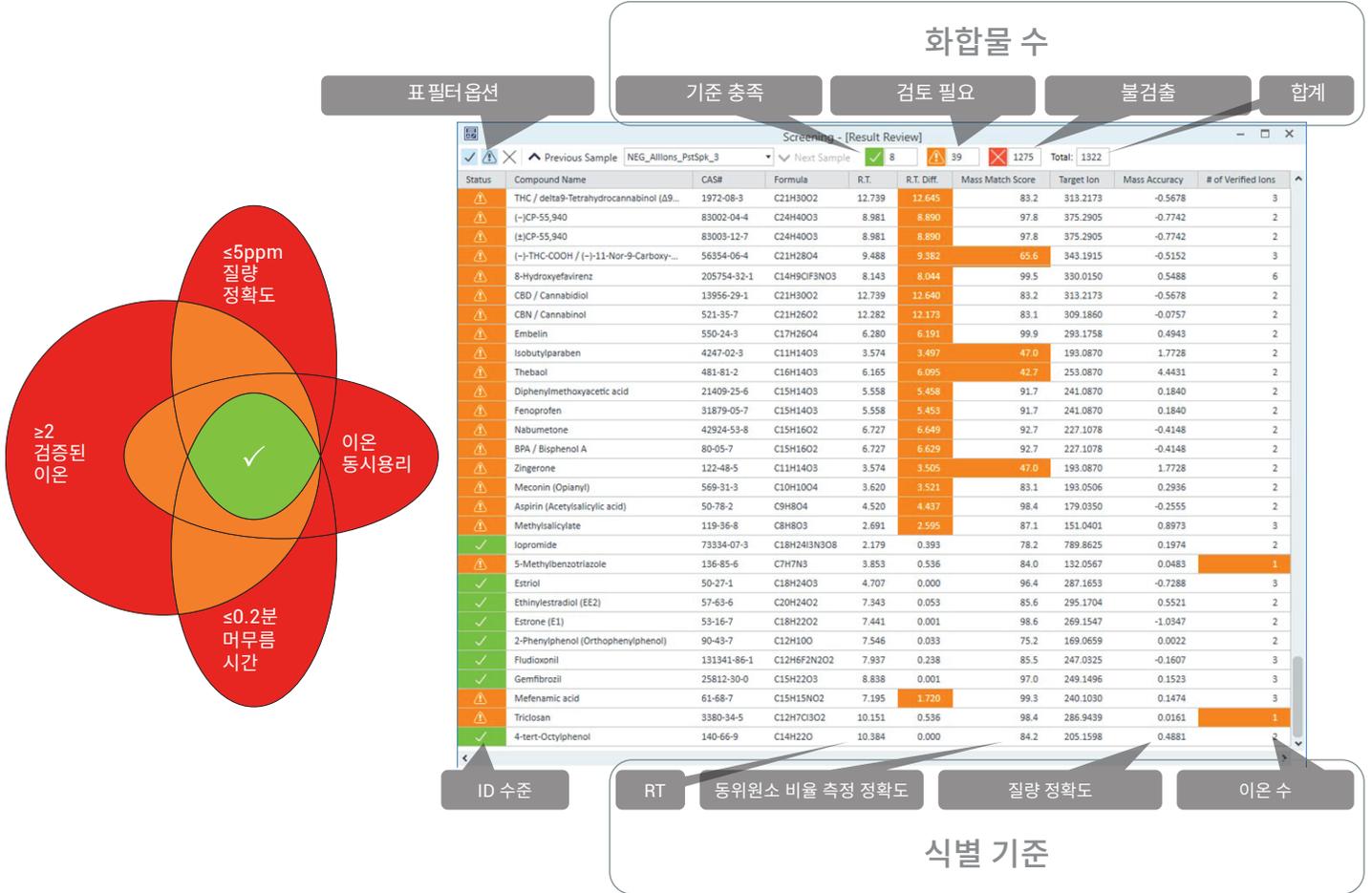


그림 8. 의심 화합물의 추정 식별에 사용된 기준을 나타내는 LC Screener 도구

하수 슬러지 내에서 첨가된 대체 표준물질을 찾아내어 데이터 분석 워크플로를 검증한 후, 첨가한 화합물 및 여타 추정 확인된 음이온화 화합물을 보고하였으며, 그 일부 내용은 그림

9와 같습니다. 음이온화 및 양이온화 화합물 모두에 대한 전체 보고서 내용을 표 4에 요약하였습니다.

표 4. 스파이킹된 하수 슬러지 시료에서의 화합물 요약. 검증되었거나, 검토가 필요하거나, 검출되지 않은 화합물로 분류

이온화 모드	검증됨	검토 필요	불검출
양이온	18	159	3,998
음이온	8	47	1,267

## Screening Summary Report



Sample name:		NEG_AllIons_PstSpk_3		Good	8	Warning	47	Error	1267
Status	Screening Summary Report	Formula	R.T.	R.T. Diff.	Match Score	Target Ion	Mass Accuracy	# of Qualified Ions	Final Conc.
!	Xanthohumol	C21H22O5	9.411	9.310		353.1394	-0.61 PPM	3	
!	Lauryl hydrogen sulfate	C12H26O4S	8.249	8.144		265.1479	0.11 PPM	2	
!	Harmine	C13H12N2O	4.923	4.825		211.0877	-1.28 PPM	3	
!	THC / delta9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC)	C21H30O2	12.739	12.645		313.2173	-0.57 PPM	3	
!	(-)-CP-55,940	C24H40O3	8.981	8.890		375.2905	-0.77 PPM	2	
!	(±)CP-55,940	C24H40O3	8.981	8.890		375.2905	-0.77 PPM	2	
!	(-)-THC-COOH / (-)-11-Nor-9-Carboxy-tetrahydrocannabinol	C21H28O4	9.488	9.382		343.1915	-0.52 PPM	3	
!	4-Methylphenol (p-Cresol)	C7H8O	7.370	7.290		107.0502	7.94 PPM	2	
!	Fenofibric acid	C17H15ClO4	5.606	5.498		317.0586	-1.73 PPM	2	
!	Bisphenol E	C14H14O2	4.634	4.532		213.0921	0.19 PPM	2	
!	BPS / Bisphenol S	C12H10O4S	4.522	4.415		249.0227	0.02 PPM	4	
!	Silibinin	C25H22O10	5.707	5.610		481.1140	-1.58 PPM	3	
!	Losartan	C22H23ClN6O	5.482	5.379		421.1549	-0.12 PPM	2	
!	Veratramine	C27H39NO2	14.185	14.087		408.2908	-0.96 PPM	2	
!	BKF (Cyanox 2246) (2,2'-methylene-bis(6-tert-butyl-4-methylphenol))	C23H32O2	12.898	12.796		339.2330	0.43 PPM	2	
!	Curcumin	C21H20O6	8.113	8.011		367.1187	0.45 PPM	2	
!	Iloprost	C22H32O4	6.119	6.037		359.2228	-0.23 PPM	2	
!	Phenylpyruvic acid	C9H8O3	1.530	1.424		163.0401	1.24 PPM	3	
!	THC-COOH / 11-Nor-9-Carboxy-tetrahydrocannabinol	C21H28O4	9.488	9.382		343.1915	-0.52 PPM	3	
!	8-Hydroxyfavirenz	C14H9ClF3NO3	8.143	8.044		330.0150	0.55 PPM	6	
!	CBD / Cannabidiol	C21H30O2	12.739	12.640		313.2173	-0.57 PPM	2	
!	CBN / Cannabinol	C21H26O2	12.282	12.173		309.1860	-0.08 PPM	2	
!	Embelin	C17H26O4	6.280	6.191		293.1758	0.49 PPM	2	
!	Isobutylparaben	C11H14O3	3.574	3.497		193.0870	1.77 PPM	2	
!	Thebaol	C16H14O3	6.165	6.095		253.0870	4.44 PPM	2	
!	Diphenylmethoxyacetic acid	C15H14O3	5.558	5.458		241.0870	0.18 PPM	2	
!	Fenoprofen	C15H14O3	5.558	5.453		241.0870	0.18 PPM	2	
!	Nabumetone	C15H16O2	6.727	6.649		227.1078	-0.41 PPM	2	
!	BPA / Bisphenol A	C15H16O2	6.727	6.629		227.1078	-0.41 PPM	2	
!	Zingerone	C11H14O3	3.574	3.505		193.0870	1.77 PPM	2	
!	Meconin (Opianyl)	C10H10O4	3.620	3.521		193.0506	0.29 PPM	2	
!	Aspirin (Acetylsalicylic acid)	C9H8O4	4.520	4.437		179.0350	-0.26 PPM	2	
!	Caffeic acid	C9H8O4	4.520	4.425		179.0350	-0.26 PPM	2	
!	Phenacemide	C9H10N2O2	3.982	3.906		177.0670	0.79 PPM	2	
!	2-Phenylphenol	C12H10O	7.546	7.478		169.0659	0.00 PPM	2	
!	Homogentisic acid	C8H8O4	3.471	3.348		167.0350	-0.37 PPM	2	
!	Methylsalicylate	C8H8O3	2.691	2.595		151.0401	0.90 PPM	3	
!	Iopromide	C18H24I3N3O8	2.179	0.393		789.8625	0.20 PPM	2	
!	Primidone	C12H14N2O2	4.406	0.717		217.0983	4.33 PPM	1	
!	5-Methylbenzotriazole	C7H7N3	3.853	0.536		132.0567	0.05 PPM	1	
!	Estriol	C18H24O3	4.707	0.000		287.1653	-0.73 PPM	3	
!	Oxazepam	C15H11ClN2O2	6.267	0.261		285.0436	-1.38 PPM	1	225.9218
!	Isoprotruron	C12H18N2O	6.942	0.186		205.1346	-0.42 PPM	1	
!	Diuron	C9H10Cl2N2O	6.517	0.250		231.0097	1.20 PPM	1	
!	Naproxen	C14H14O3	6.835	0.390		229.0870	0.92 PPM	1	
!	Butyl 4-hydroxybenzoate (Butylparaben)	C11H14O3	6.913	0.463		193.0870	1.19 PPM	1	
!	Ethinylestradiol (EE2)	C20H24O2	7.343	0.053		295.1704	0.55 PPM	2	166.2993
!	Estrone (E1)	C18H22O2	7.441	0.001		269.1547	-1.03 PPM	2	163.2462
!	2-Phenylphenol (Orthophenylphenol)	C12H10O	7.546	0.033		169.0659	0.00 PPM	2	215.1786
!	Fludioxonil	C12H6F2N2O2	7.937	0.238		247.0325	-0.16 PPM	3	
!	Gemfibrozil	C15H22O3	8.838	0.001		249.1496	0.15 PPM	3	382.1097
!	Mefenamic acid	C15H15NO2	7.195	1.720		240.1030	0.15 PPM	3	
!	Triclosan	C12H7Cl3O2	10.151	0.536		286.9439	0.02 PPM	1	
!	Fipronil	C12H4Cl2F6N4OS	9.522	0.102		434.9314	-2.36 PPM	1	
!	4-tert-Octylphenol	C14H22O	10.384	0.000		205.1598	0.49 PPM	2	413.4864

그림 9. 표적 화합물이 첨가된 하수 슬러지에서 음이온화 모드로 검출한 추정 확인 화합물

## 결론

해당 워크플로를 이용하여 하수 시료에 첨가된 표적 화합물들을 정량할 수 있었습니다. 6546 LC/Q-TOF 시스템의 향상된 분리능과 측정 범위(dynamic range)를 활용하여 PCDL의 4,856종 스크리닝 화합물 중 음이온화 모드에서 8종, 양이온화 모드에서 18종 화합물을 높은 신뢰도로 검증하였습니다. 159종의 양이온 화합물과 47종의 음이온 화합물은 RT를 검증해야 하거나, 스펙트럼을 검토해야 했습니다. 검증해야 하는 많은 화합물이 대마초 사용과

관련이 있었으며, 샘플링 지역은 대마초가 합법화된 지역이었습니다. Xanthohumol과 같은 일부 화합물은 양이온화 및 음이온화 모드에서 큐레이션한 스펙트럼을 이용해 양이온화 모드와 음이온화 모드에서 모두 발견되어, 식별 결과에 한층 높아진 확신을 더했습니다. 예상 머무름 시간을 갖는 화합물, 예를 들어 thiabendazole과 같은 화합물도 발견할 수 있었습니다. 사용자는 머무름 시간 예측과 새로운 독성물질을 애질런트의 PCDL에 추가로 큐레이션하면서 의심되는 오염물질을 소급적으로 계속 찾아낼 수 있습니다. 더 많은 RT 값을 예측

또는 추정하는 것은 검토해야 할 화합물의 수를 더욱 줄일 수 있으나, 이 워크플로에서는 SANTE 추정물질 식별 기준을 충족하지 못하는 더 많은 수의 화합물을 배제함으로써 검토의 부담을 줄여줍니다.

환경 독성물질의 목록이 확장되면서, 비표적 분석은 정량 성능에 대한 최소한의 절충만으로 새로운 화합물을 모니터링할 수 있는 기능(심지어 소급적으로)을 통해 기존 LC-TQ 기법 이상의 가치를 제공합니다.

## 참고문헌

1. Black, G. P.; Anumol, T.; Young, T. M.; Analyzing a broader spectrum of endocrine active organic contaminants in sewage sludge with High Resolution LC-QTOF-MS suspect screening and QSAR toxicity prediction (In preparation).
2. European Commission, Directorate General for Health and Food Safety. SANTE/11813/2017. 21–22 November **2017** rev.0
3. Agilent SureMass Technical Overview, *Agilent Technologies Technical Overview*, publication number 5991-8048EN, **2017**.
4. Rennie, E. E.; *et al.* Agilent Technologies, publication number 5991-8580EN, **2017**.
5. Berset, J. D.; Rennie, E. E.; Glauner, T. *Agilent Technologies*, publication number 5991-6627EN, **2016**.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
2019년 3월 26일, 한국에서 인쇄  
5994-0750KO

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

