

Application
News

No.C204K

Liquid Chromatography Mass Spectrometry

**삼중사중극자 LC-MS/MS를 이용한
먹는물과 환경수의 마이크로시스틴 분석**

Analysis of Microcystin in Drinking Water and
Environmental Water Using Triple Quadrupole LC-MS/MS

녹조(Algal bloom)는 특정 식물성 플랑크톤이 연못, 호수, 습지 등에 대량으로 증식하면서 수면에 축적되어 발생하는 현상입니다.

녹조를 형성하는 식물성 플랑크톤의 일부 종은 유독 물질을 생성할 수 있고, 마이크로시스틴(Microcystin)은 식물성 플랑크톤에 의해 생성되는 간독성 중의 하나입니다.

세계보건기구(WHO)의 음용수질 가이드라인(GDWQ)⁽¹⁾에서는 마이크로시스틴의 규제치를 1µg/L 이하로 설정하고 있습니다.

마이크로시스틴은 많은 유연체가 존재하는 것으로 알려져 있고, 일본에서는 마이크로시스틴 LR이 먹는물 기준 검토항목으로 지정되어 있으며 음용수 중에 0.8µg/L 이하로 목표치가 설정되어 있습니다.

시료의 전처리 방법으로는 고체상 추출을 통한 농축, 정제하는 방식이 많이 보고되고 있습니다.

본 리포트에서는 먹는물 시료 중 마이크로시스틴 LR, RR, YR을 복잡한 전처리없이 고감도로 측정할 수 있는 사례를 소개합니다.

M. Kawashima

■ 시료 전처리

마이크로시스틴 LR, RR, YR 표준시료를 [물/메탄올 = 8/2(v/v)]와 혼합하여 10 mg/L 혼합 표준 용액을 조제하였습니다. 검량선을 위한 농도별 표준시료는 초순수를 이용하여 단계별로 희석하여 조제하였습니다.

실제 시료는 생수, 수도물, 연못의 물 등의 세 가지 시료에 마이크로시스틴을 첨가하여 준비하였습니다. "연못의 물"을 채취한 연못은 도시공원 내에 위치한 농업용수용 인공저수지입니다.

고형물을 제거하기 위해 이러한 시료들은 원심분리를 한 후에 일회용 필터로 여과하였습니다. 이들 시료에 WHO 규제치인 1µg/L의 마이크로시스틴을 첨가한 시료를 각각 분석하였습니다.

■ 분석 조건
테이블 1은 분석 조건입니다.

Table 1 Analysis Conditions

[HPLC conditions] (Nexera™ X2)	
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (2.1×100, 3 µm)
Mobile phases	: A) 0.1% formic acid in H ₂ O B) 0.1% formic acid in Acetonitrile
Gradient Program	: B 5% (0-3 min)–B 55% (4 min)–B 95% (6-7 min) – B 5% (7.01-10 min)
Flow rate	: 0.35 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection volume	: 10 µL
Rinse type	: Internal and External
[MS conditions] (LCMS™-8060)	
Ionization	: ESI (Positive mode)
Probe Voltage	: +5.0 kV
Mode	: MRM
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL Temp.	: 150 °C
Heat Block Temp.	: 200 °C
Interface Temp.	: 350 °C
Probe position	: +1.0 mm

[MS/MS parameters]

Compound	MRM transition (m/z)	DL/Qarray Bias (V)	Collision energy(V)
Microcystin YR	1045.20>135.10	20	-70.0
	1045.20>112.05		-67.0
Microcystin LR	498.30>135.10	20	-13.0
	498.30>90.95		-40.0
Microcystin RR	519.80>135.10	20	-33.0
	519.80>103.05		-61.0

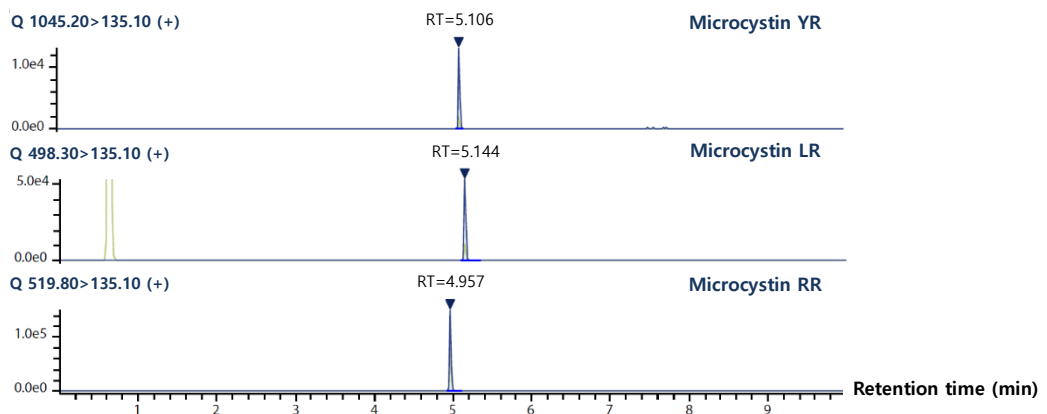


Fig. 1 Chromatogram of 1 µg/L Standard Samples

■ 표준시료 분석결과

0.1~10µg/L 범위에서 작성한 검량선을 그림 2에 나타냈습니다. WHO 가이드라인의 규제값은 1µg/L이지만, 규제값의 1/10인 0.1µg/L를 포함하는 범위에서 양호한 직선성을 나타냈습니다. 재현성을 확인하기 위해 일본 수질기준 목표치의 1/10인 0.08µg/L에서 6회 반복 분석한 결과를 표 2 및 그림 3에 나타냈습니다. 모든 성분에 대하여 면적값 재현성(%RSD)이 10% 이하로 양호한 결과를 얻을 수 있었습니다.

Table 2 Repeatability of 0.08 µg/L Standard Samples in Repeated Analysis (n = 6)

Compound	Area%RSD	Rt%RSD
Microcystin YR	5.98%	0.04%
Microcystin LR	4.31%	0.04%
Microcystin RR	2.29%	0.02%

■ 물 시료 분석결과

생수, 수돗물, 연못의 물 등에 마이크로시스틴을 첨가한 시료를 분석하여 절대검량선법으로 정량한 값으로 회수율을 산출하여 그 결과를 표 3에 나타냈습니다. 모든 시료에서 70~130% 이내의 양호한 회수율을 얻을 수 있었습니다.

■ 결론

- 고체상 추출 전처리 없이 원심 분리와 필터 여과만의 단순한 전처리법을 이용하여 분석 방법을 검토했습니다.
- 이 방법은 생수, 수돗물, 연못 물에서 양호한 회수율을 나타냈습니다.
- 복잡하고 시간이 소요되는 전처리를 단순화하여 마이크로시스틴을 빠르고 정확하게 측정할 수 있었습니다.

Table 3 Recovery and Area %RSD for Water Samples

	Compound	Mineral Water	Tap Water	Pond Water
Recovery	Microcystin YR	92.4%	78.7%	106.8%
	Microcystin LR	86.8%	83.5%	90.5%
	Microcystin RR	102.5%	94.9%	97.9%
Area%RSD	Microcystin YR	1.2%	2.3%	4.6%
	Microcystin LR	1.2%	1.9%	2.7%
	Microcystin RR	1.2%	2.3%	4.6%

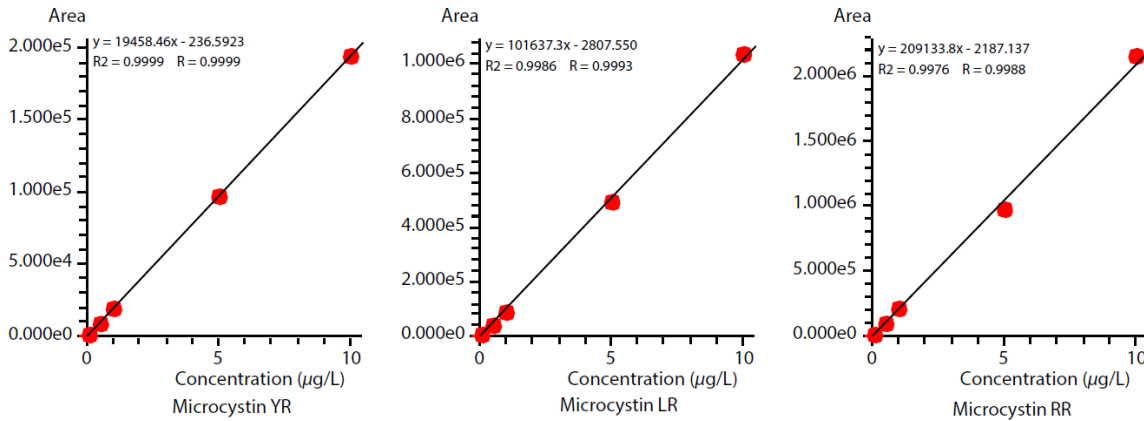


Fig. 2 Calibration Curves of Microcystin

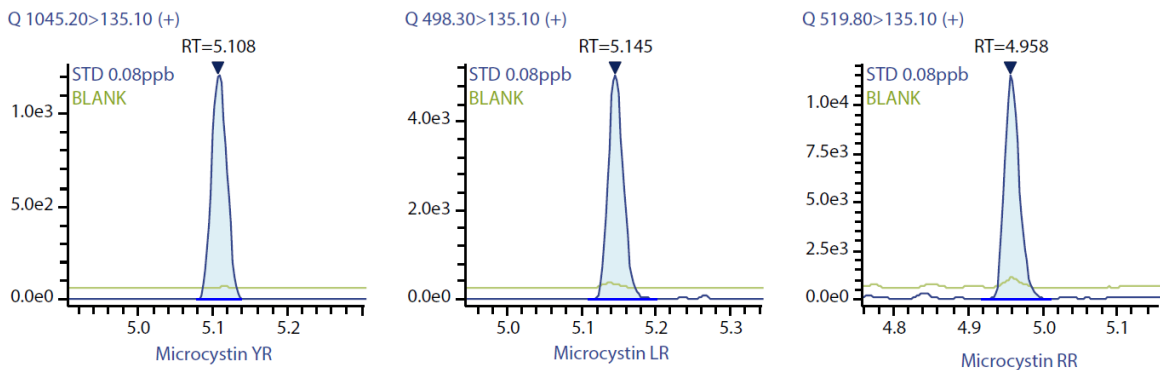


Fig. 3 Chromatograms of 0.08µg/L Standard Samples

<Reference>

- (1) WHO (2003) Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/57).
 Nexera, Shim-pack Scepter, and LCMS are trademarks of Shimadzu Corporation in Japan and/or other countries.