

호소 내 조류독소 및 미량 유해물질 평가

이효동 · 박자영 · 장태권 · 최찬규 · 손예슬 · 문효빈 · 최현경 · 전찬준

수계조사과

A Evaluation of cyanotoxins and trace hazardous compounds in lake

H. D. Lee, J. Y. Park, T. K. Jang, C. K. Choi, Y. S. Son, H. B. Moon, H. K. Choi, C. J. Jeon

Environment Research Division

Abstract

This study addresses the issue of cyano blooms and the resulting cyanotoxins that may occur in freshwater. The research developed an analytical method for cyanotoxins and examined the concentration of these toxins in Yeongcheon Dam, An Gye Dam, and Jinjeonji. The aim was to assess the concentrations in drinking water sources and provide foundational data for ensuring safe water sources. The analysis was conducted using LC-TOF/MS, and the validity of the analysis was reviewed. As a result, no cyanotoxins were detected. In addition to the six types of microcystins, the study established a method for analyzing new cyanotoxins, enabling further monitoring and analysis. This research is expected to be used as fundamental data to enhance the safety of drinking water sources.

Key Words : Microcystins, Cyanotoxin, LC/MS, TOF

I. 연구사업

1. 서론

담수의 부영양화에 따른 남조류의 대발생은 전 세계적으로 널리 보고되고 있으며, 남조류에 의해 생성되는 독성물질은 인간에게 심각한 위협이 되고 있다.¹⁾ 환경부는 1998년부터 조류경보제를 시행하였다. 2013년 남세균(Cyano bacteria)이 생성하는 간 독소물질인 마이크로시스틴(Microcystin, MC)-LR을 먹는물 감시항목으로 지정하였다. MC는 자연에 약 270여종이 존재 가능한 것으로 보고되어 있으며, LC-MS/MS를 이용한 MC-LR 분석법을 공인시험기준으로 제정하였다. 그리고 2023년부터 MC-LR뿐 아니라 -RR, YR, LA, LY, LF 등 총 6종의 합으로 감시항목을 확대하여 1 µg/L 이하로 기준이 개정되었다.²⁾ 하지만 조류독소(cyanotoxin)로 알려진 독성물질들은 마이크로시스틴 외에도 노듈라린(nodularin, NOD), 실린드로스퍼몹신(cylindropermopsin), 아나톡신(anatoxin-a) 및 삭시톡신(saxitoxin) 등이 널리 알려져있다. 이처럼 마이크로시스틴 이외에도 다양한 조류독소 물질들에 대한 추가적인 감시가 필요한 실정이다. 우리나라는 연 강수량의 약 60%가 여름 장마철에 집중되고 있고, 하상계수는 대체로 1:300 이상으로 알려져있다. 하천의 수자원 보유율이 낮기 때문에 하천에 대형 댐을 건설하여 수자원을 확보하고 있다.³⁾ 대부분의 댐들은 장기적인 저수, 오염물질의 유입에 따른 부영양화가 심화되고 있으며, 이에따른 남조류 대발생은 댐물을 식수원으로 사용하고 있는 우리의 현실에 심각한 위협을 주고 있다.⁴⁾

따라서 본 연구에서는 조류독소 동시분석법 확립과 상수원으로 지정되어있는 영천댐, 안계댐 및 진전지의 조류독소 농도를 확인하였다. 특히 여름에 대량번식하는 남조류에 의한 조류독소 분포를 살펴보았다. 본 연구를 통하여, 조류독소로부터 안전한 상수원 확보를 위한 기초자료를 구축하고자 한다.

2. 연구방법

2.1. 연구대상 및 수질조사

연구대상 지점은 경북내 상수원수 지점인 안계댐, 영천댐, 진전지 상, 및 진전지 하 총 4곳을 선정하였다(Fig.1).

연구기간은 2024년 6월부터 9월까지 월 1회 이상 시료를 채취하였다.

2.2. 측정항목 및 시험방법

측정항목으로는 남조류독소인 Microcystin 8종(-LR, -RR, -YR, -LA, -LF, -LY, -LW, -WR), nodularin 및 cylindrospermopsin으로 총 10종을 액체크로마토그래프-텐덤질량분석



Fig. 1. Location of study area

법으로 분석하였다. 본 연구에서는 조체와 용존 농도를 구분하지 않고 분석하였으며, 초음파 분쇄기를 이용하여 현미경으로 확인하며 파쇄시간을 조절하여 조체가 모두 파괴될 때까지 파쇄하였다.

2.3. 표준물질 및 시약

실험에 사용한 표준물질은 10개 물질 모두 ENZO Life Sciences에서 구입하였으며, LC-QTOF/MS 분석에 사용한 증류수는 Fisher사, methanol은 Merck사의 제품으로 HPLC grade였으며, 용리액으로 사용한 0.1% Formic Acid in Acetonitrile, 0.1% Formic Acid in Water는 Fisher사 제품이며 LC/MS grade를 사용하였다.

2.4. 검정곡선

정량하기 위한 검정곡선은 MC 8종(MC-LR, YR, RR, LF, LA, LY, LW, WR)과 nodularin 및 cylindrospermopsin을 혼합하여 각각의 농도가 0.05~1.0 $\mu\text{g/L}$ 범위의 농도가 되도록 만들어 검정곡선을 시험하였다.

2.5. 기기분석

분석기기로는 LC-QTOF/MS on-line SPE (Sciex, USA)를 사용하였으며 분석 컬럼은 Luna Ω Omega 3 μm Polar C18 (2.1 mm \times 100 mm)을 사용하였다.

이 외의 기기분석 조건은 Table. 1~2에 기재하였다.

Table. 1. LC, QTOF/MS condition for the cyanotoxin analysis

| Parameters | Conditions | | |
|--------------------|---|-------|-------|
| pre-processing | 0.45 μm Filtration & Online SPE | | |
| Analysis Equipment | HPLC (SHIMADZU Nexera) + QTOF (SCIEX X500R) | | |
| Flow rate | 0.3 ml/min | | |
| Injection volume | 1000 μl | | |
| Column temp. | 40 $^{\circ}\text{C}$ | | |
| Mobile phase | A : 0.1% Formic acid in H ₂ O B : 0.1% Formic acid in ACN | | |
| Source Temp. | 500 $^{\circ}\text{C}$ | | |
| Spray Voltage | 5500 V | | |
| Gradient | Time (min) | A (%) | B (%) |
| | 0.0 | 80 | 20 |
| | 5.0 | 65 | 35 |
| | 10.00 | 5 | 95 |
| | 10.10 | 80 | 20 |
| | 15.00 | 80 | 20 |

I. 연구사업

Table. 2. MS Parameter

| Compounds | RT | Q1 mass | Q3 mass | 비고 |
|---------------------|------|----------|----------|----|
| MC-LR1 | 7.16 | 498.2783 | 135.0802 | 정량 |
| MC-LR2 | 7.16 | 498.2783 | 103.054 | 정성 |
| MC-RR1 | 5.56 | 519.7875 | 135.0809 | 정량 |
| MC-RR2 | 5.53 | 519.7875 | 103.0543 | 정성 |
| MC-YR1 | 6.97 | 523.2663 | 135.0802 | 정량 |
| MC-YR2 | 6.97 | 523.2663 | 103.0541 | 정성 |
| MC-LA1 | 8.27 | 910.4885 | 135.0811 | 정량 |
| MC-LA2 | 8.27 | 910.4885 | 103.0543 | 정성 |
| MC-LF1 | 8.93 | 986.5172 | 103.0542 | 정량 |
| MC-LF2 | 8.93 | 986.5172 | 135.0804 | 정성 |
| MC-LY1 | 8.34 | 1002.515 | 135.0809 | 정량 |
| MC-LY2 | 8.34 | 1002.515 | 103.0543 | 정성 |
| MC-LW1 | 8.80 | 1025.534 | 517.2893 | 정량 |
| MC-LW2 | 8.77 | 1025.534 | 891.486 | 정성 |
| MC-WR1 | 7.36 | 1068.553 | 135.0809 | 정량 |
| MC-WR2 | 7.36 | 1068.553 | 159.0922 | 정성 |
| Nodularin 1 | 6.6 | 825.573 | 135.0803 | 정량 |
| Nodularin 2 | 6.6 | 825.573 | 103.0539 | 정성 |
| Cylindrospermopsin1 | 1.99 | 416.0936 | 194.1293 | 정량 |
| Cylindrospermopsin2 | 1.99 | 416.0936 | 336.1681 | 정성 |

※ RT : retention time (min), Q1 Mass : Precursor Ion (m/z), Q3 Mass : Product Ion (m/z),
DP : Declustering potential, CE : Collision energy (eV),

3. 연구결과 및 고찰

3.1. 분석방법 확립

본 연구에서는 이동상으로 Table.1과 같이 0.1% formic acid in water와 0.1% formic acid in acetonitrile을 사용하여 gradient 조건에서 운영하였다. 설정한 조건에서 Retention Time은 Table.2 와 같다.

3.2. 분석방법의 유효성

분석방법의 성능을 평가하기 위해 먹는물 및 수질오염공정시험기준의 공통정인 정도보증/정도관리 항목을 중심으로 외부표준법 적용 조건에서 직선성(Linearity)을 평가하고, 방법검출한계(method detection limit, MDL), 방법정량한계(limit of quantitation, LOQ), 정확도(Accuracy)

및 정밀도(precision)를 산출하였다. 마이크로시스틴 8종, nodularin 및 cylindrospermopsin의 농도를 0.05~1.0 $\mu\text{g/L}$ 범위의 농도가 되도록 표준물질을 첨가한 시료를 분석하여 검정곡선을 작성하였다. 그 결과, Fig. 2와 같이 검량선을 작성할 수 있었다.

공정시험기준에 따라 검정곡선의 최소농도인 0.05 $\mu\text{g/L}$ 시료를 7개 분석하여 얻은 결과들의 표준편차에 3.14(7회 반복분석에 대한 99% 신뢰구간에서의 t값)를 곱한값을 방법검출한계(MDL), 10을 곱한값을 정량한계(LOQ)로 계산한다. 정확도 및 정밀도는 0.2 $\mu\text{g/L}$ 로 조제한 시료 4개를 측정하여 산출한다. 직선성, 방법검출한계, 정량한계, 정확도 및 정밀도 결과는 Table. 3와 같다. 위와 같이 유효성을 확인해 본 결과 10개 물질 모두 정량이 가능한 수준을 보여 주었다.

Table 3. Linearity, MDL, LOQ, Accuracy and Precision of Cyanotoxins

| Compunds | r^2 | MDL ($\mu\text{g/L}$) | LOQ ($\mu\text{g/L}$) | Accuracy (%) | Precision (%) |
|---------------------|---------|----------------------------|----------------------------|--------------|---------------|
| MC-LR1 | 0.97120 | 0.006129 | 0.019518 | 99.25 | 3.80 |
| MC-RR1 | 0.99631 | 0.013037 | 0.041519 | 96.38 | 7.35 |
| MC-YR1 | 0.98166 | 0.014373 | 0.045774 | 97.75 | 10.04 |
| MC-LA1 | 0.98633 | 0.011568 | 0.036839 | 96.25 | 4.19 |
| MC-LF1 | 0.99579 | 0.005733 | 0.018257 | 99.75 | 7.79 |
| MC-LY1 | 0.98755 | 0.003357 | 0.01069 | 85.63 | 10.33 |
| MC-LW1 | 0.99769 | 0.99769 | 0.009593 | 77.74 | 56.95 |
| MC-WR1 | 0.98613 | 0.98613 | 0.001678 | 97.13 | 6.78 |
| Nodularin 1 | 0.99045 | 0.99045 | 0.012746 | 101.38 | 2.97 |
| Cylindrospermopsin1 | 0.97681 | 0.97681 | 0.00896 | 98.63 | 2.76 |

I. 연구사업

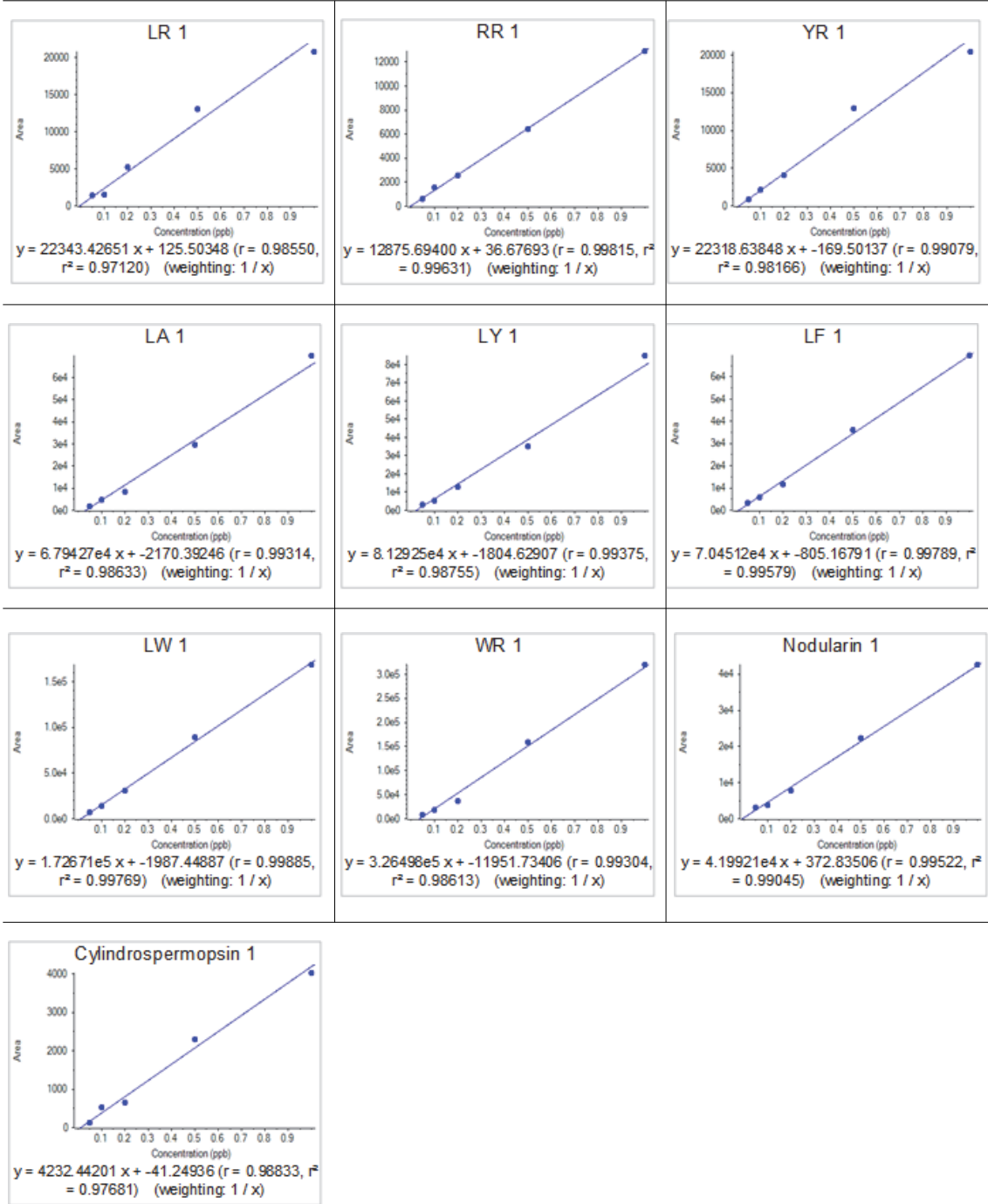


Fig. 2. External calibration curve with concentration ranges in 0.05~1.0 µg/L.

Table 4. Analysis results of Cyanotoxins in the lake

| | | 6/10 | 6/24 | 7/1 | 7/15 | 8/5 | 8/19 | 9/2 | 9/23 |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| MC -LR | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -RR | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -YR | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -LA | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -LF | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -LY | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -LW | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| MC -WR | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| NOD | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 진전지상 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| CYL | 진전지하 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 영천댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |
| | 안계댐 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. |

I. 연구사업

3.3. 상수원수 시료의 조류독소 분석

2024년 6월부터 9월 사이에 월 1회 이상 채수한 4지점의 상수원수에 대해 본연구에서 확립한 분석방법을 적용한 결과, 모든 시료에서 마이크로시스틴을 포함한 조류독소가 검출되지 않았다 (Table. 4.). 하지만 기상이변으로 인하여 언제든지 남조류대발생과 고농도의 독성발생의 가능성이 존재하므로 수심별 조류독소의 거동과 상수원수에 대한 지속적인 모니터링과 관리가 필요하다⁶⁾.

4. 결론

현재 조류독소 중 마이크로시스틴 6종에 대한 분석 방법은 LC-MS/MS를 이용한 성분별 정량 분석법이 표준절차로서 널리 사용되고 있다.2) 하지만 그 외의 조류독소들은 WHO 가이드라인 등에서는 언급되고 있으나, 국내에선 감시항목 지정이 안되어 있는 상태이다. 기후변화 및 물관리 환경 등 남조류 대발생 등 신종 조류독소에 대한 우려가 제기됨에 따라 본 연구에서는 추가적으로 마이크로시스틴 2종, Nodularin 및 cylindrospermopsin의 분석방법을 확립하고 시료에 적용한 결과를 다음과 같이 요약하였다.

1. 기존 마이크로시스틴 6종에 추가 조류독소 물질들의 동시분석법의 최적화를 통해 각 독소들의 검출 및 운영조건을 확인하였다.

2. 분석방법의 성능은 직선성, 정밀도, 정확도 및 현재 마이크로시스틴 6종의 목표정량한계인 0.05 µg/L를 만족하였으며, 신종 조류독소물질

에 대한 감시항목 추가에 대비하였다.

3. 2024년 채수한 상수원수 시료에서는 조류독소 10종이 검출되지 않았으며, 중장기적인 기후변화 여건과 국외에서 운영중인 기준들에 대비하여 분석조건을 확립하였다.

4. 본 연구를 통해 상수원수의 선제적인 안전관리를 위한 기초자료가 되어 추가적인 연구수행의 기반을 마련하는 것에 기여될 것으로 기대된다.

참고 문헌

1. 이경락. "상수원지에서 microcystin 생성특성 및 위해성 평가", 경북대학교 대학원 박사학위논문, (2009)
2. 최재원. "LC-MS/MS를 활용한 총 마이크로시스틴 분석 방법: MMPB (2-methyl-3-methoxy-4-phenylbutyric acid) 수질분석을 위한 전처리 과정 평가." 환경분석과 독성보건 27-2, 90-95. (2024)
3. 국립환경과학원, 주요 호소의 조류발생 현황. 국립환경과학원 환경부. (2005)
4. 국립환경과학원, 2005년도 조류예보제 시행 결과 보고서. 국립환경과학원 환경부. (2006)
5. 국립환경과학원, "수질오염공정시험기준(ES 04001.b)", 국립환경과학원고시 제2024-72호(2024)

6. 최영아, 한난숙, 임은경, 김영민, 전창재, 이병호, "회야호의 남조류 발생 특성과 남조류 독소의 농도분포특성", *대한환경공학회*, **35(12)**, 2013
7. 최재원, 장제현, 이선홍, 윤미애. "액체크로마토그래피-텐덤질량분석법에 의한 하천수 및 정수 중 남세균기원 독소 실린드로스퍼몌신 (Cylindrospermopsin)의 정량분석." *환경분석과 독성보건* 25-2 : 71-76. (2022)
8. 서지은, 수상레저 호소 내 마이크로시스틴 모니터링, 경상북도 보건환경연구원보, (2022)
9. 엄혜경, 통합수질평가를 통한 남조류 발생 특성 연구, 경상북도 보건환경연구원보, (2023)
10. 신유나, 하천·호소유형에 따른 조류발생 특성연구(1) -금강수계를 중심으로-, 국립환경과학원 (2018)

