

USDA 농약 데이터 프로그램(PDP) 요건을 충족시키는 GC/MS/MS 잔류농약 분석

응용 자료

식품 안전

저자

Katerina Mastovska
Excellcon International LLC
Plymouth Meeting, PA
USA

개요

과일 및 채소의 GC/MS/MS 잔류농약 분석법을 개발, 최적화하고 PDP 실험실의 일상적 사용에 성공적으로 도입했습니다. 이 분석법은 PTV 용매 배기 모드의 멀티 모드 주입구와 동시 백플러싱을 사용하여 GC 컬럼에서 휘발성이 적은 매트릭스 성분들을 시간 효율적으로 제거한 결과, 주기 시간을 단축하고 MS 이온화원의 오염을 예방했습니다. 적절한 분석물 보호제와 내부 표준물질을 GC/MS/MS 분석 전에 시료 추출물과 검량 표준물질에 추가하여 견고성과 정밀도를 상당히 개선했습니다. 20분간 70가지 이상의 농약을- 분석하였고 PDP 시료 검사 시퀀스에서 PDP 품질 관리 요건을 충족하는 우수한 분석 성능을 얻었습니다.

소개

농약 데이터 프로그램(PDP)은 미국 농무부(USDA) 농업 마케팅 서비스국에서 1991년부터 관리하는 전국 잔류농약 데이터베이스 프로그램입니다. 이 프로그램은 1996년 식품 품질 보호법에 따라 주로 유아와 아동이 소비하는 식품을 중심으로 미국 식량 공급에서 농산물의 잔류농약 데이터를 수집하고 보고합니다. 검사 농산물 목록은 각 검사 기간에 따라 작성되어 참여 연방/주 정부 실험실에 배포되었습니다. PDP는 우선순위 농약을 지정하면서도 실험실에서 검사한 추가 농약 데이터도 수집합니다. PDP 검증 및 품질 관리(QC) 요건을 충족하기만 하면 PDP 시료 분석에 어떤 분석법이든 자유롭게 사용할 수 있습니다[1].



Agilent Technologies

GC에 적합한 농약을 분석할 경우, 대부분 PDP 및 기타 오늘날 잔류농약 검사 실험실에서는 GC의 원소 선택적 검출기(예: ECD, ELCD, FPD 또는 NPD)를 GC/MS 기기로 대체했습니다. GC/MS는 여러 가지 장점이 있습니다. 예를 들어, 원소 구성과 관계없이 다양한 GC-에 적합한 분석물질을 분석하고, 동시 정량과 구조 기반 식별이 가능하며, GC에서 동시 분리되는 화합물들을 스펙트럼 분리능을 활용해 더욱 빠르게 GC 분리를 실행할 수 있습니다.

선택성 측면에서 탠덤 사중극자 질량 분석기(MS/MS)는 동시 용리되는 매트릭스 간섭에서 분석물질 신호를 분리하는 데 매우 유용하지만[2] 여전히 분석에 해가 되는 다른 매트릭스 관련 문제가 존재할 수 있습니다. 가령 휘발성이 적은 매트릭스 성분들로 인해 컬럼이 오염될 가능성이 있습니다. 이는 분석물질 신호의 점진적 감소, 피크 넓어짐 현상, 머무름 시간 이동을 초래해 분석법의 엄격성에 큰 영향을 미칠 수 있습니다[3]. 이러한 문제는 컬럼 백플러싱으로 방지할 수 있습니다. 컬럼 백플러싱은 컬럼 흐름을 뒤바꾸어 GC 컬럼에서 휘발성이 적은 매트릭스 성분들을 제거합니다[4, 5]. 이 응용 자료는 캘리포니아주 식품 농업부(CDFA)에서 PDP 시료의 일상적 분석에 성공적으로 도입된 기타 절차 및 백플러싱을 사용한 GC/MS/MS 분석법에 대한 정보를 제공합니다.

실험

시료 전처리

과일 및 채소 시료 추출물 전처리는 QuEChERS 분석법에 기초하였고[6], 아세트오닐리트 추출물 1mL는 시료 1g과 같습니다. GC/MS/MS 분석에 들어가기 전에 내부 표준물질과 분석물질 보호제를 추출물에 추가했습니다. 바탕 매트릭스 추출물이 매트릭스와 일치하는 검량 표준물질 준비와 정량에 사용되었습니다.

GC/MS/MS 조건

GC/MS/MS 분석은 Agilent 7890A GC와 Agilent 7000B Triple Quadrupole GC/MS 시스템에 전자 이온화원(EI)을 사용하여 수행했습니다. GC 시스템은 전자적 기체역학 제어(Electronic Pneumatics Control, EPC), 공냉 기능이 있는 다중 모드 주입구(MMI), Agilent 7693A Automatic Liquid Sampler(ALS) 및 Pneumatics Control Module(PCM) 또는 AUX EPC 모듈로 제어되는 Purged Ultimate Union에 기초한 백플러싱 시스템이 갖추어져 있습니다[7]. MassHunter 소프트웨어는 기기 제어, 정성 및 정량 데이터 분석에 사용되었습니다.

GC 및 MS 조건 요약은 다음과 같습니다.

GC 오븐 조건

오븐 온도 프로그램	1.5분간 60°C 유지, 50°C/min로 160 °C까지 승온, 8°C/min로 240°C까지 승온, 50°C/min로 280 °C까지 승온(2.5분 유지), 100°C/min로 290 °C까지 승온(3.1분 유지)
분석 시간	20분

GC 주입 조건

주입구 유형	다중 모드 주입구(MMI)
라이너	2mm id 딥لم 라이너(p/n 5190-2296)
모드	PTV 용매 배기
주입 부피	2µL(시린지 크기: 5µL)
주입구 온도 프로그램	0.35분간 60°C 유지, 900°C/min로 280°C까지 승온(15분 유지), 900°C/min로 300°C까지 승온(분석 종료까지)
분할 배출구 퍼지 유량	1.5분에서 50mL/min
배기 유량	25mL/min
배기 압력	0.3분까지 5psi
가스 절약	5분에서 20mL/min
샘플 퍼지 유량	3mL/min
공기 냉각	100°C에서 활성화

GC 컬럼 유량 조건

운반 가스	헬륨
컬럼 1	HP-5MS UI, 5m × 250µm, 0.25µm(15m 또는 30m 컬럼에서 절단, 각각 p/n 19091S-431 UI 또는 19091S-433 UI)(MMI에서 AUX EPC 또는 PCM으로 구성)
컬럼 2	HP-5MS UI, 15m × 250µm, 0.25µm(p/n 19091S-431 UI)(AUX EPC 또는 PCM에서 진공으로 구성)
컬럼 1 유량 프로그램	16.024분간 1.1mL/min 유지, 100mL/min 속도로 -2.5mL/min까지 역류(2.1분 유지), 100 mL/min 속도로 -5mL/min까지 높임(분석 종료까지)
컬럼 2 유량 프로그램	18.16분간 1.2mL/min 유지, 100mL/min 속도로 2.4mL/min까지 높임(분석 종료까지)

MS 조건

MS 이온화원	EI -70 eV
이온화원 온도	280°C
사중극자 온도	150°C
이송 라인 온도	280°C
용매 지연	4.4분
헬륨 quench 가스	2.25mL/min
N ₂ 총돌 가스	1.5mL/min
게인 설정	10
수집 모드	다중 반응 모니터링(MRM)
MS1/MS2 분리능	넓음
데이터 획득 시간	10ms

시료 주입 시퀀스

CDFA에서 PDP 시료의 일반적 시료 추출과 분석 배치에는 매트릭스 유형, 매트릭스 바탕시료, 매트릭스 첨가물질, 바탕 시약이 동일한 31개 시료가 포함됩니다. 매트릭스와 일치하는 표준물질은 매트릭스 바탕 추출물에 검출 한계(LOD), 정량 한계(LOQ), 그리고 일반적으로 각 분석물질별 LOQ의 10배까지 추가로 농도별로 준비되었습니다.

성능 검사 시퀀스

PDP QC 요건 중 하나인 검량 무결성을 검사하기 위해 시료 주입 시퀀스는 여러 번의 QC 검사를 포함하고 PDP 시료 분석에 일반적으로 사용하는 시퀀스를 모방했습니다. 시퀀스 내 56회 주입은 세 세트의 아세토니트릴 바탕시료, 매트릭스 바탕시료, LOD, 1 × LOQ, 2 × LOQ, 4 × LOQ, 6 × LOQ 및 10 × LOQ 농도의 매트릭스에 일치하는 표준물질을 포함하며, 시퀀스 처음, 중간(16개 시료 이후), 끝(또다른 동일한 세트의 16개 시료 이후)에 주입됩니다. 16개 시료로 구성된 2개의 동일한 세트는 같은 식품의 미지 시료 8개와 QC 시료 8개(2 × 및 6 × LOQ 농도에서 추출 이후 첨가)를 번갈아 주입했습니다.

결과 및 토의

GC/MS/MS 분석법 최적화

표 1은 각 분석물질에 대해 2-3 MRM 전이를 얻는 데 최적화된 MS/MS 조건을 나타냅니다. 최적화에는 전체 스캔 및 생성 이온 스캔 MS 모드를 사용하여 적절한 전구 및 생성 이온을 각각 알아냈습니다. 그런 다음, 각 MRM에 대해 최적의 충돌 에너지를 알아냈습니다. 이 지루하고 시간이 오래 걸리는 최적화 프로세스는 농약 및 환경 오염물질 MRM 데이터베이스(G9250AA)로 단축할 수 있습니다. 이 데이터베이스에는 1,070개 이상의 성분에 대한 MS/MS 조건(분석물질당 평균 8개 MRM)과 머무름 시간 정보(서로 다른 조건에서 획득)가 담겨 있습니다[8].

MMI는 GC에 시료를 주입할 때 사용합니다. 이 주입구는 hot, cold, 분할, 비분할(압력 펄스 포함/미포함), PTV 용매 배기 등 여러 가지 다양한 모드에서 사용할 수 있습니다. PTV 용매 배기 모드를 사용하면 분석물질이 컬럼으로 이동되기 전에 주입구에서 용매를 제거할 수 있어, 대량 시료 주입으로 감도를 높일 수 있습니다. 최적화된 분석법에서는 PTV 용매 배기 모드를 사용하여 아세토니트릴의 QuEChERS 추출물 2μL를 주입했습니다. 이 용매의 대부분을 제거하여 빠르게 용리되는 분석물질에 대해서도 최적의 피크 모양을 얻었습니다. 아세토니트릴의 양이 과도하게 GC 컬럼으로 이동하면 focusing에 부정적인 영향을 미칠 수 있기 때문입니다[9].

컬럼 백플러싱 및 분석물질 보호제 사용

컬럼 백플러싱을 사용하지 않으면 분석물질 용리 후 휘발성이 적고 늦게 용리되는 매트릭스 성분들을 고온에서 베이킹 아웃(Bake-out)해야 합니다. 이 일반적인 GC 분석법은 분석 시간이 길어지고 컬럼 수명이 단축되며 MS 이온화원이 오염될 가능성이 있습니다. 컬럼 백플러싱은 Purged Ultimate Union 등을 사용해 압력 접점에서 컬럼 흐름을 뒤바꾸어 GC 컬럼에서 휘발성이 낮은 성분들을 제거하는 기술입니다[4, 5]. 늦게 용리되는 성분이 이동하거나 컬럼으로 너무 많이 내려가기 전에 컬럼 흐름을 뒤바꾸면 짧은 시간(거리)에 낮은 오븐 온도에서 주입구의 분할 배출구를 통해 해당 성분을 제거할 수 있습니다.

컬럼 흐름은 분석 실행 후 또는 도중에 뒤바꿀 수 있습니다 [7, 9]. 분석 중에 컬럼 흐름을 뒤바꾸는 것을 동시 백플러싱이라고 하며, 마지막 분석물질이 첫 번째 컬럼에서 Purged Ultimate Union으로 연결된 두 번째 컬럼으로 안전하게 이동하는 즉시 시작됩니다[9]. 이 분석법에서는 동시 백플러싱을 사용합니다. 분석 후 백플러싱과 달리, 동시 백플러싱은 최적화가 더 어렵지만 휘발성이 낮은 성분을 보다 빠르고 적은 비용으로 제거하고 MS 이온화원과 두 번째 컬럼을 오염으로부터 보호할 수 있습니다. 따라서 MS 이온화원의 유지보수 필요성이 크게 줄어들고, 과일과 채소 추출물을 일상적으로 분석하는 기기라면 예방 점검(약 6개월 간격) 시에만 세척하면 됩니다.

백플러싱은 컬럼을 통해 이동 가능한 매트릭스 성분들만 제거할 수 있습니다. 컬럼에서 비휘발성 매트릭스 성분들이 침전되지 않도록 하는 것이 중요합니다. 주입을 최적화하고 비휘발성 매트릭스 침전물로부터 컬럼을 보호할 수 있는 적절한 라이너(예: 덤플 라이너)를 사용하면 됩니다[9].

GC 시스템의 활동도 측면에서, 시료 추출물과 검량 표준물질에 분석물질 보호제를 첨가하면 주입할 때마다 라이너와 컬럼을 비활성화하는 데 도움이 됩니다. 분석물질 보호제는 주입구와 컬럼에서 활성 지점(유리 실라놀기와 비휘발성 매트릭스 침전물로 형성된 활성 지점)과 강하게 반응하는 성분으로, 흡착/분해에 민감한 분석물질을 활성 지점으로부터 보호합니다[10]. 휘발성 범위를 포함하고, 매트릭스 효과를 낮추고, 분석법의 엄격성을 개선할 수 있도록 분석물질 세트에 알맞은 분석물질 보호제 조합을 선택해야 합니다[11]. 이 분석법에 포함된 분석물질의 경우(표 1 참조), 효율적인 분석물질 분석 범위와 보호를 위해 L-글루콘산 g-락톤과 D-소르비톨을 사용했습니다. 이 분석물질 보호제는 저렴하고 독성이 없으면서도 안전하게 GC/MS 시스템에서 일상적으로 사용할 수 있습니다.

표 1. 분석물질 목록(각 이성질체 기재), 각 머무름 시간(RT), MRM 전이, 전구이온 > 생성이온(충돌 에너지, V), 정량 및 정성 분석에 사용

RT(min)	분석물질	Quant	Qual 1	Qual 2
4.71	Dichlobenil	170.9 > 136.0 (15)	170.9 > 100.0 (25)	
5.22	Propham	179.1 > 137.1 (5)	179.1 > 93.1 (20)	
5.42	Tetrahydrophthalimide (THPI)	151.1 > 80.1 (5)	151.1 > 106.0 (5)	
5.60	1-Naphthol	144.1 > 116.0 (10)	144.1 > 115.1 (20)	
5.68	<i>o</i> -Phenylphenol	170.1 > 141.1 (25)	170.1 > 115.1 (40)	
5.77	Pentachlorobenzene (PCB)	249.8 > 179.9 (40)	249.8 > 141.9 (50)	
6.34	Demeton-O	171.0 > 115.0 (10)	171.0 > 97.0 (25)	
6.44	Chlorethoxyfos	299.0 > 97.0 (20)	301.0 > 125.0 (7)	
6.45	Diphenylamine	169.1 > 167.1 (30)	169.1 > 77.1 (35)	
6.63	Chlorpropham	212.9 > 171.1 (5)	212.9 > 127.1 (15)	
6.70	Ethalfuralin	276.0 > 202.2 (20)	276.0 > 105.2 (40)	
6.83	Trifluralin	306.1 > 264.1 (15)	306.1 > 206.1 (15)	
7.04	Phorate	260.0 > 75.0 (5)	260.0 > 231.0 (1)	
7.14	BHC, <i>alpha</i> -	218.8 > 183.0 (5)	218.8 > 145.0 (20)	
7.28	Hexachlorobenzene (HCB)	283.8 > 248.8 (25)	283.8 > 213.9 (40)	
7.31	Demeton-S	169.9 > 126.0 (1)	169.9 > 93.0 (5)	169.9 > 142.0 (1)
7.33	Dicloran	205.9 > 148.0 (25)	205.9 > 124.0 (30)	
7.58	Clomazone	204.1 > 107.2 (20)	204.1 > 78.2 (40)	
7.71	Lindane (<i>gamma</i> -BHC)	218.8 > 183.0 (5)	218.8 > 145.0 (20)	
7.79	Terbufos	231.0 > 175.0 (15)	231.0 > 129.0 (30)	
7.80	Pentachloronitrobenzene (PCNB)	295.0 > 236.8 (20)	295.0 > 142.9 (45)	
7.83	Pronamide	172.9 > 109.1 (30)	172.9 > 145.1 (15)	
7.86	Fonofos	246.0 > 137.1 (3)	246.0 > 109.1 (15)	
8.09	Disulfoton	274.0 > 88.0 (1)	274.0 > 60.0 (25)	
8.15	Terbacil	160.9 > 144.1 (15)	160.9 > 88.1 (15)	
8.19	Telfluthrin	197.1 > 141.0 (15)	197.1 > 161.1 (5)	
8.26	Triallate	267.9 > 184.1 (20)	267.9 > 226.1 (15)	
8.91	Vinclozolin	284.9 > 212.0 (15)	284.9 > 178.1 (15)	
8.91	Parathion-methyl	263.0 > 109.0 (10)	263.0 > 79.0 (30)	
8.92	Chlorpyrifos-methyl	286.0 > 93.0 (20)	286.0 > 270.9 (20)	
9.06	Heptachlor	272.1 > 236.9 (15)	272.1 > 143.0 (50)	
9.13	Ametryn	227.1 > 58.3 (10)	227.1 > 155.2 (20)	
9.20	Fenchlorphos	284.9 > 270.0 (15)	284.9 > 93.0 (20)	
9.20	Prometryn	241.1 > 184.2 (10)	241.1 > 58.2 (15)	
9.46	Fenitrothion	277.0 > 260.1 (3)	277.0 > 109.0 (20)	
9.56	Bromacil	207.1 > 134.1 (30)	207.1 > 54.1 (35)	
9.75	Aldrin	262.8 > 193.1 (40)	262.8 > 191.1 (40)	
9.81	Metolachlor	238.1 > 162.2 (10)	238.1 > 133.2 (30)	
9.84	Parathion-d ₁₀ (ISTD)	301.0 > 115.0 (10)	301.0 > 147.0 (4)	
9.86	Fenthion	278.1 > 109.1 (20)	278.1 > 169.0 (20)	
9.92	Parathion-ethyl	291.1 > 109.1 (10)	291.1 > 81.1 (30)	
9.94	Dicofol (degr. product)	249.9 > 139.1 (10)	249.9 > 215.1 (5)	
10.00	Dacthal	300.8 > 222.9 (30)	300.8 > 257.8 (25)	
10.22	MGK-264 I	164.1 > 98.1 (15)	164.1 > 80.1 (30)	
10.45	Cyprodinyl	223.9 > 208.2 (25)	223.9 > 222.3 (25)	

표 1. 분석물질 목록(각 이성질체 기재), 각 머무름 시간(RT), MRM 전이, 전구이온 > 생성이온(충돌 에너지, V), 정량 및 정성 분석에 사용(계속)

RT(min)	분석물질	Quant	Qual 1	Qual 2
10.47	MGK-264 II	164.1 > 80.1 (30)	164.1 > 98.1 (15)	
10.58	Heptachlor epoxide	352.8 > 262.9 (20)	352.8 > 282.0 (20)	
10.58	Pendimethalin	252.1 > 162.1 (15)	252.1 > 146.1 (15)	
11.07	Chlordane, <i>trans</i> -	372.8 > 265.8 (25)	372.8 > 263.8 (25)	
11.33	Endosulfan I (<i>alpha</i> -)	241.0 > 206.0 (15)	207.0 > 172.0 (15)	339.0 > 267.0 (2)
11.39	Chlordane, <i>cis</i> -	372.8 > 265.8 (25)	372.8 > 263.8 (25)	
11.62	Napropamide	271.1 > 72.1 (15)	271.1 > 128.1 (5)	
11.86	DDE, <i>p,p'</i> -	318.0 > 248.0 (30)	318.0 > 246.0 (30)	
11.88	Dieldrin	262.7 > 193.1 (40)	262.7 > 191.1 (40)	
12.11	Oxyfluorfen	317.0 > 300.0 (7)	361.0 > 300.0 (10)	
12.34	Endrin	262.7 > 193.1 (40)	262.7 > 191.1 (40)	281.0 > 245.0 (7)
12.54	Endosulfan II (<i>beta</i> -)	207.0 > 172.0 (15)	241.0 > 206.0 (15)	339.0 > 267.0 (2)
12.76	DDD, <i>p,p'</i> -	234.9 > 165.1 (20)	234.9 > 199.1 (15)	
12.88	Oxadixyl	163.1 > 132.2 (5)	233.0 > 146.0 (5)	163.1 > 117.1 (30)
13.33	Carbophenothion-ethyl	342.1 > 157.1 (10)	342.1 > 143 (25)	
13.47	Endosulfan sulfate	271.8 > 237.0 (20)	271.8 > 235.0 (20)	387.0 > 253.0 (10)
13.56	DDT, <i>p,p'</i> -	234.9 > 165.1 (20)	234.9 > 199.1 (15)	
13.56	DDT, <i>p,p'</i> - ¹³ C ₁₂ (ISTD)	247.0 > 211.0 (15)	249.0 > 211 .0(15)	
13.93	TPP (ISTD)	326.0 > 233.0 (10)	325.0 > 169.0 (20)	
13.98	Piperonyl butoxide	176.1 > 103.1 (30)	176.1 > 117.1 (25)	338.0 > 176.0 (2)
14.22	Iprodione	313.9 > 245.1 (15)	313.9 > 56.2 (30)	
14.43	Methoxychlor, <i>p,p'</i> -	227.1 > 169.2 (30)	227.1 > 141.2 (40)	
14.65	Tetradifon	228.8 > 79.0 (30)	228.8 > 145.0 (40)	
14.91	Cyhalothrin, <i>lambda</i> - epimer	208.0 > 181.0 (7)	197.0 > 141.0 (10)	197.0 > 161.0 (5)
15.04	Cyhalothrin, <i>lambda</i> -	208.0 > 181.0 (7)	197.0 > 141.0 (10)	197.0 > 161.0 (5)
15.12	Fenarimol	219.1 > 107.2 (10)	219.1 > 79.2 (30)	
15.56	Permethrin I	163.0 > 127.0 (5)	165.0 > 127.0 (5)	183.0> 77.0 (25)
15.65	Permethrin II	163.0 > 127.0 (5)	165.0 > 127.0 (5)	183.0> 77.0 (25)
16.05	Cyfluthrin I	226.1 > 206.1 (15)	226.1 > 199.0 (10)	
16.13	Cyfluthrin II	226.1 > 206.1 (15)	226.1 > 199.0 (10)	
16.21	Cyfluthrin III	226.1 > 206.1 (15)	226.1 > 199.0 (10)	
16.24	Cyfluthrin IV	226.1 > 206.1 (15)	226.1 > 199.0 (10)	
16.34	Cypermethrin I	209.0 > 116.0 (15)	209.0 > 103.0 (15)	
16.43	Cypermethrin II	209.0 > 116.0 (15)	209.0 > 103.0 (15)	
16.51	Cypermethrin III	209.0 > 116.0 (15)	209.0 > 103.0 (15)	
16.54	Cypermethrin IV	209.0 > 116.0 (15)	209.0 > 103.0 (15)	
17.24	Fenvalerate [RS,SR]	167.1 > 125.1 (5)	225.0 > 119.0 (15)	419.0 > 167.0 (10)
17.43	Fluvalinate, <i>tau</i> - I	250.0 > 55 .0(15)	250.0 > 200.0 (15)	252.0 > 55.0 (15)
17.43	Fenvalerate [RR,SS]	167.1 > 125.1 (5)	225.0 > 119.0 (15)	419.0 > 167.0 (10)
17.48	Fluvalinate, <i>tau</i> - II	250.0 > 55 .0(15)	250.0 > 200.0 (15)	252.0 > 55.0 (15)
17.77	Deltamethrin isomer	253.0 > 172.0 (5)	253.0 > 174.0 (5)	253.0 > 93.0 (20)
17.99	Deltamethrin	253.0 > 172.0 (5)	253.0 > 174.0 (5)	253.0 > 93.0 (20)

내부 표준물질 사용

내부 표준물질(ISTDs)을 사용하는 것은 주로 정밀성을 높여주는 확실한 분석 방법입니다. QuEChERS 분석법에서 ISTDs는 추출 전(전체 분석 과정 제어) 시료나, 기기 분석 전 최종 추출물에 첨가할 수 있습니다. CDFAs는 기기 분석 전 최종 추출물에 첨가하는 방법을 선호했습니다. ISTD는 최종 추출물을 준비하거나 시료 주입을 하면서 발생하는 잠재적 용량 문제(예: 시린지에 작은 기포가 생길 수 있음)를 교정할 수 있습니다. GC 주입구 또는 컬럼에서의 분해로 인한 화합물 손실이나 신호 변동성 등과 같은 특수한 문제는 적절한 성분별 ISTD를 사용하여 신호를 표준화하면 해결할 수 있습니다. 그림 1은 GC 주입구에서 분해되는 것으로 알려진 두 가지 유사한 농약(*p,p'*-DDT 및 *p,p'*-Methoxychlor)의 구조를 나타냅니다. 표 2에서는 자두 매트릭스에서 QC 시료와 모든 검량 표준물질의 *p,p'*-DDT 및 *p,p'*-Methoxychlor에 대해 다음과 같은 조건을 적용하여 얻은 평균 정확도(이론적/예상 농도에 대한 계산된 농도의 상대적 비율)를 비교합니다. (i) ISTD를 사용하지 않은 경우, (ii) 트리페닐 인산(TPP)을 잔류농약 분석의 포괄적인 ISTD로 사용한 경우, (iii) *p,p'*-DDT와 *p,p'*-Methoxychlor에 모두 라벨링 처리된 $^{13}\text{C}_{12}$ -*p,p'*-DDT를 ISTD로 사용할 경우. 표 2의 결과는 포괄적인 ISTD(예: TPP)를 사용하더라도 아예 사용하지 않는 경우보다 정밀도가 향상된다는 것을 보여줍니다. TPP를 ISTD로 사용했을 때 RSD 값이 50% 가까이 감소한 것으로 이를 확인할 수 있습니다. *p,p'*-DDT와 *p,p'*-Methoxychlor에 $^{13}\text{C}_{12}$ -*p,p'*-DDT를 ISTD로 사용하면 RSD 값이 더욱 감소하여 정밀도가 대폭 개선됩니다.

가용성과 비용 면에서 다중 잔류농약 분석법에 라벨링 처리된 ISTD를 일반적으로 사용하기에는 무리가 있습니다. *p,p'*-DDT와 같이 라벨링 처리된 표준물질이 시중에 판매되고 주로 GC 관련된 문제가 발생하는 특정한 경우 ISTD를 추출 전에 추가하기보다 추출 후에 추가하면 더욱 비용 효율적인 결과를 얻을 수 있습니다(예를 들어 최종 추출물이 0.25mL이고 최초 아세토니트릴 추출물이 10mL일 경우, ISTD는 1/40만 필요합니다). 또한 유사한 특성을 가진 성분은 동일한 ISTD를 사용해 유사한 반응을 제어할 수 있습니다. 이는 $^{13}\text{C}_{12}$ -*p,p'*-DDT를 *p,p'*-methoxychlor에 대한 ISTD로 사용한 것에서 확인할 수 있습니다.

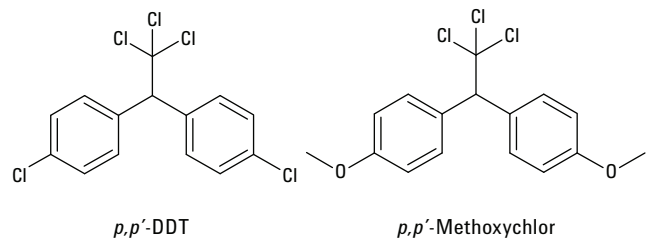


그림 1. *p,p'*-DDT 및 *p,p'*-methoxychlor 구조.

표 2. 자두 매트릭스의 QC 시료와 모든 검량 표준물질에서 *p,p'*-DDT 및 *p,p'*-methoxychlor의 평균 정확도 및 상대 표준 편차(RSD) 비교: (i) ISTD 미사용, (ii) TPP를 잔류농약 분석의 포괄적인 ISTD로 사용, (iii) $^{13}\text{C}_{12}$ -*p,p'*-DDT를 *p,p'*-DDT와 *p,p'*-methoxychlor의 ISTD로 사용

ISTD	<i>p,p'</i> -DDT		<i>p,p'</i> -Methoxychlor	
	평균 정확도(%)	RSD (%), n = 31	평균 정확도(%)	RSD (%), n = 31
없음(i)	95.5	14	94.3	13
TPP (ii)	100	7.8	98.0	6.9
$^{13}\text{C}_{12}$ - <i>p,p'</i> -DDT (iii)	100	1.5	98.3	2.0

PDP 요건 및 GC/MS/MS 분석법 성능

PDP는 분석법 검증 및 QC를 위한 절차와 요건을 제공하는 표준 작업 절차서(SOP)를 발행합니다[1]. 검량 무결성, 검량선 적합성을 포함한 검교정 기준은 기기 분석법 성능에 가장 중요합니다. 검량 무결성은 분석 시퀀스가 지나는 동안 일정량의 분석물질에 대해 기기가 변동없이 반응하는 것입니다. 검량 무결성은 다음 공식을 사용하여 퍼센트 차이(%D)로 나타낼 수 있습니다.

$$\%D = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100$$

여기서 C_1 은 검량 표준물질의 알려진 분석물 농도이고 C_2 는 검량선을 사용하여 계산한 표준물질 농도입니다. PDP는 %D가 20% 이하가 되도록 규정합니다. 따라서 모든 검량 표준물질과 추출 후 QC의 상대 역산 농도(% 정확도)는 이론(알려진) 값의 80-120% 이내여야 합니다.

검량선을 PDP 시료 정량에 사용할 경우, 매트릭스와 일치하는 표준물질을 사용해 구성해야 하며, 예상 잔류 농도를 포괄해야 합니다. 추천 농도 범위는 $1 \times LOQ \sim 10 \times LOQ$ 입니다. 이차 곡선도 사용할 수 있습니다. 단, 곡선을 정의하는 데 충분한 수의 점(최소 5 개 이상)을 사용해야 합니다. 곡선의 적합성은 상관 계수($R > 0.995/R^2 > 0.990$), 퍼센트 상대 표준 편차(%RSD ~ 20) 또는 곡선에서 알려진 표준물질 농도 대비 계산된 값의 퍼센트 차이(차이가 20% 이내인 경우)로 데이터를 보고하는 데 사용하는 것과 동일한 주입 시퀀스에서 입증되어야 합니다.

표 3은 실험의 자두 매트릭스 시료 시퀀스에서 얻은 상관 계수 및 검교정 무결성 데이터를 보여줍니다. 여기서 자두 매트릭스를 선택한 이유는 새 분석법을 적용하기 전에 CDFA 실험실에서 변동성 및 검량 무결성 문제를 가장 많이 일으켰기 때문입니다. 새로운 분석법은 CDFA의 다른 PDP 매트릭스에 대해 성공적으로 검증 및 적용되었습니다. 표 3은 전체 분석 시퀀스에서 검량선 농도범위가 $1 \times LOQ \sim 10 \times LOQ$ 범위일 때 모든 검사 대상 분석물질에 대해 매우 우수한 검량선 적합성(모든 분석물질에서 $R > 0.997$), 검량 무결성(개별 정확도 범위 83-119%), 전체 정확도 및 정밀도(평균 정확도와 관련 RSD 범위가 각각 95-102%, 1.5-8.3%)가 나타났다는 것을 보여줍니다. 그림 2는 검량 표준물질과 QC 샘플에서 $2 \times LOQ$ 농도일 때 모든 분석물질에 대해 얻은 정확도 결과를 통해 이를 보여줍니다. 이 농도는 PDP 시료 분석의 일상적 회수율 검사에 추천하는 농도입니다. 그림 3은 대표 분석물질의 검량선(검량점은 검은색 점으로 표시) 예시를 나타냅니다. 검량선은 시퀀스 중간에 주입한 매트릭스와 일치하는 표준물질 세트를 사용하여 구성되었습니다(실험 참조). QC 결과(도표에서 파란색 삼각형으로 표시)는 시퀀스 전체에서 주입한 QC 시료와 시퀀스 시작/끝에 분석한 검량 표준물질에서 얻은 분석물질 반응입니다.

표 3. 실험의 자두 매트릭스 시퀀스에서 주입한 검량 표준물질 및 QC 시료에서 검사 대상 분석물질의 검량선 상관 계수(R)와 검량 무결성(최소, 최대 및 평균 정확도 결과와 RSD)

분석물질	R	정확도(%)			
		최소	최대	평균	RSD (%), n = 31
1-Naphthol	1.000	90.6	114	101	4.9
Aldrin	0.999	91.0	113	101	4.6
Ametryn	1.000	97.5	105	101	1.9
BHC, <i>alpha</i> -	0.999	93.0	109	100	3.7
Bromacil	1.000	96.4	104	101	2.1
Carbophenothion-ethyl	1.000	89.3	105	99.0	3.4
Chlordane, <i>cis</i> -	1.000	94.6	108	100	3.2
Chlordane, <i>trans</i> -	1.000	94.9	105	101	2.5
Chlorethoxyfos	1.000	90.6	111	99.0	4.8
Chlorpropham	0.999	96.7	107	101	2.5
Chlorpyrifos-methyl	0.999	94.1	116	102	4.8
Clomazone	1.000	94.8	107	100	2.9
Cyfluthrin I-IV	1.000	87.1	103	97.0	4.0
Cyhalothrin, <i>lambda</i> -	0.999	90.5	106	101	4.9
Cyhalothrin, <i>lambda</i> - epimer	0.999	90.4	103	102	3.7
Cypermethrin I-IV	1.000	92.3	102	99.0	4.8
Cyprodinyl	1.000	94.0	102	99.0	1.7
Dacthal	1.000	94.3	106	100	2.7
DDD, <i>p,p'</i> -	0.999	89.4	107	98.0	5.1
DDE, <i>p,p'</i> -	1.000	94.9	105	100	2.5
DDT, <i>p,p'</i> -	1.000	97.2	103	100	1.5
Deltamethrin	1.000	83.2	104	99.0	4.8
Demeton-O	0.999	90.2	111	99.0	4.8
Demeton-S	1.000	92.9	106	100	3.0
Dichlobenil	0.997	89.3	117	101	7.0
Dicloran	1.000	92.3	110	99.0	4.5
Dicofol(분해 물질)	1.000	96.5	104	100	1.8
Dieldrin	1.000	96.5	108	101	2.7
Diphenylamine	0.999	91.4	105	98.0	3.8
Disulfoton	0.999	94.1	105	100	3.0
Endosulfan I (<i>alpha</i> -)	1.000	95.3	110	101	3.1
Endosulfan II (<i>beta</i> -)	1.000	93.6	110	102	3.1
Endosulfan sulfate	1.000	96.1	109	102	2.9
Endrin	1.000	97.2	109	102	2.8
Ethalfuralin	1.000	87.7	104	98.0	3.9
Fenarimol	1.000	95.8	102	99.0	1.6
Fenchlorphos	1.000	95.8	107	101	3.0
Fenitrothion	1.000	87.4	109	99.0	5.0
Fenthion	1.000	96.3	104	100	1.9

표 3. 실험의 자두 매트릭스 시퀀스에서 주입한 검량 표준물질 및 QC 시료에서 검사 대상 분석물질의 검량선 상관 계수(R)와 검량 무결성(최소, 최대 및 평균 정확도 결과와 RSD)(계속)

분석물질	R	정확도(%)			
		최소	최대	평균	RSD (%), n = 31
Fenvalerate [RR,SS]	1.000	84.8	104	95.0	5.0
Fenvalerate [RS,SR]	1.000	83.6	103	96.0	4.8
Fluvalinate, tau- I+II	1.000	82.9	106	98.0	3.8
Fonofos	0.999	94.0	108	100	3.4
Heptachlor	1.000	91.9	107	98.0	3.9
Heptachlor epoxide	1.000	94.0	105	100	3.1
Hexachlorobenzene (HCB)	0.998	91.4	115	101	6.1
Iprodione	1.000	95.3	106	101	2.6
Lindane (<i>gamma</i> -BHC)	1.000	94.8	105	100	2.6
Methoxychlor, <i>p,p'</i> -	1.000	95.6	103	98.3	2.0
Metolachlor	1.000	96.7	106	101	2.4
MGK-264 I	1.000	95.2	105	100	2.5
MGK-264 II	1.000	94.4	108	101	2.9
Napropamide	1.000	97.2	105	101	1.8
<i>o</i> -Phenylphenol	0.999	91.5	111	101	4.7
Oxadixyl	1.000	96.8	104	100	2.2
Oxyfluorfen	1.000	83.4	104	96.0	5.1
Parathion-ethyl	1.000	95.3	103	99.0	1.8
Parathion-methyl	1.000	90.2	109	100	5.0
Pendimethalin	1.000	89.5	104	99.0	3.6
Pentachlorobenzene (PCB)	0.999	87.1	119	100	8.3
Pentachloronitrobenzene (PCNB)	0.999	91.0	108	99.0	4.4
Permethrin I	1.000	96.3	105	101	4.7
Permethrin II	1.000	95.5	103	100	8.3
Phorate	1.000	93.9	106	100	3.3
Piperonyl butoxide	1.000	93.0	102	98.0	2.2
Prometryn	1.000	95.9	104	100	1.8
Pronamide	1.000	94.6	104	100	2.4
Propham	0.999	90.7	111	100	4.8
Telfluthrin	1.000	95.6	104	100	2.4
Terbacil	1.000	95.9	104	101	1.9
Terbufos	1.000	92.8	105	99.0	3.1
Tetradifon	1.000	95.8	107	101	2.1
Tetrahydrophthalimide (THPI)	0.999	94.3	110	102	3.7
Triallate	0.999	95.0	107	100	3.5
Trifluralin	1.000	90.4	104	98.0	3.5
Vinclozolin	1.000	95.0	104	100	2.2

결론

Agilent 7000B Triple Quadrupole GC/MS 시스템을 사용하면 PDP 과일 및 채소 시료를 포함한 여러 매트릭스에서 잔류농약을 민감하고 선택적이면서 안정적으로 분석할 수 있습니다. 최적화된 분석법 조건과 절차를 사용하여 PDP 품질 관리 요건을 충족하는 우수한 결과를 얻었습니다. PTV 용매 배기 모드에서 다중 모드 주입구를 사용하면, 분석물질 피크 모양에 영향을 미치지 않고 QuEChERS 추출물이 포함된 다량의 아세토니트릴을 주입할 수 있습니다. 컬럼 백플러싱은 MS 이온화원의 오염을 예방하고, 시스템에서 휘발성이 낮은 성분들을 빠른 시간에 제거할 수 있습니다. 특히, 이 분석법에 동시 백플러싱을 사용하면 효과적입니다. 적절한 분석물질 보호제와 내부 표준물질을 첨가하면 전체적인 분석 성능을 향상시킬 수 있습니다. 특히, GC 주입구나 컬럼에서 (분해 및/또는 흡착으로 인해) 손실되기 쉬운 분석물질에 효과적입니다.

감사의 글

이 프로젝트를 지원하고 귀중한 의견을 제공해주신 CDFA 분석 화학 센터(미국 캘리포니아주 새크라멘토)의 Inge Biggs, Alex Chung, Pam Smolich, Stacy Aylesworth, Tiffany Tu와 Agilent Technologies, Inc.(미국 캘리포니아주 산타클라라)의 Melissa Churley에 감사를 전합니다.

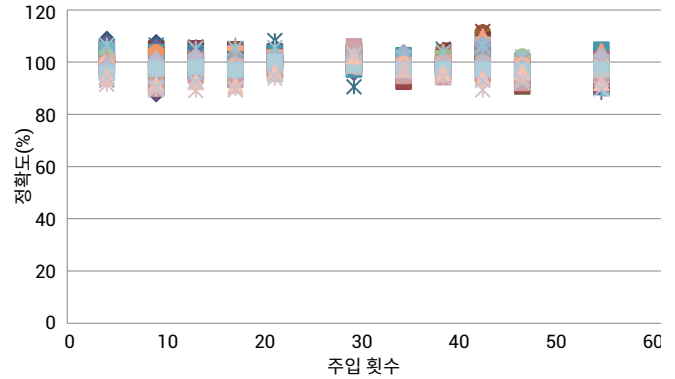


그림 2. 실험의 시료 시퀀스에서 주입한 검량 표준물질 및 QC 시료가 $2 \times LOQ$ 농도일 때 모든 검사 대상 분석물질의 정확도(%).

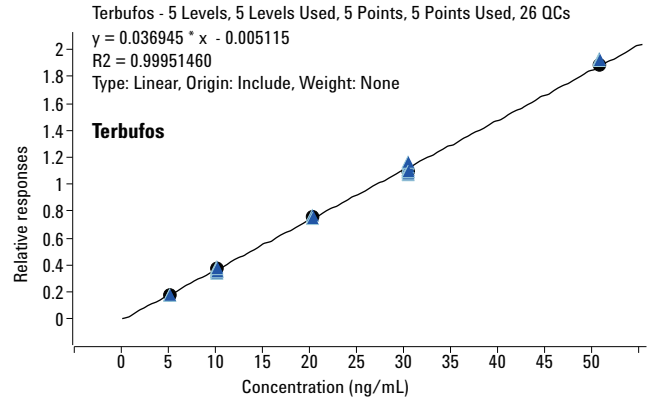
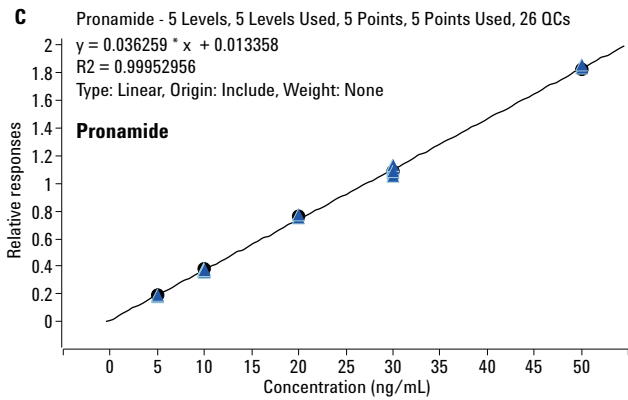
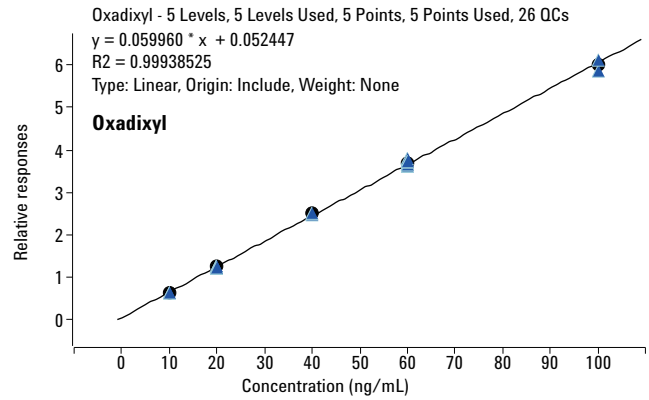
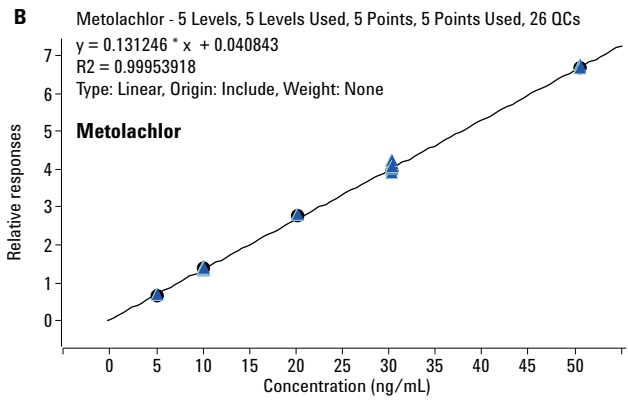
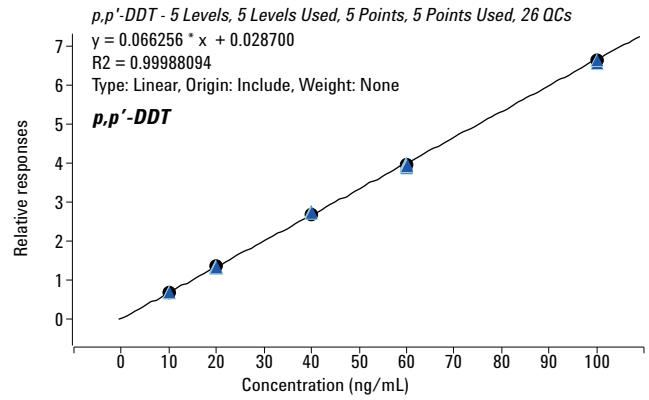
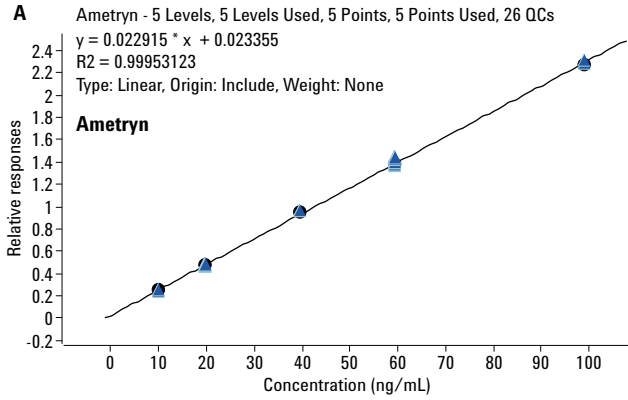


그림 3. 자두 매트릭스에서 대표 농약(ametryn, *p,p'*-DDT, metolachlor, oxadixyl, pronamide, and terbufos)의 검량선(검량점은 검은색 점으로 표시)과 QC 결과(파란색 삼각형으로 표시).

참고문헌

1. PDP 웹사이트, www.ams.usda.gov/science/pdp
2. P.L. Wylie and C-K. Meng, "A Method for the Trace Analysis of 175 Pesticides Using the Agilent Triple Quadrupole GC/MS/MS", Agilent Technologies publication 5990-3578EN.
3. K. Mastovska, J. Hajslova, S.J. Lehotay, *J. Chromatogr. A* **1054** (2004) 335-349.
4. M.J. Szelewski and B. Quimby, "New Tools for Rapid Pesticide Analysis in High Matrix Samples", Agilent Technologies publication 5989-1716EN
5. C-K. Meng, "Improving Productivity and Extending Column Life with Backflush", Agilent Technologies publication 5989-6018EN.
6. M. Anastassiades, S.J. Lehotay, D. Štajnbaher, F.J. Schenck, *J. AOAC Int.* **86** (2003) 412-431.
7. Agilent G1472A Rapid Universal GC/MS Backflushing Kit Pressure Controlled Tee – Configurations, Installation, and Use, Agilent Technologies manual G1472-90001, 1st Edition, 2010.
8. C-K. Meng, "The GC/MS/MS Analyzer and the Pesticides and Environmental Pollutants MRM Database", Agilent Technologies publication 5990-9453EN.
9. K. Mastovska and P.L. Wylie, "Evaluation of a New Column Backflushing Set-up in the Gas Chromatographic-Tandem Mass Spectrometric Analysis of Pesticide Residues in Dietary Supplements", *J. Chromatogr. A.*, DOI: 10.1016/j.chroma.2012.09.094.
10. M. Anastassiades, K. Mastovska, S.J. Lehotay, *J. Chromatogr. A* **1015** (2003) 163-184.
11. K. Mastovska, S.J. Lehotay, M. Anastassiades, *Anal. Chem.* **77** (2005) 8129-8137.

자세한 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다.
애질런트 제품에 대한 더 자세한 정보를 알아보시려면
www.agilent.com/chem을 방문하십시오.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc., 2012
2012년 10월 11일, 한국에서 인쇄
5991-1054KO

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



Agilent Technologies