



GC/Q-TOF MS를 이용한 식품 중 농약 감시

Agilent MassHunter GC/Q-TOF Pesticide
Personal Compound Database and Library를
이용한 농약의 정량 및 정성 스크리닝 통합 워크플로

응용 자료

식품 안전

저자

Kai Chen, Sofia Nieto,
Joan Stevens
Agilent Technologies, Inc.

개요

고분해능 정확한 질량 GC/Q-TOF 질량 분석법은 식품 시료에서 단일 주입으로 다양한 종류의 잔류농약에 대한 정량 및 정성 스크리닝을 일상적으로 수행하기에 점점 더 유망한 기법이 되어 왔습니다. Agilent 7200 시리즈 고분해능 정확한 질량 GC/Q-TOF는 Agilent MassHunter 소프트웨어 도구 및 업데이트된 Agilent MassHunter GC/Q-TOF Pesticides Personal Compound Database and Library(PCDL)와 더불어 농약 감시 실험실에 다음과 같은 작업을 수행할 수 있는 통합 워크플로를 제공합니다.

- 포괄적인 다농도 또는 빠른 정량에서 작성된 표준물질 검량선을 사용한 농약 정량 스크리닝
- 가용성, 비용 또는 발생 가능성의 사유로 표준물질 검량선이 작성되지 않은 농약의 PCDL을 사용한 정성(잠재 위험 성분) 스크리닝



Agilent Technologies

QuEChERS 분석법을 사용하여 여섯 가지 유기농 식품 추출물이 준비되었으며, 여러 농도(ng/mL)에서 120종의 농약 혼합물을 첨가했습니다. 컬럼중간 백플러싱 GC 구성은 우수한 안정성과 정밀도를 제공했습니다. 6개 농도에서 매트릭스 일치 검량선이 입증되었으며, 대부분 농약은 5~200ng/mL에서 ≥ 0.99 의 선형 검량선 피팅 계수(R^2)를 나타냈습니다. 10ng/mL 농도 첨가로만 진행된 빠른 정량 스크리닝은 모든 식품 추출물에서 $\pm 20\%$ 변화 범위내로 117종 이상 농약을 정량할 수 있었습니다. 10ng/mL 농도로 첨가된 농약 혼합물은 연구된 모든 식품 매트릭스에서 116종 이상 농약의 정성 스크리닝 접근법을 평가하기 위해서도 사용되었습니다. 연구 목적은 식품의 농약 감시를 위해 GC/Q-TOF를 사용하는 실험실이 어떤 농약은 정량하고, 어떤 농약은 필요에 따라 나중에 정밀 정량하기 위해 정성 스크리닝할지 유연하게 선택할 수 있음을 보여주기 위한 것이었습니다.

소개

잔류 농약 모니터링은 안전한 식품 공급에 매우 중요합니다. 오늘날 1,000종 이상의 농약이 사용되고, 그 수는 계속 증가하고 있습니다. 따라서 광범위한 농약을 스크리닝하고, 그러한 농약의 잔류 수준이 규제되는 최대 잔류 한도(MRL)에 적합한지 결정해야 하는 강한 요구가 있습니다. 또한, SANTE/11945/2015 [1]를 통해 유럽 연합(EU)에서 권고된 지침을 반영한대로 농약 스크리닝을 위한 신뢰할 수 있는 분석법 검증은 전 세계적으로 점점 더 강조되고 있습니다.

가스 크로마토그래피로 분석 가능한 농약의 경우, 삼중 사중극자 질량 분석 검출이 최대 400종의 광범위한 농약에 대해 정밀한 정량 스크리닝을 수행하는 효과적인 방법임이 입증되었습니다. 그러나 더 광범위한 영역에 대한 요구가 더 늘어남에 따라, 일부 실험실은 거의 발생하지 않는 농약에 대해 정밀한 정량 분석이 필요한지 의문을 품고 있습니다. 넓은 범위에서 GC/MS 분석법의 검량은 시간이 많이 걸리며 비용이 많이 들고, 특히 서로 다른 매트릭스나 시료 전처리 절차에 따라 여러 가지 검량 결과를 생성해야 할 때가 종종 있습니다. 아주 많은 배치내 검량을 이용하지 않는 정성 스크리닝은 시간과 비용을 높이지 않고 범위를 확장하기 위한 매력적인 방법입니다. 만일 이러한 전략이 비표적 전체 스펙트럼 검출에 시행될 경우, 실험실에서는 이전에는 고려하지 못했을 수 있는 사항을 발견하고, 확장된 추가 분석법 개발 없이도 표적에 화합물을 추가할 수 있습니다.

이러한 방식으로 검출된 농약의 경우, 이어서 정밀한 정량 분석이 필요하며, 일부는 추가적인 식별 확인이 필요합니다. 어느 방식이든, 식별에 있어서 본질적으로 높은 신뢰도를 가진 간단한 스크리닝을 시행할 수 있는 기술을 사용하는 것이 타당합니다. 이 방식은 신뢰성 있는 결과만 추가 작업을 위해 전달되므로 실험실 효율성이 높게 유지됩니다.

고분해능 정확한 질량 사중극자 time-of-flight(GC/Q-TOF) MS와 연결된 가스 크로마토그래피는 이러한 과제를 해결하기에 적합한 솔루션으로 사용됩니다. 모든 GC-처리 가능 농약에 대해 수집된 전체 스캔 정확한 질량 스펙트럼의 이점을 활용하는 전자 이온화(EI) 모드의 GC/Q-TOF는 매우 높은 식별 신뢰도로 농약을 스크리닝할 수 있습니다. 게다가, 고분해능 데이터를 이용하므로 표적 농약의 특성 이온에 대한 정확한 질량을 알고 있는 경우 좁은 mass window를 사용하여 추출할 수 있습니다. 고분해능 데이터로부터 생성된 추출 이온 크로마토그램(EIC)은 복잡한 식품 매트릭스에 의한 간섭이 매우 적고 낮은 스크리닝 검출 한계를 달성할 수 있습니다. 따라서 표적 농약에 대한 정확한 질량 스펙트럼을 포함하는 라이브러리는 정성 스크리닝 워크플로와 관련된 고분해능 질량 분석 데이터의 효율적인 분석에도 필수적입니다.

실험실에서 여전히 첫 주입 시 정량을 원하는 화합물의 경우, 특히(삼중 사중극자와 달리) Q-TOF를 이용한 정량은 위에 설명된 선택성 사유로 MS 분야에서 일반적으로 행해지므로 전체 스캔 정확한 질량 스펙트럼으로부터 나온 결과로 검증하는 것은 매우 유용합니다.

GC/Q-TOF MS에 의한 다양한 식품내 농약의 정성 스크리닝은 이전에도[2,3] 연구되었습니다. 화합물 식별 결과는 향상된 소프트웨어 화합물 검증 기능을 통해 포괄적으로 검토할 수 있습니다[4]. 이 응용 자료는 Agilent 7200 시리즈 GC/Q-TOF 시스템 및 업데이트된 Agilent MassHunter GC/Q-TOF 농약 PCDL을 이용해 정량 및 정성 농약 스크리닝 모두에 대한 성능(화합물별)을 설명합니다.

실험

시약 및 표준물질

모든 농약 표준물질은 ULTRA Scientific (North Kingstown, RI, USA)의 다중 혼합물 원액(아세토니트릴에서 각 농약의 100mg/L)으로 제조했습니다. 120종 농약 표준물질 혼합물은 카르바메이트, 유기염소계, 유기인계, 트리아졸, 피레트로이드 등 다양한 농약 범주를 포함하고 있습니다. 표준물질 혼합물은 식품 추출물에 첨가되기 전에 적절한 농도로 아세토니트릴에 더 희석되었습니다. 아세토니트릴은 Honeywell(Muskegon, MI, USA)에서 구매했습니다. 초순수는 LC-Pak Polisher 및 0.22 μ m 사용시점 멤브레인 필터 카트리지(EMD Millipore, Billerica, MA, USA)가 사용된 Milli-Q Integral 시스템을 이용해 생산되었습니다.

시료 전처리

유기농 사과, 아보카도, 오이, 복숭아, 토마토, 연어는 현지 식품점에서 구매했습니다. 10g의 균질화된 식품 시료(복숭아 제외)는 Agilent QuEChERS 추출 키트(p/n 5982-5650CH)를 이용하여 버퍼를 사용한 EN 15662 분석법에 기초해 추출되었습니다. 복숭아 시료(15g)의 추출은 Agilent QuEChERS 추출 키트(p/n 5982-5755CH)를 이용해 버퍼를 사용한 AOAC 2007.1 분석법을 따랐습니다. 과일과 채소 시료는 전용 Agilent Bond Elut QuEChERS Dispersive Kit(AOAC 분석법의 경우 p/n 5982-5058, EN 분석법의 경우 p/n 5982-5056)를 이용해 정제되었습니다. 아보카도와 연어에서 고지질 함유물을 제거하기 위해 Agilent Bond Elut EMR—Liquid 튜브(p/n 5982-1010) 및 Polish Pouch(p/n 5982-0102)를 이용해 건조 단계를 거쳐 정제되었습니다. 식품 매트릭스의 최종 추출물에 5–200ng/mL의 다양한 농도 범위에서 표준물질 혼합물(120종의 농약)이 첨가되었습니다. 농약이 첨가된 시료 용액은 이후 GC/Q-TOF를 이용해 분석되었습니다.

기기 분석

모든 시료는 Agilent 7200B 고분해능 Accurate mass Q-TOF 시스템과 연결된 Agilent 7890B GC 시스템을 이용해 EI 전체 스펙트럼 수집 모드에서 분석되었습니다. 기기는 컬럼중간 백플러시 설정으로 구성되었습니다(그림 1). 일정 유량 수집 분석법은 chlorpyrifos-methyl의 머무름 시간을 9.143분으로 고정하였습니다(RTL). 표 1은 GC/Q-TOF 작동 조건과 파라미터를 나열합니다.

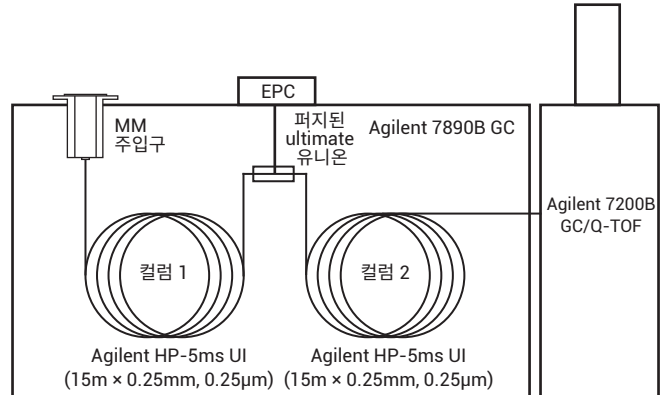


그림 1. Agilent 7200 시리즈 GC/Q-TOF 시스템 - 컬럼중간 백플러시를 보여주는 구성. Agilent 7890B GC과 Agilent 7200B Q-TOF 질량 분석기가 연결되었습니다.

표 1. Agilent 7890B GC 및 Agilent 7200B GC/Q-TOF MS 조건

GC	
컬럼	Agilent HP-5ms UI, 15m x 0.25mm, 0.25 μ m film (2개 각각)
운반 가스	헬륨
컬럼 1 유량	1.0mL/분
컬럼 2 유량	1.2mL/분
주입량	2 μ L cold splitless
주입구 라이너	4mm ID Agilent Ultra Inert Liner Single Taper w wool (p/n 5190-2293)
MMI 온도 프로그램	0.2분간 60°C, 600°C/분으로 300°C까지, 유지, 330°C, 분석 후
오븐 온도 프로그램	1분간 60°C 40°C/분 ~ 170°C, 0분, 10°C/분 ~ 310°C, 10분
분석 시간	20.75분
백플러시 조건	5분 (분석 후) 310°C(오븐 온도) 50psi(보조 EPC 압력), 2psi(주입구 압력)
머무름 시간 고정	Chlorpyrifos-methyl을 9.143분에 고정
이송 라인 온도	280°C
Q-TOF MS	
이온화 모드	EI
이온화원 온도	300°C
사중극자 온도	180°C
질량 범위	45 ~ 550m/z
스펙트럼 수집 속도	5Hz, 중심 모드 및 프로파일 모드 모두에서 수집
수집 모드	4GHz 고분해능

데이터 분석

데이터 분석은 Agilent MassHunter 소프트웨어, Qualitative Analysis B.08 및 Quantitative Analysis B.08을 이용합니다. Agilent MassHunter GC/Q-TOF Pesticide PCDL(p/n G3892AA)은 RT를 포함하고 있으며, 850종이 넘는 화합물의 전체 정확한 질량 티 스펙트럼이 데이터 분석 설정을 위한 입력값으로 사용되었습니다. MassHunter는 분석법 개발부터 일상적인 분석까지 농약 스크리닝을 위한 통합 워크플로를 제공합니다(그림 2).

결과 및 토의

정량 스크리닝

제어된 시료 데이터의 평가(예: 검증 시료)는 최소한의 간섭으로 정량 분석법을 만드는 데 도움이 됩니다. 이는 매트릭스 백그라운드 이온 간섭에 대한 사전 지식 없이 모든 관심 화합물에 대해 적절한 정량 및 정성 이온을 예측하기 어렵기 때문에, 새로운 범주의 식품을 검사하기 위한 분석법을 개발할 때 또는 정량 분석법에 새 화합물을 추가할 때 필수적인 평가입니다[5]. 이 연구에서는 식품 시료 데이터(20ng/mL로 첨가된 농약을 이용한)를 이 평가에 사용했습니다.

이 방식으로 개발된 정량 스크리닝 분석법은 포괄적인 다농도 검량선을 사용하거나, 광범위한 농약이 특정 MRL에 부합하는지 신속한 추정이 필요한 경우에 하나 또는 두 농도 검량선을 사용할 수 있습니다. 그림 3은 복숭아와 아보카도에서 세 가지 예제 농약의 매트릭스 일치 검량선을 보여줍니다. 농약이 5-200ng/mL(3회 반복)에서 첨가된 복숭아와 아보카도 시료에 대한 매트릭스 일치 검량선은 이 두 가지 복잡한 시료 매트릭스에서 105종 이상의 농약에 대해 우수한 직전성($R^2 \geq 0.99$)을 나타냈습니다. 두 농도 검량선의 빠른 정량 스크리닝 접근법 정확도를 평가하기 위해 각 농약을 5 및 20ng/mL에서 첨가한 시료 데이터(3회 반복)를 이용해 검량선을 설정하고 식품 추출물에서 10ng/mL 농약을 정량 분석했습니다. 그림 4는 빠른 정량 스크리닝 분석의 정확도를 보여줍니다. $\pm 20\%$ 의 편차로 10ng/mL에서 정량 분석된 농약의 수는 모든 매트릭스에서 117종을 초과하며, 상세 결과는 표 2에 나타나 있습니다.

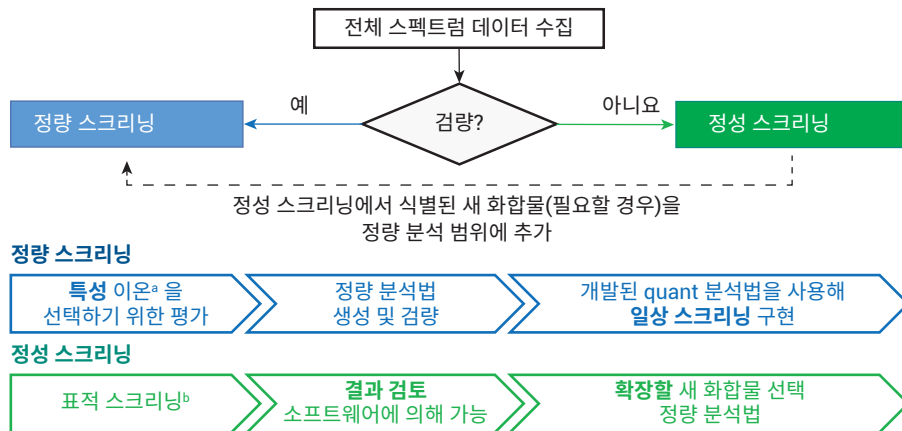


그림 2. 정량 및 정성 스크리닝을 위한 워크플로. ^a평가는 분석법 개발 단계에만 적용되며 PCDL내 정확한 질량 스펙트럼이 이온 선택(검량 표준물질 화합물의 부분 집합)을 위한 입력값으로 사용된다. ^b정품 표준물질이 없는 화합물을 포함해 PCDL 부분 집합에 대한 의심 물질 스크리닝.

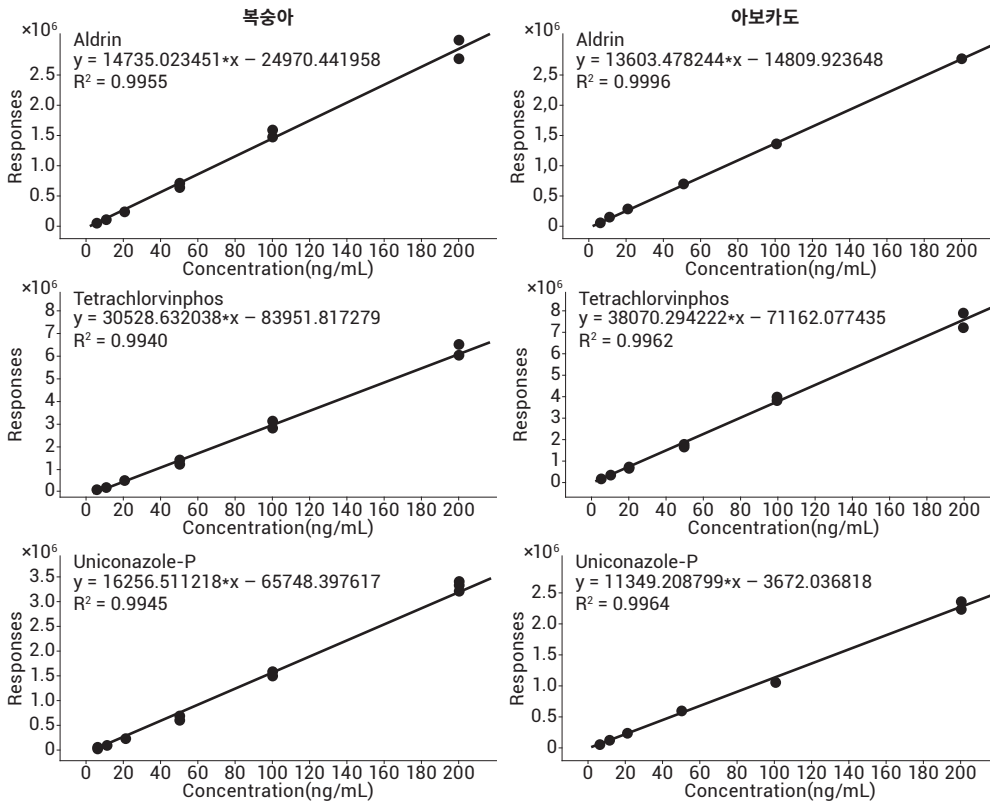


그림 3. 복숭아 및 아보카도에서 5-200ng/mL 농도의 매트릭스 일치 검량선

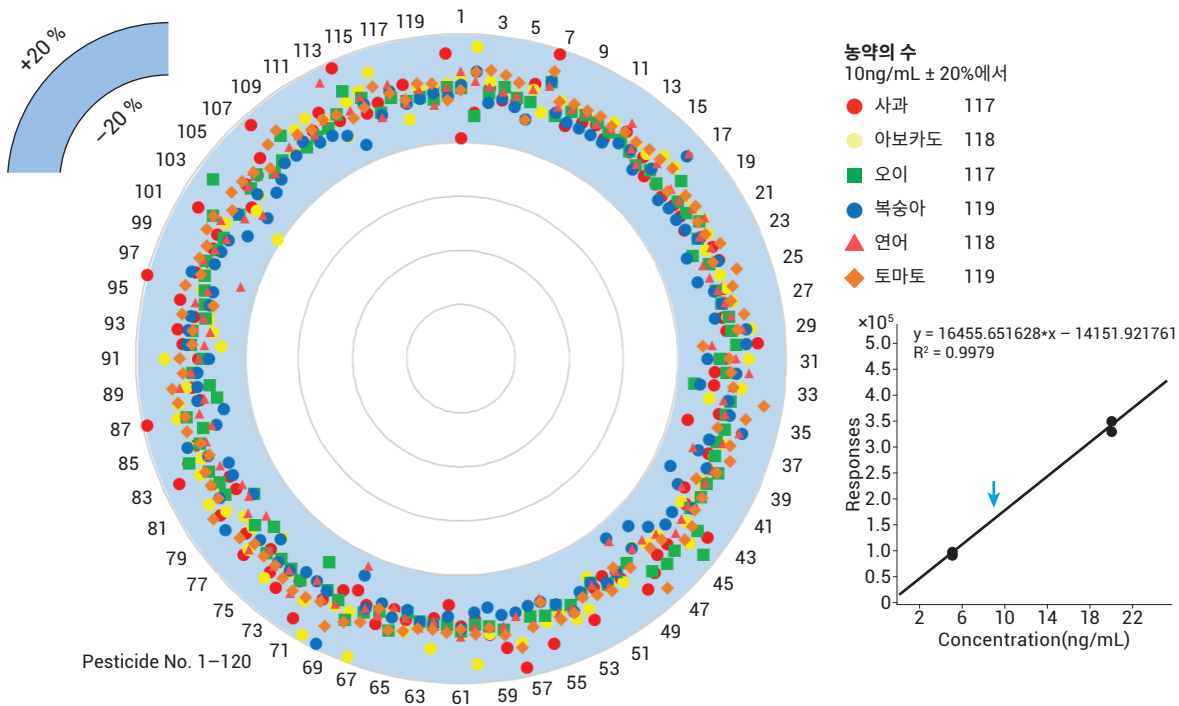


그림 4. 모든 식품 시료에 첨가된 10ng/mL 농약의 빠른 정량 분석. 삽입된 예제 플롯은 2 농도 검량을 기반으로 연어에서 cis-Permethrin의 정량 분석 결과를 보여줍니다.

표 2. 식품 매트릭스에서 빠른 정량 스크리닝의 결과 및 정성 스크리닝에서의 검출 가능성

번호	명칭	사과		아보카도		오이		복숭아		연어		토마토	
		정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성
1	1,2-Dibromo-3-chloropropane	8.1	○●	10.4	○●	10.0	○●	10.1	○●	10.6	○●	9.9	○●
2	Acephate	9.1	○●	11.5	○●	9.0	○●	10.6	○●	10.3	○●	10.6	○●
3	Acibenzolar-S-methyl (BTH)	10.1	○●	10.3	○●	9.9	○●	9.5	○●	10.1	○●	10.7	○●
4	Alachlor	9.7	○●	9.8	○●	10.2	○●	9.7	○●	10.0	○●	10.6	○●
5	Aldrin	9.7	○●	9.9	○●	9.9	○●	9.5	○●	9.9	○●	10.4	○●
6	Azoxystrobin	10.5	○●	10.3	○●	9.8	○●	9.2	○●	10.3	○●	9.1	●
7	Benalaxyl	11.8	○●	9.6	○●	10.8	○●	10.8	○●	10.6		11.2	○●
8	Benfluralin	9.6	○●	10.2	○●	9.6	○●	9.7	○●	10.0	○●	10.2	○●
9	BHC- <i>alpha</i>	9.4	○●	10.1	○●	10.0	○●	9.6	○●	10.1	○●	10.3	○●
10	BHC- <i>beta</i>	9.8	○●	10.2	○●	10.1	○●	9.6	○●	10.2	○●	10.3	○●
11	BHC- <i>delta</i>	10.0	○●	10.1	○●	10.1	○●	9.6	○●	10.0	○●	10.3	○●
12	Lindane	9.7	○●	10.4	○●	10.0	○●	9.5	○●	10.1	○●	10.2	○●
13	Bromacil	10.4	○●	10.1	○●	10.0	○●	9.9	○●	10.8	○●	10.3	○●
14	Bromophos	9.8	○●	10.2	○●	9.9	○●	10.0	○●	10.0	○●	10.3	○●
15	Butralin	10.0	○●	10.2	○●	9.6	○●	9.4	○●	9.7	○●	10.4	○●
16	Cadusafos	9.6	○●	10.6	○●	9.8	○●	9.9	○●	10.2	○●	10.4	○●
17	Carbofuran	9.7	○●	10.6	○	9.7	○●	11.2	○●	11.3	○●	10.5	○●
18	Chlorantraniliprole	9.5	○●	9.3	○●	10.4	○●	9.3	○●	10.0	●	9.8	○●
19	Chlordane- <i>cis</i>	9.7	○●	10.2	○●	9.9	○●	9.5	○●	10.0	○●	10.3	○●
20	Chlordane- <i>trans</i>	9.6	○●	10.2	○●	9.9	○●	9.4	○●	10.2	○●	10.3	○●
21	Chlordimeform	9.5	○●	10.3	○●	10.2	○●	9.6	○●	10.4	○●	10.1	○●
22	Chlorfenvinphos	9.9	○●	10.2	○●	9.8	○●	9.8	○●	9.9	○●	10.1	○●
23	Chlornitofen	10.2	○●	9.9	○●	9.4	○●	9.1	○●	10.1	○●	10.5	○●
24	Chlorobenzilate	10.2	○●	9.8	○●	9.8	○●	10.2	○●	9.6	○●	10.0	○●
25	Chlorothalonil	>12.0	○●	10.0	●	<8.0	○●	9.2	○●	9.7	●	10.7	○●
26	Chlorpyrifos	10.0	○●	10.2	○●	9.7	○●	9.7	○●	9.8	○●	10.4	○●
27	Chlorpyrifos-methyl	9.9	○●	10.2	○●	9.8	○●	9.8	○●	10.0	○●	10.2	○●
28	DCPA	9.8	○●	9.9	○●	10.0	○●	9.5	○●	10.1	○●	10.6	○●
29	Clomazone	9.8	○●	10.8	○●	10.0	○●	10.6	○●	10.5	○●	10.3	○●
30	Deltamethrin	11.0	○●	10.3	○●	10.2	●	10.5	○●	9.3	○●	9.0	●
31	Demeton-O	9.7	○●	10.6	○●	9.6	○●	9.1	○●	10.2	○●	9.9	○●
32	Demeton-S	9.4	○●	9.9	○●	9.8	○●	10.2	○●	10.7	○●	10.0	○●
33	Demeton-S-methyl	9.4	○●	10.4	○●	8.7	○●	8.9	○●	10.1	○●	10.1	○●

정량 - 10(ng/mL)에서 각 농약에 대해 빠른 정량 분석 결과, 3회 반복 주입의 평균이 제시되었습니다.

정성 - 정성 스크리닝에서 자동 화합물 식별에 의한 검출 가능성

○ = 5(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

● = 10(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

빈 셀 = 검출되지 않음

표 2. 식품 시료에서 빠른 정량 스크리닝의 결과 및 정성 스크리닝에서의 검출 가능성(계속)

번호	명칭	사과		아보카도		오이		복숭아		연어		토마토	
		정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성
34	Demeton-S-methylsulfone	>12.0	○●	9.3	●	10.1	○	10.0	○●	9.8	○●	11.3	○●
35	Diazinon	9.7	○●	10.1	○●	10.0	○●	10.1	○●	10.0	○●	10.8	○●
36	Dichlorvos	8.7	○●	10.1	○●	10.1	○●	10.7	○●	10.6	○●	9.8	○●
37	Dicloran (Dichloran)	9.9	○●	10.1	○●	9.9	○●	9.6	○●	10.2	○●	10.5	○●
38	Dieldrin	9.8	○●	10.0	○●	10.0	○●	9.4	○●	9.2	○●	10.6	○●
39	Dimethoate	9.9	○●	10.1	○●	10.4	○●	9.9	○●	10.2	○●	10.4	○●
40	Dimethomorph (E)	10.1	○●	9.9	○●	10.2	○●	8.7	○●	10.1	○●	9.8	○●
41	Diphenamid	9.5	○●	10.1	○●	10.2	○●	9.2	○●	9.4	○●	10.3	○●
42	Disulfoton	9.8	○●	9.7	○●	10.1	○●	10.2	○●	10.0	○●	10.3	○●
43	Disulfoton-sulfone	11.2	○●	10.3	○●	10.8	○●	9.6	○●	10.1	○●	10.6	○●
44	Endosulfan (alpha isomer)	10.8	○●	10.8	○●	11.5	○●	9.7	○●	10.2	○●	10.6	○●
45	Endosulfan (beta isomer)	10.2	○●	9.7	○●	10.6	○●	9.3	○●	9.7	○●	10.0	○●
46	Endosulfan sulfate	10.2	○●	9.7	○●	10.7	○●	8.7	○●	9.4	○●	9.9	○●
47	Endrin	10.7	○●	9.4	○●	10.6	○●	9.4	○●	9.5	○●	11.4	○●
48	EPN (Tsumaphos)	11.0	○●	9.7	○●	9.7	○●	8.5	○●	8.7	○●	10.0	○●
49	Ethion	10.0	○●	10.2	○●	9.7	○●	9.7	○●	9.7	○●	9.5	○●
50	Ethoprophos (Ethoprop)	9.6	○●	10.1	○●	9.9	○●	9.9	○●	10.0	○●	10.2	○●
51	Fenamiphos	9.8	○●	9.3	○●	9.5	○●	9.6	○●	9.7	○●	10.1	○●
52	Fenamiphos-sulfone	10.8	○●	10.4	○●	9.8	○●	9.6	○●			9.9	○●
53	Fenclorphos (Ronnel)	10.0	○●	10.5	○●	9.9	○●	10.2	○●	10.1	○●	10.3	○●
54	Fenitrothion	10.1	○●	10.1	○●	9.7	○●	9.7	○●	10.1	○●	10.3	○●
55	Fenvalerate	11.1	●	10.2	○●	10.0	○●	9.4	●	9.3	●	9.5	○●
56	Fonofos	9.7	○●	9.6	○●	9.8	○●	9.4	○●	10.2	○●	10.3	○●
57	Formothion	11.7	○●	10.7	○●	<8.0	○●	9.6	○●	9.7	○●	10.9	○●
58	Heptachlor	10.8	○●	10.1	○●	10.1	○●	9.6	○●	10.0	○●	10.4	○●
59	heptachlor endo-epoxide isomer A	10.2	○●	10.2	○●	9.9	○●	9.2	○●	10.0	○●	10.0	○●
60	Heptachlor exo-epoxide isomer B	9.6	○●	11.3	○●	9.8	○●	9.4	○●	9.9	○●	10.2	○●
61	Heptenophos	9.9	○●	10.2	○●	10.1	○●	10.0	○●	10.3	○●	10.0	○●
62	HCB	9.1	○●	9.8	○●	9.8	○●	9.5	○●	10.0	○●	10.1	○●
63	Iprobenfos	9.6	○●	10.8	○●	9.9	○●	9.9	○●	9.7	○●	10.1	○●
64	Isazofos (Miral)	10.0	○●	10.0	○●	9.8	○●	9.8	○●	10.1	○●	10.1	○●
65	Isopropalin	9.9	○●	10.3	○●	9.6	○●	9.5	○●	9.8	○●	10.3	○●

정량 - 10(ng/mL)에서 각 농약에 대해 빠른 정량 분석 결과. 3회 반복 주입의 평균이 제시되었습니다.

정성 - 정성 스크리닝에서 자동 화합물 식별에 의한 검출 가능성

○ = 5(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

● = 10(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

빈 셀 = 검출되지 않음

표 2. 식품 시료에서 빠른 정량 스크리닝의 결과 및 정성 스크리닝에서의 검출 가능성(계속)

번호	명칭	사과		아보카도		오이		복숭아		연어		토마토	
		정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성
66	Isoprothiolane	9.6	○●	9.8	○●	10.4	○●	9.9	○●	9.5	○●	10.4	○●
67	Leptophos	10.3	○●	9.5	○●	9.8	○●	9.5	○●	10.0	○●	9.7	○●
68	Malathion	9.7	○●	11.8	○●	10.0	○●	9.9	○●	9.9	○●	10.4	○●
69	Metalaxyl	9.4	○●	10.2	○●	10.6	○●	8.8	○●	8.4	○●	10.6	○●
70	Methamidophos	9.6	○●	10.2	○●	10.0	○●	11.8	○●	10.2	○●	11.1	○●
71	Methidathion	10.2	○●	11.8	○●	9.9	○●	9.9	○●	10.2	○●	10.4	○●
72	Methiocarb	11.4	○●	10.7	○●	8.9	○●	9.8	○●	9.7	○●	10.5	○●
73	Metolachlor	10.1	○●	10.1	○●	10.1	○●	9.7	○●	10.7	○●	10.6	○●
74	Mevinphos	10.9	○●	10.2	○●	10.0	○●	10.1	○●	10.1	○●	10.5	○●
75	Mexacarbate	10.6	○●	10.9	○●	9.9	○●	10.1	○●	10.3	○●	10.3	○●
76	Mirex	9.9	○●	9.3	○●	10.2	○●	9.4	○●	10.0	○●	10.3	○●
77	Monocrotophos	10.8	○●	10.6	○●	9.3	○●	10.0	○●	10.5	○●	10.2	○●
78	Myclobutanil	10.2	○●	9.9	○●	9.8	○●	>12.0	○●	9.2	○●	10.5	○●
79	Naled	>12.0	○●	9.9	○●			10.8		9.7	●		
80	Nitrofen	10.6	○●	10.3	○●	9.1	○●	9.2	○●	9.3	○●	10.9	○●
81	<i>o,p'</i> -DDD	9.6	○●	10.8	○●	10.1	○●	10.3	○●	9.3	○●	10.3	○●
82	<i>o,p'</i> -DDE	9.6	○●	10.2	○●	10.0	○●	9.5	○●	10.3	○●	10.3	○●
83	<i>o,p'</i> -DDT	11.4	○●	10.6	○●	10.2	○●	9.4	○●	9.7	○●	10.3	○●
84	Omethoate	10.8	○●	10.3	○●	10.8	○●	10.0	○●	10.0	○●	9.9	○●
85	<i>p,p'</i> -DDD	10.3	○●	10.6	○●	10.2	○●	10.6	○●	9.9	○●	10.1	○●
86	<i>p,p'</i> -DDE	9.8	○●	9.8	○●	9.9	○●	9.4	○●	9.5	○●	10.5	○●
87	<i>p,p'</i> -DDT	11.9	○●	10.7	○●	10.4	○●	9.0	○●	9.9	○●	10.4	○●
88	Parathion	9.8	○●	10.6	○●	9.1	○●	9.9	○●	9.6	○●	10.6	○●
89	Parathion-methyl	10.0	○●	10.2	○●	9.3	○●	9.8	○●	10.4	○●	10.7	○●
90	Penconazole	9.8	○●	10.0	○●	9.9	○●	9.8	○●	10.0	○●	10.3	○●
91	Pendimethalin	9.7	○●	11.0		9.6	○●	9.3	○●	9.7	○●	10.4	○●
92	Permethrin, <i>cis</i> -	10.3	○●	8.9	●	10.0	○●	10.1	○●	9.5	●	9.9	○●
93	Permethrin, <i>trans</i> -	10.5	○●	9.2	●	10.0	○●	10.1	○●	9.3	○●	9.9	○●
94	Phorate	10.0	○●	9.4	○●	9.6	○●	10.1	○●	9.6	○●	10.4	○●
95	Phosalone	10.6	○●	9.4	○●	9.7	○●	9.5	○●	10.0	○●	9.3	○●
96	Phosphamidon	12.0	○●	9.9	●	9.8	○●	9.5	○●	9.7	○●	10.5	○●
97	Piperonyl butoxide	10.3	○●	10.0	○●	10.0	○●	10.5	○●	8.6		10.1	○●
98	Pirimicarb	9.9	○●	9.8	○●	10.1	○●	9.7	○●	10.2	○●	10.3	○●

정량 - 10(ng/mL)에서 각 농약에 대해 빠른 정량 분석 결과. 3회 반복 주입의 평균이 제시되었습니다.

정성 - 정성 스크리닝에서 자동 화합물 식별에 의한 검출 가능성

○ = 5(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

● = 10(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

빈 셀 = 검출되지 않음

표 2. 식품 시료에서 빠른 정량 스크리닝의 결과 및 정성 스크리닝에서의 검출 가능성(계속)

번호	명칭	사과		아보카도		오이		복숭아		연어		토마토	
		정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성	정량	정성
99	Pirimiphos-methyl	10.0	○●	9.7	○●	9.9	○●	9.7	○●	9.9	○●	10.3	○●
100	Profenofos	10.1	○●	9.7	○●	9.8	○●	9.6	○●	9.7	○●	10.5	○●
101	Propoxur	11.2	○●	10.1	●	10.6	○●	9.1		10.2	○●	10.5	○●
102	Prothiofos	9.8	○●	8.1	○●	9.8	○●	9.8	○●	9.5	○●	10.1	○●
103	Pyrazophos	9.6	○●	9.3	○●	11.3	○●	8.9	○●	9.0	●	10.5	○●
104	Quinalphos	10.2	○●	9.6	○●	10.0	○●	9.7	○●	10.1	○●	10.4	○●
105	Quinomethionate	10.1	○●	>12	○●	10.2	○●	9.2	○●	10.4	○●	10.3	○●
106	Quizalofop-ethyl	10.5	○●	9.8	○●	9.7	○●	9.4	○●	9.7	○●	10.0	○●
107	Schradan (OMPA)	11.6	○●			9.9	○●	9.8	○●			10.6	○●
108	Tefluthrin	9.8	○●	9.8	○●	10.6	○●	9.7	○●	10.1	○●	10.9	○●
109	Terbufos	9.8	○●	10.5	○●	9.7	○●	9.9	○●	10.2	○●	10.2	○●
110	Terbufos sulfone	10.1	○●	10.6	○●	9.8	○●	9.5	○●	9.9	○●	10.1	○●
111	Tetrachlorvinphos	10.5	○●	10.2	○●	9.8	○●	9.5	○●	10.1	○●	10.2	○●
112	Tetradifon	9.9	○●	9.2	○●	10.2	○●	9.3	○●	11.5	○●	10.1	○●
113	Thiamethoxam	11.8	○●	10.4	○●	10.8	○●	8.7	○●	10.0	○●	9.7	○●
114	Thionazine	9.7	○●	10.6	○●	10.3	○●	10.1	○●	10.4	○●	9.9	○●
115	Triadimefon	10.0	○●	11.1	○●	9.6	○●	9.5	○●	9.4	○●	10.6	○●
116	Triadimenol	10.0	○●	10.2	○●	10.0	○●	10.2	○●	10.5	○●	10.1	○●
117	Triazophos	10.4	○●	9.1	○●	9.8	○●	9.7	○●	9.6	○●	9.8	○●
118	Trifluralin	9.7	○●	10.1	○●	9.8	○●	9.8	○●	10.1	○●	10.3	○●
119	Uniconazole-P	10.0	○●	10.1	○●	9.6	○●	9.9	○●	9.4	○●	10.2	○●
120	Vamidothion	11.3	●	10.2	○●	10.0		9.7	○●	10.0	○●	9.6	

정량 - 10(ng/mL)에서 각 농약에 대해 빠른 정량 분석 결과. 3회 반복 주입의 평균이 제시되었습니다.

정성 - 정성 스크리닝에서 자동 화합물 식별에 의한 검출 가능성

○ = 5(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

● = 10(ng/mL) 첨가 농도에서 식별된 농약

빈 셀 = 검출되지 않음

정성 스크리닝

정성 스크리닝은 PCDL로부터 농약당 최대 6가지 이온을 자동으로 추출하고, 이 중 최소한 두 가지는 동시 용리 점수 ≥ 70 와 $S/N \geq 3$ 을 가지는 EIC를 생성하도록 설정했습니다. 이러한 요구사항에 부합하는 화합물이 RT ± 0.15 분 이내에 있는 경우, 식별된 것으로 간주되었습니다. 정량 평가에 사용되었던 120종 농약과 동일한 혼합물이 이 접근법의 유효성을 평가하기 위해 사용되었습니다.

110종 이상의 농약이 5ng/mL로 첨가되었고, 조사된 모든 식품 매트릭스에서 10ng/mL로 주입된 116종이 식별되었습니다. 표 2는 각 농약에 대한 상세 결과를 나타냅니다. 가장 최근의 정성 분석(워크플로)은 높은 신뢰도를 가지고 화합물 식별을 확인하기 위해 RT 차이, EIC 동시 용리, 조각 이온 비율 일치도, 질량 정확도를 바탕으로 정성 스크리닝 결과를 포괄적으로 검토합니다. 표적 분석물질과 예기치 않은 화합물에 대한 자동 식별 결과를 검토하고 검증하기 위해 소프트웨어를 이용하는 방법론은 다른 곳에서 논의되었습니다[4].

머무름 시간 및 응답 재현성

RTL 백플러싱 기능이 분석법의 머무름 시간 및 응답 재현성을 보장했습니다. 5 및 10ng/mL 농약이 첨가된 복숭아, 아보카도, 연어 시료의 6회 반복 주입을 이용해 RT 및 응답 재현성을 평가했습니다. RT 표준 편차(SD)는 식별된 모든 농약에 대해 0.01분 미만이었습니다.

응답 재현성은 그림 5에 나오는 바와 같이 이 두 가지 첨가 농도에서 식별된 농약의 백분율 상대 표준 편차(%RSD)에 의해 입증되었습니다. 대부분 농약은 한자리 수 %RSD를 나타냈습니다. EIC는 두 종의 예제 화합물에 대해 나타냈습니다(그림 5).

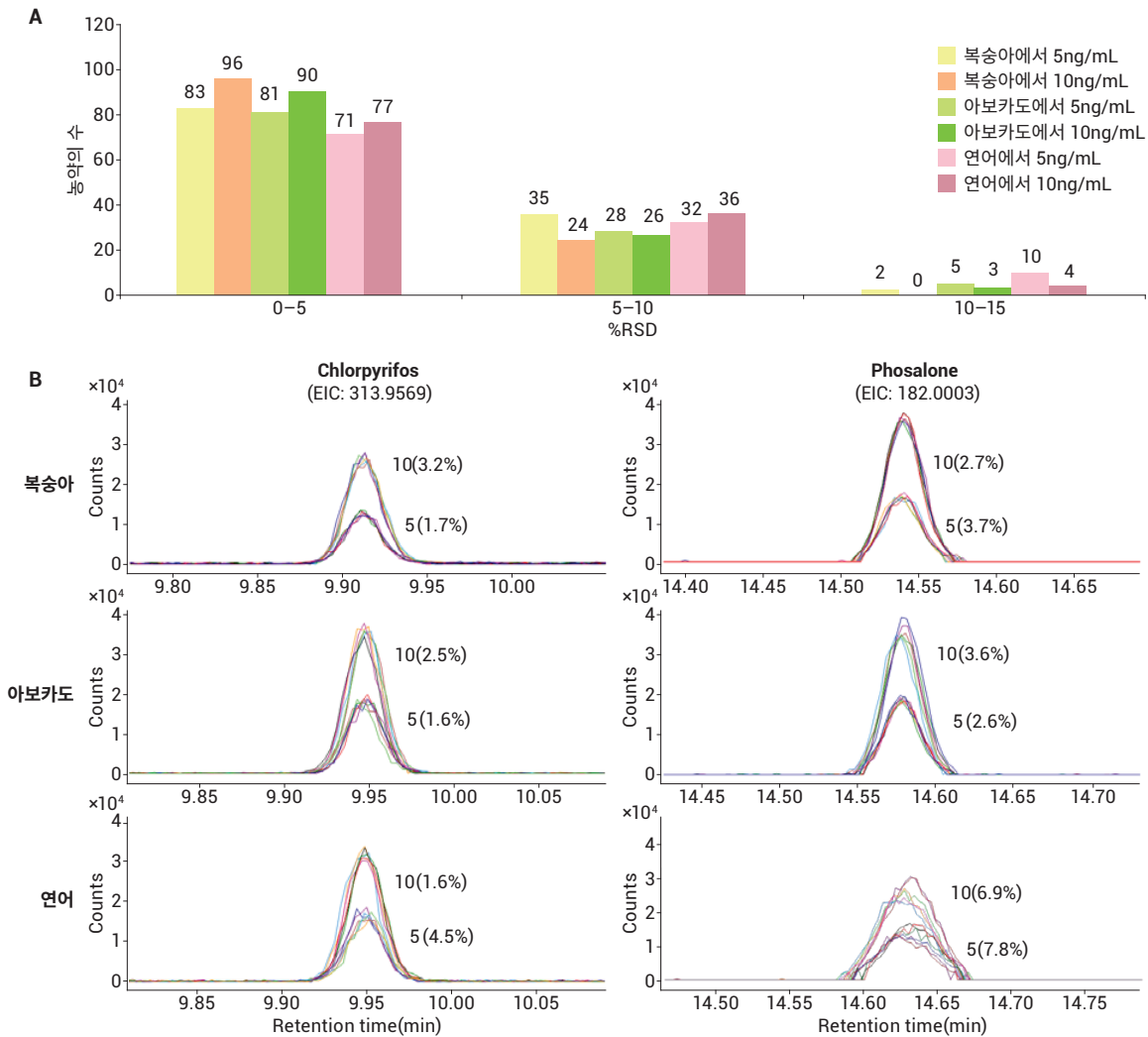


그림 5. 식품 매트릭스(A)에서 농약의 응답 RSD 및 6회 반복 주입에서 예제 화합물(B)의 EIC. EIC는 ± 25 ppm의 mass window로 추출되었습니다. 예제 EIC에 삽입된 숫자는 다음 형식을 따름: ng/mL 및 (%RSD)의 단위를 가진 농도.

또한, 백플러싱은 장기간 시스템 안정성을 보장하며, 이는 아보카도에 첨가된 5 및 10ng/mL 농약을 36회 주입까지 교대로 주입하여 평가되었습니다. 그림 6은 다양한 범주의 5종 예제 농약에 대한 장기간 응답 안정성을 보여줍니다. 또한, 이러한 화합물은 5.6분에 용리된 mevinphos부터 18.12분에 용리된 deltamethrin까지 넓은 RT 범위에 걸쳐있습니다.

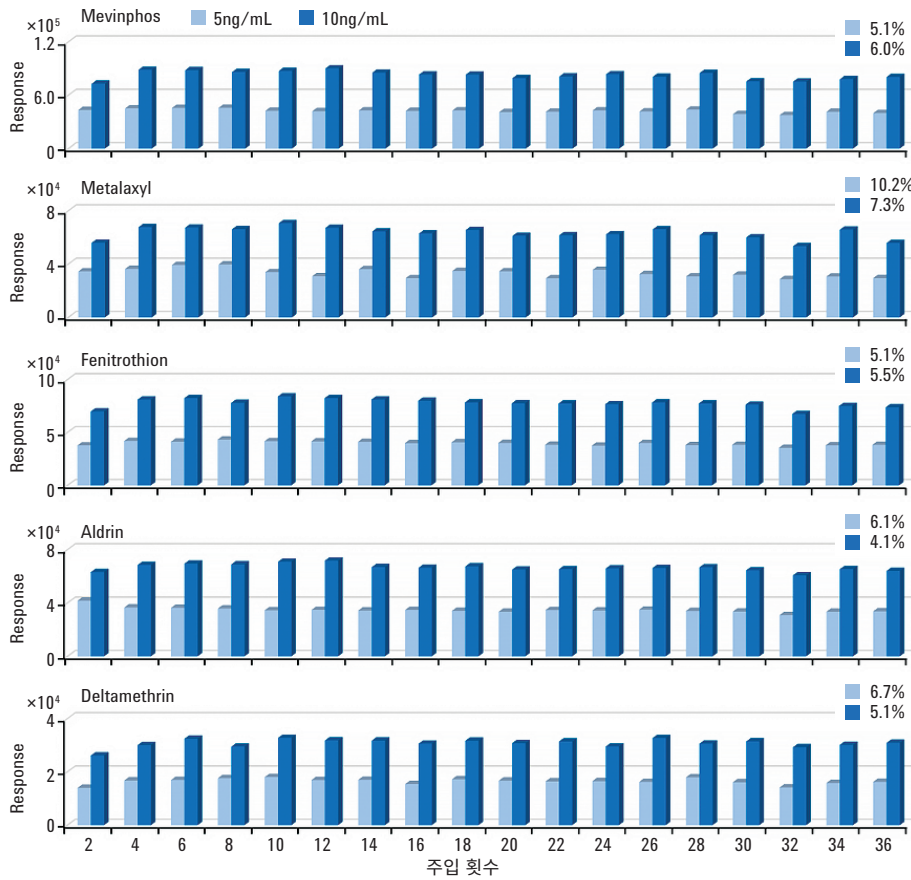


그림 6. 아보카도에서 장기 응답 안정성, 각 플롯에 %RSD로 나타냄

이온 비율

선택 이온의 상대 세기 또는 비율은 화합물 식별을 위한 중요한 요소입니다. PDCL에서 각 농약의 티 정확한 질량 GC/Q-TOF 스펙트럼은 이온 비율의 초기 참고값으로 사용하도록 이온 피크의 상대 존재비를 제공합니다. 식별된 농약의 90% 이상은 상응하는 라이브러리 스펙트럼과

상대 이온 비율 차이가 30% 이내인 최소 하나 이상의 식별된 이온이 있었습니다. 거의 모든 식별된 농약의 상대 이온 비율은 매트릭스 일치 검량 용액을 이용해 측정된 스펙트럼과 비교할 때 차이가 <30% 이내였습니다. 그림 7은 서로 다른 농약 범주에서 예제별로 이온 비율의 안정성을 설명합니다.

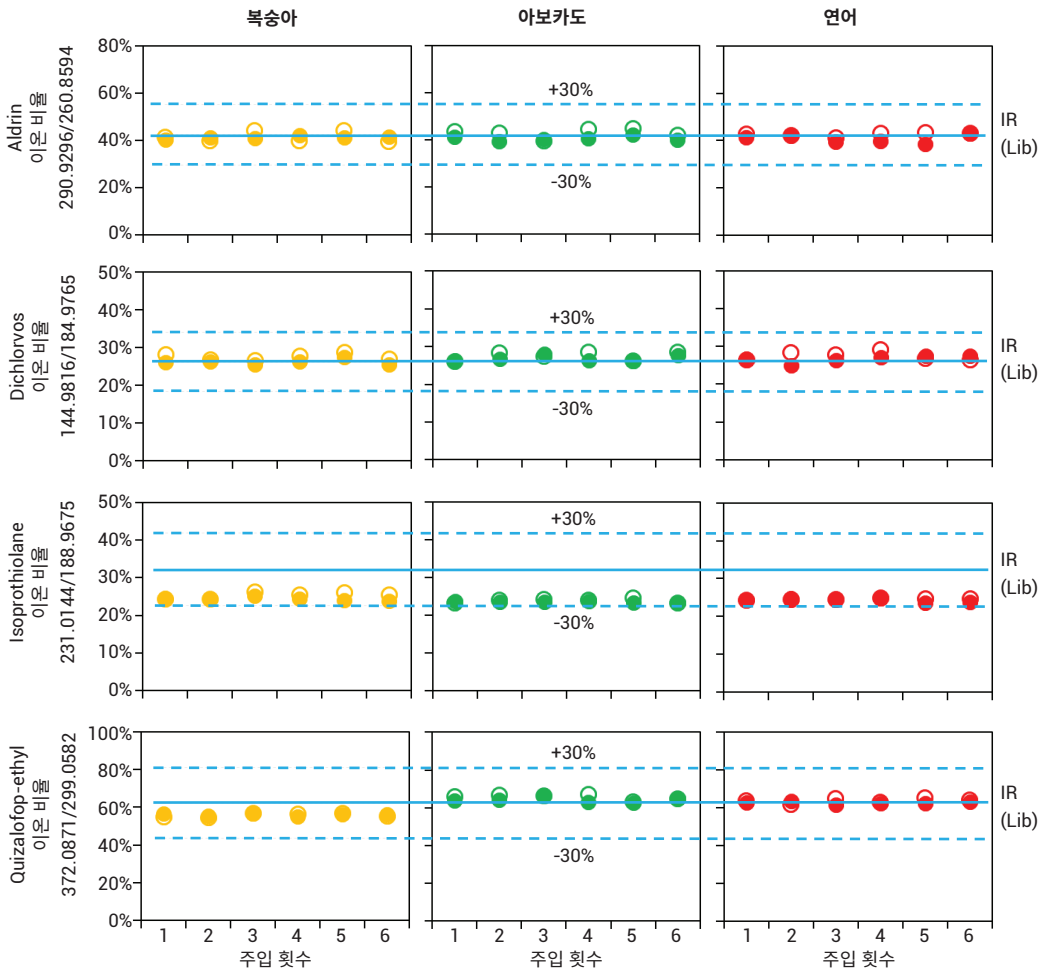


그림 7. 식품 시료에서 이온 비율(IR) 안정성

질량 정확도

GC/Q-TOF에 의한 이 농약의 분석은 조사된 모든 매트릭스에 대해 우수한 질량 정확도를 나타냈습니다(표 3). 각 농약의 질량 정확도는 전체 크로마토그래피 피크에서 추출된 평균 스펙트럼을 이용해 계산되었습니다. 질량 정확도가 >5ppm인 농약의 경우, 대부분은 상응하는 EIC에 대해 S/N ≥ 3인 세 개 이상의 이온이 식별되었고, 참고 스펙트럼에 대비 <30%의 상대 이온 비율 차이가 있었으며, 따라서 주요 지침의 식별 기준에 부합했습니다.

표 3. 식품 시료내 10ng/mL에서 질량 정확도의 요약

매트릭스	농약 수 (질량 정확도 <5ppm)
사과	120
아보카도	108
복숭아	117
연어	107
토마토	118

결론

고분해능 정확한 질량 GC/Q-TOF를 이용한 정량 및 정성 스크리닝 모두에 대한 워크플로는 다양한 식품 시료에서 농약을 스크리닝하는 데 성공적으로 적용되었습니다. 이는 실험실이 필요에 따라 정량 및 정성 접근법을 혼합하여 광범위한 스크리닝을 수행할 경우 유연성 있는 전략을 사용할 수 있음을 보여줍니다.

농약 식별의 신뢰도는 RTL 백플러시 분석법 및 고분해능 정확한 질량 측정을 이용한 결과로 안정적인 RT, 재현성 있는 응답 및 우수한 질량 정확도에 의해 향상됩니다. 최신 Agilent MassHunter Quantitative 소프트웨어(SureMass 기능 포함)의 새로운 데이터 처리 알고리즘을 이용해 검량 직진성 범위도 늘어났습니다. GC/Q-TOF 시스템 및 워크플로는 식품 시료에서 광범위한 잔류농약을 일상적으로 스크리닝하는 데 적합한 유망 솔루션입니다.

참고문헌

1. SANTE/11945/2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed (2015).
2. P. L. Wylie, J. Stevens, S. Nieto, Screening for More Than 740 Pesticide Residues in Food Using an Agilent GC/Q-TOF and an Exact Mass Pesticide Library, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5633EN (2015).
3. A.R. Fernández-Alba, S. Uclés, J. Riener, Screening for Hundreds of Pesticide Residues Using a GC/Q-TOF with an Exact Mass Pesticide Database in Food, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5894EN (2015).
4. K. Chen, J. Stevens, S. Nieto, GC/Q-TOF Screening of Pesticides in Food - Searching and Verification using Agilent MassHunter GC/Q-TOF Pesticide Personal Compound Database and Library, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6884EN (2016).
5. S. J. Lehotay, Y. Sapozhnikova, H. G. J. Mol. "Current issues involving screening and identification of chemical contaminants in foods by mass spectrometry" *Trends Anal. Chem.* **60**, 62-75 (2015).

자세한 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트의 제품 및 서비스에 대한 자세한 정보는 애질런트 웹 사이트 (www.agilent.com/chem)를 방문하십시오.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 자료에 포함된 오류 또는 자료의 제공, 이행 또는 사용 등과 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., 2017
2017년 2월 10일
한국에서 발행
5991-7691KO

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



Agilent Technologies