

차와 꿀 내의 농약에 대한 유럽 연합의 최대 잔류허용기준 규제 충족

저자

Jessica Westland
Agilent Technologies, Inc.

개요

농약 사용이 증가함에 따라 환경주의자, 규제 당국 및 소비자 사이에 우려 수위가 높아지고 있습니다. 수요가 늘어나면서 농약의 사용이 증가하고, 미흡한 농산물 관리 인증이 확대됨에 따라 식품 공급과 환경에의 위험이 커지고 있습니다. 전 세계의 규제 기관들은 식품 내 또는 식품 표면에서 발견될 수 있는 농약의 최대 잔류허용기준(MRL)에 관한 규제를 제정하였습니다. 미국 MRL은 매트릭스와 대상 농약에 따라 0.02ppm~100ppm 범위에 있으며, 유럽위원회는 기본 값으로 0.01ppm을 설정하고 있습니다¹. 농약 분석의 복잡성, 낮은 정량 한계와 MRL 범위 때문에 합리적인 선형 범위 및 낮은 검출 한계를 가지는 다성분 잔류 농약 정량 분석법이 필요합니다. 이러한 이유로 탠덤 질량 분석기(MS/MS)는 저농도 농약 스크리닝, 확인 및 정량에 사용됩니다. 이 분석기는 낮은 정량 한계를 제공할 뿐만 아니라 높은 선택성으로 매트릭스 간섭을 최소화할 수 있습니다². 본 응용 자료는 Agilent Intuvo 9000 가스 크로마토그래피(GC) 및 Agilent 7000C QQQ 가스 크로마토그래피/질량 분석(GC/MS) 시스템을 이용한 루스 리프 홍차 및 유기농 꿀에 대한 다성분 잔류 농약 분석에 대해 평가합니다. 표적 농약에 대한 검량선은 5 ~ 500ppb의 농도 범위에서 우수한 직선성(화합물 중 97%의 $R^2 \geq 0.990$)을 나타냈습니다. 꿀에서 분석한 모든 화합물의 경우, 정량 한계(LOQ)가 7ppb 미만인 것으로 확인되었으며, MRL은 10~50ppb 사이입니다. 차에서 분석된 화합물 중 94%의 LOQ는 100ppb 미만인 것으로 확인되었으며, MRL은 20~200ppb 사이입니다. 분석한 모든 농약의 반복 측정 %RSD는 30%미만이고 회수율 오류는 30% 미만이었습니다.

서론

Intuvo 9000 GC의 출시에 따라, 이제 사용이 간편한 가스 크로마토그래피 플랫폼을 사용할 수 있습니다. Intuvo에는 모듈식 유동 경로와 Guard Chip이 장착되어 있어, 다운스트림 구성 요소가 오염되지 않도록 보호하고 컬럼을 자를 필요가 없습니다. 이를 통해 많은 실험실의 유지보수 모델을 크게 단순화하고 분석당 비용을 절감할 수 있습니다. 그러나, 이것은 오늘날 실험실들이 직면하고 있는 과제의 일부분만을 해결할 것입니다. 기기 구성 및 분석법 개발에는 여전히 해결해야 할 과제가 남아 있습니다. 전 세계 식품 분석 실험실의 현재와 미래의 요구를 충족시키기 위해, 식품 내 농약 분석을 위한 최적의 구성과 기본 스크리닝 분석법을 제공하는 전체 워크플로가 요구됩니다.

Intuvo GC/TQ(G9233AA)용 애질런트 농약 워크플로 키트는 Intuvo-GC/TQ 시스템에서 다성분 잔류 농약 분석을 새로 생성하거나 기존 분석을 수정하는 과정을 안내하는 포괄적인 도구입니다. 본 분석에는 이 키트를 사용하였습니다.

실험

시료 전처리

다중 반응 모니터링(MRM)을 사용해 크로마토그램의 매트릭스 간섭은 줄일 수 있지만, 시료에서 매트릭스를 제거하지는 않습니다. 매트릭스를 주입하면 신호는 감소하고 테일링이 발생할 수 있습니다³. 이는 식품 내의 잔류 농약을 분석하기 위해 일정 수준의 시료 전처리가 수행되어야 한다는 것을 의미합니다. 최소한 시료는 균질한 상태에 있어야 하며, 크로마토그래피에 적합한 용매로 추출해야 합니다. 일반적으로 농약 추출은 빠르고 쉽고 경제적이며 효과적이고 견고하고 안전한 (QuEChERS) 추출 분석법을 사용합니다. 이는 QuEChERS 추출 분석법이 단일 acetonitrile 추출과 동시에 magnesium sulfate를 이용해 염을 제거하기 때문입니다.

때로는 분산형 고체상 추출(dSPE)을 사용하여 추가 정제를 수행합니다⁴. 유기농 꿀(높은 설탕 함량)과 루즈 리프 홍차(복합물)는 각각 매트릭스 cleanup에 다양한 dSPE 기법을 사용하는 특정 QuEChERS 분석법을 사용하여 추출했습니다(그림 1).

기기

모든 분석은 Agilent 7693B 자동 시료 주입기와 7000C QQQ GC/MS를 장착한 Intuvo 9000 GC에서 수행되었습니다(그림 2). Intuvo 9000 비활성 유동 경로는 두 개의 Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert Intuvo GC 컬럼(15m × 0.25mm, 0.25µm; p/n 19091S-431UI-INT)을 장착한 중간 컬럼 백플러시(p/n G4588-60721)로 구성되었습니다.

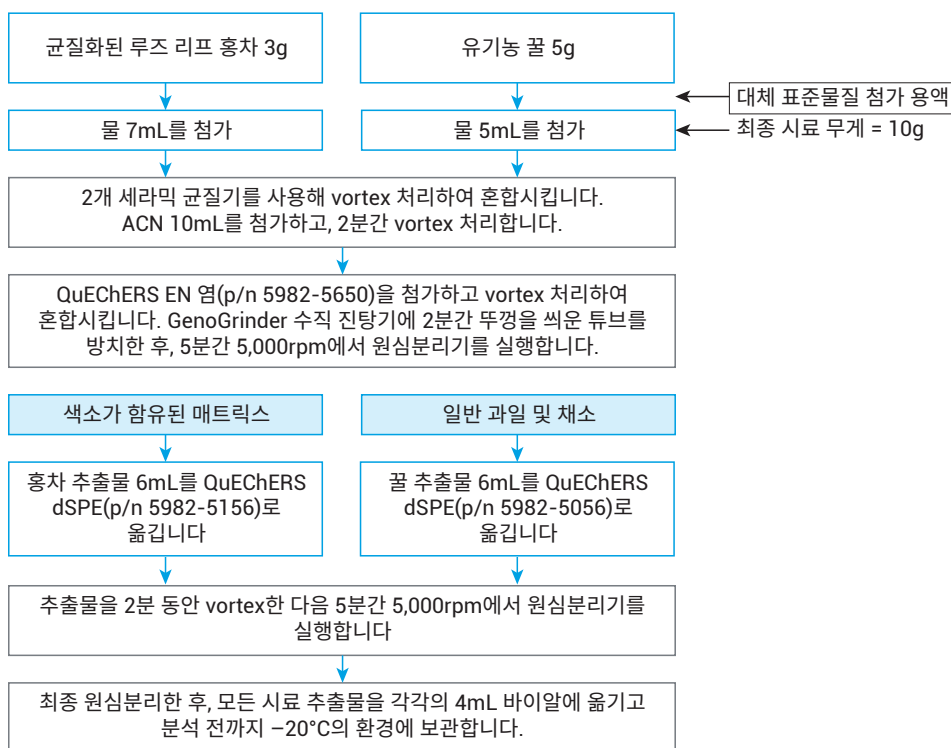


그림 1. QuEChERS 시료 전처리 분석법

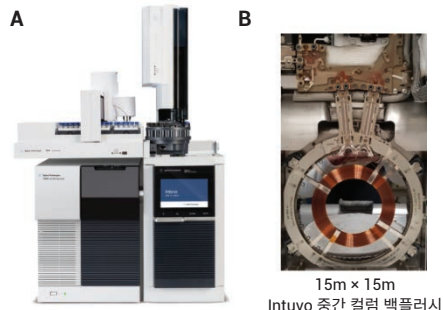


그림 2. A) 7693B 자동 시료 주입기와 7000C Triple Quadrupole GC/MS를 갖춘 Intuvo 9000 GC 및 B) 다성분 잔류 농약 워크플로를 위한 Intuvo 컬럼 구성

표 1은 GC/MS/MS 분석법 파라미터를 보여줍니다. 또한 Intuvo는 4mm Agilent Ultra Inert, 비분할, 싱글 테이퍼, 유리솜 라이너(p/n 5190-2293) 및 MMI Guard Chip(p/n G4587-60665)을 장착한 멀티모드 주입구(MMI)로 구성되었습니다.

표 1. GC/MS/MS 분석법 파라미터

파라미터	값
Intuvo 9000 GC	
비활성 유동 경로 구성	중간 컬럼 백플러시
시린지	10µL(p/n G4513-80220); PTFE-팁 플런저
용매 세척	주입 전
	3× 용매 A, acetonitrile(3µL)
	3× 용매 B, acetonitrile(3µL)
	주입 후
	3× 용매 A, acetonitrile(3µL)
	3× 용매 B, acetonitrile(3µL)
시료 세척	0
시료 펌핑	1
샌드위치 주입	역방향 3단 전환(L3,L1,L2)
	L1(표준물질 또는 시료) 0.5µL
	L2(ISTD) 0.5µL
	L3(매트릭스) 0.5µL
운반 가스	He
주입구	MMI
주입 모드	펄스 비분할
분할 배출구 퍼지 유속	1분에 30mL/분
샘플 퍼지 유속	3mL/분
가스 절약 모드	2분 후 20mL/분
Intuvo Guard Chip	Track oven
컬럼	Agilent Intuvo HP5-MS UI(19091S-431UI-INT)
컬럼 1 유속	1.2mL/분
컬럼 2 유속	1.4mL/분
오븐 온도 프로그램	60°C(1분 유지), 그 다음 40°C/분으로 170°C까지, 그 다음 10°C/분으로 310°C까지(3분 유지)
중간 컬럼 백플러시	
타이밍	분석 후 5분간
오븐 온도	310°C
Aux EPC 압력	약 30psi
주입구 압력	약 2psi
7000C QQQ GC/MS/MS	
튠 파일	atunes.eiex.tune
이송 라인	280°C
이온화원 온도	280°C
사중극자 온도	150°C
충돌 셀 가스 유속	1.5mL/분 N ₂ 및 2.25mL/분 He
스캔 유형	dMRM
전자 에너지	70eV
EM gain	10
MS1 및 MS2 분해능	넓음
정량/정성 전이	P&EP Intuvo MRM 데이터베이스
오른쪽 및 왼쪽 RT 델타	0.2분
측정 시간	dMRM에 의해 최적화됨
최소 측정 시간(ms)	10
주기/초	3.07

결과 및 토의

Intuvo 9000 GC 및 7000C QQQ GC/MS 시스템은 EU MRL 요건에 따라 루즈 리프 홍차와 유기농 꿀 추출물 내의 낮은 ppb 수준의 잔류 농약을 확인 및 정량할 수 있습니다. 표 2와 표 3은 선택된 표적 화합물에 대한 데이터를 보여줍니다.

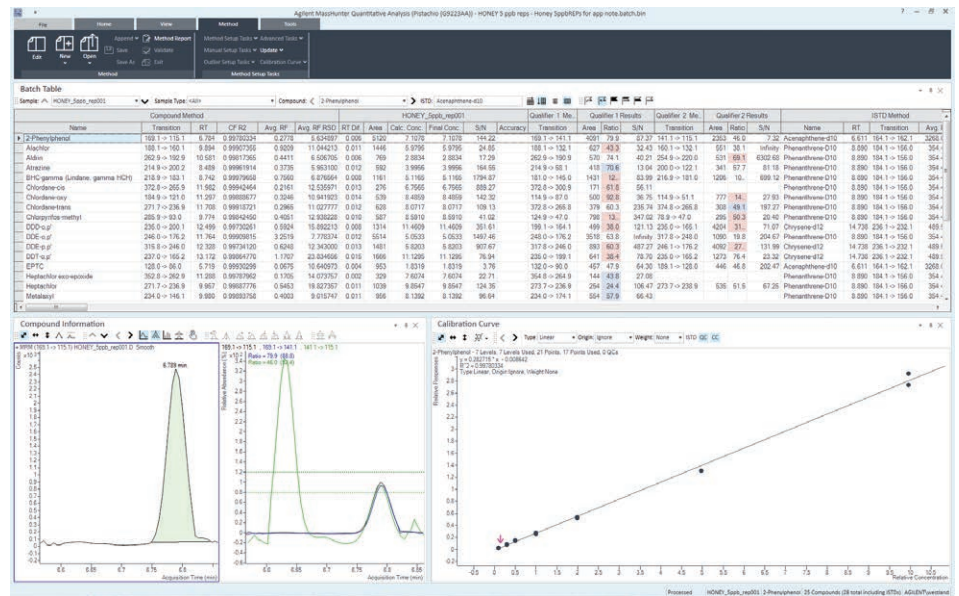


그림 3. Quant-My-Way Flavor Pistachio(G9223AA) 표시; Intuvo/TQ용 농약 워크플로 키트와 함께 제공됨

표 2. 루즈 리프 홍차에 대한 데이터 결과

화합물	차에 대한 결과		
	EU MRL(ppb)	MDL(ppb)	iLOQ(ppb)
Aldrin	20	6.15	16.42
Atrazine	100	0.09	0.30
Alachlor	50	3.39	12.46
2-Phenylphenol	100	5.63	19.96
Chlordane	20	12.03	9.77
Chlorpyrifos-methyl	100	0.17	0.45
DDT	200	151.34	150.81
Heptachlor	20	0.16	0.34
Metalaxyl	50	1.93	7.10
Metolachlor	50	0.04	0.12
Myclobutanil	50	5.85	21.53
EPTC	50	1.17	3.74
Propyzamide	50	0.40	1.20
Propachlor	100	0.36	1.20
Simazine	50	0.10	0.30
Permethrin	100	4.49	13.24
Triadimefon	50	3.80	13.97

표 3. 유기농 꿀에 대한 데이터 결과

화합물	꿀에 대한 결과		
	EU MRL(ppb)	MDL(ppb)	iLOQ(ppb)
Aldrin	10	0.39	1.43
Atrazine	50	0.21	0.77
Alachlor	50	0.89	3.28
2-Phenylphenol	50	0.16	0.60
Chlordane	10	0.64	0.30
Chlorpyrifos-methyl	n/a	0.34	1.24
DDT	50	2.94	2.53
Heptachlor	10	0.45	1.65
Metalaxyl	50	0.43	1.59
Metolachlor	50	1.31	4.80
Myclobutanil	50	0.35	1.27
EPTC	20	0.04	0.15
Propyzamide	50	1.37	5.03
Propachlor	20	0.02	0.09
Simazine	10	0.29	1.06
Permethrin	n/a	0.21	2.92
Triadimefon	50	0.42	1.54

결론

Intuvo/TQ(G9233AA)용 농약 워크플로 키트는 Intuvo GC/TQ 시스템에서 다성분 잔류 농약 분석을 새로 생성하거나 기존 분석을 수정하는 과정을 안내하는 포괄적인 도구입니다. 이 키트는 EU MRL을 충족하기 위해 다성분 잔류 농약 분석을 수행하는 데에 사용되었습니다. 루즈 리프 차 및 유기농 꿀에서 표적 농약의 검량선은 5 ~ 500ppb의 농도 범위에 대해 우수한 직선성(화합물 중 97%의 $R^2 \geq 0.990$)을 나타냈습니다. 꿀에서 분석한 모든 화합물에 대한 LOQ는 7ppb 미만이었습니다. 차에서 분석한 94%의 화합물에 대한 LOQ는 100ppb 미만이었습니다. 분석한 모든 농약의 반복 측정 %RSD는 30%미만이고 회수율 오류는 30% 미만이었습니다. Intuvo 9000 GC 및 7000C Triple Quadrupole GC/MS는 EU MRL 요건에 따라 복잡한 추출물 내의 낮은 ppb 수준의 잔류 농약을 확인 및 정량할 수 있습니다.

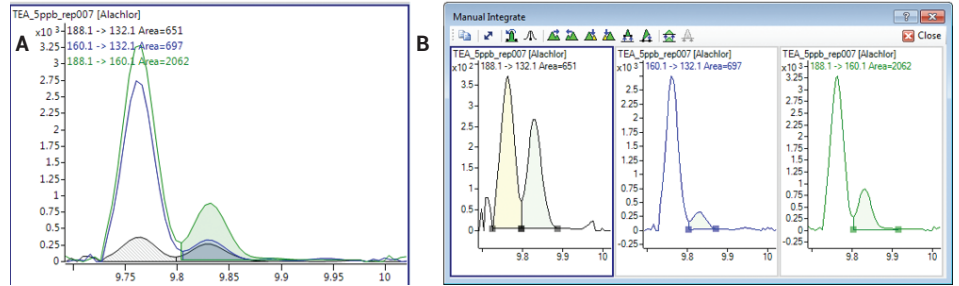


그림 4. 차에서 5ppb 농도의 Alachlor: A) MRM 전이의 오버레이 및 B) 각 전이의 뷰

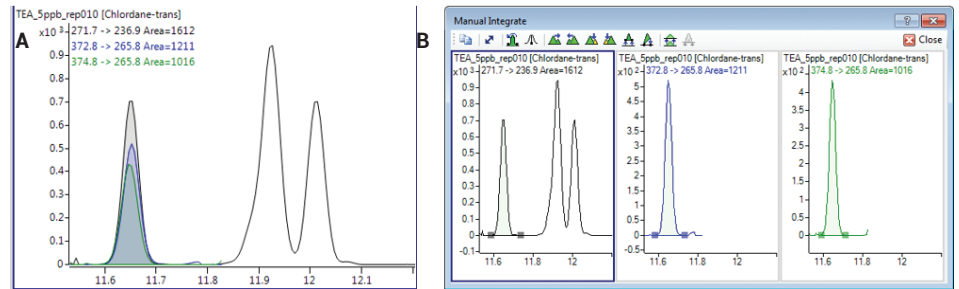


그림 5. 차에서 5ppb 농도의 *trans*-Chlordane: A) MRM 전이의 오버레이 및 B) 각 전이의 뷰

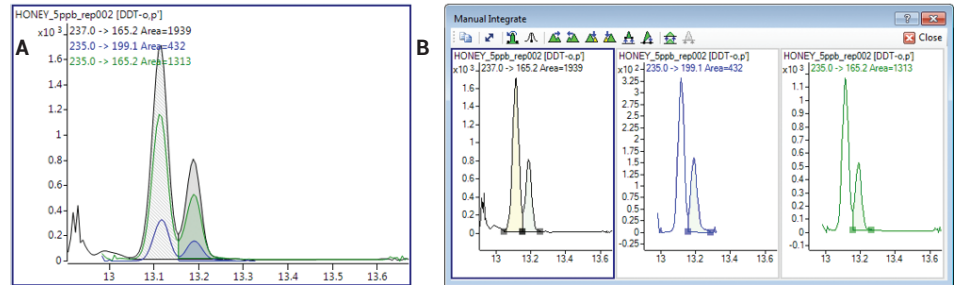


그림 6. 꿀에서 5ppb 농도의 DDT-*o,p'*: A) MRM 전이의 오버레이 및 B) 각 전이의 뷰

참고문헌

1. Maximum Residue Limits Database. (2016, July 7). Retrieved from United States Department of Agriculture Foreign Agriculture Service: <https://www.fas.usda.gov/maximum-residue-limits-mrl-database>.
2. Churley, M. Lowering Detection Limits for Routine Analysis of Pesticides Residues in Foods Using the Agilent 7000C Triple Quadrupole GC/MS, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-4131EN, **2015**.
3. Veeneman, R. Multiresidue Pesticide Analysis with the Agilent Intuvo 9000 GC and Agilent 7000 Series Mass Spectrometer, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7216EN, **2016**.
4. Churley, M. Reduce Cost of Pesticide Residue Analysis, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6069EN, **2015**.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2018
2018년 5월 29일, 한국에서 인쇄
5991-9238KO

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

