

Agilent 6546 LC/QTOF를 이용한 잔류농약 정량 및 스크리닝 동시분석법

저자

김지훈, 최나영, 우지훈
 한국애질런트테크놀로지스 (주)

개요

식품 중 잔류하는 농약의 안전한 관리를 위하여 전세계 많은 나라들이 잔류농약 PLS(Positive List System) 제도를 채택하고 있습니다. 국내도 2016년 12월 31일 견과종실류 및 열대과일류에 잔류농약 PLS 제도를 최초 적용한 뒤, 2019년부터는 모든 농산물에 확대 시행하고 있습니다.

한국애질런트에서는 잔류농약 PLS 대응을 위한 보다 효율적인 분석방법을 제공하고자, 고분해능 질량 분석기를 이용한 잔류농약 정량 및 스크리닝 동시분석법을 국내 시험법에 맞춰 최적화하였습니다.

최적화된 분석법은 Agilent 1290 LC/6546 QTOF 장비를 이용한 분석법으로써, 애질런트 농약 PCDL(Personal Compound Database and Library)을 이용하여 표준품이 있는 농약 성분은 정량분석을 수행하고, 동시에 표준품이 없는 농약 성분은 Screener를 이용하여 검출 여부를 판별하는 분석법입니다. 또한, QTOF에서 생성된 고분해능 질량 분석 데이터는 기존 QQQ Mass Spectrometer 분석에서 발생 가능한 위양성(False positive) 문제를 해결할 수 있도록 지원합니다.

정량분석 성능 확인을 위하여, 농약 237 성분에 대한 기기적 검출한계(ILOD, Instrument Limit of Detection)와 검량 직선성을 평가한 결과, 기기적 검출한계는 평균 0.63ppb(ng/mL)였으며, 검량 직선성은 검량 범위(5~100ppb)에서 평균 0.995 수준이었습니다.

정량 및 스크리닝 동시분석 성능 확인을 위하여, 5개 매질 시료에 정량용 214 성분과 스크리닝용 38 성분이 함유된 혼합표준품을 농도별(10, 20, 100ppb)로 주입한 뒤 실험하였습니다. 그 결과 정량용 214 성분의 경우, 전체 성분 중 82.4%가 검출 회수율 70%~120% 이내를 만족하였으며, 정량 성분에 대한 스크리닝에서는 99.6%의 성분이 검출 가능 성분으로 판별되었습니다.

스크리닝용 38 성분의 경우, 표준품 없이 데이터베이스만으로 검출(93.7%), 의심(4.6%), 불검출(1.7%)을 나타내어 최종 98.3% 성분이 검출 가능 성분으로 분류되었습니다. 검출 가능 성분들에 대한 Screener 소프트웨어에서의 Mass Match Score는 평균 97점이었고, 모분자 이온에 대한 측정 질량값의 정확도는 평균 오차 0.45ppm, 표준편차 1.23이었습니다.

서론

잔류농약 PLS 제도는 국내외 합법적으로 사용된 농약의 경우 잔류허용기준으로 관리를 하고, 그 이외 기준이 없는 농약은 0.01mg/kg(불검출 수준) 이하로 관리하는 제도입니다.

PLS 제도 시행으로 인하여 모든 농약이 분석 대상 성분이 되었지만, 분석법의 부재, 특히 표준품의 부재 등으로 인하여 PLS 대응을 위한 잔류농약 분석에는 현실적인 많은 한계가 존재하고 있습니다.

한국 애질런트에서는 잔류농약 PLS 규제 대응을 위한 효율적인 분석법을 제공하고자, 국내 LC/QQQ(Triple Quadrupole)를 이용한 잔류농약 다성분 시험법과 동일한 분석조건에서 고분해능 질량 분석 데이터베이스(PCDL)를 최적화하였고, 정량 및 스크리닝을 동시에 수행할 수 있는 분석조건을 개발하였습니다.

개발된 분석조건은 Agilent 1290 LC/6546 QTOF(Quadrupole Time of Flight) 기기를 기준으로 최적화하였으며, Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어를 사용함으로써 기존 QQQ를 이용한 정량분석과의 호환성을 높였습니다. 또한 정량 소프트웨어에 내장된 Screener를 이용하여 정량과 동시에 표준품이 없는 잔류농약 성분들도 빠르고 편리한 검출 판별이 가능하도록 하였습니다.

최적화된 분석조건에 대한 평가를 위하여 두 가지 방법으로 실험을 진행하였습니다.

첫 번째는 정량 성능 확인을 위한 실험으로써, 검량선용 표준품(237 성분)을 이용한 기기적 검출한계와 검량 직선성을 산출하였고, 또한 대표 매질에 검량 표준품 중 일부인 214 성분을 첨가한 후 기기적 검출 회수율을 확인하였습니다. 이때 선정된 대표 매질은 [식품 등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드라인(식품의약품안전평가원, 2016)]에 따른 잔류농약 대표작물(현미, 감자, 대두, 감귤, 고추) 5종으로 하였으며, 평가를 위한 표준품 첨가 농도는 잔류농약 다성분 분석법 개발시 시험 농도로 적용되었던 저, 중, 고[10, 20, 100ppb(ng/mL)] 3단계 농도를 사용하였습니다.

두 번째는 스크리닝을 통한 검출 판별 성능 평가를 위한 실험으로써, 대표 매질 시료 중 검량선에 포함된 214 성분과 포함되지 않은 38 성분에 대하여 각각 매질별, 농도별 검출 판별 여부를 확인하였습니다.

실험

정량 성분과 스크리닝 성분

분석성분은 크게 정량용 성분과 스크리닝 성분으로 구분하여 실험을 진행하였습니다.

정량용 성분은 생산단계 농산물 잔류농약 다성분시험법(463종)의 LC/MSMS 성분 중 양이온 모드로 분석되며, Agilent PCDL에 존재하는 237 성분을 대상으로 하였으며, 해당 성분에 대한 기기적 검출한계 및 검량 직선성을 실험하였습니다.

스크리닝 성분은 유통단계 식품 중 잔류농약 다성분시험법(510종)에 해당되는 LC/MSMS 분석 대상 성분을 기준으로 하였습니다. 이 때 검량선 분석 성분과 동일한 214 성분은 스크리닝 검출 판별과 함께 정량분석을 동시에 진행하였고, 검량선 성분에 포함되지 않는 38 성분은 PCDL을 이용한 스크리닝 검출 판별만을 진행하였습니다.

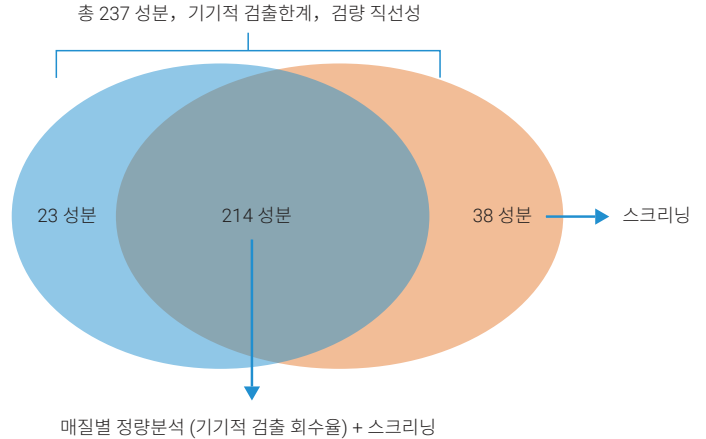


그림 1. 정량과 스크리닝 동시분석 성능 평가에 사용된 농약 성분 구성.

표준품 및 시료 정보

실험에 사용된 모든 시약은 LC/MS 등급을 사용하였으며, 표준품은 (주)케미다스에서 공급하는 잔류농약 다성분 463종 및 510종 그룹별 혼합표준품을 사용하였습니다.

463종 다성분시험법 표준품 중 237 성분을 검량선 작성용 표준품으로 하였으며, 아세토나이트릴을 이용한 단계적 희석 방법으로 총 5단계[5, 10, 20, 50, 100ppb(ng/mL)]로 제조한 후 사용하였습니다.

대표 매질로 사용된 5종 농산물은 국립농산물품질관리원 / 농산물 잔류농약 다성분 분석방법 / 1.다성분 분석법(463종) 시험법에 따라 추출 및 전처리 후 분석용 시료로 하였습니다. 실험에 사용된 5종 농산물은 사전 실험을 통하여 분석대상 성분의 불검출을 확인한 후 사용하였으며, 일부 검출된 성분의 경우 검출값을 결과에 보정하였습니다.

표 1. 각 대표 매질 5종 시료의 농도별 제조 방법.

농도	제조방법
저농도 10ppb(ng/mL)	혼합표준액 100ppb 50μL + 매질별 추출액 450μL 최종 90% 추출액이 함유된 대표 매질 5종의 시료 제조
중농도 20ppb(ng/mL)	혼합표준액 200ppb 50μL + 매질별 추출액 450μL 최종 90% 추출액이 함유된 대표 매질 5종의 시료 제조
고농도 100ppb(ng/mL)	혼합표준액 1,000ppb 50μL + 매질별 추출액 450μL 최종 90% 추출액이 함유된 대표 매질 5종의 시료 제조

분석 기기 및 조건

빠르고 안정적인 분리를 위하여 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템을 사용하였으며, 농약류와 같은 저분자량 성분의 고감도 검출 및 고분해능 분석에 최적화된 Agilent 6546 QTOF를 사용하였습니다. 또한 잔류농약 스크리닝 전용 소프트웨어 (Screener)가 탑재된 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어(ver.12.0)를 사용하였습니다.

표 2. Agilent 1290 HPLC 분석조건.

Agilent 1290 Infinity II UHPLC 시스템 (펌프: Binary)				
컬럼	Zorbax Eclipse Plus C18, 2.1 x 100mm, 1.8-Micron (P/N: 959758-902)			
컬럼 온도	40°C			
주입량	3µL (자동희석법을 통한 주입 적용*)			
이동상	A: 0.1% Formic acid + 5mM Ammonium acetate in DW B: 0.1% Formic acid + 5mM Ammonium acetate in MeOH			
그라디언트	시간(분)	A	B	컬럼 유속
	0	95	5	0.4mL/분
	0.5	95	5	0.4mL/분
	1	60	40	0.4mL/분
	5	40	60	0.3mL/분
	13	10	90	0.3mL/분
	13.1	2	98	0.3mL/분
	17	2	98	0.4mL/분
	17.1	95	5	0.4mL/분
	18.5	95	5	0.4mL/분

* 자동희석법은 응용자료(Agilent 6470B QQQ LC/MS 자동희석법을 이용한 농산물 중 잔류농약 226종 다성분 분석 솔루션, 5994-4925KOKR)에서 확인할 수 있습니다.

표 3. Agilent 6546 QTOF 분석조건.

Agilent 6546 QTOF	
이온화원	ESI, Agilent Jet Stream 포함
수집 모드	MS only (CE: 0, 20, 40)
건조 가스 온도	180°C
건조 가스 유속	12L/분
Nebulizer 압력	30psi
Sheath 가스 온도	370°C
Sheath 가스 유량	12L/분
캐필러리 전압	3500V
Fragmentor 전압	120V
극성	양이온
MS 스캔 범위	50~1000m/z
참조 질량	121.0509, 922.0098m/z

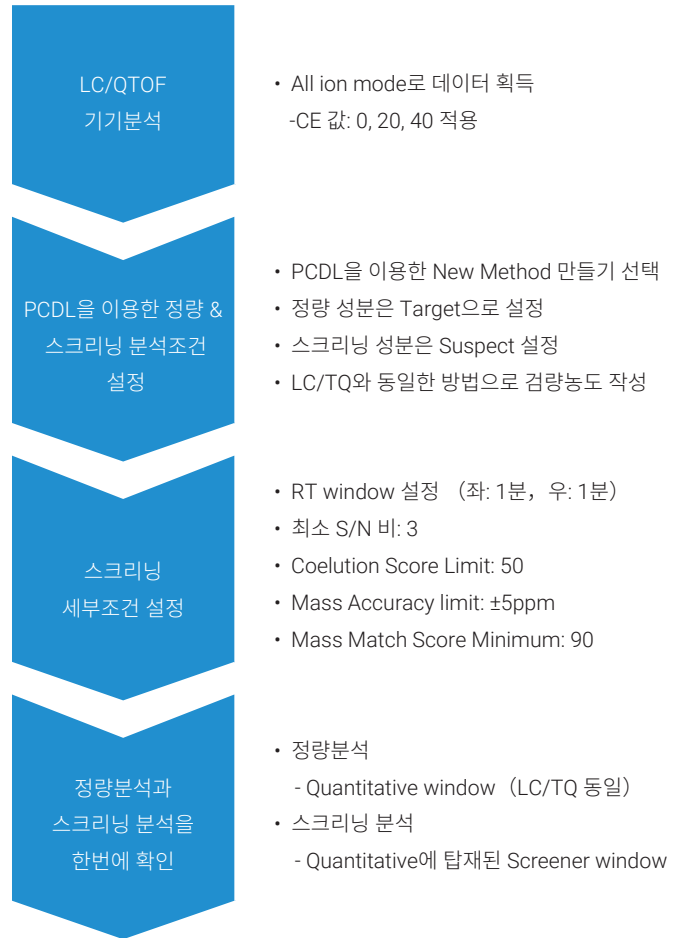


그림 2. LC/QTOF에서의 잔류농약 정량과 스크리닝 동시분석 Workflow.

결과

MassHunter Quantitative 소프트웨어를 이용한 정량분석과 스크리닝 동시분석

Quantitative 소프트웨어에서는 표준품이 있는 성분에 대한 정량분석과 동시에 내장된 Screener를 이용하여 표준품이 없는 성분에 대한 스크리닝을 동시에 수행할 수 있습니다. Screener에서는 Mass Match Score, Mass Accuracy를 포함하여 R.T. Difference 값 등 다양한 정성 확인 정보를 자동 분석하여 표준품이 없는 성분들에 대한 검출 판별 결과를 제시해 드립니다. 또한 이러한 Screener에서의 정보는 정량 성분들에 있어서 발생 가능한 위양성 (False Positive) 문제를 해결할 수 있는 고분해능 질량 분석 결과를 함께 제공하고 있습니다.

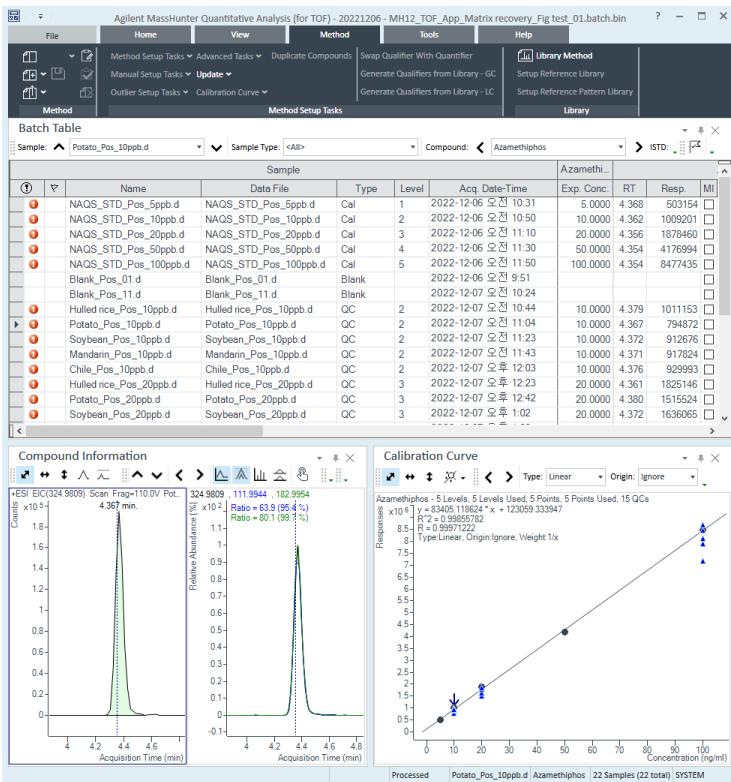


그림 3. MassHunter Quantitative 소프트웨어에서의 정량과 스크리닝 동시분석 화면.

기기적 검출한계 산출

Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어는 연속 분석된 결과를 이용하여 자동으로 검출한계를 산출하는 기능을 지원합니다. 해당 기능을 활용하여 검량선 최저농도 5ppb(ng/mL) 혼합표준품을 8회 연속 분석한 후 기기적 검출한계를 산출하였습니다.

기기적 검출한계는 평균 0.63ppb 수준으로 나타났으며, 분석대상 성분 중 83%에 해당되는 197 성분이 검출한계 1ppb 미만이었으며, 61% 수준에 해당되는 144 성분은 검출한계 0.5ppb 미만의 고감도 검출이 가능한 것으로 확인되었습니다.

산출된 기기적 검출한계를 그림 4에 나타내었습니다.

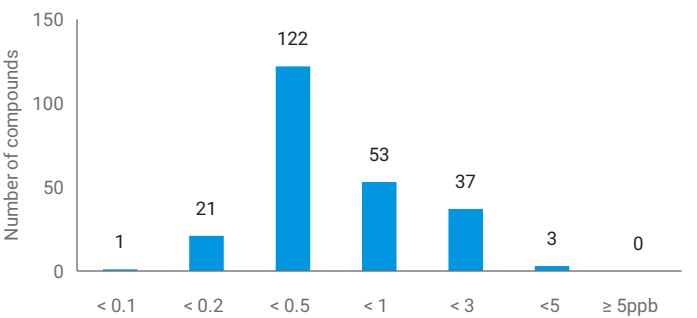


그림 4. 정량대상 237 성분의 기기적 검출한계.

검량선 직선성

검량 직선성 평가를 위하여 237 성분 혼합표준품을 5단계[5, 10, 20, 50, 100ppb(ng/mL)]로 제조하여 검량선을 작성한 결과, 전체 검량선의 평균 R^2 값은 0.995로 나타났습니다.

평균값으로 나타난 R^2 0.995를 초과하는 성분은 전체 성분 중 80%에 해당되는 190 성분이었으며, 식품공전의 모니터링 정량분석에서 요구하는 R^2 0.98 이상을 기준으로 하였을 경우, 전체 성분 중 97%에 해당되는 230 성분이 해당 기준을 만족하였습니다.

전체 성분에 대한 검량선 직선성을 그림 5에 나타내었습니다

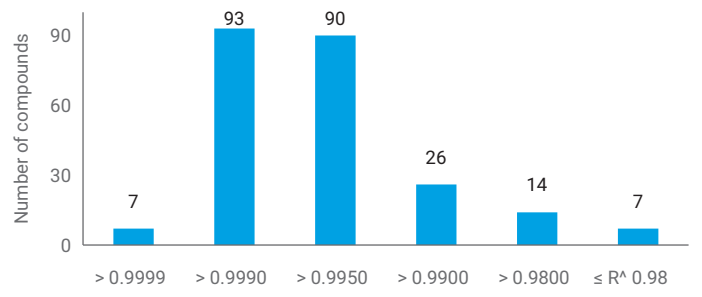


그림 5. 정량대상 237 성분의 검량선 직선성.

5종 대표 매질에서의 정량분석 정확도

실시로 분석에 대한 LC/QTOF의 정량분석 정확도 평가를 위하여 대표 매질 5종(현미, 감자, 대두, 감귤, 고추) 추출액에 농도별 표준품[저:10, 중:20, 고:100ppb(ng/mL)]을 첨가한 후 기기적 검출 회수율을 실험하였습니다.

기기적 검출회수율 평가를 사용된 성분은 검량선 표준품과 겹치는 성분에 해당되는 214 성분을 이용하였습니다.

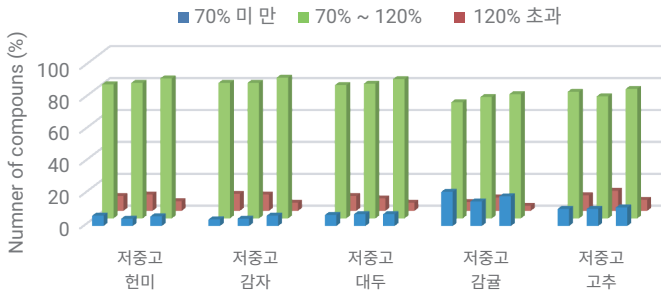


그림 6. 5종 대표 매질에서의 각 농도별 기기적 검출 회수율.

- 기기적 검출회수율을 평가한 결과, 현미: 85.7%, 감자: 86.1%, 대두: 85.2%, 감귤: 75.7%, 고추: 79.1% 성분들이 기기적 검출회수율(정확도) 70%~120% 범위를 만족하였습니다
- 저, 중, 고 농도별 기기적 검출회수율의 경우, 농도가 높아짐에 따라 검출회수율이 1%~5% 수준 증가하였습니다
- 기기적 검출회수율은 대부분 매질에서 유사한 경향을 나타내었습니다. 다만 감귤, 고추 매질에서는 검출회수율 70% 미만의 비율이 성분수 기준 각각 18.5%, 11.1%로 상대적으로 높게 나타났습니다

5종 대표 매질에서의 검출-의심-불검출 스크리닝

검량선에 포함된 214 성분과 검량선에 포함되지 않은 38 성분에 대하여 각각 PCDL을 이용한 검출 판별 스크리닝을 수행하였습니다. 이때, 검량선에 포함된 성분으로 정량 가능 성분은 표적 스크리닝 성분으로 구분하고, 검량선에 포함되지 않아 데이터베이스만으로 확인해야 하는 성분은 추정 물질 스크리닝 성분으로 구분하였습니다.

표적 스크리닝 성분에 해당되는 214 성분의 경우, 평균 검출 97.0%, 의심 2.6%, 불검출 0.4%를 나타내어 최종 99.6%가 검출 가능 성분으로 분류되었습니다.

추정 물질 스크리닝 성분에 해당되는 38 성분의 경우, 평균 검출 93.7%, 의심 4.6%, 불검출 1.7%를 나타내어 최종 98.3%가 검출가능 성분으로 분류되었습니다. 이러한 결과는 정량 성분으로 구분된 표적 스크리닝 214 성분에서의 검출 판별과 유사한 검출 판별 성능을 가지고 있음을 보여주고 있습니다.

그림 7에서는 표적 스크리닝 214 성분에 대한 검출 판별 결과를 나타내었습니다. 각 농도별 검출-의심-불검출로 판별된 성분수는 5 가지 매질 시료에서의 농도별 평균값으로 표기하였습니다. 5 가지 대표 매질에서의 성분별, 농도별 검출 판별 결과는 거의 유사한 경향을 나타내었고, 이때 매질별 검출 판별 성분수의 차이는 표준편차로써 표시하였습니다.

저-중-고 농도에서의 검출 변화는 고농도로 갈수록 검출율이 높아지기는 했지만 1 성분 정도의 차이만을 보였습니다. 따라서 실험된 전농도 범위에서 대부분의 성분이 안정적으로 검출 판별됨을 확인하였습니다.

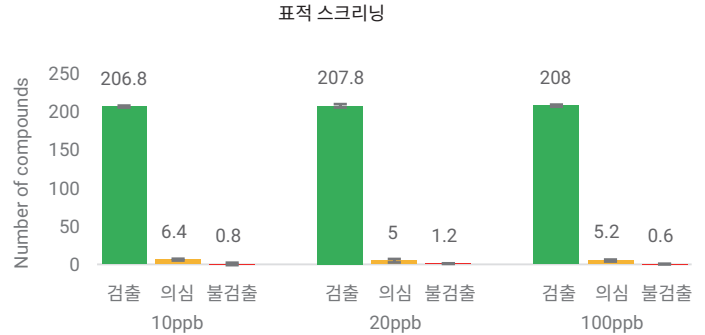


그림 7. 214 성분에 대한 검출 판별 결과.

그림 8은 추정 물질 스크리닝 38 성분에 대한 검출 판별 결과를 나타내고 있습니다. 표적 스크리닝 214 성분에서의 검출 판별 결과와 유사한 경향을 나타내며, 저-중-고 농도에서 거의 동일한 검출 판별 성능을 보여주었습니다.

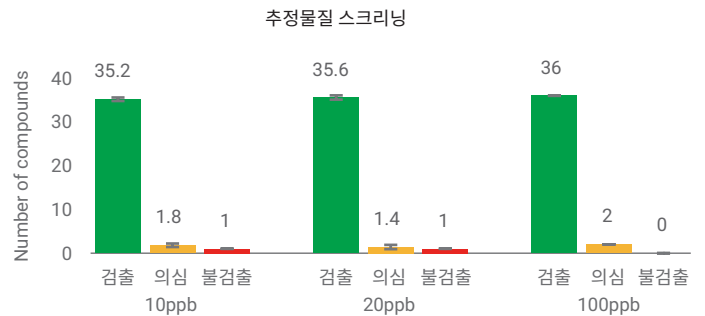


그림 8. 38 성분에 대한 검출 판별 결과.

데이터베이스만을 이용한 추정 물질 스크리닝 검출 판별 결과

표준품 없이 단순히 데이터베이스(애질런트 농약 PCDL)만을 이용한 검출 판별 성능을 세부적으로 확인하기 위하여, 38 성분이 포함되지 않은 검량선용 표준품과 블랭크 그리고 38 성분이 포함된 농도별 매질 시료에 대한 검출 판별 결과를 표 3에 나타내었습니다. 표 4에서 ■는 검출, ■는 의심, ■는 불검출을 나타내고 있습니다.

성분별 검출 결과를 확인한 결과, 38성분이 포함되지 않은 검량선 표준품 및 블랭크에서는 일부 의심판별을 받은 성분은 존재하였으나, 검출로 판별되는 성분은 없었으며, 시료에서는 전 농도 범위에서 대부분의 성분이 검출로 판별됨을 확인할 수 있었습니다.

Screeener 소프트웨어를 이용한 검출 판별 결과의 예로써, 매질 시료 중 첫 번째 시료에 해당하는 [현미 10ppb]에 대한 결과를 그림 9에 나타내었습니다.

표 4. 추정 물질 스크리닝 38 성분에 대한 검량선 표준품, 블랭크 및 5종 대표 매질 저-중-고 농도별 시료에서의 검출 판별 결과.

추정 화합물	검량선 표준품			블랭크	현미	감자	대두	감귤	고추	현미	감자	대두	감귤	고추	현미	감자	대두	감귤	고추	
	추정 물질 38 성분 미포함			after STD100	추정 물질 38 성분 포함															
	10ng/mL	20ng/mL	100ng/mL		10ppb(ng/mL)					20ppb(ng/mL)					100ppb(ng/mL)					
Benzoximate	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Cafenstrole	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Daimuron	!	X	X	!	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Esprocarb	X	!	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Ethiofencarb	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fenamiphos	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fenamiphos sulfone	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fenamiphos sulfoxide	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fenoxaprop-ethyl	!	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fenoxycarb	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Fentrazamide	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Flufenacet	!	!	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Forchlorfenuron	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hexaflumuron_N	X	X	!	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	!	!	!	!	!	!
Inabenfide	!	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Iprovalicarb	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Mecarbam	X	!	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Metamifop	!	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Metobromuron	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Metolcarb	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Ofurace	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Oxaziclomefone	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Penoxsulam	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Piperophos	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Probenazole	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Promecarb	!	!	!	!	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Propaquizafop	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Propoxur	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pyribenzoxim	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pyributicarb	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pyrimidifen	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pyrimisulfan	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pyroquilon	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Quinoclamine	X	X	X	X	!	!	✓	!	!	!	!	!	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Terbuthylazine	X	X	!	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Thenylchlor	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Thiazopyr	X	X	X	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Vamidothion	X	X	X	X	!	!	!	!	!	!	!	!	✓	!	!	!	!	!	!	!

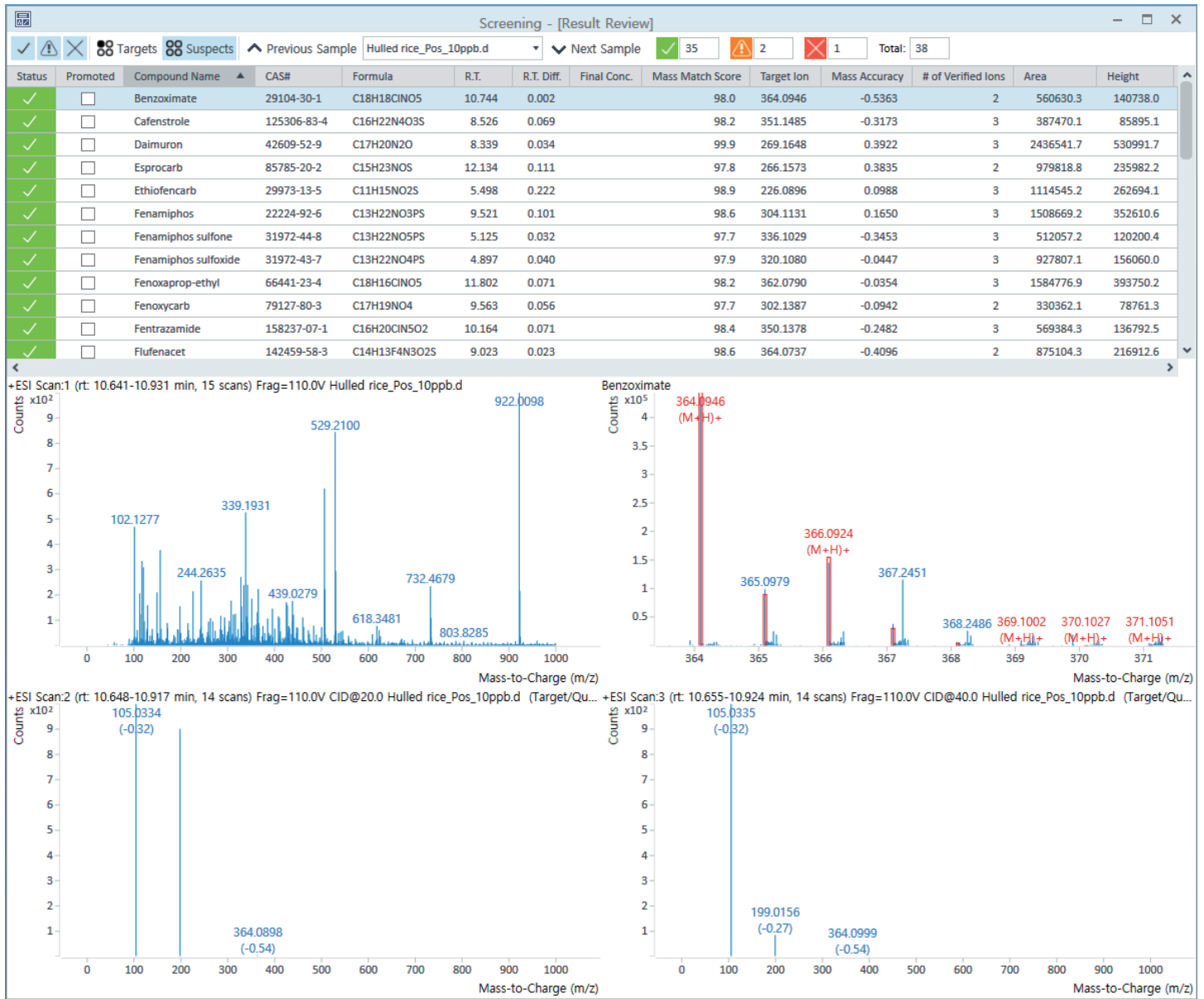


그림 9. 현미(10ppb) 추출액 시료에서의 추정 물질 스크리닝 38 성분에 대한 검출 판별 결과.

그림 9에서의 성분별 검출 판별을 위해서는 Mass Match Score, Mass Accuracy, RT difference 그리고 CE 값에 따른 조각 이온 스펙트럼이 필요하며, 이러한 평가의 기준이 되는 값은 그림 10에서와 같이 PCDL에서 제공이 됩니다.

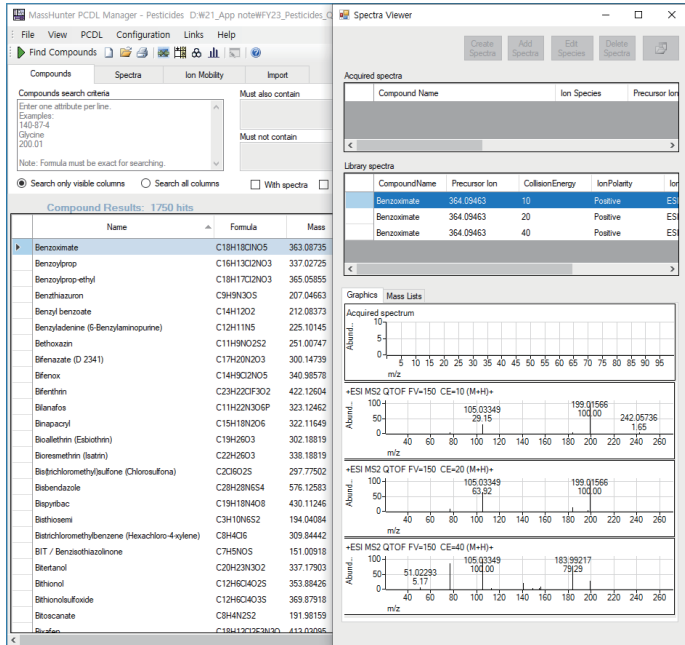


그림 10. PCDL 중 Benzoximate 성분에 대한 정보.

추정 물질 스크리닝 38 성분의 검출 판별 정확성 평가

5종 대표 매질시료에서 검량선 없이 검출로 확인된 38 성분에 대한 검출 판별 정확성을 확인하기 위하여, Mass Match Score와 Mass accuracy를 평가하였습니다.

먼저, 38 성분에 대한 농도별 Mass Match Score를 그림 11에 나타내었습니다. 이때 5종 매질에 따른 매질별 Mass Match Score의 차이는 각 농도별 성분값에서 표준편차로 표시하였습니다. Agilent QTOF 데이터에서의 Mass Match Score는 질량값 정확도, 동위원소 비율, 동위원소 간격 등의 이론값과 측정값 사이의 부합도를 점수화하여 보여 주는 값으로써 높은 정성 확인 결과를 도출해 주고 있습니다.

평균 Mass Match Score는 농도별 평균 96.3점~97.5점을 나타내어 전체 평균은 97점이었으며, 표준편차는 0.96으로 안정적이었습니다.

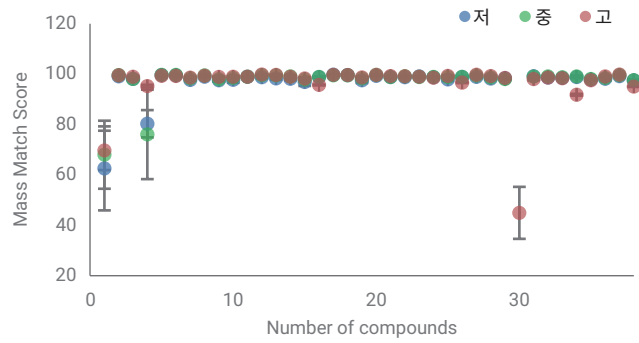


그림 11. 38 성분의 농도별 Mass Match Score 및 매질별 표준편차.

그림 12에서는 모분자 이온에 대한 기기측정 질량값과 이론값과의 차이에 따른 Mass accuracy를 나타내었습니다. 이때 5종 매질에 따른 Mass accuracy 차이는 각 농도별 성분값에서 표준편차로 표시하였습니다.

농도별, 매질별 전체 성분의 Mass accuracy는 평균 0.45ppm이었고, 표준편차는 1.23으로 나타났습니다.

QTOF를 이용한 잔류농약 정성분석에서 SANTE 가이드라인에 따르면 Mass accuracy는 5ppm 이내가 제시되고 있으므로 평균 0.45 ppm, 표준편차 1.23은 아주 안정적인 결과로 평가되었습니다.

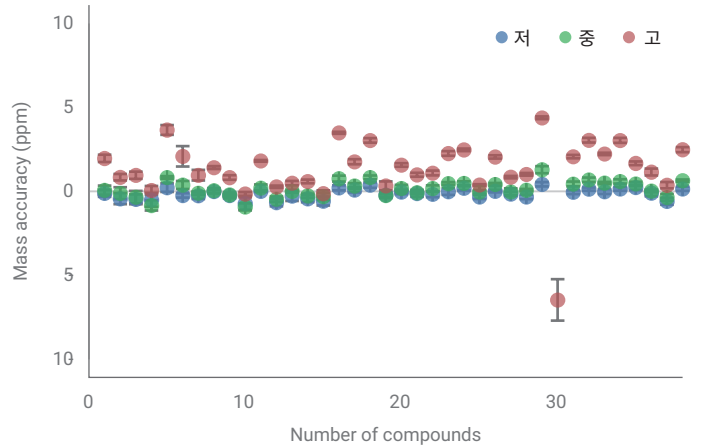


그림 12. 38 성분의 농도별 Mass accuracy 및 매질별 표준편차.

결론 및 고찰

MassHunter Quantitative에 탑재된 Screener와 애질런트 농약 PCDL을 이용한 결과, 정량분석과 함께 표준품이 존재하지 않는 성분에 대한 검출 판별 분석이 동시에 가능하였습니다.

기기적 검출한계는 검량선 표준품 237 성분을 기준으로 평균 0.63ppb이었으며, 검량 직성성은 평균 0.995을 나타내어 PLS 대응을 위한 일반적인 잔류농약 정량분석에 적절한 성능을 가지는 것으로 평가되었습니다.

매질에서의 정량분석 정확도 평가를 위하여 5개 대표 매질에 농도별 표준품을 주입한 뒤 기기적 검출 회수율을 평가한 결과, 농도별 전체 성분 중 82.4%가 검출 회수율 70%~120% 이내를 만족하는 결과를 나타내어, 실시료 분석 적용시 안정적인 정량 분석이 가능함을 확인하였습니다.

표준품이 없는 성분에 대한 검출 판별 성능 평가를 위하여, 5개 대표 매질 시료에 검량선에 포함되지 않은 38 성분을 농도별 주입한 뒤 분석한 결과, 98.3%의 성분이 검출 가능 성분으로 판별되었고, 이는 잔류농약 PLS 대응을 위한 QTOF 시스템의 유용성이 확인되는 결과였습니다.

현재 애질런트 농약 PCDL은 1750 여종 농약에 대한 정보를 제공하고 있습니다. 이번 실험에서는 국내 잔류농약 다성분 시험법에서 규제하고 있는 성분들에 대하여, 국내 시험법에 맞춘 LC 조건에서의 RT 업데이트 후 실험을 진행하였습니다. 향후 그 외 성분들에 대하여 국내 시험법 분석조건에서의 RT 업데이트가 수행되고 나면, 보다 많은 성분들에 대한 정확도 높은 스크리닝이 가능할 것입니다.

본 실험은 정량과 스크리닝 동시분석시 정량분석의 정확성과 함께 스크리닝 검출 판별 능력을 평가하기 위한 실험으로 진행되어 양이온 모드 분석만을 수행하였습니다. 향후 더 많은 성분에 대한 확장성을 위해서는 음이온 모드 분석도 필요합니다.

본 실험에서는 LC/MS 등급의 시약, 용매 및 검증된 표준품을 사용하였습니다. 사용하는 시약, 용매의 등급 및 표준품 상태에 따라 결과의 차이가 발생할 수 있습니다. 실험에 사용된 대표 농산물 5종은 공고된 시험법에 따라 추출-정제과정을 거친 후 실험하였습니다. 그러나 실험에 사용된 5종의 대표 농산물이 전체를 대표할 수는 없으므로 매질에 따른 결과의 차이는 발생할 수 있습니다.

참고 문헌

1. 농산물 잔류농약 다성분 분석방법, 농림축산식품부, 국립농산물품질관리원, 2022.
2. 식품의 기준 및 규격, 제2022-84호, 제8. 일반시험법 7. 잔류농약 시험법, 식품의약품안전처, 2022.
3. 식품 등 시험법 마련 표준절차에 관한 가이드 라인, 식품의약품안전처, 식품의약품안전평가원, 2016.
4. Agilent 6470B QQQ LC/MS 자동회석법을 이용한 농산물 중 잔류농약 226종 다성분 분석 솔루션, *Agilent Technologies Application note*, 5994-4925KOKR, 2022.
5. 향상된 식품 안전 검사, Agilent 6546 LC/Q-TOF 및 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0의 LC/Q-TOF Screener 도구를 사용한 농약 스크리닝 분석법, *Agilent Technologies 응용자료*, 5994-0738KO, 2019
6. SANTE Guidance document/Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed SANTE 11312, 2021

www.agilent.com/chem

DE27251769

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

©Agilent Technologies, Inc.2022
2023년 3월 28일, 한국에서 발행
5994-5978KOKR

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com

