

Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS를 이용한 국립농산물품질관리원 잔류농약 238종 분석

저자

강성훈, 김병호
한국애질런트테크놀로지스(주)

개요

안전한 먹거리를 위한 잔류농약 분석은 식품산업에서 아주 중요한 과제 중 하나입니다. 잔류농약 규제는 지속적으로 확대되고 있으며, 특히 변화하는 시험법 및 동시분석 항목의 지속적인 증가는 분석자에게 보다 향상된 전문성을 요구할 뿐만 아니라, 분석 기기의 최적화 및 정확한 검출 판별을 위한 향상된 기술을 요구하고 있습니다.

최소허용규제(PLS) 시행으로 인해 늘어나는 신규 등록 농약에 대응하기 위해 2021년 11월 22일 국립농산물품질관리원(NAQS)은 기존에 잔류농약 320종 동시분석법에서 464종으로 확대하는 시험법 개정을 행정예고하였습니다. 이 중 238종이 Triple Quadrupole GC/MS 분석항목에 해당됩니다. 이에 본 응용자료에서는 Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS를 이용하여 238종 잔류농약 동시다성분 분석법에 대한 최적화를 진행하였습니다. 또한 이번 분석법 최적화에서는 높은 감도와 정확한 검출 판별을 위하여 다이나믹 MRM 분석법을 적용함으로써 동시다성분 분석 시 발생할 수 있는 감도 저하 문제를 최소화하는 동시에 각 피크 별 높은 데이터 획득 시간을 확보하였습니다.

Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS를 이용한 잔류농약 238종을 분석한 결과 총 238성분(276개 피크)중 98.9%의 성분이 5ppb 농도에서 S/N비 3 이상의 감도를 나타냈으며, 검량선의 직선성은 총 238 성분 중 98.9%의 성분이 R^2 값 0.995 이상으로 확인되었습니다. 매트릭스 첨가법을 이용한 10ppb, 80ppb 농도의 회수율 평가 결과 10ppb에서 92.8%, 80ppb에서 94.2% 성분이 60~120% 범위를 만족하였습니다.

서론

국립농산물품질관리원은 2021년 11월 22일 [농수산물 품질관리법] 제67조, [유전자변형 농수산물의 표시 및 농수산물의 안전성조사 등에 관한 규칙] 제9조 제3항, [농산물 등의 유해물질 분석법](식약처 고시 제2021-27호)에 따라 '농산물품질관리원장이 정하는 분석방법'으로 농산물 잔류농약 다성분 분석방법을 공고하였습니다.

국립농산물품질관리원은 식약처와 공동으로 개발한 잔류농약 511종 분석방법(식품의 기준 및 규격 일부개정 고시(안) 행정예고(공고 제2021-77호)) 및 [농산물 등의 유해물질 분석법 일부개정고시(안) 행정예고(공고 제2021-78호)]을 토대로 기존 320종의 잔류농약 검사성분 외에 국내 생산 및 수출농산물 안전관리에 필요한 성분을 추가하여 농산물 잔류농약 검사성분을 464종으로 확대하였습니다. 확대한 잔류농약 검사성분은 기존 잔류농약 검사대상 320종에 포함되지 않았으나, 국내 농약 생산량 및 출하량이 많은 성분, 토양·용수 등 농산물 재배환경 잔류조사에서 검출 이력이 있는 성분, 수출농산물 관리에 필요한 성분 등을 추가 보완하였습니다.

또한 기존 320종 잔류농약 다성분 분석에 사용중인 신속하고 간편한 전처리법인 QuEChERS(EN 15662 method)는 계속 유지되어 적용되었습니다. 그 외 중요한 변경사항으로는 표준용액 제조에 있어서 "무처리 샘플용액을 이용하여 적당한 농도로 혼합, 희석한다(무처리 샘플 추출물 90% 이상 포함)" 라고 명시함으로써, 기존 농약 다성분 분석법에서의 용매 base의 검량선 제조 분석이 아닌 매트릭스 base의 검량선을 사용해야 함을 명시하고 있습니다.

한국 애질런트는 이번 시험법 개정에서의 주요 변화에 대한 최적화된 기기 분석 솔루션을 마련하여 실무분석에서의 분석 효율성 및 안전성을 높이고자, 개정된 시험법을 바탕으로 238성분(276개 피크)에 대한 기기 조건(GC 조건 및 MS 조건_MRM 최적화 포함) 최적화를 수행하였습니다. 최적화된 기기 분석 조건이 실제 샘플에서도 안정적인 결과로 분석되는지 확인하기 위하여 주요 매트릭스(포도)에 대한 검량 직선성, S/N 비, 매트릭스 간의 차이를 확인하기 위하여 쌀 매트릭스를 이용한 회수를 평가를 진행하였습니다. 이 때 적용된 성분 별 MRM은 실제 샘플 내 잔류농약 검출의 판별능력을 향상시키기 위하여 다이내믹 MRM을 적용하였습니다.

실험

샘플 정보

실험에 사용된 모든 시약은 LC/MS 등급을 사용하였으며, 238종 혼합 표준품은 공인된 기관에서 안정적인 상태로 인증 받은 표준품을 사용하였습니다. 대표 매트릭스 추출액은 개정된 시험법에 따라 추출 후 사용하였습니다.

표 1. 대표 매트릭스 샘플 정보 및 농도.

회수율 산정용 샘플 – 쌀 매트릭스 10, 80ppb 농도 샘플	검량선용 표준용액 – 포도 매트릭스 별 5, 10, 25, 50, 100ppb
10ppb: 쌀(Rice) 추출액 450μL + 238종 혼합표준품 100ppb 50μL	5ppb: 포도 추출액 450μL + 238종 혼합 표준품 50ppb 50μL
80ppb: 쌀(Rice) 추출액 450μL + 238종 혼합표준품 800ppb 50μL	10ppb: 포도 추출액 450μL + 238종 혼합 표준품 100ppb 50μL
	25ppb: 포도 추출액 450μL + 238종 혼합 표준품 250ppb 50μL
	50ppb: 포도 추출액 450μL + 238종 혼합 표준품 500ppb 50μL
	100ppb: 포도 추출액 450μL + 238종 혼합표준품 1000ppb 50μL

사용 기기 및 조건

동시다성분 잔류농약 분석을 위해서 Agilent 8890 GC 시스템과 Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS를 사용하였으며, 각 화합물 당 2개의 MRM transition을 선정하여 분석하였습니다. 각 화합물의 기기 분석을 위한 Agilent 8890 GC 시스템과 Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS의 자세한 기기 분석 조건 및 각 화합물의 MRM transition은 표 2,3,4와 같습니다.

표 2. 애질런트 GC 분석 조건.

Agilent 8890 GC 시스템	
주입구	펄스비분할(30psi, 1분후 퍼지)
주입구 온도	250°C
주입량	1.5μL
컬럼	HP-5 MS UI(30m X 0.25mm X 0.25μm) (P/N: 19091S-433UI)
컬럼 내 가스유량	1.2mL/분(일정한 컬럼 유량)
오븐	90°C 20°C/분으로 180°C까지, 5°C/분으로 300°C까지(5분간 유지)

표 3. 애질런트 MSD 분석 조건.

Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS	
이온 소스	전자충격형 이온화
이온화 에너지	70eV
이온 소스 온도	280°C
사중극자 온도	150°C
수집 모드	다이내믹 MRM(dMRM)
충돌 셀 가스 유량	N2(1.5mL/분)
Quench 가스 유량	He(2.25mL/분)

성분 별 MRM 조건

개정된 시험법에서는 한 번의 분석으로 동시에 많은 성분(276개 피크)을 검출해야 합니다. 이때 성분 별 정량 및 정성 확인을 위해서는 각 성분 별 MRM이 필요한데, European Commission(SANCO guidelines) 등 대부분의 기준들이 성분 별 최소 2개 이상의 MRM을 사용해야 함을 명시하고 있습니다. 이번 개정된 시험법 또한 성분 별 MRM 개수가 2개씩 제시되어 있습니다. 이러한 분석에서 2개 이상의 MRM을 사용하는 이유는 각 농약성분의 정성분석 확인율을 높이기 위해서 사용하고 있습니다. 일반적으로 MRM 개수가 많을수록 높은 정성 확인율을 기대할 수 있습니다. 그러나 Triple Quadrupole GC/MS의 특성상 많은 수의 MRM이 동시에 작동될 경우, 성분 별 감도의 저하가 발생하게 되므로 무작정 MRM 수를 늘릴 수는 없습니다. 즉, 성분 별 적은 수의 MRM은 정성확인 측면에서

상대적으로 오차가 발생할 가능성이 높아지며, 실무 분석에서 이러한 오차는 위양성(false positive) 문제를 일으키는 가장 큰 원인이 됩니다.

애질런트는 이러한 문제점을 보완하고자 이번 솔루션에 다이내믹 MRM 모드를 적용하였습니다. 다이내믹 MRM은 지정된 머무름 시간에 분석 성분 피크의 데이터만 확보하는 모드입니다. 이 기술을 이용하면 동시 다성분(276개 피크) 분석 시 각 성분 별 데이터 획득 시간이 증가하여 기존에 사용하는 Time segment 방식의 MRM 분석에 비해 높은 감도와 정량성을 확보할 수 있습니다. 또한, MassHunter Acquisition 소프트웨어를 이용하여 자동으로 머무름 시간 업데이트를 할 수 있기 때문에 실무 분석에서의 유지보수 시간을 줄일 수 있어 분석 생산성을 향상시킬 수 있습니다.

표 4. 성분 별 다이내믹 MRM.

	화합물 명	전구 이온	MS 1 분리능	생성 이온	MS 2 분리능	머무름 시간(분)	왼쪽 델타 타임(분)	오른쪽 델타 타임(분)	총돌 에너지
1	EMA	135	LowRes	120	LowRes	3.910	0.5	0.5	20
2	EMA	120	LowRes	77	LowRes	3.910	0.5	0.5	25
3	Allidochlor	134	LowRes	56	LowRes	4.160	0.5	0.5	5
4	Allidochlor	132	LowRes	56	LowRes	4.160	0.5	0.5	5
5	EPTC	189	LowRes	128	LowRes	4.588	0.5	0.5	5
6	EPTC	189	LowRes	86	LowRes	4.588	0.5	0.5	8
7	Dichlobenil	173	LowRes	136	LowRes	4.590	0.5	0.5	20
8	Dichlobenil	171	LowRes	136	LowRes	4.590	0.5	0.5	20
9	2,4,6-trichlorophenol	196	LowRes	97	LowRes	4.614	0.5	0.5	45
10	2,4,6-trichlorophenol	132	LowRes	97	LowRes	4.614	0.5	0.5	20
11	Dichlormid	172	LowRes	108	LowRes	4.617	0.5	0.5	5
12	Dichlormid	166	LowRes	56	LowRes	4.617	0.5	0.5	5
13	HEMA	151	LowRes	132	LowRes	4.991	0.5	0.5	25
14	HEMA	151	LowRes	117	LowRes	4.991	0.5	0.5	35
15	Butylate	146	LowRes	90	LowRes	5.088	0.5	0.5	5
16	Butylate	146	LowRes	57	LowRes	5.088	0.5	0.5	15
~									
552	Pyridalyl	204	LowRes	176	LowRes	23.787	0.5	0.5	10
553	Pyridalyl	204	LowRes	148	LowRes	23.787	0.5	0.5	25
554	Silafluofen	286	LowRes	258	LowRes	23.973	0.5	0.5	10
555	Silafluofen	179	LowRes	151	LowRes	23.973	0.5	0.5	10
556	Flutianil	231	LowRes	216	LowRes	24.297	0.5	0.5	10

	화합물 명	전구 이온	MS 1 분리능	생성 이온	MS 2 분리능	머무름 시간(분)	왼쪽 델타 타임(분)	오른쪽 델타 타임(분)	총돌 에너지
557	Flutianil	231	LowRes	200	LowRes	24.297	0.5	0.5	15
558	Fenvalerate_1	169	LowRes	127	LowRes	24.838	0.5	0.5	10
559	Fenvalerate_1	167	LowRes	125	LowRes	24.838	0.5	0.5	10
560	Fenvalerate_2	169	LowRes	127	LowRes	25.226	0.5	0.5	10
561	Fenvalerate_2	167	LowRes	125	LowRes	25.226	0.5	0.5	10
562	Fluvalinate_1	250	LowRes	200	LowRes	25.249	0.5	0.5	25
563	Fluvalinate_1	250	LowRes	55	LowRes	25.249	0.5	0.5	20
564	Fluvalinate_2	250	LowRes	200	LowRes	25.370	0.5	0.5	25
565	Fluvalinate_2	250	LowRes	55	LowRes	25.370	0.5	0.5	20
566	Difenoconazole_2	325	LowRes	267	LowRes	25.577	0.5	0.5	20
567	Difenoconazole_2	323	LowRes	265	LowRes	25.577	0.5	0.5	20
568	Difenoconazole_1	325	LowRes	267	LowRes	25.699	0.5	0.5	20
569	Difenoconazole_1	323	LowRes	265	LowRes	25.699	0.5	0.5	20
570	Deltamethrin_1	253	LowRes	174	LowRes	25.838	0.5	0.5	5
571	Deltamethrin_1	253	LowRes	172	LowRes	25.838	0.5	0.5	5
572	Indoxacarb	203	LowRes	134	LowRes	26.217	0.5	0.5	15
573	Indoxacarb	203	LowRes	106	LowRes	26.217	0.5	0.5	30
574	Deltamethrin_2	253	LowRes	174	LowRes	26.224	0.5	0.5	5
575	Deltamethrin_2	253	LowRes	172	LowRes	26.224	0.5	0.5	5
576	Dimethomorph_E	387	LowRes	301	LowRes	26.800	0.5	0.5	15
577	Dimethomorph_E	301	LowRes	165	LowRes	26.800	0.5	0.5	15
578	Dimethomorph_Z	387	LowRes	301	LowRes	27.330	0.5	0.5	15
579	Dimethomorph_Z	301	LowRes	165	LowRes	27.330	0.5	0.5	15

결과

매트릭스 별 크로마토그램

대표 매트릭스(포도)에 대한 농도 별[5, 10, 25, 50, 100ppb(ng/mL)] 다이내믹 MRM 크로마토그램은 그림 1과 같습니다.

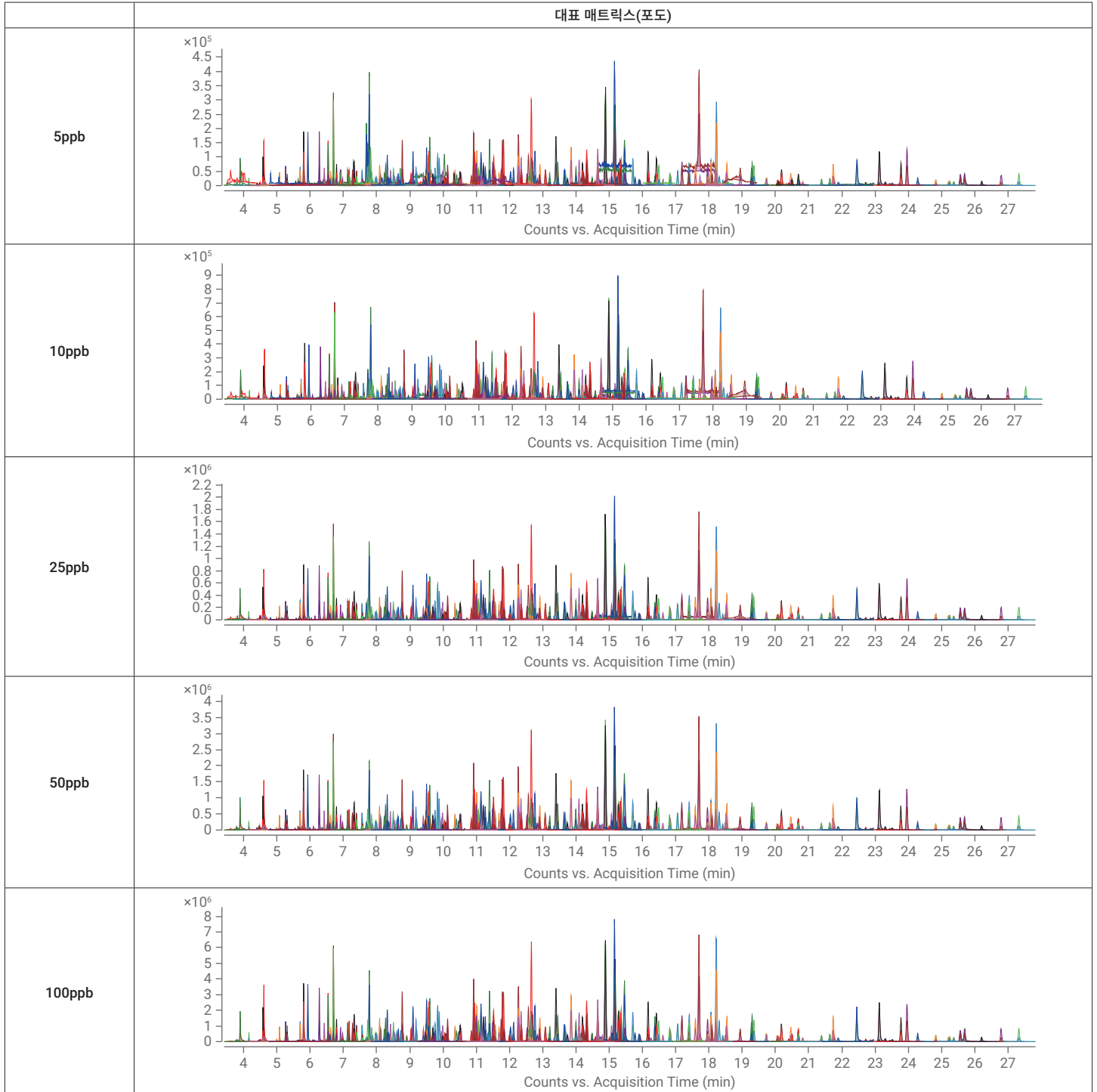


그림 1. 대표 매트릭스(포도)의 검량 농도 별 다이내믹 MRM 크로마토그램.

대표 매트릭스에 대한 검량선의 직선성 평가

대표 매트릭스(포도)로 조제된 검량선[5, 10, 25, 50, 100ppb(ng/mL)] 샘플을 분석하여 평가된 대표 매트릭스 검량선의 직선성(R²) 결과는 그림 2와 같습니다.

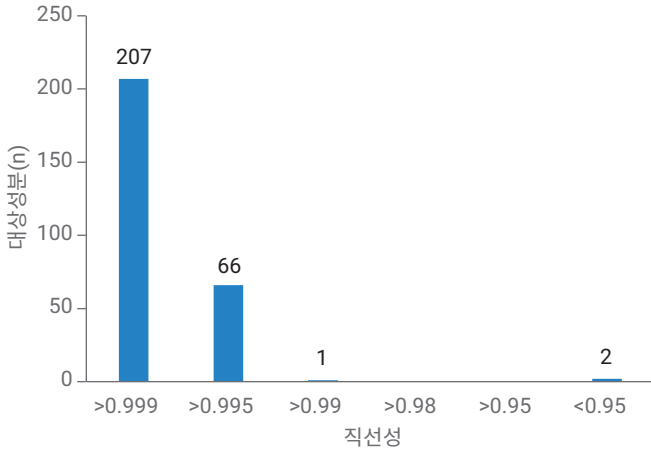


그림 2. 대표 매트릭스에 대한 검량선의 직선성.

- 전체 238 성분 중 일부 분석성분은 대사체와 이성질체가 존재하므로, 실제 분석된 총 피크의 수는 276개가 분석되었습니다.
- 전체 238 성분 중 98.9% 이상이 검량선 R² 값 0.995 이상의 직선성을 나타내는 것을 확인하였습니다.
- 다른 농약성분들에 비해 직선성이 낮게 나타난 성분은 크로탈로닐, 폴펫, 다이클로플루아니드로 해당 성분들은 염기에 약한 특성이 있는 농약으로 pH 6 이하에서 분해되지 않고 안정하기 때문에 검량선의 직선성 개선을 위해서는 0.4% 아세트산이 포함된 용매를 이용하여 보관 및 분석을 해야 합니다.

대표 매트릭스 최저(5ppb)농도의 S/N비

대표 매트릭스(포도) 5ppb(ng/mL) 농도로 조제된 샘플을 분석하였으며, S/N비는 Auto-RMS의 알고리즘으로 Agilent MassHunter Quantitative 소프트웨어로 산출하였습니다. S/N비 결과는 그림 3과 같습니다.

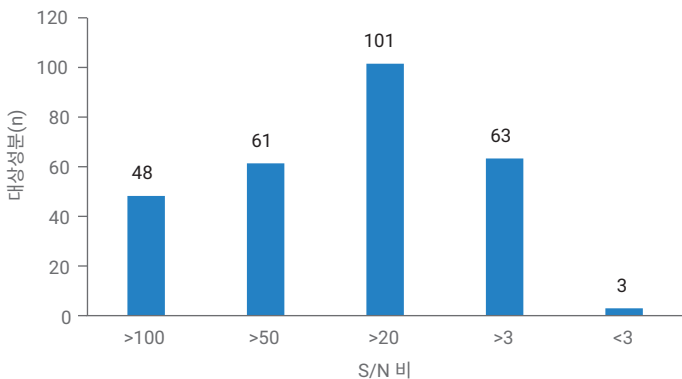


그림 3. 대표 매트릭스(포도) 최저(5ppb) 농도의 S/N비.

- 전체 238종(276개 피크) 중 98.9% 성분이 S/N비 3 이상의 감도로 나타났습니다.
- S/N비 3 이하의 성분으로 크로탈로닐, 폴펫, 다이클로플루아니드로 해당 성분들은 염기에 약한 특성이 있는 농약으로 S/N비 개선을 위해서는 0.4% 아세트산이 포함된 용매를 이용하여 보관 및 분석을 해야 합니다.
- S/N비가 낮은 분석대상 항목은 MRM 조건 변경을 통하여 S/N비를 개선할 수 있습니다. MRM 조건 변경 전, 후의 크로마토그램 및 S/N비는 그림 4와 같습니다.

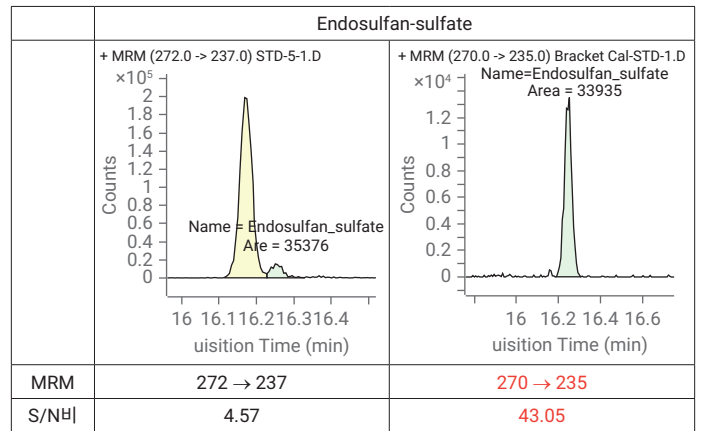


그림 4. MRM 변경에 따른 S/N비 변화(Endosulfan-sulfate 5ppb).

매트릭스를 이용한 회수율 평가

셋업된 분석조건에 대한 안정성을 평가하기 위하여 매트릭스를 이용한 회수율 테스트를 진행하였습니다. 음성검체에 일정농도의 표준물질(10ppb, 80ppb)을 첨가하여 QuEChERS 전처리를 진행 후 각 항목별 농도를 확인하였습니다. QuEChERS 전처리 과정에서의 손실율을 고려하여 각 항목별 회수율 범위는 60~120% 로 적용하였으며, 회수율 산출결과는 그림 5와 같습니다.

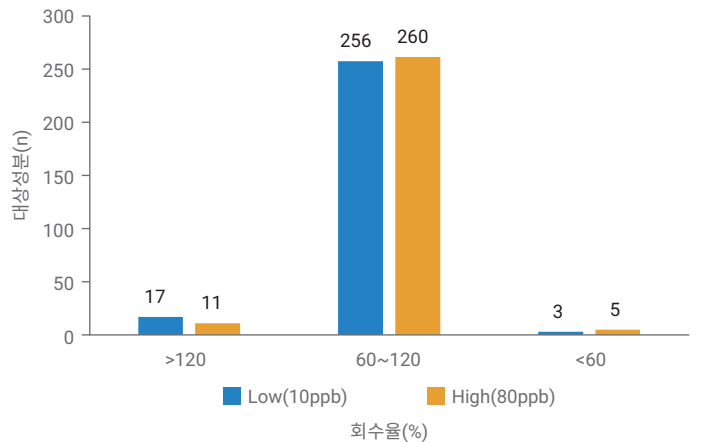


그림 5. 매트릭스(쌀)를 이용한 회수율(%) 평가.

- 전체 238종(276개 피크)의 회수율 테스트 결과 10ppb 농도에서 92.8%, 80ppb 농도에서 94.2%의 성분이 60~120% 범위의 회수율로 나타났습니다.
- 회수율 테스트 시 사용된 쌀 매트릭스는 분석 조건 셋업 시 사용된 대표 매트릭스인 포도 매트릭스와 차이가 존재하기 때문에 잔류농약 분석 시 분석대상 성분에 영향을 주는 것으로 확인할 수 있었습니다.

결론 및 고찰

- Agilent 7000 Triple Quadrupole GC/MS를 이용하여 국립농산물관질관리원의 새로운 잔류농약 464종 중 238종에 대한 동시다성분 분석법을 최적화하였습니다.
- 설정한 조건으로 실험한 결과 분석대상 성분 238종 (276개 피크) 중 98.9% 성분에서 대표 매트릭스(포도)를 이용한 검량선 R²값이 0.995 이상의 직선성을 나타냈습니다.
- 다른 농약 성분들에 비해 직선성이 낮게 나타난 성분은 크로로탈로닐, 폴펫, 다이클로플루아니드로 해당 성분들은 염기에 약한 특성이 있는 농약으로 검량 직선성 개선을 위해서는 0.4% 아세트산이 포함된 용매를 이용하여 pH 6 이하로 보관 및 분석을 해야 합니다.
- 5ppb 농도의 S/N비 확인한 결과 전체 238종(276개 피크) 중 98.9% 성분에서 S/N 비 3 이상의 감도를 나타냈습니다. 낮은 S/N비를 나타내는 성분들은 MRM 조건 변경을 통하여 S/N비가 개선되는 것을 확인할 수 있었습니다.
- 쌀 매트릭스를 이용한 회수율 테스트 결과 10ppb에서 92.8%, 80ppb에서 94.2%의 분석대상 성분들이 60~120% 범위를 만족하는 결과를 확인하였습니다. 사용한 매트릭스(포도, 쌀)의 차이가 분석성분에 영향이 있는 것을 확인할 수 있었습니다.

참고 문헌

1. 농산물 등의 유해물질 분석법 일부개정고시(안) 행정예고, 식품의약품안전처 공고 제2021-78호, 2021.
2. 식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안) 행정예고, 식품의약품안전처 공고 제2021-77호, 2021.
3. 식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안), 식품의약품안전처, 식품공전, 7.1.2.2 다성분시험법-제2법, 2021.
4. 생산 유통 수입 단계 잔류농약 검사법 하나로 통일, 보도자료, 관계부서 합동(식품의약품안전처, 국립농산물관질관리원), 2021.
5. SANTE/11945/2015-Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Supersedes SANCO/12571/2013, Implemented by 01/01/2016.
6. 농산물 잔류농약 검사성분을 320종에서 464종 확대, 식약일보, 2021/12/01.
7. 잔류농약 NAQS 실무해설서, 2021.

www.agilent.com/chem

DE62163791

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

©Agilent Technologies, Inc.2022
2022년 4월 25일, 한국에서 발행
5994-4771KOKR

한국에질런트테크놀로지스(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

