

Agilent 7010B QQQ GC/MS 장비를 이용한 잔류농약 다성분(273종) 동시분석 최적화 솔루션

저자

강성훈, 김병호
한국애질런트테크놀로지스(주)

개요

안전한 먹거리를 위한 잔류농약분석은 식품산업에서 아주 중요한 과제 중 하나입니다. 특히 확대되는 잔류농약 PLS 규제 관리에 맞춰 변화하는 시험법 및 지속적으로 증가되는 동시분석 항목은 분석자에게 보다 향상된 전문성을 요구할 뿐만 아니라, 분석 기기의 최적화 및 정확한 검출 판별을 위한 향상된 기술을 요구하고 있습니다.

2021년 2월 식품의약품안전처는 식품 중 잔류농약 다성분 시험법 개정을 행정예고 하였고, 이에 맞춰 한국애질런트에서는 개정될 시험법에 최적화된 기기 분석 솔루션을 개발하였습니다. 개발된 솔루션을 이용하여 주요 매질별 검출한계, %RSD 및 검량 직선성을 확인한 결과, 분석대상 항목 273종(302성분)에 대하여 모두 분석 기준을 만족하는 안정적인 결과가 산출되었습니다. 가장 중요한 항목인 검출한계에 있어서는 개정 시험법에서 요구하는 매질 추출액(90% 이상 함유)조건과 더불어 미량 시료 주입조건(1 μ L)을 적용하였음에도 불구하고, 전체 성분 중 98.8% 이상이 PLS 기준(10ppb) 대비 3배의 감도에 해당하는 3ppb(ng/L) 미만으로 검출되어 개정 시험법에서 요구하는 매질별 분석 감도를 아주 안정적으로 만족하였습니다.

또한 이번 솔루션에서는 높은 감도와 정확한 검출 판별을 위한 애질런트만의 독자적인 기술인 dMRM(dynamic MRM) 분석법을 적용함으로써, 동시 다성분 분석 시 발생할 수 있는 감도 저하 문제를 최소화하는 동시에, 각 피크별 높은 데이터 획득 시간(dwelling time)을 확보할 수 있었습니다.

서론

식품의약품안전처는 2021년 2월 18일 [식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안) 행정예고(공고 제2021-77호)] 및 [농산물 등의 유해물질 분석법 일부개정고시(안) 행정예고(공고 제2021-78호)]를 통하여, 식품 중 잔류농약 다성분 시험법 개정을 예고 하였습니다.

개정 예고된 시험법은 기존 잔류농약 분석에 있어서 구분되어 관리되었던 유통단계 잔류농약 분석법[다중농약다성분 분석법(473종)]과 생산단계 잔류농약 분석법[농산물 등의 유해물질 분석법(320종)]에 대한 통일화 시험법으로써 총 511종에 대한 잔류농약 다성분 시험법이며, 이 중 GC/MS/MS를 이용한 항목은 273종(302성분)이 해당됩니다.

식품공전상 개정된 다성분 시험법(7.1.2.2)의 주요 부분을 살펴보면, 분석 원리로서 “시료를 아세토니트릴로 추출하여 황산마그네슘 및 염화나트륨을 이용하여 수분제거 및 분배하고 d-SPE(dispersive-Solid Phase Extraction)로 정제하여…”라고 명시되어 있는데 이것은 일반적으로 알려진 QuEChERS(EN 15662 method)에 해당되며, 이는 기존 다중농약 다성분 분석법에서 사용되던 액-액 추출, SPE 정제 및 농축 등의 복잡한 시료전처리법이 보다 신속 간편한 QuEChERS법으로 변경되는 것을 의미합니다. 그 외 중요한 변경사항으로는 표준용액 제조에 있어서 “무처리 시료용액을 이용하여 적당한 농도로 혼합, 희석한다(무처리 시료 추출물 90% 이상 포함)” 이라고 명시함으로써, 기존 다중농약 다성분 분석법에서의 용매 base의 검량선 제조-분석이 아닌 매질 base 검량선을 사용해야 함을 명시하고 있습니다.

한국애질런트는 이번 시험법 개정에서의 주요 변화에 대한 최적화된 기기분석 솔루션을 마련하여 실무분석에서의 분석 효율성 및 안전성을 높이고자, 개정된 시험법을 바탕으로 273종(302성분)에 대한 기기조건(GC 조건 및 MS 조건_MRM 최적화 포함) 최적화를 수행하였습니다. 최적화된 기기 조건이 실제 매질시료에서도 안정적인 결과로 분석되는지 확인하기 위하여 주요 매질 3종에 대한 검출한계, %RSD 및 검량 직선성 수준을 평가하였습니다. 이때 최적화되어 적용된 성분별 MRM은 실시료에서의 잔류농약 검출판별능력 향상을 위하여 개발된 애질런트만의 독자적인 기술인 dMRM을 적용한 상태로 평가하였습니다.

실험

시료 정보

실험에 사용된 모든 시약은 LC/MS 등급을 사용하였으며, 273종 혼합 표준품은 공인된 기관에서 안정적인 상태로 확인받은 표준품을 사용하였습니다. 주요 매질 추출액은 개정된 시험법에 따라 추출 후 사용하였습니다.

표 1. 매질별 시료 정보 및 농도.

기기 검출한계, RSD 산정용 시료 - 각 매질별 5ppb 농도 시료	검량선용 표준용액 - 각 매질별 5, 10, 20, 50, 75ppb
현미(Hulled rice) 추출액 180μL + 273종 혼합표준품 50ppb 20μL	5ppb: 각 매질추출액 180μL + 273종 혼합표준품 50ppb 20μL
감자(Potato) 추출액 180μL + 273종 혼합표준품 50ppb 20μL	10ppb: 각 매질추출액 180μL + 273종 혼합표준품 100ppb 20μL
청고추(Chili) 추출액 180μL + 273종 혼합표준품 50ppb 20μL	20ppb: 각 매질추출액 180μL + 273종 혼합표준품 200ppb 20μL
	50ppb: 각 매질추출액 180μL + 273종 혼합표준품 500ppb 20μL
	75ppb: 각 매질추출액 180μL + 273종 혼합표준품 750ppb 20μL

사용 기기 및 조건

잔류농약의 빠르고 안정적인 분리를 위하여 Agilent 8890 GC 와 Agilent 7010 QQQ MS를 사용하였으며, HB-5 MS UI (30m X 0.25mm X 0.25μm) 컬럼을 사용하였습니다. 각 성분별 분석을 위해 전자 이온화 방법을 사용하였고, 각 화합물 당 2개의 MRM transition을 전자 이온화 분석하였습니다. 각 화합물의 기기 분석을 위한 8890 GC와 7010 MS의 자세한 기기 조건은 표 2에 표시하였으며, 각 화합물의 MRM transition은 표 3에 표시하였습니다.

표 2. 사용 기기 및 조건.

Agilent 8890 GC	
주입구	비분할(0.8분에 퍼지)
주입구 온도	260°C
주입량	1µL
컬럼	HP-5 MS UI (30m X 0.25mm X 0.25µm) (P/N: 19091S-433UI)
컬럼 내 가스유량	1.5mL/분(일정한 컬럼 유량)
오븐	60°C (1분간 유지) 30°C/분으로 180°C까지, 5°C/분으로 290°C까지, 20°C/분으로 310°C까지(2분간 유지)

Agilent 7010 QQQ MS	
이온 소스	전자 이온화
이온화 에너지	70eV
이온 소스 온도	280°C
수집 모드	dMRM(Dynamic MRM)
충돌 셀 가스 유속	N ₂ (1.5mL/분)
Quench 가스 유속	He(2.25mL/분)

성분별 MRM 조건

개정된 시험법에서는 한 번의 분석으로 동시에 많은 성분(302성분)을 검출해야 합니다. 이 때, 성분별 정량 및 정성 확인을 위해서는 각 성분별 MRM이 필요한데, European commission(SANCO guideline)등 대부분의 기준들이 성분별 최소 2개 이상의 MRM을 사용해야 함을 명시하고 있습니다. 이번 개정된 시험법 또한 성분별 MRM 개수가 2개씩 제시되어 있습니다. 이러한 분석에서 2개 이상의 MRM 사용이 제시되는 이유는 정성 확인률을 높이기 위함이며, 일반적으로 MRM 개수가 많을수록 높은 정성 확인률을 기대할 수 있습니다. 그러나 QQQ 질량 분석기의 특성상 많은 수의 MRM이 동시에 작동될 경우, 성분별 감도의 저하가 발생하게 되므로 무작정 MRM 수를 늘릴 수는 없습니다. 즉, 성분별 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 dMRM(Dynamic MRM) 기술을 적용하였습니다. dMRM은 애질런트만의 독자적인 기술로써, 지정된 머무름 시간에서 분석 성분 피크의 데이터만 확보하는 방법입니다. 이 기술을 이용하면 동시 다성분(302성분) 분석 시, 각 성분별 데이터 획득 시간이 증가하여 기존에 사용하는 일반적인 MRM 분석에 비해 높은 감도와 정량성을 확보할 수 있습니다. 또한, MassHunter Acquisition 소프트웨어를 이용하여 자동으로 머무름 시간을 업데이트 할 수 있기 때문에 실무 분석에서의 유지보수 시간을 줄일 수 있어 분석 생산성을 향상시킬 수 있습니다.

표 3. 성분별 dMRM 조건.

	화합물명	전구 이온	MS 1 분리능	생성 이온	MS 2 분리능	머무름 시간	왼쪽 델타 타임	오른쪽 델타 타임	충돌 에너지
1	2,4,6-trichlorophenol	196	Wide	97	Wide	5.821	0.5	0.5	40
2	2,4,6-trichlorophenol	132	Wide	97	Wide	5.821	0.5	0.5	15
3	2,6-Diisopropyl-naphthalene	197	Wide	155	Wide	8.919	0.5	0.5	10
4	2,6-Diisopropyl-naphthalene	212	Wide	197	Wide	8.919	0.5	0.5	15
5	Acetochlor	223	Wide	132	Wide	10.593	0.5	0.5	20
6	Acetochlor	223	Wide	146	Wide	10.593	0.5	0.5	10
7	Acrinathrin	289	Wide	93	Wide	21.458	0.5	0.5	10
8	Acrinathrin	208	Wide	181	Wide	21.458	0.5	0.5	5
9	Alachlor	160	Wide	130	Wide	10.818	0.5	0.5	30
10	Alachlor	188	Wide	160	Wide	10.818	0.5	0.5	10
11	Aldrin	263	Wide	191	Wide	11.977	0.5	0.5	40
12	Aldrin	263	Wide	193	Wide	11.977	0.5	0.5	40
13	Allidochlor	132	Wide	56	Wide	5.308	0.5	0.5	5
14	Allidochlor	134	Wide	56	Wide	5.308	0.5	0.5	5
15	Ametryn	227	Wide	170	Wide	11.017	0.5	0.5	10
16	Ametryn	227	Wide	185	Wide	11.017	0.5	0.5	5
573	Tetraconazole	336	Wide	218	Wide	12.169	0.5	0.5	20
574	Tetraconazole	336	Wide	204	Wide	12.169	0.5	0.5	40
575	Tetradifon	159	Wide	111	Wide	19.975	0.5	0.5	20
576	Tetradifon	229	Wide	201	Wide	19.975	0.5	0.5	10
577	Tetramethrin_1	164	Wide	107	Wide	18.952	0.5	0.5	15
578	Tetramethrin_1	164	Wide	77	Wide	18.952	0.5	0.5	25
579	Tetramethrin_2	164	Wide	107	Wide	19.259	0.5	0.5	15
580	Tetramethrin_2	164	Wide	77	Wide	19.259	0.5	0.5	25
581	Thifluzamide	194	Wide	166	Wide	14.935	0.5	0.5	10
582	Thifluzamide	194	Wide	125	Wide	14.935	0.5	0.5	25
583	Thiometon	93	Wide	63	Wide	8.764	0.5	0.5	5
584	Thiometon	125	Wide	47	Wide	8.764	0.5	0.5	25
585	Thionazin	248	Wide	140	Wide	7.648	0.5	0.5	10
586	Thionazin	192	Wide	96	Wide	7.648	0.5	0.5	15
587	Tolclofos-methyl	265	Wide	250	Wide	10.821	0.5	0.5	15
588	Tolclofos-methyl	265	Wide	93	Wide	10.821	0.5	0.5	30
589	Triadimefon	208	Wide	181	Wide	12.173	0.5	0.5	10
590	Triadimefon	208	Wide	111	Wide	12.173	0.5	0.5	35
591	Triadimenol_1	128	Wide	65	Wide	13.404	0.5	0.5	20
592	Triadimenol_1	130	Wide	65	Wide	13.404	0.5	0.5	25
593	Triadimenol_2	130	Wide	65	Wide	13.628	0.5	0.5	25
594	Triadimenol_2	128	Wide	65	Wide	13.628	0.5	0.5	20
595	Tri-allate	268	Wide	226	Wide	9.947	0.5	0.5	20
596	Tri-allate	268	Wide	184	Wide	9.947	0.5	0.5	10
597	Triazophos	161	Wide	106	Wide	16.732	0.5	0.5	15
598	Triazophos	161	Wide	134	Wide	16.732	0.5	0.5	5
599	Tridiphane	187	Wide	159	Wide	11.112	0.5	0.5	15
600	Tridiphane	173	Wide	109	Wide	11.112	0.5	0.5	30
601	Trifloxystrobin	222	Wide	130	Wide	17.257	0.5	0.5	10

- 모든 dMRM은 개정된 시험법에서와 같이 정량이온 1개, 정성이온 1개를 기본으로 설정하였습니다
- 상기 dMRM은 총 601개의 MRM transition으로 구성되어 있으며, 세부 dMRM 정보는 애질런트 AE(Application Engineer)를 통해 제공 받을 수 있습니다

결과

매질별 크로마토그램

대표 매질 3종에 대하여 농도별[5, 10, 20, 50, 75ppb(ng/mL)] 분석한 dMRM 크로마토그램은 그림 1과 같습니다.

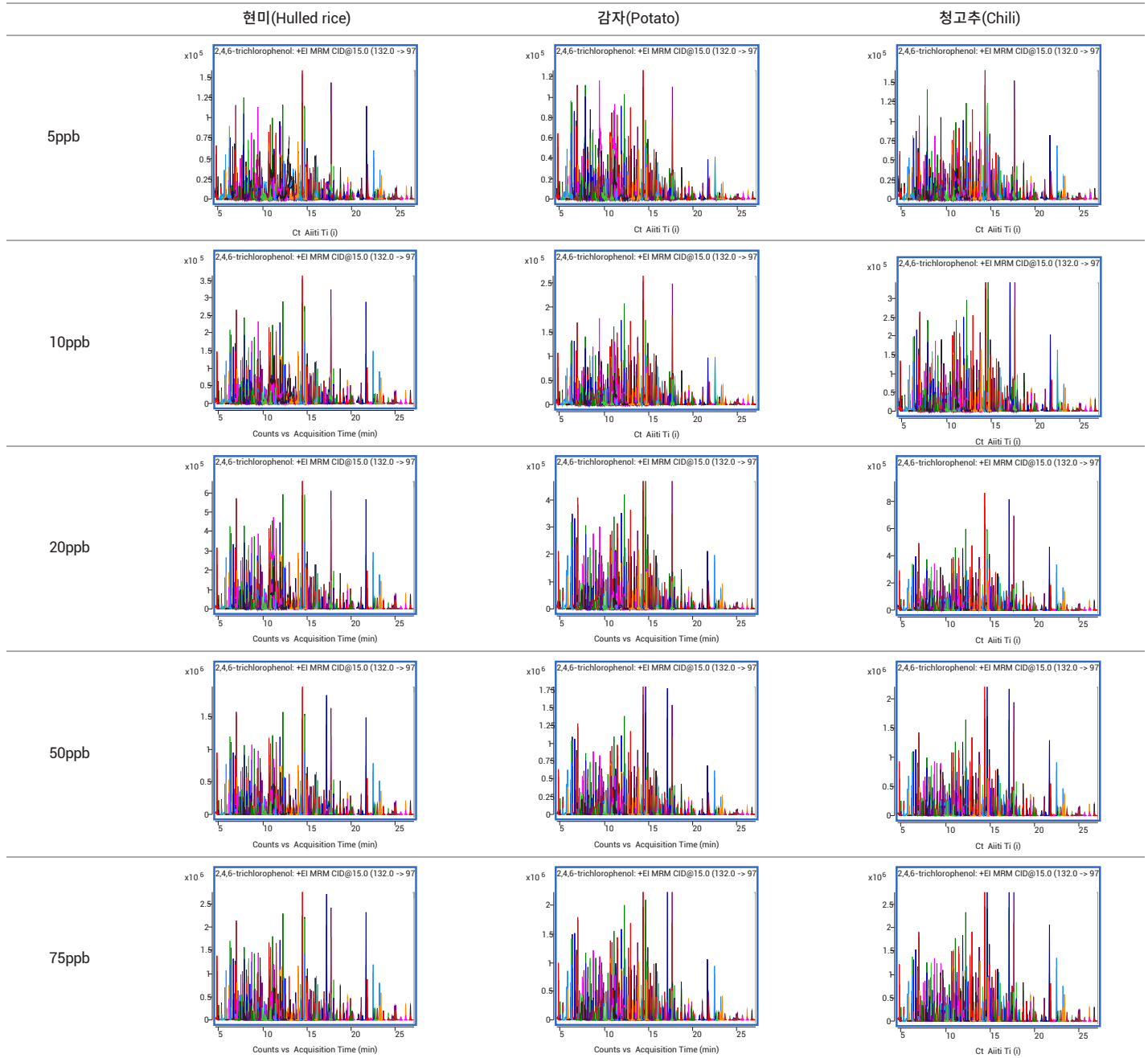


그림 1. 대표 매질별 dMRM 오버레이 크로마토그램.

- 5ppb 크로마토그램에서의 깔끔한 베이스라인과 10^4 수준의 감응은 사용된 기기의 고감도 성능을 보여주고 있으며, 농도별 동일한 패턴으로 증가하는 크로마토그램을 통하여 탁월한 선형성 및 재현성을 확인할 수 있습니다

매질별 검량선 선형성 평가

각 매질별 제작된 검량선[5, 10, 20, 50, 75ppb(ng/mL)] 시료를 분석하여 평가된 매질별 검량선의 선형성 결과는 그림 2와 같습니다.

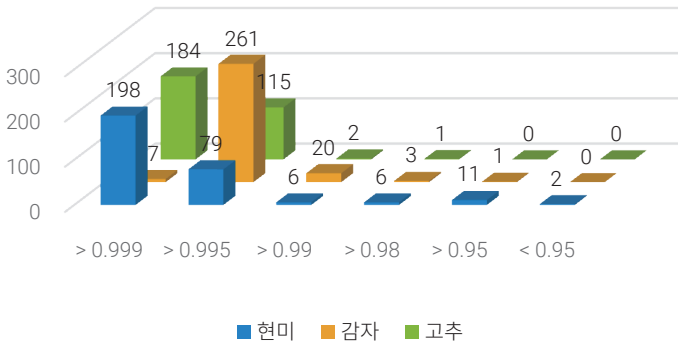


그림 2. 대표 매질별 검량선 선형성.

- 273종 중 일부 종은 대사체와 이성질체가 존재하므로, 실제 총 분석대상 항목은 302성분이었습니다
- 매질별 특성에 따른 차이는 존재하지만, 전체 성분 중 94.3% 이상이 검량선 R² 값 0.995를 넘는 아주 양호한 직선성을 나타내었으며, 거의 모든 성분(98.5% 이상)이 R² 값 0.98을 초과하는 안정적인 선형성을 가지는 것으로 확인되었습니다
- 비교적 선형성이 낮게 나타난 성분으로는 시험법상 정성 항목으로 구분되어 검출 시 개별 시험법을 따라야 하는 Chlorethoxyfos, Nitrapyrin등이 해당되었습니다

매질별 최저농도 재현성 평가

각 매질별 5 ppb(ng/mL) 농도로 제작된 시료를 7회 반복 분석하여 재현성을 평가한 결과는 그림 3와 같습니다.

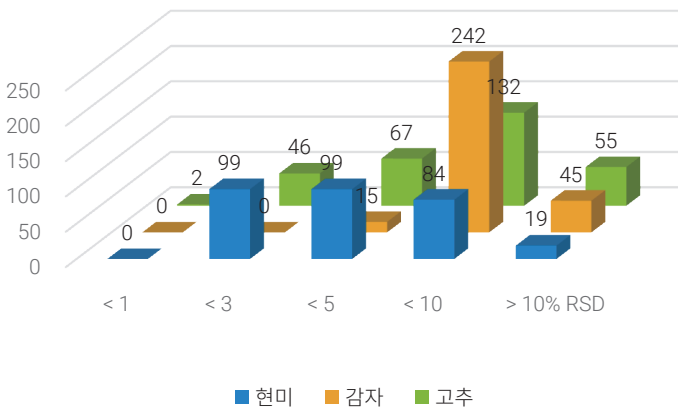


그림 3. 대표 매질별 최저농도 재현성.

- 전체 성분 중 86.9% 이상이 매질에 따른 큰 영향 없이 RSD 10% 미만의 안정적인 재현성을 가지는 것으로 확인되었습니다
- RSD 10%를 초과하는 성분으로는 시험법상 정성 항목으로 구분되어 검출 시 개별 시험법을 따라야 하는Thiometon, HEMA등이 해당되었습니다

매질별 검출한계 평가

Agilent Masshunter 소프트웨어는 반복 분석된 결과를 이용하여 자동으로 검출한계를 계산하는 기능을 지원합니다. 해당 기능에 각 매질별 최저농도 5ppb(ng/mL)로 제작된 시료 7회 반복 분석결과를 적용하여 각 매질별 기기적 검출한계를 산출한 결과는 그림 4와 같습니다.

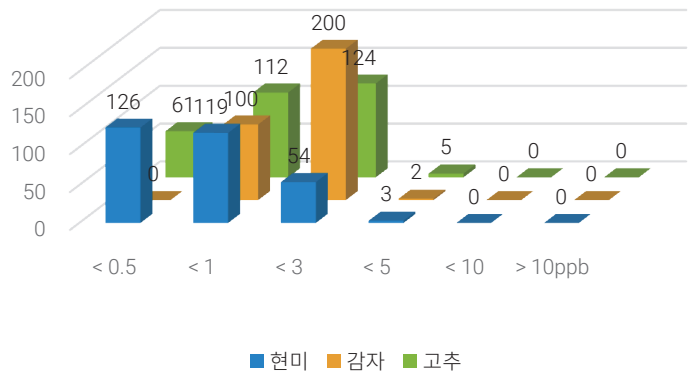


그림 4. 대표 매질별 검출한계.

- 전체 성분 중 98.8% 이상이 PLS 기준(10ppb) 대비 3배의 감도에 해당하는 검출한계 3ppb(ng/mL)를 만족하는 것으로 나타나, 거의 모든 성분이 극미량의 농도에서도 안정적으로 검출됨을 확인하였습니다
- PLS 관리기준에 따른 최소검출한계인 10ppb(ng/mL)를 초과하는 성분은 존재하지 않았습니다
- 상대적으로 높은 검출한계를 가지는 성분으로는 시험법상 정성 항목으로 구분되어 검출 시 개별 시험법을 따라야 하는 HEMA, Prodiamine등이 해당되었으며, 만약 더 향상된 검출한계를 얻기 위해서는 본 시험에서의 시료 주입량(1μL) 보다 증가된 주입량을 적용하여 보완할 수 있습니다

결론 및 고찰

분석대상 항목 273종(302성분)에 대하여 주요 매질별 선형성, 재현성, 검출한계를 시험한 결과, 모두 분석 기준을 만족하는 안정적인 결과를 확인할 수 있었습니다. 특히, 검출한계에 있어서는 이번 개정 시험법에서 요구하는 매질 추출액(90% 이상 함유) 조건과 더불어 미량 시료주입 조건(1 μ L)을 적용하였음에도 불구하고 전체 성분 중 98.8% 이상이 PLS 기준(10ppb) 대비 3배의 감도에 해당하는 3ppb(ng/L) 미만으로 검출되었습니다. 이는 PLS 기준 농도(10ppb) 대비 3배 이상의 고감도에 해당되는 값으로써 개정 시험법에서 요구하는 매질별 분석감도를 아주 안정적으로 만족하였습니다.

본 실험에서는 LCMS 등급의 시약 및 용매를 사용하였으며, 공인된 기관에서 안정적인 상태로 확인받은 표준품을 사용하였습니다. 만약 사용하는 시약, 용매 등급 및 표준품의 상태가 다를 경우는 이에 따른 결과의 차이가 발생할 수 있습니다. 사용된 모든 추출액은 개정된 시험법의 전처리 방법에 따라 음성 검체를 추출하여 사용하였습니다. 실제 분석과 동일한 조건으로 실험을 진행하였으나, 실험에 사용된 매질이 모든 매질을 대표할 수는 없으므로 매질에 따른 추가적인 차이는 발생할 수도 있습니다.

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, 국립농산물품질관리원), 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.

www.agilent.com/chem

DE44377.9281134259

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 8월 20일, 한국에서 발행
5994-3831KOKR

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

