

소 신장 내 30종 과불화화합물(PFAS)의 측정

Agilent Captiva EMR PFAS Food II 패스스루 클린업 및
LC/MS/MS 사용

저자

Limian Zhao,
Matthew Giardina, Emily Parry
Agilent Technologies, Inc.

소개

Agilent Captiva EMR PFAS Food 카트리지는 식품 내 과불화화합물(PFAS) 분석을 위해 특별히 개발되고 최적화되었습니다. 이 연구의 목적은 소 신장에서 30종 PFAS 측정을 위한 완전한 워크플로를 개발하고 검증하는 것입니다. 이 분석법에서는 QuEChERS 추출 후 Captiva EMR PFAS Food II 카트리지를 사용한EMR(Enhanced Matrix Removal) 혼합 모드 패스스루 클린업을 거친 다음 Agilent 6495D TQ LC/MS(LC/TQ)로 검출합니다. 이 분석법은 분석법 적합성, 감도, 정확도 및 정밀도를 포함하여 AOAC 표준 분석법 성능 요구사항(SMPR) 2023.003¹을 충족하는 것으로 검증되었습니다.

실험

화학물질 및 시약

Native PFAS 및 동위원소 표지 내부 표준물질(ISTD) 용액은 Wellington Laboratories (Guelph, Ontario, Canada)에서 구입했습니다.

용액 및 표준물질

표준 용액 및 기타 시약의 준비는 이전 응용 자료에 나열되어 있습니다.² 유일한 차이점은 이 연구에 사용된 ISTD 스파이킹 용액이 메탄올(MeOH)에서 1,000ng/mL라는 것입니다.

장비 및 재료

이 연구는 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템을 Agilent Jet Stream iFunnel 전자분무(ESI) 이온화원이 장착된 6495D LC/TQ와 결합하여 수행되었습니다. 데이터 수집 및 분석에는 Agilent MassHunter 워크스테이션 소프트웨어를 사용했습니다.

본 연구에서 시료 전처리에 사용된 기타 장비는 이전 연구에서 사용된 것과 동일합니다.²

1290 Infinity II LC 시스템은 Agilent InfinityLab PFC 지연 컬럼, 4.6 × 30mm(제품 번호 5062-8100)를 포함하여 Agilent InfinityLab PFC-free HPLC 변환 키트(제품 번호 5004-0006)를 사용하여 개조되었습니다. Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100mm, 1.8µm(제품 번호 959758-902) 및 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1mm, 1.8µm, 최대 압력: 1,200bar, UHPLC 가드(제품 번호 821725-901)를 사용하여 크로마토그래피 분리를 수행했습니다.

사용된 기타 애질런트 소모품은 다음과 같습니다.

- Bond Elut QuEChERS EN 추출 키트, EN 15662 분석법, 완충염, 세라믹 균질기(제품 번호 5982-5650CH)
- Captiva EMR PFAS Food II 카트리지, 6mL, 750mg (제품 번호 5610-2232)
- Captiva 필터 바이알, 0.2µm, 나일론, 100/pk (제품 번호 5610-5936)
- 폴리프로필렌(PP) 스크류 캡 바이알 및 캡, 2mL (제품 번호 5191-8150 및 5191-8151)
- 튜브 및 캡, 50mL, 50/pk(제품 번호 5610-2049)
- 튜브 및 캡, 15mL, 100/pk(제품 번호 5610-2039)

연구에 사용된 모든 소모품은 PFAS 함유량이 기준치 미만인지 테스트 및 검증되었습니다.

LC/MS/MS 기기 조건

LC/MS/MS 분석법 조건은 이전 응용 자료에 설명되어 있습니다.²

시료 전처리

소 신장은 지역 식료품점에서 구입했습니다. 신선한 시료를 세척하고 작은 조각으로 자른 후 밤새 -20°C에서 냉동했습니다. 냉동된 시료 조각을 기계식 블렌더를 사용하여 분쇄하여 균질화했습니다. 그런 다음 시료 균질물을 시료 추출에 사용했습니다.

균질화된 각 시료에 대해 2g의 시료 균질물을 칭량하여 추출을 위해 깨끗한 50mL PP 튜브에 넣었습니다. Native PFAS 스파이킹 용액과 ISTD 스파이킹 용액(1,000ng/mL)을 품질 관리(QC) 시료에 적절하게 첨가하고, 매트릭스 바탕시료에는 ISTD만 첨가했습니다. 그런 다음 그림 1에 설명된 시료 전처리 절차를 위해 시료를 준비했습니다.

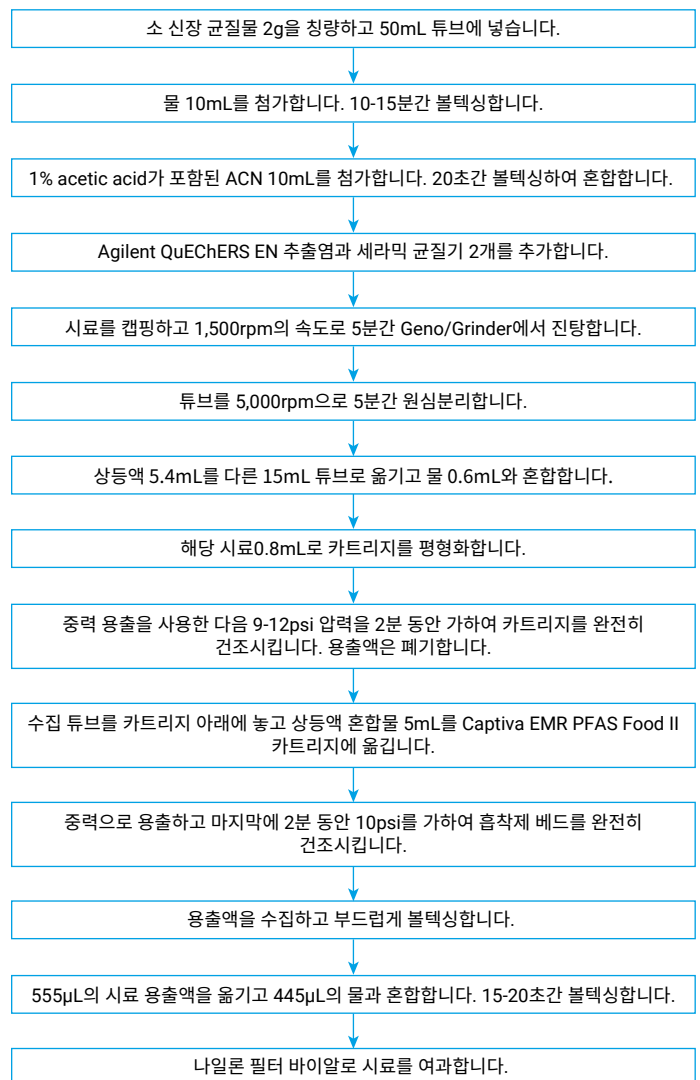


그림 1. 소 신장에서 PFAS 분석을 위한 시료 전처리 절차.

분석법 성능 평가

이 분석법은 분석법 정량 한계(LOQ), 회수율 및 정밀도에 대해 검증되었습니다. 본 연구에 사용된 높은 ISTD 스파이킹 용액의 제한된 양, 비용적 고려 사항 및 동물 내장 매트릭스에 필요한 더 높이 요구되는 LOQ를 포함한 몇 가지 요인으로 인해 사전 스파이크된 4개 QC 농도 시료를 소 신장 내 0.2, 0.4, 1.0 및 5.0µg/kg 농도에서 4개씩 반복적으로 준비했습니다. ISTD 사전 스파이킹 농도는 소 신장에서 10.0µg/kg이었습니다. 또한, 정량화를 위해 사전 스파이크된 10.0µg/kg ISTD를 사용하여 매트릭스 바탕시료를 5회 반복하여 준비했습니다.

결과 및 토의

EMR 혼합 모드 패스스루 클린업

EMR 혼합 모드 패스스루 클린업은 PFAS 표적물질 회수율에 대해 기존 dSPE 클린업과 비교되었습니다. 그림 2는 QuEChERS 추출 후 소 신장 원 추출액에 100ng/L PFAS를 스파이크한 경우의 PFAS 표적물질 회수율 비교를 보여줍니다.

결과는 EMR 혼합 모드 패스스루 클린업이 기존 dSPE 클린업에 비해 PFAS 표적물질 회수율이 크게 개선됨을 보여주었습니다.

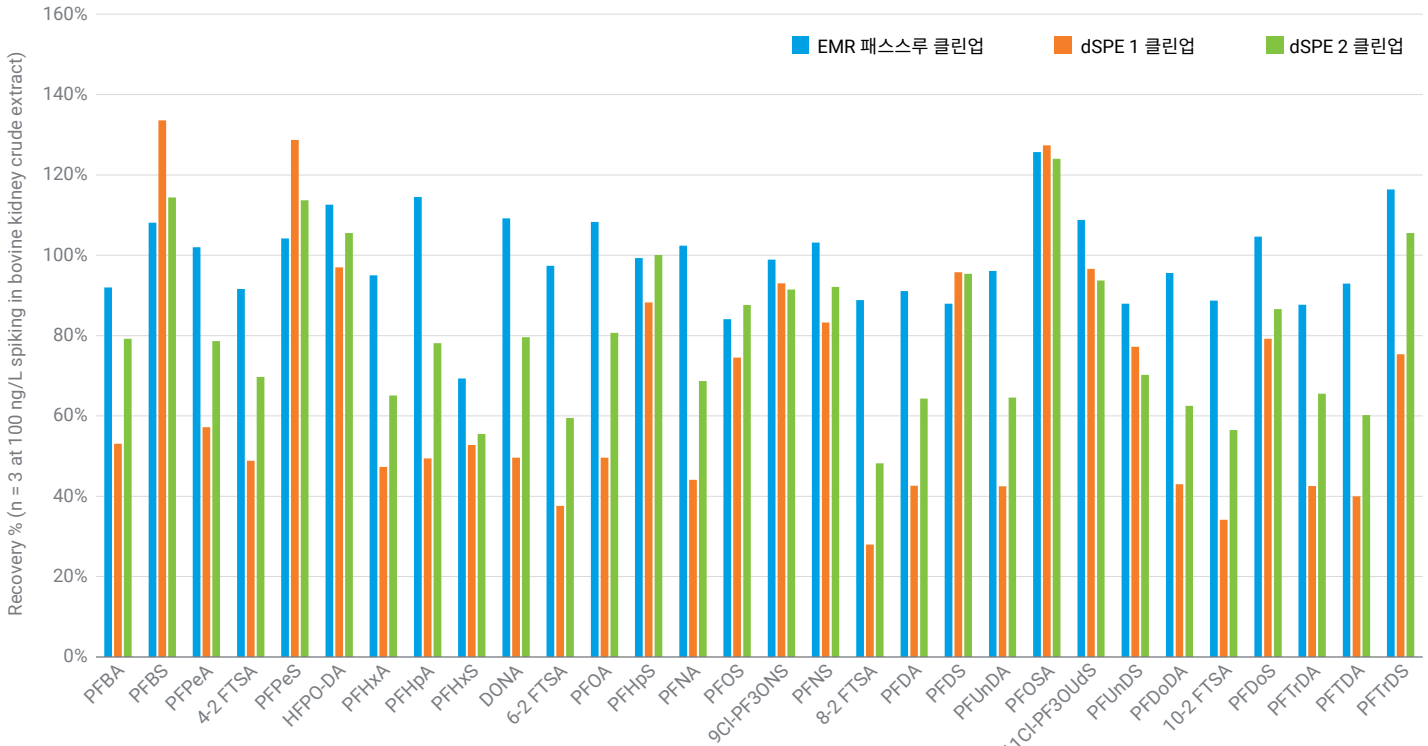


그림 2. 소 신장 추출물의 PFAS 회수율에 대해 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 카트리지를 사용한 EMR 패스스루 클린업과 기존 dSPE 클린업의 비교.

분석법 검증

새로 개발된 분석법은 AOAC SMPR 지침에 따라 소 신장에서 30종 PFAS 표적물질을 측정할 수 있도록 검증되었습니다. 소 신장이 "식용 내장" 범주에 속한다는 점을 고려하면, 요구되는 LOQ는 4종 주요 PFAS 표적물질(PFOS, PFOA, PFNA 및 PFHxS)에 대해 0.4µg/kg 이하이고 나머지 PFAS 표적물질에 대해 4.0µg/kg 이하입니다.² 소 신장은 요구되는 LOQ가 더 높은 매우 복잡한 식품 매트릭스이기 때문에 농축 후 처리가 필요하지 않으며 희석 후 처리가 더 적합합니다. EMR 혼합 모드 패스스루 클린업 후 시료 용출액을 물로 희석하여 1:1 ACN:물로 만들었습니다. 따라서 전체 분석법에는 10x 희석이 적용되었습니다. 희석 후 처리를 통해 시료 건조 단계가 필요 없어 상당한 시간이 절약되고 전체 분석법 절차가 더 쉽고 빨라졌습니다. 희석 후 처리에 대한 유일한 고려 사항은 ISTD 사전 스파이킹 농도 조정이었습니다. 시료 전처리 중 희석 계수가 도입되기 때문에 사전 스파이킹 ISTD 농도는 희석 인자를 보정하고 순수한 검량 표준 용액의 ISTD 농도와 일치하도록

더 높아야 합니다. 순수한 검량선 표준 용액의 ISTD 농도가 1,000ng/L였으므로 소 신장 균질물의 사전 스파이킹 ISTD 농도는 10,000ng/kg으로 조정되었습니다. 따라서 이러한 조정에는 더 높은 농도의 ISTD 스파이킹 용액을 사용해야 했습니다.

분석법 LOQ

분석법 LOQ는 이전 응용 자료에 설명된 분석법을 기반으로 측정되었습니다.² 표 1은 소 신장에서 각 표적물질에 대해 계산된 보고 가능한 가장 낮은 LOQ_{cal} 및 검증된 분석법 LOQ_{val}을 보여줍니다. 검증된 분석법 LOQ는 모두 식용 가능한 내장 매트릭스에서 요구되는 LOQ보다 낮거나 같았습니다. 결과는 또한 소 신장 매트릭스 바탕시료에서 더 많은 PFAS 표적물질이 더 높은 농도에서 검출되었음을 보여주었습니다. 그림 3은 4종 주요 PFAS 표적물질에 대한 소 신장 매트릭스 바탕시료 및 검증된 LOQ 농도 크로마토그램을 보여줍니다.

표 1. 소 신장 매트릭스의 30종 표적물질에 대해 보고 가능한 분석법의 계산된 (LOQ_{cal}) 및 검증된 (LOQ_{val}).

표적	소 신장 LOQ(µg/kg)		표적	소 신장 LOQ(µg/kg)	
	LOQ _{cal}	LOQ _{val}		LOQ _{cal}	LOQ _{val}
PFBA	1.183	4.0	9Cl-PF3ONS	0.024	0.2
PFPeA	0.374	0.4	8:2 FTS	0.108	0.4
PFBS	0.109	0.2	PFNS	0.247	0.2
4:2 FTS	0.25	0.4	PFDA	0.172	0.4
PFPeS	0.207	0.2	PFDS	0.028	0.2
PFHxA	0.356	0.4	PFUnDA	0.54	1.0
HFPO-DA	0.174	0.2	PFOSA	0.009	0.2
PFHpA	0.195	0.4	11Cl-PF3OUdS	0.007	0.2
PFHxS*	0.1	0.2	PFUnDS	NA	0.2
DONA	0.01	0.2	PFDoDA	0.239	0.4
6:2 FTS	0.608	1.0	10:2 FTS	NA	0.2
PFOA*	0.174	0.4	PFDoS	NA	0.2
PFHpS	0.177	0.2	PFTTrDA	NA	0.2
PFNA*	0.176	0.4	PFTTrDS	NA	0.2
PFOS*	0.339	0.4	PFTTeDA	0.82	1.0

* 주요 PFAS 표적물질
NA=해당 없음

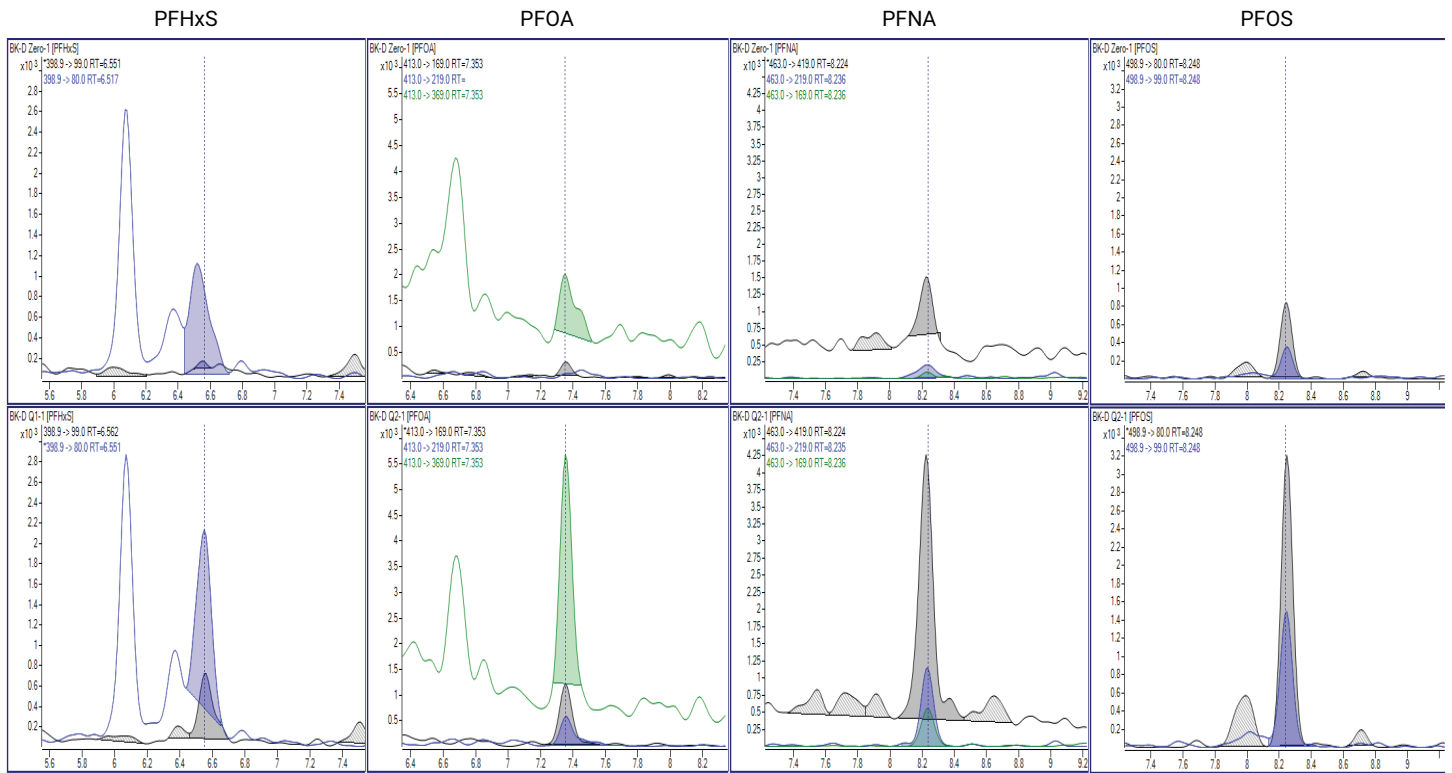


그림 3. 주요 PFAS 표적물질, PFHxS(0.2µg/kg), PFOA(0.4µg/kg), PFNA(0.4µg/kg) 및 PFOS(0.4µg/kg)에 대한 소 신장 매트릭스 바탕시료(상단) 및 LOQ(하단) 크로마토그램.

분석법 정확도 및 정밀도

식용 내장의 PFAS 허용 기준은 4종 주요 PFAS 표적물질의 경우 회수율 80-120% 및 RSD% 20% 이하이며, 해당 동위원소 ISTD가 포함된 나머지 PFAS 표적물질의 경우 회수율 65-135% 및 RSD% 25% 이하입니다. 해당 동위원소 ISTD가 없는 나머지 PFAS 표적물질의 경우 기준은 회수율이 40-140%이고 RSD%가 30% 이하입니다. 그림 4에 표시된 최종 보고 검증 결과에는 LOQ, 중간,

고농도를 포함하여 소 신장의 세 가지 QC 농도가 포함되어 있으며, 이는 소 신장의 대부분 PFAS 표적물질에 대해 허용 가능한 분석법 회수율과 재현성을 보여줍니다. 그러나 매트릭스 바탕시료에서 상당한 양성 검출로 인해 6:2 FTS 및 PUnDA에 대해 두 개의 스파이킹 농도 결과만 보고할 수 있었고, 매트릭스 효과로 인해 하나의 스파이크 농도에서 4:2 FTS 및 PFPeS의 회수율이 더 높았습니다.

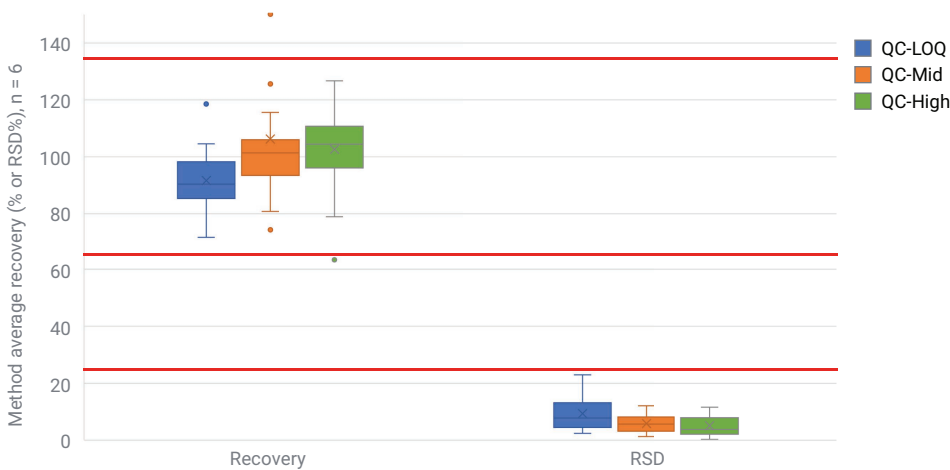


그림 4. 소 신장의 PFAS 분석에 대한 분석법 검증 회수율 및 재현성(RSD%) 요약.

결론

QuEChERS 추출과 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 카트리지를 사용하여 EMR 혼합 모드 패스스루 클린업하고 LC/MS/MS 검출하는 간단하고 신속하며 신뢰할 수 있는 분석법이 소 신장에서 30종 PFAS 표적물질에 대해 개발되고 검증되었습니다. 이 분석법은 허용 기준에 따라 검증되었으며 분석법 성능은 AOAC SMPR 2023.003에 명시된 요구 사항을 충족하는 것으로 나타났습니다.

참고 문헌

1. AOAC (2023) Standard Method Performance Requirements (SMPRs) for Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Produce, Beverages, Dairy Products, Eggs, Seafood, Meat Products, and Feed (AOAC SMPR 2023.003).
2. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. Determination of 30 Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Infant Formula, Milk, and Eggs Using Agilent Captiva EMR PFAS Food II Pass-Through Cleanup and LC/MS/MS Detection, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7366EN, **2024**.

www.agilent.com

DE38449655

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 6월 1일 한국에서 발행
5994-7370KO

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