

어유, 커피 분말, 단백질 분말에서 30종의 PFAS 측정

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

저자

Limian Zhao 및 Emily Parry
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 어유, 커피 분말, 단백질 분말 내 30종의 과불화화합물(PFAS) 잔류물을 분석하기 위한 다성분 분석법의 개발과 검증 작업을 제시합니다. 이 분석법에서는 QuEChERS 추출 후 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 카트리지를 사용한 Enhanced Matrix Removal(EMR) 혼합 모드 패스스루 정제와 액체 크로마토그래피/삼중 사중극자 질량 분석기(LC/TQ)를 통한 검출을 사용합니다. 주요 이점으로는 간소화되고 효율적인 시료 전처리, Agilent 1260 Infinity II 하이브리드 멀티샘플러를 사용한 직접 주입, Agilent 6495D LC/TQ를 통한 고감도 검출, 그리고 순수 표준 검량선을 이용한 신뢰할 수 있는 정량 분석 등이 포함됩니다. 이 분석법은 AOAC 표준 분석법 성능 요구사항(SMPR) 2023.003 지침에 따라 적합성, 감도, 정확도 및 정밀도를 평가하여 검증되었습니다. 이 분석법은 세 가지 식품 매트릭스 모두에서 30종의 PFAS 표적 물질 모두에 대해 요구되는 정량 한계 (LOQ), 회수율 및 반복성(RSD)을 성공적으로 충족했습니다.

소개

최근 몇년 사이 식품 내 PFAS 잔류물 측정에는 점차 더 중요한 관심사로 떠오르고 있습니다. 2023년 4월, 유럽 위원회는 PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS 등 4가지 PFAS 화합물에 대한 규정을 시행했습니다. 이러한 규정은 계란, 생선, 해산물, 육류 및 내장을 포함한 다양한 식품군에 적용됩니다.¹ 2023년 11월, AOAC는 11가지 식품군에 걸쳐 30종의 PFAS 화합물 분석에 대한 성능 요구 사항을 규정한 SMPR 2023.003을 발표했습니다. 11가지 식품군에는 농산물, 커피, 우유, 유제품 분말 및 식물성 단백질 분말, 계란, 해산물, 어류 및 육류, 육류의 식용 내장, 어유, 유아 및 어린이용 식품, 반려동물 사료 및 동물 사료가 포함됩니다.²

QuEChERS 추출 후 Captiva EMR PFAS Food I 및 II 카트리지를 사용한 EMR 혼합 모드 패스스루 정제 과정은 간소화되고 효율적이며 신뢰할 수 있는 시료 준비 프로토콜인 것으로 입증되었습니다. 이 프로토콜은 EU 및 AOAC SMPR 요구 사항에 따라 8가지 식품 매트릭스 범주에서 탁월한 정량 성능을 제공합니다.^{3,8} 본 연구는 이 분석법의 적용 범위를 어유, 커피, 식물성 단백질 분말 등 나머지 세 가지 식품군으로 확장함으로써 AOAC SMPR 2023.003에 명시된 모든 식품군에 걸쳐 PFAS 분석 워크플로의 효과성을 입증합니다.

또한, Agilent 1260 Infinity II 하이브리드 멀티샘플러의 Feed 주입 모드를 도입하여 기기 분석법을 개선함으로써 EMR 패스스루 정제 후 시료 용리액을 직접 주입할 수 있었습니다. 이러한 개선 덕분에 본 연구에 사용된 세 가지 식품 매트릭스 분석에서 건조 및 재용해 단계를 생략할 수 있게 되었습니다. 수정된 프로토콜은 워크플로를 간소화할 뿐만 아니라 시료 전처리 시간도 최대 50% 까지 단축합니다. 이러한 접근 방식은 육류, 생선, 계란, 동물 사료 및 식용 내장과 같이 정량 한계(LOQ) 요구 사항이 중간에서 높은 수준인 다른 식품군에도 확장 적용될 수 있습니다.

실험

화학물질 및 시약

Native PFAS 및 동위원소 표지 내부 표준물질(ISTD) 용액은 Wellington Laboratories(Ontario, CA, U.S.)에서 구입했습니다. 메탄올(MeOH), 아세토니트릴(ACN) 및 이소프로필 알코올(IPA)은 VWR(Randor, PA, U.S.)에서 구입했습니다. 아세트산(AA)과 암모늄 아세테이트는 MilliporeSigma(Burlington, MA, U.S.)에서 구입했습니다.

용액 및 표준물질

Native PFAS 및 ISTD 스파이킹 용액은 각각의 원액을 메탄올로 희석하여 제조했습니다. Native PFAS 스파이킹 용액은 PFBA, 9CI-PF3ONS, 11CI-PF3OUds, HFPO-DA, DONA, 4:2 FTS, 6:2 FTS 및 8:2 FTS의 경우 100ng/mL, PFPeA의 경우 50ng/mL, 나머지 21개 화합물의 경우 25ng/mL의 농도로 제조했습니다. ISTD 스파이킹 용액은 18가지 동위원소 표지 ISTD 화합물 모두에 대해 100ng/mL의 균일한 농도로 제조했습니다.

이러한 스파이킹 용액은 1% 아세트산이 함유된 ACN 내에서 검량선 작성을 위한 순수 표준 용액을 제조하는 데 사용되었으며, 농도에 대한 상세 내용은 표 1에 기재되어 있습니다.

준비 후, 모든 검량 표준물질을 10% 물로 희석하고, 충분히 혼합한 다음 LC/TQ 주입에 사용했습니다. 이 희석 단계는 EMR 카트리지를 사용한 시료 정제 과정에서 발생하는 추가 10% 희석과 일치하도록 구현되었으며, 이를 통해 검량 표준물질과 시료 추출물 간의 일관성을 보장합니다.

모든 표준물질은 4°C에서 보관했으며 2주 이내에 사용했습니다. 일상적인 검량 표준물질 테스트를 위해 검량액의 일부를 폴리프로필렌(PP) 인서트가 장착된 별도의 바이알 세트에 옮겨 기기 주입에 사용했습니다. 표준물질은 사용 전에 완전히 실온에 도달하도록 해야 합니다. 초음파 처리를 이용하면 예열 과정을 가속화할 수 있습니다. 이 단계는 바이알 내에서 잠재 PFAS 분석물질의 손실을 방지하는 데 매우 중요합니다. LC/TQ 분석 중 주입 오류를 유발할 수 있는 기포를 제거하려면 인서트 내 시료를 충분히 볼텍싱하여 섞는 것이 필수적입니다.

표 1. 검량선 표준.

Native PFAS 또는 ISTD	검량 표준(ng/mL)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
PFBA, 9CI-PF3ONS, 11CI-PF3OUds, HFPO-DA, DONA, 4:2 FTS, 6:2 FTS, 8:2 FTS	NA	0.008	0.02	0.04	0.2	0.4	2.0	4.0	8.0	20.0
PFPeA	NA	0.004	0.01	0.02	0.1	0.2	1.0	2.0	4.0	10.0
PFHxA, PFBS, PFHpA, PFPeS, PFHxS, PFOA, PFNA, PFHpS, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTDA, PFOS, PFNS, PFDS, PFUnDS, PFDoS, PFTrDS, PFOSA, 10:2 FTS	NA	0.002	0.005	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	2.0	5.0
ISTD	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

ACN에 1% 아세트산을 포함한 추출 용매는 990mL의 ACN에 10mL의 아세트산을 추가하여 제조했으며 실온에서 보관했습니다. LC 이동상 A는 물에 5mM NH₄OAc를 용해시킨 용액이었고, 이동상 B는 아세토니트릴과 물을 95:5 비율로 혼합한 용액이었습니다. 니들 세척 용매는 IPA, 물, ACN을 사용했습니다.

장비 및 재료

본 연구는 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템을 이용하여 수행했으며, 여기에는 Agilent 1290 Infinity II 바이너리 펌프 (G7120A), Agilent 1260 Infinity II 하이브리드 멀티샘플러 (G7167C), 그리고 Agilent 1290 Infinity II 항온 컬럼 장치 (G7116B)가 포함되었습니다. 이 LC 시스템은 Agilent Jet Stream iFunnel 전기분무 이온 소스가 장착된 Agilent QQQ LC/MS 시스템(G6495D)과 연결하여 사용되었습니다. 데이터 수집 및 분석에는 Agilent MassHunter 워크스테이션 소프트웨어를 사용하였습니다.

시료 전처리에 사용된 기타 장비는 다음과 같습니다.

- Centra CL3R 원심분리기(Thermo IEC, MA, U.S.)
- Geno/Grinder (Metuchen, NJ, U.S.)
- Multi Reax 시험관 진탕기(Heidolph, Schwabach, Germany)
- 피펫 및 리피터(Eppendorf, NY, U.S.)
- Agilent positive pressure manifold 48 processor (PPM-48; 제품 번호 5191-4101)
- 초음파 세척조(VWR, PA, U.S.)

1290 Infinity II LC 시스템은 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. 크로마토그래피 분리는 Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 95Å, 2.1 × 100mm, 1.8µm(제품 번호 959758-902) 및 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1mm, 1.8µm, 1,200bar 최대 압력, UHPLC 가드 컬럼(제품 번호 821725-901)을 사용하여 수행했습니다.

시료 전처리 및 기타 소모품 사용 내역은 다음과 같습니다.

- Agilent Bond Elut QuEChERS EN 추출 키트, EN 15662 분석법, 완충염, 세라믹 균질기(제품 번호 5982-5650CH)
- Agilent Captiva EMR PFAS Food II 카트리지, 6mL 카트리지, 750mg(제품 번호 5610-2232)
- PP 스냅 캡 및 바이알, 1mL(제품 번호 5182-0567 및 5182-0542)

- PP 스크루 캡 스타일 바이알 및 캡, 2mL(제품 번호 5191-8121 및 5191-8151)
- 튜브 및 캡, 50mL, 50/pk(제품 번호 5610-2049)
- 튜브 및 캡, 15mL, 100/pk(제품 번호 5610-2039)

본 연구에 사용된 모든 소모품은 PFAS 오염도 검사 및 검증을 거쳐 허용 가능한 수준임을 확인했습니다.

LC/TQ 기기 조건

표 2에는 LC 펌프 조건이 나와 있습니다.

표 2. LC 펌프 조건.

파라미터	설정			
이동상 A	5mM NH ₄ OAc 수용액			
이동상 B	95:5 ACN:물			
그레디언트	시간(분)	A%	B%	유량(mL/min)
	0.00	90	10	0.400
	0.50	90	10	0.400
	2.00	70	30	0.400
	8.50	55	45	0.400
	11.50	25	75	0.400
	13.25	0	100	0.460
정지 시간	15.50분			
Post Time	2.5분			

표 3에는 LC 멀티샘플러 조건이 나와 있습니다.

표 3. LC 멀티샘플러 프로그램.

파라미터	설정			
Feed 주입	모드: Feed 주입			
	시료 흡인: 10.00µL			
	Feed속도: 펌프 유량의 10%			
	Flush out mode: automatic			
	10.00µL 공기와 5회 혼합			
	주입			
주입 경로 세척	단계	작업	용매	지속 시간/양
		시료 흡인		
	1	외부 세척	1:1 IPA:ACN	10초
	2	외부 세척	ACN	10초
		주입		
	1	내부 세척	2mM 암모늄 아세테이트	150µL
	2	내부 세척	2mM 암모늄 아세테이트	150µL
	3	시트 세척	1:1 IPA:ACN	150µL
	4	시트 세척	ACN	150µL
	5	재처리	2mM 암모늄 아세테이트	

LC 컬럼 장치: 등온 온도 40 ± 0.8°C.

표 4에는 MS 전기분무 이온화(ESI) 소스 설정을 나타내었습니다.

표 4. 질량 분석기 ESI 소스 설정.

파라미터	설정
건조 가스	150°C; 18L/min
Sheath Gas	390°C; 12L/min
네블라이저 가스	15psi
Capillary Voltage	2,500V(음극)
Nozzle Voltage	0V(음극)
이온 모드	음이온 모드, Fragmentor 설정값 166V 고정
iFunnel 모드	HFPO-DA를 제외한 모든 화합물에 대한 표준 모드

표 5에는 사전 스파이크된 QC 시료에 대한 스파이킹 세부 정보를 요약했습니다. 시료 전처리 프로토콜에 따라, 단백질 분말과 커피 분말은 10배 희석했고, 어유는 5배 희석했습니다. 따라서 QC 시료의 스파이킹 농도는 매트릭스별 희석배수와 필요한 LOQ를 모두 고려하여 계산했습니다. 사전에 준비된 검량선을 사용하여 정확한 정량을 보장하기 위해서는 최종 아세토니트릴 추출물에서 이론적인 ISTD 농도를 0.2ng/mL로 유지하는 것이 중요했으며, 이는 검량 표준물질의 ISTD 농도와 일치합니다. EMR 정제 전에 시료 ACN 추출물에 적용된 10% 물 희석 단계는 검량 표준물질에도 동일하게 적용되었으므로("용액 및 표준물질" 섹션 참조) 최종 시료 농도 계산에는 영향을 미치지 않았습니다.

PFAS 표적 및 ISTD에 대한 MS 수집 조건은 PFAS MRM 데이터베이스(G1736AA)에서 가져왔습니다.

시료 전처리 절차

어유, 커피 분말, 단백질 분말 시료는 지역 식료품점에서 구입하여 추출에 직접 사용했습니다. 단백질 분말과 커피 분말은 1g, 어유는 2g을 50mL PP 튜브에 칭량하여 넣었습니다. PFAS 표준물질과 ISTD는 모든 사전 첨가된 품질 관리(QC) 시료에 적절하게 첨가했으며, 매트릭스 블랭크(MB)에는 ISTD만 첨가했습니다. 절차 블랭크(PB)의 경우, ISTD를 첨가한 물 1mL 또는 2mL를 사용했습니다.

표 5. 커피, 단백질 분말 및 어유의 검증 배치를 위해 매트릭스 매치 QC 시료 및 매트릭스 Zero 시료를 조제했습니다.

시료(g)	단백질 분말				커피 분말				어유			
	21 PFAS	8 PFAS	PFPeA	ISTD	21 PFAS	8 PFAS	PFPeA	ISTD	21 PFAS	8 PFAS	PFPeA	ISTD
희석배수	10				10				5			
매트릭스 스파이킹 시료	시료 매트릭스 내 스파이킹 농도(µg/kg)											
Zero	--	--	--	2.0	--	--	--	2.0	--	--	--	1.0
QC 1	0.05	0.2	0.1	2.0	0.02	0.08	0.04	2.0	0.025	0.1	0.05	1.0
QC 2	0.08	0.4	0.2	2.0	0.05	0.2	0.1	2.0	0.05	0.2	0.1	1.0
QC 3	0.5	2.0	1.0	2.0	0.5	2.0	1.0	2.0	0.25	1.0	0.5	1.0
QC 4	2.0	8.0	4.0	2.0	2.0	8.0	4.0	2.0	1.0	4.0	2.0	1.0
QC 5	10.0	40.0	20.0	2.0	10.0	40.0	20.0	2.0	2.0	8.0	4.0	1.0

8종의 PFAS 화합물에는 PFBA, HFPO-DA, DONA, 4:2 FTS, 6:2 FTS, 8:2 FTS, 9Cl-PF3ONS 및 11Cl-PF3OUdS가 포함됩니다.

스파이킹 후, 모든 시료는 평형 상태를 확보하기 위해 2-3분간 볼텍싱했습니다. 그런 다음 그림 1에 나타낸 바와 같이 개발된 절차를 사용하여 시료를 추출할 준비가 되었습니다.

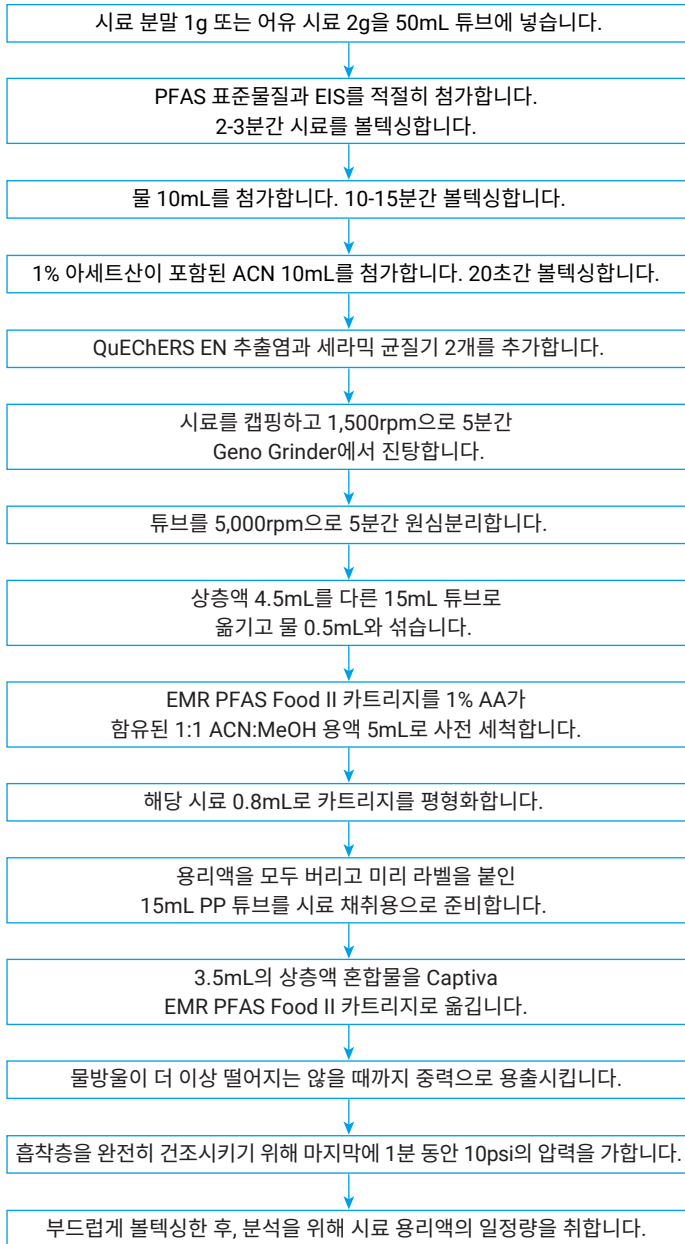


그림 1. QuEChERS 추출 후 Agilent Captiva EMR PFAS Food II 카트리지를 사용한 EMR 혼합 모드 패스투르 정제 과정을 거치는 시료 전처리 절차.

결과 및 토의

LC/TQ 기기 분석법

여기에서 사용된 MS 검출 방법은 이전 연구^{3,5}에서 직접 채택했지만 머무름 시간 범위가 수정되었습니다. LC 분석법 측면에서 추가적인 수정이 이루어졌습니다. LC 분석법은 이전 연구와 동일한 LC 컬럼을 사용했지만, 이동상 B, 그라디언트 및 주입 프로그램은 다르게 적용했습니다. 수정된 LC 분석법은 측정 범위 내에서 native 표적 물질과 ISTD 화합물에 대해 더 나은 크로마토그래피 분포를 제공합니다. 또한 일부 표적 물질과 그 이성질체에 대한 크로마토그래피 분리 성능도 향상되었으며, PFOS 및 콜산 간섭에 대한 베이스라인 분리를 제공했습니다. 그림 2는 모든 표적 물질 및 ISTD 피크의 크로마토그램을 부분적으로 식별한 결과(A)와 PFOS 이성질체 및 콜산 간섭을 나타낸 결과 (B)와 함께 보여주며, 머무름 시간 범위에 걸쳐 피크 분포가 개선되었고 주요 표적 물질 및 가능한 매트릭스 간섭물에 대한 베이스라인 분리가 이루어졌음을 보여줍니다. 고농도 ACN에 시료 10 μ L를 주입하는 Feed 주입 방식을 사용했을 때, PFBA를 제외한 모든 분석물질에서 우수한 피크 모양이 나타났으며, PFBA의 경우는 피크 폭이 약간 더 넓었습니다. 하지만 피크 모양과 세기는 일관성을 유지하여 안정적인 적분이 가능했습니다.

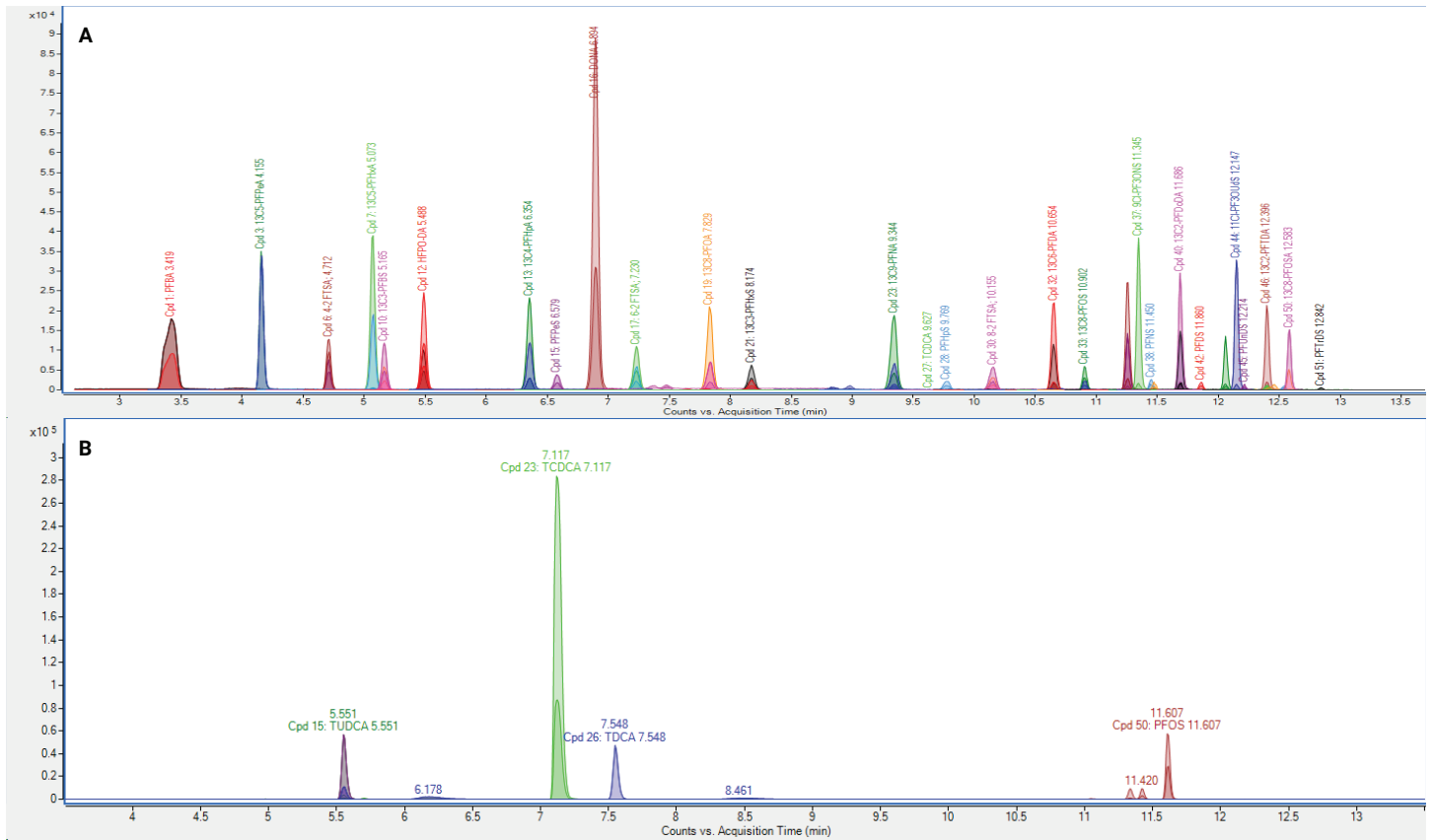


그림 2. (A) 모든 PFAS 분석물질 및 ISTD 화합물, (B) PFOS와 콜산(TUDCA, TDCDA, TDCDA)을 보여주는 MRM 크로마토그램.

시료 전처리 절차

시료 전처리는 일반적으로 기존에 확립된 프로토콜을 따랐으며, 몇 가지만 수정했습니다. 먼저, 단백질 분말과 커피 분말의 경우 시료량을 1g으로, 어유의 경우 2g으로 줄였습니다. 단백질 분말은 복잡한 구조를 가지고 있지는 않지만, 점성이 높고 ACN을 매우 잘 흡수합니다. 더 많은 시료(>1g)를 사용하면 염 분리 후 ACN 층의 상당한 손실이 발생했습니다. 건조하고 색소와 지질/기름이 풍부한 커피 가루는 더욱 복잡하고 농축된 구조를 가지고 있습니다. 가장 까다로운 유성 매트릭스 중 하나로 여겨지는 어유가 EMR 패스스루 정제를 통해 놀라울 정도로 잘 정제되었습니다. 따라서 어유의 경우, 약간 많은 시료량(2g)을 사용했습니다.

둘째, QuEChERS 추출 후 얻은 조 ACN 추출물을 10% 물로 희석하고 Captiva EMR PFAS Food II 카트리지를 사용하여 패스스루 정제 과정을 거쳤습니다. 기존 프로토콜에서는 5mL의 주입량을 사용했지만, 본 연구에서는 주입량을 3.5mL로 줄였습니다. 이러한 조정은 분석물 회수율을 저하시키지 않으면서 EMR 카트리지의 후반부 포화 현상을 방지하여 정제 효율을 향상시켰습니다. 또한, 대용량이 필요하지 않은 용출액 직접 주입 방식 덕분에 시료 주입량을 줄이는 것이 가능해졌습니다.

셋째, EMR 정제 후 용출액을 LC/TQ 분석을 위해 직접 주입했습니다. 건조, 재용해 또는 추가적인 물 희석은 필요하지 않았습니다. 후처리 단계, 특히 건조 단계를 제거함으로써 워크플로가 더욱 간소화되고 전체 시료 전처리 시간이 최대 50%까지 단축되었습니다.

분석법 검증

PFAS 백그라운드에 대한 분석법 선택성: MilliQ 증류수를 일정량 사용하여 절차 블랭크(PB)를 준비하고 전체 시료 전처리 프로토콜을 거쳤습니다. 각 매트릭스 검증 배치에 하나 또는 두 개의 절차 블랭크가 포함되었습니다. AOAC SMPR 2023.003에 따르면, 요구되는 최저 LOQ는 4가지 핵심 PFAS 표적 물질의 경우 0.01µg/kg, PFBA 및 PFPeA의 경우 1µg/kg, 기타 PFAS의 경우 0.1µg/kg입니다. 이에 비해 EU 기준 지침에서는 동일한 매트릭스에서 4가지 핵심 표적 물질에 대해 0.001-0.004µg/kg 범위의 훨씬 낮은 LOQ를 명시하고 있습니다.

첫째, 검출된 4가지 핵심 표적 물질인 PFHxS, PFOA, PFOS 및 PFNA는 모든 PB에서 0.001µg/kg 미만으로 나타났습니다. 둘째, 다른 모든 PFAS 표적 물질의 경우, PB에서 관찰된 백그라운드 수준은 필요한 분석법의 LOQ를 충족할 만큼 충분히 낮았습니다. 셋째, PFBA는 0.005µg/kg 미만으로 검출되었는데, 이는 요구되는 최소 LOQ인 1µg/kg을 기준으로 한 허용 기준치인 0.3µg/kg보다 훨씬 낮은 수치입니다.

PFAS 백그라운드에 대한 분석법 선택성: 주요 과제 중 하나는 식품 매트릭스 블랭크의 적합성이었습니다. 매트릭스 블랭크 시료에서 PFAS 잔류물이 검출되는 경우가 흔하기 때문입니다. 시험한 세 가지 식품 매트릭스 중 어느 것도 PFAS 백그라운드 오염에서 완전히 자유롭지 않았습니다. 이는 주로 분석법의 매우 낮은 검출 한계와 식품 매트릭스에 PFAS가 널리 존재한다는 사실에 기인합니다. 매트릭스 블랭크에서 일반적으로 관찰되는 PFAS 오염물질에는 다양한 식품에 걸쳐 4:2 FTS, 6:2 FTS, PFOA, PFNA, PFOS가 포함되었습니다. 단백질 분말에서 PFAS 양성 반응이 가장 빈번하게 나타났으며, 어유가 그 뒤를 이었습니다. 커피 가루는 백그라운드 오염도가 가장 낮게 나타났습니다. 특히, 단백질 분말과 어유에서 6:2 FTS가 상당히 높은 수준으로 검출되었는데, 이는 실험 LOQ 시료의 LOQ 결정과 정량 결과에 영향을 미쳤습니다.

분석법 LOQ: 분석법 LOQ는 표적 식별 파라미터(머무름 시간, 정성 이온의 신호대 잡음비(S/N), 정량 이온과 정성 이온의 비율 등)와 표적 회수율 및 반복성을 포함한 모든 허용 기준을 충족하는 가장 낮은 실험적 QC 스파이킹 농도로 정의되었습니다. 앞서 언급했듯이, 분석법 LOQ의 결정은 MB의 적합성과 밀접한 관련이 있으며, 특히 PFAS 화합물이 테스트된 모든 식품 매트릭스에서 공통적으로 검출되었다는 점을 고려할 때 더욱 그러합니다. MB에서 검출된 분석물질이 실험적 LOQ의 30% 미만인 경우를 적합성 인정 기준으로 정의하였으며, 이 기준을 충족하는 매트릭스에 대해서는 실험적 LOQ를 해당 분석법의 LOQ로 보고하였습니다. MB에서 양성 검출 결과가 허용 기준을 초과한 경우, 정량 성능이 불충분한 것으로 간주되어 실험적 LOQ는 무효로 처리되었습니다. 따라서 이러한 매트릭스에 대한 분석법 LOQ는 테스트된 7개의 MB를 기반으로 수식 1²을 사용해 계산되었습니다.

수식 1.

$$LOQ_{cal} = SD_{MBs} \times 10$$

여기서 LOQ_{cal} 은 매트릭스 블랭크에서 PFAS 검출을 기반으로 계산된 LOQ입니다. SD_{MBs} 는 MB 시료 7개의 반복 측정에서 검출된 PFAS 농도의 표준편차(SD)입니다.

모든 매트릭스 블랭크 테스트 결과와 실험적으로 측정되었거나 계산된 PFAS 표적에 대해 보고된 LOQ, 그리고 AOAC SMPR에서 요구하는 LOQ를 표 6에 요약했습니다. 매트릭스 블랭크에서 관찰된 PFAS 검출은 머무름 시간 및 정성 이온 비율 기준에 따라 확인되었습니다.

앞서 언급했듯이 커피 분말의 매트릭스 블랭크는 가장 낮은 PFAS 백그라운드를 나타냈습니다. PFOA와 6:2 FTS만 검출되었으며, 각각 약 0.05µg/kg의 농도로 존재했습니다. 6:2 FTS의 경우, 보고된 LOQ는 더 높은 실험적 QC 스파이킹 농도를 기준으로 했습니다. PFOA의 경우, 요구되는 기준 미만의 계산된 LOQ가

표 6. 커피 분말, 단백질 분말 및 어유에서 30종의 PFAS 분석물질에 대한 매트릭스 블랭크 검출 및 보고된 LOQ와 요구되는 LOQ.

표적	식품 매트릭스에서 매트릭스 블랭크 검출 및 분석법 LOQ(µg/kg)								
	커피 분말			단백질 분말			어유		
	MB	보고된 LOQ	요구되는 LOQ	MB	보고된 LOQ	요구되는 LOQ	MB	보고된 LOQ	요구되는 LOQ
PFBA	ND	2.0	≤ 3	0.068	0.32	≤ 1	0.032	0.2	≤ 5
PFPeA	ND	1.0	≤ 3	0.011	0.16	≤ 1	0.005	0.005	≤ 5
PFBS	ND	0.05	≤ 3	ND	0.08	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
4:2 FTS	0.002	2.0	≤ 3	0.014	2	≤ 0.8	0.006	0.1	≤ 5
PFHxA	0.001	0.5	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFPeS	ND	0.02	≤ 3	0.037	0.5	≤ 0.8	0.014	0.25	≤ 5
HFPO-DA	ND	0.2	≤ 3	ND	0.2	≤ 0.8	ND	0.1	≤ 5
PFHpA	ND	0.5	≤ 3	0.011	0.5	≤ 0.8	0.004	0.025	≤ 5
PFHxS	ND	0.02	≤ 0.3	0.021	0.05*	≤ 0.08	0.002	0.025	≤ 0.5
DONA	0.002	0.08	≤ 3	0.010	0.2	≤ 0.8	0.005	0.1	≤ 5
6:2 FTS	0.053	2.0	≤ 3	0.808	1.87*	≤ 0.8	0.563	0.13*	≤ 5
PFOA	0.048	0.07*	≤ 0.3	0.028	0.05*	≤ 0.08	0.012	0.01*	≤ 0.5
PFHpS	ND	0.05	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFNA	ND	0.05	≤ 0.3	0.020	0.02*	≤ 0.08	ND	0.025	≤ 0.5
PFOS	ND	0.02	≤ 0.3	0.065	0.04*	≤ 0.08	ND	0.025	≤ 0.5
9Cl-PF3ONS	ND	0.08	≤ 3	ND	0.2	≤ 0.8	ND	0.1	≤ 5
8:2 FTS	ND	0.08	≤ 3	ND	0.2	≤ 0.8	ND	0.1	≤ 5
PFDA	ND	0.02	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFNS	ND	0.02	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFDS	ND	0.05	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFUnDA	ND	0.02	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFOSA	ND	0.05	≤ 3	ND	0.08	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
11Cl-PF3OUdS	ND	0.08	≤ 3	ND	0.2	≤ 0.8	ND	0.1	≤ 5
PFUnDS	ND	0.02	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.05	≤ 5
PFDoDA	0.001	0.05	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
10:2 FTS	ND	0.05	≤ 3	ND	0.08	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFDoS	ND	0.05	≤ 3	ND	0.05	≤ 0.8	ND	0.025	≤ 5
PFTTrDA	0.001	0.05	≤ 3	ND	0.08	≤ 0.8	ND	0.05	≤ 5
PFTTrDS	ND	0.05	≤ 3	ND	0.08	≤ 0.8	ND	0.05	≤ 5
PFTTeDA	ND	0.5	≤ 3	ND	0.08	≤ 0.8	0.009	0.05	≤ 5

빨간색은 결과가 허용 기준을 충족하지 못했음을 나타냅니다.

ND = 검출되지 않음

* = 계산된 LOQ

굵게 표시 = 핵심 PFAS 표적

사용되었습니다. 반면, 어유 매트릭스 블랭크에서는 PFAS 백그라운드 수준이 약간 더 높게 나타났습니다. 대부분의 검출 농도는 0.02µg/kg 미만이었지만, PFBA와 6:2 FTS의 경우 특히 높은 농도가 검출되었습니다. 6:2 FTS와 PFOA 모두에 대해 계산된 LOQ가 보고되었습니다. 커피와 어유의 LOQ 기준이 더 높기 때문에 실험값이든 계산값이든 모든 LOQ는 요구되는 한계치 미만으로 유지되었습니다. 단백질 분말 매트릭스는 가장 높은 PFAS 백그라운드를 나타냈으며, 더 빈번하고 높은 농도로 검출되었습니다. 이로 인해 계산된 LOQ가 더 많이 보고되었고, 6:2 FTS는 요구되는 LOQ를 충족하지 못했습니다.

분석법 회수율 및 반복성: 5가지 사전 스파이킹 QC 농도 각각에 대해 6회 반복 측정을 수행하여 3가지 매트릭스 모두에서 분석법의 회수율과 반복성을 검증했습니다. 최종 검증 결과는 각 매트릭스에 대해 'LOQ', '중간 수준(mid)' 및 '높은 수준(high)'의 세 가지 QC 수준에서 보고되었습니다. 계산된 LOQ를 사용한 경우, LOQ 수준에서의 회수율 및 RSD를 보고하기 위해 계산된 LOQ에 가장 가까운 스파이킹 QC 농도를 선택했습니다. 중간 수준 QC 결과는 LOQ의 5-20배 농도에 해당하며, 고수준 QC 결과는 LOQ의 50-100배 농도를 반영합니다.

검증된 분석법 결과를 그림 3(커피 분말), 그림 4(단백질 분말) 및 그림 5(어유)에 요약했습니다. 각 그림에서 녹색 음영 영역은 회수율 허용 범위를 나타내고, 파란색 음영 영역은 RSD 허용 범위를 나타냅니다. 실선은 회수율 결과를 나타내고, 점선은 세 가지 QC 수준에 걸친 RSD 결과를 나타냅니다. 이러한 QC 수준은 색상으로 구분되는데, 녹색은 LOQ, 보라색은 중간 수준, 그리고 파란색은 높은 수준의 QC를 나타냅니다. 매트릭스 블랭크에서 분석물질이 양성으로 검출된 경우, 분석물질 회수율 계산 시 블랭크 백그라운드를 보정했습니다.

모든 PFAS 표적 분석물질은 세 가지 스파이킹 농도에서 허용 가능한 회수율과 RSD 결과를 보이는 것으로 보고되었습니다. 중간 및 높은 QC에서 세 가지 매트릭스의 모든 분석물질은 우수한 회수율(80-120%)과 낮은 RSD(< 10%)를 보였습니다. LOQ 수준에서 간혹 편차가 관찰되었는데, 회수율이 80% 미만이거나 120%를 초과하는 경우, 그리고 RSD가 10%를 초과하는 경우가 있었습니다. 전반적으로, 이번 연구 결과는 분석법이 커피 분말, 단백질 분말 및 어유에 함유된 30종의 PFAS 화합물에 대해 AOAC SMPR 요건을 충족하는 정확하고 정밀한 정량적 측정값을 안정적으로 제공한다는 사실을 확인시켜 줍니다.

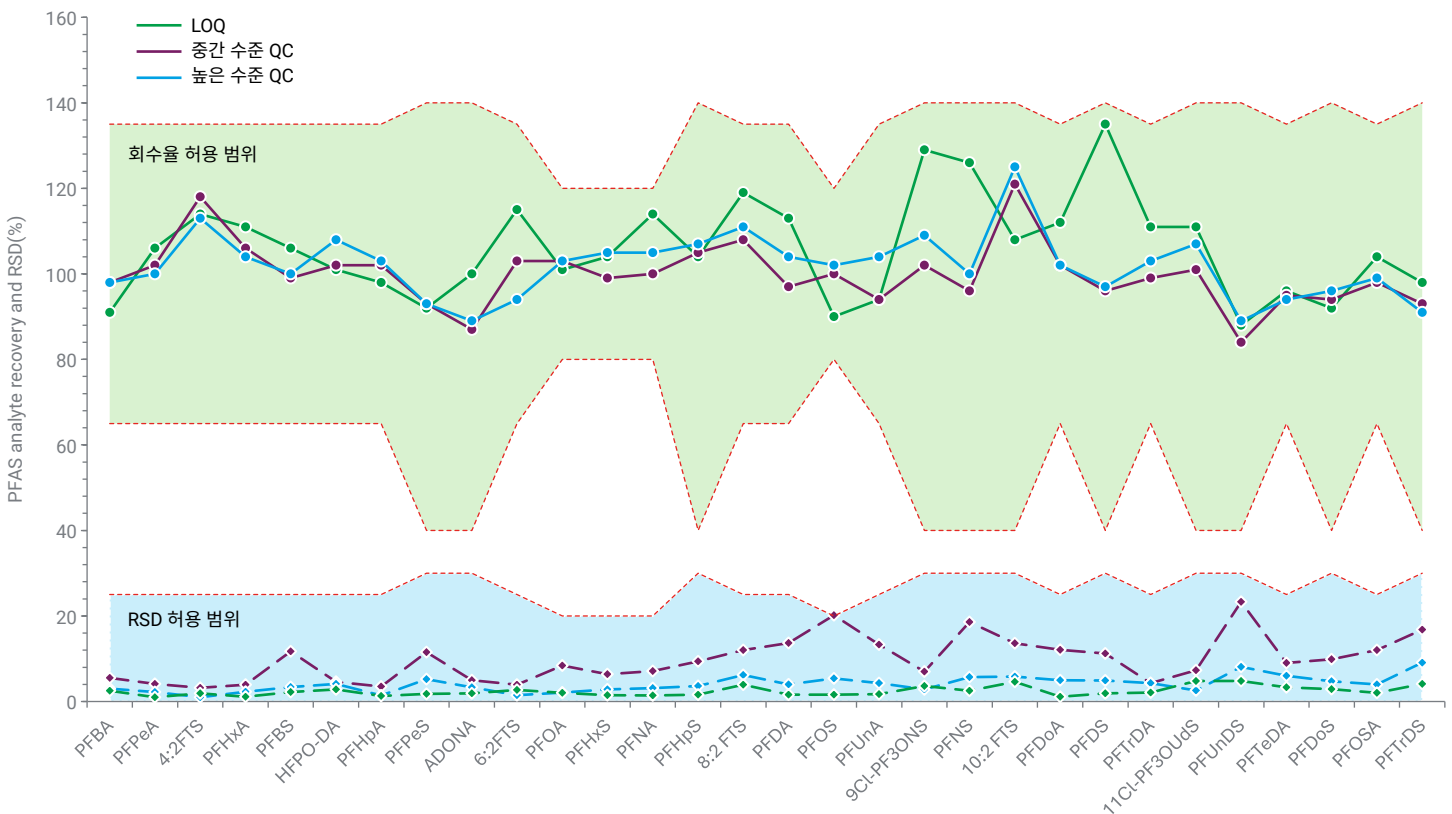


그림 3. 커피 분말에서 30종의 PFAS에 대한 검증 결과 요약. 허용 기준은 AOAC SMPR 2023.003에 기초합니다.

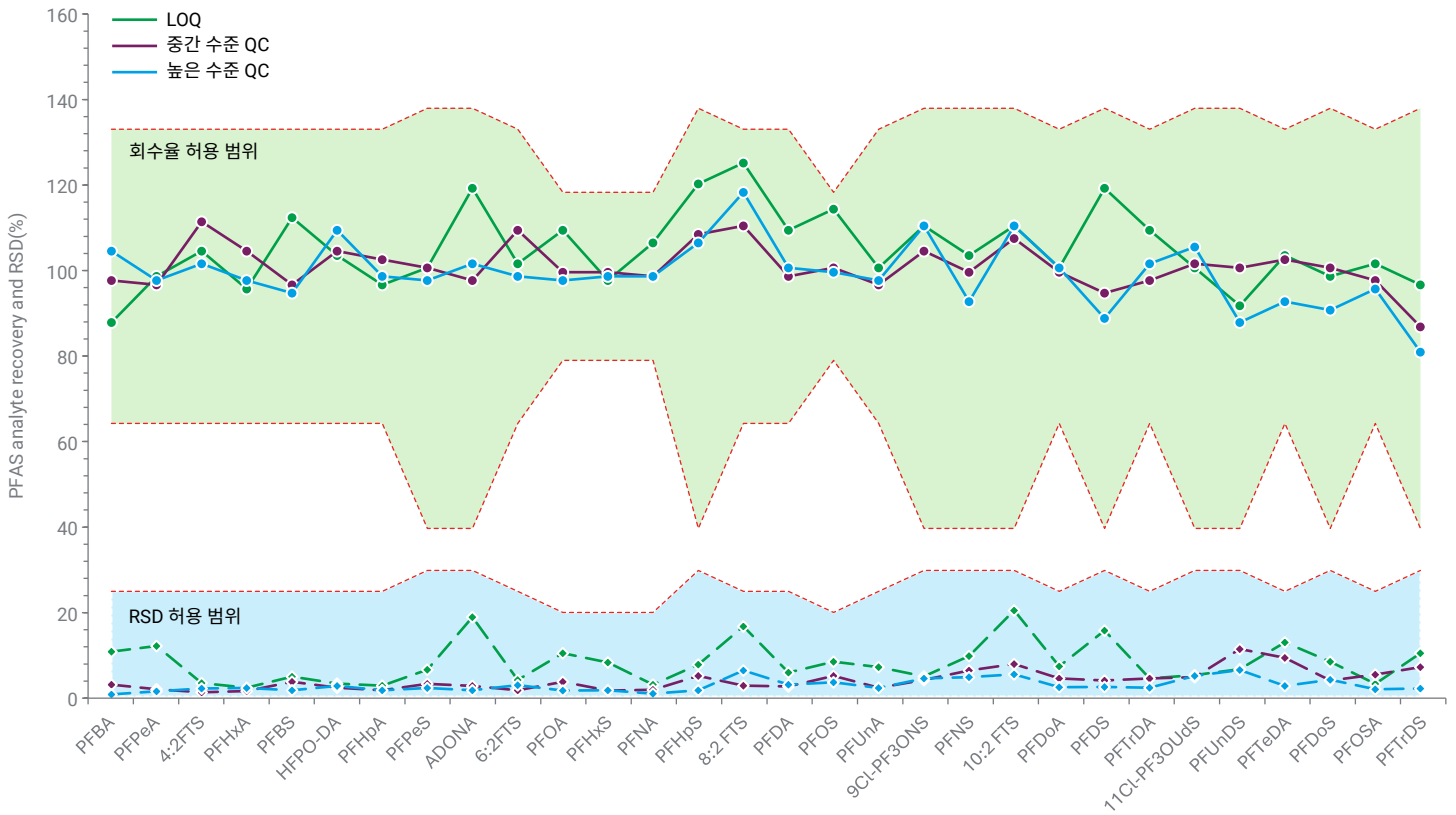


그림 4. 단백질 분말에서 30종의 PFAS에 대한 검증 결과 요약. 허용 기준은 AOAC SMPR 2023.003에 기초합니다.

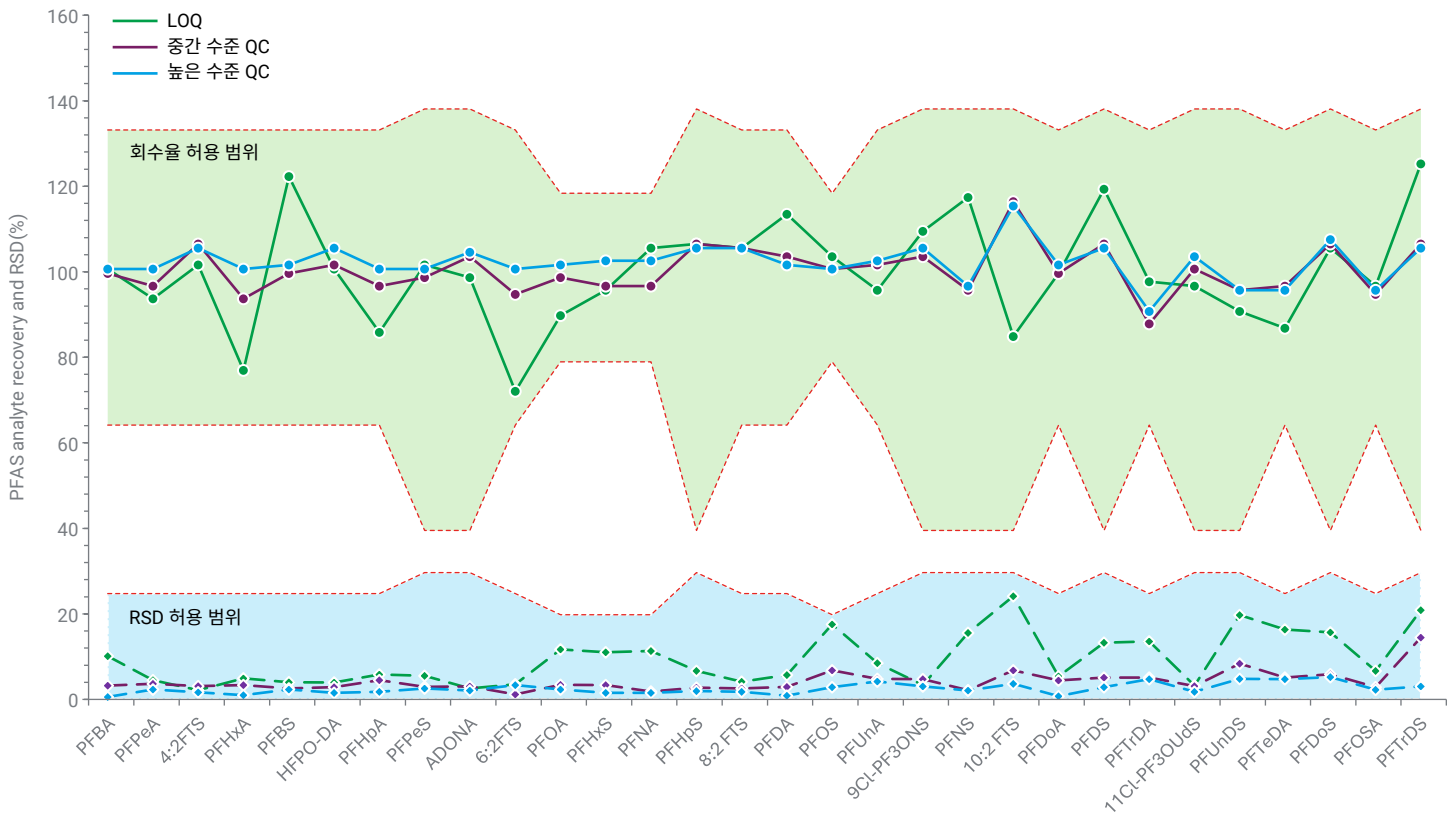


그림 5. 어유에서 30종의 PFAS에 대한 검증 결과 요약. 허용 기준은 AOAC SMPR 2023.003에 기초합니다.

결론

커피 분말, 단백질 분말 및 어유에서 30종의 PFAS 표적 물질을 측정할 수 있는 간편하고 신속하며 신뢰할 수 있는 분석법이 개발 및 검증되었습니다. 이 새로운 분석법은 QuEChERS 추출 후 Captiva EMR PFAS Food II 패스스루 정제와 LC/TQ 검출을 사용합니다. 시료 전처리 방식은 단순성, 견고성 및 비용 효율성이 특징이며, 시간과 리소스를 크게 줄여줍니다. 이 분석법은 AOAC SMPR 2023.003 가이드라인에 명시된 수용 기준을 충족하는 것으로 검증되었습니다. 본 연구는 AOAC SMPR 2023.003에서 요구하는 11가지 식품군 전체에 걸쳐 EMR-LC/MS/MS 분석법의 유효성 검증을 완료한 것입니다.

참고 자료

1. EUR-Lex (2023) Consolidated text: Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006.
2. 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)
3. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. 영아용 조제분유, 우유 및 달걀 내 30종 과불화화합물(PFAS)의 측정, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7366KO, **2024**.
4. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. Determination of 30 Perand Polyfluoroalkyl Substances in Baby Food, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7367EN, **2024**.
5. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. 소고기, 참치, 새우에서 30종 과불화화합물(PFAS) 측정, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7368KO, **2024**.
6. Zhao, L.; Giardina, M. 과일, 농산물 및 주스에 포함된 30종 과불화화합물(PFAS) 측정, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7369KO, **2024**.
7. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. Determination of 30 Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Bovine Kidney, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7370EN, **2024**.
8. Zhao, L.; Giardina, M.; Parry, E. Determination of 30 Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Dry Soybeans, *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5994-7371EN, **2024**.

www.agilent.com

DE-009083

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2025
2025년 9월 9일, 한국에서 인쇄
5994-8610KO

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