

Agilent 8890 GC 및 7000D QQQ MS 시스템을 이용한 참깨 내 에틸렌 옥사이드 및 에틸렌 클로로하이드린 추정

저자

Praveen Arya, Vivek Dhyani,
Dr. Samir Vyas
Agilent Technologies, Inc.

개요

본 응용 자료는 Agilent 7000D QQQ GC/MS 질량 분석기와 결합된 Agilent 8890 GC 시스템을 사용하여 참깨 시료 내 에틸렌 옥사이드 및 에틸렌 클로로하이드린을 검출하고 정량하는 방법을 소개합니다. 이 분석법은 참깨 시료의 생산, 가공, 저장 또는 상업적 시험 또는 학술적 목적과 관련된 식품 산업의 일반 분석에 대한 결과에서 가장 높은 신뢰도를 제공합니다. 시료 전처리 과정에서 시료 내 에틸렌 옥사이드 잔류물이 아세트산에틸을 통한 액체-액체 추출(LLE)에 의해 에틸렌 클로로하이드린으로 전환되고, GC/TQ에 주입하기 전에 클린업되었습니다. 매트릭스 내 10ppb의 정량 한계(LOQ)가 입증되었습니다.

에틸렌 옥사이드는 보관 중에 오일시드와 향신료를 살균하는 데 사용됩니다. 에틸렌 옥사이드 및 그 유도체인 에틸렌 클로로하이드린(저장 중 반응에 의해 생성됨)의 잔류물이 이러한 식품에서 발견될 수 있습니다.¹ 에틸렌 클로로하이드린은 훈증 소독을 위한 에틸렌 옥사이드의 사용 확인에 적합한 마커로 사용할 수 있습니다. 참깨 내 에틸렌 클로로하이드린은 간단한 GC/TQ 분석법을 통해 측정될 수 있습니다. 이러한 측정은 또한 전환 계수를 사용함으로써 시료 내 존재하는 실제 에틸렌 옥사이드의 추정값을 제공합니다.

본 연구에서 증명된 분석법은 7000D QQQ MS(10ng/g LOQ, EU가 50ng/g으로 설정한 MRL을 준수함)와 결합된 8890 GC 시스템을 사용하여 에틸렌 옥사이드로 참깨를 훈증 소독하는 마커로서 에틸렌 클로로하이드린을 검출하는 데 유용합니다.²

실험

필요한 화학물질

- 0.1N 황산(0.981g 황산을 100mL 물에 녹임)
- 물 속 포화 염화나트륨 용액
- 물(Millipore, Milli-Q)
- 아세트산 에틸(HPLC 등급)
- Agilent QuEChERS 분산 클린업 키트 (제품 번호 5982-0028)
- 에틸렌 옥사이드 참조 표준물질 (Sigma-Aldrich 제품 번호 CRM48891)
- 에틸렌 클로로하이드린 참조 표준물질 (Merck 제품 번호 8.00945.0100)

필요한 기기

본 연구에서는 컬럼 후 백플러시 옵션 및 7000D QQQ MS, 초음파 수조, 수조, 냉각 원심분리기, 테이블탑 원심분리기 및 vortex 믹서로 구성된 MMI 주입구가 장착된 Agilent 8890 GC 시스템을 사용하였습니다. 절차는 다음과 같습니다.

1. 시료 2g을 측정해 50mL 원심분리기용 튜브에 넣습니다.
2. 물 2mL, 0.1N H₂SO₄ 2mL, 포화 염화나트륨 용액 1mL를 첨가합니다.
3. 20분간 초음파 처리합니다.
4. 시료를 50°C 수조에 1시간 방치합니다.
5. vortex 처리 후 시료가 실온에 도달할 때까지 기다립니다.
6. 아세트산 에틸 5mL 첨가 후 10분간 vortex 처리합니다.
7. 5°C에서 8,000rpm으로 5분간 원심분리합니다.
8. 상등액 1mL를 취하여 분산 QuEChERS 클린업 튜브(범용)(제품 번호 5982-0028)에 첨가합니다.
9. 5분간 5,000rpm에서 흔들어 준 후 원심분리합니다.
10. 바이알 내 상등액을 채취하여 GC/MS/MS에 주입합니다.

표 1. GC 분석법

GC 조건	
컬럼	Agilent VF-624ms, 60m × 0.25mm, 1.4μm (p/n CP9103)
주입구	Agilent 멀티모드 주입구 5190-2293, 비분할 라이너 주입 부피: 2μL
주입 모드	펄스 비분할, 0.8분까지 25psi, 1.25분에서 퍼지 유속 40mL/min
주입구 온도	250°C
오븐	2분간 60°C 150°C까지 10°C/분, 250°C까지 40°C/분, 20분 유지
운반 가스	99.9995% 헬륨, 1.0mL/분, 일정 유속 모드

표 2. MS 분석법 MS 조건

MSD 조건	
사중극자 온도	150°C
이온화원 온도	EI 280°C
이송 라인 온도	250°C
에틸렌 클로로하이드린 MRM 전이	82 → 31(CE: 5) 80 → 43(CE: 5) 80 → 31(CE: 5)
EMV 모드	게인 계수: 10
각 전이에 대한 측정 시간	75
용매 지연	9.5

결과 및 토의

상기 분석법을 사용하여 참깨 시료 내 에틸렌 클로로하이드린에 대한 LOQ는 이러한 수준에서와 같이 10ng/g으로 추정되었으며, 피크는 신호 대 잡음비가 2.9를 초과하여 베이스라인 및 매트릭스와 쉽게 구별됩니다. 그림 1에는 LOQ 수준 스파이킹에서의 정량 및 정성 EIC가 강조 표시되어 있습니다. 이러한 LOQ는 고객의 요구 사항 및 EU가 50ng/g로 설정한 MRL의 규제 요건을 충족합니다. 그림 2는 10ppb 및 50ppb 수준 매트릭스 표준물질에 대한 신호 대 잡음을 보여줍니다.

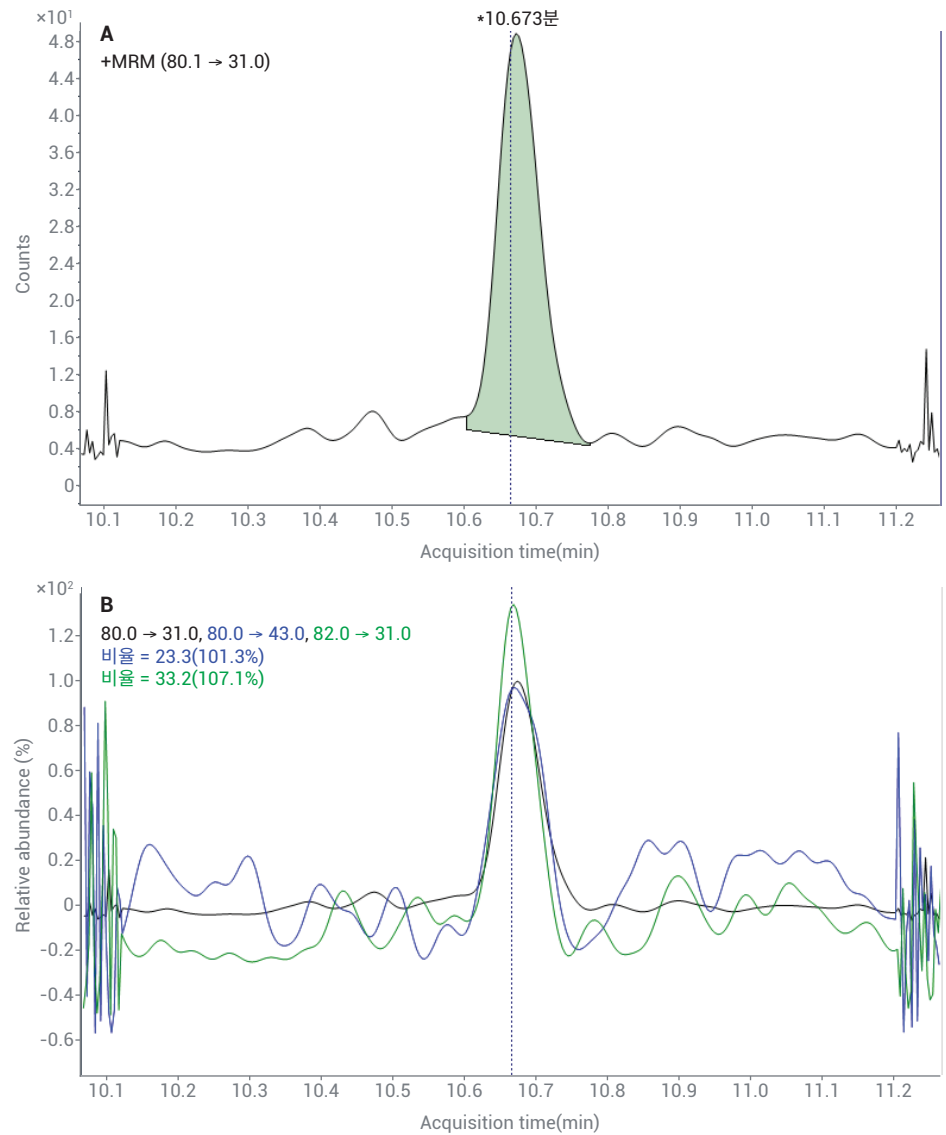


그림 1. 10ng/g 스파이킹 농도에서 에틸렌 클로로하이드린의 정량 및 두 개의 정성 피크

검량 및 직선성

5~200ng/g의 농도 수준에 걸쳐 감응(피크 영역)에 대해 사전 스파이킹한 매트릭스 선형 플롯이 생성되었습니다(그림 4). 검량은 다음의 6개 수준에서 수행되었습니다. 5, 10, 20, 50, 100, 200ng/g. $R^2 > 0.998$ 으로 우수한 직선성이 관찰되었습니다.

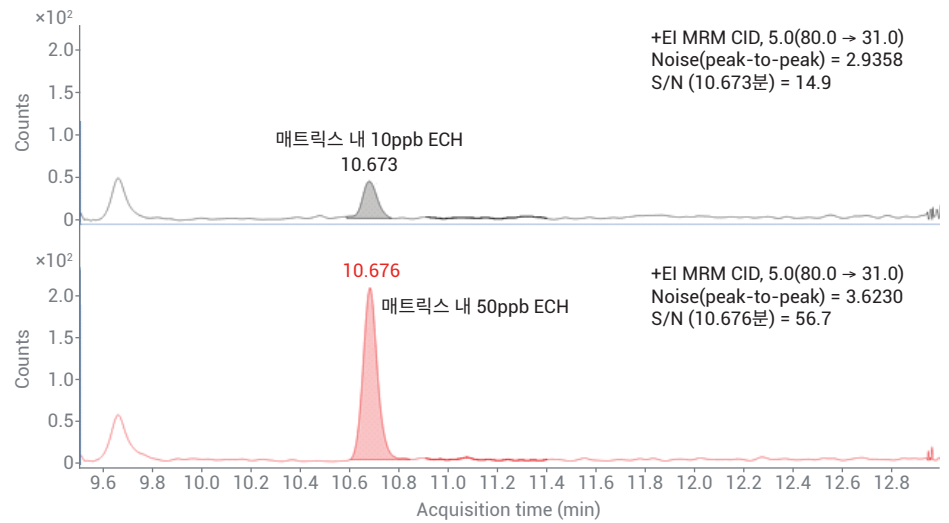


그림 2. 에틸렌 클로로하이드린의 감도. MRM 크로마토그램, 10ng/g 스파이킹 및 50ng/g 스파이킹

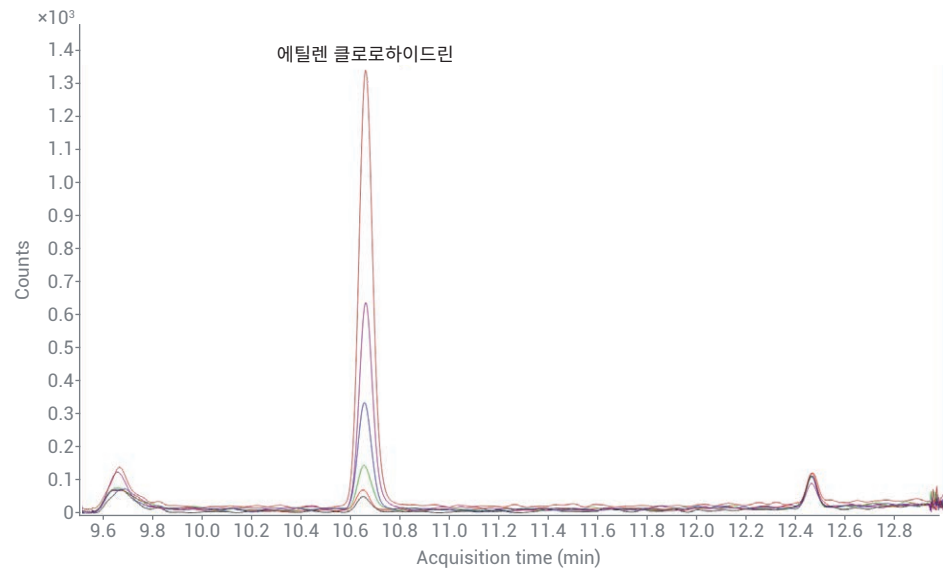


그림 3. 5ppb~200ppb의 매트릭스 범위에서 에틸렌 클로로하이드린의 여러 농도 TIC MRM 오버레이

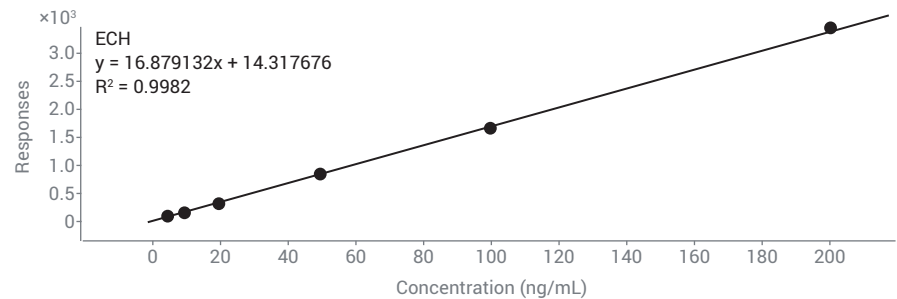


그림 4. 에틸렌 클로로하이드린 매트릭스와 일치하는 표준물질에 대한 검량 플롯

반복성

용리의 반복성은 에틸렌 클로로하이드린 표준물질을 50ppb 농도로 매트릭스에 주입함으로써 입증되었습니다. 에틸렌 클로로하이드린의 피크 면적의 상대 표준 편차는 50ppb 매트릭스 표준물질의 6회 반복 주입에 기초하여 계산되었으며, 표 3에 나타난 바와 같이 1.73%였습니다.

참개 시료 내 정량

논의된 분석법은 참개 시료로 확대되었으며, 이 시료는 분석 및 회수 연구용으로 현지 시장에서 구입하였습니다.

회수율 연구

표 4에 나타난 바와 같이, 참개의 바탕 매트릭스에서 에틸렌 클로로하이드린에 대응하는 피크는 관찰되지 않았습니다. 실제 참개 시료에서 에틸렌 클로로하이드린 및 에틸렌 옥사이드 회수율은 에틸렌 클로로하이드린의 경우 10 및 50ppb, 에틸렌 옥사이드의 경우 10ppb의 스파이킹 수준을 사용하여 계산하였습니다.

세 가지 스파이킹 연구는 다음과 같이 수행되었습니다.

1. 에틸렌 클로로하이드린을 10ppb 수준에서 참개 시료에 스파이킹하였습니다.
2. 에틸렌 클로로하이드린을 50ppb 수준에서 참개 시료에 스파이킹하였습니다.
3. 에틸렌 옥사이드를 10ppb 수준에서 참개 시료에 스파이킹하였습니다. 이는 시료 내 에틸렌 옥사이드 함량 추정을 위한 분석법을 사용할 수 있는지 확인하기 위해 수행되었습니다. (0.55의 전환 계수를 배수로 사용하여 에틸렌 옥사이드 스파이킹 시료의 결과를 계산하였습니다).² 얻어진 퍼센트 회수율 결과는 표 5에 나타냈습니다.

표 3. 50ppb 매트릭스와 일치하는 표준물질에 대한 에틸렌 클로로하이드린 퍼센트 RSD(CV)

Area Inj-1	Area Inj-2	Area Inj-3	Area Inj-4	Area Inj-5	Area Inj-6	%RSD
821	804	811	829	842	810	1.73

표 4. 검량(5~200ppb), 스파이킹 회수율(10 및 50ppb), 반복성 작업(50ppb)에 대한 정량 요약

시료 이름	화합물	시료 유형	RT	감응	최종 농도. (ng/g)
매트릭스 바탕_참개	에틸렌 클로로하이드린	시료			ND
매트릭스 검량-1_5ppb	에틸렌 클로로하이드린	검량	10.646	115	5.97
매트릭스 검량-2_10ppb	에틸렌 클로로하이드린	검량	10.650	165	8.9
매트릭스 검량-3_20ppb	에틸렌 클로로하이드린	검량	10.654	324	18.32
매트릭스 검량-4_50ppb	에틸렌 클로로하이드린	검량	10.654	856	49.85
매트릭스 검량-5_100ppb	에틸렌 클로로하이드린	검량	10.657	1,676	98.46
매트릭스 검량-6_200ppb	에틸렌 클로로하이드린	검량	10.657	3,449	203.5
참개_ECH SPK_10ppb	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.673	184	10.08
참개_ECH SPK_50ppb	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.676	859	50.04
참개_ETO SPK_10ppb	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.673	267	8.23
50Ppb spk 반복-1	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.699	821	47.8
50ppb spk 반복-2	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.707	804	46.79
50ppb spk 반복-3	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.714	811	47.2
50ppb spk 반복-4	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.718	829	48.29
50ppb spk 반복-5	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.737	842	49.05
50ppb spk 반복-6	에틸렌 클로로하이드린	시료	10.733	810	47.14

표 5. 참개 시료 내 회수율

화합물 명	스파이킹 농도 (ng/g)	관찰된 농도 (ng/g)	최종 농도 (ng/g)	회수율 (%)
에틸렌 클로로하이드린	10	10.078	10.078	100.8
	50	50.036	50.036	100.1
에틸렌 옥사이드	10	14.96	8.228	82.3

결론

참깨 내 에틸렌 옥사이드 및 에틸렌 클로로하이드린을 분석하기 위한 정확하고 견고한 분석법이 개발되었습니다. 시료 전처리법은 절차가 간단하고 시간 소모가 적습니다. 분석법의 LOQ는 시료 내 10 ng/g 수준에서 입증됩니다. 스파이크 시료의 6회 반복 실험에 대해 재현성이 있는 결과를 확인하였습니다. 참깨 시료 내 에틸렌 옥사이드 및 에틸렌 클로로하이드린의 10ng/g 스파이킹 농도에서 만족스러운 회수율을 확인하였습니다. 따라서 본 연구에서 증명된 분석법은 정해진 규제 한계 하에서 에틸렌 옥사이드로 훈증 소독한 참깨 시료의 일상적 분석에 유용하다는 것을 입증합니다.

참고 문헌

1. Tateo, F.; Benoni, M. Determination of Ethylene Chlorohydrin as Marker of Spices Fumigation with Ethylene Oxide. *JFCA* **2006**, 19, 83–87.
2. Procedure for Control of Contamination of Salmonella, Residues of Pesticides Including Ethylene Oxide (EO) in Sesame Seeds for Export to EU Countries. Indian Oil Seeds and Produce Export Promotion Council. http://www.iopepc.org/misc/2020/Procedure_1.pdf

www.agilent.com/chem

44419.2179050926

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 8월 11일 수요일, 한국에서 인쇄
5994-3805KO

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