

향상된 식품 안전 검사

Agilent 6546 LC/Q-TOF 및 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0의 LC/Q-TOF Screener 도구를 사용한 농약 스크리닝 분석법

저자

Karen E. Yannell and Kai Chen
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA

개요

본 응용에서는 여러가지 복잡한 식품 매트릭스에서 수백 종의 농약 성분을 스크리닝하는 분석법을 소개합니다. 스크리닝은 Agilent 6546 quadrupole time-of-flight LC/MS 시스템과 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어의 LC/Q-TOF Screener 도구를 함께 사용하여 수행합니다. 이 워크플로 솔루션은 탁월한 재현성과 질량 정확성 및 직선성을 제공하여 표적물질 정량과 추정물질 스크리닝을 확신있게 수행할 수 있습니다. 표적물질 정량과 추정물질 스크리닝 워크플로를 결합함으로써 데이터 분석의 복잡성과 데이터 검토 시의 부담을 줄여줍니다.

서론

농약 검사실에서는 높은 신뢰도와 높은 처리량을 바탕으로 대량의 분석물질 목록을 갖는 시료를 일상적으로 분석해야 합니다. 통상적으로 표적 분석 목록을 정량하는 경우에는 QQQ 질량 분석기에 의한 표적화된 수집 방식을 사용하며, 그 범위는 대개 현지 정부 계획에 의해 결정되고 보통 매년 설정됩니다. 정량 분석에서는 일반적으로 분석용 표준물질을 이용하여 각 분석물질에 대한 일상적인 검량을 수행해야 합니다. 하지만, 정부의 계획에 따라 모니터링해야 하는 농약 항목의 수가 현저하게 증가하고 있습니다. 따라서 표준물질 및 그의 제조에 관련된 비용(일반적으로 다중 매트릭스에서)이 때때로 제한 요소가 됩니다.

표적 화합물 목록에 대한 일상적 정량을 넘어, 검사 역량을 효율적으로 확장할 수 있는 비용 효율적 대체 분석법에 대한 요구가 증가하고 있습니다. 일부 화합물은 시료에서 충분히 자주 나타나므로 초기 스크리닝 중 정량하는 것이 비용 효율적이며, 한 번의 주입으로 최종 결과를 얻을 수 있습니다. 애질런트는 이들을 우선 표적물질로 간주합니다. 단, 다른 화합물의 경우에는 검량선을 작성하지 않고, 시료에서 처음 발견되는 것이 따라 스크리닝 후 정량하는 것이 현실적입니다. 애질런트는 이러한 방식으로 처리된 화합물을 추정물질로 지칭합니다. 이러한 화합물에 대한 이 추정물질 스크리닝 방식은 일상적 검량에 대한 부담이 낮아 실험실 내 생산성을 향상시킬 수 있습니다. 이것은 다음의 두 가지에 달려 있습니다.

- 첫째, 물질들이 정의된 농도로 존재할 경우, 선택한 접근법이 이러한 추정물질을 확실하게 찾을 수 있는지의 여부와,

- 둘째로, 선택한 접근법이 후속 정량 또는 확인 단계에서 나중에 거부되는 부정확한 결과를 불필요하게 많이 제공하지 않는다는 데 달려 있는 것입니다. 이러한 부정적 상황이 발생하면 앞서 언급한 생산성의 이점은 무효가 됩니다.

고분해능 quadrupole time of flight(Q-TOF) 질량 분석법은 이 Q-TOF 플랫폼이 분자 이온과 조각 모두에 대해 accurate mass와 동위원소 패턴을 측정할 수 있어 화합물 식별에 대한 높은 신뢰도를 보장하기 때문에 QQQ 시스템의 매력적인 대안이라 할 수 있습니다. 또한 Q-TOF 시스템은 빠른 속도로 데이터를 수집할 수 있어, 크로마토그래피 피크 전체에서 충분한 데이터 포인트를 유지하면서 분자 이온과 조각 모두에서 고품질의 데이터를 수집할 수 있습니다. 이는 동시에 정량할 가치가 있는 화합물 뿐만 아니라 추정물질에 있어서도 중요하며, 크로마토그래피 피크가 제대로 생성될 수 있다면 더욱 쉽게 식별할 수 있을 것입니다.

최근의 기술 혁신으로, Q-TOF 시스템의 정량 적합성은 향상된 감도, 선택성 및 측정 범위(dynamic range)로 인해 크게 개선되었습니다. Q-TOF는 보다 더 광범위한 목록의 농약 검사를 위해 우선 표적물질에 대한 정량과 추정물질의 스크리닝을 동시에 수행하는 데 관심이 있는 실험실에 적합한 플랫폼으로 성장하고 있습니다.

이러한 방식으로 높은 처리량과 넓은 범위의 Q-TOF 스크리닝을 달성하기 위해서는 간단하고 사용하기 쉬운 데이터 분석 워크플로가 중요합니다. 농약 검사실에서의 스크리닝 워크플로 소프트웨어 도구는 추정물질 및 우선 표적물질(정량 결과를 포함하는)을 위해 정보가 풍부한 Q-TOF 데이터를 의미 있는 보고서로 효율적으로 변환할 수 있어야 합니다.

우선 표적물질에 대해서는 소프트웨어가 관련 현지 정부의 가이드라인(예: SANTE/11813/2017)에 따라 필요한 데이터 품질 파라미터를 보고하는 것이 중요합니다. 또한 이러한 도구는 분석법 개발과 밸리데이션을 위한 유연성을 수용할 필요가 있습니다. 실험실에서 어떤 조각 이온이 특정 식품 매트릭스에서 가장 적합한 정성 이온인지 실험하고 검토할 필요가 종종 있을 수 있기 때문입니다.

이 응용 자료에는 6546 LC/Q-TOF MS와 함께 데이터 수집 및 데이터 검토의 관점에서 우선 표적물질 정량과 추정물질 스크리닝을 동시에 성취할 수 있는 능률화된 데이터 분석 워크플로, 즉 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 LC/Q-TOF Screener를 소개합니다. 분석법 개발을 보다 신속하게 수행하기 위해 애질런트 농약 accurate mass 스펙트럼 라이브러리의 정보를 사용하였습니다.

아래에 나타난 것은 개념 증명입니다. 흔히 발견되는 농약에 대한 표적 정량 범위를 수립하기 위해, 매트릭스 보정 검량을 위한 4가지 대표적인 식료품 추출물에 대규모 종류의 농약을 첨가하였습니다. SANTE/11813/2017 가이드라인의 식별 기준에 따라 흔하게 발견되지 않는 농약은 추정물질로 취급하였습니다. 6546 LC/Q-TOF의 낮은 질량에 대한 분해능(m/z 118의 경우 >30,000)과 스펙트럼 측정 범위(dynamic range, 다섯 자리수)의 개선 및 우수한 동위원소 비율 정확성(isotopic fidelity)으로 높은 신뢰도와 우수한 정량 직선성의 결과를 생성할 수 있었습니다. 실험실에서는 향상된 하드웨어와 결합하여 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0으로 작동하는 이 스크리닝 워크플로를 사용함으로써 이제 우선 표적물질의 정량과 추정물질 스크리닝 결과를 모두 1회의 주입으로 신뢰성 있게 얻을 수 있습니다.

실험

시료 전처리, 데이터 수집 및 분석법 설정

4가지 서로 다른 식품 매트릭스 - 홍차, 브로콜리, 아보카도, 그리고 딸기를 QuEChERS(EN) 프로토콜을 사용하여 전처리하였습니다. 그림 1에 딸기 프로토콜의 예가 나타나 있습니다. 균질화된 식품 과일/채소용 시료 10g과 건 홍차 2g을 50mL 코니칼 튜브에 넣고 Agilent QuEChERS 추출 키트(p/n 5982-5650CH)로 완충 처리된 EN 15662 분석법에 따라 추출하였습니다. 홍차 시료는 추출 2시간 전에 8mL의 초순수에 담가 두었습니다. 그 다음 원 추출물을 다음과 같이 매트릭스별 해당 dispersive SPE (dSPE) 키트로 정제하였습니다. Bond Elut EMR-Lipid (아보카도, p/n 5982-1010), 고품질 색소 함유 과일 및 채소용 dSPE 키트(홍차, p/n 5982-5356), 색소 함유 과일 및 채소용 키트(브로콜리, p/n 5982-5256), 일반 과일 및 채소용 키트(딸기, p/n 5982-5056). 일부 매트릭스에 대해서는 유기농 또는 일반 식품 시료도 추가로 준비하였습니다.

Agilent의 LC/MS Pesticide Comprehensive Test Mix 제품(p/n 5190-0551)을 활용하여 농약 표준 혼합물을 제조하였습니다. 농약 혼합물에는 250개 이상의 농약이 들어 있었습니다. 이 중 195개만 우선 표적물질로 고찰하였습니다. 표준 혼합물 중 특정 분석물질이 양이온 모드에서 이온화되지 않아 1차 분자 이온에 대한 MS/MS 스펙트럼이 PCDL에 없었기 때문입니다. 이 혼합물을 희석하여 서로 다른 농도(100, 200, 400, 1,000, 2,000ng/mL)에서 5개의 20배 원액을 제조하였습니다. 그런 다음, 각 매트릭스로 20배 희석하여 5, 10, 20, 50 및 100ppb 농도의 검량물질을 제조하였습니다. 추출 과정에서 발생하는 홍차의 희석을 반영하기 위해, 홍차 관련 검량 원액은 매트릭스로 5배 더 희석하였습니다. 검량물질 외에도 12개의

다른 화합물로 구성된 별도의 원액을 제조하여 검증 시료로서 10ppb와 100ppb로 매트릭스에 첨가하였습니다. 이들 화합물 중 8개는 우선 표적물질 목록에 있었으며, 4개는 추정물질이었습니다. 모든 물질은 이후 추정물질 screener 소프트웨어를 통해서만 평가될 것입니다. 미지의 딸기

시료는 델라웨어와 캘리포니아 지역의 서로 다른 시장에서 수집하였습니다. 이 16개의 시료는 어떤 농약이 존재하는지를 결정하고 우선 표적물질을 정량하기 위해 미지시료로 간주하여 전처리하고 분석하였습니다. 시료는 주입 전까지 7°C의 실란화된 HPLC 용기에 보관하였습니다.

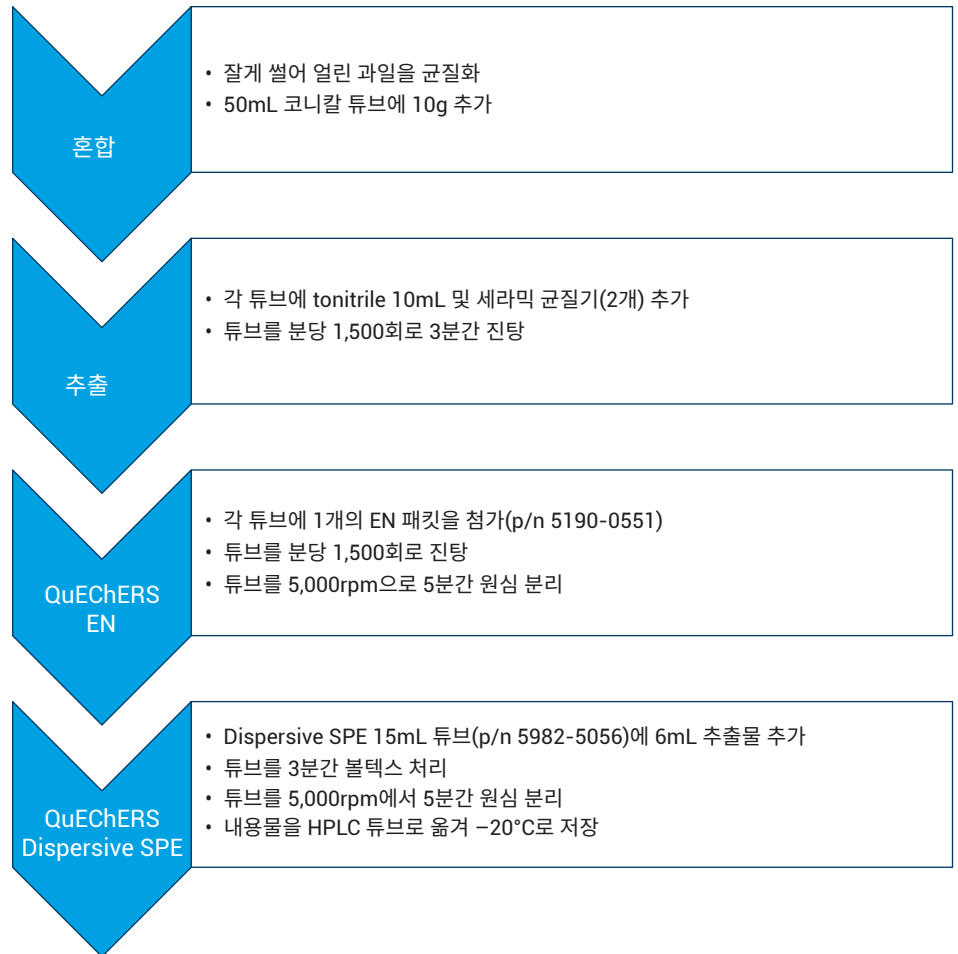


그림 1. 딸기를 예로 든 식품 시료 전처리 프로토콜

Agilent 1290 Infinity II Prime LC를 6546 LC/Q-TOF와 결합하여 사용하였습니다.

표 1은 크로마토그래피 세부사항을 나타내고, 표 2에 Q-TOF 파라미터가 나타나 있습니다². All Ions MS/MS 데이터는 하나의 MS 스펙트럼을 획득한 다음, 정의된 충돌 에너지(또는 여러 에너지)가 적용된 스펙트럼을 획득하여 수집합니다. 분자 이온과 파편화 데이터의 이 비표적 수집은 Q-TOF 수집 특유의 강력한 특성입니다. 수집 방법을 변경하지 않고도 데이터 분석에 더 많은 화합물을 추가할 수 있다는 것을 의미하기 때문입니다. 이를 통해 식품 실험실에서는 데이터를 보다 유연하게 분석할 수 있으며, QQQ 스크리닝에 대비 Q-TOF 스크리닝의 또 다른 주요 이점으로 작용합니다.

분석 중 Purine과 HP-921(hexakis(¹H, ¹H, ³H-Tetrafluoropropoxy) phosphazine)을 기준 이온으로 사용하였습니다. Q-TOF는 시스템의 초기 교정 후, 데이터를 수집한 10일 동안 유지보수 또는 재교정을 필요로 하지 않았습니다. 워크리스트는 매트릭스 blank에 이어 검량 시료 및 검증 시료로 구성하였습니다. 추가적인 미지 시료가 처리되었다면, 마지막에 수집하였습니다. 검량용 시료는 3회 반복 분석하였으며, 검증 시료 및 미지 시료의 경우 2회 반복 주입으로 진행하였습니다.

데이터 수집 후, 각 시료는 SureMass 데이터 형식으로 변환하였습니다. SureMass 데이터 변환은 노이즈 통계와 신호의 연속성만을 사용하여 특징에 대한 전체 프로파일 스펙트럼의 집합을 검색하며, 이때 시료의 화학적 특성에 대한 지식은 필요하지 않습니다. SureMass 형식의 데이터 분석은 질량 정확도에 영향을 주지 않으면서 처리 속도를 높일 수 있습니다. MassHunter Acquisition 소프트웨어 10.0에서 활성화된 SureMass 변환은 각 데이터 파일을 수집한 후에 자동으로 일어납니다. 데이터 변환은 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0을 사용하여 배치 분석 전에도 수행할 수 있습니다.

표 1. 1290 Infinity II LC 크로마토그래피 조건

파라미터	1290 Infinity II LC 시스템																		
분석 컬럼	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.0×150mm, 1.8µm(p/n 959759-302)																		
가드컬럼	ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1mm, 1.8µm, UHPLC guard column(p/n 821725-901)																		
컬럼 온도	45°C																		
주입 부피	2µL																		
자동 시료 주입기 온도	7°C																		
니들 세척	10초, 표준(50:50 메탄올:이소프로판올)																		
이동상 A	Water + 4.5mM ammonium formate + 0.5mM ammonium fluoride + 0.1% formic acid																		
이동상 B	Methanol + 4.5mM ammonium formate + 0.5mM ammonium fluoride + 0.1% formic acid																		
유속	0.45mL/분																		
그라디언트	<table border="1"> <thead> <tr> <th>시간(분)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.00</td><td>2</td></tr> <tr><td>0.50</td><td>2</td></tr> <tr><td>1.00</td><td>50</td></tr> <tr><td>4.00</td><td>65</td></tr> <tr><td>16.00</td><td>100</td></tr> <tr><td>18.00</td><td>100</td></tr> <tr><td>18.10</td><td>2</td></tr> <tr><td>20.00</td><td>2</td></tr> </tbody> </table>	시간(분)	%B	0.00	2	0.50	2	1.00	50	4.00	65	16.00	100	18.00	100	18.10	2	20.00	2
시간(분)	%B																		
0.00	2																		
0.50	2																		
1.00	50																		
4.00	65																		
16.00	100																		
18.00	100																		
18.10	2																		
20.00	2																		
사후 시간	4분																		

표 2. 6546 LC/Q-TOF 데이터 수집 파라미터 목록

파라미터	값
Sheath 가스 온도	400°C
Sheath 가스 유속	12psi
가스 온도	325°C
가스 유속	10psi
Nebulizer	20psi
캐필러리 전압	4,000V
MS 튜브	750m/z, fragile(깨지기 쉬운 이온 모드)
MS 모드	양이온
수집	MS only, CE 세그먼트 0, 20 및 40
MS 범위	m/z 50~1,000
기준 질량	121.0509(M+H ⁺ , Purine) 922.0098(M+H ⁺ , HP-921)

MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0에서는 개인 화합물 데이터베이스 또는 라이브러리(PCDL)를 통해 정량 분석법을 쉽게 구축할 수 있습니다. 일반적으로 전구 이온을 정량이온으로 설정하며, 정의된 충돌 에너지(CE)에 의해 선택적으로 가져온 조각 이온이 정성 이온이 됩니다. PCDL에서

화합물과 조각 질량을 가져오면 검량 농도, 질량 추출 범위, 동시 용리 점수 등을 포함한 다양한 설정을 분석 물질별 기준으로 사용자 정의할 수 있습니다. 최적화 후 이 분석법은 우선 표적물질에 대한 분자 이온당 1개의 재현성 있는 조각(정성이온)과 추정물질에 대한 정성이온용 조각 4개를 포함하였습니다.

이 분석법에는 추정물질에 사용 가능한 표준물질이 없었기 때문에, 머무름 시간(RT)은 동일 모델의 컬럼과 LC로 행해진 이전 작업으로부터 추정하였습니다. DG SANTE 가이드라인에 따라 추정물질의 스크리닝을 완전히 검증하려면 이보다 더 많은 분석을 수행해야 할 수도 있습니다¹. 그림 2는 이 All ions MS/MS 농약 분석법에 대한 분석법 설정의 모든 세부 사항을 보여줍니다.

결과 및 토의

MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0을 통한 표적물질 정량 및 추정물질 스크리닝의 결함

MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0은 우선 표적물질의 정량과 추정물질 스크리닝 두 가지를 위한 배치 시료를 하나의 분석법으로 분석할 수 있습니다. 분석법에 있는 모든

화합물은 클래식 정량 배치(batch)로서 소프트웨어에서 검토할 수 있습니다. 사용자는 화합물 표의 화합물 또는 배치 표의 데이터 파일을 탐색하여 화합물 정보 창에서 크로마토그램과 스펙트럼을 검토하고, 검량선 창에서 검량선을 확인합니다. 배치 시료 내의 수백 개 화합물에 대한 이러한 분석과 검토는 비효율적이고 시간이 많이 소요됩니다.

LC/Q-TOF Screener 도구는 식별 신뢰도에 따라 모든 시료 내의 모든 분석물질에 대해 녹색, 주황색 또는 빨간색 플래그를 제공하며, 이는 분석물질을 색상(플래그)으로 필터링하고 검토할 수 있기 때문에 데이터 검토를 쉽게 만들어 줍니다. 스크리닝 워크플로에서는 큰 RT 변화, 낮은 신호대 잡음비(S/N), 낮은 동시 용리 점수, 동위원소 비율 정확도 또는 질량 정확도를 이상치(outlier)로 간주합니다.

녹색으로 플래그가 지정된 화합물은 설정해 놓은 모든 이상치(outlier)가 경계 내에 있기 때문에 가장 높은 신뢰 수준을 보여줍니다. 주황색 플래그는 기본 식별 기준을 충족하더라도 해당 화합물에 대한 이상치(outlier)가 존재하기 때문에 추가 검토를 필요로 합니다. 이것의 예로는 우선 표적 화합물의 RT가 분석법에서 정의된 RT로부터 0.2분 이상인 경우를 들 수 있습니다. 적색으로 플래그된 화합물은 기본 식별 기준을 충족하지 못하므로 검출되지 않습니다. 이상치(outlier)는 조정 가능하며 분석법 분석 설정 중 분석법 편집기에서 설정할 수 있습니다(그림 2).

Screener는 기존의 정량 분석 사용자 인터페이스(UI)와 함께 볼 수도 있습니다. 즉, Screener에 의해 검출된 화합물 중 배치에서 생성되어 사용할 수 있는 검량 정보가 있는 경우, 검토자는 즉시 농도 수준(생성되어 있는 검량선 포함)을 확인할 수 있습니다. 이 두 가지 보기는 쉽고 빠르게 탐색할 수 있도록 연결되어 있습니다(그림 3).

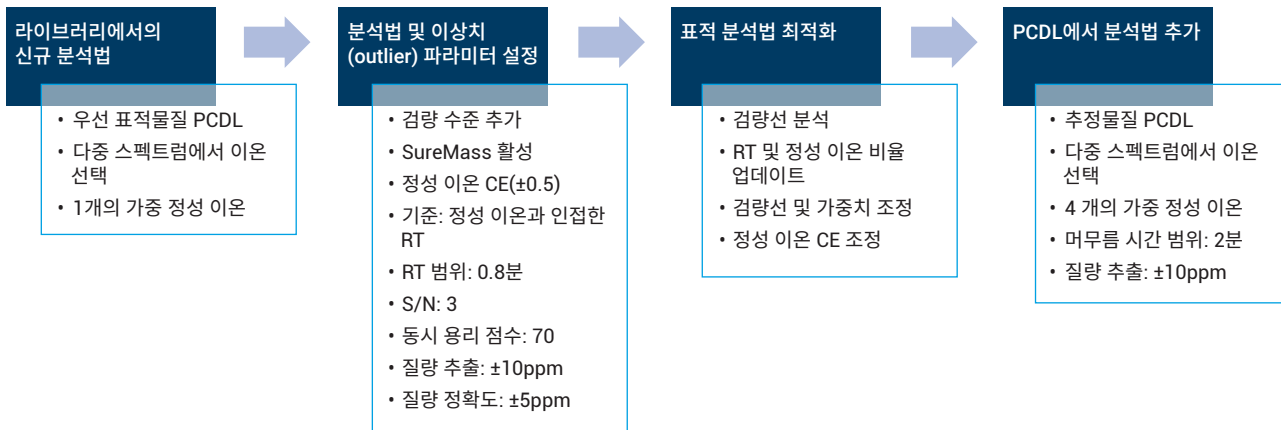


그림 2. MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0의 PCDL 및 이상치(outlier) 파라미터로부터의 분석법 개발 워크플로

또한 Screener는 중간 창에 평균 전체 스펙트럼을 표시하고, 왼쪽 아래 창에 분석법에서 정의한 이온만을 포함하는 단순화된 스펙트럼을 표시하며, 오른쪽 아래 창에 동위원소 패턴 매칭(그림 3)을 표시하여 사용자가 데이터 품질을 검사할 수 있도록 합니다. 이러한 보기 화면은 플래그가 주황색일 때 유용하며, 검토자는 다음에 무엇을 할 것인지를 결정해야 합니다.

LC/Q-TOF Screener는 실험실이 DG Sante¹에서 제시한 가이드라인을 따르며 ISO 17025에 따라 검증된 Q-TOF 기반의 광범위

스크리닝 분석법을 개발할 수 있도록 돕기 위해 만들어졌습니다. 이 구조는 규제 농약 모니터링에 흔히 사용되며, 실험실에서 분석 중인 화합물의 범위를 정의하고(아무리 많더라도), 그러한 화합물 각각을 정의된 수준의 저농도까지 신뢰성 있게 검출할 수 있다는 일정 형식의 초기 밸리데이션을 제시해야 합니다.

그러나, 예를 들어, 머무름 시간이나 조각 이온 정보가 없는 추정 화합물을 신속하게 스크리닝할 때와 같이 덜 규제된 방식으로 사용하고자 하는 실험실에서도 이것을

효과적으로 사용할 수 있습니다. 이 경우, 그림 3의 오른쪽 하단 패널에 있는 동위원소 패턴 매칭이 식별의 신뢰도를 결정하는데 특히 유용할 수 있습니다. 이러한 유형의 워크플로는 필연적으로 더 높은 위양성(false positive) 비율을 초래하여, 검증된 범위의 통제된 검사에는 적용하기 어렵습니다. 그러나, 실험실에서 검증한 화합물 외에 존재할 수도 있는 화합물을 조사할 시간이 있다면, 해당 워크플로를 사용할 수도 있습니다.

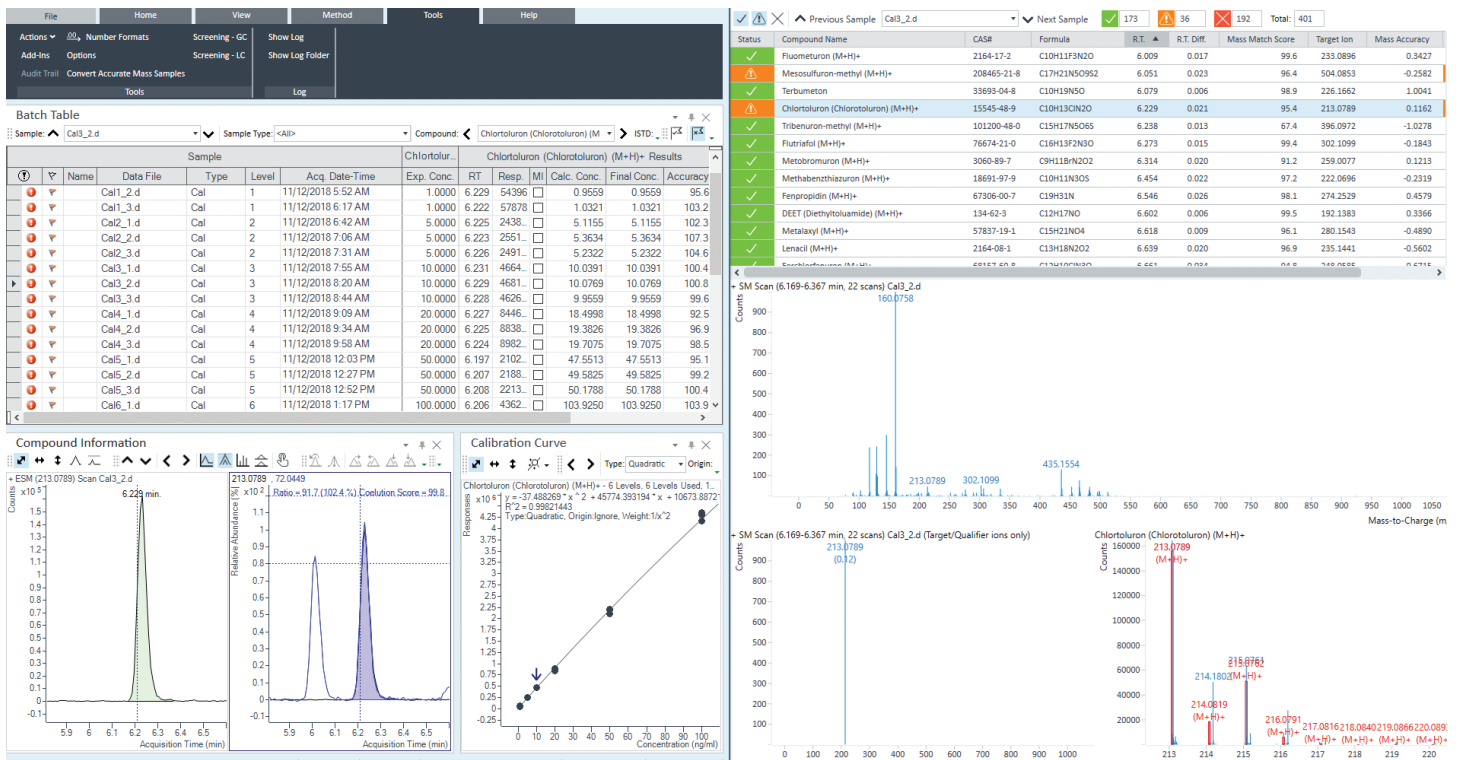


그림 3. LC/Q-TOF Screener 도구, 클래식 UI와 나란히 표시됨. Screener 결과에 선택되어 있는 것은 분석에 검량선이 있는 화합물임. 이 분석물질은 우선 표적물질로 간주되어 정량이 가능함

농약 스크리닝 분석법 결과

이 분석법에서는 우선 표적물질의 농도 수준을 5에서 100ppb로 고정하였습니다. 표 3에 정량 수준 5ppb에서의 정량 성능이 요약되어 있습니다. 딸기, 아보카도, 브로콜리 매트릭스에 대해, 5ppb의 3회 주입 모두에서 전체 195개의 화합물을 모두 검출하였습니다. 추가적인 희석으로 인해 홍차 매트릭스에서는 145개의 혼합물을 상기 농도에서 검출하였습니다. 검출된 분석물질은 모두 20% 이하의 상대표준편차 (RSD)를 나타냈으며, R²는 대부분 0.99 이상이었습니다. 그림 4에서는 예시 분석물질인 paclobutrazol에 대한 5ppb에서의 정량 결과를 보여줍니다. LC/Q-TOF Screener는 195개의 우선 표적물질을 보다 효율적으로 검토하고, 동일 분석법에서 182개의 추정 화합물을 추가로 검색하도록 설계되었습니다. 따라서 분석 결과는 총 377개의 농약을 포함하였습니다.

표 3. 정량 및 추정 스크리닝 워크플로에서의 농약 결과. 홍차, 딸기, 아보카도, 브로콜리 매트릭스의 5ppb 결과임 (n = 3)

	딸기	아보카도	브로콜리	홍차
표적 화합물 수	195	195	195	145
5ppb에서 S/N >3인 표적물질 수	195	195	195	145
5ppb에서 RSD <20%인 표적물질 수	195	195	195	145
R ² >0.99인 표적물질 수	195	194	195	145
스크리닝한 화합물 수	182	182	182	182

식별과정에는 정량 성능뿐만 아니라 높은 신뢰도가 필요합니다. 이 신뢰도는 All Ions MS/MS 데이터 수집 및 SureMass 데이터 변환을 활용하여, 전구체와 조각 이온의 동시용리, 높은 질량 정확도 및 동위원소 비율 정확도를 통해 달성할 수 있습니다. 동시 용리 점수는 정성 이온 창에 나타납니다 (그림 4). 여기서 높은 값(70 이상)은 정성 이온과 정량 이온이 잘 겹친다는 것을 의미합니다. 이것은 조각 및 전구 이온이 동시에 검출될 경우에만 발생하며, 이는 조각이 정확한 전구체 구조로부터 생성되었음을 시사합니다.

6546 LC/Q-TOF는 분석물질의 농도와 무관하게 그레디언트에 걸쳐 높은 질량 정확도를 나타냅니다. 그림 5는 주어진 RT에서 분석물질의 질량 정확도와 대비하여 표시한 시료 크로마토그램을 보여줍니다. 파란색 점은 10ppb 시료의 질량 정확도이며, 노란색 십자 표시는 100ppb 시료의 결과입니다. 거의 모든 분석물질이 질량 오차 ±2ppm(녹색 선) 이내에 있습니다. 이것들은 ±5ppm(주황색 선)에 이내의 것은 아닙니다.

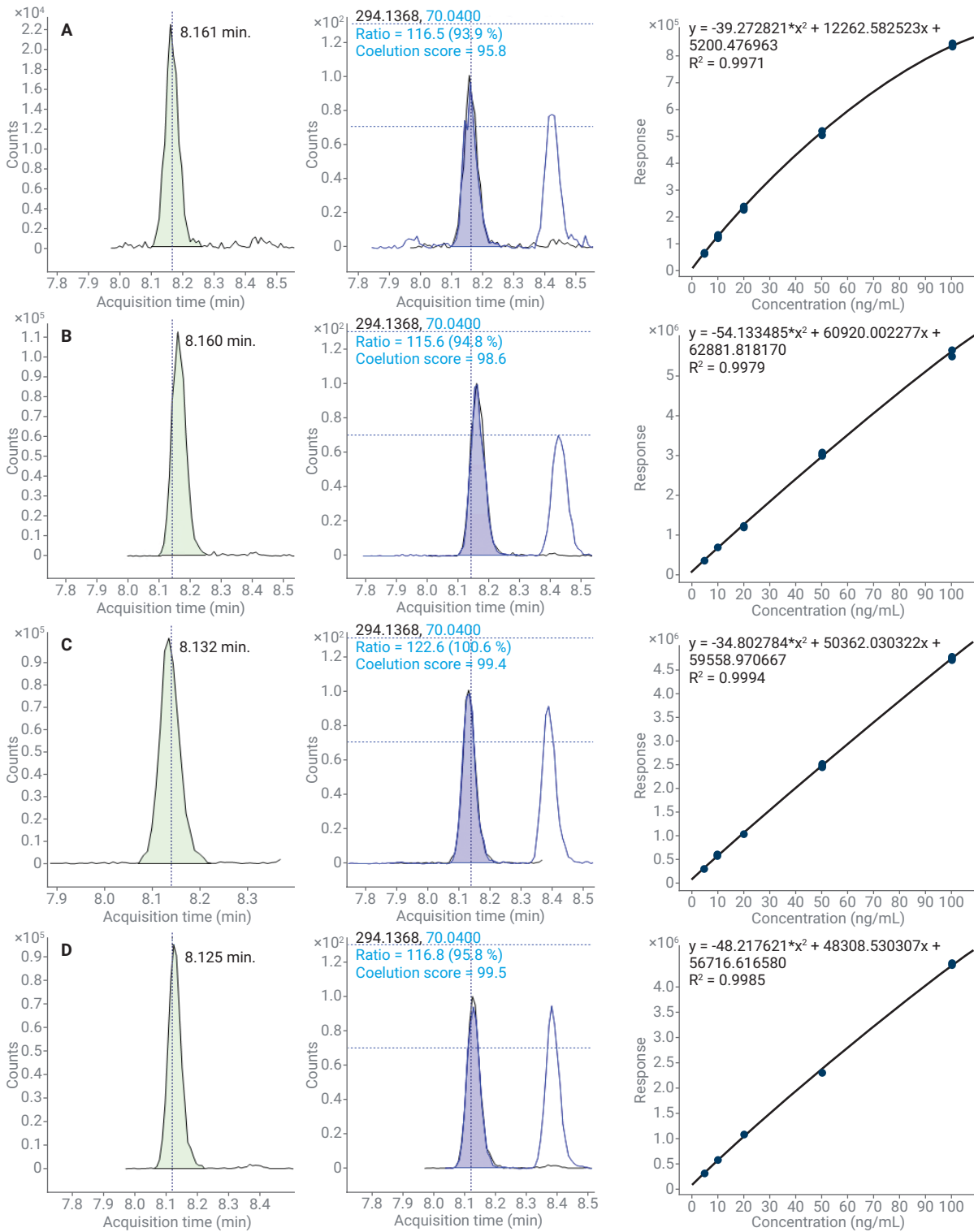


그림 4. 각 매트릭스별 5ppb paclobutrazol의 정량 이온 시그널, 정성 이온 비율 및 검량선. (A) 홍차, (B) 브로콜리, (C) 아보카도, (D) 딸기

검증 시료는 SANTE 가이드라인에 맞추어 설정한 이상치(outlier)와 함께 LC/Q-TOF Screener 도구를 사용하여 분석하였습니다. 표 4에서 첨가된 분석물질은 우선 표적물질 또는 추정 물질로 간주됩니다. 각 분석물질에 대한 결과는 각 매질에 대해 2개 농도에서 양성(녹색), 검토(주황색) 및 불검출(빨간색)로 보고됩니다. 대부분의 분석물질은 양성으로 검출되었습니다. 분석물질이 검토 플래그로 지정되었을 때는, 대개 질량 매칭 점수 검토가 필요할 정도의 낮은 신호 때문이었습니다. 이러한 경우는 검토 과정을 촉진하기 위해 주황색으로 표시되지만, SANTE 가이드라인의 기본 식별 기준은 통과합니다.

미지의 딸기 시료(n = 16)에서는 5ppb 미만에서부터 300ppb 이상의 농약을 검출하였습니다. 일반 농산물 타입에서 검출된 분석물질의 수는 유기 농산물에서 보다 많았는데, 이는 사용 추세를 따르고 있습니다. 발견된 농약의 대부분은 이 연구에서 우선 표적 물질이었습니다. 그러나 시료 4 및 15와 같은 몇 가지 시료는 일반적으로 자주 발견되지 않는 분석 물질(즉, 추정 물질)을 포함하고 있었습니다. 이 경우, 구조 확인 시험이 필요할 수 있습니다.

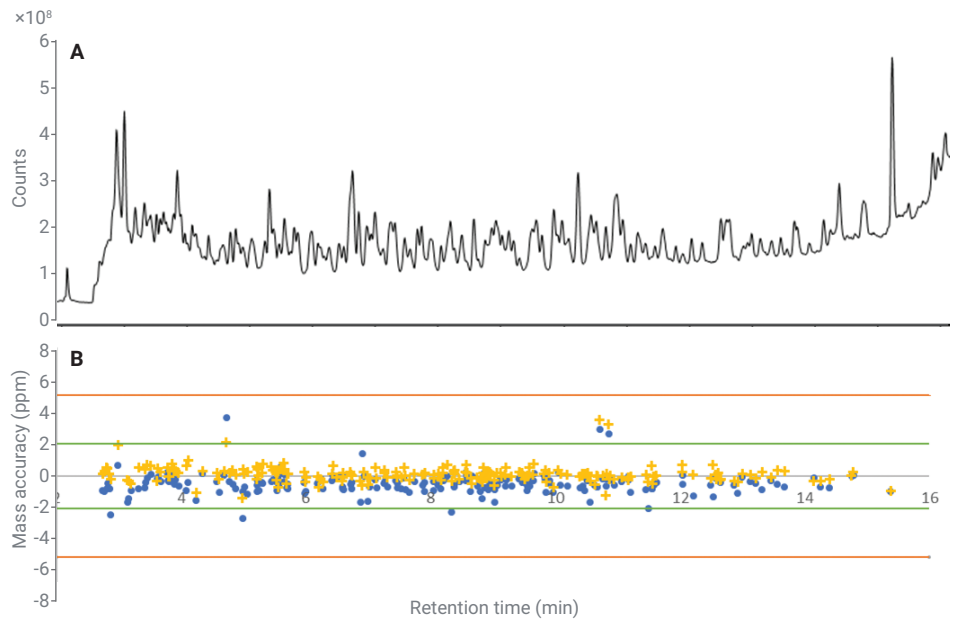


그림 5. 딸기 시료의 총 이온 크로마토그램(TIC, A)과 딸기 매트릭스 중 RT(B)에 대해 표시된 10ppb(파란색 원) 및 100ppb(노란색 십자표) 우선 표적 이온의 질량 정확도

표 4. 10 및 100ppb 검증 시료에 대한 LC/Q-TOF Screener 결과

표적물질	10ng/mL				100ng/mL			
	홍차	브로콜리	아보카도	딸기	홍차	브로콜리	아보카도	딸기
Aminocarb	✗	✓	✓	✓	⚠	✓	✓	✓
Diazinon	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Dimethoate	✓	✓	⚠	⚠	✓	✓	✓	✓
Imazalil	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Malathion	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Metazachlor	✗	✓	⚠	⚠	⚠	⚠	✓	✓
Pyraclostrobin	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Thibendazole	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
추정물질								
Atrazine	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Carbofuran	⚠	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Metosulam	⚠	✓	✓	✓	⚠	✓	✓	✓
Metoxuron	✓	✓	✓	✓	⚠	✓	✓	✓

결론

6546 LC/Q-TOF와 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.0 Screener 도구를 결합한 통합 워크플로 솔루션은 다양하고 복잡한 식품 시료에서의 표적물질 정량과 추정물질 스크리닝을 자신 있게 수행하는 것으로 나타났습니다. 결과에서 탁월한 재현성, 질량 정확도 및 직선성을 관찰하였습니다. 직관적 레이아웃의 동일 소프트웨어 상에서 표적물질의 정량과 추정물질의 스크리닝을 통합하여 데이터 분석의 복잡성과 데이터 검토 시의 부담을 현저하게 줄일 수 있습니다.

참고문헌

1. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues and analysis in food and feed, SANTE/11813/2017, 21-22 November 2017. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf
2. Miladi, M.; et al. High-Throughput Pesticide Residue Analysis Using an Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS and the MassHunter Productivity App, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0196EN, **2018**.

표 5. 캘리포니아와 델라웨어 지역에서 구입한 16개의 딸기 시료의 LC/Q-TOF Screener 결과. 시료는 일반 농산물 및 유기 농산물로서, 각기 다른 장소에서 구입함. 검출된 농약을 표에 정리하였으며, 가능한 경우 농약의 농도를 괄호 안에 표기함

시료	유형	검출된 농약
시료 1	유기	Malaoxon(2.6ppb), Carbaryl(29.4ppb), Malathion(31.8ppb), Methoxyfenozide (Intrepid)(4.7ppb), Diazinon (Dimpylate)(2.5ppb)
시료 2	유기	Spinosyn A(14.3ppb), Spinosyn D(3.6ppb)
시료 3	유기	불검출
시료 4	유기	Prometryn
시료 5	유기	불검출
시료 6	일반	Flutriafol(12.0ppb), Metalaxyl(28.6ppb), Azoxystrobin, Pyrimethanil(218ppb), Malathion(<5ppb), Fenhexamid(5.6ppb), Cyprodinil(26.6ppb), Trifloxystrobin(6.2ppb), DEET (Diethyltoluamide) (<5ppb)
시료 7	일반	Thiamethoxam(<5ppb), Carbendazim (Azole)(163ppb), Thiophanate-methyl, Chlorantraniliprole (5.6ppb), Pyrimethanil(105ppb), Boscalid (Nicobifen)(23.5ppb), Methoxyfenozide (Intrepid) (6.8ppb), Myclobutanil(<5ppb), Bifenazate(D 2341), Tetraconazole(33.2ppb), Fenhexamid, Cyprodinil(248ppb), Pyraclostrobin(<5ppb)
시료 8	유기	Boscalid (Nicobifen)(2.4ppb)
시료 9	일반	Fonicamid, Malaoxon(<5ppb), Flutriafol(<5ppb), Azoxystrobin(<5ppb), Malathion(48.2ppb), Myclobutanil(<5ppb), Quinoxifen(<5ppb)
시료 10	일반	Acetamidrid(<5ppb), Metalaxyl(<5ppb), Azoxystrobin(8.4ppb), Myclobutanil, Bifenazate (D 2341) (<5ppb), Fenhexamid(32.4ppb), Cyprodinil(283ppb), Pyraclostrobin(10.8ppb), Trifloxystrobin (46.9ppb), Etoxazole
시료 11	일반	Thiamethoxam(13.1ppb), Fonicamid(97ppb), Carbendazim(Azole), Imidacloprid, Pyrimethanil (278ppb), Methoxyfenozide (Intrepid)(14.8ppb), Myclobutanil(<5ppb), Bifenazate(D 2341), Tetraconazole(12.3ppb), Cyprodinil(312ppb), Trifloxystrobin(<5ppb), Hexythiazox(22.6ppb), Thiophanate-methyl
시료 12	일반	Fonicamid(153ppb), Acetamidrid(<5ppb), Chlorantraniliprole(69ppb), Methoxyfenozide (Intrepid) (<5ppb), Cyprodinil(146ppb), Trifloxystrobin(78ppb), Quinoxifen(34ppb), Hexythiazox(<5ppb)
시료 13	일반	Fonicamid(64ppb), Azoxystrobin, Boscalid (Nicobifen)(14.7ppb), Cyprodinil(<5ppb), Pyraclostrobin(19.4ppb), Cyflufenamid
시료 14	일반	Thiamethoxam(<5ppb) , Fonicamid(29ppb), Chlorantraniliprole(<5ppb), Myclobutanil(<5ppb), Cyprodinil(64ppb), Trifloxystrobin(<5ppb)
시료 15	일반	Fonicamid(77ppb) , Malaoxon(<5ppb), Flutriafol(8.1ppb), Azoxystrobin(<5ppb), Malathion (47.5ppb), Myclobutanil(5.9ppb), Quinoxifen, Cyflufenamid
시료 16	일반	Imidacloprid(48.4ppb), Metalaxyl(107ppb), Chlorantraniliprole, Azoxystrobin(457ppb), Boscalid (Nicobifen)(<5ppb), Myclobutanil(<5ppb), Tetraconazole(138ppb), Quinoxifen(21.4ppb), Fonicamid(35.4ppb)

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 3월 6일, 한국에서 인쇄
5994-0738KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr