

Deconvoluted 스펙트럼의 라이브러리 검색을 이용한 허용 농도에서의 딸기 내 GC/MSD 농약 스크리닝

저자

Anastasia A. Andrianova,
Bruce D. Quimby 및 Jessica L.
Westland
Agilent Technologies, Inc.

개요

Agilent 8890 GC 시스템 및 Agilent 5977 GC/MSD 시스템을 사용하여 딸기 내 농약을 스크리닝하였습니다. 시스템의 기기 구성, 작동 조건, 시료 전처리 및 소프트웨어 워크플로를 적절히 선택하여 복잡한 매트릭스에서 농약을 확실하게 식별할 수 있습니다. 펄스 비분할 주입, 중간 컬럼 백플러시, Inert Extractor EI 이온화원, 그리고 농약 및 환경 오염물질 데이터베이스에 대한 머무름 시간 고정을 포함한 하드웨어 구성을 식품 내 농약 검출에 최적화하였습니다. 전체 분석은 2단계로 이루어졌습니다. 본 응용 자료에서는 이 워크플로의 첫 번째 단계를 설명합니다. 이 단계에서는 Agilent MassHunter Unknowns Analysis 소프트웨어에서 시료를 스크리닝하고 자동화된 deconvolution과 라이브러리 검색을 수행하여 모든 농약 또는 기타 우려 대상 화학물질을 식별하게 됩니다. 딸기 시료는 현지 식료품점에서 구입했으며 분석법의 성능을 입증하는 데 사용되었습니다.

서론

식품 공급에 극미량 수준으로 존재하는 농약 및 환경 오염물질은 세계적인 우려의 대상이 되어 보다 빠르고 신뢰성 있는 분석법을 개발하는 것이 시급합니다. 복잡한 식품 매트릭스 내에서 수백 종의 농약, 다환 방향족 탄화수소(PAH) 및 기타 표적 물질을 검출해 내는 기술을 찾는 것은 어려운 일입니다. 일반적인 분석법은 식품 내에서 주로 검출되는 특정 화합물 목록을 목표로 합니다. 이러한 분석법도 효과적일 수 있으나, 표적 대상이 아닌 잔류물을 간과할 수 있습니다.

본 접근법은 여러 단계의 접근을 통해 최대한 많은 관심 화합물을 찾아내는 것을 목표로 하고 있습니다. 첫 번째 단계는 1,000여 종의 농약과 환경 오염물질이 포함된 화합물 라이브러리에 대한 GC/MSD 시스템 머무름 시간 고정(RTL)으로 질량 스펙트럼 스캔 데이터를 얻는 것입니다. 그 후 스캔 데이터는 간소화된 자동 deconvolution과 라이브러리 검색을 제공하는 Agilent MassHunter Quantitative 10 Unknowns Analysis 소프트웨어 내에서 처리되었습니다. 라이브러리 검색에 대한 기존의 스캔 데이터 처리 접근법은 베이스라인을 제거한 피크의 최고점 스펙트럼을 참조 스펙트럼과 비교하는 것에 의존하고 있었습니다. 이 접근법은 피크에 크로마토그래피 간섭이 없을 경우에는 유용할 수 있습니다. 그러나 식품 시료에는 종종 분석 절차를 간섭할 수 있는 상당량의 매트릭스 화합물이 포함되어 있어 분석물질 식별을 어렵게 만듭니다.

스펙트럼 deconvolution은 분석물질의 스펙트럼으로부터 동시 용리된 화합물 이온을 제거하기 위해 오랫동안 사용되어 온 소프트웨어 접근법입니다. 이온 크로마토그램은 deconvolution의 스캔 범위 내 모든 질량 지점에서 추출됩니다. 동일한 모양과 머무름 시간(RT)을 가지는 크로마토그래피 피크의 이온들은 한 성분 그룹으로 분류됩니다. 여러 개가 겹쳐

있는 피크 내에 존재하는 이온의 감응은 크로마토그래피 integrator와 유사한 절차를 사용해 각 피크에 배분됩니다. 그 뒤 스펙트럼이 구성 성분에 따라 생성됩니다. Deconvolution 절차는 분석물질 스펙트럼 내 간섭 이온을 현저하게 감소시키거나 제거합니다.

MassHunter Quantitative 10 Unknowns Analysis 소프트웨어는 스캔 파일 내에서 스펙트럼을 deconvolute하고 라이브러리에서 성분을 검색할 수 있는 강력한 도구 세트입니다. 높은 라이브러리 매치 스코어를 보이는 피크는 그 후 가능한 매치 대상으로 조사됩니다. 라이브러리에 RT 또는 머무름 인덱스(RI) 정보가 포함되어 있다면, 이는 검색 결과 필터링에 사용되는 한편 화합물의 존재를 증명하는 추가 증거로도 사용될 수 있습니다. 일반적으로 라이브러리 매치 스코어(LMS)가 높을 수록, 그리고 RT 매치에 가까울수록, 해당 화합물이 존재할 가능성이 높습니다. 이 스크리닝은 RTL 조건에서 수집된 RT 또는 RI를 포함한 스펙트럼 라이브러리 및 동일 시간 스케일에 고정된 스캔 데이터를 이용할 때 가장 효과적입니다. RTL 사용 시, RT는 보통 0.1분 이내에 라이브러리의 값과 매치합니다. 본 연구에서는 애질런트 농약 및 환경 오염물질 MRM 데이터베이스¹, Agilent MassHunter Pesticides PCDL 및 GC/Q-TOF 워크플로에 대해 RT가 고정된 1,000여 종 화합물에 대한 스펙트럼 라이브러리를 구축하였습니다. MassHunter Unknowns Analysis는 자동으로 수 분 내에 완전한 스캔 파일을 처리할 수 있고, LMS 및 RT 매치 데이터 보고서를 생성할 수 있으며, 그 후 존재하는 화합물을 측정하기 위한 조사를 수행할 수 있습니다.

NIST 라이브러리에서 deconvoluted 성분을 검색함으로써 더 상세한 스크리닝을 할 수 있습니다. NIST 17 라이브러리에는 많은 항목에 대해 여기에 사용된 유형의 반표준 비극성 컬럼에서 실험적으로 측정된 RI를 포함합니다. 알케인 RI 검량 혼합물을 RTL

농약 분석법을 사용해 분석하였으며 이를 이용해 RI 검량 파일을 생성하였습니다. 그 후 MassHunter Unknowns Analysis는 NIST 17를 통해 deconvoluted 스펙트럼을 검색하며, 매치 결과에 대한 LMS와 RI 값, 그리고 가능한 경우 NIST RI 값을 나열합니다. 이 도구는 강력하지만 모든 매트릭스 성분을 검색하기 때문에 조사해야 하는 매치 결과 목록이 매우 방대할 수 있습니다.

이 접근법의 유용성을 입증하기 위해, 캘리포니아 쿠퍼티노주 주변의 여러 식료품점에서 16개의 딸기 패키지를 구매하고 본 분석법으로 분석하였습니다. 딸기를 판매 가능한 제품으로 재배하는 과정에서 농약을 사용해야 하는 경우가 많습니다. 딸기 시료는 QuEChERS 분석법을 통해 추출하였으며, 아세트니트릴을 용매로 하는 추출물을 얻었습니다.

많은 농약의 활성 특성을 고려하여 주입구와 주입 기술 선택은 최적화 되어야 합니다. 본 연구에서, 펄스 고온 비분할 주입이 우수한 분석 결과를 제공하는 것으로 밝혀졌습니다. 컬럼을 사용한 GC로의 펄스 고온 비분할 주입에 적합한 용매는 아세트니트릴이 아닙니다. 피크 모양 불량과 같은 문제를 피하기 위해 용매 배출 분석법과 같은 기술이 종종 필요합니다. 이 분석법은 압력 강하가 낮은 주입구 라이너를 사용하여 이 문제를 해결합니다.

주입구 관련 문제 외에도 분석에서는 매트릭스 관련 문제가 흔히 발생합니다. 예를 들어 분석물질 뒤에 용리되는 고비점 매트릭스 오염물질에 대한 베이크아웃 시간을 연장하여 해당 오염물질이 다음 분석에서 고스트 피크로 나타나는 것을 방지해야 합니다. 비점이 가장 높은 오염물질은 컬럼 헤드에 침적될 수 있으므로 더 자주 컬럼을 잘라야 하고 RT 변화가 발생하므로 데이터 분석 시간을 조정해야 합니다. 중간 컬럼 백플러시 구성을 사용하면 이 문제가 줄어듭니다.

실험

이 시스템은 고매트릭스 식품 추출물 중의 농약 분석에서 잠재적 문제를 최소화하도록 구성되었습니다. 사용된 주요 기법은 다음과 같습니다.

- 중간 컬럼 백플러싱:** 백플러싱은 마지막 분석물질이 컬럼에서 나간 후 운반 가스 흐름을 역전시키는 기법입니다. MS 데이터가 수집된 후 오븐은 분석 후 모드에서 최종 온도로 유지되고 첫 번째 컬럼을 통과하는 운반 가스 흐름은 역전됩니다. 이 역전된 흐름은 컬럼 헤드에서 데이터 수집이 끝날 때 컬럼에 있던 고비점 물질을 분할 배출 트랩으로 운반합니다. 흐름을 역전하는 기능은 Agilent Purged Ultimate Union(PUU)이 제공합니다. 이 경우, PUU는 두 개의 동일한 15m 컬럼 사이에 삽입된 티(tee)입니다. 분석 동안, 8890 PSD 모듈 운반 가스의 소량 보충 흐름을 연결을 쓸어(sweep)내는 데 사용하였습니다. 백플러싱 동안에는 PSD의 보충 흐름은 훨씬 더 높은 값으로 상승하여, 고비점 물질을 첫 번째 컬럼의 역방향으로 쓸어내고 두 번째 컬럼은 정방향으로 쓸어냅니다. 이 구성의 백플러싱 시간은 1.5분이었습니다.
- 8890 PSD 모듈:** PSD는 백플러싱 응용 분석에 최적화된 8890 기체역학 모듈입니다. 백플러싱 동안의 고압에서 고정 저항체에서 버려지는 유속이 수백 mL/분이 될 수 있습니다. PSD는 고압에서도 사용자 정의 설정값(기본 3mL/분)을 유지하여, 필요한 가스 유속을 크게 감소시킵니다. 또한, PSD가 중간 컬럼 백플러싱 구성일 때 펄스

동안에 컬럼 1과 2의 컬럼 유속이 각각 상승하여 펄스 비분할 모드 설정이 단순해집니다.

- RTL:** RTL은 시스템에서 고정 화합물, 본 연구에는 chlorpyrifos-methyl을 분석하는 애질런트의 기능입니다. 소프트웨어는 고정 조건 하에 수집된 스펙트럼 라이브러리 또는 기타 스펙트럼 데이터베이스와 정밀하게 동일한 RT를 얻기 위해 요구되는 컬럼 유속을 확정합니다. 이 잠금 기능은 다양한 기기와 플랫폼에서 거의 유사한

농약 RT를 제공할 수 있으며, 데이터 분석과 분석법 유지를 훨씬 더 쉽게 해줍니다. 정밀한 RT는 스크리닝 절차의 유용한 필터가 됩니다.

- 스펙트럼 deconvolution:** MassHunter Quantitative 10 Unknowns Analysis 소프트웨어의 스펙트럼 deconvolution 기능은 라이브러리 매치 스코어 및 정밀 RT 매치를 사용하여 고매트릭스 시료 내 화합물을 자동으로 신속하게 식별할 수 있습니다.

그림 1은 사용한 시스템 구성입니다.

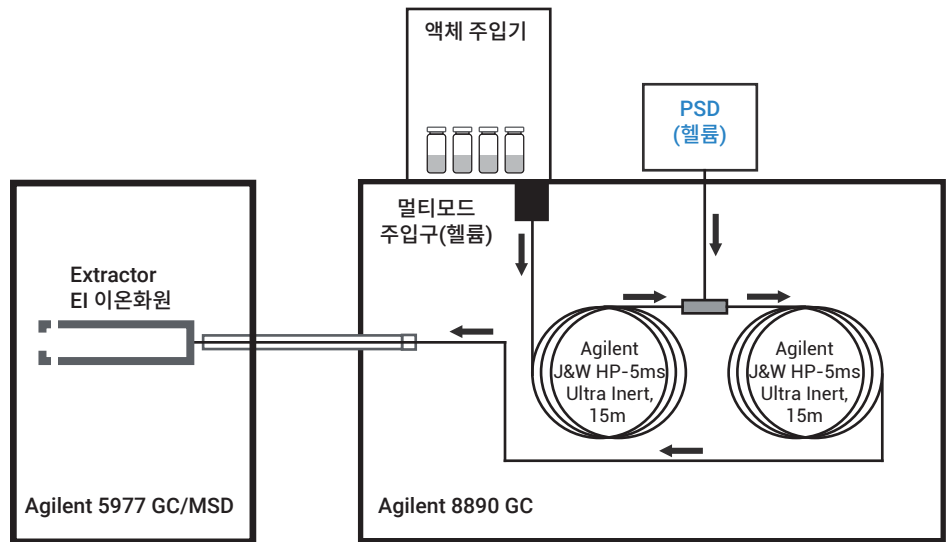


그림 1. Agilent 8890 GC 및 Agilent 5977B GC/MSD 시스템의 구성

Ultra Inert, splitless inlet liner, part number 5190-2293



Ultra Inert, universal, low pressure drop inlet liner, part number 5190-2295



그림 2. 펄스 비분할 주입에 대해 평가된 라이너

표1은 기기 운용 파라미터입니다. 펄스 비분할 주입은 농약의 이송, 특히 활성 농약을 컬럼으로 최대한 이송시키기 위해 사용되었습니다. 초기에 주입 용매로서 아세토니트릴을 사용함으로써 분석물질 피크 모양에 문제가 발생하였습니다. 아세토니트릴은 여기에 사용된 반비극성

컬럼에서 비분할 주입 시 문제를 일으키는 것으로 알려져 있습니다. Agilent 5190-2293 싱글 테이퍼 Ultra Inert 비분할 주입구 라이너(그림 2의 상단)는 비분할 주입에 널리 사용되며, 대부분의 GC 용매들과 잘 호환됩니다. 그러나 아세토니트릴 사용 시에는 펄스 비분할 주입이 각 분석물질당

여러 개의 피크를 생성합니다. 대체 소모품으로 압력 강하가 낮은 Agilent 5190-2295 Ultra Inert 주입구 라이너(그림 2의 하단)로 이 문제를 해결할 수 있기에 이후의 모든 분석에 사용되었습니다.

표 1. 농약 스크리닝을 위한 GC/MS 조건

GC	
빠른 오븐, 자동 시료 주입기 및 트레이를 갖춘 Agilent 8890 GC 시스템	
주입구	
	멀티모드 주입구
모드	펄스 비분할
주입 펄스 압력	0.75분까지 50psi
분할 배출구 퍼지 유속	0.7분에 50mL/분
셉텀 퍼지	3.0mL/분
셉텀 퍼지 유속 모드	전환됨
주입 부피	2.0µL
주입구 온도	280°C
운반 가스	헬륨
주입구 라이너	Agilent low pressure drop with glass wool
주입구 라이너 부품 번호	5190-2295
오븐	
초기 오븐 온도	60°C
초기 오븐 유지 시간	1분
승온 속도 1	40 °C/분
최종 온도 1	120°C
최종 유지 시간 1	0분
승온 속도 2	5°C/분
최종 온도 2	310°C
최종 유지 시간 2	3.0분
총 분석 시간	43.5분
분석 후 실행 시간	1.5분
평형 시간	0.25분

컬럼 1	
유형	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert(p/n 19091S-431UI)
길이	15m
직경	0.25mm
필름 두께	0.25µm
제어 모드	일정 유속
유속	1.395mL/분
주입구 연결	분할/비분할
배출구 연결	PSD(PUU)
분석 후 실행 유속(백플러시)	-12.906mL/분
컬럼 2	
유형	Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert(p/n 19091S-431UI)
길이	15m
직경	0.25mm
필름 두께	0.25µm
제어 모드	일정 유속
유속	1.595mL/분
주입구 연결	PUU
배출구 연결	MSD
분석 후 실행 유속(백플러시)	13.32mL/분
MSD	
모델	Agilent 5977 시리즈 GC/MSD
이온화원	Inert extractor
진공 펌프	고성능 터보
툰 파일	ETUNE.U
모드	스캔
스캔 범위	45~550amu
용매 지연	4분
EM 전압 게인 모드	1.0
TID	켜짐
사중극자 온도	150°C
이온화원 온도	280°C
이송 라인 온도	280°C

시료 전처리

캘리포니아 쿠퍼티노 지역의 현지 식료품점과 농부 시장에서 16개 서로 다른 포장의 유기농 및 비유기농 딸기를 구입했습니다. 딸기를 작은 조각으로 잘라 냉동한 후, 액체 질소와 혼합하였습니다 (먼저 유기농 시료들을 혼합). 다음과 같은 방식으로 QuEChERS 시료 전처리법을 적용하였습니다. 50mL 원심분리 튜브에 각 시료 10g을 칭량하여 넣었습니다. 2개의 세라믹 균질기를 각 원심분리 튜브에 첨가한 뒤, 10mL의 아세트니트릴 (HPLC 등급)을 각 튜브에 첨가하였습니다. 시료를 1,500스트로크/분의 속도에서 3분간 기계로 진탕하였습니다. EN 분석법 15662 QuEChERS 추출 염 패킷 (부품 번호 5982-6650)을 각 원심분리 튜브에 첨가하였습니다. 시료를 1,500스트로크/분의 속도에서 3분간 기계로 진탕한 후, 5,000rpm의 속도로 5분간 원심분리하였습니다. 추출물의 6mL 분취액을 QuEChERS Dispersive SPE 15mL 튜브(일반 과일 및 채소용, 부품 번호 5982-5056)로 옮겼습니다. 시료를 1,500스트로크/분의 속도에서 3분간 vortex 처리한 뒤, 5,000rpm의 속도로 5분간 원심분리하였습니다. 그 후 시료 추출물을 분석하기 위해 표지된 자동 시료 주입기 바이알로 옮겼습니다.

결과 및 토의

스캔 데이터 스크리닝: RTL 농약 라이브러리

그림 3은 시료 27 추출물의 스캔 TIC입니다. QuEChERS 추출 절차가 딸기로부터 농약을 회수하는 데 효과적이지만, 이는 여전히 그림 3에 나타난 바와 같이 많은 매트릭스 화합물을 가져옵니다.

추출물 27의 스캔 파일은 RTL 농약 라이브러리에서 검색된 deconvoluted 성분과 함께 MassHunter Unknowns Analysis로 분석되었습니다. 그림 4는 생성된 보고서입니다. 보고서는 모든 열에 따라 정렬 가능하며, 여기에는 LMS

감소 순으로 정렬됩니다. 4번째 항목인 fludioxonil을 예로 들면, fludioxonil은 높은 LMS(90.7)를 갖추고 있고 RTL 라이브러리 내 RT 값이 0.08분 이내인 것으로 드러났기 때문에 이 화합물이 존재할 가능성이 높습니다.

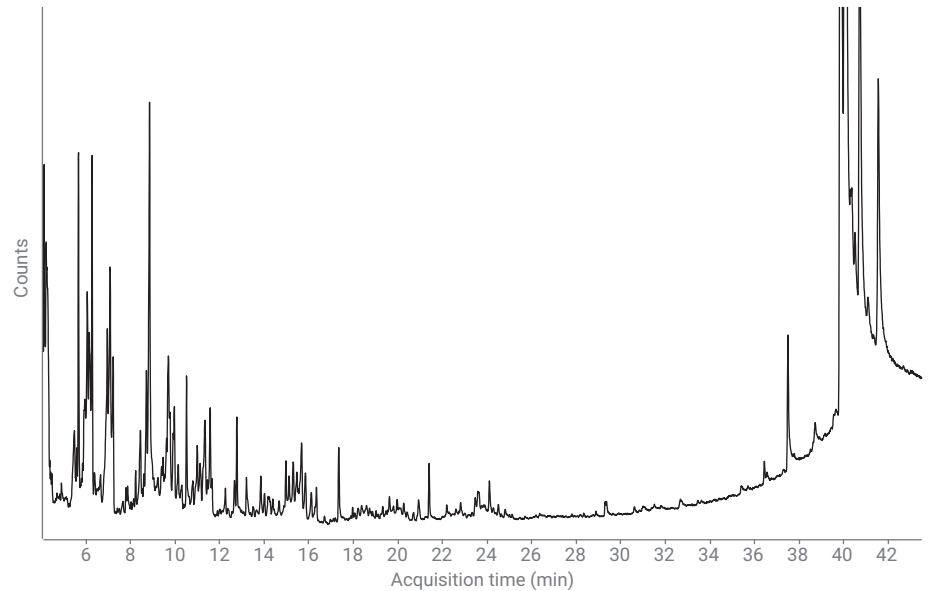


그림 3. 시료 번호 27 추출물의 총 이온 크로마토그램(TIC)

Component RT	Compound Name	Match Factor	Delta RT	Formula	Base Peak Area
21.3891	Captan	94.5	0.0399	C9H8Cl3NO2S	52032.5
9.9134	Tetrahydrophthalimide, cis-1,2,3,6-	94.2	0.0906	C8H9NO2	102600.8
29.3490	Bis(2-ethylhexyl)phthalate	91.9	-0.0260	C24H38O4	181695.6
23.3104	Fludioxonil	90.7	0.0816	C12H6F2N2O2	16413.6
28.3328	Bifenthrin	87.9	-0.0078	C23H22ClF3O2	29593.8
20.9145	Cyprodinil	83.8	-0.0115	C14H15N3	60190.5
17.5911	Diisobutyl phthalate	80.4	-0.0091	C16H22O4	9172.2
19.3861	Di-n-butylphthalate	79.1	-0.0041	C16H22O4	23848.5
12.3195	Flonicamid	76.2	0.0895	C9H6F3N3O	15620.9
10.5067	Cashmeran	75.0	-0.0047	C14H22O	856091.4
23.1969	Bisphenol A	66.3	0.0481	C15H16O2	8318.8
12.1518	Diethyl phthalate	64.1	0.0212	C12H14O4	5271.8
21.6057	Fluopyram	63.5	0.0023	C16H11ClF6N...	3253.0
6.7158	Thymol	62.9	-0.0108	C10H14O	9340.1
4.2246	4-Methylphenol	57.5	0.0254	C7H8O	5343.7
12.6725	Fenobucarb	57.4	-0.1625	C12H17NO2	97667.7
5.3488	2,4-Dimethylaniline	56.0	-0.0678	C8H11N	165309.6
7.8016	Eugenol	52.1	0.0144	C10H12O2	5271.3
38.2830	Cinidon-ethyl	51.6	0.1200	C19H17Cl2NO4	2298.6
4.8384	2,4-Dimethylphenol	51.0	0.1166	C8H10O	2609.5

그림 4. RTL 농약 라이브러리에서 시료 27에 대한 검색 결과

그림 5는 추출물 27의 일부 TIC를 보여주며, 식별된 성분은 녹색으로, fludioxonil 성분은 빨간색으로 표시됩니다. 이 TIC는 fludioxonil과 동시 용리된 상당한 양의 매트릭스 간섭물질을 보여줍니다.

그림 6은 매치 결과를 조사할 때 나타나는 정보를 보여주며, 본 연구에는 MassHunter Unknowns Analysis 내의 fludioxonil입니다. 그림 6A는 소프트웨어가 스펙트럼의 일부로 식별한 이온의 EIC를 이용한 성분 프로파일 오버레이입니다. 모든 EIC가 유사한 모양 및 RT를 가지는지 확인하기 위해 오버레이를 검사합니다. 그림 6B의 스펙트럼은 피크의 성분 프로파일에 대한 원시 스펙트럼의 평균입니다. 그것의 목적은 동시 용리 화합물에서 간섭 이온의 정도를 보여주는 것입니다. 스펙트럼은 그림 5의 TIC에서 볼 수 있듯이 많은 간섭물질을 확인시켜 줍니다.

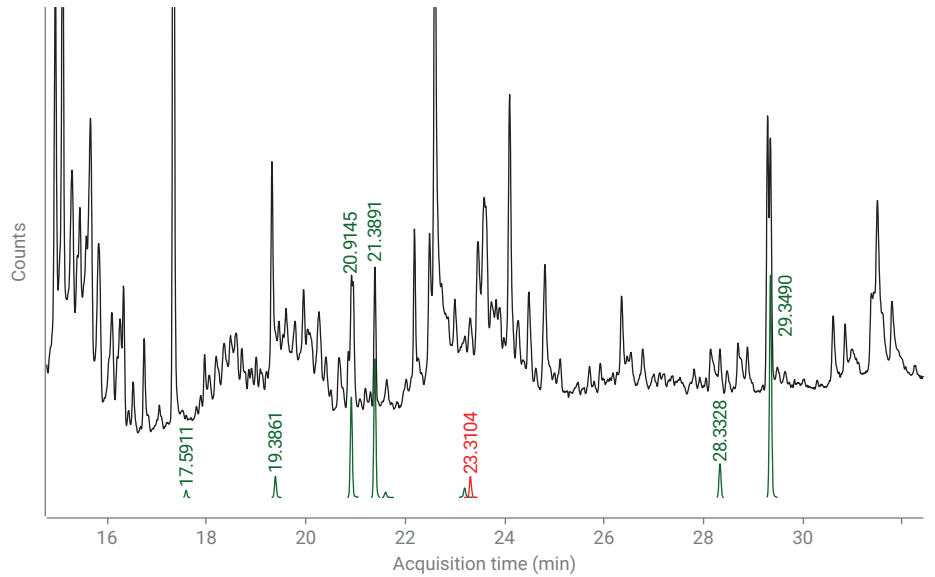


그림 5. 시료 27의 추출물(검은색 선), 식별된 구성 성분(녹색 선) 및 fludioxonil 성분(빨간색 선)의 TIC

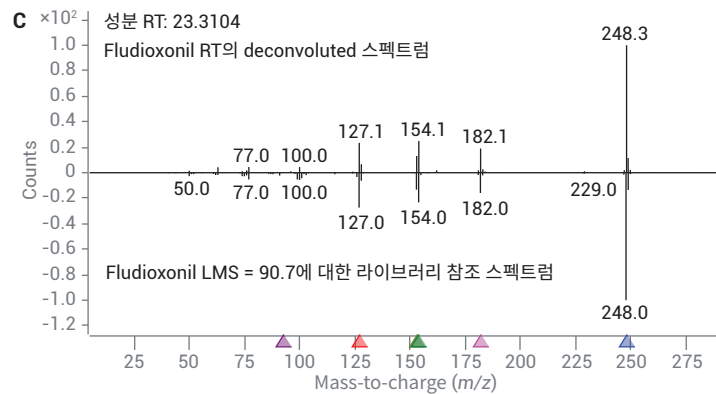
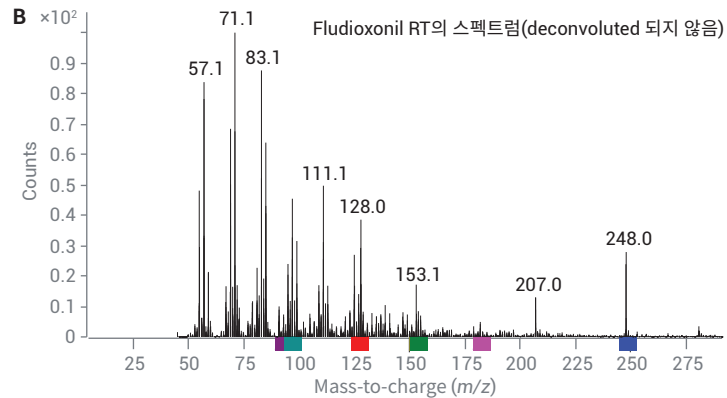
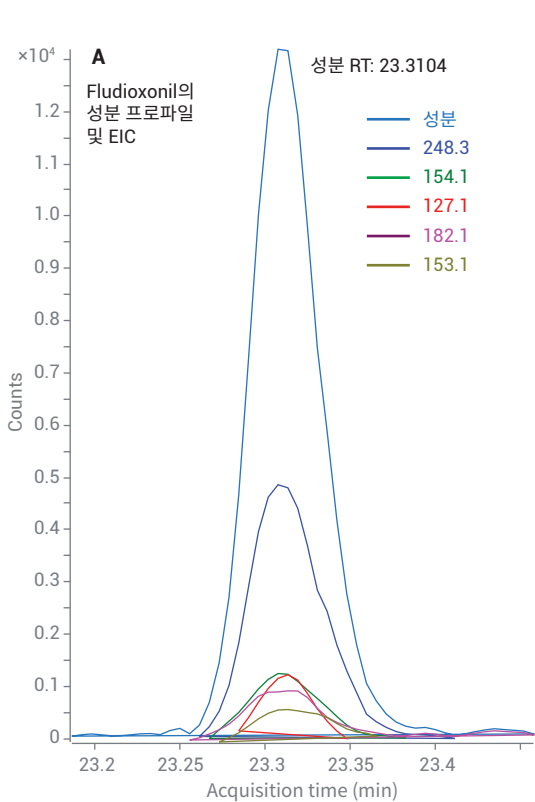


그림 6. MassHunter Unknowns Analysis로 분석한 추출물 27 내의 fludioxonil 식별

그림 6C는 fludioxonil의 RT에서 발견된 성분의 deconvoluted 스펙트럼을 반전된 라이브러리 참조 스펙트럼과 비교하여 보여줍니다. Deconvolution 절차는 간섭 이온을 제거함으로써 높은 품질의 LMS인 90.7를 생성하였습니다.

MassHunter Unknowns Analysis에서 발견된 모든 매치 결과에 대해 조사 절차를 반복 수행하였고, 관심 대상 화합물 정량 목록을 생성하였습니다. 어떤 화합물을 목록에 추가할지에 관한 의사결정은 LMS, RT 매치, 특정 화합물에 대한 우려 정도 등 여러 가지 요소에 달려 있습니다. 기본 피크 면적 항목 역시 목록에 나타난 매치 결과의 상대 감응 크기에 대한 유용한 지표가 됩니다. 일반적으로 중점 고려 대상이 아닌 이상, 65 미만의 LMS 스코어를 가진 화합물은 무시합니다.

낮은 LMS의 매치 결과 조사에 대해 설명하기 위해 시료 추출물 11 내의 fludioxonil이 시료 추출물 27에 비해 훨씬 낮은 양으로 존재하는 것이 밝혀졌습니다.

그림 7은 매치 결과에 대한 MassHunter Unknowns Analysis 내의 스펙트럼 정보를 보여줍니다. EIC의 신호 대 잡음비(S/N)의 영향을 보다 명확하게 보여주기 위해 성분 프로파일을 제거했습니다. 스펙트럼 매치 결과만 보았을 때 이 매치 결과는 아마도 "거부"로 판정될 것입니다. 그러나, 4가지 주요 이온 중 3가지가 대략 적절한 비율로 존재하고 RTL 라이브러리 내 RT가 0.087분 이내이기 때문에, 이 매치 결과는 정량 대상 화합물 목록에 추가할 만한 가치가 있을 수 있습니다.

스캔 데이터 스크리닝: NIST 17 라이브러리

1,000여 종의 화합물을 포함한 RTL 라이브러리는 RT 매치율이 매우 우수하기 때문에 스크리닝에 사용하기에 편리하며, 조사해야 할 매치 결과 수도 제한적입니다. 그러나, 새로운 공급자를 평가하는 것과 같이 보다 광범위한 스크리닝이 필요한 경우가 있습니다.

MassHunter Unknowns Analysis는 260,000개 이상의 스펙트럼이 포함된 NIST 17 라이브러리에서 deconvoluted 성분을 검색하는 데 사용될 수 있습니다. NIST 17에는 많은 항목에 대해 여기에 사용된 유형의 반표준 비극성 컬럼에서 실험적으로 측정된 RI를 포함합니다. 알케인 RI 검량 혼합물을 RTL 농약 분석법을 사용해 분석하였으며, 이를 이용해 RI 검량 파일을 생성하였습니다. 그 후 MassHunter Unknowns Analysis는 NIST 17를 통해 deconvoluted 스펙트럼을 검색하며, 매치 결과에 대한 LMS와 RI 값, 그리고 가능한 경우 NIST RI 값을 나열합니다. 이 도구는 매우 강력하지만 모든 매트릭스 성분을 검색하기 때문에 조사해야 하는 매치 결과 목록이 매우 방대할 수 있습니다. 예를 들어, 추출물 27의 스크리닝은 종종 >65의 LMS 값을 나타내는 400개 이상의 매치 결과를 생성합니다.

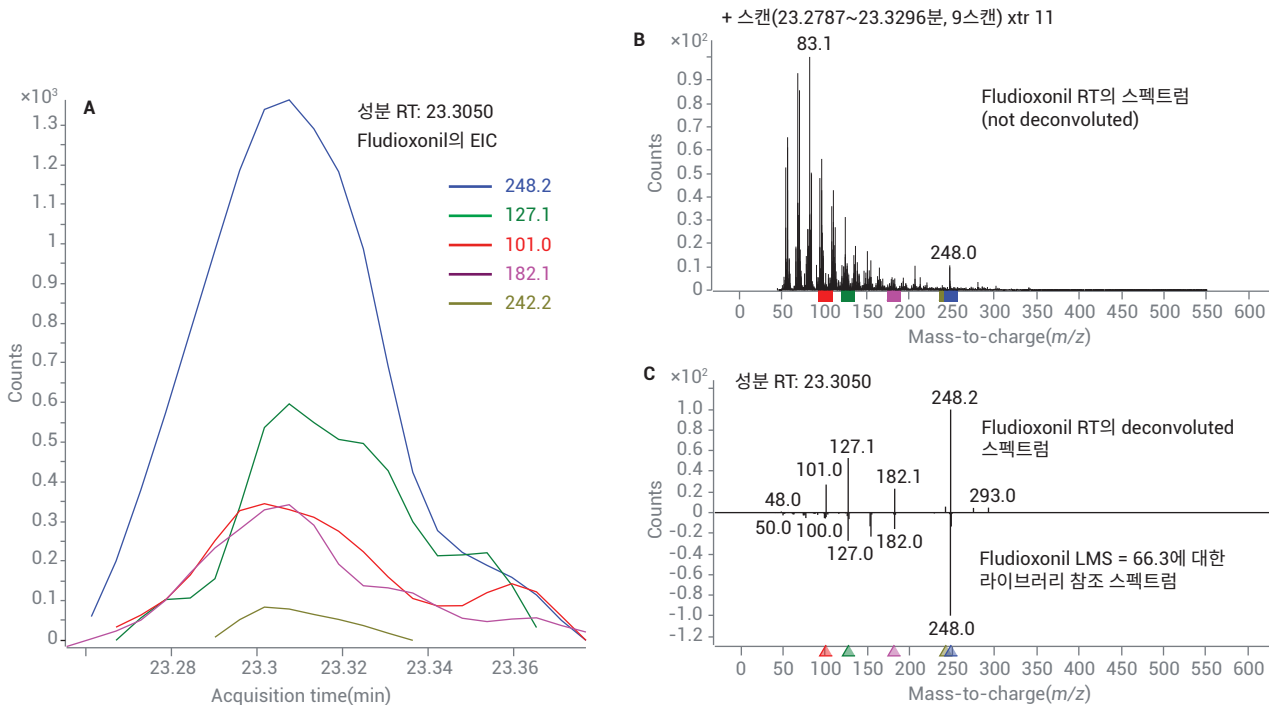


그림 7. MassHunter Unknowns Analysis로 분석한 추출물 11 내의 fludioxonil 식별

그림 8은 추출물 27의 일부 NIST 17 스크리닝 결과를 보여줍니다. 성분 RI는 탄화수소 RI 검량을 사용해 계산되었습니다. 라이브러리 RI를 NIST 항목으로부터 가져왔으며, 이는 반표준 비극성 상에 대한 실험적 RI 또는 가능한 경우 분자 파라미터로부터 계산된 이론값입니다. 후자는 제한된 값이며, 예상 RI 오차가 종종 매우 크기 때문입니다.

NIST 17 결과 검토에서, LMS 및 델타 RI 값에 대한 고려가 주어졌습니다. LMS가 높다면, 델타 RI의 비율은 RI 대비 매우 낮고, NIST RI가 실험적으로 확인된 유형이라면, 이는 화합물이 존재할 수 있다는 매우 강력한 증거가 됩니다.

NIST 17 스크리닝은 다음과 같은 여러 목적으로 사용될 수 있습니다.

- RTL 농약 라이브러리 스크리닝에서 찾아낸 화합물의 식별 확인
- RTL 스크리닝 매치 결과와 의심스러운 LMS 값에 대한 대안적 식별 찾기
- RTL 스크리닝 결과에 없으나 우려가 되는 화합물 식별

그림 8에서 fludioxonil은 2,100 이상의 RI에 비해 LMS 값(89.9)이 높고 델타 RI 값 (실험 유형)이 -12로 낮게 나타나 RTL 농약 스크리닝에서의 식별을 확인시켜 주었습니다.

RTL 농약 스크리닝 결과를 보여주는 그림 4에서 아래에서 다섯 번째 항목인 fenobucarb가 불량한 LMS 값(57.4)과 불량한 RT 매치(-0.1625분)를 나타냅니다. 이러한 결과를 바탕으로 fenobucarb는 보고되지 않았습니다. 동일한 성분을 NIST 17에 대해 검색했을 때 그림 9에서 파란색으로 강조 표시한 바와 같이, 분명한 매트릭스 화합물과 높은 매칭률을 보이는 성분이 발견되었습니다. LMS(93.2)와 델타 RI(15) 모두 이 매치 결과의 정확성을 강력히 제시합니다.

RTL 스크리닝 목록에는 없지만 우려 대상일 수 있는 화합물질을 식별하는 예로서, 추출물 13에서 LMS 89.1의 매치 결과, 약 2,700 중에서 158의 RI 델타로 (Z)-13-docosenamamide를 발견하였습니다. 이 화합물은 폴리머 제조에 일반적으로 사용되는 슬립제이며 유해한 것으로 간주되지 않습니다. 이 물질은 구입한 딸기의 플라스틱 포장에서 유래할 수 있습니다.

딸기 시료의 추출물은 또한 분리 실험에도 사용되었으며³ 스크리닝 절차에서 검출된 농약을 정량하였습니다. 정량 값과 스크리닝 결과를 비교함으로써, 스크리닝 절차를 통한 식별에 필요한 농약의 추정량을 산출하였습니다.

Component RT	Compound Name	Match Factor	CAS#	Formula	Component RI	Library RI	Delta RI	Base Peak Area
22.8308	Pentanoic acid	62.3	109-52-4	C5H10O2	2154	904	-1250	4734.9
22.9106	Benzene, (1-methyltridecyl)-	63.1	4534-59-2	C20H34	2158	2007	-151	3630.2
22.9124	Z-Phenylbenzanilide	58.1	7404-97-9	C19H15NO	2158	2554	396	3630.2
23.0005	Octadecanoic acid	74.4	57-11-4	C18H36O2	2163	2172	9	6180.5
23.1969	Phenol, 4,4'-(1-methylethylidene)bis-	66.4	80-05-7	C15H16O2	2175	2108	-67	8318.8
23.2171	Ethanone, 1-(2-thienyl)-	62.6	88-15-3	C6H6OS	2176	1092	-1084	863.5
23.2828	Ethanol, 2-ethoxy-	66.7	110-80-5	C4H10O2	2179	708	-1471	10732.1
23.3104	Fludioxonil	89.9	131341-86-1	C12H6F2...	2181	2169	-12	16413.6
23.4516	Cyanamide, dibutyl-	67.0	2050-54-6	C9H18N2	2189	1210	-979	17456.0
23.4657	6-Amino-1,3,5-triazine-2,4(1H,3H)-dione	76.1	645-93-2	C3H4N4O2	2190	1512	-678	76448.8
23.4672	6-Amino-1,3,5-triazine-2,4(1H,3H)-dione	75.4	645-93-2	C3H4N4O2	2190	1512	-678	76448.8
23.4780	d-Proline, N-methoxycarbonyl-, undecyl ester	80.3	1000320-7...	C18H33NO4	2191	2222	31	76448.8
23.5804	1-Hydroxy-2-butanone	74.1	5077-67-8	C4H8O2	2196	798	-1398	42935.4
23.5837	3-(Ethylhydrazono)butan-2-one	79.3	1000194-9...	C6H12N2O	2197	1145	-1052	150888.1
23.6310	Pyridin-2,6-diol, diacetate	71.9	1000153-0...	C9H9NO4	2199	1434	-765	18520.8
23.6351	1-[1,2,4]Triazol-1-ylethanone	82.4	15625-88-4	C4H5N3O	2199	988	-1211	40556.0
23.7372	Carbonic acid, eicosyl vinyl ester	66.8	1000382-5...	C23H44O3	2205	2497	292	19284.7
23.7509	1-[1,2,4]Triazol-1-ylethanone	77.2	15625-88-4	C4H5N3O	2206	988	-1218	19284.7
23.8284	1-Nonene, 4,6,8-trimethyl-	74.3	54410-98-9	C12H24	2211	1012	-1199	16170.3
23.9030	Cyclopentanone, 2-octyl-	77.6	40566-23-2	C13H24O	2215	1528	-687	12739.3
24.0837	6-Methylcyclohexathiazole	60.3	96963-10-9	C8H11NS	2226	1243	-983	30301.6
24.0862	3,12-Dibora-2,4,11,13-tetraoxatricyclo[12.4.0.0(...	63.0	1000063-4...	C16H30B2...	2226			30301.6
24.0999	Phenanthrene, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,5,6,7,8,9,1...	58.3	55255-56-6	C20H32	2227	1902	-325	16173.8
24.1046	Benzyl beta-D-glucoside	70.5	1000126-9...	C13H18O6	2227	2461	234	126801.0
24.2760	2-Pyrazoline, 1-isopropyl-5-methyl-	75.6	26964-54-5	C7H14N2	2237	852	-1385	12745.9
24.2983	1,2-Oxaphosphole, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-2,5...	57.7	56248-43-2	C11H21O3P	2239			2364.2

그림 8. 시료 27의 NIST 17 라이브러리 부분 검색 결과 목록

Component RT	Compound Name	Match Factor	CAS#	Formula	Component RI	Library RI	Delta RI	Base Peak Area
12.5084	Phthalic acid, 3,5-dimethylphenyl 4-formylphenyl...	68.2	1000315-7...	C23H18O5	1616	3115	1499	1009.2
12.5626	alpha, alpha, alpha, 2-Tetrafluoro-m-tolunitrile	56.5	146070-35-1	C8H3F4N	1618	881	-737	535.1
12.6441	Homovanillic acid	75.8	306-08-1	C9H10O4	1622	1657	35	10789.7
12.6725	Phenol, 4-(3-hydroxy-1-propenyl)-	93.2	3690-05-9	C9H10O2	1624	1639	15	97667.7
12.6736	[1,2,4]Triazole, 4-amino-3-(pyrazol-1-yl)-	58.2	1000316-9...	C5H6N6	1624	1481	-143	53907.0
12.7279	Benzoic acid, 4-[(2,4-dimethoxy-5-pentylbenzoyl)...	71.8	5366-08-5	C28H38O7	1627	3603	1976	3341.6
12.7638	n-Propyl cinnamate	91.9	7778-83-8	C12H14O2	1628	1466	-162	588345.3

그림 9. 시료 27의 NIST 17 라이브러리 부분 검색 결과 목록

표 2에는 딸기 추출물 내에서 식별된 GC로 분석 가능한 농약, US EPA가 정한 딸기 내 잔류 농약의 최대 허용 농도^{4,5} 및 스크리닝을 통한 식별에 요구되는 추정량도 포함되어 있습니다. 딸기 시료 내에서 발견된 모든 농약은 허용 기준 이하에서 식별될 수 있습니다.

표 2. 이 분석법에서 식별을 위해 요구되는 농약의 추정 ppb

	허용 농도	요구 농도(ppb)
화합물	ppb	대상 ID
Azoxystrobin	10,000	534
Bifenazate	1,500	500
Bifenthrin	3,000	100
Boscalid	4,500	165
Captan	20,000	2,000
Carbaryl	4,000	200
cis-1,2,3,6-Tetrahydrophthalimide	25,000	500
Cyprodinil	5,000	100
Etoxazole	500	100
Fenhexamid	3,000	300
Flonicamid	1,500	300
Fludioxonil	2,000	100
Malathion	8,000	150
Metalaxyl	10,000	100
Myclobutanil	500	500
Novaluron	500	500
Pyrimethanil	3,000	100
Quinoxifen	900	100
Tetraconazole	2,500	150
Trifloxystrobin	1,100	150

결론

Agilent 8890 GC 시스템과 Agilent 5977 GC/MSD 시스템은 딸기에서 농약을 식별하는 데 실용적 수단을 제공합니다. 펄스 비분할 주입은 요구되는 수준의 적합한 비활성 시료 이송을 수행하였습니다. 중간 컬럼 백플러시는 분석 시간과 컬럼의 트리밍 빈도를 모두 줄입니다. 자동 deconvolution 및 라이브러리 검색 소프트웨어와 함께 Agilent MassHunter Unknowns Analysis를 사용하여 스캔 모드에서 시료 추출물을 우선 스크리닝하여 농약 또는 기타 우려 대상 화학물질을 빠르게 찾을 수 있습니다.

또한 RTL의 사용은 결과를 다른 기기 및 MS 유형에서 얻은 결과와 쉽게 비교할 수 있게 해 줍니다. 이 시스템에서 발견된 모든 관심 대상 화합물은 애질런트 농약 및 환경 오염물질 MRM 데이터베이스를 사용하여 GC/MS/MS로 얻은 결과, 그리고 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 및 accurate mass 농약 개인 화합물 데이터베이스 및 라이브러리(PCDL)를 사용하여 GC/Q-TOF로 얻은 결과와 비교할 수 있습니다. 다양한 플랫폼의 사용은 식품 안전 요구를 해결하기 위한 강력한 도구 세트를 제공합니다.

참고 문헌

1. Westland, J.; Stevens, J. An Optimal Method for the Analysis of Pesticides in a Variety of Matrices. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7303EN, **2017**.
2. Chen, K.; Nieto, S.; Stevens, J. GC/Q-TOF MS Surveillance of Pesticides in Food. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7691EN, **2017**.
3. Andrianova, A.; Westland, J.; Quimby, B. Quantitation of Pesticides in Strawberries at Tolerance Levels Established by the US EPA Using Agilent 8890/7000D and 8890/7010B triple quadrupole GC/MS systems. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0799EN, **2019**.
4. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity). *US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs*. December 12, **2012**.
5. USDA, AMS, S&T, MPD - Pesticide Data Program (PDP). PDP Database Search Application – *User Guide*. January **2019**. <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/PDPSearchAppUserGuide.pdf>

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
2019년 10월 7일, 한국에서 인쇄
5994-0915KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울 특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com