

일상적인 식품 안전 분석에서의 Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS 견고성

저자

Mark Sartain,
Theresa Sosienski, Dan-Hui
Dorothy Yang
Agilent Technologies, Inc.
Santa Clara, CA USA

개요

이 기술 개요에서는 일상적으로 수행하는 식품 내 잔류 농약 분석에서 Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS와 연결된 Agilent 1290 Infinity II LC 시스템의 견고성을 검증하였습니다. Ultivo LC/MS내 기술 혁신들은 기기는 소형화하면서, 다른 큰 규모의 MS 시스템이 갖춘 성능은 유지하였습니다.

농약이 첨가된 아보카도 추출 시료 1,500개를 5일에 걸쳐 분석하여 Ultivo LC/MS 시스템의 신뢰성과 재현성을 시험하였습니다. 계산된 농도로 20ng/g과 잔류허용기준(MRL)인 10ng/g 모두에서 대부분 분석물질의 원래 피크 면적은 5% 미만의 피크 면적 RSD를 나타냈습니다.



그림 1. Agilent 1290 Infinity II LC
와 연결된 Agilent Ultivo Triple
Quadrupole LC/MS

소개

식품 매트릭스에 함유된 잔류 농약 정량 분석은 매트릭스 성분의 존재로 특히 어렵습니다. 일일 주기로 오염물의 농도를 모니터링하기 위해서는 감도와 내구성이 높은 분석 기법이 요구됩니다. 가장 많이 사용되는 기법은 삼중 (탠덤) 사중극자 질량 분석기의 다중 반응 모니터링(MRM) 모드를 이용한 분석법입니다. 그러나 시간이 지남에 따라 비휘발성 시료 매트릭스 성분이 이온화원과 이온 전달 경로에 쌓이기 때문에 시스템의 분석 성능이 저하될 수 있습니다. 따라서 최적의 성능을 유지하기 위해서는 빈번한 세척이 필요할 수 있습니다.

VacShield, Cyclone Ion Guide, Vortex Collision Cell, Virtual Pre/Post-Filters, Hyperbolic Quads와 같은 혁신 기술은 기기의 정량 성능을 극대화하고 신뢰성과 견고성을 높여 가동 시간(uptime)을 늘여줍니다. Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS는 유지보수에 대한 사용자 작업을 최소화했기 때문에, 전문가가 아니더라도 MS 시스템을 작동하고 유지보수할 수 있습니다.

Agilent MassHunter 소프트웨어는 데이터 수집, 분석법 설정, 데이터 분석 및 보고 과정을 간소화합니다. MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어에 새롭게 추가된 Quan-My-Way 옵션을 활용하면 사용자의 워크플로에 맞게 설정할 수 있어 데이터 분석 작업을 간소화합니다. 그 결과 수집부터 보고까지 시간이 단축되고 실험실 생산성과 결과에 대한 신뢰도가 향상되었습니다.

이 응용 자료에서는 Ultivo LC/MS를 사용하여 상대적으로 복잡한 식품 시료에 함유된 일반 잔류 농약 정량을 통해 기기의 견고성을 검증하였습니다.

실험

시약 및 화학 약품

모든 시약과 용매는 HPLC 또는 LC/MS 등급을 사용하였습니다. 아세토니트릴과 메탄올은 Honeywell(Morristown, NJ, USA) 제품입니다. 초순수는 LC-Pak Polisher와 0.22µm point-of-use membrane filter cartridge가 장착된 Milli-Q Integral 시스템(EMD Millipore, Billerica, MA, USA)에서 얻었습니다. LC/MS 등급 포름산은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였습니다. Agilent comprehensive pesticide mixture(p/n 5190-0551) 중 submix #5와 Agilent LC TOF/QTOF/QQQ Pesticide Test Mixture(p/n 5190-0469)의 기본 확인용 혼합물(basic checkout mix)은 ACN으로 희석하여 10ppm 표준 용액으로 준비하고 QuEChERS 추출액에 첨가하였습니다.

시료 전처리

유기농 아보카도는 현지 식료품점에서 구입하고 Agilent BondElut QuEChERS 키트(p/n 5982-5650)를 사용하여 EN 15662 QuEChERS 프로토콜에 따라 전처리하였습니다. Agilent Bond Elut EMR—Lipid dSPE 키트(p/n 5982-1010)로 추출액을 추가로 정제하고 polishing (p/n 5982-0102)하였습니다. 마지막으로 추출액을 물과 2:5로 희석하고 다음과 같이 농약 표준 용액을 첨가하였습니다.

- QuEChERS 추출액에 submix #5를 첨가해 최종 농도가 20ng/g이 되도록 합니다.
- submix #5를 첨가한 추출액의 분주 (aliquot)에 기본 확인용 혼합물을 첨가하여 최종 농도 100ng/g으로 한 후, 최종 농도가 50, 20, 10, 5ng/g이 되도록 submix #5 첨가 추출액으로 추가 희석하여 검량 시료로 사용하였습니다. 같은 방법으로 20, 15, 10ng/g 농도로 QC 시료를 준비하였습니다.

기기

Agilent 1290 Infinity II High Speed Pump(G7120A), Agilent 1290 Infinity II Multisampler(G7167B), Agilent 1290 Infinity II Multicolumn Thermostat(G7116B)으로 구성된 Agilent 1290 Infinity II UHPLC 시스템을 사용하여 분리 실험을 수행하였습니다. UHPLC는 Agilent Jet Stream 전자분무 이온화원이 장착된 Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS와 연결하여 사용하였습니다. 데이터 수집과 분석에는 Agilent MassHunter Acquisition(Ver. C.01.00)과 Agilent MassHunter Quantitative Analysis(Ver B.08.00) 소프트웨어를 사용하였습니다.

결과 및 토의

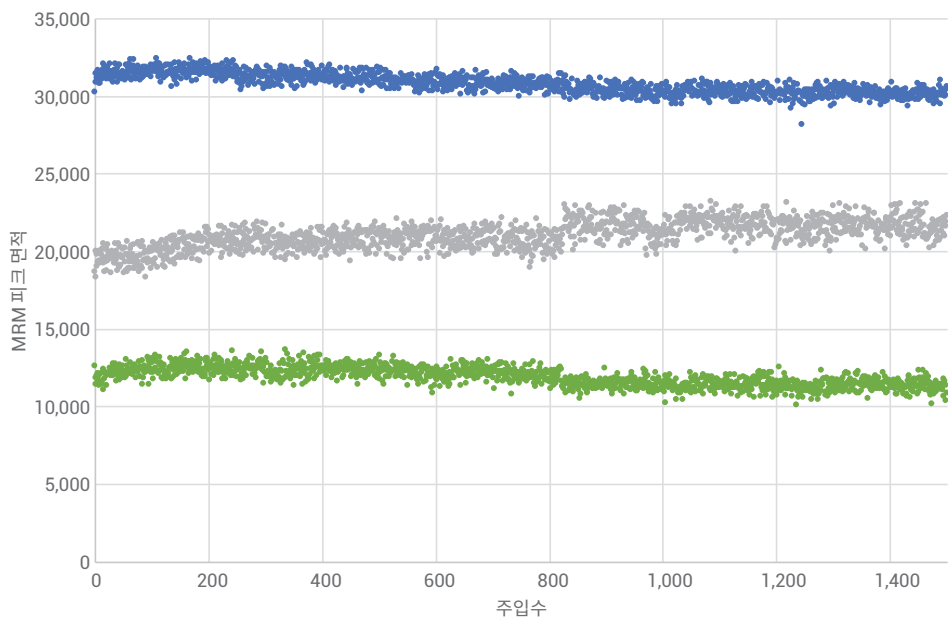
MRM 신호 안정성

농약 submix #5를 첨가한(20ng/g) 아보카도 시료에 함유된 세 성분을 측정하고, 보정이나 정규화하지 않은 원래의 MRM 신호 반응을 그림 2에 나타내었습니다. 데이터는 시료를 5일 동안 연속적으로 1,500회 분석한 결과입니다. 피크 면적 안정성을 확인할 수 있습니다.

기기 조건

Agilent 1290 Infinity II LC 시스템			
컬럼	Agilent Poroshell EC-C18, 2.1 × 50mm, 2.7μm		
가드 컬럼	Agilent Poroshell EC-C18, 2.1 × 5mm, 2.7μm		
컬럼 온도	40°C		
주입량	5μL		
Multisampler 온도	4°C		
니들 세척	세척 포트에서 10초(1:1 methanol/water)		
이동상	A) 0.1% formic acid in water B) 0.1% formic acid in acetonitrile		
유량	0.600mL/min		
그라디언트 프로그램	시간	A (%)	B (%)
	0.00	95	5
	0.20	95	5
	1.90	40	60
	2.00	5	95
	2.40	5	95
	2.41	95	5
	5.00	95	5

Agilent Ultivo Tandem Quadrupole 질량분석기	
이온화원	Agilent Jet Stream II
극성	양이온
가스 온도	300°C
건조 가스 유량(질소)	11L/min
Sheath 가스 온도	400°C
Sheath 가스 유량(질소)	12L/min
분무기 압력(질소)	35psi
캐필러리 전압	3,500V
노즐 전압	0V
스캔 유형	MRM
Q1/Q2 분리능	단위질량0.7amu
총 MRM 수	38
Dwell 시간	12ms
Diverter 밸브	0~0.85min to waste 0.85~5.00min to MS



화합물	%RSD(n = 1,500)
● Carbendazim	2.1
● Methomyl	4.2
● Diuron	5.1

그림 2. 연속된 1,500회 주입에서 세 화합물의 MRM 피크 면적 안정성

정량 재현성

일상적인 분석전문 실험실 대부분은 많은 시료를 정확하게 정량 분석할 수 있는 역량이 요구됩니다. 일반적으로 기기의 드리프트를 보정하기 위해 다른 그룹의 시료를 측정하기 전 검량선 분석을 수행합니다. 그림 3은 이러한 상황을 에뮬레이션하기 위해 시료를

34개 그룹으로 나눈 후, 그룹별로 세 QC 농도에서 검량선을 생성하였습니다. 표 1에는 시료를 1,530회 주입하여 세 QC 농도(20, 15, 10ng/g)로 계산된 농약 10종의 농도 값 RSD가 표시되어 있습니다. 계산된 농도값을 기준으로 10ng/g 농도(대부분 농약의 MRL)에서 화합물의 평균 %RSD는

3.0이었습니다. 계산된 농도의 %RSD 값은 원래의 피크 면적의 %RSD 값을 근소하게 향상하였을 뿐이며, 이 결과는 앞서 설명한 우수한 피크 면적 안정성을 입증합니다.

그림 4는 검량선의 재현성을 보여줍니다. 검량선의 선형 회귀 분석($1/x$ 가중치)에서 대부분은 R^2 값이 0.99보다 높았습니다.

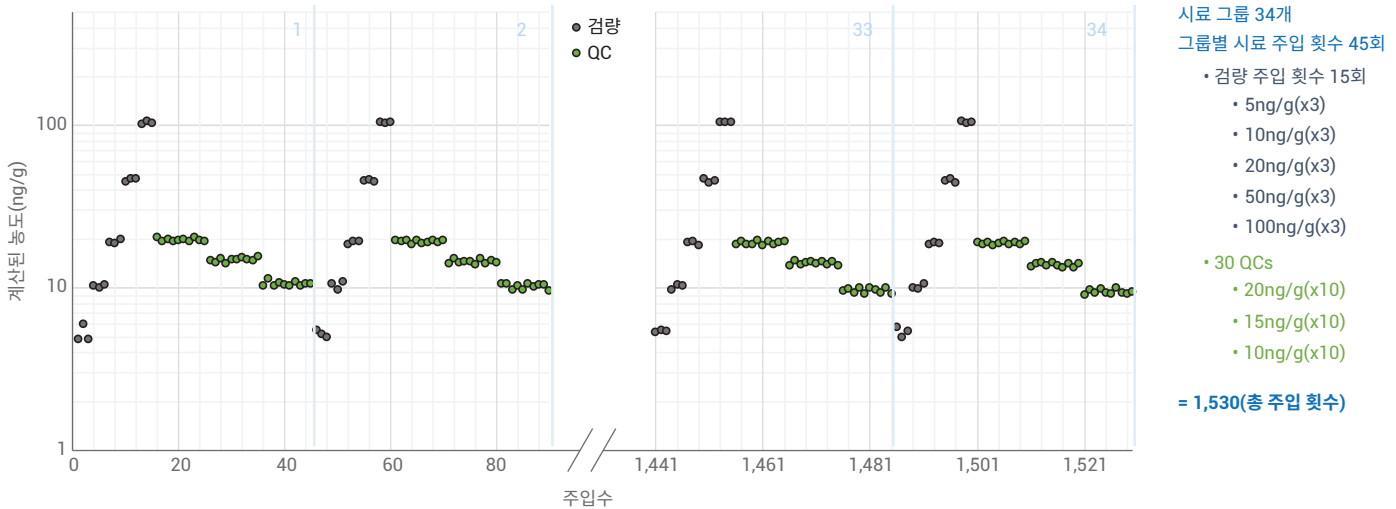


그림 3. 정량 재현성 실험 설계 시료 그룹 1-2(처음 90회 주입)와 3-4(마지막 90회 주입)에서 thiabendazole의 계산된 농도값

표 1. 세 QC 농도에서 MRM 피크 면적과 계산된 농도값의 재현성(총 주입 횟수 1,530회)

화합물	원래의 면적 RSD(농도별 n=340)			계산된 농도 RSD(농도별 n=340)		
	10ng/g	15ng/g	20ng/g	10ng/g	15ng/g	20ng/g
Thiabendazole	4.7%	4.6%	4.4%	4.3%	3.4%	2.4%
Imazapyr	5.6%	5.7%	5.2%	2.1%	1.9%	1.7%
Dimethoate	3.4%	3.5%	3.4%	3.0%	3.0%	2.8%
Metoxuron	3.0%	2.9%	3.0%	2.7%	2.8%	2.8%
Imazalil	1.9%	1.7%	1.6%	1.8%	1.5%	1.4%
Carbofuran	3.2%	3.2%	3.1%	2.6%	2.5%	2.4%
Atrazine	3.1%	3.2%	2.8%	1.5%	1.6%	1.4%
Metosulam	3.5%	3.3%	3.0%	3.0%	2.8%	2.5%
Metazachlor	3.7%	6.5%	3.4%	2.1%	5.7%	2.0%
Molinate	8.0%	6.9%	6.2%	6.5%	5.2%	4.8%
평균	4.1%	4.1%	3.6%	3.0%	3.1%	2.4%

결론

식품 안전 산업은 복잡한 식품 시료에 함유된 농약을 일상적, 높은 처리량으로 분석 가능한 신뢰성 높은 분석 플랫폼을 요구합니다.

이 응용 자료에서는 Agilent Ultivo Triple Quadrupole LC/MS와 연결된 Agilent 1290 Infinity II UHPLC를 사용하여 다음을 검증하였습니다.

- 시료를 5일 동안 연속 주입하고 분석한 실험에서, MRM 피크 면적 편차가 낮았습니다.
- 규제 당국이 지정한 농약 하한 농도에서도 정량 정확성이 유지되었습니다.

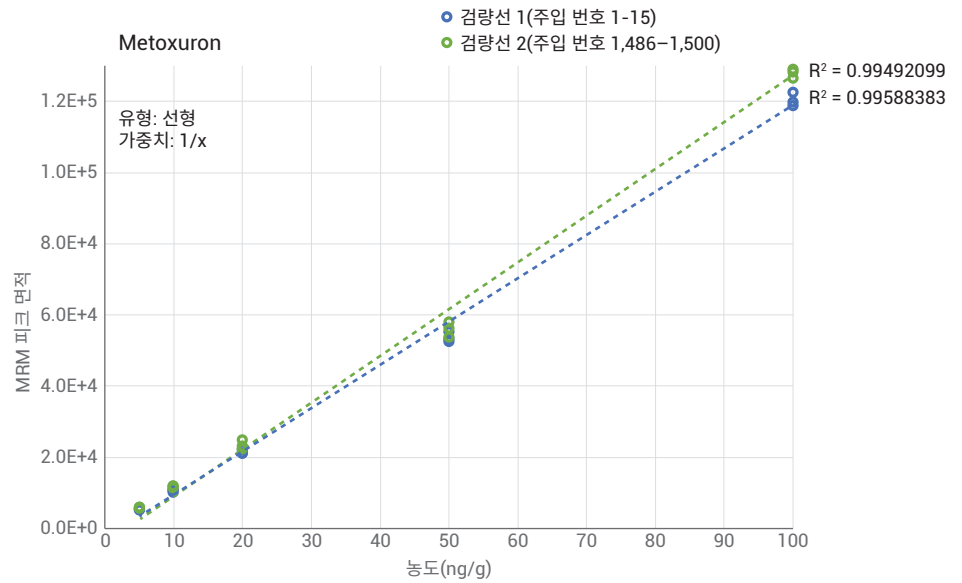


그림 4. 정확도 안정성 검증 농약 첨가 아보카도 추출액을 1,530회 반복 주입한 실험에서 처음과 마지막 시료 그룹에 해당하는 metoxuron 검량선을 나타내었다.

참고문헌

1. A Robustness Study for the Agilent 6470 LC-MS/MS Mass Spectrometer, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-8004.
2. Robustness of an Agilent 6470 Triple Quadrupole Mass Spectrometer for Analysis of Pharmaceuticals in Plasma Matrices, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5953.

www.agilent.com/chem

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2017
2017년 12월 14일, 한국에서 인쇄
5991-8741KO

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