

QuEChERS 추출법과 GC/MS/MS를 이용한 향신료 및 유지종자 내 에틸렌 옥사이드 및 2-클로로에탄올 분석

Agilent 8890/7010 QQQ GC/MS 시스템



저자

Praveen Arya, Soma Dasgupta
및 Vivek Dhyani
Agilent Technologies, Inc.

개요

이 응용 자료에서는 Agilent 8890 GC 시스템과 Agilent 7010 GC/MS QQQ 질량 분석 시스템을 결합하여 아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루와 같은 식품에서 에틸렌 옥사이드 (EtO)와 2-클로로에탄올(2-CE)을 동시에 검출하고 정량화하는 방법을 보여줍니다. 시료 전처리는 QuEChERS 추출 및 분산형 클린업 과정을 거쳐 진행한 후 액체 주입을 통해 GC/MS/MS에 주입했습니다. 두 화합물 모두 매트릭스에서 10ppb의 정량 한계(LOQ)가 얻어졌습니다. 두 화합물 모두의 평균 회수율은 75-86%였습니다.

소개

살모넬라균과 같은 박테리아와 곤충을 제거하기 위해 EtO를 사용해 식품을 살균했습니다. 에틸렌 클로로히드린 또는 2-CE는 식품에 존재하는 염소 이온과 EtO의 반응에 의해 생성되는 유도체입니다. EtO는 발암성과 독성 때문에 유럽연합(EU)에서 사용이 금지되었습니다.

이전에는 EtO를 2-CE로 산성으로 전환하는 과정이 포함된 EtO 분석법(EtO 및 2-CE)이 개발되었습니다. 이러한 분석법은 시간이 많이 걸리고, 노동 집약적이며, 대량의 유해한 용매가 필요합니다. EtO는 휘발성이기 때문에 시료 전처리가 중요합니다. 2020년 12월, 농약 잔류물에 대한 EU 표준 실험실(EURL)은 QuEChERS 추출 후 GC/MS/MS 분석을 사용하는 참가의 EtO 및 2-CE 분석에 단일 잔류물 분석법을 권장했습니다.

본 연구에 채택된 분석법에서는 7010 GC/MS QQQ 질량 분석 시스템과 결합된 8890 GC 시스템에 시료를 도입하는 데 자동 액체 샘플러가 사용됩니다.

표 1. GC/TQ 파라미터.

파라미터	값
GC/MS/MS 분석법 파라미터	
GC	G4513 자동 샘플러가 장착된 Agilent 8890 GC
질량 분석기	Agilent 7010 QQQ 질량 분석 시스템
분석 컬럼	Agilent J&W DB-VRX(60mx 0.25mm, 1.4µm)
컬럼 유속	헬륨: 1.0mL/분, 일정 유량
주입 모드	펄스 분할(4:1)
주입량	2µL
주입 프로그램	90°C에서 시작(0.8분간 유지), 450°C/분으로 250°C까지 승온, 10분간 유지
오븐 프로그램	40°C에서 시작(1.0분 유지), 10°C/분으로 160°C까지 승온, 그 다음 30°C/분으로 245°C까지 승온, 5분간 유지
MS 파라미터	이온화 모드: EI; 이온 소스 온도: 230°C; Quadrupole 온도(Q1 및 Q2): 150°C
MRM 전이	
EtO	44 및 14(CE:20) 44 및 28(CE:5) 44 및 29(CE:5)
2-CE	80 및 31(CE:5) 80 및 43(CE:5) 82 및 31(CE:5)

실험

표준물질 준비

EtO는 휘발성이 높아 그 표준 용액을 낮은 온도(< 10°C)에서 제조했습니다. 희석제인 아세토니트릴을 사용 전에 최소 15분 동안 냉동고(-20°C)에 넣어 두었습니다. 차가운 분석 표준 용액을 차가운 아세토니트릴로 희석하여 농도가 각각 1 mg/mL인 EtO와 2-CE의 원액 표준물질 용액을 제조했습니다.

원액 표준물질 용액을 아세토니트릴로 추가로 희석하여 EtO와 2-CE의 농도가 10µg/ml인 작업 표준 용액을 얻었습니다. 모든 검량 표준물질(2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 100 및 200ng/mL)은 아세토니트릴로 원액을 희석하여 새로 준비했습니다. 아마씨, 커민 가루 및 홍고추 가루의 매트릭스 일치 표준물질은 각 매트릭스의 추출물에 필요한 양의 용액을 첨가하여 준비했습니다. 분석 전, 분해를 방지하기 위해 모든 원액을 -20°C의 온도에서 보관했습니다.

시료 전처리

아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루의 균질화된 시료를 EN 15662 절차(그림 1)에 따라 QuEChERS 추출 절차를 사용해 처리했습니다. 각 시료 약 2.00 ± 0.01g을 50mL 원심분리 튜브에 칭량해 넣었습니다. 10mL의 차가운 물을 원심분리 튜브에 넣은 다음 캡을 씌우고 1분 동안 볼텍싱하여 시료가 수화되도록 한 다음, 추출 효율을 높이기 위해 두 개의 세라믹 균질화기와 함께 10.0mL의 차가운 아세토니트릴을 첨가했습니다. 원심분리 튜브에 캡을 씌우고 10분간 진탕했습니다. QuEChERS 추출염(MgSO₄ 4g, NaCl 1g, sodium citrate 1g, disodium citrate sesquihydrate 0.5g)을 첨가하고, 튜브를 3분간 더 진탕했습니다. 그런 다음 시료를 6,000rpm에서 5분 동안 원심분리했습니다. 상부 아세토니트릴 층(6.0 mL)을 QuEChERS 분산 키트 15mL 튜브(PSA 150mg, C18EC 150mg 및 MgSO₄ 900mg)로 옮겼습니다. 튜브를 30초간 볼텍싱한 후 5,000rpm에서 5분간 원심분리했습니다. 원심분리 후, 분석을 위해 상층액을 GC 바이알로 옮겼습니다.

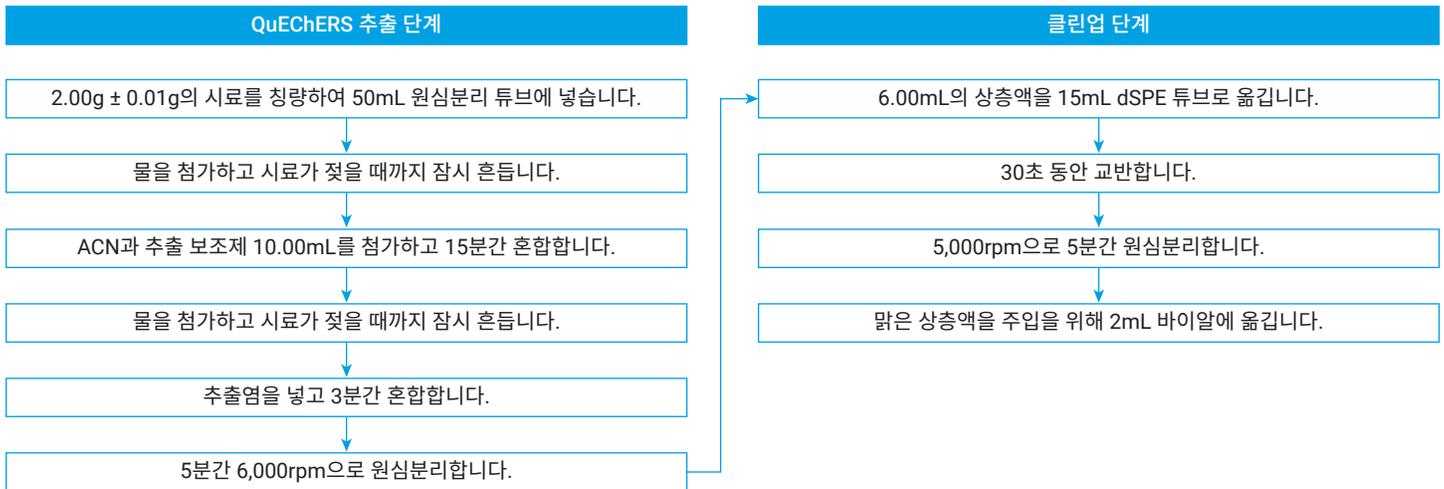


그림 1. 시료 추출 및 클린업을 위한 QuEChERS 워크플로

결과 및 토의

검량

용매에서 EtO와 2-CE의 농도가 2, 5, 10, 20, 50, 100ng/mL일 때 매트릭스 검량을 수행했습니다. 아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루에 대한 스파이크 후 매트릭스 추출물에서도 비슷한 검량을 수행했습니다. $R^2 > 0.99$ 의 우수한 값이 얻어졌습니다.

그림 8과 9는 각각 아세토니트릴에서 EtO와 2-CE의 선형성을 보여줍니다. 그림 10과 11은 아마씨 매트릭스에서 각각 EtO와 2-CE의 선형성을 보여줍니다.

표준 면적 반복성

매트릭스 추출물에 10ppb 농도의 EtO와 2-CE를 주입하여 반복 가능한 용출을 얻었습니다. 표 2에 나와 있듯이 아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루에 10ppb 매트릭스 표준물질을 6회 반복 주입하여 얻은 피크 면적을 통해 EtO와 2-CE의 % RSD 데이터를 계산했습니다.

회수율

아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루 시료에 EtO와 2-CE를 20 및 50ng/g 농도로 첨가했습니다. 스파이크 후 매트릭스 기반 검량으로 정량화한 결과, 허용 가능한 회수율을 얻었습니다. 결과를 표 3에 나타내었습니다.

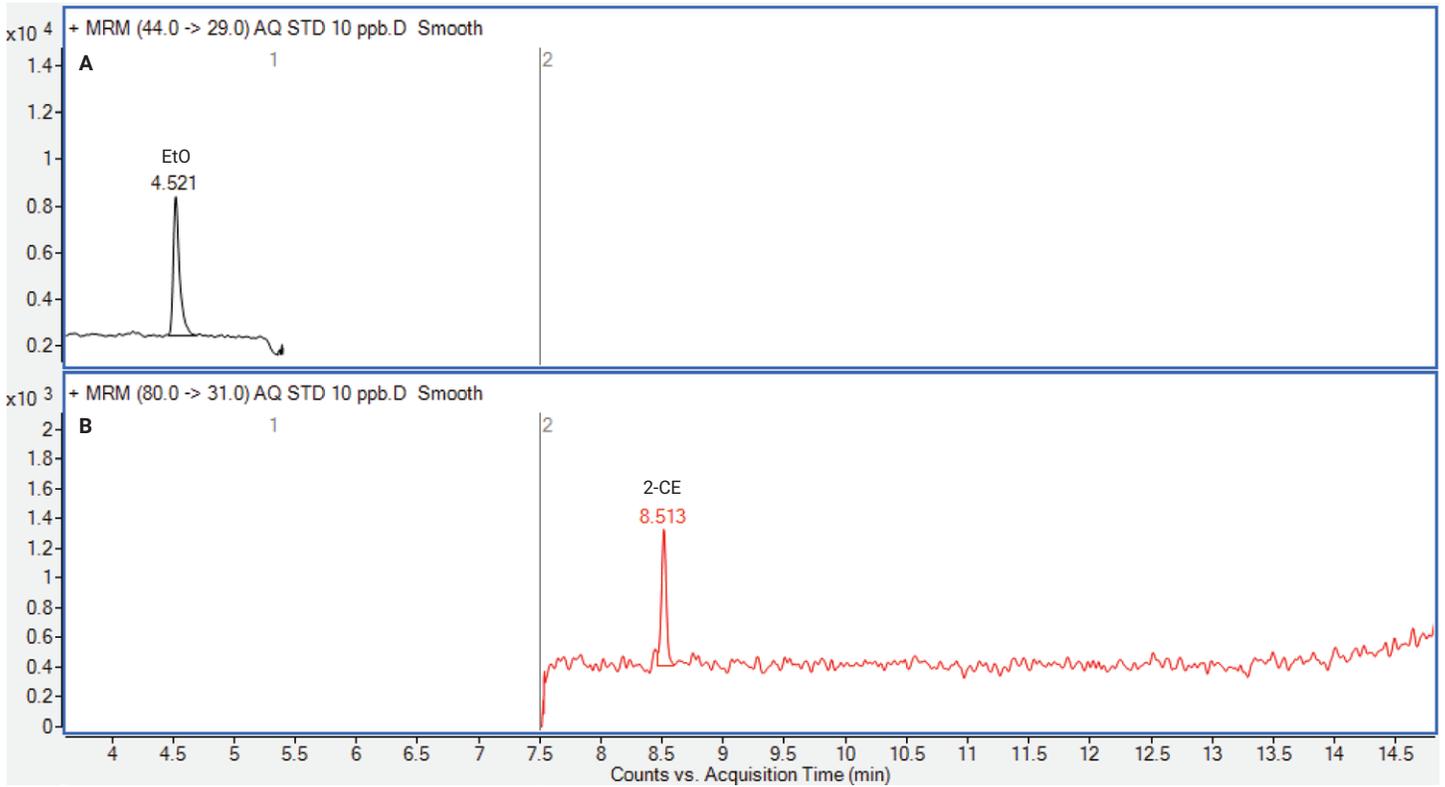


그림 2. (A) 10ng/mL 수준의 EtO 및 (B) 10ng/mL 수준의 2-CE에 대한 크로마토그램

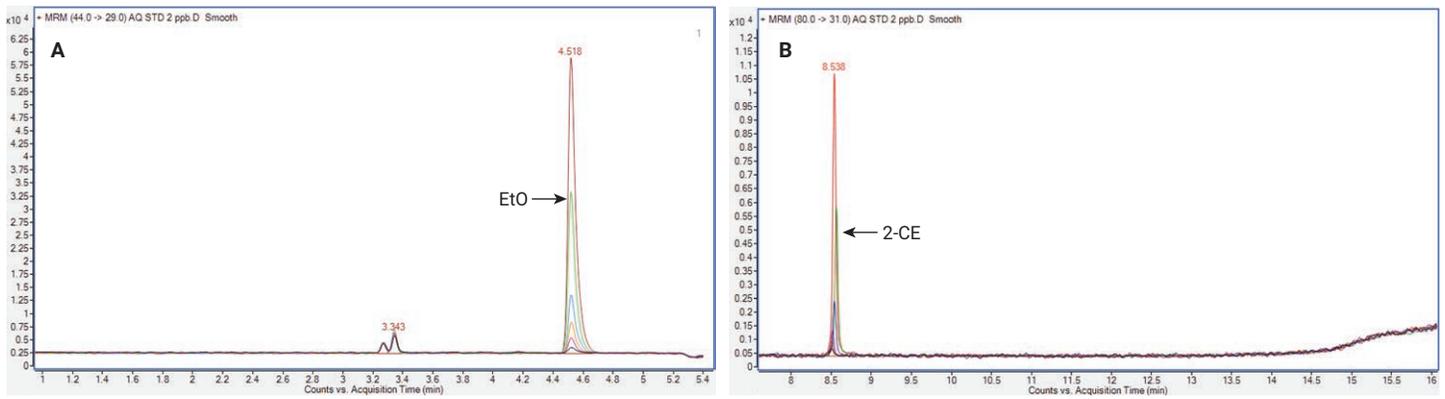


그림 3. 2ng/mL에서 100ng/mL까지의 검량 표준물질 세트에서 중첩된 크로마토그램; (A) EtO 및 (B) 2-CE

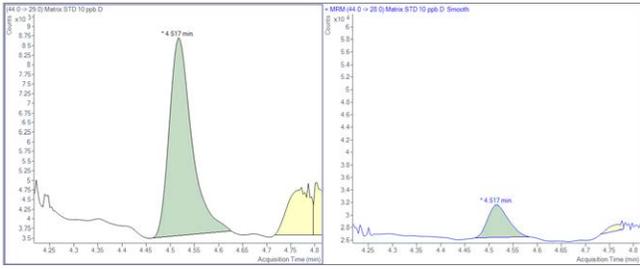


그림 4. 아마씨에 있는 10ng/g 매트릭스 표준물질에서 EtO의 정량 및 정성 피크

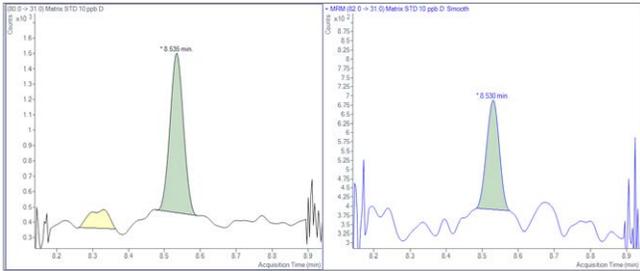


그림 5. 아마씨에 있는 10ng/g 매트릭스 표준물질에서 2-CE의 정량 및 정성 피크

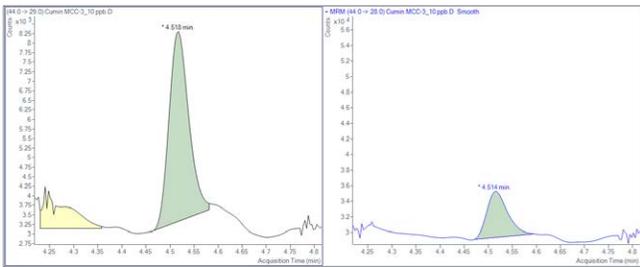


그림 6. 커민 가루에 있는 10ng/g 매트릭스 표준물질에서 EtO의 정량 및 정성 피크

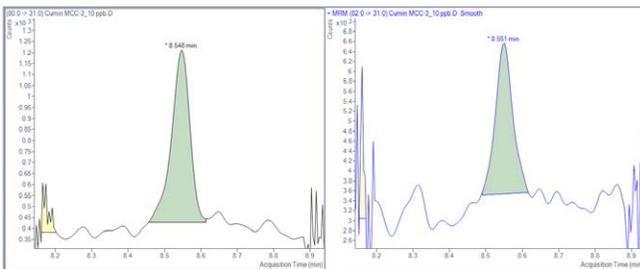


그림 7. 커민 가루에 있는 10ng/g 매트릭스 표준물질에서 2-CE의 정량 및 정성 피크

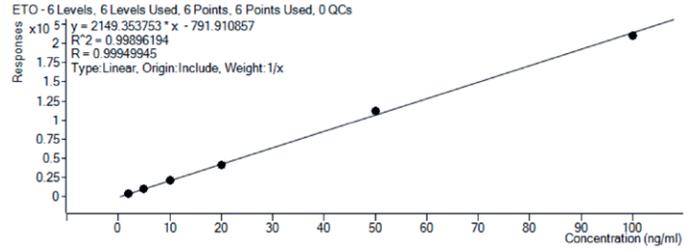


그림 8. 아세트니트릴 내 EtO에 대한 검량선($R^2 > 0.998$)

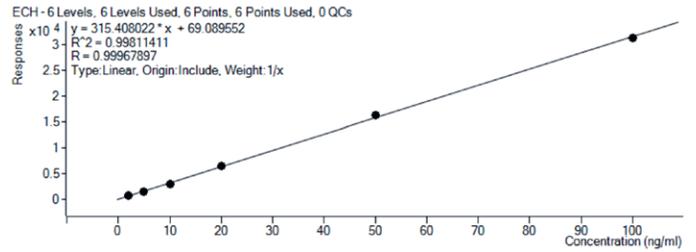


그림 9. 아세트니트릴 내 2-CE에 대한 검량선($R^2 > 0.998$)

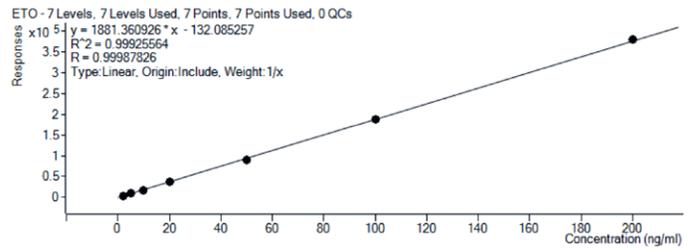


그림 10. 아마씨 내 EtO에 대한 검량선($R^2 > 0.999$)

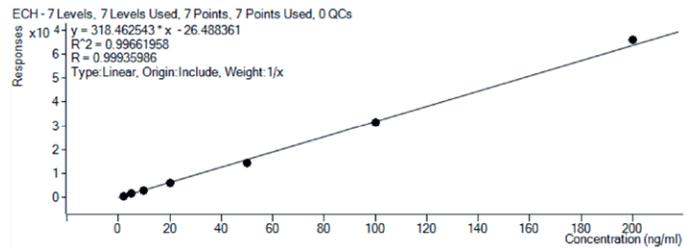


그림 11. 아마씨 내 2-CE에 대한 검량선($R^2 > 0.996$)

표 2. 아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루에서 10ppb 매트릭스 표준물질을 6회 반복 분석한 표준 면적 반복성.

주입 횟수(반복)	EtO(피크 면적)			2-CE(피크 면적)		
	아마씨	커민 가루	홍고추 가루	아마씨	커민 가루	홍고추 가루
	10ng/mL					
주입 1	2,266	2,193	3,135	1,065	893	735
주입 2	2,264	2,205	3,445	1,049	1,035	910
주입 3	2,545	2,179	3,425	1,129	1,125	880
주입 4	2,562	2,162	3,440	993	1,048	755
주입 5	2,392	2,228	3,385	1,236	1,168	845
주입 6	2,526	2,135	3,335	1,100	979	785
평균	2,426	2,184	3,361	1,095	1,041	818
SD	138.32	32.76	118	83.04	99.01	70.68
RSD(%)	5.70	1.50	3.51	7.58	9.51	8.64

표 3. 아마씨와 커민 가루에서 각각 20 및 50ng/g 수준으로 첨가 시 EtO와 2-CE의 회수율 결과.

식품 매트릭스	EtO			2-CE		
	스파이크 농도 (ng/g)	평균 획득 농도 (ng/g)	회수율 (%)	스파이크 농도 (ng/g)	평균 획득 농도 (ng/g)	회수율 (%)
아마씨	20	15.12	75.6	20	15.84	79.2
커민 가루	50	39.02	78.0	50	43.29	86.6
홍고추 가루	50	38.52	77.04	50	42.47	84.9

결론

아마씨, 커민 가루, 홍고추 가루에 함유된 EtO와 2-CE를 분석하기 위해 QuEChERS 추출과 GC/MS/MS 분석을 사용하는 단일 잔류물 분석법으로, EURL 요구 사항을 충족하는 정확하고 견고한 분석법을 개발했습니다. 이 분석법의 LOQ는 모든 테스트 대상 매트릭스에 대해 10ng/g으로 입증되었습니다. EtO와 2-CE에 대해 10ng/g 농도 수준에서 매트릭스 기반 표준물질을 6회 연속 반복 주입한 분석에서 반복 가능한 결과를 얻었습니다. 20 및 50ng/g의 첨가 농도 수준에서 모든 테스트 대상 매트릭스의 EtO와 2-CE에 대해 우수한 회수율을 얻었습니다. 따라서 이 연구는 식품 시료에서 미량 수준의 EtO와 2-CE를 일상적으로 분석하는 목적에 따라 개발된 분석법이 유용하다는 것을 입증했습니다.

참고 문헌

1. Dunkelberg, H. Carcinogenic Activity of Ethylene Oxide and Its Reaction Products 2-Chloroethanol, 2-Bromoethanol, Ethylene Glycol, And Diethylene Glycol. I. Carcinogenicity of Ethylene Oxide in Comparison with 1,2-Propylene Oxide after Subcutaneous Administration in Mice. *Zentralblatt Fur Bakteriologie Mikrobiologie Und Hygiene. 1. Abt. Originale B Hygiene* **1981**, 174, 383–404. (PubMed)
2. Tateo, F.; Bononi, M. Determination of Ethylene Chlorohydrin as Marker of Spices Fumigation with Ethylene Oxide. *Journal of Food Composition and Analysis* **2006**, 19, 83–87.
3. Regulation (EU) 2015/868 of 26 May 2015 Amending Annexes II, III and V to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as Regards Maximum Residue Levels for 2,4,5-T, Barban, Binapacryl, Bromophos-Ethyl, Camphechlor (Toxaphene), Chlorbufam, Chloroxuron, Chlozolate, Dnoc, Di-Allate, Dinoseb, Dinoterb, Dioxathion, Ethylene Oxide, Fentin Acetate, Fentin Hydroxide, Flucycloxuron, Flucythrinate, Formothion, Mecarbam, Methacrifos, Monolinuron, Phenothrin, Protham, Pyrazophos, Quinalphos, Resmethrin, Tecnazene and Vinclozolin in or on Certain Products. *Off. J. Eur. Union L.* **2015**, 145, 1–71.
4. Regulation (EC) No 149/2008 of 29 January 2008 Amending Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council by Establishing Annexes II, III and IV Setting Maximum Residue Levels for Products covered by Annex I thereto. *Off. J. Eur. Union L.* **2008**, 58, 1–398.
5. EURL-SRM - Analytical Observation Report: Analysis of Ethylene Oxide and Its Metabolite 2-Chloroethanol by the QuOil or the QuEChERS Method and GC-MS/MS. December **2020**.

www.agilent.com

DE-000364

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 9월 3일 한국에서 발행
5994-7720KO

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