

# 고분해능 GC/Q-TOF와 확장된 농약 및 환경 오염물질 Accurate Mass 라이브러리를 이용한 오염물질 스크리닝

## 저자

Sofia Nieto,  
Anastasia Andrianova,  
Jessica Westland, Kai Chen,  
Bruce Quimby  
Agilent Technologies, Inc.

## 개요

복잡한 식품 매트릭스의 농약 및 기타 오염물질에 대한 광범위한 스크리닝을 위해, 고분해능 accurate mass GC/Q-TOF의 사용은 지난 몇 년간 증가하고 있습니다. GC/Q-TOF의 복잡한 고분해능 데이터는 스크리닝 및 정량 워크플로에 대한 신뢰를 높일 수는 있지만, 지금까지 그 가치를 충분히 활용하기 위해서는 많은 시간이 필요했습니다. 본 응용 자료에서 설명하는 소프트웨어는 그 가치를 극대화하면서 이러한 데이터의 검토를 간소화하여, 실험실이 단일 환경에서 우선 순위 표적물질을 정량하고 더 많은 추정물질을 확실하게 스크리닝할 수 있도록 합니다. 또한, 이 워크플로는 농약 및 환경 오염물질에 대한 최근 업데이트된 GC/Q-TOF accurate mass 라이브러리를 사용합니다.

## 서론

식품의 잔류 농약 시험은 식품 안전 보장에 필수입니다. 식품 매트릭스의 오염물질 스크리닝은 최대 잔류 허용 기준(MRL)에 대한 엄격한 규제 요건과 포괄적인 범위를 충족하기 위해 높은 감도를 필요로 합니다. 고분해능 GC/Q-TOF 시스템의 장점 중 하나는 감도 손실 없이 단일 분석으로 거의 무제한의 화합물을 스크리닝할 수 있는 기능입니다. 그러나, 이 접근법의 가장 지루하고 시간 소모적인 부분은 복잡한 고분해능 데이터를 처리하는 것입니다. 이상적으로, 이러한 목적으로 사용되는 데이터 처리 소프트웨어는 이러한 유형의 데이터에 대해 가능한 다각적인 평가를 자동화할 수 있어, 이전의 다른 기술로는 놓친 화합물을 찾을 수 있어야 합니다(즉, 위음성 감소). 그런 다음, 사용자에게 양성 시료의 식별 검토는 용이하면서 확실한 정보를 제공하고, 잠재적인 위양성 검토가 필요한 경우에는 데이터에 믿을 수 있는 프래그 표시를 제공해야 합니다. 이러한 기능은 배치 동안에 검량된 우선 순위 화합물과 개인 화합물 데이터베이스 및 라이브러리(PCDL)로 순수하게 스크리닝한 추정 화합물에 대해서도 신뢰할 수 있어야 합니다. 마지막으로, 소프트웨어의 이러한 기능에 대한 데이터 처리 시간을 최소화하여야 하며, 수작업이 거의 필요하지 않을 정도로 충분히 신뢰할 수 있어야 합니다.

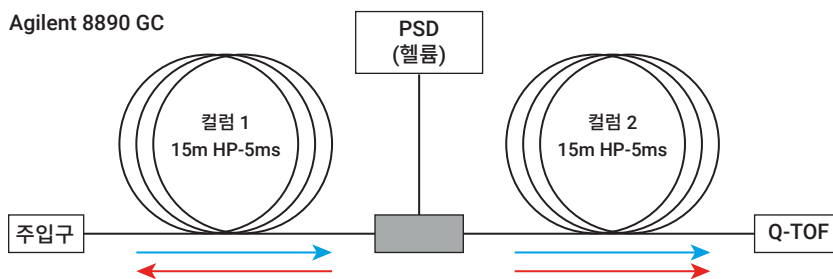
이 응용 자료는 SANTE/11945/2015 가이드라인을<sup>1</sup> 준수하면서 데이터 검토 프로세스에 높은 유연성을 제공하도록 설계된 농약 스크리닝을 위한 간소화된 워크플로를 설명합니다.

USDA는 딸기를 가장 일반적으로 오염된 식품 중 하나로 간주하므로, 이 워크플로는 딸기 추출물을 이용해 수행하였습니다<sup>2</sup>.

## 실험

딸기 시료는 일반 과일 및 채소 용 dSPE cleanup(품번, 5982-6650 및 5982-5056)을 사용하는 EN QuEChERS 분석법으로 추출했습니다. 자세한 내용은 애질런트 응용 자료, *GC/MSD Pesticide Screening in Strawberries at Tolerance Levels Using Library Searching of Deconvoluted Spectra*를 참고하십시오<sup>3</sup>.

시료는 15m × 15m 중간 컬럼 백플러시 구성(그림 1)을 갖춘 40분 머무름 시간 고정(RTL) 분석법으로 RT, 18.111분에 chlorpyrifos-methyl를 고정한 Agilent 8890 GC를 이용하여 분리하였습니다. 시료는 Agilent 7250 GC/Q-TOF와 전체 스펙트럼 수집 모드의 Agilent 5977B GC/MSD로 분석하였습니다. 표 1은 GC/Q-TOF의 분석 조건입니다. 분석법의 백플러시는 일관된 RT 유지, 캐리오버 방지, 컬럼 수명 연장과 이온화된 오염 감소를 지원합니다. 5977 GC/MSD의 실험 조건은 다른 자료에서 설명합니다<sup>3</sup>.



**그림 1.** 중간 컬럼 백플러시 구성. 분석 마지막, 백플러시 동안의 헬륨 유동 경로는 빨간색 화살표로 표시하였습니다. 퍼지 유니온의 압력은 주입구 압력이 떨어질 때 증가합니다. 이 결과, 첫 번째 컬럼의 흐름은 역전되고, 고비점 화합물은 분할 배출구로 제거됩니다. 기체역학 스위칭 장치(PSD)는 Agilent 8890 GC 기체역학 제어 모듈입니다. PSD는 고정된 퍼지 유속으로 운반 가스 소모량 크게 절감하는 백플러시 기능을 제공합니다.

**표 1.** GC/Q-TOF 수집 파라미터

파라미터	값
GC/Q-TOF	Agilent 7250 Q-TOF
GC	Agilent 8890 GC
컬럼	2개, Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert, 15m, 0.25mm, 0.25µm
주입구	MMI, 4mm UI liner single taper with wool
주입량	1µL
주입 모드	펄스 비분할
주입구 온도	280°C
오븐 온도 프로그램	1분간 60°C, 40°C/분으로 120°C까지, 5°C/분으로 310°C까지
운반 가스	헬륨
컬럼 1 유속	~1.2mL/분
컬럼 2 유속	~1.4mL/분
백플러시 조건	5분(분석 후), 310°C(오븐), 50psi(보조 EPC 압력), 2psi(주입구 압력)
이송 라인 온도	280°C
사중극자 온도	150°C
이온화원 온도	280°C
전자 에너지	70eV
스펙트럼 수집 속도	5Hz
질량 범위	m/z 45~650

GC/Q-TOF 데이터는 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.1의 GC/Q-TOF 스크리닝 워크플로와 1,000종 이상, 고유 화합물을 포함한 농약 및 환경 오염물질에 대한 accurate mass 농약 개인 화합물 데이터베이스 및 라이브러리(PCDL)로 처리하였습니다(그림 2A). 간단히, GC/Q-TOF 데이터를 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어로 가져와, 다운스트림 데이터 분석 속도와 품질 향상을 위해 SureMass 포맷으로 변환하였습니다. 조합된 스크리닝 및 정량 분석법은 GC/Q-TOF accurate mass 라이브러리에서 자동 생성되었습니다(그림 3). 업데이트된 GC/Q-TOF PCDL은 이제, 다음 유형의 더 많은 화합물을 포함하고 있습니다: PAH, 아민, 유기인계, phthalate, nitroaniline 및 chloronitrobenzene(그림 3)

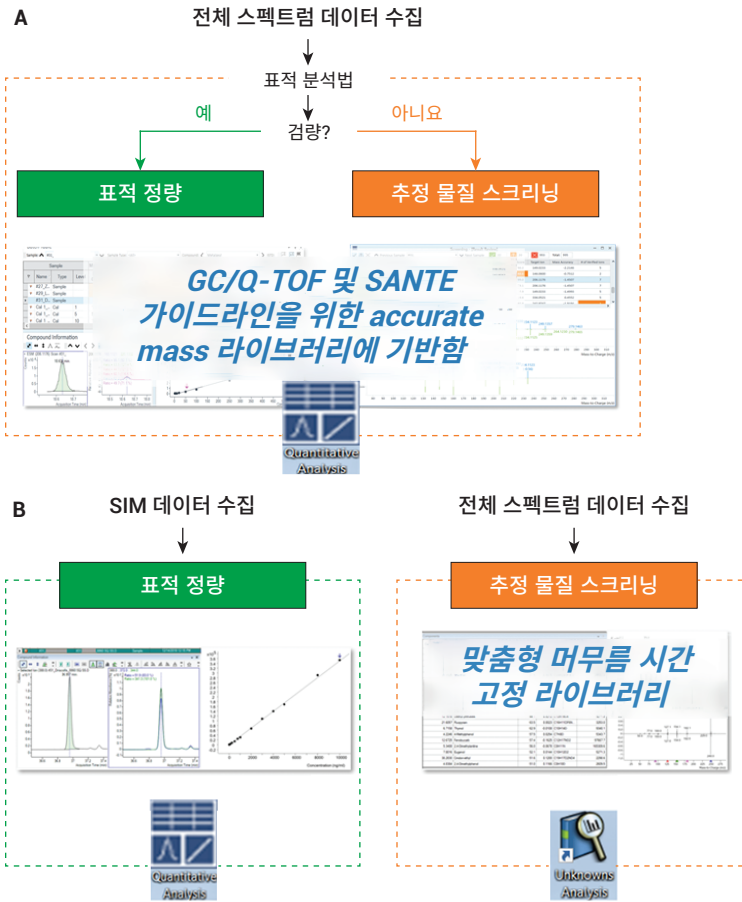


그림 2. A) GC/Q-TOF를 위한 농약 및 환경 오염물질 PCDL에 기반한 오염물질 스크리닝과 표적물질 정량 워크플로의 조합. B) GC/MSD를 위한 맞춤형 머무름 시간 고정 단위 질량 라이브러리를 사용한 스크리닝 및 표적물질 정량 워크플로

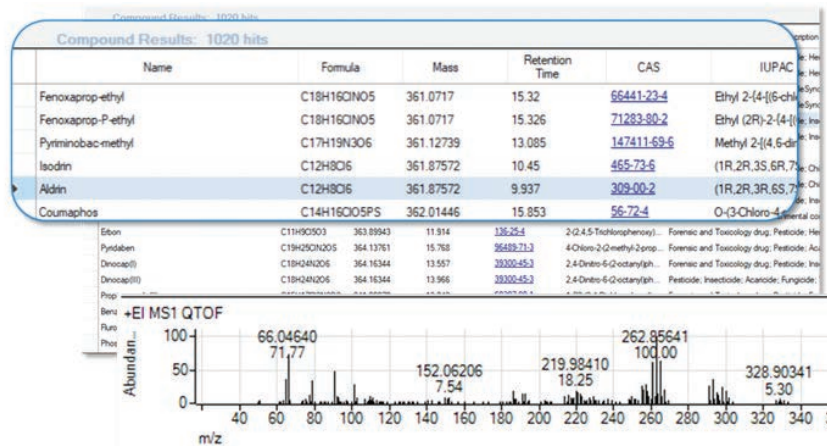
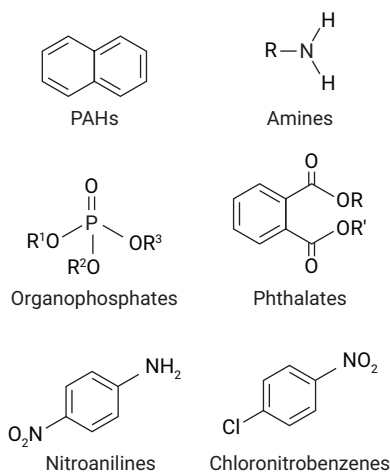


그림 3. 농약 및 환경 오염물질에 대한 업데이트된 GC/Q-TOF accurate mass 라이브러리는 1,000종 이상의 accurate mass 스펙트럼을 포함합니다.

스크리닝 분석법 파라미터는 SANTE 가이드라인에 따라 설정되며, 위양성과 위음성을 줄이기 위해 더욱 최적화되었습니다. 파라미터는 RT 범위, 질량 정확도, 동시 용리 스코어 및 라이브러리 매치 스코어 등을 포함합니다. 예를 들어, 질량 정확도는 5ppm(SANTE 가이드라인 준수)으로 RT 범위는 0.05분으로 설정되었습니다. 백플러시를 이용한 RT 고정, 우수한 RT 정밀도와 반복성을 제공하며, 이 설정은 위양성을 줄이는데 도움이 됩니다. 라이브러리 매치 스코어는 75로 설정하였습니다. 후자의 설정은 이 응용에 최적화되었으며, 위양성 제거에 중요한 파라미터 중 하나입니다. 대부분의 확인된 화합물에 대한 라이브러리 매치 스코어는 90 이상이었습니다. 조합된 스크리닝 분석법을 적용한 후, 화합물의 매칭 여부를 결정하기 위해 수동으로 검토한 경우는 단 몇 건에 불과했습니다. 이러한 화합물은 스크리너 창에 주황색으로 자동으로 강조 표시됩니다.

또한, GC/MSD 데이터는 MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 10.1과 맞춤형 단위 질량 농약 라이브러리를 갖춘 MassHunter Unknowns Analysis를 이용하여 처리하였습니다(그림 2B)<sup>3</sup>.

## 결과 및 토의

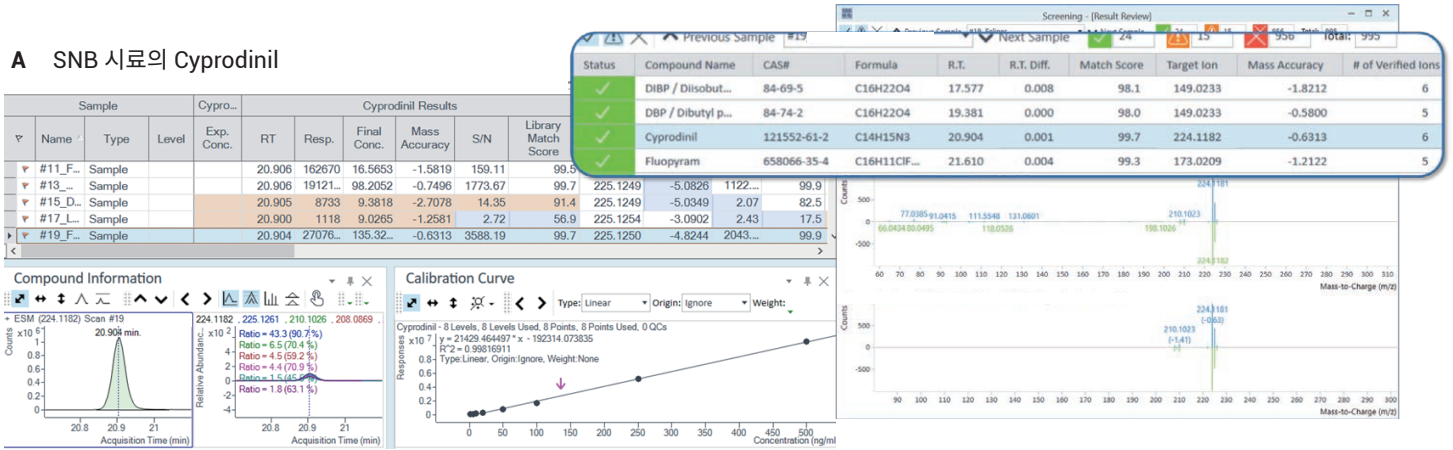
### GC/Q-TOF를 사용한 추정물질 스크리닝

GC/Q-TOF accurate mass 스크리닝 워크플로를 테스트하기 위해, 북부 캘리포니아의 여러 소매점과 농산물 시장에서 14종의 유기농 및 비유기농 딸기 시료를 구하고, 위에서 설명한대로 추출물을 전처리하였습니다. GC SQ 기기로 농약이 검출되지 않은 유기농 딸기 추출물의 혼합 시료에 비유기농 딸기 재배에서 일반적으로 사용하는 40종 우선순위 농약, 1~500ppb를 스파이크했습니다<sup>4</sup>. 이 워크플로(그림 2A)는 선택 우선 순위 농약에 대한 정량 분석과 Agilent PCDL의 다른 많은 농약 및 환경 오염물질에 대한 빠른 추정물질 스크리닝을 위해 동시에 사용하였습니다.

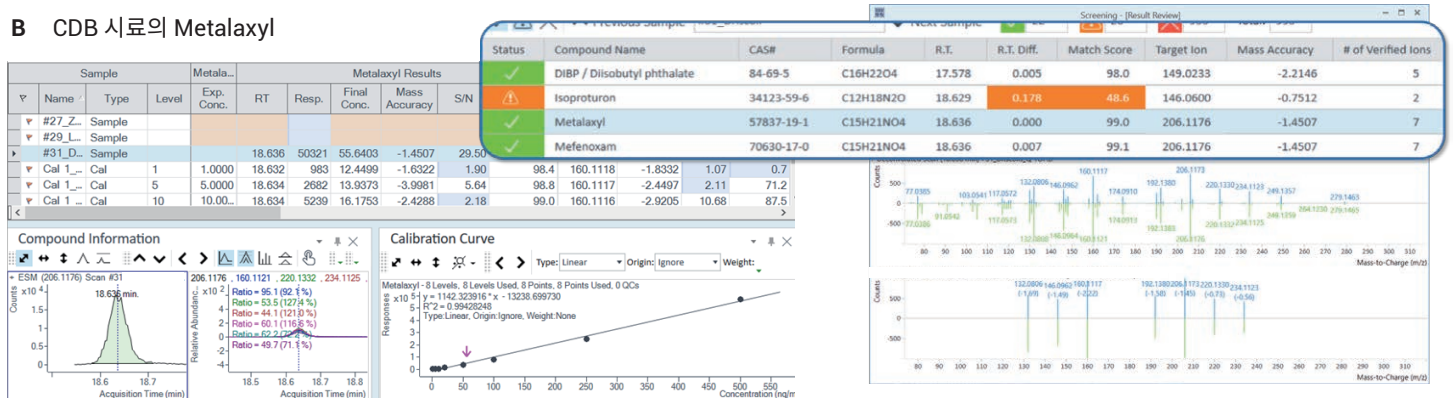
추정물질 스크리닝 분석법은 데이터 분석법 작성에 사용한 PCDL에 존재하는 모든 화합물에 적용하였습니다. 식별 화합물에 대한 검량 표준물질이 존재할 때마다, 농도를 보고하였습니다. 오염물질 스크리닝을 위한 이 워크플로는 이전의 워크플로에 비해 훨씬 효율적이고 간소화되었으며<sup>5</sup>, 표적물질 정량과 추정물질 스크리닝을 수행하는 단일 도구에 다양한 기능을 결합하였습니다.

그림 4A~4C는 추정물질 스크리닝 워크플로와 GC/Q-TOF를 이용한 딸기 추출물에서 식별한 오염물질의 몇 가지 예시를 보여줍니다. 극미량 농도 이상으로 추출물에 존재하며 풍부한 티 스펙트럼을 갖는 화합물은 일반적으로 쉽게 식별되며, 확인된 선택 이온 70% 이상, 질량 오차 ~2ppm 이내, 라이브러리 매치 스코어 90 이상과 무시할 수 있는 작은 RT 차이를 가집니다(그림 4A). 주어진 라이브러리 농약에 대한 가능한 이성질체를 확인할 수 있도록 낮은 라이브러리 매치 스코어와 높은 RT 차이의 조합을 검토자에게 제시합니다. 그러나, 일반적으로 수동 검사 후의 이 조합은 위양성일 가능성이 매우 높았습니다(그림 4B와 4C). 실제로, 낮은 라이브러리 매치 스코어(이 스코어의 임계값은 사용자가 조절할 수 있는 파라미터)는 일반적으로 위양성의 좋은 지표입니다. 비교할 표준물질 분석 값이 없는 경우에도 식별 결과의 좋고 나쁨을 구분하는 기능은 복잡한 매트릭스에서도 정확한 조각 이온 비율을 유지할 수 있는 7250의 우수한 분리능과 accurate mass 성능을 나타냅니다.

### A SNB 시료의 Cyprodinil



### B CDB 시료의 Metalaxyl



### C HSD 시료의 Pyrimethanil

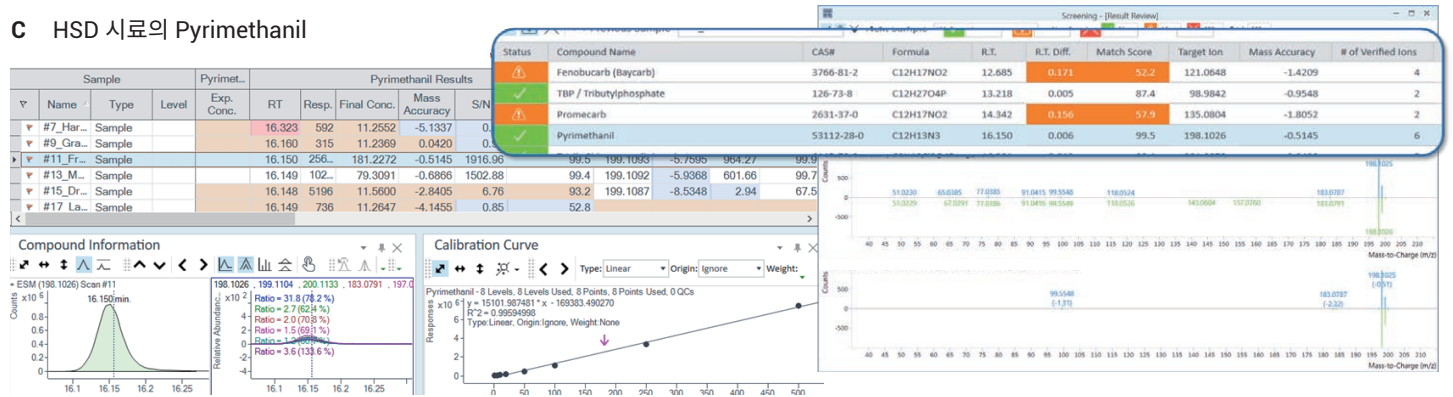


그림 4. 스크리닝 결과 검토

각각의 비유기농 추출물에서 일반적인 농약 10~20종이 식별되었습니다(표 2). Flonicamid, pyrimethanil, cyprodinil, fluopyram, fludioxonil, captan 및 bifenthrin이 가장 빈번하게 검출된 농약이었습니다. 유기농 추출물 대부분은

일부 일반적인 오염물질을 비롯한 몇 가지 극미량 농약만을 포함하였습니다. 딸기 추출물에서 검출된 최저 농약 농도는 pyrimethanil 1ppb와 cyprodinil 1.2ppb였습니다.

표 2. 표적물질 정량 및 추정물질 스크리닝 결과 요약. 표준물질을 사용 가능할 때마다, 딸기 추출물의 오염물질에 대한 농도는 표에 표기하였으며 그렇지 않을 경우, N/A로 표기하였습니다. 처음 6개 시료는 유기농 딸기 추출물입니다.

화합물	RT	추출물의 시료/농도, ppb													
		CVQ	ZTV	BRV	RST	RCH	NMT	CDB	NMP	DPR	NMJ	RSN	HSD	RTP	SNB
Isophorone	4.83	N/A		N/A				N/A							
Novaluron	8.28					117.8		119	122.8	101	159.8	182	17.2		
Diphenyl ether(Diphenyl oxide)	8.61									N/A	N/A				
Tetrahydrophthalimide, cis-1,2,3,6-	9.90			55.3		197.9		615*	893*	37.8	520*	54.9	715*	347.8	
Flonicamid	12.42			48.8		18		62.8	519.7	157	70.8	83.2		50.2	40.7
Pyrimethanil	16.16			1.2	11.4			<LOQ	79.3		233.5	1	181.2		
Diazinon(Dimpylate)	16.42					14.71									
Pentachloroaniline	17.33				N/A										
Chlorpyrifos-methyl	18.11				N/A									N/A	
Carbaryl	18.23					34.8									
Metalaxyl	18.64							55.6					28.9	<LOQ	
Anthraquinone	19.56										N/A				
Malathion	19.64					36.2				44	<LOQ	39.7	3.5		
Tetraconazole	20.37							68.1	36.2		27.9				
Fthalide(Tetrachlorophthalide)	20.45							N/A							
Cyprodinil	20.91			1.6	1.2				111.8		179.6	1.2	11.2	20.6	153.7
Captan	21.43					151		3,294*	16,598*	58.7	5,188*	92.9	105.3	3,600*	
Fluopyram	21.62								N/A	N/A	N/A		N/A	N/A	N/A
Folpet	21.67								N/A						
Hexythiazox	21.98										46				
Flutriafol	22.75									17.3		18.2	21.6		
Fludioxonil	23.41			28.2					101.5		200.2		28.7	36.2	147.9
p,p'-DDE	23.44		<LOQ	<LOQ			<LOQ	<LOQ						<LOQ	<LOQ
Myclobutanil	23.73							2	1.6		18.2	18		1.6	127.6
Quinoxifen	26.05							30.6				14.3	<LOQ		
Fenhexamid	26.20								90.2		242.5				41.8
Trifloxystrobin	26.50										20.1		21.2		52
Piperonyl butoxide	27.22					273.9	19.7								
Acetamiprid	27.99								<LOQ						
Fluxapyroxad	28.32														N/A
Bifenthrin	28.34								229.2	220		96.5	36.8	40.7	230.7
Bifentazate	28.35								52		44				
Etoazole	28.62														45.7
Boscalid(Nicobifen)	33.36			N/A											
Azoxystrobin	37.00							<LOQ							

■ 자동 검증  
 ■ 검토 후 검증

\* 검량 밖 계산된 농도 값

### 위양성 감소

GC/Q-TOF는 일반적으로 accurate mass 스크리닝 접근법을 이용하여 GC/MSD에 비해 각 시료에서 더 많은 농약을 식별할 수 있었습니다(그림 5). 보라색 막대는 각 시료에서 GC/MSD로 검출한 농약의 수이며, 녹색과 주황색 막대는 GC/Q-TOF 스크리닝으로 확인된 농약입니다. 검출한 농약의 농도는 비유기농 추출물에 비해 유기농 딸기 추출물에서 현저하게 낮았으며, 특히 GC/MSD와 GC/Q-TOF로 보고된 농약의 수 차이가 분명한 것에 주목할 수 있습니다.

### 위양성 제거

또한, GC/Q-TOF 스크리닝 워크플로는 기기의 고분해능과 accurate mass 기능은 물론, 검증을 위한 간단한 검토 기능을 갖춘 스크리닝 소프트웨어의 다양한 파라미터로 위양성 보고의 가능성을 낮추었습니다.

GC/MSD와 GC/Q-TOF는 대체로 근사한 농도 값과 일관된 식별 결과를 제공했습니다. 그림 6은 이 경우의 대표적인 예로서, cyprodinil을 GC/MSD는 18ppb(스테인리스강 이온화원)과 23ppb(extractor 이온화원)로 정량한 반면, GC/Q-TOF는 동일한 화합물에 대해 21ppb로 보고하였습니다.

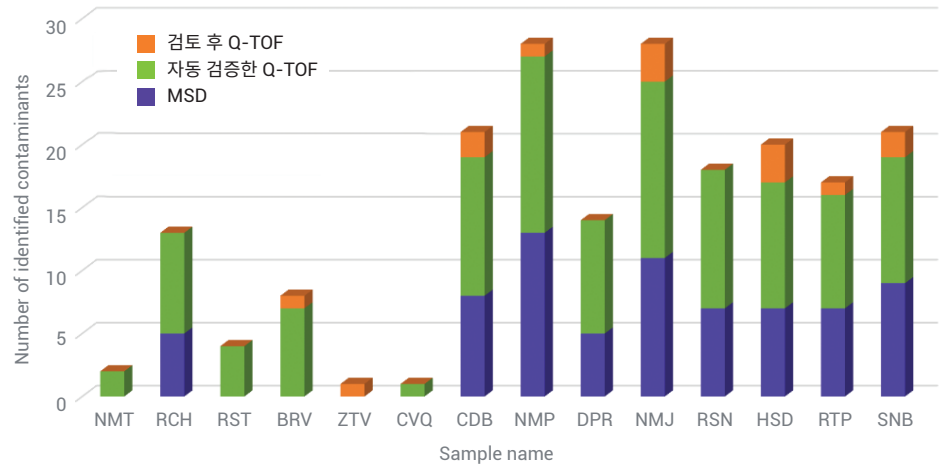
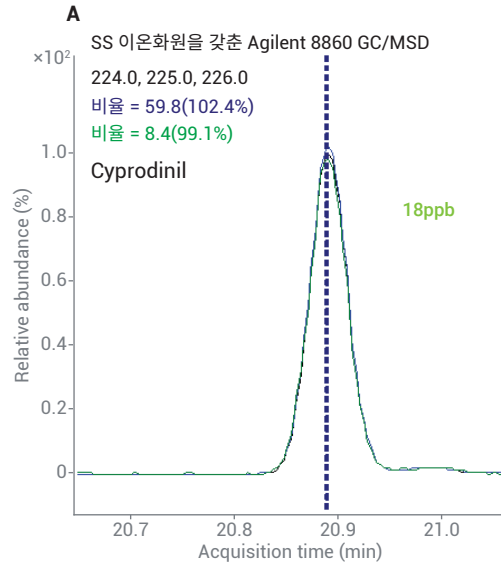


그림 5. Agilent 7250 GC/Q-TOF와 Agilent 5977B GC/MSD로 식별한 딸기 추출물에서의 오염물질의 수 비교



### B 시료: RTP

기법	측정 값(ppb)
SS 이온화원을 갖춘 Agilent 8860 GC/MSD	18
Extractor 이온화원을 갖춘 Agilent 8890 GC/MSD	23
Agilent 8890 GC/Q-TOF	21

그림 6. A) Cyprodinil의 정성 및 정량 이온 오버레이(GC/MSD) B) GC/MSD 및 GC/Q-TOF를 이용한 시료 RTP의 계산된 농도

그러나, 저분해능 GC/MSD 기기로 보고된 모든 사례가 GC/Q-TOF로 확인할 수 있는 것은 아니었습니다. 그림 7과 8이 대표적인 예시입니다. Ethiofencarb은 GC/MSD로 식별 및 보고되었지만, GC/Q-TOF 스크리닝 워크플로에서는 검출되지 않았습니다(그림 7A). Accurate mass EIC (168.0603 ±20ppm, 그림 7B)를 GC/Q-TOF 데이터에서 추출한 경우에도 검출된 피크는 없었습니다. Ethiofencarb이 용리될 것으로 예상되는 크로마토그래피 구역에서 Q-TOF 스펙트럼을 추출한 경우에도,  $m/z$  168 단위와 일치하는 두 개의 accurate mass 이온은 관찰되었지만(그림 7C), 이온의 accurate  $m/z$ 는 ethiofencarb 조각 168.0603의 이론적인  $m/z$ 와는 일치하지 않았습니다.

스크리너 창(그림 8)으로 확인할 수 있듯이, 화합물에 대한 accurate mass 스펙트럼의 이온 비율은 ethiofencarb의 accurate mass 라이브러리 스펙트럼의 이온 비율과 크게 다릅니다. 그러한 차이도 낮은

라이브러리 매치 스코어인 20에 반영됩니다. 이 예시는 GC/Q-TOF가 다른 단위 질량 분리 기법으로 보고될 수 있는 위양성을 줄일 수 있는 방법에 대한 명확한 증거를 제시합니다.

**A**

기법	측정 값(ppb)
SS 이온화원을 갖춘 Agilent 8860 GC/MSD	77
Extractor 이온화원을 갖춘 Agilent 8890 GC/MSD	470
Agilent 8890 GC/Q-TOF	ND

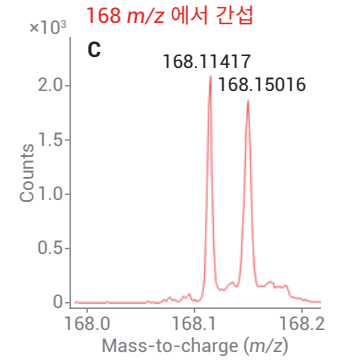
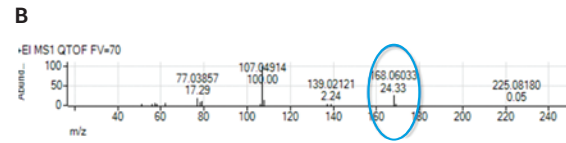


그림 7. GC/Q-TOF는 GC/MSD와 달리, ethiofencarb을 위양성으로 보고하지 않았습니다. A) Ethiofencarb의 측정 농도. B) GC/Q-TOF PCDL의 accurate mass ethiofencarb 스펙트럼. C) Ethiofencarb RT에 해당하는 크로마토그래피 구역에서의 GC/Q-TOF 스펙트럼 조각

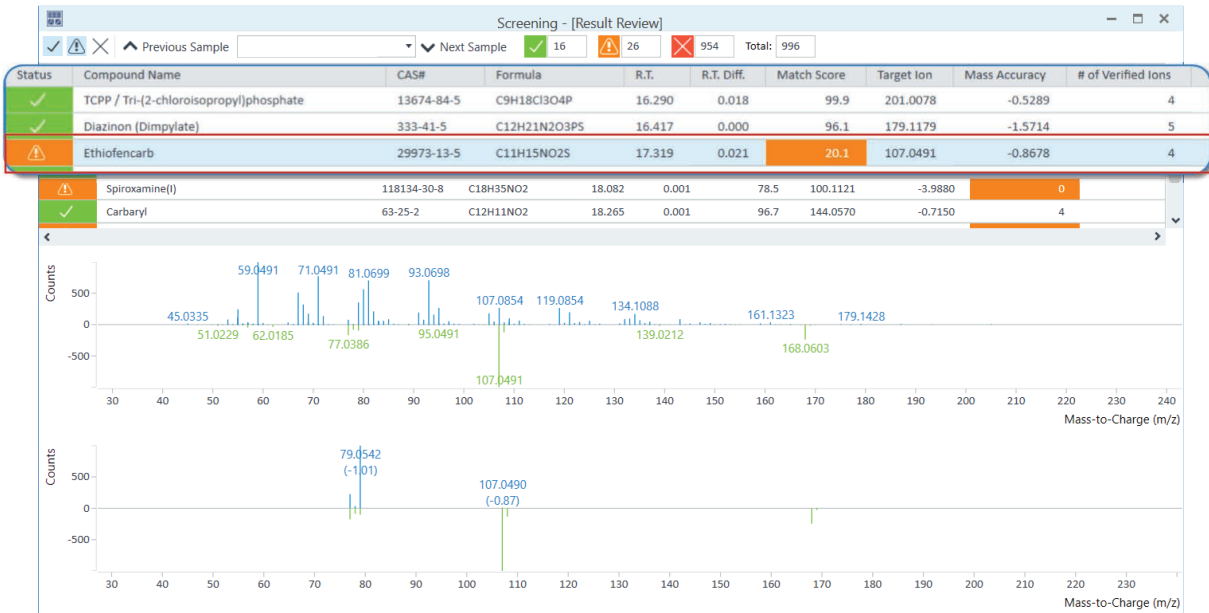


그림 8. GC/Q-TOF는 추정물질 스크리닝 워크플로를 사용하여 ethiofencarb을 위양성으로 정확하게 인식하며, 이는 낮은 라이브러리 매치 스코어와 스펙트럼 매치로 명확해집니다.



## 결론

고분해능 GC/Q-TOF와 accurate mass 라이브러리를 사용한 농약 및 환경 오염물질에 대한 간소화된 스크리닝과 정량 워크플로를 유기농 및 비유기농 딸기 추출물로 시연하였습니다. 단일 소프트웨어인 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 10.1로 정량과 스크리닝을 수행하였습니다. 이는 실제로 검량할 수 있는 것보다 더 많은 화합물이 평가되었음을 의미합니다.

GC/Q-TOF와 GC/MSD 스크리닝 결과의 비교로, GC/Q-TOF 스크리닝 워크플로가 단위 질량 분리 기기인 GC/MSD 보다 위양성 및 위음성을 생성할 가능성이 낮다는 것이 입증되었습니다.

## 참고문헌

1. SANTE/11945/2015. Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed (**2015**).
2. United States Department of Agriculture (USDA). Pesticide Data Program (PDP) Annual Summary Reports (**2016**).
3. Andrianova, A. A.; Quimby, B. D.; Westland, J. L. GC/MSD Pesticide Screening in Strawberries at Tolerance Levels Using Library Searching of Deconvoluted Spectra. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0915EN.
4. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs. Index to Pesticide Chemical Names, Part 180 Tolerance Information, and Food and Feed Commodities (by Commodity) (**2012**).
5. Chen, K.; Nieto, S.; Stevens, J. GC/Q-TOF MS Surveillance of Pesticides in Food. A Combined Workflow for Quantitative and Qualitative Screening of Pesticides Using the Agilent MassHunter GC/Q-TOF Pesticide Personal Compound Database and Library. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-7691EN.

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
2019년 9월 18일, 한국에서 인쇄  
5994-1346KO

한국에질런트테크놀로지스(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](mailto:korea-inquiry_lsca@agilent.com)

