

Application News

No.M287K

Gas Chromatograph Mass Spectrometry

BEIS를 이용한 식품·사료 중의 다이옥신류의 분석

Analysis of Dioxins in Foods and Feeds Using GC-MS/MS with BEIS

식품 및 사료 중의 잔류성유기화합물(POPs)의 분석은 여러가지 방법이 있습니다. 특히, 다이옥신류는 POPs중에서도 독성이 강하기 때문에 저농도의 정량분석이 필요합니다.

지금까지 다이옥신류의 분석에는 정량적으로 정밀도가 높은 자기장형 GC-MS(GC-HRMS)가 사용되었습니다. 그러나 최근 트리플 사중극형 GC-MS(이하 GC-MS/MS)의 정량성이 많이 향상된 관계로 유럽에서는 GC-MS/MS를 사용한 분석법이 GC-HRMS를 사용한 분석법과 동등한 결과를 나타내는 것으로 공식 시험법으로서 공인(EU589/2014, 644/2017)되어 있습니다. 이 때문에, GC-MS/MS에 의한 다이옥신류의 분석에 관심이 높아지고 있습니다.

BEIS(Boost efficiency ion source)는 E법에 의한 이온화에 있어서 전자선의 초점을 최적화하여 이온화 효율을 최대한으로 높인 이온원입니다. 기존의 이온원보다 약 4배의 * 감도 향상을 실현합니다. 본 Application News에서는 BEIS를 사용하여 약 40종류, 약 250개 시료의 식품, 사료 중 다이옥신류(폴리염화디벤조-다이옥신(PCD) 및 폴리염화디벤조프란(PCDF) 한정) 분석하였습니다. GC-MS/MS의 분석결과와 GC-HRMS의 분석결과를 비교하여 정량성을 평가하였다. 또한 저농도에서 감도를 유지할 수 있는 분석 횟수를 평가하여 장치의 내구성을 확인하였습니다.

■ 시료 및 분석조건

각 종 식품 및 사료에 대하여 자동 전처리 장치(추출: Speed Extraction(BUCHI), 정제 : GO-xHT(미우라공업))를 사용하여 전처리를 실시하였습니다. 시료의 최종 용매에는 Nonane을 사용하였으며 시료의 최종 용매량은 10 µL로 하였습니다.

표준시료는 WELLINGTON LABORATORIES의 DF-ST와 DF-LCS를 혼합하여 사료하였습니다.

GC-MS/MS의 분석조건은 "EU Regulation Compliant GC-MS/MS Method Package for Dioxine in Foods"에 등록되어 있는 조건을 사용하였습니다. 세부사항을 Table 1에 나타냅니다.

■ 표준시료의 분석결과

검량선의 농도범위는 0.025 pg/µL - 1 pg/µL(Octa-PCDD/PCDF는 2배 농도)로 조절하였습니다.

유럽의 규제에서 각 화합물은 LOQ에서 다음의 기준(EU589/2014, 644/2017의 일부 인용)을 충족해야 합니다.

본 Application News에서 검량선의 최하점에서 이 두 규제를 충족하는 것을 확인하였습니다. 그 결과를 다음 페이지의 Table 2에 나타냅니다.

M. Takakura

Table 1 GC-MS/MS분석조건

장치구성	분석조건(GC)
전처리장치(추출): SpeedExtractor(BUCHI)	Insert: Topaz® (Restek Corp., P/N: 23336)
전처리장치(정제): GO-xHT(미우라공업주식회사)	Column: SH-Rxi™-5Sil MS (60 m, 0.25 mm I.D., 0.25 µm), (SHIMADZU, P/N: 227-36036-02)
오토샘플러: AOC-20i/s	Injection Mode: Splitless
GC-MS/MS: GCMS-TQ8050	Sampling Time: 1.00 min.
소프트웨어: GCMSsolution Ver.4.50SP1	Injection Temp.: 280 °C
Labsolutions Insight Ver. 3.6	Column Oven Temp.: 150 °C(1min.)→(20 °C/min.)→220 °C→(2 °C/min.)
EU Regulation Compliant GC-MS/MS Method Package for Dioxins in Foods	→260 °C(3 min.)→(5 °C/min.)→320 °C(3.5 min.)
	High Pressure Injection: 450 kPa (1.5 min.)
	Flow Control Mode: Linear Velocity (45.6 cm/sec.)
	Purge Flow: 20 mL/min.
	Carrier Gas: Helium
	분석조건(MS)
	Ion Source Temp.: 230 °C
	Interface Temp.: 300 °C
	Detector Voltage: 1.8 kV (Absolute)
	Roop time: 0.8 sec. (for native compounds)
	0.2 sec. (for labeled compounds)
	Transition: Method Package의 조건을 사용
	이온원: BEIS
	전류: 150 µA
분석조건(AOC-20i/s)	
# of Rinses with Solvent (Pre-run): 3	
# of Rinses with Solvent (Post-run): 3	
# of Rinses with Sample: 0	
Plunger Speed (Suction): Low	
Viscosity Comp. Time: 0.2 sec.	
Plunger Speed (Injection): High	
Syringe Insertion Speed: High	
Pumping Times: 5	
Inj. Port Dwell Time: 0.3 sec.	
Terminal Air Gap: No	
Plunger Washing Speed: High	
Washing Volume: 6 µL	
Injection Volume: 2 µL	

Table 2 표준시료 분석의 LOQ 평가결과

I.D.	Compound name	Average RRF	RRF (Level 1)	RRFDev(%) (Level 1)	S/N比 (Level 1)	LOQ
1	2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin	1.07	1.15	8.10	552	0.025 pg/μL
2	1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzo-p-dioxin	1.09	0.97	10.56	411	0.025 pg/μL
3	1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	1.14	1.39	22.26	269	0.025 pg/μL
4	1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	0.95	0.92	2.72	254	0.025 pg/μL
5	1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	1.03	1.25	21.44	260	0.025 pg/μL
6	1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzo-p-dioxin	0.92	0.82	11.46	421	0.025 pg/μL
7	Octachlorodibenzo-p-dioxin	1.19	1.04	12.21	915	0.050 pg/μL
8	2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofuran	1.10	1.05	4.66	793	0.025 pg/μL
9	1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzofuran	1.04	1.00	3.23	483	0.025 pg/μL
10	2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran	0.97	0.89	7.59	474	0.025 pg/μL
11	1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzofuran	1.03	0.82	20.72	447	0.025 pg/μL
12	1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzofuran	1.09	1.36	24.62	446	0.025 pg/μL
13	2,3,4,6,7,8-Hexachlorodibenzofuran	1.09	1.39	27.83	286	0.025 pg/μL
14	1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzofuran	1.06	1.23	16.10	315	0.025 pg/μL
15	1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzofuran	1.17	1.05	10.37	705	0.025 pg/μL
16	1,2,3,4,7,8,9-Heptachlorodibenzofuran	1.02	0.97	4.97	650	0.025 pg/μL
17	Octachlorodibenzofuran	1.00	0.84	15.80	689	0.050 pg/μL

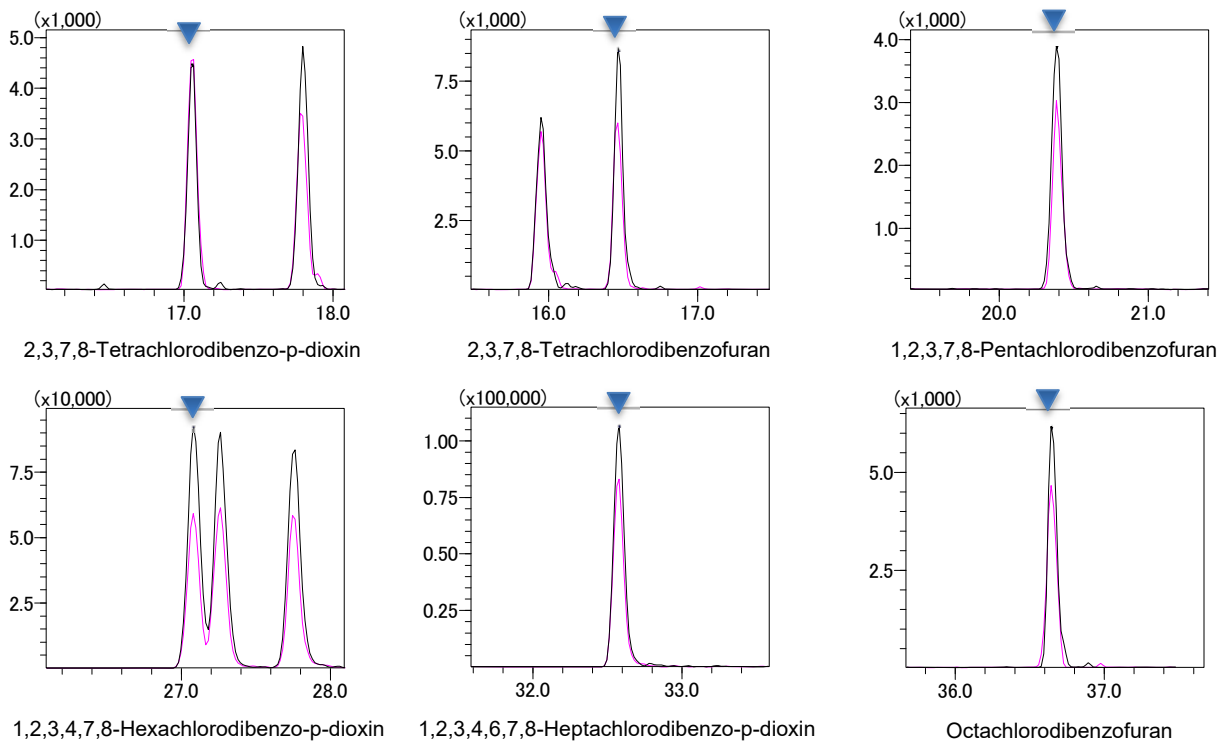


Fig. 1 대표적인 표준시료 분석화합물의 크로마토그램 (농도0.025 pg/μL)

■ 실제시료 분석시의 감도 평가

저농도의 실제시료 분석에서 감도를 확인하였습니다. 대표적인 화합물의 크로마토그램을 다음 페이지 Fig 2에 나타냅니다. 실제시료 분석에서도 LOQ 부근에서 양호한 감도를 얻을 수가 있었습니다.

■ 실제시료 분석시의 정량정밀도 평가

GC-MS/MS를 사용하여 약 40종류, 250개 시료 이상의 식품 및 사료를 분석하였습니다. 또 GC-MS/MS와 같은 시료를 GC-HRMS로 분석하고 결과를 비교함으로써 GC-MS/MS의 정량 정밀도를 평가하였습니다. 비교는 각 시료의 정량값을 TEQ로 환산하여 실시하였습니다. 그 결과를 다음 페이지의 Fig.3에 나타냅니다. Fig.3의 왼쪽 그림은 축을 선형 눈금으로 표시하고 있습니다. 오른쪽 그림은 정량값의 작은 시료 결과를 상세하게 확인하기 위하여 축을 로그 눈금으로 표시하였습니다. 양쪽 그림에서 가로축에 GC-HRMS

정량값을, 세로축에 GC-MS/MS의 정량값을 나타내고 있습니다. 양쪽 그림에 있어서 양자에 상관관계가 있는 경우는 기울기가 1의 선(그림의 파란색 파선)상에 가까운 값을 나타냈습니다. 왼쪽 그림에서 정량값이 1 ng/kgTEQ 이상으로 검출된 모든 시료는 GC-MS/MS와 GC-HRMS의 정량값이 가까운 값을 나타냈습니다. 오른쪽 그림에서 양쪽 정량값 차이의 기준으로 GC-MS/MS의 정량값과 GC-HRMS의 정량값의 비율이 50% 또는 200%가 되는 값에 선(그림의 주황색 파선)을 나타냈습니다. GC-HRMS의 정량값이 0.1 ng/kgTEQ 이하인 시료에서 정량값의 비가 50%-200%의 범위에서 제외되는 시료가 발견되었습니다. 이번 시료에서 최대허용레벨(ML)이 가장 작은 시료는 pig fat의 1.0 ng/kgTEQ입니다. 그러므로 최대허용레벨보다 적어도 10배 이상 낮은 농도에서는 정량값의 차이가 커질(정량값의 비율이 50%-200% 범위가 벗어남)가능성이 있습니다. 한편 분석에 필요한 농도 범위에서는 GC-MS/MS와 GC-HRMS의 정량성의 차이는 없었습니다.

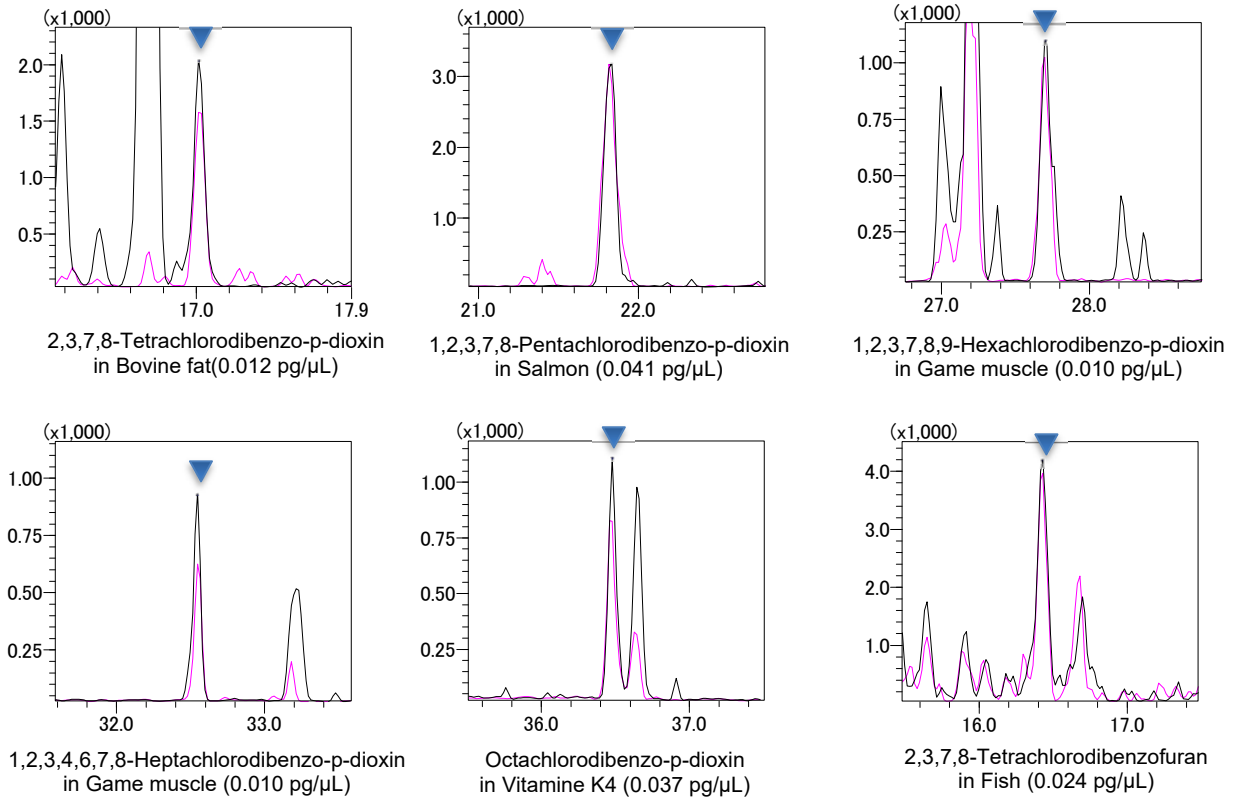


Fig. 2 실제 시료의 대표적인 분석화합물 크로마토그램

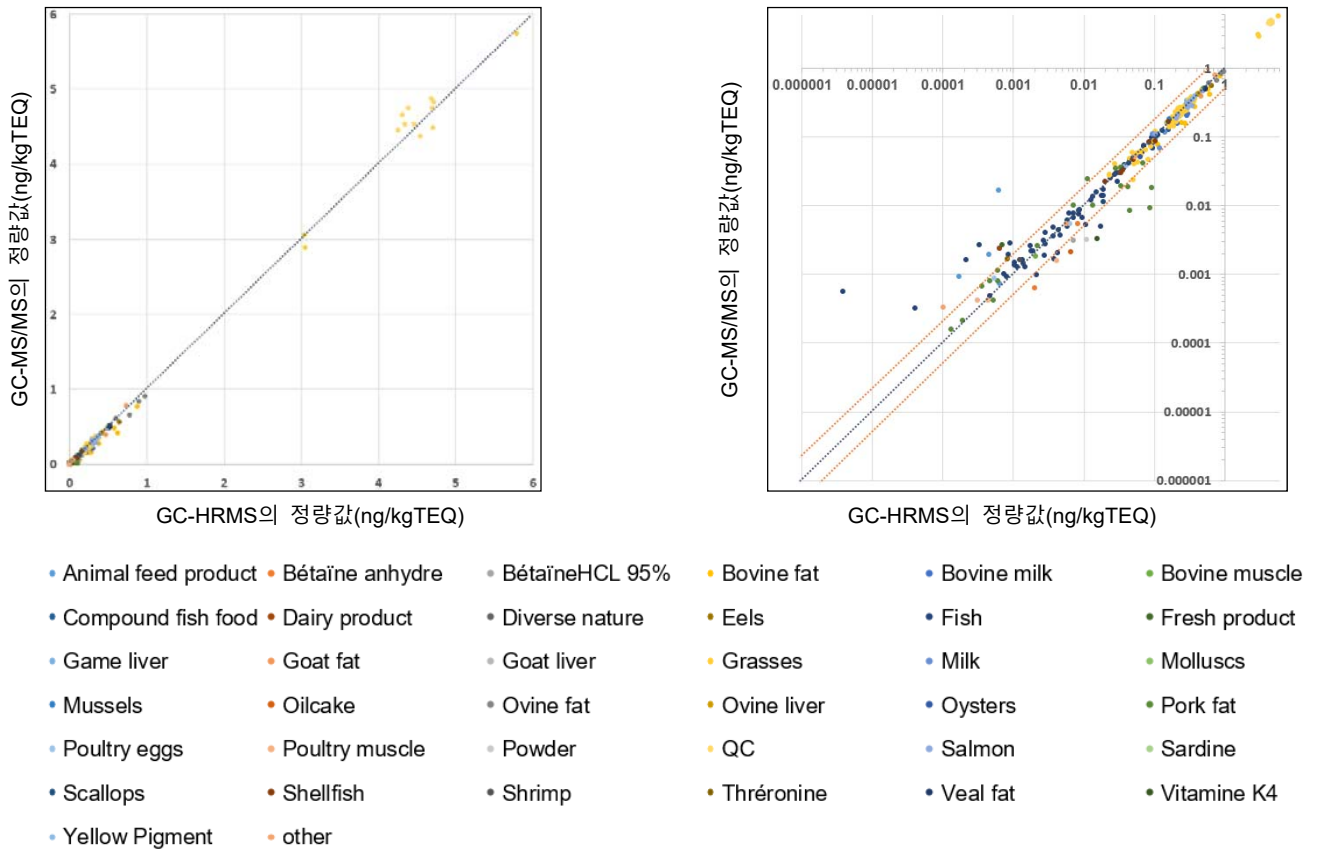


Fig. 3 GC-MS/MS와 GC-HRMS의 정량값 비교(좌: 선형눈금, 우: 대수눈금)

■ 실제시료 분석시의 내구성 평가

식품 중 다이옥신류 분석시의 내구성 평가로서 실제시료와 표준 시료(농도 0.05 pg/uL)를 교차로 반복하여 분석하였습니다. 저농도의 표준시료의 감도 추이로 감도를 유지할 수 있는 분석 횟수를 평가 하였습니다. 표준시료와 실제시료는 총 500회 이상 분석하였으며, 그 결과를 Fig.4에 나타냅니다.

Fig.4는 가로축이 분석 횟수, 세로축이 각 분석 횟수에서의 피크 면 적값을 나타냅니다. 500회 이상 분석을 하여도 큰 감도 저하는 발생 하지 않았습니다. 1회부터 530회까지 피크면적의 평균값과 재현성을 Table3에 나타냅니다. 모든 화합물에서 재현성은 20% RSD를 밑돌고 있어 시험을 통해서 감도를 유지할 수 있는 것을 알 수 있었습니다.

■ 결 론

본 Application News에서는 BEIS를 사용하여 약 40종류, 250개 시료 이상의 식품, 사료 중이 다이옥신류를 분석하였습니다.

또, GC-MS/MS의 분석결과와 GC-HRMS의 분석결과를 비교하여, GC-MS/MS의 정량성을 평가하였습니다.

평가 결과, 분석에 필요한 농도 수준에서는 GC-MS/MS와 GC-HRMS 의 정량성에 대한 차이는 나타나지 않았습니다.

그리고, 다이옥신류의 실제 시료를 분석할 시의 내구성도 평가하였 습니다. 평가 결과, 500회 이상 분석을 하여도 저농도에서의 감도 저하는 발생하지 않았습니다.

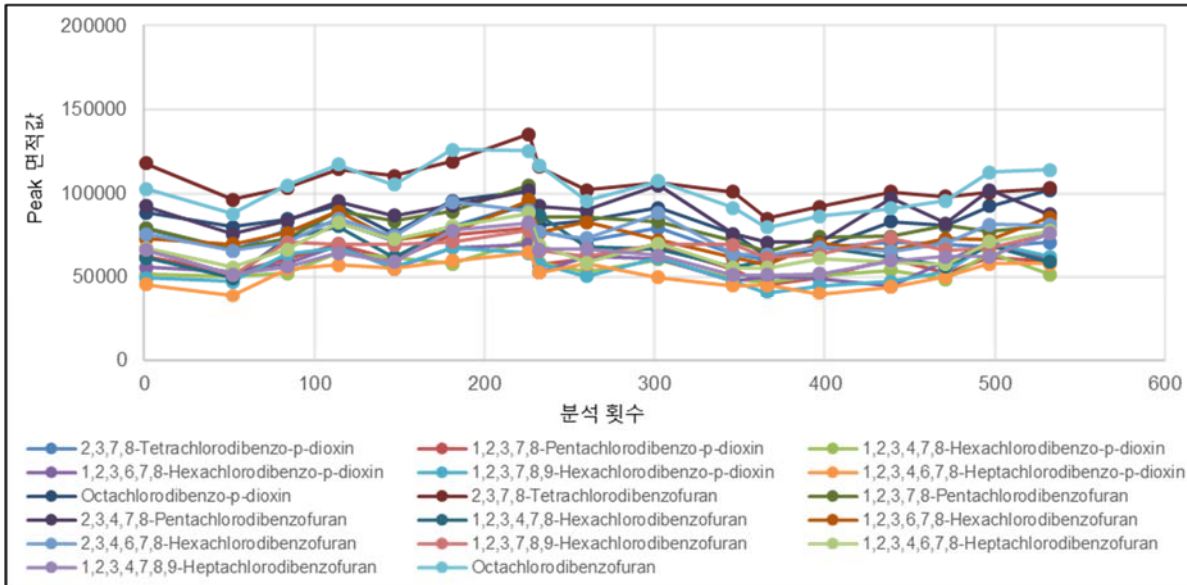


Fig. 4 각 분석횟수에서의 Peak 면적값의 추이

Table 3 내구성 시험에서 표준시료 (농도0.05 pg/μL) 의 면적값 평균과 재현성

I.D.	Compound name	면적값 평균	STDEV	%RSD(n = 17)
1	2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin	73596	8321	11.31
2	1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzo-p-dioxin	60713	8803	14.50
3	1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	55956	7025	12.55
4	1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	58167	8034	13.81
5	1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzo-p-dioxin	56035	9095	16.23
6	1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzo-p-dioxin	51663	7452	14.43
7	Octachlorodibenzo-p-dioxin	84614	10814	12.78
8	2,3,7,8-Tetrachlorodibenzofuran	105930	11847	11.18
9	1,2,3,7,8-Pentachlorodibenzofuran	80339	9592	11.94
10	2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran	88317	10631	12.04
11	1,2,3,4,7,8-Hexachlorodibenzofuran	67814	11761	17.34
12	1,2,3,6,7,8-Hexachlorodibenzofuran	74759	9636	12.89
13	2,3,4,6,7,8-Hexachlorodibenzofuran	75794	9605	12.67
14	1,2,3,7,8,9-Hexachlorodibenzofuran	67878	6056	8.92
15	1,2,3,4,6,7,8-Heptachlorodibenzofuran	67665	10199	15.07
16	1,2,3,4,7,8,9-Heptachlorodibenzofuran	62914	9356	14.87
17	Octachlorodibenzofuran	103483	13911	13.44

■ Acknowledgment

본 Application News의 작성에 있어서, Laboratoire d'Etude desResiduset Contaminants dansles Aliments로부터 시료 제공 및 지도 등의 협력 을 받았습니다. 감사드립니다.