

Application News

GCMS-TQ™8050 NX

GC-MS/MS를 이용한 식물성 고기 중 잔류농약 분석

No. 04-AD-0272-ENK

Residual Pesticides Analysis in Plant-Based Meat by GC-MS/MS

사용자 활용 포인트

- ◆ 고감도 분석을 위한 간단한 샘플 전처리 준비
- ◆ Shimadzu Smart Pesticides Database의 최적화된 MRM 조건을 이용하여 빠른 분석 가능

■서론

식물성 고기는 곡물, 콩과 식물, 식물성 단백질 및 식물성 기름 등과 같은 식물 성분으로 만드는 인공 고기로 실제 고기와 같은 모양과 맛을 낸다. 또한 실제 고기보다 인체에 더 건강하고 환경에 미치는 영향도 적다^[1]. 시간이 지날수록 건강한 생활 방식과 기후 변화에 대한 인식이 높아지고 있기 때문에 점차 채식 기반 육류 식단으로 전환될 가능성이 높아지고 있다.

농약은 식물의 원활한 성장과 식물 주변 잡초 및 곤충으로부터의 피해를 최소화하기 위해 농장에서 자주 사용된다. 식물에 잔류농약이 남아 있으면 섭취 시 건강 문제를 일으킬 수 있다^[2-3]. 식물성 고기는 주성분이 식물이기 때문에 잔류농약이 식품 안전에 있어서 문제가 될 수 있다. 따라서 식물성 고기를 섭취하기에 안전한지 판단하기 위해 잔류농약을 검출하고 정량하는 것이 중요하다.

본 뉴스레터에서는 4가지 유형의 식물성 고기에 대한 잔류농약을 분석하였다. 전처리는 QuEChERS법을 이용하여 추출 및 정제 후 Shimadzu Smart Pesticides Database™ Ver.2의 분석조건을 활용하여 GC-MS/MS로 분석하였다.

■실험

분석 조건

본 뉴스레터는 AOC-20i/s Plus (Shimadzu Corporation, Japan)가 장착된 GCMS-TQ8050 NX를 사용하여 분석에 이용하였다. GCMS-TQ8050 NX에는 초미량 분석을 위한 고효율 검출기와 특허 받은 이온 소스 기술이 탑재되어 있어 본 뉴스레터와 같은 미량의 잔류농약을 분석하는 분야에 적합하다.

Smart Pesticides Database는 530 종의 잔류농약 성분 (내부 표준물질 포함)에 대한 MRM 및 충돌에너지(Collision Energies, CE) 조건이 포함된 데이터베이스로, 분석 조건을 빠르게 만들 수 있도록 도와 주는 분석물질의 머무름 지수(Retention Index, RI)를 함께 제공한다. 본 뉴스레터에서는 Shimadzu Smart Pesticides Database Ver.2의 분석 조건, MRM 및 충돌에너지(CE)의 조건을 사용하였다.

표 1. 식물성 고기 중 잔류농약 분석을 위한 GC-MS/MS 분석 조건

Instruments and Column information	
GC-MS/MS	GCMS-TQ8050NX
Auto Injector	AOC-20i/s Plus
Column	SH-I-5SII MS (P/N 221-75954-30) 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm df
GC-MS/MS parameter	
GC-MS/MS Method No. 3 from Smart Pesticides Database Ver.2 (P/N 225-30434-92)	

표준물질 및 전처리 방법

농약 대상 물질들을 Acetonitrile(ACN)을 이용하여 1 mg/L의 농도로 제조하였으며, matrix match 검정 곡선 측정을 위해 샘플을 전처리 한 매트릭스 용액에 표준물질을 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 및 50 pg/µL 농도가 되도록 희석하였다.

EN 15662에 따라 샘플 전처리 방법을 그림 1에 일부 수정하여 나타났다. 회수율 확인을 위해 10 mL의 ACN을 첨가한 후 표준물질을 추가하였다.

최종적으로 전처리가 끝난 표준물질 및 샘플 용액 2 µL을 GC-MS/MS에 주입하여 분석하였다.

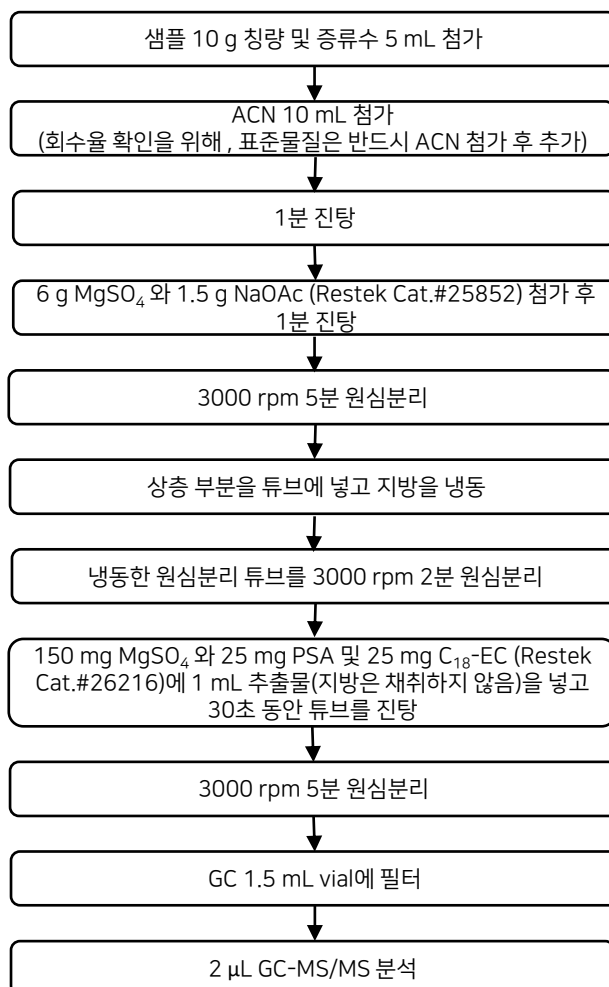


그림 1. 식물성 고기 샘플의 전처리

■ 분석 결과

회수율

QuEChERS 샘플 전처리 방법이 적합한지 확인하기 위해 4개의 서로 다른 식물성 고기 샘플 (샘플 A, B, C 및 D)을 테스트 했으며, 각 샘플에 대한 회수율은 표준물질 첨가 전 검출된 면적을 보정하여 계산하였다. 샘플 B는 모든 대상 성분에 대해 70 ~ 130 %의 회수율을 보인 반면 다른 샘플의 일부 농약 회수율은 70 % 미만이었다. 이 결과는 식물성 원재료 이외에 지방 함량, 설탕 함량 또는 착색성분 등과 같이 다양한 재료가 포함된 샘플의 경우 전처리 과정에 추가적인 과정이 필요할 수 있음을 의미한다. 그림 1의 150 mg MgSO₄ 와 25 mg PSA 및 25 mg C₁₈-EC를 포함한 QuEChERS dSPE(지방과 왁스가 함유된 식품에 사용됨^[4])를 사용한 전처리 방법은 샘플 B와 비슷한 성분의 식물성 고기 분석에 적합하다. 따라서 샘플 B를 연구의 다음 단계에 사용하였다.

표 2. 5 pg/μL 농도의 표준물질을 샘플에 첨가한 회수율 (%)

No.	Name	% Recovery using area count			
		Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
1	Atrazine	98	98	97	109
2	Pyrimethanil	86	89	92	86
3	Terbacil	99	95	94	116
4	Tefluthrin	88	93	93	84
5	Vinclozolin	100	102	99	108
6	Transfluthrin	90	91	95	86
7	Anthraquinone	92	90	93	91
8	Chlorpyrifos	81	90	87	86
9	Triadimefon	105	100	106	107
10	Cyprodinil	84	91	91	69
11	Penconazole	99	97	99	97
12	Fipronil	125	114	128	109
13	Procymidone	99	110	105	96
14	Triflumizole	105	102	112	96
15	Paclobutrazol	114	105	114	111
16	Flutriafol	101	110	103	105
17	Fludioxonil	102	98	102	97
18	Profenofos	78	92	82	71
19	Bupirimate	97	115	107	91
20	Lenacil	97	96	92	101
21	Tebuconazole	101	99	104	97
22	Iprodione	69	78	68	82
23	Bifenthrin	72	80	77	71
24	Pyriproxyfen	82	83	85	73
25	Fenarimol	94	94	98	96
26	Permethrin-1	66	78	75	81
27	Permethrin-2	72	82	80	69
28	Cyfluthrin-1	87	102	103	84
29	Cyfluthrin-2	75	100	96	84
30	Cyfluthrin-3	79	98	94	81
31	Cyfluthrin-4	81	107	92	83
32	Cypermethrin-1	75	101	97	71
33	Cypermethrin-2	82	105	89	69
34	Cypermethrin-3	80	109	88	70
35	Flucythrinate-1	88	106	98	94
36	Cypermethrin-4	85	85	81	71
37	Etofenprox	78	79	77	71
38	Flucythrinate-2	87	108	98	89
39	Fluridone	104	107	104	105
40	Deltamethrin-1 (Tralomethrin deg.-1)	71	99	73	87
41	Deltamethrin-2 (Tralomethrin deg.-2)	76	79	70	77
42	Azoxystrobin	103	104	105	112

Note: 노란 음영은 회수율 70-130 %를 벗어난 값.

매트릭스 효과

검정 곡선을 확인하기 전 매트릭스 효과를 고려했다. 매트릭스 효과를 조사하기 위해 9가지 농약을 대표 물질로 선택했다. 샘플 B 바탕 용액은 샘플 전처리 후 농약 성분이 없는 용액이다. 동일한 농도의 샘플 B에 첨가한 농약 성분은 ACN 용매에 첨가한 농약 성분보다 더 높은 면적을 갖는 것으로 나타났다. 그림 2는 샘플 B와 ACN에 첨가된 농약 및 샘플 B 바탕 용액의 크로마토그램을 겹쳐서 나타냈다. 이는 샘플 B에 농약을 첨가 후 면적이 더 큰 이유가 매트릭스 효과 때문임을 보여준다. 매트릭스 효과는 표 3에 나타냈고, 이 결과를 통해 matrix match 검정 곡선이 식물성 고기 분석에 더 적합하다는 결론을 얻었다.

표 3. 샘플 B의 매트릭스 효과

Name	Area count of 10 pg/μL standard in acetonitrile	Area count of 10 pg/μL (post-spike in Sample B)	Matrix effect (%)
Atrazine	5358	30395	467
Pyrimethanil	16199	115598	614
Terbacil	3193	81488	2452
Tefluthrin	83801	333775	298
Vinclozolin	12265	38893	217
Fludioxonil	14138	241907	1611
Bupirimate	2977	73582	2372
Lenacil	9612	298175	3002
Tebuconazole	3439	109475	3083

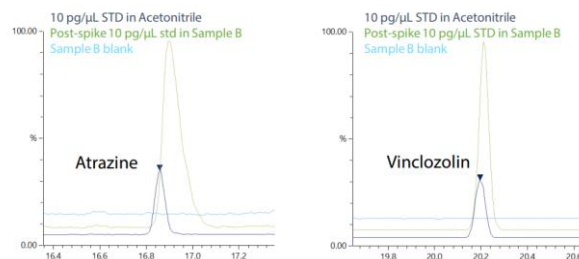


그림 2. ACN 용매(진한 파란색)와 샘플 B(녹색)에 10 pg/μL 농약 첨가 후, 샘플 B 바탕 용액(얇은 파란색)의 MRM 크로마토그램

선택성, 재현성 그리고 직선성

다양한 농도의 표준물질을 첨가한 샘플 B 매트릭스를 이용하여 matrix match 검정 곡선을 그렸다. GC-MS/MS에서 농약의 민감도가 다르기 때문에 각 농약 물질에 대해 최적의 검정 곡선 농도 범위를 선택하였다. 정량한계(LOQ)는 신호 대 잡음비가 10보다 크고 면적 재현성(% RSD)이 15 %보다 작은 농도를 기준으로 결정하였으며, 그 값을 검정 곡선의 제일 작은 농도로 설정하였다. 약 60 %의 농약 성분이 0.5 pg/μL로 가장 낮은 검량 수준을 보였고, 농약 성분의 80 %는 최소 5개 포인트에서 우수한 직선성을 나타냈다($R^2 > 0.999$). 각 농약 성분에 대한 검정 곡선 정보는 표 4에 나타났다.

표 4. 샘플 B matrix match 잔류농약 검정 곡선 정보

No.	Name	LOQ (pg/μL)	Area %RSD (n=8)	R ²
1	Atrazine	0.5	4.5	0.99993
2	Pyrimethanil	0.5	3.0	0.99994
3	Terbacil	0.5	5.6	0.99991
4	Tefluthrin	0.5	3.0	0.99997
5	Vinclozolin	1	4.3	0.99996
6	Transfluthrin	0.5	10.4	0.99989
7	Anthraquinone	0.5	2.7	0.99996
8	Chlorpyrifos	0.5	3.8	0.99987
9	Triadimefon	0.5	7.1	0.99996
10	Cyprodinil	0.5	7.0	0.99996
11	Penconazole	0.5	3.9	0.99994
12	Fipronil	0.5	6.6	0.99993
13	Procymidone	0.5	8.5	0.99996
14	Triflumizole	0.5	4.8	0.99991
15	Paclobutrazol	2	8.7	0.99993
16	Flutriafol	0.5	5.2	0.99994
17	Fludioxonil	0.5	5.6	0.99996
18	Profenofos	0.5	9.8	0.99993
19	Bupirimate	0.5	4.7	0.99993
20	Lenacil	1	2.6	0.99999
21	Tebuconazole	0.5	3.7	0.99997
22	Iprodione	5	7.1	1.00000
23	Bifenthrin	0.5	3.1	0.99999
24	Pyriproxyfen	0.5	5.6	0.99995
25	Fenarimol	0.5	6.9	0.99996
26	Permethrin-1	0.5	2.9	0.99997
27	Permethrin-2	1	4.7	0.99997
28	Cyfluthrin-1	2	8.2	0.99994
29	Cyfluthrin-2	5	1.8	0.99999
30	Cyfluthrin-3	5	4.6	0.99999
31	Cyfluthrin-4	2	5.7	0.99984
32	Cypermethrin-1	2	9.6	0.99980
33	Cypermethrin-2	5	4.7	1.00000
34	Cypermethrin-3	10	5.6	1.00000
35	Flucythrinate-1	0.5	6.5	0.99982
36	Cypermethrin-4	10	4.2	1.00000
37	Etofenprox	0.5	6.2	0.99999
38	Flucythrinate-2	0.5	6.0	0.99980
39	Fluridone	1	2.7	0.99989
40	Deltamethrin-1 (Tralomethrin deg.-1)	10	11.5	1.00000
41	Deltamethrin-2 (Tralomethrin deg.-2)	2	9.4	0.99988
42	Azoxystrobin	0.5	10.1	0.99993

Note: 초록 음영은 검출한계가 0.5 pg/μL인 잔류농약 성분을 나타냄.

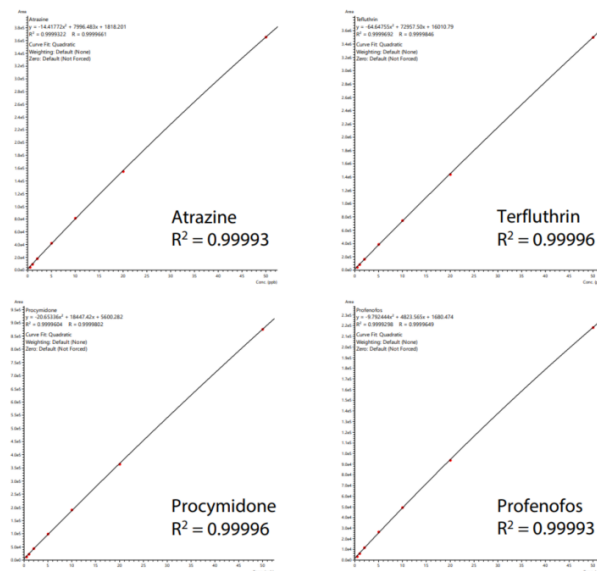


그림 3. 샘플 B matrix match 잔류농약 검정 곡선

■ 결론

식물성 고기의 잔류농약 분석법 개발은 GCMS-TQ8050 NX를 이용하여 수행되었다. 150 mg MgSO₄ 와 25 mg PSA 및 25 mg C₁₈-EC를 포함한 QuEChERS dSPE 샘플 정제 방법을 사용하여 다양한 식물성고기 샘플에 대해 서로 다른 회수율을 얻었다. 이는 다양한 유형의 샘플에 대해 정제 시약의 조정이 필요할 수 있음을 시사한다. 매트릭스에 첨가된 농약과 ACN에 첨가된 농약을 비교할 때 매트릭스 효과가 눈에 띄게 나타났다. 따라서 정량시에는 matrix match 검정 곡선이 권장된다. 농약의 절반 이상이 LOQ가 0.5 pg/μL이고, 농약의 약 80 %는 5 포인트에서 검정 곡선 작성시 R²값이 0.999보다 큰 것으로 나타났다.

■ 참고문헌

- 1) Jayson L Lusk et al 2022 Environ. Res. Lett. 17 024035
- 2) EPA United States Environmental Protection Agency, *Why We Use Pesticide*, accessed 28 July 2022
<https://www.epa.gov/safepestcontrol/why-we-use-pesticides#:~:text=Pesticides%20are%20used%20to%20control,be%20effective%20against%20specific%20pests>
- 3) ScienceDirect, *Crop yields Increase*, accessed 20 September 2022
<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/crop-yields-increase>
- 4) RESTEK, *Q-sep QuEChERS dSPE Tubes for Extract Cleanup*, accessed 20 September 2022
<https://www.restek.com/row/products/sample-preparation--air-sampling/sample-preparation-products/quechers/7186/>



Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/
Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China.

This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".

Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

Copyright © 2024 SHIMADZU group. All rights reserved.