

향신료 내 잔류 농약 자동 추출



Abstract

QuEChERS법은 다양한 시료 유형에서 잔류 농약 성분의 추출 및 정제에 유용한 것으로 입증되었으며, 점점 더 어려운 매트릭스에서 사용되고 있다. 그러나 안타깝게도 이러한 전처리 과정은 수동의 여러 처리 단계를 거치기 때문에, 긴 처리 시간과 가변적인 실험 오차를 수반한다. 다양한 종류의 식품 매트릭스와 잔류 농약을 분석해야 하기 때문에, 더욱 빠르면서 간단한 추출 방법이 필요하다. 게다가 일부 매트릭스는 그 특성이나 경제적인 가치에 따라 단지 QuEChERS법 만으로는 추출하기가 어려울 수 있다. 향신료의 경우가 이에 해당되는 건조 시료로, QuEChERS법에서 어려운 매트릭스 중 하나이다. EDGE는 향신료에서 잔류 농약을 추출하기 위한 QuEChERS법의 중요한 대안을 제공한다. 특히 출원중인 Q-Cup Technology를 통해 EDGE는 한 번의 자동 단계를 이용하여 7분 이내에 향신료에서 잔류 농약을 추출 가능하다.

Introdcion

최근 몇 년 동안 더 많은 소비자들이 식품에 어떤 성분이 들어있는지 확인하고 싶어한다. 특히 장기간 건강에 나쁜 영향을 미쳐온 잔류 농약과 같은 유해 성분은 함유 여부와 그 함유량에 대한 관심이 계속적으로 증가하고 있다. 전 세계적으로 잔류 농약 분석의 필요성이 대두되고 있으며, 규제되는 농약 성분의 목록은 계속 증가하고 있다. 또한 소비자들의 식품 소비가 증가함에 따라 신속하고 정확한 농약 분석의 필요성이 증가하고 있다. QuEChERS법은 식품 매트릭스에서 잔류 농약을 추출하는 방법으로 가장 범용적으로 사용되고 있다. 그러나 모니터링 할 농약의 종류가 다양해지고, 검출 한계가 낮아짐에 따라 분석 전처리가 까다로워지고 있다. 이에 반해 EDGE를 사용하면 자동화된 하나의 단계에서 시료의 추출 및 정제가 가능하다. 수집된 추출물은 여과, 냉각되어 바로 분석이 가능한 상태로 수집된다. 이러한 처리 시간에는 시료 린싱과 시스템의 Carryover를 제거하는 세척 과정이 포함된 시간이다. EDGE는 한 번의 단계로 가능한 가장 빠르고 간단한 잔류 농약의 추출을 제공한다.

Materials and Methods

Reagent

시료/시약명	구매처	용도
Black Pepper	Local Grocery Store	Sample
Cinnamon		
Oregano		
Paprika		
LC multi-residue pesticide standards 1,6,7,9	Restek	STD
Sodium Acetate	Silicycle	Sorbent
Magnesium Sulfate		
Primary Secondary Amine		
Acetonitrile with 1% Acetic Acid	-	Extraction, Rinse, Wash Solvent

QuEChERS Method

각각의 향신료 2g을 칭량하여 50mL 원심분리 튜브에 넣는다. 튜브에 10mL의 3차수를 첨가하고, 30초간 손으로 튜브를 흔들어 30분간 방치한다. 이는 건식 시료에 대해 변형된 QuEChERS법을 따른다. 10mL Acetonitrile (1% Acetic Acid)을 튜브에 첨가하고, 진탕기(VWR Analog Vortex Mixer)에서 1분 동안 진탕한다. Sodium Sulfate 6g을 튜브에 첨가하고, 뚜껑을 닫아 1분간 진탕하고, 원심분리기(Thermo CL2)를 이용하여 5분간 6000rpm으로 원심분리한다. 그리고 1mL Acetonitrile 총을 150mg Magnesium Sulfate와 50mg Primary Secondary Amine(PSA)가 들어있는 50mL 원심분리 튜브에 첨가한다. 튜브를 1분간 진탕시키고, 10분간 9000rpm으로 원심분리 한다. 상등액만을 취해 분석을 위한 바이알에 옮겨 담았다. 모든 시료 및 Blank는 3단계를 거쳐 준비되었다.

Sample Preparation

C9+G1+C9 Q-Disc가 샌드위치 형태로 위치해서 조립되어있는 Q-Cup에 각각의 향신료 2g을 넣는다. 시료가 첨가된 Q-Cup과 수집 바이알을 각각의 위치에 맞춰 랙에 넣고, 이동식 랙을 EDGE 기기 옆면을 통해 장착한다. 잔류 농약에 대해 아래 승인된 CEM 파라미터에 따라 Method를 생성하고, 전처리를 진행한다. 이후 추출물을 5mL 미만으로 증발하기 위해 질소 증발기(Organomation N-EVAP®III)로 옮겼다. 추출물은 Acetonitrile (1% Acetic Acid)를 이용해 5mL로 희석하였다. 추출액은 분석을 위해 바이알에 옮겨 담았다. 모든 시료 및 Blank는 3단계를 거쳐 준비되었다.

Analysis

기기	Waters ACQUITY UPLC with a Xevo TQD triple quad Mass Spectrometer
컬럼	Restek ARC-18, 2.7 μ m, 100X2.1mm
유속	0.4mL/min
분석 시간	7min
주입량	10 μ l
이동상	Gradient
Mobile Phase A	Water w/10Mm Ammonium Acetate and 0.2% Formic Acid
Mobile Phase B	Methanol w/10Mm Ammonium Acetate and 0.2% Formic Acid

Time(min)	Flow Rate (mL/min)	%A	%B
Initial	0.4	95	5
7	0.4	0	100

*각 농약의 정량 분석에는 하나의 MSD 전이 사용

*각 시료는 3회씩 반복 분석 진행

Results

EDGE는 시료의 여과, 냉각 및 시스템 세척을 포함하여 7분 이내에 향신료에서 잔류 농약을 효율적으로 추출하였다. Table 1은 각 시료(Cinnamon, Oregano, Black Pepper, Paprika)를 EDGE로 전처리하여 UPLC/MS/MS로 분석한 결과를 나타낸다. Table 2은 각 시료를 QuEChERS로 전처리하여 UPLC/MS/MS로 분석한 결과를 나타낸다. 그 결과 QuEChERS와 EDGE를 비교하였을 때, 전반적으로 더 우수한 회수율과 재현성을 보였다. 본 실험에서 QuEChERS법을 이용해 향신료를 전처리 할 때, 건조 시료를 적용하기 위한 긴 시간이 걸리는 변형된 과정이 필요하였다. QuEChERS법은 수동의 단계로 진행되는 반면 EDGE는 단순화된 자동 추출 시스템으로 향상된 회수율을 나타낸다.

Conclusion

EDGE 자동 추출 시스템에 사용된 추출 프로세스로 향신료의 어려운 매트릭스를 한 번에 효율적으로 추출할 수 있다. 모든 향신료의 전처리에는 QuEChERS법에 비해 과정을 크게 단순화한 CEM 승인 Method를 사용하였다. Cup Technology를 사용한 자동화된 방법으로 기존의 QuEChERS법보다 잔류 농

약이 더 효율적으로 추출되었다. 이번 실험에서는 향신료를 사용하여 건식 시료에 초점을 맞추어 전처리를 진행했지만, 유사한 Method를 사용하여 습윤, 건조 등 모든 식품 시료에서 광범위한 잔류 농약 전처리에 적용될 수 있다. 또한 일부 잔류 농약은 열에 불안정한 것으로 알려져 있다. 온도가 중요한 시료의 경우에 EDGE는 실온 추출의 수행이 가능하다. 효과적인 잔류 농약 추출 Method를 갖춘 EDGE는 간단한 자동화 방법을 사용하여 모든 식품 시료에서 재현성있는 결과를 원하는 실험실에 매우 이상적인 시스템이다.

Table 1. EDGE Recovery of Multiple Pesticides from Spices

	Cinnamon		Oregano		Black Pepper		Paprika	
	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average
Acephate	84.22%	4.26%	91.35%	7.22%	91.04%	2.60%	82.25%	4.01%
Fuberidazole	78.44%	4.13%	86.11%	8.32%	94.44%	0.61%	86.54%	2.41%
Omethoate	94.08%	9.95%	95.73%	11.25%	87.61%	4.01%	95.09%	1.17%
Monocrotophos	104.36%	18.67%	92.35%	8.35%	87.44%	1.65%	86.50%	4.53%
Dimethoate	100.60%	2.41%	86.46%	8.19%	99.31%	5.35%	95.10%	1.47%
Dicrotophos	85.50%	5.89%	90.75%	8.32%	95.19%	1.83%	97.87%	4.14%
Trichlorfon	91.67%	5.14%	105.09%	11.05%	86.39%	3.71%	89.92%	11.11%
Penconazole	95.01%	2.88%	88.55%	9.06%	84.43%	10.70%	91.79%	1.16%
Vamidothon	86.76%	5.49%	103.66%	9.46%	92.33%	3.83%	110.78%	3.85%
Cyproconazole Isomers	90.22%	9.71%	83.68%	11.35%	77.50%	13.45%	94.35%	1.19%
Paclobutrazol	81.70%	3.25%	89.88%	3.35%	72.91%	4.44%	89.04%	1.33%
Flutriafol	95.07%	3.03%	88.68%	8.44%	82.41%	10.26%	93.55%	0.50%
Tebuconazole	95.39%	3.07%	82.62%	9.22%	102.21%	2.47%	95.36%	2.42%
Hexaconazole	92.42%	3.51%	85.36%	9.58%	80.71%	2.73%	90.35%	2.02%
Flusilazole	95.01%	3.00%	85.84%	9.60%	91.01%	2.48%	92.69%	2.80%
Desmedipham	100.60%	2.50%	78.61%	0.42%	93.37%	3.71%	96.15%	1.03%
Metaconazole	94.16%	1.68%	87.39%	8.88%	80.56%	3.75%	89.49%	5.55%
Diniconazole	93.24%	0.62%	90.20%	9.20%	92.54%	4.98%	99.08%	7.16%
Etaconazole	95.57%	4.49%	83.72%	8.19%	77.00%	13.32%	88.62%	7.69%
Penycuron	90.21%	1.13%	78.60%	3.31%	93.17%	7.80%	95.83%	6.67%
Epoxiconazole	97.40%	2.95%	84.60%	8.70%	96.25%	18.69%	87.85%	8.81%
Fenarimol	96.35%	4.89%	84.28%	8.07%	95.35%	15.98%	91.11%	6.32%
Ipconazole	93.17%	3.39%	84.65%	11.38%	95.66%	2.95%	86.64%	8.96%
Fenbuconazole	95.34%	3.57%	85.35%	9.60%	98.21%	18.14%	89.09%	6.32%
Bitertanol	100.38%	2.82%	84.08%	7.74%	107.76%	24.04%	89.18%	5.81%

	Cinnamon		Oregano		Black Pepper		Paprika	
Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average
Triflumizole	91.61%	5.92%	88.40%	11.70%	85.86%	4.56%	98.02%	0.25%
Etoazole	91.55%	2.74%	80.78%	9.46%	99.28%	4.13%	83.67%	1.45%
Spirotetramat	97.21%	3.59%	66.52%	13.86%	110.81%	5.49%	89.56%	9.22%
Dimethomorph	92.18%	2.39%	86.63%	7.22%	88.89%	9.58%	87.09%	10.41%
Difenoconazole	76.53%	0.35%	84.50%	9.94%	103.31%	1.20%	90.39%	7.73%
Spirodiclofen	91.96%	1.97%	79.72%	8.37%	100.64%	7.70%	97.18%	4.97%
Spinosyn A	37.81%	5.79%	65.99%	11.58%	85.75%	12.91%	94.45%	0.06%

Table 2. EDGE Recovery of Multiple Pesticides from Spices

	Cinnamon		Oregano		Black Pepper		Paprika	
Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average
Acephate	41.03%	5.69%	34.37%	3.76%	60.37%	14.35%	63.47%	10.03%
Fuberidazole	32.18%	7.50%	35.02%	5.05%	55.43%	14.21%	44.89%	6.87%
Omethoate	44.14%	6.39%	33.80%	3.77%	61.83%	14.84%	54.09%	9.42%
Monocrotophos	46.38%	7.09%	39.30%	3.00%	62.78%	15.95%	50.20%	10.09%
Dimethoate	46.29%	6.65%	37.31%	3.72%	66.40%	15.68%	72.41%	15.89%
Dicrotophos	40.27%	5.72%	40.15%	8.04%	64.60%	16.38%	64.35%	11.88%
Trichlorfon	48.40%	7.42%	40.69%	3.76%	64.16%	16.61%	85.83%	6.76%
Penconazole	46.23%	7.64%	43.47%	5.08%	73.62%	13.18%	62.49%	14.94%
Vamidothon	46.91%	5.89%	49.49%	14.82%	63.00%	16.45%	61.80%	11.91%
Cyproconazole Isomers	48.91%	5.94%	44.67%	4.91%	58.74%	10.65%	64.40%	23.31%
Paclobutrazol	67.31%	10.41%	63.46%	26.63%	91.60%	28.59%	65.17%	17.44%
Flutriafol	49.11%	7.36%	46.34%	5.98%	62.54%	16.31%	65.82%	16.58%
Tebuconazole	42.98%	7.26%	44.82%	2.06%	32.21%	8.12%	63.29%	15.71%
Hexaconazole	49.65%	8.04%	46.91%	6.38%	60.41%	17.70%	65.28%	14.21%
Flusilazole	48.47%	7.87%	79.82%	6.42%	53.40%	13.24%	65.96%	14.00%
Desmedipham	46.35%	8.19%	39.58%	1.83%	55.06%	14.74%	59.42%	14.59%
Metaconazole	42.44%	6.29%	41.88%	1.53%	51.96%	16.46%	60.00%	17.65%
Diniconazole	34.67%	6.89%	35.34%	3.90%	100.95%	2.15%	55.66%	11.24%
Etaconazole	45.34%	8.88%	45.76%	4.12%	0.00%	0.00%	63.22%	16.31%

Average	Cinnamon		Oregano		Black Pepper		Paprika	
	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average	Std.Dev.	Average
Penycuron	48.55%	7.08%	42.83%	4.94%	64.29%	14.55%	62.59%	15.71%
Epoxiconazole	46.96%	7.29%	44.93%	2.76%	54.25%	18.33%	61.03%	13.97%
Fenarimol	48.90%	7.19%	31.04%	26.17%	74.14%	16.39%	65.97%	17.11%
Ipconazole	42.00%	7.04%	42.62%	4.06%	56.87%	15.33%	60.08%	14.11%
Fenbuconazole	47.38%	6.95%	45.35%	2.62%	62.10%	15.75%	63.10%	15.32%
Bitertanol	46.32%	5.72%	43.67%	4.82%	69.58%	44.82%	66.25%	17.46%
Triflumizole	43.67%	7.73%	44.22%	4.75%	60.27%	15.65%	63.98%	16.18%
Etoazole	43.37%	5.30%	41.48%	4.54%	56.78%	14.12%	64.12%	19.35%
Spirotetramat	60.77%	12.71%	54.61%	5.03%	52.93%	13.78%	64.65%	15.96%
Dimethomorph	43.67%	8.68%	39.25%	20.25%	57.71%	16.30%	80.20%	32.04%
Difenoconazole	43.02%	6.65%	42.76%	2.93%	59.50%	13.79%	61.36%	15.05%
Spirodiclofen	55.05%	10.94%	52.77%	3.31%	52.60%	12.58%	63.48%	17.80%
Spinosyn A	48.81%	36.19%	34.28%	3.93%	32.76%	25.95%	29.16%	8.62%

영인에스티 담당자

영인에스티 계측기술사업부 분광분석팀 (02-6190-9865)