

## 사과 및 토양중 avermectin B1의 간편한 잔류 분석법 개발과 비교

이강봉 · 김용두\* · 심재한 · 서용택

전남대학교 농과대학 농화학과, \*순천대학교 식품가공학과

**초록 :** 광범위한 살비, 살충제로 사용되는 avermectin의 잔류분석을 위해 기존의 2가지 분석법과 이를 간략하게 변경시킨 새로운 방법을 이용하여 그 분석능을 검토하였다. 종래의 형광분석법은 장시간이 소요되고 재현성이 낮은 반면 개선시킨 trifluoroacetylation 방법은 재현성과 안정성이 뛰어났다. 하지만 이 방법 역시 복잡한 과정과 비용이 소모되는 단점이 있어 본 실험에서 더욱 간략하게 변경시킨 방법을 사용하여 이들 방법들의 검출능과 회수율을 비교하였다. 이들 3가지 방법의 회수율은 유사했는데 형광분석법에 의한 사과에서의 회수율은 1 ppb와 10 ppb에서 각각 평균 90.3%와 88.2%를 나타냈고 복합 형광분석법은 5 ppb와 25 ppb에서 모두 평균 100.7%를 나타냈다. 새로이 개발된 분석법에서의 회수율은 사과에 대하여 5 ppb와 25 ppb에서 각각 95.0, 99.0%였고 토양에서는 각각 96.0%와 92.8%였다(1992년 3월 3일 접수, 1992년 4월 7일 수리).

*Streptomyces avermitilis*의 균사로부터 분리한 avermectin은 거대한 구조의 lactone 화합물로 1981년에 Albers-Schönberg 등<sup>1)</sup>이 최초로 그 구조를 구명했다(Fig. 1). 최근 들어 이 화합물의 생물학적 효과가 알려져 광범위하게 살비, 살충제로 사용되고 있는데 현재 우리나라에서는 사과의 응애와 진딧물에 대한 살비제로 등록(아바멕틴 유제<sup>®</sup>)되어 사용하고 있다. 또한 이 약제는 Ivermectin이라는 이름으로 가축의 기생충 박멸제 등에

사용하고 있다. 약제로 사용되는 abamectin은 80% 이상의 avermectin B<sub>1a</sub>와 20% 이하의 avermectin B<sub>1b</sub>의 혼합물로 구성되어 있는데 이들의 잔류분석시에는 주로 avermectin B<sub>1a</sub>를 정량하고 있다. Abamectin은 대상 해충이나 응애, 진딧물에 대한 활성이 매우 높아 저농도로 사용하는데(보통 6%) 이에 따른 잔류량도 역시 극소량이 된다. 그래서 그 잔류분석법 역시 ppb 농도범위에서 잔류량을 결정할 수 있는 것이 요구되게 된다. 현재 세계적으로 avermectin 성분의 잔류에 대한 몇가지 분석법이 개발되어 있는 실정인데 내부표준법에 의한 HPLC(UV 검출기) 직접검출법<sup>2)</sup>과 7번 탄소까지를 acetic anhydride와 pyridine의 첨가 후 100℃로 24시간 반응시켜 방향족화된 화합물들을 형광검출기로 검출하는 방법<sup>3)</sup> 등이 그것이다. 하지만 UV-직접 검출법은 잔류분석을 위한 충분한 민감도를 갖지 못하는 단점이 있고 형광검출법 역시 장시간이 소요되는 단점이 있어 새로이 개선된 방법이 요구되었다. 그 후로 개선된 방법<sup>4)</sup>은 acetic anhydride와 pyridine 대신에 1-methylimidazole과 acetic anhydride, dimethylformamide(DMF)를 사용하여 반응시간을 1시간으로 앞당긴 것이었다. 하지만 이 방법 역시 강력한 형광반응이 나타나지 않고 불안정한 형태의 반응으로 재현성이 뒤떨어졌는데 이를 새로이 개선시킨 방법<sup>5)</sup>이 trifluoroacetic anhydride와 methanolic ammonium hydroxide를 사용하는 방법이다.

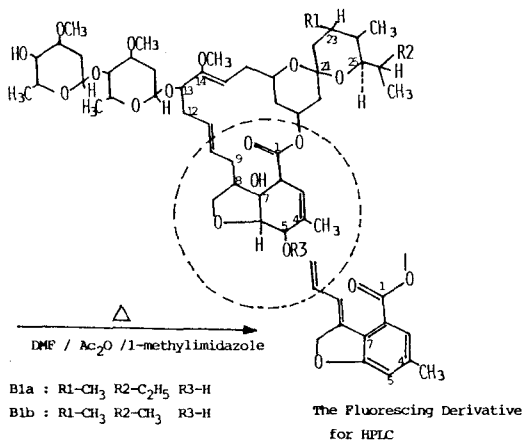


Fig. 1. Structure of avermectin and derivatization reaction.

Key words : Avermectin B1, fluorescence method, trifluoroacetylation, residue analysis  
 Corresponding author : Y. T. Suh

Table 1. HPLC conditions for avermectin B1 analysis

Mobile phase delivery system	: Waters model 510 pump
Injector	: Waters U6K universal injector
Guard column	: Bondapak C <sub>18</sub> , 37~50 μ, Waters 30×3.9 mm
Analytical column	: Waters, Novapak C <sub>18</sub> (3.9 mm×15 cm)
Detector	: LKB 4460 model fluorescence detector
	Excitation filter : 365 nm(bandpass)
	Emission filter : 418 nm(cut off)
Mobile phase	: 10% water in methyl alcohol(v/v)
Flow rate	: 1.0 ml/min
Injection volume	: 50 μl
Detector gain	: 32
Column temperature	: 35 °C

이에 본 연구에서는 상기 개선된 형광검출법과 avermectin의 B1<sub>a</sub> 및 B1<sub>b</sub>, B1<sub>a</sub> 8,9-isomer를 동시에 분석하기 위해 새로이 개발된 복합형광법, 본 연구에서 간략화시킨 개선 형광법 등 3가지 분석법을 비교하고 사과 및 토양에서의 잔류분석법으로 이용가능성과 그 검출감도를 확인하고자 하였다.

**재료 및 방법**

**재료**

Avermectin B1<sub>a</sub>(0.956%)와 avermectin B1(1.027%), avermectin B1<sub>a</sub> delta 8,9-isomer(0.38%)의 표준품은 Merck Co.로부터 제공받았고 잔류분석에 사용된 용매는 HPLC급이나 농약잔류분석용을 사용하였다. 또한 Sylon CT와 solid phase extraction system(SPE), C-8 column, aminopropyl column는 Supelco제품(Supelclean®)을 사용하였으며 pectinase(cat. No. P5146)와 trifluoroacetic anhydride(T 8258), 1,1-methylimidazole(M 8878), dimethylformamide(DMF, D4254)는 Sigma 제품을 사용하였다. 분석에 사용한 HPLC의 조건은 Table 1과 같고 silylated tube조제는 Tway 등의 방법<sup>8)</sup>에 따라 실시하였으며 시험에 필요한 증류수는 모두 2차 증류수를 사용하였다. 또한 본 연구에서 사용된 토양의 특성을 Table 2에 나타냈다.

**분석법의 비교**

1) 추출

(1) 형광분석법의 추출 과정

균일하게 절단한 사과 시료 20g을 50 ml의 methanol과 함께 1분간 마쇄하여 büchner 깔때기 상에서 감압여과 하였다. 이 때 잔사와 용기를 50 ml methanol로 세척하여

Table 2. Physicochemical properties of the soils used in the study

Classification	Soil texture	pH	O.M (%)	C.E.C (me/100g)
Soil 1	SL	7.3	0.8	6.5
Soil 2	L	7.2	1.9	11.2

앞서의 여액과 합하였으며 총 여액의 부피는 125 ml 이하로 하여 500 ml 분액여두로 옮겨 200 ml isoctane으로 2회 추출하고 isoctane층을 제거하였다. Isoctane층이 제거된 분액여두에 250 ml의 인산나트륨 완충용액(0.5 M, pH 7.0)을 첨가하여 충분히 교반하고 여기에 60 ml의 0.01% *t*-butanol이 용해된 methylene chloride 용액을 첨가하여 재 교반하였는데 이 과정은 2회 반복 실시하였다. 층이 분리된 후 0.01%의 *t*-butanol이 포함된 methylene chloride층은 무수 황산나트륨을 통과시켜 탈수시키고 250 ml 농축 플라스크로 옮겨 2~3 ml의 부피로 감압농축하였다. 농축액을 15 ml silylated test tube에 옮겨 같은 용액으로 10 ml로 정용하였다. 이 중 5 ml를 취하여 50 °C에서 질소가스를 이용, 1 ml까지 농축하였다.

(2) 복합 형광분석법의 추출 과정

균일하게 절단된 사과 시료 10g과 13 ml의 효소(pectinase) 완충용액(potassium phthalate buffer, 0.5 M, pH 4.0)를 균질기의 용기에 첨가하고 37 °C에서 1시간 반응시킨 후 13 ml의 acetonitrile을 추가로 첨가하여 균질화하였다. 균질시료는 감압여과하였고 50%의 acetonitrile/H<sub>2</sub>O 용액 25 ml를 이용해 균질기의 용기와 잔사를 세척하였으며 최종적으로 25 ml의 증류수(HPLC grade)를 첨가하였다.

## (3) 개선 형광분석법의 추출 과정

충분히 혼합된 토양 10g을 100 ml의 20% acetone/acetonitrile 용액과 함께 250 ml 삼각플라스크에 넣고 30분간 교반 추출하였다. 사과시료(10g)는 상기 용액으로 균질기에서 2분간(15,000 rpm) 균질화시켰다. 각 시료는 앞서의 용액 50 ml로 감압여과하고 소량의 추출 용매로 용기 및 잔사를 씻어 여액과 합하였다. 이 여액을 50℃에서 완전히 농축한 후 3 ml의 acetonitrile로 3회 세척하여 silylated test tube에 옮기고 50℃ 수조상에서 1 ml까지 질소가스로 농축하였다. 여기에 4 ml의 증류수와 5 ml의 hexane을 각각 첨가한 후 5분간 원심분리시켜(2000 rpm) 상층의 hexane을 새로운 tube로 옮겼으며 이 과정을 5 ml, 4 ml의 hexane으로 각각 반복 실시하여 총 14 ml의 hexane이 되게 하였다.

## 2) 정제

## (1) 형광분석법의 정제 과정

Acidic alumina(130℃에서 8시간 이상 활성화 시킴)를 정제용 tube에 dry packing 하여 SPE system에 접합시키고 15 ml의 reservoir를 그 상단에 연결시켰다. Alumina 칼럼을 5 ml의 methylene chloride로 세척하고 앞서의 농축액을 첨가한 후 1% isopropanol/methylene chloride 용액으로 1 ml씩, 3회 세척하였으며 세척액은 모두 제거하였다. 최종적으로 20 ml의 15% isopropanol/methylene chloride 용액으로 용출시켜 vial에 모아 50℃ 수조 상에서 2~3 ml가 되게 질소가스를 이용, 농축하였다. 농축액을 15 ml silylated tube에 methylene chloride를 이용해서 옮긴 후 50℃ 수조상에서 질소가스로 완전농축하였다.

## (2) 복합 형광분석법의 정제과정

## A) C-8 Column 정제

C<sub>8</sub> Column(500 mg/6 ml)을 SPE system에 부착하고 60 ml reservoir를 설치하였다. 이 칼럼을 5 ml의 acetonitrile과 증류수로 각각 세척하고 앞서의 추출액을 통과시켰다. 이 때 SPE system의 감압은 90 in. Hg을 유지하였으며 추출액이 통과된 칼럼은 12 ml의 acetonitrile로 최종용출시켜 용출액을 silylated tube에 받고 70℃ 수조상에서 1 ml가 되도록 질소농축하였다.

## B) Hexane/water-acetonitrile 분배

Amino propyl column(500 mg/3 ml)을 SPE system에 부착하여 25 ml reservoir를 연결하고 앞서의 추출액(14 ml)을 첨가하였다. 이 칼럼에 3 ml의 hexane과 3 ml의 toluene, 15 ml의 methylene chloride를 통과시켜 이를 제거하였다. 최종적으로 5 ml의 50% acetone/methylene chloride(v/v) 용액을 용출시켜 methylene chloride로

부피를 10 ml로 맞추고 15초간 초음파 처리하여 50~70℃ 수조상에서 질소가스로 완전농축하였다.

## (3) 개선 형광분석법의 정제 과정

Amino propyl column(500 mg/3 ml)을 SPE system에 부착하고 hexane 5 ml로 세척하였다. 이 칼럼에 앞서의 추출액 14 ml를 첨가하고 4 ml의 hexane, 3 ml의 toluene, 10 ml의 methylene chloride로 용출시켜 용출액을 모두 제거하였다. 최종적으로 5 ml의 50% acetone/dichloromethane(v/v) 용액으로 용출시켜 50℃에서 질소가스로 완전농축하였다.

## 3) 유도체화 반응과 분석

## (1) 형광 분석법의 유도체화

상기 농축물에서 0.1 ml의 유도체화 시약(0.6 ml acetic anhydride + 1.8 ml DMF + 0.4 ml 1-methylimidazole)을 첨가하고 잘 교반한 후 원심분리(2,000 rpm, 3분)하여 마개를 밀봉하였다. 밀봉된 시료를 95℃ 수조에서 1시간 동안 반응시켜(흑갈색) 1 ml의 chloroform를 첨가하고 충분히 교반한 후 silica 카트리지에 시료를 통과시켰다. 이 때 카트리는 5 ml의 chloroform으로 세척하고 1 ml의 chloroform으로 3회 용출시킨 후 최종적으로 8~9 ml의 chloroform으로 재용출시켰다. 용출액은 70℃ 수조상에서 질소가스로 완전히 농축, 5 ml의 methanol로 재용해하여 원심분리하고(2,000 rpm, 3분) HPLC(형광검출기)로 분석하였다.

## (2) 복합 형광분석법의 유도체화

상기 농축물에서 trifluoroacetylating 유도체화 시약 0.2 ml(0.4 ml 1-methylimidazole과 3.6 ml DMF를 혼합한 후 ice bath상에서 0.6 ml의 trifluoroacetic anhydride를 서서히 적가하여 충분히 교반, 사용직전에 조제)를 첨가하고 교반한 후 30℃ 수조상에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 0.1 ml의 methanolic ammonium hydroxide 용액(0.2 ml ammonium hydroxide(30%) + 3 ml methanol)을 첨가하여 30℃에서 30분간 추가반응시키고 4 ml의 chloroform를 첨가하여 교반한 후 형광분석법과 같이 silica 카트리지를 통과시켰다. 용출액은 70℃ 수조상에서 질소농축하여 10 ml의 methanol로 재용해하여 원심분리(2,000 rpm, 3분)하고 HPLC(형광검출기) 분석을 실시하였다.

## (3) 개선 형광분석법의 유도체화

복합 형광분석법의 유도체화와 동일하되 silica 카트리지를 통과하지 않고 4 ml의 chloroform을 첨가하여 70℃ 수조에서 질소가스를 이용, 농축하였고 최종적으로 10 ml methanol로 재용해하여 교반 후 HPLC 분석을 실시하였다.

**회수율 시험과 정량**

상기 3가지 분석법을 이용하여 2품종의 사과에 대해서 1, 5, 10, 25 ppb의 농도와 2개 토양에 대해서 5, 25 ppb 농도의 회수율 시험을 실시하였고 분석결과에 따른 정량은 표준검량선 상에서 결정하였다. 그러나 복합 형광 분석법은 결과에서 언급한 계산식에 의하여 잔류량을 결정하였다.

**결과 및 고찰**

Avermectin B1(Abamectin)은 앞서 언급했듯이 80% 이상의 avermectin B1<sub>a</sub>와 20% 이하의 avermectin B1<sub>b</sub>로 구성되어 있는데 이 두 가지 화합물의 차이는 25번 탄소에서 단지 하나의 methylene 기(-CH<sub>2</sub>-) 때문에 나타난다. Avermectin B1<sub>a</sub>는 sec-butyl기를 가지고 B1<sub>b</sub>는 isopropyl기를 가지는 것이 그것이다. 형광분석법은 1981년에 Tway 등에 의해 개발된 방법<sup>7)</sup>으로 본 실험에서는 그 방법을 약간 변경시켜 사과에 대해 최초로 분석을 실시하였다. 이 방법은 유도체화 과정을 보다 간편하게 하고 재현성이 높게 하자는데 그 의도가 있었다. 즉, acetic anhydride와 1-methylimidazole, DMF를 사용하여 5번 7번 4'번 위치에서 아실화 반응을 일으키고 뒤이어 5번과 7번 탄소에서 탈수소반응, 환 결합반응을 일으키는 방법이다. 이 형광방법은 HPLC를 이용해 쉽게 저농도까지 민감하게 분석할 수 있었다. 하지만 본 실험에서는 유도체화 과정에서 교반과 밀봉 등, 온도의 편차에 따라 재현성이 좋지 않은 편으로 나타났고 또한 형광 유도체화 과정에서 avermectin B1<sub>a</sub>의 광분해 이성체인 avermectin delta 8,9-isomer의 형광화 반응이 쉽지 않으므로 이러한 문제점을 해결할 수 있는 보다 강력한 아실화 반응시약이 필요하게 됐다. 그리하여 Merck Co.에서 개발된 분석법인 복합 형광분석법에 의해 실험하였다. 이 방법은 강력한 아실화제로서 trifluoroacetic anhydride를 사용하여 4'번 위치에 trifluoroacetylation을 시키고자 하는 방법으로 이 위치의 결합이 불안정하여 methanolic ammonium hydroxide를 다시 사용하여 4'-OH의 안정한

형광유도체를 조제하고자 하는 방법으로 생각되었다. 이러한 두 단계의 반응으로 delta 8,9-isomer는 avermectin B1<sub>a</sub>와 같은 단일 peak로 chromatogram이 나타나게 되었다. 결과적으로 복합 형광분석법을 사용하는 것은 avermectin B1<sub>a</sub>와 그의 delta 8,9-isomer를 동시에 합한 잔류량으로 정량하는 것이다. 이 방법을 이용하여 실시한 사과에서의 회수율 시험은 재현성이 높았고 검출한계는 5 ppb였다.

개선 형광분석법에서는 복합 형광분석법과 유사하지만 복합 형광분석법의 불필요한 과정을 모두 삭제하고 간략법으로 분석을 수행하고자 한 것이다. 즉 사과의 펙틴질을 분해하여 펙틴질 내부로 침투한 avermectin의 성분을 추출하고자 했던 pectinase의 사용이나 반복되는 추출과 분배, 정제, 농축과정을 생략하여 간편하게 분석하고자 했다. 하지만 이 방법은 사과나 토양에서의 유리 avermectin 성분만을 추출하는 방법이므로 육류의 분석에서는 방법을 약간 개선해야 한다고 생각되었다. 개선 형광분석법은 토양과 사과에 대해서 적용하여 훌륭한 결과를 나타냈는데 1 ppb의 검출한계를 얻을 수 있는 방법이었다. 각 방법들의 회수율 결과를 살펴보면 사과에 대해서 1 ppb와 10 ppb의 농도로 처리하여 형광분석법으로 실험한 결과(Table 3) 1 ppb에 대해 평균 84.4%를

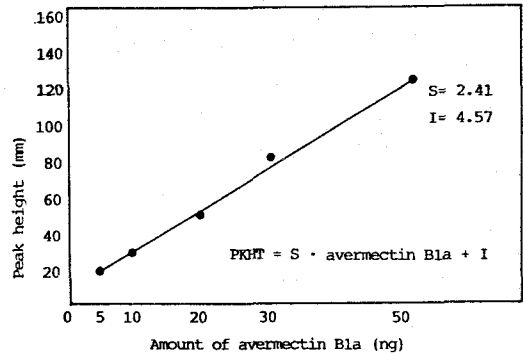


Fig. 2. Standard calibration curve for multi-fluorescence method of avermectin B1<sub>a</sub> and its isomer.

Table 3. Recovery and detection limit in fluorescence method

Sample	Spiking level (ng/g)	Recovery (%)						Detection limit <sup>a)</sup> (ng/g)
		A	B	C	D	E	Mean	
Apple	1.0	89.9	93.4	87.6	73.5	77.5	84.4	1.0
	10.0	91.4	92.4	80.7	78.2	61.2	80.8	

나타냈고 10 ppb에 대해서는 평균 80.8%를 나타냈다. 이 방법에서의 검출 한계는 1 ppb였고 최소검출량(S/N비; 3)은 0.09 ng 이었다. 이 방법의 민감도는 좋은 편이었으나 형광유도체화 반응에서 재현성이 높지 않았다.

복합 형광분석법을 실시한 결과를 보면 avermectin B1<sub>a</sub> delta 8,9-isomer의 검출한계는 5 ng/g 이었는데 이 방법의 검출한계 및 잔류량은 다음식에 근거하여 표준 검량선의 기울기와 절편을 첨가하여 산출하였기에 정량 한계에 차이가 있다.

$$C = (PKHT - I) / S, UNK = (C \times FV) / (SW \times FRAC)$$

여기에서 C는 HPLC 분석을 위해 최종 희석한 부피에 포함된 avermectin B1<sub>a</sub>/delta 8,9 isomer의 농도이고 PKHT는 avermectin B1<sub>a</sub>/delta 8,9 isomer의 chromatogram에서의 peak 높이, I는 절편, S는 기울기, FV는 HPLC 분석에 사용된 최종부피, SW는 시료의 무게, UNK는 미지 시료중 잔류농도, FRAC은 분석을 위해 사용된 시료의 분획(일반적으로 1.0)를 나타낸다.

Fig. 2에는 복합 형광분석법에 의한 표준검량선을 나타냈으며, Fig. 3은 avermectin B1<sub>a</sub>/delta 8,9 isomer의 chromatogram을 나타냈다. 이 분석법에 의한 회수율을 보면 Table 4에 나타냈듯이 avermectin B1<sub>a</sub> delta 8,9 isomer의 경우 5 ppb에서 Fuji 품종은 92.0~96.0%로 평균 93.3%를, Jonagold 품종은 93.6~96.8%로 평균 95.3%를 나타냈다. 또한 25 ppb의 회수율에서 Fuji 품종은 92.0~94.0%로 평균 92.0%를 Jonagold 품종은 87.4~92.4%로 평균 90.4%를 나타냈다. 이러한 결과는 Maynard 등<sup>4)</sup>의 결과나 Iwata 등<sup>3)</sup>의 결과에 비해 큰 차이가 없는

것으로 분석방법의 복잡성을 제외하고는 문제점이 없었다. 또한 avermectin B1<sub>a</sub>의 회수율 역시(Table 4)에서 보듯이 5 ppb의 경우 Fuji 품종은 98.0~102.0%로 평균 100.7%의 회수율을, Jonagold 품종에서는 90.2~99.4%로 평균 96.1%의 회수율을 나타냈다. 25 ppb의 경우에는 Fuji 품종에서 96.8~105.6%로 평균 100.7%를 나타냈고 Jonagold 품종에서는 90.9~97.6%로 평균 94.7%의 회수율을 나타냈다.

개선 형광분석법에 의한 잔류분석은 복합 형광분석법에서의 과정을 간략화하여 최소한의 과정만 실시한 것으로 그 회수율 및 검출 한계는 Table 5에 나타낸 바와

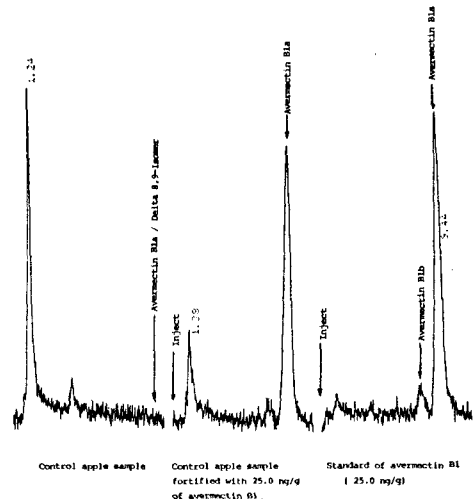


Fig. 3. Typical chromatograms of control apple, avermectin B1<sub>a</sub> in apple and standard of avermectin B1.

Table 4. Recovery and detection limit of avermectin B1<sub>a</sub> and its delta 8,9-isomer in multifluorescence method

Compound	Apple variety	Spiking level (ng/g)	Recovery (%)				Detection limit <sup>a)</sup> (ng/g)
			A	B	C	Mean	
Avermectin B1 <sub>a</sub>	Fuji	5.0	98.0	102.0	102.0	100.7	5.0
		25.0	99.6	105.6	96.8	100.7	
	Jonagold	5.0	98.7	90.2	99.4	96.1	
		25.0	90.9	95.5	97.6	94.7	
Avermectin Delta 8,9-isomer	Fuji	5.0	96.0	92.0	92.0	93.3	
		25.0	92.0	90.0	94.0	92.0	
	Jonagold	5.0	96.8	93.6	95.6	95.3	
		25.0	91.3	87.4	92.4	90.4	

<sup>a)</sup> S/N ratio : 5

Table 5. Recovery and detection limit in modified multifluorescence method

Sample	Spiking level (ng/g)	Recovery (%)			Detection limit <sup>a)</sup> (ng/g)
		A	B	Mean	
Apple	5.0	98.4	91.6	95.0	1.0
	25.0	90.0	108.0	99.0	
Soil-1	5.0	96.0	96.0	96.0	1.0
	25.0	94.3	91.2	92.8	
Soil-2	5.0	90.6	87.5	89.1	1.0
	25.0	96.4	92.5	94.5	

<sup>a)</sup> S/N ratio : 5

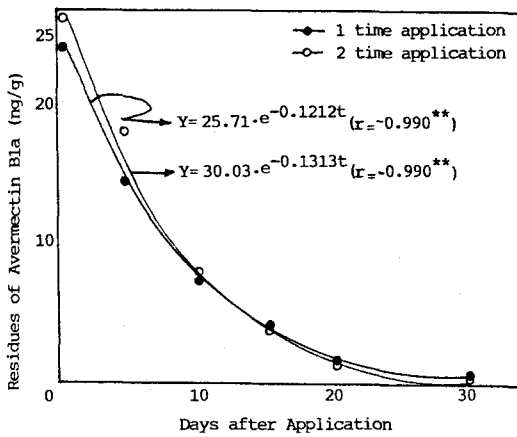


Fig. 4. Disappearance of avermectin B<sub>1a</sub> in soil under field condition.

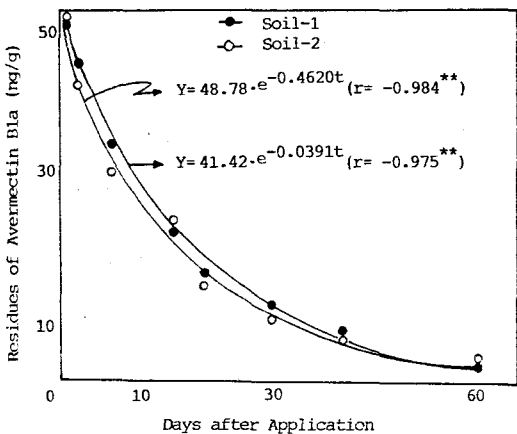


Fig. 5. Disappearance of avermectin B<sub>1a</sub> in soil under laboratory conditions.

같다. 사과에서 5 ppb와 25 ppb의 농도로 회수를 시험을 실시한 결과 각각 95.0, 99.0%의 평균을 보였다. 한편 2개 장소의 토양에 대해 회수를 시험을 실시한 결과 토양 1에서 5 ppb와 25 ppb에 대한 회수율은 각각 평균 96.0, 92.8%였으며 토양 2에서는 5 ppb와 25 ppb에 대해 각각 평균 89.1%와 94.5%의 회수율을 나타냈다. 이 방법의 검출 한계는 1.0 ppb였으며 최소 검출량은 S/N비 5일 때 0.05 ng이었다. 또한 이들 토양에서 abamectin의 반감기는 포장시험과 실내 시험으로 나누어 실시하였는데 먼저 포장시험의 경우 토양 1에서 반감기는 1회 처리시 5.9일 2회 처리시 6.3일 이었고 토양 2에서는 1회 처리시 5.0일 2회 처리시 5.9일 이었다. 실내 시험에서 avermectin B<sub>1</sub>의 반감기는 토양 1에서 13.9일 이었고 토양 2에서 11.4일 이었다. 이들 토양에서의 시험 결과는 Fig. 4와 5에 나타났다. 이 방법에서의 검출한계는 다음식으로 계산하였다.

$$MD(ng) \times \frac{1}{IV} \times \frac{FV}{SW} = DL$$

여기서 MD는 최소검출량이고 IV는 HPLC 분석시 주입량을, SW는 시료의 무게를, FV는 HPLC 분석시 최종회석부피를, DL은 이 분석법의 검출한계를 나타낸다.

이상의 결과에서 살펴보면 형광분석법은 형광유도체화의 불안정한 반응때문에 그 재현성이 낮고 복합 형광분석법은 적용범위가 크고 재현성이 높은 반면 장시간(12~14시간)이 소요된다는 단점이 있는 반면 개선 형광분석법은 단시간에 간단하게 실시할 수 있는 방법임을 알 수 있었다. 하지만 이 방법도 유리 avermectin의 분석에는 적합하지만 숙성시료나 동물시료에서의 잔류량 조사시에는 복합 형광분석법이 적합하다고 생각되었는바 계속적으로 더욱 민감하고 새로운 간편법을 연구해야 할 것이다. 또한 avermectin의 잔류허용량이 낮다는 사실을 인식하여(배 10 ppb, 우유 5 ppb, 감귤·육류 20 ppb, FAO)보다 민감도가 큰 방법을 연구하는데 중점을 두어야 할 것이다.

### 참 고 문 헌

1. Albers-Schönberg, G., Arison, B.H., Chabala, J. C., Douglas, A. W., Eskola, P., Fisher, M. H., Lusi, A., Mroziak, H., Smith, J. L., Tolman, R. L. : J. Am. Chem. Soc., 103 : 216(1981)
2. Bull, D. L., Gruber, V. F., Ivie, G. W., Ku, C. C., Mac Connell, J. G., Stevenson, J. M., Vanden Heuval,

- W. J. : J. Agric. Food Chem., 32 : 94(1984)
3. Iwata, Y., Mac Connel, J. G., Flor, J. E., Putter, I., Dinoff, T. M. : J. Agric. Food Chem., 33 : 467(1985)
4. Maynard, M. S., Iwata, Y., Wislock, P. G., Ku, C. C., Jacob, T. A. : J. Agric. Food Chem., 37 : 178(1989)
5. Maynard, M. S., Ku, C. C., Jacob, T. A. : J. Agric. Food Chem., 37 : 184(1989)
6. Miller, T. W., Chalet, C., Cole, D. J., Cole, L. J., Flor, J. E., Goegelman, R. T., Gullo, V. P., Kempf, A. J., Krellwitz, W. R., Monaghan, R. L., Ormond, R. E., Wilson, K. E., Putter, I. : Antimicrob. Agents Chemother., 15 : 368(1979)
7. Tway, P. C., Wood, J. S., Downing, G. V. : J. Agric. Food Chem., 29 : 1059(1981)
8. Tway, P. C., Morgan, J. M. : Merck Sharp and Dohme Research Lab. Avermectin Residue Report, Method 8000 (1989)

### Development and comparison of convenient residue analysis for avermectin B1 in apple and soil

Kang-Bong Lee, Yong-Du Kim\*, Jae-Han Shim and Yong-Tack Suh(Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea, \*Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 540-070, Korea)

**Abstract** : Avermectin B1(abamectin) is an very effective acaricide/insecticide. Because it is applied at low rates, the resultant residue level would be quite low and this requires highly sensitive analytical method. In this study, three analytical methods for avermectin B1<sub>a</sub> were compared in view of detectability and sensitivity. The first analytical method was an HPLC method employing the fluorescence detection of avermectin. The second analytical technique to quantitate avermectin B1<sub>a</sub> and its photodegradative delta 8,9-isomer employed trifluoroacetic anhydride and 1-methylimidazole in DMF. The new method was the modification of trifluorescence method. The average recoveries of avermectin B1<sub>a</sub> for the concentration range from 1 and 10 ng/g in whole apple fruit by fluorescence method were 90.3% and 88.2% respectively. In trifluorescence method, the recoveries of the avermectin B1<sub>a</sub> and delta 8,9-isomer were 100.7% and 94.7% in concentration from 5 ng/g and 25 ng/g. The average recoveries of 5 ng and 25 ng/g in the newly modified method were 95.0, 99.0, 96.0, 92.8% in whole apple and soil respectively.