

식품 중의 유기인제, 유기염소제 및 카바메이트계 농약의 다성분 분석법 비교

전옥경 · 이강문
서울특별시 보건환경연구원

A Study on the Multiresidue Analytical Methods for Organophosphorus, Organochlorine, and n-Methyl carbamate Pesticides in Food

Ock-Kyoung Chun, Kang-Moon Lee (Seoul Metropolitan Government Institute of Health and Environment)

ABSTRACT : A multiresidue method(MRM) for pesticides must be rapid and must test a wide variety of pesticides at relevant toxicological concentrations.

In this study, three kinds of major analytical methods such as Korean Food Code Method, CDFA MRM, and Holstege's method are tested to compare the average recoveries, solvent consumption, and required time for the analysis of 18 organochlorines, 18 organophosphates, and 6 carbamates in spinach samples.

Samples for pesticides analysis were extracted and cleaned up according to the respective methods and detected by gas chromatography with selective detectors, ECD and NPD, HPLC with postcolumn reaction system(PCRS).

Average recovery of 42 pesticides by Korean Food Code method, CDFA method, and Holstege's method were 91.3%, 88.1%, 89.0%, respectively. Amount of solvent consumption and required time for the analysis of Korean Food Code method were from two and a half times to three times as much as those of another two methods. For the development and legal application of more rapid and effective MRMs, prolonged study is neccesary.

Key words : pesticides, agricultural food, multiresidue analytical method, Korean Food Code method, CDFA method, Holstege's method

서 론

2000년에는 世界人口가 60억을 넘을 것으로 전망하고 있으며 전체 인구의 약 60%가 기아로 고통 받을 것으로 예상되고 있는 현 시점에서 이러한 食量危機에 對處하기 위한 食量增產은 절실한 課題이며 農藥의 必要性 역시 점차 增大되고 있는 추세이다¹⁾. 또한 현재 세계 무역 상품의 60%를 차지하고 있는 농산물은 우르과이아운드를 비롯한 세계 각국의 농수산물 수출입 정책의 활성화에 따라 食量의 世界的次元에서 교류가 점차 확대될 展望이며 이처럼 각국이 식품을 수출, 입하는 경우 식품 중의 잔류농약, 향생물질, 중금속 등의 미량독성물질에 대한 허용기준의 차이에 따른 수출, 입국간의 분쟁이 일어날 소지가 많아지고 있다. 따라서 이들 基準에 대한 國際的인 調和의 必要性이 생겨나게 되었으며 世界共通의 食品規格을 設定하기 위

하여 국제연합이 FAO(국제연합 식량농업기구)와 WHO(세계보건기구)에 위탁하여 식품규격위원회(Codex Alimentarius Commission : CAC)를 설치하였으며 이 위원회의 잔류농약부회(CCPR : Codex Committee on Pesticide Residues)에서 잔류농약 기준을 설정하여 국제기준으로서 각국에 제시하고 있다²⁾.

農藥의 殘留分析은 食品이나 環境 중의 殘留規制나 모니터링, 農藥의 安全使用基準 設定, 農藥의 代謝나 작용기구의 해명 등을 목적으로 行政, 調査研究에 걸친 광범위한 분야에서 실시되고 있으며, 그 重要性은 점점 높아지고 있다.

食品衛生法이나 環境保健關係의 法規에 根據하는 檢定이나 調査를 위하여 시판식품이나 물, 토양 등을 實驗하는 경우에는 試料 중에 있는 殘留農藥의 종류나 양은 보통 알 수 없기 때문에 分析方法으로서 일련의 조작에 의하여 많은 種類의 農藥을 分리 정량할 수 있는 系統的 方法, 즉 多成

分殘留分析(multi-residue analysis)方法이 필요하다. 이 方法은 많은 종류의 農藥을 동시에 分析定量할 수 있다는 장점은 있으나 天然物質을 農藥으로 오인하는 일이 없도록 確認手段을並行하는 것이 필수적이라 할 수 있다⁹⁾.

法의으로 규정된 分析方法은 조작이 간편하고, 여러 종류의 試料에 적용될 수 있으며 分析結果에 대한 再現性 또한 感度나 回收率 못지않게 우수해야 할 것이며, 分析方法에 따른 分析結果에 차이가 생기지 않도록 통일되어야 한다.

미국을 비롯한 선진 여러 國家에서는 이미 80년대에 多成分同時分析法을 공식적으로 使用함으로써 國內外로부터 생산, 수입되는 農產物의 農藥에 대한 危害性 여부를 신속하고 정확하게 評價하고 對處할 수 있는 모니터링 體系가 확립됨으로써 국민들을 保護하고 더 나아가 農藥規制에 의한 타국으로의 輸出에 있어서도 적극적으로 活用하고 있다.

우리나라에서는 食品衛生法 제7조의 규정에 의거 1988년 9월 13일 28종의 농산물에 대한 17종 農藥의 殘留許容基準을 制定하여 1990년 9월 1일부터 정식으로 施行하기 시작하였고 食肉 및 人蔘에 대한 農藥 殘留許容基準 및 試驗法도 設定하였으며¹⁰⁾, 基準設定項目도 1996년 1월에는 112종, 9월에는 142종을 거쳐 동년 12월에는 203종으로 점차擴大 改正되어¹¹⁾, 점진적으로는 Codex 기준과의 조화가 필요한 입장에 놓여있다.

그러나 이러한 국제화 추세와 선진 체계는 분석기술과 과학적 분석기법 및 분석 담당자들의 전문화를 그 필수요건으로 하고 있음에도 불구하고 우리나라의 경우 현실적으로 제반 여건의 준비가 제대로 갖추어지고 있지 못한 실정이다.

따라서 본 연구는 잔류농약의 다성분 분석에 있어서 이미 시행되어지고 있는 몇 가지 공인된 실험기법과 현재 우리나라의 식품공전상의 검정법의 효율성을 비교 분석하여 보다 바람직한 분석법의 설정에 도움이 되고자 실시하였다.

재료 및 방법

본 研究에서는 CDFA(California Department of Food and Agriculture)¹²⁾ 및 Holstege의 다성분 분석법(MRM: Multi-Residue Method)¹³⁾과 우리나라의 식품공전상의 잔류농약 분석법¹⁴⁾으로 유기인체, 유기염소제 및 카바메이트제 農藥成分이 일정 농도로 添加된同一試料를 分析하여 회수율과 용매 사용량, 총 분석시간을 비교 검토하였다.

재료

實驗對象 試料는 農產物 중 우리나라 國民의 多消費 食品이며(11.1g/day)¹⁵⁾ 色素와 水分에 의한 影響을 판정하기에

적당한 시금치를 利用하였고, 分析 및 抽出 溶媒는 殘留農藥 分析用을 使用하였으며 기타 試藥도 殘留農藥 分析用 및 特級試藥을 使用하였다.

사용된 주요 試藥은 다음과 같다.

- 1) Solvents : acetonitril, n-hexane, acetone, methanol, methylene chloride, ethanol, ethyl acetate (all pesticide grades)
- 2) Sodium chloride(NaCl : purified crystals) : Tedia Co.
- 3) Sodium sulfate (Na_2SO_4) anhydrous granules : ACS reagent grade(Fisher scientific) washed with ethyl acetate and oven-dried at 120°C
- 4) Potassium phosphate buffer/brine solution : K_2HPO_4 (211g) and KH_2PO_4 (121g) are dissolved in deionized and distilled water(500ml). Adjust to pH 7.0 by 1mol/l HCl. Dilute the solution to 1 liter. Sodium chloride is added to the buffer solution to make saturation while stirring constantly.
- 5) NaOH solution(0.2%) : NaOH(2.0g) pellets are dissolved in 1.0 liter water.
- 6) OPA solution : o-phthalaldehyde(0.1g, FLUKA Chemika Co.) is dissolved in 10ml methanol and sodium tetraborate buffer ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 19.1g→1.0 liter water) is added to make 1 liter then 2-mercaptoethanol (50ul, Sigma Chemical Co.) is spiked.
- 7) Solid Phase Extraction(SPE) cartridge : Aminopropyl-bonded silica (1000mg, NH₂ Sep-pak, Waters), Florisil(6ml tube, Supelco)

對象 分析 農藥은 유기인체 18종, 유기염소제 18종, 카바메이트제 6종 등 총 42종이었으며(Table 1), 농약표준품은 Riedel-de Han사(Germany)와 化光純藥(Japan)사의 것을 사용하였다.

分析條件

유기염소제 및 피레스린제의 分析은 Gas chromatograph ECD(Hewlett Packard 6890)로 實施하였고, 유기인체는 Gas chromatograph NPD로 實施하였으며, 카바메이트제는 PCRS(Postcolumn Reaction System)가 장착된 HPLC(Waters, C18-column)로 實施하였다. 기기 측정 조건은 Table 2 및 Table 3과 같다.

實驗方法

각 實驗法에 따른 回收率 測定

試料에 대한 추출 및 정제 기법은 식품공전에 의한 잔류농약 분석법, CDFA의 분석법 및 Holstege의 분석법을 각각 實施하였으며 각 實驗方法에 대한 內容을 要約하면 Fig. 1과 같다.

Table 1. List of pesticides : CAS registry numbers, standard mixture, typical retention time(RT) in experimental condition

Classification	Compound	CAS registry number	Standard Mix (ppm)	RT* (min)
Organophosphorus pesticides	Dichlorvos	62-73-7	2.438	2.438
	Acephate	30560-19-1	4.740	4.740
	Omethoate	1113-02-6	6.260	6.260
	Diazinon	333-41-5	6.890	6.890
	Dimethoate	60-51-5	7.476	7.476
	Chlorpyrifos-methyl	5598-13-0	8.539	8.539
	Pirimiphos-methyl	29232-93-7	9.107	9.107
	Parathion	56-38-2	9.627	9.627
	Fenthion	55-38-9	9.917	9.917
	Chlorpyrifos	2921-88-2	10.514	10.514
	Procymidone	32809-16-8	11.931	11.931
	Phentoate	2597-03-7	12.448	12.448
	Methidathion	950-37-8	13.457	13.457
Organochlorine pesticides	Ethion	563-12-2	14.912	14.912
	Carbofenothon	786-19-6	15.514	15.514
	EPN	2104-64-5	17.476	17.476
	Phosalone	2310-17-0	18.550	18.550
	Azinphos-methyl	86-50-0	20.307	20.307
	α -BHC	319-84-6	6.131	6.131
	β -BHC	319-85-7	6.461	6.461
	γ -BHC	58-89-9	6.806	6.806
	Chlortharonil	1897-45-6	7.286	7.286
	Heptachlor	76-44-8	8.712	8.712
	Aldrin	309-00-2	9.527	9.527
	Captan	133-06-2	10.057	10.057
	Folpet	133-07-3	10.284	10.284
Csbamates	α -Endosulfan	959-98-8	11.093	11.093
	β -Endosulfan	33213-65-9	12.122	12.122
	2,4-DDT	789-02-6	12.594	12.594
	Endosulfan sulfate	1031-07-8	13.001	13.001
	Tetradifon	116-29-0	15.131	15.131
	λ -Cyhalothrin	91465-08-6	16.248	16.248
	Pemethrin	52645-53-1	17.219	17.219
	Cypermethrin	52315-07-8	18.191	18.191
	Fluvalinate	102851-06-9	19.397	19.397
	Deltamethrin	52918-63-5	19.930	19.930
	Oxamyl	23135-22-0	6.667	6.667
	Methomyl	16752-77-5	7.383	7.383
	Aldicarb	116-06-3	13.133	13.133
	Carbofuran	1563-66-2	15.617	15.617
	Carbaryl	63-25-2	16.617	16.617
	Methiocarb	2032-65-7	20.133	20.133

* RT : retention time of GC on HP-608.

Table 2. Operating condition of gas chromatography

Pesticide Instrument	Organophosphorus and organochlorine pesticides HP 6890 series		
Column	HP-1 (HP. Co., 30m 0.53mm 0.88 μ m) HP-608 (HP. Co., 30m \times 0.53 μ m \times 0.33 μ m) Ultra-II (HP. Co., 50m \times 0.2 μ m \times 0.33 μ m)		
Detector	ECD	NPD	
Flow	N_2 6.8ml/min	N_2 5ml/min H_2 19ml/min, Air 60ml/min	
Inj. temp.	230°C	210°C	
Det. temp.	280°C	260°C	
Oven temp. (program)	140°C(2min)-8°C/min-240°C (5min)-10°C/min-280°C(5min)	160°C(2min)-15°C/min-210°C (5min)-10°C/min-250°C(10min)	

Table 3. Operating condition of HPLC(high performance liquid chromatography)

Pesticide	n-Methyl carbamates
Instrument	Waters HPLC with dual postcolumn reaction system
Column	Carbamate Analysis Column (3.9mmx150mm) (Waters)
Detector	Fluorescence detector (Waters 474) : 339nm excitation, 445nm emission
Flow (solvent gradient)	1 ml/min, A : (12% MeOH), B : (ACN:MeOH:H ₂ O=35:35:30) 0 min(A:B=100:0) - 20 min(A:B=0:100) - 23 min(A:B=100:0)
Dual postcolumn reaction	0.05N NaOH at 0.5 ml/min for N-methyl carbamate hydrolysis 0.05% OPA reagent at 0.5ml/min for derivatization

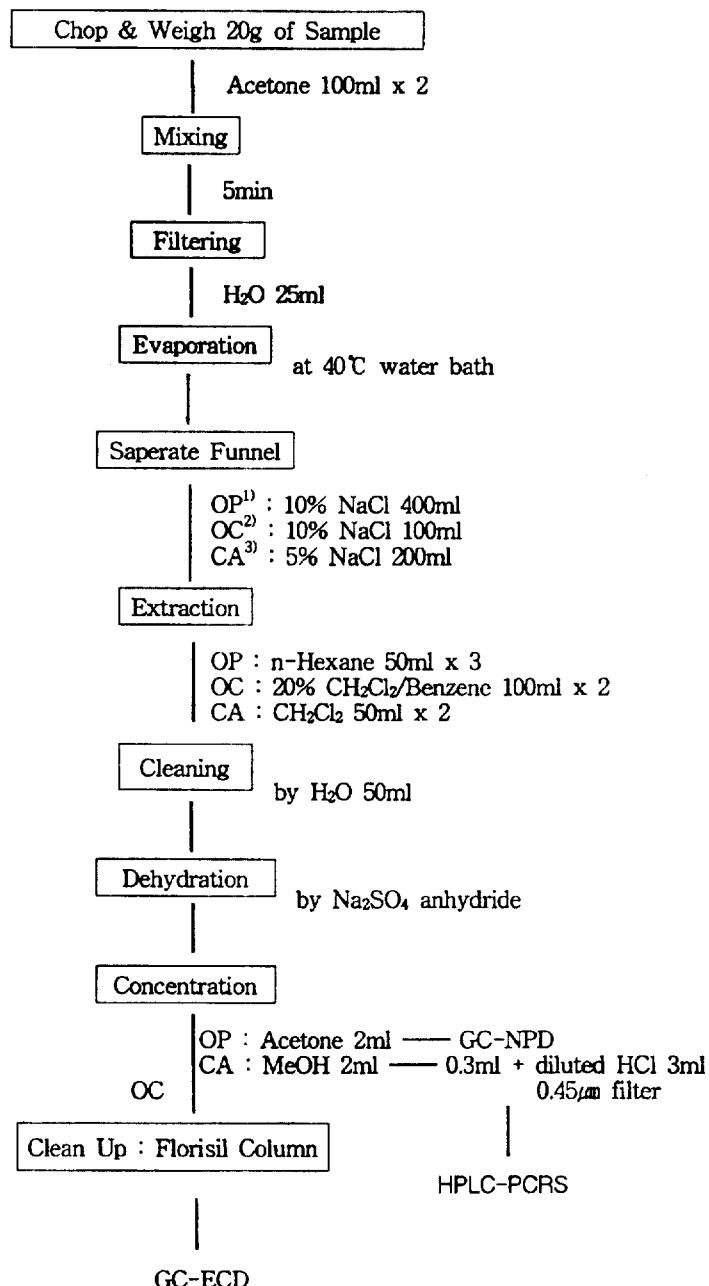


Fig. 1. Diagrams of the analytical methods : (a) Korean Food Code method.

- 1)OP:organophosphorus pesticides
- 2)OC: organochlorine pesticides
- 3)CA: carbamates.

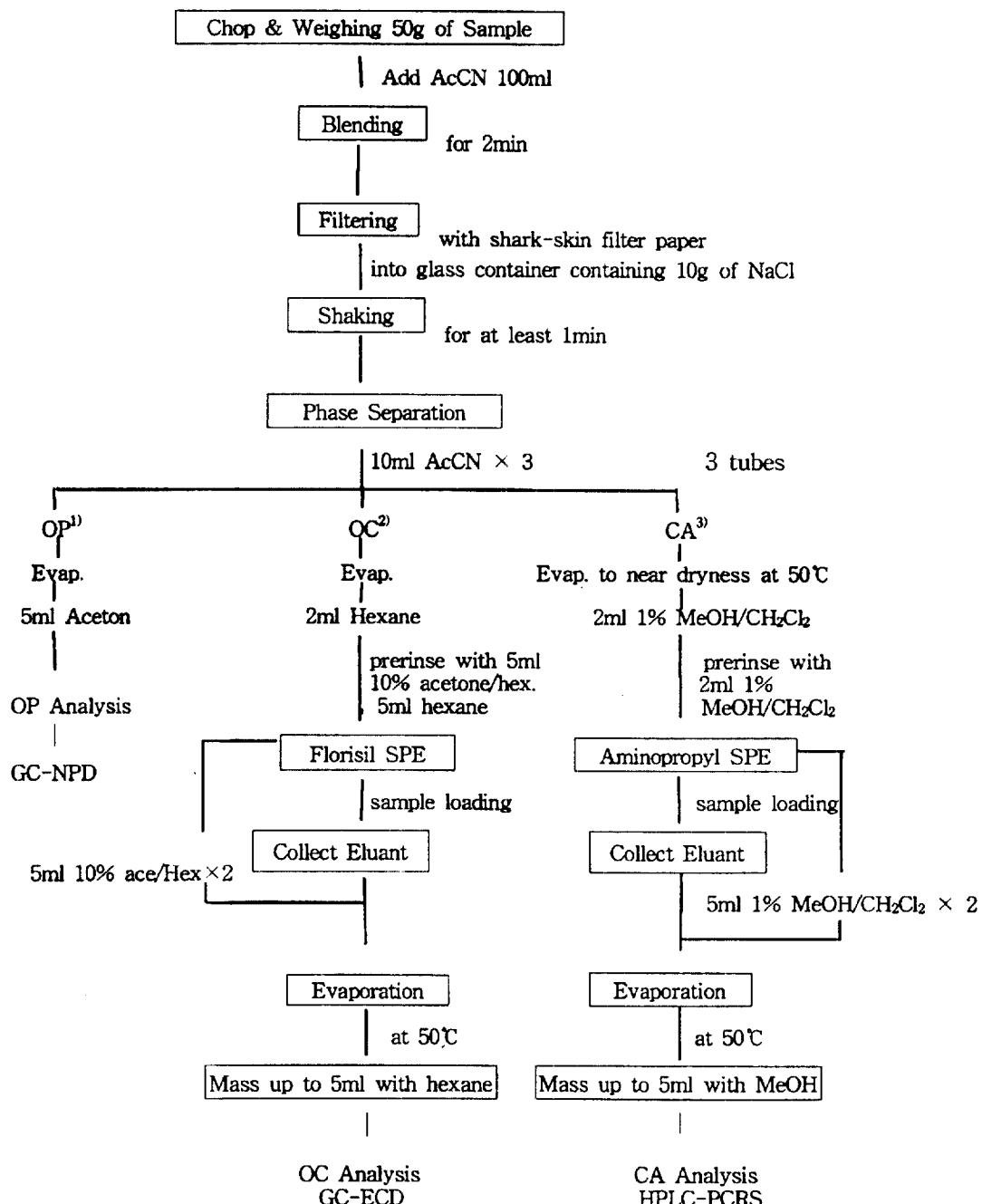


Fig. 1. Diagrams of the analytical methods : (b) CDFA's method

1) OP: organophosphorus pesticides 2) OC: organochlorine pesticides 3) CA: carbamates.

實驗은 동일한 시금치 試料에 대하여 각 실험별 5회 반복 실시하였다.

결과 및 고찰

가스크로마토그래프 分析에 있어서 동시에 많은 종류의 農藥을 分離하기 위하여 極性이 서로 다른 HP-608(30m × 0.53mm × 0.33μm), HP-1(30m 0.53mm 0.88μm) 및 Ultra-II(50m

× 0.2mm × 0.33μm) 칼럼을 사용하여 중복된 성분들을 확인하였으며, 다성분동시분석이 되지 않는 maleic hydrazide의 경우 단성분 분석법²⁰⁾에 의해 實驗을 실시하였다. 農藥의 多成分 및 單成分 分析條件別 검출 peak는 Fig. 2-4와 같았다.

동일한 시금치 시료를 대상으로 추출 및 정제과정 등 세 종류의 실험법에 따른 5회 반복 실험을 실시한 결과 각 농약군별 회수율은 Table 4와 같았다.

AOAC에서 現在 實施하고 있는 實驗방법¹⁰⁾은 Luke 등¹¹⁾이

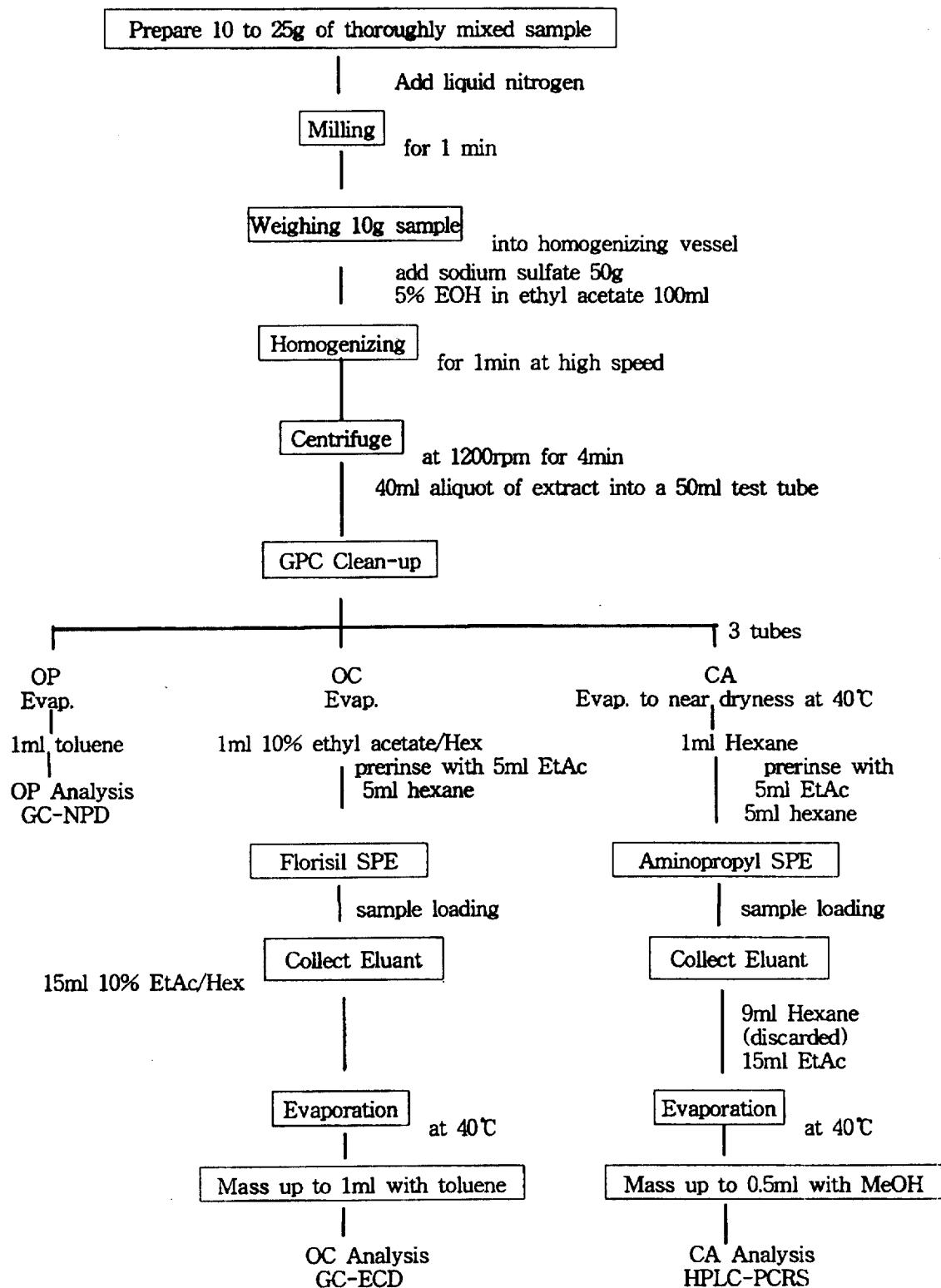


Fig. 1. Diagrams of the analytical methods : (c) Holstege's metho

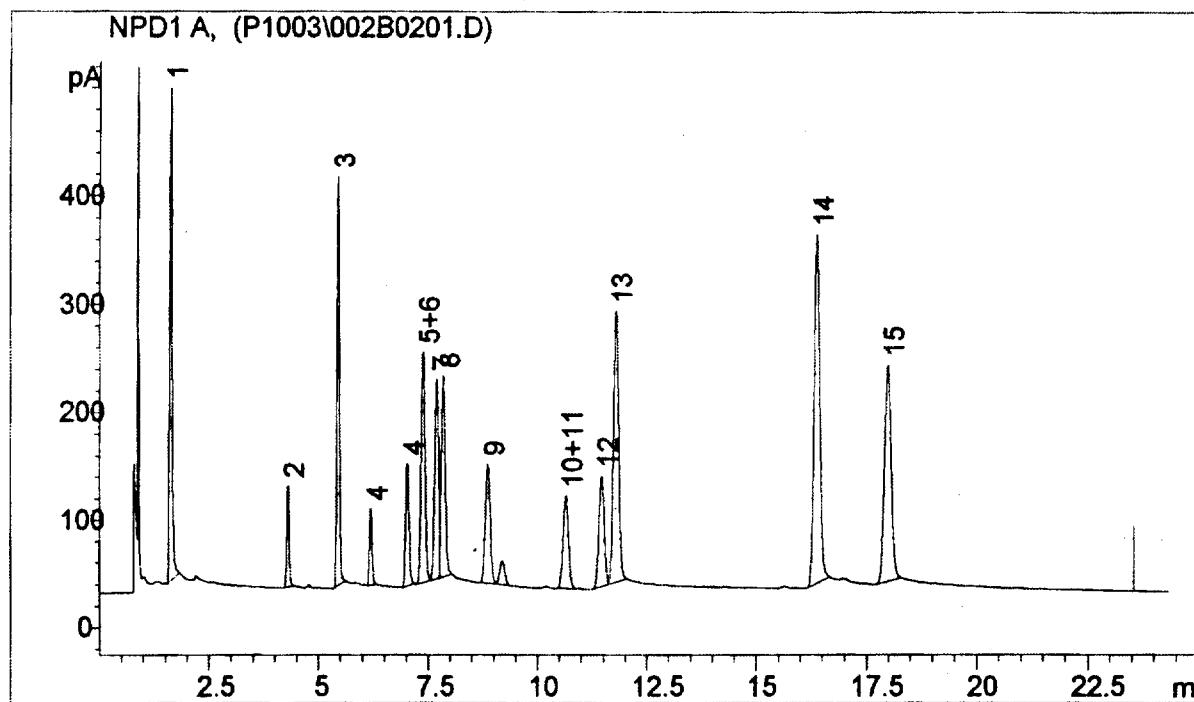


Fig. 2. Chromatogram of 15 pesticide standards on HP-608 column by GC-NPD

: 1.dichlorvos 2.ethoprophos 3.diazinon 4.phosphamidon 5.metalaxy 6.pirimiphos-methyl 7.chlorpyrifos 8.fenitrothion 9.triadimenol
10.chinomethionat 11.phenoate 12.profenos 13.methidathion 14.EPN 15.phosmet.

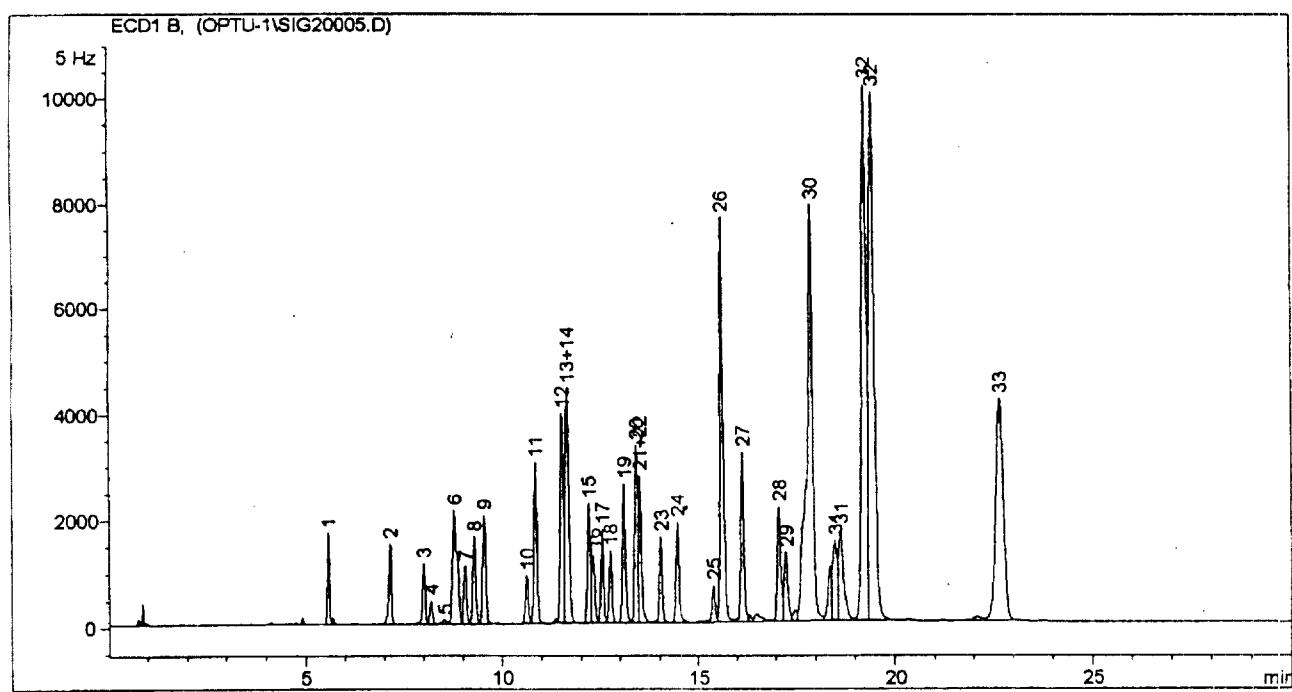


Fig. 3. Chromatogram of 33 pesticide standards on HP-608 column by GC-ECD

: 1.ethalfluralin 2. α -BHC 3. γ -BHC 4. β -BHC 5.heptachlor 6.chlorothalonil 7. δ -BHC 8.alachlor 9.aldrin 10.dichlofluani 11.heptachlor epoxide
12.procymidone 13. α -endosulfan 14.2,4DDE 15.4,4DDE 16.dieldrin 17.folpet 18.2,4DDD 19.endrin 20.2,4DDT 21.4,4DDD 22. β -endosulfan
23.4,4DDT 24.endosulfan sulfate 25. λ -cyhalothrin 26.captafol 27.tetradifon 28.fenarimol 29.permethrin 30. β -cyfluthrin 31.cypermethrin
32.fluvalinate 33.deltamethrin.

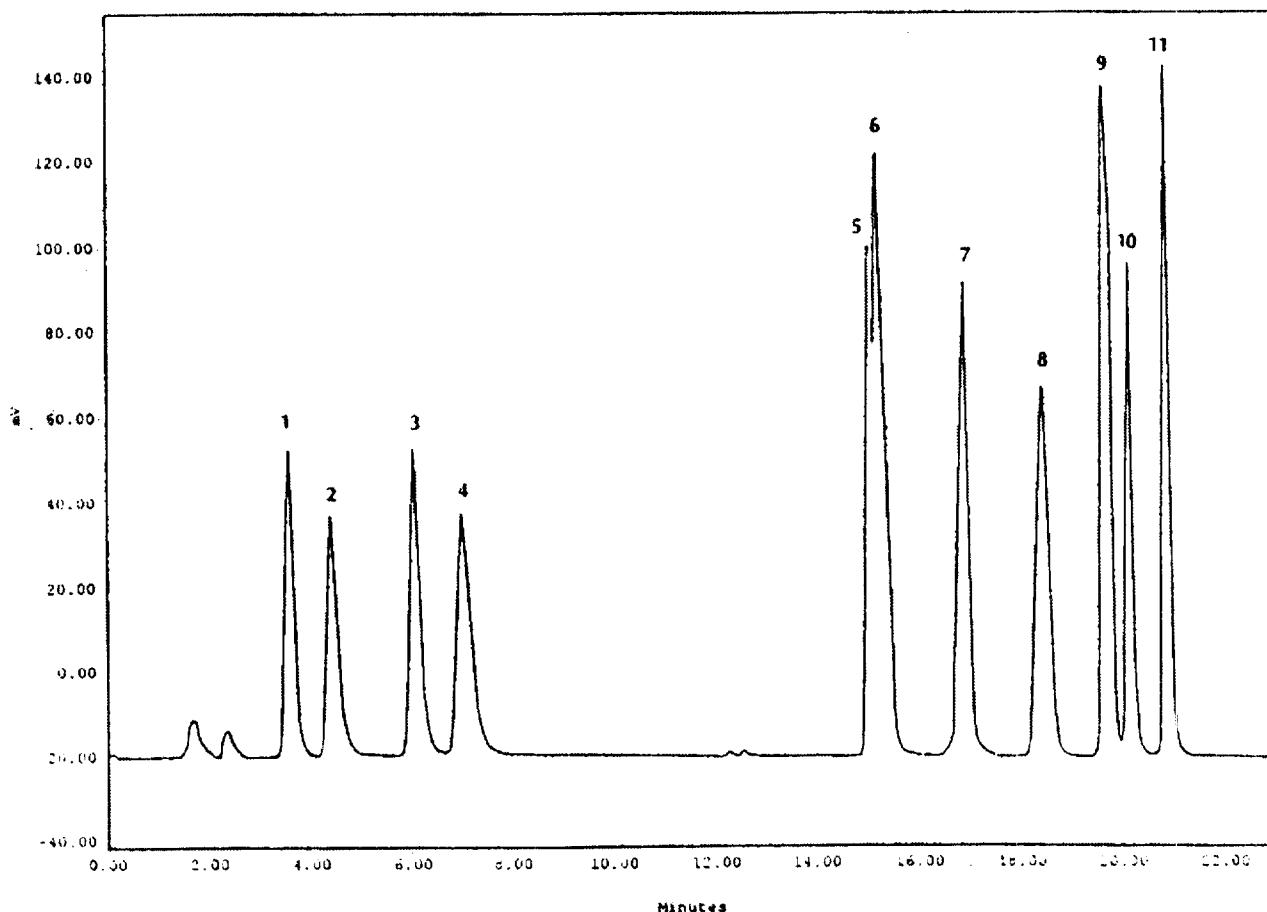


Fig. 4. Chromatogram of 7 n-methyl carbamate standards on CAS column by HPLC-PCRS

: 1.aldicarb sulfoxide 2.aldicarb sulfone 3.oxamyl 4.ethiofencarb sulfoxide 5.aldicarb 6.3-keto carbofuran 7.bendiocarb 8.carbofuran 9.carbaryl 10.ethiofencarb 11.isopropcarb.

開發한 方法으로서 크게 유기인체, 유기염소제, 카바메이트제 및 단성분으로 分類하여 추출·정제·분석하는 方法이며 현재 우리나라에서 利用하고 있는 殘留農藥 試驗法과 유사하다고 할 수 있다. 반면에 CDFA에서 利用하고 있는 다성분 분석법(MRM: Multi-Residue Method)은⁶⁾ Mill's method를 개량 것¹²⁾으로 정제과정에 SPE(Solid Phase Extraction)를 이용하여 時間을 短縮시키고 추출물의 pH를 조정하여 지방산 등의 불순물에 의한 방해를 억제시키며¹³⁾ 보다 정밀한 試料濃度를 그 特徵으로 한다.

또 Holstege 등⁷⁾에 의한 殘留農藥 分析에 있어서는 시료 추출 초기에 Na_2SO_4 를 다량으로 添加하여 acephate, metamidophos 등 일부 극성이 큰 물질이 물과 결합하여 회수율이 떨어지는 問題點을 補完하고 추출 용매도 毒性이 큰 acetonitril 대신 5% EOH in EtAc를 사용하며 색소에 의한 방해작용을 최대한 抑制시키는 점이 特徵이다.

Table 4의 결과에 의하면 우리나라의 식품공전에 의한 분석 방법이 91.3%, CDFA의 다성분 분석법이 88.1%,

Holstege에 의한 분석 방법이 89.0%로 우리나라의 식품공전에 의한 분석법이 전반적으로 가장 우수한 회수율을 보였는데, 이러한 결과는 시료로부터 농약 성분의 추출과정에서의 용매 사용량 및 정제시간의 차이에 의한 것으로 판단되었다.

다음 Table 5는 각 분석법의 실험 단계와 용매 사용량, 총 분석 소요시간을 산출한 결과이다.

이 결과에 의하면 식품공전에 의한 분석법이 다른 두 분석법에 비해 용매 사용량이 약 3배 정도 많았으며 총 분석 소요시간 역시 2.5배 정도 긴 것을 알 수 있었다.

또한 분석 단계 역시 식품공전에 의한 분석법은 acetone 추출 후 액-액 추출법에 의해 농약 성분을 전이시키고 유리컬럼에 의한 정제를 실시함으로써 총 9단계가 소요된 반면, CDFA의 분석법이나 Holstege의 분석법에서는 추출 용매로서 각각 acetonitril과 5% ethanol in ethyl acetate를 사용하고 정제 과정 역시 농약 특성별 SPE를 이용하여 용매를 적게 사용하고 분석 단계 및 소요 시간도 단축시킬 수 있

Table 4. Average recovery of organophosphorus, organochlorine, and n-methyl carbamate pesticides by three kind of methods

Pesticides*	Average recovery (%) (mean±S.D.)		
	Korean method	CDFA method	Holstege's method
Dichlorvos	85.6±0.15	83.3±0.19	82.1±0.25
Acephate	76.0±0.66	79.8±0.17	81.8±0.16
Omethoate	72.3±0.84	79.1±0.06	74.3±0.09
Diazinon	94.6±0.23	96.0±0.17	95.6±0.25
Dimethoate	89.1±0.02	84.3±0.21	73.3±0.33
Chlorpyrifos-methyl	87.7±0.15	84.1±0.08	82.6±0.30
Pirimiphos-methyl	94.3±0.01	89.6±0.16	91.4±0.21
Parathion	95.2±0.06	93.0±0.22	94.7±0.24
Fenthion	92.1±0.55	95.3±0.08	96.2±0.17
Chlorpyrifos	97.5±0.23	94.3±0.31	94.0±0.11
Procymidone	92.9±0.38	91.1±0.34	89.9±0.27
Phenthroate	93.1±0.23	88.1±0.19	92.6±0.18
Methidathion	97.8±0.12	93.7±0.17	94.4±0.15
Ethion	95.4±0.09	91.4±0.22	95.0±0.10
Carbophenothion	99.6±0.56	95.6±0.14	96.1±0.22
EPN	98.4±0.22	93.3±0.09	94.7±0.25
Phosalone	97.5±0.26	94.9±0.07	94.3±0.28
Azinphos-methyl	102.2±0.78	96.3±0.21	95.7±0.29
α-BHC	81.2±0.17	82.6±0.10	84.1±0.07
β-BHC	92.3±0.72	85.9±0.03	89.8±0.26
γ-BHC	96.7±0.48	93.2±0.54	94.4±0.18
Chlortharonil	78.9±0.38	74.2±0.12	75.0±0.17
Heptachlor	82.3±0.17	86.0±0.07	90.1±0.16
Aldrin	87.5±0.35	87.3±0.10	92.6±0.17
Captan	93.2±0.18	78.6±0.14	79.9±0.21
Folpet	94.4±0.11	72.7±0.27	76.6±0.44
α-Endosulfan	94.1±0.20	89.0±0.08	92.7±0.26
β-Endosulfan	97.9±0.32	90.9±0.21	96.5±0.25
2,4-DDT	86.3±0.19	91.4±0.10	93.1±0.11
Endosulfan sulfate	96.4±0.25	89.7±0.27	92.4±0.07
Tetradifon	91.0±0.96	93.2±0.24	90.0±0.50
λ-Cyhalothrin	92.0±0.13	76.6±0.10	88.7±0.13
Pemethrin	89.7±0.19	84.2±0.06	85.1±0.03
Cypermethrin	88.2±0.12	79.6±0.10	83.3±0.07
Fluvalinate	92.3±0.09	84.8±0.22	86.0±0.44
Deltamethrin	94.8±0.32	87.7±0.30	89.3±0.34
{Oxamyl	89.7±0.03	87.9±0.09	86.1±0.83
Methomyl	91.0±0.56	89.1±0.07	89.8±0.39
Aldicarb	84.1±0.01	92.4±0.10	86.3±0.06
Carbofuran	90.6±0.41	95.1±0.22	96.6±0.12
Carbaryl	87.3±0.32	89.7±0.05	83.2±0.18
Methiocarb	99.6±0.28	93.5±0.17	95.4±0.07
Average (%)	91.3	88.1	89.0

* : All the pesticides used are significantly different ($p<0.01$) in three analytical methods except for chlorpyrifos-methyl and chlorpyrifos.

Table 5. Summary of three type of methods

	Korean Food Code method	CDFA's method	Holstege's method
Step required	9	5	5
Solvent used (ml)	350 ~ 450	125 ~ 150	130 ~ 150
Total time elapsed (min)	150 ~ 210	60 ~ 90	60 ~ 90

었다.

이상의 研究 結果 우리나라의 農產物에 대한 殘留農藥

分析法 역시 農產物이 지니는 시간적 제한성과 유통상의 특성을 고려해 볼 때, 보다迅速하고 經濟性이 고려된 分析法의 開發과 適用이 절실히 요구된다.

참 고 문 헌

- 농약공업협회 (1992), 농약 - 世論과 正論, 44-47
- 농약공업협회 (1994), 농약 - 역할과 안전성

3. 농약공업협회 (1991), 농약의 독성시험과 그 의미. 농약과 식물보호, 12(3)
4. 보건복지부 (1997), 식품공전. 식품 등의 기준 및 규격 개정 주요 사항 일람표. 3-11
5. 보건복지부 고시 제1996 - 74호 (1996년 12월 5일자)
6. Joe T., Multi-residue pesticide screens, California Department of Food and Agriculture, Division of Inspection Services, Chemistry Laboratory Services Branch, Pesticide Residue Program
7. Dirk M. Holstege, David L. Scharberg, Elizabeth R. Tor, Laura C. Hart, and Francis D. Galey (1994), J. Assoc. Off. Anal Chem., 77(5): 1263-1274
8. Ministry of Health and Welfare(1997). Food Cook, Separate Volume 111-246
9. Ministry of Health and Welfare(1996). '95 National Nutrition Survey Report. Namhyung Culture Co., Seoul
10. Kenneth, H. (1990), Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed., Virginia
11. Luke MA, Froberg JE, Doose GM, Masumoto HT. (1981), J. Assoc. Off. Anal Chem., 64, 1187-1195
12. Mills PA, Onley JH, Gaither RA. (1963), J. Assoc. Off. Anal Chem., 46, 186-191
13. S. Mark Lee, Michel L. Papathakis, Hsiao-Ming C. Ferg, Gary F. Hunter, and Joyce E. Carr, Fresenius (1991), J Anal Chem, 339, 376-383