

GC-MS/MS를 이용한 잔류농약 신속검사법 개발

최용훈 · 윤상현* · 남혜선 · 홍혜미¹ · 이진하 · 채갑용² · 이종옥³ · 김희연

경인지방식품의약품안전청 시험분석팀, ¹인하대학교 식품영양학과, ²부산지방식품의약품안전청 시험분석팀, ³식품의약품안전청 식품오염물질팀

요약 : 206종의 농약성분을 신속하게 분석하기 위한 가스크로마토그래피-질량분석기 이용방법을 최적화 하였다. Wide-bore 컬럼을 채택함으로써 기존의 캐필러리 컬럼을 이용할 때에 비해 분리능을 비슷하게 유지하면서도 분석시간이 1/2이상 단축되고, 감도는 더욱 개선되었다. 시료의 성분이 복잡하고 분석 대상 농약이 많은 경우에도, EI와 CI 스크리닝 결과를 비교함으로써 방해물질에 의한 허위정보(False Positive)를 상쇄할 수 있었다. 허위정보에 대한 위험이 적어지면서 시험용액의 정제를 간소화 할 수 있어 전체적인 분석과정을 간소화 할 수 있었다. 또한 검출이 예상되는 성분만 대해서만 확인실험을 함으로써 검사시간을 절약하고 검사의 정확도를 향상시킬 수 있었다. (2005년 8월 9일 접수, 2005년 12월 20일 수리)

key words : 기체크로마토그래프-질량분석기, Wide-bore 컬럼, 잔류농약.

서 론

오늘날 농약의 사용은 농업의 생산성을 높이기 위한 필수적 요소의 하나이다. 하지만 농약의 인체에 대한 독성 때문에 올바른 사용이 매우 중요하다. 세계적으로 수백 종의 농약이 사용되고 농산물의 국가간 무역이 활발한 현 시점에서, 우리나라 및 미 환경부(EPA)를 비롯한 각국의 정부와 FAO (Food and Agriculture Organization)등 국제기구에서는 식품위생과 안전의 관점에서 이들 농약의 식이섭취를 최소화하기 위한 잔류농약 허용기준을 설정하고 있다 (FAO, 1993; 식품의약품안전청, 2005). 허용기준에의 적합 여부를 신속하게 확인하기 위해서는 빠르고, 정확하고, 정밀한 스크리닝 및 분석 방법이 필수적이며, 여러 방법 중 크로마토그래피를 이용한 분석은 농산물중의 미량 잔류농약을 검사하기 위한 대표적인 분석기술이다.

그 중에도 캐필러리 GC를 이용한 분석기술이 많이 사용되고 있는데 캐필러리 GC를 이용한 분석법은 좋은 분리능을 가지며, 분석시간이 빠르고, electron capture detector(ECD), nitrogen phosphorous detector (NPD), flame photometric detector(FPD) 등 잔류농약의 분석에 적합한 다양한 검출기를 장착할 수 있어 대부분의 농약분석에 다양하게 응용되어 이용되고 있다

(Torres등, 1996). 그러나 이러한 GC 분석방법은 대상 농약성분에 따라 분석방법과 검출장치가 모두 다르고 노력과 비용 및 시간이 많이 소요되므로, 식품에 함유된 불특정 농약성분을 대상으로 하는 무작위 검사를 수행하기에는 적절하지 않다. 또, 다성분 농약을 동시에 검사할 때에는 머무름시간이 비슷한 물질이 있을 경우, 분리능이 떨어지고, 머무름시간의 편차가 심해지는 등의 여러 가지 문제가 나타나기도 하며, 시료에서 유래한 간섭물질에 의한 허위결과(false positive)를 줄이기 위해 복잡한 추출과 정제과정을 거쳐야 하는 어려움도 있다 (Martinez등, 2002). 이를 극복하기 위한 방법의 하나로 GC와 질량분석기(Mass Spectrometer, MS)를 조합하여 사용하는 방법이 있는데, 이 방법을 사용하면 복잡한 시험용액도 한번의 분석으로 스크리닝과 확인까지 할 수 있어 기존의 검출기에 비하여 매우 효율적이다 (Lehotay등, 1995). 질량검출기를 이용시 Full Scan 모드를 사용하면 간섭물질의 농도가 클 때 검출한계가 좋지 않은 것이 단점이다. 반면, 감도와 선택성을 높이기 위해 Selected Ion Monitoring(SIM)을 사용할 경우 Full Scan Mode에 비해 정성에 대한 정보를 거의 얻을 수 없으므로 간섭물질에 의한 False Positive가 나타날 위험이 매우 크다 (Arrebola등, 1999; Chuang등, 2001). 이에 대한 대안으로 정성정보를 잃지 않으면서도 선택성과 감도를 높일 수 있는 tandem mass spectrometry (MS-MS)

*연락처

기법이 제시되었다 (Lehotay 등, 1995; Gamon 등, 2001; Martinez 등, 2002; Arrebola 등, 2003a). 하지만 MS-MS는 분석물질마다 별도의 조건이 주어져야 하므로, 동시에 분석할 수 있는 한계가 5~6개 항목 이하로 제한된다 (Martinez 등, 2002).

우리나라의 식품공전에 등록된 농약의 수는 모두 370종이고 농산물 통관시 검사가 필요한 일반공통규격 농약의 수도 225종에 달한다. 이중 GC를 이용한 검사대상 농약의 수는 190여종에 이르며 일반공통규격에는 속하지 않지만 정밀검사 대상이 되는 농약성분까지 합산할 경우 200여종이 넘는다. 이들 농약성분들을 각각의 특성에 맞는 분석장비와 분석조건을 찾아 개개 성분별로 나누어 분석하는 것은 현실적으로 매우 힘들고 많은 시간을 필요로 한다. 따라서 동시분석에 관한 분석법들이 계속 개발되어 왔으며 동시분석이 가능한 대상 농약의 수도 계속 증가되어 왔다.

Schachterle 등(1996)은 1회의 MS-MS 분석으로 50~60종의 농약을 스크리닝 하였다. Gamon 등 (2001)은 2회의 분석으로 80~100종의 농약을 스크리닝 하였는데, 이때 1회는 Electron Ionization(EI) 모드로, 또 다른 1회는 Chemical Ionization(CI) 모드로 하였다. 1회의 MS-MS분석에 EI 모드와 CI 모드를 함께 사용함으로써 80여종의 농약을 스크리닝한 예도 있지만 이 경우 EI 모드와 CI 모드를 번갈아 사용하였고 각 물질의 머무름시간 겹침을 최소화해야 되었으므로 분석시간이 70여분 정도로 매우 길어졌다 (Arrebola 등, 2003b).

이러한 방법들은 200여종에 이르는 농약 성분을 검사해야 하는 우리의 상황에 적용하기에는 아직 부족한 점이 많다. 따라서 하루 수십건에 이르는 검사물량과 중국을 비롯한 외국으로부터의 농산물 수입이 급증하고 있는 현실까지 감안할 때 좀더 신속하고 효율적인 분석을 통해 빠르고 정확하게 농약을 검사할 수 있는 방법의 개발이 시급히 필요한 실정이다.

본 연구는 MS-MS가 아닌 single MS를 스크리닝에 채택하고 각기 다른 조건(EI와 CI)으로 스크리닝한 결과를 비교함으로써, 스펙트럼이 유사한 물질에 의한 위험·정성을 피하고 검출이 의심되는 물질에 대해서만 MS-MS에 의한 확인 및 정량에 착수함으로써 분석시간을 최대한 단축하고자 하였으며, Restrictor가 장착된 Wide-Bore 컬럼을 사용함으로써 농약성분의 용출시간을 최대한 단축시켜 1회 분석시간을 15분 이내로 단축하는 것을 목표로 하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기구

추출을 위한 시약으로는 acetone (Fisher scientific, Korea), dichloromethane (RA grade, Merck, Germany), petroleum ether (RA grade, Merck, Germany), sodium sulfate anhydrous (GR grade, Duksan, Korea) 그리고 sodium chloride (GR grade, Duksan, Korea)를 사용하였으며 감압농축기 (VV2011, Heidoph, Germany)를 이용하여 농축하였다. 농산물의 수입시 검사가 필요한 대상 농약중 GC-MS에서 분석이 가능한 206종의 농약 (Table 1)을 대상으로 하였고, 농약 표준품은 순도가 확인된 Chem Service, Inc.(USA), Dr. Ehrenstorfer GmbH(Germany) 또는 AccuStandard(USA)의 제품을 사용하였다.

2. 표준용액의 조제

표준원액 및 표준용액은 각각의 농약 표준품을 1000 ppm이 되도록 acetone에 녹여 표준원액으로 조제하고, 이 표준원액을 농도가 10 ppm이 되도록 정밀히 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 혼합표준용액은 머무름시간이 유사한 농약성분들이 같은 그룹에 속하지 않도록 7개의 그룹으로 분류하여 크로마토그램의 성분피크가 서로 겹치지 않도록 하였으며 (Table 1) 각 농약성분의 농도가 10 ppm이 되도록 혼합하여 사용하였다. 수입농산물의 무작위 검사대상 농약 225 항목 중 검출빈도가 높아 정밀검사 항목으로 지정되어있는 53개 항목중 LC검사항목 4개를 제외한 49개 항목을 선별한 후 최종 농도가 10 ppm이 되도록 혼합하여 스크리닝 테스트를 위한 혼합표준용액으로 사용하였다.

3. Reference library 구축 및 GC-MS data 해석

7가지 조합으로 나뉘어 혼합된 혼합표준용액을 각각 injection 후, Raw Ion Chromatogram(RIC)에서의 머무름시간과 각 표준 농약성분 피크의 mass spectrum을 이용하여 총 206종 농약성분에 대해 EI와 CI에 대한 reference library를 구축하였다. Reference library 구축에는 Varian(USA)사에서 제공한 Saturn GC/MS Workstation (Ver. 5.52) 프로그램을 이용하였다. 시료의 mass spectrum 분석은 소프트웨어에서 제공하는 자동검색 기능을 사용하였다. 206종의 농약에 대해 대상 농약마다 전체 분석시간의 모든 스펙트럼을 비교하여 해석하기에는 너무 많은 시간이 소모되므로, 각

농약성분의 표준 머무름시간 \pm 0.2분 구간내에 reference mass spectrum과 70%(EI의 경우) 또는 90%(CI의 경우) 이상 일치하는 spectrum이 존재하는지를 자동으로 검색하여 보고하도록 하여 15분 이내에 206항목에 대한 spectrum 분석을 모두 마칠 수 있도록 하였다. EI의 경우에는 5개의 주이온을, CI의 경우에도 M+1 이온 이외의 이온을 2~5개까지를 선정해 각 이온별 spectrum 비율을 보고하도록 하여 추가적인 정성자료로 활용 하였다.

4. 시료의 전처리

농약이 검출되지 않은 것으로 확인된 옥수수 플레이크를 푸드믹서(FM-681C, Hanil, Korea)를 이용하여 곱게 분쇄하였다. 균질한 시료 40 g을 40 mL의 물과 섞어 1시간 방치 후, acetone 100 mL과 섞어 3분간 격렬히 진탕하고 여과하여 아세톤을 분리하였다. 분리된 아세톤을 분액여두에 옮겨 petroleum ether 50 mL, dichloromethane 50 mL, 포화식염수 20 mL, 10 ppm으로 희석된 fenitrothion 표준용액 200 μ L을 넣어 진탕하고 수용액층을 버린 후, 유기용액층을 무수의 Sodium sulfate로 탈수 및 여과하였다. 여과된 유기용액층을 35~40°C의 감압농축기에서 감압농축하고 acetone에 녹여 최종 부피가 1mL가 되도록 하였다.

5. 기기분석 조건

가. GC

분석에 사용된 GC는 CP8400 autosampler와 CP1177 injector가 장착된 CP3800(Varian, USA) 모델을 사용하였고 분석용 컬럼은 CP 8132 Rapid-MS 컬럼 (10m \times 0.53 mm, DF 0.25 μ m, 5%-Ph/95%-MeSi, Wide-Bore, Varian, USA)을 사용하였다. Wide-Bore 컬럼을 사용하면서도 진공($\approx 10^{-5}$ torr)을 유지하기 위하여 GC의 주입구와 컬럼 사이에 Restrictor (Narrow Bore Fused Silica Tubing, 0.6 m \times 0.1 mm, Varian, USA)를 사용하였다. 주입구 온도는 280°C, 주입량은 1 μ L(Split ratio 20:1)로 하였으며 이동상으로는 Helium(99.9995+)을 사용하였고 유속은 분당 1.2 mL로 하였다. 오븐 온도는 60°C에서 1분 30초 동안 유지하고 280°C까지 분당 18°C의 속도로 승온한 후 1분간 등온시키는 조건을 사용하였다.

나. Mass Spectrometric Detector

Mass Spectrometric Detector(MS)는 Varian(USA)사의 Saturn2200모델을 사용하였다. Ion trap, manifold,

transfer line의 온도는 각각 230°C, 120°C, 220°C로 하였으며, 많은 스펙트럼 데이터의 해석을 용이하게 하기 위하여 CI와 EI기법을 함께 사용하였다. CI를 위한 reagent gas로는 acetonitrile(J.T. Baker, USA)을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 크로마토그래피 조건

GC를 이용한 일반적인 잔류농약분석 조건(30분~70분)에 비해 비슷한 분리능을 유지하면서도 분석시간을 1/2~1/5로 단축하였다(Fig. 1).

피크폭($W_{1/2}$)이 0.05분 정도로 좁아지고, 이에 따라 피크의 높이는 높아졌다. 일반적으로 고온에서 피크가 나타나면서 피크의 모양이 좋지 않았던 농약들은 피크의 형태가 더욱 개선되었다.

Wide-Bore 컬럼을 진공상태에서 사용할 경우에는 이동상기체를 같은 유속(Mass Flow Rate)으로 흘리더라도 선속도(Linear Velocity)가 매우 빨라진다(Zeeuw 등, 2000). 따라서 진공에서 분당 1 mL의 유속으로 흘리더라도 일반적인 GC에서 분당 5~10 mL의 유속으로 흘릴 때와 비슷한 머무름 시간과 분리능, 그리고 높은 감도를 얻을 수 있었다.

일반적으로 GC-MS에서는 질량검출기의 진공상태를 유지하기 위해 Wide-bore 컬럼을 적용하기 힘들지만, 이번 실험에서는 restrictor가 장착된 Wide-Bore 컬럼을 사용함으로써 1회 분석시간을 15분 이내로 단축할 수 있었다

2. 스크리닝 (EI-MS, CI-MS)

정밀검사대상 농약 49개 항목의 혼합표준액 1 μ L를 직접 주입하는 방법으로 스크리닝 능력을 테스트 하였다. 이성질체를 포함한 총 58개 성분 모두가 정성적으로 확인되었으며 정성에 실패한 성분은 없었다. 머무름시간이 거의 일치하는 procimidone(185)과 folpet(179), 그리고 4,4-DDD(12b)와 2,4-DDT(13a)도 주이온 검색을 통한 정성작업을 통해 모두 확인이 가능하였다(Fig. 2).

총 58 성분중 mass spectrum이 90%이상 일치하고 주이온의 상대적 비율이 $\pm 10\%$ 범위 내에서 확인된 성분이 24항목인 반면, mass spectrum이 70~90% 일치하고 주이온의 상대적 비율이 $\pm 20\%$ 범위내에서 확인된 성분이 34항목으로서 머무름시간 중첩에 의해서로 간에 간섭효과를 주고 있는 것으로 판단된다.

Table 1. Classification of standards based on the retention time

No. ^(a)	Group	Pesticide	RT	No.	Group	Pesticide	RT
39	1	methamidophos	3.279	174	3	formothion	7.394
21	2	dichlorvos	3.446	265	5	dimethenamid	7.457
24	3	dichlobenil	4.079	177	3	phosphamidone	7.488
34	5	mevinphos	4.832	132	1	chlorpyrifos methyl	7.515
73	3	acephate	4.844	187	2	propanil	7.528
6	1	nitrapyrin	4.846	72	4	acetochlor	7.535
269	4	metolcarb	5.031	44	3	metribuzin	7.551
272	3	molinate	5.491	202a	6	heptachlor	7.587
104	5	isoprocarb	5.534	139	4	tolclofos-methyl	7.588
136	6	tecnazene	5.777	155	1	parathion-methyl	7.589
93	1	omethoate	5.837	62	5	vinclozolin	7.590
216	2	fenobucarb	5.974	78	2	alachlor	7.618
191	3	propoxur	5.997	111	3	carbaryl	7.655
27	4	diphenylamine	6.055	38	4	metalaxyl	7.723
224	1	cymoxanil	6.056	184	5	prometryn	7.775
86	5	ethoprophos	6.134	120c	7	methyl pentachlorophenylsulfide	7.809
84	2	ethalfluralin	6.300	266	1	dithiopyr	7.813
130	1	chlorpropham	6.306	162	5	fenitrothion	7.882
52	3	bendiocarb	6.408	196	2	pirimiphos-methyl	7.892
148	1	trifluralin	6.415	134	3	terbutryn	7.896
110	4	cadusafos	6.439	304	1	probenazole	7.898
58a	6	BHC,alpha-	6.449	36	4	methiocarb	7.906
173	5	phorate	6.464	22	5	dichlofluanid	7.910
47	2	monocrotophos	6.519	30	2	linuron	7.926
108	1	thiometon	6.575	217	3	dimethylvinphos	7.945
23	3	dicloran	6.620	250	3	esprocarb	7.948
256	4	fluoroimide	6.644	76a	6	aldrin	7.951
14	5	dimethoate	6.657	56	4	bromacil	7.962
120a	6	quintozene	6.754	40	2	metolachlor	8.000
114	2	carbofuran	6.788	178	4	phoxim	8.023
58b	7	BHC,beta-	6.789	32	5	malathion	8.035
64	4	simazine	6.802	298	3	thiazopyr	8.039
58c	6	BHC,gamma-	6.831	131	1	chlorpyrifos	8.043
222	1	mepanipyrim	6.890	168	4	fenthion	8.097
294	2	terbutylazine	6.901	153	5	parathion	8.130
135	3	terbufos	6.948	307	4	fthalide	8.149
313	5	pyroquilon	6.957	220	2	diethiofencarb	8.164
125	5	chlorothalonil	7.038	142	1	triadimefon	8.179
177	3	phosphamidone	7.076	310	3	flufenacet	8.197
8	4	diazinon	7.102	297	1	tetraconazole	8.233
15	5	disulfoton	7.137	28	4	diphenamid	8.277
58d	7	BHC,delta-	7.198	235	5	fosthiazate	8.292
289	2	isazofos	7.206	197	1	pirimiphos-ethyl	8.333
144	1	triallate	7.216	202b	6	heptachlor epoxide	8.379
88	3	etrimfos	7.261	163	3	pendimethalin	8.388
120b	6	pentachloroaniline	7.284	225	4	cyprodinil	8.395
205	4	iprobefos	7.310	169	5	penconazole	8.459
333	2	tebupirimfos	7.332	138	1	tolyfluanid	8.459
195	5	pirimicarb	7.350	103	2	isofenphos	8.502
41	1	metobromuron	7.362	118	4	captan	8.520
82	2	ethiofencarb	7.393	129	3	chlorfenvinphos	8.524

^(a) Registration number in Korea Food Code.

Table 1. (Continued)

No.	Group	Pesticide	RT	No.	Group	Pesticide	RT
170	1	phenthoate	8.555	192	5	propiconazole	9.875
322	2	dimepiperate	8.559	314	3	pyriminobac-methyl	9.897
37	5	mecarbam	8.565	199	4	hexazinone	9.931
179	4	folpet	8.574	295	2	thenylchlor	9.934
185	3	procymidone	8.582	241	1	nuarimol	9.958
141	1	triadimenol	8.605	133	3	tebuconazole	10.003
126a	7	chlordane,-trans	8.623	117	5	captafol	10.028
107	4	chinomethionat	8.631	25	4	diclofop-methyl	10.059
45	5	methidathion	8.670	189	2	propargite	10.064
149	2	triflumizole	8.677	316	1	pyributicarb	10.230
12c	7	DDE,2,4'-	8.704	258	1	pyridaphenthion	10.289
90a	6	endosulfan,alpha-	8.739	176	3	phosmet	10.290
126b	7	chlordane,-cis	8.752	106	1	EPN	10.345
156	3	paclobutrazol	8.765	57	2	bromopropylate	10.359
275	1	butachlor	8.820	274	3	benzoximate	10.372
4	2	napropamide	8.903	61	5	bifenthrin	10.414
211	5	prothiofos	8.972	19	4	dicofol	10.423
159	1	fenamiphos	8.980	43	3	methoxychlor	10.437
309	4	flutolanil	9.012	240	5	fenoxycarb	10.455
76b	6	dieldrin	9.018	251	1	etoxazole	10.479
306	1	pretilachlor	9.019	171	2	fenpropathrin	10.500
204	2	isoprothiolane	9.032	282	4	anilofos	10.520
190	3	profenofos	9.034	210	1	fenazaquin	10.532
238	5	fludioxonil	9.037	60	5	bifenox	10.541
200	3	hexaconazole	9.039	208	3	tebufenpyrad	10.545
12d	7	DDE,4,4'-	9.048	330	3	indanofan	10.551
12a	6	DDD,2,4'-	9.107	137	2	tetradifon	10.601
94	1	oxadiazon	9.131	175	1	phosalone	10.664
115	2	carboxin	9.147	75	2	azinphos-methyl	10.684
31	3	myclobutanil	9.153	300	3	pentoxazone	10.721
180	4	flusilazole	9.189	270	4	mefenacet	10.800
97	1	oxyfluorfen	9.215	279	5	cyhalofop-butyl	10.873
91	6	endrin	9.217	158	1	fenarimol	10.938
230	2	kresoxim-methyl	9.237	68	2	cyhalothrin	10.967
226	3	cyproconazole	9.263	193	3	pyrazophos	11.021
206	4	chlorfenapyr	9.286	285	5	acrinathrin	11.114
340	5	fenoxanil	9.327	213	3	pyraclofos	11.162
124	4	chlorbenzilate	9.412	157	3	permethrin	11.337
167	5	fensulfothion	9.449	59	2	bitertanol	11.344
314	3	pyriminobac-methyl	9.461	214	5	pyridaben	11.376
13a	7	DDT,2,4'-	9.470	186	4	prochloraz	11.412
12b	6	DDD,4,4'-	9.472	67	3	cyfluthrin	11.645
95	1	oxadixyl	9.481	119	1	quizalofop-ethyl	11.881
83	2	ethion	9.515	182	2	flucythrinate	11.922
244	3	mepronil	9.680	66	5	cypermethrin	11.985
143	1	triazophos	9.685	315	3	pyrimidifen	12.198
90c	6	endosulfan sulfate	9.741	164	4	fenvalerate	12.266
113	4	carbophenothion	9.742	181	5	fluvalinate	12.434
80	5	edifenphos	9.748	290	4	indoxacarb	12.675
5	1	norflurazon	9.802	9	2	deltamethrin	12.678
301	3	fenhexamid	9.815	234	5	fenpyroximate	12.811
13b	7	DDT,4,4'-	9.834	253	5	imibenconazole	13.094

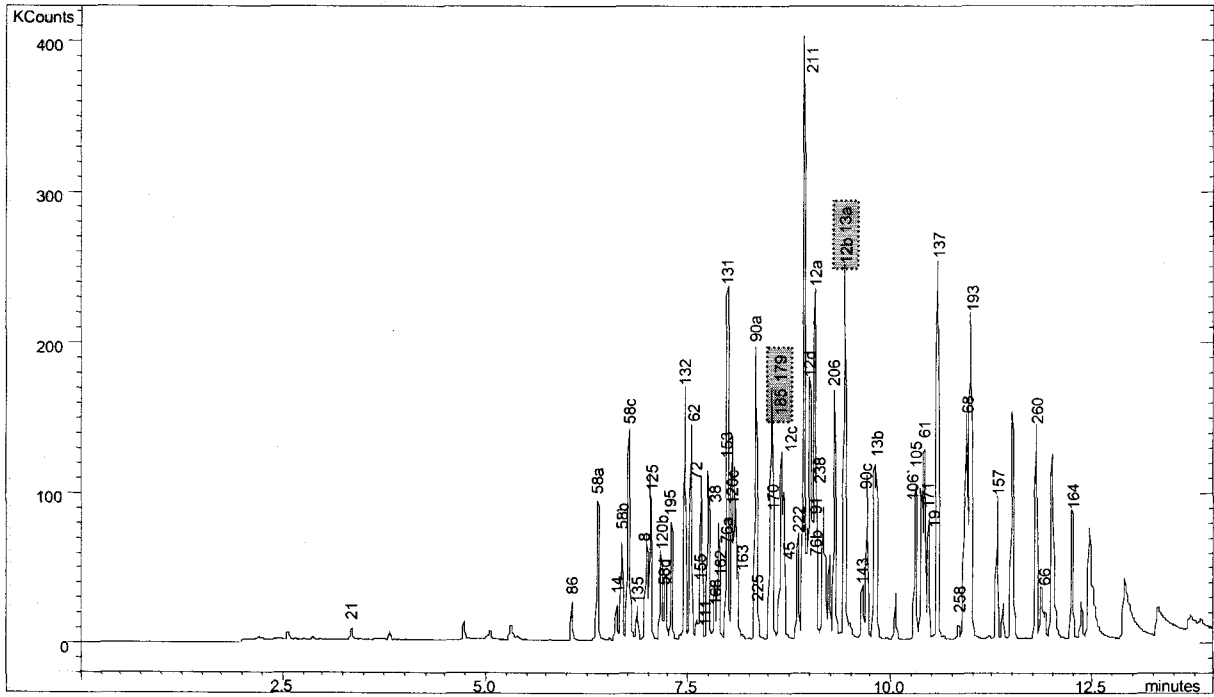


Fig.2 EI screening result of pesticides by a direct injection of standard solution containing 49 pesticides at a concentration of 10 ppm.

그러나 성분 검색시 미리 구축한 library상의 주이온 5개를 비교하여 정성작업을 하므로, procimidone과 folpet 같이 주이온이 일치하는 않는 성분은 머무름 시간이 일치하여도 정성작업에 아무런 문제가 없었으며, 4,4-DDD와 2,4-DDT 처럼 mass spectrum까지 유사한 성분이 검출된 경우에 한해서만 최종확인을 위한 별도의 확인 작업이 필요하였다. 이러한 스크리닝 작업을 통해 정밀검사가 필요한 검체의 수를 대폭 선별하여 가려낼 수 있으므로 검사의 효율성과 신속성에 크게 기여할 수 있을 것으로 보인다.

또한 fenitrothion을 검체 중량기준으로 0.05 ppm이 되도록 첨가하여 매트릭스 존재 하에서의 농약 스크리닝 능력을 테스트하였다. 옥수수, 지방, 단백질, 탄수화물등이 모두 다량 함유되어 있어 불순물에 의한 간섭효과가 상대적으로 강하고, fenitrothion은 용기나 septum에서 유래된 것으로 보이는 간섭물질 피크와 머무름시간이 중첩되어 나타나므로 옥수수와 fenitrothion 조합이 매트릭스 존재하에성의 스크리닝 능력 테스트에 적합할 것으로 판단하였다. 0.05 ppm은 옥수수에 대한 fenitrothion 잔류허용 기준치의 1/100 수준으로서 스크리닝 능력을 판단하기에 충분히 낮은 수치라고 생각하였다. MS-MS가 아닌 single MS를 스크리닝에 채택함으로써, 분석물질에 대해 개별적인 MS 조건을 주지 않아도 되었기 때문에 MS

검출기의 감도에 영향을 주지 않으면서도 206종의 농약을 동시에 스크리닝할 수 있었으며, MS를 검출기로 사용하므로 머무름시간이 중첩되거나 간섭피크에 의해 가려져 있는 경우라도 검출이 예상되는 농약성분을 충분히 확인할 수 있었다 (Fig.3)

또, EI 모드만 단독으로 분석시에는 용기나 septum, 또는 검체에서 유래된 간섭피크에 의해 농약성분의 검출여부를 판단하기 어려운 경우도 있었으나 CI 모드에 의한 분석이 상호 보완적인 결과를 주어 보다 신뢰성 있는 판단을 할 수가 있었다 (Fig. 4). 예로, Fig. 3의 (b)에서는, EI 분석시 간섭물질에 의해 fenitrothion의 검출이 확인되지 못하였으나 CI 분석결과에 의해 EI 분석결과를 재검토함으로써 Fig.3 (C)의 위치에서 fenitrothion의 mass spectrum을 확인 할 수 있었다. 각기 다른 조건(EI와 CI)으로 스크리닝한 결과를 비교한 후 검출이 의심되는 물질에 대해서만 MS-MS에 의한 확인 및 정량에 착수하므로, 검정에 소요되는 검사시간이 획기적으로 감소하였다. 대부분의 경우, 확인조건에서는 분석 대상물질이 200여종에서 0-3개로 줄어들게 되므로 확인대상 농약성분의 머무름시간이 겹치는 경우는 거의 발생되지 않을 것으로 예상된다. EI는 분자구조에 대한 정보를 얻을 수 있고 스펙트럼 라이브러리를 검색할 수 있는 장점이 있는 반면, 스펙트럼이 복잡하여 다른 물질과 피크가

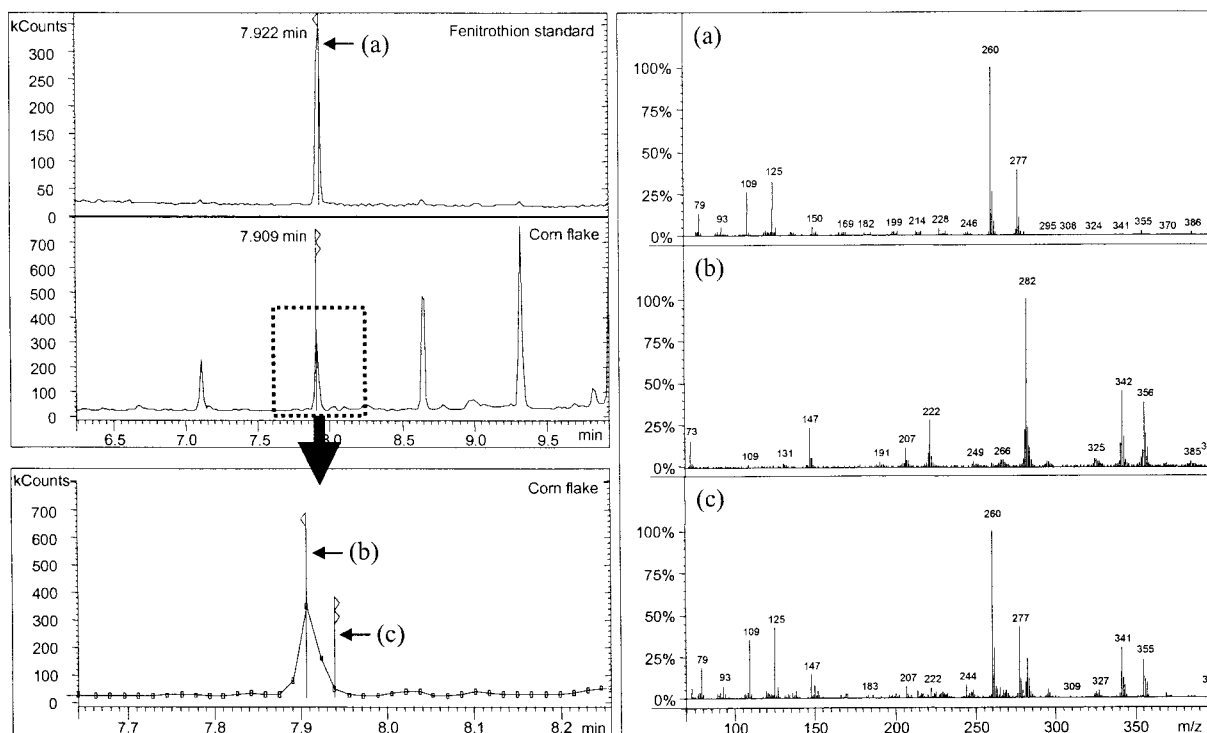


Fig.3 Raw ion chromatogram and EI-mass spectra of reference(a) and sample(b,c). Mass spectrum of fenitrothion was mainly overlapped with that of contaminant(b), but could be shown at the rear part of the peak(c).

겹칠 경우 스펙트럼해석이 힘들어진다.

CI는 스펙트럼이 단순하여 피크가 겹치더라도 해석이 용이하나, 분자량이 같은 물질이 머무름시간까지 겹칠 경우 분석이 불가능하며 분자구조에 대한 정보는 얻을 수 없다 (Schachterle 등, 1994). 시험용액은 대부분 다양하고 복잡한 불순물이 포함되어 있고 분석 대상물질도 많기 때문에, EI나 CI 모두 개별적인 분석결과는 허위정보를 주는 경우가 많지만 (Arrebola 등, 2003b) EI와 CI가 모두 허위정보를 주는 경우는 거의

없었다.

따라서, 머무름시간이 정확히 중첩되고 mass spectrum까지 유사한 2종이상의 농약이 동시에 잔류하는 특수한 경우를 제외한다면, EI와 CI 스크리닝만으로도 농약 검출 여부를 대부분 판명할 수 있다. 따라서, 농약이 잔류하지 않는 것으로 판명되는 검체에 대한 정밀 확인작업이 생략되어 검사 수용능력과 검사의 신속성 증대에 매우 유용할 방법이 될 것으로 사료된다.

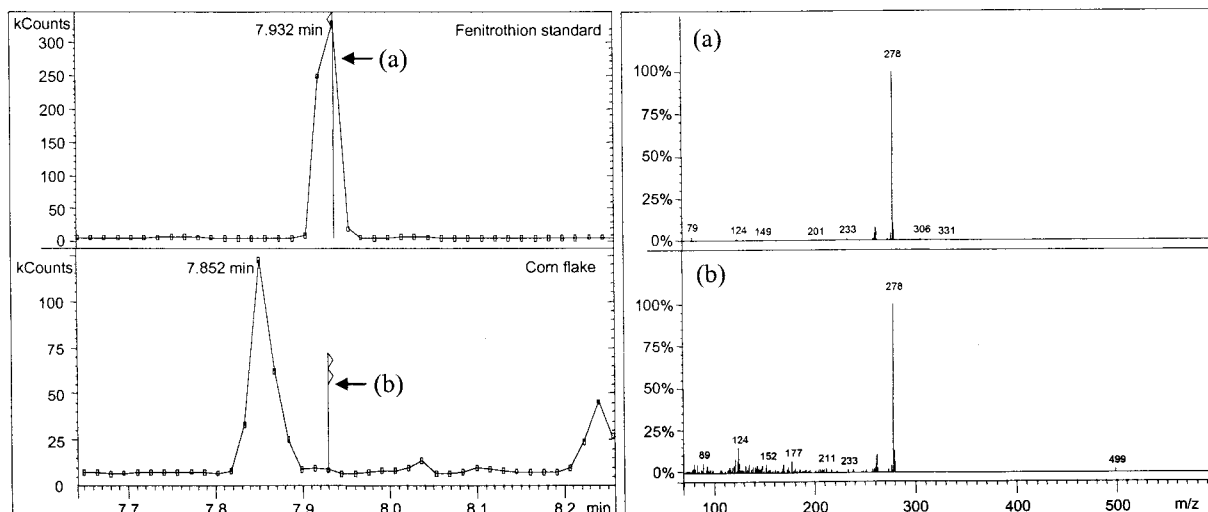


Fig.4 CI chromatogram and CI-MS spectra of reference(a) and sample(b).

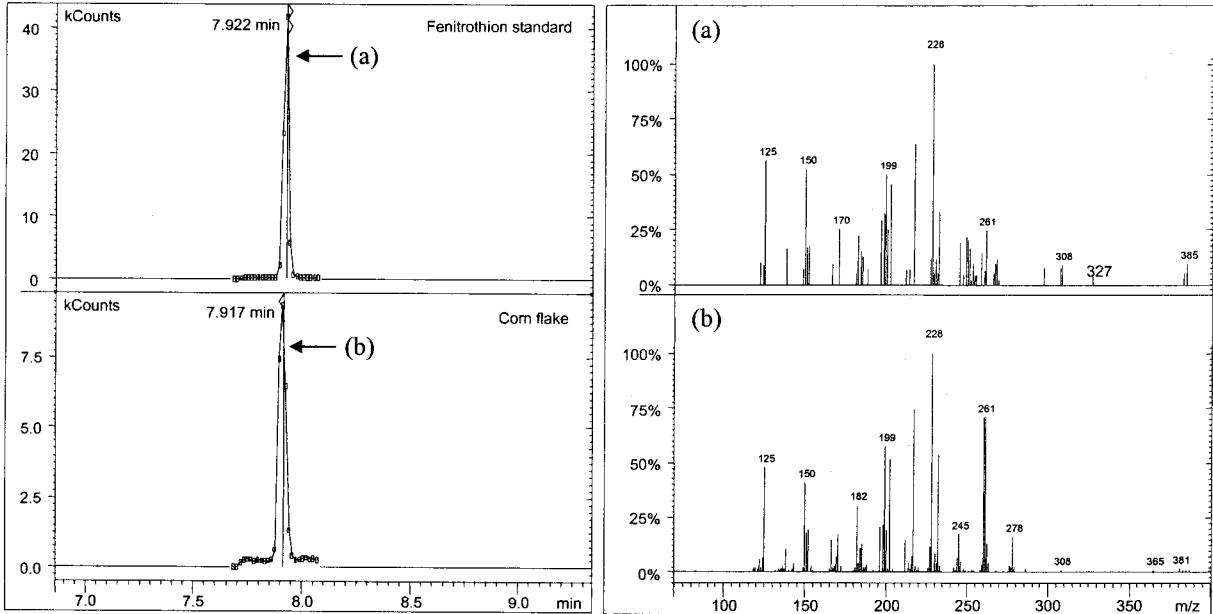


Fig.5 Confirmation of fenitrothion through the comparison of EI-MS-MS spectrum of reference(a) and sample(b). Selected parent ion was 260.

3. 확인시험 (MS-MS)

스크리닝에서 검출이 확인된 fenitrothion을 대상으로 MS-MS 분석시 나타날 수 있는 방해물질의 영향을 확인하였다. 아세톤으로 추출 후 petroleum ether와 dichloromethane 및 포화식염수 혼합액으로 1회 분액 정제한 외에 별도의 정제과정을 거치지 않았음에도 불구하고 MS-MS에 의한 확인작업에는 아무런 문제가 없었다. EI-MS-MS와 CI-MS-MS에서 모두 방해물질 간섭의 영향을 받지 않고 효과적으로 농약성분을 확인 할 수 있었다 (Fig. 5, Fig. 6).

대부분의 농약검사시 추출액의 정제과정이 매우 복잡하고 상당한 노력이 필요한 점을 감안할 때, 별도의 정제과정 없이도 스크리닝 및 확인작업을 할 수 있으므로 잔류농약 검사의 신속성에 크게 기여할 수 있을 것으로 예상된다.

앞으로 신속검사법의 정량성에 대한 실험이 추가로 진행되어 신속분석법의 정량성이 확보된다면 잔류농약검사의 수용능력과 신속성이 크게 향상될 것으로 기대된다.

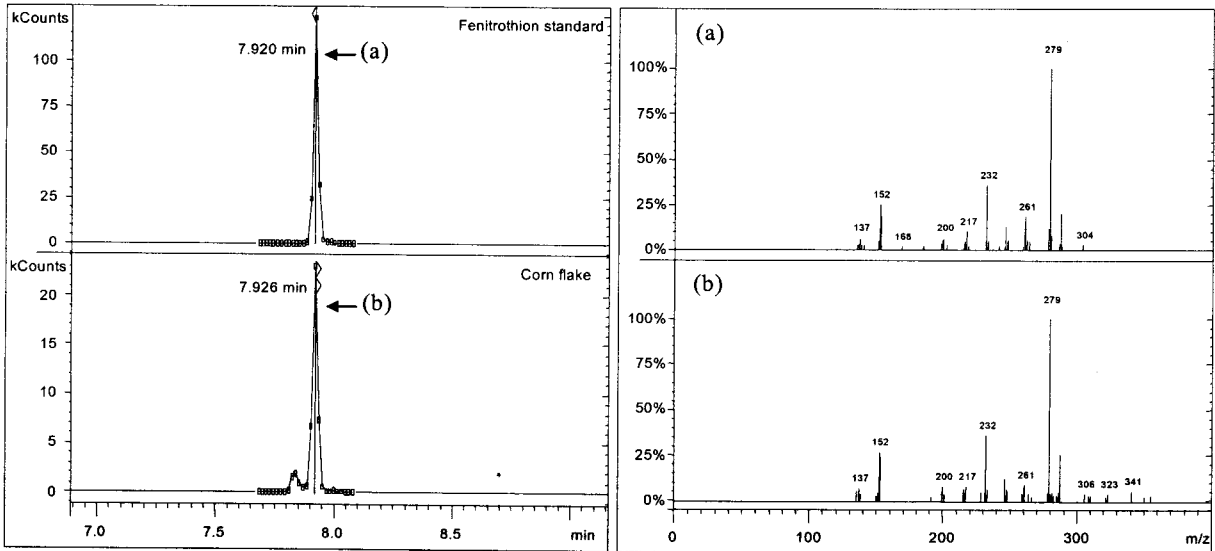


Fig.6 Confirmation of fenitrothion through the comparison of CI-MS-MS spectrum of sample(b) and reference(a). Selected parent ion was 278.

인용문헌

- Arrebola, F.J., J.L. Martinez-Vidal, A. Fernandez-Gutierrez and M.H. Akhtar (1999) Monitoring of pyrethroid metabolites in human urine using solid-phase extraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Vhemica Acta* 401:45~54.
- Arrebola, F.J., J.L. Martinez Vidal, M.J. Gonzalez-Rodriguez, A. Garrido-Frenich and N. S. Morito (2003a) Reduction of analysis time in gas chromatography : Application of low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry to the determination of pesticide residues in vegetables. *J. Chromatogr. A* 1005:131~141.
- Arrebola, F.J., J.L. Martinez Vidal, M. Mateu-Sanchez and F.J. Alvarez-Castellon (2003b) Determination of 81 muticlass pesticides in fresh foodstuffs by a single injection analysis using gas chromatography- chemical ionization and electron ionization tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 484: 167~180.
- Chuang, J.C., K. Hart, J.S. Chang, L.E. Boman, J.M. Van Emon and A. W. Reed (2001) Evaluation of analytical methods for determination pesticides in baby foods and sdults duplicate-diet samples. *Analytica Chimica Acta* 444:87~95.
- FAO (1993) Pesticide Residues in Food. Codex Alimentarius, vol.2 (suppl. 1), FAO, Rome/WHO, Geneva.
- Gamon, M., C. Lleo, A Ten and F. Mocholi (2001) Multiresidue Determination of Pesticides in Fruit and Vegetables by Gas Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 84:1209~1216.
- Lehotay,S.J., N. Aharonson, E. Pfeil and M.A. Ibrahim (1995) Supercritical fluid extraction and gas chromatography / ion trap mass spectrometry of pentachloronitribenzene pesticides in vegetable. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 78:445~452.
- Martinez Vidal, J.L., F. J. Arrebola, M. Mateu-Sanchez (2002) Application to routine analysis of a method to determine multiclass pesticide residues in fresh vegetables by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* 16:1106~1115
- Martinez Vidal, J.L., F.J. Arrebola and M. Mateu-Sanchez (2002) Application of gas chromatography-tandem mass spectrometry to the analysis of pesticide in fruit and vegetable. *J. Chromatogr. A* 959:203~213.
- Schachterle, S. and C. Feigel (1996) Pesticide residue analysis in fresh produce by gas chromatography-tandem spectrometry. *J. Chromatogr. A* 754:411~422.
- Schachterle, S., R.D. Brittain and J.D. Mills (1994) Analysis of pesticide residues in food using gas chromatography-tandem mass spectrometry with a benchtop ion trap mass spectrometer. *J. Chromatogr. A* 684:185~193.
- Torres, C.M., Y. Pico and J. Manes (1996) Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. *J. Chromatogr. A* 754:301~331.
- Zeeuw, J., J. Peene, H.G. Jansen and X. Lou (2000) A simple way to speed up separations by GC-MS using short 0.53mm columns and vacuum outlet conditions. *J. High Resol. Chromatogr.* 23:1~4
- 식품의약품안전청 (2005) 농산물의 농약 잔류허용기준, 식품공전, pp.70~141, 식품의약품안전청, 한국.

Development of Rapid Analysis Method for Pesticide Residues by GC-MS/MS

Yong-Hoon Choi, Sang-Hyeon Yoon^{*}, Hye-Seon Nam, Hye-Mi Hong¹, Jin-Ha Lee, Kab-Ryong Chae², Jong-Ok Lee³ and Hee-Yun Kim(*Testing and Analysis Team, Gyeongin Regional Office, Korea Food and Drug Administration, ¹Department of Food and Nutrition, Inha University, ²Testing and Analysis Team, Busan Regional Office, Korea Food and Drug Administration, ³Food Contaminants Team, Korea Food and Drug Administration*)

Abstract : Condition of Ion-Trap gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) for rapid screening of 206-pesticides residues in agricultural foodstuffs was optimized. As applying a wide-bore column (10 m X 0.53 mm, DF 0.25 μ m) connected with a fused silica restrictor (0.6 m X 0.1 mm), a significant retention time reduction was obtained. Additionally, the shape of peaks was sharper and higher than classical GC's and GC-MS's, which allowed lower detection limits. To easily manage many spectral data, both of Electron Ionization(EI) and Chemical Ionization(CI) techniques were adopted in screening procedure. At the following steps, MS-MS technique were used to confirm screened analytes in complicated matrices.

Key words : GC-MS, Wide-bore column, Pesticide residues.

*Corresponding author (Fax : +82-32-442-4622, E-mail : xanga@hanmail.net)