

농산물 중 Bifenazate의 분석법 개선 및 모니터링

박은희* · 고명진 · 조명식 · 김영선¹ · 이진하

광주지방식품의약품안전청, ¹서울지방식품의약품안전청

(2010년 1월 28일 접수, 2010년 2월 12일 수리)

Development of Analytical Method and Monitoring for Bifenazate in Commercial Agricultural Products

Eun-Heui Park*, Myoung-Jin Go, Myong Shik Cho, Young-Sun Kim¹ and Jin-Ha Lee

Gwangju Regional Korea Food and Drug Administration, ¹Seoul Regional Korea Food and Drug Administration

Abstract

The analytical method for bifenazate was developed using a HPLC (UVD). Also, analytical condition of LC/MS was set up for bifenazate. We validated the method for the precision and the reproducibility. The correlation coefficient of bifenazate ranged from 0.05 to 2.5 mg/kg was 1.0. Limit of quantitation (LOQ) was 0.01 mg/kg. To measure recoveries from agricultural products such as foxtail millet (cereal grains), kidney bean (beans), orange (fruits), perilla leaves (vegetables) and oak mushroom (mushrooms), bifenazate was spiked. Mean recoveries of bifenazate for each sample were 82.7~104.1% at the level of 0.1 mg/kg and 73.1~104.3% at the level of 0.5 mg/kg. The relative standard deviations (n=3) were 0.2~9.7%. Pesticide residues for bifenazate were investigated in 16 commodities (rice, foxtail millet, buckwheat, kidney bean, peanut, sesame, orange, grapefruit, kiwifruit, spinach, perilla leaves, leek, garlic stem, garlic, ginger and oak mushroom) collected from 22 provinces in 2009. Bifenazate was analyzed using analytical method by HPLC from 304 samples, and residue was not detected.

Key words bifenazate, pesticides, monitoring, LC/MS

서 론

전 세계적으로 농약은 약 800 여종이 사용되고 있으며 우리나라에서는 2009년 12월 현재 417종이 등록되어 사용되고 있다. 농약은 농산물의 재배과정 뿐만 아니라 유통 및 저장을 위하여 사용되고 있어 소비자들의 불안과 염려가 증가되고 있고, 대부분 화학합성품으로 오남용과 관리 소홀 등에 따라 환경오염으로 인한 생태계 파괴 및 농산물 중 잔류 문제가 꾸준히 제기되고 있다. 그러므로 각 국가별로 농산물에 대한 잔류

농약의 안전성을 평가하여 잔류허용기준을 설정하여 규제하고 있으며, 잔류농약을 분석하고 그 실태를 조사하고 있다.

우리나라도 국내 생산 및 수입 농산물 중 잔류농약을 분석하고, 매년 국내 유통 중인 농약의 잔류현황을 파악하여 농산물 및 식품의 잔류농약을 관리하고 있으며, 농산물 중 잔류농약 안전관리를 위하여 잔류허용기준을 설정하고 잔류농약 시험법을 매년 제·개정하고 있다.

미국 식품의약국은 1987년 아래로 농약잔류 모니터링 프로그램을 수행하여 그 결과를 보고 하였고(U.S. FDA, 2004; U.S. FDA, 2005; U.S. FDA, 2008; U.S. FDA, 2009), EU에서는 잔류농약 모니터링을 수행하여 곡류를 포함한 350종의

*연락처자 : Tel. +82-62-602-1507, Fax. +82-62-602-1440

E-mail: misoshim@korea.kr

식품 74,305품목에 대해 조사하였다(European comission, 2007; European comission, 2008). 일본의 경우에는 후생노동성을 중심으로 식품 중의 농약 안전성 여부를 조사하여 결과를 보고하고 있다(일본식품위생협회, 1999).

잔류농약 분석은 최근 기기들의 발달로 GC, LC 등 다양한 검출기를 이용한 분석법들이 많이 개발되어 있으며, GC/MSMS, LC/MSMS 등을 이용하여 정성 및 정량분석을 하고 있다(Hengel M. J. 등, 2007; Li Bo 등, 2007). 대부분의 잔류농약 분석은 비교적 빠른 시간에 여러 종의 농약을 분석할 수 있는 다성분동시분석법으로 분석하고 있으며, 이에 관한 연구 결과도 다수 보고 되고 있다(박 등, 2004; 최 등, 2008). 최근 진조 호프에서의 본 연구의 농약인 bifenazate를 포함한 11종 농약의 HPLC 및 LC/MSMS에 의한 동시분석에 관한 내용이 보고 된 바 있다(Matt J. 등, 2008).

Bifenazate의 국내외의 잔류허용기준을 살펴보면 우리나라 6품목에 대해 0.1~1.0 mg/kg로 설정되어 있으며(KFDA, 2008), Codex는 22품목에 대해 0.01~40 mg/kg로 관리하고 있다(Codex, 2009). 미국은 47품목에 대해 0.02~150 mg/kg, EU는 265품목에 대해 0.01~2.0 mg/kg이며, 일본은 48품목에 대해 0.01~25 mg/kg로 설정되어 있다(Japan Food Chemical Research Foundation, 2009).

본 연구는 bifenazate에 대한 식품공전의 단성분 시험법을

농산물에 적용되도록 개선하고, 개선된 시험법으로 국내 유통 농산물 16품목 304건의 잔류실태를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

시료의 수거는 전국을 대상으로 확률비례추출법(Sample with Probability Proportionate to Size)에 따라 지역을 선택하고, 시료의 수는 지역의 인구비례에 따라 결정하였다. 전국을 22개의 지역(서울, 부산, 인천, 대구, 대전, 광주, 울산, 수원, 성남, 고양, 부천, 용인, 청주, 전주, 제주, 천안, 창원, 포항, 구미, 진주, 원주, 여수)으로 나누고, 농산물 16품목(쌀, 조, 메밀, 강낭콩, 땅콩, 참깨, 오렌지, 자몽, 키위, 시금치, 들깻잎, 부추, 마늘쫑, 마늘, 생강, 표고버섯)을 총 304건 수거하였다. 시료는 수입산/국내산의 구분 없이 수거하였으며, 모니터링 대상 시료의 수거지역별 수거현황은 Table 1에 나타내었다. 회수율 시험을 위한 시료는 무농약 혼미, 강낭콩, 오렌지, 들깻잎, 표고버섯을 구입하여 분쇄하여 폴리에틸렌 지퍼백에 담아 -24°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시약

Bifenazate 표준품(순도 98.0%)은 Dr. Ehrenstorfer GmbH

Table 1. Number of monitored samples from the whole country

Sample	Total	Seoul	Incheon	Gyeonggi	Daejeon	Chungcheong	Gwangju	Jeolla	Jeju	Daegu	Gyeongsang	Gangwon	Busan	Ulsan
Rice	28	3	3	3	1	2	1	2	1	2	3	2	2	3
Foxtail millet	21	3	1	3	1	2	1	2	1	0	3	1	2	1
Buckwheat	14	2	1	2	1	2	0	1	1	1	2	0	0	1
Kidney bean	17	3	0	3	1	2	0	2	1	1	1	1	1	1
Peanut	9	3	0	3	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0
Sesame	17	5	1	3	1	2	1	2	0	0	1	1	0	0
Orange	22	2	2	5	1	2	1	2	1	2	2	0	1	1
Graefruit	21	2	1	5	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1
Kiwifruit	21	2	1	3	1	2	1	2	1	2	3	1	1	1
Spinach	19	3	1	3	1	2	1	2	1	1	1	1	1	1
Perilla leaves	20	3	1	3	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1
Garlic	17	3	1	3	1	2	1	2	1	1	0	1	1	0
Garlic stem	20	2	1	3	1	2	2	2	1	1	2	1	1	1
Leek	20	3	1	3	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1
Ginger	19	3	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	1
Oak mushroom	19	3	1	3	1	2	1	2	1	0	2	1	1	1
Total	304	45	17	50	15	30	15	29	14	15	29	15	15	15

사로부터 구입하여 사용하였다. 시험에 사용된 acetone, dichloromethane, hexane, acetonitrile 등은 모두 HPLC 등급 이상을 사용하였으며, 시료 정제에 사용된 카트리지는 Waters 사로부터 구입하여 사용하였다. 분배과정과 정제과정에 사용되는 시약인 sodium chloride, ethylene glycol, acetic acid, ascorbic acid은 Sigma-Aldrich사로부터 구입하였다.

표준물질조제

Bifenazate 표준품 0.05 g을 acetonitrile/water/acetic acid/ascorbic acid(500 mL/500 mL/5 mL/1 g) 100 mL에 용해하여 500 µg/mL의 표준원액을 조제하고 acetonitrile/water/acetic acid/ascorbic acid(500 mL/500 mL/5 mL/1 g) 혼합용액으로 희석하여 최종농도 0.05, 0.1, 0.25, 0.4, 0.5, 0.8, 1.0, 2.5, 5.0 µg/mL의 표준용액을 준비하였다. 표준원액과 표준용액은 모두 갈색병에 담아 4°C에 보관하였다가 실험 시에 사용하였다.

Table 2. Analytical conditions for bifenazate

Instrument	HPLC-UVD (Shiseido, JP/SP [^] LC Micro-Inert, Japan)
Column	C ₁₈ (4.6 mm×250 mm i.d., 5 µm)
Mobile phase	ACN/water (50/50, v/v)
Column temperature	40°C
Wavelength	254 nm
Injection volume	10 µL
Flow rate	1.0 mL/min

Table 3. Confirmative conditions for bifenazate

Instrument	LC/MS (Thermo, US/TSQ Quantum Ultra, USA)
Column	Capcellpak MG-II C18 (100 mm×2.0 mm i.d., 3 µm)
Mobile phase	10 mM Ammonium formate with 0.1% Formic acid/MeOH (40/60, v/v)
Column temperature	40°C
Capillary temperature	340°C
Ionization mode	ESI Positive (Electrospray Ionization, +) mode
Spray voltage	4500 V
Tube lens voltage	75 V
Injection volume	5 µL
Flow rate	0.2 mL/min

분석기기 및 조건

Bifenazate를 분석하기 위하여 자외부흡광광도검출기(UVD, Ultra Violet Detector)가 장착된 고속액체크로마토그래프(HPLC, High Performance Liquid Chromatography, Shiseido, Japan)를 이용하였으며, bifenazate의 동정시험을 위하여 고속액체크로마토그래프-질량분석기(LC/MS, High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometer, Thermo, USA)를 사용하였다. 분석조건은 각각 Table 2와 3에 나타내었다.

결과 및 고찰

공전시험법

Bifenazate의 시험 방법은 현행 식품공전 제10. 일반시험법 4. 식품 중 잔류농약 시험법에 규정하고 있다. 시험법의 적용 범위는 가지, 밀감, 배, 복숭아, 사과, 수박 등 식품에 적용한다. 시료 50 g을 정밀히 달아 용기에 넣고 acetone 100 mL 및 물 10 mL를 첨가하여 5분간 균질화하고 여과지가 깔려 있는 부호너깔때기상에서 감압 여과한다. 여액은 35°C이하의 수조에서 감압하여 물만 남을 때까지 용매를 모두 날려버린다. 이를 분액깔때기에 옮겨 10% 염화나트륨용액 50 mL와 dichloromethane 100 mL를 넣고 심하게 흔들어 섞은 후 정 치하여 dichloromethane층을 취하고 다시 물층에 dichloromethane 50 mL를 넣고 위와 같은 과정을 되풀이하여 앞의 dichloromethane층과 합한다. dichloromethane층은 무수 황산나트륨을 이용하여 탈수, 여과한 후 35°C이하의 수욕중에서 농축보호액(keeper solution, ethylene glycol 5 mL+acetonitrile 95 mL) 1 mL를 첨가하여 감압하에 용매를 모두 날려버리고 hexane : acetone(9 : 1) 혼합액 3 mL에 녹인다. 미리 hexane : acetone(9 : 1) 혼합액 10 mL로 활성화한 실리카 카트리지에 위의 녹인 액을 넣고 hexane : acetone(9 : 1) 혼합액 20 mL로 용출시킨다. 용출액은 35°C이하의 수욕중에서 감압하에 용매를 모두 날려 버리고 표준품 및 검체제조용 혼합액에 녹여서 일정량으로 한 후 시험용액으로 한다.

시험법의 개선

Bifenazate의 식품공전 시험법에 따라 본 연구의 대표농산물 5종(현미, 강낭콩, 오렌지, 들깻잎, 표고버섯)을 각각 50 g 취해 전처리하여 시험용액으로 하고, 식품공전의 이동상 조건인 acetonitrile/water(65/35, v/v)에서 분석하였더니 bifenazate의 머무름 시간에 불순물 피크 (noise peak)가 나타났다.

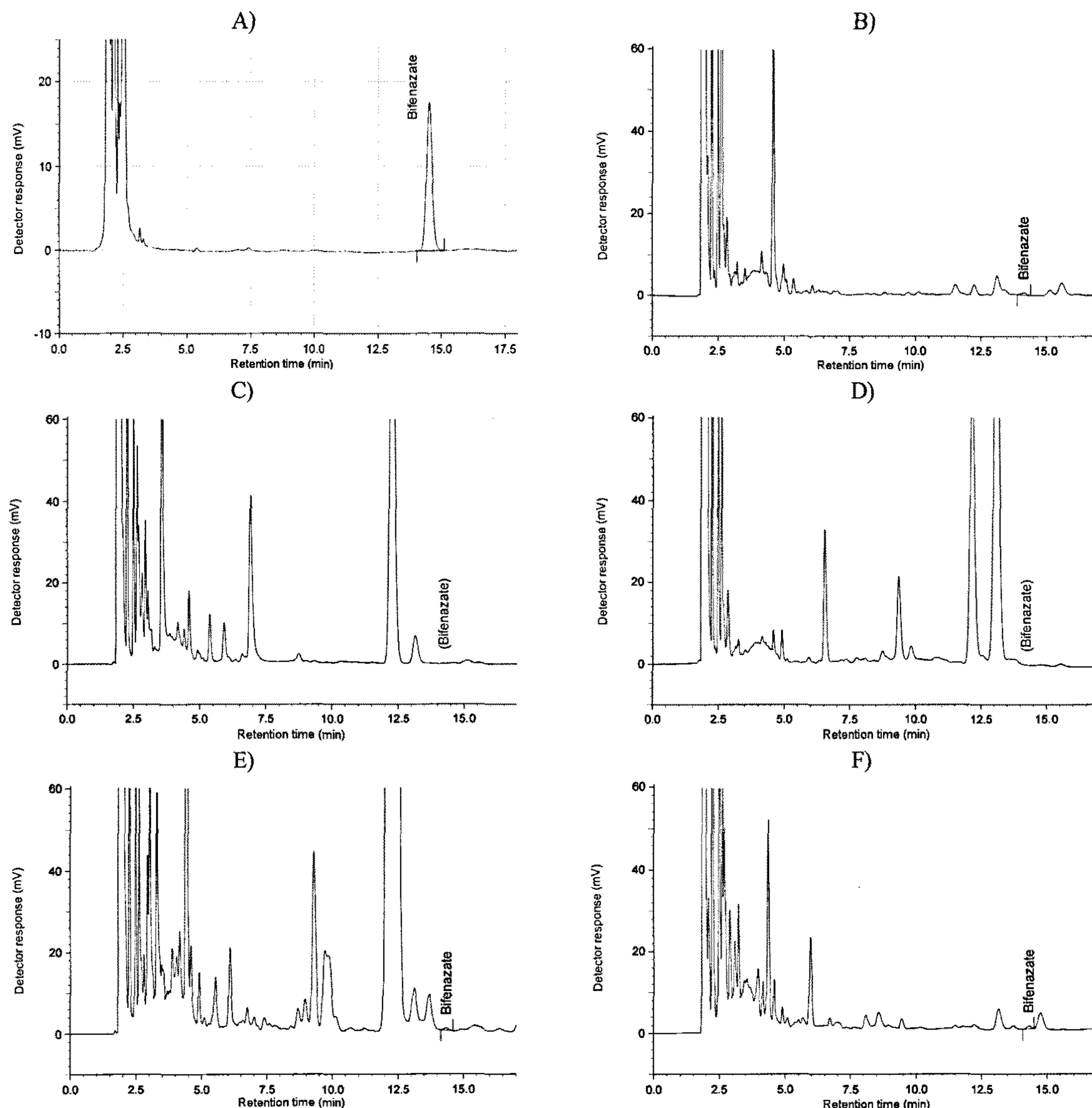


Fig. 1. HPLC/UVD chromatograms of bifenazate residues A) standard 4.0 mg/kg, B) hulled rice, C) kidney bean, D) orange, E) perilla leaves and F) oak mushroom by 50% acetonitrile mobile phase (sample 50 g).

불순물 피크를 없애기 위해 먼저 이동상 조건을 acetonitrile/water(65/35, v/v)에서 acetonitrile/water(50/50, v/v)으로 변경하고, 시료의 양은 50 g으로 하여 분석하였으나 Fig. 1과 같이 bifenazate의 머무름 시간에 불순물 피크가 나타나 본 연구의 분석법으로는 부적합하였다.

이를 개선하고자 각 시료의 양을 20 g으로 줄였으며, 이동상의 조성을 acetonitrile/water(65/35, v/v)에서 acetonitrile의 비율을 각각 60%, 55%, 50%로 변화하면서 실험하였으며, 대표농산물 5종 중 들깻잎의 크로마토그램을 나타내었다 (Fig. 2). 이동상의 조성을 50% acetonitrile로 하였을 때 bifenazate의 머무름 시간에 불순물 피크가 완전히 제거되고 분리되었다(Fig. 3). 또, 식품공전 시험법에서는 농축보호액

을 추출 후에만 1 mL를 첨가하였으나 본 연구에서는 휘발성이 강한 bifenazate의 회수율 증가를 위해 정제 후에도 1 mL를 첨가하였으며, 정제 후 농축 시 35°C 이하에서 최대한 서서히 날린 후 마지막 1 mL는 질소 농축한 후 표준품 및 검체 제조용 혼합액에 녹여서 시험용액으로 하였다.

위와 같은 결과는 식품공전 시험법의 적용 대상 시료는 가지, 밀감, 배, 복숭아, 사과, 수박 등의 농산물로 되어 있어, 본 연구의 모니터링 대표 농산물(현미, 강낭콩, 오렌지, 들깻잎, 표고버섯)에 그대로 적용할 경우 매트릭스의 영향으로 bifenazate의 머무름 시간에 불순물 피크가 나타난 것으로 판단되며, 분석 대상 시료에 대한 시험법 검증이 필요하다고 생각된다.

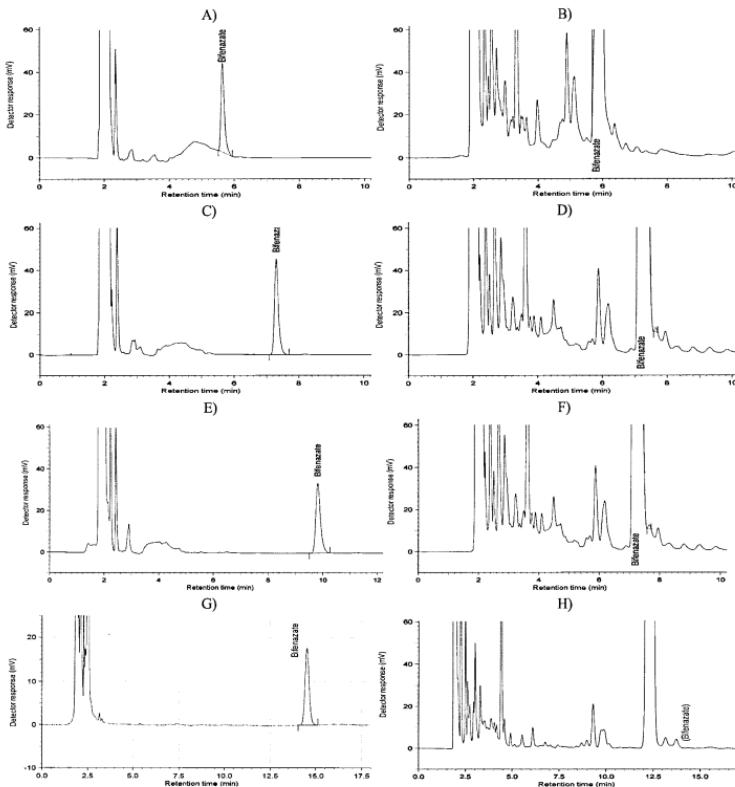


Fig. 2. HPLC/UVD chromatograms of perilla leaves A) standard 4.0 mg/kg, B) control by 65% acetonitrile mobile phase, C) standard 4.0 mg/kg, D) control by 60% acetonitrile mobile phase, E) standard 4.0 mg/kg, F) control by 55% acetonitrile mobile phase, G) standard 4.0 mg/kg, H) control by 50% acetonitrile mobile phase (sample 20 g).

따라서 본 연구의 bifenazate 잔류량 조사는 시료의 양을 20 g으로 하고, 이동상 조성을 acetonitrile/water(50/50, v/v)로 하여 수행하였다.

직선성 및 정량한계

기기시험법의 직선성(linearity)을 확인하기 위해 0.05~2.5 mg/kg의 6개 농도에 대한 bifenazate의 검량선을 구하였으며 이를 Fig. 4에 나타내었다. Bifenazate의 직선성은 상관계

수(r^2)가 1.0으로 상관관계가 좋은 것으로 나타났다.

본 연구에서 확립한 시험법에서 최소검출량은 0.5 ng(S/N=10)이고 정량한계 (Limits of quantitation)는 아래 계산식에 따라 0.01 mg/kg이었으며, 현재 식품공전 잔류농약 시험법은 해당농약의 잔류허용기준 (MRL)의 1/2 이하의 농도이거나 0.05 mg/kg 이하의 정량한계를 요구하고 있어 농산물에서 bifenazate의 잔류허용기준이 0.1 mg/kg임을 감안할 때 본 시험법에 의해 분석된 정량한계인 0.01 mg/kg은 적합한 것으로 나타났다.

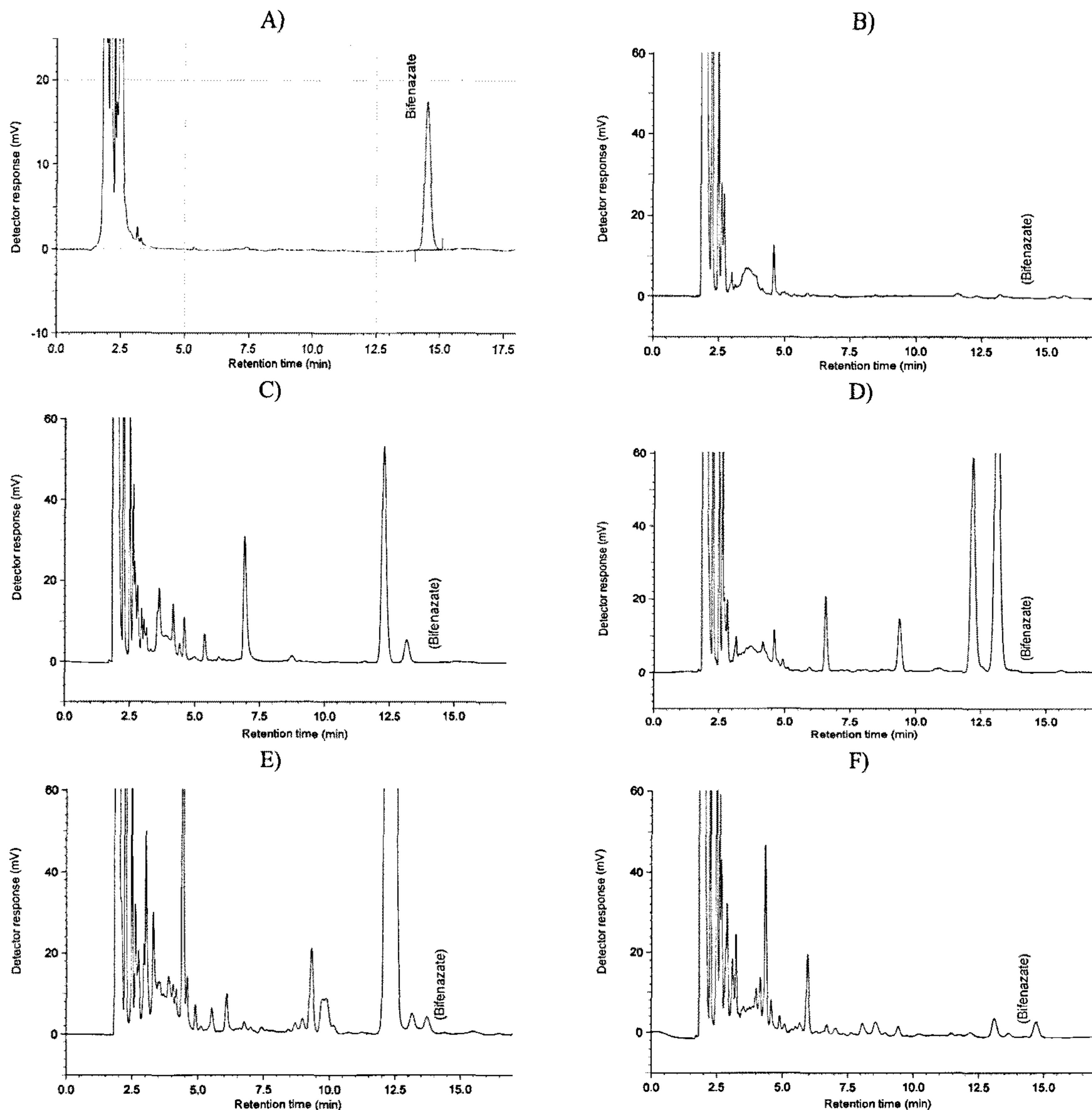


Fig. 3. HPLC/UVD chromatograms of bifenazate residues A) standard 4.0 mg/kg, B) hulled rice, C) kidney bean, D) orange, E) perilla leaves and F) oak mushroom by 50% acetonitrile mobile phase (sample 20 g).

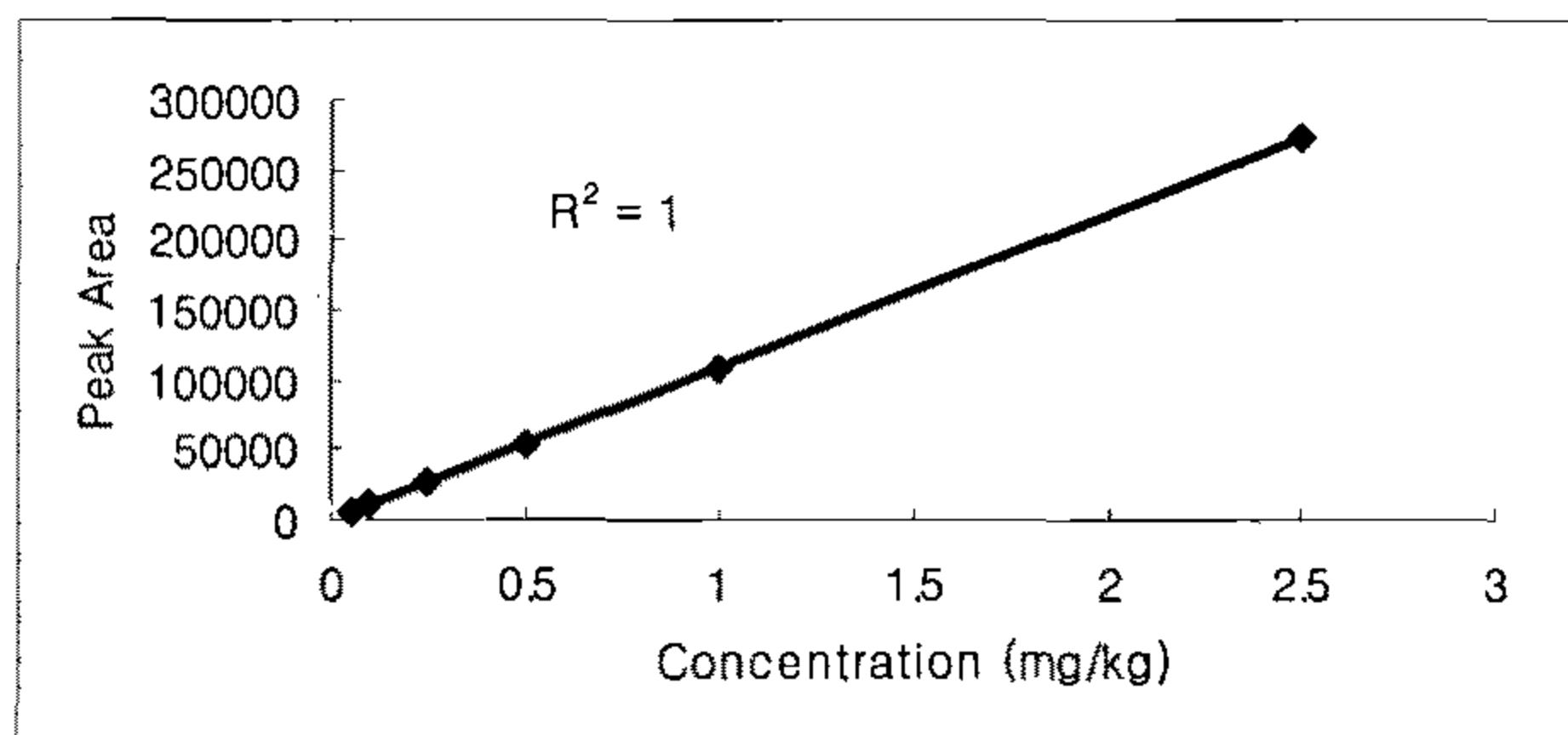


Fig. 4. Calibration curve of bifenazate.

$$\begin{aligned}
 \text{정량한계 (mg/kg)} &= \frac{\text{최소검출량 (ng)}}{\text{시료량 (g)}} \times \frac{\text{최종회석부피 (mL)}}{\text{시료 주입량 (\mu L)}} \\
 &= 0.5 \text{ (ng)} \times \frac{1}{20 \text{ (g)}} \times \frac{4 \text{ (mL)}}{10 \text{ (\mu L)}} = 0.01
 \end{aligned}$$

회수율

Bifenazate의 회수율 실험은 개선된 시험법의 정량한계가 0.01 mg/kg임을 고려하여 현미, 강낭콩, 오렌지, 들깻잎, 표고버섯에 최종 농도가 정량한계의 10배, 50배 농도인 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg이 되도록 표준용액을 첨가하여 분석하였으며, 대표농산물 5종 중 들깻잎에 대한 크로마토그램만 나타내었다 (Fig. 5). 회수율은 0.1 mg/kg 농도 수준에서 82.7~104.1%였고, 0.5 mg/kg에서는 73.1~104.3%였다. 5종 농산물에 대한 회수율은 73.1~104.3%로 나타났으며, 상대표준편차는 0.2~9.7%로 나타났다 (Table 4). 이러한 결과는 잔류농약 시험법이 요구하는 70~120% 범위의 회수율을 충족하였고, 시험반복에 대한 상대표준편차도 10%이내로 충족하였다.

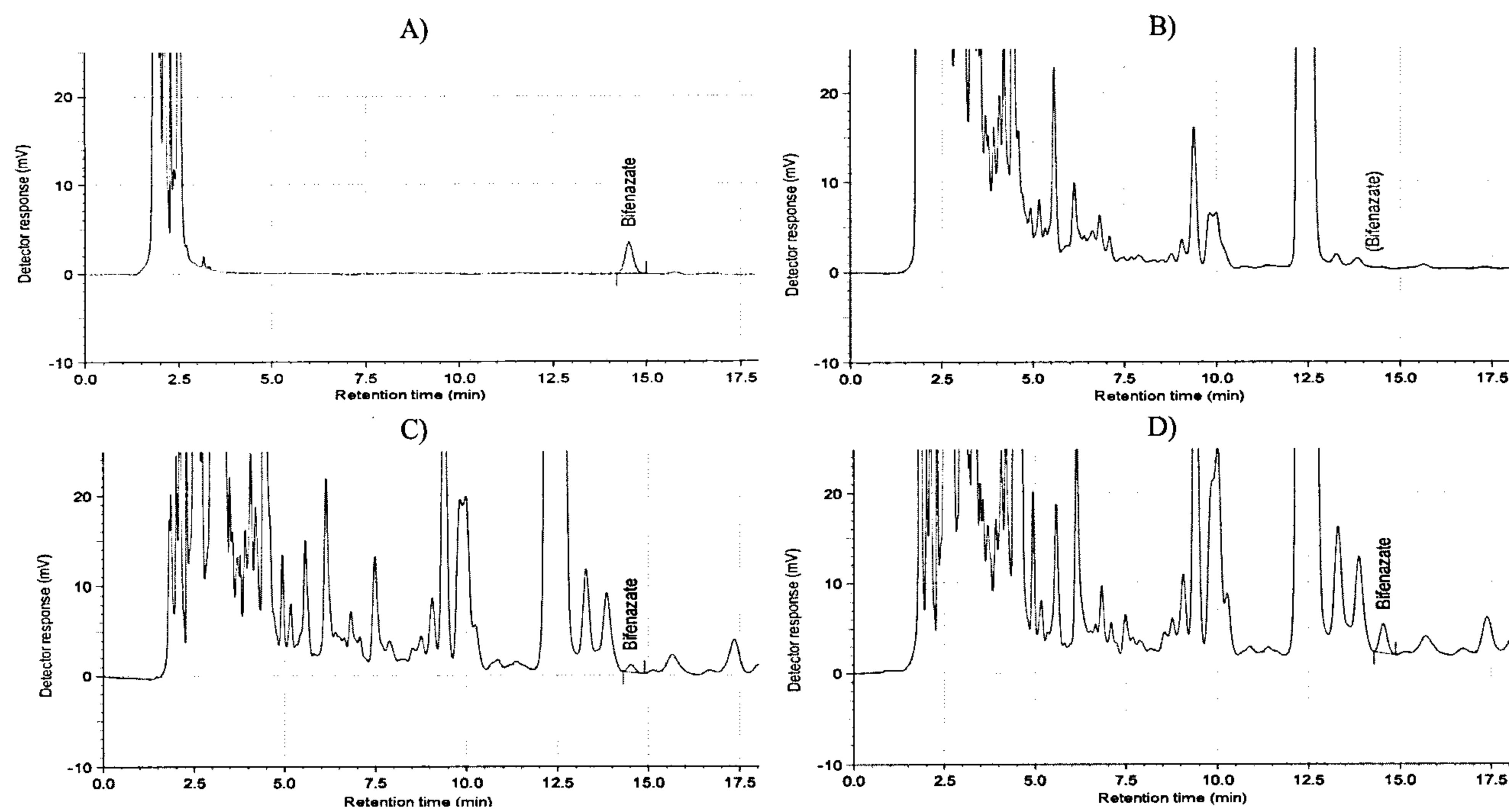


Fig. 5. HPLC chromatograms of bifenazate residues A) standard 0.5 mg/kg, B) control perilla leaves, C) fortified at 0.1 mg/kg and D) fortified at 0.5 mg/kg.

Table 4. Recovery results of analytical method for bifenazate in crops

Sample	Fortified Conc. (mg/kg)	Recovery (%)	RSD (%)	LOQ (mg/kg)
Hulled rice	0.1	88.0	3.7	0.01
	0.5	104.3	0.5	
Kidney bean	0.1	104.0	1.3	0.01
	0.5	75.2	1.0	
Orange	0.1	88.5	2.3	0.01
	0.5	93.8	0.2	
Perilla leaves	0.1	104.1	6.5	0.01
	0.5	89.3	2.4	
Oak mushroom	0.1	82.7	4.0	0.01
	0.5	73.1	9.7	

* Mean values of triplicates

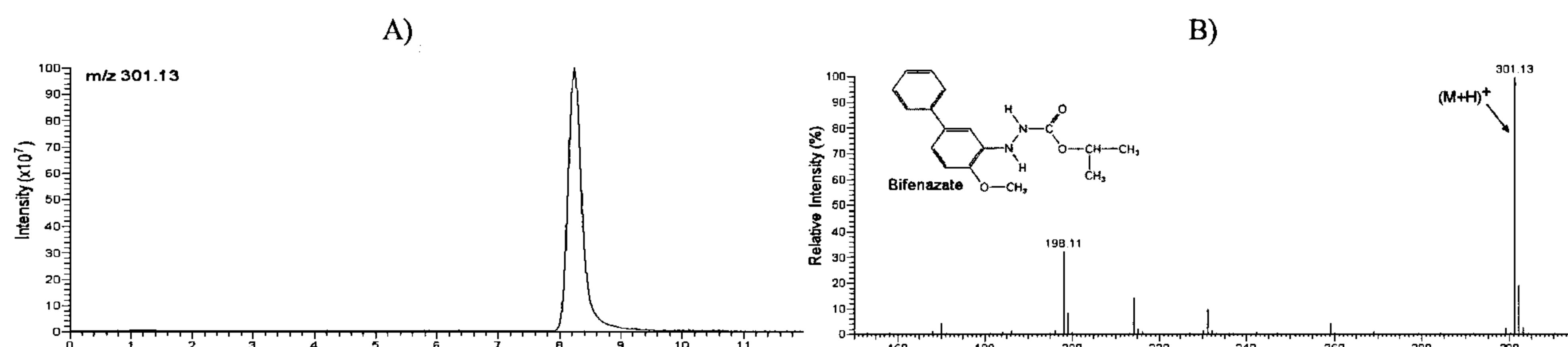


Fig. 6. LC/MS chromatogram (A) and mass spectrum of bifenazate (B).

동정시험

Bifenazate의 정성분석은 고속액체크로마토그래프-질량분석기(Thermo, USA)를 사용하여 분석하였으며, 표준용액을 주입하여 얻은 chromatogram과 mass spectrum을 Fig. 6에 나타내었다. Selected-ion monitoring(SIM) 분석을 위한 최적 특성이온 301(m/z)이었다.

Bifenazate 분석 결과

유통 농산물 총 16품목(쌀, 조, 메밀, 강낭콩, 땅콩, 참깨, 오렌지, 자동, 키위, 시금치, 들깻잎, 부추, 마늘쫑, 마늘, 생강, 표고버섯) 304건 중의 bifenazate 잔류량을 조사한 결과 모든 시료에서 검출되지 않았다. Bifenazate는 살충애제로써 감귤, 사과, 배, 수박, 복숭아, 가지, 장미, 국화, 착색단고추에 적용되는 농약이고, 본 연구의 모니터링 대상 농산물에는 적용되는 작물이 없기 때문인 것으로 생각된다.

>> 인 / 용 / 문 / 현

- Alder L, Greulich K, Kempe G, Vieth B. Residue analysis of 500 High Priority Pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS. Mass Spectrometry Reviews., 25, 838~865 (2006).
- Codex Alimentarius Commission. Pesticide Residues in Food. Available from: <http://www.codexalimentarius.net/mrls/pesticides>. Accessed Oct. 15, 2009.
- European Commission, Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway and Iceland and Liechtenstein 2001 Report, SANCO/20/03 final (2003).
- European Commission, Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway and Iceland and Liechtenstein 2002 Report, SANCO/17/04 final (2004).
- European Commission, Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway and Iceland and Liechtenstein 2003 Report (2005).
- European Commission, Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway and Iceland and Liechtenstein 2004 Report (2006).
- European Commission, Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway

- and Iceland and Liechtenstein 2005 Report (2007).
- European Commission, Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union, Norway and Iceland and Liechtenstein 2006 Report (2008).
- EFSA Scientific Report, 2007 Annual Report on Pesticide Residues according to Article 32 of Regulation (EC) No 396/20051 Prepared by Pesticides Unit (PRAPeR) of EFSA, (Question No EFSA-Q-2008-714), Issued on 10 June 2009.
- Hengel, M. J., Miller, M. : Analysis of Flonicamid and Its Metabolites in Dried Hops by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *J. Agric. Food Chem.*, 55, 8033~8039 (2007).
- Korea Food and Drug Administration, MRLs fo Pesticides in Foods. 11-1470000-001707-14: 110. KFDA, Seoul, Korea (2008).
- Li Bo, Deng Xiaojun, Guo Dehua, Jin Shuping: Determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid residues in foods using high performance liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, *Chinese J. Chromatography*, 15, 486~490, (2007).
- Matt J. Hengel, Marion Miller : Analysis Pesticides in Dried Hops by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *J. Agric. Food Chem.*, 56, 6851~6856 (2008).
- The Japan Food Chemical Research Foundation. MRLs for Pesticides in Food Available from: <http://www.ffcr.or.jp>. Accessed Aug. 20, 2009.
- U.S. Food and Drug Administration, Food and Drug Administration Pesticide Program Residue Monitoring 2002 (2004).
- U.S. Food and Drug Administration, Food and Drug Administration Pesticide Program Residue Monitoring 2003 (2005).
- U.S. Food and Drug Administration, Food and Drug Administration Pesticide Program, Residue Monitoring 2004~2006 (2008).
- U.S. Food and Drug Administration, Food and Drug Administration Pesticide Program, Residue Monitoring 2007 (2009).
- 박주황, 김택겸, 오창환, 김정한, 이영득, 김장억 : Gas-Liquid Chromatography를 이용한 사과 및 배 중의 농약 다성분 잔류분석법, *한국환경농학회지*, 23, 148~157 (2004).
- 식품의약품안전청, 식품의약품안전청연구보고서, (2005).
- 식품의약품안전청, 식품의약품안전청연구보고서, (2006).
- 식품의약품안전청, 식품의약품안전청연구보고서, (2007).
- 식품의약품안전청, 식품의약품안전청연구보고서, (2008).
- 일본식품위생협회, 후생노동성 생활위생국 식품화학관련, 식품 중 잔류농약 (1999).
- 최재원, 문부식 : 고분해능 질량분석장치를 이용한 동시분석법 1. 수계의 유기인계 농약-II, *한국환경분석학회지*, 11, 55~65 (2008).

농산물 중 Bifenazate의 분석법 개선 및 모니터링

박은희* · 고명진 · 조명식 · 김영선¹ · 이진하

광주지방식품의약품안전청, ¹서울지방식품의약품안전청

요 약 농산물 중 bifenazate의 잔류 실태를 조사하기 위하여 HPLC를 사용한 분석법을 개선하였고, LC/MS 분석법을 확립하였다. 개선된 분석법에 대한 직선성과 재현성에 대한 검증을 수행한 결과 bifenazate 0.05~2.5 mg/kg 범위에서 상관 계수는 1.0이었고, 정량한계(LOQ)는 0.01 mg/kg이었다. 회수율은 현미(곡류), 강낭콩(콩류), 오렌지(과실류), 들깻잎(채소류), 표고버섯(버섯류)에 대해 0.1 mg/kg 수준에서 82.7~104.1%였고, 0.5 mg/kg에서는 73.1~104.3%였다. 또한 회수율에 대한 상대표준편차($n=3$)는 0.2~9.7%였다. 전국 22개 지역에서 수거한 농산물 16품목(쌀, 조, 메밀, 강낭콩, 땅콩, 참깨, 오렌지, 자몽, 키위, 시금치, 들깻잎, 부추, 마늘쫑, 마늘, 생강, 표고버섯) 304건을 대상으로 bifenazate의 잔류량을 조사한 결과 모든 농산물에서 검출되지 않았다.

색인어 비페나제이트, 농약, 모니터링, LC/MS