

QuEChERS 시료 처리법을 활용한 엽채류 중 잔류농약분석

김양현 · 홍수명^{1*} · 손경애¹ · 이주영¹ · Zaw win Min¹ · 권혜영¹ · 김택겸¹ · 경기성²

(주)크로엔리서치, ¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부, ²충북대학교 농업생명환경대학 환경생명화학과

(Received on April 30, 2012. Revised on May 19, 2012. Accepted on May 30, 2012)

The analysis of pesticide residue in leafy vegetables using the modified QuEChERS pre-treatment methods

Yang-Hyeon Kim, Su-Myeong Hong^{1*}, Kyung-Ae Son¹, Ju-Young Lee¹, Zaw win Min¹, Hye-Young Kwon¹, Taek-Kyum Kim¹ and Kee-Sung Kyung²

Croen Research Inc., Iui-dong, 443-270, Korea, ¹Agro-Food Safety Department, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon, 441-707, Korea, ²Department of Environmental and Biological Chemistry, College of Agriculture, Life and Environmental Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea

Abstract

In analyzing pesticide residue, LLE (liquid liquid extraction) is generally applied as one of the existing methods, but needed quite a lot of organic solvents and analytical apparatuses for the sample pre-treatment. In addition to its long analysis time and complex analytical processes, it is required to develop a more rapid and efficient method at present. In order to establish an economic and simple pesticide residue analytical method, this study carried out a comparative experiment on the existing analytical method with a new sample pre-treatment method named QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe), which extracts and refines pesticide components by directly adding solid powder into the sample. Both the two analytical methods showed favorable values of correlation coefficient ($R^2 > 0.99$) of calibration curves. In terms of the detection limit (identification limit), imidacloprid showed 0.02 mg/kg, while the rest of pesticides showed a level around 0.05 mg/kg. The results of this experiment revealed that the recovery of LLE was 92.8-100.9% and the RSD was below 2.5%. On the other hand, the recovery of QuEChERS was 92.2-101.6% and RSD was below 1.9%. As a result of comparing the amount of pesticide residue by the time between the two analytical methods by using Paired t-Test, there was no significant difference between the two analytical methods as the *p*-value ranged from 0.3148-0.9890. Considering the results of the two methods, the QuEChERS method had similar recovery, compared to the analytical method using the existing LLE, and the analytical time was shortened by about one fourth of that of the existing method. Moreover, since it excludes the use of harmful organic solvents like dichloromethane during the process of extraction, thus leading to protecting experimenters health and remarkably reducing the amount of disused solvents, it is judged as an eco-friendly and economic analytical method.

Key words Residue pesticides analysis method, Sample pre-treatment, QuEChERS

*Corresponding author: Tel. +82-31-290-0514

Fax. +82-31-290-0506, E-mail. wideryun@korea.kr

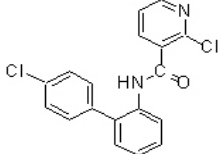
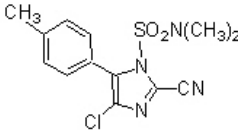
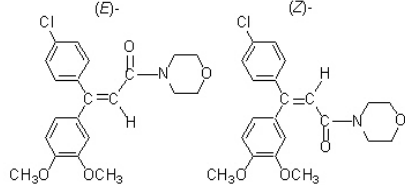
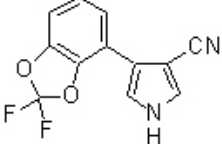
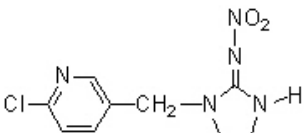
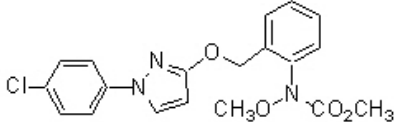
서론

최근 국민 생활수준의 향상과 식생활의 개선으로 식품의 소비성향이 다양화·고급화되고 건강에 대한 관심이 점차 높아짐에 따라 안전하고 우수한 농산물을 찾고 있는 실정이다(이 등, 1996). 한국인이 즐겨먹는 엽채소류 중에서도 상추 뿐만 아니라 뉴그린, 오크리프, 참나물, 그리고 취나물 등과 같은 쌈채소의 종류도 다양해지고 이용 또한 크게 증대되었다(농림부, 2005). 그러나 엽채소류는 표면적이 넓고 거칠어, 살포된 농약의 부착률이 높고, 작물의 생육 기간이 짧아 작물의 재배 기간보다 농약의 분해에 소요되는 시간이 더 길어 농약이 잔류될 가능성이 높다(식품의약품안전청, 2004b). 또한 등록약제의 부족으로 인한 농약의 오·남용에 따라 소비자의 안전성에 문제가 제기될 수 있으며, 분석결과 해당 작물에 잔류허용기준이 설정되어 있지 않은 경우에는 식품의약품안전청의 적용지침에 따라 채소류의 경우 소분류 중 가장 낮은 최

저 기준이 적용되어 부적합 판정이 높다. 이에 안전성 평가 시 부적합 농산물로 분류된 농산물은 회수, 폐기 및 과태료가 부과되는 사례가 빈번하게 일어나 농민들의 경제적 피해가 발생하고 있다(식품의약품안전청, 2004a; 최 등, 2004; 이 등, 2007). 이처럼 신선채소로서 생식으로 소비되며 식이섭취량 비율과 잔류농약의 부적합률이 높은 엽채소류의 경우 철저한 잔류농약의 관리가 필요하며, 이에 따라 신속하고 간편하게 식품 중 잔류농약을 분석할 수 있는 분석법이 요구된다(지, 2010).

식품의약품안전청에서는 농산물의 잔류농약분석을 위해 식품 중 농약잔류시험법을 식품공전에 고시하여 사용하고 있다. 이 시험법은 약 300여종의 농약을 동시에 분석할 수 있으나 분석 방법이 복잡하며 분석 중 dichloromethane과 같은 발암 가능성의 유기용매를 사용하도록 되어있어 분석자의 안전을 위협할 수 있다(IARC, 1987; Torres et al., 1996). 또한 많은 불순물 추출로 인하여 시료 내 방해 물질을 제거하기

Table 1. Chemical structures and physicochemical properties of pesticides used

Chemical structure		
Common Name	Boscalid	Cyazofamid
M.W.	343.2	324.8
log K _{ow}	2.96	3.2 (25°C)
Solubility in water	4.6 mg/L (20°C)	0.121 (pH 5), 0.107 (pH 7), 0.109 (pH 9) (all in mg/L, 20°C)
Chemical structure		
Common Name	Dimethomorph	Fludioxonil
M.W.	387.9	248.2
log K _{ow}	2.63 (E), 2.74 (Z) (20°C)	4.12 (25°C)
Solubility in water	81.1 (pH 4), 49.2 (pH 7), 41.8 (pH 9) (all in mg/L, 20°C)	1.8 mg/L (20°C)
Chemical structure		
Common Name	Imidacloprid	Pyraclostrobin
M.W.	255.7	387.8
log K _{ow}	0.57 (21°C)	3.99 (20°C)
Solubility in water	610 mg/L (20°C)	1.9 mg/L (20°C)

위한 시간, 노력, 용매 등의 사용이 많아진다는 단점이 있다 (식품의약품안전청, 2004a).

따라서 이러한 단점을 보완하기 위하여 최근에는 과일과 채소에 여러 가지 다양한 농도로 잔류되어 있는 농약을 보다 적은 비용으로 쉽게 분석할 수 있는 새로운 방법이 개발되었다. 2003년 AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 저널에 처음 발표된 QuEChERS 분석법은 고체상의 분말을 시료에 직접 주입하여 원심분리를 통해 농약성분을 추출해내는 d-SPE (dispersive-solid phase extraction) 방법이다(최, 2010). 이는 고체상의 분말인 NaOAc와 MgSO₄를 사용하여 극성의 불순물이 용매층에 전이되는 것을 최소화하고 극성농약들을 용매층에 잘 전이될 수 있도록 대상 물질과의 친화력의 차이를 이용하였으며, 정제를 위해 카트리지칼럼 대신 C₁₈ (octadecylsilane), PSA (primary secondary amine), GCB (graphite carbon black) 등을 흡착제로 사용하였다(Koesukwiwat et al., 2010). QuEChERS 분석법은 기존의 공정 분석법 보다 실험절차가 간단하다는 장점을 가지고 있어 여러 가지 시료를 대상으로 한 분석법 개발이 전세계적으로 연구되고 있다(Anastassiades et al., 2003). 따라서 본 연구에서는 업체소류에 사용되는 농약 중 LC로 분석 가능하며, Table 1과 같이 화학 계통이 서로 다른 6종의 농약을 선정하여 시설하우스에서 주로 재배하는 상추, 참나물, 취나물 등의 농약 안전성을 조사하기 위한 새로운 추출 분석법을 개발하고자, 기존의 식품 중 농약잔류시험법과 추출 및 정제과정이 보다 신속한 QuEChERS 분석법을 이용하여 시료 중 잔류량을 비교하였다.

재료 및 방법

분석대상 농약 및 시약

잔류농약 분석을 위한 표준품은 모두 Dr. Ehrenstorfer 제품을 구입하여 사용하였으며, 시료 전처리 과정 중 사용한 acetone, acetonitrile, dichloromethane은 GR급을 사용하였고, 기기분석 전 농축 시료를 재용해한 용매인 acetonitrile은

HPLC급을 사용하였다. Celite 545, NaCl(순도 99.5% 이상), anhydrous Na₂SO₄(순도 99% 이상), Florisil(입도 50-100 mesh)은 모두 Merck사(독일) 제품을 사용하였다. QuEChERS products는 시료 추출 단계를 위해 Restek Q150 (6 g anhydrous MgSO₄, 1.5 g anhydrous NaOAc)을 사용하였으며, dispersive solid phase extraction (dSPE) 단계를 위해 Restek Q251 (50 mg C₁₈, 50 mg PSA, 150 mg MgSO₄) 및 Restek Q351 (400 mg C₁₈, 400 mg PSA, 1200 mg MgSO₄)을 사용하였다.

시험 작물의 재배 및 시료 채취

상추는 2011년 5월 17일부터 6월 3일까지 경기도 남양주시 진건읍 배양리에서, 참나물은 2011년 4월 5일부터 5월 2일까지 경상남도 밀양시 상동면 가곡리에서, 취나물은 2011년 4월 11일부터 5월 9일까지 충청남도 부여군 규암면 수목리에서 각각 비닐하우스 1동씩을 선정하여 관행법에 따라 재배하였다. 정식 후 농약은 안전사용기준에 따라 각각 희석하여 20 L 동력분무기로 약액이 흐를 때까지 충분히 문도록 경영에 살포하였다. 시료는 상추의 경우 약제 살포 당일, 2, 5, 7일차에 걸쳐 채취하였고, 참나물 및 취나물의 경우 약제 살포 당일, 3, 5, 7, 10, 14일차에 걸쳐 채취하였다. 채취한 시료는 시료봉투(PE film bag)에 넣어 시료내용을 기재한 후 실험실로 운반하였다. 운반된 시료는 외피 및 뿌리를 제거하고 1-2 cm 크기로 세절하여 드라이아이스와 함께 마쇄한 후 시료봉투에 넣어 분석 시까지 -20℃ 이하에서 냉동보관 하였다.

기기분석 조건

기기분석은 분석의 재현성을 극대화하기 위한 조건으로 수행하였다. 즉, HPLC는 Agilent 1100 series (USA)를 사용하였고, 칼럼은 INNOPIA C₁₈ (4.6 × 250 mm)을 사용하였으며, 기타 분석조건은 Table 2와 같다. 한편 UPLC 분석은 Waters ACQUITY UPLC를 사용하였고, 분석 조건 중 일부는 HPLC 분석과 달리하여 분석을 실시하였으며, 자세한 분석 조건은 Table 3에 나타내었다.

Table 2. HPLC operating conditions for determining the residues of imidacloprid in food

Instrument	Agilent 1100 HPLC system
Column	INNOPIA™ C ₁₈ (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Detector	Multiple Wavelength Detector (MWD)
Wavelength (λ _{max})	275 nm
Mobile phase	Acetonitrile:Water (25:75, v/v)
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	10 μL

Table 3. UPLC operating conditions for determining the residues of boscalid, cyazofamid, dimethomorph, fludioxonil, and pyraclostrobin in food

Instrument	Waters ACQUITY UPLC, Waters, USA		
Column	ACQUITY UPLC BEH® C ₁₈ 100 mm L. x 2.1 mm I.D., 1.7 um particle sizes		
Gradient condition	Time (min.)	%A	%B
	0	95	5
	9.2	42	58
	11	42	58
	11.5	32	68
	15	32	68
	16	0	100
	17	0	100
	18	95	5
20	95	5	
Wavelength (λ_{\max})	Boscalid : 225 nm, Dimethomorph : 254 nm, Cyazofamid, Fludioxonil, Pyraclostrobin : 275 nm		
Mobile phase	A; Water:Acetonitrile (95:5, v/v) B; Acetonitrile		
Flow rate	0.4 mL/min		
Injection volume	3 μ L		

LLE를 이용한 잔류농약 분석법

시료 중 잔류농약의 분석은 드라이아이스와 함께 마쇄한 시료 10 g에 100 mL의 acetone을 넣고 250 rpm에서 1시간 진탕하여 추출한 후 Celite 545 (particle size 0.02-0.1 mm, Merck)를 통과시켜 감압 여과하였으며, 50 mL의 acetone으로 용기 및 잔사를 씻어 앞의 여과액과 합하였다. 여과액을 50 mL의 포화식염수와 450 mL의 증류수가 들어있는 1 L 분액여두에 옮기고 50 mL의 dichloromethane을 가한 후 Resipro shaker (SR-2W, Taitec, Japan)를 이용하여 270 rpm에서 5분간 진탕하는 방법으로 2회 분배하였으며, dichloromethane 분배액을 anhydrous Na₂SO₄로 탈수하여 35°C에서 감압농축 하였다. 130°C에서 5시간 이상 활성화한 Florisil 5 g을 glass column (1 cm I.D. × 22 cm L.)에 건식 충전한 후 약 2 g의 anhydrous Na₂SO₄를 Florisil 상부에 넣고 50 mL의 dichloromethane으로 column을 세척하여 안정화 시켰다. 농축시료 잔사를 10 mL의 dichloromethane으로 녹여 그 중 2 mL를 column 상부에 가하여 흘려버리고 5 mL의 dichloromethane: acetone (96:4, v/v) 혼합용매를 연속하여 흘려버린 후 동일 용매 60 mL로 용출하고, 연속하여 60 mL의 dichloromethane: acetone (50:50, v/v) 혼합용매로 용출하여 35°C에서 감압농축 하였다. 농축 건조된 시료는 2 mL의 acetonitrile에 재용해한 후 ultra performance liquid chromatograph-photodiode

array detector (UPLC-PDA) 및 high performance liquid chromatograph-multiple wavelength detector (HPLC-MWD)로 분석하였다.

QuEChERS를 이용한 잔류농약 분석법

시료 중 잔류농약의 분석은 드라이아이스와 함께 마쇄한 시료 5 g을 50 mL centrifuge tube에 칭량한 후 1% acetic acid가 포함된 acetonitrile 용액 10 mL를 넣어 300 rpm에서 30분 동안 진탕하였다. 여기에 6 g anhydrous MgSO₄와 1.5 g anhydrous NaOAc를 넣고 2 분간 손으로 강하게 흔들어 준 후 원심분리 (3,000 rpm, 5 min.)하여 상정액 8 mL를 취한다. 이 상정액을 400 mg C₁₈, 400 mg PSA (primary secondary amine), 1,200 mg MgSO₄가 담긴 15 mL centrifuge tube에 넣고 2 분간 강하게 흔들어 준 후 원심분리(3,000 rpm, 5 min.)하여 상정액 4 mL를 취해 감압 농축한다. 농축 건조물은 2 mL의 acetonitrile로 재용해한 후 50 mg C₁₈, 50 mg PSA, 150 mg MgSO₄가 담긴 micro-centrifuge tube에 옮겨 2 분간 강하게 흔들어 준 후 원심분리(12,000 rpm, 5 min.)하였다. 원심분리 후 상정액 1 mL를 취하여 UPLC-PDA 및 HPLC-MWD로 분석하였다.

회수율 시험

두 가지 잔류농약 분석법의 효율과 신뢰성을 검증하기 위

하여 회수율 시험을 수행하였다. 무처리 시료에 분석대상농약의 표준용액을 각각 0.2 mg/L와 2.0 mg/L 수준이 되도록 3반복 처리한 후 시료분석과정과 동일하게 분석하여 회수율을 측정하였다(김 등, 2003).

검출한계, 정량한계 및 표준 검량선 측정

잔류농약 분석을 위한 검량선은 농약의 표준물질을 acetonitrile에 녹여 1,000 mg/L가 되게 조제한 stock solution을 acetonitrile로 희석하여 imidacloprid는 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L, 나머지 표준품은 모두 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L가 되도록 희석한 후 imidacloprid는 10 µL씩 HPLC에 주입하고 boscalid, cyazofamid, dimethomorph, fludioxonil, pyraclostrobin은 3 µL씩 UPLC에 주입하여 나타난 크로마토그램상의 피크면적을 기준으로 작성하였다. 분석을 위한 검출한계(limit of detection, LOD) 및 정량한계(limit of quantitation, LOQ)는 HPLC 및 UPLC상에서 측정 가능한 최소검출량을 이용하여 아래 식에 의하여 산출하였다.

$$LOD (mg/L) = [기기의 최소검출량(ug)/주입량(uL)] \times [시료용액(mL)/시료량(g)]$$

$$LOQ (mg/L) = LOD(mg/L) \times 3.3$$

통계 처리

두 분석법 조건에서의 모든 실험 data는 4회 반복실험 한 것이며, 그 결과는 평균과 표준 편차로 나타내었다. 실험군 간의 통계학적인 분석은 R (version 2.14.0) 패키지 프로그램을 이용하여 대응표본 t검정(paired t-test)을 실시하였다. 유의성 검정은 p값이 0.05이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

검출 농약의 표준검량선

시험농약의 표준용액을 희석하여 동일한 조건에서 기기분석한 후 작성한 검량선을 기준으로 잔류량을 산출하였으며,

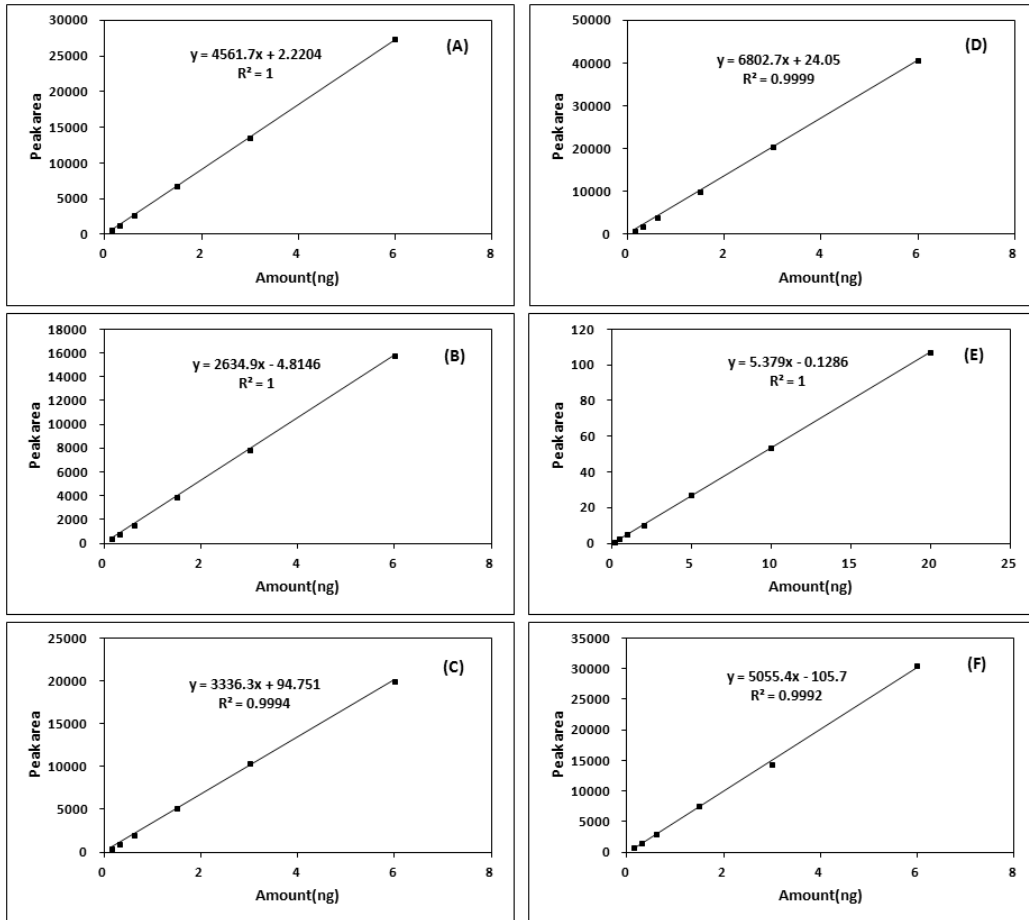


Fig. 1. Standard calibration curves for the quantitation of the pesticide residues in samples: (A) boscalid, (B) cyazofamid, (C) dimethomorph, (D) fludioxonil, (E) imidacloprid, and (F) pyraclostrobin.

Table 4. Recoveries, limits of detection (LODs) and limits of quantitation (LOQs) of the test pesticides in *Lactuca sativa*, *Pimpinella brachycarpa*, *Aster scaber*

Pesticide	Fortification level (mg/kg)	Mean±SD ^{a)} (%)						LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
		<i>Lactuca sativa</i>		<i>Pimpinella brachycarpa</i>		<i>Aster scaber</i>			
		LLE	QuEChERS	LLE	QuEChERS	LLE	QuEChERS		
Boscalid	0.2	95.6±1.27	96.8±0.73	99.5±0.21	98.9±0.29	100.6±1.03	94.5±1.44	0.05	0.17
	2.0	95.7±0.36	100.0±0.63	98.7±0.36	99.1±0.04	101.4±0.54	92.2±1.93		
Cyazofamid	0.2	93.5±0.26	99.3±0.37	97.7±1.31	99.3±0.42	96.9±1.01	99.0±0.21	0.05	0.17
	2.0	98.8±0.15	99.9±0.15	99.3±0.26	100.2±0.84	99.1±0.84	99.6±0.31		
Dimethomorph	0.2	96.4±2.04	93.3±0.79	99.1±0.16	97.0±0.66	100.9±0.53	101.6±0.05	0.05	0.17
	2.0	92.8±0.89	93.6±0.45	98.3±0.42	96.9±0.16	99.3±0.15	100.3±1.09		
Fludioxonil	0.2	101.0±2.31	99.0±0.53	96.7±1.43	97.6±0.55	94.8±0.12	99.5±0.69	0.05	0.17
	2.0	99.4±1.43	98.9±1.04	99.1±0.29	99.3±0.19	99.1±0.22	99.1±0.56		
Imidacloprid	0.2	97.3±1.37	97.9±0.17	97.6±0.12	97.1±0.24	96.8±1.18	97.9±0.16	0.02	0.07
	2.0	97.8±0.85	98.4±0.27	96.7±0.04	97.4±0.34	98.8±0.13	97.1±1.05		
Pyraclostrobin	0.2	99.2±2.51	98.9±0.29	99.6±0.15	96.4±0.29	96.9±0.92	95.7±0.64	0.05	0.17
	2.0	99.0±0.23	96.6±0.11	98.9±0.44	99.5±0.07	98.9±1.18	98.6±0.43		

^{a)}Mean values of triplicate samples with standard deviation

검량선의 직선성은 모두 양호하였다(Fig. 1).

검출한계, 정량한계 및 회수율

분석법의 적합성은 검출한계 0.05 mg/kg 이하로 분석하는 것이 바람직하며, 회수율은 무처리구의 시료에 검출한계 농도의 10-50배가 되도록 시험농약을 첨가하여 분석한 후 회수율은 70-120% 이내로 하여야 한다(농촌진흥청, 2009).

각 시험농약의 검출한계는 Table 4에 제시한 바와 같이 0.02-0.05 mg/kg이었고 정량한계는 0.07-0.17 mg/kg이었다. 기존 다성분 동시분석법의 회수율은 92.84%-100.89%, QuEChERS법의 회수율은 92.23%-101.64%로 두 분석법 모두 적합하였다. 잔류농약의 분석법은 Figure 2에 제시한 바와 같이 방해물질의 간섭 없이 분석 할 수 있었다.

두 전처리 방법간에 농약 잔류량 비교

잔류농약 검출을 위한 전처리 과정인 LLE 방법과 QuEChERS 방법의 유의성을 대응표본 t검정(paired t-test)을 이용하여 검증한 결과, 작물 중 잔류량은 Table 5와 같다. 95%의 신뢰수준(α=0.05)에서 두 분석법 간의 시간에 따른 농약 잔류량을 비교한 결과, p-value는 상추 0.4953-0.8432, 참나물 0.4933-0.9056, 취나물 0.3241-0.9890 등으로 두 분석법간의 유의한 차이가 발견되지 않았다(Fig. 3).

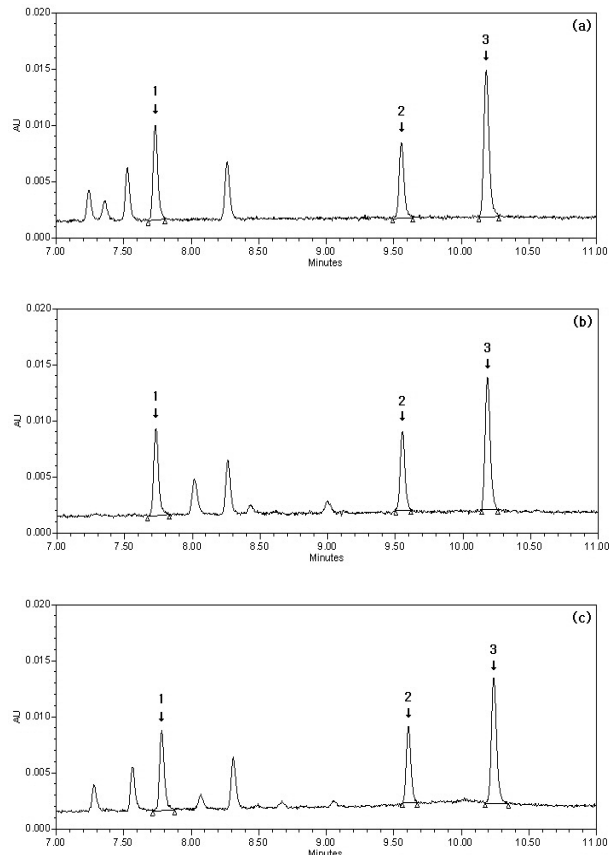


Fig. 2. Typical UPLC chromatograms of cyazofamid (1), fludioxonil (2), and pyraclostrobin (3) in *Lactuca sativa*. (a) Standard 2.0 mg/kg, (b) Recovery 2.0 mg/kg (LLE), and (c) Recovery 2.0 mg/kg (QuEChERS).

Table 5. Comparison of the average residues of pesticides in leafy vegetables between LLE and QuEChERS methods

Pesticide	Vegetable	Day	Mean±SD ^{a)} (mg/kg)		p-value	
			LLE	QuEChERS		
Boscalid	<i>Lactuca sativa</i>	0	16.0±0.34	16.1±0.73	0.8432	
		2	13.9±1.10	13.9±0.99	0.6667	
		5	4.7±0.83	4.7±0.81	0.7127	
		7	2.2±0.51	2.2±0.52	0.4953	
	<i>Pimpinella brachycarpa</i>	0	27.7±6.70	27.8±6.57	0.5484	
		3	26.6±2.23	26.5±2.66	0.6332	
		7	19.8±3.58	19.7±3.73	0.9056	
		10	11.3±2.64	11.5±2.41	0.4933	
	<i>Aster scaber</i>	14	8.1±2.67	8.2±2.34	0.7353	
		0	21.3±2.95	21.4±2.81	0.7484	
		3	15.4±3.10	15.3±1.71	0.9890	
		7	13.9±2.34	13.5±2.09	0.5410	
	Cyazofamid	<i>Lactuca sativa</i>	10	9.4±0.78	10.2±1.60	0.3241
			14	2.9±0.33	2.9±0.39	0.6923
0			4.1±0.36	4.1±0.34	0.5168	
2			3.4±0.58	3.4±0.59	0.3457	
<i>Pimpinella brachycarpa</i>		5	1.0±0.11	1.0±0.09	0.6961	
		7	0.3±0.01	0.3±0.02	0.4241	
		0	5.6±0.59	5.6±0.65	0.6961	
		3	4.2±0.70	4.1±0.48	0.5970	
<i>Aster scaber</i>		7	3.3±0.50	3.3±0.59	0.8002	
		10	1.9±0.32	2.0±0.37	0.5895	
		14	1.4±0.21	1.4±0.25	0.6298	
		0	9.1±1.73	9.1±1.82	0.8651	
<i>Lactuca sativa</i>		3	7.9±0.91	7.9±0.72	0.8214	
		7	5.9±0.90	5.9±1.04	0.8013	
	10	2.1±0.31	2.0±0.30	0.4241		
	14	0.7±0.14	0.7±0.15	0.3025		
	0	6.3±0.26	6.3±0.26	0.5732		
Dimethomorph	<i>Lactuca sativa</i>	2	4.0±0.34	4.0±0.36	0.7335	
		5	0.6±0.08	0.6±0.08	0.4053	
		7	0.1±0.05	0.1±0.05	0.5324	
		0	5.4±0.18	5.4±0.19	0.9507	
	<i>Pimpinella brachycarpa</i>	3	4.9±0.16	4.9±0.17	0.8890	
		7	3.8±0.31	3.7±0.31	0.8635	
		10	1.2±0.16	1.2±0.10	0.7243	
		14	1.1±0.12	1.1±0.10	0.8904	
	<i>Aster scaber</i>	0	10.6±0.52	10.6±0.61	0.9633	
		3	6.2±0.85	6.1±0.66	0.9371	
		7	2.0±0.10	2.0±0.10	0.4071	
		10	1.9±0.27	1.9±0.34	0.7738	
			14	0.4±0.08	0.4±0.07	0.3332

^{a)}Mean values of quadruplicate samples with standard deviation.

Table 5. (continued)

Pesticide	Vegetable	Day	Mean±SD (mg/kg)		p-value
			LLE	QuEChERS	
Fludioxonil	<i>Lactuca sativa</i>	0	4.2±0.05	4.2±0.14	0.6795
		2	2.3±0.07	2.3±0.06	0.6606
		5	0.7±0.04	0.7±0.06	0.7736
		7	0.5±0.04	0.5±0.04	0.8291
	<i>Pimpinella brachycarpa</i>	0	3.5±1.22	3.5±1.16	0.7430
		3	2.8±0.65	2.9±0.50	0.3268
		7	1.8±0.43	1.9±0.47	0.3148
		10	0.7±0.24	0.7±0.17	0.4513
		14	0.3±0.12	0.3±0.12	0.6262
	<i>Aster scaber</i>	0	2.1±0.37	2.1±0.16	0.9465
		3	1.1±0.31	1.1±0.25	0.9418
		7	0.5±0.04	0.5±0.04	0.6399
		10	0.4±0.01	0.4±0.01	0.9354
		14	<0.05	<0.05	-
Imidacloprid	<i>Lactuca sativa</i>	0	4.7±0.50	4.8±0.47	0.8002
		2	1.2±0.11	1.3±0.13	0.3342
		5	0.2±0.03	0.3±0.04	0.6974
		7	0.1±0.01	0.1±0.02	0.8345
	<i>Pimpinella brachycarpa</i>	0	3.7±0.34	3.7±0.36	0.9502
		3	1.7±0.11	1.7±0.12	0.8714
		7	0.6±0.02	0.6±0.04	0.7116
		10	0.3±0.01	0.3±0.01	0.4106
		14	0.1±0.01	0.1±0.01	0.7645
	<i>Aster scaber</i>	0	5.9±0.13	6.0±0.19	0.4538
		3	4.0±0.62	4.0±0.62	0.7042
		7	2.4±0.29	2.4±0.32	0.7864
		10	1.5±0.14	1.5±0.18	0.5492
		14	0.9±0.16	0.9±0.16	0.4731
Pyraclostrobin	<i>Lactuca sativa</i>	0	2.8±0.27	2.9±0.27	0.5974
		2	2.0±0.17	2.0±0.17	0.6054
		5	0.3±0.03	0.3±0.03	0.4417
		7	<0.05	<0.05	-
	<i>Pimpinella brachycarpa</i>	0	3.8±0.21	3.8±0.23	0.6224
		3	3.2±0.36	3.3±0.37	0.5622
		7	2.6±0.92	2.6±0.92	0.5397
		10	2.1±0.34	2.1±0.33	0.6906
		14	1.5±0.22	1.5±0.25	0.6146
	<i>Aster scaber</i>	0	4.5±0.73	4.6±0.60	0.5972
		3	2.2±0.77	2.2±0.73	0.4939
		7	1.0±0.18	1.0±0.11	0.9641
		10	0.9±0.10	0.9±0.11	0.4509
		14	0.2±0.04	0.2±0.03	0.6213

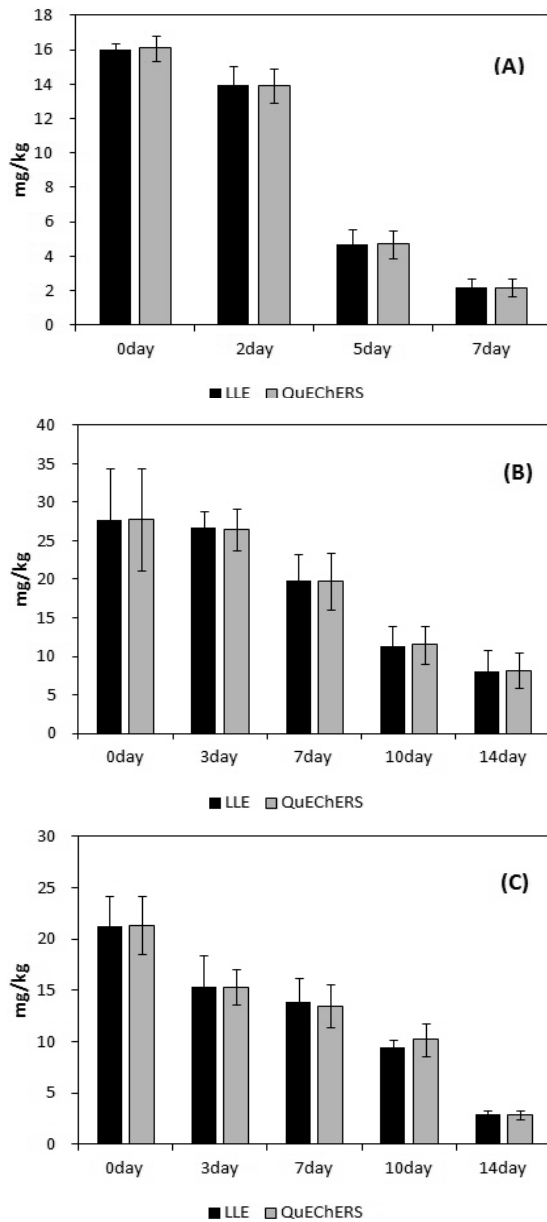


Fig. 3. Comparison of the extraction efficiencies of two methods on boscalid dissipation in leafy vegetables: (A) *Lactuca sativa*, (B) *Pimpinella brachycarpa*, and (C) *Aster scaber*.

결론

두 분석법 간의 시간에 따른 농약의 잔류량을 paired t-test를 이용하여 비교한 결과, 95%의 신뢰수준에서 모두 유의한 차이가 발견되지 않았으며, 약제 살포 후 시료 채취시기를 달리한 상태에서도 분석법 간 서로 일정하게 감소하는 경향을 보였다. 이 결과들을 볼 때 QuEChERS 분석법은 기존의 잔류농약 분석법을 이용하여 분석한 결과와 비슷한 추출효율을 보였다고 판단되었다.

기존 전처리방법의 분석 과정 중 추출 단계에서 일반적으로 사용되는 유기용매인 dichloromethane 등은 발암성을 유발할 가능성이 있어 인체에 장시간 노출될 경우 실험자에게 건강적인 문제를 일으킬 수 있다고 알려져 있다(최, 2009). QuEChERS 분석법의 경우, 추출 용매로 acetonitrile만을 사용하기 때문에 분석 과정 중에 소모하는 유기용매 및 실험 후 배출되는 유기용매의 양 또한 기존 방법에 비해 약 1/20 정도 적었다. 분석 시간은 QuEChERS 분석법이 기존 방법보다 약 1/4 정도 단축되었으며, 분석 비용 또한 약 1/5 정도 절감되었다. 그러나 QuEChERS 분석법은 기존 전처리법과 비교했을 때 단축된 분석과정으로 인하여 과다한 방해물질이 잔존할 수 있는 단점이 있다. 하지만, QuEChERS 분석법은 실험 단계가 비교적 간편하고 신속하면서도 휘발되는 유기용매에 실험자가 노출되는 부분이 적어 보건 환경적 측면에서 유리한 방법임을 알 수 있었고, LC-MS/MS 대신 일반적인 LC-MWD 및 PDA 등으로도 정량분석이 가능하다고 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호:PJ 0084982012)의 지원에 의해 이루어진 것임.

>> Literature Cited

Anastassiades, M., and S. J. Lehotay (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in product. *Journal of AOAC International*, 86(2):412~418.

Choi, D. S. (2010) Development of pesticide multi-residue analysis and monitoring on Ginseng using QuEChERS, MS thesis DongKook University, pp.1~4.

Choi, G. S. (2009) Monitoring and Development of pesticide multi-residue Analysis using GC-MS/MS, ph D thesis Chosun University, pp.1~8.

Choi, J. H., G. I. Lee, C. M. Kim and M. J. Kim (2004) Food safety management system and adopting method of advanced country, Korea Rural Economy Institute, Research Report R470.

International Agency for Research on Cancer (1987) Overall evaluations of carcinogenicity : An updating of IARC

- Monographs*, Volume 1 to 42. United Kingdom, pp.194~195.
- Ji, K. Y. (2010) The Study of Residual Level Settlement for pesticide safety of minor cultivating crops, MS thesis Kangwon National University, pp.1~4.
- Kim, S. S., S. M. Lee, M. Y. Goo, D. S. Park and J. H. Hur (2003) Residual analysis and safety evaluation of methoxyfenozide and etofenprox in wood acid, Report of Agricultural Science, Kangwon National University, 14:59~66.
- Koesukiwat, U., S. J. Lehotay, K. Mastovska, K. J. Dorweiler, and N. Leepipatpiboon (2010) Extension of the QuEChERS method for pesticide residues in Cereals to Flaxseeds, Peanuts, and Doughs. *Food Chemistry*, 58:5950~5958.
- Korea Food and Drug Administration (2004a) Research of Multi-residue Analytical Methods on Foods.
- Korea Food and Drug Administration (2004b) Contaminants uptake and risk assessment of representative diet in Korean.
- Lee, E. J. and J. E. Kim, *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 15(4):434~441.
- Lee, M. H., S. H. Kim, Y. G. Park, B. G. Shin, J. H. Kim and J. E. Kim, *J. of Korean Pesticide Science* 11(2):106~116.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries (2010) *Agricultural Food Safety White Papers*.
- Rural Development Administration (2009) *Bulletin of Pesticide Registration Investigator (Guidance of Pesticide Residue Test)*, Notice of Rural Development Administration No. 2009-1.
- Torres, C. M., Y. Pico and J. Manes (1996) Determination of pesticide residues on fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A*, 754:301~331.

QuEChERS 시료 처리법을 활용한 엽채류 중 잔류농약분석

김양현 · 홍수명^{1*} · 손경애¹ · 이주영¹ · Zaw win Min¹ · 권혜영¹ · 김택겸¹ · 경기성²

(주)크로엔리서치, ¹농촌진흥청 국립농업과학원 농산물안전성부, ²충북대학교 농업생명환경대학 환경생명화학학과

요 약 농약의 잔류분석은 일반적으로 기존의 액액분배 추출법(liquid liquid extraction, LLE)이 적용되어 왔으나, 시료 전처리에 많은 유기용매와 분석기구가 사용되고, 분석시간이 길며, 복잡한 분석단계로 인하여 보다 신속하고 효율적인 방법의 개발이 요구되고 있다. 이에 따라 경제적이고 간편한 농약 잔류 분석법을 확립하고자, 기존 분석법과 고체상 분말을 시료에 직접 주입하여 농약성분을 추출, 정제하는 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) 시료 전처리법을 비교 실험하였다. 엽채소류 중 상추, 참나물 및 취나물을 대상으로 농가에서 많이 사용하고, LC로 분석 가능한 대표적인 농약 6종(boscalid, cyazofamid, dimethomorph, fludioxonil, imidacloprid, pyraclostrobin)을 선정하였다. 두 분석법 모두 검량선의 상관계수(R_2)는 0.99 이상으로 양호하였고, 검출한계는 imidacloprid는 0.02 mg/kg, 나머지 농약성분들은 0.05 mg/kg 수준이었다. 실험 결과, 액액분배법의 회수율은 92.8-100.9%, RSD는 2.5%이하였고, QuEChERS법의 회수율은 92.2-101.6%, RSD는 1.9%이하였다. Paired t-test를 이용하여 두 분석법 간의 시간에 따른 농약 잔류량을 비교한 결과, p -value는 0.3148-0.9890으로 두 분석법 간의 유의한 차이가 발견되지 않았다. 이 결과들을 볼 때 QuEChERS법은 기존의 액액분배법을 이용한 분석과 비교하여 동등한 회수율 결과를 보였으며, 분석 시간은 기존보다 약 1/4 정도 단축되었다. 또한 추출 과정 중 dichloromethane 등의 유해 유기용매 사용을 배제하여 실험자의 건강보호 및 폐용매의 양을 현저하게 줄일 수 있어 친환경적이면서 경제적인 분석법으로 판단되었다.

색인어 잔류농약 분석법, 시료 전처리, QuEChERS