



Dispersive Solid Phase Extraction을 사용한 우유 내 잔류농약 다성분 동시 분석법 비교연구

오남수 · 신용국 · 이지영 · 백승천*

서울우유협동조합 중앙연구소

Comparative Evaluation of the Analytical Methods used to Determine Pesticide Residues in Milk via Dispersive Solid Phase Extraction

Nam Su Oh, Yong Kook Shin, Ji Young Lee and Seung Chun Baick*

R&D Center, Seoul Dairy Cooperative, Ansan 425-839, Korea

Abstract

The aim of this study was to optimize a simple, fast, and economic analytical method for the simultaneous determination of various pesticides (aldrin, p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDE, α -endosulfan, β -endosulfan, dieldrin, heptachlor, permethrin, chlordane, deltamethrin, diazinon, bifenthrin, methoprene, propargite, fenpropathrin, cypermethrin, fenvalerate, and fenpropathrin) in milk by using dispersive solid phase extraction (SPE). In this study, two different extraction methods (low temperature cleanup and liquid-liquid partitioning), which were followed by a cleanup process based on dispersive-SPE, were evaluated and compared for the 19 pesticides. The results for all the pesticides were determined by gas chromatography mass spectrometry (GC/MS) with selected-ion monitoring mode, and the matrix effect of the method was evaluated. Comparison of these approaches yielded higher and more consistent recoveries of most pesticides at fortification levels of 1 μ g/mL using low-temperature fat precipitation, followed by cleanup process based on dispersive-SPE with PSA and C18 as sorbents, than other preparation process. The relative standard deviation was <20 % and the combination of this method were very effective for the cleanup.

Keywords: pesticides, GC/MSD-SIM, dispersive-SPE, matrix effect, recovery

서 론

전통적인 지방성 시료의 농약잔류 분석 시, 시료의 전처리하는 FDA의 PAM(Pesticides Analytical Manual)과 AOAC international의 970.52 method와 같이 일반적으로 소수성 유기용매를 사용한 액액추출(Liquid Liquid Extraction; LLE) 후 column-SPE 또는 cartridge-SPE, gel permeation chromatography(GPC)를 사용하여 정제하는 방법이 적용되어 왔

으나, 이 방법은 많은 양의 유기용매와 분석기구가 사용되고, 분석시간이 길며, 복잡한 분석단계로 인하여 추출회수율이 저하될 가능성이 크다(Schenck *et al.*, 2000; Sánchez-Brunete *et al.*, 2004). 따라서 이러한 단점을 보완하기 위하여 컬럼 정제 방법을 기계화한 고체상 추출방법을 개량한 가속용매 추출방법(Accelerated Solvent Extraction; ASE), 액체와 기체의 장점을 지닌 유체를 이용한 초임계 유체 추출방법(Supercritical Fluid Extraction; SFE) 및 용매와 마이크로파를 적절히 이용한 마이크로파 추출방법(Micro Assisted Extraction) 등 자동화 전처리 방법이 개발되어 사용되고 있으며, 최근에는 추출과 농축에 중합체 고정상으로 피복된

* Corresponding author: Seung Chun Baick, R&D Center, Seoul Dairy Cooperative, Ansan 425-839, Korea. Tel: +82-2-490-8007, Fax: +82-2-490-8619; E-mail: baicksc@seoulmilk.co.kr

소규모의 고향상 미세 추출방법이 새로운 전처리 방법으로 등장하였다(Hercegova *et al.*, 2007). 그러나 농약의 전처리 방법이 효과적이기 위해서는 목표 농약성분을 선택적으로 유리할 수 있어야 하고, 회수 및 유리과정에서 재현성과 효율성을 갖추어야 되겠으며, 신속 간편하고 경제적이어야 한다. 따라서 식품에서 여러 가지 다양한 농도로 잔존되어 있는 농약을 보다 적은 비용으로 쉽게 분석할 수 있는 방법이 개발되었으며, 이 방법은 2003년 미국 농업연구청(Agricultural Research Service; ARS)에 의해 개발된 것으로서 QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) method라고 불려지고 있으며, 식품 시료들로부터 잔류 농약을 추출해 내고, dispersive-SPE(solid phase extraction)를 사용하여 분석에 알맞도록 정제하는 과정을 보다 능률적으로 접근한 방법이다(Anastassiades *et al.*, 2003; Lehotay *et al.*, 2001). 현재 우유에 적용된 QuEChERS method는 대부분 친수성의 유기인계 농약의 분석에 적합하며, 일부 포함되어 있는 지용성 유기염소계 농약의 회수율은 매우 낮은 것으로 보고되었다(Anastassiades *et al.*, 2003). 따라서 본 연구에서는 QuEChERS method의 dispersive-SPE를 적용하여 신속하고 정확한 지용성 농약의 동시 다성분 분석법을 개발하고자 하였다. 지용성 농약의 경우, 반드시 지방 추출과정이 포함되어야 하고, 추출된 시료의 지방성 성분을 효과적으로 제거하고자 일반적으로 많이 사용되는 Liquid-liquid partitioning method와 Lenza-Rizos 등(2001)의 연구에서 처음 소개된 low-temperature cleanup method를 적용하여 비교하였으며, 이와 연결하여 primary/secondary amine(PSA) 및 PSA + C18의 sorbent가 사용된 dispersive-SPE 정제방법의 최적 조건을 설정하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 적용 대상 농약

분석 대상 물질은 우유 중 잔류 허용기준이 설정된 농약 중 Codex Alimentarius Commission에서 지용성 농약으로 명시된 aldrin, p,p'-DDT(dichloro-diphenyl-trichloroethane), o,p'-DDT, p,p'-DDE(dichloro-diphenyl-dichloroethylene), α -endosulfan, β -endosulfan, dieldrin, heptachlor, permethrin, chlordane, deltamethrin, diazinon, bifenthrin, methoprene, propargite, fenprothrin, cypermethrin, fenvalerate, fenprothrin의 19종으로 선정하였으며, 적용 대상 농약 및 허용기준은 Table 4와 같다.

2. 대상시료 및 시약

실험에 사용한 우유 제품은 대형마트에서 구매하였다. 19

종의 개별 잔류농약은 순도 90% 이상의 분석용 표준품을 Dr. Eherenstofer GmbH(Augsburg, Germany)에서 구입하여 사용하였으며, 내부표준용액인 Pentachloronitrobenzene(PCNB)는 Chem Service, Inc.(USA)에서 구입하여 사용하였다. Dispersive solid phase extraction(Dispersive-SPE)를 위한 primary/secondary amine(PSA), magnesium sulfate anhydrous(MgS) 및 PSA & endcapped C18는 United Chemical Technologies, Inc.(USA)에서 구입하였다. 그 외에 전처리 과정 및 분석에 사용된 시약은 모두 잔류분석용이나 특급시약을 사용하였다.

3. 실험방법

1) 표준용액

개별 농약 표준품을 20% acetone/n-hexane에 녹여 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 수준의 stock solution을 조제하였다. 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 원액상태인 내부표준물질(PCNB)은 표준품과 동일한 용매를 사용하여 희석하였으며, 혼합 표준 용액과 시료에 각각 동일하게 5 $\mu\text{g/mL}$ 가 첨가되도록 조제하였다. 혼합 표준 원액은 10 $\mu\text{g/mL}$ 수준으로 조제하였고, 검량곡선 작성을 위한 혼합 표준 용액은 20% acetone/n-hexane에 희석하여 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 0.5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$ 로 matrix-free standards를 조제하였다. 이와 함께 분석 시 matrix effect를 확인하기 위하여 표준물질이 첨가되지 않은 전처리한 공시료를 희석 용매로 사용하여 위와 동일한 농도 범위의 matrix-matched calibration standards를 조제하여 분석 전까지 -4°C 에서 보관하였다.

2) 지방 추출

지용성 농약성분의 분석을 위한 우유시료의 지방 추출은 US FDA method를 사용하여 추출하였다(MacMahon *et al.*, 1994). 시료 약 50 g을 칭량하고, methanol 100 mL와 sodium oxalate 1 g을 centrifuge bottle에 넣어 혼합하였다. Diethyl ether 50 mL를 넣고 1분간 교반한 후, petroleum ether 50 mL를 넣고 다시 1분간 교반하여 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 분리된 유기 용매 층은 증류수 200 mL와 saturated NaCl solution 30 mL를 넣은 분액여두로 옮기고, centrifuge bottle에 남아 있는 잔류물은 diethylether/petroleum ether(1:1) 50 mL로 2회 반복 추출하여 모두 합쳤다. 유기 용매 층을 증류수 100 mL로 2회 세척한 후 무수 Na_2SO_4 를 통과시켜 탈수시키고, 이 액을 회전감압농축기(40°C , 수축조)를 사용하여 농축하였다.

3) 정제

본 연구에서는 농약 분석을 위한 최적의 정제방법 결정

을 위해 Low-temperature cleanup method 및 Liquid-liquid partitioning method를 사용하여 추출하고, 이를 각각 두 가지 종류의 sorbent로 이루어진 dispersive-SPE를 사용하여 비교 실험하였다.

(1) Low-temperature cleanup

추출된 지방 1~1.5 g을 칭량하여 50 mL centrifuge tube에 넣고 각각의 시료에 회수율 시험을 위한 조제 표준용액을 첨가하여 이를 1분간 교반하였다. 약 한 시간 가량을 정치한 후 acetonitrile 10 mL를 가하였다. 이를 5분간 교반한 다음 지방의 침전을 위하여 -20°C 에서 24시간 보관하였다.

(2) Liquid-liquid partitioning

지방시료 1~1.5 g을 칭량하여 위와 같은 방법으로 조제 표준용액을 첨가하고, 각각의 시료에 5 mL n-Hexane 및 10 mL acetonitrile을 첨가하였다. 이를 5분간 교반한 다음 층분리가 완전하게 일어날 수 있도록 10분간 정치하였다.

추출하여 분리된 acetonitrile층의 1 mL를 취하여 정제를 위한 50 mg PSA + 150 mg anhydrous MgS 및 50 mg PSA + 50 mg C18 + 150 mg anhydrous MgS가 첨가된 각각의 dispersive-SPE tube에 넣고 5분간 교반하였다. 이를 3,000 rpm에서 1분간 원심분리하여, 각각의 추출용액 중 0.5 mL를 취하여 GC/MS 분석을 위한 시험용액으로 하였다.

4. 기기분석

농약 분석을 위한 GC/MSD는 Mass spectrometer(Agilent 5975C, USA)를 장착한 gas chromatography(Agilent 7890A, USA)를 사용하였으며, Table 2와 같은 조건으로 분석하였다. Full Scan-mode(50~550 m/z)를 사용하여 개별 농약성분에 대한 머무름시간(retention time, RT) 및 상대적 머무름 시간(Relative retention time, RRT)을 확인하였다(Table 1). 농약 성분의 정량은 선택이온 검색법(selected ion monitoring, SIM)을 사용하였으며, 이를 위한 분석조건은 두 group으로 나누어 설정하였다(Table 3).

결과 및 고찰

1. Matrix effect

식품 중 GC를 사용한 농약의 분석 시 matrix enhancement는 자주 발생하는 현상이다(Schenck *et al.*, 2000; Albero *et al.*, 2004). GC system 중 주로 흡착이 되는 injection liner 또는 특정 농약 성분의 부분적 열 변성이 matrix enhancement의 주요한 원인이 되며, 시료 정제와 injection techniques과

Table 1. Retention times, relative retention times and selected ions of the studied pesticides

Pesticides	t_R (min)	t_{RR} (min)	m/z^a
1 PCNB(IS) ^b	13.426	0.000	<u>237</u> , 249
2 Diazinon	16.252	1.047	<u>179</u> , 274, 100
3 Aldrin	17.471	1.300	<u>263</u> , 66, 265
4 Heptachlor epoxide	19.832	1.407	<u>353</u> , 355, 351
5 Chlordane	19.720	1.471	<u>373</u> , 375, 377
6 Methoprene	19.732	1.468	<u>73</u> , 111, 109
7 α -Endosulfan	20.253	1.506	<u>241</u> , 195, 239
8 p,p'-DDE	21.134	1.573	<u>264</u> , 318, 316
9 Dieldrin	21.241	1.579	<u>79</u> , 263, 81
10 β -Endosulfan	22.382	1.667	<u>195</u> , 237, 241
11 o,p'-DDT	22.773	1.691	<u>235</u> , 237, 165
12 Endosulfan sulfate	23.791	1.772	<u>272</u> , 274, 387
13 p,p'-DDT	24.013	1.788	<u>235</u> , 237, 265
14 Propagite	24.646	1.836	<u>135</u> , 173, 81
15 Bifenthrin	25.881	1.928	<u>181</u> , 166, 165
16 Fenpropathrin	26.219	1.953	<u>97</u> , 181, 55
17 Cyfluthrin	30.965	2.223	<u>163</u> , 206, 165
18 Cypermethrin	32.286	2.377	<u>163</u> , 181, 165
19 Fenvalerate	35.126	2.614	<u>125</u> , 167, 181
20 Deltamethrin	38.762	2.882	<u>181</u> , 253, 251

^a Target ions are underlined

^b IS - Internal standard

Table 2. The operating conditions of GC/MS

Columnn	DB5-ms (30 m×0.25 mm×0.25 μm film thickness, Agilent J&W, USA)
Carrier gas	Helium
Oven	190 $^{\circ}\text{C}$
Transfer line temp.	280 $^{\circ}\text{C}$
Column flow	0.9 mL/min
Injector temp.	260 $^{\circ}\text{C}$
Oven temp.	80 $^{\circ}\text{C}$ (2.5 min) \rightarrow 50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 140 $^{\circ}\text{C}$ \rightarrow 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 260 $^{\circ}\text{C}$ (20 min)
Injection vol.	1 μL
Ionization mode	EI, 70 eV
Source temp.	230 $^{\circ}\text{C}$
Split ratio	Splitless

같이 다양한 요인들과 관련하여 연구되어 왔다(Godula *et al.*, 1999; Egea González *et al.*, 2002). 이러한 문제의 해결은 본 연구에서 수행된 공시료에 표준물질을 첨가한 matrix-

Table 3. SIM program used to analyze various pesticides

Group	Time (min)	Pesticides	m/z	Dwell time (ms)
1	3.00	PCNB ^a	237, 249	100
	13.80	Diazinon	179, 274, 100	100
	16.50	Aldrin	263, 66, 265	100
	18.20	Heptachlor-epoxide	353, 355, 351	100
	19.30	Chlordane, α -Endosulfan	373, 375, 377, 241, 195, 239	100
	20.85	Dieldrin, o,p'-DDT	79, 263, 81, 235, 237, 165	100
	23.30	p,p'-DDT	235, 237, 165	100
	29.00	Cyfluthrin	163, 206, 165	100
	37.00	Deltamethrin	181, 253, 251	100
	2	5.00	PCNBa	237, 249
18.00		Methoprene	73, 111, 109	100
20.35		p,p'-DDE, β -Endosulfan	264, 318, 316, 195, 237, 241	100
23.10		Endosulfan sulfate	272, 274, 387	100
23.93		Propagite	135, 173, 81	100
25.10		Bifenthrin, Fenpropathrin	181, 166, 165, 97, 55	100
29.00		Cypermethrin	163, 181, 165	100
33.00		Fenvalerate	125, 167, 181	100

^a Internal standard

Table 4. Limit of detection, limit of quantification and maximum residue level of the studied pesticides

Pesticides	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	MRL ($\mu\text{g/mL}$)
Diazinon	0.01	0.03	0.5
Aldrin	0.01	0.04	0.15
Heptachlor epoxide	0.01	0.03	0.15
Chlordane	0.01	0.02	0.25
Methoprene	0.01	0.03	1.25
α -Endosulfan	0.01	0.04	0.1
p,p'-DDE	0.01	0.02	0.5
Dieldrin	0.01	0.04	0.15
β -Endosulfan	0.01	0.04	0.1
o,p'-DDT	0.01	0.03	0.5
Endosulfan sulfate	0.02	0.02	0.1
p,p'-DDT	0.01	0.04	0.5
Propagite	0.02	0.06	2.5
Bifenthrin	0.0004	0.001	0.25
Fenpropathrin	0.01	0.03	2.5
Cyfluthrin	0.04	0.1	0.25
Cypermethrin	0.04	0.1	1.25
Fenvalerate	0.01	0.02	2.5
Deltamethrin	0.02	0.05	0.5

matched standard의 사용과 내부표준물질의 사용이 가장 일반적인 방법으로 사용되며, analyte protectants 등이 사용되기도 한다(Sanchez-Brunete *et al.*, 2004; Albero *et al.*, 2005). 그러나 U.S. Federal Agencies 등과 같은 일부 기구에서는 표준물질 첨가 공시료를 분석에 사용하는 것을 허용하지 않는 경우도 있다(Anastassiades *et al.*, 2003; Erney and Poole, 1993). Fig. 1, 2는 분석 방법 별 matrix-matched standard와 matrix-free standard의 분석 결과이며, 본 연구에서 사용된 유기염소계 농약(aldrin, p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDE, α -endosulfan, β -endosulfan, dieldrin, heptachlor-epoxide, permethrin, chlordane)의 경우 matrix effect가 매우 적게 나타난 반면, low-temperature cleanup 후 dispersive-SPE(PSA + C18)의 방법으로 정제한 공시료를 제외한 나머지 matrix-matched standard의 경우, pyrethroid계 농약성분인 bifenthrin, fenpropathrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate의 경우 Consuelo 등(2005)의 연구에서와 같이 matrix-matched standard의 response가 약 두 배 수준으로 증가한 것으로 나타났다. Schenck와 Lehotary(2000)의 연구에서는 일반적으로 유기염소계 농약의 경우, 가장 적은 matrix effect를 나타내며, hydroxyl (-OH) 또는 amino group(R-NH-) 등을 가지는 농약들과 일부 유기인계 농약들에서 matrix enhancement가 더욱 많이 발생된다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 일부 분석 대상 농약성분들의 matrix effect로 인한 분석결

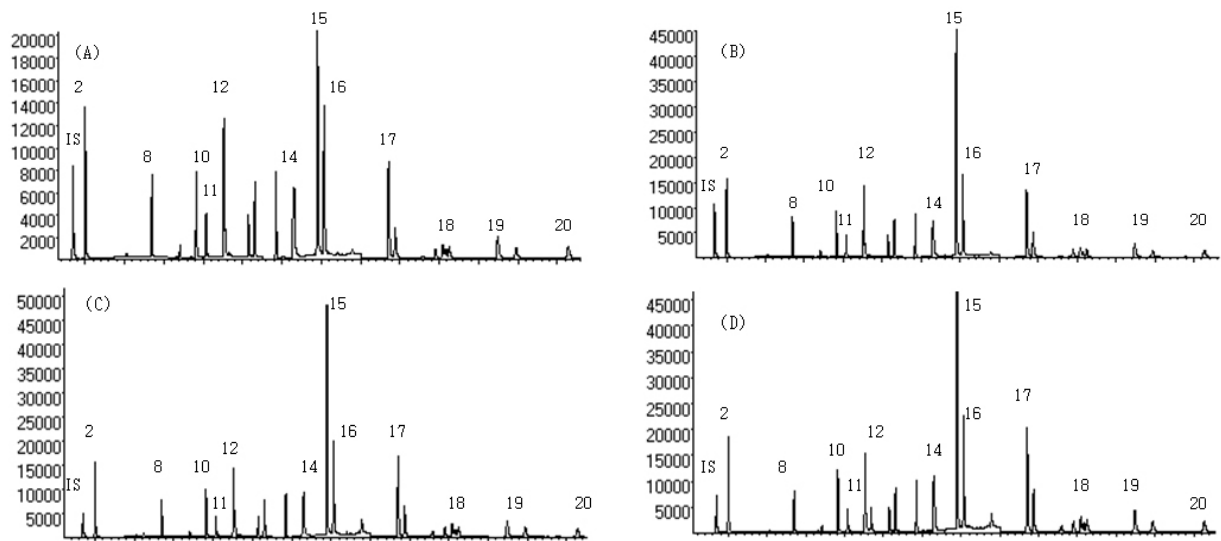


Fig. 1. Extracted chromatograms of target ions in the milk matrix matched standard solution from GC/MS measurements in SIM mode (A) Low temperature cleanup + Dispersive SPE (PSA + C18), (B) Low temperature cleanup+dispersive SPE (PSA only), (C) LL-partitioning + dispersive-SPE (PSA + C18), (D) LL-partitioning + dispersive-SPE (PSA only).

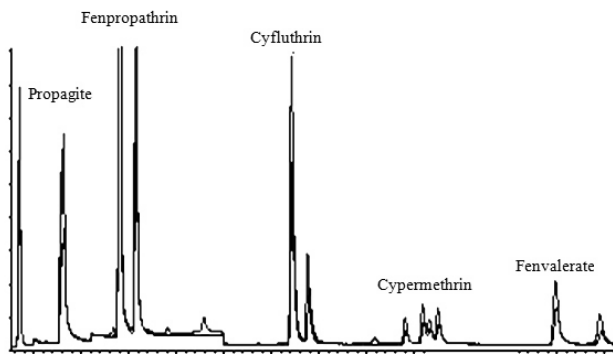


Fig. 2. Overlayd GC/MS chromatograms of selected pesticide standards prepared in neat 20% acetone/n-hexane (lower responses) and blank milk matrix-matched standards (higher responses); both at concentration level 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Matrix matched standards were prepared- LL-partitioning+dispersive-SPE (PSA only).

과의 오차를 최소화하기 위하여 matrix-matched standard를 사용하였으며, 내부표준물질(PCNB)에 의한 정량 결과를 적용하였다.

2. 추출 및 정제 방법의 결정

Solid phase extraction(SPE), gel permeation chromatography (GPC) 방법이 전통적으로 많이 사용되었던 농약분석 중 정제 방법이며, 이와 비교하여 본 연구에서 수행한 dispersive-SPE가 높은 회수율과 함께 시간, 노동, 비용 등의 측면에서 월등하게 효율적이라는 많은 보고들이 있다(Lehotay *et al.*,

2001; Mastovska and Lehotay, 2004). 본 연구에서는 Liquid-liquid partitioning 및 low-temperature cleanup을 사용하였고, 정제를 위한 dispersive-SPE는 PSA와 PSA + C18 sorbents를 사용하여 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 처리농도에서 각각 6회 반복으로 실험하여 재현성 및 정확성을 비교 확인하였으며, 그 결과는 Table 5, 6과 Fig. 2에 나타내었다. 일반적으로 잔류농약 분석 측정값의 허용 회수율 범위는 70~120%이며, RSD는 20% 이내로 권고하고 있으며(European Union, 2007), 본 연구에서는 Schenck와 Lehotay(2000)의 연구에서와 같이 회수율 110% 이상은 matrix enhancement의 영향이 있는 것으로 평가하였다. Low-temperature cleanup 후 Dispersive-SPE의 두 가지 sorbent를 비교한 결과, PSA + C18을 사용한 정제방법의 회수율은 평균 96.1%로 나타났으며, methoprene(120%)을 제외한 모든 농약성분이 110% 미만인 81.3~107.5%로서 높은 회수율과 분석시료 중 간섭물질의 충분한 제거가 이루어진 것으로 나타났다. PSA만을 사용한 정제방법의 경우 평균 92.1%의 회수율을 나타내었으며, α -endosulfan (128%)와 cyfluthrin(112%)을 제외한 나머지 농약성분에 대해서는 70.8~107.4%의 양호한 회수율을 나타내었다. Liquid-liquid partitioning 방법을 사용하여 추출한 시료의 정제방법 중 두 가지 sorbent를 비교한 결과, PSA + C18과 PSA를 사용한 정제방법이 각각 평균 114.5%와 92.7%의 양호한 회수율을 보였다. 그러나 위 방법은 PSA + C18의 정제방법이 PSA만을 사용한 정제방법에 비하여 전반적인 회수율은 높으나, diazinon, heptachlor-epoxide, chlordane, α -endosulfan, dieldrin, bifenthrin, β -endosulfan, endosulfan sulfate, pro-

Table 5. Average % recoveries & % RSD of fortified pesticides in milk at 1 µg/mL level from low temperature cleanup procedure with dispersive-SPE

Pesticides	Average recovery(%) ± RSD(%, n=6)	
	PSA + C18	PSA only
Diazinon	98.7 ± 8.4	104.0 ± 7.3
Aldrin	99.8 ± 5.1	70.8 ± 1.8
Heptachlor epoxide	89.7 ± 7.4	92.2 ± 5.7
Chlordane	99.5 ± 8.5	85.5 ± 6.5
Methoprene	99.8 ± 7.8	128.2 ± 14.7
α-Endosulfan	97.6 ± 6.9	97.6 ± 1.4
p,p'-DDE	89.0 ± 7.0	83.3 ± 6.9
Dieldrin	84.3 ± 8.1	81.5 ± 3.7
β-Endosulfan	107.2 ± 6.8	107.4 ± 1.4
o,p'-DDT	107.5 ± 6.1	111.6 ± 3.5
Endosulfan sulfate	83.0 ± 8.5	106.2 ± 2.3
p,p'-DDT	120.0 ± 9.3	102.3 ± 7.4
Propagite	81.3 ± 6.7	70.2 ± 6.2
Bifenthrin	86.0 ± 7.6	79.3 ± 7.0
Fenpropathrin	84.3 ± 8.5	77.7 ± 8.5
Cyfluthrin	103.2 ± 6.9	92.6 ± 8.7
Cypermethrin	99.8 ± 4.5	84.2 ± 7.6
Fenvalerate	98.2 ± 7.5	88.5 ± 8.1
Deltamethrin	96.0 ± 11.5	86.8 ± 9.1

Table 6. Average % recoveries & % RSD of fortified pesticides in milk at 1 µg/mL level from liquid-liquid partitioning procedure with dispersive-SPE

Pesticides	Average recovery(%) ± RSD(%, n=6)	
	PSA + C18	PSA only
Diazinon	124.2 ± 6.6	85.5 ± 8.4
Aldrin	93.8 ± 4.7	79.0 ± 8.9
Heptachlor epoxide	113.3 ± 3.3	79.5 ± 6.5
Chlordane	112.3 ± 4.4	86.0 ± 10.7
Methoprene	115.0 ± 8.8	103.8 ± 17.5
α-Endosulfan	113.7 ± 3.6	75.8 ± 9.0
p,p'-DDE	91.5 ± 4.5	79.0 ± 8.9
Dieldrin	73.8 ± 4.3	68.6 ± 7.0
β-Endosulfan	124.2 ± 3.5	95.2 ± 7.4
o,p'-DDT	104.3 ± 3.9	93.5 ± 8.0
Endosulfan sulfate	108.0 ± 6.3	90.7 ± 9.1
p,p'-DDT	98.8 ± 9.4	79.3 ± 8.3
Propagite	106.5 ± 5.1	72.2 ± 7.8
Bifenthrin	133.0 ± 3.9	98.2 ± 5.7
Fenpropathrin	135.3 ± 4.1	102.8 ± 2.7
Cyfluthrin	128.2 ± 3.1	121.8 ± 8.4
Cypermethrin	120.0 ± 6.6	99.8 ± 5.0
Fenvalerate	122.5 ± 6.2	114.3 ± 7.0
Deltamethrin	124.3 ± 5.6	121.0 ± 6.7

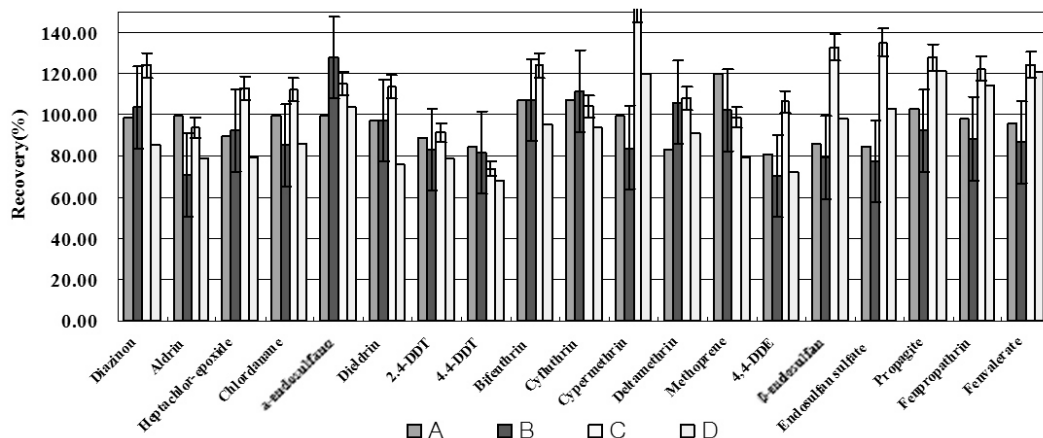


Fig. 3. Results of recovery experiments of various pesticide residues from milk at spiking level 1 µg/mL. GC/MS analyzer was utilized (A) Low temperature cleanup+ Dispersive SPE (PSA+C18), (B) Low temperature cleanup +dispersive SPE (PSA only), (C) LL-partitioning+ dispersive-SPE (PSA+C18), (D) LL-partitioning+dispersive-SPE (PSA only).

pagate, fenpropathrin, cypermethrin, fenvalerate에서 110% 이상의 회수율을 보여 분석시료 중 간섭물질의 제거가 잘 이루어지지 않은 것으로 사료되었으며, PSA만을 사용한 정

제방법 역시 endosulfan sulfate, propagate, fenpropathrin, cypermethrin, fenvalerate의 회수율이 110% 이상으로 Low-temperature cleanup에 비하여 좋지 않은 정제효율을 나타

내었다. 따라서 본 연구에서 수행한 비교 실험에서는 low-temperature cleanup 후 dispersive-SPE(PSA + C18)로 정제하는 방법이 시료 추출물의 간섭물질을 제거하는데 가장 효과적이고, 개별 농약 성분의 회수율 또한 전체적으로 가장 높은 수준을 나타내었으며, 모든 농약성분의 6회 반복실험 결과에 대한 RSD(%)가 20% 이하로 적합한 재현성을 나타내었다. Lenza-Rizos 등(2001)의 연구에서는 작은 분자량의 농약성분들은 추출된 지방으로부터 분리되며, 큰 분자량의 지방성분은 저온에 조건에서 침전하게 되는 low-temperature cleanup이 지방성 시료의 정제에 매우 효과적인 것으로 보고하였고, Hercegova 등(2007)의 연구에서도 dispersive-SPE의 sorbent 중 PSA + C18의 조합이 특히 콜레스테롤과 같은 지방성분을 제거하는데 가장 좋은 결과를 나타내었다. 또한 전통적인 SPE 분석방법을 사용하여 우유 중 지용성 농약성분을 분석한 이전의 연구 결과와 비교하였을 때 Darko와 Acquaah(2007)의 연구 결과보다 전반적으로 우수한 회수율을 보였으며, Battu 등(2004)의 연구와는 유사한 수준의 높은 회수율 결과를 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 dispersive-SPE를 사용하여 간편하고, 신속하며, 경제적인 우유 내 19종 잔류농약의 동시 다성분 분석법을 설정하고자 하였다. Liquid-liquid partitioning method와 low-temperature cleanup method를 적용한 추출방법과 PSA 및 PSA + C18의 sorbent가 사용된 dispersive-SPE를 사용한 정제방법을 비교 실험하였으며, GC/MS의 선택이온 검색법(selected ion monitoring, SIM)으로 정량 분석하였다. matrix-matched standards와 matrix-free standards를 사용하여 분석방법의 matrix enhancement effect를 확인하였고, 분석방법 설정을 위한 비교실험의 결과, low-temperature cleanup 방법으로 추출하여 dispersive-SPE(PSA + C18)로 정제하는 방법이 시료 추출물의 간섭물질을 제거하는데 가장 효과적이고, 첨가한 1 µg/mL에 대한 개별 농약 성분의 회수율 또한 전체적으로 가장 높은 수준을 나타내었으며, 모든 농약 성분의 RSD(%)가 20% 이하로서 기준에 적합한 재현성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품기술기획평가원(iPET) 고부가가치식품기술개발사업의 지원(314068-03-1-HD020)에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Albero, B., Sánchez-Brunete, C. and Tadeo, J. L. 2005. Multiresidue determination of pesticides in juice by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*. 66(4):917-924.
2. Albero, B., Sánchez-Brunete, C., Donoso, A. and Tadeo, J. L. 2004. Determination of herbicide residues in juice by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 1043(2):127-133.
3. Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D. and Schenck, F. J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* 86(2):412-431.
4. Anastassiades, M., Mastovská, K. and Lehotay, S. J. 2003. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *J. Chromatogr. A*. 1015(1-2):163-184.
5. Battu, R. S., Singh, B. and Kang, B. K. 2004. Contamination of liquid milk and butter with pesticide residues in the Ludhiana district of Punjab state, India. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 59(3):324-331.
6. Campoy, C., Jimenez, M., Olea, S., Moreno, M., Canabate, F., Olea, N., Bayes, R. and Molina-Font, J. A. 2001. Analysis of organochlorine pesticides in human milk: Preliminary results. *Early Human Development* 65:S183-S190.
7. Consuelo, S. B., Beatriz, A., German, M. and Jose, L. 2005. Determination of pesticides by GC/MS using analyte protectants to counteract matrix effect. *Anal. Sci.* 21: 1291-1296.
8. Darko, G. and Acuaah, S. O. 2007. Levels of organochlorine pesticides residues in dairy products in Kumasi, Ghana. *Chemosphere* 71(2):294-298.
9. Egea González, F. J., Hernández Torres, M. E., Almansa López, E., Cuadros-Rodríguez, L. and Martínez Vidal, J. L. 2002. Matrix-effects of vegetable commodities in electron-capture detection applied to pesticide multiresidue analysis. *J. Chromatogr. A*. 966(1-2):155-165.
10. European Union (2007) Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed (Document No. SANCO/10232/2006). Available from : <http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/>

qualcontrol_en.pdf

11. Godula, M., Hajšlová, J. and Alterová, K. 1999. Pulsed splitless injection and the extent of matrix effects in the analysis of pesticides. *J. High Res. Chromatogr.* 22:395-402.
12. Hercegovca, A., Domotorova, M. and Matisova, E. 2007. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *J. Chromatogr. A.* 1153(1-2):54-73.
13. Lehotay, S. J., Mastovská, K. and Yun, S. J. 2005. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes. *J. AOAC. Int.* 88(2):630-638.
14. Lehotay, S. J., Lightfield, A. R., Harman-Fetcho, J. A. and Donoghue, D. J. 2001. Analysis of pesticide residues in eggs by direct sample introduction/gas chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 49(10):4589-4596.
15. Lentza-Rizos, C. H., Avramides, E. J. and Cherasco, F. 2001. Low-temperature clean-up method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. *J. Chromatogr. A.* 912(1):135-142.
16. MacMahon, B. M. and Wagner, R. F. (1994, revised 1996). *Pesticide analytical manual*. Volume 1, 3rd ed. U.S. FDA.
17. Sánchez-Brunete, C., Albero, B. and Tadeo, J. L. 2004. Multiresidue determination of pesticides in soil by gas chromatography-mass spectrometry detection. *J. Agric. Food Chem.* 52(6):1445-1451.
18. Schenck, F. J. and Lehotay, S. J. 2000. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food? *J. Chromatogr. A.* 868:51-61.

(Received 1 March 2015 / Accepted 15 March 2015)