Korean Journal of Environmental Agriculture

Korean J Environ Agric. 2018;37(2):104-116. Korean
Published online 2018 June 1. https://doi.org/10.5338/KJEA.2018.37.2.12

Online ISSN: 2233-4173
Print ISSN: 1225-3537

Research Article

Open Access

GC-ECD/MS를 이용한 농산물 중 Bifenox, Ethalfluralin, Metolachlor, Oxyfluorfen, Pretilachlor, Thenylchlor 및 Trifluralin의 동시 분석

안경근[1], 김기쁨[1], 황영선[2], 강인규[3], 이영득[4], 정명근[1*]

[1]강원대학교 보건과학대학 생약자원개발학과, [2]텍사스주립대학교 생물학과,
[3]경북대학교 농업생명과학대학 원예과학과, [4]대구대학교 과학생명융합대학 생명환경학부

Simultaneous Pesticide Analysis Method for Bifenox, Ethalfluralin, Metolachlor, Oxyfluorfen, Pretilachlor, Thenylchlor and Trifluralin Residues in Agricultural Commodities Using GC-ECD/MS

Kyung Geun Ahn[1], Gi Ppeum Kim[1], Young Sun Hwang[2], In Kyu Kang[3], Young Deuk Lee[4] and Myoung Gun Choung[1*] ([1]Department of Herbal Medicine Resource, College of Health Science, Kangwon National University, Samcheok 25949, Korea, [2]Department of Biology, University of Texas-Arlington, Arlington, TX 76019, USA, [3]Department of Horticultural Science, College of Agriculture and Life Sciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea, [4]Division of Life and Environmental Science, College of Science Life Integration, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea)

Received: 1 April 2018/ Revised: 27 April 2018/ Accepted: 25 May 2018

ORCID
Myoung Gun Choung
http://orcid.org/0000-0002-4391-5513

Young Deuk Lee
http://orcid.org/0000-0003-4282-457X

Abstract

BACKGROUND: This experiment was conducted to establish a simultaneous analysis method for 7 kinds of herbicides in 3 different classes having similar physicochemical property as diphenyl ether(bifenox and oxyfluorfen), dinitroaniline (ethalfluralin and trifluralin), and chloroacetamide (metolachlor, pretilachlor, and thenylchlor) in crops using GC-ECD/MS.

METHODS AND RESULTS: All the 7 pesticide residues were extracted with acetone from representative samples of five raw products which comprised apple, green pepper, Kimchi cabbage, hulled rice and soybean. The extract was diluted with saline water and directly partitioned into *n*-hexane/dichloromethane(80/20, v/v) to remove polar co-extractives in the aqueous phase. For the hulled rice and soybean samples, *n*-hexane/acetonitrile partition was additionally employed to remove non-polar lipids. The extract was finally purified by optimized Florisil column chromatography. The analytes were separated and quantitated by GLC with ECD using a DB-1 capillary column. Accuracy and precision of the proposed method was validated by the recovery experiment on every crop samples fortified with bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor, and trifluralin at 3 concentration levels per crop in each triplication.

CONCLUSION: Mean recoveries of the 7 pesticide residues ranged from 75.7 to 114.8% in five representative agricultural commodities. The coefficients of variation were all less than 10%, irrespective of sample types and fortification levels. Limit of quantitation (LOQ) of the analytes were 0.004 (etahlfluralin and trifluralin), 0.008 (metolachlor and pretilachlor), 0.006 (thenylchlor), 0.002 (oxyfluorfen), and 0.02 (bifenox) mg/kg as verified by the

*Corresponding author: Myoung Gun Choung
Phone: +82-33-540-3321; Fax: +82-33-540-3329;
E-mail: cmg7004@kangwon.ac.kr

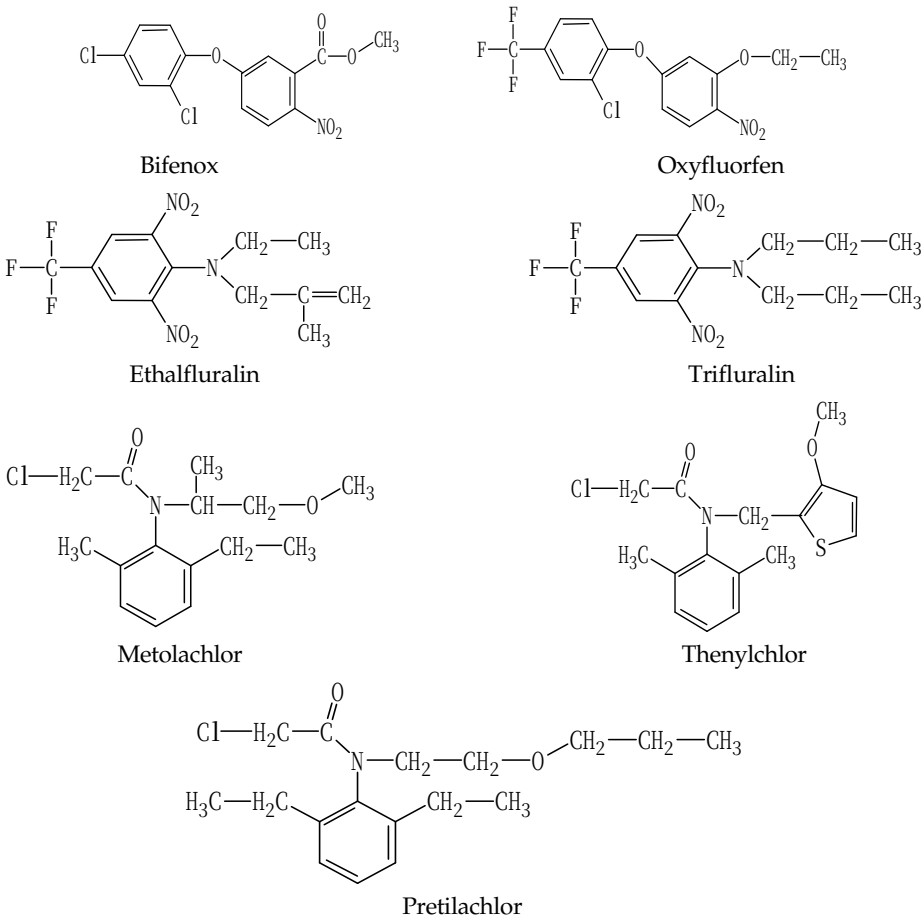

Fig. 1. Chemical structures of bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor, and trifluralin.

recovery experiment. A confirmatory technique using GC/MS with selected-ion monitoring was also provided to clearly identify the suspected residues. Therefore, this analytical method was reproducible and sensitive enough to determine the residues of bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor, and trifluralin in agricultural commodities.

Key words: Chloroacetamide, Dinitroaniline, Diphenyl ether, GC-ECD/MS, Residues

서 론

농산물 재배 시 병해충 및 잡초를 방제하기 위한 농약의 사용량은 매년 증가하여 농산물 중 잔류농약에 의한 독성학적 위해 유발 가능성이 지속적으로 제기되어 왔으며, 이에 따라 농산물의 안전성 확보가 커다란 사회적 문제로 대두되고 있다(Park and Lee, 2003). 현재 국내 사용되고 있는 농약의 경우 일부 속효성 약제를 제외하고는 살포 후 일정기간 이상 잔류되는 특성이 있어 최종 수확 농산물에 살포농약이 잔류할 가능성이 있으므로, 살포한 농약들로부터의 안전성 확보는 반드시 이루어져야 할 과제이며(Kwon and Lee, 2003), 국제기준에 준하는 정확하고 신속한 잔류농약 분석법의 확립이 필요하다.

최근 안전 농산물의 확보 및 유통을 위해 농산물에 잔류할 가능성이 있는 다양한 농약에 대해 잔류 분석이 수행되고 있으며, 이 경우 다종농약다성분 분석법을 적용하여 특정 농약의 잔류성 유무를 모니터링 하고, 이후 검출 잔류농약에 대한 정밀한 정량적 분석을 통해 잔류량의 검증이 수행되므로 잔류분석 시 다성분 동시분석의 정확성 및 효율성이 중요한 관건으로 대두될 수 있다.

본 연구는 국내 식품공전에 수록되어 있는 다종농약다성분 분석법 제1법(4.1.2.1) 및 제2법(4.1.2.2)에 수록된 제초제 성분 중 일상분석 시 다성분 분석의 특성 상 분리능이 열등하고, 분석 재현성이 불량하거나 분석 검출기의 최적화가 미비하다고 판단되어지는 dinitroaniline계 제초제 ethalfluralin 및 trifluralin 성분, chloroacetamide계 제초제인 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor 성분과 diphenyl ether계 제초제 bifenox 및 oxyfluorfen을 포함하는 물리화학적 특성이 유사한 제초제 성분 7종에 대한 동시 분석법을 확립하고자 하였다(Fig. 1).

이들 7종의 대상 농약은 잎, 줄기 및 뿌리를 통해 식물체로 용이하게 흡수되며, 세포막을 파괴하여 광합성을 억제하거

나, 배축 및 뿌리에서 흡수되어 발아억제 작용을 함으로써 제초효과를 발휘하는 것으로 보고되고 있다(Hutson, 1998; Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999; European Food Safety Authority, 2007; Jursik *et al.*, 2011).

대상 농약은 강아지풀, 바랭이 및 돌피 등 한해살이풀에 해당하는 잡초제거에 효과적이며, 논 제초에 많이 사용하지만 콩, 오이, 멜론, 호박, 해바라기, 땅콩, 카놀라, 렌즈콩, 옥수수, 대두, 감자, 사탕수수, 사탕무 및 순무 등 밭작물의 광엽제초제로도 광범위하게 사용되고 있다(Hutson, 1998; Canadian Council of Ministers of the Environment, 1999; Judge *et al.*, 2003; European Food Safety Authority, 2007; Dharumarajan *et al.*, 2008; Dow, 2010; Jursik *et al.*, 2011).

국내에서는 옥수수, 대두, 밀, 보리, 땅콩, 메밀, 귀리, 복숭아, 자두, 양파, 고추, 살구, 파, 양배추 등 매우 다양한 농산물에 대한 대상농약 7종의 농약잔류허용기준(Maximum Residue Limits; MRL)은 0.05~1.0 mg/kg 범위로 설정되어 있다(Ministry of Food and Drug Safety, 2018).

본 연구의 대상성분인 Bifenox[methyl 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate], oxyfluorfen(2- chloro-α,α,α-trifluoro-p-tolyl 3-ethoxy-4-nitrophenyl ether), ethalfluralin[N-ethyl-α,α,α-trifluoro-N-(2-methylallyl)-2,6-dinitro-p-toluidine], trifluralin(α,α,α-trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropyl-p-toluidine), metolachlor[2-chloro-N-(6-ethyl-o-tolyl)-N-[(1R-S)-2-metho-xy-1-methylethyl]acetamide], pretilachlor [2-chloro-2',6'-diethyl-N-(2-propoxyethyl)acetanilide] 및 thenylchlor[2-chloro-N-(3-methoxy-2-thenyl)-2',6'-dimethylacetanilide]의 물리화학적 특성을 살펴보면, 대상농약 7종은 모두 일상적 조건에서 해리하지 않는 중성 화합물로 *n*-octanol/water 분배계수(Log P_{ow})는 3.4~5.3 범위의 중간 혹은 비극성 성분이다. 증기압이 0.028~12 mPa 범위로 GLC(Gas-liquid chromatography) 분석이 가능한 충분한 휘발성이 있으며, metolachlor(480 mg/L; EC, 2004)를 제외한 대상 성분들의 물에 대한 용해도는 0.1~1.0 mg/L로 공통적으로 물에 잘 녹지 않지만 다양한 유기용매에는 잘 녹는 특성이 있다(United States Environmental Protection Agency, 1995; Lee, 2003; World Health Organization, 2003; European Food Safety Authority, 2007).

Dinitroaniline계 제초제인 ethalfluralin 및 trifluralin의 잔류분석은 GC-MS(Gas chromatography-mass spectrometry) 및 LC-MS/MS(liquid chromatography-tandem mass spectrometry)를 이용한 분석이 보고된 바 있으나(Shackelford *et al.*, 2000; Lerch *et al.*, 2003; Raina and Hall, 2008), 이들 방법 모두 다성분분석 및 SPE(Solid phase extraction) 정제법의 적용으로 인해 정제도와 재현성이 불량할 우려가 있고, chloroacetamide계 제초제인 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor 또한 SPE 정제 후 GC-MS 및 LC/MS/MS로 분석된 바 있으나(Yokley *et al.*, 2002; Li, 2004; Yun *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010), 선행 연구 결과들은 monitoring의 목적으로 분석, 보고된 것으로 개별성분에 대한 분석조건 및 회수율은 검토되지 않았다. 한편 diphenyl ether계 제초제인 bifenox 및 oxyfluorfen은 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)법 및 UPLC-MS/MS를 적용한 다성분 분석(Mastovska *et al.*, 2010)법이 보고된 바 있으나 실제 농산물을 적용한 정밀한 분석조건 확립 및 회수율은 검토된 바 없으며, 상기 기술한 내용처럼 본 연구의 대상농약 7종에 대한 포괄적 계열별 동시분석법은 현재까지 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서는 물리화학적 특성이 유사한 dinitroaniline계 제초제인 ethalfluralin 및 trifluralin 성분, chloroacetamide계 제초제인 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor 성분과 diphenyl ether계 제초제인 bifenox 및 oxyfluorfen을 포함하는 7종의 대상 농약에 대해 잔류 유무를 판단하는 monitoring의 수준에 그치지 않고, 정확성 및 정밀성이 확보된 계열별 동시 정량 분석법을 개발하고자 하였으며, 시료 조제를 비롯한 모든 과정의 통합을 통해 편이성이 확보된 새로운 계열별 동시 정량분석법을 확립하여 국내 잔류농약 검사의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기구

본 연구에 사용된 bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor 및 trifluralin은 순도 97.7% 이상의 분석용 표준품을 Sigma-Aldrich(USA)로부터 구입하여 사용하였다. 표준품의 stock solution은 *n*-hexane에 녹여 500 mg/L의 농도로 조제하여 -20℃의 냉동고에서 보관하고, 필요 시 마다 *n*-hexane으로 희석하여 사용하였다. Florisil (60~100 mesh)은 J. T. Baker (USA)사로부터 구입하여 130℃에서 하룻밤 이상 가열, 활성화하여 사용하였다. Acetone, *n*-hexane, dichloromethane 및 acetonitrile은 잔류분석용을, deionized water는 HPLC용을 J. T. Baker (USA)사에서 구입하여 사용하였으며, 기타 유기용매 및 무기시약은 시약특급 또는 잔류분석용을 사용하였다. 시료용액의 농축은 Eyela NE- 1000SW (Japan)를 사용하였고, 농산물 시료의 마쇄 및 균질화는 고속 호모게나이저(IKA, Ultra-Turrax T-25, USA)를 이용하였다.

농산물 시료

국내 농약 잔류허용기준(Ministry of Food and Drug Safety, 2018) 중 bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor 및 trifluralin의 사용이 등록되어있는 일부 농산물을 분석대상으로 하였으며, Codex의 잔류분석법 대상 대표 농산물군(Codex, 2003)과 국내 식품 소비량을 감안하여 곡류는 현미, 두류는 콩, 채소류는 고추 및 배추, 과일류에서는 사과를 대표시료로 선정하였다. 각 대표적 시료의 무농약 시료는 지역 대형마트에서 유

Table 1. GC-ECD operating parameters for the analysis of 7 kinds of herbicides

Instrument	Agilent 6890 GC
Detector	^{63}Ni - electron capture detector (ECD)
Column	DB-1 capillary column (0.53 mm i.d.×30 m, 0.50 μm film thickness)
Temp.	Column oven : programming Rate 1 : from 140℃ to 240℃ at 4℃/min Rate 2 : from 240℃ to 280℃ (3 min) at 10℃/min Post run : 140℃ for 8 min Detector : 300℃, Injector : 250℃
Gas flow rate	Carrier : N_2 10 mL/min, Make up : N_2 55 mL/min Detector purge : N_2 5.5 mL/min
Sample size	1 μL
Injection mode	Splitless

Table 2. GC/MS operating parameters for the confirmation of 7 kinds of herbicides

Instrument	Agilent 6890/5975 GC/MSD
Column	HP-1MS capillary column (0.25 mm i.d.×50 m, 0.25 μm film thickness)
Temp.	Column oven : programming Rate 1 : from 80℃ to 220℃ (3 min) at 10℃/min Rate 2 : from 220℃ to 240℃ at 3℃/min Rate 3 : from 240℃ to 280℃ (15 min) at 20℃/min Injector : 260℃
Gas flow rate	Carrier : He 2.0 mL/min
Sample size	1 μL
Injection mode	Split, ratio 30 : 1
Ionization	Electron ionization (EI), 70 eV
Mass range (m/z)	50 ~ 500

기농 인증시료를 구입한 후 식품공전 상 검체 처리방법(Ministry of Food and Drug Safety, 2012)에 따라 전처리하여 사용하였다. 대조 시료는 잔류농약 검사를 실시하여 무농약 시료임을 확인하였다.

GC-ECD/MS 기기분석 조건

분석 대상성분인 bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor 및 trifluralin 성분은 분자구조 내에 할로겐 화합물 혹은 카보닐기를 함유하고 있어 GC-ECD (Gas chromatography-electron capture detector)를 이용한 고감도 분석이 가능하다. ECD를 장착한 GC는 Agilent (USA) 6890을 이용하였고, 내경이 0.53 mm인 capillary column을 사용하여 분석하였다. 잔류분의 재확인을 위한 GC/MS 분석에는 Agilent (USA) 6890/5975 GC/MSD를 사용하였으며, 각각의 자세한 분석조건은 Table 1과 Table 2에 나타내었다.

표준검량선 및 분석정량한계(Limit of quantitation, LOQ)

대상농약인 7종의 제초제 bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor 및 trifluralin의 stock solution을 희석하여 성분별로 0.005~0.5 mg/L의 농도가 되도록 농도별 혼합 표준용액을 조제하고, 각 1 μL씩 GC-ECD에 주입하여 분석된 peak의 면적을 기준으로 표준검량선을 작성하였다.

분석법의 정량한계(Limit of quantitation; LOQ)는 무농약 농산물 시료에서 간섭물질이 존재하지 않음을 확인한 후, 분석기기의 정량한계와 시료량 및 분석과정 중의 농축배율을 계산하여 아래의 계산식에 의해 산출하였으며(Ahn *et al.*, 2014), 동일 수준으로 대상농약 7종을 처리한 회수율 시험으로 검토하였다.

정량한계(LOQ, mg/kg)=[기기 정량한계(ng)/주입량(μL)]×[시료용액(mL)/시료량(g)]

시료 추출 및 분배

농산물 시료 각 25 g에 acetone 100 mL를 가하고(콩 및 현미 시료의 경우 추출 전 20 mL의 증류수를 가한 후 30분간 방치하여 미리 습윤화 함) 호모게나이저 상에서 2분간 고속마쇄(12,000 rpm) 추출하였다. 추출물을 여과지(Toyo No. 6, Japan)가 장착된 Büchner funnel 상에서 여과하고 시료 및 호모게나이저 컵을 여분의 acetone 40 mL로 씻어 앞서의 여과액과 합하였다. 합친 추출액을 1 L 용량의 분액여

두에 옮기고 포화식염수 50 mL와 증류수 450 mL를 첨가한 뒤 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v) 100 mL로 분배 추출하였으며, 정치한 뒤 *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v) 층만을 취해 무수 sodium sulfate에 통과시켜 탈수한 후 40℃에서 감압 농축, 건고하였다. 콩 및 현미를 제외한 시료의 잔류물은 *n*-hexane 10 mL에 재용해하여 Florisil 흡착 크로마토그래피에 직접 공시하였다. 콩 및 현미 시료의 경우 잔류물을 미리 acetonitrile을 포화시킨 *n*-hexane 40 mL에 재용해하여 250 mL 용량의 분액여두에 옮기고 미리 *n*-hexane을 포화시킨 acetonitrile 40 mL로 2회 분배 추출하였다. 합친 acetonitrile 추출액을 40℃에서 감압 농축, 건고하고 잔류물을 *n*-hexane 10 mL에 재용해하여 Florisil 흡착 크로마토그래피에 공시하였다.

Florisil 흡착크로마토그래피

내경 1.5 cm, 길이 40 cm의 유리칼럼에 활성화시킨 Florisil 10 g을 건식 충전한 후, 3 g의 무수 황산나트륨을 그 위에 첨가하였다. 칼럼에 *n*-hexane 50 mL를 가하여 상단에 소량의 *n*-hexane이 남을 정도로 유출시켜 버린 후 *n*-hexane 10 mL에 녹인 시료 용액을 가하여 약 3 mL/min의 유속으로 유출시켰다. 충전제 표면이 노출되기 직전 *n*-hexane/dichloromethane 혼합용액(90/10, v/v) 150 mL를 용출시켜 버린 후 재차 *n*-hexane/dichloromethane 혼합용액(60/40, v/v) 150 mL를 용출시켜 ethalfluralin 및 trifluralin을 회수하였고, 연속하여 150 mL의 dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile 혼합용액(50/49.5/0.5, v/v/v)을 용출시켜 oxyfluorfen 및 bifenox를 회수하고, 계속하여 dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile 혼합용액(50/46/4, v/v/v)을 용출시켜 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor를 회수하였다. 각각의 성분들이 용출된 분획들은 40℃에서 감압 농축, 건고하고 잔류물을 *n*-hexane 10 mL에 재용해하여 GC-ECD로 분석하였다.

대표 농산물에 대한 7종 제초제 성분의 회수율 검정

본 연구에서 확립한 대상농약 7종 잔류분석법의 효율 및 신뢰성을 검증하기 위하여 실제 농산물 시료에 대한 회수율 시험을 수행하였다. 즉, 마쇄한 각 대표 무농약 농산물 시료 25 g에 정량한계(LOQ), 정량한계의 10배 및 50배가 되도록 대상농약 7종의 표준용액을 각각 3반복으로 처리한 다음 상기 분석과정을 수행하여 회수율과 분석오차를 측정하였다.

결과 및 고찰

GC-ECD 분석조건의 확립

GC-ECD를 이용한 7종 제초제 성분의 최적 분석용 column을 선정하기 위하여 column 극성별로 분리양상을 조사하였다. Column에 충전된 phenylsiloxane/methylsiloxane 함량별로 극성을 달리하여 분리능을 조사한 결과, methylsiloxane이 50% 함유된 극성계열의 DB-17 capillary column에서는

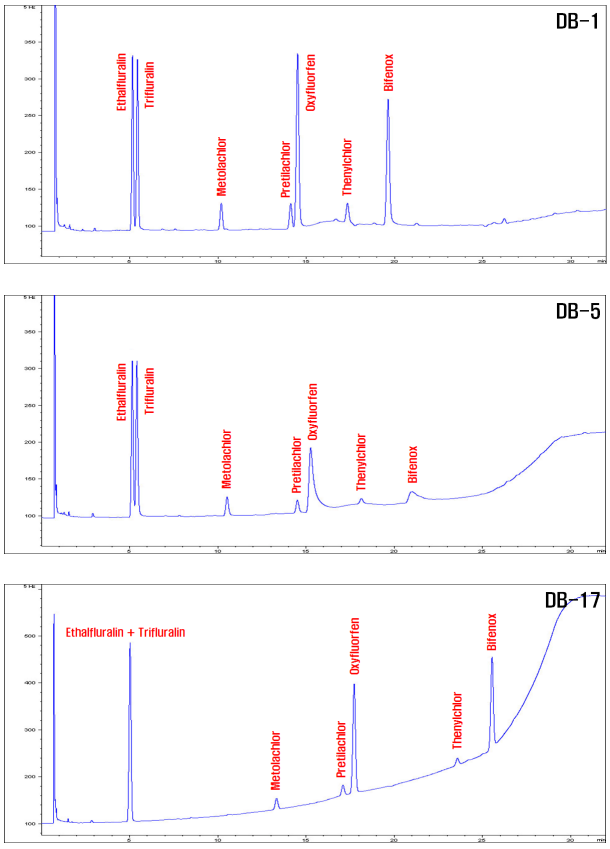

Fig. 2. GC-ECD chromatograms of 7 kinds of herbicides using typical capillary columns(1 μL of 0.05 mg/L in n-hexane, respectively).

oven 온도를 비롯한 GC-ECD의 모든 분석인자를 변화시켜도 대상농약 중 ethalfluralin과 trifluralin이 분리되지 않는 양상을 나타내었다. 반면 methylsiloxane이 각각 100% 및 95% 함유되어 DB-17 대비 비극성의 특성을 나타내는 DB-1 및 DB-5 capillary column에서는 모든 성분이 검출 가능한 수준에서 분리가 가능하였으나, DB-1 capillary column이 분석 감도 및 분리능 면에서 가장 우수한 양상을 나타내었다(Fig. 2). 따라서 본 연구의 대상성분인 7종 제초제 성분의 최적 분석용 column은 DB-1 capillary column으로 선정하였으며, Table 1의 GC-ECD 분석조건으로 대상 농약을 분석 시 각 성분의 머무름 시간은 ethalfluralin 5.1분, trifluralin 5.4분, metolachlor 10.2분, pretilachlor 14.1분, oxyfluorfen 14.5분, thenylchlor 17.3분 및 bifenox 19.6분을 나타내었다.

분석기기의 정량한계(LOQ)는 크로마토그램의 해석 시 신뢰성이 확보되어 분석결과를 수치화할 수 있는 한계농도로써, 크로마토그램 상에서 검출된 peak의 S/N(signal/noise)의 비가 10 이상을 나타내는 성분의 농도를 의미한다(Fong *et al.*, 1999; Miller, 2005). Table 1의 GC-ECD 분석 조건에서 대상농약 7종의 표준용액을 분석하여 S/N비를 계산한 결과, 각 성분의 기기상 정량한계(S/N≥10)는 bifenox 0.05 ng, ethalfluralin 0.01 ng, metolachlor 0.02 ng, oxyfluorfen

Table 3. Comparison on retention time, calibration curve and instrumental LOQ for 7 kinds of herbicides

Compound	Retention time (min)	Calibration curve (0.005~0.5 mg/kg)	R^2	Instrumental LOQ (mg/kg)
Etahlfluralin	5.183	y=10,043x+152.24	0.9983**	0.01
Trifluralin	5.461	y=10,866x+157.24	0.9988**	0.01
Metolachlor	10.208	y=2,309.3x+23.447	0.9994**	0.02
Pretilachlor	14.139	y=2,375.5x+17.459	0.9991**	0.02
Oxyfluorfen	14.530	y=13,104x+112.52	0.9994**	0.005
Thenylchlor	17.350	y=1,595.9x+0.6961	0.9999**	0.015
Bifenox	19.614	y=4,640.5x-71.146	0.9979**	0.05

Table 4. Efficiency of liquid-liquid partition of crude extract by different solvents for 7 kinds of herbicides

Compound	Recovery ratio (%)[1]			
	Partition Ⅰ[2]	Partition Ⅱ	Partition Ⅲ	Partition Ⅳ
Etahlfluralin	94.1±0.4	94.0±0.8	90.1±0.7	78.5±0.5
Trifluralin	93.7±0.2	93.3±1.2	90.6±0.9	82.1±0.2
Oxyfluorfen	97.4±0.7	98.5±0.7	100.3±0.4	101.4±0.4
Bifenox	99.1±0.9	98.3±0.7	104.8±0.3	105.6±0.7
Metolachlor	85.6±0.2	90.4±1.0	92.0±0.7	91.6±0.3
Pretilachlor	94.7±0.4	96.0±0.5	96.2±1.1	96.0±0.4
Thenylchlor	91.5±0.6	100.2±0.4	102.1±0.5	102.2±0.6

[1] Mean values of triplicate samples.
[2] Partition mixture : 150 mL acetone+50 mL saturated NaCl+450 mL distilled water.
Ⅰ, 100 mL *n*-hexane, Ⅱ, 100 mL *n*-hexane/dichloromethane(80/20, v/v),
Ⅲ, 100 mL *n*-hexane/dichloromethane (20/80, v/v), Ⅳ, 50 mL dichloromethane(×2 times).

0.005 ng, pretilachlor 0.02 ng, thenylchlor 0.015 ng 및 trifluralin 0.01 ng 수준 이었다.

한편, 대상농약 7종의 농도별 표준용액(0.005~0.5 mg/L) 1 μL를 GC-ECD에 주입, 분석하여 얻은 검량선의 회귀방정식은 모두 우수한 직선성을 나타내었으며(Table 3), 모든 표준검량선에 대한 회귀계수가 R^2=0.998** 이상으로 정량의 직선성이 검정되었으므로 해당 범위의 시료 중 잔류량을 비례적으로 산출하는 것이 가능하였다.

시료 추출 및 분배과정의 확립

농산물 시료로부터 7종 제초제 성분을 추출하기 위한 용매로는 acetone을 사용하였다. Acetone은 다양한 농약의 추출에 보편적으로 사용되는 표준적 용매로써 이미 많은 연구자들에 의하여 농약 추출에 그 효율과 재현성이 인정된 바 있다.

농산물 추출액으로부터 대상 성분들과 함께 추출되는 방해물질을 1차적으로 제거하기 위한 조정제법으로는 액-액 분배법을 사용하였다. 즉, 수용성 유기용매 추출액을 다량의 포화식염수와 증류수로 희석한 후 직접 비극성 용매로 분배 추출하는 방법을 사용하였는데, 이는 US FDA법이나 AOAC법에서 중간~비극성 농약 성분에 대하여 보편적으로 사용되며, 번거로운 추출액의 농축과정을 생략할 수 있는 장점이 있다(AOAC, 2000; Lee *et al.*, 2008).

액-액 분배법의 분배 용매로는 *n*-hexane, 2종의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액, dichloromethane 등 4종을 공시(Lee *et al.*, 2011), 대상 성분들의 분배효율을 조사하였다(Table 4). 액-액 분배조건에 따른 분배효율을 조사한 결과 *n*-hexane 용액 100 mL로 분획하였을 때 대상농약 7종의 회수율은 85.6~99.1% 수준이었으며, 이 때 metolachlor의 회수율이 85.6%로 다소 낮은 회수율을 나타내어 제한요인으로 판단되었다. *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v) 100 mL로 분획하였을 때 대상농약 7종의 회수율은 90.4~100.2%로 metolachlor의 회수율이 90.4%로 향상되는 양상을 나타내었으며, *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(20/80, v/v) 100 mL 분획 및 dichloromethane 50 mL로 2회 반복하여 분획하였을 때 metolachlor의 회수율은 92% 수준으로 향상되었으나, 상대적으로 극성이 낮은 ethalfluralin 및 trifluralin의 회수율은 현저히 감소하는 양상을 나타내었다. 또한, 분배용매 중 dichloromethane의 비율이 증가함에 따라 농산물 함유 극성 물질의 다량 혼입이 예상되며, 대상농약 7종의 전체 회수율을 고려해볼 때, 가장 효율적이라 판단되는 분획용매는 조건 Ⅱ의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v) 100 mL로 분획을 실시하는 것이 가장

Table 5. Efficiency of n-hexane/acetonitrile partition for 7 kinds of herbicides

Compound	Recovery ratio(%)[1]	
	Partition Ⅰ[2]	Partition Ⅱ
Etahlfluralin	89.8±0.7	88.0±1.0
Trifluralin	90.5±0.4	89.5±0.7
Oxyfluorfen	97.3±0.3	97.6±0.4
Bifenox	99.2±0.8	102.1±0.3
Metolachlor	94.7±0.4	94.8±0.8
Pretilachlor	97.2±0.7	97.5±0.5
Thenylchlor	101.4±0.3	102.9±0.9

[1] Mean values of triplicate samples.
[2] Partition mixture : 40 mL *n*-hexane saturated with acetonitrile.
Ⅰ, 40 mL acetonitrile saturated with *n*-hexane(×2 times),
Ⅱ, 40 mL acetonitrile saturated with *n*-hexane(×3 times).

효율적인 것으로 판단되었다.

상기 액-액 분배과정에 의하여 시료 중에 포함된 상당량의 극성 및 기타 방해물질이 제거될 것으로 기대되나, 유지성분은 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v) 층으로 대상성분과 함께 분배되기 때문에 제거되지 않는다. 이러한 유지성분은 기기분석 시 치명적 간섭 또는 분리용 column 및 검출기의 급격한 열화를 초래하므로 반드시 제거해야 할 간섭물질이다. 대상 시료 중 현미 및 콩은 유지가 약 1～3% 및 20% 수준 함유되어 있는 시료이므로 유지제거를 위하여 *n*-hexane/ acetonitrile 분배법을 추가로 공시하였다(US FDA, 1999; AOAC, 2000).

Table 5에 나타낸 바와 같이 미리 *n*-hexane으로 포화시킨 acetonitrile로 2회 분배하였을 때 대상농약 7종은 89.8~101.4% 수준으로 회수가 가능하였으며, *n*-hexane으로 포화시킨 acetonitrile로 3회 분배하였을 때의 회수율은 88.0~102.9%로 조사되어 분배횟수를 늘려도 회수율이 향상되지 않았으므로 작업의 편의성 및 신속성을 고려하여 유지 및 비극성 간섭물질의 제거를 위한 *n*-hexane/acetonitrile 분배법은 2회 분배를 실시하는 분배조건 Ⅰ로 설정하였다. 한편, 유지함량이 0.1～0.4%로써 비유지 시료로 분류되는 고추, 배추 및 사과에서는 제거되는 비극성 유지성분 및 불순물의 양이 매우 작고 크로마토그램 상에서 그 정제 효과 또한 미미하였으므로 *n*-hexane/acetonitrile 분배과정을 생략하였다.

Florisil 흡착크로마토그래피의 최적화

농산물에 함유된 7종 제초제 성분의 분석 시 상기 액-액 분배과정을 통해 상당량의 불순물 및 비극성 간섭물질들이 제거되었을 것으로 판단되나, 농산물에 따라 시료로부터 유래되는 다양한 기타 불순물 및 색소가 여전히 존재하므로, 추가적인 정제과정이 필요할 것으로 판단되어 흡착크로마토그래피에 의한 정제법을 검토하였다.

흡착크로마토그래피는 잔류농약 분석 시 가장 많이 이용하는 정제 방법으로, 흡착제로는 silica gel, Florisil 및 alumina 등이 많이 사용된다. 이 중 Florisil은 색소와 지방의 제거가 뛰어나 미국의 FDA(1999)나 AOAC(2000) 등에서 가장 많이 사용하는 방법으로, 본 연구에서도 Florisil을 흡착제로 선정 하였으며, 용매의 극성 조절을 위해 *n*-hexane/dichloromethane 및 dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile 혼합용액의 용매체계를 사용하여 흡착크로마토그래피 조건을 최적화 하였다(Table 6).

Florisil 흡착크로마토그래피용 용매의 다양한 극성 조절을 이용하여 대상농약 7종의 회수율을 조사한 결과, *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(90/10, v/v) 150 mL로 pre-washing 한 후, 150 mL의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(60/40, v/v)으로 용출할 경우 ethalfluralin과 trifluralin이 각각 92.5% 및 91.9%로 용출되었으며, 연속하여 동일한 칼럼에 150 mL의 dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile

Table 6. Elution profile of 7 kinds of herbicides on Florisil column chromatography

Compound	Recovery ratio (%)[1]			
	Solvent (50 mL×3 times)			
	90 : 10[2]	60 : 40[3]	50 : 49.5 : 0.5[4]	50 : 46 : 4[5]
Etahlfluralin	0.0	92.5	0.0	0.0
Trifluralin	0.0	91.9	0.0	0.0
Oxyfluorfen	0.0	0.0	92.0	0.0
Bifenox	0.0	0.0	97.3	0.0
Metolachlor	0.0	0.0	0.0	95.6
Pretilachlor	0.0	0.0	0.0	96.5
Thenylchlor	0.0	0.0	0.0	100.5

[1] 10 g of activated Florisil (60 - 100 mesh) was dry packed.
[2] *n*-Hexane/dichloromethane (v/v).
[3] Pre-washed with 150 mL of [2]solvent system, and then eluted *n*-hexane/dichloromethane (v/v).
[4] After collect [3]solvent system, and then eluted dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile (v/v/v).
[5] After collect [4]solvent system, and then eluted dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile (v/v/v).

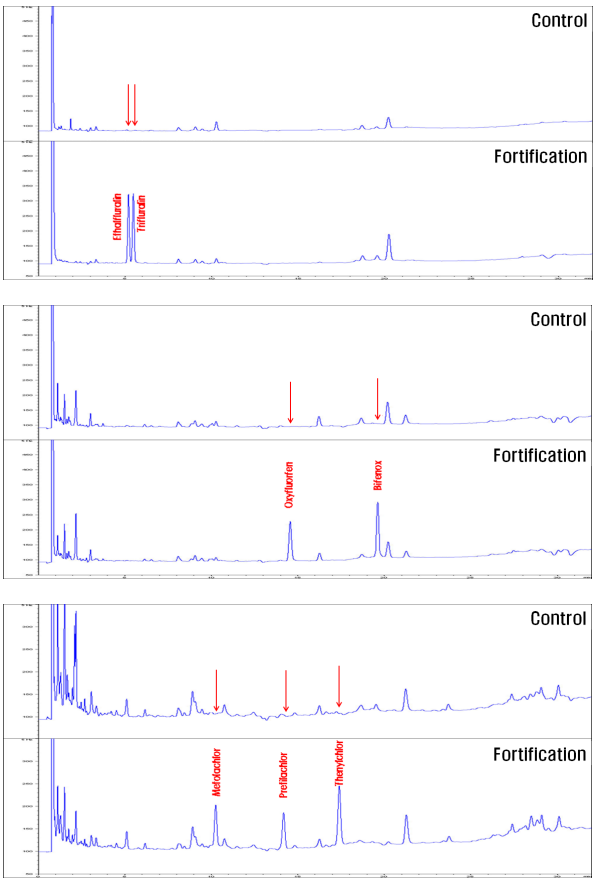

Fig. 3. GC-ECD chromatograms of soybean extract for the analysis of 7 kinds of herbicides.

혼합액(50/49.5/0.5, v/v/v)으로 용출하였을 때 oxyfluorfen 및 bifenox가 각각 92.0% 및 97.3% 수준으로 회수되었다. 계속하여 150 mL의 dichloromethane/*n*-hexane/acetonitrile 혼합액(50/46/4, v/v/v)으로 용출하면 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor가 95.6~100.5% 용출되는 양상을 나타내어 대상성분 7종 모두를 순차적으로 용출해내는 것이 가능하였다. 따라서 Florisil 흡착크로마토그래피법을 이용한 간섭물질 제거를 위한 추가적인 정제법은 상기의 방법과 같이 적용하였다.

농산물 시료 중 7종 제초제 성분의 분석 정량한계 및 회수율

본 연구에서 확립한 시료 중 대상 농약의 추출, 정제 및 기기분석 과정을 포괄하여 무농약 농산물 시료인 콩에 대표적으로 적용한 결과는 Fig. 3과 같다. 모든 무농약 농산물의 최종 시료용액에서 대상농약 7종과 동일한 머무름시간에 간섭물질이 존재하지 않음을 확인하였고, 분석기기의 정량한계와 시료량, 그리고 분석과정 중의 농축배율을 계상하여 분석법의 정량한계를 산출하였다.

본 연구에서 무농약 농산물 시료에서 간섭물질이 존재하지 않음을 확인한 후 산출된 대상농약 7종의 각각 정량한계는 bifenox 0.02, ethalfluralin 0.004, metolachlor 0.008, oxyfluorfen 0.002, pretilachlor 0.008, thenylchlor 0.006 및 trifluralin 0.004 mg/kg이었으며, 국제기준인 Codex (Codex Alimentarius Commission, 2003) 및 식품공전 잔류농약분석법 실무 해설서(Lee, 2017)에서 권장하는 잔류농약분석법 기준인 0.05 mg/kg 이하 또는 잔류허용기준의

Table 7. Recovery ratio of ehalfluralin and trifluralin with different crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%)[1)]		CV (%)		LOQ (mg/kg)
		Ehalfluralin	Trifluralin	Ehalfluralin	Trifluralin	
Apple	0.004	94.5±3.7	99.3±2.8	3.9	2.8	0.004
	0.04	89.8±6.8	98.2±5.8	7.6	5.9	
	0.2	90.5±1.5	92.3±1.3	1.6	1.4	
Kimchi cabbage	0.004	91.6±4.5	103.4±8.1	4.9	7.8	0.004
	0.04	91.0±7.2	96.9±8.8	7.8	9.1	
	0.2	108.8±4.5	113.2±4.0	4.2	3.6	
Green pepper	0.004	98.8±8.4	104.9±5.3	8.5	5.1	0.004
	0.04	98.1±3.9	104.6±5.7	4.0	5.4	
	0.2	105.2±2.1	114.8±2.1	1.8	1.8	
Hulled rice	0.004	97.6±4.6	99.4±3.8	4.8	3.9	0.004
	0.04	89.6±4.3	92.9±4.0	4.8	4.3	
	0.2	93.1±3.6	92.0±4.9	3.8	5.3	
Soybean	0.004	94.8±5.2	98.8±4.8	5.5	4.9	0.004
	0.04	86.7±2.4	89.7±3.0	2.8	3.3	
	0.2	86.6±3.4	86.7±3.2	3.9	3.7	

[1)] Mean values of triplicate samples with standard deviations.

Table 8. Recovery ratio of metolachlor and pretilachlor with different crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%)[1)]		CV (%)		LOQ (mg/kg)
		Metolachlor	Pretilachlor	Metolachlor	Pretilachlor	
Apple	0.008	86.9±7.5	89.6±4.4	8.6	8.6	0.008
	0.08	83.2±2.4	96.0±1.3	2.8	1.4	
	0.4	102.4±3.0	101.5±1.7	2.9	1.7	
Kimchi cabbage	0.008	78.3±2.5	85.8±6.2	3.2	7.3	0.008
	0.08	83.6±3.9	85.1±0.8	4.7	0.9	
	0.4	92.8±2.4	89.7±1.7	2.6	1.9	
Green pepper	0.008	89.4±4.8	79.1±5.3	5.4	6.7	0.008
	0.08	76.3±4.2	81.1±4.5	5.4	5.6	
	0.4	89.7±0.6	82.7±0.8	0.7	0.9	
Hulled rice	0.008	107.6±1.6	83.3±1.7	1.5	2.1	0.008
	0.08	79.2±5.0	92.2±3.9	6.3	4.2	
	0.4	97.4±1.8	93.8±1.3	1.8	1.3	
Soybean	0.008	105.2±3.3	109.6±4.0	3.1	3.6	0.008
	0.08	84.5±8.0	99.8±1.9	9.4	1.9	
	0.4	93.4±0.5	92.6±1.3	0.5	1.5	

[1)] Mean values of triplicate samples with standard deviations.

Table 9. Recovery ratio of bifenox with different crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%)[1)]	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Apple	0.02	108.2±2.4	2.2	0.02
	0.2	93.9±3.7	3.9	
	1.0	86.0±1.1	1.3	
Kimchi cabbage	0.02	92.0±2.0	2.2	0.02
	0.2	89.0±4.7	5.2	
	1.0	93.5±1.2	1.3	
Green pepper	0.02	106.6±4.9	4.6	0.02
	0.2	83.0±2.5	3.0	
	1.0	82.2±2.3	2.8	
Hulled rice	0.02	107.2±1.2	1.1	0.02
	0.2	103.3±2.0	2.0	
	1.0	103.4±2.2	2.1	
Soybean	0.02	105.4±6.2	5.9	0.02
	0.2	101.1±8.2	8.1	
	1.0	95.8±1.5	1.6	

[1)] Mean values of triplicate samples with standard deviations.

1/2 이하의 정량한계 기준에 적합하였다.

각 무처리 농산물 시료에 대상농약 7종의 표준용액을 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배의 농도가 되도록 첨가하고, 상기 확립된 분석방법에 의하여 대표 농산물에 대해 3반복으로 분석하여 회수율을 조사한 결과, 정량한계 수준에서는 75.7～110.7%, 정량한계 10배 수준에서는 76.3～107.9%, 정량한계 50배 수준에서는 79.1～114.8%의 회수율을 나타내었고, 분석오차는 최대 9.1%로 조사되었다. 따라서, 처리수준 및 농산물 시료 종류에 관계없이 다성분 잔류분석기준인 회수율 70～120% 범위와 분석오차 10% 이내를 만족하였다 (Table 7~11).

이상의 결과로 볼 때, 본 연구에서 확립된 물리화학적 특

Table 10. Recovery ratio of oxyfluorfen with different crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%)[1)]	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Apple	0.002	102.6±4.5	4.4	0.002
	0.02	107.9±1.4	1.3	
	0.1	109.1±1.5	1.4	
Kimchi cabbage	0.002	88.7±2.8	3.2	0.002
	0.02	94.4±4.3	4.6	
	0.1	107.0±1.1	1.1	
Green pepper	0.002	90.9±1.1	1.2	0.002
	0.02	89.9±4.6	5.1	
	0.1	106.3±3.2	3.0	
Hulled rice	0.002	77.9±2.1	2.7	0.002
	0.02	99.2±2.5	2.5	
	0.1	101.2±8.6	8.5	
Soybean	0.002	107.8±2.6	2.4	0.002
	0.02	97.5±2.6	2.7	
	0.1	98.3±0.9	0.9	

[1)] Mean values of triplicate samples with standard deviations.

Table 11. Recovery ratio of thenylchlor with different crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery ratio (%)[1)]	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Apple	0.006	107.3±0.6	0.6	0.006
	0.06	101.2±1.0	1.0	
	0.3	99.3±1.8	1.8	
Kimchi cabbage	0.006	99.1±5.7	5.8	0.006
	0.06	81.6±0.3	0.3	
	0.3	83.6±2.6	3.1	
Green pepper	0.006	75.7±1.6	2.1	0.006
	0.06	80.3±1.5	1.8	
	0.3	79.1±0.6	0.7	
Hulled rice	0.006	108.2±7.9	7.3	0.006
	0.06	95.0±2.0	2.1	
	0.3	90.2±1.4	1.6	
Soybean	0.006	110.7±8.2	7.4	0.006
	0.06	104.9±1.8	1.7	
	0.3	108.1±0.7	0.7	

[1)] Mean values of triplicate samples with standard deviations.

성이 유사한 dinitroaniline계 제초제인 ethalfluralin 및 trifluralin 성분, chloroacetamide계 제초제인 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor 성분과 diphenyl ether계 제초제인 bifenox 및 oxyfluorfen을 포함하는 7종 제초제 성분의 분석법은 국내·외 농산물의 잔류농약 분석 및 검사에 충분히 적용 가능함을 확인하였다.

GC/MS를 이용한 잔류분의 재확인

본 연구에서 검토된 7종 제초제 분석법의 신뢰성을 확보하기 위하여 GC/MS에 의한 재확인 과정을 추가하였다. Narrow bore capillary column을 사용하고 대상 7종 제초제 성분을 완전히 분리할 수 있는 GC/MS 조건에서 표준용액을 주입하여 Fig. 4와 같이 GC/MS의 TIC(total-ion chromatogram)를 얻었다.

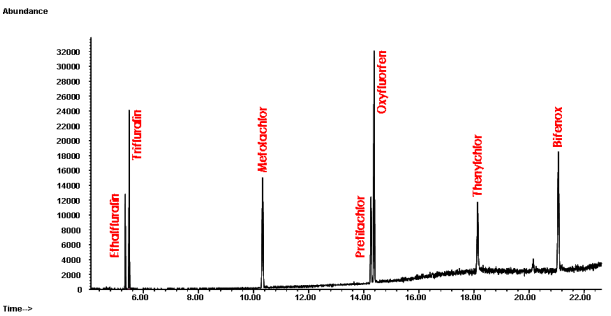

Fig. 4. Total-ion chromatogram (TIC) of 7 kinds of herbicides in GC/MS.

TIC로부터 각 성분별 EI spectrum (Fig. 5)을 조사한 결과, bifenox, ethalfluralin, oxyfluorfen, trifluralin, pretilachlor 및 thenylchlor의 $[M]^+$ ion인 341.0, 333.0, 361.0, 335.0, 311.1 및 232.1 m/z는 충분한 intensity로 관찰되어 각 성분의 분자구조를 EI spectrum을 통해 명확히 확인할 수 있었다. 반면, metolachlor는 $[M]^+$ ion인 283.1 m/z의 intensity가 낮아 관찰되지 않았으나, $[M\text{-}CH_2OH]^+$ ion인 238.0 m/z가 충분한 intensity로 관찰되어 명확한 정성적 확인이 가능하였다.

Fig. 6은 본 실험에 사용된 농산물 시료 중 콩을 대상으로 7종 제초제 성분의 잔류분을 재확인한 SIM (selected-ion monitoring chromatogram)이며, 본 실험에서 사용된 모든

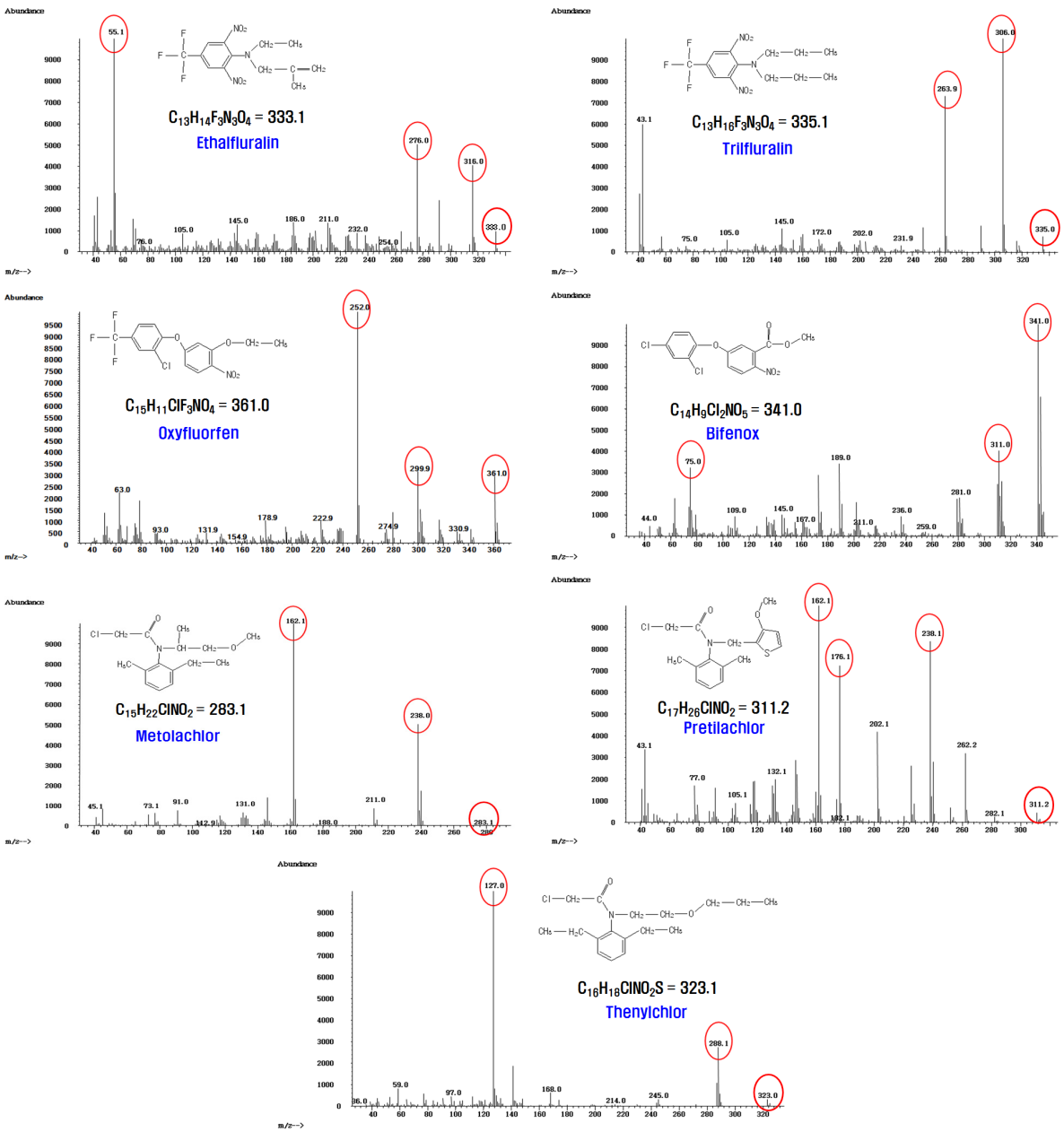

Fig. 5. EI mass spectrums of 7 kinds of herbicides.

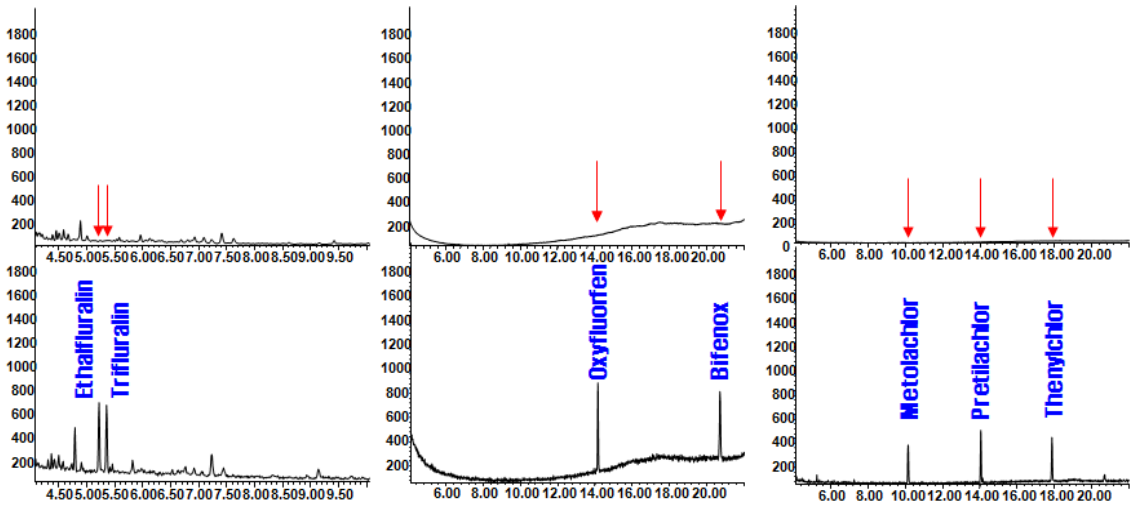

Fig. 6. SIM chromatograms of soybean extract for the confirmation of 7 kinds of herbicides.

농산물의 무처리 시료에서는 대상 농약성분의 peak가 전혀 관찰되지 않았고, 인위 첨가된 시료에서는 동일 머무름 시간대에 정확하게 대상농약 7종의 잔류분만을 확인할 수 있었다.

따라서 본 연구에서 사용한 GC/MS의 SIM 조건을 이용할 경우에도 GC-ECD를 이용한 정량법과 더불어 잔류분의 추가적 정성분석법으로 사용할 수 있음을 확인하였다.

요 약

본 연구는 GC-ECD/MS 분석법을 이용하여 농산물 시료 중 dinitroaniline계 제초제 ethalfluralin 및 trifluralin, chloroacetamide계 제초제 metolachlor, pretilachlor 및 thenylchlor와 diphenyl ether계 제초제 bifenox 및 oxfluorfen의 계역별 동시 분석법을 확립하였다. 농산물 시료에 acetone을 가하여 추출된 대상농약 7종의 잔류분은 *n*-hexane/dichloromethane(80/20, v/v)을 이용한 분배와 Florisil 흡착 크로마토그래피법으로 정제하여 분석대상 시료로 하였다. DB-1 capillary column을 이용한 GC-ECD 분석 시 불순물의 간섭은 없었으며, 사과, 고추, 배추, 현미 및 콩을 포함한 5종의 대표 농산물 중 대상농약 7종의 정량한계(LOQ)는 bifenox 0.02, ethalfluralin 0.004, metolachlor 0.008, oxyfluorfen 0.002, pretilachlor 0.008, thenylchlor 0.006 및 trifluralin 0.004 mg/kg이었다. 5종의 대표 농산물에 대한 대상농약 전체의 회수율은 75.7~114.8%였으며, 농산물 시료 및 처리수준에 관계없이 10% 미만의 분석오차를 나타내어 잔류분석기준 이내를 만족하였다. 본 연구에서 확립된 7종의 제초제 성분인 bifenox, ethalfluralin, metolachlor, oxyfluorfen, pretilachlor, thenylchlor 및 trifluralin의 계열별 동시 분석법은 검출한계, 회수율 및 분석오차 면에서 국제적 분석기준을 만족할 뿐만 아니라, GC/MS SIM을 이용한 잔류분의 재확인 과정의 결과를 종합해 볼 때 분석과정의 편리성 및 신뢰성이 확보된 계열별 동시 분석법으로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea (Project No. 16162MFDS020).

References

Ahn, K. G., Kim, G. H., Kim, G. P., Kim, M. J., Hwang, Y. S., Hong, S. B., Lee, Y. D., & Choung, M. G. (2014). Determination of amisulbrom residues in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS. Korean Journal of Pesticide Science, 18(4), 321-329.

Canadian Council of Ministers of the Environment (1999). Canadian water quality guidelines for the protection of aquatic life, metolachlor, pp. 1-3. Manitoba Statutory Publications, Canada.

Dharumarajan, S., Sankar, R., Baskar, A., & Kumar, K. (2008). Persistence of pretilachlor in coastal rice ecosystem. Pesticide Research Journal, 20(2), 273~274.

Fong, W. G., Moye, H. A., Seiber, J. N., & Toth, J. P. (1999). Pesticide residues in food: methods. Technologies, and Regulations, pp. 3-44, Wiley Interscience, Canada.

Hutson, D. H. (1998). Metabolic pathways of agrochemicals, herbicides and plant growth regulators. pp. 216-217. Cambridge, UK.

Judge, C. A., Neal, J. C., & Leidy, R. B. (2003). Trifluralin (Preen) dissipation from the surface layer of a soilless plant growth substrate. Journal of Environmental

Horticulture, 21(4), 216-222.

Jursik, M., Andr, J., Holec, J., & Soukup, J. (2011). Efficacy and selectivity of post-emergent application of flumioxazin and oxyfluorfen in sunflower. Plant Soil Environment, 57(11), 532-539.

Kim, M. O., Hwang, H. S., Lim, M. S., Hong, J. E., Kim, S. S., Do, J. A., Choi, D. M., & Cho, D. H. (2010). Monitoring of residual pesticides in agricultural products by LC/MS/MS. Korean Journal of Food Science and Technology, 42(6), 664-675.

Kwon, C. H., & Lee, Y. D. (2003). Terminal residues of monocrotophos and phosphamidon in apples. Life Science Research, 1(3), 277-286.

Lee, J. H., Park, H. W., Keum, Y. S., Kwon, C. H., Lee, Y. D., & Kim, J. H. (2008). Dissipation pattern of boscalid in cucumber under greenhouse condition. Korean Journal of Pesticide Science, 12(1), 67-73.

Barefoot, A., Murphy, J., & Aizawa, H. (2003). Handbook of residue analytical methods for agrochemicals (Vol. 2). Lee, P. W. (ed.). p. 585, Chichester, West Sussex, England; Hoboken, NJ: Wiley.

Lee, S. J., Kim, Y. H., Song, L. S., & Choung, M. G. (2011). Determination of ametryn residue in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS. Korean Journal of Pesticide Science, 15(2), 125-133.

Lerch, R. N., Ferrer, I., Thurman, E. M., & Zablotowicz, R. M. (2003). Identification of trifluralin metabolites in soil using ion-trap LC/MS/MS, American Chemical Society, 291-310. DOI: 10.1021/bk-2003-0850.ch017

Li, H. P., Li, G. C., & Jen, J. F. (2004). Fast multi-residue screening for 84 pesticides in tea by gas chromatography with dual-tower auto-sampler, dual-column and dual detectors. Journal of the Chinese Chemical Society, 51(3), 531-542.

Mastovska, K., Dorweiler, K. J., Lehotay, S. J., Wegscheid, J. S., & Szpylka, K. A. (2010). Pesticide multiresidue analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(10), 5959-5972.

Miller, J. M. (2005). Chromatography : Concepts and contrasts, standardization administration of the people's republic. pp. 286~287. (2nd), Wiley Intersciense, USA.

Park, C. J., & Lee, Y. D. (2003). Persistence of the fungicide boscalid in grapes and strawberries, Life Science Research, 2(2), 9-16.

Raina, R., & Hall, P. (2008). Comparison of gas chromatography -mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry with electron ionization and negative-ion chemical ionization for analyses of pesticides at trace levels in atmospheric samples. Analytical chemistry insights, 3, 111-125.

Shackelford, D. D., McCormick, R. W., West, S. D., & Turner, L. G. (2000). Determination of ethalfluralin in canola seed, meal, and refined oil by capillary gas chromatography with mass selective detection. Journal of agricultural and food chemistry, 48(9), 4422-4427.

The Dow Chemical Company (2010). Product safety assessment for ethalfluralin. pp. 1-6. www.dow.com/productsafety/finder/.

Yokley, R. A., Mayer, L. C., Huang, S. B., & Vargo, J. D. (2002). Analytical method for the determination of metolachlor, acetochlor, alachlor, dimethenamid, and their corresponding ethanesulfonic and oxanillic acid degradates in water using SPE and LC/ESI-MS/MS. Analytical chemistry, 74(15), 3754-3759.

Yun, H. C., Park, J. H., Cha, K. S., Youn, J. B., Jeong, J. H., Park, J. Y., Lee, J. Y., Kim, J. M., & Kang, J. M. (2009). Monitoring the residual pesticide levels of soil and water from the main agricultural area in Busan (II). The Annual Report of Busan Metropolitan City Institute of Heath & Environment, 19(1), 72-80.