

연구과제 최종보고서

과 제 명	유기농자재 320성분 동시분석법 유효성 검증 및 분석법 개발					
총연구기간	2018년 4월 ~ 2018년 11월		당해연도 연구기간	2018년 4월 ~ 2018년 11월		
수행부서/ 세부수행부서	시험연구소 안전성분석과 (용역)	연구 책임자	구분	직위(급)	성명	
			정	과장	김동호	
			부	팀장	조현정	
		참여 연구원	직위(급)		성명	
			주무관		김효영	
			주무관		임채욱	
			주무관		홍수민	
			연구원		이상협	
			연구원		곽세현	
			연구원		Ainda Sato	
연구원			조성찬			
연구원		김효정				
참여부서	경북대학교 김장익 교수					
사업구분	단년도 (√) 다년도 ()		총 (1)개년 중 (1)차 연도			
연구결과 요약	<p>○ 국내 유통 중인 유기농업자재 15개 품목에 대한 최근 3년 이내 유기농업자재 검출이력 농약 성분 2종(Emamectin benzoate, Nitenpyram)을 포함한 총 322종 농약의 「농산물 등의 유해물질 분석법」의 유효성 검증 실시</p> <p>○ 각 기기별 분석대상 성분(LC-MS/MS : 216성분, GC-MS/MS : 113성분) 중 회수율 기준(70~120%) 및 재현성(CV<20%)를 만족하는 성분의 비율이 70% 이상이 되는 시료는 29개 시료 중 16개이며, 해당 16개 시료는 '시료량 2 g으로 축소한 「농산물 등의 유해물질 분석법」'에 적용이 가능하였음</p> <p>○ 회수율 및 재현성을 만족하는 성분의 비율이 70% 미만인 시료는 13개 시료이며, 그 중 5개의 시료인 '유기농 참기름, 참그린퇴비, 그린나래, 그린키, 장보고골드'는 상기의 기준을 만족하는 성분의 비율이 60% 미만으로 나타나 분석법 적용이 어려움</p> <p>○ 유기농 참기름 및 참그린퇴비를 대표 시료로 d-SPE 정제방법을 aminopropyl 카트리지로 변경하여 개선을 시도한 결과 유기농참기름 65%, 참그린퇴비 63%로 기존의 결과(유기농 참기름 : 57%, 참그린퇴비 : 45%)보다 향상된 것이 확인되었음</p>					

유기농자재 320성분 동시분석법 유효성 검증 및 분석법 개발

1. 연구배경 및 목표

가. 연구배경

소비자의 안전한 농산물에 대한 선호도가 높아짐에 따라 유기농산물의 수요가 증가하고 이에 따라 유기농업자재의 필요성이 급속도로 대두되었다. 유기농업자재의 공시(품질인증 포함)제품 수는 2017년 1,563개로, 2016년 1,493개 보다 70개 제품이 더 늘어났다. 1,536개 공시 제품 중 토양·작물용 자재는 1,081개로, 이중 45%에 달하는 488제품이 비료로 등록되었다. 여기에 병해충관리 자재는 482개로, 3%인 17개 제품이 등록되었다. 현재 유기농업자재에 대한 관리는 국립농산물품질관리원 고시 '제 10조' 별표 5의 유기농업자재 공정분석법에 따라 검사를 실시하도록 되어있다. 그 중 잔류농약 검사는 유기농업자재 공정분석법은 식품의약품안전처장이 고시한 '농산물 등의 유해물질 분석법 (식품의약품안전처 고시 제 2016-148호)' 을 준용할 수 있도록 되어 있으나, 2018년 기준 공시된 1,582개의 유기농업자재에 대해 허용물질(86종 이상)이 단독 또는 혼합되어 총 400여 종 이상의 유효성분으로 분류되어 있다. 이러한 유기농업자재는 농산물과 시료 특성이 다를 뿐만 아니라 유기농업자재 간 특성도 상이하므로 유기농업자재에 대한 표준화된 농약잔류분석법의 정립이 필요한 실정이다.

나. 연구목표

유통 중인 유기농업자재(15개 품목 29개 시료)에 대해 「농산물 등의 유해물질 분석법」의 적용을 위한 유효성을 검증하고, 검증 결과 회수율 저하 품목에 대해서는 전처리 방법 및 기기분석 방법을 개발하고자 한다

2. 연구내용 및 방법

가. 대상품목

○ 유기농업자재 15개 품목

나. 대상시료

○ 유통 중인 유기농업자재 15개 품목 중 유효성분의 함량이 가장 높은 제품 및 가장 낮은 제품 각 1점씩 선정하여 총 29개의 유기농업자재 제품

○ 최종 선정 및 구입한 유기농자재 시료 리스트

번호	품목	대상 시료	유효성분 함량(%)
1	목초액	잘블어	80
		대유진목초	100
2	넙추출물	그린졸 입제	0.165
		대유플라즈마닌	100
3	고삼추출물	박멸진	8
		진디다운플러스	100
4	제충국추출물	충사탄 입제	20
		엔에프(NF)제충이 (제충국추출물, 식물추출물)	15+10
5	식물성오일	참선충 입제 (정향오일)	0.5
		니나노 (정향유)	10
6	식물성오일 (100%)	유기농 참기름 (초록마을)	100
7	식물추출물+식물성오일	이렌잉 (대두유, 자리공추출물)	50+20
		가루사 (황련추출물, 대두유)	5+93
8	혼합유박	참진유박 (아주까리유박, 채종유박, 야자유박)	60+20+20
		왕관유박골드 (아주까리유박, 대두유박, 미강, 채종유박)	48+24+16+12
9	가축분퇴비	참그린퇴비 (계분, 우분, 돈분, 톱밥, 버섯배지, 원두박, 피마자박, 주정박, 골분, 석회고토, 미생물)	15+20+15+10+14+10+5+5+2+3+1
		그린나래 (계분, 계분왕겨, 돈분, 우분, 톱밥, 발효용미생물, 코코피트)	30+10+15+8+30+2+5
10	계분 (닭 분변)	올가포스 (가공계분)	100
		오게비트 (가공계분)	100

번호	품목	대상 시료	유효성분 함량(%)
11	동물질추출액	대유오메가그로(어류추출물, 물)	48.5+51.5
		하나파워 (어류농축액)	100
12	미생물제제	그린키 (미생물-bacillus subtilis)	100
		라이브BSR (미생물-bacillus subtilis)	50
13	혼합유기질	왕중왕골드 (아주까리유박, 골분, 어분)	70+20+10
		장보고골드 (아주까리유박, 어분, 골분)	35+60+5
14	미생물추출물	오대박 (Rhodobacter sphaeroides)	100
		팜월드	70
15	제당추출물	유기원 (당밀, 포도당, 물)	40+10+50
		원당밀 (당밀)	100



잘블어



대유진목초



그린졸 입제



대유플라즈마닌



박멸진



진디다운플러스



충사탄 입제



엔에프(NF) 제충이



참선충 입제



니나노



유기농 참기름



이렌잉



가루사



참진유박



왕관유박골드



< 최종 선정 및 구입한 유기농자재 시료 사진 >

○ 시료 제형 별 그룹화

- 원활한 분석 및 결과 도출을 위해 전체 구입한 시료 29종을 Table 3과 같이 제형에 따라 크게 4개의 그룹으로 구분하였다.

Table 3 제형에 따른 유기농자재 시료 구분

번호	제형	구분	품목명	제품명
1	입제(9)	1	넙추출물	그린줄 입제
		2	제충국추출물	충사탄 입제
		3	식물성오일	참선충 입제
		4	계분	올가포스

2	액체(14)	5	계분	오게비트
		6	혼합유박	참진유박
		7	혼합유박	왕관유박골드
		8	혼합유기질	왕중왕골드
		9	혼합유기질	장보고골드
		1	목초액	잘붙어
		2	목초액	대유진목초
		3	넙추출물	대유플라즈마넙
		4	고삼추출물	진디다운플러스
		5	제충국추출물	엔에프(NF)제충이
		6	식물성오일	니나노
		7	식물추출물+식물성오일	이렌잉
		8	식물추출물+식물성오일	가루사
		9	동물질추출액	대유오메가그로
3	농축액(4)	10	미생물제제	그린키
		11	미생물제제	라이브BSR
		12	미생물추출물	오대박
		13	미생물추출물	팜월드
4	고체(2)	14	제당추출물	유기원
		1	고삼추출물	박멸진
		2	식물성오일(100%)	유기농 참기름
		3	동물질추출액	하나파워
		4	제당추출물	원당밀
		1	가축분퇴비	참그린퇴비
		2	가축분퇴비	그린나래

○ 제형 별 전처리

- 입제 제형 중 펠렛 형태로된 시료의 경우 분석을 위해 Figure 3과 같이 믹서기에 일정 시간 분쇄하여 가루 형태의 분석용 시료를 조제하였다.

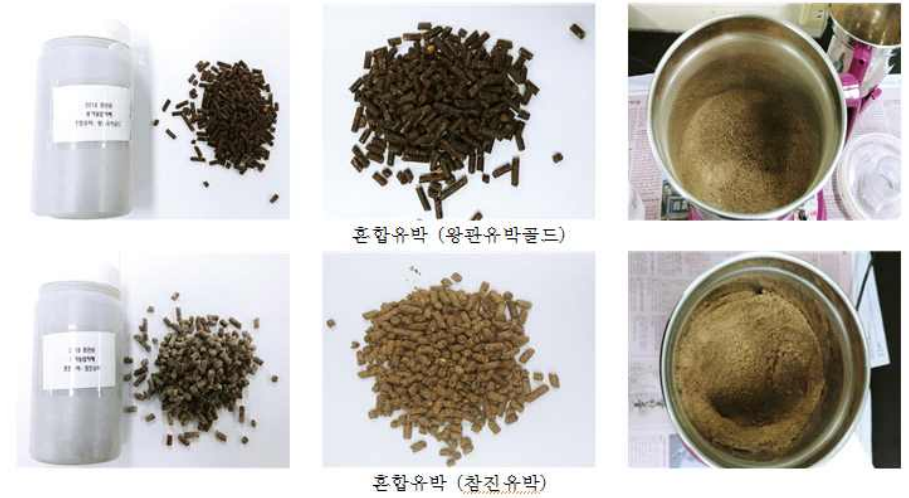


Figure 3 입제 시료의 분석용 시료 조제 과정

- 고체, 액체 및 농축액 제형의 시료의 경우 기존 제품의 상태 그대로 시료로 이용하였다.
- 일부 벌크포장 시료의 경우 분석에 이용하기 쉽도록 플라스틱 공병에 일정량 분취하여 나머지 시료와 함께 상온에 보관하였다.

다. 대상성분(322종)

- 「농산물 등의 유해물질 분석법」으로 분석 가능한 320 성분
- 최근 3년 이내 유기농업자재 검출이력 농약성분(Emamectin benzoate, Nitenpyram) 2성분을 포함한 총 322성분
- LC-MS/MS를 이용한 잔류분석 대상 성분 목록(209 성분)

번호	물질명	번호	물질명	번호	물질명
1	Abamectin B1	71	Fenoxycarb	141	Paclobutrazol
2	Acephate	72	Fenpyroximate	142	Penconazole
3	Acetamiprid	73	Fentrazamide	143	Pencycuron
4	Aldicarb	74	Ferimzone(E, Z)	144	Penoxsulam
5	Amisulbrom	75	Fonicamid	145	Pentoxazone
6	Azimsulfuron	76	Fluacrypyrim	146	Phenthoate

번호	물질명	번호	물질명	번호	물질명
7	Azinphos-methyl	77	Flubendiamide	147	Phosphamidon
8	Azoxystrobin	78	Flucetosulfuron	148	Phoxim
9	Bendiocarb	79	Fludioxonil	149	Piperophos
10	Bensulfuron-methyl	80	Flufenacet	150	Pirimicarb
11	Benthiavalicarb-isopropyl	81	Flufenoxuron	151	Pirimiphos-methyl
12	Benzobicyclon	82	Fluopicolide	152	Probenazole
13	Benzoximate	83	Fluxapyroxad	153	Profenofos
14	Bitertanol	84	Fluquinconazole	154	Propamocarb
15	Boscalid	85	Flusilazole	155	Propanil
16	Bromacil	86	Flutolanil	156	Propaquizafop
17	Buprofezin	87	Forchlorfenuron	157	Propoxur
18	Cadusafos	88	Fosthiazate	158	Pyraclofos
19	Cafenstrole	89	Furathiocarb	159	Pyraclostrobin
20	Carbaryl	90	Gibberellic acid	160	Pyrazolate
21	Carbendazim	91	Halosulfuron-methyl	161	Pyrazophos
22	Carbofuran	92	Haloxypop	162	Pyribenzoxim
23	Carboxin	93	Hexaconazole	163	Pyributicarb
24	Carfentrazone-ethyl	94	Hexaflumuron	164	Pyridaben
25	Carpropamide	95	Hexazinone	165	Pyridaphenthion
26	Chlorpyrifos	96	Hexythiazox	166	Pyrifluquinazon
27	Chlorsulfuron	97	Imazalil	167	Pyritalid
28	Chromafenozide	98	Imazosulfuron	168	Pyrimethanil
29	Clethodim	99	Imicyafos	169	Pyrimidifen
30	Clofentezine	100	Imidacloprid	170	Pyriminobac-methyl(E) + Pyriminobac-methyl(Z)
31	Clomazone	101	Inabenfide	171	Pyrimisulfan
32	Clothianidin	102	Iprobenfos	172	Pyriproxyfen
33	Cyazofamid	103	Iprovalicarb	173	Pyroquilon
34	Cyclosulfamuron	104	Isoprocab	174	Quinalphos
35	Cyflufenamid	105	Isoprothiolane	175	Quinmerac
36	Cyhalofop-butyl	106	Isopyrazam	176	Quinoclamine
37	Cymoxanil	107	Kresoxim-methyl	177	Quizalofop-ethyl
38	Cyproconazole(I, II)	108	Linuron	178	Saflufenacil
39	Dichlorvos(DDVP)	109	Lufenuron	179	Sethoxydim
40	Demeton-S-Methyl	110	Malathion	180	Spinetoram(J) + Spinetoram(L)
41	Diazinon	111	Mandipropamid	181	Spirodiclofen
42	Diethofencarb	112	Mefenacet	182	Spirotetramat
43	Diflubenzuron	113	Mepanipyrim	183	Sulfoxaflo
44	Dimepiperate	114	Mepronil	184	Tebuconazole
45	Dimethametryn	115	Metalaxyl	185	Tebufenozide

번호	물질명	번호	물질명	번호	물질명
46	Dimethenamid	116	Metamifop	186	Tebufenpyrad
47	Dimethomorph(E, Z)	117	Metazosulfuron	187	Teflubenzuron
48	Diniconazole	118	Metconazole	188	Terbuthylazine
49	Dinotefuran	119	Methabenzthiazuron	189	Tetraconazole
50	Diphenamid	120	Methiocarb	190	Thenylchlor
51	Dithiopyr	121	Methomyl	191	Thiabendazole
52	Diuron	122	Methoxyfenozide	192	Thiacloprid
53	Daimuron	123	Metobromuron	193	Thiamethoxam
54	Edifenphos	124	Metolcarb	194	Thiazopyr
55	Esprocarb	125	Metrafenone	195	Thidiazuron
56	Ethaboxam	126	Mevinphos	196	Thifensulfuron-methyl
57	Ethiofencarb	127	Milbemectin A3 + Milbemectin A4	197	Thiobencarb
58	Etofenprox	128	Molinate	198	Thiodicarb
59	Ethoprophos	129	Monocrotophos	199	Tiadinil
60	Ethoxysulfuron	130	Myclobutanil	200	Triadimefon
61	Etoxazole	131	Napropamide	201	Triazophos
62	Etrifos	132	Nicosulfuron	202	Tricyclazole
63	Famoxadone	133	Novaluron	203	Trifloxystrobin
64	Fenamiphos	134	Nuarimol	204	Triflumizole
65	Fenarimol	135	Ofurace	205	Triflumuron
66	Fenazaquin	136	Omethoate	206	Uniconazole
67	Fenbuconazole	137	Oxadiazon	207	Vamidothion
68	Fenhexamid	138	Oxadixyl	208	Emamectin benzoate
69	Fenobucarb	139	Oxamyl	209	Nitenpyram
70	Fenoxaprop-ethyl	140	Oxaziclomefone		

○ GC-MS/MS를 이용한 잔류분석 대상 성분 목록(113 성분)

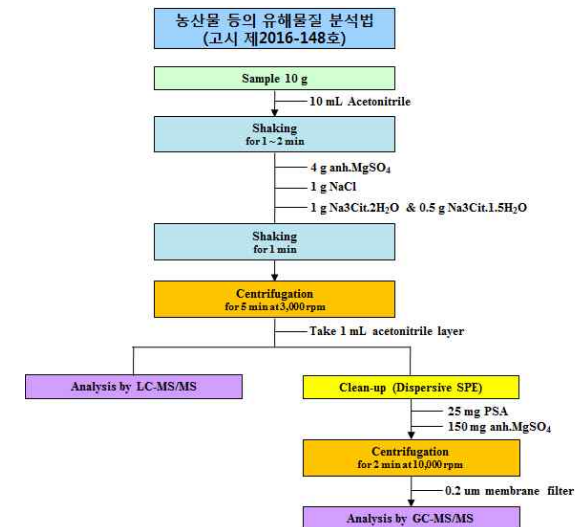
번호	물질명	번호	물질명	번호	물질명
1	Acrinathrin (2 isomer)	39	Endrin	77	Penthiopyrad
2	Alachlor	40	EPN	78	Permethrin (2 isomer)
3	Aldrin	41	Epoxiconazole	79	Phenothrin (2 isomer)
4	Ametoctradin	42	Ethalfuralin	80	Phorate
5	Anilofos	43	Ethion	81	Phosalone
6	Azaconazole	44	Etridiazole	82	Picoxystrobin
7	Benfuresate	45	Fenclorim	83	Piperonyl butoxide
8	BHC (alpha, beta, delta)	46	Fenitrothion	84	Pirimiphos-ethyl
9	Bifenox	47	Fenothiocarb	85	Pretilachlor
10	Bifenthrin	48	Fenoxanil	86	Prochloraz

번호	물질명	번호	물질명	번호	물질명
11	Bromobutide	49	Fenpropathrin	87	Procymidone
12	Bromopropylate	50	Fenthion	88	Promecarb
13	Butachlor	51	Fenvalerate (2 isomer)	89	Prometryn
14	Butafenacil	52	Fipronil	90	Propachlor
15	Carbophenothion	53	Flucythrinate (2 isomer)	91	Propazine
16	Chlorantraniliprole	54	Flumioxazine	92	Propiconazole (2 isomer)
17	Chlordane (2 isomer)	55	Fluopyram	93	Propisochlor
18	Chlorfenapyr	56	Fonofos	94	Propyzamide
19	Chlorfenvinphos (2 isomer)	57	Fthalide	95	Prothiofos
20	Chlorfluzuron	58	Halfenprox	96	Pyridalyl
21	Chlorobenzilate	59	Heptachlor + Heptachlor-epoxide	97	Silafluofen
22	Chlorpropham	60	Imibenconazole	98	Simazine
23	Chlorpyrifos-methyl	61	Indanofan	99	Simeconazole
24	Cyfluthrin (4 isomers)	62	Indoxacarb	100	Simetryn
25	Cyhalothrin	63	Iprodione	101	Spiromesifen
26	Cypermethrin (4 isomers)	64	Isazofos	102	Tebupirimfos
27	Cyprodinil	65	Isofenphos	103	Tefluthrin
28	Deltamethrin (tralomethrin)	66	Mecarbam	104	Terbufos
29	Diclofop-methyl	67	Methidathion	105	Terbutryn
30	Dicloran	68	Metolachlor	106	Tetradifon
31	Dicofol	69	Metribuzin	107	Thifluzamide
32	Dieldrin	70	Lindane(gamma-BHC)	108	Tolclofos-methyl
33	Difenoconazole (2 isomer)	71	Oxyfluorfen	109	Triadimenol
34	Dimethoate	72	o,p-DDT + p,p-DDD + P,P-DDE + p,p-DDT	110	Tri-allate
35	Dimethylvinphos	73	Parathion-ethyl	111	Trifluralin
36	Diphenylamine	74	Parathion-methyl	112	Vinclozolin
37	Disulfoton	75	Pendimethalin	113	Zoxamide
38	Endosulfan(alpha) + Endosulfan(beta) + Endosulfan-sulfate	76	Quintozene		

라. 분석방법

- 농산물 등의 유해물질 분석법에 고시된 ‘LC-MS/MS용 매질보정 검량선 용액의 조제’ 및 ‘GC-MS/MS용 매질보정 검량선 용액의 조제’ 방법을 참고하여 농약표준회석용액을 5개 이상의 농도로 조제한 후 검량용액을 분석하고, 시료를 분석하였다.

○ 분석 절차



* 분석조건은 「농산물 등의 유해물질 분석법」 참고

마. 잔류농약 분석법 기준 설정

- 연구과제 RFP상의 내용에 따라 「농산물 등의 유해물질 분석법」 320종 다성분 동시분석법을 적용하여 유기농자재에 대한 잔류농약 모니터링을 수행하였으며, 분석법의 validation 검증을 통해 정확도, 정밀성, 직선성 및 정량한계를 확인하였다.
- 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)는 시그널(signal) 대 노이즈(noise)를 비교하여 구할 수 있으며, 시그널 대 노이즈 비(S/N)는 기질의 저 농도 분석대상물

질을 포함한 검체의 시그널과 공시험 검체의 시그널을 비교하여 구하고, 10:1의 비율을 확실하게 정량할 수 있는 분석대상물질의 최저의 농도로 하였다.

$$\text{LOQ (mg/kg)} = \text{최소검출량 (ng)} \times \frac{1}{\text{시료량 (g)}} \times \frac{\text{최종희석부피 (mL)}}{\text{시료 주입량 (μL)}}$$

- 분석법의 LOQ는 0.01 mg/kg 이하가 되도록 설정하고, S/N≥10 (3% FSD) 수준으로 설정하고 분석법의 회수율은 LOQ 및 잔류허용기준을 고려하여 2수준의 처리농도에서 각각 3반복 시험하였다. 분석오차(CV = 회수율의 표준편차 / 회수율 × 100)는 20% 이하로 설정하였다.

- LOQ : 0.01 mg/kg 이하

- 분석오차(CV) : 20% 이내

- Validation 검증 : 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성 및 LOQ 확인

- 기기분석법의 직선성(linearity) 및 재현성(repeatability)을 알아보기 위해 서 고시된 「농산물 등의 유해물질 분석법」 320종 다성분 동시분석법의 ‘LC-MS/MS용 매질보정 검량 용액의 조제’, ‘GC-MS/MS용 매질보정 검량 용액의 조제’ 방법을 참고하여 농약표준희석용액을 5개 이상의 농도로 조제 한 후 검량용액을 분석하고, 시료를 분석 한 후 재분석 하는 협차 검량법을 활용하였다.

바. 품목별 분석법 검증 시료 대상 잔류농약 불검출 확인 시험

- 유통 중인 유기농업자재 29개의 시료에 대해 320종 농약의 다성분분석법 「농산물 등의 유해물질 분석법」을 적용하여 불검출 확인

사. 분석결과를 바탕으로 분석법의 유효성 검증

- 시험기기 : 질량분석기를 장착한 기체크로마토그래피(GC-MS/MS) 또는 액체크로마토그래피(LC-MS/MS)
- 분석결과를 바탕으로 유기농업자재에 대한 「농산물 등의 유해물질 분석법」의 유효성 검증

- ① 분석 성분별 직선성 확인

- ② 정확성 및 정밀성 확인

- ③ 감도(검출한계 및 정량한계) 확인

- ④ 분석방법의 선택성 확인

- ⑤ 둔감도 또는 완전성 확인

- ⑥ Matrix Effects(ME, 매질효과) 산출

아. 회수율 저하 품목의 전처리 및 기기분석 방법 개발

- 대상시료 : 유기농업자재 15개 품목 해당 시료에 대한 「농산물 등의 유해물질 분석법」 유효성 검증 결과 회수율 저하 품목
- 시험농약 : 유기농업자재 15개 품목 해당 시료에 대한 「농산물 등의 유해물질 분석법」 유효성 검증 결과 회수율 저하 성분
- 시험기기 : 질량분석기를 장착한 기체크로마토그래피(GC-MS/MS) 및 액체크로마토그래피(LC-MS/MS) 또는 자외선부흡광광도검출기가 장착된 액체크로마토그래피(HPLC-UV) 및 전자포획검출기가 장착된 가스크로마토그래피(GC-ECD)
- 품목 및 농약 성분에 따른 회수율 저하 원인 분석
- 1차 적으로 농자재 특성에 맞는 전처리 방법을 개발하여 「농산물 등의 유해물질 분석법」의 기기분석 방법 적용
- 「농산물 등의 유해물질 분석법」의 분석기기에 대해 분석이 어려운 농약성분에 대해 2차 적으로 농자재 품목의 특성 및 농약의 특성에 맞는 개별 전처리 및 기기분석방법 개발 시도
- 개발된 분석법에 대한 유효성 검증 실시 (분석방법의 정량한계 0.05 mg/kg 이하)

자. 각 시험결과를 이용한 유기농업자재 중 잔류농약에 대한 정보 제공 및 분석법 제시



3. 결과 및 고찰

가. 322종 잔류농약 시험 및 유효성 검증

- Table 10과 같이 4개의 그룹으로 구분한 유기농업자재시료 중 각 그룹에 대해 가장 불순물이 많거나 분석이 어려울 것으로 예상되는 시료에 대해 우선적으로 Figure 4와 같이 선정하여 「농산물 등의 유해물질 분석법」에 따라 다성분 동시분석법을 적용하여 분석을 수행 하였다.
- Table 10 제형 별 시료 중 선정한 대표 시료

구분	입제	고체	액체	농축액
품목명	혼합유기질	가축분퇴비	미생물제제	동물질추출액
제품명	왕중왕골드	그린나래	그린키	하나파워
제품사진				

- 가축분퇴비 시료(그린나래)에 대한 Abamectin B1을 포함한 209종 LC-MS/MS 분석대상 농약의 평균 회수율은 0.1 mg/kg 처리 시 34.5%, 0.5 mg/kg 처리 시 35.5%로 나타났다. 또한 acrinathrin을 포함한 GC-MS/MS 분석 대상 농약 107종의 평균 회수율은 35.4~39.3%로 나타났다.
- *Bacillus subtilis*로 구성된 미생물제제(그린키)시료를 액체 제형의 대표시료로 하여 LC-MS/MS 분석대상 농약 209종 및 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 회수율을 산출하였다.
- 미생물제제 시료(그린키)에 대한 Abamectin B1을 포함한 209종 LC-MS/MS 분석대상 농약의 평균 회수율은 0.1 mg/kg 처리 시 45.1%, 0.5 mg/kg 처리 시 48.0%로 나타났다. 또한 acrinathrin을 포함한 GC-MS/MS 분석 대상 농약 107종의 평균 회수율은 44.3~49.3%로 나타났다.
- 100% 어류추출물로 제조된 동물질추출액(하나파워)시료를 농축액 제형의 대표시료로 하여 LC-MS/MS 분석대상 농약 209종 및 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 회수율을 산출하였다.
- 동물질추출액 시료(하나파워)에 대한 Abamectin B1을 포함한 209종 LC-MS/MS 분석대상 농약의 평균 회수율은 0.1 mg/kg 처리 시 40.1%, 0.5 mg/kg 처리 시 43.3%로 나타났다. 또한 acrinathrin을 포함한 GC-MS/MS 분석 대상 농약 107종의 평균 회수율은 43.4~45.0%로 나타났다.

나. 개선된 322종 잔류농약 시험 및 유효성 검증

- 「농산물 등의 유해물질 분석법」에서 지정하고 있는 시료의 양 10 g을 그대로 적용하기에는 부적합한 것으로 판단되어, 이러한 문제를 개선할 수 있고 「농산물 등의 유해물질 분석법」을 유기농자재 시료에 적용가능성이 있는지 검증하는 본 연구의 목적을 흐리지 않도록 본 분석법을 그대로 적용하되 시료의 양만 2 g으로 축소 변경하여 진행하였다.
- 우선적으로 실험을 진행하였던 대표 시료 4개를 대상으로, 분석 시료의 양만 2 g으로 변경하여 추가 실험을 진행하였다. Table 20은 기존의

「농산물 등의 유해물질 분석법」에 따라 시료 10 g으로 추출한 용액과 시료량을 2 g으로 줄여서 추출한 용액을 비교한 것이다. 시료량을 줄임으로써 시료가 5배가량 희석되었기 때문에 marix의 양, 점도 및 탁도 등이 육안으로도 충분히 감소 되는 것으로 확인되었다. 뿐만 아니라 실제 분석용액을 기기에 주입하였을 때 LC의 pump, ESI tube, focus lens 및 column에 가해지는 오염이 줄어드는 것을 확인하였다.

Table 20 제형별 대표 시료 4종의 시료량 비교 사진

제형	대표시료	기존 분석법		개선된 분석법	
		칭량 후	추출 후	칭량 후	추출 후
입제	혼합유기질 (왕중왕골드)				
액제	미생물제제 (그린키)				
농축액	동물질추출액 (하나파워)				
고체	가축분퇴비 (그린나래)				

- 기존의 「농산물 등의 유해물질 분석법」에 따라 혼합유기질(왕중왕골드) 시료 10 g을 이용하여 LC-MS/MS 분석대상 농약 209종 및 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 회수율 산출한 결과와 시료량을 2 g으로 축소한 개선된 분석법을 적용한 회수율 결과를 비교하였다. 그 결과를 모식화 한 것은 Figure 5와 같으며, 평균 회수율은 39.3~45.2%에서 62.2~64.8%로 증가하였다. 평균 회수율 뿐만 아니라 변이계수 (coefficient of variation, CV)의 범위도 감소하는 것으로 확인되었다.

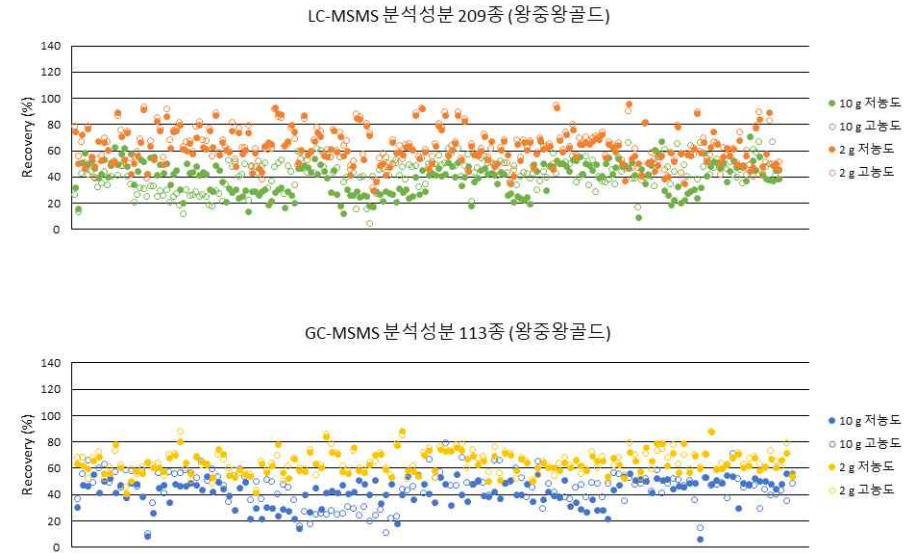


Figure 5 분석 시료량에 따른 혼합유기질(왕중왕골드)의 회수율 결과

- 미생물제제 시료(그린키)에 대한 Abamectin B1을 포함한 209종 LC-MS/MS 분석대상 농약의 평균 회수율은 0.1 mg/kg 처리 시 71.7%, 0.5 mg/kg 처리 시 72.3%로 나타났다. 또한 acrinathrin을 포함한 GC-MS/MS 분석 대상 농약 107종의 평균 회수율은 76.5~77.7%로 나타났다.
- 기존의 「농산물 등의 유해물질 분석법」에 따라 미생물제제(그린키) 시료 10 g을 이용하여 LC-MS/MS 분석대상 농약 209종 및 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 회수율 산출한 결과와 시료량을 2 g으로 축소한 개선된 분석법을 적용한 회수율 결과를 비교하였다. 그 결과를 모식화 한 것은 Figure 6과 같으며, 평균 회수율은 44.3~49.3%에서 71.2~

77.7%로 증가하였다. 평균 회수율 뿐만 아니라 변이계수(coefficient of variation, CV)의 범위도 감소하는 것으로 확인되었다.

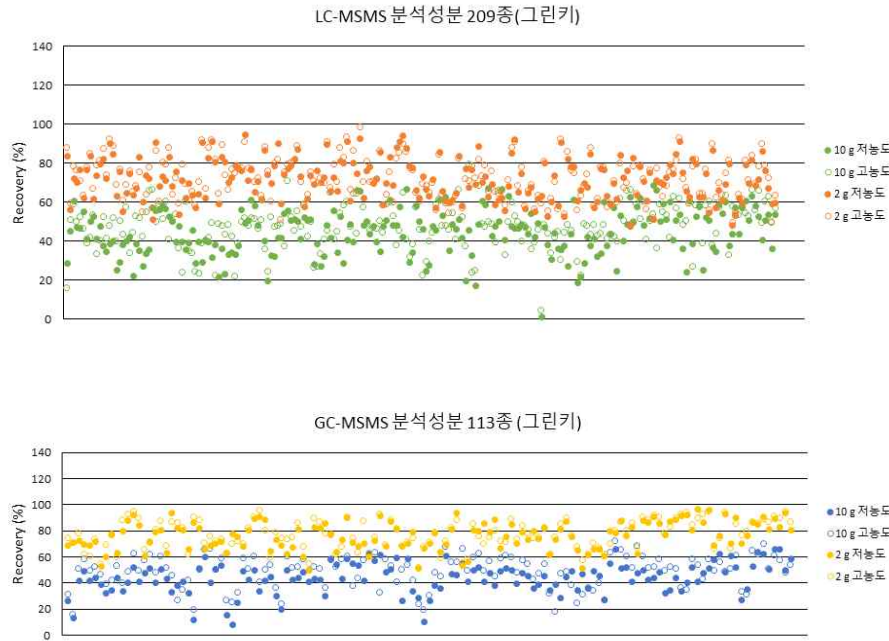


Figure 6 분석 시료량에 따른 미생물제제(그린키)의 회수율 결과

- 동물질추출액 시료(하나파워)에 대한 Abamectin B1을 포함한 209종 LC-MS/MS 분석대상 농약의 평균 회수율은 0.1 mg/kg 및 0.5 mg/kg 처리 시 75.2%로 나타났다. 또한 acrinathrin을 포함한 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 평균 회수율은 73.4~74.0%로 나타났다.
- 기존의 「농산물 등의 유해물질 분석법」에 따라 동물질추출액(하나파워) 시료 10 g을 이용하여 LC-MS/MS 분석대상 농약 209종 및 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 회수율 산출한 결과와 시료량을 2 g으로 축소된 개선된 분석법을 적용한 회수율 결과를 비교하였다. 그 결과를 모식화 한 것은 Figure 7과 같으며, 평균 회수율은 40.1~45.0%에서 73.4~75.2%로 증가하였다. 평균 회수율 뿐만 아니라 변이계수(coefficient of variation, CV)의 범위도 감소하는 것으로 확인되었다.

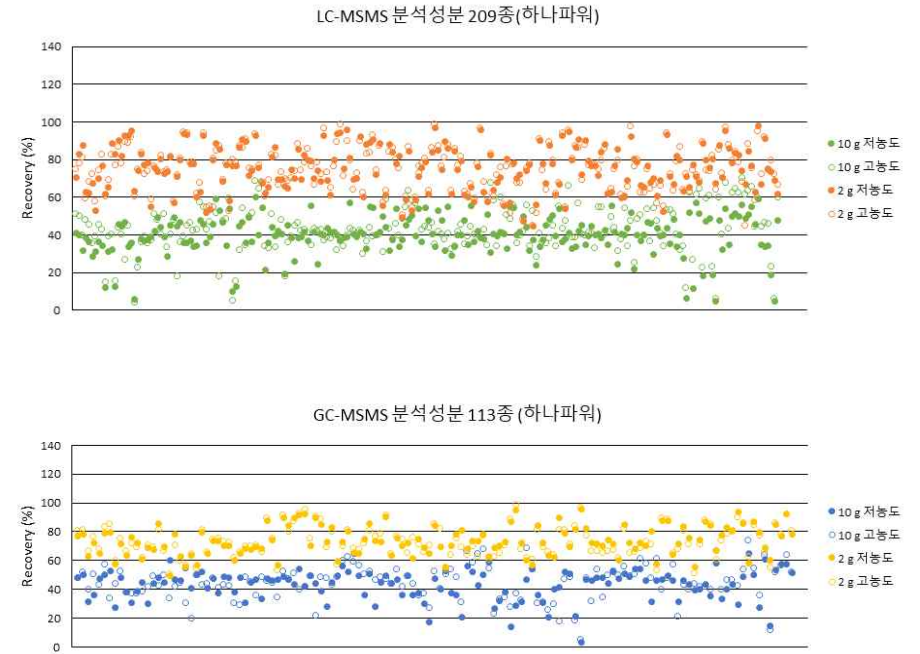


Figure 7 분석 시료량에 따른 동물질추출액(하나파워)의 회수율 결과

- 가축분퇴비 시료(그린나래)에 대한 Abamectin B1을 포함한 209종 LC-MS/MS 분석대상 농약의 평균 회수율은 0.1 mg/kg 처리 시 72.2%, 0.5 mg/kg 처리 시 70.9%로 나타났다. 또한 acrinathrin을 포함한 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 평균 회수율은 71.9~76.1%로 나타났다.
- 기존의 「농산물 등의 유해물질 분석법」에 따라 가축분퇴비(그린나래) 시료 10 g을 이용하여 LC-MS/MS 분석대상 농약 209종 및 GC-MS/MS 분석대상 농약 107종의 회수율 산출한 결과와 시료량을 2 g으로 축소된 개선된 분석법을 적용한 회수율 결과를 비교하였다. 그 결과를 모식화 한 것은 Figure 8과 같으며, 평균 회수율은 34.5~39.3%에서 70.9~76.1%로 증가하였다. 평균 회수율 뿐만 아니라 변이계수(coefficient of variation, CV)의 범위도 감소하는 것으로 확인되었다.

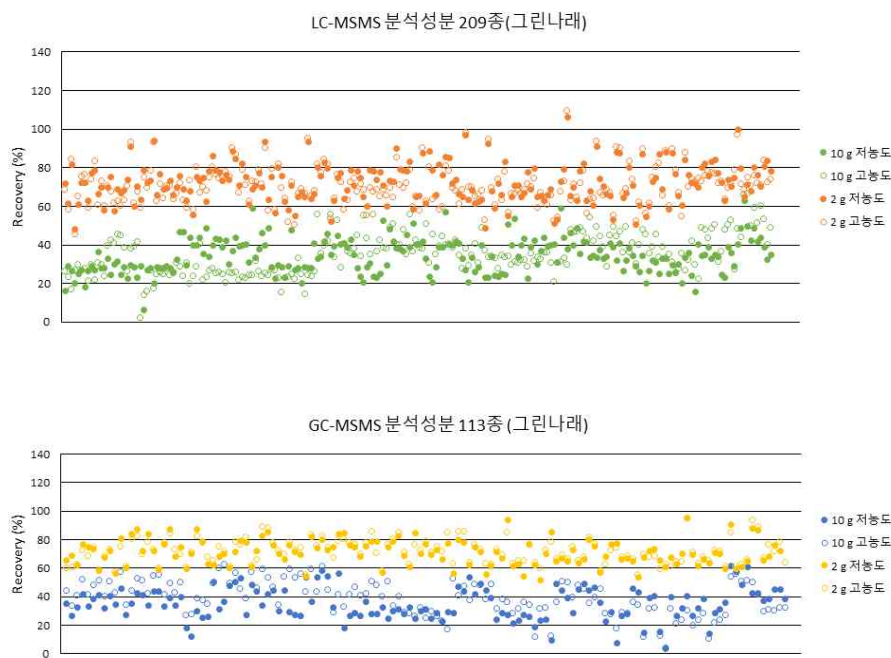


Figure 8 분석 시료량에 따른 가축분퇴비(그린나래)의 회수율 결과

다. 개선된 분석법 확립

- 대표시료 4종에 대해 개선된 분석법을 적용하였을 때 회수율 및 CV가 증가하는 것을 확인하여 나머지 25종의 시료에 대해 모두 개선된 분석법을 적용하여 유효성 검증을 시행하였다. 최종 제형별 분석 시료 29종의 분석은 Figure 9와 같이 수행되었다.

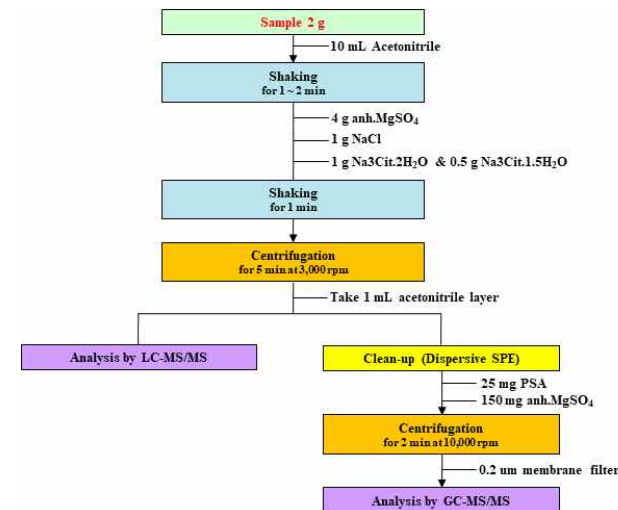


Figure 9 분석 시료량을 개선한 분석법

라. 검량선의 직선성

- 다성분 분석법의 기준인 0.97 이상의 직선성 상관계수를 만족하는 비율은 87~97%로 전체적으로 직선성은 양호하였다. 선행 실험에서 시료 10 g을 이용하였을 때는 직선성이 최대 77%를 상기의 기준을 만족하였지만, 시료의 양을 2 g으로 축소하여 진행한 본 실험에서는 회석효과 및 matrix effect 저감화로 양호한 결과를 나타내었다.
- 목초액(잘붙어, 대유진목초), 님추출물(그린졸입제), 혼합유기질(왕중왕 골드)에서 LC-MS/MS 및 GC-MS/MS 모두 직선성이 매우 양호하였다. 0.999이상을 만족하는 값의 분포는 두 기기에서 30% 이상의 비율을 나타내고 있으며, 다성분 분석법의 기준($R^2 \geq 0.97$)을 만족하지 못한 비율은 3~7%로 나타났다. 님추출물(대유플라즈마님), 고삼추출물(진디다 운플러스), 제충국 추출물(충산탄 입제), 미생물 추출물(오대박) 및 제당추출물(원당밀)에서는 한 기기에서만 0.999이상을 만족하는 분포가 30% 이상으로 나타났다. 직선성이 매우 양호한 상기의 제품들의 제형을 구분하면 입제 3제품, 액제 7제품, 농축액 2제품으로 액제 제형이 50%의 비중을 차지 하였다.

- 반면에 유일한 고체 제형인 가축분퇴비(참그린퇴비 및 그린나래)는 직선성이 양호하지 못하였다. 가축분퇴비의 0.999이상을 만족하는 비율이 0~6%로 나타났으며, 다성분 분석법 기준을 만족하지 못한 비율은 8~13%로 나타나 모든 제품 중 가장 저조한 직선성을 나타내었다. 가축분퇴비의 경우 함유된 성분이 계분, 우분, 돈분, 톱밥, 벚서배지, 원두박, 피마자박, 주정박, 골분 및 미생물 등의 많은 성분들이 함유하고 있으며 다양한 matrix들이 낮은 농도의 농약 성분의 검출을 방해하고, peak stability가 불안정한 것으로 나타났다. 예를 들어 trifloxystrobin은 LC-MS/MS에서 우수한 감도와 직선성을 나타내지만 가축분퇴비(참그린퇴비)에서는 0.9088의 낮은 직선성 상관계수를 나타내었다. 또한 GC-MS/MS 대상농약인 cyhalothrin의 경우 분석이 까다로운 성분 중 하나임에도 불구하고 다른 제품에서는 0.99이상의 직선성을 나타내었지만, 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래)에서는 0.9094 및 0.9882로 저조한 직선성을 보였다.
- 액체의 형태를 가진 제품 중 액체 제형에서는 대부분 직선성이 양호하였으나 미생물제제(그린키, 라이브BSR)와 농축액 제형인 식물성오일(유기농 참기름)에서는 직선성이 상대적으로 불량한 것으로 나타났다. 미생물제제(그린키, 라이브BSR)의 상기에 서술한 가축분퇴비와 비슷한 양상을 나타내었다. 0.97 미만을 만족하는 비율이 8~13%로 다른 액체 제형의 제품보다 상대적으로 저조한 직선성을 보였으며, 식물성오일(유기농 참기름)에서는 9~11%로 나타났다. 식물성오일(유기농 참기름) 제품의 경우 지방을 100%함유하기 때문에 충분한 정제효과를 기대하기 어렵다. 특히나 본 분석법의 경우 다성분 분석을 하기위해 비극성에서 극성까지의 충분한 추출효율을 위해 정제의 간소화가 이루어져 matrix effect로 인한 직선성의 불량이 나타난 것이라 판단된다.

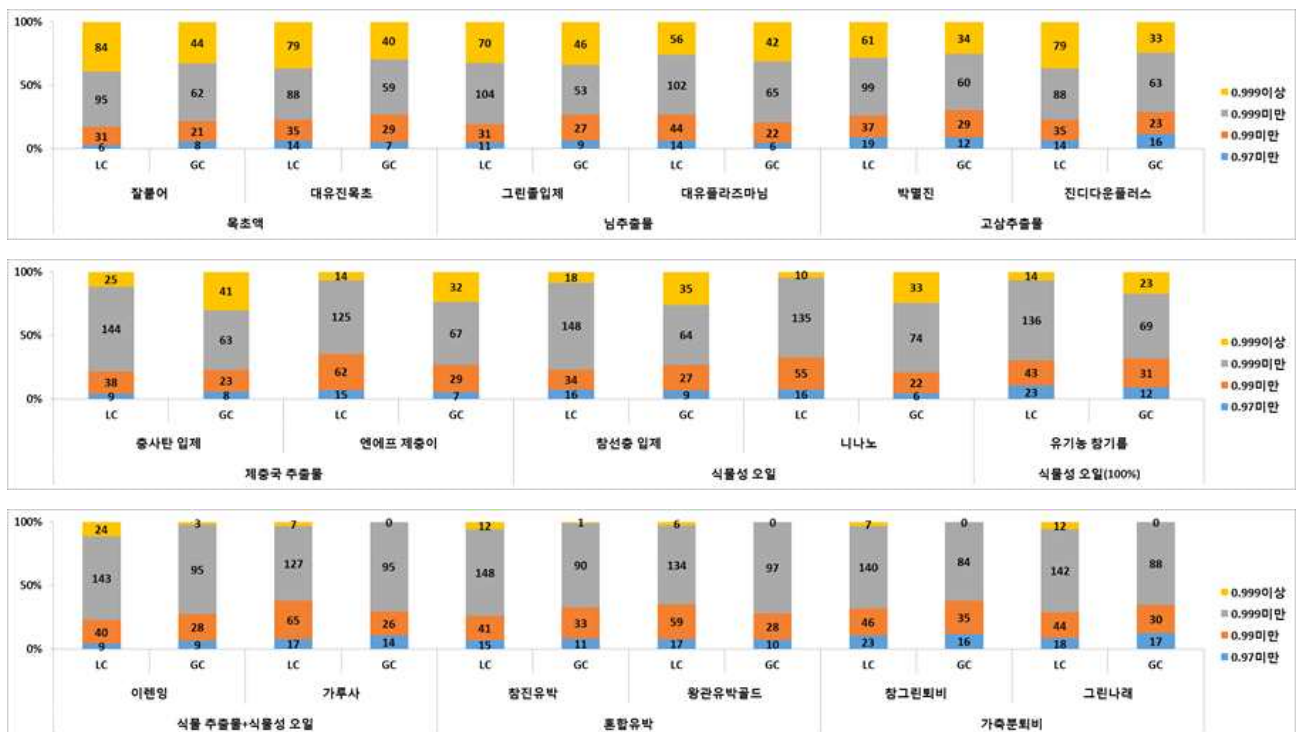


Figure 10 분석농약 322종의 각 시료별 직선성 R²의 분포도

마. 회수율 실험

- 회수율 시험을 통하여 분석법의 정확도 및 정밀도를 검증하였다. 회수율 시험 수준은 0.1 mg/kg 및 0.5 mg/kg인 2수준을 적용하였으며, 정밀도를 검증하기 위해 회수율 3반복 값의 CV 값을 20%이내의 기준을 설정하였다. 정확도는 회수율의 평균값으로 검증하였으며 70~120%기준을 설정하였다. 해당기준은 식약처에서 제시한 ‘다성분 분석법 기준 설정’ 항목을 참고하였다.
- 총 15품목 29개의 개별시료에 대한 회수율의 분포를 Figure 11과 같이 나타내었다. 전체적으로 회수율의 분포는 70~110%사이를 만족하였으며, 전체 회수율의 평균값은 약 85%로 나타났다. 각 시료에 따라 회수율 범위별 분포가 다르게 나타나지만, 대부분이 회수율의 분포가 비슷한 양상을 나타내었다. 하지만, 식물추출물+식물성오일(이렌잉, 가루사), 혼합유박(참진유박, 왕관유박골드), 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래)는 60~70% 및 120%를 초과하는 비율이 상대적으로 높은 것으로 나타났다. 상세한 내용은 아래에 각 품목별 결과에서 서술하였다.

1) 목초액(잘블어, 대유진목초)의 회수율 시험

- 잘블어 시료의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 184성분, GC-MS/MS성분 101성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 193성분 및 113성분이 각 기기별로 만족하였다. 그 비율은 잘블어 시료는 85~89%, 대유진목초 시료는 87~89%이었다. LC-MS/MS성분의 경우 회수율의 분포가 회수율 80~90%를 만족하는 비율이 높은 반면, GC-MS/MS성분은 회수율 90~100% 및 100~110%를 만족하는 비율이 상대적으로 높았다. 그 이유는 GC-MS/MS의 특성상 ion enhancement의 경향이 높기 때문이다. 각 성분별 회수율 값은 Table 40에 나타냄

2) 님추출물(그린줄 입제, 대유플라즈마닙)의 회수율 시험

- 그린줄 입제 시료의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 178성분, GC-MS/MS성분 105성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 186성분 및 113성분이 각 기기별로 만족하였다. 대

유플라즈마닙 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 193성분, GC-MS/MS성분 118성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 191성분 및 113성분이 각 기기별로 만족하였다. 두 시료간의 차이는 GC-MS/MS성분에서는 차이가 없었으나, LC-MS/MS성분에서 대유플라즈마닙이 약 10성분이 더 높게 나타났다. 회수율 분포 비율은 그린줄 입제 시료는 79~86%, 대유진목초 시료는 85~89%이었다. 목초액(잘블어, 대유진목초)시료와 같이 LC-MS/MS 및 GC-MS/MS에 나타나는 양상은 같았다.

3) 고삼추출물(박멸진, 진디다운플러스)의 회수율 시험

- 박멸진 시료의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 188성분, GC-MS/MS성분 99성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 194성분 및 112성분이 각 기기별로 만족하였다. 진디다운플러스 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 193성분, GC-MS/MS성분 133성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 191성분 및 133성분이 각 기기별로 만족하였다. 진디다운플러스 시료는 GC-MS/MS성분 모두 회수율 기준에 만족하는 우수한 결과를 나타냈다. 회수율 분포 비율은 박멸진 시료는 74~90%, 진디다운플러스 시료는 88~100%이었다.

4) 제충국 추출물(충사탄 입제, 엔에프 제충이)의 회수율 시험

- 충사탄 입제의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 184성분, GC-MS/MS성분 133성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 193성분 및 133성분이 각 기기별로 만족하였다. 엔에프 제충이 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 195성분, GC-MS/MS성분 132성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 193성분 및 125성분이 각 기기별로 만족하였다. 엔에프 제충이 시료는 GC-MS/MS성분 중 1성분을 제외한 132성분이 회수율 기준에 만족하는 우수한 결과를 나타냈다. 회수율 분포 비율은 충사탄 입제 시료는 85~100%, 진디다운플러스 시료는 89~99%이었다.

5) 식물성오일(참선충 입제, 니나노)의 회수율 시험

- 참선충 입제의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 171성분, GC-MS/MS성분 133성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 179성분 및 132성분이 각 기기별로 만족하였다. 니나노 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 196성분, GC-MS/MS성분 107성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 198성분 및 110성분이 각 기기별로 만족하였다. 참선충 입제 시료는 GC-MS/MS성분 중 1성분을 제외한 132성분이 회수율 기준에 만족하는 우수한 결과를 나타냈다. 반면에 니나노 시료는 LC-MS/MS에서는 참선충 입제 시료보다 더 많은 농약이 회수율 기준을 만족하였지만, GC-MS/MS에서는 20성분 이상이 만족하지 않았다.

6) 식물성오일 100%(유기농 참기름)의 회수율 시험

- 유기농 참기름의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 145성분, GC-MS/MS성분 76성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 168성분 및 92성분이 각 기기별로 만족하였다. 유기농 참기름 시료는 다른 시료와는 다르게 회수율 기준을 만족하는 비율이 낮았는데, 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율은 최저 56%로 분석법 개선이 필요한 것으로 보인다. 유기농 참기름은 지방이 100%함유되어 있어 충분한 정제효과를 기대하긴 어렵다. 특히나 본 분석법의 경우 다성분 분석을 하기위해 비극성에서 극성까지의 충분한 추출효율을 위해 정제의 간소화가 이루어져 matrix effect로 인한 회수율이 저조한 것으로 판단된다.

7) 식물추출물+식물성오일(이렌잉, 가루사)의 회수율 시험

- 이렌잉의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 148성분, GC-MS/MS성분 132성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 183성분 및 123성분이 각 기기별로 만족하였다. 가루사 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 180성분, GC-MS/MS성분 90성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 190성분 및 94성분이 각 기기별로 만족하였다. 이렌잉 시료는 0.1 mg/kg에서

1성분을 제외한 132성분이 회수율 기준에 만족하였지만, 0.5 mg/kg에서는 123성분만 만족하여 상반된 결과를 나타냈다. 가루사 시료는 상대적으로 이렌잉 시료보다 LC-MS/MS는 만족하는 농약의 수가 많았지만, GC-MS/MS의 경우 30성분이 적게 만족하였다. 식물추출물+식물성오일(이렌잉, 가루사)를 시험한 결과 상대적으로 회수율 90~100%를 만족하는 비율이 낮았으며, 회수율 100~110%를 만족하는 비율이 다른 시료보다 높았다.

8) 혼합유박(참진유박, 왕관유박골드)의 회수율 시험

- 참진유박의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 164성분, GC-MS/MS성분 109성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 186성분 및 108성분이 각 기기별로 만족하였다. 왕관유박골드 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 178성분, GC-MS/MS성분 78성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 182성분 및 74성분이 각 기기별로 만족하였다. 왕관유박골드 시료는 참진유박 시료와 같이 LC-MS/MS는 만족하는 농약의 수가 비슷하였지만, GC-MS/MS의 경우 30성분이 적게 만족하였다. LC-MS/MS에서는 회수율 80~100%를 만족하는 농약의 비율이 최대 51%였지만, GC-MS/MS에서는 회수율 60~80%를 만족하는 비율이 최대 66%로 회수율의 분포가 다르며, 평균회수율 또한 GC-MS/MS성분이 낮은 것으로 나타났다.

9) 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래)의 회수율 시험

- 참그린퇴비 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 168성분, GC-MS/MS성분 51성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 183성분 및 59성분이 각 기기별로 만족하였다. 그린나래 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 126성분, GC-MS/MS성분 73성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 109성분 및 76성분이 각 기기별로 만족하였다. 참그린퇴비 및 그린나래 모두 GC-MS/MS성분이 회수율 기준을 만족하는 비율이 다른 시료보다 낮았다. 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율은 38~57%로 낮았으며, 회수율 60~70%를 만족하는 농약의 비율이 36~48%로 나타났다. 이러한 양상은 혼합유박의 왕관유박골드와 비슷하였다. 이러한 현상이 나타나는 이유는 한 시료에 함유된 성분이 최소 4성분이었으며 많게는

11성분으로 다양한 matrix로 인한 충분한 정제가 이루어지지 않아 matrix effect의 영향이 클 것으로 판단된다.

10) 계분(올가포스, 오게비트)의 회수율 시험

- 올가포스의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 137성분, GC-MS/MS성분 96성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 138성분 및 104성분이 각 기기별로 만족하였다. 오게비트 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 151성분, GC-MS/MS성분 119성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 123성분 및 110성분이 각 기기별로 만족하였다. 계분(올가포스, 오게비트)은 가축분퇴비 시료와 비슷한 양상을 나타낼 것으로 판단하였지만, 상반된 결과를 나타냈다. 계분의 경우 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율이 57~83%로 양호한 결과를 보였다. LC-MS/MS의 경우 회수율 60~70%를 만족하는 농약의 비율이 24~36%로 GC-MS/MS보다 상대적으로 낮은 경향을 보였으며, GC-MS/MS의 경우 70~90%에 대부분 분포하는 것으로 나타났다.

11) 동물질 추출액(대유오메가그로, 하나파워)의 회수율 시험

- 대유오메가그로의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 176성분, GC-MS/MS성분 107성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 163성분 및 73성분이 각 기기별로 만족하였다. 하나파워 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 143성분, GC-MS/MS성분 88성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 145성분 및 77성분이 각 기기별로 만족하였다. 대유오메가그로의 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율은 55~81%로 GC-MS/MS 성분에서 상대적으로 저조한 현상을 보였으며, 이는 하나파워 시료도 마찬가지이다. 두 시료 모두 LC-MS/MS보다 GC-MS/MS에서 회수율 기준을 만족하는 비율이 평균 20% 낮았고, 회수율 60~70%를 만족하는 비율이 최대 38%로 높은 비율을 차지하였다. 이는 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래)의 비슷한 양상을 보인다.

12) 미생물 제제(그린키, 라이브BSR)의 회수율 시험

- 그린키의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 121성분, GC-MS/MS성분 94성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 126성분 및 101성분이 각 기기별로 만족하였다. 라이브BSR 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 186성분, GC-MS/MS성분 121성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 189성분 및 114성분이 각 기기별로 만족하였다. 두 시료 모두 GC-MS/MS보다 LC-MS/MS에서 회수율 기준을 만족하는 비율이 평균 15% 낮았고, 회수율 60~70%를 만족하는 비율이 최대 31%로 높은 비율을 차지하였다. 반면에 GC-MS/MS는 회수율 70~90%에 분포하였다.

13) 혼합유기질(왕중왕골드, 장보고골드)의 회수율 시험

- 왕중왕골드 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 129성분, GC-MS/MS성분 84성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 153성분 및 88성분이 각 기기별로 만족하였다. 장보고골드 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 184성분, GC-MS/MS성분 104성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 162성분 및 92성분이 각 기기별로 만족하였다. 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율은 왕중왕골드 60~71%, 장보고골드 69~85%로 장보고골드가 상대적으로 양호한 회수율을 보였다. 회수율 분포는 두 시료 모두 비슷한 분포를 나타냈다. 혼합유기질 시료의 경우 성분이 유박, 골분 및 어분 등으로 이루어져 혼합유박과 비슷한 양상을 나타냈을 것이라 생각하였지만, 혼합유기질 시료가 LC-MS/MS성분은 최대 40성분이 회수율 기준에 만족하지 못하였다. GC-MS/MS성분은 최대 20성분이 기준에 만족하지 못하였다.

14) 미생물 추출물(오대박, 팜월드)의 회수율 시험

- 오대박의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 166성분, GC-MS/MS성분 90성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 156성분 및 92성분이 각 기기별로 만족하였다. 팜월드 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 170성분, GC-MS/MS성분 91

성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 156성분 및 79성분이 각 기기별로 만족하였다. 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율은 오대박 68~72%, 팜월드 59~79%로 오대박 시료가 상대적으로 양호한 회수율을 보였다. 회수율 분포는 두 시료 모두 비슷한 분포를 나타냈다.

15) 제당 추출물(유기원, 원당밀)의 회수율 시험

- 유기원의 경우 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 175성분, GC-MS/MS성분 108성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 190성분 및 105성분이 각 기기별로 만족하였다. 원당밀 시료는 0.1 mg/kg의 농도에서 LC-MS/MS성분이 190성분, GC-MS/MS성분 105성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, 0.5 mg/kg에서 178성분 및 93성분이 각 기기별로 만족하였다. 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율은 유기원 81~83%, 원당밀 70~82%로 전체적으로 양호한 회수율 결과를 보였다. 기존의 다른 시료와 다르게 회수율 70~90%를 만족하는 비율이 상대적으로 높아 가장 안정적인 분석이 가능한 것으로 판단된다.

바. Matrix effect 확인

- Matrix effect는 각 시료의 회수율 시험을 분석할 때마다 용매표준용액의 검량선을 작성하여 비교하였다. Matrix effect는 matrix matched calibration을 이용한 방법에서 매질에 의하여 검량선의 기울기와 감도에 얼마나 영향을 미쳤는가를 판단할 수 있는 참고자료로서 본 연구에서 사용된 matrix effect의 산출법은 아래식에 따라 산출하였다.

$$ME(\%) = \left(\frac{b \text{ value of calibration curve with sample}}{b \text{ value of calibration curve without sample}} - 1 \right) \times 100$$

- Matrix effect 산출값이 0%를 기준으로 (+)의 값이 산출되면 enhancement, 즉 용매표준용액의 감도보다 matrix matched에서의 감도가 더 증가된 것을 의미하고, (-)의 값이면 suppression 즉, matrix

matched에서 감도가 더 감소한 것을 의미한다. Matrix effect의 기준은 선정되어 있지 않으나, 보통 -20 ~ 20%를 matrix의 영향을 약하게 받는 것으로 판단한다. -50 ~ 50%는 matrix의 영향을 받는 것으로 판단하고 있다.

- Matrix effect의 분포도는 <그림 42~43>으로 나타내었다. LC-MS/MS의 경우 평균 matrix effect의 값이 -5.8%로 나타나 ion suppression 현상이 더 많이 나타났다. 이는 LC-MS/MS의 특성으로 electro spray ionization mode로 농약의 이온화과정에서 matrix와 경쟁 이온화를 하게 되는데, matrix의 함량이 많을수록 수소와 더 많은 결합을 하여 농약의 이온화가 불량하여 suppression 현상이 나타난다. Figure 42를 보면 특정 농약은 모든 시료에서 공통적인 특징을 가지는데 이는 농약의 자체 특성이 라고 볼 수 있다.

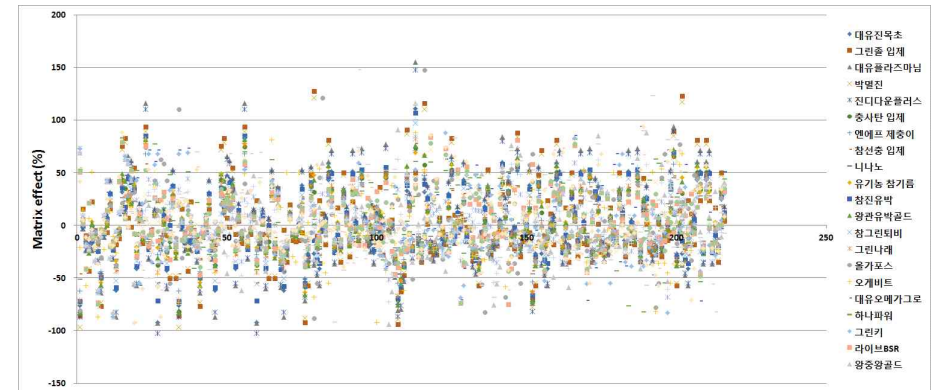


Figure 42 LC-MS/MS 대상농약의 각 시료별 matrix effect 분포도

- 반면에 GC-MS/MS의 경우 평균 matrix effect 값이 3.7%로 나타나 ion enhancement 현상이 나타났다. 뿐만 아니라 Figure 43과 같이 matrix effect가 일정하지 않고 0을 기준으로 분산된 것을 확인 할 수 있다. 이는 기기의 반복적인 주입과 batch 순서에 영향을 받는 것으로 판단된다. GC-MS/MS의 경우 liner의 오염여부에 따라 감도에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데, 정제효과가 적은 해당 분석법으로는 liner 오

염이 빨리 되어 감도에 영향을 미친 것으로 확인된다. 또한 batch 순서도 중요한데, 시료의 성분이 비슷한 것을 batch하지 않고 연관성이 없는 시료를 batch 하여 기기에 주입할 경우 일정한 이온화가 되지 않아 영향을 미칠 수 있다. 특히나 유기농자재 시료의 경우 시료의 성분이 제품마다 상이하기 때문에 더욱더 신경 써야 할 것으로 판단된다.

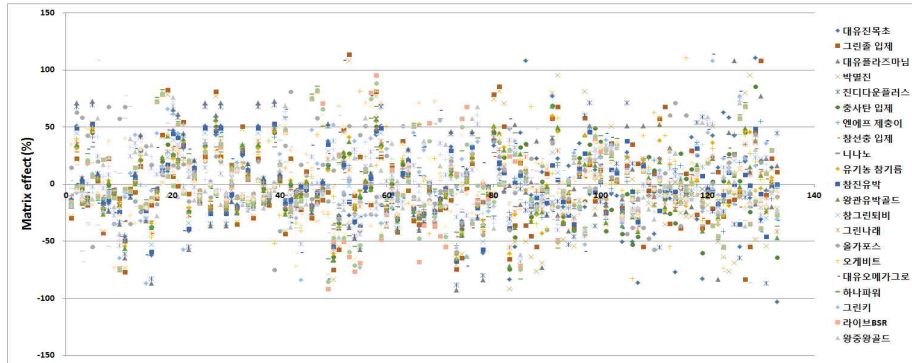


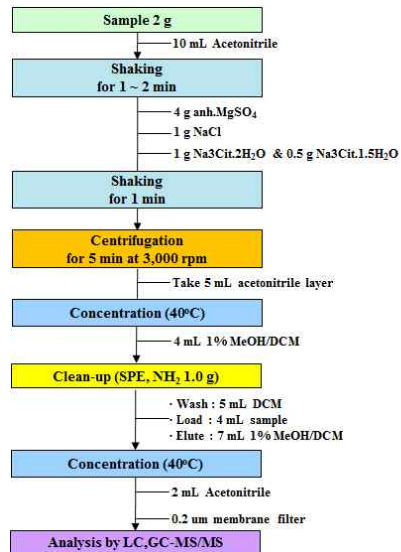
Figure 43 GC-MS/MS 대상농약의 각 시료별 matrix effect 분포도

바. 난분석 시료의 322종 잔류농약 분석법 개선

- 상기의 연구에서 식물성 오일-100%(유기농 참기름), 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래), 계분(올가포스, 오게비트)의 경우 회수율 기준을 만족하는 농약의 비율이 저조한 것으로 나타났다. 식물성 오일-100%(유기농 참기름)의 경우 회수율 70%미만을 만족하는 농약의 비율이 LC-MS/MS 성분의 경우 33%, GC-MS/MS 성분은 43%이었으며, 회수율 120%를 초과하는 농약은 없었다. 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래) 시료 또한 회수율 70%미만을 만족하는 농약의 비율이 최대 50%로 나타났으며, 계분(올가포스, 오게비트)는 최대 43%의 비율로 나타났다.
- 식물성 오일-100%(유기농 참기름)의 경우 지방성분이 100%이기 때문에 충분한 정제효과를 기대하긴 어렵다. 특히나 본 분석법의 경우 다성분 분석을 하기위해 비극성에서 극성까지의 충분한 추출효율을 위해 정제의 간소화가 이루어져 이러한 현상이 나타난 것이라 판단된다. 따라서 식물성 오일-100%(유기농 참기름) 시료는 지방성분을 충분히 제거할 수

있는 시험 방법이 필요해 보인다.

- 가축분퇴비(참그린퇴비, 그린나래) 및 계분(올가포스, 오게비트)의 성분은 계분, 우분, 돈분, 톱밥, 버섯배지, 원두박, 피자마박, 주정박, 골분, 석회고토, 미생물 및 코코피트 등으로 이루어져 있다. 이러한 성분은 주요물질이 비분해성 및 난분해성 단백질의 비율이 높다. 특히나 주정박, 원두박 및 피자마박 등은 단백질 함량 약 30%이다. 따라서 해당 시료는 다양한 물질이 포함되어 있기 때문에 충분한 정제가 필요한 것으로 보인다.
- 현재 시행하고 있는 분석법인 「농산물 등의 유해물질 분석법」은 QuEChERS를 기반으로 하기 때문에 매우 빠르고 쉽게 전처리가 가능한 장점이 있다. 하지만 위의 시료와 같이 다양한 성분, 수분함량이 적은 시료, 지방함량이 많은 시료에 적용하기에는 어려움이 있다. 위와 같이 회수율이 저조한 것 뿐만 아니라, 기기에도 큰 무리가 가해질 수 있다.
- 「농산물 등의 유해물질 분석법」을 기반으로 하되, 충분한 정제효과를 가질 수 있는 방법은 SPE 카트리지를 사용하는 것이 적합해 보인다. 본 분석법은 d-SPE 방법을 이용하지만 유기농자재 시료에 적용하기에는 부적합한 것으로 보여, 일반적으로 널리 사용되고 있는 NH2 SPE 카트리지를 이용하여 정제를 한다. 그리고 식물성 오일-100%의 경우 지방성분이 주요물질이므로, hexane/acetonitrile 분배방법을 적용하여 지방을 충분히 제거하는 것이 바람직해 보인다.
- 난분석 시료의 잔류농약 분석법 모식도



1) 난분석 시료의 잔류농약 분석법 회수율 시험

- 상기의 방법을 난분석 시료에 적용하여 회수율 시험을 하였다. 난분석 시료는 식물성오일-100%(유기농 참기름) 및 가축분퇴비(참그린퇴비)인 총 2 제품을 선정하였다.
- 유기농 참기름 시료의 LC-MS/MS 대상 농약 중 71성분, GC-MS/MS 대상 농약 57성분을 선정하여 분석에 사용하였다. 해당 농약은 기존 분석법에서 회수율 70%이하를 만족하여 해당 성분으로 난분석 시료의 잔류농약 분석법에 적용하였을 때 개선의 여부를 확인 할 수 있다.
- 회수율 시험 결과 Table 70~71과 같이 유기농 참기름에서 LC-MS/MS 대상 농약인 71성분 중 56성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, abamectin B1을 포함한 15성분은 회수율 70% 미만의 값을 나타냈다. 해당 성분 중 abamectin B1, acephate, cyhalop-butyl, dimethneamid 및 esprocarb 등은 회수율 수준 0.5 mg/kg 처리농도에서는 70% 이상을 만족하는 값을 나타내어, 미량 분석은 좀 더 정밀한 분석법이 요구된다.
- GC-MS/MS는 총 57성분 중 47성분이 회수율 70~120%를 만족하였다.

Butafenacil을 포함한 10성분은 회수율 70% 미만으로 나타났으며, Cyfluthrin 1, 3, 및 4의 경우 회수율의 변화가 없었다. Butafenacil, fenoxanil, flycythrinat, metribuzin의 경우 0.5 mg/kg 처리농도에서는 70% 이상으로 나타났지만, 0.1 mg/kg에서는 약 60%의 수준으로 나타났다.

- 참그린퇴비 시료의 LC-MS/MS 대상 농약 중 48성분, GC-MS/MS 대상 농약 82성분을 선정하여 분석에 사용하였다. 해당 농약은 기존 분석법에서 회수율 70%미만 및 120%초과를 만족하는 성분이다.
- 회수율 시험 결과 <표 72~73>과 같이 참그린퇴비에서 LC-MS/MS 대상 농약인 48성분 중 29성분이 회수율 기준 70~120%를 만족하였으며, Buprofezin을 포함한 19성분은 회수율 70% 미만 및 120% 초과한 값을 나타냈다. 해당 성분 중 etrimphos, spirotetramat, carbophenothion 등은 회수율 수준 0.5 mg/kg 처리농도에서는 70~120%를 만족하는 값을 나타내어, 미량 분석은 좀 더 정밀한 분석법이 요구된다.
- 반면에 GC-MS/MS는 LC-MS/MS 보다 개선된 것을 확인 할 수 있었다. GC-MS/MS는 총 82성분 중 73성분이 회수율 70~120%를 만족하였다. Bifenox을 포함한 6성분은 회수율 70% 미만으로 나타났으며, Butafenacil 및 chlorpropham은 120%를 초과하였다. Cyfluthrin의 경우 유기농 참기름 시료와 마찬가지로 1, 3, 및 4의 회수율 변화가 없었다. Carbophenothion의 경우 0.5 mg/kg 처리농도에서는 70~120%를 만족하였지만, 0.1 mg/kg에서는 약 65%의 수준으로 나타났다.

4. 기대성과 및 활용방안

유통 중인 유기농업자재의 불검출 확인 및 분석법 개발로 시중 유통 유기농업자재에 대한 농약 성분 안전관리 강화에 기여하고, 유기농업자재 농약 다 성분 또는 단성분 분석법 개발을 통한 검사현장의 업무수행 효율성 증대 및 분석신뢰도 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다. 또한 유기농업자재의 잔류농약 안전관리에 대한 국제적 신뢰성 확보, 신뢰성 있는 유기농업자재 사용으로 인한 농산물안전성 확보 및 소비자 기호에 충족된 유기농산물 생산으로 행복지수 향상에 기여할 수 있을 것이다. 유효성이 검증된 분석법은 유기농자재 공인분석법으로 활용 및 유기농자재 분석기관에서 이용될 수 있다.

5. 참고문헌

- 1) Kong, Z., M. Li., J. Chen, Y. Gui, Y. Bao, B. Fan, Q. Jian, F. Francis and X. Dai (2016) Behavior of field-applied triadimefon, malathion dichlorvos, and their main metabolites during barley storage and beer processing. *Food Chem.* 211, 679-686.
- 2) Soliman, K. M (2001) Changes in concentration of pesticide residues in potatoes during washing and home preparation. *Food Chem Tox.* 39, 887-891.
- 3) Łozowicka, B., M. Jankowska (2016) Comparison of the effects of water and thermal processing on pesticide removal in selected fruits and vegetables. *J. Elem.* 21(1), 99-111.
- 4) Ayman, N. S., F. M. Malhat, H. M. A. badawy and D. A. Barakat (2016) Dissipation dynamic, residue distribution and processing factor of hexythiazox in strawberry fruits under open field condition. *Food Chem.* 196, 1108-1116.
- 5) Wang, Z., J. Huang, J. Chen and F. Li (2013) Effectiveness of dishwashing liquids in removing chlorothalonil and chlorpyrifos residues from cherry tomatoes. *Chemosphere.* 92, 1022-1028.
- 6) López-Fernández, O., R. Rial-Otero and J. Simal-Gándara (2013) Factors governing the removal of mancozeb residues from lettuces with washing solutions. *Food Cont.* 34, 530-538.
- 7) Jegal, S. A., Y. S. Han and S. A Kim (2000) Organophosphorus pesticides removal effect in rice and korean cabbages by washing and cooking. *Kor. J. Soc. Food Sci.* 16(5), 410-415.
- 8) Jeong, E. J. and Y. J. Cha (2012) Reduction in residual pesticides and quercetin yields in onion peel extracts by washing. *J. Life Sci.* 22(12), 1665-1671.
- 9) Kwon, H. Y., H. D. Lee, J. B. Kim, Y. D. Jin, B. C. Moon, B. J. Park, K. A. Son, O. K. Kwon and M. K. Hong (2009) Reduction of pesticide residues in field-sprayed leafy vegetables by washing and boiling. *J. Fd Hyg. Safety.* 24(2), 182-187.
- 10) Kusvuran, E., D. Yildirim, F. Mavruk and M. Ceyhan (2012) Removal of chlorpyrifos ethyl, tetradifon and chlorothalonil pesticide residues from citrus by using ozone. *J. Haz Mat.* 241-242, 287-300.
- 11) Satpathy, G., Y. K. Tyagi and R. K. Gupta (2012) Removal of organophosphorus (OP) pesticide residues from vegetables using washing solutions and boiling. *Journal of Agricultural Science.* 4(2), 69-78.
- 12) Hwang, L. H., A. K. Kim, B. K. Jung, J. K. Lee, J. M. Shin, H. Y. Park, H. W. Park, M. J. Kim, K. A. Park, E. S. Yun and M. S. Kim (2013) Removal of pesticides during washing and cooking of rice. *J. Fd Hyg. Safety.* 28(1), 31-35.
- 13) Lee, J. M., H. R. Lee and S. M. Nam (2003) Removal rate of residual pesticides in perilla leaves with various washing methods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35(4), 586-590.
- 14) Han, Y., S. Liu, J. Yang, Z. Zhong, N. Zou, L. Song, X. Zhang, X. Li and C. Pan (2016) Residue behavior and processing factors of eight pesticides during the production of sorghum distilled spirits. *Food Cont.* 69, 250-255.
- 15) Lee, Y. J., K. Y. Ko, O. J. Won, G. H. Gil and K. S. Lee (2003) Residue patterns of procymidone, chlorpyrifos and cypermethrin in peaches during cultivation and storage period. *Kor. J. Environ. Agric.* 22(3), 220-226.
- 16) Han, Y., J. Xu, F. Dong, W. Li, X. Liu, Y. Li, Z. Kong, Y. Zhu, N. Liu and Y. Zheng (2013) The fate of spirotetramat and its metabolite spirotetramat-enol in apple samples during apple cider processing. *Food Contr.* 34, 283-290.
- 17) Lee, E. H., J. I. Hwang and J. E. Kim (2015) Patterns of uptake and

- removal by processingTtypes of triazole fungicides in onion. *Kor. J. Pestic. Sci.* 19(3), 248-254.
- 18) Park, S. Y., H. R. Kang, K. Y. Ko, K. H. Gil, M. H. Im and K. S. Lee (2009) The processing and reduction factors of several pesticides with welsh onion. *Kor. J. Pestic. Sci.* 13(4), 249-255.
- 19) Im, M. H. and Y. J. Ji (2016) A review on processing factors of pesticide residues during fruits processing. *J. Appl. Biol. Chem.* 59(3), 189–201.
- 20) Lee, E. Y., H. H. Noh, Y. S. Park, K. W. Kang, K. H. Lee, H. K. Park, C. H. Kwon, M. H. Im and K. S. Kyung (2009) Processing and reduction factors of pesticide residues in chinese matrimony vine and jujube by drying. *Kor. J. Pestic. Sci.* 13(3), 159-164.
- 21) Lee, M. G. and S. R. Lee (1997) Reduction factors and risk assessment of organophosphorus pesticides in korean foods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 29(2), 240-248.
- 22) Nam, S. M., H. R. Lee and J. M. Lee (2003) Removal efficiency of residual pesticides during processing of perilla jangachi preparation. *Kor. J. Food Culture.* 18(6), 562-568.
- 23) Jung, K. H., I. W. Seo, H. J. Nam and H. S. Shin (2008) Effects of ozonated water treatment on pesticide residues and catechin content in green tea leaves. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40(3), 265-270.
- 24) You, Y. H., Y. S. Lee and H. J. Kwon (2001) Reduction factors of pesticides with different physicochemical properties under washing and cooking conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43(5), 537-543.
- 25) Choi, K. I., K. Y. Seong, T. G. Jeong, J. H. Lee, J. H Hur, K. Y. Ko and K. S. Lee (2002) Dissipation and removal rate of dichlofluanid and iprodione residues on greenhouse cherry tomato. *Kor. J. Environ. Agric.* 21(4), 231-236.
- 26) Lee, Y. J., K. Y Ko, D. J. Won, G. H. Gil and K. S. Lee (2003) Residue patterns of procymidone, chlorpyrifos and cypermethrin in peaches during cultivation and storage period. *Kor. J. Environ. Agric.* 22(3), 220-226.
- 27) Kwon, H. Y., J. B. Kim, H. D. Lee, Y. B Ihm, K .S Kyung, O. K. Kwon, D. S. Choi and J. H. Choi (2006) Reduction of pesticide residues in/on mini-tomato by washing at the different harvest days after pesticide spray. *Kor. J. Pestic. Sci.* 10(4), 306-312.
- 28) Ryu, J. S., S. H. Lee, S. Y. Kwak, J. G. Kang, S. H Hong, J. I. Hwang and J. E. Kim (2017) Residue characteristics of hexaconazole and myclobutanil fungicides during processing of korean cabbage. *Kor. J. Pestic. Sci.* 21(4), 525-532.
- 29) Kim, H. Y., Y. H. Jeon, J. I. Hwang, J. H. Kim, J. W. Ahn, D. H. Chung and J. E. Kim (2011) Monitoring of pesticide residues and risk assessment for cereals and leafy vegetables of certificated and general agricultural products. *Kor. J. Environ Agric.* 30(4), 440-445.
- 30) Ahn, J. W., Y. H. Jeon, J. I. Hwang, J. M. Kim, D. R. Seok, E. H. Lee, S. E. Lee, D. H. Chung and J. E. Kim (2013) Monitoring of pesticide residues and risk assessment for medicinal plants. *J. Fd Hyg. Safety.* 28(1), 13-18.
- 31) Ahn, J. W., Y. H. Jeon, J. I. Hwang, H. Y. Kim, J. H Kim, D. H. Chung and J. E. Kim (2012) Monitoring of pesticide residues and risk assessment for fruit vegetables and root vegetables of environment-friendly certified and general agricultural products. *Kor. J. Environ Agric.* 31(2), 164-169.
- 32) Ahn, J. W., Y. H. Jeon, J. I. Hwang, J. M. Kim, D. R. Seok, E. H. Lee, S. E. Lee, D. H. Chung and J. E. Kim (2013) Monitoring of pesticide residues and risk assessment for fruit in market. *Kor. J. Environ Agric.* 32(2), 142-147.