

HPLC를 이용한 아зок시스트로빈과 이미다클로프리드, 메타벤즈티아주론의 토양 잔류분석 숙련도시험

김찬섭* · 손경애 · 길근환 · 임건재
 농촌진흥청 국립농업과학원 농자재평가과

Proficiency Testing for the HPLC Analysis of Azoxystrobin, Imidacloprid and Methabenzthiazuron Residues in Soil

Chan-Sub Kim*, Kyeong-Ae Son, Geun-Hwan Gil and Geon-Jae Im

Agro-materials Safety Evaluation Division, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Wanju 565-851, Korea

(Received on August 12, 2015. Revised on September 11, 2015. Accepted on September 11, 2015)

Abstract The proficiency testing for the residue laboratories of pesticide registration was conducted in order to improve the reliability and the ability for pesticide residue analysis. On November 2012 the testing was carried out using the soil collected and kept as the moistened state for five years, which was expected to very low residue levels of pesticides. The soil was fortified with azoxystrobin, imidacloprid and methabenzthiazuron in a manner similar to prepare soil samples for indoor soil degradation test, and then sub-samples were prepared for the distribution to participants. Some of them were randomly selected for confirm of homogeneity and to ensure the stability of samples at room temperature. Samples were consisted of two soils treated as different levels, one of which was used to the assessment and another used to confirm. In addition, provided three standard solutions, respectively concentration of 10 mg/L, and untreated soil. Forty eight institutions submitted results. The medians of results were used as the assigned values for pesticide residues. Fitness for purpose standard deviation of proficiency test was calculated by applying 20% RSD as the coefficient of variation allowed in the soil residue test. Z-score was applied for evaluation of individual pesticides, and the average of the absolute value of the Z-score for the overall assessment of pesticides. Laboratories evaluated the absolute value of the Z-score less than 2 to fit the case of azoxystrobin were 48, imidacloprid and methabenzthiazuron 46.

Key words pesticide, residue analysis, quality assurance, proficiency test

서 론

국내 농약등록에 필요한 시험성적서는 농촌진흥청 고시(제1996-5호)로 지정된 농약품목등록시험연구기관에서 생산해오고 있다. 지금까지 농약품목등록에 필요한 거의 모든 자료가 국내시험성적으로 대체되어 양적으로는 괄목할만한 성장을 이루었고 이제는 잔류시험의 질적인 향상이 요구되고 있다. 최근에 농촌진흥청에서는 농약시험연구기관의 시

험수행능력 향상에 대한 요구사항을 수차례의 개정으로 고시에 반영하였고, 국립농업과학원에서는 일련의 시험연구(Gil, 2009; Kim, 2009a and 2009b; Kim, 2009c; Kim et al., 2012)를 수행하여 농약시험 수행능력 향상을 기술적으로 지원하고 있다. 그러한 노력의 하나로 연구기관의 시험수행능력을 공통적으로 평가할 수 있는 숙련도시험(Lee et al., 2001; Medina-Pastor et al., 2010)을 농약등록 잔류시험 분야에 적용하여 실시하였다.

잔류시험은 농약 살포, 시료 채취, 시료의 조제, 추출 및 정제, 기기분석 및 보고서를 작성하는 과정으로 진행된다. 객관적 평가가 곤란한 과정은 제외하고 동일한 시료에 대한

*Corresponding author
 E-mail: chskim@korea.kr

분석의 정확도를 측정하는 것으로 한정하여 잔류분석 숙련도시험을 실시하였다. 토양을 분석매질로 하는 시험을 2회 실시하였는데 2011년 1차 시험에서는 기체크로마토그래프 사용 잔류분석능력을 측정하였고(Kim et al., 2013), 2012년에 실시한 2차 시험의 액체크로마토그래프 활용 잔류분석 숙련도시험결과를 보고하고자 한다.

시험농약으로 azoxystrobin, imidacloprid 및 methabenzthiazuron을 선정하여 실내 토양잔류시험 방법으로 농약처리 토양시료를 조제하였고(RDA, 2014) 균질도와 안정성을 측정하여 표준시료로서의 적합성을 확인하였다. 전체 잔류시험연구기관 중 51개 기관을 대상으로 시료를 배포하였고 48개 기관이 시험결과를 제출하였다. 참여기관 전체의 분석치의 중앙값을 설정농도로 하고 토양잔류시험 회수율의 변이계수 허용범위를 합목적(fitness-for purpose) 표준편차로 적용하여 시험기관의 잔류분석 능력을 평가하였다.

실험방법

시험시료 제조

시험 표준물질 제조와 균질도 등의 확인과정은 Kim 등(2013)의 방법에 따랐다. 국립농업과학원 시험포장에서 채취한 후 5년간 습도상태로 보관하여 농약의 잔류수준이 매우 낮은 것으로 기대되는 밭토양으로 시험시료를 조제하였다. 토양을 음지에서 말린 다음 2mm체를 통과시켜 사용하였으며 시험물질 제조에 약 35 kg의 토양이 사용되었다.

시험시료를 조제하기 전에 시험농약의 목표 잔류수준을 결정하였는데 잔류수준은 평가용과 평가수준의 50-150%인 확인용으로 구분하였다. 토양시료를 2개 군으로 구분하여 1군(S1)에는 평가수준으로 2종 농약을 처리하고, 나머지 1종 농약은 확인수준으로 처리하였고, 2군(S2)은 평가수준 1종과 확인수준 2종의 농약을 처리하였다. S1은 3개 조합, S2는 6개 조합이었다. Azoxystrobin과 imidacloprid, methabenzthiazuron을 acetonitrile에 녹여 각각의 1000 mg/L 표준용액을 만들고, 처리조합별로 3종 농약을 적절한 비율로 혼합하고 acetone으로 희석하여 각각의 성분농도가 10-30 mg/L이 되도록 9종의 혼합표준용액을 준비하였다.

토양 1 kg을 스테인리스 스틸 재질 사각용기에 고르게 퍼고 혼합표준용액 10 mL를 흘 피펫을 사용하여 점적한 다음 용매가 날아간 후 시약순갈로 잘 저어 혼합하였다. 이 작업을 반복하여 필요량만큼 준비한 토양을 각각의 농도조합별로 밀폐용기에 합하여 고르게 혼합하였다. 제조한 토양시료를 200 g씩 폴리에틸렌 재질 지퍼백에 담아 포장하였는데 제조한 토양시료 전체량은 S1과 S2 각각 12 kg이었다. 제조한 토양시료는 -20°C의 냉동고에 시료배부 전까지 보관하였다.

시험시료의 균질도와 안정성

시험시료의 균질도를 확인하기 위하여 냉동고에 저장한 시료(S1)를 조합별로 5개씩 임의로 선택하고(대상농약의 평가수준별로는 10개의 시료가 됨), 각각의 시료로부터 25 g씩 2반복으로 분석시료를 취하였다(Analytical Methods Committee, 2009). 전처리와 기기분석과정은 난수를 활용하여 임의의 순서대로 실시하였다. 정량은 평가수준 목표농도에 맞춘 1-point 표준농도로 계산하였다. 통계평가는 IUPAC와 ISO, AOAC에서 발표한 International Harmonized Protocol (Thompson et al., 2006)에 따라서 다음과 같은 절차로 수행하였다. 토양시료 분석결과에 대하여 Cochran's test를 실시하여 분석 이상치를 확인하였다. 토양시료의 분석반복의 차(D)와 차의 제곱(D²), 합(S)을 계산하고, Cochran's test의 통계량인 차의 제곱합(ΣD^2)에 대한 차의 제곱의 최대값(Max(D²))의 비를 구하고 Cochran's test의 통계량 표에서 시료 수(m)에 해당하는 95% 또는 99% 신뢰수준에서의 기준값과 비교하여 이상치 여부를 판정하였다. 이상치 시료를 제외한 후 다음과 같이 균질도 판정을 위한 절차를 실시하였다(Analytical Methods Committee, 2004a). 분석편차의 제곱($S_{an}^2 = \Sigma D^2/2m$)과 분석반복 차의 합의 분산($V_s = \Sigma(Si - \text{Mean}(S))^2/(m-1)$)을 구하여 분석편차를 제외한 시료편차(S_{sam})를 시료편차의 제곱($S_{sam}^2 = (V_s/2 - S_{an}^2)/2$)으로 계산하였다. 시료편차의 제곱이 음수인 경우에는 0으로 처리하였다. 균질도 판정의 기준값($c = F_1\sigma_{all}^2 + F_2S_{an}^2$)은 허용 가능한 시료의 변이수준($\sigma_{all}^2 = (0.3\sigma_p)^2$)과 분석편차의 곱과 시료 수(m)에 대한 각각의 계수로부터 계산하였다. 숙련도평가에 대한 표준편차(σ_p)는 잔류시험 기준의 변이계수 20%를 균질도 판정에 사용된 전체 토양시료 분석값의 평균에 곱하여 계산하였다. 시료편차의 제곱값이 균질도 기준값보다 작으면 균질한 것으로 판정하였다.

확인용 시료(S2)에 대한 균질도 시험도 동일하게 수행하였다. 그리고 시료배포 과정에서의 안정성은 토양시료를 실온에서 일정기간 방치한 후 조합별로 4반복 이상이 되도록 분석하여 확인하였다.

잔류분석

토양 25 g을 300 mL Erlenmeyer flask에 넣고 0.2 N NH₄Cl용액 30 mL를 가하여 토양을 팽윤시킨 다음, acetone 80 mL를 가하고 1시간 동안 진탕하였다. 추출액을 흡인여과하고 acetone 약 50 mL를 사용하여 토양잔사와 용기를 씻어 여과액과 합하였다. 추출액을 1 L 분액여두에 옮기고 포화석염수 50 mL과 탈이온수 450 mL를 넣어준 후, dichloromethane 50 mL로 3회 분배하여 추출하였다. 유기용매층을 무수 황산나트륨층에 통과시켜 수분을 제거하고 40°C에서 감압농축한 후 dichloromethane 5 mL로 용해하였다. Dichloromethane 10 mL로 활성화시킨 Florisil (1 g) cartridge

에 추출액 2 mL를 가한 다음 dichloromethane 10 mL로 용출시켜 버리고 15% ethylacetate in dichloromethane 용액 10 mL로 azoxystrobin과 methabenzthiazuron을 용출시켰다. 이어 4% acetone in dichloromethane 10 mL를 흘려버리고 45% acetone in dichloromethane 15 mL로 imidacloprid를 용출시켰다. 각각의 용출액을 감압상태에서 농축하여 용매를 완전히 날려 보내고 acetonitrile 2 mL로 재용해하여 HPLC로 분석하였다.

HPLC 분석에는 diode-array detector (DAD)와 자동시료주입기가 장착된 Hewlett Packard사의 HP 1100 액체크로마토그래프를 사용하였다. 고정상으로는 Merck사의 Purospher STAR RP-18 endcapped (4.0 mm i.d. × 250 mm, 5 µm spherical) 역상 분리관을 사용하였으며 30°C로 유지하였다. Azoxystrobin과 methabenzthiazuron 분석은 acetonitrile/deionized water 60/40 (v/v), imidacloprid 분석에는 acetonitrile/deionized water 40/60 (v/v) 이동상을 분당 1 mL의 속도로 흘려주었다. 검출과장은 azoxystrobin 230 nm, imidacloprid와 methabenzthiazuron은 270 nm이었고 시료주입량은 20 µL이었다.

숙련도시험 실시

숙련도시험은 2012년 11월에 실시하였는데 시험참여기관 각각에게 3성분의 농약이 평가수준과 확인수준으로 처리된 토양시료 2점과 무처리 토양 1점 및 3종 농약의 표준용액(농도 10 mg/L)을 제공하였다. 시료 S1의 목표처리농도는 azoxystrobin-imidacloprid-methabenzthiazuron 순으로 0.2-0.2-0.1 mg/kg, 0.2-0.1-0.2 mg/kg 및 0.1-0.2-0.2 mg/kg의 3조합이었고, 시료 S2의 처리농도는 azoxystrobin-imidacloprid-

methabenzthiazuron 순으로 0.1-0.3-0.2 mg/kg, 0.3-0.1-0.2 mg/kg, 0.1-0.2-0.3 mg/kg, 0.3-0.2-0.1 mg/kg, 0.2-0.1-0.3 mg/kg 및 0.2-0.3-0.1 mg/kg의 6조합이었다. 시험기관별 배부시료 중 목표처리농도는 Appendix 1과 같았다. 토양시료는 2012년 11월 7일 숙련도시험 설명회를 통하여 참가기관에게 배포되었고 결과의 제출 마감기한은 2012년 11월 30일이었다. 시험시료에서 대상농약성분의 정량을 방해하는 성분의 확인과 회수율시험에 사용하고, 필요한 경우 matrix-matched 표준용액을 사용할 수 있도록 무처리 토양시료가 제공되었다.

분석결과에 대한 숙련도는 목표 표준편차(σ_p)에 대한 참가기관의 분석농도(x)와 처리농도 설정값(X^*)의 차의 비인 Z-score로 평가하였다. 이상치를 제거하지 않고 전체 참가기관 분석농도의 중앙값을 설정값으로 활용하였고 목표 표준편차는 합목적(fitness-for purpose) 표준편차(Analytical Methods Committee, 2002 and 2005; Thompson, 2000)를 사용하여 토양잔류시험의 변이계수 허용한계 20%를 적용하여 계산하였다. Horwitz 식으로 구한 목표 표준편차를 적용했을 때와도 비교하였다(Analytical Methods Committee, 2004b and 2005). Z-score의 값은 $-2 \leq Z \leq 2$ 는 적합, $-3 \leq Z < -2$ 또는 $2 < Z \leq 3$ 은 의심, $Z < -3$ 또는 $Z > 3$ 은 부적합으로 구분된다. 전체농약에 대한 종합평가는 개별농약의 Z-score의 절대값의 평균으로 하였다.

결과 및 고찰

토양시료의 균질도

Azoxystrobin의 분석 회수율과 분석반복의 차와 합 및 차

Table 1. Duplicated results for 10 distribution units of soil analyzed for azoxystrobin (recovery, %), together with some intermediate stages of the ANOVA calculation

Sample	Result a	Result b	D=a-b	S=a+b	D ² =(a-b) ²	(Si-Mean(S)) ²
S1-114	84.6	92.3	-7.7	176.9	58.9	150.9
S1-137	88.1	96.7	-8.6	184.8	74.5	19.4
S1-144	89.6	96.3	-6.7	185.9	45.4	10.6
S1-127	90.3	95.1	-4.8	185.4	22.9	13.8
S2-113	90.5	96.0	-5.6	186.5	30.9	7.2
S1-128	92.7	95.8	-3.1	188.5	9.7	0.4
S2-134	93.9	102.7	-8.8	196.6	77.9	55.6
S2-131	96.2	92.6	3.6	188.8	13.0	0.1
S1-156	98.1	99.1	-1.1	197.2	1.2	64.6
S1-116	101.5	99.5	2.0	201.0	4.2	141.2
Sum					338.6	464.1
Mean	94.6			189.2		
S.D.	4.6					
C.V.	4.9					

Cochran's test statistic = 0.230,
 $S_{an}^2 = 16.9$, $V_s = 51.6$,
 σ_p at 10% RSD = 9.5, $\sigma_{all}^2 = 8.1$,

5% critical value = 0.602
 $S_{sam}^2 = 4.4$
critical value = 32.2

Table 2. Duplicated results for 10 distribution units of soil analyzed for imidacloprid (recovery, %), together with some intermediate stages of the ANOVA calculation

Sample	Result a	Result b	D=a-b	S=a+b	D ² =(a-b) ²	(Si-Mean(S)) ²
S1-116	86.8	89.7	-2.9	176.5	8.6	15.0
S1-117	93.0	86.1	6.8	179.1	46.3	42.0
S1-124	81.3	89.6	-8.3	170.9	69.6	3.1
S1-126	81.5	93.5	-12.0	175.0	143.4	5.9
S1-156	86.2	85.2	1.0	171.4	1.0	1.4
S2-120	86.7	74.1	12.6	160.9	158.9	138.4
S2-122	83.4	85.5	-2.1	169.0	4.6	13.4
S2-145	86.7	82.8	3.9	169.5	15.4	9.6
S2-158	94.5	86.6	7.9	181.1	62.3	72.2
S2-159	84.4	88.5	-4.1	172.8	16.5	0.0
Sum					526.5	301.1
Mean	86.3			172.6		
S.D.	4.7					
C.V.	5.4					

Cochran's test statistic = 0.302, 5% critical value = 0.602
 $S_{an}^2 = 26.3$, $V_S = 33.5$, $S_{sam}^2 = -4.8 \rightarrow 0.0$
 σ_p at 10% RSD = 8.6, $\sigma_{all}^2 = 6.7$, critical value = 39.2

Table 3. Duplicated results for 10 distribution units of soil analyzed for methabenzthiazuron (recovery, %), together with some intermediate stages of the ANOVA calculation

Sample	Result a	Result b	D=a-b	S=a+b	D ² =(a-b) ²	(Si-Mean(S)) ²
S1-114	83.3	88.6	-5.3	171.9	27.8	66.7
S1-117	48.3	94.2	-45.9	142.5	2108.7	1411.3
S1-124	90.1	98.5	-8.4	188.6	71.3	73.7
S1-126	93.6	102.2	-8.6	195.8	73.2	247.6
S1-127	88.0	91.8	-3.8	179.8	14.5	0.1
S1-128	91.9	94.2	-2.4	186.1	5.5	36.2
S1-137	78.5	96.5	-18.0	175.1	324.3	24.7
S1-144	87.3	83.7	3.6	170.9	13.2	82.9
S2-109	101.6	99.5	2.1	201.1	4.4	441.3
S2-119	95.8	92.9	2.9	188.8	8.6	76.0
(m=10)						
Sum					2651.5	
(m=9)						
Sum					542.8	1049.1
Mean	92.1			184.2		
S.D.	6.5					
C.V.	7.1					

Cochran's test statistic = 0.598, 5% critical value = 0.638
 $S_{an}^2 = 30.2$, $V_S = 131.1$, $S_{sam}^2 = 17.7$
 σ_p at 10% RSD = 9.2, $\sigma_{all}^2 = 7.6$, critical value = 48.3

의 제곱을 Table 1에 나타내었다. Cochran's test의 통계량은 0.230으로 10개 시료에 대한 95% 유의수준에서의 임계값 0.602보다 작아 이상치는 없는 것으로 판정되었다. 따라서 토양시료 10쌍의 분석성적 모두를 균질도 판정절차에 이용

하였다. 시료편차의 제곱은 4.4로 산출되었고 균질도 판정 기준값은 32.2로 계산되어 azoxystrobin 처리 토양은 숙련도 시험 시료로 적합한 것으로 판정되었다.

Imidacloprid의 분석 회수율과 분석반복의 차와 합 및 차

의 제곱을 Table 2에 나타내었다. Cochran's test의 통계량은 0.302로 10개 시료에 대한 95% 유의수준에서의 임계값 0.602보다 작아 이상치는 없는 것으로 판정되었다. 따라서 토양시료 10쌍의 분석성적 모두를 균질도 판정절차에 이용하였다. 시료편차의 제곱은 -4.8로 산출되어 0으로 처리하였고 균질도 판정 기준값은 39.2로 계산되어 imidacloprid 처리 토양은 숙련도시험 시료로 적합한 것으로 판정되었다.

Methabenzthiazuron의 분석 회수율과 분석반복의 차와 합 및 차의 제곱을 Table 3에 나타내었다. Table 3에는 나타나지 않았지만 10개 시료에 대한 Cochran's test의 통계량은 0.795로 95% 유의수준에서의 임계값 0.602보다 크므로 분석반복의 차가 가장 큰 S1-117을 이상치로 판정하여 제외하고 다시 Cochran's test를 실시하였다. 토양시료 9개에 대한 Cochran's test의 통계량은 0.598로 95% 유의수준의 임계값 0.638보다 작아 더 이상의 이상치는 없는 것으로 판명되었다. 시료편차의 제곱은 7.6으로 산출되었고 균질도 판정 기준값은 48.3으로 계산되어 methabenzthiazuron 처리 토양도 숙련도시험 시료로 적합한 것으로 판정되었다.

확인용 시료의 경우도 Cochran's test를 통한 분석 이상치 확인과정에서 azoxystrobin과 methabenzthiazuron에서 분석 이상치가 발생하였으나 분석 이상치 1쌍을 제외한 결과 더 이상의 분석 이상치는 없었다. 시료의 균일도 평가에서도 시료편차의 제곱값이 잔류시험의 변이계수 허용한계인 20%뿐 아니라 10%를 적용하여 계산한 균일도 판정기준치보다도 작았다. 이로써 농약 3성분이 처리된 토양시료의 균질도가 숙련도시험에 적합함이 확인되었다.

토양시료의 안정성

실온에서 방치하였을 때의 농약성분의 안정성시험 결과를 아래에 균질도시험 성적과 비교하여 Table 4에 회수율로 나타내었다. Azoxystrobin과 imidacloprid는 실온에서 3일까지

는 큰 변화가 없었다. Methabenzthiazuron은 3일 후에 초기량에 비하여 30% 이상 감소하여 시료의 분배와 운반과정에서 주의가 필요한 것으로 나타났다.

숙련도 평가

시험결과를 제출한 48개 기관별 분석농도를 Appendix 2에 시험기관이 표현한 것과 동일한 유효숫자 형식으로 나타내었다. 이것을 다시 평가용 농도와 확인용 농도로 구분하여 소수점 이하 3자리에서 반올림하여 Appendix 3에 나타내었는데 Excel 프로그램을 이용한 계산에서는 원래의 값으로 처리하였다. 평가용에 대한 분석결과를 요약하면 Table 5와 같다.

일부 심각한 이상치가 있어 평균값이 처리농도에서 심하게 벗어났던 2011년 결과(Kim et al., 2013)에 비하여 비정상적으로 높거나 낮게 보고된 사례는 없었다. 중앙값을 사용하여 계산한 Horwitz의 상대표준편차가 20% 가량으로 나타나 변이계수 20%를 적용하는 것이 적절하다고 생각되었다.

평가용 수준 처리에 대한 분석결과로 Z-score를 계산한 결과는 Appendix 4의 우측에 나타내었고 성분별로 Fig. 1, 2, 3으로 나타내었으며 Table 6으로 요약하여 나타내었다. 처리농약별로는 전체 대상기관 48개소 중 46-48개 기관이 숙련도 평가결과 적합하였다. Methabenzthiazuron의 경우는 2개 기관의 Z-score 절대값이 2와 3 사이로 나타났고 imidacloprid의 경우는 2개 기관의 Z-score 절대값이 3을 초과하였다. 그러나 시험기관별 3종 농약의 Z-score의 절대값의 평균은 모든 기관이 2 미만으로 나타나 모든 기관의 숙련도가 적합한 것으로 평가되었다(Fig. 4). 각기 처리농도가 달라 직접비교가 곤란한 확인용의 경우는 처리농도를 기준으로 환산한 농도로 계산하여 Appendix 4의 좌측에 나타난 Z-score도 평가용의 결과와 일치하는 것으로 나타났다. 특히

Table 4. The evaluation of stability of pesticides in test soil sample during distribution of sample

Pesticide	Homogeneity test, %	Recovery at room temperature, %		
		0 DAT	1 DAT	3 DAT
Azoxystrobin	96.9 ± 1.4	96.2 ± 6.2	91.9 ± 11.5	101.0 ± 1.2
Imidacloprid	87.0 ± 2.2	84.0 ± 0.3	80.9 ± 4.5	81.8 ± 6.0
Methabenzthiazuron	90.6 ± 4.2	93.3 ± 5.8	74.2 ± 5.4	64.0 ± 24.1

Table 5. Statistic summarizing results reported for the assessment sample

Statistic	Azoxystrobin	Imidacloprid	Methabenzthiazuron
Mean	0.186 mg/kg	0.177 mg/kg	0.183 mg/kg
Median	0.190 mg/kg	0.180 mg/kg	0.180 mg/kg
S.D.	0.019 mg/kg	0.031 mg/kg	0.024 mg/kg
Horwitz's SDR	0.039 mg/kg	0.037 mg/kg	0.037 mg/kg
Horwitz's RSDR	20.5%	20.7%	20.7%

Table 6. Z-score for azoxystrobin, imidacloprid and methabenzthiazuron in the assessment sample

Z-score	Azoxystrobin	Imidacloprid	methabenzthiazuron
$ Z \leq 2$	48	46	46
$2 < Z \leq 3$	0	0	2
$ Z > 3$	0	2	0

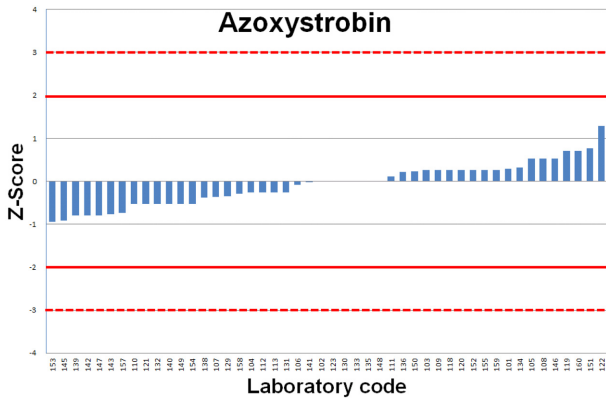


Fig. 1. Z-score for azoxystrobin in the assessment sample.

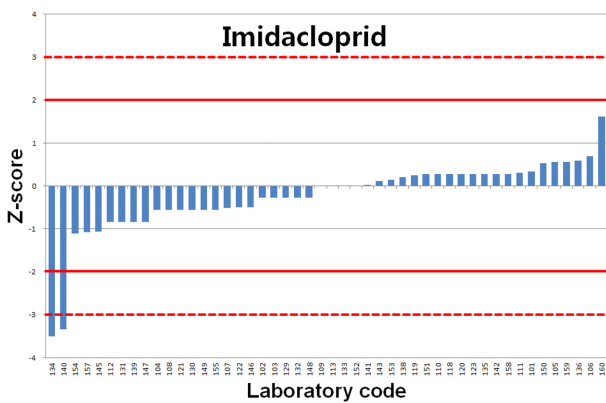


Fig. 2. Z-score for imidacloprid in the assessment sample.

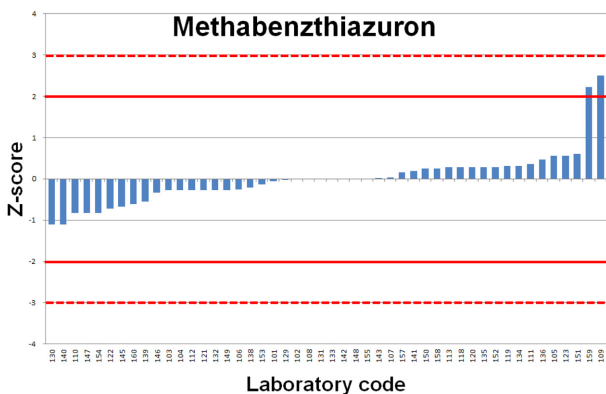


Fig. 3. Z-score for methabenzthiazuron in the assessment sample.

imidacloprid에 대한 Z-score가 -3 이하였던 두 기관은 확인 용에서도 -3 이하의 값을 나타내었고, methabenzthiazuron

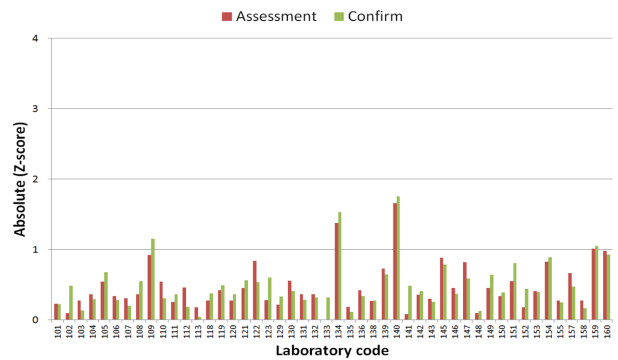


Fig. 4. Z-score for all three pesticides in the assessment sample.

에 대하여 Z-score가 2를 초과하는 두 기관 중 한 기관은 확인 용에서도 2를 초과하는 값을 나타내었다.

결론

숙련도평가에 사용된 토양시료는 Cochran's test 결과 대부분의 경우 분석 이상치가 발생하지 않았고, 시료편차의 제공값은 모두 균질도 판정기준을 만족하였고 안정성시험 결과도 대체로 농약잔류분석 숙련도시험에 적합하였다. 기관별 확인용 시료의 Z-score와 평가용 시료의 Z-score의 분포범위가 대부분 일치하였고, 전체결과의 Horwitz 상대편차도 잔류시험에서 허용되는 변이계수 수준으로 나타나 참여기관의 농약잔류분석능력은 전반적으로 양호한 것으로 판명되었다.

감사의 글

본 연구는 2010년부터 2012년까지 농촌진흥청의 “농약시험 연구기관 정도관리체계 확립 (과제번호 : PJ007373)”의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다. 그리고 본 숙련도시험에 적극 참여하여 주신 강원대학교 농업생명과학연구원, 강원대학교 친환경농산물 안전성센터, 경북대학교 농업생명과학대학, 경북대학교 상주캠퍼스, 경상대학교 농업생명과학연구원, 대구대학교, 순천대학교 산학협력단 친환경농업센터, 서울대학교 산학협력단, 신성대학교 산학협력단 안전성평가센터, 안동대학교 농업과학기술연구소, 우석대학교 산학협력단, 전남대학교 생물공학연구소, 전북대학교 산학협력단, 제주대학교 생명자

원과학대학, 충남대학교 농업과학연구소, 충북대학교 농업과학기술연구소, 충북대학교 환경자원분석센터, 환경대학교 식물생태화학연구소, 한밭대학교 GSTA, 호서대학교 안전성평가센터, (주)경농 중앙연구소, (주)동방아그로 기술연구소, (주)동부팜한농 동부기술원, (주)목우연구소, 바이엘크롭사이언스(주) 부설연구소, 정보화학(주) 부설연구소, 신젠타코리아(주), (주)영일케미컬 연구소, 한국삼공(주), (주)한얼싸이언스 부설연구소, (주)그린하이 부설연구소, (주)나노톡스텍, 농업기술실용화재단, (주)랩프린티어, (주)미래덴한연구소, 산림조합중앙회 임산물유통사업소, (재)전라남도생물산업진흥재단 생물방제센터, (재)충남테크노파크 바이오센터, (주)크로엔리서치, (주)피캡코리아, 한국분석기술연구소, 한국생명공학연구원 바이오소재연구소, (주)한국생물안전성연구소, (주)한국식품분석연구원, 한국인삼공사 R&D 본부, 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소 경남환경독성본부, 한국화학융합시험연구원, (주)흙살림 부설연구소의 관계자 여러분께 깊이 감사드립니다.

Literature Cited

- Analytical Methods Committee (2002) Understanding and acting on scores obtained in proficiency testing schemes. AMC Technical Brief No. 11.
- Analytical Methods Committee (2004a) Test for 'sufficient homogeneity' in a reference material. AMC Recommendation No. 1.
- Analytical Methods Committee (2004b) The amazing Horwitz function. AMC Technical Brief No. 17.
- Analytical Methods Committee (2005) General and specific fitness functions for proficiency tests and other purposes - clarifying an old idea. AMC Recommendation No. 2.
- Analytical Methods Committee (2009) The duplicate method for the estimation of measurement uncertainty arising from sampling. AMC Technical Brief No. 40.
- Gil, G. H. (2009) Definition of pesticide residues in agricultural commodities and compiling their analytical methods. NAAS Research Report.
- Kim, C. S. (2009a) Establishment of detailed guidance for pesticide fate study in environment. NAAS Research Report.
- Kim, C. S. (2009b) Definition of pesticide residues in soil and water, and compiling their analytical methods. NAAS Research Report.
- Kim, J. B. (2009c) Establishment of Supervised Trial Test Guidance in/on Crops. NAAS Research Report.
- Kim, C. S., H. R. Jang and S. S. Hong (2012) Establishment of Quality Assurance and Quality Control System in Laboratories for Pesticide Registration Studies. NAAS Research Report.
- Kim, C. S., K. A. Son, G. H. Gil, J. B. Kim, S. M. Hong and H. Y. Kwon (2013) Proficiency testing for the gas-chromatographic analysis of Procymidone, Chlorpyrifos and Metolachlor residues in soil. The Korean Journal of Pesticide Science 17:94-106.
- Lee, H. S., M. S. Kim and C. O. Choi (2001) A study on the proficiency test of pH measurements. Analytical Science and Technology 14:230-237.
- Medina-Pastor, P., M. Mezcuca, C. Rodriguez-Torreblanca and A. R. Fernandez-Alba (2010) Laboratory assessment by combined z-score values in proficiency tests: Experience gained through the European Union proficiency tests for pesticide residues in fruits and vegetables, Anal. Bioanal. Chem. 397:3061-3070.
- Rural Development Administration (RDA) (2014) Reference to the registration of pesticide products and active substances. RDA Notice No 2014-36.
- Thompson, M. (2000) Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. Analyst 125:385-386.
- Thompson, M., S. L. R. Ellison and R. Wood (2006) The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC technical report). Pure Appl. Chem. 78:145-196.

HPLC를 이용한 아зок시스트로빈과 이미다클로프리드, 메타벤즈티아주론의 토양 잔류분석 숙련도시험

김찬섭* · 손경애 · 길근환 · 임건재

농촌진흥청 국립농업과학원 농자재평가과

요약 농약등록 잔류시험 연구기관의 측정 능력 향상 및 신뢰도 향상을 위해 잔류분석 숙련도 시험을 실시하였다. 시험은 2012년 11월에 토양시료를 사용하여 수행되었다. 토양은 채취 후 습토상태로 5년간 보관하여 농약의 잔류수준이 매우 낮을 것으로 기대되는 발토양을 사용하였다. Azoxystrobin과 imidacloprid, methabenzthiazuron을 토양잔류시험의 실내시험 토양시료 조제방법과 동일하게 처리하여 분배 포장하였고, 그 중 일부를 임의로 선정하여 시료의 균질도와 상온에서의 안정성을 확인하였다. 시험참여기관마다 3종 농약이 두 수준으로 처리된 토양시료 2점을 제공하였는데 그 중 하나는 모든 기관에 동일한 농도로 처리된 평가용이었고, 기관별로 다른 농도의 시료는 확인용으로 사용하였다. 아울러 대상농약성분의 정량을 방해하는 성분의 확인과 회수율시험 등에 사용하고, 필요한 경우 matrix-matched 표준용액을 사용할 수 있도록 무처리 토양과 3종 농약의 표준용액(농도 10 mg/L)을 제공하였다. 대상기관 중 48개 기관이 결과를 제출하였고 제출된 분석결과와 중앙값을 잔류농약에 대한 설정값으로 사용하였다. 합목적(fitness-for purpose) 표준편차는 토양잔류시험의 변이계수 허용한계 20%를 적용하여 계산하였다. 개별성분에 대한 평가에는 Z-score를 적용하였고, 3종 농약에 대한 전체적인 평가는 Z-score의 절대값의 평균으로 하였다. Z-score의 절대값이 2 이하로 적합하다고 평가된 기관은 농약별로는 azoxystrobin 48개, imidacloprid와 methabenzthiazuron은 46개 기관이었고 전체적 평가결과는 48개 기관 모두가 적합하였다. 따라서 본 숙련도시험결과 잔류시험 연구기관 대부분의 잔류분석 수행능력은 적절한 것으로 판단되었다.

색인어 농약, 잔류분석, 정도관리, 숙련도시험

Appendix 1. Nominal concentration of pesticides in soil samples distributed to participants (mg/kg)

Lab. No	Azoxystrobin		Imidacloprid		Methabenzthiazuron	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
101	0.20	0.30	0.10	0.20	0.20	0.10
102	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
103	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
104	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
105	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
106	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
107	0.20	0.30	0.10	0.20	0.20	0.10
108	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
109	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
110	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
111	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
112	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
113	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
118	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
119	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
120	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
121	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
122	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
123	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
129	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
130	0.20	0.30	0.10	0.20	0.20	0.10
131	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
132	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
133	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
134	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
135	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
136	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
138	0.10	0.20	0.20	0.30	0.20	0.10
139	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
140	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
141	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
142	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
143	0.20	0.30	0.10	0.20	0.20	0.10
145	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
146	0.20	0.30	0.10	0.20	0.20	0.10
147	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
148	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
149	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
150	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
151	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
152	0.20	0.30	0.10	0.20	0.20	0.10
153	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
154	0.20	0.30	0.20	0.10	0.10	0.20
155	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
157	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20
158	0.10	0.20	0.20	0.10	0.20	0.30
159	0.20	0.10	0.10	0.20	0.20	0.30
160	0.20	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20

Appendix 2. Results reported by participants for two test samples

Lab. No	Azoxystrobin, mg/kg		Imidacloprid, mg/kg		Methabenzthiazuron, mg/kg	
	S1	S2	S1	S2	S1	S2
101	0.201	0.281	0.098	0.192	0.178	0.088
102	0.11	0.19	0.17	0.24	0.18	0.09
103	0.10	0.20	0.17	0.09	0.17	0.28
104	0.18	0.09	0.08	0.16	0.17	0.28
105	0.21	0.11	0.10	0.20	0.20	0.31
106	0.099	0.187	0.205	0.257	0.171	0.098
107	0.1761	0.2706	0.0863	0.1615	0.1811	0.0945
108	0.21	0.11	0.16	0.23	0.09	0.18
109	0.20	0.27	0.18	0.12	0.12	0.27
110	0.10	0.17	0.19	0.27	0.15	0.08
111	0.194	0.102	0.191	0.297	0.0948	0.193
112	0.10	0.18	0.15	0.09	0.17	0.26
113	0.18	0.28	0.18	0.09	0.09	0.19
118	0.10	0.20	0.19	0.29	0.19	0.10
119	0.095	0.217	0.189	0.308	0.191	0.105
120	0.11	0.20	0.19	0.28	0.19	0.09
121	0.17	0.10	0.07	0.16	0.17	0.29
122	0.239	0.292	0.162	0.074	0.081	0.154
123	0.09	0.19	0.19	0.11	0.20	0.30
129	0.177	0.085	0.091	0.170	0.179	0.250
130	0.19	0.28	0.08	0.16	0.14	0.08
131	0.18	0.27	0.15	0.08	0.09	0.18
132	0.10	0.17	0.17	0.08	0.17	0.28
133	0.19	0.10	0.18	0.28	0.10	0.18
134	0.202	0.276	0.054	0.016	0.098	0.191
135	0.19	0.09	0.09	0.19	0.19	0.28
136	0.103	0.198	0.201	0.097	0.197	0.283
138	0.0845	0.1755	0.1875	0.2822	0.1722	0.0929
139	0.16	0.08	0.15	0.24	0.08	0.16
140	0.17	0.24	0.06	0.03	0.07	0.14
141	0.189	0.118	0.088	0.181	0.187	0.279
142	0.16	0.09	0.19	0.29	0.08	0.18
143	0.161	0.279	0.085	0.184	0.181	0.084
145	0.16	0.08	0.14	0.23	0.07	0.16
146	0.210	0.275	0.080	0.162	0.168	0.084
147	0.16	0.25	0.15	0.08	0.08	0.15
148	0.19	0.10	0.09	0.17	0.18	0.27
149	0.17	0.07	0.09	0.16	0.17	0.24
150	0.098	0.199	0.199	0.102	0.189	0.291
151	0.121	0.219	0.1897	0.1047	0.2020	0.2856
152	0.20	0.30	0.08	0.18	0.19	0.10
153	0.154	0.243	0.185	0.096	0.094	0.175
154	0.17	0.23	0.14	0.07	0.08	0.15
155	0.20	0.10	0.16	0.25	0.09	0.18
157	0.162	0.098	0.141	0.252	0.075	0.186
158	0.090	0.179	0.190	0.091	0.189	0.263
159	0.20	0.10	0.10	0.20	0.26	0.40
160	0.217	0.072	0.238	0.247	0.113	0.158

Appendix 3. Results rearranged for the assessment and confirm levels

Lab. No	For assessment, mg/kg			For confirm, mg/kg		
	Azoxy-strobin	Imida-cloprid	Methabenz-thiazuron	Azoxy-strobin	Imida-cloprid	Methabenz-thiazuron
101	0.20	0.19	0.18	0.28	0.10	0.09
102	0.19	0.17	0.18	0.11	0.24	0.09
103	0.20	0.17	0.17	0.10	0.09	0.28
104	0.18	0.16	0.17	0.09	0.08	0.28
105	0.21	0.20	0.20	0.11	0.10	0.31
106	0.19	0.21	0.17	0.10	0.26	0.10
107	0.18	0.16	0.18	0.27	0.09	0.09
108	0.21	0.16	0.18	0.11	0.23	0.09
109	0.20	0.18	0.27	0.27	0.12	0.12
110	0.17	0.19	0.15	0.10	0.27	0.08
111	0.19	0.19	0.19	0.10	0.30	0.09
112	0.18	0.15	0.17	0.10	0.09	0.26
113	0.18	0.18	0.19	0.28	0.09	0.09
118	0.20	0.19	0.19	0.10	0.29	0.10
119	0.22	0.19	0.19	0.10	0.31	0.11
120	0.20	0.19	0.19	0.11	0.28	0.09
121	0.17	0.16	0.17	0.10	0.07	0.29
122	0.24	0.16	0.15	0.29	0.07	0.08
123	0.19	0.19	0.20	0.09	0.11	0.30
129	0.18	0.17	0.18	0.09	0.09	0.25
130	0.19	0.16	0.14	0.28	0.08	0.08
131	0.18	0.15	0.18	0.27	0.08	0.09
132	0.17	0.17	0.17	0.10	0.08	0.28
133	0.19	0.18	0.18	0.10	0.28	0.10
134	0.20	0.05	0.19	0.28	0.02	0.10
135	0.19	0.19	0.19	0.09	0.09	0.28
136	0.20	0.20	0.20	0.10	0.10	0.28
138	0.18	0.19	0.17	0.08	0.28	0.09
139	0.16	0.15	0.16	0.08	0.24	0.08
140	0.17	0.06	0.14	0.24	0.03	0.07
141	0.19	0.18	0.19	0.12	0.09	0.28
142	0.16	0.19	0.18	0.09	0.29	0.08
143	0.16	0.18	0.18	0.28	0.09	0.08
145	0.16	0.14	0.16	0.08	0.23	0.07
146	0.21	0.16	0.17	0.28	0.08	0.08
147	0.16	0.15	0.15	0.25	0.08	0.08
148	0.19	0.17	0.18	0.10	0.09	0.27
149	0.17	0.16	0.17	0.07	0.09	0.24
150	0.20	0.20	0.19	0.10	0.10	0.29
151	0.22	0.19	0.20	0.12	0.10	0.29
152	0.20	0.18	0.19	0.30	0.08	0.10
153	0.15	0.19	0.18	0.24	0.10	0.09
154	0.17	0.14	0.15	0.23	0.07	0.08
155	0.20	0.16	0.18	0.10	0.25	0.09
157	0.16	0.14	0.19	0.10	0.25	0.08
158	0.18	0.19	0.19	0.09	0.09	0.26
159	0.20	0.20	0.26	0.10	0.10	0.40
160	0.22	0.24	0.16	0.07	0.25	0.11

Appendix 4. Z-scores based 20% RSD for the sample

Lab. No	For assessment			For confirm, detection/treatment		
	Azoxy-strobin	Imida-cloprid	Methabenz-thiazuron	Azoxy-strobin	Imida-cloprid	Methabenz-thiazuron
101	0.3	0.3	-0.1	0.0	0.4	-0.2
102	0.0	-0.3	0.0	0.8	-0.6	-0.1
103	0.3	-0.3	-0.3	0.3	0.0	0.1
104	-0.3	-0.6	-0.3	-0.2	-0.6	0.1
105	0.5	0.6	0.6	0.8	0.6	0.6
106	-0.1	0.7	-0.2	0.2	-0.2	0.4
107	-0.4	-0.5	0.0	-0.2	-0.2	0.2
108	0.5	-0.6	0.0	0.8	-0.7	-0.1
109	0.3	0.0	2.5	-0.2	1.7	1.6
110	-0.5	0.3	-0.8	0.3	0.0	-0.6
111	0.1	0.3	0.4	0.4	0.5	0.2
112	-0.3	-0.8	-0.3	0.3	0.0	-0.3
113	-0.3	0.0	0.3	-0.1	0.0	-0.1
118	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5
119	0.7	0.3	0.3	0.0	0.7	0.7
120	0.3	0.3	0.3	0.8	0.2	-0.1
121	-0.5	-0.6	-0.3	0.3	-1.1	0.3
122	1.3	-0.5	-0.7	0.2	-0.9	-0.6
123	0.0	0.3	0.6	-0.2	1.1	0.5
129	-0.3	-0.3	0.0	-0.5	0.1	-0.4
130	0.0	-0.6	-1.1	-0.1	-0.6	-0.6
131	-0.3	-0.8	0.0	-0.2	-0.6	-0.1
132	-0.5	-0.3	-0.3	0.3	-0.6	0.1
133	0.0	0.0	0.0	0.3	0.2	0.5
134	0.3	-3.5	0.3	-0.1	-4.1	0.4
135	0.0	0.3	0.3	-0.2	0.0	0.1
136	0.2	0.6	0.5	0.5	0.4	0.2
138	-0.4	0.2	-0.2	-0.5	0.2	0.1
139	-0.8	-0.8	-0.6	-0.8	-0.6	-0.6
140	-0.5	-3.3	-1.1	-0.8	-3.3	-1.2
141	0.0	0.0	0.2	1.3	-0.1	0.1
142	-0.8	0.3	0.0	-0.2	0.4	-0.6
143	-0.8	0.1	0.0	-0.1	-0.3	-0.4
145	-0.9	-1.1	-0.7	-0.6	-0.8	-1.0
146	0.5	-0.5	-0.3	-0.1	-0.6	-0.4
147	-0.8	-0.8	-0.8	-0.6	-0.6	-0.6
148	0.0	-0.3	0.0	0.3	0.0	-0.1
149	-0.5	-0.6	-0.3	-1.3	0.0	-0.6
150	0.2	0.5	0.3	0.2	0.7	0.3
151	0.8	0.3	0.6	1.4	0.8	0.2
152	0.3	0.0	0.3	0.3	-0.6	0.5
153	-0.9	0.1	-0.1	-0.7	0.3	0.1
154	-0.5	-1.1	-0.8	-0.9	-1.1	-0.6
155	0.3	-0.6	0.0	0.3	-0.4	-0.1
157	-0.7	-1.1	0.2	0.2	-0.3	-0.9
158	-0.3	0.3	0.3	-0.2	0.1	-0.2
159	0.3	0.6	2.2	0.3	0.6	2.3
160	0.7	1.6	-0.6	-1.2	-0.4	1.2