

## 농산물 중 Fenoxanil 잔류성 시험법 개발

김경하 · 안경근 · 김기쁨 · 황영선 · 이영득<sup>1</sup> · 정명근\*  
강원대학교 생약자원개발학과, <sup>1</sup>대구대학교 생명환경학부

## Development of Analytical Method for Fenoxanil in Agricultural Products Using GC-NPD and GC/MS

Gyeong-Ha Kim, Kyung-Geun Ahn, Gi-Ppeum Kim, Young-Sun Hwang,  
Young Deuk Lee<sup>1</sup> and Myoung-Gun Choung\*

Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 25949, Korea

<sup>1</sup>Division of Life and Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea

(Received on October 14, 2015. Revised on November 10, 2015. Accepted on November 17, 2015)

**Abstract** The aim of this study is to develop residue analysis method for fenoxanil, a MBI (melanin biosynthesis inhibitor) propionamide fungicide, had mainly been used to control rice blast, and disease of other crops, fruits, and vegetables by using GLC/NPD and GC/MS. Extraction with acetone and partition with *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v) were performed from hulled rice, soybean, Kimchi cabbage, green pepper, and apple, then column clean-up with florisil was applied. Mean recoveries were 82.2%-109.1% with less than 7.2% of coefficients of variation and limit of quantitation was set at the concentration of 0.04 mg/kg from the five agricultural products through the determination by GLC/NPD equipped with DB-5 capillary column and single laboratory validation. As a confirmatory method, GC/MS selected ion monitoring (SIM) was set from *m/z* 125.0, 188.9, and 293.0. Developed method is expected to apply the single residue analysis of fenoxanil in agricultural products.

**Key words** Fenoxanil, GC-NPD/MS, Single residue

### 서 론

농약은 농산물의 품질을 향상시키고 생산성을 증대하는데 크게 기여하였을 뿐만 아니라, 노동력 감소에 따른 농산물 생산비용 절감 효과를 통해 농업인의 삶을 향상시키는 데에도 크게 공헌하여(Jang et al., 2010), 현대 농업에서 농약의 사용을 배제한 농업경영은 어려운 실정이다. 또한, 최근 경제성장으로 소득증대에 따라 양보다 품질을 중요시하게 되었으며, 식품의 안전성이 부각되면서 식품 중 농약의 관리가 필수 사항으로 간주되고 있다(KCPA 2010).

MBI propionamide계 침투성 살균제인 fenoxanil[N-(2-cyano-3-methylbutan-2-yl)-2-(2,4-dichlorophenoxy) propanamide; Fig. 1]은 균류 세포벽의 멜라닌 생합성을 억제(MBI,

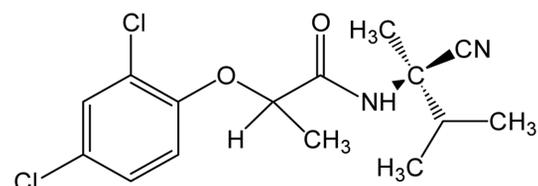


Fig. 1. Chemical structure of fenoxanil.

melanin biosynthesis inhibitor)하여 살균효과를 나타내며 (James 2013), 2000년 BASF와 일본의 Nihon Nohyaku사에 의해 공동개발 및 시판되었다(Abo-Ellil 2005). 국내에서는 벼 생육기의 잎도열병, 목도열병, 깨씨무늬병, 흰잎마름병, 세균벼알마름병 및 이삭누룩병 등을 방제하는 데 사용되고 있으며, 중국에서는 각종 채소 및 과일류의 초기 살균제로 사용하고 있다(Wu et al., 2015). 2015년 4월 현재 국내에서는 액상수화제의 형태로 시판되고 있으며(KCPA 2015), 우리나라의 농약잔류허용기준(Maximum Residue Limits; MRL)

\*Corresponding author

E-mail: cmg7004@kangwon.ac.kr

은 쌀(rice)에 대해 0.5 mg/kg으로 설정되어 있다(MFDS 2014).

Fenoxanil의 물리화학적 특성으로 *n*-octanol/water 분배계수(Log  $P_{ow}$ )는 3.5로 비극성 중성화합물이며, 녹는점은 69.4°C이고, 분자량은 329.2 ( $C_{15}H_{18}C_{12}N_2O_2$ )인 백색의 분말이다(Kawasaki 2003). Fenoxanil의 잔류분석법은 HPLC-MS/MS (High performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry)를 이용한 다성분 분석이 보고된 바 있으며(Kwon et al., 2011), 현재 국내 식품공전 다성분 잔류농약 분석법 4.1.2.2 (MFDS 2012)에 SPE (Solid phase extraction) 정제 후 GC/ECD (Gas chromatography-electron capture detector) 혹은 GC/NPD (Gas chromatography-nitrogen phosphorous detector)로 분석하는 방법이 공정분석법으로 제시되고 있으나, 단성분으로서의 확인·정량 시험법은 없고 국내 등록 작물 뿐 아니라 수입 농산물에서의 잔류성 시험도 필요하므로, 분석대상 품목을 확대 적용한 단일성분 시험법의 개발이 필요하다.

따라서 본 연구는 쌀, 곡류, 채소 및 과일류를 대상으로 한 fenoxanil의 단성분 분석법을 개발하여 국내 잔류농약 검사의 기초를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 기구

Fenoxanil 표준품은 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)에서 순도 98.0%의 분석용을 구입하여 사용하였

다. Acetone으로 용해하여 500 mg/L의 농도가 되도록 조제한 fenoxanil 표준용액은 -20°C의 냉동고에서 저장하였으며, 사용 시 *n*-hexane으로 재희석하여 이용하였다. J. T. Baker (Phillipsburg, USA)사에서 구입한 florasil (60-100 mesh)은 130°C에서 하루 이상 충분히 가열하여 활성화한 후 사용하였다. Acetone, *n*-hexane, dichloromethane, acetonitrile 및 ethyl acetate를 포함한 유기용매와 무기시약은 시약특급 혹은 잔류분석 등급의 시약을 사용하였고, deionized water는 J. T. Baker (Phillipsburg, USA)에서 HPLC용을 구입하여 사용하였다. 감압농축기는 Eyela NE-1000SW (Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하였고, 시료의 마쇄 및 균질화는 Ultra-Turrax T-25 (IKA Works Inc., USA)의 고속 균질기를 사용하였다.

### 분석 대상

본 연구에 사용된 농산물 시료는 fenoxanil의 사용이 허가되어 있는 농산물(MFDS 2014) 중 채소류로 고추 및 배추를, 과일류에서는 사과, 곡류에서는 현미, 두류에서는 콩을 대표 농산물로 선정하였고, 각 대표 농산물은 강원도지역의 대형마트에서 유기농 농산물로 인증된 시료를 구입하여 식품공전의 검체 처리방법(MFDS 2012)으로 분쇄, 마쇄 등 전처리 후 사용하였으며, 대조시료는 잔류농약 검사를 통해 fenoxanil이 잔류하지 않음을 확인하고 분석에 사용하였다.

### GC-NPD/MS 분석 조건

Fenoxanil은 분자구조에 chlorine 및 nitrogen을 각각 2개

**Table 1.** GC-NPD and GC-MS operating parameters for the analysis and confirmation of fenoxanil

GC/NPD	
Instrument	Agilent 6890 GC
Detector	Nitrogen phosphorous detector (NPD)
Column	DB-5 capillary column (0.53 mm i.d. × 30 m, 0.50 μm film thickness)
Temp.	Column oven: 220°C, Detector: 300°C, Injector: 280°C
Gas flow rate	Carrier: N <sub>2</sub> 4 mL/min, Make up: N <sub>2</sub> 5 mL/min Detector purge: H <sub>2</sub> 1 mL/min, air 30 mL/min
Sample size	1 μL, direct injection
GC/MS	
Instrument	Agilent 7890/7000 GC/MSD Triple Quad
Column	HP-5MS capillary column (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm film thickness) Column oven: programming
Temp.	Rate 1: from 190°C (1 min) to 250°C at 10°C/min Rate 2: from 250°C to 300°C (10 min) at 5°C/min Detector: 250°C, Injector: 300°C
Gas flow rate	Carrier: He 1.0 mL/min
Sample size	1 μL
Injection mode	Splitless
Ionization	Electron ionization (EI), 70 eV
Mass range ( <i>m/z</i> )	50 - 500

씩 함유하고 있으므로 ECD와 NPD에서 모두 검출 가능하나, 농산물 시료에 함유된 간섭물질의 정도가 상대적으로 낮은 NPD를 fenoxanil의 분석검출기로 이용하였다. NPD를 장착한 GC는 Agilent 6890 (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, California, USA)을 이용하였고, 내경이 0.53 mm인 capillary column을 사용하여 220°C의 등온조건에서 분석하였으며, 시료주입은 packed inlet을 이용하여 시료 전량을 칼럼 안으로 직접 주입하는 방법을 적용하였다. Agilent 7890 GC에 7000 Triple Quad GC/MS가 장착된 GC/MS를 이용하여, scan mode와 selected ion monitoring (SIM) mode에서 fenoxanil의 정성적 확인을 하였으며, 각 기기의 분석조건은 Table 1과 같다.

### 검량곡선과 정량한계

표준용액을 재회석하여 조제한 0.05-5 mg/L 농도의 fenoxanil을 GC/NPD에 1 µL씩 분석하여 얻어진 피크의 면적값을 기준으로 표준검량식을 작성하였다. 또한, 안정적인 기기 분석 수행 여부를 확인하기 위해 0.5 mg/L의 농도로 조제한 fenoxanil의 표준용액을 GC/NPD에 15번 연속으로 주입하고 크로마토그램 상의 머무름시간(retention time, tR)과 피크면적의 변이를 계산하여 분석기기의 반복성(repeatability)을 평가하였다. 정량한계(Limit of quantitation, LOQ)는 공시료 농산물로부터 유래되는 간섭물질이 해당 머무름시간에 존재하지 않음을 확인한 뒤 아래의 식에 의해 환산하였으며, 각 25 g의 농산물 시료에 fenoxanil의 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배의 농도가 되도록 3반복 처리한 회수율 시험을 통해 재확인하였다.

$$\text{LOQ (mg/kg)} = [\text{기기상의 최소검출량(ng)} / \text{주입량(µL)}] \times [\text{시료용액(mL)} / \text{시료량(g)}]$$

### 추출 및 분배

100 mL의 acetone을 각각의 농산물 시료 25 g에 가하고 (곡물시료는 추출 전 20 mL의 증류수를 가하여 30분간 합숙) 고속균질기를 이용하여 2분 동안 분쇄 및 마쇄(200 Hz)하며 추출하였다. 추출액은 여과지(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., No. 6, Tokyo, Japan)가 깔려있는 Büchner funnel로 감압 여과 하였고, 균질기 용기에 남아있는 추출액과 Büchner funnel 상의 시료는 acetone 40 mL로 씻어 이전의 여과액과 혼합하였다. 혼합된 여과액을 1 L 용량의 분액깔때기에 옮기고 포화식염수와 증류수 각각 50 mL 및 450 mL를 첨가하고 *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v) 100 mL로 분배 추출하였으며, 정치 후 상층의 *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v)만을 취해 무수 sodium sulfate에 통과시켜 탈수한 뒤 40°C의 수욕 상에서 감압 농축, 건조하였다. 곡류인 현미와 콩 이외의 시료 건조물은 *n*-hexane 10 mL에 재용해

한 후 florisil을 이용하여 정제하였다. 반면, 곡물시료인 현미와 콩의 경우에는 함유된 지질성분을 제거하기 위해 acetonitrile로 포화시켜둔 *n*-hexane 40 mL에 건조물을 재용해하여 250 mL 용량의 분액여두에 담고 *n*-hexane으로 포화시켜둔 acetonitrile 40 mL로 3회 분배, 추출하였으며, 추출된 3회분은 모두 합쳤다. 합쳐진 acetonitrile 추출액은 40°C의 수욕 상에서 감압 농축하여 건조하였고, 이를 *n*-hexane 10 mL에 재용해한 후 florisil을 이용하여 정제하였다.

### 정제

활성화된 florisil 10 g을 내경 및 길이가 각각 1.5 cm 및 40 cm인 유리칼럼에 건식 충전하고, 그 위에 3 g의 무수 sodium sulfate를 조심스럽게 첨가하였다. *n*-Hexane 50 mL를 준비된 칼럼에 천천히 가하고, 칼럼 상단에 소량의 *n*-hexane만이 남을 정도로 흘려보낸 후, *n*-hexane 10 mL로 용해한 각 시료용액을 첨가하여 약 3 mL/min의 유속으로 용출시켜 버렸다. Florisil 상층의 표면이 드러나기 직전에 *n*-hexane/ethyl acetate 혼합액(90/10, v/v) 100 mL를 추가로 용출시켜 이를 버린 후, 이어서 *n*-hexane/ethyl acetate 혼합액(80/20, v/v) 150 mL를 용출시켜 fenoxanil 잔류분을 회수하였다. Fenoxanil 성분이 포함된 용출액은 40°C의 수욕 상에서 감압 농축, 건조하였으며, 건조물을 *n*-hexane 10 mL에 재용해하여 GC/NPD에 주입, 분석하였다.

### 회수율

Fenoxanil 잔류분석법 검증과정의 일환으로 세질 및 분쇄한 25 g의 각 농산물 시료에 검출한계(LOQ) 농도, 검출한계의 10배 및 50배에 해당하는 농도의 fenoxanil 표준용액을 3반복으로 각각 처리한 후 상기의 분석과정과 동일한 방법으로 회수율 및 분석오차를 평가하였다.

## 결과 및 고찰

### GC/NPD 분석조건

GC capillary column에 충전되어 있는 resin의 극성별로 분리양상을 조사하여 fenoxanil 분석에 적용 가능한 최적의 GLC column을 선정하였다. 충전된 phenylsiloxane/methylsiloxane의 비율에 따라 극성이 서로 다른 column들로 분리능을 검토한 결과, methylsiloxane 함유량이 각각 100% 및 50%인 DB-1 및 DB-17보다 methylsiloxane 함유량이 95%로 비교적 비극성 계열인 DB-5 column (Agilent J&W columns, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, California, USA)에서 fenoxanil의 감도 및 분리능이 가장 우수하여, fenoxanil을 분석하기 위한 최적의 GLC column은 DB-5로 선정하였다(Fig. 2). DB-5 column으로 분리 시 오븐의 온도가 220°C인 등온조건에서 fenoxanil의 머무름시간은 약 5.1

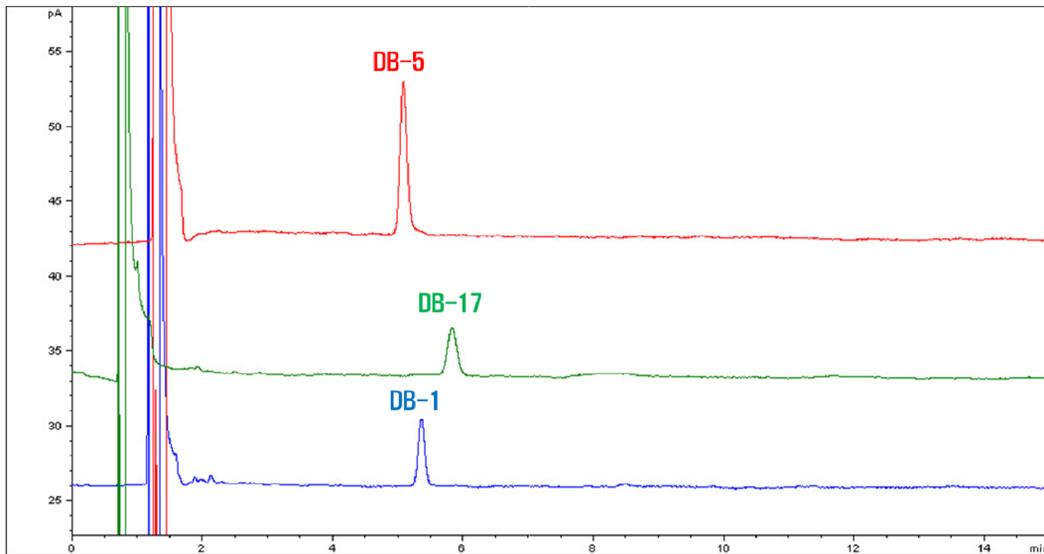


Fig. 2. Sensitivity of fenoxanil by GC/NPD analysis, obtained from different columns characteristics, each of concentration is 0.5 ng.

분이었다. 본 분석법은 분석 시 정밀성 및 재현성의 확보는 물론, 단시간 내에 분석 작업이 이루어져야 하는 일상적인 분석법을 확립하는 데에 그 목적이 있으므로, 분리능과 감도의 증대는 기대할 수 있으나 머무름시간 및 크로마토그램 상 피크의 재현성이 열등한 온도구배법을 적용하지 않았으며, 분석결과와 재현성 및 안정성 측면에서 보다 유리한 등온조건 및 직접시료주입법을 적용하였다.

다양한 정의가 있지만 본 연구에서는 분석기기의 정량한계(LOQ)를 크로마토그램 상에 피크로 검출되는 대상 성분의 분석 결과를 수치화 하는 신뢰성 있는 한계농도로써, 검출된 대상성분 피크의 S/N (signal/noise) 비가 최소 10 이상 일 때의 농도로 설정하였다(Fong et al., 1999; Miller 2005).

Table 1의 GC/NPD 조건으로 fenoxanil 표준용액을 분석하여 S/N (signal/noise)비를 산출한 결과, 분석기기 상의 최저 검출량(S/N ≥ 10)은 0.1 ng 수준이었다. 한편, 안정적인 기기분석 수행 여부를 확인하기 위해 0.5 mg/L 농도의 표준용액을 GC/NPD에 15번 주입, 분석하여 머무름시간 및 피크면적의 변이계수(CV, %)를 파악하여 반복성을 평가하였다. 그 결과, 모든 크로마토그래피 척도에서 최대 3.0%의 오차를 나타내어 안정적이며 재현성 있는 기기분석을 수행할 수 있음을 확인하였다(Table 2).

Fenoxanil의 농도별 표준용액(0.05-5 mg/L)을 1 μL씩 GC-NPD로 분석하여 얻은 표준검량식의 방정식은  $y=140.870x+3.726$  ( $R^2=0.999^{**}$ ) 이었다(Fig. 3). 즉, 최저검출량의 1/2 수준인 0.05 ng에서 그 100배인 5 ng까지의 표준검량식에 회귀계수가  $R^2=0.999^{**}$  이상으로 우수한 직선성이 검정되었으므로 비교적 광범위한 농도의 fenoxanil 잔류량을 비례적으로 산출하는 것이 가능하였다.

Table 2. Repeatability of GC/NPD analysis of fenoxanil

Parameter	Absolute Retention Time (min)	Peak Area (pA)
Minimum	5.673	64.10
Maximum	5.679	67.00
Mean	5.676	65.50
SD	0.00	1.96
CV (%)	0.04	3.00

\*Abbreviations : SD, standard deviation; CV, coefficient of variance.

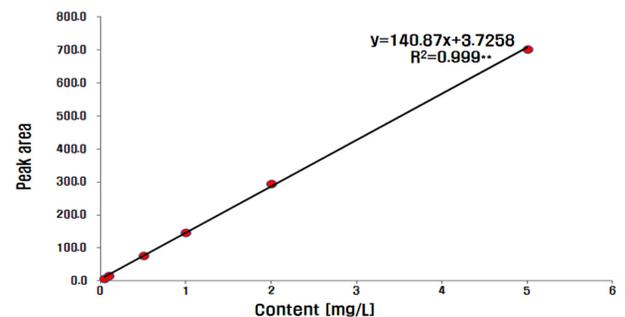


Fig. 3. Calibration curve of fenoxanil in GC/NPD.

### 추출 및 분배

농산물 시료에 함유된 fenoxanil을 추출하기 위해 사용한 용매는 acetone이었다. Acetone은 비극성 농약의 추출 시 흔히 사용하는 유기용매로써 많은 연구(Lee et al., 2009; Lee et al., 2010; Lee et al., 2011; Park et al., 2013)를 통해 이미 농약 추출에 대한 효율과 재현성이 검증된 바 있다. 앞서의 추출과정에서 농산물 시료로부터 대상 성분과 함께 유입되는 간섭물질의 1차적 제거를 위한 방법은 액-액 분배법을 채택하였다. 즉, 추출액을 다량의 포화식염수와 증류수로

**Table 3.** Efficiency of liquid-liquid partition of crude extract by different solvents for fenoxanil

Compound	Recovery (%) <sup>1)</sup>			
	Partition I <sup>2)</sup>	Partition II	Partition III	Partition IV
Fenoxanil	83.9	95.8	95.6	96.8

<sup>1)</sup> Mean values of triplicate samples.

<sup>2)</sup> Partition mixture : 150 mL acetone + 50 mL saturated NaCl + 450 mL 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).

**Table 4.** Efficiency of *n*-hexane/acetonitrile partition for fenoxanil

Compound	Recovery (%) <sup>1)</sup>	
	Partition I <sup>2)</sup>	Partition II
Fenoxanil	92.9	91.8

<sup>1)</sup> Mean values of triplicate samples.

<sup>2)</sup> 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).

희석한 다음 직접 비극성 용매를 이용하여 분배 추출하는 방법을 적용하였다(AOAC 2000; MFDS 2013).

대상 성분의 분배 효율을 검토하기 위한 용매는 *n*-hexane, 2종의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액 및 dichloromethane 등 4종으로 선정하였으며(Table 3), *n*-hexane 100 mL로 분획하였을 때 fenoxanil의 회수율은 83.9%로 조사되었고, *n*-Hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v) 100 mL 및 *n*-hexane/ dichloromethane 혼합액(20/80, v/v) 100 mL로 분획하였을 때와 dichloromethane 50 mL로 2회 반복 분획하였을 때의 회수율은 각각 95.8%, 95.6% 및 96.8%로 조사되었다. 95.8%의 회수율을 나타낸 분배용매 II의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v) 100 mL 분획에서 dchloromethane의 비율을 높여 용매의 강도를 높여도 회수율의 변화는 미미하였으며, 작업의 편리성 등을 고려할 때 가장 적합한 것으로 판단된 분배용매 II의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v)을 fenoxanil의 분배용매로 선정하였다.

농산물 시료로부터 유래되는 상당 부분의 극성 및 기타 간섭물질들이 *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v) 혼합액을 이용한 액-액 분배과정을 통해 대부분 제거되었으리라

예상되나, 지질성분은 대상 성분과 함께 *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v) 혼합액 층으로 분배되므로 제거되지 않는다. 대표 농산물 시료 중 현미와 콩은 약 1-3% 및 20% 수준의 지질이 함유되어 있는 시료로써, 이들 시료들은 *n*-hexane/acetonitrile 분배법을 추가로 공시하여 지질성분을 제거하고자 하였다(US FDA 1999; AOAC 2000). Table 4에 나타난 바와 같이 *n*-hexane으로 미리 포화시켜둔 acetonitrile로 2회 분배(분배용매 I)하였을 때 92.9% 수준으로 fenoxanil의 회수가 가능하였고, 분배의 횟수를 3회로 늘려도 회수율 향상효과는 없었으므로 작업의 편리성을 고려하여 지질 및 비극성 간섭물질의 제거를 위한 *n*-hexane/acetonitrile 분배법은 분배조건 I로 설정하였다. 한편, 지질 함량이 1% 미만으로써 비지방성 시료에 해당하는 배추, 사과, 고추는 제거되는 지질성분 및 비극성 불순물의 양이 매우 작으므로 *n*-hexane/acetonitrile 분배과정을 생략하였다.

**정제 조건의 최적화**

농산물 내 잔류 fenoxanil의 분석 시 각종 불순물 및 비극성의 간섭물질들이 상기의 액-액 분배 및 *n*-hexane/acetonitrile 분배과정에 의해 상당 부분 제거되었으리라 예상되나, 각 시료에 따라 유입되는 기타 불순물들이 서로 상이하고 다양하게 혼재되어 있으므로, 추가적 정제과정으로 흡착크로마토그래피에 의한 정제법을 적용하였다. 흡착크로마토그래피법은 잔류농약 분석 시 가장 많이 이용되는 정제법으로써, 흡착제로는 florisil, silica gel 및 alumina 등이 사용된다. 본 연구에서는 fenoxanil의 특성을 감안하여 흡착제는 florisil을 사용하였으며, *n*-hexane/ethyl acetate 혼합 용매체계의 다양한 극성 조절을 통해 최적화 하였다(Table 5).

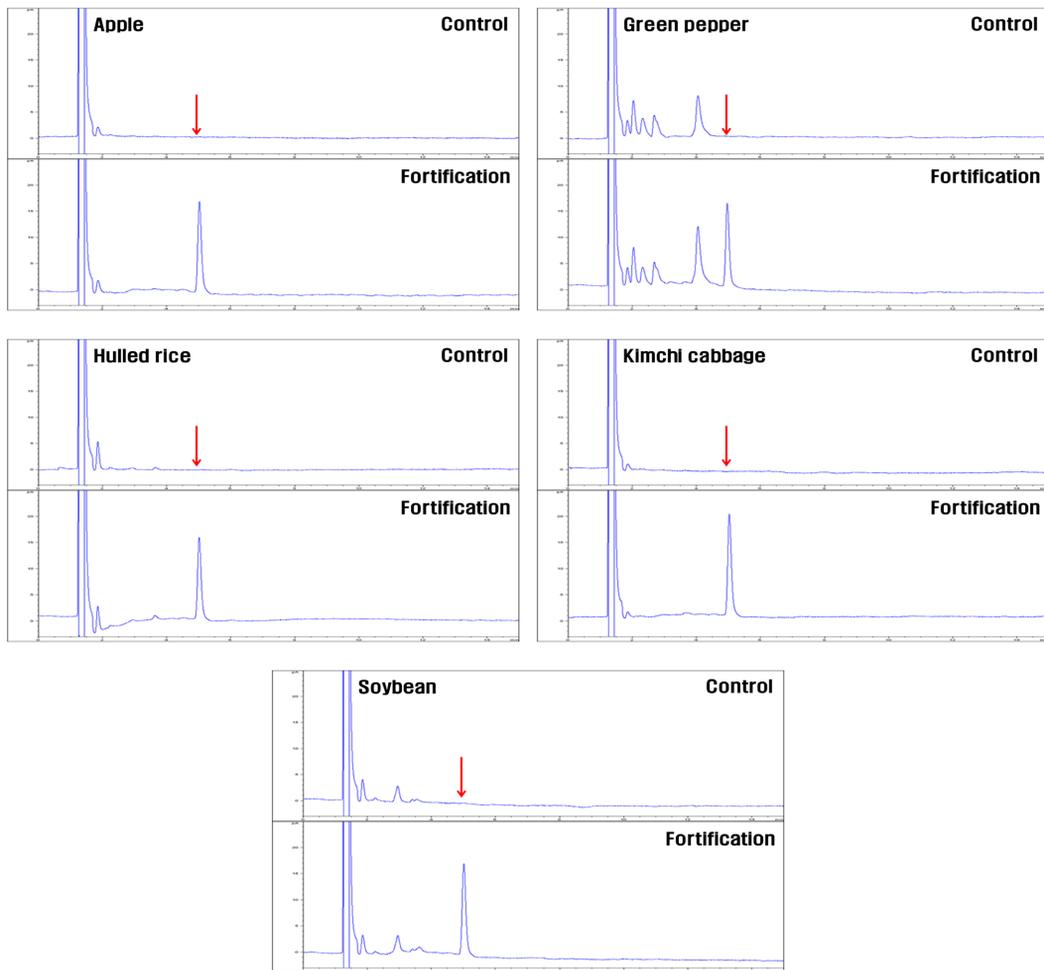
**Table 5.** Elution profile of fenoxanil for Florisil column

Elution solvent (v/v)	Recovery (%) <sup>1)</sup>			
	0 - 50 mL	51 - 100 mL	101 - 150 mL	Total
90 : 10 <sup>2)</sup>	0.0	0.0	17.1	17.1
85 : 15 <sup>3)</sup>	20.1	51.2	18.4	89.7
80 : 20 <sup>3)</sup>	79.1	19.4	0.0	98.5

<sup>1)</sup> 10 g of activated florisil (60 - 100 mesh) was packed without solvent.

<sup>2)</sup> *n*-hexane/ethyl acetate (v/v).

<sup>3)</sup> Pre-washed with 100 mL of<sup>2)</sup> solvent system, and then eluted with *n*-hexane/ethyl acetate (v/v).



**Fig. 4.** GC/NPD chromatograms of recovery of fenoxanil from agricultural products; each of the sample was fortified at the concentration of 0.4 mg/kg.

극성을 다양하게 조절한 용매체계를 이용하여 fenoxanil의 회수율을 검토한 결과, *n*-hexane/ethyl acetate 혼합액(90/10, v/v) 100 mL로 칼럼 세척을 위해 용리 후 *n*-hexane/ethyl acetate 혼합액(80/20, v/v) 150 mL로 용리할 경우 98.5% 수준의 우수한 회수율을 나타내었다. 따라서 간섭물질 제거를 위한 추가적 정제법인 florisil 흡착크로마토그래피법은 Table 5의 방법과 같이 *n*-hexane/ethyl acetate 혼합액(90/10, v/v) 100 mL로 pre-washing한 후, *n*-hexane/ethyl acetate 혼합액(80/20, v/v) 150 mL로 용출하는 방법을 적용하였다.

#### 농산물 중 fenoxanil의 분석정량한계 및 회수율

본 연구의 분석과정을 대표 농산물 시료에 적용한 결과는 Fig. 4와 같다. 본 연구에서 무처리 농산물 시료의 GC/NPD 크로마토그램에서 fenoxanil과 동일한 머무름시간에 간섭물질이 존재하지 않음을 확인한 후, 분석기기의 최저 검출량과 시료량, 분석과정 중의 농축배율을 계상하여 산출된 fenoxanil의 정량한계는 0.04 mg/kg이었으며, 우리나라 식품

의약품안전처에서 발행하는 식품공전 잔류농약분석법 실무해설서(MFDS 2013)와 Codex (Codex Alimentarius Commission, 2014)에서 권장하는 잔류농약분석법 기준인 0.05 mg/kg 이하 또는 허용기준의 1/2 이하의 정량한계 기준에 부합하였다.

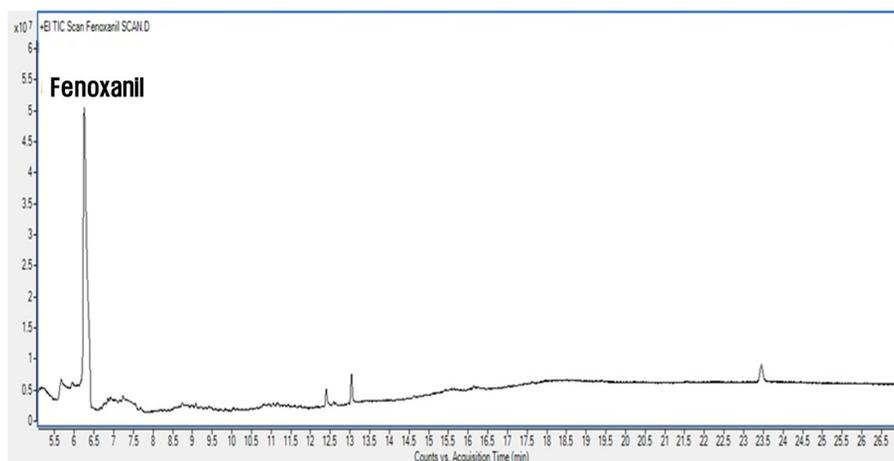
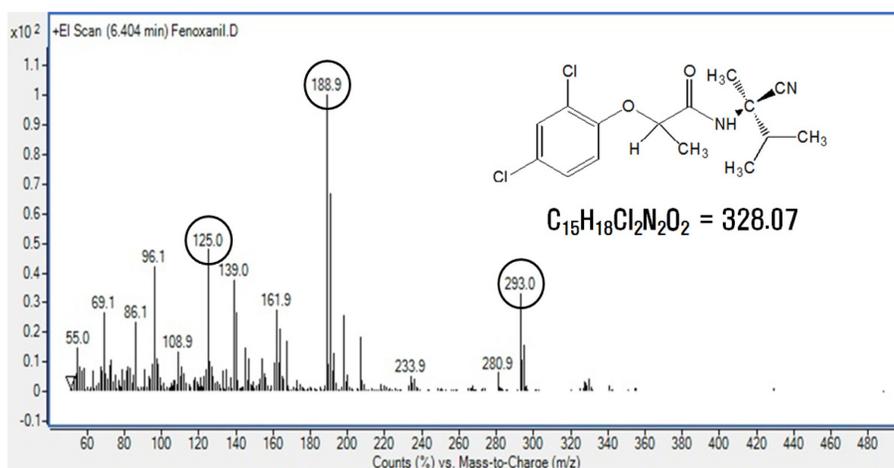
각 대표 농산물 무처리 시료에 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배의 농도가 되도록 fenoxanil 표준용액을 첨가하고, 상기에서 확립한 분석과정에 따라 각 3반복으로 분석하여 회수율을 조사하였다. 그 결과, 정량한계 수준에서는 82.2-102.8%, 정량한계 10배 수준에서는 84.2-109.1%, 정량한계 50배 수준에서는 89.2-99.8%의 양호한 회수율을 보였으며, 분석오차도 최대 7.2%로 조사되어 재현성 역시 양호하였다. 따라서, 농산물 시료 및 처리수준에 관계없이 회수율 70-120% 범위와 분석오차 10% 이내의 잔류분석기준을 만족하였다(Table 6).

이상의 결과로 볼 때, 본 연구에서 확립한 fenoxanil의 잔류분석법은 국내·외 농산물의 잔류농약 검사 및 분석에 충분히 적용 가능할 것으로 기대된다.

**Table 6.** Recoveries of fenoxanil from various agricultural products

Agricultural product	Fortification (mg/kg)	Recovery (%) <sup>1)</sup>	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Apple	0.04	88.6 ± 6.3	7.2	0.04
	0.4	94.3 ± 3.8	4.0	
	2.0	91.6 ± 2.3	2.5	
Kimchi cabbage	0.04	96.5 ± 5.0	5.2	0.04
	0.4	102.0 ± 5.6	5.5	
	2.0	99.8 ± 3.2	3.2	
Green pepper	0.04	102.8 ± 2.3	2.3	0.04
	0.4	109.1 ± 6.8	6.2	
	2.0	92.4 ± 2.6	2.8	
Hulled rice	0.04	82.2 ± 4.0	4.8	0.04
	0.4	87.3 ± 3.1	3.6	
	2.0	97.3 ± 4.7	4.9	
Soybean	0.04	94.5 ± 4.1	4.3	0.04
	0.4	84.2 ± 3.5	4.2	
	2.0	89.2 ± 2.8	3.1	

<sup>1)</sup>Mean values of triplicate samples with standard deviations.

**Fig. 5.** Total-ion chromatogram (TIC) of fenoxanil in GC/MS.**Fig. 6.** EI mass spectrum of fenoxanil.

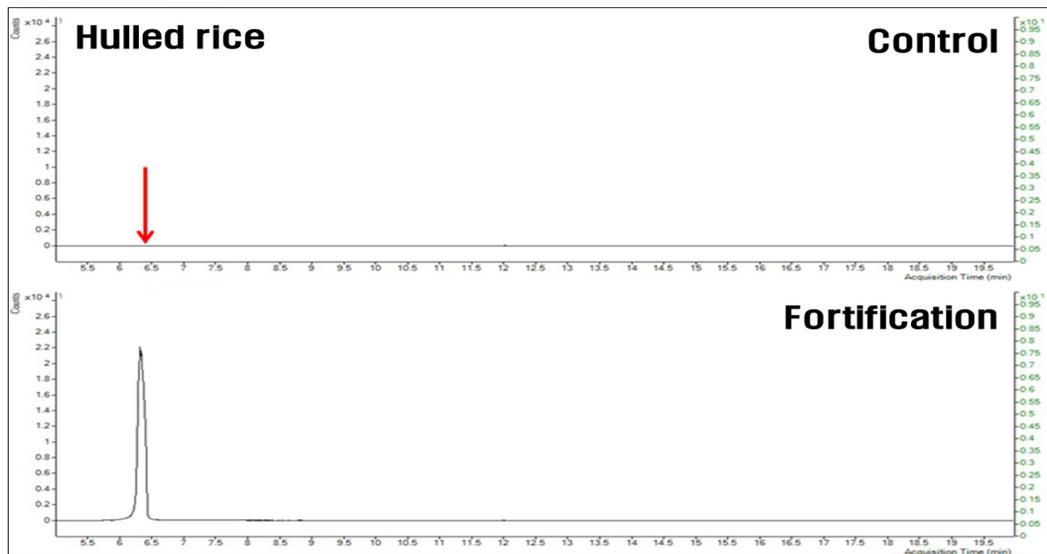


Fig. 7. SIM chromatograms of fenoxanil residue from blank and 0.4 mg/kg of fortification to hulled rice.

### 정성적 확인 시험

본 연구에 의해 개발된 분석법의 신뢰성을 제고하기 위해 GC/MS를 이용한 재확인 과정을 추가하였다. HP-5MS capillary column을 사용하여 Table 1의 GC/MS 분석조건으로 분석하였을 때 Fig. 5 및 6과 같은 TIC (total-ion chromatogram) 및 MS spectrum을 얻었으며, m/z 125.0, 188.9 및 293.0을 selected-ion monitoring (SIM)용 ion으로 설정하였다.

Fig. 7은 본 연구에 사용된 농산물 시료 중 현미를 대상으로 fenoxanil의 잔류분을 재확인한 SIM chromatogram이며, 본 연구에서 선정한 모든 대표 농산물의 무처리 시료에서는 fenoxanil과 동일한 시간대에 피크가 전혀 관찰되지 않았고, 인위 첨가된 각 농산물 시료에서는 동일한 시간대에 fenoxanil의 잔류분 피크를 정확히 확인할 수 있었다.

따라서 검토된 GC/MS-SIM 조건의 경우에도 GC/NPD를 이용한 정량법과 함께 fenoxanil 잔류분의 추가적 정성용 분석법으로 활용 가능할 것이다.

### 결 론

GC/NPD와 GC/MS를 이용하여 농산물 시료에 적용 가능한 MBI propionamide계 살균제 fenoxanil의 잔류 분석법을 확립하였다. 고추, 배추, 사과, 현미 및 콩에 대한 fenoxanil 단일 잔류성분의 정량 및 확인 시험법을 GC/NPD와 GC/MS를 이용하여 개발하였다. 각각 농산물에 대한 추출은 acetone 만으로도 충분하였으며, 분배과정은 n-hexane/dichloromethane (80/20, v/v), 정제는 florisil을 흡착제로 활용하였다. 정량은 DB-5 capillary column을 GC/NPD에 장착하여 분석하였으며, 각 농산물에 대한 정량한계는 0.04 mg/kg으

로 설정 가능하였다. 회수율은 82.2-109.1%로, 농산물 시료의 종류 및 처리수준에 관계없이 7.2% 미만의 변동계수를 나타냈다. 정성적 확인을 위해 GC/MS를 이용, m/z 125.0, 188.9 및 293.0을 fenoxanil의 정성확인을 위한 선택적 이온으로 설정하였다. 본 시험법은 단일 실험실 시험 검증을 통한 것이지만 유사 농산물에 대한 적용도 가능하리라 판단된다.

### Acknowledgement

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처의 연구개발비 (13162식품안전010)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### Literature Cited

- Abo-Ellil, A. H. A. (2005) Melanin inhibitors and dicarboximide. Interconversion in some phytopathogenic fungi. *Egypt. J. Phytopathol.* 33(1):21-32.
- AOAC (2000) 'Pesticide and industrial chemical residues, In Official method of analysis', 17th ed., AOAC International: Arlington, VA, USA. pp. 1-88.
- Codex Alimentarius Commission (2014) *Procedural Manual*, 22nd ed., Rome, Italy. p. 70.
- Fong, W. G., H. A. Moye, J. N. Seiber and J. P. Toth (1999) *Pesticide Residues in Food: Methods, Technologies, and Regulations*. Wiley Interscience: Canada. pp. 3-4, 40-44.
- James A. K. (2013) *Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology*. Springer Science & Business Media: New York, USA. p. 654.
- Jang, M. R., H. K. Moon, T. R. Kim, D. H. Yuk, J. H. Kim and S. G. Park (2010) Dietary risk assessment for pesticide residues of vegetable Seoul Korea. *The Korean Nutrition*

- Sci.* 43(4):404-412.
- Korea Crop Protection Association (2010) *Life and Pesticides*. 31(5):22-25.
- Korea Crop Protection Association (2015) *Using guideline of crop protection agents*. p. 320.
- Kwon, H. Y., C. S. Kim, B. J. Park, Y. D. Jin, K. A. Son, S. M. Hong, J. B. Lee and G. J. Im (2011) Multiresidue Analysis of 240 Pesticides in apple and lettuce by QuEChERS sample preparation and HPLC-MS/MS analysis. *Korean J. Pestic. Sci.* 15(4):417-433.
- Lee, J. H., H. W. Park, Y. S. Keum, C. H. Kwon, Y. D. Lee and J. H. Kim (2008) Dissipation pattern of boscalid in cucumber under greenhouse condition. *Korean J. Pestic. Sci.* 12(1):67-73.
- Miller, J. M. (2005) *Chromatography: Concepts and Contrasts* (2nd). Wiley Interscience: USA. pp. 286-287.
- Ministry of Food and Drug Safety (2012) *Korea Food Code*. pp. 10-4-9 - 10-4-13.
- Ministry of Food and Drug Safety (2012) *Korea Food Code*. pp. 10-4-340 - 10-4-342.
- Ministry of Food and Drug Safety (2013) *Pesticide Analytical Residues Manual in Food Code*. MFDS.
- Ministry of Food and Drug Safety (2014) *MRLs for Pesticides in Foods*. p. 114.
- Kawasaki, S. (2003) *Rice Blast: Interaction with Rice and Control*. Springer Science & Business Media: New york, USA. p. 8.
- Lee, K. H., S. S. Kim, H. R. Park, K. Y. Ji, J. G. Kim, K. Y. Hur and J. H. Hur (2009) Monitoring of pesticide residues in floricultural crops collected from floral farms and markets in Korea. *Korean J. Pestic. Sci.* 13(4):216-222.
- Lee, S. J., Y. H. Kim, L. S. Song and M. G. Choung (2011) Determination of ametryn residue in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS. *Korean J. Pestic. Sci.* 15(2):125-133.
- Lee, S. J., Y. S. Hwang, Y. H. Kim, M. Y. Nam, S. B. Hong, W. K. Yun, C. H. Kwon, J. A. Do, M. H. Im, Y. D. Lee and M. G. Choung (2010) Determination of fomesafen residue in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS. *Korean J. Pestic. Sci.* 14(2):95-103.
- Park, B. J., B. M. Lee, C. S. Kim, K. H. Park, J. H. Kim, H. Kwon, S. W. Park, G. H. Choi and S. J. Lim (2013) Long-term monitoring of pesticide residues in arable soils in Korea. *Korean J. Pestic. Sci.* 17(4):283-222.
- Tomlin, C. D. S. (2006) *The Pesticide Manual, A World Compendium, 14th ed.*; British Crop Protection Council: Hampshire, England. pp. 462-464.
- US FDA (1999) *Pesticide Analytical Manual, Vol 1: Multi-residue Methods* (3rd ed.), US Food and Drug Administration: USA.
- Wu, Y. L., R. X. Chen, Y. Zhu, J. Zhao and T. Yang (2015) Simultaneous determination of sixteen amide fungicides in vegetables and fruits by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatography B.* 989:11-20.

## 농산물 중 Fenoxanil 잔류성 시험법 개발

김경하 · 안경근 · 김기쁨 · 황영선 · 이영득<sup>1</sup> · 정명근\*

강원대학교 생약자원개발학과, <sup>1</sup>대구대학교 생명환경학부

**요약** 본 연구는 GC/NPD와 GC/MS를 이용하여 농산물 시료에 적용 가능한 MBI propionamide계 살균제 fenoxanil의 잔류 분석법을 확립하였다. 고추, 배추, 사과, 현미 및 콩을 대표 농산물로 설정하여 fenoxanil 단성분의 정량 및 확인 시험법을 개발하였다. 각각 농산물에 대한 추출은 acetone을 이용하였으며, 분배과정은 *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v), 정제는 florisol 흡착제를 활용한 정제법을 적용하였다. 정량분석은 DB-5 capillary column을 GC/NPD에 장착하여 수행하였고, 각 농산물에 대한 정량한계는 0.04 mg/kg으로 설정 가능하였다. 회수율은 82.2-109.1%로 조사되었으며 농산물 시료의 종류 및 처리수준에 관계없이 7.2% 미만의 변동계수를 나타냈다. 정성적 확인을 위해 GC/MS를 이용, m/z 125.0, 188.9 및 293.0을 fenoxanil의 정성확인을 위한 선택적 이온으로 설정하였다.

색인어