



잔류농약 다성분 동시분석 숙련도평가용 방울토마토 분석표준물질의 개발

김종환 · 안지영 · 최성길 · 권영상 · 신민철 · 홍수명¹ · 서종수*

안전성평가연구소 환경독성연구센터, ¹국립농업과학원 농산물안전성부 농자재평가과

Development of Cherry Tomato-Analytical Reference Material for Proficiency Test of Pesticide Multi-Residue Analysis

Jong-Hwan Kim, Ji-Young Ahn, Sung-Gil Choi, Young-Sang Kwon, Min-Chul Shin,
Su-Myeong Hong¹ and Jong-Su Seo*

Environmental Toxicology Research Center, Korea Institute of Toxicology, Jinju 52834, Korea

¹Department of Agro-food Safety, National Academy of Agriculture Science, Rural Development Administration,
Wanju 55365, Korea

(Received on November 19, 2017. Revised on July 25, 2018. Accepted on August 16, 2018)

Abstract This study was conducted to develop an analytical reference material of cherry tomato containing ten pesticides (acetamiprid, buprofezin, carbendazim, diethofencarb, tebuconazole, tebufenozide, tetraconazole, pyraclostrobin, pridaben, pyriproxyfen) for proficiency test of pesticide multi-residue analysis. According to the KS A ISO Guideline 35 (2005)/KS Q ISO Guideline 13528 (2009) and EURL-PT (IUPAC), homogeneity, within-bottle/between-bottle standard variations and standard uncertainty were calculated and assessed, resulting that between-sample standard deviations were lower than 0.3σ ($0.3 \times$ target standard deviation) and there were no statistical differences within and between bottles for each pesticide on statistical analysis using ANOVA test. Also, standard uncertainty (u_{bb}^*) ranged from 0.98% to 3.36%. These results indicated that all pesticides were distributed homogeneously in the analytical reference material. Therefore, it was considered that the cherry analytical reference material developed for the proficiency test could be used as a tool to evaluate the reliability and consistency of laboratories.

Key words Proficiency test, Homogeneity, Standard uncertainty, Analytical reference material

서 론

농약의 사용은 농산물생산의 양적인 증대와 농민의 노동 시간과 노동력 절감 등 경제적 효과가 높아 불가결한 화학 물질(Kim et al., 2008)이나 농약 성분의 독성과 잔류성으로 인하여 안전성 문제가 대두되고 있다. 그 중 국내에서 재배 되는 토마토(대과, 방울)는 웰빙식품으로 각광받으며 소비량도 크게 증가하고 있으나 가공을 따로 하지 않고 바로 섭취하기 때문에 농약잔류성 문제가 제기되고 있다(Choi et al., 2002). 따라서 잔류농약 관리의 중요성이 강조되고 있으며,

이로 인해 농산물의 농약 잔류허용기준이 점차 강화되고 있어 농산물의 분석결과에 대한 신뢰성이 매우 중요하게 인식되어 지고 있다(Bhanti and Taneja 2007).

잔류농약의 분석방법 검증에 중요한 도구로 활용되는 인증표준물질(CRM; Certified Reference Material) 개발은 국외적으로 활발하게 이루어지고 있으며(Otake et al., 2013; Yarita et al., 2014; Grimalt et al., 2015), 개발된 표준물질은 실험실간의 비교가 가능한 숙련도 시험용으로 활용되고 있을 뿐만 아니라 이를 통해 실험 절차상의 문제점을 확인하여 분석결과와 신뢰성을 평가하고 모니터링하는데 효과적으로 사용되고 있다(Fernandez-Alba 2004; Van Leeuwen et al., 2006). 그리고 유럽공동체(EC) 및 보건·소비자총국(DG SANCO)에서는 세계 시장에서의 식품 안전성 평가에 있어

*Corresponding author
E-mail: jsseo@kitox.re.kr

숙련도 시험을 주기적으로 수행하여 품질을 평가하고 지속적인 개선을 도모하고 있다(Medina-Pastoret et al., 2010).

이와 같이 잔류농약에 대한 인증표준물질 개발과 적용성에 대한 인식이 증가함에 따라 다양한 매트릭스를 활용한 잔류농약 다성분분석용 분석표준물질의 개발과 적용이 필요하지만, 국내에서는 현재까지 숙련도 평가용으로 활용 가능한 표준물질이 개발되고 있지 않고 있다. 잔류농약을 측정하는 각 기관마다 분석장비의 적합성 및 분석자의 숙련도 차이에 따라 잔류농약 분석결과에 많은 영향을 주기 때문에 분석결과에 대한 신뢰성과 일관성 확보를 위해 표준물질의 확보가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 국제적인 지침서 ISO Guidelines과 IUPAC protocol을 기반으로 하는 유럽 숙련도 평가시험(EURL-PT; European Union Reference Laboratories-Proficiency Test)에서 요구하는 균질성(병내/병간의 균질성), 인증값(설정값), 병간/병내의 표준편차, 표준불확도가 적합한 10종(acetamiprid, buprofezin, carbendazim, diethofencarb, tebuconazole, tebufenozide, tetraconazole, pyraclostrobin, pridaben, pyriproxyfen)의 농약성분이 포함된 방울토마토 농약다성분 분석표준물질을 개발하여 잔류농약분석기관의 숙련도 평가용 시료로서의 활용가능성을 확인하고 잔류분석 결과의 신뢰성 및 일관성을 확보할 수 있는 방법을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

시험농약 및 시약

시험농약 acetamiprid, buprofezin, carbendazim, diethofencarb, tebuconazole, tebufenozide, tetraconazole, pyraclostrobin, pridaben, pyriproxyfen은 2014년 농산물의 국가잔류 조사결과(National Agricultural Products Quality Management Service (NAQS), 2015)에서 검출빈도와 조사건수가 상대적으로 높은 물질에 속하는 농약으로써 각각의 표준품은 Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)로부터 구입하였으며, 작물에 살포된 시험약제 diethofencarb+carbendazim 50 (25+25)% 액상수화제(상표명: 깨끄탄, (주)동방아그로), pyridaben 20% 수화제(상표명: 산마루, 한국삼공(주)), pyriproxyfen 10% 유제(상표명: 신기루, (주)동방아그로), acetamiprid 5% 액제(상표명: 신엑스, (주)경농), tetraconazole 12.5% 유탁제(상표명: 에머넌트, 바이엘크롭사이언스(주)), tebufenozide+buprofezin 17 (5+12)% 수화제(상표명: 온누리, (주)경농), buprofezin 20% 수화제(상표명: 검객, (주)팜한농), tebuconazole 5.8% 액상수화제(상표명: 타이브랙, (주)경농), pyraclostrobin 11% 액상수화제(상표명: 프로키온, 한국삼공(주))은 시중에 판매되는 제품으로 구입하여 사용하였다.

표준용액의 조제와 분석시료의 전처리과정에서 사용한

acetonitrile, water는 HPLC 등급으로 Burdick&Jackson (Muskegon, MI, USA)에서 구입하여 사용하였고 QuEChERS Extract Kit (magnesium sulfate; 98.5~101.5%, sodium chloride; $\geq 99.5\%$, sodium citrate; 99.9%, disodium citrate sesquihydrate; 99%)와 정제를 위해 사용된 QuEChERS dispersive SPE 2 mL과 5 mL은 phenomenex (USA)로부터 구입하여 사용하였다. 동결건조기는 OPERON (Korea)의 FDCF-12006을 사용하였으며, table mixer는 KENWOD (Korea)의 KMM 760, 초저온냉동고는 SANYOU (Japan)의 MDF-U54V를 사용하였다.

농약살포 및 분석표준물질의 제조

방울토마토는 농촌진흥청 국립농업과학원 내의 시험포장에서 재배하면서 10종의 시험약제를 작물보호제 지침서(한국작물보호협회, 2014)의 희석배수에 따라 조제한 후, 약제가 충분히 묻도록 1회 또는 2회 살포하여 각 시험약제가 작물에 내재될 수 있도록 하였다. 수확한 시료(약 2 kg)는 일정한 크기로 세절한 후, -80°C 에서 약 1일 동안 동결시켰으며 수분을 제거하기 위해 -130°C 의 동결건조기로 7~8일 동안 건조시켰다. 미세한 가루의 형태로 만들기 위해 grinder로 분쇄한 후, 각 농약성분들이 균질성 있게 분포하기 위해 table mixer로 혼합하였다. 제조된 분석표준물질은 50 g씩 분취하여 각각의 갈색병에 옮겨 담았다.

분석방법의 검증

10종의 농약표준품을 acetonitrile로 용해하여 1,000 mg/L 농도의 저장표준용액을 만든 후, 각 농약이 혼합된 0.02, 0.04, 0.1, 0.2, 0.4, 1.0 mg/L의 작업표준용액을 조제하였다. 조제된 작업표준용액에서 1.5 mL과 무처리 시료 추출액 0.5 mL을 혼합하여 농도가 0.015, 0.03, 0.075, 0.15, 0.3, 0.75 mg/L의 matrix matched calibration을 조제한 후 일정한 양을 취하여 LC-MS/MS에 주입하여 각 성분별에 대한 검량선을 작성하였으며 분석조건은 Table 1과 같았다. 또한, 시료량, 기기분석의 주입량, 희석배수를 고려하여 분석법상의 정량한계를 산출하였다(Kim et al., 2016).

회수율시험은 무처리 분석표준물질 5 g에 각 농약의 농도가 1.0 mg/L가 되도록 처리한 후, 물 10 mL을 첨가하여 1시간 동안 실온에 방치하였다. Acetonitrile 10 mL을 넣고 QuERChERS 추출장비(Thmorgan®, CK2000)로 약 2분간 진탕한 후, QuERChERS extraction kit (4 g MgSO_4 , 1 g NaCl, 1 g sodium citrate tribasic dihydrate, 0.5 g sodium citrate dibasic sesquihydrate)을 첨가하고 추가로 약 2분간 진탕 추출하였다. 진탕 후, 5분 동안 3,000 rpm에서 원심분리하여 추출액과 시료가 완전히 분리되도록 하였다. 상등액에서 7 mL을 취한 후, QuERChERS d-SPE-15 mL kit (900 mg MgSO_4 , 150 mg PSA, 150 mg C18E)에 넣고 약 2분간 진탕

Table 1. LC-MS/MS conditions for the analysis of 10 pesticides

• Instrument	Agilent Technology 6420 Triple Quad LC/MS				
• Column	Agilent Eclipse Plus C18 1.8 μm, 2.1 mm × 100 mm				
• Injector	Injection volume : 2 μL				
	A : 5 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in Water				
	B : 5 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in Methanol				
• Mobile Phase	Time (min)	Flow rate (mL/min)	A (%)	B (%)	
	Initial	0.2	85	15	
	1.0	0.2	85	15	
	1.5	0.2	40	60	
	10	0.2	10	90	
	15	0.2	10	90	
	20.0	0.2	2	98	
	20.1	0.2	85	15	
	25	0.2	85	15	
• MS/MS	No.	Pesticides	Q1 Mass (m/z)	Q3 Mass (m/z)	Collision Energy (v)
	1	Acetamiprid	223.1	126.1	11
			223.1	56.1	11
	2	Buprofezin	306.2	201.2	8
			306.2	57.2	8
	3	Carbendazim	192.1	160.1	12
			192.1	132.0	30
	4	Diethofencarb	268.2	226.1	4
			268.2	180.1	4
	5	Pyraclostrobin	388.2	194.1	6
			388.2	164.1	6
	6	Pyridaben	365.2	309.2	7
			365.2	147.1	7
	7	Pyriproxyfen	322.2	227.2	9
			322.2	96.1	9
	8	Spiromesifen	273.2	255.2	12
			273.2	187.1	12
	9	Tebufenozide	353.3	133.1	3
			353.3	105	3
	10	Tetraconazole	372.1	159	18
	372.1		70.1	18	
• Ionization	Electrospray Ionization(ESI, Positive)				

하였다. 3,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하여 상등액의 1 mL을 QuERChERS d-SPE-2 mL kit (150 mg MgSO₄, 25 mg PSA, 25 mg C18E)에 넣어 1분간 vortex mixer로 혼합하였다. 원심분리기로 12,000 rpm에서 5분간 원심분리한 후, 상등액을 PTFE 0.2 μm syringe filter로 여과하였으며, 이 중 0.5 mL을 acetonitrile 1.5 mL과 혼합하여 LC-MS/MS로 분석하였다.

분석표준물질의 균질도 평가

제조된 농약다성분 분석표준물질의 병내와 병간의 균질도를 평가하기 위해 무작위로 10개의 갈색병을 선정하고 spatula를 이용해서 각 병내의 상-중-하 위치에서 5 g씩 분취한 후, 회수율 시험과 동일한 방법으로 전처리하고 LC-MS/MS로 분석하였다. 측정된 결과는 KS Q ISO Guide 13528 (2009)과 유럽에서 수행하는 속련도평가 EURL-Protocol (IUPAC)에서 요구하는 통계적인 방법으로 균질

성을 평가하였다.

KS Q ISO Guide 13528 (2009)의 방법에 따라 다음과 같은 공식으로 시료 내(s_w)와 시료 간의 표준편차(s_s)를 구하였으며, 본 시험의 허용표준편차(σ)는 인증값(설정값)의 25%를 설정하여 계산하였다.

$$s_x = \sqrt{\sum(X_i - \bar{X})^2 / (g-1)}$$

$$s_w = \sqrt{\sum W_i^2 / 2g}$$

$$s_s = \sqrt{S_x^2 - (S_w^2 / 2)}$$

X_i : 균질도 평가를 위해 측정된 데이터

\bar{X} : 전체평균

t : 병간시료 ($t=1, 2, \dots, g$)

W_i : 시험용 시료간의 범위

s_x : 시료평균의 표준편차

s_w : 시료 내 표준편차

s_s : 시료 간의 표준편차

EURL-Protocol (IUPAC)의 방법은 다음과 같은 공식으로 시료 내(s_w)와 시료 간의 표준편차(s_s)를 계산하였으며 코크란테스트를 수행하여 이상치(outlier)를 확인한 후, 일원분산분석법(ANOVA test)에 의한 결과값을 비교하여 평가하였다. 본 연구에서는 유럽의 숙련도평가(EURL-PT)와 동일하게 허용표준편차(σ)의 값을 인증값(설정값)의 25%로 설정하고 균질성을 평가하였다(Kim et al., 2010, Thompson et al., 2006).

$$s_s^2 = s_x^2 - (s_w^2 / 2)$$

$$c = F_1(0.3\sigma_{all})^2 + F_2s_w^2$$

s_s : 시료 간의 표준편차

s_x : 시료평균의 표준편차

s_w : 시료 내 표준편차

σ_{all} : 인증값의 허용표준편차

F_1, F_2 : 1.88, 1.01

분석표준물질의 표준불확도 산출

표준불확도는 균질도에 의해 발생하는 불확도로 KS A ISO Guide 35 (2005)에서 제시하는 일원분산분석법에 따라 병간 표준편차(between-bottle variance, s_{bb})와 병내 표준편차(within-bottle variation, s_{wb})를 5% 유의수준에서 다음과 같은 공식으로 산출하였으며 본 연구에서 n_0 은 누락된 데이터가 없기 때문에, 분석결과 수 n 과 같았다.

$$s_{bb} = \sqrt{s_a^2} = \sqrt{\frac{M_{among} - M_{within}}{n_0}}$$

$$s_{ub} = \sqrt{M_{within}}$$

s_a : 병간의 분산

M_{among} : 병간의 평균제곱

M_{within} : 병내의 평균제곱

n_0 : 각 bottle의 분석결과 수(=n)

균질성에 의한 표준불확도는 일반적으로 다음과 같은 공식으로 계산될 수 있다.

$$\frac{M_{among} - M_{within}}{n_0} \leq u_{bb}^2 \leq s_{bb}^2 - \frac{s_{ub}^2}{n_0}$$

KS A ISO Guide 35에 의하면 상기의 왼쪽 항은 일원분산분석법에 추정된 병간 불균질성에 의한 효과를 나타내며, 오른쪽 항은 하나의 병의 결과에 의한 표준불확도의 제곱(Squared standard uncertainty)을 나타내고 있다(Kim et al., 2010).

하지만, 매우 균질한 표준물질일 경우에는 시료의 분석방법의 반복성에 의한 불확도가 병간 균질성에 의한 불확도보다 더 큰 경우가 발생하여 M_{among} 값이 M_{within} 값보다 작아서 s_{bb} 가 음의 값으로 계산되어 불확도를 산출할 수 없게 된다. 이럴 경우에는 KS A ISO Guide 35에 따라 다음의 공식을 이용하여 계산할 수 있다.

$$u_{bb}^* = \sqrt{\frac{M_{within}}{n}} \sqrt{\frac{2}{vM_{within}}}$$

M_{among} : 병간의 평균제곱

M_{within} : 병내의 평균제곱

vM_{within} : M_{within} 의 자유도 수

n : 시료의 갯수

결과 및 고찰

농약다성분 분석방법의 확립

분석표준물질의 인증값(설정값), 균질성 및 표준불확도를 측정하기 위해 확립된 분석법 검증 결과는 Table 2와 같았다. 직선성은 0.999 이상으로 매우 안정한 결정계수(r^2)를 나타냈으며, 분석방법의 정량한계는 전체적으로 0.8~16.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 수준이었다. 또한 상대표준편차가 4.7% 이내의 정밀도와 97.8~113.1%의 높은 회수율을 나타내어 확립된 분석방법은 방울토마토 분석표준물질의 균질성, 표준불확도의 확인 및 평가에 적합함을 확인할 수 있었다.

농약다성분 분석표준물질의 균질도 평가결과

KS Q ISO Guide 13528에 의해 산출된 균질성 결과, 무작위로 선정된 10개의 병에서 측정된 시료평균의 표준편차(S_x)는 0.0199~0.1865 mg/kg 였으며, 시료 내의 표준편차(S_w)

Table 2. Results of method validation for 10 pesticides by LC-MS/MS

Pesticide	Fortified conc. (mg/kg)	Recovery ¹⁾ (%)	RSD ²⁾ (%)	MLOQ ³⁾ (µg/kg)	Linearity (r ²)
Acetamiprid	1.0	113.1 ± 4.2	3.7	8.0	0.9996
Buprofezin		103.5 ± 3.4	3.3	0.8	0.9994
Carbendazim		97.8 ± 4.1	4.2	0.8	0.9995
Diethofencarb		109.5 ± 2.9	2.6	0.8	0.9996
Tebuconazole		101.2 ± 3.8	3.8	8.0	0.9992
Tebufozide		108.5 ± 3.3	3.0	1.6	0.9994
Tetraconazole		112.2 ± 2.7	2.4	16.0	0.9995
Pyraclostrobin		105.1 ± 4.5	4.3	0.8	0.9997
Pridaben		109.9 ± 5.2	4.7	4.0	0.9993
Pyriproxyfen		106.6 ± 3.1	2.9	0.8	0.9996

¹⁾ Average and standard deviation from triplicate experiments
²⁾ Relative standard deviation: (Standard deviation / Average) × 100
³⁾ Method limit of quantification

Table 3. Results of homogeneity test for cherry tomato analytical reference material

No.	Pesticides	KS Q ISO Guide 13528					EURL-PT (IUPAC)		
		S _x ¹⁾	S _w ²⁾	S _s ³⁾	0.3σ ⁴⁾	S _s ≤ 0.3σ	S _s ²	c	S _s ² < c
1	Acetamiprid	0.0723	0.0902	0.0342	0.2031	Accept	0.0012	0.0858	Accept
2	Buprofezin	0.1088	0.1344	0.0529	0.1011	Accept	0.0028	0.0375	Accept
3	Carbendazim	0.1865	0.2035	0.1186	0.3096	Accept	0.0141	0.2220	Accept
4	Diethofencarb	0.0199	0.0123	0.0179	0.0242	Accept	0.0003	0.0013	Accept
5	Tebuconazole	0.0411	0.0381	0.0310	0.0843	Accept	0.0010	0.0148	Accept
6	Tebufozide	0.0611	0.0743	0.0312	0.1678	Accept	0.0010	0.0585	Accept
7	Tetraconazole	0.0355	0.0386	0.0227	0.0627	Accept	0.0005	0.0089	Accept
8	Pyraclostrobin	0.0626	0.0473	0.0529	0.1333	Accept	0.0028	0.0357	Accept
9	Pyridaben	0.0326	0.0293	0.0252	0.0726	Accept	0.0006	0.0108	Accept
10	Pyriproxyfen	0.0548	0.0255	0.0517	0.0768	Accept	0.0027	0.0118	Accept

¹⁾ Standard deviation of the average sample analysed
²⁾ Within-samples standard deviation
³⁾ between-samples standard deviation
⁴⁾ σ represents the 25% relative standard deviation of analytical values

는 0.0123~0.2035 mg/kg, 시료 간의 표준편차(S_s)는 0.0252~0.1186 mg/kg이었다. 시료 간의 표준편차(S_s)가 허용표준편차(σ)의 0.3배 이하이면 균질한 것으로 평가하기 때문에 모든 농약성분의 균질도는 적합한 것으로 확인하였다(Table 3).

EURL-PT (IUPAC)에 의해 산출된 균질성 결과, 시료 간의 표준편차(S_s) 제공값이 일원분산분석법에서 산출된 F test의 결과값 미만일 경우에 균질한 것으로 평가하기 때문에 이 통계적 분석방법을 통해서 모든 농약성분이 균질하게 분포되어 있음을 확인할 수 있었다. 따라서, 제조된 농약다성분 분석표준물질은 농약잔류분석기관의 숙련도평가용 시료로 사용하기에 매우 적합한 물질인 것으로 판단된다(Table 3).

분석표준물질의 인증값(설정값) 및 균질도에 의한 표준불확도 산출

분석표준물질에 대한 인증값(설정값)을 제시하기 위해 균질성이 확인된 시료를 확립된 분석방법에 따라 30반복 추출 및 분석 후 계산된 평균값을 인증값으로 사용하였으며 0.322~4.088 mg/kg 범위였다.

KS A ISO Guide 35에 따라 그룹 간의 일원분산분석법에 따라 계산된 병간표준편차(S_{wb})는 0.027~0.235 mg/kg으로 설정된 인증값의 3.28~11.26%였으며 병내 표준편차(S_{bb})는 0.009~0.078 mg/kg으로 인증값의 0.45~4.41%였다. Carbendazim, tebuconazole, pyridaben은 병간의 평균제공 M_{among} 값이 병내의 평균제공 M_{within}보다 작아 병간 표준편차(s_{bb}) 값을 산출할 수 없었다. 이런 결과는 KS A ISO Guide 35

Table 4. Results of Standard uncertainties for cherry tomato analytical reference material

No.	Pesticides	Assigned values (mg/kg)	KS A ISO Guide 35					
			$s_{wb}^{1)}$		$s_{bb}^{2)}$		$u_{bb}^{*3)}$	
			mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%
1	Acetamiprid	2.694 ± 0.089	0.088	3.28	0.012	0.45	0.026	0.98
2	Buprofezin	1.375 ± 0.159	0.155	11.26	0.038	2.77	0.046	3.36
3	Carbendazim	4.088 ± 0.225	0.235	5.75	Negative value		0.070	1.72
4	Diethofencarb	0.322 ± 0.029	0.027	8.52	0.009	2.80	0.008	2.54
5	Tebuconazole	1.141 ± 0.096	0.099	8.65	Negative value		0.029	2.58
6	Tebufenozide	2.262 ± 0.197	0.182	8.05	0.078	3.46	0.054	2.40
7	Tetraconazole	0.845 ± 0.063	0.059	6.93	0.023	2.73	0.017	2.07
8	Pyraclostrobin	1.795 ± 0.151	0.142	7.92	0.053	2.98	0.042	2.36
9	Pyridaben	0.983 ± 0.081	0.081	8.24	Negative value		0.024	2.46
10	Pyriproxyfen	1.031 ± 0.075	0.061	5.89	0.046	4.41	0.018	1.76

¹⁾ Within-samples standard deviation

²⁾ Between-samples standard deviation

³⁾ Uncertainty

와 Kim et al. (2010)에 따라 매우 균질할 경우 발생하는 것으로 분석에 의해 발생한 표준편차가 표준물질 제조 시 균질성 상태에 따라 발생한 편차보다 크게 나타났기 때문인 것으로 판단될 수 있다. 균질도에 의한 표준불확도 u_{bb}^* 의 값은 0.008~0.070 mg/kg으로 인증값 기준으로 0.98~3.36%였다.

KS A ISO Guide 35에 따르면 일반적으로 표준불확도는 과대평가를 막기 위해 s_{bb} 와 u_{bb}^* 중 큰 값을 제시하고 사용하도록 되어 있다. 본 연구에서는 병간표준편차(S_{wb}), 병내 표준편차(S_{bb}) 표준불확도(u_{bb}^*)의 모든 값을 Table 4에 제시하였으며 모든 값이 전체적으로 인증값의 11.26% 이하로 확인되어 분석표준물질이 숙련도평가로 사용 될 경우, 표준불확도의 값이 평가결과에 미치는 영향은 매우 낮을 것으로 판단된다(Thompson et al., 2006).

본 연구에서는 방울토마토시료를 이용한 농약다성분 분석 표준물질을 개발하였으며 acetamiprid, buprofezin, carbendazim, diethofencarb, tebuconazole, tebufenozide, tetraconazole, pyraclostrobin, pridaben, pyriproxyfen의 총 10종의 농약성분이 포함되도록 하였다. 분석표준물질의 적합성을 판단하기 위해 KS Q ISO Guide 13528, EURL-PT (IUPAC)에 따른 균질성을 확보하고 KS A ISO Guide 35에 따른 표준불확도를 산출하였다. 통계적 분석을 통해 10종의 농약성분들은 병내와 병간에 모두 균질하게 분포되어 있음을 확인하였으며 확립된 분석방법을 통해 균질된 시료 내 각 농약들의 인증값(설정값)을 계산할 수 있었다.

따라서 개발된 토마토 농약다성분 분석표준물질은 향후 숙련도 평가용으로 활용이 가능할 것으로 보이며 이에 따라 농약잔류분석 기관에서 측정하는 농약의 잔류분석결과와 신뢰성과 일관성을 확보할 수 있는 도구로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

This study was carried out with the support of Rural Development Administration (Project No. PJ010857022017), Republic of Korea.

Literature Cited

- Bhanti, M. and A. Taneja (2007) Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India. *Chemosphere*, 69(1):63-68.
- Choi, K. I., K. Y. Seong, T. G. Jeong, J. H. Lee, J. H. Hur, K. Y. Ko, K. Y. Lee and K. S. Lee (2002) Dissipation and removal rate of dichlofluanid and iprodione residues on greenhouse cherry tomato. *Korean J. Environ. Agric.* 21(4):231-236.
- Fernandez-Alba, A. R. (2004) *Chromatographic-mass spectrometric food analysis for trace determination of pesticide residues*, 1st Edition, 43. Amsterdam: Elsevier Science.
- Grimalt, G., S. Harbeck, P. Shegunova, J. Seghers, B. Sejerø Olsen, H. Emteborg and M. Dabrio (2015) Development of a new cucumber reference material for pesticide residue analysis: feasibility study for material processing homogeneity and stability assessment. *Anal. Bioanal. Chem.* 407(11): 3083-3091.
- Kim, J. H., Y. G. Oh, S. G. Choi, S. M. Hong, S. B. Kim, I. D. Woo, J. Y. Kim and J. S. Seo (2016) Development of Analytical Reference Material for Proficiency Test of Pesticide Multi-residue Analysis in Tomato. *Korean J. Environ. Agric.* 35(3):222-233.
- Kim, S. H., W. J. Choe, Y. K. Baik and W. S. Kim (2008) Monitoring of Pesticide Residues and Risk Assessment of

Agricultural Products Consumed in South Korea, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 37(11):1515-1522.

Kim, Y. H., K. B. Song, S. K. Shin, J. S. Lee, G. T. Jeong, E. J. Hong, J. J. Park and S. M. Yu (2010) Preparation of wastewater-based reference materials for heavy metal analysis and interlaboratory study. Anal. Sci. Tech. 23(3):295-303.

KS A ISO Guide 35 (2005) Certification of reference materials- General and statistical principles. Korean Agency for Technology and Standard.

KS Q ISO 13528 (2009) Statistical method for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. Korean Agency for Technology and Standard.

Medina-Pastor P., C. Rodriguez-Torreblanca, A. Andersson and A. R. Fernandez-Alba (2010) European Commission proficiency tests for pesticide residues in fruits and vegetables. Trends Anal. Chem. 29(1):70-83.

Otake, T., T. Yarita, Y. Aoyagi, Y. Kuroda, M. Numata, H. Iwata, M. Watai, H. Mitsuda, T. Fujikawa and H. Ota (2013) Development of apple certified reference material for quantification of organophosphorus and pyrethroid pesticides. Food chem. 138(2):1243-1249.

Thompson, M., S. L. Ellison and R. Wood (2006) The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. Pure Appl Chem, 78(1):145-196.

Van Leeuwen, S. P. J., R. Van Cleuvenbergen, M. Abalos, A-L. Pasini, U. Eriksson, M. Cleemann, J. Hajslova and J. de Boer (2006) New certified and candidate certified reference materials for the analysis of PCBs, PCDD/Fs, OCPs and BFRs in the environment and food. Trends Anal. Chem. 25(4):397-409.

Yarita, T., T. Otake, Y. Aoyagi, Y. Kuroda, Numata, H. Iwata, M. Watai, H. Mitsuda, T. Fujikawa and H. Ota (2014) Development of soybean certified reference material for pesticide residue analysis. Talanta, 119:255-261.

잔류농약 다성분 동시분석 숙련도평가용
방울토마토 분석표준물질의 개발

김종환 · 안지영 · 최성길 · 권영상 · 신민철 · 홍수명¹ · 서종수*

안전성평가연구소 환경독성연구센터, ¹국립농업과학원 농산물안전성부 농자재평가과

요약 본 연구는 숙련도평가용 방울토마토 농약다성분 분석표준물질을 개발하기 위해 수행하였다. 총 10종의 농약성분(acetamiprid, buprofezin, carbendazim, diethofencarb, tebuconazole, tebufenozide, tetraconazole, pyraclostrobin, pridaben, pyriproxyfen)이 적용되었으며 KS A ISO Guideline 35 (2005)/KS Q ISO Guideline 13528 (2009)와 유럽의 EURL-PT (IUPAC)의 평가방법에 따라 균질성(병내/병간의 균질도), 병간/병내의 표준편차, 표준불확도의 적합성을 확인하였다. 균질성 평가결과, 시료 간의 표준편차(S_b)가 허용표준편차(σ)의 0.3배 이하로 적합하였으며 일원분산 분석법의 F test 결과에서도 모든 농약성분이 균질하게 분포되어 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 균질성에 의한 표준불확도(u_{bb}^*)는 인증값의 0.98~3.36%로 매우 낮음을 확인하였다. 따라서, 본 연구를 통해 개발된 방울토마토 분석표준물질은 잔류분석기관의 숙련도평가용으로 활용될 수 있을 것으로 보이며, 향후 표준물질의 사용으로 인해 잔류분석결과에 신뢰성 및 일관성을 확보할 수 있을 것으로 보인다.

색인어 숙련도평가, 균질성, 표준불확도, 분석표준물질