pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 38, No. 6, pp. 420~429 (2023)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2023.38.6.420

**Journal of Food Hygiene and Safety**
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

# GC-MS/MS를 이용한 원유 원료 중 농약 동시분석법 확립

**최영내[1] · 신윤호[3] · 조황의[2]* · 김정복[3]***
[1]한국식품과학연구원, [2]전북대학교 약학대학
[3]유한대학교 건강생명학부 유한생명바이오학과

# Development of Simultaneous Analysis for Multiple Agricultural Pesticides in Raw Milk Products using GC-MS/MS

Young Nae Choi[1], Yoon ho Shin[3], Hwangeui Cho[2]*, Jung Bok Kim[3]*
*[1]Korea Advanced Food Research Institute, Uiwang, Korea*
*[2]School of Pharmacy, Jeonbuk National University, Jeonju-si, Korea*
*[3]Dept. of Yuhan Biotechnology, Schcool of Bio-Health Sciences, Yuhan University Bucheon, Korea*

(Received July 12, 2023/Revised October 20, 2023/Accepted November 7 2023)

**ABSTRACT -** GC-MS/MS using liquid-liquid extraction (LLE) and C18 cartridges was used to identify and quantify levels of chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin and permethrin in bulk raw milk. A calibration curve spanning 10 ng/mL to 200 ng/mL was obtained with a satisfactory correlation coefficient of 0.99. The limits of detection (LOD) and limits of quantitation (LOQ) for chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin, and permethrin in the matrix ranged from 0.06 to 1.81 ng/mL and 0.19 to 6.04 ng/mL, respectively. The recoveries of 5 pesticides from spiked samples at 37.5-125 ng/mL ranged from 86.1 to 102.1%. The measurement of uncertainty of the GC-MS/MS method for these five pesticides was developed based on the analytical process and quantification. An analysis method that is easier and faster than the method specified in the Korean food standards codes for analyzing these five pesticides in raw material milk was developed. Moreover, the analytical method for chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin, and permethrin in bulk raw milk by GC-MS/MS was established.

**Key words:** Pesticides, Raw material milk, LLE, C18, GC-MS/MS

최근 기후와 환경변화로 인해 잔류농약의 종류 및 사용량이 국내외적으로 증가하면서, 소비자들은 잔류 농약의 대한 안전 및 안정성에 대한 소비자들의 관심이 증가하고 있다[1-3].

2019년도 발간된 국내 한국작물보호협회의 농약연보 자료에 의하면 2014-2018년 농약 약제별 생산 및 출하 현황 중 살충제는 매년 가장 많이 증가되었다. 일부 살충제의 경우 식물에 잔류 가능성이 있어 가축의 사료로 사용될 경우 섭취한 젖소의 지방 조직에 살충제 성분이 축적되고, 이 성분이 원유에 혼입 및 잔류될 가능성이 있다고 보고되었다[4].

농림축산식품부 자료에 의하면 국내 원유 소비량의 경우 5년간 유제품 전체 소비량은 매년 증가하였고, 1인당 흰원유의 소비량이 전체 유제품 소비량 중 25%이상을 차지하는 것으로 보고되었다. 따라서 다양한 소비층과 많은 양을 소비하는 원유의 경우 유해물질의 대한 안전성 확보는 반드시 필요한 부분이다.

이러한 이유로 본 연구에서는 원유 중에 잔류 할 수 있는 살충제의 용도로 사용되는 농약 성분 중 국내에서 가장 많이 사용되어지고 있는 살충제인 유기인계, 피레스로이드계 농약 5개를 대상분석물질로 선정하였다. 선정된 5

*Correspondence to: Jung Bok Kim, Dept. of Yuhan Biotechnology, Schcool of Bio-Health Sciences, Yuhan University Bucheon 14780, Korea
Tel: +82-2-2610-0872, Fax: +82-2-2610-0874
Email: amsam@yuhan.ac.kr
*Correspondence to: Hwangeui Cho, School of Pharmacy, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea
Tel: +82-63-219-5653, Fax: +82-63-219-5638
Email: hecho@jbnu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution,and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

개의 농약성분은 유기인계 농약성분 chlorpyrifos와 chlorpyrifos methyl과, 피레스로이계인 cyperme -thrin, deltamethrin 및 permethrin으로 구분하여 선정하였다.

국내외 선행연구로는, 경기도내 유통건조 농산물 중 chlorpyrifos, cypermethrin 및 deltamethrin 분석을 위해 식품공전의 다종농약다성분 분석법(2법)을 적용하여 Gas Chromatography-Electron Capture Detector (GC-μECD), Gas Chromatography -Nitrogen Phosphorous Detector (GC-NPD)을 이용하여 분석하였고, 정성분석을 위해 Gas Chromatography-time of Flight Mass Spectrometry (GC-TOF MS)를 이용하였다. 검량선의 범위는 0.1-0.8 mg/kg, 검출한계는 0.006-0.01 mg/kg으로 확인되었다[5]. Chandra 등[6]은 GC-μECD 를 이용해 야채 중의 cypermethrin와 chlorpyrifos를 분석하기 위해 florisil과 activated charcoal (5:1 w/w)가 충진된 카트리지를 시료 전처리에 사용하였다. 두 물질의 검량선 0.02-1.00 mg/kg, 검출한계는 0.005 mg/kg, 정량한계는 0.02 mg/kg, 90.80-91.80%의 회수율 그리고 4.58% (Relative standard deviation, RSD) 이하로 확인되었다.

Shamsipur 등[7]은 물, 원유, 꿀 및 과일주스 시료 중에 permethrin과 deltamethrin 분석을 위해 solid-phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction (SPE-DLLME) 전처리법을 이용하여 GC-MS를 이용하여 분석하였다. 검량선의 범위는 1-5000 ng/kg ($r^2$=0.99이상)으로 확인되었다. 검출한계는 1 ng/kg, 회수율 측정결과는 83.9-102%로 확인되었다. 특히 원유 중 permethrin과 deltamethrin의 500 ng/kg, 5000 ng/kg 농도에서 회수율은 83.9-102% SD는 2.6-11.4로 확인되었다.

Corcellas 등[8]은 모유 중에 cypermethrin, permethrin과 deltamethrin 분석을 위해 시료 전처리법을 적용하여 GC-MS/MS, Negative CI를 mode를 이용하여 분석하였다. 그 결과 회수율은 48-80%, 검출한계는 2.8-1100 pg/g, 정량한계는 8.3-3200 pg/g으로 확인되었다[9].

Hwang 등[10]의 논문에서는 조개류와 두족류 중 cypermethrin와 permethrin 분석을 위해 QuEChERS 방법을 적용하여 GC-MS/MS로 분석하였다. 검량선의 범위는 1-200 ng/mL ($r^2$=0.99이상), 검출한계는 0.1-0.8 ng/g, 정량한계는 0.31-2.41 ng/g으로 확인되었다.

본 연구에서는 원유 원료 중에서 선정전 5가지 살충제 분석을 위해 2가지 전처리 방법을 적용하여 GC-MS/MS를 이용해 동시분석법을 확립하였다. 본 연구에서 확립된 분석법은 기존 식품공전의 분석방법보다 시료전처리 시간이 절약되고 정량분석에 효과적인 것으로 나타났다. 또한 원유 및 원유가공품 중 미량 정량분석이 가능하게 되었으며, 기존 연구보다 낮은 검출한계, 정량한계 그리고 우수한 회수율 값을 가진 유효성이 검증된 정량분석 방법을 확립하였다. 따라서 본 연구 결과를 통해 원유 및 원유 원료 중 범용적으로 사용되는 유기인계, 피레스로이드계 농약성분의 동시 정성 및 정량분석이 가능할 것으로 보이며, 산출된 자료는 기준규격 설정 및 관리에 참고자료가 될 수 있을 것으로 판단된다.

## Materials and Methods

### 시약 및 재료

본 연구에서 사용된 표준품은 chlorpyrifos 99.6%, chlorpyrifos-methyl 99.7%, deltamethrin 99.9%, permethrin 97.7%(Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany), cypermethrin 98.7% (Sigma aldrich, St. Louis, MO, USA)를 각각 구매하여 사용하였다. 시료 전처리와 분석 장비에 용매 아세톤, 석유에테르, 아세토니트릴, 헥산 등은 HPLC grade의 (J.T Baker, Phillipsburg, NJ, USA) 제품을 구매하였다. 시료 전처리에 정제를 위해 사용된 Florisil 카트리지(Agela

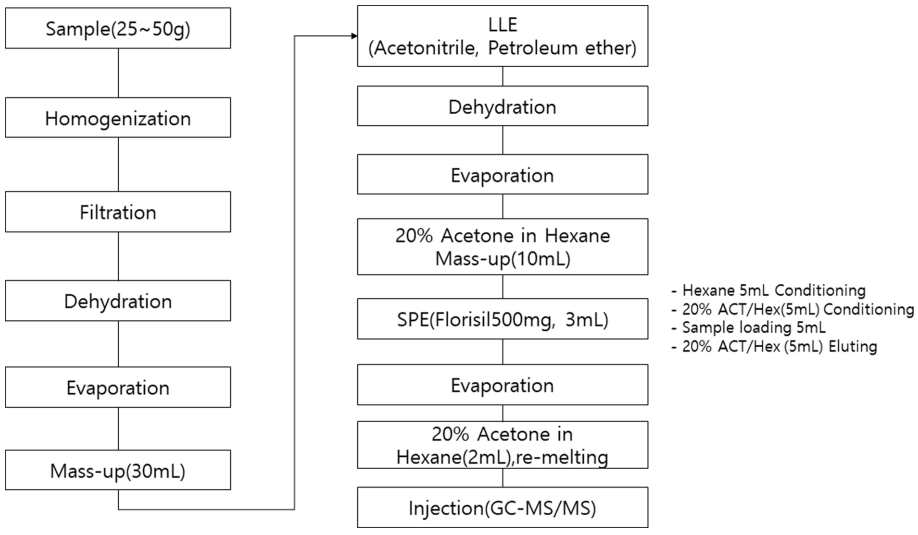


**Fig. 1.** Scheme of sample preparation for chlorpyrifos and chlorpyrifos methyl in sample.

Techonology, Torrance, CA, USA)를 구입하여 사용하였고, 그 외 시험에 사용된 일반 시약들은 특급시약 및 HPLC 등급을 사용하였다.

### 시료 전처리 방법

원유 중 5가지 농약성분인 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 등은 시료와 분석물질의 특성을 고려하여 2그룹으로 나누었으며 식품공전 중 잔류농약분석법[11]를 참고하여 시료 전처리를 확립하였다.

Chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl의 분석을 위해 시료 25 g을 칭량 후 석유에테르로 추출 후 여과한 뒤 감압 농축하였다. 농축된 시료를 석유에테르 이용하여 탈지하였다. 지방이 제거된 시료를 증류수와 석유에테르를 이용하여 추출 후 감압농축하였다. 건고된 시료에 아세톤, 헥산 혼합용액(1:4, v/v) 10 mL로 재용해하여 정제를 위해 Florisil (1 g, 6 cc) 카트리지를 사용하였다. 헥산 5 mL, 20% 아세톤, 헥산 혼합용액(1:4, v/v)으로 카트리지 활성화 용매로 사용하였고, 헥산 혼합용액(1:4, v/v) 5 mL로 용출 한 뒤 질소 농축하였다. 혼합 용매 2 mL로 재용해한 후 GC-MS/MS에 주입하여 분석하였다(Fig. 1).

원유 중 cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 분석을 위해 시료 40 g을 칭량 후 아세톤으로 추출해 감압 여과하였다. 여과액을 분액 깔대기에 증류수와 헥산 첨가하여 진탕 추출 후 헥산 층을 탈수 여과하였다. 농축된 시료를 석유에테르 25 mL로 재용해한 뒤 분액 깔대기에 석유 에테르포화 아세토니트릴 50 mL를 첨가하여 진탕 추출 후 혼합하였다. 합쳐진 여액에 증류수, 포화염화나트륨 용액, 헥산을 첨가해 진탕 추출 여과하여 감압 농축 실시하였다. 석유에테르 30 mL로 재용해된 용액을 분액 깔대기를 사용하여 반복 진탕 추출하여 500 mL 용량플라스크를 이용하여 정용하였다. 건고된 시료는 아세톤, 헥산 혼합용액(1:4, v/v) 10 mL로 재용해 하여 시험용액으로 하여 카트리지를 이용해 정제하였다. 사용된 Florisil (1 g, 6 cc) 카트리지를 헥산 5 mL, 20% 아세톤, 헥산 혼합용액(1:4, v/v)로 활성화 시킨 후 시험용액 5 mL를 주입하였다. 20% 아세톤, 헥산 혼합용액(1:4, v/v) 5 mL로 용출 한 뒤 질소 농축한 뒤 20% 아세톤, 헥산 혼합용액

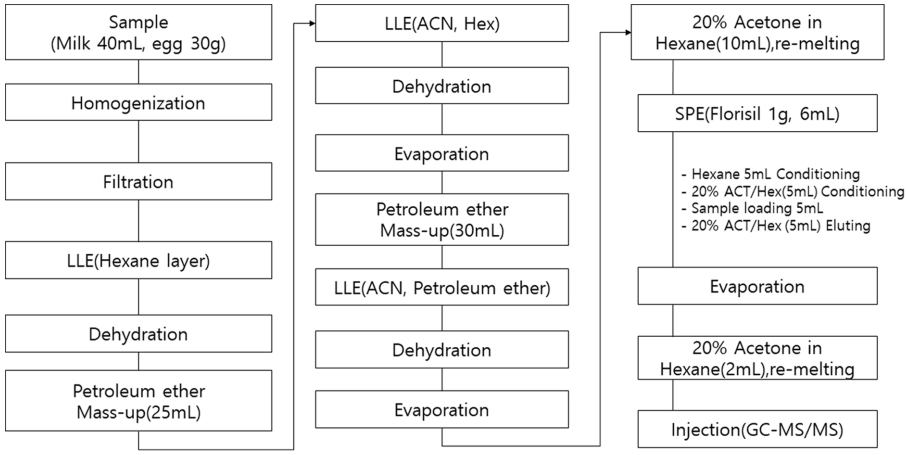


**Fig. 2.** Scheme of sample preparation for cypermethrin, deltamethrin and pemethrin in sample.

**Table 1.** Instrumental conditions of 5 mixture pesticides with GC-MS/MS

| | |
|---|---|
| Instrument | GC-MS/MS (Agilent Triple Quadrupole Gas Chromatography-Mass, Agilent Technologies 70110 GC/MS Triple Quad) |
| Column | HP-5MS (30 m×0.25 mm ID, 0.25 μm) |
| Carrier gas | He (1 mL/min) |
| Injector | 275°C Splitless (Purge Time 0.75 min) |
| Oven | 60°C (2 min) → 30°C/min → 165°C → 15°C/min → 195°C/min (1 min) → 2°C/min →210°C → 5°C/min → 220°C/min → 10°C/min → 300°C (1.5 min) |
| Source temp. | 280°C |
| Quadrupole temp. | Q1 and Q2 150°C |
| Collision gas flow | Nitrogen at 1.5mL/min, Helium at 2.25 mL/min |

(1:4, v/v) 2 mL로 재용해한 후 GC-MS/MS에 주입하여 분석하였다(Fig. 2).

### 기기분석 조건

Chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 표준품 0.1 g을 정밀히 달아 아세톤, 헥산 혼합용액(1:4, v/v)에 녹여 표준원액으로 하고 동일한 용액을 이용해 10-200 ng/mL가 되도록 희석한 용액을 검량선 표준용액으로 하였다. GC-MS/MS 분석에 사용된 기기와 조건은 Table 1과 같다.

### Method validation

본 연구에서는 잔류허용기준이 가장 낮은 matrix를 선정하여 ICH 가이드라인 등 국내외 가이드라인을 준용하여 method validation을 실시하였다[12-16]. Method validation 항목으로는 분석물질과 matrix의 방해와 간섭을 확인하기 위해 선택성과 특이성을 확인하였다. 10-200 ng/mL의 직선범위에서의 직선성을 확인하였고, 검량선내 서로 다른 농도 3가지를 선택하여 이 농도들의 Inter, Intra-day의 정밀성, 정확도 및 회수율을 확인하였다. 추가적으로 method validation의 항목 중 하나인 측정 불확도 산출을 위해 불확도 요인을 선정하였다. Fig. 5와 같이 불확도 요인은 총 5가지로 표준품의 순도, 표준품의 제조, 검량선 5가지 농도, 검량선(회귀분석), 시료의 반복 측정등으로 불확도 요인을 Table 5와 같이 설정하여 각 과정의 오차를 각각 표준불확도를 산출하여 합성 측정불확도를 산출하는 방법을 이용하여 원유 중 chlorpyrifos, chlorpyrifos methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin의 정량분석법에 대한 측정불확도를 산출하였다.

## Results and Discussion

### 시료전처리 및 분석법 확립

식품의 기준 및 규격에 분산되어 기재된 분석 방법을 적용하여 회수율이 낮은 분석법들의 감도와 회수율을 높이고 원유 및 원유 가공품 시료에 적용이 가능한 유효성이 검증된 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 분석 방법 개발하였다. 시료전처리 방법은 액체-액체 추출법과 카트리지를 이용하여 GC-MS/MS 분석법을 확립하였다. 원유 중 5가지 농약성분인 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 등은 시료와 분석 물질의 특성을 고려하여 2그룹으로 나누어 시료전처리를 확립하였다. 또한, 기존의 방법보다 낮은 검출한계와 정량한계 및 우수한 회수율을 확인하였다. Fig. 1과 2 같이 시료 전처리법을 확립하였고, 분석 결과는 Fig. 3, 4의 크로마토그램과 같다.

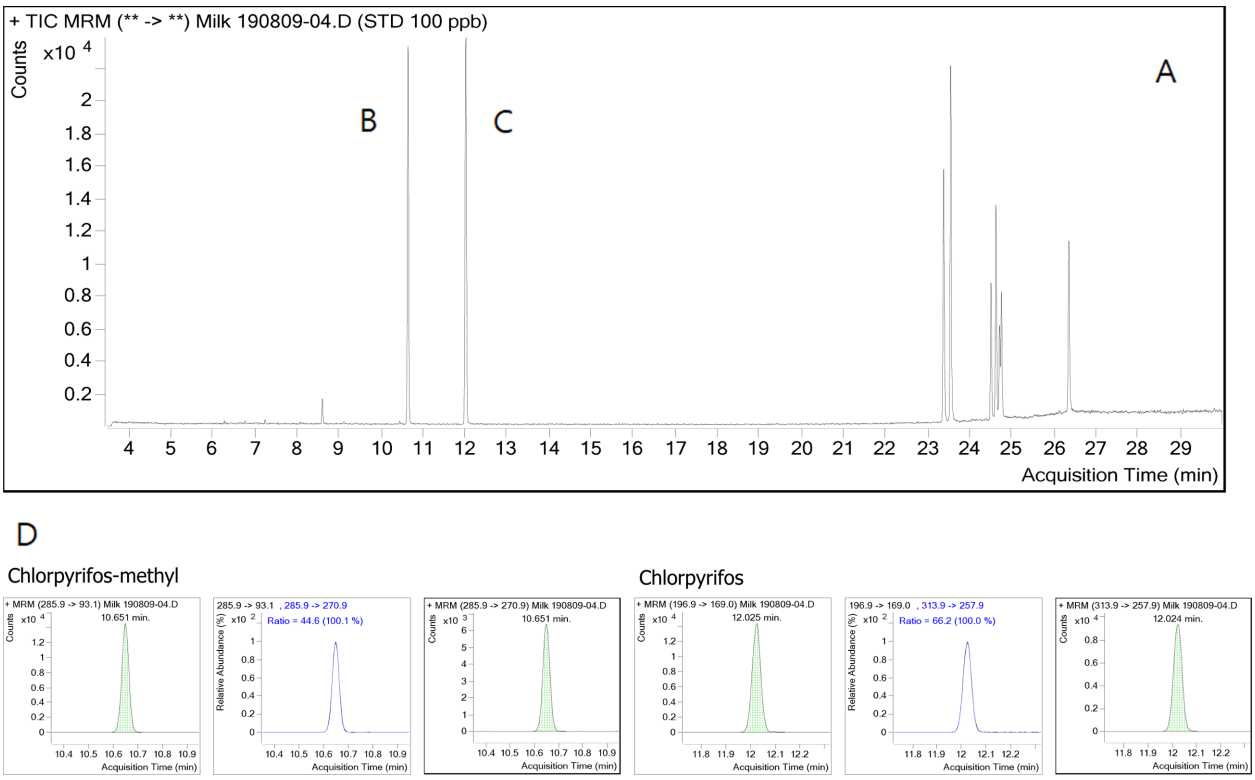


**Fig. 3.** Total ion chromatogram (A), chlorpyrifos methyl (B,D) and chromatogram of chlorpyrifos (C,D) standard (100 ng/mL) with GC-MS/MS.

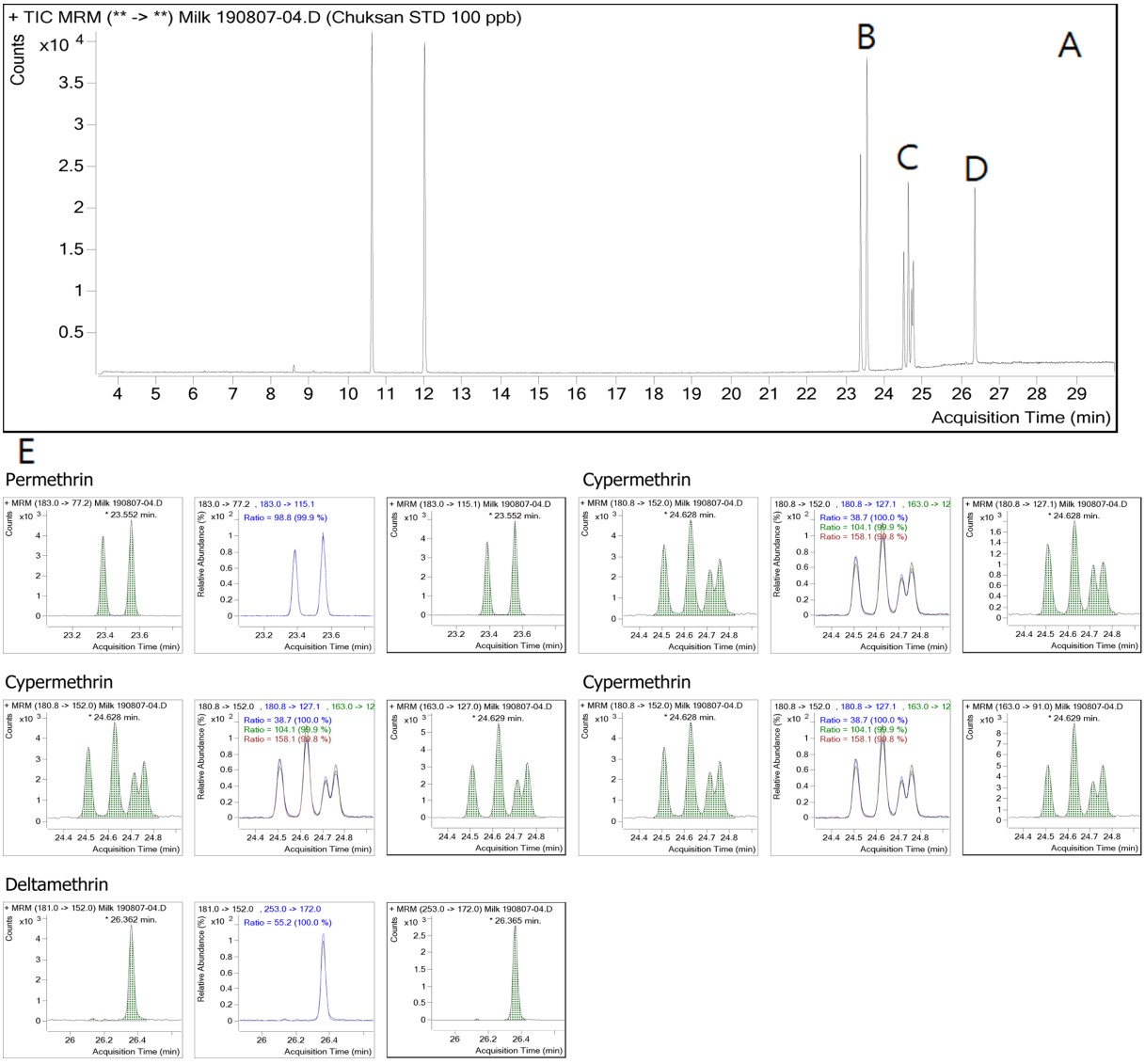


**Fig. 4.** Total ion chromatogram (A) and chromatogram of pemethrin (B,E), cypermethrin (C,E), and deltamethrin (D,E) standard (100 ng/mL) with GC-MS/MS.

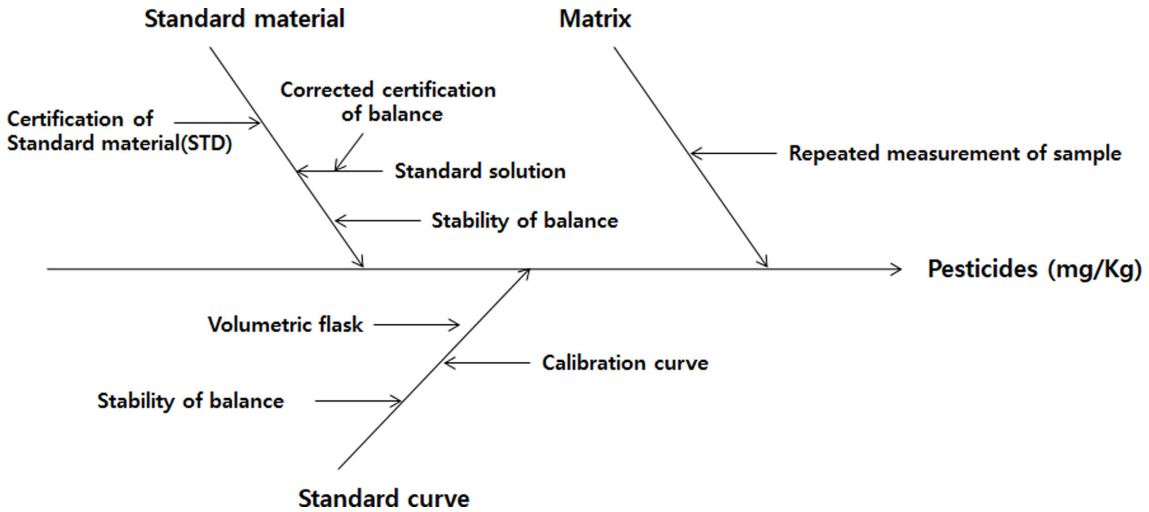


**Fig. 5.** Fish bone diagram of uncertainty for 5 mixture standard.

### 선택성 및 특이성

선택성과 특이성 확인을 위해 시중에 판매되는 원유 시료를 구매하여 확립된 시료전처리방법과 분석방법을 적용하여 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cyperme -thrin, deltamethrin 그리고 permethrin의 피크간섭 여부를 확인하였다. 표준용액을 공시료에 첨가한 뒤 시료 전처리와 분석을 실시하여 chromatogram 상에서 5개 농약 성분들의 머무름 시간과 질량 대 전하비(m/z)가 같은 방해물질과 분석물질의 피크 간섭 여부를 확인하는 방법으로 선택성과 특이성을 확인하였다.

### 직선성

Chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 각 표준용액을 적절히 희석하여 직선성(linearity)을 다음의 표와 같이 확인하였다. 10, 20, 50, 100 그리고 200 ng/mL로 계열 희석 용액을 검량선의 표준용액으로 반복측정(n=3) 결과 5가지의 분석물질에서 결정계수($R^2$)가 0.997 이상의 우수한 직선성을 확인하였다(Table 2). Fig. 3은 chlorpyrifos와 chlorpyrifos-methyl의 표준용액 100 ng/mL의 total ion chromatography (TIC)와 각각의 분석물질의 chromatogram, Fig. 4는 검량선내 표준용액 100 ng/mL의 cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin의 TIC와 chromatogram이다.

### 일내, 일간 정밀성 및 정확성

정밀성과 정확성 확인을 위해 검량선내 3가지 농도 10,

**Table 2.** Linearity result of 5 mixture pesticides in matrix

| Analyte | STD Range | Day | $R^2$ | Slope | Intercept |
|---|---|---|---|---|---|
| Chlorpyrifos | 10-200 ng/mL | 1 day | 0.9995 | 36.8 | -194.9 |
| | | 2 day | 0.9996 | 49.7 | -164.5 |
| | | 3 day | 0.9985 | 37.5 | -113.5 |
| | | Mean (n=3) | 0.9992 | 41.4 | -157.6 |
| Chlorpyrifos-methyl | 10-200 ng/mL | 1 day | 0.9979 | 29.2 | -110.0 |
| | | 2 day | 0.9994 | 40.2 | -128.5 |
| | | 3 day | 0.9988 | 30.3 | -94.8 |
| | | Mean (n=3) | 0.9987 | 33.2 | -111.1 |
| Cypermethrin | 10-200 ng/mL | 1 day | 0.9991 | 21.7 | -58.9 |
| | | 2 day | 0.9999 | 30.6 | -26.4 |
| | | 3 day | 0.9974 | 26.8 | -66.2 |
| | | Mean (n=3) | 0.9988 | 26.4 | -50.5 |
| Deltamethrin | 10-200 ng/mL | 1 day | 0.9984 | 6.2 | -19.8 |
| | | 2 day | 0.9996 | 7.8 | -10.1 |
| | | 3 day | 0.9979 | 5.7 | -5.4 |
| | | Mean (n=3) | 0.9986 | 6.6 | -11.8 |
| Permethrin | 10-200 ng/mL | 1 day | 0.9994 | 20.4 | -108.9 |
| | | 2 day | 0.9995 | 30.2 | -38.6 |
| | | 3 day | 0.9993 | 26.3 | -155.1 |
| | | Mean (n=3) | 0.9994 | 25.7 | -100.8 |

**Table 3.** Result of accuracy and precision in Intra and Inter-day (3 day)

| | | Parameter | Conc. (ng/mL, n=3) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 10 | 20 | 50 |
| Chlorpyrifos | Intra-day | Mean (n=3) | 11.6 | 21.7 | 54.4 |
| | | Precision (%) | 0.5 | 0.9 | 1.3 |
| | | Accuracy (%) | 115.5 | 108.3 | 108.8 |
| | Inter-day (3 day) | Mean (n=3) | 11.1 | 20.4 | 52.9 |
| | | Precision (%) | 4.6 | 6.1 | 4.0 |
| | | Accuracy (%) | 111.4 | 102.2 | 105.9 |

**Table 3.** (Continued) Result of accuracy and precision in Intra and Inter-day (3 day)

| | | Parameter | Conc. (ng/mL, n=3) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 10 | 20 | 50 |
| Chlorpyrifos-methyl | Intra-day | Mean (n=3) | 11.3 | 22.3 | 52.3 |
| | | Precision (%) | 1.4 | 0.9 | 1.3 |
| | | Accuracy (%) | 113.1 | 111.6 | 104.6 |
| | Inter-day (3 day) | Mean (n=3) | 10.9 | 20.2 | 51.7 |
| | | Precision (%) | 9.1 | 10.3 | 0.9 |
| | | Accuracy (%) | 108.5 | 100.9 | 103.4 |
| Cypermethrin | Intra-day | Mean (n=3) | 11.7 | 21.8 | 53.9 |
| | | Precision (%) | 1.7 | 0.6 | 1.3 |
| | | Accuracy (%) | 117.5 | 109.2 | 107.9 |
| | Inter-day (3 day) | Mean (n=3) | 11.7 | 22.1 | 53.4 |
| | | Precision (%) | 4.1 | 4.1 | 5.6 |
| | | Accuracy (%) | 116.8 | 110.3 | 106.8 |
| Deltamethrin | Intra-day | Mean (n=3) | 11.6 | 21.7 | 52.5 |
| | | Precision (%) | 3.2 | 0.4 | 0.8 |
| | | Accuracy (%) | 115.8 | 108.6 | 105.0 |
| | Inter-day (3 day) | Mean (n=3) | 11.4 | 21.7 | 51.3 |
| | | Precision (%) | 3.3 | 0.1 | 5.7 |
| | | Accuracy (%) | 114.0 | 108.3 | 102.6 |
| Permethrin | Intra-day | Mean (n=3) | 11.3 | 17.9 | 52.1 |
| | | Precision (%) | 1.4 | 3.3 | 1.2 |
| | | Accuracy (%) | 113.3 | 89.3 | 104.3 |
| | Inter-day (3 day) | Mean (n=3) | 11.6 | 19.1 | 50.1 |
| | | Precision (%) | 4.1 | 7.9 | 3.8 |
| | | Accuracy (%) | 115.5 | 95.7 | 100.3 |

20, 50 ng/mL를 선정하여 일내와 일간의 정밀성 및 정확성을 측정하였다. 그 결과 chlorpyrifos의 일내 일간 정밀성은 6.1% 이하, 정확성은 102.2-115.5%, chlorpyrifos-methyl의 일내 일간 정밀성은 10.3% 이하, 정확성은 100.9-113.1%, cypermethrin의 일내 일간 정밀성은 5.6% 이하, 정확성은 106.8-117.5%, deltamethrin의 일내 일간 정밀성은 5.7% 이하, 정확성은 102.6-115.8%, permethrin의 일내 일간 정밀성은 7.9% 이하, 정확성은 89.3-115.5%로 확인되었다(Table 3).

### 회수율, 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)

확립된 분석법의 회수율 측정을 위해 농약기준 규격의 잔류허용기준을 참고하여 가장 낮은 농도를 선정하여 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin, permethrin의 회수율 실험을 진행하였으며 그 결과를 Table 4로 나타내었다.

그 결과 각각의 농도에서 회수율은 86.1%-102.1%로 확인되었다. 5가지 분석물질의 검출한계 및 정량한계의 결과 도출을 위해 낮은 농도를 선정하여 반복분석 한 뒤 signal/noise (S/N) ratio법을 이용하여 원유 내 chlorpyrifos, chlorpyrifos methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin의 검출한계 및 정량한계를 산출하였다. 검출한계 및 정량한계 산출을 위해 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl의 경우 125 ng/mL의 농도, cypermethrin, deltamethrin, permethrin 등은 37.5 ng/mL 농도를 이용하였다. 그 결과 Table 4와 같이 검출한계는 0.06-1.81 ng/mL, 정량한계는 0.19-6.04 ng/mL로 확인되었다. 기존 연구 중 원유에서 permethrin, deltamethrin을 분석한 연구보다 동시 분석을 실시함에도 불구하고 낮은농도와 재현성 잇는 검출 및 정량한계 값을 확인하였다. 또한 회수율 결과에서도 기존 연구 결과와 비교한 결과 5가지 대상 분석물질을 대상으로 동시 분석을 실시함에도 불구하고 더 높은 회수율 결과를 확인하였다.

**Table 4.** Result of recovery and LOD?LOQ in matrix

| Analyte | Conc. (ng/mL) | Recovery (%) | LOD (ng/mL) | LOQ (ng/mL) |
|---|---|---|---|---|
| Chlorpyrifos | 125 | 90.4 | 0.27 | 0.90 |
| Chlorpyrifos-methyl | | 86.1 | 0.06 | 0.19 |
| Cypermethrin | 37.5 | 102.1 | 0.74 | 2.47 |
| Deltamethrin | | 93.6 | 1.06 | 3.54 |
| Permethrin | | 86.9 | 1.81 | 6.04 |

**Table 5.** Result of uncertainty for 5 mixture pesticides

| | Parameters of uncertainty | Result | Unit |
|---|---|---|---|
| Chlorpyrifos | Certified concentration | 6.35 | mg/kg |
| | The result of uncertainty | 6.35±0.32 (k=2, 95% confidence level) | mg/kg |
| | Expanded uncertainty (U) | 0.32 | mg/kg |
| Chlorpyrifosmethyl | Certified concentration | 6.20 | mg/kg |
| | The result of uncertainty | 6.20±0.17 (k=2, 95% confidence level) | mg/kg |
| | Expanded uncertainty (U) | 0.17 | mg/kg |
| Cypermethrin | Certified concentration | 6.41 | mg/kg |
| | The result of uncertainty | 6.45±0.45 (k=2, 95% confidence level) | mg/kg |
| | Expanded uncertainty (U) | 0.45 | mg/kg |
| Deltamethrin | Certified concentration | 6.28 | mg/kg |
| | The result of uncertainty | 6.28±0.20 (k=2, 95% confidence level) | mg/kg |
| | Expanded uncertainty (U) | 0.20 | mg/kg |
| Permethrin | Certified concentration | 6.10 | mg/kg |
| | The result of uncertainty | 6.10±0.56 (k=2, 95% confidence level) | mg/kg |
| | Expanded uncertainty (U) | 0.56 | mg/kg |

### 측정불확도 결과

Chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin의 측정 불확도를 산출하기 위해 설정된 불확도 요인은 총 5가지로 표준품의 순도, 표준품의 제조, 검량선 농도, 검량선(회귀분석), 시료의 반복 측정 등으로 불확도 요인을 설정하여 각각의 불확도 요인과 자유도를 이용하여 합성상대표준불확도, 합성표준불확도, 포함인자 및 시료 측정 결과로 확장 불확도를 산출하였다. 그 결과 신뢰수준 95% k=2에서 chlorpyrifos 6.35±0.32 mg/kg, chlorpyrifos-methyl 6.20±0.17 mg/kg, cypermethrin 6.45 ±0.45 mg/kg, deltamethrin 6.28±0.20 mg/kg, permethrin 6.10±0.56 mg/kg 으로 불확도 값을 산출하였고, 실험과정과 결과에서 발생되는 측정값의 오차율을 줄일 수 있는 결과를 도출하였다(Table 5).

## Conclusion

본 연구에서 원유 중 대상물질로 선정된 5가지의 물질은 농약에서 가장 많이 사용되고 있는 유기인계, 피레스로이드계 농약으로 소비자의 안전을 위해 반드시 정량 분석법 확립이 선제적으로 필요하다. 하지만 식품공전에 제시된 분석방법을 적용하는 경우 여러 가지 문제점들이 발생하고 있다. 본 연구에서 확립된 GC MS/MS를 활용한 5가지 물질의 동시분석방법은 method validation을 통해 검증해 봤을 때, 식품공전의 명기된 방법 보다 분석시간과 비용적인 측면에서 효과적이고 효율적인 것으로 나타났다. 5가지 분석물질의 검출한계 및 정량한계는 Table 4에 제시되어 있으며, 검출한계는 0.06-1.81 ng/mL, 정량한계는 0.19-6.04 ng/mL로 확인되었다. 본 연구결과에서 확립된 방법은 5가지 물질의 동시분석이 가능하면서도, 기존 방법보다 더 낮은 검출한계

와 정량한계를 보였다. 따라서 본 방법은 원유 중 극미량으로 잔류 가능한 농약성분의 정량 및 정성검출에 효과적일 것으로 보인다. 또한 본 연구결과는 원유 중 잔류 할 수 있는 미량의 농약 성분의 기준규격 설정과 안전 관리에 좋은 참고 자료가 될 것으로 판단된다.

## Acknowledgement

본 연구는 식품의약품안전평가원 “2018년도 원유 잔류물질 시범조사(11-1471000-000349-01) 연구개발비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 국문요약

본 연구에 선정된 농약성분은 사용목적에 따른 분류 기준으로 살충제에 해당되며, 유효성분 조성에 따른 분류의 경우 유기인계 농약성분 2가지, 농약 중 가장 범용적으로 사용되고 있는 피레스로이드 농약성분 3가지이다. 원유 중 5가지 농약성분인 chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, cypermethrin, deltamethrin 및 permethrin 등은 시료와 분석물질의 특성을 고려하여 2그룹으로 나누어 시료전처리를 확립하였고 LLE와 카트리지를 이용하여 원유 중에 농약성분을 분석하였다. GC-MS/MS을 이용하였고 사용된 컬럼은 HP-5MS (30 m×0.25 mm ID, 0.25 μm)를 사용하였다. 검량선의 농도는 10-200 ng/mL이고, 각각의 분석물질의 결정계수($R^2$)가 0.997 이상으로 확인하였다. 정밀성과 정확성을 확인하기 위해 검량선 내 3가지 농도 선정하여 일내와 일간의 정밀성 및 정확성을 측정하였다. 5개의 분석물질의 일내 일간 정밀성은 10.3% 이하, 정확성은 100.9-117.5%의 범위로 확인되었다. 확립된 분석법의 회수율 측정을 위해 농약기준 규격의 잔류허용기준을 참고하여 가장 낮은 농도를 선정하였고 회수율은 86.1%-102.1%로 확인되었다. 물질의 검출한계 및 정량한계의 농도 범위는 37.5-125 ng/mL로 산출되었다. 측정 불확도를 산출하기 위해 설정된 불확도 요인을 설정하여 산출하였다. 그 결과 신뢰수준 95% k=2에서 chlorpyrifos 6.35±0.32 mg/kg, chlorpyrifos-methyl 6.20±0.17 mg/kg, cypermethrin 6.45±0.45 mg/kg, deltamethrin 6.28±0.20 mg/kg, permethrin 6.10±0.56 mg/kg 으로 불확도 값을 산출하여 원유 중 5가지 농약 성분의 유효성이 검증된 분석법을 확립하였다. 본 연구결과를 통해 원유 중 미량으로 잔류할 수 있는 농약성분의 검출이 가능한 것으로 나타났다. 본 연구결과는 기준규격 설정과 관리에 좋은 참고 자료가 될 것으로 판단된다.

## Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

## ORCID

Choi Young Nae https://orcid.org/0000-0001-9588-4627
Shin Yoon Ho https://orcid.org/0009-0006-1414-6438
Cho Hwang eui https://orcid.org/0000-0001-9220-7225
Kim Jung Bok https://orcid.org/0009-0007-8738-3970

## References

1. Castro, R., Moyano, E., Galceran. M,T., On-line ion-pair solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry for the analysis of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr. A.,* **869,** 441-449 (2000).
2. Castro, R., Moyano, E., Galceran, M.T., Determination of quaternary ammonium pesticides by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.*, **914,** 111-121 (2001).
3. Vahl, M., Graven, A., Juhler, R.K., Analysis of chlormequat residues in grain using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). *J. Anal. Chem.*, **361,** 817-820 (1998).
4. Zhang, Y., Muench, S.B., Schulze, H., Perz, R., Yang, B., Schmid, R.D., Bachmann, T.T., Disposable biosensor test for organophosphate and carbamate insecticides in milk. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 5110-5115 (2005).
5. Lee, M.J., Kim, M.G., Jeong, H.R., Yun, H.J., Kim, N.Y., Kim, H.T., Kim, C.Y., Lee, W.H., Yoon, M.H., Residual pesticides in dried agricultural products collected from Gyeonggi province. *Korean J. Pes. Sci.*, **15,** 238-245 (2011).
6. Chandra, S., Mahindrakar, A.N., Shinde, L.P., Determination of cypermethrin and chlorpyrifos in vegetables by GC-ECD. *Int. J. Chem. Res.*, **2,** 908-911 (2010).
7. Shamsipur, M., Yazdanfar, N., Ghambarian, M., Combination of solid-phase extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by GC-MS for determination of pesticide residues from water, milk, honey and fruit juice. *Food Chem.*, **204**, 289-297 (2016).
8. Corcellas, C., Feo, M.L., Torres, J.P., Malm, O., Ocampo-Uuque, W., Eljarrat, E., Barceló, D., Pyrethroids in human breast milk: Occurrence and nursing daily intake estimation. *Environ. Int.*, **47,** 17-22 (2012).
9. Feo, M.L., Eljarrat, E., Manaca, M.N., Dobano, C., Barceló, D., Sunyer, J., Alonso, P.L., Menendez, C., Grimalt, J.O., Pyrethroid use-malaria control and individual applications by households for other pests and home garden use. *Environ. Int.*, **38**, 67-72 (2012).
10. Hwang, S. M., Lee, H. U., Kim, J. B., Chung, M. S., Validation of analytical methods for organochlorine pesticide detection in shellfish and cephalopods by GC-MS/MS. *Food Sci. Biotech.*, **29**, 1053-1062 (2020).
11. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2023. Korean food standards codex, General test methods, MFDS, Cheongju, Korea.
12. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS), 2013. Korea food additives code, Part 7. practical commentary on residual pesticide analysis methods method validation, MFDS, Cheongju, Korea.

13. International Conference on Harmonization (ICH), (2023, October 20). Validation of analytical procedure: text and methodology Q2(R1). Retrieved from https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf
14. International Organization for Standardization (IOS), 1993. Guide to the expression of uncertainty in measurements, IOS, Geneva Switzerland.
15. National Institute of Standards and Technology (NIST), 1993. Guideline for evaluating and expressing the uncertainty of NIST measurement results. NIST Technical Note 1297, NIST, Gaithersburg, MD, USA.
16. EURACHEM, (2023, October 20). Quantifying uncertainty in analytical measurement. Retrieved from https://eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2000-1.pdf