pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 30, No. 4, pp. 366~371 (2015)
http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2015.30.4.366

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

다종 농약 다성분 분석법을 이용한 농산물 중 hexaconzole 분석

최수정* · 황인숙 · 조태희 · 이재인 · 이인숙 · 육동현 · 박원희 · 김무상 · 김건희[1]
서울시보건환경연구원 강남농수산물검사소, [1]덕성여자대학교 식품영양학과

Analysis of Hexaconazole in Agricultural Products using Multi Class Pesticide Multiresidue Method

Su Jeong Choi*, In Sook Hwang, Tae Hee Cho, Jae In Lee, In Sook Lee, Dong Hyun Yook, Won Hee Park, Moo Sang Kim, and Gun Hee Kim[1]
Gangnam Agro-marine Products Inspection Center, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment
[1]Department of Food and Nutrition, Duksung Women's University
(Received April 20, 2015/Revised June 20, 2015/Accepted October 8, 2015)

ABSTRACT - This work was conducted to apply the multi class pesticide multiresidue method for determining the use of hexaconazole in the agricultural products using GC-NPD. The multi class pesticide multiresidue method results were validated for the assay of hexaconazole by using linearity, accuracy, precision, limit of detection and quantitation. The linearity in the concentration ranged from 0.025 to 5.0 mg/L ($R^2 > 0.999$). Lettuce recoveries ranged from 89.42% to 94.15% with relative standard deviations below 7.78%, for spiking levels from 0.04 to 4.0 mg/kg. The limit of detection was 0.04 mg/kg, and the limit of quantitation was 0.11 mg/kg. The intra- and inter-day precisions were 2.42~3.49% and 4.90~7.78%, respectively. We suggested that the multi class pesticide multiresidue method for determining hexaconazole was highly accurate and reproducible, and it will be used as a routine analysis in agricultural products.

Key words : Hexaconazole, GC-NPD, Agricultural products

Hexaconzole[(RS)-2-(2,4-dichlorophenyl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)hexan-2-ol]은 다양한 작물에 곰팡이 병원균을 제어하기 위해 널리 이용되고 있는 1,2,4-triazole기를 가지고 침투성 살균제이다[1]. Triazole계 농약은 ergosterol biosynthesis inhibitor (EBI)계 농약의 한 종류로 침투 이행성, 내우성 농약으로 예방 및 치료효과가 좋아 사용량이 많다[2]. EBI계 농약은 isoprenoid 생합성 경로에 관여하여 병원성 미생물의 세포막 ergosterol 생합성을 저해하여 병원균 증식을 저해한다[3]. Triazole계 잔류농약 분석에 흔히 이용되는 방법은 ECD (electron capture detector)[4,5]나 NPD (nitrogen phosphorous detector)[6,7]를 이용한 GC 분석과 SIM (selective ion monitoring)이나 Full scan mode에서의 GC-MS[8,9]분석법이 가장 많이 사용되고 있다.

*Correspondence to: Su Jeong Choi, Gangnam Agro-marine Products Inspection Center, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul 05699, Korea
Tel: 82-2-3401-6291, Fax: 82-2-3401-6742
E-mail: csj79@seoul.go.kr

잔류농약 분석법은 그 분석목적과 1회 검사 당 가능한 농약성분 수에 따라 다성분 분석법(multiresidue analytical method)과 개별 분석법(individual analytical method)으로 나뉜다. 개별 분석법은 농약의 등록 및 규제를 위해 주로 사용되며 분석의 신뢰성이 요구될 때 이용된다. 농약의 등록을 위한 분석은 재배중인 작물에 농약을 살포·채취 분석하여 해당 작물의 농약 잔류 정도를 파악하기 위해 농약에 가장 적합한 분석방법을 선정하여 분석하게 되므로 분석 감도와 정밀성이 높고, 신뢰도가 보장된다. 다성분 분석법은 주로 잔류농약 모니터링 목적에 적합한 방법으로 분석 1회 검사 당 수십 가지 이상의 농약성분을 동시에 분석할 수 있어 분석효율이 매우 높으나 농약 성분마다 최적의 분석방법을 적용하는 것이 불가능하며 각각의 성분에 대한 정밀도나 신뢰성이 낮은 단점이 있다[10].

식품공전에서 대부분의 triazole계 농약은 GC-NPD를 이용한 다종 농약 다성분 분석법 제2법을 적용하고 있는데, hexaconzole은 구조적 유사성에도 불구하고 다성분 분석법을 사용한다. 다성분 분석법은 고전적인 glass column 정제방법을 사용하여 장시간이 요구되며, 유기용매가 많

이 사용되어 경제적이지 못한 단점이 있다. 그에 비해 다종 농약 다성분 분석법 제2법은 cartridge column을 사용하여 정제함으로서 짧은 시간 내에 적은 용매로 효율적인 분석이 가능하다.

따라서 본 연구는 대표 농산물에서의 hexaconazole 잔류량 분석을 위한 다종 농약 다성분 분석법 제 2법 적용 연구를 통해 신속·정확한 시험법을 적용하여, 빠른 사후처리로 소비자에게 안전한 농산물을 공급하고자 한다.

Materials and Methods

재료

시료는 식품의약품안전처 식품원재료 분류표에 따른 대표 농산물(상추, 쌀, 배추, 사과, 고추, 감귤)을 서울 대형마트(2014년 1월~3월)에서 구입하여 사용하였으며, 즉시 잔류농약분석용 식품 전처리 방법[11]에 의하여 전체를 분쇄기(Blixer 5A Plus, Robot Coupe, USA)로 분쇄하여 폴리에틸렌 비닐팩에 밀봉 포장하여 냉장(–4°C)보관하면서 실험에 사용하였다.

시약 및 장비

표준품 hexaconazole (99.0%)은 Dr. Ehrenstorfer GmbH사(Augsburg, Germany)에서 구입한 것을 사용하였다. 추출 및 분석에 사용되는 acetonotrile (J.T.Baker, USA), acetone (Kanto, Japan), hexane (Kanto, Japan), ethyl acetate (Kanto, Japan)는 잔류농약 분석용을 사용하였고, sodium sulfate anhydrous (Wako, Japan)은 모두 특급이상의 것을 사용하였고, 정제용 florisil cartridge는 Agilent Technologis (USA)를 사용하였다.

시료를 여과하기 위해 여과용 필터 5A, 1PS, 0.2 μm nylon syringe filter는 Whatman사(Brentford, UK) 제품을 사용하였으며, 추출에 사용된 균질기는 Omni Macro ES (Omni international, USA)이고, 용매를 제거할 때 사용한 감압 농축기는 EYELA NVC-2100 (Eyela Co., Japan)였다.

표준용액의 조제

Hexaconazole 표준품은 acetone에 녹여 100 mg/L로 만들어 –20°C에서 냉동 보관하면서 표준원액으로 사용하였으며, 분석 시 20% acetone 함유 hexane으로 희석하여 0.025, 0.01, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg/L가 되도록 표준용액을 만들어 검량선을 작성하였다.

기기분석

식품 중 hexaconazole을 분석하기 위하여 GC-NPD (GC-7890, Agilent, USA)이용하였고, 칼럼으로는 DB-17 (15 m × 0.32 mm I.d, 0.25 μm film thickness, Agilent, USA)를 사

Table 1. The operation parameters of the GC-NPD for analysis of hexaconazole

Instrument	Parameter	Conditions
GC	Column	DB-1701 (30 m × 0.32 mm I.d, 0.25 μm film thickness)
	Temperature	Injector: 210°C Oven: 100°C (2 min) → 10°C /min → 200°C (3 min) → 10°C /min → 260°C (9 min) Detector: 320°C
	Carrier gas	1.5 mL/min (N_2)
	Injection volume	1 μL

Table 2. The operation parameters of the GC-MS for analysis of hexaconazole

Instrument	Parameter	Conditions
GC	Column	DB-5MS (30 m × 0.32 mm I.d, 0.25 μm film thickness)
	Temperature	Injector: 230°C Oven: 100°C (2 min) → 10°C /min → 280°C (12 min) Detector: 320°C
	Carrier gas	1.0 mL/min (He)
	Injection volume	1 μL
MS	Ionization method	EI
	Ion source temperature	230°C
	Transfer line temperature	150°C
	Scan range	m/z 50-500
	Ionization energy	70 eV
	Scan rate	3.21 scans/s

용하였다. 검출된 hexaconazole을 확인하기 위하여 GC-MSD (GC-7890, Agilent, USA)와 DB-5MS (30 m ×0.32 mm I.d, 0.25 μm film thickness, Agilent, USA)를 사용하였다. 분석조건은 각각 Table 1과 2에 나타냈다.

추출 및 정제

다성분 분석법을 이용한 hexaconazole 분석

시료의 전처리 과정은 식품공전 중 잔류농약분석법 다성분 분석법[12]을 적용하였다. 분쇄기를 이용해 분쇄한 균질화된 시료 50 g을 취해 acetone 100 mL를 넣은 후 균질기로 2분간 균질화한다. 5A 여지를 이용해 부흐너깔때기로 감압여과하고, 잔류물은 acetone 40 mL로 씻어 위의 여액과 합한다. 합친 여액을 미리 dichloromethane 50 mL와 포화식염수 50 mL 및 증류수 450 mL를 넣은 1 L 분액깔때기로 옮긴 후 심하게 흔들어 섞은 후 정치하여 dichloromethane층을 취한다. 다시 물층에 dichloromethane 50 mL를 넣고 위와 같이 2회 반복하여 앞의 dichloromethane층을 합하고 무수황산나트륨으로 탈수, 여과하고, 40°C에서 감압 농축하고 잔사를 dichloromethane 10 mL로 녹인다. 안지름 1.5 cm, 길이 40 cm의 칼럼관에 Flolisil 10 g, 무수황산나트륨 약 2 g을 차례로 충전한 후 dichloromethane 50 mL를 가하여 상단에 소량의 dichloromethane이 남을 정도로 유출시켜 버린다. 여기에 위의 농축액(dichloromethane 용액) 10 mL를 가한 후 약 3 mL/분의 유속으로 흘려 버린다. 충전제 표면이 노출되기 직전 dichloromethane 100 mL를 가하여 유출시켜 버리고, etheyl acetate/dichloromethane 혼합액(30/70, v/v) 100 mL로 용출시켜 받은 후 40°C이하의 수욕 중에서 감압하여 건조시키고 acetone 5 mL로 용해하여 시험용액으로 한다.

다종농약 다성분 분석법을 이용한 hexaconazole 분석

시료의 전처리 과정은 식품공전 중 잔류농약분석법 다종농약 다성분 분석법 제 2법[13]을 적용하였다. 시료는 분쇄기를 이용해 분쇄한 균질화된 시료 50 g을 취해(쌀은 물 30 mL를 넣어 2시간 방치) acetonitrile 100 mL을 넣은 후 Omni Macro Homogenizer로 3분간 균질화하여, 5A 여지를 이용해서 부흐너 깔대기로 감압 여과한다. 여액을 NaCl 10-15 g이 들어있는 분액 깔대기에 넣고 3분간 세게 흔든 뒤 이를 정치하여 acetonitrile층과 물층을 분리시킨 후 상등액인 acetonitrile층을 10 mL 취해 40°C의 수욕상에서 건조하였다. 미리 florisil cartridge를 20% acetone 함유 hexane 5 mL로 활성화시킨 후 건조한 시료에 20% acetone 함유 hexane 4 mL를 넣어 활성화된 cartridge에 용출시켜 시험관에 받고 다시 20% acetone 함유 hexane 5 mL로 재용해하여 동일 시험관에 모았다. 이 용출된 액을 40°C의 항온수조에서 증발시키고 20% acetone 함유 hexane 2 mL을 넣어 용해한 후 시험용액으로 하였다.

다종농약 다성분 분석법 유효성 검증

다종농약 다성분 분석법의 유효성은 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계 및 정량한계로 검증을 하였다. 직선성은 표준용액을 0.025, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg/L 농도가 되도록 20% acetone 함유 hexane으로 희석한 후 GC-NPD에 주입하여 얻어진 피크면적으로부터 검량선을 작성하였다. 정확성과 정밀성은 농약이 검출되지 않은 시료에 최종농도가 검출한계, 검출한계 10배, 검출한계의 100배 농도인 0.04, 0.4, 4.0 mg/kg으로 농약을 첨가한 후 회수율과 상대표준편차로 측정하였다. 일내 정밀성을 측정하기 위해 위와 같은 농도를 3번 반복하였고, 일간 정밀성은 3일간 반복해서 상대표준편차로 측정하였다. 검출한계와 정량한계는 농약이 검출되지 않은 상추에 검출한계와 정량한계의 농도를 추정한 후, 추정한 검출한계의 1에서 5배 사이의 농도를 첨가하여 전처리 후 검량선에서 농도를 측정하였다. 측정한 값으로부터 표준편차(s)를 구하고, 검량선에서 얻은 기울기(m)을 바탕으로 검출한계는 3.3 s/m, 정량한계는 10 s/m으로 계산하였으며, 실험은 3회 반복하여 평균값을 구하였다.

통계처리

두 분석법간의 차이점은 통계학적인 분석 SPSS statistical package (12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 대응표본 t검정(paired t-test)을 실시하였다. 유의성 검정은 p값이 0.05이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

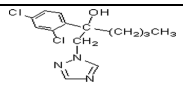
Results and Discussion

Hexaconazole 분석조건 확인

Hexaconazole은 물리화학적 특성은 Table 3과 같다. 분자량 341.2, 증기압 0.018 mPa (20°C), 옥탄올/물 분배계수(Log P_{ow}) 3.9, 물에 대한 용해도는 20°C에서 17 g/L인 중간비극성인 화합물로 분자구조 내에 2개 이상의 질소를 포함하고 있어 GC-NPD를 사용하였고, hexaconazole의 분석조건을 최적화하기 위해서 phenylsiloxane이 50% 함유된 DB-17컬럼을 이용하여 오븐온도 조건별로 비교한 후 오븐 온도를 선정하였다.

확립된 분석조건에서 얻은 표준물질의 크로마토그램, 표준 용액을 첨가한 시료의 크로마토그램을 비교하여 hexaconazole 피크가 분리되는 지를 확인한 결과 다른 물질과 간섭 없이 분리되었다(Fig. 1). 표준용액의 머무름 시간은 20.004분이고 상추의 머무름 시간은 20.001분으로 표준용액의 피크 유지시간과 상추 추출액의 피크 유지시간이 일치하였다.

Table 3. Physicochemical characteristics of hexaconazole

Pesticide	Structure	Molecular weight	Vapor pressure(mPa)	Log P_{ow}	Water solubility(g/L)
Hexaconazole		191.2	0.018(20°C)	3.9(20°C)	17(20°C)

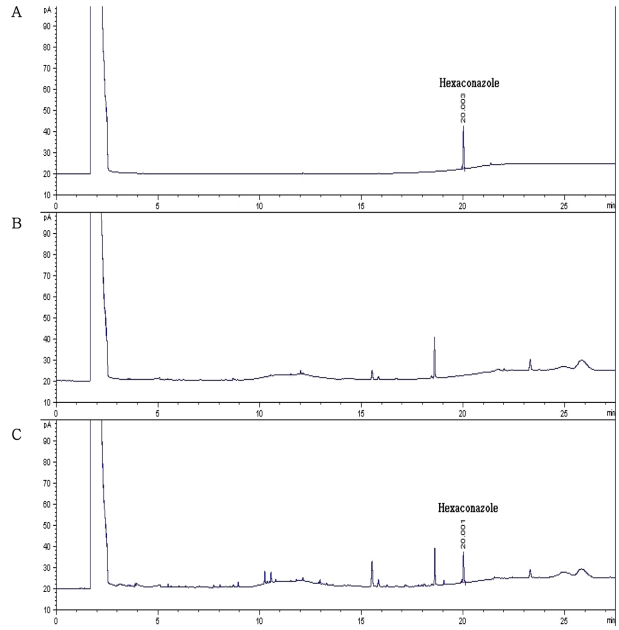


Fig. 1. GC chromatogram of (A) a standard solution 0.5 mg/kg, (B) an unspiked leuute, (C) a spiked lettue at 0.4 mg/kg of hexaconazole.

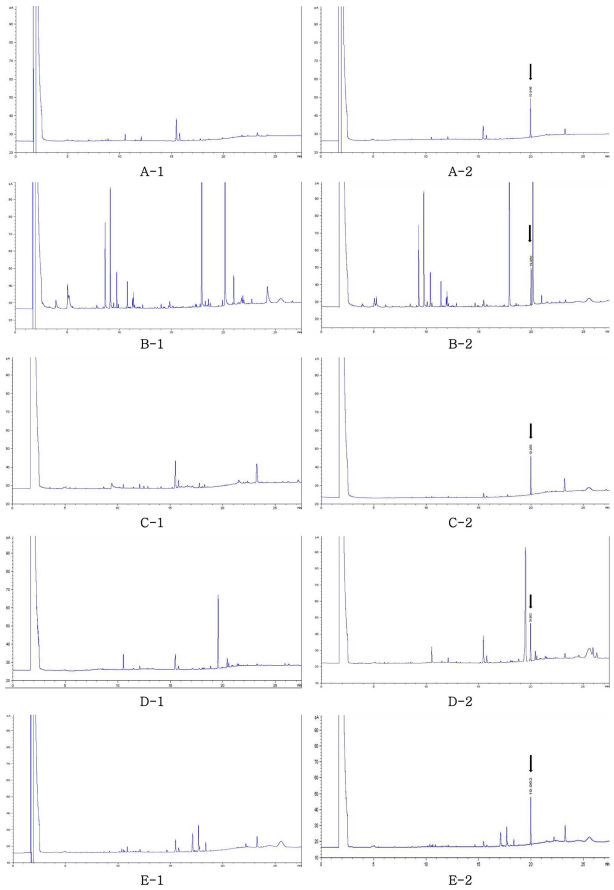


Fig. 2. GC chromatogram corresponding to rice (A), korean cabbage (B), apple (C), pepper (D), mandarin (E), control (1), spiked at 2.0 mg/kg (2).

다종농약 다성분 분석법 유효성 검증

검량선과 검출한계 및 정량한계

잔류농약 분석을 위한 검량선 작성을 위해 표준용액을 조제한 후 GC-NPD로 분석한 결과 Table 4와 같이 hexaconazole의 상관계수(R^2)는 0.999이상의 우수한 직선성을 나타냈다. 시험법의 검출한계는 0.04 mg/kg, 정량한계는 0.11 mg/kg 였다(Table 4.). 다종농약 다성분 분석법의 희석배수가 0.4이므로, 시료에서 이를 환산하면 이는 국제식품규격위원회(Codex)[14] 및 국내[15]에서 권장하는 기준인 0.05 mg/kg이하의 정량한계에도 적합하였다.

선택성

Hexaconazole의 선택성은 상추, 쌀, 배추, 사과, 고추, 감귤 무처리 시료의 크로마토그램과 6가지 시료에 표준 용액을 첨가하여 실험한 크로마토그램을 서로 비교함으로써 평가하였다. Fig. 1~2와 같이 대표 시료 중 hexaconazole과 같은 머무름 시간을 갖는 어떤 방해물질도 검출되지 않고 선택적으로 분리되었다.

정확성과 정밀성

회수율에 따른 정확성과 정밀성을 살펴본 결과는 Table 5와 같다. 상추 시료에 첨가한 표준품의 회수율은 89% 이상이었으며, 일내 정밀성의 상대표준편차(RSD)는 2.42-3.49% 범위를 나타냈고, 동일한 농도에서 동일 실험방법

Table 4. Linear equations, correlation coefficients, LODs and LOQs of hexaconazole[1)]

Pesticide	Linear equation	Correlation coefficient (R^2)	LOD[2)] (mg/kg)	LOQ[2)] (mg/kg)
Hexaconazole	y = 80.58012x – 0.942331	0.9994	0.04	0.11

[1)]Instrument linearity range: 0.025~5.0 mg/L
[2)]Mean value from 3 measurements

Table 5. Comparison of intra-day (n = 3) accuracy and precision of hexaconazole between multiresidue method and multi class pesticide multiresidue method in lettuce

Fortification (mg/kg)	Recovery(%) ± RSD(%)		*p*-value
	Multiresidue method	Multi class pesticide multiresidue method	
0.04	93.22 ± 1.80	93.78 ± 3.49	0.856
0.4	87.22 ± 0.82	93.61 ± 2.42	0.063
4.0	82.62 ± 3.40	89.42 ± 2.58	0.032

Table 6. Inter-day (over a period of 3 consecutive days) accuracy and precision of multi class pesticide multiresidue method in lettuce (n = 3)

Fortification (mg/kg)	Inter-day (3days)
	Recovery(%) ± RSD(%)
0.04	94.15 ± 4.90
0.4	93.95 ± 4.93
4.0	90.03 ± 7.78

Table 7. Recovery and precision of hexaconazole of multi class pesticide multiresidue method in agricultural products (n = 3)

Commodity	Fortification (mg/kg)	Recovery(%) ± RSD(%)
Rice	0.2	98.70 ± 3.80
	1	92.96 ± 1.78
Korean cabbage	0.2	95.15 ± 3.10
	1	90.25 ± 0.77
Apple	0.2	95.07 ± 4.30
	1	90.64 ± 1.59
Pepper	0.2	85.96 ± 1.63
	1	91.77 ± 2.33
Mandarin	0.2	87.25 ± 1.63
	1	91.77 ± 2.33

으로 3일 반복 시험한 일간 정밀성의 상대표준편차는 4.90-7.78%의 농도 범위를 나타내어(Table 6), 0.04-4.0 mg/kg에서는 정밀성은 모두 상대표준편차 8% 이하의 결과를 보였다. Table 7은 다양한 시료에서의 회수율을 나타낸 결과로, 0.2, 1.0 mg/kg 농도로 첨가된 시료의 회수율은 모두 86% 이상의 회수율을 보였으며, 전체적인 상대표준편차는 4.3%이하로 나타났다. 각국 및 국제기구 등에서 연구수행에 활용된 분석방법에 대한 적합성은 회수율과 상대표준편차 등의 범위를 이용하여 판단하고 있는데, 국내는 회수율 70~120% 및 상대표준편차 20%이하[15], 유럽연합에서 제시한 회수율은 70~120%와 상대표준편차 20%이하[15], 국제식품규격위원회는 회수율 60~120%와 상대표준편차 15~30%이하 규정하고 있는데[14], 다종농약 다성분 분석법으로 제시한 회수율은 최소 86%이상과 정밀성 7.78%이하의 변이계수를 나타내어 국내 및 국제적 기준을 만족하였다.

Table 8. Comparison of average residues of pesticide between individual residue method and multi class pesticide multiresidue method in leafy vegetables (n = 3)

Commodity	Mean ± SD(mg/kg)		*p*-value
	Multiresidue method	Multi class pesticide multiresidue method	
Beat leaves	1.465 ± 0.053	1.547 ± 0.070	0.133
Mustard green	0.609 ± 0.013	0.621 ± 0.013	0.394

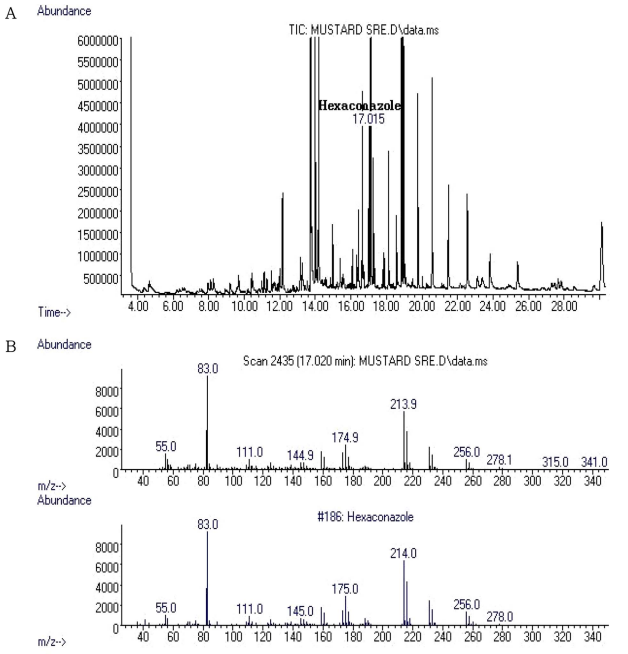


Fig. 3. Total ion chromatogram (TIC) in mustard green by GC-MS under EI mode (A) and EI mass spectrum of hexaconazole (B).

다성분 분석법과 다종농약 다성분 분석법 비교

두 방법 간 비교실험은 회수율로 하였고, 농약이 검출되지 않은 상추에 0.04, 0.4, 4.0 mg/kg가 되도록 농약을 첨가하여 분석하였다. 농약의 각 첨가농도에 따른 단성분의 회수율은 82.62~93.22%, 상대표준편차는 0.82~3.40%였고, 다성분 분석법의 회수율은 89.42~93.78%, 상대표준편차는 2.42~3.49%였다(Table 4). 두 분석법의 회수율 최소 82%이상과 정밀성 3.5%이하의 변이계수를 나타내어 국내 및 국제적 기준을 만족하였고, 대응표본 t검정(paired t-test)을 이용하여 검증한 결과, 0.04, 0.4 mg/kg 농도에서 *p*-value 0.856, 0.063으로 두 분석법 간의 유의적인 차이는 없었고, 고농도인 4.0 mg/kg에서는 다성분 분석법의 회수율이 낮았으며, *p*-value 0.032로 두 방법 간의 유의적인 차이가 있었다. 이 결과들을 통해 다종농약 다성분 분석법은 기존의 다성분 분석법을 이용한 결과와 비슷한 추출 효율을 보였다고 판단된다.

두 전처리 방법간의 농약 잔류량 비교

실제 hexaconazole이 검출된 시료에서 다성분 분석법과 다종농약 다성분 분석법의 차이를 대응표준 t검정(paired t-test)을 이용하여 검증한 결과, 농산물 중 잔류량은 Table 8과 같다. 95% 신뢰수준($\alpha = 0.05$)에서 두 분석법 간의 농약 잔류량을 비교한 결과 *p*-value는 비트잎 0.133, 겨자채 0.394로 두 분석법간의 유의적인 차이는 없었다.

분석법의 재확인

다종농약 다성분 분석법으로 검출된 시료의 정성적 확인을 위하여 GC/MS를 이용하였다. Hexaconazole이 검출된 시료의 정성확인을 위해 GC-MS의 분자량 범위를 50~500 m/z로 scan mode에서 214 m/z, 83 m/z, 175 m/z을 확인하였고, 위의 조건으로 분석한 결과 hexaconazole의 머무름 시간은 17.02분이었다(Fig. 3). Hexaconazole 무처리 시료에서 대상 성분들의 peak가 관찰되지 않았으며, 인위적으로 첨가 시료에서는 동일한 머무름 시간대에 정확하게 hexaconazole을 확인할 수 있었다.

국문요약

농산물 중 hexaconazole 분석을 위해, GC-NPD를 이용하여 다종농약 다성분 분석법을 적용하고자 본 연구를 수행하였다. Hexaconazole의 다종농약 다성분 분석법 유효성 검증은 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계 및 정량한계로 하였다. 0.025~5.0 mg/L의 농도에서 검량선의 상관계수(R^2)는 0.999이상의 우수한 직선성을 보였다. 상추에 0.04~4.0 mg/kg을 첨가한 농약의 회수율은 89.42~94.15%였고, RSD는 7.78%이하의 재현성을 나타냈다. 검출한계는 0.04 mg/kg였고, 정량한계는 0.11 mg/kg였다. 일간 및 일내 정밀도는 각각 2.42~3.49%와 4.90~7.78%였다.

본 연구결과에서 다종농약 다성분 분석법을 이용한 hexaconazole 분석은 매우 정확하고, 높은 재현성을 보여, 농산물 중 hexaconazole 분석에 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

References

1. Kumar, V., Ravindranath, S. D., and Shanker, A. (2004) Fate of hexaconazole residues in tea and its behavior during brewing process. *Chemical Health and Safety.* **11**, 21-25.
2. Manclús JJ, Moreno MJ, Plana E and Montoya A. (2008) Development of monoclonal immunoassays for the determination of triazole fungicides in fruit juices. *J Agric Food Chem*. **56**, 8793-8800.
3. Wolf DC, Allen JW, George MH, Hester SD, Sun G, Moore T, Thai SF, Delkor D, Winkfield E, Leavitt S, Nelson G, Roop BC, Jones C, Thibodeaux J, and Nesnow S. (2006) Toxicity profiles in rats treated with tumorigenic and nontumorigenic triazole conazole fungicides: propiconazole, triadimefon and myclobutanil. *Toxicol Pathol*. **34**, 895-902.
4. Correia M, Delerue-Matos C, and Alves A. (2001) Development of a SPME-GC-ECD methodology for selected pesticides in must and wine samples. Fresenius *J. Anal. Chem*. **369**, 647-651.
5. Liang H, Li L, Li W, Wu Y, and Liu F. (2012) The decline and residues of hexaconazole in tomato and soil. *Environ Monit Asses*s. **184**, 1573-1579.
6. Deng Z, Hu J, Qin D, and Li H. (2010) Simultaneous analysis of hexaconazole, myclobutanil, and tebuconazole residues in apples and soil by SPE clean-up and GC with nitrogen-phosphorus detection. *Chromatographia* **71**, 679-684.
7. Farajzadeh MA, Mogaddam MR, and Ghorbanpour H. (2014) Development of a new microextraction method based on elevated temperature dispersive liquid-liquid microextraction for determination of triazole pesticides residues in honey by gas chromatography-nitrogen phosphorus detection. *J. Chromatogr. A*. **1347**, 8-16.
8. Oliva J, Barba A, Vela N, Melendreras F, and Navarro S. (2000) Multiresidue method for the rapid determination of organophosphorus insecticides in grapes, must and wine. *J. Chromatogr.* **A 882**, 213-220.
9. Charlton AJ and Jones A. (2007) Determination of imidazole and triazole fungicide residues in honeybees using gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr.* **A 1141**, 117-122.
10. Food and Drug Administration (2004) Improvement of multi-residue analysis method for pesticide in foods. pp 3-18 Food and Drug Administration final report.
11. Ministry of Food and Drug Safety (2013) Food code. pp. 9-4-1 Seoul, Korea.
12. Ministry of Food and Drug Safety (2013) Food code. pp. 9-4-80 Seoul, Korea.
13. Ministry of Food and Drug Safety (2013) Food code. pp. 9-4-10 Seoul, Korea.
14. Codex Alimentarius Commission (2003) Guidelines on good laboratory practice in residue analysis. pp.25 CAC/GL 40-1993, Rev.1.
15. Rural Development Administration (2009) Bulletin of Pesticide Registration Investigator(Guidance of pesticide residue test), Notice of Rural Development Administration No. 2009-1. Suwon, Korea.
16. European commission (2010) Directorate general health and consumer protection. Guidance document on method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, pp. 12-15 SANCO/10684/2009.