

유통 수입 곡류 및 곡류가공품에서 Glyphosate, Glufosinate 및 대사체 동시분석

잔류농약검사팀

홍미선 · 장미라 · 최채만 · 김은희 · 신 영
이경아 · 박혜원 · 김진경 · 유인실 · 정 권

Simultaneous Analysis of Glyphosate, Glufosinate, and Their Metabolites in Imported Cereals and Products

Residue Pesticide Inspection Team

**Mi-sun Hong, Mi-ra Jang, Chae-man Choi,
En-hee Kim, Young Shin, Kyung-ah Lee, Hae-won Park,
Jin-kyung Kim, In-sil Yu and Kweon Jung**

Abstract

Glyphosate and glufosinate are the most commonly used nonselective herbicides in the world. Their residues are difficult to detect in food matrices because of their low molecular weights, amphoteric nature, and strong polarities. We studied the simultaneous direct determination of these substance and their five metabolites. Samples were extracted using the QuPpe-Method(Eurl-SRM)* and analyzed using hydrophilic interaction liquid chromatography(HILIC) mode column and liquid chromatography-tandem mass spectrometry(LC-MS/MS). Three matrices(oats, beans, and flours) spiked with seven different components at two concentrations were used to validate the methodology. Compound recovery rates ranged from 51.6% to 96.6% and the associated relative standard deviations(RSDs) were within 20%. Because of the significant matrix effect(ME) observed in all three matrices, matrix-matched calibration was used. After the methodology was verified, 33 imported grains(oats and beans) and flours in circulation were tested for residual amounts of glyphosate, glufosinate, and their five metabolites. All samples were found to be safely below their relative Maximum Residue limits(MRLs).

* Quick Polar Pesticide-Method(EU Reference Laboratories for single residue method)

Key words : glyphosate, glufosinate, QuPpe-Method, LC-MS/MS, ME

서 론

Glyphosate(N-Phosphonomethyl glycine)는 유기인계의 비선택성 제초제로 세계적으로 가장 많이 사용되며, 국내에서도 수입 및 사용량 1위의 제초제이다(1, 2). 1970년대 glyphosate가 개발된 후 독성이 낮고 사람 등 포유동물에 영향이 적은 것으로 알려져 지난 수십년간 사용량이 급증하였다(3). glyphosate는 식물체내에서 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase(EPSPS)를 억제하여 방향족 아미노산 생합성에 영향을 주고, glufosinate는 글루타민 합성을 억제하는 등 광합성 작용을 저해하여 식물을 고사시키는 것으로 알려져 있다(4, 5). 최근 glyphosate에 내성을 가진 유전자변형 곡류의 개발 및 보급과 glyphosate가 수확 전 건조제로 사용이 확대됨에 따라 장기간 사용에 따른 만성 독성과 수확 후 곡류에 대한 잔류 및 안전성 문제가 제기되고 있다. 이와 더불어 2015년 세계보건기구(WHO) 산하 국제암연구소(IARC)는 비호지킨 림프종이나 폐암을 유발하는 증거가 있다며 glyphosate를 발암의 심물질(2A)로 분류하였다(6). 그러나 2017년 유럽연합이 glyphosate와 암 또는 생식 및 유전적 손상과의 증거 불충분으로 유럽 내 glyphosate의 사용승인을 5년간 연장하여(7) glyphosate에 대한 유해성 논란은 계속되고 있다. 국제식품규격위원회(CODEX)는 glyphosate 잔류물의 정의를 대두, 옥수수, 유채의 경우 glyphosate와 N-acetyl glyphosate의 합으로 보고 있으며, 나머지 작물의 경우 glyphosate로 정의하며 EDI(Estimated daily intake) 측정 시엔 glyphosate, aminomethylphosphonic acid(AMPA), N-acetyl glyphosate, N-acetyl AMPA를 모두 포함하도록 하고 있다. glufosinate 잔류물의 정의는 glufosinate와 3-methylphosphinico propionic acid(3-MPP)를 포함하고 있으며, glufosinate 내성을 가진 gene modified organisms(GMO) 작물에 사용하는 경우 N-acetyl glufosinate를 추가하여 정의하고 있다(8). 따라서 glyphosate와 glufosinate의 잔류량 분석 및 안전성 평가를 위하여 모분자 외에 대사체까지 동시분석 할 수 있

는 방법이 필요시 되고 있다.

Glyphosate와 glufosinate 등의 유기인계 제초제는 카르복실기, 아민기를 함께 가진 양쪽성의 저분자, 수용성 물질로 미량 분석이 어려워(9) 식품매질에서의 관련 문헌이 많지 않은 실정이다. 현재 식품공전법은 glyphosate와 glufosinate 및 대사체 2종을 9-fluorenylmethyl chloroformate(FMOC) 유도체화 후 역상크로마토그래프-질량분석기로 분석하고 있으나 유도화 과정의 불완전이나 재현성 불량, 대사체 2종은 유도체화 되지 않는 문제점들이 있다(10~12). 최근 이러한 단점들을 보완하여 유도체화 과정 없이 대사체도 동시분석이 가능하도록 이온성 칼럼이나 HILIC 칼럼을 LC-MS/MS와 연결하여 직접 분석하는 방법 등이 보고되고 있다(1, 6, 11, 13). 본 연구에서는 glyphosate와 그 대사체 3종, glufosinate와 그 대사체 2종 등 총 7종에 대한 빠르고 간편한 동시분석 방법을 찾고자 하였다.

국내에서도 이러한 비선택성 제초제에 대한 관심과 우려가 제기되고 있으나 현행 국내 작물보호 지침에 따르면 glyphosate 등 비선택성 제초제는 비농경지 및 과수원에서 경엽처리용으로 사용하도록 되어 있어(14) 국내 농산물에 잔류할 가능성은 적을 것으로 생각된다. 그러나 수입 곡류의 경우 glyphosate 내성을 가진 유전자 변형 대두, 옥수수의 재배 및 귀리, 밀 등의 수확시 건조제로 이들 제초제가 사용됨에 따라 그 잔류 및 안전성에 대한 논란과 관심이 커지고 있다(6). 따라서 본 연구는 glyphosate, glufosinate 및 대사체에 대한 동시분석방법을 검토하고 잔류량을 조사하여 안전성 평가를 위한 기초자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료

2018년 서울시내 마트 및 전통시장에서 유통되는 수입곡류 28건 및 수입 밀을 원료로 가공한 밀가루 5건을 구매하여 냉장 보관(4℃)하며 사용하였다.

2. 표준품 및 시약

Glyphosate(99.9%), AMPA(99.0%), N-Acetyl AMPA(94.4%), glufosinate(97.0%) 및 N-Acetyl glufosinate(99.9%)는 HPC Standards GmbH (Germany)에서 구입하였고, N-Acetyl glyphosate (97.0%)는 Toronto Reserach Chemicals(Canada), 3-methylphosphinic propionic acid(3-MPP, 99.9%)는 Sigma aldrich(USA)에서 구입하여 사용하였다. Acetonitrile과 Chloroform, Dichloromethane, Methanol은 HPLC grade로 J. T. Baker 를 사용하였으며, Formic acid(LC-MS)는 Fisher chemicals, Ammonium acetate는 Sigma aldrich (USA) 제품을 사용하였다. glyphosate 등의 표준품은 유리에 흡착하는 특성 때문에 분석용 기구는 모두 PP 재질로 사용하였다.

3. 실험방법

1) 검량선 작성

Stock solution은 7종 표준품을 각각 20~30 mg 칭량하여 정제수 100 mL에 녹여 제조하였고, 4°C 이하에서 냉장 보관하며 working solution을 제조·사용하였다.

용매 검량선(solvent calibration) 작성을 위해 working solution을 0.005~0.5 mg/L 수준으로 정제수로 희석하여 검량선을 작성하였으며, 매질 보정 검량선(matrix-matched calibration)은 동일한 전처리 과정을 통과한 공시료 추출물에 working solution을 0.005~0.5 mg/L 수준으로 희석하여 작성하였다.

2) 시료 전처리

시료 전처리 방법은 European Commission의 Eurl-SRM 중 QuPPE-method(15)를 이용하였다. 균질화한 시료 2g에 물 10 mL를 가하여 2시간동안 충분히 습윤 후 1% Formic acid/Methanol 10 mL를 가하여 20분간 진탕추출 후 원심분리(4,000 rpm, 5분)하였다. 지방이 많은 시료의 경우 200 mg의 C18을 이용하여 d-SPE 정제를 추가하였다. 상등액을 0.2 µm syringe filter (nylon)로 여과하여 LC-MS/MS 분석하였다.

3) 기기분석

분석에 사용된 LC-MS/MS는 Agilent Technologies (USA)사의 6495 Triple Quad로 기기 분석조건은 각각 표 1, 2와 같다.

4. 분석법 검증

Codex 시험법 가이드라인(CAC/GL 40, 1993)에 준하여 검량선의 직선성, 회수율, 검출한계, 정량한계 및 재현성 등으로 유효성 검증을 실시하였다(16).

결과 및 고찰

1. 크로마토그래피와 질량스펙트럼의 최적화

Glyphosate와 glufosinate 및 대사체 5종은 분자량(MW) 111~223 사이의 저분자 물질이며 분자 구조 내에 카르복실기, 아민기 등을 갖는 양쪽성(Zwitterion), 강한 극성 물질로 보통의 역상 크로마토그래피에서 적절한 유지시간을 얻기 어려웠다. 현재 식품공전의 glyphosate 시험법은 glyphosate와 glufosinate 및 대사체 2종을 FMOC로 유도체화하여 역상칼럼에서 적절한 유지시간을 가지고 분석하도록 하고 있다(10). 그러나 3-MPP 등의 대사체는 유도체화 되지 않으며 유도체화 과정 중 재현성이나 회수율 감소 등의 문제로 4종 동시분석이 만족스럽지 못하였다.

최근 대사체를 포함한 극성물질 분석에서 아민이나 아마이드, HILIC column을 이용하여 물과 아세토니트릴 등의 역상 크로마토그래피 이동상에 ion성을 띄게 하여 LC-MS/MS로 유도체화 과정 없이 분석하는 방법(9, 11, 12)들이 보고되고 있다. 본 조사에서는 Ming 등의 방법(17)에 따라 아민칼럼인 Shodex NH2P-50 2D을 선택하여 5 mM ammonium acetate(pH 11.0) in water와 acetonitrile을 이동상으로 분석(HILIC mode)하여 4분~6분 사이에 7종 표준물질의 양호한 크로마토그램을 얻을 수 있었다. 아민 칼럼을 pH가 높은 이동상과 사용할 경우 내구성이 짧은 것으로 알려져 있으나(12) 본 조사에서는 500회 이상

Table 1. Analytical conditions of LC-MS/MS

| Parameter | Operating condition | | |
|--------------------|--|-------------|-------------|
| Column | Shodex NH ₂ P-50 2D Column, 2.0 × 150 mm, 5 μm | | |
| Mobile phase | A : 5mM ammonium acetate(pH 11.0) in water B : Acetonitrile | | |
| Flow rate | 0.25 mL/min | | |
| Injection volume | 10 μl | | |
| Oven temp | 35°C | | |
| Gradient condition | <u>Time</u> | <u>A(%)</u> | <u>B(%)</u> |
| | 0.00 | 20 | 80 |
| | 2.00 | 20 | 80 |
| | 2.10 | 80 | 20 |
| | 8.00 | 80 | 20 |
| | 8.10 | 20 | 80 |
| | 12.00 | 20 | 80 |
| MSMS | Ionization mode : ESI negative Capillary : 4000 V Drying gas : N ₂ , 230°C, 11 L/min Sheath gas : N ₂ , 320°C, 12 L/min | | |

분석시에도 재현성 있는 결과값을 얻을 수 있었다. 표준품 각각에 대한 multiple reaction monitoring (MRM) 스캔을 실시하여 ESI negative mode에서 질량스펙트럼의 정량 및 정성이온과 충돌에너지 값을 표 2와 같이 선정하였으며, glyphosate의 경우 정성이온으로 m/z 63을 정성이온으로 m/z 150을 선정하였으나, 시료 분석시 동시간대에서 m/z 150의 방해물질이 많아 정성이온으로 m/z 79를 추가하였다.

2. 시료 전처리 추출 및 정제

Glyphosate, glufosinate와 그 대사체들은 양쪽성의 극수용성 물질로 유기용매로는 추출되지 않아 물로 추출하므로 복잡한 식품 매질에서의 분석이 매우 제한적(1)으로 알려져 있으며, LC-MS/MS를 이용한 기기분석에서도 매트릭스에 의한 방해가 큰 것으로 알려져 있다.

Botero-Coy 등은 물로 추출한 시료를 Oasis HLB SPE로 정제하여 HILIC column과 LC-

MS/MS를 이용하여 분석하였으나 매트릭스 효과가 남아 시료 회석 등의 방법을 추가하여 매트릭스 효과를 감소시키고자 하였으며(9), Junjie 등은 대두와 당근 등 시료를 물로 추출한 후 C18 SPE를 사용하여 단백질 및 약극성 방해물질을 제거하고, SAX cartridge(강음이온교환) 처리를 통해 중성 및 약염기성 방해물질을 제거하여 glyphosate 분석에서 매트릭스이펙트 감소 등 만족할 만한 결과를 얻은 것으로 보고하였다(18).

이들의 방법을 참고하여 시료 추출 방법으로 식품공전 중 물로 추출한 후 클로로포름으로 정제하는 방법과 물/acidified methanol로 추출하는 QuPPE-method를 검토하였다. 두 방법 모두 추출효율은 유사하였으나 QuPPE-method로 추출시 매질 보정 검량선의 직선성과 재현성이 우수하여 전처리 방법으로 선택하였다. 또한 매트릭스 이펙트가 가장 큰 강낭콩의 추출시 C18을 이용한 dSPE와 Oasis HLB cartridge를 이용한 정제를 비교하였으나 두 방법 모두 개선효과는 크지 않았다.

Table 2. MRM transition and parameters in 7 compounds

| Compound | Precursor ion | Quantification | | Qualification | |
|----------------------|---------------|----------------|------------------|---------------|------------------|
| | | Product ion | Collision energy | Product ion | Collision energy |
| Glyphosate | 168 | 63 | 28 | 150 | 10 |
| | | | | 79 | 40 |
| AMPA | 110 | 63 | 26 | 79 | 30 |
| N-Acetyl AMPA | 152 | 110 | 10 | 63 | 35 |
| N-Acetyl glyphosate | 210 | 150 | 12 | 124 | 20 |
| Glufosinate | 180 | 63 | 65 | 95 | 15 |
| 3-MPP | 151 | 133 | 10 | 63 | 40 |
| N-Acetyl glufosinate | 222 | 136 | 24 | 63 | 75 |

Table 3. Matrix effect in samples (%)

| Compound | Oat | | Beans | | Wheat flour | |
|----------------------|------------------|--------------------|-------|------|-------------|------|
| | ME ¹⁾ | ME-d ²⁾ | ME | ME-d | ME | ME-d |
| Glyphosate | 48 | 80 | 18 | 26 | 27 | 55 |
| AMPA | 69 | 81 | 36 | 39 | 35 | 60 |
| N-Acetyl AMPA | 43 | 74 | 15 | 20 | 18 | 39 |
| N-Acetyl glyphosate | 37 | 59 | 15 | 28 | 32 | 61 |
| Glufosinate | 49 | 80 | 27 | 34 | 34 | 55 |
| 3-MPP | 69 | 74 | 27 | 30 | 36 | 43 |
| N-Acetyl glufosinate | 70 | 78 | 52 | 54 | 35 | 40 |

1) Matrix effect

2) Matrix effect of 2.5 × dilution

3. Matrix effect(ME)

ME는 용매검량선의 기울기에 대한 매질 검량선의 기울기를 %로 표현하며 그 값이 100에 가까울수록 ME가 없는 것이며, 100보다 값이 작으면 ion suppression, 값이 클 경우 ion enhancement가 있는 것을 의미한다(11).

$$ME(\%) = (\text{The slope of calibration curve of sample matrix} / \text{The slope of calibration curve of solvent}) \times 100$$

수입 곡류 중 귀리와 강낭콩, 수입곡류를 원료로 한 가공품 중 밀가루를 선택하여 glyphosate

및 대사체 등 7종 동시분석에 대한 ME를 평가하였으며 세가지 시료 모두에서 심한 ion suppression을 나타냈다(표 3).

귀리를 QuPPE-method에 따라 분석하였을 때 glyphosate 및 대사체 등 7종에 대한 ME는 37~70%으로 매트릭스에 큰 영향을 받는 것으로 나타났으며 매트릭스 보정이 필요하였다. 이러한 ME는 SPE 정제나 클로로포름 세척으로 개선되지 않았으며 매질보정 검량시 시료추출액의 양을 2.5배 희석하여 분석시 59~81%로 향상시킬 수 있었다.

강낭콩의 경우는 ME가 15~52%로 귀리보다 컸으며 SPE 정제나 클로로포름 세척에도 개선 정도는 미미하였고, 2.5배 시료 희석에도 개선효과

Table 4. MDL and MQL of 3 Matrices

(unit : mg/kg)

| Compound | Oat | | Beans | | Wheat flour | |
|----------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|-------------|-------|
| | MDL ¹⁾ | MQL ²⁾ | MDL | MQL | MDL | MQL |
| Glyphosate | 0.017 | 0.056 | 0.062 | 0.205 | 0.019 | 0.063 |
| AMPA | 0.023 | 0.076 | 0.038 | 0.118 | 0.035 | 0.114 |
| N-Acetyl AMPA | 0.007 | 0.023 | 0.037 | 0.116 | 0.034 | 0.113 |
| N-Acetyl glyphosate | 0.014 | 0.045 | 0.053 | 0.176 | 0.014 | 0.047 |
| Glufosinate | 0.015 | 0.048 | 0.042 | 0.127 | 0.014 | 0.046 |
| 3-MPP | 0.005 | 0.017 | 0.019 | 0.061 | 0.016 | 0.051 |
| N-Acetyl glufosinate | 0.004 | 0.014 | 0.017 | 0.056 | 0.012 | 0.039 |

1) Detection Limit of method

2) Quantitation Limit of method

가 매우 낮았다. 강낭콩이 귀리보다 단백질과 지방 함량이 높고 lecithin 등 친수성 물질이 함께 추출되어 분석에서 방해물질로 작용하기 때문으로 생각된다. Botero-Coy 등은 대두 시료를 물 추출하고 디클로로메탄 세척, Oasis HLB SPE 정제 후에도 glyphosate의 ME가 커서 추출액을 5배 이상 희석 한 후에야 ME를 50%로 감소시켰다고 보고하고 있다(9).

밀가루의 경우 ME는 18~36%로 매우 컸으며 시료 희석으로 39~61%로 개선할 수 있었다.

여러 연구자들이 곡류나 두류와 같이 수분함량이 낮고 단백질, 지방 함량이 높은 농산물에서 glyphosate 등을 분석하는 것은 매트릭스의 영향이 매우 커서 까다로운 것으로 보고하고 있다. 이를 해결하고 정확한 결과 값을 얻기 위하여 시료 희석이나 주입량 감소, 시료 전처리 시 정제, 내부 표준 물질 사용 등 여러 가지 방법을 시도하고 있다(9, 19).

본 실험에서는 시료 중 잔류량의 정확한 값을 얻고자 매트릭스 보정용 검량선을 이용하여 ME를 보정하고자 하였다.

4. 검출한계, 정량한계 및 회수율

7종 표준품을 0.005~0.5 mg/L 범위까지 단계별로 정제수로 희석하여 LC-MS/MS로 측정하여 얻은 검량선의 상관관계수(r^2)는 0.997~0.999, 기

적 검출한계는 0.002~0.006, 정량한계는 0.005~0.020 mg/kg로 나타났다. 그러나 glyphosate 등은 LC-MS/MS 분석시 매트릭스의 영향이 매우 크므로 실험방법의 유효성 검증을 위하여 7종 표준품을 귀리, 강낭콩, 밀가루 공시료 추출물에 농도별로 첨가하여 매트릭스 보정 검량선(matrix-matched calibration)을 구하고 각 시료에 2 농도 수준으로 표준품을 첨가 후 7반복 실험하여 회수율 및 상대표준편차를 구하였다. 매트릭스 보정 검량선의 상관관계수(r^2)는 세가지 시료에서 0.99 이상이었으며 시험방법의 검출한계 및 정량한계는 검량선의 기울기와 첨가 실험 중 저농도 회수율 7반복 실험의 표준편차로부터 표 4와 같이 구하였다.

귀리에서 glyphosate 등의 검출한계 및 정량한계는 0.004~0.023, 0.014~0.076 mg/kg으로 세가지 매트릭스 중 가장 양호한 결과를 나타냈다. 강낭콩에서 각 분석 성분별 검출한계 및 정량한계는 0.017~0.062, 0.056~0.205 mg/kg로 가장 높았으며, 밀가루는 0.012~0.035, 0.039~0.114 mg/kg이었다.

분석대상 성분별로 N-Acetyl glufosinate가 세가지 시료에서 가장 낮은 검출한계와 정량한계를 나타냈으며, glyphosate와 N-acetyl glyphosate가 높은 검출한계와 정량한계를 보였다. glufosinate의 경우 다른 매트릭스보다 강낭콩에서 모두 높은 검출한계와 정량한계를 나타내었다.

Table 5. Recoveries of the glyphosate, glufosinate and their metabolites (%)

| Compound | Matrix | Oat | | Beans | | Wheat | |
|----------------------|--------|---------------------------|--------------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| | | 0.05 ¹⁾ | 0.25 ²⁾ | 0.1 | 0.5 | 0.05 | 0.25 |
| Glyphosate | | 83.7 ± 15.9 ³⁾ | 65.3 ± 3.0 | 72.8 ± 6.4 | 78.3 ± 5.9 | 89.7 ± 18.3 | 61.3 ± 7.1 |
| Glufosinate | | 75.9 ± 10.6 | 62.1 ± 11.2 | 70.7 ± 9.2 | 66.3 ± 4.5 | 83.8 ± 18.2 | 72.7 ± 9.9 |
| AMPA | | 70.3 ± 7.8 | 58.3 ± 13.2 | 74.8 ± 8.5 | 68.2 ± 3.8 | 92.4 ± 21.0 | 79.0 ± 10.2 |
| N-Acetyl AMPA | | 58.0 ± 7.9 | 51.6 ± 7.8 | 83.3 ± 9.0 | 86.7 ± 4.5 | 94.9 ± 17.8 | 70.2 ± 5.9 |
| N-Acetyl glyphosate | | 73.6 ± 13.0 | 62.0 ± 11.2 | 66.8 ± 10.4 | 69.5 ± 5.4 | 84.4 ± 10.4 | 65.0 ± 3.1 |
| 3-MPP | | 81.8 ± 9.8 | 52.9 ± 5.5 | 76.1 ± 4.8 | 79.5 ± 4.4 | 99.6 ± 12.9 | 77.6 ± 7.7 |
| N-Acetyl glufosinate | | 63.0 ± 5.1 | 55.8 ± 2.5 | 60.2 ± 4.6 | 63.7 ± 4.0 | 84.7 ± 14.1 | 75.8 ± 6.4 |

- 1) Fortified conc of low level(mg/kg)
 2) Fortified conc of high level(mg/kg)
 3) Mean ± SD(n = 7)

Table 6. The status of commodity by origin

| Commodity | Oat | Millet | Beans | Lentils | Peas | Flours | Total |
|-----------|-----|--------|-------|---------|------|-----------------|-------|
| USA | 3 | | | 2 | 5 | 1 | 11 |
| Canada | 5 | | 5 | 5 | | | 15 |
| Australia | | | | 1 | | 3 | 4 |
| China | | 2 | | | | | 2 |
| Others | | | | | | 1 ¹⁾ | 1 |
| Total | 8 | 2 | 5 | 8 | 5 | 5 | 33 |

- 1) A product that is processed by mixing American and Australian raw materials

LC-MS/MS를 이용한 glyphosate 등 강극성 물질의 검출한계 및 정량한계는 분석대상 시료, 분석물질 농도, 분석칼럼 및 이동상에 따라 매우 다양한 범위로 보고되고 있다(9, 17, 18, 20).

회수율과 표준편차는 표 5와 같으며, 상대표준 편차로부터 구한 정밀도는 20% 이하로 양호하였으나 회수율로 구한 정확성은 51.6~99.6%로 농도별, 분석대상 성분별로 큰 차이를 보였다. 귀리와 밀가루 시료에서는 저농도보다 고농도에서 회수율이 감소하였으나 강낭콩의 경우 glufosinate와 AMPA외에는 고농도에서의 회수율이 저농도 회수율보다 양호하였다. 이는 강낭콩의 검출한계 및 정량한계가 다른 시료보다 높은 것에 기인한 것으로 생각된다.

실험의 정확도를 높이기 위하여 분석대상 성분에 따라 매질보정 검량선의 사용 외에 내부표준 물질(IS) 사용, 표준물질 첨가법, 적절한 희석배수 등을 고려해야 할 것으로 생각된다.

5. 유통 수입 곡류 및 곡류가공품의 glyphosate 잔류량 조사

시중 유통 중인 수입 귀리, 기장 등 곡류 10건, 흰강낭콩 등 두류 18건과 수입산 밀로 가공한 밀가루 5건 등 33건에 대하여 glyphosate와 glufosinate 및 대사체 5종에 대한 잔류량을 동시 분석하였다(표 6). 조사 결과 캐나다산 귀리 1건에서 glyphosate가 정량한계 미만으로 검출되었으며, 나머지는 모두 검출되지 않았다. 귀리의

glyphosate 국내 잔류기준 및 Codex 기준은 각각 20, 30 mg/kg으로 검출량은 기준 이하의 매우 낮은 수준이었다. 이번 조사 대상 귀리, 렌틸콩, 강낭콩 등은 미국, 캐나다, 호주 등에서 수입되고 있었으며, 밀가루의 경우 미국 또는 호주산 밀로 국내에서 가공된 제품이었다. glyphosate 등 제초제는 귀리나 밀 등의 수확을 용이하게 하기 위한 건조제나 수확 후 발아억제제로 그 사용이 증가함에 따라 국내 소비자들도 수입산 곡류 또는 밀가루 등 수입 곡류를 원료로 가공되는 가공품에 대한 잔류 및 안전성에 대한 우려를 나타내고 있지만, 대형 마트나 소매점에서 쉽게 구입할 수 있는 유통 수입곡류를 대상으로 한 이번 조사 결과 안전한 것으로 확인되었다.

요 약

본 연구는 식품매질에서 기존 유도체화 후 역상 크로마토그래피 방법으로 분석이 어려웠던 glyphosate와 glufosinate 및 대사체 5종에 대한 빠르고 간편한 동시분석법을 검토하였다. 시료를 QuPPE-method(Eurl-SRM)로 추출한 후 HILIC mode의 NH₂ 칼럼과 LC-MS/MS를 이용하여 7종을 동시분석하였다. 귀리, 강낭콩, 밀가루에 대하여 매질보정 검량선 작성 및 회수율 시험으로 시험방법의 유효성을 검증하였다. 검증된 동시분석법으로 수입곡류 및 곡류가공품 33건에 대하여 잔류량을 검사한 결과 모두 기준에 적합하였으며 시중에 유통 중인 수입곡류 및 곡류가공품은 안전한 것으로 조사되었다.

참고문헌

1. Yasushi Nagatomi, Toshiaki Yoshioka, Mayumi Yanagisawa, Atsuo Uyama and Naoki Mochizuki : Simultaneous LC-MS/MS Analysis of Glyphosate, Glufosinate, and Their Metabolic Products in Beer, Barley Tea, and Their Ingredients, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77(11):2218~2221, 2013.
2. 한국작물보호협회 : 농약연보, 2018.
3. Piotr Kaczynski : Clean-up and matrix effect in LC-MS/MS analysis of food of plant origin for high polar herbicides, *Food Chemistry*, 230:524~531, 2017.
4. Naoki Yoshioka, Migiwa Asano, Azumi Kuse, Takao Mitsunashi, Yasushi Nagasaki and Yasuhiro Ueno : Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1218:3675~3680, 2011.
5. Hao Guo, Huijun Wang, Jing Zheng, Wenwen Liu, Jian Zhong and Qingbiao Zhao : Sensitive and rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos and metabolites by UPLC-MS/MS using a modified Quick Polar Pesticides Extraction method, *Forensic science international*, 283:111~117, 2018.
6. Li-Zhong Yang, Zhuo Man and Xingdong Zhou : Direct analysis of glyphosate and similar polar pesticides in Oatmeal by UHPLC-MS/MS, *Perkin Elmer application note 013031_01*, 2016.
7. [Http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/glyphosate_en](http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/glyphosate_en).
8. 이현숙, 최은혜, 이한진, 경예나, 장문익, 이규식 : 대산산물을 포함한 글리포세이트, 글루포시네이트의 분석법 개선 및 잔류실태조사. 2016 International Symposium and Annual Meeting of the KSEA. 05 Poster Sessions, PF-06.
9. A. M. Botero-Coy, M. Ibenez, J. V. Sancho and F. Hernandez : Direct liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of underivatized glyphosate

- in rice, maize and soybean, *Journal of Chromatography A*, 1313:157~165, 2013.
10. 식품의약품안전처 : 식품공전, p.727~730, 2018.
 11. Narong Chamkasem, Tiffany Harmon : Direct determination of glyphosate, glufosinate, and AMPA in soybean and corn by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem* DOI 10.1007/s00216-016-9597-6, 2016.
 12. Matthew Trass, Allen Misa and James Turner : Glyphosate analysis by LC/MS/MS using FMOC derivitization or underivatized method, Phenomenex application, TN-1173, 2014.
 13. Benjamin Wuyts, Euan Ross, Simon Hird and Dimple Shah : Improved multi-analyte method for the underivatized analysis of anionic pesticides in food by LC-MS/MS, Waters application note 720006070EN, 2017.
 14. 한국작물보호협회 : 작물보호제지침서, 2018.
 15. [Http://www.crl-pesticides.eu/userfiles/file/EURLSRM/meth-QuPPE-PO-EurISR.M.PDF](http://www.crl-pesticides.eu/userfiles/file/EURLSRM/meth-QuPPE-PO-EurISR.M.PDF)
 16. [Http://www.fao.org/input/download/standards/378/cxg.040e.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/378/cxg.040e.pdf)
 17. Ming-Xue Chen, Zhao-Yun Cao, Yan Jiang and Zhi-Wei Zhu : Direct determination of glyphosate and its major metabolite, aminomethylphosphonic acid, in fruits and vegetables by mixed-mode hydrophilic interaction/weak anion-exchange liquid chromatography coupled with electrospray tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1272:90~99, 2013.
 18. Junjie Ding, Gehui Jin, Gaowa Jin, Aijin Shen, Zhimou Guo, Bing Yu, Yang Jiao, Jingyu Yan and Xinmiao Liang : Determination of underivatized glyphosate residues in plant-derived food with low matrix effect by solid phase extraction Liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Food Anal. Methods* DOI 10.1007/s12161-016-0468-8, 2016.
 19. Yun-Chen Tsao, Yung-Chen Lai, Hsiu-Chuan Liu, Ray H. Liu and Dong-Liang Lin : Simultaneous Determination and Quantitation of Paraquat, Diquat, Glufosinate and Glyphosate in Postmortem Blood and Urin by LC-MS/MS, *Journal of Analytical Toxicology*, 40:427~436, 2016.
 20. Benjamin Wuyts, Euan Ross and Simon Hird : Determination of anionic polar pesticides in spinach using a novel application of Torus DEA column chemistry by Liquid chromatography-Tandem Quadrupole Mass Spectrometry, Waters application note 720006213EN, 2018.