

ASE 전처리를 이용한 유기염소계 잔류농약 분석의 효율성 평가 및 채소 시료에의 적용

김기동* · 서용찬**[†]

*상지대학교 정밀화학신소재학과, **상지대학교 환경공학과

Evaluation of Organochlorine Pesticides Extraction Efficiency by ASE Pretreatment

Kee D. Kim* and Yong Chan Seo**[†]

*Department of Fine Chemical and Advanced Materials, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

**Department of Environmental Engineering, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Received November 2008, accepted June 2009

Application of accelerated solvent extraction (ASE) technique to the extraction of organochlorine pesticides from vegetables turned out to be useful. Recoveries of 12 organochlorine pesticides spiked in sand were within the range of 33-118%. Method detection limits were 0.3-2.3 ug/Kg. Surrogate recoveries of TCMA and dibutylchloroendate were 48.4 and 84.7%, respectively. However, the analytes which are sensitive as stable to heat were not suitable for ASE extraction. Degradation of the compounds such as endosulfans and endrin aldehyde could be accelerated under ASE condition - high pressure, high temperature. Organic and non-organic vegetables were collected and their concentrations of residual organochlorine pesticides were determined by the ASE concentration technique coupled to GC/ECD. No residual organochlorine pesticides were determined over criteria level in most of vegetables regardless organics or non-organics except non-organic cabbage. 0.015 mg/kg of heptachlor epoxide(exo) was found in a non-organic cabbage. Also trace amount of endosulfans were detected in non-organic lettuces, young radishes and sesame leaves. Notably, endosulfan was also detected in organic sesame leaves although it was at a trace level. It could be either the consequence of illegal use of pesticides or cross contamination during the distribution process.

Key words: organochlorine pesticides, ASE(accelerated solvent extract), organic vegetable, non-organic vegetable

1. 서 론

농산물 재배 시 사용된 농약은 식품에 잔류하여 섭취될 수 있기 때문에 잔류농약에 대한 안전성 평가는 중요한 연구과제 중의 하나이다. 많은 선진국에서는 삶의 질 향상이라는 측면에서도 잔류농약에 대한 규제를 강화하고 있으며 저농약 혹은 무농약 농산물을 거쳐 유기농산물의 사용을 권장하는 방향으로 진행하고 있다. 농약은 유효성분에 따라 유기수은계, 유기염소계, 유

기인계, 카바메이트계 등이 있으며 오늘날까지 300여종 이상에 달하고 있다.¹⁾ 살충력이 강하고 적용범위가 넓어 경제적인 장점을 가지고 있는 유기염소계 농약 중 특히 DDT는 Zeidler에 의해 1874년에 합성되어 1939년 Muller에 의해 살충제로서의 용도가 발견되어 다른 유기염소계 살충제와 아울러 위생적인 면과 농업 생산적인 면에서 병충해 방제라는 부분에 공헌한 바가 매우 크다.^{2,3)} 우리나라에서는 1953년부터 연간 약 100톤을 생산하여 사용하였다. 하지만 1960년 초부터 독성학

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ycseo@sangji.ac.kr

적 및 환경오염 측면에서 재평가를 받기 시작하였고, 1970년대에는 세계 각국에서 잔류농약문제가 대두되면서 우리나라에서도 1979년 7월부터는 전면 사용금지에 들어갔다.⁴⁾

유기염소계농약중 HCHs와 DDTs는 수질, 토양, 대기 등에 잔류할 뿐 아니라 식물에 흡수되어 생물농축에 의해 여러 생물에 축적된다. 특히 토양의 비추멘이라는 지용성유기물에 강하게 흡착되어 농작물에 잔류농약이 많이 축적되며, 이렇게 축적된 유기염소계 농약들은 농수산물을 통하여 먹이사슬의 최상위에 속하는 사람에게 영향을 주는데, 특히 인체 내의 지방층이나 뇌신경에 유입 축적되어 만성중독 등을 일으킨다. 유기염소계는 토양속에서 14년후의 최장 잔류백분율은 Aldrin이 40%, Endrin이 41%, BHC가 10%, Dieldrin이 31%, DDT가 39%로 환경중에서의 분해속도가 다른 농약에 비해 매우 느려 아직도 농작물이나 한약재중에서 검출되고 있는 형편에 있다. 따라서 정부에서도 현재 농산물중의 유기염소계농약에 대한 허용농도를 일부 규정하여 관리하고 있다.⁵⁾

국내외에서 농산물의 잔류 농약 분석에 관한 연구는 최근에 들어 활발히 진행되고 있으나 통일되지 않은 전처리방법을 사용함으로써 상이한 결과를 나타내 실험결과를 자료로 이용하는데 많은 문제점을 안고 있다. 식품공전에 의한 일반적인 전처리법이 명시되어 있기는 하지만 최근 개발된 ASE(accelerated solvent extract)법 등에 의한 전처리법의 사용 타당성 및 분석품질에 대한 기준은 아직 정해져있지 않다. 식품공전에 의한 농산물의 전처리법은 물과 아세톤을 이용한 1차 추출, 그리고 디클로로메탄을 이용한 2차 추출 및 정제의 복잡한 과정을 진행해야 한다. 물론 이 과정은 농산물에 다량 함유된 수분의 영향을 고려한 방법이지만, 이러한 이유로 농산물의 분석과정에서 많은 인력의 사용뿐만 아니라 유독성의 유기용매를 다량 사용해야 하는 단점이 존재한다.

본 연구에서는 자동화 및 소량 유기용매의 목적으로 개발된 ASE를 사용하여 표준물질의 MDL과 회수율을 모래를 매질로 하여 검토하였다. 실제 시료로서는 9종의 야채를 유기농과 무기농으로 구분하여 ASE로 전처리 하여 잔류 유기염소계 농약을 분석하였다. ASE 전처리법의 타당성을 확인하기 위해 2가지의 대체표준물질을 사용하여 MDL과 회수율을 사전 검토하였으며 채소 시료에서의 표준시료 회수율을 분석하였다. 정제과정을 단순화하기 위해 상업용으로 시판되는 후로리실

카트리지를 사용하여 정제하였으며, 각 용출액을 구분 채취하여 분석물의 존재를 확인함으로써 정제조건을 확립하였다. 최종 농축된 시료는 GC/ECD로 분석하였으며 검출이 의심되는 시료는 다른 컬럼을 사용한 GC/ECD로 재확인하였다.

2. 시료 및 분석

본 실험에서 표준시료는 Accustandard사에서 제조한 인증된 용액을 구입하여 사용하였다. 유기용매는 J.T.Baker사의 잔류농약급을 사용하였다. 후로리실은 J.T.Baker사, 무수황산나트륨은 Wako사 제품을 사용하였다. 채소 시료는 총 9종류로서 Table 4에 나타내었으며 종류별로 유기농 검증 채소와 비유기농 채소로 구분하였다. 원주 한살림 혹은 원주의 전국체인규모의 대형 마트에서 구입하여 즉시 사용하였다.

2.1. 추출

시료를 사방 5mm 이하로 잘게 잘라 10을 정확히 칭량하여 ASE셀에 넣는다. 셀의 남은 공간은 규조토로 채우고 아세톤/헥산(2:8) 용매를 사용하여 기기의 사용방법에 따라 추출하였다. 추출조건은 아래 Table 1과 같다. 용출된 용액은 냉각 후, 유기층은 분리하고 잔여물층에 5 mL의 디클로로메탄을 넣어 추출하고 유기층에 합하였다. 유기층은 무수 황산나트륨으로 건조하고 감압 농축기로 농축한 후 5 mL 헥산에 녹이고 정제하였다.

2.2. 정제 및 농축

1g 후로리실 카트리지를 사용하여 정제를 할 때 사용해야 할 용매의 양을 결정하기 위해 대체표준물(surrogate standards)을 5 mL 헥산에 녹인 후 아세톤/헥산(2:8) 혼합 용매를 흘리며 매 10 mL마다 용리액을 분획 수집하여 각각을 농축, 분석하였다. 최초 10 mL에서는 표준물질의 검출이 없었으며 두 번째와 세 번째

Table 1. ASE extraction condition

Instrument	ASE-200 (DIONEX)
Sovent	Acetone/Methylene chloride (2:8)
Oven temperature	100°C
Pressure	1,500 psi
Static time	5 min
Flush volume	60% of the cell volume
Nitrogen purge	60 sec at 150 psi
Static cycle	1

분획 용리액에서 표준물이 검출되었다. 네 번째 분획 용리액부터는 표준물이 검출되지 않았다. 이 결과를 근거로 정제 시 용매의 수집은 30 mL로 충분할 것으로 사료되나, 만약의 경우를 고려하여 총 50 mL를 수집하였다.

정제는 다음과 같이 하였다. 미리 후로리실 카트리지가 (6 mL, 1 g)에 헥산 6 mL를 넣고 2분간 멈춘 다음 유출시켜 버리고, 이 카트리지에 20% 아세톤 함유 헥산 6 mL를 위와 같은 방법으로 유출하여 버린다. 이어서 농축된 시료 추출액을 카트리지 상단에 넣고 2분간 컬럼에 머무르게 한 다음 서서히 유출액을 받는다. 카트리가 용매에 젖어 있는 상태에서 아세톤:헥산(2:8) 50 mL로 유출하여 유출액을 모은다. 유출액은 수욕상(40°C 이하)에서 감압농축시켜 용매를 날려 보낸 다음 1 mL로 하고, 내부 표준물질을 첨가하여 시험용액으로 한다 (Fig. 1). 농축과정은 K-D농축기를 사용하여 수행할 수 있다.

2.3. 분석

유기염소계 농약의 분석은 가스크로마토그래피/전자포집검출기로 분석 하였고 검출이 의심되는 시료는 다른 종류의 컬럼을 사용한 가스크로마토그래피/전자포집검출기를 사용하여 재확인하였다. 각 분석기기의 분석 조건은 Table 2와 같다.

3. 결과 및 결론

채소는 많은 수분을 포함하고 있는 관계로 전처리 시 일반적으로 아세톤 및 물로 용출하고 그 수액을 디클로로메탄으로 재 추출한다. 그러나 그 과정에 상당한

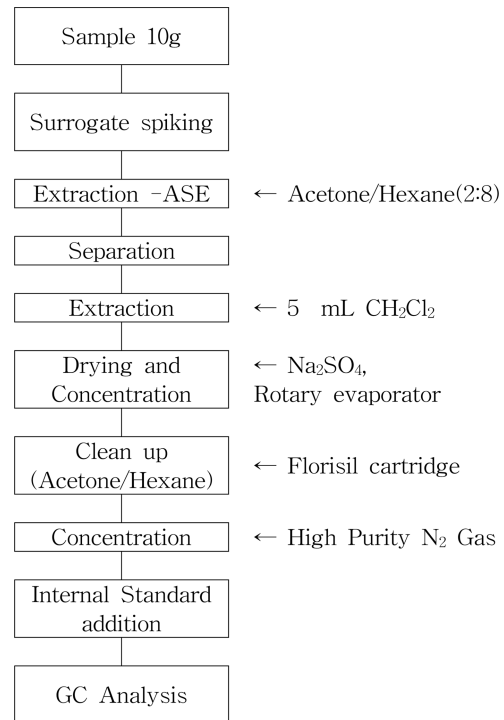


Fig. 1. Flow chart for organochlorine pesticides pre-treatment in vegetables

노력과 시간이 소요되며, 특정 GC의 사용시에는 디클로로메탄의 사용이 제한되는 경우가 있어 그 경우 헥산으로의 용매를 치환하는 번거로운 단계를 거치게 되며 된다. 이런 과정을 줄이기 위해 본 연구에서는 아세톤/헥산(2:8) 용매를 사용하여 다량의 수분을 포함하고 있는 채소류에서의 유기농약 추출시의 회수율을 검토해 보았다. ASE를 이용한 채소류에서도 이 용매 조건이 사용 가능하다면 일반적인 식 재료에서도 ASE를

Table 2. GC/ECD condition for organochlorine pesticides

Instrument	GC/ECD(Varian, CP-3800)		
Column	VF-5 ms (Varian사, 30 m × 0.32 mm, 0.25 μm) DB-608(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)		
Carrier gas, flow	N ₂ , 1.5 mL/min, constant flow		
Injector Temp	250°C		
Oven Temp. program	Initial temp : 60°C		
	rate (°C/min)	temp. (°C)	hold time (min)
	60		2
	10	160	0
	3	270	1
Detector Temp.	300°C		

Table 4. Analysis samples and organochlorine pesticides

Specification	Item
Vegetable sample	Cabbage, Cherry tomato, Green pumpkin, Lettuce, Red lettuce, Green Pepper, Sesame leaf, Young radish, Paprika (Organic and regular each)
Organo Chlorine pesticides	α -Chlordane, γ -Chlordane, Chlorobenzilate, Chloroneb, Chlorothaonil, Chlorpyrifos, DCP, Etridiazole, Hexachlorobenzene, cis-Permethrin, trans-Permethrin, Propachlor, Trifluralin, Aldrin, aaa-BHC, bbb-BHC, γ -BHC, δ -BHC, p,p'-DDD, p,p'-DDE, p,p'-DDT, Dieldrin, Endosulfan 1, Endosulfan 2, Endosulfan sulfate, Endrin, Endrin aldehyde, Heptachlor, Heptachlor epoxide (Isomer B), Methoxychlor, Cypermethrin, Esfenvalerate, Bifenthrin, Metolachlor, Deltamethrin
Surrogate standards	TCMX, Dibutylchlorendate
Internal standards	Pentachloronitrobenzene

이용한 전처리가 가능할 것으로 예상된다. 분석에 사용한 채소류는 총 9종류로서 Table 4에 나타내었으며 종류별로 유기농 검증 채소와 비유기농 채소로 구분하여 구입하여 각각 분석에 사용하였다.

각 채소별, 대체표준물질별 회수율은 Table 5에 나타내었다. 대체표준물질은 각 0.5 mg/L 농도의 용액을 40 μ L씩 주입하여 1 mL로 농축 시 최종농도가 0.02 mg/L 이 되도록 하였다.

두 가지 대체표준물 중 dibutylchlorendate는 전반적으로 수득율이 높은 수치(평균 74.4, 82.2%)를 보이고 있으나 표준편차로 표현되는 시료마다의 일관성은 TCMX에 비해 조금 낮은 수치를 보이고 있다. 반면 TCMX의 수득율은 평균 약 49% 수준으로 높지는 않으나 전반적으로 상대적으로 작은 표준편차의 안정된 수득율을 보이고 있다. 이러한 원인은 두 물질간의 끓는점 차이 및 추출용매와의 분배계수 차이에 의한 전

처리 과정 중의 안정성에 기인하는 듯하다. Dibutylchlorendate는 상대적으로 유기용매로의 추출율이 높은 반면 끓는점이 낮으므로 전처리 및 농축과정에서 분석자의 기술적 능력에 따라 수득율에 많은 변화가 올 수 있다고 가정할 수 있다. TCMX는 반대의 경우로 설명이 가능하다. 추출율이 상대적으로 낮으므로 회수율은 낮지만 끓는점이 높으므로 전처리 과정에서 분석자의 능력 차이에 큰 변화를 보이지 않고 상대적으로 낮지만 일정한 안정된 수득율을 보이는 듯하다.

이 방법에 대한 MDL(Method Detection Limit)을 측정하였다. MDL은 US. EPA에 명기된 대로 MDL로 예상되는 농도의 약 3-5 배 정도의 표준시료를 첨가한 후 동일한 방법으로 7번을 분석하였다. 1 mL로 최종 농축 시 예상되는 농도는 5 mg/L이다. 여기서 얻은 표준편차에 신뢰도 99% 수준의 Student t 값인 3.14를 곱하여 MDL을 계산하였다. MDL 측정을 위한 매질은 분석시료의 매질과 유사한 시료를 사용하고 그 시료는 매질에 의한 분석물질에의 영향이 없음을 확인하여야

Table 5. Organochlorine surrogate standards recoveries

	Surrogate recovery (%)			
	TCMX		Dibutylchlorendate	
	Organic	Regular	Organic	Regular
Cabbage	40	44	65	43
Cherry tomato	69	57	91	94
Green pumpkin	57	46	100	110
Lettuce	46	54	55	90
Red lettuce	40	40	56	112
Green pepper	34	39	57	38
Sesame leaf	69	62	68	47
Young radish	52	60	62	98
Paprika	40	40	116	108
Average	49.6	49.1	74.4	82.2
Std. deviation	12.9	9.18	22.2	30.6

Table 6. MDLs and recoveries of surrogate standards in sand

	Concentration, ug/kg	
	TCMX	Dibutylchlorendate
MDL1	1.563	5.206
MDL2	1.569	7.552
MDL3	3.264	7.169
MDL4	1.100	5.460
MDL5	1.969	12.327
MDL6	1.210	5.389
MDL7	1.133	5.587
Standard deviation (S)	0.76	2.5
MDL(Sx3.14/5)	0.4	1.5

Table 7. MDLs and QC recoveries of several selected organochlorine pesticides in sand

	TCMX(SS)	a-BHC	b-BHC	Heptachlor epox B	Endosulfan1	pp-DDE +Dieldrin
Recovery	48.4	117	118	75.2	67.7	58.2
MDL (ug/kg)	0.4	0.9	1.2	0.4	0.9	0.5
	Endrin	Endosulfan2	pp-DDD +DDT	Endrin aldehyde	Endosulfan sulfate	Dibutylchlorendate (SS)
Recovery	83.5	36.8	51.5	37.7	33.0	84.7
MDL (ug/kg)	2.3	0.4	1.4	0.3	0.8	1.5

한다. 그러나 채소류의 시료를 대신할 수 있는 순수한 매질을 구할 수 없어 고체상인 바다모래(Sea sand) 5 g을 매질로 대신하여 MDL을 측정하였다. MDL 측정 결과는 Table 6에 있다.

대체표준물 중 GC/ECD 크로마토그래피에서 앞쪽에 용출되는 TCMX는 평균 QC 회수율은 48%, MDL은 0.4 ug/kg으로 나타났다. 반면 크로마토그래피의 뒤쪽에서 용출되는 dibutylchlorendate는 수득율 84.7%, MDL 1.5 ug/kg로 상대적으로 우수한 결과를 보여주고 있으며 이러한 경향성은 실제 채소류의 분석에서 도출된 결과와 대단히 유사하다(Table 7, 8). 결론적으로 ASE를 사용한 수분함량이 많은 채소류에서의 유기염소계 농약의 추출은 기존의 식품공정시험법에 의한 추출방법에 비해 약간 열등한 수득율을 보여주고 있으나(내부 평가 자료에 근거) 적절한 대체표준물질 및 내부표준물질의 선택적 사용에 의한 보정을 이용하면 실제 분석에 충분히 응용할 수 있을 것으로 사료된다. Dibutylchlorendate를 대체표준으로 사용할 경우 모래를 사용한 QC 회수율과 실제 야채 시료에서의 회수율이 유사한 수치로 나타나고 있다. 매질의 복잡한 성격

Table 8. Surrogate recoveries in actual vegetable samples

	Surrogate Recoveries(%)			
	TCMX		Dibutylchlorendate	
	Organic	Regular	Organic	Regular
Cabbage	39.9	43.6	65.4	43.4
Cerry tomato	68.9	56.7	122.8	94.1
Green pumpkin	45.8	50.5	109.0	110.6
Lettuce	46.0	53.6	55.2	90.5
Red lettuce	40.3	39.7	56.5	112.3
Green pepper	34.3	38.7	117.2	38.7
Paprika	50.2	48.7	96.8	108.5
Young radish	51.8	59.6	62.9	98.0
Sesame leaf	69.1	61.7	68.5	47.7
Average	49.6	50.3	83.8	82.6
Std. deviation	12.2	8.4	27.4	30.5

에도 불구하고 이러한 동등성을 보임은 ASE 전처리법의 활용도를 넓히는데 기여를 할 수 있을 것으로 생각된다.

분석에 사용된 유기염소계 농약 중 몇 가지를 선택하여 ASE 전처리법을 사용한 QC 회수율을 검토해 보

Table 9. Analysis results of residual organochlorine pesticides in vegetables. (detected pesticides only)

	Heptachlor epoxide(exo)			Endosulfan(a+b+sulfate)		
	Criteria conc. (mg/kg)	Concentration(mg/kg)		Criteria conce. (mg/kg)	Concentration(mg/kg)	
		Organic	non-Org.		Organic	non-Org.
Cabbage	0.01	nd	0.015	0.5	nd	nd
Cherry tomato	0.01	nd	nd	0.5	nd	nd
Green pumpkin	0.01	nd	nd	1.0	nd	nd
Lettuce	0.01	nd	nd	1.0	nd	0.020
Red lettuce	0.01	nd	nd	1.0	nd	nd
Green pepper	0.01	nd	nd	1.0	nd	nd
Paprika	0.01	nd	nd	1.0	nd	nd
Young raddish	0.01	nd	nd	2.0	nd	0.035
Sesame leaf	0.01	nd	nd	1.0	0.024	0.094

았다. 매질은 MDL 때와 동일하게 방해물질이 없는 바다모래를 사용하였다. Table 7에서 보여주는 바와 같이 대체적으로 37-118%의 다양한 수득율을 보여주고는 있으나 endrin, endosulfan2 그리고 endosulfan sulfate는 30% 대의 매우 저조한 회수율을 보여주고 있다. 이는 두 물질의 구조적인 불안정성으로 인해 분해 혹은 낮은 추출율이 원인으로 판단된다. 향 후 추출용매 및 추출온도의 변화에 따른 회수율 변화를 더 연구할 필요성이 있다. 농약시료의 바다모래에서의 MDL은 0.3-2.3 ug/kg의 상당히 낮은 수치를 보여주고 있다.

이러한 결과를 바탕으로 원주권에서 구입한 채소류 9종을 각각 유기농과 비유기농으로 구별하여 유기염소계 농약 35종을 선별하여 ASE로 분석하였다. 채소류는 일반인의 구입이 가장 원활하다고 판단되는 원주권내 대형 유통마트를 통해 구입하였다. Table 9에 나타난 바와 같이 분석결과 선별한 유기염소계 농약은 9종의 유기농, 비유기농 채소류에서 대부분 검출한계 이하로⁶⁾ 나타났다. 그러나 비유기농 배추에서 heptachlor epoxide (exo)가 기준치를 초과하여 검출되었고 기준치 이하이기는 하나 상추, 열무 그리고 깻잎에서 endosulfan이 검출되었다. 또한 유기농 깻잎에서 미량(0.024 mg/kg)의 endosulfan이 검출된 것은 특이할만한 결과이다. 유기농산물은 농약의 살포가 금지되어 있으나 경작자가 일부 농약을 살포했을 가능성도 있다. 또한 경작 시 외부 비유기농 재배지에서의 농약 살포에 의한 교차 오염이거나 유통과정에서 비유기농 농산물과의 접촉 등에 의한 오염일 가능성도 있다. 명확한 원인은 생산 및 유통과정의 조사를 통해 밝혀질 수 있을 것으로 기대한다. 비유기농 야채의 경우 일반적으로 기준치 이하의 잔류농약 농도는 판매에 장애를 주지 않는다. 본 연구실에서 설정된 검출한계는 기준치보다 최소 100배 이하임에도 불구하고 많은 비 유기농 채소류에서도 유기

염소계 잔류 농약이 그 검출한계 이하로 나타났다는 것은 사회적으로 채소류의 재배 및 관리에서 농약사용에 대해 상당한 관심을 가져왔던 긍정적 결과로 생각된다. 이는 과거에 비해 농약 사용 및 섭취에 대한 소비자들의 높은 관심뿐만 아니라 농산물 생산자 및 유통자들이 먹거리, 특히 채소류에 대한 농약 사용에 대해 경각심을 갖기 시작한 사회적 변화의 결과일 수도 있다.^{7,8)}

감사의 글

본 연구는 2007년도 상지대학교 교내연구비의 지원을 받아 수행한 연구이며 이에 감사한다.

참고문헌

1. 양승환. 이두형. 이승환. 신농약, 향문사, 49-61, 1993.
2. 정문식, 정문호, 이진현, 김영규, 환경화학, 신평문화사, 1995.
3. 일본환경청, 토양농약편, 농약오염, 白亞書房. 1974.
4. 노정구 외 13명, 우리나라 식품의 잔류농약 오염현황, 한국과학기술연구소, 1979년 보고서, BSE, 447(1)-1334-5, pp. 23-44, 1979.
5. 보건복지부고시, 1996-12호, 한약재품질 및 유통관리규정, 1996.
6. 한국식품의약품안전청, 식품의 농약 허용 잔류 기준, 2005.
7. 원경풍, 황인균, 최동미, 이강봉, 최윤주, 오금순, 서정혁, 박성수, 김창민, 식품중 잔류농약 모니터링, 한국식품의약품안전청연구보고서, 5, 491-498, 2001.
8. 홍무기, 황인균, 최동미, 이강봉, 최윤주, 오금순, 이은주, 이경진, 이은경, 이정수, 김명철, 식품중 잔류농약 모니터링, 한국식품의약품안전청연구보고서, 7, 104-111, 2003.