

기체 크로마토그래피를 이용한 잔류농약 동시분석에 관한 연구

이동호 · 송병권 · 신영민 · 김형수 · 김형일* · 손영욱 · 김재이 · 김우성

부산지방식품의약품안전청, *식품의약품안전청

Studies on Multipesticide Residue Method using Gas Chromatography

Dong-Ho Lee, Byung-Kwon Song, Young-Min Sin, Hyung-Soo Kim, Hyung-Il Kim*,
Young-Wook Son, Jae-I Kim and Woo-Seong Kim

*Pusan Regional Food & Drug Administration,
Pusan 608-080, Korea*

**Korea Food & Drug Administration,
Seoul 122-704, Korea*

A method for the simultaneous analysis of organochlorine, pyrethroid and organophosphorus pesticides was studied by gas chromatography for the development of rapid analytical method of residue pesticides. Recoveries of organochlorines ranged were from 70.9 to 98.2% and those of organophosphorus were greater than 80% for all except 4 analytes. The recoveries of 8 pyrethroids(cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, flucythrinate, fenvalerate, fluralinate, and deltamethrin) were between 73.2 and 89.4%. The minimum detectable levels of 0.004~0.063 μ m/ml(for organochlorine and organophosphorus) and 0.012~0.074 μ g/ml for the 8 pyrethroids are easy to detect.

Key words: multipesticide method, GC-ECD, GC-NPD

1. 서 론

현대 농업분야에서 농작물의 병충해 방지와 잡초방제의 목적으로 농약은 광범위 하게 사용되고 있다. 그러나 농약에 대한 이들의 내구성이 증가함에 따라 매년 새로운 종류의 농약이 개발되고 있으나 최근 환경오염의 문제로 농약의 사용이 억제되고 있는 실정이다. 또한 식품소비에 있어서 보다 안전한 먹거리를 확보한다는 면에서 볼 때 잔류성 농약은 큰 문제라 아니할 수 없다. 이러한 소비자들의 요구로 인하여 식품의 안전성 확보 차원에서 잔류농약을 보다 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 분석 방법에 대한 모색이 시급한 실정이다. 그리하여 여러 연구자들에 의하여 다종의 농약 성분을 동시에 분석하는 방법에 대하여 다양하게 검토되어져 왔는데, Kim 등은 ECD(electron capture detector)와 NPD(nitrogen phosphorous detector)를 병렬로 장착시킨 후 16종의 농약에 대해서 QF-1

packed column¹⁾, 19종의 농약을 OV-17 capillary column²⁾, 25종의 농약을 BP-1 column을 사용하여³⁾ 각각 분리도와 재현성을 비교하였다. Lee 등⁴⁾은 CDF(A California Department of Food and Agriculture)의 방법으로 유기인계 농약을 DB-5 column과 FPD(frame photometric detector), 유기 염소계는 전처리 과정 중 pH를 조정, SPE(Solid Phase Extraction) clean up 과 환원제 첨가에 따른 분리효과를 HP-5 column과 ELCD (electrolytic conductivity detector)로 비교하였고, Pang 등⁵⁾ 과 Miyahara 등⁶⁾ 은 유기 염소계 농약을 florisil과 silica gel column chromatography로 정제하여 용출 용매의 비율에 따라 각각 그 회수율을 비교하였다.

그 외에도 GC-MSD(mass selective detector)를 사용한 동시분석⁷⁻⁹⁾, AED(atomic emission detector)와 NPD, ECD, FPD 비교¹⁰⁾, 잔류농약을 효율적으로 분석하기 위한 glass capillary column 제조¹¹⁾ 등의

많은 연구가 이루어져왔으나 한 번의 전처리로 다종의 농약을 보다 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 방법에 대한 검색이 요구되고 있는 실정이다

따라서, 본 연구에서는 다양한 용출 용매를 사용하여 pyrethroids계 농약 뿐 만 아니라 유기인계 및 유기염소계 농약을 동시에 검출 할 수 있는 최적의 분석 조건에 대하여 검토 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약

농약의 표준품은 Dr. Ehrenstorfer(Augsbug, Germany)에서 구입하여 사용하였다. 각 표준품을 500~1000 µg/ml의 농도로 acetone에 용해시켜 stock solution을 제조하였고, 이 용액을 분석 직전에 적정 농도가 되도록 희석하여 사용하였다. 농약의 추출 및 정제에는 methanol, hexane, acetone, methylene chloride (Merck co, 잔류농약 분석용) 및 benzene, tert-butylmethylether (Merck co,특급)를 사용하였다. 정제용 충전제인 florisil(Sigma co.)은 130°C에서 12시간 활성화시킨 후 사용하였고 active carbon은 Avondole Lab.(Bambury, Ocam, England), microcrystalline cellulose는 Fluka제, sodium sulfate는 Junsei 제품을 사용하였다.

2.2. 추출 및 정제

본 실험에 사용된 시료는 시판 중인 중국산 대두를 구입하여 사용하였다.

대두 1 kg을 warring blender로 균질화 시키고 100g을 분취하여 농약 혼합 표준품을 첨가하였다. 이 중 30g을 취하여 70% acetone 100 ml로 10분간 추출한 후 여과 보조제를 간 흡인여과기로 여과하였다. 그 후 40°C 이하의 수욕상에서 감압·농축시킨 후 이 수용액을 분액깔대기에 취해 methylene chloride 100 ml(×2)를 넣어 10분간 심하게 흔들어 섞은 후 정지하여 유기용매층(하층)을 무수황산나트륨을 이용하여 탈수하였다. 그리고 40°C이하의 수욕상에서 감압·농축시킨 후 methylene chloride 10 ml에 용해시켜 시료액으로 사용하였다.

시료액 정제는 내경 15 mm인 유리 칼럼에 active carbon:microcrystalline cellulose(1:10) 1g, florisil 3.3 g 및 무수황산나트륨 3.5g을 각각 methylene chloride에 현탁시켜 충전 시키고 50 ml의 methylene chloride로 상단에 용매가 0.5 cm 정도 남게 유출시킨다. 여기에 위 시료액을 loading 시키고, ①ether:hexane (9:1) 30 ml, ②hexane:benzene (1:1) 30 ml, ③ether:benzene (2:8) 30 ml을 순차적으로 용출시킨 후 이액을 40°C 이하 수욕상에서 감압하여 완전히 농축시켜 acetone으로 적당량 희석하여 GC분석에 이용하였다.

2.3. 분석 기기

잔류농약 분석용 GC는 HP 7673 auto injector가 설치된 HP 5890 series II plus 와 HP 6890 (Hewlett Packard, USA)을 사용하였고 검출기는 ⁶³Ni ECD 와 NPD를 사용하였는데 기기분석 조건은 Table 1에 나

Table 1. Analytical conditions

	Organochlorine & pyrethroids	Organophosphorus
column	Ultra-2 (50 m × 0.32 mm × 0.17 µm)	Ultra-2 (50 m × 0.32 mm × 0.17 µm)
flow rate/(min)	0.7	1.8
split ratio	70:1	5:1
Inj. temp.	280°C	280°C
Det. temp.	300°C	280°C
Oven program		
initial temp.	170(hold 1min.)	150(hold 1min.)
rate	5°C/min	5/min
final temp.	185(hold 17min.)	180(hold 19min.)
rate A	5°C/min	10°C/min
final temp. A	215(hold 8min.)	290°C(hold 6min.)
rate B	5°C/min	
final temp. B	290°C(hold 7min.)	

타내었다.

3. 결과 및 고찰

59종의 농약을 유기염소계와 유기인계로 나누어 최적의 분석조건을 확립하여 분자량이 큰 pyrethroids계 농약 검출도 가능 하였다.

본 연구는 전보와 같이¹²⁾ 유기염소·인계 동시 분석법에 근거, 1회 전처리로 ECD와 NPD를 이용하여 유기염소·인계 및 pyrethroid계 농약을 보다 신속, 정확

하게 정성 및 정량이 가능한 방법을 모색하였다.

59종의 농약을 감도 및 분리도에 기초하여 2 group으로 나누어 선택적으로 분리하였으며 각 농약의 머무름시간을 Fig. 1, 2에 각각 나타내었다.

Pyrethroids계 농약 중 cypermethrin의 4번째 peak(55.768min)와 flucythrinate의 1번째 peak(55.814min), fenvalerate의 2번째 peak(57.946min)와 fluvalinate의 1번째 peak(57.994min)가 분리되지 않고 겹쳤다. 유기인계 농약 중 cadusafos는 표준품이 acetonitril에 용해된 상태(10 µg/ml)로 시판되어 개별적으로 분석하였다.

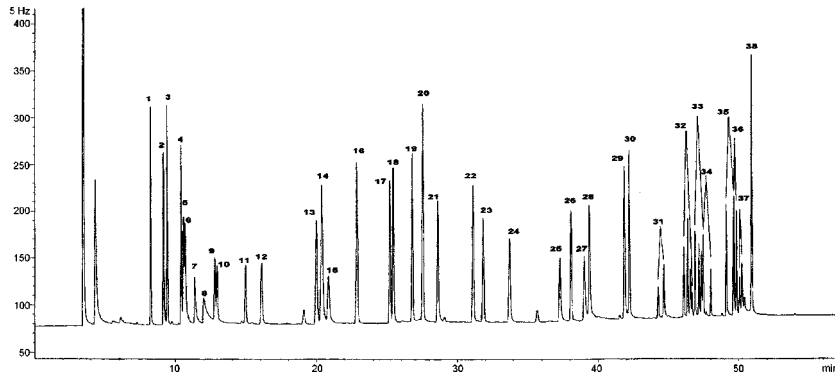


Fig. 1. Chromatogram of 38 kinds of Organochlorine Pesticides. 1. α -BHC(8.262), 2. β -BHC(9169), 3. γ -BHC(9.426), 4. δ -BHC(10.422), 5 chlorothalonil(10.603), 6. tri-allate(10.695), 7. metobromuron (11.380), 8. propanil(12.008), 9. tolcophos-methy(12.790), 10. alachlor(12.950), 11. dichlofluanid(14.957), 12. chlorpyriphos(16.087), 13. captan (19.994), 14. chlorfenvinphos(20.373), 15. folpet(20.840) 16. α -endosulfan (22.883), 17. dieldrin(25.198), 18. DDE (25.444), 19. endrin(26.801), 20. β -endosulfan (27.542), 21. DDD(28.619), 22 endosulfan sulfate(31.132), 23. DDT(31.861), 24. captafol (33.719), 25. bromopropylate(37.288), 26. methoxychlor (38.082), 27. bifenoxy(39.012), 28. tetradifon(39.370), 29. fenarimol(41.864), 30. cyhalothrin(42.214), 31. permethrin(44.283, 44.690), 32. cyfluthrin (46.109, 46.385, 46.576, 46.701), 33. cypermethrin(46.906, 47.189, 47.365, 47.454), 34. flucythrinate(47.515, 48.026), 35. fenvalerate (49.137, 49.648), 36. fluvalinate(49.708, 49.868), 37. difenoconazole(50.069, 50.230), 38. deltamethrin(50.919).

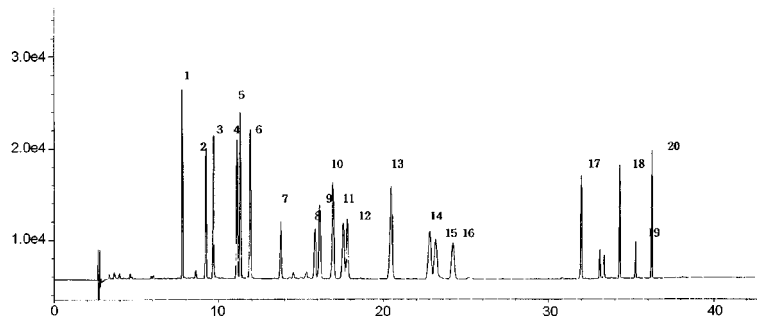


Fig. 2. Chromatogram of 20 kinds of Organophosphorus Pesticides. 1. etoprophos(7.78), 2. thiometon(9.207), 3. simazine(9.659), 4. diazinon(11.094), 5 disulfoton(11.297), 6. etrimfos(11.892), 7. parathion-methyl(13.758), 8. fenitrothion(17.525), 9. pirimifos-methyl(16.114), 10. malathion(16.912), 11. fenthion(17.525), 12. parathion(17.776), 13. pirimifos-ethyl(20.427), 14. phenthoate(22.769), 15. chinomethionat (23.130), 16. methidathion(24.182), 17. tri-azofos(31.972), 18. EPN(34.278), 19. azinphos-methyl(35.230), 20. pyrazofos(36.197), *cadusafos(8.665).

Table 2. Recovery and detection limit of organochlorine & pyrethroid pesticides

	Pesticide	Mean ± SD (%)	LOD (µg/ml)
1	α-BHC	62.1 ± 12	0.004
2	β-BHC	87.8 ± 4.0	0.006
3	γ-BHC	75.7 ± 1.3	0.004
4	δ-BHC	80.5 ± 1.6	0.016
5	chlorothalonil	70.9 ± 1.0	0.006
6	tri-allate	72.1 ± 1.4	0.008
7	metobromuron	95.3 ± 4.5	0.010
8	propanil	68.4 ± 0.7	0.011
9	tolclofos-methyl	68.4 ± 3.1	0.009
10	alachlor	97.9 ± 4.2	0.046
11	dichlofluanid	98.2 ± 1.7	0.063
12	chlorpyrifos	75.9 ± 3.2	0.024
13	captan	83.9 ± 4.9	0.009
14	chlorfenvinphos	91.9 ± 3.5	0.011
15	folpet	93.2 ± 2.3	0.040
16	α-endosulfan	65.1 ± 3.4	0.006
17	dieldrin	67.2 ± 1.8	0.005
18	DDE	45.2 ± 2.2	0.005
19	endrin	78.6 ± 3.4	0.006
20	β-endosulfan	87.3 ± 1.8	0.057
21	DDD	54.8 ± 2.2	0.007
22	endosulfan sulfate	86.3 ± 4.8	0.007
23	DDT	74.0 ± 3.0	0.005
24	captafol	80.8 ± 4.6	0.009
25	bromopropylate	94.0 ± 2.1	0.030
26	methoxychlor	83.2 ± 2.3	0.007
27	bifenoxy	74.0 ± 2.7	0.035
28	tetradifon	94.5 ± 2.9	0.025
29	fenarimol	93.2 ± 3.0	0.009
30	cyhalothrin	76.2 ± 4.0	0.043
31	permethrin	84.3 ± 4.4	0.074
32	cyfluthrin	75.4 ± 5.4	0.052
33	cypermethrin	76.3 ± 4.2	0.064
34	flucythrinate	75.9 ± 3.3	0.060
35	fenvalerate	73.2 ± 4.3	0.012
36	fluvalinate	74.6 ± 2.6	0.012
37	difenoconazole	89.4 ± 5.7	0.016
38	deltamethrin	75.5 ± 7.7	0.021

충진제의 조성을 비교해 보면 alumina N과 active carbon:microcrystalline cellulose(1:10)을 이용한 칼럼 정제시 captan, captafol 및 pyrethroid계 농약의 회수율에 큰 차이를 나타내었으며 특히, alumina N 첨가시 captan, captafol의 회수율이 현저히 감소하였다.

Table 3. Recovery and detection limit of organophosphorus pesticides

	Pesticide	Mean ± SD (%)	LOD (µg/ml)
1	ethoprophos	88.3 ± 0.9	0.006
2	cadusafos	86.2 ± 0.3	0.007
3	thiometon	72.3 ± 1.2	0.008
4	simazin	96.0 ± 1.3	0.012
5	diazinon	79.8 ± 0.4	0.013
6	disulfoton	73.2 ± 0.6	0.007
7	etrimfos	87.3 ± 1.7	0.020
8	parathion-methyl	93.4 ± 3.2	0.020
9	fenitrothion	90.2 ± 1.8	0.013
10	pirimifos-methyl	81.0 ± 0.3	0.019
11	malathion	88.1 ± 1.1	0.022
12	fenthion	86.2 ± 0.9	0.022
13	parathion	91.3 ± 1.1	0.022
14	pirimifos-methyl	74.2 ± 0.8	0.013
15	phenthoate	83.1 ± 0.9	0.020
16	chinomethionat	N.D.	-
17	methidathion	93.0 ± 1.4	0.019
18	triazofos	99.1 ± 1.7	0.008
19	EPN	92.3 ± 1.6	0.006
20	aziphos-methyl	112.4 ± 5.1	0.015
21	pyrazofos	95.2 ± 1.6	0.007

동일한 조건으로 alumina N 대신 florisil을 사용했을 경우 captan, captafol의 회수율은 증가 하였다.

한편, florisil 사용시 유기염소·인계 농약의 회수율에는 다소 차이가 있었는데 이는 florisil의 활성화 정도에 기인한 것으로 생각된다

특히, 유기인계인 chinomethionat를 정량할 수 없었는데 이는 액체-액체 분배 과정에서의 문제로 판단된다.

개발한 분석법에 의해 59종의 농약을 1.5~6.6 ppm의 농도로 첨가한 후 회수율과 정량한계를 검토한 결과를 Table 2, 3에 나타내었다. 대부분 회수율은 70% 이상으로 나타났다

유기염소계 및 pyrethroids계 농약의 정량 한계는 0.004~0.074 µg/ml 이고 20종 유기인계 농약이 0.006~0.020 µg/ml인 것으로 나타나 이와 같은 분석법을 사용하면 극미량 까지도 검출할 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과 예시와 같이 1회의 시료 전처리 과정으로도 60여종의 농약을 완전히 분리할 수 있고 농약 성분에 따라 추출용매, 흡착제, GC 칼럼, 검출기 등을 선택적으로 사용하면 많은 농약을 동시에 분석할 수

있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) T. J. Kim, S. J. Park, and Y. S. Kim, *J. Korean Chem. Sci.*, **1985**, 29(5), 503-509.
- 2) T. J. Kim, W. E. Yun, and Y. S. Kim, *J. Korean Chem. Sci.*, **1987**, 31(5), 425-433.
- 3) T. J. Kim, W. E. Yun, Kim, and T. S. Rhee, *J. Korean Chem. Sci.*, **1991**, 35(5), 560-568.
- 4) S. M. Lee, M. L. Papathakis, H. M. C. Feng, G. F. Hunter, and Y. E. Carr, *Fresenius, J. Anal. Chem.*, **1991**, 339, 376-383
- 5) G. F. Pang, Y. Z. Chao, C. L. Fan, J. J. Zhang, X. M. Li and T. S. Zhao, *J. AOAC International*, **1995**, 78(6), 1481-1488 .
- 6) M. Miyahara, M. Murayama, T. Suzuki and Y. Saito, *J. Agric. Food Chem.*, **1993**, 41, 221-220.
- 7) H. J. Stan, *J. Chromatogr.* **1989**, 467, 85-98.
- 8) K. A. Rho, H. W. Kim and Y. K., Lee, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **1988**, 30(4), 721-727 (1998)
- 9) J. S. Rhee, H. M. Park, and Y. W. Er, *J. Korean Chem. Sci.*, **1995**, 39(12), 902-909.
- 10) S. M. Lee and P. L. Wylie, *J. Agric. Food Chem.*, **1991**, 39, 2192-2199.
- 11) M. Cooke and A. G. Ober, *J. Chromatogr.*, **1980**, 195, 265-269.
- 12) W. S. Kim, B. H. Lee, and H. J. Park, *J. Korean. Envi. Sci. Soc.*, **1996**, (5), 561-567.