

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

서용찬 · 허미경 · 김선영* · 신재은** · 박영훈** · 김기동**†

상지대학교 환경공학과, *원주소비자시민모임, **상지대학교 정밀화학신소재학과

Efficiency Evaluation of Organophosphorous Pesticides Analysis by ASE pre-Treatment Technique and its Application to Vegetable Samples

Yong Chan Seo, Mi-Kyung Heo, Sun Young Kim*, Jae Eun Shin**,
Yeong Hoon Park**, and Kee D. Kim**†

Department of Environmental Engineering, Sangji University, 660 Usan-dong, Wonju 220-702, Korea

*Wonju Citizens Alliance for Consumer Protection of Korea, 122 Jungang-dong, Wonju 220-010, Korea

**Department of Fine Chemical and Advanced Materials, Sangji University, 660 Usan-dong, Wonju 220-702, Korea

Application of ASE technique for the extraction of organo phosphorous pesticides from vegetables turn out to be optionally useful. QC recoveries of 6 organo phosphorous pesticides were lied on the range of 80-105%. MDLs were 0.028-0.050 mg/Kg. However, those analytes which are not considered as stable to heat were not suitable for ASE extraction. The degradation of these compounds such as dichlovos and diazinone were accelerated under ASE condition - high pressure, high temperature. Organic and non-organic vegetables are collected and residual organo phosphorous pesticides concentration were determined by means of ASE concentration technique. No residual organo phosphorous pesticides were found in the vegetables regardless organics or non-organics. It could be the result of positive effect "sustainable agriculture campaign" to people who work in agricultural field in general.

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

1. 서 론

농산물 재배 시 사용된 농약은 식품에 잔류하여 섭취될 수 있다는 점에서 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, 유기인계, 카바메이트계 등이 있으며 오늘날까지 300여종 이상에 달하고 있다.¹⁾ 유기인계농약은 에스테르형이므

로 다른 농약에 비하여 안전성이 약하고 가수분해되기 쉬우며 특히 알카리의 존재하에서 분해가 쉽게 일어난다. 또한 식물체에 대해 상당히 강력한 침투작용을 가지고 있으며 살충력이 커서 인간과 가축에 대한 독성이 매우 강하다.^{2,3)} 중금속제제나, DDT, BHC 등 유기염소화합물과 달리 축적작용이 별로 없어 인체에 해독을 주지 않으리라고 믿고 가장 널리 사용되고 있는 유기인 제제는 인산유도체의 에스테르군 합성물로 Schrader에 의해 살충작용이 있음이 밝혀짐에 따라 강력한 살충, 살균력을 가진 많은 화합물이 합성되었다.⁴⁾

국내외에서 농산물의 잔류 농약 분석에 관한 연구가 최근에 들어 활발히 진행되고 있으나 통일되지 않은 전

†To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kdkim@sangji.ac.kr

처리방법을 사용함으로써 상이한 결과를 나타내 실험 결과를 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 분석 품질에 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 유기 인계 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/NPD로 분석하였으며 검출이 의심되는 시료는 GC/MSD로 재 확인하였다.

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 5 mm 이하로 잘게 잘라 10을 정확히 칭량하여 ASE셀에 넣는다. 셀의 남은 공간은 구조토로 채우고 아세톤/헥산(2:8) 용매를 사용하여 기기의 사용방법에 따라 추출하였다. 추출조건은 아래 Table 1과

Table 1. ASE extraction condition

Instrument	ASE-200 (DIONEX)
Solvent	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

같다. 용출된 용액은 냉각 후, 유기층은 분리하고 잔여 물층에 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

1 g 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 분획 용리액에서 표준물질이 검출되었다. 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 카트리지를 (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 걸림에 머무르게 한 다음 서서히 유출액을 받는다. 카트리지가 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

유기인계 농약의 분석은 가스크로마토그래피/질소인 검출기로 분석 하였고 검출이 의심되는 시료는 가스크로마토그래피/질량검출기를 사용하여 확인하였다. 각 분

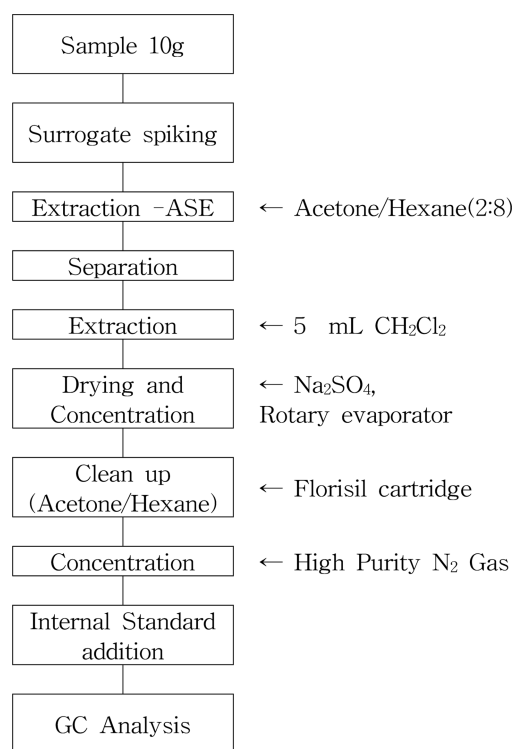


Fig. 1. Flow chart for organo phosphorus pesticides pre-treatment in vegetables

석기기의 분석 조건은 Table 2, 3과 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 노력과 시간이 소요되며, 특정 GC의 사용시에는 디클로로메탄의 사용이 제한되는 경우가 있어 그 경우 헥산으로의 용매를 치환하는 번거로운 단계를 거치게 되

Table 2. GC/NPD condition for organophosphorous pesticides

Parameters	GC/NPD
Model	Varian GC-3400 CX
Column	VF-5 ms (30 m × 0.32 mm)
Split ratio	Splitless
Inj. Temp.	260 °C/min
Initial Temp	60°C (1 min)
Rate	20 °C/min (170°C, 1 min)
Rate	4 °C/min (220°C, 2 min)
Final Temp.	20 °C/min (300°C, 5 min)

Table 3. GC/MSD condition for organophosphorous pesticides

Parameters	GC/MDS
Model	Varian GC-3400, Finnigan Mat Magnum MSD
Column	DB-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
Split ratio	Splitless
Inj. Temp.	260°C
Ionization	EI Mode, 70 eV
Initial Temp	60°C (4 min)
Rate	10 °C/min
Final Temp.	270°C(8 min)

며 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 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 125 mg/L 농도의 용액을

Table 4. Analysis samples and organo phosphorous pesticides

Specification	Item
Vegetable sample	Cabbage, Cherry tomato, Green pumpkin, Lettuce, Red lettuce, Green Pepper, Sesame leaf, Young radish, Paprika (Organin and regular each)
Organo Phosphorous pesticides	Azinphos methyl, Bolstar, Chlorpyrifos, Coumaphos, Dementon (mix Isomers), Diazinon, Dichlovos, Disulfoton, Ethoprop, Fensulfothion, Fenthion, Methyl parathion, Mevinphos, Naled, Phorate, Ronnel, Stirophos, Tokunthion, Trichlronate, Bensultap, Carbaryl, Carbofuran, Cadusafos, Metalaxyl
Surrogate standards	Tributyl phosphate, Triphenyl phosphate
Internal standards	4-Chloro-3-nitrobenzofluorid

Table 5. Organo phosphorous surrogate standards recoveries

	Surrogate recovery (%)			
	Tributyl phosphate		Triphenyl phosphate	
	Organic	Regular	Organic	Regular
Cabbage	65	83	40	44
Cherry tomato	82	94	69	57
Green pumpkin	78	76	46	51
Lettuce	55	90	46	54
Red lettuce	56	82	40	40
Green Pepper	57	88	34	39
Sesame leaf	68	48	69	62
Young radish	62	78	52	60
Paprika	88	76	58	55
Average	67	79	50	51
Std. deviation	12	13	12	8

40 uL씩 주입하여 1 mL로 농축 시 최종농도가 5 mg/L이 되도록 하였다.

두 가지 대체표준물 중 tributyl phosphate는 전반적으로 수득율이 높은 수치(평균 67, 79%)를 보이고 있으나 표준편차로 표현되는 시료마다의 일관성은 triphenylphosphate에 비해 조금 낮은 수치를 보이고 있다. 반면 triphenylphosphate의 수득율은 평균 약 50% 수준으로 높지는 않으나 전반적으로 상대적으로 작은 표준편차의 안정된 수득율을 보이고 있으나 큰 차이라고 할 수는 없다. 이러한 원인은 두 물질간의 끓는점 차이 및 추출용매와의 분배계수 차이에 의한 전처리 과정 중의 안정성에 기인하는 듯하다. Tributyl phosphate는 상대적으로 유기용매로의 추출율이 높은 반면 끓는점이 낮으므로 전처리 및 농축과정에서 분석자의 기술적 능력에 따라 수득율에 많은 변화가 올 수 있다고 가정할 수 있다. Triphenylphosphate는 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 3-5배 정도의 표준시료를 첨가한

후 동일한 방법으로 7번을 분석하였다. 1 mL 로 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 한다. 그러나 채소류의 시료를 대신할 수 있는 순수한 매질을 구할 수는 없으므로 고체상으로 성질이 가장 유사한 바다모래(Sea sand) 5 g을 매질로 대신하여 MDL을 측정하였다. MDL측정 결과는 Table 6에 있다.

Table 6. MDLs and recoveries of surrogate standards

	Concentration, mg/L	
	Tributyl phosphate	Triphenyl phosphate
MDL1	4.85	2.79
MDL2	4.47	3.96
MDL3	4.87	3.47
MDL4	4.73	3.41
MDL5	4.61	2.30
MDL6	5.10	2.48
MDL7	5.15	3.07
Standard deviation (S)	0.247	0.790
MDL(S × 3.14/5)	0.15	0.49
Recovery	96.6%	64.3%

Table 7. QC Recoveries of several organo phosphorous pesticides

Pesticides	Dichlovos	Cadusafos	Simazine	Atrazine	Diazinone	Malathion
Recoveries (%)	7.1	105	109	81	101	3.4
MDL (mg/kg)	-	0.031	0.050	0.037	0.028	-

GC/NPD 크로마토그래피에서 앞쪽에 용출되는 tributyl phosphate는 평균회수율 96%로 대단히 양호한 결과를 보여주고 있다. MDL도 0.158 mg/kg으로서 타당한 수치를 갖는다. 반면 크로마토그래피의 뒤쪽에서 용출되는 triphenyl phosphate는 수득율 58%, MDL 0.4 mg/kg로 상대적으로 열악한 결과를 보여주고 있으며 이러한 경향성은 실제 채소류의 분석에서 도출된 결과와 대단히 유사하다. 결론적으로 ASE를 사용한 수분 함량이 많은 채소류에서의 유기인계 농약의 추출은 식품공정시험법에 의한 추출방법에 비해 큰 차이 없는 결과를 보여주고 있으며 적절한 대체표준물질 및 내부표준물질의 선택적 사용에 의한 보정을 이용하면 실제 분석에 충분히 응용할 수 있을 것으로 사료된다. Tributyl phosphate를 대체표준으로 사용할 경우 QC 회수율에서는 신뢰할만한 수준을 보여주고는 있으나 실제 시료에서는 그만큼의 회수율을 보여주고 있지는 않다. 매질의 복잡한 성격에 기인한 것으로 사려된다.

몇가지 유기인계 농약을 대상으로 ASE 전처리법을 사용한 QC 회수율을 검토해 보았다. 매질은 MDL 때와 동일하게 방해물질이 없는 모래를 사용하였다. Table 7에서 보여주는 바와 같이 대체적으로 80-105%의 좋은 수득율을 보여주고는 있으나 dichlovos와 malathion은 3-7% 대의 매우 저조한 회수율을 보여주고 있다. 이는 두 물질의 구조적인 불안정성으로 인해 전처리과정에서 분해되는 것으로 보인다. 특히 고온, 고압에서 추출을 하는 ASE의 경우에는 특히 더 저조한 회수율을 보이는 것으로 추측된다. 즉 물질의 구조상 쉽게 분해가 될 수 있는 물질들은 ASE로 추출하는 것은 그리 권장할 만한 방법이 아님을 알 수 있다.

이러한 결과를 바탕으로 원주권에서 구입한 채소류 9종을 각각 유기농과 비유기농으로 구별하여 유기인계 농약 24종을 선별하여 ASE로 분석하였다. 채소류는 일반인의 구입이 가장 원활하다고 판단되는 원주권내 대형 유통마트를 통해 구입하였다. 분석결과 선별한 유기

인계 농약은 9종의 유기농, 비유기농 채소류 공히 검출 한계이하로⁵⁾ 나타났다. 일반적으로 기준치 이하의 잔류 농약 농도는 판매에 장애를 주지 않는다. 본 연구실에서 설정된 검출한계는 기준치보다 최소 10배 이하임에도 불구하고 비 유기농 채소류 또한 유기인계 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 관심 뿐만 아니라 농산물 생산자 및 유통자들이 먹거리, 특히 채소류에 대한 농약 사용에 대해 경각심을 갖기 시작한 사회적 변화의 결과일 수도 있다.^{6,7)}

감사의 글

본 연구는 2007년도 (재)상지학원발전기금재단의 지원을 받아 수행한 연구이며 이에 감사한다.

참고문헌

1. 양승환, 이두형, 이승환. *신농약*, 향문사, 49-61, 1993.
2. 김오식, 정현옥, *산업독성학*, 동화기술, 250-259, 1995.
3. 송형익. 채기수, 김영만. *순규목*. 이웅수, *식품위생학*, 지구문화사, p241, 1997.
4. 한기각. 박창규, *농업환경화학*, 동화기술, 237-253, 1992.
5. 한국식품의약품안전청, *식품의 농약 허용 잔류 기준*, 2005.
6. 원경풍, 황인균, 최동미, 이강봉, 최윤주, 오금순, 서정혁, 박성수, 김창민, *식품중 잔류농약 모니터링*, 한국식품의약품안전청연구보고서, 5, 491-498, 2001.
7. 홍무기, 황인균, 최동미, 이강봉, 최윤주, 오금순, 이은주, 이경진, 이은경, 이정수, 김명철, *식품중 잔류농약 모니터링*, 한국식품의약품안전청연구보고서, 7, 104-111, 2003.