

## 형광분석을 이용한 지문방식의 해수중 유기인의 분석 방법

박 미 옥  
부경대학교 해양학과

### Development of Analytical Method of Organophosphates in Sea water by Finger Printing Fluorescence Spectroscopy

Mi-Ok PARK

Department of Oceanography, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

Primary fluorescence characteristics of ten standard solutions of organophosphates, sea water, and water from agricultural land were investigated by fluorescence contour. All the standard solutions of organophosphates has shown characteristics countours. Their emission maxima were shown between 296 nm and 437 nm. According to their numbers of emission maxima on the fluorescence contours, the organophosphates can be categorized in two different groups. Ateric and Diazinon are the first group with two emission maxima. DDVP with other seven standard organophosphates belong to the second group. The second group has two subgroups. One is characterized by the similar emission and excitation maxima, which are 310 nm and 280 nm, respectively. Those are DDVP, Hinosan, Kitazin, Locsion, Meta. The other sub-group shows quite different emission and excitation maxima from the first sub-group. They are Monopho, Thaconyl and Gropho and their emisson maxima were in far longer(437 nm) or shorter wavelength(296 nm). From agricultural samples, one of the investigated organophosphates was detected by its characteristic retention time ( $t_r=12$  min). HPLC-fluorescence data gave an additional parameter for differentiation between two organophosphates which has similar excitation and emission maxima.

**Key words :** organophosphates, pesticides, fluorescence, HPLC

### 서 론

농작물의 수확증대를 목적으로 국내에서 사용되고 있는 살균및 살충제의 사용량은 매년 증가하고 있으며, 1988년 집계에 (농약연보, 1988) 의하면 연간 사용량이 600 만톤을 넘어서고 있다. 이들 살충제 농약은 유효성분의 종류에 따라 유기염소계, 유기인계, Carbamate계, 유기황계, 유기비소계로 나뉘며, 가장 광범위하게 사용되고 있는 종류는 유기염소계, 유기인계 그리고 carbamate계를 들 수 있다. 이러한 살충제의 적용 방식은 대개 공중살포이므로, 상당 부분이 대기를 통하여 해양생태계로 운반될 가능성이 크다. 주요 이동경로로 농업용수의 유출시 담수에 의한 해양으로의 유입, 살충제 성분 중 낮은 증기압을 가진 휘발성분의 바람에 의한 운반등을 꼽을 수 있다.

이러한 잔류농약 성분은 해수중에서 일부 안전한 무기물로 분해되지만, 이동 중에 담수 환경의 생물체내에 축적되기도 하고, 일부는 해양 생물의 체내에 축적된다. 이들의 체내 조직별 축적된 잔류 농약의 농도 측정등에 대한 연구는 주로 담수환경에 국한되어 집중적으로 이루어

어져 왔다 (Steimle et al., 1990; Furton and Rein, 1990). 최근에 해수와 퇴적물 내에서의 살충제들의 화학적 분해에 걸리는 반감기에 대한 연구 (Cotham and Bidleman, 1989)가 보고되었으며, Willis and Mcdowell (1982)은 농업용수에 용해되어 있는 잔류 농약성분이 하천수의 수질에 미치는 영향을 이해하기 위해서 살충제 성분의 거동에 대한 연구가 시급히 이루어져야 한다고 지적한 바 있다. 이처럼 하천수로 유출되는 농업용수에 포함된 잔류 농약 성분인 살충제의 정성, 정량적인 측정에 대한 연구가 (Frank and Logan, 1988) 점차적으로 증가되고 있다.

현재 보고된 연구는 생물체내에 축적된 살충제 성분의 정량적 측정, 검정 생물에 대한 독성효과와 관찰 (Pal and Konar, 1990; Gill et al., 1990), 해수와 퇴적층에서의 분해속도 (Wang et al., 1989) 그리고 반감기 측정 (Freed et al., 1979; Cotham and Bidleman, 1989)등이 주류를 이루고 있다. 특히, 생물 체내 축적 농도와 독성영향에 대한 연구는 (Srivastava and Srivastava, 1990) 주로 실험실 조건하에서 이루어졌다. 그러나, 해양 생태계에서 일어나는 생물 체내 축적은 해수중 농도와 노출시간에 비례하므로, 해수내에서의 잔류 농약성분에 대한 정성.정량적 분석이

**Table 1. Commercial name of organophosphate and Effective constituents**

Organophosphate	Formular	$\lambda_{em}$ (nm)
Ateric	O-2-Diethylamino-6-methyl pyrimidine-4-yl O,O-dimethyl phosphorothioate	300, 397*
DDVP	2,2-Dichloro vinyl dimethyl phosphate	312*
Diazinon	O,O-Diethyl-O-2-isopropyl-6-methyl pyrimidin-4-yl-phosphorothioate	310, 363*
Gropho	O,O-diethyl-O- (3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate	296*
Hinosan	O-Ethyl-S,S-diphenyl phosphoro-dithioate	310*
Kitazin	S-Benzyl-O,O-diisopropyl phosphoro-thioate	309*
Locsion	O,O-Dimethyl-S-methylcarbamoyl methyl phosphorodithioate	307*
Meta	S-2-Ethylthioethyl-O,O-dimethyl phosphorothioate	307*
Monopho	Dimethyl (E)-1-methyl-2-methyl Carbamoylviny phosphate	437*
Thaconyl	S-2-Ethyl thioethyl O,O-dimethyl phosphorodithioate	359*

\* the major peak with highest intensity

이루어져야 한다. 실제 생태계에서 얻어진 시료에서 유기인제 살충제 성분분석이 이루어진 것은 Frank and Logan에 (1988) 의한 연구보고로서, Thames river에서 얻어진 시료에서 다른 살충제들과 함께 diazinon과 malathion 성분의 검출결과가 발표되었다. 우리나라에서는 남해의 순천만 해역에서 Jeon and Yang (1990)가 해수, 담수 및 기수 시료를 이용한 유기인제제 농약의 분포특성을 GC-Mass 분석을 통해 조사하여 최고 2.2 mg의 Kitazin이 검출되었다고 발표하였다.

유기염소계에 비해 유기인의 농약활성 성분은 비교적 짧은 시간에 분해되어 해양에 이르기 전에 안전한 무기물로 도달하는 것으로 알려져, 유기 염소계 살충제에 대한 많은 연구에 비해 유기인제 살충제의 연구는 미약하였다. 특히 malathion과 같은 유기인제는 쉽게 가수분해되며, 안전한 가수분해 산물인 carboxylic acid로 분해되는데 수시간 정도 걸리는 것으로 알려져왔다 (Manahan, 1979). 그러나 최근 보고서 (Strachan et al., 1982)에서, 이들 유기인제 화합물의 분해는 종래 알려진 것보다 상당시간 안정하게 해수중에 분해되지 않은 상태로 존재한다고 밝혔다. 이 연구에 의해서 malathion의 해수중 반감기는 약 2.6일로 보고되었다.

또한 일부 유기인제 화합물은 해양생물에 대한 맹독성을 나타내기도 한다. Hinosan으로 알려져 있는 벼도열병 살균제는 어독성 1ppm정도로 강한 독성을 가진 예 (화학연구소 자료)로서, 농업사용지침서 (농업공업협회, 1991)에 어독성 II급으로 명시되어있다. 수서 환경에서 phytoplankton과 zooplankton에 대한 유기인제의 치사량에 못 미치는 농도구간에서의 영향을 관찰한 결과 일차생

산량의 감소와 유충의 감소등에 의해 실질적인 성장과 생리상태에 악영향을 준다는 연구 (Pal and Konar, 1990)가 발표된 바 있다. Jeon and Yang (1990)에 의해 제기된 바 처럼 우리 나라는 외국에 비해 하천의 길이가 짧으므로, 유출된 유기인제 살충제가 해양에 도달하기 까지 걸리는 시간이 유기인제의 완전한 분해에 요구되는 시간에 비해 짧은 편이다. 이러한 환경요인은 연안의 경작지에서 사용된 살충제는 불완전 분해된 상태로, 혹은 독성을 가진 원래 화합물 상태로 해양에 도달할 수 있는 가능성을 높여 준다. 따라서, 연안에 위치한 농경지에서 연안 해역에 흘러 보내고 있는 잔류농약의 해수중 농도와 거동에 대한 연구가 조속히 체계적으로 연구되어야 하며, 이와 더불어 다른 용존 유해 유기물질의 종류와 표준화된 분석방법이 정립되어야만 하천수의 수질 보호와 연안역에서의 해양환경 보존과 감독이 가능할 것이다. 본 연구에서는 유기인제 살충제의 신속하고 정확한 분석을 위해 형광분석법을 이용하여 표준 유기인제와 해수 및 농경수의 형광 특성을 조사하여, 현장 시료분석에 대한 적용에 대한 기초자료를 마련하고, 실제 적용시의 문제점과 해결책을 모색하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 유기인제 표준용액의 조제

조사된 유기인제 살충제 농약 중에 광범위한 사용이 이루어지고, 형광을 나타낼 수 있는 10가지의 농약을 선정하여 표준용액의 primary stock solution을 제조하였다. 이들의 화학식과 상명 (commercial name)은 Table 1.에

나타내었다. 시험 농약의 각 10  $\mu$ l를 pipet으로 취하여 vial에 넣고, 이차증류수로 희석하여 10 ml용액으로 만들어 표준 용액으로 사용하였다. 혼합액은 이들 각 표준용액의 1 ml씩을 취해 혼합 후 HPLC-형광 분석에 이용하였다.

## 2. 조사 시기, 정점 및 시료 채취

### 2.1 해수

낙동강 하구역에서 표층해수를 300 ml씩 채수하여 갈색 유리병에 넣어 운반하였다. 채수병은 드라이 아이스를 이용하여, ice box에 냉동보관하여 실험실로 운반한 후 2주내에 분석하였다.

### 2.2 농경수

양산군 논 주변의 농경수를 함유하고 있는 농경토를 유리병에 넣어, 실험실로 운반한 뒤 공경 0.45  $\mu$ m 밀리포어 여과지에 여과하여 농경토의 입자를 제거하였다. 아주 미세한 현탁입자를 제거하기 위해 vacuum pump를 사용하지 않은 상태에서 3회 이상 반복 여과하였다. 여과 후 얻어진 농경수의 맑은 상층액을 형광분석과 HPLC-형광분석에 이용하였다.

## 3. 분석 방법

### 3.1 형광 분석

Spectrofluorometer를 (Shimadzu RF-540) 이용하여, 각 시료의 형광특성을 측정하였다. 현탁입자가 보이는 표준용액에 대해서는 methanol을 용매로 완전히 용해시킨 후 사용하였고, 그외 모든 시료는 증류수를 용매로 하였다. Cell은 1cm의 경로 길이를 가진 Quartz Cell을 사용하였다. Slit 너비는 10 nm로 유지하였다. Background 보정을 위해서 증류수와 QSU (Quinin Sulfate)를 사용하여, 측정시 수시로 점검하였다. 최대 흡수 파장 (Excitation wavelength,  $\lambda_{ex}$ )은 220 nm~540 nm 구간에서 20 nm씩 증가시키면서 측정하였고, 240 nm~540 nm구간에 대하여 관찰된 파장별 형광세기는 연결된 personal computer를 통해 입력시켰다. Scanning이 끝난 후, 16개의 형광스펙트럼은 측정된 형광세기 중 가장 높은 값을 100으로 하여 normalization시켰다. 이 형광스펙트럼은 가로에 excitation wavelength (nm), 세로에 emission wavelength (nm)를 정하여 측정된 각 파장별 형광세기를 등고선에 대한 높이로서 나타낸, 각 시료별 형광 contour를 만든 후 PC에 기록하였다. 이 contour로부터, 측정 시료에 대한 최대 형광파장 (Emission wavelength,  $\lambda_{em}$ )과 최대 흡수파장을 구하여 비교하였다. 또한 contour의 pattern을 비교하여 분석하였다.

### 3.2 고성능 액체크로마토그래피(HPLC, High Performance Liquid Chromatography)

기울기법 (gradient elution)을 이용한 역상크로마토그래피법으로 표준용액과 인위적인 혼합액의 용출액을 탐지기로 연결된 형광분석기의 flow cell로 보내어 분석하였다. 용매는 고순도 (analytical grade)의 methanol과 5차 증류수를 혼합하여 사용하였다. 용매의 흐름속도는 1 ml/min으로 유지하였다. 총 분석시간 30분 동안 분석 초기에 용매의 조성을 70% methanol로 시작하여, 선형 기울기법을 이용하여 methanol 함량을 분석 시간 20분에 100% methanol의 용매의 조성을 갖도록 하였다. 분석시간 중 마지막 부분인, 20분에서 30분까지는 100% methanol로 용리시켰다. 모든 분석은 실온에서 같은 조건으로 실행되었다. 연결된 형광분석기의 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ )과 최대 형광파장 ( $\lambda_{em}$ )은 각각 280 nm 와 310 nm로 고정하였다.

Table 2. Fluorescence characteristics of standard organophosphate solution

Organophosphate	$\lambda_{em}$ (nm)	$\lambda_{ex}$ (nm)
Ateric	309, 397*	260
DDVP	312*	280
Diazinon	310, 363*	280
Gropho	296*	260
Hinosan	310*	280
Kitazin	308	280
Locsion	307*	280
Meta	307*	280
Monopho	437*	340
Thaconyl	359*	300

## 결 과

### 1. 표준용액의 형광 특성

조사된 10가지의 유기인제 표준용액은 모두 특징적인 형광스펙트럼을 나타내었다. 관찰된 일차 형광스펙트럼의 최대 형광파장 (Table 2)은 296 nm~437 nm 구간에 분포하고 있다. 이들 중 Ateric과 Diazinon은 두개의 band를 나타내었고, 이들을 제외한 모든 유기인제 표준용액의 형광스펙트럼은 모두 단일 band를 보여 주었다. 이들 유기인제는 최대 방출세기를 보이는 파장 ( $\lambda_{em}$ , nm)이 서로 유사한 영역에 나타나는 것을 기준으로 하여 크게 두 그룹으로 나눌 수 있다. 하나는 약 310 nm에 최대 방출세기를 보이는 DDVP를 비롯한 8종의 유기인제

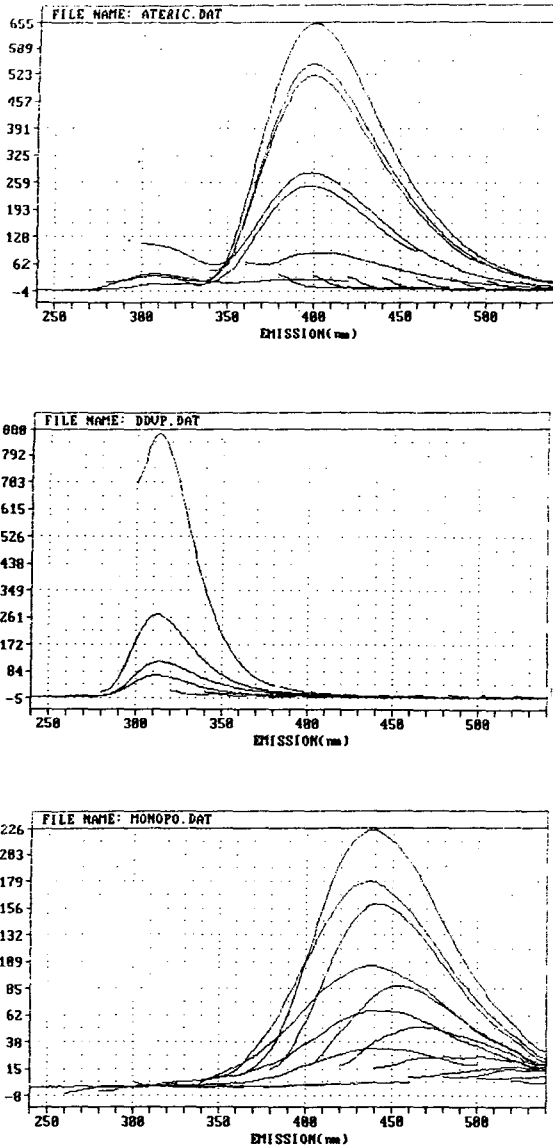


Fig. 1. Emission spectra of Standard organophosphates solutions.  
 a) Ateric    b) DDVP    c) Monopho

고 다른 집단은 359~440 nm의 비교적 장파장영역에서 최대 방출세기를 보이는 Ateric, Diazinon, Monophos, Thaconyl이다.

이들 중에 단일 band를 보이는 유기인제들의 최대 형광파장의 값이 서로 매우 유사한 특징을 보인다. 단일 band를 보이는 유기인제의 최대 형광파장은 장파장쪽으로 312 nm이고 단파장쪽으로 307 nm에서 나타난다. 최대 변화폭이 5 nm 정도이다. 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ )도 280 nm를 중심으로 작은 변화폭을 보여 주었다. 따라서, 이들이

혼합되어 있을 경우의 분별을 위하여 형광 특성에 다른 변수를 주기위해 HPLC (고성능 액체크로마토그래피)를 성분분석의 목적으로 사용하였다. 한편, Ateric 등에 속하는 장파장 영역에서 최대 형광세기를 나타내는 그룹의 유기인제는 형광파장 뿐만 아니라 흡수파장도 각기 서로 겹치지 않는 영역에서 특징적인 값을 보이므로, finger printing 방식에 의한 분석에 대한 가능성을 보여준다.

최대 형광파장의 변화폭은 크게는 78 nm에서 작게는 4 nm로 다양하였다. Monophos가 437 nm에서 가장 긴 파장의 최대 형광파장을 보였다. 최대 흡수파장은 Ateric이 260 nm로 가장 짧은 파장의 빛으로 여기되었고, Monophos가 340 nm의 파장의 빛을 흡수하여, 80 nm의 변화폭을 보여 주었다.

2. 표준 용액의 fluorescence contour

흡수파장을 220 nm에서 시작하여 520 nm까지 20 nm씩 증가시키면서, 표준 용액을 여기 (Excitation)시켜 얻은 형광스펙트럼을 모아 표준용액의 fluorescence contour를 (Fig. 2) 얻은 결과 크게 두 개의 집단으로 나눌 수 있었다. 이들의 fluorescence contour를 비교했을 때, Ateric과 Diazinon과 같이 두 개의 봉우리를 (두 개 이상의 최대 형광파장을 가지는 경우) 보이는 유기인제와 단일한 봉우리를 보이는 다른 8가지의 유기인제로 나누는 것이다 (Table 2).

Ateric과 (Fig. 2A) Diazinon의 (Fig. 2B) 경우는 다른 표준용액의 contour와 매우 쉽게 구별되는 특징을 보인다. 이는 두 개의 최대 형광파장 뿐 아니라, 장파장 영역의 봉우리가 두 개의 핵을 갖는 특징을 보여 주었다. Ateric의 fluorescence contour를 보면, 서로 밀접한 두 개의 핵을 포함하며, 중앙의 형광파장이 동일하게 399 nm인 비교적 넓은 봉우리가 보이고, 단파장쪽으로 약 300 nm에 위치한 미약한 형광세기를 보이는 또 하나의 봉우리가 보인다. 399 nm의 형광을 나타내기 위해 흡수된 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ )이 약 260 nm와 315 nm, 두 파장에서 관찰되었다. 최대 흡수파장은 260 nm에 위치하고 있다. 이에 대해, Diazinon은 Ateric과 마찬가지로 두개의 봉우리를 보여주고 있으며, 최대 형광파장은 각각 310 nm와 363 nm에 위치한다. 또한 장파장 영역의 형광 봉우리는 두 개의 핵을 가지고 있다는 공통점을 보여 준다. 그러나 Ateric과는 최대 형광파장의 값이 서로 다르며, 형태면에서도 훨씬 좁은 봉우리이다. 최대 흡수파장은 280 nm와 장파장 영역에서는 약 340 nm와 353 nm에 두 개의 핵을 가지고 있다.

단일한 봉우리를 보이는 다른 유기인제는 최대 흡수

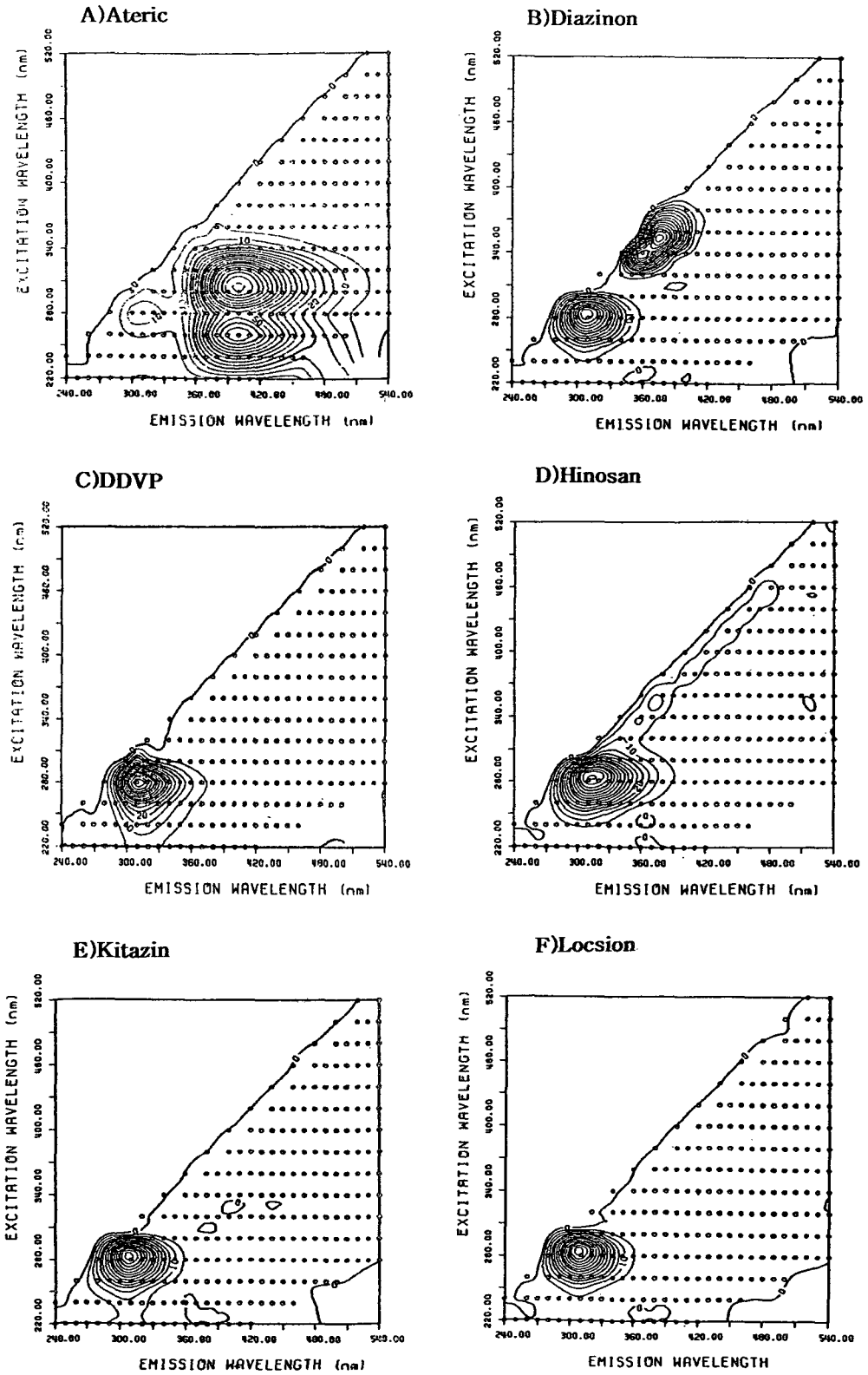


Fig. 2. Fluorescence contours of Standard organophosphates solutions.

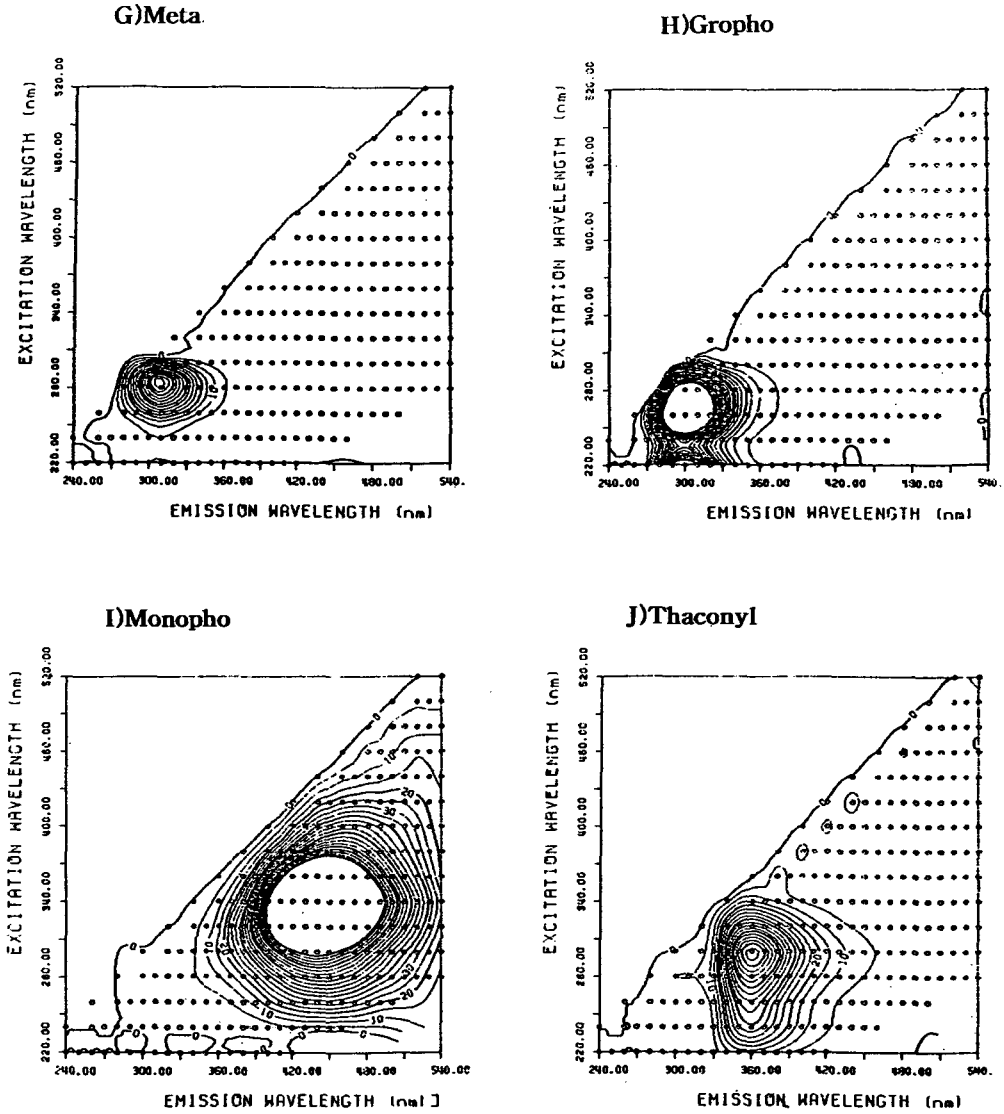


Fig. 2. continued

파장이 유사한 DDVP, Hinosan, Kitazin, Locsion, Meta와 이들과 겹치지 않는 영역에서 최대 형광파장을 보이는 Gropho, Monopho, 그리고 Thaconyl로 다시 나눌 수 있다. 이들은 모두 단일한 봉우리에 한 개의 핵을 가진 특징을 공통점으로 가지고 있다. DDVP를 포함하는 전자의 유기 인제들은 약 310 nm에 최대 형광파장의 봉우리를 보인다. 또한 최대 흡수파장도 공통적으로 대략 약 280 nm에 위치하고 있다. 이들의 봉우리는 대체적을 넓게 퍼지지 않고, 좁은 특징을 보여 준다. 후자에 속하는 Monopho와 Thaconyl은 조사된 다른 어느 유기인제와도 겹치지 않는, 비교적 장파장 영역에서 (각각 437 nm와 359 nm) 특징적

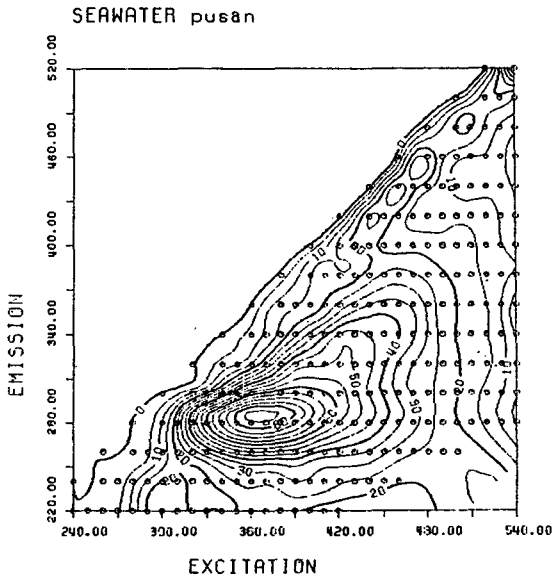
인 최대 형광 세기를 보였다. 이들의 contour는 전자에 속하는 DDVP나 Hinosan과 달리, 비교적 넓게 퍼진 형태를 보인다. 후자의 집단에 속하는 Gropho의 contour는 좁고, 단일한 봉우리로서 최대 형광파장이 300 nm이하인 가장 짧은 296 nm에서 나타났다.

해수의 형광 contour는 장마 직후 채수한 시료로서 약 430 nm에서 강한 형광을 보이는 단일 봉우리를 보였고, 다른 형광 특성은 이 영역에서의 강한 세기의 형광에 의해 가리워졌거나, 측정한계이하로 존재하는 것으로 추정되었다.

**Table 3. HPLC-Fluorescence data of standard organophosphate solution and water from agricultural land**

Organophosphate	t <sub>r</sub> (min)	percentage
DDVP	18.4	99.2
Diazinon	19.4	14.5
Hinosan	1.2 (16.2), 1.7 (14.2) 2.3 (33.6), 12.6 (24.1)	
Kitazin	9.6	60.1
Locsion	1.8, 19.8	6.6, 19.4
Meta	1.7, 17.7, 18.4	8.2, 17.3, 17.1
Mixture <sup>a</sup>	1.6 (3.9), 2.3 (0.6), 12.6 (0.84) 15.0 (1.1), 17.1 (5.8), 18.4 (5.1) 19.1 (6.2), 19.7 (7.0), 20.4 (7.5) 21.1 (7.5), 21.7 (5.0)	
Water from agricultural land <sup>a</sup>	15.8 (0.8), 17.5 (5.5), 17.7 (6.1) 18.4 (2.2), 19.8 (5.8), 20.3 (0.6) 20.8 (9.5), 21.4 (4.6), 22.5 (8.1) 24.3 (10.0), 25.4 (7.8)	

a: percentage of each peak is noted in paranthesis



**Fig. 3. Fluorescence contour of seawater.**

**3. HPLC-형광 자료**

조사된 유기인제 표준용액의 HPLC-형광 데이터는 공통적으로 갖는 수 개의 단일 peak와 매우 복잡한 양상을 보인 16분 이상의 용리 시간대에 나타난 여러 peak들로 특징지어진다 (Fig. 4). 단, Hinosan만은 16분 대 이상의 100% Methanol 용매에 의해 용출된 peak를 보이지 않았다. 각 유기인제별로 가장 현저하고, chromatogram의 많은 면적을 갖는 peak를 보면 위와 같다 (Table. 3).

DDVP는 약 99%의 비중을 차지하는 18.4분의 용리시간 (tr)에 넓은 band형태로 관찰되었다. Diazinon의 경우, 12.5분의 용리시간을 갖는 작은 peak와 16분에서 21분까지의 복잡하고 잘 분리되지 않은 peak의 군체로 나타났다. Hinosan은 비교적 분리능이 양호한 chromatogram을 보여 주었다. 용리시간을 측정할 수 있는 peak들은 모두 100% Methanol로서 용리를 시작하기 전인 15분 대 이전의 것으로, 가장 비중이 큰 것으로 2.3분, 12.6분, 1.2분, 1.7분을 들 수 있다. Kitazin은 9.6분, 12.8분, 9.1분의 peak가 관찰되었다. Locsion은 1.8분에 현저한 peak를 보였으나, 16분~21분 대에 걸쳐 매우 복잡한 양상의 겹쳐진 peak의 군체로 나타났다. 12.8분대의 작은 peak도 나타났다. Meta의 경우는 1.7분, 12.6분, 그리고 16분~20분대의 peak들로 구분된다. 이들의 혼합액의 chromatogram을 (Fig.7) 보면 1.6분, 12.6분, 14.9분과 17분~21분의 분리되지 않은 peak의 군체로 나타났다. 여기서 1.6분의 용리시간을 갖는 것은 Hinosan과 Meta의 1.7분의 peak에 의한 것으로 추정된다. 혼합액의 2.3분에 나타난 peak는 Hinosan의 주요 peak로서 같은 값의 용리시간을 보인다. 각 표준용액을 같은 비율로 혼합하였으므로 혼합액의 각 성분별 회석효과가 있을 것으로 예상된다. 이 외에 18.4분에 나타난 peak는 DDVP에서의 가장 현저한 peak와 Meta에 의한 peak로 보인다. Diazinon의 19.4분의 용리시간을 가지는 peak도 혼합액의 19.1분의 용리시간을 갖는 peak와 동일한 것으로 보인다. 공통적으로 조사된 모든 유기인 표준용액에서 보인 peak는 약 12.5분에서 용리된 것으로 유화제나 용제로 쓰이는 혼합 유기물의 방향족 고리를 갖는 성분에 의한 것으로 추정된다. 이들 첨가물의 조성은 균일하지 않으므로, 우선 가장 빠른 구분방법은 같은 기율기 용매에 의한 원제의 분리 peak를 보고 필요치 않은 peak를 배제한 상태에서 조사 대상인 특정 유기인제의 분류를 하는 것이다.

양산 지역의 농경수를 이용하여 측정된 자료 (Fig. 8)에서는 약 12분대에 잘 분리되지 않은 비교적 넓은 band가 나타났고, 17분대에서 집중적으로 용출된 peak들이 존재한다. 표준 용액의 값과 비교하면, 17.7분과 18.4분대의 용리시간을 갖는 peak는 Meta 유기인제와 동일한 값을 보이고, 역시 19.8분 대의 용리 시간을 갖는 것으로 유사한 것이 Diazinon과 Locsion을 들 수 있다. 혼합액의 경우를 비추어 보면, 약간의 용리시간의 변화가 있으므로, 비농사의 농경지에서 많이 사용되고 있는 Diazinon일 가능성이 더 크다.

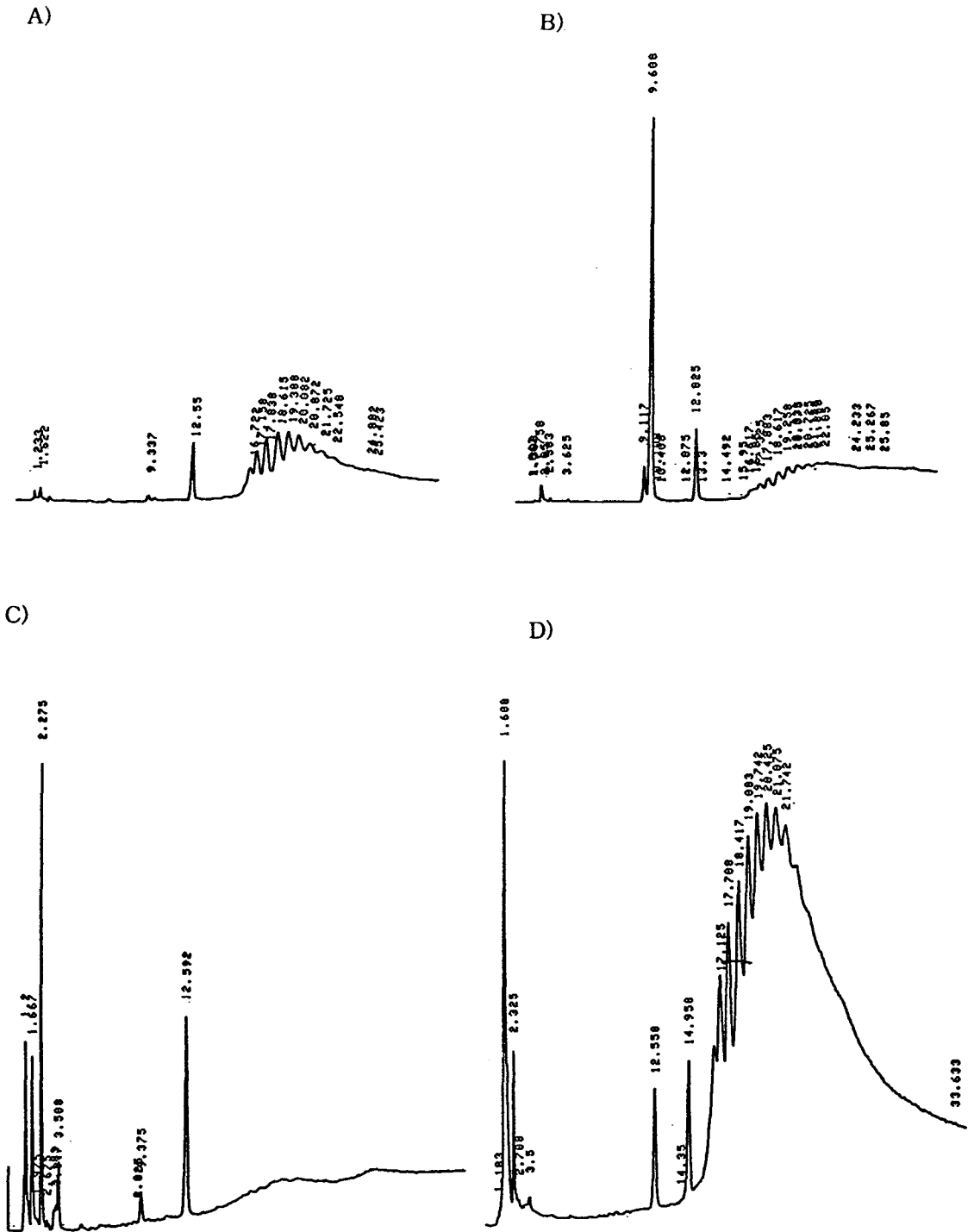


Fig. 4. Chromatogram of standards organophosphates solutions.  
 A) Diazinon B) Kitazin C) Hinosan D) mixture of standards

조사된 10가지의 유기인제 농약은 모두 특징적인 일차 형광특성을 보여주었고, 형광세기도 비교적 강한 것으로 나타났다. 그러나, DDVP를 비롯한 6종의 유기인제제의

최대 형광세기를 나타내는 파장이 310 nm를 중심으로 공통적으로 밀집되어 있었다. 이는 실제 혼합물 분석시, 서로 겹쳐지는 비슷한 최대 형광파장을 보이는 두가지



이상의 유기인 성분을 분리 확인하지 못할 가능성을 내포하고 있다. 유사한 최대 형광파장을 가진 유기인체들을 네 개의 집단으로 나누어 볼때, 310 nm 부근에 최대 형광파장을 가진 DDVP를 포함하는 5가지의 유기인체와 장파장 영역에 최대 형광파장을 갖는 유기인체 (Monopho와 Thaconyl), 단파장 영역에 최대 형광파장을 갖는 Gropho, 한 개 이상의 최대 형광파장을 보인 Ateric과 Diazinon으로 대표된다. 이들 유기인체의 화합물 구조식으로 보면 DDVP, Meta, Locsion은 모두 방향족 고리를 가지고 있지 않다는 구조적 공통점이 있으며, 그 형광특성이 최대 흡수파장, 최대 형광파장, 그리고 fluorescence contour에 이르기 까지 매우 유사한 특징을 보여 주었다. 이와 비슷한 형광 특성을 보인 다른 유기인체는 Hinosan과 Kitazin으로 이들은 모두 방향족 Phenyl기를 작용기로 한 개이상 포함하고 있다. 그러나, 파장 영역에서 최대 흡수파장을 보인 Ateric이나 Diazinon은 방향족 고리인 Pyrimidine ring에 한 개 이상의 전자주개 치환체인 R (alkyl)기를 가지고 있다. 따라서, Hinosan과 Kitazin은 방향족 고리를 갖는 유기인체 화합물임에도 불구하고 Ateric이나 Diazinon 보다 상대적으로 단파장영역에 치우친 최대 형광파장을 (각각 308 nm 와 309 nm) 보이는 것으로 여겨진다. 시험에 사용된 표준용액은 모두 농작물의 병충해를 억제하는 목적으로, 시판되어 사용되고 있는 완제품으로 사용하였으며, 이들은 유효성분외에도 유화제를 비롯한 각종 첨가제를 함유하고 있다.

형광 contour에서는 3가지 변수 (parameter)를 고려하여, 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ ), 최대 형광파장 ( $\lambda_{em}$ ) 그리고 형광 세기를 비교하여, finger print 방식으로 비교 분석할 경우, 실제 해수시료에서 용존 성분이 서로 현저하게 다른 용리시간을 가져 분리되어지지 않는 한 서로 비슷한 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ )과 최대 형광파장 ( $\lambda_{em}$ )을 보이는 유기인체제 농약은 deconvolution에 의해서도 두 성분 (혹은 세 성분)을 분별하는 데 어려움이 예상된다. 이는 실제 혼합물 분석시, 서로 겹쳐지는 비슷한 최대 형광파장을 보이는 두가지 이상의 유기인 성분을 분리 확인하지 못할 가능성을 내포하고 있다. 특히, Locsion과 Meta의 경우는 fluorescence contour를 비롯하여, 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ )과 최대형광파장 ( $\lambda_{em}$ )까지 거의 동일하여, 형광분석 자료만으로 완전한 구분이 어렵다. 단, 이 두 성분에 대한 조사된 HPLC-형광 자료는 서로 다른 용리시간을 가진 Peak들을 보였으므로 보완될 수 있었다. Faran (1990) 등에 의하여 수중오염원의 측정을 위해 유기인체 살충제인 parathion-methyl과 tetrachlorovinphos를 on-line extraction system을 이용한 LC (Liquid Chroma-

tography)-Mass방법을 사용하여 보고 된 바 있다. 이들은 유기인체의 경우, 약 60% 정도의 추출율을 보고하였다. 이 외에도 HPLC를 이용한 대기와 수용액 상태에서 오염원으로서 살충제 성분을 측정 한 연구가 Seiber등 (1990)에 의해 발표되었는데, 이들의 연구에서 극성 (polarity)을 달리하는 용매를 이용하여 가장 극성이 낮은 유기인체에서 비교적 극성이 강한 유기인체 화합물의 추출과 분리를 한 후, 각 분리된 부분에 대한 GC (Gas Chromatography)의 응답을 보고 미량분석을 행하였다. 이전의 대다수 유기인체 분석에 GC-Mass를 이용한 것에 비해 (Jeon and Yang, 1990), LC에 의한 유기인체 살충제를 포함한 관련 농약성분의 분석에 LC를 이용한 분석이라는 새로운 가능성을 보여 주었다. 이러한 LC와 형광 분석법을 이용한다면, 형광분석의 선택성과 감도의 장점과 HPLC의 강력한 분리능력을 함께 갖추어 Locsion과 Meta와 같은 경우의 형광분석법만으로 구분이 어려운 유사형광 특성을 갖는 유기인체의 판별이 용이할 뿐 아니라 분석의 비교 변수가 더하여지므로 정확도도 향상되므로 이를 이용하였다. Table 3의 혼합액의 chromatogram의 조사된 주요 peak를 개별적으로 조사된 표준용액의 자료와 비교하면, 1.6분의 peak는 비슷한 용리시간을 갖는 유기인체로서 Hinosan과 Meta의 1.7분의 용리시간을 갖는 peak이다. 12.6분의 peak는 DDVP만을 제외한 모든 조사된 유기인체에서 관찰되었다. 따라서 이들 공통된 12.6분의 peak들은 xylene과 같은 유기용제에 의한 것으로 추정된다. 이들 조사된 유기인체의 화학적 구조가 조금씩 모두 다르므로, column내에서 용매와 정지상과의 상호작용도 유기인체 화합물의 화학적 특성에 따라 다를 것으로 예상되므로 12.6분에 나타난 peak는 유효성분인 유기인체에 의한 것으로 보기 어렵다. 본 연구에서 분리에 사용한 역상크로마토그래피법에 비교적 작은 용리액 세기를 갖는 hexane이나 i-octane과 같은 강력한 용매를 사용하여, 분석시간을 단축과 분리능을 향상시키는 효과를 시험해 볼 만한 가치가 있다.

유기인체의 분석시 문제가 되는 것으로 16~20분대의 잘 분리되지 않은 peak들이 있는 데, 100% Methanol로 근접하는 기울기 시간대이므로 현 실험에서 보다 유속을 감소시키거나, 용매의 성질을 바꾸어 이들의 분리능을 향상시키는 방법을 시도해 볼 만하다. 특히 현 실험에서 사용한 한 시료당 30분의 분석시간은 충분히 보다 낮은 극성을 가진 유기용매를 선택하면, 분리능의 향상과 분석시간의 단축시킬 가능성이 있다. 그러나, 그보다 시판 완제품의 형태로 조사된 형광 contour 자료와 아울러 순수 유기인 원제 (단일 화합물)에 대한 HPLC-형광 자료

를 확보한다면, 분석의 확실성을 보장받을 것으로 사료된다. 해양에 유출되는 유기인제제의 성분조성은 시판 완제품의 조성파 같으나, 유효성분인 유기인제제를 (DDVP와 같은 경우 용제로서 확인할 수 없는 조성의 혼합용제를 쓰므로) 유화제, 증량제, 용제등을 혼합하므로 이들을 제거하기 위한 추출과정을 거치거나, 실험적으로 확인하여 HPLC-형광의 chromatogram에서 유효성분 아닌 peak들을 제거하는 과정이 요구된다. 그러나 이러한 절차는 번거롭고, 많은 시간과 경비가 소요된다. 그러므로, 순수 원제의 단일 유효성분에 대한 HPLC-형광 자료인 고유한 용리시간과 최대 흡수파장 ( $\lambda_{ex}$ )과 최대 형광파장 ( $\lambda_{em}$ ) 이 분석방법의 정확성을 더 해줄 것을 기대한다.

따라서, 앞으로 이들 유기인제 살충제의 유효성분을 단일 화합물인 원제로서 고유한 용리시간을 구하고, 적절한 기용기법의 선택으로 분리능을 향상시키는 과제가 남아있다. 앞으로 이들 유기인제 살충제의 형광자료는 해양 환경의 수질 보존을 위한 Monitoring system에 대한 활용 자료로서 충분한 이용 가치가 있으며, 신속한 오염원의 진단을 위한 기본 자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

해수로 유출되고 있는 유기인제 살충, 살균제의 형광 분석법에 의한 finger print식 분석 방법을 개발하기 위해, 벼 농사에 가장 많이 사용되어지는 Hinosan과 Kitazin을 포함하는 10가지의 표준 용액을 조제하여, 형광 특성을 측정하였다. 220 nm~520 nm 구간의 흡수 파장을 이용하여, 여기 (excitation)시켜 얻은 형광스펙트럼들을 이차원 평면 위의 형광세기 표시를 등고선 모양으로 표시하였다. 이 contour들은 각 조사된 유기인제에 대해 특징적인 형태로 관찰되었다.

조사된 10가지의 유기인제 농약의 형광 contour들은, 봉우리가 한 개로 된 DDVP를 포함한 8가지의 유기인제와 두 개의 봉우리로 나타난 Ateric을 포함한 두 가지의 유기인제 농약으로 나뉘어진다. 또한 최대 흡수파장의 영역별로 보면, 단일한 봉우리를 보이는 많은 유기인제는 약 280 nm에, Ateric을 포함한 두 종류의 유기인제는 260 nm에서, 그리고 장파장에서 최대 형광파장을 보여준 Monopho, Thaconyl의 최대 흡수파장은 비교적 장파장쪽으로 치우친 300 nm와 340 nm인, 다른 유기인제의 최대 형광파장과 서로 겹치지 않는 영역에서 나타났다.

그러나, 280 nm에서 최대 흡수파장을 나타내는 유기인

제 중에 Kitazin, Locsion, Meta는 약 2 nm이하의 근소한 차이를 두고 최대 형광세기를 308 nm주변에서 나타내었다. 이러한 그룹의 분별을 위해, HPLC-형광 자료를 이용하면 용리시간 차이에 의한 분리과 identification이 가능했다. 형광 contour가 매우 유사한 Kitazin, Locsion과 Meta를 비교하면, Kitazin은 16~20분 대에 나타나는 peak들이 매우 미약할 뿐 아니라, 용리시간 9.6분에 나타난 현저한 단일 peak가 다른 형광 특성이 비슷한 유기인제인 Locsion이나 Meta와의 구분이 용이하게 해 준다. 그러나, Locsion과 Meta는 chromatogram의 용리시간이나, 세부적인 작은 peak의 특징은 다르나, 그 pattern이 유사하여, 분석상 불확실성이 내재될 가능성이 있다.

## 참 고 문 헌

- Cotham, W. E. and T. E. Bidleman. 1989. Degradation of Malathion, Endosulfan and Fenvalerate in Seawater and Seawater/Sediment Microcosms, *J. Agric. Food Chem.*, 37, 824~828.
- Farran, A., J. L. Cortina, J. de Pablo and D. Barcelo. 1990. On-line continuous-flow extraction system in liquid chromatography with ultraviolet and mass spectrometric detection for the determination of selected organic pollutants, *Anal. Chim. Acta*, 234, 119~126.
- Frank, R. and L. Logan. 1988. Pesticide and industrial chemicals residues at the mouth of the Grand, Saugeen and Thames Rivers, Ontario, Canada, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 17 (6), 741~754.
- Freed, V. H., C. T. Chiou and D. W. Schmedding. 1979. Degradation of Selected Organophosphate Pesticides in Water and Soil, *J. Agric. Food Chem.*, 27, 706~708.
- Furton, K. G. and J. Rein. 1990. Trends in techniques for the extraction of drugs and pesticides from biological specimens prior to chromatographic separation and detection. *Anal. Chim. Acta*. 236 (1), 99~114.
- Gill, T. S., J. Pande and H. Tewari. 1990. Sublethal effect of an organophosphorus insecticide on certain metabolite levels in a fresh water fish, *Puntius conchonus* Hamilton, *Pestic. Biochem. Physiol.* 36 (3), 290~299.
- Jeon, D. S. and J.S. Yang. 1990. Determination of Organophosphorous Pesticides in Suncheon Bay, *J. Oceanological Soc. Korea*, 25, 21~25.
- Manahan, S. E. 1979. Chapter 6. Liquid-Solid-Gas Interactions in Aquatic Chemistry, Willard Grant Press, 3rd Ed., 168~176.
- Pal, A. K. and S. K. Konar. 1990. Pollution of aquatic ecosystem by Pesticide methyl parathion, *Environ. Ecol.* 8 (3), 906~912.
- Seiber, J. N., D. E. Glotfelty, A. D. Lucas, M. M. McChesney, J. C. Sagebiel, and T.A. Wehner, 1990. A multiresidue

- method by high performance liquid chromatography-based fractionation and gas chromatographic determination of trace levels of pesticides in air and water, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 19 (4), 583~592.
- Srivastava, A. K. and A. K. Srivastava, 1990. Skeletal anomalies in Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*) exposed to malathion, *J. Environ. Biol.*, 11 (1), 45~49.
- Steimle, F. W., V. S. Zdanowicz, and D. F. Gadbois, 1990. Metals and organic contaminants in Northwest Atlantic deep-sea tilefish tissues, *Mar. Pollut. Bull.*, 21 (11), 530~535.
- Strachan, W. M. J., W. A. Glooschenko and R.J. McGuire, 1982. Environmental impact and significance of Pesticides, vol. 1, In *Analysis of Pesticides in Water* by Chau, S. Y. and B.K. Afghan. CRC Series in analysis of environmental control, CRC Press, INC., Boca Ration, FL, 3~4.
- Wang, T., T. Kadlac and R. Lenahan, 1989. Persistence of fenthion in the aquatic environment, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42 (3), 389~394.
- Willis, G. H. and L. L. McDowell. 1982. Review: Pesticides in Agricultural Runoff and their Effects on Downstream Water Quality. *Environ. Toxicol. Chem.* 1, 267~279.
- 김영희 외 다수. 1988. 유출유 식별을 위한 형광분석자료 전산화 및 통계 처리법에 관한 연구. 해양경찰대 시험연구보. 4, 13~28.
- 농약 연보. 1988. 농약공업협회, 문순사.
- 농약사용지침서. 1991. 농약공업협회, 정화인쇄.
- 환경오염공정시험법 (수질분야). 1986. 환경청. 182~184.

---

1996년 12월 26일 접수

1997년 5월 7일 수리