

GC-ECD를 이용한 잔류 농약 다성분 동시 분석법 개발

김우성 · 손영욱 · 정지윤 · 안경아 · 홍무기 · 임무혁* · 이흥재** · 이봉현***

박흥재****† · 김부길***** · 김영식***** · 김성만*****

부산지방 식품의약품 안전청, *경인지방 식품의약품 안전청

경상대학교 농화학과, *부산대학교 화학과

****인제대학교 환경학과, *****동서대학교 환경공학과

*****밀양대학교 환경공학과, *****밀양대학교 식물자원학과

Development of Simultaneous Analytical Method for Various Residual Pesticides Using GC-ECD

Woo Seong Kim, Young Wook Son, Ji Yoon Jeong, Kyung A An, Moo Ki Hong,
Moo Hyeok Im*, Hong Jae Lee**, Bong Hun Lee***, Heung Jai Park****†,
Boo Gil Kim*****, Young Sik Kim***** and Sung Man Kim*****

Pusan Resional Food & Drug Administration, Pusan 608-080

**Kyung-In Regional Food & Drug Administration, Incheon 400-701*

***Dept. of Agricultural Chem., Gyeongsang National Univ, Chŭnju 660-701*

****Dept. of Chem., Pusan National Univ., Pusan 609-735*

*****Dept. of Environmental Science, Inje Univ., Kimhae 621-749*

******Dept. of Environmental Engineering, Dongseo Univ, Pusan 617-716*

******Dept. of Environmental Engineering, Miryang National Univ, Miryang 627-702*

******Dept. of Plant Resources, Miryang National Univ., Miryang 627-702*

(Received 11 November 2000 ; Accepted 10 February 2001)

ABSTRACT

The simultaneous analytical method for 37 residual pesticides was developed by a gas chromatography with ⁶³Ni electron capture detector. Pesticides added in soybean sample were extracted with 70% acetone in water and methylene chloride in order, and then cleaned up via open-column apparatus packed with florisol and alumina N. The Ultra-2 fused capillary column was used to separate the products. The resolution between the last isomeric peak of cypermethrin (56.398 min) and the first isomeric peak of flucythrinate (56.421 min) was not satisfactory and the last isomeric peak of fenvalerate(58.783 min) and the first isomeric peak of fluralinate(58.835 min) was overlapped. Except for α -BHC, dichlofluanid, captan, and captafol, most recoveries were showed over 70%.

Keywords : Simultaneous analytical method, Florisol, Alumina N

I. 서 론

농약은 농산물의 수확량과 신선도를 증가시키기 위하여 사용되고 있다. 그러나 소비자들은 농약이 없는 완벽한 식품을 구입하려는 욕구가 높아지고, 식품에 농약이 검출되었다는 언론의 보도에 민감하게 반응하고 있

다. 규제 농약의 종류가 1989년 17종, 1992년 33종, 1995년 104종, 1997년 203종으로 점차 증가됨에 따라 농산물 중에 잔류되는 다성분 농약을 신속하게 동시에 분석하는 방법, 시료로부터 불순물을 정제하는 방법에 대한 개발이 시급하다.

농약의 동시 다성분 분석에 관한 연구를 보면, Kim 등은 packed column을 사용하여 농산물에 첨가된 16종의 농약을 첨가하여 시료 처리후 85% 이상의 회수율을 얻었고¹⁾ 또 다른 연구에서 Kim 등은 capillary column을 사용하여 19종의 농약을 분석하여 회수율

†Corresponding author : Department of Environmental Science, Inje University., Kimhae 621-749
Tel: 055-320-3418, Fax: 055-320-3418
E-mail: envphj@ijnc.inje.ac.kr

85% 이상을 얻었다.²⁾ 그 후 Kim 등은 쌀과 콩에 25종의 유기인계와 유기염소계 농약을 첨가하여 ECD (electron capture detector)와 NPD(nitrogen phosphorous detector)를 사용하여 분석하였으며 그 결과, 회수율이 쌀에서는 83% 이상, 콩에서는 81% 이상을 얻었다.³⁾ 유기염소계 농약의 전처리 과정은 pH 조정, SPE(solid phase extraction) cleanup과 환원제를 첨가하여 조사하였고,⁴⁾ 과채류에 유기염소계 농약을 첨가한 후에는 florisil을 사용하여 정제 후 수분 함량별과 용출 용매 비율에 따른 비교를 하였으며,⁵⁾ 고기에서 heptachlor, dieldrin과 DDT를 효율적으로 분석하기 위하여 silica gel로 정제하여 용출 용매에 따라 회수율을 비교한 연구도 있었다.⁶⁾ GC-MSD(mass selective detector)의 SIM(selected ion monitoring) mode를 사용한 연구가 있으며 이때 각 성분의 특성 이온을 선택하여 고감도로 정량 분석을 수행한 바 있다.^{7,9)}

본 연구에서는 active carbon, microcrystalline cellulose, florisil 그리고 alumina N을 흡착제로한 open column chromatography를 이용하여 유기염소계 및 pyrethroids 계 농약을 추출하기 위한 최적 충전제 조성을 확립하고 GC-ECD에 의해 이들 농약의 감도 및 분리도를 극대화할 수 있는 분석 조건을 찾고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 시약

표준 물질로 사용한 37종의 농약(Table 4)은 Dr. Ehrenstorfer(German)에서 구입하여 사용하였다. 표준품을 acetone으로 500~1000 µg/ml의 농도로 용해시켜 stock solution을 제조하여 분석 직전에 적정 농도가 되게 희석하여 사용하였다. 농약의 추출 및 정제 등에 사용되는 유기 용매로써 Merck사의 잔류 농약 분석용인 methanol, hexane, acetone, methylene chloride와 특급 시약인 benzene, tert-butylmethyl ether를 사용하였다. 정제용 충전제로 florisil은 Sigma 제품을 130°C에서 12시간 활성화시킨 후 desiccator에서 상온 하에서 보관하여 사용하였다. Alumina N은 Sigma사, microcrystalline cellulose는 Fluka사, active carbon은 Avondale Laboratories (Banbury, Oxan, England)에서 구입하였다.

2. 시료의 추출 및 정제

본 실험에 사용된 시료는 시판중인 중국산 대두를 구입하여 사용하였다. 시료 1kg을 균질화시킨 후 100g를 분취하여 농약 혼합 표준품(1.2~6.6 ppm)을 첨가하였고, 이 중 시료 30g를 취하여 waring blender에

acetone:water(70:30) 100 ml를 넣어 5분간 균질화시키고 여과 보조제를 깐 흡인 여과기로 여과하였다. 40°C 이하의 수욕 상에서 감압, 농축시킨 후 이 수용액을 분액 깔때기에 취해 100 ml methylene chloride를 넣어 10분간 심하게 흔들어 섞은 후 정치하여 하층을 버리고 상층을 무수 황산나트륨을 사용하여 탈수하였다(반복 2회 추출). 40°C 이하의 수욕 상에서 감압, 농축시킨 후 methylene chloride 10 ml로 녹였다. 안지름이 15 mm인 유리 컬럼에 Table 1과 같은 조성으로 methylene chloride에 현탁시켜 충전시킨 후 50 ml의 methylene chloride로 세척하고 용매가 0.5 cm 정도 남게 한다. 여기에 시료 액을 loading 시키고 순차적으로 ether:hexane(3:7), hexane:benzene(1:1), ether:benzene(2:8)으로 용출시킨 후 이 액을 40°C 이하 수욕상에서 감압, 완전히 농축시켜 acetone으로 적당량 희석하여 GC로 분석하였다.

3. 분석 조건

농약의 동시분석의 최적화 조건을 모색하기 위해 첫

Table 1. The comparison of order of packing materials in cleanup procedure of open column chromatography

A	B	C
anhydrous Na ₂ SO ₄	anhydrous Na ₂ SO ₄	anhydrous Na ₂ SO ₄
↓	↓	↓
active carbon : microcrystalline cellulose(1:10)	florisil	florisil
↓	↓	↓
florisil	active carbon : microcrystalline cellulose(1:10)	alumina N

Table 2. Analytical conditions of oven program for the analysis of pesticides

Conditions	Ultra-2
Injector temperature	280°C
Detector temperature	300°C
Oven temperature program	
Initial temp. (time)	170°C (1.00 min)
Ramp rate	5.00°C/min
Final A temp.	185°C(17.0 min)
Ramp rate	5°C/min
Final B temp. (time)	290°C(10.0 min)
Runtime	43 min
Carrier & Flow rate	N ₂ , 0.6 ml/min
Injection vol.	1 µl
Split ratio	60:1

Table 3. The optimum conditions of pressure program for the analysis of pesticides

Condition	Ultra-2
Injector temperature	250°C
Detector temperature	280°C
Oven temperature program	
Initial temp. (time)	180°C(13.00 min)
Ramp rate	10.0°C/min
Final A temp. (time)	220°C(0.00 min)
Ramp rate	30.0°C/min
Final B temp. (time)	290°C(6.00 min)
Pressure Program	
Initial pres. (time)	17.2 psi (17 min)
Ramp rate	20.00 psi/min
Final pres. (time)	23.6 psi (8.00 min)
Runtime	23.2 min
Carrier	N ₂
Injection vol.	1 µl
Split ratio	7:1

제, 오븐 온도 프로그램만을 이용한 최적 기기 분석은 Table 2에서와 같은 조건에서 분석하였고, 둘째 오븐 온도 프로그램과 EPC의 기능인 압력 프로그램을 동시에 이용한 최적 기기 분석은 Table 3의 조건에서 분석하였다. 즉 분석에 사용된 GC는 HP 7673 auto injector가 설치된 6890(Hewlett Packard, USA)을 사용하였고 분석 조건은 다음과 같다. 사용된 column은 ultra-

2(crosslinked 5% phenyl-methyl siloxane, 50 m×0.20 mm I.D.×0.11 µmFT, Hewlett Packard, U.S.A), detector는 ⁶³Ni ECD, injector와 detector의 temperature는 280, 300°C, flow rate는 0.6 ml/min, carrier gas는 N₂, split ratio는 60:1, oven temperature는 170°C(5°C/min), 185°C(17 min, 5°C/min), 215°C(8 min, 5°C/min), 290°C(10 min)의 조건으로 분석하였다.

4. 검출 한계(LOD)와 머무름 시간의 상대 표준 편차(RSD)

오븐 온도 프로그램과 압력 프로그램을 이용한 최적 조건인 Table 3에서 농약의 머무름 시간의 RSD를 구하기 위해 5회 반복 분석하여 결정하였고, 기기의 검출 한계를 측정하기 위해 Table 3의 최적 조건에서 아세톤으로 공 시험 한 뒤 유기용매 바탕선을 기준으로 피크 높이가 3배가 될 때까지 아세톤으로 혼합 표준 농약을 희석시켜 기기에 대한 검출 한계치를 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

Kim 등은 유기 염소계 및 pyrethroids계 농약을 florisil, alumina N open column chromatography를 이용하여 24종의 농약을 분석할 때 3종류의 용출 용매로 분석하였는데, florisil의 활성화 정도에 따라 농약의

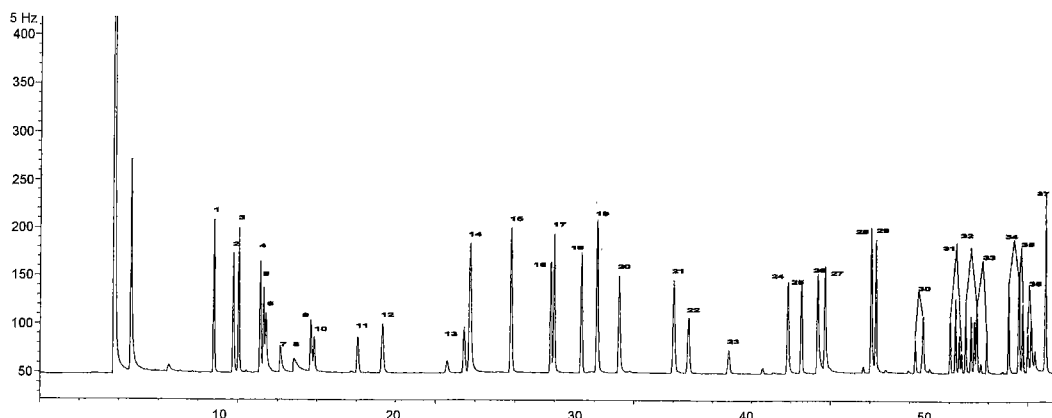


Fig. 1. Chromatogram of 37 kinds of organochlorine and pyrethroids pesticides; 1. α-BHC(8.772), 2. β-BHC(9.750), 3. γ-BHC(10.026), 4. δ-BHC(11.109), 5. chlorothalonil(11.291), 6. tri-allate(11.400), 7. metobromuron(1.137), 8. propanil(12.839), 9. tolcoph-methyi(13.689), 10. alachlor(13.854), 11. dichlofluanid(16.064), 12. chlorpyrifos(17.303), 13. captan(21.447), 14. chlorfenvinphos(21.745), 15. α-endosulfan(23.803), 16. dieldrin(25.795), 17. DDE(25.962), 18. endrin(27.342), 19. β-endosulfan(28.139), 20. DDD(29.252), 21. endosulfan sulfate(32.036), 22. DDT(32.777), 23. captafol(33.790), 24. bromopropylate(37.815), 25. methoxychlor(38.517), 26. bifenoxy(39.344), 27. tetradifon(39.714), 28. fenarimol(42.042), 29. cyhalothrin(42.278), 30. permethrin(44.283, 44.670), 31. cyfluthrin(46.033, 46.297, 46.488, 46.605), 32. cypermethrin(46.816, 47.086, 47.203, 47.384), 33. flucythrinate(47.475, 47.902), 34. fenvalerate(49.014, 49.549), 35. fluralinate(49.618, 49.737), 36. difenoconazole(49.981, 50.154), 37. deltamethrin(50.886).

Table 4. Recovery and detection limit of 37 kinds of organochlorines and pyrethroids pesticides

Pesticides	Recovery(%)			LOD ^b (µg/ml)	
	A	B	CSD ^a		
1	α-BHC	11.23	31.22	49.62 ± 7.97	0.004
2	β-BHC	68.19	73.62	85.71 ± 3.81	0.006
3	γ-BHC	25.33	52.33	76.92 ± 4.84	0.004
4	δ-BHC	N.D. ^c	59.06	83.41 ± 0.94	0.016
5	metobromuron	16.03	21.18	90.30 ± 0.83	0.020
6	chlorothalonil	16.72	25.02	74.83 ± 1.14	0.006
7	tri-allate	70.01	75.87	75.41 ± 3.96	0.008
8	propanil	N.D.	14.74	101.34 ± 0.86	0.128
9	tolcofos-methyl	52.62	60.83	83.00 ± 2.96	0.035
10	alachlor	72.00	75.58	85.93 ± 3.88	0.046
11	dichlofluanid	N.D.	75.93	49.14 ± 1.64	0.063
12	chlorpyrifos	16.35	50.88	73.42 ± 2.84	0.024
13	captan	69.34	72.35	N.D.	0.051
14	chlorfenvinphos	70.32	75.71	81.63 ± 3.44	0.011
15	α-endosulfan	34.72	46.40	77.94 ± 2.96	0.006
16	dieldrin	37.97	46.00	79.12 ± 1.65	0.005
17	DDE	19.65	20.18	78.231 ± 1.94	0.005
18	endrin	48.07	57.75	79.34 ± 3.16	0.006
19	β-endosulfan	56.88	73.90	86.24 ± 1.78	0.057
20	DDD	56.39	64.76	78.00 ± 1.14	0.007
21	endosulfan sulfate	57.00	72.62	89.55 ± 3.98	0.007
22	DDT	44.98	51.93	74.01 ± 2.84	0.005
23	captafol	70.26	74.36	N.D.	0.184
24	bromopropylate	73.29	77.76	76.12 ± 1.86	0.030
25	methoxychlor	70.79	73.94	78.74 ± 6.84	0.053
26	bifenox	70.35	76.85	87.02 ± 0.68	0.035
27	tetradifon	75.82	76.63	88.21 ± 2.73	0.025
28	fenarimol	73.46	75.93	88.02 ± 2.91	0.009
29	cyhalothrin	5.61	52.56	67.01 ± 3.84	0.043
30	permethrin	66.90	58.20	68.05 ± 4.04	0.074
31	cyfluthrin	18.37	48.44	69.34 ± 5.71	0.052
32	cypermethrin	27.20	49.00	68.21 ± 4.44	0.064
33	flucythrinate	29.50	49.62	70.10 ± 3.28	0.060
34	fenvalerate	13.55	49.83	68.60 ± 3.26	0.012
35	fluvalinate	11.67	51.04	64.501 ± .98	0.012
36	difenoconazole	74.72	74.60	86.71 ± 1.25	0.016
37	deltamethrin	10.41	48.43	70.32 ± 1.46	0.021

^a: standard deviation, ^b: limit of detection, ^c: not detected

회수율에 큰 차이를 보였다고 하였다.¹⁰⁾ 본 연구에서는 3종류의 흡착제(florisil, alumina N, active carbon: microcrystalline cellulose)를 이용하여 다양한 충전제의 조성에 따라 37종의 유기 염소계 및 pyrethroids계 농약을 유기 용매로 용출하여 회수율을 비교 분석하였다. 농약 표준 용액을 GC-ECD로 분석 후 각 농약의 머무름 시간을 확인하였으며, Fig. 1에 이들 농약의 크로마토그램을 도식화하였다. Pyrethroids계 농약인 cyhalothrin의 네 번째 peak와 flucythrinate의 첫 번째 peak, fenvalerate의 두 번째 peak와 fluvalinate의 첫

번째 peak가 분리되지 않고 겹치는 것으로 나타났다. Table 1에서 A와 B의 경우 충전 순서(florisil, active carbon: microcrystalline cellulose)를 달리하여 비교 분석하였지만, 유기 염소계 및 pyrethroids계 농약의 회수율이 전반적으로 낮게 나타났다(Table 4).

Pang 등이 보고한 연구에서는 활성화시킨 florisil에 수분을 다시 첨가하여 정제한 후 8종의 pyrethroids계 농약의 회수율이 83.8~112.8%,⁵⁾ Kim 등에 의한 연구에는 활성화시킨 florisil로 정제한 후 19종의 유기 염소계 농약의 회수율이 79.1~110.4%로 나타났다.¹⁾ 본

연구에서는 동일한 용출 용매로 하고 충전제의 조성을 다양하게 사용한 결과, C와 같은 순서로 충전한 경우가 A와 B 보다 우수하게 나타났다. Table 1에서와 같이 active carbon:microcrystalline cellulose(1:10)가 첨가된 경우 유기 염소계 및 pyrethroids계 농약 대부분이 50% 이하의 낮은 회수율을 보였으며, 특히, BHC, DDT, pyrethroids계 농약이 현저하게 낮게 나타났다. C와 같이 충전하여 37종의 농약을 용출하였을 때 A와 B의 경우에서 보다 전체적인 회수율이 상승하였으나, captan과 captafol은 전혀 검출되지 않았는데, 이는 Table 1에서 충전제 조성을 보면, alumina N에 전적으로 의존되고 있음을 알 수 있다. 각 농약의 머무름 시간은 8.772분(α -BHC)~50.886분(deltamethrin)에 걸쳐 용출되었고 3회 측정된 각 농약의 평균 머무름 시간의 상대 표준 편차는 0.08~0.02%의 범위에 들었다. GC-ECD로 측정된 결과 37종의 농약이 동시 분리가 가능했고 표준 용액 1.2~6.6ppm을 대두 시료에 첨가하여 유기 염소계는 α -BHC 등 4종을 제외하면 70% 이상의 회수율을 보였으며, cypermethrin 등의 pyrethroids계 농약들은 유기 염소계에 비하여 다소 낮은 회수율을 보였다. 본 실험에 바탕 시료로 사용한 대두는 조사된 농약 37종이 검출되지 않았다. 검출 한계는 0.004~0.128(μ g/m)로 현재 실험 조건하에서 α -BHC, β -BHC가 가장 낮은 검출 한계를 나타내었으며 propanil이 가장 높은 검출 한계를 보여주었다.

일반적으로 가스크로마토그래피 분석법에서 일정한 유속 하에 오븐 온도 프로그램을 이용하여 시료 속의 성분들을 분리하는 과정에서 오븐 온도는 칼럼을 통과하는 캐리어가스의 유속에 영향을 준다. 즉 오븐 온도가 증가할수록 칼럼내의 캐리어가스의 점도도 함께 증가하면서 가스수가 감소하게 되고 이로 인해 유속이 감소된다. 하지만 EPC 시스템은 압력 프로그램의 전기적 조절에 의해 오븐 온도의 증가로 인한 유속 감소를 보완해 주어 유속을 일정하게 유지시켜 안전화(flow stability)를 가져주고 머무름 시간의 재현성과 피크면적의 감도를 정확하게, 높게 유지시키며 표준 편차가 0.1% 이하로 분리능이 향상되었고 또한 분석이 필요한 최대 온도를 감소시킬 수 있어 유속의 급상·급하를 상이하게 조절할 수 있어 온도 한계점 아래에서 효율적

으로 작동하여 총 분석 시간을 단축할 수 있었다.

본 연구에서와 같이 농약을 EPC의 기능인 압력 조절 프로그램을 오븐 온도 프로그램과 함께 사용함으로써 첫째, 일정한 유속 하에 온도를 달리하여 분리능을 높이지 못한 농약들을 저온에서 압력을 급상시켜 완전 분리할 수 있었고, 둘째 오븐 온도의 최대 온도에서 장시간에 걸쳐 분리되는 농약을 최대 압력을 급상시켜 분석함으로써 분리시간을 무려 20분 정도를 단축시킬 수 있었다. 이는 고온에서의 장시간 분석 시에 발생하는 농약의 화학적 붕괴를 막고 칼럼의 수명을 보호할 수 있다는 이점이 있다. 향후 농약에 대하여 동시 다성분 분석법으로 보다 신속하고 보다 정확하게 분석하기 위해 EPC의 기능인 압력 프로그램과 오븐 온도 프로그램과 동시에 이용하는 분석법을 계속 모색하여 급증하고 있는 수입·국내 농산물 및 식품에 잔류되어 있는 미지의 농약들을 신속히 검정함으로써 검사 업무의 효율성과 경제적인 예산 절감 효과를 가져올 것으로 기대된다.

참고문헌

- 1) Kim, T. J. Park, S. J. and Kim, Y. S.: *J. Korean Chem. Sci.*, **29**(5), 503-509, 1985.
- 2) Kim, T. J. Yun, W. E. and Kim, Y. S.: *J. Korean Chem. Sci.*, **31**(5), 425-433, 1987.
- 3) Kim, T. J. Yun, W. E. and Rhee, T. S.: *J. Korean Chem. Sci.*, **35**(5), 560-568, 1991.
- 4) Lee, S. M. Papatkakis, M. L. Feng, H. M. C. Hunter, G. F. and Carr, Y. E., *Fresenius: J. Anal. Chem.*, **339**, 376-383, 1991.
- 5) Pang, G. F. Chao, Y. Z. Fan, C. L. Zhang, J. J. Li, X. M. and Zhao, T. S.: *J. AOAC International*, **78**(6), 1481-1488, 1995.
- 6) Miyahara, M. Murayama, M. Suzuki, and T. Saito, Y.: *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 221-220, 1993.
- 7) Stan, H. J.: *J. Chromatogr.*, **467**, 85-98, 1989.
- 8) Rho, K. A. Kim, H. W. and Lee, Y. K.: *Kor. J. Food Sci. Technol.*, **30**(4), 721-727, 1998.
- 9) Rhee, J. S. Park, H. M. and Er, Y. W.: *J. Korean Chem. Sci.*, **39**(12), 902-909, 1995.
- 10) Kim, W. S., Lee, B. H. Bahn, K. N. Jung, S. U. and Park H. J.: *J. Kor. Environ. Sci. Soc.*, **6**(4), 385-389, 1996.