

## 농약제품분석의 정성분석도구로서 FT-NMR

최달순<sup>\*</sup> · 경석현<sup>1</sup> · 홍수명 · 진용덕 · 이해근 · 김진화 · 류갑희

농업과학기술원 유해물질과, <sup>1</sup>건국대학교 분자생명공학부

**요약 :** 농약제품 중 개별부자재의 확인을 위한 분석도구로서 NMR 분광기를 사용하였고 부자재의 표준품 및 농약제품을 분석 비교하였다. 고분자물질인 계면활성제는 co-polymer였고 많은 ethylene 그룹으로 이루어졌다. 가장 두드러진 signal은 긴 체인의 polyoxyethylene 그룹으로 70.5 ppm에서 나타났고 Ester의 carbonyl 그룹은 173.5 ppm에서 자기공명 signal을 확인할 수 있었다. 분석 시료는 정제, 농축, 또는 크로마토그래피의 과정 없이 준비되었고 개별부자재의 확인은 분석된 시료와 표준품 스펙트럼과의 비교에 의하여 가능할 수 있었다. NMR 분광기는 전처리과정 없이 농약제품 중 개별부자재의 분석이 가능하였다.(2004년 4월 22일 접수, 2004년 6월 25일 수리)

**Key words.:** NMR, inert materials, crop protection products.

### 서 론

농약제품은 여러 안전성 평가를 통해 등록되어 사용되고 있으며 등록 후에는 농약 제품 중의 주성분에 대한 분석과 관리가 주류를 이루고 있고 제품의 대부분을 차지하고 있는 불활성 물질인 부자재에 대한 분석법은 아직까지 개발이 되지 않고 있다. 농약제품은 유효성분과 제제를 위한 보조제로 사용되는 부자재로 구성된다. 혼합물중 개별성분의 분리 및 분석을 위해 사용되는 크로마토그래피는 가장 많이 사용하고 있는 분석법이다. 그러나 농약의 주성분 및 저분자 부자재물질은 크로마토그래피에 의해 분리되고 분석될 수 있지만 계면활성제로 쓰이고 있는 고분자 물질은 컬럼 크로마토그래피에 의해 분리할 수 없는 물질이 대부분이다. 이런 문제점 때문에 농약제품 중 여러 성분으로 혼합된 부자재의 다성분 동시분석은 기기분석학적으로 많이 시도되지 않았다. 예를 들어 분광분석법이 있으나 분광분석법으로 분석된 자료는 모든 성분을 대상으로 얻어지므로 혼합성분인 경우 혼합된 성분들 간의 분별력이 없는 자료가 얻어지므로 혼합된 성분의 분석에는 이용되지 않고 있었다. 하지만 NMR인 경우 특정 핵종에 대한 핵자기 공명을 일으킬 수 있는 라디오파가 있으며 이를 통하여

특정 핵종에 대한 정보만을 얻을 수 있어 개별 성분에 대한 NMR 분석 자료의 패턴을 안다면 혼합된 성분 중 개별성분의 확인이 가능할 수가 있다(Harald, 1995). 그리고 기존의 NMR이 가지는 단점인 특히 <sup>13</sup>C에 대한 낮은 감도문제는 농약제품 조성이 대부분 퍼센트 농도로 함유되어 있어서 퍼센트 농도수준의 분석이 가능하기 때문에 농약제품분석의 정성분석도구로서 FT-NMR을 선택이 가능하였다(Roy, 1983). NMR은 특정핵종의 분석정보만을 얻을 수 있기 때문에 전처리 과정을 거치지 않거나 간단한 전처리 과정만으로도 충분한 결과를 얻을 수 있는 장점이 있어 신속한 분석이 가능하였다(Charles, 1975; Mazzola, 1984; Richard, 1991; Scott 등, 1994, 1995). 본 연구에서는 NMR에서 얻을 수 있는 특정핵종의 자료를 얻고 농약제품 중 개별 부자재에 대한 정성분석의 가능성을 알아보기로 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시험재료

농약제품 중 원제성분은 순도가 확인된 표준품을 사용하였으며 분석의 어려움이 있는 Tween 20, 40, 80, Triton X-100등의 고분자성분인 계면활성제와 보조제인 xylene, propylene glycol등의 화합물은 일반시중에서 순도를 확인할 수 있는 시약으로 구매 했고

\*연락저자

시중에서 구할 수 없는 성분은 계면활성제 공급처를 통하여 확보했다. 농약제품의 여러 제형의 형태에 대한 분석가능성을 확인하기 위하여 시중에서 판매하고 있는 수화제, 액상수화제, 액제, 유제 제품을 사용하였다. 분석기기는 FT-NMR(Varian INOVA 300)을 사용하였으며 대상 핵종은  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{23}\text{Na}$ 등으로 하였다.

**시험방법**

시료를 NMR spectrometer로 분석하기 위해서는 deuterium으로 치환된 NMR 용매를 이용하여 시료를 용해하여 분석해야한다. 농약제품 중의 유효성분 및 부자재의 분석을 위해서 가장 문제점이 있었던 것은 제품의 개별성분의 NMR용매에 대한 용해도가 문제점이 있었다. 그리고 NMR용매는 스펙트럼을 얻기 위하여 NMR 초전도체의 기하학적인 magnet coil을 최적화하기 위하여 필요하며 일반용매에 비하여 고가이므로 시료의 추출을 위하여 사용하기에는 곤란하였다. 또한 얻고자하는 핵종에 간섭을 받지 않아야 하는 점에서 NMR 용매선택의 어려움이 있었다. 이런 문제점을 해결하기위하여 그림 1에서 보는 바와 같이 NMR tube내에 reference tube를 넣고 이 reference tube에 NMR 용매를 넣어 용매와 분석하고자 하는 시료와는 전혀 영향을 주지 않으면서 NMR 용매의 역할을 수행할 수 있는 방법을 찾았다. 또한 그림에서 보듯이 농약제품이 액상인 경우에는 그 원액자체를 직접 외부

cell에 넣고 분석하는 방법이 가능하여 추출, 정제, 농축 및 크로마토그래피의 전처리 과정 없이 분석이 가능하였다. 농약제품이 고형인 경우 solid NMR에서는 전처리 과정 없이 분석이 가능하지만 운용하고 있는 liquid NMR인 경우에는 처음의 추출과정에서 소량의 acetone를 이용하여 추출 하고 이를 원심 분리하여 상정액을 외부 cell에 넣어 분석을 할 수 있었다.

전처리가 끝난 시료는 주성분 및 부자재로 사용하고 있는 개별 성분들을 분석하고자 하는 성분의 구성원소인  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{23}\text{Na}$ 등의 핵종에 대한 핵자기 공명을 일으키는 라디오 전자기파를 통하여 개별 물질의 스펙트럼을 얻었고 구조적 해석을 통하여 ACD-NMR의 프로그램을 통하여 library를 작성하였다. 제품의 분석을 위하여 유기화합물의 기본골격을 이루는 carbon에 대한  $^{13}\text{C}$ -NMR의 spectral data를 주로 기본 분석용 data로 사용하였고  $^{31}\text{P}$ ,  $^{23}\text{Na}$ -NMR의 spectral data는  $^{13}\text{C}$ -NMR의 자료로는 확인이 곤란한 제제 성분에 대하여 보충자료로 사용하였다.

**결과 및 고찰**

고분자물질의 분석가능성 확인 및 같은 계열의 고분자물질의 분별성 검토

여러 부자재의 혼합조성으로 이루어진 농약제품분석을 위해 처음 고려되어야하는 성분은 고분자물질이었

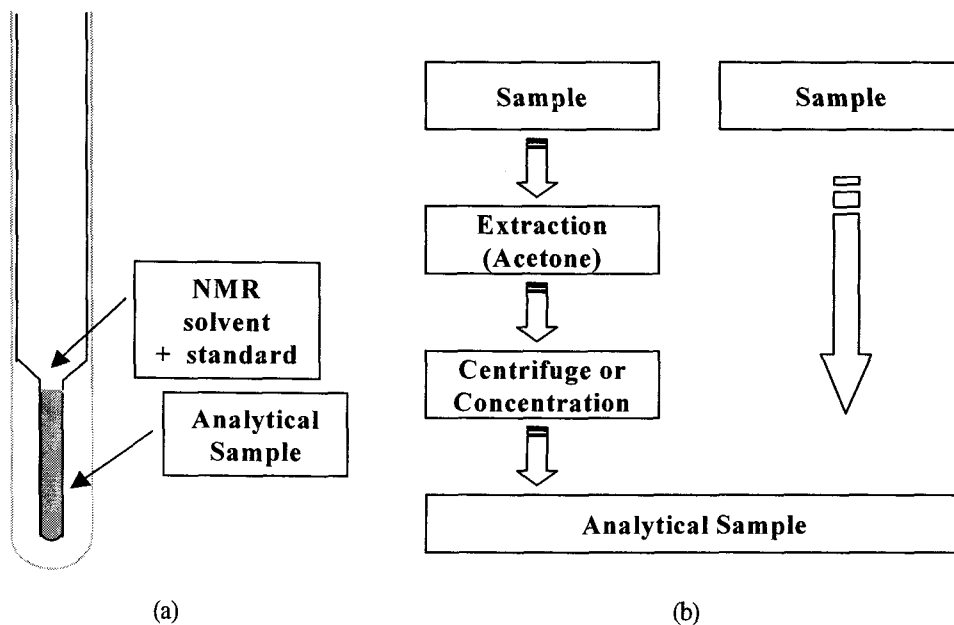


Fig. 1. Methods for sample preparation (a) NMR tube inserted reference tube (b) Preparation scheme according to formulation.

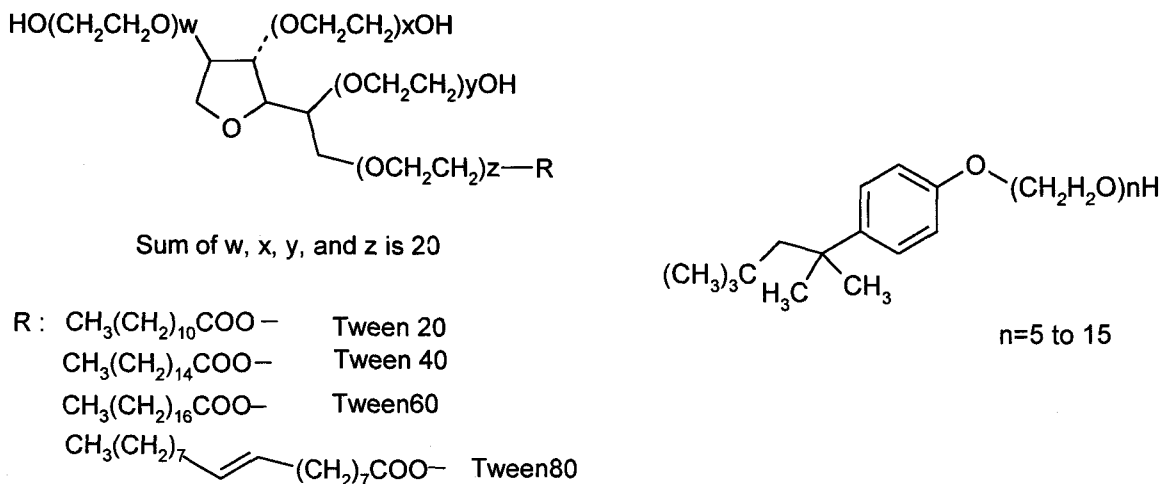


Fig. 2. Structure of Tween and Triton X-100.

다. 특히 그림 2에서 보는 바와 같이 polymer인 경우 상당히 복잡한 구조를 가지고 있었다. 복잡한 signal로 분석 될 것으로 예상되는 고분자물질의 NMR의 분석 스펙트럼에 대한 구조적 특징을 찾기 위하여 개별 부자재의 분석이 필요하였다.

NMR의 각 핵종에 대한 분석 signal은 그 핵종이 위치한 입체적 분자구조의 주변 전자적 환경에 따라 다른 화학적 이동에 대한 signal을 나타낸다. 이러한 전자적 환경에 대한 기본적인 원리를 가지고 고분자 화합물의 기본골격을 이루는 탄소에 대한 NMR signal을 얻어 개별 탄소가 가지는 화학적 이동에 대한 정보를 얻었다. 계면활성제는 polyhydrocarbon이나 polyethyleneglycol과 같은 반복된 분자의 조합으로 이루어진 화합물이 많아 NMR 분석을 통한 스펙트럼을 확인해 보면 오히려 간단한 signal을 얻을 수 있으며 그들 고분자물질을 이루는 signal은 각각의 성분에 대한 특징을 반영했다. 개별적인 부자재 표준물질을 분석하고 각각의 관능기를 확인하여 부자재의 특징을 나타내는 signal을 찾아내었다(그림 2). Tween계열은 기본적인 골격이 같으며 특히 ester 그룹의 hydrocarbon chain의 길이만 상이한 화합물이다. 이 화합물이 혼합된 물질로 존재할 때 각각의 화합물에 대한 분별할 수 있는 signal과 특징이 나타났다. 그림 3에서 보듯이 서로 공통된 signal이 존재하는 반면 상이한 signal이 존재해서 고분자 물질간의 NMR을 통한 분별분석은 가능함을 확인할 수 있었다. Tween 20을 기본으로 해서 Tween 40과 Tween 80을 비교해 보면 Tween 40은 30 ppm 위치의 signal의 강도가 Tween 20과는 많은

차이가 남을 알 수 있고 Tween 80의 경우 Tween 20과 Tween 40과의 차별화된 double bond의 130 ppm signal과 26.5 ppm의 signal로 Tween 80을 분별하여 확인할 수 있었다. 또한 계열은 다르지만 같은 잔기를 가지는 Triton x-100의 경우는 그림에서 보는 바와 같이 Tween 계열과 같은 위치의 signal도 가지지만 여러 개의 상이한 signal이 나타나는 결과를 얻을 수 있어서 고분자 계면활성제의 분별력 있는 분석이 가능함을 알 수 있었다.

대부분의 계면활성제인 polymer인 경우에는 copolymer이고 많은 ethylene 그룹으로 이루어진 polyethylene으로 구성되어 있다. 대부분의 강한 signal(70.5 ppm)을 보이는 것은 긴 polyethylene 구조에서 연유했다. Ester 그룹의 carbonyl기는 173.5 ppm에서 핵자기 공명의 signal을 얻을 수 있었다. 이와 같이 거의 모든 polymer로 고분자인 부자재 분석은 <sup>13</sup>C-NMR 분석을 통하여 구조적 특징의 확인이 가능할 수 있었다.

혼합된 계면활성제의 개별 화합물의 분석

위의 실험을 토대로 인위적으로 혼합된 계면활성제의 조성물을 개별화합물과 구별이 가능한지 또한 화학적 이동에 의한 개별 화합물의 스펙트럼과의 차이가 있는지를 알아보았다. 그림 4에서 보는바와 같이 혼합된 조성물의 스펙트럼은 확인이 가능한 형태의 signal을 보였고 표준물질의 분석 스펙트럼과의 비교에서 화학적 이동 없이 같은 위치에서 분석된 signal을 확인할 수 있었고 위에서 언급한 각각의 부자재의 특징을 나타내는 signal을 확인할 수 있었다.

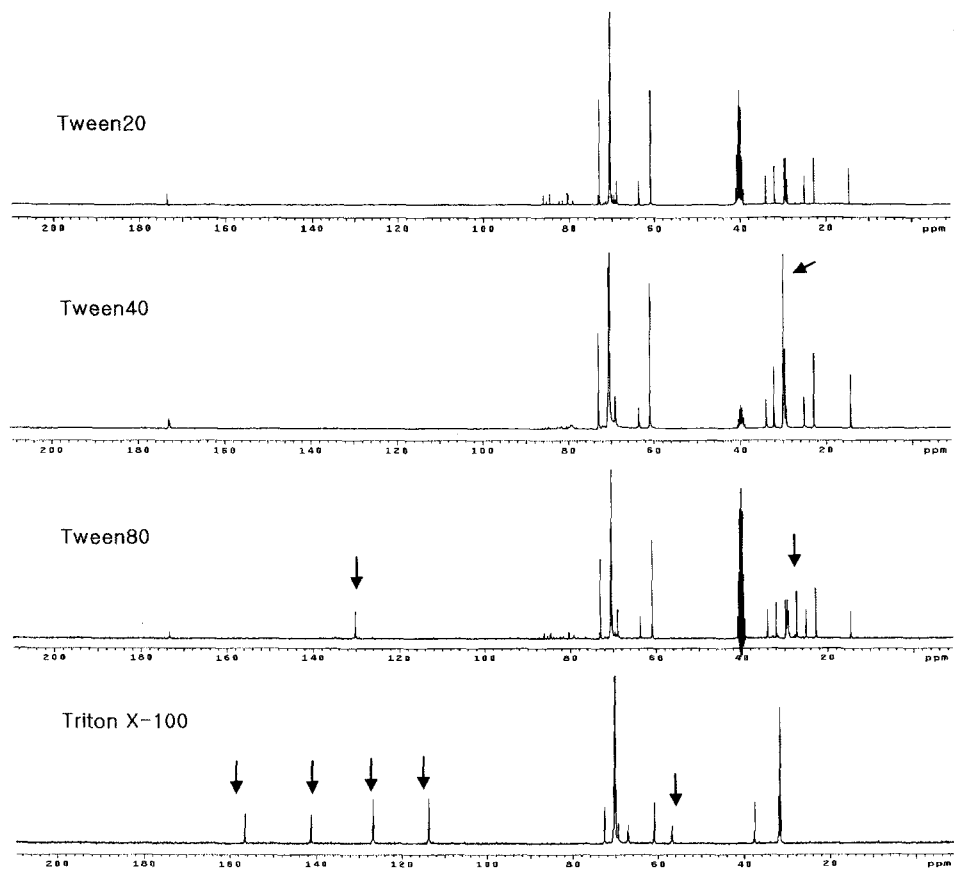


Fig. 3. Comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of several surfactants( ↓ : distinctive signal ).

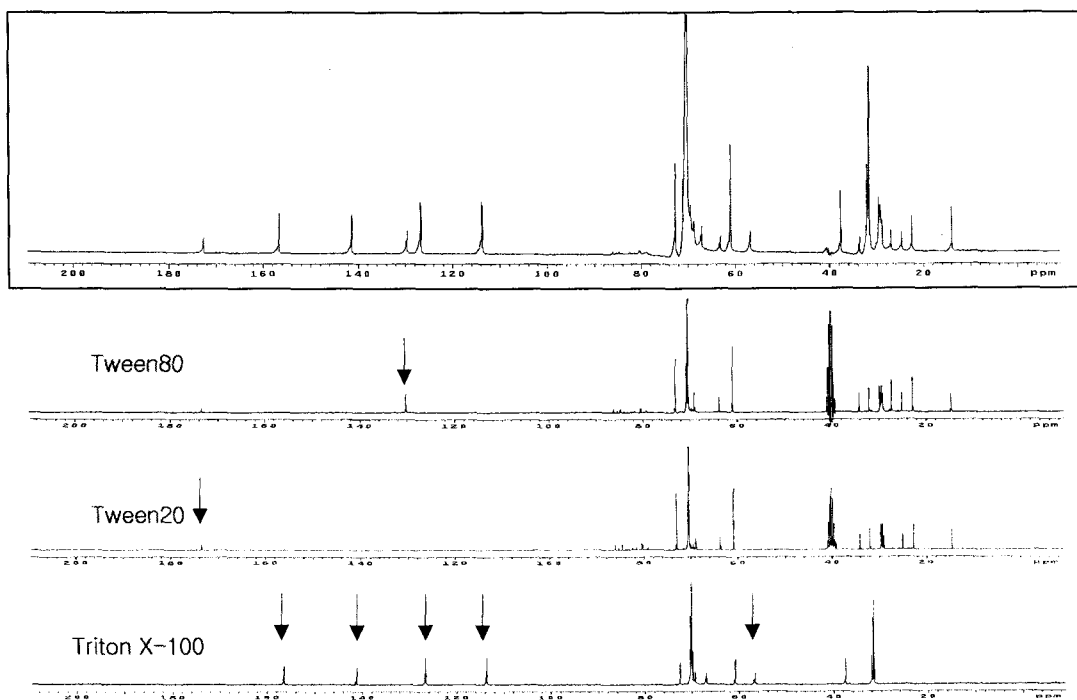


Fig. 4. Comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of standard inert materials(Tween80, Tween20 and Triton X-100) and mixture.

### 제품농약중의 부자재 다성분 동시분석

시중에 시판되고 있는 액상제형인 유제, 액제와 고상제형인 수화제를 가지고 직접분석을 해보았다. 먼저 액상제형인 유제인 경우에는 그림 1에서 보는 바와 같이 전처리 없이 바로 NMR cell에 넣어 분석을 하였다. 그 결과 그림 5에서 보는 바와같이 유효성분의 특징적인 signal을 확인할 수 있었고 양적으로 많은 양이 포함된 용제로 사용한 xylene은 강도가 크게 분석이 되어 쉽게 확인할 수 있었으며 계면활성제 성분인 polyoxyethylene nonylphenol의 성분은 작은 강도의 signal이 얻어졌으나 농약제품의 스펙트럼을 확대함으로써 그 성분의 특징적인 signal을 확인할 수 있었고 polyethylene glycol도 확인이 가능하였다.

또 다른 액상제제인 액제 분석을 통하여 부자재를 확인할 수 있었다. 그림 6에서 보는 바와 같이 주성분 및 여러 부자재에 대한 정성분석이 가능하였고

다만 polyoxyethylene mono(cis-9-octadecenyl)ether는 ↓에서 언급된 signal이 확인되지 않아서 이 제품에서는 사용하지 않았음을 알 수 있었다.

고상제형인 수화제인 경우에는 대부분을 차지하는 고형증량제인 광물질의 성분분석은 일반적인 유기화합물을 분석하는 분석기기로는 분석이 안 되는 부분이기 때문에 제제과정에서 사용하는 유기화합물의 보조제만을 대상으로 분석을 실시하였으며 sodium salt인 경우에는  $^{23}\text{Na-NMR}$ 을 통하여 분석을 실시하였다. 또한 그 화합물중 phosphorus의 핵종을 가진 부자제인 경우에는  $^{31}\text{P-NMR}$ 을 통해 그 성분의 확인이 가능하였다.

이상에서 여러 부자재에 의해 제제화된 농약제품을 NMR에 의해 분석하였다. 유기화합물의 골격인 carbon은  $^{13}\text{C-NMR}$ 에 의해 분석이 될 수 있었고 carbon의 고유한 chemical shift에 의해 부자재의 정성

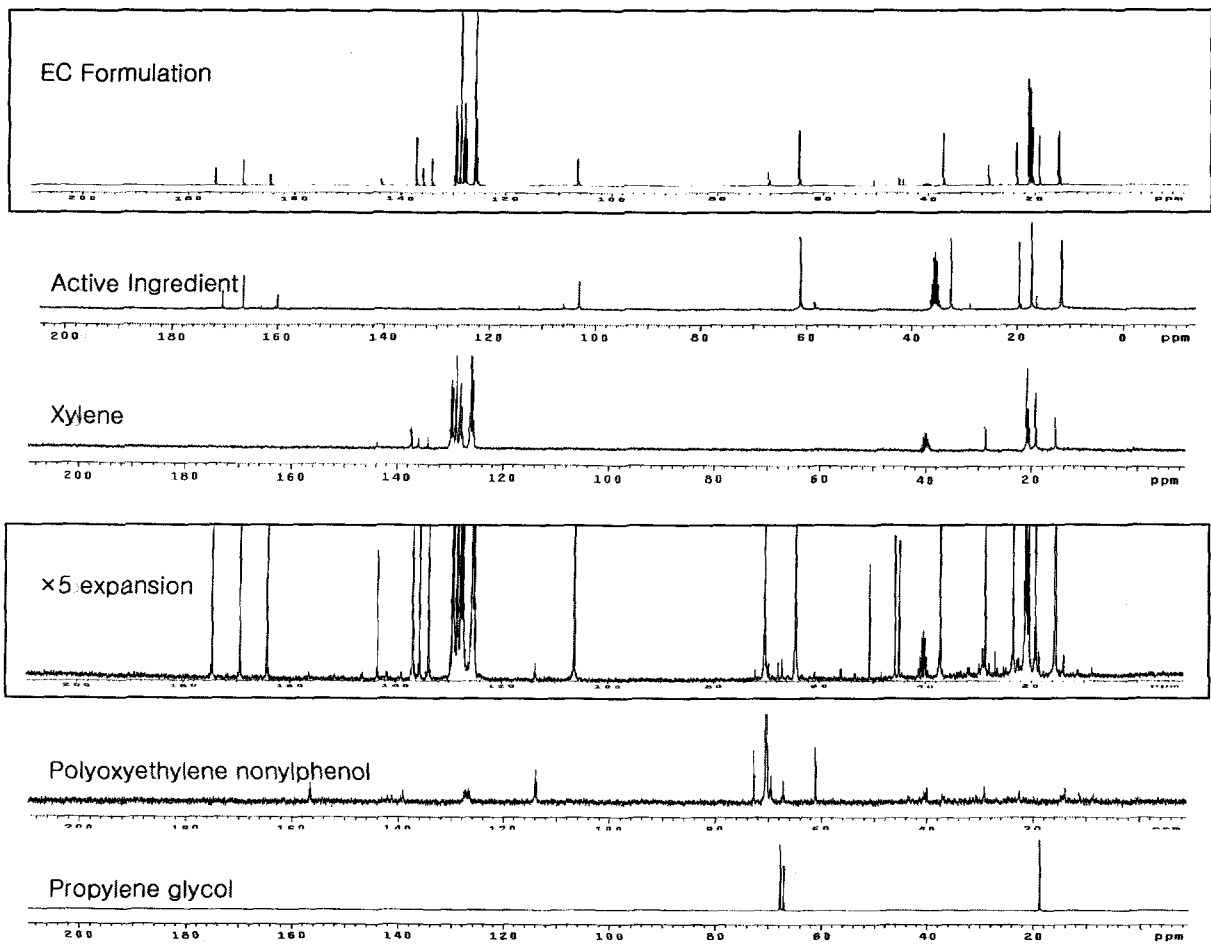


Fig. 5. Identification of individual adjuvant through the comparison of  $^{13}\text{C-NMR}$  spectra of inert standard and emulsifiable concentrate formulation.

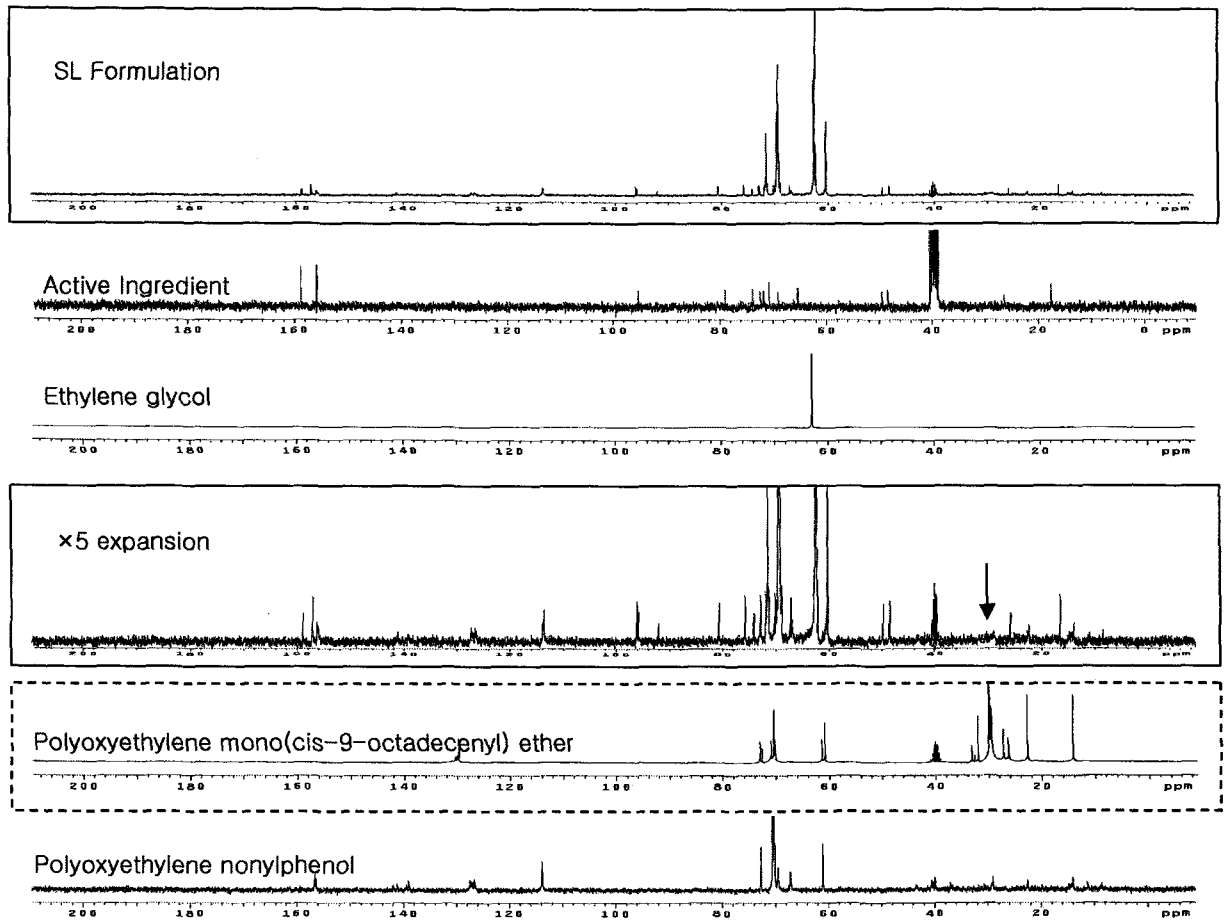


Fig. 6. Identification of individual adjuvant through the comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of inert standard and soluble concentrate formulation.

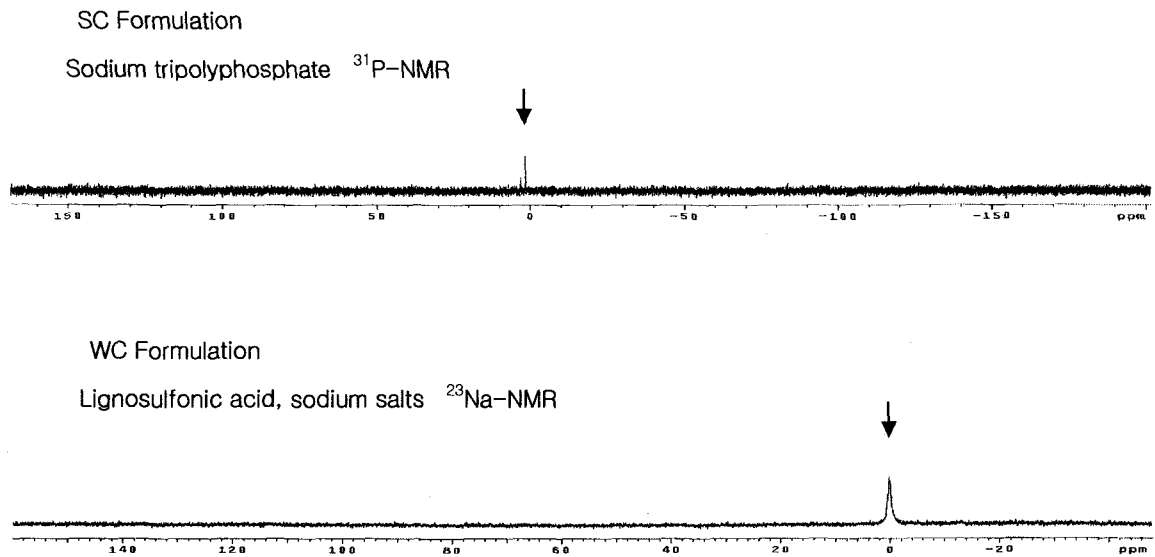


Fig. 7. NMR spectra for adjuvant containing  $^{31}\text{P}$ ,  $^{23}\text{Na}$  nucleus.

은 이루어 질 수 있었다. 또한 phosphorus와 sodium에 대한 NMR 분석은 부자재 분석에 좋은 정보를 제공하였다.

결론적으로 농약제품 분석의 도구로서 NMR을 이용한 다성분 동시분석법을 검토하기위하여 개별적인 부자재에 대한 NMR분석을 통하여 각 부자재의 특징적인 signal을 분석하고 그 부자재로 제제화 된 농약제품에 대한 정성분석을 실시하였다. 농약제품에서 부자재는 S/N비가 2이상으로 분석이 되었고 각각의 signal은 부자재의 정성분석을 위한 정보를 제공하였다. 농약제품중의 부자재 분석은 부자재의 표준물질에 대한 분석과 그 분석된 표준물질의 스펙트럼과 농약제품의 스펙트럼의 비교분석을 통해 부자재를 확인할 수 있었다. 또한 NMR은 정제, 농축, 및 크로마토그래피의 과정 없이 농약제품의 보조제의 분석을 위한 유용한 도구가 될 수 있음을 알 수 있었다.

## 인용문헌

- Charles, J. S., D. G. Crosby, K. W. Moilanen, J. N. Seiber and J. E. Woodrow (1975) Occurrence of trifluralin and its photoproducts in air, *J. Agric. Food Chem* 23(2):304~309.
- Greenhalgh, R., B. A. Blackwell, C. M. Preston and W. J. Murray (1983) Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance analysis of technical organophosphorus insecticides for toxic contaminants, *J. Agric. Food Chem.* 31:710~713.
- Günther, H. (1995) *NMR Spectroscopy*, second edition, John Wiley & Sons.
- Mazzola, E. P., A. P. Borsetti, S. W. Page and D. W. Bristol (1984) Determination of pesticide residues in foods by fluorine-19 fourier transform nuclear magnetic resonance spectroscopy, *J. Agric. Food Chem* 32:1102~1103.
- Mortimer, R. D. and B. A. Dawson (1991) A study to determine the feasibility of using  $^{31}\text{P}$  NMR for the analysis of organophosphorus insecticide residues in cole crops, *J. Agric. Food Chem* 39:911~916.
- Mortimer, R. D. and B. A. Dawson (1991) Using  $^{19}\text{F}$  NMR for trace analysis of fluorinated pesticides in food products, *J. Agric. Food Chem* 39:1781~1785.
- Mortimer, R. D., D. B. Black and B. A. Dawson (1994) Pesticide residue analysis in foods by NMR. 3. Comparison of  $^{19}\text{F}$  NMR and GC-ECD for analyzing trifluralin residues in Field-Grown Carrots, *J. Agric. Food Chem* 42: 1713~1716.
- Scott, A. M. and G. C. Donald (1995)  $^{19}\text{F}$  NMR as an analytical tool for fluorinated agrochemical research, *J. agric. Food. Chem.* 43:1845~1848.

### FT-NMR as an analytical tool for identification of inert materials in crop protection products

Dal-Soon Choi\*, Suk-Hun Kyung<sup>1</sup>, Su-Myeong Hong, Yong-Duk Jin, Hea-Keun Lee, Jin-Hwa Kim, and Gab-Hee Ryu (Hazardous Substances Division, NIAST, RDA, Suwon 441-707, and <sup>1</sup>Department of Molecular Biotechnology, Konkuk University, Seoul)

**Abstract :** In order to evaluate NMR spectrometer as the analytical tool for identification of individual adjuvant in crop protection products, the standard sample of individual adjuvant was analyzed by NMR spectrometer and then the formulation of crop protection products was also analyzed. Almost polymer system of surfactant was a co-polymer and there was an excess of ethylene. The most intense signal comes from long polyethylene blocks, 70.5 ppm. The carbonyl groups of ester group resonate at 173.5 ppm. Analytical sample was prepared in NMR tube without extraction, cleanup, concentration, or chromatographic separation. Identification of individual adjuvant in crop protection products was conducted by comparison of sample and reference spectra. NMR spectrometer was useful to analyze adjuvant in crop protection products without preparation process.

\*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0506, E-mail : dschoi@rda.go.kr)