

농약의 품질관리를 위한 다성분 동시분석법 연구

김효경* · 박승순 · 오병렬 · 임건재

농업과학기술원 농약평가과

요약 : 농약 제품의 제조기업에서는 여러 가지 제품을 연속적으로 생산하고 있으므로 품질관리를 위한 동시 또는 연속적인 제품분석의 필요성이 있다. 본 연구는 생산현장에서 신속하고 정확한 제품의 품질관리를 위하여 일정한 분석기기 조건에서 각각의 성분을 혼합하여 한번주입으로 여러 성분을 동시에 분석할 수 있는 다성분 동시분석에 관한 연구를 수행하였다. 대상농약은 iprobenfos 17%GR, isoprothiolane 12%GR, tebufenozide 20%SC를 선정하여 GLC와 HPLC를 이용하여 분석을 실시하였다. GLC를 이용한 분석에서는 iprobenfos와 isoprothiolane 등 2성분이 동시분석 가능하였으나, tebufenozide는 검출이 되지 않아 분석이 불가능하였다. HPLC를 이용한 분석에서는 iprobenfos, isoprothiolane, tebufenozide 등 3성분 모두 동시분석이 가능하였다. (2005년 11월 10일 접수, 2005년 12월 20일 수리)

Key word : 다성분농약 분석, 이소프로치오란, 이프로벤포스, 테부페노자이드.

서 론

농약이 농작물에 안정된 약효를 발휘하기 위해서는 제품마다 등록규격에 명시된 대로 유효성분의 함량이 보증되어야 한다. 또한 농약관리법에 등록규격 이상의 유효성분이 함유되지 않으면 불량농약으로 판정하여 법적인 제제조치를 하도록 되어 있다. 따라서 제조회사에서는 유통기간동안에 주성분의 경시적인 변화를 고려하여 통상 명시된 등록규격보다 높은 유효성분이 함유되도록 제품을 제조한다. 이와 같은 농약의 품질관리를 위해서는 제품의 출하전에 자체 품질관리를 실시하여 명시된 등록규격 이상의 농약에 대하여 자체검사필증을 첨부하여 출하한다.(농촌진흥청 2004; 농촌진흥청 농업과학기술원 2004).

일반적으로 농약의 생산은 겨울철에 집중적으로 이루어져 작물의 생육이 시작되는 봄까지 출하를 마쳐야 제대로 영업활동을 할 수 있으며, 농민의 입장에서 농약을 제때에 사용할 수가 있다. 그러므로 농약 제조회사는 한 계절에 집중되어 있는 생산시기에 제품의 품질관리를 효율적으로 수행하기 위하여 혼합성분의 제품 또는 여러 종의 단일성분의 제품을 일정한 분석기기 조건에서 각각의 성분을 혼합하여 한번 주입으로 여러 성분을 동시에 분석할 수 있는 시스템이 필요하다. 따라서 본 연구는 농약품질관리를 위한 다성분 동시 또는 연속적 분석의 가능성을 검토하여

생산현장에서 신속하고 정확한 제품생산을 위한 기초 자료를 제공하고자 실시하였다.

재료 및 방법

시험농약 및 표준품

시험농약 중 iprobenfos 17%GR, isoprothiolane 12%GR, 공시료(유효성분이 제거된 제품)를 (주)경농에서, tebufenozide 20%SC와 공시료는 동부한농화학(주)에서 분양받아 사용하였다. 표준품은 농업과학기술원에서 농약품질관리를 위해 보관중인 표준품을 사용하였으며, 순도는 3성분 모두 96.0%이었다. 이들 농약의 화학구조 및 일반적 특성은 표 1과 같다(W. Dobrat and A. Martijn 2003; CDS Tomlin, 2003; 농약공업협회 2005).

분석방법 및 검량선 작성

각 성분에 대한 표준품의 무게는 0.02g 수준으로 평량 하였고, 제품시료는 주성분 함유량을 고려하여 표준품 무게에 해당되는 수준으로 평량하여 50ml erlenmyer flask에 각각의 성분을 혼합하여 넣고 내부 표준물질을 함유한 용매 10 또는 20 mL로 용해한 후 여과하여 사용하였으며, 내부표준용액은 GLC 분석을 위해 0.15% methyl stearate가 되도록 acetone에 용해하였고, HPLC 분석을 위해 0.017% benzyl benzoate가 되도록 acetonitrile에 용해하였다. Batch별 3반복 시료를

*연락처

Table 1. General information of the pesticides use



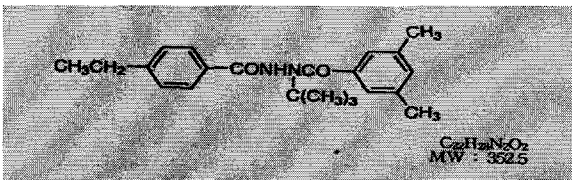
Common name	Chemical structure	Content and formulation	Target	
			Crop	Organism
Iprobenfos		17%GR	Rice	Leaf blast
Isoprothiolane		12%GR	Rice	Neck blast
Tebufenozide		20%SC	Apple	Leaf roller

Table 2. Actual weight of analyzed components

Instrument	Component	Standard (g)	Sample (g)	Internal standard (mL)
GLC	Iprobenfos	0.0211	0.1185	10
	Isoprothiolane	0.0278	0.2242	10
	IS : 0.15% methyl stearate in acetone			
HPLC	Iprobenfos	0.0202	0.1131	20
	Isoprothiolane	0.0202	0.1599	20
	Tebufenozide	0.0061	0.0302	20
	IS : 0.017% benzyl benzoate in acetonitrile			

조제하여 5 Batch를 분석하였으며, 분석에 필요한 시료 등의 양은 표 2, 분석조건은 표 3과 같으며, 기기 분석 결과에 의한 농약의 유효성분 계산식은 아래와 같다.

$$AI (\%) = \frac{\text{표준품무게}(g) \times \text{시료면적비}(AI/IS) \times \text{표준품순도}(\%)}{\text{시료무게}(g) \times \text{표준품면적비}(AI/IS)}$$

(AI : 유효성분, IS : 내부표준물질)

검량선은 iprobenfos와 isoprothiolane의 경우는 250, 500, 1,000, 1,500, 2,000 mg/L, tebufenozide는 125, 250, 500, 1,000, 1,500 mg/L의 표준용액을 조제한 후 상기 분석조건에서 분석하여 얻은 크로마토그램상의 피크 면적을 기준으로 검량선을 작성하였다.

결과 및 고찰

내부표준물질의 선정 및 분석조건 확립

GLC분석을 위한 내부표준물질을 선정하기 위하여

iprobenfos, isoprothiolane, 공시료, 몇 종의 phthalate 계통 내부표준물질을 칼럼에 주입하여 피크 머무름 시간을 비교하였다. 공시료에서는 피크가 출현되지 않았으며, 검출순서는 diphenyl, DMP(dimethyl phthalate), DEP(diethyl phthalate), DAP(diallyl phthalate), phenanthrene, iprobenfos, DNBP(di-*n*-buthyl phthalate), methyl stearate, pyrene, DNBS(di-*n*-buthyl sebacate), isoprothiolane, DOA(dioctyl adipate), DOP(dioctyl phthalate), squalane로 나타났는데, 내부표준물질로는 분석대상 성분인 iprobenfos와 isoprothiolane의 중간위치에 출현하는 methyl stearate를 선정하였다.

HPLC에서도 GLC와 유사한 방법으로 피크 머무름 시간을 비교한 결과 공시료에서 피크가 출현되지 않았으며 검출순서는 DMP, methyl benzoate, DEP, DAP, isoprothiolane, diphenyl amine, tebufenozide, iprobenfos, benzyl benzoate, DNBP, DNBS의 순서로 나타났다. 내부표준물질 대상중 diphenyl amine은 isoprothiolane과 피크가 완전히 분리되지 않았고, DNBP는 머무름 시

Table 3. Analytical conditions for the analysis of pesticides with a GLC and HPLC

Specification	GLC	HPLC
Instrument	Agilent 6890, USA	Waters 2690, USA
Column	CP-Sil 8 CB (5% phenylmethylpolysiloxane, L 25 m×I.D. 0.53 mm, film thickness 1 μm)	Nova-pak C18 (Silica, L 150 mm×I.D. 3.9 mm, particle size 4 μm)
	CP-Sil 19 CB (14% phenylmethylpolysiloxane, L 25 m×I.D. 0.53 mm, film thickness 1 μm)	Chromolith RP-18 (Silica, L 100 mm×I.D. 4.6 mm, particle size 2 μm)
Temperature(°C)	Injection 260 Detector 280 Oven 240	Column 25 - -
Carrier gas	He	-
Flow rate	5 mL/min	1 mL/min
Mobile phase	-	Methanol / Water = 60 / 40
Wavelength	-	225 nm
Injection volumn	1 μL	5 μL
Detector	Flame ionization detector	UV detector

간이 너무 긴 반면 DAP는 머무름시간이 너무 짧아 benzyl benzoate를 내부표준물질로 선정하였다.

분석에 적절한 mobile phase를 찾기 위해 acetonitrile 과 물의 비율을 70/30, 60/40, 50/50, 40/60(v/v), methanol과 물의 비율을 70/30, 60/40, 50/50, 40/60(v/v), solvent A/solvent B (40/60) (solvent A는 acetonitrile : 2% 1-propanol 1:1, v/v이고 solvent B는 물(pH 2.6) : 2% 1-propanol 1:1, v/v이다) 혼합용액 등으로 피크 분리정도를 검토한 후 분리능이 가장 좋은 methanol : water = 60 : 40 (v/v)를 이동상으로 선택하였다. 표준품의 흡광도는 210 nm에서 isoprothiolane과 tebufenozide가 상대적으로 높았고, 225 nm에서는 tebufenozide가 다른 성분에 비하여 약간 높은 반면에 254 nm에서는 tebufenozide가 지나치게 높게 나타나, 세 성분의 흡광도가 고른 225 nm를 분석파장으로 선택하였다.

검량선 작성

GLC에서 iprobenfos와 isoprothiolane의 검량선을 구한 결과는 표 4와 같다.(김 등 2005; 장 등 2005). CP

Sil 8 CB column은 iprobenfos의 경우 상관계수(r^2) 0.9988의 직선성을, isoprothiolane의 경우에는 상관계수 0.9989의 직선성을 나타내었다. 또한 CP Sil 19 CB column은 농약성분 모두에서 상관계수가 1로 나타나 양호한 분석용 column임을 알 수 있었다.

HPLC에서 iprobenfos와 isoprothiolane 및 tebufenozide의 검량선을 구한 결과는 표 5와 같다(김 등, 2005; 장 등, 2005). 분석농도범위에서 상관계수는 모두 0.9998 이상으로 양호한 직선성이 인정되었다.

분석결과

Iprobenfos와 isoprothiolane의 GLC 분석 chromatogram은 그림 1과 같다. 두 칼럼 모두 각 성분과 내부 표준물질을 명확하게 분리해 낼 수가 있었으나 tebufenozide는 이 분석조건에서는 피크가 나타나지 않았다.

그 이유는 공정분석법에는 column의 충전물이 100% dimethylpolysiloxane이나 이 분석법은 14% phenylmethylpolysiloxane으로 충전물의 이동상 종류와 함량차이 때문인 것으로 보인다(농촌진흥청, 2004).

Table 4. Calibration curves of the pesticides analyzed with a GLC

Pesticide	Rang of standard solution (mg/L)	GLC Column					
		CP Sil 8 CB			CP Sil 19 CB		
		Slope	y-Inte rcept	r^2	Slope	y-Inte rcept	r^2
Iprobenfos	500~4,000	0.2464	-13.2	0.9988	0.3294	-3.5	1
Isoprothiolane	500~4,000	0.2193	-5.8	0.9989	0.2758	+2.9	1

Table 5. Calibration curves of the pesticides analyzed with a HPLC

Pesticide	Rang of standard solution (mg/L)	HPLC Column					
		Nova-pak C18			Chromolith RP-18		
		Slope	y-Inte rcept	r ²	Slope	y-Inte rcept	r ²
Iprobenfos	250~2,000	3988	+49156	0.9999	5087	-9569	1
Isoprothiolane	250~2,000	4111	-25181	0.9999	4579	+25242	0.9999
Tebufenozide	125~1,500	11252	+111179	0.9998	12293	+37737	1

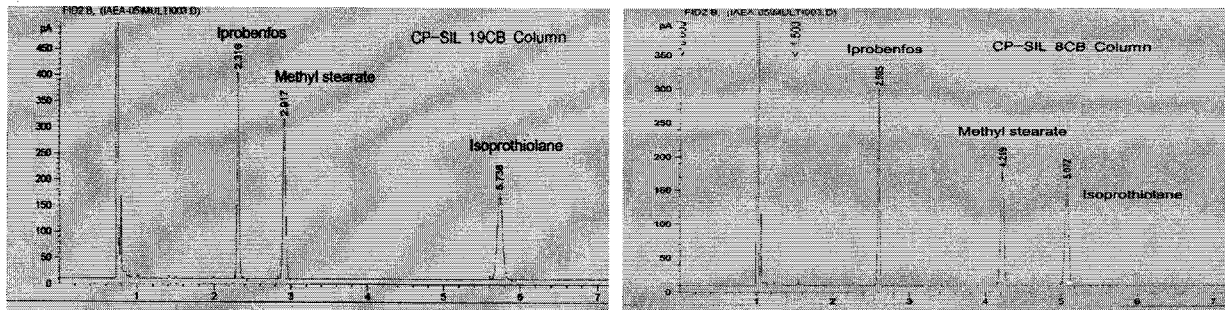


Fig. 1. Comparison of GLC chromatograms obtained from the analysis of iprobenfos and isoprothiolane using diffent columns.

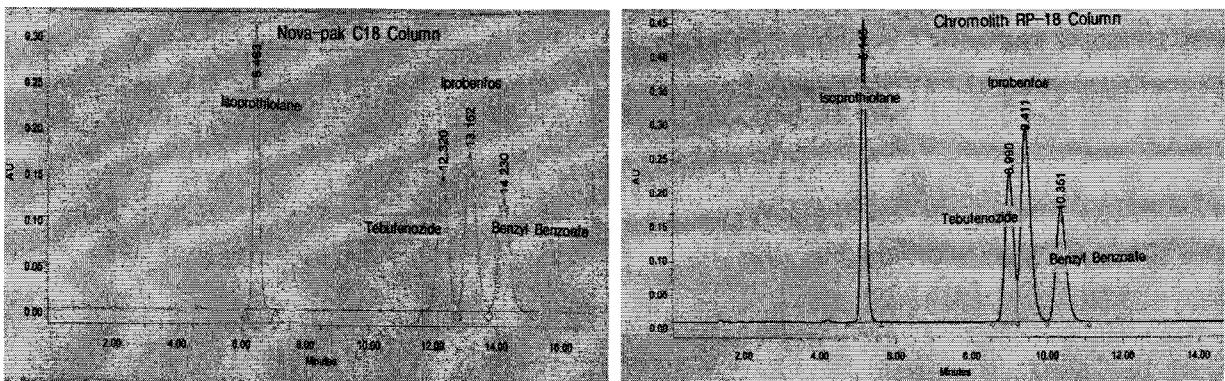


Fig. 2. Comparison of GLC chromatograms obtained from the analysis of iprobenfos, isoprothiolane and tebufenozide using diffent columns.

Iprobenfos, isoprothiolane, tebufenozide의 HPLC 분석 chromatogram은 그림 2와 같다. 길이가 짧은 Chromolith RP-18 칼럼에서 tebufenozide와 iprobenfos의 피크가 약간 겹치는 현상을 보여 결과에 영향을 미칠 수 있다고 생각되었다.

농약 제품중 유효성분을 GLC와 HPLC로 정량 분석한 결과는 표 6과 같다(장 등, 2005).

GLC에 의한 iprobenfos 17%GR 제품의 유효성분 함량은 CP-SIL 8CB column에서 평균 18.562%, CP-SIL 19CB column에서 18.647%로서 분석시 사용한 column 별로 차이가 없었다. Isoprothiolane 12%GR 제품의 경우에도 CP-SIL 8CB column에서는 12.056%, CP-SIL 19CB column에서는 12.097%로서 차이가 거의 없었다. 그러나 HPLC에 의한 iprobenfos 17%GR의 유효성분 함량은 Nova-pak C18 column에서는 평균 18.452%,

Chromolith RP-18 column에서는 17.931%이었고, isoprothiolane 12%GR의 Nova-pak C18 column과 Chromolith RP-18 column에 의한 유효성분 함량은 각각 13.181%, 13.151%이었다. Tebufenozide 20%SC중 유효성분 함량은 각각 21.768%와 26.755%이었다. GLC에 의한 분석의 경우 iprobenfos 17%GR와 isoprothiolane 12%GR을 CP-SIL 8CB column과 CP-SIL 19CB column을 사용하여 유효성분을 정량한 결과 함량에 큰 차이가 없어 두 column모두 동시 정량 분석용으로 사용할 수 있었다. HPLC 경우에는 Chromolith RP-18 column에서는 iprobenfos, isoprothiolane, tebufenozide의 분리능이 불량하여 각 농약제품의 유효성분 함량이 상대적으로 iprobenfos 17%GR 에서는 낮게, tebufenozide 20%SC 에서는 높았다. 따라서 iprobenfos 17%GR와 isoprothiolane 12%GR 및 tebufenozide 20%SC를 동

Table 6. Results from quantitative analysis of active ingredients in iprobenfos 17%GR, isoprothiolane 12%GR and tebufenozide 20%SC

Pesticide formulation	Active ingredient ^{a)} (%)			
	GLC Column		HPLC Column	
	CP-SIL 8CB	CP-SIL 19CB	Nova-pak C18	Chromolith RP-18
Iprobenfos 17%GR	18.562 ± 0.211 ^{b)}	18.647 ± 0.205	18.452 ± 0.163	17.931 ± 0.148
Isoprothiolane 12%GR	12.056 ± 0.135	12.097 ± 0.083	13.181 ± 0.291	13.151 ± 0.218
Tebufenozide 20%SC	-	-	21.768 ± 0.225	26.755 ± 0.993

^{a)}All the active ingredients were analyzed from five batches of the formulations with three replicates

^{b)}Standard deviation

시에 유효성분을 정량분석 하기 위해서는 Nova-pak C18 column이 적절하였다.

감사의 글

이 연구는 국제원자력기구(IAEA)에서 지원하여 수행된 것으로 지원해 준 국제원자력기구와 많은 도움을 주신 직원여러분께 감사를 드립니다.

인용문헌

Dobrat, W. and A. Martijn (2003) Analysis of Technical and Formulated Pesticide, CIPAC Handbook Vol. E, pp.105~109.
Tomlin, C. D. S. (2003) The Pesticide Manual 13th Edition p.578, p.583, p.926

김미라, 이연, 박병준, 최주현, 김인신, 심재한 (2005) 무용매 고체 시료 주입기(SFSI)를 이용한 작물중 잔류농약의 기체크로마토그래피 분석법 개발. 농약 과학회지 9(3):237~242.
농약공업협회 (2005) 농약사용지침서 p.154, p.192, p.530.
농촌진흥청 농업과학기술원 (2004) 농약공정분석방법 p.542, p.558, p.892
농촌진흥청 (2004) 농약의 검사방법. 농약관리법령 고시 훈령집 pp.467~480
농촌진흥청 (2004) 농약관리법. 농약관리법령 고시 훈령집 pp.50~51
장동용, 한갑동, 김환식, 한중재, 김승용 (2005) Collaborative Study on the Detection of Fenthion by GLC. 한국농약분석협회의회 pp.58~77.

Studies on multi-pesticide analysis for quality control of pesticide formulations

Hyo-Gyung Kim, Seung-Soon Park, Byung-Youl Oh, Geon-Jae Im(Pesticide Assessment Division, National Institute of Agricultural Science and Technology 249, Seodun-Dong, Kwonsun-Gu, Suwon 441-707, Korea)

Abstract : The simultaneous or consecutive product analysis is needed for quality control because the various items are produced in pesticide manufacturer. This study was conducted to establish a multi-pesticide analysis making possible to analyze several active ingredients with one injection of mixed active ingredients under same instrument-condition in the cause of quality control with accuracy and speed. The test was conducted with 3 pesticides, iprobenfos 17%GR, isoprothiolane 12%GR, tebufenozide 20%SC and performed by GLC and HPLC. With the GLC method, 2 active ingredients of iprobenfos and isoprothiolane were analyzed but tebufenozide was not detective simultaneously. With the HPLC method, all of the active ingredients in those three pesticides were simultaneously analyzed in this study.

Key word : multi-pesticide analysis, iprobenfos, isoprothiolane, tebufenozide.

*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0508, E-mail : khk@rda.go.kr)