

마이크로파를 이용한 잔류 살충제 Imidacloprid 분석용 시료전처리 기술개발

안순용 조한근 이은영

Development of the Sample Pretreatment Technique using Microwave for Analysis of Insecticide Imidacloprid Residues

S. Y. Ahn H. K. Cho E. Y. Lee

Abstract

This study was conducted to elucidate extraction efficiency by microwave technique in comparison with sonication technique for extraction of insecticide residue in pear. In the analysis of the extraction efficiency of microwave for a pear spiked with imidacloprid, the extraction efficiency by microwave power of 300 W with extraction temperature of 80°C, heating time of 1 to 3 minute was shown to be similar with the extraction time 20 minutes by sonication. The optimal condition, in consideration of economical condition and treatment time, for microwave extraction of imidacloprid in the pear were 300 watts of power supply, 100°C of extraction temperature, 1 minute of heating time and 10 mL of acetone volume. A new microwave vessel was developed to rapidly process the sample of the insecticide imidacloprid residues in the pear. This vessel was designed to include a reaction chamber and a filtration equipment, and a gathering chamber. The system could curtail a pretreatment time to 21 minutes than sonication and 7.9 minutes than the previous microwave vessel.

Keywords : Microwave, Imidacloprid, Sample pretreatment, Insecticide residue

1. 서론

농약은 농작물 재배시 발생하는 병해충이나 잡초를 방제하여 농산물의 안정적 생산을 위한 수확량 증대, 수확시기 조절과 품질향상 등의 목적으로 사용되고 있다. 그러나 농산물에 잔류하는 농약을 허용치 이상 섭취했을 경우 인체에 치명적인 피해를 줄 수 있으며, 특히 체내에 축적될 경우에는 더욱 위험하다. 최근 국민생활의 향상과 더불어 식품의 안전에 대한 관심이 고조되고 있으며 WTO협정에 따른 수입개방화 추세에 따라 농축산물의 수입 또한 증가하고 있어 잔류농약의 정확하고 신속한 검출이 크게 요구되고 있다.

잔류농약 분석은 시료전처리 과정과 기기분석(정량) 과정으로 분류된다. 관행적인 잔류농약 분석은 시료를 마쇄한 후, 적당한 유기용매로 추출하고 정제하여 시료전처리를 완료한 다음 GC, HPLC 등의 분석기기를 이용하여 잔류농약을 분석하게 된다. 이러한 분석기기를 이용한 잔류농약 측정은 높은 정확도를 갖고 있다는 장점은 있지만, 분석에 많은 시간과 경비가 소요되며 고가의 장비를 사용하므로 숙련된 전문가를 필요로 한다. 현재 기기분석의 이러한 문제점을 개선하기 위해 효소면역분석법(ELISA)을 이용한 살충제 이미다크로프리드(imidacloprid) 잔류물의 실시간 측정을 위한 바이오센서가 개발되어 측정에 소요되는 시간을 20분 이하로 단축하였다

This study was supported by the Agricultural R&D Promotion Center (ARPC), Ministry of Agriculture and Forestry. The article was submitted for publication in February 2007, reviewed and approved for publication by the editorial board of KSAM in April 2007. The authors are Soon-yong Ahn, Engineer, Korea Rural Community & Agriculture Corporation, Han-keun Cho, Professor, KSAM member, Dept. of Biosystems Engineering, and Eun Young Lee, Graduate Assistant, Dept of Agricultural Chemistry, Chungbuk National University. Corresponding author: H. K. Cho, Professor, Dept of Biosystems Engineering, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea; E-mail: <hkcho@cnu.ac.kr>.

(Lim과 Cho, 2005). 그러나 시료를 추출 정제하는 시료전처리 과정에 많은 시간과 경비가 소요되므로 이에 대한 연구가 필요한 실정이다.

Lee 등(2004)은 농산물의 신속한 전처리를 위해 가속용매추출(accelerated solvent extraction, ASE)방법과 고전적인 용매추출(solvent extraction)방법을 분석 비교한 결과 ASE방법의 추출과 정제능력은 용매추출방법과 유의적인 차이를 보이지 않았고, 분석에 소요되는 유기용매의 양을 감소하고 추출과 정제를 동시에 수행함으로써 동결건조 시간을 제외한 전처리 시간이 단축되어 분석비용을 용매추출에 비해 감소시킬 수 있었다. Kim과 Kim(1999)은 인삼시료에 있는 quitozene, tolclofos-methyl과 procymidone 등의 농약성분을 신속히 추출하기 위한 방법으로 마이크로파의 이용가능성을 확인하기 위해 Soxhlet 추출법과 추출효율을 비교 분석하였다. 그 결과 용매의 양을 최소 7배 이상 감소할 수 있었고, 추출시간을 7시간에서 2분으로 단축하였다. Kim과 Kim(2000)은 건조된 한약재 시료인 백삼, 홍삼, 지황, 당귀 및 시호 중에 잔류되어 있는 tolclofos-methyl과 quitozene의 추출에 마이크로파 추출법을 이용하여 Soxhlet 추출법과 추출효율을 비교 분석하였다. 용매로는 아세톤(acetone), 강도 및 시간은 45 W와 3~5분에서 가장 효율적이며, 추출효율은 Soxhlet 방법을 7시간 추출한 경우와 유사한 것으로 확인되었다.

본 연구는 마이크로파를 이용하여 바이오센서에 의한 신속한 분석에 활용할 수 있는 시료전처리 기술과 추출여과용 용기를 개발할 목적으로 수행되었다.

2. 재료 및 방법

가. 마이크로파를 이용한 시료추출

마이크로파(microwave)는 파장의 길이가 3 mm~1 m이고, 주파수 범위가 300~300,000 MHz의 낮은 주파수대를 갖고 있다. 또한 적외선(infrared)과 라디오파(radiowave) 영역 사이에 존재하는 전자기파(electromagnetic wave)의 일종으로 에너지 크기가 작아 직접 분자 구조에 변형을 일으키거나 분해하지 못한다. 마이크로파를 이용하면 가열효과가 높고 임의의 형상의 물질을 가열할 수 있으며, 부하조건 변동에 대한 조절이 쉽다.

마이크로파를 이용하면 시료 용기의 열전도도에 의존하지 않고, 혼합물로 존재하는 분자와 직접 짝을 이뤄 극성물질의 쌍극자 회전(dipole rotation)과 이온성 전도(ionic conduction)를 유발하여 극성용매에 대해 초당 2.45×10^9 회의 회전운동을 일으켜 마찰열을 발생하여 시료는 신속히 가열된다. 용매는 선택적 용해도와 마이크로파의 흡수특성에 의해 결정되므로

마이크로파 가열과 관련된 용매의 온도특성 및 마이크로웨이브 흡수특성을 고려하여 선정한다.

나. 초음파를 이용한 시료추출

시료에 부착된 잔류농약성분을 물리적(초음파), 화학적(용매 acetone) 수단을 이용해서 시료에서 추출성분을 박리시키며, 이것이 다시 부착되지 않게 한다. 또한, 물속에서 초음파를 발생시키면 음파의 진동에 의해 극히 미세한 수많은 기포들이 발생하여 공동화(cavitation)현상을 일으키게 된다. 이때 용매의 화학작용과 함께 초음파에 의한 공동화현상으로 시료 표면에 작용하여 시료 내부에 까지 전달되어 잔류농약 성분을 추출하게 된다.

다. 시약 및 실험재료

시료의 잔류농약 추출에 사용된 시약은 acetone과 Celite 545는 동양제철화학주식회사(Korea)의 시약1급용을 구입하였으며, *n*-hexane은 Wako Pure Chemical Industries Ltd.(Japan), dichloromethane은 Merck Ltd.(USA)의 잔류농약분석용을 사용하였다.

분석대상 농약은 neonicotinoid계 살충제인 이미다크로프리드 이었으며, 표준품은 Wako pure chemical Industries, Ltd. (Japan)에서 구입하여 사용하였다.

본 실험에 사용된 배(pear) 시료는 시중에서 구입하였으며, 껍질부분을 2~3 mm 정도 두께로 깎아 분쇄기로 분쇄 시킨 후 시료 용기에 담아 냉동고에 보관하여 사용하였으며, 분쇄기는 hand blender(BW-3300, 부원인터내셔널, 한국)를 이용하였다.

이미다크로프리드의 최적화 효소면역법을 위한 코팅 항원으로 hapten-3-BSA을 사용했으며, 항체로는 hapten-5-KLH를 면역원으로 하여 생산한 항혈청을 사용하였다. 이들 항원과 항체는 충북대학교 농화학과 실험실에서 제조하였다. 그리고 이차항체인 horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG와 기질인 3,3',5,5'-tetramethyl benzidine(TMB)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다.

라. 실험장치

1) 마이크로파시스템

배 시료의 잔류농약 추출을 위한 마이크로파시스템(microwave system)은 Microwave Solvent Extraction System (MES-1000, CEM Corporation, USA)을 이용하였으며, 구조와 마이크로파 전달과정은 그림 1에 나타내었다. 마이크로파의 전달 및 반응 과정은 마그네트론(magnetron)에서 발생된

마이크로파가 도파관(導波管, waveguide)을 따라 마이크로파 cavity에 도달하면 우산모양의 분산기(splitter)가 마이크로파를 각기 다른 방향으로 분산시켜 용기 내부에 있는 시료들의 분자운동을 활성화시켜 반응하게 된다. 표 1은 마이크로웨이브 시스템의 주요부품에 대한 제원을 나타낸다.

추출용기(extraction vessel)는 시료의 오염을 방지하고 끓는

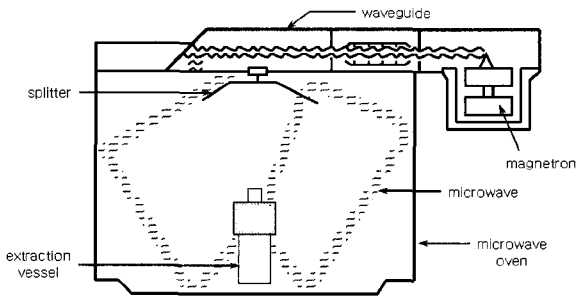


Fig. 1 Schematic of microwave system.

Table 1. Specification of main parts used in microwave system

Item	Classification	Feature
Microwave oven	Power	■ Magnetron: 950±50 Watts
	Power Range	■ 0~100% full power
	Dimensions	■ W 45.7 cm×D 50.9 cm× H 48.9 cm
	Voltage	■ 207~250 VAC×60 Hz
Vessel	Volume	■ Standard volume: 100 mL
	Max. Temp.	■ Operating temperature: 200°C
	Material	■ Liner: Teflon PFA®
Temp. probe	Type	■ Fiberoptic thermometry
	Measurement range	■ 0~200°C

점 이상까지 시료를 신속하게 가열할 수 있는 밀폐형(closed type)으로 되어 있으며, 그 구조는 그림 2와 같다. Vessel의 용량은 100 mL이며, 재질은 마이크로파를 흡수하지 않고 통과하며 내화학성 성질을 갖고 있는 비극성 재질의 테프론(PFA, perfluoroalkoxy)이 사용되었다.

V-I은 마이크로파 시스템에 포함된 시료추출용 용기이고, V-II는 기존의 용기를 변형하여 설계하였으며 내부는 반응조 (reaction chamber), 여과장치(filtration equipment) 및 집수조 (gathering chamber)로 구성되어 있으며, 추출된 여액이 흘러 지지 않도록 깔대기를 설치하여 집수조에 모이도록 하였다. V-II의 재질은 마이크로파를 흡수하지 않는 테프론(PFA)이며, 내부 반응조와 집수조의 온도 차이에 의하여 시료의 추출 및 여과가 동시에 이루어진다.

2) 온도측정 장치

마이크로파 시스템의 추출용 용기(V-I) 내부온도 변화에 따라 시스템을 제어하기 위해 광섬유를 이용한 온도센서 Luxtron Alpha Probe을 사용하였고, 추출여과용 용기(V-II)의 반응조 (reaction chamber)와 집수조(gathering chamber)의 온도변화를 측정하기 위해 광섬유 온도센서를 반응조와 집수조에 설치하였다. 온도측정 및 자료수집을 위해 온도측정용 소프트웨어(FISO Commander Microwave Workstation v.1.10.8, 정연시스템, 한국)를 사용하였다.

다. 잔류농약 회수를 측정

시료 중 잔류농약의 분석을 위해 확립된 분석법의 분석효

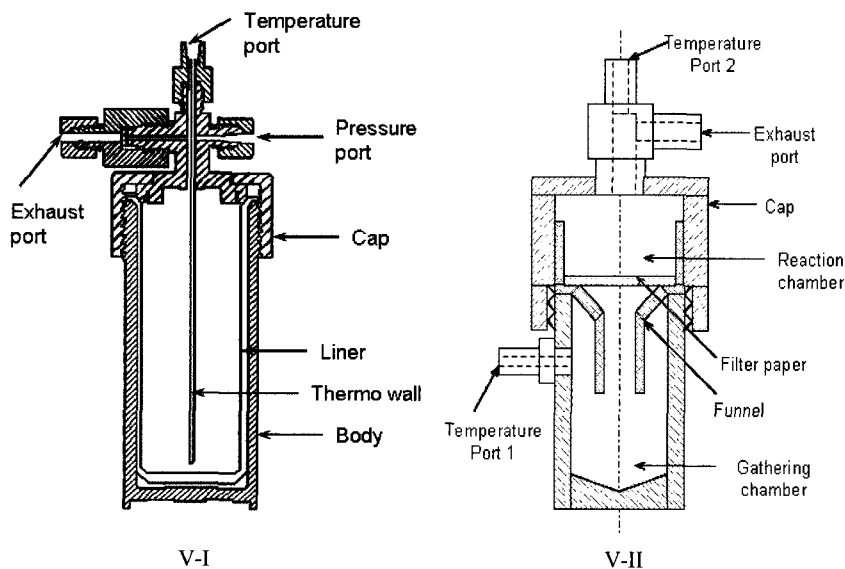


Fig. 2 Schematic of extraction vessel in microwave system.

율을 검증하기 위하여 다음 식 (1)에 따라 회수율을 구하였다. 여기서, 분자량(amount recovered)은 회수한 농약의 농도 (mg/kg)이며, 분모항(amount spiked)는 첨가한 농약의 농도 (mg/kg)이다.

$$recovery(\%) = \frac{amount\ recovered}{amount\ spiked} \times 100 \quad (1)$$

라. 실험방법

1) 마이크로파 추출용매 결정

마이크로파를 이용한 배 시료의 잔류농약 추출을 위한 최적의 조건을 찾기 위해 마이크로파의 출력을 100 W에 놓고 추출 용매 *n*-hexane, acetone, dichloromethane에 대한 온도변화를 측정하였다. 마이크로파 가열에 의한 온도상승 속도 및 추출용매의 유전상수(dielectric constant) 등을 조사하여 최적의 추출용매를 선정하였으며, 시료의 잔류농약 추출에 소요되는 시간 단축을 위해 경제적이고 효율적인 조건에 맞는 용매를 선정하여 마이크로파 출력변화에 따른 용매의 가열특성을 조사하였다.

2) 마이크로파(추출용기 V-I)와 초음파를 이용한 시료전처리

살충제 이미다크로프리드의 잔류량 분석을 위해 분쇄된 배 시료 2.0 g을 추출용 용기에 넣고 이미다크로프리드를 0.5 mg/kg과 1.0 mg/kg되게 첨가하여 시료전체에 골고루 혼합되도록 교반기로 섞은 후 30분 동안 반응을 시켜 추출하였다. 시료전처리 과정 중 마이크로웨이브에 적합한 추출조건을 찾기 위해 현재 농산물의 잔류농약 추출을 위해 많이 사용되는 초음파추출 방법과 병행하여 실험을 수행하였으며, 본 실험에서는 수조에 증류수를 넣고 수온 40°C 정도에서 20분 동안 시료와 용매에 초음파 진동을 가하여 잔류농약 성분을 추출하였다.

마이크로파 추출의 경우 용매의 양을 10 mL하고, 마이크로파의 출력을 300 W와 700 W의 조건으로 하여 추출 온도를 60, 80, 100, 120°C에서 각각 1, 2, 3분 동안 추출하였으며, 용매에 용출된 잔류농약 성분과 고형물질을 분리하기 위해 감압여과기를 사용하여 여과하였다. 또한, 용매에 녹아있는 잔류농약성분을 농축하기 위해 감압농축기(evaporator)로 용매인 아세톤을 제거한 후 농축된 성분을 1×PBS 용액으로 희석하여 실린지 필터(syringe filter)를 사용해 정제하였으며, 최종 용액의 부피는 20 mL가 되도록 하였다. 최종 정제된 시료 중 이미다크로프리드를 효소면역분석법에 의하여 잔류농약 회수율을 측정하였다.

초음파 추출의 경우 추출 용매의 양을 20 mL로 하고, 초음파 진동에 의한 추출을 20분 동안 진행하였으며, 수조의 온도 조건은 40°C로 하였다. 용매에 용출된 액체의 농축 및 정제는

마이크로파를 이용한 방법과 동일하게 진행하였다.

3) 마이크로파(추출여과용 V-II)를 이용한 시료전처리

배 시료 중 잔류농약 이미다크로프리드 추출시간의 단축을 위해 추출여과용 용기 V-II를 그림 7과 같이 개발하여 잔류농약 추출실험을 하였다. V-I의 경우와 동일한 실험조건을 유지하기 위해 V-II를 사용하기 전 분쇄된 배 시료 2.0 g과 이미다크로프리드 0.5 mg/kg을 V-I에 넣고 교반기로 섞은 후 30분 동안 반응시켰다. 다음에 V-I용기의 시료 혼합물을 아세톤과 함께 V-II용기의 반응조(reaction chamber)로 옮긴 다음 마이크로웨이브 시스템에 넣고 시료의 잔류농약성분을 추출하였다. 동일한 실험을 이미다크로프리드 1.0 mg/kg으로도 수행하였다. 추출 여과되어 집수조(gathering chamber)에 포집된 여액은 감압농축기(evaporator)를 이용하여 농축한 후 농축된 성분을 1×PBS 용액으로 희석하였고, 실린지 필터(syringe filter)를 사용하여 정제한 다음 최적화된 효소면역분석법에 의하여 분석하였다. 용기 내부에서 추출 및 여과가 동시에 이루어지므로 추출액을 받아서 바로 감압농축 후 정제하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 마이크로파 추출용매 결정

마이크로파를 이용한 배 시료 중 잔류농약 추출을 위한 최적의 용매를 찾기 위해 헥산(*n*-hexane), 아세톤, 디클로메탄(dichloromethane) 등의 용매에 대한 특성을 조사하였다. 세 종류의 용매에 대해 마이크로파를 방사하여 가열 시간에 따른 온도변화를 조사한 결과 그림 3과 같이 나타났으며, 이들 용매의 물리적 특성은 표 2와 같다.

헥산의 경우 쌍극자모멘트(dipole moment)가 "0"이고 유전상수(dielectric constant)가 낮아 2분간 가열하였을 때 온도의

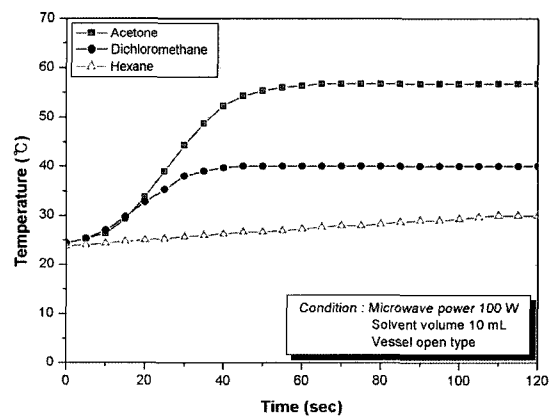


Fig. 3 Heating curve of various solvents by microwave.

Table 2. Physical properties of the solvents

Solvent	Boiling Point (°C)	Dipole Moment (D)	Dielectric Constant	Density (g/mL at 25°C)
n-hexane	68.7	0	1.88	0.65
Acetone	56.2	2.77	20.7	0.78
Dichloromethane	39.8	1.14	8.93	1.32

증가가 거의 없는 반면 아세톤과 디클로메탄의 경우에는 끓는점까지 증가하여 평형에 도달하였다. 이는 비극성용매의 경우 마이크로파 에너지를 흡수하지 못하므로 가열되지 않기 때문이다. 반면, 아세톤과 같이 유전상수가 높은 극성용매는 빨리 가열됨을 알 수 있었다.

온도상승 속도와 평형도달 온도는 디클로메탄보다 아세톤이 훨씬 높은 결과를 보였으며, 시료 내부로의 침투성을 고려해 볼 때 추출용매로서는 아세톤이 가장 적당한 것으로 사료되어 추출용매로 결정하여 사용하였다.

또한, 마이크로파의 출력변화에 따른 아세톤의 온도변화 및 가열시간을 알아보기 위해 밀폐용기에 아세톤을 넣고 마이크로파를 방사하여 출력변화에 따른 아세톤의 가열특성을 조사한 결과 그림 4와 같이 나타났다. 마이크로파의 출력이 높을수록 빨리 가열되었고, 마이크로파 출력 100 W에서는 90°C 까지 가열할 수 있으며, 700 W에서는 약 160°C 까지 가열됨을 알 수 있다.

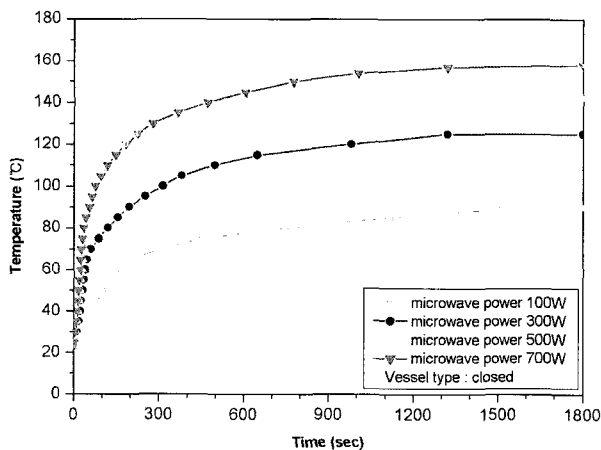


Fig. 4 Heating curve of solvent acetone for various microwave power.

나. 마이크로파(추출용기 V-1)와 초음파를 이용한 시료전처리 결과

마이크로파를 이용한 잔류농약의 추출효율을 알아보기 위해 분쇄된 배 시료를 2 g씩 담아 3개의 용기(vessel)를 준비하여 무처리구(blank)와 살충제 이미다크로프리드를 각각 0.5

mg/kg과 1.0 mg/kg되도록 첨가한 후 골고루 침투되도록 30분 동안 반응을 시킨 후에 마이크로파와 초음파추출 방법으로 잔류농약을 추출하여 최적화된 효소면역분석법에 의해 추출효율을 측정하였다.

배 시료 중 이미다크로프리드의 농도 0.5 mg/kg과 1.0 mg/kg일 경우 마이크로웨이브 출력 300 W와 700 W에서 60, 80, 100, 120°C의 온도조건으로 1, 2, 3분 동안의 추출효율과 초음파추출에 의한 추출효율은 다음과 같다.

이미다크로프리드의 농도가 0.5 mg/kg일 경우 초음파추출에 의한 추출효율은 표 3에 나타난 것과 같이 평균 96.8±2.43%의 회수율을 나타내었다. 마이크로웨이브 출력 300 W에서의 온도 및 시간 조건에 따른 추출효율은 그림 5에 나타내었다. 모든 조건에서 평균 84.2~103.9%의 양호한 추출효율을 얻었으나, 60°C에서 2분간 추출한 경우와 100°C에서 1분간 추출한 경우의 표준편차 값이 다른 조건 값의 결과 보다 상당히 큰 편차를 보였다.

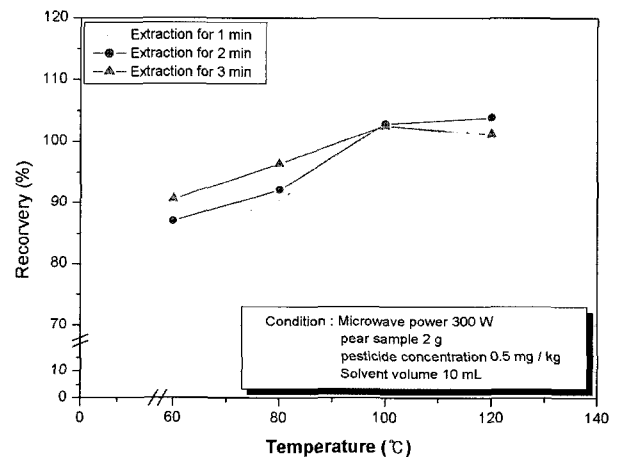


Fig. 5 Extraction efficiency of imidacloprid fortified with 0.5 mg/kg vs. temperature with various time at 300 W of the microwave power.

이미다크로프리드의 농도가 1.0 mg/kg일 경우 초음파추출에 의한 추출효율은 표 4에 나타난 것과 같이 평균 98.2±4.31%로 이미다크로프리드의 농도가 0.5 mg/kg일 경우와 같이 상당히 좋은 회수율을 나타내었다. 이미다크로프리드의 농도가 1.0 mg/kg일 경우 마이크로웨이브에 의한 온도 및 시간 조건에 따른 추출효율은 그림 6에 나타내었다. 모든 조건에서 평균 86.6~105.4%의 양호한 추출효율을 얻었으나, 60°C에서 1분, 80°C에서 3분, 100°C에서 1분 동안 추출한 경우의 표준편차 값이 다른 조건 값의 결과 보다 상당히 큰 편차를 보였다.

마이크로파 출력 300 W에서 온도조건에 따른 처리시간별 잔류농약 회수율은 그림 5와 그림 6에서와 같이 온도가 증가함에 따라 회수율도 증가하여 높게 나타났다.

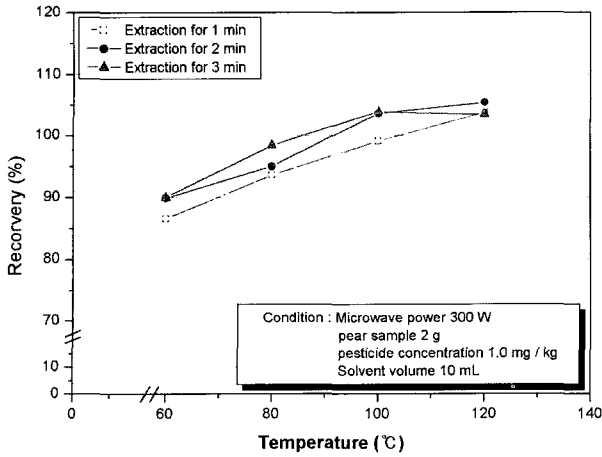


Fig. 6 Extraction efficiency of imidacloprid fortified with 1.0 mg/kg vs. temperature with various time at 300 W of the microwave power.

이미다크로프리의 농도가 0.5 mg/kg일 경우 마이크로웨이브 출력 700 W에서의 온도 및 시간 조건에 따른 추출효율은 그림 7에 나타내었다. 모든 조건에서 평균 83.2~104.8%의 양호한 추출효율을 얻었다. 추출효율은 온도가 증가함으로서 100°C까지 증가하였으나, 120°C에서 크게 감소되는 것으로 나타났다.

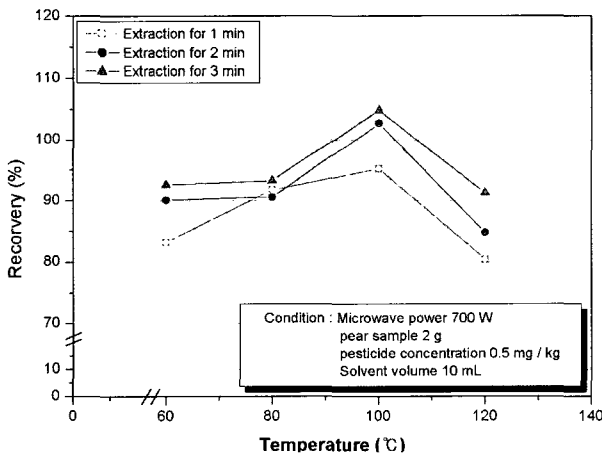


Fig. 7 Extraction efficiency of imidacloprid fortified with 0.5 mg/kg vs. temperature with various time at 700 W of the microwave power.

이미다크로프리의 농도가 1.0 mg/kg일 경우 마이크로웨이브 출력 700 W에서의 온도 및 시간 조건에 따른 추출효율은 그림 8에 나타내었다. 모든 조건에서 평균 87.1~105.4%의 양호한 추출효율을 얻었으나, 120°C에서 2분간 추출한 경우 표준편차 값이 다른 조건 값의 결과 보다 상당히 큰 편차를 보였다. 또한 0.5 mg/kg의 결과 같이 추출효율이 온도가 증가함으로서 100°C까지는 증가하였으나, 120°C에서는 이미

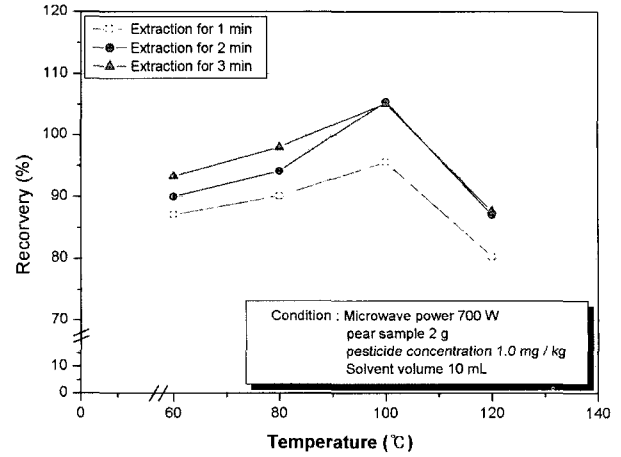


Fig. 8 Extraction efficiency of imidacloprid fortified with 1.0 mg/kg vs. temperature with various time at 700 W of the microwave power.

다크로프리의 농도 0.5 mg/kg의 추출효율과 같이 크게 감소되는 것으로 나타났다.

마이크로웨이브 출력 700 W에서 온도조건에 따른 처리시간별 잔류농약 회수율은 그림 7과 8에 나타난 것과 같이 온도가 증가할수록 100°C까지는 회수율이 증가하였으나, 120°C에서는 급격히 감소함을 알 수 있다.

이러한 결과 마이크로파 출력이 높을수록 추출시간은 단축될 수 있으나, 안정적으로 잔류농약 성분을 추출하기 어렵다고 판단된다.

3) Microwave 출력변화에 따른 시료전처리

마이크로웨이브 출력변화에 따른 배 시료 중 이미다크로프리드 추출효율은 표 3와 4에 나타난 것과 같이 잔류농약 농도 조건 0.5 mg/kg과 1.0 mg/kg 모두에서 60, 80, 100°C 온도조건의 경우 마이크로웨이브 출력 300 W와 700 W에서 1~3%의 추출효율 차이가 발생되었다. 그러나 온도 120°C의 경우 10~20%정도의 큰 차이가 발생된 것으로 보아 마이크로웨이브 출력의 강도가 추출효율에 영향을 미치게 됨을 알 수 있으며, 또한 온도조건 120°C의 마이크로웨이브 출력 700 W보다 300 W에서 안정적인 추출효율의 결과가 나타난 것으로 보아 마이크로웨이브 출력이 높다고 반드시 좋은 추출효율을 얻을 수 있다고 할 수 없다.

상기에서 비교 분석한 것과 같이 마이크로웨이브를 이용한 배 시료 중 잔류농약 추출의 경우 그림 4의 마이크로웨이브 출력에 따른 아세톤의 가열특성과 표 3와 4의 마이크로웨이브 출력변화에 따른 잔류농약 추출효율 결과에서 안정적이며 경제적이고 빠른 시간 내에 배 시료의 잔류농약을 추출할 수 있는 최적의 조건은 마이크로웨이브 출력 300 W에서 80°C

Table 3. Extraction efficiency of imidacloprid fortified with 0.5 mg/kg for variations temperature, time and microwave power

Temp.	Recovery (%)			
	Power (W)	1 min	2 min	3 min
60°C	300	84.2± 1.40	87.0±14.57	90.6± 6.51
	700	83.2± 1.18	90.1± 0.55	92.6± 5.40
80°C	300	90.4± 1.35	92.1± 3.21	96.4± 1.02
	700	91.8±13.40	90.6±17.93	93.3± 4.20
100°C	300	102.6±14.21	102.8± 7.61	102.5± 7.78
	700	95.6± 3.99	105.4± 4.92	105.1± 5.19
120°C	300	100.7±10.07	103.9± 5.47	101.2±11.58
	700	80.4± 2.65	84.8± 4.98	91.3± 5.31

Table 4. Extraction efficiency of imidacloprid fortified with 1.0 mg/kg for variations temperature, time and microwave power

Temp.	Recovery (%)			
	Power (W)	1 min	2 min	3 min
60°C	300	86.6±12.38	89.9± 9.47	90.0± 8.34
	700	87.1± 2.32	90.0± 1.76	93.3± 3.11
80°C	300	93.6± 1.44	95.0±12.22	98.4±16.23
	700	90.1±10.52	94.1± 4.24	98.0± 7.70
100°C	300	99.1±14.91	103.6± 6.12	103.9± 4.67
	700	95.2± 2.19	102.7± 2.33	104.8± 7.55
120°C	300	103.7± 3.10	105.4± 8.16	103.4± 4.27
	700	80.3± 5.61	87.0±18.72	87.7± 2.05

로 1분간 추출하였을 때라고 판단된다.

다. 마이크로파(추출여과용기 V-II)를 이용한 시료전처리 결과

배 시료 중 잔류농약 이미다크로프리드 추출시간 단축을 위해 그림 7의 추출용 용기 V-II을 개발하여 추출을 실시하였다. 개발된 추출여과용 용기 V-II를 이용하여 잔류농약 이미다크로프리드를 추출한 결과 효율은 표 5와 같으며, 잔류농약 농도가 0.5 mg/kg의 경우 추출효율은 평균 82.2±10.30%, 변이계수는 12.53%로 적정한 회수율 범위 내에 있다. 또한, 잔

Table 5. Extraction efficiency of imidacloprid fortified in pear with microwave power of 300 W and heating condition of 80°C for 1 min

Fortification (mg/kg)	Replicate			Mean	SD	CV
	1	2	3			
0.5	71.7	90.5	84.4	82.2	10.30	12.53
1.0	87.2	76.8	92.5	85.5	8.19	9.58

SD: standard deviation CV: coefficient of variation

류농약 농도가 1.0 mg/kg일 경우에도 추출효율이 평균 85.5± 8.19%, 변이계수는 9.58%로 적정한 회수율 범위 내에 있으므로 잔류농약 추출에 별 문제가 없을 것이라고 판단된다.

라. 마이크로파와 초음파 추출 방법의 시료전처리 결과분석

농산물의 잔류농약 측정을 위한 시료전처리 시간 단축 및 비전문가도 현장에서 사용가능한 시스템개발을 위해 마이크로파와 초음파추출 방법의 소요시간과 잔류농약 추출효율을 표 6과 7에 나타내었다.

전통적으로 잔류농약 분석을 위한 시료전처리에 soxhlet법을 많이 사용하였으나, 시료전처리에 2~7 시간 정도의 많은 시간이 소요되어 최근에는 초음파추출 방법을 많이 사용하고 있다. 본 실험에서는 배 시료를 대상으로 시료전처리에 소요되는 시간을 알아보기 위해 3가지 방법을 대상으로 실험을 진행한 결과 초음파추출 방법의 경우 시료준비에서 정제까지 45.4 min의 시간이 소요되었다. 그러나 microwave 방법의 추출용기 V-I의 경우 초음파추출방법보다 추출과정에서 13.9 min 단축되었고, 여과과정에서는 0.8 min 증가되어 전체적으로 13.1 min의 소요시간이 단축 되었다. 또한, 마이크로파 방법의 추출용기 V-II의 경우 초음파추출 방법보다 추출과정 13.9 min, 여과과정 7.1 min 단축되어 전체적으로 21 min을 단축시켰고, 추출여과 과정이 동시에 이루어져 MW V-I보다 7.9 min 단축되었다.

시료전처리 방법별 잔류농약 추출을 3회 실시하여 회수율 및 변이계수를 표 7에 나타내었다. 3종류의 시료전처리 방법

Table 6. Sample pretreatment time in each step for the various method

(Unit: min)						
Method	Preparation	Extraction	Filtration	Concentration	Cleanup	Total
Sonication	5.0	22.0	7.1	4.3	7.0	45.4
MW V-I	5.0	8.1	7.9	4.3	7.0	32.3
MW V-II	5.0	8.1		4.3	7.0	24.4

MW V-I: microwave vessel I

MW V-II: microwave vessel II

MW: microwave power 300 W, under heating condition of 80°C for 1 min

Table 7. Comparison of recovery for the various method

(Unit: %)							
Method	Fortification (mg/kg)	Replicate			Mean	SD	CV
		1	2	3			
Sonication	0.5	94.5	99.2	96.7	96.8	2.43	2.51
	1.0	98.8	93.7	102.1	98.2	4.31	4.39
MW V-I	0.5	91.8	89.6	89.8	90.4	1.35	1.49
	1.0	93.3	96.0	91.5	93.6	2.42	2.59
MW V-II	0.5	71.7	90.5	84.4	82.2	10.30	12.53
	1.0	87.2	76.8	92.5	85.5	8.19	9.58

모두 적정회수율 및 변이계수를 충족하였으나, MW V-II의 경우 다른 2종류의 방법보다 변이계수 값이 상당히 높게 나타난 것으로 보아 시제품의 성능개선이 필요하다.

위의 결과를 종합하면 배 시료에 잔류되어 있는 농약을 전처리하기 위해 마이크로파를 이용할 경우 시료전처리 방법이 간편하면서도 높은 잔류농약 회수율을 얻을 수 있었다. 또한, 기존의 전처리 방법인 soxhlet, 초음파 추출방법 등과 비교하여 볼 때 14~12%정도의 잔류농약 회수율을 낮게 나타냈으나, 시료의 전처리 시간을 21분 단축하였고, 용매의 사용량을 감소시켜주는 효과가 있었다. 따라서 현장에서 잔류농약을 신속히 분석하기 위한 바이오센서에 이용하기 위해 microwave system 적용이 가능할 것으로 기대된다.

4. 요약 및 결론

본 연구는 농산물의 잔류농약 분석을 위해 실험실에서 시행하던 시료의 전처리 및 분석을 현장에서도 신속하게 측정하고, 바이오센서를 이용한 잔류농약 분석에 적합한 시료전처리 기술개발을 목적으로 수행하였으며, 연구내용과 결과를 요약하면 다음과 같다.

농산물의 잔류농약 분석은 시료의 전처리과정과 기기분석 과정으로 나뉘는데, 이 중 시료의 전처리과정은 시료채취, 추출, 여과, 농축 및 정제 등 절차가 복잡하고 많은 시간이 소요된다. 따라서 시간을 단축시키고, 처리절차를 단순화시키기에

적합한 시료전처리기술을 개발하기 위해 배 시료에 잔류되어 있는 살충제 이미다크로프리의 추출 방법에 마이크로파를 이용하였다. 마이크로파를 이용한 추출효율을 초음파추출 방법과 비교한 결과 초음파추출 방법보다 마이크로웨이브 시스템에서 용기 V-I을 사용한 경우 처리시간이 13.1분 단축되었고, 용기 V-II의 경우 용기 내부에서 여과가 동시에 이루어짐으로서 처리시간을 21분 단축할 수 있었다.

마이크로파를 이용한 배 시료의 잔류농약을 추출한 결과 microwave의 출력변화에 따른 추출효율은 700 W의 경우 온도조건에 따라 60~100°C까지는 83~105% 일정한 경향의 추출효율을 보였으나, 120°C에서는 80~91%로 급격히 감소되었다. 마이크로파 출력 300 W의 경우 추출효율은 온도조건 60~120°C에서 1~3분간 추출하였을 때 84~105%의 높고 안정적인 회수율을 나타내었다. 추출 소요시간, 경제성, 회수율 및 변이계수 등을 고려할 때 마이크로파시스템의 최적 처리조건은 300 W, 80°C, 처리시간 1분인 경우로 확인되었다. 또한, 마이크로웨이브 출력의 세기가 클수록 추출효율에 나쁜 영향을 미치는 것으로 판단된다.

본 연구 결과 배 시료에 잔류되어 있는 농약을 전처리하기 위해 마이크로파시스템을 이용할 경우 시료전처리 방법이 간편하며, 높은 잔류농약 회수율을 얻을 수 있었다. 그리고 기존의 전처리 방법인 soxhlet, 초음파추출 방법 등과 비교하여 볼 때 14~12%정도의 잔류농약 회수율 손실이 있으나, 시료의 전처리 소요시간을 21 분 이상 단축할 수 있었다. 따라서 현장

에서 잔류농약을 신속히 분석하기 위한 바이오센서에 이용하기 위해 마이크로파시스템의 적용이 가능할 것으로 기대된다.



1. Kemeeny, D. M. and S. J. Challacombe. 1988. ELISA and Other Solid Phase Immunoassays, Theoretical and Practical Aspects, USA, John Wiley and Sons Ltd., Chap. 1.
2. Kim, T. K. and J. E. Kim. 1999. Extraction of pesticide residues in ginseng by microwave. J. of Food Hygiene and Safety 14(4):365-371. (In Korean)
3. Kim, T. K. and J. E. Kim. 2000. Extraction of pesticide residues in medical herbs by microwave. J. of Pesticide Science 4(3):60-67. (In Korean)
4. Lee, S. U., H. Y. Seo, B. J. Han, Y. M. Jeong, J. H. Kim, K. M. No and K. S. Kim. 2004. Use of accelerated solvent extraction method for determination of residual pesticides in agricultural products. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 47(2): 228-237. (In Korean)
5. Lee, J. K., K. C. Ahn., D. W. Stoutamire, S. J. Gee and B. D. Hammock. 2001. ELISA development for the residue of the organophosphorus insecticide acephate. J. of Pesticide Science 5(2):1-12. (In Korean)
6. Lee, J. K., K. C. Ahn, D. W. Stoutamire, S. J. Gee and B. D. Hammock. 2003. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of the organophosphorus insecticide acephate. J. Agric. Food Chem. 51(13):3695-3703.
7. Lee, J. K., K. C. Ahn, O. S. Park, S. Y. Kang and B. D. Hammock. 2001. Development of an ELISA for the detection of the residues of the insecticide imidacloprid in agricultural and environmental samples. J. Agric. Food Chem. 49(5): 2159-2167.
8. Lim, J. K. and H. K. Cho. 2005. Development of a biological reaction and measurement control system for rapid detection of the insecticide imidacloprid residues. J. of Biosystems Eng. 30(2):114-120. (In Korean)
9. Mingos, D. M. P., Baghurst, D. R. 1997. Microwave-Enhanced Chemistry Fundamentals, Sample preparation, and Applications, Kingston, H. M.; Haswell, S. J., Eds., American Chemical Society Ch1:3-53.
10. Neas E. D., M. J. Collins, H. M., Kingston, L. B. Jassie. 1988. Introduction to Microwave Sample Preparation Theory and practice. American Chemical Society Ch2:7-32.
11. Onuska, F. I., K. A. Terry. 1993. Extraction of pesticides from sediment using a microwave technique. Chromatographia 36:191-194.