

## Gas-Chromatograph에 의한 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid의 分析

食品分析科

金 教 鵬·李 連 秀·韓 仙 嬭  
申 載 英·李 德 行·朴 聖 培

### Analysis of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid by gas-chromatograph

*Division of Food Analysis*

Gyeo Bung Kim, Yean Soo Lee, Sun Hee Han

Jai Young Shin, Duk Haeng Lee and Sung Bae Park

#### = Abstract =

A procedure is described for the determination of 2,4-D in Lemon.

Standard solution and Lemon were first extrated with acetone, and then after acidification and solvent extraction, the residues were methylated using boron trifluoride-methanol reagent and buthylated using boron trifluoride-buthanol reagent, respectively.

The methyl and buthyl ester of 2,4-D were cleaned up on Florisil column and quantitated using a gas chromatograph equipped with an electron capture detector.

Extraction efficiency of 2,4-D by ethyl ether and dichloromethane showed 92% and 84%, respectively.

#### 緒 論

1941년 Pokerny에 의해 最初로 合成된 2,4-dichlorophenoxy acetic acid(2,4-D)는 1944년 Marth 등에 의해 호르몬 선택성 제초제로 인정되어 使用되기 시작한 農藥으로써 우리나라에는 1961년도부터 農家보급이 시작되었다<sup>1)</sup>.

長期間 제초제로 쓰여온 2,4-D를 植物組織으로부터 추출·分離하기 위하여 여러가지 方法들이 研究되어져 왔다<sup>2~11)</sup>. 그러나 2,4-D는 植物體內에서 反應하여

conjugated products를 形成하기 때문에 추출 分離과정에서 복잡한 여러 단계의 전처리 과정이 必要하며<sup>3,8)</sup>, 특히 알칼리용액 처리와 esterification 처리하여 gas chromatograph로 定量하는 方法이 많이 쓰여지고 있다<sup>2,3,6,13,14)</sup>.

Esterification 에는 methylation, ethylation, butylation 및 chloroethylation 등 여러가지 方法이 있으며 이들의 선택은 分析할 對象試料과 農藥의 種類에 따라 달라지게 된다.

Allan<sup>14)</sup>은 밀에서의 2,4-D 분석시 알칼리처리와 methylation에 의해서 양호한 結果를 얻었다고 보고하

였으며, Allen 등<sup>15)</sup>은 diazomethane 유도체 方法에 의해 多種農藥分析에서 좋은 結果를 얻었다고 보고하였다.

따라서 저자들은 잔류농약의 體系的인 分析法을 確立해 가는 研究課題의 一部로서 레몬중에 잔류된 2,4-D를 分析할 때의 最適條件을 알아보고자 본 研究를 行하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 實驗材料

(1) 試藥 : 2,4-D 표준시약과 ethylether는 Riedel제, acetone, methanol, hexane 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydrous 등은 Wako제 잔류농약分析用을 使用하였고, BF<sub>3</sub>-Methanol(14%)은 Sigma제, Florisil은 Fisher Sci. Co., BF<sub>3</sub>-Butanol은 Boron trifluoride complex 10 g 을 n-Butanol 25 g에 녹여 만들어 使用하였다.

### (2) 機器

· Gas chromatograph (ECD): HewlettPackard, 5890, U.S.A.

· Rotary vacuum evaporator: Büch RE-110 (Swiss)

· Glass chromat column: 30 cm×22 mm

### 2. 實驗方法

農作物 中の 2,4-D를 檢出하기 위하여 잔류농약분석법<sup>13)</sup>과 Allan<sup>14)</sup>의 方法을 변형하여 그림 1과 같이 실험하였다.

## 結果 및 考察

그림 1과 같이 실험한 結果는 아래와 같다. 分析에 使用한 gas-chromatograph는 autosampler (HP 7673A, USA)와 integrator (HP 3392A, USA)가 부착된 ECD-gas chromatograph이었고 分析條件은 表 1과 같다.

### 1. 分配溶媒에 따른 抽出效率

Acetone으로 2,4-D 농약을 추출한 후 ethylether, chloroform, dichloromethane, 3種의 용매에 분배시킨 후 용매추출효율을 비교해 본 結果는 表 2와 같다.

農作物에 잔류된 2,4-dichlorophenoxy acetic acid를 定量的으로 추출해 내기 위하여 使用되는 용매로는 acetone, methanol, hexane 등이 있으나 잔류농약분석

Table 1. Condition of Gas chromatograph.

Item	Condition
Column	glass, 2 m×2 mm
Packing material	Chromosorb AW-DMCS (80~100 mesh)
Liquid coating material	4% OV-101
Injector temp.	250°C
Detector temp.	280°C
Oven temp.	180°C
Carrier gas	N <sub>2</sub> , 28.4 ml/min
Injection volume	2 μl

Table 2. Extraction efficiency of 2,4-D in partition step by different solvents.

Partition solvent	added standard sol'n (1 μg/ml)	Extraction Efficiency (%)
Ethyl ether	5 ml	92 <sup>a</sup>
Chloroform	5 ml	— <sup>b</sup>
Dichloromethane	5 ml	84 <sup>a</sup>

a : Mean value of three times.

b : Impossible to determine.

법<sup>13)</sup>에 따라 본 실험에서는 acetone을 추출용매로 使用하였다. 추출물 中の 水溶性 방해성분과 물을 2,4-D와 分離하기 위한 液-液分配溶媒로 ethylether, chloroform, dichloromethane을 선택하였다. 이들 용매에 대한 분배효율을 비교해 본 結果 ethyl ether에서 추출효

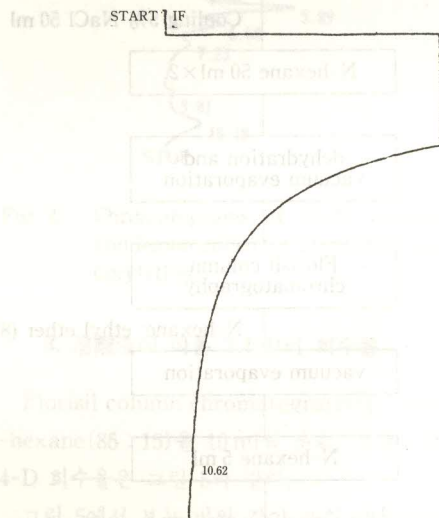


Fig. 2. Chromatogram of 2,4-D extracted by chloroform.

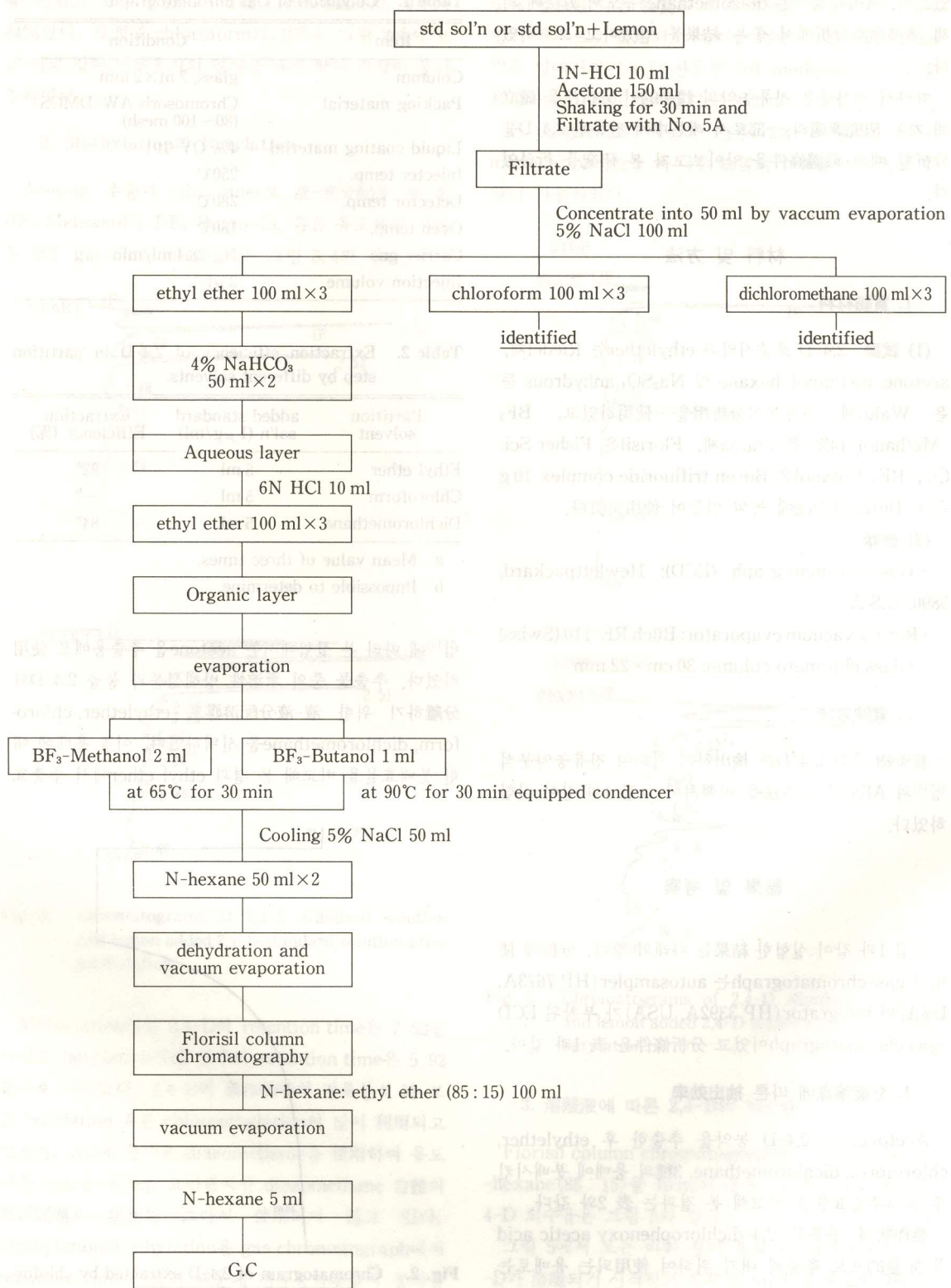


Fig. 1. Flow chart for determination of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid in agricultural products.

을 92%로 가장 높았으며 dichloromethane의 경우가 84%였다. 反面에 chloroform의 경우는 그림 2에서 보는 바와 같이 방해물질의 영향을 크게 받아 정량이 불가능하였다.

## 2. Methylation과 Butylation

Acetone 추출과 ethyl ether로 液-液分配를 한 후  $\text{BF}_3$ -Methanol과  $\text{BF}_3$ -Butanol로 各各 유도체화 시킨 후 얻은 gas-chromatogram은 그림 3, 4와 같다.

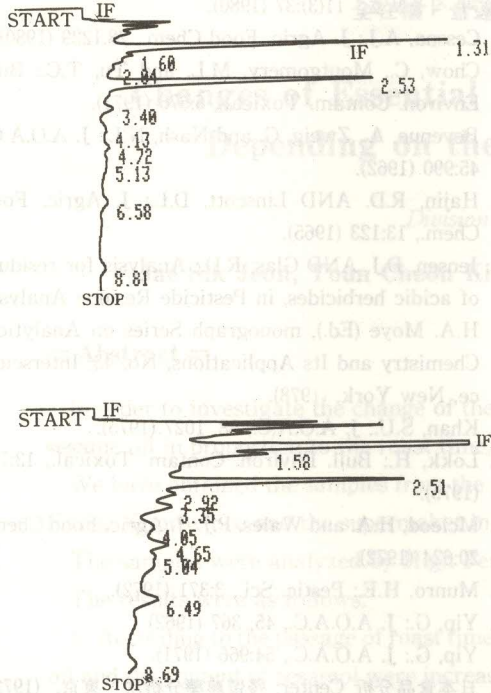


Fig. 3. Chromatograms of 2,4-D standard solution and lemon added 2,4-D standard solution after methylation.

Methylation시킨 2,4-D의 retention time은 2.53분이었고 butylation시킨 경우의 retention time은 5.92분으로 나타났다. 2,4-D의 農作物중의 잔류분석時 보통 butylation 혹은 chloroethylation이 많이 이용되고 있으며, Allen 등<sup>15)</sup>은 diazomethane을 使用하여 유도체를 만드는 方法을 고안했지만 diazomethane 自體의 毒性問題로 現在는 그다지 使用되지 않고 있다. Methylation과 ethylation은 gas chromatograph에서 retention time이 짧기 때문에 잔류농약추출시 농작물

중에 함유된 다른 物質과 함께 共抽出되어 精量이 방해받기 쉬우므로 使用되기 어려운 경우가 많은데, Allen<sup>14)</sup>은 밀에서의 2,4-D 잔류분석에 methylation 方法을 利用하여 양호한 분석결과를 얻었다고 보고하고 있다.

본 실험에서도 레몬의 경우 2,4-D 잔류분석에서 methylation시켰을 때 다른 物質의 방해를 받지 않고 精量이 가능하였다.

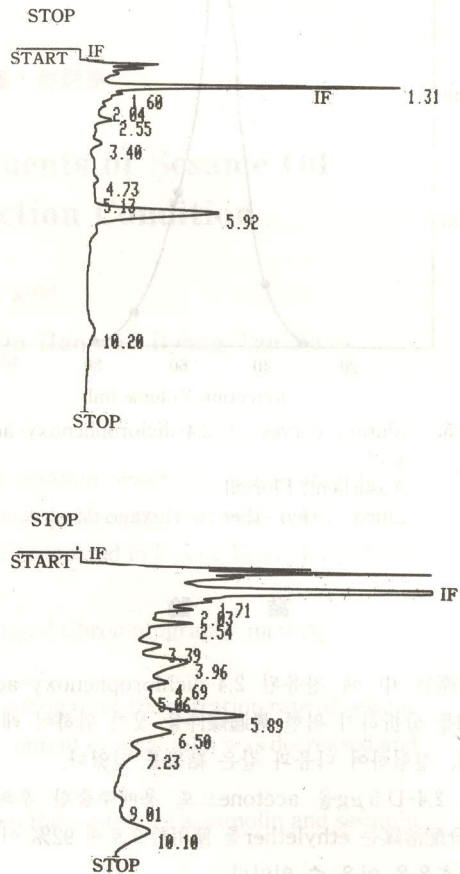


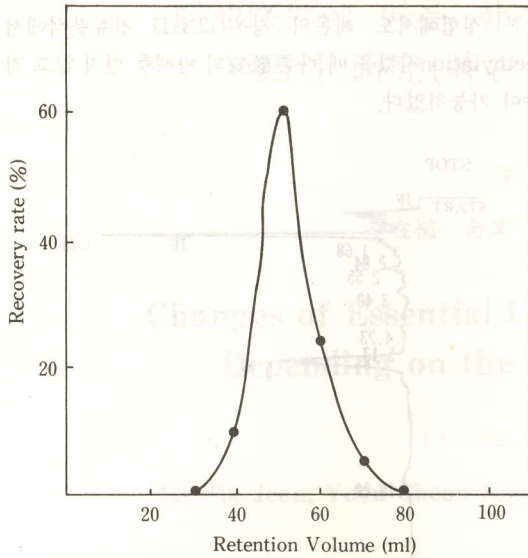
Fig. 4. Chromatograms of 2,4-D standard solution and lemon added 2,4-D standard solution after butylation.

## 3. 溶離液에 따른 2,4-D의 회수율

Florisil column chromatograph에 ethylether : n-hexane (85 : 15)을 10 ml씩 분획, 용출시켰을 때의 2,4-D 회수율은 그림 5와 같다.

그림 5에서 보는 바와 같이 분획 40 ml에서 부터 2,4-D가 溶離되기 시작하여 분획 80 ml가 될 때 2,4-D의 용

리가 완료되어 총회수율이 97.5%였다. 따라서 Florisil column 용출시는 용출용매 100 ml로써 2,4-D의 정량적인 회수가 충분하다고 생각된다.



**Fig. 5.** Elution curves of 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid.  
Absorbent: Florisil  
Eluent: Ethyl ether : n-Hexane (85 : 15)

### 結 論

農産物 中 에 잔류된 2,4-dichlorophenoxy-acetic acid를 分析하기 위한 最適條件을 찾기 위하여 레몬을 使用, 실험하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 2,4-D 5  $\mu$ g을 acetone으로 용매추출한 후의 液-液分配溶媒는 ethylether를 使用함으로써 92% 이상의 추출효율을 얻을 수 있었다.

2. 2,4-D를 定量的으로 檢出하기 위해 esterification 시키는 方法으로는 레몬의 경우 methylation과

butylation 모두 다른 成分의 방해를 받지 않고 定량이 가능하였다.

3. Florisil column에서 ethylether : n-hexane (85 : 15)도 溶離·分劃시켰을 때 分劃부피 80 ml에서 총회수율 97.5%로 나타나 정량적인 회수가 가능하였다.

### 參 考 文 獻

1. 박중성 : 한국에 들어온 최초의 선택성 제초제. 농약과 식물보호, 11(3):37 (1980).
2. Cessna, A.J.: J. Agric. Food Chem., 28:1229 (1980).
3. Chow, C., Moutgomery, M.L. and Tu, T.C.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 6:576 (1971).
4. Bevenue, A., Zweig, G. and Nash, N.L.: J. A.O.A.C., 45:990 (1962).
5. Hajin, R.D. AND Linscott, D.L.: J. Agric. Food Chem., 13:123 (1965).
6. Jensen, D.J. AND Glas, R.D.: Analysis for residues of acidic herbicides, in Pesticide Residue Analysis. H.A. Moye (Ed.), monograph Series on Analytical Chemistry and Its Applications, No. 43, Interscience, New York, (1978).
7. Khan, S.U.: J. A.O.A.C., 58, 1027 (1975).
8. Lokk, H.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 13:730 (1975).
9. Mcleod, H.A. and Wales, P.J.: J. Agric. Food Chem., 20:624 (1972).
10. Munro, H.E.: Pestic. Sci., 3:371 (1972).
11. Yip, G.: J. A.O.A.C., 45, 367 (1962).
12. Yip, G.: J. A.O.A.C., 54:966 (1971).
13. 日本食品分析 Center: 殘留農藥分析法. 東京, (1972).
14. Allan, E.S.: Gas chromatographic Method for Analysis of 2,4-D in wheat. J. A.O.A.C., 67:794 (1984).
15. Allan, J.C.: Simultaneous Extration and Detection of Residues of (2,4-Dichlorophenoxy) acetic acid and Bromoxynil from wheat. J. Agric. food chem., 28:1229 (1980)