

GC-ECD에 의한 갯잎중의 49종 잔류농약 동시다성분 신속분석

농산물검사과

조성자·강희곤·김복순·박주성·신재영

A Rapid Multiresidue Screening of 49 Pesticides by GC-ECD in perilla leaf

Agrochemical Analysis Division

Sung-Ja Cho, Hee-Gon Kang, Bok-Soon Kim,
Ju-Sung Park, Jae-Young Shin

= Abstract =

A method for multiresidue screening for pesticide residues by gas chromatography using electron capture detector in perilla leaf was described. Residue pesticides in perilla leaf were extracted with acetonitrile. The extracts were cleaned up with LC-florisil solid phase extraction column. The prepared samples were analysed by gas chromatograph with electron capture detector. The determined limit was from 0.01 to 5.00 ppm. Purification recovery rate with LC-florisil column was from 19.85% to 115%. The average recovery rate of spiked pesticide residues was over 70% in perilla leaf at the 1 ppm level. Being applied this method, it seems to be rapidly determined pesticide residues and to be reduced organic solvent consumption and hazard waste production.

서 론

국내에서의 농산물중 잔류농약분석법은 식품공전¹⁾상에 있는 방법에 의해 행해지고 식품공전상의 잔류농약 분석법은 몇 개의 군과 개별 단일 분석법으로 분류되어 실행되고 있다. 기존의 동시분석법과 단일 분석법에 의한 잔류농약 분석에는 시간의 소요와 다량의 추출용 유기용매등의 사용으로 환경을 오염시키는 폐용매양도 많이 생성되고 있다. 따라서 최소한의 용매 사

용과 빠른 시간내에 검사 결과를 알 수 있는 새로운 방법의 개발이 필요하다. 법적으로 규정되어 있는 분석방법은 조작이 간편하고 여러 종류의 시료에 폭넓게 적용될 수 있고 분석 결과에 대한 재현성도 감도나 회수율 못지 않게 우수해야 한다. 잔류농약의 동시 다성분 분석은 Mill 등²⁾, Luke 등³⁾에 의해 시작되어 최근에는 한 번의 조작으로 가능한 많은 수의 농약을 분리 정량할 수 있는 잔류농약 동시 다성분 분석법이 계속적으로 발전되어 왔다. 과일류와 채소류에서 다성분 분석법을 이용한 잔류농약을 분석한 결과들이 다수 보

고되고 있으며⁴⁻⁹⁾, 국내에서도 Rho 등¹⁰⁾은 하나의 가스 크로마토그래피에 전자포획검출기(Electron capture detector)와 질소 인 검출기(Nitrogen phosphorus detector)를 병렬 연결하여 다성분 잔류 농약을 동시에 정량 분석해내는 방법 등을 보고하였으며, 전 등¹¹⁾도 채소류 등에서 수종의 유기염소계와 유기인계농약의 다성분 분석법 등을 보고하였다. 다성분 분석법은 많은 양의 시료에서 다종의 농약을 빠른 시간내에 분석할 수 있고 실험에 소요되는 비용이 저렴한 장점이 있으나, 이에 대한 분석법을 활용하여 재현성과 회수율등을 보고한 자료는 미흡한 실정이다. 이에 본 저자 등은 조 등⁹⁾의 동시다성분 분석법을 이용하여 49종의 농약성분에 대하여 실험의 재현성 및 회수율 등을 평가하고 정립하여 더 좋은 분석법을 개발하는 지표로 삼고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 시료 및 시약

- 1) 용매 - Acetonitrile, acetone, hexane 등의 용매는 잔류농약 분석용 (WAKO, 일본)을 사용하였다.
- 2) Sodium chloride(GR) - 특급시약(WAKO, 일본)을 사용하였다.
- 3) LC-florisil cartridge(1g) - Waters(U.S.A).
- 4) 시료 - 회수율 실험에 이용되어진 시료는 전년도 유통농산물 잔류농약 검사시 농약의 검출빈도가 높게 나타난 깻잎을 사용하였다.
- 5) 분석농약 표준품 - 동시분석에 사용된 농약 표준

Table 1. The list of investigated pesticides

Alachlor, Aldrine, BHC($\alpha, \beta, \gamma, \delta$), Bifenox, Bifenthrin, Bromacil, Captapol, Captan, Chlorobenzilate, Chlorpyrifos, Chlorothalonil, Cyfluthrin, Cyhalothrin, DDT, DDE, DDD, Deltamethrin, Dichlobenil, Dichlofluanid, Dichloran, Dicofol, Diclofop-methyl, Dieldrine, Dimethipin, Diuron, Endosulfan(α, β , sulfate), Endrin, Ethalfluralin, Fenpropathrin, Fenvalerate, Flucythrinate, Fenarimol, Folpet, Heptachlor, Imazalil, Iprodione, Metholachlor, Methoxychlor, Nitrpyrin, Oxyfluorfen, Permethrin, Procymidone, Propanil, Quintozene, Tecnazene, Tetradifon, Tolyfluanid, Tralomethrin, Triadimefon, Trifluralin, Vinclozoline
--

품은 Riedel-de Hean사와 Wako사를 이용하였으며 분석농약 종류는 Table 1에 나타내었다.

3. 분석기기

잔류농약의 동시다성분 분석을 위한 Gas chromatograph는 electron capture detector (ECD)를 연결한 HP 6890 series(Hewlett Packard, USA)를 이용하였다. Column은 HP-1701(Hewlett Packard, USA)을 이용하였으며 기기 분석조건은 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Analytical condition of gas chromatograph for organochloride pesticide

Column	HP-1701(30m×250 μ m ID×0.25 μ m film thickness)
Ovenor temp.	150 $^{\circ}$ C(1.48min)-11 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C(1.48min)-20.5 $^{\circ}$ C/min-280 $^{\circ}$ C(10min)
Injector temp.	230 $^{\circ}$ C
Detector temp.	290 $^{\circ}$ C
Gas flow	N ₂ (1.5ml/min)

4. 회수율 실험

회수율 실험에 이용한 동시다성분 분석법은 조 등⁹⁾의 방법을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 추출

시료 중에 잔류하는 농약을 추출하기 위해 acetonitrile을 이용하였다. 75% acetonitrile의 경우 100% acetonitrile이나 acetone에 비해서 높은 용해성을 나타내는데¹²⁾, 실험한 채소류들의 수분함량은 대체로 80~90% 이상이므로 시료 50g에 acetonitrile 100ml을 첨가함으로써 75% acetonitrile의 용해효과를 이용하였다. 전 등¹¹⁾은 추출시 methanol이나 acetone의 함량이 높을수록 색소등의 coextractives의 양이 증가하는 것으로 보고하고 있다. Acetonitrile로 추출한 후 sodium chloride가 넣어진 병에 여과하여 흔들어 준 후 방치하는데 이 때 sodium chloride의 양은 10~15g 정도가 적당하였다. sodium chloride의

양이 적을 경우 salting out이 충분하지 않았으며 액-액 분리도 잘 일어나지 않아 다음 단계의 건조 과정에 시간이 오래 걸리는 단점이 나타났다.

2. 정 제

잔류농약의 다성분 동시분석시 이용하는 정제과정에는 florisil, amine, silica 등의 cartridge가 많이 이용되고 있는데¹³⁻¹⁵⁾ 이들의 정제 효과는 material의 양, 질, solvent의 particle size, activity, 유출물의 극성도 및 coextractives의 특성 등에 의해 달라지고 있다. Luke 등³⁾은 많은 양의 coextractive의 추출을 방지하고 낮은 검출한계를 향상시키기 위해 액상의 pH 조절과 SPE clean up을 이용하여 이런 문제들을 해결하였다. S. Mark Lee 등¹⁶⁾은 C₁₈ 역상 cartridge를 이용하여 plant extract를 통과시킴으로써 빠르고 간편하게 nonpolar plant coextractive들을 제거시켰다. 유기염소계 농약들은 비교적 낮은

극성을 띠고 있어 florisil 정제를 통해 극성이 큰 coextractive를 분리 해낼 수 있으므로 본 실험과정에서는 florisil cartridge를 이용하였다. 표준농약의 건조와 정제시의 회수율을 Table 3에 나타냈다. Dichlobenil의 경우 건조과정과 정제과정에서 모두 소실되어지는 것으로 여겨진다. 대부분의 농약들은 건조나 정제시 높은 회수율을 나타내었으나 dimethipin, α -BHC 등은 건조시 낮은 회수율을 나타내었는데 이는 열이나 공기에 의한 농약의 분해에 의한 것으로 생각되었다. Aldrine의 경우 florisil 정제시 유출용매로 사용한 10% acetone/hexane에 의해 완전히 용출되지 않았다. 그러나 acetone을 유출용매로 사용하였을 때는 거의 용출되는 것으로 나타났다. Trifluralin은 건조시 70%이상의 회수율을 나타내었으나 florisil 정제시 회수율이 급격히 떨어지는 현상을 보였다.

Table 3. Limit of detection and retention time of standard pesticides

Standard	RT ¹⁾	LOD ²⁾	N ₂ purging(%)	Purification(%)
Alachlor	8.975	0.135	90.47±1.23	52.98±1.36
Aldrine	8.750	0.030	53.90±3.26	45.48±2.36
α -BHC	7.177	0.010	51.84±1.21	48.21±1.85
β -BHC	9.217	0.021	96.25±2.57	56.97±2.14
δ -BHC	9.630	0.015	93.70±3.15	53.68±2.36
γ -BHC	7.933	0.011	74.42±5.36	70.24±6.23
Bifenox	14.576	0.193	49.82±1.45	37.98±1.71
Bifenthrin	13.176	0.056	112.19±8.23	108.17±8.69
Bromacil	11.303	0.387	59.23±2.38	49.27±1.86
Captafol	14.210	5.000	N.D ³⁾	N.D
Captan	11.132	0.300	72.13±5.23	68.07±6.21
Chlorobenzilate	12.150	0.234	98.67±4.26	92.51±5.36
Chlorpyrifos	9.350	0.026	90.79±2.36	52.63±1.36
Chlorothalonil	9.143	0.250	86.05±7.58	30.88±5.68
Cyfluthrin	16.972	0.515	102.29±2.65	115.78±4.69
Cyhalothrin	14.980	0.053	109.19±1.36	91.69±3.21
2,4-DDE	10.214	0.020	102.68±2.36	66.03±1.25
2,4-DDT	11.847	0.050	91.81±2.87	71.66±2.78
2,4-DDD	11.563	0.025	83.64±2.96	85.35±2.63
4,4-DDE	10.872	0.025	95.50±5.36	68.29±3.16
4,4-DDT	12.694	0.050	109.39±8.36	82.15±5.12
4,4-DDD	12.421	0.025	94.50±2.36	82.45±1.76
Deltamethrin	21.529	1.0	131.34±7.25	102.44±5.14
Dichlobenil	4.104	0.039	N.D	N.D
Dichlofluanid	9.089	0.019	91.81±2.71	69.84±2.46
Dichloran	8.103	0.570	68.17±1.69	10.96±1.65
Dicofol	9.602	0.630	104.03±1.58	96.94±1.46

Diclofop-methyl	13.028	0.500	98.88±2.31	91.89±2.54
Dieldrine	11.291	0.015	103.41±4.98	67.04±2.54
Dimethipin	9.340	0.030	76.41±8.23	35.31±5.23
Diuron	4.012	1.440	N.D	N.D
α -endosulfan	10.503	0.019	99.63±1.58	71.46±5.34
β -endosulfan	12.572	0.019	97.37±2.31	83.06±2.54
Endosulfan-SO ₄	13.708	0.020	108.66±5.25	94.13±2.64
Endrin	11.725	0.019	69.28±1.78	51.61±1.25
Ethalfuralin	6.542	0.036	67.44±1.63	57.10±1.68
Fenpropathrin	13.799	0.100	80.02±2.57	102.15±2.34
Fenvalerate	19.266	0.500	109.38±4.21	104.23±5.21
Flucythrinate	18.140	0.300	114.98±2.14	98.45±2.64
Fenarimol	15.468	0.292	89.78±1.58	94.11±1.57
Folpet	11.115	0.500	60.10±1.67	53.79±1.68
Heptachlor	8.283	0.045	73.59±2.54	73.59±2.41
Imazalil	11.957	0.137	N.D	N.D
Iprodione	14.258	1.545	92.28±1.25	92.28±1.86
Metholachlor	9.609	0.061	105.38±1.96	105.38±5.25
Methoxychlor	13.628	0.365	72.94±1.45	72.94±2.37
Nitrapyrin	5.013	0.010	N.D	N.D
Oxyfluorfen	12.224	0.039	110.38±8.25	110.38±9.21
Permethrin	15.283	0.500	115.35±4.85	115.35±5.14
Procymidone	11.307	0.050	106.18±5.36	106.18±4.23
Propanil	10.395	0.675	65.61±2.14	68.93±1.89
Quintozene	7.420	0.019	53.44±2.47	53.44±1.56
Tecnazene	5.898	0.010	19.85±1.23	19.85±2.16
Tetradifon	14.622	0.050	100.92±1.25	100.92±1.28
Tolyfluanid	12.897	0.050	80.12±1.85	73.52±1.63
Tralomethrin	21.523	0.500	120.59±1.36	104.48±1.27
Triadimefon	10.044	0.323	86.68±1.57	72.37±2.41
Trifluralin	6.651	0.034	77.40±1.58	9.83±2.31

1) RT : Retention time 2) LOD : Limit of Detection 3) N.D : Not detected

3. 회수율 검사

균질화된 깻잎에 표준농약을 1 ppm 수준으로 첨가하여 시료중 농약의 회수율을 조사한 결과 Table 4에서 보는 바와 같이 대부분의 농약들은 70%이상의 회수율을 나타냈다. Diuron, α -BHC, ethalfuralin 등의 농약들은 50% 이하의 낮은 회수율을 나타냈는데 그 이유는 이들 농약들이 낮은 온도에서 쉽게 휘발되며 극성도의 차이에 의한 것으로 생각된다. Imazalil은 검출되지 않았다. Imazalil은 염기성 용매에서 용출되는 물질로 회수율을 높이기 위해서는 시료의 전처리 조작중 추출액의 pH의 조정이 필요하므로 다성분 동시분석법으로 분석하는데 문제가 있는 것으로 나타났다. Captafol의 경우는 검출되지 않았으며 또한 높

은 농도로 첨가시에도 회수율이 낮게 나타났는데 이는 전처리과정중 열 등의 분해에 의한 손실로 여겨진다. Captan의 경우 N-S 결합이 전처리 과정중 시료내 SH화합물과 반응하여 쉽게 끊어지므로 분해 손실되는 것으로 추정되며 또한 주입구의 온도에 의해서 영향을 받는 것으로 생각된다. 피레스로이드계 농약의 일종인 deltamethrin 등은 2~3개의 peak 양상을 나타냈으며 거의 95~148%의 회수율을 나타내었지만 peak의 모양이 broad하며 column의 반응온도가 상승함에 따른 base line이 불안정해지는등 회수율에 영향을 미쳤다. 이상의 결과로 captafol의 10종의 농약들은 본 실험에 의한 회수율 조사시 검출되지 않았거나 회수율이 40% 미만으로 나타났다. 따라서 이들 농약들은 동시 다성분분석법에 의한 검출보다는 개별방법 적용,

Table 4. Recovery and standard deviation at 1ppm pesticide in perilla leaf.

Standard	recovery±SD ¹⁾ (%)	Standard	recovery±SD(%)
Alachlor	86±1.23	Diuron23±2.21	
Aldrine	60±4.09	α-endosulfan	80±1.12
α-BHC	45±4.92	β-endosulfan	87±2.93
β-BHC	93±1.15	Endosulfan-SO ₄	114±1.71
δ-BHC	97±0.54	Endrin	85±2.38
γ-BHC	72±3.65	Ethalfuralin	44±3.65
Bifenox	98±3.22	Fenpropathrin	89±0.87
Bifenthrin	82±0.96	Fenvalerate	174±2.10
Bromacil	112±11.62	Flucythrinate	121±10.13
Captafol	N.D	Fnarimol	76±2.36
Captan	60±8.36	Folpet	52±2.05
Chlorobenzilate	86±4.24	Heptachlor	N.D
Chlorpyrifos	84±0.90	Imazalil	N.D
Chlorothalonil	145±9.62	Iprodione	104±3.94
Cyfluthrin	123±4.68	Metholachlor	74±2.32
Cyhalothrin	114±1.14	Methoxychlor	136±13.95
2,4-DDE	80±0.75	Nitrapyrin	N.D
2,4-DDT	79±2.66	Oxadiazone	85±1.21
2,4-DDD	80±2.44	Oxyfluorfen	88±1.25
4,4-DDE	87±0.88	Permethrin	95±0.92
4,4-DDT	158±17.26	Procymidone	89±0.95
4,4-DDD	102±1.99	Propanil	70±2.98
Deltamethrin	148±0.91	Quintozene	58±3.38
Dichlobenil	N.D	Tecnazene	N.D
Dichlofluanid	91±1.60	Tetradifon	84±0.79
Dichloran	72±4.00	Tolyfluanid	70±4.71
Dicofol	16±0.38	Tralomethrin	199±7.92
Diclofop-methyl	96±3.54	Triadimefon	67±1.83
Dieldrine	83±1.25	Trifluralin	48±7.61
Dimethipin	49±3.92	Vinclozoline	76±2.49

1. S.D : Standard Deviation

2. N.D : Non Detected

추출용매나 정제 용매를 달리함으로써 좀 더 나은 회수율을 나타낼 수 있으리라 생각되었다. 전처리시 sodium sulfate 등의 첨가에 의해 수분함량을 줄임으로써 회수율을 높일 수 있었다. 따라서 동시 다성분 분석법에 대한 회수율 검증과 더 많은 종류의 농약에 대한 다성분 분석법의 개발에 대한 연구를 지속적으로 수행하고자 한다.

4. 유통 농산물 검사

'98년도 본 연구원에서 동시다성분법을 이용해 검사한 유통 농산물 중 깻잎은 총 191건이며 이중 유기 염소계 농약의 검출횟수는 83회로 43.5%에 해당되었다(Table

5). 이중 34회는 농약 잔류허용기준을 초과하여 검출되었다. 검출된 농약으로는 Endosulfan이 22회로 가장 많았으며 Chlorpyrifos 18회, Procymidone 11회, Bifenthrin 10회, Vinclozoline 9회 및 Cypermethrin 7회 등으로 나타났다. 검출농약중 Chlorpyrifos의 경우 18회 검출 모두 기준에 초과되어 나타났으며 Endosulfan의 경우 검출횟수는 가장 많았으나 기준에 초과된 경우는 1회 뿐인 것으로 나타났다. 이와 같이 잔류농약이 많이 검출되는 깻잎의 경우 아직까지 깻잎 자체의 개별기준이 설정되어 있지 않아 CODEX기준이나 엽경채소류의 최저 기준을 적용하고 있어 이에 대한 개별기준 설정이 시급한 것으로 판단된다.

Table 5. Frequency of detection in perilla leaf.

standard	detection frequency	standard	detection frequency
Endosulfan	22(1) ¹⁾	Chlorothalonil	1
Bifenthrin	10(4)	Dichlofluanid	1
Vinclozoline	9(2)	Fenvalerate	1(1)
Procymidone	11(6)	Captan	1(1)
Cypermethrin	7	Triadimefon	1(1)
Deltamethrin	1	Chlorpyrifos	18(18)

1) Excess of Limit

결 론

전자포획검출기(GC-ECD)를 이용하여 깻잎에서 잔류농약을 동시 다성분분석법에 의하여 실험하였다. 잔류농약의 추출은 acetonitrile을 이용하였으며 추출물의 정제는 LC-florisil cartridge를 이용하여 10% acetone/hexane로 유출하였다. HP-1701 column에서의 검출한계는 최저 0.01 ppm 에서 최고 5.00 ppm 이었으며, LC-florisil column을 이용 정제시 19.85%에서 115%의 회수율을 나타냈다. 각 농약의 회수율은 깻잎에 1 ppm 수준으로 첨가시 대부분 70% 이상의 회수율을 나타냈으나 dichlobenil, Imazalil, heptachlor, nitrapyrin 및 technazene 등은 회수되지 않았다. 이 동시 다성분분석법은 시험에 소요되는 추출과 유출용매, 정제용 florisil 등의 절감 및 폐액을 감소 할 수 있으며 농약의 분석 시간을 획기적으로 줄일 수 있는 신속성과 정밀성의 장점이 있다.

참 고 문 헌

1. 보건복지부:식품공전, 문영사(1998)
2. Mills P. A., Onley J. H., Gaither R. A. : J. AOAC 46:186(1963)
3. Luke M. A., Froberg J. E., Masumoto H. T. : J. AOAC 58:1020(1975)
4. Guo-Fang Pang, Yan-Zhong Chao, Chun-Lin Fan, Jin-Jie Zhang, Xue-Min Li, and Yong ming Liu : Modification of AOAC Mutiresidue Method for Determination of Synthetic Pyrethroid Residue in Fruit, Vegetables and Grain. Part II : Aceton Extraction system., J. AOAC International 78:1489(1995)
5. Harry M. Pylypiw, Jr : Rapid gas chromatographic method for the multiresidue screening of fruits and vegetables for organocghrine and organophosphorus pesticides. J. AOAC International 76 : 1369 (1993)
6. Lajos Kadenczki, Zoltan Arpad, and Ivan Gardi : column extraction of residue of several pesticides from fruits and vegetables : A simple multiresidue analysis method. J. AOAC International 75 : 53(1992)
7. A. Valverde Garcia, E. Gonzalez pradas, J. Martinez Vidal, and A. Aguera Lopez : Simple and Efficient Multiresidue Screening Method for analysis of nine halogen-containing pesticides on peppers and cucumbers by GLC-ECD. J. Agric. Food Chem. 39 : 2188(1991)
8. 高橋邦彦, 石井里枝, 飯島正雄, 星野庸二 : 야채등 과실중의 유기인계, pyrethroid계등 합질소계 농약의 계통분석법의 검토., 食衛誌, 36:607(1995)
9. 조성자, 김복순, 김일영, 신기영, 박주성, 홍미선, 정소영, 장민수, 조성애, 박애숙, 강희곤, 김정현, 이강문 : 시중 유통 농산물중의 농약잔류 실태조사 (V). 서울특별시 보건 환경 연구원보 33:154(1997)
10. Rho, K. A., Kim, J. H., Kim, H. W.,

- Lee, Y. K. and Park, K. M. : Simultaneous determination of various pesticides(I): Analysis by GC with ECD and NPD dual detectors. Korean J. Food Sci. Technol., 29: 427(1997)
11. 전옥경, 이용욱 : 채류중의 유기인제 및 유기염소제 농약의 단순화된 추출과 정제 방법에 관한 연구. 한국환경위생학회지 23:66(1997)
12. Lee S. M., Fredrickson A. S., Hunter G. R., Joe T. F. : 196th ACS National Meeting Los Angeles, Ca., USA, September 25-30. Agrochemical Division Abs. no 0077.
13. Frank J. Schenck, Lori Calderon and Darlene E. Saudary : Florisil solid-phase extraction cartridge for cleanup of organochlorine pesticides in food. J. AOAC International 79:1454(1996)
14. Rosario Garcia-Repetto, Isabel Garrido and Manuel Pepetto : Determination of organochlorine, organophosphorus and triasine pesticide residues in wine by Gas chromatography with electron capture and nitrogen-phosphorus detection. J. AOAC International 79:1423(1996)
15. Garlo Bicchi, Angela Damato and Cristina Balbo : Multiresidue method for quantitative gas chromatographic determination of pesticide residues in sweet cherries. J. AOAC International 80:1281(1997)
16. S. Mark Lee, Micheal L. Papathakin, Haiiao-Ming C. Feng, Gary F. Hunter, and Joyce E. Carr : Multipesticide residue method for fruit and vegetables. Fresenius J. Anal. Chem 339 : 376(1991)