

# 초임계 추출기를 이용한 농산물중의 잔류농약 분석

농산물검사과

강 희 곤 · 김 일 영 · 홍 미 선 · 장 민 수 · 이 강 문

## Pesticide Residues Analysis in Agricultural Products by Supercritical Fluid Extractor

*Agrochemical Analysis Division*

Hee-Gon Kang, Il-young Kim, Mi-Sun Hong,  
Min-Su Chang, Kang-Moon Lee

### = Abstract =

An analysis illustrated the use of SFE and GC-ECD to extract, analyze and confirm 10 kinds of pesticide in some vegetables. The optimum conditions of SFE were 235 bar ( $\text{CO}_2$  density 0.69g/ml, chamber temperature 75°C) of extraction pressure, 33min( Static Extraction 3min, Dynamic Extraction 30min) of extraction time, 4ml/min of  $\text{CO}_2$  flow, ODS trap, 20°C of trap temperature, hexane 1.8ml of rinse solvent. At these conditions, the recoveries of pesticides from Korean cabbage were 82.5 ~ 128.3% respectively, the recoveries of pesticides from cucumber were 54.3 ~ 112.0% respectively, and the recoveries of pesticides from carrot were 62.4 ~ 135.9 % respectively.

### 서 론

크로마토그래피 분석의 이상적인 방향은 분석하고자 하는 미지의 물질을 신속한 전처리 과정을 통하여 재현성 향상, 회수율의 극대화, 높은 안전성 및 최소의 비용으로 분석을 하는 데 있다. 이러한 목적을 수행하기 위해서는 많은 종류의 잔류농약을 분리 정량할 수 있는 동시다성분 분석방법<sup>8)</sup>과 단성분 분석방법을 선정하여 분리 정량할 수 있다. 이 시험방법의 추출 과정에서 사용되는 유기용매의 종류 및 추출방법에

따라 회수율과 안전성 등이 달라지며, 또한 농약과 함께 유출되는 색소, 작물이 지니고 있는 특유의 황화합물, 고유의 향 및 유지 등의 물질을 정제하는 중요한 조작과정과 적정 검출기를 선정 하여 분석하는데 따라서 재현성 및 회수율 등이 현격한 차이가 있게 된다.

또한 분석에서는 부수적으로 발생하는 특정 유해폐기물 배출 등이 적어야 하는 데 일반적으로 사용되고 있는 용매 추출법은 과다한 용매 사용과 용매 폐기로 인한 환경적인 위해성이 주된 문제점으로 대두되고 있다<sup>1)</sup>.

초임계 유체 추출법은 초임계 유체의 특성을 이용한 분리기술로, 초임계 유체는 기체 고유의 임계온도와 임계압력 이상에서 액체와 기체의 양면성을 갖고 있는 물질이다. 비극성 물질은 상대적으로 낮은 임계점( $\text{CO}_2$   $T_c=31.3^\circ\text{C}$ ,  $P_c=72.9\text{ atm}$ )을 갖고 있고, 극성물질은 높은 임계점( $\text{NH}_3$   $T_c=132.5^\circ\text{C}$ ,  $P_c=112.5\text{atm}$ )을 갖고 있어, 상대적으로 순수하고 저렴하며, 활성 및 독성이 없는 비극성 물질인 초임계 이산화탄소를 주로 이용한다<sup>2)</sup>. 초임계유체 추출법은 환경위해가 적을 뿐 아니라, 분석 소요비용을 절감할 수 있어 경제적이며, 신속하게 분석 할 수 있는 장점으로 인해 여러 산업분야의 상업목적 을 위해서 또한 연구목적으로 이용되고 있다. 특히 잔류농약 분석에서의 초임계 추출방법은 기존의 추출법에서 야기되는 위해한 용매의 과다 사용을 줄이고, 다중 분석과 자동화를 목적으로 많은 연구가 이루어지고 있다<sup>3-7)</sup>. 그러나 국내에는 이러한 효율적인 초임계 추출을 이용하여 농산물에 잔류하는 농약을 대상으로 연구 보고한 자료가 전무한 실정에 있다. 따라서 저자 등은 배추, 오이 및 당근 등에 클로르타노닐 등 10종의 농약을 첨가하고 초임계 추출의 분석조건을 달리하여 회수율 등을 측정하여 양호한 결과를 얻었기 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 시료 및 분석농약

1998 3월부터 10월까지 시중에 유통되고 있는 농산물 중 배추 및 오이 및 당근을 구입하여, 10종의 농약 ( 클로르타노닐, 빈크로졸린, 클로르피리포스,  $\alpha$ -엔도설판,  $\beta$ -엔도설판, 엔도설판설페이트, 비펜스린, 테트라디폰, 싸이퍼메스린 및 펜발러레이트)을 대상농약으로 선정하여 분석 하였다.

#### 2) 시약 및 기기

##### (a) 시 약

농약 표준품은 Riedel-de Haën사(Germany)와 Dr. Ehrestorger GmbH(Germany)을 사용 하였고, Hexane 및 Acetonitrile용매는 잔류농약 분석용 ( Wako, Japan), 추출 보조제는 Hydromatrix (Varian, USA)를 사용하였다

##### (b) 혼합표준용액

클로르타노닐 등 상기 10종의 농약을 각각 10mg씩을 100ml Hexane에 녹여 혼합표준용액을 만들고 분

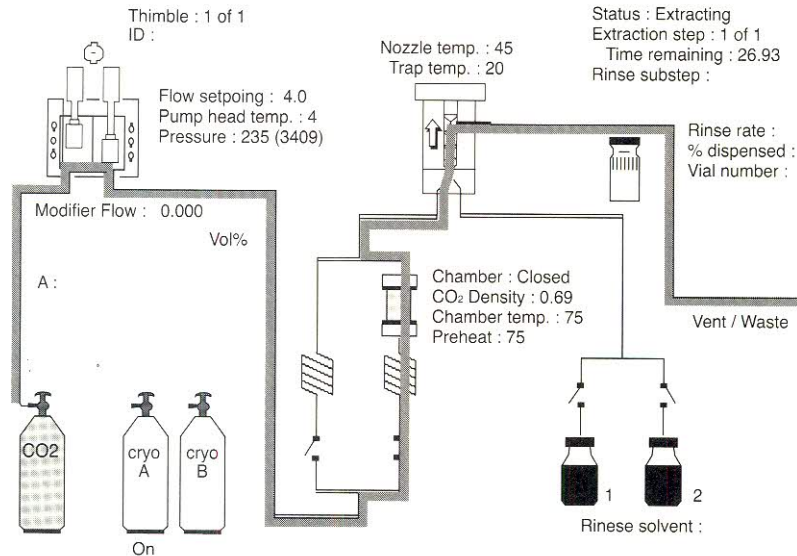


Fig. 1. Schematic diagram of SFE 7680T system.

석시에 단계 회석하여 사용하였다.

(b) 분석기기

(1) 초임계추출기 조건

초임계추출기의 구조는 Fig. 1과 같고, 조건은 CO<sub>2</sub> 밀도를 0.69 g/ml, 0.80 g/ml, 추출Chamber 온도를 45℃, 65℃ 및 75℃로 각각 설정하고, 추출시간 33분 (Static extraction 3min, Dynamic extraction 30min), ODS Trap 온도 20℃, CO<sub>2</sub>유속 4ml/min, Rinse 용매는 Hexane 1.8ml로 하였고, Trap은 Acetonitrile 3ml 및 Hexane 3ml로 세척하여 사용하였다.

(2) Gas chromatograph 분석조건

농약 분석은 Gas chromatograph(HP 6890 series)를 사용하였으며 그 조건은 Table 1과 같고, 혼합표준용액의 크로마토그램은 Fig. 2와 같다.

Table 1. Operating condition of Gas chromatograph

Item	Condition
Column	HP-5 5% Phenyl Methyl Siloxane (15.0m × 0.53mm × 1.50μm)
Detector	ECD
Detector temp.	290℃
Injector temp.	230℃
Oven Temp.	150℃(0.9min) → 17.8℃/min → 240℃(0.9min) → 33.4℃/min 280℃(4 min)
Run Time	12.0 min
Flow rate	8.0 ml/min

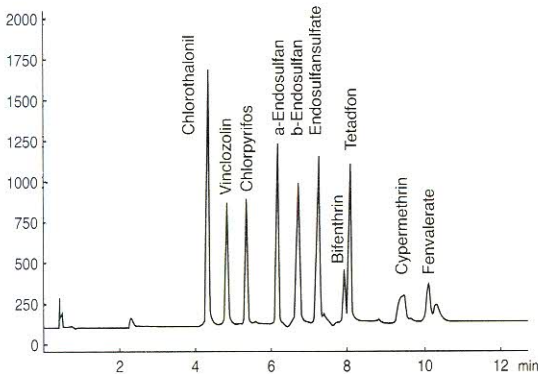


Fig. 2. GC-ECD chromatogram of standard mixture solution. (0.5ppm)

3. 분석방법

1) 시료의 전처리

구입한 시료100g을 분쇄기로 분쇄하여 균질화 한 후, 초임계추출을 위해 시료 2g과 구조토인 Hydrometrix 2g 비이커에서 잘 혼합한 다음 7ml 초임계추출 용기에 넣고, 혼합표준용액 0.5ppm을 첨가한 후 상온에서 15분간 방치한 후 추출하였다.

결과 및 고찰

초임계 추출에 의한 실험은 시료 균질화, 추출, 수집 및 정제의 3단계로 구분할 수 있으며, 시료처리에 있어서 고려해야 할 점은 용기크기, 분석시간, 수분함유 여부, 및 분석농도 등이 있고, 추출과 수집 및 정제에 있어서는 압력과 온도, 초임계 이산화탄소의 양, 추출방법, 초임계 유체의 속도 등과 수집온도, 포집제

(Solid sorbent), 추출용매, 정제방법 등을 고려하여야 한다.<sup>4)</sup>

초임계 추출은 초임계 유체의 특성을 이용하는 것으로 즉, 초임계 유체의 용해도를 증가 시켜 물질을 추출하는 것이다. 초임계 유체의 압력과 온도는 용해도와 밀접한 관계가 있어, 초임계 유체의 압력이 증가함에 따라 용해도가 커지고, 온도는 초임계 유체의 밀도와 압력 영역에서 서로 상반되는 작용을 하는 역행증발 (Retrograde vaporization)현상에 의해 온도가 증가한다고 용해도가 단순히 증가하지는 않는다<sup>6)</sup>.

CO<sub>2</sub>밀도를 0.69g/ml와 0.80g/ml로 설정하고 클로르타로닐 등 10종의 농약에 대하여 추출온도별로 농



**Table 2.** Recoveries of 10 pesticides at the different extraction temperature in the condition of the same CO<sub>2</sub> density . (%)

Name	CO <sub>2</sub> Density 0.69g/ml			CO <sub>2</sub> Density 0.80g/ml		
	45°C/129bar	65°C/199bar	75°C/235bar	45°C/189bar	65°C/289bar	75°C/340bar
Chlorothalonil	66.9±2.0	87.3±10.9	96.4±3.4	83.6± 3.9	90.8± 3.3	78.2± 4.4
Vinclozolin	65.0±6.4	71.1±3.4	76.6±4.1	68.5± 4.5	67.9± 2.6	65.2±10.4
Chlorpyrifos	89.3±9.8	82.1±11.2	96.8±8.9	84.8± 9.2	80.9± 5.3	81.1± 8.6
α-Endosulfan	66.0±7.0	67.9±4.4	82.7±5.3	68.5±11.2	62.3± 3.1	73.8± 5.9
β-Endosulfan	70.6±5.4	67.9±1.6	82.5±11.1	65.5± 3.0	62.0±10.3	70.7±10.8
EndosulfanSO4	78.5±6.8	74.6±5.3	88.0±8.3	82.4± 7.0	72.9± 6.7	76.1±11.4
Bifenthrin	79.7±10.1	78.2±7.6	88.2±8.3	85.8± 2.5	76.8± 2.9	87.6± 7.8
Tetradifon	94.0±8.1	119.1±8.6	128.3±12.1	105.2± 8.3	115.3± 5.1	115.5± 5.0
Cypermethrin	79.4±8.9	89.2±7.1	102.8±8.8	80.2±10.1	87.8± 2.5	80.1±5.2
Fenvalerate	82.5±5.8	87.9±6.7	89.4±7.8	85.7± 4.5	81.7± 9.0	77.7± 8.0

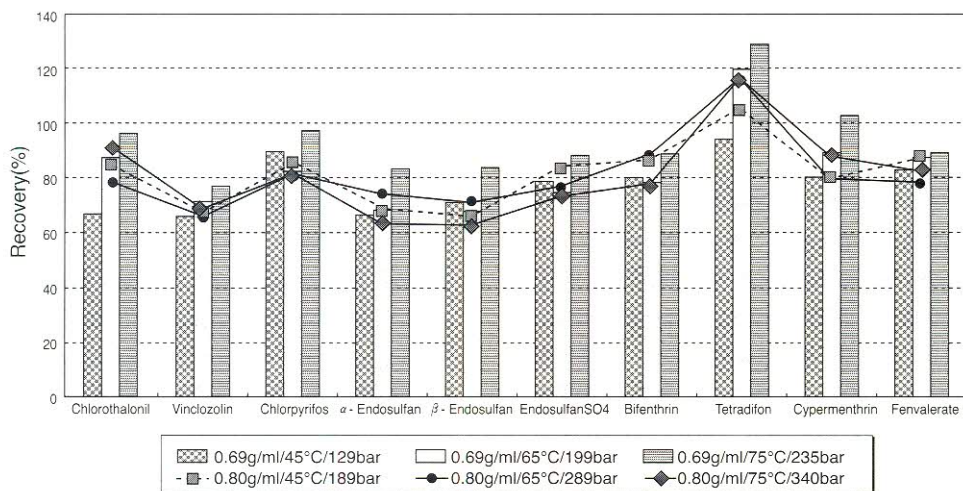
Data were means±standard deviations of 3 replicate extractions.

약의 회수율을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 이 표에 의하면 추출온도가 45°C, 65°C 및 75°C로 증가하면서 회수율은 65.0 ~ 94.0%, 67.9 ~ 119.1% 및 76.6 ~ 128.3% 범위로 각각 증가되는 경향을 나타냈다.

반면 CO<sub>2</sub>밀도 0.80g/ml에서, 추출압력을 189, 289 및 340bar로 증가하였을 경우 측정된 회수율은 평균 81.0%, 79.8% 및 80.6%로 거의 유사한 결과를 나타냈다. 이 회수율은 추출압력과 온도와 밀접한 관계가 있지만, 추출압력이 증가하여도 회수율이 증가하지 않는 한계압력이 있다는 것을 Lehotay 등<sup>1)</sup>이 보고한 바와

일치하고 있다.

추출압력 199bar 이상, CO<sub>2</sub>밀도 0.69 g/ml 이상, 추출온도 65°C 이상에서 추출하였을 때 농약의 회수율이 70% 이상인 농약은 클로르타노닐, 클로르피리포스, 엔도설판설페이트, 비펜스린, 테트라디폰, 싸이퍼메스린, 및 펜발러레이트이였으며, 추출압력 235bar (추출온도 75°C, CO<sub>2</sub>밀도 0.69 g/ml) 일 때 회수율은 빈크로졸린, 클로르피리포스, α-엔도설판, β-엔도설판, 엔도설판설페이트, 비펜스린, 테트라디폰, 싸이퍼메스린, 펜발러레이트 및 클로르타노닐이 각각 76.6%, 96.8%, 82.7%, 82.5%, 88.0%, 88.2%, 128.3%, 102.8%,



**Fig. 3.** Influence of CO<sub>2</sub> density and extraction temperature on the recoveries of 10 pesticides from Korean cabbage fortified at 0.5 ppm.

**Table 3.** Recoveries of 10 pesticides from Korean cabbage, cucumber and carrot at the optimum extraction condition (%).

Name	Korean cabbage	Cucumber	Carrot
Chlorothalonil	96.4±3.4	94.4±6.3	104.4 ±4.8
Vinclozolin	76.6±4.1	72.2±2.8	62.4 ±2.4
Chlorpyrifos	96.8±8.9	87.1±7.8	85.7 ±3.9
$\alpha$ -Endosulfan	82.7±5.3	54.3±5.5	112.0 ±4.4
$\beta$ -Endosulfan	82.5±11.1	93.6±11.1	135.9 ±17.0
EndosulfanSO <sub>4</sub>	88.0±14.4	86.9±11.0	126.9 ±24.6
Bifenthrin	88.2±8.3	95.6±18.1	89.7 ±17.0
Tetradifon	128.3±12.1	112.0±25.1	95.5 ±19.7
Cypermethrin	102.8±8.8	95.9±18.9	80.9 ±15.9
Fenvalerate	89.4±7.8	100.0 ±17.4	86.6 ±15.1

Data were means±standard deviations of 3replicate extractions.

89.4% 및 96.4%로 가장 높은 회수율을 나타냈으며 (Fig. 3), 이는 Lehotay 등<sup>9)</sup>이 보고한 감자에서의 추출압력320atm(CO<sub>2</sub>밀도 0.85 g/ml, 추출온도 65℃)에서 클로르피리포스, 엔도설판 및 빈크로졸린의 회수율 99-100%와 거의 일치하는 것으로 나타났다.

오이, 당근에 혼합표준용액을 첨가하여 최적 추출조건에서 추출하여 회수율을 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 배추, 당근 보다 비교적 수분이 많은 오이의 회수율을 측정 한 결과 비교적 낮은 회수율을 나타냈고, 당근의 경우  $\beta$ -카로틴 등의 coextractives 용출로 인하여  $\alpha$ -엔도설판,  $\beta$ -엔도설판 및 엔도설판설페이트의 경우 회수율은 각각112.0 ~ 135.9%로 비교적 높게 나타나 Pearce 등<sup>10)</sup>이 보고한 딸기에서  $\alpha$ -엔도설판,  $\beta$ -엔도설판 및 엔도설판설페이트의 회수율 96 ~ 110% 보다 다소 높게 나타났다.

## 결 론

10종의 농약 (클로르타노닐, 빈크로졸린, 클로르피리포스,  $\alpha$ -엔도설판,  $\beta$ -엔도설판, 엔도설판설페이트, 비펜스린, 테트라디폰, 싸이퍼메스린 및 펜발러레이트)을 배추에 첨가하여 SFE(Supercritical Fluid Extractor)로 추출한 후 분석한 결과, 추출압력 235bar(CO<sub>2</sub>밀도 0.69g/ml, 추출온도 75℃), 추출시간 33분(Static extraction 3min, Dynamic extraction 30min), ODS Trap 온도 20℃, CO<sub>2</sub>유속 4ml/min 및 Rinse 용매 Hexane 1.8ml로 하였을 때 가장 양호한 회수율을 얻을 수 있는 조건으로 나타

났다. 배추의 회수율은 76.6 ± 4.1 ~ 128.3 ± 12.1범위로 가장 높은 회수율을 나타냈으며, 오이는 64.3 ± 5.5 ~ 112.0±25.1% 였고, 당근은 62.4±2.4 ~ 135.9 ± 17.0%로 나타났다.

## 참 고 문 헌

1. Steven B. Hawthorne: Analytical - Scale Supercritical Fluid Extraction, Anal. Chem. 62, 633, (1990).
2. Joseph L. Hedrick, Leah J. Mulcahey, and Larry T. Taylor : Fundamental Review Supercritical Fluid Extraction, Mikrochim. Acta 108, 115, (1992)
3. Nadav Aharonson, Steven J. Lehotay, and Medina A. Ibrahim : Supercritical Fluid Extraction and HPLC Analysis of Benzimidazole Fungicides in Potato, Apple, and Banana. J. Agric. Food Chem. 42:2817(1994)
4. Steven J. Lehotay and Medina Ibaham: SFE and Gas Chromatography/ Ion Trap Mass Spectrometry of Pentachloronitrobenzene Pesticides in Vegetables. Journal of AOAC International, 78(2), 445, (1995).
5. T.L. Chester, J.d. Pinkston, and D.E. Raynie: Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, Anal. Chem. 64 153, (1992).

6. Jerry W. King, Janet M. Synder, Scott L. Taylor, and James H. Johnson: Translation and Optimization of Supercritical Fluid Extraction Methods to Commercial Instrumentation, *Journal of Chromatographic Science*, 31, 1, (1993).
7. Jerry W. King: Analytical Supercritical Fluid Extraction: Current Trends and Future Vistas *Journal Of AOAC International* ,75(3), 375, (1992).
8. S. Mark Lee, M.L. Papathakis, Hsiao-Ming C. Feng, G.F. Hunter, and J.E. Carr : Multipesticide residue method for fruits and vegetables, California Department of Food and Agriculture, *Fresenius' J. Anal. Chem.* 339,376-383 (1991).
9. Steven J. Lehotay, Nadav Aharonson, Emy Pfeil, and Medina A. Ibaham : Development of a Sample Preparation Technique for Supercritical Fluid Extraction for Multi-residue Analysis of Pesticides in Produce: *Journal of AOAC International* ,78(3), 831-840, (1995).
10. Karma L. Pearce, V. Craige Trenerry, and Stephen Were: Supercritical Fluid Extraction of Pesticide Residues from Strawberries : *J. Agric. Food Chem.*, 45,153-157,(1997).