

Gas Chromatography에 의한 農産物 中の Dichlorvos 分析에 대한 研究

食品安全性科

金教鵬·趙漢斌·權玉鉉·李德行

Analysis of Dichlorvos in Agriculture Products by Gas Chromatography

Food Safety Division

Gyeo Bung Kim, Han Bin Jo, Ok Hyun Kwon and Duk Haeng Lee

= Abstract =

A procedure is described for the determination of dichlorvos in agricultural products.

Standard solution and agricultural products were first extracted with solvents and then after column chromatography, and the elutes were determined by GLC.

Extraction efficiency of dichlorvos by petroleum ether and 20% dichloromethane-benzene were 76.5~84.6% and 64.5~80.5%, respectively.

緒 論

1989년 1월 農産物中の 殘留農藥 許容基準이 制定되어 1990년 1월 1일 부터 施行되어 오던 것이 1992年 1월 1日 부터 適用對象 農産物과 農藥種類가 擴大되어 總 53種의 農産物에 대하여 33종류의 農藥이 殘留許容基準을 適用받게 되었다.

基準에 추가, 적용된 農藥들 중 쌀 등 17종류의 農産物에 殘留許容基準이 制定되어 규제받게 된 農藥인 Dichlorvos(2,2-dichloro vinyl dimethyl phosphate)는 1955년 美國에서 개발한 低毒性 및 速效性的의 有機燐劑 殺蟲劑로 DDVP란 商標名으로 잘 알려져 있다^{1,2)}. 이 農藥은 自然分解가 빠르고, 殘留性이 짧아 農作物의 收穫直前に 많이 살포되고 있으며, 蒸氣壓이 높고 燻蒸作用이 있어 여러종류의 해충방제에 燻蒸劑로 널리 사용되고 있다^{3,4)}.

食品公典에 規程되어 있는 Dichlorvos의 殘留試驗方法은 다른 有機燐劑 農藥들과 同時에 分析하는 多成分 同時分析法(Multi residue analysis)으로 되어 있다⁵⁾. 그러나 Dichlorvos는 매우 不安定하고 揮發性이 크기 때문에 回收率이 낮고, GC로 分析時 머무름 시간(Retention time)이 짧아 妨害物質의 영향을 받기 쉽다⁶⁾.

이러한 要因들 때문에 Dichlorvos를 다른 農藥들과 同時에 分析하기가 不可能할 경우가 있으나, 現在 Dichlorvos의 殘留分析法은 日本의 農藥殘留分析法⁷⁾ 및 美國 FDA의 Pesticide Analytical Manual(PAM) 등⁸⁾에 일부 單成分分析法(Individual residue analysis)이 있으나 대부분은 多成分 同時 農藥分析法으로 되어 있다.

따라서 본 研究는 Dichlorvos 農藥이 1992년 부터 殘留 許容基準에 追加됨에 따라 現在 食品公典에 制定되어 있는 多成分試驗法을 檢討하고, 아울러 Dichlorvos를

單成分으로 分析時 回收率 및 再現性 등 試驗最適條件을 찾아내어 現行 食品公典에 制定되어 있는 試驗法과 比較, 檢討하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

市中에서 販賣되고 있는 사과, 오이, 배추 등 3種의 農産物을 求得하여 食品公典의 農産物 中 殘留農藥試驗法⁹⁾에 따라 檢체를 前處理하여 마쇄, 均일화한 것을 實驗材料로 使用하였다.

2. 試藥

1) Dichlorvos 標準溶液 : Dichlorvos 標準品 (Riedel社) 10 mg을 精밀히 달아 Acetone 100 ml에 溶解하여 만든 標準原液 (100 ul/ml)을 Acetone으로 稀釋하여 使用하였다.

2) Activated carbon (Darco G-60, Column chromatography用 : Aldrich, U.S.A), Cellulose (Microcrystalline, Column chromatography用 : Merk, Germany), Silicagel (Wakogel S-1, Column chromatography用 : Wako, Japan)을 使用하였으며 使用한 溶媒는 모두 殘留農藥分析用으로 Acetone, Benzene, Petroleum-ether는 Wako社, Ethyl ether, Dichloromethane은 Riedel社 製品을 使用하였다.

3. 器機

· Gas chromatograph: Autosampler (HP 7673A)와 Integrator (HP 3392A)가 부착된 Nitrogen-Phosphorous detector-GC (HP 5890: U.S.A)

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

4. 實驗方法

農産物 中의 Dichlorvos의 實驗方法은 그림 1과 같으며, GC로 定量할 때의 GC의 條件은 표 1과 같다.

1) 分配溶媒에 의한 精製

사과, 오이, 배추 등 3種의 實驗材料에 Dichlorvos 標準溶液 (1 µg/ml) 1 ml를 각각 添加한 후, Pet. ether에 의한 抽出과, 食品公典⁹⁾의 有機磷劑 多成分試驗法과 같이 20% Dichloromethane 함유 Benzene 100 ml에 의한 抽出 등 두가지 方法으로 dichlorvos를 抽出한 다음 그림 1과 같이 實驗하였다.

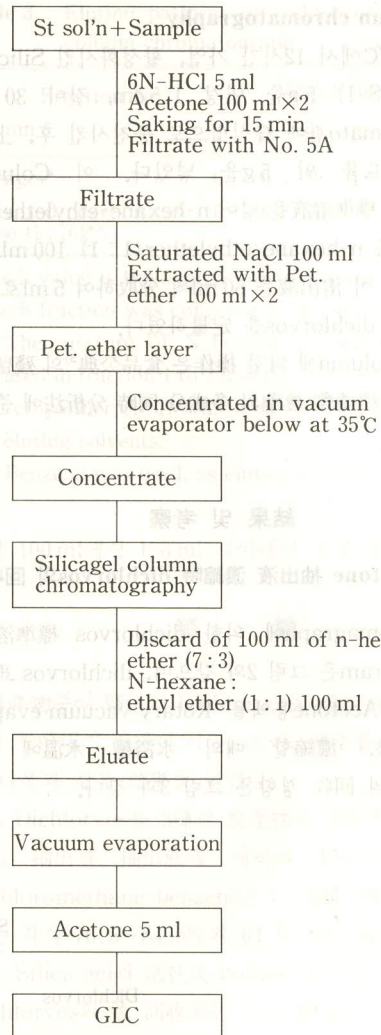


Fig. 1. Flow chart for determination of dichlorvos in agricultural products.

Table 1. Conditions of gas chromatograph.

Items	Conditions
Column	SPB™-608 fused silica capillary column, 30 m×0.53 mm ID
Injector temp.	210°C
Detector temp.	240°C
Oven temp.	180°C
Carrier gas, flow rate	N ₂ , 5 ml/min
H ₂ gas flow rate	3.5 ml/min
Air flow rate	110 ml/min
Injection volume	2 ul
Detector	NPD

2) Column chromatography

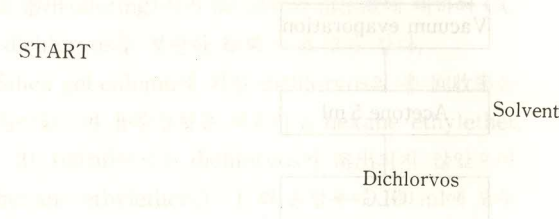
미리 130°C에서 12시간 가열, 활성화시킨 Silica gel (Wacogel S-1) 5g을 내경 1.5 cm, 길이 30 cm의 Glass chromatop관에 습식법으로 충전시킨 후, 上部에 무수황산나트륨 약 5g을 넣었다. 이 Column에 dichlorvos 標準溶液을 넣어 n-hexane-ethylether (7 : 3) 100 ml와 n-hexane-ethylether (1 : 1) 100 ml로 溶出하였다⁵⁾. 이 溶出液을 50 ml씩 分取하여 5 ml로 濃縮하여 GC로 dichlorvos를 定量하였다.

活性炭 Column에 의한 操作은 食品公典⁵⁾의 殘留農藥 試驗法중 有機磷劑 農藥의 多成分 同時 分析法에 準하여 實驗하였다.

結果 및 考察

1. Acetone 抽出液 濃縮時 dichlorvos의 回收

Gas chromatograph에 의한 dichlorvos 標準溶液의 chromatogram은 그림 2와 같으며, dichlorvos 표준용액을 넣은 Acetone용액을 Rotary vacuum evaporator로 減壓, 濃縮할 때의 水浴槽 水溫에 따른 dichlorvos의 回收 경향은 그림 3과 같다.



RUN # 3
 WORKFILE ID: C
 WORKFILE NAME:
 SAMPLE # 1

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
1.76	243220	D BB	0.031	8.237
2.08	2185800	PB	0.171	74.025
3.27	469180	BV	0.102	15.889
3.58	54590	VB	0.165	1.849

TOTAL AREA=2952800
 MUL FACTOR=1.0000E+00

Fig. 2. Chromatogram of dichlorvos standard solution.

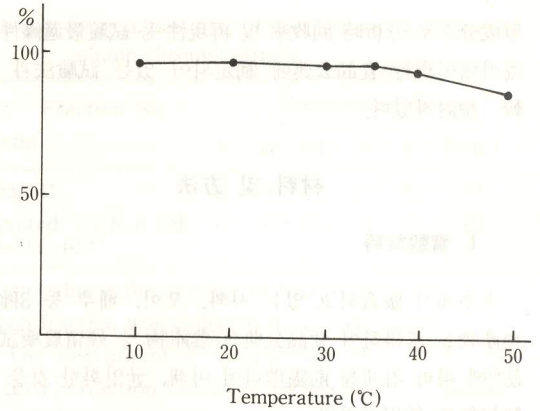


Fig. 3. Recovery rate dependence upon temperature of water bath with vacuum evaporator.

그림 3에서와 같이 水浴槽의 水溫이 40°C 以上인 경우 dichlorvos의 損失이 일어나는 것으로 나타났다.

Dichlorvos는 揮發性이 강하기 때문에 分析할 때 diethylene glycol, acetophenone 또는 paraffin 溶液을 keeper Solution으로 가한 후 減壓, 濃축하는 方法^{5,6)}도 있으나 本 實驗에서는 35°C 以下에서는 Dichlorvos의 回收에 影響이 없는 것으로 나타났다.

2. 分配溶媒에 의한 抽出效率

Dichlorvos 標準溶液을 사과, 오이, 배추 등 3種의 農產物에 添加하여 acetone으로 抽出한 후, 抽出液에 대하여 pet. ether와 20% dichloromethane-benzene으로 각각 溶媒分配시킨 후의 抽出效率는 표 2와 같다.

3種의 農產物에서 pet. ether에 의한 抽出效率는 76.5~84.6% 범위였으며, 20% dichloromethane-benzene에 의한 抽出效率는 64.5~80.5%로, Pet. ether에 의한 抽出效率가 약간 높은 경향을 나타내었으며, 農產物別로는 배추의 抽出效率가 가장 낮은 것으로 나타났다.

試料 抽出液에는 色素와 油脂 등의 天然物質이 含有되어 있기 때문에 農藥分析時 通常 이를 除去하는 操作을 거치게 되어 있으며, 보통 有機溶媒에 의한 抽出方法이 많이 使用되어지고 있다. 이때 使用되는 極性溶媒는 물에 溶解되기 쉬운 混在物 즉 水溶性物質을 잘 除去시켜야 하고, 液層의 分離가 良好하며, 또한 目的하는 成分의 抽出效率가 좋아야 한다. dichlorvos는 휘발성이 강하여 보통 分析時 回收率이 낮으나, 本 實驗의 pet. ether에 의한 抽出效率는 비교적 良好한 것으로 나타났다.

農藥을 多成分試驗法으로 定量할 때에는 통상 抽出效率은 낮아도 混在物이 적게 抽出되는 方法을 많이 使用하며, 回收率이 80% 정도이면 충분하다고 한다⁶⁾. 따라서 본 實驗의 dichloromethane-benzene의 混合溶媒에 의하여 다른 有機磷劑 農藥들과 同時에 dichlorvos를 抽出하는 方法을 適用하는 것에 問題는 없다고 생각한다.

Table 2. Extraction efficiency of dichlorvos added to samples partition step by different solvents.

Partition solvents	Added (1 µg/ml)	Extraction efficiency (%)		
		Apple	Cucum-ber	Cabbage
Petroleum ether	1 ml	84.6	81.8	76.5
20% dichloromethane-Benzene	1 ml	78.2	80.5	64.5

Each value is the average of twice experiment.

3. Column chromatography

Dichlorvos 標準溶液을 silicagel과 activated carbon-cellulose(1 : 10) 등 두가지 충전칼럼에 넣은 후 溶媒로 溶出(eluting)시켜 50 ml씩의 溶出液에 대하여 GC로 dichlorvos를 精량한 結果는 표 3과 같다.

Silica gel column에 의한 dichlorvos의 총 回收率은 89%이었으며 용출경향은 처음의 n-hexane-ethylether (7 : 3) 100 ml에서는 dichlorvos가 溶出되지 않았으며 n-hexane-ethylether (1 : 1)의 혼합용매 100 ml에 모두 溶出되었다.

Column chromatography는 固定相과 移動相(溶出溶媒) 間에 成分의 吸·脫着(分配)이 연속적으로 일어나는 현상을 利用하여 試料 中の 成分을 分離하는 操作으로, 먼저 極性溶媒의 比率이 적은 溶媒로 쉽게 溶出되는 成分을 용출시켜 버리고 이어 目的成分을 용출시키는 데 필요한 極性溶媒로 용출시키는 方法을 이용한다. 따라서 silica gel column에 의한 정제조작에서는 처음의 溶出溶媒인 n-hexane-ethylether (7 : 3) 100 ml로 吸着이 잘 안되는 混在物질을 排除하고 다음의 溶媒로 dichlorvos를 分劃하여 精량하면 쉽게 溶出이 되는 妨害物質 즉 油脂나 黃色色素 등을 除去할 수 있다고 생각된다.

食品公典의 活性炭 精製操作에 의한 총 回收率은 silica gel column에 의한 回收率과 비슷한 87%로 溶出

Table 3. Elution patterns of dichlorvos by different column chromatograph.

Column	Fraction No.	Recoveries (%)					Total
		I	II	III	IV	V	
Silicagel*		0	0	72	17	0	89
Activated carbon-cellulose (1 : 10)**		0	6	81	0	0	87

Each value is the average of two times.

Each fraction was collected from every 50 ml.

*The mixture of N-hexane-ethylether (7 : 3) was used in fraction 1 to 2 and the mixture of N-hexane-ethylether (1 : 1) was used in fraction 3 to 5, as eluting solvents.

**Benzene was used, as eluting solvent.

溶媒 100 ml에서 150 ml 사이에서 전부 溶出되었다.

結 論

農産物중에 殘留된 Dichlorvos를 分析하기 위한 最適條件 찾아내기 위하여 사과, 오이, 배추를 使用, 實驗하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Dichlorvos를 3種의 農産物에 添加하여 Acetone으로 抽出한 抽出液에 대하여 Pet. ether와 20% Dichloromethane-benzene으로 溶媒分配시킨 抽出效率은 각각 76.5~84.6%와 64.5~80.5%의 범위였다.

2. Silica gel과 活性炭 column에 의한 정제조작에서 Dichlorvos의 총 回收率은 각각 89%와 87%였다.

參 考 文 獻

1. 농약공업협회 : '91 농약사용지침서 (1991).
2. Michael A. Gallo, Nicholas J. Lawryk: Organic Phosphorus Pesticides, Handbook of Pesticide Toxicology Academic Press, New York, p. 990 (1991).
3. 梁恒承, 李斗珩, 李升燦 : 新農藥. 鄉文社, p. 270 (1990).
4. 朴昌奎, 洪鍾旭 : 農藥總覽. 東信出版社, p. 247 (1988).
5. 食品公典 : 保健社會部, (1990).
6. 柳弘一, 李海根, 金盛煥 : 農藥殘留分析方法. 東和技術, (1991).

7. 日本食品分析 Center : 残留農薬分析法. 東京, p. 99 (1972).

Analytical Manual. Vol II. Pesticide Reg. Sec. p. 180 (1985).

8. U.S Food and Drug Administration: Pesticide

Analysis of Food Additives

High Performance Liquid Chromatography

Saccharine, p-Hydroxy Benzoic Acid

Caffeine and Benzoic Acid

Each fraction was collected from every 10 ml. Each value is the average of two times.

The mixture of N-hexane-ethyl ether (1:3) was used in fraction 1 to 3 and the mixture of N-hexane-ethyl ether (1:1) was used in fraction 1 or 2 as a Young Zuo (Chao) was used as a carrier agent.

Retention Time (min)	Peak No.	Compound
8.2	1	Saccharine
8.5	2	p-Hydroxy Benzoic Acid
8.8	3	Caffeine
9.2	4	Benzoic Acid

Figure 1: HPLC chromatogram showing the separation of saccharine, p-hydroxy benzoic acid, caffeine, and benzoic acid. The x-axis is retention time in minutes, ranging from 0 to 10. The y-axis is detector response. Four distinct peaks are observed at approximately 8.2, 8.5, 8.8, and 9.2 minutes, corresponding to the compounds listed in the table above.

結 語

1. Dichlorvos를 3%의 농도로 첨가하여 30% 추출을 실시하였다. 이 때, 추출 효율이 80% 이상으로 나타났다. 2. Saccharin을 0.5-8.5% 범위에서 30%의 농도로 첨가하여 80% 이상으로 나타났다. 3. Saccharin을 0.5-8.5% 범위에서 30%의 농도로 첨가하여 80% 이상으로 나타났다.

1. Dichlorvos를 3%의 농도로 첨가하여 30% 추출을 실시하였다. 이 때, 추출 효율이 80% 이상으로 나타났다. 2. Saccharin을 0.5-8.5% 범위에서 30%의 농도로 첨가하여 80% 이상으로 나타났다. 3. Saccharin을 0.5-8.5% 범위에서 30%의 농도로 첨가하여 80% 이상으로 나타났다.

참 문헌

1. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
2. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
3. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
4. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
5. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
6. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).

1. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
2. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
3. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
4. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
5. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).
6. J. A. Nichols, J. L. Sargent, Organic Pesticides Handbook of Pesticide Toxicology, Academic Press, New York, p. 990 (1991).