

## 잔류농약의 액체 크로마토그래피 분석법 개발에 관한 연구(II): Thiocarbamates 제초제의 잔류농약 분석법 개발

李大云\* · 崔錄旭

연세대학교 이과대학 화학과  
(1991. 7. 5 접수)

### Studies on the Development of Liquid Chromatographic Methods for Pesticide Residues (II): The Development of the Analytical Method for Thiocarbamates Herbicides

Dai Woon Lee\*, Yong Wook Choi

Department of Chemistry, Yonsei University, Seoul 120-794, Korea

(Received July 5, 1991)

**요 약.** HPLC로 11종의 티오카바메이트들의 다성분 동시분석법을 연구하였다. 배추시료에 넣은 티오카바메이트는 추출, 분배, 세척 및 분리-검출의 단계로 분석되는데, 추출용매로서는 아세톤을 선택하였고, 분배용매로서는 50% 염화메틸렌/석유에테르 혼합용매가 좋은 회수율을 보였다. 분배효율은 물층의 pH 영향을 받는데 산성 혹은 중성에서는 영향이 없으나 염기성에서는 감소하였다. 세척단계에서 공추출물의 제거효율은 응고액 처리법 보다는 컬럼 크로마토그래피법이 우수하였다. 흡착제로는 활성탄/마그네시마/셀라이트 1/2/4)의 흡착제가 좋은 효율을 보였으며, 클로로포름도 효과적으로 제거되었다. 이 방법으로 배추에 있는 2 ppm 정도의 티오카바메이트의 동시 분석의 결과는 평균회수율이 91%, 상대표준편차가 약 8%, 검출한계가 2.2~9.3 ng이었다.

**ABSTRACT.** A method for the multiresidual simultaneous analysis of 11 thiocarbamates was studied using HPLC. Thiocarbamate in Chinese cabbage was analyzed in the order of extraction, partition, and cleanup in their optimum condition. Acetone was chosen as an extracting solvent. As a partitioning solvent, the mixture of 50% methylene chloride and petroleum ether containing extremely small water content showed good recoveries of thiocarbamate from the water layer. Partition efficiency was affected by pH of the water layer; it remained almost constant under the acidic and neutral condition while decreasing under the basic condition. The comparison done in cleanup step showed that the column chromatographic method is superior to the treatment of coagulating reagent. As an absorbent, the mixture of charcoal, magnesia, and celite with the ratio of 1:2:4 gave better recoveries and also effectively removed chlorophyll. Over the total procedure, the average recoveries for thiocarbamates in Chinese cabbage were 91% at about 2 ppm fortification level within the relative standard deviation of 8%, and the minimum detection limit (MDL) was 2.2~9.3 ng.

#### 서 론

농약은 병충해 및 잡초의 영향으로 부터 농작물을 보호함과 동시에 농작업의 효율화, 농작물의 증산과 품질 향상을 도모하는 목적으로 사용되어 왔다. 농약은 화학구조적으로 적용되는 농작물에 따라 다양

하게 분류되며 그 종류도 수백가지에 이르게 되었다. 그러나 근래 들어와 이들의 잔류성 및 만성독성이 알려짐에 따라 안전성에 대한 재평가를 하게 되고 잔류농약이라는 새로운 문제를 야기시키게 되었다<sup>1,2</sup>. 농작물에 살포된 농약은 강우로 소실되거나 증발,

광분해 및 식물체내의 미생물에 의해 분해 소실되지만 극미량은 수확물 중에 잔류된다. 따라서 잔류성이 큰 DDT, BHC와 같은 유기염소계 농약의 생산 및 사용이 금지되었고, 잔류성이 적은 유기인제, 카바메이트계 농약의 사용량이 증가하는 추세를 보이고 있다<sup>3</sup>.

티오키카바메이트(thiocarbamate)는 티올카바메이트(thiolcarbamates)라고도 하는데 그 이유는 모체 분자인 카르바미산(carbamic acid,  $\text{NH}_2\text{COOH}$ ) 중에서 카르보닐기에 있는 산소원자가 아닌 -OH기에 있는 산소원자가 황으로 치환된 형태이기 때문이다<sup>3</sup>. 기존의 티오키카바메이트류 제조제들은 약 12종이 있는데 4종만이 벤젠고리를 지니고 있고, 나머지는 알킬기로 치환되어 있다. 대부분의 티오키카바메이트류들은 동물에 대한 급성독성은 대체로 나타내지 않고 있고,  $\text{LD}_{50}$ 가 molinate에서 500~729 mg/kg, butylate에서 4700 mg/kg 정도의 값을 나타내었다<sup>4</sup>.

티오키카바메이트계 농약에 대한 잔류농약분석법은 유기인제, 유기염소계 및 카바메이트계 농약만큼 많이 알려져 있지 않다. AOAC에서 EPTC를 비롯한 6종의 티오키카바메이트를 GC-FID로 측정하였는데, 이것은 단일 성분만을 분석하기 위한 조건이었으며 다성분 동시 분석을 위한 조건은 아니었다<sup>5</sup>. EPA에서 페주 중 butylate, cycloate, EPTC, molinate, pebulate 및 vernolate의 6종의 티오키카바메이트를 GC/AFD로 정량하는 분석법을 개발하였다<sup>4</sup>. 여기서 티오키카바메이트류의 MDL(method detection limit)은 0.6~0.6  $\mu\text{g/l}$ 의 범위를 나타내었고, 5~50  $\mu\text{g/l}$ 의 범위를 나타내었고, 5~50  $\mu\text{g/l}$ 의 농도범위에서 평균 85%의 회수율을 나타내었다. 한편 Alexandrova들은 실험적으로 제작한 용기내의 공기에 있는 우리아, 카바메이트 및 티오키카바메이트를 TLC 및 GLC로 분석하였다<sup>24</sup>.

Ambrus들<sup>6</sup>은 유기인제, 유기염소계, 카바메이트계, 티오키카바메이트계, 우리아, 트리아진 및 그외 농약을 대상으로 곡물, 토양 및 물의 시료 중에서 이들을 추출, 분배, 정제 및 정량하는 방법을 제시하였다. Grover들<sup>7</sup>은 티오키카바메이트의 일종인 triallate를 계절별로 채취하여 GC/ECD 및 GC/AFID로 정량하였다. 공기 중의 시료를 채취하기 위해 흡착제로서 폴리우레탄 포움을 사용하였고, 5월부터 11

월까지 매일 채취하여 측정한 결과 triallate 최대 살포시기인 5월에 대기 중 농도가 1978년과 1979년에 각각 200 및 100  $\text{ng/m}^3$ 으로 최대농도 함유량을 나타내었음을 보고하였다.

한편 Sparachino들<sup>8</sup>은 약 30여종의 카바메이트계 통의 농약을 정상 및 역상 액체 크로마토그래피를 이용하여 자외선 검출기로 측정하였고, MDL를 결정하였다. Heras들<sup>9</sup>은 HPLC에서 카바메이트 계통의 제조제를 분석하기 위한 최적조건을 제시하였고, 또한 triallate를 대상으로 자외선-가시광선 검출기를 이용한 측정에서 내부 표준물질로 di-n-pentyl phthalate를 이용한 내부 표준물질법(internal standard method)과 바깥 표준물질법(external standard method)에서 만족한 결과를 얻었고, 정확성과 정밀성을 비교하였다<sup>10</sup>.

따라서 이 연구에서는 최근 연구동향에 비추어 볼 때 개발의 여지와 활용성이 큰 액체 크로마토그래피를 선택하여 농산물에 잔류되는 다성분의 티오키카바메이트계 제조제의 분리-분석법을 연구함으로써 농약분석 및 잔류농약분석법을 확립하는데 그 목적을 둔 분리-분석에 관한 기초자료를 제공하였다.

## 실 험

**측정기기.** 이 연구에서 사용된 크로마토그래프는 Waters Associates Liquid Chromatograph로서 펌프는 M-45 Solvent Delivery System, 검출기는 M-440 Absorbance Detector(254 nm), Spectromonitor III(220 nm, LDC, Inc.), CMX-20 Amperometric detector(Chromatix, Inc.) 및 Fluorescence detector Model 420-AC를 필요에 따라 단일 또는 이중으로 연속연결하여 사용하였고, 시료 주입장치는 M-U6K Universal injector이며, 기록계는 Omniscrite recorder(Bausch & Lomb), 적분계는 Chromatopac C-R6 A(Shimadzu)를 부착하여 사용하였다.

**시료농약.** 이 실험에서 사용한 11종의 티오키카바메이트 시료농약은 1) S-(4-chlorophenyl)methyl-dimethylthiocarbamate, 2) S-(4-chlorophenyl)morpholine, 3) S-(4-chlorophenyl)methyldiethylthiocarbamate, 4) 4-chlorophenylmethylmercaptocarbonylmorpholine, 5) S-(4-chlorophenyl)methyl-1,1-

dimethylethylthiocarbamate, 6) S-(4-chlorophenyl)methyl-1-methylpropylthiocarbamate, 7) phenylmethylmercaptocarbonylmorpholine, 8) S-ethyl-4-methylphenylthiocarbamate, 9) S-ethyl-4-ethylphenylthiocarbamate, 10) S-ethyl-2-methyl-4-nitrophenylthiocarbamate, 11) S-ethyl-3-chloro-6-methylphenylthiocarbamate이다. 이상의 농약은 국내 모 연구소에서 합성한 것으로 모두 순수한 메탄올에 녹여서 조제하였고, 농도는 각각 약 500 ppm씩 제조한 것을 10배 및 100배씩 희석하여 사용하였다.

**흡착제 및 응고액.** 혼합흡착제는 AOAC법<sup>1)</sup>에 근거하여 제조하였다. 활성탄, 마그네시아 및 Celite 545를 각각 1:2:4의 비율로 섞어 진탕하여 데시케이터에 보관 후 사용하였다.

응고액은 염화암모늄 20 g과 85% 인산용액 40 ml를 증류수로 용해시켜 1 l로 만들어 모액으로 하였다. 응고액으로 처리할 때 모액을 10배로 희석하여 응고액으로 사용하였고, 5배로 희석한 액을 세척액으로 사용하였다.

**이동상 및 정지상.** 이동상으로는 2회 분별 증류를 거친 메탄올, 아세트니트릴(BDH) 및 테트라히드로부란(Burdick and Jackson)을 Milli-Q 초순수 제조장치를 통과한 물과 적당한 부피비로 혼합하여 사용하였다. 모든 이동상중 유기용매는 0.5  $\mu\text{m}$  유기 거름종이(millopore)를, 물은 0.45  $\mu\text{m}$  수용성 거름종이(Millipore)를 각각 통과시킨 후, 부피비로 혼합하여 1시간 정도 평형을 유지시킨 다음 초음파 진동기로 약 10분간 진동시키고, 실온에 방치하였다가 사용하였다.

정지상은 Spherisorb ODS 컬럼(LDC, 25 cm $\times$ 4.6 mm I.D.)이며, 충전제의 입자반경은 5  $\mu\text{m}$ 인 것을 사용하였다.

**진류농약 분석법.** 배추 시료 50 g을 잘게 썰어 150 ml의 아세톤을 용매로 하여 homogenizer jar에서 30초간 갈아낸 다음 Büchner 깔대기로 여과시키면서 500 ml 아세톤으로 세척한다. 여과액을 정확히 반으로 나누어 분배과정에서 사용한다.

여과액을 테프론 록이 달린 500 ml 분액깔대기에 넣고 5% 염화나트륨 수용액을 200 ml 첨가한다. 50% (v/v) 염화메틸렌/석유에테르의 혼합분배액을 50 ml 취하여 분액깔대기에 넣고 2분간 진탕한 다음

정지시킨다. 수층을 다른 500 ml 분액깔대기로 옮긴 다음 50 ml 혼합분배액을 첨가하여 한번 더 분배시킨다. 수층을 버리고 혼합분배층을 모은 다음 무수황산나트륨 약 5 g을 가하여 물을 제거한다. 250 ml 등근 플라스크로 옮겨 담아 회전증발기에서 항온조의 온도를 약 30 $^{\circ}\text{C}$ 로 유지하면서 약 1 ml 이하까지 농축시킨다. 건조된 질소를 서서히 불어 넣으면서 분배액을 완전히 휘발시킨다. 10% 염화메틸렌/헥산 5 ml로 농축물을 용해시킨다.

테프론 록이 달린 빈 컬럼을 10% 염화메틸렌으로 세척하고 약 5 ml를 남기고 록을 막아준다. 무수황산나트륨 약 2 g을 채운다. 혼합흡착제 5 g을 평량하여 100 ml 비이커에 넣고 10% 염화메틸렌 30~50 ml로 슬러리 충전한다. 충전된 혼합충진제 상단에 무수황산나트륨 2 g을 충전한 다음 벤젠, 아세트니트릴, 벤젠/아세트니트릴(1:1) 및 10% 염화메틸렌 순으로 컬럼을 세척한다. 농축액을 컬럼 상단으로부터 서서히 흘려주면서 컬럼에 흡착시킨다. 탈착 용매로 벤젠/아세트니트릴(1:1)을 50 ml 흘려준다. 회전 증발기로 약 0.5 ml 메탄올로 농축물을 용해시키고, 시료여과기구로 여과시킨 다음 HPLC에 주입하였다.

이동상 최적 분리조건인  $\overline{\text{COF}}$ (메탄올:아세트니트릴:물=29.5:21.5:49.0)에서 0.9 ml/min의 유속으로 Spherisorb ODS 컬럼을 평형이 이루어도록 한 다음 실온에서 5  $\mu\text{l}$ 씩 주입하여 검정곡선에 의거 정량하였다.

## 결과 및 고찰

수많은 시료성분으로부터 원하는 목적성분만을 가려내는 작업인 screening 과정과 본 연구에서의 잔류농약 분석과정에 대한 흐름도(Flow chart)는 Fig. 1과 같다. 즉, 추출(extraction)-분배(partition)-정제(cleanup)-확인(identification) 및 정량(determination) 과정이다.

### 추출

Ambrus들은 시료의 특성에 따라 8집단으로 구분하여 추출 또는 정제과정을 서로 다르게 변형사용하였다<sup>6</sup>. 시료로부터 목적성분을 추출해 내는 효율을 측정하는 일반적인 방법은 방사화학적 방법

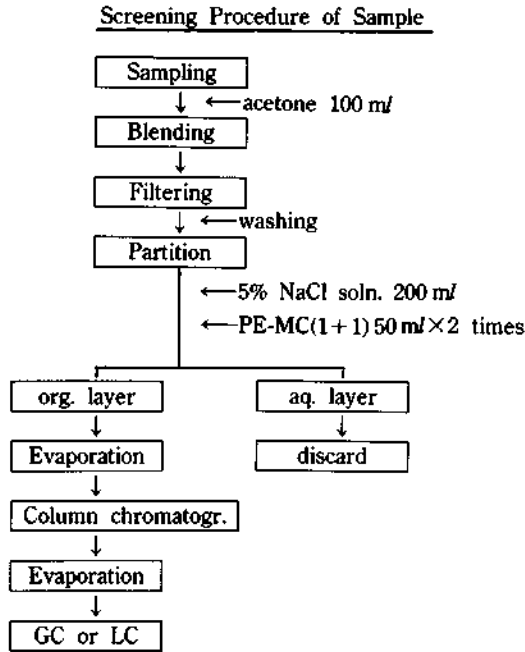


Fig. 1. Flow chart of screening and analysis.

을 이용하는 것으로 치환시킨 목적성분을 선택적으로 추적하여 측정하는 것이다. Wheeler<sup>12</sup>들은 겨자 잎과 홍당무로부터 Carbaryl의 추출용매로서 메탄올, 아세토니트릴 및 아세톤을 사용하였을 때 carbaryl을 이용하여 추출효율을 측정하였는데, 그 결과 메탄올이 가장 우수하였고, blend-leach 과정보다는 blend-soxhlet에서 큰 추출효율을 나타내었음을 보고하였다. 유기염소계 농약을 식물로부터 추출하는데 효율이 큰 순서로 추출용매를 나열하면 water-miscible > water-miscible-water-immiscible combination > water-immiscible 순으로 감소함을 보고 하였으나, carbamates 계통의 농약에서는 동일한 양상을 나타내지는 않았다<sup>13</sup>. 메틸아세테이트, 메틸렌클로라이드, 클로로포름 등이 사용되었으나 여러 가지 연구결과 acetonitrile이나 에탄올-물 시스템이 식물로부터 카바메이트 계통의 농약을 추출하는 데에는 효율적임을 보고하였다<sup>13</sup>. 시료로부터 목적성분을 추출하는 water-miscible 용매로는 아세토니트릴, 아세톤 및 메탄올이 있다. Krause들은 곡물 중의 메틸카바메이트 살충제를 추출하는 최적용매로서 메탄올을 선택하였다<sup>14</sup>.

이 연구에서는 배추시료로부터 티오카바메이트를

추출하는 용매로써 아세톤을 선택하였다. 그 이유는 메탄올에 대한 티오카바메이트의 용해도를 살펴본 결과 약 500 ppm 이상에서는 완전히 용해되지 않았고, 이와 같은 현상은 *n*-헥산에서도 비슷한 현상을 볼 수 있었다. 아세톤은 아세토니트릴에 비해 독성이 덜하고, 정제하기 쉬우며 증발이 빠르며, 저렴하다는 장점이 있으므로 아세톤을 추출용매로 선정하였다.

**분 배**

추출용매인 아세톤으로부터 티오카바메이트만을 분리해 내는 과정을 수행하기 위해서는 함께 추출된 방해성분을 제거해야 한다. 친수성 물질을 제거하기 위해 아세톤을 과량의 5% NaCl 수용액을 첨가하며 소수성이 큰 유기용매에 분배시켜 티오카바메이트를 유기용매 층으로 분배시키는데 가장 효율이 좋은 용매를 선택하여야 한다. 이에 대한 예비실험으로 2 ml 용량의 9개의 바이엘에 0.5 ml의 물을 넣고 약 20~100 ppm이 되는 혼합시료를 각 바이엘에 20 μl씩 주입하였다. 바탕실험을 하기 위해 다른 9개의 바이엘에는 메탄올만 20 μl씩 주입하였다. 분배용매로는 용매의 선택성 집단에 따라 I족부터 VIII족 중의 용매를 선정하였고, 비선택성 집단에 있는 이소옥탄, *n*-헥산 및 석유에테르를 선택하여 각 바이엘에 0.5 ml씩 첨가하여 분배시킨 후 약 30분간 평형을 유지시켜 유기층으로 분배된 티오카바메이트의 농도를 GC/NPD로 정량하였다. 이 때 사용된 내부 표준물질로는 NPD와 ECD에 함께 검출되면서 티오카바메이트의 피크와 중첩되지 않은 물질로서 오르토-클로로니트로벤젠을 선택하였다. 주된 검출기로는 NPD를 사용하였고, ECD로는 성분확인 및 불순물의 존재 여부를 상대적으로 피크위치와 피크 넓이의 비로서 비교하였다. Table 1은 분배용매의 종류에 따른 티오카바메이트류의 분배효율 및 각 피크의 GC컬럼에서의 머무름 시간을 나타내었다. 1회 분배시 가장 큰 효율을 나타낸 용매가 메틸렌클로라이드로서 평균회수율이 약 60%이었다. 메틸렌클로라이드는 함수율이 높기 때문에 석유에테르를 섞어주면 함수율이 적게 되면서 분배가 이루어진다. 따라서 이 연구에서는 메틸렌클로라이드와 석유에테르를 1:1로 동일한 비율로 혼합하여 분배용매로 사용하였다.

녹색식물에서 추출 및 분배시 함께 유기층으로

Table 1. Partition efficiency of eleven thiocarbamates with single extractant (n=2)

Compound No.	$t_{R, min}$	Recovery (%)								
		Isooctane	n-Hexane	P-ether	Ethylether (I)	n-Octanol (II)	Methylene chloride(V)	Ethyl acetate(VIa)	Xylene (VII)	Chloroform (VIII)
1	12.93	44	48	83	59	57	109	38	43	75
2	13.62	46	66	93	97	57	108	41	40	77
3	17.91	47	57	91	92	44	96	37	51	77
4	12.64	55	63	105	31	66	41	52	63	31
5	14.10	52	62	95	31	59	38	46	59	32
9	15.43	47	61	91	99	54	104	42	48	86
11	10.54	53	59	85	23	61	23	41	58	29
12	11.74	39	41	66	31	40	32	44	52	28
13	12.14	53	43	88	12	50	12	38	61	16
14	11.59	14	14	22	74	57	83	34	55	59
15	12.43	75	59	105	14	54	18	49	79	20
mean		48	52	55	51	54	60	42	55	48

분배되는 방해물질 중 대표적인 것은 클로로필과 카로틴이다<sup>15</sup>. 이 실험에서도 클로로필의 분배현상을 관찰되었다. 클로로필은 대체로 a, b, c 및 d로 구분되는데, 알코올이나 에틸아세테이트 및 벤젠 등에 용해도가 크다. 고등식물이나 녹조류에 클로로필 a : b가 약 3 : 1의 비율로 섞여 있는 것으로 보고되었다<sup>16</sup>. 클로로필의 구조는 중심의 마그네슘이 4개의 질소원자로부터 주원자가 및 부원자가의 결합으로 이루어진 유기금속 화합물이다. 이것의 화학적 성질로는 염기성에서 가수분해하여 클로로필의 phytyl-ster기가 나트륨 또는 칼륨염으로 치환되는데 이것을 chlorophyllins이라하며, 수용성인 물질로 된다. 또한 산성(pH>2.5)에서는 pheophytin으로 변하며 중심의 마그네슘이 수소로 치환된 형태이다. 클로로필 자체의 색깔은 짙은 녹색을 띠고 있지만 액성이 산성이 되거나 빛이나 공기 중에 방치하면 황색인 pheophytin으로 변한다<sup>17</sup>. 이 실험에서도 배추로부터 아세톤 추출물의 존재를 확인하기 위해 아세톤에 50% 염산을 몇 방울 가하면 짙은 녹색이 모두 황색으로 변하였으며, 80% 아세톤의 바탕용액에서 UV-VIS 분광광도계로 측정한 결과 Vernon<sup>18</sup>이 측정한 클로로필 a 및 페오피틴 a의 스펙트럼과 정확히 일치하였다. 클로로필을 제거하기 위해 수층의 액성을 각각 0.1N- 염산용액과 0.1N 수산화나트륨 용액으로 pH 2.5~10.5까지 변화시키면서 티오카바메이트가 50%의 메틸렌클로라이드/석유에테르 층

Table 2. Change of partition efficiency for thiocarbamates selected on pH

Compound No.	Conc. fortified (µg/ml)	pH				
		1.0	2.5	7.0	10.5	13.0
1	0.13	95	106	93	100	-
3	0.07	115	114	101	102	-
4	0.13	103	101	100	111	-
7	0.13	96	128	108	81	-
10	0.04	125	104	92	56	-
mean		107	111	99	91	

으로 분배되는 효율을 측정하였다. Table 2에서 알 수 있는 것과 같이 수층의 액성이 산성-중성까지는 평균 99~111%까지 티오카바메이트가 거의 모두 유기층으로 분배되는 것을 볼 수 있었으나, pH 10.5에서는 티오카바메이트 No. 7과 10의 추출효율이 급격히 감소하였다. 이것은 N-페닐티오카바메이트들이 염기성에서는 가수분해를 일으키기 때문인 것으로 생각된다. 0.1N-수산화나트륨 용액에서는 티오카바메이트를 검출할 수 없었는데, 그것은 아마도 이러한 용액상태에서 비누화 반응(saponification)을 일으켜 모든 티오카바메이트들이 분해되었기 때문인 것으로 판단된다. 한편 이러한 조건하에서도 클로로필은 여전히 유기층으로 분배되기 때문에 수층의 pH조절만으로 클로로필의 제거는 불가능하였으므로 다른 방법으로 Holden에 의해 제안되었던 응고액

Table 3. Comparison between treatment of coagulating reagent and mixed adsorbent in the cleanup step

Cpd. No.	Quantity formulated(μg)	Coagulating reagent	Mixed adsorbent
7	23	87	97
8	23	75	96
9	23	89	92
10	23	100	90
11	24	95	90
mean		89	93

Table 4. R<sub>f</sub> range of eleven thiocarbamates on TLC in various developing solvent

Developing solvent*	Selectivity group	R <sub>f</sub> range	No. of component
50% Et <sub>2</sub> O	I	0.16~0.79	4
25% Et <sub>2</sub> O	I	0.00~0.50	7
50% CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	V	0.01~0.44	6
50% THF	V	0.56~0.89	3
50% EtOAc	VIa	0.41~0.84	2
25% EtOAc	VIa	0.16~0.66	5
50% CHCl <sub>3</sub>	VIII	0.00~0.34	5

\*n-Hexane based.

처리를 하였다<sup>19</sup>.

분배액을 완전히 기화시킨 다음 아세톤, 용고액 및 Celite 545를 가하여 진탕후 정치시킨다. Sintered 필터위에 GF/C 필터를 깔고 흡인 여과한 액을 50% 메틸렌클로라이드/석유에테르 분배액으로 분배시켜 농축 후 정량한 결과 N-페닐 티오카바메이트에서 평균 회수율이 89%(75~100%)이었다 (Table 3). 비교적 클로로필의 제거가 좋은 편이며, 회수율도 No. 8의 75%만 제외하면 다른 티오카바메이트들은 회수율이 양호하였다. 그러나 2회의 분배 및 증발 과정을 거쳐야 하므로 불편하였고, 여과 과정에서 침전물에 흡착될 것이 우려되었다. 따라서 컬럼 크로마토그래피에 의한 제거법을 고려하였다.

**컬럼 크로마토그래피**

컬럼 크로마토그래피는 분배과정에서 제거되지 않은 물질 또는 목적성분과 함께 분배된 물질을 제거시키는데 그 목적이 있다. EPA<sup>4</sup>에서 연구한 기존 티오카바메이트들은 티올카바메이트 골격만 같고, 알킬기뿐만 치환되어 있어서, 이 연구에서 선

Table 5. Recoveries of thiocarbamates selected on three Sep-Pak cartridge in 50% THF as desorption eluent

Compound No.	Quantity fortified(μg)	Alumina	Florisil	Silica gel
1	27.1	68	84	82
3	12.2	79	106	103
4	21.9	90	99	98
7	20.3	-	97	94
10	7.6	50**	90	103

\*20 ml of 10% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/n-Hexane mixture was used as the adsorption eluent. \*\*40 ml of 10% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/n-Hexane mixture was used.

택한 것과는 물리화학적 특성에 있어서 많은 차이가 있는 것으로 판단되었다. 기존의 티오카바메이트는 정제과정에서 실리카겔을 흡착제로 사용하여 석유에테르, 디에틸에테르, 아세톤 및 메탄올을 적당한 비율로 혼합하여 기울기 용리시켜 분별수집하였다. 따라서 예비실험으로 TLC를 이용하여 컬럼 크로마토그래피에서의 최적 용리액을 알아보았다. 디에틸에테르(I족), 메틸렌클로라이드(V족), 테트라히드로푸란(V족), 에틸아세테이트(VI<sub>a</sub>족) 및 클로로포름(VIII족)을 선택하여 각각 n-헥산과 50% 비율로 혼합하여 전개액으로 사용하여 전개시킨후 티오카바메이트류의 R<sub>f</sub>값을 측정하였다(Table 4). TLC로 분리하고자 할 때는 25% 디에틸에테르가 제일 우수하였으나, 실리카 컬럼에서 탈착용매로 사용하기 위해서는 50% 테트라히드로푸란을 사용하는 것이 타당할 것으로 생각되었다. 또한 기존의 티오카바메이트들이 모두 용리되었으나 이 실험에 사용한 티오카바메이트들은 하나의 벤젠고리를 지니고 있고 50% 디에틸에테르의 용매 강도로서는 모두 탈착되기가 어렵다고 판단되었다. 이와 같은 예비실험을 근거로 하여 알루미늄, 후로리실(Florisil) 및 실리카겔 Sep-Pak 카트리지를 이용하여 흡착 및 탈착 효율을 측정하였다(Table 5). 알루미늄에서는 평균 72%의 회수율을 나타내었고, No. 7 티오카바메이트는 전혀 용리되지 않았다. 그러나 후로리실 및 실리카겔에서는 평균 95 및 96%의 회수율을 나타내었으며, 티오카바메이트 No. 1을 제외하면 모두 94% 이상의 회수율을 보여주었다. 우선 흡착제로 실리카겔을, 탈착용리액으로는 50% 테트라히드로푸

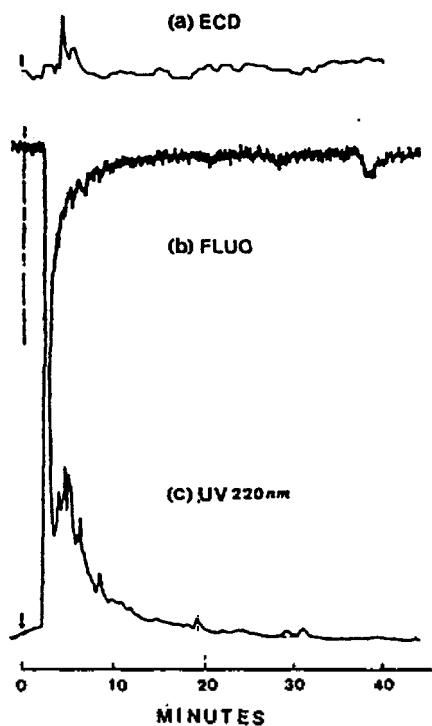


Fig. 2. Response of matrix for chinese cabbage coeluted in each detector after silica gel column treatment. Column: spherisorb ODS column; Mobile phase, COF condition: flowrate, 0.9 ml/min; fluorescence detector, excitation: 338 nm, emission, 455 nm; amperometric detector, +1.0 V.

란을 선택하여 배추로부터 함께 추출된 클로로필들을 제거하는 실험을 수행하였다. 물로 전혀 비활성화(deactivation) 시키지 않은 실리카겔 5g을 충전 후 기올기 용리시켜 *n*-헥산 50 ml, 25% 및 50% 메틸렌클로라이드를 각각 50 ml 및 25 ml까지 용리시켰을 때 이 실험에서 사용된 티오카바메이트들은 용리되지 않았다. 50% 테트라히드푸란 10 ml만으로 티오카바메이트의 완전회수가 이루어졌다. 그러나 클로로필의 분해물로 여겨지는 페오피틴외의 방해물들이 함께 용출되어 비교적 10분내에 용출되는 피크들을 크로마토그램상에서 방해하므로 정량에 오차를 발생하였다. 이 때 함께 용출되는 배추로부터 방해물질들의 크로마토그램을 UV, 형광 및 전기화학 검출기로 측정할 것을 Fig. 2에 나타내었다. 비교적 전기화학 검출기(ECD)에는 방해현상이 적었지만 형광 및 UV 검출기에서는 10분 이내의 피크에 대

해서는 방해를 받게 되었다. 따라서 클로로필과 같이 부피가 큰 분자들에 대한 흡착력이 우수하고 사용 범위도 넓고 저렴한 활성탄을 정제과정에 사용하였다. 활성탄은 입자상과 분말이 있으며, 목적에 따라 입자상인지, 분말로 사용할 것인지가 결정된다. 회수에는 곤란하지만 흡착 표면적을 크게 하기 위해 분말형태로 선택하였는데 취급상 곤란하였고, 컬럼에 충전하는 과정에도 어려움이 있었으며, 용리시 압력이 높아 중력을 이용한 용리에는 문제가 발생하였다. 따라서 흔히 클로로필에 대한 흡착력이 있고 활성탄과 반대 극성을 가진 마그네시아나 Celite 등을 함께 혼합한 혼합흡착제를 사용한다. Krause<sup>15</sup> 등은 카바메이트 계통의 농약을 정제하는 과정에서 혼합흡착제를 사용하는데, 마그네시아를 제거하고 Celite 표면에 디클로로디메틸실란을 반응시킨 것을 활성탄과 혼합하여 사용함으로써 좋은 회수율을 나타내었다. 이 연구에서는 AOAC<sup>11</sup>에서 제시된 활성탄/마그네시아/Celite 545를 1:2:4의 비율로 혼합하여 만든 흡착제를 사용하여 클로로필의 제거 및 몇 가지 선택된 티오카바메이트들의 회수율을 측정하였고, 응고액 처리법과 비교하였다. 혼합흡착제 5g을 슬러리 충전한 다음 벤젠과 아세토니트릴로 컬럼을 세척하고, 10% 메틸렌클로라이드/헥산 용액으로 용리시키면서 벤젠과 아세토니트릴을 완전히 제거한다. 티오카바메이트의 표준용액을 흡착시킨 다음 탈착용매로 벤젠과 아세토니트릴을 1:1로 혼합한 용리액 50 ml로 티오카바메이트를 탈착시켜 회수율을 측정하였다. Table 3에서 알 수 있듯이 응고액 처리보다 혼합흡착제에서의 회수율이 평균 93%로 다소 높았으며, 클로로필의 제거도 비교적 양호하였다. 탈착용매를 50 ml 더 흘려도 티오카바메이트는 더 이상 회수되지 않았다.

**최적조건에서 티오카바메이트류의 회수율과 검출 한계(MDL).** 배추시료를 대상으로 잔류농약 성분으로서의 티오카바메이트류를 추출-분배-정제-정량하는 최적조건을 제시하였다. 배추시료 25g에 대한 5% 염화나트륨 용액을 200 ml 가한 후 50% 메틸렌클로라이드/석유에테르 혼합분배액으로 50 ml씩 2회 분배과정을 거친 후 분배액(extractant)을 합쳐서 무수황산나트륨으로 수분을 제거하였다. 이 분배액을 회전증발기로 증발시킨 후 10% 메틸렌클로

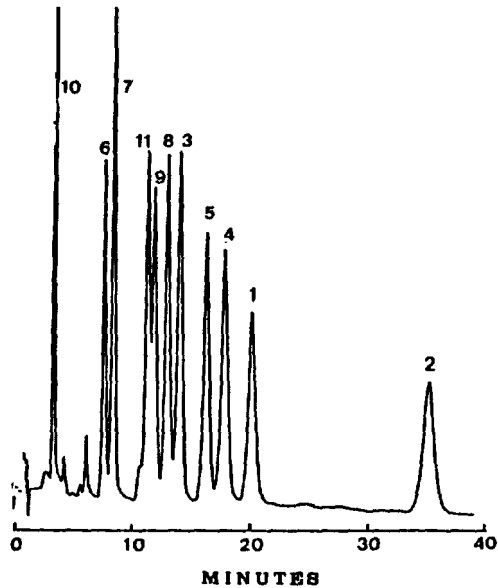


Fig. 3. HPLC chromatogram of eleven thiocarbamates monitored at UV 220 nm under optimum condition. Condition: column, Spherisorb ODS; mobile phase, methanol/acetonitrile/water (29.5 : 21.5 : 49.0); flow rate, 0.9 ml/min.

라이드/n-헥산 용매 5 ml로 녹여낸 다음 미리 충전되어 있는 혼합흡착제에 흘려준다. 탈착용매로서 벤젠/아세토니트릴 용리액 50 ml를 용리시키면 클로로펠은 흡착되어 있고, 티오카바메이트가 탈착되어 회수되었다. 용출액을 회전증발기로 농축하고 순수한 메탄올 1 ml로 농축된 티오카바메이트를 녹인 후 0.5 μm 시료필터에 통과시켜 미량실린저로 5 μl씩 취하여 HPLC에 주입하였다. 정량조건은 Spherisorb ODS 컬럼에서 최적분리 조건에서 찾은 이동상의 조성비인 메탄올/아세토니트릴/물의 비율이 29.5/21.5/49.0의 조건에서 유속이 0.9 ml/min이었다(Fig. 3). 검출기로는 UV 220 nm이고 0.05 AUPS에서 측정하였고, Fig. 4에서 나타난 검량선에 의해 회수율을 측정하였다. 그 결과를 Table 6에 나타내었고, 검출한계(MDL)를 구하였다. 11종의 티오카바메이트를 약 2 ppm의 농도에서 배추시료로부터 회수한 평균 회수율이 91%(67~112%)이었고, 검출한계는 2.21~16.91 ng이었다. 이와 같은 결과는 Blaicher<sup>20</sup> 등이 과일과 채소 중에서 25종의 카바메이트 계통의 농약을 분석한 결과 회수율이 70~90

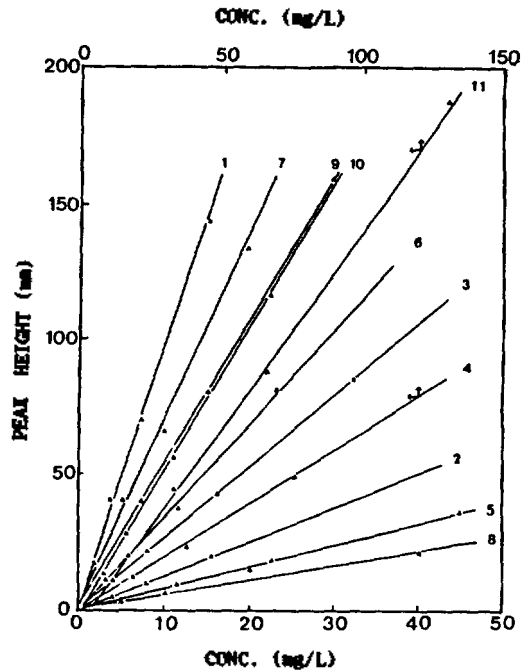


Fig. 4. Peak height calibration curve for thiocarbamates on HPLC. Conditions: Spherisorb-ODS, methanol-acetonitrile-water (29.5 : 21.5 : 49.0), UV 220 nm detection.

Table 6. Recoveries and method detection limits (MDL) of 11 thiocarbamates formulated to chinese cabbage (n=2)

Cpd. No.	Conc. formulated (mg/kg)	Recovery (%)	RSD (%)	MDL (ng)
1	2.2	101	7.9	3.70
2	2.0	78	10.2	9.26
3	1.0	105	6.4	2.27
4	1.9	112	7.5	2.55
5	1.9	67	9.3	16.91
6	1.8	95	6.7	2.21
7	1.8	95	6.8	2.21
8	1.8	95	7.1	2.28
9	1.8	89	8.3	2.40
10	1.8	87	11.5	4.78
11	1.9	84	5.5	8.01
mean		91		

%이고 UV 254 nm 검출기에서 검출한계가 0.1~2.0 ng이었던 것에 비하면 더 양호한 결과를 얻었고, Miles<sup>21</sup> 등이 지하수 중 알디카프과 그 대사물을 UV 200 nm에서 검출한계가 1.2~6.1 ng까지 측정된 결



과와 비슷한 값을 나타내었다. 한편 카바메이트 및 티오카바메이트류가 함께 공존되어 있을 때 티오카바메이트만을 선택적으로 분리하는 실험을 하였다. 문헌<sup>22</sup>을 참고로 질산산을 도포시킨 alumina-Florisil의 혼합흡착제를 5g 슬러리 충전하고, 10% 메틸렌클로라이드/헥산 용액에 티오카바메이트 혼합물을 녹인 것을 컬럼에 흘려주면서 흡착시켰다. 에틸아세테이트-메틸렌클로라이드 혼합용매 50 ml만 용리시키면 카바메이트계 농약이 용출되는 것으로 보고 하였다. 따라서 위의 혼합용매를 50 ml씩 2회 용리시켰을 때 첫번째 용리액 중에서 티오카바메이트 No. 10을 회수할 수 있었으나 나머지는 100 ml까지 용출시켰어도 전혀 검출되지 않았다. Geowie<sup>23</sup>들은 페닐우리아 및 분해 생성물인 아닐린 유도체를 ACDA-Pt에 흡착시켰고, 순수한 아세트니트릴 용리액으로 아닐린유도체를 모두 탈착시켰다. 따라서 이 연구에서도 순수한 아세트니트릴을 이용하여 100 ml까지 용리시켰어도 티오카바메이트를 회수하지 못하였다. 따라서 기존의 카바메이트류와 티오카바메이트류를 분리할 수 있었으나, 티오카바메이트를 회수하는 용리액은 찾지 못하였다. 이에 따른 연구는 계속되어야 한다.

이 연구는 1986년도 한국과학재단 목적기초연구비에 의해 수행된 것인 바 재단에 깊은 감사를 드립니다.

#### 인 용 문 헌

1. S. Matsunaka, "Pesticide Chemistry", J. Miyamoto, P. C. Kearney, Ed.: Pergamon New York, 2, 325-330 (1983).
2. H. Pyysalo, "Pesticide Chemistry", J. Miyamoto, P.C. Kearney, Ed.: Pergamon New York, 4, 123-128 (1983).
3. K. A. Hassall, "The Chemistry of Pesticides", Macmillan Press, Hong Kong (1982).
4. U. S. Environmental Protection Agency, EPA/600/4-85/017 (1985).
5. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.: Horwitz, Ed.: AOAC, Washington, DC, 121 (1980).
6. A. Ambrus, J. Lantos, E. Visi, and I. Csatos, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 733 (1981).
7. R. Gorver, L. A. Kerr, and S. U. Khan, *J. Agric. Food. Chem.*, **29**, 1082 (1981).
8. C. M. Sparacino and J. W. Hines, *J. Chromatogr. Sci.*, **14**, 549 (1976).
9. A. P. Heras and F. S. Rasero, *J. Liq. Chromatogr.*, **9**(15), 3357 (1986).
10. A. P. Heras and F. S. Rasero, *J. Chromatogr.*, **261**, 166 (1983).
11. Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.: W. Horwitz, Ed.: AOAC Washington, DC, 466-496 (1980).
12. W. B. Wheeler, N. P. Thompson, P. Andrade, and R. T. Krause, *J. Agric. Food. Chem.*, **26**, 1333 (1978).
13. E. D. Magallona, "Residue Reviews", Vol. 56; F. A. Gunther, J. D. Gunther, Ed.: Springer-Verlag, New York, 1975.
14. R. T. Krause and E. M. August, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 234 (1983).
15. R. T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1114 (1980).
16. "The Merck index (10th Ed.)", M. Windholz, Ed.: Merck & Co., Newjersey, 1983.
17. "Standard methods-For the examination of water and wastewater". 16th Ed., A. E. Greenberg, Ed., Port City Press, Baltimore-maryland, 1067-1072 (1985).
18. L. P. Vernon, *Anal. Chem.*, **32**, 1144 (1960).
19. J. Kanazawa, "Method in Pesticide Science", J. Fukami, Ed., Soft Science, Tokyo (1981).
20. G. Blaicher, W. Pfannhauser, and H. Hoidich, *Chromatographia*, **13**, 438 (1980).
21. C. J. Miles and J. J. Delfino, *J. Chromatogr.*, **299**, 275 (1984).
22. 어연우, 석사학위논문, 한양대학교 (1988).
23. C. E. Goewie, P. Kwakman, R. W. Frei, and U. A. Th. Brinkman, *J. Chromatogr.*, **284**, 73 (1984).
24. L. G. Alexandrova and M. A. Klisenko, *J. Chromatogr.*, **247**, 255 (1982).