

## GC/MSD를 이용한 바나나 중에서의 잔류농약 분석법에 관한 연구

박성수 · 김동원\* · 민경찬\* · 박택규\*\*

한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터

\* 신홍전문대학 식품영양과

\*\* 건국대학교 이과대학 화학과

### A Study on the Analysis of Pesticide Residue in Banana by GC/MSD

Seong Soo Park, Dong Won Kim\*, Kyung Chan Min\*, Taek Kyu Park\*\*

Doping Control Center, Korea Institute of Science and Technology, Seoul, 136-791, Korea

\* Department of Food and Nutrition, Shin Heung College, Uijungbu, 480-701, Korea

\*\* Department of Chemistry, Kon Kuk University, Seoul, 133-701, Korea

#### Abstract

We studied about analyzing carbamate pesticides, organochlorine, organophosphorus pesticides simultaneously using by GC /MSD.

For this, instead of HPLC which is generally used in analyzing carbamate pesticides, GC was used and all hydrogen of -NH group in carbamate pesticides were substituted for trifluoroacetyl group which is stable at heat.

And eight pesticide residues were not detected in nine samples circulated in the city.

Key words : pesticide residue, GC /MSD, banana

#### 서 론

농약은 인구의 증가에 따른 농산물의 증산이라는 절실한 현실 때문에 그 생산 및 사용이 해마다 증가하고 있는 실정이다. 그러나 농약은 우리의 생활환경을 오염시키고 생태계에 영향을 미칠 뿐 아니라 식품에 잔류되어 식품위생 즉 국민보건면에서 커다란 문제점이 되고 있다.

구미 제국에서는 일찍부터 식품 중에 미량으로 잔류하는 농약에 대한 만성 중독에 관심을 가지고 잔류농약을 규제하는 조치를 강구하고 있다. 미국에서는 1954년 식품, 약품 및 화장품법에 대한 농약 개정법의 의회를 통과하여 세계에서 가장 앞서 농작물의 잔류농

약 규제조치를 취하였다. 이 법에 따라 농작물 중의 각종 농약에 대한 잔류허용 기준(tolerance)이 설정된 것이다. 1954년 UN의 식량농업기구(FAO)에 '농약에 관한 전문위원회'가 설치되고, 1961년 FAO와 WHO(세계보건기구)의 '잔류농약에 관한 전문위원회'의 합동회의가 로마에서 개최되어 '통상의 적절한 사용법에 따라 농약을 사용했을 때 식품 중에 잔류하는 농약에 대하여 소비자의 건강상의 영향에 관한 연구를 행할 필요가 있음'을 권고하였다. 이 권고에 따라 1963년 제네바에서 FAO와 WHO의 합동 농약전문위원회가 개최되어, 식품에 대한 잔류농약허용기준에 관한 원칙적인 사항 및 구체적으로 37개 농약에 대한 독성평가를 실시하여 15종의 농약에 대한 인체의 1일 섭취허용량(ADI)이 설정되었다. 그 후에도 새로운 농약

에 대한 독성자료를 평가하고 일부 농약의 ADI 및 유제품, 육류 등 식품 중의 잔류 등을 검토, 권고를 실시했다.

미국에서는 농약개정법이 1960년에 개정되어 WHO의 권고에 따라 현재의 식품별 농약의 잔류 허용기준을 설정하는 형식으로 바뀌었으며, 유럽의 여러 나라에 있어서도 잔류허용기준 혹은 수확전 농약사용 금지기간(preharvest interval)을 설정하여 잔류농약의 규제가 실시되었다. 일본에서는 1968년 FAO 및 WHO의 ADI를 토대로하여 오이, 토마토 등 4종류에 대하여 허용기준을 설정하였으며, 그후 계속 추가하여 현재는 56 품목에 대하여 23종 농약의 잔류허용기준이 설정되어 있다.

우리나라에서도 잔류허용기준을 설정하기 위하여 1985년부터 곡류, 과일, 채소 등 농산물을 대상으로 농약의 잔류실태를 조사하기 시작했으며, 이 결과와 ADI 및 잔류허용기준을 제정하여 보건사회부 고시로 공포하였다. 그리고 이 규정은 처음 제정되는 것인 만큼 농민을 비롯하여 각 관계분야가 인식하는데 시일이 소요되므로 1년 가까운 유예기간을 두어 1989년 9월 1일부터 시행하였다. 그 후 농산물의 수입개방과 더불어 농산물의 농약잔류에 대한 소비자의 불안감 등으로 인하여 농약잔류 허용기준을 확대하여 설정할 필요성이 인정됨으로써 25종 농산물에 대한 16종 농약의 잔류허용기준이 추가로 설정(1990. 12. 14) 되었다. 본 연구에서는 서울 시내에서 수거한 바나나에서 carbamate 농약류, 유기염소제 및 유기인제가 잔류하고 있는지 동시에 분석하기 위한 방법을 연구하였다.

일반적으로 carbamate는 열적으로 불안정하기 때문에 liquid chromatograph(LC)를 이용하여 분석해 왔다.<sup>1)~4)</sup> 그러나 정확한 분자구조에 대한 정보를 얻을 수가 없기 때문에 비량일 경우 chromatogram 상의 interference와 구분하기 어려운 단점을 갖고 있다. 따라서 본 연구에서는 유도체화 시약을 이용하여 carbamate류들에 대해서는 TFA기를 도입하여 휘발성을 증가시킨 후 유기염소제 및 유기인제 농약류와 함께 gas chromatography-mass selective detector(GC/MSD)로 분석하는 방법에 대해 연구하였다.

## 실 험

### 1. 분석기기 및 장치

- GC/MSD
  - HP 5890 Series II Plus GC/HP5972 MSD
  - HP Laserjet 4V Printer
- Blender
- Shaker
- Centrifuge
- Rotary Vacuum Evaporator

### 2. 기기분석 조건

- GC column : Ultra-1, methyl silicone : fused silica capillary (12m × 0.2 mm ID × 0.33μm film thickness)
- Split ratio : 1:10
- Injection port temperature : 280℃
- Transfer line temperature : 300℃
- Ion Source temperature : 200℃
- Oven temperature program : 100℃ (2 min.) / 25℃ / 300℃ (5 min.)
- Ionization energy : 70 eV

### 3. 시 약

각 농약의 표준품은 Supelco 또는 Hewlett Packard 회사로부터 구입하여 사용하였다. 각 농약의 구조식은 Fig. 1과 같다. 각 농약은 일정량씩 취하여 chloroform에 녹여 100 ppm 표준용액으로 만들고 필요에 따라 희석하여 사용하였다.

추출에 사용된 chloroform 및 ethyl acetate는 Baker사의 GR급을 사용하였고 유도체 시약인 trifluoroacetic anhydride는 Merck사 제품을 구입하였으며 pyridine은 KOH를 넣고 30 min. reflux한 다음 증류하여 사용하였다. 그밖에 NaCl 및 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydrous는 일제 특급시약을 사용하였다.

### 4. 실험방법

#### 1) 표준시료의 분석

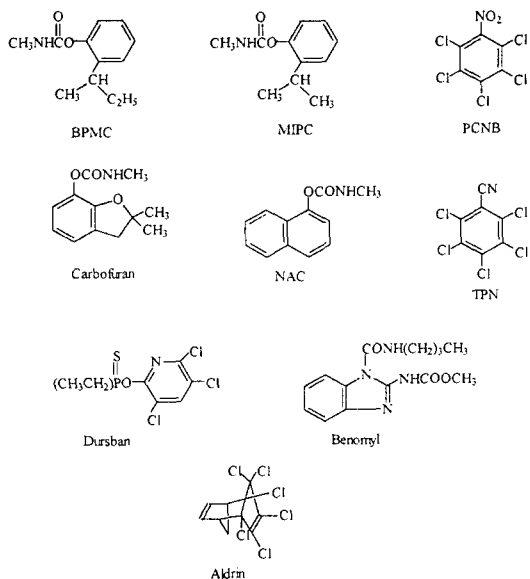


Fig. 1. Chemical structures of pesticides.

각 표준농약을 100 ppm 씩 포함하는 혼합 표준용액 100 $\mu$ l를 취하여 15ml centrifuge tube에 넣고 내부표준물질(Aldrin, 100 ppm) 100 $\mu$ l를 첨가하고 회전 진공증발기에서 유기용매를 모두 날려 보낸 찌꺼기에 ethylacetate 200 $\mu$ l, 정제된 pyridine 100 $\mu$ l 및 trifluoroacetic anhydride 200 $\mu$ l를 넣은 다음 마개를 하고 60 $^{\circ}$ C, 10 min. 가열한다. 이 반응용액을 15시간 이상 실온에서 방치한 후 N<sub>2</sub> gas로 dryness 까지 날려 보내고 200 $\mu$ l ethylacetate로 다시 녹인 다음 GC /MSD에 1 $\mu$ l 주입하여 앞에서 설명된 기기조건으로 분석하고 각 농약의 질량스펙트럼을 얻는다.

각 표준물질의 질량스펙트럼으로 부터 base peak를 구하고 이를 이용하여 농도별 검정곡선을 구한 다음 정량에 사용하였다.

2) 추출 회수율 측정

Blender에 넣어 잘 갈아진 바나나 10g을 무게 달아 원심분리용 plastic tube에 넣고 100ppm 표준용액 100 $\mu$ l를 넣은 다음 추출용매로서 chloroform 10ml를 넣고 30min, shaker로 흔들어 추출한다. 3,000rpm으로 10 min. 원심분리하고 chloroform층 (아랫층)을

분리하여 취한다. 0.5g의 anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣고 5 min. 흔들어 수분을 제거한 후 15ml centrifuge tube로 옮긴다. 여기에 내부표준 물질(Aldrin, 100 ppm) 100 $\mu$ l를 첨가하고 회전 진공증발기에서 유기용매를 모두 날려보낸 찌꺼기에 ethylacetate 200 $\mu$ l, 정제된 pyridine 100 $\mu$ l 및 trifluoroacetic anhydride 200 $\mu$ l를 넣은 다음 마개를 하고 60 $^{\circ}$ C, 10min. 가열한다. 이 반응용액을 15시간 이상 실온에서 방치한 후 N<sub>2</sub> gas 로 dryness까지 날려 보내고 200 $\mu$ l ethylacetate로 다시 녹인 다음 GC /MSD에 1 $\mu$ l 주입하여 분석한다. 동일한 농도의 표준용액을 GC /MSD에 1 $\mu$ l 주입하여 얻은 결과의 peak area와 비교하여 recovery를 계산한다.

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{A_T / A_{IS}}{A_U / A_{IS}} \times 100$$

A<sub>T</sub> : 추출 및 유도체 과정 후 얻은 peak area

A<sub>U</sub> : 유도체 과정만 거친 후 얻은 peak area

A<sub>IS</sub> : 내부표준물질의 peak area

3) 시료의 분석

잘 갈아진 banana 10g을 취하여 앞에서와 동일한 추출방법으로 추출하고 유도체 반응시킨 다음 동일한 기기분석 조건으로 분석하고 검정곡선으로부터 농도를 구한다.

결과 및 고찰

1. 표준시료의 분석

본 연구의 실험조건으로 얻은 GC /MSD 분석결과

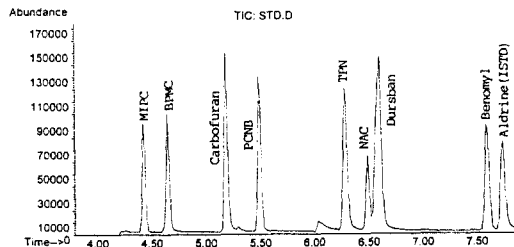


Fig. 2. GC/MSD total ion chromatogram of standard pesticide mixture.

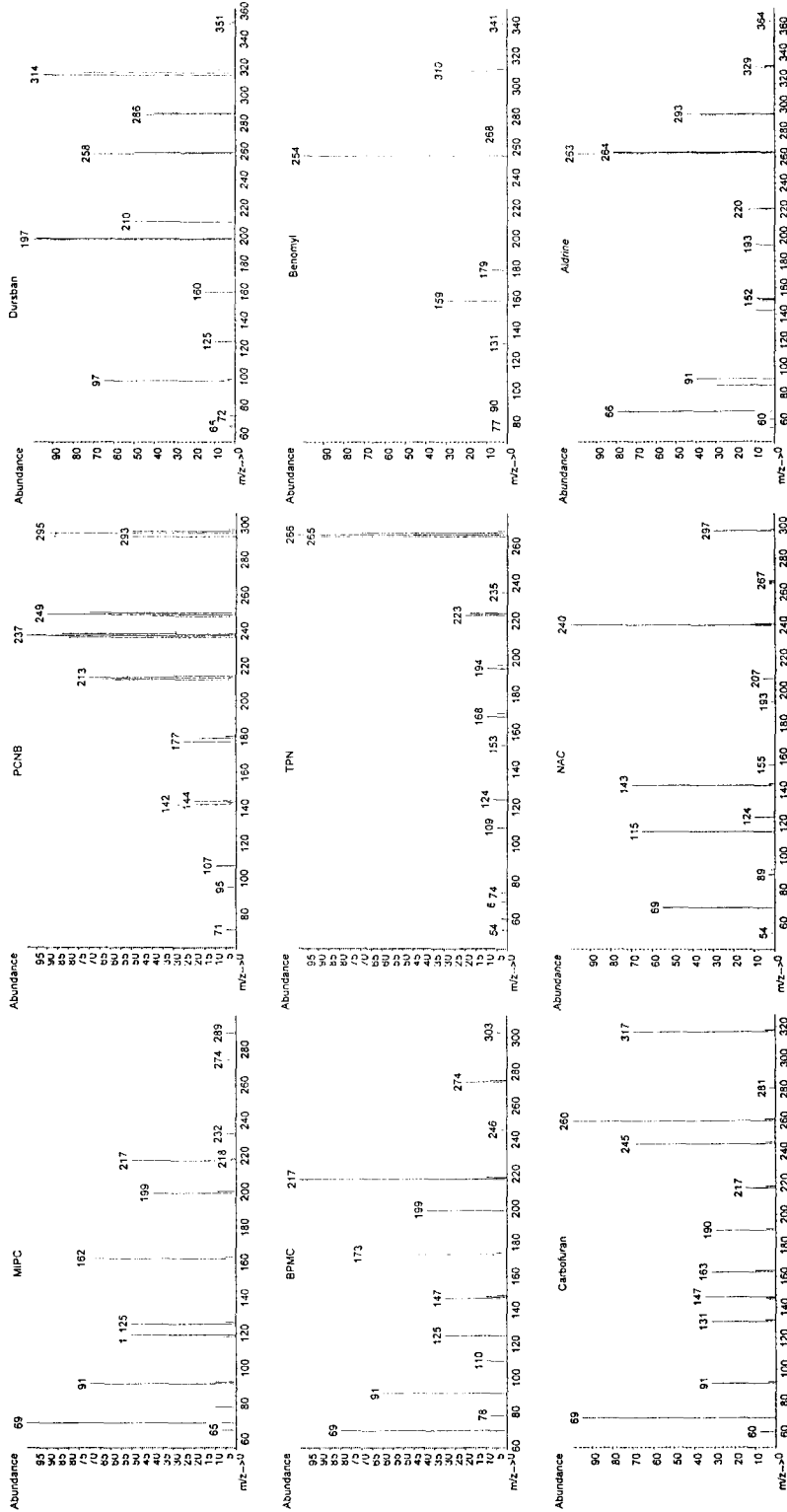


Fig. 3. Mass spectra of standard pesticide.

의 total ion chromatogram과 각 농약 peak의 질량 스펙트럼은 Fig. 2 및 Fig. 3과 같다.

본 연구에 사용된 농약들은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 다양한 화학구조를 가지고 있다. 그중에서도 benomyl, carbofuran, MIPC, BPMC 등의 carbamate 농약류는 GC로 분석하는 경우 분해되기 쉽기 때문에 on-column 주입법을 사용하는 경우가 많다. 그러나 본 실험에서는 다른 종류의 농약과 동시에 분석하기 위해 휘발성과 열 안정성이 좋은 trifluoroacetyl 유도체로 만들어 분석하였다. 이 실험조건에서 carbamate 농약류의 -NH group의 H는 모두 trifluoroacetyl group으로 치환되었고 다른 종류의 농약류는 변화되지 않았다. 각 표준농약류의 mass spectrum으로부터 시료의 screening을 위해 선택된 특성 질량토막이온들을 Table 1에 수록하였다.

**Table 1. Characteristic mass fragment ions of tested pesticides**

Pesticides	Fragment ions(m/z)		
MIP <sup>a</sup>	126	162 <sup>b</sup>	217
BPMC <sup>a</sup>	176	217 <sup>b</sup>	274
Carbofuran <sup>a</sup>	245	260 <sup>b</sup>	318
PCNB	214	237	295 <sup>b</sup>
TPN(chlorothalonil)	109	266 <sup>b</sup>	268
NAC <sup>a</sup>	115	240 <sup>b</sup>	297
Dursban	197	314 <sup>b</sup>	351
Aldrine	66	91	263 <sup>b</sup>
Benomyl <sup>a</sup>	159	254 <sup>b</sup>	310

<sup>a</sup> : trifluoroacetyl derivative

<sup>b</sup> : selected ion for quantitation

## 2. 추출 회수율

바나나의 속과 껍질을 분리하여 표준물질을 일정량

**Table 2. Extraction recoveries and detection limits of pesticide residues in banana**

Pesticides	Core		Rind		Detection Limits( $\mu\text{g/g}$ )
	Recovery(%)	RSD(%)	Recovery(%)	RSD(%)	
MIPC	98	8.1	84	1.4	0.1
BPMC	89	5.0	92	0.8	0.1
Carbofuran	100	3.2	90	3.6	0.02
PCNB	34	9.8	73	5.9	0.4
TPN	95	4.8	71	3.9	0.02
NAC	97	7.5	109	2.9	0.1
Dursban	41	8.8	112	6.9	0.2
Benomyl	74	6.7	100	6.4	0.1

n = 5

**Table 3. Analytical results of pesticide residues in banana**

Pesticides	Sample No.	E			P			D		
		RT	MD	SS	SS	SR	ND	ND-1	ND-2	ND-3
MIPC		N	N	N	N	N	N	N	N	N
BPMC		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Carbofuran		N	N	N	N	N	N	N	N	N
PCNB		N	N	N	N	N	N	N	N	N
TPN		N	N	N	N	N	N	N	N	N
NAC		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Dursban		N	N	N	N	N	N	N	N	N
Benomyl		N	N	N	N	N	N	N	N	N

n = 2

N = not detected

씩 첨가한 다음 앞에서 설명된 실험방법에 따라 회수율을 측정된 결과를 Table 2에 수록하였다. 과육(속)에서의 회수율이 껍질보다 높았으며 그 상대표준편차 값은 10% 이하로서 비교적 좋은 값이었다. 각 농약들의 시료에서의 검출한계도 Table 2에 함께 수록하였다.

### 3. 시료의 분석

시료 9종에 대하여 본 실험방법으로 과육(속)을 분석한 결과 다음과 같은 결과(Table 3)를 얻었다. Table 3에서 보는 바와 같이 9종의 banana시료에서 모두 검출 한계 이하로서 본 실험에서 측정된 8종의 잔류농약류가 검출되지 않았다.

## 결 론

1. Benomyl 등의 carbamate 농약류와 TPN 등 유기염소제 및 Dursban 등 유기인제 농약류 등 8종의 농약류의 혼합물을 GC/MSD에 의해 동시에 정성 및 정량분석하는 방법을 개발하였다.
2. GC로 carbamate류를 분석할 경우 tailing현상이 심하게 일어나는데 유도체화 반응을 시켜 이를 극복하였다.
3. 본 실험 방법에서의 회수율과 정량한계를 구하였다.
4. 서울 시내에서 구입한 9종의 바나나에서는 carbamate 농약류, 유기 염소제 및 유기인제 등 8종의 잔류농약은 검출되지 않았다.
5. 본 연구에서는 바나나에서 농약류를 동시에 분석하는 방법을 확립하였으며 식품 안정성 측면에서 banana에 존재하는 농약류에 대한 새로운 screening method로 이를 적극 활용할 수 있으리라 기대된다.

## 요 약

Banana에 존재할 수 있는 carbamate 농약류, 유기염소제 및 유기인제 농약을 GC/MSD에 의해 동시에 분석할 수 있는 방법을 연구하였다.

이를 위해서 일반적으로 carbamate 분석에 이용되는 HPLC 대신에 GC를 이용하기 위해 carbamate 농약류의 -NH group H를 모두 열안정성이 좋은 trifluoroacetyl group으로 치환시켰다.

또한, 시중에서 유통되는 9종의 sample을 분석한 결과 carbamate 농약류, 유기염소제 및 유기인제 등 8종의 잔류농약은 검출되지 않았다.

## 참고문헌

1. Su-Rae Lee, *J. Agri. Food Chem.*, **39**, 906(1991).
2. D. L. Scharberg, *J. AOAC.*, **77**, 129(1994).
3. S. M. Walters, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **73**, 753(1990).
4. R. W. Stringham, *ibid.*, **67**, 302(1984).
5. W. T. Thomson, *J. Agric Food Chem.*, **34**, 108 (1986).
6. B. A. Bidlingmeyer, *J. Chromatogr. Sci.*, **18**, 525(1980).
7. D. M. Holstege, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **72**, 394(1991).
8. K. Sasaki, *ibid.*, **70**, 460(1987).
9. M. S. Ali, *ibid.*, **72**, 586(1989).
10. W. Specht, *Anal. Chem.*, **322**, 443(1985).

(1996년 6월 19일 수리)