

HPLC를 이용한 carbamate계 농약의 다성분 동시분석

송영각¹, 서영철, 현공율, 조우영, 이종인

충청북도축산위생연구소
(접수 2003. 4. 10, 게재승인 2003. 5. 20)

A study on simultaneous determination of carbamate pesticides by HPLC

Young-Gak Song¹, Young-Chul Seo, Gong-Yul Hyun, Woo-Young Cho, Jong-In Lee

Chungbuk Livestock and Veterinary Research Institute, Chungwon, 363-931, Korea
(Received 10 April 2003, accepted in revised form 20 May 2003)

Abstract

To explore the most sensitive and useful method for simultaneous determination of 8 carbamate pesticides in livestock productions, the mixture of 8 carbonates was determined by HPLC with scanning fluorescence detector. For mobile phase water, acetonitrile and methanol program gradient showed more applicable sensitivity than water and acetonitrile program gradient used ExW 339 nm and EmW 445 nm for fluorescence detector. On using carbamate columns, the retention time was within 4 to 20 minutes. And this made it possible to separate and detect simultaneously. Therefore we could analyze it exactly and efficiently and reduce time. The preparation process of MSPD method showed that the high recovery rate was more than 88.5% in most of the carbamate pesticides. Therefore we could say that it was an efficient and fast method analyzing out of lots of samples.

Key words : Program gradient, MSPD, Carbamate pesticides

서 론

카바메이트계 농약은 카바믹산의 유도체로 이루어진 살충제로 광범위한 적용성과 높은 효과로 인해 곤충들의 침해로부터 곡식을 보호할

목적으로 전 세계적으로 사용되고 있다^{1,2)}. 카바메이트와 그의 유도체 그리고 대사물질들은 전 세계의 많은 음료수원들에서 양성반응을 보이고 있는데, 이들은 곡식, 과일, 야채 등의 곡물에 직접 살포된 후 지하수층과 용수로 흘러

¹Corresponding author

Phone : +82-43-220-5614, Fax : +82-43-220-5629

E-mail : soriduri@hanmail.net

들어가며 살포 후 곧 수확을 하기 때문에 카바메이트 잔류물과 그 부생성물들이 수확물에 잔류되고 이를 섭취한 동물의 조직내로 흡수되어 축적하게 된다.

식생활 패턴이 곡물위주에서 식육위주의 형태로 변화하는 현실에서 육류의 근육조직에 축적되는 카바메이트계 농약은 안전축산물 공급 차원에서 문제가 되는데, 농림부 고시에 따른 식육중 잔류물질 검사항목중 잔류농약 모니터링 조사항목이 1997년 8종 13항목에서 1999년 20종 27항목으로 확대되었고, 2001년에는 32종으로 증가되는 과정에서 카바메이트계 농약 8종이 추가되었다³⁾.

식육의 농약잔류 허용 기준은 가금육, 쇠고기, 염소고기, 돼지고기, 양고기, 사슴고기, 토끼고기, 말고기, 칠면조고기 등 9개 식육으로 구분하여 최소 0.01 mg/kg(Aldicarb 등)에서 최대 0.5 mg/kg(Carbaryl 등)까지 이나 대부분 0.01~0.05 mg/kg으로 규제되고 있다⁴⁾.

잔류농약 분석에서 대부분의 실험과정은 시료의 채취, 추출, 추출물의 정제, 확인 및 정량으로 이루어지기 때문에 개개의 성분을 따로 분석하는데는 시간적 제약과 많은 비용이 소모됨으로 동시에 다성분을 정확히 분리 동정하는 일이 무엇보다도 중요하다고 생각된다.

카바메이트계 살충제의 잔류분석은 분광광도, 가스크로마토그래피, 액체크로마토그래피 등으로 분석^{5,6)}되어지는데 본 실험에서는 HPLC를 이용하여 8종의 농약을 동시 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

분석 시료

육류는 대표성 있는 검사재료를 선별하는데 다소 어려움이 있는데, 이는 농장별 및 개체에 따라 차이가 있을 수 있으며, 사용목적이나 대사경로에 따라 장기친화성이나, 배설기간 차이 등으로 인해 축종별, 장기별 및 부위별로 그 잔류농도에 차이가 있을 수 있기 때문이다.

공시 시료는 농약성분이 검출되지 않은 돼지

고기의 근육을 선택하여 표준용액을 첨가, 회수율을 측정 사용하였다.

분석 항목

2002년 현재 모니터링하고 있는 카바릴(cabaryl), 카보푸란(carbofuran), 알디카브(aldicarb), 벤디오카브(bendiocarb), 에치오펜카브(ethiofencarb), 메치오펜카브(methiocarb), 메소밀(methomyl), 프로폭서(propoxur)등 8항목을 분석 대상으로 하였다.

실험 방법

1. 시약 및 시액: 본 실험에서 사용한 시약은 전처리용으로 octadecyl(40 μ m), florisil(60~100 mesh), acetonitrile(HPLC용)과 농약표준용액으로 Dr. Ehrenstorfer GmbH사 제품, 일반 시약은 특급시약으로 NaOH, OPA 시약(O-phthalaldehyde), potassium borate, 2-mercaptoethanol 등을 사용하였다.

2. 기기 및 조건: 주 분석장비로 Waters 2690 separations module과 474 scanning fluorescence detector이며 보조 장비로 waters temperature control module과 Young-Lin M925 solvent delivery pump 등을 사용하였다.

HPLC 조건으로 column은 waters carbamate analysis(3.9 \times 150 mm)이며, 검출기 조건은 ExW 339nm, EmW 445 nm, gain 100, ATT 8이었다. 유도체화시약 및 반응시약 유속은 0.5 ml/min이며, 분석컬럼 온도는 40 $^{\circ}$ C, post column 반응온도는 80 $^{\circ}$ C로 적용하였다.

방법

시료의 전처리는 유기용매에 의한 용매추출법과 컬럼충진제인 C₁₈을 이용한 MSPD법을 사용할 수 있는데 본 실험에서는 MSPD법^{7,8)}을 이용하였다. 유리재질의 유발에 C₁₈ 2g을 취하고 근육 시료 0.5g을 넣은 후 카바메이트계농약 10 μ g/ml 내외농도의 표준품을 10 μ l를 첨가한 후, C₁₈과 근육을 균질화하여 2g의 florisil이 충전된 주사기 칼럼에 옮기고 acetonitrile 1ml로 용출하여 시험용액(0.5 μ g/ml)으로 이용하였다.

1) 표준용액 : 단일 표준용액으로 각 농약의 표준품 10mg 내외를 정밀히 달아 acetonitrile로 용해 전량 100 ml가 되게 하여 표준원액(100 μ g/ml)으로 하고 군별 통합 표준용액은 1, 2군 각각 5~10 μ g/ml 농도로 표 1 과 같이 조제하였다. 군의 구별은 표준용액 피크의 용출시간에 따라 편의상 1, 2군으로 구분하여 실험하였다.

Table 1. Typical standard concentration(ppm)

	Pesticides	Concentration
Group I	Methomyl	5.1
	Propoxur	5.0
	Carbofuran	10.2
	Ethiofencarb	10.1
Group II	Aldicarb	10.0
	Bendiocarb	10.1
	Carbaryl	10.1
	Methiocarb	10.0

2) 표준용액의 성분 분리 : 표준용액의 성분 분리는 기기의 조건과 이동상의 용매구비에 따라 분리효율이 다르게 나타나는데, 본 실험은 물과 acetonitrile 두 용매를 기초한 조건과 물, acetonitrile 및 메탄올을 사용한 조건으로 나누어 표준품의 성분분리 효율을 비교하였다.

Table 2. Experimental conditions for gradient elution by HPLC

C-1*				C-2*				
Time (min)	Flow (ml/min)	DW	ACN	Time (min)	Flow (ml/min)	DW	ACN	MeOH
Initial	1.0	80	20	Initial	1.5	88	0	12
1.0	1.0	80	20	4.0	1.5	88	0	12
30.0	1.0	25	75	4.1	1.5	68	16	16
31.0	1.0	80	20	16.1	1.5	30	35	35
-	-	-	-	19.0	1.5	88	0	12

* C-1 and C-2 were conditions for gradient elution method

DW : distilled water, ACN : acetonitrile, MeOH : methanol

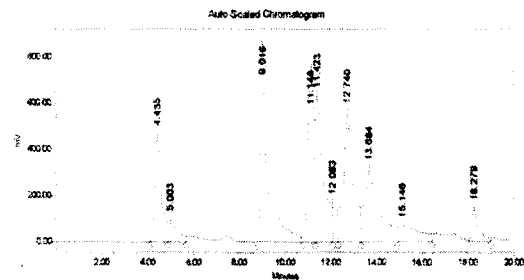


Fig 1. Chromatograms for program gradient condition I

Methomyl 4.453, Aldicarb 9.019, Propoxur 11.148, Bendiocarb 11.148, Carbofuran 11.423, Carbaryl 12.740, Ethiofencarb 13.684, Methiocarb 18.279, Propoxur, and Bendiocarb were overlaped

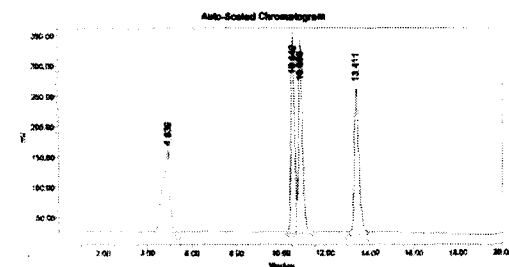


Fig 2. Chromatogram for program gradient condition II(Group I STD)

Methomyl 4.939, Propoxur 10.542, Carbofuran 10.896, Ethiofencarb 13.411

결과 및 고찰

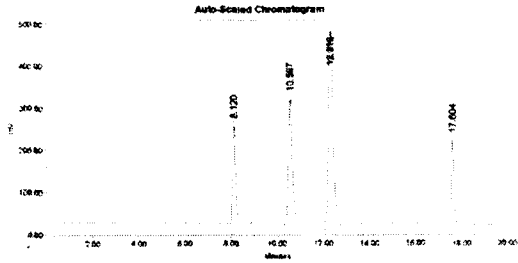


Fig 3. Chromatogram for program gradient condition II(Group I STD)

위에서 확인된 8종의 표준용액 retention time은 용매구배 조건 1, 2의 경우 각각 4분 정도에서 시작하여 20분 정도에서 분석이 Table 3과 같이 종료되었다.

Table 3. Typical retention times of the carbanates

Pesticides	Retention time
Methomyl	4.887
Aldicarb	8.118
PropoXur	10.494
Bendiocarb	10.542
Carbofuran	10.901
Carbaryl	12.318
Ethiofencarb	13.413
Methiocarb	17.570

3) 각 농약의 회수율 : 근육 시료 0.5g에 10.0 ~ 20.0 μ g/ml의 표준품 10 μ l를 첨가 후 MSPD 법에 의한 농약별 회수율은 Table 4와 같았다.

Table 4. Typical recovery rate of the standard carbanates

Pesticides	Recovery rate(%)
Methomyl	100.7
Aldicarb	96.9
PropoXur	94.2
Bendiocarb	102.0
Carbofuran	91.2
Carbaryl	74.1
Ethiofencarb	76.0
Methiocarb	72.8

분석 효율

카바메이트계 농약의 HPLC에 의한 분석에 있어 이동상의 농도구배는 표준품 분리능에 중요한 요인으로 작용하는바 이번 실험에서 물과 아세트니트릴을 사용한 용매구배(조건1)의 경우 각 성분의 피크가 완벽하게 분리되지 않았고 피크의 형태 또한 표준품의 순수한 피크를 나타내지 못하였다.

물과 아세트나이트릴 및 메탄올을 사용한 세 가지 성분 용매구배(조건2)의 경우 조건1 보다 각 성분이 더욱 잘 분리되었으며, 피크의 형태 역시 표준품의 고유한 형태인 단일 피크를 나타내었다.

식품공전상의 조건인 물과 메탄올 및 테트라하이드로퓨란을 이용한 용매구배 조건으로 실험하지 않았기 때문에 조건2가 더 나은 실험결과라고 단정지을 수는 없지만 통상 실험실에서 사용하는 조건1의 경우보다는 더 나은 실험결과를 나타내었다.

회수율

대부분 식육종의 잔류농약 분석은 육류의 근육이나 지방조직을 채취하여 액상의 지방을 추출한 후 헥산과 아세트나이트릴을 넣어 분배한 뒤 아세트나이트릴층을 취해 농축과 지방제거 과정을 수행한 후 Florisil 또는 C₁₈ 카트리지를 이용하여 정제한 다음 농축, 건조하여 gas chromatography의 전자포획검출기(ECD)로 분석을 하는 ACN 분배법을 사용하나 전처리 과정이 번거롭고 잦은 이동에 따른 회수율의 저하가 있을 수 있어 본 실험에 사용된 MSPD법을 사용하여 모니터링하고 있다.

본 실험 결과 카바릴, 에치오펜카브, 메치오카브 등의 회수율이 조금 낮은 편이었고 메소밀, 벤디오카브는 상당히 좋은 회수율을 보였는데, 표준품의 용출시간이 길어짐에 따라 후반부에서 회수율이 낮아지는 경향을 나타내었다.

따라서 평균 88.5%의 회수율을 나타낸 MSPD법에 의한 잔류농약 분석은 동시에 다성분을

검출하는데 효과적으로 적용되는 분석법이라고 생각되며, 추후 HP 6890 plus GC의 μ -ECD에 의한 분석과 비교 실험을 통하여 더욱 간편하고 정밀한 분석법이 선택되어야 한다고 사료된다.

결 론

2002년도 잔류물질 모니터링사업에 새로 추가된 8종의 카바메이트계 농약을 HPLC의 형광탐지기로 분석한 결과는 다음과 같다.

형광탐지기 여기파장 339 nm 형광파장 445 nm를 사용 물, 아세토니트릴 및 메탄올의 세 가지 성분 용매구배가 물과 아세토니트릴의 두 가지 성분 용매구배보다 효율적으로 분리되었다.

카바메이트 분석칼럼을 사용, 8종 농약의 머무름 시간은 4분에서 20분 이내로 동시에 분리 검출되었고, 분석률이 높은 것으로 나타났다.

MSPD법에 의한 전처리 과정이 대부분의 농약에 있어 88.5% 이상의 높은 회수율을 나타내어 다량의 시료에 대한 신속한 분석이 가능하였다.

참고문헌

1. 김운성, 문재진, 박선오 등. 1999. 알기쉬운 잔류농약 분석법. *홍익기술*: 8~11.
2. Porter WP., Green SM., Debbink NL, et al. 1993. *J Toxicol Environ Health* 40 : 15~16
3. 농림부. 2001. 식육중 잔류물질 검사요령. 농림부고시 제2001-5호: 8~12.
4. 한국식품공업협회. 1999. 식품공전 : 94~99.
5. 유홍일, 이해근, 김성만. 2000. 농약잔류분석방법, *동화기술*: 169~170.
6. Argauer RJ, Eller KI, Ibrahim MA, Brown RT. 1995. *J Agri Food Chem* 43 : 2774~2776
7. 국립동물검역소. 1997. 육류중 잔류물질 검사법: 185.
8. 한국과학기술연구원. 1992. 축산식품내 유해잔류물질 분석개발에 관한 연구. 425~444.