

Gas-Liquid Chromatography를 이용한 사과 및 배 종의 농약 다성분 잔류분석법

박주황 · 김택겸 · 오창환¹⁾ · 김정한²⁾ · 이영득³⁾ · 김장억*

경북대학교 농화학과, ¹⁾(주)랩프런티어, ²⁾서울대학교 응용생물화학부, ³⁾대구대학교 생명환경학부
(2004년 8월 3일 접수, 2004년 8월 23일 수리)

Analysis of Multiple Pesticide Residues in Apples and Pears Using Gas-Liquid Chromatography

Ju-Hwang Park, Taek-Kyum Kim, Chang-Hwan Oh¹⁾, Jeong-Han Kim²⁾, Young-Deuk Lee³⁾ and Jang-Eok Kim*
(Department of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, ¹⁾Lab Frontier Inc., Suwon 443-766, Korea, ²⁾School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea, ³⁾Division of Life and Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea)

ABSTRACT : A rapid analytical method was developed to determine multiple pesticide residues in apples and pears using gas-liquid chromatography (GLC). The samples were extracted with water-miscible solvents and purified by cleanup procedures serially comprising liquid-liquid partition and solid-phase extraction (SPE). Each analyte was separated and determined by a high-resolution GLC equipped with electron-capture detector (ECD) and nitrogen-phosphorous detector (NPD). A total of 196 pesticides, which were previously classified into 5 groups each for ECD and NPD based on their retention behaviors on the capillary column and responses to the detector, were subjected to the recovery experiment. In compliance with the analytical criteria, 70 to 120% of recovery and less than 20% relative standard deviation, the proposed method could be successfully applied to analyze 136 and 133 pesticide residues in apples and pears, respectively, which enabled not only rapid screening but quantitation of the residues. Even though less reliability was resulted from unacceptable recovery range, rest of pesticides including 43 and 45 analytes in apples and pears, could be also detected for their identity. The proposed method, failed to cover 17 and 18 pesticides for apples and pears, which mostly showed high polarity or heat-lability but, could be suitable for fast surveillance or monitoring of fruit harvests.

Key words: multiple pesticide residues, solid-phase extraction (SPE), apple, pear, GLC analysis.

서 론

농작물 중에 잔류된 농약의 정확하고 신속한 검사는 사람들의 건강과 직결되는 문제라 그 중요성이 크다고 할 수 있다. 따라서 농산물중 농약의 잔류분석은 그 목적에 따라 다소 정확도는 떨어지지만 분석과정이 신속해야 하는 속성검사법과 시간이 필요하더라도 정확성을 요하는 과정으로 나눌 수 있다. 이러한 농산물 중의 잔류농약 분석은 대상 농산물의 종류와 성질 그리고 살포되는 농약들의 다양함으로 인해 결코 쉬운 일은 아니라고 할 수 있다.

현재까지의 농약잔류분석은 식품공전¹⁾, 일본농약잔류분석법²⁾, AOAC method⁴⁾ 및 PAM³⁾에 보고된 바와 같이 시료 중에서 액액 분배법을 이용하여 추출한 후 Sep-Pak, Florisil, silica gel 칼럼 등을 이용하여 정제하고 농약의 물리화학적 성질에 따라 GLC-ECD, FPD, NPD 및 HPLC-FL, UV 검출기를 이용하여 정성 및 정량분석하는 것이 일반적이다. 현재까지 GLC를 사용한 다성분분석법은 AOAC method 990.06와 Pang 등⁶⁾ 및 Zoonen 등⁷⁾이 DB-1, DB-15, DB-17, DB-WAX capillary column 등을 이용해 304종의 유기염소계, 유기인계, pyrethroid계 농약 및 기타 질소, 인, 황 함유 농약들에 대해 ECD, FPD, NPD, MSD, ITD를 이용하여 분석하였고, 국내에서는 Kim 등⁸⁾과 1990년 한국과학기술 연구원의 다성분 잔류농약 분석에 관한 3차 연구보고서⁹⁾ 및 Kim 등¹⁰⁾이 여러 가지 column을 사용하여 유기염소계 농약들을 동시분석하였다. 또

*연락처:

Tel: +82-53-950-5720 Fax: +82-53-953-7233

E-mail: jekim@knu.ac.kr

한 최근에는 다양한 matrix로부터 다양한 성분의 농약들을 GC로 정량한 후 GC-MS로 최종 확인분석하는 방법¹¹⁻¹⁶⁾이 많이 발표되었고, 열과 압력에 약하거나 비교적 극성인 농약들의 분석을 위하여 LC-MS를 함께 이용한 연구^{17,18)}들도 많이 발표되고 있다. 그러나 GC 및 LC-MS를 이용한 이러한 방법들은 정확한 분석에는 용이하나 시간 및 비용이 많이 드는 단점이 있다. 이러한 연구결과를 바탕으로 현재 국내에서는 국립농산물품질관리원, 식품의약품안전청 그리고 농업과학기술원에서 GLC를 이용하여 농산물 및 식품 중의 다성분 농약 잔류분석법을 개발하고 있다. 그러나 현행 다성분 농약잔류분석법은 시험 소요시간이 오래 걸리고 고비용·저효율의 문제점이 있으므로 정확한 정보조사를 통한 분석대상 농약의 선정과 비전문가도 쉽게 활용할 수 있는 신속한 잔류농약분석 방법의 개발이 시급한 실정이다.

본 연구는 국내에서 등록되어 사용되고 있는 농약들 중 사용량이 많은 약제들을 신속히 농작물 중에서 분석할 수 있는 gas chromatography법을 개발하고, 또한 이어질 연구에서는 농산물내 잔류농약 검사 시 수행되는 표준물 제조, 시료 전처리 및 기기 분석조건 분석결과 해석 등 전 작업에 대한 표준작업지침(Standard Operation Procedure : SOP)을 마련하여 분석시간의 오차를 최소화하는 동시에 확립된 분석방법을 품종 및 산지가 다른 matrix에 적용함으로써 SOP의 효율성을 검증하고자 한다.

재료 및 방법

시료주제

본 실험에 사용된 사과 및 배는 농약이 전혀 처리되지 않은 포장에서 시료를 채취하여 사용하였다. 시료전처리는 농약 잔류성 시험기준 및 식품공전상의 방법에 의해 씨 부분 및 꼭지 부분을 제거한 후 2 cm 정도로 세절하고 homogenizer로 균질화하였다. 제조된 시료는 polyethylene 시료병에 넣어 -15°C에서 냉동 보관하면서 사용하였다.

농약표준용액 및 시약

총 199가지의 농약 표준품이 사용되었으며, 각 농약 표준품은 모두 순도 95% 이상의 것을 구하여 실험에 사용할 혼합 표준품 용액을 만드는데 사용하였다. 각 농약을 잔류분석용 acetone에 녹여 1000 mg/L의 stock solution을 만든 다음 희석하여 이화학적 성질 및 검출기별로 분류하여 50 mg/L의 혼합 표준품 용액을 제조하였다. 11가지의 혼합 표준품에 첨가할 내부표준물질로서 ECD 혼합용액 #1을 제외한 나머지 ECD 그룹에는 pentachloronitrobenzene을, NPD 그룹에는 triphenyl phosphate를 각 시료에 0.1 mg/L 수준으로 처리하였다. Solid-phase extraction (SPE) cartridge (1 g, 6 mL tube)는 Supelco (USA)에서, 잔류분석용 acetone, acetonitrile, *n*-hexane 및 dichloromethane은 Kanto Chemical (Japan)에서 구입하였고, anhydrous sodium sulfate는 Junsei Chemical (Japan)

에서 구입하여 사용하였다.

추출 및 정제

사과 및 배 시료 20 g을 homogenizer (Nihonseiki Kaisha Ace AM-8, Japan)에 넣고 100 mL의 acetone/acetonitrile 혼합액(90/10, v/v)을 첨가하여, 혼합추출분쇄기로 3~5분간 균질화한 후, 혼합액을 감압 여과하였다. 여과한 혼합액을 포화 식염수 50 mL, 증류수 100 mL가 담긴 분액여두에 넣고 dichloromethane 70 mL로 2회 분배추출을 한 뒤 추출액을 anhydrous sodium sulfate 층을 통과시켜 탈수시키고 감압회전 농축기를 이용하여 용매가 소량 남을 때까지 농축한 뒤 hexane 4 mL를 가하여 잔류물을 완전히 용해시켰다. Florisil SPE cartridge에 hexane 5 mL를 미리 흘려주어 활성화시키고 시료용액을 가하여 cartridge를 통과한 용액을 시험관에 받은 후 cartridge에 hexane/dichloromethane/acetonitrile (50/48.5/1.5, v/v/v) 혼합용액 7 mL를 흘려주어 나온 용출액을 동일 시험관에 모았다. 용출액을 질소가스로 휘산시켜 용매를 제거한 후 내부표준물질을 첨가한 hexane 2 mL로 재용해 하여 GLC에 공시하였다.

기기 조건

분석에 사용된 GC는 ECD와 NPD를 장착한 Varian (USA) CP 3800 모델을 사용하였고, 분석용 컬럼은 J&W Scientific (USA)의 DB-5 capillary column (5% phenyl-methyl polysiloxane, 30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 μm film thickness)을 사용하였다. 주입구 온도는 260°C, 검출기 온도는 280°C, 컬럼은 프로그래밍법으로 80°C에서 2분간 등온하고 분당 10°C의 속도로 280°C까지 승온한 후 10분간 등온 시키는 온도 조건을 사용하였고, 시료주입 방법은 ECD의 경우 split (20:1), NPD의 경우 splitless 법을 사용하였다.

결과 및 고찰

분석대상농약의 분류

Gas chromatography로 분석이 가능한 것으로 알려진 196종의 농약(199 성분)들을 선정한 후 retention time에 따른 분리정도 및 검출기에 대한 반응성에 따라 ECD 5그룹(E1~E5), NPD 5그룹(N1~N5)의 10개 그룹으로 분류하였다. 미지의 농산물 시료중에 분석대상 성분은 retention time의 차이로 정성은 가능하다. 그러나 retention time간의 미세한 차이로서로 겹치는 성분들을 동일한 혼합액으로 조제하는 경우 정량이 곤란하게 된다. 또한 인접한 성분이 동시에 검출될 확률은 상대적으로 낮다. 따라서 정확한 정량을 위하여 baseline이 분리되는 성분들을 10개의 혼합액을 조제하였다. 한편 미세한 retention time의 차이로 정성이 곤란한 경우는 성분별 검출기에 대한 반응성 차이로 추가적 정성이 가능하다고 판단되었다.

회수율 시험 혼합표준품 용액 선정

동시 다성분 잔류분석법의 확립을 위한 예비실험에 사용할 회수율 시험 혼합표준품 용액(Recovery test mixture, RTM)에 포함할 농약들을 선정하기 위해 Lehotay 등¹⁹⁾의 방법에 따라 각 농약의 화학적 구조, Log P_{ow}, 분자량 및 용해도 등을 고려하여 esfenvalerate, benfluralin, β-Endosulfan, chlorpyrifos, oxyfluorfen, bitertanol, pretilachlor, tolylfluanid, fenitrothion, napropamide, fenothiocarb, terbuthylazine, nuarimol, vinclozolin, molinate, metobromuron, metalaxyl 및 acephate 등의 18가지 농약이 선정되었다.

회수율 시험의 혼합표준품 용액을 선정하기 위해, 분석대상 물질로 선정한 농약성분들을 물리·화학적인 특징 (농약의 화학적 활성기, log P_{ow}, 분자량 등)으로 구분하였으며, 그 중 log P_{ow} 값으로 세분화한 결과 log P_{ow} 값이 3 이상 150여개, 1~3 34여개, 1 이하 10여개 이었다. 이 세 group에 속한 농약들에 대해 계열별로 1개를 선택하는 것을 원칙으로 하였으며, 특히 유기인계의 경우는 대상 농약의 과반수 이상을 차지하므로 각 log P_{ow} group 별로 1가지씩 선택하였다.

시료 분석 방법의 확립

최적의 잔류농약 동시 다성분 분석법 확립 및 분석시스템 구축을 위하여 추출용매 조성별 추출 효율 확인, 시료 정제

방법 비교 실험을 선행하여 효율성 및 신뢰성을 확보하고 다양한 매질에 적용시킬 수 있는 시료 전처리 방법을 최종 확립하였으며, 확립된 방법은 Fig. 1과 같다.

추출 용매는 예비실험에서 실험농약 대부분에 대해서 80% 이상의 회수율을 보인 acetone/acetonitrile (90/10, v/v) 혼합 용액을 사용하였으며, 기존의 액액분배 및 흡착 크로마토그래피를 대신하여 최근 유기화합물의 정제 과정에 많이 사용되고 있는 solid-phase extraction (SPE) cartridge 방법을 채택하여 예비실험 한 결과 dichloromethane으로 액액분배 후 Florisil cartridge를 사용하는 방법을 선정하였다. Sabik 등²⁰⁾의 보고에서와 같이 이상적인 시료조제 방법은 신속, 정확하고, 유기용매 소모량이 적어야 하며, 실험에 적용이 용이하고 적은 비용의 방법이어야 한다는 관점에서 SPE법은 그러한 조건들을 잘 충족시키고 있는 방법이라 할 수 있다. 추출 및 SPE 과정에서의 용매 선정을 위한 각 단계별 실험결과는 Table 1에서의 결과와 같이 회수율시험 혼합표준품 용액중의 시험대상 농약들에 대하여 가장 적은 회수율 편차를 보인 acetonitrile/acetone (90/10, v/v) 및 hexane/dichloromethane/acetonitrile (50/48.5/1.5, v/v/v) 이었다.

Table 1. Recoveries of representative eighteen pesticides with different extraction and cleanup methods

Pesticide	Recovery(%)						
	Extraction ^{a)}				Cleanup ^{b)}		
	A	B	C	D	E	F	G
Esfenvalerate	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Benfluralin	80.6	75.6	76.3	75.7	59.1	98.8	79.2
β-Endosulfan	113.0	105.4	112.1	106.6	95.8	103.4	97.7
Chlorpyrifos	77.7	93.4	93.2	91.5	92.6	88.2	88.8
Oxyfluorfen	102.9	111.1	107.8	117.0	102.3	99.9	100.1
Bitertanol	98.4	103.9	93.5	101.4	96.2	95.6	95.0
Pretilachlor	20.3	89.5	63.7	78.4	0.0	0.0	0.0
Tolyfluanid	105.5	104.3	107.4	103.8	102.5	102.3	102.6
Fenitrothion	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Napropamide	90.8	97.2	87.5	93.4	98.1	96.1	96.8
Fenothiocarb	80.0	95.5	93.2	89.5	96.7	93.3	99.2
Terbuthylazine	72.1	104.0	92.2	96.0	110.1	102.1	100.7
Nuarimol	96.3	96.7	102.0	99.8	98.0	94.0	97.6
Vinclozolin	91.0	92.0	91.6	94.8	93.5	92.1	94.2
Molinate	89.3	94.6	89.9	96.5	92.0	89.9	92.0
Metobromuron	30.0	85.0	69.3	72.7	93.0	85.4	90.9
Metalaxyl	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Acephate	89.8	94.6	89.8	92.4	95.3	92.4	96.6

^{a)}Extracting solvents : A, 100% acetonitrile; B, acetonitrile/acetone(90/10, v/v); C, acetonitrile/acetone(10/90, v/v); D, 100% acetone.

^{b)}Florisil SPE eluents : E, 20% acetone in hexane; F, Hexane/CH₂Cl₂/ACN(50/48.5/1.5, v/v/v); G, Hexane/CH₂Cl₂/ACN(50/45/5, v/v/v).

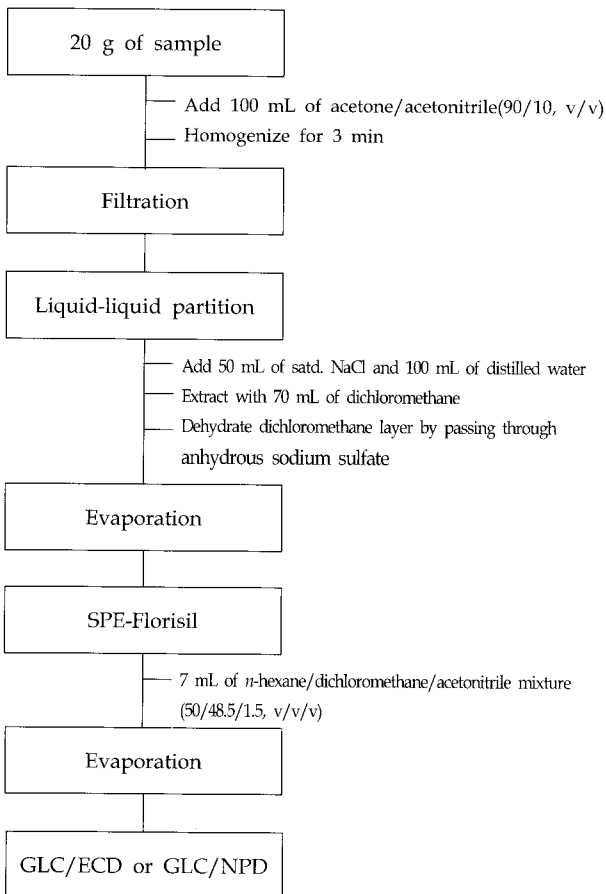


Fig. 1. Sample preparation procedure for analysis of multiple pesticide residues in the fruits.

사과 및 배에 대한 다성분분석법의 적용

각 혼합표준품 용액으로 사과 및 배에 대한 회수율 시험을 실시한 결과 ECD group 5의 imibenconazole은 다른 농약에 비해서 비교적 긴 retention time으로 인해 분석에서 제외

되었다. Table 2에 나타난 것처럼 acephate, amitraz, bromacil, diafenthiuron, diclomezine, difenconazole, flufenoxuron, furathiocarb, hexazinone, imazalil, imibenconazole, oryzalin, prochloraz, pyraclofos, pyrazoxyfen, pyroquilon 및 simetryn

Table 2. Recoveries and relative standard deviations(RSDs) of pesticides from fortified fruit samples

No.	Pesticide	Chemical Class	RRT ^{a)}	Mixture ^{b)}	Recovery(%) ± RSD(%)	
					Apple	Pear
1	Acephate	Organophosphorous	-	NR	nr ^{d)}	nr
2	Acetochlor	Chloroacetanilide	1.069	E3	91.2±11.7	92.5±8.3
3	Acrinathrin	Pyrethroid	1.424 ^{m)}	E4	94.4±6.9	77.9±5.1
4	Alachlor	Chloroacetanilide	1.082	E1	90.4±9.7	99.7±17.8
5	Aldrin	Organochlorine	1.133	E3	82.8±8.8	85.6±4.5
6	Amitraz	Amidine	-	N3	nr	nr
7	Anilazine	nf ^{e)}	1.176	E2	82.2±12.5	85.6±8.3
8	Anilofos	Organophosphorous	1.420	E2	62.1±5.8	77.9±7.6
9	Azinophos-methyl	Organophosphorous	1.052	N2	114.3±3.3	103.5±5.7
10	Benfluralin	2,6-Dinitroaniline	0.920	ER	79.4±4.8	73.2±3.6
11	Benfuracarb	carbamate	1.041	N1	28.1±5.7	36.1±13.5
12	BHC(total)	Organochlorine	0.949 ^{m)}	E3	106.8±14.5	90.6±9.1
13	Bifenox	Diphenyl ether	1.416	E5	92.7±4.3	90.9±1.1
14	Bifenthrin	Pyrethroid	1.395	E5	92.3±8.3	79.5±5.2
15	Bitertanol	Azole	1.055	NR	61.8±6.3	36.9±1.6
16	Bromacil	Uracil	1.105	E3	nr	nr
17	Bromopropylate	Benzilate	1.398	E3	82.1±8.2	87.0±8.1
18	Buprofezin	nf	0.867	N2	85.0±11.5	87.3±11.0
19	Butachlor	Chloroacetanilide	1.219	E1	81.9±4.9	97.3±25.8
20	Captafol	N-trihalomethylthio	1.367	E2	80.1±18.1	90.6±17.0
21	Captan	N-trihalomethylthio	1.187	E4	88.8±9.0	83.4±4.3
22	Carbophenothion	Organophosphorous	0.928	N2	75.3±11.9	75.2±11.6
23	Carbosulfan	Carbamate	0.984	N3	37.8±5.4	55.1±2.5
24	Chinomethionat	Quinoxaline	1.208	E3	85.6±4.4	79.9±4.4
25	Chlomethoxyfen	Diphenyl ether	1.384	E5	90.4±9.3	86.8±5.0
26	Chlorfenapyr	Pyrazole analogue	1.275	E5	81.0±13.0	80.7±7.1
27	Chlorfenvinphos	Organophosphorous	0.816	N4	73.1±5.3	75.8±4.5
28	Chlormitrofen	Diphenyl ether	1.326	E5	85.0±6.9	86.9±1.9
29	Chlorobenzilate	Chlorinated hydrocarbon	1.284	E1	73.0±12.1	71.3±3.2
30	Chlorothalonil	Organochlorine	1.028	E1	84.4±16.6	101.1±38.9
31	Chlorpropham	Carbamate	0.664	N1	64.8±1.4	64.4±0.8
32	Chlorpyrifos	Organophosphorous	1.127	ER	112.4±10.5	92.6±5.4
33	Chlorpyrifos-methyl	Organophosphorous	0.751	N2	85.0±15.3	92.0±6.5
34	α-Cyfluthrin	Pyrethroid	1.582 ^{m)}	E1	71.2±13.1	83.3±13.0
35	β-Cyfluthrin	Pyrethroid	1.583 ^{m)}	E4	74.8±4.3	77.4±4.1
36	Cyhalothrin	Pyrethroid	1.446 ^{m)}	E5	77.8±2.9	82.2±24.6
37	λ-Cyhalothrin	Pyrethroid	1.447 ^{m)}	E3	75.6±4.4	73.5±6.7
38	α-Cypermethrin	Pyrethroid	1.618 ^{m)}	E3	94.9±22.9	88.3±16.0
39	Cypermethrin	Pyrethroid	1.618 ^{m)}	E1	92.0±13.8	99.9±8.5
40	ζ-Cypermethrin	Pyrethroid	1.619 ^{m)}	E5	82.1±4.1	79.2±4.9
41	Cyproconazole	Azole	0.891	N1	16.5±1.0	18.4±3.4
42	Cyprodinil	Anilnopyrimidine	0.814	N2	98.1±8.4	102.9±12.4
43	DDD-p,p	Organochlorine	1.297	E3	84.0±7.8	74.3±3.9
44	DDE-p,p	Organochlorine	1.248	E3	77.0±4.6	78.6±7.8
45	Deltamethrin	Pyrethroid	1.827 ^{m)}	E2	83.5±9.8	75.5±2.9
46	Demeton-S-methyl	Organophosphorous	0.620	N1	92.2±8.1	84.6±3.5
47	Diafenthiuron	Urea	0.932	N3	nr	nr
48	Diazinon	Organophosphorous	0.705	N5	109.7±12.8	96.3±18.5
49	Dichlobenil	Benzonitrile	0.672	E2	71.2±5.2	76.2±2.9

^{a)}Relative retention time to the internal standard (pentachloronitrobenzene and triphenyl phosphate in the ECD and NPD standard mixtures, respectively), ^{b)}N, NPD mixture; E, ECD mixture; R, recovery test mixture; numbers, groups of mixtures, ^{c)}m, RRT of the first peak of pesticide showing multiple peaks, ^{d)}nr, not recovered, ^{e)}nf, not defined.

Table 2. (Continued)

No.	Pesticide	Chemical Class	RRT ^{d)}	Mixture ^{b)}	Recovery(%) ± RSD(%)	
					Apple	Pear
50	Dichlofluanid	N-trihalomethylthio	1.118	E1	96.3±4.3	71.5±27.3
51	Dichlorvos	Organophosphorous	0.410	N1	73.5±5.5	89.3±11.8
52	Diclfop-methyl	2-(4-aryloxyphenoxy)propionic acid	1.355	E3	118.5±18.3	78.6±14.4
53	Diclomezine	nf	1.361	E4	nr	nr
54	Dicloran	nf	0.963	E3	82.0±10.7	89.1±9.2
55	Dicofol	Organochlorine	1.139	E4	90.9±9.0	87.2±6.9
56	Dieldrin	Organochlorine	1.257	E1	76.1±16.3	80.6±9.0
57	Diethofencarb	Phenyl carbamate	0.783	N1	93.9±3.3	105.2±12.2
58	Difenconazole	Azole	1.809 ^{mc)}	E4	nr	nr
59	Dimepiperate	Thiocarbamate	0.831	N4	53.1±0.4	31.7±8.8
60	Dimethametryn	1,3,5-Triazine	0.817	N3	78.3±6.9	47.6±4.6
61	Dimethenamid	Chloroacetamide	1.065	E4	84.7±8.3	88.9±5.5
62	Dimethoate	Organophosphorous	0.674	N5	22.5±2.2	15.0±3.6
63	Dimethylvinphos	Organophosphorous	0.790	N5	51.0±2.2	59.0±6.5
64	Dinocap	Dinitrophenol derivative	1.357 ^{m)}	E1	58.8±10.9	24.6±3.7
65	Diphenamid	Alkanamide	0.808	N3	49.9±6.8	33.1±10.4
66	Diphenylamine	nf	0.621	N4	110.8±4.3	92.9±19.3
67	Disulfoton	Organophosphorous	1.017	E2	11.4±1.7	26.6±6.1
68	Dithiopyr	Pyridine	1.100	E4	85.0±6.7	83.6±13.5
69	Edifenphos	Organophosphate ester	0.951	N3	83.1±6.5	90.3±4.9
70	α-Endosulfan	Cyclodiene organochlorine	1.226	E2	87.2±9.5	84.2±0.7
71	Endosulfan sulfate	Cyclodiene organochlorine	1.342	E1	70.5±5.0	72.0±7.4
72	β-Endosulfan	Cyclodiene organochlorine	1.287	ER	63.4±7.2	76.4±4.8
73	Endrin	Cyclodiene organochlorine	1.284	E3	93.0±14.3	90.0±8.5
74	EPN	Organophosphorous	0.978	N1	83.8±16.3	88.5±9.6
75	Esfenvalerate	Pyrethroid	1.760	ER	84.6±5.8	74.6±2.6
76	Esprocarb	Thiocarbamate	0.778	N5	99.6±17.7	95.1±10.4
77	Ethalfuralin	2,6-Dinitroaniline	0.911	E2	72.6±3.2	82.0±0.8
78	Ethion	Organophosphorous	0.909	N1	95.6±8.8	87.4±14.2
79	Ethoprophos	Organophosphorous	0.626	N5	78.5±3.8	83.0±7.2
80	Etoxazole	Azole	0.983	N2	78.6±14.9	77.2±2.2
81	Etridiazole	Aromatic hydrocarbon	0.761	E4	71.5±5.7	85.5±5.5
82	Etrimos	Organophosphorous	0.719	N5	100.5±13.7	87.3±9.8
83	Fenamiphos	Organophosphorous	0.857	N1	13.4±1.0	9.5±1.3
84	Fenarimol	Pyrimidinyl carbinol	1.484	E1	28.9±4.6	18.3±6.1
85	Fenazaquin	nf	0.990	N4	94.3±4.9	86.3±7.5
86	Fenclorim	Pyrimidine	0.948	E5	78.6±10.3	86.5±12.2
87	Fenitrocarb	Carbamate	0.888	NR	86.4±2.5	89.7±5.8
88	Fenitrothion	Organophosphorous	1.101	ER	96.4±7.5	90.5±6.5
89	Fenobucarb	Carbamate	0.613	N5	85.0±9.0	96.4±21.1
90	Fenpropathrin	Pyrethroid	1.404	E5	103.9±11.3	95.4±8.2
91	Fenthion	Organophosphorous	0.790	N4	116.5±9.0	94.5±15.2
92	Fenvalerate	Pyrethroid	1.742 ^{m)}	E1	121.7±8.4	120.1±7.8
93	Fipronil	Phenyl pyrazole	1.180	E5	77.1±4.5	82.2±10.1
94	Fluazinam	2,6-Dinitroaniline	1.172	E4	97.7±6.5	96.6±12.7
95	Flucythrinate	Pyrethroid	1.642 ^{m)}	E2	95.7±18.2	72.9±4.1
96	Flufenoxuron	Benzoylurea	-	N3	nr	nr
97	Fluoroimide	nf	0.960	E2	11.4±1.7	32.5±11.3
98	Flusilazole	Azole	0.897	N5	33.6±8.4	55.7±3.9
99	Flutolanil	Carboxamide	0.860	N4	88.2±16.7	84.3±5.2
100	τ-fluvalinate	nf	1.770	E2	104.5±12.0	91.1±8.9
101	Folpet	N-trihalomethylthio	1.195	E5	52.8±2.5	46.9±7.1
102	Fonofos	Organophosphorous	0.702	N1	96.7±3.8	109.5±4.0
103	Fosthiazate	Organophosphorous	0.807 ^{mc)}	N1	11.9±1.5	18.5±2.8

Table 2. (Continued)

No.	Pesticide	Chemical Class	RRF ^{a)}	Mixture ^{b)}	Recovery(%) ± RSD(%)	
					Apple	Pear
104	Fthalide	Quinones	1.156	E3	79.8±5.8	82.1±4.5
105	Furathiocarb	Carbamate	-	N3	nr	nr
106	Halfenprox	Non-ester pyrethroid	1.627	E4	90.5±14.3	82.8±13.8
107	Heptachlor	Cyclodiene organochlorine	1.089	E3	78.8±2.4	88.7±8.7
108	Heptachlor-epoxide	Cyclodiene organochlorine	1.181	E3	78.2±5.8	83.0±11.4
109	Hexaconazole	Azole	0.864	N3	21.9±11.3	9.3±1.2
110	Hexazinone	1,2,4-Triazinone	0.944	N1	nr	nr
111	Imazalil	Azole	1.238	E2	nr	nr
112	Imibenconazole	Azole	-	E5	nr	nr
113	Iprobenfos	Organophosphate ester	0.726	N1	36.5±3.2	44.5±2.1
114	Iprodione	Dicarboxamide	1.382	E3	56.7±5.1	47.6±10.7
115	Isazophos	Organophosphorous	0.717	N2	84.2±16.5	72.2±2.0
116	Isofenphos	Organophosphorous	0.826	N5	114.4±21.9	97.3±6.6
117	Isoprocab	Carbamate	0.577	N2	79.4±6.0	87.1±14.1
118	Isoprothiolane	Phosphorothiolate	1.237	E5	94.5±8.0	92.9±6.7
119	Kresoxim-methyl	Strobilurin analogue	0.879	N3	77.2±7.4	94.9±12.8
120	Linuron	Urea	1.111	E2	86.4±12.9	106.5±26.5
121	Malathion	Organophosphorous	0.781	N2	91.2±3.2	80.6±7.2
122	Metalaxyl	Phenylamide	-	NR	nr	nr
123	Mecarbam	Organophosphorous	0.826	N3	88.4±16.7	98.3±3.8
124	Mepaniprim	Anilnopyrimidine	0.850	N5	76.6±6.9	75.4±3.3
125	Methidation	Organophosphorous	0.843	N1	107.2±13.2	86.1±17.2
126	Methoxychlor	Organochlorine	1.404	E2	86.2±15.8	76.8±4.7
127	Metobromuron	Urea	1.042	ER	26.9±4.6	14.6±3.5
128	Metolachlor	Chloroacetanilide	1.129	E2	82.1±12.6	101.3±22.4
129	Metribuzin	1,2,4-Triazinone	1.061	E1	73.4±7.2	84.9±3.8
130	Mevinphos	Organophosphorous	0.515	N5	18.8±2.1	11.8±0.7
131	Molinate	Thiocarbamate	0.606	NR	88.3±7.2	83.5±6.5
132	Myclobutanil	Azole	1.253	E5	33.1±0.3	26.1±4.0
133	Napropamid	Alkanamide	0.906	NR	76.5±8.1	72.5±4.5
134	Nonachlor	Organochlorine	1.234	E3	78.7±3.8	87.2±10.0
135	Nuarimol	Pyrimidinyl carbinol	1.353	ER	14.4±5.1	6.5±2.6
136	Ofurace	Phenylamide	0.926	N1	9.2±4.2	13.4±2.1
137	Oryzalin	2,6-Dinitroaniline	1.515	E5	nr	nr
138	Oxadixyl	Phenylamide	0.909	N5	25.5±6.3	11.2±0.8
139	Oxadiflon	Oxadiazole	1.247	E2	82.6±14.6	73.0±11.2
140	Oxyfluorfen	Diphenylether	1.247	ER	76.5±5.4	72.6±1.5
141	Paclobutrazole	Azole	0.847	N3	27.5±4.9	15.7±4.9
142	Parathion	Organophosphorous	0.793	N2	82.3±10.5	85.7±13.6
143	Penconazole	Azole	0.821	N4	27.2±6.0	32.3±4.7
144	Pendimethalin	2,6-Dinitroaniline	0.820	N1	77.5±1.5	94.6±11.0
145	Permethrin	Pyrethroid	1.527 ^m	E3	110.6±1.0	94.1±12.8
146	Phenthoate	Organophosphorous	1.186	E1	92.2±14.7	93.1±13.8
147	Phorate	Organophosphorous	0.658	N1	95.4±8.8	102.9±11.2
148	Phosalone	Organophosphorous	1.009	N4	92.7±7.2	99.7±8.5
149	Phosmet	Organophosphorous	1.397	E4	81.8±9.7	72.5±5.2
150	Phosphamidone	Organophosphorous	0.707	N4	23.8±2.2	16.4±2.9
151	Piperophos	Organophosphorous	0.980	N5	63.0±8.3	65.3±3.6
152	Pirimicarb	Carbamate	0.729	N4	30.0±7.2	23.7±2.8
153	Pirimiphos-ethyl	Organophosphorous	0.808	N5	109.7±12.4	99.9±5.0
154	Pirimiphos-methyl	Organophosphorous	0.774	N1	100.7±4.0	83.7±14.4
155	Pretilachlor	Chloroacetanilide	1.239	ER	77.3±3.6	68.7±5.1
156	Prochloraz	Azole	1.558	E2	nr	nr

Table 2. (Continued)

No.	Pesticide	Chemical Class	RRT ^{a)}	Mixture ^{b)}	Recovery(%) ± RSD(%)	
					Apple	Pear
157	Procymidone	Dicarboximide	1.194	E2	81.6±6.5	95.1±18.6
158	Prodiamine	2,6-Dinitroaniline	1.104	E5	86.0±13.3	95.0±16.3
159	Profenofos	Organophosphorous	1.241	E1	59.6±12.5	61.3±9.1
160	Prometryn	1,3,5-Triazine	0.758	N5	90.3±5.5	88.5±2.5
161	Propamocarb	Carbamate	0.495	N5	26.4±5.1	25.1±4.6
162	Propanil	Anilide	1.057	E2	93.8±9.4	83.4±8.8
163	Propiconazole	Azole	0.932 ^{mc)}	N4	75.8±8.0	74.1±10.4
164	Prothiofos	Organophosphorous	1.239	E4	85.6±9.2	92.1±2.7
165	Pyraclufos	Organophosphorous	-	N2	nr	nr
166	Pyrazophos	Organophosphate ester	1.483	E2	77.6±7.7	74.9±8.9
167	Pyrazoxyfen	Pyrazole	1.835	E5	nr	nr
168	Pyributicarb	Thiocarbamate	1.379	E2	71.3±4.3	90.4±12.8
169	Pyridaben	nf	1.544	E4	88.0±8.6	74.7±3.6
170	Pyridaphenthion	Organophosphorous	0.971	N2	40.3±4.0	28.2±6.7
171	Pyroquilon	Reductase	0.702	N2	nr	nr
172	Quinalphos	Organophosphorous	0.830	N5	97.6±16.9	95.3±11.3
173	Quintozene	Aromatic hydrocarbon derivative	1.000	E1	105.7±11.7	87.5±11.2
174	Simazine	1,3,5-Triazine	0.676	N3	31.1±8.1	9.3±0.4
175	Simetryn	1,3,5-Triazine	0.752	N3	nr	nr
176	Tebufenpyrad	Pyrazole	1.019	N3	78.4±3.0	68.9±2.6
177	Tefluthrin	Pyrethroid	1.020	E4	83.8±7.2	86.9±12.4
178	Tebuconazole	Azole	0.948	N2	76.3±7.8	76.1±7.2
179	Terbufos	Organophosphorous	0.697	N2	90.2±9.3	76.5±2.2
180	Terbutylazine	1,3,5-Triazine	0.729	NR	83.9±4.6	81.2±10.4
181	Terbutryn	1,3,5-Triazine	0.767 ^{m)}	N2	92.5±5.3	95.8±9.9
182	Tetradifon	Organosulfur	1.433	E5	85.4±4.6	87.5±4.1
183	Thifluazamide	Oxathiin	0.880	N4	99.8±20.8	97.2±14.0
184	Thiobencarb	Thiocarbamate	0.793	N3	84.7±4.7	84.5±6.9
185	Thiometon	Organophosphorous	0.668	N2	67.4±8.9	46.3±3.5
186	Tolclofos-methyl	Organophosphate ester	0.755	N1	90.9±4.5	100.9±8.2
187	Tolyfluanid	N-trihalomethylthio	1.175	ER	79.4±4.6	59.5±5.4
188	Tralomethrin	Pyrethroid	1.865	E4	114.4±5.5	89.4±5.2
189	Triadimefon	Azole	1.136	E1	56.3±6.4	65.9±15.3
190	Triadimenol	Azole	0.831 ^{m)}	N2	111.9±7.6	106.2±10.6
191	Triazamate	Carbamoyltriazole	0.845	N4	29.8±8.0	30.8±1.4
192	Triazophos	Organophosphorous	0.918	N4	81.6±3.7	96.9±4.9
193	Trichlorfon	Organophosphorous	0.411	N2	38.4±6.8	15.6±2.2
194	Triflumizole	Azole	0.835	N4	40.0±8.7	23.7±5.0
195	Trifluralin	2,6-Dinitroaniline	0.922	E4	101.1±4.0	96.1±6.6
196	Vinclozolin	Dicarboximide	1.066	ER	78.7±5.4	74.9±4.5

등의 17개의 농약은 두 가지 matrix 모두에서 검출되지 않았고, 전체 대상 농약 수의 70%에 해당하는 농약들이 회수율 70~120%의 좋은 결과를 나타내었으며, 반면에 전체 대상 농약 중 오직 fenvalerate 만이 회수율 120%를 상회하는 결과를 보였다. 또한 blank test 에서의 회수율 결과와 상이한 결과를 나타낸 몇몇 농약들 중 anilofos, dimethametryn, pretilachlor, tebufenpyrad, tolyfluanid 등의 농약들은 사과 및 배 시료 중에서의 회수율이 서로 차이가 나는 결과를 나타내기도 하여 matrix의 종류에 따라 회수율이 영향을 받고 있음을 알 수 있었다.

회수율 시험 결과에 대하여 혼합표준품 용액 중에 포함된 농약들을 주요한 화학 구조별로 분류하여 Table 2에 나타내었다. 주로 diphenyl ether, organochlorine 및 trihalomethylthio

계에 속하는 농약들은 다른 구조의 농약들에 비해 비교적 안정하고, ECD 및 NPD에 대한 높은 감도에 기인하여 좋은 회수율 결과를 보인데 비해, azole 및 urea 계에 속하는 농약들은 상대적으로 ECD 및 NPD에 대한 감도가 낮거나, 다른 농약에 비해 비교적 극성을 띠거나 열에 약한 성질을 가지며 또한 matrix 내의 coextractives의 영향 등의 여러 요인에 의해 낮은 회수율을 보이거나 검출되지 않는 경우도 있었다.

Table 3의 결과와 같이 실험에 사용된 농약들의 log P_{ow} 값에 따른 회수율의 분포는 log P_{ow} 값이 작을수록 낮은 회수율을 보이거나 검출되지 않는 빈도가 높았고, log P_{ow} 값이 높을수록 높은 회수율을 보이는 경향을 나타내었다. 그러한 경향은 시험 전 과정인 추출, 분배 및 clean up 과정에 있어서 농약의 log P_{ow} 값이 회수율에 있어서 직접적인 영향을 미

치기 때문이다. $\log P_{ow}$ 값이 낮은 농약들은 본 연구에서의 기기분석 조건에서 chromatogram의 비교적 뒤쪽에서 나타나므로 cleanup 과정에서 단성분 잔류분석시보다 상대적으로 간단한 과정으로 되어 있는 SPE법의 용출용매 조건으로는 $\log P_{ow}$ 값이 작은 농약들이 matrix 내의 coextractives의 영향을 훨씬 많이 받기 때문에 사료된다. 예비실험으로 물에서 회수율을 조사했을 때 어느 정도 회수율을 보이던 $\log P_{ow}$ 값이 낮은 농약들이 사과 및 matrix 내에서는 더욱 낮은 회수율을 보이거나 검출되지 않는 빈도가 증가한 것으로 그러한 이유를 뒷받침 할 수 있고, 이를 보완하기 위한 보다 구체적인

Table 3. Recovery distribution of pesticides related to their $\log P_{ow}$ in different matrices

Recovery	Number of pesticides							
	Apple				Pear			
	$\log P_{ow}$		Sum ^{b)}	$\log P_{ow}$		Sum		
<1	1-3	>3						
nr ^{a)}	2	4	9	17	2	5	10	18
< 70%	6	10	11	42	6	12	15	44
70~120%	2	21	100	136	2	18	95	133
> 120%	-	-	1	1	-	-	1	1

^{a)}nr, not recovered, ^{b)}Pesticides not considered of $\log P_{ow}$.

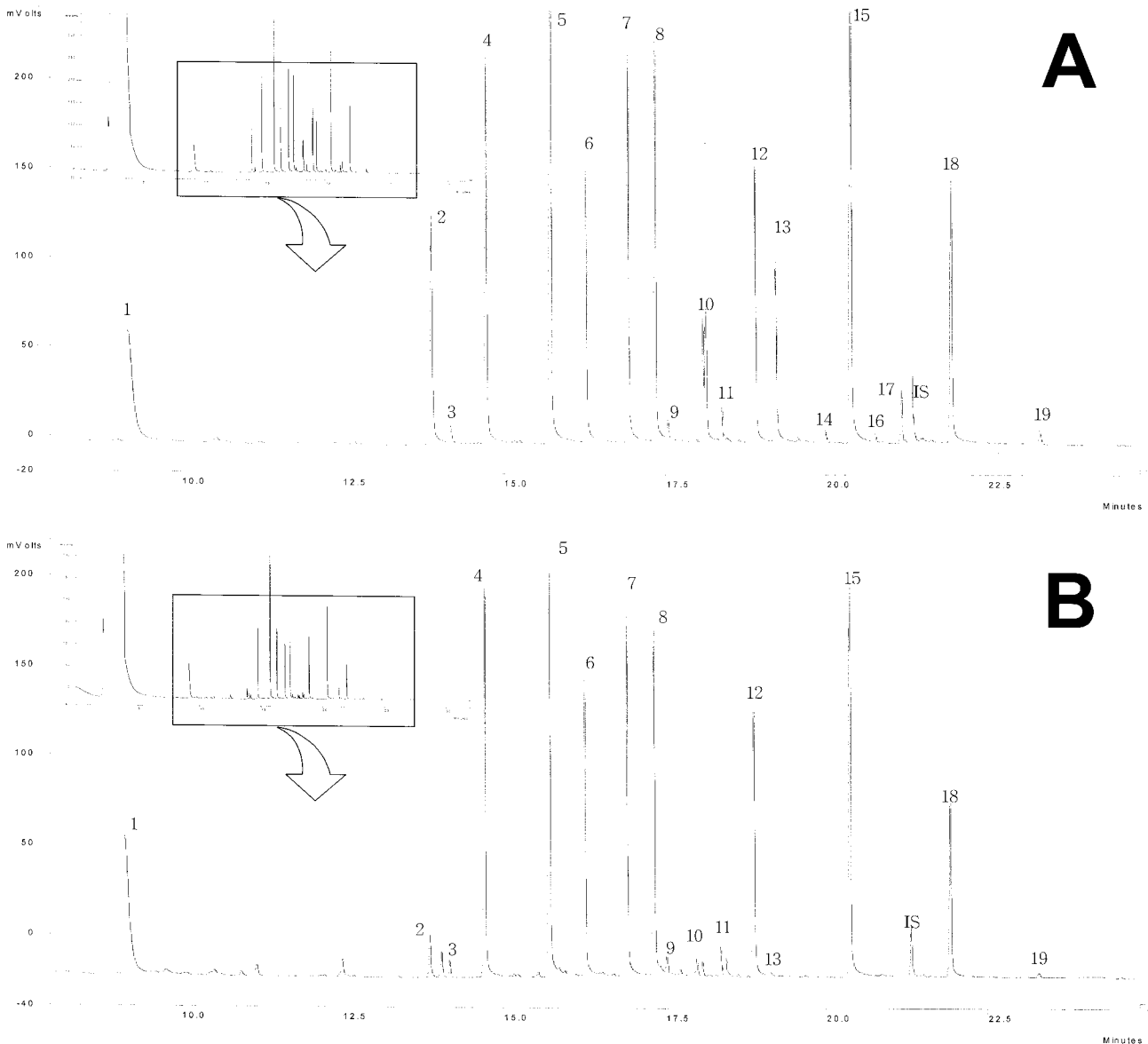


Fig. 2. Typical gas-liquid chromatograms of standards and the apple extract for NPD group 1 pesticides. (A, standard mixture containing each pesticide at $5\mu\text{g}/\text{mL}$; B, fortified apple sample)

Peak identity : 1-Trichlorfon, 2-Isoprocarb, 3-Thiomefon, 4-Terbufos, 5-Pyroquilon, 6-Isazofos, 7-Chlorpyrifos-methyl, 8-Terbutryn, 9-Malathion, 10-Parathion, 11-Cyprodinil, 12-Triadimenol, 13-Buprofezin, 14-Carbophenothion, 15-Terbuconazole, IS-Triphenyl phosphate(internal standard), 16-Pyridaphenthion, 17-Etoazole, 18-Azinphos-methyl, 19-Pyralofos.

정제방법의 연구가 실행되어야 할 것이다.

본 연구는 GLC를 이용한 다성분 동시분석법 개발로 국내 여러 기관에서 행해지고 있는 다성분 분석법을 비교 선별하여 보다 신속, 정확하고, 여러 matrix에 적용할 수 있는 분석법을 확립하고자 하는 연구의 일부이다. 시료조제 과정 중 특히 정제과정에 있어서 국립농산물품질관리원의 방법은 Florisil glass column을 사용하는데, 시간이 많이 들고 용매의 사용량도 많은 단점이 있고, 식품의약품안전청에서는 더 간단한 SPE법을 사용하여 용매의 사용량을 줄인 장점이 있으나, Florisil 및 aminopropyl의 두 가지 cartridge를 사용하여 역시 시간이 많이 걸리는 단점이 있었다. 그리하여 본 연구에서는 농약 혼합표준품 용액을 만든 후 증류수 및 blank 시료에 혼합 표준품 용액을 처리하여 여러 용매조건에 대한 column test를 행한 결과, 위의 방법들보다 더욱 간단하고 신속한 SPE-Florisil cartridge법을 확립하였다. 그 결과 두 가지 검출기에 대하여 196가지에 이르는 농약들의 grouping과 사과 및 배에서의 회수율시험을 수행하여 대부분의 농약을 신속, 정확하게 분리할 수 있었다. 이는 향후 수입농산물 및 국내농산물에 잔류되어 있는 미량의 농약을 신속하고 정확하게 검정하는데 기초 자료로 활용될 것으로 기대된다.

요 약

사과 및 배 시료에서 농약 다성분의 gas chromatography를 이용한 잔류분석법 확립을 위하여 199가지의 농약을 선정하여 retention time 및 검출기에 따라 ECD 5 그룹 및 NPD 5 그룹의 10개 그룹으로 분류하였다. 시료의 종류에 따른 분석조건을 확립하기 위한 회수율 시험은 농약들의 log P_{ow} 값과 화학적 분류에 따라 총 18개 (ECD 11개, NPD 7개)의 농약을 선정하였다. 예비실험 후 확립된 분석방법에 따라 10개 그룹의 혼합 표준용액으로 사과 및 배에 대한 회수율시험을 행하였다. 그 결과, 총 196가지의 농약의 70%에 해당하는 사과에서 136개, 배에서 133개의 농약들에서 회수율 70에서 120%의 양호한 결과를 나타내었다. 그러나 사과에서 43개, 배에서 45개의 농약들이 70% 미만의 회수율을 보였고, fenvalerate는 120% 이상의 회수율을 나타내었으며, 사과에서 17개 및 배에서 18개의 농약들은 검출이 되지 않았다. 그러나 확립된 분석법은 SOP에 의한 신속하고 수월한 수행으로 농산물 중의 잔류농약을 검출 및 모니터링하는 목적에 적합하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2002년 농림기술개발사업 연구비 지원에 의해 수행된 과제의 일부임.

참고문헌

1. 식품의약품안전청 (1999) 식품공전, p.37-106.
2. 식품의약품안전청 (1999) 식품공전 별책 제 7. 일반시험법, p.110-256.
3. 残留農藥基準便覽 (1994) 日本食品衛生協會 173pp.
4. C., Patricia (1995) *Official methods of analysis of AOAC international*, Pesticide and industrial chemical residues, 16th ed., Chapter 10, USA.
5. McMahon, B. M. (1994) *Pesticide Analytical Manual Volume I : Multiresidue Methods*, 3rd ed., FDA. USA.
6. Pang, G. F., Cao, Y. J. and Fan, C. L. (1995) Modification of AOAC multiresidue method for determining synthetic pyrethroid residues in fruits, vegetables and grains, Part I : Acetonitrile extraction system and optimization of Florisil cleanup and chromatography, *J. AOAC International* 78(6), 1481-1488.
7. Zoonen, P. V. and Rijksinstituut, V. (1996) *Analytical methods for pesticide residues in foodstuffs*, 6th ed., Ministry of Public Health, Welfare and Sport, Netherlands.
8. Kim, T. J., Eo, Y. W. and Kim, Y. S. (1987) A Study on the Separation and Determination of Organochlorine Pesticides by Capillary Column Gas-liquid Chromatography, *J. Korean Chem. Soc.* 31(5), 425-433
9. 김택겸, 어연우 (1990) 다성분 잔류농약 동시 분석법에 관한 연구 (3차), KIAT 연구보고서.
10. Kim, W. S., Lee, B. H. and Park, H. J. (1996) Study on the Development of Simultaneous Analytical Method for the Residual Organic Chloride Pesticides by Gas Chromatography, *J. Korean Environ. Sci.* 5(5), 561-567.
11. Niessner, G., Buchberger, W. and Eckerstorfer, R. (1999) Multiresidue screening methods for the determination of pesticides in plant materials, *J. Chromatogr. A* 846, 341-348.
12. Serrano, R., López, F. J. and Hernández, F. (1999) Multiresidue determination of persistent organochlorine and organophosphorus compounds in whale tissues using automated liquid chromatographic clean up and gas chromatographic-mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* 855, 633-643.
13. Columé, A., Cárdenas, S., Gallego, M. and Valcárcel, M. (2001) Semiautomatic multiresidue gas chromatographic method for the screening of vegetables for 25 organochlorine and pyrethroid pesticides, *Anal. Chem. Acta* 436, 153-162.
14. Castro, J., Sánchez-Brunete, C. and Tadeo, J. L. (2001) Multiresidue analysis of insecticides in soil by gas chromatography with electron-capture detection and confirmation by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 918, 371-380.
15. Ho, W. H. and Hsieh, S. J. (2001) Solid phase microe-

- xtraction associated with microwave assisted extraction of organochlorine pesticides in medicinal plants, *Analytica Chimica Acta* 428, 111-120.
16. Ahmed, F. E. (2001) Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks, *Trends in anal. chem.* 20(11), 649-661.
 17. Valverde, A., Aguilera, A., Rodríguez, M. and Boulaid, M. (2001) What are we determining using gas chromatographic multiresidue methods: tralomethrin or deltamethrin?, *J. Chromatogr. A* 943, 101-111.
 18. Lacassie, E., Marquet, P., Gaulier, J. M., Dreyfuss, M. F. and Lachâtre, G. (2001) Sensitive and specific multiresidue methods for the determination of pesticides of various classes in clinical and forensic toxicology, *Forensic Sci. Int'l* 121, 116-125.
 19. Lehotay, S. J. (1997) Supercritical fluid extraction of pesticide in foods, *J. Chromatogr. A* 785, 289-312.
 20. Sabic, H., Jeannot, R., Roudeau, B. (2000) Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters, *J. Chromatogr. A* 885, 217-236.
-