

## 무용매 고체 시료 주입기(SFSI)를 이용한 작물 중 잔류농약의 기체크로마토그래피 분석법 개발

김미라 · 이연 · 박병준<sup>1</sup> · 최주현<sup>1</sup> · 김인선 · 심재한\*

전남대학교 농업생명과학대학 농업과학기술연구소, <sup>1</sup>농업과학기술원 유해물질과

**요약** : SFSI (Solvent free solid injector)를 이용하여 추출과 정제과정이 필요없는 신속한 농약잔류분석법을 개발하고, 이 분석법의 실효성 여부를 확인하고자 내분비계장애추정농약으로 알려진 endosulfan, metribuzin, trifluralin, 그리고 vinclozolin의 작물 중 잔류양상을 분석하였다. SFSI에 주입된 시료는 동결건조 후 사용하였으며, SFSI에서 시료의 충분한 기화를 위한 pre-heating time을 조사한 결과 endosulfan과 trifluralin은 1 분, metribuzin은 10 분, vinclozolin은 5 분이였다. 또한 농약들의 최소검출량은 endosulfan, metribuzin, trifluralin 그리고 vinclozolin에서 각각 0.05, 0.1, 0.05, 0.05 ng이였다. 분석대상농약의 작물별 회수율은 배추 중 endosulfan은 74%, 상추 중 metribuzin은 98~107%, 시금치 중 trifluralin은 86~95%, 그리고 고추 중 vinclozolin은 94~95%이였다. 현장시료에 적용해 본 결과 상추에서 metribuzin이 0.6 ng/mg 수준으로 검출되었다. (2005년 8월 3일 접수, 2005년 9월 20일 수리)

색인어 : 무용매 고체 시료 주입기, 선가온시간.

### 서 론

일반적인 잔류농약 분석법은 전처리 과정과 분석과정 두 단계로 나뉘며, 흔히 사용되고 있는 전처리 방법으로는 용매를 이용한 추출법(liquid-liquid extraction, LLE), 고체상 주입법(solid phase extraction, SPE) (Matisova 등, 1996), 고체상 미량 추출법(solid phase micro-extraction, SPME) (Marco 등, 1999; Shi 등, 2000), 초임계추출법(supercritical fluid extraction, SFE) (Koinecke 등, 1997) 등이 있다. 이러한 전처리 과정은 효율적이긴 하지만 여러 가지 제한성이 있다. 예를 들면 SPME법은 분석성분의 특성상 적합한 fiber를 선택하여야 하고 최적화 조건을 위한 과정이 복잡하다는 단점이 있으며 또한 LLE법은 다량의 유기용매를 필요로 하고 그 과정이 복잡하며 많은 노동력과 시간이 필요하다. 따라서 유기용매의 사용량을 줄이고 보다 간편하고 신속한 것을 장점으로 하는 무용매 시료 주입법(solvent free sample introduction, SFSI)을 이용한 잔류농약분석법의 개발이 시급하다.

SFSI법은 간단한 시료 전처리를 거친 다음 시료 자체를 직접 주입하여 분석하는 방법으로서 다른 추출법에 비해 신속하고 간편하며 유기용매를 사용하지

않는 친환경적 분석법이다. 이러한 SFSI 기술은 1970년대에 Morgan 등(Morgan and Wadhams, 1972; Morgan, 1990; Lee 등, 2003)에 의해 개미 생체조직의 휘발성물질 연구에 사용되기 시작하였고 최근에 와서는 농약잔류 분야에까지도 응용의 폭이 넓어졌다 (Shim 등, 2003). 고체시료 직접 주입법으로서는 Varian사에서 현재 사용되고 있는 direct sample introduction (DSI)법이 보고된 바 있으며, 식물이나 토양 중 농약성분의 분석(Kochman 등, 2002), 머리카락 중 cocaine의 분석(Wainhaus 등, 1998), 공기 중 커피 향에 대한 분석(Gordin and Amirav, 2000)에 사용된 사례가 있지만 초기단계의 연구로서 농산물 중 농약 잔류분석에 있어서 고체시료 직접 주입법을 이용한 연구는 그리 많지 않은 실정이다. 따라서 본 실험에서는 고체시료 직접 주입법인 GC/SFSI를 이용하여 내분비계장애추정물질로 알려져 있는 농약들에 대한 신속한 분석법을 개발하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시약 및 분석기기

본 연구에서 사용한 표준품은 Chem Service (U.S.A)로부터 구입하였으며, 용매는 HPLC용으로서 Merck (German) 제품을 사용하였다. SFSI 장치는 Shim 등

\*연락처

Table 1. GC conditions for the analysis of pesticide residue in crops

Pesticide	Temperature(°C)			Column
	Oven	Injector	Detector	
Endosulfan	100°C(4min)→(6°C/min)→170°C(5min)	200	300	HP-5 <sup>a)</sup>
Metribuzin	150°C(4min)→(10°C/min)→240°C (10min)	200	300	RTX-5 <sup>b)</sup>
Trifluralin	100°C(6min)→(10°C/min)→240°C(10min)	200	300	HP-5 <sup>a)</sup>
Vinclozolin	120°C→(10°C/min)→160°C(10min)	200	300	HP-5 <sup>a)</sup>

a) RTX-5 (30 m, L. × 0.25 mm, I.D. × 0.25 μm, film thickness).

b) HP-5 (30 m, L. × 0.25 mm, I.D. × 0.25 μm, film thickness).

(Shim 등, 2003)의 방법을 변형하여 실험실에서 제작하여 사용하였고 기체크로마토그래프는 GC 5890/ECD와 integrator (Hewlett Packard, U.S.A)를 사용하였다. 시료의 carrier gas는 N<sub>2</sub> (순도 99.999%)였고 flow rate는 1 mL/min이었으며, 이 외의 GC 분석조건은 표 1과 같다.

#### 표준용액의 조제

각각의 농약 표준품을 100 mL의 volume flask에 넣고 acetone으로 정용하여 100 μg/mL 표준용액을 조제한 후 4°C에서 보관하였다. 각 농약 표준품의 stock solution은 필요에 따라 일정량을 취하여 acetone으로 희석한 다음 working solution으로 사용하였다. 본 실험에서 사용한 표준물질은 내분비계장애물질의 분류

에 속하는 농약인 endosulfan, metribuzin, trifluralin, vinclozolin이었다. 검량선은 acetone으로 희석한 상기 표준용액을 모세관(1.1- 1.2 mm ID; 75 mm length)에 1 μL씩 주입한 후 밀봉하고 SFSI에 삽입하여 얻은 크로마토그램상의 피크면적으로 작성하였다.

#### SFSI

SFSI 장치는 Morgan 등(Morgan and Wadhams, 1972; Morgan, 1990)이 사용했던 고체 시료 주입기를 개조하여 본 실험에 사용하였다. 그림 1은 1 mg의 시료를 정확히 칭량한 후 한쪽 끝이 밀봉된 모세관(1.1- 1.2 mm ID; 75 mm length)에 넣어 2시간동안 동결건조시킨 후 다른 한쪽을 가스버너로 밀봉하는 시료조제 과정과 SFSI 장치를 각각 모식화한 것이다. 밀봉된

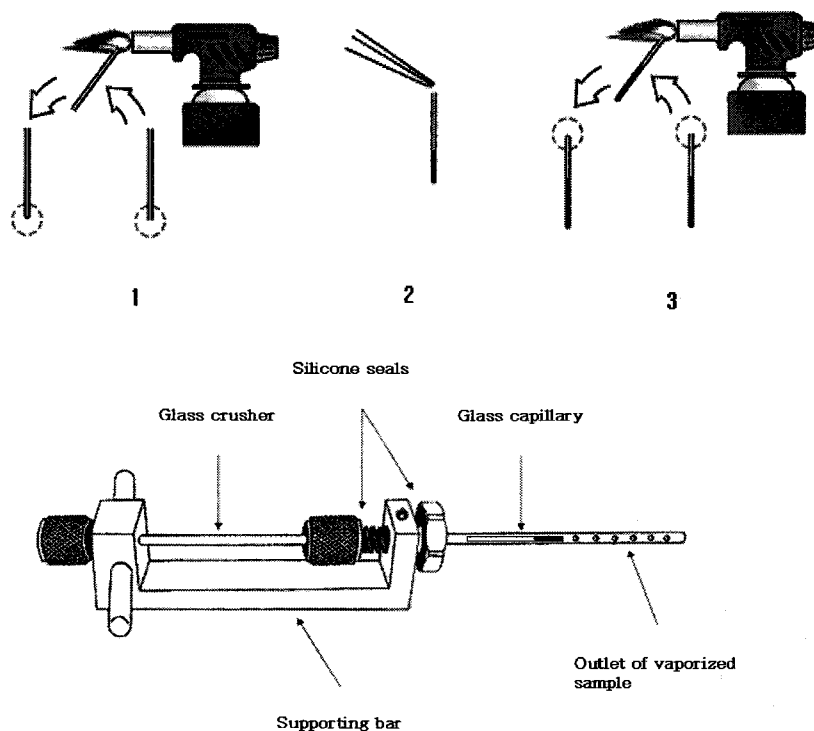


Fig. 1. Pre-treatment procedure of sample and diagram of SFSI used in this study.

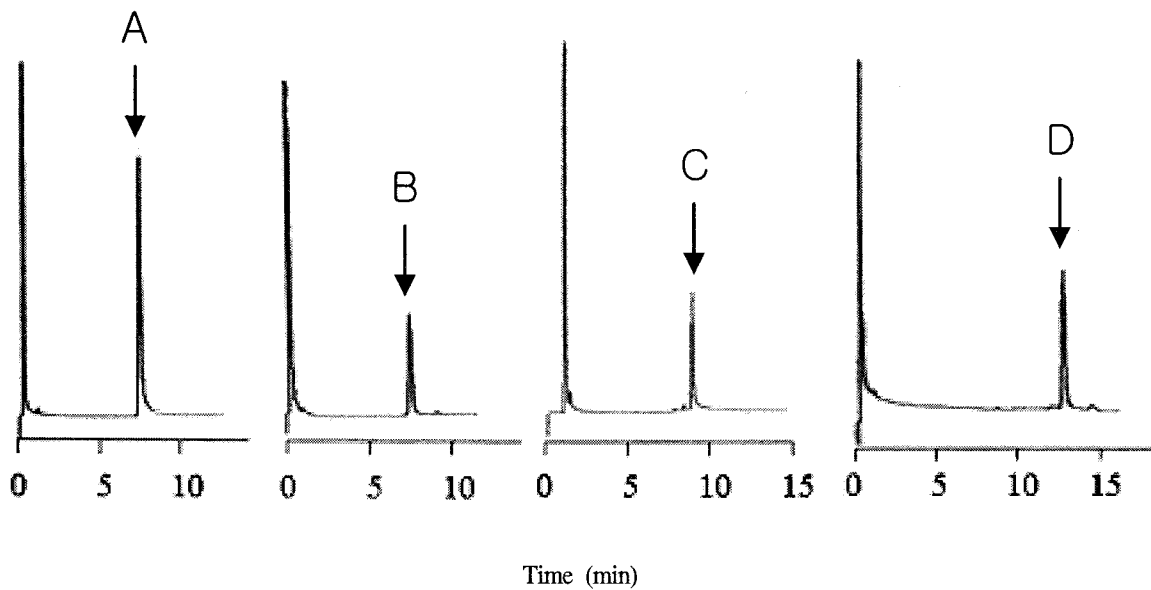


Fig. 2. Chromatograms of pesticide injected by using SFSI.  
A. Vinclozolin, B. Trifluralin, C. Metribuzin, D. Endosulfan.

모세관을 GC injection port에 부착되어 있는 SFSI에 옮긴 후 시료가 충분히 기화되도록 일정한 선가온시간(pre-heating time)을 가진 다음 SFSI의 glass crusher를 이용하여 모세관을 crushing하면 injection port에서 기화된 시료가 carrier gas에 의하여 column 안으로 운반된 후 분석이 진행된다.

#### SFSI에 의한 pre-heating time과 회수율

Shim 등(Shim 등, 2003)의 열에 불안정한 농약일수록 SFSI법에 의한 분석 또한 불안정하다는 보고에 따라 본 연구에서는 온도에 따른 농약의 손실여부를 조사하였다.

일정농도의 농약 표준용액을 1 µL씩 취하여 한쪽이 밀봉된 모세관에 주입한 후 다른 한쪽 끝을 봉하고 SFSI에 삽입하였다. 그리고 1, 5, 10 min의 일정한 pre-heating time을 주어 최적 시간을 시험하였다.

SFSI법에 의한 농약의 분석 가능성을 시험하기 위한 회수율 실험을 위하여 동결 건조된 시료에 각각의 시험 약제를 첨가하였다. 농약표준용액의 첨가농도는 endosulfan이 배추에서 0.025, 0.5 ng/mg, metribuzin은 상추에서 0.5, 2 ng/mg, trifluralin은 시금치에서 0.05, 0.25 ng/mg, vinclozolin은 고추에서 0.25, 1 ng/mg 수준으로 하여 실험을 수행하였다. 위의 과정을 3회 반복하여 평균회수율과 상대표준편차를 계산하여 재현성과 정확도를 측정하였다.

#### 결과 및 고찰

##### SFSI에 의한 pre-heating time과 회수율

4가지 농약의 표준용액을 각각 1 µL씩 취하여 capillary tube에 주입하고 각 농약에 대한 최적의 pre-heating time을 조사한 결과 endosulfan은 1 min, metribuzin은 10 min, trifluralin은 1 min, vinclozolin은 5 min으로 나타났으며, 그림 2는 위에서 결정된 최적의 조건하에서 SFSI에 의하여 각 농약을 주입하고 GC injection port에서 농약을 충분히 기화 시킨 후 ECD로 검출한 chromatogram 결과로 각 농약의 머무름 시간은 vinclozolin이 7.1 min, trifluralin은 7.2 min, metribuzin은 9.5 min이었고 endosulfan은 13.1 min으로 나타났으며, 일반적인 용매추출법과 비교했을 때 동일한 머무름 시간을 보여주고 있었다.

실험의 재현성과 정확도를 알아보기 위하여 회수율 실험을 실시한 결과는 표 2와 같았다. 평균 회수율은 74~107%를 보였으며 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)는 2.8~12.7%로서 미국 EPA의 30% 이내와 유럽기준인 20%이내의 기준에 적합한 범위로 나타났다.

SFSI에 의한 분석결과 검출한계는 endosulfan이 0.05 ng/mg, metribuzin은 0.1 ng/mg, trifluralin은 0.05 ng/mg, vinclozolin은 0.05 ng/mg으로 나타났으며, trifluralin이 우리나라에서 설정되어있는 maximum residue limit

Table 2. Recoveries of pesticides spiked in blank samples by SFSI

Pesticide	Sample	Recovery (%) <sup>a)</sup>		LOD (ng/mg)
		Low concentrations	High concentrations	
Endosulfan	Cabbage	74± 3.5	74±10.4	0.05
Metribuzin	Lettuce	98±12.7	107± 7.0	0.10
Trifluralin	Spinach	86± 4.0	95± 6.7	0.05
Vinclozolin	Hot pepper	94± 2.8	95± 2.8	0.05

<sup>a)</sup> Mean of triplicate determinations.

(MRL)와 같은 수준으로 검출되었으며 나머지 농약은 MRL 이하까지 검출이 가능함을 확인할 수 있었다.

이것은 고체시료 직접주입법으로 내분비계 장애의 심 농약인 vinclozolin에 대해 연구한 Shim 등(Shim 등, 2003)의 보고와 같이 검출한계가 0.05 ng/mg으로서 본 실험에서 검출된 수준과 같은 경향을 보여주었다. Martinez 등(Martinez 등, 2003)은 SPME/GC/MS법을 이용하여 강물 중 제초제인 trifluralin에 관한 회수율 실험을 한 결과 107±12%의 회수율을 보였다고 하였다.

### 검량곡선

SFSI법에 의해 분석한 각 화합물의 검량곡선은 적용 범위 내에서 직선성이 양호함을 알 수 있었고 결과는 Table 3에 나타낸바와 같이 endosulfan의 검량곡선 농도범위는 0.05~1 µg/mL이며 기울기는 5.0084이고 y-절편은 0.1072이며 상관계수( $r^2$ )는 0.9944이었고, trifluralin의 농도범위는 0.01~0.25 µg/mL이고 기울기는 52.9360이고 y-절편은 -0.2208이고 상관계수( $r^2$ )는 0.9973이었으며, metribuzin의 농도범위는 0.1~5 µg/mL이고 기울기는 27.613이며 y-절편은 -1.0792이고 상관계수( $r^2$ )는 0.9925, vinclozolin의 농도범위는 0.25~2 µg/mL이며 기울기는 5.515이고 y-절편은 -0.2263이며 상관계수( $r^2$ )는 0.9986이었다. 위의 결과로 상관계수는 분석농도범위 내에서 모든 화합물의 경우에 대해 0.9925보다 큰 값을 얻었으며, 직선성이 양호함을 알 수 있었다.

### 실제 시료 중 분석

앞에서 작성한 표준검량곡선을 이용하여 유통농산물 중에 잔류하고 있는 농약을 분석해본 결과 상추에서 metribuzin이 0.6 ng/mg 수준으로 검출되었으며, 이것은 상추 중 metribuzin의 잔류허용기준인 0.5 ng/mg(식품의약품안전청 2005년 7월 기준)과 비교하여 볼 때 그 이상의 값으로 검출되어 SFSI법을 이용하여 농산물 중 농약 잔류측정이 가능함을 확인할 수 있었다.

### 결론

통상적인 농약잔류분석인 용매추출법은 추출 및 정제과정을 거친 후 GC나 HPLC 기기 분석에 의하여 이루어지고 있으며 이러한 분석방법은 추출, 농축, 정제 등의 과정을 반복적으로 수행하기 때문에 많은 시간이 소요되고 다량의 유기용매를 사용함으로써 환경오염 문제를 초래한다. 따라서 본 연구에서는 용매를 사용하지 않고 시료 자체를 직접 주입하여 분석하는 SFSI법을 개발하고 최적조건을 정립하였다. 이 방법은 추출과 정제과정에서 배출되는 유기용매의 양을 줄일 수 있고 시료의 분석시간을 단축할 수 있는 분석방법으로서 SFSI/GC를 이용한 작물 중 내분비계장애물질에 속하는 농약인 endosulfan, metribuzin, trifluralin 및 vinclozolin을 분석한 결과 각 농약에 대한 검량곡선은 0.05~15 µg/mL의 농도범위에서 상관계수( $r^2$ )가 0.9925 이상의 값을 얻어 직선성을 나타내었으며, 회수율은 74~107%, 상대표준편차는 2.8~12.7%

Table 3. Calibration curves of pesticides injected by using SFSI under optimum conditions

Pesticide	Concentration range (µg/mL)	Slope value	y-Intercept	$r^2$ -Value
Endosulfan	0.05~ 1.00	5.0084	+0.1072	0.9944
Metribuzin	0.10~ 5.00	27.6130	-1.0792	0.9925
Trifluralin	0.01~ 0.25	52.9360	-0.2208	0.9973
Vinclozolin	0.25~ 2.00	5.5150	-0.2263	0.9986

였다. 따라서 SFSI 분석방법이 작물 중 내분비계장애 물질에 속하는 농약인 endosulfan, metribuzin, trifluralin 및 vinclozolin의 농산물 중 잔류분석에 응용할 수 있는 분석방법임을 확인하였다.

### 감사의 글

이 논문은 2001~2004년도 한국과학재단의 연구비 (No. R01-2001-000-00236-0)에 의하여 수행된 것으로서 재단 측에 감사를 포함합니다.

### 인용문헌

- Gordin, A. and A. Amirav (2000) SniffProbe : new method and device of vapor and gas sampling. *J. Chromatogr. A*. 903:155~17.
- Kochman, M., A. Gordin, P. Goldshlag, S. J. Lehotay and A. Amirav (2002) Fast, high-sensitivity, multipesticide analysis of complex mixtures with supersonic gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 974:185~212.
- Koinecke, A., R. Kreuzig and M. Bahadir (1997) Effects of modifiers, adsorbents and eluents in supercritical fluid extraction of selected pesticides in soil. *J. Chromatogr. A* 786:155~161.
- Lee, C. J., J. Y. Shen, S. C. Park and J. H. Shim (2003) Chemical analysis of cuticular hydrocarbons in *Apis mellifera* L. and *Apis cerana* F. *Korean. J. Appl. Entomol.* 42(1):9~13.
- Marco, N., T. Simona, F. Roberto and B. Emilio (1999) Analysis of some pesticide in water samples using solid-phase micro extraction-gas chromatography with different mass spectrometric techniques. *J. Chromatogr. A* 859:193~201.
- Martinez, R. C., C. G. Hermida,, E. R. Gonzalo, F. E. S. Bravo and J. H. Mendez (2003) Determination of herbicides, including thermally labile phenylureas, by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1002:1~12.
- Matisova, E., L. Kakalikova, J. Lesko and J. D. Zeeuw (1996) Application of porous carbon for solid-phase extraction of dicarboxyimide fungicide residues from wines in combination with high-resolution capillary gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 754:445~454.
- Morgan, E. D. and L. J. Wadhams (1972) Gas chromatography of volatile compounds in small samples of biological materials. *J. Chromatogr. Sci.* 10:528~529.
- Morgan, E. D. (1990) Preparation of small-scale sample from insects for chromatography. *Anal. Chim. Acta.* 236:227~235.
- Shi, F. C., S. S. Yi and F. J. Jen (2000) Determination of aqueous chlorothalonil with solid-phase microextraction and gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 896:105~110.
- Shim, J. H., Y. S. Lee, M. R. Kim, C. J. Lee and I. S. Kim (2003) Use of the Keele injector for sample introduction for gas chromatographic analysis of vinclozolin in lettuce. *J. Chromatogr. A* 1015:223~237.
- Wainhaus, S. B., N. Tzanani, S. Dagan, M. L. Miller and A. Amirav (1998) Fast analysis of drugs in a single hair. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 9: 1311~1320.

---

**Development of the analytical method for pesticide residues in crops by using gas chromatograph / solvent free solid injector (GC / SFSI)**

M. R. Kim, Y. Lee, B. J. Park<sup>1</sup>, J. H. Choi<sup>1</sup>, I. S. Kim, J. H. Shim\* (*Institute of Agricultural Science and Technology, College of Agriculture and Life Science, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea, and <sup>1</sup>Hazardous Substances Division, NIAST, RDA, Suwon 441-707, Korea*)

**Abstract :** This experiment was carried out to develop the fast and simple method for pesticide residue analysis by using solvent free solid injector (SFSI) and to validate the efficiency of the method developed for the residue analysis of the endocrine disruptor-like pesticides such as endosulfan, metribuzin, trifluralin and vinclozolin. The samples after freeze drying were sealed in glass capillary tubes and then introduced into the heated injector of gas chromatography. The required pre-heating times were 1 min for endosulfan and trifluralin, 5 min for vinclozolin, and 10 min for metribuzin. The detection limits of endosulfan in chinese cabbages, metribuzin in lettuces, trifluralin in spinachs and vinclozolin in hot peppers were 0.05, 0.1, 0.05 and 0.05 ng, respectively and their recoveries were ranged from 74%, 98~107%, 86~95% and 94~95%, respectively. The detected level of metribuzine residue in field lettuce samples by using the SFSI was 0.6 ng/mg .

**Key words :** SFSI (solvent free solid injector), Pre-heating time.

---

\*Corresponding author (Fax : +82-62-530-0219, E-mail : jhshim@chonnam.ac.kr)