

Research Article

Open Access

## 한약재 중 살충제 Endosulfan의 잔류분석을 위한 Macroporous Diatomaceous Earth 컬럼 적용

황정인,<sup>1</sup> 전영환,<sup>1</sup> 김효영,<sup>1</sup> 김지환,<sup>1</sup> 이윤정,<sup>2</sup> 박주영,<sup>2</sup> 김도훈,<sup>2</sup> 김장억<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 응용생명과학부, <sup>2</sup>식품의약품안전청 생약연구과

### Application of Macroporous Diatomaceous Earth Column for Residue Analysis of Insecticide Endosulfan in Herbal Medicines

Jeong-In Hwang,<sup>1</sup> Young-Hwan Jeon,<sup>1</sup> Hyo-Young Kim,<sup>1</sup> Ji-Hwan Kim,<sup>1</sup> Yoon-Jeong Lee,<sup>2</sup> Ju-Young Park,<sup>2</sup> Do-Hoon Kim<sup>2</sup> and Jang-Eok Kim<sup>1\*</sup> (<sup>1</sup>School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, <sup>2</sup>Division of Herbal Medicine Research, Korea Food and Drug Administration, Osong 363-951, Korea)

Received: 2 March 2011 / Accepted: 21 March 2011

© The Korean Society of Environmental Agriculture

#### Abstract

**BACKGROUND:** Because dried herbal medicines have many active ingredients, it is not easy to determine the residue amount after extraction, partition and clean up of pesticides from them. Especially, liquid-liquid partition method is consuming many times and solvents. Macroporous diatomaceous earth(MDE) column was used to replace the separatory funnel for liquid-liquid extraction with dichloromethane to analyze the endosulfan and its metabolite.

**METHODS AND RESULTS:** The residue analysis method using MDE column instead of liquid-liquid partition for determining insecticide endosulfan and its metabolite in 4 dried herbal medicines was developed by GC/MS. As a result, the recovery rates of the pesticides in 4 herbal medicines were ranged from 80.3 to 93.5% for  $\alpha$ -endosulfan, from 81.0 to 100.3% for  $\beta$ -endosulfan and from 80.6 to 95.6% for endosulfan sulfate, respectively. The coefficients of variation for triplicate were ranged from 1.1 to 3.4%.

**CONCLUSION:** The improved methods are more eco-friendly, safer, faster and less laborious than conventional method by KFDA.

**Key Words:** Multiresidue analysis method, MDE column, Herbal medicine, Endosulfan, GC/MS

#### 서론

국민들의 소득 수준이 향상됨에 따라 한약재에 대한 수요와 공급이 증가되어 한약재를 집단적으로 재배하는 농가가 늘어나고 있다. 농림수산식품부 통계자료에 따르면 2008년 대비 2009년에 한약재의 재배면적은 큰 변화가 없었으나 그 생산량이 15%, 재배 농가호수가 10% 가량 증대되었다. 국내의 한약재 수요에 대한 부족분은 중국을 포함한 동남아 지역에서 수입하여 공급되고 있으며(Korea Food and Drug Administration, 2009) 농수산물무역정보 통계자료에 따르면 전체 수입 한약재 중 중국으로부터 수입되는 한약재의 비율이 78%를 차지하고 있으며 그 수입량은 2009년에 비해 2010년에 16% 이상 증가되었다.

한약재를 집단적으로 재배하는 경우에 반드시 해결하여야 할 문제는 한약재 재배 시에 발생하는 병해충 및 잡초의 방제라 할 수 있다(Lee *et al.*, 2010; Qian *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2010). 한약재 재배 시 발생하는 병해충의 효율적인 방제를 위하여 농약의 사용은 필수적이기 때문에 수확된 한약재에 대한 잔류농약의 분석도 필수적으로 따라야 할 문제이다. 또한 수입되는 한약재에 대하여서도 사용되고 있는 농약의 종류가 각 나라마다 상이하기 때문에 수입 시에 농약의 잔류분석은 필수적으로 따라야 할 것이다.

\*교신저자(Corresponding author):

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

E-mail: jekim@knu.ac.kr

대부분의 한약재는 재배면적이 넓지 않기 때문에 소면적 작물(minor crop)에 해당되어 재배 시에 사용할 수 있는 등록된 농약의 수는 제한되어 있다. 현재 국내에서 한약재 재배 시에 사용하도록 품목고시 되어 있는 농약은 219 품목이지만 전체 80여 가지 한약재 중 인삼을 포함한 16가지 한약재에만 사용하도록 품목고시 되어 있다. 또한 품목고시 된 농약 중 인삼에 등록된 농약만 117 품목으로 대부분을 차지하고 있기 때문에 (Korea Crop Protection Association, 2010) 한약재 재배 농가에서는 미등록 농약을 사용하는 경우도 있게 된다. 그러나 현재 식품의약품안전청에서는 40가지 한약재에 대해 31가지 농약에만 잔류허용기준(MRL)을 설정하고 있으며 그 외 31가지 한약재에 대하여서는 잠정 MRL을 설정하고 있다(식약청 고시 '생약 등의 잔류 오염물질 기준 및 시험방법'[별표 4]).

한약재에 대한 농약의 잔류검사는 안전성 평가를 위한 기준이 되기 때문에 한약재의 종류와 농약의 종류에 따른 분석법이 확립되어 있어야 한다. 현재 식품의약품안전청에서는 '생약 등의 잔류 오염물질 기준 및 시험방법(식약청고시 제2009-136호)'을 고시하여 한약재 중 잔류하는 농약의 분석방법을 고시하였다. 그러나 한약재는 다양한 성분의 물질들을 포함하고 있기 때문에 한약재로부터 농약성분을 추출, 분리하기가 쉽지 않다 (Wong, et al., 2010). 또한 고시된 현행 분석방법은 농약을 추출할 때 액-액 분배과정에서 발암가능성 물질로 알려진 dichloromethane(International Agency for Research on Cancer, 1987)을 사용하도록 되어 있기 때문에 잔류농약 분석자의 안전을 위협하고 있으며 추출 후 남은 폐액의 처리에서도 환경오염을 유발할 수 있는 문제점이 있을 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 액-액 분배과정 대신에 친수성 물질을 흡착하는 능력이 있는 다공성 구조체를 충전제로 사용한 macroporous diatomaceous earth(MDE) column을 이용하여 농약성분의 추출에 대한 적용을 검토하고자 하였다. 이와 같은 시도로 Kobayashi 등이 현미를 포함한 16가지 농산물 시료에 대해 MDE column을 적용하여 forchlorfenuron 농약을 잔류 분석한 결과 87.6 ~ 99.5%의 높은 회수율을 나타냈다

(Iijima et al., 1997,2006; Tseng et al., 2002; Klein and Alder, 2003; Kobayashi et al., 2007).

따라서 본 연구에서는 건조된 한약재인 강활(Osterici Radix, [Ostericum koreanum] Maximowicz), 박하(Peppermint, *Mentha arvensis* L. var. *piperascens*), 천궁(Cnidii Rhizoma, *Cnidium officinale*) 및 황기(Astragalus Root, *Astragalus membranaceus*) 시료를 대상으로 이들에 잔류허용기준치가 설정되어 있는 살충제인 endosulfan 및 그 분해산물인 endosulfan sulfate의 잔류분석에 MDE column을 적용하고자 하였다.

**재료 및 방법**

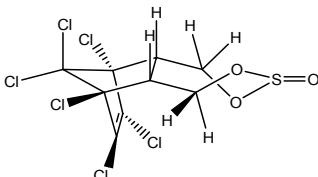
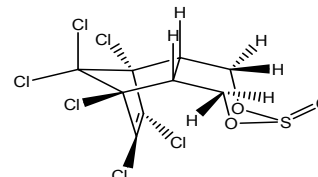
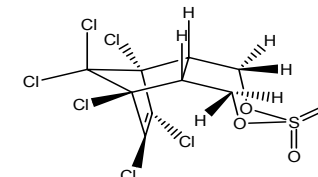
**농약 및 시약**

Endosulfan의 이성질체 α-endosulfan, β-endosulfan 및 그 분해산물인 endosulfan sulfate의 표준품은 Riedel-de Haën사(독일)로부터 구입하여 사용하였으며 시험 농약의 물리화학적 성질은 Table 1과 같다. 다공성 구조토 컬럼(MDE column)은 Varian Inc.사(USA)에서 제작된 10 mL Chem Elut™ cartridge를 구입하여 사용하였다. 잔류농약의 분석을 위한 acetone, acetonitrile, dichloromethane, ethyl acetate 및 n-hexane은 Burdick & Jackson사(USA)로부터 농약잔류 분석용 시약을 구입하여 사용하였다. 시료의 정제를 위한 glass column(지름 16 mm)의 충전제는 florisil이었으며 Sigma-aldrich Chemical Co.사(USA)의 F9127(60-100 mesh, 농약 잔류분석용)을 구입하여 사용하였고, NH<sub>2</sub> SPE cartridge(1 g, 6 mL) 및 florisil SPE cartridge(1 g, 6 mL)는 Varian Inc. 사로부터 구입하여 사용하였다. Sodium sulfate(GR급) 및 sodium chloride (EP급)는 Junsei Chemical Co.(Japan)에서 구입하여 사용하였다.

**한약재**

한약재 시료는 endosulfan에 대하여 농약잔류허용기준이 설정되어 있는 강활, 박하, 천궁, 황기를 선정하였으며 대구광

**Table 1. Chemical structures and physicochemical properties of endosulfan isomers and its metabolite**

	α-endosulfan	β-endosulfan	endosulfan sulfate
Structure			
Molecular weight	406.9	406.9	422.92
log Kow	4.74	4.79	3.72
Solubility	In water 0.32 mg/l (22 C). In ethyl acetate, dichloromethane, toluene 200, ethanol 65, hexane 24 (all in g/l, 20 C).	In water 0.33 mg/l (22 C). In ethyl acetate, dichloromethane, toluene 200, ethanol 65, hexane 24 (all in g/l, 20 C).	In water < 1 mg/l (22 C).

역시 증구 남성료에 위치한 약령시장에서 건조된 것을 구입하여 사용하였다. 약 1 kg의 시료를 분쇄기를 이용하여 고르게 분쇄하고 이를 폴리에틸렌 비닐백으로 밀봉하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

### 기존 고시 분석법

식약청에서 고시한 '생약 등의 잔류 오염물질 기준 및 시험 방법'에 따라 실시하였다. 무처리 시료 5 g에 증류수 40 mL를 넣고 4시간 습윤화 후 90 mL acetone을 가하여 homogenizer로 균질화시켜 여과한 후 1 L의 분액여두에 옮기고 100 mL 증류수와 50 mL 포화식염수를 가하여 70 mL dichloromethane으로 2회 추출한 후 무수 sodium sulfate층에 탈수시켜 농축하고 4 mL *n*-hexane에 재용해하여 florasil SPE cartridge로 정제하였다. 정제는 6 mL *n*-hexane과 6 mL acetone/hexane(2/8, v/v)으로 미리 활성화 시킨 cartridge 상부에 재용해한 시료를 가하여 받고 이어서 5 mL acetone/dichloromethane/*n*-hexane(1.5/48.5/50, v/v/v)으로 용출시켜 감압 농축하고 acetone/*n*-hexane(2/8, v/v) 2.0 mL

에 재용해한 후 각각의 시료액 1.0 uL를 GC/ECD에 주입하여 나타난 chromatogram에서의 불순물 피크 정도를 확인하였다. 고시된 분석법에 따른 한약재 강황, 박하, 천궁 및 황기에서의  $\alpha$ -endosulfan,  $\beta$ -endosulfan 및 endosulfan sulfate의 회수율을 알아보기 위하여 농약 표준품을 1.0 mg/kg이 되도록 처리한 다음 상기 시험법과 동일하게 전처리하여 GC/MS로 분석하였다. 분석기기의 조건은 Table 2와 같다.

### MDE column을 적용한 분석법

강황, 박하, 천궁 및 황기 시료 20 g에  $\alpha$ -endosulfan,  $\beta$ -endosulfan 및 endosulfan sulfate의 혼합 표준용액을 0.2 mg/kg와 1.0 mg/kg의 잔류량이 되도록 처리한 후 100 mL acetonitrile과 10 mL 증류수를 가하여 homogenizer로 균질화하였다. 균질화된 시료를 여과하여 수용액 10 mL가 남을 때까지 농축한 후 MDE column에 가하고 약 10분 이상 정치시켜 물을 흡수시켰다. 수분이 모두 흡수된 후 column 상부에 50 mL ethyl acetate를 2회 가하여 무수 sodium sulfate층에 탈수시켜 받아 농축하였다. 정제는 10 g florasil과 1 cm 높

**Table 2. Instrumental conditions for residue analysis of endosulfan isomers and its metabolite in herbal medicines**

GC/ECD	
Instrument	Shimadzu GC Q2010 with ECD
Column	DB-5 capillary column, [30 mL 0.25 mm i.d, 0.25 $\mu$ m film thickness (J&W Scientific, USA)]
Temperature	Column oven            programmed from 100°C (2 min) to 180°C at 10°C/min and to 280°C (20 min) at 5°C/min
	Injector                    260°C
	Detector                    300°C
Injection Vol.	1 uL
Injection mode	Split (10:1)
Carrier gas	N <sub>2</sub> 3 mL/min
GC/MS	
Instrument	Shimadzu GC Q2010 with GC/MS QP-2010 Plus
Column	DB-5MS capillary column, [30 mL 0.25 mm i.d, 0.25 $\mu$ m film thickness (J&W Scientific, USA)]
Temperature	Column oven            programmed from 100°C (2 min) to 180°C at 10°C/min and to 280°C (20 min) at 5°C/min
	Injector                    260°C
	Interface                    300°C
	Ion source                    200°C
Injection Vol.	1 uL
Injection mode	Splitless
Carrier gas	He 1 mL/min
Ionization	EI, 0.75 kV

Table 3. Target ions of endosulfan isomers and its metabolite in herbal medicines for GC/MS analysis

Herbal medicine	Target ion (m/z)		
	$\alpha$ -Endosulfan	$\beta$ -Endosulfan	Endosulfan sulfate
Osterici Radix	237, 272	237, 267	229, 272
Peppermint	241, 277	195, 237	229, 272
Cnidii Rhizoma	241, 277	237, 267	229, 272
Astragalus Root	241, 277	237, 267	229, 272

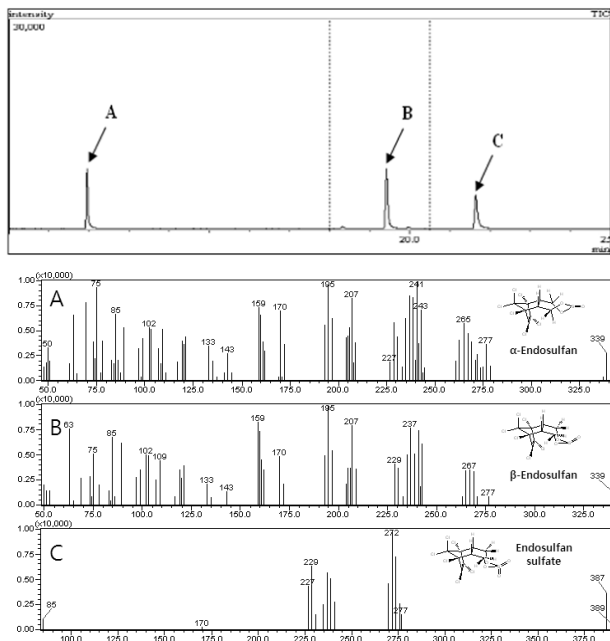


Fig. 1. Total-ion chromatogram (TIC) and electron ionization(EI) mass spectra of endosulfan isomers and its metabolite by GC/MS (A:  $\alpha$ -endosulfan, B:  $\beta$ -endosulfan, C: endosulfan sulfate).

이의 sodium sulfate로 충전된 glass column(i.d. 16 mm)을 이용하였고 각 농약 성분의 성질과 각 한약재 시료의 특성을 고려하여 용출용매 비를 최적화하였다. 먼저 *n*-hexane으로 florasil을 활성화 시키고 10 mL ethyl acetate/*n*-hexane (2/8, v/v)에 재용해한 시료를 column 상부에 가한 후 동일한 용매 100 mL를 용출시켜 받아 농축하였다. 정제 후에도 남아있는 불순물을 제거하기 위해 NH<sub>2</sub> SPE cartridge를 이용하여 한번 더 정제하였다. 5 mL *n*-hexane으로 미리 활성화 시킨 cartridge에 5 mL ethyl acetate/*n*-hexane(2/8, v/v)으로 재용해한 시료를 가하고 이어서 동일한 용매 15 mL를 용출시켜 받아 농축한 후 acetone 2.0 mL에 재용해하였다. 재용해 시료를 1.0  $\mu$ L씩 GC/MS에 주입하여 나타난 chromatogram상의 peak area를 표준검량선과 비교하여 회수율을 산출하였다.

### 잔류농약의 정성 및 정량분석

시험에 사용된 세 가지 한약재 시료는 서로 다른 성분의 화학물질들이 함유되어 있어서 농약 분석시 간섭을 하는 경우가 많다. 따라서 한약재에 존재하는 간섭물질들과 농약성분의 확실한 분리 및 동정을 위해서 각 시료 별로 농약성분의 target ion을 달리하였다. GC/MS로 분석된 농약성분의 total ion chromatogram(TIC)과 mass spectrum의 전체 fragment ion 그리고 선택된 target ion은 Fig. 1 및 Table 3과 같았다.

$\alpha$ -Endosulfan,  $\beta$ -endosulfan 및 endosulfan sulfate 표준품을 acetone에 녹여 1,000 mg/L의 표준 혼합용액을 조제한 후 0.1 mg/L ~ 10.0 mg/L이 되도록 차례로 희석하고 각 1.0  $\mu$ L씩 GC/MS에 주입하여 나타나는 peak의 면적을 기준으로 표준 검량선을 작성하였다. 분석을 위한 검출한계 (Limit of detection, LOD)는 GC/MS 상에서 측정 가능한 최소검출량을 이용하여 아래식에 의하여 산출하였다.

$$\text{LOD (mg/kg)} = \frac{[\text{기기상의 최소검출량 (ug) / 주입량 (uL)}]}{[\text{시료용액 (mL) / 시료량 (g)}]}$$

### 결과 및 고찰

#### 기존 고시 분석법

강화, 박하, 천궁 및 황기 시료 각각 5 g에 endosulfan 이성질체 및 그 분해산물 1.0 mg/kg을 처리하여 식약청에서 고시한 생약 중 잔류농약 분석법을 통해 추출, 분배 그리고 정제하여 GC/ECD로 분석한 결과는 Table 4와 같다. GC/ECD의 chromatogram은 Fig. 2와 같이 농약 피크의 분리가 어려울 정도로 많은 간섭피크가 나타났다. 즉, 한약재는 농약과 유사한 성질의 화학물질을 많이 함유하고 있기 때문에 일반적인 농산물 분석에 비해 chromatogram 상에서 농약 피크의 분리가 더 어렵다. 따라서 한약재의 특성과 농약의 물리화학적 성질을 고려하여 더 정밀한 정제과정이 필요하다고 할 수 있다.

고시된 분석법을 이용하여 물에 대한 endosulfan 이성질체 및 그 분해산물의 회수율 시험을 실시한 결과 시료의 간섭이 없었음에도 불구하고  $\alpha$ -endosulfan의 경우 43.8%,  $\beta$ -endosulfan의 경우 62.8%, endosulfan sulfate의 경우 56.8%로 낮은 회수율을 나타내었다. 이는 추출, 분배 및 정제시 용출용매의

Table 4. Comparison of recovery rates of endosulfan isomers and its metabolite in water and herbal medicines

Pesticide	Recovery rate (%) $\pm$ SD <sup>a)</sup>	
	In water	In herbal medicines <sup>b)</sup>
$\alpha$ -Endosulfan	43.8 $\pm$ 2.1	Resolution of pesticide peak is impossible
$\beta$ -Endosulfan	62.8 $\pm$ 1.8	
Endosulfan sulfate	56.8 $\pm$ 2.3	

<sup>a)</sup>SD, Standard Deviation

<sup>b)</sup>Osterici Radix, Peppermint, Cnidii Rhizoma, Astragalus Root

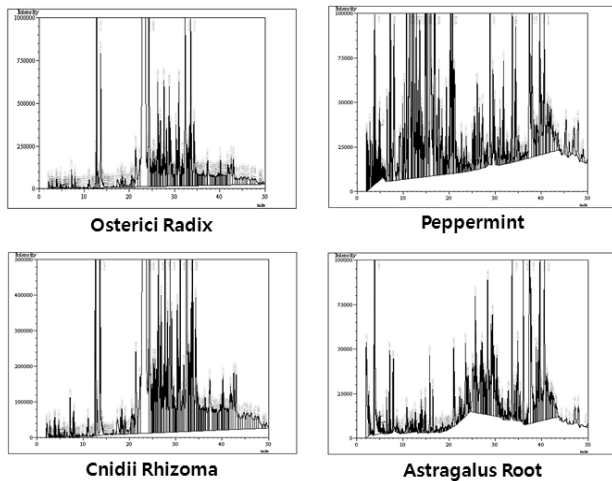


Fig. 2. GC/ECD chromatograms of herbal medicines by the conventional residue analysis method of pesticides.

조성이 endosulfan에 적합하지 않았기 때문일 것으로 사료된다. 각 농약의 물리화학적 성질과 각 한약재 시료의 특성을 고려하여 용출용매 비를 최적화하여 줄 필요가 있었다.

또한 액-액 분배과정에서 박하 시료의 경우에는 수용액 층과 dichloromethane 층의 역전현상이 일어나 층분리에 어려움을 주었고 모든 시료에 대하여서는 emulsion 현상이 심하게 일어나 시료의 전처리에 어려움을 주었다. 검출한계 역시 시료 5 g을 이용하여서는 MRL의 1/10 ~ 1/2 수준을 맞추기 어려운 문제점이 있었기 때문에 시료의 양을 조절하여 줄 필요가 있었다.

#### MDE column을 적용한 분석법 개선

다공성 규조토(macroporous diatomaceous earth)는 조류(藻類)의 유해가 해체에 퇴적되어 만들어진 단백질(蛋白質)의 일종으로 조류의 세포벽에 존재하는 다양하고 복잡한 공극과 다량의 규산질이 그대로 남아 있으며 그 특성을 이용하여 여과 보조제 및 흡수제로 많이 사용하고 있다(Korean Society of Food and Technology, 2004). 액-액 분배과정을 대신하여 사용한 다공성 규조토 컬럼(MDE column) 중 하나인 Chem Elut<sup>TM</sup> cartridge는 10 mL 용량의 물을 흡수하여 보유할 수 있으며 구조 및 hydro-material로 이루어져 있어 친수성

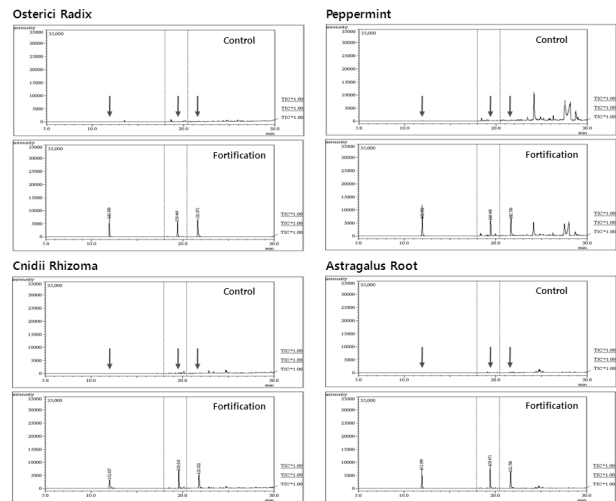


Fig. 3. Chromatograms of recovery tests for endosulfan isomers and its metabolite in herbal medicines by GC/MS after MDE column application.

물질을 흡착하는 성질을 가진다. 따라서 이 컬럼에 비극성 용매를 흘려주면 농약 성분 및 기타 소수성 물질만을 분리하여 추출할 수 있고 액-액 분배과정을 충분히 대신할 수 있을 것으로 사료된다.

Acetone, acetonitrile, dichloromethane 및 ethyl acetate 등과 같은 여러 종류의 용매가 잔류농약의 추출을 위해 사용되고 있으며(Stajnbaher and Zupancic-Kralj, 2003) 정확한 추출용매의 선택은 분석 후 회수율과도 밀접한 관계가 있기 때문에 중요한 부분이라고 할 수 있다. MDE column에서 농약의 추출에 사용되는 추출용매는 *n*-hexane, dichloromethane 그리고 ethyl acetate 등이 있으며 농약의 극성도에 따라 용출용매의 선택을 달리하여 줄 필요가 있다. Iijima 등의 연구에 따르면 MDE column에서 추출용매의 선택은 추출하려는 물질의 log *P* 값이 1.1 이상인 비극성 및 약한 극성의 화합물일 경우 *n*-hexane을 이용하고 1.1 미만인 높은 극성의 화합물일 경우 ethyl acetate를 이용하도록 하고 있다(Iijima *et al.*, 1997). 본 연구에서는 MDE column으로부터 endosulfan 및 그 분해산물인 endosulfan sulfate를 추출하기 위하여 ethyl acetate를 추출용매로 사용하였다.

MDE column을 적용하여 한약재 중 endosulfan의 회수

**Table 5. Recoveries and detection limit of endosulfan isomers and its metabolite in herbal medicines after MDE column application**

Herbal medicine	Pesticide	Fortification level (mg/kg)	Recovery rate (%)				MDA <sup>b)</sup> (ng)	LOD <sup>c)</sup> (mg/kg)
			1	2	3	Mean±SD <sup>a)</sup>		
Osterici Radix	α-endosulfan	0.2	85.9	80.3	82.6	82.9±2.8	0.2	0.02
		1.0	90.5	93.5	92.0	92.0±1.5		
	β-endosulfan	0.2	93.6	92.8	95.1	93.8±1.2	0.2	0.02
		1.0	88.5	86.5	87.8	87.6±1.1		
	endosulfan sulfate	0.2	82.6	81.1	85.0	82.9±2.0	0.2	0.02
		1.0	95.3	92.4	95.6	94.4±1.8		
α-endosulfan	0.2	87.2	83.0	85.3	85.2±2.1	0.2	0.02	
	1.0	81.9	83.9	83.5	83.1±1.1			
Peppermint	β-endosulfan	0.2	85.0	83.4	85.5	84.6±1.1	0.2	0.02
		1.0	88.6	84.6	87.1	86.8±2.0		
	endosulfan sulfate	0.2	86.1	84.1	89.9	86.7±2.9	0.2	0.02
		1.0	94.9	90.9	94.5	93.4±2.2		
	α-endosulfan	0.2	81.5	82.9	83.9	82.8±1.2	0.2	0.02
		1.0	85.2	81.3	87.9	84.8±3.3		
β-endosulfan	0.2	84.5	81.0	83.2	82.9±1.8	0.2	0.02	
	1.0	88.3	86.8	95.0	90.1±4.4			
endosulfan sulfate	0.2	85.8	88.4	82.3	85.5±3.1	0.2	0.02	
	1.0	83.1	81.2	80.6	81.6±1.3			
α-endosulfan	0.2	90.7	88.0	90.5	89.7±1.5	0.2	0.02	
	1.0	89.9	92.4	90.1	90.8±1.4			
Astragalus Root	β-endosulfan	0.2	89.9	88.6	90.8	89.8±1.1	0.2	0.02
		1.0	100.3	96.0	98.7	98.4±2.2		
	endosulfan sulfate	0.2	83.4	87.0	84.0	84.8±1.9	0.2	0.02
		1.0	88.9	84.3	85.0	86.1±2.5		

<sup>a)</sup>SD, Standard Deviation ; <sup>b)</sup>MDA, Minimum detectable amount ; <sup>c)</sup>LOD, Limit of detection

을 시험을 실시한 결과는 Table 5 및 Fig. 3과 같다. GC/MS로 동시 분석된 α-endosulfan, β-endosulfan 및 endosulfan sulfate의 최소검출량은 0.2 ng, 검출한계는 0.02 mg/kg으로 나타났다. 각 농약성분의 한약재 시료에 대한 회수율은 Table 5와 같이 강활 중 α-endosulfan은 80.3 ~ 93.5%, β-endosulfan은 86.5 ~ 95.1%, endosulfan sulfate는 81.1 ~ 95.6%이었으며 박하 중 α-endosulfan은 81.9 ~ 87.2%, β-endosulfan은 83.4 ~ 88.6%, endosulfan sulfate는 84.1 ~ 94.9%로 나타났다. 또한 천궁은 α-endosulfan 81.3 ~ 87.9%, β-endosulfan 81.0 ~ 95.0%, endosulfan sulfate 80.6 ~ 88.4%이었으며 황기는 α-endosulfan 88.0 ~ 92.4%,

β-endosulfan 88.6 ~ 100.3%, endosulfan sulfate 83.4 ~ 88.9%로 나타나 잔류농약 분석기준인 70 ~ 120% 이내의 회수율을 만족하였다. 무처리 시료에서의 간섭피크는 존재하지 않았으며 3반복 시험 결과 표준오차(SD) 값은 ±1.1 ~ ±2.9, 변이계수(CV) 값은 1.1 ~ 3.4% 수준으로 나타나 잔류농약 분석기준 10% 미만을 충분히 만족하며 양호한 재현성을 나타냈다. 또한 endosulfan에 최적화된 비율의 용출용매로 정제함으로써 chromatogram에 나타난 불순물이 Fig. 3에서와 같이 현저하게 줄어들었음을 확인할 수 있었고 농약 피크 역시 뚜렷하게 분리됨을 확인할 수 있었다.

일반적으로 액-액 분배 단계에서 많이 사용되는 dichloro-

methane은 국제암연구소(IARC)에서 발암물질 group 2B로 분류하고 있으며 인체 발암 가능물질로 정의하고 있다. 본 연구에서는 액-액 분배 과정을 대신하여 MDE column을 사용함으로써 발암가능 물질인 dichloromethane의 사용을 배제하여 분석자의 안전을 향상시킬 수 있었다. 뿐만 아니라, 액-액 분배시 필요로 하는 노동력과 전처리 시간도 절감되었고 층 분리시 발생 가능한 emulsion 현상이 일어나지 않아 추출이 용이하였다. 분배 과정에서 발생하는 폐액도 줄일 수 있어 환경 친화적이라 할 수 있다. Tseng 등은 몇 가지 과일 및 채소 시료 중에서 136가지 농약을 잔류 분석하는 연구에 MDE column을 적용함으로써 emulsion 현상의 해소와 MDE column 사용의 편리성 등을 기술하고 있다(Iijima *et al.*, 1997; Sicbaldi *et al.*, 1997; Tseng *et al.*, 2002; Tseng *et al.*, 2007; Watanabe *et al.*, 2007).

본 연구의 결과는 한약재 및 농약 개별의 특성을 고려한 시험법 개선에 도움을 주고 한약재 중 잔류농약의 안전성 확보에 중요한 기초자료가 될 것으로 사료되며 나아가 액-액 분배 과정이 보편화 되어 있는 농산물 중 잔류농약 분석에서도 수분함량이 적거나 건조된 시료에 대하여 MDE column을 적용한다면 분석시간 및 노동력 절감 효과와 잔류농약 분석자의 안전성 증대 등의 이점을 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

현재 식품의약품안전청에서 고시하고 있는 한약재 중 잔류농약 분석법에 따라 강황, 박하, 천궁 및 황기 시료 중 endosulfan과 그 분해산물인 endosulfan sulfate를 분석한 결과 많은 간섭물질의 등장과 낮은 회수율 등의 문제점을 확인하였다. 이에 고시된 시험법의 액-액 분배 과정을 대신하여 MDE column을 적용하여  $\alpha$ -endosulfan 80.3 ~ 93.5%,  $\beta$ -endosulfan 81.0 ~ 100.3%, endosulfan sulfate 80.6 ~ 95.6%의 회수율과 1.1 ~ 3.4%의 변이계수(CV)를 얻었으며 이러한 결과는 잔류농약 분석기준을 만족하였다. MDE column의 사용으로 액-액 분배 과정을 대신하면서 발암가능 물질인 dichloromethane 사용을 배제할 수 있어 분석자의 안전성 향상, 노동력 및 전처리 시간의 절감, 발생되는 폐액 감소, 액-액 분배시 emulsion 현상의 해소, 분석자간의 재현성 양호 등의 이점도 얻을 수 있었다.

## 감사의 글

This work was supported in part from a 2010 project of 'Development of Improved Analytical Method of Residual Pesticides in Oriental Herbal Medicines' by Korea Food and Drug Administration.

## 참고문헌

Iijima, K., Saka, M., Odanaka, Y. and Matano, O. 1997.

Multiresidue analytical method of pesticides by GC-MS : application of macroporous diatomaceous earth column and silica gel cartridge, *J. Pest. Sci.* 22, 17-26.

Iijima, K., Saka, M., Odanaka, Y., Kato, Y., Takada, T. and Hosomi, M. 2006. Application of combination column of macroporous diatomaceous earth and graphitized carbon black for pesticide residue analysis, *J. Pest. Sci.* 22, 17-26.

International Agency for Research on Cancer, 1987. Overall evaluations of carcinogenicity : An updating of *IARC Monographs* volume 1 to 42, United Kingdom, pp. 194-195.

Klein, J. and Alder, L. 2003. Applicability of gradient liquid chromatography with tandem mass spectrometry to the simultaneous screening for about 100 pesticides in crops, *J. AOAC Int.* 86, 1015-1037.

Kobayashi, M., Takano, I., Tamura, Y., Tomizawa, S., Tateishi, Y., Sakai, N., Kamijo, K., Ibe, A. and Nagayama, T. 2007. Clean-up method of forchlorfenuron in agricultural products for HPLC analysis, *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 48(5), 148-152.

Korea Crop Protection Association, 2010. Pesticides Use Guidelines for 2010, Samjeung press, Korea, pp. 47-1131.

Korea Food and Drug Administration, 2009. Information for Production Region of Herbal Medicines in China, p. 1.

Korean Society of Food and Technology, 2004. Encyclopedia of Food Science and Technology, Kwangil, Korea, p. 131.

Lee, J.H., Shin, K.S., Jeon, Y.H., Kim, H.Y., Hwang, J.I., Lee, B.H., Kang, I.H., Kang, S.J., Kim, T.H. and Kim, J.E. 2010. Suggestion for establishment of temporary MRLs and safe use guideline of the organophosphorus insecticides in Jinpi, *Korean J. Environ. Agric.* 29(1), 66-71.

Oh, C.H. 2009. Monitoring of residual pesticides in herbal drug materials of Korea and China, *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 82, 639-643.

Qian, G., Rimao, H., Feng, T., Xiangwei, W., Xuede, L., Haiqun, C., Yanhong, S. and Jun, T. 2010. A multiresidue method for 20 pesticides in *Radix paeoniae alba* of Chinese herbal by gas chromatography with electron-capture detection, *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 84, 779-783.

Stajnbaher, D. and Zupancic-Kralj, L. 2003. Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase ex-

- traction and gas chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*. 1015, 185-198.
- Sicbaldi, F., Sarra, A. and Copeta, G.L. 1997. Diatomaceous earth-assisted extraction for multiresidue determination of pesticides, *J. Chromatogr. A*. 765, 23-30.
- Tseng, S.H., Chang, P.C. and Chou, S.S. 2002. Determination of butachlor and pencycuron residues in vegetables and rice: application of the macroporous diatomaceous earth column, *J. Food Drug Anal.* 10, 127-134.
- Tseng, S.H., Lin, Y.J., Lee, H.F., Su, S.C., Chou, S.S. and Hwang, D.F. 2007. A multiresidue method for determining 136 pesticides and metabolites in fruits and vegetable: Application of macroporous diatomaceous earth column, *J. Food Drug Anal.* 15(3), 316-324.
- Watanabe, E., Baba, K. and Eun, H. 2007. Simultaneous Determination of Neonicotinoid Insecticides in Agricultural Samples by Solid-Phase Extraction Cleanup and Liquid Chromatography Equipped with Diode-Array Detection, *J. Agric. Food Chem.* 55, 3798-9804.
- Wong, J.W., Zhang, K., Tech, K., Hayward, D.G., Krynitsky, A.J., Cassias, I., Schenck, F.J., Banerjee, K., Dasgupta, S. and Brown, D. 2010. Multiresidue pesticide analysis of ginseng powders using acetonitrile- or acetone-based extraction, solid-phase extraction cleanup, and gas chromatography-mass spectrometry/selective ion monitoring (GC-MS/SIM) or -tandem mass spectrometry (GC-MS/MS), *J. Agric. Food Chem.* 58, 5884-5896.
- Wu, J., Wei, H., Sui, X., Lin, J., Wang, T., Fen, G. and Xue, Jian. 2010. Dynamic of carbendazim residue in *panax notoginseng* and soil, *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 84, 469-472.