농약과학회지 제15권 제2호 (2011)
The Korean Journal of Pesticide Science Vol. 15, No. 2, pp. 140~148

연구보문/잔류·안전성

다공성 규조토 컬럼을 이용한 한약재 중 잔류농약 분석법 개선

황정인 · 전영환 · 김효영 · 김지환 · 안지운 · 석다롱 · 이윤정[1] · 박주영[1] · 김도훈[1] · 김장억*

경북대학교 응용생명과학부, [1]식품의약품안전청 생약연구과

(2011년 6월 2일 접수, 2011년 6월 15일 수리)

Improvement of Analytical Method for Residue Pesticides in Herbal Medicines Using Macroporous Diatomaceous Earth Column

Jeong-In Hwang, Young-Hwan Jeon, Hyo-Young Kim, Ji-Hwan Kim, Ji-Woon Ahn, Da-Rong Seok, Yoon-Jeong Lee[1], Ju-Young Park[1], Do-Hoon Kim[1] and Jang-Eok Kim*

School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, [1]Division of Herbal Medicine Research, Korea Food and Drug Administration, Osong 363-951, Korea

Abstract

The official analytical method of residue pesticides in herbal medicines by KFDA cannot be applied to all of the pesticides and herbal medicines because of various active materials in herbal medicines and various physicochemical properties of pesticides. Moreover, liquid-liquid partition uses harmful solvents such as methylene chloride and is consuming a lot of time and effort. In order to improve the problems, we have studied for the availability of the analytical method applying the macroporous diatomaceous earth (MDE) column instead of liquid-liquid partition to simultaneously analyze five pesticides in two dried herbal medicines. The results showed that the recovery rates of acetamiprid and azoxystrobin in Astragalus root by GC/ECD ranged from 89.6 to 94.1%, from 86.8 to 94.4%, respectively, and those of bifenthrin, chlorfenapyr, chlorpyrifos in Cnidii Rhizoma by GC/MS ranged from 83.6 to 88.4%, from 77.4 to 83.8%, from 82.6 to 84.3%, respectively. Also, the coefficients of variation (CV) for triplication ranged from 0.5 to 1.7%. The results satisfied the criteria of residue pesticide analysis, setting 70~120% for the recovery rate and below 10% for the coefficient of variation. The improved methods are safer to residue pesticide analysts, faster and less laborious than the KFDA official method.

Key words Herbal medicine, Residue pesticides analysis method, MDE column, Methylene chloride

서 론

한약재의 우수한 약효가 널리 알려지면서 동서양을 막론하고 한약재에 대한 관심이 높아져 수요가 증가하고 있는 현실에서 필수적으로 따라야 할 문제는 한약재에 대한 안전성 문제라고 할 수 있다. 한약재의 원료가 되는 약용작물을 대규모로 재배할 시 발생되는 병해충 및 잡초의 효율적인 방제를 위해 농약이 사용되기 때문에 수확된 한약재로부터 잔류 농약을 분석하는 것은 중요한 일이라 할 수 있다. 또한 국외에서 수입되는 한약재도 각 국가별로 사용하는 농약의 종류가 다르기 때문에 수입 시에 농약의 잔류분석 역시 필수적인 문제이다(Oh, 2009; Hwang 등, 2011). 현재 식품의약품안전청에서 총 71가지 한약재 중 40가지 한약재에 대해 31가지 농약의 잔류허용기준(MRL)을 설정하였고 나머지 31가지 한약재에 대하여서는 잠정 MRL을 설정하였다(식약청 고시 '생약 등의 잔류·오염물질 기준 및 시험방법'[별표 4]). 전체

*연락저자 : Tel. +82-53-950-5720, Fax. +82-53-953-7233
E-mail: jekim@knu.ac.kr

약용작물에 대하여 품목 등록된 농약이 219가지인 것에 비해 (한국작물보호협회, 2010) 31가지 농약에만 MRL이 설정된 것을 보면 한약재에 대한 잔류성 연구는 계속적으로 수행되어야 할 것이다.

한약재로부터 잔류농약을 분석할 경우 한약재에 함유된 다양한 유효성분들 때문에 농약성분을 추출하고 분리해내는 것이 쉽지 않다(Wong 등, 2010). 현재 식품의약품안전청에서는 한약재 중 잔류농약의 분석을 위하여 '생약 등의 잔류·오염물질 기준 및 시험방법(식약청 고시 제 2009-136호)'을 고시하고 있으며, 이 시험법에 따라 한약재 중 농약의 잔류량을 분석하고 있다. 그러나 고시된 분석법은 다양한 한약재의 개별적인 특성을 고려하지 않고 일괄적인 시험법을 사용하여 모든 농약의 분석에 적용하는 문제점을 가지고 있다. 또한 분석법의 액-액 분배 단계에서는 추출용매로써 methylene chloride와 같은 발암 가능성 물질(International Agency for Research on Cancer, 1987)을 사용하도록 되어 있어 잔류농약 분석자의 안전에 위해를 가할 수 있을 뿐만 아니라 분석 시 발생되는 폐액의 처리 과정에서도 환경오염을 일으킬 수 있는 문제점이 있다. 다공성 규조토(Macroporous Diatomaceous Earth, MDE) 컬럼은 이러한 액-액 분배의 문제점을 해결하기 위하여 적용 가능한 solid phase extraction(SPE) 컬럼의 일종으로 친수성 물질은 흡착하고 소수성 물질을 추출하는 성질을 가지고 있다. 이와 같은 MDE 컬럼 적용에 관한 연구의 일환으로 Tseng 등은 다공성 규조토(MDE) 컬럼을 적용하여 겨자 및 쌀로부터 butachlor 및 pencycuron의 잔류 분석을 시도하였다.(Iijima 등, 1997, 2006; Kontou 등, 2001; Tseng 등, 2002; Klein과 Alder, 2003; Kobayashi 등, 2007; Hwang 등, 2011).

따라서 본 연구에서는 다공성 규조토 컬럼인 MDE 컬럼을 적용하여 한약재 천궁(Cnidii Rhizoma, *Cnidium officinale*)과 황기(Astragalus Root, *Astragalus membranaceus*) 시료에 대해 잔류허용기준이 설정되어 있는 농약인 acetamiprid, azoxystrobin, bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 잔류분석법을 개선하고자 하였다.

재료 및 방법

표준품 및 시약

Acetamiprid, azoxystrobin 및 bifenthrin의 표준품은 Wako Pure Chemical Industries Ltd.(Japan)로부터 구입하여 사용하였으며 chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 표준품은 각각 BASF Chemical Co.(Germany) 및 Dow Chemical Co.(Germany)로부터 구입하여 사용하였다. 다공성 규조토 컬럼(MDE column)은 Varian Inc.사(USA)에서 제작된 10 mL Chem Elut^{TM} cartridge를 사용하였으며, 시료의 전처리 과정에 사용된 acetone, methylene chloride, acetonitrile, *n*-hexane 및 ethyl acetate는 Burdick & Jackson사(USA)의 농약잔류분석용을 사용하였다. 시료의 정제 시 glass column(I.D 16 mm)의 충진제는 florisil이었으며 Sigma-aldrich Chemical Co.사(USA)의 F9127(60-100 mesh, 농약잔류분석용)을 사용하였고, NH_2 및 florisil SPE cartridge(1 g, 6 mL)는 Varian Inc.사(USA)로부터 구입하여 사용하였다. Sodium chloride(EP급) 및 sodium sulfate(GR급)는 Junsei Chemical Co.(Japan) 제품을 사용하였다.

한약재

한약재 시료는 acetamiprid와 azoxystrobin에 MRL이 설정되어 있는 황기와 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos에 대하여 MRL이 설정되어 있는 천궁을 선정하였으며, 대구광역시 중구 남성로에 위치한 약령시장에서 건조된 것을 구입하여 사용하였다. 약 1 kg의 무처리 시료를 분쇄기로 분쇄한 후 이를 폴리에틸렌 비닐백에 밀봉하여 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

고시되어 있는 분석법

식약청에서 고시한 한약재 중 잔류농약 분석법인 '생약 등의 잔류·오염물질 기준 및 시험방법 [별표 5]'에 따라, 한약재 시료 5 g을 증류수 40 mL로 습윤화 후 90 mL acetone을 가하여 균질화시켜 여과하였다. 이 여과액을 100 mL 증류수 및 50 mL 포화식염수가 가해진 1 L 분액여두에 옮기고 70 mL methylene chloride로 2회 분배 추출하였다. 추출액을 농축하여 4 mL *n*-hexane에 재용해한 후, 미리 *n*-hexane과 acetone/hexane(2/8, v/v)으로 활성화 시킨 florisil SPE cartridge상부에 가하고 5 mL acetone/methylene chloride/*n*-hexane (1.5/48.5/50, v/v/v) 혼합용매로 용출시켜 받은 후 감압 농축하고 2.0 mL acetone/*n*-hexane(2/8, v/v) 에 재용해한 후 각각의 시료액 1.0 uL를 GC/ECD에 주입하여 잔류농약을 분석하였다. 한약재 황기에서는 acetamiprid 및 azoxystrobin, 천궁에서는 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 회수율을 분석하였다. 분석기기는 DB-5 capillary column(30 m L. × 0.25 mm I.D × 0.25 ㎛ film thickness)을 이용한 GC/ECD(Shimadzu GC-2010, Japan)를 사용하였다.

MDE 컬럼을 이용한 분석법

황기시료 20 g에 acetamiprid와 azoxystrobin의 혼합 표준용액 0.2 mg/kg과 1.0 mg/kg이 되도록 처리한 후 100 mL acetonitrile 및 10 mL 증류수를 가하여 균질화하였다. 균질화된 시료는 여과 후 수용액이 10 mL가 남을 때까지 농축하여 MDE 컬럼에 가하였다. 약 10분 이상 정치시켜 수분을 모두 흡수시킨 후 컬럼 상부에 50 mL ethyl acetate를 2회 가하여 무수 sodium sulfate층에 탈수시켜 받아 농축하였다. 정제는 glass column(I.D 16 mm)에 10 g florisil과 1 cm 높이의 sodium sulfate를 충진하여 사용하였다. *n*-Hexane으로 florisil을 활성화 시키고 10 mL ethyl acetate/*n*-hexane(2/8, v/v)에 재용해한 시료를 column 상부에 가한 후 동일한 용매 100 mL를 용출시켜 버리고 100 mL acetone/*n*-hexane(4/6, v/v)으로 용출시킨 후 농축하여 acetone 2.0 mL에 재용해하여 GC/ECD로 분석하고 구조동정은 LC/MS로 하였다. 구조동정을 위한 기기분석은 10 mM ammonium acetate 및 0.1% formic acid를 함유한 water와 acetonitrile을 이동상 용매로 하여 YMC-pack pro C18 column(100 mm L. × 3.0 mm I.D × 3 ㎛ particle size)을 이용한 LC/MS(Agilent HPLC-Series 1100 with LC/MS 6410 triple quad, USA)를 사용하였다. 천궁시료에서 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 회수율 시험도 동일한 방법으로 실시하였다. 단 florisil 정제 후 남아있는 불순물 제거를 위해 NH_2 SPE cartridge로 한번 더 정제하였다. 5 mL *n*-hexane으로 미리 활성화된 cartridge에 5 mL ethyl acetate/*n*-hexane(5/95, v/v)으로 재용해한 시료를 가하고 이어서 동일한 용매 15 mL를 용출시켜 받아 농축한 후 acetone 2.0 mL에 재용해하였다. 재용해 시료를 1.0 uL씩 GC/MS에 주입하여 나타난 크로마토그램상의 peak area를 표준검량선과 비교하여 회수율을 산출하였다. 분석기기는 DB-5 capillary column(30 m L.×0.25 mm I.D×0.25 ㎛ film thickness)을 이용한 GC/ECD(Shimadzu GC-2010, Japan)와 DB-5MS capillary column(30 m L.×0.25 mm I.D×0.25 ㎛ film thickness)을 이용한 GC/MS(Shimadzu GC-2010 with GC/MS QP-2010 Plus, Japan)를 사용하였다.

시험농약의 정성 및 정량분석

천궁에서 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 동시분석 및 구조 동정은 GC/MS로 실시하였으며 황기에서 acetamiprid 및 azoxystrobin의 분석은 GC/ECD로 분석하고 LC/MS로 구조를 동정하였다. 표준 검량선은 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos 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 uL씩 GC/MS에 주입하여 나타나는 peak의 면적을 기준으로 작성하였다. 분석을 위한 검출한계(Limit of detection, LOD)는 GC/MS 상에서 측정 가능한 최소검출량을 이용하여 아래 식에 의하여 산출하였다. Acetamiprid와 azoxystrobin의 표준 혼합용액 역시 동일하게 조제 후 GC/ECD에 주입하여 검량선과 검출한계를 산출하였다.

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

결과 및 고찰

고시된 분석법

시험 농약 각각의 GC 검출기별 감도에 따라 GC/ECD 그룹과 GC/MS 그룹으로 구분하였으며, 시험 농약의 물리화학적 성질은 Table 1과 같다. 천궁 시료에 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos 혼합 표준용액 1.0 mg/kg, 황기에 acetamiprid 및 azoxystrobin 혼합 표준용액 1.0 mg/kg을 처리한 후 식약청에서 고시한 한약재 중 잔류농약 분석법으로 분석한 결과는 Table 2와 같다. GC/ECD의 크로마토그램은 Fig. 1에서와 같이 많은 간섭 피크들로 인해 농약 피크의 분리가 어려웠다. 즉, 농약과 유사한 성질의 화학물질을 많이 함유하는 한약재로부터 농약을 분리하는 것은 일반적인 농산물에서 보다 더 어렵다고 할 수 있다. 따라서 정밀한 정제과정을 위하여 한약재의 특성 및 농약의 물리화학적 성질을 충분히 고려할 필요가 있다.

고시된 분석법으로 한약재 없이 물로 시험한 각 농약들의 회수율 시험에서 acetamiprid와 azoxystrobin의 경우 0.0%, bifenthrin의 경우 47.7%, chlorfenapyr의 경우 68.1%, chlorpyrifos의 경우 53.0%로 나타나 시료의 간섭을 배제하였음에도 불구하고 낮은 회수율이 나타났다. 이는 농약의 성질과 시료의 특성을 고려하지 않은 일괄적인 분석법의 사용으로 추출 및 용출용매가 이들 농약에 적합하지 않았기 때문일 것으로 사료된다. 따라서 각 농약의 물리화학적 성질과 각 시료의 특성을 충분히 고려하여 최적화된 추출 및 용출용매의 선택이 필요할 것으로 사료된다.

또한 한약재에 대하여 액-액 분배 시 emulsion 현상이 심하게 일어나 층분리에 어려움을 주었고 전처리 시간을 증가시켰다. 각 농약의 검출한계 역시 사용하는 시료의 양이 너무

Table 1. Chemical structures and physicochemical properties of pesticides

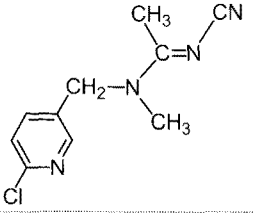
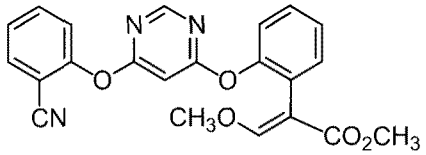
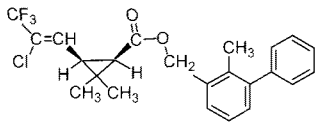
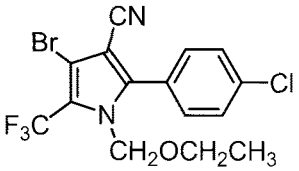
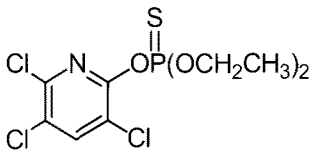
	GC/ECD group	
Structure		
Name	Acetamiprid	Azoxystrobin
M.W	222.7	403.4
log K_{ow}	0.80	2.5
Solubility	In water 4250 mg/L (25°C). Soluble in acetone, methanol, ethanol, methylene chloride, chloroform, acetonitrile and tetrahydrofuran.	In water 6 mg/L (20°C). In hexane 0.057, n-octanol 1.4, methanol 20, toluene 55, acetone 86, ethyl acetate 130, acetonitrile 340, methylene chloride 400 (all in g/L, 20°C).
	GC/MS group	
Structure		 
Name	Bifenthrin	Chlorfenapyr	Chlorpyrifos
M.W	422.9	407.6	350.6
log K_{ow}	> 6	4.83	4.7
Solubility	In water <1 μg/L. Soluble in acetone, chloroform, methylene chloride, diethyl ether, and toluene. Slightly soluble in heptane and methanol.	Practically insoluble in water. Soluble in acetone, diethyl ether, dimethyl sulfoxide, tetrahydrofuran, acetonitrile, and alcohols.	In water c. 1.4 mg/L (25°C). In benzene 7900, acetone 6500, chloroform 6300, carbon disulfide 5900, diethyl ether 5100, xylene 5000, isooctanol 790, methanol 450 (all in g/kg, 25°C).

Table 2. Comparison of recovery rates of pesticides in water and herbal medicines by conventional method

Pesticide	Recovery rate (%) ± SD[a]	
	In water	In herbal medicines[b]
Acetamiprid	0.0 ± 0.7	separation of pesticide peak is impossible
Azoxystrobin	0.0 ± 1.1	
Bifenthrin	47.7 ± 2.3	
Chlorfenapyr	68.1 ± 3.5	
Chlorpyrifos	53.0 ± 1.4	

[a]SD, Standard Deviation
[b]Osterici Radix, Peppermint, Cnidii Rhizoma, Astragalus Root

적어 MRL의 1/10~1/2 수준을 맞추는데 어려움이 있기 때문에 시료의 양을 증가시켜 줄 필요가 있었다.

MDE 컬럼을 이용한 분석법 개선

사용된 10 mL Chem Elut™ cartridge는 규조토와 hydromaterial로 이루어진 다공성 규조토 컬럼의 일종이며, 약 10 mL 가량의 수분을 흡수하여 보유하는 능력을 가지고 있다. 다공성 규조토(macroporous diatomaceous earth)는 조류(藻類)의 유해가 해저에 퇴적되어 만들어진 단백석(蛋白石)의 일종으로 조류의 세포벽에 존재하는 다양하고 복잡한 공극과 다량의 규산질이 그대로 남아 있는 것이 특징이다(한국식품과학회, 2004). 이러한 특성을 이용하여 여과보조제나 흡수제로 많이 사용하고 있으며, 본 연구에서는 친수성 물질의 정제와 소수성 물질의 추출을 위하여 액-액 분배과정을 대신하여 사용하였다. 따라서 이 컬럼에 비극성 용매를 흘려주면 분석 시 방해물질이 될 수 있는 친수성 물질은 흡수시키고 농약 성분을 포함한 소수성 물질만을 분리, 추출해낼 수 있어 액-액 분배과정을 대신할 수 있을 것으로 사료된다.

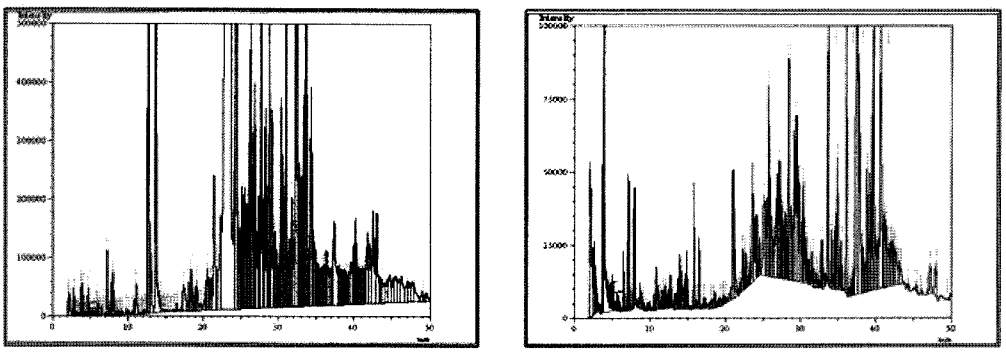


Fig. 1. GC/ECD chromatograms of herbal medicines by the conventional residue analysis method of pesticides.

Table 3. Recoveries and detection limits of pesticides in herbal medicines after MDE column application

Herbal medicine	Pesticide	Fortification level (mg/kg)	Recovery rate (%)				MDA[b] (ng)	LOD[c] (mg/kg)
			1	2	3	Mean ± SD[a]		
Astragalus Root	Acetamiprid	0.2	92.2	90.0	89.6	90.6 ± 1.4	0.1	0.01
		1.0	92.8	93.9	94.1	93.6 ± 0.7		
	Azoxystrobin	0.2	91.7	92.6	94.4	92.9 ± 1.4	0.1	0.01
		1.0	87.6	86.8	87.1	87.2 ± 0.4		
Cnidii Rhizoma	Bifenthrin	0.2	86.5	85.0	83.6	85.0 ± 1.5	0.1	0.01
		1.0	87.9	86.1	88.4	87.5 ± 1.2		
	Chlorfenapyr	0.2	83.8	83.2	81.1	82.7 ± 1.4	0.1	0.01
		1.0	78.2	77.4	79.3	78.3 ± 0.9		
	Chlorpyrifos	0.2	84.3	83.4	82.6	83.4 ± 0.9	0.1	0.01
		1.0	83.1	82.6	84.0	83.2 ± 0.7		

[a]SD, Standard Deviation ; [b]MDA, Minimum detectable amount ; [c]LOD, Limit of detection

잔류농약 분석 시 시료로부터 농약의 추출은 분석 후 회수율에 커다란 영향을 미치는 중요한 부분이므로 정확한 추출용매의 선택이 요구된다. 일반적인 잔류농약 분석에 사용되는 추출용매로는 *n*-hexane, methylene chloride, acetone, acetonitrile, methanol 및 ethyl acetate 등이 있으며(Stajnbaher와 Zupancic-Kralj, 2003), 시료에 존재하는 성분과 농약의 물리화학적 특성에 따라 그 선택을 달리하여야 한다. MDE 컬럼 적용 시 주로 사용되는 추출용매는 methylene chloride, ethyl acetate 그리고 *n*-hexane 등이 있으며 이 또한 농약의 극성도를 고려하여 용출용매 선택을 달리하여 줄 필요가 있다. Iijima 등에 의해 연구된 바에 따르면 MDE 컬럼을 이용한 물질의 추출을 위해 log P 값이 1.1 이상인 상대적으로 약한 극성의 물질에 대하여서는 *n*-hexane을, 1.1 미만인 상대적으로 높은 극성의 물질에 대하여서는 ethyl acetate를 추출용매로 사용하도록 하고 있다(Iijima 등, 1997). 본 연구에서는 ethyl acetate를 이용하여 MDE 컬럼으로부터 acetamiprid를 포함한 azoxystrobin, bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos을 추출하였다.

MDE 컬럼을 이용하여 각 한약재에 대한 농약들의 회수율을 시험한 결과는 Table 3 및 Fig. 2와 같다. GC/ECD로 동시 분석된 acetamiprid와 azoxystrobin의 최소검출량은 0.1 ng, 검출한계는 0.01 mg/kg으로 나타났으며, 황기 시료에 대한 각 농약성분의 회수율은 acetamiprid 89.6~94.1%, azoxystrobin 86.8~94.4%로 나타나 잔류농약 분석기준인 70~120% 이내의 회수율을 만족하였다. 또한 GC/MS로 동시 분석된 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 최소검출량은 0.1 ng, 검출한계는 0.01 mg/kg으로 나타났으며, 천궁 시료에 대한 각 농약성분의 회수율은 bifenthrin 83.6~88.4%, chlorfenapyr 77.4~83.8%, chlorpyrifos 82.6~84.3%로 나타나 잔류농약 분석기준인 70~120% 이내의 회수율을 만족하였다. 3반복 시험 결과 전체 시료에서 표준오차(SD) 값은 ±0.4~±1.5, 변이계수(CV) 값은 0.5~1.7% 수준으로 나타나 잔류농약 분석기준 10% 미만을 충분히 만족하였으며, 무처리 시료에서의 간섭피크 역시 존재하지 않았다. 또한 정제 시 용출용매

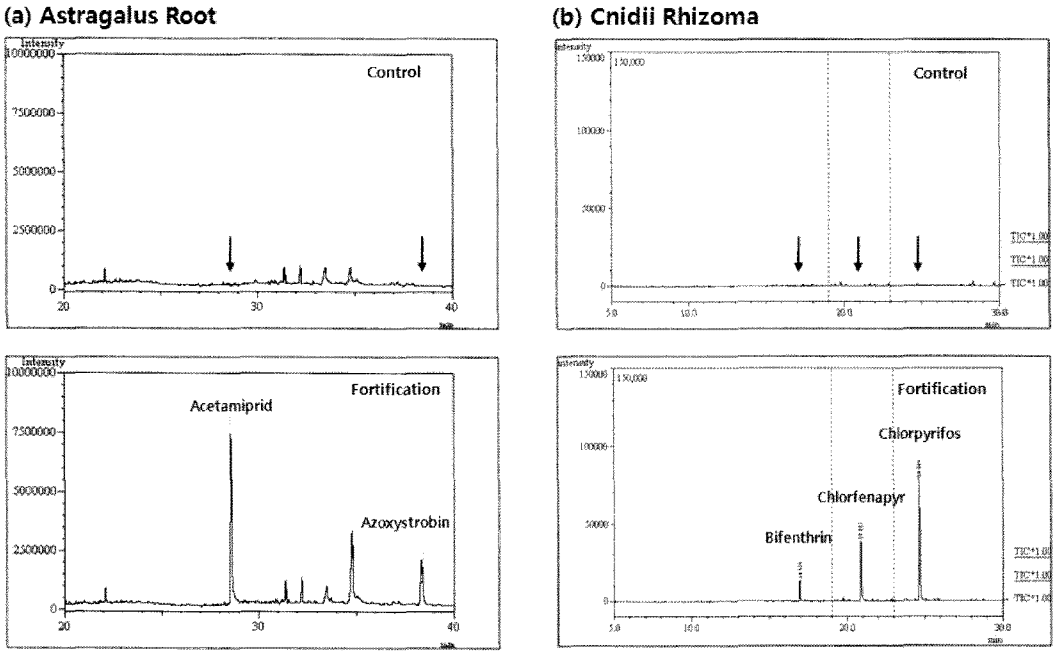


Fig. 2. Chromatograms of recovery tests for acetamiprid and azoxystrobin in Astragalus Root (a) by GC/ECD and for bifenthrin, chlorfenapyr and chlorpyrifos in Cnidii Rhizoma (b) by GC/MS after MDE column application.

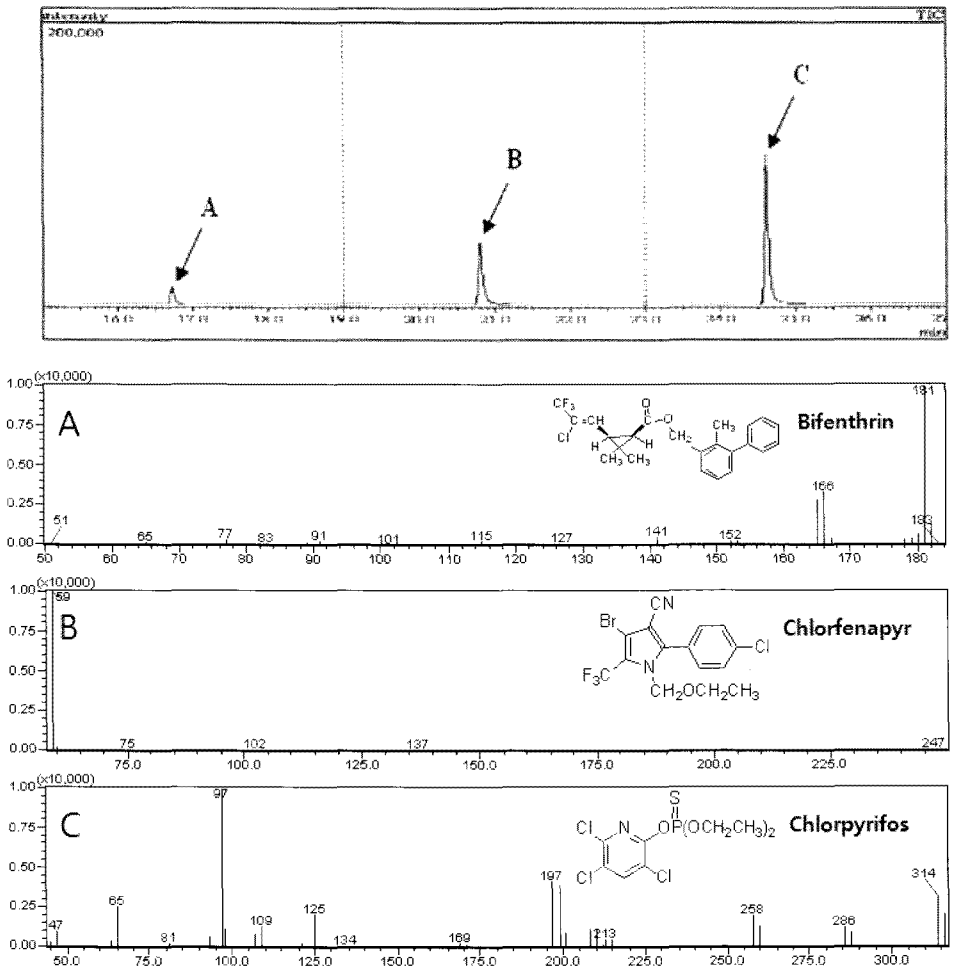


Fig. 3. Total ion chromatogram (TIC) and electron ionization (EI) mass spectra of bifenthrin, chlorfenapyr and chlorpyrifos in GC/MS (A : bifenthrin, B : chlorfenapyr, C : chlorpyrifos).

의 조성을 최적화함으로써 Fig. 2에 나타난 크로마토그램과 같이 불순물의 피크를 현저하게 줄일 수 있었고 농약 피크 역시 뚜렷하게 분리할 수 있었다.

시험에 사용된 천궁과 황기 시료는 서로 다른 성분의 화학물질들이 함유되어 있어서 농약 분석 시 간섭을 하는 경우가 많다. 따라서 한약재에 존재하는 간섭물질들과 농약성분의 확실한 분리 및 동정을 위해서 기기의 분석조건을 정밀하게 설정해줄 필요가 있다. 천궁에서 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos의 GC/MS target ion은 각 농약성분의 머무름 시간에 따라 달리 설정하였으며 그 total ion chromatogram(TIC)과 mass spectrum 그리고 선택된 target ion을 Fig. 3 및 Table 4에 나타내었다. 또한 황기에서 acetamiprid 및 azoxystrobin의 분석은 이들 농약들이 GC/MS에 감도가 낮기 때문에 GC/ECD로 분석하고 LC/MS로 구조를 동정하였다. LC/MS로 분석된 황기에서 acetamiprid와 azoxystrobin의 total ion chromatogram(TIC)과 mass spectrum은 Fig. 4와 같다.

Table 4. Target ions of bifenthrin, chlorfenapyr and chlorpyrifos in Cnidii Rhizoma for GC/MS analysis

Herbal medicine	Target ion (m/z)		
	Bifenthrin	Chlorfenapyr	Chlorpyrifos
Cnidii Rhizoma	166, 181	59, 247	197, 314

Methylene chloride는 잔류농약 분석 시 액-액 분배 과정에서 추출용매로 많이 사용되며, 끓는점이 약 40℃로 그 휘발성이 높아 노출 시 대기 중으로 증발되기 쉽다. 또한 국제암연구소(IARC)의 연구 결과에 따르면 발암물질 group 2B로 분류되어 인체 발암가능성 물질로 정의되고 있기 때문에 잔류농약 분석 시 노출되어 휘발된 methylene chloride는 분석

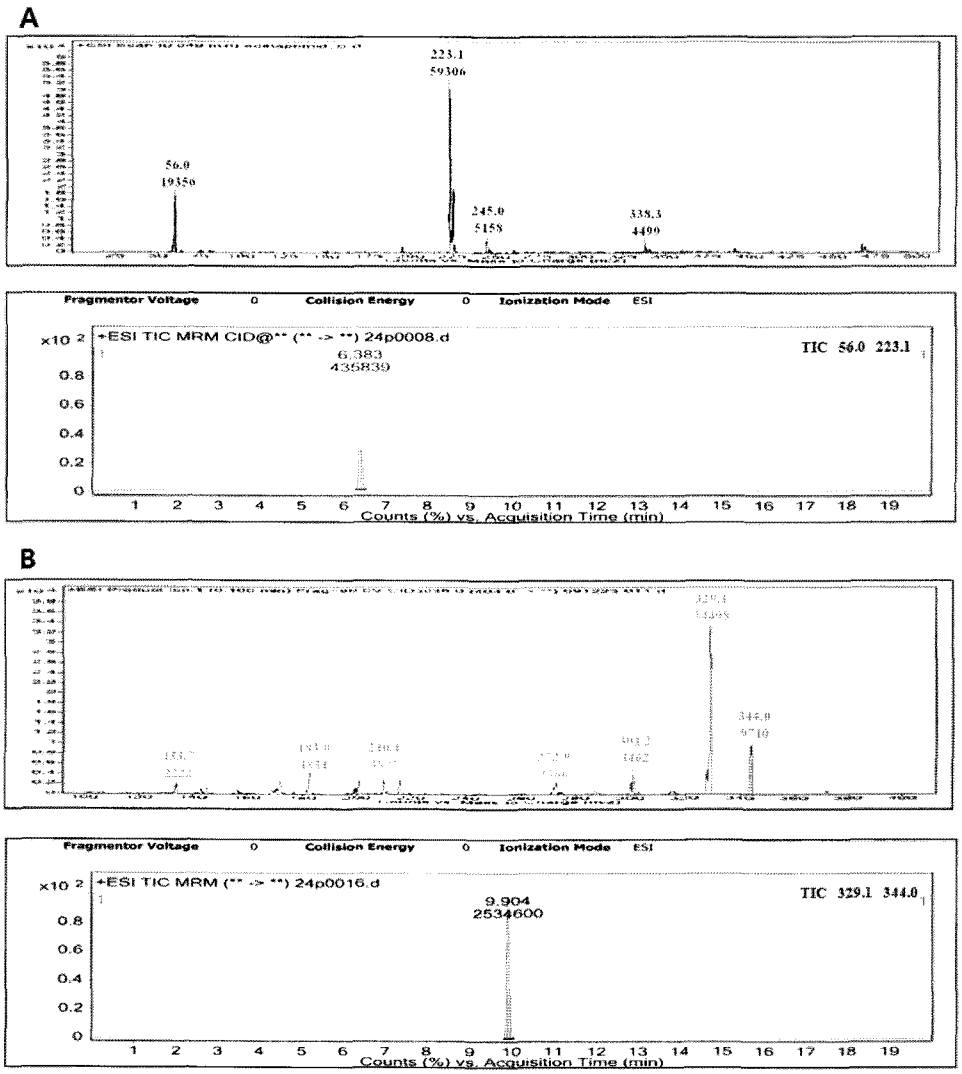


Fig. 4. Electrospray ionization (ESI) mass spectra and total ion chromatogram (TIC) of pesticides in LC/MS (A : acetamiprid, B : azoxystrobin).

자의 안전에 위해를 가할 수 있다. 본 연구에서는 액-액 분배 과정을 대신한 MDE 컬럼의 적용으로 methylene chloride의 사용이 배제되면서 분석자의 안전성을 증대시킬 수 있었고 물과의 비중차이를 이용한 분배의 필요성이 없어져 methylene chloride를 제외한 다양한 용매의 사용이 가능해졌다. 뿐만 아니라, 액-액 분배 과정을 생략하면서 전처리시 요구되는 노동력과 시간을 절감할 수 있었고 층분리에 어려움을 주는 emulsion 현상도 회피할 수 있었으며, 발생하는 폐액의 양도 감소되어 환경 친화적이라 할 수 있었다. Hwang 등의 MDE 컬럼을 적용한 강활, 박하, 천궁 및 황기 한약재 시료 중 endosulfan 농약의 잔류분석 연구에서 액-액 분배의 생략에 의해 간소해진 전처리 과정과 유해한 methylene chloride의 사용 배제에 의한 분석자의 안전성 향상 등에 대해 기술하고 있다(Iijima 등, 1997; Sicbaldi 등, 1997; Tseng 등, 2002; Tseng 등, 2007; Watanabe 등, 2007; Hwang 등, 2011).

각각의 농약 특성과 한약재의 개별적인 특성을 고려하여 실시된 분석법 개선 연구의 결과는 잔류된 농약으로부터 한약재의 안전성을 평가하고 확보하기 위한 중요한 기초자료가 될 것으로 사료되며, 더불어 수분함량이 적거나 건조된 농산물 시료에 대하여서도 액-액 분배 과정 대신 MDE 컬럼을 적용한다면 전처리 시간 및 노동력 절감과 잔류농약 분석자의 안전성 향상 등의 이점을 얻을 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2009~2010년도 식품의약품안전청의 연구비 지원으로 수행된 과제의 일부이며 지원에 감사드립니다.

인 / 용 / 문 / 헌

Hwang, J.I., Y.H. Jeon, H.Y. Kim, J.H. Kim, Y.J. Lee, J.Y. Park, D.H. Kim and J.E. Kim (2011) Application of macroporous diatomaceous earth column for residue analysis of insecticide endosulfan in herbal medicines. *Kor. J. Environ. Agric.* 30(1), 60~67.

Iijima, K., M. Saka, Y. Odanaka and O. Matano (1997) Multiresidue analytical method of pesticides by GC-MS : application of macroporous diatomaceous earth column and silica gel cartridge. *J. Pesticide Sci.* 22, 17~26.

Iijima, K., M. Saka, Y. Odanaka, Y. Kato, T. Takada and M. Hosomi (2006) Application of combination column of macroporous diatomaceous earth and graphitized carbon black for pesticide residue analysis. *J. Pesticide 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 L. Alder (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., I. Takano, Y. Tamura, S. Tomizawa, Y. Tateishi, N. Sakai, K. Kamijo, A. Ibe and T. Nagayama (2007) Clean-up method of forchlorfenuron in agricultural produts for HPLC analysis. *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 48(5), 148~152.

Kontou, S., D. Tsipi, V. Oreopoulou and C. Tzia (2001) Determination of ETU in tomatoes and tomato products by HPLC-PDA. - Evaluation of cleanup procedures. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1090~1097

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

Stajnbaher, D. and L. Zupancic-Kralj (2003) Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1015, 185~198.

Sicbaldi, F., A. Sarra and G.L. Copeta (1997) Diatomaceous earth-assisted extraction for multiresidue determination of pesticides. *J. Chromatogr. A.* 765, 23~30.

Tseng, S.H., P.C. Chang and S.S. Chou (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., Y.J. Lin, H.F. Lee, S.C. Su, S.S. Chou and D.F. Hwang (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., K. Baba and H. Eun (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., K. Zhang, K. Tech, D.G. Hayward, A.J. Krynitsky, I. Cassias, F.J. Schenck, K. Banerjee, S. Dasgupta and D. Brown (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.

한국식품과학회 (2004) 식품과학기술대사전. p. 131, 광일출판사, 대한민국.

한국작물보호협회 (2010) 농약사용지침서. pp. 47~1131, 삼정인쇄공사, 대한민국.

다공성 규조토 컬럼을 이용한 한약재 중 잔류농약 분석법 개선

황정인 · 전영환 · 김효영 · 김지환 · 안지운 · 석다롱 · 이윤정[1] · 박주영[1] · 김도훈[1] · 김장억*

경북대학교 응용생명과학부, [1]식품의약품안전청 생약연구과

요 약 식품의약품안전청에서 고시한 한약재 중 잔류농약 분석법에 따라 천궁 중 bifenthrin, chlorfenapyr 및 chlorpyrifos와 황기 중 acetamiprid, azoxystrobin을 분석한 결과 크로마토그램 상에 많은 간섭물질이 나타나고 회수율이 낮은 문제점이 나타났다. 이를 개선하기 위한 방법으로 액-액 분배 과정 대신 macroporous diatomaceous earth(MDE) 컬럼을 적용하고 정제 시 용출용매 조건을 최적화함으로써 회수율은 황기에서 acetamiprid 89.6~94.1%, azoxystrobin 86.8~94.4%, 천궁에서 bifenthrin 83.6~88.4%, chlorfenapyr 77.4~83.8%, chlorpyrifos 82.6~84.3%, 변이계수(CV)는 전체시료에서 0.5~1.7%로 나타나 잔류농약 분석기준인 70~120%의 회수율과 10% 이내의 변이계수를 만족하였다. 액-액 분배 과정을 대신하여 MDE 컬럼을 적용함으로써 발암가능 물질로 분류된 methylene chloride 사용을 배제할 수 있어 분석자의 안전성을 증대시킬 수 있었다. 또한 발생하는 폐액의 감소와 전처리 시 노동력 및 시간의 절감, 분석자간의 재현성 양호 등의 이점도 얻을 수 있었다.

색인어 한약재, 잔류농약 분석법, 다공성 규조토 컬럼, Methylene chloride