

HF-LPME를 이용한 수용액 시료 내 농약의 동시 분석

남장우^{†,‡} · 이강진[‡] · 명승운^{†,*}

[†]경기대학교 화학과

[‡]웅진코웨이(주) 환경분석센터

(접수 2012. 8. 19; 게재확정 2012. 9. 3)

Simultaneous Analysis of Pesticides in Aqueous Sample by HF-LPME

Jang-Woo Nam^{†,‡}, Kang-Jin Lee[‡], and Seung-Woon Myung^{†,*}

[†]Department of Chemistry, Kyonggi University, San 94-6, Iui-dong, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 443-760, Korea

^{*}E-mail: seungwmyung@gmail.com

[‡]WoongJin Coway R&D Center, San 4-1, Bongcheon 7-dong, Gwanak-gu, Seoul, Korea

(Received August 19, 2012; Accepted September 3, 2012)

요 약. 수용액 시료 중에 존재하는 농약 7종을 속빈 섬유(hollow fiber)를 이용한 미량 추출법으로 농약을 추출/농축 한 후 GC/MS로 동시 분석하는 방법을 최적화 하였다. 실험 인자들을 변화시키면서 농약 추출 및 농축을 위한 최적 조건으로써 유기 용매는 톨루엔을 선정하였고 시료의 교반 속도로는 1200 rpm이 최적의 추출효율을 나타내었다. 염석효과를 위해서 염화 소듐의 양을 5~25%까지 첨가하여 이온세기에 의한 추출량을 비교한 결과는 15%에서 최적 추출률을 나타내었고, 최적의 추출을 위한 평형시간은 15분임을 확인할 수 있었다. pH에 대한 영향을 검토한 결과 pH 5에서 최대 추출효율을 나타내었다. 5~50 µg/L의 범위의 농도 내에서 검정곡선을 작성한 결과 7종의 농약 모두 회귀 계수(Coefficient of Regression, R²)는 0.995 이상으로 좋은 직선성을 나타내었다. 검출 한계(Limits of detection, LOD)는 0.37~1.23 µg/L, 정량 한계(Limits of Quantification, LOQ)는 1.19~3.91 µg/L 범위의 값을 얻을 수 있었다.

주제어: 농약, HF-LPME, 기체크로마토그래프/질량분석기

ABSTRACT. The HF (Hollow fiber) extraction method was optimized to analysis seven species of pesticides in aqueous sample and analyzing samples by GC/MS. Hollow fiber extraction showed good efficiency when it was conducted under these conditions: organic solvent was toluene and agitation speed was 1200 rpm. The 15% concentration of NaCl was optimized when it was experimented between 5% and 25%. The equilibrium time was determined at 15 minutes. The pH 5 showed the best effect on the extraction efficiency. The linearities of calibration curves of seven species were good with correlation of regression (r²) over 0.995 when they were experimented over a concentration range of 5 µg/L to 50 µg/L. The analytical data exhibited the detection of limits (LODs) range of 0.37 µg/L to 1.23 µg/L and the limit of quantification (LOQs) range of 1.19 µg/L to 3.91 µg/L. The optimized HF-LPME extraction method provides a simple and effective preparation and requires small amount of organic solvents and samples compared to conventional pre-treatment methods.

Key words: Pesticides, HF-LPME, GC/MS

서 론

산업화의 급속한 확산으로 새로운 기술들이 개발되고 농업, 수산업, 공업, 제조업 등 광범위한 분야에서 다량의 화학물질들을 소비하고 있으며 그 중 농약도 포함되어 있다. 농약은 비교적 가격이 낮다는 장점을 가지고 있어서 병충해를 예방하고 농업 수확량을 늘리기 위해 널리 사용되어 왔다.¹ 하지만 최근에는 비농업용으로 조경, 골프장, 공중보건 위생 등 다양한 분야에서 무분별한 사용으로 인하여 환경오염의 주원인이 되고 있다. 농약은 토

양, 수질, 대기, 농수산물 등 다양한 경로로 노출될 수 있고, 특히 사람들이 마시는 먹는 물에서도 존재하는 경우도 있다. 농약이 오염된 물에 노출되었을 경우, 높은 위해성으로 인간의 건강뿐만 아니라 살아있는 모든 유기체의 생명을 해칠 수 있다.^{1,4,5} 우리나라는 수질에 대해서 먹는 물과 하천수 등 다양한 용도별 수질 기준을 가지고 있으며 이를 시험하는 분석법으로 먹는 물 공정 시험법과 수질 오염 공정 시험법을 이용하고 있다. 먹는 물 공정 시험 기준과 수질 오염 공정 시험기준에서 농약류에 대한 추출 방법은 액체-액체 추출법(Liquid-Liquid Extraction, LLE)

으로 되어 있으나 LLE 추출법은 여러 가지 단점들이 있어서 본 논문에서는 먹는 물 공정 시험법과 수질 오염 공정 시험법에서 관리하고 있는 농약류에 대해 기존 추출 방법의 단점을 보완 할 수 있는 다른 추출 방법을 시도해 보았다.

농약을 분석하기 위한 방법으로는 고체상 추출법(Solid-Phase Extraction, SPE), 고체상 미량 추출법(Solid Phase Micro-Extraction, SPME), 액체상 미량추출법(Liquid phase Micro-Extraction, LPME) 등 여러 가지 추출 방법이 있다.^{2,3,6,7}

액체-액체 추출법(LLE)^{2,3}은 가장 보편적으로 사용하고 있는 방법의 하나이다.⁴ 그러나 이 추출법은 전처리 과정에 있어서 시료와 추출 용매가 다량으로 필요하고 시간도 오래 걸린다.^{1,5,6} 또한 사용되는 다량의 유기 용매는 인체에 유해하고 분석 후 처리 시에도 환경에 유해한 영향을 끼치며 미량 농도 분석 시 농축과정을 거치기 때문에 지루하다는 단점이 있다.^{6,7}

고체상 추출법(SPE)은 액체-액체 추출법과 비교하였을 때, 전처리 시간이 짧고 유기 용매의 사용이 적다는 장점이 있다. 하지만 고체상 흡착제의 높은 가격이 경제적으로 부담이 되고⁷, 시료에 따라 카트리지가 막히거나 재현성이 떨어지는 단점이 있다.^{5,8,9}

고체상 미량 추출법(SPME)은 1990년대 초 유기용매를 사용하지 않는 방법으로 개발되었다.⁶ 용매를 사용하지 않으므로 기존의 액체-액체 추출법, 고체상 추출법에 비해 빠르고 간편하며 친환경적이고, 자동화가 가능하다는 것이 장점이다.^{7,12} 그러나 용융 실리카 섬유의 수명과 선형 범위가 제한적이며 부러지기 쉽고, 용융 실리카 섬유가 고가라는 경제적인 단점이 있다.^{7,10,11,12}

액체상 미량 추출법(LPME)은 미량 주사기나 내경이 좁은 멤브레인을 사용하는 방법으로 다른 추출 방법에 비해 추출 과정이 간단하여 유기 용매의 사용이 매우 적으며^{1,13} 추출 후 바로 기체 크로마토그래프에 주입하여 분석할 수 있다. 액체상 미량 추출법은 추출 방법에 따라서 정적인 방법과 동적인 방법으로 나눌 수 있다.^{14,15}

본 논문에서는 먹는 물 공정 시험법과 수질 오염 공정 시험법에서 관리하는 농약 항목에 대해 동시 분석할 수 있는 방법에 초점을 맞추었고, 추출방법으로는 속빈 섬유(Hollow-Fiber, HF)를 이용한 막대형 LPME를 사용하였다. 이를 위해서 농약의 추출효율을 높이는데 영향을 미치는 여러 인자인 추출용매의 종류, 교반 속도, 염석효과, 추출 시간, pH를 변화시키면서 분석을 위한 최적 추출 조건들을 체계적으로 확립하였다.

실 험

시약 및 장치

분석 대상 농약은 carbaryl, diazinon, methyl parathion,

fenitrothion, parathion, phenthoate, ENP 등 7종이며 Supelco사(USA)의 혼합용액(200 µg/mL in hexane : toluene(1:1))을 표준물질로 사용하였다.

Toluene, chloroform, ethyl acetate, dichloromethane, hexane와 같은 추출 용매는 HPLC급(J.T Baker, USA)를 사용하고, 1-octanol은 JUNSEI(ASSAY(GC) min. 98%)를 사용하였다. pH 조절을 하기 위해서는 인산(JUNSEI ASSAY min. 85% (m/m))과 수산화나트륨(KANTO 순도 97%)을 희석하여 사용하였고 염석효과를 위해서는 염화나트륨(JUNSEI ASSAY min. 99.5%(m/m))을 사용하였으며, 증류수는 증류수 제조장치(Millipore Elix 15형)를 이용하여 직접 제조하여 실험에 사용하였다.

속빈 섬유는 polypropylene 재질로써 안지름은 600 µm, 막 두께는 200 µm(Accurel Q3/2, Wuppertal, Germany)를 사용하였고, 추출 후에 시료를 채집하는 미세 주사기는 GC용 10 µL(Agilent, Australia)를 사용하였다. 속빈 섬유와 연결했던 pipette tip은 0.5~10 µL(Axygen, USA)를 사용하였고, 추출 시 시료를 담았던 vial은 Amber Vial Screw Top 7 mL(SUPELCO, USA) 제품을 사용하였으며, 자석 막대는 테프론 재질(Belart, 10 mm×6 mm, USA)을 사용하였다.

분석 기기

농약 분석을 위한 기체 크로마토그래프/질량분석기(GC/MS)는 Agilent 사의 6890N/5973N(Palo Alto, CA, USA)을 사용하였다. 모세관 컬럼은 Agilent 사의 DB-5(Methyl 5% phenyl polysiloxane)로 길이는 30 m, 안지름 0.25 mm, 정지상 두께 0.25 µm인 것을 사용하였고 운반 기체로는 헬륨(He)을 사용하였다. 운반기체인 헬륨(He)의 유속은 1.0 mL/min으로 조절하였고 분할 비는 10:1이었다. 컬럼의 온도와 시료 주입기 및 검출기의 온도는 Table 1에 요약하였다. 대상 농약을 정성, 정량 분석하기 위해 각 물질마다

Table 1. Analysis conditions for GC/MSD

Parameter	Condition
Column	DB-5, 30 m×0.25 mm×0.25 µm
Carrier gas	He
Flow	1.0 mL/min
Split Ratio	10:1
Injection port temp	250 °C
Transfer line temp	270 °C
Injection vol.	2 µL
Oven temp. program	150 °C (3 min) $\xrightarrow{10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 300 °C (2 min)
Run time	20 min
Ionization mode	EI (solvent delay : 2.0 min)

Table 2. Selected ion monitoring (SIM) parameters for GC/MS

Compounds	Selected ion (m/z)
Carbaryl	144 115
Diazinon	179 137 304
Methyl parathion	263 109 125
Fenitrothion	277 125 109 260
Parathion	291 109 97 125
Phenthoate	274 125 246 93
EPN	157 169

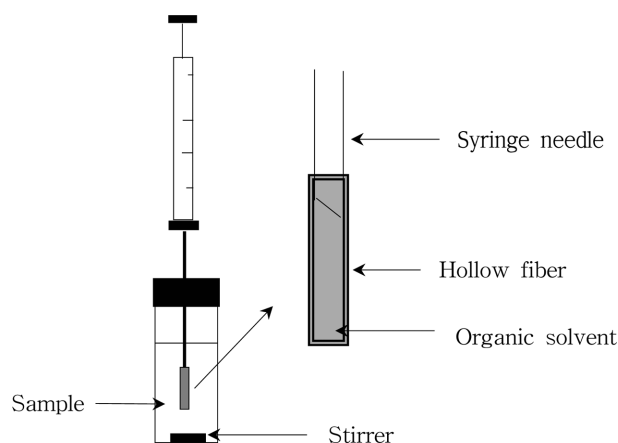
2개 또는 3개의 특징적인 이온(Characteristic ion)을 선택하였는데 carbaryl은 m/z 144, 115, diazinon은 m/z 179, 137, 304, methyl parathion은 m/z 263, 109, 125, fenitrothion은 m/z 277, 125, 109, 260, parathion은 m/z 291, 109, 97, 125, phenthoate는 274, 125, 246, 93, EPN은 157, 169를 선택하였다(Table 2).

추출/농축 절차

본 실험에서는 막대형 미량 추출방법을 사용하였는데 속빈 섬유를 3 cm 정도 자른 후 속빈 섬유 속에 남아 있을 유기물질의 제거를 위하여 HPLC급 아세톤에 담가서 초음파세척기를 이용하여 10분간 세척 후 건조시킨다. 건조 후 한쪽 끝을 약 300 °C 정도로 설정된 가열판을 이용하여 봉합시킨 후 2.5 cm 길이로 절단하여 사용하였다. 추출 시에는 추출 용매로 toluene, chloroform, ethyl acetate, hexane, dichloromethane, 1-octanol을 사용하여 추출효율을 비교하였다.

미량 주사기 바늘에 0.5~10 μ L용 pipette tip을 끼우고 앞에서 준비한 봉합된 속빈 섬유를 pipette tip에 연결시킨다. 연결된 pipette tip과 속빈 섬유를 용매가 담긴 비커에 서서히 담그면 속빈 섬유 안으로 추출 용매가 채워지게 된다. 속빈 섬유 안으로 추출 용매를 채울 때 문제점으로는 용매가 채워질 때 중간 중간에 기포가 발생할 수 있다는 것이다. 추출 용매 사이에 기포가 채워지게 되면 공간이 생겨 실험 시 재현성이 떨어질 수 있다. 이런 문제가 발생했을 때에는 미량 주사기로 기포를 빼내어 속빈 섬유 안을 기포 없이 추출 용매로 가득 채워주었다(Fig. 1).

속빈 섬유가 추출 용매로 가득 차게 되면 시료 5 mL이 담긴 vial에 호일로 vial 윗부분을 막고 속빈 섬유만 통과할 수 있게 구멍 뚫어 놓는다. 다음 단계로 구멍 사이로 추출 용매가 채워진 속빈 섬유를 끼워 넣고 속빈 섬유가 시료에 충분히 담겨 질 수 있도록 높이를 조절한 후 시료와 추출용매간의 분배 평형을 위해 자석 막대를 이용하여 시료를 교반하였다. 자석 막대는 테프론으로 피복된 소형 자석 막대를 사용하였다. 정해진 추출 시간이 되면

**Fig. 1.** Device for hollow-fiber liquid-phase microextraction.

미량 실린지를 속빈 섬유에 삽입하여 추출 용매를 채취한 뒤 GC/MS에 바로 주입하여 분석하였다.

실험 인자의 최적화

속빈 섬유를 이용한 액체상 미량 추출법 최적화를 위해 실험 인자들로 추출 유기 용매의 종류, 분석물과 추출 용매의 추출 시간, 추출 시 교반속도, 시료 용액의 pH 변화, 염석효과를 설정하였고, 각각의 인자들에 대해 조건을 최적화 하고자 하였다.

따라서 본 논문에서는 분석 물질의 농도가 200 μ g/L인 시료 5 mL에 대하여 속빈 섬유를 이용하여 다음과 같이 각 조건을 변화시키면서 실험하였다.

1) 추출 용매 효과: 1-octanol, toluene, chloroform, ethyl acetate, dichloromethane, hexane

교반 속도: 1200 rpm, NaCl : 5%, 추출 시간: 5분, pH : 5

2) 교반 효과: 300, 600, 900, 1200, 1500 rpm

추출 용매: toluene, NaCl : 5%, 추출 시간: 5분, pH : 5

3) 염석 효과(NaCl%): 5, 10, 15, 20, 25%

추출 용매: toluene, 교반 속도: 1200 rpm, 추출 시간: 5분, pH: 5

4) 시료의 pH 효과: pH=2, 5, 8, 11

추출 용매: toluene, 교반 속도: 1200 rpm, 추출 시간: 5분, NaCl: 15%

5) 추출 시간 효과: 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 분

추출 용매: toluene, 교반 속도: 1200 rpm, NaCl: 15%, pH: 5

결과 및 고찰

농도 200 μ g/L 표준용액에 대하여 HF-LPME로 추출한 결과 Fig. 2와 같이 7종의 농약이 정성분석에 충분하도록 완전히 분리되었다.

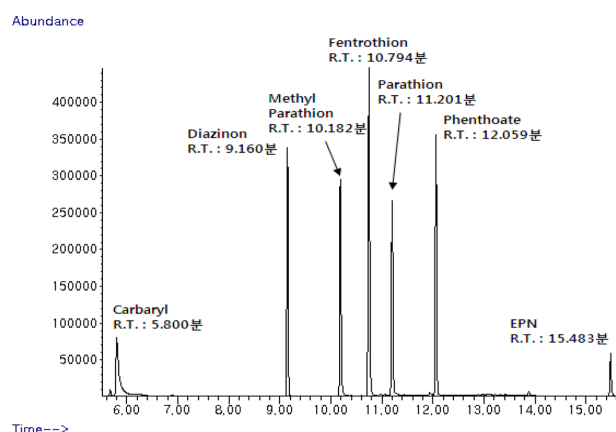


Fig. 2. GC/MS total ion chromatogram (TIC) of seven pesticides.

HF-LPME 실험 인자들의 최적화

분석 대상 농약들에 효과적인 추출 효과를 알아보기 위해 각각의 실험 인자들(추출 용매, 교반 효과, 염석 효과, 추출 시간, pH)에 대해서 조건들을 변경시킴으로써 농약에 대한 최적의 추출 조건을 확립하는 실험을 실시하였다.

추출용매의 선정: 추출 용매를 선정하기 위해서는 몇 가지 고려해야 할 점이 있었다. 시료가 수용액이기 때문에 유기 용매로 효과적인 추출을 하기 위해서는 유기 용매가 물과 섞이지 않아야 하며 물에 대한 용해도는 낮아야 한다. 하지만 분석하고자 하는 분석 물질에 대해서는 용해도가 높아야 한다. 또한 속빈 섬유(HF)에 잘 고정되어 오랫동안 머무를 수 있어야 하며 너무 쉽게 휘발되어서는 안 된다⁷. 그리고 원활한 분석을 위하여 추출 용매는 GC/MS에서 분석하기에 적합하여야 한다.

최적의 추출 용매를 선정하기 위해서 물에 대한 용해도가 작고 극성이 작은 것부터 큰 것까지 여러 가지 용매를 사용하여 추출 효과를 비교하였다. 사용된 추출 용매는 toluene, chloroform, ethyl acetate, hexane, dichloromethane, 1-octanol이었으며 각 추출용매의 특성은 Table 3과 같다.

실험온도는 25 °C, 염화소듐 5%, 교반속도 1200 rpm, pH 5, 추출시간은 5분으로 고정된 상태에서 추출용매를 변화해가며 HF-LPME로 분석한 결과 toluene이 가장 좋은

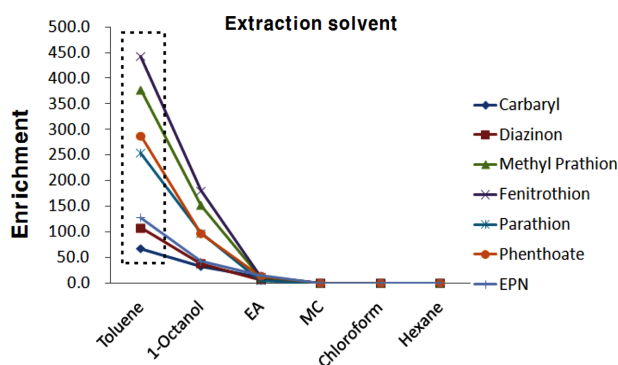


Fig. 3. Comparison of extraction solvent.

추출효과를 보였다. 속빈 섬유(HF)에 용매를 채우는 과정에서 toluene 외에 다른 유기 용매들은 속빈 섬유(HF) 안에 용매의 고정 여부를 확인하기 어려웠다. 또한 toluene과 1-octanol을 제외한 나머지 추출 용매들은 추출 시간이 길어질수록 추출 과정에서 물에 대한 용해도가 높아 유기 용매의 손실이 커져 추출이 끝난 후 GC/MS로 분석하기가 어려웠다. Toluene과 1-octanol의 추출률을 비교한 결과 1-octanol에 비해 toluene이 추출률이 높다는 것을 알 수 있었고 농약 추출을 위한 유기 용매는 극성도가 상대적으로 낮으며, 물에 대한 용해도가 낮은(Table 3) toluene으로 선정하였다. 추출 용매에 따른 추출량을 Fig. 3에 나타내었다. 농축배수(enrichment factor)는 실험농도를 표준물질 농도로 나누어 계산하였다.

교반 효과: 실험온도는 실온, 염화소듐 5%, pH 5, 추출시간은 5분, 추출용매는 toluene으로 고정한 상태에서 자석 막대의 교반 속도에 따른 추출 효과를 알아보기 위해 교반 속도를 300 rpm, 600 rpm, 900 rpm, 1200 rpm, 1500 rpm으로 변경하여 교반 효과 선정 실험을 진행하였다.

자석 막대의 교반 속도에 따른 추출 효과를 보면 1200 rpm일 때가 추출 효과가 가장 좋은 것으로 나타났다. 또한 1500 rpm이 되었을 때는 추출률이 떨어지기 시작했다. 교반 속도의 조건에서 300 rpm, 600 rpm, 900 rpm, 1200 rpm까지는 추출 후 잔류 용매의 양이 비슷했지만 1500 rpm 조건에서는 과도한 교반이 속빈 섬유에 물리적인 충

Table 3. Properties of extraction solvent

Solvent	Formula	Boiling point (°C)	Melting point (°C)	Density (g/mol)	Solubility in water (% w/w)	Polarity
Toluene	C ₇ H ₈	110.6	-93	0.867	0.051	2.4
Chloroform	CHCl ₃	61.2	-63.5	1.498	0.815	4.1
Methylene chloride	CH ₂ Cl ₂	39.8	-96.7	1.326	1.6	3.1
Ethyl acetate	C ₄ H ₈ O ₂	77	-83.6	0.894	8.7	4.4
Hexane	C ₆ H ₁₄	69	-95	0.655	0.001	0
1-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	194.4	-15	0.827	0.096	3.9

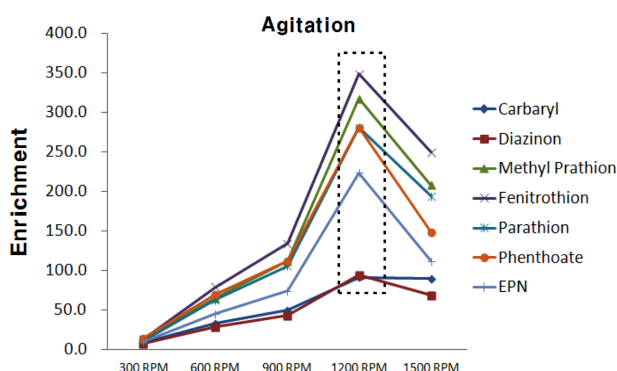


Fig. 4. Comparison of agitation effect.

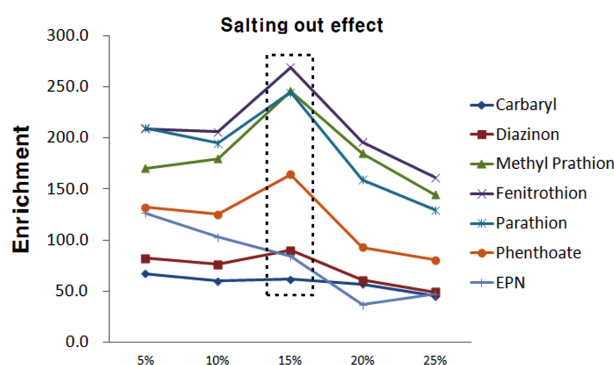


Fig. 5. Comparison of salting out effect.

격을 가함으로써 용매의 손실이 발생했고 추출 효과가 떨어졌다. 교반 효과에 따른 추출량을 Fig. 4에 나타내었다.

염석 효과: 분석할 수용액시료의 이온 세기를 조절하는 것은 일반적으로 실험 조절 인자 중 하나이다. 실험온도는 실온, 교반속도 1200 rpm, pH 5, 추출시간은 5분, 추출용매는 toluene으로 고정한 상태에서 염화소듐의 농도가 5%, 10%, 15%, 20%, 25%가 되도록 염화소듐을 첨가하여 추출률에 대한 영향을 확인하였다.

일반적으로 HF-LPME 장치를 이용한 시료 추출에서 이온들에 의한 영향(염석효과)은 다음과 같다. 첫째, 물에서 NaCl의 용해는 Nernst 확산 필름의 물리적 성질을 변화시켜서 분석물질이 추출용매로 확산되어 가는 속도가 감소된다. 둘째, 염이 첨가됨에 따라 용액의 이온 세기가 증가되어 수용액에서의 분석 물질의 용해도가 감소됨에 따라 유기상으로의 분배가 증가된다. 셋째, 염을 첨가하면 상비(phase ratio)에 영향을 미친다. 이와 같은 영향에 따라서 첫 번째와 세 번째 효과는 추출효율을 감소시키는 요인이 되며, 두 번째 요인은 추출효율을 증가시키는 요인이 된다. 이러한 영향으로 인해 HF-LPME 장치를 이용한 시료 전처리에서는 염석효과가 추출 효율을 증가시킬 수도 있고 감소시킬 수도 있다.¹⁸ 본 실험에서는 염석효과(salting out effect)는 화합물에 따라 최적조건이 다르게 나타났으나 7종류의 동시분석 조건으로 15%가 가장 적합하였다. 염석효과에 따른 추출량을 Fig. 5에 나타내었다.

추출 시간: 추출 과정에서 평형에 도달하는 시간은 물속의 질량 이동속도에 가장 많은 영향을 받으므로 분석물질의 빠른 확산을 위하여 일정한 교반을 하는 것이 필요하며, 분석물질의 확산이 추출과정을 제한하므로 분자량이 큰 화합물은 분자량이 작은 물질보다 확산계수가 작기 때문에 더 긴 평형도달 시간이 필요하다고 알려져 있다.^{18,19} 일반적으로 추출 시간이 길어질수록 추출률은 증가한다. 하지만 추출 시간이 너무 길어지면 속빈 섬유 내부의 추출 용매의 손실이 커지기 때문에 적절한 추출

시간을 선정하여 추출 용매의 손실을 최소화 하여 추출률을 증가시키는 것이 중요하다. 실험온도는 실온, 염화소듐 15%, 교반속도 1200 rpm, pH 5, 추출용매는 toluene으로 고정한 상태에서 추출 시간은 1 min, 2 min, 3 min, 4 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min이 되도록 하여 추출률에 대한 영향을 확인하였다.

실험결과 추출시간 15분에서 추출효율이 가장 좋은 것으로 나타났다. 이는 수용액에 있는 분석 물질이 추출 용매로 추출되는 추출량과 추출 시간이 증가함에 따라 속빈 섬유(HF) 안에 추출 용매의 손실을 줄이는 가장 최적의 시간이라고 할 수 있다. 추출 시간에 따른 추출량을 Fig. 6에 나타내었다.

pH의 영향: 분석 물질은 수용액 상태에서 해리 형태나 비해리 형태 등 여러 형태로 존재할 수 있으며 약산이나 약염기가 좋은 예이다. 일반적으로 비해리 형태만을 유기용매로 추출할 수 있으므로 평형상태에서 해리평형을 비해리 형태로 변화시켜 추출 형태의 농도를 증가시킴으로써 추출효율을 증가시킬 수 있으며 이러한 변화는 과다한 공통이온을 첨가하거나 약산이나 약염기에서의 pH 조정으로 추출효율을 증가시킬 수 있다.¹⁹ 분석 물질의 pH를 변경시키는 것은 분석 물질의 이온화 형태를 변경시

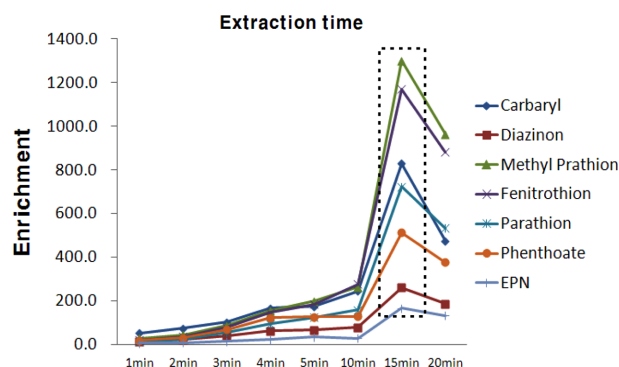


Fig. 6. Comparison of extraction time.

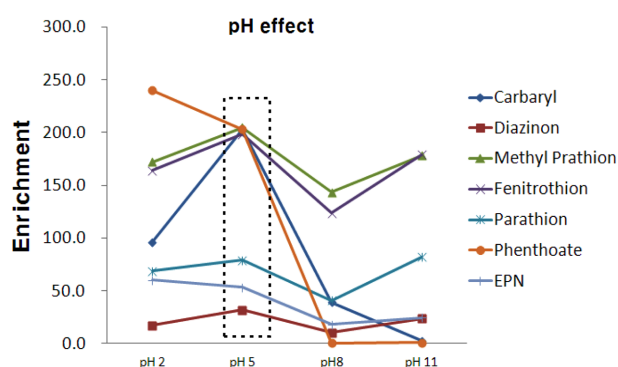


Fig. 7. Comparison of pH of aqueous sample.

킬 수 있고 이로 인하여 물에 대한 용해도 및 추출률에도 많은 영향을 준다. 이와 같이 모든 실험 시 pH는 추출에 있어 중요한 인자인 것이다. 실험온도는 실온, 염화소듐 15%, 교반속도 1200 rpm, 추출시간은 15분, 추출용매는 toluene으로 고정한 상태에서 pH는 2, 5, 8, 11 이 되도록 하여 추출률에 대한 영향을 확인하였다.

분석대상 농약에 대한 실험 결과 모든 물질이 pH 5에서 대체적으로 높은 추출률을 보였다. 두 상(two phase)을 이용한 LPME에서 중성물질은 유기 용매에 용해가 잘 되고, 하전된 물질은 수용액에 용해가 잘 되기 때문에 pH는 분석물질이 이온상태가 아닌 중성 상태로 pH를 조절해야 한다. 분석 물질인 carbaryl은 pK_a 2.36, diazinon은 pK_a 2.6, methyl parathion은 pK_a 7.08, fenitrothion은 pK_a 3.07, parathion은 pK_a 7.15, phenthoate은 pK_a 4.7, EPN은 pK_a 3.85으로 물질마다 최적 추출효율을 나타내는 pH 조건에는 차이가 있었으나 pH 5 일 때 농약들의 동시 분석 시 최고 높은 추출률을 나타내었다. pH에 따른 추출량을 Fig. 7에 나타내었다.

방법의 유효화

검정곡선: 3.1에서 확립된 추출 조건으로 추출하고 GC/MS에 주입하여 표준물 검정곡선을 작성하였다. 표준 용

Table 4. Optimized HF-LPME conditions

Parameter	Condition
Concentration.	200 μ g/L
HF	3 cm
Sample volume	5 mL
Organic solvent	Toluene
Stir	1200 rpm
NaCl	15%
Extraction time	15 min
pH	5
Injection volume	2 μ L

Table 5. Calibration equation and linearities (concentration range: 5~50 μ g/L)

Compounds	Equation	R ²
Carbaryl	$y = 0.0030x - 0.0063$	0.9998
Diazinon	$y = 0.0025x + 0.0020$	0.9982
Methyl parathion	$y = 0.0020x - 0.0051$	0.9992
Fenitrothion	$y = 0.0025x - 0.0090$	0.9972
Parathion	$y = 0.0017x - 0.0054$	0.9969
Phenthoate	$y = 0.0017x + 0.0073$	0.9997
EPN	$y = 0.0011x + 0.0011$	0.9989

액을 증류수 5 mL에 5 μ g/L, 10 μ g/L, 20 μ g/L, 50 μ g/L가 되도록 조제하였고, 내부표준물질(ISTD)은 phenanthrene- d_{10} 를 사용하여, 농도가 40 μ g/L가 되도록 조제하여 작성하였다. 그 결과 직선성은 7 가지의 농약 모두 회귀 계수 (Coefficient of Regression, R²)는 0.995 이상으로 좋은 직선성을 나타내었다. 표준물과 검정곡선 선정 시 HF-LPME의 조건은 Table 4와 같다. 확립된 추출방법을 사용하여 5~50 μ g/L 농도 범위에서 검정곡선을 작성한 결과는 Table 5에 나타내었다.

검출한계 및 정량한계: 확립된 최적 추출 조건으로 시료를 추출한 후 GC/MSD를 이용하여 분석하는 방법의 검출 한계(Limits of detection, LOD)와 정량 한계(Limits of Quantification, LOQ)를 조사하였다. 시료를 5 μ g/L 농도가 되게 만들고 7 번 반복 측정하여 평균, 표준 편차, 검출 한계와 정량 한계, 및 정확도, 정밀도를 구하였다. 검출한계는 7번 반복측정결과 값의 표준편차에 자유도(3.14)를 곱하여 계산하였으며, 정량한계는 표준편차에 10배한 값을 사용하였다. 그 결과 검출 한계(LOD)는 carbaryl 0.53 μ g/L, diazinon 0.40 μ g/L, methyl parathion 0.39 μ g/L, fenitrothion 0.37 μ g/L, parathion 0.55 μ g/L, phenthoate 1.17 μ g/L, EPN 1.23 μ g/L를 나타내었다. 정량 한계(LOQ)는 carbaryl 1.70 μ g/L, diazinon 1.29 μ g/L, methyl parathion 1.25 μ g/L, fenitrothion 1.19 μ g/L, parathion 1.76 μ g/L, phenthoate 3.74 μ g/L, EPN 3.91 μ g/L의 값을 얻을 수 있었다(Table 6).

정확도 및 정밀도: 정밀도 및 정확도의 측정을 위해서 5 μ g/L 농도에서 시료 마다 3회씩 실시하였으며, 정밀도는 상대표준편차(RSD)로 나타내었고, 정확도는 실험값의 평균을 참값으로 나눈후 곱하기 100을 하여 구하였다.

정확도는 carbaryl 95.1%, diazinon 88.1%, methyl parathion 99.7%, fenitrothion 111.3%, parathion 104.4%, phenthoate 99.8%, EPN 100.2%를 나타내었다. 정밀도는 carbaryl RSD 3.58%, diazinon RSD 2.92%, methyl parathion RSD 2.50%, fenitrothion RSD 2.14%, parathion RSD 3.38%, phenthoate RSD 7.50%, EPN RSD 7.82%를 나타내었다(Table 6).

Table 6. LOD, LOQ, accuracy and precision (n=3)

Compounds	Spiked Conc. ($\mu\text{g/L}$)	Found Conc. ($\mu\text{g/L}$)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)	Accuracy (%)	Precision (RSD) (%)
Carbaryl	5.00	4.76	0.53	1.70	95.1	3.58
Diazinon	5.00	4.41	0.40	1.29	88.1	2.92
Methyl parathion	5.00	4.99	0.39	1.25	99.7	2.50
Fenitrothion	5.00	5.56	0.37	1.19	111.3	2.14
Parathion	5.00	5.22	0.55	1.76	104.4	3.38
Phenthoate	5.00	4.99	1.17	3.74	99.8	7.50
EPN	5.00	5.01	1.23	3.91	100.2	7.82

결 론

본 논문에서는 속빈 섬유 미량 추출법(HF-LPME)를 이용하여 먹는물수질공정시험법과 수질오염공정시험법에서 관리하고 있는 농약에 대한 동시분석법을 확립하였다. LPME를 이용한 기존 농약 분석에서는 유기인계 농약과 카바메이트계 농약을 각각 따로 분석하였지만 본 연구에서는 동시 분석하여 추출율을 알아보았다. 동시분석법 확립 시 조절하였던 실험인자들은 추출용매, 교반효과, 염석효과, 추출시간, pH 였고 실험 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1) 7종 농약(유기인계 농약 diazinon, methyl parathion, fenitrothion, parathion, phenthoate, EPN과 카바메이트계 농약 carbaryl)의 pK_a 값은 다르지만 pH와 NaCl 농도를 조절하여 실험한 결과 7종 농약에 대한 동시 분석시 최적 pH 조건은 5.0이었으며, NaCl에 의한 염석효과는 15%일 때 최적의 추출률을 나타내었다. 추출 시 교반효과의 영향을 보기 위해서 교반 속도변화에서는 1200 rpm에서, 추출 시간과 관련해서는 15분에서 가장 좋은 추출률을 나타냈다.

2) 유기인계 농약 diazinon, methyl parathion, fenitrothion, parathion, phenthoate, EPN과 카바메이트계 농약 Carbaryl에 대하여 HF-LPME로 동시 분석한 결과 toluene에서 유기인계 농약과 카바메이트 농약 모두 88%이상의 좋은 정확도를 나타내었다. 농약 시료를 5~50 $\mu\text{g/L}$ 의 범위의 농도로 spike한 후 확립한 방법으로 검정곡선을 작성한 결과 7 가지 농약 모두 회귀 계수(Coefficient of Regression, R^2)는 0.995 이상으로 좋은 직선성을 나타내었다. 검출한계(LOD)는 0.37~1.23 $\mu\text{g/L}$, 정량한계(LOQ)는 1.19~3.91 $\mu\text{g/L}$, 정확도(Accuracy)는 88.1~111.3%, 정밀도(Precision)는 2.14~7.82 RSD%의 결과를 얻을 수 있었다.

3) 먹는물공정시험법과 수질오염공정시험법에서는 정량한계와 유효측정농도가 0.5 $\mu\text{g/L}$ 이지만, 농약들의 관리 기준(diazinon : 20 $\mu\text{g/L}$, parathion : 0.06 mg/L, fenitrothion : 0.04 mg/L, carbaryl - 0.07 mg/L)은 본 논문에서 확립한 분석법의 정량한계 보다는 높으며, HF-LPME 방법은 시료 분석 시 샘플과 유기 용매가 다량으로 소모되는 반면 본

논문에서 확립한 HF-LPME 추출법은 시료와 유기용매 사용량을 현저히 줄일 수 있을 뿐만 아니라 규제농도 이하까지 측정이 가능하며 추출 소요시간을 획기적으로 단축시킬 수 있을 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Xiong, J.; Hu, B. *J. Chromatogr. A* **2008**, *1193*, 7.
- Mahara, B. M.; Borossay, J.; Torkos, K. *Microchem. J.* **1998**, *58*, 31.
- Balinova, A. *J. Chromatogr. A*, **1996**, *754*, 125.
- Basheer, C.; Lee, H. K.; Obbard, J. P. *J. Chromatogr.*, **2002**, *968*, 191.
- Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A. *J. Chromatogr.*, **2005**, *1072*, 55.
- Hu, Y.; Wang, Y.; Hu, Y.; Li, G. *J. Chromatogr.*, **2009**, *1216*, 8304.
- Huang, S.-P.; Huang, S.-D. *J. Chromatogr.*, **2006**, *1135*, 6.
- Magdic, S.; Pawliszyn, J. B. *J. Chromatogr.*, **1996**, *723*, 111.
- Aguilar, C.; Penalver, S.; Pocerull, E.; Borrull, F.; Marce, R. M. *J. Chromatogr.*, **1998**, *795*, 105.
- Basheer, C.; Balasubramanian, R.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2003**, *1016*, 11.
- Hou, L.; Shen, G.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2003**, *985*, 107.
- Basheer, C.; Suresh, V.; Renu, R.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2004**, *1033*, 213.
- Zhang, J.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2006**, *1117*, 31.
- Zhao, L.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2001**, *919*, 381.
- In, C.-I.; Kim, T.-J.; Myung, S.-W. *Aanal. Sci. & Tech.* **2008**, *21*, 84.
- Zhao, L.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2004**, *1038*, 37.
- Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A. *J. Chromatogr.*, **2004**, *1061*, 11.
- Xiong, J.; Hu, B. *J. Chromatogr.*, **2008**, *1193*, 7.
- Valor, J.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **1997**, *767*, 195.
- Lambropoulou, D. A.; Albanis, T. A. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2007**, *70*, 195.
- Basheer, C.; Obbard, J. P.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2005**, *1068*, 221.
- Zhu, L.; Ee, K. H.; Zhao, L.; Lee, H. K. *J. Chromatogr.*, **2002**, *963*, 335.

23. Barahona, F.; Gjelstad, A.; Bjergaard, S. P.; Rasmussen, K. E. *J. Chromatogr., A* **2010**, *1217*, 1989.
 24. Bedendo, G.C.; Carasek, E. *J. Chromatogr., A* **2010**, *1217*, 7.
 25. Gonzalez-Peas, E.; Leache, C.; Viscarret, M.; Perez de Obanos, A.; Araguas, C.; Lopez de Cerain, A. *J. Chromatogr., A* **2004**, *1025*, 163.
 26. Shrivias, K.; Patel, D. K. *Food Chem.* **2011**, *124*, 1673.
 27. Sun, X.; Zhu, F.; Xi, J.; Lu, T.; Liu, H.; Tong, Y.; Ouyang, G. *Mar. Pollut. Bull.* **2011**, *63*, 102.
 28. Pinto, M.I.; Sontag, G.; Bemardino, R. J.; Noronha, J. P. *Microchem. J.* **2010**, *96*, 225.
 29. Asensio-Ramos, M.; Ravelo-Perez, L. M.; Gonzalez-Curbelo, M. A. *J. Chromatogr., A* **2011**, *1218*, 7415.
-