

최 종 보 고 서
New Keele Injector를 이용한 무추출
잔류 농약 검색법 개발

연구기관
전남대학교 농업생명과학대학

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “New Keele Injector를 이용한 무추출 잔류 농약 검색법 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2004년 8월 15일

주관연구기관명 : 전남대학교

총괄연구책임자 : 심 재 한

연 구 원 : 신 경 우

연 구 원 : 최 정 희

연 구 원 : 이 연

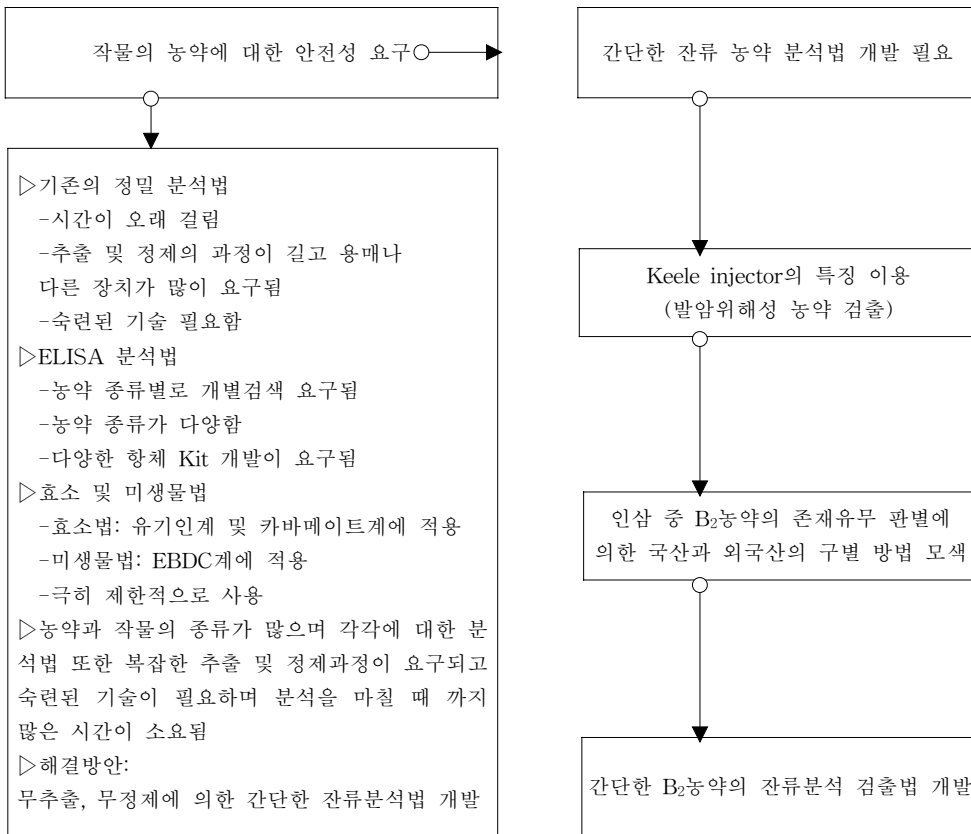
연 구 원 : Khay Sathya

요 약 문

I. 제 목

New Keele Injector를 이용한 무추출 잔류 농약 검색법 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성



Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. Keele injector의 B₂농약에 대한 이용가능성을 검토하기 위하여 새로이 제작된 세 종류의 Keele injector를 각각 시험하여 적정 모델을 선정하였고, 선정된 Keele injector를 이용한 분석 시에 재현성 여부를 검토하였다. 또한 9종의 B₂농약에 대한 Keele injector의 이용가능성을 확인하였다.
2. Keele injector 분석을 위한 시료 조제 시 최적조건을 설정하기 위해서 모세관 길이와 크기를 검토하였고, 모세관내 시료의 주입방법을 시험하였으며, 기기분석 시 최적조건을 확립하기 위하여 분석 가능했던 농약에 대해 pre-heating time과 injector temperature를 달리하여 분석하였다. 위에서 결정된 최적조건하에서 검출 가능 농약과 불가능한 농약을 구분하였고, 분석 후 칼럼의 오염여부를 관찰하였다.
3. GC-ECD에 의한 분석 시 피크의 중첩을 피하기 위한 방안으로 Keele injector의 다른기기(GC-FID, GC-MSD)로의 확대이용가능성을 검토하였다.
4. 여러 종의 농작물과 기능성 제제인 인삼에 대한 Keele injector의 이용가능성을 검토하여 분석 가능 작물을 선정하였다.
5. 분석 가능한 농약과 작물의 MRI(Maximum Residue Limit)에 맞는 최소검출량과 검출한계를 결정하고, 회수율을 검토하였으며, 현장시료에 대한 활용가능성을 평가하였다.
6. 기능성 제제인 인삼에서 B₂농약(procymidone)의 분석을 위한 최적조건을 확립하였고, 인삼에 대한 검출한계와 회수율을 구하였으며, 실제 인삼에 존재하는 B₂농약의 잔류량을 용매추출법과 무추출 잔류농약 검색법에 의한 잔류농약의 농도를 비교하여 이의 활용여부를 검토하였다. 또한 국산과 외국(중국)산의 구별 가능

성을 검토하기 위하여 B₂농약 분석과 향기성분 분석을 실시하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

• B₂ 농약이란 ?

농약 중 실험동물에서는 충분한 중앙유발가능성이 입증되어있으나 역학적인 조사에 의한 사람에 대한 증거는 불충분한 group 이 "B₂ group"이라고 하며, 이들 중 우리나라에서 사용되고 있는 농약은 총 9종이며 Captan, Chinomethionate, Chlorothalonil, Fenoxycarb, Folpet, Daniminozide, Iprodione, Procymidone, Propargite이다.

본 연구는 간편하고 경제적인 농약분석방법을 개발하기 위하여 Keele injector를 이용하여 시료를 조제하여 B₂농약의 GC분석에 있어 추출 정제 없는 시료도입방법을 도입하여 시도하였다.

시료조제방법은 소량(mg)의 수분이 제거된 시료를 유리관에 넣어 양끝을 봉하고 Keele injector를 통해 GC에 장착한 후 일정시간동안 시료를 기화시켜 유리관을 파쇄하여 기화된 농약이 칼럼을 통해 분리되어 분석을 실시하는 새로운 방법이다.

Keele GC injector의 B₂농약분석 가능성을 타진하기 위하여 GC injector model을 선정하였고 procymidone의 일정농도의 spiking한 시료의 재현성을 확인하였으며 9종 농약 중 Chlorothalonil, Folpet, Iprodione, Procymidone 4종의 농약분석이 가능한 것으로 검토되었다.

한편 Keele injector를 이용한 분석 시 시료조제 및 기기의 최적조건을 확립하여 모세관의 길이는 3 cm가 가장 적절하였고 시료조제방법은 동결건조법이 가장 적절한 것으로 나타났다. Pre-heating 시간은 5 min이 적절하였고, injector 온도는 250°C이하가 적당한 것으로 검토되었다. 분석 및 확인용으로 GC-FID 및 GC-MSD의 이용가능성도 있는 것으로 나타났다.

농산물과 인삼에 대해 본 Keele injector의 이용가능성을 검토한 결과 깻잎, 양상추, 고추 및 인삼 등에서 분석이 가능하였다. 현장 시료 중 B₂ 농약의 검색 및 회수율을 검토한 결과 70%이상의 회수율을 보였으며 깻잎, 양상추, 고추에서 검출됨을 확인하였다. 본 방법을 사용하여 국내산과 외국산인삼의 농약 및 향기성분에 의한 구별가능성이 있는 것으로 나타났다.

2. 활용에 대한 건의

본 실험실에서는 이와 같은 결과들을 바탕으로 GC에 의해 분석이 가능한 B₂ 농약 외의 수많은 농약들과 작물에 대해 분석가능여부를 스크리닝 해나가서 Keele injector에 의한 분석이 하나의 규격화된 분석법으로 인정될 수 있도록 추가적인 실험을 해나갈 것이다.

더 나아가 농약의 분석뿐만 아니라 Keele injector의 응용가능성은 무궁무진하므로 Keele injector의 모델을 더욱 더 새롭고 간편하게 보완 수정해나갈 예정이며, 우선적으로 개발된 K3 모델을 이용하여 GC-FID와 GC-MSD에 장착하여 인삼의 조제법(생삼, 건삼, 홍삼), 부위별, 재배 환경, 재배 년도별, 재배지역 등의 여러 가지 상황에 따라 달라지는 향기성분들을 보다 자세하고 체계적으로 조사하여 불계획이며, 그 외에 향기가 많은 농작물, 한약재, 꽃등의 분석에도 응용할 생각이다.

SUMMARY

- B₂ pesticides?

It was known that carcinogenic potential for experimental animal, which is B₂ group. In this study, we examined a Keele Injector for sample introduction for gas chromatographic analysis of captan, chinomethionate, chlorothalonil, feroxycarb, folpet, daminozide, iprodione, procymidone and propargite in vegetable samples.

- In an effort to develop less time-consuming and more economical methods for pesticide analysis, Keele injector has been introduced as an alternative method for sample preparation. In Keele injector method, analytes are prepared with no extraction and purification, that is direct sample introduction, in gas chromatographic analysis of B₂ pesticide in vegetable and ginseng sample. Samples in milligram quantity were introduced into a glass tube in a Keele injector at a gas chromatographic injection port. Both ends of the tube were sealed in a Keele injector. The tube was then placed in a Keele injector. After that, the glass tube was crushed to allow the sample to carry onto a capillary column in a normal manner.

- Examining

Availability of Keele GC injector for direct sample introduction in gas chromatographic analysis of pesticides in vegetable samples. Using the Keele injector allowed quantitative determination of chlorothalonil, procymidone, iprodione, forpet in vegetable samples.

- Determining

For optimal condition of Keele GC injector for sample preparation and GC operation, the vegetable samples were freeze drying and macerate into

a powder. The freeze dried samples were carefully weighed in milligram quantity and introduced into a soft glass capillary tube (1 mm i.d. × 30 mm in length, Chase/ USA). The Keele injector method showed a temperature-dependant response, giving higher loss of pesticides at higher temperature. This suggests that the loss would be much more significant for more labile pesticides. Therefore, optimum pre-heating time and temperature should be tested with the Keele injector for such pesticides. As considered the temperature-dependent loss of pesticides with the Keele injector, the samples should be injected immediately without the extracted for 5 min to have better detection. It was considered the optimal injector temperature 250 °C for procymidone and chlorothalonil in ginseng samples. We examined a Keele injector for direct sample introduction in GC-ECD in vegetable samples. Also, we examined by applying a Keele injector for direct sample introduction in GC-FID and GC-MSD in vegetable samples. With the Keele injector we could analysis for direct sample introduction pesticide analysis in head lettuces, pepper and ginseng samples. When samples treated previously with procymidone and chlorothalonil were determined by the Keele injector, procymidone and chlorothalonil were found to be about 70% recovery of the spiked procymidone and chlorothalonil by the Keele injector in sesame, head lettuce, pepper and ginseng.

From these results, the Keele injector was suggested to be potential for sample introduction in gas chromatographic analysis of procymidone in ginseng samples. With the Keele injector, we could analysis for determination of domestic or imported ginseng, by using direct sample introduction procymidone or flavor analysis in ginseng.

CONTENTS

Chapter 1. Profile of the Research -----	10
Section 1. Purpose and Requirement of the Research -----	10
Section 2. Goal and Contents of the Research -----	13
Chapter 2. Native and Foreign Present Condition -----	15
Chapter 3. Contents and Results for Research Process -----	16
Section 1. B ₂ Pesticide ? -----	16
Section 2. The Structure of Keele GC Injector and Sample Preparation Processes -----	18
Section 3. Availability of Keele Injector by Pesticides and the Establishment of Optimal Analysis Condition -----	20
Section 4. Combination with Keele Injector and Another Analytical Machine ---	26
Section 5. Availability of Keele Injector with Crops and Ginseng -----	41
Section 6. Determination of Free-extraction Mehtod for residual analysis of B ₂ pesticide in Field Sample -----	47
Section 7. Possibility of Distinguishing between Native and Foreign Ginsengs by Analysis of B ₂ Pesticide and Perfume Materials -----	60
Chapter 4. Achievement of Research and Contribution in a Concerned -----	68
Chapter 5. The Plan of Practical Use of Result -----	73
Chapter 6. Collected Foreign Scientific Informations in Process of Study -----	74
Chapter 7. Reference -----	79

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 -----	10
제 1 절 연구개발의 목적과 필요성 -----	10
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용 -----	13
제 2 장 국내외 기술개발 현황 -----	15
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 -----	16
제 1 절 B ₂ 농약이란?-----	16
제 2 절 Keele GC injector 구조 및 시료조제과정 -----	18
제 3 절 농약별 Keele GC injector의 이용 가능성 및 최적조건 확립 ---	20
제 4 절 Keele injector 의 다른 기기에 이용 가능성 검토 -----	26
제 5 절 농작물과 기능성 제제인 인삼에 대한 Keele GC injector의 이용가능성 검토 -----	41
제 6 절 현장시료중 무추출 잔류농약 검색법에 의한 B ₂ 농약의 검출 ---	47
제 7 절 인삼 중 B ₂ 농약 분석과 향기성분 분석에 의한 국내산과 외국산의 구별 가능성 검토 -----	60
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	68
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 -----	73
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학기술정보 -----	74
제 7 장 참고문헌 -----	79

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

현재 발암위해성(B₂)농약의 중요성은 계속적으로 높아지고 있으며 이를 정확하게 파악하여 대책을 세워야 할 시점이지만, 실제 우리가 섭취하고 노출되기 쉬운 환경 중에서 이들 발암위해성(B₂)농약들을 쉽게 파악할 수 있는 분석기술에 대해서는 많은 관심을 기울이지 않은 것이 사실이다. 현재 농약 잔류 분석은 추출 및 정제과정을 거친 후 기기분석에 의해 이뤄지고 있는 것이 통상적인 관례인데 추출 및 정제과정은 농축산물의 종류, 분석부위, 농약별로 각각 다를 뿐만 아니라 이에 대한 각각의 분석 방법을 따로 정하여 실시하고 있는 실정이다. 선진국에서는 바이오센서의 개념이 일찍 도입되어 ELISA 검색, 면역검색 등의 방법까지 연구되어왔으나 국내에서는 최근에 시도되는 초보적인 단계로 실용화하기 위해서는 지속적이며 장기간의 연구가 지속 되어야 한다. ELISA Kit 는 실제 각 농약 별로 항체를 제조하여 Kit를 개발해야 하며, 우리나라 사용 농약수인 290여종을 측정 시 특수한 기자재(ELISA Reader등)를 필요로 하고 고가인 점이 단점이다. 하지만 현재 진행되고 있는 농약잔류기술은 오랜 시간의 추출 및 정제, 용매의 사용에 의한 또 다른 환경오염물질의 환경에의 배출, 기기 조건의 까다로움 등 어려움이 많고 특히 작물별, 각 농약별, 시료별 조건을 개별적으로 확립해야하는 어려움이 있어 발암위해성(B₂)농약 모니터링 및 실태조사에 상당한 어려움을 느끼고 있는 현실이다. 실제, 농약분석 시 1점 1성분당 분석 비용만 해도 170,000원이 소요되고 있어 이를 해결하는 방안으로 본 연구에서는 농산물 및 환경 중 발암위해성 B₂농약의 잔류량을 검사하는데 추출 및 정제과정을 거치지 않고 시료를 직접 조제하여 Keele injecor를 통해 GC에서 간단하게 분석 할 수 있는 방법을 개발하여 현 측정농약의 모니터링 및 실태조사를 함으로써 소비자가 안전한 농산물을 접할 수 있도록 하고, 특히 중국산 인삼 및 국내산 인삼의 구별을 procymidone의 검출여

부에 의해 파악할 수 있는 간단한 방법을 정립하여 중국의 WTO 가입에 의해 무차별적으로 들어오고 있는 수입농산물에 확실하며 간편한 분석방법에 의한 판별을 통해 농민들의 생산물을 보호하고 소득증대에 기여함을 목표로 한다.

1. 기술적 측면

가. 우리나라 농약 사용량은 원제 1976년 1만여 톤에서 2000년 2만여톤으로 약 2배 증가. 단위 면적당 농약 사용량도 1976년 4.6 kg에서 2000년 13.0 kg으로 계속 증가 추세. 농약의 오남용에 의한 부작용의 발생이 빈번하여 농산물 생산 위협.

나. WTO 체제의 출범에 따른 무한 경쟁시대를 맞게 됨으로써 경쟁력 강화의 일환으로 세계의 농축산물과의 경쟁에서 살아남을 수 있는 고품질 우리 상품을 확보해야 함.

다. 유통 농산물중에 함유된 잔류 농약에 대한 소비자의 우려가 커지면서 유통농산물에 대한 잔류농약검사 강화되고 있고 실제로 부적합 농산물로 판정되는 사례가 급증 (98년 기준 2.9 %이상).

라. 현재 국내의 잔류농약검사는 정밀 검사법을 사용하여 검사하기 때문에 고가의 장비, 전문적 지식과 기술을 보유한 전문인력 및 막대한 분석비용이 요구됨.

마. 정밀검사보다 간단하고 신속하게 전체적인 잔류농약을 검사하여 출하나 판매 전에 부적합 품목을 가려내어 소비자에게 안전한 농산물만을 공급하게 할 수 있는 새로운 검사방법의 개발이 요구됨.

2. 경제·산업적 측면

가. 우리나라는 농지가 좁고 인구 밀도가 높아 단위 농지 당 부양인구가 많은 것이 특징. 한편 최근 들어 년 중 공급해야 하는 채소류의 경우 비닐하우스 재배로 인한 병충해 방제를 위해서 농약의 과다 사용. 수확 전 살포 등에 의한 잔류 농약 허용 기준치를 초과하는 농산물이 시중에 유통되어 소비자의 불안감 증대.

나. 생활수준의 향상은 농산물의 고품질을 요구 하는데 이에 대한 간편하고 신속한 검증방법이 없음.

다. 농약의 종류가 다양하고 재배작물의 종류가 다양한 국제 농업여건에서는 간편하고 손쉬운 분석법이 개발이 절실함.

라. 고부가가치 농산물 생산과 소비자의 요구에 부응

- 1) 농축산물의 검역 및 출하 전 검사
- 2) 안정농산물의 품질인증제도 확립
- 3) 정기적인 식품의 안정성 검사

3. 사회·문화적 측면

가. 일반 사용자의 농약 공포로부터 해방.

나. 1998년 말 우리나라의 농가 중 유기재배를 하고 있는 농가는 9,000호로서 전체 농가의 0.6%정도이며, 재배면적은 8,500ha로서 전체 농산물의 0.4%정도로 그 외 99.6% 이상은 많은 농약을 과다 사용함.

다. 경지가 좁은 우리나라에서는 유기농업도 한계가 있어 안정적인 국민의 식생활을 보장하기 위해서는 현재와 같은 재배환경에서 안정한 농산물을 생산 할 수 있도록 효율적인 지도를 해나가는 것이 바람직함.

라. 지금까지의 잔류농약검사는 정밀검사법으로 관정이 결과가 부적합으로 나오더라도 해당농산물은 이미 소비자의 위 속에 들어가 있는 상태임.

마. 생산자는 보다 안전한 농산물을 공급할 수 있게 하여 소비자의 건강을 보호하고 소비자는 우리 농산물을 마음 놓고 애용하도록 하여 농촌의 실질적인 생활을 보호하는 장치가 필요함.

바. Keele injector를 이용한 무추출 잔류농약 검색법 개발 목적

제 2 절 연구개발의 목표와 내용

1. Keele injector의 B₂농약에 대한 이용가능성을 검토
 - 가. 새로이 제작된 세 종류의 Keele injector를 각각 시험하여 적정 모델을 선정
 - 나. 선정된 Keele injector를 이용한 분석 시에 재현성 여부를 검토
 - 다. 9종의 B₂농약에 대한 Keele injector의 이용가능성을 확인

2. Keele injector 분석을 위한 시료 조제 시 최적조건을 설정
 - 가. 모세관 길이와 크기를 검토
 - 나. 모세관내 시료의 주입방법을 시험
 - 1) 생시료
 - 2) 동결건조
 - 3) 자연건조
 - 4) Oven 건조
 - 다. 기기분석 시 최적조건을 확립
 - 1) Pre-heating time
 - 2) Injector temperature
 - 라. 위에서 결정된 최적조건하에서 검출가능 농약과 불가능한 농약을 구분
 - 마. 분석 후 칼럼의 오염여부를 관찰

3. GC-ECD에 의한 분석 시 피크의 중첩을 피하기 위한 방안으로 Keele injector의 다른기기로의 확대이용가능성을 검토
 - 가. GC-FID
 - 나. GC-MSD

4. 여러 종의 농작물과 기능성 제제인 인삼에 대한 Keele injector의 이용가능성을 검토하여 분석 가능 작물을 선정

5. 현장시료에 대한 활용가능성을 평가

가. 최소검출량과 검출한계를 결정

나. 회수율 검토

다. 현장시료 분석

6. 기능성 제제인 인삼에서 B₂농약(procymidone)의 분석을 위한 최적조건을 확립

가. 인삼의 최적조건 검토

나. 인삼에 대한 검출한계와 회수율 검토

다. 용매추출법과 무추출 잔류농약 검색법에 의한 실제 인삼에 존재하는 B₂농약의 잔류량 비교 후 활용여부 검토

라. 국산과 외국(중국)산의 구별 가능성을 검토

1) B₂농약 잔류여부

2) 향기성분 분석

제 2 장 국내외 기술개발 현황

1. 국내 · 외 기술개발 현황

가. 현재 농약 잔류 분석은 추출 및 정제과정을 거친 후 기기분석에 의해 이뤄지고 있는 것이 통상적인 관례인데 추출 및 정제 과정은 농축산물의 종류, 분석부위, 농약별로 각각 다를 뿐만 아니라 이에 대한 각각의 분석 방법을 따로 정하여 실시하고 있는 실정임.

나. 대만에서는 효소저해를 이용한 유기인계와 카바메이트계 잔류분석 및 미생물저해를 활용한 EBDC계 살균제의 신속분석법이 이용되어 우리나라에서도 이의 대체방법에 대한 연구가 진행되고 있지만 이들 방법은 특정 농약이 검출에만 사용할 수 있는 제한적인 요소가 있음

다. 선진국에서는 바이오센서의 개념이 일찍이 도입되어 ELSA 검색, 전속 면역검색 등의 방법까지 연구되어 왔으나 국내에서는 최근에야 시도되는 초보적인 단계로 실용화하기 위해서는 지속적이며 장기간의 연구가 지속되어야 한다(이 등, 1998)

라. ELISA Kit 는 실제 각 농약 별로 항체를 제조하여 Kit를 개발해야 하며(우리나라 사용 농약수 260여종) 측정 시 특수한 기자재(ELISA Reader등)를 필요로 하고 고가인 점이 단점임.

마. 새로운 방법들(ELISA, 효소, 미생물 등)은 간단하지만 특수한 농약에만 한정되어 있고 각 농약별로 항체를 제조해야 하는 제한점이 있어서 이를 보완하는 방법으로 기존의 정밀 기기방식이나 새로운 방법에서 이루어져 왔던 시간이 많이 들고 처리가 복잡한 추출 및 정제 과정을 거치지 않고 Keele injector를 농약잔류 분석법에 사용하여 농약잔류검사의 스크리닝에 무추출 잔류농약 검색법으로 이용할 것을 제안함

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 B₂ 농약이란?

미국 환경보호처(US/EPA)에서는 종양 유발가능성 농약에 대해서는 Table 1과 같이 분류·관리하고 있는데 우리나라 소비자보호단체나 환경 보호론자들이 강력한 사용규제를 요구하고 있는 농약들은 대부분 “C”이하 group에 속하며 실험동물에서는 충분한 종양유발가능성이 입증되었으나 역학적인 조사에 의한 사람에 대한 증거는 불충분한 group이 “B₂ group”에 속하며 농약은 극히 일부에 불과하다.

Table 1. Classification of B₂ pesticide(USA EPA)

Classification	Contents
A	○역학적(疫學的)연구에 근거해 볼때 사람에 발암성 (human carcinogen)
B	○2종류이상의 실험동물에서 종양 유발(probable human carcinogen)
B ₁	○어떤 역학적인 조사 연구에 근거해 볼때 사람에 대한 종양 유발 가능성이 상당히 크다고 여겨지는 경우
B ₂	○실험동물에서는 충분한 증거가 있으나 사람에 대한 증거는 불충분한 경우
C	○1종류의 실험동물에서 종양 유발(possible human carcinogen)
D	○증거불충분으로 사람에 대한 종양유발성으로 볼 수 없음 (not classifiable as to human carcinogenicity)
E	○사람에 대한 발암성 증거 없음 (no evidence of carcinogenicity)

식이섭취위험도평가는 식이 섭취위험도 값을 “무시할 수 있는 위험기준 (Negligible risk level)”과 비교하게 된다. “무시할 수 있는 위험기준(위험도 지표)”은 해당농약에 의한 부가적 발암위험성 확률이 1×10^{-6} (백만명중 1명)이상이면 규제대상으로 간주하는데 실제 의미는 “아무도 암에 걸리지 않는다(Probably, nobody will get cancer.)”는 뜻이다. 미국 EPA는 발암위해가능성 농약에 대한 위험도(확률)평가 결과 “무시할 수 있는 위험기준”이상이면 특별 재검토과정(Special review)을 거쳐 적용 작물삭제, 포장지 표기내용강화, 잔류허용기준 하향조정 등의 규제조치를 강구하여 위험도를 “무시할 수 있는 위험기준”근방이나 그 이하로 낮추고 있다. 한편 유럽제국에서는 미국 EPA의 “무시할 수 있는 위험기준”에 해당하는 일생동안의 부가적 발암위험성 확률(Excess life time cancer risk)을 1×10^{-5} 으로 설정, 발암물질에 대한 평가지표로 삼고 있다. 지난 '89년 세상을 떠들썩하게 했던 자몽사건의 Daminozide(상품명:Alar)에 대한 미국인의 부가적 발암위험성 확률을 총 식이섭취량으로부터 계산한 결과 49×10^{-6} 으로 “무시할 수 있는 위험기준”인 1×10^{-6} 의 49배로 나타나 식용작물에 대한 사용을 전면 금지조치 하였으며 우리나라도 같은 조치를 취한 바 있다. 이러한 B₂농약 등의 농약잔류분석을 위한 잔류기술은 오랜 시간의 추출 및 정제, 용매의 사용에 의한 또 다른 환경오염물질의 환경에의 배출, 기기조건의 까다로움 등 어려움이 많고 특히, 각 작물별, 각 농약별, 시료별 조건을 개별적으로 확립해야하는 어려움이 있어 발암위해성 농약 모니터링 및 실재조사에 상당한 어려움을 느끼고 있는 현실이다. 따라서 본 연구에서는 농산물 및 환경 중 발암위해성 농약의 잔류량을 검사하는데 추출 및 정제 과정을 거치지 않고 시료를 직접 조제하여 Keele injector를 통해 GC에서 간단하게 분석할 수 있는 방법을 개발함으로써 현 측정농약 모니터링 및 실재조사를 행함에 있어 본 분석방법이 이용될 수 있도록 검토함을 목표로 한다.

제 2 절 Keele GC injector 및 시료 제어 과정

1. Keele GC injector의 구조도

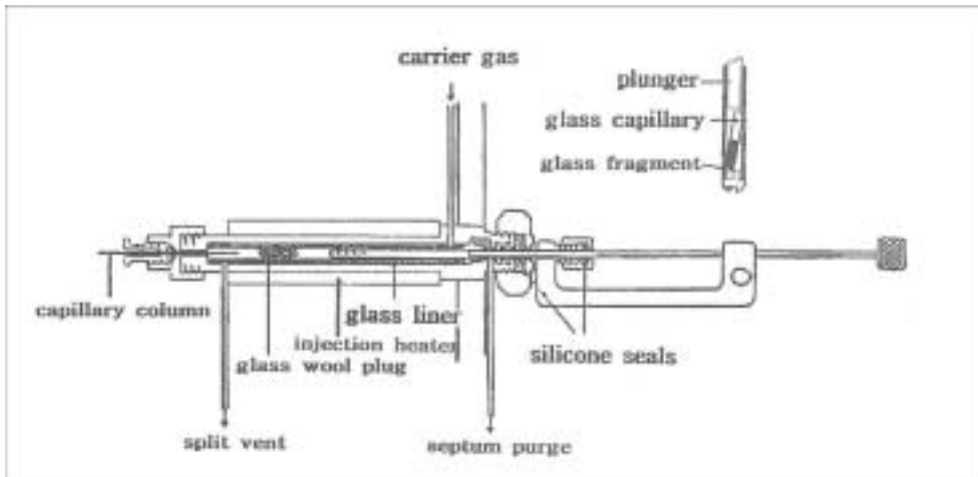


Figure 1. Design of Keele GC injector.



Figure 2. Packed Column.



Figure 3. Capillary Column.

2. 시료 조제 과정

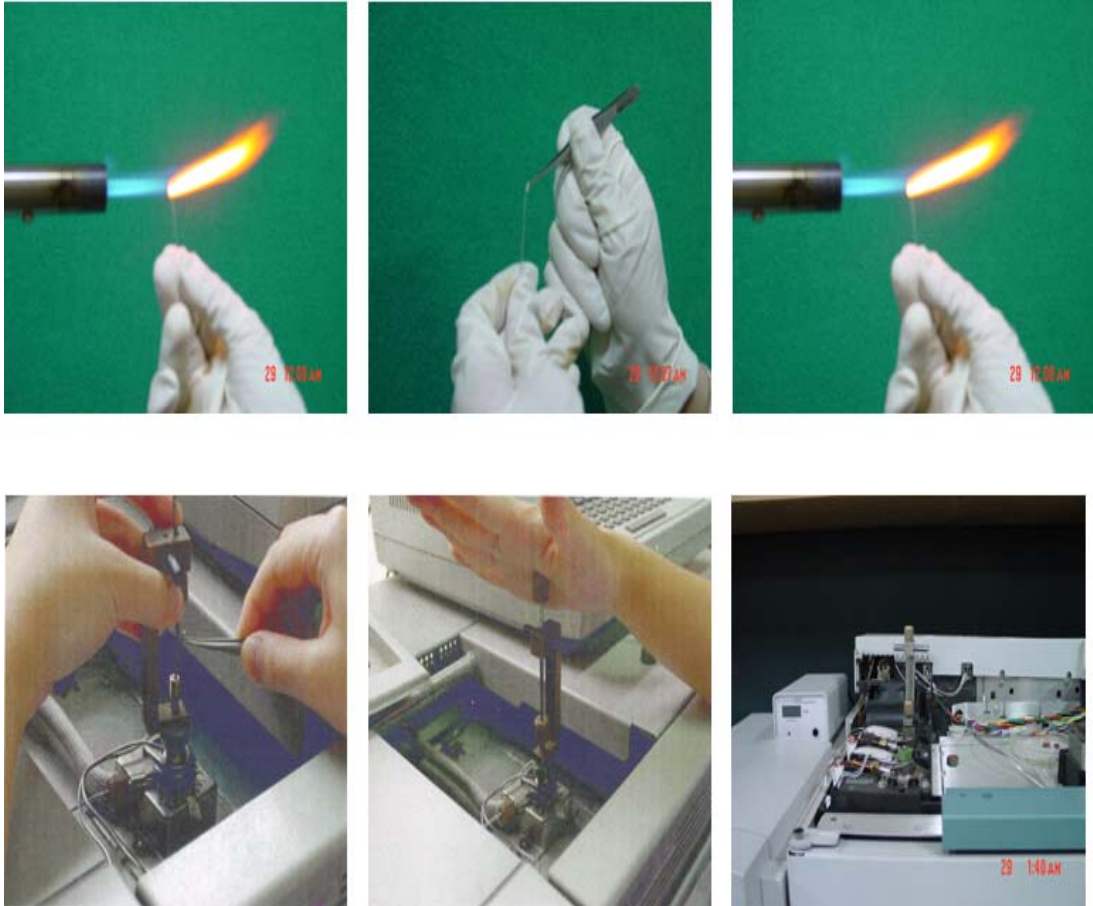
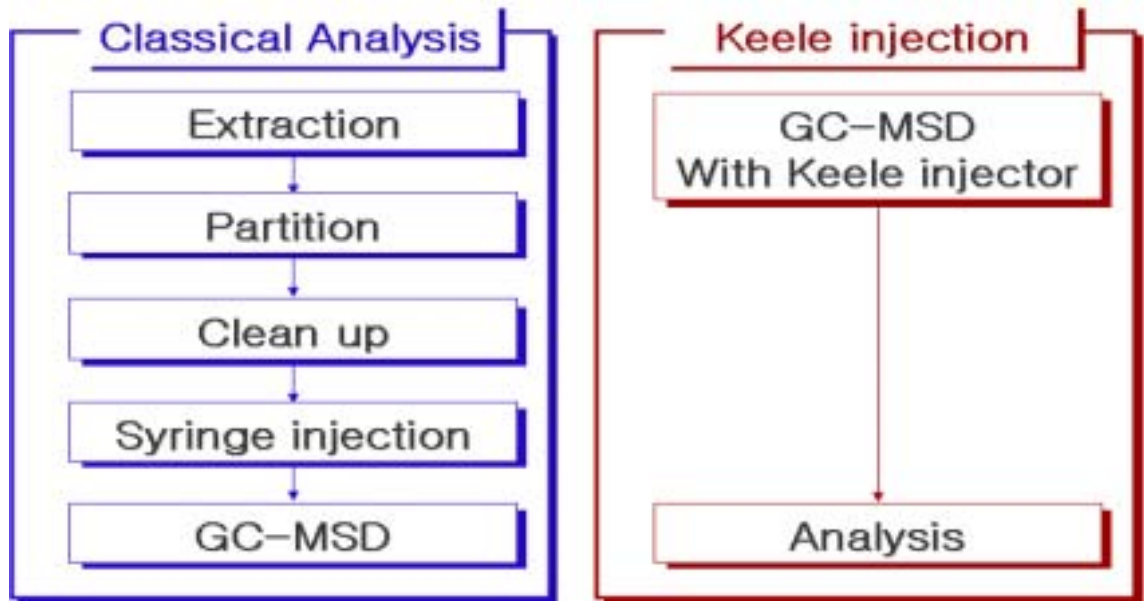


Figure 4. Procedures of sample preparation.

- A. Seal one side of capillary tube
- B. Insert sample to capillary tube
- C. Seal other side of capillary tube
- D. Insert capillary tube to Keele injector and pre-heating for 5 min
- E. Crush capillary tube to GC
- F. GC operation

3. 일반적인 분석방법과 Keele injector을 이용한 분석방법의 비교



제 3 절 Keele GC injector의 이용가능성 검토

1. 재료 및 방법

가. 재료

본 연구에 사용된 9종의 B₂농약인 Captan, Chinomethionate, Fenoxycarb, folpet, Danminozide, Iprodione, Procymidone, Propargite는 Sigma로부터 구입하여 사용하였다. 세 종류(K1, K2, K3)의 injector를 Han Jin Precision co.(Gwangju, Korea)으로부터 제작하여 분석을 실시하였다.

나. 방법

1) 새로이 제작된 세 종류의 Keele injector를 각각 시험하여 적정 모델 선정

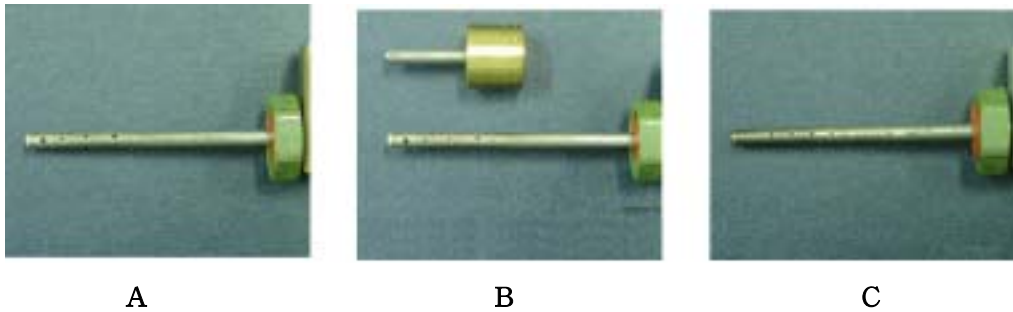


Figure 4. Three kinds of Keele injector model.

A: K1, B: K2, C: K3

Figure 4와 같이 K1, K2, K3 model의 Keele injector를 이용하여 시료에서 B₂ 농약의 분석가능여부를 검토하고 최적의 model을 선정하였다.

가) K1 : 최대한 아래 부분에 구멍을 뚫어 제작함.

나) K2 : crushing 후 K2 injector를 제거하면서 동시에 sealing 할 수 있는 뚜껑을 같이 제작함.

다) K3 : 바닥에서 1 cm 위에 구멍을 뚫어 crushing 후 septum까지 K3를 끌어올려 더 이상 시료가 기기로 주입되지 않도록 제작함.

2) 선정된 Keele injector를 이용한 분석 시에 재현성 여부 검토

Keele injector의 재현성 검토를 위하여 동일한 인삼 시료에 procymidone 일 정농도를 spiking하여 4반복으로 똑같은 조건에서 분석하였다.

3) 9종의 B₂농약에 대한 Keele injector의 이용가능성 확인

본 분석에 사용된 9종 농약의 특성과 구조는 Table 2, Figure 5와 같다.

Table 2. General information of B₂ pesticides in Korea

Chemical name	Instrument	M.W.	b.p/m.p
Captan	GC-ECD,FID	300.6	m.p : 178
Chinomethionate	GC-NPD	234.3	m.p : 170.2-171
Chlorothalonil	GC-ECD,FID	265.9	b,p : 350
Danminozide	GC-ECD	160.2	m.p : 157-164
Fenoxycarb	HPLC	301.3	m.p: 53-54
Folpet	GC-ECD,FID	296.6	m.p :177
Iprodione	GC-ECD	330.2	m.p : 134
Procymidone	GC-ECD	284.1	m.p : 134
Propargite	HPLC	350.5	

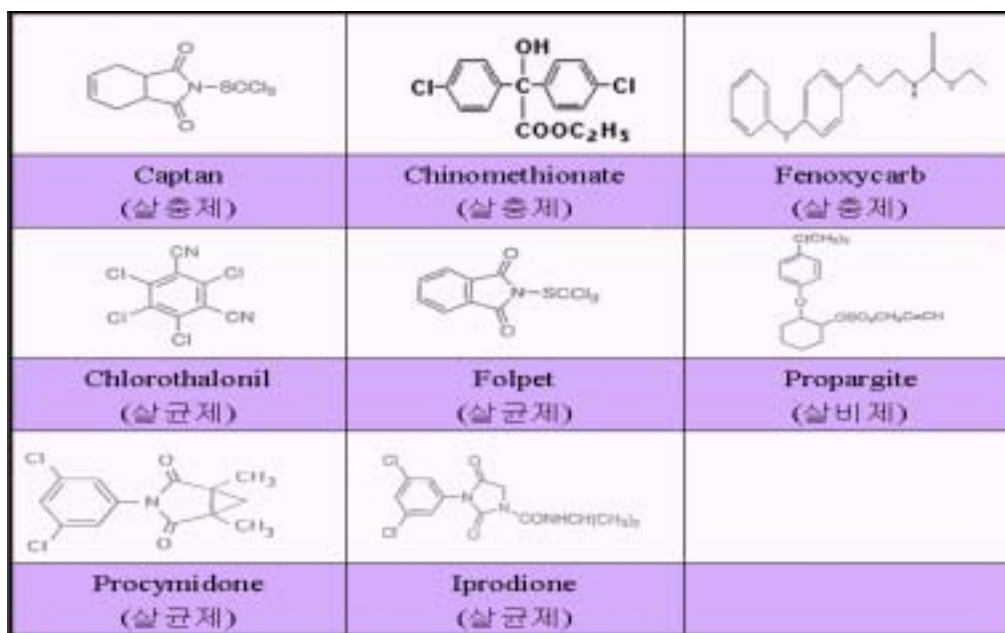


Figure 5. Structures of B₂ pesticides.

2. 결 과

본 연구의 최종 목표는 현장의 실제 시료를 추출, 정제, 분리과정을 거치지 않고 Keele GC injector에 주입하여 바로 분석하려는데 있으며, 현재 우리나라에서 사용되고 있는 발암위해성(B2) 농약은 9종으로 captan, chlorothalonil, danminozide, chinomethionate, fenoxycarb, folpet, iprodione, procymidone 그리고 propargite가 있다. 따라서 이 농약들에 대해 Keele injector를 사용하여 분석이 가능한지를 알아보려고 한다.

가. 새로 제작된 세 종류의 Keele injector를 각각 시험하여 적정 모델 선정

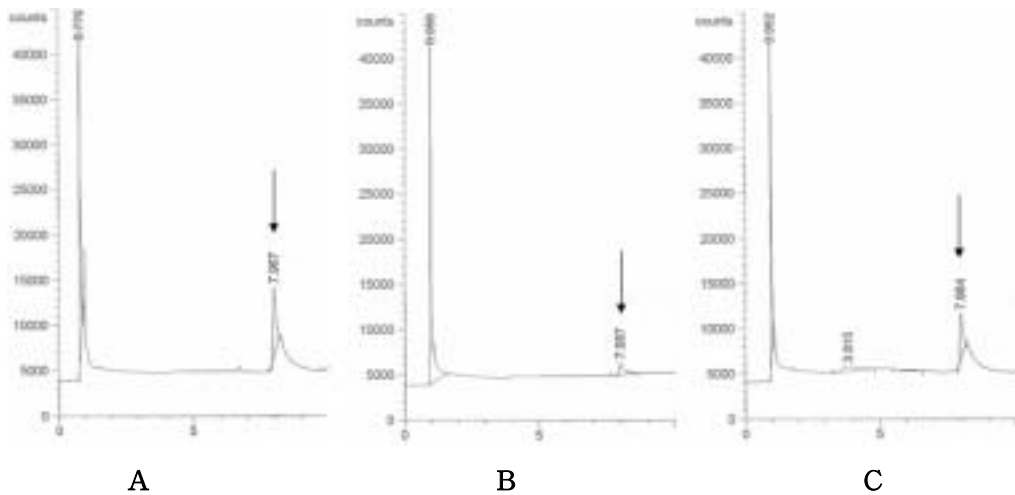


Figure 6. Analyzed chromatograms by three kinds of Keele injector.

A: K1, B: K2, C: K3

1) K1

(가)장점-휘발된 성분이 최대한 빠르고 손실없이 기기로 유입되어 높은 감도

를 보임

(나)단점-시료의 연속적 주입으로 컬럼 오염 가능성

2) K2

(가)장점-시료의 연속적인 주입을 방지하여 컬럼오염이 적음

(나)단점-injector 제거시에 injector 내부의 압력 불안정

3) K3

(가)장점-시료의 연속적인 주입이 일어나지 않으면서 내부압력도 안정하여 향기성분과 같이 휘발성이 강하고 다성분 분석이 필요한 시료 분석에 유리함

(나)단점-syringe로 injection 후 syringe를 제거하는 것처럼 crushing 후 injector를 septum까지 끌어올려주는 단계가 추가로 필요하여 농약처럼 단성분 분석 시에는 K1 injector를 사용하는 게 더 효율적임

Figure 6에서 보는 것처럼 세 가지 injector를 가지고 B₂농약을 분석해 본 결과 A의 K1 model의 injector가 가장 높은 감도를 보여 본 실험의 injector로 결정하였다.

나. 선정된 Keele injector를 이용한 분석 시에 재현성 여부 검토

Figure 7에서와 같이 4반복 실험 시 6 min경에 procymidone이 검출되었으며, 표준편차가 ± 0.1 로 재현성에 있어 문제가 없음을 알 수 있었다.

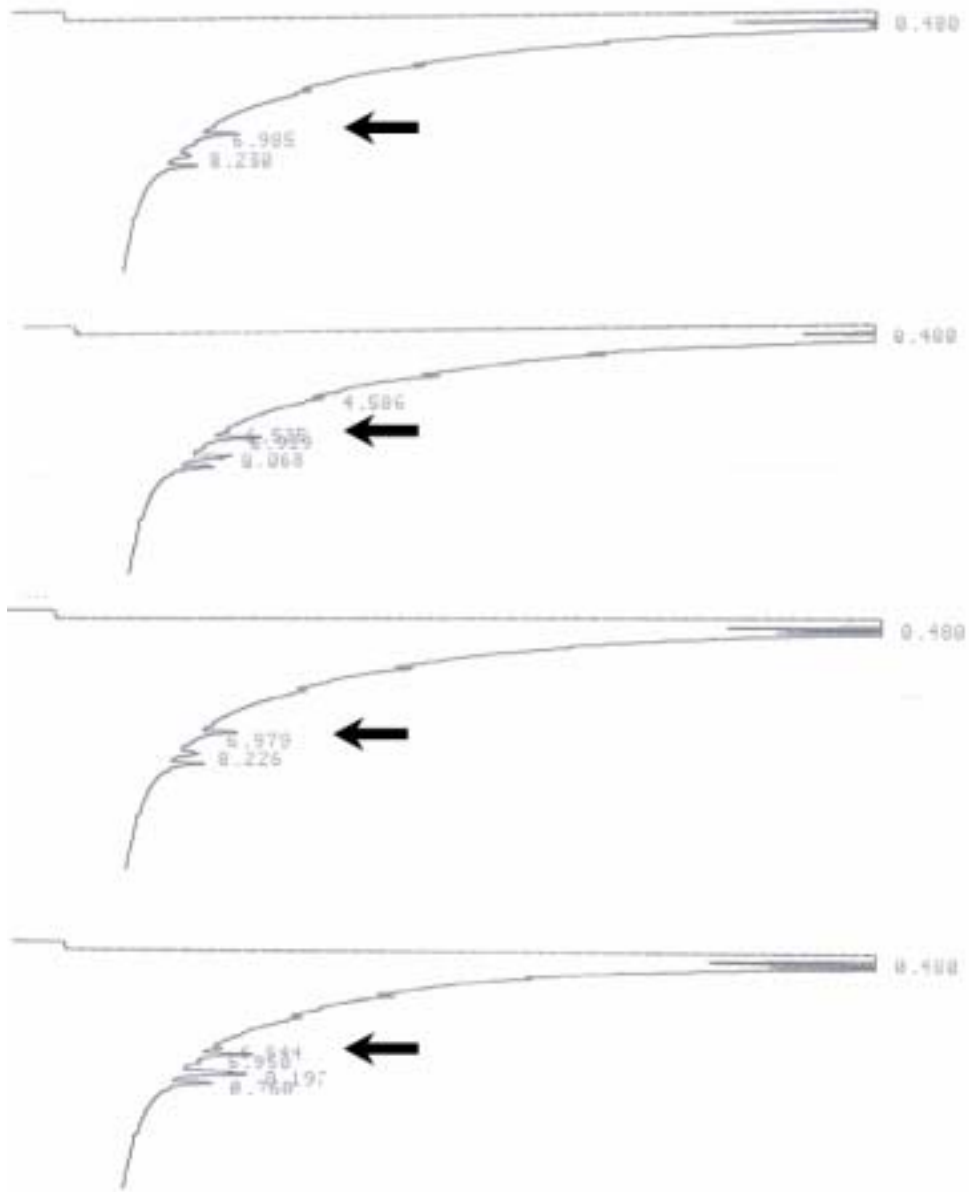


Figure 7. Reproducibility of Keele injector.

다. 9종의 B₂농약에 대한 Keele injector의 이용가능성 확인

일반적으로 b.p 가 낮거나 기화가 잘 되는 농약이 검출가능하나 본 실험을 통해서 b.p나 m.p에 상관없이 검출되어 Keele GC injector를 이용한 전반적인 농약 검출 가능성을 검토해볼 필요가 있었다. 따라서 발암위해성 농약 9종을 우선 감도가 좋은 ECD를 사용하여 Keele GC injector의 이용가능성을 검토하였으며, 이를 위하여 1ppm 농약 1 μ l를 모세관에 주입하여 가열된 Keele GC injector로 분석한 결과가 Figure 11 이다. 분석 검토결과 9종 농약 중 4가지 농약인 chlorothalonil, folpet, procymidone, iprodione 등이 1-10ppm 수준에서 검출가능한 것을 확인하였다.

제 4 절 Keele injector의 GC분석 시 최적조건 확립 및 다른 기기에 이용 가능성 검토

1. 재료 및 방법

가. 재료

모세관은 내경 0.5 mm와 1.1-1.2 mm를 Chase(U.S.A)로부터 구입하였고, 시료 조제 시에는 동결건조기(model : SFDSM12, Samwon, Korea)와 oven 건조기(model : FO-450M, Jeio Tech[®], Korea)를 사용하였다. 조제된 시료의 분석을 위해서 GC-ECD(HP5890, Hewlett Packard, U.S.A), GC-FID(HP4890, Hewlett Packard, U.S.A)와 GC-MSD(Agilent 6890N GC, 5973N MSD, Agilent Technologies, U.S.A)를 사용하였다.

나. 방법

1) 모세관 길이와 크기 검토

모세관의 길이를 2, 3, 4 cm로 하여 위의 실험에서 분석 가능했던 농약의 표준

용액 1 μl 를 주입하여 Keele GC injector를 이용하여 측정하였다. 모세관의 적절한 내경을 찾기 위하여 0.5 mm와 1.1-1.2 mm의 내경을 가진 모세관을 구입하여 시험하였다.

2) 모세관내 시료 주입 전 조제방법

- 가) 생시료-생체시료 자체를 그대로 모세관에 주입함
- 나) 동결건조-동결건조한 후 시료로 사용하며 수분함량을 측정함
- 다) 자연건조-자연건조한 후 시료로 사용하며 수분함량을 측정함
- 라) Oven 건조-oven 건조한 후 시료로 사용하며 수분함량을 측정함

3) 기기분석 시 최적조건 확립

가) Pre-heating time

Keele injector를 이용한 농약 검출 시 pre-heating time은 일정한 온도에서 1, 3, 5, 10 min으로 구별하여 각각의 chromatogram상의 peak area를 비교하여 각 농약 별로 적정 pre-heating time을 확립하였다.

나) Injector temperature

4가지 농약 표준용액에 대해서 1ppm 1 μl 를 모세관에 넣고, pre-heating time이 5 min인 상태에서 GC injector 온도를 175, 200, 250 $^{\circ}\text{C}$ 로 바꿔서 분석하여 적정 온도를 설정하였다.

4) 위에서 결정된 최적조건하에서 9종의 B₂농약에 대해 최종적으로 검출가능 농약과 불가능한 농약을 구분하였다.

5) GC-ECD에 의한 분석 시 피크의 중첩을 피하기 위한 방안으로 Keele injector의 다른 기기로의 확대이용 가능성을 검토하였고, 다른 기기로는 GC-FID와 GC-MSD를 이용하여 검토하였다.

2. 결 과

가. 모세관의 길이 및 크기의 검토

모세관의 길이를 2, 3, 4 cm로 하여 각각의 농약 표준용액 1 μ l를 주입하여 Keele GC injector를 이용하여 측정한 결과, 2 cm의 모세관은 시료조제과정 중 모세관을 봉할 때 모세관내 부피가 작아 조제과정 중에 실패가 많았고, 4 cm의 모세관의 경우 Keele GC injector의 주입부 길이가 있으므로 crushing 시키기 어려웠다. 그러므로 **모세관의 길이는 3 cm로 하여 차후 모든 실험에 적용**하였다. 아울러 모세관의 크기에 있어서는 0.5 mm 모세관은 내경이 작은 관계로 시료가 주입이 어려웠기 때문에 경질 모세관으로서 균일성을 유지하기 위해 **내경이 1.1-1.2 mm(Chase/U.S.A)** 제품을 사용하여 3 cm로 잘라서 사용하였다.

나. 모세관내 시료 주입 전 조제방법

A는 생체시료를 분석한 크로마토그램으로 시료조제시간은 가장 짧고 간단 하지만 농작물의 80 %이상이 수분인 관계로 GC의 컬럼에 영향을 줄뿐만 아니라 분석 결과도 좋지 않았다. B는 oven 건조시료의 결과로 높은 온도에서 건조 시 시료가 손상되고, 낮은 온도에서 건조 시 수분이 완전히 제거되지 않아 크로마토그램이 불안정함을 알수 있었다. C는 자연건조 시료의 크로마토그램으로 수분이 제거되기 까지 너무 많은 시간이 소요되는 단점이 있었으며, **D는 동결건조 시료의 결과로 썬 밤시간을 이용하여 시료를 건조한 후 분석할 수 있고, 수분 또한 완전히 제거되어지며, 건조하는 동안 불필요한 향기 성분 같은 일종의 불순물이 제거되어 컬럼이 보호되는 장점이 있었다.** 따라서 본 실험에서는 동결건조를 시료조제의 방법으로 선택하였다.

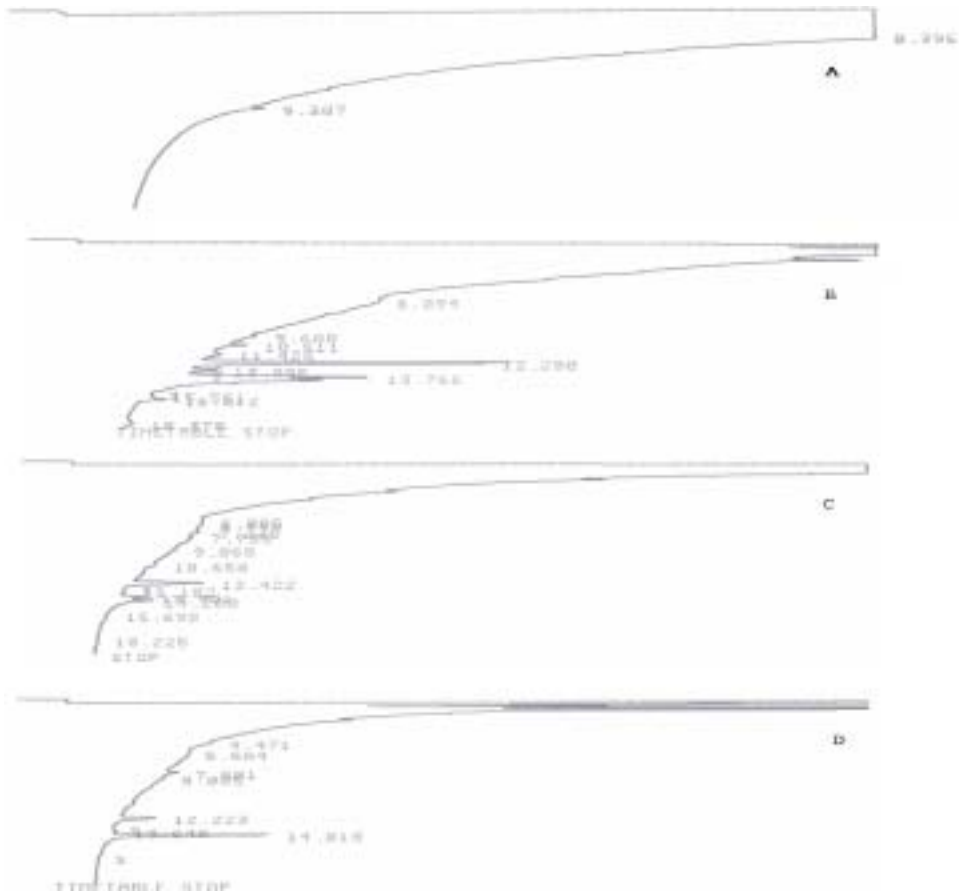


Figure 8. Analyzed GC chromatograms on the sample preparation.

A; Fresh, B; Oven drying, C; Drying(room temperature) D; Freeze drying

다. 기기분석 시 최적조건 확립

1) Pre-heating time

Keele injector를 이용한 농약 검출 시 GC 조건 확립을 위하여 본 방법의 특성상 시료의 기화를 위해 pre-heating time을 두어야하며, 농약마다 기화의 정도와 기화온도가 다르기 때문에 그에 따른 최적의 기화시간을 찾음으로써 최적의 peak area를 얻을 수 있었다. 본 연구에서는 pre-heating time을 200℃의 injector 온도

에서 1, 3, 5, 10 min으로 하여 분석하였으며, 각각의 chromatogram상의 peak area를 비교하여 각 농약 별로 적정 pre-heating time을 확립하였다. 그 결과는 Figure 9와 같으며, folpet과 procymidone은 pre-heating time이 1 min일 때 area가 높았고, iprodione은 10 min일 때 peak area가 가장 높은 것으로 나타났으며, chlorothalonil은 5 min일 때 peak area가 높았다.

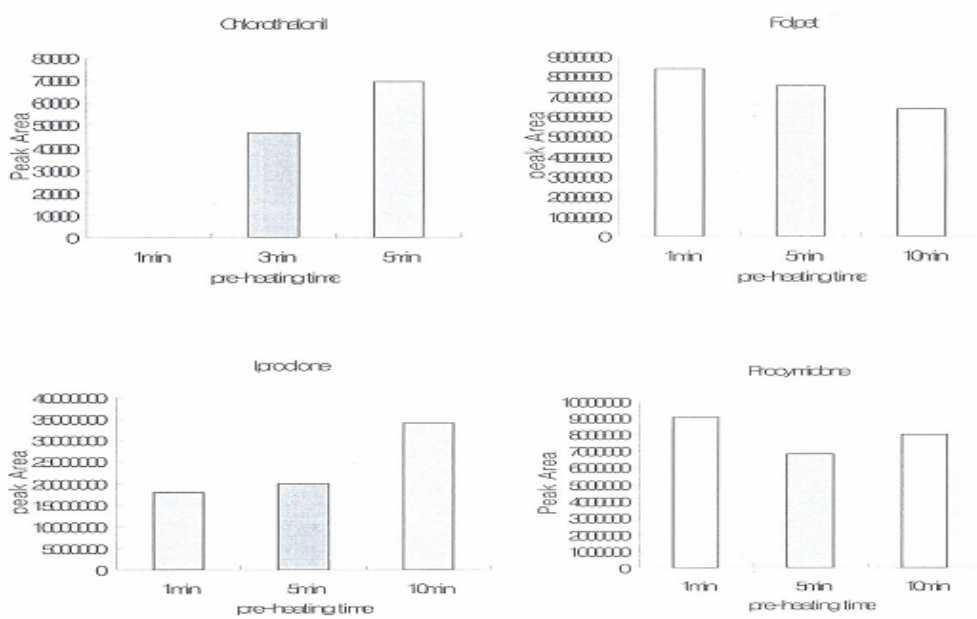


Figure 9. Peak areas of pesticides at different pre-heating time using Keele GC injector.

또한 본 실험결과는 GC injector의 온도가 200℃일 때의 결과로써 pre-heating time을 1 min으로 주었을 때는 GC의 signal(baseline)의 안정시간이 너무 짧아 baseline이 불안정한 단점이 있고, GC injector온도를 250℃로 높였을 때는 pre-heating time을 10 min 이상 주게 되면 농약들의 분해가 있었다. 따라서 pre-heating time은 1-5min내에서 분석하기로 결정하였다.

2) GC injector temperature

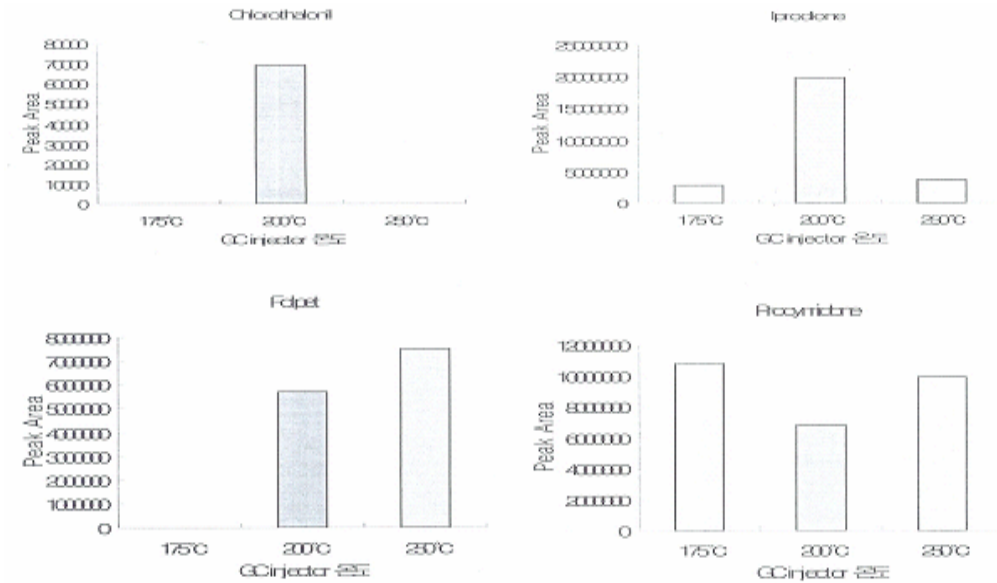


Figure 10. Peak areas of pesticides at various temperature using Keele GC injector.

농약 표준용액 1ppm 1 μ l를 모세관에 넣고 GC injector 온도를 175, 200, 250 $^{\circ}$ C로 하여 pre-heating time 5 min을 주어 검토한 결과로써, folpet은 GC injector의 온도가 250 $^{\circ}$ C일 때 peak area가 큰 것으로 나타났고, procymidone의 경우 GC injector의 온도가 175 $^{\circ}$ C일 때 peak area가 큰 것으로 나타났다. Chlorothalonil, folpet, iprodione의 경우 GC injector의 온도가 175 $^{\circ}$ C일 때는 peak가 나타나지 않았고, GC injector 온도가 250 $^{\circ}$ C일 때는 chlorothalonil, iprodione은 농약의 분해가 나타났다. 위의 결과로써 GC injector의 온도가 250 $^{\circ}$ C 이상, pre-heating time을 5분 이상 주게 되면 baseline 자체가 불안정하고 농약 자체의 분해가 있었으며 과채류를 GC injector 250 $^{\circ}$ C에서 측정 한 결과 과채류 자체에서 나오는 휘

발성 물질과 당성분등에 의해 signal이 높아져 문제를 일으키므로 Keele GC injector를 사용하여 간단한 분석 시 GC injector의 적정온도는 250℃ 이하로 하였다.

라. 검출가능한 농약과 불가능한 농약의 구분

말암위해성(B₂)농약의 간단한 분석에 사용할 수 있는 GC 조건의 확립 결과에 따라 ID가 1.0 mm인 모세관을 3 cm 길이로 잘라 200 ℃ injector 온도조건에서 pre-heating time을 5 min 준 후 칼럼을 programming하여 100℃에서 시작하여 분당 10℃ 비율로 240 ℃까지 올려 GC-ECD에서 각 농약 1 μl를 주입하여 분석 해본 결과 Figure 11과 같으며, folpet, iprodione은 1 ppm까지 검출 가능하였고, chlorotalonil의 경우 0.5 ppm까지 검출 가능하였으며, procymidone은 0.0125 ppm까지 가능하여, 본 실험에서 현장시료와 인삼에 대한 분석은 감도가 좋은 chlorotalonil과 procymidone에 대하여 시행하기로 하였다. 나머지 다른 말암위해성(B₂) 농약들에 대한 검출가능성은 Table 3에 나타났다.

Table 3. Detection of B₂ Pesticides by Keele GC injector

Pesticide	GC injection Temperature				
	175℃	200℃ (1min)	200℃ (5min)	200℃ (10min)	250℃
Captan	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Chinomethionate	N.D	Y	D	D	N.D
Chlorotalonil	N.D	Y	Y	D	D
Fenoxycarb	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Folpet	N.D	Y	Y	Y	Y
Daminozide	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Iprodione	N.D	Y	Y	Y	D
procymidone	Y	Y	Y	Y	Y
Propargite	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

Y: 검출 D:분해 N.D: not detected

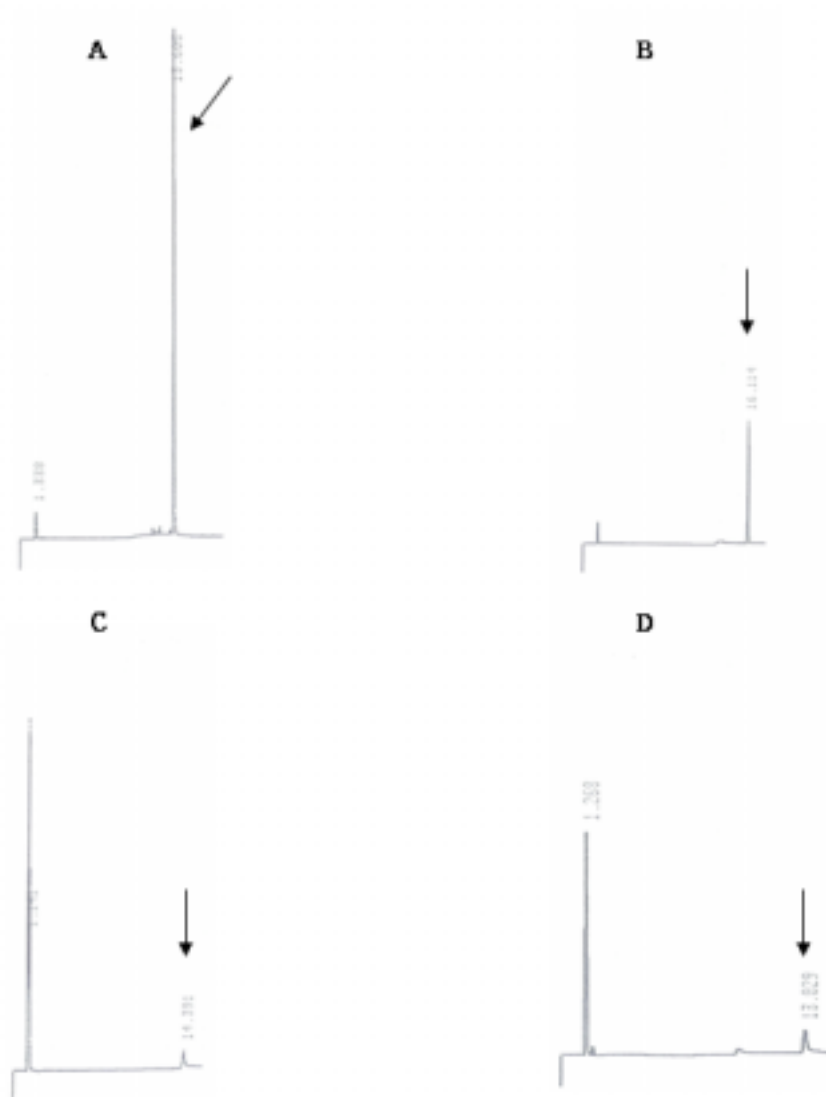


Figure 11. GC chromatograms of pesticides standard by Keele injector.
A. Chlorotalonil, B. Procymidone, C. Folpet, D. Iprodione.

마. Keele injector의 다른 기기로의 확대이용가능성 검토

위의 결과에서 이용가능성이 검토된 농약의 분석 시 컬럼의 오염을 줄이고, 불순물과의 피크의 중첩을 피하기 위해 다른 기기로의 확대이용가능성을 검토하고자 column과 검출기를 달리하여 분석하여보았다. Column은 HP-5(15m, 30m)와 RTX-5(30m)에서 분석을 실시하였고, 검출기는 ECD, FID와 MSD에서 분석가능성을 검토해보았다. ECD 분석 시에는 감도가 좋은 반면 수분에 민감하고, FID 분석 시에는 수분에는 덜 민감하나 감도가 떨어지는 단점이 있었다.

Table 4. Using the column and detector of GC

Instrument	Column	Detector
Procymidone HP-5890, HP-4890	HP-5 (30m,15m) RTX-5 (30 m)	ECD, FID, MSD
Chlorothalonil HP-5890, HP-4890	HP-5 (30m,15m) RTX-5 (30 m)	ECD, FID, MSD
Folpet HP-5890	HP-5 (15m)	ECD
Iprodione HP-5890	HP-5 (15m)	ECD

HP-5 (15m length X 0.53 mm I.D X 1.5 μ m thickness),
 HP-5 (30m length X 0.32 mm I.D X 0.25 μ m thickness),
 HP-5 (30m length X 0.53 mm I.D X 1.5 μ m thickness),
 HP-5 MS (30m length X 0.25 mm I.D X 0.25 μ m thickness),
 RTX-5 (30m length X 0.25mm I.D X 0.25 μ m)

4가지 농약 중 가장 분석이 용이한 농약은 chlorothalonil과 procymidone으로 Table 5와 같은 GC 조건에서 Keele injector에 의한 분석 시 Figure 12에서 보여 주듯이 분석시간이 각각 13 min과 16 min으로 나타났으며, 두 성분의 피크가 겹치지 않아 동시분석도 실행하였다.

Table 5. The analysis conditions of GC-ECD

Instrument : HP 5890(Hewlett Packard, USA)	
Injector : Keele injector	
Column : HP-5(30 m length × 0.53 mm I.D. × 1.5 μ m thickness)	
Detector : ECD	
Temperature : Inj. - 200 $^{\circ}$ C	
Col. - 100 $^{\circ}$ C(5min)	10 $^{\circ}$ C/min → 280 $^{\circ}$ C(5min)
Det. - 300 $^{\circ}$ C	
Pre-heating time : 3 min	

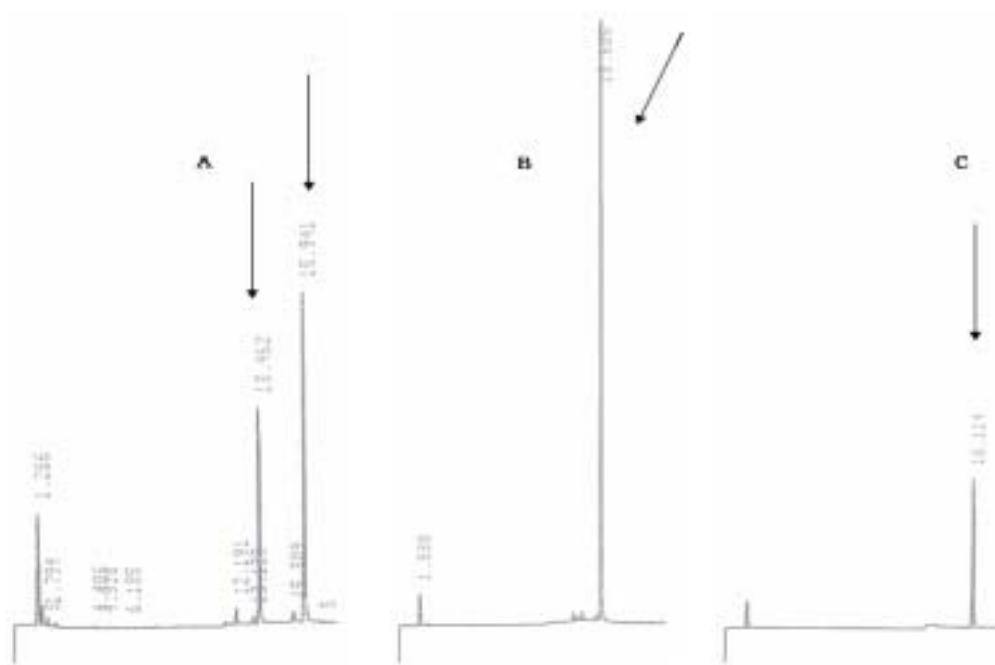


Figure 12. GC chromatograms of pesticides by Keele GC injector-ECD.

A. Chlorothalonil+Procymidone, B. Chlorothalonil, C. Procymidone.

Table 6. The analysis conditions of GC-FID

Instrument : HP 4890(Hewlett Packard, USA)	
Injector : Keele injector	
Column : HP-5(30 m length × 0.32 mm I.D. × 0.25 μm thickness)	
Detector : FID	
Temperature : Inj. - 200 °C	
Col. - 100°C(5min)	10°C/min → 280°C(5min)
Det. - 300 °C	
Pre-heating time : 5 min	

FID에 의한 분석조건은 Table 6과 같으며, 분석결과는 Figure 13으로써 chlorothalonil이 16min, procymidone이 18min에 검출되었다. Figure 14는 GC의 FID를 이용해 procymidone을 분석한 결과로 syringe를 이용해 10, 20, 50, 80, 100ppm을 1 μl씩 injection한 결과와 procymidone을 같은 농도로 1 μl씩을 취해 모세관에 넣고 Keele injector를 이용하여 주입하였을 때를 서로 비교하면 syringe injection에 의한 일반 분석법과 Keele injector에 의한 분석법 모두 직선성을 보이고 있으며, syringe에 비해 Keele injector로 주입했을 때가 60-65 % 수준으로 나타남을 알 수 있었다. 회수율이 높은 편은 아니지만 syringe에 의한 분석 시에는 추출과 정제 등의 여러 가지 과정을 거쳐야 하므로 경제성이나 환경적인면을 고려한다면 Keele injector에 의한 분석법이 모니터링과 스크리닝면에서 보면 보다 효율적일 것으로 보인다.

Table 7은 Keele injector를 이용하여 분석하였을 때와 일반용매추출법에 의해 분석하였을 때의 경제적인 면과 효율성을 나타낸 것으로, 일반분석법과 Keele 분석법의 비용은 17배 수준으로 Keele 분석법이 적게 소비되었으며, 분석하는 데에 걸리는 시간은 15배의 차이를 보였다. 분석과정 추출과 정제과정이 생략되어 단순하였고, 환경적인 면에서도 독성이 있는 용매의 사용을 줄일 수 있다는 장점이 나타났다.

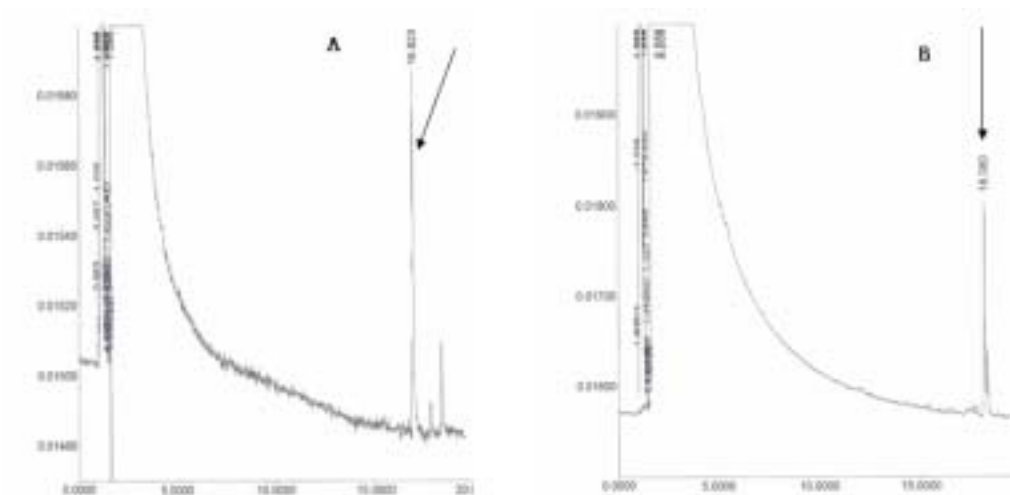


Figure 13. GC chromatograms of pesticides by Keele GC injector-FID.
 A; Chlorothalonil, B; Procymidone

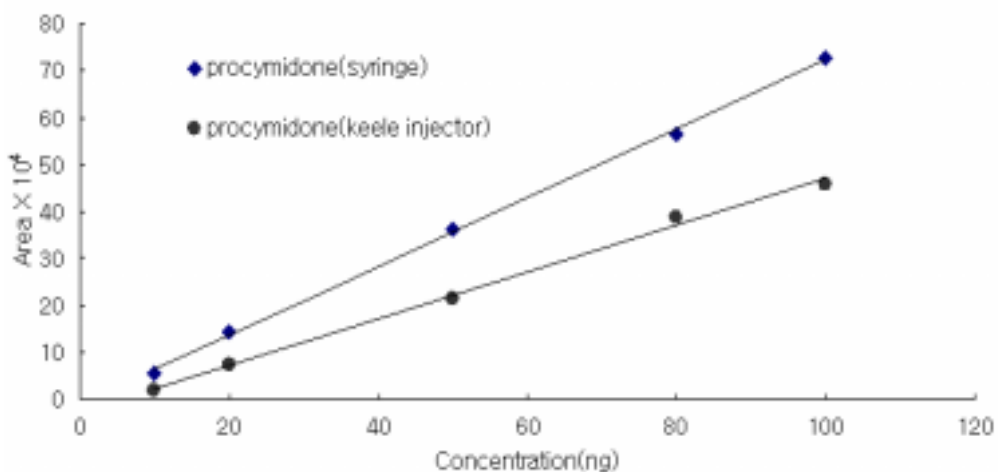


Figure 14. Comparison of calibration curve of procymidone using GC-FID between syringe and Keele GC injector.

Table 7. Comparison between general analysis method and simple method using Keele GC injector

	General analysis method	Simple method using Keele GC injector
Analysis time	ca. 15 hours	ca. 1 hours
Analysis method	extraction, purification and analysis	drying and analysis
Analysis cost	170,000 won	10,000 won
The others	consuming of organic solvents	without of organic solvents

9가지 B₂농약 중 Keele injector가 장착된 GC-MSD에 의해 분석된 농약은 procymidone과 chlorothalonil로써 GC-MSD의 분석조건은 Table 8에 나타냈고, 분석결과는 Figure 15이다. Procymidone과 chlorothalonil 모두 MSD의 Wiley library에서 search를 해본 결과 80%이상의 정확도를 보여주었다.

Table 8. The analysis conditions of GC-MSD

Instrument : Agilent 5973 N Mass Selective Detector Agilent 6890 N GC system(Hewlett Packard, USA)	
Injector : Keele injector	
Column : HP-5MS(30m length × 0.25mm I.D. × 0.25 μm thickness)	
Temperature : Inlet - 200°C · Interface - 200°C 10°C/min	
· Col. - 100°C(4min) → 280°C(5min)	
· MS source - 200°C · MS quad. - 150°C	
Split ration (20 : 1)	
Flow rate : 1 ml/min	Start Weight : 10
Solvent delay : 4 min	End Weight : 550
Scans/sec : 3.15	Pre-heating time : 10 min

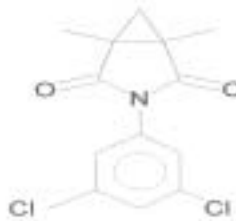
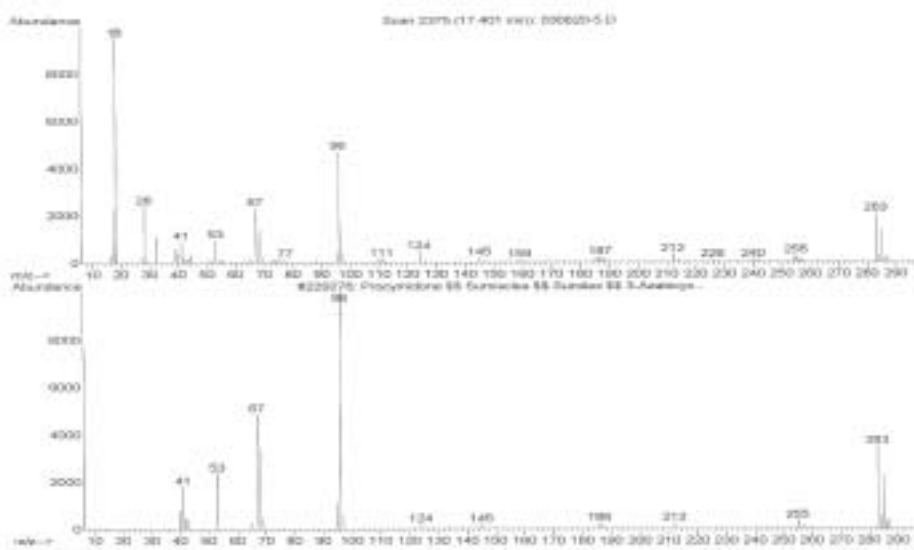
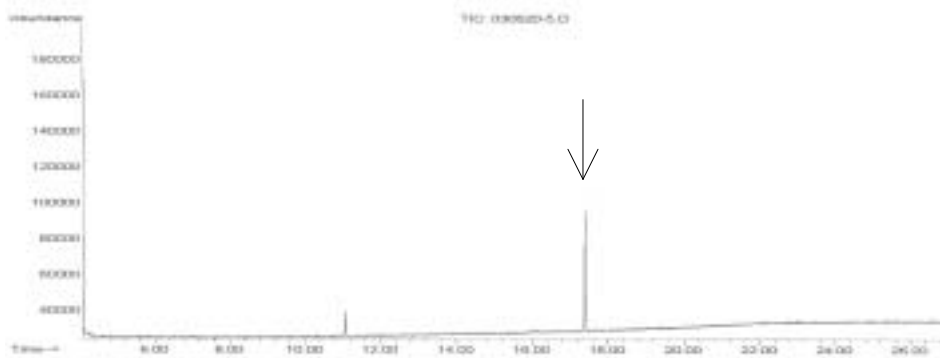


Figure 15-1. Chromatogram of chlorothaloniol by Keele GC injector-MSD.

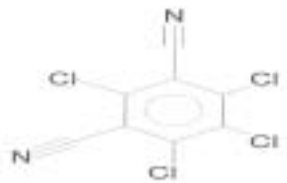
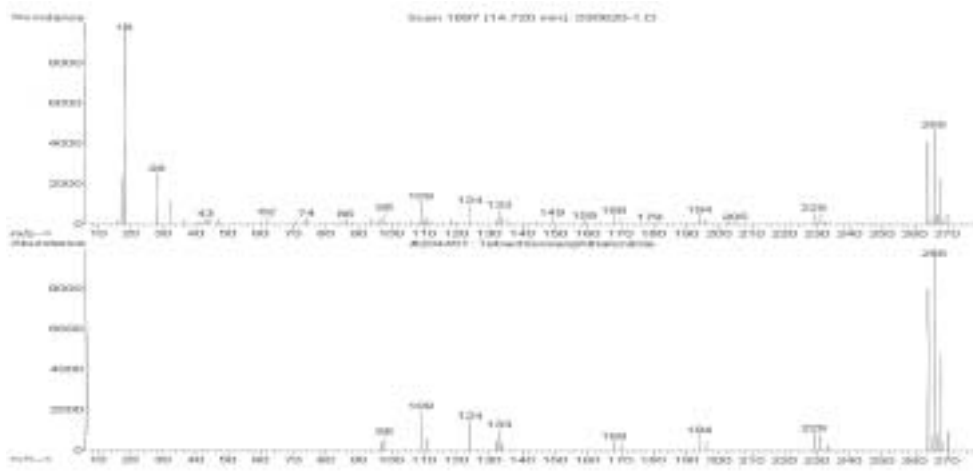
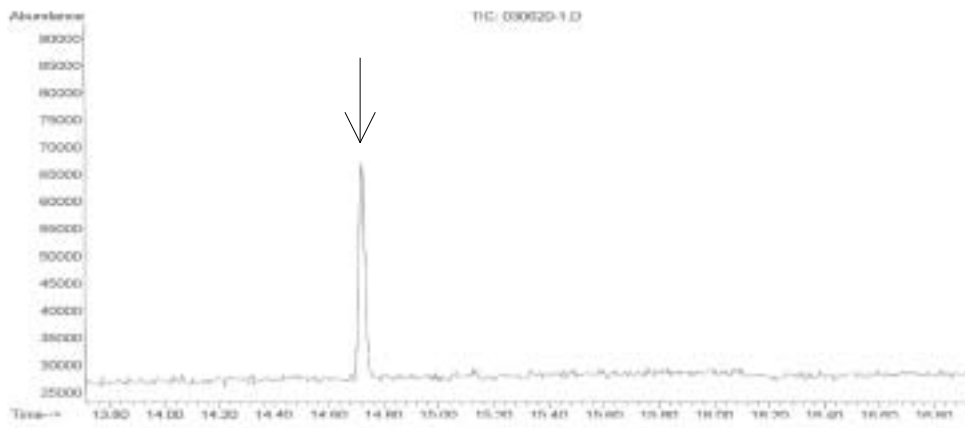


Figure 15-2. Chromatogram of procymidone by Keele GC injector-MSD.

제 5 절 농작물과 기능성 제제인 인삼에 대한 Keele GC injector의 이용 가능성 검토

B₂농약 9종에 대한 적용 작물은 Table 9와 같으며, 이 가운데 대표적인 작물인 과실류(사과, 포도, 복숭아), 곡물류(보리, 율무), 서류(감자), 종실류(참깨), 견과류(땅콩), 야채류(고추, 수박, 파, 양파, 마늘, 토마토, 양상추)와 인삼을 선택하여 분석을 실시하였고, 그에 관련된 MRL은 Table 10에 나타내었다.

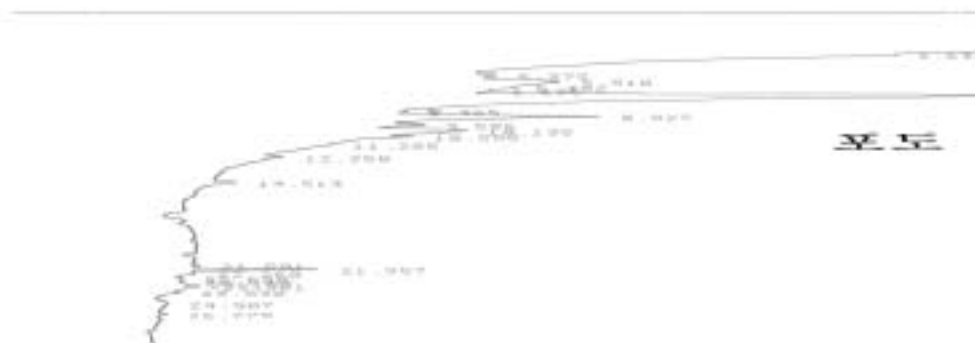
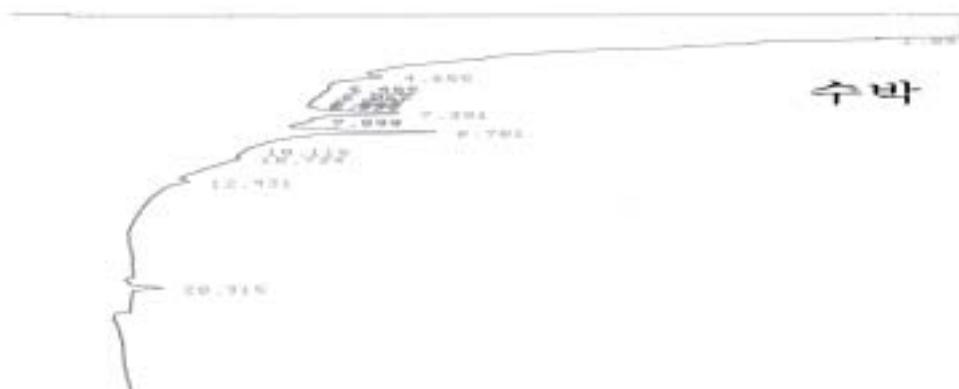
Table 9. Applied agricultural products of B2 pesticide

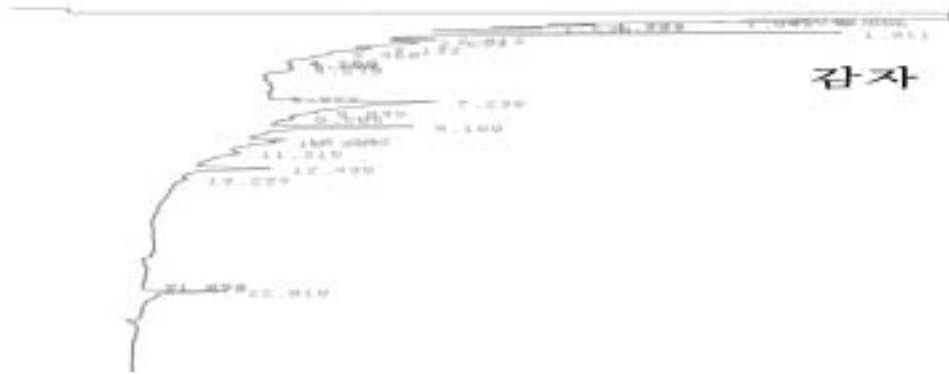
Pesticide	Applied agricultural products
Captan	사과, 포도, 뽕나무, 맥류, 보리, 백합
Chlorothalonil	사과, 감귤, 복숭아, 포도, 감, 오이, 토마토, 고추, 감자, 담배, 땅콩, 양파, 마늘, 참깨
Daminozide	사과
Fenoxycarb	사과, 감
Folpet	사과, 포도, 딸기, 오이, 감, 고추, 수박
Iprodione	사과, 배, 포도, 감, 마늘, 딸기, 고추, 오이, 백합, 율무, 거베라, 복숭아, 잔디
Procymidone	인삼, 딸기, 상추
Propargite	호프, 사과, 감귤, 포도
Quinomethionate	과일, 목화, 야채류

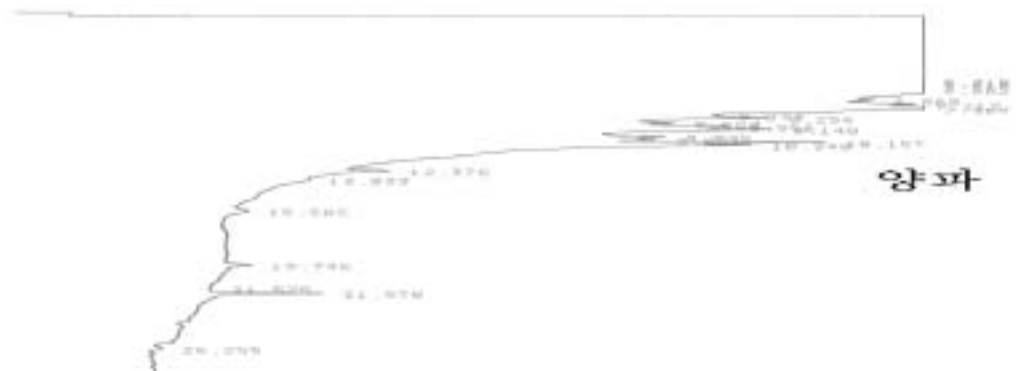
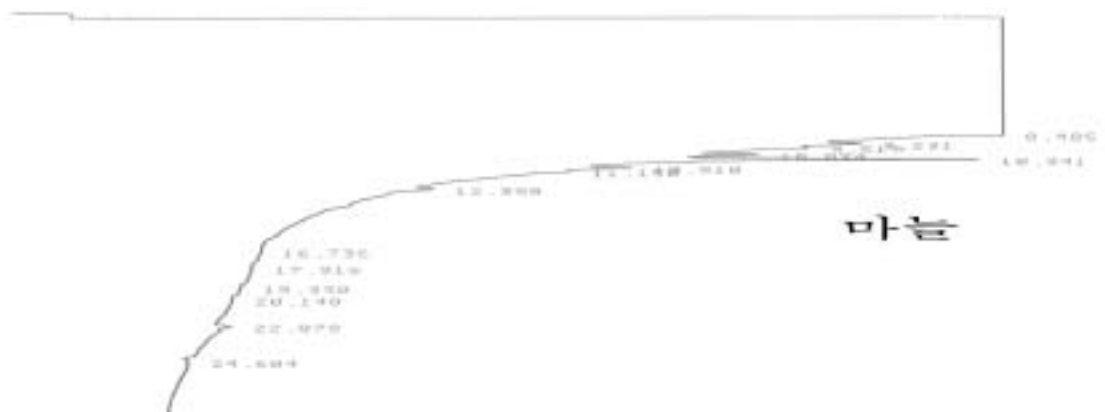
Table 10. Registered agricultural products and MRL of Procymidone and Chlorothalonil

Registered agricultural products and MRL of Procymidone								
작물군	작물명	MRL	작물명	MRL	작물명	MRL	작물명	MRL
곡류	쌀	1.0						
서류	감자	0.1						
중실류	해바라기씨	2.0						
과실류	이과류	사과	5.0					
	핵과류	복숭아	10.0	체리	5.0			
	장과류	딸기	10.0	포도	5.0			
	열대과실류	키위	7.0					
채소류	엽채류	들깻잎	10.0	상추	5.0	양상추	5.0	
	엽경채류	부추	5.0					
	근채류	양파	0.2					
	과채류	가지	2.0	고추	5.0	멜론	1.0	수박
오이		2.0	토마토	5.0				
기타 식물류	인삼	0.1						

Registered agricultural products and MRL of Chlorothalonil								
작물군	작물명	MRL	작물명	MRL	작물명	MRL	작물명	MRL
곡류	귀리	0.2	수수	0.2	메밀	0.2	쌀	0.2
	호밀	0.2	밀	0.2	옥수수	0.2	보리	0.1
서류	감자	0.1						
두류	대두	0.2	기타콩류	0.1				
견과류	땅콩	0.3	아몬드	0.05				
과실류	이과류	감	1.0	배	1.0	사과	1.0	
	감귤류	감귤류	5.0					
	핵과류	복숭아	1.0	체리	0.5			
	장과류	포도	5.0					
채소류	엽채류	양배추	5.0	양상추	5.0	케일	5.0	
	엽경채류	셀러리	1.0	아스파라거스	1.0			
	근채류	당근	1.0	양파	1.0			
	과채류	고추	1.0	멜론	0.5	수박	0.1	오이
참외		5.0	토마토	1.0	호박	2.0		
기타 식물류	커피원두	0.2	카카오원두	0.05				







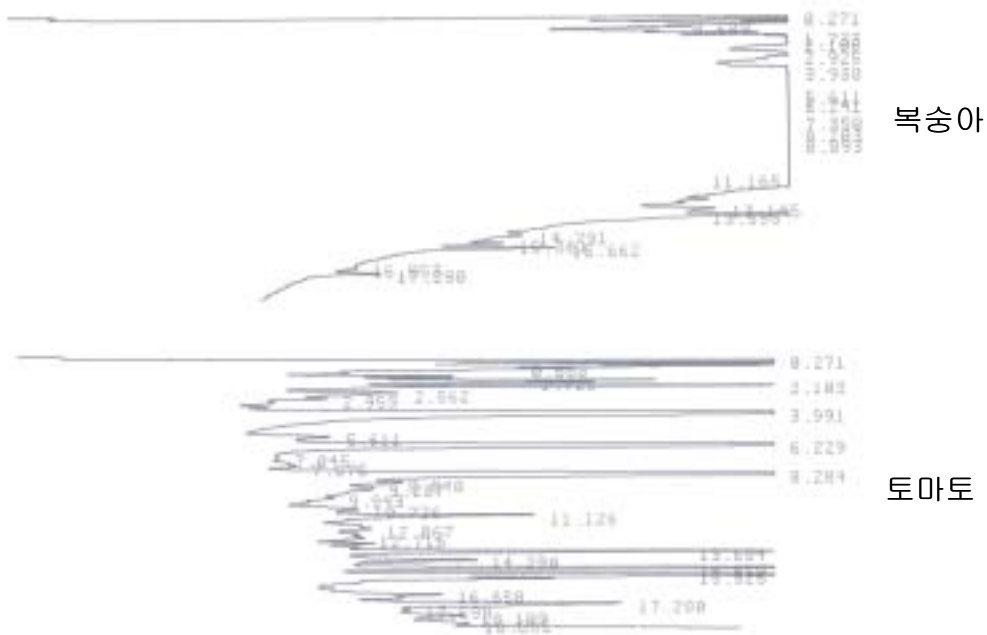


Figure 16. Analyzed GC chromatograms of agricultural products by Keele injector.

Figure 16의 분석크로마토그램을 살펴보면 과일류의 사과, 포도, 복숭아와 채소류인 수박과 토마토는 당분과 수분 등의 여러 가지 성분이 많이 존재하므로 농약이 나오는 시간과 불순물이 겹치는 관계로 Keele Injector에 의한 분석이 어려웠다. 곡물류인 보리 울무와 종실류인 참깨, 서류인 감자, 견과류인 땅콩은 과일류나 채소류에 비해서 불순물이 적어 B₂농약 검출분석에 사용이 가능하였으며, 채소류인 파, 양파, 마늘의 경우에는 특유의 향이 많은 작물로서 많은 피크 양상을 보이고 있다. 반면에 수분함량이 많은 양상추나 고추에서는 Keele injector에 의한 분석이 가능하였고 인삼도 가능하였다. 따라서 **본 연구에서는 양상추, 고추와 인삼의 시료를 이용하여 분석을 하였고, 그에 관련된 크로마토그램들은 다음절에 나타내었다.**

제 6 절 현장시료 중 무추출 잔류농약 검색법에 의한 B₂ 농약의 검출

1. 재료 및 방법

가. 재료

깻잎, 양상추, 고추를 유기농마트에서 구입하여 회수율을 위한 실험에 사용하였으며, 현장시료 분석을 위한 시료는 과다하게 살포된 시료를 제공받아 분석을 실시하였다.

나. 방법

1) 깻잎에서 procymidone의 검출

가) 최소검출량과 검량곡선 검토

Procymidone의 농약 표준품을 이용하여 100ppm의 stock solution을 제조하였고, 각각 0.25, 0.5, 1, 2, 5 ppm으로 희석하여 working solution으로 사용하였다. 희석된 working solution으로 procymidone의 깻잎에 대한 검량곡선을 작성하였다.

나) 검출한계와 회수율

동결건조한 무처리용 깻잎 1 mg을 모세관에 취하고 procymidone 0.5 ppm과 2 ppm 1 μ l씩을 spiking하여 회수율을 검토하였다.

다) 현장시료 분석

제공받은 현장시료를 동결건조하고 1 mg을 취하여 모세관에 주입하여 Keele injector에 의한 분석을 시행하였다.

2) 양상추에서 chlorothalonil과 procymidone의 검출

가) 최소검출량과 검량곡선 검토

Chlorothalonil과 procymidone의 농약 표준품을 이용하여 동시분석을 위한 혼합 용 100 ppm의 stock solution을 제조하였으며, chlorothalonil은 0.5, 1, 2, 4, 8 ppm으로 희석하여 working solution으로 사용하였고, procymidone은 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 ppm으로 희석하여 분석하였다. 이렇게 희석된 혼합 working solution으로 chlorothalonil과 procymidone의 양상추에 대한 검량곡선을 작성하였다.

나) 검출한계와 회수율

동결건조한 무처리용 양상추 1 mg을 모세관에 취하고 chlorothalonil과 procymidone의 혼합표준품을 낮은 농도에서 chlo.; 4, proc.; 0.1 ppm수준과 높은 농도인 chlo.; 8, proc.; 0.1 ppm수준으로 각각 1 μ l를 spiking하였으며, 각각의 회수율을 검토하였다.

다) 현장시료 분석

제공받은 현장시료를 동결건조하고 1 mg을 취하여 모세관에 주입하여 Keele injector에 의한 분석을 시행하였다.

3) 고추에서 chlorothalonil과 procymidone의 검출

가) 최소검출량과 검량곡선 검토

Chlorothalonil과 procymidone의 농약 표준품을 이용하여 동시분석을 위한 혼합 용 100 ppm의 stock solution을 제조하였으며, chlorothalonil은 0.5, 1, 2, 4, 8 ppm으로 희석하여 working solution으로 사용하였고, procymidone은 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 ppm으로 희석하여 분석하였다. 이렇게 희석된 혼합 working solution으로 chlorothalonil과 procymidone의 고추에 대한 검량곡선을 작성하였다.

나) 검출한계와 회수율

동결건조한 무처리용 고추 1 mg을 모세관에 취하고 chlorothalonil과 procymidone의 혼합표준품을 낮은 농도에서 chlo.; 2, proc.; 0.05 ppm수준과 높은 농도인 chlo.; 8, proc.; 0.2 ppm수준으로 각각 1 μ l를 spiking하였으며, 각각의 회

수율을 검토하였다.

다) 현장시료 분석

제공받은 현장시료를 동결건조하고 1 mg을 취하여 모세관에 주입하여 Keele injector에 의한 분석을 시행하였다.

2. 결 과

가. 깻잎에서 procymidone의 검출

1) 최소검출량과 검량곡선 검토

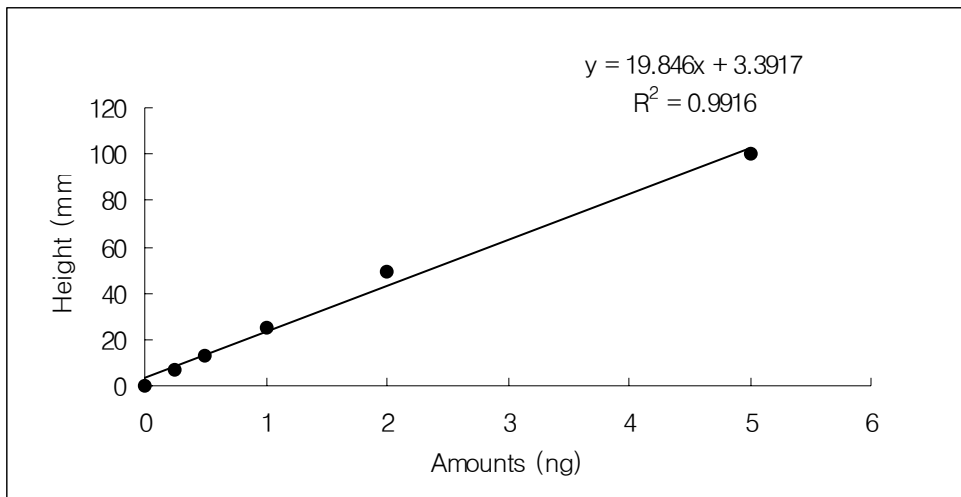


Figure 17. Calibration curve of procymidone in sesame leaf.

깻잎에서 B₂농약인 procymidone이 사용되고 있어 procymidone의 단성분 분석을 실시하였으며, 이때 procymidone의 MRL은 10 ppm으로 비교적 높은 잔류허용치를 가지고 있었다. 따라서 깻잎에서 procymidone의 최소검출량을 0.25 ng으로

정하였고, 표준품의 검량곡선은 Figure 17에 나타난 것과 같이 0.25, 0.5, 1, 2, 5 ng의 표준품을 분석하여 작성하였으며, R² value가 0.9916으로 높은 직선성을 보여주었다.

2) 검출한계와 회수율

Keele injector에 의한 깻잎에서 procymidone의 검출가능성을 검토하기 위하여 회수율시험을 실시하였다. 유기농마트에서 구입하여 무처리임이 확인된 깻잎에 procymidone을 0.5, 2 ppm을 처리하여 회수율 시험을 3반복으로 실시한 결과는 Table 11과 같으며, 84~100 %의 회수율을 보였고, 평균값은 0.5 ppm에서 95 %를 2.0 ppm에서 89 %의 수준이며, 표준편차는 4.6~6.4 %수준이었다. 또한 검출한계는 0.25 ng/mg으로 분석되어졌다. Figure 18은 깻잎 무처리시료와 procymidone 표준품 그리고 spiking 된 깻잎시료의 Keele injector에 의해 주입되어 GC-ECD로 분석된 GC chromatogram으로 Keele injector에 의해서 깻잎의 procymidone 검출이 가능함을 보여주고 있다. .

Table 11. Recovery of procymidone in sesame leaf

Concentration (ng/mg)	Recovery (%)	MRL (ng/mg)	LOD (ng/mg)
0.5	95±4.6	10	0.25
2.0	89±6.4		

*MRL; Maximum residue limit

*LOD; Limit of Detection

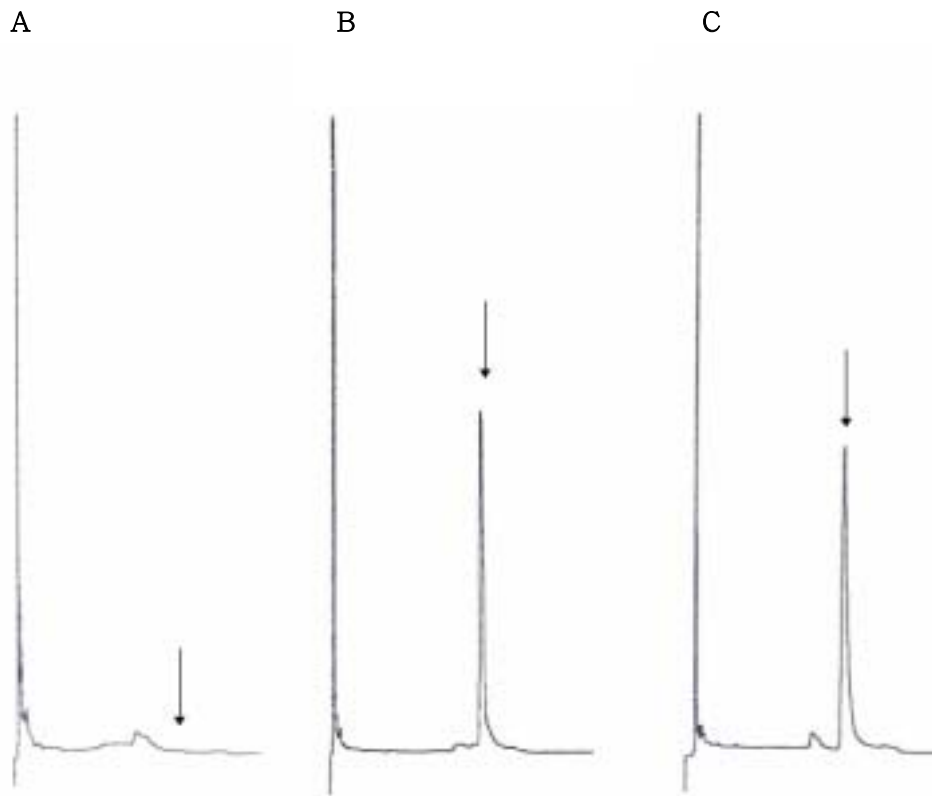


Figure 18. GC cromatograms of recovery analysis in sesame leaf.
 A; control, B; procymidone standard(2 ng/mg), C; spiking sample
 (↓; procymidone peak)

3) 현장시료 분석

Figure 19는 현장시료 분석을 위해 깻잎에 procymidone이 과다하게 살포된 시료를 구하여 분석한 GC-chromatogram으로 역시 Keele injector를 사용하여 분석한 결과이며, 이 시료에서 검출된 procymidone의 양은 표준품 검량곡선에 의한 정량결과 2.5 ng/mg인 것으로 나타났다. 이와 같이 현장시료 분석 시에도 Keele injector에 의한 분석이 가능함을 확인할 수 있었다.

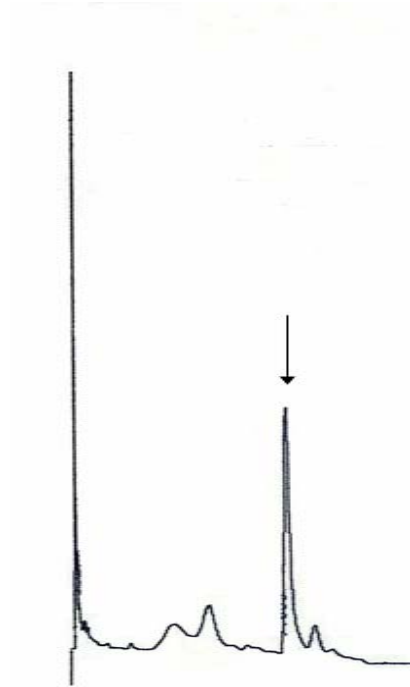


Figure 19. Analyzed GC chromatogram in the sesame leaf of field.
(↓ ; procymidone peak)

나. 양상추에서 chlorothalonil과 procymidone의 검출

1) 최소검출량과 검량곡선 검토

양상추에서는 B₂농약인 chlorothalonil과 procymidone이 동시에 사용되고 있어 두 성분에 대한 동시 분석을 실시하였으며, 이때 양상추에서 chlorothalonil과 procymidone의 MRL은 모두 5 ppm의 잔류허용치를 가지고 있었다. 따라서 양상추에서 chlorothalonil의 최소검출량은 0.5 ng으로 정하였으며, procymidone의 최소검출량을 0.0125 ng으로 결정하였다. 각각의 표준품 검량곡선은 Figure 20, 21에 나타내었으며, chlorothalonil과 procymidone의 R² value는 0.9902와 0.9976으로 마찬가지로 높은 직선성을 보여주었다.

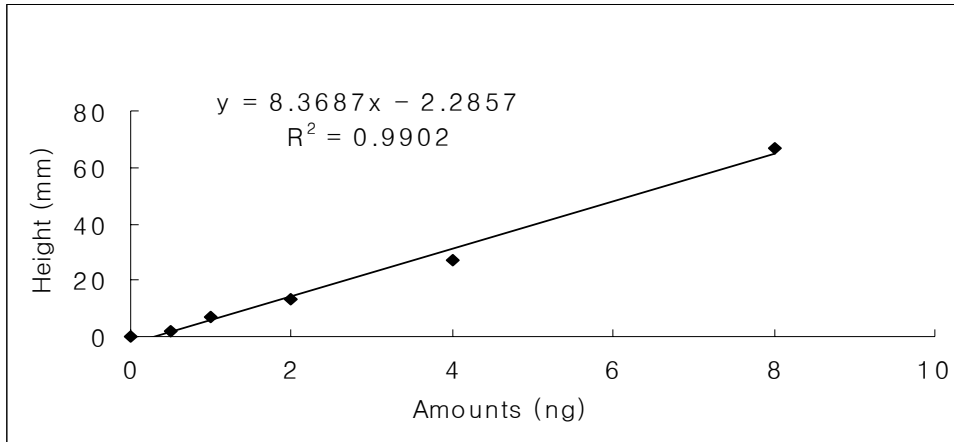


Figure 20. Calibration curve of chlorothalonil in head lettuce.

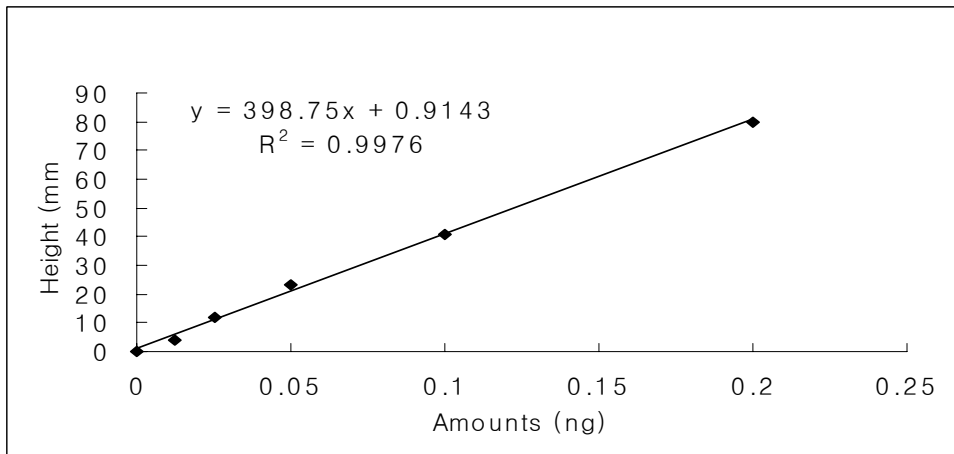


Figure 21. Calibration curve of procymidone in head lettuce.

2) 검출한계와 회수율

Keele injector에 의한 양상추에서 chlorothalonil과 procymidone의 검출가능성을 검토하기 위하여 회수율시험을 실시하였으며, 시료의 조제는 유기농마트에서

구입하여 무처리임이 확인된 양상추에 chlorothalonil을 4, 8 ppm을 처리하여 회수율 시험을 하였고, procymidone은 0.05, 0.2ppm 수준으로 처리한 시료를 3 반복으로 실시한 결과는 Table 12와 같으며, chlorothalonil은 77~85 %의 회수율을 보였고, 평균값은 4 ppm에서 81 %를 8 ppm에서 77 %의 수준이며, 표준편차는 0~3.5 %이었다. 또한 검출한계는 0.5 ng/mg으로 분석되어졌다. Procymidone의 회수율은 65~85 %의 회수율을 보였고, 평균값은 0.05 ppm에서 75 %를 0.2 ppm에서 70 %의 수준으로 chlorothalonil에 비해 낮은 회수율을 보였으며, 표준편차도 4.5~8.5 %로 편차가 더 심한 것으로 나타났다. 그러나 검출한계는 0.0125 ng/mg으로 chlorothalonil에 비해 더 낮은 수준까지 분석이 가능하였다. Figure 22는 양상추의 무처리시료와 chlorothalonil , procymidone 혼합 표준품 그리고 이러한 표준품이 spiking된 양상추시료가 Keele injector에 의해 주입되어 GC-ECD로 분석된 GC chromatogram으로 역시 양상추에서도 Keele injector에 의해 chlorothalonil과 procymidone의 검출이 가능함을 보여주었다. .

Table 12. Recovery of chlorothalonil and procymidone in head lettuce

	Concentration (ng/mg)	Recovery (%)	MRL (ng/mg)	LOD (ng/mg)
Chlorothalonil	4.0	81±3.5	5	0.5
	8.0	77±0.0		
Procymidone	0.05	75±8.5	5	0.0125
	0.2	70±4.5		

*MRL; Maximum residue limit

*LOD; Limit of Detection

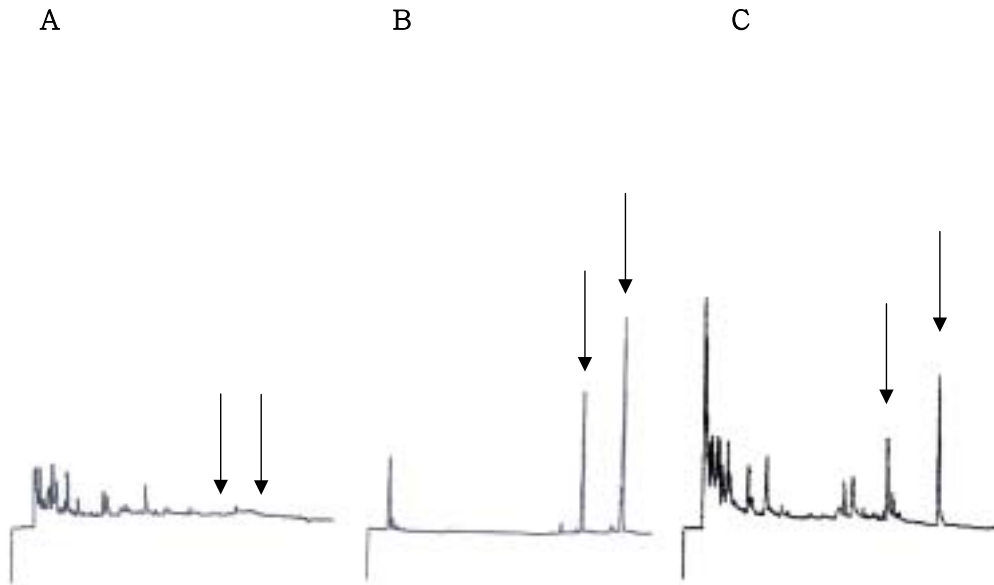


Figure 22. GC chromatograms of recovery analysis in head lettuce.
 A; control, B; mixture standards(chlorothalonil; + procymidone),
 C; spiking sample

3) 현장시료 분석

Figure 23은 현장시료 분석을 위해 양상추에 chlorothalonil과 procymidone이 과다하게 살포된 시료를 역시 구하여 분석한 GC-chromatogram으로 Keele injector를 사용하여 분석한 결과이며, 이 시료에서 검출된 chlorothalonil과 procymidone의 양은 표준품 검량곡선에 의한 정량결과 chlorothalonil과 procymidone이 각각 1.3, 0.05 ng/mg인 것으로 나타났으며, 양상추에 대한 현장 시료 분석 시에도 Keele injector에 의한 분석이 가능함을 확인할 수 있었다.

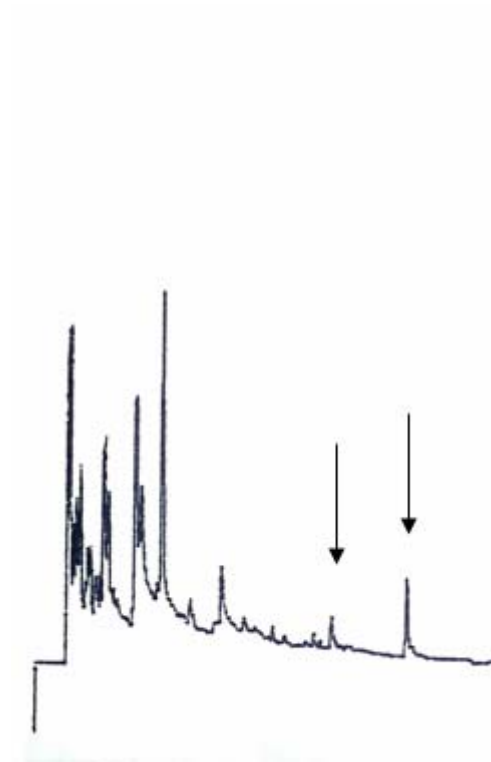


Figure 23. Analyzed GC chromatogram in the head lettuce of field.

다. 고추에서 chlorothalonil과 procymidone의 검출

1) 최소검출량과 검량곡선 검토

고추에서도 양상추와 마찬가지로 B₂농약인 chlorothalonil과 procymidone이 동시에 사용되고 있어 두 성분에 대한 동시 분석을 실시하였으며, 이때 고추에서 chlorothalonil의 MRL은 1 ppm이었고, procymidone의 MRL은 5 ppm으로 설정되어있다. 따라서 고추에서의 최소검출량과 검량곡선은 양상추에서와 같은 수준으로 결정하였다. 고추에 적용하기로 한 표준품 검량곡선은 Figure 20, 21에 나타내었다.

2) 검출한계와 회수율

Keele injector에 의한 고추에서 chlorothalonil과 procymidone의 검출가능성을 검토하기 위하여 회수율시험을 실시하였으며, 무처리임이 확인된 고추에 chlorothalonil을 2, 8 ppm을 처리하여 회수율 시험을 하였고, procymidone은 0.05, 0.2ppm 수준으로 처리한 시료를 3반복으로 실시한 결과는 Table 13과 같다. Chlorothalonil은 64~81 %의 회수율을 보였고, 평균값은 2 ppm에서 68 %를 8 ppm에서 74 %의 수준이며, 표준편차는 1.5~8.7 %이었다. 또한 검출한계는 0.5 ng/mg으로 분석되어졌다. Procymidone의 회수율은 74~88 %의 회수율을 보였고, 평균값은 0.05 ppm에서 81 %를 0.2 ppm에서 87 %의 수준으로 chlorothalonil에 비해 높은 회수율을 보였으며, 표준편차도 1.1~6.6 %로 양상추에서의 회수율과 반대의 경향을 보여주었다. Figure 24은 고추의 무처리시료와 chlorothalonil , procymidone 혼합 표준품 그리고 이러한 표준품이 spiking된 고추시료가 Keele injector에 의해 주입되어 GC-ECD로 분석된 GC chromatogram으로 양상추에서와 같이 고추에서도 Keele injector에 의해 chlorothalonil과 procymidone의 검출이 가능함을 보여주었다.

Table 13. Recovery of chlorothalonil and procymidone in pepper

	Concentration (ng/mg)	Recovery (%)	MRL (ng/mg)	LOD (ng/mg)
Chlorothalonil	2.0	68±1.5	1	0.5
	8.0	74±8.7		
Procymidone	0.05	81±6.6	5	0.0125
	0.2	87±1.1		

*MRL; Maximum residue limit

*LOD; Limit of Detection

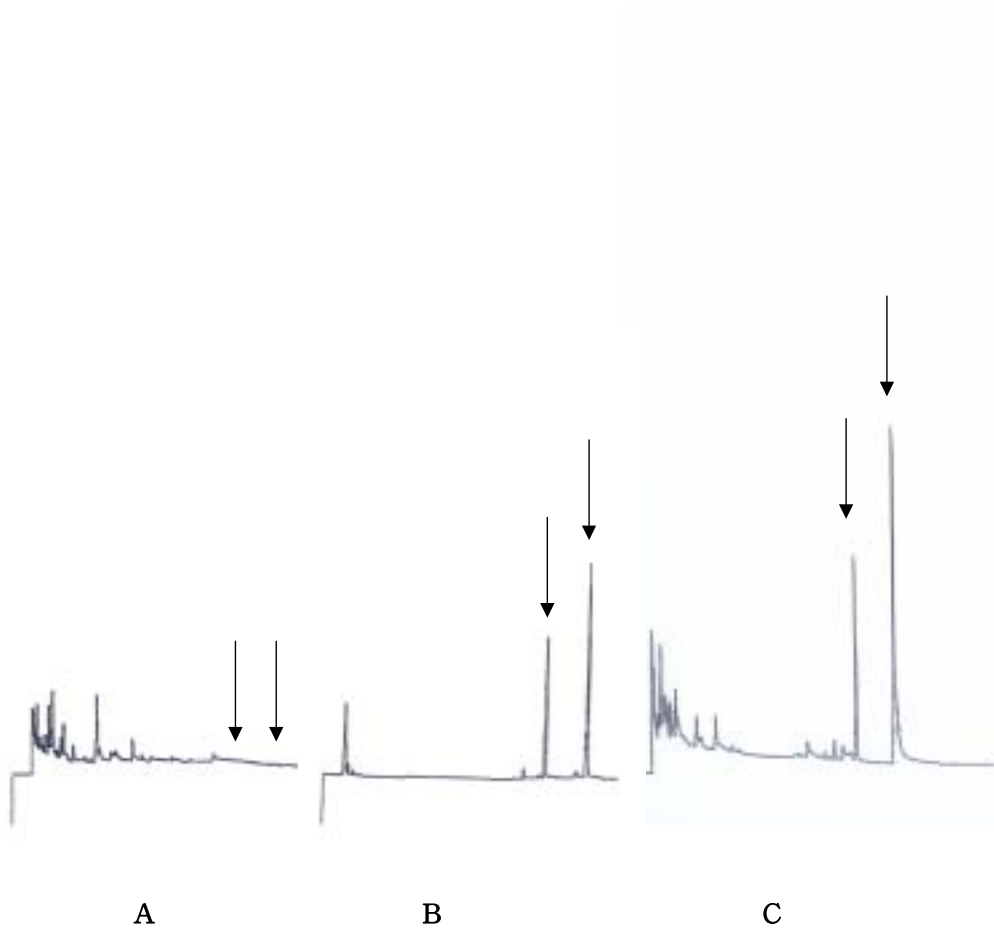


Figure 24. GC cromatograms of recovery analysis in pepper.

A; control, B; mixture standards(chlorothalonil; + procymidone),
C; spiking sample

3) 현장시료 분석

Figure 25는 고추에 chlorothalonil과 procymidone이 과다하게 살포된 시료를 역시 구하여 분석한 GC-chromatogram으로 Keele injector를 사용하여 분석한

결과이며, 이 시료에서 검출된 chlorothalonil과 procymidone의 양은 양상추에서 사용되었던 것과 같은 혼합 표준품 검량곡선에 따른 정량결과 chlorothalonil과 procymidone이 각각 1.0, 0.03 ng/mg인 것으로 나타났으며, 고추에 대한 현장시료 분석 시에도 Keele injector에 의한 분석이 가능함을 확인할 수 있었다.

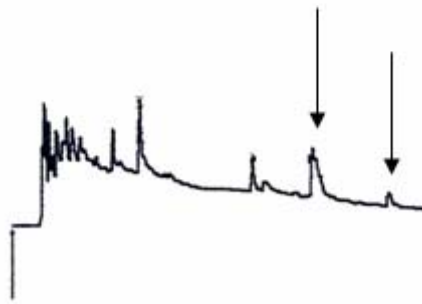


Figure 25. Analyzed GC cromatogram in the pepper of field.

제 7 절 인삼 중 B₂농약 분석과 향기성분 분석에 의한 국내산과 외국산의 구별 가능성 검토

1. 재료 및 방법

가 재료

본 실험에 사용된 한국산 인삼은 현장시료용으로 농약이 검출된 시료를 구하여 사용하였고, 중국산 인삼은 중국 길림성 돈화, 안도, 왕청, 길안, 정우에서 구입을 하였다. 인삼의 분석은 GC-ECD(HP 5890; Hewlett Packard, USA)와 GC-MSD (Agilent 5973 N Mass Selective Detector, Agilent 6890 N GC system, Hewlett Packard, USA)를 사용하였다.

나 방법

1) 인삼의 시료조제법 검토

인삼시료의 Keele injector 분석 시 시료조제법의 최적조건을 결정하기 위하여 생체시료, 자연건조, oven 건조, 동결건조에 의해 조제하여 분석을 실시하였다.

2) 동결건조한 인삼시료 1mg을 취하여 Keele injector에 의하여 GC-ECD에 주입하여 procymidone의 검출여부를 검토하였다.

3) 생체 시료 1mg을 취하여 GC-MSD에 Keele injector(K3 model의 injector)에 의해 주입하여 인삼의 천연향기성분을 분석하였다.

2. 결 과

가. 인삼의 시료조제법 검토

생체시료, 자연건조, oven 건조, 동결건조에 의해 조제된 인삼시료 1 mg을 모세관에 넣어 Keele injector에 의한 분석을 실시한 결과는 Figure26과 같으며, 그림의 화살표의 위치가 procymidone이 검출되는 곳으로 시료조제법 모두에서 검출이 되지않았으나, 생체시료, 자연건조, oven 건조시료는 baseline이 높고 불안정하였고 동결건조시료는 매우 안정적임을 알 수 있었다. 이 결과를 기초로

procymidone의 검출을 위해서는 향기성분 등이 사라지고 수분제거가 이루어지는 동결건조법이 가장 적합한 것으로 검토되었다. 그러나 procymidone의 검출 여부만으로는 국내산과 중국산의 구별이 반드시 이루어지는 것은 아니므로 이차적으로 인삼의 특유한 향기성분의 차이로 구별하여볼 수 있을 것이다. 따라서 인삼의 향기성분을 추출하기 위해서 GC-MSD에 Keele injector를 장착하여 분석을 실시하였고, 사용된 Keele injector의 모델은 시료의 연속주입이 일어나지 않아 다 성분 분석에 유리한 K3(Figure 4)를 사용하였으며, 이 때의 시료조제는 향기가 제거되지 않은 상태인 생체시료를 그대로 이용하였다.

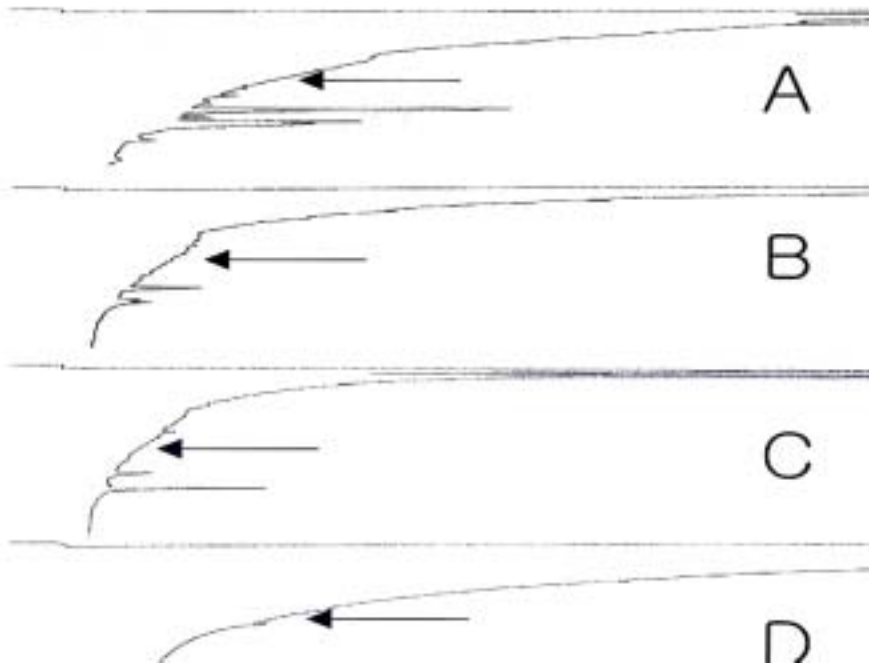


Figure 26. Analyzed GC chromatograms on the sample preparation of ginseng. A; Oven drying, B; Drying(room temperature), C; Freeze drying D; Fresh

나. 인삼에서 procymidone의 검출

1) 최소검출량과 검량곡선 검토

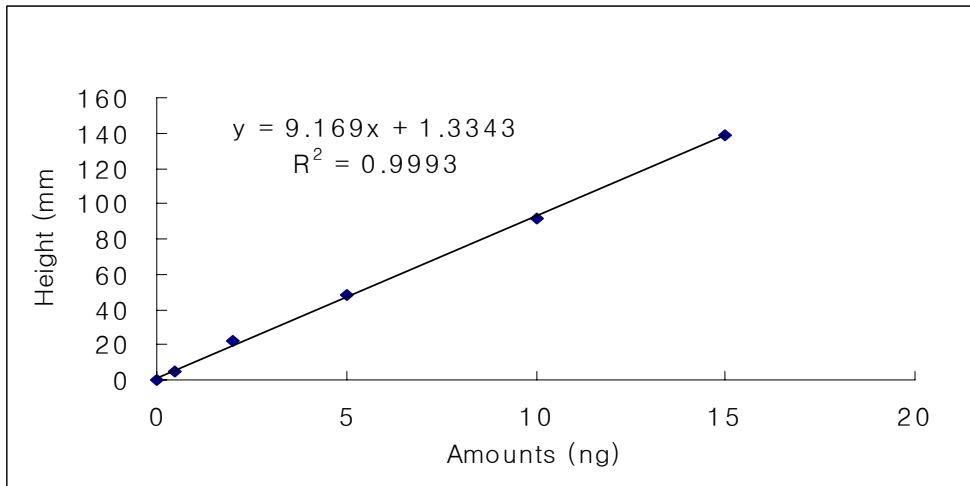


Figure 27. Calibration curve of procymidone in ginseng.

국내에서는 인삼에 B₂농약인 procymidone이 사용되고 있어 procymidone의 단 성분 분석을 실시하였으며, 외국(중국)의 경우 아직 procymidone을 사용하지 않는다는 사실을 이용하여 일차적으로 국내산과 외국산을 구별하여보았다. Procymidone의 인삼에서의 MRL은 0.1 ppm으로 다른 작물에 비해 낮게 설정되어 있었고, 따라서 인삼에서 procymidone의 최소검출량을 0.1 ng으로 정하였고, 표준품의 검량곡선은 Figure 27에 나타낸 것과 같이 0.1, 2, 5, 10, 15 ng의 표준품을 분석하여 작성하였으며, R² value가 0.9993으로 높은 직선성을 보여주었다.

2) 검출한계와 회수율

Keele injector에 의한 인삼에서 procymidone의 검출가능성을 검토하기 위하여 회수율시험을 실시하였다. 유기농마트에서 구입하여 procymidone이 검출되지

않은 것으로 확인된 인삼에 procymidone을 1, 10 ppm을 처리하여 회수율 시험을 3반복으로 실시한 결과는 Table 14와 같으며, 83~92 %의 회수율을 보였고, 평균값은 1ppm에서 89 %를 10 ppm에서 86 %의 수준이며, 표준편차는 3.8~5.2%수준이었다. 또한 검출한계는 0.5 ng/mg으로 분석되어졌다. Figure 28은 인삼의 무처리시료와 procymidone 표준품 그리고 spiking된 인삼시료의 Keele injector에 의해 주입되어 GC-ECD로 분석된 GC chromatogram으로 Keele injector에 의해서 국내산 인삼의 procymidone 검출이 가능함을 보여주고 있다. .

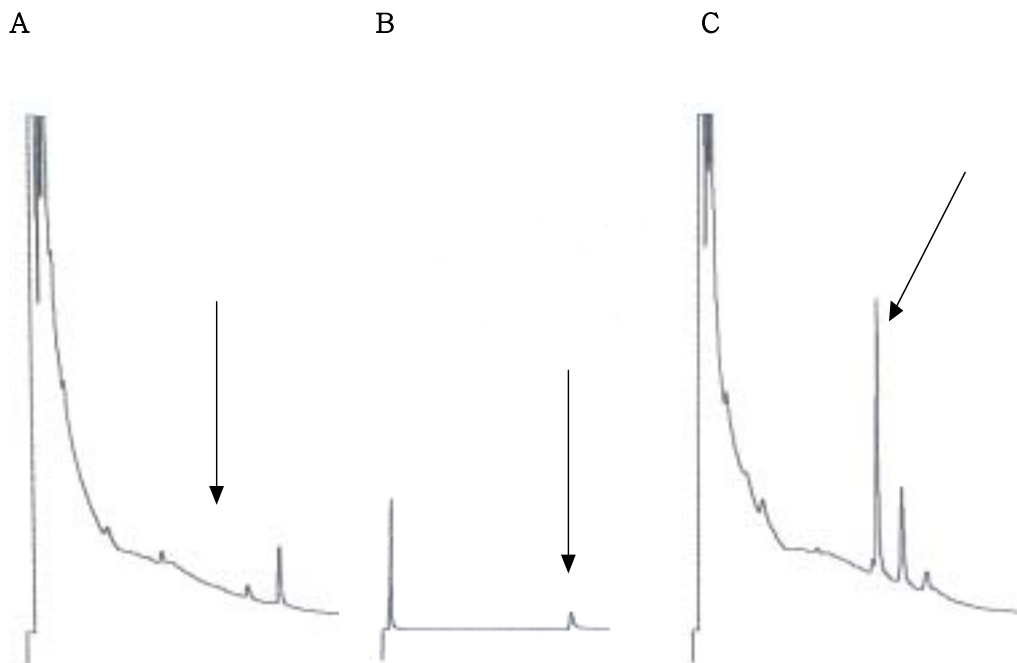


Figure 28. GC chromatograms of ginseng.

A; Control, B; Standard(procymidone), C; Spiked sample

Table 14. Recovery of procymidone in ginseng

Concentration (ng/mg)	Recovery (%)	MRL (ng/mg)	LOD (ng/mg)
1	89±3.8	0.1	0.5
10	86±5.2		

*MRL; Maximum residue limit

*LOD; Limit of Detection

3) 현장시료 분석

Figure 29는 국내산 인삼에 procymidone이 과다하게 살포된 시료를 구하여 분석한 GC-chromatogram으로 Keele injector를 사용하여 분석한 결과이며, 이 시료에서 검출된 procymidone의 양은 표준품 검량곡선에 따른 정량결과로 0.8 ng/mg수준인 것으로 나타났으며, 용매추출법에 의해 분석시 1.1 ng/mg이 검출되어 나왔다. 이러한 결과는 Keele injector에 의해 분석된 결과가 기존의 추출법에 비해 크게 다르지 않으며, 모니터링이나 스크리닝에 쓰일 수 있음을 알 수 있었다. 또한 이것은 꽤 많은 양의 농약이 검출되어 나온 경우이며, Figure 30은 중국 길림성 돈화시에서 구입해 온 중국산 인삼의 GC chromatogram으로 분석결과 procymidone이 검출되지 않았으며, 그 외에 중국 길림성의 다른 지역인 안도와 왕청, 길안, 정우지역에서 구입해 온 중국산 인삼에서는 모두 procymidone이 검출되지 않았다. 따라서 인삼에 대한 현장시료 분석 시에도 Keele injector에 의한 분석을 할 수 있음을 확인할 수 있었으며, 국내산과 중국산의 구별법으로 사용이 가능함을 알 수 있었다.

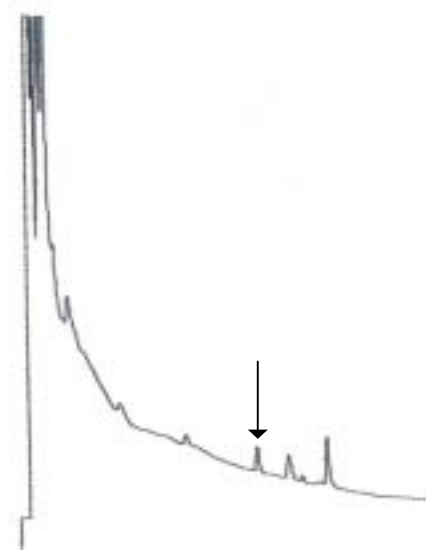


Figure 29. Analyzed GC chromatogram in Korean ginseng of field.

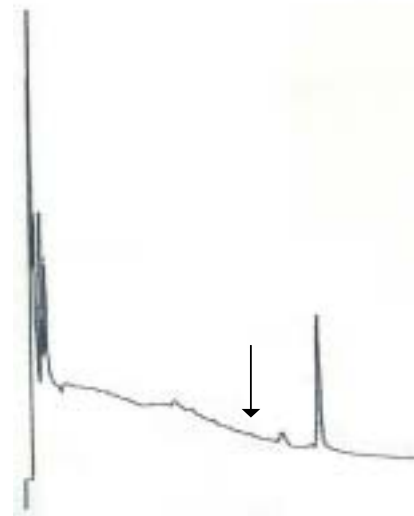


Figure 30. Analyzed GC chromatogram in Chinese ginseng of field.

4) 향기성분 분석에 의한 국내산, 중국산 구별법

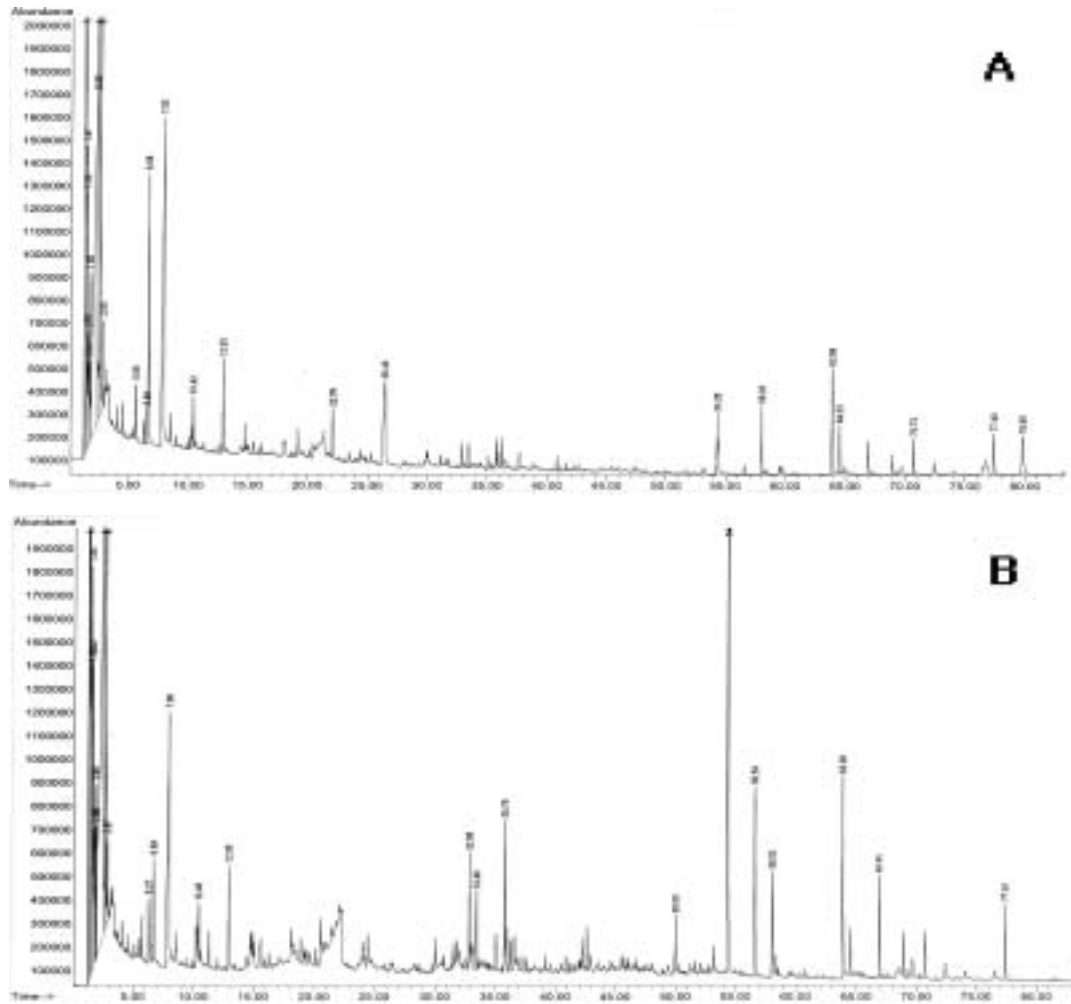


Figure 31. GC-MSD chromatograms of Korean(A) and Chinese(B) ginsengs.

Figure 31은 국내산과 중국산 인삼을 Keele injector가 장착된 GC-MSD에 의해 분석한 TIC로써 함량이 높은 피크는 대략 19가지 성분정도가 분석되어졌고, 함량이 작은 피크까지 포함하면 102가지이상의 성분이 검출되었다. 이 성분들 중에는 sesquiterpene류인 elemene, panasinsene, neoclovene, calarene, humulene, silinene, gurjunene 등이 검출되었으며, 지방산 계통의 성분인 campesterol, stigmasterol, sitosterol 등이 분석되었고, 외에도 많은 성분들이 분석조사되고 있으며, 일부는 표준품을 구입하여 비교분석하였고, 아직도 다각도로 구입 중에 있다. 분석결과 국내산과 중국산 인삼은 재배하는 종이 같아 향기성분 자체가 많이 틀리지는 않았으나, 재배환경이나 토양 등의 차이에 의해 성분함량에 있어서는 차이를 보여, 분석을 실시한 국내산 인삼에서는 isopropyl myristate와 stigmasterol의 양이 중국산에 비해 현저히 작음을 알 수 있었다. 따라서 일차적인 B2농약검출 여부에 의해 판단되지 않은 시료들은 향기성분의 차이에 의해서 이차적으로 검토되어질 수 있을 것이다.

본 실험실에서는 이와 같은 결과들을 바탕으로 Keele injector를 GC-FID와 GC-MSD에 장착하여 인삼의 조제법, 부위별, 재배 환경, 재배 년도별, 재배지역 등의 여러 가지 상황에 따라 달라지는 향기성분들을 보다 자세하고 체계적으로 조사하여 볼 계획이며, 그 외에 향기가 많은 농작물, 한약재, 꽃등의 분석에도 응용할 생각이다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 1차년도

1. Keele Injector 의 이용가능성 검토

가. Keele Injector 이용가능성 검토(농약별)

현재 우리 나라에서 사용되고 있는 말암위해성 B₂ 농약 9종

▷목표달성도 : Captan, Chinomethionate, Chlorothalonil, Fenoxycarb, Folpet, Danminozide, Iprodione, Procymidone 그리고 Propargite에 대해 Keele Injector 를 사용하여 분석이 가능한지를 검토 하였다.

나. 모세관내 시료의 주입조건 확립

- 동결건조
- Cutting
- Oven건조
- 자연건조

▷목표달성도 : 모세관내 시료의 주입방법으로 동결건조법, 자연건조법, oven 건조법, 생체시료 주입법을 실행해보았으며, 수분이 검출기에 미치는 영향이나 column의 오염여부를 고려하여 최종 시료주입방법을 동결건조법으로 채택하였다.

다. Keele injector를 이용한 농약 검출 시 GC 조건 확립

- pre-heating time 검토
- 모세관의 길이 및 크기 검토

▷목표달성도 : Keele injector를 이용한 농약 검출 시 GC 조건 중 pre-heating time은 일정한 온도에서 1분, 3분, 5분, 10분을 두어 농약별로 조사해본 결과 농약별로 차이가 있었지만 pre-heating time을 3분, 5분으로 두는 것이 적합한 것으로 채택하였으며 아울러 GC온도 조건 및 모세관의 길이 및 크기에 대해서도 조사하였다. 추가적으로 Keele injector의 모형을 업그레이드해 보아 다양한 각도로 시험하였고, 재현성 시험도 같이 실행하였다.

라. 검출 가능한 농약과 불가능한 농약의 구분

· 최소검출 농도 결정

▷목표달성도 : 검출 가능한 농약과 불가능한 농약의 구분 실험에서 FID와 ECD를 사용하여 조사해본 결과 chlorothalonil, flopet, iprodione, procymidone이 검출되었다.

마. 분석 후 칼럼 오염여부를 관찰

▷목표달성도 : 분석 후 칼럼 오염여부는 ECD를 사용하였을 경우 수분오염에 대한 우려가 있고 칼럼 오염에 대한 대책으로 동결건조법을 선택하기로 결정하였다.

2. 추가실험

새로 제작된 세 종류의 Keele injector를 각각 시험하여 적정 모델을 선정하여 B₂농약 분석에 사용하였다. 선정된 Keele injector를 이용한 분석 시에 재현성 여부 검토해본 결과 4반복 실험 시 6분에 procymidone이 검출되었으며, 표준편차가 ± 0.1 로 재현성에 있어 문제가 없음을 알 수 있었다.

제 2 절 2차년도

1. Keele Injector의 다른 기기에 이용가능성 검토

가. Procymidone의 검출에 의한 수입농산물의 판별

▷목표달성도 : 국내산 인삼과 중국산 인삼을 상호 비교 분석하여 향기성분과 B₂농약의 검출여부를 확인하였다.

나. Keele injector 이용가능성을 작물별로 검토

· 과일류 · 곡물류 · 야채류

▷목표달성도 : 10여종의 농작물과 인삼에서 Keele injector의 이용가능성을 검토하였고, 그 결과 갯잎, 양상추, 고추, 인삼에 대해 B₂ 농약의 회수율등을 조사하였다.

다. B₂농약의 분석에 있어 사용가능한 검출기를 알아내고 이를 B₂농약 전체에 대해서 스크리닝한다.

▷목표달성도 : B₂농약의 분석은 GC-ECD, FID, MSD에서 모두 가능하였으나, 대체적으로는 ECD가 가장 적합하였고, FID에서는 감도가 많이 저하되는 경향이 있었다. MSD에서는 라이브러리에 의한 검토까지 가능하여 미지의 농약에 대해서도 바로 적용할 수 있을것이다.

라. GC의 일정한 조건에서 B₂농약의 분석 시 보유시간이 겹칠 경우, 이의 해결방안에 대한 검토 방법으로 GC-MS에서 분석하고자 하는 농약을 확인하는 방법이나, 온도조건을 달리하여 보유시간의 중첩을 피할 수 있는 방법과 극성이

다른 컬럼의 사용에 의한 보유시간의 중첩을 피할 수 있는 방안에 대해 검토한다.

▷목표달성도 : 마찬가지로 GC-ECD 뿐만 아니라 FID와 MSD에서 분석을 시행하였고, column을 내경과 길이별로 검토하여 농약과 작물에 적합한 것을 선택하여 사용하였다.

제 3 절 3차년도

1. 현장시료 중 무추출 잔류농약 검색법에 의한 B2농약의 검출

가. 2차년도 시험에서 분석 가능했던 작물을 대상으로 B₂농약의 회수율을 검토한다.

▷목표달성도 : 분석 가능했던 작물 세 가지인 깻잎, 양상추, 고추를 선택하여 B₂농약의 최소검출량, 검출한계, 회수율을 검토하였다.

나. 기존의 잔류분석 방법에 의해 분석한 B₂농약의 잔류량과 무추출 잔류 농약 검색법에 의한 검출 잔류농약의 농도를 비교한다.

▷목표달성도 : 과다하게 살포된 작물을 구하여 원래의 용매추출법에 의해 검출된 농약의 농도와 무추출 잔류농약 검색법에 의해 검출된 농도를 비교하였다.

다. 인삼시료에 들어있는 수분량에 따른 분석조건의 확립을 위해 자연건조, 오븐건조, 생체시료의 동결건조 등의 방법들을 검토하여 적합한 조건을 확립한다.

▷목표달성도 : 인삼시료의 적합한 시료조제법을 찾기 위하여 4가지의 방법인 생체시료, 자연건조, oven 건조, 동결건조법을 실시하여 동결건조법을 가장 적합한 방법으로 선택하였으며, 인삼의 향기 성분을 분석 시에는 생체시료를 그대로 GC-FID와 MSD에 주입할 수 있도록 결정하여 분석하였다.

라. 지역별로 유통되고 있는 인삼시료를 수거하여 간단하게 국산과 중국산의 구별 방법으로 활용할 수 있도록 한다.

▷목표달성도 : 국산과 중국산(5개지역)의 인삼을 구하여 분석을 실시하여 B₂농약의 검출여부를 측정하였다.

마. 현행 잔류법에 의한 수입 인삼과 국산인삼의 구별 방법과 본 연구에 의해 개발된 방법과의 차별화 및 경제성 분석

▷목표달성도 : B₂농약의 검출에 있어 용매 추출법을 사용 시에는 시료개당 분석료가 무추출잔류분석법에 비해 17배의 차이가 있었고, 분석 시간면에서도 15배 이상의 차이를 보였으며, 환경적인 면에서도 환경에 유해한 용매류와 시약을 거의 쓰지 않는 등의 여러 가지 차별성과 경제성을 확인할 수 있었다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

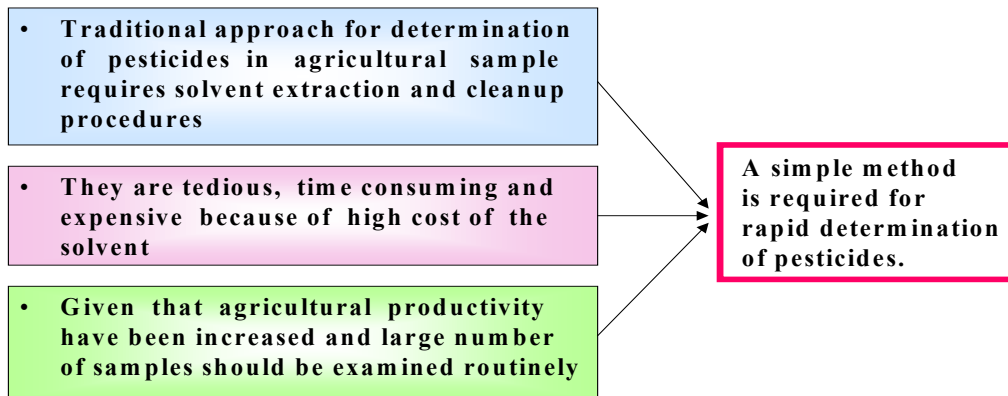
본 실험실에서는 이와 같은 결과들을 바탕으로 GC에 의해 분석이 가능한 B₂ 농약 외의 수많은 농약들과 작물에 대해 분석가능여부를 스크리닝 해나가서 Keele injector에 의한 분석이 하나의 규격화된 분석법으로 인정될 수 있도록 추가적인 실험을 해나갈 것이다.

더 나아가 농약의 분석뿐만 아니라 Keele injector의 응용가능성은 무궁무진하므로 Keele injector의 모델을 더욱 더 새롭고 간편하게 보완 수정해나갈 예정이며, 우선적으로 개발된 K3 모델을 이용하여 GC-FID와 GC-MSD에 장착하여 인삼의 조제법(생삼, 건삼, 홍삼), 부위별, 재배 환경, 재배 년도별, 재배지역 등의 여러 가지 상황에 따라 달라지는 향기성분들을 보다 자세하고 체계적으로 조사하여 볼 계획이며, 그 외에 향기가 많은 농작물, 한약재, 꽃등의 분석에도 응용할 생각이다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학기술정보

일반적으로 작물에 대한 농약의 잔류분석법으로는 용매추출 후 정제에 의한 방법이 있고, 현재 주목받기 시작하는 추출법으로는 용질에 액체물질을 흡착시켜 열에 의해 GC 주입기에서 분해시키는 SPME법이 범위가 넓지는 않지만 사용되고 있다. 그러나 이 방법들은 직접적인 방법이 아닌 간접적으로 용매에 의한 추출을 거치기 때문에 번거로울 뿐 아니라 비용도 많이 소요된다. 아래의 Figure들(SE, SPME, DSI-ChromatoProbe, Keele injector)은 용매추출법과 SPME에 대해 소개한 것이고, 또한 시료를 직접 GC에 주입하는 DSI 즉 직접주입법에 대해 나타내었다. DSI법에는 본 실험에서 사용된 Keele injector와 ChromatoProbe법이 있으며, 용매없이 무추출할 수 있는 방법들이다. ChromatoProbe법은 오염된 물질이나 배설물 등 더러운 시료의 분석에 사용되어지는데 시료의 기화를 위해서 극미량의 용매를 사용하여 분석이 행하여지는데 반해 Keele injector법은 용매가 없이 모세관내에 시료를 넣어 기화시켜 추출 분석하는 방법이다.

Solvent Extraction



Solid Phase Micro Extraction (SPME)

- SPME has been introduced in an effort to develop less time-consuming and more economical methods for pesticide analysis.
- Analytes are sorbed into a liquid matrix coated onto a fused-silica fiber.
- The sorbed analytes are then thermally desorbed in a gas-liquid chromatograph(GC) injector port to carry them into GC column.



Direct Sample Introduction (DSI)

Another approach is to use a solid injector for direct sample introduction instead of using a conventional syringe-based sample injector.

 **ChromatoProbe[®]**

 **Keele injector**

ChromatoProbe®

- A new type of direct sample introduction (DSI) device allowing extract-free dirty sample introduction for gas chromatographic analysis of pesticides.
- This type of DSI device has become commercially available from Varian as the ChromatoProbe®.



Keele Injector

- In this study, we examined a Keele injector for direct sample introduction in gas chromatographic analysis of pesticides in sample.
- Without solvent extraction, the samples in a small size were directly introduced into GC by using the Keele injector.
- Using the Keele injector allowed qualitative and quantitative determination of pesticides in the samples.



제 7 장 참고문헌

1. 서용택, 심재한, 이강봉 (1992) Endosulfan과 그 분해산물의 enzyme immunoassay에 의한 분석법의 개발과 응용, 한국환경농학회지, 11(1) 59-66.
2. 심재한, 서용택, 박노동 (1983) 토양 중 유기염소계 살충제의 용매추출법과 수증기 증류법의 비교, 한국환경농학회지, 2(2) 73-77.
3. Bagneres, A. G. and Morgan E. D.(1990) A simple method for analysis of insect cuticular hydrocarbons, Journal of Chemical Ecology, 16(12) 3263-3276.
4. Billen, J. P. J., Atlygalle, A. B., Morgan E. D. and Ollett D. G.(1987) Gas Chromatography without solvent: pheromone studies; the Dufour gland of the ant *Pogonomgrmmex occidentalis* Lnt. Analyst. 1, 3-6.
5. Hai Pham-Tuan, Joeri Vercammen, Christophe Devos, Pat Sandra(2000) Automated capillary gas chromatographic system to monitor ethylene emitted from biological materials, Journal of Chromatography A, 868, 249-259.
6. Morgan E. D.(1990) Preparation of small-scale samples from insects for chromatography, Analytica Chimica Acta, 236, 227-236.
7. Ubiratan F. da Silva, Eduardo L. Borba Joao Semir, Anita J. Marsaioli(1999) A simple solid injection device for the analysis of *Bullbophyllum*(Orchidaceae) volatiles, 50, 31-34.

8. J.H.Shim, Y.S.Lee, M.R.Kim, C.j.Lee, I.S.Kim (2003) Use of Keele injector for sample introduction for gas Chromatographic analysis of Vinclozolin in lettuces. Journal of Chromatography A, 1015, 233-237.
9. C.J.Lee, 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. of Applied Entomology, 42(1), 9-13.
10. Aviv Amira, Hongwu Jing, Alexander Gordin and Shai Dagan(2001) *Chromatoprobe* and *Snifprobe* Sample Introduction Devices and Methods For GC and GC-MS.
11. J.H.Shim, Y.S.Lee, M.R.Kim, C.J.Lee, I.S.Kim (2003) Use of Keele injector For sample introduction for gas chromatographic analysis of vinclozolin in lettuces. Journal of chromatography A, 1015, 233-237.
12. Ubriratan F.da Silva, Eduardo L.Borba,Joao Semir,Anita J.Marsaioli A simple solid injection device for the analyses of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) volatiles. Phytochemistry 50, 31-34.
13. Bagneres, A. G. and Morgan, E. D.A simple method for analysis of insect cuticular hydrocarbons, J. Chem. Eco, 1990, 16, 3263-3276
14. Barbe, A. M.; Barney, J. p.; Jacobs, A. L. and Johnson, R. A. Retention of volatile organic flavour/fragrance components in the concent-ration of liquid foods by osmotic distillation, J of Mem. Scje. 1998, 145, 67-75.

15. Bloch, C.; Simon, J.; Moskvina, L. N. and Rodinkov, O. V. The properties of chromatomembrane cells in flow systems coupled to gas chromatography-analysis of volatile organic compounds. *Talanta* 2000, 52, 123-128.
16. Brinkman, J. H. w.; Dijk, A. G. v.; Wagerlaar, R. and Quirims, J. K. Determination of daminozide residues in apples using gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *J. Chrom. A* 1996, 723, 355-360.
17. Brito, N. M.; Navickierle, S.; Polese, L.; Jardim, E. F. G.; Abakerli, R. B. and Ribeiro, M. L. Determination of pesticide residue in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture plus thermionic specific detection and solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. of Chrom. A* 2002, 957, 201-209.
18. Cabrera H. A. P. ; Menezes, H. C. Oliveira, J. V. and Batista, R. F. S. Evaluation of residual levels of benomyl, methyl parathion, diuron, and vamidothion in pineapple pulp and bagasse(smooth cayenne). *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 5750-5753.
19. Columbe, A. Cardenas, S. ; Gallego, M. and Valcarcel, M. Semiautomatic multiresidue gas chromatographic method for the screening of vegetables for 25 organochlorine and pyrethroid pesticides. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 436, 153-162.
20. Delgado, M. J.; Barroso, S. R.; Fernandez, T. G. T. and Polo, D. L. M. Stability studies of carbamate pesticides and analysis by gas chromatography with flame ionization and nitrogen-phosphorus detection. *J. Chrom. A*, 2001,

921(38), 287-296.

21. Diaz, T. G. ; Cabanillas, A. G. and Diez, N. Rapid and sensitive determination of 4-nitrophenol, 3-methyl-4-nitro-phenol, 4,6-dinitro-o-cresol, parathion-methyl, fenitrothion, and parathionethyl by liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4508-4513.

22. Espadaler, I. ; Caixach, J. ; OM, J. ; Ventura, F. ; Cortina, M. ; Paune, F. and Rivera, J. Identification of organic pollutants in the river and its system of reservoirs supplying water to Barcelona (Catalonia, Spain): A study by GC/MS and FAB/MS. *Water Res.* 1997, 31, 1996-2004.

23. Gandara, J. S. ; Losada, P. ; Rodriguez, V. G. and Rodriguez, A. R. Comparison of GC-MS and HPLC-UV for determination of procymidone in wine. *J. Agric. Food Chem.* 1993, 41, 674-677.

24. Hegedüs, G. ; Belai, I. and Szekacs, A. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the herbicide trifluralin. *Analytica Chimica Acta*, 2000, 421, 121-133.

25. Lee, K. B.; Shim, J. H. and Suh, Y. T. Development of radioimmunoassay (RIA) for residue analysis with endosulfan in water and carp. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 1994, 13, 262-270.

26. Lee, S. R. Pesticide problems and regulatory aspects in USA. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 1991, 10, 178-196.

27. Lee, S. R. and Lee, M. G. Present status and remedial actions with regard

to legal limits of pesticide residues in Korea. Korean Journal of Environmental Agriculture 2001, 20, 34-43.

28. Lopez, L. F. ; Lopez, A. G. and Riba, M. V. HPLC method for simultaneous determination of fungicides: carbendazim, metalaxyl, folpet, and propiconazole in must and wine. J. Agric. Food Chem. 1989, 37, 684-687.

29. Lopez, M. L. and Riba, M. Residue levels of fenoxystrobin, imazalil, and iprodione in pears under cold-storage conditions. J. Agric Food Chem. 1993, 47, 3228-3236.

30. Matisova E ; Kakalikova L ; Lesko, J and Zeeuw, J. D. Application of porous carbon for solid-phase extraction of dicarboximide fungicide residues from wines in combination with high-resolution capillary gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. J. Chrom. A 1996, 754, 445-454.

31. Morgan, E. D. Preparation of small-scale samples from insects for chromatography. Analytica Chimica Acta, 1990, 236, 227-235.

32. Oh, B. Y.; Bae, J. H.; Kang, J. G. and Kim, Y. D. Studies on pretreatment for analysis of pesticides by using HPLC and GC. Journal of the Korean Chemical Society, 1999, 43, 663-669.

33. Park, S. S.; Park, S. J.; Pyo, H.; Cho, J. H.; Kim, H. S. and Park, T. K. Analysis of some pesticide in urine by GC/MS. The Korean Journal of Pesticide Science, 2000, 4, 1-10.

34. Raoul, S. ; Grenlaud, E. ; BiauDET, H. and Turesky, R. J. Rapid solid-phase

extraction method for the detection of volatile nitro-samines in food. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 4706-4713.

35. Saeed, T.; Sawaya, w. N.; Ahmad, N. and Rajagopal, S. Chlorinated pesticide residues in the total diet of Kuwait Food Control 2001, 12, 91-98.

36. Salletl, S. H. ; Saito, Y.; Kiso, Y. and Jinno, K. Solventless sample preparation procedure for organophosphorus pesticides analysis using solid phase microextraction and on-line supercritical fluid extraction/high performance liquid chromatography technique, *Analytica Chlinka Acta*, 2001, 433, 207-215.