

## 카바메이트계 농약의 다성분 분석에 관한 연구

김세진, 정일현\*

경기도보건환경연구원, \*단국대학교 화학공학과

### A Study on the Analytical Method of Multi-components for Carbamate Pesticides

Sae-Jin Kim and Il-Hyun Jung\*

*Kyonggi-do Institute of Health and Environment Research*

Jangan-gu Pajeong-dong 324-1, Suwon Kyonggi-do 440-290, Korea

*\*Department of Chemical Engineering, Dankook University*

Yongsan-gu Hannam-dong San 8, Seoul 140-714, Korea

This study was undertaken to develop the Carbamate Analysis System(CAS) which enables to identify and quantify simultaneously the multi-components for 11 kinds of carbamate pesticides through one-time procedure of sample pretreatment. In CAS, carbamate pesticides were determined by the fluorescence detection of the isoindole derivatization, which were formed from the reaction of *o*-phthalaldehyde and thiofluor with the methylamine generated by the post column hydrolysis. The optimal conditions of CAS were the carbamate analysis column, 330 nm and 465 nm in the excitation and emission wavelength of fluorescence detector respectively, solvent gradient in the mixture ratio of MeOH : water, and 1 ml/min in the flow rate of solvent. Using the optimized CAS, the survey on the residue for 11 kinds of carbamate pesticides in 100 current samples in Kyonggi-do was carried out. The detected samples were the 10 samples of pimiento, etc., the detected carbamate pesticides were aldicarb sulfone(0.004~0.552 mg/kg), aldicarb sulfoxide(0.134~0.241 mg/kg), methomyl(0.024 mg/kg) and propoxur(0.050 mg/kg), and the detection rate was 10%.

**Key words** : Carbamate Analysis System(CAS), carbamate pesticides, isoindole derivatization

### 1. 서론

카바메이트계 농약은 일반적으로 살충 작용이 선택적이고 적용 범위가 넓으며 생체에 흡수시 빨리 분해되므로 인체에 대한 독성이 비교적 낮으나 methomyl, thiodicarb 등 일부는 중앙유발 및 돌연변이, 신경독성이 있다고 알려져 있다<sup>1</sup>. 구조적으로 N-methyl carbamic 산의 에스테르로서 산소 원자에 지방족이나 방향족 치환기를 가지는 이들은 열, 광 및 산에는 안정하지만 알카리에서는 쉽게 가수분해되어 페놀을 생성하는 특성을 가지며 아세톤, 메탄올 등 유기 용매에는 쉽게 용해되지만 물에는 난용성인 것이 많다<sup>2</sup>. 이들 농약은 곡식, 과일 및 야채 등의 곡물에 직접 살포 후 곧 수확을

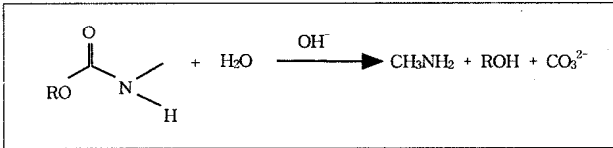
하기 때문에 카바메이트 잔류물과 그 부생성 물질들이 수확물에 남아 있게 되며, 더욱이 이들이 지하수층과 용수로 흘러 들어가 식수원을 오염시키는 등 이들에 대한 규제 및 표준화된 검정 방법에 대한 연구가 지속되고 있다.

지금까지 알려진 카바메이트계 농약의 분석법은 분광광도법(UV/Vis), 기체크로마토그래피법(GC) 및 고성능액체크로마토그래피법(HPLC) 등이 있으며 이중 현재 많이 이용되는 방법으로는 carbamate의 알카리 가수분해로서 생성된 페놀류를 mono-chloro 아세틸화 및 2,4-dinitrophenyl ether화시키는 방법과 가수분해를 수행하지 않고 N-trifluoro 아세틸화 하는 방법 등이 있다. 이들 유도체는 전자포획검출기(GC-ECD)에 대하여 고감도로서 최

소 검출량은 0.01~0.1 ng 정도이고 시료 20 g 사용할 때의 검출한계는 0.002~0.02 ppm의 미량잔류 분석이 가능하다. 그러나 유도체화 분석방법은 일반적으로 시료로부터의 반응방해물질의 완전 제거 및 시약 중 불순물의 방해를 고려하는 등 조작이 복잡하므로 특별한 분석 기술이 요구된다<sup>1,3</sup>. 또한 HPLC를 이용한 직접 분석법은 유기 용매 추출, 비극성 용매 재추출, 칼럼 정제 등 간단한 전처리 방법이 가능하나 자외선 검출기를 이용한 미량 분석법으로 다소 감도가 낮고 선택성이 떨어지는 단점이 있다.

Krause<sup>4</sup>는 아미노산 분석에 이용되고 있던 용리후(post-column) 분석방법을 카바메이트계 살충제 분석에 최초로 적용하였으며 현재 이 방법은 미국의 FDA에서 농산물 중의 카바메이트계 농약 분석법으로 이용하고 있는데 이 분석법의 반응 과정은 Fig. 1과 같다.

#### Hydrolysis



#### Derivatization

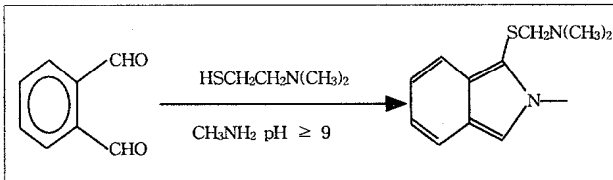


Fig. 1. Chemistry of post-column reaction.

첫 번째 단계로 각각의 화합물은 역상 크로마토그래피칼럼을 통해 용출되고 높은 온도에서 수산화나트륨과 같은 센 수용성 염기에 의해 가수분해되어 알코올, 이산화탄소, 메틸아민 등으로 유리된다.

두 번째 단계로 메틸아민은 OPA 및 친핵성인 thiofluor와 반응하여 강한 형광을 발하는 isoindole 유도체를 형성한다. 현재 식품공전 중에 명시된 카바메이트계 농약의 분석법은 알카리로 가수 분해

한 후 MCA(mono chloro acetic acid)유도체를 만들어 GC-ECD로 분석하는 것이다. 이 방법은 전처리 과정에서 많은 시간이 소요될 뿐 아니라 낮은 회수율과 동시 다성분 분석이 되지 않는 등 문제점을 가지고 있다.

따라서 본 연구에서는 이러한 문제점을 가지고 있는 식품공전 중의 카바메이트 분석법을 대체할 수 있는 방법으로서 11 종의 카바메이트계 농약들을 1회의 시료 전처리 과정으로 동시에 정성 및 정량할 수 있는 카바메이트계 농약의 다성분 분석 방법에 대하여 연구해 보고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시약

본 실험에 사용된 카바메이트계 농약 11 종은 독일 Dr.Ehrenstorfer GmbH사의 농약 표준품으로 그 화학 구조는 Table 1과 같다. 아세톤, 아세토니트릴, 물, 메탄올, 디클로로메탄 등의 유기용매는 미국 J.T.Baker사의 잔류 농약 분석용을 사용하였으며, 무수황산나트륨과 염화나트륨은 일본 Wako사의 특급 시약, 정제용으로는 미국의 Waters사의 Sep-Pak C<sub>18</sub>을 사용하였으며, Pickering사의 post-column용 가수분해 시약과 OPA 회색제를 구입하여 다음과 같은 방법으로 시약을 조제하였다.

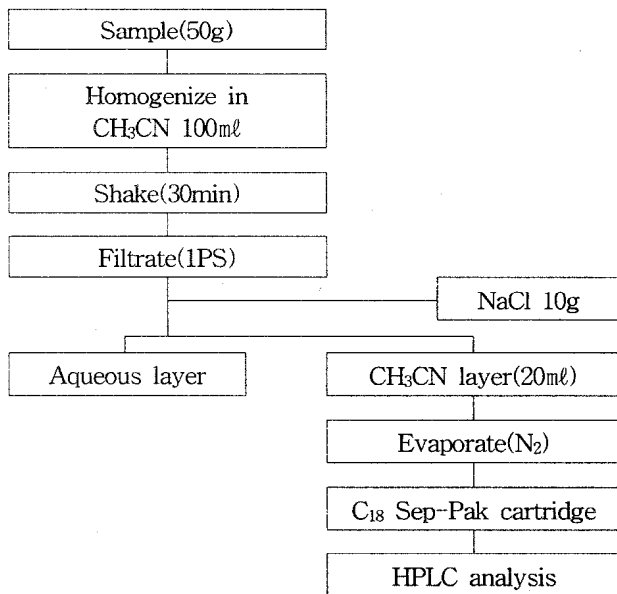
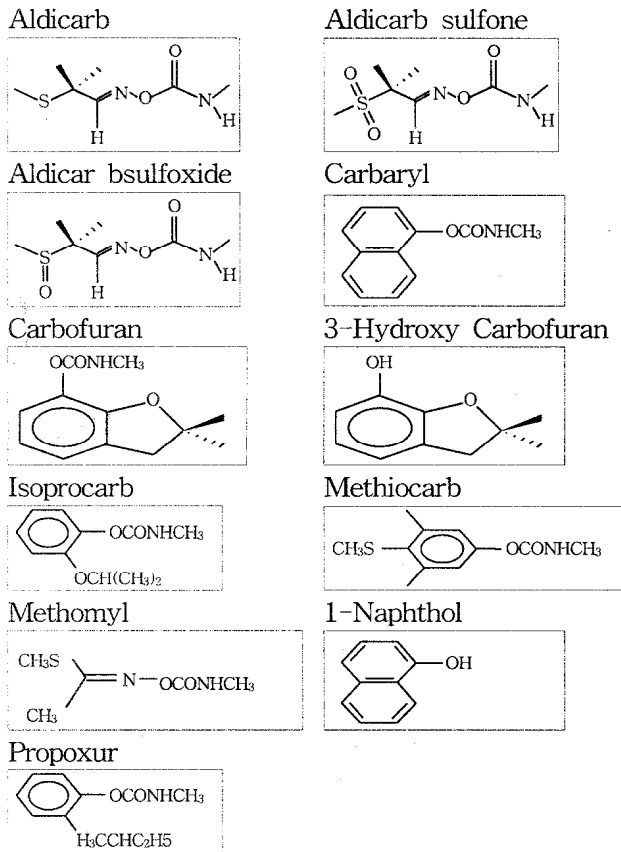
#### 2.1.1. 유도체화용 OPA제조

OPA용 회색제 한 병을 용기에 넣고 불활성기체(He)로 10분 이상 탈기시킨 후, 여기에 100 mg의 *o*-phthalaldehyde를 10 ml의 MeOH에 녹여 넣고, thiofluor 2 g을 정확히 달아 첨가한 후 1분간 탈기시켰다.

#### 2.1.2. CAS분석용 표준 용액 조제

Table 1에 표시된 농약 표준품 11 종(순도 97.0% 이상)을 각각 10 mg씩 달아 MeOH 100 ml에 녹여 저장 용액으로 하고, 이 용액을 MeOH로 각각 1.5 mg/l 되게 희석하여 표준 용액으로 조제하였다.

**Table 1.** Chemical structures of 11 kinds of carbamate pesticides.



**Fig. 2.** Schematic flow diagram of sample pretreatment.

## 2.2. 시료의 채취 및 전처리

경기도 내에서 생산, 유통되고 있는 국산 및 수입산 사과, 오렌지, 레몬, 배, 복숭아, 팽이버섯, 양송이버섯, 고추, 당근, 피망 등 10 종 100건을 수거하고, 식품공전에 의한 가식 부위를 각각 약 1 kg 정도 채취하여 균질화기로 분쇄한 후, Fig. 2와 같은 방법으로 시료를 전처리 하였다.

## 2.3. Carbamate Analysis System(CAS)의 구성 및 분석조건

본 연구의 Carbamate Analysis System(CAS)에서는 Hewlett-Packard사의 HP 1046A 형광검출기가 장착된 HP 1050 series HPLC 및 PICKERING LABORATORIES의 PCX 5100 POST-COLUMN REACTION MODULE이 사용되었으며 그 구성 및 분석 조건은 Table 2와 같다.

**Table 2.** Composition and operating conditions of CAS.

Composition	• Pump - HP1050Series gradient pump
	• Injector - HP1050Series autosampler
Conditions	• Column - carbamate analysis column
	• Detector - 1046A programable fluorescence detector
	• Post-Column Reaction Module-PCX5100
	• Integrator - HP3396Series II
Conditions	• Analysis column temperature 42°C
	• Hydrolysis chamber temperature 100°C
	• Excitation wavelength 330nm
	• Emission wavelength 465nm
	• OPA & NaOH line flow rate 0.3ml/min
	• Injection volume 10µl
	• Response time 5 : 2000sec
	• PMT gain 11
• Lamp current 2(110MHz)	

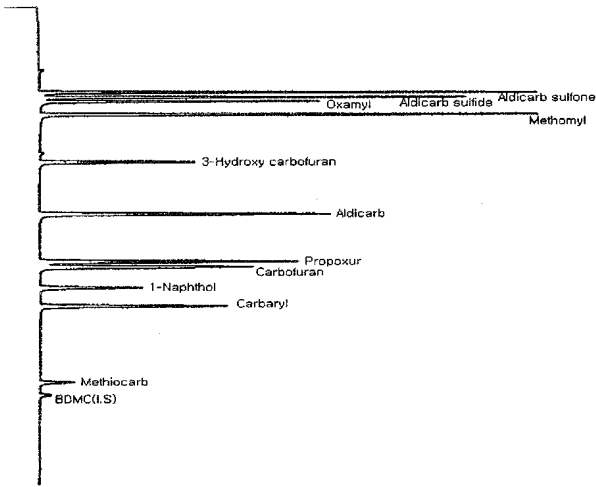
## 2.4. CAS을 이용한 카바메이트계 농약 분석의 최적 조건 설정

CAS법의 시료 추출 전처리과정, 용매 혼합비, 칼럼 등 최적 조건을 구하기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다.

2.4.1. 최적 칼럼 선정

Carbamate analysis column(250mm, Pickering)과  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> column(3.9×300mm, Waters)을 사용하여 분석한 크로마토그램은 Fig. 3과 같았다. a)에서는 methomyl 등 11 종의 카바메이트 농약이 모두 분리되었으나, b)의 경우에는 aldicarb sulfone 등 4 종이 분리되지 않았고 분리된 carbaryl 등 3 종의 분리능도 a)의 경우보다 훨씬 낮으므로 11 종의 카바메이트 농약의 동시 분석용 칼럼으로 a)의 carbamate analysis column을 선정하였다.

(a) Carbamate analysis column



(b)  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> column

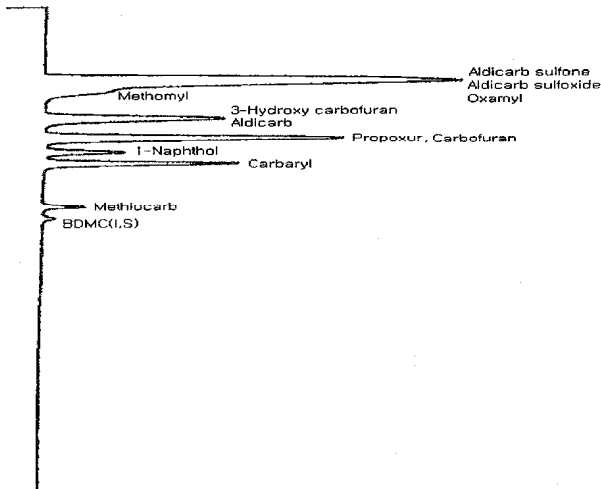
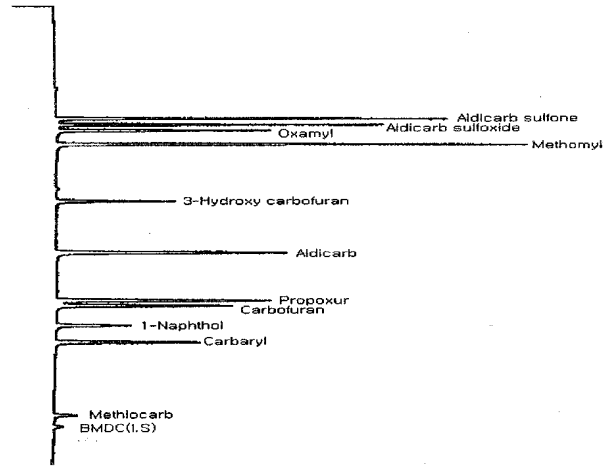
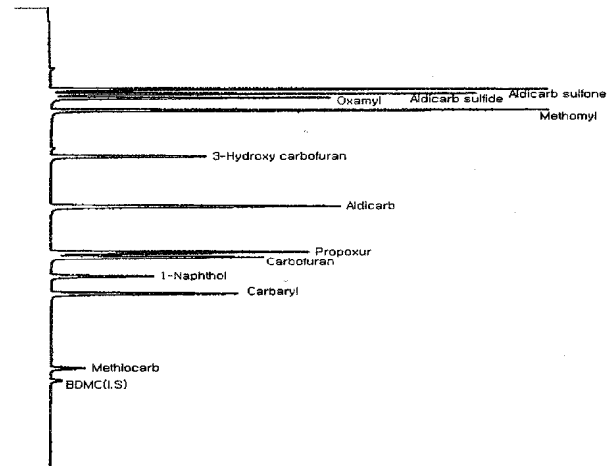


Fig. 3. Chromatogram of a pesticide standard mixture using carbamate analysis column and  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> column.

(a) condition 1



(b) condition 2



(c) condition 3

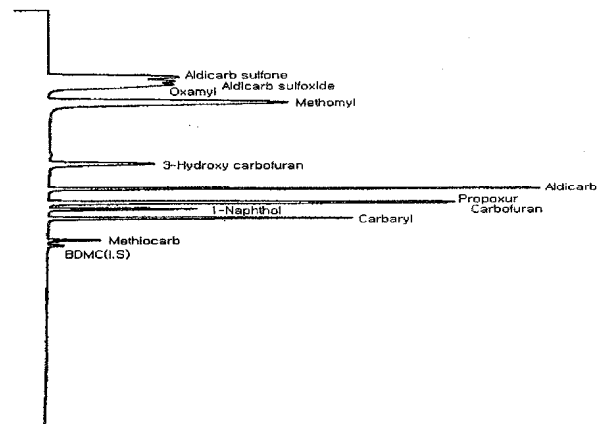


Fig. 4. Chromatograms for the 11 kinds of carbamate pesticides from various mobile phase conditions.

2.4.2. 최적 이동상 용매 혼합비의 선정

CAS에서의 최적의 용매 혼합비 조건을 설정하기 위하여 MeOH과 물의 비를 시간에 따라 Table 3과 같이 용매 기울기로 얻은 크로마토그램은 Fig. 4와 같았다.

**Table 3.** Conditions of solvent gradient by HPLC. (A: MeOH, B: water, column flow: 1 ml/min)

Solvent gradient	Condition 1			Condition 2			Condition 3		
	min	A%	B%	min	A%	B%	min	A%	B%
	0	0	100	0	25	75	0	25	75
	1.7	0	100	1	25	75	1	25	75
	2.3	20	80	43.0	75	25	15	50	50
	46.3	75	25	43.01	100	0	25	50	50
	47.0	100	0	46.0	100	0	35	75	25
	55.0	100	0	46.01	25	75	35.01	100	0
							38.0	25	75
							50	25	75

Condition 3에서는 aldicarb sulfone등 5종의 카바메이트 농약이 분리되지 않았으며, condition 1과 condition 2에서는 11종이 모두 분리되었으나, 분석 시간을 10분 정도 단축하면서 감도가 더 뛰어난 condition 2를 최적의 조건으로 선정하였다.

3. 결과 및 고찰

도내에서 생산 유통되는 농산물 중 팽이버섯, 고추등 10종을 수원, 성남, 안양, 구리, 부천 등 5개

지역에서 2회에 걸쳐 수거한 총 100점을 대상으로 한 카바메이트계 농약 11종에 대한 잔류량을 조사한 결과 Table 4와 같이 농산물 100건 중 팽이버섯등 10건에서 aldicarb sulfone등 4종의 농약이 0.004~0.372 mg/kg 수준으로 검출되었다.

CAS 분석법에서는 MeOH와 물 두 이동상의 기울기 프로그램으로 11종의 카바메이트계 농약을 모두 분리하였으며 회수율 조사에서도 모두 84% 이상으로 시료에 따라 현격한 차이를 보이고 있는 MCA법(10.9~10.5%)에 비해 매우 우수함을 알 수 있었다. 따라서 회수율이 낮고 분석에 많은 시간이 소요되는 현행의 단성분 분석법 대신 HPLC법을 이용한 카바메이트 분석 시스템법으로 대체되어야 할 것으로 사료된다.

잔류실태 조사에서는 시료 100건 중 10건(10%)에서 aldicarb의 산화물인 aldicarb sulfone과 aldicarb sulfoxide가 8건, methomyl 1건, propoxur 1건이 검출되어 농산물의 농약 오염 실태가 심각함을 보여 주고 있다.

특히, 우리나라의 농산물 잔류 농약 기준에는 설정되지 않은 aldicarb sulfone과 aldicarb sulfoxide의 오염도가 높은 것으로 나타났는데 이는 다른 연구 결과에서 보여 주듯이 aldicarb가 급속한 효소적 산화작용으로 aldicarb sulfone과 aldicarb sulfoxide으로 산화되는 것으로 Cochrane와 Lanouette(1981)<sup>5</sup>은 실제로 aldicarb를 첨가하였을 때 44.3%만이 aldicarb로 검출되고 8%가 aldicarb sulfone으로, 36.2%가 aldicarb sulfoxide으로 산화되어 검출되는 것을 인정하였다.

**Table 4.** Detected residues of carbamate pesticides in 100 samples.

(unit:mg/kg)

Pesticides	Samples	Mushroom 1	Mushroom 2	Orange	Lemon	Apple	Pear	Peach	Pepper	Pimento	Carrot
		Aldicarb sulfone	Frequency	2	1	1	0	0	0	0	0
	Amount	0.057, 0.552	0.198	0.310	ND	ND	ND	ND	ND	0.372	0.004
Aldicarb sulfoxide	Frequency	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	Amount	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.134	ND	0.241	ND
Methomyl	Frequency	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Amount	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.024	ND	ND
Propoxur	Frequency	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Amount	ND	ND	ND	0.050	ND	ND	ND	ND	ND	ND

한편 Chaput(1986)<sup>6</sup>은 60건의 물시료에서 parent aldicarb은 검출되지 않고 그 산화 대사 산물만이 검출되었다고 하였으며 박<sup>7</sup>의 연구에서도 증류수에서 aldicarb의 회수율이 77.2%로 나타나 생물학적 요인이외의 다른 요인이 산화제로 작용하는 것으로 추정되는 바, 이에 대한 세부적인 연구가 조속히 진행되어야겠다.

#### 4. 결 론

본 연구에서 사용된 카바메이트계 분석 시스템(CAS)의 최적 분석 조건은 carbamate analysis column(250 mm, Pickering)과 파장 330 nm(들뜸 파장)과 465 nm(방출 파장)의 형광검출기를 이용하고, Table 3의 Condition 2에 의한 MeOH와 물의 농도 구배로 유속 1 ml/min에서 분리한 결과 가장 좋은 분리능과 감도를 갖은 크로마토그램을 얻었다. 또한 11 종의 카바메이트계 농약의 잔류량 조사에서는 농산물 100건 중 팽이버섯 등 10건에서 aldicarb sulfone 등 4 종의 농약이 0.004~0.372 mg/kg 수준으로 검출되었다. 이상과 같은 결과로부터 본 연구에서 사용된 카바메이트계 분석 시스템(CAS)에 의한 카바메이트계 농약 분석법이 MCA

등 기존의 방법보다 분석 시간의 단축 및 분리능이 뛰어난 것이 확인 되었으며 또한 국내 잔류 기준에 고시되지 않은 농약이 검출됨으로써 이들에 대한 추가적인 잔류 기준 설정의 검토와 이를 뒷받침 할 수 있도록 지속적인 연구가 요구된다.

#### 참고문헌

1. 류홍일, 이해근, 전성환, 1991, "농약 잔류분석 방법", pp 115-118, 169-176, 동화기술.
2. C. R. Worthing, 1991, The pesticide manual, 9th ed., "The British Crop Protection Council".
3. 양환승, 이두영, 이승찬, 1991-a,b, "신농약", 제2 개정판, pp 14, 300-322, 향문사.
4. J. T. Krause, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1980, 63, 1114-1122.
5. W. P. Cochrane and M. Lanouette, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1981, 64, 724-728.
6. D. Chaput, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1986, 69, 985-989.
7. 박종태, 1995, "농산물에 잔류된 카바메이트계 농약의 동시 분석에 관한 연구", 전남대학교 수의학 박사학위논문.