

사과 중 Nuarimol의 잔류성 분석

김일광[†] · 한성수* · 김윤근 · 김해진**

원광대학교 자연과학대학 화학과

*원광대학교 농과대학 농화학과

**동신대학교 공과대학 환경공학과

(1993. 5. 31. 접수)

Analysis of Residual Nuarimol in Apples

Il Kwang Kim[†], Seong Soo Han*, Youn Geun Kim and Hea Jin Kim**

Department of Chemistry, Wonkwang University, I-ri, 570-749, Korea

*Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, I-ri, 570-749, Korea

**Department of Environmental Eng., Dongshin University, Naju 520-180, Korea

(Received May 31, 1993)

요약 : 기체 크로마토그래피를 이용하여 과수 재배용 살균제인 nuarimol의 분석을 위한 최적 조건을 조사하고 사과 중에서의 잔류성을 규명하였다. 사과시료를 methanol로 추출, 여과한 후 4.00% NaCl과 dichloromethane액으로 분리농축하고, alumina 컬럼상에서 1-chlorobutane과 methanol 혼합액으로 정제하여 GLC/ECD로 분석하였다. 0.200와 1.00ppm 표준물 첨가 실험결과 평균 회수율이 79~95%였고, 사과 중 nuarimol의 잔류량은 수확 3일 전 8회 처리시 0.0830ppm이었다. 사과에 대한 안전 사용기간은 수확 7일전 6회 사용이 적당한 것으로 나타났다.

Abstract : The solvent extraction and clean up processes for the gas chromatographic determination of nuarimol pesticide residues in apples were investigated and examined the changes of residual concentration with the passage of time. The extracted pesticide with methanol were partitioned with dichloromethane after adding sodium chloride solution. The separated solutions were concentrated and transferred to the alumina column for clean up, and eluated with 1-chlorobutane : methanol solution. As a results their recoveries for 0.200 and 1.00ppm nuarimol spiked on apples have shown 79~95%. Residual amounts of nuarimol in apple was 0.0830ppm when the fungicide was treated eight times until 3 days before its harvest. It seems to be safely used when nuarimol is treated six times until 7 days before harvest of apple.

Key Words : Apple, Nuarimol, Gas chromatography.

1. 서론

농약의 종류는 사용되는 농작물에 따라 다양하게 분류되며 그 종류도 수백 가지에 이른다. 그러나 이들 새로운 농약의 개발과 함께 무차별한 사용에 따른 만성 중독이나 잔류농약 등에 따르는 환경오염 등 여러 가지 문제가 대두되게 되었다.¹ 대체로 살포된 농약은 강우나 광분해 또는 식물체내의 미생물에 의해 분해 소실되지만, 극미량은 농작물 중에 잔류된다. 이에 따른 조치로 잔류성이 큰 DDT, BHC 등 대표적인 유기 염소계 농약의 생산성 및 사용이 금지되고 잔류성이 적은 농약이 사용되는 추세에 있다.² 보통 새로운 농약이 개발되어 실용화될 경우 국가의 관련 기관에서는 잔류농약의 안전성과 무해한 사용방법을 설정³하기 위해 포장시험(field test)에 따르는 농약의 잔류기간과 잔류량 등의 자료를 필요로 한다. 그러므로 새로운 농약의 개발과 함께 그에 따른 분석법의 확립도 상당히 중요한 문제라 할 수 있다. 최근 토양과 과수 재배에서 병해 방제에 큰 효능이 있다고 알려져 있는 muarimol (α -(2-chlorophenyl)- α -(4-fourorophenyl)-5-pyrimidinemethanol)⁴은 병균의 sterol 합성반응을 방해하여 병균의 발아관 생장을 막아 식물체내의 침입을 막고 균사 생장을 억제하기도 하며, 이미 발병된 경우에도 치료효과가 있어서 예방과 치료효과를 함께 보이는 우수한 특성을 인정받고 있는 약제이다.⁵⁻⁷ 그러나 과수 중에 함유된 nuarimol의 분리조건이나 잔류량 등에 관

한 보고는 전혀 되어 있지 않아서 사과 재배시 발생되는 병충해의 방제약으로 개발하는 데 어려움이 있다. 본 연구에서는 사과 재배의 경시 변화에 따른 nuarimol의 미량분석을 위한 최적 분리조건과 포장시험에 따르는 농약의 잔류기간과 잔류량 등을 조사하여 사과방제약으로서 nuarimol의 품목고시를 위한 기초 자료로 활용하도록 하였다.

2. 실험

2. 1. Nuarimol 처리와 시료채취

원광대학교 농과대학 부속 과수원의 사과나무(후지)에 nuarimol 6.00% 수화제를 10.0a 당 200ml (2500배액, 물 500ml/10.0a 사용)씩 살포하였다. 살포횟수는 4, 5, 6, 7 및 8회 등으로 안전 사용기준 설정에 맞도록 살포하였으며 (Table 1), 시료 채취 일정을 최종 살포 후 45일, 30일, 15일, 7일, 3일 등으로 조정하였다. 채취한 시료는 분석시까지 -20.0℃에서 보관하였다.

2. 2. 기기 및 장치

분석에 사용된 기체 크로마토그래피(GLC)는 Tracor 570으로 검출기는 ⁶³Ni electron capture detector(ECD)를 사용하였다. 시료분석시 사용한 column은 3.00% OV-17이 충전된 길이 2.00m, 내경 1/8"인 glass column을 사용하였고, injector 온도 255℃, detector 온도 320℃, column 온도 240℃에서,

Table 1. The process of spray to the apples.

The number of spray times	Sprayed days before Harvest	Spray concentration
0	무처리	
4	90 + 75 + 60 + 45	
5	90 + 75 + 60 + 45 + 30	
	90 + 75 + 60 + 45 + 15	
	90 + 75 + 60 + 45 + 7	
	90 + 75 + 60 + 45 + 3	
6	90 + 75 + 60 + 45 + 30 + 15	
	90 + 75 + 60 + 45 + 15 + 7	
	90 + 75 + 60 + 45 + 7 + 3	
7	90 + 75 + 60 + 45 + 30 + 15 + 7	
	90 + 75 + 60 + 45 + 15 + 7 + 3	
8	90 + 75 + 60 + 45 + 30 + 15 + 7 + 3	

* 제품 200g/10a
(2,500배액)
* 물 500L/10a 사용

운반기체 질소의 유속은 50.0ml/min과 scavenger 10.0ml/min으로 사용하였다. Rotary vacuum evaporator는 Bü ch RE-III형을 사용하였고 chromatographic column은 1.4 i.d.×30.0cm pyrex column을 사용하였다.

2. 3. 시약 및 시료 조제

추출, 분해 및 컬럼의 용리용매로서 methanol, dichloromethane, 1-chlorobutane, ethylacetate, toluene 등은 Merck제 HPLC급을 사용하였으며, 물은 Millipore Milli-Q에 통과하여 탈이온시킨 3차 증류수를 사용하였다. NaCl과 Na₂SO₄는 Kanto제 특급 시약을 사용하였고, 흡착제로써 alumina Merck제 70-230 mesh를 사용하였고 수분 함량이 4.0% 되게 만들어 사용하였다. Nuarimol(주식회사 경농 제공, 순도 98.0%)은 toluene에 녹여 1.00ppm stock soln.으로 만들어 사용하였다. 시료는 약제처리된 사과의 속과 양쪽이 패인 부분을 제거하고 팔분법으로 100g을 공시재료로 취한 다음, methanol 120ml를 가하여 waring blender에서 고속 마쇄하여 사용하였다.

2. 4. 실험방법

2. 4. 1. 용매추출과 분배

분쇄한 시료를 Whatman No.2 여과지를 간 Bü chner 여과 장치를 이용하여 감압여과하여 추출액을 총 180ml가 되도록 methanol로 정용하였다. 여과액 40.0ml(회수를 실험시 20.0ml)를 분별 깔때기에 취한 다음 4% NaCl 50.0ml를 가하고 dichloromethane 40.0ml를 사용하여 20.0ml씩 2회 추출하였다. 모은 dichloromethane 추출액에 무수 Na₂SO₄를 10.0g 정도 넣어 흔들고 수 분간 방치하여 수분은 제거한 다음, 40°C±1°C rotary vacuum evaporator에서 감압 농축한 후 1-chlorobutane 10.0ml에 용해시켰다.

2. 4. 2. 정제

정제용 column에 4.0%의 수분을 함유한 alumina 15.0g을 채운 다음 상부에 무수 Na₂SO₄를 1.5cm 높이로 채웠다. 먼저 20.0ml의 1-chlorobutane으로 column을 씻고, 이 용매가 무수 Na₂SO₄층의 높이까지 조정된 다음, 1-chlorobutane 추출액을 주입하여 Na₂SO₄층의 높이까지 용출시키고 1-chlorobutane : ethylacetate

(9:1) 혼합액 20.0ml로 용출시켜 버렸다. 다시 1-chlorobutane : methanol(99:1) 혼합액 100ml로 용출시켜 받은 다음 감압농축하여 건조시켰다. Toluene 2.00ml에 다시 용해시켜 그 중 2.00μl를 GLC에 주입하고 표준 검정곡선에 의해 정량하였다.

2. 4. 3. 회수를 및 잔류성

이상의 분석법을 이용하여 무처리 사과시료 100g에 nuarimol 10.0ppm 표준용액 2.00ml 및 100ppm 표준용액 1.00ml를 각각 첨가하여 nuarimol 0.20ppm과 1.00ppm이 되도록 조제하여 회수율을 알아보았다. 잔류성 조사는 안전 사용기준 설정에 따라 8회 살포처리된 시료를 채취 일정에 따라 처리 횟수와 수확전 최종 처리 후 경과일 수에 따라 각각의 잔류성을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3. 1. Nuarimol의 GLC 분석

Nuarimol 표준시료(98.0%) 102mg을 100ml toluene에 녹여 희석시킨 1.00ppm의 저장용액을 만들고, 이 용액을 희석하여 0.10, 0.15, 1.00 및 2.00ppm 용액을 만들어 각각 2.00μl씩을 GLC에 주입하여 Fig. 1과 같이 표준크로마토그램을 얻었다. Fig. 1에서 얻어진 봉우리 높이를 표준검정곡선으로 Fig. 2에 나타냈으며 최소제곱방법으로 계산한 직선의 기울기는 2.20, 절편은 0.14였다.

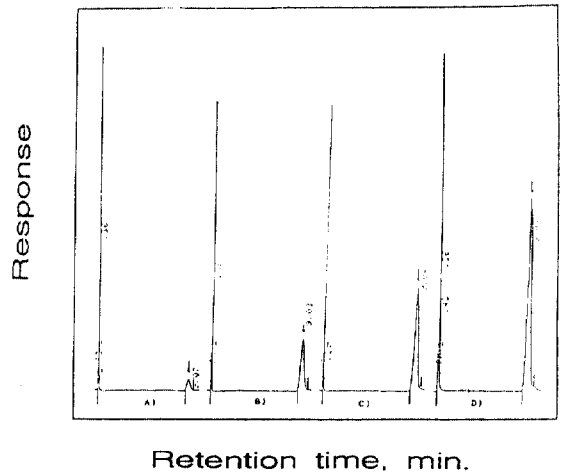


Fig. 1. Typical GLC-ECD chromatograms of nuarimol standard solution.

A) 0.2ng, B) 1.0ng, C) 2.0ng, D) 4.0ng

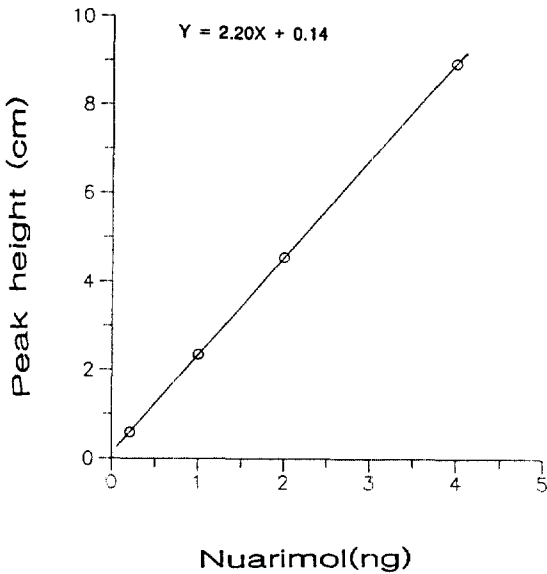


Fig. 2. Standard calibration curve of nuarimol.

3. 2. 용매추출 및 분배

사과 시료 중 잔류되어 있는 nuarimol의 추출을 위한 용매는 methanol을 사용하였다. methanol의 최적 추출 횟수를 알아보기 위해 methanol 90.0ml로 1차 추출시 95.0% 이상의 높은 추출률을 보였고 2차 추출시에는 9.00% 이하였다. 따라서 추출과정은 methanol 90.0ml씩 2회로 결정하였다. 추출물에 포함되어 있는 농약 이외의 가용성 방해성분들을 분리하기 위한 액체-액체 분배는 20.0ml dichlorometane 용매를 사용하여 1차 분배시 분배율이 90.0% 이상이었다. 같은 용매로 2차 분배시에는 5.00% 이하의 분배율을 보여 주었으며 2.00ppm 이상의 농도에서 dichlorometane 20.0ml씩 2회 분배시 전 과정을 통한 회수율은 95.0% 이상의 좋은 결과를 보였다.

3. 3. 정제

크로마토그램상의 방해 성분을 보다 더 분리, 제거하기 위해 1-chlorobutane : methanol 혼합액을 용리액으로 하여 4.00% alumina 컬럼에서 최적 혼합비와 용출량에 따른 회수율을 확인하였다. Methanol이 2.00% 이하의 혼합용액에서 방해성분의 제거 효과가 있었으며 2.00% 이상에서는 nuarimol 봉우리가 오히려 작아지는 경향이 보였으며, 용출량에 따른 회수율은 80.0ml

용출시 95.0% 이상의 회수율을 보였다. 이상의 결과로부터 최적 용리액으로 1-chlorobutane : methanol (99:1) 혼합액을 선택하여 100ml로 용출시킨 다음, GLC 방법에 의한 크로마토그램을 얻었고 그 결과를 Fig. 3에 보였다. Fig. 3에서 바탕선이 비교적 일정하였고 Fig. 3의 A)에서 표준시료 봉우리는 9.04min으로 나타났으며 B)와 C)에서는 사과 중에서 추출된 시료이므로 1.68, 1.90min 등에 사과산들의 봉우리가 먼저 보이고 9.04min에 nuarimol의 봉우리가 나타났다. 이때 얻어진 9.04min 위치의 봉우리들은 높이가 거의 같아서 1-chlorobutane : methanol(99:1) 혼합액을 용리액으로 사용할 때 nuarimol의 회수율은 1.00ppm의 경우 95.0% 이상의 좋은 회수율을 보였다.

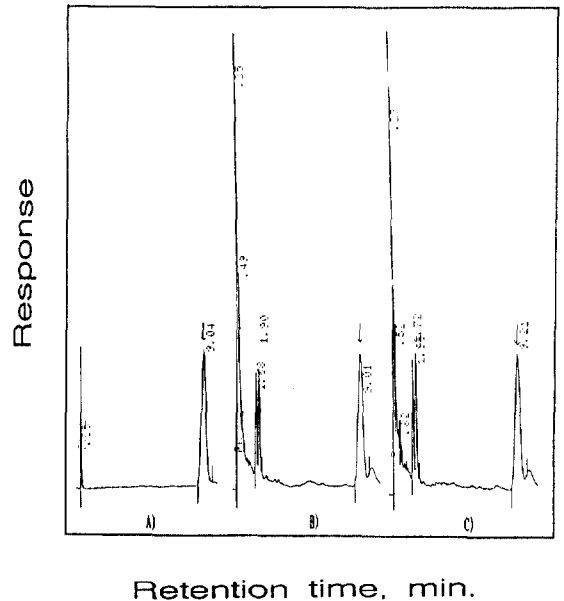


Fig. 3. GLC-ECD chromatograms of nuarimol in apple. A) standard solution, B) control extract, C) sample extract.

3. 4. 회수율 및 잔류성

이상의 분석 방법을 무처리 시료에 nuarimol이 0.200ppm과 1.00ppm이 되게 각각 첨가하여 2회 분석한 평균 회수율은 각각 79.0%와 95.0%였고 분석법의 검출한계는 0.009ppm이었으며 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 이상의 분석방법과 조건을 이용하여 실제 사과

Table 2. Recovery and detection limit by this analytical method.

Test Plant	Added Concentration (ppm)	Recovery(%)			Limit of Detection (ppm)	Minimum Detectable Amount (ng)
		A	B	Average		
Apple	0.2	82	76	79	0.009	0.2
	1.0	90	100	95		

Table 3. Residual amount of nuarimol in apple.

Number of treatment time	Taken days to harvest after final spray	Residual amount (ppm)				Maximum residue limit (mg/kg)
		A	B	C	Average	
0	Untreated check	<0.009	<0.009	<0.009	<0.009	0.1ppm (Belgium)
4	45	<0.009	<0.009	<0.009	<0.009	
5	30	<0.009	<0.011	<0.013	<0.011	
	15	<0.013	<0.016	<0.016	<0.015	
6	7	0.028	0.017	0.023	0.026	
	3	0.030	0.035	0.031	0.032	
	15	0.019	0.023	0.018	0.020	
	7	0.029	0.026	0.023	0.026	
7	3	0.055	0.055	0.052	0.054	
	7	0.030	0.031	0.029	0.030	
8	3	0.068	0.067	0.066	0.067	
	3	0.085	0.082	0.081	0.083	

의 포장 시험에 따르는 농약 잔류량을 조사한 결과인 Table 3에서 보면 수확하기 15일 전까지 5회 살포하였을 때 검출한계 근방인 0.015ppm이었고 6회 살포하면 0.020ppm이었다. 수확하기 7일 전까지 5회 살포하였을 때에는 0.026ppm, 6회 살포하면 0.028ppm, 7회 살포하면 0.030ppm으로 나타났다. 수확하기 3일 전까지 5회 살포하면 0.032ppm, 6회 살포하면 0.054ppm, 7회 살포하면 0.067ppm, 8회 살포하면 0.083ppm으로 나타났다.

이들 결과는 nuarimol이 대기 중에서 자연분해되거나 광분해되는 속도에 따라 잔류량이 결정되므로 살포한 횟수가 많을수록 또한 농도가 진할수록 잔류량이 크고, 최종 살포한 후로부터 경과시간이 짧을수록 잔류량이 큰 것을 의미한다.

벨기에의 잔류 허용량 0.1ppm을 기준으로 하여 볼 때 모든 경우의 잔류량이 0.1ppm보다는 낮은 수치이지만, 낮은 농도에서 실험할수록 회수율이 떨어지는 것을

감안하고, 인체에 대한 안전성을 고려하여 nuarimol의 사과에 대한 안전사용기준은 수확하기 7일 전까지 6회 정도(이때 잔류량은 0.028ppm)의 살포가 적당할 것으로 보인다.

4. 결론

과수 재배용 살균제인 nuarimol의 잔류성분에 대한 분석조건은, methanol 90.0ml/로 2회 추출하였고 추출물을 수용액층에서 dichloromethane 20.0ml/씩 2회 분배추출하였다. 방해성분을 제거하기 위해 4.0%의 수분이 함유된 alumina가 충전된 컬럼에서 1-chlorobutane : ethylacetate(9:1)와 1-chlorobutane : methanol (99:1) 혼합용액으로 용리시킨 용출액을 GLC로 분석하였다. 평균 회수율은 0.200과 1.00ppm 표준물 첨가시 각각 79.0%, 95.0%였다. 잔류량 분석결과 nuarimol의

잔류량은 수확 3일 전 8회 살포시 0.0830ppm이었고, 안전 사용기준은 수확 7일 전까지 6회 살포하는 것이 적당함을 알았다.

본 논문은 주식회사 경농의 지원으로 이루어진 것으로 (주) 경농의 허락 없이 인용할 수 없습니다.

Reference

1. H. Pyysalo, "Pesticide Chemistry", J. Miyamoto, P. C. Kearney, Ed. Pergamon New York, 4, 123(1983).
2. K. A. Hassall, "The Chemistry of Pesticides", Macmillan Press, Hong Kong(1982).
3. 한국식품공업협회 : '식품공정, 한국식품공업협회.' (1989).
4. C. R. Woathing, "The Pesticide Manual" 9th Ed. p. 625, The British Crop Protection Council.
5. Technical report on nuarimol : Dow 87-1 ELANCO Research Laboratories.
6. B. D. Ripley and H. E. Braun, J. Assoc. off. Anal. Chem. , **66**, 1084(1983).
7. B. C. Leppert, J. C. Markle, R. C. Helts and G. H. Fujie, J. Agric. Food Chem. , **31**, 220(1983).