

MEPS-GC/MS를 이용한 농약류 동시 수질분석 Simultaneous Determination of Pesticides in Water Using a GC/MS Coupled with Micro Extraction by Packed Sorbent

이기창 · 이원태*[†]
Ki-chang Lee · Wontae Lee*[†]

경상북도보건환경연구원 · *금오공과대학교 환경공학전공
Gyeongsangbuk-do Institute of Health and Environment

*Department of Environmental Engineering, Kumoh National Institute of Technology

(Received March 18, 2015; Revised April 13, 2015; Accepted May 15, 2015)

Abstract : This study established an analytical method to simultaneously determine six organophosphorous pesticides [methyldemeton-S, diazinon, fenitrothion, parathion, phentoate, and O-ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate (EPN)] and carbaryl in water using a gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) system coupled with on-line micro extraction by packed sorbent (MEPS) and programmed temperature vaporizer (PTV) injector. Polystyrene divinylbenzene (PDVB) was used as a sorbent of MEPS. The effects of elution solvents, pH, elution volume and draw-eject cycles of samples on sample pretreatment process were investigated. Also, quality assurance and quality control (QA/QC) and the recovery of the pesticides in environmental samples were evaluated. The elution was performed using 30 μ L of a mixed solvent (acetone : dichloromethane = 80 : 20 (v/v)). Sample pretreatment processes were optimized with seven cycles of draw-eject of sample (1 mL) spiking an internal standard and sulfuric acid. At lower pH, the analytical sensitivity of diazinon decreased, but that of carbaryl increased. The method detection limit and the limit of quantification for this method were 0.02~0.18 and 0.08~0.59 μ g/L, respectively. The method precision and accuracy were 1.5~11.5% and 83.3~129.8%, respectively, at concentrations of 0.5~5.0 μ g/L. The recovery rates for all the pesticides except carbaryl in various environmental samples ranged 75.7~129.3%. The recovery rate of carbaryl in effluent sample was over 200% whereas carbaryl in drinking water, groundwater, and river water were in the acceptable range.

Key Words : Organochlorine Pesticides, Carbaryl, Micro Extraction by Packed Sorbent (MEPS), Polystyrene Divinylbenzene (PDVB), Gas Chromatography Mass Spectrometry, Limit of Quantification

요약 : 본 연구는 on-line micro extraction by packed sorbent (on-line MEPS)와 시료다량주입장치인 programmed temperature vaporizer (PTV) injector를 결합한 가스크로마토그래피 질량분석 시스템을 이용하여 유기인계 농약인 methyldemeton-S, diazinon, fenitrothion, parathion, phentoate, O-ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate (EPN)과 카바이트계인 carbaryl에 대한 동시 수질분석법을 확립하였다. MEPS 내 sorbent는 polystyrene divinylbenzene (PDVB) 재질을 이용하였다. 시료전처리시 추출용매 종류, pH, 추출용매량 및 시료주입왕복횟수가 분석에 미치는 영향과 정도보증(QA/QC), 그리고 환경시료에 대한 각 물질의 회수율을 평가하였다. 추출용매는 acetone과 dichloromethane을 80 : 20 (v/v)으로 혼합하여 사용하였고, 내부표준물질과 황산을 첨가한 시료 1 mL를 대상으로 추출용매량 30 μ L, 시료주입왕복횟수를 7회로 추출하여 분석조건을 최적화하였다. pH가 낮을수록 Diazinon의 분석감응도는 감소한 반면 carbaryl의 분석감응도는 증가하였다. 정도보증결과 항목별 방법검출한계 및 정량한계는 각각 0.02~0.18 μ g/L, 0.08~0.59 μ g/L로 낮았으며, 농도범위 0.5~5.0 μ g/L 수준에서 정밀도와 정확도 범위는 각각 1.5~11.5%, 83.3~129.8%로 나타났다. 환경시료 중 carbaryl을 제외한 모든 항목의 회수율은 75.7~129.3%로 적합하였다. Carbaryl에 대한 회수율은 수돗물, 지하수, 하천수 분석에서 적합한 범위를 나타냈으나, 하수처리방류수에서는 200% 이상으로 만족하지 못하였다.

주제어 : 유기인계 농약, 카바릴, MEPS, PDVB, 가스크로마토그래피 질량분석기, 정량한계

1. 서론

농약(pesticides)은 곤충으로부터 농작물을 보호하고, 농산물 생산 증대를 위해 지난 세기부터 전 세계적으로 널리 사용되어 왔으며, 유기염소계 농약(organochlorine pesticides, OCPs), 유기인계 농약(organophosphorus pesticides, OPPs), 카바메이트계 농약(carbamates pesticides, CPs), 피레트로이드계 농약(pyrethroid pesticides, PPs) 등과 같은 유기농약류들이 대표적이다.^{1,2)} 하지만, 이들 화학물질의 무분별한 사

용은 먹이사슬을 통한 생물학적 농축과 환경오염을 야기할 수 있으며, 또한 많은 농약류들이 독성과 잔류성을 갖고 있어 미량수준에서도 생태계와 인체 건강에 유해한 영향을 줄 수 있다.^{1,3)} 이러한 이유로 식품, 물, 다양한 환경시료에 대한 잔류농약의 지속적인 모니터링이 필요할 것으로 판단된다. 유럽연합(European Union, EU)은 Council Directive 98/83/EC에 먹는물 중 개별농약과 전체농약에 대한 최대허용농도를 각각 0.1, 0.5 μ g/L로 가이드라인을 설정하고 있다.^{4,5)} 국내의 경우 methyldemeton-S, diazinon, fenitrothion,

[†] Corresponding author E-mail: wtlee@kumoh.ac.kr Tel: 054-478-7636 Fax: 054-478-7859

parathion, phentoate, O-ethyl O-(4-nitrophenyl) phenylphosphonothioate (EPN)과 같은 유기인계 농약과 carbaryl에 대하여 수질을 규제하고 있으며, 수질기준은 수질관리분야에 따라 달리하고 있다.

최근 몇 년 동안 chromatographic methods, UV-visible/fluorescence spectrophotometry methods, electro-luminescence/chemi-luminescence methods 등 농약류를 간편하고 빠르게 검출할 수 있는 분석방법들이 많이 개발되어 왔다.⁶⁾ 이 중 미량농도의 유기인계 농약분석을 위해 gas/liquid chromatography 또는 UV-visible spectrophotometry 시스템을 이용한 기기분석방법이 가장 많이 이용되고 있다.^{3,7)} 기기분석 전에 시료는 추출과 같은 전처리과정을 반드시 거쳐야 하며, 액액추출방법(liquid-liquid extraction, LLE)과 고상추출방법(solid phase extraction, SPE)이 농약 추출에 가장 많이 이용되고 있다.⁵⁾ 하지만, LLE 방법은 전처리 시간과 용매 사용량이 많으며, SPE 방법은 LLE에 비해 용매사용량은 적지만 추출칼럼 사용에 따른 전처리 비용증가와 기술을 요하는 단점이 있다.⁵⁾ 따라서, 최근에는 용매사용량을 줄이고, 추출과정이 간편하고 on-line 자동분석이 가능한 다양한 미량추출기술(microextraction techniques)이 많이 소개되고 있으며,⁵⁾ 이들 중에는 고상미량추출(solid phase microextraction, SPME),^{8,9)} 교반막대흡착추출(stir bar sorptive extraction, SBSE),^{10,11)} 액상미량추출(liquid-phase microextraction, LPME),^{12,13)} magnetic solvent bar liquid-phase microextraction (MSB-LPME),⁵⁾ matrix solid-phase dispersion-solid phase extraction (MSPD-SPE),⁷⁾ micro extraction by packed sorbent (MEPS)¹⁴⁾ 등의 전처리방법이 있다. 이 중 MEPS는 시료 전처리분야에서 가장 최근에 개발된 것으로 SPE 방법을 축소 한 추출방식이며,¹⁴⁾ 자동화가 가능하고 시료량, 추출시간 및 용매의 소모가 매우 적고 다량시료주입이 가능한 programmed temperature vaporizer (PTV) injector와 연계를 통해 분석감응도를 향상시킬 수 있다는 장점이 있다.¹⁵⁾ 최근 MEPS를 이용하여 의약품(drugs),^{14,16,17)} 대사산물(metabolites),¹⁸⁻²⁰⁾ 농약류(pesticides),²¹⁻²³⁾ 다환방향족탄화수소(PAHs),²⁴⁾ 인조사향(synthetic musks)¹⁵⁾ 등 다양한 화학물질을 분석한 사례들이 많이 보고되고 있다. 이 중 농약분석과 관련하여 Bagheri^{21,22)}은 off-line 방식으로 polydiphenylamine (PDPA)와 polyaniline (PANI) sorbent를 이용하여 triazines, phosphorous pesticides, organochlorine pesticides, aryloxyphenoxy propionic acid pesticides에 대해 분석하였다고 보고하였으나, 아직까지 MEPS를 이용한 농약분석 사례는 많지 않다.

본 연구는 국내 수질규제항목 중 methyldemeton-S, diazinon, fenitrothion, parathion, phentoate, EPN, carbaryl과 같은 농약류를 대상으로 MEPS와 gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)를 연계한 자동분석을 시도하였다. 특히, 카바메이트계 농약인 carbaryl은 열에 민감하고 변하기 쉬워 GC 분석에 용이하지 않음에 따라²⁵⁾ EPA Method 531.2, Standard Method 6610, ES 05502.1a에²⁵⁻²⁷⁾ 주분석법으로 high performance liquid chromatography (HPLC)/fluorescence

detector를 이용한 방법을 소개하고 있다. 국내 시험법인 ES 05502.2a에 GC 분석방법이 등재 되어 있으나 유도체화후 추출과정을 거치는 등 전처리과정이 복잡하다.²⁷⁾ 본 연구는 MEPS-GC/MS를 이용하여 carbaryl을 유도체화하지 않고 유기인계 농약과 동시분석하는 새로운 분석방법을 확립하고 이에 대한 유효성을 평가하였다. MEPS용 sorbent는 polystyrene divinylbenzene (PDVB)를 이용하였고, 추출용매종류, pH의 영향, 추출용매량 및 시료주입왕복횟수에 따른 분석감응도와 정정보증(QA/QC) 및 환경시료에 대한 회수율 등을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약 및 시료

모든 표준시료 제조는 Milli-Q Integral 3 (18.2 MΩ · cm, Millipore, USA) 시스템으로 생산된 정제수를 이용하였다. Methyldemeton-S, diazinon, fenitrothion, parathion, phentoate, EPN의 표준시약은 1.0 mg/mL (custom pesticide mix, Accustandard, USA)의 농도를 사용하였다. Carbaryl은 농도 99.8% (Fluka, Germany)인 표준시약을 이용하였다. 7종 농약의 혼합표준원액은 표준시약을 methanol에 녹여 농도 20 mg/L로 제조하였다. 표준용액은 표준원액을 정제수로 희석하여 농도 50 µg/L로 조제하였으며, 이를 정제수로 단계적 희석하여 검량선용 시료를 만들었다. 내부표준물질(internal standard, IS)은 triphenylphosphate (TPP, 0.5 mg/mL, Accustandard)을 정제수에 희석하여 0.1 mg/L로 조제하였으며, 최종적으로 준비한 시료 1 mL에 20 µL 첨가하였다. 각 용매별 추출특성은 GC등급(Merck, Germany)인 methanol, acetone, dichloromethane, hexane, acetonitrile을 사용하여 평가하였다. 환경시료에 대한 7종 농약의 회수율 분석은 수돗물, 지하수, 하천수, 하수처리방류수를 0.45 µm membrane filter (Millipore, USA)로 여과한 다음 표준용액을 첨가하여 수행하였으며, 각 시료에 대한 주요 수질특성을 Table 1에 나타내었다. 용존유기탄소(dissolved organic carbon,

Table 1. Water qualities of environmental samples tested

Parameters	Tap water	Groundwater	River water	Effluent
pH	7.1	7.6	7.8	7.4
Turbidity, NTU	0.09	0.11	1.06	0.51
Alkalinity, mg/L as CaCO ₃	47	156	63	38
Hardness, mg/L as CaCO ₃	57	150	82	170
DOC, mg/L	1.25	0.55	2.79	4.03
F ⁻ , mg/L	0.11	0.23	0.1	3.03
Cl ⁻ , mg/L	10.7	7.8	16.8	135.6
NO ₃ ⁻ -N, mg/L	2.9	0.6	2.7	10.3
SO ₄ ²⁻ , mg/L	11.6	70.7	31.9	165.0

DOC)는 0.45 µm membrane filter (Millipore, USA)로 시료를 여과한 후 TOC 분석기(Sievers 900, USA)를 이용하여 분석하였다. 알칼리도는 시료 100 mL에 0.02 N-H₂SO₄로 pH 4.5까지 적정하여 결정하였다. 나머지 항목들은 「먹는 물수질공정시험기준」에 따라 분석하였다.

2.2. MEPS 분석방법

MEPS에 장착된 sorbent는 혼성중합체(copolymer)인 polystyrene divinylbenzene (PDVB) (SHIMADZU) 재질을 사용하였으며, 기존에 많이 사용하고 있는 silica-C₁₈ (SHIMADZU) sorbent와 용매추출특성에 대해 비교분석을 하였다. MEPS BIN (barrel insert and needle, 23 gauge, SHIMADZU)의 sorbent 무게와 부피는 각각 ~4 mg, 8 µL 정도 되며, 입자크기와 공극크기는 각각 45 µm, 60 Å이다. MEPS BIN 조립은 오직 MEPS용 syringe를 사용해야 하며, syringe의 너트를 푼 다음 BIN의 polytetrafluoroethylene (PTFE) sealing ring 부분을 syringe barrel 방향으로 삽입하여 완성한다. MEPS syringe는 100 µL 용량을 사용하였으며 전처리 과정은 다음과 같다. 먼저, methanol 100 µL/회×1회, 정제수 100 µL/회×1회씩 순차적으로 PDVB sorbent를 안정화 시킨다. 그런 다음, 미리 내부표준물질을 첨가하여 준비한 시료 1 mL에 설정한 syringe plunger의 왕복횟수에 따라 시료를 왕복주입방식으로 100 µL/회씩 sorbent에 주입시킨다. 그 다음 정제수 100 µL/회×1회로 sorbent를 세정하고, 최종적으로 설정한 용매 양으로 추출하여 GC injector에 주입한다. 이때, 추출전 sorbent 건조과정은 생략하였다. 기타 MEPS 조건으로서, sorbent 안정화 및 세정과정 시 용매주입과 시료주입 시 plunger의 이동속도는 10 µL/s로 하였고, 추출용매 주입속도는 5 µL/s로 설정하였다. 시료 주입 후 세정과정은 methanol 100 µL/회×3회, 정제수 100 µL×1회로 수행하여 분석시료의 농도전이현상(carry over)을 최대한 줄이려고 하였다.

2.3. GC/MS 분석방법

7종 농약은 GC/single quadrupole mass spectrometry (GC/SQ MS, SCION, Bruker, USA)를 이용하여 분석하였다. Combi-PAL autosampler에 MEPS를 적용하였으며, GC의 시료주입은 다량시료주입이 가능한 programmed temperature vaporizer (PTV) injector를 이용하였다. PTV injector는 분석용매를 다량 주입하여 내부고온으로 용매를 휘발시켜 분석물질을 고농축시키는 시스템으로서 미량분석에 매우 유용하다. Liner는 PTV용 split liner w/frit (3.4 mm×5.0×54, RESTEK)를 사용하였다. PTV injector의 온도프로그램은 초기온도 40°C(또는 50°C)에서 0.5분 유지, 280°C까지 20°C/min로 승온시켜 총 분석시간과 비슷한 20분 정도로 설정하였다. PTV injector의 초기 split ratio는 기화한 용매배출에 영향을 주는 것으로 20과 100으로 설정하여 비교분석하였고, 이 후 0.5분 동안 splitless mode로 시료가 주입되게

하였다. 검출피크는 BR-5ms 칼럼(30 m 길이, 0.25 mm 내경, 0.25 µm 필름두께)을 이용하여 분리하였다. 칼럼유속은 1 mL/min로 하였고, 이동상 가스는 초고순도 헬륨을 이용하였다. 오븐온도설정은 초기온도 50°C에서 1분 동안 유지한 후 승온온도 20°C/min로 150°C, 10°C/min로 280°C까지 단계적으로 승온시켜 최종 2분 유지하였으며, 이때 총 분석시간은 21분 소요된다. SCION SQ MS에 적용되는 detector는 EDR (extended dynamic range)방식이며, 질량분석은 electron impact ionization (EI) mode에서 수행하였다. 이외 기타조건인 electron energy, filament emission current, source temperature, transfer line temperature는 각각 70 eV, 80 µA, 230°C, 280°C로 설정하였다. 7종 농약에 대한 정량분석은 내부표준물질을 이용하여 SIM (selected ion monitoring) mode에서 수행하였다. Methyl demeton-S의 선택이온(m/z)은 88, 60, 142, diazinon은 137, 179, 304, carbaryl은 144, 115, 116, fenitrothion은 125, 260, 277, parathion은 109, 97, 291, phentoate는 121, 246, 274, EPN은 157, 169, 185, TPP (IS)는 121, 246, 274로 설정하였다.

2.4. 분석방법에 대한 유효성 평가

본 연구는 산(acid) 첨가여부 및 내부표준물질에 의한 분석감응도 보정여부에 대한 정밀도 차이를 비교분석하였다. 검량선용 시료농도는 0.5~5.0 µg/L 범위로 하였다. 각 농도별 3회 분석평균값을 이용하여 검량선을 작성하였으며, 시료사이에 바탕시료(n=3) 분석을 통해 농도전이현상을 검토하였다. 분석방법에 대한 유효성 검증은 정도보증(QA/QC)과 환경시료에 대한 회수율 평가를 통해 수행하였다. 방법 검출한계(method detection limit, MDL) 및 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 각각 정량한계 부근의 시료 7개에 대한 98% 신뢰도에서 표준편차의 3.14, 10배로 산출하였다. 또한 5개의 시료를 대상으로 정확도(accuracy) 및 정밀도(precision), 검량선의 직선성에 대한 결정계수가 평가되었다. 환경시료에 대한 회수율은 식(1)을 이용하여 산정하였다.

$$Recovery (\%) = (C_a - C) / \alpha \times 100 \quad (1)$$

여기서, C_a는 표준농도를 첨가한 농약 측정농도, C는 환경시료에 포함된 농약 농도, α는 첨가한 농약 표준농도를 나타낸다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 추출용매 및 sorbent에 대한 영향

용매종류에 대한 7종 농약의 추출특성은 silica-C₁₈ sorbent를 이용하여 조사하였으며, 이에 대한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 추출용매는 acetone, dichloromethane, methanol, acetonitrile, hexane을 이용하였으며, 이 중 acetone과 dichloromethane이 7종 농약분석에 대한 분석감응도가 좋게

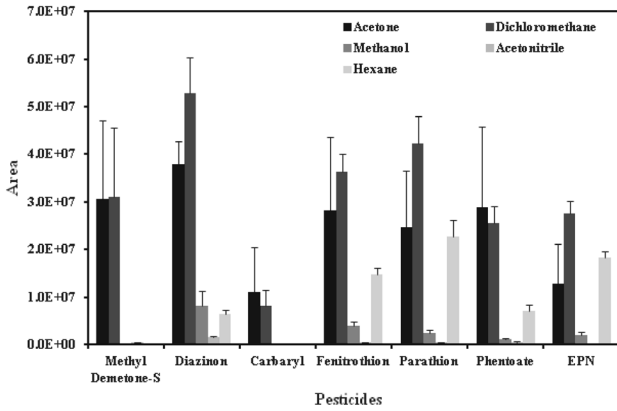


Fig. 1. Effects of elution solvents on extracting pesticides (n=3): pesticides concentration, 50 µg/L; draw-eject, 2 times; injection volume, 20 µL; sorbent, C₁₈.

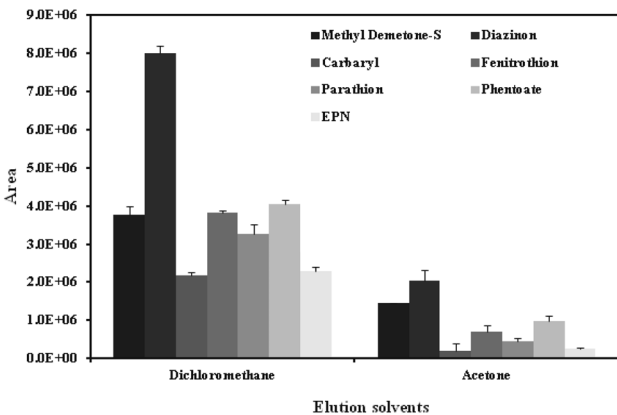


Fig. 2. Effects of elution solvents on extracting pesticides (n=3): pesticides concentration, 10 µg/L; draw-eject, 2 times; injection volume, 20 µL; sorbent, PDVB.

나타났다. Hexane의 경우 methyl demeton-S과 carbaryl에 대한 추출성이 매우 낮았지만 나머지 항목에 대해서는 좋은 추출성을 보였다. Methanol의 경우도 methyl demeton-S와 carbaryl에 대한 추출은 어려웠으며, 나머지 항목에 대한 추출성은 hexane보다 비교적 낮았다. Acetonitrile은 7종 농약에 대한 분석감응도가 다른 용매보다 매우 낮게 나타났다. 기존 보고된 MEPS를 이용한 농약분석결과에서 PDPA sorbent를 이용한 경우에는 hexane,²¹⁾ PANI sorbent에서는 acetonitrile이²²⁾ 추출성이 가장 좋은 것으로 나타났으며, sorbent 특성에 따라 용매별 추출능이 달랐다.

본 연구에서도 용매 중 추출성이 좋았던 dichloromethane과 acetone을 PDVB sorbent에 적용한 결과, acetone이 dichloromethane에 비해 항목에 따라 61.7~90.8% 정도 추출성이 현저하게 낮아 sorbent 재질에 따라 상이한 추출특성을 보였다 (Fig. 2). 본 시험방법은 추출 전 sorbent 건조절차가 생략되어 있어 소수성을 띤 dichloromethane 사용은 분석감응도의 재현성에 영향을 줄 것으로 판단되었다. 동일한 9개 시료(농도 10 µg/L)를 대상으로 dichloromethane을 이용한 추출 정밀도는 항목별 24.5~88.6% 범위로서 재현성이 비교적 낮았다.

이러한 문제점을 개선하기 위해 acetone을 dichloromethane과 80 : 20 (v/v)으로 혼합한 용매를 사용하여 재현성을 검토하였으며, 정밀도는 항목별 16.5~23.3% 범위로 나타나 dichloromethane을 단일용매로 사용한 것에 비하여 보다 안정적인 분석결과를 도출할 수 있었다.

3.2. pH 및 산 농도에 대한 영향

MEPS를 활용한 7종 농약의 분석에 pH 조건이 미치는 영향을 조사하였다. pH 조절을 위해 formic acid (1%)와 sulfuric acid (0.5%)를 사용하였다. 이 중 formic acid를 첨가한 바탕으로 분석결과에서 fenitrothion과 동일한 머무름시간(retention time) 및 스펙트럼비율을 가진 불순물 피크가 나타났다. 바탕으로(formic acid 농도, 0.01%)의 불순물 피크에 대한 피크면적이 오히려 농도 10 µg/L인 fenitrothion(formic acid 미첨가) 시료보다 약 31% 더 높았으며, 이는 정량한계농도를 매우 높이는 원인이 되기도 한다. 반면, sulfuric acid를 첨가한 바탕으로에서는 7종 농약에 대한 간섭영향이 나타나지 않았다. 따라서 모든 항목을 동시분석하기 위해 시료 pH는 sulfuric acid를 이용하여 조절하였다.

Fig. 3은 pH 변화에 따른 7종 농약의 추출특성을 나타낸다. Diazinon의 분석감응도는 pH가 3.4에서 10.1로 높아질수록 증가함에 따라 pH의 영향을 받는 것으로 나타났다. 하지만, PDPA sorbent에서 diazinon은 pH 5에서 가장 좋은 분석감응도를 보였고, 오히려 pH가 높을수록 분석감응도가 낮아지는 것으로 나타났다.²¹⁾ sorbent 재질에 따라 pH 영향이 달랐다. 반면, carbaryl은 pH가 낮은 산성조건일수록 분석감응도가 증가하였으며, pH 10.1에서 분석감응도가 급격하게 낮아졌다. Phentoate는 산성 및 중성조건에서 분석감응도 변화는 크지 않았지만, pH 10.1의 염기성 조건에서 분석감응도가 급격히 낮아졌다. 그 밖에 methyl demeton-S, fenitrothion, parathion, EPN에 대한 분석감응도는 다양한 pH 조건에서 뚜렷한 변화는 나타나지 않았다.

일반적으로 검량선용 표준시료는 정제수를 사용하여 만들

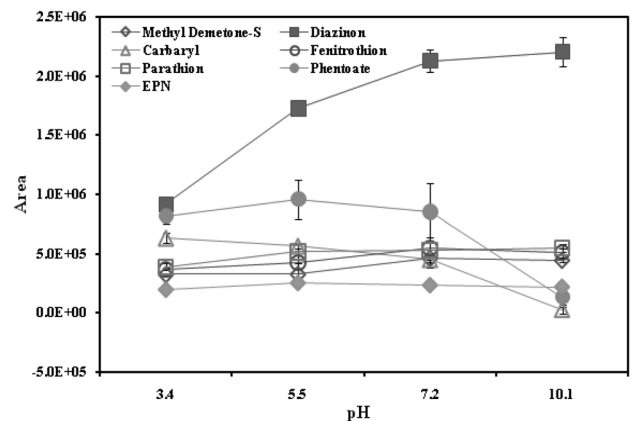


Fig. 3. Effects of pH on extracting pesticides (n=3): elution solvent, acetone : dichloromethane mixture (80 : 20, v/v); pesticides concentration, 10 µg/L; draw-eject, 2 times; injection volume, 20 µL; sorbent, PDVB.

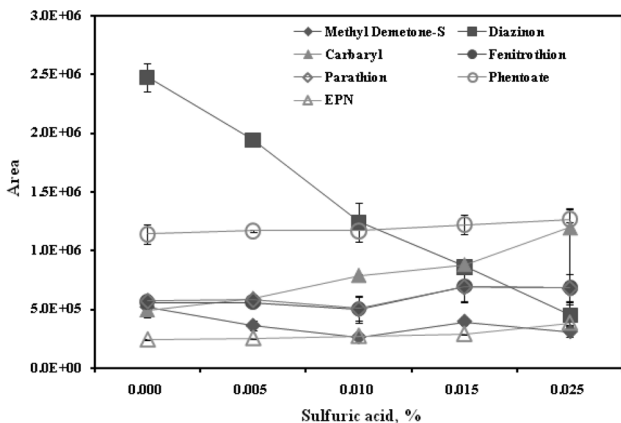


Fig. 4. Effects of concentrations of sulfuric acid on extracting pesticides (n=3): elution solvent, acetone : dichloromethane mixture (80 : 20, v/v); pesticides concentration, 10 µg/L; draw-eject, 2 times; injection volume, 20 µL; sorbent, PDVB.

기 때문에 pH가 약산성인 5.5 정도되며, 환경시료는 보통 중성 pH로 나타나는 경우가 많다. 본 시험방법에서 검량선용 표준시료와 환경시료에 대한 pH 차이는 7종 농약 중 diazinon, carbaryl, phentoate 회수율에 영향을 줄 수 있다고 판단되었다. 따라서 모든 항목을 동시분석하고 회수율에 대한 오차발생을 줄이기 위해서는 동일한 pH조건에서 분석할 필요가 있다. 대체로 7종 농약은 산성 pH에서 분석감응도가 좋게 나타났으며, 이 중 diazinon의 분석감응도가 pH가 낮을수록 감소하였지만 양호한 수준으로 동시분석을 가능하게 하였다. 시료 중 sulfuric acid 농도범위를 0~0.025%로 조절하여 7종 농약에 대한 분석감응도 변화를 조사하였다. Diazinon의 분석감응도는 산의 농도가 높을수록 감소하였고, carbaryl은 증가하였으며 나머지 항목에 대해서는 뚜렷한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 4). 따라서 본 연구는 carbaryl과 diazinon의 분석감응도를 고려하여 시료 내 적절한 sulfuric acid 농도를 0.01%로 선택하였으며, 이때 시료의 pH는 약 3으로 나타났다.

3.3. 추출용매 주입량 및 시료주입왕복횟수에 대한 영향

PTV injector는 시료를 다량으로 주입하여 분석감응도를 높일 수 있다는 장점이 있다. 초기온도 50 °C, split 비율 20인 PTV injector 조건에서 농도 0.5 µg/L인 시료를 대상으로 용매량을 5~35 µL 범위로 추출하여 주입한 결과, 20 µL까지는 분석감응도가 증가하였으나 35 µL에서는 분석이 되지 않았다(Fig. 5(a)). 이는 다량의 용매가 기화되면서 injector port insert (liner) 안에 불완전한 체류로 인해 분석물질이 손실되었기 때문인 것으로 사료된다. 추출용매 주입량이 많을수록 PTV injector의 초기온도를 낮추고 초기 split 비율을 증가시켜 분석조건을 최적화함에 따라 기존 PTV injector의 조건을 초기온도 40 °C, 초기 split 비율 100으로 변경하여 설정하였다. 변경된 PTV injector 조건에서 용매량을 20~50 µL 범위로 추출하여 주입한 결과 50 µL에서는

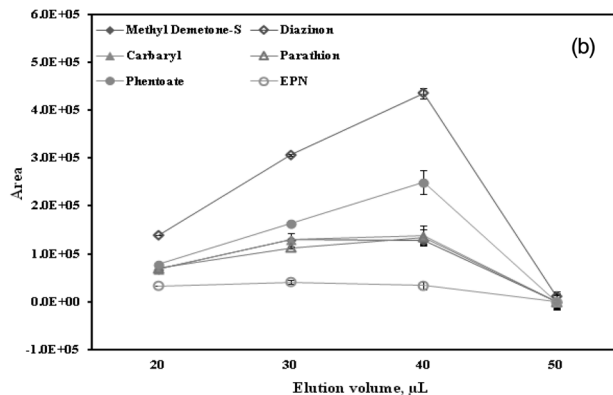
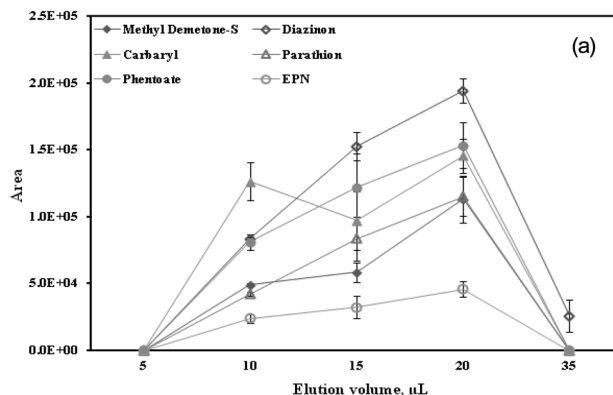


Fig. 5. Effects of elution volumes on extracting pesticides at different PTV conditions: elution solvent, acetone : dichloromethane mixture (80 : 20, v/v); pesticides concentration, 0.5 µg/L; draw-eject, 10 times; sorbent, PDVB; (a) initial temperature 50 °C, initial split ratio 20; (b) initial temperature 40 °C, initial split ratio 100.

시료손실이 발생하여 분석이 되지 않았지만, 이전 조건에 비해 최대 40 µL까지 추출용매량을 증가시켜 분석감응도를 높일 수 있었다(Fig. 5(b)). 본 연구는 시료주입량을 40 µL로 하여 나타난 분석감응도가 30 µL와 비교하였을 때, 일부 항목에서 별다른 차이가 나타나지 않아 추출용매 주입량을 30 µL로 설정하였다.

농도 0.5 µg/L인 시료를 대상으로 안정적이고 높은 분석감응도를 나타내기 위해 sorbent에 시료의 시료주입왕복횟수를 3회, 7회, 10회로 설정하여 분석하였다. 시료주입왕복횟수를 3회로 하였을 때 methyldemeton-S (S/N비: 22)을 제외한 나머지 항목에 대한 S/N비는 89이상으로 나타나 정량을 위한 안정적인 분석감응도를 보였다. 해당분석조건에서 7종 농약을 안정적으로 동시분석하기 위해서는 비교적 분석감응도가 낮은 methyldemeton-S을 고려하여 시료주입왕복횟수를 대략 7회 이상 수행해야 할 것으로 판단되었다.

3.4. 정정보증(QA/QC) 및 회수율

Sulfuric acid 첨가로 인한 동일한 산성 pH 조건은 정량분석 시 pH에 따른 회수율 오차를 줄일 뿐만 아니라 분석감응도의 정밀도를 높이기도 하였다. 분석농도 0.5, 1.0 µg/L인 시료를 대상으로 산을 첨가한 시료의 정밀도(n=8)는 3.5~

19.5%로서 미첨가 시료(23.2~63.6%)보다 분석감응도에 대한 재현성이 더 좋게 나타났다. 두 경우 모두 내부표준물질을 이용한 분석감응도 보정으로 인해 정밀도가 각각 1.5~11.5%, 0.2~30.4%로 향상되었지만, 보다 재현성 있는 농약분석을 위해서는 산의 첨가가 필요할 것으로 판단되었다. 특히, 산을 첨가하지 않았을 때 carbaryl의 분석감응도 변동폭이 다른 항목에 비해 높아 안정적이지 않았다. 이로 인해 농도 0.5 µg/L 시료에 대한 분석감응도가 농도 1.0 µg/L인 시료보다 비슷하거나 높게 나타나는 경우도 간혹 발생하여 정량 분석에 대한 신뢰성을 낮추었다.

MEPS를 이용한 7종 농약 분석 시 MDL과 LOQ 농도를 더 낮추기 위해서는 내부표준물질에 의한 분석감응도 보정이 반드시 필요하였다. 정도보정은 내부표준물질과 sulfuric acid를 첨가한 시료 1 mL를 대상으로 시료주입왕복횟수 7회 및 추출용매량 30 µL로 7종 농약을 추출하여 수행하였다. 7종 농약에 대한 MDL과 LOQ 범위는 각각 0.02~0.18 µg/L, 0.08~0.59 µg/L로 낮게 나타났다. Bagheri^{21,22)}은 MEPS 분석으로 농약별 LOQ 범위를 각각 0.01~0.1 µg/L, 0.01~0.3 µg/L로 도출하였다고 보고하였다. 이는 본 연구결과보다 비교적 낮은 수치였으나 시료량, 추출용매량, 시료주입왕복횟수가 많아서 나타난 결과라고 판단된다. 분석농도 0.5, 1.0, 5.0 µg/L인 시료를 대상으로 항목별 정확도 범위는 각각 97.9~129.8%, 83.3~99.7%, 95.8~100.4%, 정밀도 범위는 각각 1.5~10.8%, 1.8~11.5%, 4.1~10.0%로서 저농도 및 고농도에서 모두 적절하게 나타났다. 검량선의 직선성에 대한 결정계수(R²)는 0.9954~0.9999 범위로 나타났다.

본 시험방법에 대한 농도전이현상을 검량선용 최대농도인 5 µg/L 시료 다음에 바탕시료1, 바탕시료2, 바탕시료3을 순서대로 분석하여 조사하였다. 바탕시료1에서 농약류 검출농도는 EPN이 농도 5 µg/L의 8.1% 수준으로 농도전이현상이 가장 높았고 나머지 항목에서 2.7~4.4% 수준으로 나타났다. 바탕시료2에서 검출은 EPN이 2.0%, 나머지 항목은 노이즈 피크 수준으로 나타났다. 바탕시료3에서는 모든 항목에서 농도전이현상이 나타나지 않았다. 따라서 검출농도 5 µg/L 수준의 시료를 본 방법으로 분석한 이후에는 도출한 LOQ 수준을 고려하여 최소한 바탕시료 1~2개 정도를 삽입하여 분석결과를 검토하거나 sorbent의 세정횟수를 증가할 필요가 있다.

모든 환경시료에서 7종 농약은 검출되지 않았다. 환경시료에 1.0과 5.0 µg/L의 농도가 되도록 농약물질을 첨가한 시료에 대한 회수율 범위는 수돗물 83.9~117.0%, 지하수 77.0~123.9%, 하천수 75.7~120.1%로 만족하게 나타났다. 하지만, 하수처리방류수의 경우 두 농도에서 carbaryl에 대한 회수율은 200% 이상으로 부적절하게 나타났으며, 나머지 항목에 대한 회수율 범위는 76.2~129.3%로 적절하였다. 따라서, 본 시험방법은 수돗물, 지하수, 하천수 중 7종 농약에 대한 수질분석방법으로 유효하였으며, 하수처리방류수의 경우는 카바릴을 제외한 6종 농약에 대하여 유효하였다. 또한, 시료전처리부터 최종분석까지 완전자동화가 가능하여 다른 시험방법에 비해 빠르고 간편하게 분석할 수 있다는 장점이 있다.

4. 결론

본 연구는 on-line MEPS와 PTV injector를 갖춘 GC/MS 분석시스템을 이용하여 carbaryl의 유도체화과정 없이 methyl-demeton-S, diazinon, fenitrothion, parathion, phentoate, EPN의 유기인계 농약과 동시분석하는 새로운 분석방법을 확립하였으며, 다음과 같은 연구결론을 얻었다.

- 1) 내부표준물질과 sulfuric acid를 첨가한 7종 농약 표준시료 1 mL를 대상으로 시료왕복주입횟수 7회, 추출용매량 30 µL로 추출하여 MEPS 분석조건을 최적화 하였으며, 추출용매 주입량 및 시료주입왕복횟수가 증가함에 따라 분석감응도가 높아졌다.
- 2) 시료 pH 약 3에서 분석대상 7종 농약을 동시분석하고 분석정밀도를 높일 수 있었다. 또한, 검량선용 표준시료와 분석시료의 동일한 pH 조건은 시료간의 항목별 pH 영향을 상쇄하여 회수율에 대한 오차를 없애 주었다.
- 3) 환경시료 중 수돗물, 지하수, 하천수의 7종 농약에 대한 회수율은 75.7~123.9% 범위로 만족하게 나타났다. 하지만, 하수처리방류수의 경우 유기인계 농약 6종의 회수율은 76.2~129.3% 적합한 수준이었으나, carbaryl은 200% 이상으로 부적절하였다.
- 4) 본 시험방법은 농약을 전처리와 최종분석까지 완전자동화로 연계하여 빠르고 간편하게 동시수질분석할 수 있는 유효한 방법인 것으로 나타났다.

Acknowledgement

본 연구는 경상북도의 지원과 국립환경과학원 환경측정 분석기반구축사업(760-1900-1946-309), 중소기업청의 기술혁신개발사업(S2092789) 및 산학공동기술개발지원사업(C01-85821)의 일환으로 수행되었습니다.

KSEE

References

1. Hu, C., He, M., Chen, B. and Hu, B., "A sol-gel polydimethylsiloxane/polythiophene coated stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-flame photometric detection for the determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples," *J. Chromatogr. A*, **1275**, 25~31(2013).
2. Seebunrueng, K., Santaladchaiyakit, Y. and Srijaranai, S., "Vortex-assisted low density solvent based demulsified dispersive liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water samples," *Chemosphere*, **103**, 51~58(2014).
3. Mauriz, E., Calle, A., Abad, A., Montoya, A., Hildebrandt, A., Barceló, D. and Lechuga, L. M., "Determination of car-

- baryl in natural water samples by a surface plasmon of resonance flow-through immunosensor," *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 2129~2136(2006).
4. Ballesteros, E. and Parrado, M. J., "Continuous solid-phase extraction and gas chromatographic determination of organophosphorus pesticides in natural and drinking waters," *J. Chromatogr. A*, **1029**, 267~273(2004).
 5. Wu, L., Song, Y., Hu, M., Zhang, H., Yu, A., Yu, C., Ma, Q. and Wang, Z., "Application of magnetic solvent bar liquid-phase microextraction for determination of organophosphorus pesticides in fruit juice samples by gas chromatography mass spectrometry," *Food Chem.*, **176**, 197~204(2015).
 6. Anwar, Z. M., Rizk, M. A., Khairy, G. M. and El-Asfoury, M. H., "Determination of organophosphorus pesticides in water samples by using a new sensitive lumine scent probe of Eu(III) complex," *J. Luminescence*, **157**, 371~382(2015).
 7. Gutiérrez Valencia, T. M. and García de Llasera, M. P., "Determination of organophosphorus pesticides in bovine tissue by an on-line coupled matrix solid-phase dispersion-solid phase extraction-high performance liquid chromatography with diode array detection method," *J. Chromatogr. A*, **1218**, 6869~6877(2011).
 8. Cortes-Aguado, S., Sanchez-Morito, N., Arrebola, F. J., Garrido Frenich, A. and Martinez Vidal, J. L., "Fast screening of pesticide residues in fruit juice by solidphase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry," *Food Chem.*, **107**, 1314~1325(2008).
 9. Su, P. G. and Huang, S. D., "Determination of organophosphorus pesticides in water by solid-phase microextraction," *Talanta*, **49**, 393~402(1999).
 10. Farajzadeh, M. A., Djozan, D., Nouri, N., Bamorowat, M. and Shalamzari, M. S., "Coupling stir bar sorptive extraction dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration of triazole pesticides from aqueous samples followed by GC-FID and GC-MS determinations," *J. Sep. Sci.*, **33**, 1816~1828(2010).
 11. Zuin, V. G., Schellin, M., Montero, L., Yariwake, J. H., Augustod, F. and Popp, P., "Comparison of stir bar sorptive extraction and membrane-assisted solvent extraction as enrichment techniques for the determination of pesticide and benzo [a]pyrene residues in Brazilian sugarcane juice," *J. Chromatogr. A*, **1114**, 180~187(2006).
 12. Lambropoulou, D. A. and Albanis, T. A., "Liquid-phase microextraction techniques in pesticide residue analysis," *J. Biochem. Biophysical Methods*, **70**, 195~228(2007).
 13. Pinto, M. I., Sontag, G., Bernardino, R. J. and Noronha, J. P., "Pesticides in water and the performance of the liquid-phase microextraction based techniques. A review," *Microchem. J.*, **96**, 225~237(2010).
 14. Ferreira, A., Rodrigues, M., Oliveira, P., Francisco, J., Fortuna, A., Rosado, L., Rosado, P., Falcão, A. and Alves, G., "Liquid chromatographic assay based on microextraction by packed sorbent for therapeutic drug monitoring of carbamazepine, lamotrigine, oxcarbazepine, phenobarbital, phenytoin and the activemetabolites carbamazepine-10,11-epoxide and licarbazepine," *J. Chromatogr. B*, **971**, 20~29(2014).
 15. Cavalheiro, J., Prieto, A., Monperrus, M., Etxebarria, N. and Zuloaga, O., "Determination of polycyclic and nitro musks in environmental water samples by means of microextraction by packed sorbents coupled to large volume injection-gas chromatography-mass spectrometry analysis," *Anal. Chim. Acta*, **773**, 68~75(2013).
 16. Rodrigues, M., Alves, G., Rocha, M., Queiroz, J. and Falcão, A., "First liquid chromatographic method for the simultaneous determination of amiodarone and desethylamiodarone in human plasma using microextraction by packed sorbent (MEPS) as sample preparation procedure," *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **913-914**, 90~97(2013).
 17. Alves, G., Rodrigues, M., Fortuna, A., Falcão, A. and Queiroz, J., "A critical review of microextraction by packed sorbent as a sample preparation approach in drug bioanalysis," *Bioanalysis*, **5**, 1~34(2013).
 18. Micolini, L., Protti, M., Fulgenzi, G., Mandrioli, R., Ghedini, N., Conca, A. and Raggi, M. A., "A fast and feasible microextraction by packed sorbent (MEPS) procedure for HPLC analysis of the atypical antipsychotic ziprasidone in human plasma," *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, **88**, 467~471(2014).
 19. Altun, Z., Abdel-Rehim, M. and Blomberg, L. G., "New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications Part III: Determination and validation of local naesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS-LC-MS-MS," *J. Chromatogr. B*, **813**, 129~135(2004).
 20. Said, R., Pohanka, A., Abdel-Rehim, M. and Beck, O., "Determination of four immunosuppressive drugs in whole blood using MEPS and LC-S/MS allowing automated sample work-up and analysis," *J. Chromatogr. B*, **897**, 42~49(2012).
 21. Bagheri, H., Ayazi, Z., Es'haghi, A. and Aghakhani, A., "Reinforced polydiphenylamine nanocomposite for microextraction in packed syringe of various pesticides," *J. Chromatogr. A*, **1222**, 13~21(2012).
 22. Bagheri, H., Alipour, N. and Ayazi, Z., "Multiresidue determination of pesticides from aquatic media using polyaniline nanowires network as highly efficient sorbent for microextraction in packed syringe," *Anal. Chim. Acta*, **740**, 43~49(2012).
 23. Jafari, M., Saraji, M. and Yousefi, S., "Negative electrospray ionization ion mobility spectrometry combined with microextraction in packed syringe for direct analysis of phenoxyacid herbicides in environmental waters," *J. Chromatogr. A*, **1249**, 41~47(2012).
 24. Quinto, M., Spadaccino, G., Nardiello, D., Palermo, C., Amodio, P., Li, D. and Centonze, D., "Microextraction by packed sorbent coupled with gaschromatography-mass spectrometry: A comparison between "draw-eject" and "extract-discard" methods under equilibrium conditions for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water," *J. Chromatogr. A*, **1371**, 30~38(2014).
 25. AWWA, Standard Method 6610(1999).
 26. EPA, Method 531.2, Revision 1.0(2001).
 27. Korean Ministry of Environment, Korean Standards Methods on Drinking Water(2013).