

GC-ECD를 이용한 배추, 사과, 감귤, 고추, 현미 중 살균제 Prochloraz의 분석법 확립

이은미 · 이혜리 · 류명주 · 박희원 · 나예림 · 송혁환 · 금영수 · Zhu Youngzhe¹⁾ · 김정한*

서울대학교 농업생명과학대학 농생명공학부, ¹⁾Qingdao Agricultural University
(2009년 12월 11일 접수, 2009년 12월 26일 수리)

Establishment of Analytical Method of Prochloraz in Cabbage, Apple, Mandarin, Pepper and Hulled rice with GC-ECD

Eun-mi Lee, Hyeri Lee, Myoungjoo Riu, Heewon Park, Yerim Na, Hyukhwan Song, Young Soo Keum, Youngzhe Zhu¹⁾, and Jeong-Han Kim (Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Korea ¹⁾Qingdao Agricultural University, China)

ABSTRACT: Analytical method for prochloraz in cabbage, apple, pepper, mandarin, and hulled rice was established by conversion it to 2,4,6-trichlorophenol (TCP). Crop samples were extracted with acetonitrile, and partitioned with dichloromethane. The sample extracts were hydrolyzed with pyridine hydrochloride in a vial by heating for 1 hour, and analyzed with GC-ECD after partitioning with dichloromethane. Method quantification limit (MQL) of prochloraz was 0.01 mg/kg. Recoveries at 0.1 mg/kg level was 105-113% while at 0.5 mg/kg level was 82-87%. In both of the cases CV was less than 10%. Through this procedure soxhlet extraction and refluxing apparatus of conventional method were discarded and simple solvent extraction and small vial were successfully employed, resulting in simple, rapid, economic and more precise method.

Key Words: GC-ECD, MQL, Prochloraz, Recovery

서 론

Imidazole계의 침투성 살균제인 Prochloraz는 사과, 딸기, 포도, 수박등의 탄저병과 고추, 딸기 등의 흰가루병, 감귤의 저장병 방제와 벼의 종자소독용으로 사용되고 있다¹⁾. 원제는 담황백색의 반고체로써 증기압이 0.57×10^{-9} mmHg/20°C 이고, 23°C 물에는 47.5 mg/mL가 용해되며, 일반 유기용매에 잘 용해하는 특성이 있다. 흰쥐에 대한 급성경구독성 LD₅₀은 1600 mg/kg으로 급성독성은 매우 낮은 농약에 속할 뿐 아니라 항균범위가 넓으며 침투 이행성이 강하여 종자전염성 병해 및 저장병해에 예방과 치료효과가 있고 사상균의 ergosterol 생합성을 저해함으로써 살균효과를 나타내

는 것으로 알려져 있다²⁾.

Prochloraz는 환경이나 식물체 내에서 구조가 변환되어 일반적으로 3개의 독성 대사물을 생산하는데, N-formyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea 와 N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea로 전환되고 이것은 다시 2,4,6-trichlorophenol (TCP)로 분해된다(Fig. 1)³⁾.

Prochloraz의 잔류분석법은 3개의 대사산물을 모두 포함해야 하는데, 대개의 분석법은 추출 후 prochloraz 및 2개의 대사산물(N-formyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea, N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea)을 가열환류 분해반응을 통해 TCP로 전환시킨 후 TCP를 분석하고, prochloraz로 농도를 역계산 한다.

Prochloraz의 잔류분석에 대한 자료는 많지 않는데, 최 등(2002)⁴⁾이 토양 중 잔류량과 반감기를 GC-ECD를 이용하여 분석하였고, Paoli 등(1997)⁵⁾은 채소, 과일, 밀에서 GC-ECD를 이용하여 분석하였다. Sandro 등(2005)⁶⁾은 망고, 파

*연락처:

Tel: +82-2-880-4644 Fax: +82-2-873-4415

E-mail: kjh2404@snu.ac.kr

과야, 오렌지를 대상으로 HPLC-UV를 이용하였으며, Bienvenida 등(2007)⁷⁾은 과일주스에서 LC-TOFMS를 이용하여 잔류분석을 하였다. 현재 식품공전(2009) 상 prochloraz의 분석법은 soxhlet추출 장치에서 6시간 추출하고, 1시간 동안 가열환류장치를 이용하여 분해반응을 한 후 정제, 농축하여 분석한다. 또한 일본 잔류분석법⁸⁾에도 soxhlet 추출과 가열 환류 분해과정을 거쳐 C₁₈과 florisil mini column을 이용한 복잡한 정제 과정을 수행하게 된다. 따라서 soxhlet 추출, 가열환류장치 사용, 정제과정의 복잡함 등에 의해 prochloraz의 분석이 복잡하고, 시간이 오래 걸리며 회수율도 일정하지 못한 단점이 있다. 하지만, 생산단계 농약잔류허용 기준 설정연구 보고서(2009)등에 soxhlet 추출 대신에 단순 용매 추출을 이용한 보고가 있고^{4,5)}, 또한 가열환류장치도 소 규모로 만들어 시도한 보고⁹⁾가 있어서 본 연구에서는 단순용매추출 방법을 이용하고, 소규모로 가수분해 장치를 활용하며, 정제과정을 최소한으로 줄여 시간과 시약, 용매를 절약한 간편하고 신뢰성 높은 분석법으로 개선하여 대표작물을 선정하여 적용성을 확보함으로써 prochloraz 잔류분석의 범용성과 효율성을 극대화하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약, 기구

Prochloraz와 2,4,6-trichlorophenol (TCP) 표준품은 순도 95% 이상의 분석용 표준품을 Chem Service로부터 구입하여 사용하였다. Acetone, dichloromethane, methanol

은 HPLC급(B&J ACS)을, acetonitrile, dichloromethane, ethyl acetate, hexane은 EP급(Samchun chemical)을 사용하였다. 또한 sodium chloride, 무수 sodium sulfate, acetic acid는 GR급을 사용하였다. Pyridine hydrochloride는 tokyo chemical industry의 제품을, diethylene glycol은 duksan pharmaceutical 제품을 사용하였다. Solid phase extraction (SPE) cartridge는 waters사의 NH₂ (6cc, 1g) cartridge를 사용하였다. 농축기는 Buchi rotavapor R-114 (Switzerland)를 사용하였고, 농산물 시료는 믹서기(한일, HMF-1000A)를 이용하여 마쇄하였다.

TCP의 검출한계(LOD ; Limit of Detection) 및 정량한계(LOQ ; Limit of Quantification) 측정

TCP 표준용액 0.005~0.1 ppm을 2 µL씩 GC-ECD에 주입하여 크로마토그램의 signal과 noise의 비를 구하여 LOD 및 LOQ를 계산하였다.

TCP 분석의 재현성(Reproducibility)의 검증

TCP 표준용액 0.005 ppm을 연이어 6번 GC-ECD에 2 µL씩 주입하여 크로마토그램 상의 머무름 시간(tr), peak의 면적(Area), peak 높이(height)의 변이를 비교 검토하였다.

TCP 및 prochloraz의 표준검량선 작성

TCP 및 prochloraz 표준용액은 각각의 표준품을 1000 mg/L가 되도록 acetone에 용해시켜 stock solution으로 사용하였다. 이를 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005 mg/L의 농도가 되도록 차례로 희석하고, TCP는 2 µL, prochloraz는 1 µL를 GC-ECD에 주입하여 peak의 면적을 기준으로 표준 검량선을 작성하였다.

Prochloraz의 추출법 확립

Prochloraz의 SPE 정제조건 조사

NH₂ sep-pak cartridge(6 cc, 1 g)를 dichloromethane 10 mL로 활성화를 시킨 후, prochloraz 표준용액(1 mg/L) 1 mL을 가하였다. 0%, 1% 및 5% methanol/dichloromethane 각각 10 mL로 용리 시킨 후 용리액을 농축시켜 acetone 1 mL로 재정용 하고, 1 µL를 GC-ECD로 분석하였다. 또한 사과시료에 prochloraz 표준용액(1mg/L) 1 mL을 가하고 1% methanol/dichloromethane 10 mL로 용리 시킨 후 용리액을 농축시켜 acetone 1 mL로 재정용, 1 µL를 GC-ECD로 분석하였다.

Prochloraz의 분배효율 측정

50 mL의 증류수에 prochloraz 표준용액(1 mg/L) 1 mL을 첨가하고, 50 mL의 포화식염수와 50 mL의 증류수를 가한 뒤, 분액여두에 옮겨 분배용매 n-hexane, ethyl acetate 및 dichloromethane 각각 50 mL로 한 번 추출하

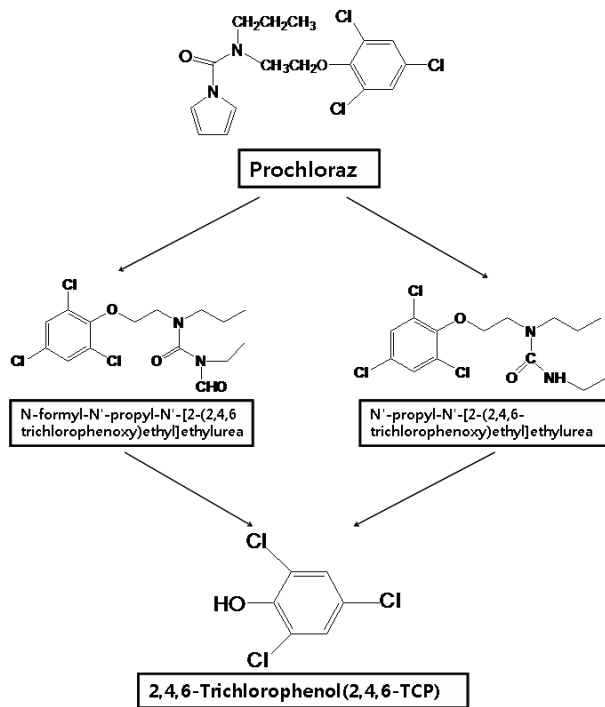


Fig. 1. Biotransformation of prochloraz.

였다. 분배 추출액을 무수 sodium sulfate에 통과 시켜 수분을 제거하고 40°C 이하에서 감압농축 하였다. 농축잔사를 5 mL acetone에 재용해하여 GC-ECD로 분석 하여 회수율을 구하였다. 위와 같은 방법으로 각각의 분배 용매 50 mL로 두 번 더 추출하여 동일한 방법으로 기기분석을 통해 세 번 분배의 분배효율을 구하여 분배과정의 용매에 따른 분배 추출효율을 계산하였다.

Prochloraz의 추출효율 측정

마쇄한 사과시료 25 g에 prochloraz 표준용액(1 mg/L)을 0.5 mg/kg 수준이 되게 첨가하여 1시간 방치 하였다. 추출용매인 acetone, acetonitrile, methanol 각각 100 mL을 가하고, 1시간 동안 진탕추출 한 다음 감압여과 하였다. 잔사를 500 mL 분액여두에 옮긴 후, 포화식염수 50 mL, 증류수 100 mL, dichloromethane 50 mL로 두 번 분배하여 합하였다. 합한 용매를 감압농축 한 후 dichloromethane 5 mL로 재용해 하였다.

Dichloromethane 10 mL로 활성화 시킨 NH₂ cartridge에 상기 용액 5 mL 중 1 mL을 가한 다음 1% methanol/dichloromethane 10 mL로 용리 시킨 후 용리액을 농축시켜 acetone 5 mL 재정용 하였고 1 µL를 GC-ECD로 분석 하였다.

TCP 추출 효율 조사

TCP의 분배 용매별 추출효율 조사

50 mL의 증류수에 TCP 표준용액(1 mg/L) 1 mL를 첨가하고, 50 mL의 포화식염수와 50 mL의 증류수를 가한 뒤, 분액여두에 옮겨 n-hexane, ethyl acetate 및 dichloromethane를 각각 50 mL로 분배 하고 분배액에 acetone에 녹인 2% diethylene glycol 용액 0.2 mL를 가하였다. 40°C 이하의 수욕조에서 감압농축 후 농축잔사를 5 mL acetone에 재용해하여 GC-ECD로 분석 하였다. 위와 같은 방법으로 각각의 분배 용매 50 mL로 두 번 더 추출하여 같은 방법으로 기기분석을 행하여 세 번 분배의 분배효율도 구하여 분배과정의 용매에 따른 분배추출효율을 계산하였다.

TCP의 전환 반응과 TCP 추출 효율 조사

Pyridine hydrochloride 5 g을 40 mL vial(25×95 mm)에 넣고 220°C silicon oil bath에서 1시간동안 반응하였다. 반응 용액을 상온에서 식힌 후 0.2 M HCl 20 mL를 가하여 반응을 종결하였다. TCP 표준용액(1 mg/L) 1 mL를 반응액에 가하여 혼합한 다음 반응액을 500 mL 분액여두에 옮기고 100 mL의 증류수, 50 mL의 포화식염수와 50 mL의 dichloromethane을 가한 뒤 분배하고, 추출액에 acetone에 녹인 2% diethylene glycol 용액 0.2 mL를 가하였다. 40°C 이하의 수욕조에서 감압농축 한 뒤 농축잔사를 5 mL acetone에 재용해하여 GC-ECD로 분석 하였다. 위와

같은 방법으로 dichloromethane 50 mL로 두 번 더 추출하여 같은 방법으로 기기분석을 행하여 분배과정의 용매에 따른 회수율을 계산하였다.

분석정량한계(Method quantification limit ; MQL)

정량한계(LOQ)와 시료량 및 분석조작 중의 회석배율을 고려하여 식 (1)에 의하여 계산하였다.

$$\text{MQL(mg/kg)} = \frac{[\text{정량한계} \times \text{GC주입 전 시료용액량(mL)} \times \text{회석배수}]}{[\text{GC주입량}(\mu\text{L}) \times \text{시료량(g)}]} \quad (1)$$

대표작물 중 TCP의 회수율(전체 개선 분석법의 회수율) 측정

마쇄한 농산물 시료 25 g 에 10 MQL(0.1 mg/kg)과 50 MQL(0.5 mg/kg)에 해당하는 prochloraz 표준용액을 가한 다음 100 mL의 acetonitrile을 가하여 30분 동안 진탕 추출하였다. 추출물을 흡입여과하고, 50 mL acetonitrile으로 잔사 및 용기를 씻어내어 앞의 여액과 합하였다. 합친 여액을 40°C 이하의 수욕조에서 감압농축하였다. 50 mL 포화식염수가 담긴 500 mL 분액여두에 플라스크안의 잔사를 100 mL 증류수와 50 mL dichloromethane으로 행구어 담고 격렬히 진탕한 후 층이 분리될 때까지 정치하였다. Dichloromethane 층을 sodium sulfate anhydride에 통과 시켜 탈수한 후, 다시 dichloromethane 50 mL를 가하여 상기의 과정을 거친 추출액을 합하고 40°C 이하에서 감압농축, 건조하였다. 추출액을 dichloromethane 5 mL에 재용해 하였고, 재용해한 용액 중 1 mL을 취하여 40 mL vial에 담고, 2% diethylene glycol 용액 0.2 mL를 가한 후 질소 건조 하였다. 40 mL vial에 5 g의 pyridine hydrochloride를 가하고 밀봉한 다음 vial을 220°C(silicon oil bath)에서 1시간동안 가열한 후 실온으로 냉각시켜 0.2 M HCl 20 mL를 가하여 반응을 용해시켰다. 반응액을 100 mL 증류수와 50 mL dichloromethane을 이용하여 500 mL 분액여두에 옮기고 격렬히 1분간 진탕한 후 층이 분리될 때까지 정치하였다. Dichloromethane층을 무수 sodium sulfate에 통과 시켜 탈수한 후, 다시 dichloromethane 50 mL를 가하여 상기의 과정을 거친 추출액을 합하고, 추출액에 acetone에 녹인 2% diethylene glycol 용액 0.2 mL를 가하여 40°C 이하의 수욕조에서 감압농축 하였다. 잔류물에 5 mL acetone로 재용해하여 2 µL을 GC-ECD로 분석 하였다.

GC-ECD 기기분석 조건

작물 중 TCP의 분석은 GC는 HP6890(Hewlett packard) 모델을 사용하였고, 컬럼은 DB-5, 검출기는 ECD를 이용하여 등온조건으로 분석하였다(Table 1).

GC에서 TCP peak의 분리 특징

Retention factor

Retention factor(k)는 머무름 시간과 보정머무름 시간(t_r' ; adjusted retention time)을 이용하여 식 (2)에 의하여 계산하였다.

$$k = \frac{t_r'}{t_m} \quad (2)$$

t_r = retention time

t_m = retention time of a non-retained compound

$t_r' = t_r - t_m$ = adjusted retention time

Number of plates(N) and Height of theoretical plates(H)

Number of plates는 머무름 시간과 peak의 너비를 이용하여 식 (3)에 의하여 계산하였고, 계산된 number of plates와 컬럼의 길이를 이용하여 식 (4)에 의하여 height of theoretical plates를 계산하였다⁹⁾.

$$N = 5.545 \left(\frac{t_r(\text{min})}{W_h(\text{min})} \right)^2 \quad (3)$$

W_h = peak width at half height

$$H(\text{mm}) = \frac{\text{column length}(\text{mm})}{N} \quad (4)$$

결과 및 고찰

대표 작물의 선정

한국보건산업진흥원의 식품의 농약 잔류허용기준(2009)에 Prochloraz를 대상성분으로 등록되어있는 농산물(Table 2.) 중 채소에서 배추, 고추를, 과일에서 사과, 감귤을 곡류에서 현미를 대표 작물로 선정하였다. 선정된 농산물의 무농약 시료는 무농약 재배가 확인된 유기농 수확물을 농가에서 직접 구매하거나 할인매장에서 구입하였다.

검출한계, 정량한계 및 재현성

검출한계는 기기 상 peak으로 검출할 수 있는 한계로서, 크로마토그램 상에서 S/N(signal과 noise)비가 2-3배 이상을 나타내는 농약의 양을 말한다. 정량한계는 기기 상으로 신뢰성 있게 정량할 수 있는 한계로서, 크로마토그램 상에서 signal과 noise의 비가 10배 이상(LOD의 3-5배 이상)을 나타내는 농약의 양을 의미 한다^{10,11)}. 다양한 농도의 표준 용액을 분석하여 S/N비를 구한 결과, TCP의 정량한계는 0.01 ng이었다.

분석의 재현성을 알아보기 위해 본 연구에서 설정한 정량한계 양(0.01 ng)을 연속으로 6번 분석한 결과 머무름 시간(t_r), peak의 면적(Area), peak 높이(Height)간의 오차가 작

Table 1. GC-ECD operating conditions of TCP in crops

Column	DB-5 fused silica capillary column, 0.53 mm I.d. × 30 m, 0.5 μm film thickness (J&W, USA)
Oven temp.	110°C
Detector temp.	300°C (ECD)
Inlet temp.	300°C
Gas flow rate	5.0 ml/min (N ₂)
Sample size	2 μL

Table 2. Maximum residue limits (MRLs) of prochloraz in agricultural products

Commodity	MRL, ppm	Commodity	MRL, ppm
Persimmon	1.0	Watermelon	0.5
Green & Red pepper fresh	3.0	Rice	0.05
Other Mushrooms	2.0	Avocado	5.0
Oat	0.5	Mushroom	0.3
Oyster Mushroom	0.1	Orange	5.0
Strawberry	0.5	Cucumber	1.0
Garic(Greem galric)	0.05	Plum	0.5
Mango	2.0	Korean Melon	0.5
Wheat	0.5	Cherry	0.05
Mandarin	2.0	Coffee Bean	0.2
Banana	5.0	Tomato	2.0
Pear	2.0	Papaya	1.0
Barley	0.5	Grape	0.5
Peach	2.0	Sweet pepper	3.0
Apple	0.5	Rye	0.5
Apricot	0.05		

Table 3. LOQ and reproducibility

LOQ	Reproducibility [Average \pm C.V(%)]	
	t_r	9.15(min) \pm 0.029
0.01 ng	Area	223.49 \pm 0.453
	Height	17.19 \pm 0.251

Table 4. Recovery of prochloraz by methanol/ dichloromethane mixture

methanol/dichloromethane	Recovery (%)
0 : 100	96.9
1 : 99	9.5
5 : 95	-

아 매우 기기가 안정적이고 정밀한 분석을 수행할 수 있음을 확인하였다(Table 3.).

TCP 및 prochloraz 검량선의 직선성

TCP 표준용액(0.005~1 ppm)을 분석하여 얻은 검량선의 회귀방정식은 $y=21988x-157.54$ ($R^2=0.9996$)로 직선성이 우수하였고, prochloraz 표준용액(0.005~1 ppm)을 분석하여 얻은 검량선의 회귀방정식도 $y=4147x+35.89$ ($R^2=0.9998$)로 직선성이 우수하였다.

용매추출/분배/정제에 의한 Prochloraz의 추출 조건 확립

Prochloraz의 잔류분석은 prochloraz를 추출한 후 TCP로 분해시키고, TCP만을 분석하기 때문에 먼저 prochloraz가 농산물 시료로부터 정상적으로 추출되는 조건을 확립해야 한다. 특히 기존의 soxhlet 법을 사용하지 않고 단순용매 추출로 대체하기 때문에 정확한 추출법을 마련해야 한다. 따라서 다음과 같이 prochloraz의 정제조건(SPE cartridge)과 분배 조건을 확립한 다음 추출용매를 선정해서 prochloraz의 전체적 추출법을 확립하였다.

정제과정에서의 prochloraz의 회수율을 확인하기 위하여 NH2 cartridge에 표준용액을 첨가하여 회수율을 확인하였으며 0%, 1%, 및 5% methanol/dichloromethane 혼합액으로 용리한 결과 0-1% 혼합액에서 좋은 회수율을 얻을 수 있었다(Table 4.). 또한 이상의 결과를 토대로 사과 추출액에 표준용액을 첨가하고 1% methanol/dichloromethane으로 정제한 결과 108.4% 회수율을 보였다.

Prochloraz의 분배법에 적용 할 분배용매로는 잔류분석 시 보편적으로 많이 사용되는 *n*-hexane, dichloromethane 및 ethyl acetate가 고려되었다. *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate의 세 용매로 각각 50 mL씩 세 번(50 mL \times 3) 분배한 결과(Table 5.), dichloromethane으로 1차, 2차에 걸쳐 추출한 회수율이 108.9%로 대상성분의 전량회수가 가능하였다.

Table 5. Efficiency of liquid-liquid partitioning with three solvents

Solvent	Recovery (%)		
	First 50 mL	Second 50 mL	Third 50 mL
<i>n</i> -hexane	86.1	10.9	3.1
Ethyl acetate	103.6	5.3	-
Dichloromethane	104.8	6.6	-

Table 6. Extraction efficiency by three different solvents

Extraction solvent	Acetone	Acetonitrile	Methanol
Recovery(%)	113.3	113.1	93.3

Table 7. Liquid-liquid partitioning of TCP by three different solvents

Partitioning solvent	Recovery (%)		
	First 50 mL	Second 50 mL	Third 50 mL
<i>n</i> -hexane	60.3	1.3	0.1
ethyl acetate	54.7	0.5	-
dichloromethane	70.9	2.5	-

분배 및 정제 조건이 확립되었으므로 시료 추출용매를 선정하고자 하였다. 추출 용매로는 농약의 잔류분석법에서 널리 사용되고 있는 acetone, acetonitrile, methanol의 적용성을 검토하였다. 사과 시료에 표준용액을 첨가하고 각 용매의 추출효율을 비교한 결과 acetonitrile과 acetone에서 우수한 결과를 나타내었으며 그 중 간섭물질의 방해가 적은 acetonitrile으로 선정하였다(Table 6.). 이상의 과정으로서 soxhlet을 사용하지 않고 용매만 사용하여 농작물 시료에서 prochloraz를 효율적으로 추출할 수 있는 방법이 확립되었다.

TCP의 회수율

이미 언급했듯이, prochloraz를 TCP로 분해해서 분석하기 때문에 분해반응액 중 TCP의 추출이 제대로 이루어져야 전체적인 회수율을 확보할 수 있다. 따라서 분해반응액 중 TCP의 분배 추출 조건을 확립하기 위해 우선 증류수에 TCP를 첨가한 다음 *n*-hexane, dichloromethane 및 ethyl acetate의 적용성을 검정한 결과 dichloromethane으로 2회 추출함으로써 70%이상의 회수가 가능하였다(Table 7.).

위의 결과를 이용해서 실제 가수분해 반응액에서의 TCP 추출효율을 보기 위해 가수분해 반응액에 TCP 표준용액을 처리하고 위에서 선정한 dichloromethane 50 mL로 2회 분배한 결과 회수율은 85.1%로 양호하였다. 또한 이러한 TCP로의 분해과정 중에서 일반적으로 크기가 크고 설치가

복잡한 환류장치를 배제하고 작은 vial(Fig. 2)을 사용하여, 간편하고 신속, 경제적이며 다수의 반응을 동시에 수행할 수 있도록 개선하였다.

분석정량한계

분석정량한계는 정량한계, 시료량 및 분석조작 중의 희석 배율 등을 감안하여 산출한 수치로서(식 1.), 연구에 사용한 전체적 분석방법으로 신뢰성 있게 정량할 수 있는 한계를 의미하며¹²⁾, 식품공전 잔류농약분석법 실무 해설서(2009)에는 0.05 mg/kg 이하 또는 MRL의 1/2 이하까지 정량이 가능하도록 추천하고 있다.

TCP의 분석정량한계는 0.005 mg/kg으로 계산되었고 여기에 prochloraz로 환산하는 환산계수 1.906을 곱하여 prochloraz의 분석정량한계는 0.01 mg/kg로서 잔류분석법 기준에 적합하였다.

개선 분석법의회수율

마쇄한 무처리 시료에 prochloraz 표준용액을 10 MQL 50 MQL이 되도록 첨가하고, 전체적으로 확립한 방법으로 3회 반복하여 분석한 결과(Table 8.), 10 MQL수준에서는 105-113%, 50 MQL 수준에서는 82-87%의 양호한 회수율을 보였고, 정밀성도 양호하여(CV<7%) 분석성분, 처리수준 및 농산물 시료 종류에 관계없이 회수율 및 분석오차는 잔류



Fig. 2. Decomposition of prochloraz in sealed vial.

분석기준인 70 -120% 범위와 분석오차 10 % 이내를 만족하였다(Table 8.). 따라서 이상의 결과에서 확립된 전체 개선 분석법은 잔류허용기준이 설정된 31 종의 농산물에 충분히 적용이 가능함을 알 수 있었다.

GC에서 TCP peak의 분리 특징

작물 중TCP의 분석 크로마토그램에서 TCP의 머무름 시간(t_r)은 약 9.2 분이었으며, 머무름 시간에서의 방해물질은 관찰되지 않았다(Fig. 3-7).

머무름 시간은 혼합물이 칼럼에 주입된 후에 각 성분이 검출기까지 도달하는데 걸리는 시간이고, 이동상은 칼럼에 머무르지 않고 최소의 시간(t_m)내에 칼럼을 통과 한다¹³⁾. 따라서 t_r 에서 t_m 을 뺀 수치가 보정머무름시간(t_r')이고 이것을 t_m 으로 나눈 수치를 retention factor(k)라 하는데, partition ratio 또는 capacity factor(k')라고 하기도 하며⁹⁾ 약 7.3 이었다.

이론단수(N)와 이론단높이(H)는 칼럼의 분리 효율을 나타내는데^{11,14)}, 이론단수가 클수록 분배가 많이 이루어져 혼합물의 분리가 더 잘 이루어진다. 따라서 N 은 클수록, H 는 작

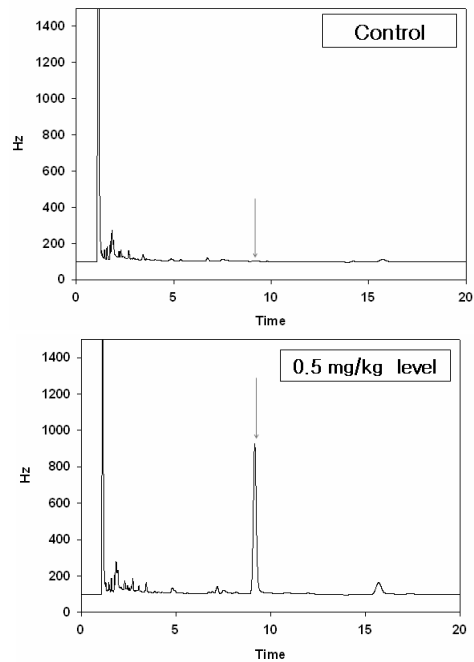


Fig. 3. Chromatogram of TCP in cabbage extract.

Table 8. Recoveries and MQL of the prochloraz in crops

Fortified level (mg/kg)	Recovery ± CV (%) ¹					MQL (mg/kg)
	Cabbage	Apple	Mandarin	Pepper	Hulled rice	
0.1	112.9±4.2	104.9±1.8	109.4±3.3	108.7±1.1	109.30±5.7	0.01
0.5	86.92±1.1	84.2±3.4	84.0±1.1	85.8±6.3	81.90±5.4	

¹Average of triplicate ± coefficient of variation.

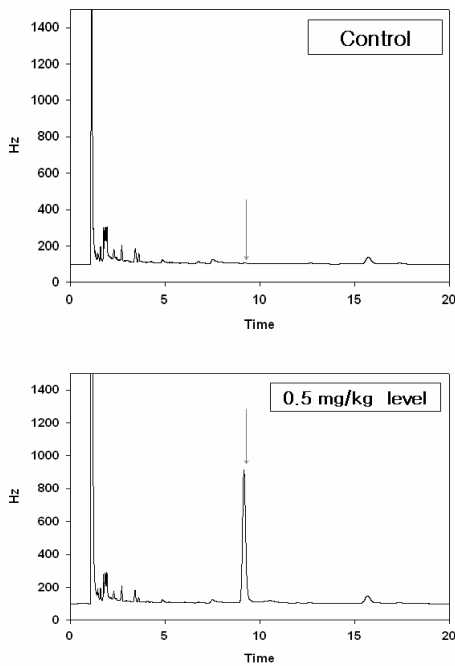


Fig. 4. Chromatogram of TCP in apple extract.

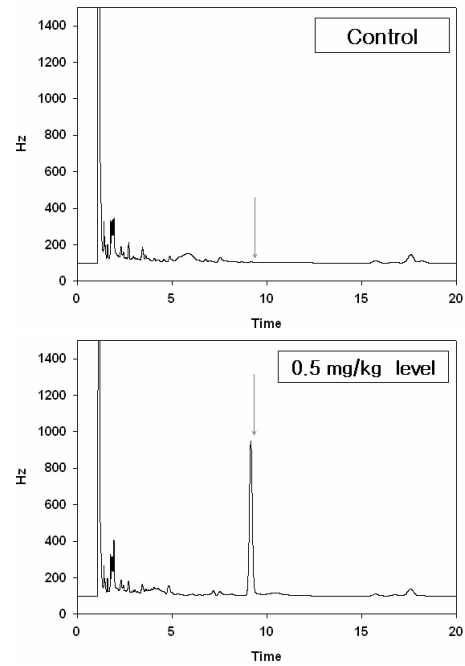


Fig. 6. Chromatogram of TCP in mandarin extract.

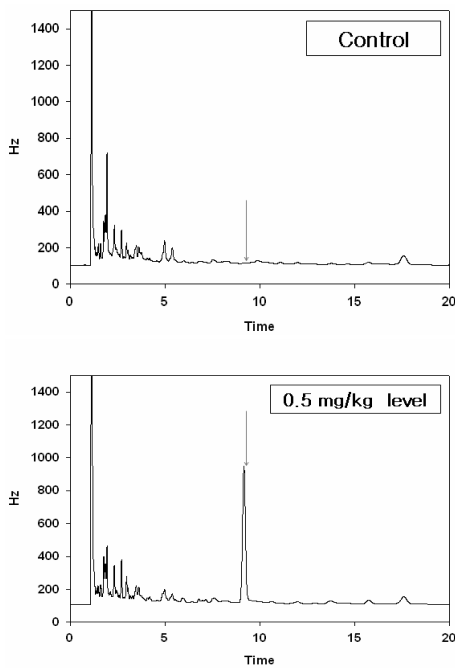


Fig. 5. Chromatogram of TCP in pepper extract.

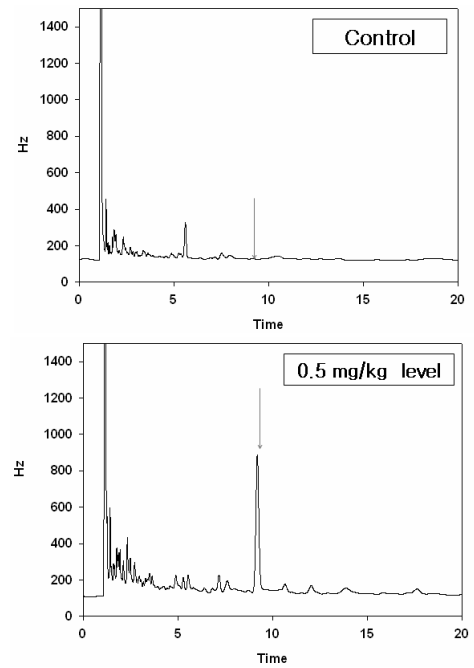


Fig. 7. Chromatogram of TCP in hulled rice extract.

Table 9. Retention factor(k), N and H of TCP peak on GC

Crops	tr(min)	tm(min)	tr'	k	N	H (mm)
Cabbage, Apple, Mandarin, Pepper, Hulled rice	9.2	1.1	8.13	7.3	12536	0.0024

을수록 칼럼이 효율적이다^{9,11,14}).

칼럼의 효율을 나타내는 N 은 12536이었으며, 따라서 H

는 0.0024 이었다(Table 9).

결 론

Prochloraz를 TCP로 전환하여 분석하는 prochloraz의 잔류분석방법을 개선 확립하였다. 기존의 분석법 중 soxhlet 추출 부분과 가열환류장치 사용을 배제하고 각각 간편한 용매추출과 소규모 가열분해법으로 대체해서 시험과정을 간편, 신속화 하여 재현성을 높였다. 대표농산물 중 prochloraz의 분석정량한계(MQL)는 0.01 mg/kg이었다. 회수율은 82-113%로 처리수준 및 농산물 시료 종류에 관계없이 회수율 및 분석오차는 잔류분석기준인 70 - 120% 범위와 분석오차 10% 이내를 만족하였다.

요 약

Prochloraz를 2,4,6-Trichlorophenol (2,4,6-TCP)로 전환시켜 분석하는 방법을 확립하였으며, 배추, 사과, 고추, 감귤, 현미를 대사 농작물로 선정하였다. 농산물 시료를 마쇄, acetonitrile로 추출하여 dichloromethane으로 분배하고 농축액에 pyridine hydrochloride를 넣고 1시간 가열 분해를 한다. 반응액을 다시 dichloromethane으로 분배한 후 GC-ECD로 분석하였다. Prochloraz의 정량한계는 0.01 mg/kg 이었다. 회수율은 0.1 mg/kg 수준에서 105-113%, 0.5 mg/kg 수준에서 82-87% 이었고, 반복 간 분석오차는 10% 미만이었다. 이러한 분석법 개선 과정에서 기존의 soxhlet 추출과 환류장치를 쓰지 않고 용매추출법과 작은 vial을 성공적으로 적용하였고, 간편, 신속, 경제적이며 정밀한 분석법을 확립하였다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 2009년 국가 잔류농약 안전관리 연구 사업단의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Korea crop protection association(2009) Pesticide Field Manual, Samjeong Press, Seoul, Korea, 328-331.
2. Tomlin, C. D. S (2006) The Pesticide Manual (14th), p.436-437.
3. Hollriäl-Rosta A., Kreuzig R., Bahadir M. (1999) *J. Pestic. Sci.* 55, 531-538.
4. Choi, Y. H., Han, S. S., Kim, I. K. (2002) Determination of residual concentration and half-life time in soils of Imidazole fungicide Prochloraz, *Analy. sci. echnol.* 15, 67-71.
5. De Paoli M., Taccheo Barbina M., Damiano V., Fabbro D., Bruno R. (1997), Simpligied determination of combine residues of prochloraz and its metabolites in vegetable, fruit and wheat samples by gas chromatography, *J. chromat. A*, 765, 127-131.
6. Sandro, N. and Maria, L. R. (2005) An alternative LC-UV Procedure for the determination of Prochloraz residue in fruits, *J. Braz. Chem. Soc.* 16, 157-162.
7. Bienvenida, G., Juan, F. G., Milagros, M., Antonio, M., and Amadeo R. F. (2007) British Crop Production Council, UKBienvendida Determination of Postharvest Fungicides in Fruit Juices by Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography Electrospray Time-of-Flight Mass Spectrometry, *J. Agric. Food Chem.* 55, 10548-10556.
8. Pesticide analytical method (2006) Chungang Press, p714.
9. Rood, Dean (2007) The Troubleshooting and Maintenance Guide for Gas Chromatographers, p.16-17, pp.22, Wiley-VCH, U.S.A8.
10. Fong, W. G, H. A. Moye, J. N. Seiber and J. P. Toth (1999) Pesticide Residues in food: Methods, Technologies, and Regulations. Wiley Interscience. pp.3-4, 40-44, Canada.
11. Miller, J. M. (2005) Chromatography : concepts and contrasts (2nd), Wiley Interscience, p.286-287, U.S.A.
12. Lee, J., Park, H., Keum, Y., Kwon, C., Lee, Y., Kim, J. (2008) Dissipation pattern of Boscalid in cucumber under green house condition, *Kor. J. Pesti. Sci.* 12, 67-73.
13. Daniel C. Harris (1997) Quantitative chemical analysis (3rd), W. H. Freeman and company, New York, USA, pp.450.
14. McNair, H. M. and J. M. Miller (1997) Basic Gas Chromatography. p.7, 51, Wiley Interscience, U.S.A.