

## 동시 다성분 분석법에 의한 농산물 중 펜시쿠론 분석

박영혜\* · 한창호 · 김애경 · 신재민 · 이재규 · 박선희 · 윤은선 · 김무상 · 채영주

서울시보건환경연구원 강남검사소

## Analysis of Pencycuron in Agricultural Products by Simultaneous Determination

Young-hye Park\*, Chang-ho Han, Ae-kyung Kim, Jae-min Shin, Jae-kyoo Lee, Sun-hee Park, Eun-sun Yun, Mu-sang Kim and Young-zoo Chae

Gangnam Agro-Fishery Products Inspection Center, Seoul Metropolitan Government Research Institute of Public Health and Environment, Seoul 138-701, Korea

(Received on July 5, 2013. Revised on July 26, 2013. Accepted on August 9, 2013)

**Abstract** An analytical method for the simultaneous determination of pencycuron in agricultural products was established by using GC-NPD. The method was validated through the guidelines of linearity, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), accuracy and precision. The calibration curve of pencycuron was linear over the concentration range of 0.02-2 mg/kg with correlation coefficient of above 0.9999. The limits of detection and quantification were 0.005 and 0.02 mg/kg. Mean recoveries of pencycuron for each sample were 79.6-107.5% at the level of 0.02 mg/kg and 86.4-112.1% at the level of 0.2 mg/kg and 84.0-104.9% at the level of 1 mg/kg. Relative standard deviation (RSD) in recoveries were all less than 5%. The intra- and inter-day precision (RSD) were 1.6-3.0% and 5.3-11.5%, respectively. The result of validation indicated that this method was accurate and sensitive assay.

**Key words** agricultural products, pencycuron, simultaneous determination, validation

### 서 론

농약은 농작물을 보호하는 약제를 의미하며 그 역할은 토양의 소독으로부터 시작되고 종자의 살균, 발아에서 결실에 이르기까지 병충해, 잡초 등의 피해를 구제한다. 농약은 그 사용목적에 따라 소독제, 살균제, 살충제, 제초제, 훈증제 등이 있으며 농작물의 병충해 예방, 구충, 생산량 증가에 기여해왔다(Choe et al., 2009). 농약의 사용으로 현대 농업은 농작물의 안정적인 공급에 기여하였고 품질 향상과 노동력을 절감시키는데 중요한 역할을 하였다. 그러나 농약은 대부분 유기합성물질로써 자체의 물리 화학적 특성에 따라 분해되는 것도 있지만 상당수가 농산물 및 토양에 잔류하게 된다

(Jeon et al., 2006).

Pencycuron[1-(4-chlorobenzyl)-1-cyclopentyl-3-phenylurea]은 phenylurea 계열 살균제로 *Rhizoctonia solani*와 *Pellicularia* spp.의 제어에 효과가 좋다(Tomlin, 1997). 비침투성(non-systemic)의 보호 살균제로(Jung et al., 2004) 몬세렌(Monceren)이란 이름으로 시장에 나왔으며 여러 작물의 *Rhizoctonia*의 억제에 사용되었다(Sumner et al., 1984; Sumner, 1987; Kataria et al., 1990). 특히 쌀과 감자의 *Rhizoctonia*의 제어에 효과적이다(Roberts et al., 1984; Kuck et al., 1988). 벼의 잎집무늬마름병, 딸기의 눈마름병, 인삼의 잘록병, 잔디밭의 라이족토니아마름병에 널리 쓰인다(Pal et al., 2005). 수화제, 액상수화제, 입상수화제로 판매되고 있으며 예방효과가 우수하고 약효 지속기간이 길어 발병초기부터 뿌리는 것이 좋고, 이삭이 썩 후에 뿌려도 약해의 염려가 없다(Korean Crop Protection Association, 2010). Pencycuron의 분자량은 328.84 ( $C_{19}H_{21}ClN_2O$ )이

\*Corresponding author

Tel: +82-2-2640-6601, Fax: +82-2-2640-6604

E-mail: ppyyh80@seoul.go.kr

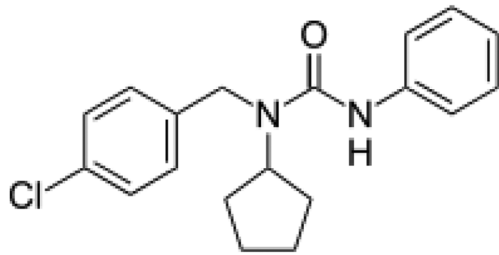


Fig. 1. Chemical structure of pencycuron.

고 무색 무취의 고체 결정으로 녹는점은 128-132°C이다. 물에 대한 용해도는 20°C에서 0.3 mg/L 수준을 나타내고 dichloromethane 200-500 g/L, toluene 20-50 g/L, isopropanol 2-5 g/L, hexane < 1 g/L의 용해도를 나타내어 다양한 유기 용매에서 잘 녹는다(Central Agricultural Pesticides Laboratory, 2009). Pencycuron의 화학적 구조는 다음과 같다(Fig. 1).

유통 농산물 중 pencycuron 잔류실태조사를 실시하여 검출 빈도를 살펴본 보고를 보면 2009년 서울지역 채소류의 잔류농약 조사 결과 살충제보다 pencycuron 등의 살균제에서 농약의 검출비율과 잔류허용기준 초과비율이 높았다(Jang et al., 2011). 또한 2010년 강서지역 잔류농약 검출빈도를 보면 검출빈도가 높은 농약상위 5종에 pencycuron이 포함되었다(Cho et al., 2010). 이처럼 pencycuron의 검출빈도는 증가하고 있으나, 현행 식품공전에 수재된 pencycuron의 분석 방법은 개별적으로 전처리를 해야하는 번거로움이 있다.

식품공전에 따르면 pencycuron은 식품 중 잔류농약 분석법 중 다성분 분석법 4.1.3.25에 따라 검체를 acetone으로 추출한 후 후로리실 칼럼크로마토그래피로 정제하고 유도체화 반응을 거쳐 기체크로마토그래프로 측정한다(Korea Food and Drug Administration, 2011). 이러한 방법은 까다롭고 시간이 오래 걸리며 경제적이지 못하다. 따라서 본 연구에서는 농산물의 pencycuron 잔류량을 식품공전의 다중농약 다성분 분석법 제2법을 적용하여 빠른 시간내에 분석하여 분석법의 타당성과 효율을 검증하고 빠른 사후처리로 소비자들에게 안전한 농산물을 공급하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

2013년 1월부터 2월까지 서울에서 유통되고 있는 농산물 중 농약이 검출되지 않은 6건(상추, 시금치, 엇갈이배추, 근대, 아욱, 배추)을 사용하여 폴리에틸렌 필름에 밀봉 포장하여 냉장고에서 보관하여 회수를 실험에 사용하였다.

### 시약 및 기구

본 연구에 사용된 pencycuron 표준품(99.5%)은 Dr.

Ethrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)의 제품을 사용하였으며, 추출용매로 acetonitrile은 J. T Baker (Phillipsburg, NJ, USA), acetone과 hexane은 Kanto (Tokyo, JAPAN)를 사용하였고 그 외 잔류농약 분석용 및 특급 시약을 사용하였다. 정제용 florisil cartridge는 Agilent Technologies (USA)를 사용하였다. 분석기로서 GC-NPD (Agilent7890A, USA)를 사용하였다. GC-NPD는 white blos bead를 사용하여 감도를 높였고 성분 확인을 위해 GC-MSD (Agilent5973, USA)를 이용하여 분석하였다.

### 분석방법

시료는 식품공전 중 잔류농약분석법 다중농약다성분 분석법 제2법(Korea Food and Drug Administration, 2011)과 Lee (1991)의 동시 다성분 분석법에 따라 실험하였다. 시료는 분쇄기(Robot coupe, USA)를 이용해 분쇄한 균질화된 시료 50 g을 취해 acetonitrile 100 mL을 넣은 후 Omni Macro Homogenizer (Omni International, USA)로 2분간 균질화하였으며, shark skin filter (Ahlstrom, USA)를 이용해서 여액을 NaCl (Junsei, Japan) 10-15 g이 있는 150 mL 분리병에 담고 teflon으로 마개를 막은 후 1분간 세계 흔들어 섞었다. 이를 정치하여 acetonitrile층과 물층을 분리킨 후 상등액인 acetonitrile층을 10 mL 취해 40°C의 수욕상에서 건조하였다. 미리 florisil cartridge를 20% acetone in hexane 5 mL로 활성화시킨 후 건조한 시료에 20% acetone in hexane 2 mL를 넣어 활성화된 cartridge에 용출시켜 시험관에 받고 다시 20% acetone in hexane 5 mL로 재용해하여 동일 시험관에 모았다. 이 용출된 액을 40°C의 항온수조에서 증발시키고 20% acetone in hexane 2 mL를 넣어 용해한 후 시험용액으로 하였으며, 기기분석 조건은 Table 1, 2와 같다.

### 표준 검량선의 작성

Pencycuron 표준품 0.02 g을 acetone 100 mL에 용해시켜 200 mg/L 표준원액을 조제하여 -20°C에 냉동보관하여 사용하였고, 이 원액을 acetone으로 희석하여 0.02, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 mg/kg로 조제하여 검량선을 작성하였다.

Table 1. Analytical conditions of GC-NPD

Column	DB-5 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)
Bead	White Blos Bead
Injection Temperature	230°C
Detector Temperature	300°C
Oven Temperature	100°C (2 min) → 10°C/min → 200°C (1 min) → 10°C/min → 260°C (9 min)
Carrier gas	N <sub>2</sub> (1.5 mL/min)

**Table 2.** Analytical conditions of GC-MSD

Column	DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
Injection Temperature	250°C
Oven Temperature	100°C (2 min) → 10°C/min → 200°C (2 min) → 10°C/min → 260°C (8 min) → 10°C/min → 270°C
Carrier gas	He (Splitless, 1 mL/min)
Ionization method	Electron Impact (70 eV)
MSD Ion source temperature	230°C
Transfer line temperature	280°C
Scan range	50-550 m/z (2.94 scans/sec)

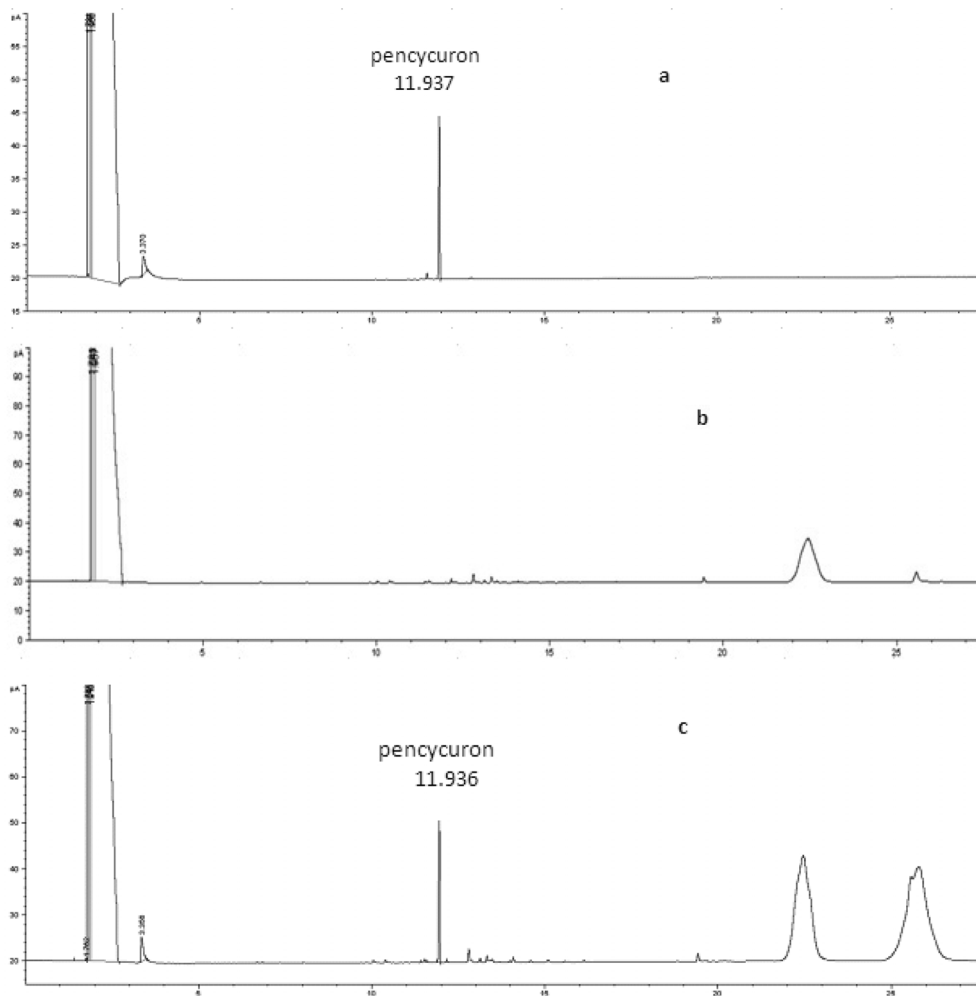
**검출한계, 정량한계**

최저 검출 농도 및 정량 농도의 확인을 위해서 pencycuron 표준원액을 0.04-0.2 mg/kg로 희석, 조제하여 검출한계 (LOD: Limit of detection) 및 정량한계(LOQ: Limit of quantification)를 측정하였다. LOD와 LOQ는 표준편차(SD)

를 직선의 기울기(Slope)로 나눈값으로 구하였고, 그 식은 아래와 같다.

$$LOD = 3.3 \times (SD/Slope)$$

$$LOQ = 10 \times (SD/Slope)$$



**Fig. 2.** GC-NPD Chromatograms (a) standard, (b) blank marsh mallow, and (c) spiked standard in marsh mallow (1 mg/kg).

**정확도 및 정밀도**

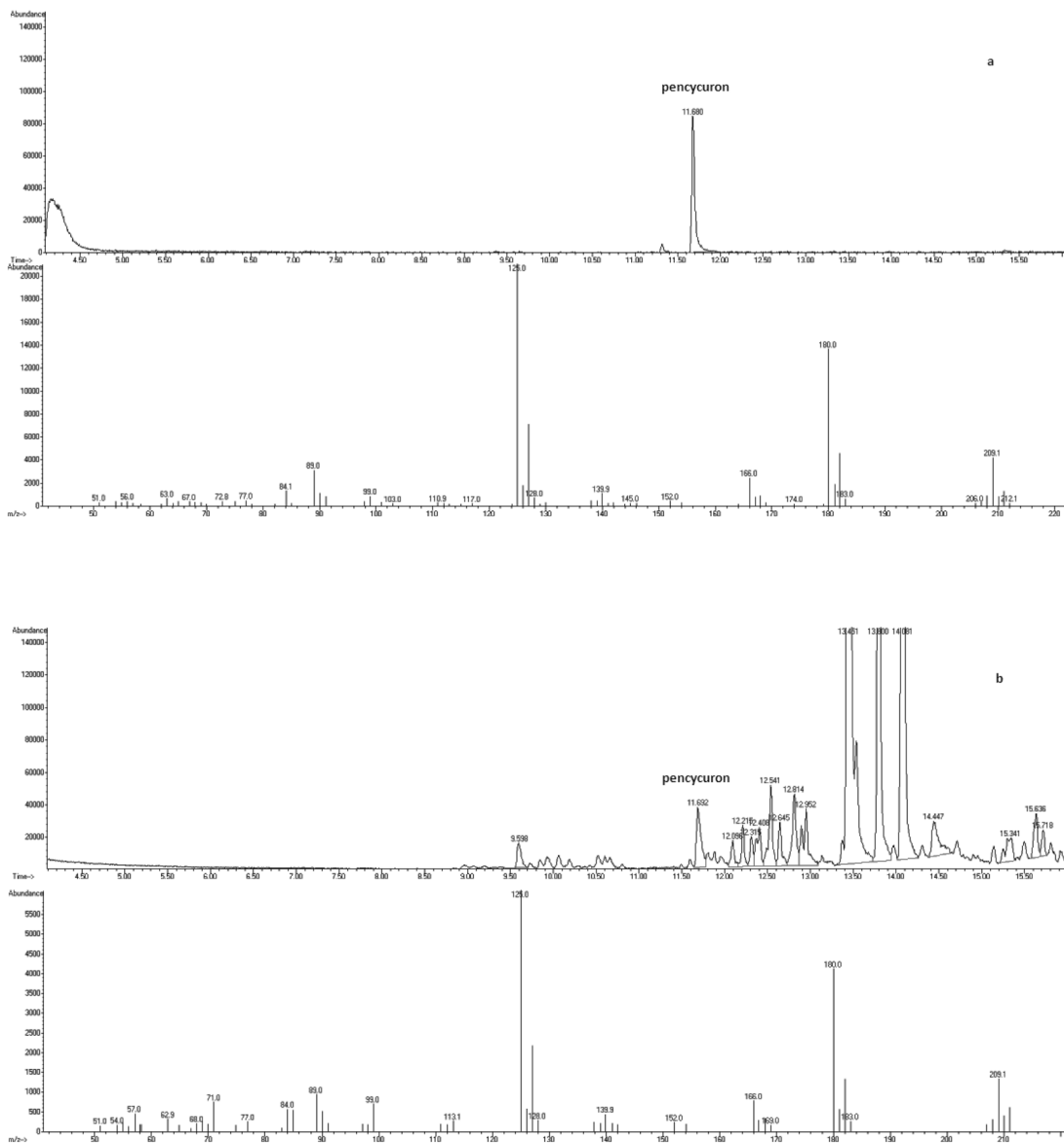
농약이 검출되지 않은 시료 6종(상추, 시금치, 엇갈이배추, 근대, 아욱, 배추)에 대하여 pencycuron 표준원액을 첨가하여 실험하였다. 분쇄하여 균질화된 시료 50 g에 pencycuron 표준원액을 LOQ (0.02 mg/kg), LOQ의 10배(0.2 mg/kg) 및 50배(1 mg/kg)에 해당하는 농도로 각각 첨가 한 후, 농도별 3회 반복하여 분석시료와 동일하게 처리한 후 측정하여 회수율(%Recovery) 및 상대표준편차(%RSD)를 구하여 분석법을 검증하고 분석결과와 신뢰성을 확인하여 정확도를 측정하였다. 정밀도는 pencycuron 표준원액을 LOQ (0.02 mg/kg), LOQ의 10배(0.2 mg/kg) 및 50배(1 mg/kg)에 해당하는 범위에서 하루에 실험을 5회씩 반복하여 일내(intra-day) 정밀도를 구하였고 3일간 반복 측정하여 일간(inter-day) 정밀

도를 구하여 상대표준편차(%RSD)를 이용해서 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**검량선의 직선성, 검출한계, 정량한계**

GC-NPD에서 pencycuron의 머무름 시간은 11.937분이었고(Fig. 2), GC-MSD로 확인한 fragment ion은 125, 180, 209등으로 나타났다(Fig. 3). Pencycuron의 검량선은 0.9999 이상의 정의 상관관계( $r^2$ )를 보였으며, GC-NPD를 이용한 측정값을 토대로 표준편차와 검량선 기울기에 근거하여 검출한계(limit of detection, LOD), 정량한계(limit of quantification, LOQ)를 구한 결과 검출한계는 0.005 mg/kg이고, 정량한계는 0.02 mg/kg였다. 식품공전 잔류농약분석법 실무



**Fig. 3.** GC-MSD total ion chromatogram and mass spectrum (a) standard, (b) spiked standard in lettuce (1 mg/kg).

**Table 3.** Recoveries of pencycuron in agricultural products

Agricultural products	Fortification (mg/kg)	Recovery (%) $\pm$ SD	RSD (%)	LOQ (mg/kg)
Lettuce	0.02	107.5 $\pm$ 1.5	1.4	0.02
	0.2	95.1 $\pm$ 2.1	2.2	
	1	84.0 $\pm$ 1.7	2.0	
Spinash	0.02	82.3 $\pm$ 2.7	3.3	0.02
	0.2	105.1 $\pm$ 2.7	2.5	
	1	100.5 $\pm$ 0.7	0.7	
Korean Cabbage (Elgari)	0.02	79.6 $\pm$ 2.5	3.2	0.02
	0.2	94.8 $\pm$ 3.1	3.3	
	1	99.1 $\pm$ 1.4	1.4	
Chard	0.02	79.8 $\pm$ 1.8	2.3	0.02
	0.2	91.9 $\pm$ 2.0	2.2	
	1	93.4 $\pm$ 1.2	1.3	
Marsh Mallow	0.02	89.9 $\pm$ 2.1	2.3	0.02
	0.2	112.1 $\pm$ 1.0	0.9	
	1	104.9 $\pm$ 1.5	1.4	
Korean Cabbage	0.02	101.8 $\pm$ 3.0	3.0	0.02
	0.2	86.4 $\pm$ 4.2	4.9	
	1	92.8 $\pm$ 2.3	2.5	

해설서(Lee, 2012)에 따르면 정량한계는 분석 결과를 수치화할 수 있는 최저한계를 의미하는데 0.05 mg/kg 미만 또는 잔류허용기준(MRL)의 1/2 이하까지를 권장하고 있어 그 기준에 적합하였다. Pencycuron의 정량한계는 0.02 mg/kg으로, 0.05 mg/kg 미만이며 잔류허용기준 중 가장 낮은 기준인 0.05 mg/kg의 1/2 이하를 만족하였다.

#### 정확도와 정밀도

실험 방법의 유효성 검증을 위해 회수율에 따른 정확도와 정밀도를 살펴본 결과는 Table 3과 같다. LOQ 수준에서는 상추에서의 회수율이 가장 높았고, 엇갈이배추에서 가장 낮았으며, 79.6-107.5%의 회수율과 1.4-2.3%의 %RSD를 나타냈다. LOQ의 10배 수준에서는 아욱에서 회수율이 가장 높았으며, 배추에서 가장 낮았고, 86.4-112.1%의 회수율과 0.9-4.9%의 %RSD를 나타냈다. 또한 LOQ의 50배 수준에서는 아욱에서 회수율이 가장 높았으며, 상추에서 가장 낮았고, 84.0-104.9%의 회수율과 0.7-2.5%의 %RSD를 보였다. 엇갈이배추, 근대는 첨가농도가 높을수록 회수율이 증가하는 경향을 보였으며 상추는 첨가농도가 증가할수록 회수율이 감소하는 경향을 보였으나 시료의 차이에 의한 일관성은 없었다. 회수율은 79.6-112.1%로 잔류농약 분석법에서 허용되는 회수율 기준 70-120% 범위기준에 적합하였고, LC-MS/MS로 분석한 인삼 중 회수율 75-112%와 비슷하였다(Yun, 2006). 또한 분석오차는 최대 4.9% 미만으로 분석

**Table 4.** Precision for the determination of pencycuron

Concentration (mg/kg)	Precision (%RSD)	
	Intra-day	Inter-day
0.02	3.0	11.5
0.2	1.8	6.9
1	1.6	5.3

오차 20% 이하의 기준에 적합하였다. 각 농도에서 회수율은 비교적 높은 정확도(accuracy)를 갖는다는 것을 알 수 있었으며, 본 연구에서 시행한 다중농약다성분 분석법이 pencycuron을 분석하는데 적합한것으로 판단되었다. 정밀도(precision)는 pencycuron 표준용액을 0.02, 0.2, 1 mg/kg의 3가지 농도로 희석하여 하루에 5번씩 3일에 걸쳐 측정하였다. 정밀도는 하루에 실험을 5회씩 반복하여 일내 정밀도인 intra-day test에서 1.6-3.0%, 3일간 반복 측정하여 일간 정밀도인 inter-day test에서 5.3-11.5%를 보여 분석오차 20% 이하의 기준과 비교하여 만족스런 수준으로 평가되었다(Table 4).

#### Literature Cited

- Central Agricultural Pesticides Laboratory <http://www.capl.sci.eg/ActiveIngredient/Pencycuron.html#physical>  
 Cho, I. S., L. H. Hwang, T. H. Cho, B. C. Choe, Y. H. Park, H. Y. Park, H. J. Kim and J. H. Kim (2010) Current status of

pesticide residues in commercial agricultural products in Gangseo, Seoul (2010). Report of S. I. H. E. 46:20~32.

Choe, K. C., N. C. Sung, Y. H. Ahn, J. G. Kim and S. Y. Yoo (2009) Introductory Environmental Science. pp.191~192. Donghwa Technology Publishing Co, Koera.

Jang, M. R., H. K. Moon, T. R. Kim, D. H. Yuk, E. H. Kim, C. K. Hong, C. M. Choi, I. S. Hwang, J. H. Kim and M. S. Kim. (2011) The survey on pesticide residues in vegetables collected in Seoul. J. Korean Pesticide Science, 15:114~124.

Jeon, J. S., M. J. Kwon, S. H. O, H. J. Nam, H. Y. Kim, J. M. Go and Y. H. Kim (2006) A survey on the pesticide residues on agricultural products on the markets in Incheon area from 2003 to 2005. J. Environmental Agriculture, 25:180~189.

Jung, Y. H., J. E. Kim, J. H. Kim, Y. D. Lee, C. H. Lim and J. H. Her (2004) Pesticide Science (The newest). pp. 213. Sigmappress, Korea.

Kataria, H. R. and P. R. Verma (1990) Efficacy of fungicidal seed treatments against pre-emergence damping-off and post-emergence seedling root rot of growth chamber grown canola caused by *Rhizoctonia solani* AG-2-1 and AG-4. Can. J. Plant Pathol. 12:409~416.

Korean Crop Protection Association (2011) Guideline of pesticides Use. pp. 322-323. Samjeong Press Inc, Korea.

Korea Food and Drug Administration (2011) Korea Food Code, pp. 10-4-10~10-4-12, Korea Food and Drug Administration, Korea.

Korea Food and Drug Administration (2011) Korea Food Code, pp. 10-4-83~10-4-85, Korea Food and Drug Administration, Korea.

Kuck, K. H., I. Ueyama, S. Kuroguchi and Y. Yamada (1988) Biological and biochemical aspects of Monceren® (Pencycuron), a *Rhizoctonia* specific fungicide. Proceedings of the fifth International Congress on Plant Pathology, p. 22.

Lee, Y. D. (2012) Handbook for the pesticide residue analytical methods of food code, 3rd ed, National Institution of Food and Drug Safety Evaluation, Cheongwon, Korea.

Lee, S. M., Michael L, Papatthakis, Hsiaoming C, Feng, Gray FH, Joyce EC (1991) Multipesticide residue method for fruits and vegetables. Fresenius J. Anal. Chem 339~376.

Pal, R., K. Chakrabarti, A. Chakraborty and A. Chowdhury (2005) Dissipation of pencycuron in rice plant. Journal of Zhejiang University, 6(8):1220~1223, Zhejiang University Press.

Roberts, D. L., and C. T. Stephens (1984) Sensitivity of *Rhizoctonia solani* to experimental fungicide NTN 19701. Phytopathology 7:854.

Sumner, D. R., J. E. Hook, N. A. Minton, J. L. Crawford and C. C. Dowler (1984) Control of crown and brace root rot of corn with soil fungicides. Phytopathology 74:633.

Sumner, D. R. (1987) Efficacy of pencycuron against isolates representing different anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like binucleate fungi. Plant Dis. 71:515~518.

Tomlin, C. D. S. (Ed.) (1997) Pencycuron, 11th ed.. The Pesticide Manual British Crop Protection Council, UK, pp. 925~937.

Yun, W. K. (2006) Simultaneous determination of pencycuron, flutolanil, in ginseng using Triple-quadrupole LC-MS/MS and GC. Seoul National University of Technology Graduated School of Industry and Engineering.

## 동시 다성분 분석법에 의한 농산물 중 펜시쿠론 분석

박영혜\* · 한창호 · 김애경 · 신재민 · 이재규 · 박선희 · 윤은선 · 김무상 · 채영주

서울시보건환경연구원 강남검사소

**요 약** GC-NPD를 이용하여 pencycuron의 다중농약다성분 분석법을 확립하고자 본 연구를 수행하였다. 제시된 분석법의 검증을 위해 예비 실험을 거쳐 농약이 검출되지 않은 상추, 시금치, 엇갈이배추, 근대, 아욱, 배추를 대상으로 실험하였다. Pencycuron 표준용액을 0.02-2 mg/kg의 농도로 희석하여 분석한 검량선의 직선성( $r^2 = 0.9999$ )은 우수하였다. 검출한계는 0.005 mg/kg이고 정량한계는 0.02 mg/kg이며 회수율은 79.6-112.1%, 분석오차는 최대 4.9% 미만으로 잔류농약 분석법에서 허용되는 회수율 기준 70-120% 범위와 분석오차 20% 이하의 기준에 적합하였다. 정밀도는 intra-day test에서 1.6-3.0%, inter-day test에서 5.3-11.5%를 나타내어 다중농약다성분 분석법을 통해 pencycuron의 직선성, 검출한계, 정량한계, 회수율과 정밀도를 검증하고 정확성을 증명하였다. 오랜 시간이 걸려 추출, 정제, 유도체화 과정을 거치는 분석법보다 빠르고 간편한 실험법인 다중농약다성분 분석법이 pencycuron의 분석 시에 유용한 분석법으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

**색인어** 동시 다성분 분석법, 농산물, 펜시쿠론, 검증