

Research Article

Open Access

GC/ECD를 이용한 농산물 중 성장조정제 dichlorprop 잔류 분석법 확립

이상목,¹ 김재영,¹ 김태훈,¹ 이한진,¹ 장문익,^{1*} 김희정,¹ 조윤제,¹ 최시원,¹ 김명애,¹ 김미경,¹ 이규식,¹ 이상재¹

¹식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 식품위해평가부

Establishment of Analytical Method for Dichlorprop Residues, a Plant Growth Regulator in Agricultural Commodities Using GC/ECD

Sang-Mok Lee,¹ Jae-Young Kim,¹ Tae-Hoon Kim,¹ Han-Jin Lee,¹ Moon-Ik Chang,^{1*} Hee-Jeong Kim,¹ Yoon-Jae Cho,¹ Si-Won Choi,¹ Myung-Ae Kim,¹ MeeKyung Kim,¹ Gyu-Seek Rhee¹ and Sang-Jae Lee¹ (¹Pesticide and Veterinary Drug Residues Division, Department of Food Safety Evaluation, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Ministry of Food and Drug Safety, Cheongwon 363-700, Republic of Korea)

Received: 23 July 2013 / Revised: 14 August 2013 / Accepted: 21 August 2013

© 2013 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

BACKGROUND: This study focused on the development of an analytical method about dichlorprop (DCPP; 2-(2,4-dichlorophenoxy)propionic acid) which is a plant growth regulator, a synthetic auxin for agricultural commodities. DCPP prevents falling of fruits during their growth periods. However, the overdose of DCPP caused the unwanted maturing time and reduce the safe storage period. If we take fruits with exceeding maximum residue limits, it could be harmful. Therefore, this study presented the analytical method of DCPP in agricultural commodities for the nation-wide pesticide residues monitoring program of the Ministry of Food and Drug Safety.

METHODS AND RESULTS: We adopted the analytical method for DCPP in agricultural commodities by gas chromatograph in cooperated with Electron Capture Detector(ECD). Sample extraction and purification by

ion-associated partition method were applied, then quantitation was done by GC/ECD with DB-17, a moderate polarity column under the temperature-rising condition with nitrogen as a carrier gas and split-less mode. Standard calibration curve presented linearity with the correlation coefficient (r^2) > 0.9998, analysed from 0.1 to 2.0 mg/L concentration. Limit of quantitation in agricultural commodities represents 0.05 mg/kg, and average recoveries ranged from 78.8 to 102.2%. The repeatability of measurements expressed as coefficient of variation (CV %) was less than 9.5% in 0.05, 0.10, and 0.50 mg/kg.

CONCLUSION(S): Our newly improved analytical method for DCPP residues in agricultural commodities was applicable to the nation-wide pesticide residues monitoring program with the acceptable level of sensitivity, repeatability and reproducibility.

Key Words: Agricultural commodities, Analytical method, Dichlorprop, GC-ECD, Plant growth regulator

*교신저자(Corresponding author)

Phone: +82-43-719-4204, Fax: +82-43-719-4200;

E-mail: 1004@korea.kr

서론

농업에서의 병, 해충, 잡초 방제 및 식물 생장 조절을 위한 농약의 사용은 농산물의 품질 향상과 식량 생산의 증대를 이루어 인류의 생활 여건에 많은 기여를 해왔다. 그러나 안전사용기준이 설정된 농약을 오남용할 경우, 환경오염의 문제 뿐 아니라 잔류허용기준 이상으로 잔류하는 농산물 또는 그 가공품이 유통될 우려가 존재하고, 이를 섭취 시 인체에 위해를 일으킬 수 있기 때문에 보다 철저한 관리가 필요하다(Kim *et al.*, 2010). 따라서 농산물의 농약잔류허용기준을 설정하여 엄격히 규제하고(Korea food code, 2013), 유통되는 농산물의 안전성 확보를 위해 지속적인 모니터링 사업을 수행하고 있으며(Do *et al.*, 2013a), 정부차원에서의 관리는 재외국 사례에서 쉽게 찾아볼 수 있다. 그 예로 미국은 FDA에서 농산물, 가공식품 및 수입품에 대한 모니터링을 실시하고 매년 보고서를 공개함으로써 유통 식품의 안전성을 확보하고 있으며(U.S. FDA pesticide monitoring program reports, 2009), EU에서도 각 회원국별로 자체적인 모니터링과 회원국 간 공동 참여 방식의 모니터링을 수행하고 있다(Commission of the European communities, monitoring of pesticide residues in products of plant origin in the European Union, 2008). 이외에 우리의 주변국 일본은 후생노동성이 주관하고 산하기관인 국립의약품식품위생연구소 및 지방위생연구소 등 기관들이 서로 협력하여 전국 규모의 잔류농약 모니터링을 실시하고 있다(MHLW pesticide residues report, 1999). 우리나라는 1968년부터 잔류농약 모니터링을 실시하였으며, 1988년 9월 처음으로 17종 농약에 대한 잔류허용기준을 처음으로 설정한 이후, 현재까지 농산물 432종, 인삼 68종, 축산물 83종을 대상으로 잔류허용기준이 설정되어 관리되고 있다(Korea food code, 2013). 또한 식품의약품안전처에서는 검출이력이 있거나 집중관리가 필요한 농약을 대상으로 1998년부터 국가잔류농약모니터링 사업을 시작하여 현재까지 매년 수행하고 있으며, 그 결과를 식품 위생 정책에 반영하고 있다(Do *et al.*, 2013a).

생장조절제는 옥신계열의 인돌 아세트산(IAA; indole acetic acid) 개발이 시초이며, 2차 세계대전 당시 이사디(2,4-D; (2,4-dichlorophenoxy)acetic acid)가 화학물질 무

기로 소개된 후, 제초제로 이용됨과 아울러 식물 내 호르몬 조절 효과가 주목되어 생장조절제의 실용화 계기가 되었다. 생장조절제의 종류로는 auxin, gibberellin, cytokinin 및 ethylene 등이 있으며 주로 식물의 생육, 착과촉진, 착색, 과실비대 무종자화, 생육억제, 숙기조절 및 열매숙기 등을 목적으로 사용된다(Park *et al.*, 2000).

이러한 생장조절제 중, dichlorprop(DCPP; 2-(2,4-dichlorophenoxy)propionic acid)는 phenoxyalkanoic acid 계열로서(West *et al.*, 1997) 인체에 유해한 것으로 알려진 fenoprop, 2,4-D 및 daminozide의 대체 약제로 사용되어 온 auxin 활성 생장조절제로 과수의 낙과 방지에 이용된다(Agusti *et al.*, 2003). 하지만, DCPP의 과다 사용은 과실의 숙기를 촉진시키고, 연화 및 저장력을 현저히 저하하는 부정적인 영향을 나타내며, 제초제의 특성을 나타내기 때문에 농산물에 과다 사용하여 잔류허용기준을 초과할 경우, 인체에 유해할 수 있다(Lee *et al.*, 2000).

따라서 본 연구는 생장조절제로 사용되고 있는 DCPP에 대하여 국내에 유통되는 농산물을 대상으로 잔류 실태 조사 연구를 실시하고자 기존 식품공전 분석법을 개선하여 신속하고 효율적인 분석법으로 재확립하였다.

재료 및 방법

시료

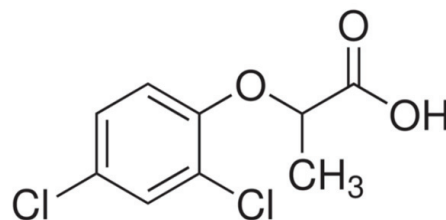
분석법 검증에 사용된 시료는 농산물의 메트릭스를 대표할 수 있는 5종 즉, 감귤, 감자, 고추, 대두 및 현미를 구입하여 사용하였고, 공시험을 거쳐 DCPP가 잔류되지 않음을 확인한 후 시료로 사용하였다. 대상 시료는 식품공전 잔류농약 분석법 실무해설서에 명시된 검체 채취 및 전처리 방법으로 믹서기를 이용하여 균질화한 후(Korea food code pesticide residue analysis method manual, 2012), 냉동실(-50℃)에 보관하면서 사용하였다.

시약 및 재료

Dichlorprop 표준품(DCPP; 2-(2,4-dichlorophenoxy)propionic acid, 99.5%)은 Dr. Ehrenstofer(Augsburg, Germany)로부터 구입하여 사용하였으며, 물리화학적 특성

Table 1. Physicochemical properties and structure of dichlorprop

IUPAC name	(<i>RS</i>)-2-(2,4-Dichlorophenoxy)propionic acid
CAS No.	120-36-5
Molecular weight	235.06 (C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃)
Log Pow ¹⁾	1.11 (pH 5), <1.00 (pH 7 and 9)
Vapor pressure	<1×10 ⁻² mPa at 20℃
pKa	3.0
Solubility	350 mg/L in water



¹⁾*n*-Octanol/water partition coefficient.

은 Table 1에 나타내었다.

전처리 시약으로는 디클로로메탄, 메탄올, 아세톤 및 헥산의 경우, Merck사(Darmstadt, Germany)로부터 잔류농약 분석용 등급을, 황산, 염산, 인산수소이칼륨(K_2HPO_4) 및 염화나트륨은 Wako사(Osaka, Japan)로부터 특급 시약을, 14% boron trifluoran methanol 용액(BF_3 -메탄올 용액)은 Sigma-aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

표준용액의 조제

DCPP 표준물질 적당량을 정밀히 달아 아세톤에 녹였으며, 이를 100 mg/L 표준원액으로 조제하였다. 표준용액은 표준원액 일정량을 취하여 실온에서 질소가스를 이용하여 용매를 완전히 날려버린 후, 14% BF_3 -메탄올 용액을 첨가하여 80°C로 유지된 heating block 상에서 15분간 메틸화를 거친 후, DCPP-methyl로 전환된 용액을 분액깔때기에 옮기고, 헥산 및 5% 염화나트륨을 가하여 격렬히 진탕한 후 정치하고 헥산층을 취하였다. 이어 헥산층은 40°C 이하 수욕 상에서 감압 농축하여 휘발시킨 후, 헥산으로 일정량 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 표준원액과 표준용액은 모두 갈색병에 담아 -20°C 냉동실에 보관하면서 사용하였다.

시료 전처리

균질화한 시료 20 g을 정밀히 달아, 아세톤 100 mL를 가하고 0.2 M 황산 수용액 15 mL를 가하여 산성화 시킨 후 5분간 진탕하여 추출하였다(습윤화가 필요한 대두 및 현미의 경우, 증류수 20 mL를 넣고 1시간 동안 정치시킨 후 추출 과정을 수행하였다). 추출액은 부호너 깔때기로 흡인 여과하였고, 잔류물을 아세톤 40 mL로 씻어내려 앞의 여액과 합한 후 40°C 이하의 수욕 상에서 감압농축 하였다. 농축에 의해 얻어진 잔류물은 4% 인산수소이칼륨 수용액 50 mL를 가하고 진한염산을 이용해 pH 1로 조정하였다. 이를 500 mL 분액 깔때기 I에 옮기고, 디클로로메탄 50 mL를 가하여 5분간 격렬히 진탕한 후 층이 완전히 분리될 때까지 정치하여 분리된 수용액 층을 250 mL 분액깔때기II에 취하고, 이 과정을 1회 반복하여 분액깔때기II에 합하였다. 여기에 디클로로메탄 50 mL를 가하여 5분간 격렬히 진탕한 후 층이 완전히 분리될 때까지 정치하여 분리된 디클로로메탄층을 무수황산나트륨 15 g에 통과시켜 감압 농축 플라스크에 받았으며, 이 과정을 1회 반복하여 앞서 받은 디클로로메탄층과 합한 후 40°C 이하의 수욕 상에서 감압 농축 하였다. 농축에 의해 얻어진 잔류물은 메탄올 5 mL를 가하여 재용해한 후, 이 중 2 mL를 시험관에 취하였다. 여기에 14% BF_3 -메탄올 용액 2 mL를 가하여 희석한 후 80°C로 유지된 heating block 상에서 15

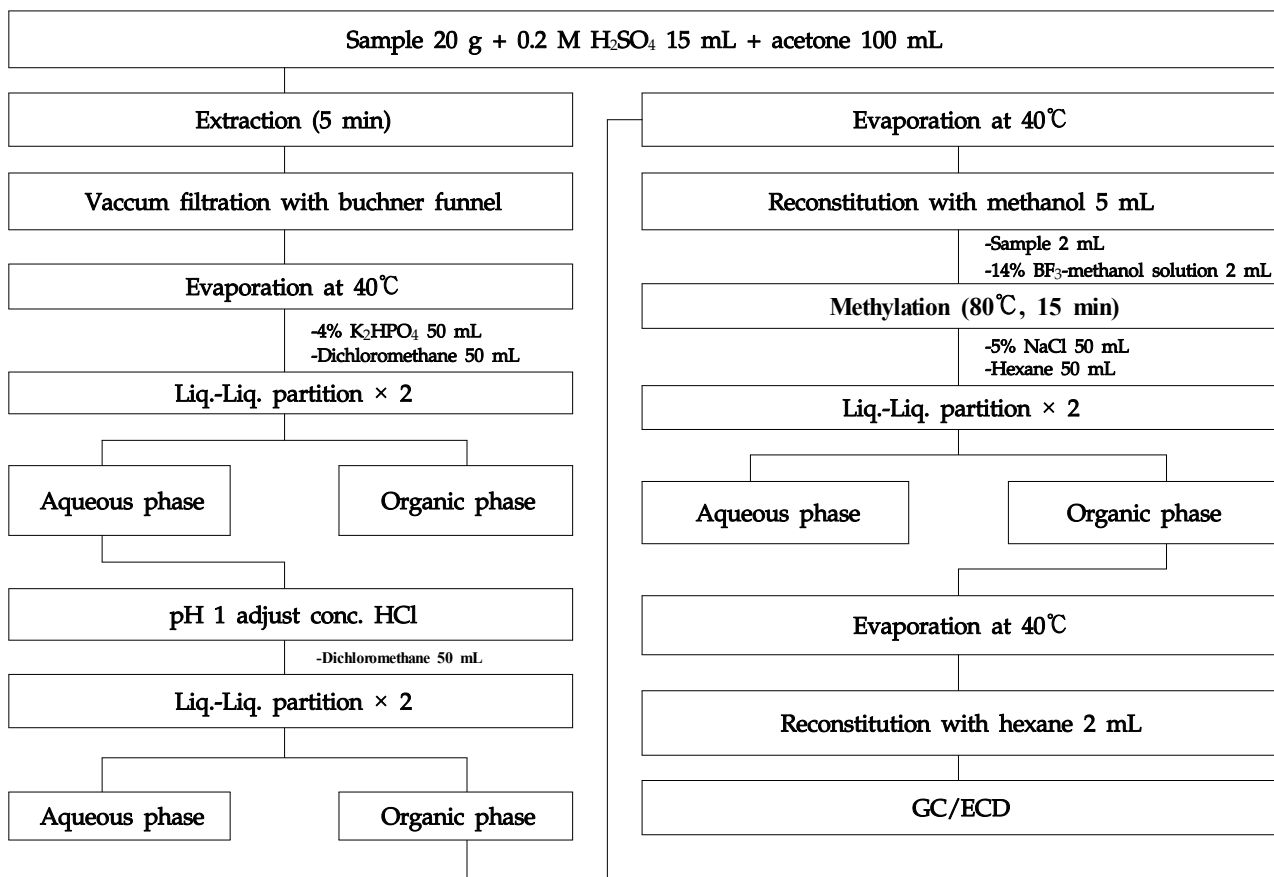


Fig. 1. Extraction procedure for dichlorprop residues in agricultural commodities.

분간 메틸화시켰다. 메틸화에 의해 얻어진 용액은 hexan 및 5% 염화나트륨을 이용해 250 mL 분액깔때기Ⅲ에 옮기고, 5 분간 격렬히 진탕한 후 층이 완전히 분리될 때까지 정치하여 무수황산나트륨 15 g에 통과시킨 후 감압 농축 플라스크에 받았으며, 이 과정을 1회 반복하여 앞서 받은 hexan층과 합한 후 40°C 이하의 수욕 상에서 감압 농축하였다. 최종적으로 농축에 의해 얻어진 잔류물은 hexan 2 mL로 재용해하여 시험 용액으로 사용하였다(Fig. 1).

기기 분석 조건

DCPP의 분석은 전자포획검출기(ECD : eletron capture detector)가 장착된 기체크로마토그래프(Agilent 7890 GC system, Agilent, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. 분석용 칼럼으로는 DB-17(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였고, 운반 기체로는 순도가 99.99% 이상인 질소 가스를 사용하여 유속을 1 mL/min으로 하였다. 또한, 주입부 온도는 280°C로 설정하여 splitless mode 하에 1 μL를 주입하였다. 오븐 온도는 초기 온도 80°C에서 2분간 유지하고 280°C까지 분당 10°C의 속도로 승온하여 마지막으로 280°C에서 10분간 등온 시키는 조건을 사용하였으며, 검출기의 온도는 280°C로 설정하였다(Table 2).

DCPP의 재확인 분석은 질량분석검출기(MSD : mass spectrometry detector)가 장착된 기체크로마토그래프/질량분석기(GC/MS : gas chromatograph/mass spectrometry, 6890 GC system/5973 MSD system, Agilent, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. 분석용 칼럼은 DB-17MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)를 사용하였고, 분리조건은 상기 GC/ECD 조건과 동일하며, 가스크로마토그래프와 질량분석검출기의 연결 인터페이스 온도는 280°C로 하였으며, 이온소스의 온도는 230°C로 설정하였다. 또한, 이온화 방법은 전기이온화 방법(EI-mode : electron ionization mode)을 사용하였고, 이온화 에너지는 70 eV로 하였다(Table 2).

분석법 검증

농산물 5종을 대상으로 확립된 DCPP 분석법은 국제식품규격위원회(CODEX) 가이드라인에 준하여 직선성, 회수율, 정량 한계 및 재현성 등으로 유효성 검증을 실시하였다(CAC/GL 40, 1993).

DCPP 0.1-2.0 mg/L의 농도에 대한 각각의 피크 면적을 이용하여 검량선을 작성하였고, 각 검량선의 상관 계수(coefficient of correlation, r^2)를 구하였다. 정량 한계는 분석 결과를 수치화할 수 있는 최저 한계를 의미하는데, 각국 및 기관에서는 보통 신호 대 잡음비(S/N : signal to noise ratio) 6-10 범위를 상용하고 있으며, 국내에 설정된 기준은 국제 기준을 수용하고 있다(ICH Guideline, 1994). 따라서 이를 근거로 하여 매트릭스에 첨가한 DCPP의 크로마토그램에서 S/N이 10 이상이 되는 농도 값을 이용해 다음과 같은 계산식에 의해 정량 한계를 산출하였다.

$$\text{Limit of quantitation (mg/kg)} = \frac{a \times b}{w}$$

a: dichlorprop의 검출량(mg/L)

b: 최종 희석부피(L)

w: 검체량(kg)

개선된 잔류분석법의 검증은 잔류허용기준(MRL: maximum residue limit)이 설정되어 있지 않은 경우, 무치리, 1, 2 및 10배 LOQ 농도로 회수율 시험을 실시하도록 규정하고 있다(Korea food code pesticide residue analysis method manual, 2012). 따라서 분석법의 정확성을 평가하기 위하여 감귤, 감자, 고추, 대두 및 현미에 대해 각각 0.05, 0.1 및 0.5 mg/kg 농도로 회수율을 측정하였다. 검량선의 상관성을 통해 분석 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 면적을 대입하여 시료에 대한 DCPP 회수율을 산출하였고, 5반복 실험을 통해 정확성과 정밀성을 평가하였다.

Table 2. GC/ECD and GC/MS parameters for the analysis of dichlorprop

Parameter	Condition	
	GC/ECD	GC/MS
GC	Agilent 7890 GC system	Agilent 6890 GC system
Column	DB-17 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)	DB-17MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
Detector	ECD (eletron capture detector)	MSD (mass spectrometry detector)
Carrier gas	N ₂	He
Flow rate	1.0 mL/min	
Inlet program	Split-less mode, 280°C	
Injection volume	1 μL	
Detector program	Temp. -280°C	Mode-electron ionization (EI mode) Source temp. -230°C, transfer line temp. -280°C
Oven temp.	80°C → 2 min → 10°C/min → 280°C → 10 min	

결과 및 고찰

분석법 최적 조건 확립

DCPP 분석을 위한 최적 조건과 기기를 선정하기 위해 화합물의 구조, 증기압 및 극성도 등 물리화학적 특성을 고려하였다. 현행 식품공전 분석법에서 명시한 바와 같이 DCPP는 phenoxyalkanoic acid 계의 생장조절제로서 화합물 내 carboxylic acid기로 인하여 GC로 직접 분석하기는 어렵다 (Korea food code pesticide residue analysis method manual, 2012). 또한, 자외 영역의 흡수 파장이 짧고 형광 특성도 없기 때문에 통상적인 HPLC법으로 분석이 어렵다. 하지만, DCPP 분자 내에는 염소 원자가 두 개 존재하기 때문에 휘발성을 증대시킨다면 GC로 분석이 가능하며, 검출기로 ECD 사용이 가능하다. EPA에서는 DCPP 분석법으로 ECD를 사용하고 있으며(U.S. EPA method 515.1, 1989), Ma *et al.*(2009)도 ECD로 분석한 바 있다. 또한, ECD는 유기염소계의 잔류 농약 분석에 널리 이용되고 있으며, 감도를 나타내는 최소 요건은 불소 원자 3개, 염소 원자 2개, 브롬 원자 또는 요오드 원자 1개 이상을 보유해야하는 것으로 알려져 있다. 따라서 BF₃-메탄올 용액을 사용하여 대상 성분을 메틸화하여 GC/ECD로 분석하였다. 분석 칼럼은 극성도와 증기압 특성에 따라 기존 분석법과 동일한 DB-17을 선택하였으며, 주입 방식은 잔류농약 분석과 같은 미량분석에 적합한 split-less 모드를 사용하였다. 이외에 기타 기기 조건은 현행 식품공전에 준하여 분석하였다. 이상과 같이 확립된 기기분석 조건으로 분석한 DCPP 표준물질은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 어떠한 간섭물질의 방해도 받지 않았으며, 우수한 분리능 및 감도를 나타내었다.

추출 및 정제과정의 확립

물과 섞이지 않는 비극성 유기용매를 사용할 경우, 검체 내부의 침투성이 낮아 충분한 추출 효율을 얻을 수 없다. 따라서 농산물은 대부분 수분을 함유하고 있기 때문에 수용성 유기용매이면서 U.S. FDA 및 AOAC의 잔류 농약 추출법에 보편적으로 사용되는 아세톤을 추출 용매로 선정하였다 (AOAC-Pesticide and industrial chemical residues in

official method of analysis, 2000; U.S FDA-Pesticide analytical manual, 1999). 또한, DCPP가 pKa 3.0인 약산성 화합물이기 때문에 pH 1 이하로 조절할 경우 acid는 이온 억압되어 유기용매로 전량 가용된다. 따라서 아세톤 추출과 더불어 0.2 M 황산을 첨가해 검체를 산성화한 후 추출하였다.

분배 정제과정은 pH 조절에 의한 산-염기 액-액 분배법을 사용하였다. DCPP는 약산성의 해리가능 화합물로 알칼리 조건에서는 수용성, 산성에서는 유용성의 특성을 나타낸다. 따라서 농축 과정을 거친 추출물을 약염기인 4% 인산수소이칼륨과 디클로로메탄을 이용해 분배하면 acid는 알칼리 수용액으로 분배되고 유지와 같은 비극성 불순물은 디클로로메탄층에 남게 된다. 따라서 분배된 디클로로메탄층을 버림으로써 효과적인 세척 효과를 얻을 수 있었다. 상기 분배 과정으로 얻어진 수용액층은 다시 pH를 1 이하로 조절하고, 디클로로메탄을 재 첨가한 후 분배하여 DCPP를 선택적으로 추출할 뿐만 아니라 극성 불순물을 제거할 수 있었다.

Acid 형태의 DCPP는 carboxylic acid기의 극성으로 인해 직접 GC 분석이 어렵다. 따라서 추출액은 재차 농축을 거치고, 메탄올로 재용해한 후 BF₃-메탄올 용액에 의해 메틸화하여 methyl ester로 전환한 후 휘발성을 증대시켰다. 이 유도체화 방법은 EPA에서 수록되어 있는 diazomethane과 현행 식품공전의 trichloroethylation보다 간단하여 신속성을 나타내며(U.S. EPA method 515.1, 1989; Korea food code, 2013), 염소 원자 두 개를 포함하고 있어 감도 측면에서도 뛰어나다.

따라서 현행 식품공전에서의 DCPP 잔류 농약 분석법은 5번의 액-액 분배, 장시간의 에틸화 및 SPE 정제 과정을 거치기 때문에 비교적 긴 분석 과정이 소요되지만, 개선된 분석법은 3번의 액-액 분배로 단축되었고, BF₃-메탄올 용액을 이용한 짧은 메틸화 과정과 상기 전처리 과정만으로 충분한 정제 효과를 나타내기 때문에 SPE 정제 과정을 생략할 수 있어, 1회 분석 시 약 2일 소요된 분석 과정을 약 4시간으로 단축하였다. 따라서 국가 잔류 농약 모니터링 사업과 관련하여 신속하고 효율적인 분석법으로 판단되었다.

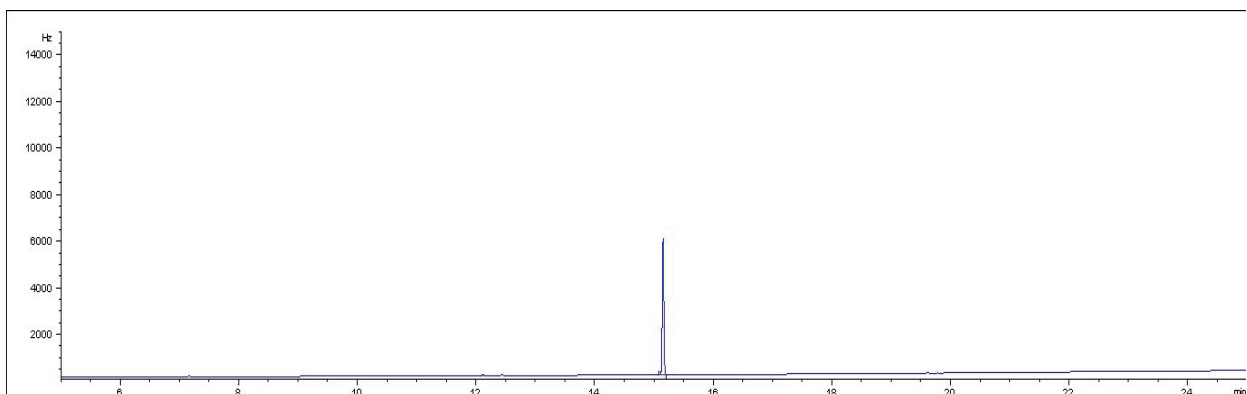


Fig. 2. Chromatogram of dichlorprop standard (1 μ g).

특이성 및 검량곡선

본 연구의 분석 조건에 대한 매트릭스의 특이성을 검증하기 위해, 공시험 분석을 수행한 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 DCP의 머무름 시간대에 어떠한 방해물질 또는 매트릭스가 검출되지 않아, 본 분석법의 높은 분리능과 선택성을 확인하였다.

DCPP 표준용액의 직선성 시험 결과, DCP에 대한 상관 계수(r^2)가 0.9998로 우수한 직선성을 나타내었으며(Fig. 4), 이는 국제식품규격위원회에서 권장하는 $r^2 > 0.95$ 에 적합하여 매우 만족할만한 수준의 결과를 확인하였다(CAC/GL 40, 1993).

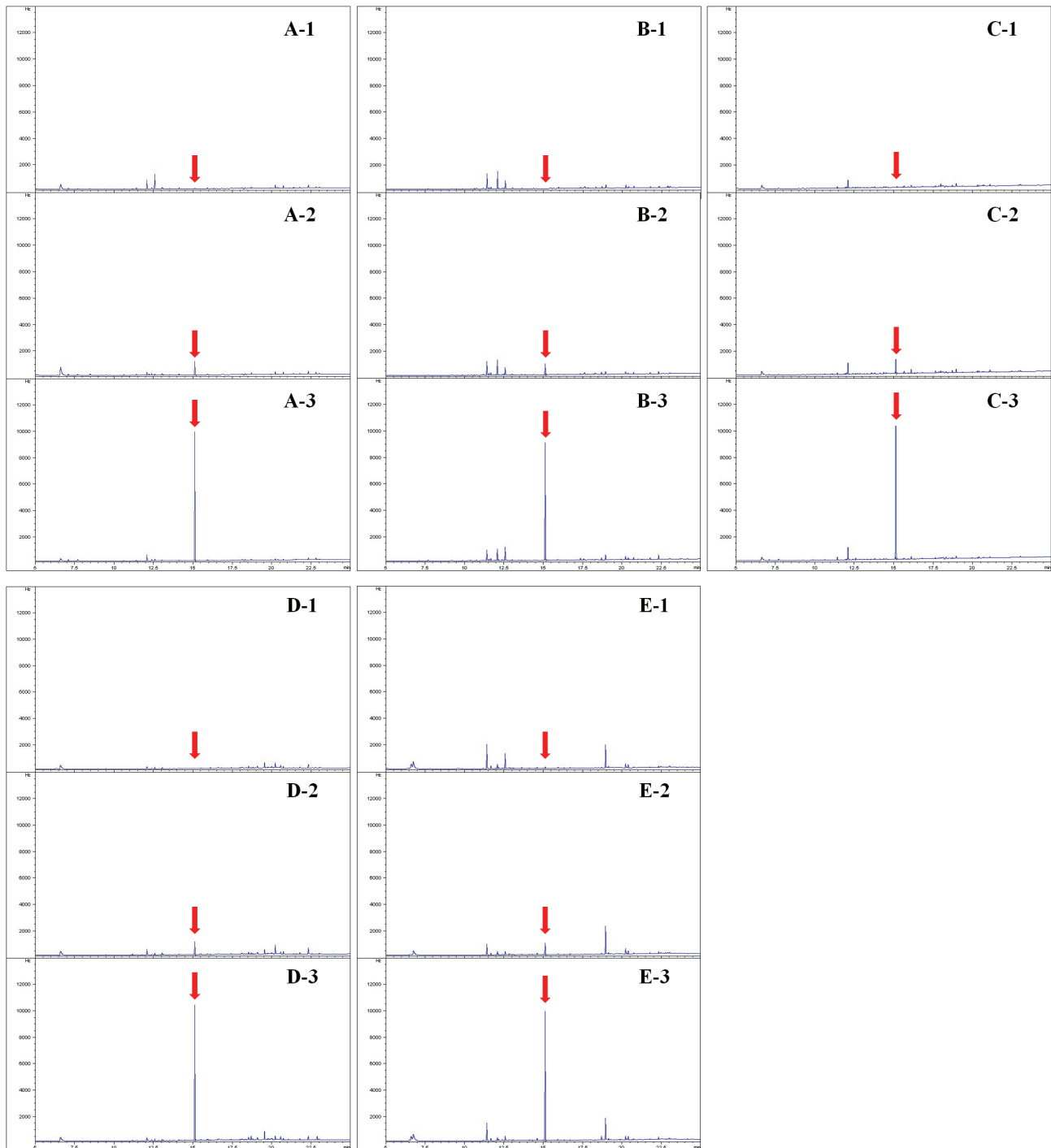


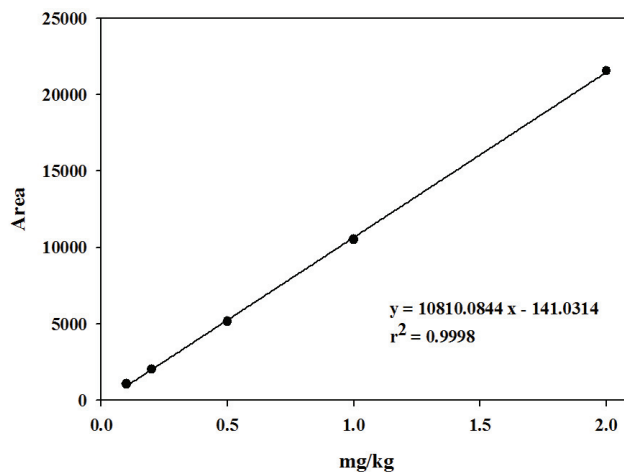
Fig. 3. Chromatograms of fortified agricultural commodities (Brown rice A-1; control, A-2; 0.05 mg/kg, A-3; 0.50 mg/kg, Potato B-1; control, B-2; 0.05 mg/kg, B-3; 0.50 mg/kg, Soybean C-1; control, C-2; 0.05 mg/kg, C-3; 0.50 mg/kg, Mandarin D-1; control, D-2; 0.05 mg/kg, D-3; 0.50 mg/kg, Pepper E-1; control, E-2; 0.05 mg/kg, E-3; 0.50 mg/kg).

정량한계 및 회수율

정량한계는 분석결과를 수치화할 수 있는 최저 한계를 의미하는데, 각국 및 기관에서는 보통 S/N 비율 6-10 범위를 상용하고 있으며, 국내에 설정된 기준은 국제 기준을 수용하고 있다(ICH Guideline, 1994). 따라서 이를 근거로 하여 대상 시료에 첨가한 DCP의 크로마토그램에서 S/N 비율이

10 이상이 되는 농도 값을 선택하였다.

분석법의 정확성을 평가하기 위하여 각각의 농산물 시료에 DCP를 각각 1, 2 및 10 x LOQ(0.05, 0.1 및 0.5 mg/kg) 농도가 되도록 표준물질을 첨가하고 시험용액 조제 과정을 거쳐 회수율 실험을 수행하였다. 분석 크로마토그램으로부터 얻은 피크의 머무름 시간을 비교하고(Fig. 3), 피크에



Compound	Standard curve range (mg/kg)	Linearity	r^2
Dichlorprop	0.1 - 2.0	$y=10810.0844x - 141.0314$	0.9998

Fig. 4. Standard curve range, linearity and r^2 (coefficient of correlation) of dichlorprop.

Table 3. Recovery, CV(coefficient of variation), and LOQ(limit of quantitation) of dichlorprop in agricultural commodities

Sample	Fortification level (mg/kg)	Recovery ¹⁾ (%)	CV (%)	LOQ (mg/kg)
Brown rice	0.05	99.61±2.07	2.08	0.05
	0.10	100.36±1.48	1.47	
	0.50	90.48±1.13	1.25	
Potato	0.05	85.01±2.37	2.79	0.05
	0.10	87.37±1.39	1.59	
	0.50	79.38±2.60	3.27	
Soybean	0.05	101.10±3.39	3.36	0.05
	0.10	78.80±2.84	3.61	
	0.50	91.33±6.70	7.33	
Mandarin	0.05	94.32±8.92	9.46	0.05
	0.10	89.54±3.56	3.97	
	0.50	93.27±2.38	2.55	
Pepper	0.05	102.20±2.71	2.65	0.05
	0.10	98.47±2.91	2.95	
	0.50	90.49±3.55	3.93	

¹⁾mean values of five replicate with standard deviations.

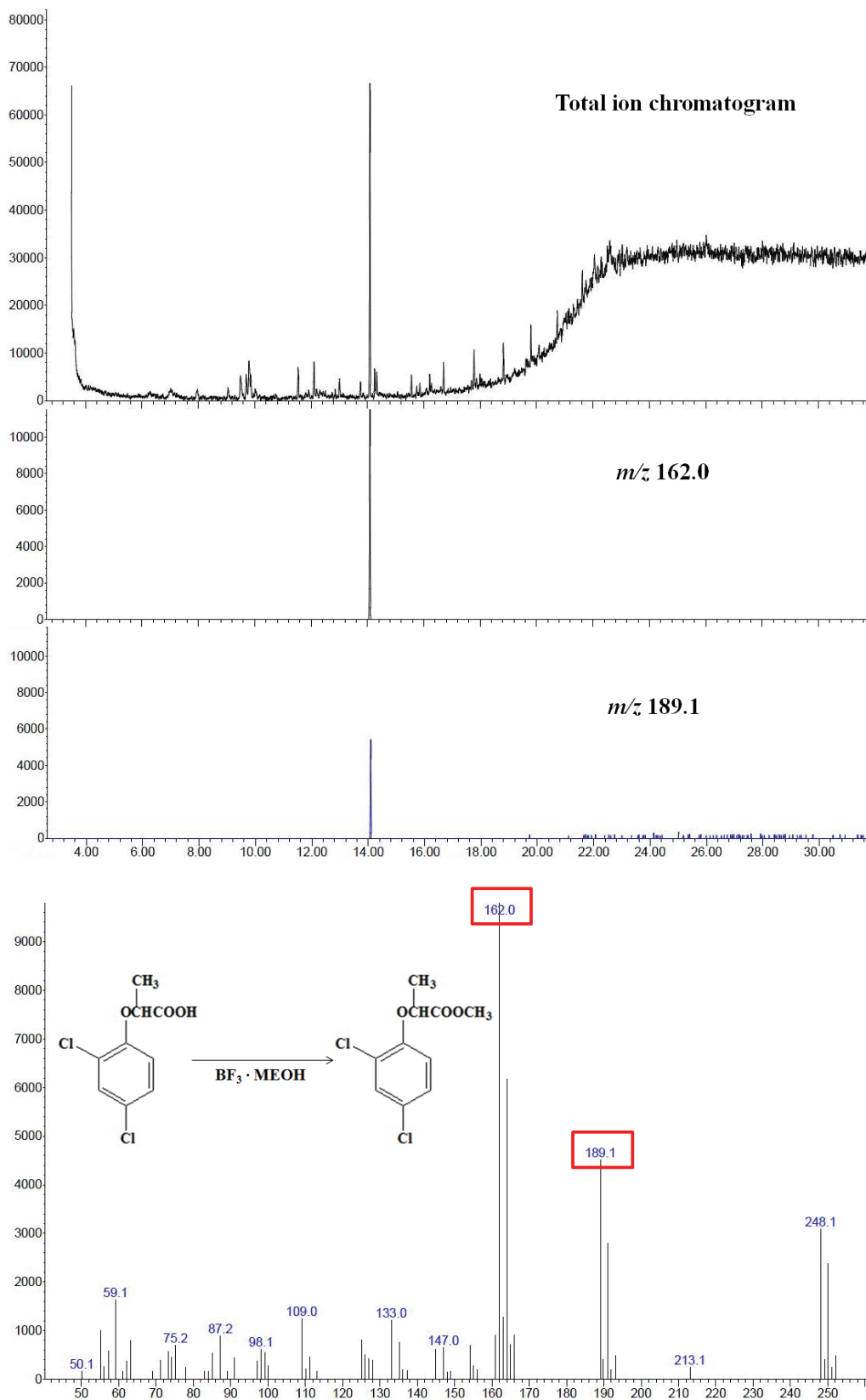


Fig. 5. Total ion chromatogram and spectrum of dichlorprop standard analyzed by GC/MS (0.5 μ g).

대한 면적을 구한 뒤, 검량선을 통해 시험용액 중 DCPP의 함량을 확인함으로써 회수율을 산출하였고, 5반복 실험을 통해 정확성과 정밀성을 평가하였다. 그 결과, 정량한계는 모든 검체에서 0.05 mg/kg이었고, 회수율은 감귤 89.5-94.3%, 감자 79.4-87.4%, 고추 90.5-102.2%, 대두 78.8-101.1%, 현미 90.5-100.4%였으며, 변동계수(CV %, coefficient of variation)는 감귤 2.5-9.5%, 감자 1.4-2.6%, 고추 2.7-3.9%, 대두 3.4-7.3%, 현미 1.2-2.1%(Table 3)로 나타났다. 이는 국제식품규격위원회에서 권장하는 회수율 및 변동계수에 충족하는 결과를 나타내었다(CAC/GL 40, 1993). 또한, 기존에 보고된 DCPP의 분석법 검증 결과와 유사한 경향이었던(Thorstensen *et al.*, 2000; Inoue *et al.*, 2013; Raina and Etter, 2010). 따라서 농산물 중 DCPP 잔류농약 분석법으로서 적합함을 확인하였다.

확인시험

GC/ECD를 이용한 DCPP 분석 조건은 설정되었지만, 분석 물질에 대한 정성적 확인과 차후 GC/MS를 이용한 분석 조건을 설정하기 위해 DCPP에 대한 확인 이온을 설정하였다. Total ion chromatogram(TIC)으로부터 최적 이온을 full scan EI mass spectrum을 통해 확인한 다음 높은 감도와 양호한 스펙트럼을 보이는 이온을 선택하여 최적의 분석 조건을 설정하였다.

DCPP 확인시험의 최적 이온은 감도가 뛰어나면서 방해 피크가 나타나지 않은 162.0 및 189.1 이온이 적합한 것으로 나타났다(Fig. 5). 따라서 DCPP의 정성적 확인 및 재확인 분석 조건이 확립되었고, 이는 차후 질량분석기를 활용한 DCPP 분석법 개발에 활용될 예정이다.

요약

Dichlorprop(DCPP)는 phenoxyalkanoic acid 계열로서 인체에 유해한 것으로 알려진 fenoprop, 2,4-D 및 daminozide의 대체 약제로 사용되어온 auxin 활성 성장조정제로 과수의 낙과 방지에 이용된다. 하지만, DCPP의 과다 사용은 과실의 숙기를 촉진시키며 연화 및 저장력을 현저히 저하하는 부정적인 영향을 나타내며, 제조제의 특성을 나타내기 때문에 농산물에 과다 사용하여 잔류허용기준을 초과할 경우, 인체에 유해할 수 있다. 따라서 본 연구는 성장조정제로 사용되고 있는 DCPP에 대하여 국내에 유통되는 농산물을 대상으로 잔류 실태 조사 연구를 실시하고자 기존 식품공전 분석법을 개선하여 신속하고 효율적인 분석법으로 재확립하였다. 분석법 검증에 사용된 시료는 농산물의 매트릭스를 대표할 수 있는 농산물 5종(감귤, 감자, 고추, 대두 및 현미)을 사용하였다. 검체에 아세톤을 가하고 산성화시켜 추출한 후 산-염기 액-액 분배법을 이용해 추출, 정제 및 농축 과정을 거쳤다. 농축에 의해 얻어진 잔류물은 메탄올로 재용해한 후, 이중 2 mL를 취해 BF₃-메탄올 용액으로 메틸화한 후, 헥산 및 5% 염화나트륨을 사용해 최종 정제를 거친 용액을 헥산으

로 재용해하여 GC/ECD에 주입하였다. 기기분석은 DB-17 중간 극성 칼럼과 운반 기체로 질소 가스를 사용하였고, split-less 모드 하에 1 µL를 주입하여 승온 조건으로 ECD에 의해 측정하였다. 또한, GC/MS를 통해 확인시험을 수행하였으며, 모든 검증은 CAC 가이드라인(CAC/GL 40, 1993) 규정에 따라 실시하였다. 그 결과, DCPP의 정량 한계는 모든 검체에서 0.05 mg/kg 수준이었고, 회수율은 감귤 89.5-94.3%, 감자 79.4-87.4%, 고추 90.5-102.2%, 대두 78.8-101.1%, 현미 90.5-100.4%였으며, 변동계수는 감귤 2.5-9.5%, 감자 1.4-2.6%, 고추 2.7-3.9%, 대두 3.4-7.3%, 현미 1.2-2.1%로 나타났다. 이상의 결과는 국제식품규격위원회 가이드라인 규정(CAC/GL 40, 1993)에 만족하는 수준으로, 새롭게 개선된 DCPP 분석법은 향후 국내 유통 농산물을 대상으로 한 성장조정제 DCPP의 잔류 실태 조사 연구에 활용될 계획이다.

Acknowledgment

This research was supported by a grant (13161MFDS017) from the Ministry of Food and Drug Safety in 2013.

References

- Agustí, M., Gariglio, N., Castillo, A., Juan, M., Almela, V., Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., 2003. Effect of the synthetic auxin 2,4-DP on fruit development of loquat, *Plant Growth Regul.* 41, 129-132.
- AOAC, 2000. *Pesticide and industrial chemical residues, In official method of analysis*, pp. 1-88, 17th ed. AOAC International, USA.
- Chang, H.R., Kang, H.R., Kim, J.H., Do, J.A., Oh, J.H., Kwon, K.S., Im, M.H., Kim, K., 2012. Development of analytical method for the determination and identification of unregistered pesticides in domestic for orange and brown rice(I)-chlorthal-dimethyl, clomeprop, diflufenican, hexachlorobenzene, picolinafen, propyzamide-, *Korean J. Environ. Agric.* 31, 157-163.
- Do, J.A., Lee, M.Y., Cho, Y.J., Kang, I., Kwon, K., Oh, J.H., 2013a. Development and validation of an analytical method for pyrimisulfan determination in agricultural commodities by LC-MS/MS, *Anal. Sci. Technol.* 26, 154-163.
- Do, J.A., Lee, M.Y., Park, H., Kwon, J.E., Jang, H., Cho, Y.J., Kang, I., Lee, S.M., Chang, M.I., Oh, J.H., Hwang, I.G., 2013b. Development and validation of an analytical method for the insecticide sulfoxaflor in agricultural commodities using HPLC-UVD, *Korean J. Food Sci. Technol.* 45, 148-155.

- Inoue, K., Prayoonhan, N., Tsutsui, H., Sakamoto, T., Nishimura, M., Toyooka, T., 2013. Use of chiral derivatization for the determination of dichlorprop in tea samples by ultra performance LC with fluorescence detection, *J. Sep. Sci.* 36, 1356-1361.
- Kim, M.O., Hwang, H.S., Lim, M.S., Hong, J.E., Kim, S.S., Do, J.A., Choi, D.M., Cho, D.H., 2010. Monitoring of residual pesticides in agricultural products by LC/MS/MS, *Korean J. Food Sci. Technol.* 42, 664-675.
- Lee, C.S., Kang, S.M., Hong, S.J., Choi, S.T., 2000. Effects of dichlorprop and GA3 on storability of 'Tsugaru' apple fruits, *Hort. Environ. Biotechnol.* 41, 56-60.
- Ma, Y., Xu, C., Wen, Y., Liu, W., 2009. Enantioselective separation and degradation of the herbicide dichlorprop methyl in sediment, *Chirality* 21, 480-483.
- Park, J.E., Lee, I.Y., Kang, C.K., 2000. Fact-finding survey on plant growth regulators use at farmer's level, *Korean J. Weed Sci.* 20, 309-314.
- Raina, R., Etter, M.L., 2010. Liquid chromatography with post-column reagent addition of ammonia in methanol coupled negative ion electrospray ionization tandem mass spectrometry for determination of phenoxyacid herbicides and their degradation products in surface water, *Anal. Chem. Insights* 5, 1-14.
- Thorstensen, C.W., Lode, O., Christiansen, A.L., 2000. Development of a solid-phase extraction method for phenoxy acids and bentazone in water and comparison to liquid-liquid extraction method, *J. Agric. Food Chem.* 48, 5829-5833.
- West, A., Frost, M., Köhler, H., 1997. Comparison of HPLC and CE for the analysis of dichlorprop in a case of intoxication, *Int. J. Legal Med.* 110, 251-253.