

GC-ECD/MS를 이용한 농산물 중 Quintozene의 잔류분석

안경근 · 김경하 · 김기쁨 · 황영선 · 홍승범 · 이영득¹ · 정명근*강원대학교 생약자원개발학과, ¹대구대학교 생명환경학부

Determination of Quintozene Residues in Agricultural Commodities Using GC-ECD/MS

Kyung-Geun Ahn, Gyeong-Ha Kim, Gi-Ppeum Kim, Young-Sun Hwang,
Seung-Beom Hong, Young Deuk Lee¹ and Myoung-Gun Choung*

Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok 25949, Korea

¹Division of Life and Environmental Science, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea

(Received on May 18, 2015. Revised on June 16, 2015. Accepted on August 31, 2015)

Abstract Quintozene, pentachloronitrobenzene (PCNB) is a contact fungicide for control of soilborne phytopathogenic fungi during cultivation of diverse crops. It was introduced to agricultural use around 1930's as a substitute for mercurial disinfectants. Although quintozene had been first registered in Korea on 1969. However, now it was banned to use due to its high residue levels in selected harvest products. Also, high possibility is expected that the residue may be contained in imported agricultural commodities as it is still used widely over the world. Therefore, this study was conducted to establish a determination method for quintozene residue in crops using GC/ECD/MS. Quintozene residue was extracted with acetonitrile from representative samples of five raw products which comprised hulled rice, soybean, Kimchi cabbage, green pepper, and apple. The extract was diluted with saline water, and *n*-hexane partition was followed to recover quintozene from the aqueous phase. Florisil column chromatography was additionally employed for final clean up of the extract. The quintozene was quantitated by GLC with ECD, using a DB-1 capillary column. The crops were fortified with quintozene at 3 levels per crop. Mean recoveries ranged from 79.9% to 102.7% in five representative agricultural commodities. The coefficients of variation were less than 4.3%. Quantitative limit of quintozene was 0.004 mg/kg in representative five crop samples. A GC/MS with selected-ion monitoring was also provided to confirm the suspected residue. Therefore, this analytical method was reproducible and sensitive enough to determine the residue of quintozene in agricultural commodities.

Key words GC-ECD/MS, Quintozene, Residue

서론

근래 다국간 FTA (Free Trade Agreement) 체결로 인해 국내에서 생산되는 농산물에 함유된 농약뿐만 아니라, 국내에 수입되는 외국산 농산물에 함유된 농약에 대한 국민적 관심도 고조되고 있는 실정이다. 또한, 국내에 허가되어 있지 않거나 분석법이 확립되어 있지 않은 농약의 경우 수입 농산물에 특정 농약 성분이 잔류하고 있어도 수입식품 잔류

농약 검사기관에서는 해당 농약성분의 분석법 미비로 인해 검출이 불가능할 수 있으므로, 국내 미사용 농약이지만 외국에서 사용빈도가 높은 농약에 대해서는 신규 분석체계 확립을 통한 수입식품의 안전성 확보가 범국민적으로 중요한 사안이 될 것이다(Lee et al. 2010).

Quintozene (1,2,3,4,5-pentachloro-6-nitrobenzene; Fig. 1)은 1868년에 최초로 합성된 이후, 1930년대에 독일의 Bayer사에 의해 수은농약을 대체할 목적으로 전 세계에 도입된 aromatic 살균제이다(Cairns et al. 1987). PCNB (pentachloro-nitrobenzene)라고도 불리는 quintozene은 면화 및 쌀 등의 다양한 작물 종실의 곰팡이 방제에 사용되며, 공업

*Corresponding author

E-mail: cmg7004@kangwon.ac.kr

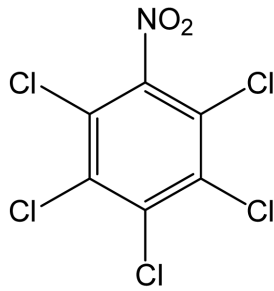


Fig. 1. Chemical structure of quintozene.

용수의 점액형성을 방지하는 데에도 사용된다(Sullivan et al. 2001). 1993년 미국에서는 quintozene을 대기오염 유발 유해물질로 선정하였고(Howard, 1991), 2006년 미국 EPA에 의해 quintozene의 사용 적격성 여부가 재검토 되어 기존 허용작물에 대해 사용이 제한되거나 금지된 바 있고, 2010년 quintozene의 잠재적 독성 대사산물이 발견되어 판매 금지 되었으나, 이후 2011년 EPA에 의해 골프장 잔디, 감자, 면화 등 일부 작물에 대한 사용이 다시 허가된 바 있다(GCSAA, 2011). 그 밖에 중국과 일본을 포함한 많은 국가들에서는 살균제로써 광범위하게 사용되고 있는 실정이며(Sullivan et al. 2001), 국내에서는 quintozene의 잔류성이 길고 어독성이 강하여 1989년에 사용이 금지되었으며, 수입산 한약재 등에서 검출되는 일이 빈번하여 2006년 “식품의 기준 및 규격중 개정” 고시로 농산물의 잔류농약 허용기준을 설정하여 잔류기준을 명시하고 있다(Kim et al. 2008).

Quintozene의 물리화학적 특성을 살펴보면 *n*-octanol/water 분배계수(Log P_{ow})는 4.64로 비극성인 중성화합물이며, 녹는점은 146°C이고, 분자량은 295.36 ($C_6Cl_5NO_2$)으로 백색의 결정체이다(Howard, 1991). 다양한 유기용매에 잘 녹으며(acetonitrile 70 g, cyclohexane 70 g, ethanol 20 g, ethyl acetate 210 g, methanol 20 g, toluene 1400 g/L), 물에 대한 용해도는 극히 낮아 0.032 mg/L에 불과하다(Howard, 1991).

Aromatic 살균제인 quintozene의 잔류분석은 GC-ECD (gas chromatography-electron capture detector) 혹은 GC-MS (gas chromatography-mass spectrometry)를 이용한 다 성분 분석이 보고된 바 있으나(Navarro et al. 2002; Nguyen et al. 2008; Walorczyk, 2008), 선행 연구결과들은 정제과정의 부재와 더불어 실제 농산물을 대상으로 대상농약의 분석 조건 확립 및 회수율 등이 검토된 결과는 거의 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 국내 미사용 농약이지만 미국, 일본, 중국 등 외국에서 사용빈도가 높은 quintozene에 대해 정확성 및 정밀성이 확보된 다양한 농산물에 적용 가능한 신규 분석체계를 확립하여 국내 잔류농약 검사에 기초 자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 기구

본 연구에 사용한 quintozene은 순도 99.4%의 분석용 표준품을 Sigma-Aldrich (USA)로부터 구입하여 사용하였다. 표준품의 stock solution은 *n*-hexane에 녹여 1,000 mg/L의 농도로 조제하여 -20°C의 냉동고에서 보관하고, 필요 시 마다 *n*-hexane으로 희석하여 사용하였다. J. T. Baker (USA) 사로부터 구입한 Florisil (60~100 mesh)은 130°C에서 24시간 이상 가열 및 활성화하여 사용하였다(Ahn et al. 2014). *n*-Hexane, acetonitrile 및 dichloromethane은 잔류분석용, deionized water는 HPLC용을 J. T. Baker (USA)사로부터 구입하여 사용하였고, 그 밖의 무기시약 및 유기용매는 잔류분석용 혹은 시약특급을 사용하였다. 농축에는 Eycla NE-1000SW (Japan) 농축기를 사용하였고, 농산물 시료는 고속 호모게나이저(IKA, Ultra-Turrax T-25, USA)를 이용하여 마쇄 및 균질화 하였다.

농산물 시료

식품의 농약 잔류허용기준(MFDS, 2014) 중 quintozene의 사용이 등록되어있는 농산물을 분석대상으로 하였고, Codex에 수록되어 있는 잔류분석법 대상 대표 농산물군(Codex, 2003)과 국내의 소비량 등을 참고하여 과일류는 사과, 채소류는 배추 및 고추, 두류는 콩, 곡류에서는 현미를 대표 농산물로 선정하였다(Kim et al. 2011). 사과, 배추, 고추, 콩 및 현미는 지역 대형마트에서 유기농 인증된 무농약 시료를 구입한 뒤 식품공전 상의 검체 처리방법(MFDS, 2012)에 의거해 전처리하여 사용하였다. 대조구 시료는 농약의 잔류 여부를 검사하여 무농약 농산물임을 확인 후 사용하였다.

GC-ECD/MS 기기분석 조건

Quintozene의 잔류 분석 시 ECD (Electron capture detector)를 장착한 Agilent (USA) 6890 GC를 이용하였고, 내경이 0.53 mm인 capillary column을 사용하여 150°C의 등온조건에서 분석하였다. 잔류분의 재확인을 위한 GC/MS 분석에는 Agilent (USA) 7890/7000 GC/MSD를 사용하였으며, 각각의 자세한 분석조건은 Table 1과 Table 2에 나타내었다.

표준검량선 및 분석정량한계

Stock solution을 희석해 0.005~2 mg/L의 농도가 되도록 조제한 quintozene의 표준용액을 각 1 μ L씩 GC-ECD에 주입하여 분석된 peak의 면적을 기준으로 표준검량선을 작성하였으며, 또한 분석기기의 재현성(reproducibility)을 검증하기 위해 0.5 mg/L의 quintozene 표준용액을 GC-ECD에 15번 연속 주입하여 크로마토그램 상의 머무름 시간(retention time) 및 피크 면적(peak area)의 변화를 비교 평가하였다.

Table 1. GC-ECD operating conditions for the analysis of quintozene

Instrument	Agilent 6890 GC
Detector	⁶³ Ni - electron capture detector (ECD)
Column	DB-1 capillary column (0.53 mm i.d. × 30 m, 0.50 μm film thickness)
Temp.	Column oven : 150°C, Detector : 300°C, Injector : 250°C
Gas flow rate	Carrier : N ₂ 10 mL/min, Make up : N ₂ 45 mL/min Detector purge : N ₂ 5.5 mL/min
Sample size	1 μL
Injection mode	Splitless

Table 2. GC-MS operating conditions for the confirmation of quintozene

Instrument	Agilent 7890/7000 GC/MSD Triple Quad
Column	HP-5MS capillary column (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.50 μm film thickness)
Temp.	Column oven : 140°C, Injector : 300°C
Gas flow rate	Carrier : He 1.0 mL/min
Sample size	1 μL
Injection mode	Splitless
Ionization	Electron ionization(EI), 70 eV
Mass range (m/z)	50~500

본 분석법의 정량한계(limit of quantitation; LOQ)는 대표 농산물 시료 중 대상 농약에 대한 간섭물질이 존재하지 않음을 확인 후 분석기기의 정량한계, 분석과정 중의 농축배율 및 시료량을 계산하여 아래 계산식에 의해 계산하였고 (Lee et al. 2011), 동일 수준으로 quintozene을 처리한 회수율 시험으로 재검증하였다.

분석정량한계(mg/kg) = [기기 정량한계(ng) / 시료주입량(μL)] × [시료용액(mL) / 시료량(g)]

시료용액의 추출 및 분배

25 g의 농산물 시료에 acetonitrile을 100 mL 가하고(현미와 콩 시료의 경우 추출 30분 전 미리 20 mL의 증류수를 가한 후 방치하여 습윤화 함) 호모게나이저를 이용하여 2분 동안 고속 마쇄(12,000 rpm), 추출하였다. 추출용액은 여과지(Toyo No. 6, Japan)를 장착한 부크너여과기(Büchner funnel)에서 여과하였고, 시료와 호모게나이저 컵을 acetonitrile 40 mL로 세척하여 앞서의 여과액과 합쳤다. 합한 추출액을 1 L 용량의 분액 깔때기에 옮겨 담고 포화식염수 50 mL 및 증류수 450 mL를 첨가한 후 *n*-hexane 100 mL로 분배 추출하였으며, 정치하여 *n*-hexane 층만을 취해 무수 황산나트륨에 통과시켜 탈수한 뒤 40°C에서 감압 농축하여 건조하였다. 현미와 콩을 제외한 시료의 건조물은 *n*-hexane 10 mL에 재용해하여 florisil 흡착 크로마토그래피에 직접 사용 하였다. 한편, 현미와 콩 시료의 건조물은 미리 acetonitrile로 포화시켜둔 *n*-hexane 20 mL에 재용해하여 250 mL 용량의 분액 깔때기에 옮겨 담고, 미리 *n*-hexane으로 포화

시켜둔 acetonitrile 40 mL로 3회 분배 추출하였다. 앞서의 acetonitrile 추출액을 40°C에서 감압 농축하여 건조하였으며, *n*-hexane 10 mL에 재용해한 잔류물은 florisil 흡착 크로마토그래피에 공시하였다.

Florisil 흡착 크로마토그래피

유리칼럼(길이 40 cm × 내경 1.5 cm)에 활성화한 florisil 10 g을 건식 충전하고, 상단 표면에 3 g의 무수 황산나트륨을 조심스럽게 첨가하였다. 유리칼럼에 *n*-hexane 50 mL를 가한 후 소량의 *n*-hexane이 상단에 남을 정도로 용출시켜 버리고, *n*-hexane 10 mL에 용해한 추출 시료를 가하여 약 3 mL/min의 유속으로 용출시켰다. 유리칼럼의 내부 충전제 표면이 노출되기 직전 100 mL의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(98/2, v/v)을 용출시켜 버린 후, 다시 150 mL의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(92/8, v/v)을 용출시켜 받았다. Quintozene이 포함된 칼럼 용출액은 40°C에서 감압 농축하여 건조하였고, 다시 *n*-hexane 10 mL에 용해한 후 GC-ECD에서 분석을 실시하였다.

대표 농산물에 대한 quintozene의 회수율 평가

상기의 과정에 의해 확립된 quintozene 잔류분석법의 신뢰성 및 효율을 확인하기 위해 실제 농산물 시료에 대한 회수율을 검토하였다. 즉, 분쇄 혹은 마쇄한 25 g의 각 대표 농산물 시료에 정량한계(LOQ)와 정량한계의 10배 및 50배가 되도록 조제한 quintozene의 표준용액을 각각 3반복 처리한 후 상기의 과정들을 수행하여 회수율 및 분석오차를 산출하였다.

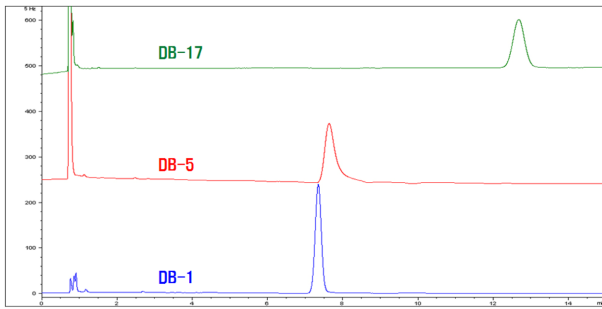


Fig. 2. GC-ECD chromatograms of quintozone using typical capillary columns (1 μ L of 0.5 mg/L in *n*-hexane).

결과 및 고찰

GC-ECD 분석조건 확립

GC-ECD를 이용한 quintozone 분석의 최적 분석 column을 선정하기 위해 칼럼의 극성별로 분리양상을 검토하였다. Methylsiloxane/phenylsiloxane 비율별로 극성을 달리하여 resolution을 확인한 결과, methylsiloxane이 각각 95% 및 50% 포함된 DB-5 및 DB-17 capillary column보다 methylsiloxane 함유량이 100%인 DB-1 비극성 capillary column에서 quintozone의 분석 감도 및 분리능이 가장 우수하였다 (Fig. 2). DB-1 칼럼 분리 시 quintozone의 머무름시간은 150°C 등온조건에서 약 7.3분이었다. 분리능과 감도를 증대시키기 위하여 온도구배법을 사용할 수도 있으나, 이러한 경우 재현성이 등온조건에 비하여 열등한 단점이 있다. 본 분석법의 개발 목적은 분석법의 정밀성 및 재현성, 아울러 단시간 내에 분석 작업이 수행되어야 하는 일상적 공정 분석용이므로 분석결과의 재현성 및 안정성 측면에서 보다 유리한 등온조건을 선정하였다.

분석기기의 정량한계는 크로마토그램 상에서 피크로 나타난 대상 성분의 분석 결과를 신뢰성 있게 수치화 및 객관화할 수 있는 한계 농도로서, 크로마토그램에서 검출된 피크의 시그널/노이즈(signal/noise, S/N) 비가 최소 10 이상인 성분의 농도를 나타낸다(Fong et al. 1999; Miller, 2005). 상기에서 확립한 GC-ECD 조건(Table 1)으로 quintozone 표준 용액을 분석한 후 S/N 비를 산출한 결과, 기기상의 정량한계(S/N \geq 10)는 0.01 ng이었다.

또한, 안정적 기기분석 수행 여부를 평가하기 위해 0.5 mg/L의 표준품을 15번 연속 주입 분석하여 머무름시간(retention time) 및 피크 면적(peak area)의 변이계수(CV, %)를 확인하여 재현성을 평가한 결과 최대 2.8%의 변이오차로 기기분석 시 재현성 있고 안정적인 분석을 진행할 수 있음을 확인하였다(Table 3).

한편, quintozone의 표준용액을 농도별로(0.005~2 mg/L) 1 μ L씩 GC-ECD로 분석하여 작성한 검량식의 회귀식은 $y=36353x+545.38$ ($R^2=0.999^{**}$)로 우수한 직선성을 나타내

Table 3. Reproducibility of retention time and peak area of quintozone using GC-ECD

Parameter	Retention time (min)	Peak Area
Minimum	7.288	28156.4
Maximum	7.367	30660.7
Mean	7.331	28813.1
SD	0.03	805.39
CV (%)	0.36	2.80

*Abbreviations : SD, standard deviation; CV, coefficient of variance.

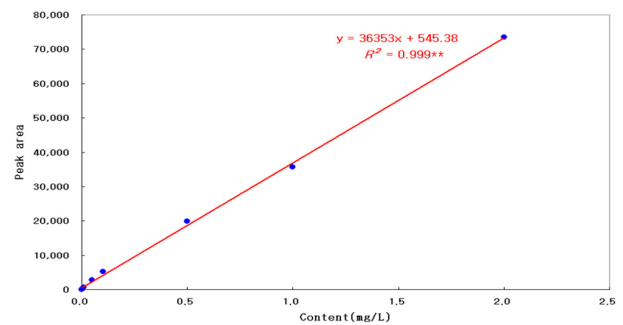


Fig. 3. Calibration curve of quintozone in GC-ECD.

었다(Fig. 3). 즉, quintozone은 기기 정량한계의 1/2 수준인 0.005 ng에서부터 그 400배인 2 ng까지의 표준 검량선에 대한 회귀계수가 $R^2=0.999^{**}$ 로 검량식의 직선성이 확인되었으므로, 검토된 농도 수준에서는 시료 내에 존재하는 quintozone의 잔류농도를 비례적으로 계산하는 것이 가능하였다.

분석시료의 추출 및 분배과정 확립

대표 농산물시료에서 quintozone을 추출하기 위한 용매는 acetonitrile을 선정하였다. Acetonitrile은 비극성 및 중간극성 농약의 추출 시 폭넓게 사용되는 용매로써, 많은 선행연구에 의해 잔류 농약 추출 시 재현성과 효율성이 인정된 바 있다. 농약 추출 시 농산물로부터 대상성분과 더불어 같이 추출되는 방해물질을 제거하기 위한 1차적인 조정제법으로는 액-액 분배법을 채택하였다. 즉, 다량의 증류수/포화식염수로 수용성 유기용매 추출액을 희석한 후 비극성 용매로 직접 분배하여 추출하는 방법을 사용하였는데, 이 방법은 US FDA법이나 AOAC법에서 비극성~중간극성 농약 성분에 대해 보편적으로 사용되고, 번거로운 추출액의 농축과정을 생략할 수 있는 장점이 있다(AOAC, 2000; Lee et al. 2008).

액-액 분배의 용매는 *n*-hexane, 두 가지 농도의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액 및 dichloromethane 용액 등 총 4종을 공시하여(Lee et al. 2011) 대상 성분에 대한 분배효율을 검토하였다(Table 4). 분배조건별 대상 성분의 분배효율을 검토한 결과, 100 mL의 *n*-hexane으로 분획하였을 때 quintozone은 99.0% 수준의 회수율을 나타내었으며, 100 mL의

Table 4. Efficiency of liquid-liquid partition of crude extract by different solvents for quintozene

Compound	Recovery ratio (%) ¹⁾			
	Partition I ²⁾	Partition II	Partition III	Partition IV
Quintozene	99.0 ± 0.4	98.7 ± 0.8	95.4 ± 1.5	91.0 ± 0.8

¹⁾ Mean values of triplicate samples.

²⁾ Partition mixture : 150 mL acetonitrile+50 mL saturated NaCl +450 mL distilled water.

I, 100 mL *n*-hexane, II, 100 mL *n*-hexane/dichloromethane (80/20, v/v), III, 100 mL *n*-hexane/dichloromethane (20/80, v/v), IV, 50 mL dichloromethane (×2 times).

Table 5. Efficiency of *n*-hexane/acetonitrile partition for quintozene

Compound	Recovery ratio(%) ¹⁾	
	Partition I ²⁾	Partition II
Quintozene	84.2 ± 1.2	90.6 ± 0.9

¹⁾ Mean values of triplicate samples.

²⁾ Partition mixture : 20 mL *n*-hexane saturated with acetonitrile.

I, 40 mL acetonitrile saturated with *n*-hexane (×2 times), II, 40 mL acetonitrile saturated with *n*-hexane (×3 times).

n-hexane/dichloromethane 혼합액(80/20, v/v)으로 분획하였을 때의 회수율은 98.7%, 100 mL의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(20/80, v/v)으로 분획하였을 때는 95.4%, dichloromethane 50 mL로 2회 반복하여 분획하였을 때는 91.0%를 나타내어, 가장 우수한 회수율을 나타낸 *n*-hexane 용액 100 mL(분배용매 I) 조건을 quintozene 분배용매로 선정하였다.

상기 *n*-hexane 분배과정을 통해 시료에 함유된 많은 극성 물질과 기타 방해물질이 제거되었을 것으로 예상되나, 유지를 포함한 비극성 성분은 *n*-hexane 층으로 대상성분과 더불어 분배되므로 제거되지 않는다. 특히, 비극성 유지 성분은 기기분석 수행 시 치명적인 간섭 혹은 분리용 칼럼과 검출기에 대해 급격한 열화를 유발하므로 반드시 제거해야 될 성분이다. 대표 농산물 중 현미와 콩은 유지성분이 약 1~3% 및 20% 수준 포함되어 있는 시료이므로 이런 유지성분 제거를 위하여 *n*-hexane/acetonitrile 액-액 분배법을 추가하였다(US FDA, 1999; AOAC, 2000). Table 5에 표시한 바와 같이 미리 *n*-hexane으로 포화시켜둔 acetonitrile을 이용하여 3회 분배 시 quintozene의 전량 회수가 가능하였으므로, 유지성분과 비극성 간섭물질을 제거하기 위한 *n*-

hexane/acetonitrile 분배법은 분배조건 II로 설정하였다. 한편, 유지성분의 함량이 0.1~0.4%로 비유지 시료에 해당하는 사과, 고추 및 배추에서는 제거되는 비극성 불순물 및 유지성분의 양이 극히 작고, 크로마토그램에서 그 정제의 효과 또한 미미하였으므로 *n*-hexane/acetonitrile 분배과정을 생략하였다.

Florisil 흡착 크로마토그래피를 이용한 정제조건 최적화

농산물 함유 quintozene의 분석 시 상기의 액-액 분배과정과 *n*-hexane/acetonitrile 분배과정을 통해 비극성 간섭물질 및 불순물들의 상당부분이 제거되었으리라 판단되나, 각 농산물로부터 유래되는 기타 불순물들이 여전히 존재하므로, 추가적인 정제과정의 확립이 필요할 것으로 사료되어 흡착 크로마토그래피를 이용한 정제법을 검토하였다. 흡착크로마토그래피는 농약의 잔류 분석에 보편적으로 이용되는 정제 방법으로, 흡착제는 florisil, alumina 및 silica gel 등이 주로 사용된다. 이들 흡착제 중 florisil은 지방 및 색소 제거에 뛰어나 US FDA (1999) 및 AOAC (2000) 등에서 가장 흔히 사용하는 방법이다. 본 연구 역시 quintozene의 극성 및 시료의 특성을 감안하여 흡착제는 florisil로 선정하였으며, *n*-hexane/dichloromethane 혼합액의 용매체계로 용매의 극성 조절을 통해 최적화 하였다(Table 6).

극성을 조절해 다양하게 조제한 florisil 흡착크로마토그래피용 용매를 이용하여 quintozene의 회수율을 검토한 결과, 100 mL의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(98/2, v/v)으로 pre-washing한 후, 150 mL의 *n*-hexane/dichloromethane 혼합액(92/8, v/v)으로 용출할 경우, quintozene의 회수율이 96.3%로 나타나 검토된 용매체계 중 가장 우수한 회수율을 나타내었으므로 간섭물질 제거를 위한 추가적인 정제법으로

Table 6. Elution profile of quintozene on florisil column chromatography

Elution solvent (v/v)	Recovery (%) ¹⁾			
	0 - 50 mL	51 - 100 mL	101 - 150 mL	Total
98 : 2 ²⁾	0.0	0.0	0.0	0.0
95 : 5 ³⁾	17.7	68.7	9.2	95.6
92 : 8 ³⁾	66.8	29.0	0.6	96.3

¹⁾ 10 g of activated florisil (60 - 100 mesh) was packed without solvent.

²⁾ *n*-Hexane/dichloromethane (v/v).

³⁾ Pre-washed with 100 mL of ²⁾ solvent system, and then eluted *n*-hexane/dichloromethane (v/v).

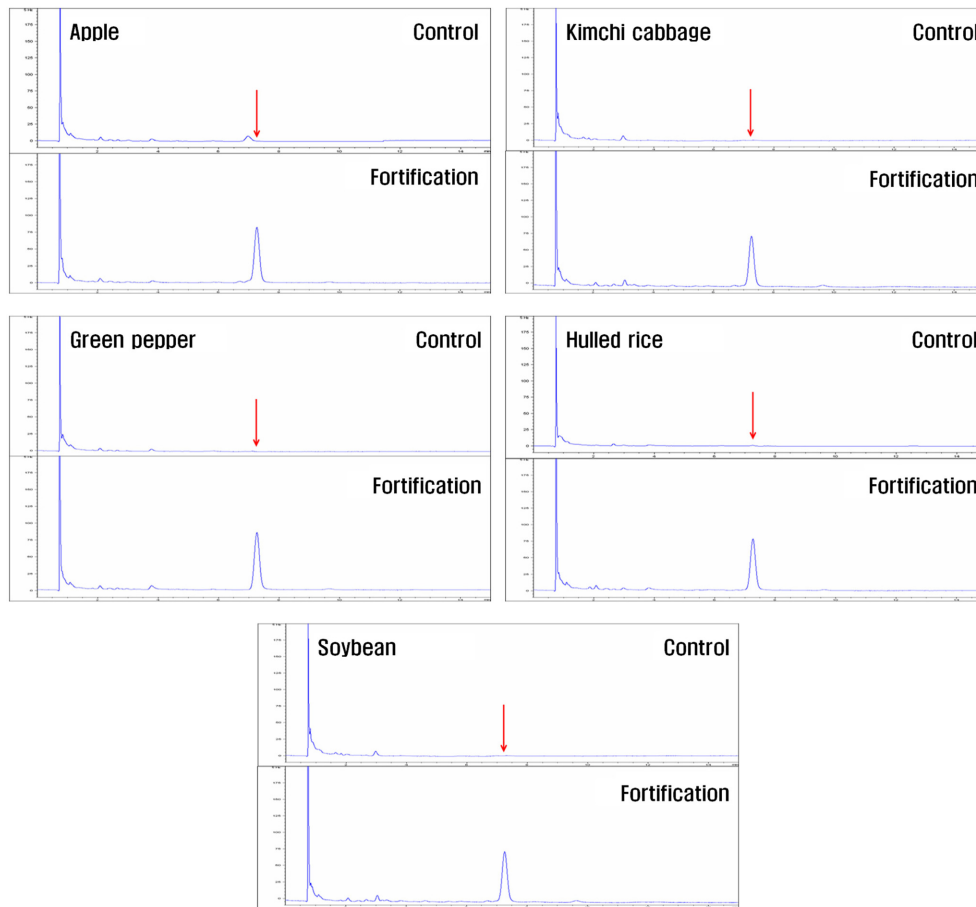


Fig. 4. GC-ECD chromatograms of typical agricultural commodity extracts for the analysis of quintozene, fortified at ten-fold of LOQ level.

florisil 흡착크로마토그래피법을 적용하였다.

농산물 시료 중 quintozene의 분석정량한계 및 회수율

본 연구를 통해 quintozene 분석 시 시료의 추출, 정제 및 기기분석 과정을 확립하였으며, Fig. 4는 이를 무농약 대표 농산물 시료에 적용한 결과이다. 무농약 대표 농산물에 상기의 전처리 과정을 모두 적용하였을 경우 최종 분석시료에는 quintozene과 같은 머무름 시간에 존재하는 간섭물질이 없음을 확인하였으며, 분석법의 정량한계는 시료량, 분석기기의 정량한계(LOQ) 및 분석과정에서의 농축배율을 계상하여 산출하였다.

무농약 대표 농산물 시료로부터 간섭물질이 없음을 확인한 후 산출된 quintozene의 분석정량한계는 0.004 mg/kg이었으며, 식품공전의 잔류농약분석법 실무 해설서(Lee, 2012)와 국제기준인 Codex (Codex Alimentarius Commission, 2003)에서 권장하는 허용기준의 1/2 이하 또는 0.05 mg/kg 이하의 정량한계 기준을 만족하였다. 각각의 무처리 농산물 시료에 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배의 농도가 되도록 quintozene 표준용액을 첨가하고, 앞서 확립한 분석방법에 따라 대표 농산물을 3반복 분석하여 회수율을 조사하였다.

그 결과, 정량한계 수준에서의 회수율은 87.0~102.7%로 나타났으며, 정량한계의 10배 수준에서는 82.4~93.7%, 정량한계 50배 수준에서는 79.9~91.2%의 회수율을 보였고, 분석 오차는 최대 4.3%로 조사되어 전체적으로 양호한 회수율과 재현성을 나타내었다. 따라서, 농산물 시료의 종류 및 처리 수준에 상관없이 잔류분석 기준인 회수율 70~120% 범위와 분석오차 10% 이내를 만족하였다(Table 7). 이상의 결과로 볼 때, 본 연구에 의해 확립된 quintozene의 신규 잔류분석법은 국내의 농산물의 잔류농약 검사 및 분석에 충분히 적용 가능함을 확인하였다.

GC/MS를 이용한 quintozene 성분의 재확인

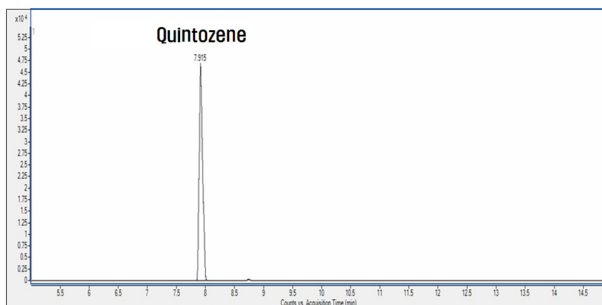
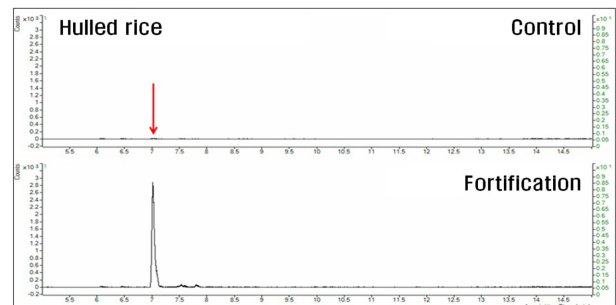
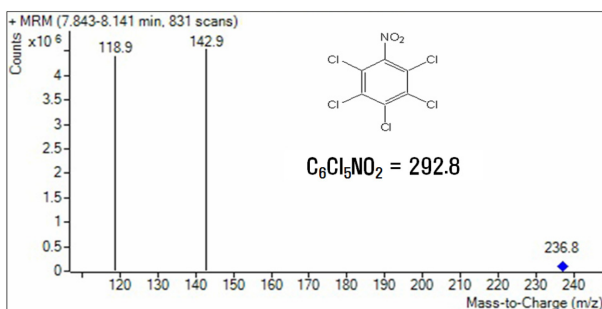
상기 과정에서 확립한 quintozene 분석법의 신뢰성과 정확성을 재검증하기 위해 GC/MS를 이용한 확인 과정을 추가하였다. Table 2의 GC-MS 분석조건에서 표준용액을 분석하여 TIC (total-ion chromatogram) 및 mass spectrum을 얻었으며, m/z 118.9와 142.9를 selected-ion monitoring (SIM) 용 ion으로 설정하였다(Fig. 5 및 6).

Fig. 7은 본 연구에 사용한 대표 농산물 시료 중 현미에서 quintozene의 잔류분을 재확인한 SIM chromatogram이고,

Table 7. Recovery of quintozene with different crop samples

Crop	Fortification (mg/kg)	Recovery (%) ¹⁾	CV(%)	LOQ (mg/kg)
Apple	0.004	102.7 ± 3.6	3.5	0.004
	0.04	93.7 ± 3.6	3.9	
	0.2	91.2 ± 2.0	2.2	
Kimchi cabbage	0.004	93.8 ± 1.0	1.1	0.004
	0.04	89.3 ± 2.6	2.9	
	0.2	85.0 ± 2.2	2.5	
Green pepper	0.004	101.6 ± 4.3	4.3	0.004
	0.04	92.2 ± 3.2	3.5	
	0.2	89.0 ± 2.6	2.9	
Hulled rice	0.004	93.0 ± 3.2	3.4	0.004
	0.04	87.3 ± 2.4	2.7	
	0.2	85.2 ± 2.0	2.3	
Soybean	0.004	87.0 ± 3.2	3.7	0.004
	0.04	82.4 ± 1.5	1.9	
	0.2	79.9 ± 1.8	2.2	

¹⁾ Mean values of triplicate samples with standard deviations.

**Fig. 5.** Total-ion chromatogram (TIC) of quintozene in GC/MS.**Fig. 7.** SIM chromatogram of hulled rice extract for the confirmation of quintozene, fortified at ten-fold of LOQ level.**Fig. 6.** EI mass spectrum of quintozene.

본 연구에 사용한 모든 농산물의 무처리 시료에서는 대상성분인 quintozene의 피크가 확인되지 않았으며, 인위적으로 첨가한 시료로부터 동일한 머무름 시간대에 명확하게 quintozene의 잔류분만을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에 의해 확립된 GC/MS의 SIM 조건 역시 GC-ECD의 정량법과 함께 quintozene의 잔류분을 확인할 수 있는 추가적인 정성분석법으로 사용할 수 있을 것으로 판단된다.

결론

GC-ECD/MS 분석법을 적용하여 농산물 시료 중 aromatic 살균제 quintozene의 잔류분석법을 확립하였다. Acetonitrile에 의해 추출된 농산물 시료 중 quintozene의 잔류분은 *n*-hexane 분배법 및 florisil 흡착 크로마토그래피법으로 정제 후 최종 분석시료로 사용하였다. DB-1 capillary column을 이용한 GC-ECD 분석 시 불순물에 의한 간섭은 없었으며, 고추, 배추, 사과, 콩 및 현미의 5종 대표 농산물 중 quintozene의 정량한계(LOQ)는 0.004 mg/kg이었다. 대표 농산물 5종에 대한 회수율은 79.9~102.7%였으며, 농산물 시료 종류 및 처리수준에 상관없이 10% 미만의 분석오차를 나타내어 잔류분석기준 이내를 만족하였다. 본 연구에서 확립된 aromatic 살균제 quintozene의 잔류 분석법은 검출한계와 회수율, 그리고 분석오차 면에서 국제적인 분석기준을 충족할 뿐만 아니라, GC/MS/SIM에 의한 잔류분의 재확인 과정의 결과를 종합해 볼 때 분석과정의 신뢰성 및 편리함이 확보

된 공정 분석법으로 사용이 가능할 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 2015년도 식품의약품안전처의 연구개발비 (13162식품안010)로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

Literature Cited

- Ahn, K. G., G. H. Kim, G. P. Kim, M. J. Kim, Y. S. Hwang, S. B. Hong, Y. D. Lee and M. G. Choung (2014) Determination of amisulbrom residues in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS, *Korean J. Pestic. Sci.* 18(4):321-329.
- AOAC (2000) 'Pesticide and industrial chemical residues, In Official method of analysis', 17th ed., pp. 1-88, AOAC International, Arlington, VA, USA.
- Cairns, T., E. G. Siegmund and F. Krick (1987) Identification of Several New Metabolites from Pentachloronitrobenzene by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, *Journal of Agric. and Food Chem.* 35(3):433-439.
- Codex Alimentarius Commission (2003) *Guidelines on Good Laboratory Practice in Residue Analysis*, CAC/GL 40-1993, Rev.1-2003, Rome, Italy.
- 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.
- Golf Course Superintendents Association of America (2011) *GCSAA News PCNB, back on the market for golf course turf*.
- Howard, P. H. (1991) *Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals: Pesticides*, CRC Press. pp. 549-553.
- Kim, H. J., Y. S. Park, S. J. Cho, C. G. Park, J. H. Kim and M. Y. Kim (2008) The survey of the remaining pentachlorobenzene from the environmental samples in Korea, *Report of S.I.H.E.* 44:242-251.
- Kim, Y. H., S. J. Lee, L. S. Song, Y. S. Hwang, Y. D. Lee and M. G. Choung (2011) Analytical method of bentazone residue in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS, *Korean J. Pestic. Sci.* 15(2):149-159.
- Lee, J. H., H. W. Park, Y. S. Keum, C. H. Kwon, Y. D. Lee and J. H. Kim (2008) Dissipation pattern of boscalid in cucumber under greenhouse condition, *Korean J. Pestic. Sci.* 12(1):67-73.
- Lee, S. J., Y. H. Kim, L. S. Song and M. G. Choung (2011) Determination of ametryn residue in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS, *Korean J. Pestic. Sci.* 12(2):125-133.
- Lee, S. J., Y. H. Kim, L. S. Song, Y. S. Hwang, J. D. Lim, E. H. Sohn, M. H. Im, J. A. Do, J. H. Oh, K. S. Kwon, J. K. Lee, Y. D. Lee and M. G. Choung (2011) Development of analytical method for fenoxycarb, pyriproxyfen and methoprene residues in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS, *Korean J. Pestic. Sci.* 15(3):254-268.
- Lee, S. J., Y. S. Hwang, Y. H. Kim, M. Y. Nam, S. B. Hong, W. K. Yun, C. H. Kwon, J. A. Do, M. H. Im, Y. D. Lee and M. G. Choung (2010) Determination of fomesafen residue in agricultural commodities using HPLC-UVD/MS, *Korean J. Pestic. Sci.* 14(2):95-103.
- Lee, Y. D. (2012) *Pesticide Analytical Residues Manual in Food Code*, MFDS.
- Miller, J. M. (2005) *Chromatography : Concepts and Contrasts* (2nd), Wiley Interscience, p. 286-287, USA, Standardization Administration of the People's Republic.
- Ministry of Food and Drug Safety (2012) *Korea Food Code*, pp. 10-4-340~10-4-342.
- Ministry of Food and Drug Safety (2014) *MRLs for Pesticides in Foods*, pp. 150-151.
- Navarro, M., Y. Pico, R. Marin and J. Manes (2002) Application of matrix solid-phase dispersion to the determination of a new generation of fungicides in fruits and vegetables, *J. Chromatogra. A*, 968:201-209.
- Nguyen, T. D., M. H., Lee and G. H., Lee (2008) Multiresidue determination of 156 pesticides in watermelon by dispersive solid phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry, *Bull. Korean Chem. Soc.* 29(12):2482-2486.
- US FDA (1999) *Pesticide Analytical Manual, Vol 1: Multi-residue Methods* (3rd ed.), US Food and Drug Administration, USA.
- Sullivan, J. B. and G. R. Krieger (2001) *Clinical Environmental Health and Toxic Exposures*, 2nd ed.; Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, PA, pp. 1111-1112.
- Walorczyk, S. (2008) Development of a multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry II. Improvement and extension to new analytes, *J. Chromatogra. A*, 1208:202-214.

GC-ECD/MS를 이용한 농산물 중 Quintozene의 잔류분석

안경근 · 김경하 · 김기쁨 · 황영선 · 홍승범 · 이영득¹ · 정명근*

강원대학교 생약자원개발학과, ¹대구대학교 생명환경학부

요 약 본 연구에서는 GC-ECD/MS를 이용하여 농산물 중 aromatic 살균제 quintozene의 잔류 분석법을 확립하였다. 대표 농산물은 사과, 고추, 배추, 현미 및 콩을 선정하였고, acetonitrile을 가하여 추출된 quintozene 성분을 *n*-hexane 액-액 분배법과 florisil 흡착크로마토그래피법으로 정제하여 GC-ECD/MS 분석대상 시료로 사용하였다. Quintozene의 정량적 분석을 위한 최적 GC-ECD 분석 조건을 확립하였으며, 정량한계(LOQ)는 0.004 mg/kg 이었다. 각 대표 농산물에 대해 정량한계, 정량한계의 10배 및 50배 수준에서 회수율을 검토한 결과 모든 처리농도에서 79.9~102.7% 수준을 나타내었으며, 반복 간 변이계수(CV)는 최대 4.3%를 나타내어 잔류분석 기준인 회수율 70~120% 및 분석오차 10% 이내를 충족시키는 만족한 결과를 도출하였으며, GC/MS/SIM을 이용하여 실제 농산물 시료에 적용하여 재확인 하였다. 이상의 결과로 신규 quintozene의 GC-ECD/MS 분석법은 검출한계, 회수율 및 분석오차 면에서 국제적 분석기준을 만족하는 신뢰성이 확보된 정량 분석법으로 사용 가능할 것이다.

색인어 GC-ECD/MS, Quintozene, 잔류분