

Research Article



CrossMark

Open Access

GC-ECD를 이용한 한약재 길경(*Platycodi Radix*) 중 살균제 Prochloraz의 분석

오경석^{1,2}, 윤명섭^{1,2}, 양승현^{1,2}, 최 훈^{1,2*}

¹원광대학교 농식품융합대학 생명환경학과, ²원광대학교 생명자연과학연구소

Analysis of Fungicide Prochloraz in *Platycodi Radix* by GC-ECD

Gyeong-Seok Oh^{1,2}, Myung-sub Yoon^{1,2}, Seung-Hyun Yang^{1,2} and Hoon Choi^{1,2*} (¹Department of Life and Environmental Sciences, College of Agriculture and Food Sciences, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea, ²Institute of Life Science and Natural Resources, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea)

Received: 20 December 2021/ Revised: 25 December 2021/ Accepted: 27 December 2021

Copyright © 2021 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.

ORCID

Hoon Choi

<https://orcid.org/0000-0002-9115-9636>

Gyeong-Seok Oh

<https://orcid.org/0000-0001-7872-1180>

Myung-sub Yoon

<https://orcid.org/0000-0002-1868-8419>

Seung-Hyun Yang

<https://orcid.org/0000-0002-5013-3237>

Abstract

BACKGROUND: Prochloraz has been widely used as an imidazole fungicide on fruits and vegetables in Korea. Analytical approaches to evaluate prochloraz residues in herbal medicine are required for their safety management. In this study, we developed a GC-ECD method for quantitative determination of prochloraz in *Platycodi Radix*. The metabolite 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T) was used as a target compound to evaluate total prochloraz residues as it is categorized to a representative residue definition of prochloraz. All residues containing 2,4,6-T were converted to 2,4,6-T and subjected to GC-ECD.

METHODS AND RESULTS: In order to verify the applicability, the method was optimized for determining prochloraz and its metabolite 2,4,6-T in *Platycodi Radix*. Prochloraz and its metabolite 2,4,6-T residuals were extracted using acetone. The extract was diluted with and partitioned directly into dichloromethane to remove polar

co-extractives in the aqueous phase. The extract was decomposed to 2,4,6-T, and then the partitioned ion-associate was finally purified by optimized aminopropyl solid-phase extraction (SPE). The limits of quantitation of the method (MLOQs) were 0.04 mg/kg and 0.02 mg/kg, respectively for prochloraz and 2,4,6-T, considering the maximum residue level (MRL) of prochloraz as 0.05 mg/kg in *Platycodi Radix*. Recovery tests were carried out at two levels of concentration (MLOQ, 10 MLOQ) and resulted in good recoveries (82.1-89.7%). Good reproducibilities were obtained (coefficient of variation < 2.8%), and the linearities of calibration curves were reasonable ($r^2 > 0.9986$) in the range of 0.005-0.5 µg/mL.

CONCLUSION(S): The method developed in this study was successfully validated to meet the guidelines required for quantitative determination of pesticides in herbal medicine. Thus, the method could be useful to monitor prochloraz institutionally in herbal medicine.

Key words: Herbal medicine, *Platycodi Radix*, Prochloraz, 2,4,6-trichlorophenol(2,4,6-T)

*Corresponding author: Hoon Choi

Phone: +82-63-850-6678; Fax: +82-63-850-7308;

E-mail: hchoi0314@wku.ac.kr

서론

길경(*Platycodi Radix*)은 동아시아 중심으로 자생하는 다년생 초본류 초롱꽃과(*Campanulaceae*)에 속하는 도라지(*Platycodon grandiflorum* A. De Candolle)의 뿌리 부위이며 뿌리 표면을 제거하거나 또는 그대로 말린 것을 말하며, 일반적으로 기관지염 및 폐결핵 등 염증성 호흡기 질환에 효과적이며 식용으로 많이 이용하고 있다[1-3]. 길경은 세계적으로 1속 1종의 대표적인 약초로 알려져 있다[4]. 소비자들의 생활 수준이 높아지고 건강에 대한 관심이 증가함에 따라 생약재의 수요는 늘어나고 있는 추세이다. 생약재의 수요가 증가하면서 야생에서 채취되는 생산량은 한계가 있으므로 사람에게 의해 인위적으로 재배되고 있다[5]. 농림축산식품부에 따르면 2020년 기준 약용작물의 재배면적은 9,792 ha이고 생산량은 55,183 톤이며 그 중 길경의 재배면적은 597 ha으로 연간 4,391 톤의 생산량을 보였다(MAFRA, 2021). 생약 재배 시 효과적인 병해충 방제를 위해서 대다수의 농가에서 농약을 사용하기 때문에 생약 중 잔류농약의 분석은 필수적이다[6]. Prochloraz는 Imidazole계 살균제로서, 환경이나 식물체내에서 구조가 변환되어 일반적으로 3개의 독성 대사물을 생산하는데, N-formyl-N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea와 N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea로 전환되고 이것은 다시 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T)로 분해된다[7]. prochloraz 분석법은 주로 gas chromatography(GC) electron-capture detector (ECD)를 이용하여 과일, 채소에서 prochloraz를 분해시켜 2,4,6-T로 정량하는 잔류분석법이 개발 되어 왔다[8,9], 과실류를 대상으로 liquid chromatography(LC) Ultraviolet detector(UVD)를 이용하여 분석된 바 있으나[10,11], prochloraz의 분해 대사산물인 2,4,6-T은 정량하지 않고, 모화합물인 prochloraz만 정량하는 방법으로 제시된바 있다. 현재 농산물 중 prochloraz의 잔류분 정의는 'prochloraz와 2,4,6-trichlorophenol(2,4,6-T)기를 포함하고 있는 대사산물의 함을 prochloraz로 함'으로 되어 있기 때문에, 한약재 길경 중 잔류분석법 개발시 2,4,6-T로 분해 및 정량 후 prochloraz로써 환산정량하는 방법으로 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 초자

본 연구에 사용된 표준품 prochloraz(98.6%)의 표준품은 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입 후 사용하였으며, 2,4,6-T (99.0%)는 Chem Service (USA)사에서 구입하여 사용하였다. 분해용 vial로는 Verex vial 40 mL, NH₂ SPE cartridge (1 g 6 cc)는 Phenomenex (USA)사에서 구입하였다. 사용된 용매로 acetone, dichloromethane, *n*-hexane, 1N-hydrochloric acid(HCl 순도 35%), 10N sodium hydroxyde (NaOH), Ammonium hydroxide(순도 30%) 및 methanol는 Daejung Chemicals & Metals(Korea), formic acid

(순도 99%)는 Wako(Japan)에서 구매하였다. 고체시약 sodium chloride와 sodium sulfatem anhydrous는 GR급으로 Junsei chemical(Japan)에서 구입하였고, pyridine hydrochloride (98%)는 Sigma-Aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였다. 시료 추출을 위한 homogenizer는 T 25 digital Ultra-Turrax(IKA Werke GmbH & Co, Germany), 원심분리기 Combi-408 (Hanil, Korea), 추출액 농축기로 R-114 (Buchi, Switzerland)을 각각 사용하였다.

표준용액 조제

표준품의 일정량을 acetone에 녹여 100 µg/mL의 stock solution을 조제하였다. Stock solution은 -20°C에서 냉동 보관하였고 필요시 마다 일정량을 취하여 acetone에 희석하여 0.005-0.5 µg/mL의 working solution을 조제하여 사용하였다.

GC-ECD 기기분석 조건 설정

Prochloraz 잔류분인 2,4,6-T 분석을 위해 6890 GC Model Agilent Technologies(USA)에 ⁶³Ni-ECD를 부착하여 사용하였다. 분석 column은 DB-5 capillary column (30 m × 0.53 mm I.D., 0.50 µm, Agilent, USA)를 사용하였으며, 이동상 기체로는 N₂를 사용하여 유속은 7 mL/min였으며 make-up gas 유속은 80 mL/min이었다. Oven 승온 조건은 다음과 같이 설정하였다. 80°C에서 3분간 고정된 뒤에 분당 15°C/min씩 승온 하여 180°C까지 승온 하고 3분간 고정된 뒤에 분당 10°C/min 승온 하여 260°C에서 3분간 고정된 뒤에 분당 10°C/min 승온하여 2분간 고정된 뒤 분석하였다. Injector port 온도는 300°C이었으며, detector block 온도는 300°C이었고, 기기주입량은 2 µL으로 splitless mode로 분석하였다.

정량한계 및 직선성 확인

Prochloraz의 대사체인 2,4,6-T 표준용액 0.005-0.05 µg/mL를 1 µL씩 주입하여 chromatogram상의 s/n ratio (signal과 noise의 비)가 3 또는 10 이상인 농도를 기기 검출 한계(Instrumental Limit of Detection, ILOD)와 기기정량 한계(Instrumental Limit of Quantitation, ILOQ)를 설정하였다. 2,4,6-T의 표준용액 0.005 µg/mL를 7번 반복 분석하여 재현성을 확인하였으며, 0.005-0.5 µg/mL의 working solution을 분석하여 표준 검량선 작성 및 직선성을 확인하였다.

추출, 분배 및 분해

Prochloraz의 분배법은 총 두가지로 나뉘는데, 추출 후 분해 전 분배법, 분해 후 분배법 이 있다. 추출 후 분해 전 분배법은 [12]의 분석법을 준용하여 검토하였다. 분해 전 분배법의 경우 생약 시료 추출 후 prochloraz와 2,4,6-T의 분배 효율을 확인하였다. 분해과정의 경우 prochloraz 표준용액 1 µg/mL, 1 mL를 분해용 vial에 옮기고 0.2% diethylene

glycol 0.2 mL 첨가한 후 질소농축 하였다. 분해용 vial에 pyridine hydrochloride 5 g을 첨가하고 220 °C에서 1시간 분해 후 상온에서 방치한 다음 0.2N HCl 수용액 20 mL 재 용해하고 분액여두로 옮겼다. 증류수 100 mL와 포화식염수 50 mL를 첨가하고 dichloromethane 50 mL으로 2번 분배한 후 sodium sulfate, anhydrous을 통과시켜 탈수하고 0.2% diethylene glycol 0.2 mL를 첨가한 다음 40 °C 수욕상에서 감압 농축하고 acetone 2 mL로 잔사 고형분을 재용해 하여 기기 분석하였다.

분해 후 분배법을 검토하기 위해 분해용기에 pyridine hydrochloride 5 g을 넣고 220°C에서 1시간 동안 분해하였다. 0.2M HCl 20 mL로 재용해 후 500 mL 분액여두에 옮긴 후 2,4,6-T 0.1 µg을 첨가하고 증류수 100 mL와 포화식염수 50 mL를 넣은 다음 dichloromethane 50 mL씩 두 번 분배하여 무수황산나트륨을 통과하여 탈수과정을 거친 후 동근바닥 플라스크에 받아 40°C 수욕상에서 감압농축하여 acetone에 재용해하여 분석하였다.

분해 후 Ion-associated 분배법을 검토하기 위해 10 N NaOH을 이용하여 분해액의 pH를 염기성으로 조정하여 2,4,6-TCP을 이온성 형태로 전환시킨 후 n-hexane 50 mL로 2번 분배하여 세척하고 2N HCl을 이용해 pH를 산성으로 조정 후 dichloromethane 50 mL로 두 번 분배하여 무수황산나트륨을 통과하여 탈수과정을 거친 후 동근바닥 플라스크에 받아 40°C 수욕상에서 감압농축하여 acetone에 재용해하여 분석하였다.

정제조건 검토

한약재 길경 추출 및 분배액을 열분해하여 2,4,6-T로 분해한 후 기기분석 이전에 다량의 분석 방해물질을 제거하기 위한 정제과정을 검토하였으며, 2,4,6-T가 해리성 화합물로 음이온성으로 전환 가능하기에 약 음이온교환 크로마토그래피인 NH₂ SPE cartridge를 이용한 정제 조건을 검토하였다.

결과 및 고찰

GC-ECD 분석조건 확립

분석대상 성분인 prochloraz 및 2,4,6-T의 경우 분자구조 내 chlorine 원자 3개를 함유하고 있으므로 검출기로는 ECD를 이용하였다. 분석대상 성분 분석이 가능한 기기분석 조건을 탐색하기 위해 분리능이 우수한 capillary column을 선택하고 온도조절 등 기기분석 조건을 최적화 하였다. 대상성분 분석을 위한 칼럼은 보편적으로 많이 사용하고 있는 DB-5 칼럼이 감도 및 분리능에서 양호하였기에 분석 칼럼으로 선정하였다. 앞서 확립한 분석조건에서 2,4,6-T의 머무름 시간은 10.4분이었으며 기기상 정량한계 농도인 0.005 µg/mL를 7번 반복 분석한 결과 변이계수(C.V.)는 2.3 %로 10 % 이내를 만족하였고, 표준 검량선의 결정계수(R²)는 0.993이상으로 우수한 직선성을 보였다.

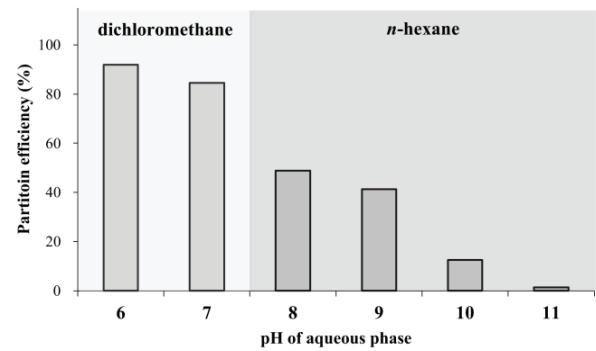


Fig. 1. The partition efficiency for 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T) by the pH.

추출, 분배 및 분해

추출 후 분해 전 분배법의 경우 dichloromethane으로 분배하는 방법을 검토한 결과 prochloraz 및 2,4,6-T 모두 93.6~97.9%로 우수한 분배 회수율을 보여, 최종적으로 acetone 추출 후 과량의 증류수로 희석한 후 포화식염수를 첨가하여 dichloromethane 50 mL으로 두 번 분배하는 과정으로 최종 확립하였다.

분해과정의 경우 prochloraz 및 2,4,6-T 표준용액 1 µg/mL, 1 mL를 분해용 vial에 옮기고 0.2% diethylene glycol 0.2 mL 첨가한 후 질소농축 후, 분해용 vial에 pyridine hydrochloride 5 g을 첨가하고 220 °C에서 1시간 분해 후 상온에서 방치한 다음 0.2N HCl 수용액 20 mL 재 용해하고 분배하여 분석한 결과 108~112%로 우수한 분해 회수율을 보여, 최종 분해과정으로 확립하였다.

분해 후 Ion-associated 분배법의 경우 prochloraz의 분해 후 분석대상성분인 2,4,6-TCP로 전환이 되는데, 2,4,6-TCP에 대한 정확한 pKa 정보가 없어 다양한 pH 조건에서 분배법을 검토하였다. 먼저, 분해액의 pH를 조정하면서 n-hexane으로 추출한 결과, pH 11 하에서 n-hexane 층으로 이행 정도가 가장 낮았다. 따라서, 분해액 세척은 10N NaOH을 이용해 분해액의 pH를 11로 조정한 후 n-hexane으로 세척하였다. 세척 후, 0.2N HCl으로 재차 산성화시킨 후 dichloromethane으로 분배 회수하는 과정을 검토한 결과, pH가 6 이하일 경우 90%이상의 분배회수율을 보였다(Fig. 1). 따라서, 2,4,6-T의 pKa 값은 대략적으로 8.5로 예상되어지며, 분해액을 pH 11로 조정한 후 n-hexane으로 세척하고 재차 pH 6으로 조정한 다음 dichloromethane으로 회수하는 ion-associated 분배법을 확립하였다.

정제조건 확립

2,4,6-T의 분배액에 잔존하는 간섭물질들을 제거하기 위해 NH₂ SPE cartridge (1 g, 6 cc)를 dichloromethane 10 mL로 활성화시킨 후 2,4,6-T 표준용액 1 µg/mL, 1 mL를 질소건고한 다음 dichloromethane 5 mL로 재용해된 용액을 카트리지에 가하였다. 최적의 용출조건을 확립하기 위해 methanol/dichloromethane 용액을 비율별로 10 mL 씩

용출시켜 회수율을 확인하였다. 하지만 methanol/dichloromethane 용액의 모든 비율에서 용출되지 않았고 100% methanol 에서도 전혀 용출되지 않았다. 추가적으로 다양한 용액을 사용하여 10 mL씩 총 3번 용출 시켜 보았으나, 2,4,6-T가 용출되지 않았으며, 2% formic acid를 함유한 methanol 10 mL를 가하여 용출하였을 때 100.2%의 우수한 회수율 결과를 얻었다. 위 결과는 [12]의 정제조건 확인 결과와 유사하게 나타났다.

하지만 실제 시료 도입 시, 분해 후 분배과정을 진행할 때 2,4,6-T의 pKa 값은 대략적으로 8.5로 pH 6으로 맞춘 뒤에 dichloromethane 분배하게 되는데, 농축액에 0.2N HCl이 남아 있음으로 정제과정 진행시 NH₂ cartridge에서 loading 분액에서 89.6%로 소실이 발생하였다. 이 결과는 [13]에서 사과시료를 가지고 정제 조건을 확인 하였을 때 별도의 산을 추가하지 않아도, 1% methanol/dichloromethane 용액에서도 용출 되는 것으로 나타나, 2,4,6-T의 경우 NH₂ cartridge에서 약산성 조건에서 용출됨을 확인 할 수 있었다. 앞선 결과를 토대로, NH₂ cartridge 정제시 0.5% ammonium hydroxide가 함유된 acetone를 이용하여 염기성 조건으로 변환 한 뒤에 세척 후 2% formic acid를 함유한 acetone를 이용하여 약산성 조건으로 치환하여 용출 받는 조건으로 정제조건을 확인한 결과 108.2%의 우수한 회수율을 확인할 수 있었다. 따라서, 0.5% ammonium hydroxide가 함유된 acetone 10 mL로 활성화한 NH₂ cartridge에 상기 농축액을 적하하고, 0.5% ammonium hydroxide가 함유된 acetone 20 mL를 용출하여 버리고 이어서 2% formic acid를 함유한 acetone 10 mL로 용출한 후 0.2% diethylene glycol 0.2 mL 첨가하여 질소농축 한 뒤 acetone 2 mL로 재용해 하여 분석하였다.

실험실간 교차검증

앞서 확립한 분석법에 따라 한약재 길경 중 prochloraz 및 2,4,6-T의 잔류분 회수정도를 확인함으로써 분석의 신뢰성을 확인하였다. 무처리 시료에 표준용액 첨가법에 따라 처리 수준이 prochloraz는 10 MLOQ (0.4 mg/kg), 2,4,6-T는 10 MLOQ (0.2 mg/kg)이 되도록 표준용액을 첨가하여 회수율 시료를 조제하여 3번 반복 실험하였다. 한약재 길경 중 prochloraz 및 2,4,6-T의 교차검증 결과는 Table 1와 같다.

실험실간 교차검증 결과 잔류분석기준인 회수율 70~120%와 변이계수 20%이내를 만족하여, 공정분석법의 적합성을 확인하였다.

한약재 길경 중 prochloraz의 분석정량한계 및 회수율

앞서 확립한 분석법에서 2,4,6-T의 ILOQ 0.005 µg/mL, 기기주입량 2 µL, 시험용액 2 mL, 분배액 중 1 mL 분해, 시료채취량 10 g을 고려하여 2,4,6-T의 MLOQ는 0.02 mg/kg로 산출되었고 prochloraz로써 환산할 경우 prochloraz의 MLOQ는 0.04 mg/kg이었다. 식품공전 잔류농약실무해설서(MFDS 2017)와 Codex(Codex Alimentarius Commission 2020)에서 권장하는 잔류농약분석법 기준인 0.05 mg/kg 이하 또는 허용기준의 1/2 이하의 정량한계 기준에 부합하였다.

본 연구의 확립된 전처리 방법에 따라 회수율을 확인하였다. 무처리 시료에 표준용액 첨가법에 따라 prochloraz의 경우 처리수준이 MLOQ (0.04 mg/kg), 10 MLOQ (0.4 mg/kg)이 되도록 표준용액을 첨가하여 회수율 시료를 조제하여 회수율 실험을 수행하였으며, 2,4,6-T의 경우 처리수준이 MLOQ (0.02 mg/kg), 10 MLOQ (0.2 mg/kg)에서 되도록 표준용액을 첨가하여 회수율 시료를 조제하여 회수율 실험을 수행하였다. 그 결과 prochloraz 및 2,4,6-T의 MLOQ 수준에서는 각각 83.0, 89.7%, MLOQ의 10배 수준에서는 82.1, 82.5%의 우수한 회수율을 보였으며, 분석오차는 최대 2.8%로 재현성 역시 양호하였다. 따라서 한약재 길경 중 prochloraz의 분석법은 회수율 70~120% 범위와, 변이계수 10% 이내의 잔류분석기준을 만족하였다(Table 2).

본 연구에서 확립한 prochloraz의 잔류분석법은 국내·외 한약재의 잔류농약 검사 및 분석에 적용 가능할 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 한약재 길경 중 Imidazole계 살균제 prochloraz 및 그 대사체 2,4,6-T의 잔류분석법을 확립하였다. 한약재 중 길경을 대표 시료로 선정하고 GC-ECD를 이용한 prochloraz 정량 시험법을 개발하였다. 한약재 길경 중 prochloraz 잔류물을 acetone로 추출하고, dichlorome-

Table 1. Inter-laboratory validation results of analytical method for the determination of prochloraz and its metabolite 2,4,6-trichlorophenol(2,4,6-T) in *Platycodi Radix*

Compound	Fortification (mg/kg)	Recovery(%) ^{a)}		C.V.(%) ^{d)}
		LAB1 ^{b)}	LAB2 ^{c)}	
Prochloraz	0.4	82.5	110.0	19.4
2,4,6-trichlorophenol	0.2	82.1	73.4	6.2

a) n=3

b) Wonkwang University

c) Seoul National University

d) Coefficient of variation of inter-laboratory

Table 2. Recoveries of prochloraz and its metabolite 2,4,6-trichlorophenol(2,4,6-T) from *Platycodi Radix*

Herbal medicine	Compound	Fortification (mg/kg)	Recovery (%) ^{a)}	C.V. (%) ^{b)}	MLOQ (mg/kg)
<i>Platycodi Radix</i>	Prochloraz ^{c)}	0.04	89.7 ± 2.5	2.8	0.04
		0.4	82.5 ± 0.7	0.8	
	2,4,6-Trichlorophenol	0.02	83.0 ± 2.2	2.6	0.02
		0.2	82.1 ± 1.0	1.3	

^{a)} Mean±SD, n=3

^{b)} Coefficient variation

^{c)} Prochloraz correction factor(1.91)

= Prochloraz Molecular weight(376.7)/2,4,6-trichlorophenol Molecular weight(197.4)

thane로 분배하고 pyridine hydroxyde를 이용하여 분해한 뒤, 이온억압 분배과정 후, NH₂ cartridge로 정제하였다. 한 약재 길경 중 prochloraz의 경우 정량한계는 0.04 mg/kg으로 결정되었으며, MLOQ 수준의 회수율은 89.7%, MLOQ 10배 수준에서는 82.5%의 우수한 회수율을 보였으며, 분석오차는 최대 2.8%로 재현성 역시 양호하였다. 2,4,6-T의 경우 정량한계는 0.02 mg/kg으로 결정되었으며, MLOQ 수준의 회수율은 83.0%, MLOQ 10배 수준에서는 82.1%의 우수한 회수율을 보였으며, 분석오차는 최대 2.8%로 재현성 역시 양호하였다. 본 연구에서 확립한 prochloraz 및 그 대사체 2,4,6-T의 잔류분석법은 국내·외 한약재의 잔류농약 검사 및 분석에 적용 가능할 것으로 기대된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This research was supported by the Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea (grant number : 19172MFDS196).

References

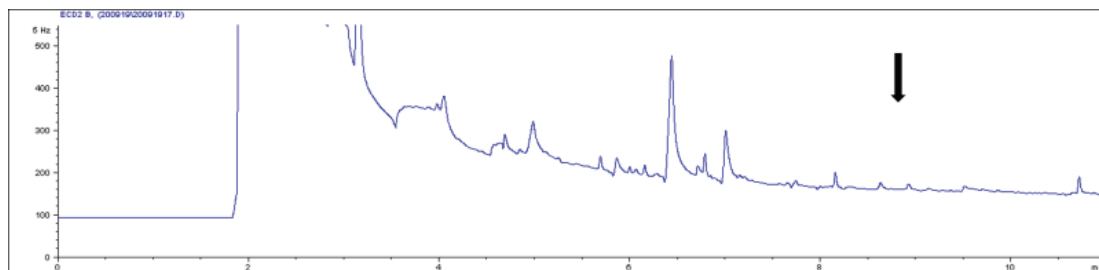
- Han LK, Xu BJ, Kimura Y, Zheng Y and Okuda H (2000) Platycodi radix affects lipid metabolism in mice with high fat diet-induced obesity. *J. Nutr.*, 130, 2760-2764.
- Lee EB (1975) Pharmacological activities of crude platycodin. *J. Pharm. Soc. Korea*, 19, 164-176
- Ozaki Y (1995) Studies on antiinflammatory effect of Japanese Oriental medicines (kampo medicines) used to treat inflammatory diseases. *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 559-562.
- Mabberley, DJ (1987) *The Plant Book*. pp. 461.
- Lee SH, Kim HS, Kim YM, Kim WS, Won YJ, Chae GY, Kim OH, Park HJ and Jeong SW (2006) Monitoring of pesticide residues in herbal medicines. *J Environ Sci.*, 15(8), 811-7.
- Hwang JI, Jeon YH, Kim HY, Kim JH and Lee YJ. (2011) Application of Macroporous Diatomaceous Earth Column for Residue Analysis of Insecticide Endosulfan in Herbal Medicines. *Korean J. Environ Agric.*, 30(1), 60-67.
- Fan Xueqi, Zhao Shengming, Chen Xiaoxin and Hu Jiye. (2017) Simultaneous Determination of Pyraclostrobin, Prochloraz, and its Metabolite in Apple and Soil Via RRLC-MS/MS. *Food Analytical Method*, 11(5), 1312-1320.
- Paoli M. De, Barbina M. Taccheo, Damiano V., Fabbro D. and Bruno R. (1997) Simplified determination of combined residues of prochloraz and its metabolites in vegetable, fruit and wheat samples by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 765, 127-131.
- Fang QingKui, Yao Gengyou, Shi Yanhong, Ding Chenchum, Wang Yi, Wu Xiangwei, Rimao Hua and Cao Haiqun. (2017) Residue Dynamics and Risk Assessment of Prochloraz and Its Metabolite 2,4,6-Trichlorophenol in Apple. *Journal of molecules*, 22(10), 1780.
- Blasco C., Pico Y., Manes J. and Font G. (2002) Determination of fungicide residues in fruits and vegetables by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Chromatography A*, 947(2002), 227-235.
- Navickiene Sandro and Ribeiro Maria Lucia (2005) An Alternative LC-UV Procedure for the Determination of Prochloraz Residues in Fruits. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2, 157-162.
- Park Ji-Su and Choi Hoon (2020) Simultaneous determination for fungicide prochloraz and its metabolites in animal commodities with GC-ECD after

hydrolysis. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 63(2), 153-159.

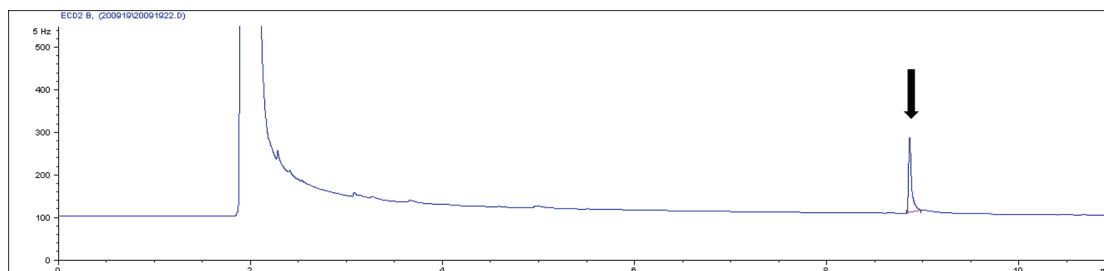
13. Lee Eun-mi, Lee Hyeri, Riu Myoungjoo, Park Heewon, Na Yerim, Song Hyukhwan, Keum Young Soo, Zhu Youngzhe and Kim Jeong-Han (2009) Es-

tablissement of Analytical Method of Prochloraz in Cabbage, Apple, Mandarin, Pepper and Hulled rice with GC-ECD, *Journal of Environmental Agriculture*, 28(4), 427-434.

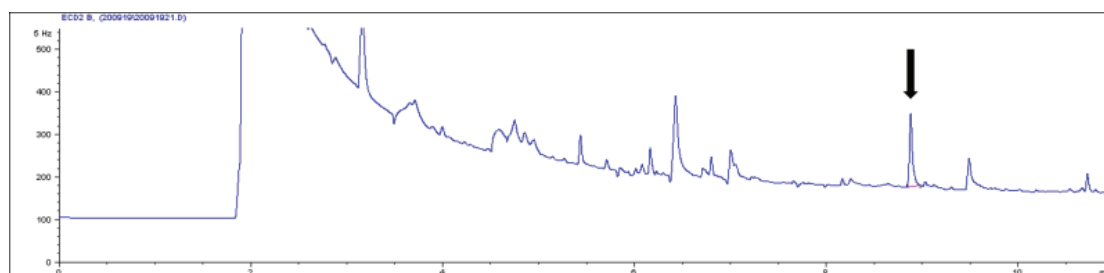
Supplemental S1



(a)



(b)



(c)

Supplemental S1. Typical GC chromatograms of a control sample (A), 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T) standard at 0.1 mg/kg (B) and a sample fortified at 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T) at 0.1 mg/kg (C). The arrow symbols represent 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-T) on the GC column.