

뿌리채소와 잎채소의 세척 유무에 따른 잔류 농약(Azoxystrobin)의 최적 분석 방법 및 잔류 농도 분석

김예은, 지현정, 정해찬
건양대학교 나노바이오화학과

wyum0713@gmail.com, js54754@naver.com, j7899@hanmail.net

Optimal analysis method and residual concentration analysis of pesticide residues(Azoxystrobin) according to the presence or absence of washing between root vegetables and leaf vegetables

Ye-Eun Kim, Hyun-Jeong Ji, Hae-Chan Jeong
Dept. of Nano biochemistry, Konyang University

요약

본 연구에서는 뿌리채소와 잎채소에서 세척유무에 따른 농약의 잔류량 변화를 확인하기 위하여 HPLC와 GC를 사용하여 Azoxystrobin을 살포해 재배한 상추, 얼갈이 배추, 인삼, 도라지에 대하여 식품의약품안전처에서 명시한 잔류농약 허용 기준에 부합여부를 확인하였다.

최적 분석 방법 결과 Azoxystrobin의 높은 끓는점 때문에 GC로 분석하기 적합하지 않아 HPLC를 사용하여 측정하였다. 세척한 채소의 평균잔류 농도를 세척하지 않은 채소의 평균 잔류농도와 비교해본 결과 세척을 하지 않은 채소에서 Azoxystrobin 잔류 농도가 15.7 % 높다는 것을 확인하였고 농산물을 재배하는 동안 살포된 농약은 대부분 잎, 줄기 및 과일 표면에 부착됨으로 농산물을 흐르는 물에 씻을 경우 쉽게 제거되는 것을 알 수 있었다.

Azoxystrobin 잔류 농도는 뿌리채소의 경우는 평균 0.02384 mg/kg이었고 잎채소의 경우는 0.02957 mg/kg으로 잎채소가 뿌리채소보다 잔류 농도가 80.6 % 더 높게 나타났다. 이는 잎채소의 특성상 잔털이 많아 중량 당 표면적이 넓어 농약의 부착량이 많아지기 때문으로 판단된다. 따라서 이 농약은 대부분 잎, 줄기 및 과일의 표면에 부착하며, 세척을 통해 잔류 농약이 상당량 쉽게 제거된다는 사실을 알 수 있었다.

1. 서론

농약관리법에 따르면 “농약이라 함은 농작물을 해하는 균·곤충·응애·선충·바이러스·잡초 기타 농립부령이 정하는 병충해의 방제에 사용하는 살균제·살충제·제초제 기타 약제와 농작물의 생리기능을 증진하거나 억제하는 데 사용하는 약제를 말한다. 우리나라에서는 농약중독과 약물의 오남용을 방지하기 위해서 농약을 사용한 수확물 중 농약의 잔류량이 허용기준을 넘지 않도록 농작물별로 각 농약의 사용횟수, 수확 전 살포가능 일수, 사용방법 등을 설정하는 농약안전기준을 적용하였고 1988년 17종의 농약에 대하여 보건사회부(현 보건복지부)에서 농산물 중 농약잔류허용기준을 처음 고시한 후 계속하여 허용기준을 설정 보완하여 2013년 6월 현재 모든 농산물에 대하여 330개 농약의 잔류허용기준이 설정 고시되어 있다.

농약안전사용기준 설정을 일일섭취량으로 기준을 둔다. 농산물에 잔류하는 농약은 많아야 몇 mg임으로 중독을 일으킬 염려는 거의 없지만 소비자가 평생 동안 농산물에 잔류되어 있는 미량의 농약을 계속해서 섭취할 경우 체내에 쌓여 만성 독성이 나타날 수 있기 때문이다. 농약의 식품 중 안정성 평

가 중에서도 잔류허용기준(MRL)에 의한 평가는 주로 농산물 중 잔류농약의 조사결과를 각 농산물별로 설정된 농약잔류허용기준과 비교하여 농산물의 안전성을 평가하는 방법이며 생산단계와 농산물의 잔류농약을 관리하는 농림축산식품부와 유통단계와 수입 농산물을 관리하는 식품의약품안전처에서 서로 협의하고 설정한다.

azoxystrobin은 국제적으로 유통되는 농약의 일종으로 광범위한 활성을 가지고 있으며 농작물에 많이 발생하는 식물병원성 곰팡이병에 사용되고 있다. 또한 strobilurin계 살균제로서 약제가 작물체내에서 들어가서 다른 부위로 이행하는 침투이생성 성질 있어 균 예방과 살균효과를 동시에 나타낸다. 110종의 농산물에 잔류허용기준이 설정되어 있고 전자전달을 막아 미토콘드리아에서의 호흡을 저해하는 농약이다.

인삼 및 도라지 등 뿌리 식물들은 특정 기후조건과 균질한 토질 조건을 갖춘 곳에서 최소 4~5년 이상의 재배 기간을 거쳐야 상품화가 가능하다. 즉 4년 이상 균질한 품질을 유지하기 위해 농약 사용이 필수불가결하다. 농립부는 이에 대해 인삼 산업이 침체되는 것을 방지하기 위하여 법률 제 06998호 인삼 산업법을 개정하였고 2004년 7월 1일부터 시행이 되었으며 잔류농약 검사의 중요성이 커지게 되었다. 최근 충남 금산에서는 인삼의 브랜드 가치를 높이고자 인삼 시장의 유통

정착을 위해 ‘안전인삼 생산자 실명제’를 시행하였다. 하지만 인삼 및 건강식품의 인기가 높아질수록 잔류농약의 기준치를 넘겨 파는 업자들이 등장해 소비자들의 불안감이 급증되었다.

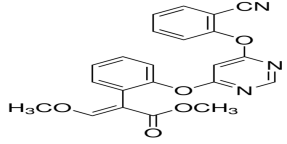
본 실험에서는 보건복지부에서 발간한 2017년 국민건강영양조사 결과 가장 많이 섭취하는 식품군 중 두 번째인 채소류 상추와 배추 그리고 최근 코로나19의 영향으로 매출이 증가 중인 건강식품 인삼과 도라지에 남아있는 잔류농약 Azoxystrobin에 대해 식품의약품안전처에서 명시한 잔류농약 허용 기준(MRL) 부합여부를 확인하고 최적 분석법의 기준을 확립하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 약제 및 시약

분석 대상물질은 식품안전의약처의 식품공전에 잔류허용기준이 명시되어 있는 농약성분 중 GC와 HPLC 분석이 가능하고 상추, 열갈이 배추, 인삼, 도라지에 공통으로 포함되어 있는 농약인 Azoxystrobin을 선정하였고 Sigma-Aldrich사에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에서 사용한 Azoxystrobin에 대한 특성은 Table 1에 나타내었다. 분석물질 추출용매 및 HPLC 이동상으로 Acetonitrile, Water, Hexane, Acetone은 Honeywell로부터 구입하여 사용하였다. Dichloromethane과 Sodium sulfate anhydrous는 SAMCHUN사로부터 구입하여 사용하였다.

[표 1] Azoxystrobin의 특성

Common name	Azoxystrobin
Structural formula	
Molecular formula	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅
M.P	228 °C
B.P	533 °C

2.2 분석 조건

GC는 FID와 TCD가 장착된 Younglin사의 YL 6500 GC이고, YL 3100A Liquid Autosampler를 이용해 시료를 주입하였다. Column은 HP-1(30 m × 0.320 mm × 0.25 μm), 이동상은 유속 1 mL/min N₂ gas를 사용하였으며, 분할 주입 방법 50 : 1의 비율을 사용하여 1 μl의 시료를 주입하였다. 온도프로그램은 인삼, 도라지, 상추, 열갈이 배추의 고유 peak와 Azoxystrobin peak 사이 겹침을 피하기 위해 240 °C에서 시작해 5분간 유지시킨 후 10 °C/min의 속도로 310 °C까지 올려 15분간 분석하였다. Injector의 온도는 250 °C, Detector는 310 °C로 설정하였다. HPLC는 HITACHI CM5000을 사용하였다. Column

은 CAPCELL PAK C₁₈ MGS5(4.6 mm I.D. × 250 mm)을 사용하였고, 이동상의 유속은 1.0 mL/min으로 설정하였으며 오븐 온도는 40 °C로 일정하게 유지시켰다. Detector는 Azoxystrobin의 최대 흡수파장인 255 nm로 설정하였다. 이동상 용매는 HPLC 용 Acetonitrile과 Water를 사용하였으며 상추, 배추, 인삼, 도라지의 고유 Peak와 분석시료인 Azoxystrobin Peak가 겹치지 않도록 gradient 조건을 설정하였고, 시료는 10 μl를 주입하였다. Azoxystrobin의 retention time은 30.8분이다.

3. 실험 과정

3.1 검량선 작성

분석 성분의 표준 검량선을 작성하기 위해 Azoxystrobin을 GC는 Acetone, HPLC는 Acetonitrile에 용해시켜 0.4 mg/kg의 표준용액을 제조하였고, 이를 희석하여 0.2 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.025 mg/kg의 표준용액을 제조하였다. 표준용액을 GC는 1 μl씩, HPLC는 10 μl씩을 각각 주입하여 얻은 Chromatogram의 Peak area를 측정하여 표준 검량선을 작성하였다.

3.2 시료 전처리

3.2.1 GC와 HPLC 분석

충청남도 논산시와 금산군에서 각각 구입한 시료(상추, 열갈이 배추, 인삼, 도라지)를 인삼과 열갈이 배추는 세척 후 분쇄하여 사용하였다. 시료 30 g에 Acetone 70 mL를 첨가한 후 Azoxystrobin을 추출하기 위해 Homogenizer에서 1시간 동안 균질화하였다. 추출물은 여과지가 깔린 Buchner funnel상에서 통과시켜 흡인여과하고 30 mL의 Acetone을 이용하여 용기 및 잔사를 씻어 앞의 여액과 합하였다. 이 여액을 40 °C 수욕조상에서 감압농축한 뒤 Dichloromethane 60 mL를 가하여 용해시켰다. 그 후 이 용액을 250 mL Separatory funnel에 옮겨 증류수 40 mL를 가하고 20 mL의 Dichloromethane으로 3회 분배 추출하였다.

Column chromatography 방법을 수행하기 위하여 Acetone/Hexane 혼합용매와 Dichloromethane/Hexane 혼합 용매 중 이동상을 결정하기 위해 TLC (Thin Layer Chromatography) 방법으로 Acetone/Hexane(2/8, v/v)로 결정되었다. Dichloromethane 추출액에 Anhydrous sodium sulfate를 가하여 탈수하고 40 °C 수욕조상에서 감압 농축하였다. 시료 정제를 위하여 Column chromatography 방법이 수행되었다. Chromatographic glass column에 120 °C에서 5시간 이상 활성화시킨 silica gel 25 g을 충전시킨 후 50 mL의 hexane으로 세척하여 Column을 안정화시켰다. 추출 후 농축된 시료를 10 mL의 Acetone/Hexane (2/8, v/v) 혼합용매로 재용해하여 정제과정에 사용하였다. 잔사를 흘려버린 후, Acetone/Hexane (2/8, v/v) 혼합용매 60 mL로 Azoxystrobin을 용출시켜 그 용출액을 분취하여 감압 농축하였다. 농축된 잔사를 GC는 Acetone 5 mL, HPLC는 Acetonitrile 10 mL에 재용해한 후 0.45 μm syringe filter로 여과하여 표 2와 3의 조건으로 각 기기에 주입해 나타난 Chromatogram 상의 Peak Area를 표준검량선과

비교하여 잔류량을 산출하였다.

[표 2] GC 분석 조건

GC	
Model	YL 6500 GC
Column	HP-1(30 m×0.320 mm×0.25 μm)
Detector	FID Detector 310 °C
Gas	1 mL/min N ₂ carrier gas
Injection Volume	1 μl
Split ration	50 : 1
Injector	250 °C
Temp.programing	240 °C(5 min) → 10 °C/min → 310 °C(15 min)

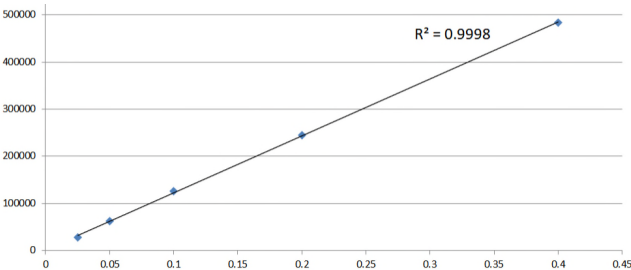
[표 3] HPLC 분석 조건

HPLC			
Model	HITACHL CM5000		
Column	CAPCELL PAK C ₁₈ MGS5(4.6 mmI.D. * 250 nm)		
Detector	UV 255 nm		
Mobile Phase	A : Water B : Acetonitrile		
Injection Volume	10 μl		
Gradient	Time	% B	Flow
	0 min	20	1.0 mL/min
	3 min	20	1.0 mL/min
	15 min	50	1.0 mL/min
	25 min	50	1.0 mL/min
	35 min	70	1.0 mL/min
	45 min	50	1.0 mL/min
60 min	20	1.0 mL/min	

4. 결과 및 고찰

4.1 표준 검량 곡선

본 연구에서는 GC와 HPLC를 이용하여 인삼, 도라지, 열갈이 배추, 상추의 잔류 농액을 비교하고자 표준 농약 0.025 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.4 mg/kg에 대한 검량 곡선을 작성하였다. HPLC를 사용하여 0.9998이라는 좋은 상관계수를 얻었지만 GC는 표준 농약인 Azoxystrobin이 검출되지 않았다. 그림 1에 HPLC 표준 검량 곡선을 나타내었다.



[그림 1] HPLC로 분석한 표준 검량 곡선

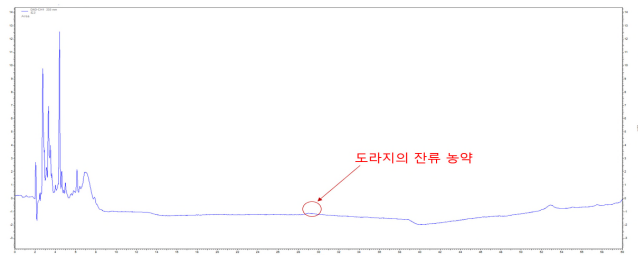
4.2 뿌리 채소(도라지, 인삼)의 잔류 농도 분석

표준 농약 용액과 같은 분석 조건 하에 도라지와 인삼의 잔류 농약(Azoxystrobin)의 양을 6회 반복하여 분석한 결과

평균 0.03942 mg/kg, 0.008251 mg/kg 으로 식품의약품안전처의 식품공전에 명시된 Azoxystrobin의 도라지 잔류 허용기준인 0.1 mg/kg, 인삼 잔류 허용기준인 0.5 mg/kg 이하에 부합되는 값이다. 그림 2와 3에 인삼과 도라지의 chromatogram을 나타내었다.



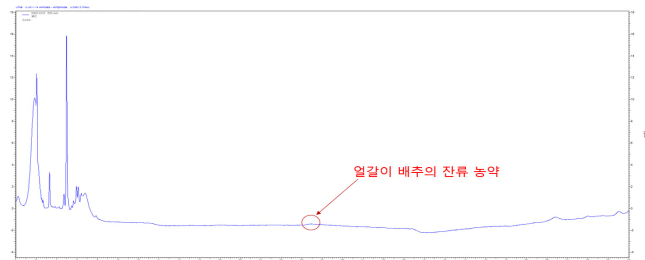
[그림 2] 인삼의 잔류 농약



[그림 3] 도라지의 잔류 농약

4.3 잎 채소(상추, 열갈이 배추)의 잔류 농도 분석

표준 농약 용액을 분석한 조건과 동일하게 상추와 열갈이 배추를 HPLC로 6회 반복 분석한 결과 평균 0.05293 mg/kg, 0.006211 mg/kg 의 Azoxystrobin이 잔류되어 있음을 확인하였다. 이는 식품의약품안전처의 식품공전에 명시된 Azoxystrobin의 상추 잔류 허용기준인 20 mg/kg, 열갈이 배추 잔류 허용기준인 0.05 mg/kg 이하에 부합된다. 이를 그림 4와 5에 나타내었다. 분석한 4개의 미지 시료 모두가 식품의약품안전처에서 설정한 Azoxystrobin 허용기준에 부합하는 잔류량을 보였다. 이를 표 3에 정리하여 나타내었다.



[그림 4] 열갈이 배추의 잔류 농약



[그림 5] 상추의 잔류 농약

[표 3] 미지시료의 Azoxystrobin 잔류량

분 류	Azoxystrobin 잔류량	허 용 기 준
도라지	0.03942 mg/kg	0.1 mg/kg 이하
인삼	0.008251 mg/kg	0.5 mg/kg 이하
상추	0.05293 mg/kg	20 mg/kg 이하
얼갈이 배추	0.006211 mg/kg	0.05 mg/kg 이하

5. 결론

본 연구는 잔류 농약 성분 중 하나인 Azoxystrobin을 분석하는데 있어 가장 최적 조건과 세척 유무에 따른 잔류 농약의 농도를 분석하고 이를 통해 뿌리채소(도라지, 인삼)와 잎채소(상추, 얼갈이 배추)의 잔류 농도를 비교하여 농약의 잔류 성에 대해 확인하고자 하였다. 더 나아가 뿌리채소와 잎채소의 세척 유무를 달리하여 Azoxystrobin의 잔류 농약이 얼마나 쉽게 제거되는지에 대해 알아보려고 하였고 다음과 같은 결과를 얻었다.

GC와 HPLC 중 Azoxystrobin을 분석하기 위한 최적 조건을 찾기 위해 표준 농약 용액을 분석하였다. HPLC의 경우 0.9998의 좋은 상관관계 값이 나왔지만 GC는 일정한 시간대에 같은 peak area 값이 나왔다. 이는 Azoxystrobin이 검출된 것이 아닌 용매로 쓰인 Acetone이 검출된 것으로 보인다. Azoxystrobin이 GC에서 검출이 안 된 원인은 물리적 성질과 관련 있는 것으로 보인다. GC로 분석하기 위해서는 주입된 시료가 기화되어야 한다. 그러나 Azoxystrobin은 상온에서 고체상이며 녹는 점은 228 °C, 끓는 점은 533 °C로 GC에서 설정한 최대 온도인 310 °C보다 높은 값을 가지기 때문에 기화되지 않아 검출되지 않은 것으로 생각된다. 따라서 Azoxystrobin의 최적 분석 방법은 HPLC임을 알아내었다.

최적 분석 방법인 HPLC를 이용하여 뿌리채소와 잎채소 간의 Azoxystrobin 잔류 농도를 비교하였다. 뿌리채소인 도라지의 잔류 농도는 0.03942 mg/kg, 인삼의 잔류 농도는 0.008251 mg/kg으로 평균적인 뿌리채소의 잔류농도는 0.02384 mg/kg이다. 잎채소인 상추의 잔류 농도는 0.05293 mg/kg, 얼갈이 배추의 잔류 농도는 0.006211 mg/kg으로 평균적인 잎채소의 잔류농도는 0.02957 mg/kg이다. 이를 통해 잎채소가 뿌리채소보다 잔류 농도가 80.6 % 더 높다는 것을 확인하였다. 이는 잎채소의 특성 상 표면에 잔털과 주름이 많고 중량 당 표면적이 넓어 Azoxystrobin의 부착 량이 많아지기 때문으로 판단된다.

다음으로 HPLC를 이용하여 세척 유무에 따른 Azoxystrobin의 잔류 농도를 비교하였다. 세척을 시킨 인삼의 잔류 농도는 0.008251 mg/kg, 얼갈이 배추의 잔류 농도는 0.006211 mg/kg으로 평균적인 잔류 농도는 0.007231

mg/kg이다. 세척을 하지 않은 도라지의 잔류 농도는 0.03942 mg/kg, 상추의 잔류 농도는 0.05293 mg/kg으로 평균적인 잔류 농도는 0.046175 mg/kg이다. 이를 통해 세척을 하지 않은 농산물의 Azoxystrobin 잔류 농도가 15.7 % 높다는 것을 확인하였다. 이를 통해 식물 표면에 부착되어 있는 농약은 세척하면 쉽게 제거되기 때문에 소비자가 안심하고 섭취할 수 있다.

본 연구를 통해 Azoxystrobin의 높은 끓는점으로 인하여 GC로 분석하기 적합하지 않아 HPLC를 이용한 분석법이 최적 분석 방법인 것을 확인하였다. 최적 분석 방법인 HPLC 분석법을 이용하여 뿌리채소와 잎채소 간의 Azoxystrobin 잔류 농도를 비교한 결과 잎채소의 잔류 농도가 더 높게 나타났다. 이를 통해 농산물을 재배하는 동안 농약을 살포하면 농약은 대부분 잎, 줄기 및 과실의 표면에 부착한다는 것을 알 수 있다. 또한 세척을 시킨 인삼과 얼갈이 배추의 Azoxystrobin 잔류 량이 세척을 하지 않은 농산물에 비해 더 낮게 나온 결과를 통하여 세척을 하면 잔류 농약의 상당량이 쉽게 제거된다는 것을 나타낸다. 즉, 세척을 진행한 후 우리 생활에서 먹게 되는 잔류 농약의 양은 극히 미량이고, 몸 속에 들어와 바로 분해·배설되기 때문에 농약은 체내에 축적되지 않고 인체에 악영향을 미치지 않는다는 것을 알 수 있다.

6. 참고문헌

- [1] 농산물의 농약 잔류허용기준, 식품의약품안전처 (2019)
- [2] 식품공전 잔류농약 분석법 실무해설서(제5판), 식품의약품안전처 (2017)
- [3] 인삼 중 잔류 농약(Azoxystrobin, Fenhexamid) 최적 분석 방법에 관한 연구, 성신여자대학교 대학원 화학과, 이경진 (2005)
- [4] 가지와 상추의 가공 중 Azoxystrobin의 잔류량 변화 및 가공계수, 대구대학교 식품공학과, 김정아, 서정아, 이혜수, 임무혁 (2019)
- [5] 인삼 중 농약 잔류성 시험가이드, 농촌진흥청 국립농업과학원 (2015)
- [6] Strobilurin계 살균제의 시설재배 참외 중 잔류 양상, 경북대학교 응용생명과학부, 박은정, 이주희, 김태화, 김장억 (2009)
- [7] Abdelraheem, E. M., Hassan, S. M., Arief, M. M., & Mohammad, S. G. (2015). Validation of quantitative method for azoxystrobin residues in green beans and peas. Food chemistry, 182, 246–250.
- [8] HPLC를 이용한 아족시스트로빈과 이미다클로프리드, 메타벤즈티아주론의 토양 잔류분석 숙련도시험, 농촌진흥청 국립농업과학원 농자재평가과, 김찬섭, 손경애, 길근환, 임건재
- [9] Sundravadana, S., Alice, D., Samiyappan, R., & Kuttalam, S. (2008). Determination of azoxystrobin residue by UV detection high performance liquid chromatography in mango. Journal of the Brazilian Chemical Society, 19(1), 60–63.