

HPLC-UV를 이용한 농산물의 질산염 함량분석

조성애[†] · 김은희 · 한성희 · 육동현 · 김정현 · 박석기
서울시보건환경연구원 강남농수산물검사소 농산물검사팀

Analysis of Nitrate Contents of Agricultural Products by HPLC-UV

Sung-Ae Jo[†], Eun-Hee Kim, Sung-Hee Han, Dong-Hun Yuk, Jung-Hun Kim, and Seog-Gee Park

Kangnam Agricultural Products Inspection Team, Kangnam Agro-marin Products Inspection Center,
Research Institute of Public Health & Environment, Seoul 138-160, Korea

Abstract

A total of 550 samples were analysed for nitrate contents using HPLC-UV. Nitrate contents of leaf vegetables were higher than those of root vegetables and fruit vegetables. The average nitrate content of the radish leaves (4875.8 mg/kg) was the highest, followed by marsh mallow (4711.7 mg/kg), crown daisy (4546.9 mg/kg) and vitamins (4239.5 mg/kg). The nitrate content in fruits of strawberry and banana averaged at 24.0 mg/kg and 438.5 mg/kg, respectively. Nitrate was not detected in other fruits. In fruiting vegetables nitrate contents were less than 1000 mg/kg. In onion, lotus root and radish, nitrate contents were 253.7mg/kg, 352.4mg/kg and 2849.0 mg/kg, respectively, with no detection in garlic. Nitrate contents in mushrooms were less than 100 mg/kg.

Key words: nitrate content, HPLC-UV, vegetables

서 론

질소는 식물의 성장발육에 반드시 필요한 성분이며, 식물 은 질산염을 매개체로 질소를 공급받는다. 단백질을 합성하기 위해서 식물은 이 질산염을 필요로 한다. 질산염(nitrate)은 토양에서 자연적으로 발생할 수 있으며 비료로 뿌려져 생긴 인위적인 질소 화합물이기도 하다. 체내에 흡수된 질산염이 구강타액에서 환원된 아질산염이 식품중에 들어있는 아민류와 반응하여 N-nitroamine이 생성될 수 있는데 이 N-nitroamine은 강력한 발암성이 있는 물질로 보고되어 있다(1). 한편 질산염의 과다섭취는 갑상선 비대의 원인이 된다고 알려져 있다(2).

소비자들은 다양한 식품에서부터 질산염을 섭취할 수 있는데, 그중에서 야채가 가장 주된 섭취 원이며 식수와 곡류, 과일과 일부 육류, 치즈 및 어류 순으로 포함되어 있다. 이러한 질산염의 위해성을 고려하여 음용수 중의 질산염 함량은 50 mg/L 이하로 규제하고 있으며 각종 식품과 농산물의 질산염 함량에 대한 규제가 선진국에서부터 강화되고 있다(3,4). 사람이 섭취하는 질산염의 주된 공급원은 식품류 중에서도 상추, 시금치와 같은 채소류인 것으로 알려져 있으며(4), EU 국가들 사이에는 상호 무역과정을 통하여 문제가 제기되기도 하여 1997년에 상추와 시금치에 대한 EU 국가의 단일공동규제 기준을 설정하여 실시해오고 있다.

반면 최근 유럽식품안전청(European Food Safety Authority, EFSA)에서 채소류 중 nitrate의 위해평가를 실시한 결과 식이 또는 음용수로부터 nitrate 섭취는 암 위해를 제안하기 어렵고 그 증거는 불확실하며, rucola와 같은 식품을 다량 섭취한 경우 case by case로 평가할 필요가 있다고 발표하였다(5). 그러나 최근 한국인의 채소소비량이 국민 생활 수준의 향상과 더불어 계속 상승하고 있으며 신선채소의 공급증가는 시설재배를 통해 이루어지는데 시설재배 채소는 노지재배 채소에 비해 질산염 집적량이 대단히 높다.

채소류에 존재하는 질산염의 안전성에 대한 문제 및 채식의 증가, 유기농 재배로 인한 질소비료 사용량증가로 질산염 함량이 다른 식품군에 비해 높은 채소류의 섭취가 증가함에 따라 식품을 통해 섭취되는 1일 질산염 함량의 평가가 요구되고 있는 실정이다.

채소류의 질산염 함량 측정 시 전하를 띠는 물질의 검출을 위해서는 이온크로마토그래피(IC) 시스템을 필요로 하나, 본 연구에서는 HPLC 검출기로 가장 많이 사용되는 자외선 검출기를 사용하여 채소류의 질산염의 함량을 분석하였다.

재료 및 방법

재료

2009년 10~12월중 서울강남지역 대형마트와 가락농수산

[†]Corresponding author. E-mail: aicho71@seoul.go.kr
Phone: 82-2-3401-6292, Fax: 82-2-3401-6742

Table 1. Analytical conditions of HPLC-UV for nitrate analysis in vegetables

Instrument	Condition
Column	IonPac®AS14 (4×250 mm)
Mobile phase	1.7 mM NaCO ₃ /1.8 mM NaHCO ₃
Detector	Tunable Absorbance Detector (230 nm)
Flow rate	1.2 mL/min
Injection volumn	20 µL
Column temp.	Room temp.

물도매시장에서 유통되고 있는 각기 다른 산지에서 재배된 농산물 550여 건을 대상으로 질산염 분석을 하였다.

시약 및 장비

질산염 표준품은 Cica-Reagent(Kanto chemical, Tokyo, Japan)를 사용하였고 증류수는 재증류 후 이온을 제거시킨 탈이온수를 사용하였다. 균질기는 Omni Macro Homogenizer(Omni International, Marietta, USA)를 사용하였고 측정 기기는 HPLC(Waters, Milford, USA)을 사용하여 분석하였다.

분석방법

Kamn 등의 방법을 개선한 Oh 등(6)의 방법에 따라 일정량의 시료에 탈이온수를 가하여 혼합·마쇄하여 100 mL로 정용하고 80°C의 항온수조에 20분간 방치한 후 membrane filter (0.25 µm)로 여과한 여액을 HPLC에 주입하여 Table 1과 같은 조건에서 질산염을 분석하였으며, 표준용액의 크로마토그램과 시료에서의 크로마토그램은 Fig. 1, 2와 같다.

결과 및 고찰

질산염분석법의 회수율과 검출한계

검량선은 질산표준품을 탈이온수로 희석하여 10~100 µg/mL 정도의 범위가 되도록 표준용액을 조제하여 작성하였다. 질산염분석법에 대한 회수율을 알고자 질산염이 검출되지 않는 샘플 10 g에 시험농약을 50 µg/mL 수준으로 첨가하여 시료의 분석방법과 동일하게 실험하여 3회 반복 처리하여 회수율을 측정하였으며, 측정결과는 Table 2와 같다.

국내산 채소류 중 질산염 함유량

엽채류 19종 407건, 과실류 5종 68건, 과채류 3종 32건, 근채류 4종 34건 및 버섯류 3종 10건의 질산염 분석결과는 각각 Table 3과 같다.

엽채류의 질산염 함량은 무잎이 평균 4875.8 mg/kg으로 가장 함량이 높았으며, 다음이 아욱(4711.8 mg/kg), 쑥갓

Table 2. Recoveries and limits of detection of nitrate in the vegetables

	Instrument	Recovery ¹⁾ (%)	LOD ²⁾ (mg/kg)
NO ₃	HPLC-UV	103.9±1.7	0.01

¹⁾Mean±SD (n=3). ²⁾LOD: limit of detection.

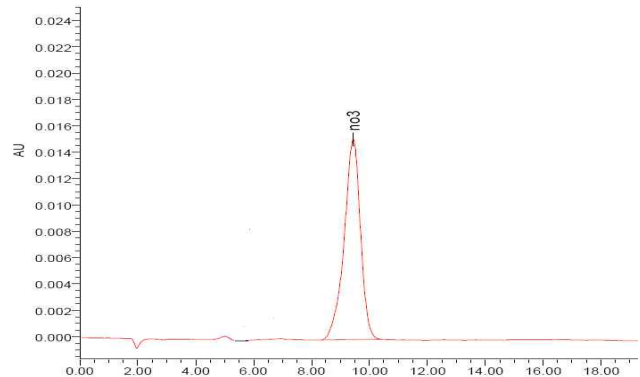


Fig. 1. Chromatogram of NO₃⁻ for standard by HPLC.

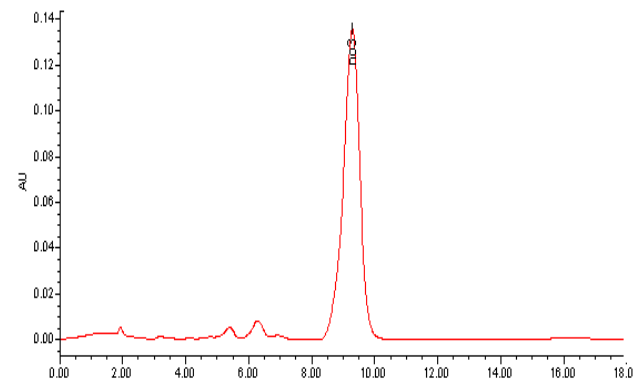


Fig. 2. Chromatogram of NO₃⁻ for crown daisy by HPLC.

(4546.9 mg/kg), 비타민(4239.5 mg/kg), 거자잎(4233.7 mg/kg) 순으로 나타났다. Kim과 Yoon(7)은 채소류 중 질산염 함량이 높은 것은 부추, 열무, 아욱, 쑥갓 등의 엽채류가 많았다고 보고하였으며, Lee 등(8)은 신선 채소 중 평균 질산염 함량이 열무가 3,565 mg/kg, 쑥갓과 케일이 3,000~3,500 mg/kg으로 비교적 높은 질산염 함량을 보였다고 보고하였다. 또한 본 연구에서는 비타민, 상추, 그리고 깻잎의 질산염 함량은 443.3~6746.5 mg/kg, 583.2~4189.5 mg/kg, 73.0~3405.3 mg/kg으로 시료간의 개체 차이가 9~15배 정도로 큰 것으로 나타났는데, 이는 이들 재배지의 토양, 일조량, 시비량, 강우량, 수확 시기 등의 차이에 따른 결과라 사료된다.

우리나라에서 육류 소비량 증대와 관련하여 생식 소비량이 가장 많은 상추와 깻잎의 질산염 함량분포는 Fig. 3과 같다. 상추에서의 질산염 함량분포를 보면 약 50%가 2,000~3,000 mg/kg 사이에 분포하고 있으며, 약 80%가 2,000~4,000 mg/kg에 분포하고 있다. 깻잎에서의 질산염 함량분포는 약 53%가 1,000 mg/kg 이하였으며, 약 84%가 2,000 mg/kg 이하로 분포되어 있어 상추보다 낮은 질산염 평균치를 보였다.

Lee 등(8)은 전국적으로 수집되어 분석한 상추 중 질산염 함량은 평균 2,412 mg/kg이었으며 최고 5,391 mg/kg, 최저 31 mg/kg으로 시료의 채취시기 및 채취 지점에 따라 비교적

Table 3. The contents of nitrate in the leaf vegetables

	Vegetables	No. of samples	Nitrate content (mg/kg)		
			Min	Max	Mean
Leafy and stem vegetables	Radish leaves	14	3439.7	5950.7	4875.8
	Marsh mallow	19	3549.6	5556.6	4711.8
	Crown daisy	15	4158.6	5178.8	4546.9
	Vitamin	17	443.3	6745.5	4239.5
	Mustard green	15	2991.7	5482.2	4233.7
	Pak choi	10	2088.1	5031.8	3800.6
	Chard	17	1881.3	4806.6	3446.2
	Chamnamul	14	1547.0	4883.4	3227.3
	Korean cabbage	27	1349.5	4974.6	2871.3
	Chicory	24	1047.1	3684.6	2640.4
	Korean lettuce	41	583.2	4189.5	2620.4
	Spinach	20	801.0	3720.2	2174.2
	Romane	15	1068.5	3330.2	1900.9
	Rose	16	1299.8	2558.4	1837.8
	Perilla leaves	85	73.0	3405.3	1039.8
	Leek	12	256.3	1491.4	884.3
	Broccoli	13	256.4	867.0	538.0
	Water dropwort	16	37.2	1553.9	478.5
	Welsh onion	17	32.1	996.0	304.2
Fruits	Banana	12	423.6	453.0	438.5
	Strawberry	13	12.8	35.2	24.0
	Mandarin	15	—	—	—
	Persimmon	12	—	—	—
	Apple	16	—	—	—
Fruiting vegetables	Squash	9	356.5	723.9	543.7
	Cucumber	10	340.1	541.4	423.8
	Green & red pepper	13	—	167.7	94.5
Root vegetables	Radish	6	2441.2	3256.7	2849.0
	Lotus root	7	96.0	456.8	352.4
	Onion	12	85.0	323.3	253.4
	Garlic	8	—	—	—
Mushrooms	New matsutake fungus	4	—	110.6	55.3
	Oyster mushroom	4	—	196.3	98.2
	Winter mushroom	2	—	—	—

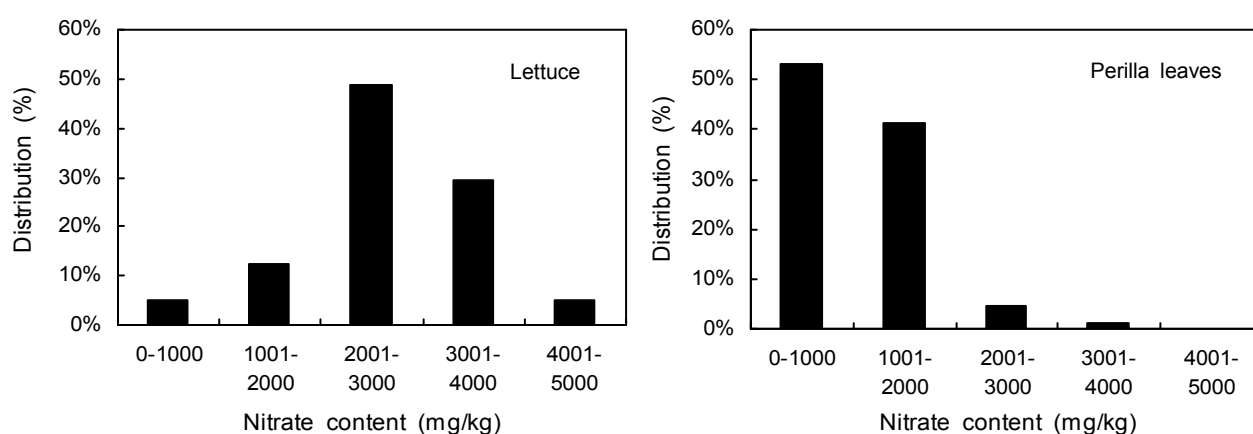


Fig. 3. Distribution of nitrate content in lettuce and perilla leaves.

다양한 분포를 보였다고 보고하여 본 연구와 비슷한 분포를 보였다. 이는 EU(유럽연합)가 정한 상추의 동절기 평균 질산염 함량 기준 4,500 mg/kg보다 낮은 편이었다. 시금치는 최고 6,935 mg/kg, 최저 403 mg/kg, 평균 3,088 mg/kg으로 보고하였으나 본 연구에서는 최고 3,720 mg/kg, 최저 872

mg/kg, 평균 2,174 mg/kg으로 좀 낮은 결과 치를 보였으며 이 결과 치는 EU가 정한 시금치의 동절기 평균 질산염 함량 기준 2,500 mg/kg보다 낮은 편이었다.

채소류의 질산염 함량은 1~10,000 mg/kg까지로 광범위하게 분포하고 있는데 이러한 차이의 가장 큰 이유는 토양,

일조량, 산지, 강우량, 수확시기, 생육과정, 질소비료의 시비 등 재배조건에 의한 것으로 생각할 수 있다.

토양 또한 화학비료 처리의 경우 상추재배 기간 동안 퇴비 처리에 비하여 상대적으로 훨씬 높은 수준의 NO_3^- 가 지속적으로 토양에 잔류하는 것으로 나타났으며, 시험 종료 후의 토양 중 잔류 NO_3^- 함량은 시험 전 토양 중의 함량에 비하여 8배 이상 높게 나타났다고 보고되었으며 채소 부위별로도 함량 차이가 있는데 배추의 경우 내부엽보다는 외부엽, 즉 녹색이 진한 겉부분이 질산염 집적량이 많고, 미나리는 줄기부분이, 파는 잎부분이 질산염함량이 많으며, 종류에 따라서 다소 차이가 난다고 보고되어 있다(9). 또한 계절로서는 여름보다는 겨울 채소에 질산염 함량이 높다고 보고되어 있다(8).

과실류에서 딸기의 질산염 함량은 최저 12.8 mg/kg, 최고 35.2 mg/kg, 평균 24.0 mg/kg으로 나타났으며, 바나나의 질산염 함량은 최저 423.6 mg/kg, 최고 453.0 mg/kg, 평균 438.5 mg/kg으로 나타났다. 딸기와 바나나를 제외하고는 다른 과실류에서는 질산염이 검출되지 않았다. 과일류는 상대적으로 질산염이 많이 함유된 바나나와 딸기를 제외하면 거의 함유되어 있지 않다는 보고와도 일치한다(10). 뿌리를 통해 토양용액에 녹아 흡수된 질산염은 식물체의 지상부까지 장거리 전류되어 주로 잎에 저장되고 잎 세포내에서도 특히 액포에 저장되므로 종실체나 과실체의 경우 질산염의 집적 현상이 거의 일어나지 않는다(11).

과채류에서 고추의 질산염 함량은 평균 94.5 mg/kg으로 가장 낮았으며, 오이의 질산염 함량은 최저 340.1 mg/kg, 최고 541.4 mg/kg, 평균 423.8 mg/kg이었으며, 호박의 질산염 함량은 최저 356.5 mg/kg, 최고 723.9 mg/kg, 평균 543.7 mg/kg으로 나타났다. 과채의 종류에 따라 차이가 있으나 평균 1,000 mg/kg 이하의 낮은 함량분포를 보였다. EU 국가에서도 과채류 중 질산염 함량 기준을 정하고 있지 않은 것으로 보아 크게 염려될 수준은 아닌 것으로 사료된다.

근채류와 버섯류의 질산염 함량 분포를 보면 마늘에서는 질산염이 검출되지 않았으며, 양파, 연근 그리고 적환의 평균 질산염 함량은 253.4 mg/kg, 352.4 mg/kg, 2849.0 mg/kg으로 Lee 등(8)이 발표한 양파와 연근의 질산염 함량 1,254 mg/kg와 890.0 mg/kg보다는 낮은 결과를 보였으며, 적환의 질산염 함량은 1,911 mg/kg으로 본 실험에서 높은 결과를 보였다. 적환이 다른 근채류에 비해 높은 질산염 함량을 보이는 이유는 시료채취 시 뿌리와 잎 부분을 모두 채취하여 실험하여 잎 부분에 보다 많은 질산염이 집적해 있어 나온 결과로 사료된다. 버섯류에서 새송이버섯과 느타리버섯의 평균 질산염 함량은 55.3 mg/kg, 98.2 mg/kg이며, 팽이버섯에서는 검출되지 않았다.

채소 및 과실류에 존재하는 질산염은 작물의 생육과 수량 증대에 가장 중요한 필수원소의 하나로서 다수확을 위해 사용되는 질소비료의 과다시비, 시설재배를 통한 일조량의 부족 등으로 인하여 작물의 가식부내에 축적된다(12). 엽채류

중의 질산염 함량이 높은 이유로는 먼저 과다한 비료와 퇴비의 시용을 들 수 있으며 질소시비량이 증가할수록 채소의 NO_3^- 의 집적량이 배추와 무의 경우 130, 41배까지 증가하였다고 보고된 바 있다(12,13). 이는 엽채류 작물들이 시설재배와 같은 집약적인 농법으로 생산되고 있기 때문이며, 우리나라에서의 엽채류 생산은 주로 비닐하우스에서 이루어지는데 비닐하우스 농업은 화학비료와 퇴비의 시용수준, 광조건, 토양의 염류집적도 등의 측면에서 재배작물의 질산염 축적을 쉽게 유발할 수 있는 환경조건을 갖추고 있다(14,15).

질소 사용량과 채소 질산염 집적량은 대단히 밀접히 연관되어 질소 시비량 및 재배조건에 따라 질산염 함량을 크게 줄일 수 있으며(16), 작물의 질산염 함량은 수확시기, 재배지역, 작물부위, 저장 처리 등에 의해 큰 차이를 나타내는데, 초기 수확된 시료의 질산염 함량이 후반기에 수확된 시료에 비해 높은 질산염 함량을 나타내며, 질산환원효소의 활성 및 질산염 저장성 세포들 간의 기능차이 때문에 작물의 부위에 따라 질산염 함량차이가 크게 나타나며(17), 또한 저장온도가 높을수록 저장기간 중의 질산염 감소폭이 크게 나타난다(18). 인체 내 질산염의 최소 흡수를 위해서는 적절한 수확시기와 작물 부위, 저장온도 등 알맞은 취급요령의 선택이 필요하며, 또한 소비자들은 되도록이면 제철야채를 섭취해야 되는데 제철야채는 최상의 생육조건으로 화학유기비료를 덜 필요로 하여 질산 화합물을 덜 보유하고 있기 때문이다.

요 약

엽채류 19종 407건, 과실류 5종 68건, 과채류 3종 32건, 근채류 4종 34건 및 버섯류 3종 10건의 질산염 함량 분석결과를 보면 엽채류에서의 질산염 함량은 무일이 평균 4875.8 mg/kg으로 가장 함량이 높았으며, 다음이 아욱(4711.8 mg/kg), 쪽갓(4546.9 mg/kg), 비타민(4239.5 mg/kg) 순으로 나타났다. 비타민, 상추, 그리고 깻잎의 질산염 함량은 443.3~6746.5 mg/kg, 583.2~4189.5 mg/kg, 73.0~3405.3 mg/kg으로 시료간의 개체 차이가 9~15배 정도로 큰 것으로 나타났다. 과실류에서의 질산염 함량은 딸기가 최저 12.8 mg/kg, 최고 35.2 mg/kg, 평균 24.0 mg/kg으로 나타났으며, 바나나 최저 423.6 mg/kg, 최고 453.2 mg/kg, 평균 438.5 mg/kg으로 나타났다. 딸기와 바나나를 제외하고는 다른 과실류에서는 질산염이 검출되지 않았다. 과채류에서는 종류에 따라 차이가 있으나 평균 1,000 mg/kg 이하의 낮은 함량분포를 보였다. 근채류와 버섯류에서의 질산염 함량은 마늘에서는 질산염이 검출되지 않았으며, 양파, 연근 그리고 적환의 평균 질산염 함량은 253.4 mg/kg, 352.4 mg/kg, 2849.0 mg/kg으로 나타났으며, 버섯류에서 새송이버섯과 느타리버섯의 평균 질산염 함량은 55.3 mg/kg, 98.2 mg/kg이며, 팽이버섯에서는 검출되지 않았다.

문헌

1. Walker R. 1996. The metabolism of dietary nitrites and nitrates. *Bioactive Components of Food* 24: 780-785.
2. Sohn SM. 2000. The reduction technology of nitrate content in vegetable. Ministry Agriculture and Forestry Report.
3. World Health Organization (WHO). 2004. Drinking-water guideline quality.
4. Ysart G, Miller P, Barrett G, Farrington D, Lawrances P, Harrison N. 1999. Dietary exposures to nitrate in the UK. *Food Addit Contam* 16: 521-532.
5. The EFSA Journal. 2008. Nitrate in vegetables. p 1-79.
6. Oh MC, Oh CK, Kim SY. 1996. Rapid analytical method of nitrate and nitrite in fish by ion chromatography. *J Food Sci Nutr* 1: 1-5.
7. Kim BY, Yoon S. 2003. Analysis of nitrate contents of Korean common foods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 779-784.
8. Lee JY, Park YH, Jang BC, Kim SC, Kim PJ, Ryu SN. 2005. Variation of nitrate contents on distributed vegetables in Korea. *Korean J Crop Sci* 50: 231-238.
9. Lee EH, Kim SK, Jeon JK, Chung SH, Cha YJ. 1982. Nitrate and nitrite content of some fermented sea foods and vegetables. *Bull Korean Fish Soc* 15: 147-153.
10. Walker R. 1990. A review of the occurrence in food and diet and the toxicological implications. *Food Addit Contam* 7: 717-768.
11. Sohn SM, Kim YH, Yoon JY. 1999. Nitrate contents in vegetables cultivated by organic farming in Korea. *Korean J Organic Agriculture* 7: 125-151.
12. Sohn SM, Oh KS. 1993. Influence of nitrogen level on the accumulation of NO_3^- on edible parts of Chinese cabbage, radish and cucumber. *J Korean Soc Soil Sci* 26: 10-19.
13. Sohn SM, Oh KS. 1993. Study on utility of nitrate content in edible parts of crops as an indicator of simplified judgment for superior agricultural products by low nitrogen input. *Korean J Organic Agriculture* 2: 2-15.
14. Sohn SM, Oh KS, Lee JS. 1995. Effects of shading and nitrogen fertilization on yield and accumulation of NO_3^- in edible parts of Chinese cabbage. *J Korean Soc Soil Sci Fert* 28: 154-159.
15. Lee GJ, Kang BG, Kim HJ, Min KB. 2000. Effect of shading and nitrogen level on the accumulation of NO_3^- in leaf of lettuce. *Korean J Environ Agric* 19: 294-299.
16. Lee YJ, Chung JB. 2006. Comparison of nitrate accumulation in lettuce grown under chemical fertilizer or compost applications. *Korean J Environ Agric* 25: 339-345.
17. Choi IH, Kim SW, Nahm KH. 1996. A study on the nitrate contents in vegetables. *Kor J Anim Nutr Feed* 22: 49-54.
18. Yang YJ, Lee KA, Kim KJ. 2000. Effect of pre- and post-harvest on factors on nitrate contents of radish and Chinese cabbage. *J Kor Soc Hort Sci* 41: 365-368.

(2010년 6월 8일 접수; 2010년 7월 22일 채택)