

GC-NPD 동시분석법을 이용한 유니코나졸 잔류실태조사

김은정* · 최부철 · 최수정 · 홍채규 · 김은희 · 최재만 ·
서영호 · 황영숙 · 장미라 · 황인숙 · 김무상 · 채영주
서울시보건환경연구원 강남농수산물검사소 농산물검사팀

Monitoring of Uniconazole by GC-NPD

Eun-Jeung Kim*, Bu-Chuhl Choi, Su-Jeong Choi, Chae-Kyu Hong, Eun-Hee Kim, Chae-Man Choi, Young-Ho Seo,
Young-Sook Hwang, Mi-Ra Jang, In-Sook Hwang, Moo-Sang Kim, and Young-Zoo Chae

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

Abstract The monitoring of the uniconazole residual pesticide for agricultural products was conducted by multiclass pesticide multiresidue methods. Samples were collected from June to November, 2011. Uniconazole pesticide was detected in 49 samples from a total of 3,939 samples. The amount of uniconazole pesticide ranged from 0.09 to 17.89 mg/kg in 49 samples. This method was described for the simultaneous determination of uniconazole by gas chromatography with a nitrogen phosphorus detector (GC-NPD) and mass spectrometry (MS). The limit of detection and quantification were 0.006 and 0.018 mg/kg GC-NPD, respectively. For an evaluation of the GC-NPD method, uniconazole spiked into gyeojachae at a level of 0.5, 5 mg/kg was determined. The recoveries of uniconazole by the GC-NPD method ranged from 83.4 to 101.4%. The results indicate that the method of simultaneous analysis is applicable to uniconazole analysis.

Keywords: uniconazole, gas chromatography, simultaneous determination, monitoring

서 론

최근 중국에서는 식품과 관련된 많은 사건·사고들이 끊임없이 발생하고 있다. 특히 중국 전지역을 대상으로 문제가 되었던 수박팽창제로 인한 수박 폭발, 호르몬을 처리한 오이 등과 같은 사건으로 식품안전에 관한 문제가 대두되고 있다. 실제로 중국 강소성에서 일어난 수박폭발사건 역시 식물성장조절제의 부적절한 사용으로 일어난 사건인 만큼, 식물성장조절제의 부적절한 사용은 인체에 큰 피해를 줄 뿐만 아니라, 재배하고 있는 농작물에도 많은 피해를 줄 수 있다(1).

최근 농산물에 사용되고 있는 성장조절제 중 중국에는 등록되어 있으나 우리나라에는 미등록 농약으로서 잔류허용기준이 설정되어 있지 않은 농약들이 있다. 이 농약들은 우리나라에서는 사용등록되어 있지 않으므로 검출시 불검출로 관리되고 있는 실정이다.

국내산 농산물이 경쟁력을 갖추고 미등록 농약의 무분별한 사용을 막기 위해서는 농산물에 주로 사용되는 미등록 농약에 대한 보다 철저한 검사가 이루어져야 한다.

현재 국내 미등록 농약 중 uniconazole ((E)-(RS)-1-(4-chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pent-1-en-3-ol)은 triazine계 성장조절제 및 살균제로서 사용되고 있으며, 식물성장억제제로 사용되고 있다는 보고가 있다(2).

농약의 분석방법으로는 단성분 분석법과 다성분 동시분석법이 있으며 다성분 동시분석법은 단성분 분석법에 비하여 짧은 시간 안에 농산물 중의 다수 농약들을 screen하고 검출하는데 매우 효과적이므로(3), 최근의 농약분석법에 대한 연구는 단성분 분석법보다는 다성분을 동시 분석하는 방향으로 연구되고 있다(4,5).

최근 uniconazole의 분석법에 대한 연구는 liquid chromatography를 이용한 방법(6-8)이 보고되어 있으며, gas chromatography (GC)를 이용한 연구는 electron capture detector가 장착된 gas chromatography(GC-ECD)를 이용한 방법이 보고되어 있다(9). 그러나 gas chromatography with nitrogen phosphorus detector(GC-NPD)를 이용한 분석법에 관한 보고와 농산물에서 모니터링을 수행한 보고는 없는 실정이다. 질소와 인을 포함한 화합물은 GC-NPD에서 고감도 검출이 가능하며 할로겐 원소를 가진 화합물은 GC-ECD에서 고감도 검출이 가능하다. 하지만 GC-ECD는 GC-NPD에 비해 매트릭스의 방해효과가 있어서 베이스라인이 깨끗하지 않은 단점을 가지고 있다.

또한 GC-ECD검출기는 방사능 물질을 포함하고 있으므로 사용자의 주의를 요하며 주기적인 방사능 안전교육이 필요하다. 또 다른 분석법으로 liquid chromatography를 이용한 방법이 있는데 이 방법의 단점은 이동상 용매를 지속적으로 만들어야 하기 때문에 GC에 비해 유지비용과 노력이 많이 필요하다는 점이다.

따라서 본 연구에서는 uniconazole에 대하여 GC-NPD와 GC-MSD를 이용한 동시 다성분 분석법을 적용하고, 신속하고 간편

*Corresponding author: Eun-Jeung Kim, Kangnam Agricultural Products Inspection Team, Kangnam Agro-marin Products Inspection Center, Research Institute of Public Health & Environment, Seoul 138-160, Korea
Tel: 82-2-3401-6291
Fax: 82-2-3401-6742
E-mail: ejvet@seoul.go.kr
Received February 22, 2012; revised April 7, 2012;
accepted April 10, 2012

한 다성분 동시분석법을 이용하여 서울 시내에 유통되고 있는 농산물 중 uniconazole의 모니터링을 실시하여 향후 미등록 농약 관리 방안 마련을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

2011년 6월부터 11월까지 서울지역에 유통되고 있는 농산물 121종 3,939건에 대하여 잔류실태조사를 실시하였으며 겨자채에 대한 회수율 분석을 실시하였다.

표준품 및 시약

Uniconazole 표준품은 Wako pure chemical industries Ltd. (Osaka, Japan) 제품을 사용하였고 추출용매인 acetonitrile은 Honeywell(Morristown, NJ, USA) 제품인 잔류농약 분석용을 사용하였고, NaCl은 Tedia(Fairfield, OH, USA), 그 외 분석시약은 잔류농약 분석용 시약 및 특급시약을 사용하였다.

Shark skin 여과지는 E&K(Santa Clara, CA, USA), 0.2 µm nylon syringe filter(13mm 0.2 µm)는 Whatman(Middlesex, UK)을 사용하였다.

장비

시료전처리 장비로 곡류의 분쇄기는 Food mixer(FM-681C, Hanil, Seoul, Korea), 채소류 및 과일류의 분쇄기는 Blixer 5 A Plus(Robot Coupe, Jackson, MS, USA)를 사용하였으며, 균질기는 Omni Macro Homogenizer를 사용하였다. Gas chromatography법을 이용하여 분석하였으며 detector는 mass selective detector와 nitrogen phosphorus detector를 사용하였고 software chemstation software로 분석하였다.

시료의 전처리

시료는 식품공전 중 다중 농약 다성분 분석법(10)과 Lee 등(5)의 동시다성분 분석법으로 실험하였다. 농산물 50 g을 376 mL Macro Chamber assembly병에 칭량하고 acetonitrile 100 mL를 넣고, Omni Macro Homogenizer로 3,800 rpm, 2분간 균질화하여 이 시료를 여지를 이용하여 염화나트륨 10-15 g을 넣은 200 mL N W Milk Dilution bottle 에 여과한 후 1분간 흔들어서 섞었다. 용매 추출액을 30분 동안 정치하고 아세트니트릴과 물 층을 분리시켰다. 상층액(아세트니트릴층) 10 mL를 취하여 40°C 이하의 수욕 상에서 감압 하에 용매가 소량 남을 때까지 증발 농축하였다. 다시 20% 아세톤 함유 헥산 4 mL를 넣어 벽면의 잔류물을 완전히 녹인 후 사용하였다. 미리 Florisil 카트리지에 20% 아세톤 함유 헥산 5 mL를 초당 2-3방울 정도의 속도로 유출하여 버린 후 시험용액 2 mL를 초당 1-2방울 정도의 속도로 용출시켜 시험관에 받았다. 다시 카트리지에 용매가 젖어있는 상태에서 20% 아세톤 함유 헥산 5 mL를 용출하여 동일 시험관에 모은 용출액은 질소 가스로 농축하고, 20% 아세톤 함유 헥산 2 mL를 가하여 시험용액으로 하였다. 이 시험용액을 GC-NPD와 GC-MSD로 측정하였으며 그때의 분석 조건은 Table 1, 2와 같았다.

회수율 측정

Uniconazole 표준품을 acetone으로 용해하여 1,000 mg/L의 stock solution을 조제하였다. 분석대상 농약의 혼합 표준용액 1,000 mg/L으로부터 10.0, 1.0 mg/L 용액을 조제하였다. 첨가 회수 실험은 가장 높은 빈도로 검출된 엽채류인 겨자채를 대상으로 하여 0.5,

Table 1. Instrumental condition of GC-NPD for uniconazole analysis

Column	DB-1701 (30 m×320 µm×0.25 µm)
Oven temperature	100°C (2 min)→10°C/min→200°C (1 min) →10°C/min→260°C (9 min)
Injection temperature	210
Injection mode	Splitless
Detector temperature	320°C
Carrier gas	N ₂ (1.5 mL/min)

Table 2. Instrumental condition of GC-MSD for uniconazole analysis

Instrument	HP7890A-5975MSD
Column	HP-5MS (30 m×320 µm×0.25 µm)
Oven temperature	100°C (2 min)→10°C/min →280°C (12 min)
Injection temperature	230°C
Carrier gas	He (Splitless, 1.0 mL/min)
Ionization method	EI
Ion source temperature	230°C
Transfer line temperature	150°C
MSD Scan range	m/z 50-500
Ionization energy	70 eV
Scan rate	3.21 scans/s

5 mg/kg의 농도가 되도록 표준용액을 첨가 한 후 시료와 동일하게 3회 반복처리하여 회수율을 측정하였다.

결과 및 고찰

Uniconazole의 확인

본 연구의 분석조건에 따라 표준물질을 GC-NPD로 분석한 결과 머무름 시간은 19.749분으로 검출되었고(Fig. 1), GC-MSD로 확인되었다(Fig. 2). GC-NPD의 검출한계와 정량한계는 각각 0.006 mg/kg와 0.018 mg/kg였다.

Uniconazole에 대한 잔류실태조사

2011년 6월부터 11월까지 서울지역에 유통되고 있는 농산물 곡류, 서류, 과일류, 채소류 등 121종 3,939건에 대하여 uniconazole의 잔류실태조사를 실시한 결과 uniconazole이 49건 검출되었다. 품목별로는 검출된 농산물 중 겨자채가 69.4%로 가장 많이 검출되었다. Uniconazole의 검출량은 0.088 mg/kg에서 17.9 mg/kg로 나타났다(Table 3).

2008년도에 EPA(Environmental Protection Agency)에서는 uniconazole의 농산물에 대한 잔류허용량을 0.01 ppm으로 설정하였다(11). 본 연구 결과는 EPA에서 설정한 허용치를 모두 초과한 것으로 나타났다.

Hirahara 등(12)의 보고에 의하면 2005년 일본에 수입된 농산물 1,516건을 GC를 이용하여 검사한 결과 uniconazole이 검출되지 않았다. 이는 uniconazole이 최근에 많이 유통되어 사용되고 있음을 시사한다고 생각된다.

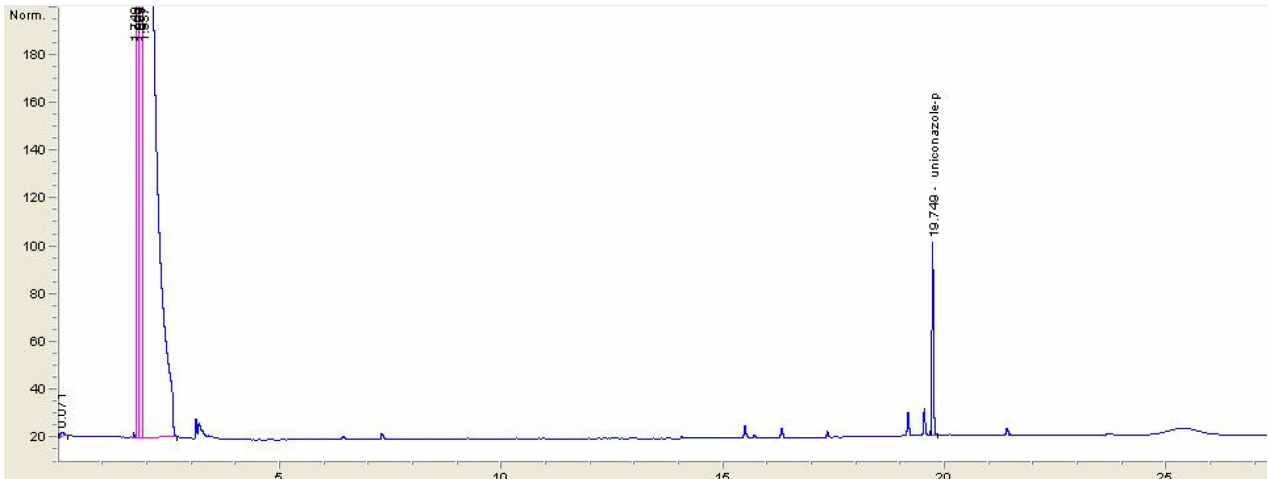


Fig. 1. GC-NPD chromatogram of uniconazole standard solution.

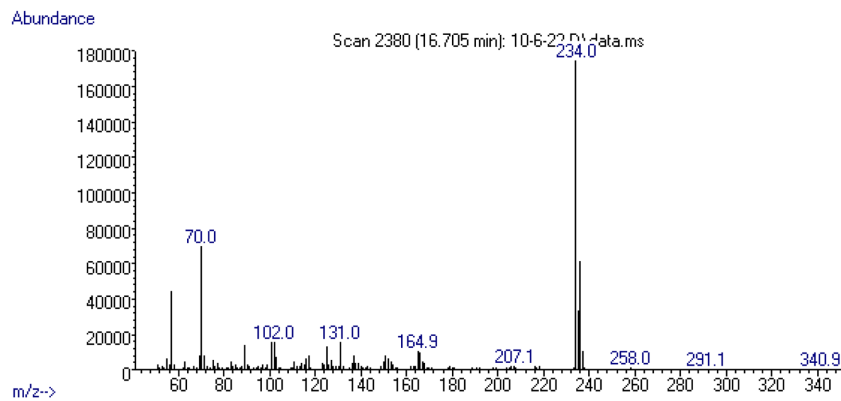


Fig. 2. Mass spectrum of uniconazole.

농산물 중 엽채류에서만 검출되었으며, 다른 품목에서는 검출되지 않은 것으로 보아 겨자채등 주로 쌈채류인 엽채류에 사용되고 있음을 알 수 있었다. Uniconazole은 식물의 성장을 지연시키는 용도로 주로 사용(13)되고 있기 때문에 쌈채류의 과도한 성장을 억제시킴으로서 소비자가 쌈채류를 이용할때 손바닥만한 크기로 편리하게 이용할수 있도록 하기 위하여 uniconazole이 사용되고 있다고 생각된다.

2011년 상반기 중국에서 수입된 농산물은 총 169만 7,447톤으

로 13억 9,485만 달러에 달한다. 월별로는 약 25만톤이 넘는 물량이 수입되며 지난 3월엔 33만톤을 웃돌 정도로 많은 양이다. 중국 현지 언론에 따르면 중국내 많은 채소농가에서 성장촉진제를 사용하고 있는 것으로 드러났다. 성장촉진제를 쓰지 않으면 시장에서 뒤처지기 때문이다(14). 그러나 uniconazole은 중국의 곡류 등에 사용등록 되어 있으나 국내에는 미등록 상태의 농약이므로 중국 수입식품 관리시 우선적으로 사전검사를 실시하여 수입식품에 대한 국민의 신뢰도를 높여야 할 것으로 생각된다.

또한 현재 국내에 유통되고 있는 농산물에 대한 uniconazole의 잔류실태조사를 지속적으로 실시할 필요가 있으며, 본 연구는 미등록 농약에서 기인하는 위해에 대하여 사전 예방적 안전관리 방안을 마련하는데 중요한 기초자료가 될 것으로 생각된다.

Table 3. Number of samples and range of concentration for uniconazole detected in agricultural products

Agricultural products	No. of samples detected	Range of conc. (mg/kg)
Gyojache	34(69.4%)	0.0-11.81
Red leaf	1(2.04%)	1.68
Kale	2(4.08%)	1.66-17.89
Chard	5(10.2%)	17.9
Lettuce	1(2.04%)	3.58
Chicory	1(2.04%)	0.22
Korea cabbage	2(4.08%)	3.49-5.81
Romain	1(2.04%)	3.14
Mustard leaf	2(4.08%)	0.1-0.85
Total	49(100%)	0.09-17.89

Uniconazole에 대한 회수율 조사

GC-NPD로 겨자체에 0.5 mg/kg 및 5 mg/kg 수준으로 uniconazole 표준용액을 첨가하여 회수율을 구한 결과는 Table 4와 같다. 회수율은 83.4%에서 101.4%로 나타났다.

Table 4. Recovery of uniconazole in spiked samples by GC-NPD

Compound	Fortification (mg/kg)	Recovery (%) (n=3)
Uniconazole	0.5	96.8±2.5
	5	91.2±9.3

An과 Shin(9)은 GC-ECD로 측정된 쌀에서의 uniconazole 회수율이 0.5 mg/kg 수준에서 평균 96.4%였다고 보고한 바 있으며, GC-NPD로 측정된 본 연구의 결과인 96.8%와 비슷한 것으로 나타났다. 또한 Pang 등(15)이 gel permeation chromatography를 이용하여 분석한 회수율은 79%에서 82%로 본 연구결과 보다 낮았다. 그러나 Xue 등(7)이 HPLC로 보고한 81.8%에서 98.1%와는 비슷한 결과를 나타내었다.

요 약

2011년 6월부터 11월까지 농산물 중 GC-NPD 및 GC-MSD를 이용한 동시 다성분 분석법을 이용하여 uniconazole의 잔류실태 조사를 실시하였다. 2011년 6월부터 11월까지 서울지역에 유통되고 있는 농산물 121종 총 3,939건에 대하여 잔류실태조사를 실시한 결과 49건에서 uniconazole이 검출되었다. 품목별로는 겨자채가 69.4%로 가장 많이 검출되었다. Uniconazole의 검출량은 0.09 mg/kg에서 17.89 mg/kg로 나타났다. 본 연구에서는 uniconazole에 대하여 GC-NPD 및 GC-MSD를 이용한 동시분석법의 가능성을 검토하였다. GC-NPD의 검출한계와 정량한계는 각각 0.006 mg/kg와 0.018 mg/kg이었다. 겨자채에 표준용액을 0.5, 5 mg/kg 농도로 하여 회수율을 측정된 결과 83.4%에서 101.4%까지 양호한 결과를 나타내었다. 본 연구를 통하여 동시분석법으로 보다 효율적인 검사가 가능할 것으로 기대된다.

문 헌

1. <http://www.tech-food.com/news/2011-6-22/no553635.htm>. Accessed Jan. 2, 2012.
2. Eum SJ, Park KI, Oh W, Kim KW. Plant growth retardants can inhibit stem elongation and improve flowering rate in *Lilium concolor* var. *parthneion* and *L. dauricum*. *Flower Res. J.* 18: 38-43 (2010)
3. Pylypiw HM. Rapid gas chromatographic method for the multi-residue screening of fruits and vegetables for organochlorine and organophosphate pesticides. *J. AOAC Int.* 76: 1369-1373 (1993)
4. Obana H, Hori S. Latest analytical methods for the residual pesticides in foods. *Jpn. J. Tox. Env. Health* 42: 1-16 (1996)
5. Lee SM, Papatkakis ML, Feng HC, Gray FH, Joyce EC. Multi-Pesticide Residue Method for Fruits and Vegetables. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 339: 376-383 (1991)
6. Fan SX, Li WP, Zhang Q, Zhang WJ. Simultaneous determination of 13 phytohormones in oilseed rape tissues by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry and the evaluation of the matrix effect. *J. Sep. Sci.* 34: 640-650 (2011)
7. Xue J, Wang S, You X, Dong J, Han L, Liu F. Multi-residue determination of plant growth regulators in apples and tomatoes by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Sp.* 25: 3289-3297 (2008)
8. Wang P, Liu D, Gu X, Jiang S, Zhou Z. Quantitative analysis of three chiral pesticide enantiomers by high-performance column liquid chromatography. *J AOAC Int.* 91: 1007-1012 (2008)
9. An EM, Shin HS. Gas chromatographic determination of pesticide residues using electron-capture detector and mass spectrometry. *J. Food Sci. Biotechnol.* 20: 1299-1306 (2011)
10. KFDA. Korea Food Code. Korea Food Industry Association, Munsyungsa, Seoul, Korea. pp. 10-4-10 - 10-4-12 (2011)
11. Uniconazole-P; Pesticide tolerance, EPA, The Federal Register 73: 51732-51736 (2008)
12. Hirahara Y, Kimura M, Inoue T, Uchikawa S, Otani S, Haganuma A, Matsumoto N, Hirata A, Maruyama S, Iizuka T, Ukyo M, Ota M, Hirose H, Suzuki S, Uchida Y. Validation of multiresidue screening methods for the determination of 186 pesticides in agricultural products using gas chromatography(GC). *J. Health Sci.* 51: 617-627 (2005)
13. Shigeki SM, Okamoto S, Shinoda T, Kushiro T, Koshihara Y, Kamiya N, Hirai Y, Todoroki K, Sakata EN, Mizutani M. A plant growth retardant, uniconazole, is a potent inhibitor of ABA catabolism in *Arabidopsis*. *Biosci. Biotech. Bioch.* 70: 1731-1739 (2006)
14. <http://news.mk.co.kr/newsRead.phd?year=2011&no=466434>. Accessed Jan. 4, 2012.
15. Pang GF, Cao YZ, Zhang JJ, Fan CL, Liu YM, Li XM, Jia GQ, Li ZY, Shi Y Q, Wu YP, Guo TT. Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography clean up/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1125: 1-30 (2006)