

과채류에서 Tetraconazole 분석에 대한 다성분동시분석법과 단성분분석법의 비교

농산물검사팀

이재인 · 황인숙 · 조태희 · 김진아 · 김미선 · 김지혜 · 김무상

Comparison Between Multiresidue and Individual Residue Pesticide Analysis for Tetraconazole Detection in Fruiting Vegetables

Jae-in Lee, In-sook Hwang, Tae-hee Cho, Jin-ah Kim,
Mi-sun Kim, Ji-hye Kim and Moo-sang Kim

Abstract

Certain properties of tetraconazole were compared using a multiresidue pesticide analysis and individual pesticide analysis. Tetraconazole was detected in 41 out of 42, 149 agricultural products between 2010~2012 in Seoul, equivalent to a rate of 0.1%. Of those 41 products, 20 were fruiting vegetables such as red and green pepper, pimento, and paprika. The limit of detection and quantification of the tetraconazole standard in the DB-17 and DB-5 columns were 0.001 and 0.004 mg/kg, respectively. Correlation coefficients for the DB-17 and DB-5 column were 0.9996 and 0.9995, respectively. Recovery yields from the individual pesticide analysis were 90.74~97.26%, but those from the multiresidue pesticide analysis were 9.16~10.05%. We propose that, if tetraconazole is detected using a fast multiresidue pesticide analysis, its precise concentration needs to be determined by individual pesticide analysis.

Key words : tetraconazole, GC-ECD, multiresidue pesticide analysis, individual pesticide analysis

서 론

Tetraconazole(CAS name : 1-[2-(2,4-dichlorophenyl)-3-(1,1,2,2-tetrafluoroethoxy)

propyl]-1H-1,2,4-triazole, 그림 1)은 triazole 계 살균제로써, 주로 당도가 높은 과일이나 과채류에서 곰팡이 억제제를 위한 용도로 사용되는 농약으로 우리나라에서는 과채류, 과일류 및 콩류 등

18종의 농산물에 대한 잔류허용기준이 설정되어 있다(1).

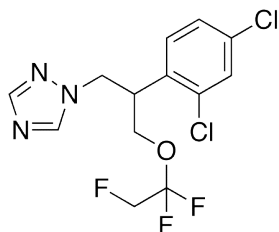


Fig. 1. Structure of tetraconazole.

통상적으로 잔류농약의 분석은 시료채취, 추출, 정제의 전처리 과정을 거친 후 크로마토그래피로 분석한다(2). 액-액 추출은 acetone, acetonitrile, dichloromethane 등의 유기용매를 이용하며, Florisil, silica gel, C₁₈, amino 등의 흡착제를 이용한 solid-phase extraction(SPE)을 통해 정제한다. 잔류농약의 분석은 액체크로마토그래프(liquid chromatograph, LC) 또는 기체크로마토그래프(gas chromatograph, GC)를 통해 이루어진다(3).

최근에는 보다 빠르고 정확한 tetraconazole 분석을 위해, capillary gas chromatograph(4)나 GC-MS/MS(5), LC-MS/MS(6) 또는 재조합 항체를 이용한 immunoassay(7) 등이 개발되고 있다.

우리나라에서 시판 농산물 중 잔류농약의 분석은 식품의약품안전처에서 발간하는 식품공전(8)에 의거하여 수행되고 있는데, 농산물 중 잔류농약을 monitor하는 일선 실험실에서는 빠른 시간 내에 200종 이상의 농약을 동시에 검사할 수 있는 다성분동시분석법(multiresidue analysis)에 의존하는 실정이지만, 일부 농약은 다성분동시분석법으로 검출, 정량이 어렵거나 신뢰도가 크게 낮아 시간과 실험비용의 증가에도 불구하고 단성분분석법(individual residue pesticide analysis)을 이용하기도 한다.

테트라코나졸의 분석법은 2012년까지는 다성분동시분석법을 적용하도록 하였으나, 2013년부터는 개정고시를 통해 단성분분석법으로 검출 및 정량하도록 하고 있다. 그러나 일선 잔류농약 검사 실험실에서는 짧은 시간 내에 가급적 다수의 농약

을 검출, 정량하기 위해 다성분동시분석법에 크게 의존하고 있어 단성분분석법의 일상적인 적용은 어려운 실정이다.

따라서 본 연구에서는 농산물 안전성 monitoring에 적절한 분석법을 제시하고자, 식품공전에서 권고하는 DB-17 및 DB-7 컬럼을 이용한 GC-ECD를 기반으로 다성분동시분석법과 단성분분석법의 검출한계, 정량한계 및 회수율을 비교하고, 유통 농산물을 대상으로 두 분석방법에 의한 검출 및 정량을 시도하였다. 대상 농산물의 선정을 위해 2010년부터 2012년까지 본 연구원에서 수행된 잔류농약 검사결과 중 테트라코나졸 검출현황을 분석하였다.

실험재료 및 방법

1. 다성분동시분석법

다성분동시분석법은 식품공전 시험법 중 4.1.2.2 다성분동시분석법 제2법을 사용하였다(8). 먼저 시료 약 1 kg을 대형분쇄기에 넣어 분쇄한 후 50 g을 취하여 Omni mixer 병에 넣고 아세토니트릴(잔류농약분석용, Fluka, 미국) 100 mL을 첨가하여 혼합추출분쇄기(Omni, USA)로 3,000 rpm에서 2분간 균질화 하였다. 균질액을 여지에 통과시킨 후 여액은 염화나트륨 15 g이 들어있는 분리병에 옮겨 마개를 한 후 강하게 섞었다. 약 1 시간 정치하여 아세토니트릴층과 물층을 분리한 후 상정액(아세토니트릴층) 20 mL을 취하여 65°C 수조에서 용매를 날려버렸다. 잔류물은 1% 메탄올 함유 디클로로메탄 7 mL에 녹이고 미리 헥산으로 활성화시킨 후로리실 카트리지를 통과시켜 시험관에 받았다. 65°C 항온수조에서 용매를 날려 버린 후 1% 메탄올 함유 디클로로메탄 2 mL에 녹여 GC-ECD로 분석하였다.

2. 단성분 분석법

테트라코나졸 단성분 분석은 식품공전 시험법 중 4.1.4.79 테트라코나졸 시험법에 따라 수행하였다(9). 시료를 대형분쇄기에 넣어 분쇄한 후 50 g을 달아 Omni mixer 병에 넣고 메탄올:1 N 염

산(9:1, v/v) 혼합액 150 mL을 첨가하여 혼합추출분쇄기(Omni, USA)로 3,000 rpm, 2분간 균질화 하고 여지를 통과시켜 둥근플라스크에 여액을 모았다. 여액은 40℃ 수욕상에서 감압농축하여 메탄올을 날리고, 분획깔대기에 옮겨 포화식염수 80 mL과 헥산 100 mL을 첨가하여 강하게 흔든 후 정치하여 헥산층을 새로운 둥근플라스크에 모았다. 분획깔대기에 헥산 100 mL을 첨가하여 강하게 흔든 후 정치하고 헥산층은 앞서 모은 헥산층에 합하였다. 헥산층을 무수황산나트륨에 통과시켜 탈수한 후, 40℃ 수욕상에서 감압농축하고 잔류물은 헥산 2 mL로 용해하였다. 미리 헥산 10 mL로 활성화한 후로리실 카트리지에 용해액을 통과시키고, 아세톤:헥산(30:70, v/v) 혼합액 12 mL로 용출한 후 65℃ 수욕상에서 용매를 모두 날려 버리고 잔류물을 헥산 2 mL에 녹여 시험용액으로 하였다. 기기분석은 GC-ECD를 이용하였다.

3. 가스크로마토그래피

실험에 사용된 가스크로마토그래프 기기는 GC-ECD 7890A(Agilent Technologies, 미국)였으며, 컬럼은 DB-5 캐필러리 칼럼(30 m × 0.25 mm ID, 0.25 μm df) 및 DB-17 캐필러리 칼럼(30 m × 0.25 mm ID, 0.25 μm df)을 사용하였고 캐리어가스는 질소, 유량은 1.0 mL/min으로 조절하였다. 칼럼온도는 80℃에서 검체를 주입하고 2분간 유지한 후 10℃/min의 비율로 280℃(DB-17의 경우 270℃)까지 온도를 상승시켜 10분 이상(DB-17의 경우 15분 이상) 유지하였다. 주입부는 split mode(50:1), 260℃였으며, 검출기 온도는 280℃로 하였다.

4. 표준용액

테트라코나졸 표준품을 아세톤에 녹여 120 mg/L로 조제하여 표준원액으로 하였으며, 표준원액을 아세톤에 희석하여 4.8, 2.4, 1.2, 0.6 및 0.3 mg/L가 되도록 제조하여 표준용액으로 하였다.

회수를 시험을 위해 테트라코나졸이 검출되지 않은 시료 약 1 kg을 갈아 50g을 취하여 Omni mixer 병에 옮긴 후 테트라코나졸 표준원액(120 mg/L)을 각 400, 200, 100, 50 uL 첨가하여 다

성분동시분석법 및 단성분 분석법으로 추출, 정제 및 기기분석을 시행하였다.

5. 분석대상시료

2013년 8월부터 12월까지 서울 시내 대형마트 및 백화점에서 유통된 고추 72건과 피망(파프리카 포함) 40건 등 총 112건에 대해 다성분동시분석법과 단성분분석법을 적용하여 테트라코나졸을 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 최근 3년간 테트라코나졸 검출 현황

다성분동시분석법과 단성분 분석법으로 비교분석할 대상 시료를 선정하기 위하여 2010년부터 2012년까지 서울시보건환경연구원 강남검사소, 강북검사소 및 강서지소에서 수행된 모든 잔류농약 검사 결과를 취합하여 테트라코나졸 검출현황을 조사하였다(표 1).

테트라코나졸의 검출현황을 살펴보면 총 42,149건의 농산물에서 41건 검출되어 검출율은 0.1%였으며, 이 중 2010년 상추 1건만이 부적합이었고 나머지는 기준이내 검출이었다. 엽채류의 경우 25,725건의 시료 중 16건에서 검출되어 0.06%의 검출율을 보였는데, 농산물 품종별로는 들깨잎이 4건, 근대가 3건, 배추가 2건에서 검출되었으며, 치커리, 브로콜리, 고춧잎, 시금치, 겨자채, 아욱에서 각 1건씩 검출되었다. 엽경채류는 3,826건 중 5건에서 검출되어 검출율은 0.13%로 나타났으며, 이 중 부추에서 4건, 돌나물에서 1건이 검출되었다. 과채류는 2,892건 중 20건에서 검출되어 0.69%의 검출율을 보였으며, 고추가 8건, 피망이 7건, 파프리카, 가지 및 방울토마토가 각 1건씩 검출되었다. 반면에 기타 분류에 해당하는 9,706건에서는 검출되지 않았다.

따라서 본 연구에서는 테트라코나졸 검출 빈도가 가장 높았던 과채류 중 고추, 피망, 파프리카를 대상으로 다성분동시분석법과 단성분 분석법으로 테트라코나졸을 분석하였다.

Table 1. Survey of tetraconazole detection in vegetables for three years(2010~2012) by multiresidue pesticide analysis

Year	Vegetable group	Leafy	Stalk & stem	Fruiting	Others	Total
		No. of sample	8,754	1,406	834	3,179
2010	No. of detection	9	4	10	ND	23
	Average & Range ¹	1.000±2.121 0.004~6.600	0.106±0.066 0.01~0.159	0.071±0.043 0.007~0.124	ND	0.441±1.359 0.004~6.600
	No. of sample	8,497	1,149	972	2,979	13,597
2011	No. of detection	2	1	6	ND	9
	Average & Range ¹	0.128±0.148 0.023~0.232	0.144	0.063±0.095 0.017~0.257	ND	0.086±0.098 0.017~0.257
	No. of sample	8,474	1,271	1,086	3,548	14,379
2012	No. of detection	5	ND	4	ND	9
	Average & Range ¹	0.215±0.248 0.071~0.655	ND	0.117±0.116 0.022~0.286	ND	0.172±0.196 0.071~0.655
	No. of sample	25,725	3,826	2,892	9,706	42,149
Total	No. of detection	16	5	20	ND	41
	Average & Range ¹	0.645±1.609 0.004~6.600	0.114±0.060 0.01~0.159	0.078±0.076 0.007~0.286	ND	0.304±1.025 0.004~6.600

1) Units of average and detection range are mg/kg.

Table 2. Limits of detection and quantification of DB-17 and DB-5 column

	LOD ¹⁾ (mg/kg)	LOQ ²⁾ (mg/kg)	Coefficient of correlation(R ²)
DB-17	0.001	0.004	0.9996
DB-5	0.001	0.004	0.9995

1) LOD : limit of detection

2) LOQ : limit of quantitation.

2. 테트라코나졸 GC-ECD분석 특성

테트라코나졸 표준용액 4.8, 2.4, 1.2, 0.6, 0.3 mg/L를 GC-ECD로 분석한 결과 DB-17 컬럼의 상관계수(coefficient of correlation, R²)는 0.9996, DB-5 컬럼의 상관계수는 0.9995로 나타나 두 컬럼

모두에서 양호한 직선성을 보였다. 또한 GC-ECD의 테트라코나졸 검출한계를 S/N비 1 : 3, 정량한계를 S/N비 1 : 10으로 계산했을 때 DB-17 컬럼과 DB-5 컬럼 모두 검출한계는 0.001 mg/kg, 정량한계는 0.004 mg/kg으로 나타났다(표 2). 따라서

식품공전 시험법에서 규정하는 두 가지 컬럼에서 테트라코나졸의 분석성능은 유사한 것으로 조사되었다.

3. 과채류에서 다성분동시분석법과 단성분 분석법의 테트라코나졸 회수율

본 연구에서 비교하고자 하는 두 시험법(다성분동시분석법, 단성분 분석법)의 회수율을 조사하기 위하여 최종 농도가 각각 0.6, 4.8, 2.4 및 1.2 mg/L가 되도록 시료에 표준용액을 첨가하여 다성분동시분석법과 단성분 분석법으로 전처리 한 후 GC-ECD로 기기분석하였으며, 회수율 실험은 각 3반복 수행하였다.

조사된 테트라코나졸 농도에서 단성분 분석법은 90.74~97.26%의 회수율을 보인 반면, 다성분동시분석법은 9.16~10.05%의 회수율을 나타냈다(표 3). 다성분동시분석법은 단성분 분석법에 비해 테트라코나졸 회수율이 10% 안팎에 불과하여, 테트라코나졸 분석에는 적절하지 않은 것으로 조사되었다. 따라서 테트라코나졸의 정량은 반드시 단성분 분석법에 의해 수행되어야 하며, 다성분동시분석법에서 테트라코나졸이 검출된 경우는 단성분 분석법으로 정량하여야 정확한 분석결과를 기대할 수 있다. 일선 검사기관에서의 잔류농약 검사는 동시에 가급적 많은 잔류농약을 빠르게 검사하여 부적합 농산물이 시중에 유통되는 것을 차단하는 것을 목적으로 하고 있다. 따라서 일선 검사기관에서의 테트라코나졸의 확인은 다종의 농약성분을 동시에 분석할 수 있는 다성분동시분석법을 기본적으로 수행하고, 테트라코나졸이 검출된 경

우에는 단성분 분석법으로 정확한 정량을 수행하는 것이 최선의 선택이라 하겠다.

4. 시판 과채류 중 테트라코나졸 검출 현황

2013년 8월부터 12월까지 서울 시내 대형마트 및 백화점에서 유통된 고추 72건 및 피망(파프리카 포함) 40건 등 총 112건에 대해 다성분동시분석법과 단성분분석법을 적용하여 테트라코나졸을 분석한 결과, 테트라코나졸은 검출되지 않았다.

결 론

1. 2010~2012년까지 3년간 농산물 중 잔류농약 검사 결과, 테트라코나졸의 검출율은 약 0.1%였다.
2. 테트라코나졸이 검출된 농산물 중 49%가 고추, 피망, 파프리카 등 과채류였다.
3. GC-ECD를 이용한 테트라코나졸 분석에 있어, DB-17과 DB-5 컬럼은 유사한 성능을 보였으며, 표준용액의 상관계수는 각각 0.9996과 0.9995로 우수하였다.
4. 테트라코나졸 회수율 시험에서 단성분 분석법은 1.2~9.6 mg/kg 범위에서 90.74~97.26%의 회수율을 보인 반면, 다성분동시분석법의 회수율은 9.16~10.05%에 불과하였다.
5. 빠르면서 다른 농약과 동시에 분석가능한 다성분동시분석법에 의한 농산물 잔류농약 검사과정에서 테트라코나졸이 검출된다면 단성분분석법에 의한 정확한 정량이 필요하였다.

Table 3. Recoveries of tetraconazole by multiresidue and individual pesticide analyses

Concentration(mg/kg)	Recovery ± SD(%)	
	Individual residue analysis	Multiresidue analysis
9.6	93.85 ± 3.31	9.16 ± 0.75
4.8	94.51 ± 4.76	9.83 ± 0.66
2.4	90.74 ± 2.74	9.78 ± 1.09
1.2	97.26 ± 5.52	10.05 ± 0.97

참고문헌

1. 식품의 농약 잔류허용기준, 식품의약품안전청, p107, 2012.
2. Tomlin, C : The Pesticide Manual, Cambridge, 14th ed., BCPC, Crop Protection Publications, Cmbridge, UK, 2006.
3. Navickiene, S, Aquino, A and Bezerra, DS : A matrix solid-phase dispersion method for the extraction of seven pesticides from mango and papaya. *J. Chromatogr. Sci.*, 48(9):750~754, 2010.
4. Amer, MM, Shehata, MA, Lotfy, HM and Monir, HH : Determination of tetraconazole and diniconazole fungicide residues in tomatoes and green beans by capillary gas chromatography. *Yakugaku Zasshi.*, 127(6):993~999, 2007.
5. Hayward, DG, Wong, JW, Shi, F, Zhang, K, Lee, NS, DiBenedetto, AL and Hengel, MJ : Multiresidue pesticide analysis of botanical dietary supplements using salt-out acetonitrile extraction, solid-phase extraction cleanup column, and gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 85(9): 4686~4693, 2013.
6. Chai, T, Jia, Q, Yang, S and Qiu, J : Simultaneous stereoselective detection of chiral fungicides in soil by LC-MS/MS with fast sample preparation. *J. Sep. Sci.*, 37(5):595~601, 2013.
7. Plana, E, Moreno, MJ, Montoya, Á and Manclús, JJ : Development and application of recombinant antibody-based immunoassays to tetraconazole residue analysis in fruit juices. *Food Chem.*, 143:205~213, 2014.
8. 식품공전 시험법Ⅱ, 식품의약품안전청. p.10-4-10. 2011.
9. 식품공전 시험법Ⅱ, 식품의약품안전청. p.10-4-252. 2011.