

몇 가지 살충제의 혼용 및 혼합 시 독성반응

이제봉* · 정미혜 · 성하정 · 이해근 · 양재설

농업과학기술원 농약안전성과

요약 : 영농에서 노동력 절감을 위해 2~3종 농약을 혼용하여 살포하는 것은 흔한 농약살포 방법이다. 과수 재배시 널리 사용되고있는 4종 살충제의 상호혼합 및 혼용이 인체에 미치는 영향을 구명하고 안전성을 확보할 목적으로 급성독성시험, 유기인계 및 카바메이트계 농약의 주 저해효소인 콜린에스테라제의 활성에 미치는 영향을 평가하였다. 포스팜액제, 디디브이피 유제, 피레스 유제 및 푸라치오카브 유제의 단제 및 혼합제에 대한 급성독성 및 콜린에스테라제의 활성에 미치는 영향을 시험한 결과 포스팜 액제 및 디디브이피 유제의 급성경구독성 LD₅₀은 랫드에서 각각 30 mg/kg, 93 mg/kg로 고독성이었으며 나머지는 보통독성이었다. 혼합에 의한 급성경구 및 경피독성 시험결과, LD₅₀이 이론치보다 0.29~1.0 배정도 낮은 상승독성이 발현되었다. 혼용에 의한 급성경구독성 시험결과, 포스팜+디디브이피 조합의 경우, LD₅₀이 16 mg/kg로 맹독성 농약으로 구분되었으며, 그 외의 조합은 모두 고독성 농약으로 구분되었다. 급성경피독성시험의 경우도 경구와 동일한 결과로 독성발현이 전체적으로 상승되었다. 농약의 혼합에 의한 혈장내 cholinesterase의 ID₅₀의 변화는 약제처리 30분에는 이론치보다 현저한 효소억제가 인정되었으나, 60분에는 이론치와 큰 차이가 없었다. (2001년 11월 26일 접수, 2001년 12월 26일 수리)

Key words : toxicity response, tank mixing, cholinesterase activity.

서 론

농작물을 가해하는 병해충은 작물의 재배기간 중 동시에 발생하는 경우가 많으므로 살균제와 살충제 또는 살충제와 살충제 농약을 2~3종 또는 3~4종을 혼용 살포함으로써 병해충의 방제효율을 증대시킬 뿐만 아니라 약제에 대한 저항성의 출현을 최소화하며 약제살포 횟수를 줄여 노동력의 절감효과를 높일 수 있다고 알려져 있다(Mush, 1996). 이와 같은 장점 때문에 대부분의 농가에서는 농약을 혼용 살포하는 것이 일반화되어 있는 실정이다(농약공업협회, 1999).

그러나 농약의 혼용살포는 경우에 따라서 농작물에 예기치 않은 약해 유발과 약효저하 등 경제적인 손실을 가져오는 경우도 있으며, 농약혼용 살포시 대상병해충이 다르므로 단계로는 희석배수대로 살포했지만 작물 및 살포자에게는 2~3배의 농약이 사용된 결과가 되므로 예기치 못한 약해 발생이나 중독사고가 일어날 가능성이 있다(김 등, 1988). 그러나 현행 농약의 혼용은 약해 유무 정도로만 혼용가부를 추천하므로 살포자에 대한 안전성을 고려하지 않은 문제점을 지니고 있다.

두 종류 이상의 농약을 혼합하면 독성이 증가 될 수도 있다는 것은 일반적으로 잘 알려져 있는 사실인데(Curtis 등, 1991; Frawley 등, 1957), 유기인계 농약인 fenitrothion과 카바메이트계 농약인 fenobucarb(BPMC)의 혼용은 농약 성분의 혈중농도를 증가시켜 독성반응이 2배정도 상승되었다(白須泰彦, 1988).

따라서 본 연구는 과수 재배시 살충효과가 우수하여 농민선호도가 높고 상호 혼용살포 빈도가 높으나, 살포자에

급성중독을 일으킬 가능성이 큰 4종 살충제를 선정하여 2종이상 혼용 또는 혼합하여 사용할 경우 포유동물에 미치는 독성반응을 구명하고자 수행하였다(농약공업협회, 1999; 농업과학기술원, 1999). 시험 결과 상승독성이 발현되는 농약을 혼용하여 사용할 경우 주의해야 할 조합들이 있었으며 아울러 농약혼용 가부표 작성 시에 인체에 대한 영향도 고려해야 한다는 점을 확인하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시농약

과수 재배용 농약으로 등록된 4종 살충제는 유기인계인 포스팜액제(phosphamidon 50%)와 디디브이피유제(dichlorvos 50%), 합성피레스로이드계인 피레스유제(cypermethrin 5%) 및 카바메이트계인 푸라치오카브유제(furathiocarb 10%)를 시중 농약시판상에서 구입하여 사용하였다.

실험동물 및 사육조건

일반적으로 국내에서는 제품농약의 독성구분을 위한 급성경구독성시험은 마우스를 이용하나(농약의 등록시험기준과 방법, 농촌진흥청고시 제 2000-1호, 2000. 4. 10), 본시험에서는 독성정적이 보다 정확하고 효소활성측정을 위해 체혈이 용이한 랫드를 이용하였으며, 실험동물은 농업과학기술원 농약안전성과 실험동물실에서 사육한 200~300 g의 SPF Sprague Dawley(SD계) 랫드를 사용하였으며, 사육은 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%, 환기횟수 13~18/hr., 조명시간 12시간(오전6시-오후6시) 및 조도 200~300 Lux로 설정된 실험동물실에서 사육하였다. 시험기간 중 사료는 실험동물용 고품사료(삼양사료(주))를, 음용수는 수돗물을 자유 급식시켰다.

*연락처자

Table 1. Acute oral and acute Dermal toxicity of horticultural insecticides in male rat

Pesticides	Oral (mg/kg)			Dermal (mg/kg)		
	LD ₅₀	LD ₁	LD ₉₉	LD ₅₀	LD ₁	LD ₉₉
Phosphamidon 50% SL	30	19	48	858	287	2,561
Dichlorvos 50% EC	93	49	177	126	45	323
Cypermethrin 5% EC	2,351	1,009	5,477	>2,300	-	-
Furathiocarb 10% EC	205	124	338	>2,300	-	-

The LD₁, LD₅₀ and LD₉₉ of acute oral and dermal toxicity were calculated by probit analysis method.

농약의 혼합 및 혼용조합 조제

혼합조합은 단제를 동일한 비율로 혼합하여 전체가 100%되게 하였으며(예로서 2종혼합인 경우 0.5+0.5 = 1), 혼용조합은 각 단제를 100%로 하여 투여하였다(예로서 2종 혼용인 경우 1+1 = 2).

급성독성시험

급성경구독성 시험은 200-300 g의 S.D.계 랫드를 각 시험 군별로 10마리씩 선별하고 12시간 이상 절식한 후 랫드용 존데(Sonde)를 이용하여 1회 경구 투여하여 치사유무 및 중독증상을 14일간 관찰하였다. 단제에서는 최대중독량으로 LD₁, 반수치사량으로 LD₅₀ 및 모든 동물이 치사될 수 있는 LD₉₉를 산출하였으며, 혼합 및 혼용 투여군에서는 LD₅₀을 산출하여 Finney공식(Finney, 1971)에 의해 산출된 이론치와 비교하여 독성반응을 평가하였다.

급성경피독성시험은 약제도포 1일전에 등 부위의 털을 동물용 제모기를 이용하여 제거한 다음, 4×5 cm 넓이에 약제를 도포하고 거즈, 알미늄호일 및 비자극성 반창고를 이용하여 도포부위를 고정시키고 24시간 경과 후 이들을 제거한 다음, 증류수로 세척하였다. 관찰기간 및 관찰방법은 급성경구독성시험과 동일하게 수행하였다. 급성독성의 독성구분은 "농약관리법 시행령<별표 1>"에 준하였다(농약관리법, 1999).

Cholinesterase 활성조사

군당 5마리의 랫드 숫컷으로 LD₅₀의 1/5, 1/10 및 1/20 농도 수준을 랫드용 존대로 경구 투여한 다음, 0, 30 및 60분에 각각 ethyl ether로 마취시키고 심장으로 부터 혈액을 채취하였다. 혈장은 혈액으로부터 20분간 3000 rpm에서 원심분리하여 획득하였으며, 분리된 혈장을 automatic analyzer(Gilford System 103, CIBA CORNING, USA)를 이용하여 ChE활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

단제농약의 급성경구 및 경피독성

단제 농약의 급성경구독성 LD₅₀(반수치사량, mg/kg)은 표 1에서 보는 바와 같이 포스팜액제(50%)가 30, 디디브이피유제(50%)가 93 mg/kg으로서 고독성이었으며 그 외 피레스유제(5%) 및 푸라치오카브유제(10%)는 각각 2,351 mg/kg, 205 mg/kg로 보통독성이었다.

급성경피독성의 LD₅₀은 디디브이피유제가 126 mg/kg로

고독성이었으며 포스팜액제가 858 mg/kg, 피레스유제 및 푸라치오카브유제는 둘다 2,300 mg/kg이상으로 보통독성이었다. 1%의 치사율을 나타내는 LD₁은 최대중독량이며, LD₉₉는 실험 군으로 설정된 모든 동물이 치사될 수 있는 농도로서 포스팜액제와 디디브이피유제는 LD₁ 과 LD₉₉의 범위가 좁고, 또한 LD₉₉가 200mg/kg이하로서 고독성중에서도 독성이 매우 강한 농약에 속하므로 이들을 혼용할 경우에는 특히 주의해야 한다.

단제에 대한 급성독성 시험결과는 Pesticide Manual에 보고된 원제성적을 제품 중 성분량으로 환산한 것과 유사하였으며(Clive Tomlin, 1994), 디디브이피유제는 급성경피독성도 고독성이어서 취급시 세심한 주의가 요망된다.(표 1)

농약의 혼합투여에 따른 상호 독성작용

농약혼합(0.5+0.5)에 의한 급성경구독성시험 결과는 표 2에서 보는 바와 같이, 2종혼합 조합중 피레스+푸라치오카브 조합만이 보통독성이었고, 포스팜+디디브이피 조합 등 나머지 조합은 고독성이었다. 한편 3종 및 4종혼합의 경우는 모두 고독성이었다.

급성경피독성시험에서 피레스+푸라치오카브, 포스팜+푸라치오카브와 포스팜+피레스 조합은 보통독성이었으나 포스팜+디디브이피, 디디브이피+피레스와 디디브이피+푸라치오카브는 고독성이었으며 또한 3종과 4종혼합에서는 포스팜+피레스+푸라치오카브 조합을 제외한 모든 조합에서 고독성이었다.

2종 이상 혼합조합에서 나타난 결과를 Finney공식(Finney, 1971)에 의해 산출된 이론치와 비교(실측치/이론치)해보면, 표 2와 같이 급성경구독성은 0.38~0.94배로 상승독성이 발현되었으며, 급성경피독성에서도 포스팜+디디브이피등 2종 혼합중 4조합에서는 상승독성이 발현되지 않았으나, 그 밖의 조합에서는 0.29~0.69배로 상승독성이 발현되는 것으로 나타났다.

이와 같은 결과는 malathion과 EPN을 상호 혼합했을 때 상승독성작용이 발현되었다는 보고(Frawley 등, 1957)와 carbon tetrachloride와 ethanol을 혼합 투여했을 때 간장에 상승독성이 강하게 발현되었다는 보고(Curtis 등, 1991)와 유사하였다. 주로 작용기전이 같은 유기인계와 유기인계, 유기인계와 카바메이트계 농약의 혼합인 경우는 상승독성작용이 인정되며, 그 외에도 많은 경우의 화합물들이 상호 상승독성을 발현하는 것으로 알려져 있다(Curtis 등, 1991; Frawley 등, 1957)(표 2).

Table 2. Acute oral and acute dermal toxicity of insecticide mixture in male rat

Mix-combination	Pesticides	LD ₅₀ (mg/kg)					
		Oral			Dermal		
		T.V (A)*	E.V (B)	B/A	T.V (A)	E.V (B)	B/A
2	Phosphamidon+Dichlorvos	45	35	0.78	211	263	1.25
	Phosphamidon+Cypermethrin	59	34	0.58	1250	491	0.39
	Phosphamidon+Furathiocarb	52	35	0.67	1250	547	0.44
	Dichlorvos+Cypermethrin	179	109	0.61	228	205	0.90
	Dichlorvos+Furathiocarb	128	58	0.45	228	222	0.97
	Cypermethrin+Furathiocarb	377	354	0.94	2300	>2300	1.00
3	Phosphamidon+Dichlorvos+ Cypermethrin	68	58	0.85	302	250	0.38
	Phosphamidon+Cypermethrin +Furathiocarb	78	33	0.42	1476	427	0.29
	Cypermethrin+Furathiocarb+ Dichlorvos	187	79	0.42	326	225	0.69
4	Phosphamidon+Dichlorvos+ Cypermethrin+Furathiocarb	81	31	0.38	386	203	0.53

T.V : Theoretical value, E.V : Experimental value.

The LD₅₀ of acute oral and dermal was calculated by Finney formulation.

* Finney formulation :
$$\frac{100}{T_m} = \frac{C_A}{T_A} + \frac{C_B}{T_B} + \frac{C_Z}{T_Z}$$

C = the % concentrations of constituent A, B, ... Z in the mixture.

T = the LD₅₀ values of constituents A, B, ... Z.

T_m = the LD₅₀ value of the mixture.

농약의 혼용에 따른 상호독성반응

농약을 혼용(1+1=2)하여 급성경구독성시험을 실시한 결과는, 혼합(0.5+0.5=1)하여 시험한 경우보다 훨씬 높은 독성을 나타내어 포스팜+디디브이피와 4종혼용 조합은 LD₅₀이 16 mg/kg과 17 mg/kg로 맹독성을 보였으며, 그 밖의 2종 및 3종 혼용조합은 모두 고독성이었다.

급성경피독성시험결과, 피레스+푸라치오카브 조합만 LD₅₀이 2,300 mg/kg이상으로 보통독성이었고 나머지 조합은 모두 고독성으로 나타났다. 이와 같은 결과를 변형된 Finney공식에 의해 계산된 이론치와 비교해 볼 때, [표3]에서 보는 바와 같이 급성경구독성은 0.36~1.00배까지 전반적인 상승독성이 발현되었으며, 급성경피독성시험에서 피레스+푸라치오카브는 서로 길항작용을 보여 2배정도 독성이 낮아졌으나 나머지는 0.30~1.00배로 독성이 상승되는 경향을 보였다.

이와 같은 결과는 농가에서 농약을 혼용하여 사용하도록 추천하고 있는 혼용가부표 작성 시 인축에 대한 독성을 고려하여, 작업자안전계수(margin of safety), 노출평가에 의한 보호장비 착용여부 등 취급제한기준을 추가하여야 한다는 점을 확인하였다.

또한 일본, 미국등 선진국에서는 농약의 위해성을 평가할 때, 작업자와 소비자에 대한 평가를 구분하여 국민건강을 보호하고 있으며, 최근 미국에서는 어린이에 대한 노출

기준을 별도로 설정하고있다. 독성학적인 연구는 주로 단일 물질이 특정 생물에 미치는 영향을 연구하여 왔으며, 이와 같은 연구의 결과는 그 물질이 다른 물질과 혼합될 때 발현될 수도 있는 독성을 과소 평가할 가능성이 높다. 또한 환경 중에는 무수한 화학물질이 존재한다는 것을 감안할 때 보다 더 정확한 독성을 평가하기 위하여 의약품에서 활발히 연구되고 있는 혼합에 대한 연구가 일반화학물질에 대해서도 수행될 필요가 있다(Musch, 1996)(표 3).

농약의 급성경구투여에 따른 혈장내 ChE활성변화

투여약량을 단제 및 2종 혼합조합 LD₅₀의 1/5, 1/10, 1/20로, 처리시간을 0, 30, 60분으로 하여, ChE활성변화를 단제 및 혼합조합에 대해 조사하여 ID₅₀을 계산한 결과는 표 4와 같다.

시험결과 ID₅₀이 이론적으로 산출된 저해농도 보다 낮아 이론치와 실측치와의 비교에서 30분은 0.50~0.71배, 60분은 0.40~1.17배로 상승독성을 보였다.

이 결과는 2종의 유기인계농약 끼리의 혼합에서 단제보다 cholinesterase의 작용을 현저히 억제하였다는 보고(Curtis 등, 1991)와 유기인계농약이 다른 유기인계농약과 혼합되어 esterases의 활성을 현저히 억제하였다는 보고(Su 등, 1971)과 같은 경향이었다(표 4).

Table 3. Acute oral and acute dermal toxicity of insecticide tank mix in male rat

Mix-combination	Pesticides	LD ₅₀ (mg/kg)					
		Oral			Dermal		
		T.V (A)*	E.V(B)	B/A	T.V(A)	E.V(B)	B/A
2	Phosphamidon+Dichlorvos	23	16	0.36	105	105	1.00
	Phosphamidon+Cypermethrin	30	26	0.87	625	203	0.32
	Phosphamidon+Furathiocarb	26	23	0.88	625	227	0.36
	Dichlorvos+Cypermethrin	90	68	0.70.45	114	92	0.81
	Dichlorvos+Furathiocarb	64	29	0.87	114	112	0.98
	Cypermethrin+Furathiocarb	189	165		1150	>2300	2.00
3	Phosphamidon+Dichlorvos+ Cypermethrin	23	23	1.00	101	93	0.92
	Phosphamidon+Cypermethrin+ Furathiocarb	26	20	0.77	491	147	0.30
	Cypermethrin+Furathiocarb+ Dichlorvos	62	32	0.52	169	93	0.85
4	Phosphamidon+Dichlorvos+ Cypermethrin+Furathiocarb	20	17	0.85	96	86	0.90

T.V : Theoretical value, E.V : Experimental value.

The LD₅₀ of acute oral and dermal was calculated by modified Finney formulation.

$$* \text{ Modified Finney formulation : } \frac{100/T_m}{n} = \frac{C_A}{T_A} + \frac{C_B}{T_B} + \frac{C_Z}{T_Z}$$

C = the % concentrations of constituent A, B, ... Z in the mixture

T = the LD₅₀ values of constituents A, B, ... Z

T_m = the LD₅₀ value of the mixture

n = Number of mixed or tank mixed pesticides

Table 4. Influence of pesticide on cholinesterase activity in serum

Pesticides	ID ₅₀ (mg/kg)					
	30 minutes			60 minutes		
	T.V(A)	E.V(B)	B/A	T.V(A)	E.V(B)	B/A
Phosphamidon	-	1.5	-	-	1.5	-
Dichlorvos	-	19.8	-	-	59.2	-
Furathiocarb	-	45.1	-	-	20.0	-
Phosphamidon+Dichlorvos	2.8	2.0	0.71	2.9	3.4	1.17
Phosphamidon+Furathiocarb	2.9	1.9	0.66	2.8	3.7	0.73
Dichlorvos+Furathiocarb	27.6	13.9	0.50	29.9	12.1	0.40

T.V : Theoretical value, E.V : Experimental value.

$$* \text{ Finney formulation : } \frac{100}{T_m} = \frac{C_A}{T_A} + \frac{C_B}{T_B} + \frac{C_Z}{T_Z}$$

C = the % concentrations of constituent A, B, ... Z in the mixture.

T = the ID₅₀ values of constituents A, B, ... Z.

T_m = the ID₅₀ value of the mixture.

인용문헌

Clive Tomlin (1994) The Pesticide Manual, 10th. ed., pp.259~260, 313~314, 535~536, 803~805, British Crop Protection Council.

Curtis, D. K. and D. L. Eaton (1991) Principles of Toxicology. pp.12~49, In Casarett and Doull's Toxicology, 4th ed. Pergamon press. U.S.A.

Finney, D. J. (1971) Estimation of the medium effective dose, pp.19~47, In Probit analysis 2nd. ed,

- Cambridge Univ. Press, 131, UK.
- Frawley, J. P., H. N. Fuyat, E. C. Hagan, J. R. Blake and O. G. Fitzhugh (1957) Marked potentiation in mammalian toxicity from simultaneous administration of two anticholinesterase compounds. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 121:96~106.
- Mush A. (1996) Toxicity of Mixtures, pp.271~287. Toxicology. CRC Press. USA.
- Su, M., F. A. Kinoshita, J. P. Frawley and K. P. DuBois (1971) Comparative inhibition of aliesterases and cholinesterase in rat fed eight organophosphorous insecticides. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 20:241~244.
- US/EPA (1998) Farm Chemicals Handbook.
- 白須泰彦 (1988) 急性毒性試験, *Environmental Toxicology Handbook*, pp.55~80, (株)フシテクノシステム, 日本.
- 김명환, 박명재, 홍세용 (1988) 농촌지역에서 발생한 치명적 약물중독에 관한 임상적 관찰, *대한내과학회잡지* 35(6): 821~827.
- 농림부 (1999) 농약관리법.
- 농약공업협회 (1999) 농약혼용가부표.
- 농업과학기술원 (1999) 농약의 안전성과 작물보호.

Acute toxicity response caused by mixture or tank mix of several insecticides

Je-Bong Lee · Mi-Hye Jeong · Ha-Jung Sung · Hae-Keun Lee · Jae-sul Yang(Pesticide Safety Division, NIAST, Suwon, Korea)

Abstract : Tank mixing application of pesticides has been used to reduce labor and to control wide spectrum of pests, but it may cause significant pesticide poisoning on human and animals due to carelessness. The toxic response of pesticides for the tank mixtures and mixtures was investigated to determine acute toxicity and enzymatic change using experimental animals. Acute oral toxicity and acute dermal toxicity were tested by RDA test guideline. The LD₅₀ was calculated by probit analysis method and cholinesterase was measured with automatic analyzer. The toxicities were generally higher than estimated toxicities in tank mixing and mixture. Serum cholinesterase activity was inhibited more than expected at the dose levels of 1/5, 1/10 and 1/20 of LD₅₀. Therefore, the results of this study showed that acute toxicity caused by the pesticide mixtures should be considered before the tank mixing method is applied.

*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0521, E-mail : jblee@rda.go.kr)