

시험용액의 조제방법에 따른 어독성 차이

배철한* · 김연식 · 박연기¹ · 박은희 · 박현주 · 신동찬 · 이승열 · 이석희 · 정창국

한국삼공(주) 농업연구소, ¹국립농업과학원 농산물안전성부

(2010년 8월 24일 접수, 2010년 9월 4일 수리)

The Difference of Fish Toxicity by Preparation Methods of Test Solution

Chul-Han Bae*, Yeon-Sik Kim, Yeon-Ki Park¹, Eun-Hee park, Hyun-Ju Park, Dong-Chan Shin, Seung-Yeol Lee, Suk-Hee Lee and Chang-Kook Chung

Agricultural Reasearch Center, Hankooksamgong Co. Ltd., ¹Pesticide Safety Division, National Academy of Agricultural Science

Abstract

The solubility in water of granular pesticides is not equal because the difference of methods of producing a granular pesticide. This study was conducted to investigate fish acute toxicity of butachlor 5% GR, fipronil 0.4% GR by impregnation and carbosulfan 3% GR, diazinon 0.4% GR by coating, using carp (*C. carpio*), medaka (*O. latipes*) and loach (*M. anguillicaudatus*). The test solution of each pesticide was prepared by direct addition of granular pesticide and add after grinding granular pesticide to powder in test water. We also investigated LC₅₀ and residual concentration until 96 hours. Test results were appeared that the treatment of powder was 1.2~4 time higher than granular and toxicity increased clearly according to elapsed time. And the residual amounts by time were detected much at early time in the powder treatment of butachlor GR and diazinon GR. Conclusively, fish acute toxicity and residual concentration in test solution appeared higher in the powder treatment than treat granular form directly in water. Also, 96 hours toxicity values were stable comparatively and the error is less than 48 hours.

Key words granular pesticide, *C. carpio*, *O. latipes*, *M. anguillicaudatus*, LC₅₀, residue

서 론

농약 등록을 위한 어류 급성독성시험은 우리나라뿐만 아니라 유럽, 미국, 일본 등에서 그 시험성적을 제출하도록 하고 있다. 우리나라의 어류 급성독성시험에 사용되는 시험어종은 잉어 또는 송사리 그리고 벼재배용 농약은 미꾸리를 추가하고 있다. 농약 등록을 위한 시험법은 농촌진흥청고시의 시험기준과 방법에 따라 실시하며, 농약 원제와 제품에 대해 동일한 시험법으로 하고 있다. 특히 제품농약은 원제와는 달리 농약의 사용목적에 따라 제제의 형태가 다양하다. 그러나 일반적으로 제품농

약에 대한 급성독성시험은 이러한 다양한 형태의 제품농약을 형태 변형 없이 직접처리하여 단기간의 독성을 평가하고 있다. 급성 어독성시험에 있어 시험기간 동안 시험용액의 농도를 유지하는 것은 매우 중요하다. 그러나 제품농약 특히, 입제의 경우 형태적인 특성상 짧은 시간에 물에 용해되지 않거나 모래나 지오라이트(zeolite)를 사용한 피복식 또는 흡착식 입제는 물중에 침전되어 오랜기간 용출되는 특성을 가지고 있다.

농약 입제는 원제의 특성 및 증량제의 종류에 따라서 제제 방법이 압출조립법(extrusion), 흡착법(impregnation), 피복법(coating)으로 구분한다. 입제는 주성분(active ingredient), 결합제(binder), 증량제(carriers), 붕괴제 및 분산제(dispersing agent) 등을 이용하여 제조되는데 제조방식은 원제 특성에

*연락처 : Tel. +82-31-374-8722, Fax. +82-31-374-1720

E-mail: baech@30agro.co.kr

맞고 유효성분의 경시변화 안전성, 수중분괴성 등의 물리 안전성과 유효성분의 용출제어 정도 등을 고려하여 선정되어진다(Backman et al., 1978).

우리나라의 경우 입제는 논에서 주로 많이 사용하며 논에 사용하는 입제의 경우 물에 난용성인 약제의 경우에는 빠른 수중분괴에 의하여 유효성분의 방출을 신속하게 함과 동시에 분산에 의하여 처리층의 면적을 확대시킬 수 있어야 소기의 약효를 기대할 수 있다(정 등, 2004). 입제는 대부분 모래에 coating하거나 zeolite와 같은 증량제에 흡착시키는 방법이거나 벤토나이트 등을 이용하여 국수가락 뿔뿔 뽑아내는 입제 형이 있다. 입제의 장점은 살포하기 간편하고, 살포시 물이 필요 없고, 약해의 위험이 적다는 것이다. 단점은 균일살포가 어렵고, 액제보다 부피가 커서 물류비용이 많이 든다는 점이다. 그리고 입제는 유효성분함량이 유제(EC)보다 낮고 살포시 더 안전하다는 장점이 있다(Collins et al., 1996).

이러한 입제형태의 농약에 대한 어독성시험은 농약의 제형을 변형시키지 않고 직접처리하여 시험용액을 조제하여 시험하고 있다. 이로 인해 고체상태에서 물에 용출되는 특성에 따라 시험용액의 농도에 변화를 주고 그 독성에도 영향을 미칠 가능성이 있다. 특히 수중 용출속도가 늦고 완전히 용해되지 않는 입제 형태 농약의 경우 시험용액 조제방법에 따라 독성이 차이가 날 가능성이 높다. 농약원제를 대상으로 하여 처리방법과 노출시간에 대한 급성어독성의 변화에 대한 연구(이 등, 1984, 신 등, 1988)는 보고된 바 있으나, 국내 어독성 시험의 주 대상인 농약제품에 관한 기초적인 어독성 연구는 부족한 현실이다.

이에 본 연구에서는 농약제품 중 흡착식 입제와 피복식 입제 농약을 대상으로 직접처리와 마쇄후 분말처리의 방법으로 시험용액을 조제하여 잉어, 송사리, 미꾸리에 대한 급성독성

시험을 실시하여 시간경과에 따른 급성독성을 비교하였다. 그리고 시험농약 처리 후 96시간까지 유효 농약성분의 잔류 농도를 분석하여 시간에 따른 용출특성을 파악하였다.

재료 및 방법

시험농약

시험에 사용된 농약은 흡착식 입제인 Butachlor GR(5%), Fipronil GR(0.4%)와 피복식 입제인 Carbosulfan GR(3%), Diazinon GR(3%)이다.

시험생물

급성 어독성시험에 사용된 시험어종은 잉어(*Cyprinus carpio*), 송사리(*Orzias latipes*), 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*)이며 잉어는 3~5 cm, 0.6~1.0 g, 송사리 2~3 cm, 0.2~0.3 g, 미꾸리 6~8 cm, 1.0~1.8 g를 사용하였다.

어류 급성독성시험

어류를 이용한 급성독성시험법은 OECD test guideline 203 (1992)과 농약품목등록시험 기준과 방법(농촌진흥청고시 제 2008-4호)에 따라 실시하였다. 처리방법은 흡착식 입제 농약과 피복식 입제 농약을 제형의 물리적인 변화없이 그대로 직접 처리하는 방식과 막자시발을 이용하여 인위적으로 마쇄하여 분말형태로 처리하는 방식으로 하였다. 시험농약을 각각 처리한 후 96시간까지 시험어류를 노출시켜 치사수를 조사하였다.

잔류농도 분석

시험농약 처리방법에 따른 물에서의 용출농도를 조사하기

Table 1. Operating conditions of instruments for analysis of pesticides

Butachlor	
Instrument	: Agilent 7890A series
Detector	: ECD
Column	: SUPELCO. 3758-03A (0.25 mm × 30 mm × 0.25 μm)
Temperature	: Oven 240°C, Injector 250°C, Detector 300°C
Flow rate	: Carrier (N ₂) 2.0 ml/min
Injection volume	: 1 μl
Diazinon	
Instrument	: Agilent 6890 Network GC system
Detector	: NPD
Column	: HP-5, 5% Phenyl Siloxane (30 mm × 0.32 mm, 0.25 μm film thickness)
Temperature	: Oven 220°C, Injector 250°C, Detector 300°C
Flow rate	: Carrier (N ₂) 2.0 ml/min, H ₂ 3.0 ml/min, Air 60 ml/min
Injection volume	: 1 μl

위해 diazinon GR와 butachlor GR 처리 후 4시간, 48시간, 96시간에 시험용액을 채취하여 잔류농도를 분석하였다.

시험용액의 중간층에서 100 ml를 채취하여 1 L 분액여두에 옮긴 후 포화식염수 20 ml와 증류수 100 ml를 가한 후 hexane 100 ml와 50 ml로 2회 걸쳐 분배하였다. 층 분리 후 hexane층을 anhydrous sodium sulfate층에 통과시켜 수분을 제거한 후 35°C 이하에서 감압 농축하여 acetone 5 ml로 재용해하여 diazinon은 GLC/NPD, butachlor는 GLC/ECD로 분석하였으며, 기기분석조건은 아래와 같다.

결과 및 고찰

시험농약의 어독성의 변화

1. 피복식 입제인 diazinon GR와 carbosulfan GR의 어독성 변화

피복식 입제인 diazinon GR와 carbosulfan GR의 급성 어독성시험 결과 Fig. 1과 Fig. 2와 같다. 송사리와 잉어에서 직접처리구에서 시간경과에 따라 LC₅₀값의 변화가 뚜렷하게 나타났다. diazinon GR의 경우 송사리와 잉어에서 48시간

LC₅₀값에 비해 96시간 LC₅₀값이 최소 16.2%, 최대 38.5%로 감소한 것을 알 수 있었다. 즉, 시간이 경과할수록 독성이 증가하는 경향이 나타났다. 처리방법간의 독성은 직접처리에 비해 마쇄 후 처리한 시험구에서 LC₅₀값이 낮았다. 그리고 시험생물간의 독성은 잉어<송사리<미꾸리 순으로 독성이 크게 나타났다. 특히 미꾸리에 대한 독성은 잉어와 송사리에 비해 30배 이상 높음을 알 수 있었다.

Carbosulfan GR의 경우 직접처리구에서는 48시간 독성에 비해 96시간 독성이 최대 45.1% 수준으로 증가하였지만 마쇄처리구에서는 거의 변화가 없었다. 처리방법간의 독성도 직접처리에 비해 마쇄처리구에서 LC₅₀값이 더 낮았고 시험생물은 송사리가 가장 민감함을 알 수 있었다. 그러나 미꾸리에서는 시험농도 100 mg/l에서도 치사개체가 없어 시험어종인 잉어와 송사리에 비해 민감도가 매우 낮았다.

2. 흡착식 입제인 fipronil GR와 butachlor GR의 어독성 변화

흡착식 입제인 fipronil GR와 butachlor GR의 급성 어독성시험 결과는 Fig. 3과 Fig. 4에 나타내었다. 송사리, 잉어,

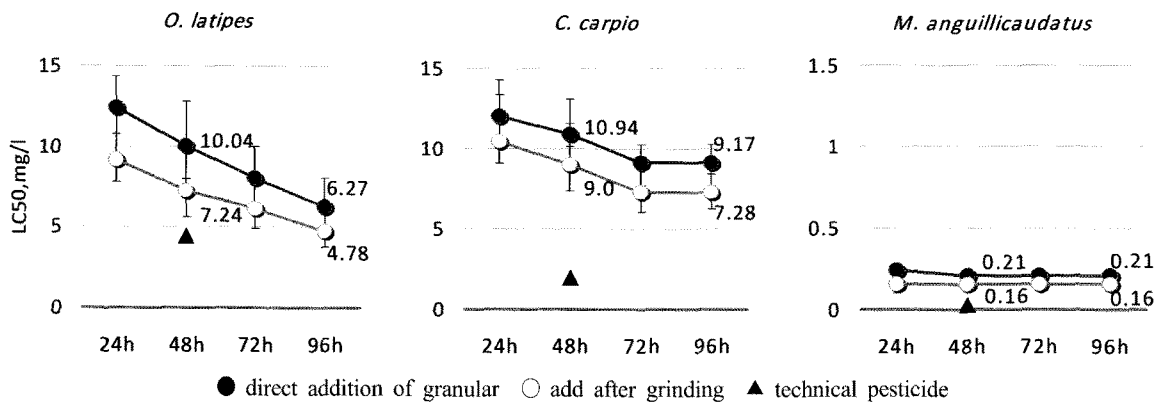


Fig. 1. LC₅₀ values with the passage of time of diazinon GR.

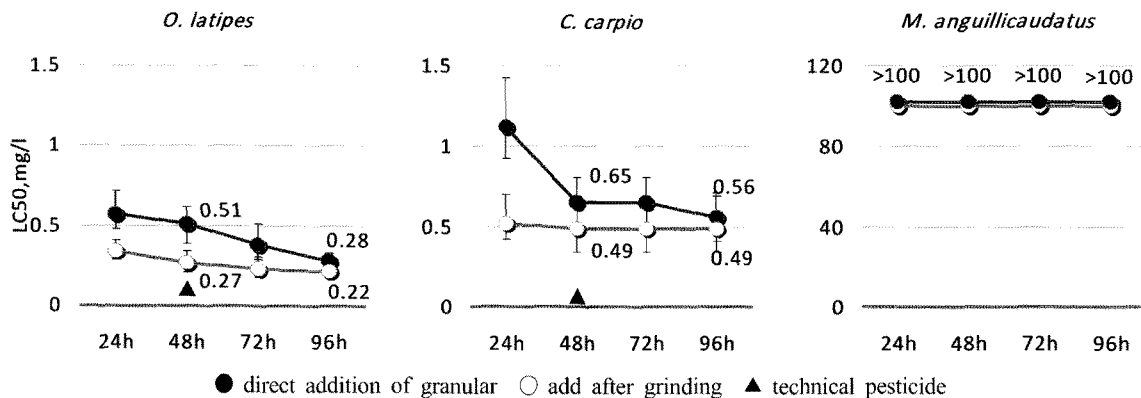


Fig. 2. LC₅₀ values with the passage of time of Carbosulfan GR.

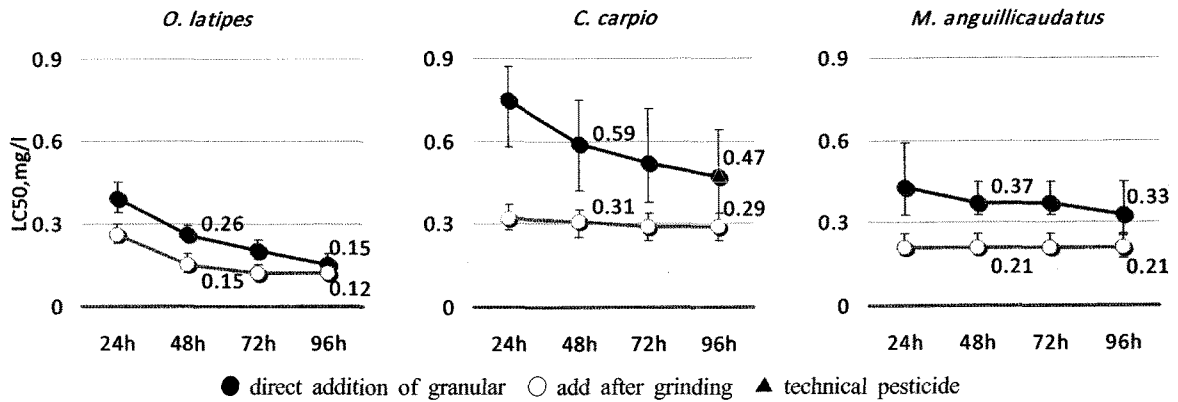


Fig. 3. LC₅₀ values with the passage of time of Fipronil GR.

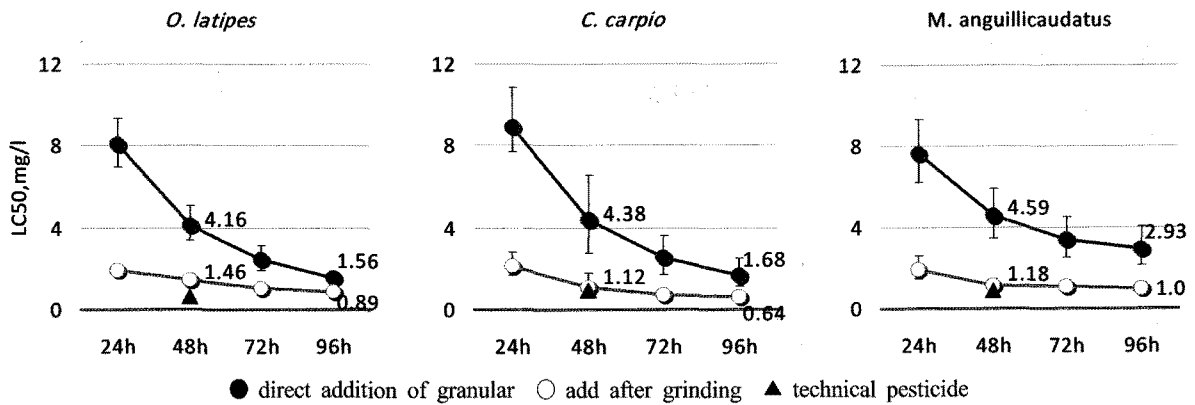


Fig. 4. LC₅₀ values with the passage of time of Butachlor GR.

미꾸리에서 시간경과에 따른 독성변화를 관찰하였으며, 직접 처리구에서는 LC₅₀값의 변화가 작았으나 마쇄처리구에서는 LC₅₀값의 변화가 뚜렷하게 나타났다.

Fipronil GR의 경우 직접처리구에서 시간경과에 따라 LC₅₀ 값이 점차 감소하였으나 마쇄처리구에서는 거의 유사한 수준이었다. 처리방법간의 독성은 직접처리에 비해 마쇄 후 처리한 시험구에서 LC₅₀값이 낮았고 48시간에 비해 96시간으로 갈수록 LC₅₀값의 오차가 줄어들었다. 시험생물간의 독성은 모든 시험종에서 유사한 수준이었으나 LC₅₀값으로 비교해보면 송사리<미꾸리<잉어 순으로 독성이 크게 나타났다.

Butachlor GR의 급성 어독성시험 결과 시간경과에 따라 LC₅₀값의 변동이 크게 나타났다. 직접처리구에서는 48시간 독성에 비해 96시간 독성이 최소 36.2%, 최대 62.5% 수준으로 크게 증가하였고 마쇄처리구에서도 직접처리구보다는 낮은 수준이었으나 독성이 점차 증가함을 알 수 있었다. 처리방법간의 독성도 직접처리에 비해 마쇄처리구에서 LC₅₀값이 더 낮았고 시간이 경과할수록 LC₅₀값의 오차가 감소하는 경향이 나타났다. 시험생물간의 독성에서는 잉어와 송사리가 유사하였고 미꾸리에서 민감도의 차이가 보였다.

이와 같이 피복식 입제와 흡착식 입제에서 시간경과에 따른 독성의 경향성이 유사하게 나타나고 있었다. 분말형태로 시험용액을 조제한 마쇄처리구에서는 빠른 시간내에 독성이 나타나고 독성이 높게 나타났으며 독성변화도 작았다. 그러나 마쇄없이 직접처리한 처리구에서는 시간경과에 따라 독성의 변화가 크게 나타났고 그 독성도 마쇄처리구에 비해 낮게 나타났다. 이러한 결과는 입제의 직접처리 형태가 물에 용출되는 시간과 그 독성값에도 크게 영향을 주고 있음을 알 수 있으며, 입제농약의 특성을 고려할 때 48시간 보다 96시간의 독성값이 어독성을 평가하는데 더 적합하다고 판단된다.

시험농약의 물중 잔류량 변화

Diazinon GR와 butachlor GR를 처리한 시험용액을 처리 후 96시간까지 잔류농도를 분석하였다. 피복식 입제인 diazinon GR 처리구에서의 잔류량은 입제를 직접 처리하여 잉어와 송사리를 노출시킨 시험용액에서는 시간 경과에 따라 점차 증가하는 경향이었고 96시간 동안 최고잔류량은 설정농도(nominal concentration)의 32~64% 정도였으며, 마쇄처리구에서는 처리 후 4시간 내에 70% 이상 용출되었고 점차 감소하였다. 마

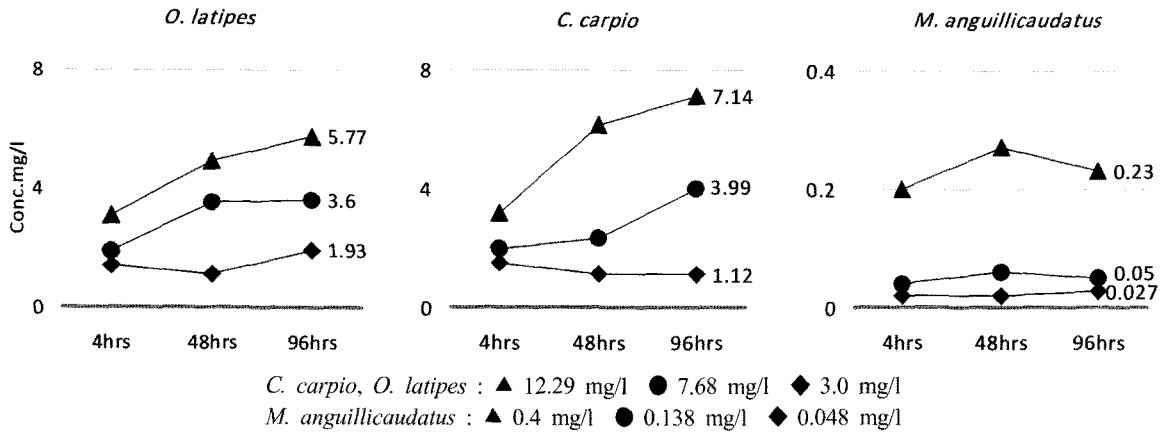


Fig. 5. Released concentration of diazinon after direct addition of diazinon GR in water.

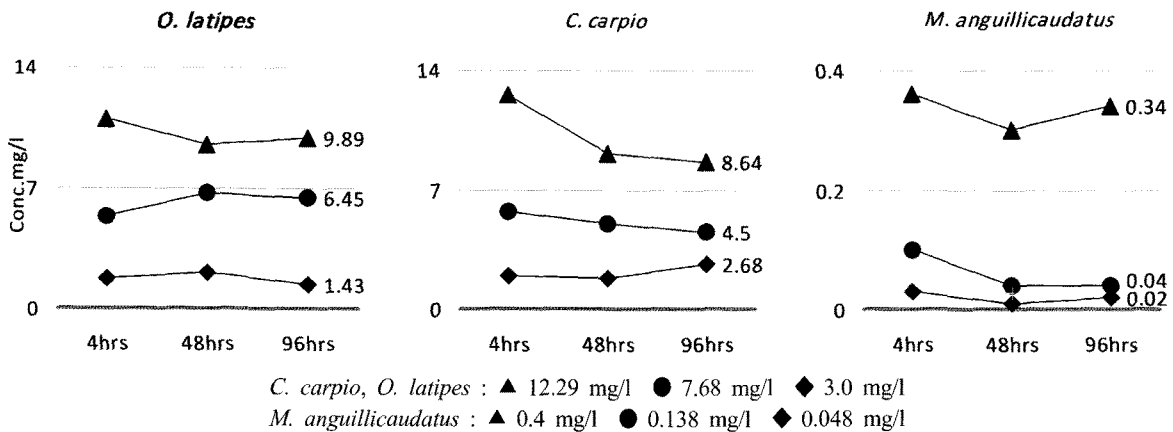


Fig. 6. Released concentration of diazinon after addition of grinding powder of diazinon GR in water.

쇄처리구의 96시간 최고잔류량은 60~101% 수준으로 높았다. 그러나 미꾸리를 노출시킨 시험용액에서는 시간경과에 따라 큰 변화없이 유지되었다.

Butachlor GR의 처리구에서도 잔류경향성이 diazinon GR와 유사하였으며, 직접처리구의 최고잔류량은 9.6~26%로 마쇄처리구의 최고잔류량 16.9%~63.3%에 비해 낮았다. 시험생물간의 특성도 잉어와 송사리를 노출시킨 시험용액에서는 시간에 따라 점차 증가하는 경향이었으나 미꾸리 노출 시험용액에서는 변화가 크지 않았다. 시험결과와 같이 정 등 (1998)의 연구결과에서도 butachlor의 모래 피복식 입제가 지오라이트 흡착식 입제보다 수중에서 용출되는 양이 많았고 입제에서의 수중 용출량은 수용해도의 30% 정도에 미치는 것으로 나타났다.

이와 같이 용출되는 속도와 용출량이 다르게 나타나는 것은 butachlor GR와 같은 흡착식 입제는 지오라이트(zeolite)의 수많은 공극에 흡착되어 용출이 아주 느리게 진행되지만, diazinon GR와 같은 피복식 입제는 모래표면에 정착되어 있어 물이 접촉하면 빠른 시간에 쉽게 용해되기 때문인 것으로

판단된다.

결론적으로, 입제농약의 어독성시험시 마쇄없이 직접 처리할 경우 96시간 동안 용출되는 속도가 느리고 용출량이 적어 시험생물에 대한 독성에도 영향을 미치고 있다는 것을 확인할 수 있었다. 그러므로 어독성 시험시 입제농약의 특성상 시험용액 조제방법에 따라 시험농약의 어독성에 오차가 발생할 수 있다. 또한, 입제농약의 경우 급성독성 시험시 용출율이 낮게 나타나고 있어 시험기간 동안 설정농도의 80~120% 기준을 만족하지 못하는 경우가 있다. 이러한 경우 시험용액의 잔류농도 분석을 통한 실 측정농도를 사용하여 독성결과를 재해석 할 필요가 있다. 그리고 96시간 독성성적이 48시간 성적보다 더 안정적이라는 것은 전통적인 어독성 평가방법과 이론으로 널리 알려진 것이나 현재 우리나라는 아직도 48시간 급성 자료를 평가에 사용하고 있다. 본 연구는 일부 특정한 형태의 입제농약에 한정된 시험결과이므로 농약제품의 특성상 여러 가지 형태의 농약에 대한 방법론적인 검토가 필요하다고 사료된다.

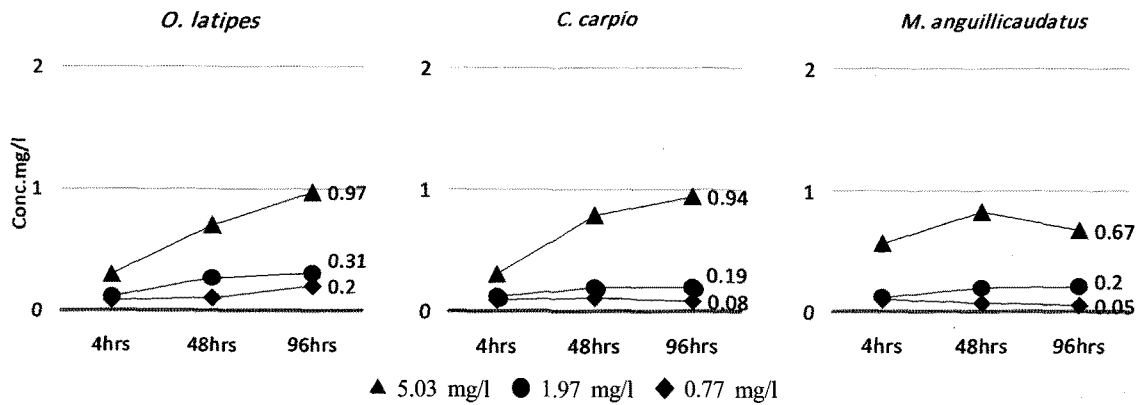


Fig. 7. Released concentration of butachlor after direct addition of butachlor GR in water.

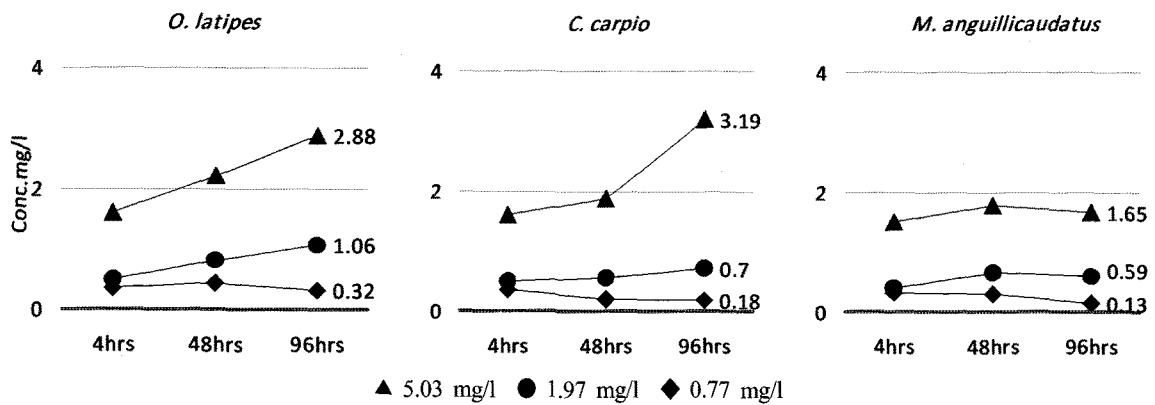


Fig. 8. Released concentration of butachlor after addition of grinding powder of butachlor GR in water.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

김영배, 이성규, 김용화, 노정구 (1988) Diazinon과 Carbofuran의 송사리(*Oryzias latipes*)와 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*)에 대한 선택적 독성과 Acetylcholinesterase 저해, Korean J. Environ. Agric. Vol. 7, No. 2, December 1988.

이성규, 박철원, 노정구 (1984) 농약의 급성어독성과 처리방법에 따른 독성의 변화, Korean J. Environ. Agric. Vol. 3, No. 1, June 1984.

농촌진흥청 (2008) 농촌진흥청고시 제 2008-4호, 농약의 등록 시험 기준과 방법.

신천철, 이성규, 노정구 (1988) 농약의 노출시간에 따른 급성어독성의 변화, Korean J. Environ. Agric. Vol. 7(2):124-129.

정영호, 김장익, 김정환, 이영득, 임치환, 허장현(2004) 최신농약학,

pp. 53~55.

정봉진, 연재흠 (1998) 제조방식을 달리한 chlomethoxyfen과 butachlor 혼합입제의 물리성, 수중용출도와 생물효과 비교, 한국농약과학회지 제2권 제3호 Vol. 2, No. 3, pp. 36~44.

Backman, P. A. (1978) Fungicide formulation:relationship to biological activity. Ann. Rev. Phytopathol. 16:211~237.

Goss, G.R., Taylor, D.R., and Kallay, W.B. (1994) "Granular Pesticide Formulations", Pesticide Formulations and Application Systems: 15th Volume, ASTM STP 1268, Herbert M. Collins, Franklin R. Hall, and Michael Hopkinson, Eds., American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

Herbert M. Collins, Franklin R. Hall, Michael (1996) Pesticide formulations and application systems: 15th volume, Technology & Engineering.

OECD (1992) Guideline for Testing of Chemicals No. 203. Fish, Acute Toxicity Test.

시험용액의 조제방법에 따른 어독성 차이

배철한* · 김연식 · 박연기¹ · 박은희 · 박현주 · 신동찬 · 이승열 · 이석희 · 정창국

한국삼공(주) 농업연구소, ¹국립농업과학원 농산물안전성부

요 약 농약의 제형이 입제인 경우 제조방법에 따라 물중에 용해되는 정도가 다르게 나타난다. 본 연구에서는 제조방법이 다른 흡착식 입제인 butachlor 5% GR와 fipronil 0.4% GR, 그리고 피복식 입제인 carbosulfan 3% GR와 diazinon 3% GR를 사용하여 잉어(*C. carpio*), 송사리(*O. latipes*) 그리고 미꾸리(*M. anguillicaudatus*)에 대한 급성 어독성시험을 수행하였다. 시험용액 조제방법은 물에 입제농약을 직접 처리하는 방법과 농약 입제를 마쇄한 후 처리하는 방법으로 구분하여 96시간까지 반수치사농도(LC₅₀)를 구하였고, 아울러 시간경과에 따른 물중 농약 잔류농도를 측정하였다. 시험결과, 4종의 농약 모두 물에 농약을 직접 처리한 시험구보다 농약을 마쇄하여 처리한 시험구에서 1.2~4배 정도 독성이 높게 나타났으며, 시간의 경과에 따른 독성증가가 뚜렷하게 나타났다. 그리고 butachlor GR와 diazinon GR의 잔류농도는 마쇄처리구에서 빠른 시간에 많은 양이 검출되었다. 결론적으로 입제 형태의 농약을 물에 직접 처리하는 것보다 마쇄 후 처리하였을 때 물중 잔류농도와 독성치가 높게 나타났으며, 48시간보다 96시간의 독성값이 비교적 안정적이고 오차가 작았다.

색인어 입제농약, 송사리, 잉어, 미꾸리, LC₅₀, 잔류
