

누에고치의 중금속 및 농약잔류 가능성 연구

권해용* · 조유영 · 이희삼 · 이광길 · 성규병 · 김기영 · 지상덕
농촌진흥청 국립농업과학원 잠사양봉소재과

Determination of Heavy Metals and Residual Agricultural Chemicals in *Bombyx mori* Silkworm Cocoon

HaeYong Kweon*, You-Young Jo, Heui-Sam Lee, Kwang-Gill Lee,
Gyoo-Byung Sung, Kee-Young Kim, Sang-Duk Ji

Sericultural & Apicultural Materials Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-100, Republic of Korea

(Received July 22, 2012, Accepted October 6, 2012)

Abstract

Heavy metals and residual agricultural chemicals in *Bombyx mori* silkworm cocoon for nontextile usages were examined. Proximate composition of silkworm cocoon was examined; contents of moisture, crude protein, crude fat, and ash were about 5 ~ 6%, 93 ~ 94%, 0.4 ~ 0.5%, and 0.3 ~ 0.4%, respectively. The Heavy metals were analyzed by ICP/MS after acid digestion. Arsenic, cadmium, and lead were not detected. The average contents of mercury, zinc, and cupric were 0.317, 3.99, and 2.06 mg/kg, respectively. Agricultural chemicals, such as dichlorvos and paraquat also were not detected. Silkworm cocoon may be safe used for nontextile applications.

Key words : Silkworm cocoon, Heavy metals, Residual agricultural chemicals, Proximate composition

서 론

오랜기간 동안 고급 의복용 소재로 각광을 받아왔던 실크는 누에가 만든 누에고치에서 뽑은 실로 만든 것이다. 누에가 만든 고치실은 피브로인과 세리신이라는 두 가지 성분으로 구성되어 있다. 실크는 천연적으로 만들어지는 자연계에서 얻을 수 있는 가장 긴 섬유로서 최고의 섬유로 간주되어 왔다. 최근에 들어, 실크단백질을 이용한 세포 배양, 상처 회복 촉진 효과 등 인체 활성화에 대한 연구 개발이 활발하게 진행되고 있다. 식품, 의료 등 비섬유용 실크 소재 개발 연구에 실용성을 부여하기 위해서는 원료로 사용되는 누에고치의 인체안전성 검증이 필요하다. 누에고치 농사를 짓는 과정에서 사용되는 농약, 토양 오염, 중금속 오염 등의 환경에 노출된 누에고치를 섭취 또는 몸 속에 이식하기는 곤란하기 때문이다. 하지만, 이에 대한 연구는 보고된 바 없다.

좋은 품질의 누에고치를 생산하기 위해서는 건강하고 안전하게 누에를 키워야 한다. 1984년 추잠기 누에병 발

생현황 조사에 따르면(Chae et al. 1984), 누에병 발생율은 16.9%, 누에병 발생시기는 4-5령기에 47.4%, 상숙기에 37.3% 등 84.7%가 누에사육 말기에 주로 발생하는 것으로 보고하였다. 누에가 병에 걸리는 원인은 기상환경 불량, 소독 불량, 뽕나무 엽질 불량으로 조사되고 있으며, 농약피해도 중요한 누에병 발생의 원인으로 지목되고 있다. 뽕나무애바구미, 누에취파리 등 해충 방제를 위하여 사용되는 유기인계 살충제가 잔류하는 뽕잎을 급이한 누에의 생존 및 누에고치 생산에 대한 분석 보고에 따르면, 살충제의 종류에 따라 차이는 있으나 농약오염뽕잎 섭취 누에의 감잠 비율이 증가하고 부정형 고치와 이상고치가 만들어지는 원인으로 작용한다고 보고하였다(Yoo 1974, Oh et al. 1984).

일반적으로 중금속은 자연적 또는 인위적인 방법으로 쉽게 분해되거나 제거되지 않으며 (Lee et al. 1996, Kim et al. 2005), 비소, 카드뮴, 납, 수은 등은 생체 성분과의 친화성이 높아 인체내에 축적되기 쉽기 때문에 누에고치를 이용하여 비섬유용 소재로 활용하기 위해서는 엄격한 관리가 필요하다.

*Corresponding author. E-mail: hykweon@korea.kr

본 논문에서는 최근 연구되고 있는 실크단백질을 이용한 비섬유용 소재의 실용화 적용을 위한 기초 정보를 얻기 위하여 국내 청정지역에서 생산되고 있는 누에고치의 일반 성분, 중금속 함량, 농약 잔류성 등에 대하여 분석하고 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 공시재료 및 시약

경북 울진 소재의 4개 농가에서 관행적인 방법으로 사육한 누에(백옥잠)가 지은 누에고치를 공시재료로 사용하였다. 누에고치의 수건은 회전설에 있는 속죽은 고치, 얇은 고치, 끝 뽕죽한 고치 등 오염건을 제거한 후 전면채취기를 이용하여 고치를 수건하여 실험재료로 활용하였다. 분석에 사용한 paraquat dichloride, ammonium chloride, hydrochloride acid, sulfuric acid, sodium dithionate, sodium hydroxide, sodium sulfate는 시그마사의 분석용 등급을 사용하였다.

2. 일반 성분 분석

일반 성분 분석은 AOAC법(AOAC 2005)에 의하여 실시하였다. 즉, 수분은 105°C dry oven에서 6시간 건조 한 후 상압가열건조법(AOAC 950.46)으로 측정하였다. 조회분은 직접 회화법을 사용하여 550°C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 건식화학법(AOAC 920.153)으로 측정하였다. 조지방은 ether로 추출하는 Soxhlet법(AOAC 960.39)을 사용하였고, 조단백질은 semimicro Kjeldahl법(AOAC 981.10)을 사용하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 수행하였으며, 평균값을 결과값으로 나타내었다. 실험에 사용한 누에고치는 잘게 절편을 만들어 분석하였다.

3. 중금속 함량 분석

누에고치의 중금속 함량을 분석하기 위하여 식품의약품안전청(KFDA 2001)의 기준에 따라 실험하였다. 실험에 사용한 시약은 모두 특급시약을 구입하여 사용하였고, 증류수는 18.2 MΩ 수준으로 정제된 물을 사용하였다. 전처리에 사용한 62% Nitric acid (Dong Woo FineChem. Co. Ltd., Iksan, Korea)와 30% Hydrogen Peroxide (Dong Woo Fine Chem. Co. Ltd., Iksan, Korea)는 Electronic grade를 사용하였고, ICP/MS 분석을 위한 표준 용액은 10 mg/L (Multi-element solution, Merck)를 2~5% 질산에 희석하여 사용하였다. 중금속 분석의 유효성을 확인하기 위하여 비소, 납, 카드뮴의 표준인증물질로는 Rice Fluor IRMM-804(European Commission)를 사용하였으며, 수은의 표준인증물질로는 MESS-3 (National Research Council Canada)를 사용하였다. 모든 초치는 10% 질산에 12시간 이상 침

Table 1. The condition of ICP/MS and mercury analyzer

Instrument	Parameter	Value
ICP/MS	RF power	1200 W
	Lens voltage	9.6 V
	Neblizer gas flow(Ar)	0.85 L/min
	Auxiliary gas flow(Ar)	1.5 L/min
	Dwelling time	100 ms
Mercury analyzer	Drying temp	200°C
	Drying time	150s
	Decomp. temp	650°C
	Decomp. time	180s
	Purse time	60s
	Amalgam. time	12 sec
	Record time	30s

지 후, 증류수로 세척하여 사용하였다. 시료 약 2~3 g을 고압 플레테트라플로로에틸렌 용기에 옮긴 후, 62% 질산 7~8 mL, 과산화수소 2~3방울을 가하고 예비분해를 한 후, Microwave digestion system(ETHOS, Milestone, Italy)을 이용하여 분해하였다. 증류수를 사용하여 25 mL로 정용하고 여과하여 시험 용액으로 하여 ICP/MS (Agilent Technologies, 7500a)로 분석하였다. 수은 분석은 시료 약 0.1 g을 수은분석기 (Mercury analyzer, DMA 80, Milestone)에 주입하여 가열기화금아말감법으로 측정하였으며, 기기조건은 Table 1과 같다.

4. 농약 분석법

파라쿼트(paraquat) 분석은 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinediium dichloride 표준물질로 사용하여 UV-Visible Spectrophotometer를 사용하여 396 nm에서 흡광도를 이용하여 검량선을 작성하여 분석하였다. 시료의 추출은 채취한 시료 10 g에 200 mL의 증류수와 14N H₂SO₄ 30 mL를 첨가하여 pH 1~2 이내로 조절한 뒤 5시간 냉각관을 환류시키면서 heating mantle에서 끓여 산분해시킨 뒤 상온으로 냉각시켜 감압 여과한 후 Dowex 50WX 충전 이온교환수지(Chromatographic column, 14 mm i.d. × 70 mm)를 이용하여 정제 용출하여 UV-Visible Spectrophotometer에 나타난 흡광도를 표준검량선과 비교하여 잔류량을 산출하였다.

디클로르보스(dichlorvos) 분석은 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate을 표준물질로 하여 Agilent Technologies US/7890A Network GC System을 사용하였다. 시료의 추출은 세절한 시료 10 g을 취하여 6N HCl 10 mL과 100 mL의 acetone으로 산가수분해시킨 후 정제GC/NPD에 주입하여 나타난 chromatogram상의 peak area를 표준검량선과 비교하여 잔류량을 산출하였다.

결과 및 고찰

일반적으로 누에고치는 섬유용 재료로 활용되고 있다.



Fig. 1. Selection and harvest of *Bombyx mori* silkworm cocoon (a) rotatory cocooning frame ; (b) cocoon preexamination (c) harvested cocoon ; (d) outside-stained cocoon ; (e) dead-worm cocoon ; (f) egg-laid cocoon

Table 2. Cocoon characteristics of *Bombyx mori* BaegOkJam silkworm cocoon

sample	cocoon number	percentage of cocoons					percentage of normal cocoon	fresh cocoon (each)		percentage of cocoon shell weight
		normal cocoon	light defective cocoon	inferior cocoon	double cocoon	innerside soiled cocoon		whole cocoon weight	cocoon shell weight	
A	785	716	11	20	-	38	91.21	2.18	0.497	22.80
B	824	759	8	17	1	39	92.11	2.12	0.466	21.98
C	1206	1016	63	25	-	102	84.25	1.96	0.416	21.17
D	925	842	45	6	7	25	91.02	2.19	0.489	22.33
average	-	-	-	-	-	-	89.12	2.11	0.467	22.13

Table 3. Proximate composition(%) of *Bombyx mori* silkworm cocoon

Sample	Moisture	Crude ash	Crude fat	Crude protein
A	5.91	0.40	0.40	93.94
B	6.36	0.32	0.51	94.40
C	5.49	0.37	0.39	94.25
D	6.39	0.37	0.50	93.53

최근 실크단백질을 이용한 식품, 화장품, 생물공학용 재료 등 비섬유용 소재로 연구 개발되고 있다. 비섬유용 소재로 활용될 누에고치의 중금속 및 농약잔류량을 분석하기 위하여 경북 울진지역의 농가에서 생산한 백옥잠 누에고치를 원료로 사용하였다. 먼저 회전설에 들어 있는 고치를 먼저 선별하여 속죽은 고치, 겉물든 고치, 육견 등을 제거하였다(Fig. 1). 실험에 사용한 누에고치의 성적은 Table 2에서 보는 바와 같이 상견비율 89.1%, 전견중은 2.11 g, 견중중은 0.4670 g으로 나타나 견중비율 22.13%인

것으로 나타났다.

누에고치의 일반성분을 분석하여 Table 3에 나타내었다. 누에고치에서 조단백질 성분은 93~94%, 수분은 5~6%, 조회분은 0.3~0.4%, 그리고 조지방은 0.4~0.5%로 나왔다. 수분을 제외한 대부분의 고형 성분은 누에고치 단백질로 구성되어 있었다.

뽕잎에 금속 등을 분무하여 누에 체내에 얼마나 축적되는지에 대한 연구 보고에 의하면(Jung et al. 2007), 뽕잎에 분무한 은나노입자의 양이 500 ppm 처리구에서 장려 품종인 금옥잠 번데기에서는 15.1 mg/kg, 누에고치에는 21.4 mg/kg이 축적되고 화용비율도 80.5%, 견중비율도 22.4%라고 하였다. 누에품종 중에서는 흰고치를 짓는 품종에 비하여 유색견 고치를 품종에서 더 많은 양이 축적된다고 하였다. 중금속 함량은 비섬유용 소재로 사용될 때에 있어 매우 중요한 고려 요소 중의 하나이다. 특히 인체내에 축적되는 카드뮴, 납 등의 중금속은 건강에 매우 해로운 것으로 알려져 있다. 예를 들면, 카드뮴은 콩

Table 4. Heavy metal contents of *Bombyx mori* silkworm cocoon (mg/kg)

sample	Zn	Cu	Pb	Cd	As	Hg
A	3.85	1.75	0.00	0.00	0.00	0.26
B	4.22	2.89	0.00	0.00	0.00	0.40
C	3.90	1.53	0.00	0.00	0.00	0.29
average	3.99	2.06	0.00	0.00	0.00	0.317
wild silk protein*	0.500	0.160	0.350	0.025	0.00	0.00

*Lee et al.(2011)

팔, 신장, 간, 혈청 등에 축적되는 것으로 보고되고 있다 (Kalač and Svoboda 2001). 남은 신부전, 간손상의 원인 되는 것으로(Luckey and Venugopal 1977) 오염되지 않아야 한다. 비소, 카드뮴, 납, 수은 등은 맹독성 금속으로 체내 축적으로 인하여 심각한 문제를 초래할 수 있으므로 농가별로 수집한 누에고치의 중금속함량을 분석하여 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 분석에 사용한 누에고치에서는 비소, 납, 카드뮴 등 검출되지 않았으며, 아연이 3.99 mg/kg, 수은은 0.317 mg/kg 포함되어 있는 것으로 확인되었다. 세계보건기구에 따르면(WHO 1996) 수은과 메틸 수은의 주당 최고섭취량(maximum weekly intake)은 각각 0.3 mg이다. 누에고치에서는 검출되지 않은 카드뮴은 한국 식품의약품안전청의 기준은 0.5 ppm이고, 유럽의 기준은 0.2 ppm이다(KFDA 2001, EC 2001). 검출되지 않은 납의 허용한도는 0.4 ppm(EC 2001)과 0.5 ppm(FAO 1983)이다. 실크단백질에 대한 중금속 분석 결과에 따르면(Lee et al. 2011), 비소나 수은은 검출되지 않았으며, 납 등 다른 금속들도 극미량이 포함되어 있어 식품, 의약품 또는 화장품 용도로 사용할 수 있을 것이라고 보고하였다.

에바구미, 누에취파리 등의 방제를 위하여 사용되고 있는 농약 성분이 누에고치로 이행되는 지 여부를 확인하기 위하여 농약잔류량 검사를 실시한 결과(Table 5), 파라콰트, 디클로르보스 등 농약 성분은 검출되지 않았다. 디클로르보스는 에바구미, 누에취파리 등을 방제하기 위하여 사용되는 중등도의 독성을 지니는 유기인계 농약이나 누에고치에서는 검출되지 않았다. 파라콰트는 뽕나무에 사용되는 제초제 성분으로 사용되는 것이나 시료 분석 결과 검출되지 않았다. Oh et al.(1984)은 뽕나무에바구미, 누에취파리 등 해충 방제를 위하여 사용되는 유기인계 살충제 잔류 뽕잎 급이 누에의 생존 및 누에고치 생산에 대한 영향을 분석 보고하였다. 페니트로시온(fenitrothion), 펜시온(fenthion), 펜소에이트(phenthoate)의 뽕잎 중 반감기는 2~3일 범위에 있고, 디클로르보스는 8시간 내외라고 하였다. 누에 사육용 뽕 수확과 관련하여 농약안전사용일수는 디클로르보스유제는 3일, 페니트로시온유제는 20일,

Table 5. Residual agricultural chemicals in *Bombyx mori* silkworm cocoon

Sample	Chemicals	Results	Limits of detection
A	paraquart	No detection	0.02 mg/kg
	dichlorvos	No detection	0.03 mg/kg
B	paraquart	No detection	0.02 mg/kg
	dichlorvos	No detection	0.03 mg/kg
C	paraquart	No detection	0.02 mg/kg
	dichlorvos	No detection	0.03 mg/kg
D	paraquart	No detection	0.02 mg/kg
	dichlorvos	No detection	0.03 mg/kg

펜시온유제와 펜소에이트유제는 15일이라고 보고하였다. 농약오염 뽕은 25일 자연 방치후 급여하여도 감람비율이 증가하였으며, 농약 오염 뽕이 누에 사육성적에 미치는 영향은 살충제의 종류에 따라 차이가 있으나 농약오염뽕 침식 누에는 부정형 고치와 이상고치실의 원인으로 작용한다고 보고하였다(Yoo 1974).

적 요

비섬유용 소재로 활용될 누에고치의 중금속 함량 및 농약잔류량을 조사하였다. 농가에서 생산하는 누에고치에서 상견비율은 89.1%, 전견중은 2.11 g, 견중중은 0.4670 g으로 나타나 견중비율 22.13%인 것으로 나타났다. 누에고치의 일반 성분을 분석한 결과 조단백질은 93~94%, 수분은 5~6%, 조회분은 0.3~0.4%, 그리고 조지방은 0.4~0.5%로 나왔다. 누에고치의 중금속 분석 결과 비소, 납, 카드뮴 등은 검출되지 않았으나, 아연이 3.99 mg/kg, 수은은 0.317 mg/kg 포함되어 있었다. 농가에서 사용하는 농약 성분인 디클로르보스와 파라콰트가 검출되지 않아 식품, 화장품, 의료용 소재 등 비섬유용 소재로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호 : PJ009013032012)의 지원에 의해 이루어졌으므로 이에 감사드립니다.

인용문헌

- AOAC (2005) Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Chae SK, Park DY, Cho SY, Lee KJ (1984) Survey of silkworm disease occurrence in autumn rearing season, 1984. Korean J

- Seric Sci **26(2)**, 32 ~ 36.
- EC (2001) EC Commission Regulation No. 466/2001 of 8 March 2001, Official journal of European communities 2001, L77/1.
- FAO (1983) FAO Compilation of legal limits for hazardous substance in fish and fishery products (Food and agricultural organization). FAO fishery circular, 1983, No. 464, pp.5-100.
- Jung I, Kang P, Kim K, Ryu K, Sohn B, Kim Y, Kim M, Lee K, Chai C, Koh S (2007) Fabrication process of natural silk including Ag nano-particle. Korean J Seric Sci **49(1)**, 24-27.
- Kalač P, Svoboda L (2001) A review of trace element concentrations in edible mushrooms. Food Chemistry **69**, 273-281.
- Kim MH, Lee YD, Park HJ, Park SK, Lee JO (2005) Contents of heavy metals in soybean curd and starch jelly consumed in Korea. Korean J Food Sci Technol **37**, 1-5.
- KFDA (2001) Korea Food and Drug Administration. Food Code (in Korean).
- Lee TJ, Kim KC, Shin IC, Han KS, Shim TH, Ryu MJ, Lee JK (1996) Survey on the contents of trace heavy metals in agricultural products of Gangwon-do. Rep Inst Health Environ **7**, 75-87.
- Lee K, Kweon H, Yeo J, Woo S, Han S, Kim J (2011) Characterization of tyrosine-rich *Antheraea pernyi* silk fibroin hydrolysate. Int J Biol Macromol **48**, 223-226.
- Luckey TD, Venugopal B (1977) Metal Toxicity in Mammals. New York: Plenum Press.
- Oh RY, Kim YK, Park YS, Lee BM, Paik HJ (1984) Persistence of organophosphorus insecticides in/on mulberry leaves with reference to silkworm mortality. Korean J Environ Agric **3(1)**, 16 ~ 21.
- WHO (1996) World Health Organization. Trace elements in human nutrition and health. Geneva.
- Yoo JB (1974) Studies of the influence of agricultural chemical contaminated mulberry leaf on silkworm rearing and cocoon quality. Seri J Korea **16(1)**, 93 ~ 100.