

Research Article

Open Access

복숭아의 재배기간 중 살충제 Clothianidin 및 살균제 Fluquinconazole의 생산단계 농약잔류허용기준의 설정

박재훈,¹ 임종성,² 윤지영,¹ 문혜리,¹ 한예훈,³ 이용재,⁴ 이규승^{1*}

¹충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과, ²성보화학 (주) 연구소, ³신젠타 코리아 (주), ⁴(주)한국인삼공사 안전성연구센터

Establishment of Pre-Harvest Residue Limits (PHRLs) of Insecticide Clothianidin and Fungicide Fluquinconazole on Peaches during Cultivation Period

Jae-Hun Park,¹ Jong-Sung Lim,² Ji-Yeong Yoon,¹ Hye-Ree Moon,¹ Ye-Hoon Han,³ Yong-Jae Lee⁴ and Kyu-Seung Lee^{1*}
¹Department of Biological Environment and Chemistry, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea, ²Reserch Center, Sungbo Chemicals Co. Ltd, ³Syngenta Korea Ltd, ⁴Korea Ginseng Corp. Safety Research Center

Received: 17 July 2012 / Accepted: 21 September 2012
© 2012 The Korean Society of Environmental Agriculture

Abstract

BACKGROUND: It is hard to control the agricultural products exceeding MRL (maximum residue limit) before forwarding. Therefore, NAQS (National Agricultural Products Quality Management Service, South Korea) established PHRL (pre-harvest residue limit) on agricultural products during their cultivation periods. This study was performed to set the PHRLs of peach during cultivation period, and also to estimate biological half-lives for residues of clothianidin and fluquinconazole.

METHODS AND RESULTS: Two groups of peach were treated under Korean GAP (Good Agricultural Practices) with application time, single and triple treatments. Sample was collected over 14days (each after 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 days, 8times), and clothianidin and fluquinconazole were analyzed by HPLC/DAD and GC/ECD, respectively.

CONCLUSION: The biological half-life of clothianidin in single treatment and triple treatment was 5.2days and 7.0days. That of fluquinconazole was also 3.9days and 4.1days, respectively. The PHRL of peach on 10days before harvest was 1.4 mg/kg in clothianidin and 1.8 mg/kg in fluquinconazole.

Key Words: Biological half-life, Clothianidin, Cultivation period, Fluquinconazole, Pre-harvest residue limit (PHRL)

서론

최근 우리나라 소비자들의 90%가 농산물을 구입할 때 식품안전성문제를 고려하는 것으로 나타났고, 64%의 소비자가 농산물에 잔류된 농약을 우려하고 있다 (Song, 2008). 따라서 이런 우려를 줄이기 위해 식품의약품안전청에서는 1988년 9월부터 농산물, 축산물, 인삼, 차 등으로 구분하여 '식품의 농약 잔류허용기준'을 설정하고 있으며, 농산물의 안전성 향상을 위하여 국립농산물품질관리원에서는 농산물에 잔류하는 유해물질 실태조사를 통한 과학적인 안전관리 토대 구축을 위해 '농산물품질관리법'개정 및 시행으로 2010년부터 국내 농산물의 안전성 수준 진단을 위한 '국가잔류조사'를 실시하고 있다.

시중에 출하되는 농산물은 농약의 잔류허용기준에 따라 안전성조사를 수행하고 있으나, 농가지도를 위해서는 생산단계에 적용할 별도의 기준이 필요하므로, 농림수산식품부에서는 농산물품질관리법 시행규칙 제21조에 의거 '생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준 (pre-harvest residue limit, PHRL)'을 설정하고, 농가가 동 기준을 준수하여 농약을 살포하도록 지도하고 있다. 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준은 출하 예정일에서 출하 10일전까지 일자별로 설정하고 있으며, 99년 24품목 132개 기준 설정을 시작으로 부적합 발생비율이 높은 품목 위주로 매년 기준을 추가해 오고 있다.

*교신저자(Corresponding author),
Phone: +82-42-821-6735; Fax: +82-42-822-5781;
E-mail: kslee@cnu.ac.kr

복숭아에는 2012년 9월 현재 130종의 농약에 대해 MRL (maximum residue limit)이 설정되어 있으며, 사과, 감귤, 포도, 배, 감 등과 함께 우리나라의 6대 과일 중 하나이다. 주산지는 경상북도와 대구시가 절반에 가까운 생산을 하고 있으며 (Lee and Park, 2000), 최근 5년간 ('05-'09) 평균 재배면적이 134,380,000 m², 평균 생산량은 197,879,000 kg에 이르는 중요한 과일이다 (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2010).

2012년 9월 현재까지 복숭아에는 31종의 농약에 대해 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준이 설정, 고시되어 있다. 그러나 복숭아에 대한 농약 잔류량 감소관련 논문은 반감기 및 생산단계부터 출하, 저장 및 세척에 따른 대상 약제의 감소율을 조사하여 소비단계까지의 잔류량을 예측한 Lee 등 (2003)의 연구가 유일하다. 특히, Lee 등 (2003)의 연구에서 복숭아 재배기간 중 반감기는 표준량과 배양으로 구분하여 procymidone은 3.1일과 3.4일, chlorpyrifos는 7.2일과 5.8일, cypermethrin은 10.1일과 14.4일로 나타났다.

따라서, 본 연구는 복숭아 흑진딧물 (*Myzuz persicae*)의 방제에 사용하는 neonicotinoid계 살충제 clothianidin과, 잣빛무늬병 방제에 사용하는 triazole계 살균제 fluquinconazole를 이용하여, 수확 전 최종 농약살포이후 수확일 까지 복숭아 중 잔류량 감소추이 및 반감기 산출 실험을 실시하였다. 또한, 생산단계 농산물의 경과일별 농약 잔류허용기준을 설정하고, 생산단계 농산물의 안전관리에 활용하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

약제 처리 및 작물재배

시험에 이용한 농약은 시험작물인 복숭아에 대한 안전사용기준의 설정 유무와 유효성분함량 및 제형 등을 고려하여 시중에 판매되고 있는 빅카드 (clothianidin 8 % 액상수화제, 한국삼공 (주))와 파리스드 (fluquinconazole 10 % 액상수화제, 바이엘 크롭사이언스 (주))를 사용하였다. 실험에 사용한 농약의 log Kow는 각각 0.9, 3.2이고 (TomLin, C.D.S., 2009), 복숭아에 설정된 농약 잔류허용기준은 각각 0.5 mg/kg, 1.0 mg/kg 이었다. 약제처리횟수 및 사용량은 농약사용지침서 (Korea Crop Protection Association, 2011)의 안전사용기준에 따라 7일 간격으로 1회 처리와 3회 처리로 구분하여 시험하였다. 시험포장은 충남 연기군 서면 성제리에 위치한 노지재배 농가를 임차해 사용하였으며, 과수는 10년 수령의 홍백복숭아 나무였다.

시료채취

최종약제살포일을 기준으로 0 (약제 살포 후 2시간 후), 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14일 (총 8회)에, 과수를 높이별로 상, 중, 하로 구분하여 각 처리구당 2 kg이상의 시료를 채취하였다. 시료는 신속히 실험실로 옮겨 칭량 후, 처리구별로 분쇄하여 균질화한 시료를 30 g씩 분포장하여 -20 °C에서 냉동 보관하였다.

시약

시험에 사용한 acetone, dichloromethane, ethyl acetate, methanol 및 n-hexane은 Avantor Performance Materials Inc.(USA)의 HPLC등급의 시약을 구입하여 사용하였으며, 시료의 정제를 위해서 사용한 NH₂ SPE cartridge (1 g, 6 mL)는 Phenomenex Inc.(USA)제품을 이용하였고, florisol (60-100 mesh)은 Sigma-Aldrich Co.(USA) 제품을 사용하였다. 여과에 사용한 celite 545 (Chemical pure)와 분배에 사용한 무수망초 (Guaranteed reagent) 및 염화나트륨 (Guaranteed reagent)은 Junsei Chemical Co.(Japan) 제품을 구입하여 사용하였다.

복숭아 중 잔류농약분석

Clothianidin

시료 30 g에 30 % water in acetone (v/v) 100 mL와 celite 545를 가한 후, 30분간 진탕한 추출물을 감압여과하고, 30 mL수용액이 남을 때까지 감압농축하여 여액을 1,000 mL 분액여두에 50 mL의 포화식염수와 함께 넣었다. 여기에 n-hexane 70 mL로 2회 분배하여 유기용매 층을 제거한 후, 여액을 dichloromethane 70 mL씩 2회 분배하여 유기용매 층을 무수망초에 탈수, 감압농축하여 dichloromethane 2 mL에 재용해하였다. 상기 재용해액 중 1 mL만을 dichloromethane으로 활성화시킨 NH₂ SPE cartridge에 가하여 dichloromethane 5 mL로 세척하고, methanol/dichloromethane (5/95, v/v) 15 mL를 용출하여 감압농축한 후, 건조물을 다시 40 % methanol in water (v/v) 3 mL에 정용하여 HPLC/DAD로 분석하였다.

Fluquinconazole

시료 30 g에 acetone 100 mL와 celite 545를 가하여 30분간 진탕한 후 감압여과하여 1,000 mL의 분액여두에 증류수 300 mL와 50 mL의 포화식염수를 차례로 가하고, dichloromethane 70 mL씩 2회 분배한 유기용매 층을 무수망초에 탈수, 감압농축하여 이를 ethyl acetate/n-hexane (1/9, v/v) 5 mL에 재용해하였다. Florisol 5 g을 건식충진한 glass column (11 mm I.D. X 30 cm L.)에 n-hexane 20 mL로 활성화 한 후, 상기 재용해액 전량을 가하여 ethyl acetate/n-hexane (7/3, v/v) 15 mL로 세척하였다. 이어 ethyl acetate/ n-hexane (55/45, v/v) 30 mL를 용출, 감압농축 하여 acetone 6 mL로 정용한 후, GC/ECD로 분석하였다.

상기분석법에 이용한 기기분석조건은 약제별로 구분하여 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Analysing instrumental conditions of clothianidin and fluquinconazole residue in peach

| Clothianidin | |
|-----------------|--|
| Instrument : | Shimadzu SCL-10Avp |
| Mobile phase : | Methanol/Water (40/60, v/v) |
| Flow rate : | 1.0 mL/min |
| Column : | Phenomenex Luna 5μ C8 (250 mm I.D. X 4.6 mm, 5μm) |
| Wavelength : | 268 nm |
| Injection vol.: | 20 μL |
| Fluquinconazole | |
| Instrument : | Agilent 6890 plus |
| Temperature : | Injector ; 280°C Oven ; 100 °C (2min)-20 °C/min-300 °C (5min)-25 °C/min-300 °C (5min) Detector ; 300°C |
| Gas flow rate : | Carrier ; N ₂ , 1.0 mL/min |
| Column : | Agilent DB-5 (0.25 mm I.D. × 30 m L., 0.25 μm film thickness) |
| Split ratio : | 10:1 |
| Injection vol.: | 1 μL |

정량분석한계 (Method Quantitation Limit, MQL)

정량분석한계는 정량한계, 시험액량, 기기주입량, 희석배수, 시료량 등을 고려하여 식 (1)에 의거 계산하여 산출하였다. (National Agricultural Products Quality Management Service Report, 2011)

$$\text{정량한계(mg)} \times \frac{\text{시험액량(mL)}}{\text{기기주입량(μL)}} \times \frac{\text{추출용매량(mL)}}{\text{추출용매분취량(mL)}} \times \frac{1}{\text{시료량(g)}} = \text{MQL(mg/kg)} \quad (1)$$

회수율시험

무처리 시료에 표준용액을 clothianidin은 0.1mg/kg, 0.5 mg/kg, fluquinconazole은 0.02 mg/kg, 0.1 mg/kg 이 되도록 첨가하여 정량분석한계의 10배, 50배가 되도록 한 후, 상기의 분석과정을 행하여 회수율을 산출하였다.

복숭아 중 clothianidin과 fluquinconazole의 희석효과 분석

시료채취일별로 clothianidin과 fluquinconazole의 잔류농도와 복숭아의 무게 변화를 고려한 희석효과를, Kim 등 (2009)이 제시한 방정식을 이용하여 농약의 잔류농도를 비교하였다.

생물학적 반감기 및 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준(PHRL)

생물학적 반감기는 약제의 잔류량 감소곡선을 이용해 산출된 수식의 감소상수를 이용하여 계산하였다. 이때, 감소상수는 작물에 농약을 살포한 이후 농산물의 종류별, 농약성분

및 경과 시간에 따라 농산물에 잔류하는 농약량의 감소 추세를 나타내는 비례 상수를 의미한다. 생산단계 농산물의 농약 잔류허용기준은 국립농산물품질관리원에서 규정하고 있는 회귀방정식, 식 (2)를 '농식품안전안심서비스 세이프큐인 (safeQ-in, http://www.safeqin.go.kr/)'에서 산출하여 허용기준을 일자별로 나타내었다.

$$\text{출하전일자의 농약잔류허용기준} = \text{출하일의 잔류허용기준} \times e^{(\text{감소상수} \times \text{출하전일차})} \quad (2)$$

결과 및 고찰

복숭아 재배기간 중 기상조건과 증체율

재배기간 중 시험포장인근의 기상조건을 Fig. 1에 나타내었고, 평균기온은 25~28 °C이었다. 평균습도는 64.3~95.8 %이었으며, 최저 0.5, 최고 38.5 mm/day의 강우가 모두 19 차례 발생하여 총 279.5 mm의 누적강우를 기록했다. (Korea Meteorological Administration Report, 2011) 시료 채취기간 동안의 복숭아의 증체율을 정리하여 Fig. 2에 나타내었다. 최종 약제 살포일 (0일차)에 채취한 시료와 14일 이후에 채취한 시료 (14일차)의 차이가 119 g으로 나타나 1.8배의 증체율을 보였는데, 이는 Lee 등 (2004)에서 털 있는 복숭아의 과중이 수확 전 21일에 비해 1.6배 증체된 것과 유사하였으며, 과실의 비대에 따른 희석효과를 예상할 수 있다.

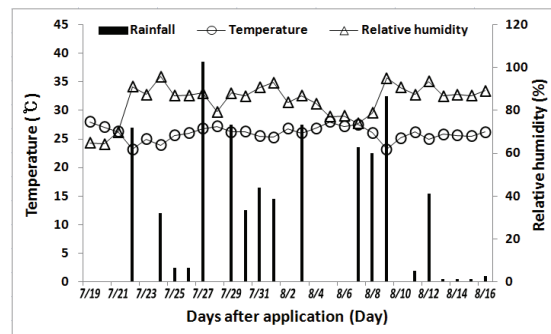


Fig. 1. Air temperature, relative humidity and rainfall during cultivation period of peach.

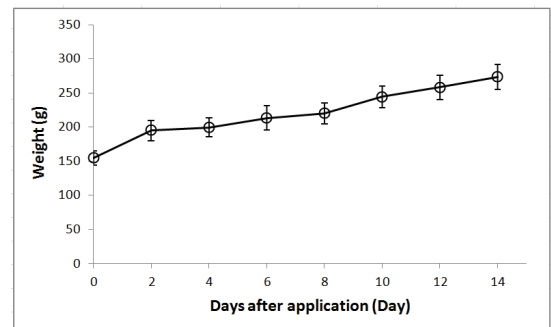


Fig. 2. Growth curve within standard error of peach during cultivation period.

검량선 작성, 잔류 분석법의 회수율 및 정량분석한계

잔류농도의 계산은 크로마토그램상의 peak 면적을 기준으로 검량선을 작성하여 clothianidin ($r^2 = 0.9999$)과 fluquinconazole ($r^2 = 1.0000$)의 직선성은 양호하였다. 상기 분석법에 따른 회수율은 각각 94.1-107.7 %, 92.3-95.7 %로 나타났고, 정량분석한계는 각각 0.01과 0.002 mg/kg이었다. Clothianidine과 fluquinconazole 모두 잔류분석법의 적합성으로 농촌진흥청에서 제시하는 검출한계 0.05 mg/kg 이하, 회수율의 범위 70-120 % 및 변이계수 (coefficient of variance, %)의 범위 10 % 이내 등의 기준에 적합하여 실험방법의 신뢰성을 입증하였다.

복숭아 재배기간 중 잔류량의 변화 및 생물학적 반감기

Clothianidin의 초기 잔류량 (0일차)은 1회 처리에서 0.33 mg/kg, 3회 처리에서 0.38 mg/kg이었고, 약제 살포 후 14일차에는 1회 처리에서 0.04 mg/kg, 3회 처리에서 0.09 mg/kg으로 나타났다. Fluquinconazole의 초기 잔류량 (0일차)은 1회 처리에서 0.115 mg/kg, 3회 처리에서 0.251 mg/kg이었고, 약제 살포 후 14일차에는 1회 처리에서 0.012 mg/kg, 3회 처리에서 0.022 mg/kg으로 나타나, clothianidin과 fluquinconazole의 초기 잔류량 모두 MRL (0.5 mg/kg, 1.0 mg/kg) 이하로 나타났다. 8회에 걸친 시료채취시기에 따른 농약의 경시적 잔류량변화는 Fig. 3에 나타내었다. 감소곡선을 토대로 산출한 14일간의 재배기간 중 농약의 반감기는 clothianidin이 1회와 3회에서 각각 5.2일과 7.0일이었고, fluquinconazole은 1회와 3회에서 각각 3.9일과 4.1일의 반감기를 보였다.

두 약제간의 초기잔류량을 비교하면, fluquinconazole이 clothianidin에 비해 0.215 mg/kg (1회), 0.129 mg/kg (3회) 낮게 검출되었으며 생물학적 반감기 역시 fluquinconazole이 clothianidin보다 1.3일 (1회), 2.9일 (3회) 빠른 것으로 나타났다. 이는 농약이 살포되어 식물체 표면에서 소실하는데 중요한 요인이 되는 증기압을 비교했을 때, clothianidin (3.8×10^{-8} mPa) 보다 증기압이 큰 fluquinconazole (6.4×10^{-6} mPa)이 증발되기 쉬워 잔류 가능성이 낮아졌고, 이로 인해 fluquinconazole은 clothianidin에 비해 잔류량이 낮고, 반감기도 짧아진 것으로 보인다.

본 연구의 결과를 Lee 등 (2003)의 연구에서 나타난 복숭아의 재배기간 중 잔류량 변화와 비교하여 보면, 기준량과 배량의 초기부착량이 각각 procymidone은 6.34 mg/kg, 17.46 mg/kg, chlorpyrifos는 1.52 mg/kg, 3.46 mg/kg, cypermethrin은 0.61 mg/kg, 0.74 mg/kg으로 나타났고, 반감기는 각각 procymidone은 3.1일과 3.4일, chlorpyrifos는 7.2일과 5.8일, cypermethrin은 10.4일과 14.4일로 나타났다. 이는 본 연구결과와 비교하여 초기부착량에서의 큰 차이가 있다는 것을 알 수 있으나, Lee 등 (2003) 연구에서 사용한 약제의 유효성분함량이 procymidone은 50 %, chlorpyrifos는 25 %, cypermethrin은 5 %로 본 연구에 사용한 clothianidin (8 %)과 fluquinconazole (10 %)과 직접비교하는 것은 어렵다는 것을 알 수 있다.

본 실험에서 산출된 잔류량 및 반감기는 외부환경으로부터 영향을 많이 받는 노지재배지에서 실험을 했다는 점과 재배기간 중에 과실의 비대생장으로 인한 희석효과 등으로 인해 영향을 받아 잔류량이 낮아진 것으로 생각된다.

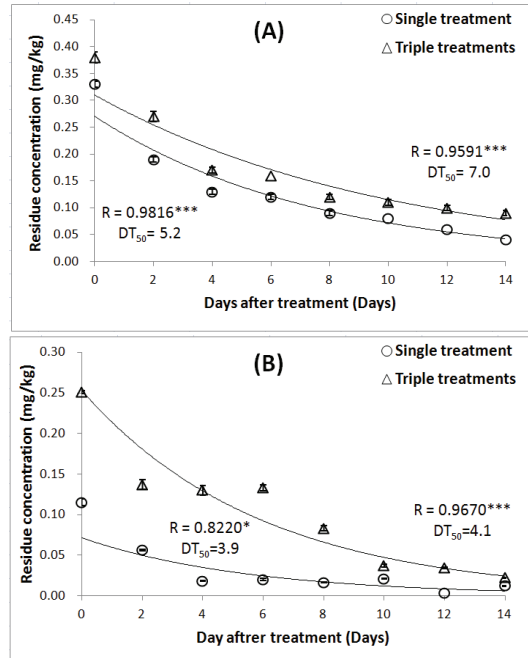


Fig. 3. Dissipation curve and standard deviation of dotianidin (A) and fluquinconazole (B) in peach during cultivation period.

복숭아의 증체율에 의한 clothianidin 및 fluquinconazole의 희석효과

농약의 작물잔류성은 작물을 구성하고 있는 표면의 상태, 재배방법, 작물체 표면의 굴곡, 용모의 유무 및 증체율 등에 의해 많은 영향을 받으므로 증체율에 따른 잔류량을 확인하는 것이 필수적이다 (Lee *et al.*, 2004). Clothianidin과 fluquinconazole의 1회 처리를 기준으로 일차별 잔류농도와 복숭아 무게 변화를 고려하여 증체량에 따른 희석효과를 적용한 것과 적용하지 않은 것, 그리고 희석효과만을 나타낸 결과는 Fig. 4와 같았다. 희석효과를 배제한 0일차와 14일차간의 잔류농도감소량 차이는 clothianidin이 0.146 mg/kg, fluquinconazole은 0.053 mg/kg으로 초기부착량과의 차이는 크지 않았다. 또한 'PAN pesticide database (<http://www.pesticideinfo.org>)'와 'The Pesticide Manual (Tomlin, C.D.S., 2009)'에서 clothianidin과 fluquinconazole의 물리화학적 특성을 살펴보았을 때, DT₅₀가 각각 최대 214일과 300일 정도로 분해되는 시간이 오래 걸린다는 것을 알 수 있다. 따라서 이 결과는 과실의 비대생장에 따른 잔류량의 희석효과는 발생하였으나, clothianidin과 fluquinconazole은 약제 자체가 안정하여 과실 내 잔류량의 변화는 크지 않다는 점과, 초기 잔류량이 낮을 경우에는 시간이 경과하여도 잔류량의 변화가 크지 않다는 점 등을 보여주고 있다.

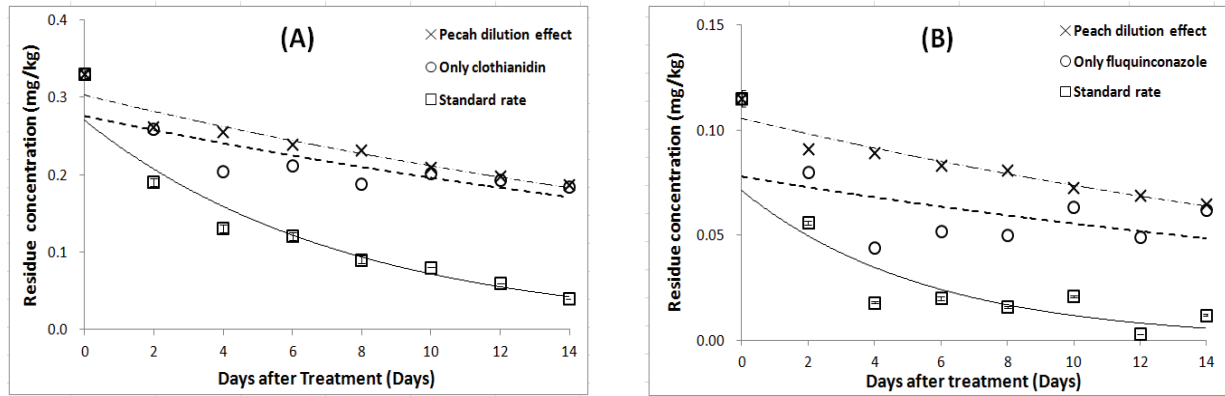


Fig. 4. Dilution effect on dissipation of clothianidin (A) and fluquinconazole (B) in treated peach during cultivation period.

생산단계 복숭아의 농약잔류허용기준(PHRL) 산출

생산단계 농산물의 농약잔류 허용기준(PHRL)은 농산물 수확 시 농약잔류량이 MRL을 초과하지 않도록, 출하 예정 일에서 출하 10일전까지 일자별 잔류량을 설정하여 활용하고 있으며, 본 연구를 통해 산출한 수치는 Table 2에 나타내었다. 수확일에 MRL수준이하의 복숭아를 생산하려면, 출

하 10일전 각 약제의 잔류량은 clothianidin은 1.4 mg/kg, fluquinconazole은 1.8 mg/kg 이하여야 한다. 농약의 안전 사용기준을 준수해 적기에 약제를 처리하고 기준 출하일에 농작물을 출하한다면, 농약잔류허용기준을 상향하는 부적합 농산물이 생산되지 않을 뿐만 아니라, 소비자들의 식품안전성에 대한 우려를 줄일 수 있을 것으로 판단된다.

Table 2. Recommended pre-harvest residue limit of pesticides of peach

| Pesticide | Pre-Harvest Residue Limit ¹⁾ (mg/kg) | | | | | | | | | | Harvesting day | Regression coefficient | MRL (mg/kg) |
|-----------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------------|------------------------|-------------|
| | 10 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | | | |
| Clothianidin | 1.4 | 1.3 | 1.1 | 1.0 | 0.9 | 0.8 | 0.8 | 0.7 | 0.6 | 0.6 | 0.5 | 0.103 | 0.5 |
| Fluquinconazole | 1.8 | 1.7 | 1.6 | 1.5 | 1.4 | 1.3 | 1.3 | 1.2 | 1.1 | 1.1 | 1.0 | 0.565 | 1.0 |

¹⁾ Calculation by SefeQ-in program of NAQS.

감사의 글

This study is part of the establishment of Pre-Harvest Residue Limit (PHRL), 2011. Authors sincerely appreciate the National Agricultural Products Quality Management Service for their support and research fund.

참고문헌

Kim, S.W., Lee, E.M., Yang, L., Park, H.W., LEE, H.R., Riu, M.J., Na, Y.R., Noh, J.E., Keum, Y.S., Song H.H, Kim,J.H., 2009. Establishment of Pre-Harvest Residue Limit (PHRL) of Insecticide Bifenthrin during Cultivation of Grape, *Kor J. Pestic. Sci.* 13 (4), 241-248.
 Korea Crop Protection Association, 2011. *Agrochemicals Use Guide Book*, pp. 398-403, pp. 669-679, Korea Crop Protection Association, Samjeung Press, Korea.

Lee, H.C, Park, J.H., 2000. A Study on Consumption Pattern for Peach and Improvement of Grading Standards, *J. Korean Food Marketing Association* 17(4), 93-116.
 Lee, H.D., Kyung, K.S., Kwon, H.Y., Lim, Y.B., Kim, J.B., Park, S.S., Kim, J.E., 2004. Residue characteristics of hexaconazole and chlorothalonil in several fruits, *Kor J. Pestic. Sci.* 8 (2), 107-111.
 Lee, Y.J., Ko, K.Y., Won, D.J., Gil, G.H., Lee, K.S., 2003. Residue Patterns of Procymidone, Chlorpyrifos and Cypermethrin in Peaches During Cultivation and Storage Period, *korean J. Environ Agric.* 22 (3), 220-226.
 Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2010. *Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries major statics*, p 321, Korea.
 Song, Y.H., 2008. A Theoretic Approach to the Organic Food Market in Korea: An Estimation of Information

Entropy as a Measure of Information Asymmetry for Credence Goods, *J. Environmental Policy*. 7 (3), 41-61.

Tomlin, C.D.S., 2009. *The Pesticide Manual*, pp. 229-230, pp 543-544, fifteenth ed. BCPC publication, UK.
