

살충제 thiodicarb의 단감 중 잔류분석 및 안전성 평가

노석초 · 황철환 · 김민수 · 마상용¹ · 한성수*

원광대학교 생명자원과학대학, ¹우석대학교 생명자원과학부

요약 : 살충제 thiodicarb의 단감 중 안전사용기준 설정과 안전성을 평가를 위하여 처리구별 단감 중 thiodicarb의 잔류량을 GLC/NPD로 분석한 결과, thiodicarb의 가수분해 산물인 methomyl oxime의 최소검출량은 0.2 ng이었으며, thiodicarb의 검출한계는 0.05 ppm 이었다. Thiodicarb의 평균 회수율은 0.5 ppm과 2.5 ppm 수준에서 각각 93.9±3.9%와 92.8±2.0%이었다. 각 처리별 평균 잔류량은 수확전 2회 살포시 1.50±0.04 ppm, 수확전 3회 살포시 1.86±0.04 ppm, 수확전 4회 살포시 2.11±0.12 ppm으로 처리구 모두 thiodicarb의 국내 잠정 잔류허용량(maximum residue limit)인 5 mg/kg 미만이었으며, 단감의 감꼭지나방 방제를 위하여 thiodicarb 40% 수화제를 수확 14일전 4회 살포시 안전성에는 문제가 없을 것으로 판단되었다.(2004년 8월 10일 접수, 2004년 9월 23일 수리)

서 론

단감은 우리 나라 재배면적이 19,620 ha에 달하고, 일정 재배면적을 유지하고 있으며, 그 소비량은 점차 증가하고 있다(농산물품질관리원, 2003). 감나무에 발생하는 해충 중에서 가장 큰 피해를 주는 것은 감꼭지나방으로 유충이 감꼭지로부터 과육을 파먹어 들어가므로 피해를 받으면 조기에 낙과하고, 구멍에 배설물을 쌓아 놓기 때문에 수량감소와 품질저하를 초래하므로 조기방제가 중요하다(Bae, 1997). 카바메이트계 살충제인 thiodicarb는 감 꼭지나방의 방제에 유효할 뿐만 아니라, 배추 줄나방, 파 파밤나방 및 고추 담배나방 등의 방제용 농약으로 등록되어 있고(농약공업협회, 2003) 살충활성은 신경전달물질인 acetylcholine을 분해하는 acetylcholinesterase(AChE)의 활성을 저해함으로써 나타낸다(Combs, 1983). Thiodicarb는 1977년 살충제로 소개된 화합물로 60℃까지 pH 6에서 안정하며, pH 9에서 신속히 가수분해 되고, pH 3에서는 서서히 가수분해 된다. 반수치사량은 급성 경구의 경우 rat에서 66 mg/kg이며, 식물체 중 주 대사산물은 methomyl, acetonitrile 및 CO₂ 등 이다(Tomlin, 2000). 또한 토양과 환경 중에서 여러 화합물 형태로

분해되며 관련된 분해산물은 methomyl과 methomyl oxime이고, 한편 thiodicarb의 토양 중 반감기는 3~8일로 비교적 짧은 것으로 알려져 왔다(Tomlin, 2000).

농약은 농산물의 품질향상과 노동력 절감을 위해 없어서는 안 될 중요한 농자재의 하나로 사용하고 있고(Lee 등, 2004), 인구의 증가에 따른 농산물 수요의 증가로 농약의 사용은 계속 유지될 것이기 때문에, 우리 나라에서는 농산물 생산과정의 안전성을 확보하고 국제적으로 인정되는 고품질 농산물 생산을 통한 수출 확대 및 농가 경쟁력제고를 위해 2002년부터 미생물, 농약, 비료를 체계적으로 관리하는 우수농산물 관리제도(GAP, Good Agricultural Practices)를 도입하기로 결정하였다(오, 2004). 식품안전성에 대한 관심이 고조되는 시점에서 농산물의 안전성 확보와 유해성 경감을 위한 분석방법 확립과 잔류성에 대한 충분한 연구는 농약의 인체 흡수를 근본적으로 차단할 수는 없으나 최종 소비자의 섭취 가능성과 그 정도를 예측하는데 매우 중요할 것이다.

이 연구에서는 살충제 thiodicarb를 methomyl oxime으로 가수분해시켜 액액 분배에 의한 정제 후 GLC/NPD를 이용하여 thiodicarb의 단감 중 잔류량 분석을 위한 분석법의 효율을 검토함과 동시에 최적 분석조건을 설정하고, 수확 전 살포 횟수와 최종 약제 살포 후 경과일수에 따른 시기별 약제 처리를 통해 thiodicarb의

*연락처

잔류량을 산출하여 안전성 확보와 안전사용기준 설정을 위한 기초자료를 얻고자 이 실험을 수행하였다.

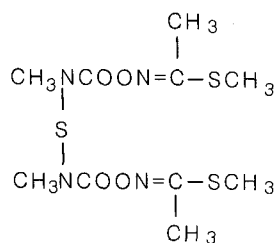
재료 및 방법

시험조건 및 재료

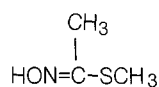
본 실험은 전북 익산시 함열읍 다송리의 단감 과원에서 2003년 8월~9월에 수행하였다. 공시작물인 단감의 품종은 “상서조생”으로 2.3×3.6 m의 재식밀도로 식재된 변칙주간형의 수형이었고 수령은 7년생(96년 3월 식재)으로 노지재배 조건이었다.

Thiodicarb 40% 수화제(상품명 : 신기록) 완제품을 1,000배액(20 g 제품농약/20 L)으로 조제하여 동력분무기를 이용하여 3반복으로 반복당 5주를 기준으로 경엽에 약액이 흐를 때까지 충분히 문도록 2회(수확 30, 21일전), 3회(수확 40, 30, 21일전), 4회(수확 40, 30, 21, 14일전) 살포하였다. 2003년 10월 5일에 처리구당 5 kg(268±15.8 g, n=15)을 수확하여 ice box에 담아 신속히 실험실로 운반하였으며, 단감의 꼭지를 제거하고 1/4로 세절하여 씨를 제거한 후 마쇄하여 분석시료로 사용하였다. 분석은 시료채취 직후 수행하였으며, 시험기간 중 다른 약제는 사용하지 않았다.

분석에 사용된 시약은 농약잔류분석용 특급 시약을 사용하였고 표준품인 thiodicarb(순도 99.9%)와 methomyl oxime(순도 99.6%)은 크롭사이언스에서 분양받았으며, thiodicarb와 methomyl oxime의 화학구조는 그림 1에 제시하였다.



Thiodicarb (m.w. : 354.5)



Methomyl oxime (m.w. : 105.2)

Fig. 1. Chemical structures of thiodicarb and its hydrolytate, methomyl oxime.

기기분석조건

분석에 사용된 기체크로마토그래프는 NPD가 장착된 HP 6890(U.S.A)으로 splitless 모드 조건이었으며, column은 길이 30 m, 내경 0.53 mm의 5% phenyl methyl siloxane이 1.5 μm로 도포된 HP-5 capillary column(Agilent Technology, U.S.A)이었다. 분석온도는 주입구 250°C, 검출기 300°C였고 분리관의 경우 150°C로 15분간 유지하였다. 운반기체인 N₂ 가스의 유속은 분당 5 mL로 일정 유속 조건이었으며, H₂는 분당 3.5 mL, air는 분당 60 mL였다. 이 분석조건에서 methomyl oxime의 머무름 시간은 약 2.2분이었다.

잔류분석법

마쇄한 단감 시료 20 g을 250 mL 삼각플라스크에 취한 후 acetone/methanol (9:1, v/v)혼합액 100 mL를 가하고 homogenizer(Ultra-Turrax T25, IKA Labor-technik, Germany)로 5분간 추출하여 diethylene glycol 3 방울을 가한 다음 혼합한 후에 celite 545가 있는 깔때기 상에서 감압 여과하였다. 여액을 250 mL 감압플라스크로 옮겨 약 10 mL로 감압농축(R-114, Büchi, Switzerland)하고 250 mL 분액여두로 옮겨 n-hexane 포화 acetonitrile 70 mL를 가한 후에 acetonitrile 포화 n-hexane 50 mL로 2회 분획하여 acetonitrile층을 무수황산나트륨을 통과시켜 탈수한 다음, diethylene glycol 3방울을 가한 후 감압 농축하였다.

위 농축 플라스크에 2N NaOH 50 mL를 가하여 환류냉각관을 부착한 뒤 75°C 수욕상에서 45분간 반응시켜 thiodicarb를 methomyl oxime으로 가수분해하고 실온에서 냉각한 후 HCl 6 mL를 주의깊게 한 방울씩 가한 뒤 KH₂PO₄ 4 g을 넣어 녹였다. 이 액을 250 mL 분액여두에 옮기고 포화 식염수 10 mL를 넣은 후 dichloromethane 50 mL씩 2회 분액 추출한 후 dichloromethane 분액을 무수황산나트륨을 통과시켜 탈수시킨 다음 감압농축한 잔류물을 acetone 5 mL로 정용하였다. 그 중 2 μL를 GLC/NPD에 주입하여 분석한 chromatogram상의 peak height를 표준검량선을 이용하여 methomyl oxime 량을 구한 후 thiodicarb로의 환산상수 (thiodicarb의 분자량/methomyl oxime 2 분자의 분자량, 1.68)에 의하여 thiodicarb량으로 환산하였다.

정량법은 thiodicarb 표준용액을 농도별로 위 추출, 분배 및 가수분해 조작을 수행하여 검량선을 작성하

는 방법(한국식품공업협회, 2000)과 내부표준물질을 사용하는 방법(Horwitz, 2000) 등이 있으나, 본 분석에서는 thiodicarb의 가수분해 산물인 methomyl oxime 표준용액을 각 농도별로 희석액을 제조하여 GC에 주입, 검량선을 작성(農藥殘留析研究班, 1995)하고 시료 중 목적 성분의 peak 높이를 측정하여 그 양을 구하는 절대검량선법을 사용하였으며 시료 peak의 크기가 검량선의 범위를 벗어나면 희석하여 재 주입하였다. 단 감 중 thiodicarb 잔류량은 검출한계 계산식과 마찬가지로 절대검량선법에 의해 구한 methomyl oxime량을 thiodicarb 양으로 환산한 후 분석시료량, 시료주입량, 주입전 시료용액의 양 및 분석 조작 중 희석배율을 고려하여 산출하였으며, 재현성과 정밀성 확보를 위해 시료 분석 시 실험이 시작되거나 실험 중에 표준용액을 주입하여 크로마토그램을 얻은 후 peak height를 표준검정곡선과 비교하여 기기의 안정도를 유지 및 확인하도록 하였다.

표준검량선, 회수율 및 검출한계

Methomyl oxime(99.6%, 크롭사이언스)을 acetone에 녹여 조제한 100 ppm 표준용액을 acetone으로 희석하여 0.1, 0.2, 0.4, 1.0 2.0, 4.0 µg/mL이 되도록 조제하고 각각 2 µL를 GLC/NPD에 주입하여 chromatogram상의 peak height를 기준으로 검량선을 작성하였다.

Thiodicarb 표준품(99.9%, 크롭사이언스)을 acetone에 녹여 조제한 표준용액을 마쇄한 무처리 단감 시료 20 g에 0.5 ppm과 2.5 ppm 수준으로 처리하여 30분간 방치한 후에 위 분석법에 따라 GC/NPD로 분석하여 회수율을 구하였으며, 각 처리농도별 3반복으로 수행하였다. 검출한계는 분석법상 methomyl oxime의 최소검출량, methomyl oxime의 thiodicarb로의 환산상수(thiodicarb의 분자량/methomyl oxime 2 분자의 분자량), 분석시료량, 시료주입량, 주입 전 시료용액의 양으로부터 산출하였다.

결과 및 고찰

회수율 및 검출한계

분석대상 성분인 methomyl oxime의 GLC/NPD에 대한 주입 농도별 peak height(pA)는 표준검정곡선 작성 결과, 이 실험의 농도범위 (0.2~0.8 ng)에서 결정계수 (r^2)가 0.999**로 높은 상관관계를 보였으며, 그 회귀방정식은 $Y=3.1385X-0.0485$ (Y: peak height, X: amount of methomyl oxime)이었고, 본 분석에서 methomyl oxime의 머무름 시간은 약 2.2분 이었다.

마쇄한 단감 무처리 시료에 표준용액을 첨가하여 위 분석법에 준하여 수행한 회수율 시험의 결과는 표 1에 나타낸 바와 같이 평균 92.8~93.9%로 90%를 상회하였으며, 두 처리 농도에 따른 분석오차는 5% 미만으로 농촌진흥청고시 농약잔류성시험의 기준(농촌진흥청·농약공업협회, 2003)에 적합하였다.

또한 본 분석조건에서 methomyl oxime의 최소검출량은 signal/noise의 비가 3 일 때 0.2 ng이었으며, 검출한계를 구하는 일반공식에 의하여 산출한 결과, thiodicarb의 분석법상 검출한계는 0.05 mg/kg으로 국내 잠정 MRL(5 mg/kg)의 1/100 수준까지 검출할 수 있었다.

따라서 이 연구에 사용된 thiodicarb의 분석법은 그림 2의 크로마토그램과 같이 날카로운 피크와 함께 방해물질의 간섭없이 methomyl oxime을 분석할 수 있고, 별도의 컬럼 정제단계없이 액액분배만으로도 높은 회수율을 얻을 뿐만 아니라 안정된 조건으로 재현성과 정밀성 있는 결과를 얻을 수 있는 실용적 분석법이라 사료된다.

한편 동일계통의 살충제 methomyl의 경우도 alkali 조건에서 methomyl oxime으로 가수분해 되므로 본 방법을 응용하여 수행하면 분석이 가능하다(農藥殘留分析研究班, 1995).

Table 1. Recovery and detection limit of thiodicarb and minimum detectable amount of methomyl oxime

Spiking (ppm)	Recovery (%)	Detection limit of thiodicarb (mg/kg)	Minimum detectable amount of methomyl oxime (ng)
0.5	93.9±3.9 ^{a)}	0.05 ^{b)}	0.2
2.5	92.8±2.0		

^{a)} Mean of triplicates±S.D.

^{b)} $0.2 \text{ ng} \times 1.68 \times \frac{5 \text{ mL}}{2 \text{ } \mu\text{L}} \times \frac{1}{20 \text{ g}} \approx 0.05 \text{ ppm}$.

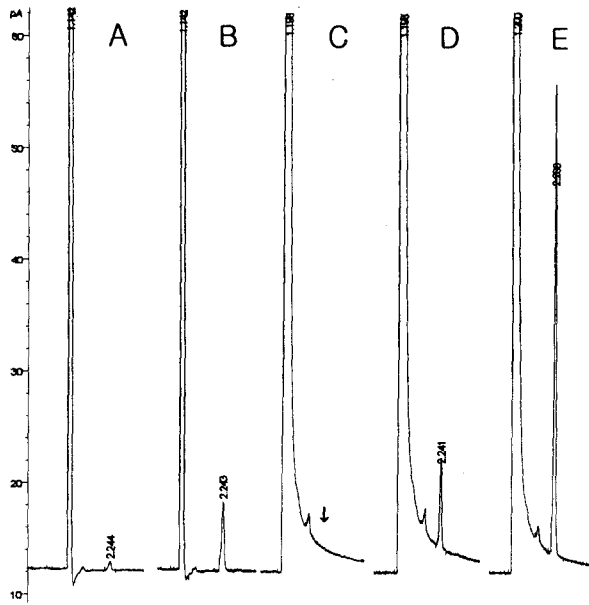


Fig. 2. Typical chromatograms of methomyl oxime (A: standard 0.2 ng, B: standard 2.0 ng, control, D: recovery 0.5 ppm, E: recovery 2.5 ppm).

시험기간 중 기상

기온과 강우량은 기상청 자료를 이용하였으며, 단감에 대한 잔류시험기간 중 강우량은 수확 40일 전 약제처리 후 수확 30일 전 까지 148.5 mL, 수확 30일 전 약제처리 후 수확 21일 전 까지 116.2 mL, 수확 21일 전 약제 처리 후 수확 14일 전 까지 20.7 mL이었고 수확 14일 전 최종 약제처리 후 수확시까지의 강우량은 2.0 mL로 총 강우량은 287.4 mL이었다. 또한 시험기간 중 최고기온은 33.5°C, 최저기온은 9.6°C였고 평균기온은 21.4°C였다.

잔류량 분석 및 안전성 평가

단감에 thiodicarb 40% 수화제를 처리 일정에 따라 살포한 후 채취한 시료 중 thiodicarb의 잔류량은 표 2

에 나타낸 바와 같이 수확 21일 전 2회 살포시 1.50±0.04 ppm, 수확 21일전 3회 살포시 1.86±0.04 ppm, 수확 14일전 4회 살포시 2.11±0.12 ppm이었다. Thiodicarb의 1일 섭취허용량(ADI)은 0.03 mg/kg b.w. 이며(Tomlin, 2000), 국내의 단감에 대한 thiodicarb의 제안 잠정 잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)이 5 mg/kg 임을 감안할 때 MRL에 크게 미치지 못하였으며, 살포 횟수가 많고 최종 살포 후 경과 일수가 적을수록 잔류량이 많은 전형적인 경향을 나타내었다.

이들 결과를 감안할 때 단감에 대한 감꼭지나방 방제를 위하여 thiodicarb 40% 수화제를 수확 14일전 4회 처리하는 것이 안전사용기준에 적합할 뿐만 아니라 단감 중 잔류하는 thiodicarb의 안전성에도 문제가 없을 것으로 판단되었다.

식물체 내에서 또는 환경 중에서 thiodicarb가 methomyl, methomyl oxime 등으로 분해 되었을 경우 분해산물(metabolite)까지 포함되어 잔류량이 결정되므로 대사산물을 제외한 실제 thiodicarb의 잔류량은 더 낮아질 수 있으며, 또한 작물 중 농약의 분해, 소실에 영향을 주는 기본적 요인이 온도, 습도, 일조(Jeong과 Park, 1990) 등 뿐만 아니라 처리시기, 처리량, 사용패턴, 대상작물, 강우, 휘발성, 풍속, 저장조건, 표면적 등 여러 요인이 관여되어 있음(Oh, 2000)을 감안하면 잔류량은 환경요인 변동과 살포시기의 조절에 의해 더 낮아질 수 있어 안전성에 문제는 없을 것으로 보인다.

감사의 글

이 연구에 사용된 thiodicarb와 methomyl oxime 표준품을 제공한 크롭사이언스코리아에 감사드립니다.

Table 2. Residual amount of thiodicarb in sweet persimmon

Treatment times	Spraying (DBH ^{a)})	Residue amount of thiodicarb (mg/kg)	MRL (mg/kg)
0	Untreated	<0.05	
2	30-21	1.50±0.04 ^{b)}	
3	40-30-21	1.86±0.04	5 ^{c)}
4	40-30-21-14	2.11±0.12	

^{a)}Days before harvest.

^{b)}Mean of triplicates±S.D.

^{c)}Proposed MRL set by Rural Development Administration in Korea.

인용문헌

- Bae, S. D. (1997) Comparison in damaged aspect of wild persimmon fruit by second generation larva of persimmon fruit moth, *Stathmopoda masinissa* Meyrick. RDA. J. Crop. Prot., 39:57~60(in Korean).
- Coats, J. R. (1983) Insecticide mode of action. p.457, Academic Press, U.S.A.
- Horwitz, W. (2000) Official methods of analysis of AOAC international 17th ed.(Ch.7). pp.36~37, AOAC International, U.S.A.
- Jeong, Y. H. and Y. S. Park (1990) Pesticide science. p.102, Korea Association of Farmers, Korea.
- Lee, H. D., K. S. Kyung, H. Y. Kwon, Y. B. Ihm, J. B. Kim, S. S. Park and J. E. Kim (2004) Residue characteristics of hexaconazole and chlorothalonil in several fruits, The Korean Journal of Pesticide Science 8(2):107~111.
- 農藥殘留分析研究班 (1995) 最新農藥殘留分析法. pp. 624~626, 中央法規出版, 日本.
- Oh, B. Y. (2000) Assessment of pesticide residue for food safety and environment protection, The Korean Journal of Pesticide Science 4(4):1~11.
- Tomlin, C. D. S. (2000) The Pesticide manual 12th Ed., pp.903~904, British Crop Protection Council, UK.
- 농산물품질관리원 (2003) 주요작물 지역별 재배동향. p.87.
- 농약공업협회 (2003) 농약사용지침서. p.458.
- 농촌진흥청 · 농약공업협회 (2003) 농약등록시험담당자 교육교재. pp.173~200.
- 오경석 (2004) 안전농산물 생산을 위한 병해충종합관리(IPM) · 우수농산물관리 제도(GAP). 농약정보 199: 14~17, 농약공업협회.
- 한국식품공업협회 (2000) 식품공전. pp.742~744.

Residue analysis of insecticide thiodicarb in sweet persimmon and its safety evaluation

Seog Cho Lo, Cheol Hwan Hwang, Min Soo Kim, Sang Yong Ma¹ and Seong Soo Han* (College of Life Science and Natural resources, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea and ¹School of Life Resource Science, Woosuk University, Wanju 565-701, Korea)

Abstract : The residue analysis of the insecticide thiodicarb in sweet persimmon was analyzed with a gas chromatograph equipped with nitrogen phosphorus detector(NPD) to evaluate efficacy of analysis method and safety of thiodicarb in persimmon. Minimum detectable amount of methomyl oxime, hydrolysate of thiodicarb, was 0.2 ng and detection limit of thiodicarb was 0.05 ppm. The mean recoveries evaluated from untreated samples spiked at 0.5 ppm and 2.5 ppm were 93.9±3.9 and 92.8±2.0%, respectively. When thiodicarb was sprayed onto the sweet persimmon two times until 40 and 30 days before harvest, three times until 40, 30 and 21 days before harvest, and four times until 40, 30, 21 and 14 days before harvesting, the mean residual amount in sweet persimmon were 1.50±0.04, 1.86±0.04 and 2.11±0.12 ppm, respectively. It would be safe when thiodicarb 40% WP is treated four times 14 days before harvesting to control fruit moth in sweet persimmon.

Key words : thiodicarb, methomyl oxime, sweet persimmon, residual safety.

*Corresponding author (Fax : +82-63-850-6678, E-Mail : seshan@wonkwang.ac.kr)