

들깨잎 재배 중 chlorfluazuron의 잔류량 변화 및 잔류분석법 시험

이민호* · 김석호 · 박영균 · 조경연 · 신병곤 · 김종한 · 권찬혁¹ · 손재근² · 김장억²

경북농산물품질관리원, ¹식품의약품안전청식품평가부, ²경북대학교농업생명과학대학

(2007년 5월 16일 접수, 2007년 6월 10일 수리)

Residual Pattern of Pesticide, Chlorfluazuron in Perilla Leaves Under Plastic House

Min Ho Lee*, Seok Ho Kim, Young Guin Park, Byung Gon Shin, Jong Han Kim, Chan Hyeok Kwon¹, Jae Keun Sohn² and Jang Eok Kim²(Dept. of Kynugpook, National agricultural products quality management service, ¹Korea Food and Drug Administration, ²Kyungpook National University)

Abstract : Pesticide, chlorfluazuron was subjected to determine the safety of terminal residues at the harvesting date of perilla leaves cultivated in plastic house. After the pesticide applied on a foliar spray in 2005 and 2006, leaf persistence of its residue was analysed for 10 days before leaf harvest. The degradation rate of chlorfluazuron in the leaf was 32.3 % (standard application), 43.6 % (double application) and 78.0 % (standard), 80.4 % (double) at second and tenth day, respectively, under analysis of GC/ECD in 2005. The degradation rate of chlorfluazuron in the leaf was 33.1 % (GC/ECD analyze), 34.0 % (HPLC/UVD analyze) and 77.9 % (GC/ECD), 78.4 % (HPLC/UVD) at second and tenth day, respectively, under the standard level of pesticide in 2006. The biological half-life of the chlorfluazuron residue was estimated by the regression equation calculated from daily dissipation of pesticide in the perilla leaves. The longest half-life of the chlorfluazuron residue in perilla leaves was 5.5 days. The maximum residual limit (MRL) for chlorfluazuron based on the longest half-life was estimated 2.0ppm at harvesting day, 2.5ppm at second day and 7.1ppm at tenth day before leaf harvesting of perilla.

Key words : Chlorfluazuron, perilla leaves, Half-life, MRL, GC/ECD

서론

최근 들어 농약의 잔류가 농산물의 청정성을 해치는 주된 요인이라는 선입관을 갖게 되면서 화학농약을 전혀 사용하지 않거나 또는 조금만 사용하는 친환경농법이 확산되고 있는 등 농산물의 안전성에 많은 관심이 고조되고 있는 실정이다(농약공업협회, 2004). 생산단계의 농산물에 대한 안전성조사는 생산과정 즉, 재배단계에서 시료를 채취하여 분석한 결과를 잔류허용기준과 비교하여 기준초과 여부를 판단해서 출하연기, 용도전환, 폐기 등의 조치를 취해왔다. 그러나 생산자의 측면에서는 생산당시의 잔류허용량으로 안전성 유무를 평가할 수 있다면, 출하시기를 결정할 수 있어서 크게 도움이 될 것이다. 이에 따라, 1999년

도에 농촌진흥청 자료 132개의 기준으로 출발해서, 2002년부터 국립농산물품질관리원에서 실시하고 있는 생산단계농산물에 대한 잔류농약허용기준 설정 연구사업의 결과로 2006년 6월부터는 총 286개의 생산단계허용기준을 시행하게 되었다(농림부고시, 2006). 생산단계 농산물의 잔류농약허용기준설정은 출하 후 최대잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)이 초과되어 입을 수 있는 농업인의 재산상의 손해와 형사처벌로 인한 불이익을 사전에 예방할 수 있을 뿐만 아니라 안전성이 확인된 농산물이 공급되도록 하여 소비자의 건강보호에도 기여할 것이다.

아울러, 잔류농약과 그 정보가 농산물의 품질을 결정하는 한 요소가 되므로 상대적으로 잔류농약정보가 취약한 수입농산물에 대해 신뢰감을 바탕으로 한 국내 농산물의 경쟁력도 향상될 것이다(농약공업협회, 2004).

* 연락처자 : Tel: +82-53-327-0701, Fax: +82-53-327-0588,
E-mail: minho@naqs.go.kr

Table 1. Chlorfluazuron registered for use on perilla leaves during cultivation

Formulation	AI ^{a)} content(%)	Standard dilution rate	Safe use standard		MRL ^{d)} (mg kg ⁻¹)
			PHI ^{b)} (day)	MNA ^{c)}	
EC	5	2,000	5	1	2.0

^{a)}Active ingredient, ^{b)}Pre-harvest interval, ^{c)}Maximum number of application, ^{d)}Maximum residue limit.

1996년부터 농림부에서는 농수산물품질관리법에 근거하여 농산물의 품질향상과 안전한 농산물의 생산공급을 위해 생산저장단계 및 출하 전 농산물에 대한 농산물안전성조사를 실시하여 부적합한 농산물의 출하 및 유통을 사전에 차단하고 있다(농림부, 1997).

국립농산물품질관리원(National agricultural products quality management service, NAQS)이 2004년에 실시한 농산물 안전성 조사 결과 잔류허용기준을 초과한 전체 부적합 품목은 72품목 770건이었다.

이 중 채소류가 64%로 대부분을 차지하고 있으며, 주요 부적합 작물은 수삼 130건을 제외하면 들깨잎이 91건으로 가장 많았고 취나물, 부추, 시금치 등 엽채류에서 부적합 품목이 많았다(국립농산물품질관리원, 2005).

이와 같은 원인은 깻잎 등 소면적 재배작물에 사용하는 농약은 개발비용에 비하여 수익이 적기 때문에 농약제조업체가 적용농약 개발을 기피함으로써 다른 작물에 사용하는 농약을 관행적으로 사용하였거나(농림부 2005), 살포된 농약의 부착량이 단위 면적 당 다른 작물에 비해 많았기 때문일 것이며, 또한 분석결과 당해 품목에 잔류허용기준이 설정되어 있지 아니한 경우에는 식품의약품안전청의 적용지침에 따라 채소류의 경우 소분류(엽경채류, 과채류, 근채류)중 가장 낮은 기준을 적용한 것도 부적합율이 높은 원인중의 하나일 것이다.

Chlorfluazuron은 benzoylurea계 살충제로서 거의 모든 살충제가 신경기능 저해제로서 작용하는 약제들인데 반하여 이 약제는 곤충표피의 구성물질인 키틴질 합성을 저해하여 탈피를 억제함으로써 약효를 나타낸다. 들깨잎에선 잎말이명나방 발생초기에 2,000배액으로 희석해서 수확 5일 전까지 1회 이내로 사용하도록 되어 있다(정 등, 2004; Tomlin, 1997).

본 연구는 출하 전 안전한 농산물 생산을 위해, 들깨잎에 농약안전사용기준과 MRL이 설정된 chlorfluazuron을 실제 재배포장에 살포하여 kinetics 해석에 따른 합리적인 회귀식의 생물학적 분해반감기를 산출하였다. 아울러 간편화된 본 GC/ECD 분석법에서 열분해된 chlorfluazuron의 잔류량 검증에 목적을 두었다.

재료 및 방법

시약

농약 표준물질은 chlorfluazuron (순도 99.0%)을 Dr. Ehrenstorfer Co.(Germany)로부터 구입하였으며, 추출 및 정제를 위해 사용한 유기용매(acetone, hexane, acetonitrile, dichloromethane, methanol, water)는 Merck Co.(Germany)의 잔류분석용 시약(pesticide residue analysis grade)을 사용하였다. 염화나트륨(sodium chloride)은 Merck Co. 제품을 사용하였으며, column clean-up을 위해 Merck Co.의 Florisil solid phase extraction cartridge(SPE-FL cartridge 1.0 g, 6 mL)를 사용하였다. 실험에 사용된 표준물질은 50% acetone/hexane에 녹여 표준용액을 조제하였으며, LC 분석용은 100% acetonitrile으로 용매 교체하였고, -20℃ 이하의 냉동고에 보관하면서 일정한 농도로 희석하여 사용하였다. 시험포장에서 들깨잎에 살포하기 위해 사용한 chlorfluazuron은 아타브론유제[a.i. 5%, 경농(주)]를 구매하여 사용하였다. 약제의 사용방법과 기준에 관한 사항은 표 1에, 그리고 물리·화학적 특성은 표 2와 같다.

기기

들깨잎의 농약성분별 잔류량 분석을 위하여 GC/MS/MS (Saturn 2000, Varian, USA)와 ECD가 부착된 gas chromatograph (HP-6890, Agilent, USA), HPLC-UVD(Agilent 1100 Series, USA)을 사용하였고, 그 외에 농약 잔류성분 추출을 위하여 Grinder (Blixer 3 Plus, France), Flask shaker (Woo Ju Scientific Co. Korea), Centrifuge (UNION 32R, Hanil Scientific Co. Korea), Rotary vacuum evaporator (CA-1100, Eyela, Japan), Nitrogen evaporator(OA-SYS, 1155RT, USA) 등을 사용하였다.

포장

들깨잎 시험포장은 대구시 동구 지묘동 소재, 시설비닐하우스 2동 330m²을 임차하여 사용하였다. 재배포장의 토성은 사질식양토(sandy clay loam)이며, 유기물함량은 2.7%이었다. 포장 내 시험구는 무처리구와

Table 2. Physico-chemical properties of chlorfluazuron

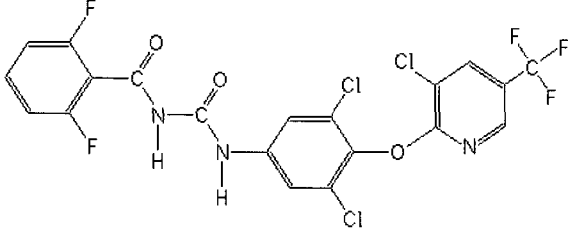
Chemical structure		MW : 540.7
Common name	Chlorfluazuron (C ₂₀ H ₉ Cl ₃ F ₃ N ₃ O ₃)	
Chemical name	1-[3,5-dichloro-4-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridyloxy) phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea	
Properties	M.P : 228°C, V.P : < 10 nPa(20°C), Solubility : water<0.01mg L ⁻¹ (20°C), Hexane<0.01, n-Octanol, Xylene 2.5, Methanol 2.5, Toluene 6.6, Isopropanol 7, Dichloromethane 22, Acetone 55, Cyclohexanone 110(all in g L ⁻¹ , 20°C)	
Toxicology	Toxicity class : WHO (a.i.) III (Table 5) Acute oral LD ₅₀ for rats >8,500, mice 7,000 mg kg ⁻¹ . Acute percutaneous LD ₅₀ for rats >1000, rabbit>2000mg kg ⁻¹ LC ₅₀ (48h) for carp 300 mg L ⁻¹	

Table 3. Application amounts and dilution ratios of chlorfluazuron for field study

Application amount('05)		Application amount('06)		Dilution ratio	
Standard	Double	Standard	Double	Standard	Double
4 ml / 8 L	8 ml / 8 L	6 ml / 12 L	-	× 2,000	× 1,000

※Application date : June 16th, 2005, July 14th, 2006.

약제 처리별로 3 반복 배치하였다.

희석배수는 표 3과 같다.

재배방법

들깨종자(품종:감미)를 소형 비닐하우스에 2005년 4월 13일, 2006년 5월 4일에 파종하였다. 파종 후 5일 간격으로 들깨잎 뿌리 주변의 토양에 물을 공급해 주어 정상적인 생육 상태를 유지시켰으며, 약제 살포 전에 상위 2~3 잎만 남겨두고 성장한 잎은 제거하여 들깨잎 크기를 균일화한 후 실험에 사용하였다. 수확 10일 전인 2005년 6월 16일, 2006년 7월 14일에 농약 살포하였으며, 약제 살포 후에는 들깨잎 경엽에 물을 공급하는 것을 금지하였고 들깨잎의 생장에 영향을 주는 성장촉진 또는 성장억제 물질도 사용하지 않았다. 재배방식은 비닐하우스 시설재배를 하였으며, 그 외 들깨잎재배 및 관리는 일반적인 경종법에 준하였다.

약제처리

약제처리는 시험약제의 살포농도를 안전사용기준의 표준희석배수(기준량)와 표준희석배수의 1/2(배량)로 조절하여 배부식 분무기를 이용하여 들깨잎의 경엽에 약액이 충분히 묻도록 균일하게 살포하였고 살포량과

시료채취

시료채취는 약제 살포 후 7회 이상, 초기농도의 80%이상 소실되는 시점까지 실시하였다. 본 실험에선 0일(2시간 후), 1, 2, 3, 5, 7, 10, (13, 15)일까지 일정한 간격으로 동일시간 대에 새로 나온 잎을 제외하고 생육상태가 균일한 시료를 무작위로 채취하였다.

처리구 당 약 300 g씩 채취하였으며, 시료채취 시 오염을 방지하기 위하여 비닐장갑을 끼고 시료를 채취하였고 처리구가 바뀔 때마다 장갑을 교환하였다. 처리구별로 채취한 시료는 폴리에틸렌 시료 봉지에 담아 신속히 실험실로 운반하였다.

운반된 시료는 즉시 5 mm 이하로 잘게 절단한 후 처리구별로 분석에 필요한 양(20 g)을 정확히 측정하여 플라스틱 용기에 넣어 밀봉하고 시료 분석 전까지 -40°C 냉동고에 보관하였다.

이는 농약잔류분석 시 분석기기 상태나 시약 등의 변동요인을 최소화하기위하여 시료채취완료 후 일괄 분석하기 위함이며 전처리는 기기분석 당일 실시하였다.

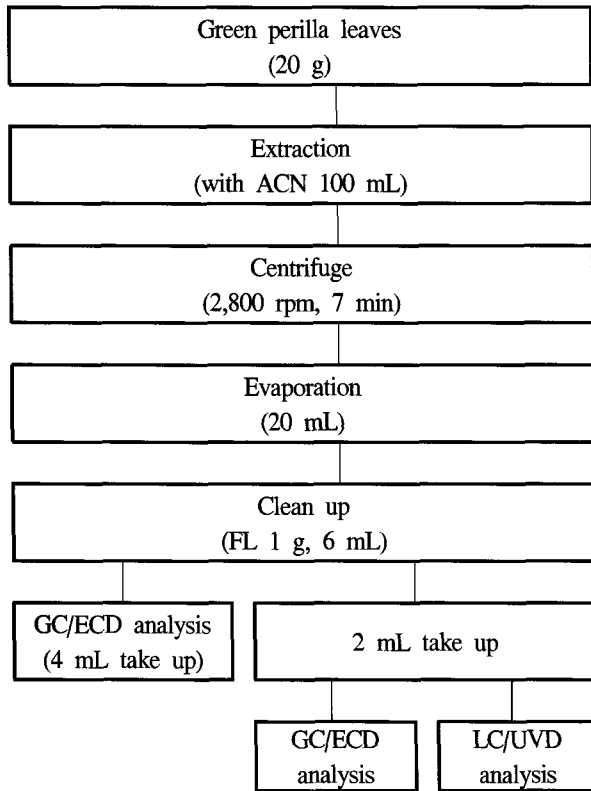


Fig. 1. Scheme for chlorfluazuron analysis from perilla leaves.

농약잔류분석

잔류분석은 식품공전 및 여러 가지 분석법을 참조하여 그림 1과 같이 실시하였다(신 등, 2000; 김, 2002; 김 등, 2002; 김, 2003; 김 등, 2003; 신 등, 2003; 이 등, 2003; 박 등, 2005; 한국식품공업협회, 2005). 세절된 들깨잎 시료 20 g에 NaCl 10 g 첨가한 후 acetonitrile 100 mL를 가하여 30 분간 진탕시켰다. 추출한 시료를 원심분리기(2,800 rpm)에 넣고 7 분간 원심분리 하였다. 원심분리된 시료의 acetonitrile(상층액)에서 20 mL를 취하여 진공회전 농축기로 40°C 이하의 수욕상에서 감압 농축하였다.

미리 5 mL의 n-hexane과 5 mL 20% acetone/n-hexane 으로 활성화시킨 Florisil SPE cartridge에 20%

acetone/n-hexane 10 mL로 용출수거 후 질소미세농축기로 농축하고, 다시 4 mL의 20% acetone/n-hexane으로 재용해하여 1.0 배로 최종 농축되었고 GC-ECD로 기기분석을 실시하였다. 2 년차 때는 2 mL로 최종 용해하여 2.0 배로 최종 농축하였으며, 재 용해액 2 mL 중 1 mL를 취하여 질소미세농축기로 휘발시키고 잔류물을 acetonitrile 1 mL에 녹여 filtering후 HPLC-UVD로 분석하였고 남아있는 1 mL는 GC-ECD로 분석하였다.

기기분석

시료의 잔류농약 분석을 위하여 HP-6890(Agilent) gas chromatograph의 ECD와 HPLC-UVD(Agilent 1100 series)를 사용하였으며, 기기분석 조건은 표 4 및 5와 같다. 검출된 chromatogram의 peak 면적을 동일한 조건에서 분석된 표준검량선에 적용시켜 잔류량을 정량 분석 하였다. GC/MS/MS (Saturn 2000, Varian)로 시료의 잔류농약 성분과 표준물질의 고유 분자량 ion들을 비교하여 정성확인 하였으며, 기기분석 조건은 표 6과 같다(박 등, 1997; Kim, 2001).

들깨잎 시료 중 잔류성분 정량분석을 위한 검량선 작성은 다음과 같이 수행하였다. Chlorfluazuron 표준품 0.0101 g을 20 mL의 50% acetone/n-hexane에 녹여 500 mg L⁻¹의 stock solution을 조제하였다. 동일용매로 희석하여 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mg L⁻¹의 working solution을 조제하였으며, GC-ECD로 표준 검량선을 작성하였다. 이 표준용액들로부터 정확히 1 mL 분리하여 test tube에 받고 질소농축 후 acetonitrile 1 mL로 재용해한 다음 분석하여 얻은 표준검량선을 이용하여 잔류량을 계산하였다.

결과 및 고찰

잔류분석법의 회수율 및 검출한계

들깨잎 시료 중 잔류되어 있는 chlorfluazuron의 잔

Table 4. Gas chromatograph conditions for residue analysis of chlorfluazuron

Instrument	HP-6890 gas chromatography with autosampler
Detector	Electron capture detector(ECD)
Column	DB-5 (30m×0.25 mm i.d., 0.25 µm film thickness)
Temp. program	130°C→12°C min ⁻¹ →210°C→3°C min ⁻¹ →230°C→12°C min ⁻¹ →300°C (2min hold) running time : 21.2min
Injector / Detector	250°C / 320°C
Carrier gas, Flow	N ₂ , 1 mL min ⁻¹
Split ratio	50 : 1
Injection volume	1 µL

Table 5. HPLC conditions for residue analysis of chlorfluazuron

Instrument	Agilent 1100 series
Detector	UVD
Column	ZORBAX 5 μ m Eclipse XDB C-18(RP) 4.6 \times 150 mm
Mobile phase	Water-acetonitrile(2:8, v/v)
Post time	4 min
Injection volume	10 μ L
Flow rate	0.7 mL min ⁻¹

Table 6. GC/MS/MS conditions for residue analysis of chlorfluazuron

Instrument	Saturn 2000, Varian
Column	DB-5MS(30m \times 0.32mm I.d., 0.25 μ m film thickness)
Temp. program	130 $^{\circ}$ C \rightarrow 12 $^{\circ}$ C min ⁻¹ \rightarrow 210 $^{\circ}$ C \rightarrow 3 $^{\circ}$ C min ⁻¹ \rightarrow 250 $^{\circ}$ C \rightarrow 12 $^{\circ}$ C min ⁻¹ \rightarrow 300 $^{\circ}$ C (2min hold) running time : 26.2min
Injector / Interface	250 $^{\circ}$ C / 230 $^{\circ}$ C
Carrier gas, Flow	He, 1ml min ⁻¹ (split-less)
Solvent delay time	6 min

Table 7. Recoveries and detection limits in residue analysis of chlorfluazuron in perilla leaves

Year	Analytic instrument	Fortification (mg kg ⁻¹)	Recovery ^{a)} (%)	MDA ^{b)} (ng)	LOD ^{c)} (mg kg ⁻¹)	LOQ ^{d)} (mg kg ⁻¹)
2005	GC/ECD	0.5	99.0 \pm 1.9 ^{e)}	0.07	0.07	0.24
		2.5	100.2 \pm 4.0			
2006	GC/ECD	0.5	102.7 \pm 2.8	0.05	0.03	0.08
		2.5	103.2 \pm 4.1			
2006	HPLC/UVD	0.5	95.1 \pm 4.0	0.5	0.03	0.08
		2.5	91.7 \pm 3.1			

^{a)}All values are the mean of triplicate. ^{b)}Minimum detectable amount. ^{c)}Limit of detection. ^{d)}Limit of quantitation (LOD \times 3.33). ^{e)}Mean \pm standard deviation.

류분석법에 대한 회수율을 시험하고자 무처리 들깨잎 시료에 두 가지 농도로 처리한 후 앞서의 분석과정에 따라 각각 3 반복으로 수행한 회수율과 분석법의 검출한계는 표 7에서와 같다.

Chlorfluazuron 표준용액과 들깨잎중 회수율시험 chromatogram은 그림 2 및 3에서 보는바와 같으며, 실험의 변이율은 AOAC법(Corneliussen 등, 1990) 및 농촌진흥청의 잔류농약분석기준(농촌진흥청, 2004)을 만족시켰다.

GC/MS/MS로 시료 중 열분해 된 시험성분을 표준 물질과 단순 비교하여 정성 확인할 수 있었으며, 그림 4에 나타내었다.

잔류농약변화량

들깨잎 재배 시 살포한 chlorfluazuron의 잔류량 변화는 살포 후 시간이 경과함에 따라 표 8과 같이 그 잔류수준이 감소하였다.

표 7의 회수율에서처럼, 본 GC분석에서의 잔류량이 HPLC분석보다 다소 높은 경향을 나타내었다. Chlorfluazuron(아타브론 유제)은 저농도(A.I. 5%)농약으로서 수확 전 1회 농약살포 후 1 년차에 GC분석에서 기준량은 3일, 배량은 6일 경과 후에 잔류허용기준(2.0 mg kg⁻¹) 내에 들었으며, 2 년차엔 기준량 살포 후 GC분석 시 6일, LC분석 시 6일 경과 후에 잔류허용기준 내에 들었다. 2 년차 때 약제 분해가 늦어진 이유는, 들깨잎 성장량이 적어 잔류농약 회석 양이 적어진 탓과 1회 더 약액이 충분히 묻도록 균일하게 반복 살포한 원인으로 최초(0일차) 잔류량 농도 값이 1 년차보다 더 높게 나타났기 때문이며, 생물학적 분해반감기 산출에 문제가 없는 것으로 판단된다.

들깨잎 증체량 대비 잔류량 감소비

약제 살포 전에 성장량 조사를 위해 들깨잎에 번호를

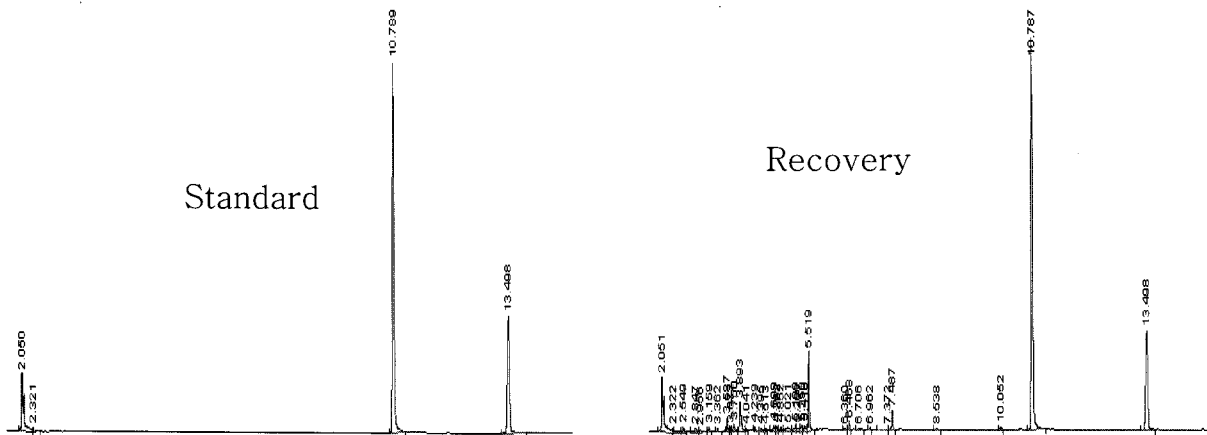


Fig. 2. Typical GC-ECD chromatograms of authentic chlorfluazuron and its recovery test in perilla leaf extract.

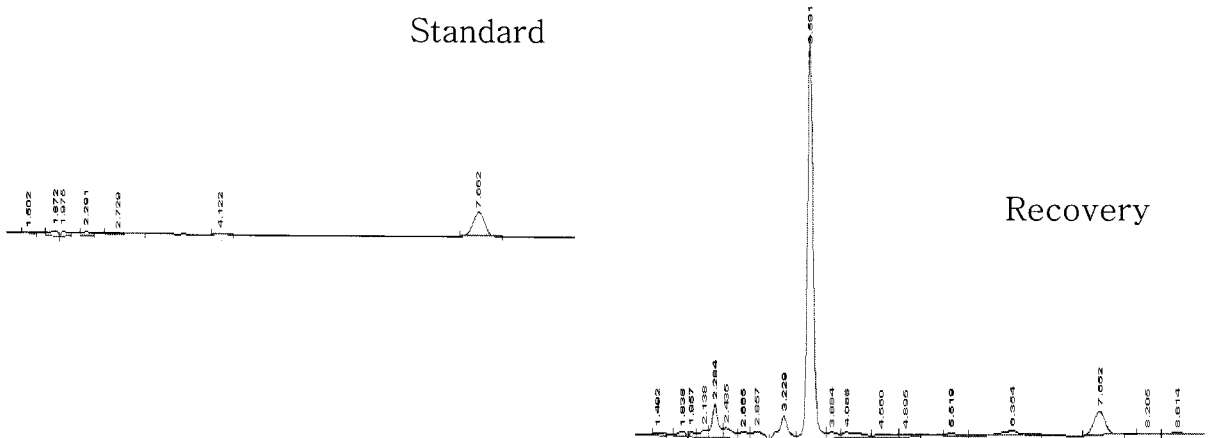


Fig. 3. Typical HPLC-UVD chromatograms of authentic chlorfluazuron and its recovery test in perilla leaf extract.

Table 8. Changes of residual amount of chlorfluazuron in perilla leaves after spraying

Days after application	Residual amounts (mg kg ⁻¹)			
	2005(GC/ECD)		2006(GC/ECD)	2006(HPLC/UVD)
	Standard	Double	Standard	Standard
0	3.05±0.1 ^{a)}	5.73±0.1	4.12±0.1	4.06±0.2
1	2.77±0.1	4.11±0.1	3.45±0.3	3.29±0.2
2	2.07±0.0	3.23±0.1	2.76±0.1	2.68±0.1
3	1.72±0.1	2.61±0.0	2.47±0.4	2.38±0.1
5	1.34±0.0	2.21±0.1	2.24±0.1	2.05±0.1
7	1.10±0.0	1.52±0.0	1.61±0.1	1.42±0.0
10	0.67±0.0	1.12±0.1	0.91±0.0	0.88±0.0
13	0.56±0.0	0.81±0.0		
15	0.47±0.0	0.75±0.0		

^{a)}Mean±standard deviation.

표시해 두고, 매 시료채취 시 마다 10 장의 깻잎으로 날장무게를 조사했으며, 1 년차 깻잎이 더 많이 생장했음을 알 수 있었다. 시험기간 중 하우스내 온도와 습도변화는 그림 5에 제시하였다.

약제 처리 후 일자별 잎의 무게 증가 양상을(그림 6) 표 8의 잔류량 감소정도와 비교했을 때, 표 9와 같이 깻잎의 생장 비에 따라 농약 잔류량의 감소정도가 부합되고 있음을 알 수 있으며, 이는 깻잎의 생장으

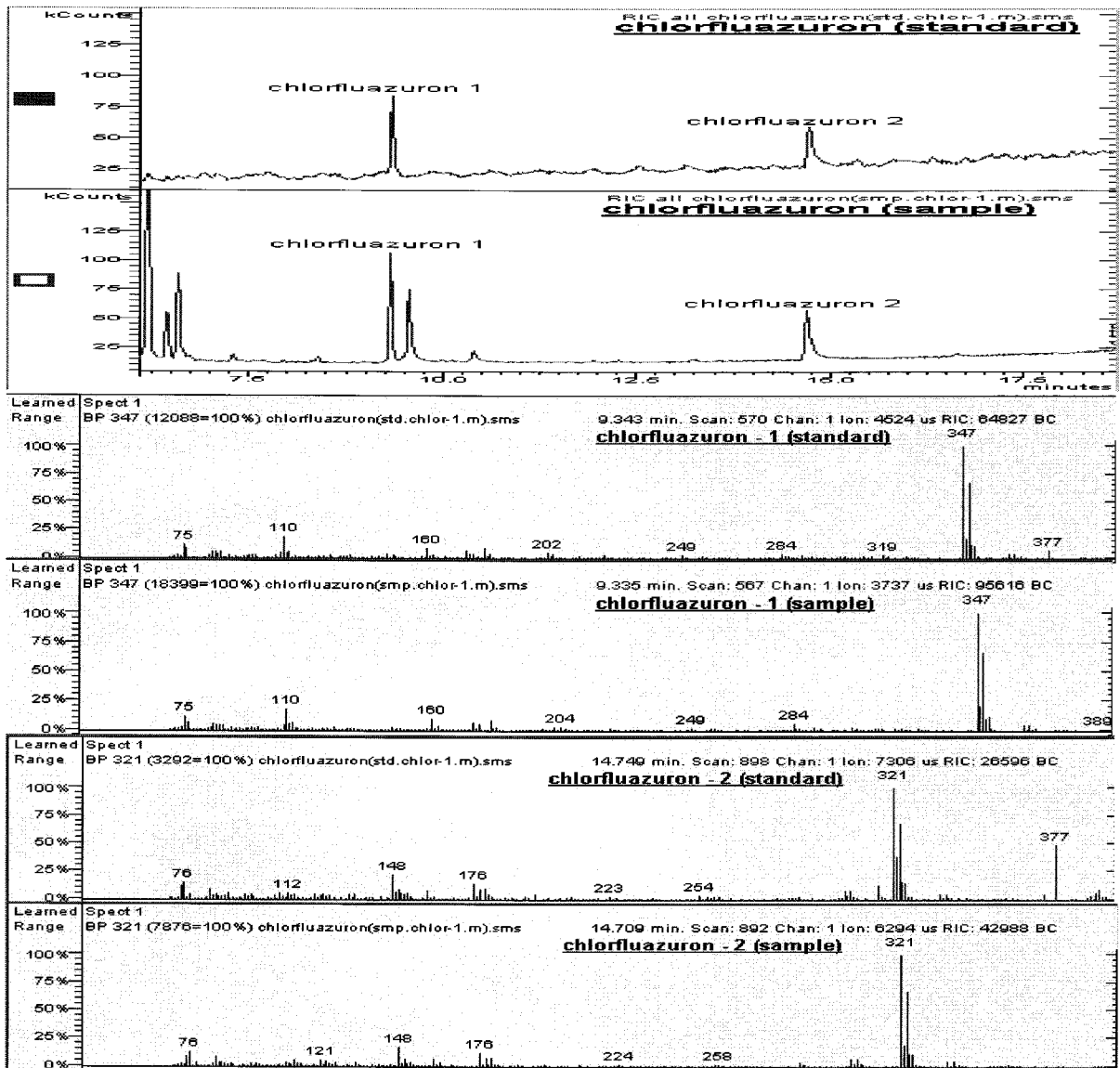


Fig. 4. Total ion chromatograms (TIC) and mass spectra of chlorfluazuron.

로 인하여 잔류농약이 희석된 것으로 판단된다.

반감기 산출

Chlorfluazuron은 표 7에서 보는 바와 같이 1 년차 시료에 기준량으로 약제 처리하여 GC로 분석할 경우 살포일에 3.05 mg kg⁻¹이 검출되었고, 1일차 2.77 mg kg⁻¹, 2일차 2.07 mg kg⁻¹, 3일차 1.72 mg kg⁻¹, 5일차 1.34 mg kg⁻¹, 7일차 1.10 mg kg⁻¹, 10일차 0.67 mg kg⁻¹, 13일차 0.56 mg kg⁻¹, 15일차 0.47 mg kg⁻¹의 감소 추이를 보였으며, 배량의(1 년차 GC분석) 경우는 살포일에 5.73 mg kg⁻¹이 검출되었고, 1일차 4.11 mg kg⁻¹, 2일차 3.23 mg kg⁻¹, 3일차 2.61 mg kg⁻¹, 5일차 2.21 mg kg⁻¹, 7일차 1.52 mg kg⁻¹, 10일차 1.12 mg kg⁻¹, 13일차 0.81 mg kg⁻¹, 15일차 0.75 mg kg⁻¹이 검출되었다. 1 년차 시료를 GC로 분석하면 2일차에서

32.3%(기준량), 43.6%(배량) 정도로 약제 감소하였고, 일정량씩 감소하여 10일차에서는 각각 78.0%(기준량), 80.4%(배량)의 감소율을 보였다. 이 결과로 회귀식을 산출한 결과 기준량은 $Y = 2.9987e^{-0.1500t}$, 배량은 $Y = 5.1741e^{-0.1785t}$ 와 같은 식으로 나타났으며 이 식에 대한 결정계수 r값은 기준량 0.9896**, 배량 0.9774**으로 1% 오차범위내의 유의성을 나타내었다. 산출된 회귀식으로 반감기를 계산한 결과 기준량은 4.7일 배량은 3.9일 이었다(그림 7).

2 년차 시료에 기준량으로 약제 처리하여 GC로 분석할 경우 살포일에 4.12 mg kg⁻¹이 검출되었고, 1일차 3.45 mg kg⁻¹, 2일차 2.76 mg kg⁻¹, 3일차 2.47 mg kg⁻¹, 5일차 2.24 mg kg⁻¹, 7일차 1.61 mg kg⁻¹, 10일차 0.91 mg kg⁻¹의 감소 추이를 보였으며, LC로(2 년차 기준량) 분석할 경우는 살포일에 4.06 mg kg⁻¹이 검출

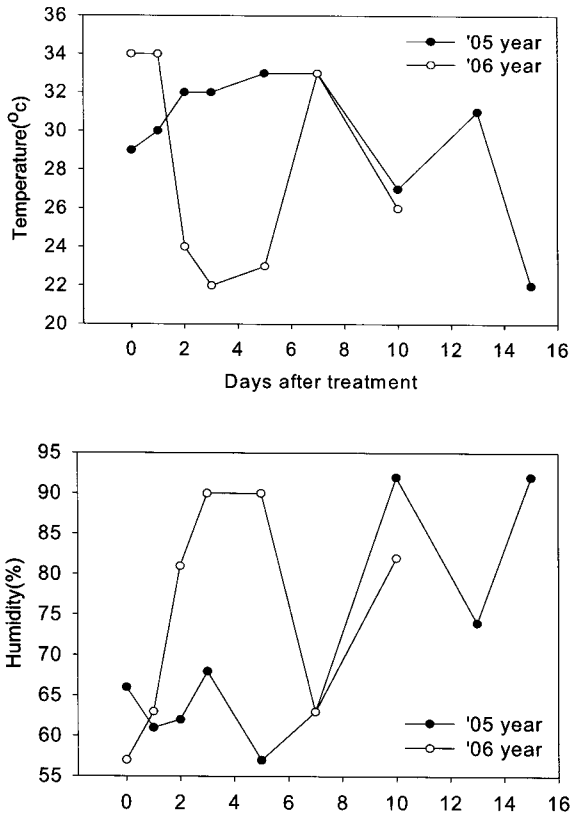


Fig. 5. Changes of temperature and relative humidity in plastic house.

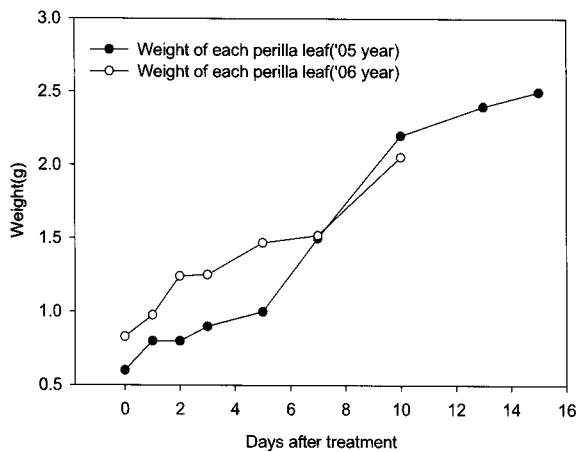


Fig. 6. Changes of leaf weight after chlorfluazuron treatment on perilla leaves cultivated in plastic house.

되었고, 1일차 3.29 mg kg⁻¹, 2일차 2.68 mg kg⁻¹, 3일차 2.38 mg kg⁻¹, 5일차 2.05 mg kg⁻¹, 7일차 1.42 mg kg⁻¹, 10일차 0.88 mg kg⁻¹이 검출되었다. 2년차 시료에 기준량으로 약제 처리하면 2일차에서 33.1%(GC 분석), 34.0%(LC 분석) 정도로 감소하였고, 일정량씩

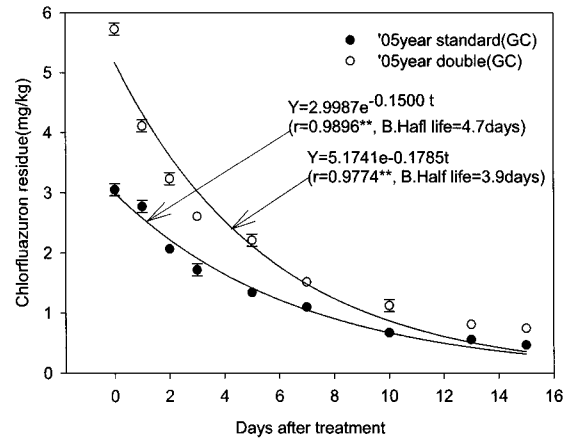


Fig. 7. Changes of chlorfluazuron residue after treatment on perilla leaf in plastic house in 2005.

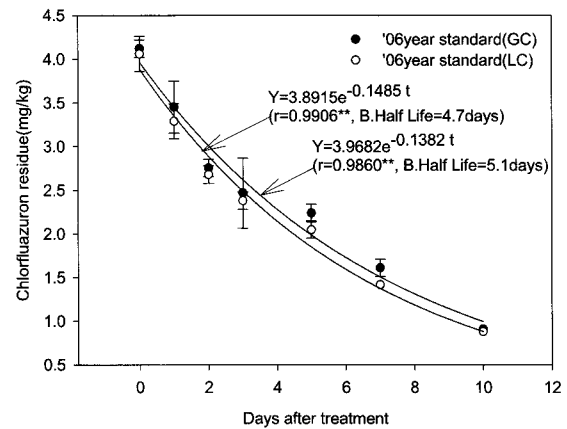


Fig. 8. Changes of chlorfluazuron residue after treatment on perilla leaf in plastic house in 2006.

감소하여 10일차에서는 각각 77.9%(GC 분석), 78.4%(LC 분석)의 감소율을 보였다. 이 결과로 회귀식을 산출한 결과 GC 분석 시 $Y = 3.9682e^{-0.1382t}$, LC 분석 시 $Y = 3.8889e^{-0.1484t}$ 와 같은 식으로 나타났으며 이 식에 대한 결정계수 r값은 기준량 0.9906**, 배량 0.9860**으로 1% 오차범위내의 유의성을 나타내었다. 산출된 회귀식으로 반감기를 계산한 결과 GC 분석 시 5.1일 LC 분석 시 4.7일 이었다(그림 8).

Chlorfluazuron의 공인된 분석법은 약제를 유도체화하여 열분해 방지한 GC분석법이다(한국식품공업협회, 2005). 본 간편화된 GC분석법으로 재차 분석해보면 1년차 4.7일 2년차 5.1일의 반감기로 재현성을 가지며, 열분해가 일어나지 않는 LC분석법으로도 4.7일의 반감기를 나타내어 본 GC/ECD의 열분해된 분해물로도 잔류검사가 가능함을 알 수 있었다.

Table 9. Change of leaf-weight and residue amount after chlorfluazuron treatment on perilla leaves

	Year	Analytical instrument	Days after treatment								
			0	1	2	3	5	7	10	13	15
Residue	2005	GC/ECD ^{a)}	1.0	±1.1	±1.5	±1.8	±2.3	±2.8	±4.6	±5.4	±6.5
		GC/ECD ^{b)}	1.0	±1.4	±1.8	±2.2	±2.6	±3.8	±5.1	±7.1	±7.6
	2006	GC/ECD ^{a)}	1.0	±1.2	±1.5	±1.7	±1.8	±2.6	±4.5		
		HPLC/UV ^{a)}	1.0	±1.2	±1.5	±1.7	±2.0	±2.9	±4.6		
leaf-weight	2005	-	1.0	×1.3	×1.3	×1.5	×1.7	×2.5	×3.7	×4.0	×4.2
	2006	-	1.0	×1.2	×1.5	×1.5	×1.8	×1.8	×2.5		

^{a)}standard amount spray, ^{b)}double amount spray.

Table 10. Biological half-lives of chlorfluazuron in perilla leaves in plastic house

Treatment	t-distribution	Regression equation	Half-life (days)
GC('05 year) standard	Mean	$Y=2.9987e^{-0.1500t}$ (r=0.9896 ^{**})	4.7
	Minimum	$Y=2.8401e^{-0.1538t}$ (r=0.9898 ^{**})	4.6
	Maximum	$Y=3.1576e^{-0.1467t}$ (r=0.9882 ^{**})	4.8
GC('05 year) double	Mean	$Y=5.1741e^{-0.1785t}$ (r=0.9774 ^{**})	3.9
	Minimum	$Y=4.9850e^{-0.1879t}$ (r=0.9733 ^{**})	3.7
	Maximum	$Y=5.3699e^{-0.1708t}$ (r=0.9801 ^{**})	4.1
GC('06 year) standard	Mean	$Y=3.9682e^{-0.1382t}$ (r=0.9860 ^{**})	5.1
	Minimum	$Y=3.4069e^{-0.1563t}$ (r=0.9364 ^{**})	4.5
	Maximum	$Y=4.5492e^{-0.1278t}$ (r=0.9709 ^{**})	5.5
LC('06 year) standard	Mean	$Y=3.8915e^{-0.1485t}$ (r=0.9906 ^{**})	4.7
	Minimum	$Y=3.4753e^{-0.1449t}$ (r=0.9853 ^{**})	4.8
	Maximum	$Y=4.3072e^{-0.1514t}$ (r=0.9935 ^{**})	4.6

* $Mean-[t_{0.05(n-1)} \times stdev/\sqrt{n}] < mean < mean+[t_{0.05(n-1)} \times stdev/\sqrt{n}]$.

Table 11. Field tolerance of chlorfluazuron residue before harvesting of perilla leaves(unit : mg kg⁻¹)

Harvesting day	Pre-harvest interval(day)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2.0	2.2	2.5	2.9	3.3	3.7	4.3	4.8	5.5	6.3	7.1

생산단계잔류허용량

경과일별 농약잔류량의 감소추이에서 kinetics 해석에 따른 합리적인 회귀방정식을 계산하였다. 각 경과일별 농약잔류의 평균치와 95% 신뢰 구간에서 구한 상한치와 하한치로부터도 감소추이의 회귀 방정식을 계산한 후 생물학적 반감기를 산출하였다. 산출된 12 가지 회귀식 중 최장반감기의 회귀식을 추출하였다. $Y=ae^{-bt}$ (Y:잔류량, a:초기농도, b:회귀계수, t:시간)의 회귀식에서 회귀계수 값 b의 수치가 커져서 일일감소반응계수가 커지면 생산단계 잔류허용기준의 기율기 값이 커져 농도가 높고, 회귀계수 값 b의 수치가 작아

져서 일일감소반응계수가 작아지면 생산단계 잔류허용기준의 기율기 값이 작아지므로 농도가 낮아 부적합농산물에 대한 출하연기 등의 기간이 상대적으로 길어져서 소비자에게 안전한 농산물을 공급할 수 있으며, 생산단계에서 안전성 조사를 필요한 농산물이 시장출하 후에도 MRL이하로 잔류하도록 유도함으로써 생산자인 농업인의 보호에도 기여할 수 있다고 판단되어 회귀계수 최소값(최장반감기)을 적용하여 생산단계잔류농약허용기준(Field tolerance)을 설정하였다(성, 2004). 표 10과 같이 작성된 회귀식으로부터 5.5 일로 가장 긴 감소양상을 보이는 GC('06 year)

standard의 회귀식을 적용하여 표 11과 같은 field tolerance을 설정하였다. 출하일의 2.0 mg kg⁻¹을 기준으로 1일전 2.2 mg kg⁻¹, 2일전 2.5 mg kg⁻¹, 3일전 2.9 mg kg⁻¹, 4일전 3.3 mg kg⁻¹, 5일전 3.7 mg kg⁻¹, 출하 10일전 7.1 mg kg⁻¹으로 설정하였다.

기후, 재배환경, 지역특성 등에서 오는 변동요인들을 감안하여 안전한 잔류허용기준을 마련하려면 설정 가능한 최장의 반감기 구축이 필요하다. 본 연구에서 설정한 field tolerance는 고시된 허용기준을 95% 신뢰 구간 내에 포함하였으며, 생산단계의 농산물에 대한 잔류농약 안전성 평가에 이론적 근거의 마련과 과학적 기초자료를 제공할 것이다.

인용문헌

- Corneliussen, P. E., K. A. McCully, B. McMahon, and W. II. Newsome (1990). Official Methods of Analysis of the AOAC. 15th ed., Williams, S. (eds.), AOAC Inc., Virginia.
- Kim, Mi-Hyang (2001). Effect of salt stress on endogenous ABA, gibberellins, and jasmonic acid levels in *Beta vulgaris* L., Kyungpook National University, Thesis for the Degree of Master of Agriculture, pp.5~12.
- Tomlin C D S (1997). The pesticide manual 11th edition, The British Crop Protection Council, Surrey, UK, pp.213~310.
- 국립농산물품질관리원 (2005) 2005년 농산물안전성조사추진계획, pp.53~54.
- 김광일 (2003) 열무중 Chlorpyrifos, EPN, Flufenoxuron의 작물잔류성 시험에 관한 연구, 한밭대학교 석사학위논문 pp.6~23.
- 김영숙, 박주황, 박종우, 이영득, 이규승, 김장억 (2002) 상추의 생산단계별 Chlorpyrifos 및 Procymidone의 잔류허용기준설정, 한국환경농학회지 21(2): 149~155.
- 김영숙, 박주황, 박종우, 이영득, 이규승, 김장억 (2003) Chlorpyrifos의 사과생산단계별 잔류특성, 한국환경농학회지 22(2):130~136.
- 김진호 (2002) 상추의 생산단계별 살충제 Chlorpyrifos의 생물학적반감기, 경북대학교 석사학위논문 pp. 6~14.
- 농림부 고시 (2006) 2006~29호.
- 농림부 (1997) 농산물품질관리법(법률 5667호) 제 12조.
- 농림부 (2005) 2003 농식품 안전백서, p.75.
- 농약공업협회 (2004) 농약정보 1·2월호, pp.8~15.
- 농약공업협회 (2005) 농약사용지침서, pp.432~504.
- 농촌진흥청 (2004) 농약의 등록시험기준과 방법, 잔류성 시험의 기준과 방법, 농촌진흥청 고시 제 2004~4호.
- 박건상, 홍무기, 백선영, 정병곤, 박종세 (1997) 식육 중 Chlorfluazuron의 잔류 분석법 및 잔류량에 관한 연구, J. Fd Hyg. Safety 12(4):288~293.
- 박동식, 성기용, 최규일, 허장현 (2005) Kinetic models에 의한 딸기 중 농약의 생물학적 반감기 비교와 생산단계잔류허용기준설정, 농약과학회지 9(3):231~236.
- 성기용 (2004) 과채류 중 농약의 잔류특성 및 생물학적 반감기연구, 강원대학교 박사학위논문 pp.132~133.
- 신병곤, 이호진, 김진호, 박대한, 정은모, 손윤하, 김중구 (2003) 들깨잎 중 Benfuracarb 살충제의 Carbofuran 방출조사, 국립농산물품질관리원 농산물 안전성연구회지 pp.183~194.
- 신세건, 정의덕, 정영언 (2000) 기기분석화학, 형설출판사 pp.211~225.
- 이용재, 고광용, 원동준, 길근환, 이규승 (2003) 복숭아의 재배 및 저장기간 중 Procymidone, Chlorpyrifos 및 Cypermethrin의 잔류량변화, 한국환경농학회지 22(3):220~226.
- 정영호, 김장억, 김정한, 이영득, 임치환, 허장현 (2004) 최신농약학, 시그마프레스 pp.19~151.
- 한국식품공업협회 (2005) 식품공전(별책), pp.130~271.

들깨잎 재배 중 chlorfluazuron의 잔류량 변화 및 잔류분석법 시험
이민호* · 김석호 · 박영균 · 조경연 · 신병곤 · 김종한 · 권찬혁¹ · 손재근² · 김장익²

 경북농산물품질관리원, ¹식품의약품안전청식품평가부, ²경북대학교농업생명과학대학

요약 : 들깨잎의 재배 중에 사용되는 살충제인 chlorfluazuron의 잔류량을 포장시험 하여 생물학적 분해반감기를 구하고 출하 10 일전까지의 각 일자별 농약잔류허용량을 설정하였다. 본 실험은 Benzoylurea계 계통인 chlorfluazuron의 본 GC/ECD 분석 시 2005년 반감기와 2006년의 반감기를 조사 비교하고, 열에 안정된 LC분석법으로도 잔류농약을 분석 비교하였다. 그 결과 GC/ECD 분석 시 1 년차에 기준량으로 살포하였을 때 살포 2 일차에는 최초(0 일차) 농도의 32.3%가 감소하였고, 10 일차에는 78.0%가 감소하였다. 2 년차에 기준량으로 살포하였을 때 살포 2 일차에는 최초 농도의 33.1%가 감소하였고, 10 일차에는 77.9%가 감소하였다. 잔류량 감소 양상으로부터 회귀방정식을 구하고 생물학적 분해반감기(Biological half-life)를 도출한 결과, 기준량 살포하여 GC/ECD 분석 시 1 년차에는 4.7 일, 2 년차에는 5.1 일로 나타났다. HPLC/UVD 분석 시 기준량으로 살포하였을 때 살포 2 일차에는 최초(0 일차) 농도의 34.0%가 감소하였고, 10 일차에는 78.4 %가 감소하였으며, 반감기는 4.7 일이었다. 잔류량 변화 반복실험간 표준편차의 95% 신뢰구간에서도 회귀방정식을 구한 후, 산출된 반감기를 근거로 생산단계의 농약잔류허용량을 설정한 결과 출하일의 2.0 mg kg⁻¹을 기준(KFDA, MRL)으로 2 일전에 2.5 mg kg⁻¹에서 출하 10 일전에는 7.1 mg kg⁻¹으로 설정하였다.

 색인어 : Chlorfluazuron, perilla leaves, Half-life, MRL, GC/ECD
