

생산단계 애호박(*Cucurbita* spp.) 중 boscalid의 잔류 특성

정슬아¹, 박홍열², 한아름², 타파쉬리², 최영호³, 허장현^{1*}

¹강원대학교 바이오자원환경학과, ²강원대학교 친환경농산물안전성센터, ³국립농산물품질관리원 강원지원 조사분석과
(2012년 06월 25일 접수, 2012년 06월 28일 수리)

Establishment of Pre-harvest Residue Limit (PHRL) of Boscalid in the Squash (*Cucurbita* spp.)

Jeong, S. A.¹, H. R. Park², A. R. Han², S. P. Thapa², Y. H. Choi³ and J. H. Hur^{1*}

¹Department of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

²EFAP Safety Center, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

³National Agricultural Products Quality Management Service Gangwon Province, Chuncheon 200-150, Korea

Abstract

This study was carried out to aid an establishment of guideline for safe use of boscalid in squash (*Cucurbita* spp.). Boscalid was sprayed on squash according to safe use guideline. Samples were collected 2 hr after spray at 1, 3, 5, 7, and 10 days, and was analyzed by GLC/ECD. The limit of detection of boscalid was 0.02 mg/kg. The biological half life of boscalid was found to be 2.5-2.8 days. The residual amount of boscalid 10 days before harvest was 13.68 mg/kg. The residue levels in boscalid was lower than the established MRL.

Key words: Boscalid, MRL, PHRL, Pre-harvest residue limit, Squash.

서론

농약은 농산물의 생산 과정에서 농산물의 생산량 및 품질 향상을 위해 필수적으로 사용 되는 물질이다. 이러한 농약은 성분 자체의 물리·화학적 특성, 작물의 생리적·형태적 특성, 기상 및 토양환경 등의 요인에 의해 작물 또는 환경 중에 잔류할 수 있으며, 잔류된 농약은 인축에 대한 안전성 문제 및 환경 생태계에 부정적인 영향을 미칠 가능성이 있다. 이러한 농약의 부정적인 영향으로 인한 피해를 방지하고자 현재 국내에서는 약효·약해 시험, 인축독성시험, 환경·생물 독성시험 및 작물 잔류시험 등을 통해 보다 안전한 농약을 등록하고 있으며, 농약 등록 시 수확 전 살포일, 살포량, 살포횟수 등의 안전사용 기준을 설정하여 농산물 중 농약잔류량이 최대잔류허용기준(Maximum Residue Limit; MRL)을 초과하지 않도록 관리하고 있다(Lee, 2009). 또한 식품위생법에 근거하여 1989년 9월부터 시중 유통 농산물에 대한 잔류농약 검사를 실시하고 있으며, 농산물품질관리법에 의거하여 농림부에

서 1996년부터 생산·저장 또는 출하 전 단계에서 농산물의 안전성조사를 실시하여 농산물의 안전성 확보, 소비자의 건강보호 및 농산물의 신뢰도 제고를 위하여 노력하고 있다(Seong, 2004).

유통과정 중 농산물의 잔류농약 검사는 농산물 도매 시장에서 품목별 또는 산지별로 다양한 시료를 손쉽게 채취하여 분석할 수 있는 장점이 있지만 분석결과가 나올 시점이면 해당 농산물이 불특정 다수의 소비자에게 이미 판매되었거나 소비된 후여서 농약의 잔류허용기준을 초과하는 농산물이 발견되더라도 전량 폐기 또는 수거가 불가능한 단점이 있다. 반면 생산단계 중에 있는 농작물에 대한 안전성 조사는 시료를 채취할 수 있는 지역이 광범위하고 많은 인력이 소요되지만 해당 농산물이 유통·소비되기 전에 식품으로서 사용 가능여부를 판단할 수 있고, MRL을 초과할 가능성이 있는 농산물에 대해서는 출하연기, 용도전환 및 폐기 등의 조치를 취함으로써 안전성이 확보된 농산물이 공급되도록 하여 소비자의 건강보호는 물론 폐기 또는 기준초과로 인한 재산상의 손

* Corresponding Author: Hur, J. H.(E-mail: jhhur@kangwon.ac.kr)

해 또는 형사 처분으로 인한 농업인의 불이익을 사전에 예방할 수 있다(Choi et al., 2002; Kim et al., 2002; Ko et al., 2003; Seong, 2004).

따라서 본 연구는 생산단계 애호박 중 boscalid의 잔류 특성을 조사하고 생물학적 반감기를 산출하여 boscalid의 생산단계 애호박의 잔류허용기준 설정을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

시약, 재료 및 기구

본 실험에서 사용된 농약은 boscalid 47% 입상수화제(칸투스[®])로 (주)동부한농의 제품을 사용하였으며, 분석용 표준품은 순도 98.0%의 analytical standard를 독일 Dr. Ehrenstorfer GmbH사로부터 구입하여 사용하였다. 약제의 구조식은 Fig. 1과 같으며 본 실험에 사용된 약제의 화학적 특성은 Table 1과 같다. 본 실험에 사용된 acetone, acetonitrile, ethyl acetate 및 n-hexane 모두 GR급 용매를 사용하였으며 각각 Merck(USA), Junsei Chemical, Ltd.(Japan), J. T. Baker(USA), Kanto Chemical, Co., Inc.(Japan)사 제품을 사용하였다. 정제를 위해 사용된 SPE-FL Florisil cartridge(1 g)는 Phenomenex(USA)사 제품을 사용하였으며, 무수황산나트륨은 Junsei Chemical, Ltd.(G.R. Japan)사, sodium chloride는 Shinyo Pure Chemical Co., Ltd.(Japan)사 제품을 사용하였다.

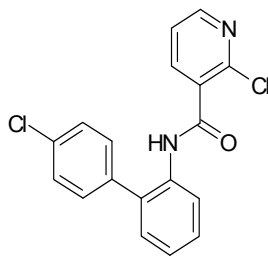


Fig. 1. Chemical structure of boscalid [2-chloro-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide].

공시 작물 및 포장 설계

본 실험에 사용된 공시 작물은 애호박(*Cucurbita* spp.)이며, 품종은 '중앙애호박'을 선정하였다. 시험포장은 강원도 춘천시 동내면 거두리 소재 일반농가의 시설하우스를 임차(2010년 03월 01일~2010년 08월 30일)하여 약제 처리구당 25 m² 면적에서 3반복 난괴법으로 실험 하였다.

약제처리 및 시료 채취 시기

약제처리는 boscalid 47% 입상수화제를 수확 10일 전에 안전사용기준(Table 2)에 따라 1,000배(배량) 및 2,000배(기준량) 희석하여 살포용 약액을 조제하였으며, 배부식 분무기를 사용(분무량, 1,000 mL/min; 상용압력, 4 kg/cm³)하여 애호박에 약액이 충분히 묻도록 살포하였다. 약제 처리 후 2시간 이내를 0일차로 하여 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10일 차에 시료를 채취하고 시설하우스 내 온도와 습도 및 애호박의 무게를 측정하였다. 각 처리구당 시료는 처리구당 1 kg 이상을 채취하여 밀봉한 후 즉시 분석 장소로 운반하였으며, 각 처리구별 시료를 세절한 후 혼합하여 분석에 이용하였다.

애호박 시료 중 boscalid의 분석

애호박 시료 20 g에 acetonitrile 100 mL를 가하여 homogenizer에서 3분간, 10,000 rpm에서 마쇄 및 추출하였다. 추출액 중 acetonitrile을 감압유거한 후 포화식염수 50 mL, 증류수 200 mL를 첨가하여 n-hexane 80 mL와 60 mL로 2회 분배한 후 분배액을 농축하여 n-hexane 4 mL로 용해하였다. Florisil 1 g이 충전된 SPE-FL cartridge에 n-hexane 5 mL와 전개용매1 (n-hexane : ethyl acetate = 90 : 10, v/v) 5 mL로 세정한 후 시료 4 mL를 모두 SPE-FL cartridge에 주입하였다. 이후 전개용매1 10 mL로 세정하였으며, 이후 전개용매2 (n-hexane : ethyl acetate = 70 : 30, v/v) 10 mL를 이용하여 boscalid를 용출시킨 후 이 용출액을 감압농축하였다. 농축된 건고물을 acetone 4 mL

Table 1. The physicochemical properties of boscalid

Pesticide	Mol.wt.	K _{ow} logP	M.p.(°C)	V.p.(mPa)	Solubilities
Boscalid	343.2	2.96	142.8 -143.8	7.2×10 ⁻⁴	In water 4.6 mg/L. In n-heptane <10, methanol 40-50, acetone 160-200(all in g/L, 20°C)

Table 2. Safe guideline use of boscalid on squash

Pesticides	Standard dilution rate	Safe use standard		MRL [§] (mg/kg)
		PHI [†]	MNA [‡]	
Boscalid	2000	3	3	2.0

[†] pre-harvest interval(day), [‡] maximum number of application, [§] maximum residue limits

에 채용하여 시료 1 μL 를 GLC/ECD(gas liquid chromatography/electron capture detector)에 주입하여 얻어진 chromatogram상의 peak의 면적으로 정량 하였으며, 기 분석 조건은 Table 3과 같았다.

Boscalid의 표준검정곡선 작성

Boscalid 표준품(98.0%) 102.0 mg을 100 mL 용량플라스크에 넣고 acetone에 녹여 1000 mg/kg stock solution을 조제하였다. 이 stock solution 1 mL를 취하여 acetone 100 mL로 정용하여 10 mg/kg용액을 만들었다. 같은 방법으로 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/kg의 working solution을 조제하여 각각 1 μL 를 GLC/ECD에 주입하여 얻어진 chromatogram상의 peak 면적을 기준으로 검량선을 작성하였다.

애호박 중 boscalid 회수율 실험

Boscalid 무처리구 애호박 시료 20 g에 2 mg/kg, 10 mg/kg의 boscalid 표준용액 1 mL를 각각 0.1 mg/kg, 0.5 mg/kg 수준으로 정확히 가하고 균일하게 혼합하여 30분간 방치한 후, 상기 분석과정을 동일하게 수행하여 회수율을 산출하였다.

결과 및 고찰

애호박 재배기간 중 무게증가와 기상변화

애호박 재배 기간 중 시설재배지의 평균기온은 $28.74 \pm 2.16^\circ\text{C}$, 평균습도는 $76.71 \pm 11.91\%$ 였다(Fig. 2). 약제 살포 후 10일간 시료를 채취하는 동안 개체의 무게를 측정하여 기록한 결과 애호박 시료의 개별 무게는 0일차(51.7 g)에 비하여 평균적으로 약 7.4배(382.2 g) 증가한 것으로 확인되었다(Fig. 3).

Table 3. GLC/ECD operation conditions for boscalid analysis

Instrument	GC-17A, Shimadzu, Japan	
Detector	Electron Capture Detector (ECD)	
Column	DB-17 (30 m \times 0.25 μm \times 0.25 mm), Agilent, USA	
Temperature	Column Oven	180 $^\circ\text{C}$ (2 min. hold) \rightarrow increased at 20 $^\circ\text{C}/\text{min.}$ to 280 $^\circ\text{C}$ (18 min. hold)
	Injection Port	260 $^\circ\text{C}$
	Detector Block	320 $^\circ\text{C}$
Gas Flow Rate	14.0 mL/min, split ration(3:1)	
Injection Volume	1.0 μL	
Retention time	9.76 min	

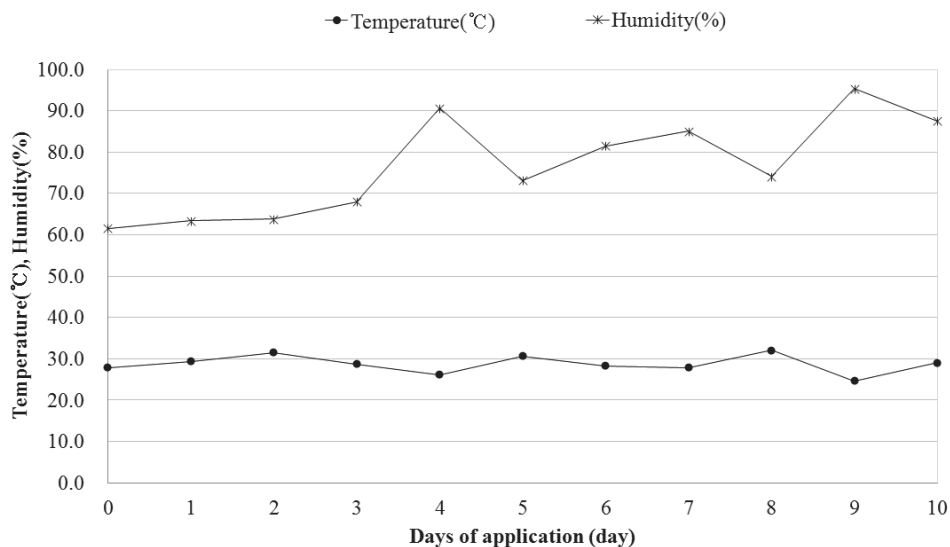


Fig. 2. Air temperature and humidity during cultivation period of squash.

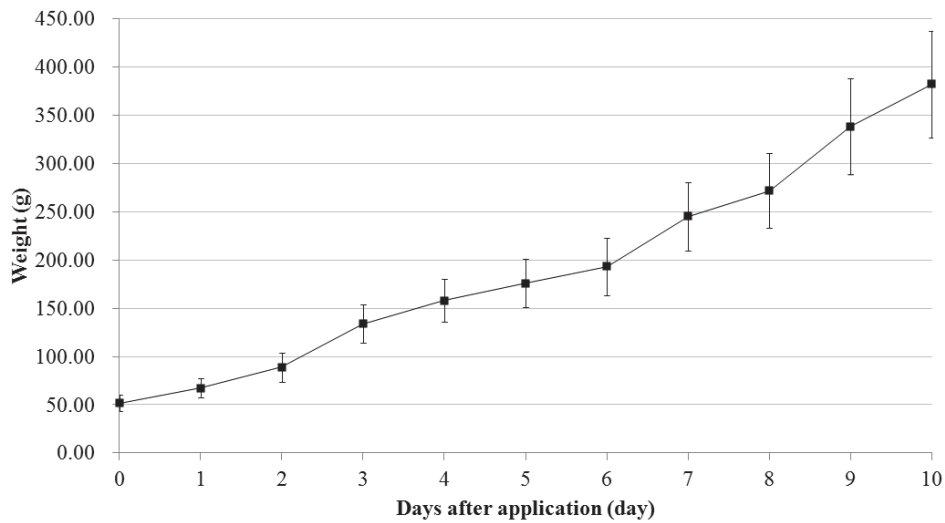


Fig. 3. Growth curve of squash during cultivation period.

Table 4. Recoveries and limit of detection for boscalid in squash

Matrix	Fortification level (mg/kg)	Recoveries (%; average ± SD [†])	Coefficient of variation (RSD%)	LOD [‡] (mg/kg)	Amount of minimum detection (ng)
Squash	0.2	75.3± 0.9	0.9	0.02	0.1
	1.0	77.0± 3.5	3.5		

[†] SD: Standard deviation

[‡] LOD: Limit of detection

애호박 중 boscalid의 분석법 확립

Boscalid 표준품(98.8%)으로부터 얻은 표준검정곡선의 일차 회귀방정식은 표준품의 양과 피크 면적 사이의 높은 상관관계(R²=0.99)를 확인할 수 있었으며, 이 표준검정곡선의 회귀방정식을 사용하여 시료 중 boscalid의 잔류량을 산출하였다. 분석법 상의 boscalid의 최소검출량은 0.1 ng이었으며, 검출한계(limit of detection; LOD)는 0.02 mg/kg이었다. 애호박 시료 중 boscalid의 평균 회수율은 0.2 mg/kg 및 1.0 mg/kg에서 각각 75.3% 및 77.0%였으며, 농촌진흥청에서 인정하고 있는 유효회수율 범위인 70~120%와 변이계수(coefficient of variation, RSD%) 20% 이하의 범위를 나타내어 본 시험의 분석법이 적합한 것이라고 판단하였다(Table 4).

애호박 중 boscalid의 잔류경향

작물체 중 농약의 잔류는 살포되는 농약의 물리·화학적 특성, 제형, 작물의 형태, 재배조건, 기상조건, 처리 후 수확 일까지의 경과일수 및 작물의 비대생육 등에 의하여 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Lo et al., 2004; Oh, 2000). 애호박의 재배과정 중 boscalid 47% 입상수화제를 기준량(2,000배)과 배량(1,000배)으로 살포한 후 애호박 중 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10일차 boscalid의 잔류량은 Table 5와 같다. 기준량 살포시 초기 잔류농도는 0.412 mg/kg으로

애호박에 대한 boscalid의 국내잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)의 1/5 수준이었으며(식품의약품안전청, 고시 제2012-1호, 2012), 10일 후 boscalid의 애호박 중 잔류량은 그 보다 낮은 0.033 mg/kg으로 나타났다. 배량을 살포한 경우 초기 잔류농도는 0.742 mg/kg으로 애호박에 대한 boscalid의 국내잔류허용기준의 2/5 수준이었으며, 10일 후 잔류농도는 0.077 mg/kg이었다(Table 5). 애호박 재배기간 중의 boscalid 잔류량은 시간이 지날수록 지수 함수적으로 잔류수준이 감소하는 경향을 보였으며(Fig. 5), boscalid의 기준량 및 배량의 잔류량 감소 회귀식에 따라 산출된 애호박 중 boscalid의 반감기는 기준량 처리 시 2.5일, 배량 처리 시 2.8일로 처리 농도와는 상관없이 그 감소속도는 유사하였다. Lee 등(2008)은 오이 재배기간 중 boscalid의 잔류경향을 연구한 결과 기준량 및 배량 살포에서 초기농도는 각각 7.29 mg/kg 및 14.69 mg/kg으로 본 연구결과와 초기 잔류량은 상이하였으나, boscalid의 재배 중 반감기는 기준량 및 배량에서 각각 1.9일 및 2.0일로 본 연구결과와 유사하였다. 그러나 파프리카 재배기간 중 boscalid의 잔류경향을 연구한 결과 기준량 및 배량 살포에서 6월 중 생물학적 반감기가 16.3일 및 12.8일로 나타났으며(Cho et al., 2011), 딸기 재배기간 중 boscalid의 생물학적 반감기가 4.9일에서 6.4일로 보고되어 본 연구 결과와 다른 경향을 나타내었다(Chen and Zhang, 2010). 이상의 연구결과로 미루어 볼 때, 생산단계

Table 5. Residual amount of boscalid in squash

Treatment	Sampling	Residual amount (mg/kg)				Maximum residue limit (mg/kg)
		Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Average residual amount (± SD)	
Control	-	< 0.02	< 0.02	< 0.02	< 0.02	
Single dose	0	0.465	0.392	0.378	0.412±.047	2.0
	1	0.328	0.381	0.36	0.356±.027	
	2	0.250	0.292	0.313	0.285±.032	
	3	0.159	0.153	0.152	0.155±.004	
	5	0.062	0.057	0.061	0.060±.003	
	7	0.048	0.045	0.05	0.048±.003	
	10	0.031	0.033	0.035	0.033±.002	
Double dose	0	0.787	0.683	0.757	0.742±.054	
	1	0.580	0.682	0.632	0.631±.051	
	2	0.487	0.549	0.48	0.505±.038	
	3	0.405	0.394	0.385	0.395±.010	
	5	0.167	0.168	0.171	0.169±.002	
	7	0.117	0.115	0.112	0.115±.003	
	10	0.076	0.079	0.077	0.077±.002	

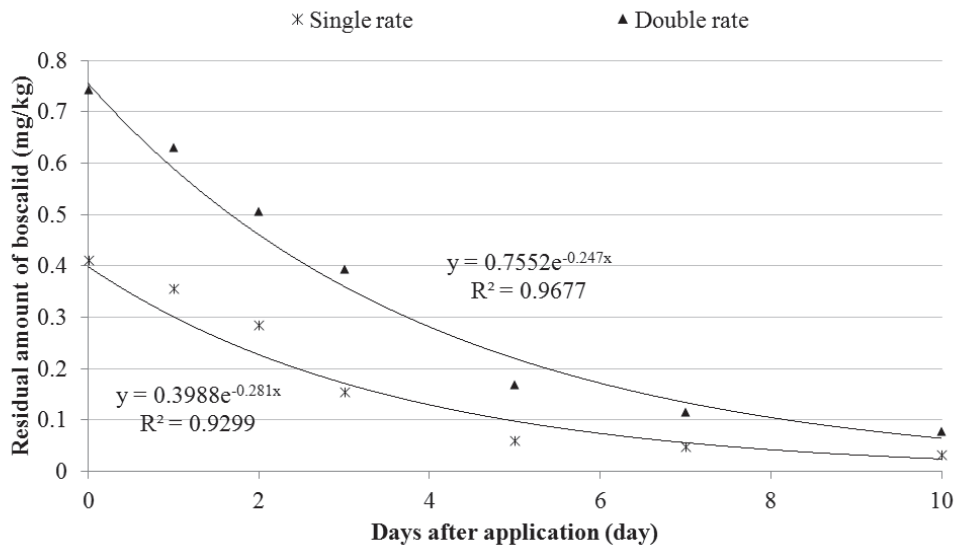


Fig. 5. Dissipation curve of boscalid in squash during cultivation period.

Table 6. Pre-harvest residue limit of boscalid in squash

Matrix	Pesticide	Pre-harvest residue limit of boscalid in squash										
		10day	9day	8day	7day	6day	5day	4day	3day	2day	1day	Shipment
Squash	Boscalid	13.68	11.29	9.31	7.68	6.34	5.23	4.32	3.56	2.94	2.42	2.0

중 boscalid의 잔류량 변화는 작물의 증체속도가 잔류량 변화에 미치는 영향이 크다고 사료되며, 파프리카 및 딸기와 같이 수확 전후에 과중의 변화가 거의 없는 작물의 경우 초기에 작물에 부착된 농약의 농도가 잔류량을 결정하는 중요한 요소임을 시사하고 있다(Lee et. al, 2008; Cho et al., 2011).

또한, 본 연구결과를 국립농산물품질관리원의 생산단계 잔류허용기준 산출방법에 적용시켜 생산단계 잔류허용기준을 산출한 결과, 기준량 살포시 수확 10일 전 boscalid의 잔류량이 13.68 mg/kg 이하일 경우 수확 시기에 애호박 중 boscalid의 잔류량이 MRL 수준 이하일 것으로 예측된다(Table 6).

참고문헌

- Chen, L., Zhang, S. (2010) Dissipation and residues of boscalid in strawberries and soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 84:301-304.
- Cho, K. S., Lee, S. J., Lee, D. Y., Kim, Y. J., Choe, W. J., Lee, J. B., Kang, K. Y. (2011) Pre-harvest residual characteristics of boscalid and pyraclostrobin in paprika at different seasons and plant parts. *The Korean Journal of Pesticide Science.* 15:269-277.
- Choi, K. I., Seong, K. Y., Jeong, T. G., Lee, J. H., Hur, J. H., Ko, K. Y., Lee, K. S. (2002) Dissipation and removal rate of dichlofluanid and iprodione residues on greenhouse cherry tomato. *Korean Journal of Environmental Agriculture.* 21:231-236.
- Kim, Y. S., Park, J. H., Park, J. W., Lee, Y. D., Lee, K. S., Kim, J. E. (2002) Persistence and dislodgeable residues of chlorpyrifos and procymidone in lettuce leaves under greenhouse condition. *Korean Journal of Environmental Agriculture.* 21:149-155.
- Ko, K. Y., Lee, Y. J., Won, D. J., Park H. J., Lee, K. S. (2003) Residual pattern of procymidone and bifenthrin in perilla leaf during the period of cultivation and storage. *Korean Journal of Environmental Agriculture.* 22:47-52.
- Korea crop protection association (2010) *Pesticide Handbook*
- Lee, J. H., Park, H. W., Keum, Y. S., Kwon, C. H., Lee, Y. D., Kim, J. H. 2008. Dissipation pattern of boscalid in cucumber under greenhouse condition. *The Korean Journal of Pesticide Science.* 12:67-73.
- Lee, K. H. (2009) Monitoring of pesticide residue in floriculture crops and farmers exposure assessment in Korea
- Lo, S. C., Hwang, C. H, Kim, M. S., Ma, S. Y., Han, S. S. (2004) Residue analysis of insecticide thiodicarb in sweet persimmon and its safety evaluation. *The Korean Journal of Pesticide Science* 8:184-188.
- Oh, B. Y. (2000) Assessment of pesticide residue for food safety and environment protection. *The Korean Journal of Pesticide Science.* 4:1-11.
- Park, D. S., Seong, K. Y., Choi, K. I., Hur, J. H. (2005) Field tolerance of pesticides in the strawberry and comparison of biological half-lives estimated from kinetic models. *The Korean Journal of Pesticide Science.* 9: 231-236 .
- Seong, K. Y. (2004) Studies on residual characteristics and biological half-Life of pesticides in vegetables