

## PC3 효소저해법을 이용한 Carbamate계 농약의 간편한 잔류분석법

김정호<sup>\*</sup>, 조동현<sup>1</sup>, 박문기, 문영수  
대구한의대학교 보건환경학과, <sup>1</sup>(주)그린

### 1. 서 론

최근 문제시되고 있는 carbamate계 농약의 화학적 분석에 앞서 이들 농약을 쉽고 빠르고 검출할 수 있기 때문에, Enzyme inhibition기술을 이용한 kit개발의 필요성이 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 carbamate계 농약을 빠르고 간편하게 검출할 수 있는 건식 및 습식 검출기법을 개발하고자 한다.

### 2. 재료 및 방법

#### 1) 습식 Kit 측정

습식 Kit 측정에 이용된 AChE활성 측정은 Ellman 등(1961)의 방법에 준하였다. 인산완충용액(0.1M pH 7.8) 3 mL에 AChE 효소액 50  $\mu$ l과 공시농약을 50  $\mu$ l 가하였다. Enzyme-inhibitor 복합체를 형성하는데 필요한 항온시간은 일정하게 30분으로 하였으며, 37°C에서 30분 후 AChE 활성을 측정하였다.

#### 2) 건식 Kit 개발

효소 disc의 제조는, 가로 세로 1cm 크기의 Whatman No1 종이 1개에 인산완충용액(0.1 M, pH 7.8), AChE 조효소액 20 $\mu$ l, Triton X-100 (0.1%) 20 $\mu$ l, EDTA (0.1M, 1%) 20ul를 차례로 참가한 후 건조시켰다.

기질 흡착 Disc의 제조는, 가로 세로 1cm크기의 Whatman No1 종이 1개에 Ferricyanid 수용액 20ul, 0.1M Indoxylacetate 20 $\mu$ l 각각 참가하여 건조시켰다.

건식 kit의 발색은, 효소 Disc을 시료에 3분간 침지한 후 효소 Disc와 기질 Disc를 포갠다. 30분 경과 후 푸른색이 나타나는지 확인한다. 대조구는 푸른색이 나타나며, carbamate계 농약이 있으면 무색으로 나타난다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 1) 습식 Kit의 개발

Carbamate 농약에 속하는 carbaryl의 첨 I<sub>50</sub>, I<sub>40</sub>, I<sub>30</sub>, I<sub>20</sub> 이 각각 0.169, 0.046, 0.013 및 0.04 mg/L이었다. 먹는물 관리법에 의한 먹는물 수질기준으로 carbaryl은 0.07 mg/L이다(환경부, 2004). 따라서 본 실험에서의 AChE에 대한 carbaryl의 I<sub>40</sub>은 먹는물 수질기준

의 허용농도보다 낮으며, 음용수 중에 있는 carbaryl을 0.07 mg/L 이하까지 측정 가능하다. 이와 같이 AChE 효소를 이용하여 carbamate계 농약에 의한 AChE 효소 활성 저해도를 측정한다면, carbaryl 농약의 정성적 검출이 가능하다.

Carbaryl을 포함한 다른 종류의 carbamate계 농약의  $I_{50}$ 은 Table 1과 같았다. Carbamate 농약의  $I_{50}$ 은 대부분 0.071-0.169 mg/L 범위였다. 따라서 본 연구에서 확인된 enzyme inhibition법을 이용하면 먹은물 중에서 carbamate계 다성분 농약을 빠르고 간편하게 측정할 수 있는 습식 검색용 Kit로 개발할 수 있다. 여기서 AChE 활성 저해 측정은 Ellman법(1961)으로 짧은 시간 내에 매우 간단하고 빠르게 측정할 수 있다.

Table 1.  $I_{50}$  for inhibition of acetylcholinesterase activity with carbamate.

Carbamate	$I_{50}$ (mg/L)
Cabaryl	0.169
Carbofuran	0.089
BPMC	0.076
Propoxur	0.071
Isoprocarb	0.072
Metolcarb	0.129

## 2) 건식 Kit의 개발

효소 disk와 기질 disk을 겹치면 푸른색으로 발색된다. 그러나 carbamate계 농약이 있는 시료에서는 Enzyme Inhibition(EI)법에 의해 효소 disk의 활성이 없어지고 따라서 효소와 기질을 겹친 색은 무색이 된다(Fig. 1).

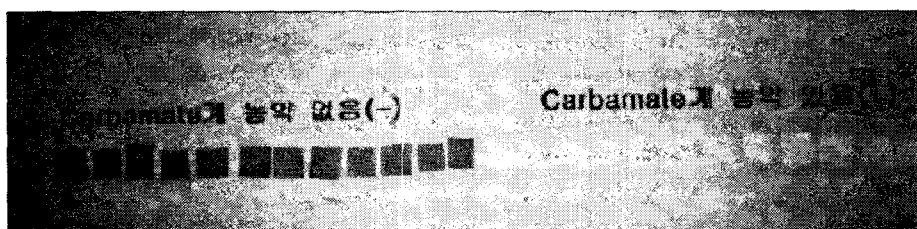


Fig. 1. Detection of carbamate with dry kit.

Carbamate계 농약의 농도에 따른 발색은 Table 2와 같다. Carbamate계 농약의 검출한계는 carbaryl이 0.05 mg/L, carbofuran도 0.05 mg/L 이었다. 현재 먹은물 관리법에 의한 먹은물 수질기준에서 carbamate계 농약으로는 carbaryl 한가지만 규제하고 있는데, 0.07 mg/L을 넘지 못하게 하고 있다(환경부, 2004). 건식 kit의 검출한계가 carbaryl 이 0.05 mg/L 이므로 먹은물 수질기준 0.07 mg/L 보다 낮다. 따라서 수중에서 carbaryl 농약을 검출 할 수 있다.

자연계 시료에서 AChE의 저해가 나타나서 건식 Kit가 무색이 된다면 AChE 저해물

질이 함유되어 있다는 의미이다. 여기에는 AChE의 저해에 특이성이 있는 carbamate계 농약이 존재할 가능성이 있다는 증거이다. 따라서 건식 Kit에 저해가 나타난다면 다른 기기분석적인 방법으로 carbamate계 농약의 농도를 측정하면 될 것이다.

Table 2. Detection of carbamate with dry kit.

Con. (mg/L)	0	0.0001	0.0005	0.001	0.01	0.05	0.1	0.5	1	5	1	5	10	50	500	1000
Cabaryl	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cabofuran	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

#### 4. 요약

Enzyme inhibition기술을 이용한 습식 및 건식 kit는 carbamate계 농약의 잔류를 검출 하는데 매우 민감하므로, carbamate계 잔류농약을 신속하게 검색할 수 있다. 즉 AChE 효소를 이용한 습식 및 건식 kit로 carbamate계 농약을 검출 할 수 있다.

따라서 빠르고 간편하게 carbamate계 농약을 검출하기 위한 습식 kit 및 건식 kit로 상업화 할 수 있다.

#### 5. 감사의 글

본 연구는 대구·경북지방중소기업 2003년 산학연 공동기술개발 컨소시엄 과제로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

- 김정호, 2001, Cholinesterase 저해 활성을 이용한 유기인계 농약의 효소적 분석, 농약과학회지, 5, 12-18.
- Ellman, G. L., K. D. Courtney, Jr. V. Andres and R. M. Featherstone, 1961, A new and rapid calorimetric determination of acetylcholinesterase activity, Biochem. Pharmacol., 7, 88-95.