



Residual characteristics of insecticide flubendiamide in kale

Hyun-Jin Kim¹ · Kyu-Won Hwang² · Jung-Hun Sun³ · Tae-Hyun Lee⁴ ·
Kyoung-Su Jeong⁴ · Joon-Kwan Moon²

케일 중 살충제 Flubendiamide의 잔류 특성

김현진¹ · 황규원² · 선정훈³ · 이태현⁴ · 정경수⁴ · 문준관²

Received: 18 July 2022 / Accepted: 9 August 2022 / Published Online: 30 September 2022
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2022

Abstract This study was carried out to investigate the residual characteristics of flubendiamide in kale to establish pre-harvest residue limits (PHRL) and the removal efficiency according to the washing solvent and method. Field tests were conducted at two different greenhouses, field 1 (Anseong-si, Gyeonggi-do) and field 2 (Incheon-si, Gyeonggi-do). According to the safe use guidelines kale was sprayed with flubendiamide twice every 10 days and harvested 0 (after 2 h), 1, 2, 3, 5, 7 and 10 days after the final application. The biological half-life of flubendiamide in kale was calculated based on dissipation curves of the pesticide in samples analyzed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. In the analysis, method limits of quantitation (MLOQ) were 0.01 mg/kg, and recoveries performed with two

different fortification levels of 10 MLOQ and maximum residue limit (0.7 mg/kg) were 104.2±3.6 and 101.9±10.2%, respectively. The dissipation rate constant of flubendiamide in kales were 0.2437 at field 1 and 0.1981 at field 2. PHRL calculation equations obtained using the dissipation constants estimated as follows: if the residual concentration of flubendiamide in kale on 10 days before harvest is less than 8.0 mg/kg, the residual concentration on the harvest would be under MRL. The removal of flubendiamide from kale was the greatest when it was washed with vinegar (39.8%), followed by baking soda (31.7%), calcium powder (30.2%), neutral detergent (27.2%), and tap water (15.9%). The results of this study would be useful for both farmers and consumers to produce or consume safe agricultural products.

Hyun-Jin Kim and Kyu-Won Hwang are contributed equally to this work.

Joon-Kwan Moon (✉)
E-mail: jkmoon@hknu.ac.kr

¹Joint Experimental Laboratory, Hankyong National University, Anseong 17579, Republic of Korea

²Department of Plant Resources and Landscape Architecture, Hankyong National University, 327 Jungang-ro, Anseong 17579, Republic of Korea

³Hansalim Agro-Food Analysis Center, Hankyong National University Industry Academic Cooperation Foundation, Suwon 16500, Republic of Korea

⁴Enbio Co., Ltd. Life Science Research Center, 37-20 Beonyeong-ro, Gunpo 18850, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Keywords Biological half-lives · Flubendiamide · Pre-harvest residue limits · Washing

서론

농약은 농산물 생산량과 품질 향상을 위해 작물 재배기간동안 병해충이나 작물의 성장에 영향을 미치는 잡초를 적절하게 통제하기 위하여 사용된다[1]. 하지만 농작물에 잔류된 농약은 만성독성학적 위해가능성을 내포하고 있으며, 소비자가 식품으로써 직접 섭취할 수 있기 때문에 건강상의 문제를 야기할 수 있다[2,3]. 따라서 국가에서 국제적 수준을 반영하여 농약성분 및 작물별로 잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)을 설정하고, 농약 잔류량이 허용치를 초과하지 않도록 농약의 사용빈도, 사용방법, 처리시기 등을 제시하는 작물별 안전사용기준을 수립하여 농산물의 안전성을 확보하고 있다[4,5]. 농산물에

대한 잔류농약 검사는 수확 후나 유통단계에서 이뤄지는데, 기준을 초과하여 부적합 판정을 받은 농산물의 경우 폐기처분 되어 생산자인 농민에게 막대한 경제적 손실이 발생할 수 있다 [2]. 또한, 전수조사의 어려움으로 안전성 평가에서 누락되는 업체 채류와 같은 신선농산물이 많아 이 것들이 유통될 경우 위해성을 초래할 수 있다 [3,6].

이에 식품의약품안전처에서는 농산물의 사전 예방적 안전관리를 위하여 작물 수확 시 잔류농약이 MRL을 초과하지 않도록 생산단계 잔류허용기준(Pre-Harvest Residue Limit, PHRL)을 추가로 설정하고 있다. PHRL은 시간에 따른 잔류농약의 소실특성을 토대로 출하예정일에서 출하 10일전까지 일차별 농약잔류기준을 임의로 추정할 수치로 농약안전사용기준 및 MRL이 설정되어 있는 농약 및 농산물에 한해 설정하고 있다 [6].

케일(*Brassica oleracea* L.var. *acephala* Alef)은 대표적인 십자화과 작물 중 하나로 세계보건기구(WHO)가 ‘최고의 채소’라고 평가할 만큼 영양학적 가치가 뛰어나며, 비타민 A, glucosinolate, 페놀 화합물 등이 풍부하여 건강 기능성 식품으로 각광받고 있어 소비량이 증가되고 있는 추세이다 [7]. 노지와 시설 모두에서 재배가 이루어지고 있으며, 2020년 국내 재배 면적은 27 ha, 생산량은 2,545 ton으로 나타났다 [8].

Flubendiamide [3-iodo-*N*-(2-mesy-1,1-dimethylethyl)-*N*-{4-[1,2,2,2-tetrafluoro-1-(trifluoromethyl)ethyl]-*o*-tolyl}phthalimide]는 diamide계 살충제로 물리화학적 성질은 Table 1과 같으며 [9], 근육세포에 작용하는 기작으로 신경근 접합부의 근육 운동종판에 존재하는 Ca²⁺ 이온 통로의 일종인 라이아노딘(ryanodine) 수용체를 저해하여 근육수축에 필요한 Ca²⁺의 고갈을 초래, 근육을 마비시키고 치사에 이르게 한다 [10]. Flubendiamide는 2019년 경기도내 경매·유통된 농산물에 대한 잔류농약 검사결과 MRL초과 빈도가 높았던 상위 15개 성분 중 하나였으며 [11], 케일에서 파밤나방 방제를 위해 사용되고 있다 [12]. 케일 중 flubendiamide의 MRL은 0.7 mg/kg으로 설정되어 있지만 PHRL은 설정되어 있지 않아 PHRL 제안을 위한 연구가 필요하다 [13].

케일은 주로 쌈채소, 녹즙용 채소로 먹는 농산물이기 때문에

단순 세척 후 바로 섭취하는 경우가 많으므로 껍질 제거 후 섭취하는 농산물이나 가열 조리 후에 먹는 채소에 비하여 잔류농약으로 인한 위해 가능성은 훨씬 크다고 볼 수 있다 [14]. 따라서 세척 과정에서의 잔류농약의 제거에 대한 평가는 실질적인 농약 섭취량과 연관성이 크기 때문에 소비자의 안전성 측면에서 매우 중요하다고 할 수 있다.

따라서 본 연구는 케일을 대상으로 살충제 flubendiamide를 살포하여 일차별로 잔류수준을 분석하고, 이에 대한 통계학적 유의성이 인정되는 잔류감소 회귀식과 감소수준을 산출하여 케일에 대한 flubendiamide의 PHRL을 제시하고자 하였다. 또한 칼슘과우더, 식초, 중성세제 및 베이킹 소다와 같은 4가지 세척 보조제를 이용하여 세척에 따른 케일 중 잔류하는 flubendiamide의 제거율을 산출하여 효과적인 세척법을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 초자

Flubendiamide의 분석용 표준품(99.4%)은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Acetone, acetonitrile, dichloromethane, *n*-hexane은 Brudick & Jackson (Muskegon, MI, USA)의 HPLC급을 사용하였으며, sodium chloride와 sodium sulfate anhydrous는 Samchun Chemical의 GR (Guaranteed Reagent)급을 사용하였다. 증류수는 초순수 제조장치 Zener Power II (Seoul, Korea)를 이용하여 18.2 MΩ의 저항값을 갖는 3차 증류수를 사용하였다. 수확한 케일 시료는 Blender (NFM-8860, NYC, Daegu, Korea)를 이용하여 마쇄하였고, 진탕기 (SK600, Lab. companion, Daejeon, Korea)로 추출하였다. 감압 농축기(EYELA, Japan)와 질소농축기(Hurricane-Lite, Cheongmin Tech, Seoul, Korea)는 시료 추출액의 농축을 위해 사용하였다. 살포용 농약제품은 flubendiamide 20% 액상수화제로 SG한국삼공의 제품(‘애니충’)을 시중 농약사에서 구입하였다.

Table 1 Physico-chemical properties of flubendiamide

Chemical structure	
Molecular weight	682.4 g/mol
IUPAC name	3-iodo- <i>N</i> -(2-mesy-1,1-dimethylethyl)- <i>N</i> -{4-[1,2,2,2-tetrafluoro-1-(trifluoromethyl)ethyl]- <i>o</i> -tolyl}phthalimide
Solubility	Water (mg/L, 20-25 °C) 0.0299 Organic solvent (g/L, 20-25 °C) ; in acetone (102), 1,2-dichloroethane (8.12), ethyl acetate (29.4), <i>n</i> -heptane (0.000835), methanol (26), <i>p</i> -xylene (0.488)
Stability	Stable in acidic and alkaline media (pH 4-9).
Log <i>K</i> _{ow}	4.2

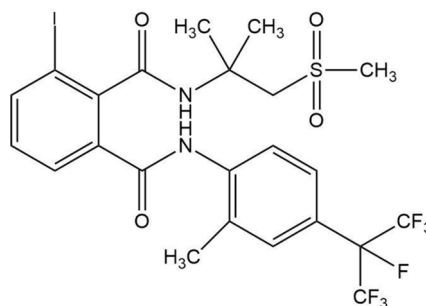


Table 2 Safe use guidelines of a commercial product of flubendiamide for application to Kale

Insecticide	Formulation type	A.I. ^{b)} (%)	Dilution (g in 20 L)	PHI ^{c)} (day)	MAF ^{d)} (time)
Flubendiamide	SC ^{a)}	20	6.6	2	2

^{a)}Suspension Concentrate
^{b)}Active ingredient contents
^{c)}Pre-Harvest Interval
^{d)}Maximum Application Frequency

포장시험

포장시험은 포장 간 변이를 반영하기 위해 위도가 서로 다르고 직선상의 거리가 최소 20 km 이상 떨어진 지역으로, 경기도 안성시(포장 1) 및 경기도 이천시(포장 2)에 위치한 시설재배 하우스로 선정하였다. 공시 농작물인 케일은 포장 1에서 ‘넘버원’ (사카타 코리아), 포장 2에서 ‘젤루존’ (아시아중묘) 품종을 사용하였고, 2020년 2월 21일(포장 1) 및 2020년 2월 9일(포장 2)에 모종을 정식한 후 시설재배 하였다. 각 시험포장에 무처리 및 약제살포 시험구(각 10 m²)를 각각 3반복 배치하고 반복간 교차오염을 방지하기 위해 1 m의 완충지대를 두었다. 재식밀도는 10 cm×10 cm (포장 1) 및 15 cm×15 cm (포장 2)이었다. 공시 약제인 flubendiamide 20% 액상수화제를 3,000배 희석(4 mL/12 L)하여 조제한 후 2구 노즐의 전동식 분무기(MSB205Li, MARUYAMA, Tokyo, Japan)를 사용하여 1 L/min의 유속으로 (3.4 kgf/cm²) 10일 간격 2회 살포하였다(Table 2). 살포 날씨는 포장 1에서 2020년 3월 20일 및 3월 30일, 포장 2에서 2020년 3월 24일 및 4월 3일이었다. 최종 약제살포 후 0 (약제 살포 후 2시간), 1, 2, 3, 5, 7, 10 일차에 일정한 크기의 케일 시료를 각 반복구당 1 kg 이상씩 채취(포장 2의 3일차 시료는 세척시험을 위하여 3 kg 채취)하여 크라프트 종이백에 담아 실험실로 운반하였다. 시료는 채취한 상태 그대로 개별무게를 측정 후, 드라이아이스를 첨가하여 믹서기로 균질화한 후 분석 전까지 냉동고(-20 °C 이하)에 보관하였다. 재배 기간 중 비닐 하우스 내의 온도 및 습도 측정은 온습도 data logger (EL-USB-2-LCD, LASCAR, Erie, PA, USA)를 하우스 중심부에 설치하여 측정하였다.

표준용액 조제 및 검량선 작성

Flubendiamide 표준품(99.4%) 10.06 mg을 칭량하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 acetonitrile로 정용하여 1000 mg/L 농도의 stock solution을 조제하였다. 이 표준용액을 acetonitrile로 희석하여 100 mg/L의 표준용액을 만들고, 이 중 1 mL를 취하여 질소농축기(Hurricane-Lite, Cheongmin Tech, Seoul, Korea)를 사용하여 농축한 후 무처리 시료 10 mL로 재용해하여 10 mg/L의 matrix-matched 표준용액을 제조하였다. 이와 같이 제조한 matrix-matched 표준용액을 무처리 시료를 사용하여 단계적으로 희석하여 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 0.8 mg/L의 working solution을 제조한 후, 2 µL씩을 LC-MS/MS에 주입하여 나타난 chromatogram 상의 peak 면적을 토대로 표준검량선을 작성하였다.

분석정량한계(MLOQ)

기기정량한계(Instrumental limit of quantitation, ILOQ)는 크로마토그램상의 signal to noise ratio (S/N)가 10 이상인 농도로, 주입량을 곱하여 최소검출량 (minimum detectable amount,

MDA)을 산출하였으며, 분석법의 정량한계(Method limit of quantitation, MLOQ)는 시료 전처리 및 분석과정을 통틀어 전체 분석법을 통해 시료 내의 분석물질을 정량할 수 있는 한계치로써, 분석기기의 정량한계, 시료주입량, 시료채취량, 최종 시험용액량 및 분석조작에 따른 희석 또는 농축배수를 고려하여 아래의 계산식에 의해 산출하였다.

$$MLOQ (mg/kg) = \frac{MDA (ng) \times Final\ volume (mL) \times Dilution\ factor}{Injection\ volume (\mu L) \times Sample\ weight (g)}$$

케일 중 flubendiamide의 잔류분석

균질화한 케일 시료 20 g을 취하여 100 mL의 acetonitrile를 첨가하고 200 rpm으로 30분간 진탕기(SK600, Lab. companion, Daejeon, Korea)로 추출하였다. 진탕 추출액을 Advantac No. 2 filter paper로 흡인여과하고 여분의 50 mL acetonitrile로 용기를 씻어 내려 앞의 여과액과 합하였다. 여과액을 1000 mL 분액여두에 옮긴 후 50 mL 포화식염수와 450 mL 증류수를 가하고 dichloromethane 70 mL로 2회 분배하였다. 이 중 유기용매층을 20 g의 anhydrous sodium sulfate에 통과시켜 수분을 탈수시키고 40 °C 수욕상에서 감압농축기(Eyela, Tokyo, Japan)로 농축한 후 acetone/n-hexane (10/90, v/v) 5 mL에 재용해하고 이 중 1 mL를 취하여 정제를 실시하였다. Chromatography column (14 mm i.d×400 mm)에 130 °C에서 12시간 가열하여 흡착표면 중 수분을 제거하여 활성화 시킨 florsil (10 g)을 습식 충전한 후, 상단에 sodium sulfate anhydrous를 100 mm 높이로 충전하고, 50 mL n-hexane으로 씻어버렸다. 이후 acetone/n-hexane (10/90, v/v) 5 mL에 재용해한 시료 중 1 mL를 적하하고, acetone/n-hexane (15/85, v/v) 100 mL로 용출시켜 흘려버린 후, acetone/n-hexane (25/75, v/v) 100 mL로 받아 감압농축 하였다. 농축 직후 잔사를 acetonitrile 4 mL에 재용해하여 2 µL씩 LC-MS/MS에 주입하여 나타난 chromatogram상의 peak area를 표준검량선과 비교하여 잔류량을 산출하였으며 분석조건은 Table 3와 같다.

회수율 시험

균질화된 무처리 케일 시료 20 g에 flubendiamide 10 mg/L의 표준용액을 이용하여 MLOQ 및 MRL 수준(0.7 mg/kg)이 되도록 각각 처리한 후 상기 분석과정을 수행하여 회수율 및 변이계수(Coefficient of variance, CV)를 산출하였다.

생물학적 반감기 및 PHRL 산출

최종 약제 살포일로부터 경과 일수에 따른 농약잔류량을 단순 1차 감쇄반응으로 해석하여 회귀식 $C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$ (C_t : 잔류량, C_0 :

Table 3 LC-MS/MS conditions for the flubendiamide

Instrument	Shimadzu LCMS-8040 with Nexera XR
Column	Shiseido CAPCELL CORE C18 (150×2.1 mm, 2.7 μm)
Mobile Phase	A: 0.1% Formic acid in distilled water B: 0.1% Formic acid in acetonitrile A/B=40/60
Flow rate	0.2 mL/min
Ionization mode	ESI Negative (-)
Column temp	40 °C
Heat block temperature	400 °C, DL temperature: 250 °C
Injection volume	2.0 μL

MRM Condition

Analyte	Precursor ion (m/z)	Quantitation ion (m/z)	CE (v)	Quantifier ion (m/z)	CE (v)
Flubendiamide	680.9	254.15	27.0	274.2	16
				272.05	17

초기농도, k : 감소상수, t : 시간)을 산출한 뒤 k 값을 이용하여 생물학적 반감기($t_{1/2}$)를 $\ln(2)/k$ 식으로 계산하였다. 회귀식의 통계학적 유의성을 검증하기 위해 상관계수의 제곱인 결정계수 (coefficient of correlation, R^2)와 분산분석을 거쳐 F -검정을 수행하였다. 유의성이 인정되는 회귀계수는 95% 신뢰수준에서 상한값과 하한값을 나타내는데, 농산물을 이용하는 소비자들의 농약으로부터의 안전을 위하여 이중 회귀계수의 하한값을 감소상수로 결정하였다. 또한 하한값의 감소상수를 이용하여 출하일의 잔류량을 국내 식품의약품안전처의 식품공전 중 케일에 대한 잔류허용기준인 0.7 mg/kg으로 대입한 후 출하 전 10일까지의 일자별 잔류량을 추정, 산출하여 PHRL을 설정하였다. 앞선 모든 통계 분석은 식품의약품안전처에서 제공한 잔류성 시험성적 회귀분석 검증표를 이용하였다.

$$PHRL = MRL (0.7 \text{ mg/kg}) \times e^{kt}$$

세척 시험

세척시험에는 포장 2의 3일차 케일 시료가 사용되었으며, 수돗물 세척 실험은 수돗물 6L가 채워진 세척조에 케일 시료를 1분간 침지하여 손으로 문지르며 케일의 앞·뒷면을 세척한 후 0.1 L/s의 유속으로 흐르는 물에 30초씩 두 번 세척하여 사용하였다. 베이킹소다, 칼슘파우더, 중성세제, 식초를 이용한 세척 실험은 6L의 수돗물에 베이킹소다(한입 100%, LG 생활건강), 칼슘파우더(리노베라, 에코바이오텍), 중성세제(살림백서 주방세제, 제이엔케이코스) 및 식초(양조식초, 오투기)를 각각 60, 3, 9 g 및 300 mL를 추가한 후 수돗물 세척과정과 동일하게 진행하였다. 세척액의 제조는 제품설명에 표기되어 있는 사용방법과 Ahn 등[15]의 실험방법을 참고하였으며 제거율은 세척 전 시료에서의 농약잔류량과 세척 후 농약잔류량 사이의 감소비율을 이용하여 산출하였다.

결과 및 고찰**재배기간 중 온습도 및 케일의 중량 변화**

케일 재배 기간 동안 비닐하우스의 온도 및 습도는 포장 1의 경우 9.9-15.8 °C 및 52.6-83.4% 범위였고, 포장 2의 경우 10.8-19.3 °C 및 50.4-83.9% 범위로 유사하였다(Fig. 1). 최종 약제살포일로부터 살포 후 10일까지의 평균 무게변화율 1.1% 및 1.0%로 일정한 크기의 케일을 채취하였음을 확인하였다(Fig. 2).

분석법의 검증

케일 중 flubendiamide의 분석을 위한 표준검량선의 직선성과 상관계수는 $y = 779,718.9x + 6,416.2$ ($r^2 = 0.999$)으로 높은 직선성을 보여 정량분석에 적합하였다. 크로마토그램 상 flubendiamide의 머무름 시간은 5.57 min이었으며 케일에서 유래되는 간섭물질이 존재하지 않음을 확인하였다(Fig. 3). 잔류분석법에 따른 회수율시험 결과, 0.1 (10 MLOQ) 및 0.7 mg/kg (MRL) 두 수준에서 각각 104.2±3.6 및 101.9±10.2%로 나타나(Table 4), 농약의 등록시험 기준과 방법에서 권고하는 회수율 70~120%, 변이계수(Coefficient of variation, C.V.) 20% 이내를 만족하였다. 케일 중 flubendiamide의 MLOQ

$$0.01 \text{ (mg/kg)} = \frac{0.02 \text{ (ng)} \times 4 \text{ (mL)} \times 5}{2 \text{ (}\mu\text{L)} \times 20 \text{ (g)}}$$

케일 재배기간 중 잔류량 변화

재배기간 동안 flubendiamide 액상수화제를 10일 간격 2회 살포한 후 일정 간격마다 시험농약의 잔류량을 측정하여 잔류 감소 양상을 분석하였다. 포장 1 및 포장 2에서 0일차 평균 잔류량은 3.00±0.91 및 6.47±0.39 mg/kg로 MRL을 초과하였으나

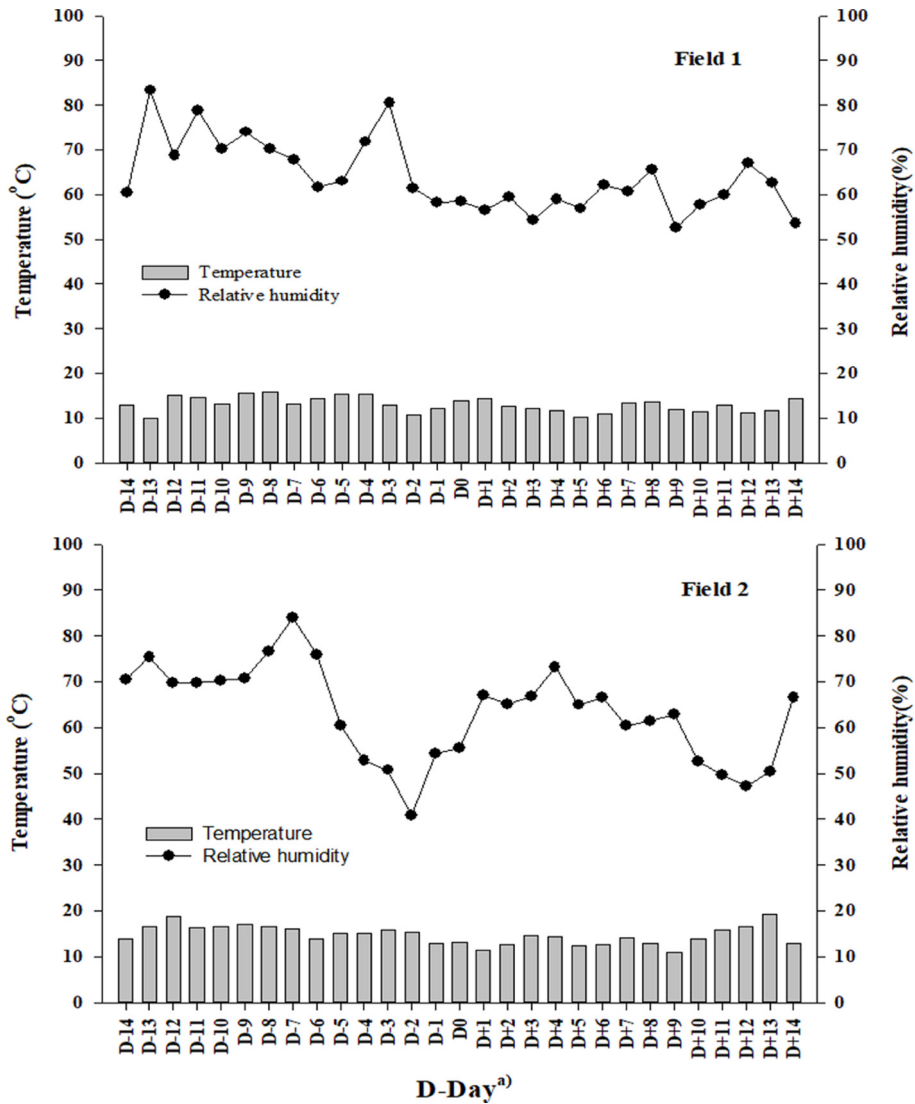


Fig. 1 Temperature and humidity of the greenhouse during the experiment. ^{a)}Harvest day

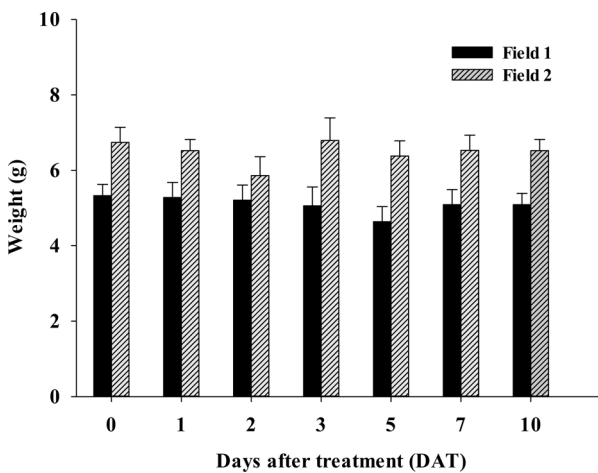


Fig. 2 Weight of Kale in field 1 and field 2 in time-dependent manners

10일차 평균 잔류량은 0.17 ± 0.04 및 0.59 ± 0.08 mg/kg로 초기 잔류량 대비 각각 94.3, 90.9% 감소하였다(Fig. 4). 포장 1에 비하여 포장 2에서 초기 부착량이 2배 이상 높게 나타났는데, 작물 중 농약의 초기 부착량은 다양한 요인(살포액의 특성, 살포량, 살포입자크기, 부착입자의 분포, 살포장비, 기후조건, 재식 밀도, 생육단계 그리고 작물의 품종 등)에 의해 결정되기 때문에 특정요인에 의한 것이라 단정짓기는 어렵다[6,16]. 하지만 본 연구에서는 재식밀도 및 품종의 차이를 제외하고는 모두 유사한 조건이었기 때문에 이 2가지 요인이 크게 작용한 것으로 생각된다. 포장 1의 경우 재식밀도가 높아 잎끼리 서로 가려져 있어 잎이 더 퍼져 있는 포장 2에 비해 농약의 부착량이 더 적었을 것으로 생각된다. 또한 포장 1의 ‘넘버원’ 품종 보다 포장 2의 ‘셀루존’ 품종의 잎맥이 더 발달되어 있음을 육안으로 확인할 수 있었다(Fig. 5). Lee 등의 연구[17]에 따르면 참외와 멜론에 살포된 tebufenpyrad와 myclobutanil의 약제 살포 직후 농약의 부착량은 멜론이 참외보다 2.4-2.6배 더 높았는데, 이는 멜

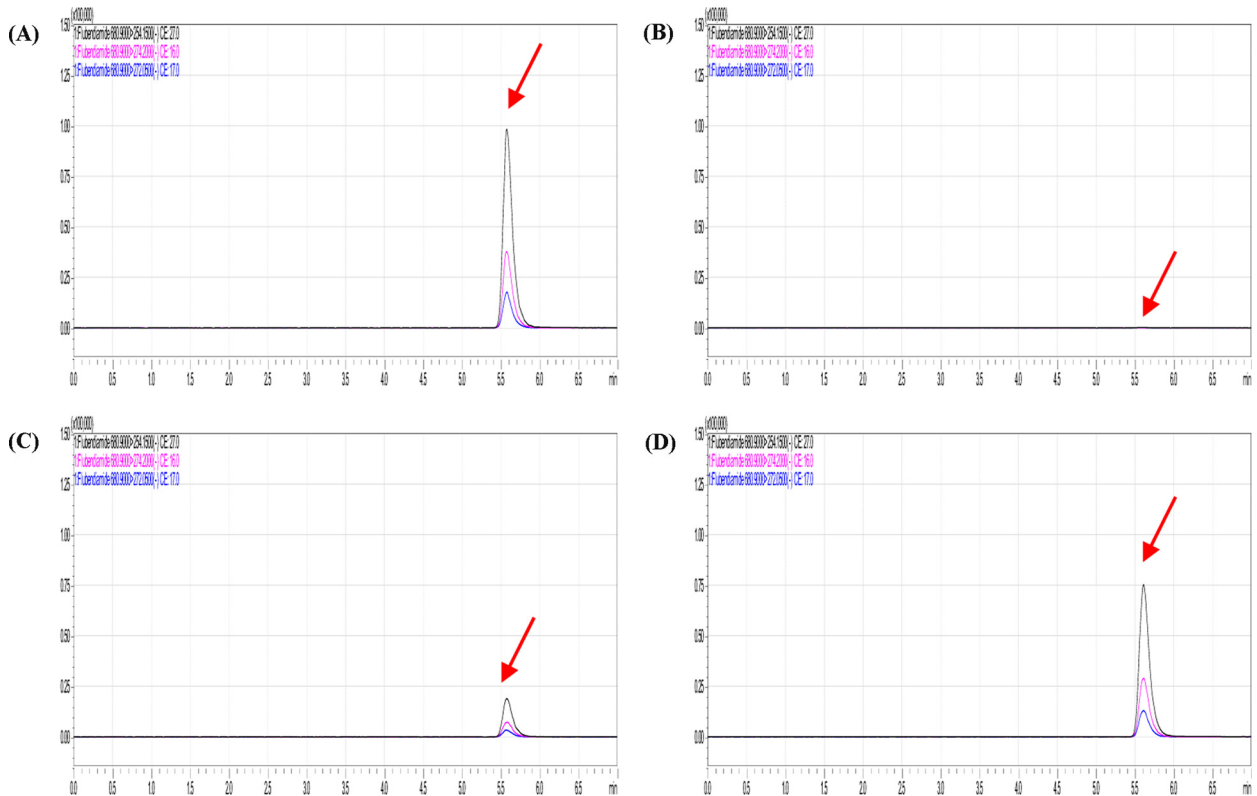


Fig. 3 Analyzed chromatograms by LC-MS/MS [A, 1 ng of flubendiamide standard; B, control; C, 10 MLOQ (fortified at 0.1 mg/kg); D, Kale sample from 0 day after treatment in field 1 (10-fold dilution)]

Table 4 Recoveries and MLOQ for flubendiamide in Kale

Insecticide	MLOQ ^{a)} (mg/kg)	Fortified level (mg/kg)	Recovery (%)	
			Mean ± SD ^{b)}	CV ^{c)}
Flubendiamide	0.01	0.1	104.2±3.6	3.5
		0.7	101.9±10.2	10.0

a) Method limit of quantitation

b) Standard deviation

c) Coefficient of variation

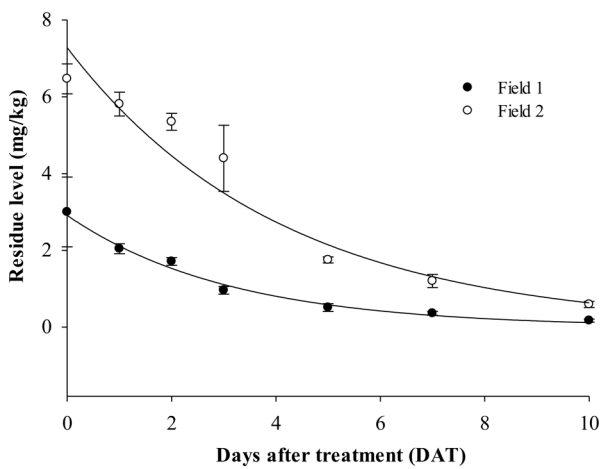


Fig. 4 Residual concentrations of flubendiamide in Kale during the experimental period

론 표면 그물망(net)이 스폰지와 같은 역할을 하여 농약 살포액이 그물망에 스며들기 때문이라 보고한 바 있다. 이와 같이 케일 중 초기 부착량의 차이도 품종에 따른 표면특성의 차이로 발생된 것으로 사료된다.

Flubendiamide의 생물학적 반감기

시간경과에 따른 케일 중 flubendiamide의 잔류소실 특성을 확인하기 위해 일자별 잔류량을 토대로 단순회귀분석을 수행하였으며 잔류농약의 감소상수 및 생물학적 반감기를 산출하였다. 상관계수의 제곱인 결정계수(R^2)와 분산분석을 거쳐 F -검정 및 t -검정을 수행한 결과, 통계학적 유의성이 95% 신뢰수준에서 인정되었다. PHRL 산출을 위한 감소상수는 신뢰구간 중 하한값으로 결정하였고, R^2 는 모두 0.9 이상으로 높은 상관관계를 나타냈으며(Table 5), 회귀식에 의해 산출된 케일의 재배기간 중 생물학적 반감기는 각각 2.4일, 2.7일이었다. Park 등의 연구[18]에 따르면 들깨잎과 같이 단기간에 성장이 빠른 작물의 경우

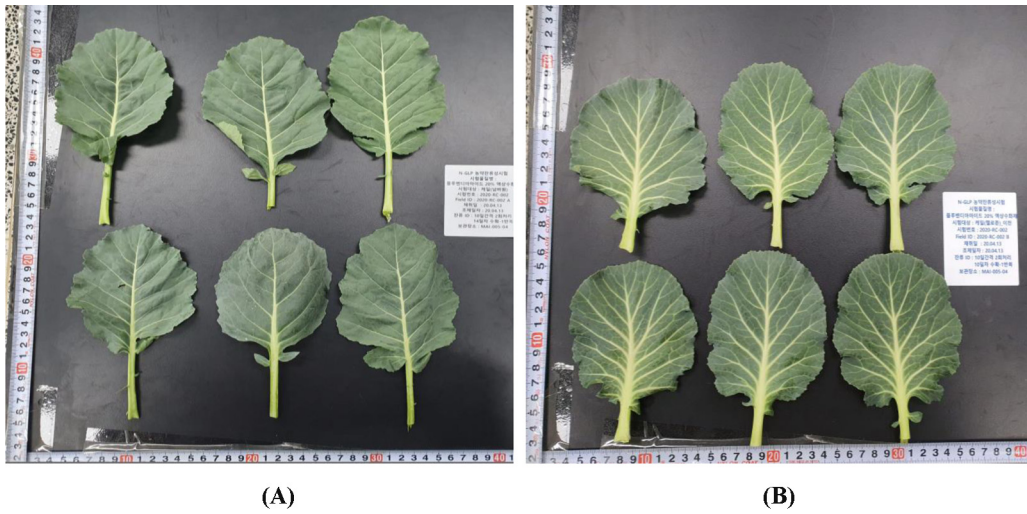


Fig. 5 Shape of Kale (A, field 1; B, field 2)

Table 5 Regression for the dissipation of flubendiamide residues in Kale

Field	Regression curve	r ²	Decay coefficient (day ⁻¹)	
			k ^{a)}	Min. of 95% confidence ^{b)}
Field 1	y = 2.6874e ^{-0.2892x}	0.9816	0.2437-0.3347	0.2437
Field 2	y = 7.8527e ^{-0.2600x}	0.9589	0.1981-0.3218	0.1981

a) Dissipation rate constant

b) Minimum value of the 95% confidence limit

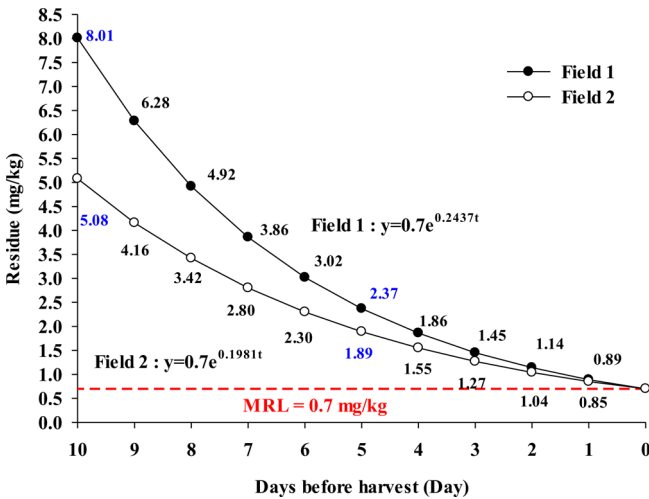


Fig. 6 Pre-harvest residue levels of flubendiamide on Kale

작물 중 잔류농약의 반감기에 영향을 미치는 가장 큰 요인을 작물의 비대생장으로 보고한 바 있다. Yang 등의 연구[19]에서도 브로콜리처럼 일자별 급격한 성장률을 보이는 작물의 경우 증체로 인한 희석효과를 농약 잔류량 소실특성의 주요 원인으로 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 일자별로 일정한 무게의 케일 시료를 채취하였기 때문에 작물 비대생장에 의한 농약잔류량의 희석효과는 없을 것으로 판단된다.

PHRL 산출

수확일의 잔류농도를 MRL로 가정하고 감소상수를 PHRL 식에 대입하여 수확전 일자별 PHRL을 산출하였다. 케일 수확 10일 전 잔류량이 5.08-8.01 mg/kg 또는 5일전에 1.89-2.37 mg/kg 이하라면 수확시 flubendiamide의 잔류농도가 MRL 수준 이하로 잔류할 것으로 예측된다(Fig. 6). 이상의 결과를 활용한다면 출하 전 부적합 농산물의 유통을 차단함으로써 소비자에게 안전한 농산물을 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

세척과정별 케일 중 잔류농약 제거효과

포장 2의 3일차 케일 시료의 평균 잔류량은 4.40±0.86 mg/kg이었으며, 4가지 세척용매에 의한 농약 제거율은 식초(39.8%)>베이킹소다(31.7%)>칼슘파우더(30.2%)>중성세제(27.2%)순으로 높았으며, 모두 수도물(15.9%)을 사용하였을 때 보다 더 효과적으로 잔류농약을 제거하는 것을 확인하였다(Table 6). Kelageri 등[20]이 수행한 토마토 중 flubendiamide의 세척 용매별 경감 실험에서 수도물을 이용하였을 때 잔류량은 17.7% 감소하였고 세제를 이용한 경우 잔류량의 감소율은 39.75-65.39%로 나타나 본 연구결과와 유사함을 알 수 있었다. Ku 등[21]의 첨가제액 처리에 의한 chlorpyrifos 외 5종의 잔류농약 저감효과 실험결과 0.5% 세제액(82.9%)>5% 식초액(76.9%)>5% 소금물(75.8%)>5% 밀가루액(75.7%) 순으로 나타나 수도물 세척(68.3%)보다 첨가제를 사용하여 세척한 것이 더 높은 제거율을 보였다. 또한, Lee의 연구[22]에서 사과 외 17종의 농산물에 대해 세제에 의한 제거율이 수세에 의한 것보다 평균 10%가량 더 높았고,

Table 6 Removal efficiency of flubendiamide residues from Kale by washing with various washing aids

Washing aids	Residue concentration (mg/kg)	
	Mean \pm SD	Removal rate(%)
No washing	4.40 \pm 0.86	-
Tap water	4.26 \pm 0.17	15.9
Baking soda	3.70 \pm 0.13	31.7
Neutral detergent	3.47 \pm 0.12	27.2
Calcium powder	3.54 \pm 0.24	30.2
Vinegar	3.05 \pm 0.03	39.8

표면이 매끈한 것보다 거칠거칠한 것에서 효과가 좋았다고 보고한 바 있으며, 세제 세척에 의한 농약의 제거율이 높은 이유는 계면활성제의 작용에 의한 것으로 지용성 농약 성분을 유화시켜 표면장력을 저하시켜 세척하는 효과를 나타내기 때문이라고 하였다. 세척에 의한 잔류농약의 제거율은 농약의 화학적 성질, 대상작물의 특성 및 세척시간과 방법에 따라 크게 달라지므로 본 연구대상 외의 농약과 농산물을 대상으로 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

초 록

본 연구는 케일 중 flubendiamide의 잔류 특성을 조사하여 생산단계 잔류허용기준(PHRL, Pre-Harvest Residue Limit)을 설정하고자 하였으며, 세척용매 및 세척방법에 따른 제거효율을 알아보기 위해 수행되었다. 포장 시험은 포장 1 (경기도 안성시)과 포장 2(경기도 이천시)의 시설재배 하우스 두 곳에서 실시하였다. 농약의 안전사용기준에 따라 10일간격 2회 살포하고 0 (2시간 후), 1, 2, 3, 5, 7, 10일차에 수확하였다. Flubendiamide의 생물학적 반감기는 액체 크로마토그래피와 탠덤 질량분석기(LC-MS/MS)를 결합하여 분석한 시료 중 농약의 소실곡선으로부터 산출되었다. 분석법상의 정량한계(MLOQ)는 0.01 mg/kg 이었으며, 10 MLOQ 및 MRL (0.7 mg/kg) 두 수준에서 회수율 시험을 한 결과 각각 104.2 \pm 3.6, 101.9 \pm 10.2%의 회수율을 나타냈다. 케일 중 flubendiamide의 감소상수는 포장 1에서 0.2437, 포장 2에서 0.1981이었다. 감소상수를 사용하여 얻은 PHRL 계산식은 다음과 같이 추정되었다: 수확 10일전 잔류농도가 8.0 mg/kg 미만이라면 수확일의 잔류농도는 MRL 수준 이하일 것으로 판단된다. 세척에 의한 flubendiamide의 평균 제거율은 식초(39.8%)로 세척하였을 때 가장 높았고, 베이킹소다(31.7%), 칼슘파우더(30.2%), 중성세제(27.2%), 수돗물(15.9%) 순이었다. 본 연구의 결과는 농민과 소비자 모두에게 안전한 농산물을 생산하거나 소비하는데 유용할 것 이다.

Keywords 생물학적 반감기 · 생산단계 잔류허용기준 · 세척 · 플루벤디아마이드

감사의 글 본 연구는 2020년도 식품의약품안전처의 연구개발비(20162농축산602)와 환경대학교 연구역량 장학금 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Park HK, Noh HH, Lee KH, Lee JY, Park YS, Kang KW, Lee EY, Yun SS, Jin CW, Kyung KS (2011) Residual Characteristic of Chlorpyrifos in Squash and Estimation of Its Residues Before Harvest. *Korean J Pestic Sci* 15(4): 463–470
- Lee JH, Park HW, Keum YS, Kwon CH, Lee YD, Kim CH (2008) Dissipation Pattern of Boscalid in Cucumber under Greenhouse Condition. *Korean J Pestic Sci* 12(1): 67–73
- Choung MG, Ahn KG, Kim GP, Hwang YS, Kwon CH, Kang IK, Lee YD (2016) Dissipation Pattern of a Fungicide Mandipropamid in Korean Cabbage at Different Harvest Times under Greenhouse Conditions. *Korean J Hort Sci Technol* 34(4): 644–654. doi: 10.12972/kjhst.20160066
- Na ES, Lee YJ, Kim KJ, Kim SS, Lee KS (2013) Establishment of Pre-Harvest Residue Limits of Clothianidin and Thiacloprid in Ginseng. *Korean J Pestic Sci* 17(3): 155–161. doi: 10.7585/kjps.2013.17.3.155
- Lee DY, Jeong DK, Choi GH, Lee DY, Kang KY, Kim JH (2015) Residual characteristics of bistrifluron and fluopicolide in Korean cabbage for establishing pre-harvest residue limit. *Korean J Pestic Sci* 19(4): 361–369. doi: 10.7585/kjps.2015.19.4.361
- Yang SH, Lee JI, Choi H (2020) Dissipation characteristics of mandipropamid and thiamethoxam for establishment of pre-harvest residue limits in lettuce. *J Appl Biol Chem* 63(3): 267–274. doi: 10.3839/jabc.2020.036
- Lee MJ, Lim SY, Kim JK, Oh MM (2012) Heat Shock Treatments Reduce the Accumulation of Phytochemicals in Kale Sprouts. *Korean J Hort Sci Technol* 30(5): 509–518. doi: 10.7235/hort.2012.12094
- Ministry of Agriculture Food and Rural Affairs (2021) Facility Greenhouse Status and Vegetable Production Performance for 2020. Sejong-si
- Turner JA (2018) In the Pesticide Manual 18th edition, British Crop Production Council, Hampshire, England. pp.496–497
- Kim JE, Kim JH, Lee YD, Lim CH, Hur JH, Jeong YH, Kyung KS, Kim IS, Kim JH, Moon JK, Park HM, Yoo OJ, Choi H, Hong SM (2020) The latest agricultural chemistry 2nd. Sigmappress, Seoul, Korea, pp 1–6, 189–191
- Song SH, Kim KY, Kim YS, Ryu KS, Kang MS (2021) Comparative Analysis of Pesticide Residues in Agricultural Products in Circulation in Gyeonggi-do Before and After Positive List System Enforcement. *J Food Hyg Saf* 36(3): 239–247. doi: 10.13103/JFHS.2021.36.3.239
- Rural Development Administration (2022) Pesticide Safety Information System. <http://psis.rda.go.kr/psis/agc/res/agchmRegistStusLst.ps>. Accessed 5 Apr 2022
- Ministry of Food and Drug Safety (2022) Maximum residue limit. <https://residue.foodsafetykorea.go.kr/prd/mrl>. Accessed 10 Feb 2022
- Seo JM, Ha DR, Lee HH, Oh MS, Park JJ, Shin HW, Kim ES (2010) The degradation Patterns of Two Pesticides in Spinach by Cultivation, Storage and Washing. *J Food Hyg Saf* 25(2): 91–99
- Ahn SY, Kim KD, Lee JN, Im JS, Nam CW, Jung JC, Lee EH (2008) Removal Efficiency of Pesticide Residues in Chinese Cabbage Produced in Highland by Washing. *Korean J Hort Sci Technol*. 26(4): 400–405
- Son KA, Kang TK, Park BJ, Kim TK, Gil GH, Kim CS, Kim JB, Im GJ, Lee KW (2012) Effect of field location and spray device on pesticide residue in chilli peppers. *Korean J Pestic Sci* 16(3): 230–235. doi: 10.7585/kjps.2012.16.3.230
- Lee HD, Ihm YB, Kwon HY, Kim JB, Kyung KS, Park SS, Oh BY, Im GJ, Kim JE (2005) Characteristics of Pesticide residue in/on cucurbitaceous fruit vegetables applied with foliar spraying under greenhouse. *Korean J Pestic Sci* 9(4): 359–364
- Park JU, Bae BJ, Woo SW, Jeong HJ, Jang YJ, Park JW, Chai S, Lee KS, Keum YS, Kyung KS, Kim JE, Kim TH (2022) Residual Characteristics and Risk assessments of Afidopyropen, Pydiflumetofen

- and Mefentrifluconazole in Perilla Leaves. *Korean J Pestic Sci* 26(1): 65–73. doi: 10.7585/kjps.2022.26.1.65
19. Yang SH, Lee JI, Choi H (2020) Residue Dissipation Patterns of Indoxacarb and Pymetrozine in Broccoli under Greenhouse Conditions. *Korean J Environ Agric* 39(1): 75–82. doi: 10.5338/KJEA.2020.39.1.10
20. Kelageri SS, Rao CS, Bhushan VS, Reddy PN, Rani SS, Aruna M, Reddy AH, Ravindranath D, Ramesh B, Hymavathy M (2017) Flubendiamide: Residues and Risk Assessment in Tomato *Solanum lycopersicum*. *Int j agric environ biotechnol* 10(6): 661–668. doi: 10.5958/2230-732X.2017.00081.X
21. Ku PT, Jin SH., Kang JM, Kwon HD, Park SH, Lee JY (2005) A study on the removal efficiency of pesticide residues in fruits and vegetables treated by additional materials. *J Appl Biol Chem* 48(4): 388–393
22. Lee MG and Lee SR (1997) Reduction factors and risk assessment of organophosphorus pesticides in Korean foods. *Korean J Food Sci Technol* 29(2): 240–248