



Fluopyram의 전작물 유래 및 나지조건 토양잔류성에 기초한 알타리무의 식물식재후방기간

김영은^{1†}, 윤지현^{1†}, 임다정¹, 김선욱¹, 조현정², 신병곤², 김효영², 김인선^{1*}

¹전남대학교 농화학과, ²국립농산물품질관리원 시험연구소

Plant Back Interval of Fluopyram Based on Primary Crop-derived Soil and Bare Soil Residues for Rotational Cultivation of Radish

Young Eun Kim^{1†}, Ji Hyun Yoon^{1†}, Da Jung Lim¹, Seon Wook Kim¹, Hyunjeong Cho², Byeung Gon Shin², Hyo Young Kim² and In Seon Kim^{1*} (¹Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea, ²Experimental Research Institute, National Agricultural Products Quality Management Service, Gimcheon 39660, Korea)

Received: 11 June 2021/ Revised: 18 June 2021/ Accepted: 21 June 2021

Copyright © 2021 The Korean Society of Environmental Agriculture

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.

ORCID

In Seon Kim

<https://orcid.org/0000-0003-1061-6848>

Abstract

BACKGROUND: Pesticide uptake by a rotational crop after being used for the primary crop is a potential cause of violation against the pesticide law if the pesticide is not registered in the secondary crop. This study was conducted to investigate the plant back interval (PBI) of fluopyram for the rotational cultivation of radish.

METHODS AND RESULTS: Two experimental approaches were performed the evaluation of residues in radish cultivated successively in soil 16 days after treated with fluopyram onto pepper plant (T1) and in radish cultivated in bare soil treated with fluopyram at PBI 30 and PBI 60 days (T2). A modified QuEChERS method coupled with LC/MS/MS analysis showed good linearity of matrix-matched standard calibration of fluopyram with the coefficient values of determination greater than 0.995. Recovery values at levels of 0.01, 0.05, 0.1 and 0.25 mg/kg ranged from average 84.9 to 117.6% with RSD less than

10%. Fluopyram residues in radish harvested from T1 and T2 were found as levels less than maximum residue limit.

CONCLUSION: This study suggests 20~30 days as the PBI of fluopyram for the rotational cultivation of radish in the greenhouse soil treated with fluopyram used for pepper as the primary crop.

Key words: Fluopyram, Pesticide, Plant Back Interval, Rotational Crop

서 론

우리나라는 농산물 중 잔류농약의 안전성을 확보하기 위해 잔류허용기준(maximum residue limit, MRL)이 설정되어 있지 않은 농산물의 경우 농약성분이 0.01 mg/kg 미만으로 검출되어야만 출하할 수 있도록 하는 농약허용물질목록관리제도(Positive List System, PLS)를 시행하고 있다. 그런데 PLS에서 적용하는 0.01 mg/kg은 농작물에 농약을 직접 살포하지 않더라도 비의도적인 경로를 통해서 잔류될 수 있는 수준이라는 우려가 있다[한국농촌경제연구원 연구보고서 R867, 2019]. 특히, 우리나라는 시설하우스에서 재배기간이 짧은 서로 다른 작물을 연작 및 간작하는 작부체계가 이루어지고 있으므로 전작물에 사용된 농약이 토양에 잔류하다가 동일한 토양에 재배되는 후작물에 흡수이행이 될 수 있는 잠

[†]The authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: In Seon Kim

Phone: +82-62-530-2131; Fax: +82-62-530-2139;

E-mail: mindzero@jnu.ac.kr

재성이 있다. 이러한 잠재성과 관련하여 전작물에 이어서 후작물을 재배할 때 비의도적 농약오염을 예방할 수 있는 방안의 필요성이 제기되고 있다.

농업환경에 살포된 농약은 토양 및 작물체 등에 잔류하며 농약의 종류와 살포된 환경조건에 따라 잔류량과 잔류기간이 달라진다[1]. 동일한 농약성분이라도 작부체계에 따라 농약의 잔류양상은 달라질 수 있으며 이는 토양잔류농약이 작물에 다시 흡수되는 경향에 영향을 미친다[2, 3]. 따라서 작물이 연속으로 재배되는 작부체계에서 비의도적 농약오염으로 인해 농산물의 출하가 금지되는 결과가 초래되지 않기 위해서는 토양 중 잔류농약을 관리하기 위한 노력이 필요하다. 이와 관련하여 농촌진흥청은 토양잔류농약이 작물로 흡수되어 PLS를 위반할 수 있는 잠재성에 대응하기 위해 후작물에 사용할 수 있는 농약의 등록사업을 추진해오고 있다. 또한, 농약의 등록사업과 더불어 전작물의 재배를 위해 사용된 농약의 최종 살포일로부터 후작물을 정식 또는 파종하는 시기까지의 간격일인 식물식재후방기간(Plant Back Interval, PBI)을 설정하는 정책을 추진하고 있다.

PBI의 설정과 관련하여 OECD는 연작재배 작물의 PBI를 시험하는 가이드라인을 제시하고 있다[OECD, 2016]. OECD의 가이드라인에 따르면 시험약제를 나지토양(bare soil)에 처리한 후 전작물 수확부터 후작물의 정식 및 파종까지의 기간이 근접할 경우 7~30일, 그 간격이 다음 년도일 경우 270~365일, 그리고 이들에 해당되지 않을 경우 대표적 기간인 60~270일 동안 토양을 방치한다. 나지토양을 시험하고자 하는 PBI 기간 동안 방치한 다음 시험작물을 정식 및 파종하여 관례적인 방법으로 재배한다. 재배 후 시험작물을 일시적으로 수확하여 잔류하는 농약의 농도를 평가한다. 잔류량을 평가한 결과 대상작물에 적용하는 잔류허용농도(MRL 또는 PLS)와 대비하였을 때 허용농도의 미만을 갖는 PBI를 후작물의 정식 및 파종을 위한 간격기간으로 설정한다. 이러한 방법은 비의도적 농약오염에 의해 연작작물이 PLS를 위반할 수 있는 가능성을 줄임으로서 농민에게 안겨질 수 있는 예기치 않은 피해를 사전에 예방하는 대안이 될 수 있다. 따라서 후작물에 사용할 수 있는 농약의 등록을 추진하는 사업과 더불어 후작물에 대한 농약의 PBI를 설정하는 사업이 필요하다.

한편, PBI를 설정할 필요가 있는 대상은 토양잔류성농약 및 국내에서 유통하는 농산물 중 검출빈도가 높거나 부적합 농산물을 유발하는 농약을 함유하는 약제가 될 수 있다. 토양잔류성농약과 관련하여 일본의 경우 토양 중 반감기가 100일 이상일 경우 별도로 연작작물 중 잔류성 시험을 요구하고 있다[4]. 국립농산물품질관리원에 따르면 2018년 기준 최근 10년간 국내에서 유통하는 농산물을 조사한 결과 근채류 중에서 알타리무의 부적합 건수가 가장 많았으며, 엽채류 중에서는 깻잎, 엽경채류 중에서는 부추, 그리고 과채류 중에서는 고추가 부적합 건수가 많은 것으로 분석되었다[국립농산물품질관리원 용역사업, 2018]. 또한, 연작작물에서 검출되면서 유통 농산물의 부적합에 대한 우려가 있는 농약으로는 carbofuran, diazinon, ethoprophos, fluopyram, procymidone 등으

로 보고되었다. 따라서 이를 농약의 연작작물 중 잔류량 평가와 더불어 PBI의 설정에 대한 연구가 필요하다. 알타리무는 김치류로 가공되는 채소 중 배추와 무 다음으로 많이 섭취하는 작물에 해당되며 지하부와 지상부 모두 가식부로 사용되고 있는 채소 중 하나이다[5]. 알타리무는 재배기간 동안 지속적으로 성장하므로 농약의 흡수이행이 적지 않게 이루어질 것으로 예상된다.

본 연구의 시험대상인 fluopyram은 benzamide계 약제에 속하며 숙신산탈수효소의 활성을 억제하여 식물 병원균에 대해 방제효능을 보이는 살균제 중 하나이다[6]. Fluopyram은 채소류에 주로 발생되는 잣빛곰팡이병에 대해 방제효능이 우수하며 일부 저항성 병원균에 대해서도 살균효과를 보이는 것으로 보고되었다[7, 8]. Fluopyram의 작물에 대한 잔류허용기준을 보면 우리나라의 경우 박과외 과채류인 고추에 대해 잔류허용기준이 설정되어 있다. Fluopyram은 알타리무에 대해서는 지상부의 경우 무(잎)의 잠정허용기준인 2.0^T mg/kg을 적용하고 있으며 지하부의 경우 근채류의 잠정허용기준인 0.05^T mg/kg을 적용하고 있다. 하지만, 알타리무의 주요 섭취부위라고 할 수 있는 지하부인 무에 대해 잔류허용기준이 최종적으로 설정되어 있지 않다. 그러므로 남부지방에서 고추에 이어 후작물로 재배되고 있는 알타리무 중 fluopyram의 안전사용기준을 최종적으로 설정하기 위한 기초자료를 얻기 위해 잔류성 시험과 더불어 PBI에 대한 연구가 필요하다.

본 연구에서는 fluopyram의 알타리무에 대한 PBI를 조사하기 위해 시설하우스에서 전작물로서 고추를 재배하면서 안전사용기준에 따라 fluopyram의 약제를 살포하고 고추를 수확한 후 동일한 포장에 후작물로서 알타리무를 재배하여 이의 잔류량을 평가하였다. 또한, 이와 같이 알타리무 중 잔류량평가를 기반으로 조사된 fluopyram의 예상된 PBI를 OECD 가이드라인에 준하여 실시한 시험을 통해 도출된 PBI와 비교하였다. 이러한 시험을 통해 fluopyram이 잔류하고 있는 토양에서 후작물로서 알타리무를 재배하고자 할 때 MRL 혹은 PLS의 기준을 고려하여 fluopyram의 PBI를 어떻게 제안할 수 있는지 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

시험 농약 및 시약

시험 농약은 fluopyram으로서 시험 약제는 (주)바이엘크롭사이언스에서 구입한 40% 액상수화제(제품명: 머큐리)를 사용하였다(Fig. 1). 또한, fluopyram의 표준품은 순도 100%로서 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 유기용매는 HPLC급으로서 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하여 사용하였으며 나머지 시약들은 분석용으로서 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다. 또한, 시료로부터 농약의 추출 및 정제를 위한 QuEChERS kit는 Agilent (San Francisco, CA, USA)의 제품을 사용하였다.

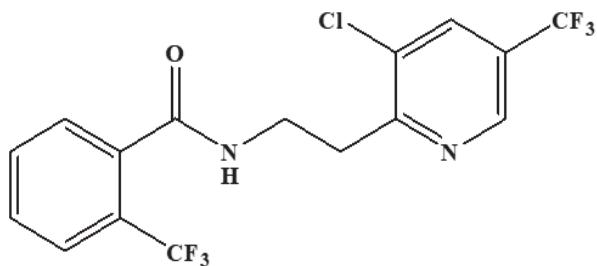


Fig. 1. Chemical structure of fluopyram.

시험 포장 및 약제 처리

시험 포장은 전라남도 담양군 대전면(35°15'12.0"N 126°53'18.3"E)에 위치한 시설재배 하우스이었으며 시험은 T1과 T2로 구분하여 각각 수행하였다. 시험 T1의 경우 전작물로서 고추를 선택하여 맞나고추를 정식하였으며 후작물로서 알타리무를 선택하여 신동알타리무를 파종하였다. 고추는 2 m × 5 m 크기의 3반복 시험구에 폭 80 cm와 높이 30 cm 크기의 두둑 2개를 20 cm 간격으로 만든 후 35 cm × 20 cm 간격으로 두둑에 정식하여 90일 동안 재배하였다. 고추에 대한 약제의 살포는 기준량(4000배)과 2배량(2000배) 처리구로 나누어서 작물보호지침서의 안전사용기준에 따라 수확 3일 전 까지 10일 간격으로 3회 처리하였다. 고추나무에 약제를 살포 할 때는 약제가 흘러 떨어질 정도로 충분하고 균일하게 살포하였다. 고추를 수확한 다음 16일 동안 휴경을 가진 후 고추를 재배한 시험구 두둑에 알타리무를 55 cm × 30 cm의 재식밀도로 파종하여 재배하였다.

한편, 시험 T2는 OECD 가이드라인에서 제시한 방법[OECD, 2016]을 참조해 약제의 처리수준과 작물의 식재(파종)후방간격을 결정하여 수행하였다. 이를 위해 2 m × 5 m 크기의 3 반복 시험구의 나지토양(bare soil)에 약제를 20 g a.i./10a 수준으로 처리하였다. 처리농도는 약제가 1년 동안 안전사용 기준에 따라 사용될 때 토양에 잔류할 수 있는 최고농도로 산출하였다. 약제를 처리한 후 토양을 30일(PBI 30)과 60일(PBI 60) 동안 방치한 다음 알타리무를 20 cm × 20 cm의 재식밀도로 파종하여 재배하였다. 상기 T1과 T2 시험에서 시험구 사이의 영향을 최대한 배제하고자 50 cm 이상의 완충 구역을 두었다.

시험 T1과 T2에서 알타리무를 파종하기 전에는 농가에서 작물을 연작할 때 수행하는 바와 같이 시험구를 소형 관리기(KM WG420, 동양 농기계)를 이용하여 경운하면서 충분히 혼합하였다. 작물의 재배와 시설환경의 관리는 실질적으로 작물을 재배해오고 있는 농가의 도움을 받아 관행적인 방법에 따라 적절하게 수행하였다. 시험기간 동안 작물의 관리에 아무런 문제가 없었으며 시험구와 대조구 사이에 작물생육은 매우 유사하여 시험약제로 인한 피해는 발생하지 않았다.

시료 채취

토양 시료는 약제를 최종적으로 처리한 당일을 처리직후로 간주하고 알타리무의 재배기간까지 경시적으로 채취하였

다. 토양 시료는 각 반복구당 1 kg 이상을 채취하였으며 채취 후 음건하여 2 mm 체로 걸러서 폴리에틸렌 비닐봉지에 밀봉하였다. 밀봉된 시료는 시험이 종료될 때까지 -20°C의 조건의 냉동기에 보관하였다. 고추 시료는 고추와 고추잎으로 나누어서 최종 약제처리일과 최종 수확일에 채취하였다. 알타리무 시료는 지상부와 지하부로 나누어서 시험 T1의 경우 수확시기에 7일 간격으로 2회 채취하였으며 시험 T2의 경우 일시적으로 채취하였다. 알타리무 시료는 흙과 불순물을 제거한 다음 적절한 크기로 세절하였다. 세절 후 시료는 폴리에틸렌 비닐봉지에 밀봉하여 시험이 종료될 때까지 -20°C의 조건의 냉동기에 보관하였다.

시료의 추출 및 정제

시료의 추출 및 정제는 QuEChERS법[9]에 준하여 시료의 특성에 맞게 개선한 방법으로 수행하였다. 토양시료의 경우 음건된 시료 10 g을 50 mL 원심분리용 튜브에 청량한 후 중류수 10 mL를 첨가한 다음 15분간 방치하였다. 시료를 방치 후 10 mL acetonitrile을 첨가하여 2분간 격렬하게 진탕한 다음 동일한 원심분리용 튜브에 6.0 g magnesium sulfate와 1.5 g sodium acetate를 넣고 다시 2분 동안 진탕하였다. 진탕 후 4,500 rpm에서 5분 동안 원심분리를 수행하였다. 원심분리 후 유기용매총(1.0 mL)을 취하여 25 mg PSA, 150 mg magnesium sulfate와 25 mg C18을 함유한 분말고체상추출용 튜브에 넣고 2분 동안 추출한 다음 10,000 rpm에서 5분 동안 원심분리를 수행하였다. 원심분리 후 얻은 유기용매총(1.0 mL)을 PTFE-H (0.2 μm)로 여과한 다음 기기분석에 이용하였다. 한편, 작물시료의 경우 시료 10 g을 50 mL 원심분리용 튜브에 청량한 다음 10 mL acetonitrile를 가한 후 2분 동안 진탕하였다. 진탕 후 동일한 원심분리용 튜브에 4.0 g magnesium sulfate, 1.0 g sodium chloride, 1.0 g sodium citrate dihydrate, 0.5 g disodium hydrogenocitrate sesquihydrate를 넣고 2분 동안 다시 진탕한 다음 4,500 rpm에서 5분 동안 원심분리를 수행하였다. 고추 및 알타리무의 경우 원심분리 후 얻어진 유기용매총(1.0 mL)을 취하여 25 mg PSA, 150 mg magnesium sulfate와 2.5 mg GCB를 함유한 분말고체상추출용 튜브에 가한 다음 2분 동안 진탕하였다. 또한, 고추잎과 무청의 경우 원심분리 후 얻어진 유기용매총(1.0 mL)을 25 mg PSA, 150 mg magnesium sulfate와 7.5 mg GCB를 함유한 분말고체상추출용 튜브에 넣고 2분 동안 진탕하였다. 진탕 후 시료들은 10,000 rpm에서 5분 동안 원심분리를 수행한 후 상정액을 상기와 같이 여과하여 기기분석에 이용하였다.

Fluopyram의 분석법

시료 중 fluopyram의 정량 및 정성 분석법은 농촌진흥청에서 제시하고 있는 잔류농약분석법 가이드라인을 참조하여 fluopyram 표준품의 matrix-matched 검량선의 직선성과 결정계수(R^2), 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ), 회수

율시험, ion ratio 등의 요건을 기준으로 확립하였다.

Fluopyram의 matrix-matched 검량선은 상기에서 얻은 대조구용 토양 및 작물시료의 추출액을 이용하여 작성하였다. Fluopyram 표준품(12.5 mg)을 acetonitrile 1.250 mL에 녹여 10,000 mg/L의 stock solution을 조제한 후 이를 acetonitrile로 희석하여 100 mg/L working solution을 조제하였다. 이렇게 조제한 working solution을 대조구용 토양 및 작물시료의 추출액에 10 μL씩 첨가하여 농도가 1.0 mg/mL가 되도록 조제한 다음 대조구 시료의 추출액으로 희석하여 최종 농도가 0.01~0.5 mg/L가 되도록 표준용액을 조제하였다. 조제 후 표준용액 2 μL를 분석기기에 주입하여 나타난 chromatogram의 peak area를 기준으로 검량선을 작성하였다. 분석법의 정량한계(LOQ)는 신호잡음비(Signal to Noise, S/N)가 10인 조건에서 다음과 같이 도출하였다: LOQ (mg/kg) = 최소검출량(ng) × [최종 희석부피(mL)/기기 주입량(μL)] × 1/시료량(g). 한편, Fluopyram의 회수율 시험은 대조구용 토양 및 작물시료 10 g에 fluopyram 표준 용액을 0.01, 0.05, 0.1, 0.25 mg/kg 수준으로 3반복 처리 한 다음 상기와 같이 추출 및 정제를 거쳐서 수행하였다.

분석기기

Fluopyram의 분석에 사용된 기기는 Waters model ACQUITYTM UPLC™ 시스템이 구비된 Waters Xevo TQ-XS triple quadrupole mass spectrometer로서 시료의 이온화는 electron spray ionization (ESI) 방법으로 수행하였으며 multiple reaction monitoring (MRM) 조건은 Table 1과 같았다. 분석에 사용된 칼럼은 CAPCELL CORE C18

(150 x 2.1 mm, 2.7 μm, Shiseido, Osaka, Japan)이었다. 또한, 이동상은 0.1%(v/v) formic acid가 함유된 물(A)과 acetonitrile(B) 혼합용매로서 용출조건은 95% A (0.25 min) → 100% B (7.75 min) → 100% B (8.5 min)이었으며 유속은 0.45 mL/min이었다.

결 과

분석법 확립

Fluopyram의 분석법은 ion ratio tolerance, matrix effect, matrix-matched 검량선의 직선성, 검출한계 수준, 회수율 시험 결과 등을 고려하여 확립하였다. 본 연구에서는 분석법의 ion ratio tolerance 값은 동일한 시퀀스의 검량선 상에서 표준품의 평균값 대비 ±30% 수준이 적용되도록 분석 기기의 프로그램에 설정(default setting)하였다. 따라서 모든 시료는 ±30%를 민족하는 수준을 가진 분석법에 의해 정량적으로 분석되었으며 이 수준을 벗어난 fluopyram의 분석 결과는 불검출(not detectable)로 간주하였다.

Fluopyram의 분석에 대한 시료의 matrix effect 값은 Table 2에서 제시하는 바와 같이 -27.988~13.339%로서 시료에 따라 fluopyram의 이온강도가 상승 및 억제효과를 보였다. Matrix effect 값이 ±10% 수준일 경우에 matrix-matched 검량선을 기준으로 정량분석을 수행할 필요가 없으며 용매에 용해한 분석성분의 검량선을 기준으로 수행할 수 있다[10]. 본 연구에서는 matrix effect 값이 ±10% 이상이었기 때문에 matrix-matched 검량선에 기준하여 fluopyram을 정량적으로 분석하였다.

Table 1. Instrumental conditions of LC/MS/MS for analysis of fluopyram in multiple reaction mode

Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Operation energy (eV)	
		Declustering potential	Collision energy
397.0	173.0	16	34
	207.8	16	25

Table 2. Sample matrix effects on the calibration linearity of fluopyram standard solutions

Experiment	Sample	Matrix effect (%) [*]
T1	Pepper	-27.988
	Pepper leaf	-0.811
	Radish	-16.301
	Radish leaf	-8.893
	Soil	0.096
T2	Radish	13.339
	Radish leaf	0.170
	Soil	11.046

* [(Slope of linearity curve in matrix - slope of linearity curve in solvent only)/(slope of linearity curve in solvent only)] × 100%.

Fluopyram의 matrix-matched 검량선의 결정계수(R^2)는 고추시료의 경우 0.996~1.000이었으며 알타리무시료의 경우 0.997~0.999, 그리고 토양시료의 경우 0.999로서 모든 시료에서 높은 직선성을 보였다(Table 3). Matrix-matched 검량선의 결정계수는 fluopyram을 유기용매에 용해하여 작성한 검량선의 결정계수(0.995~1.000)와 매우 유사하였다. 이러한 결과는 fluopyram의 정량분석을 수행하는데 있어서 시료의 matrix 영향은 매우 미비하다는 것을 의미하였다. Matrix-matched 검량선에서 fluopyram의 정량한계(LOQ)는 0.01 mg/kg이었으며 1/2 LOQ 농도수준에서 back calculation 값이 70% 이상이었다. 따라서 fluopyram을 정량하기 위한 matrix-matched 검량선이 본 연구에서 적합하게 적용되었다는 것을 알 수 있었다.

Fluopyram의 회수율 시험결과는 Table 4에서 보여준 바와 같았다. 회수율 시험의 농도는 시험구분(T1, T2)의 특성에 따라 다르게 산출된 LOQ 수준을 고려하여 LOQ 대비 1~25 배 수준의 포괄적인 농도로 수행하였다. 시험 T1에서 회수율 시험결과는 작물시료의 경우 평균 84.9~117.6% 수준이었으며 토양시료의 경우 평균 102.1~111.0% 수준이었다. 회수율

시험결과의 상대표준편차(RSD) 값은 0.47~7.48%로서 모두 10% 미만이었다. 시험 T2에서 회수율 시험 결과는 작물시료의 경우 평균 91.9~100.2% 수준이었으며 토양시료에서 평균 103.9~105.1% 수준이었고 RSD 값은 0.57~2.98%로서 모두 10% 미만이었다. 이러한 결과는 본 연구에서 확립된 fluopyram에 대한 분석법이 적합하다는 것을 의미하였다.

전작물에 살포된 토양잔류 fluopyram의 잔류량 평가 및 PBI(시험 T1)

시험 T1에서는 약제를 안전사용기준에 따라 살포하면서 고추를 전작물로 재배하여 수확한 다음 동일한 토양에 알타리무를 후작물로 재배하여 잔류량을 평가하고자 하였다. 고추를 재배한 시험구의 토양시료를 경시적으로 채취한 다음 fluopyram의 잔류량을 조사한 결과는 Table 5와 같았다. 약제를 최종적으로 살포한 당일에 채취한 토양시료 중 fluopyram의 잔류량은 기준량 처리의 경우 평균 0.15 mg/kg이었으며 2배량 처리의 경우 0.21 mg/kg이었다. 토양 중 fluopyram의 잔류량은 기준량 및 2배량 처리구 모두 경시적으로 감소하여 약제처리 후 7일경에 0.14 mg/kg 수준으로 잔류하였으며 최

Table 3. Linearity and correlation factors of determination (R^2) of solvent-based calibration and matrix-matched calibration curves of fluopyram

Experiment	Sample	Solvent-based calibration curve		Matrix-matched calibration curve	
		Linear equation	R^2	Linear equation	R^2
T1	Pepper	$y=14,885x + 52.482$	0.999	$y=10,719x + 33.344$	1.000
	Pepper leaf	$y=15,413x + 210.52$	0.995	$y=15,288x + 24.237$	0.996
	Radish	$y=25,072x + 314.89$	0.998	$y=20,985x + 190.31$	0.999
	Radish leaf	$y=19,948x + 214.88$	0.998	$y=18,174x + 162.93$	0.998
	Soil	$y=20,795x - 17.190$	1.000	$y=20,815x - 92.657$	0.999
T2	Radish	$y=26,634 + 369.07$	0.999	$y=30,193x + 177.08$	0.999
	Radish leaf	$y=21,232x + 262.32$	1.000	$y=21,267x + 180.57$	0.997
	Soil	$y=20,080x + 183.79$	1.000	$y=22,299x + 87.44$	0.999

Table 4. Recovery values of fluopyram fortified in the plant and soil samples

Experiment	Sample	Recovery (%) [*]			
		Fortified level (mg/kg)			
		0.01 (LOQ)	5 x LOQ	10 x LOQ	25 x LOQ
T1	Pepper leaf	-	117.6 ± 1.6	-	88.2 ± 6.6
	Pepper	-	110.2 ± 1.6	-	84.9 ± 0.4
	Radish leaf	-	99.5 ± 4.8	-	101.8 ± 3.2
	Radish	-	97.0 ± 3.8	-	105.7 ± 6.9
	Soil	-	102.1 ± 1.05	-	111.0 ± 4.3
T2	Radish leaf	94.1±1.3	-	98.7 ± 2.9	-
	Radish	91.9±2.5	-	100.2 ± 1.4	-
	Soil	103.9±3.1	-	105.1 ± 0.6	-

* Data are means ± standard deviation of triplicate.

Table 5. Residues of fluopyram in the soil samples after final treatment onto pepper plants for the experiment T1

Days after final treatment	Fluopyram residues (mg/kg)*	
	Single treatment	Duplicate treatment
0	0.15 ± 0.01	0.21 ± 0.01
7	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.02
21	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01
32	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.02
46	0.03 ± 0.01	0.05 ± 0.01
60	0.02 ± 0.01	0.04 ± 0.01
81	<0.01	<0.01
90	<0.01	<0.01

* Data are means ± standard deviation of triplicate.

Table 6. Residues of fluopyram in the plant samples after harvest for the experiment T1

Samples	Days after final treatment	Fluopyram residues (mg/kg)*	
		Single treatment	Duplicate treatment
Pepper	20	0.74 ± 0.07	1.85 ± 0.56
	23	0.54 ± 0.17	1.45 ± 0.12
Pepper leaf	20	28.89 ± 7.67	100.31 ± 12.92
	30	29.64 ± 8.91	84.70 ± 12.93
Radish	90	<0.01	0.02 ± 0.01
	97	<0.01	<0.01
Radish leaf	90	<0.01	0.02 ± 0.01
	97	<0.01	0.04 ± 0.01

* Data are means ± standard deviation of triplicate.

종 약제처리 후 60일경에는 평균 0.02~0.04 mg/kg 수준으로 잔류하다가 고추를 수확하는 최종 약제처리 80일 후에는 0.01 mg/kg 미만으로 잔류하였다. Fluopyram의 토양 중 소실정도를 결정계수(R^2)를 기준으로 볼 때 기준량 처리의 경우 0.967이었으며 2배량 처리의 경우 0.865로서 기준량이 처리의 경우가 비교적 높았다. 하지만, 잔류량의 경시적인 감소 경향은 기준량과 2배량 처리에서 현저한 차이는 없었다. 따라서 fluopyram은 고추를 전작물로 재배하는 과정에서 사용된 후 토양에 잔류할 경우 고추를 수확할 시기에 대부분의 잔류량이 소실될 것으로 사료되었다.

시험 T1에서 작물시료 중 fluopyram의 잔류량을 보면 Table 6에서 보여준 바와 같았다. 고추시료 중 잔류량은 기준량 처리의 경우 최종 약제처리일에 평균 0.74 mg/kg이었으며 최종수확일에 평균 0.54 mg/kg, 그리고 2배량 처리의 경우 최종 약제처리일에 평균 1.85 mg/kg이었으며 최종 수확일에 평균 1.45 mg/kg으로서 고추에 설정된 fluopyram의 잔류허용기준인 3.0 mg/kg을 초과하지 않았다. 또한, 고추 잎 시료 중 fluopyram의 잔류량을 보면 기준량 처리의 경우 최종 약제처리일에 평균 28.89 mg/kg이었으며 최종 수확 일에 평균 29.64 mg/kg, 그리고 2배량 처리의 경우 최

종 약제처리일에 평균 100.31 mg/kg이었으며 최종수확일에 평균 84.70 mg/kg이었다. 고추 잎 시료의 경우 fluopyram의 잔류허용기준이 현재까지 설정되어있지 않기 때문에 비교할 수 있는 기준이 없지만 PLS의 기준인 0.01 mg/kg과 비교하였을 때 고추 잎 중 fluopyram의 잔류량은 높은 수준이었다.

한편, 고추를 재배하였던 동일한 시험구의 토양에 후작물로 재배한 알타리무의 지하부 시료 중 fluopyram의 잔류량을 보면 최종 약제처리 후 1차 수확 일에 기준량 처리의 경우 검출한계인 0.01 mg/kg 미만이었으며 2배량 처리의 경우 평균 0.02 mg/kg이었다. 또한, 동일한 수확 일에 지상부 시료 중 fluopyram의 잔류량은 기준량 처리의 경우 검출한계 미만이었으며 2배량 처리의 경우 평균 0.02 mg/kg이었다. 알타리무를 최종적으로 수확하였을 때 fluopyram의 잔류량은 기준량 처리의 경우 지상부와 지하부 시료에서 모두 검출한계 미만이었으며 2배량 처리의 경우 지상부 시료에서 검출한계 미만, 그리고 지상부 시료에서 평균 0.04 mg/kg이었다.

현재 우리나라에는 알타리무에 대한 fluopyram의 잔류허용기준을 무(잎)와 근채류 작물의 잠정잔류허용기준인 2.0^T과 0.05^T mg/kg을 각각 적용하고 있다. 따라서 이러한 기준을

고려할 때 fluopyram의 알타리무 중 잔류량은 안전한 수준이라고 할 수 있었으며 향후 정식적인 잔류허용기준을 설정할 때 지상부 시료에서 조사된 잔류량을 유념하여 볼 필요가 있다고 판단되었다.

나지토양에 살포된 fluopyram의 잔류량 평가 및 PBI (시험 T2)

시험 T2에서는 fluopyram의 연중 최대 사용량의 수준으로 나지토양에 시험약제를 처리한 후 30일(PBI 30)과 60(PBI 60)일 동안 방치한 동일한 시험구의 토양에 알타리무를 재배하였을 때 fluopyram의 토양 및 작물시료 중 잔류량을 평가하고자 하였다. PBI 30과 PBI 60 기간에 fluopyram의 토양 중 잔류량을 조사한 결과는 Table 7에 보여준 바와 같이 각각 평균 0.35 mg/kg과 0.37 mg/kg이었다. 토양 중 fluopyram의 잔류량은 작물의 수확일에 PBI 30과 PBI 60의 경우 각각 평균 0.22 mg/kg과 0.19 mg/kg 수준으로서 처리농도의 80% 이상이 감소하였다. 이러한 결과는 시험 T1에서의 결과와 유사하였으며 fluopyram의 잔류량은 토양에서 빠르게 감소하다는 것을 간접적으로 시사하였다.

한편, PBI 30과 PBI 60이 되는 기간에 알타리무를 파종하여 재배한 다음 수확한 시료 중 fluopyram의 잔류량을 조사한 결과 모든 시료에서 PBI 30과 PBI 60의 경우 0.01 mg/kg 미만 수준으로 검출되었다. 이러한 결과는 시험 T1에서 보여준 바와 같이 fluopyram이 토양에 잔류한 상태에서 일정기간(PBI 30, PBI 60)이 경과한 후에 알타리무를 연속해서 재배할 경우 작물에 잔류하는 경향이 매우 미비하다는 것을 시사하였다.

상기와 같이 시험 T1과 T2의 결과를 종합하여 보면 fluopyram이 전작물인 고추를 재배하기 위해 기준량 또는 2배량 수준으로 사용된 후 0.01 mg/kg 수준으로 토양에 잔류하고 있는 동일한 토양에 알타리무를 후작물로 재배하였을 경우 최종적으로 수확된 알타리무 중 fluopyram의 잔류량은 잠정 MRL의 미만이었다. 또한, fluopyram의 시험 약제가 연중 최고 사용량으로 나지토양에 살포된 후 일정기간이 경과한 다음 0.35~0.37 mg/kg 수준으로 잔류하고 있는 토양에 알타리무를 후작물로 재배하였을 경우 최종적으로 수확된 알타리무 중 fluopyram의 잔류량은 잠정 MRL과 PLS 기준의 미만이었다.

고찰

본 연구에서는 국내에서 유통되는 부적합 농산물에서 검출되는 것으로 알려진 fluopyram을 대상으로 후작물 중 잔류량을 평가하였다. 시험에 사용된 후작물은 근채류 농산물 중 부적합 건수가 보고된 대표 작물로서 알타리무를 선정하였다. 알타리무에 잔류할 수 있는 fluopyram의 잔류량을 평가하여 이 농약의 안전사용기준이 설정되지 않은 작물의 안전성을 확보하는데 필요한 기초자료로서 PBI를 조사하였다.

PBI를 조사하기 위해 전작물에 사용된 후 토양에 잔류하는 fluopyram이 알타리무에 흡수되어 잔류하는 결과(시험 T1)와 작물이 재배되지 않은 나지토양에 잔류하는 fluopyram이 알타리무에 흡수되어 잔류하는 결과(시험 T2)를 서로 비교하였다. Fluopyram은 시험 T1과 T2에서 토양으로부터 알타리무로 흡수되어 잔류하는 수준이 0.01 mg/kg 미만이었으며 이는 잠정적으로 설정된 잔류허용기준의 미만이었다. 알타리무의 파종은 시험 T1의 경우 최종 약제처리 후 19일이었으며 시험 T2의 경우 최종 약제처리 후 30일과 60일이었다. 따라서 알타리무 중 잔류량을 잔류허용기준에 대비할 때 fluopyram의 PBI는 전작물에 최종적으로 약제를 처리한 후 20~30일 기간으로 제안할 수 있었다.

PBI를 설정하는 시험과 관련하여 OECD 가이드라인에서는 시험 T2와 같은 방법을 제안하고 있다. 이는 토양에 잔류할 수 있는 최악조건 (extreme condition)의 농도로 나지토양에 약제를 살포한 다음 특정 PBI 동안 방치한 후 작물을 재배하여 잔류량을 평가하는 방법이다. 여기서 최악조건의 농도는 연중 최대 살포 횟수와 살포 농도, 농약의 반감기, 그리고 작물에 살포된 농약이 토양에 남아 있을 수 있는 분획 등을 고려하여 산출된다. 본 연구에서 T2에 적용된 처리량은 OECD 가이드라인을 참조하여 산출되었으며 이는 시험 T1에 적용된 기준량 처리수준과 동일하다. 이러한 수준으로 처리된 fluopyram의 잔류량을 알타리무를 파종하기 직전에 보면 시험 T1의 경우 기준량 및 2배량 처리구에서 평균 0.01 mg/kg 이하이었으며 시험 T2의 경우 평균 0.37 mg/kg 수준이었다. 따라서 본 연구에서 조사된 알타리무에 대한 fluopyram의 PBI는 토양 중 잔류농도수준에 의해 크게 영향을 받지 않았다는 것을 알 수 있었다.

Table 7. Residues of fluopyram in the soil and plant samples for the experiment T2

Samples	PBI	Fluopyram residues (mg/kg)*
Soil	30	0.35 ± 0.01
	60	0.37 ± 0.02
Radish	30	<0.01
	60	<0.01
Radish leaf	30	<0.01
	60	<0.01

* Data are means ± standard deviation of triplicate.

시험 T1에서 최종 약제 처리 직후 토양에 잔류하는 fluopyram 을 초기 농도로 하여 잔류량의 반감기를 산출한 결과 기준량 처리의 경우 20.4일이었으며 2배량 처리의 경우 18.7일이었다. 시험 T2에서 fluopyram의 토양 중 잔류량을 경시적으로 조사하지 않았지만 약제 처리 후 알타리무를 파종하기 직전인 PBI 30과 PBI 60에 잔류량은 기준량 처리의 경우 초기 농도로부터 평균 0.38 mg/kg 수준으로 60% 이상이 감소하였다. 이러한 결과는 시험 T1의 경우처럼 fluopyram이 감소하는 경향과 유사하였다. 따라서 시험 T2의 경우에서도 fluopyram은 토양 중에서 20~30일 이내로 짧은 반감기를 가질 것으로 예상되었으며 토양에 잔류하는 낮은 수준의 fluopyram은 후작물로 흡수되는 잔류량 또한 높지 않기 때문에 PBI는 이에 상응하게 조사된 것으로 추측되었다. 이러한 추측은 fluopyram의 토양 중 반감기가 16~30일이라는 보고[11, 12] 및 fluopyram이 처리된 토양에 토마토와 피망을 재배하였을 때 이들 작물에 의해 빠르게 흡수되고 잔류량은 0.06~0.08 mg/kg 수준으로 낮았다는 보고[13]를 고려하였을 때 가능하였다. 한편, fluopyram 을 기준량(0.5 mg/kg)과 2배량 수준으로 토양에 처리한 다음 1~4일 후에 녹색꽃양배추를 정식하여 68일 동안 재배한 결과 토양 중 잔류량은 0.2 mg/kg 수준이었으며 작물 중 잔류량은 0.01~0.02 mg/kg으로 조사되었다[14]. 본 연구에서 도출된 결과와 함께 상기의 선행된 연구결과들은 토양에 처리된 fluopyram은 작물에 흡수되지만 최종적으로 잔류되는 농도는 높지 않다는 가능성을 시사하고 있으며 그러한 잔류량은 짧은 PBI를 가져올 것으로 사료되었다.

PBI를 조사하는 시험과 관련하여 최근에 Lim 등[15]은 농약의 토양 중 잔류량과 작물 중 잔류량을 각각 따로 평가한 다음 이들 평가결과를 잔류량 반감기식에 산술적으로 조합하여 이론적인 PBI를 도출하였다. Lim 등[15]의 연구에 따르면 나지토양에 약제를 최악조건으로 살포한 7일 후 하나의 시험 구에는 작물을 재배하지 않은 상태에서 토양 중 경시적인 잔류량을 조사하여 잔류량 경감 회귀식을 산출하고, 다른 하나의 시험구에는 작물을 재배하면서 수확기간 중 작물에 흡수되는 잔류량을 bioconcentration ratio (BCR) 식으로 산출하였다. BCR은 잔류허용기준농도인 MRL 또는 PLS 기준과 비교하여 토양 중 잔류할 수 있는 농도(soil acceptable residue, SAR)를 산출하는데 적용되었다. 또한, SAR은 토양 중 잔류량 반감기식에 대입하여 이 잔류량의 수준에 도달하는데 걸리는 시간을 산출하였으며 최종적으로 산출된 시간은 PBI로 결정하였다. 이 때 PBI는 농약이 후작물에 흡수되어 MRL 또는 PLS 기준 미만의 수준으로 잔류하기 위해서 토양 잔류량이 SAR 수준까지 분해되는데 필요한 기간을 의미한다. 이러한 연구는 작물에 의한 농약의 흡수이행에 대한 다른 연구[16-18]와 유사하지만 토양 중 잔류량과 작물 중 잔류량을 별도로 평가한 후 이들을 산술적으로 조합하여 이론적인 PBI를 도출하였다는 면에서 차이가 있다. 본 연구에서 조사된 fluopyram의 PBI를 Lim 등[15]의 연구에서처럼 조사하면 다른 결과를 보일 수도 있겠지만 fluopyram의 토양 중 잔류량을 고려할 때 큰 차이는 없을 것으로 사료되었다. 유럽

식품안전청(European Food Safety Authority)의 보고[19, 20]에 의하면 후작물로서 무와 상추에 대한 fluopyram의 PBI를 잔류허용기준인 3.0 mg/kg에 대비하여 30일로 조사되었다. 이러한 결과는 본 연구에서 조사한 PBI인 20~30일과 큰 차이가 없었다.

본 연구는 서로 다른 시험을 통해서 조사된 fluopyram의 PBI가 매우 유사하였다는 결과를 보여준다. 따라서 고추를 전작물로 재배할 때 fluopyram을 안전사용기준으로 살포할 경우 20~30일의 PBI를 두고 알타리무를 후작물로 재배하면 fluopyram이 알타리무로 흡수되어 잔류할 수 있는 농도는 매우 낮을 것으로 판단된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This work was funded by the Rural Development Administration (Grants PJ015053 and PJ015277) and the National Agricultural Products Quality Management Service (Grant NAQS2019).

References

- Lee KS (2010) Behavior of pesticide in soil. The Korean Journal of Pesticide Science, 14(3), 303-317.
- Hwang JI, Kwak SY, Lee SH, Kang MS, Ryu JS, Kanf JG, Jung HH, Hong SH, Kim JE (2016) Establishment of safe guideline based on uptake pattern of pesticide residue from soil by radish. Korean Journal of Environmental Agriculture, 35, 278-285.
<https://doi.org/10.5338/KJEA.2016.35.4.36>.
- Park SW, Ryu JH, Oh KS, Park BJ, Kim SS, Chon KM, Kwon HY, Hong SM, Moon BC, Choi H (2017) Uptake and translocation of the soil residual pesticides into the vegetable crop. Korean Journal of Pesticide Science, 21, 298-309. <https://doi.org/10.7585/kjps.2017.21.3.298>.
- Motoki Y, Iwafune T, Seike N, Otani T, Akiyama Y (2015) Relationship between plant uptake of pesticides and water-extractable residue in Japanese soils. Japan Pesticide Science, 40, 175-183.
<https://doi.org/10.1584/jpestics.D15-017>.
- Noh HH, Jo SH, Lee JW, Shin ES, Shin HW, Kwon HW, Kyung KS (2019) Residual characteristics of fungicide metrafenone in perilla leave, lettuce and ponytail radish and estimation of reducing residual concentration. The Korean Journal of Pesticide Science, 23, 51-59. <https://doi.org/10.7585/kjps.2018.23.1.51>.

6. Veloukas T, Karaoglanidis (2011) Biological activity of the succinate dehydrogenase inhibitor fluopyram against *Botrytis cinerea* and funagl baseline sensitivity. Pest Management Science, 68, 858-864.
<https://doi.org/10.1002/ps.3241>.
7. Weber RWS, Hahn M (2019) Grey mould disease of strawberry in northern Germany: causal agents, fungicide resistance and management strategies. Applied Microbiology and Biotechnology, 103, 1589-1597.
<https://doi.org/10.1007/s00253-018-09590-1>.
8. Ishii H, Miyamoto T, Ushio S, Kakishima M (2011) Lack of cross-resistance to a novel succinate dehydrogenase inhibitor, fluopyram, in highly boscalid-resistant isolates of *Corynespora cassiicola* and *Podosphaera xanthii*. Pest Management Science, 67, 474-482.
<https://doi.org/10.1002/ps.2092>.
9. Anastassiades M, Lehotay SJ (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International, 86, 412-431.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>.
10. Dong M, Nie D, Tang H, Rao Q, Qu M, Wang W, Han L, Song W, Han Z (2015) Analysis of amicarbazone and its two metabolites in grains and soybeans by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Journal of Separation Science, 38, 2245-2252.
<https://doi.org/10.1002/jssc.201500265>.
11. Dong B, Hu J (2014) Dissipation and residue determination of fluopyram and tebuconazole residues in watermelon and soil by GC-MS. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 94, 493-505.
<https://doi.org/10.1080/03067319.2013.841152>.
12. Matadha NY, Mohapatra S, Siddamallaiah L, Udupi VR, Gadigeppa S, Raja DP, Donagar SP, Hebbar SS (2020) Persistence and dissipation of fluopyram and tebuconazole on bell pepper and soil under different environmental conditions. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 26, 6077-6086.
<https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1704745>.
13. Matadha NY, Mohapatra S, Siddamallaiah L, Udupi VR, Gadigeppa S, Raja DP (2019) Uptake and distribution of fluopyram and tebuconazole residues in tomato and bell pepper plant tissues. Environmental Science and Pollution Research, 26, 6077-6086.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-04071-4>.
14. Son K, Kim CS, Lee HS, Lee EY, Lee HD, Park S, Lee J, Hong S, Cho B, Kim Y (2020) Survey of the pesticide residues in the soil after harvesting broccoli, head lettuce and lettuce. Korean Journal of Pesticide Science, 24, 361-373.
<https://doi.org/10.7585/kjps.2020.24.4.361>.
15. Lim DJ, Kim SW, Kim YE, Yoon JH, Cho HJ, Shin BG, Kim HY, Kim IS (2021) Plant-back intervals of imicyafos based on its soil dissipation and plant uptake for rotational cultivation of lettuce and spinach in greenhouse. Agriculture, 11, 495, 1-10.
<https://doi.org/10.3390/agriculture11060495>.
16. Hwang K, Yoo SC, Le S, Moon JK (2018) Residue level of chlorpyrifos in lettuces grown on chlorpyrifos-treated soils. Applied Science, 8, 2343, 1-10.
<https://doi.org/10.3390/app8122343>.
17. Park S, Yoo J, Oh K, Park B, Kim S, Chon K, Kwon H, Hong S, Moon B, Choi H (2017) Uptake and translocation of the soil residual pesticides into the vegetable crop. Korean Journal of Pesticide Science, 21, 298-309. <https://doi.org/10.7585/kjps.2017.21.3.298>.
18. Hwang J, Zimmerman A, Kim J (2018) Bioconcentration factor-based management of soil pesticide residues: Endosulfan uptake by carrot and potato plants. Science and Total Environment, 627, 514-522.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.208>.
19. European Food Safety Authority (2020) Review of the existing maximum residue levels for fluopyram according to Article 12 of regulation (EC) No 396/2005. EFSA Journal, 18, 6059, 125.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6059>.
20. European Food Safety Authority (2017) Modification of the existing maximum residue level fluopyram in purslanes. EFSA Journal, 15, 4984, 22.