

Research Article



CrossMark

Open Access

식물후방식재기간(PBI) 시험에 기반한 살균제 Azoxystrobin의 알타리무 중 잔류량 평가

윤지현[†], 임다정[†], 김선욱, 김인선^{*}

전남대학교 농업생명과학대학 농생명화학과

Evaluation of Residues of Fungicide Azoxystrobin in Radish based on Plant Back Interval Experiment

Ji Hyun Yoon[†], Da Jung Lim[†], Seon Wook Kim and In Seon Kim^{*} (Department of Agricultural and Biological Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea)

Received: 1 March 2022/ Revised: 16 March 2022/ Accepted: 18 March 2022

Copyright © 2022 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: The pesticide residue in rotational crop is one of the main concerns to agricultural products because it has the potentiality of violating positive list system (PLS). Thus, the crops used for the rotational cultivation should be considered the pesticide residue patterns to meet the PLS guideline. In this study, we evaluated the residue patterns of fungicide azoxystrobin in radish based on plant back interval (PBI) experiment.

METHODS AND RESULTS: Azoxystrobin was treated onto greenhouse soil at 217 g a.i./10a in two different regions. Radishes were sown onto the soil 30 and 60 days after azoxystrobin treatment. The soil and plant samples were subjected to a modified QuEChERS method and LC/MS/MS analyses to determine the residues of azoxystrobin. The methods were validated to meet the guidelines of the pesticide residue analysis recommended by the Rural Development Administration, Republic of Korea. Azoxystrobin was dissipated significantly in soil during the experimental period and found as a level less than 0.01 mg/kg in rad-

ish 30 and 60 days after treatment. Azoxystrobin residues in radish samples were lower than the maximum residue limit (MRL) for root vegetables.

CONCLUSION(S): This study suggests 30 days as a PBI for rotational cultivation of radish in greenhouse soil that had been treated with azoxystrobin at a level of 217 g a.i./10a.

Key words: Azoxystrobin, Pesticide, Positive list system, Radish, Rotational crop

서론

농약허용물질목록관리제(Positive List System, PLS)가 시행됨에 따라 순환재배형 시설재배 작물 중 잔류농약에 대한 안전관리가 중요한 이슈로 인식되고 있다. 이러한 인식은 전작물과 후작물이 연속적으로 재배되는 작부체계에서 먼저 재배한 작물에 살포된 농약이 토양에 잔류함에 따라 나중에 재배하는 작물에 흡수이행될 경우 미등록 농약의 잔류허용농도가 0.01 mg/kg 미만이어야 한다는 기준을 적용받는데서 비롯한다. 우리나라는 특히 작물을 연속적으로 재배하는 시설재배가 널리 수행되고 있는 농업을 특성으로 가지고 있기 때문에 순환재배 작물의 잔류농약에 대한 각별한 안전관리가 요구되고 있다.

순환재배형 작물 중 농약의 안전관리와 관련하여 농촌진

[†]These two authors contributed equally to this work.

^{*}Corresponding author: In Seon Kim

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

E-mail: mindzero@chonnam.ac.kr

홍청에서는 먼저 재배한 작물(전작물)과 나중에 재배한 작물(후작물) 사이에 갖는 휴경기간을 예측하기 위해 '작물후방식 재기간(plant back interval, PBI)'을 설정하는 농약잔류등록사업을 추진해오고 있다. 농촌진흥청은 PBI 설정을 위한 시험을 OECD에서 제시하는 가이드라인[1]을 참조하여 수행하기를 권장하고 있다. OECD에서 제시한 가이드라인을 보면 직권등록을 하고자 하는 시험농약을 연간 최고 살포농도 수준으로 나지토양에 처리한 다음 전작물과 후작물의 휴경기간 정도에 따라 7~30일, 60~270일, 270~365일 등의 기간 동안 방치한 후 시험작물을 정식 또는 파종하여 재배한다. 또한 시험작물에 흡수이행된 농약의 잔류량은 작물을 완숙기 또는 50% 완숙기에 수확하여 평가한다. 잔류량을 평가한 결과 그 수준이 잔류허용기준(maximum residue limit, MRL 또는 PLS)의 미만인 잔류량을 갖는 PBI를 전작물과 후작물 사이에 적용할 수 있는 휴경기간으로 제안한다. 이때 PBI는 전작물에 사용된 농약이 토양으로부터 후작물에 다시 흡수이행될 경우 그 잔류량이 잔류허용기준의 미만인 되기 위해 필요한 완충기간(buffering interval)이라고 할 수 있다. 이러한 방법으로 도출된 PBI는 전작물에 등록된 농약을 후작물에도 별도로 등록하지 않더라도 두 작물 모두에 허용될 수 있는 기준 잔류량의 가이드라인으로 적용될 수 있다.

우리나라 시설하우스에서 대표적인 순환재배형 작물로서 알타리무가 있다. 알타리무는 김치류로 가공되는 채소 중 하나이며 국내에서 배추와 무에 이어서 섭취량이 많고 지상부와 지하부를 모두 섭취할 수 있는 채소 중 하나이다. 알타리무는 재배기간 동안 지속적으로 비대해지며 일시에 수확되므로 토양잔류농약이 흡수이행되어 다시 잔류할 가능성이 존재한다. 이러한 가능성은 국내에 유통되는 근채류 농산물 중 알타리무의 부적합 건수가 많다는 보고를 통해서도 예측할 수 있다(국립농산물품질관리원, 2018). 그러므로 알타리무를 후작물로 재배하고자 할 경우 토양잔류농약의 흡수이행에 따른 잔류양상을 평가하여 농약의 안전관리를 위한 기초자료를 확보할 필요가 있다.

본 연구의 시험대상인 azoxystrobin은 자낭균류, 담자균류, 불완전균류 등등의 병원균을 대상으로 보호용 및 치료용으로 널리 사용되는 strobilurin 계열 침투성 살균제이다[2, 3]. Azoxystrobin은 미토콘드리아 Q₀ complex III에 결합하여 전자전달계를 교란하고 호흡을 억제함으로써 최종적으로 ATP 합성의 저해를 통해 살균력을 가져오는 것으로 알려져 있다[4,5]. 농촌진흥청이 2018년에 수행한 '재배환경 중 잔류농약의 작물흡수이행 및 관리방안 연구'에 따르면 농경지에서 검출되는 107개 농약성분 중 잔류성이 우려되는 농약은 azoxystrobin, boscalid, procymidone 등을 포함한 16개 성분으로 알려져 있으며 이들 농약성분 중에서 azoxystrobin은 평균 0.1 mg/kg 이상으로 검출된다고 보고되었다. Azoxystrobin은 토양에서 소실되는 반감기가 30일 이내로 짧은 것으로 보고되고 있으며[6,7] 호기적 조건보다 혐기적 조건에서 분해가 빠르다고 알려져 있다[8,9]. 이러한 연구결과를 통해 농업환경 중 azoxystrobin의 잔류성은 낮은 것으

로 사료되지만 유통되는 농산물에서 검출되는 주요 농약성분 중 하나라는 보고와 농경지에서 검출되는 경향을 고려할 때 예기치 않은 과정을 통해 발생할 수 있는 azoxystrobin의 후작물 중 잔류성을 검토할 필요성이 있다.

본 연구에서는 알타리무를 후작물로 재배하였을 때 토양 중 잔류하는 azoxystrobin의 식물체 흡수이행에 따른 잔류성을 평가하고자 하였다. 이를 위해 농촌진흥청과 OECD 가이드라인에서 권장하고 있는 PBI 시험법에 기초하여 시험방법을 설계하여 시설하우스의 토양에 azoxystrobin을 처리한 후 후작물로서 알타리무를 재배한 다음 이의 잔류량을 평가하였다. 국내에서는 이와 같은 시험법에 기초하여 후작물 중 azoxystrobin의 잔류성을 평가한 연구는 보고된 바가 없다. 본 연구의 수행을 통해 후작물 중 azoxystrobin의 안전관리를 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

시험농약 및 시약

Azoxystrobin (Fig. 1)의 시험약제로서 21.7% 액상수화제(제품명: 폴리비전)를 (주)아그리젠토에서 구입하여 사용하였다. Azoxystrobin의 표준품(순도 99.4%)은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 시험에 사용된 모든 유기용매는 HPLC급으로서 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하였다. 또한 그 밖의 시약들은 분석용으로서 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 시험농약성분의 분석을 위한 시료의 전처리는 QuEChERS kit를 이용하여 수행하였으며 Agilent (San Francisco, CA, USA)로부터 구입하였다.

약제의 처리 및 시험작물의 파종

본 연구의 시험포장은 전라남도 담양군 대전면과 충청남도 논산시 상월면에 위치한 시설재배 하우스에 마련하였으며 각각 시험 E1과 E2로 구분하였다. 시험구는 3회 반복용으로 설계하여 2 m × 5 m(가로 × 세로) 크기로 마련하였다. 시험약제는 토양에 직접 처리하였으며 처리농도는 1년 동안 사용하는 azoxystrobin의 안전사용기준을 고려하여 연중 최고 살포농도인 217 g a.i./10a 수준이었다. 약제를 처리할 때 소요되는 물량은 농촌진흥청의 가이드라인에 기준하여 200

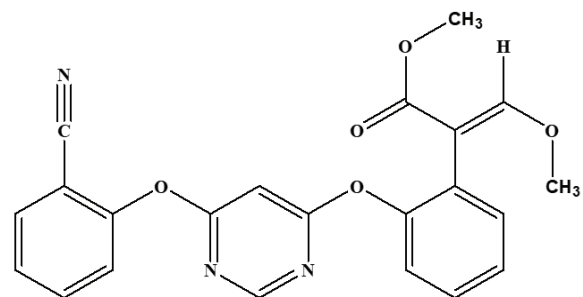


Fig. 1. Chemical structure of azoxystrobin.

L/10a 수준이었다. 약제처리 후 시험구의 토양은 전동관리기 (KM WG420, 동양 농기계)를 이용하여 잘 혼합한 다음 나 지상대로 방치한 후 OECD의 가이드라인을 참조한 시험법 [1]에 따라 약제처리 30일(PBI 30)과 60일(PBI 60) 후에 알타리무(알타리무 도촌 89, 아시아종묘)를 20 cm × 20 cm(가로 x 세로)의 재식밀도로 파종하였다. 알타리무를 파종할 때 먼저 약제가 처리된 시험구의 토양을 전동관리기를 이용하여 충분히 혼합하였다. 시험구는 처리구간의 영향을 최대한 배제하고자 반복용 시험구의 사이에 50 cm의 완충구역을 두었다. 시험기간 동안 작물과 시설재배 하우스의 관리는 농가의 도움을 받아 관행적으로 수행하였으며 시험약제로 인한 작물의 피해는 발생하지 않았다.

시료의 채취 및 보관

알타리무 시료는 완숙기에 지상부와 지하부로 나누어 일시적으로 채취하였다. 채취한 시료는 흐르는 물에 가볍게 세척하여 시료에 묻은 흙과 잔존물을 제거한 후 적절한 크기로 세절하였다. 세절된 시료는 믹서기를 이용하여 dry ice와 함께 균질화시킨 다음 폴리에틸렌 비닐봉지에 담아서 밀봉한 후 시험이 종료될 때까지 냉동기(-20°C)에 보관하였다. 토양 시료는 약제를 처리한 당일과 알타리무를 파종하기 직전 그리고 알타리무를 수확한 직후에 각각 채취하였다. 시료는 시험구당 1 kg 이상이 되는 양을 채취하였으며 채취한 직후 2 mm 체로 걸러서 상기와 같이 폴리에틸렌 비닐봉지에 밀봉하여 보관하였다. 토양시료의 경우 함유된 수분의 함량을 조사하여 분석결과를 평가할 때 참조하였다. 시료의 저장에 따른 시험농약의 안정성을 평가하기 위해 상기와 같이 준비된 대조구 시료에 azoxystrobin을 0.1 mg/kg 수준으로 처리한 다음 시험기간이 종료될 때까지 상기와 같이 냉동보관하였다.

시료의 추출 및 정제

시료의 추출 및 정제는 QuEChERS[10]법을 참고하여 시료에 따라 적절하게 변경한 방법에 따라 수행하였다. 토양시료의 경우 10 g을 50 mL 크기의 원심분리 튜브에 넣고 증류수 10 mL를 첨가하여 15분간 방치한 후 10 mL의 acetonitrile를 첨가하여 2,500 rpm에서 2분 동안 진탕추출하였다. 추출된 시료는 4.0 g magnesium sulfate 및 1.0 g magnesium chloride를 첨가하여 잘 혼합한 다음 3,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 원심분리 후 상정액 1 mL를 25 mg PSA, 150 mg magnesium sulfate와 25 mg C18이 담긴 d-SPE에 옮겨서 정제하였다. 작물시료의 경우 지상부와 지하부로 나누어서 상기와 같이 시료 10 g을 원심분리 튜브에서 진탕

추출한 다음 원심분리 후 얻은 상정액 1 mL를 25 mg PSA, 150 mg magnesium sulfate와 7.5 mg GCB을 함유한 d-SPE에 옮겨서 정제하였다. 정제된 시료들은 8,000 rpm에서 3분 동안 원심분리 후 얻어진 상정액을 PTFE-H membrane filter (0.2 μm)로 여과한 다음 LC/MS/MS 분석용 시료로 이용하였다.

시료의 분석

시료 중 azoxystrobin의 정량 및 정성 분석법은 농촌진흥청에서 제시하고 있는 잔류농약분석법 가이드라인을 참조하여 azoxystrobin 표준품의 매트릭스 검량선의 직선성과 결정계수(R^2), 정량한계, 회수율 시험, 이온화 비율 등을 고려하여 확립하였다. 표준용액의 경우 azoxystrobin 표준품(순도 99.3%)을 acetonitrile에 용해하여 1,000 mg/mL의 stock solution을 조제한 후 이를 acetonitrile로 희석하여 10 mg/mL working solution을 조제하였다. 매트릭스 검량선을 작성하기 위한 표준용액은 대조구 시료의 추출액에 5 μL의 working solution을 첨가하여 0.2 mg/mL가 되도록 조제한 다음 대조구 시료의 추출액으로 희석하여 최종 농도가 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 mg/L가 되도록 조제하였다. 조제 후 분석기기에 주입하여 나타난 chromatogram의 peak area를 기준으로 검량선을 작성하였다. 정량한계 (Limit of Quantitation, LOQ)는 신호잡음비(Signal to Noise, S/N)의 값이 10인 조건에서 다음과 같은 식으로 산출하였다. $LOQ (mg/kg) = \text{최소검출량}(ng) \times [\text{최종 희석부피}(mL) / \text{기기 주입량}(\mu L)] \times 1 / \text{시료량}(g)$. 한편, 회수율 시험은 대조구 토양 및 작물시료(지상부 및 지하부) 10 g에 각각 0.01 (LOQ), 0.1 mg/kg (10LOQ) 수준으로 azoxystrobin을 3번 반복 처리하여 균일하게 혼합한 다음 상기와 같이 추출 및 정제과정을 거쳐서 수행하였다.

분석기기

사용된 기기는 Waters model ACQUITY™ UPLC™ 시스템이 구비된 Waters Xevo TQD triple stage quadrupole mass spectrometer (이하 'LC/MS/MS')로서 시료의 이온화는 electron spray ionization (ESI) 방법으로 수행하였으며 multiple reaction monitoring (MRM) 조건은 Table 1과 같았다. 분석에 사용된 칼럼은 CAPCELL CORE C18 (150 × 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 (6.0 min) → 95% B (6.51 min)이었으며 유속은 0.5 mL/min이었다.

Table 1. LC/MS/MS conditions for the analysis of azoxystrobin in multiple reaction mode

Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Operation energy (eV)	
		Declustering potential	Collision energy
404.4	372.4	19	22
	329.3		32

결과 및 고찰

분석법의 확립

Azoxystrobin의 분석법은 분석대상 물질의 이온화율 차이(ion ratio difference, IR_{diff}), 시료의 매트릭스효과(matrix effect), 용매 및 시료 추출물에 대한 표준검량선의 직선성(matrix-matched calibration) 및 검출수준(limit of quantitation, LOQ), 그리고 회수율 등을 고려하여 확립하였다. 이온화율 차이는 검량선의 작성에 이용된 azoxystrobin 표준용액의 평균 이온화율과 시료에 함유된 azoxystrobin의 평균 이온화율을 고려하여 다음과 같이 계산하였다: $IR_{diff} = [(a - b) / b] \times 100$. 여기서 a 는 시료 중 azoxystrobin의 평균 이온화율이며 b 는 표준용액의 평균 이온화율이다. 이온화율은 LC/MS/MS 분석결과 azoxystrobin의 이온에서 유래된 조각이온들(fragment ion) 중 가장 강도가 높은 이온의 피크면적 대비 강도가 약한 이온의 피크면적을 비교하여 산출하였다. 본 연구에서는 유럽 식품안전국 SANTE/SANCO에서 제시한 가이드라인[11]을 참조하여 상기와 같이 계산된 이온화율 차이가 $\pm 30\%$ 수준을 만족할 경우에만 실제로 azoxystrobin이 검출되는 것을 인정하도록 프로그램을 설정하였다. 따라서 본 연구에서 검출한 azoxystrobin의 알타리무 및 토양 중 잔류량은 국제적인 가이드라인을 충족한 방법에 기초하여 조사한 결과로서 분석법의 오류는 미비하다고 볼 수 있다.

Azoxystrobin의 분석법을 확립하는 시험에서 시료에 대

한 매트릭스효과는 시험 E1과 E2에서 $-8.893\sim 10.132\%$ 로서 이온 강도의 억제와 상승효과는 $\pm 10\%$ 내외 수준이었다(Table 2). 시험성분을 검량선에 기준하여 정량할 때 매트릭스효과가 $\pm 10\%$ 이내일 경우 시료의 매트릭스를 고려한 matrix-matched 검량선과 유기용매를 고려한 solvent-matched 검량선 사이에 현저한 차이가 없다고 알려져 있다[12]. 이러한 연구결과는 매트릭스효과가 $\pm 10\%$ 이내일 경우 matrix-matched 검량선을 별도로 작성하여 분석성분을 정량할 필요가 없다는 것을 의미한다. 본 연구에서 유기용매와 시료의 매트릭스가 갖는 azoxystrobin 표준품의 검량선에 대한 영향은 $\pm 10\%$ 수준에서 크지 않았다. 따라서 분석법의 정확성에 미치는 매트릭스의 영향은 미비하다고 할 수 있다. 본 연구에서는 분석법의 신뢰성을 더욱 확보하기 위해 시료의 매트릭스를 고려한 matrix-matched 검량선에 기준하여 azoxystrobin의 정량적으로 분석하였다. 시료의 매트릭스를 고려하여 azoxystrobin의 matrix-matched 검량선을 작성한 결과 Table 3에서 보여준 바와 같이 결정계수(R^2)는 모든 시료에 대해 $0.9982\sim 0.9996$ 범위로서 높았다. 이러한 결정계수는 유기용매를 고려한 표준검량선의 결정계수인 $0.9984\sim 0.9999$ 와 매우 유사하였다. 따라서 본 연구에서 시험한 분석법은 알타리무와 토양 시료 중 azoxystrobin의 잔류량을 평가하는데 있어서 시료의 매트릭스에 의한 영향을 배제할 수 있는 방법이라는 것을 알 수 있었다. 매트릭스효과를 고려한 검량선에서 시료 중 azoxystrobin의 정량한계(LOQ)는 0.01 mg/kg 이었으며 LOQ 보다 낮은 0.005 mg/kg 에서 back calculation 값이 70% 이상으로 양호하여 LOQ 수준 이내의 잔류량을 평

Table 2. Matrix effects of the plant and soil samples on the calibration linearity of azoxystrobin standard

Experiment	Sample	Matrix effect (%)*
E1	Radish	-8.605
	Radish leaf	-8.893
	Soil	10.132
E2	Radish	-6.886
	Radish leaf	-5.035
	Soil	-7.455

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

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

Experiment	Sample	Solvent-based calibration curve		Matrix-matched calibration curve	
		Linear equation	R^2	Linear equation	R^2
E1	Radish	$Y = 37.116X + 58.543$	0.9984	$Y = 33.922X + 50.974$	0.999
	Radish leaf	$Y = 34.917X + 9.9635$	0.9991	$Y = 31.812X + 22.417$	0.9984
	Soil	$Y = 101.850X + 315.32$	0.9997	$Y = 112.17X + 281.62$	0.9982
E2	Radish	$Y = 81.250X + 89.342$	0.9998	$Y = 75.655X + 152.38$	0.9986
	Radish leaf	$Y = 83.177X + 47.423$	0.9998	$Y = 78.989X + 85.704$	0.9996
	Soil	$Y = 39.262X + 47.216$	0.9999	$Y = 36.335X + 34.228$	0.9995

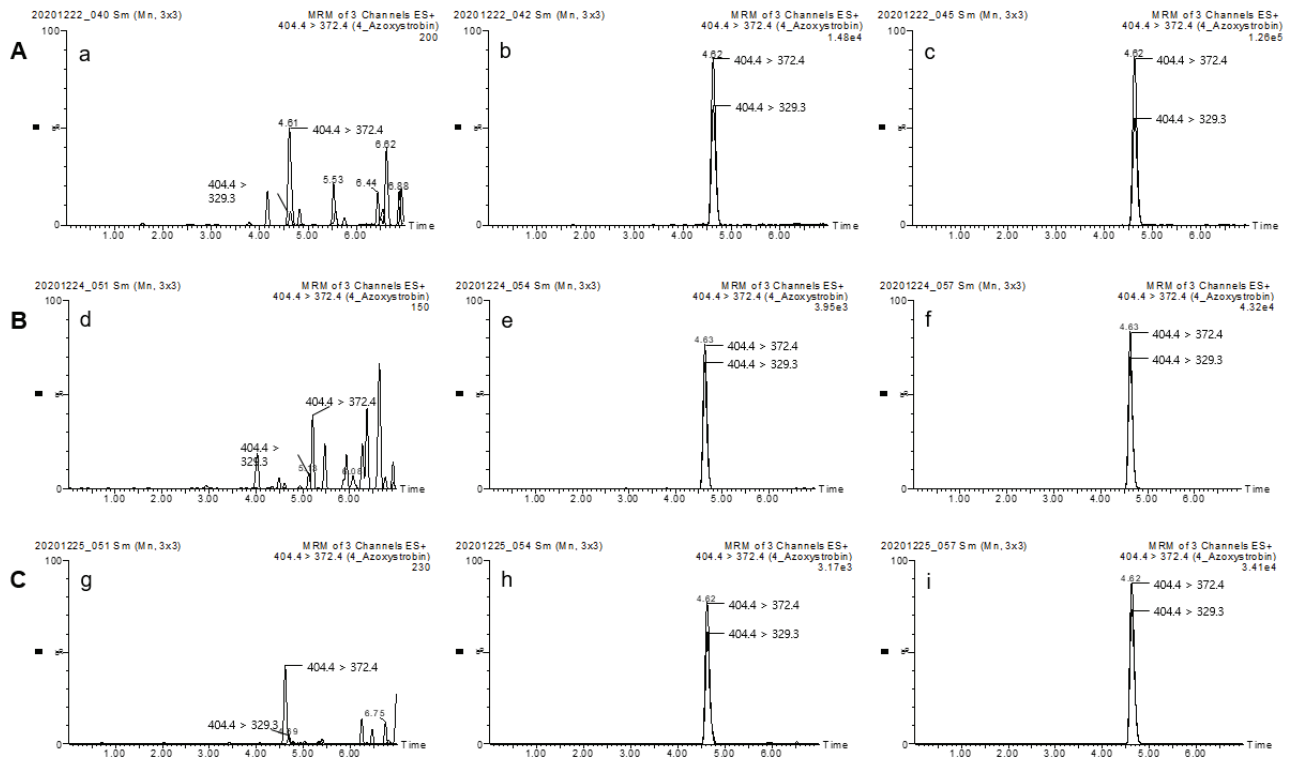


Fig. 2. Typical LC/MS/MS chromatograms of the samples fortified without (a, d, g) and with azoxystrobin at LOQ (b, e, h) and 10LOQ (c, f, i) for soil (A), radish (B) and radish leaf (C).

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

Experiment	Sample	Recovery (%)*	
		Fortified level (mg/kg)	
		0.01 (LOQ)	10 x LOQ
E1	Radish	74.8±1.7	103.5±4.4
	Radish leaf	83.8±4.4	104.2±0.7
	Soil	92.2±10.0	103.0±2.1
E2	Radish	88.5±5.3	107.3±2.1
	Radish leaf	97.1±4.1	106.8±1.9
	Soil	96.9±3.9	112.8±2.2

* Data are means±SD of triplicate.

가할 수 있었다. 이상의 결과는 본 연구에서 확립한 분석법이 azoxystrobin의 잔류량을 평가하는데 있어서 적합하게 적용될 수 있다는 것을 의미하였다. 한편, 별도로 수행된 저장 안정성시험에서 0.1 mg/kg 수준으로 토양과 알타리무 시료에 첨가된 azoxystrobin의 회수율은 평균 98.7~110.7%로서 시험기간 동안 화학적으로 안정하였다.

상기와 같이 azoxystrobin의 분석법을 확립하여 이의 정확성과 신뢰성을 조사하기 위해 회수율 시험을 수행한 결과 Fig. 2와 Table 4에서 보여준 바와 같았다. 시료에 LOQ 및 10LOQ 수준으로 첨가된 azoxystrobin은 Fig. 2에서 보여준 바와 같이 대조구 시료에 대비하여 머무름시간 4.62~4.63

분에 명확하게 구분되어 검출되었다. Azoxystrobin이 시료 중 검출되는 머무름시간의 차이는 표준품의 머무름시간에 대비하여 0.2% 미만으로서 유럽공동체의 가이드라인 (2002/657/EC)에서 권장하는 2.5%를 충족하였다. 또한 시료에서 azoxystrobin이 검출되는 머무름시간에 근접한 4.61분에 대조구에서 azoxystrobin으로 인식할 수 있는 피크가 관찰되었으나 이것은 분석기 프로그램의 시퀀스에 미리 설정된 ±30%의 이온비율 차이 값에서 크게 벗어나 azoxystrobin으로 인정되지 않았다. 시험지역 E1과 E2에서 채취한 시료를 이용하여 azoxystrobin의 회수율 시험을 LOQ와 10LOQ 수준으로 수행한 결과 토양시료의 경우 LOQ 수준에서 약

92~97%이었고 10LOQ 수준에서 약 103~113%이었다. 알타리무시료의 경우 무와 무청에 대해 LOQ 및 10LOQ 수준에서 각각 약 75~107%와 약 84~107%이었다. 토양과 알타리무시료 중 azoxystrobin의 회수율 시험에 대한 상대표준편차는 0.7~10.0%로서 양호하였다. 이러한 시험결과는 농촌진흥청과 OECD에서 권장하고 있는 잔류농약분석 가이드라인을 충족하였다. 따라서 본 연구에서 수행한 분석법이 azoxystrobin의 시료 중 잔류량을 분석하는데 있어서 정확성과 신뢰성을 가졌다고 할 수 있다.

토양 및 알타리무 시료 중 azoxystrobin의 잔류량 평가

Azoxystrobin이 알타리무로 흡수이행되어 잔류하는 양상을 조사하기 위해 OECD 가이드라인의 시험법에 따라 나지 토양에 약제를 처리한 후 시험하고자 하는 PBI에 알타리무를 파종하였다. PBI는 농가에서 전작물 수확 후 후작물로서 알타리무를 파종하는 기간을 고려하여 약제처리 후 30일(PBI 30)과 60일(PBI 60)로 하였다. 토양 중 azoxystrobin의 잔류량은 약제처리 직후, 알타리무 파종 직전 그리고 알타리무 수확 직후에 조사하였다. Azoxystrobin의 토양 중 잔류량은 Table 5에서 보여준 바와 같이 시험 E1에서 PBI 30과 PBI 60에 약제처리 직후 각각 평균 6.31 mg/kg과 6.44 mg/kg 수준이었으며 알타리무 파종 직전에는 각각 평균 0.78 mg/kg과 0.50 mg/kg 수준으로서 약제처리 직후 대비 87% 이상이 감소하였다. 시험 E1에서 알타리무를 수확한 후 토양 중 잔류량은 PBI 30과 PBI 60에 각각 평균 0.26 mg/kg과 0.34 mg/kg으로서 약제처리 직후 대비 94% 이상이 감소하였다. 또한 시험 E2에서 토양 중 azoxystrobin의 잔류량은 PBI 30과 PBI 60에 약제처리 직후 각각 평균 6.72 mg/kg과 9.07 mg/kg 수준이었으며 알타리무 파종 직전에는 각각

평균 1.68 mg/kg과 0.64 mg/kg 수준으로서 약제처리 직후 대비 75% 이상이 감소하였다. 시험 E2에서 알타리무를 수확한 후 토양 중 잔류량은 PBI 30과 PBI 60에 각각 평균 1.13 mg/kg과 0.50 mg/kg으로서 약제처리 직후 대비 83% 이상이 감소하였다. 지리학적으로 다른 시험지역에서 수행된 시험 E1과 E2 간에 azoxystrobin의 토양 중 잔류양상은 다르게 나타났지만 경향은 현저하게 다르지 않았다. 시험 E1과 E2에서 잔류량을 고려할 때 azoxystrobin의 잔류량은 토양에서 현저하게 감소하는 소실경향을 가짐을 알 수 있었다. 한편, 약제처리 후 PBI 30과 PBI 60에 알타리무를 파종하여 재배한 다음 수확한 시료 중 azoxystrobin의 잔류량을 조사한 결과 모든 시료에서 0.01 mg/kg 미만으로 검출되었다. Azoxystrobin의 토양 중 최고 높은 잔류량을 고려하더라도 알타리무에 흡수이행되는 잔류량은 약 1.0% 미만 수준으로 낮았다. 이러한 결과는 azoxystrobin이 토양에 잔류한 상태에서 PBI 30과 PBI 60이 되는 기간이 경과한 후에 알타리무를 연속해서 재배할 경우 흡수이행되어 다시 잔류할 수 있는 농도는 높지 않다는 것을 간접적으로 시사하였다.

국내에서 유통되는 농산물을 대상으로 PLS가 본격적으로 시행됨에 따라 작물을 연속하여 재배하는 작부체계가 널리 실천되고 있는 시설하우스에서 농작물의 잔류농약에 대한 안전성은 더욱 중요한 이슈로 떠오르고 있다. 이것은 전작물과 후작물 간에 사용된 농약이 작목별로 등록되어 있지 않은 경우 교차적인 농약잔류량이 PLS의 기준(0.01 mg/kg)에 부합되지 않으면 부적합 농산물을 초래할 가능성이 있기 때문이다. 이에, 농촌진흥청은 전작물과 후작물에 사용할 수 있는 농약의 직권등록사업을 시행함으로써 토양잔류농약의 후작물로 흡수이행과 같은 비의도적 농약오염으로 인한 농산물의 부적합을 예방하기 위해 적극적인 행정업무를 수행하고 있다.

Table 5. Residues of azoxystrobin in the soil and plant samples

Experiment	Sample	Residues (mg/kg) ¹⁾	
		Plant Back Interval (PBI)	
		PBI 30	PBI 60
E1	Soil		
	DAT ²⁾	6.31±0.18	6.44±0.15
	DAS ³⁾	0.78±0.02	0.50±0.01
	DAH ⁴⁾	0.26±0.01	0.34±0.02
	Radish	<0.01	<0.01
	Radish leaf	<0.01	<0.01
E2	Soil		
	DAT	6.72±0.17	9.07±0.28
	DAS	1.68±0.07	0.64±0.02
	DAH	1.13±0.04	0.50±0.03
	Radish	<0.01	<0.01
	Radish leaf	<0.01	<0.01

¹⁾ Data are means±SD of triplicate.

²⁾ DAT: 0 day after treated.

³⁾ DAS: 0 day after sown.

⁴⁾ DAH: 0 day after harvested.

농촌진흥청은 농약직권등록사업을 추진함과 더불어 전작물과 후작물의 휴경기간, 즉 PBI를 설정함으로써 전작물에 사용된 농약의 잔류량이 후작물에 미치는 영향을 예방하는 방안을 마련하고 있다. PBI를 설정하는데 있어서 OECD 가이드라인 [1]에서 권장하는 바와 같이 농약을 토양에 잔류할 수 있는 최악조건(extreme condition)의 농도로 살포한 다음 휴경기간으로 적용하고자 하는 PBI에 작물을 파종 및 정식한 후 재배하여 잔류량을 평가하는 방법이 있다. 이와 더불어 토양 중 농약의 잔류량과 작물흡수 이행량을 각각 평가한 후 그 결과를 잔류량의 반감회귀식에 대입하여 이론적으로 PBI를 도출하는 방법이 있다[13]. 전자의 경우 농가현장에서 실질적으로 진행되고 있는 재배상황을 고려하여 접근하는 방법이고 후자의 경우 토양잔류농약의 흡수이행 정도를 의미하는 생물농축율(bioconcentration ratio, BCR)과 토양 중 잔류허용농도(soil acceptable residue, SAR)를 고려하여 접근하는 방법이다. 이러한 방법은 기존에 보고된 바와 같이 작물에 의한 농약의 경시적인 흡수이행율인 bioconcentration factor (BCF)를 고려한 연구[14,15]와 유사하지만 작물 중 잔류량(예: 0.01 mg/kg)을 PBI를 기준으로 절대적으로 평가한다는 측면과 토양 중 잔류량과 작물 중 잔류량을 별도로 평가하여 산술적으로 조합한 식에 의해 PBI를 도출했다는 측면에서 차이가 있다.

Azoxystrobin은 식물체에서 apoplastic translocation 경로로 흡수이행되는 것으로 보고되었으며 토양수에 존재하는 농도와 식물뿌리에 존재하는 농도 사이에 갖는 농도구배에 의한 passive transport 기작을 갖는다고 알려져 있다[16]. 따라서 토양 중 잔류하는 전체 농도와 토양수로 분배되는 농도에 따라 azoxystrobin의 식물체에 의한 흡수이행은 달라질 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서는 azoxystrobin을 연중 최고 살포농도 수준으로 나지토양에 인위적으로 처리하였으며 시설재배환경은 농가에서 관행적으로 실천하고 있는 조건을 갖기 위해 정기적으로 토양에 수분을 공급하였다. 따라서 azoxystrobin이 알타리무에 흡수이행될 수 있는 최적 현장조건을 가졌다고 볼 수 있다. 이러한 조건에서도 azoxystrobin의 알타리무 중 흡수이행 잔류량은 PLS 기준(0.01 mg/kg)의 미만으로 조사된 결과를 볼 때 azoxystrobin은 후작물 흡수이행에 의해 부적합 농산물을 유발할 가능성은 낮은 것을 판단되었다. 한편 국립농산물품질관리원에서는 국내에서 유통되는 부적합 농산물에 azoxystrobin이 검출되었다고 보고하였는데, 이는 본 연구의 결과를 고려할 때 후작물 흡수이행이 아니라 다른 경로를 통해서 발생한 결과일 것으로 추측되었다.

본 연구에서 조사한 azoxystrobin의 알타리무에 흡수이행된 잔류량 수준은 근채류에 잠정적으로 설정된 안전사용기준인 0.05^T mg/kg 보다 낮았으며 무의 뿌리에 설정된 안전사용기준인 0.1 mg/kg 보다 현저하게 낮았다. 따라서 전작물에 사용된 azoxystrobin이 토양에 217 g a.i./10a 수준으로 잔류한 상태에서 30~60일 후에 후작물로서 알타리무를 파종하여 재배할 경우 수확된 알타리무 중 azoxystrobin은

PLS 기준인 0.01 mg/kg 미만으로 잔류할 가능성이 있는 점을 고려할 때 azoxystrobin의 알타리무에 대한 안전사용기준은 현재의 잠정기준(0.05^T mg/kg)을 적용할 수 있을 것으로 추측되었다. Azoxystrobin의 알타리무 중 잔류량은 지리학적으로 다른 지역의 시험포장에서 유사하였으므로 상기와 같은 추측은 가능할 것으로 사료되었다. 유럽 식품안전청에 따르면 azoxystrobin을 250 g a.i./10a 수준으로 처리한 후 엽채류를 포함하여 다양한 후작물에 흡수이행된 잔류량을 조사한 결과 PLS 기준을 초과하였지만 독성학적으로 안전한 수준인 것으로 알려졌다[17-20]. 또한 본 연구에서 azoxystrobin의 알타리무 중 잔류경향은 시험조건은 상이하지만 상추와 엷같이 배추를 대상으로 2017년 농촌진흥청에서 수행하였던 '재배환경 중 잔류농약의 작물흡수이행 및 관리방안 연구'에서 조사된 연구결과와 유사하였다. 따라서 본 연구에서 조사된 azoxystrobin의 알타리무에 대한 흡수이행 잔류수준, 농촌진흥청의 연구결과, 그리고 유럽 식품안전청에서 제시한 의견을 종합하여 판단할 때 azoxystrobin의 작물잔류에 따른 안전성은 심하게 우려할 정도는 아니라고 사료되었다. 본 연구는 azoxystrobin이 217 g a.i./10a 수준으로 잔류하는 토양에 알타리무를 파종하고자 할 경우 PBI 30에 해당하는 휴경기간을 가지면 최종 수확된 알타리무 중 잔류량은 PLS의 기준을 충족할 것이라는 것을 보여준다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This work was funded by the Rural Development Administration (Grants PJ015053 and PJ015277).

References

1. OECD (2016) Draft guidance document on residues in rotational crops. OECD Environ. Health Safety Public, 1, 1-46. Available at https://www.oecd.org/env/ehs/testing/OECDRotationalCropGuidelineDraftVersion_19%July2016..AEpdf.
2. Anesiadis T, Karaoglanidis S, Tzavella-Klonari K (2003) Protective, curative and eradicator activity of the strobilurin fungicide azoxystrobin against *Cercospora beticola* and *Erysiphe betae*. Journal of Phytopathology, 151, 647-641. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00780.x>.
3. Kanetis L (2007) Comparative efficacy of the new postharvest fungicides azoxystrobin, fludioxonil, and pyrimethanil for managing citrus green mold. Plant Disease, 91, 1502-1511. <https://doi.org/10.1094/PDIS>

- 91-11-1502.
4. Wong FP, Wilcox WE (2001) Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (Grapevine Downy Mildew). *Plant Disease*, 85, 649-656. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.6.649>.
 5. Bertelsen JR, Neergaard ED, Smedegaard-Peterse V (2001) Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter wheat. *Plant Pathology*, 50, 190-205. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00545.x>.
 6. Gajbhiye VT, Gupta S, Mukherjee I, Singh SB, Singh N, Dureja P, Kumar Y (2011) Persistence of azoxystrobin in/on grapes and soil in different grapes growing areas of India. *Bulletin of Environmental Toxicology and Contamination*, 86, 90-94. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0170-2>.
 7. Adetutu EM, Ball AS, Osborn AM (2008) Azoxystrobin and soil interactions: degradation and impact on soil bacterial and fungal communities. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 1777-1790. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1365-2672.2008.03948.x>.
 8. Purnamaab I, Malhatac F, Jaikaewa P, Watanabea H, Noegrohatib S, Rusdiarsob B, Ahmed MT (2014) Degradation profile of azoxystrobin in Andisol soil: laboratory incubation. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 96, 1141-1152. <https://doi.org/10.1080/02772248.2015.1015297>.
 9. Ghosh RK, Singh N (2009) Effect of organic manure on sorption and degradation of azoxystrobin in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 632-636. <https://doi.org/10.1021/jf802716f>.
 10. 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>.
 11. SANTE Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Analysis in Food and Feed; SANTE/12682/2019, Implemented by 01.01.2020; European Commission Directorate General for Health and Food Safety: Brussels, Belgium, 2020.
 12. 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>.
 13. 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>.
 14. 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>.
 15. 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>.
 16. Ju C, Zhang H, Yao S, Dong S, Cao D, Wang F, Fang H, Yu Y (2019) Uptake, translocation, and subcellular distribution of azoxystrobin in wheat plant (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67, 6691-6699. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9600361>.
 17. European Food Safety Authority (2012) Reasoned opinion on the modification of the existing MRLs for azoxystrobin in lettuce, spinach, celery, cardoon, spices and rhubarb. *EFSA Journal*, 10, 2991, 27 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2991>.
 18. European Food Safety Authority (2008) Reasoned opinion of EFSA prepared by the Pesticides Unit (PRAPeR) on setting of an import tolerance for azoxystrobin in passion fruits. *EFSA Journal*, 209, 25. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.209r>.
 19. European Food Safety Authority (2009) Reasoned opinion of EFSA prepared by the Pesticides Unit (PRAPeR) on the modification of the existing MRL for azoxystrobin in swedes. *EFSA Journal*, 1308, 20. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1308>.
 20. European Food Safety Authority (2009) Reasoned opinion of EFSA prepared by the Pesticides Unit (PRAPeR) on the modification of the existing MRL for azoxystrobin in cardoon. *EFSA Journal*, 1362, 23. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1362>.