

Research Article



CrossMark

Open Access

생산단계 참나물의 Carbendazim 잔류특성에 따른 노출평가 및 농약 잔류허용기준 개선

장희라*, 곽혜민

호서대학교 생명보건대학 식품제약공학부

Residues and Exposure Assessment of Carbendazim in Chamnamul on Field Trials for Revising Maximum Residue Limit in Korea

Hee-Ra Chang^{*} and Hye-Min Gwak (Department of Food & Pharmaceutical Engineering, College of Life & Health Sciences, Graduate School of Hoseo University, Asan 31499, Korea)

Received: 28 June 2022/ Revised: 27 July 2022/ Accepted: 11 August 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

Hee-Ra Chang

<https://orcid.org/0000-0002-0307-7703>

Abstract

BACKGROUND: The residue dissipation pattern of pesticides for agricultural products during the pre-harvest period after the final application is important to prevent the maximum residue limit (MRL) violations in domestic and export markets. The MRL violations of carbendazim are observed more often in chamnamul by pesticide residue management surveys by the Ministry of Food and Drug Safety. The residue level at the pre-harvest interval (PHI) and the residue dissipation constant from the critical good agricultural practice (cGAP) trials could be estimated to meet the MRL and pose a health risk to consumers.

METHODS AND RESULTS: Chamnamuls were harvested at 0, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 days after application of carbendazim in accordance with critical GAP. The residue analysis in chamnamul was performed by HPLC-DAD with the C₁₈ column. The limit of quantitation of carbendazim was 0.04 mg/kg, and the recoveries were 74.4 - 95.8% at the two spiked levels (LOQ and 10LOQ) of carbendazim. The dissipation rates in chamnamul were calculated from the residues at the sampling days by stat-

istical method at a 95% confidence level. The biological half-lives of residual carbendazim in the field trials 1 and 2 were 4.9 and 4.4 days, respectively.

CONCLUSION(S): In this dissipation study, the residue concentrations at the recommended PHI were higher than the established MRL in Korea. Therefore, the MRL is proposed based on the residue data sets from the trials conducted at the same cGAP and the dietary exposure assessment.

Key words: Carbendazim, Chamnamul, Dissipation, Exposure, Residues

서론

농산물 중 농약의 안전관리를 위하여 식품의약품안전처는 농약 잔류허용기준(Maximum Residue Limit, MRL)과 생산단계 잔류허용기준(Pre-Harvest Residue Limit, PHRL)을 설정하고 있다. 농산물 중 잔류농약의 유통단계 안전관리 기준인 MRL 설정을 위한 농약잔류성시험은 농촌진흥청의 농약 및 원제의 등록기준에서 별표6 농약의 잔류성시험성적서 검토기준(2021)과 별표14 작물잔류성 시험의 기준 및 방법에 따라 수행하여야 하며, 시험포장수는 참나물 등의 엽채류는 엇갈이배추를 제외하고 1개 포장으로 규정하고 있다. 농산물 중 잔류농약의 생산단계 안전관리 기준인 PHRL 설정을 위한

* Corresponding author: Hee-Ra Chang
Phone: +82-41-540-9696; Fax: +82-41-540-9696;
E-mail: hrchang@hoseo.edu

농약잔류성시험은 지리적인 차이를 반영할 수 있는 2개 포장 을 적용하고, 대상농산물에 등록되어 있는 농약 제품 중 critical GAP(cGAP)를 대상농약으로 선정하여, 최종약제 처리 후 일자별 감소량(농약안전사용기준의 최종약제 살포 후 수확일에 해당되는 잔류량 포함), 감소상수 및 반감기를 산출 하고 있다. PHRL 설정을 위한 잔류성시험자료는 농약잔류허 용기준을 초과하는 부적합 농산물이 유통단계에서 판매되지 않도록 생산단계에서 관리하는 기준을 설정하는 것 이외에도, 현행 MRL을 재검토하는 잔류성시험 자료로도 활용하여 유통단계의 부적합 발생 원인을 파악하고 보완할 수 있다.

농림수산식품부의 2020년 농산물 안전성조사 결과에서 부적합 발생 비율이 높은 10개 농산물 및 농약을 조사하여, 농약 안전사용에 주의하도록 하고 있으며, 참나물은 최근 3년간 월별 부적합률이 높은 상위 10개 농산물에서 1월부터 12월에 모두 포함되고, 참나물 등 업체류에서 carbendazim의 부적합 사례 빈도가 높은 것으로 조사되었다[1-4].

본 연구는 참나물 중 carbendazim에 대하여 농약을 안전 사용기준에 적합하게 처리한 후 수행한 생산단계에서의 잔류 특성 연구결과를 생산단계 잔류허용기준 설정을 위한 기초자료로 활용하고, 농약잔류량 섭취에 따른 안전성을 평가하기 위한 노출평가를 수행하였다.

재료 및 방법

시험약제 및 시약

포장시험을 위하여 사용된 농약제품은 carbendazim+ diethofencarb 50(25+25)% 수화제(㈜동방아그로)였다. 잔류 분석을 위한 carbendazim(99.5%) 표준품은 Dr. Ehrenstorfer GmbH(Augsbug, Germany)에서 구매하여 사용하였고, Acetone, acetonitrile, dichloromethane, methanol 및 water는 J.T. Baker(HPLC grade, USA), sodium sulfate 및 sodium chloride는 Junsei chemical(guaranteed reagent grade, Japan), solid phase extraction(SPE) cartridge(silica 1 g)는 Agilent Technologies(Santa Clara, CA, USA)제품을 사용하였다.

포장시험

시험포장의 위치는 생산단계 잔류시험 가이드라인에 따라 위도가 직선상 20 km 이상 차이가 있는 지역으로 시설재배 조건의 2개 지역을 선정하였다. 참나물(*Chamnamul*, *Pimpinella calycina*) 잔류성 시험포장은 경기도 평택시(포장 1) 및 충청남도 보령시(포장 2)으로 위도상의 지리적 차이는 93.6 km였다. 시험포장의 시험구는 처리구 3 반복 및 무처리구 1 반복으로, 반복구당 10 m² 이상 면적으로 구획을 설정하였다. 약제처리는 안전사용기준(RDA, Pesticide Safety Information System, 2021)에 따라 약제를 희석하여 조제한 후, 소형 엔진 배부식 분무기(㈜퍼펙트 엘, EL969-1)로 처리하였다. 시료채취는 약제처리 후 0, 1, 3, 5, 7, 10 및 14일차에 출하시기에 적합한 크기로 선정하여 반복구당 1 kg 이상이 되도록 채취하여 24시간 이내에 실험실로 운반하였다.

포장시료 전처리

실험실로 운반된 채취시료는 개체 무게를 측정하고, deep freezer(-70°C 이하)에서 48시간 이상 보관한 후, homogenizer를 이용하여 균질화를 진행하였다. 균질화 된 시료는 분석용 시료 및 보관용 시료로 구분하여, 농약 잔류량 확인을 위한 잔류분석 전까지 냉동보관(-20°C 이하)하였다. 잔류성 시험시료 중 농약의 저장안정성시험을 위하여, 무처리 시료 25 g에 carbendazim 표준용액을 1.0 mg/kg 수준 3반복으로 처리하여 균일하게 혼합한 후, 포장에서 채취한 시료와 동일한 조건으로 냉동보관(-20°C 이하)하였다.

분석법 확립 및 잔류분석

참나물 중 carbendazim 분석법 정량한계(Limit of Quantitation, LOQ)는 표준용액을 이용하여, 기기분석 크로마토그램에서 Signal to noise ratio(S/N)가 10 이상 되는 기기검출 한계(0.1 mg/L)로부터 시료량(20 g), 희석배수(8배), 분석전 처리상의 최종부피(2 mL)를 적용하여 0.04 mg/kg으로 산출되었다. 정량분석을 위한 검량선의 직선성은 표준용액 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 및 0.2 mg/L 농도범위에서 확인하였다. 회수율은 무처리구의 분석용 시료 20 g에 carbendazim 표준용액을 정량한계 및 정량한계 10배 농도(0.04 mg/kg 및 0.4 mg/kg)가 되도록 3반복으로 처리한 후, acetonitrile 100 mL를 가하여 230 rpm에서 30분, Sodium chloride 25 g을 넣고 30분 교반하여 냉동조건(-20°C 이하)에서 10분간 방치하고, 상층의 추출액 25 mL 취하여 감압농축 하였다. 농축 건조물은 dichloromethane 10 mL로 용해한 후, 5 mL를 취하여 dichloromethane 5 mL로 활성 시킨 SPE cartridge(1 g, 6 mL)에 넣고, dichloromethane 5 mL로 washing 단계를 거쳐, dichloromethane/ acetone 20 mL로 용출하여 감압농축 하였고, 농축건조물을 1 mL methanol로 재용한 후 HPLC-DAD에 10 µL를 주입하여 분석을 수행하였다.

잔류분석용 시료의 120일 동안 냉동보관(-20°C 이하)에서 저장안정성시험 및 약제처리 후 0, 1, 3, 5, 7, 10 및 14일차에 채취한 생산단계 잔류성시료의 분석은 위의 회수율시험과 동일한 방법으로 정량분석을 하였다.

생물학적 반감기 및 감소상수 산출

시설재배 참나물에 carbendazim 약제를 처리하여 일자별 잔류량에 따른 생물학적 반감기 및 감소상수를 산출하고자, Microsoft Excel을 사용하여 회귀분석에 따른 F-검정 및 t-검정을 수행하여 회귀방정식 및 감소상수의 유의성을 확인하였으며, 95% 신뢰수준의 감소상수 하한값과 반감기를 산출하였다(MFDS, 2014).

결과 및 고찰

포장시험

시설재배 참나물 포장 1, 2의 시험시기는 각각 4월 12일

Table 1. Residues of carbendazim in chamnamul on field trials under greenhouse conditions

Days after treatment	Field trial No.				
	Test plot No.	I		II	
		Residue concentration (mg/kg)	Mean±SD ^{a)}	Residue concentration (mg/kg)	Mean±SD ^{a)}
0	1	61.5		49.2	
	2	59.0	58.5±3.2	74.0	65.1±13.8
	3	55.1		72.1	
1	1	53.0		42.0	
	2	48.2	49.5±3.2	51.1	50.5±8.2
	3	47.2		58.5	
3	1	32.8		24.9	
	2	33.1	31.8±2.1	22.6	25.2±2.8
	3	29.4		28.1	
5	1	30.4		16.3	
	2	22.6	26.0±4.0	20.4	17.5±2.6
	3	25.1		15.6	
7	1	22.7		12.5	
	2	21.8	22.2±0.5	14.5	13.5±1.0
	3	22.1		13.3	
10	1	11.6		11.8	
	2	9.9	10.5±1.0	11.5	11.9±0.4
	3	10.0		12.3	
14	1	9.6		5.1	
	2	8.1	8.8±0.8	6.5	6.3±1.2
	3	8.9		7.4	

^{a)} Standard deviation

~4월 26일 및 04월 16일~04월 30일로, 시험포장 1, 2의 평균 기온은 15.3±2.3°C 및 16.1±3.3°C, 평균 습도는 70.1±13.1% 및 70.7±6.7%였다. 약제 살포 후, 시험포장 1, 2에서 채취한 참나물 시료의 평균 개별무게는 각각 5.87±0.4 g 및 6.39±0.4 g이었다.

분석법 확립

참나물 중 carbendazim 분석법 확립을 위한 검량선은 표준용액 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/L의 크로마토그램 피크 면적과 농도의 회귀식은 $y=4.677x+2.521$, 결정계수(r^2)는 0.9992로 직선성을 확인하였다. 분석법의 정확성 및 정밀성은 정량한계인 0.04 mg/kg 농도수준에서 평균 회수율이 88.2%, 변이계수(Coefficient of Variation, CV)는 14.3%, 정량한계 10배인 0.4 mg/kg 농도에서 평균 회수율 90.2%, 변이계수는 5.0%로 평균 회수율 70~120% 및 변이계수 22% 이내로 식약처 생산단계 잔류허용기준 설정을 위한 분석법 확립 기준에 적합하였다(MFDS, 2016). 참나물 중 carbendazim의 냉동조건(-20°C 이하)에서 잔류성시료의 분석이 완료되는 기간(120일)까지의 평균 회수율은 74.6%, CV는 6.3%로 저장안정성을 확인하였다.

생산단계 잔류특성

시설재배 참나물에 carbendazim 약제를 1회 처리한 후, 시험포장 1과 시험포장 2의 0일차 평균 잔류량은 각각 58.5 mg/kg 및 65.1 mg/kg, 안전사용기준인 출하일에 해당되는 14일차의 평균 잔류량은 각각 8.8 mg/kg 및 6.3 mg/kg으로, 참나물 중 carbendazim 잔류허용기준인 2 mg/kg의 3 배 이상 수준으로 잔류하였다(Table 1). 참나물 균핵병 방제를 위하여 등록된 carbendazim은 유효성분의 함량이 25%로 1,000배를 희석하여 발생초 경엽처리 하는 약제로, 살포시 약제의 농도가 200 mg/L 수준으로 처리되고, 엽채류인 참나물은 형태학적으로 표면적이 커서 농약의 부착량이 높은 반면, 수확주기는 7~14일 이내로 길지 않아 농약 잔류량이 높은 것으로 판단된다[1, 5]. Carbendazim은 생강, 오미자, 당귀 등에서도 검출되어 부적합이 발생되고 있으며, 상추에 약제처리(60% 수화제, 13 g/20 L, 약 1,500배 희석) 후 초기 잔류량이 47.7 mg/kg으로 높았고, 잔류량이 5.0 mg/kg 이하 수준까지 감소하는데 7일 이상이 소요되는 것으로 보고되었다[4, 6]. 참나물과 외형적으로 유사한 형태인 취나물의 Carbendazim MRL은 20 mg/kg, 들깻잎, 머위, 비트잎, 케일 등 엽채류 및 엽경채류인 농산물은 20 mg/kg 이상으

Table 2. List of agricultural product with high Maximum Residue Limits(≥ 20 mg/kg) for carbendazim in Korea

MRL (mg/kg)	Agricultural Products
20	Perilla leaf, Chwinamul
25	Salt sandspurry, Parsely
30	Mustard leaf, Coastal hogfennel, Mustard, Gondre, Narrow-head ragwort, Chard, Vitamin, Betterbur, Beet leaf, Wild garlic, Shinsuncho, Artemisia, Marsh Mallow
50	Kale

Table 3. Dissipation rate constant and half-life of carbendazim in chamnamul by Regression analysis using residue levels on field trials

Field trial No.	Dissipation rate constant ^{a)}	Dissipation regression equation ^{b)}	Half-life (days)
I	0.1093	$y = 54.0608e^{-0.1403x}$ $r^2=0.9796$	4.9
II	0.1075	$y = 50.3082e^{-0.1582x}$ $r^2=0.9281$	4.4

^{a)} Significant $p < 0.05$ by t-test

^{b)} Significant $p < 0.05$ by F-test

로 MRL이 설정되어 있다(Table 2, MFDS 2022). 본 연구의 시설재배 참나물에 carbendazim의 안전사용기준에 따른 최종약제 처리 후 14일차의 잔류량이 2개 시험포장에서 모두 잔류허용기준(MRL)의 3배 이상의 결과로부터, 유통단계에서 참나물 중 carbendazim의 부적합 빈도를 낮추고 안전성을 확보하려면, carbendazim의 잔류허용기준 재설정 요구되며, 잔류량이 높은 시험포장 1의 안전사용기준 14일차 평균 잔류량(8.84 mg/kg)에 안전계수 3배 수준을 적용하여 30 mg/kg으로 참나물 MRL을 제안하고자 한다.

약제처리 후 carbendazim의 일자별 잔류량에 대한 회귀 분석을 수행하여 산출된 시험포장 1과 시험포장 2의 반감기는 각각 4.9일 및 4.4일이었으며, 회귀계수의 신뢰수준에서 95% 하한값으로 설정한 carbendazim의 시험포장 1과 시험포장 2에서 감소상수는 각각 0.1093, 0.1075로 산출되었다(Table 3). 이전의 연구에서 농산물 중 carbendazim의 반감기는 삼칠근(panax notoginseng) 3.3~6.8일, 땅고 6.5일, 딸기 9.3일, 토마토 2.1~3.8일, 수세미(loofa sponge) 5.5일, 목화(cotton) 2.3~9.1일, 고추 8.3일, 상추 2.6~3.5일로, carbendazim이 대부분의 농산물에서 10일 이내에 50% 이상 소실되며, 참나물 중 carbendazim 반감기는 엽채류인 상추와 유사하였다[6-10].

노출평가

Carbendazim, benomyl 및 thiophanate-methyl의 잔류분의 정의는 모화합물과 carbendazim의 합을 carbendazim으로 환산해서 carbendazim MRL로 관리하고 있으며, carbendazim의 MRL은 가지, 참나물 등 총 122개 농산물에 대하여 설정되어 있고, carbendazim의 일일섭취허용량(Acceptable daily intake, ADI)은 0.03 mg/kg bw/day으로 설정되어 있다(MFDS 2022). 식품 중 농약의 노출평가는 이론적일일최대섭취량(Total maximum daily intake,

TMDI)이 ADI를 기준으로 80%를 초과하지 않도록 설정하는 방법을 적용하고 있다.

Carbendazim의 농산물 중 노출평가를 위한 TMDI는 2022년 식약처 식품의 기준 및 규격(제2022-41호)에 고시된 참나물을 포함한 농산물 MRL과 2019년 국민건강영양통계의 체중 kg당 식품섭취량을 적용하여 산출한 결과, 0.015978 mg/kg bw/day였고, ADI를 기준으로 산출한 %TMDI는 53.3%로 안전한 수준이었다. 참나물 MRL 2 mg/kg을 적용하여 산출된 carbendazim의 참나물에 의한 최대농약섭취량은 0.00044 mg/kg bw/day로 ADI(0.03 mg/kg bw/day) 대비 0.02%에 해당된다. 본 연구결과에서 제안한 참나물 중 carbendazim의 MRL 30 mg/kg을 적용하여, 참나물에 의한 carbendazim의 최대농약섭취량을 산출한 결과, 0.0066 mg/kg bw/day로 ADI대비 0.36%로 높아졌으나, 전체 농산물 중 carbendazim의 %TMDI는 53.6% 수준으로 노출평가 기준인 80% 이하로 안전하였다.

본 연구는 참나물 시설재배 조건에서 carbendazim의 생산단계 잔류특성을 적용하여 노출평가를 수행한 후 MRL을 제안하여, 생산자의 부적합 원인을 해결하고, 소비자의 농산물에 대한 잔류농약의 안전성을 확보할 수 있는 기초자료로 활용할 수 있다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgement

This research was supported by the Ministry of Food and Drug Safety, Republic of Korea (grant number: 20162MFDS602).

References

1. Kwon SM, Kwon YH, Choi OK, Park MK, Kim KC, Kang SH, Kang HG, Ha JO, Yu SH et al. (2015) Characteristic of pesticide residues in some leafy vegetables at the whole market in Gyeonggi-do from 2009 to 2013. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 30(2), 196-201. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2015.30.2.196>.
2. Seung HJ, Park SK, Ha KT, Kim OH, Choi YH, Kim SJ, Lee KA, Jang JI, Jo HB et al. (2009) Survey on pesticide residues in commercial agricultural products in the northern area of Seoul. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 25(2), 106-117.
3. Kim NH, Lee JS, Kim OH, Choi YH, Han SH, Kim YH, Kim HS, Lee SR, Lee JM, Yu IS et al. (2014) Monitoring of pesticide residues and risk assessment on agricultural products marketed in the northern area of Seoul in 2013. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 29(3), 170-180. <http://dx.doi.org/10.13103/JFHS.2014.29.3.170>.
4. Hwang LH, Park SK (2019) Monitoring and risk assessment of carbendazim residues in soybean sprout and mungbean sprout from markets in Western Seoul. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 34(4), 348-353. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2019.34.4.348>.
5. Kim HY, Lee SY, Kim CG, Choi EJ, Lee EJ, Jo NG, Lee JM, Kim YH (2013) A survey on the pesticide residues and risk assessment for agricultural products on the markets in Incheon area from 2010 to 2012. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 32(1), 61-69. <https://doi.org/10.5338/KJEA.2013.32.1.61>.
6. Kim JP, Seo JM, Lee HH, Oh MS, Ha DR, Shin HW, Kim ES (2008) The degradation patterns of benzimidazole pesticides in Korean lettuce by cultivation. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 23(2), 129-136.
7. Qin X, Xu Y, Sun Y, Zhao L, Wang L, Sun Y, Liang X (2016) Determination of carbendazim and diethofencarb in cotton and soil by high-performance liquid chromatography. *Analytical Letters*, 49(10), 1631-1639.
8. Song SH, Kim KY, Kim YS, Ryu KS, Kang MS, Lim JH, Yoo NY, Han YL, Choi HJ et al. (2021) Comparative analysis of pesticide residues in agricultural products in circulation in gyeonggi-do before and after positive list system enforcement. *Journal of Food Hygiene and Safety*, 36(3), 239-247. <https://doi.org/10.13103/JFHS.2021.36.3.239>.
9. Lee HS, Hong SM, Kwon HY, Kim DB, Moon BC (2017), Comparison of residue patterns between foliar application and denching in export strawberry. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 60(4), 313-319. <https://doi.org/10.3839/jabc.2017.049>.
10. Bhattacharjee AK, Pandey BK, Prakash O (2009) Persistence and dissipation of carbendazim residues in mango fruits after pre- and post-harvest applications. *Journal of Food Science and Technology*, 46(4), 347-349.