

Imidazole계 살균제 Prochloraz의 토양 중 잔류량과 반감기분석

최용화* · 한성수** · 김일광*

*상주대학교 식물자원학과

**원광대학교 생명자원과학대학 농화학과

*원광대학교 자연과학대학 화학과

(2001, 10.17 접수)

Determination of Residual Concentration and Half-life Time in Soils of Imidazole Fungicide Prochloraz

Yong Hwa Choi⁺ · Seong Soo Han⁺⁺ · Il Kwang Kim^{*}

⁺Department of Plant Resources, Sangju National University, Sangju, 742-711, Korea

⁺⁺Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

^{*}Department of Chemistry, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

(Received Oct. 17, 2001)

요 약 : Imidazole계 살균제 prochloraz의 토양(미사질식토) 잔류량 및 반감기를 전자포획검출기를 이용한 기체크로마토그래피로 분석하였다. 토양시료는 acetone/hexane (1:1) 용매로 추출하였고 LC-NH₂ Sep-Pak 고체컬럼으로 분리하였다. 표준검정곡선의 감응함수는 0.05 ~ 1.00 ng 범위에서 $Y = 268.8600X + 0.0664$, $R^2 = 0.9998$ 이었다. 검출한계는 0.02 mg/L이었고, 회수율은 0.10 mg/L의 경우 97.3%, 0.40 mg/L의 경우 94.5% 이었다. 반감기는 실내토양에서 24.4 일 포장토양에서 7.6 일 이었다.

Abstract : The residual analysis and half-life time of imidazole fungicide prochloraz in soils (silty clay) were investigated by gas chromatography equipped electron capture detector (GC-ECD). The soil samples were extracted acetone/hexane(1:1) solvent and analyzed after separated by LC-NH₂ Sep-Pak solid column. Linear sensitivity of standard calibration curve was $Y = 268.8600X + 0.0664$, $R^2 = 0.9998$ between 0.05 ~ 1.00 ng. The detection limit was 0.02 mg/L and the average recoveries were 94.5 ~ 97.3% from the standard additional experiments with 0.10 and 0.40 mg/L. The half-life time was 24.4 days in room laboratory and 7.6 days in the field test soil.

Key words : prochloraz, residue analysis, half-life time

1. 서 론

Prochloraz(CA 명:N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]imidazole-1- carboxamide, scheme 1)는 imidazole 계열의 항균성 농약¹⁾이다.

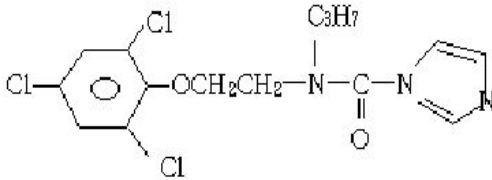
Prochloraz는 국외에서 열대성 과일의 곰팡이균과 식물잎의 반점 병균의 처리에 사용^{2,4)}되어 왔으나, 국내에서는 병저소독과 사과탄저병 방제를 위해 2000년에 24,000 M/T이 생산되어 22,000 M/T이 출하되었다⁵⁾. Scott와 Rea⁶⁾은 평지씨 나뭇잎의 질병처리에 이용하였고, Jordan 등⁷⁾은 곰팡이병원균에 접종된 나무의 감염예방에 효과적인 것을 조사하였으며, Marshall 등⁸⁾과 Janczak 등⁹⁾은 식물줄기 질병과 곡물살균제로 매우

★ Corresponding author

Phone : +82+(0)63-850-6227 Fax : +82+(0)63-841-4893

E-mail : ilkim@wonkwang.ac.kr

유효함을 보고하였다. Thies 등¹⁰⁾은 prochloraz가 곰팡이균의 cytochrome P₄₅₀ 산화효소기능을 억제하고 살균제로 작용하는 것을 알았고, Dyer 등¹¹⁾은 곡식식물 반점병원균에 대하여 sterol 14 α -demethylase의 저해제로 작용함을 조사하였다.



IUPAC name : 1-N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl] carbamoyl imidazole

CA name : N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl] imidazole-1H-carboxamide

Scheme 1. Systematic names and chemical structure of prochloraz

Prochloraz가 식물내부에 침투되면 imidazole 고리가 끊어지고 분해되어, 일반적으로 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6-TCP)과 N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]urea로 존재한다^{12,16)}. Prochloraz의 반감기는 토양조건에 따라 매우 다양하여 약 14-43일이며, 대사산물인 prochloraz-urea는 60일 동안에 약 4%정도 생성되는 것으로 보고되었다¹²⁾.

Prochloraz는 다른 농약들과 마찬가지로 곡물 추수 후에도 토양에 잔류되고^{12,17)}, 인체 CYP19 세포의 aromatase 효소의 활성을 저해시킨다¹⁸⁾. 근래 환경오염과 인체유해 문제가 제기됨에 따라 제조제, 살충제 및 살균제에 대한 잔류량을 측정된 결과들이 많이 보고되고 있다^{19,20)}. Prochloraz의 미량분석에 대한 연구결과들도 나타나고 있다.

Girdler 등^{15,16,21)}은 HPLC 방법으로 토양에서 prochloraz와 그 대사물질의 잔류분석을 행하였고, Volmer 등²²⁾은 liquid chromatography-electron capture detector(이하 LC-ECD)방법으로 수용성 환경시료 중 prochloraz를 포함한 농약들의 잔류를 정량하였으며, Crescenzi 등²³⁾은 LC-MS 방법으로 토양시료 중의 잔류량을 분석하였다. Paoli 등²⁴⁾은 대사물질중 하나인 2,4,6-TCD를 diazomethane 유도체로 만들어 GC-ECD 방법으로 과일과 곡물에 함유된 prochloraz와 대사물질의 잔류를 정량하였다. 본

연구에서는 고체추출장치인 LC-NH₂ Sep pak을 사용하여 간편하고 빠르게 prochloraz를 바로 정량하는 조건을 설정하고, 국내토양에서의 포장실험에 따른 잔류량, 반감기 등을 조사하였다.

2. 실험

2.1. 시약과 용매

Acetone (ACS급, Tedia 회사, 미국) 외에 dichloromethane, hexane, ethylacetate 그리고 acetonitrile 등은 모두 잔류농약 분석급을 Fluka 회사(스위스)로부터 구입하여 사용하였다. Prochloraz (99.9%)와 2,4,6-TCP는 Dr. Ehrenstorfer 회사(독일)로부터 구입하였다

2.2. 기기 및 장치

기체크로마토그래프는 Hewlett Packard 회사의 Model 6890이었고, ⁶³Ni constant current ECD와 HP-5 0.25 μ m \times 30m \times 0.32mm, crosslinked 5% phenylmethyl siloxane 모세관컬럼(Waters Co., Milford, MA, U.S.A.)을 사용하였다. 기체크로마토그래프의 운전 조건은 Table 1에 나타내었다. 회전 진공증발장치는 Bichi R-114, 고체추출장치는 LC-NH₂ Sep-Pak 카트리지를 사용하였다.

Table 1. The operating conditions of gas chromatograph

Temperature	200 °C (Column oven), 250 °C (Injector), 280 °C (Detector)
Carrier gas	N ₂ (3mL/min)
Injector	Split mode (ratio, 1:5)
Retention time	3.3 min.

2.3. 시험토양의 특성

시험토양은 미사질식토이며, 이화학적 성질을 Table 2에 요약하였다. 포장실험은 원광대학교 생명자원과학대학 실습포장에서 수행하였고, 실내실험은 25 \pm 2 °C의 항온실, 암상태에서 수행하였다.

Table 2. The basic properties of the tested soil.

Soil texture	Particle contents (%)			pH (1:5)	Organic content (%)	Exchange capacity of base (c mol/kg)
	Clay	Silt	Sand			
Silty clay	58.4	3.9	31.7	5.9	1.2	17.4

2.4. 표준검정곡선

Prochloraz 표준품(99.9%)을 100mL acetone에 녹여 1000 mg/L의 저장용액을 만들었다. 저장용액을 희석하여 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 및 1.0 ng/μL의 표준용액으로 만든 후, GC/ECD에 1 μL 씩을 주입하여 얻어진 크로마토그램을 얻고, 피이크 면적으로 표준검량선을 작성하였다

2.5. 시료분석과정

토양시료 25g을 300mL 플라스크에 취하고, 증류수 10mL와 무수 Na₂SO₄ 10g을 가한 후 acetone : hexane(1:1) 용매 125mL를 더하여 진탕추출 30분과 sonication 10분씩 각각 2번을 반복하여 추출하였다. Acetone 30mL로 용기와 잔사를 씻어 추출액과 합한 후 감압여과하였다. 추출액을 등근바닥 플라스크에 옮기고, 회전 진공증발기에서 4~5mL가 될 때까지 농축시킨 후 질소기체로 건조시킨 시료를 dichloromethane : hexane (2:3 v/v) 4mL로 용해시켰다. 그중 1mL를 LC-NH₂ Sep-Pak에 옮겨 ethylacetate:hexane (4:1 v/v) 8mL로 용출시킨 다음 농축·건고하였으며, 이것을 5mL acetone으로 재용해하였다. 그중 1μL를 GC/ECD에 주입하여 크로마토그램을 얻고 피이크면적을 표준검량선과 비교하여 prochloraz의 함유량을 결정하였다.

2.6. 회수율 실험

무처리 토양시료 25g에 prochloraz 10 mg/L 표준용액을 0.1 mg/L과 0.4 mg/L 시료가 되도록 처리하여 10분간 방치한 후 상기 시료분석과정을 행하여 회수율을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 표준검정곡선

Prochloraz(99.9%)의 저장용액을 acetone으로 희석하여 만든 표준용액으로 얻어진 기체크로마토그램들을 Fig.1에 보였고, 표준검량곡선을 Fig. 2에 보였었다. 최소자승법으로 산출한 감응함수는 본 실험의 농도범위(0.05~1.00 ng)에서 Y = 268.8600X + 0.0664, R² = 0.9998로 얻어졌다

3.2. 회수율 및 검출한계

회수율 실험에서 매우 깨끗한 기체크로마토그램을 얻었으며, 한 예를 Fig. 2에 보였고, 실험결과와 검출한계를 Table 3에 정리하였다. 0.10 mg/L이 되도록 처리한

경우 평균 회수율이 97.3%, 0.40 mg/L이 되도록 처리한 경우에는 평균회수율이 94.5%로 얻어졌으며, 이것은 Girdler¹⁹⁾의 86.8%보다 만족스런 결과였다. 최소검출량(0.03ng)으로부터 산출된 검출한계는 0.02 mg/L이었다.

Table 3. Recovery and detection limit of prochloraz in soil

Treated concentration (mg/L)	Recovery(%)				* Detection limit (mg/L)	Minimum detectable amounts (ng)
	1	2	3	Average		
0.1	93.1	103.1	95.6	97.3	0.02	0.03
0.4	97.6	95.0	90.9	94.5		

$$* 0.03 \text{ ng} \times \frac{5\text{mL}}{1 \mu\text{L}} \times \frac{4\text{mL}}{1\text{mL}} \times \frac{1}{25\text{g}} \cong 0.02 \text{ mg/L}$$

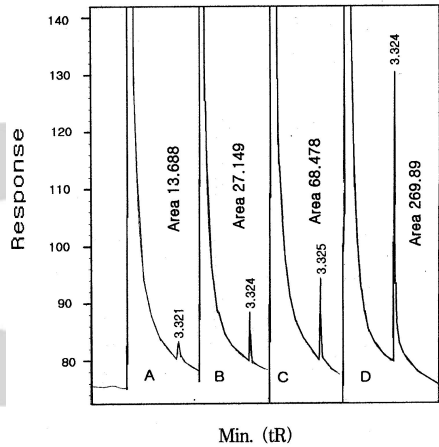


Fig 1. A typical GC-ECD chromatograms of standard prochloraz for calibration curve. A : 0.05ng B : 0.10ng C : 0.25ng D : 1.00ng

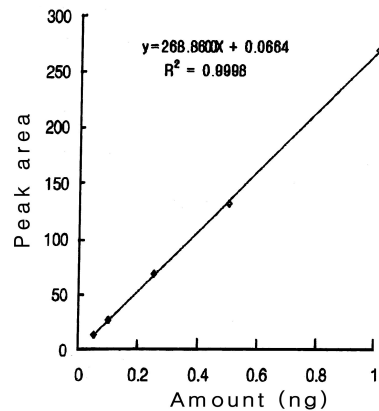


Fig 2. A typical standard calibration curve on the prochloraz.

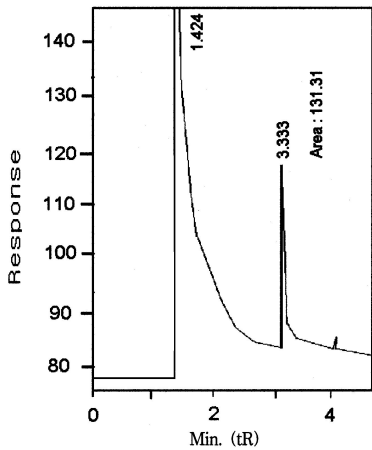


Fig 3. A typical gas chromatogram of 0.4 mg/L in recory test.

3.3. 실내토양의 잔류분석

실내토양에 대하여 250배로 희석된 prochloraz를 1회 500 L/10m²로 처리하여 1.0 mg/L이 되도록 하였다. 처리후 일수경과에 따라 시료토양을 채취하고, 2.5의 시료분석과정에 설명된 방법으로 크로마토그램을 얻었다. 측정된 크로마토그램의 피크 넓이로 표준검정곡선으로부터 잔류농도를 산출하였으며, 경과일수에 따라 측정된 잔류농도와 반감기는 Table 4에 나타내었다. Table 4의 결과를 보면 실내토양에서 prochloraz의 반감기는 24.4일이었다

Table 4. Residue amounts and half-life time of prochloraz for laboratory soil

Treatment day	Lapsed days after treatment	Residue amount (mg/L)				Half-life time(days)
		1	2	3	Average	
	Blank	-	-	-	-	
	0	0.916	0.935	0.939	0.930	
	3	0.880	0.860	0.832	0.857	
2000.	7	0.675	0.625	0.652	0.651	y=0.8198 e ^{-0.0232x} (24.4)
5. 13	15	0.529	0.534	0.515	0.526	
	30	0.359	0.355	0.357	0.357	
	60	0.190	0.212	0.207	0.203	
	90	0.109	0.113	0.104	0.109	

3.4. 포장토양의 잔류분석

포장토양에서도 실내실험의 경우와 같이 250배로

희석된 prochloraz를 1회에 500 L/10m²로 처리하여 1.0 mg/L이 되도록 하였다. 2.5에 설명된 시료분석과정의 방법에 따라 얻어진 크로마토그램의 피크 넓이를 표준검정곡선과 비교하여 잔류농도를 산출하였다. 처리후 경과일수에 따라 시료를 채취하고 얻어진 잔류농도와 반감기는 Table 5에 나타내었다. Table 5의 결과를 보면 포장토양 A에서 prochloraz의 반감기는 7.6일이었다.

포장토양의 결과를 실내토양(24.4일)과 비교하면 태양에 의한 광분해, 우천시 가수분해등으로 인하여 반감기가 매우 빨라진 것을 알 수 있다.

Table 5. Residue amount and half life time of prochloraz for field soil

Treatment day	Lapsed days after treatment	Residue amount (mg/L)				Half life time(days)
		1	2	3	Average	
	Blank	-	-	-	-	
	0	0.280	0.285	0.276	0.280	
2000. 5. 13	3	0.195	0.199	0.194	0.196	y=0.181 e ^{-0.034x} = 7.6
	7	0.120	0.119	0.125	0.121	
	15	0.071	0.073	0.074	0.073	
	30	0.045	0.048	0.049	0.047	
	60	0.029	0.033	0.030	0.031	

4. 결론

Prochloraz의 토양 중 회수율은 평균 94.5 ~97.3% 이었고, 본 실험의 조건에서 검출한계는 0.024 mg/L 이었다. 1회 처리시 반감기는 실내 미사질식토에서 24.4일 이었고, 포장 미사질식토에서는 7.6일이었다.

감사의 글

이 연구는 상주 대학교 교비와 원광대학교 의약자원 연구센터의 지원(2001) 에의한 것으로 이에 감사드립니다.

참고 문헌

1. J. Mitchell, P. M. Smith, *Proceedings of the British Crop Protection Conference Pests and Diseases*- volume 291-298 (1986)

2. I. K. Knights, *Proceedings of the British Crop Protection Conference Pests and Diseases* -volume 331-338 (1986).
3. P. Leroux, M. Gredt, *Pesticide Science*, **51**, 321-327 (1997).
4. J. V. Etheridge, G. L. Bateman, *Crop Protection*, **18**, 349-354 (1999).
5. Agrochemicals Year Book, Korea Association of Agricultural Chemicals, 88-89 (2001).
6. G. C. Scott, B. L. Rea, *Proceedings of the British Crop Protection Conference Pests and Diseases* -volume 1041-1047 (1986).
7. V. W. L. Jordan, T. Hunter, E. C. Fielding, *Proceedings of the British Crop Protection Conference Pests and Diseases* -volume 1063-1069 (1986).
8. J. Marshall, R. J. Ayres, *Proceedings of the British Crop Protection Conference Pests and Diseases* -volume 1185-1192 (1986).
9. C. Janczak, S. Pruszyński, *Proceedings of the British Crop Protection Conference Pests and Diseases* -volume 1125-1130 (1986).
10. F. Thies, L. H. Grimme, *Pesticide Science*, **47**, 337-346 (1996).
11. P. S. Dyer, J. Hansen, J. A. Lucas, *Applied & Environmental Microbiology*, **66**, 4599-4624 (2000).
12. A. Hollrigl-Rosta, R. Kreuzig, M. Bahadir, *Pesticide Science*, **55**, 531-538 (1999).
13. R. Bruehl, "Schering Report", UPSR 30/87.
14. R. Bruehl, "Schering Report", UPSR 58/88.
15. A. K. Girdler, P. J. Snowdon, "Schering Report", Resid 89/79.
16. A. K. Girdler, P. J. Snowdon, "Schering Report", Resid 90/19.
17. C. Roy, P. Gaillardon, F. Montfort, *Pest Management Science*, **56**, 795-803 (2000).
18. A. M. Vingaard, C. Hnida, V. Breinhalt, J. C. Larsen, *Toxicology in vitro*, **14**, 227-234 (2000).
19. S. S. Han, Y. S. Rim, I. K. Kim, *Analytical Science & Technology*, **10**, 168-178 (1997).
20. S. S. Han, S. I. Jeong, H. J. Chun, G. C. Hoang, I. K. Kim, *Analytical Science & Technology*, **13**, 722-730 (2000).
21. K. Girdler, P. J. Snowdon, "Schering Report", Resid 92/77 (1993).
22. D. Volmer and K. Levsen, *J. of Chromatography A*, **660**, 231-248 (1994).
23. C. Crescenzi, A. Dicorcia, M. Nazzari, R. Samperi, *Anal. Chem.*, **72**, 3050-3055 (2000).
24. M. De Paoli, M. Taccheo Barbina, V. Damiano, D. Fabbro, R. Bruno, *J. of Chromatography A*, **765**, 127-131 (1997).