

Chlorothalonil의 참깨 및 토양중 잔류소장에 관한 연구

이강봉 · 조일규* · 심재한 · 서용택

Residue Determination of Chlorothalonil in Sesame and Soil

Kang-Bong Lee · Ill-Kyu Cho · Jae-Han Shim · Yong-Tack Suh

Abstract

The effects of application time on the persistence of chlorothalonil in sesame plants and its persistence in soil were studied in the field.

A procedure was used which permitted the analysis of residues of Chlorothalonil (DACONIL 2787) in sesame (*Sesamum indicum* L.) and soil. The procedure was based on the multiresidue analytical method using an polarized acetonitrile solution or acidified acetone as the extracting solvent. The DACONIL 2787 is separated from the fat in the extracts by using an activated alumina and Florisil chromatographic column. Residues of DACONIL 2787 were determined by subjecting the alternate eluate from the Florisil column to gas chromatographic analysis (ECD).

Residue of chlorothalonil in sesame are proved to 0.06 ppm for six sprays, 3rd day before harvest. The half-life of chlorothalonil in soil proved to be 8.9 days and residues of chlorothalonil was only 0.03 ppm 100 days after application of 15 ppm.

緒 論

農藥은 본래의 目的을 수행한 뒤 신속히 分解되어야 함이 옳으나 많은 종류의 농약은 環境中에 殘留하게 되고 이로 인해 여러가지 生物에 害를 끼치기도 한다. 특히 有機鹽素系 農藥은 그 化學的 安定性 때문에 環境中에서 쉽게 分解되지 않고 지속적인 環境汚染 및 人體中毒의 가능성을 가지고 있으므로 이를 관심있게 조사하여야 할 것이다. Chlorothalonil(2, 4, 5, 6-tetrachloro isophthalonitrile)은 作物에 대해 惡影響을 미치는 病原性 絲狀菌을 防除하는 目的으로 제조된 효과적인 유기염소계 살균제이다^{1, 2)}. Chlorothalonil은 1962년에 開發된 이후로 DACONIL 2787, Bravo, Termil 등의 商品명으로

알려져 왔으며 그의 化學的 特徵으로 熱에 매우 安定하고 알칼리 조건에서 分解가 容易하다는 것이다³⁾. 水分의 存在下에 Chlorothalonil은 토양중에서 分解가 進行될수 있고 高溫多濕한 조건에서는 破壞率이 더욱 증가하며 정상적인 조건에서 열에 매우 安定한 까닭에 200°C 이상에서도 分解되지 않고 쉽게 昇化된다⁴⁾. 이러한 安定성으로 인해 gas chromatography 分析이 쉽게 실시될수 있다. 또한 알칼리성 유기용매에서는 Chlorothalonil이 느리게 光分解하여 알려지지 않는 化合物로 變化되는데 pH 9 이하의 弱 알칼리 또는 酸性 收容液중에서 加水 分解되지 않고 pH 9 이상의 조건에서 分解가 進行되어 3-cyano-2, 4, 5, 6-tetrachlorobenzamide 또는 4-hydroxy-2, 5, 6-trichloro isophthalonitrile로 되므로⁴⁾

* 전남대학교 농화학과, 농약연구소

Dept. of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea

* Agricultural Chemicals Research Institute, O. R. D., Suweon 170, Korea.

이를 이용하여 토양중의 chlorothalonil의 殘留性分을 抽出할수 있다.

本 實驗에서는 참깨에 대한 chlorothalonil의 安全使用基準 設定과 토양중의 傾時的 殘留變化를 관찰하기 위해서 포장에서의 참깨 재배기간중 수확 45일전, 30일전, 15일전, 7일전, 3일전에 각각 2회-6회의 약제를 살포하여 참깨의 수확후 잔류분석을 실시하였으며 그 분석은 試料(참깨)가 지방질 함량이 매우 높은 이유로 chlorothalonil成分의 추출을 위해 現在 실시되고 있는 여러가지 분석법을 검정하여 참깨에서의 chlorothalonil의 잔류분석을 위한 가장 적절한 방법으로 Luke-Doose 추출법을 응용한 Mills multiresidue 분석법⁶⁾을 채택하였으며 이로 인해 우수한 결과를 얻을수 있었다. 아울러 土壤 作土層에 대해서도 一定濃度의 藥劑를 처리

하여 처리 0일 부터 100일후 까지의 경시적 변화를 관찰한 結果를 報告하고자 한다.

材料 및 方法

1. 圃場試驗

Chlorothalonil의 참깨 및 土壤殘留特性 試驗圃場은 全南大學校 農科大學 附屬農場 밭 7a에 참깨(수원 63호: 한섬깨)를 직접 播種, 栽培하면서 12개의 試驗區로 나뉘 일정 기간별로 약제(수화제; 600배액, 120 L/10a)를 경엽 전면살포하고 대조구는 별도로 격리시켜 약제로부터 보호했다. 試驗區당 약제처리 시기 및 처리빈도, 수확일, 수확일과의 간격등은 Table 1에서와 같다. 아울러 토양에서의

Table 1. Application of chlorothalonil and sampling schedule in sesame(1989)

Plot No.	Spray		Harvest	
	Frequ-ency	Date (month/day)	Date	Interval (days)
1	0	-	8/20	-
2	2	6/20, 7/5	8/20	45
3	3	6/20, 7/5, 7/20	8/20	30
4	3	6/20, 7/5, 8/5	8/20	15
5	3	6/20, 7/5, 8/13	8/20	7
6	3	6/20, 7/5, 8/17	8/20	3
7	4	6/20, 7/5, 7/20, 8/5	8/20	15
8	4	6/20, 7/5, 8/5, 8/13	8/20	7
9	4	6/20, 7/5, 8/13, 8/17	8/20	3
10	5	6/20, 7/5, 7/20, 8/5, 8/13	8/20	7
11	5	6/20, 7/5, 8/5, 8/13, 8/17	8/20	3
12	6	6/20, 7/5, 7/20, 8/5, 8/13, 8/17	8/20	3

chlorothalonil의 경시적 변화관찰을 위해서 3.3m²의 시험구를 설치하여 약제(0.15kg ai/10a)를 토양표면에 고르게 살포하고 0일, 7일, 10일, 17일, 24일, 30일, 40일, 50일, 70일, 90일, 100일에 區當 5개 지점에서 시료를 채취하여 잘 混合한후 風乾시켜 10 mesh로 篩別하여 分析試料로 사용하였다. 토양 시료의 채취일과 채취간격은 Table 2에 나타냈으며 시료토양의 특성은 Table 3에 나타냈다.

2. 試料抽出 및 精製

가. 참깨에서 chlorothalonil의 추출 및 정제

3g의 참깨시료를 20g의 活性 alumina(260℃에서 4시간 이상 활성화 시킴)와 混合하여 20% water-acetonitrile 용액 100ml를 添加한후 磨碎機에서 2분동안 均質化시킨다. 均質液은 buchner 깔대기 상에서 Whatman No.2 여과지를 사용하여 30분간 過濾한 후 100ml 20% water-acetonitrile 용액으로 마쇄기의 cell과 깔대기를 씻어내려 앞서의 濾液과 混合하여 그부피를 측정하였다. 부피를 측정한 여액을 100ml 석유 ether와 함께 1ℓ 분액여두로 옮겨 2분간 격렬히 흔들고 나서 靜置하였다. 정지한 후 10ml의 飽和 NaCl 용액과 600ml의 증류수를 첨가하여 30-45초간 흔든 다음 다시 정지시켜 분액여두상의 하층

Table 2. Application of Chorothalonil and sampling schedule in soil(1989)

Plot No.	Application		Sampling	
			Date (month/day)	Interval
1	6/20	6/20		0
2	6/20	6/20, 6/27		7
3	6/20	6/20, 6/27, 6/30		10
4	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7		17
5	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14		24
6	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14, 7/20		30
7	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14, 7/20, 7/30		40
8	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14, 7/20, 7/30, 8/9		50
9	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14, 7/20, 7/30, 8/9, 8/29		70
10	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14, 7/20, 7/30, 8/9, 8/29, 9/19		90
11	6/20	6/20, 6/27, 6/30, 7/7, 7/14, 7/20, 7/30, 8/9, 8/29, 9/19, 9/29		100

Table 3. Analysis data for basic properties of soil sample

Water	pH	S.C	Soluble Si	Available P ₂ O ₅	Total N	Organic matter	B.E.C	Soil Class
(%)	(1:5)	mmho/cm	(ppm)	(ppm)	(%)	(%)	(me/100g)	
9.48	5.28	0.04	126.94	88.29	0.04	1.07	14.63	SL

수용액을 제거하고 석유 ether 층을 100ml의 증류수로 2번 세척하여 남아있는 acetonitrile을 완전히 제거하였다. 석유 ether층을 마개달린 눈금 실린더를 옮겨 그 부피를 측정하고 無水 Na₂SO₄을 5g 첨가하여 존재하는 수분을 완전히 제거하였다. 이때 최종 추출물에서 최초 시료의 양은 다음과 같이 계산하였다.

$$S = W \times (p/100) \times A/T$$

여기서 S=최종 추출물에서 시료의 양이며 W=시료의 무게, P=석유 ether의 회수된 부피, A=water-acetonitrile 추출액의 부피, T=water-acetonitrile 추출액의 총 부피(200ml+시료의 수분)을 나타낸다.

석유 ether 추출액 감압농축하여 약 10ml의 부피가 되게한 후 이 추출액을 정제하기 위하여 Florisil column chromatography를 실시하였다. Column은 내경 22mm×50cm의 유리관을 사용하였고 이 유리관 10g의 Florisil(Baker Co. 60-120mesh, 130℃에서 24

시간 이상 활성화 시킴)을 충전하고 그 위에 2cm 높이로 무수 Na₂SO₄를 채운후 50ml 석유 ether로 씻어 내렸다. 씻어내린 액이 충전물의 최상부를 빠져나가기 직전에 상기 추출액을 가하고 석유 ether 10ml로 벽면을 씻어 내렸으며 추출액이 거의 통과 되면 200ml의 50% methylene chloride와 0.35% acetonitrile이 혼합된 hexane 용액으로 column을 용출시켰다. 용출액은 농축 플라스크에 모아 감압농축하였으며 여기서의 keeper solution으로는 benzene을 사용하고 최종적으로 5ml의 benzene으로 부피를 맞춰 GLC-ECD의 供試液으로 하였다.

나. 토양중 chlorothalonil의 추출 및 정제

風乾細土 50g을 250ml의 acidic acetone(5ml 1:1 H₂SO₄-water+95ml acetone)과 혼합하여 密封한 후 2시간 동안 진탕추출하였다. 진탕후 토양이 완전히 침전되면 토양 10g에 해당하는 50ml의 상등액을 250 ml 비이커로 옮겨 50℃ 수조상에서 질소를 약하게

통과시키면서 acetone을 모두 날려보냈다. 농축이 완결되면 100ml 0.4M NaHCO_3 수용액을 첨가하여 그 pH를 4.5로 조절하고 250ml 분액여두로 옮겨 50 ml의 isopropyl ether를 가하여 2분간 흔들고 정지하였다. Isopropyl ether층은 농축 플라스크로 옮기고 다시 50ml의 isopropyl ether로 추출을 반복하여 농축 플라스크에 합한 후 감압농축을 행하여 그 부피를 약 10ml로 조절하였다. 추출액의 정제를 위해서 alumina column chromatography를 실시하는데 column은 22mm×50cm의 유리관에 활성 alumina(Merck Co. 70-230mesh, 260°C에서 24시간 활성화 시킴) 20g을 충전하고 그위에 3cm의 무수 Na_2SO_4 를 충전하여 50ml의 methylene chloride로 씻어

내렸다. 씻어내린 액이 column의 충전물 최상부를 빠져나가기 직전에 上記의 시료액을 가하고 200ml의 methylene chloride로 용출시켜 이 分割은 버린다. 최종적으로 100ml의 5% acetone-methylene chloride 용액으로 용출시켜 감압농축 후에 5ml의 benzene에 녹여 GLC-ECD분석의 供試液으로 하였다.

3. GLC 분석

본 실험에서 참깨 및 토양중 chlorothalonil의 분석을 위해 사용한 GLC의 分析條件 및 機器條件은 다음과 같다.

Instrument :	Pye Unicam series 304 Gas Chromatograph
Detector :	63-Ni electron capture detector
Column :	1.5m×4mm i.d spiral glass column packed with 3% OV-17 on Diatomite CQ(80-120 mesh)
Temperature :	Injection port -230°C
	Column oven -230°C
	Detector block -300°C
Gas flow rate :	carrier - N_2 50 ml/min
	scavenger - N_2 10 ml/min
Amplifier attenuation :	256
	current : 1
Chart speed :	10 mm/min
Injection volume :	1 μl

4. 檢量曲線

Chlorothalonil 표준품 조제액(100 ppm)을 稀釋하여 0.03, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0ppm으로 조제, 각각 1 μl 씩 GLC에 주입하여 recorder response(peak 높이)로 작성 하였다(Figure 1.)

5. 回收率

3g의 참깨시료를 acetone에 녹인 chlorothalonil 표준용액을 0.1 ppm과 1.0ppm이 되도록 처리하여 하룻밤을 방치하고 위의 분석과정으로 회수율을 산출하였다. 또한 토양에서는 50g의 시료를 0.05 ppm과 0.5ppm이 되게 처리하여 잘 혼합하여 1시간후에 위의 분석과정으로 회수율을 산출하였다.

結果 및 考察

1. 回收率 및 檢出限界

참깨시료 및 토양시료에 대한 chlorothalonil의 회수율과 검출한계는 Table 4에 나타난 것과 같다. 참깨시료는 처리농도와 관계없이 거의 90% 수준의 회수율을 보였고 그 분석오차는 1.0ppm 처리구에서 다소 차이가 컸다. Chlorothalonil의 GLC-ECD 최소 검출량은 0.06ng 이었으며 이에따른 분석법의 검출한계는 signal to noise ratio(S/N ratio)와 농도의 비, 시료의 量에 따라 결정하여 0.01ppm을 얻었다. 회수율의 gas chromatogram의 한 예는 Fig. 2와 같다. 토양시료에서는 0.05ppm과 0.5ppm을 처리하여 회수율을 조사한 결과 0.05ppm처리구에서는 평균

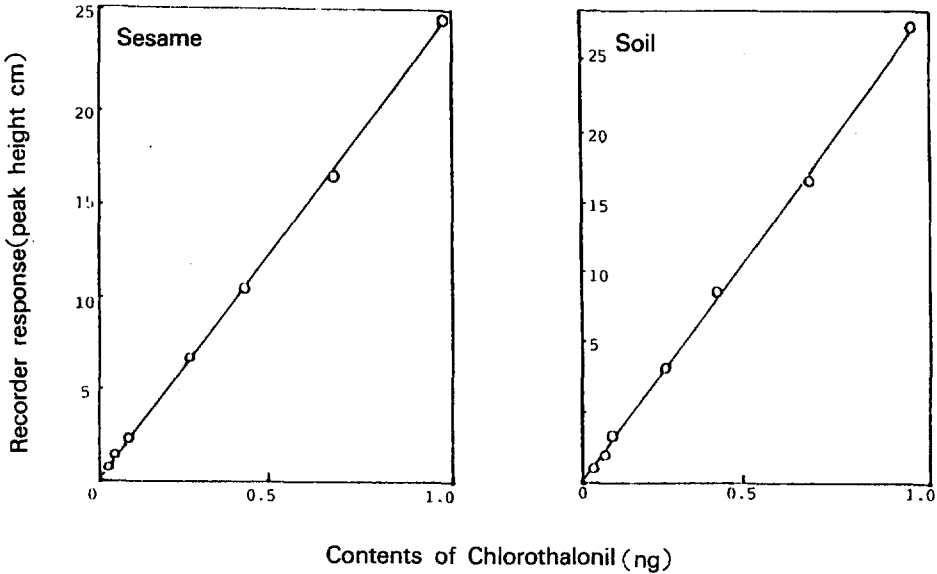


Fig 1. Standard calibration curve of Chlorothalonil in sesame and soil.

Table 4. Recovery and detection limit of Chlorothalonil

Sample	Spiking level (ppm)	Recovery (%)				Detection limit (ppm)
		A	B	C	Average	
Sesame	0.10	87.5	94.4	91.6	91.2	0.01
	1.00	96.9	93.6	78.3	89.6	
Soil	0.05	95.7	93.5	89.1	92.8	0.002
	0.50	97.7	94.2	94.2	95.4	

92.8%, 0.5ppm을 처리한 시료에서는 평균 95.4%의 비교적 높은 회수율을 얻을수 있었고 분석법의 오차 역시 적었으며 GLC 분석에서의 최소 검출량은 0.006 ng이었다. 이 분석법의 검출한계는 0.002ppm이었다.

2. 참깨에서 Chlorothalonil의 잔류

참깨중 chlorothalonil의 殘留量은 Table 5에 나타냈으며 참깨 재배기간중의 기상 상황은 Fig. 3과

같다. 참깨 수확후 잔류분석을 실시한 결과 그 잔류수준은 수확 45일전 2회 약제 처리구와 수확 30일전 3회 약제 처리구에서 0.01ppm 이하였으며 3회 약제처리 시험구중 수확 15일전, 7일전, 3일전 처리구는 모두 0.01-0.02ppm의 범위였다. 약제의 4회 처리구중 수확 15일전, 7일전, 3일전 시험구는 0.02-0.03ppm의 잔류를 보였고 5회 처리구는 수확 7일전 처리구가 0.02ppm인데 반해 수확 3일전 처리구는 0.05ppm으로 수확 7일전 처리가 chlorothalonil의 안전사용기준의 한계가 될 수 있으리라 사료

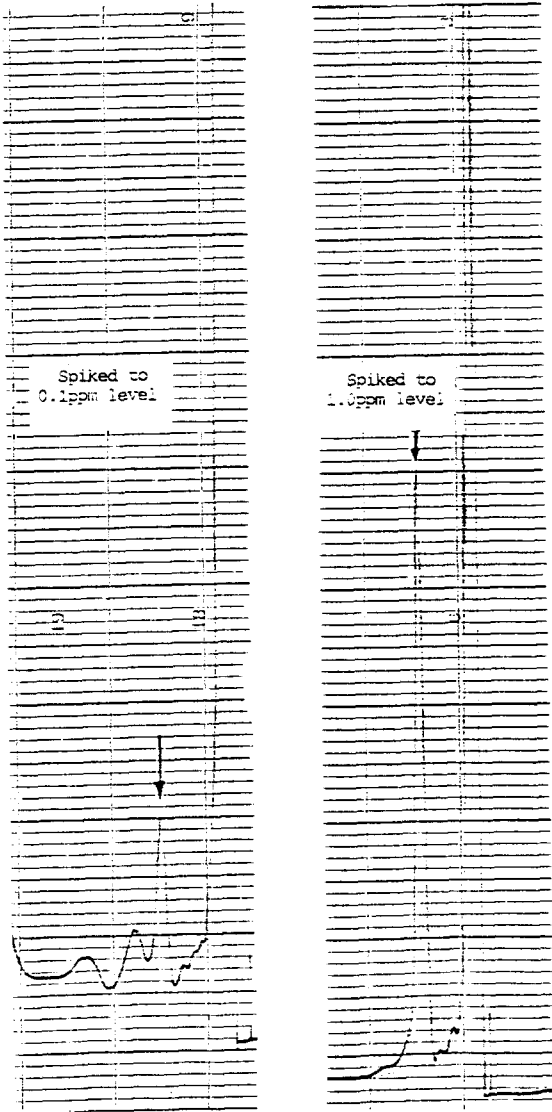


Fig 2. Chromatograms showing Chlorothalonil recoveries as function of fortified levels in sesame.

된다. 또한 수확 3일전 6회 처리구는 0.06ppm이 잔류되어 있었다.

Northover와 Ripley⁷⁾은 chlorothalonil의 포도에서의 잔류조사 결과에서 본 실험과 동일한 약제인 chlorothalonil 75WP의 3회 처리는 0.6ppm이 잔류했고 6회 처리는 0.8 ppm이 잔류했다고 밝혔다. 또한 살포 경과일수에 따른 잔류양상에서는 0일째 7.5ppm의 잔류농도가 14일 후에 3.1ppm, 21일후 1.6ppm으로

변화되었다고 밝혔으며 El-Nabarawy 와 Carey⁴⁾에

Table 5. Chlorothalonil residues in sesame

Plot No.	Spray frequency	Residues(ppm)
1	0	-
2	2	<0.01
3	3	<0.01
4	3	0.02
5	3	0.02
6	3	0.01
7	4	0.02
8	4	0.03
9	4	0.02
10	5	0.03
11	5	0.05
12	6	0.06

의한 굴에서의 chlorothalonil 잔류량 조사에서는 약제 처리 75일 후에도 1.17ppm이 잔류되었다고 보고되었다. Gilber등⁸⁾은 chlorothalonil의 사과와 그 잎에서의 잔류실태를 Northover 와 Ripley⁷⁾ 같이 acidic acetone으로 추출하여 조사하였는데 약제처리후 3-4일의 시료과피에 약제의 84-90%가 잔류되어 있음을 밝혔고, 사과의 육질과 세척후의 과피에서는 미미한 양만이 잔류되어 있음을 규명하였다. 현재 設定되어 있는 chlorothalonil의 限界残留 許容量이 땅콩에 대해 0.3ppm(EPA), 0.1ppm(FAO), 아몬드에 대해 0.05ppm(EPA), 채소 과실류에 대해 1.0 ppm (한국 환경처)으로 규정된 것에 비하면 앞서의 결과들은 처리농도에 있어서 약간씩의 차이가 있지만 참깨에서의 잔류는 이들에 못 미치는 결과라고 생각되며 참깨는 특성상 수확기까지 곡피에 둘러싸여 있기 때문에 그 잔류량이 미약 하였으리라 생각한다.

3. Chlorothalonil의 토양중 경시적 변화

Chlorothalonil의 토양중 잔류분석 결과는 Table 6에 나타냈으며 그 경시적 변화를 Fig. 4에 나타냈다. Ballee등⁹⁾은 작물과 토양에서 chlorothalonil의 잔류를 구명하는 분석법의 개발에 있어서 chlorothalonil은 토양중에 축적되지 않는다고 밝혔는데 그 이

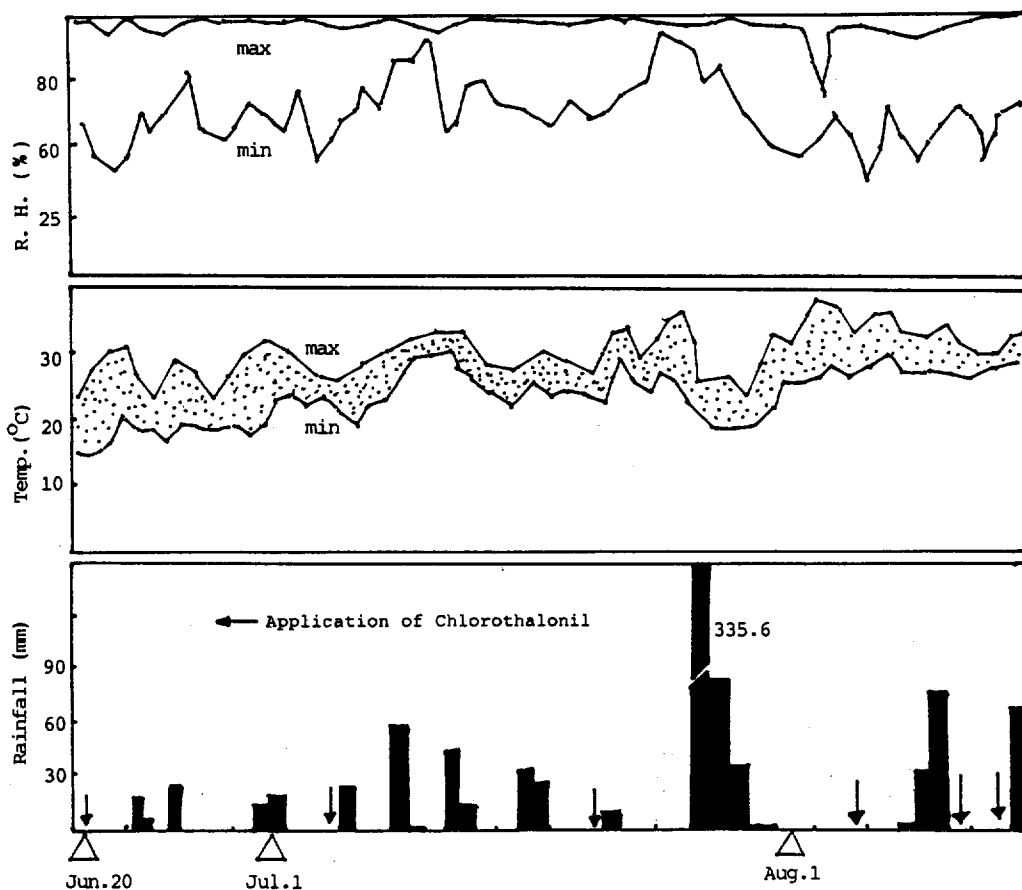


Fig 3. Relative humidity, temperature and rainfall during the experimental period.

Table 6. Chlorothalonil residues in soil

Plot No.	Interval from spray	Residues(ppm)		
		A	B	Average
1	0	12.70	13.20	12.95
2	7	10.30	11.90	11.10
3	10	3.15	3.40	3.28
4	14	1.95	1.85	1.90
5	17	1.72	1.68	1.70
6	24	1.34	1.10	1.22
7	30	1.05	0.83	0.94
8	40	0.73	0.58	0.66
9	50	0.55	0.43	0.49
10	70	0.33	0.30	0.32
11	90	0.19	0.16	0.18
12	100	0.03	0.02	0.03

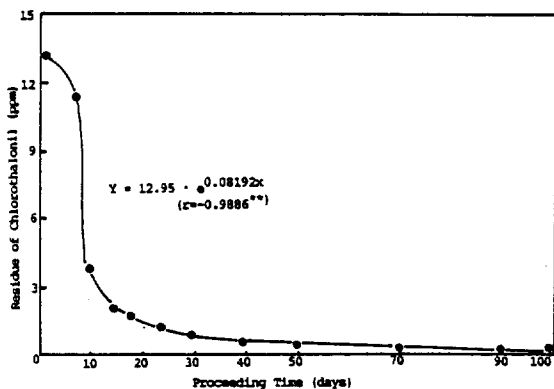


Fig. 4. Disappearance of Chlorothalonil in soil.

유는 토양수분에 의해 chlorothalonil의 현저히 감소 되기 때문이라고 알려졌다. 본 실험에서는 chlorothalonil이 0일째 평균 12.95ppm이 잔류되어 있었고

처리후 7일이 경과하여서는 11.10ppm, 10일이 경과하여서는 3.28ppm이 잔류되어 있었다. Chlorothalonil의 토양중 반감기는 Fig.4에서 曲線回歸式 $y = a \cdot e^{-bx}$ 를 이용하여 8.9일임을 알수있었다. 약제처리 10일 이후로도 시일이 경과할수록 점차 그 잔류량이 감소되어 3개월이 경과한 뒤에는 0.18ppm이, 100일이 경과한 뒤에는 0.03ppm만이 잔류되어 있었다. Szalkowski 와 Stallard²⁾는 chlorothalonil의 분해에 미치는 pH의 영향을 조사하였는데 이들에 따르면 0.4ppm 농도의 chlorothalonil의 토양처리가 pH 5와 pH 7에서는 49일 후에도 거의 분해되지 않고 pH 9에서는 89일 후에 0.08ppm만이 남아 80%이상 분해된다는 것이다. 본 실험에서는 토양에 처리한 chlorothalonil이 pH 5.28의 산성조건이었지만 많은 양의 강우와 이로인한 유실과 분해, 수분존재 하에서의 혐기성 미생물에 의한 분해 촉진, pH의 영향등 여러가지 요인에 의해 실내실험보다 더욱 빨리 분해되었을 것이라 추측할수 있다.

摘 要

Chlorothalonil의 참깨 재배중 살포횟수 및 처리 시기에 따른 잔류정도와 토양에 처리한 후의 경시적 변화를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Chlorothalonil의 잔류분석 회수율은 참깨시료를 사용하였을 경우 0.1ppm과 1.0ppm에서 각각 평균 91.2%, 89.6%를 보였고 검출한계는 0.01ppm이었다. 토양시료에서는 0.05ppm과 0.5ppm의 처리에 대한 회수율이 각각 평균 92.8%와 95.4%이었으며 검출한계는 0.002ppm이었다.
2. Chlorothalonil의 참깨에서의 잔류분석은 Mills등의 방법에서 가장 우수한 성적을 얻을수 있었고 그 결과 수확 3일전 6회 처리는 0.06ppm, 수확 7일전 5회처리는 0.05ppm이 잔류되어 있음을 확인했으며 chlorothalonil의 참깨에 대한 안전사용은 수확 7일 전한, 5회 이내의 사용으로 추천할수 있었다.
3. Chlorothalonil의 토양에서의 잔류분석 결과 처리

0일째 평균 12.95ppm이던 잔류량이 처리후 10일째는 3.28ppm으로 감소되었고 100일이 경과한 후에는 0.03ppm만이 잔류되어 있었으며 곡선회귀식에 의한 chlorothalonil의 토양중 반감기는 8.9일 이었다.

參考文獻

1. Ballee, D. L., Duane, W. C., Stallard, D. E, and Wolfe, A. L.(1976) Chlorothalonil : In Anal. Methods Pestic. Plant Growth Regul., Vol. 8, p. 263.
2. Mason Gilbert.(1976) Fate of Chlorothalonil in apple foliage and fruit, J. Agric. Food Chem., Vol. 24(5), 1004.
3. Diamond Shamrock Corp. (1970) Pesticide analytical manual Vol. II. Pesticide Reg. Sec. 120. 275 : Analytical method for determination of Dacnil 2787 and metabolite residues.
4. El-Nabarawy, I.M, and Carey, W.F.(1988) Improved method for determination of Chlorothalonil and related residues in Cranberries, Vol. 71 (2). 358.
5. Szalkowski. M. B. and Stallard, D. E. (1977) Effect of pH on the hydrolysis of Chlorothalonil, J. Agric. Food Chem., Vol. 25(1), 208.
6. Luke, A. M, and Masumoto, H. T.(1986) Pesticide residue analysis of food : In Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators. Vol, XV, p. 161.
7. Northover, J, and Ripley, B.D.(1980) Persistence of Chlorothalonil on grapes and its effect on disease control and fruit quality, J. Agric. Food Chem., 28(5), 971.
8. Gilbert, M. D., Monselise, S. P., Edgerton, L. J., Maylin, G. A., Hicks, L. J, and Lisk, D. J. (1975) Metabolism Studies with Ethephon in Cherry Leaves, J. Agric. Food Chem., 23, 290.