Korean J. Environ. Agric.
Vol. 11, *No.* 2, *October* 1992

합성 Pyrethroid계 살충제인 Bifenthrin의 토양환경중 동태 제 2 보. Bifenthrin의 토양중 분해산물의 동정 및 용탈

김장억 · 최태호

Behavior of Synthetic Pyrethroid Insecticide Bifenthrin in Soil Environment II) Identification of Degradation Product and Leaching of Bifenthrin in Soil

Jang-Eok Kim and Tae-Ho Choi

Abstract

This study was conducted to know degradation products of the synthetic pyrethroid insecticide bifenthrin under soil, aqueous solution and UV-light irradiation, and know its movement by leaching in soil. The major degradation product of bifenthrin was identified with 2-methylbiphenyl -3-yl methanol by HPLC, UV, Mass and NMR under soil, aqueous solution and UV-light irradiation. The main degradation route was hydrolysis of the ester linkage. On exposure to UV -light, bifenthrin was decomposed almost completely in concentrations of 10 and 100 ppm in 24 hr but decomposed about 80% in 1,000 ppm. Bifenthrin was immobile in soil column system and on soil thin-layer chromatography system. Mostly bifenthrin remained in the 0-2.0 cm layer of soil column and soil TLC.

서 론

1970년대 중반부터 개발되기 시작한 합성 pyrethroid계 살충제는 높은 살충력, 인축에 저독성, 공기 및 광에서 적절한 안정성 때문에 농업용 살충제로서 크게 주목을 받고 있지만 최근에는 저항성 해충들의 발달이 보고되어 더욱 다양한 화학구조가 요구되고 있는 실정이다[1-3].

초기에 개발되어 나온 합성 pyrethroid계 살충제의 화학구조는 산부분과 alcohol 부분이 ester결합

…이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 자유공모(지방대학육성)과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

* 경북대학교 농과대학 농화학과
Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

을 하고 있는 형태인데 alcohol 부분에 3-phenoxybenzyl ester group 대신에 biphenyl-3-ylmethyl group으로 바꾸었을 때 활성이 절반수준으로 떨어지는데 bifenthrin은 ring의 2번 위치에 methyl 기를 도입시킴으로서 초기의 α-cyanobenzyl ester type의 약제들보다 활성이 훨씬 광범위하게 넓어진 약제로서 앞으로도 적용범위가 더욱 확대될 것으로 추정되는 약제이다[4-6].

환경중에 살포된 합성 pyrethroid계 살충제의 분해경로를 파악하기 위한 작물, 토양, 수용액 및 광조사 등에 대한 많은 연구에서의 주요 분해과정을 살펴 볼때 ester 및 diphenyl ester bond의 절단, phenoxy ring의 4위치에 hydroxylation, cyano group의 amide와 carboxy group까지의 가수분해 작용 등에 의해서 대사되는 것으로 알려져 있다[7-13].

그러나 비교적 최근에 개발된 bifenthrin의 분해경로에 대한 연구를 일부 작물에 대하여만 연구보고[14]가 있었을 뿐 토양에서이 분해산물에 대하여는 연구보고가 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 bifenthrin의 주요 분해대사 경로를 추적하기 위하여 전보에서 토양 및 수용액 중에서의 분해특성을 조사한 자료를 기초로 토양, 수용액 및 자외선 조사하에서의 주요 분해대사산물을 분리 및 동정하고 또한 토양중에서의 이동성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. Bifenthrin 분해산물의 분리 및 동정

Bifenthrin의 토양, 수용액 및 자외선 조사시의 주 분해산물을 동정하기 위하여 bifenthrin이 처리된 토양시료를 acetone으로 추출하고 HPLC (Yung-In HPLC-9500)로 주 분해산물로 추정되는 peak를 확인한 후, silica gel 60 F_{254} (20×20 cm, 0.25 mm thickness, E.Merck)의 TLC plate에 추출물을 spot하여 bifenthrin 및 그 분해산물을 각각 분리하였으며, TLC로 분리된 물질의 분자구조를 알기 위해 spot를 scrap하여 결정화시켰다. 결정화된 물질의 최대흡수파장을 측정하기 위하여 UV-visible spectrophotometer (Pyeunicam 8800)로 scanning하였으며, 또한 이 결정화된 시료의 분자량을 측정하기 위하여서는 Varian MAT 212 mass-spectrometry를 사용하였고 ion source로 70eV, detector는 EI를 사용하였다. 또한 이 결정의 분자구조를 확인하기 위하여 $CDCl_3$에 녹여 ^{1}H-NMR 및 ^{13}C-NMR spectrometer (Brüker)로 분석하였으며, 이때 내부 기준물질로는 TMS를 사용하였다. 수용액 및 자외선 조사시에도 bifenthrin의 분해산물의 분리 및 동정을 토양에서와 같은 방법으로 수행하였다.

2. 자외선 조사

Bifenthrin을 표준품 농도가 10, 100, 1000 ppm으로 조제된 액을 petri dish (i.d., 9 cm)에 넣고, 용매를 휘발시킨 후, UV-lamp (300 nm, 10W at 10 cm)가 설치된 25±2°C의 incubator에 보관하면서 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48시간 조사시켜 bifenthrin의 분해양상 및 분해산물을 조사하였다.

3. 용탈

Bifenthrin의 토양중 용탈 정도를 조사하기 위하여 Helling과 Turner의 soil TLC 방법[11]을 약간 변형하여 용탈 정도를 조사하였다. 2 mm체를 통과한 풍건토양을 다시 0.25 mm체를 통과시켜 이 토양을 TLC용 glass판 (20×20 cm, thickness 2 mm)에 0.5 mm 두께로 입힌 후, desiccator에서 완전히 건조시키고, plate 하단 1.5 cm부위에 bifenthrin을 spot한 다음, 전개용매로는 재증류수를 사용하였으며, plate하단에서 부터 11.5 cm까지 전개시킨 후, 다시 desiccator안에서 완전히 용매를 건조시키고, 각각의 fragments를 1 cm씩 간격으로 구분하여 채취한 시료를 acetone으로 추출하여 GLC/ECD로 정량분석하였으며, soil TLC에서 Rf값을 구하여 bifenthrin의 물에 의한 이동 정도를 조사하였다. 또한 glass column (length 30 cm, i.d., 3 cm)에서 용탈 정도를 조사하기 위하여 토양 및 유기물을 완전히 제거시킨 모래를 25 cm 높이로 넣고, 재증류수 1L로 토양 현탁액이 나오지 않을때 까지 흘려 보낸 다음, bifenthrin 표준품 10 ppm, 1 ml를 첨가한 후, 재증류수 1L를 시간당 10 ml씩 용출시켜 GLC/ECD로 용탈 정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

1. Bifenthrin 분해산물의 분리 및 동정

Bifenthrin의 토양 환경중에서 주요 분해대사 경로를 추적하기 위하여 약제가 처리된 토양을 acetone으로 추출한 후 그 토양추출물을 HPLC로 분리한 결과는 Fig. 1과 같았다.

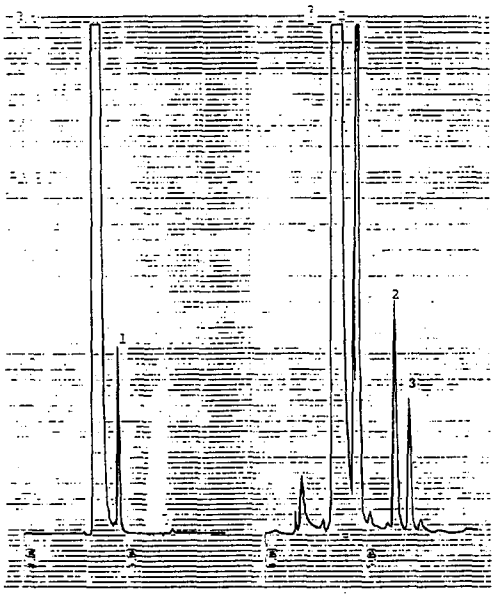

Fig. 1. HPLC chromatogram of bifenthrin and its degradation products isolated from soils
1 : bifenthrin
2 : unknown
3 : unknown

HPLC의 분석조건은 μ-Bondapack C_{18} column을 이용하였으며 acetonitrile : H_2O : ethanol을 50 : 35 : 15(v/v/v) 비율로 조제된 용출용매를 이용하여 UV(254 nm) detector에서 분석하였다. 토양 추출물과 bifenthrin 표준품의 HPLC chromatogram에서 retention time을 비교해 본 결과 bifenthrin의 retention time은 4.72분이었으며, 토양추출물에서는 분해산물로 추정되는 2번 및 3번 peak를 확인할 수 있었다.

HPLC에서 분리된 peak 2, 3의 분자구조를 확인하기 위하여 시료 추출물을 TLC를 이용하여 분리하였는데 이때 TLC에서 분리된 주 spot는 Fig. 2와 같았다.

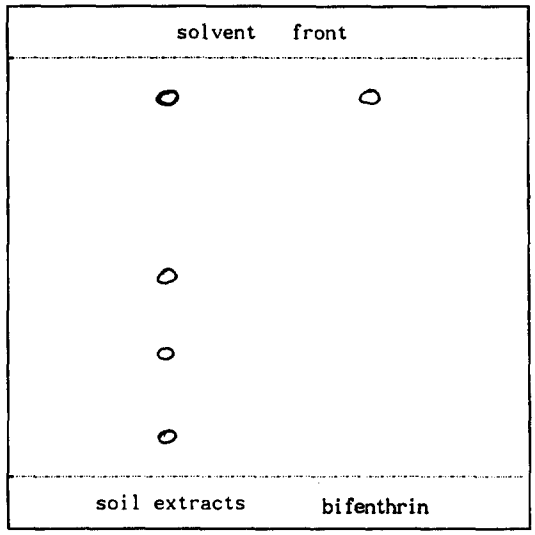

Fig. 2. Thin layer chromatogram of bifenthrin, its degradation products in soil extracts on Kieselgel $60F_{254}$
1) Solvent : benzene saturated with formic acid/diethyl ether(10/3, v/v)
2) Development distance : 17cm
3) Layer thickness : 0.25mm

Fig. 2에서 전개용매로 benzene saturated with formic acid/diethyl ether를 10 : 3(v/v)의 비로 전개시켜 Rf값을 구한 결과 bifenthrin 표준품은 0.93, 분해 산물로 추정되는 물질들의 Rf값은 0.51, 0.33, 0.14이었으며, Rf값이 0.33, 0.14인 물질은 scrap하여 용출시키는 과정에서 화학적인 불안정성으로 인하여 시료를 회수할 수 없었으며, Rf값이 0.51인 물질을 회수하여 Table 1과 같은 solvent system에서 전개용매를 A→B→C→D 순으로 시료를 반복 정제하고 분자구조를 밝히기 위하여 결정화시켰다.

Rf값이 0.51인 물질을 결정화 시킨 후 다시 HPLC상의 unknown물질과 비교한 결과 Fig. 1의 2번 peak의 물질로 확인되었다. 이 결정화 된 물질의 UV에 의한 흡수정도를 알고자 diethyl ether에 녹여, bifenthrin 표준품과 UV-visible spectrophometer로 200-300nm까지 scanning한

Table 1. TLC Rf values for bifenthrin and its degradation product isolated from soils

Compound	Rf values with indicated solvent system*			
	A	B	C	D
Bifenthrin	0.13	0.74	0.92	0.93
Unknown	0.01	0.32	0.42	0.51

* A. n-hexane-diethylether(20/1, v/v)
B. n-hexane-acetone(4/1, v/v)
C. n-hexane-toluene-acetic acid(3/11/2, v/v/v)
D. benzene saturated with formic acid-ethyl ether(10/3, v/v)

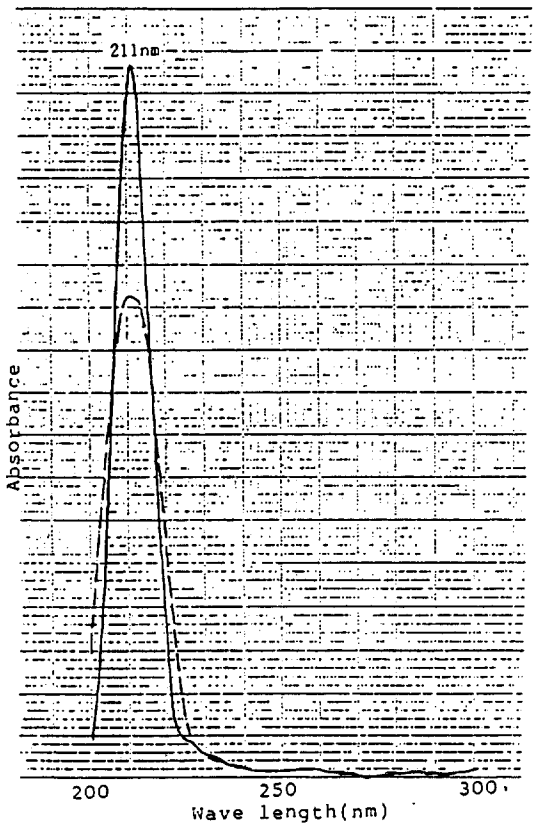

Fig. 3. UV spectrum of bifenthrin and its degradation product isolated from soils in diethyl ether
— : bifenthrin
··· : degradation product(Rf=0.51 in TLC, peak 2 in Fig. 1)

결과 Fig. 3에서와 같이 bifenthrin 및 분해 산물로 추정되는 물질은 211nm에서 UV를 강하게 흡수하는 것으로 나타나 분해산물로 추정되는 물질의 분자구조 중에 benzene ring이 존재할 것으로 추정되어 이 분해산물이 bifenthrin의 alcohol부분에서 유래된 것으로 추정되었다.

이 물질의 분자구조를 밝히기 위하여 다시 이 물질을 acetone에 녹여 ion source 70eV, 검출기는 EI를 이용한 mass-spectrometry로 분자량을 측정한 결과는 Fig.4와 같았다.

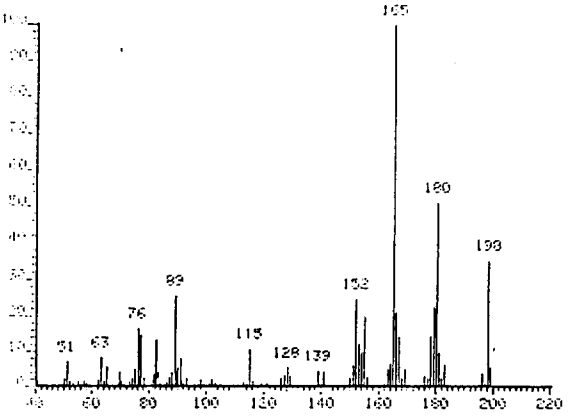

Fig. 4. Mass spectrum of degradation product of bifenthrin isolated from soils(acetone)

Mass-spectrometry에서 나타난 각각의 fragments를 확인한 결과 시성식이 $C_{14}H_{14}O$이고 분자량이 198인 물질로 추정되었고, 이 결정을 $CDCl_3$에 녹여 ^{1}H-NMR spectrometer(300MHz)을 사용한 결과의 spectrum은 Fig. 5에서 보는바와 같이 1.73 ppm(bs, 1H, OH), 2.23 ppm(s, 3H, CH_3), 4.76 ppm(s, 2H, CH_2) 및 7.18-7.43 ppm (m, 8H, aromatic Hs)에서 proton peak를 볼 수 있었다. 여기에서 hydroxyl group과 carboxylic acid group인지를 보다 정확하게 판단하기 위하여 ^{13}C-NMR spectrometer(40MHz)을 사용한 결과는 Fig. 6과 같으며, 각각의 spectrum을 확인한 결과 15.83 ppm(CH_3), 64.03 ppm(CH_2), 76.57-77.42 ppm($CDCl_3$) 및 125.55-142.8(aromatic Cs)에서 각각 탄소의 화학적 이동이 관찰되었다.

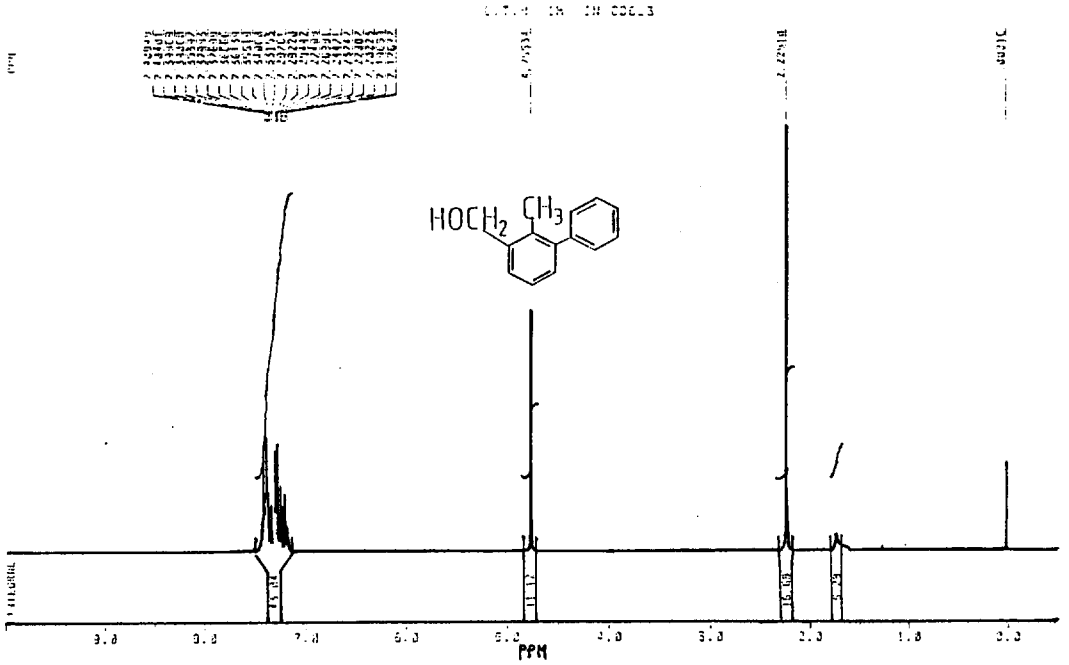

Fig. 5. ^{1}H-NMR spectrum of degradation product of bifenthrin isolated from soils($CDCl_3$)

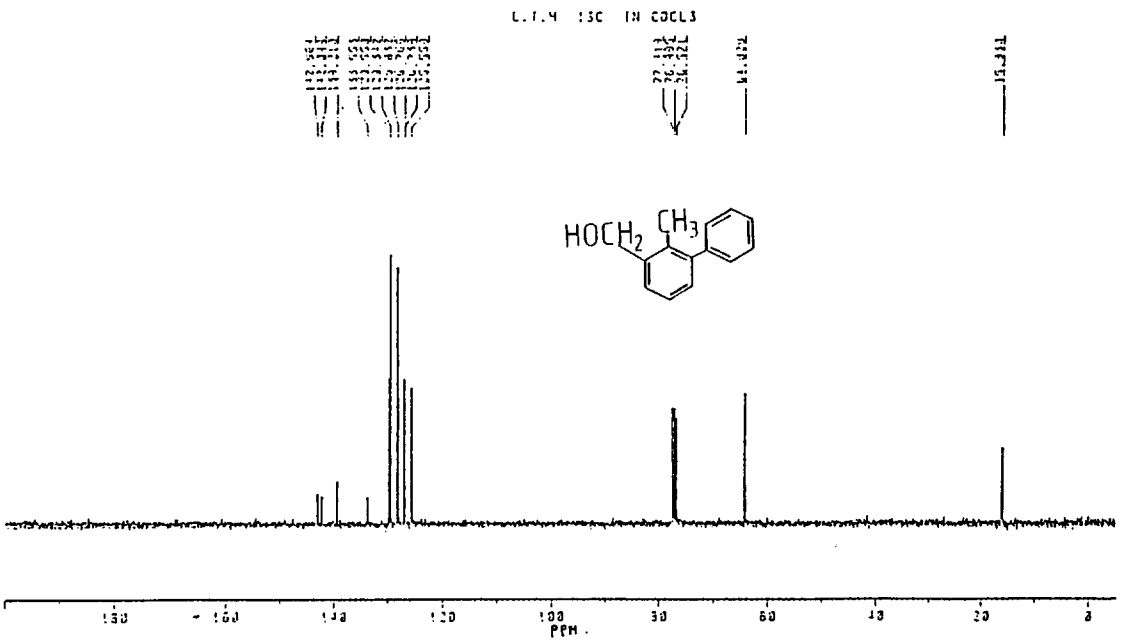

Fig. 6. ^{13}C-NMR spectrum of degradation product of bifenthrin isolated from soils($CDCl_3$)

이상의 mass 및 NMR을 통한 기기분석의 결과를 종합하여 볼 때 토양에서 추출한 bifenthrin의 분해산물이라고 추정된 HPLC chromatogram상의 peak 2, 즉 TLC상의 Rf값 0.51인 물질은 $C_{14}H_{14}O$의 시성식을 가진 분자량이 198인 2-methylbiphenyl-3-ylmethanol로 동정되었다.

이는 Wei[14]가 pumpkin에서 bifenthrin의 분해산물로 동정한 분자량이 198인 것과 동일한 것으로 여겨지며, 또한 이 분해산물은 Svendsen 등[5]과 Plummer 등[6]이 측정한 ^{1}H-NMR peak와 동일한 peak를 보였다.

수용액 조건 및 UV조사 조건하에서도 토양에서와 같이 bifenthrin의 주 분해산물은 2-methylbiphenyl-3-ylmethanol로 확인되었다.

Sakata 등[15,16]과 Nambu 등[17]은 cypermathrin, fenpropathrin, phenothrin이 토양에서의 분해 경로는 phenoxyl ring의 hydroxylation과 cyano group 및 carboxyl groups의 가수분해 등이며 주 분해경로는 ester bond의 hydrolysis로 보고하고 있다.

따라서 bifernthrin은 다른 합성 pyrethroid계 농약과 매우 유사하게 일차적으로 산부분과 alcohol부분의 ester bond가 절단이 일어나 alcohol form인 2-methylbiphenyl-3-ylmethanol이 생성될 것으로 추정되는바 토양, 수용액 및 자외선 조건하에서 일차적으로 Fig. 7과 같이 ester 결합이 절단되어 2-methylbiphenyl-3-ylmethanol로 분해되는 것으로 보였다.

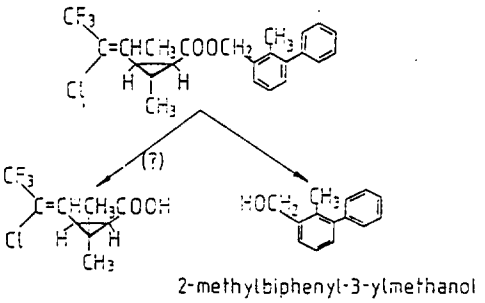

Fig. 7. Proposed degradation pathway of bifenthrin in soil, aqueous solution and UV-light

2. 자외선 조사에 따른 분해

Bifenthrin의 자외선 조사에 의한 안정성을 조사하기 위하여 표준품 10, 100, 1000 ppm을 petri-dish에 넣고 0.5, 1, 3, 6, 12, 24시간 조사하여 그 분해정도를 조사한 결과는 Fig. 8과 같았다.

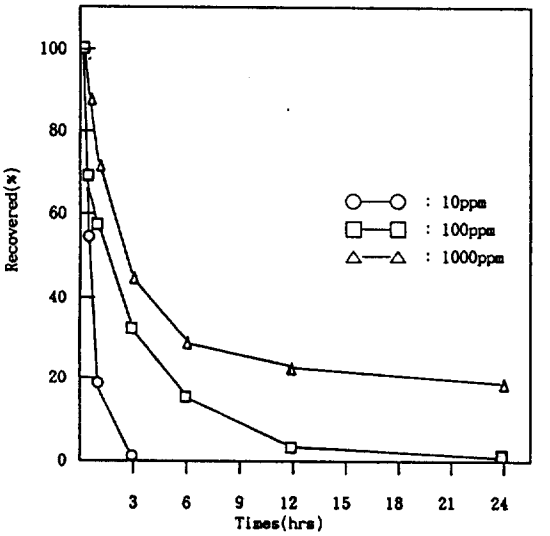

Fig. 8. Effect of UV-light on the degradation of bifenthrin

본 실험에서 bifenthrin 10 ppm에 자외선 조사시 3시간 안에 99% 이상 분해되었으며, 100 ppm은 12시간 안에 90% 이상 분해되었고, 1000 ppm일때는 24시간 안에 약 80%가 분해되었다. 자외선이 조사됨에 따라 Holmstead 등[18]이 ultraviolet(> 290 nm)나 sunlight에 의해서 합성 pyrethroid계 농약인 fenvalerate가 decarboxylation과 ester bond의 절단이 일어나 빠른 분해양상을 보인다고 보고하였으며, Takahashi 등[7]은 fenvalerate는 phenyl ring과 aromatic ring의 π-π^*와 n-π^*의 transitions으로 singlet 및 triplet의 여기 상태 산물로 되어 광화학 반응이 일어나 자외선에 빠른 분해가 일어난다고 보고한 바가 있다. 본 실험에 사용된 bifenthrin도 아마도 동일한 기작에 의하여 자외선하에서 신속한 분해가 일어난 것으로 보인다.

이러한 합성 pyrethroid계 화합물들의 자외선에 의한 빠른 분해를 지연시키기 위한 최근의 연구[7,19,20]에서 humic acid, tryptophan 및 tyrosine과 같은 환경중에서 농약의 photosensitizer로 작용하는 UV흡수체 화합물을 사용하면 광분해가 억제되어 UV에 의한 빠른 광분해를 어느 정도 지연시킬 수 있는 것으로 보고된 바 있다.

3. 용탈에 관한 연구

합성 pyrethroid계 농약은 비교적 어독성이 상당히 높기 때문에 토양환경중에서 용탈관계는 상당히 중요할 것으로 생각되어 Helling과 Turner가 사용한 soil TLC방법[11]을 약간 변형하여 칠곡 및 복현 토양에서 bifenthrin 표준품의 토양내 이동 정도를 조사한 결과는 Table 2와 같았다.

Table 2. Movement of bifenthrin from soil TLC in Chilgok and Bokhyen soils

	Bifenthrin contents(%)*	
	Chilgok	Bokhyen
Fragment(cm)		
0-1	95.5	101
1-2	4.2	ND
2-3	ND	ND
3-4	〃	〃
4-5	〃	〃
5-6	〃	〃
6-7	〃	〃
7-8	〃	〃
8-9	〃	〃
9-10	〃	〃
Leachate	ND	ND
Total(%)	97.7	101

* the mean of triplicate

Soil TLC에서 bifenthrin의 이동은 칠곡 및 복현 토양에서는 거의 이동이 일어나지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Sakata 등[15,16]과 Kaufman 등[11]이 pyrethroid계 농약은 물에 대한 낮은 용해성과 토양 입자에 대한 빠른 흡착으로 인하여 토양내로 거의 용탈이 일어나지 않는다는 보고와 거의 일치하는 것이다.

따라서 다른 합성 pyrethroid계 살충제[11,15,16]와 마찬가지로 bifenthrin은 물에 대한 매우 낮은 용해성과 토양입자에 빠른 흡착으로 인하여 용탈이 일어나지 않았던 것으로 추정된다. 또한 토양 column에서의 용탈정도를 규명하기 위하여 유기물을 완전히 제거시킨 모래와 공시토양을 25 cm 높이로 채운 column(length 30 cm, i.d., 3 cm)에서 용탈정도를 실험한 결과 공시토양의 column에서는 거의 용탈이 일어나지 않았고, sand column에서는 bifenthrin 표준품 10 ppm, 1 ml를 처리했을 때 3-5%의 용탈이 일어났다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 bifenthrin은 토양내에서 관개수 및 우수에 의해 용탈되어 토양 하부로의 이동은 거의 일어나지 않을 것으로 추정된다.

요 약

토양 및 수용액조건에서와 자외선조사시의 bifenthrin의 주 분해대사산물을 확인하고 토양중에서의 용탈을 조사한 결과는 다음과 같다.

토양 및 수용액조건에서와 자외선조사시 bifenthrin의 일차분해산물은 2-methylbiphenyl-3-ylmethanol로 HPLC, UV, Mass 및 NMR로 확인되었으며 bifenthrin의 주 분해경로는 ester결합의 가수분해 작용으로 나타났다.

자외선 조사시 bifenthrin은 첨가농도 10, 100 ppm에서 24시간만에 거의 분해 소실되었으며 1, 000 ppm일 때는 약 80%정도 분해되었다.

Soil TLC 및 column상에서 bifenthrin은 거의 용탈되지 않고 표토에 존재하였다.

참고문헌

1. Hirano, M. (1989) : Characteristic of pyrethroids for insect pest control in agriculture, pestic. Sci., 27, 353.
2. Ahn, Y.J., Funaki, E., Motoyama, N., Shono T. and Fukami, J. (1987) : Nerve insensitivity as mechinism of resistance to pyrethroids in a Japanese colony of housefies, J. Pestic. Sci., 12, 71.

3. Watkinson, I.A. (1989) : Pyrethroid and economics of pest management, Pestic. Sci., 27, 465.
4. Katagi, T. (1990) : Theoritical estimation of site specificity in the metabolic hydorlyation of synthetic pyrethroids, J. Pestic. Sci., 15, 427.
5. Svendsen, A. and Pedersen, L.K. (1987) : Pyrethroid insecticides derived from 2, 2-dimethyl-3-(3-phenoxylbenzyloxy) propanal, Pestic. Sci., 18, 169.
6. Plummer, E.L., Cardis, A.b., Martinez, A.J., Vansaun, R.A. Palmere, R.M. Pincus, D.S. and Stewart, R.R. (1983) : Pyrethroid insecticides derived from substituted biphenyl-3-ylmethanols, pestic. Sci., 14, 560.
7. Takahashi, N., Mikami, N., Matsuda T. and Miyamoto, J. (1985) : Photodegration of the pyrethroid insecticide cypermethrine in the water and on soil surface, J. Pestic. Sci., 10, 629.
8. Takahashi, N., Mikami, N., Matsuda T. and Miyamoto, J. (1985) : Hydrolysis of the pyrethroid insecticide cypermethrin in aqueous media, J. Pestic. Sci., 10, 643.
9. Sharom, M.S. and Salomon, K.R. (1981) : Adsorption-desorption, degradation, and distribution of permethrin in aqueous systems, J.Agric, Food Chem., 29, 1122.
10. Mikami, N. (1987) : Degradation of pyrethroid insecticides in the environment, J. Pestic. Sci., 12, 539.
11. Kaufman, D.D., Russell, B.A., Helling, C.S. and Kayse, A.J. (1981) : Movement of cypermethrin, decamethrin, permethrin, and their degradation products in soil, J. Agric. Food Chem., 29, 239.
12. Hill, B.D. (1981) : Persistence and distribution of fenvalerate residues in soil under field and, laboratory conditions, J.Agric. Food Chem., 29, 107.
13. Nambu, K., Ohkawa, H. and Miyamoto, J. (1980) : Metabolic fate of phenothrin in plant and soils, J. Pestic. Sci., 5, 177.
14. Wei, L.Y. (1991) : Determination of biphenthrine in pumpkins by gas chromatography and mass spectrometry, pestic. Sci., 32, 141.
15. Sakata, S., Mikami, N., Matsuda, T. and Miyamoto, J. (1986) : Degration and leaching behavioor of the pyrethroid insecticide cypermethrin in soils, J. Pestic. Sci., 11, 71.
16. Sakata, S., Yoshimura, J., Nambu, K., Mikami, N. and Yamada, H. (1990) : Degradation and leaching behavior of the pyrethroid insecticide fenpropathrin in soils, J.Pestic. Sci., 15, 363.
17. Nambu, K., Ohkawa, H. and Miyamoto, J. (1980) : Metablic fate of phenothrin in plant and soils, J.Pestic. Sci., 5, 177.
18. Mikami, N., Takashi, N., Yamada, H> and Miyamoto, J. (1985) : Seperation and identification of short-lived free radicals formed by photolysis of the pyrethroid insecticide fenvalerate, Pestic.Sci., 16, 101.
19. Hussain, M., Perschke, H. and Kutscher, R. (1990) : The effect of selected UV absorber compounds on the photodegradation of pyrethroid insecticides applied to cotton fabric screens, Pestic. Sci., 28, 345-355.
20. Farnham, A.W., Janes, N.F., Khambay, B.P.S. (1989) : The pyrethrin an drelated compounds. Part XXXV. Ester of arylsubstituted cyclopentane alcohols and analygues, pestic. Sci., 25, 205.