

사과와 토양 중에서 Difenoconazole의 잔류성에 대한 기체 크로마토그래피 분석

한성수[†] · 김일광^{*}

원광대학교 생명자원대학 농화학과

^{*}원광대학교 자연과학대학 화학과

(1996. 1. 26. 접수)

Gas Chromatographic Analysis on Residual Difenoconazole in Apple and Soil

Sung Soo Han[†], Il Kwang Kim^{*}

[†]Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

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

(Received Jan. 26, 1996)

요약 : 기체 크로마토그래피법을 이용하여 과수 재배용 살균제인 difenoconazole의 분석을 위한 최적 조건을 구하고, 사과와 토양 중에서의 잔류성을 조사하였다. 사과시료는 5% NaCl과 *n*-hexane액으로 분리, 농축하여 florisil column상에서 acetone과 *n*-hexane 혼합액으로 정제하여 GLC(ECD)로 분석하였다. 0.20과 1.0ppm의 표준물 첨가실험결과 평균회수율은 86.0~92.0%였고, 검출한계는 0.01ppm이었다. 사과에 대한 안정 사용기간은 수확 15일 전 3회 사용이 적당한 것으로 나타났으며, 이 경우 difenoconazole의 잔류량은 0.037ppm에서 0.044ppm이었다. 토양시료를 methanol과 ammonium hydroxide의 혼합액으로 추출하여 여과한 후 포화 NaCl 용액과 dichloromethane층으로 분배하였다. 유기층을 농축하여 toluene 용매로 재용해하였고, Sep-Pak column으로 정제한 후 GLC(FID)로 분석하였다. 0.10, 0.50과 1.0ppm 표준물 첨가실험 결과 평균 회수율은 101.2~103.7%였고, 검출한계는 0.025ppm이었다.

Abstract : The optimum conditions for the analysis of the difenoconazole fungicide on soil and crops were investigated and the residues of that in apple and soil were identified by using the gas chromatography. The extract with acetonitrile was separated with saturated NaCl and *n*-hexane solution after filtered, and concentrated. Obtained fungicide residues were transferred to the florisil column and eluted with acetone and *n*-hexane mixed solution for the analysis by GLC(ECD). From the standard addition experiments with 0.20 and 1.0ppm, the average recoveries were 86~92% and the detection limit was 0.01 ppm. It seems to be safely used when difenoconazole is treated three times until 15 days before harvest of apple. In this case residual amounts of difenoconazole in apple was from 0.037ppm to 0.044ppm. The soil samples extracted with methanol and ammonium hydroxide mixed solution were partitioned with dichloromethane and saturated sodium chloride solution. The organic phase was concentrated and redissolved with toluene and analyzed with GLC(FID) after cleaned with Sep-Pak column. From the standard addition experiments with 0.10, 0.50 and 1.0ppm, the average recoveries were 101.2~103.7% and the detection limit was 0.025ppm.

Key words : Difenconazole, Apple, Soil, Gas Chromatographic Analysis, Residual Analysis

1. 서론

과수나 농작물, 그리고 토양에 살포된 농약은 여러 가지 환경요소, 강우, 광분해와 자연미생물에 의해 소실, 분해되지만 미량은 기주식물이나 토양에 잔류하게 된다. 이러한 실물체내의 농약 잔류에 대한 대안으로 잔류성이 큰 유기 염소계 농약인 BHC, DDT 등의 생산 및 사용이 금지되고 있으며, 잔류성이 작은 약제를 개발하여 사용하는 추세이다.¹ 새로운 농약이 개발되고 상용화되기 위해 개발된 농약의 적절한 사용 방법 등을 설정하기² 위하여 현장(field test)실험에 따르는 약제의 잔류량, 잔류기간 및 약제 살포 후 안전 사용기간 등의 자료를 필요로 하게 된다. 따라서 그에 따른 분석법의 확립 및 이를 통한 안전 이용방법 설정 또한 중요한 문제이다.

Ciba-Geigy회사에 의해 처음 개발 보고된 새로운 triazole계 살균제 difenconazole(Fig. 1)^{3,4}은 여러 종류의 과수에 균사의 침입과 생장을 억제하는 데 우수한 특성을 보이며, 이미 발병된 경우에는 치료효과가 크고, 생산량을 높이는 것으로 알려져 있다.⁵⁻¹² Ruess와 Leadbeater^{3,4} 등은 difenconazole이 Alternaria, Septona, Cercospora 등 여러 가지 씨앗 병원체를 포함하는 식물 발병성 자낭균류와 담자균류 등에 좋은

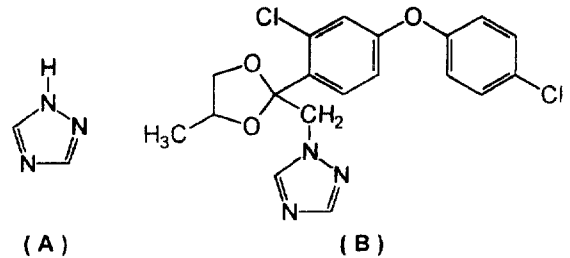


Fig. 1. Structure of triazole(A) and difenconazole (B) : 1-[2-[4-(4-chlorophenoxy)-2-chlorophenyl]-4-methyl-1,3-dioxolan-2-methyl]-1H-1,2,4-triazole.

예방과 치료효과를 보임을 확인하였고, 상대적으로 낮은 처리량으로도 밀, 사탕무우, 땅콩, 과일 등에서 나타날 수 있는 복합질병에 좋은 활성과 수확량 및 질 향상을 가져왔다고 보고하였다. 또한 Anon¹³ 등은 곡초류에서 Erysiphe, Graminis, Fusarium 등에 의해 야기되는 질병에 높은 억제효과를 보임을 확인하였고, Hirakatsu¹⁴ 등은 잎에서 나타나는 Cercospora와 ramularia 점무늬병에 대한 치료에 있어 다른 살균제보다 효과가 뛰어난 것을 보고한 바 있으며, Knauf-Beiter¹⁵ 등은 사탕무우에서 Cercospora beticola에 대한 difenconazole, flusilazole, propiconazole, fentin acetate 등의 효과를 현장과 실내실험을 통해 비교 조사하였다.

Table 1. The progress of spray to the apples.

The Number of Spray Times	Sprayed Days before Harvest	Spray Concentration
0	Untreated Check	
2	60+45	
3	60+45+30 60+45+15 60+45+7 60+45+3	*제품 500g/10.0 a (1,000 배액)
4	60+45+30+15 60+45+15+7 60+45+7+3	*물 500l/10.0a 사용
5	60+45+30+15+7 60+45+15+7+3	
6	60+45+30+15+7+3	

한편, difenoconazole의 잔류분석은 Ciba-Geigy사와 일본 식물방역협회에서 기체크로마토그래피로 행한 바 있으며 자체 보고서로 만들어진 것¹⁶⁻¹⁹은 있으나 구체적으로 학술지에 보고된 것은 없다. Paul²⁰ 등은 triazole계 살균제들을 토양의 얇은 박막 크로마토그래피로 R_f값들을 비교하여 보고하였다.

이와 같이 difenoconazole은 여러 과수와 농작물에서 균사에 의한 질병억제와 치료효과, 그리고 약제처리의 유무에 따르는 수확량만을 비교하는 보고는 많았으나, 과수나 토양에 함유된 difenoconazole의 분석방법이나 분석조건, 잔류조사 등에 관한 보고는 부족할 뿐더러, 외국 환경조건에서의 잔류성에 대한 내용과

결과를 그래로 국내 환경에 적용할 수 있을지는 의문시된다.

본 연구에서는 가스 크로마토그래피를 이용, difenoconazole의 미량분석을 위한 최적 분리조건을 설정하였고, 사과와 토양 중에서 현장실험에 따르는 농약의 잔류기간과 잔류량 등을 조사하여 과수 병충해 방제약으로서 difenoconazole의 품목고시를 위한 기초자료로 활용하도록 하였다.

2. 실험

2.1. Difenoconazole 처리와 시료채취

Table 2. The physico-chemical properties of tested soil.

Kinds of Soil	Soil Textures	pH 1 : 5 (H ₂ O)	Organic Matter(%)	C. E. C (me/100g)
Soil A	Silty Clay	4.8	2.0	10.5
Soil B	Silty Loam	4.7	1.4	6.7

Table 3. Contents of fungicide treatment on soil.

*Field Test

Kinds of Soils	No. of Application Time	Date of Treatment	Lapse Time after Last Treatment(day)	Treatment Rate	Request Company
Soil A	1	1992. 6. 12	0, 3, 6, 10, 25, 48, 85, and 125	Product	Kyungnong Co.
	2	1992. 6. 5 1992. 6. 12	0, 3, 6, 10, 25, 48, 85, and 125		
Soil B	1	1992. 6. 12	0, 3, 6, 10, 25, 48, 85, and 125	500g / 10.0a	Ciba-Geigy Co.
	2	1992. 6. 5 1992. 6. 12	0, 3, 6, 10, 25, 48, 85, and 125		

*Laboratory Test

Kings of Soils	No. of Application Time	Date of Treatment	Lapse Time after Last Treatment(day)	Treatment Rate	Request Company
Soil A	1	1992. 6. 18	0, 3, 6, 10, 25, 48, 85, and 125	A. I.	Kyungnong Co.
Soil B	2	1992. 6. 18	0, 3, 5, 10, 25, 48, 85, and 125	0.5ppm	Ciba-Geigy Co.

사과에 대한 약재처리와 시료채취를 위해 원광대학교 부속 과수원의 사과나무(후지)에 difenoconazole 10.0% 수화제를 10.0a당 500ml(1,000배액, 물 500ml/10.0a 사용)씩 되게 하여 4, 5, 6, 7 및 8회 등으로 안전 사용기준 설정에 맞게 살포하였으며(Table 1), 시료채취 일정을 최종 살포 후 3일, 7일, 15일, 30일, 45일 등으로 조정하였다.

토양 시료는 기주식물이 사과인 공시토양, 미사질 식토(이하 A)와 미사질 양토(이하 B)의 두 종류를 이용하였다(Table 2). Difenoconazole 10.0% 수화제를 10.0a 당 500ml씩 일정에 맞추어 살포하였고 시간 경과에 따라 시료를 채취하였다(Table 3). 현장실험의 경우에는 약재처리를 1회와 2회 하였고, 실내실험의 경우에는 1회 처리를 하였다. 약재 처리 후 채취된 모든 시료는 분석시까지 120℃에서 보관하였다.

2.2. 기기 및 장치

사과에서 difenoconazole의 잔류성 분석시 사용된 가스 크로마토그래프는 Tracor Instrument(U. S. A.)사의 Model 570으로 ⁶³Ni electron capture detector (ECD)를 사용하였다. 3% SE-30이 충전된 길이 1.8m, 내경 4.0mm인 glass column으로 injector 온도 270℃, detector 온도 320℃, colum oven 온도 280℃와 운반 기체 질소의 유속은 40ml/min, scavenger 10ml/min의 조건을 설정하였다.

토양에서의 잔류량 분석시 가스 크로마토그래프는 Shimadzu GC-14A flame ionization detector(FID) 검출기를 사용하였다. 길이 25m, 외경 0.20mm, film 두께 0.25μm인 fused silica capillary column으로 injector 온도 280℃, detector 온도 320℃로 하였고, column oven 온도는 140℃에서 310℃까지는 분당 30℃씩 승온시켰으며, 310℃에서 8.0min. 동안 유지시켰다. 운반 기체 질소의 압력은 1.4kg/cm²으로 하였다. 회전진공 증발장치는 Büchi RE-III형을 사용하였다. 가스 크로마토그래프로 시료를 분석하기 전 시료 정제에는 silica gel이 충전된 Baker사의 Sep-Pak column을 이용하거나 길이 30cm, 내경 3.6cm의 pyrex column을 이용하였다.

2.3. 시약

사과시료 분석시 difenoconazole(주식회사 경농 제공, 순도 99.0%)를 acetone에 녹여 1.0ppm의 저장용액

으로 제조하여 사용하였다. 시료의 추출, 분해 및 column의 용리용매로 acetonitrile(Merck Co., 99.8%), *n*-hexane(Junsei Co., 96.0%)과 acetone(Hayashi Co., 99.6%)을 사용하였으며, 물은 Millipore Milli-Q에 통과하여 탈이온시킨 3차 증류수를 이용하였다. Sodium chloride와 anhydrous sodium sulfate는 각각 Hukuda(99.5%)와 Wahihata(99.0%)제를 사용하였고, 시료 정제용 컬럼 충전제 florasil(100~200 mesh)은 수분 함량이 4.0%가 되도록 만들어 활성화시켜 사용하였다.

토양분석에 있어서 추출과 용해 및 용리용매로 methanol, acetonitrile, toluene, dichloromethane, acetone 등은 Fisher제 HPLC급을 사용하였으며, ammonium hydroxide와 sodium chloride는 Junsei제 특급시약을 사용하였다.

2.4. 시료 조제

약재처리된 사과시료는 속과 양쪽이 껍인 부분을 제거하고 팔분법을 적용하여 100g을 공시재료로 취한 다음, blender에서 균질화시키면서 acetonitrile 120ml로 추출하였다.

토양시료는 20g을 공시재료로 하여 50ml round bottom flask에 정확히 평량하고, 200ml의 methanol : conc. ammonium hydroxide(8:2) 혼합물을 가한 후 30분간 저어 주면서 진탕추출하였다. 오염방지를 위해 비닐막으로 차단되었던 토양에서 추출된 용액을 바탕 용액으로 하였다.

2.5. 실험방법

2.5.1. 용매추출과 분배

Blender에서 균질화된 acetonitrile의 사과액을 glass filter로 여과하여 추출액이 200ml가 되도록 acetonitrile로 정용하였다. 여과액 20ml를 분별 깔때기에 취한 다음 5.0% NaCl 용액 50ml를 가하고 *n*-hexane 40ml를 사용하여 20ml씩 2회 추출하였다. 모아진 *n*-hexane 추출액에 무수 Na₂SO₄를 10g 정도 넣어 흔들고 수분간방치하여 수분을 제거한 다음, 40℃±1℃에서 감압-농축하였다. 시료 중에 남아 있을 수 있는 수분을 제거하고 건조시키기 위해 재증류한 acetonitrile 5.0ml를 가하여 다시 감압-농축하였다.

토양시료로부터 methanol과 ammonium hydroxide(8:2) 혼합액으로 추출된 액을 Watman No. 2 여

과지를 간 Büchner 여과장치로 감압 여과하였고, 이 추출액 40mL를 분별 깔때기에 취한 다음 포화 NaCl 2.0mL와 증류수 50mL, 그리고 dichloromethane 50mL를 사용하여 분배하였다. Dichloromethane층으로 분배된 추출액을 모아 40°C ± 1°C에서 감압-농축하였으며, 다시 재증류된 acetonitrile 5.0mL를 가하고 2차 감압-농축하는 방법으로 건조시켰다.

2.5.2. 정제

2.5.2.1 사과시료

사과시료로부터 추출된 시료를 정제하기 위해 정제용 column에 4.0%의 수분을 함유한 florisil 10g을 채운 다음 상부에 무수 Na₂SO₄를 1.5cm 높이로 채웠다. 먼저 20mL의 n-hexane을 가하여 column을 씻고, 이 용매가 무수 Na₂SO₄ 높이까지 되게 조정된 다음 n-hexane 추출액을 주입하여 Na₂SO₄층의 높이까지 용출시키고, acetone : n-hexane(5 : 95) 혼합액 20mL로 용출시켜 이 용출액은 버렸다. 다시 acetone : n-hexane(15 : 85) 혼합액 80mL로 용출시킨 후 이 용액을 감압-농축하고, 건조시킨 다음 acetone 1.0mL로 정용하여 그 중 2.0μL를 GLC(ECD)에 주입하여 크로마토그램에 나타난 피크 높이를 측정하고, 표준검량선에 의해 잔류량을 산출하였다.

2.5.2.2. 토양시료

토양시료로부터 추출, 건조된 잔류물을 5.0mL toluene으로 녹여 silica Sep-Pak column에 통과시키고 다시 5.0mL toluene을 통과시켜 세척한 다음, toluene : acetone(85 : 15) 혼합용액 15mL로 용출하였다. 용출액을 40°C ± 1°C에서 감압-농축하고 건조시킨 다음 1.0mL toluene에 재용해하였다. 1.0μL를 GLC(FID)에 주입하여 얻어진 크로마토그램상의 피크를 측정하고 표준검량선에 의해 잔류량을 산출하였다.

2.5.3. 회수율 및 잔류성

이상의 분석법을 이용하여 무처리 사과시료 100g에 difenoconazole 10ppm 표준용액 2.0mL 및 100ppm 표준용액 1.0mL를 각각 첨가하여 difenoconazole의 농도가 0.2ppm과 1.0ppm이 되도록 조제하여 회수율을 알아보았다.

토양시료에 있어서 무처리 공시 2종의 토양 20.0g에 10ppm 5.0ppm 및 1.0ppm 표준용액을 1.0mL씩 각각 가한 후 혼합하여 추출하였다. 추출액 40mL를 상기 분석방법으로 농축하고, 1.0mL toluene에 재용해하여 회

수율을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 표준검정곡선

3.1.1. 사과에서의 difenoconazole 정량을 위한 표준검정곡선

Difenoconazole 표준시료(99.0%)로부터 얻어진 크로마토그램을 Fig. 2에 보였으며, Fig. 2에서 얻어진 봉

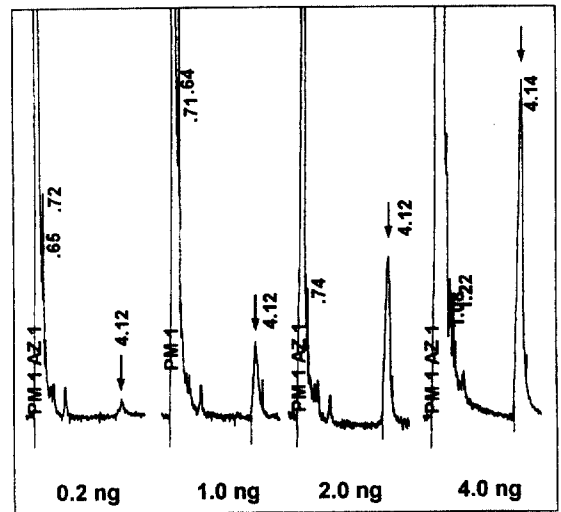


Fig. 2. Typical GLC(ECD) chromatograms of difenoconazole standard solution on apples.

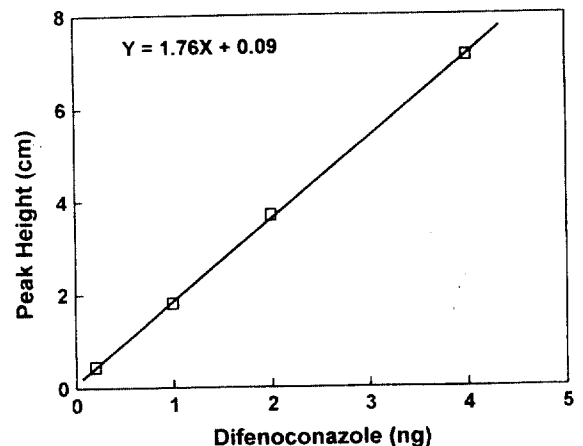


Fig. 3. Standard calibration curve of difenoconazole on apples.

우리 높이를 기준으로 하여 만든 표준검정곡선을 Fig. 3에 나타내었다. 최소제곱방법으로 계산한 감응함수는 $y=1.7x+0.09$ 로 얻어졌으며, 본 실험의 농도범위(0.2~4.0ng)에서 직선성을 보였고 표준편차는 0.06 (n=4)이었다.

3.1.2. 토양

Difenoconazole 표준시료(99.0%)의 농도 증가에 따라 FID에서 얻어진 크로마토그램을 Fig. 4에 보였으며 Fig. 4와 같은 크로마토그램을 얻었다. Fig. 4에서 얻어진 봉우리를 기준으로 한 표준검정곡선을 Fig. 5

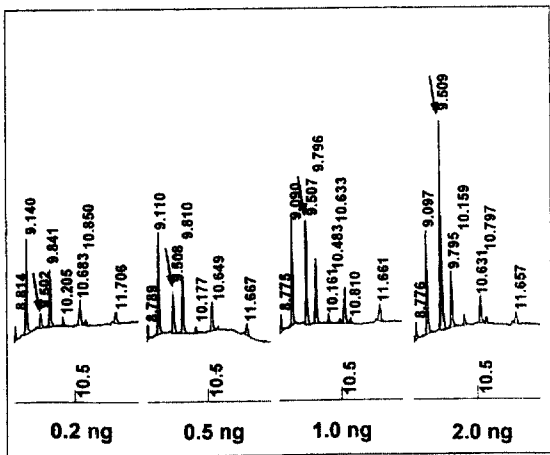


Fig. 4. Typical GLC(FID) chromatograms of difenoconazole standard solution.

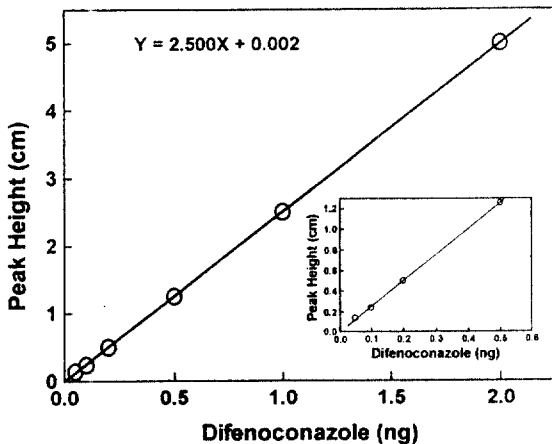


Fig. 5. Standard calibration curve of difenoconazole on soils.

에 나타내었다. 최소제곱방법으로 계산한 감응함수는 $y=2.500x+0.002$ 였으며, Fig. 5에서 보는 바와 같이 넓은 범위에서 직선성을 보였다. 실험농도범위(0.1~2.5ng)에서 직선성을 보였고 이때 표준편차는 0.009 (n=6)이었다.

3.2. 용매추출 및 분배

사과시료 중에 잔류되어 있는 defenoconazole의 추출을 위하여 acetonitrile을 사용하였다. Acetonitrile의 최적 추출률 조사에서 120ml로 1차 추출시 93% 이상의 추출률을 보였고, 2차 추출시에는 5% 이하였다. 따라서 추출과정은 acetonitrile 120ml씩 1회로 하였다. 추출물에 포함되어 있는 약제성분 이외의 가용성 방해성분들을 분리하기 위해 50ml의 5% NaCl 수용액과 20ml n-hexane으로 액체-액체 분배를 행하였다. 1차 분배시 분배율이 90% 이상이었으며, 같은 용매로 2차 분배시에는 5% 이하의 분배율을 보여 주었다. 1.0ppm 이상의 농도에서 n-hexane 20ml씩 2회 분배시 전 과정을 통한 회수율은 92% 이상의 결과를 보였다.

토양시료 중에 잔류되어 있는 defenoconazole의 추출은 methanol과 ammonium hydroxide(8:2) 혼합액을 사용하였다. 최적 추출률을 알아보기 위해 위 혼합액 200ml로 1차 추출시 98% 이상의 추출률을 보였고, 2차 추출시에는 2% 이하였다. 따라서 본 실험에서의 추출과정은 methanol : ammonium hydroxide(8:2) 혼합액 200ml로 1회 처리하였다. 추출물에 포함되어 있는 농약성분 이외의 방해성분을 분리하기 위해 5ml 포화 NaCl 용액과 50ml 증류수, 그리고 50ml의 dichloromethane을 이용하였다. 최적 분배율을 보기 위해 50ml dichloromethane으로 1차 추출시 분배율이 96% 이상이었고, 2차 분배시에는 2% 이하였다. 따라서 토양시료의 액체-액체 분배시 dichloromethane 50ml로 1회 처리하였다.

3.3. 정제

3.3.1. 사과시료의 정제

크로마토그램상의 방해성분을 효과적으로 분리하고 제거하기 위해 acetone : n-hexane 혼합액을 용리액으로 하여 4.0% 수분이 함유된 florisil로 채워진 column에서 최적 혼합비와 용출량에 따른 회수율을 확인하였다. Acetone의 혼합비가 5.0% 이하일 경우, 방해성분

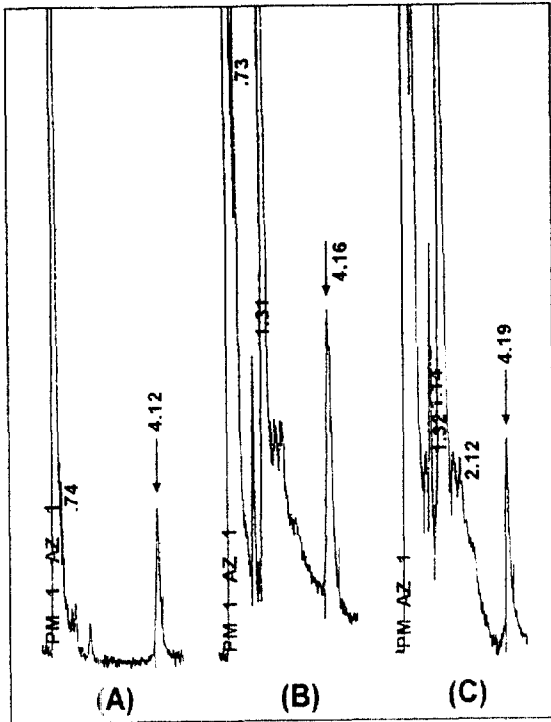


Fig. 6. GLC/ECD chromatograms of difenoconazole in apple.

(A) Standard solution(1.0ng), (B) Control extract (2.0ng), (C) Sample extract.

의 제거효과가 있었으나 회수율은 80% 이하였다. Acetone 혼합비가 10~15% 정도일 때 80ml 용출로 92% 이상의 회수율을 보였다. 이상의 결과로부터 먼저 acetone : n-hexane(5 : 95) 혼합액 20ml로 용출시켜 용출액은 버리고, acetone : n-hexane(15 : 85) 혼합용액 80ml로 용출한 시료에 대해 크로마토그램을 얻었으며, 그 결과를 Fig. 6에 보였다. Fig. 6의 (A)에서 표준시료의 피크는 4.12min, (B)는 처리되지 않은 사과 추출액에 difenoconazole 표준용액을 첨가한 것으로 4.16min에서 첨가된만큼 증가되어 나타났다. (C)는 처리된 사과의 추출액 시료 피크로 4.19min에서 나타났다. 이 때 얻어진 4.10~4.20min 근방 위치의 봉우리를 보면 acetone : n-hexane(15 : 85) 혼합액으로 용리할 때 difenoconazole 회수율이 1.0ppm의 경우 92% 이상 얻어진 것을 알 수 있다.

3.3.2. 토양시료의 정제

토양시료로부터 추출된 농약성분에 대하여 가능한

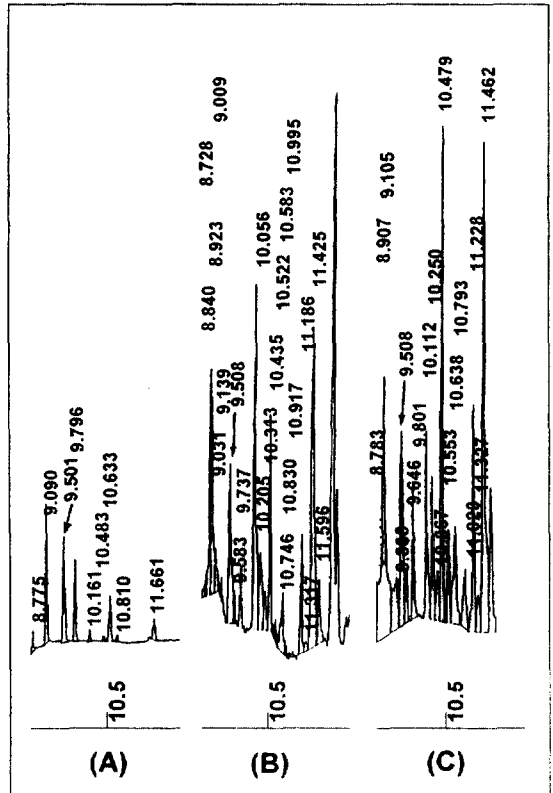


Fig. 7. GLC/FID chromatograms of difenoconazole in soil.

(A) Standard solution(1.0ng), (B) Sample extract, (C) Control extract(2.0ng).

한 방해성분을 분리제거하기 위해 Sep-Pak column을 사용하였고, 용리용매로 toluene과 acetone 혼합용액을 이용하였다. Column은 silica가 충전된 것을 선택하였고, 용리용액의 혼합비율과 용리부피를 시험한 결과 toluene : acetone 혼합비율을 85 : 15로 하고 용리부피를 15ml로 하였을 때의 회수율이 105%였다. 이상의 방법으로부터 정제된 시료에 대해 크로마토그램을 얻었고, 그 결과를 Fig. 7에 나타내었다. Fig. 7에서 difenoconazole의 봉우리는 9.50min 근방에 나타난 것을 보여 준다. (A)에서 화살표는 1ng의 표준시료이며, (B)는 처리된 사과의 추출물에서 얻어진 피크이다. (C)는 처리되지 않은 사과의 추출액에 2ng의 표준시료를 첨가하였을 때 얻어진 피크이다.

3.4. 회수율 및 잔류성

3.4.1. 사과시료의 회수율 및 잔류성

이상의 분석방법을 무처리 사과의 추출액에 difenoconazole 0.20ppm과 1.00ppm 되도록 표준용액을 각각 첨가하여 3회씩 분석하였다. 평균 회수율은 각각 86.0%와 92.0%였고, 분석법의 검출한계는 0.01ppm이었으며, 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 이상의 분석법과 조건을 이용하여 실제 사과의 현장실험에 따르는 농약 잔류량을 조사한 결과를 Table 5에 나타내었다. Table 5에 나타난 것과 같이 수확하기 45일 전까지 2회 살포하였을 때 검출한계 근처인 0.037ppm이었고, 수확 30일 전까지 살포하였을 때 0.042ppm, 수확하기 15일 전까지 3회 살포하였을 때 0.044ppm이었으며, 4회 살포시 0.092ppm이었다. 수확하기 7일 전까지 3회 살포한 경우 0.078ppm이었고, 4회 살포하였을 때 0.14ppm이었으며, 5회 살포하였을 경우에는 0.16ppm이었다. 수확 3일 전 3회 살포하였을 때 0.13ppm이었고, 4회 살포시 0.28ppm, 5회 살포시 0.40ppm과 6회 살포시 0.

42ppm이었다. 이들 결과는 difenoconazole이 대기 중에서 광분해되거나 자연분해되는 속도에 따라 잔류량이 결정되므로, 살포한 횟수가 많을수록 또한 농도가 진할수록 잔류량이 크고, 최종 살포한 후로부터의 경과시간이 짧을수록 잔류량이 큰 것을 의미한다. 미국²¹에서 difenoconazole의 식품 잔류허용량이 우유 0.05ppm, 달걀 0.05ppm, 육류 0.05ppm으로 되어 있는 것과 낮은 온도에서 실험을 할수록 회수율이 떨어지는 것을 감안하여, 사과과수에 대한 안전 사용기준은 수확하기 15일 전 3회 정도(이 때 잔류량은 0.0044ppm)의 살포가 적당한 것으로 사료된다.

3.4.2. 토양시료의 회수율 및 잔류성

토양에서의 회수율 실험시 공시토양은 토양 A와 토양 B의 두 종류였고, 현장실험에서는 2회 처리, 실내실험에서는 1회 처리를 하여 시간경과에 따라, 그리고 처리 횟수에 따라 시료를 채취하여 잔류농약의 회수율을 구하였다.

Table 4. Recovery and detection limits of difenoconazole in apple by this analytical method.

Added concentration (ppm)	Recovery (%)			Limit of Detection (ppm)	Minimum Detectable Amount (ng)
	A	B	Average		
0.20	89.0	83.0	86.0	0.01	0.2
1.00	93.0	91.0	92.0		

Table 5. Residual amount of difenoconazole in apple.

Number of Treatment Times	Taken Days to Harvest after Final Spray	Residual Amount (ppm)				Maximum Residue Limit (mg / kg)
		A	B	C	Average	
0	Untreated Check	< 0.010	< 0.010	< 0.010	< 0.010	0.05(egg, milk) (America)
2	45	0.038	0.035	0.037	0.037	
3	30	0.041	0.045	0.040	0.042	
	15	0.044	0.045	0.043	0.044	
	7	0.080	0.080	0.074	0.078	
	3	0.131	0.127	0.125	0.128	
4	15	0.094	0.096	0.092	0.092	
	7	0.143	0.145	0.138	0.142	
	3	0.280	0.275	0.270	0.275	
5	7	0.157	0.157	0.160	0.158	
	3	0.399	0.405	0.405	0.403	
6	3	0.418	0.414	0.419	0.417	

Table 6. Recovery and detection limit of difenoconazole in soil by this analytical method.

Kinds of Soils	Added Concentration (ppm)	Recovery (%)				Limit of Detection (ppm)	Minimum Detectable Amount (ng)
		A	B	C	Average		
Soil A	0.10	103.2	105.3	100.1	102.9	0.025	0.1
	0.50	100.2	100.8	102.5	101.2		
	1.00	104.0	102.0	104.1	103.4		
Soil B	0.10	101.2	100.5	102.2	101.3		
	0.50	102.1	101.8	102.4	102.1		
	1.00	103.4	103.2	105.4	103.7		

Table 7. Residual amount of difenoconazole in orchard field soil A.

Kinds of Soils	Number of Treatment Times	Lapse Time after App. (day)	Residual Amount (ppm)				Half Life (day)
			A	B	C	Average	
Soil A	(Untreated) 1	—	< 0.025	< 0.025	< 0.025	< 0.025	$Y=0.443e^{-0.023X}$ 18.5 day
		0	0.568	0.570	0.587	0.575	
		3	0.510	0.518	0.517	0.515	
		6	0.464	0.467	0.467	0.466	
		10	0.312	0.317	0.325	0.318	
		25	0.161	0.154	0.135	0.150	
		48	0.128	0.134	0.131	0.131	
		85	0.042	0.051	0.042	0.045	
		125	0.032	0.042	0.028	0.034	
Soil A	(Untreated) 2	—	< 0.025	< 0.025	< 0.025	< 0.025	$Y=0.443e^{-0.023X}$ 15 day
		0	1.178	1.185	1.183	1.182	
		3	1.158	1.162	1.163	1.161	
		6	1.029	1.036	1.037	1.034	
		10	1.014	1.012	1.013	1.013	
		25	0.378	0.382	0.383	0.381	
		48	0.120	0.121	0.122	0.121	
		85	0.117	0.119	0.155	0.119	
		125	0.054	0.060	0.054	0.056	

무처리 토양시료에 difenoconazole의 0.10ppm, 0.50ppm과 1.00ppm 되도록 토양 A와 토양 B에 각각 첨가하여 3회 분석한 평균 회수율은 토양 A에서 각각 102.9%, 101.2%와 103.4%였다. 토양 B에서는 각각 101.3%, 102.1%, 103.7%였고, 분석법의 검출한계는 0.025ppm이었으며 이 결과를 Table 6에 나타내었다. 이같은 분석방법과 조건으로 실제 공시 토양의 현장실

험과 실내실험에 따르는 difenoconazole의 잔류량을 조사하였으며 그 결과를 Table 7, 8, 9에 나타내었다.

현장실험에서 토양 A의 반감기는 1회 처리시 18.5일, 2회 처리시 15일이었고, 토양 B에서의 반감기는 각각 12일과 15.2일이었다. 1회 처리 실내실험의 경우 토양 A의 반감기는 42.5일, 토양 B는 46.2일이었다.

Table 8. Residual amount of difenoconazole in orchard field soil B.

Kinds of Soils	Number of Treatment Times	Lapse Time after App. (day)	Residual Amount (ppm)				Half Life (day)
			A	B	C	Average	
Soil B	(Untreated) 1	—	< 0.025	< 0.025	< 0.025	< 0.025	$Y = 0.473e^{-0.024X}$ 12 day
		0	0.720	0.715	0.716	0.717	
		3	0.522	0.526	0.524	0.524	
		6	0.392	0.384	0.418	0.398	
		10	0.359	0.372	0.376	0.369	
		25	0.192	0.189	0.204	0.195	
		48	0.097	0.101	0.099	0.099	
		85	0.052	0.049	0.052	0.051	
		125	0.032	0.035	0.035	0.034	
Soil B	(Untreated) 2	—	< 0.025	< 0.025	< 0.025	< 0.025	$Y = 0.956e^{-0.029X}$ 15.2 day
		0	1.221	1.228	1.223	1.224	
		3	1.095	1.097	1.102	1.098	
		6	1.054	1.060	1.054	1.056	
		10	1.832	1.840	1.836	1.836	
		25	0.212	0.214	0.222	0.216	
		48	0.192	0.187	0.194	0.191	
		85	0.060	0.064	0.059	0.061	
		125	0.045	0.038	0.040	0.041	

Table 9. Residual amount of difenoconazole in laboratory test of soil.

Kinds of Soils	Number of Treatment Times	Lapse Time after App. (day)	Residual Amount (ppm)				Half Life (day)
			A	B	C	Average	
Soil A	(Untreated) 1	—	< 0.025	< 0.025	< 0.025	< 0.025	$Y = 0.306e^{-0.008X}$ 42.5 day
		0	0.425	0.432	0.424	0.427	
		3	0.335	0.340	0.339	0.338	
		6	0.265	0.266	0.273	0.368	
		10	0.254	0.262	0.261	0.259	
		25	0.202	0.198	0.200	0.200	
		45	0.164	0.168	0.166	0.166	
		75	0.157	0.162	0.161	0.160	
		105	0.148	0.147	0.155	0.150	
Soil B	(Untreated) 2	—	< 0.025	< 0.025	< 0.025	< 0.025	$Y = 0.248e^{-0.012X}$ 46.2 day
		0	0.358	0.362	0.360	0.360	
		3	0.318	0.312	0.320	0.316	
		6	0.224	0.226	0.225	0.225	
		10	0.187	0.185	0.180	0.184	
		25	0.120	0.124	0.119	0.121	
		45	0.114	0.113	0.109	0.112	
		75	0.101	0.092	0.089	0.094	
		105	0.082	0.086	0.087	0.085	

4. 결론

사과에 잔류되는 difenoconazole은 사과를 잘게 분쇄하여 acetonitrile 120ml로 추출하고, 추출물을 수용액층에서 40ml *n*-hexane층으로 분배 추출하였다. 방해 성분을 제거하기 위해 4.0% 수용액으로 활성화시킨 florisil로 충전한 column에서 acetone : *n*-hexane(15 : 85) 혼합액으로 용리하였으며, 용리액을 농축하여 GLC(ECD)로 분석하였다. 0.20ppm과 1.0ppm 표준물 첨가시 평균 회수율은 각각 86.0%와 92.0%였으며, 검출한계는 0.01ppm이었다. 잔류량 분석결과 difenoconazole의 잔류량은 수확 7일 전 3회 살포시 0.078ppm 이었고 안전사용기준은 수확 15일 전 3회(0.044ppm) 살포하는 것이 적당함을 알았다.

한편, 토양에서의 difenoconazole에 대한 잔류분석은 methanol과 ammonium hydroxide 혼합용액 200ml로 추출하여 얻어진 용액에서 50ml dichloromethane층으로 분배 추출하였다. Silica로 충전된 Sep-Pak column에서 존재가 가능한 가용성 방해성분들을 제거하였고, toluene과 acetone의 혼합용매로 용리하였다. 용리액을 농축하고 GLC(FID)로 분석하였다. 토양시료에서의 회수율은 0.10ppm, 0.50ppm과 1, 0ppm의 표준물을 첨가시 101.3%~112.1%였으며, 검출한계는 0.025ppm이었다. 회수율 실험결과에서 반감기를 계산한 결과 과수토양 미사질 식토 1회 처리시 18.5일이었고, 2회 처리시 15일이었으며, 과수토양 미사질 양토에서는 각각 12일과 15.2일이었다. 실내실험시 미사질 식토는 42.5일, 미사질 양토는 46.2일이었다.

감사의 글

본 논문은 주식회사 경농의 지원으로 이루어진 것입니다.

참고문헌

1. K. A. Hassall, "The Chemistry of Pesticides," Macmillan Press, Hong Kong (1982).
2. 한국식품공업협회 : "The Pesticide Manual," 9th Ed. p. 625, The British Crop Protection Council.
3. W. Ruess, P. Riebli, J. Herzog, J. Speich, and J. R. James, *Brighton Crop Prot. Conf.-Pests Dis.*, (2), 543-50(1988).
4. A. J. Leadbeater, S. J. E. West, N. J. E. Bolton, *Brighton Crop Prot. Conf.-Pests Dis.*, (3), 917-22 (1988).
5. D. Shtienberg, *Plant Pathol.*, **40**(3), 415-21(1991).
6. G. Follas and H. M. Beetz, *Proc. N. Z. Weed Pest Control Conf.*, **44**, 134-7(1991).
7. C. Jan and G. Wlodzimierz, *Fruit Sci. Rep.*, **19**(2), 98-93(1992).
8. G. B. Follas and H. M. Beetz, *Proc. N. Z. Plant Prot. Corg.*, **45th**, 46-9(1992).
9. J. W. Sitton, F. Line, and Waldher, *Plant, Dis.*, **77**(11), 1148-51(1993).
10. K. G. Tate and P. N. Wood, *Proc. N. Z. Plant Prot. Conf.*, **47th**, 289-93(1994).
11. Anon, *Res. Discl.*, **297**(13), 38(1989).
12. H. Dahmen and T. Staub. *Plant Dis.*, **76**(8), 774-7(1992).
13. Anon, *Res. Discl.*, **297**, 13(1989)
14. U. Hirokatsu and J. Katsuiichi, *Tensai Kenkyu Kaiho.*, **33**, 88-96(1991).
15. G. Knauf-Beiter, C. Fleischacker, L. Mittermeier, and R. Liguori, *Brighton Crop Prot. Conf.-Pests Dis.*, **2**, 651-6(1992).
16. H. Kühne, R. Merlini, *Report of CGA-169374*, July(1986).
17. R. K. Williams, *Report of Determ. of CGA-169374*, July(1986).
18. W.C. Spare, *Final Report of Soil Photolysis of CGA-169374*, May(1989).
19. 일본 식물방역협회, 농약토양잔류량 분석 보고서, June(1990).
20. J. Paul, E. Valerie, *Sci. Total Environ.*, **123-124**, 459-68(1992).
21. U.S. Environmental Protection Agency, Fed. Regist. 24. Aug.(1994).