

농약의 약효증진을 위한 첨가제 효과에 관하여 — Diazinon제를 중심으로 —

조정례 · 이규승

On the Extension of Insecticidal Activity and the Preparation of New Mixture with Diazinon

Jeong-Rye Cho and Kyu-Seung Lee

Abstract

In this paper, we reviewed the degradation factors of diazinon which was known to be easily degraded by soil microorganisms and lost of its activity. Under submerged soil condition, the contribution of microorganisms to diazinon degradation was about 40% and these microorganisms preferred soil humus as substrates to diazinon itself. The effect of monooxygenase activity in submerged soil was more important than esterase activity on diazinon degradation and these enzymes were inhibited by several chemicals such as piperonyl butoxide(PBO), EPN and tricyclazole.

From these results, new formulation type of diazinon (PBO and triphenyl phosphate were added to commercial diazinon formulation by 0.1% respectively.) and diazinon mixture formulation (diazinon was mixed with EPN, tricyclazole and carbofuran in equal amount) were prepared. The new formulation type of diazinon showed better insecticidal activity by 12% and more delayed diazinon degradation in ten days than commercial diazinon.

서 론

새로운 농약을 개발하기 위해서는 엄청난 금액과 시간이 소요된다는 것은 주지의 사실이다. 따라서

기존에 개발된 농약을 좀더 효율적으로 사용할 수 있는 방안에 관한 연구가 요청되며, 최근 국내에서도 새로운 제형과 혼합제 개발이 활발해져 많은 종류의 신제형이 연구되어지고 있다.

한편 외국에서는 효력상승제(synergist)를 첨가한 제제를 만들어 합성 피레트린계 살충제에 대한 해충의 약제저항성을 낮추어 약효를 증진시키고, 약제의 사용년한을 늘리는가 하면 해충이나 미생물에 의한 분해과정을 파악한 후 농약의 주성분이 활성을 가질 수 있도록 개발하는 propesticide에 관한 연구도 활발히 이루어지고 있다.

이와 같은 제제화 연구들은 단위면적당 사용되는 주성분 양을 줄이면서 더 나은 방제효과를 올릴 수 있는 방안을 찾는 환경친화적 농약제형으로의 전환과 유기용제 사용을 가급적 줄여 약해를 감소시키기 위한 노력 또는 농약성분의 지속적인 유출을 통한 노동력 절감효과 등 여러가지 측면에서 수행되어지고 있다. 또한 토양에 살포된 농약성분의 미생물에 의한 분해 등으로 약효발현에 필요한 약제의 절대량 감소라는 측면에서 문제시 되고 있으며, 국내에서도 일부 약제에 대한 약효의 급격한 감소가 보고되고 있으며, 이에 따라 농민들의 약제 선택에도 영향을 주어 병해방제상 문제점으로 대두되고 있다.

Diazinon제 [O,O-diethyl-O-(isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinyl) phosphorothioate]는 1950년 스위스의 Geigy사에서 개발한 살충제로 국내에서는 1969년에 유제로 품목허가를 받은 이래 1970년대에는 폭발적인 수요증가로 인해 1976년에 원제를 국내에서 합성하였으며¹⁾ 인도네시아에도 플란트 수출이 이루어진 품목으로 국내에서는 sand coating된 입제로 개발되어져 수도작에 많이 쓰여져 왔으나, 1980년대 중반 이후 부터 사용량이 감소되기 시작하여 1991년에는 1,000 M/T 이상의 원제를 합성하는데 반해, 1993년에는 470여 M/T으로 원제의 합성량이 현격히 감소되고 있는 실정이다. 이는 입제형태로 담수 토양에 직접 살포될 때 토양미생물의 분해능이 발달되어 작물체로 흡수·이행되기도 전에 약제가 너무 빨리 분해되어 토양에서의 잔류기간이 짧아져^{2,3,4)} 여러번 반복처리 하여야만 하는 불편함과 아울러 연용에 따른 해충의 약제저항성이 높아지는 결과를 초래하였기 때문이다.⁵⁾

따라서 미생물에 의한 분해에서 기인한 농약의

약효 저하 요인을 원천적으로 방지하기 위한 제제의 개발이나 약효상승효과를 가질 수 있는 합제의 개발을 위한 시도로서, 본 실험실에서 그동안 diazinon제를 대상으로 일련의 실험을 수행한 결과를 토대로 이의 활용 가능성에 관해 논의해 보고자 한다.

1. 담수토양 중 diazinon의 분해

Diazinon은 유기인계 살충제로서 물리화학적 또는 생물학적 반응에 의해 쉽게 가수분해 될 수 있는 Fig.1과 같은 구조를 지니고 있어 유기염소계 농약 등의 타 농약에 비하여 토양내 잔류기간이 매우 짧은 특징을 갖고 있다(Matsumura, 1982).

organophosphorus

C₁₂H₂₁N₂O₃PS (304.3)

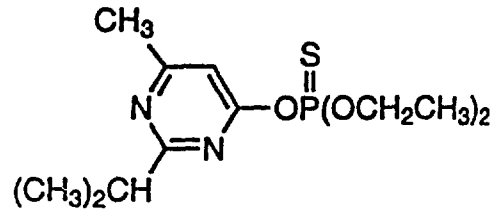


Fig. 1. Structure of diazinon.

따라서 생물학적 분해요인을 확인해 보기 위하여 최 등⁶⁾은 diazinon제를 상용농도인 0.9ppm이 되도록 살균과 비살균 담수토양에 처리하고 주성분의 감소량을 조사한 Fig. 2의 결과에 의하면 살균토양에서 보다 비살균토양에서 분해속도가 빨랐으며, 살균토양에서의 반감기는 7.1일로 비살균토양의 2.2일 보다 3배 이상이나 지연되는 것으로 보아 토양미생물에 의한 분해가 확실히 이루어지고 있음을 시사해 주는 것이라 할 수 있다. 이 결과는 비살균토양에 대한 diazinon의 반감기가 13.1일 이었다는李의 보고⁷⁾와 또 3.9일 이었다는 宋등의 보고⁸⁾와 비교할 때 더욱 반감기가 짧게 나타났는데, 이는 실험온도가李의 경우 21±3℃, 宋의 경우 25℃이며, 이 실험은

30±1°C에서 연유된 것으로 보며, 이런 결과는 또 diazinon제의 분해는 15°C에서 보다 35°C에서 3배 정도 빠르다는 Getzin의 보고⁹⁾와도 일치하는 현상이다.

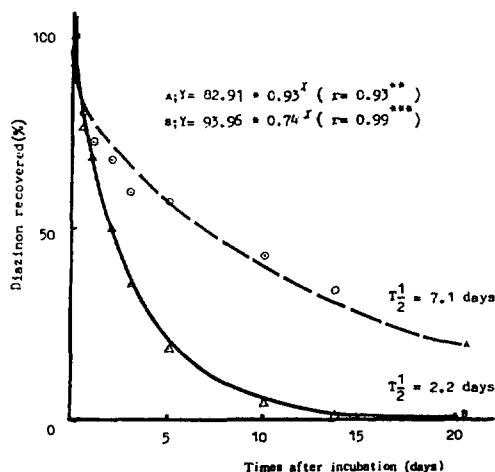


Fig. 2. Degradation of diazinon in submerged soil according to time course (최 등⁶⁾.

- : sterilization
- △---△ : non-sterilization
- ** : 5%, *** : 1%

아울러 살포된 농약이 담수토양 중에서 분해될 때는 물리화학적인 요인 이외에도 토양미생물이 분비하는 효소가 분해속도를 빠르게 하는 주된 분해기작이라는 보고들이 있으며^{5,7,10)}, Gunner(1968)와 Sethunathan 등(1972)은 미생물을 순수배양한 후 농약의 분해양상을 실험하여 미생물 상호간의 상승작용이 있음을 확인하였으며, diazinon의 분해에 관여하는 토양미생물들은 diazinon을 직접 탄소원으로 이용하는 *Flavobacterium* sp. 유사화합물에 의해 활성이 유도되는 *Arthrobacter* sp., *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas melophthora*, *Streptomyces* sp., *Trichoderma viride*와 상호작용을 하는 *Arthrobacter* sp.와 *Streptomyces* sp. 등이 있는 것으로 밝혀졌다.⁷⁾

또한 최 등⁶⁾은 담수토양중에서 대사산물을 확인

하여 Fig. 3과 같이 분해경로를 예견하였는데, 여기에는 토양중에서 밝혀진 1차 가수분해산물 이외에 동·식물에서 확인된 대사산물과 유사한 화합물들이 확인되었으며, mixed function oxidase(MFO)에 의한 대사산물로 볼 수 있는 diazoxon, pyrimidine 고리의 isopropyl기에 -OH기가 도입된 O,O-diethyl-O-[2-1-hydroxy-1,1-dimethyl]-6-methyl] pyrimidinyl phosphorothioate 및 esterase에 의한 가수분해 후 다시 산화된 2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-one 등과 sulfotep도 확인되었다.

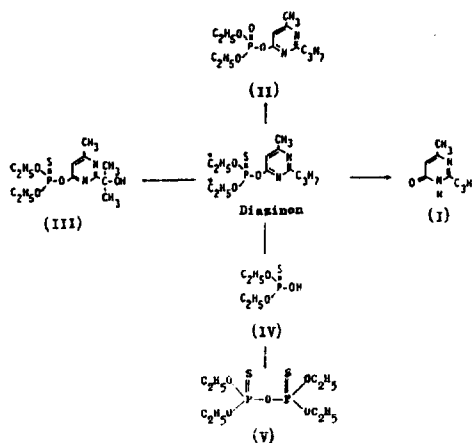


Fig. 3. Degradation process of diazinon in submerged soil.(최 등¹⁾.

- I : 2-isopropyl 6-methyl-pyrimidine-4-one
- II : Diazoxon
- III : phosphorothioate(0,0-diethyl-0-[2(1-hydroxy-1,1-dimethyl) 6-methyl] pyrimidinyl
- IV : 0,0-diethyl phosphorothioate
- V : sulfotep

Fig. 3의 결과로 미루어 볼 때, diazinon제의 대사과정은 esterase에 의한 가수분해 뿐만 아니라 monooxygenase(MO)에 의한 영향도 크다는 것을 알 수 있다.

2. 담수토양중 diazinon의 분해에 미치는 MO와 esterase의 활성

미생물이 분비한 효소가 농약을 분해시키는 대사 과정은 미생물이 분비하는 효소에 의한 대사과정과 유기인계 농약의 경우 가수분해에 관하여는 esterase와 산화반응에 관하여는 MO를 대표적으로 꼽을 수 있다.

일반적으로 곤충이나 동물의 간장에 주로 존재하는 MO는 농약과 같은 xenobiotics의 oxidative metabolism에서 주된 작용을 하는 효소로서 많이 연구되어왔다. 즉 ring opening, dealkylation, hydroxylation, epoxidation등의 산화반응에 다각적으로 관여하는 효소로서 일명 MFO로 알려져 있으며, α , β -esterase는 유기인계의 P-O ester결합에 작용하여 가수분해에 관여하는 효소로 알려져 있다. 따라서 diazinon을 담수토양에 처리하여 미생물이 분해에 관여하는 정도를 알아봄과 동시에 MO활성과 α , β -esterase 활성을 측정하여 약제의 분해에 관여하는 두 효소의 특성을 관련지어 실험하므로써 합리적인 사용방법을 강구하고자 최 등¹¹⁾은 다음의 연구를 수행하였다.

담수토양중에서 diazinon이 거의 분해되는 기간인 10일 동안의 분해양상과 더불어 MO와 α , β -esterase활성을 조사한 결과 diazinon이 처리된 토양에서 MO활성은 상용량 처리구에서 1일 부터 활성이 나타나기 시작하여 5일까지 급속히 증가한 이후로 10일까지는 완만히 증가하였으며, 약제처리 12시간 부터 활성을 나타내어 diazinon의 분해에 관여하는 것을 알 수 있었다. 한편 β -esterase의 활성을 시간에 따라 측정한 결과 초기에는 활성이 감소하다가 2일이 지나면서 다소 활성이 증가하여 5일에 가장 높은 활성을 나타내었다. 아울러 α -esterase의 활성을 측정한 결과 3일 부터 활성을 나타내기 시작하여 점차 시간이 지남에 따라 증가하는 경향으로 β -esterase와 경향은 비슷하였으나, 전반적으로 β -esterase의 효소활성에 비하여 약10배 정도 낮게 측정되었다. 이상의 결과로 볼 때 담수토양중에서 diazinon의 초기분해에는 MO가 esterase에 비하여 더 큰 영향을 주는 것으로 판단되었다.

따라서 Fig. 3과 같이 diazinon은 담수토양 중에서

MO에 의해 epoxidation이 이루어진 후 hydroxylation 또는 desulfuration반응이 일어나고, 다시 esterase에 의하여 P-O ester결합이 끊어지는 것으로 예상할 수 있다.

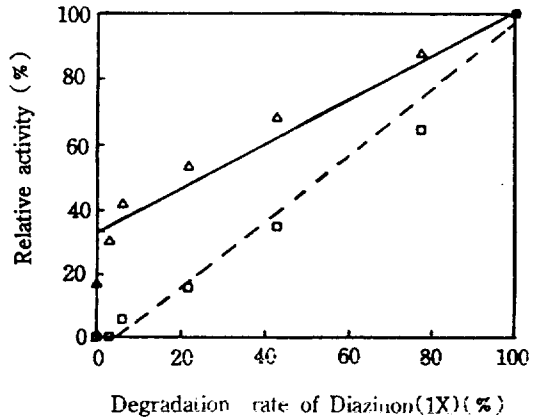


Fig. 4. Correlation between relative activity of two enzymes and degradation rate of diazinon.(최 등¹¹⁾.

□---□ : Monooxygenase,
 $Y = 0.80X - 4.89 (r = 0.98^{***})$
 Δ — Δ : β -esterase, $Y = 0.43X + 33.97 (r = 0.96^{***})$

Fig. 4는 비살균토양의 분해율에서 살균토양의 분해율을 뺀 즉, 비교적 diazinon이 토양중에서 분해되는데 물리화학적인 영향을 배제한 생물학적 요인에 의하여 대사가 이루어졌다고 볼 수 있는 분해율과 MO활성 및 β -esterase 활성과의 관계를 나타낸 것이다. Y축은 두효소의 활성을 시간에 따라 적분하여 10일 후를 최대활성으로 한 상대적인 활성으로 나타내었고, X축은 diazinon이 생물학적 분해율을 시간에 따라 적분하여 10일 후의 분해율을 100% 환산한 생물학적인 분해율로 나타내었다. 따라서 담수토양에서 10일 동안의 diazinon 분해에는 MO가 β -esterase 보다 2배 정도 더 큰 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

3. 논토양 미생물의 diazinon과 부식물질에 대한 기질 친화성

토양으로 유입된 농약의 잔류와 분해에는 토양수분, 토양온도, 무기성분, pH, 흡착과 탈착, 유기물, 토양미생물 등 여러가지 요인이 관여하게 되는데, 특히 토양유기물은 본질적으로 매우 복잡한 구조로 되어 있으며, 토양내에서 미생물의 영양원과 에너지원으로 이용되기 때문에 농약을 미생물이 분해한다는 측면에서 농약분해에 미치는 영향은 대단히 크다고 할 수 있다. 그러므로 토양내에서 농약의 거동을 예측하기 위해서는 토양유기물의 화학적 특성, 토양미생물 그리고 농약과의 상호관계를 알아보는 것이 필요하다.

토양유기물이 농약의 잔류에 미치는 영향에 관해서 많은 연구가 이루어져 왔으나^{2,7,12,13,14,15,16}, 대부분이 농약분해속도와 유기물과의 관계를 단지 흡착등과 같은 물리화학적 작용과 관련된 것들이어서, 토양중에서 농약분해속도는 미생물에 의한 영향이 매우 크다는 것과 토양유기물이 미생물의 기질로 이용된다는 점을 고려해^{6,7,17,18}, 토양중 농약의 분해속도에 미치는 유기물의 영향을 토양미생물과 관련지어 연구하는 것은 필요하다. 따라서 토양미생물에 의한 분해가 빠른 diazinon제와 부식물질에 대한 토양미생물의 기질 선호성을 알아보고자 송 등¹⁹ diazinon과 humin, humic acid, fulvic acid를 각각 처리한 한정배지에서 토양균수와 그리고 논토양중에서 diazinon을 주로 분해하는 효소인 MO와 diazinon과 같은 유기인계 농약의 ester결합을 분해하는 α , β -esterase 활성을 측정하였고^{11,20,21} 아울러 부식물질 첨가에 따른 diazinon분해율을 조사하였다.

Fig. 5는 송 등¹⁹ diazinon과 유기물분획에 대한 토양미생물의 기질 선호성을 확인하고자 5ppm diazinon, 0.1% humin, 0.1% humic acid (HA), 0.1% fulvic acid(FA)를 각각 처리하여 토양미생물의 균수를 측정한 결과이다. Diazinon 처리구에서는 토양미생물의 균수가 3일까지 약간 증가하였으며 5일에

최고치를 나타낸 후 10일까지는 거의 변화가 없었다. 부식물질인 humin, HA, FA에서는 모두 1일 부터 균수가 급격히 증가하였으며, 5일 이후에는 diazinon과 같은 경향을 보였다. 10일 후 균수는 부식물질처리후 모두 diazinon에서 보다 1.5배 정도 많았다. 이러한 결과로 미루어 볼때 토양미생물은 유기물 분획인 humin, HA, FA를 초기부터 쉽게 분해하여 영양원과 에너지원으로 이용할 수 있지만, diazinon은 일정시간이 지난 후에야 분해능력이 생겨 이용할 수 있게 되는 것으로 생각된다.

MO활성은 부식물질 처리구에서 diazinon처리구보다 3일 까지 높았으며 HA > FA > humin의 순이었다. 한편 α -esterase와 β -esterase활성은 비슷한 경향이었으며, humin과 HA에서는 diazinon보다 5일 이후 높았지만, FA는 diazinon과 거의 비슷한 수준이었다.

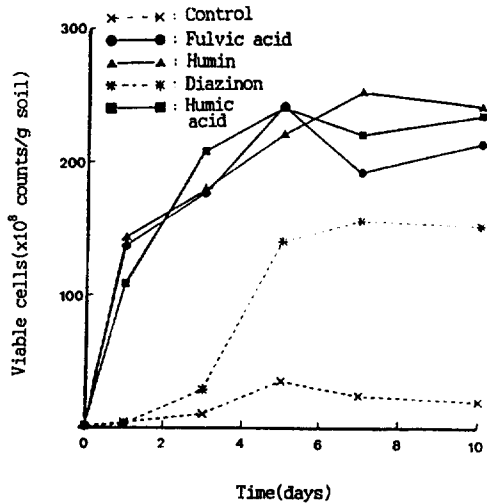


Fig. 5. Changes of bacterial growth with different substances.(송 등¹⁹).

아울러 송 등¹⁹이 diazinon 분해속도에 미치는 부식물질 첨가의 영향을 확인하고자 5ppm diazinon을 처리한 한정배지에 humin, HA, FA를 0.1%로 각각 첨가하여 약 30±1℃에서 배양하면서 경시적인 diazinon 분해율을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. 토양

부식물질 처리구에서 보다 무첨가구에서 diazinon 분해속도가 빨랐으며, 부식물질의 종류에 따라 FA, HA, humin의 순으로 빨랐는데, 이것은 화학적 구조와 원소조성비 등 부식물질 자체의 특성으로 미루어 볼때 산소의 함유량이 높은 FA가 소수성이 큰 humin 보다 diazinon분해에 효과적인 것으로 보여진다. 따라서 이런 결과는 부식물질과의 흡착과정 측면에서 관련지어 생각할 수 있으나 1.8ppm diazinon처리구에서 부식물질과의 흡착량은 humin > FA > HA의 순이며, 1.0% 부식물질 처리농도에서의 최대흡착량은 humin (12.4%), FA (11.86%), 그리고 HA (10.44%)라는 결과로 미루어 볼때 부식물질에 흡착된 diazinon이 diazinon분해에 큰 영향을 끼치는 것으로는 보기가 어렵다.

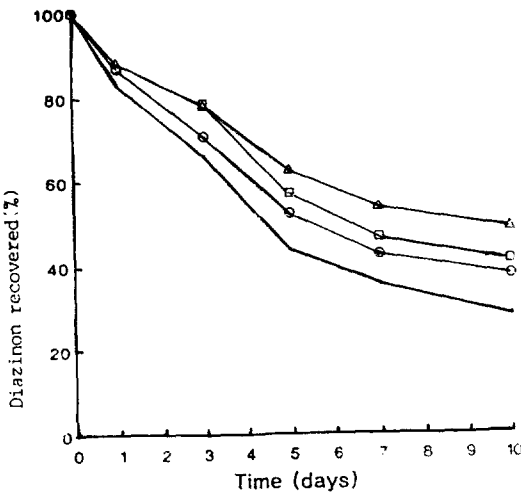


Fig. 6. Degradation rate of diazinon with humic substances.(송 등¹⁹).

■—■ 5ppm Diazinon □—□ 0.1% HA
 △—△ 0.1% Humin ○—○ 0.1% FA

이상의 결과를 종합할 때 토양미생물이 부식물질을 첨가해 준 처리구에서 초기 1일 부터 토양미생물의 개체수가 증가한(Fig. 5) 것으로 미루어 볼때 diazinon 보다는 부식물질을 기질로서 더욱 선호하

는 것을 알 수 있다. 따라서 diazinon과 함께 부식물질을 첨가해 주면, 부식물질을 우선 분해·이용하여 생육하기 때문에 diazinon의 분해속도가 지연되는 것으로 판단된다(Fig. 6).

또한, 토양중 부식물질의 함량과 조성에 따라서도 분해율에 차이가 있을 것으로 생각되며, 특히 토양에 직접 사용하는 다른 제초제나 살충제 등의 약효 지속기간에도 영향을 미칠 것으로 판단된다.

4. 돼지의 간에서 MO가 diazinon의 분해에 미치는 영향

MFO의 실체인 cytochrome P-450 dependent monooxygenase는 세포내의 활면소포체에 위치하며, 일반적으로 동물의 간에 주로 존재하는 것으로 알려져 있다. 따라서 류등은²² 토양미생물에 의하여 분해가 쉽게 이루어져 약효발현의 문제를 안고 있는 diazinon의 약효저하의 원인을 밝히고 대책을 마련하고자, 비교적 구입이 용이한 포유동물인 돼지의 간으로 부터 조효소 분획을 조제한 후, diazinon의 분해와 관련된 MO저해제중 heme 철에 강력하게 CO복합체를 형성하여 MO활성을 저해하는 piperonyl butoxide(PBO), 일련의 heme 합성과정에 저해 작용을 하는 triazole계 살균제인 tricyclazole(beam) 과 아울러 유기인계 살충제인 EPN을 가하여 MO활성에 미치는 영향과 diazinon제의 분해양상을 비교 검토하였다. 이는 기존의 약제간의 단순혼합제와는 다른 좀더 기초적인 효소수준에서의 생화학적 실험근거를 마련하여, 토양미생물에 의하여 약제가 분해되는 정도를 최소화시킬 수 있는 새로운 혼합제제를 조제하는 중간과정으로 수행된 결과로 평가될 수 있다.

돼지간 microsomal fraction에서의 MO활성저해를 위해 몇몇 화합물을 선택하여 실험한 결과는 Fig. 7과 같다.

각 저해제별 MO활성 저해정도는 최고 활성을 나타낸 20분에 tricyclazole 14%, EPN 15%, PBO는 35%까지 저해하였다. 따라서 이들을 diazinon과 함

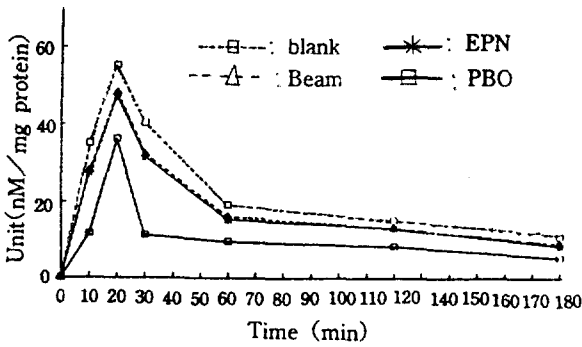


Fig. 7. Effects of several chemicals on monooxygenase activity in microsomal fraction(류 등²²⁾).

계 microsomal fraction에 처리한 후 diazinon의 주 성분 분해를 차이를 조사한 결과인 Fig. 8과 같이 30분에 tricyclazole과 EPN은 약 30%, PBO는 60% 분해를 억제하여 가장 큰 효과를 보였다.

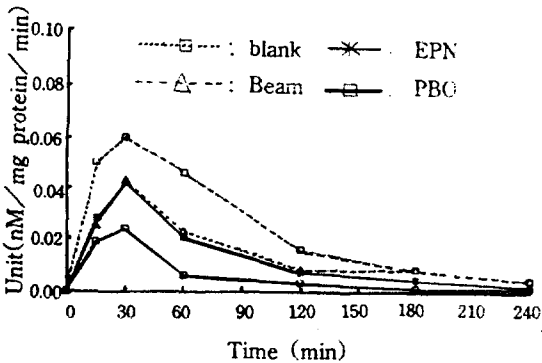


Fig. 8. Effects of several chemicals on diazinon degradation in microsomal fraction(류 등²²⁾).

따라서 MO활성을 저해하여 diazinon의 초기 급격한 분해를 지연하는 이러한 결과를 근거로 하여 혼합제를 제조하여 가능성을 타진해 보았다.

4. 새로운 diazinon 입제의 제조

상기의 결과를 토대로 류등²³⁾은 농약분해에 관여

하는 MO와 esterase의 활성을 저해하는 것으로 알려진 PBO와 TPP를 첨가하여 제조한 새로운 diazinon입제를 제조하여 벼멸구에 대한 살충률을 조사하였고, 아울러 새로운 diazinon입제와 두효소를 저해하는 작용기작을 가지고 있는 tricyclazole, carbofuran 그리고 EPN을 혼합하여 제조한 혼합 diazinon입제에 대하여 담수토양중의 잔류경향을 조사하였다.

1) 신 diazinon 입제의 조제

효소저해제로 TPP(esterase저해제)와 PBO(MO저해제)를 0.1% 첨가하여 제조한 일명 신 diazinon입제의 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition ratio of new diazinon granule

Component	Ratio(%)
Diazinon	3.30
NK-P150	0.15
PEG-400	0.15
MgCO ₃	0.10
TPP(Triphenyl phosphate)	0.10
PBO(Piperonyl butoxide)	0.10
MeOH	0.30
White carbon	0.90
Coloring agebt	0.32
Diatomite	2.90
Sand	Rest

2) 혼합다이아지논 입제의 조제

Diazinon 함량과 동일하게 tricyclazole, carbofuran, EPN을 첨가한 일명 혼합 다이아지논 입제를 제조하였다.

5. 신 diazinon입제의 멸구에 대한 살충률

한편 Table 2는 신 다이아지논 입제(0.1% PBO+ TPP)와 기존 시판품을 가지고 추천량 3.01kg/10a과 1.5kg/10a, 6kg/10a으로 살포하였을 때의 벼멸구에

Table 2. Comparison of mortality on the commercial new formulation granule about rice leaf hopper

Classification	Dose (kg/10a)	Mortality(%)		
		48	96	192(hrs)
Control	—	4.17	6.68	10.20
New diazinon	1.5	32.06(31.5)*	35.26 (143.9)	43.81 (159.5)
	3.0	52.36 (111.9)	52.36 (96.5)	54.50 (97.4)
	6.0	100.00 (107.9)	100.00 (106.9)	100.00 (104.1)
Mixed diazinon	1.5	24.38	24.51	27.55
	3.0	46.76	54.27	55.94
	6.0	92.68	93.52	86.02

(*) * Relative mortality(%) = $\frac{\text{mortality by new diazinon}}{\text{mortality by mixed diazinon}} \times 100$

대한 살충률을 조사한 결과이다.

추천량 처리구에서 약제처리후 2일까지 신 diazinon 입제의 살충률이 1.1배 높았으며, 추천량 1/2량에서는 기존 시판품보다 최고 1.6배 까지 더 높은 살충효과를 보였다.

6. 새로운 diazinon 입제의 담수토양중 잔류특성

1) 신 diazinon 입제의 담수토양중 잔류특성

신 diazinon 입제를 가지고 살균담수토양에서의 분해와 비살균담수토양에서의 분해양상을 조사한 결과는 Fig.9와 같다.

Fig. 9를 보면 살균토양에서의 기존 diazinon 입제는 반감기가 3.79일로 비살균토양의 반감기 2.94일 보다 0.85일 지연되었을 때, 이는 최등의 지연효과 4.99일 보다 그 차이가 짧았다. 토양에서 3.39일로 약 1.14일 지연되었으므로 기존의 diazinon 입제보다는 담수토양에서 안정하다는 것을 보여주는 결과라 하겠다. 한편 10일 까지 살균토양에서의 시판 diazinon 입제와 신 diazinon 입제의 반감기 차이 0.74일에 비하여 비살균토양에서는 0.45일로 오히려 효율성 저해제를 첨가한 비살균 토양에서 짧았다.

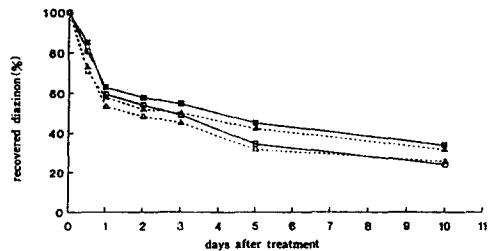


Fig. 9. Persistence of diazinon of new granules(0.1% PBO + TPP) in submerged soil.

- ▲···▲ : S-C; Y : -19.478 log
X + 36.879(r=0.889)**(T1/2=3.79)
- : S-N; Y : -20.672 log
X + 39.646(r=0.919)**(T1/2=4.53)
- △···△ : NS-N; Y : -15.512 log
X + 29.999(r=0.895)**(T1/2=2.94)
- : NS-N; Y : -15.332 log
X + 29.441(r=0.942)**(T1/2=3.39)

S; Sterilized soli NS; Non-sterilized soil
C; Commercial Diazinon N; New Diazinon

그러나 5일 까지의 diazinon분해량을 비교해 보면, 살균토양에서는 시판품(42.2%)과 diazinon입제(33.9%)의 차이가 약 8.3%였으며 비살균토양에서 더 큰 효과를 발휘하였다는 것을 알 수 있다. 또한 10일 후에 살균, 비살균토양에서 분해되는 정도가 비슷하였기 때문에 본 실험에서 첨가한 PBO와 TPP 또한 농약의 장기잔류에 따른 오염문제를 발생하지는 않을 것으로 생각된다.

신 diazinon입제에 첨가된 PBO는 methylene dioxyphenyl계 화합물로서 cytochrome P-450 monooxygenase에 의하여 PBO가 분해된 후 생성된 CO가 다시 cytochrome P-450의 활성부위인 heme에 강력하게 결합하여 MO활성을 저해하는 feedback inhibition의 반응기작과 TPP는 esterase에 직접적으로 작용하여 효소-저해제 복합체를 형성하여 효소활성을 저해하는 것으로 알려져있다.²⁴⁾

2) 혼합 diazinon입제의 담수토양중 잔류특성

한편 류 등의 결과²²⁾를 토대로 하여 MO활성 저해제인 tricyclazole, esterase 활성저해제인 EPN 그리고 carbofuran과 3%씩 혼합하여 제조한 혼합 diazinon입제의 담수토양중 잔류경향을 나타낸 결과는 Fig. 10과 같다.

Fig. 10과 같이 반감기는 tricyclazole첨가시 2.61일, carbofuran첨가시 1.04일 그리고 ENP첨가시 0.43일 지연되었으며, EPN + carbofuran을 첨가하여 제조한 혼합 diazinon입제는 2.7일 연장되었다.

이와 같이 효소활성 저해제 첨가와 혼합제제는 환경오염측면에서 잔류성에 문제를 제기할 수 있으나 Fig. 9와 10의 결과로 미루어 볼 때 약효발현기간 중 (10일 이내)에서만 분해가 지연되고, 15일 후에는 시판 diazinon과 거의 같은 양이 남아 있었기 때문에 장기간 잔류에 따른 악영향은 없다고 판단된다. 그러나 혼합제제에서는 각 약제간 혼합에 따른 물리화학적 특성과 적용해충 및 혼합비율을 보다 세분화하여 여러 각도에서의 보다 많은 실험이 필요하다고 생각된다.

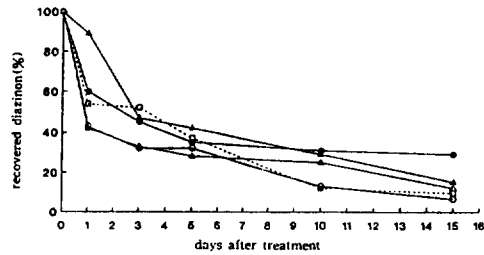


Fig. 10. Persistence of diazinon of mixed formulation in submerged soil.

- : D; $Y : -13.467 \log$
 $X + 24.904(r=0.965)**(T1/2=2.02)$
- : D+B; $Y : -23.565 \log$
 $X + 44.663(r=0.836)*(T1/2=4.63)$
- : D+C; $Y : -13.972 \log$
 $X + 24.795(r=0.969)**(T1/2=3.06)$
- △····△ : D+E; $Y : -17.122 \log$
 $X + 31.538(r=0.893)*(T1/2=2.45)$
- ▲····▲ : D+E+C; $Y : -18.300 \log$
 $X + 35.811(r=0.973)**(T1/2=4.72)$

D; Diazinon, B; Tricyclazole. C; Carbofuran, E; EPN

결 론

담수토양 중에서 diazinon의 분해는 비살균 토양에서 보다 살균토양에서 3배 정도 지연되어 미생물에 의한 분해를 확인할 수 있었고, 가수분해산물과 MO에 의한 분해대산물도 확인되어 esterase에 의한 가수분해 뿐만 아니라 MO에 의한 영향도 있음을 알 수 있었다. 아울러 diazinon의 분해에 미치는 MO활성과 α, β-esterase활성의 영향을 알아본 결과 전체 분해율 중 미생물에 의한 분해율은 29~38%로 나타났고, 분해에는 MO활성이 β-esterase활성에 비하여 2배 정도 더 큰 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한 diazinon과 부식물질에 대한 토양미생물의 기질 선호성을 알아보기 위하여 한정배지에 diazinon과 humin, HA, FA를 각각 처리하고 토양

미생물의 균수를 측정 한 결과 부식물질 처리구에서는 초기 1일, diazinon처리구는 3일 부터 증가하였으며, MO활성은 HA > FA > humin순으로 부식물질 처리구에서 diazinon 처리구 보다 높았으나, α , β -esterase활성은 서로 비슷한 경향이였다. 아울러 부식물질 첨가로 인하여 10일 후의 diazinon 분해율이 humin, HA, FA 첨가구에서 각각 51.4%, 58.9%, 62.4%로 무첨가구의 71.9%에 비해 분해속도 지연효과가 확인되었는데, 이는 토양미생물 이 기질로서 diazinon보다 부식물질을 더 선호하는 데서 연유된 결과라고 판단된다.

이러한 사실들을 근거로 PBO(MO저해제)와 TPP(esterase저해제)를 첨가한 일명 신 diazinon입제와 기존 시판약제인 tricyclazole(MO저해제)과 carbofuran과 EPN(esterase저해제)을 혼합하여 제조한 일명 혼합 diazinon입제를 대상으로 멀구에 대한 살충률과 더불어 담수토양 중에서의 분해양상을 조사하였다.

신 diazinon입제의 벼멀구에 대한 살충률은 시판약제에 비하여 추천량에서는 12%, 추천 1/2량에서는 30-60%가 증가하여 약효상승효과가 확인되었으며, 신 diazinon입제와 혼합diazinon입제 모두 살균토양과 비살균토양에서 반감기 지연효과를 보였으나 약효발현기간중(10일 이내)에서만 분해가 지연되고 15일 후에는 시판diazinon과 거의 같은 량이 남아 있었기 때문에 장기간 잔류에 따른 약영향은 없다고 판단된다.

따라서 새로운 농약을 개발하기 위해 엄청난 금액과 기간이 소요된다는 점을 감안해 보더라도 diazinon제와 같이 약효저하 현상이 발생된 약제를 대상으로 문제를 원천적으로 해결하기 위한 제제의 개발이나 약효상승효과를 가질 수 있는 합제의 개발을 위해 이와 같은 시도는 충분한 가능성과 의의가 있다고 판단되며, 앞으로 이에 대한 더 많은 연구가 필요하다고 본다.

참고문헌

1. 朴昌奎, 洪鍾旭(1983). 農藥總覽.
2. Castro, T. F. and Yoshida, T.(1974). Effect of organic matter on the biodegradation of some organochlorine insecticides in submerged soils, *Soil Plant Nutr.(Tokyo)*, **20**, 363.
3. Shahamat, U. Khan(1980). Pesticides in the soil environment, Elsevier, 29.
4. Lichtenstein, E. P. and Schulz, K. R.(1964). The effect of moisture and microorganisms on the persistence and metabolism of some organophosphorous insecticides in soil, with special emphasis on parathion, *J. Econ., Entomol.*, **57**, 618.
5. Sethunathan, N(1972). Diazinon degradation in submerged soil and rice-paddy water, *Adv. Chem. Ser.* **111**, 244.
6. 최종우, 이규승(1987). 담수토양중 diazinon과 Dursban의 분해에 관하여, *J. Environ. Agric.* **13**(3) : 1-11.
7. Lee, H. K.(1981). Effect of rice straw amendment and repeated application of diazinon on the persistence of diazinon in submerged soils, *J. Kor. Agric. Chem. Soci.*, **24**, 1.
8. Song, B.H., Jeong, Y.S. and Park, Y.S.(1982). Effect of repeated application of IBP on the degradation of pesticides in flooded soil, *Kor. J. Environ. Agric.* **1**, 16.
9. Getzin, L.W.(1967). Metabolism of diazinon and zinophos in soils, *J. Econ. Entomol.*, **60**, 504.
10. Sethunathan, N. and Pathak, M.D.(1970), Development of diazinon degrading bacterium in paddy water after repeated applications of diazinon, *Can. J. Microbiol.*, **17**, 699.
11. 최종우, 이영하, 이규승(1990). 담수토양중 diazinon과 dursban의 분해에 미치는 monoxygenase와 esterase의 활성, *J. Environ. Agric.* **9**(2)

- : 97-103.
12. Siddaramappa, R. and Sethunathan, N.(1975). Persistence of γ -BHC and β -BHC on the indian rice soils under flooded condition, Pestic. Sci. **6**, 375.
 13. Gowda, T.K.S. and Sethunathan, N.(1977). Endrine decomposition in soils as influenced by aerobic and anaerobic conditions, Soil Sci. **124**, 5.
 14. Moon, Y.H.(1990). Effects of soil environmental conditions on the decomposition rate of insecticide Fenitrothion in flooded soils, Kor. J. Environ. Agric. **9**, 1.
 15. Leenheer, J.A. and Ahlrichs, J.L.(1971). A kinetic and equilibrium study of the adsorption of carbaryl and parathion upon soil organic matter surfaces, Soil Sci. Soc. Am. Proc. **35**, 700.
 16. Sethunathan, N.(1973). Organic matter and parathion degradation in flooded soil, Soil Bial. Biochem. **5**, 641.
 17. Rajaram, K. P. and Sethunathan, N.(1975). Effect of organic sources on the degradation of parathion in flooded alluvial soil, Soil Sci. **117**, 296.
 18. Sethunathan, N. and Pathak, M.D.(1970). Development of a diazinon degrading bacterium in paddy water after repeated applications of diazinon, Can. J. Microbiol. **17**, 699.
 19. 송재영, 이규승(1992). 논토양 미생물의 diazinon과 부식물질에 대한 기질 친화성, J. Environ. Agric. **11**(2) : 109-115.
 20. Kearney, P.C. and Helling, C.S.(1969). Reaction of pesticides in soils, Residue Rev. **25**, 25.
 21. Haassl, K.K. (1982). The chemistry of pesticides, Macmillan Press, Basingstoke, 45.
 22. 류종국, 이규승(1990). 돼지간 중의 monooxygenase가 diazinon의 분해에 미치는 영향, J. Environ. Agric. **9**(2) : 153-159.
 23. 최종우, 류종국, 신동린, 이규승(1992). 새로운 diazinon입제의 제조 및 담수토양중 잔류 특성에 관하여, J. Environ. Agric. **11**(1) : 1-8.
 24. Walker, C. H.(1983). Esterase problem of identification and classification, Biochem. Pharm. **32**, 3265.