

사양토성 Lysimeter에서 살균제 ¹⁴C-Propiconazole의 행방

김인선 · 서용택*

전남대학교 농화학과

초 록 : 사양토성 lysimeter에서 살균제 ¹⁴C-propiconazole의 행방을 조사하고자 하였다. 벼 이앙 15일 후 ¹⁴C-propiconazole을 0.12 kg/10a 수준으로 lysimeter 토양표면에 처리한 후 시기별로 용탈수, 토양 및 휘발성분증 방사능을 조사하였다. 약제처리 후 16주간 lysimeter 토양에서 용탈된 방사능은 처리 방사능의 4.4%였으며, 대부분의 방사능은 모화합물 형태이었다. 약제처리 16주 후 토양에 잔류하는 방사능은 처리 방사능의 76.5%였으며 97% 이상이 토양표층 깊이 20 cm 이내에 존재하였다. Lysimeter 토양에서 생성된 ¹⁴CO₂는 처리 방사능의 7.8%였다. 벼 수확 후 벧짚에 잔류하는 방사능은 처리량의 7.2%였으며 지엽, 벼이삭, 왕겨 그리고 현미에서는 각각 0.1% 이하를 나타내었다.(1998년 5월 8일 접수, 1998년 6월 3일 수리)

서 론

병해충 및 잡초로부터 작물을 보호하기 위해 농업환경에 살포된 농약은 대부분이 토양에 존재한다. 농약은 토양환경에서 흡착 및 탈착,^{1,2)} 용탈,^{3,5)} 그리고 휘발⁶⁾을 통해 그의 행방이 영향을 받으며,^{7,9)} 토양 및 식물체에 추출성 또는 비추출성 형태의 잔류물로 남아있게 된다.^{10,11)}

토양에 흡착정도가 낮은 약제는 용탈되기 쉬우므로 지하수의 오염 가능성이 있으며,¹²⁾ 반대로 흡착정도가 높은 경우에도 약제가 대부분 토양의 표층에 존재하게 되므로 지표수 유거에 의한 표면토양 유실시 강이나 호수 및 하천으로 이동되어 2차적 오염원이 될 수 있다.¹³⁾ 토양중 약제의 휘발에 의한 소실은 토양의 유기물 함량에 따라 크게 달라질 수 있으며,¹⁴⁾ 식물체로의 흡수 또한 토양에서 일어나는 약제의 대사정도에 좌우될 수 있다.^{15,16)} 따라서 토양환경중 약제의 행방에 대한 조사는 약제의 환경독성을 평가하기 위하여 선행적으로 이루어져야 할 연구과제라 할 수 있다.

공시약제 propiconazole(1-[(2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl)-methyl]-1H-1,2,4-triazole)은 conazole계 살균제로서 스테로이드 생합성 저해를 통해 살균력을 나타내는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ Propiconazole은 낮은 살포농도에서도 광범위한 살균력을 지니고 있는 침투성 약제로서 그의 우수한 효과로 인하여 사용이 확대되고 있다. 그러나 이 약제의 환경중에서 행방 및 대사에 관한 연구는 매우 미흡한 실정이다.

본 실험에서는 자연적인 토양환경 조건과 유사한 lysimeter를 이용하여 토양환경중 행방을 구명, 이 약제의 환경독성 평가에 기초자료를 얻고자 한다.

재료 및 방법

찾는말 : Propiconazole, Conazole fungicide, Lysimeter

*연락처자

시약

¹⁴C-propiconazole(specific activity, 808.48 MBq/mmol)은 International Isotopes München(Germany)에서 구입하여 TLC Auto-Linear Analyzer(Trace Master 20, Berthold, Germany)의 분석에서 그의 순도가 98% 이상임을 확인한 다음 사용하였으며, 약제의 방사능 표지 위치는 벤젠고리였다(Fig. 1). 비표지 propiconazole은 한국 Ciba Geigy에서 제공 받아 사용하였으며 그의 순도는 GLC/ECD(Shimadzu 14B series, Japan) 및 HPLC/UV(Waters, USA) 분석에서 99% 이상이었다. 방사능 계측을 위한 LSC(liquid scintillation counting) cocktail은 Ultima Gold[®]로서 Packard(USA) 제품을 사용하였으며 그 밖의 필요한 시약은 Junsei(Japan) 특급을 사용하였다.

방법

(1) Soil core 형성

길이 110 cm, 지름 30 cm와 두께 0.5 cm인 stainless 원통으로 제작된 lysimeter를 벼 재배가 원활한 논으로 옮긴 다음 굴삭기를 이용하여 서서히 눌러 토심 1 m 높이의 soil core을 형성하였다. 준비된 lysimeter는 자연적인 기상조건이 원활한 장소에 설치하였으며, 그의 둘레에는 길이 110 cm, 지름 50 cm와 두께 0.5 cm의 검정색 PVC 원통을 씌운 다음 lysimeter 원통과 PVC 원통 사이 공간에는 사용된 논 토양을 충분히 채워 태양광선의 영향을 막았다(Fig. 2). 이렇게 형성된 lysimeter 토양의 토층별 물리화학적 특성은 Table 1과 같았다.

벼 재배 및 공시약제의 처리

상기의 lysimeter를 4주 동안 토양 표층에서 3 cm 깊이의 수심을 유지시킨 담수상태에서 물을 공급하면서 충분히 자

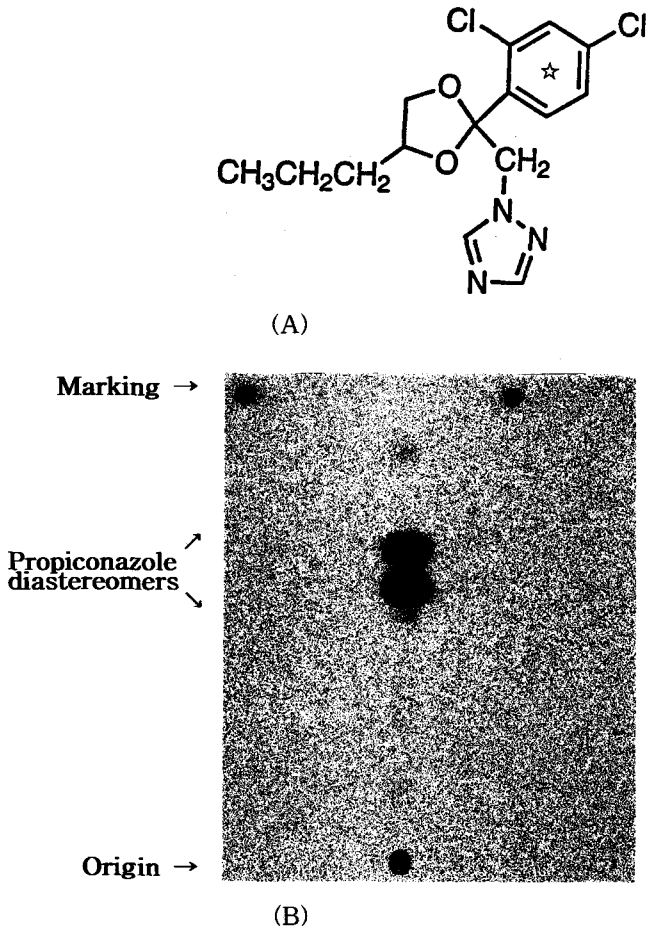


Fig. 1. The chemical structure (A) and autoradiogram (B) of the propiconazole standard. The asterisk in (A) represents the ¹⁴C-labeled position of propiconazole. TLC plate of (B) was developed by hexane/acetone/benzene (5/4/3, v/v/v) solvent system.

유롭게 용탈시킨 후 벼 15일 유묘(동진벼, *Oryza sativa* L.)를 3주씩 4지점에 이앙하였다. 이앙 15일 후 ¹⁴C-propiconazole(5.55×10^6 Bq)과 Tilt 250^R EC(25% 유제, Ciba-Geigy)을 30 ml의 증류수에 혼합한 다음 피펫을 이용하여 lysimeter의 토양 표면에 0.12 kg/10a 수준으로 고르게 처리하였다. 약제의 처리시에는 lysimeter 토양표면이 마르지 않을 정도로 물을 용탈시켰으며 30 ml의 약제의 희석액을 이용하였을 때 토양표면에 고르게 처리할 수 있었다. 약제처리 후 다시 토양표면이 마르지 않을 정도로 물을 반복적으로 용탈시켜 토양에 약제가 침투되도록 한 다음 물을 서서히 가하여 일정한 담수상태를 유지하였다. 실험은 벼 수확기까지 자연적인 기상조건하에서 실시하였으며 비가 내릴 경우에는 lysimeter의 윗부분만을 비닐로 가려서 lysimeter 토양의 지표수 유거에 의한 손실을 배제하였고, 토양의 시비 조건은 관행법에 따랐다.

Lysimeter 토양에서 휘발되는 방사성 개스의 포집

Lysimeter의 토양에서 휘발되는 방사성 개스의 포집은 Fig. 3과 같은 장치를 설치 후 외부에서 24 ml/min의 유속으로 공기를 공급하면서 수행하였다. 즉 지름 5 cm와 길이

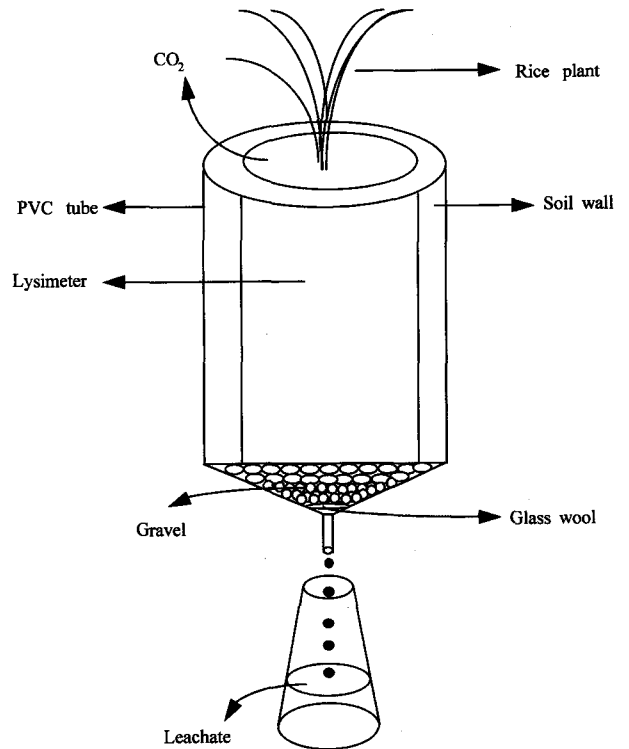


Fig. 2. Layout of a field lysimeter of sandy loam soil with rice cultivating.

Table 1. Soil characteristics of the field lysimeter

depth (cm)	Silt	Sand	Clay	pH (1:5, H ₂ O)	OM (%)	CEC (cmol ⁺ /kg)		
						Ca	Mg	Na
0-10	27	59	14	5.5	2.0	3.0	0.8	0.2
10-20	37	58	5	5.9	1.6	2.5	0.8	0.3
20-30	24	71	5	5.9	0.9	2.0	0.7	0.5
30-40	23	73	4	6.1	0.5	1.4	0.5	1.3
40-50	27	69	4	5.9	0.4	2.1	0.7	1.2
50-60	31	61	8	6.1	0.4	3.5	1.3	0.1
60-70	55	36	9	6.1	0.7	4.0	1.5	0.1
70-80	22	73	6	6.0	0.6	3.0	1.2	0.4
80-90	42	50	8	6.0	0.7	4.2	1.5	0.2
90-100	35	58	7	6.1	0.5	3.8	1.5	0.2

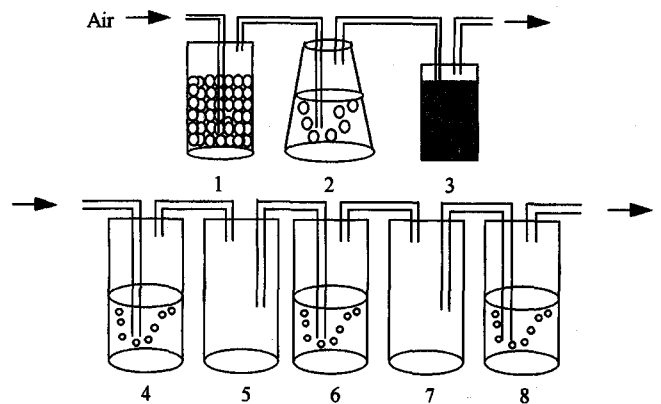


Fig. 3. Experimental apparatus for trapping volatile and ¹⁴CO₂ gas released from the lysimeter soil. The numbers represent as follows.

1. soda lime, 2. 2N NaOH solution, 3. lysimeter, 4. 2N H₂SO₄ trap, 5,7. safety trap, 6,8. 2N NaOH trap.

25 cm인 Pyrex[®] 유리 원통에 각각 공기의 입구 및 출구를 만들었다. 이 유리 원통을 lysimeter 토양 표면에서 20 cm 깊이까지 2 개 지점에 심어 박은 후 공기가 들어가는 입구에는 공기중에 함유된 CO₂를 포집하기 위해 soda lime trap과 1 L의 2 N NaOH 용액 trap을 차례로 연결하였다. 또 토양에서 휘발되는 방사성 가스를 포집하기 위해 출구에는 100 ml의 2 N H₂SO₄ 용액 trap과 역류 방지용 공trap, 100 ml의 2 N NaOH 용액 trap, 역류방지용 공trap, 100 ml의 2 N NaOH 용액 trap을 차례로 연결하여 휘발성 물질과 ¹⁴CO₂가 포집되도록 하였다. 외부에서 가하는 공기중의 CO₂를 포집하기 위해 설치된 soda lime의 교환시기는 이에 연결된 2N NaOH 용액에 페놀프탈레인 용액을 가하여 이 용액의 산성적 반응이 조금만 나타나도 soda lime trap과 이에 연결된 2N NaOH 용액 trap을 교환하였다. 본 실험에서 지름 5 cm 및 길이 24 cm인 stainless 원통에 soda lime을 채워 사용하였을 경우 약 4주에 1회 교환함이 적절하였다.

시료중 ¹⁴C 방사능의 계측

약제 처리 후 시험 기간중 lysimeter로부터 용탈되는 용탈수의 방사능 계측은 1 주마다 받아 모은 용탈수의 총부피를 조사한 다음 이 용액 일부(5 ml)를 LSC cocktail과 혼합하여 행하였다. 또한 lysimeter 토양에 존재하는 방사능을 조사하기 위해 lysimeter 토층을 10 cm 간격으로 나누어 토양을 취하여 음건 후 마쇄시킨 다음, 0.2 mm 체를 통과 시켜서 잘 혼합한 후 이의 일부분(300 mg)을 sample oxidizer (Model 307, Packard, USA)에서 연소시켰다. 연소 후 발생된 ¹⁴CO₂는 10 ml의 Carbosorb E(Packard, USA)와 6 ml의 PermaFlour E+(Packard, USA)에 포집 시킨 후 LSC(Wallac 1409, Philland)에서 그의 방사능을 계측하였다. Lysimeter 토양에서 발생하는 휘발성 물질과 ¹⁴CO₂ 정량은 2N H₂SO₄ trap과 2N NaOH 용액 trap에서 2주일 마다 각각 용액의 일부분(1 ml)을 취해 LSC cocktail과 혼합한 다음 그의 방사능을 계측하여 실시하였다. 벼 시료는 벼의 각 부분들을 채취 후 냉동 건조하여 완전히 마쇄한 다음 잘 혼합한 후 이의 일부분(200 mg)을 취해 상기 과정에서와 같이 sample oxidizer에서 연소시켜서 LSC 계측을 하였다. 시료의 연소 회수율은 4 반복 평균 96% 이상의 수준이었다.

Autoradiography

Lysimeter 토양에서 재배된 벼시료를 충분히 음건 시킨 후 벼 낱알을 함유한 벼이삭 부분과 벧짚 부분으로 imaging plate(Fuji, Japan)에 하루 동안 암조건에서 노출시켰다. 노출이 끝난 후 imaging plate는 Bioimage Analyzer에서 분석하여 영상화하였다.

결과 및 고찰

Lysimeter 토양에서 약제의 용탈

¹⁴C-propiconazole을 처리한 후 lysimeter 토양에서 용탈된 방사능의 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 약제 처리 후 16주간

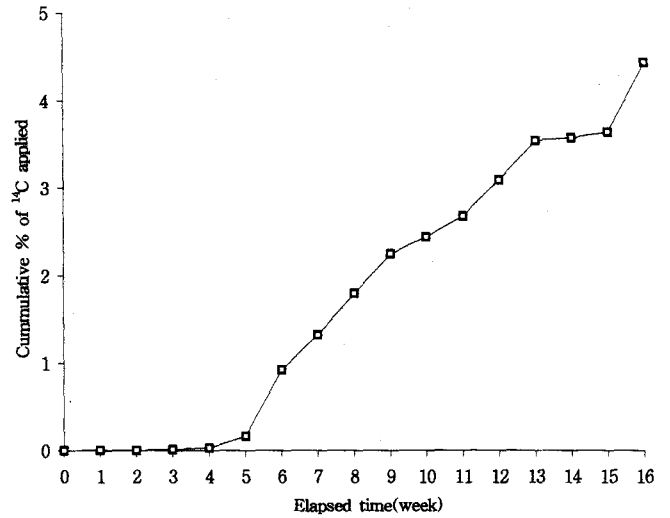


Fig. 4. Cummulative percent of ¹⁴C in leachates from lysimeter soil.

용탈된 방사능의 양은 총 처리 방사능의 4.4% 수준이었으며 약제 처리 6주 후부터 용탈되기 시작하였다. 용탈된 대부분의 방사능은 용탈수의 pH를 2 이하의 조건에서 dichloromethane으로 분배추출하였을 때 유기 용매 추출성이었으며 산염기에 의하여 가수분해되지 않았다. 또 정제 후 TLC에서 Rf 값이 모화합물과 일치하였으며 그 Rf 위치에서의 회수율이 97% 이상이었다. 이러한 결과로 lysimeter 토양에서 용탈된 약제의 형태가 대부분 모화합물이라는 것을 알 수 있었다. 시기별로 볼 때 이양된 벼의 뿌리가 왕성하게 자라는 때에 용탈수중 방사능의 양이 매우 높았는데, 이는 뿌리의 근권 미생물이나 뿌리의 성장에 따라 발생하는 유기산의 영향으로 토양에 흡착된 약제가 조금씩 떨어져 나와서 용탈되어 생긴 결과로 생각되었다. Lysimeter에서 약제의 용탈 결과를 볼 때 propiconazole은 토양중에서 용탈되는 경향보다 흡착되는 경향이 더욱 높은 특성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

Lysimeter 토양의 토층별 약제 분포

Lysimeter 토양의 토층별 약제의 방사능 분포 결과는

Table 2. Percent of the applied ¹⁴C in the lysimeter soil profile 16 weeks after treatment of ¹⁴C-labeled propiconazole

soil depth, (cm)	¹⁴ C-radioactivity (%)*
0-10	64.6
10-20	9.8
20-30	0.8
30-40	0.3
40-50	0.2
50-60	0.1
60-70	0.3
70-80	0.1
80-90	0.2
90-100	0.1
Total	76.5

*Means of 4 replicates.

Table 2에 나타난 바와 같았다. 약제의 방사능은 토양 표층에서 깊이 10 cm까지 처리량의 64.6%가 10~20 cm까지 처리량의 9.8%가, 그리고 그 이하의 깊이에서는 각각 1% 미만이 존재하였으며 토양중 잔류량의 97% 이상이 토심 20 cm이내에서 검출되었다. 이러한 토심별 분포 결과로부터 토양환경중에 살포된 propiconazole은 대부분 토양 표층에 존재하게 됨을 알 수 있었다. 또 유기물 함량이 가장 높은 10 cm 깊이에서 다른 토층에 비해 6배 이상의 방사능이 검출되어 propiconazole의 토양중 잔류는 유기물 함량과 매우 밀접한 관계를 가질 수 있음을 시사하였다. 토층별 약제의 분포가 심토로 내려갈수록 감소하는 결과와 약제가 대부분 표층에 존재하는 결과, 그리고 약제의 용탈 결과(Fig. 4) 등을 볼 때 propiconazole은 토양에서 흡착 경향이 매우 높음을 의미하여 토양에서 용탈로 인한 지하수의 오염 가능성은 매우 낮을 것이라는 예상이 가능하였다.

Lysimeter 토양에서 $^{14}\text{CO}_2$ 의 휘발

^{14}C -propiconazole을 처리한 후 lysimeter의 토양에서 휘발되는 $^{14}\text{CO}_2$ 의 방사능은 Fig. 5에서 나타난 바와 같다. 약제 처리 후 휘발된 방사능의 총량은 16주 동안 처리 방사능의 7.8% 수준이었다. 약제처리 8주까지 $^{14}\text{CO}_2$ 의 발생율은 계속적인 증가를 보이다가 그 이후에서 12주까지는 그 증가 경향이 일정하였다. 이는 약제가 토양교질에 강하게 흡착되기 이전인 6주까지는 약제의 분해가 점진적으로 진행되다가 그 이후에는 약제가 토양교질에 강하게 흡착됨으로서 분해가 지연되면서 비롯된 결과로 생각되었다. 하지만 그 이후 휘발된 방사능의 양이 다시 점진적으로 증가하는 결과가 보였는데 이는 벼뿌리의 성장과 깊은 관련이 있을 것으로 생각되었다. 즉 벼뿌리의 성장이 활발함에 따라서 미생물의 활성 또한 더불어 증가하여 약제의 분해율이 증가하는데서 비롯될 수 있는 결과로 생각되었다. 또 벼의 수확시기에 이르러서 lysimeter내의 토양을 점점 건조시키는 시기인 약제 처리 후 14주에는 그 이전에 보였던 방사능 발생율

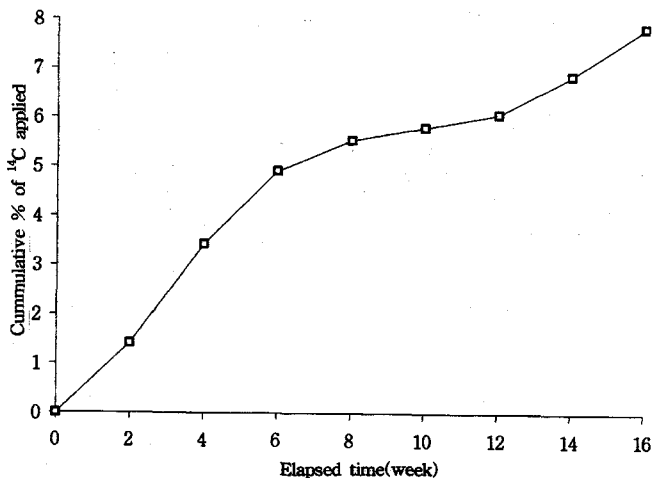


Fig. 5. Cummulative percent of $^{14}\text{CO}_2$ released from lysimeter soil.

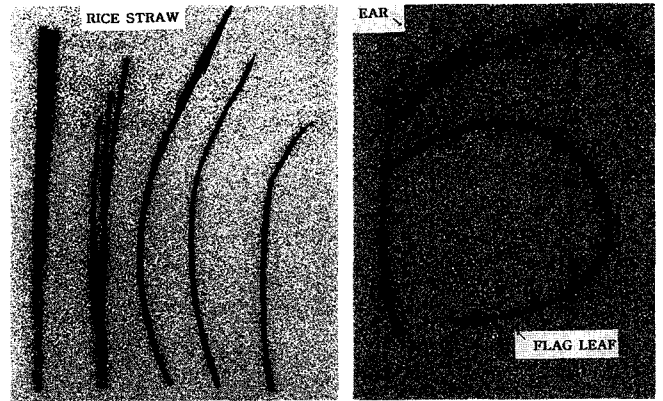


Fig. 6. Autoradiograms of rice plant grown in lysimeter.

Table 3. Balance of ^{14}C in the lysimeter 16 weeks after treatment of ^{14}C -propiconazole

sample	^{14}C radioactivity, (%)
soil	76.5
leachate	4.4
$^{14}\text{CO}_2$	7.8
rice plant	7.3
Total	96.0

에 비해 휘발된 방사능이 2.6배 까지 증가하는 결과를 볼 수 있었다. 이러한 결과는 담수상태에서 약제가 주로 혐기성 세균이나 가수분해 반응에 의해 분해되다가 토양내에서 물이 제거되기 시작한 시기에는 산소공급이 증가함에 따라 호기성 세균의 활성이 활발해져서 약제의 분해율이 증가되어 나타난 결과로 생각되었다. 한편 시험기간중 lysimeter 토양에서 2N H_2SO_4 trap에 모아진 휘발성 방사성 물질의 생성율은 자연 방사능 수준으로 매우 낮았다.

벼에서의 잔류 방사능

^{14}C -propiconazole이 처리된 lysimeter 토양에서 재배된 벼에서의 autoradiogram 결과는 Fig. 6에 나타내었다. Propiconazole은 벼에 흡수 및 이행되었으며 벼에 흡수된 방사능은 처리 방사능의 7.3%였다. 수확된 벼의 각 부위별 방사능을 보면 벚짚에서 7.2%, 지엽, 이삭, 왕겨 그리고 현미에서 각각 0.1% 이하였다. 벚짚에서 추출된 방사능의 97% 이상이 모화합물이었는데 이에 상당되는 propiconazole은 $1.34 \mu\text{g/g}$ 수준이었다. 벼에 잔류된 방사능이 다른 부위에 비해 주로 벚짚에서 매우 높은 결과를 볼 때 propiconazole은 처리된 직후나 혹은 토양에 강하게 흡착되지 않은 처리 초기에 벼에 흡수되었음을 짐작할 수 있었다. 이상의 결과들을 종합하여 벼가 재배된 lysimeter 토양환경에서 propiconazole의 행방에 대한 결과는 Table 3과 같았다.

감사의 글

이 논문은 전남대학교의 96년도 후반기 연구년제 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Moreau C. and C. Mouvet (1997) Sorption and desorption of atrazine, deethylatrazine by soil and aquifer solids. *J. Environ. Qual.*, **26**, 416-424.
2. Rama V. V., K. W. Charles and C. S. William (1995) Adsorption and desorption of fluproprazol on various soils. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2981-2984.
3. Gitte F. (1992) Leaching of atrazine and hexazinone from *Abies nordmanniana* (Steven) spach plantations. *Pestic. Sci.*, **35**, 271-275.
4. White R. E., J. S. Dyson, Z. Gerstl and B. Y. Yaron (1986) Leaching of herbicide through undisturbed cores of a structured clay soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **50**, 277-283.
5. Dieter R., I. Scheunert and F. Korte (1989) Leaching of conversion products of ¹⁴C-buturon from soil during 12 years after application. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 244-248.
6. Zsigmond E. (1988) Behaviour of thiocarbamate herbicides in soils : Adsorption and volatilization. *Pestic. Sci.*, **22**, 145-157.
7. F hr F. and W. Mittelstaedt (1980) Plant experiments on the bioavailability of unextracted carbonyl-¹⁴C-methabenthiuron residues from soil. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 122-125.
8. Müller L., W. Mittelstaedt, J. Pfitzner, F. F hr and H. J. Jarczyk (1983) The fate of 3-¹⁴C-metamiron in sugar beets after preemergence application in a lysimeter study. *Pesticide Biochem. Physiology*, **19**, 254-261.
9. Stephane D. and U. K. Shahamat (1992) Bound(nonextractable) ¹⁴C residues in soybean treated with ¹⁴C-metribuzin. *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 890-893.
10. Shahamat U. K. (1982) Distribution and characteristics of bound residues of prometryn in an organic soil. *J. Agric. Food Chem.*, **30**, 175-179.
11. Shahamat U. K. and H. A. Hamilton (1980) Extractable and bound (nonextractable) residues of prometryn and its metabolites in an organic soil. *J. Agric. Food Chem.*, **28**, 126-132.
12. Gitte F. (1992) Leaching of atrazine into ground water. *Pestic. Sci.*, **35**, 39-43.
13. Fontaine D., T. Patrica and M. Greg (1991) Global sensitivity anlysis in environmental mobility assessment. *Pestic. Sci.*, **31**, 399-401.
14. Baker J. K., W. C. Koskinen and R. H. Dowdy (1996) Volatilization of EPTC : Simulation and measurement. *J. Environ. Qual.*, **25**, 169-177.
15. Terence G. B. and J. D. Webb (1991) Factors affecting the performance and crop phytotoxicity of a new rice herbicide, cinmethylin. I. Effects of water depth and soil type on the distribution and uptake of cinmethylin by transplanted and direct-seeded rice. *Pestic. Sci.*, **32**, 207-218.
16. Hugh M. B. (1990) Mode of action, crop selectivity and soil relations of the sulfonyleurea herbicides. *Pestic. Sci.*, **29**, 263-281.
17. Elmholt S. (1992) Effect of propiconazole on substrate amended soil respiration following laboratory and field application. *Pestic. Sci.*, **34**, 139-146.

Behaviour of Fungicide ¹⁴C-Propiconazole in a Lysimeter of Sandy Loam

In Seon Kim and Yong Tack Suh*(Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

Abstract : Behaviour of a fungicide ¹⁴C-propiconazole was investigated in a field lysimeter of sandy loam soil. At 15 days after rice-seedling transplanting, ¹⁴C-propiconazole was treated on the soil surface at the rate of 0.12 kg/10a. The cumulative ¹⁴C-radioactivity in the leachate from the lysimeter soil was 4.4% of the applied ¹⁴C for 16 weeks. Most radioactivity detected in leachate was in the form of parent compound. At the end of lysimeter experiment, ¹⁴C radioactivity in lysimeter soil was 76.5% of the applied ¹⁴C and more than 97% of ¹⁴C in soil remained in the top 20 cm. The percent of ¹⁴CO₂ evolved from lysimeter soil was 7.8% of the applied ¹⁴C. The radioactivity remained in rice straw after harvest was 7.2% of the applied ¹⁴C, while less than 0.1% of the applied ¹⁴C was detected in flag leaf, ear, chaff and hulled rice, respectively.

Key words : Propiconazole, Conazole fungicide. Lysimeter

*Corresponding author