

## 혐기적 조건의 토양에서 제초제 <sup>14</sup>C-bifenox의 분해

곽형렬 · 이강봉<sup>1)</sup> · 김길용 · 김용웅 · 서용택\*

전남대학교 농화학과 · 식품의약품안전청<sup>1)</sup>

### Degradation of <sup>14</sup>C-bifenox in Soils under Anaerobic Conditions

Hyung-Ryul Kwak, Kang-Bong Lee<sup>1)</sup>, Kil-Yong Kim, Yong-Woong Kim, and Yong-Tack Suh\* (Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea, <sup>1)</sup>Korea Food & Drug Administration, \*E-mail : suhyt387@hanmail.net)

**ABSTRACT** : The degradation of herbicide <sup>14</sup>C-bifenox was studied in soils under anaerobic conditions. <sup>14</sup>C-bifenox was treated in silty loam and sandy loam soils, respectively at a rate of 2.1 mg/kg, and the soil was incubated under anaerobic conditions at 25°C for 180 days. The mineralization, solvent extractable and non-extractable residues, degradation products of bifenox were investigated during the experiments. The relative amounts of <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> were 1.97 and 0.9% of applied <sup>14</sup>C in silty loam and sandy loam soils, respectively. The non-extractable residues of sandy loam soil increased dramatically up to 79.12% of applied <sup>14</sup>C, and were higher than those of silt loam soil, suggesting physico-chemical properties and especially organic matter contributed to the difference of <sup>14</sup>C between two soils. The non-extractable residues were formed mainly humin fraction and increased with time. The major metabolites were nitrofen, 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-Nitrobenzoate, 2,4-dichlorophenoxy aniline and methyl 5-(2,4-dichlorophenoxy) anthranilate by GC/MS analysis. From the results of volatilization, mineralization and degradation of bifenox, bifenox was stable chemically and biologically in soil.

**Key words** : Bifenox, Degradation, Organic matter, Humin, Nitrofen.

## 서 론

병해충 및 잡초로부터 작물을 보호하기 위해 농업환경에 살포된 농약은 대부분이 토양에 존재하며, 흡착, 탈착, 무기화, 생물학적 및 광분해 등으로 소실되거나 추출불가 잔류 형태로 남아있게 된다. 토양에 살포된 약제가 토양에 흡착되기 보다 용탈되는 경향이 높은 경우는 지하수 오염을 유발할 가능성이 있다<sup>1,2,3)</sup>. 반면에, 흡착 특성이 강한 약제는 살포 후 토양 표층에 대부분 존재하게 되나 토양 유실이나 지표수 유거 등에 의하여 표면 이동을 할 경우, 강이나 호수 및 하천으로 이동되어 2차적 오염으로 인한 환경오염의 범위가 확대될 가능성이 있다<sup>4,5,6)</sup>.

토양 중 약제의 휘발에 의한 소실은 토양의 유기물 함량에 따라 크게 달라질 수 있으며, 식물체로의 흡수 또한 토양에서 일어나는 약제의 대사정도에 좌우될 수 있다. 따라서 토양 환경 중 약제의 행방에 대한 조사는 약제의 환경독성을 평가하기 위하여 선행적으로 이루어져야 할 연구과제이며, 유기물 함량이 다른 토양에서의 약제 분해양상에 대한 연구도 필요하다고 할 수 있다.

공시약제 bifenox[Methyl-5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate]는 1973년 Mobil chemical사(미국)에 의하여 개발된 새로운 diphenyl ether계 선택성 제초제로써 미국에서는 밀, 옥수

수, 사탕수수, 대두, 벼 등의 발작물용 제초제로 개발되었지만, 잔디 잡초 방제에도 광범위하게 사용된다. 우리나라를 비롯한 동남아시아의 수도작 지대에서는 수도작용으로 등록되어 잡초발생전 토양 처리용 제초제로 사용되어지고 있다. Bifenox는 낮은 살포농도에서도 광범위한 제초력을 지니고 있는 비침투이행성 약제로서 그의 우수한 효과로 인하여 사용이 확대되고 있는 실정이다. Klöppel 등<sup>7)</sup>은 토양에서 다양한 잡초방제를 위해 합제로 사용되는 bifenox, isoproturon, dichlorprop-P와 그들의 주요 대사물질을 조사한 결과, 여러 가지 토양수분함량과 pH조건하에서 다른 약제에 비해 bifenox가 안정적인 반응을 보인다고 하였다. Hiroshi 등<sup>8)</sup>은 protophorphyrinogen IX oxidase(Protox)에 대한 bifenox의 저해활성을 조사한 결과, chlomethoxynil, chlornitrofen, nitrofen 보다 활성이 높기 때문에 bifenox를 사용할 때 식물체 내에서의 protox 저해가 신속히 나타난다고 보고하였다. Hoffman 등<sup>9)</sup>은 미국산 황조롱이에 bifenox를 경구투여시, Hepatic GSH peroxidase의 활성이 증가된다고 보고하였다. Kuwatsuka 등<sup>10)</sup>은 bifenox photodegradation 경로에 관한 연구에서 약제의 효소저해로 인해 식물 체내에 protoporphyrin IX가 축적된다고 보고했다. Francis<sup>11)</sup>는 rat와 mice에서 bifenox의 기형발생물질을 조사한 결과, 'Bloody tears' 증상을 유발시킨다고 보고했다. 이렇듯 약제에 대

한 연구는 주로 광분해와 생리적 독성 평가에 그쳤을 뿐 이 약제의 토양 중 행방에 대한 연구는 매우 미비하다. 더욱이 bifenox의 토양중 주요 분해산물로 의심되는 nitrofen은 기형발생물질이고 발암물질임이 이미 밝혀져 있으며, 이 때문에 국내에서는 사용이 금지된 농약이라는 점을 고려해 볼 때, 이 약제의 독성적 위험은 매우 크다고 볼 수 있다. 이러한 독성적 측면에도 불구하고 bifenox는 탁월한 약효성에 힘입어 사용량이 계속 증가되고 적용이 확대될 수 있는 전망 이어서 환경독성평가를 위한 대사적 연구가 절실하다고 할 수 있다.

따라서 본 실험에서는 본 약제가 수도재배시 사용하는 제조제인 점을 감안하여, 우리나라 실정에 맞게 논토양의 조건에서 [<sup>14</sup>C]bifenox의 유기물 함량에 따른 토양별 잔류양상과 분해 경로, 속박잔류물 형성 과정의 특성을 파악하고, 모화합물의 분해에 따른 분해산물을 동정하여 이 약제가 가질 수 있는 환경독성의 평가에 도움을 주고자 한다.

재료 및 방법

약제

<sup>14</sup>C-bifenox(specific activity, 420.8 MBq/nmol)는 International Isotope München(Germany)에서 구입하였으며, 그의 화학적 구조 및 방사능표지 위치는 그림 1에서 보는 바와 같다. 또한, thin-layer chromatography (TLC) radioscanner에 의한 방사화학적 순도는 99%이상이었다(Fig. 2). 한편, 비표지 bifenox는 Chem Service, Inc.(USA)에서 분양 받았으며, 그의 순도는 99% 이상의 표준품이었다. 그리고 bifenox의 가능성 있는 대사 및 분해산물의 표준품 중 nitrofen(Ch-em Service, Inc., 99.8%), 2-aminophenol(Aldrich, 99%), 3-nitrophenol(Aldrich, 99%) methyl anth-ranilate (SIGMA, 99%), anthranilic acid(SIGMA, 99.9%), 2,4-dichlorophenol(Aldrich, 99%), 2,4-di-chlorophenoxy aniline(Aldrich, 99%)을 구입하여 사용하였으며, methyl-5-(2,4-dichlorophenoxy)-anthranilate와 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate는 직접 합성하여 사용하였으며, 그 순도는 99%이상이었다. 방사능 계측을 위한 liquid scintillation counter(LSC, Wallac 1409)용 cocktail은 Ultima Gold<sup>®</sup>(Packard, USA)를 사용하였으며, 유기 용매는 HPLC용(J. T. Baker, USA)을, 그리고 그밖에 필요한 시약은 Junsei(Japan) 특급을 사용하였다.

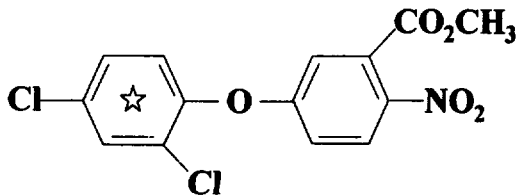


Fig. 1. The chemical structure of the bifenox standard and the asterisk is the <sup>14</sup>C-labeled position of bifenox.

Table 1. Physico-Chemical properties of the soils used

Soil Texture	OM (%)	Sand Silt Clay (%)			pH 1:5(H <sub>2</sub> O)	CEC (cmol <sup>+</sup> ·kg <sup>-1</sup> )
		Sand	Silt	Clay		
A silt loam	1.2	39	50	11	5.0	7.7
B sandy loam	2.3	48	47	5	5.8	8.6

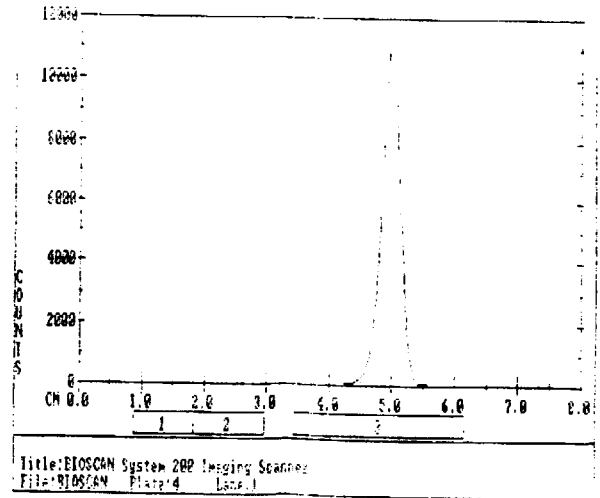


Fig. 2. TLC chromatogram of the authentic <sup>14</sup>C-bifenox. (Developing solvent : Benzene, peak slope : 1.0, Min width : 0.1, Min % : 0.2)

시험토양

토양은 공시약제가 처리된 적이 없는 전남 남평과 전북 순창지역의 토양을 선정하여 채취하였다. 채취된 토양은 풍건 후 2 mm 체로 통과시켜 사용하였으며, 이의 물리화학적 특성은 표 1과 같았다.

약제처리

풍건 토양 50 g을 250 mL 삼각플라스크에 정확히 칭량한 다음 acetone에 용해된 bifenox 표준품과 <sup>14</sup>C-bifenox(92.5 kBq/kg)을 2.1 mg·kg<sup>-1</sup> 수준으로 혼합하여 처리하였다. 약제처리 후 토양은 용매가 완전히 제거 될 때까지 실온에 방치한 다음 골고루 잘 섞은 후 토양에서 2 cm 수준의 증류수를 가하여 담수 상태를 유지하였다.

토양중 수분은 일정 기간마다 보충하여 실험이 끝날 때까지 이 수준을 유지하였다. 약제가 처리된 토양은 실험 개시전 12시간 동안 배양하고 25℃의 암 조건에서 향은 처리하였다.

휘발성 물질과 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 포집

약제의 휘발성 물질 및 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 가스 포집은 Fig. 3과 같은 장치를 설치 후 외부에서 10 mL·min<sup>-1</sup>의 유속으로 공기를 공급하면서 수행하였다. 공기가유입되는 입구에는 공기 중에 함유된 CO<sub>2</sub>를

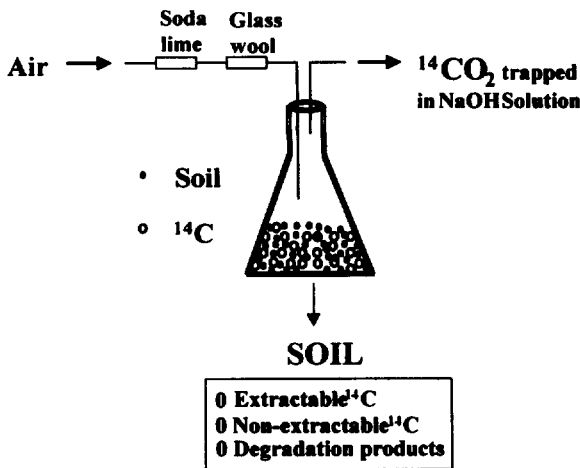


Fig. 3. <sup>14</sup>C-bifenox was treated on the soil then the soil was incubated at 25°C for 180 days.

제거하기 위해 soda lime trap을 설치하였으며, glass wool이 함유된 trap을 연결하여 외부로부터 미생물의 유입을 배제하였다. 배양용 플라스크 출구에 각각 100 mL의 0.2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 trap과 0.2 N NaOH 용액 trap을 차례로 연결하여 토양에서 발생하는 약제의 휘발성 물질과 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>가 포집되도록 하였으며, 2 주일 마다 용액의 일부를 LSC cocktail과 혼합, LSC 계측하여 정량 하였다.

토양중 <sup>14</sup>C 방사능의 계측

유기용매 추출성 방사능의 경우 토양을 일정 기간마다 취하여 여과시킨 다음, 물층은 동량의 dichloromethane으로 추출한 후 이를 다시 40°C에서 감압 농축하였다. 농축물은 5 mL의 acetonitrile로 정용한 다음 일부분을 LSC cocktail과 혼합, LSC로 방사능을 계측하였다. 여과 후 남은 토양은 풍건시킨 후 2 mm 체로 통과시킨 다음 일정량을 삼각플라스크에 정확히 칭량 하였다. 여기에 2배량의 80% (v/v) methanol 수용액을 가하여 연속적으로 30분 동안 진탕 추출하였다. 이 추출조작은 추출액 중의 방사능이 자연 방사능 수준에 도달할 때까지 반복하였으며, 추출액은 별도로 모아 40°C에서 물층만이 남을 때 까지 감압 농축하였다. 농축된 시료에 동량의 dichloromethane을 사용하여 추출한 후 이를 다시 40°C에서 감압 농축한 후 5 mL의 acetonitrile로 정용한 다음 일부분을 LSC cocktail과 혼합, LSC로 방사능을 계측하였다.

한편, 유기용매 추출불가 방사능의 측정에는 Khan과 Ivarson (1981)<sup>12)</sup>의 방법에 준하여 총방사능을 미리 계측한 풍건 토양을 삼각플라스크에 정확히 칭량한 다음 2배량의 methanol을 가해 추출액중 방사능이 자연 상태에 도달할 때까지 진탕 추출하였다. 추출된 시료는 풍건 후 용매를 제거한 다음 2배량에 해당하는 0.2 M sodium pyrophosphate 수용액을 가해 상기 방법처럼 진탕 추출하였다. 시료는 원심분리하여 상정액과 침전물(humin)로 분리하고 상정액은 모두 합한 후 6N HCl 수용액을 가한 후 침전물이 더 이상 생기지 않을 때까지 방치한 다음 다시 원심분리하여

상정액(fulvic acid)을 얻었다. 원심분리 후 침전물(humic acid)은 0.1N NaOH 수용액을 가해 재 용해하였다. 이들 fulvic acid와 humic acid에 함유된 방사능의 측정은 각각의 용액을 취하여 LSC 계측을 하였으며, humin중 방사능은 토양시료를 풍건시킨 후 일부(200 mg)를 sample oxidizer(Model 307, Packard)에서 연소시켜 발생된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>를 10mL의 Carbosorb E(Packard)와 6 mL의 Perma Floure E<sup>-</sup>(Packard)에 포집시켜 LSC 계측하였다.

분해산물의 추출

풍건된 시료를 250 mL용 삼각플라스크에 옮긴 후 여기에 2배량에 해당되는 80% (v/v) methanol 수용액을 가한 다음 앞서의 과정에서처럼 진탕 추출하였다. 추출액은 농축 후 농축물과 동부피의 증류수를 가한 다음 dichloromethane을 이용하여 분배 추출하였다. 분배된 유기용매층은 무수 황산나트륨에서 탈수시킨 다음 40°C에서 농축하였다. 수용액층은 방사능이 남아 있을 경우 6N HCl을 가하여 pH2로 조절한 다음 앞서의 과정에서처럼 분배 추출한 후 농축하였다.

Thin-layer chromatography (TLC)

앞서의 농축된 시료를 소량의 acetone에 재 용해한 다음 TLC plate(silica gel 60 F<sub>254</sub>, 0.5 mm thick, 20×20 cm, Merck)에 점적한 후 benzene/acetic acid(50/4, v/v)의 용매계로 전개하였으며, 전개시에는 모화합물을 추출한 시료와 함께 Co-chromatography 하여 시료 중 함유된 모화합물의 해당 R<sub>f</sub> 값이 순수한 모화합물의 그것과 일치하는지를 확인하였다. 만약, 일치하지 않을 때는 시료를 0.1N HCl 수용액을 가하여 60°C에서 가수분해한 다음 이들의 R<sub>f</sub> 값이 일치할 때까지 앞서의 과정을 반복하였다. 전개가 완료된 TLC plate는 암조건에서 imaging plate(Fuji)에 하룻밤을 노출시킨 후 Bio-imaging Analyzer에서 분석하였다.

Gas chromatography/mass spectrometry(GC/MS)

상기의 TLC에서 확인된 각 spot별 분해산물을 충분한 양이 될 때까지 반복하여 끓여 모은 후 methanol을 가해 초음파 추출하였다. 추출액은 농축 후 C-18이 충전된 cartridge filter(Supelco)에서 여과한 다음 40°C에서 질소기류 하에서 50 µl까지 농축하였다. 농축물은 다시 methanol로 희석한 다음 GC/MS 분석을 하였다. GC/MS의 분석 조건은, 분석온도는 주입구 250°C, 검출기 온도는 280°C이었으며, 분석용 column은 HP-5MS 5% Phenyl methyl siloxane (30.0 m×250 µm×0.25 µm)으로서 온도는 100°C에서 분당 10°C씩 290°C까지 승온하였다. 또한 이동상 He의 유속은 1.0 ml·min<sup>-1</sup>으로서 split ratio는 5:1이었다.

결과 및 고찰

토양 중 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 방출

시험기간 동안 토양에서 방출된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 양은 그림 4에서 보는 바와 같았다. 토양 A의 경우 발생된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 양은 배양기간동안 처리량의 1.97%이었으며, 토양 B의 경우 발생된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 양은 배양기간동안 처리량의 0.98%로서 A토양이 B토양에 비해 약 2배 가량 높았다. 이러한 결과는 bifenox의 분해에 관여할 수 있는 생물학적 활성 차이에 기인한 것으로 판단되었다<sup>13,14</sup>. 배양초기에는 B토양의 경우가 A토양의 경우보다 다소 높은 경향을 나타내었는데, 이는 유기물함량이 높은 B토양에 미생물의 활성 또한 높은 데에 기인하는 것으로 판단되었다. 그러나 시간이 지날수록 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 방출량이 일정한 것을 볼 수 있는데 이는 bifenox가 생물학적 분해과정을 갖기는 하나 경시적으로 토양에 고정되는 양이 많아짐에 따라 그 분해율이 감소하는데서 기인된 결과로 판단되었다.

즉, bifenox는 처리 후 비교적 빠르게 토양에 흡착 및 고정이 되므로 시간이 경과함에 따라 생물학적인 분해가 용이하지 않게 된다는 것을 의미하였다<sup>12</sup>. 발생된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 양을 기준으로 볼 때 주로 표층에서 bifenox의 분해가 수월하다는 것을 알 수 있었으며, 이는 미생물의 활성이 높은 토양에서는 bifenox에 대한 생물학적 분해도 더불어 높아질 수 있음을 의미하였다. 그러나 표토에서도 시간이 경과함에 따라 발생하는 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 양이 일정한 결과를 보여 경시적으로 약제가 토양에 고정됨에 따라 생물학적인 분해가 잘 되지 않을 것이라는 앞서의 추측을 지지하였다. 한편, 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> trap에 모아진 약제의 휘발성 물질의 생성율은 모든 토양에서 자연 방사능 수준으로 매우 낮아 bifenox가 화학적으로 안정함을 의미하였다.

토양중 추출성 및 비추출성 방사능의 분포

토양 중 유기용매 추출성 방사능의 추출율은 A토양의 경우 배양초기에는 methanol에 의한 추출율이 85.7%이었던 결과가 시험 말기에는 39.3%로서 약 46% 감소하였다. 이러한 결과는 B토양에서도 유사하였는데, B토양의 경우 배양초기 추출율이 73.7%이었으며, 배양시간이 경과함에 따라 methanol에 의한 추출율은 20.9%로서 초기에 비해 약 53% 감소하였다. 이렇듯 배양시간이 경과함에 따라 유기용매에 의한 추출율이 급격히 낮아지는 이유

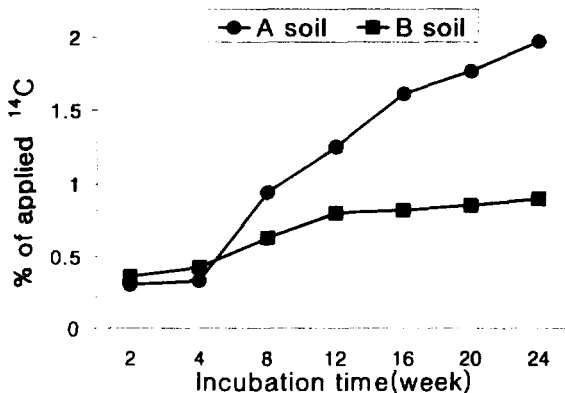


Fig. 4. Cumulative percent of <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> released from the soils.

Table 2. Distribution of non-extractable <sup>14</sup>C in the A soil

Time (day)	Distribution of <sup>14</sup> C(%)			
	Fulvic acid	Humic acid	Humin	Total
1	0.97	0.98	5.83	7.60
2	1.57	1.93	10.78	14.28
4	2.05	2.60	14.44	19.09
10	2.13	2.81	23.07	28.01
21	3.60	4.38	28.19	36.17
45	4.76	5.54	31.37	41.67
90	6.13	6.90	37.15	50.18
180	7.23	8.73	44.76	60.72

Table 3. Distribution of non-extractable <sup>14</sup>C in the B soil

Time (day)	Distribution of <sup>14</sup> C(%)			
	Fulvic acid	Humic acid	Humin	Total
1	1.10	1.16	16.97	19.23
2	1.12	1.52	23.68	26.32
4	1.20	1.77	26.86	29.83
10	1.40	3.06	36.64	41.10
21	1.82	4.54	48.46	54.82
45	2.36	4.95	49.20	56.51
90	2.91	5.18	59.91	68.00
180	3.43	6.60	69.09	79.12

는 약제가 처리된 후 단시간에 토양에 강하게 흡착되어 있는 형태로 잔류되어 있을 가능성을 시사하였다. 또한 Nicholls<sup>15</sup>는 토양 중 약제의 용탈에서 log K<sub>ow</sub> 값이 중요한 인자로 관여하며, 이 값이 1 보다 작으면 토양에 비교적 약하게 흡착되기 때문에 용탈 가능성이 높다고 기술한 바가 있는데, bifenox의 경우 log K<sub>ow</sub> 값은 4.48로서 토양에 강하게 흡착되어 용매에 추출되지 않은 생물학적인 분해산물들이 추출불가 잔류량에 관계하고 있음을 짐작케 하였다.

Bifenox는 무기화에 의한 소실율이 2% 이내로 낮아 살포된 약제 대부분이 토양에 잔류하게 될 수 있다는 결과(그림 4)와 더불어 배양 180일까지 용매로 추출되는 방사능이 전체 40%에도 못 미치는 결과 등을 고려할 때, 이 약제의 토양 중 잔류는 매우 길 것으로 판단되었다.

한편, 토양 중 유기용매 추출불가 방사능에 대한 결과는 표 2와 3에 나타내었다. A토양의 경우 시험기간 동안 형성된 유기용매 추출불가 방사능은 표 2에서처럼 배양시간이 지남에 따라 60.72%로서 토양에 강하게 고정된 모화합물에서 기인한 것으로 판단되었다. 이러한 유기용매 추출불가 방사능은 토양의 성분인 humin, fulvic acid, 그리고 humic acid중 주로 humin에 분포하였다.

한편, B토양의 경우 유기용매 추출불가 방사능은 표 3에서와 같이 배양시간의 경과에 따라 유기 용매 추출불가 방사능이 급격히 증가하여, A토양에 비해 배양 말기에는 약 20%정도 토양에 더 잔류함을 알 수 있었다. 이는 B토양이 A토양보다 유기물 함량이 약 2 배정도 높은데서 기인한 것으로 판단되었다. B토양에서도 이러한 유기용매 추출불가 방사능이 주로 humin에 분포하였다.

이상에서 bifenox의 유기용매 추출불가 잔류량은 토양중 유기물이나 생물학적인 분해산물의 생성 정도가 주요 요인으로 관여할 것으로 판단되었다. 또한, fulvic acid가 일반적으로 수용성 유기산물로 구성되어 있으며, 식물이 뿌리를 내리는 토양 표층의 물에서도 존재하기 때문에 작물에 쉽게 이용된다는 보고를 참고로 할 때<sup>6)</sup>, 본 실험에서 fulvic acid에 검출된 bifenox의 이러한 방사능은 작물에 이용될 가능성이 있다고 생각되었다.

**Bifenox의 토양 중 분해**

<sup>14</sup>C-bifenox를 처리한 두 토양에서 약제의 반감기는 유기용매에 추출된 방사능을 기준으로 조사하였다. 두 토양 모두에서 bifenox는 시험기간 동안 처리량의 50%가 분해되지 않아 반감기의 예측이 불가능하였다. 이러한 결과는 bifenox가 생물학적 및 화학적인 분해에 안정하여 분해가 잘 되지 않고 토양에 오랫동안 잔류할 가능성이 있음을 의미하였다. 또한 토양 중 bifenox는 분해되는 경향보다 흡착 및 고정되는 경향이 수월함을 시사하였다. 하지만, 본 실험은 광에 의한 분해가 배제된 조건에서 수행한 결과로서 실제 포장에서는 이와는 다른 결과가 보일 가능성은 배제할 수 없었다.

**토양 중 bifenox의 분해산물**

Bifenox의 GC/MS 분석결과는 m/z가 342.1이었고, 주요 대사산물은 bifenox의 NO<sub>2</sub>가 NH<sub>2</sub>로 환원된 m/z 312.1인 methyl 5-(2,4-dichlorophenoxy)anthranilate와 모화합물에서ethyl group이 제거된 m/z 328.1인 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate 그리고 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate 구조에서 NO<sub>2</sub>가 NH<sub>2</sub>로 환원된 m/z 256.07인 2,4-dichlorophenoxy aniline으로 확인되었고, bifenox의 최종산물은 acetate group이 제거된 m/z 284.1인 nitrofen 이었다.

토양 중 추출된 분해산물의 autoradiogram은 그림 5에 나타낸 바와 같으며, 토양 중 bifenox의 분해산물의 확인은 시료를 TLC plate에서 전개한 후 나타난 각 spot별 분해산물을 긁어모은 다음, 이를 GC/MS분석에서 얻은 결과와 미리 구입한 분해산물의 표준품, 합성한 표준품들과의 GC/MS분석을 통해서 그 구조를 확인하였다.

확인된 분해산물들은 그림 6, 7, 8, 9에 나타낸 바와 같이 GC/MS에서 m/z 284.1, 256.07, 328.1, 312.1이었다. 토양 중 추출

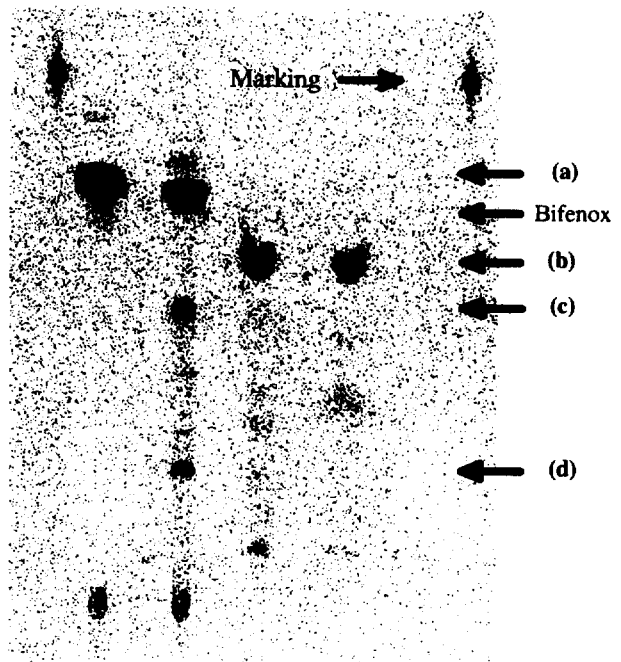


Fig. 5. Autoradiogram of bifenox and its major degradation products. : (a) nitrofen, (b) 2,4-dichlorophenoxy aniline, (c) methyl 5-(2,4-dichlorophenoxy)anthranilate, (d) 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate, TLC developing solvent : benzene-acetic acid (50:4)

된 분해산물중 미확인 분해산물도 존재하였으나 얻어진 양의 부족으로 구조의 확인은 하지 못하였다.

Bifenox의 지하수 오염의 환경적인 면을 살펴보면, Sorenson<sup>16)</sup> 등은 대사산물의 유동성이 모화합물보다 크기 때문에 지하수 오염 가능성도 더 크다고 하였고 모화합물에 비해 분해산물들의 유동성이 큰 이유에 대해 Reiml<sup>17)</sup> 등은 대사산물의 수용성이 모화합물 보다 크고, 이렇듯 높아진 수용성 때문에 용탈 가능성이 모화합물 보다 커질 수 있다고 하였다. 그러므로 토양에 처리된 농약은 모화합물 뿐 아니라 분해산물 형태로 토양에 오랜 기간 잔류하게 되고 하층으로 이동하게 될 가능성도 더 클 것으로 판단되었다.

하지만 본 실험결과, bifenox의 주요분해산물로 밝혀진 화합물들 중 기형원성<sup>18,19)</sup>이나 bound residue 형성<sup>20,21)</sup>, 분해경로에 관한 연구결과<sup>22)</sup> 등이 밝혀져 있는 것은 nitrofen뿐이고, 이를 제외한 다른 화합물들의 약제 처리 후 용탈 가능성이나 분해 경로 등에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 이처럼 농약 대사산물들의 용탈과 분해특성 및 환경독성학적 측면에 대한 정보는 매우 제한되어 있기 때문에, 이들이 지하수질 오염 원인으로 작용하여 생물학적으로 이용될 수 있을지는 단정짓기 어려울 것으로 판단되며, 이에 관한 더 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

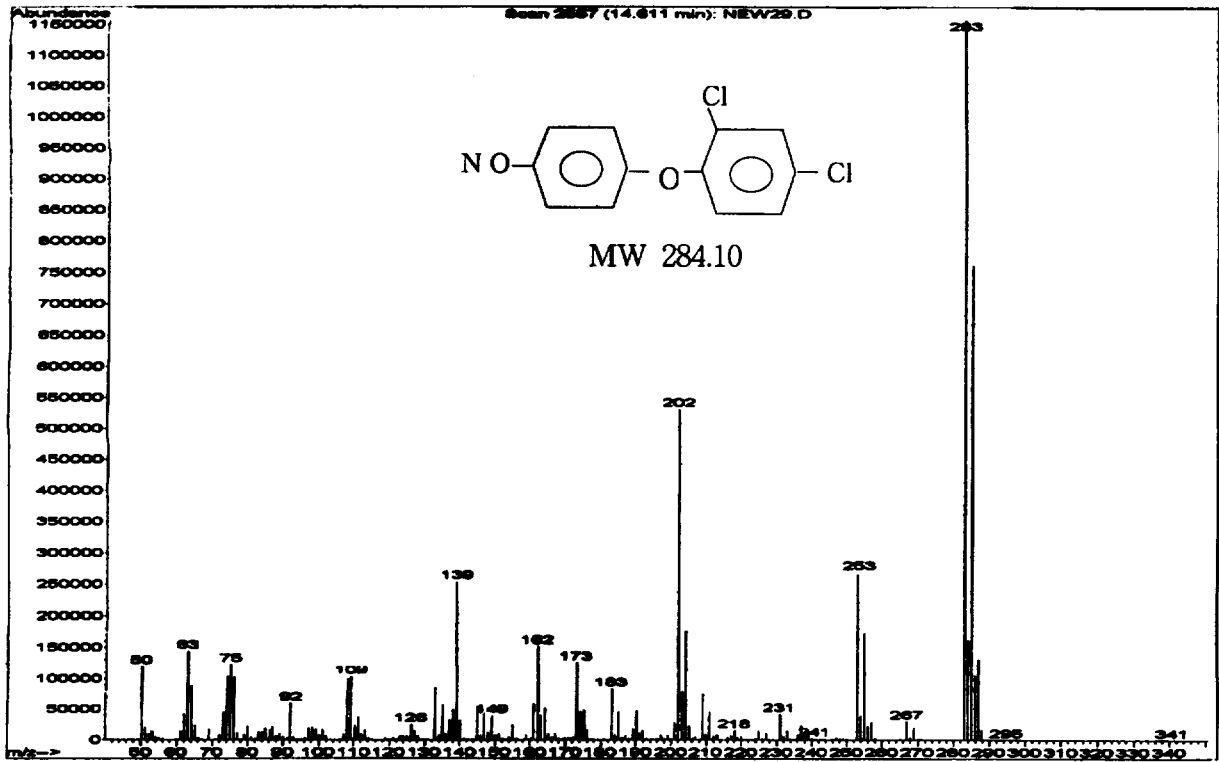


Fig. 6. GC/Mass spectrum of nitrofen.

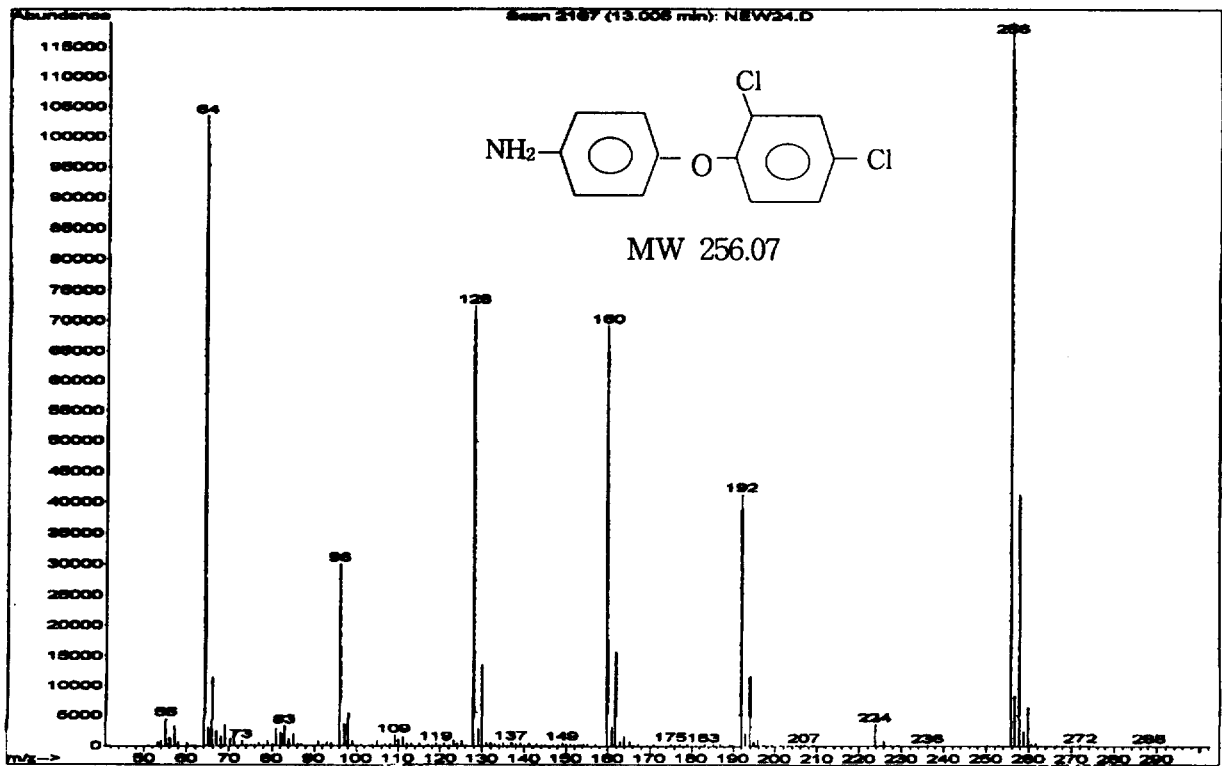


Fig. 7. GC/Mass spectrum of 2,4-dichlorophenoxy aniline.

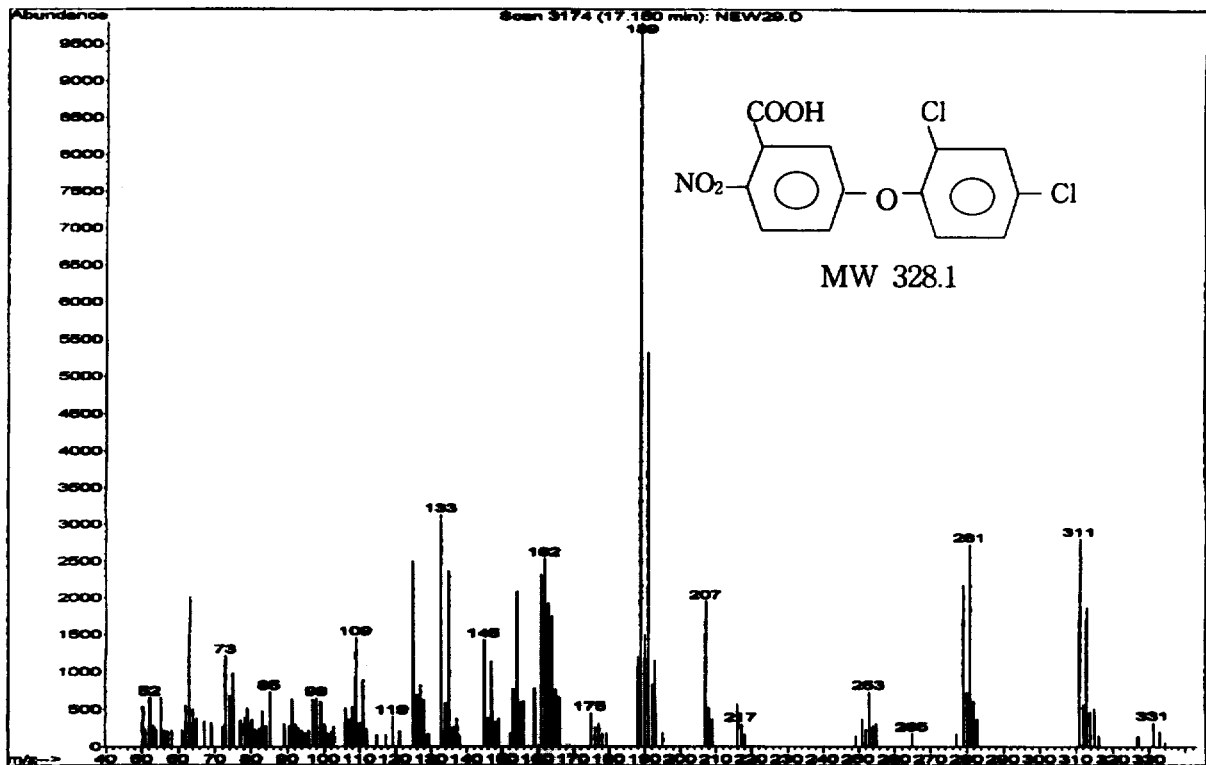


Fig. 8. GC/Mass spectrum of 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate.

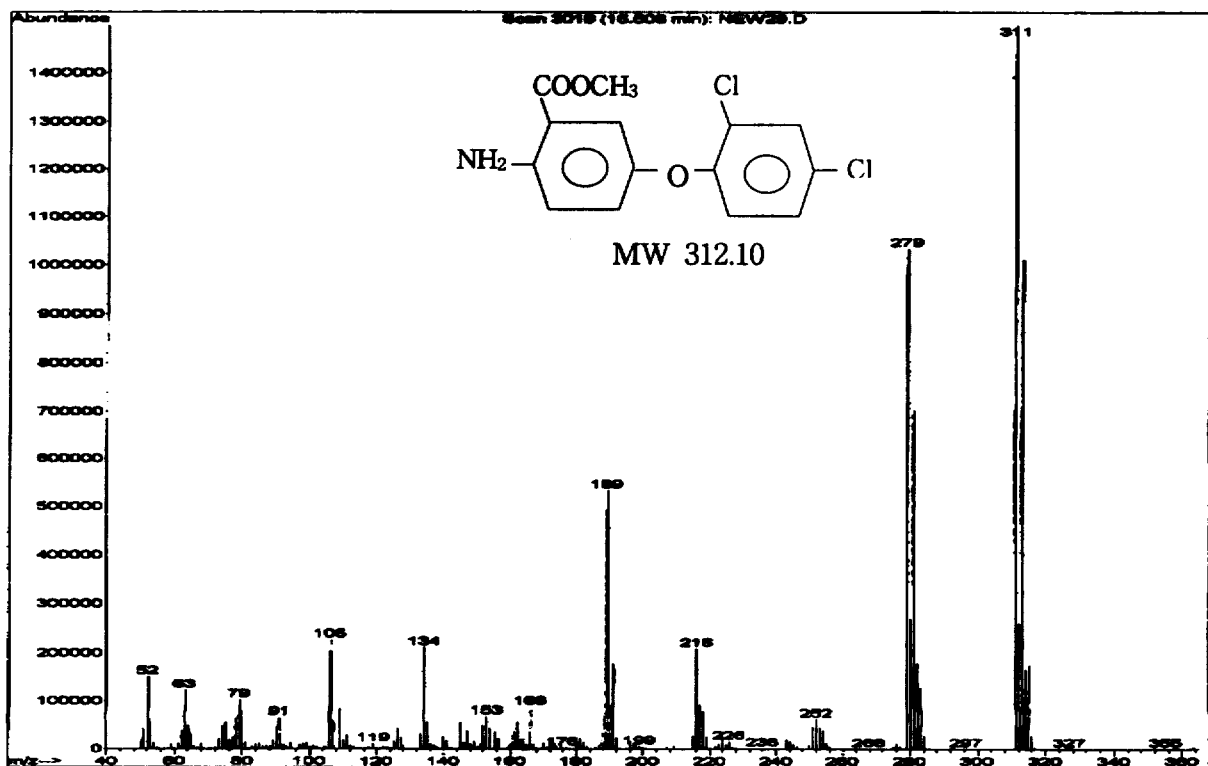


Fig. 9. GC/Mass spectrum of methyl 5-(2,4-dichlorophenoxy) anthranilate.

## 요 약

혐기적 토양조건하에서 제조제 <sup>14</sup>C-bifenox의 분해를 조사하고자 하였다. <sup>14</sup>C-bifenox를 미사질양토와 사양토에 각각 2.1 mg/kg 수준으로 처리한 후, 180일 동안 25℃의 혐기적 조건하에서 배양하였다. 배양기간동안 bifenox의 무기화, 유기용매 추출성 및 추출불가 잔류량, 그리고 분해산물 등을 조사하였다. 배양기간 180일 동안 방출된 약제의 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>는 미사질양토와 사양토에서 각각 1.97%와 0.9% 수준이었다. 사양토에서의 추출불가 잔류량은 시험기간동안 표지된 <sup>14</sup>C가 79.12%까지 눈에 띄게 증가하였고, 미사질양토에서 보다 그 양이 더 많았으며 이는 두 토양이 갖는 서로 다른 물리화학적 특성과 유기물 함량의 차이에서 기인된 것으로 판단되었다. 또한 추출불가 잔류량은 주로 humin에 분포하였으며 배양시간에 따라 증가하였다. 토양 중 bifenox의 주요 분해산물은 최종산물인 nitrofen, 5-(2,4-dichlorophenoxy)-2-nitrobenzoate, 2,4-dichlorophenoxy aniline 그리고 methyl 5-(2,4-dichlorophenoxy) anthranilate으로 확인되었다.

Bifenox의 토양 중 휘발성 물질 및 CO<sub>2</sub> 생성량과 잔류 및 분해특성은 이 화합물이 화학적 및 생물학적 분해에 안정함을 시사하였다.

## 감사의 글

본 실험은 98년도 전남대학교 학술연구과제의 연구비에 의해 수행된 것으로서, 이에 학교측에 감사의 뜻을 표합니다.

## 참 고 문 헌

- Boeston, J. J. T. O. (1991) Sensitivity analysis of a mathematical model for pesticide leaching to groundwater. *Pestic. Sci.* 31:375-388.
- Moreau, C., and C. Mouvet (1997) Sorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, and hydroxyatrazine by soil and aquifer solids. *J. Environ. Qual.* 26:416-424.
- Seybold, C. A., and W. Mersie (1996) Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, deisopropylatrazine, hydroxy-atrazine, and metolachlor in two soils from Virginia. *J. Environ. Qual.* 25:1179-1185.
- Brown, H. M. (1990) Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonyleurea herbicide. *Pestic. Sci.* 29:263-281.
- Hadfield, S. T., J. K. Sadler, E. Bolygo, S. Hill, and I. R. Hill (1993) Pyrethroid residues in sediment and water samples from mesocosm and farm pond studies of simulated accidental aquatic exposure. *Pestic. Sci.* 38:283-294.
- Gonzalez, J. M., and L. Ukrainczyk (1996) Adsorption and desorption of nitrosulfuron in soils. *J. Environ. Qual.* 25:1186-1192.
- Kl'öppel, H., J. Haider, C. Hoffmann, and B. Lüttecke (1992) Simultaneous determination of the herbicides isoproturon, dichlorprop-p, and bifenox in soils using RP-HPLC. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 344:42-46.
- Hiroshi, M., J. J. Lee, and I. Kozo (1993) A rapid and strong inhibition of protoporphyrinogen oxidase from several plant species by oxyfluofen. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 47:113-118
- Hoffman, D. J., J. W. Spann, J. L. Leonard, M. B. Christine, and A. R. Barnett (1991) Developmental toxicity of diphenyl ether herbicides in nestling american kestrels. *J. Toxicology and Environmental Health*, 34:323-336.
- Kuwatsuka, S., Y. Niki, M. Oyamada, H. Shimotori, and H. Ohyama (1975) Fate of diphenylether herbicides in soils and plants. *Weed Science Society Conference*, 97:108.
- Francis, M. B. (1986) Teragenicity of bifenox and nitrofen in rodents. *J. Environ. Sci.*, B21(4):303-317.
- Khan, S. U., and K. C. Ivarson (1981) Microbiological release of unextracted (bound) residues from an organic soil treated from prometryn. *J. Agric. Food Chem.* 29:1301-1303.
- Leather, G. R., and C. L. Foy, (1978) Differential absorption and distribution as a basis for the selectivity of bifenox. *Weed Science*, 26(1):76-81.
- Takenaka, M., S. Sakai, H. Nishida, S. Kimura, and H. Has (1991) Degradation and adsorption of a seed fungicide pefurazoate in paddy soil. *J. Pesticide Sci.*, 16:631-639.
- Nicholls, P. H. (1988) Factors Influencing Entry of Pesticides into Soil Water. *Pestic. Sci.*, 22:123-137.
- Sorenson, B. A., D. L. Wyse, W. C. Koskinen, D. D. Buhler, W. E. Lueschen, and M. D. Jorgenson (1993) Formation and movement of <sup>14</sup>C-atrazine degradation products in a sandy loam soil under field conditions. *Weed Science*, 41:239-245.
- Reiml, D., I. Scheunert, and F. Korte (1989) Leaching of conversion products of [<sup>14</sup>C]buturon from soil during 12 years after application. *J. Agric. Food Chem.*, 37:244-248.
- Francis, B. M. (1986) Role of structure in diphenyl ether teratogenesis. *Toxicology*, 40(3):297-309.
- Manson, J. M. (1986) Mechanism of nitrofen teratogenesis. *Environ. Health Perspect*, 70:137-147.
- Honeycutt, R. C., and I. L. Adler (1975) Characterization of



- bound residues of nitrofen in rice and wheat straw. *J. Agric. Food Chem.*, 23(6):1097-1101.
21. Wargo, J. P., R. C. Honeycutt, and I. L. Adler (1975) Characterization of bound residues of nitrofen in cereal grains. *J. Agric. Food Chem.*, 23(6):1095-1097.
22. Hawton, D., and E. H. Stobbe (1971) The fate of nitrofen in rape, redroot pigweed, and green foxtail. *Weed Sci.*, 19:555-558.