

제초제 Dicamba의 자연광 및 토양 중 분해

오경석 · 오병렬 · 박승순 · 임양빈 · 경기성 · 이재구¹

농업과학기술원 작물보호부 농약안전성과, ¹충북대학교 농과대학 농화학과

요약 : 광조건 및 토양중에서 제초제 dicamba의 분해특성을 조사하기 위하여 자연광 조건과 물리화학적성이 다른 2종류의 토양을 선택하여 수행하였다. 광조건하에서 dicamba의 분해율은 처리 9주후에 3.3%였으며, 주분해산물로써 4-hydroxy dicamba가 검출되었고, 또한 기존에 알려진 분해산물인 5-hydroxy dicamba도 확인되었다. 한편 Dicamba는 살균되지 않은 토양에서 배양 8주후에 14.7~23.2%가 분해되었으며, 토양중 dicamba 분해경로는 주로 탈메틸 (demethylation) 작용에 의해 이루어졌다. 또한 살균된 토양에서 dicamba 분해는 아주 서서히 되는 것으로 보아 dicamba 분해에는 미생물이 주로 작용하는 것으로 나타났다. (2000년 8월 7일 접수, 2000년 9월 15일 수리)

Key words : Dicamba, degradation, metabolite, sunlight, soil.

서 론

농약의 분해는 환경중에 살포된 농약이 일정기간 약효 발현에 필요한 양 이외의 유효성분이 무독화 (detoxification)되는 기작으로써 환경중에서 농약의 행적에 중요한 역할을 하고 있다. 그러나 농약이 CO₂로 완전히 무기화 (완전분해)되지 않고 유효성분이 대사산물의 전환 (부분분해) 되었을 때 이것은 필연적으로 무독화되는 것만은 아니다. 그 예로 붉은까치밥나무, 까막까치밥나무, 사과 및 딸기에서 2,4-D로부터 생성된 비산성 대사산물 (nonacidic metabolite)은 auxin 활성이 있다고 보고된 바 있다 (Luckwill 등, 1960). 그리고 유기화합물의 대사작용에서 dicamba와 같은 benzoic acid 계통의 제초제들은 식물체내에서 주로 ring hydroxylation 또는 천연 식물체와의 복합화 등으로 대사작용이 일어나며 (Kearney 등, 1969), benzoic acid 계통인 dicamba는 토양중에서 주로 2번 위치의 methoxy기에서 탈 methyl화 (demethylation)가 일어나고, 식물체중에서는 ring hydroxylation 및 conjugate를 형성 (정 등, 1992)하는 것으로 알려져 있다.

한편 dicamba의 토양중 소실은 sandy loamy 토양 보다 silty clay loamy 토양에서 더욱 크며, 토양배양온도가 증가할수록 분해가 빠르고, 16일간 태양에 노출된 dicamba 수용액은 오이 종자의 생육을 억제시킨다고 하였다 (Hahn 등, 1968). Dicamba의 토양중 분해실험에서 온도조건을 12°C, 20°C, 28°C의 3 수준으로 하여 실험한 결과 1차 반감기가 12°C에서 151일, 20°C에서 37.9일, 28°C에서는 23.5일로 dicamba의 분해에 온도가 영향을 준다고 하였다 (Comfort 등, 1992). 살균 및 비살균 토양에 dicamba를 처리하고 25°C에서 dicamba의 분해성을 연구한 결과 비살균 토양에서 2주만에 약 50%가 분해된 반면 살균 토양에서는 8주 후에도 미량만이 분해되어 dicamba의 분해에 영향을 끼치는 주요한 인자가 미생물이라고 하였으며, 토양중에서 분해된 dicamba의 주분해산물로

3,6-dichlorosalicylic acid를 검출하였다 (Smith, 1973 및 1974). 수중 dicamba 잔류물의 소실과 약해실험에서 dicamba는 살균되지 않은 조건과 광이 존재하는 조건하에서 분해가 빠르게 진행되었으며, 이러한 결과는 미생물 군락의 영향때문이라고 하였다. 또한 하절기에 연못 표면 적당 dicamba 4.4 kg/ha의 농도로 처리하였을 경우에 매일 1.3 ppm씩 소실된다고 하였으며, dicamba에 대한 작물종자의 상대적인 내성은 수수>목화>오이 순이었다고 보고하였다 (Scifres 등, 1973). 따라서 본 연구는 국내 환경조건하에서 광 및 토양중에서 dicamba의 분해특성을 조사하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

Dicamba의 광분해성

Dicamba의 광분해성은 자연광 조건하에서 실시하였다. 멸균수를 이용하여 dicamba 표준품을 100 ppm 수준으로 조제한 후 마개달린 borosilicate 재질의 시험관에 10 ml씩 넣고 밀봉처리하여 자연광 조건하에 방치하였으며, 대조 시험관은 알루미늄 호일로 밀봉하여 빛을 차단하였다. 이때 시료는 매 3주간격으로 채취한 후 Smith의 방법 (Smith, 1973)을 변형하여 분석하였다. 시료 전량을 250 ml 분액여두에 넣고 6N HCl로 산성화 (pH 2~3)시킨 다음 ethyl ether 30 ml를 부가하고 1분간 세게 진탕분배하였다. 이 때 ethyl ether 층은 무수 Na₂SO₄에 통과시켜 모아 두고 상기 조작을 2회 반복 추출하였다. 추출액 전량을 rotary evaporator (Rotavapor R-124, Büchi, Switzerland)를 이용하여 추출액이 5 ml 남을 때까지 감압농축한 다음 diazomethane용액 5 ml를 넣고 methylation 하였다. 이 액을 25 ml volumetric flask에 옮겨 n-hexane으로 표선까지 채우고 GC/ECD를 사용하여 분석하였다. 이 때 사용된 GC/ECD의 분석조건에서 column은 SE 30 (2 mm ID × 2 m L), detector는 electron capture detector (⁶³Ni), 온도는 injector 250°C, column 200°C, detector 290°C, carrier gas (N₂)의 유속

*연락처

Table 1. Physico-chemical properties of soil used

Soil	pH (H ₂ O,1:5)	Organic matter(%)	EC (ds/m)	P ₂ O ₅ (ppm)	C.E.C.(cmol/kg)				Texture
					Ca ⁺⁺	K ⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺	
A	5.48	2.2	0.3	508	4.3	0.47	0.8	0.1	SL
B	4.69	1.9	0.4	368	3.2	0.68	0.8	0.1	L

은 40 ml/min이었다. 또한 광분해실험 후 생성된 dicamba 분해산물의 구조확인에는 GC/MS (Finnigan SSQ 7000 Gas chromatograph/Quadrupole mass spectrometer; Column : 0.25 μ m I.D. \times 30 m L fused silica column coated with DB-5; Temperature : Injector - 250°C, Column - programmed from 120°C to 250°C at 10°C/min., Trans. line - 250°C; Gas flow rate (He) : 15 ml/min; Split ratio : 25 : 1; Ionization : EI mode, 70 eV; Scan rate : 1 scan/sec)를 이용하여 분석하였다.

토양중 dicamba 분해

Dicamba의 토양중 분해실험은 표 1에서 보는 바와 같이 사양토 (soil A)와 양토 (soil B)를 사용하였다. 각각의 토양은 살균처리 토양과 살균처리 하지 않은 토양으로 구분하였다. 이 때 살균처리 토양은 가압살균기를 이용하여 121°C에서 30분간 2회 살균하였다. 이들 토양에 dicamba를 10 ppm 수준으로 처리하고, 각 토양에 대해 최대포장용수량의 40%에 해당하는 수분으로 조절하여 28 \pm 1°C의 항온기에 보관하였다. 보관 후 2주 간격으로 시료를 채취하였으며, 부족한 수분은 매주 간격으로 보충하였다.

한편 dicamba의 분석은 CaCl₂ 추출과 알칼리 추출로 분리하여 수행하였다. CaCl₂ 추출은 Smith의 방법 (Smith, 1973)에 준하여 실시하였다. 토양 30 g을 취하여 Erlenmeyer flask에 넣고 0.1N CaCl₂ 120 ml를 가한 다음 진탕기상에서 30분간 진탕시켰다. 진탕 후 Büchner funnel을 이용하여 감압여과를 하였으며, 이 때 soil cake은 위 추출액 25 ml로 세척하여 합하였다. 이 추출액 50 ml를 취하여 250 ml separatory funnel에 옮기고 6N HCl로 산성화 시킨 다음 ethyl ether 30 ml를 넣고 1분간 세계 진탕분배하였다. 이 때 ethyl ether 층은 무수 Na₂SO₄에 통과시켜 모아 두고 상기 조작을 2회 반복 추출하였다. 추출액 전량을 rotary evaporator를 이용하여 추출액이 5 ml 남을 때까지 감압농축한 다음 diazomethane용액 5 ml를 넣고 methylation 하였다. 이

액을 25 ml volumetric flask에 옮겨 n-hexane으로 표선까지 채우고 GC/ECD로 분석하였다. 한편 알칼리 추출은 CaCl₂ 추출 후 남은 토양 10g을 250 ml Erlenmeyer flask에 취한 후 1N NaOH 용액 50 ml를 넣고 진탕기상에서 1시간동안 진탕추출하였다. 이 추출액을 원심분리기 (Vision Scientific Co. Ltd., Korea)를 이용하여 7,000 rpm의 속도로 10분간 원심분리한 다음 상정액을 수거하였다. 이 때 1회 반복한 다음 추출액을 모아 250 ml 분액여두에 옮긴 다음 진한염산으로 이 추출액을 산성화하였다. 이 추출액에 ethyl ether 70 ml를 부가한 다음 분배하였으며, 이 때 유기상층은 무수 Na₂SO₄에 통과시켜 모아두고 상기조작을 2회 반복하였다. 이 ethyl ether 추출액을 rotary evaporator를 이용하여 약 5 ml까지 농축한 후 이 추출액을 마개달린 시험관에 옮긴 후 다시 N₂ 가스를 이용하여 건조될 때까지 농축하였다. 이 농축액은 GC/ECD 분석을 위해 pentafluorobenzyl alkylation (PFB alkylation)을 행하였다. 즉 농축액에 pentafluorobenzyl bromide (Sigma, U. S. A.) 1 μ l와 0.2M Na₂CO₃ : 0.1M tetrabutylammonium hydrogen sulfate (1:1, v/v, pH 10) 혼합용액 1 ml를 가한 후 60°C의 수욕상에서 20분간 서서히 흔들며 주며 반응시켰다. 반응시킨 후 1N HCl로 중화한 다음 toluene 1 ml로 3회 추출하였다. 이 추출액을 rotary evaporator를 이용하여 건조할 때 까지 농축한 후 n-hexane 10 ml로 재용해한 다음 GC/ECD를 이용하여 모화합물인 dicamba 및 분해산물을 분석하였다.

결과 및 고찰

Dicamba의 광분해성

Dicamba 표준품을 물에 용해하여 광엽잡초 방제시기인 4월초부터 9주간 자연광에 노출한 다음 dicamba의 광에 의한 분해를 조사한 결과는 표 2와 그림 1에서와 같다.

처리 1주 후에는 dicamba가 0.14% 분해되었으며, 처리

Table 2. Photodegradation of dicamba in aqueous solution under natural radiation for 9 weeks

Chemical	% Dicamba and its degradation product after indicated weeks			
	1	3	6	9
Dicamba	99.86	98.56	97.52	96.70
Unknown product	0.05	1.22	1.67	2.24
5-Hydroxy dicamba	0.09	0.22	0.81	1.06

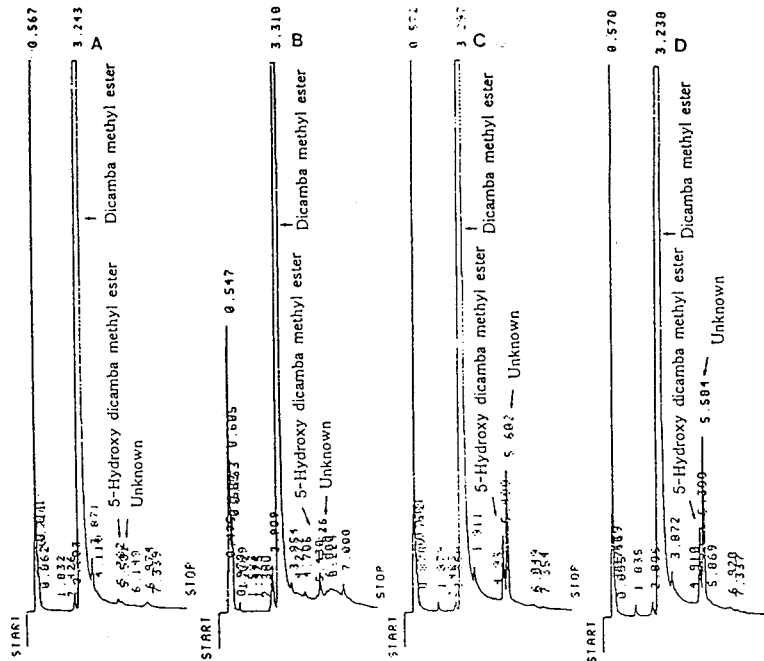


Fig. 1. Gas chromatograms of photodegradation products of the authentic dicamba in aqueous solution for 9 weeks. Chromatograms A, B, C, and D represent those obtained after 1, 3, 6, and 9 weeks of photolysis, respectively.

3주후에는 1.44%, 6주후에는 2.48%, 9주후에는 3.28%가 분해되어 시간이 경과함에 따라 분해는 증대되었으나, 광에 의한 분해는 미미하였다. 이러한 결과에서 dicamba가 9주간 광에 노출되었을 때 총 처리량의 3.28%만이 분해된 것을 감안하면 이 화합물은 광에 비교적 안정한 화합물임을 알 수 있었다. 또한 그림 1에서 보는 바와 같이 dicamba 분해산물은 5-hydroxy dicamba가 확인되었으나, 5-hydroxy dicamba보다 늦게 분해산물로 추정되는 하나의 peak가 확인되었다.

Dicamba 광분해산물의 구조확인

Dicamba의 광분해산물인 5-hydroxy dicamba 및 미확인 분해산물의 구조확인은 GC, GC/MS를 사용하여 분석하였다.

Dicamba의 광분해 실험을 통해 1, 3, 6, 9주에 걸쳐 시료를 채취한 다음 GC 분석을 행한 결과 (그림 1 참조), gas chromatogram 상에서 모화합물인 dicamba methyl ester의 retention time (RT)은 3.2분대이고, 분해산물인 5-hydroxy dicamba methyl ester의 RT는 5.6분대로 처리 1

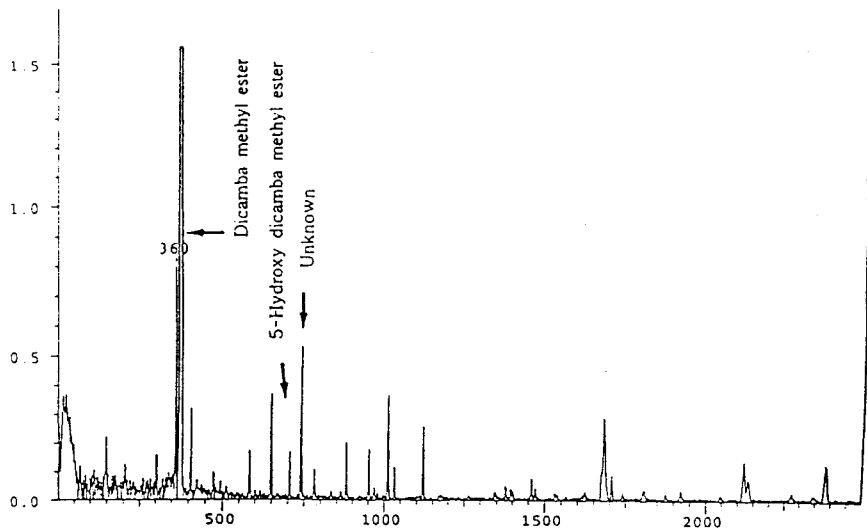


Fig. 2. Total ion chromatogram of the photodegradation products of the dicamba standard in aqueous solution after 9 weeks of sunlight radiation.

Table 3. Degradation pattern of dicamba in viable and sterilized soils treated with 100ppm level

Treatment	Time in week	Soil	Recovered % of ^a		
			Dicamba from		3,6-Dichlorosalicylic acid from NaOH ^{a)}
			CaCl ₂	NaOH ^{a)}	
Viable	2	A	23.33	14.89	16.88
		B	21.66	16.12	9.45
	4	A	24.33	11.79	14.89
		B	21.30	12.08	9.50
	6	A	22.99	10.88	18.22
		B	19.65	11.93	11.93
	8	A	16.65	10.19	23.20
		B	16.31	10.00	14.67
Sterilized	2	A	48.30	49.39	ND ^{b)}
		B	48.25	50.42	ND
	4	A	43.61	45.70	ND
		B	46.00	47.60	ND
	6	A	43.28	38.16	ND
		B	44.92	40.85	ND
	8	A	42.99	37.23	ND
		B	42.66	39.20	ND

^{a)}The samples were extracted with 0.1M CaCl₂ followed by 1N NaOH.

^{b)}ND : Not detected.

주부터 9주까지 경시적으로 5-hydroxy dicamba methyl ester의 양이 서서히 증가되는 경향을 보였으며, RT 5.9에서 dicamba의 분해산물로 추측되는 unknown peak가 5-hydroxy dicamba methyl ester 보다 더욱 많은 양이 검출되었다. 따라서 처리 9주 후의 시료를 대상으로 GC/MS를 이용하여 dicamba methyl ester, 5-hydroxy dicamba methyl ester 및 unknown peak의 분자량 (m/z)과 fragmentation pattern을 확인하였다. GC/MS로 분석한 total ion chromatogram (TIC)에서 보는 바와 같이 (그림 2 참조) 모화합물인 dicamba methyl ester 이외에 대사산물인 5-hydroxy dicamba methyl ester의 peak와 unknown peak를 발견할 수 있었다.

따라서 그림 3에서와 같이 5-hydroxy dicamba methyl ester의 표준물과 시료중의 5-hydroxy dicamba methyl ester과 mass spectrum을 비교해 볼 때, m/z가 264.1 그리고 fragment m/z가 각각 249.1, 233.1, 221.2, 207.2로 일치하였다.

또한 시료중 unknown peak의 mass spectrum을 보면 m/z가 264.1, fragment의 m/z가 247.1, 233.1, 218.1, 207.1로서 이는 5-hydroxy dicamba methyl ester의 표준물과 유사하였는데 이것은 dicamba의 광분해시 benzene ring의 5번 위치에 hydroxy 기가 붙은 것이 아니라 4번 위치에서 hydroxylation이 일어난 것으로 보여진다. 따라서 benzene ring의 4번과 5번의 proton 위치를 확인하기 위하여 FT-NMR을 이용하여 분석을 시도하였으나, 추출액 중의 대사산물양이 매우 적었기 때문에 proton의 위치를 확인하지 못하였다.

토양중 dicamba의 분해

물리화학적 성질이 다른 사양토 (soil A)와 양토 (soil B)를 각각 살균처리한 것과 살균처리하지 않은 토양에 dicamba를 처리하여 8주간 배양한 다음 dicamba의 분해성을 검토한 결과는 표 3과 같다.

살균된 토양에서는 토양특성과는 관계없이 dicamba의 분해속도가 비슷하였고, 배양 4주까지 약 10%만이 분해되었다. 한편 살균되지 않은 토양에서는 배양 2주 후에 dicamba가 약 60% 이상 분해되었고, 8주 후에는 70% 이상이 분해되었다. 이러한 결과는 dicamba 분해에 미생물이 중요한 인자로 작용한다는 것을 강력하게 시사하는 것이며, 살균 및 비살균 토양에 dicamba를 처리하고 25°C에서 dicamba의 분해성을 연구한 결과 비살균 토양에서 2주만에 약 50%가 분해된 반면 살균 토양에서는 8주 후에도 미량만이 분해되어 dicamba의 분해에 영향을 끼치는 주요한 인자가 미생물이라고 하였다 (Smith, 1973 및 1974).

그리고 토양중 dicamba의 분해산물을 조사한 결과 그림 4와 같이 3,6-dichlorosalicylic acid를 검출할 수 있었으며, 이 결과는 Smith의 연구결과와 일치한다 (Smith, 1973 및 1974). 한편 본 실험에서는 살균 토양에서 8주 후에 dicamba가 약 20% 정도 분해된 것이 확인되었으나, 그 분해산물인 3,6-dichlorosalicylic acid는 확인하지 못하였다.

이러한 결과로 볼 때 dicamba의 분해에 미치는 주요 인자는 미생물이었으며, 이외에 가수분해, 휘산, 광 등 비생물적 요인도 관여한 것으로 생각된다.

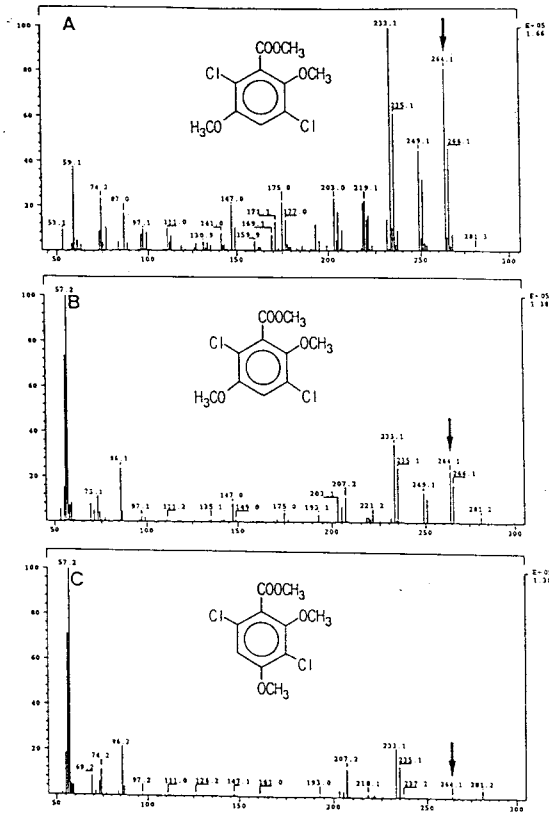


Fig. 3. Mass spectra of the authentic 5-hydroxy dicamba methyl ester (A, m/z 264.1) and the two products, B and C obtained from photodegradation in aqueous solution of dicamba after 9 weeks.

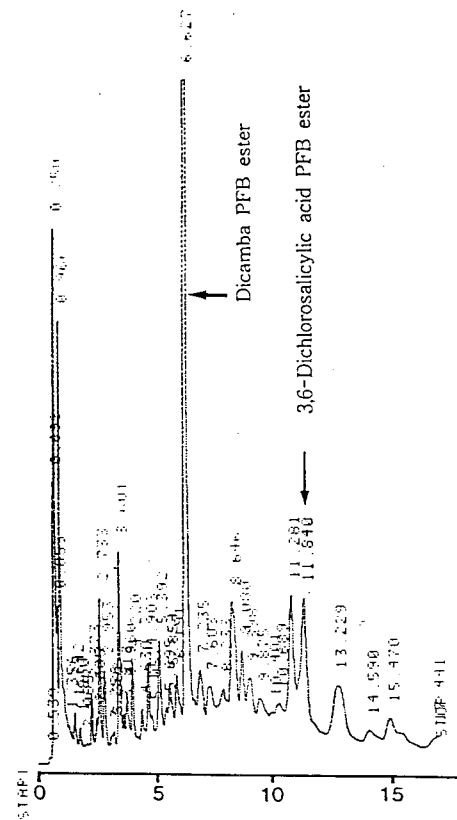


Fig. 4. GC chromatogram of the degradation products of the authentic dicamba in viable soil A incubated for 8 weeks.

인용문헌

Comfort, S. D., W. P. Inskeep, and R. E. Marcur (1992) Degradation and transport of dicamba in a clay soil, *J. Environ. Quality*, 21:653~658.
 Hahn, R. R., O. C. Burnside, and T. L. Lavy (1968) Dissipation and phytotoxicity of dicamba, *Weed Sci.*, pp.3~8.
 Kearney, P. C. and D. D. Kaufman (1969) Degradation of herbicides, MARCEL DEKKER, INC., NEW YORK.
 Luckwill, L. C. and C. P. Lloyd-Jones (1960) *Ann. Appl. Biol.*, 48, 613.
 Luckwill, L. C. and C. P. Lloyd-Jones (1960) *Ann. Appl. Biol.*, 48, 626.

Scifres, C. J., T. J. Allen, C. L. Leinweber, and K. H. Pearson (1973) Dissipation and phytotoxicity of dicamba residues in water, *J. Environ. Quality*, 2:306~309.
 Smith, A. E. (1973) Degradation of dicamba in prairie soils, *Weed Res.*, 13:373~378.
 Smith, A. E. (1973) Transformation of dicamba in regina heavy clay, *J. Agr. Food Chem.*, 21:708~710.
 Smith, A. E. (1974) Breakdown of the herbicide dicamba and its degradation product 3,6-dichlorosalicylic acid in prairie soils, *J. Agr. Food Chem.*, 22:601~605.
 정영호, 박영선 (1992) *농약학*, pp.316 ~321, 전국농업기술협회.

Degradation of the herbicide dicamba under sunlight and in soil

Kyeong-Seok Oh*, Byung-Youl Oh, Seung-Soon Park, Yang-Bin Ihm, Kee-Sung Kyung, and Jae-Koo Lee¹ (*National Institute of Agricultural Science & Technology, RDA, Suwon, 441-707, Korea and ¹Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheong Ju, 361-763, Korea*)

Abstract : In order to elucidate the degradation of the herbicide dicamba, the degradabilities of dicamba under sunlight and in soils were investigated. The photodegradation rate of the authentic dicamba under sunlight condition was only 3.3% after 9 weeks. 4-Hydroxy dicamba turned out to be the major product, and 5-hydroxy dicamba was also identified. Dicamba was degraded to 3,6-dichlorosalicylic acid by demethylation in the viable soil, which resulted in 14.7 to 23.2% degradation of the applied amount during 8 weeks of incubation. Meanwhile, the degradation was quite slow in the sterilized soil, which revealed that the soil microbes played a major role in dicamba degradation.

*Corresponding author (Fax : +82-31-290-0521, E-mail : ohks@rda.go.kr)