

植物組織系の 有効成分에 關한 研究 (I)

—耐鹽性 植物의 Proline蓄積 및 窒素代謝—

趙 仁 鎬

(全北大學校 文理科大學 化學科)

(1976년 12월 15일 受理)

Studies on Salient Metabolites of Plant Tissues (I)

Nitrogen Metabolism and Proline Accumulation in Halophytes

I. H. Cho

(Department of Chemistry, College of Liberal and Arts, Chunbuk National University)

(Received December 15, 1976)

SUMMARY

Contents of proline and chloride in halophytes were 80—1700 $\mu\text{g/gfw}$ and 0.13—0.45 mM/gfw respectively. The content of proline was inversely proportional to that of chloride.

Rhizomes of *Phragmites communis* Trin, a halophyte, were grown in non-saline medium and then taken to saline treatment for one or two weeks. Growth of *P. communis* was inhibited when salinized with 0.25M NaCl. Total nitrogen decreased and alcohol soluble nitrogen and proline increased when growth was retarded. The quantity of Fraction 1 protein decreased at 0.25M NaCl treatment. The accumulation of proline at high concentration in *P. communis* suggested that it might play a role in osmotic adjustment.

緒 論

植物을 耐鹽性에 따라서 2群으로 分類한다. 즉 鹽濃度가 높은 곳에서 生育할 수 있는 halophyte 와 生育할 수 없는 glycophyte로 나눈다. 그러나 halophyte중에서도 耐鹽性은 植物의 種에 따라서 다르며 같은 種에서도 生態的 差異에 따라서 다르게 나타난다. (1,2)

Halophyte들도 鹽害를 받게 되면 一次的으로 細胞膜이 傷하거나 體內 代謝過程에 異常現象이 나타나며 二次的으로는 滲透壓에 영향을 주거나 鹽의 吸收競合에 따라 特定이온의 缺乏이 일어나서

生育이 阻害된다. (3)

代謝過程의 異常은 주로 特定 酵素의 活性化나 不活性化가 되므로서 일어나는데 呼吸 (4), 光合成 (5), 蛋白質合成 (6) 및 核酸合成 (6) 등 여러가지 代謝가 阻害된다. 그 중에서 窒素代謝를 理解하는 것은 植物의 生産성과 관련하여 중요한 意義를 갖는다.

鹽害에 의하여 植物의 生育이 阻害될 때 遊離아미노酸 特히 proline이 蓄積되고 있음을 報告하고 있다. (2,7) Proline은 imino酸으로서 植物의 生育條件이 좋을 때는 少量으로 나타나는 窒素化合物이지만 鹽害나 旱害 (8,9) 등의 生理的인 惡條件에서는 體內에 多量으로 蓄積됨을 報告하고 있다.

본 실험에서는 鹽田에 自生하는 植物의 proline

함량과 Cl함량의 相互關係를 살펴보고 proline이 多量으로 蓄積되고 있는 갈대를 여러가지 鹽濃度로 處理한 토양에서 栽培하여 proline代謝와 關聯된 窒素代謝 및 蛋白質 分割의 變化를 살펴보았다

實驗材料 및 方法

實驗材料

(1) 海邊에 自生하는 植物: 1976년 7월 24일과 8월 25일에 경기도 화성군 사리해변과 군자해변에서 채취하였다.

(2) 갈대의 栽培: 1976년 9월 6일에 화성군 사리해변과 수원시 서호에서 갈대의 地下莖을 채취하였다. 採取한 地下莖을 3~4마디로 절단하여 細砂로 채워진 화분에 盆當 10개의 지하경을 심고 野外에서 Arnon과 Hoagland培養液⁽¹⁰⁾을 每日一回씩 주면서 17일간 栽培하였다. 야외에서 5~7cm까지 자란 갈대의 화분을 溫室(20~30°C)로 옮기고 NaCl을 0.0M(無處理區), 0.10M, 0.25M, 0.50M 및 1.00M 含有한 Arnon과 Hoagland培養液을 每日一回씩 처리하였다. 鹽處理 후 7일과 14일에 시료를 채취하여 곧 冷凍乾燥시켰다. 건조된 잎을 60 mesh분말로 마쇄하여 냉장고 속의 desiccator內에 보관하였다.

實驗方法

(1) 水分定量: 65°C의 건조기에서 恒량이 될 때까지 건조하여 평량하였다.

(2) 總窒素의 定量: AOAC法에 의한 Kjeldahl法으로 정량하였다.

(3) Alcohol可溶性 窒素의 定量: Routley의 방법⁽¹⁴⁾에 準하여 alcohol가용성 성분을 抽出하고 micro-Kjeldahl法으로 질소를 정량하였다. 즉 試料 1g을 평량하여 40ml의 80% 에칠알콜에 넣고 2시간 동안 還流시킨 다음 여과하였다. 그 殘渣를 다시 10ml의 80%에칠알콜로 洗滌하여, 위의 여액과 세척액을 50ml 용량 플라스크에 넣고 그 容量을 50ml로 만들었다. 이것의 일부를 취하여 micro-Kjeldahl法으로 窒素를 정량하였다.

(4) Proline의 定量: Blumenkrantz 등의 방법⁽¹¹⁾에 따라서 아래와 같이 정량하였다. 해변에서 채취한 시료들은 그 잎을 약 2cm크기로 절단하여 시료에 따라 25~50g을 평량하여 증류수 100ml에 넣

고 Waring blender로 2분간 분쇄한 후에 glass filter로 여과하였다. 栽培한 갈대 試料는 냉동건조된 분말 50~80mg을 평량하여 증류수 2.0ml에 넣고 4°C에서 2시간 동안 진탕한 후에 4°C에서 8,000×G로 20분간 원심분리하였다.

위의 수용액을 1ml씩 취하여 1.5ml의 borate-alanine緩衝液(67mM boric acid, 4mM alanine, pH 8.7)과 0.6ml의 0.2M chloramine T 용액을 넣고 상온에서 20분간 진탕하였다. 이 용액에 3.6M sodium thiosulfate용액 2ml을 넣고 KCl로 飽和시킨후, 3ml의 toluene을 가하여 15분간 진탕한 다음 2,000×G로 5분간 원심분리하였다. 이때 얻은 toluene層을 1.25ml 取하여 1.25ml의 iso-butanol과 0.5ml의 n-propanol을 넣고 잘 섞은 다음에 0.5ml의 0.3M NaIO₄ 용액과 phosphate-citrate緩衝液(pH 7.0) 6ml을 가하여 暗所에서 30분간 진탕하였다. 이것을 원심분리하여 얻은 有機溶媒層 2.0ml을 取하여 0.5ml의 p-dimethylaminobenzaldehyde 용액 (4g p-dimethylaminobenzaldehyde, 4.5ml HClO₄, 15ml iso-butanol)을 넣고 15분간 發色시킨 후 Spectronic 20을 사용하여 565nm.에서 吸光度를 측정하였다.

(5) Cl의 定量: Proline정량에 사용된 시료용액 15ml을 取하여 同量의 증류수로 희석하고 Mohr法⁽¹²⁾에 따라서 정량하였다.

(6) Polyacrylamide gel 전기영동: 200mg의 시료를 5ml의 Tris-glycine 緩衝液(0.1M Tris-glycine, pH 9.2, 3mM β-mercaptoethanol, 10mM MgCl₂, 5mM ascorbic acid)에 넣고 2시간 동안 진탕한 후에 10,000×G에서 20분간 원심분리하였다. Davis 方法⁽¹³⁾에 따라 調製한 7.5% acrylamide를 含有하는 gel에 위의 단백질 용액 20~50μl을 넣고 gel 당 2.5mA의 전류로 3시간 동안 전기영동하였다. 이때 음극쪽에는 pH 9.2의 Tris-glycine緩衝液을 양극쪽에는 pH 8.9의 Tris-HCl緩衝液을 사용하였다. 전기 영동이 끝난 gel은 Amido Black 10B 용액으로 染色하였다.

結果 및 考察

植物이 生育에 障害를 받을 때 體內에 異常代謝物質이 蓄積되고 있음이 알려져 왔다⁽¹⁵⁾ 본 실험에

서 耐鹽性 植物의 葉에서 proline과 Cl의 含量을 精量한 結果는 表 1과 같다. 各 植物 상호간에 proline함량의 變異가 크지만 어느 것이나 glycophyte에서 보다는 높은 含量을 나타내고 있다. 즉 갈대나 마디풀의 경우에는 生體 1g당 1.5mg이상의 proline을 含有하는 반면 통통마디, 개질경이

및 명아주과에서는 100 μ g미만의 proline을 함유하고 있다. 한편 내염성 식물의 Cl含量도 glycophyte보다 높게 나타나고 있는데 proline과 Cl함량의 相互關係를 살펴보면 Cl함량이 제일 높은 통통마디(생체 1g당 0.445mM Cl)는 proline함량이 제일 적게(생체 1g당 46.7 μ g proline) 나타나고 있다.

Table 1. Contents of proline and chloride in the leaf of halophytes.

Species	Proline (μ g/gfw)	Chloride (mM/gfw)
<i>Atrémisia scoparia</i> Waldstein(비쭉)	296.7	—
<i>Atripca</i> L.(갯논 장이)	84.7	—
<i>Chenopodium brynizaeifolium</i> Bunge(좀명아주)	93.3	0.177
<i>Phragmites communis</i> Trin(갈대)	1510.0	0.128
<i>Plantago kamtscha</i> Chamisso(개질경이)	93.3	—
<i>Polygonum awiculara</i> L.(마디풀)	1720.0	0.180
<i>Sagina crassicaulis</i> Watson(큰 개미자리)	133.4	0.171
<i>Salicornia herbacea</i> L.(통통마디)	46.7	0.455
<i>Saueda glauca</i> Bunge(나문재)	113.4	0.296
<i>Sonchus arvensis</i> L.(사데풀)	753.3	0.170

또한 Cl의 함량이 제일 적은 갈대(생체 1g당 0.13 mM Cl)는 proline含量이 높게(생체 1g당 1.5mg proline) 나타나고 있으며 proline含量이 제일 높은 마디풀에서도 Cl함량이 낮게 나타나고 있다. 이 결과에서 볼때 내염성 식물 체내의 proline과 Cl含量間에는 相互反比例하는 傾向을 나타내고 있었다.

耐鹽性 植物은 細胞內에 염의 침투를 막는 物理的인 구조를 가지거나 또는 體內外의 滲透壓의 平衡을 이루어 염에 대한 抵抗性을 갖게 된다^(16,17,18) 본 실험의 결과에서 볼 때 식물체가 고농도의 鹽을 함유하면서도 生育할 수 있는 것은 Greenway등⁽¹⁶⁾과 Flowers⁽¹⁷⁾가 지적한 바와 같이 體內에 침투된 염을 細胞內의 일정한 부분에 隔離시켜 代謝가 일어나는 部位에서는 염의 농도가 낮기 때문으로 생각된다. 실제로 *Atriplex*에서는 土壤의 Cl농도를 19ppm에서 920ppm으로 높일 때 植物體內의 Cl함량이 乾物當 9.6%에서 13.6%로 증가하여도 生育할 수 있음을 報告하고 있다.⁽¹⁹⁾

耐鹽性 植物體內의 삼투압을 조절하기 위하여 이와 같이 鹽을 축적하는 기능을 가지거나, 有機化合物을 體內에 蓄積하는 기능을 가진다 즉 Craigie⁽²⁰⁾는 *Monochrysis lutheri*가 鹽害를 받을

때 cyclohexanetetrol이 축적되어 삼투압을 조절함을 보고하고 있다. 또 Goas⁽⁷⁾와 Stewart등⁽²⁾은 내염성 植物體內에 proline이 多量으로 축적됨을 관찰하였고, 특히 Stewart등⁽²⁾은 proline이 물에 대한 용해도가 크며 (160g/100ml, 25°C), 고농도에서 여러가지 酵素의 活性度에 영향을 미치지 않음을 관찰하고 proline이 滲透壓의 조절에 관계할 것이라고 提案하였다. 植物體內의 proline 蓄積은 鹽害뿐만 아니라. Rye glass⁽²¹⁾, Ladino clover⁽¹⁴⁾ 및 Bermuda glass⁽⁸⁾ 등이 旱害를 입을 때에도 나타난다. 이와같이 식물이 生理的인 旱越狀態에서 proline의 含量이 증가하는 것과 본 실험에서의 植物體內의 염과 proline含量과의 相互關係로 보아서 proline이 식물의 鹽에 대한 耐性, 특히 滲透壓의 조절에 관계할 것으로 생각된다.

植物에 있어서 proline의 축적이 鹽에 대한 저항성을 가지기 위해서 能動的으로 生成되고 있는지 또는 鹽에 의한 代謝過程의 障蔽, 즉 단백질 합성의 저해나, 기존 단백질의 분해가 촉진된 결과로 나타난 것인지를 검정하기 위하여 海邊에서 자라는 갈대의 地下莖을 실험실에서 재배하여 1주일간 鹽處理한 후에 水分, 總窒素, 알콜可溶性 窒素 및

Table 2. Changes in water, total nitrogen, alcohol soluble nitrogen and proline contents in costal populations of *Phragmites communis* treated with different salinities. Rhizomes of *P. communis* were grown in non-saline medium for 17 days prior to saline treatment for a week.

Salinities	Water (%)	Total N* (%)	Soluble N* (%)	Proline ($\mu\text{g}/\text{gfw}$)
0	84.5	0.796	0.107	134
0.10	84.1	0.952	0.202	564
0.25	81.5	0.687	0.171	836
0.50	78.1	0.766	0.240	1578
1.00	71.2	0.858	0.401	1658

* Fresh weight basis

Table 3. Effect of prolonged treatment of NaCl on proline accumulation in costal populations of *Phragmites communis*.

Days after treatment	NaCl concentration				
	0	0.10	0.25	0.50	1.00
7 days	134*	564	836	1578	1568
14 days	182	584	1468	1470	died

* μg per gr. fresh weight

proline의 함량을 정량한 결과는 表2와 같다.

또 2주일간 鹽處理한 갈대에서의 proline함량은 表3과 같다. 0.25M처리구에서는 2주일 후에도 생육의 장애를 나타내지 않았으나 1.0NaCl 處理區에서는 일주일 후부터 黃化現象이 나타나고 2주일 후에는 枯死하였다. 0.5MNaCl 처리구에서는 2주 후에 생육이 저해되었다. 鹽에 대한 식물의 생육 限界는 식물에 따라서 差異가 있는데 *Atriplex vesicaria*는 1M NaCl에서도 생육할 수 있다.⁽²²⁾ 갈대의 경우에는 0.25 NaCl까지는 생육이 저해되지 않았다.

그러나 外觀上으로 생육이 저해되지 않는 0.25 M NaCl 처리구에서도 植物體內的 窒素代謝에는 상당한 차이가 있었다. 수분함량은 0.1M NaCl 처리구에서는 차이가 없으나 0.25M 이상의 처리구에서는 감소하여 1.0M NaCl 처리구에서는 대조구보다 13%가 감소하였다. 즉, 0.25M NaCl 이상에서는 萎凋現象이 나타났다. 總窒素의 含量은 生體重을 기준으로 할 때는 변화가 없으나 乾物重으로 볼 때에는 減少하는 경향이 있었다. 그러나 0.1 MNaCl 처리구에서는 총질소량이 대조구에 비하여 증가하였으며 생육도 더 旺盛하였다. 可溶性

窒素와 proline의 含量은 처리한 鹽濃도가 높아지는 것에 比例하여 增加하였다.

植物의 耐鹽性은 種에 따라서 다르지만 같은 種에서도 生態的인 차이에 따라서 다르게 나타난다. 즉 Stewart⁽²⁾ 등은 해변과 육지에서 채취한 *Armeria* 를 실험실에서 재배하여 鹽處理할 때에 低濃度の 鹽처리에서는 두 식물의 proline증가가 비슷하지만 高濃度(0.1M 이상)에서는 해변식물의 proline 含量이 육지식물의 것보다 높아짐을 관찰하고 體內的 proline 함량과 耐鹽性이 정비례한다고 보고하였다. 본 실험에서는 해변과 육지에서 자라는 갈대의 地

Table 4. Changes in nitrogenous compounds in inland populations of *Phragmites communis* at different salinities.

Salinities	Total N* %	Soluble N* %	Proline* μg
0	0.679	0.081	258
0.10	0.683	0.145	779
0.25	0.673	0.142	1034
0.50	0.665	0.171	1492
1.00	0.737	0.332	1843

* Fresh weight basis

下莖을 채취하여 같은 條件에서 鹽처리하여 얻은 窒素化合物의 변화는 表 4와 같다.

죽 갈대에서는 두 식물체의 질소대사에 큰 차이가 없었다. 단지 총질소와 가용성 질소의 含量이 조금 낮은 반면에 proline 함량이 오히려 높게 나타났다.

각 窒素化合物間의 相互關係를 보기 위하여 해변에서 채취한 갈대의 총질소에 대한 가용성 질소 및 proline態 질소의 百分率과, 가용성 질소에 대한 proline態 질소의 百分率은 그림 1과 같다.

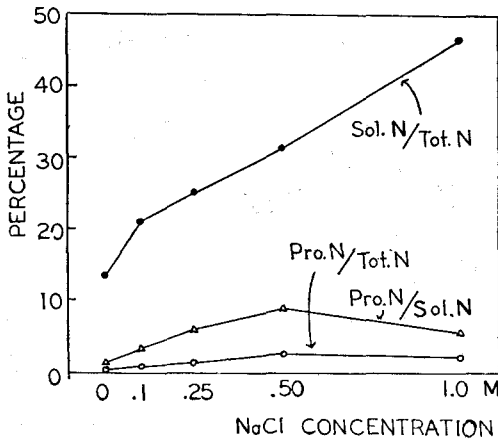


Fig. 1. Changes in percentage of nitrogenous compounds in costal populations of *Phragmites communis* treated with different salinities. Tot. N; total nitrogen, Sol. N; alcohol soluble nitrogen, Pro. N; proline nitrogen.

그림에서 보는 바와 같이 총질소에 대한 가용성 질소의 비율이 대조구에서는 13%이지만 0.5M NaCl처리구에서는 30%이며 1.0M NaCl처리구에서는 50%에 달하고 있다. 이와같은 결과는 proline의 축적은 단백질 합성의 저해나 기존 단백질의 분해가 촉진된 결과일 것으로 생각하고 있다^(6,7).

본 실험에서 각 처리구의 갈대 잎 蛋白質을 polyacrylamide gel로 전기영동한 결과는 그림 2와 같다.

對照區의 단백질은 5개의 분리대로 분리되고 있는데 그 중에서 가장 큰 분획은 단백질중의 比重으로 보아 Fraction 1 단백질로 간주된다. Fraction 1 단백질은 植物의 잎 단백질의 주성분 (可溶性 단백질의 약 50%)으로서 ribulose-1.5-diphosphate

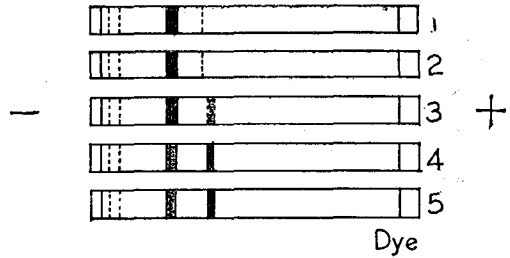


Fig. 2. Disc polyacrylamide gel electrophoretic patterns of costal populations of *Phragmites communis* treated with different salinities. Electrophoresis was carried out after the method of Davis with 7.5% acrylamide. 1; control, 2; treated with 0.1M NaCl, 3; treated with 0.25M NaCl, 4; treated with 0.5M NaCl, 5; treated with 1.0M NaCl.

carboxylase-oxygenase의 酵素 蛋白質이다^(23,24) 이 효소는 CO₂를 固定하거나 遊離시키는 2가지 기능을 동시에 가짐으로서 光合成과 光呼吸에서 다 같이 중요한 役割을 한다.^(25,26) Glycophyte에서 광합성의 주산물은 有機酸 特히 malate이지만⁽²⁷⁾ halophyte에서는 아미노酸類이다.⁽²⁸⁾ 본 실험의 결과에서 볼 때 鹽害가 甚할수록 Fraction I 단백질 분획이 감소하고 그 보다 전기 영동상의 易動도가 큰 단백질 분획이 새로이 나타나고 있다. 이 결과로 보아 식물체가 鹽害를 받을 때 단백질의 합성 뿐만 아니라 아미노酸의 合成도 阻害됨을 나타낸다고도 할 수 있다. 또한 그림 1의 가용성 질소에 대한 proline態 窒素의 比率을 보면 대조구에서는 2%미만이지만 0.5M에서는 8%까지 증가하고 있다. 그러나 1.0M NaCl 처리구에서는 生育이 크게 저하됨으로 인하여 오히려 proline態 질소가 감소하였다.

이러한 결과로 보아서 proline의 축적은 단백질의 합성·분해대사 뿐만 아니라 아미노酸의 代謝 경로에 異常이 생긴 결과일 것임을 시사해 준다. Proline生成의 可能경로를 살펴보면 아래와 같다.

Proline의 축적은 여러종류의 내염성 식물에서 일어나고 있으나 Stewart등⁽²⁾은 耐鹽性 植物이 鹽害를 받을 때 滲透壓을 조절하기 위한 適應反應으로 proline이 能動的으로 합성·축적될 것임을 시사하였다. 이와같이 여러가지 耐鹽性 식물에서

Carbofuran의 殘留에 關한 研究

朴永大·琴昭勝·李奎承*·洪榮哲

農村振興廳 農業技術研究所·*濟州大學 農化學科

(1977년 2월 28일 수리)

Studies on the Residue of Carbofuran

Y.D. Park, S.S. Keum, K.S. Lee* and Y.C. Hong

(Institute of Agricultural Science, Office of Rural Development)

(*Dept. Agri. Chem., Jeju Natl. University)

(Received Feb, 28 1977)

SUMMARY

Analytical method of carbofuran (2,3-dihydro-2, 2-dimethyl-7-benzofuranyl methyl carbamate) residues and its persistence in rice seeds, rice seedlings, rice plants and soils were studied by gas-liquid chromatographic analysis using electron capture detector.

1. The effective column material for clean-up is Florisil (5% H₂O)+Alumina (4% H₂O) +absorbent mixture with rinsing the first 30ml of eluants to remove impurities in the column materials.
2. The method of applying an gelatin encapsulated carbofuran to the root zone of rice plant is the longest persistence in its residues.
3. By seed treatment, no carbofuran residues were detected in rice seeds and seedlings.
4. The amounts of carbofuran residues in rice seedlings is in proportion to the soaking time of rice seedlings in carbofuran solution rather than the concentration of the chemical.
5. Applying carbofuran by root zone has the higher and the loger residual effect than broadcast.
6. Persistence of carbofuran in the high clay content soil is longer than in the low clay content soil.
7. No carbofuran residue was detected in rough rice at harvesting time.

諸 言

Carbofuran(2,3-dihydro-2,3-dimethyl-7-benzofuranyl methyl Carbamate)은 侵透성과⁽¹²⁾接觸毒성을 겸비한 acetyl cholineesterase 阻害 殺蟲劑로서 그의 適用範圍가 넓으며⁽⁵⁾⁽⁶⁾ 특히 옥수수의 根部加害 害蟲類⁽⁷⁾와 水稻의 멸구류및 매미충류의 防除에 效果가 크고⁽⁸⁾⁽⁹⁾ 우리나라에서도 1975年부

터 푸라탄*** 큐라텔**등의 商品名으로 市販되고 있다.

本 藥劑의 經口毒性은 쥐, 개 및 닭의 경우 11 mg/kg⁽¹⁰⁾ 메추리의 경우 1.7mg/kg⁽¹¹⁾로서 大端히 높으나 經皮毒性은 10,200mg/kg로서 大端히 낮으므로 粒劑의 形態로 편리하게 使用되고 있다.

Carbofuran은 侵透性 藥劑이므로 土壤에 處理하면 根部를 通하여 植物體의 地上部位로 移行된다.

***慶北農藥(株) **韓國農藥(株)

Carbofuran은 植物體와 土壤中에서 3-hydroxy carbofuran(2,3-dihydro-3-hydroxy-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methyl carbanate)와 3-keto carbofuran (2,3-dihydro-3-keto-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl methylcarbamate) 등의 代謝物로 쉽게 分解되어 지며⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾ 이들 物質은 또 植物體內의 成分과 結合하여 소위 Anlycone을 形成하기 때문에 殘留量分析이 比較的 어려운 것으로 알려져 있다. 따라서 植物體의 殘留量을 定量하기 위하여는 여러가지의 分析方法이 研究되어 왔으며 一般적으로 弱酸에 의한 加水分解로 植物體와 結合하여 있는 殘留量을 끊어준 後⁽⁶⁾, 이를 溶媒로 抽出하여 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene으로 phenyl ether의 誘導體를 만들어 檢出하는 方法이⁽⁷⁾ 많이 利用되고 있다.

本 試驗에서는 水稻에 對한 carbofuran의 效果의인 使用方法과 藥劑의 處理方法에 따른 殘留農藥의 含有量을 調査키 爲하여 carbofuran의 殘留分析法, carbofuran溶液에 種子와 幼苗를 浸漬하였을 경우 種子와 幼苗중의 carbofuran의 殘留量 carbofuran을 土壤에 處理하였을 경우 水稻體와 土壤中의 carbofuran 殘留量을 調査 하였다.

材料 및 方法

(1) Carbofuran의 處理方法과 水稻體 중의 Carbofuran 殘留量

供試水稻品種은 八達을 利用 하였으며 Furadan[®] 3% 粒劑를 主成分 含量으로 2kg/10a의 比率도 水面處理와 根部處理 하였다. 根部處理는 gelatin, plastic 및 종이로 만든 capsule을 根部의 側方 2.5 cm 되는곳에 土深 2.5cm로 株當 1 capsule씩 處理하였으며 試料는 藥劑處理後 5, 20, 35일에 各 各 採取分析하였다.

(2) 種子 및 幼苗浸漬과 Carbofuran의 殘留量
供試品種은 振興을 利用 하였으며 移秧直前의 苗를 使用하였다. Furadan[®] 3% 粒劑를 100ml의 증류수에 各各 3.3g(1000ppm) 6.7g(2000ppm) 10g(3000ppm)을 녹여 여기에 幼苗를 6, 12, 24 및 36時間씩 浸漬시킨 後에 水洗하여 이를 分析試料로 하였다.

(3) 土性과 Carbofuran의 水稻體內 殘留量
供試土壤은 表1)과 같으며 振興을 供試品種으로 하였다.

水面處理는 $pof(1/2000 \cdot a)$ 에 水稻를 移秧하고

Table 1. Some characteristics of soils used in this experiment.

Soil series	Soil class	Clay contents	pH
Gyuam	silt clay	35.0%	5.6
Deockpyung	silt loam	20.5%	5.4
Gwanghwal	coarse silt	17.3%	7.2

一週後 Furadan[®] 3% 粒劑 0.6g을 根部處理는 gelatin Capsule (0.3g)을 利用하여 水稻 2株間의 根部土深 4cm 地點에 한 Capsule씩 處理하였다.

(4) 分析方法

1) 試藥

1-fluoro-2,4-dinitrobenzene (Eastman Kodak Co.製) · 再蒸溜(128°C)하여 1ml를 20ml의 acetone에 溶解시켜 使用.

Keeper Solution : 1% OV-101溶液

有機溶媒 : methylenechloride, hexane등은 再蒸溜하여 使用.

한편 Carbofuran과 代謝物의 標準品은 F.M.C. Co.(New York. U.S.A)에서 分讓받았다.

(2) Gas chromatograph

E.C.D.가 附着된 Tracor model 550 gas chromatograph를 使用하였으며 column充塡物은 3% OV-1을 Chromosorb W(80-100 mesh)에 피복시켜 使用하였다. 分析條件은 아래와 같다.

Column temperature : 225°C injection port temperature : 245°C, detection temperature : 265°C, Carrier gas (N₂) flow rate : 68ml/min.

(3) 抽出 및 精製

1) 0.05N HCl에 의한 加水分解

20g의 試料를 500ml의 flask에 넣고 200ml의 0.25N HCl과 10ml의 Hg₂Cl₂ 溶液을 加한 다음 加熱板에서 교반하면서 2時間 동안 空冷還流 시킨다. Buchner 濾斗에 Celite 545를 0.5cm 두께로 넣고 減壓濾過한 後 濾液은 冷凍器속에서 2時間동안 冷却한다.

2) 抽出

冷却된 濾液을 500ml의 分液濾斗에다 옮겨 50 ml의 methylene chloride로 3回 반복 抽出(이때 수용층과 溶媒層의 分離를 爲하여 10%의 sodium sulfate, 또는 과량의 無水 Na₂SO₄을 使用하면 效果의이다)하고 濾液은 모두 合하여 減壓濃縮裝置에서 乾燥시킨후 10ml의 hexane으로 녹여 옮긴다.

3) 精製

위의 hexane抽出物은 아래와 같은 方法으로 精