

Dinobuton의 土壤 및 溶液中에서 分解

洪 鍾 旭* · 金 政 鎭*

(1984년 10월 30일 접수)

Degradation of Dinobuton in Soil and Solution

Jong-Uck Hong* and Jung-Ho Kim*

Abstract

This study was carried out to investigate the stability of dinobuton (2-sec-butyl-4,6-dinitrophenyl isopropyl carbonate) in distilled water and buffer solutions and its persistence in soils.

When dinobuton was incubated at 30°C and 60°C in distilled water, the half-lives of dinobuton was 28 and 6 days, respectively. The decomposition of dinobuton was, therefore, faster at high temperature than at low temperature. The half-life of dinobuton was about 27 days in the acidic solution (pH 4~6), whereas 10 and 4 days in the alkaline solutions of pH 9, and 10, respectively. Thus dinobuton was stable in acidic solution, and unstable in alkaline solution.

Dinoseb (2-sec-butyl-4,6-dinitrophenol), which is produced in the degradation process of dinobuton, was produced in small amounts in distilled water and buffer solutions.

The half-life of dinobuton in sterilized soil was about 16 days longer than in non-sterilized soil. Dinoseb was also more persistent in sterilized soil than in non-sterilized one.

緒 論

現代의 營農에서 農藥의 使用은 거의 必須的인 條件이 되어 있으며 이로 因한 病害虫의 耐性도 增加되어 가고 있다. 따라서 病害虫을 效果의 으로 防除하기 위해서는 每年 農藥의 使用量이 增加되어야만 그 效果를 期待할 수 있게 되었다. 이렇게 使用된 大部分의 農藥들은 土壤, 水, 大氣 中에서 分解되어 安全한 狀態로 되지만, 일부는 殘留期間이 길고 分解生成物의 毒性이 더욱 強해지는 수가 있어 生態系 保全에 커다란 問題를 가져오는 境遇가 있다. 따라서 農藥의 使用에 隨伴하여 藥劑의 安定性 및 自然系에서의 行動을 明確히 究明하는 것은 環境保全의 侧面에서 볼 때 그意義가

매우 크다 하겠다.

農藥의 殘留消長은 農藥 그 自體의 特性, 撒布時期, 撒布藥量, 氣象狀態 等^(1,2,3,4) 여러 가지 因子에 의해 크게 影響을 받는다. 또 土壤 中에서는 殘留消長이 土壤의 理化學的 特性^(5,6,7)이나 土壤微生物^(8,9,10)等에 따라서도 行動樣相이 相異하다고 알려져 있다.

Dinobuton劑는 1963年 Murphy Chemical Ltd.에서 開發⁽¹¹⁾된 後, 1965年 Pianka^(12,13)에 의해 最初로 殺婢力이 報告되었는데 특히 有機磷系 殺蟲劑에 저항성을 가진 蚊에 류를 防除하는 데 效果가 크다고 알려져 있다. Dinobuton은 ester 결합이 加水分解되어서 dinoseb로 되는데 이 dinoseb는 現在 除草劑로 使用되고 있다. Dinobuton의 急性 經口毒性 LD₅₀(mg/kg)은 rat가 65~460이며 mice가 2100~3500이다. 한편 dinoseb의 경우

* 慶北大學校 農科大學 農化學科 (Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Kyung-pook National University, Taegu, Korea)

는 rat가 40이며 mice가 65이다. 이와 같이 dinoseb는 dinobuton 보다 經口毒性이 크므로 dinobuton의 代謝 經路 및 速度는 dinobuton의 선택적인 毒性과 관련이 있다.⁽¹⁴⁾

Bandal⁽¹⁵⁾은 植物體와 昆虫 및 哺乳動物 體內에서 dinobuton의 代謝經路를 完明하였으며, Casida⁽¹⁶⁾는 콩잎에서 dinobuton과 dinoseb의 光分解過程을 報告하였다. Hawkins⁽¹⁷⁾등은 사과 中에서 dinobuton과 dinoseb의 殘留量을 調查하였다.

本研究에서는 dinobuton의 安定性과 土壤 中 分解 樣相을 調査하기 위한 一環으로 溶液內에서 dinobuton의 分解에 미치는 溫度와 pH의 影響 및 土壤 微生物의 影響을 調査하였으며, 아울러 dinobuton의 分解生成物인 dinoseb量을 調査하였기에 그 結果를 告報하는 바이다.

材料 및 方法

1. 供試藥劑

Dinobuton(2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenyl isopropyl carbonate) 標準品(99.9%)과 原劑(60%)는 Kenogard AB(Sweden)會社로 부터, dinoseb(2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol) 標準品은 Nanogen(U.S.A.)會社로 부터 分譲받았으며 標準溶液은 dinobuton의 標準品을 acetone에 溶解하여 使用하였다.

2. 供試土壤

慶北大學校 試驗圃場의 耕土를 採取하여 風乾시킨 後 2mm체를 通過시킨 細土를 供試土壤으로 하였으며 崔⁽¹⁸⁾등의 土壤學 實驗書에 준하여 土壤을 分析한 結果 그 理化學的 特性은 Table 1과 같았다.

Table 1. Physico-chemical properties of the soil

pH (1:5)	O.M. (%)	C.E.C. (me/ 100g)	Sand	Silt	Clay	Tex- ture (%)
5.1	2.0	9.0	39.2	31.5	29.3	SiC*

* Silty clay

3. Dinobuton의 溶液中 安定性

Dinobuton의 分解에 미치는 溫度의 影響을 調査하기 위해서 dinobuton의 標準溶液을 15 ppm되게 蒸溜水로 稀釋하여 30°C와 60°C에서 各各 恒溫保管하였다. 또한 pH의 影響^(19,20)을 調査하기 위해 dinobuton의 標準溶液을 역시 15 ppm 되도록 McIlvaine 완충용액으로

稀釋하면서 pH를 4~8로 調節하였으며, pH 9~10은 Clark-Lubs's 완충용액으로 調節하여 30°C에서 恒溫保管하였다.

4. Dinobuton의 土壤中 分解

Dinobuton의 分解에 미치는 土壤 微生物의 影響⁽²¹⁾을 調査하기 為해 無殺菌 土壤과 殺菌 土壤으로 區分하여 試驗하였다. 土壤 殺菌은 土壤을 加壓殺菌器에 넣고 121°C (1.2 kg/cm³)에서 1時間동안 1日 間隔으로 3回 殺菌하였다. 土壤中 藥劑處理는 土壤 50g을 삼자 flask에 称取하여 dinobuton의 標準溶液을 2 ppm과 16 ppm되게 각各 處理하고, 室溫에서 1日 放置하였다. 여기에 土壤水分이 最大容水量의 60%가 되게 殺菌水를 添加하고 水分 蒸發을 抑制하기 위하여 polyethylene film으로 마개를 한 뒤 28°C에서 恒溫培養하였다.

5. 抽出 및 精製^(22,23,24)

土壤 50g에 acetone 100 mL와 蒸溜水 30 mL을 加하여 往復振盪機로 2時間 振盪한 後 이를 Büchner funnel 上에 1 cm 두께의 celit 545 층으로 옮겨 減壓濾過시켰다. 그리고 残渣를 acetone 50 mL로 洗滌한 後 濾液을 모아 分液漏斗에 넣고 20 mL의 飽和 NaCl 溶液과 450 mL의 蒸溜水를 加하여 n-hexane 100 mL로 2回 反復 抽出하였으며 n-hexane 층을 無水 Na₂SO₄로 脱水시킨 後에 40°C 이하에서 減壓濃縮하여 methylation시켰다.

6. Methylation

Diazomethane은 Deboer의 方法⁽²⁵⁾에 依하여 diazald (n-methyl-n-nitroso-p-toluene sulfonimide) 4.3 g을 diethyl ether에 溶解한 後에 KOH 1.5 g H₂O 2 mL Carbitol 7 mL를 加하여 60°C의 水槽內에서 反應시켜 發生되는 氣體를 dry ice로 液化시켜 만들었으며 이 diazomethane 溶液에 KOH를 少量 添加하여 冷凍機(-10°C)에 保管하였다. Methylation은^(26,27) 試料 1 mL에 diazomethane 0.5 mL를 加하여 30分間 室溫에 放置하였으며 이를 GLC分析用 試料로 하였다.

7. Gas chromatography

GLC分析은 electron capture detector가 附着된 Hitachi 663-50 Gas chromatography(Japan)를 使用하여 Table 2의 條件으로 分析하였으며^(28,29) 定量은 peak 높이를 基準으로 하였다.

8. 回收率 試驗

土壤 50g을 取하여 acetone에 溶解한 dinobuton과 dinoseb의 標準溶液을 각各 0.1 ppm과 0.5 ppm되게 添加한 후에 acetone을 挥發시키고 試料에 함유된 農藥

Table 2. GLC operating conditions for the analysis of dinobuton and dinoseb

Detector	Electron capture detector (^{63}Ni)
Column	2 m \times 3.0 mm (i.d.), glass column
Packing material	2% OV-17 on Chromosorb W, AW (DMCS) 80~100 mesh
Temperature	Column oven 220°C Injector 230°C Detector 250°C
Carrier gas	N_2 50 ml/min
Chart speed	5 mm/min

을抽出分析하여回收率을 구하였다. 本實驗에서는殘留量의定量에回收率을補正하지 않았다.

結果 및 考察

1. Dinobuton과 dinoseb의 殘留分析

GLC-ECD를利用한 dinoseb와 methylated dinoseb 및 dinobuton의 gas chromatogram들은各各 Fig. 1의 (A)(B)(C)와 같았다. 極性이 큰 dinoseb는 Fig. 1의 (A)에서와 같이 tailing現象^(30,31) 때문에定量分析이困難하였다. 따라서 dinoseb의極性을減少시키기 위해 dinoseb의 hydroxyl基를 methylation시켜 유도체를 만들었으며 Fig. 1의 (B)에서와 같이良好한 chromatogram을얻을수있었다. Retention time은 methylated dinoseb와 dinobuton이各各 2.7分과 5.7分이었으며, 4 mm(2%)의 peak 높이를얻는데必要的GLC

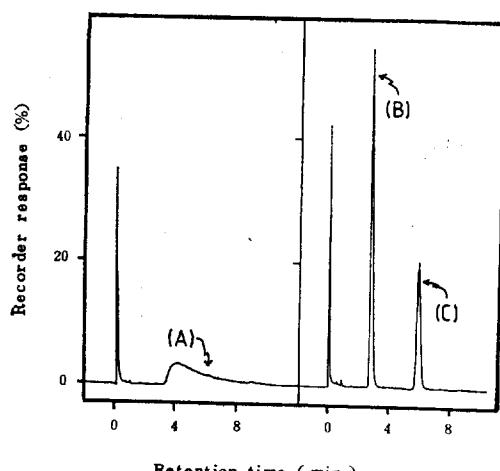


Fig. 1. Gas chromatograms of 5.0 ng of unmethylated dinoseb(A), 1.6 ng of methylated dinoseb(B), and 1.8 ng of dinobuton(C)

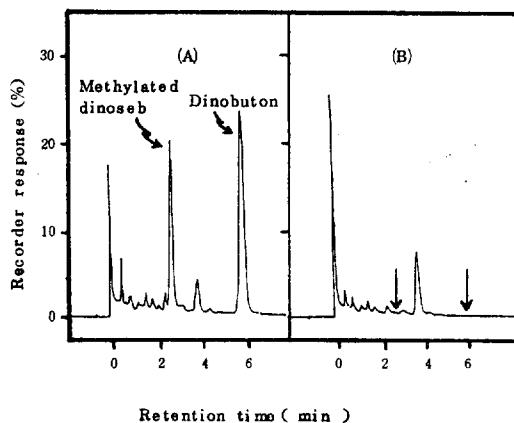


Fig. 2. Gas chromatograms of the extract from fortified with 2 ppm in nonsterilized soil (A, 7 days after treatment) and the extract from unfortified soil (B)

의最少檢出量은 methylated dinoseb가 0.1 ng이며 dinobuton은 0.3 ng이었다.

土壤試料에對한gas chromatogram의 한例를Fig. 2에 나타내었다.供試한土壤試料에서는 dinobuton과 methylated dinoseb의殘留分析을방해하는成分은存在하지 않았으며 대체로良好한分離를보였다.

土壤에處理한 dinobuton과 dinoseb의回收率은Table 3에서보는바와같이 0.1 ppm과 0.5 ppm 두濃度水準에서 dinobuton은約 96%, dinoseb는約 87% 정도이었다.

Table 3. Recoveries of dinobuton and dinoseb from soil fortificated with 0.1 ppm and 0.5 ppm

Fortification (ppm)	Recoveries(%)	
	Dinobuton	Dinoseb
0.1	97±1.2*	86±3.4
0.5	96±2.9	88±4.2

* mean±standard deviation

2. 溫度에對한 安定性

30°C와 60°C의恒溫狀態에서溫度에對한安定性을調查한結果는Fig. 3과 같았다. 여기서半減期의計算은 $Y = Ae^{-kx}$ 式에適用시켜初期濃度 A의 $\frac{1}{2}$ 값을代入하여 구한 x값을半減期로하였다. 이때蒸溜水內에서 dinobuton의半減期은30°C에서27日이었으나60°C에서는6日로 단축되었다.

Dinoseb는 dinobuton을處理한後 20日째에 30°C와

Table 4. The half-lives of dinobuton in buffer solutions with different pH

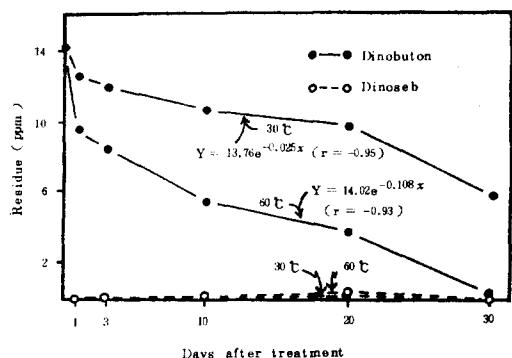


Fig. 3. The effect of temperature on the degradation of dinobuton in distilled water

60°C에서 각각 0.18 ppm과 0.31 ppm으로 少量 檢出되었는데, 이는 Hawkins⁽¹⁷⁾의 사과에 dinobuton을 撒布하였을 때 1日과 8日後에 각각 2.2%와 1.9%의 dinoseb가 生成되었다는 報告와 비슷한 結果이었다.

3. pH에 對한 安定性

pH의 變化에 따른 dinobuton의 安定性을 調查한 結果는 Fig. 4와 Table 4와 같았다. pH 4~6에서는 dinobuton의 半減期가 約 27日이었으나 pH 9와 pH 10에서는 각각 10日과 4日로 단축되었다. 蒸溜水 内에서 30°C로 恒溫하였을 때 半減期가 27日로 나타난 것과 比較하여 볼 때 dinobuton이 酸性에서는 安定하였으나 alkali性이 強할수록 不安定한 것으로 나타났다. 이는 Bandal⁽¹⁴⁾의 dinobuton의 ester-linkage의 安定性을 調查한 바 處理 1時間後 pH 1~9까지는 6% 以下, pH 10에서는 20%, pH 11에서는 75%의 加水分解가 일어났다는 報告와 類似하였다. 이와 같이 dinobuton은 alkali性에 不安定한 化合物이므로 alkali性 藥劑와 混用할 경우 藥効가 減少될 것으로 料된다.

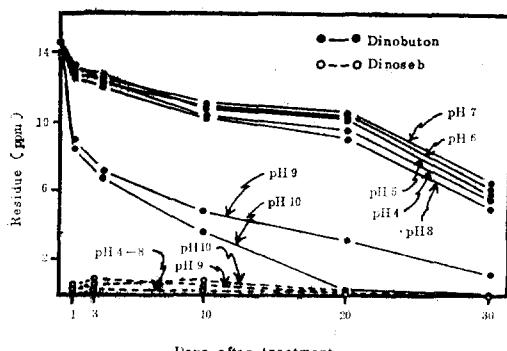


Fig. 4. The effect of pH on the degradation of dinobuton in the buffer solution

pH	Half-lives* (day)	K* (day ⁻¹)	-r*
4	26.1	0.026	0.963
5	26.7	0.025	0.951
6	28.5	0.024	0.951
7	30.6	0.022	0.948
8	22.9	0.030	0.963
9	9.7	0.071	0.976
10	4.1	0.168	0.977

* Half-lives, degradation rate constant (K) and correlation coefficient (-r) were calculated by exponential regression equations.

Dinoseb는 Fig. 4에서와 같이 3일째 pH 4~8에서는 0.25 ppm, pH 9에서는 0.56 ppm, pH 10에서는 0.78 ppm으로 少量 生成되었으며, 酸性에서 보다 alkali性에서 다소 많이 生成되었다.

4. Dinobuton의 分解에 미치는 土壤微生物의 影響

Dinobuton을 殺菌土壤과 無殺菌土壤에 處理하고 28°C의 恒溫 狀態에 保管하면서 dinobuton의 殘留量과 分解生成物인 dinoseb量을 調査한 結果는 Fig. 5, 6 및 Table 5와 같았다. 즉 處理濃度가 2 ppm일 때 無殺菌處理區와 殺菌處理區에서 dinobuton의 半減期은 각각 12日과 28日로 土壤을 殺菌處理 함으로써 半減期が 약 16日로 遲延되었다. 土壤 殺菌에 의해 土壤中農藥의 分解가 遲延되었다는 Yaron⁽³²⁾과 李⁽³³⁾의 報告로 미루어 볼 때 土壤中에서 dinobuton의 分解는 土壤微生物에 依해 크게 影響을 받는 것으로 考察되었다. 또한 16 ppm 處理區에서도 2 ppm處理區와 類似한 結果를 나타내었

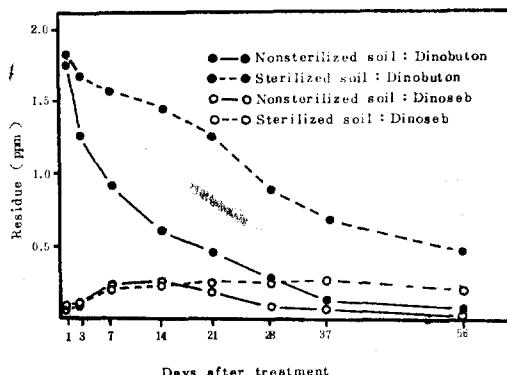


Fig. 5. The degradation of dinobuton in sterilized and non-sterilized soils applied with 2 ppm at 28°C

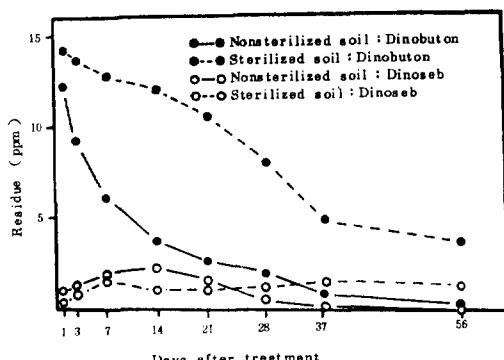


Fig. 6. The degradation of dinobuton in sterilized and non-sterilized soils applied with 16 ppm at 28°C

다. 따라서 이農藥을 地場撒布 추천량으로撒布할 경

우에는 處理濃度에 따른 分解의 影響은 별로 없는 것
으로 생각된다.

Dinobuton을 土壤에 2 ppm되게 處理하였을 때 dinobuton의 生成量은 Fig. 5에서와 같이 殺菌處理區에서는 큰 變化가 없이 約 0.2 ppm 정도를 유지하였으나 無殺菌處理區에서는 14日까지 계속 增加하다가 그 以後로는 減少하는 추세이었다. 또한 16 ppm되게 處理한 情況에도 2 ppm處理區와 類似한 傾向이 있다(Fig. 6).

Dinobuton의 半減期와 dinobuton과 dinoseb를 합친 총량의 半減期를 比較하여 볼 때 無殺菌土壤에서는 큰 차이가 없었으나 殺菌土壤에서는 dibuton과 dinoseb를 합친 총량의 半減期가 상당히 遲延된 것으로 나타났다(Table 5). 이는 dinobuton의 分解生成物인 dinoseb의 分解에도 土壤微生物이 크게 影響을 미친 것으로 思料된다.

Table 5. The half-lives of dinobuton in sterilized and nonsterilized soils

Chemical	Fortification (ppm)	Non-sterilized soil			Sterilized soil		
		Half-lives*	K*	-r*	Half-lives	K	-r
Dinobuton	2	12.6	0.056	0.98	28.6	0.024	0.98
	16	11.5	0.059	0.98	27.1	0.025	0.97
Dinobuton+Dinoseb	2	11.7	0.058	0.99	42.5	0.016	0.97
	16	10.7	0.064	0.99	36.3	0.019	0.96

* Refer to table 4

要 約

溶液 内에서 dinobuton의 分解에 미치는 溫度와 pH의 影響 및 土壤中에서의 分解樣相을 調査한 結果는 다음과 같다.

蒸溜水 内에서 dinobuton의 半減期는 30°C와 60°C에서 각각 27日과 6日이었다.

酸性인 완충용액 中에서 dinobuton의 半減期는 約 27日이었으나 pH가 9, 10에서는 각각 10日, 4日로 alkali 性이 強할수록 dinobuton의 分解는 빨랐다.

蒸溜水와 완충용액 内에서는 dinobuton이 加水分解되어서 少量의 dinoseb가 生成되었다.

Dinobuton의 分解에 미치는 土壤微生物의 影響을 調査한 結果, 殺菌土壤에서는 無殺菌土壤에서 보다 dinobuton의 半減期가 약 16日 遲延되었으며, dinobuton의 分解生成物인 dinoseb도 殺菌土壤에서 分解가 遲延되었다.

參 考 文 獻

- Helling, C. S., Kearney, P. C. and Alexander, M. (1971) : Behavior of pesticides in soils, *Advan. Agron.*, **23**, 147.
- Isensee, A. R., Plimmer, J. R. and Turner, B. C. (1969) : Effect of light on the herbicidal activity of some amiben derivatives, *Weed Sci.*, **17**, 520.
- Archer, T. E. (1976) : Effects of light on the fate of carbofuran during the drying of alfalfa, *J. Agri. Food Chem.*, **24**, 1057.
- Crosby, D. G. and Tang, C. S. (1969) : Photodecomposition of monuron, *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 1041.
- Kuwatsuka, S. (1972) : Degradation of several herbicides in soils under different conditions, *Environ. Toxicol. Pestic.*, 385.
- Rao, D. M. R. and Murty, A. Z. (1980) : Persistence of endosulfan in soils, *J. Agric. Food*

- Chem.*, **28**, 1099.
7. Getzin, L. W. (1973) : Persistence and degradation of carbofuran in soil, *Environ. Entomol.*, **2**, 461.
 8. Williams, I. H., Pepin, H. S. and Brown, M. J. (1976) : Degradation of carbofuran by soil microorganisms, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **15**, 244.
 9. Johnen, B. G. and Drew, E. A. (1977) : Ecological effects of pesticides on soil microorganisms, *Soil Sci.* **123**, 319.
 10. Wainwright, M. (1978) : A review of the effects of pesticides on microbial activity in soils, *J. Soil Sci.*, **29**, 287.
 11. Worthing, C. R. (1979) : *The Pesticide Manual*, 6th ed., B.C.P.C., Glasshouse Crops Research Institute, Nottingham, U.K., p. 207.
 12. Pianka, M. and Smith, C. B. F. (1965) : Dinobuton, a new acaricide, *Chem. Ind.*, **27**, 1216.
 13. Pianka, M. (1966) : Structures and pesticidal activities of derivatives of dinitrophenols. I. Structure and acaricidal activity of certain carbonates of dinitrophenols, *J. Sci. Food Agric.*, **17**, 47.
 14. Bandal, S. K. and Casida, J. E. (1972) : Metabolism and photoalteration of 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol (DNBP herbicide) and its isopropyl carbonate derivative (Dinobuton acaricide), *J. Agr. Food Chem.*, **20**, 1235.
 15. Bandal, S. K. (1971) : Metabolism of the acaricide chemical, 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenyl isopropylcarbonate (Dinobuton), in plants, insects, and mammals, *Ph. D. thesis, University of California*, Berkeley, Calif.
 16. Casida, J. E. (1970) : Photodegradation of two dinitrophenolic pesticide chemicals, dinobuton and dinoseb, applied to bean leaves, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **5**, 72.
 17. Hawkins, D. R. and Saggers, V. H. (1974) : The fate of dinobuton and dinoseb on growing apples, *Pestic. Sci.*, **5**, 497.
 18. 崔 壢, 金鼎濟, 中榮五 (1983) : 土壤學實驗, 學文社
 19. Szalkowski, M. B. and Stallard, D. E. (1977) : Effect of pH on the hydrolysis of chlorothalonil, *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 208.
 20. Hance, R. J. (1979) : Effect pH on the degradation of atrazine, dichlorprop, linuron and propyzamide in soil, *Pestic. Sci.*, **10**, 83.
 21. Lichtenstein, E. P., Fuhrmann, T. W. and Schulz, K.R. (1968) : Effect of sterilizing agents on persistence of parathion and diazinon in soils and water, *J. Agr. Food Chem.*, **16**, 870.
 22. Ambrus, A., Lantos, J., Visi, E., Csatos, I. and Sarvari, L. (1981) : General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil, and water. I. Extraction and cleanup, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 733.
 23. Johansson, C. E. (1978) : A multiresidue analytical method for determining organochlorine, organophosphorus, dinitrophenyl and carbamate pesticides in apples, *Pestic. Sci.*, **9**, 313.
 24. Crossley, H. and Lynch, V. P. (1968) : Determination of alkyl dinitrophenyl carbonates and other esters, with particular reference to dinobuton, in fruit and vegetables, *J. Sci. Food Agric.*, **19**, 57.
 25. Zweig, G. (1967) : *Analytical Methods for Pesticides, Plant Growth Regulators, and Food Additives*, Vol. V, Academic Press, New York, pp. 355~357.
 26. Zweig, G. (1967) : *Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators by Gas Chromatographic Analysis*. Vol. VI, Academic Press, New York, pp. 639~642.
 27. Edgerton, T. R. and Moseman, R. F. (1978) : Electron-capture gas chromatographic determination of 2-sec-butyl-4, 6-dinitrophenol (DNBP) residues in feed, tissue, and excreta, *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 425.
 28. Ambrus, A., Visi, E., Zakar, F., Hargitai, E., Szabo, L. and Pada, A. (1981) : General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil, and water. III. Gas chromatographic analysis and confirmation, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 749.
 29. Roseboom, H. and Herbold, H. A. (1978) : Determination and confirmation of binapacryl and dinobuton residues on apples and cucumbers by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **208**, 137.
 30. Gutenmann, W. H. and Lisk, D. J. (1965) : Gas chromatographic determination of phenolic pesticides and residues, *J. A.O.A.C.* **48**, 1173.

31. White, R. and Kilgore, W. W. (1967) : Determination of 4, 6-dinitro-o-sec-butylphenol residues in fruits and almonds by electron-capture gas chromatography. *J. Food Sci.*, **32**, 691.
32. Geissbühler, H. (1978) : *Advances in Pesticide Science*. Part 3, Pergamon Press, Oxford, U.K., pp. 577~585.
33. 李海根 (1981) : 生藥施用과 Diazinon의 連用이 土壤中 Diazinon의 分解에 미치는 影響, 韓國農化學會誌, **24**, 1.