

## 토양중 Paraquat의 효과적인 추출방법

권진욱 · 김용석<sup>1)</sup> · 최종우<sup>2)</sup> · 이규승

충남대학교 농과대학 농화학과 · <sup>1)</sup>(주)한농 중앙연구소 · <sup>2)</sup>금강환경관리청

### Extraction Method for Paraquat from Soil

Jin-wook Kwon, Yong-seuk Kim<sup>1)</sup>, Jong-Woo Choi<sup>2)</sup> and Kyu-seung Lee (Department of Agricultural Chemistry, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea ; <sup>1)</sup>Central Research Institute, Han-Nong Corporation ; <sup>2)</sup>Kum River Environmental Management Office)

**Abstract :** To develop more effective extraction methods for paraquat in soil, some modification methods were accomplished in two different types of soil.

For extraction of tightly bound-paraquat, conc. HCl 70ml were added with different shaking times, and then H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reflux were performed for an hour. In this case, 60 minutes shaking were optimum and recovery were increased more 1.09~1.50 folds(84.0% in high clay contents soil, but 96.7% in low clay contents soil) and the long-time consuming step, filtration were easily done, with decreasing filtration time were shorter 4.6 folds(ca. 11~14min.) than general paraquat analytical method(ca. 55~65min.). And only H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> digestion with different volume and refluxing time resulted in recovery increasing. Nevertheless, considering analyst's safety, 30ml of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> addition and 30 minutes reflux were regarded as optimum condition.

Although, Kjeldahl digestion with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> showed relatively high recovery, it is not significant statistically.

For extraction of loosely bound-paraquat, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0M of NH<sub>4</sub>Cl and of CaCl<sub>2</sub> compared with 1.5~24 hr of different shaking time. There were no loosely bound residues of paraquat.

**Key words :** Extraction method, Tightly bound-paraquat, Loosely bound-paraquat, HCl pretreatment, Kjeldahl digestion.

## 서 언

Paraquat(1,1'-Dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride)는 1958년 ICI社가 Gramoxone이라는 이름으로 개발한 약제<sup>1)</sup>로 어린식물에서 성숙한 식물에 이르기까지 莖葉處理로 신속하게 체내에 흡수되어 殺草시키는 速效性 除草劑이다. 우리나라에는 1970년에 소개되어, 1981년부터 24.5%의 조제규격의 液劑가 果園雜草用으로 사용되고 있다.<sup>2)</sup>

Paraquat는 1932년 Rockefeller재단의 Michaelis에 의해 합성된 후 methyl viologen이라는 이름의 산화환원지시약으로 사용되어 오다가 1958년 영국 ICI사에 의하여 제조제로서의 활성이 발견되었는데<sup>3)</sup> Bipyridilium계 비선택성 제조제인 paraquat는 건조 상태에서는 강한 수용성을 갖는 chlorine염의 형태인 반면에, 수용성 상태에서는 매우 안정된 2가 양이온의 형태로 변한다.<sup>4)</sup> 이러한 특성은 실제 사용하는데 있어 매우 중요한 요인으로 paraquat가 경엽부위에만 처리된 경우에 제조 활성이 나타나며, 토양중에 처리된 경우에는 처리량 대부분이 montmorillonite와 같은 점토 광물 및 기타 음이온을 띠는 토양 물질에 쉽게 흡착되기 때문에 근부를 통한 paraquat의 흡수는 이루어 지지 않는다.<sup>5)</sup>

즉, Paraquat는 양이온 2가로서 토양의 음전하 특히, 점

토광물의 존재하에서는 강력하게 흡착하여 불활성화되며 이러한 강력한 흡착력은 paraquat와 점토광물간의 charge-transfer complex에 기인하는 것으로 알려져 있다<sup>6)</sup>. 이러한 강력한 결합으로 인해 paraquat는 불활성화되어 제조작용을 할 수 없으며, 또한 미생물에 의한 분해가 거의 이루어 지지 않고, 토양내에서 화학적 분해도 거의 일어나지 않으므로 변형되지 않은 paraquat의 형태로써 거의 무한정 잔류할 수 밖에 없는 실정이라고 과거에 보고<sup>7,8)</sup>되었으나, 최근 일련의 연구자들에 의해 paraquat의 연용에도 불구하고 paraquat의 축적이 예상수준치 만큼 축적되지 않았고<sup>9,10)</sup>, 또한 토양에 paraquat의 시용을 중단한 이후에 이들의 농도가 감소함<sup>11)</sup>은 paraquat가 토양미생물에 의해 분해됨을 시사해 주는 것이며, Lee등<sup>8)</sup>에 의하면, 식물체 잔사에서 paraquat의 산화된 대사산물로서 monopyridone의 축적이 있었다고 보고하였으며, 이러한 결과는 Imai 등<sup>12)</sup>에 의한 실험 결과 진균에 의한 분해 대사산물과 동일함을 확인 하였다.

한편, 앞서 언급했듯이 paraquat의 토양 흡착은 매우 강력하고 또한 이들 흡착의 정도는 토양 점토광물의 특성에 따라, 그리고 유기물 함량에 따라 다소 차이는 있으나, 유기물 함량의 차이보다는 점토광물의 특성과 함량이 paraquat의 강력한 흡착에 관여하는 주요 인자로 알려져 있고, 특히,

이러한 흡착력과 관련하여 paraquat을 두가지 유형으로 분류하고 있는데, 그 중 하나는 loosely bound paraquat로 포화 ammonium chloride에 의해 탈착되는 것과 ammonium chloride에 의해 탈착되지 않고 9M 황산을 이용하여 환류시킴 경우에만 탈착되는 tightly bound-paraquat로 분류<sup>13)</sup>하며, tightly bound paraquat의 잔류량은 식물이나 토양 미소생물에 영향을 미치지 못하며, 또한 식물이나 토양 미소 생물의 이행도 이루어 지지 않는 것으로 알려져 있다.<sup>10)</sup> 한편, paraquat에 관한 주된 연구가 이들의 독성 및 환경내 동태에 주된 관심을 이루어 왔고, 분석방법에 대한 문헌은 과거 Colorimetric methods를 이용한 방법<sup>13)</sup>이 소개된 이후 현재까지 주로 이용되고 있고, GC<sup>13)</sup>나 HPLC<sup>14)</sup>를 이용한 분석방법도 소개된 바 있으나, 기기상의 검출한계가 낮아 주로 이용되고 있지 않는 실정이다. 또한, Capillary Electrophoresis를 이용한 방법<sup>15,16)</sup>도 최근 소개된 바 있으나, 이상의 연구는 기기상의 분석방법에 주된 관심을 가지고 있으며 반면, 토양 중 paraquat의 분석은 시료의 전처리 과정에서의 낮은 회수율, 장시간의 소모와, 위험성등 기기상의 분석 문제이전에 시료의 전처리 과정에 많은 어려움이 따르는 실정이라 본 연구에서는 토양에서 효과적인 paraquat의 추출방법을 모색하였으며, 아울러 우리나라 토양의 특성상 loosely bound-

paraquat의 유출우려에 따라 기존의 실험방법과 추출시약 및 추출시간을 달리하여 본 실험결과도 소개하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 기구

paraquat표준품은 Zeneca에서 제공받은 paraquat dichloride(analytical standard, 99.7%)를 이용하였으며, Ammonium chloride, Hydrochloric acid, Sulfuric acid 등의 시약은 특급을 이용하였고, Cation-exchange resin은 Bio-Rad AG 50W-X8, 100-200mesh, H-form을 Glassfiber filter paper는 Whatman CF/G를, Chromatographic column은 11mm i.d. ×40cm glass column(PTFE stopcock 부착)을 이용하였으며, 분광광도계로는 Hewlett Packard(USA) 8452A photo-diode-array UV/VIS spectrophotometer를 사용하였다.

공시토양

공시토양은 충남아산시 둔포면 운봉리의 마늘밭(Soil A) 과 개간지(Soil B)에서 채취한 두 토양을 이용하였으며, 일 반적인 특성은 Table 1과 같다.

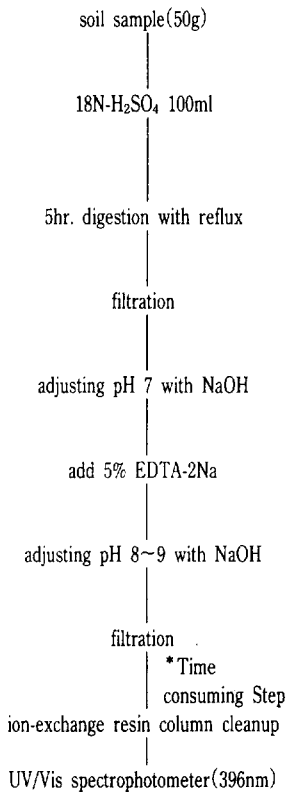


Fig. 1. General analytical method for determining paraquat residues in soil.<sup>17)</sup>

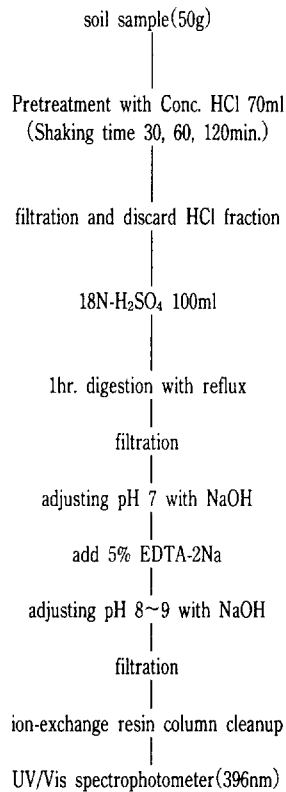


Fig. 2. Modification analytical method for determining paraquat residues in soil.

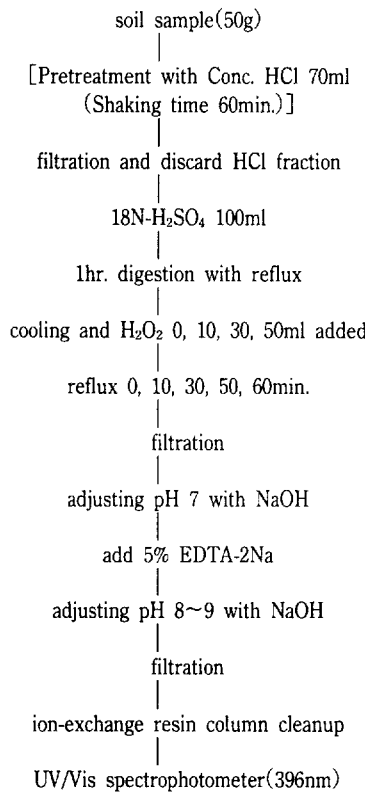


Fig. 3. Modification analytical method for determining paraquat residues in soil.

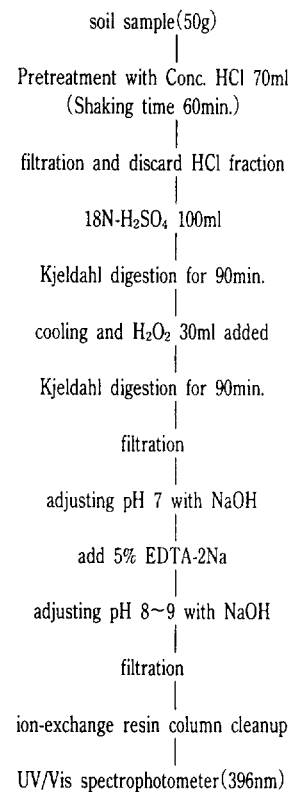


Fig. 4. Modification analytical method for determining paraquat residues in soil.

Table 1. Characteristics of soil for paraquat analysis.

Soil	Texture(%)			pH	Organic matter(%)	CEC (cmol(+)/kg)
	Clay	Silt	Sand (1:5)			
Soil A	10.9	45.1	44.0	7.43	1.71	16.93
Soil B	20.2	31.1	48.7	5.54	0.68	4.71

**Tightly bound-paraquat의 분석**

토양시료 50g에 paraquat을 1ppm이 되게 처리한 후(Fig. 1~4)의 방법에 따라 분해하고, 이를 감압여과한 여과액을 pH7의 중성으로 맞춘 후 5% EDTA-2Na 50ml를 가하고 pH 8~9로 맞춘다. 감압여과한 여과액을 이온교환수지를 이용하여 용출용액 50% NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>로 column clean-up(Cation-exchange chromatography)을 실시하고, 용출액 50ml에 환원 발색시약(Sodium ditionite)으로 환원, 생성된 남색의 free radical을 분광광도계로 정량하였다.

**Loosely bound-paraquat의 분석**

토양 50g에 paraquat을 1ppm이 되게 처리한 후, 0.01, 0.1, 1, 10M ammonium chloride와 calcium chloride를 이용하여 1.5, 3, 6, 12, 24시간 교반 후 원심분리기로 3,000rpm에서 15분간 원심분리한 후, 토양과 각 용액층으로 분리한 후, 같은 조작을 2회 반복 실시하여 회수된 각 용액 그리고, 토양에 남아있는 용액을 감압여과하여 모두 합한 후 이를 황산 35ml를 가하여 환류 추출하고, 이후 조작은 tightly bound-paraquat분석법과 동일하게 실시하여 정량하였다.

**결과 및 고찰**

**검출한계**

paraquat dichloride표준품을 saturated ammonium chloride수용액에 녹여 표준용액을 조제한 후 기기상의 최소검출량과 tightly bound와 loosely bound paraquat의 분석법의 검출한계를 조사한 결과 분광광도계상의 최소검출량은 0.25 µg이었으며, tightly bound와 loosely bound paraquat의 분석법의 검출한계는 0.05ppm이었다.

**HCl 전처리효과**

토양중 유기물에 의한 paraquat 분석의 난점을 해결하고자 Fig. 2의 방법에 따라 50g의 토양이 Conc. HCl로 충분히 잠기는 용량인 70ml를 가하여, 진탕시간을 달리해서 각 토양에서의 회수율과 배기량 13.0l/min의 aspirator(EYELA, A-3S)를 이용하여 진공 여과할 때의 여과시간 단축여부를 조사한 결과를 Table 2와 Fig. 5에 나타내었다. 유기물 함량이 높고, 점토함량이 비교적 낮은 A토양이 B토양에 비해 높은 회수율을 나타냈으며, 이들 각 토양의 회수율은 HCl 진탕의 전처리를 하지않은 대조군에 비해 A토양의 경우 진탕시간 60분에서 1.15배 높은 96.7%, B토양의 경우 1.09배 높은 84.3%의 회수율을 나타냈고, 120분동안 진탕한 각각의 전처리

군은 60분 진탕의 처리군과 유사한 수준의 회수율을 나타내었다. Fig. 1의 토양 중 paraquat의 공정분석방법에서와 같이, 황산을 가하여 분해한 후 여과한 액을 NaOH와 EDTA-2Na를 이용하여 pH를 조정하면, 곤죽상태를 형성하여 장시간의 여과시간을 필요를 할 뿐만 아니라, 이 과정 중 상당량의 paraquat이 여과액을 통해 여과되지 않고, 여과 잔사에 남게되어 회수율을 낮추는 요인이 되고 있으며, pH의 조정과정에 있어서도 실험적 오류로 과량의 NaOH를 투입하게 되어 총 용량이 많아짐에 따라 여과시간이 지연되는등 실험자로 하여금 많은 주의력은 물론, 전체적인 실험시간의 지연등의 애로를 유발 시킨다. 반면, 본 연구자의 실험결과 HCl전처리는, 유기물 함량이 다소 높으나, 점토함량이 낮은 A토양에서 무처리에서 65분의 여과 시간이 60분간 진탕을 하였더니 4.64배 단축된 14분 정도로 단축되었으며, B토양도 4.91배 이상 단축된 11분의 여과 시간을 나타내었다. 한편, 본 실험에서 HCl로의 paraquat의 이행은 전혀 없었으며, 황산 첨가후 환류추출시간도 1시간으로 단축되었을 뿐만 아니라, 회수율은 일반적인 paraquat의 공정 분석방법에 비해 월등히 우수하였다.

Table 2. Recovery of paraquat in soil by pretreatment of conc. HCl at different times. (%)

Soil	control	30min.	60min.	120min.
Soil A	84.0	87.5	96.7	96.8
Soil B	77.0	80.4	84.3	84.9

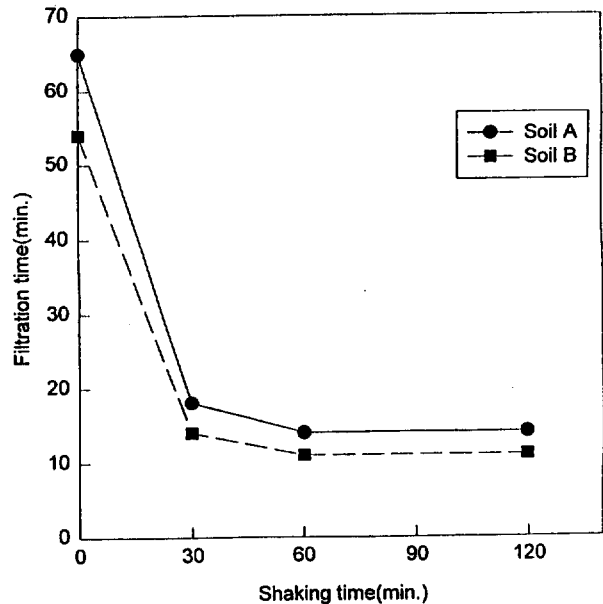


Fig. 5. Change of filtration time by different HCl shaking times.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 이용한 재추출 효과**

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 이용한 재추출 효과를 조사하기 위해, Fig. 3의 방법으로 강력한 산화제인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 양과 재추출시간을 달리 하여, 각각의 토양에서 회수율을 조사한 결과를 Fig. 6과 7에

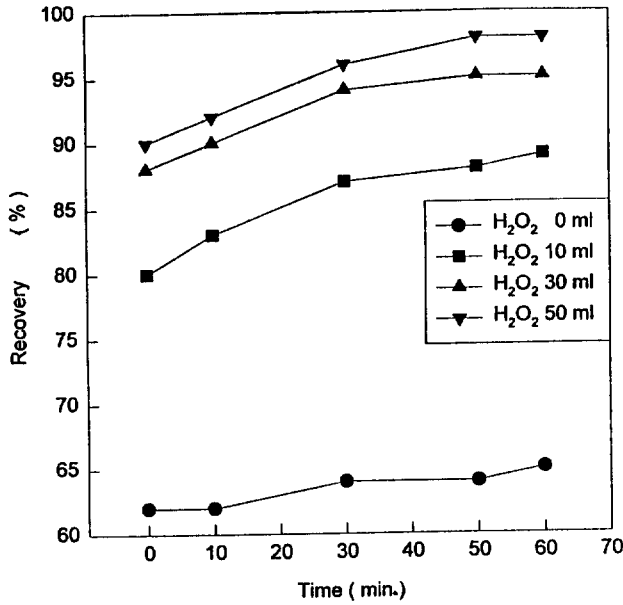


Fig. 6. Recovery of paraquat in soil A treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at different volume and shaking time.

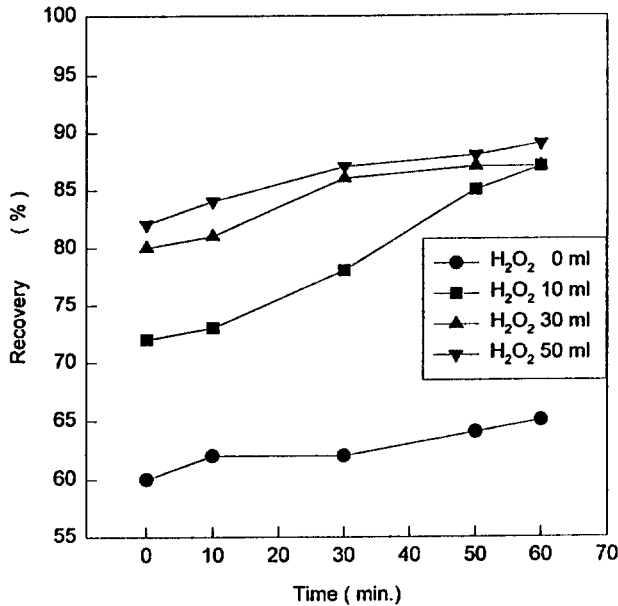


Fig. 7. Recovery of paraquat in soil B treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at different volume and shaking time.

나타내었다. 특히, 본 실험에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 이용한 재추출효과만을 조사하기 위해 HCl진탕에 의한 전처리는 하지 않고, 진한 황산을 이용한 환류추출도 1시간만 실시하였다. 실험에 이용된 두 종의 토양 모두 황산을 이용한 1시간의 환류추출과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 무첨가로 1시간 연장된 환류추출시간을 합한 2시간 동안 65%수준의 낮은 회수율을 나타내었다. 그러나, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 증량과 환류시간의 연장 결과, A토양에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 50ml첨가와 50분 및 60분의 환류추출결과에서 각각 98%, B토양에서는 88% 및 89%의 회수율을 나타냈다. 반면, A토양은 환류재추출없이 50ml의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 첨가만으로도 90%수준의 회

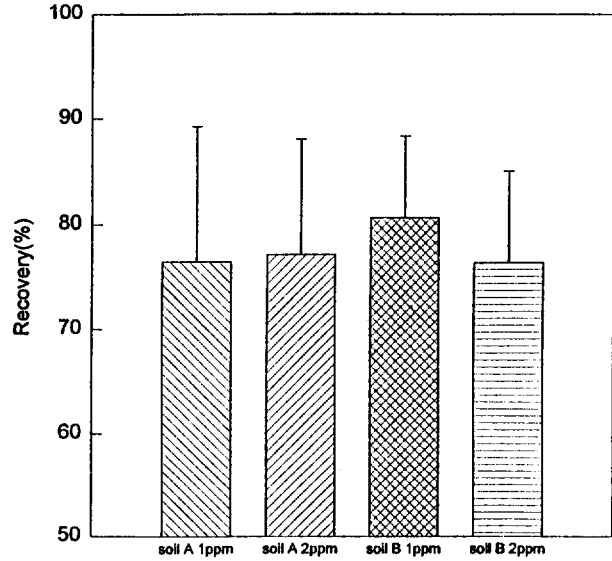


Fig. 8. Recovery of paraquat in soil by Kjeldahl digestion method.

수율을 얻었으나, Fig. 1의 실험과정에서의 문제점인 여과시간의 단축에는 큰 도움을 주지 못했으며, 과량의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 첨가와 환류재추출의 시간 연장은 폭발의 위험이 있기 때문에, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30ml의 첨가와 30분의 환류재추출이 적정 수준이라고 평가되었다. 아울러, Fig. 5의 결과로 볼때, 50g의 토양에 Conc. HCl 70ml 첨가하여, 60분 진탕하고, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30ml를 첨가하고 30분간의 환류재추출한 결과 회수율에는 큰 변함이 없었으나, 여과시간의 단축은 가능하였다. 이상의 결과로 보면 HCl 전처리만으로도 회수율의 증대와 여과시간의 단축을 충분히 이룰 수 있으리라 생각된다.

### Kjeldahl 분해방법에 의한 추출

Fig. 5와 Fig. 6, 7의 결과를 토대로 하여, HCl 전처리만을 실시한 후 Fig. 4의 방법과 같이 환류장치가 아닌 Kjeldahl 분해장치를 이용하여, 각각의 토양에서의 paraquat 처리농도를 달리하여 회수율을 조사한 결과는 Fig. 8과 같다. Fig. 8에서 보느냐와 같이 Kjeldahl 분해장치에서의 회수율은 유의성이 없었는데, 이는 Kjeldahl flask를 통하여 발생되는 gas와 함께 paraquat이 유실되었거나, 환류추출장치와 같이 안정된 열전달 기구가 아닌 급격한 고온이 직접적으로 가운을 하는 과정에서 paraquat이 분해되어 소실되었을 것이라 추정된다.

### Loosely bound-paraquat의 분석

염류에 의해 용출가능한 loosely bound-paraquat의 분석을 위해, 전술한 실험방법에 따라 50g의 토양에 paraquat을 1ppm이 되게 처리 후, 0.01, 0.1, 1.0, 10.0M ammonium chloride와 calcium chloride를 이용하여 1.5, 3, 6, 12, 24시간의 진탕시간을 달리하여 분석한 결과 시간, 농도, 추출액의 변화에도 불구하고, 모든 처리구에서 paraquat은 검출한계 미

만의 수준이었다.

이상의 결과를 토대로 하여, 토양내 paraquat의 효율적인 추출방법을 모색하여 본 결과 conc. HCl의 첨가 후 60분의 진탕을 통한 전처리에서 회수율을 증대를 보였으며, 특히, 이러한 과정을 통하여 여과시간의 단축은 물론 황산을 이용한 환류추출조작시간도 5시간에서 1시간으로 단축할 수 있었다. 아울러 HCl의 첨가 없이, 과산화수소수의 첨가만으로도 높은 회수율의 증대를 나타냈으나, 여과시간의 단축은 꾀하지 못하였다. HCl전처리와 과산화수소수 첨가를 병행하여 실시한 결과, 여과시간의 단축은 있었으나, 보다 높은 회수율의 증대는 이를 수 없었다. 따라서, HCl전처리 만으로도 충분히 회수율의 증대와 여과시간의 단축이 가능하다고 판단되었다. Kjeldahl 분해장치를 이용한 결과 높은 회수율을 나타내는 경향은 있었으나, 반복간의 심한 오차를 나타내어, 유의성이 떨어지는 결과로서 실험방법으로 부적절하다고 판단되었고, loosely bound-paraquat의 추출은 ammonium chloride와 calcium chloride의 농도 및 시간을 달리하여 추출한다하여도 검출한계 미만으로 검출되어 본 실험에 이용한 토양에서 뚜렷한 경향을 알 수 없었다. 아울러, 토양내 paraquat의 분석에 있어, 회수율은 점토광물의 함량이, 여과시간은 유기물 함량이 관계가 있는 것으로 본실험을 통해 확인 할 수 있었다.

요 약

토양중 tightly bound paraquat의 효과적인 추출방법을 모색코자 HCl 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 첨가 그리고, kjeldahl 분해장치를 이용하여 회수율 및 여과시간의 단축을 조사하였으며, ammonium chloride와 calcium chloride의 농도와 진탕 시간을 달리하여 loosely bound paraquat의 유출정도를 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 토양 50g에 70ml의 conc. HCl을 첨가하여 시간별로 진탕하고 여기에 진한 황산을 가하여 1시간동안 환류 추출한 결과, 60분간 진탕할때 기존의 추출방법에 비해 A토양은 1.15배 높은 96.7%의 회수율과 4.64배 단축된 14분의 여과 시간을, B토양은 1.09배 높은 84.0%의 회수율과 4.91배 단축된 11분의 여과시간을 나타냈다. 아울러, 이러한 결과는 회수율의 증가는 물론 여과시간의 단축, pH조정과정에서 과다한 NaOH사용을 통한 총용량의 증가 방지, 그리고, 전체적인 실험시간의 단축을 꾀할 수 있었다.
2. HCl의 첨가에 의한 진탕과정 없이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 첨가하는 경우, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30ml첨가하여 30분간의 환류 재추출하는 것이 적정 수준이었는데, 회수율은 증대하였으나 여과시간의 단축은 거의 없었다. 반면, 50ml의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 첨가만으로도 회수율의 증대는 있었으나 실험의 위험성을 고려시 적절하지 못하다고 생각된다.
3. Kjeldahl 분해장치를 이용한 방법으로 회수율의 증대를

나타내는 경향은 있었으나, 반복간의 큰 오차를 나타내었으므로 추출방법으로 적합하지 못하다고 생각된다.

4. Loosely bound paraquat의 추출을 위해 0.01, 0.1, 1, 10M ammonium chloride와 calcium chloride를 이용하여 1.5, 3, 6, 12, 24시간으로 진탕시간을 달리하여 분석한 결과, 시간, 농도, 추출액의 변화에도 불구하고 모든 처리구에서 paraquat은 검출한계 미만의 수준이었다.

참고문헌

1. P. Smith and D. Heath(1976). *Crit. Rev. in Toxicology*. 4(4) : 411~415.
2. 농약공업협회(1995). 농약연보, 188~189., 518~519.
3. Hassall, K.A.(1990). Quaternary ammonium compounds In : *The biochemistry and use of pesticides*. 384~389. Macmillan. London.
4. Akhavein, A.A. and Linscott, D.L.(1966). The bipyridilium herbicides, paraquat and diquat. *Residue Rev.* 23 : 97~145.
5. Hance, R.J.(1988). Adsorption and bioavailability. In : *Environmental Chemistry of herbicides*(R. Grover, ed). Vol. I. 1~19, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
6. Weber, J.B., Perry, P.W., Upchurch, R.P.(1965). The influence of temperature and time on the adsorption of paraquat, diquat, 2,4-D and promotion by clay, charcoal, and an anion exchange resin. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 29, 678~688.
7. Hance, R.J.(1967). Decomposition of herbicides in the soil by nonbiological chemical processes. *J. Sci. Food Agric.* 18, 544~547.
8. Lee S.J. Katayama, A, and Kimura M.(1995). Microbial degradation of paraquat sorbed to plant residues. *J. Agric. Food Chem* 43, 1343~1347.
9. Tucker, B.V. and Pack, D.E. and Ospenson, J.M.(1967). Adsorption of bipyridilium herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 15, 1005~1008.
10. Hance, R.J., Byst, T.H. and Smith, P.D.(1980). Apparent decomposition of paraquat in soil. *Soil Biol. Biochem.* 12, 447~448.
11. Kanazawa, J.(1990). Behavior of herbicides with long-term application to soils. *Shokuchu*, 24 : 388(in Japanese).
12. Imai, Y. and Kuwatsuka, S.(1989). Characteristics of paraquat-degrading microbes. *J. Pestic. Sci.* 14, 475~480.
13. Lott. P.F. and J.W. Lott(1978). The determination of Paraquat. *J. Chromatogr. sci.* 16, 390~395.

14. H. Anson Moye(1981). Analysis of pesticide Residues (cited Needham, L., D. Paschal, Z.J. Rollen, J. Liddle, and D. Bayse(1979) : *J. Chromatogr. sci.*, 17, 87), John Wiley & Sons Inc. New York.
15. Cai, J. and Z.E. Rassi(1992). Capillary zone electrophoresis of two cationic herbicide, Paraquat and Diquat *J. Liquid chromatography*, 15(6&7), 1193~1200.
16. Song, X. and W.L. Budde(1996). Capillary electrophoresis-Electrospray Mass spectra of herbicides Paraquat and Diquat. *J Am Soc Mass Spectrom*, 7, 981~986.
17. N Coombe(1994). Validation of ZENECA Agrochemicals SOP Residue Analytical Methods for the analysis of Diquat and Paraquat Residues in crops, soil and water containing both compounds. *CEM Analytical Services Limited Report CEMR-322*.