

< 단 신 >

사과 중에서 살균제 Iminoctadine Triacetate의 잔류성에 대한
기체 크로마토그래피 분석

김일광 · 정승일 · 한완수* · 임방현** · 한성수**

원광대학교 자연과학대학 화학과, *목원대학교 이공대학 화학과,

**원광대학교 생명자원대학 농화학과

Gas Chromatographic Analysis on the Residual of
Fungicide Iminoctadine Triacetate in Apple

I. K. Kim, S. I. Jeong, W. S. Han*, B. H. Lim** and S. S. Han**

Department of Chemistry, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

*Department of Chemistry, Mokwon University, Taejeon, 301-318, Korea

**Department of Agricultural Chemistry, Wonkwang University, Iksan, 570-749, Korea

1. 서 론

농약은 다양한 종류의 병해충 및 잡초를 효과적으로 방제하기 위해 주로 야외에 살포되어 환경중에 토양, 수계, 대기를 오염할 가능성이 있다. 농약은 대상 병해충에 대하여 강력한 생리활성억제성을 가지며, 환경중에 생식하는 비표적생물에도 영향을 미치고, 농작물의 섭취를 통하여 인류의 건강에도 악영향을 미칠 수 있다. 농약을 효과적으로 사용하기 위해서 특정 환경 중에서의 잔류성을 조사하는 것은 매우 중요하다.

살균제 iminocadine triacetate(IOTA, Fig. 1)는 처음 1960년경에 감귤류의 살균제, 곡류종자의 소독제, 조류의 기피제로서 사용되었지만, 합성법의 어려움 때문에 낮은 순도(50 %이하)의 제품으로 사용되었다. 특히 사과의 부란병, 포도 만부병, 보리의 홍색설부병 등의 병해에 탁월한 효능을 보였기 때문에 1978년에 일본농림수산성¹⁾의 신농약개발사업 제1호로 지정되었다. Dainippon 잉크 회사에서 새로운 합성과 정제법을 개발하여, 순도가 98.0 %이상되도록 제조하였고, Befran이란 상품명으로 등록하였으며, 사상균에 대하여 폭넓은 항균

스펙트럼을 가지고 있다. 지금까지 IOTA의 분석화학적 연구는 낮은 감도, 낮은 휘발성 때문에 많이 되어있지 않으나, Kobayashi^{2,3)} 등은 유도체화 후에 기체크로마토그래피(GC)로 분석하였다. Sato⁴⁻⁶⁾ 등은 토양 및 과수에서 잔류량을 조사하였으며, 광분해와 동, 식물, 어류에 대한 독성 등에 대한 결과를 보고하였고, Imanaka⁷⁾ 등은 GC-mass방법으로 IOTA를 분석한 결과를 보고하였다. 우리 나라에서 연구 보고된 결과는 거의 없으며, 배푸란(미성, 동방, 한농), 금박나(전진), 이미녹타딘 트리아세테이트(경농, 삼공)상표로 등록하여 시판되고 있다. 이는 외국환경에서의 연구보고된 결과를 그대로 국내환경에 적용하므로써 농약 오염 및 남용의 우려가 있다. 본 연구에서는 가스 크로마토그래피를 이용하여 iminocadine triacetate의 미량분석을 위한 최적조건을 설정하고, 사과의 경우에 현장실험에 따른 농약의 잔류량 등을 조사하여 국내 품목고시를 위한 기초 자료로 활용하도록 하였다.

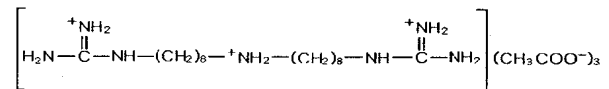


Fig. 1. The structure of iminocadine triacetate.

2. 실험

2.1. 시약

사과시료 분석시 iminoctadine triacetate(주식회사 경농 제공, 순도 98.3 %)의 표준품을 methanol에 희석하여 저장용액으로 사용하였다. 시료의 추출, 분해 및 컬럼의 용리용매로 methanol(Mayman, 99.85 %), chloroform(Junsei Co., 99.0 %), sodium hydroxide(Aldrich 99.99 %), anhydride sodium carbonate(Junsei Co., 99.0 %)와 sodium bicarbonate(Junsei Co., 99.6 %)를 사용하였으며, 유도체 반응 시약으로 trifluoroacetylacetone anhydride(Aldrich Co., 99+%), hexafluoroacetylacetone(Adrich Co., 98 %), toluene(Adrich Co., 99.95 %) *n*-hexane(Merck Co., 97 %) 등을 사용하였다. 물은 Millipore Milli-Q에 통과하여 탈이온화시킨 3차 증류수를 이용하였다.

2.2. 기기 및 장치

가스크로마토그래피는 ⁶³Ni 전자포획형검출기(ECD)를 장착한 Shimadzu GC-17A Gas Chromatograph를 사용하였다. 길이 100 cm, 내경 1.7 mm의 유리컬럼에 15% OV-17이 코팅된 Shimalite W(80~100 mesh)을 충전하여 사용하였다. 시료주입구 온도 270°C, 검출기 온도 300°C, column oven 온도 270°C와 운반기체 수소의 유속 150 kPa, scavenger 50 pKa의 조건을 설정하였다. 적분장치는 Shimadzu Class-GC10 software를 사용하였다. 회전 진공증발장치는 Büchi RE-III형을 사용하였다. 가스크로마토그래피로 시료를 분석하기 전에 시료정제에는 Kieselgel 60(Merk, 230 mesh)이 충전된 Baker Chemical 회사의 Sep-Pak 걸름 장치를 이용하였다.

2.3. 분석용 표준용액 제조

Iminoctadine triacetate 표준품을 Kobayashi^{2,3)}

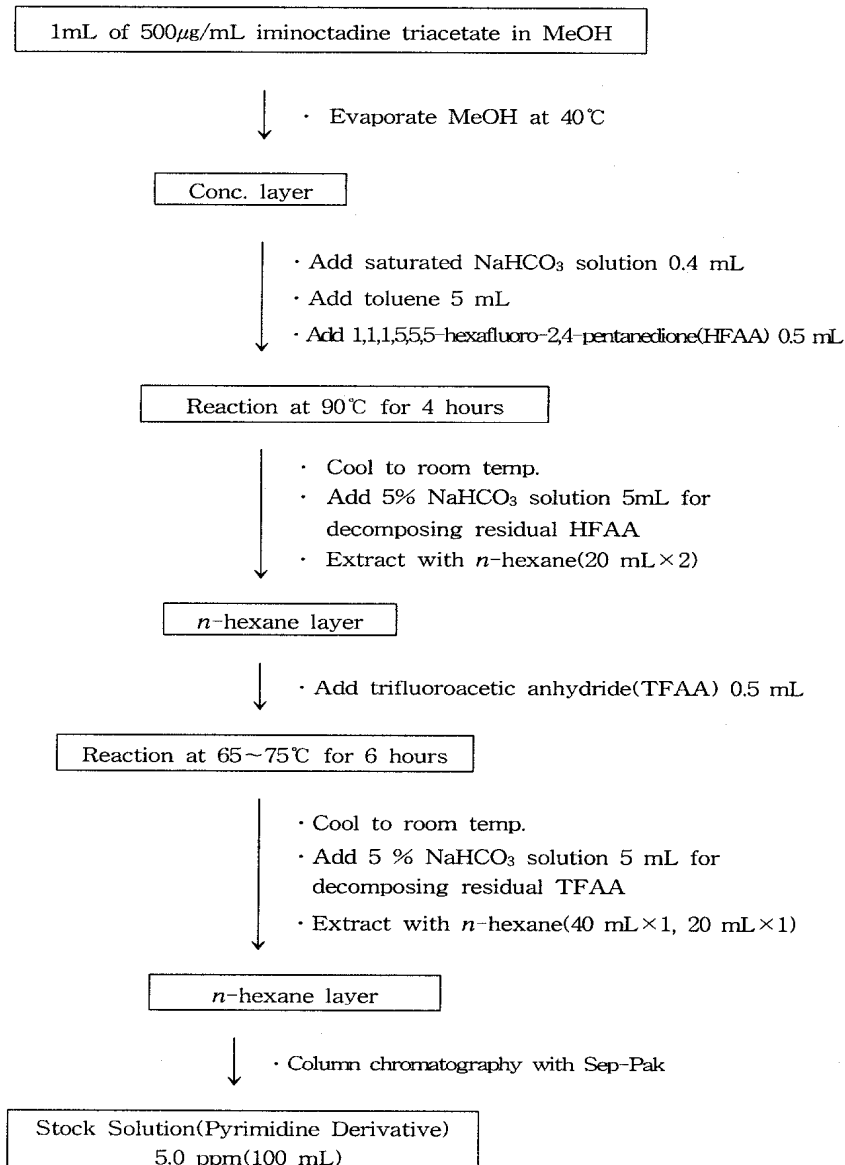
의 방법에 따라 Scheme 1과 같이 methanol에 500 µg/mL 되도록 녹인 후 그중 1.0 mL를 50 mL 둥근 바닥플라스크에 취해 감압, 건조시켰다. 잔사에 0.4 mL의 포화 NaHCO₃, 5 mL의 toluene과 0.5 mL의 hexafluoroacetylacetone을 첨가하고 N₂ 분위기에서 90°C로 유지하면서 4시간 동안 반응시켰다. 반응물을 실온으로 냉각 후 5 mL의 5.0 % NaHCO₃를 첨가하여 hexafluoroacetylacetone을 분해시키고 생성된 pyrimidine 유도체를 20 mL의 *n*-hexane으로 2회 추출하였다. 추출여액을 1.0 g의 anhydride-MgSO₄가 채워진 Sep-Pak 여과컬럼에 통과시켜 수분을 제거시킨 다음 0.5 mL의 trifluoroacetic anhydride를 넣고 6시간 동안 아세틸화반응을 진행시켰다. 이 반응여액에 5 mL의 5.0 % NaHCO₃를 넣어 여분의 trifluoroacetic anhydride를 분해시키고 층분리를 한 다음 1.0 g의 무수 MgSO₄와 Kieselgel이 채워진 Sep-Pak 여과컬럼에 통과시켜 수분과 불순물을 제거하였다. 이여액을 *n*-hexane으로 100 mL가 되도록 희석(5 µg/mL)하여 표준용액을 제조하였다.

2.4. 시료처리와 시료채취

사과에 대한 약제처리와 시료채취를 위해 원광대학교 부속 과수원의 사과나무(후지)에 iminoctadine triacetate 15 % 수화제를 1000배로 희석하여 약액이 흐를때까지 충분한 양을 4, 5, 6 및 7회 등으로 살포하였으며(Table 1), 시료채취 일정을 최종 살포 후 7일, 14일, 21일, 30일 등으로 조정하였다.

Table 1. The procedure of spray to the apples.

The No. of spray times	Sprayed days before harvest	Spray concentration
0	Untreated check	
4	60-50-40-30	
5	60-50-40-30-21	희석배수 : 1,000배
6	60-50-40-30-21-14	
7	60-50-40-30-21-14-7	



Scheme 1. Synthetic pathways for pyrimidine derivatives of iminoctadine triacetate.

2.5. 표준검량선작성

2.3에서 전술된 대로 pyrimidine유도체화 그리고 아세틸화된 표준용액을 *n*-hexane으로 희석하여 0.005, 0.008, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.5, 0.8, 1.0 ppm 표준용액을 만든 후 ECD 검출기를 사용한 GC방법으로 크로마토그램을 얻었으며, 봉우리 높이를 기준으로 검량선을 작성하였다.

2.6. 회수율 및 잔류성

이상의 분석법을 이용하여 부처리 사과시료 100 g에 iminoctadine triacetate 5.0 ppm표준용액 20 mL 및 1.0 ppm 표준용액 10 mL를 각각 첨가하여 iminoctadine triacetate의 농도가 1.0 ppm과 0.1 ppm이 되도록 혼합하였다. blender에서 5분간 균질화시킨 다음, Kieselgel 60 (Merck, 230 mesh)이 충전된 Sep-Pak 장치를 사용하여 걸렀다. 2. 3에서

와 같이 유도체화 및 아세틸화 과정을 거치고 크로마토그램을 얻어 회수율을 구하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 사과에서의 iminoctadine triacetate 정량을 위한 표준 검정곡선

Iminoctadine triacetate 표준품의 pyridimine 유도체화와 아세틸화된 저장용액의 농도증가에 따라 얻어진 크로마토그램을 Fig. 2에 보였으며, Fig. 2에서 얻어진 봉우리 높이를 측정하여 만든 표준검량선을 Fig. 3에 나타내었다. 최소자승법으로 산출한 감응함수는 $y = 19.1655x + 0.0979$ 였으며, Fig. 3에서 보는 바와 같이 실험농도범위(0.3~40 ng)에서 직선성을 보였고 이때 표준편차는 0.009 (n=3)이었다.

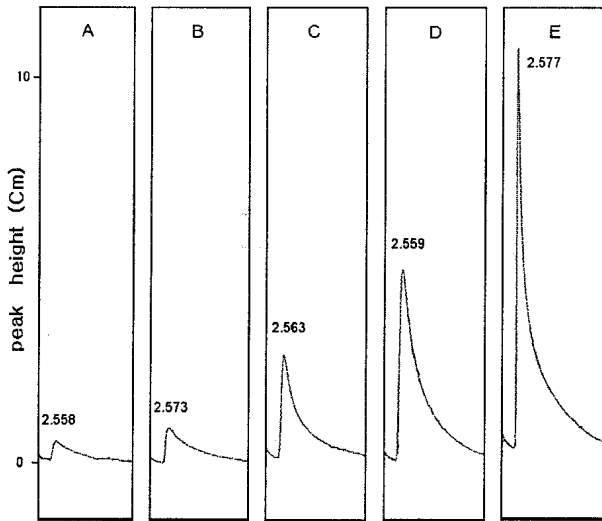


Fig. 2. Typical GC/ECD chromatograms of iminoctadine triacetate standard solution on apples.
A : 0.02ng, B : 0.04ng, C : 0.13ng, D : 0.25ng, E : 0.53ng

3.2. 사과시료의 회수율 및 잔류성

이상의 분석방법을 무처리 사과의 추출액에

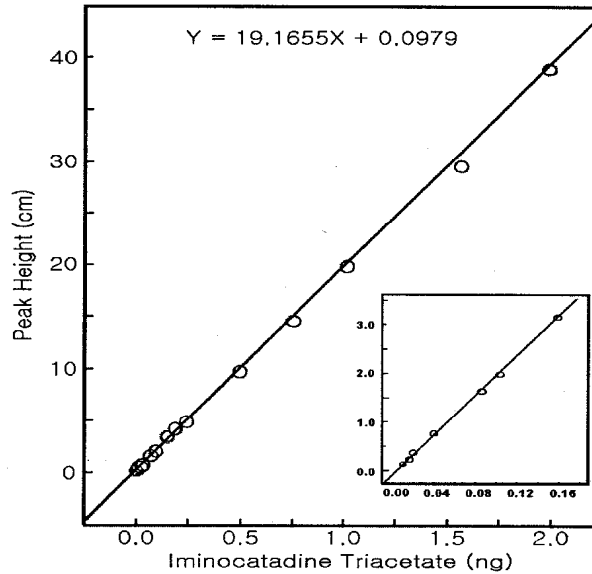


Fig. 3. Standard calibration curve of iminoctadine triacetate standard solution on apples.

iminoctadine triacetate 0.1 ppm과 1.0 ppm 되도록 표준용액을 첨가한 다음 각각 3회씩 분석하였다. 평균회수율은 각각 85.7 %와 85.8 %이었고, 분석법의 검출한계는 0.001 ppm이었으며, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 이상의 분석법과 분석조건을 이용하여 실제 사과의 현장실험에 따른 농약 잔류량을 조사한 결과 Table 3에 나타난 것과 같이 수확하기 30일 전까지 4회 살포하였을 때 0.076 ppm 이었고, 수확하기 21일전까지 5회 살포하였을 때 0.147 ppm이었으며, 수확하기 14일전까지 6회 살포하였을 때 0.237 ppm이었다. 수확하기 7일전까지 7회 살포하였을 때에는 0.290 ppm이었다. 이들 결과는 iminoctadine triacetate가 대기 중에서 광분해되거나 가수분해되는 속도에 따라 잔류량이 결정되

Table 2. Recovery and detection limits of iminoctadine triacetate in apple by this analytical method.

Added amount (ppm)	Recovery(%)				Limit of Detection (ppm)	Minimum Detectable Amount(ng)
	A	B	C	Average		
1.0	87.8	97.0	72.6	85.8	0.001	0.01
0.1	72.6	86.3	98.3	85.7		

Table 3. Residual amount of iminoctadine triacetate in apple.

Number of Treatment Times	Taken days to harvest after final spray	Residual amount(ppm)				Maximum Residue Limit(mg/kg)
		A	B	C	average	
0	Untreated check	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	
4	60-50-40-30	0.076	0.072	0.081	0.076	
5	60-50-40-30-21	0.160	0.150	0.130	0.147	0.2(orang) (Japan)
6	60-50-40-30-21-14	0.260	0.250	0.200	0.237	
7	60-50-40-30-21-14-7	0.310	0.270	0.290	0.290	

는 것으로 추정되며, 살포횟수가 많을수록 또한 농도가 진할수록 잔류량이 크고, 최종 살포한 후로부터의 경과시간이 짧을수록 잔류량이 큰 것으로 나타났다. 일본에서는 iminoctadine triacetate의 과일 잔류허용량이 감귤인 경우에 0.20 ppm으로 되어있다. 이의 기준에 따르면, 사과과수에 대한 안전 사용기준은 수확하기 21일 전 5회 정도(이 때 잔류량은 0.147 ppm)의 살포가 적당한 것으로 사료된다.

4. 결 론

사과에 잔류되는 iminoctadine triacetate는 사과를 잘게 분쇄하여 2.0N-NaOH/ methanol과 chloroform 혼합액으로 추출하였다. 추출물을 0.4 mL의 포화 NaHCO₃, 5 mL의 toluene과 0.5 mL의 hexafluoroacetylacetone으로 반응시키고 trifluoroacetic anhydride로 acetylation시켜 pyrimidine유도체를 만들었다. Pyrimidine 유도체를 감압 농축한 후 Kieselgel 60이 충전된 column에서 n-hexane으로 용리하였으며, 용리액을 농축하여 GC(ECD)로 분석하였다. 0.1 ppm과 1.0 ppm 표준물 첨가시 평균

회수율은 각각 85.7 %와 85.8 %였으며, 검출한계는 0.001 ppm이었다. 잔류량 분석결과 iminoctadine triacetate의 잔류량은 수확 전 60일전부터 21일전까지 5회 살포시 0.130~0.160 ppm 범위로 평균 0.147 ppm이었고 안전사용기준은 수확 21일전 5회 (0.147 ppm) 살포하는 것이 적당함을 알았다.

참 고 문 헌

- 1) 大日本インキ化学工業株式会社: 私報
- 2) H. Kobayashi, O. Mantano and S. Goto, *J. Pesticide Sci.*, **1977**, 2, 427.
- 3) H. Kobayashi, O. Mantano and S. Goto, *J. Pesticide Sci.*, **1982**, 7, 1892.
- 4) K. Sato, Y. Kato, S. I. Maki, O. Matano and S. Goto, *J. Pesticide Sci.*, **1986**, 11, 267-270.
- 5) K. Sato, Y. Kato, S. I. Maki, O. Matano and S. Goto, *J. Pesticide Sci.*, **1986**, 11, 271-274.
- 6) K. Sato and S.-I. Maki, *J. Pesticide Sci.*, **1989**, 14, 383-393.
- 7) M. Imanaka, M. Kadota, N. Ogawa, K. Kumashiro and T. Mori, *J. Pesticide Sci.*, **1993**, 18, 141-146.