

除草劑 Propanil의 溶液中 分解產物의 分離 및 同定

金章億 · 申允教 · 洪鍾旭

慶北大學校 農科大學 農化學科

Isolation and Identification of Degradation products of Herbicide Propanil in Solution

Kim, Jang Eok · Shin, Yun Gyo · Hong, Jong Uck

Dept. of Agricultural Chemistry, Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

To isolate and identify degradation products of propanil in solution which propanil concentration was 2000ppm with a certain temperature, degradation products and pathway were investigated every 2 weeks for 12 weeks.

Extracted mixture was developed with benzene on TLC plate, and R_f values of isolated DCA and TCAB were 0.65 and 0.94 respectively.

At the GC analysis, propanil and its degradation products could separate at the column temperature 200°C, but in order to more good resolution, the column temperature of DCA and TCAB was 140°C and 250°C respectively.

Functional group of DCA was determined by IR spectrum 3400cm⁻¹ and 800cm⁻¹.

Proton peaks of DCA were NMR spectrum 6.7δ and 3.7δ.

As the results, the major degradation products of propanil in solution were separated on TLC plate, and thus identified by the analysis of GC, IR and NMR.

Proposed degradation pathway of propanil in solution was from DCA to TCAB.

緒 論

除草劑를 使用한 化學的 雜草防除은 1944年 美國의 Marth, Mitchell 등이 2, 4-D에 依한 選擇的 雜草防除를 示顯한 이래 급격히 發達하여 現在 全世界的으로 開發하여 使用되고 있는 除草劑 만도 약400餘種에 이르고 있다.¹⁾

Propanil (3', 4'-dichloropropionanilide) 은 Rohm & Haas社에서 1960年 'Stam F-34'란

이름으로 開發된 amide系에 屬하는 除草劑로서 벼에는 安全하고 벼屬 以外的 禾本科 雜草들 과, 바랭이類 等과 옥수수, 보리 등의 禾本科 作物에 도 殺草效果가 뚜렷한 屬間 選擇性 雜草 生長初期 莖葉處理 除草劑이다. 그러나 propanil은 雜草의 幼苗期에 莖葉 살포하면 벼屬 以外的 禾本科 雜草 뿐만 아니라 1年生 廣葉雜草 防除에도 效果의인 것으로 알려졌으며, 土壤 中에서는 매우

쉽게 분해되므로¹¹⁾ 土壤處理劑로서는 不適合한 것으로 알려져 있다. 벼에 吸收된 propanil은 代謝作用을 통하여 DCA(3, 4-dichloroaniline)로 빨리 加水分解되지만, 피에서는 分解가 빨리 일어나지 않으므로 除草效果에 選擇性을 나타내는 것으로 알려져 왔다.¹²⁾

植物體 내에서 propanil은 peroxidase의 作用에 의하여 DCA의 形態로 加水分解된 후 glucose, lignin 등의 糖과 複合體를 形成한다.¹³⁾

土壤內的 微生物이나 日光¹⁴⁾에 依해서 propanil은 DCA로 分解되고 나아가 이 두 分子의 縮合으로 TCAB를 生成한다. Propanil의 分解菌에는 細菌인 *Arthrobacter* sp., 放線菌인 *Paecilomyces varioti*, *Paecilomyces marquandii*, 糸狀菌인 *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., 등 여러 種類의 土壤微生物이 關與하고 있다.⁹⁾

또 DCA에서 TCAB로의 縮合反應은 *penicillium pisarium*, *geotrichum candium* 등의 限定된 微生物에 依해 이루어지는 것으로 報告되었다.⁹⁾

Propanil은 微生物이 分泌하는 acylamidase⁷⁾와 peroxidase⁸⁾의 作用으로 DCA와 propionic acid로 加水分解되며, propionic acid는 CO₂로 酸化되고, DCA는 土壤粒子에 吸着되거나 縮合되어 TCAB의 形態로 土壤에 오래 殘留한다는 分解經路를 放射性 同位元素를 利用하여 研究되어 왔다.¹⁾

本 研究의 目的은 propanil 除草劑의 溶液內에서 各種 條件에 따른 分解樣相을 알기 위한 研究의 環으로서, 먼저 溶液內에서 分解되어 生成되는 分解產物을 分離하고 同定하여 溶液內에서 propanil의 分解經路를 밝히고자 하였다.

材料 및 方法

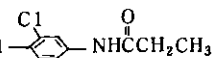
1. 供試農藥

Propanil은 標準品(99.9%), 原劑(92%) 및 乳劑(36%)를 使用하였으며, 이 農藥의 一般의 性質은 Table 1과 같다.

2. 農藥處理

農藥의 標準品은 acetone을 溶媒로 한 stock soln.을 調劑하여 保管하면서, 一定量을 取하여 蒸류수로 2, 200 및 2000ppm되게 稀釋한 후 本

Table 1. Physico-chemical properties of propanil

Chemical name :	N - (3, 4 - dichlorophenyl) propionamide
Common name :	Propanil
Trade name :	Stam F - 34
Formula structure :	
Melting point :	92~93°C / 9 × 10 ⁻⁴ mmHg
Solubility :	225 ml/l water (at 20°C)
Color :	Brown crystalline solid
Toxicology :	Acute oral LD ₅₀ rats 1285 - 1483mg/kg Acute dermal LD ₅₀ rabbits 7080mg/kg
Use :	Postemergence herbicide

研究의 試料로 使用하였다.

各 試料 20ml를 100ml 褐色瓶에 取하고 水分 蒸發을 抑制하기 위하여 aluminum foil과 vinyl lap으로 封한 후 30±2°C의 恒溫條件에서 0, 3, 7日과 2, 4, 6, 8, 10, 12週 反應시키면서 分解產物을 調査하였다.

3. 分析方法

Propanil과 그 分解產物을 抽出하기 위해 試料 2ml과 10ml를 test tube에 취하여 蒸류수 10ml와 飽和 NaCl 2ml를 넣은 후 0.1N NaOH로 調節한 pH 11以上的인 알칼리 條件에서 n-nexane으로 2回 抽出하였다. 여기서 n-nexane層을 取하여 分析試料로 使用하였다.

GC分析은 electron capture detector(⁶³Ni)가 裝置된 Hitachi 663-50 Gas chromatograph를 利用하였으며, 이때의 分析條件은 Table 2와 같았다.

Table 2. The operating condition of GLC-ECD (⁶³Ni) for analysis of propanil and its degradation products

Column	5% OV-101 on Gas Chrom Q (100 - 120mesh)
	1m × 3.0 mm (i.d.), glass column
Temperature	Column 140°C (DCA) 200°C (Propanil) 250°C (TCAB)
	Injector 225°C
	Detector 250°C
Carrier gas	N ₂ 50 ml/min
Chart speed	2.5 mm/min

TLC 분석은 農藥處理 後 時期別로 採取한 n-nexane 抽出物을 混合, 濃縮하여 kiesel gel G plate에 spot하여 benzene을 溶媒로 展開시켰다. Propanil과 TCAB는 UV로 照射한 結果 標準物質과 Rf 值를 比較하여 確認하였으며, DCA는 Bratton Marshall reagent로 確認하였다.

IR 분석은 TLC로 分離한 propanil과 DCA를 結晶化 시킨 후 mortar에서 KBr과 함께 磨碎하여 pellet으로 만든 후 Beckman 4250 spectrophotometer를 使用하였다.

NMR 분석은 結晶을 基準物質인 DMS를 含有하는 소량의 CdCl₂에 녹여 NMR spectrometer (Varian EM-360L, 60MHz)로 分析하였다.

4. 回收率 試驗

2, 10 및 100ppm으로 處理한 propanil과 그 分解產物인 DCA 및 TCAB의 溶液中 回收率은 前述한 分析方法으로 分析한 結果 Table 3과 같았다.

Table 3. Recoveries of propanil and its degradation products from solution fortified with 2ppm, 10ppm and 100ppm

Fortification (ppm)	Recoveries (%)		
	Propanil	DCA	TCAB
2	95	80	91
10	96	83	92
100	97	88	94

結果 및 考察

1. TLC 分離

溶液中 propanil의 分解產物을 抽出하여 TLC plate에 分離한 結果는 Fig. 1과 같다.

Kiesel gel G를 입힌 TLC plate 위에서 benzene을 展開溶媒로 전개시킨 propanil과 그 分解產物의 Rf 值는 propanil은 0.2, DCA는 0.65, TCAB는 0.94이었다. Propanil과 TCAB는 UV 照射로 確認되었으며, DCA는 Bratton Marshall reagent¹³⁾로 噴霧하였을 때 나타나는 pink 色으로 確認하였다. 溶液으로부터 抽出한 混合物에서 Rf 값이 같은 物質인 propanil의 分解產物 DCA와 TCAB를 分離할 수 있었다.

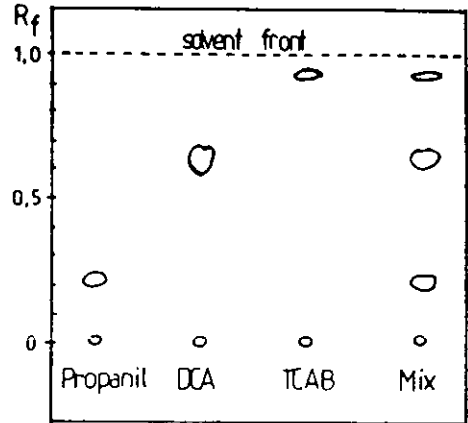


Fig. 1. Thin-layer chromatograms of propanil and its degradation products on Kiesel-gel G
Solvent system: benzene
Layer thickness: 0.25mm
Development distance: 17cm

이러한 結果는 Bartha 等⁹⁾이 土壤 內에서 amide系 除草劑인 propanil, dicryl, karsil 및 ramrod로부터 分解產物인 DCA와 TCAB를 TLC plate로 分離했는데, 그때의 Rf 값이 本研究의 實驗結果와 一致하였다.

2. GC 分析

試料를 column 溫度 200°C에서 GC 分析한 結果 Fig. 2와 같이 propanil의 두 가지 分解產物을 얻을 수 있었다.

各 chromatogram의 保持時間이 propanil은 120초, DCA는 30초, TCAB는 960초로 標準品의 것과 比較하여 一致하였으므로, propanil의 分解產物은 分子量이 작은 物質(I)인 DCA와 分子量이 큰 物質(III)인 TCAB인 것으로 思料되었다. 이들 分解產物을 명확히 分離하기 위하여 column 溫度 140°C에서 DCA를 分析하고 250°C에서 TCAB를 分析한 結果 TCAB의 保持時間이 140초인 것은 Bartha의 報告⁹⁾와 一致하였다.

GC에 依해 分析한 propanil의 分解量과 DCA, TCAB의 生成量을 定量한 바, 2, 200 및 2000ppm으로 濃度가 높을 수록 propanil의 分解產物인 DCA와 TCAB의 生成量을 많이 얻을 수 있었으며, 高濃度에서 分解產物을 빨리 얻을 수 있었다.

그래서 分解產物을 分析하기 위해서는, 보다 高

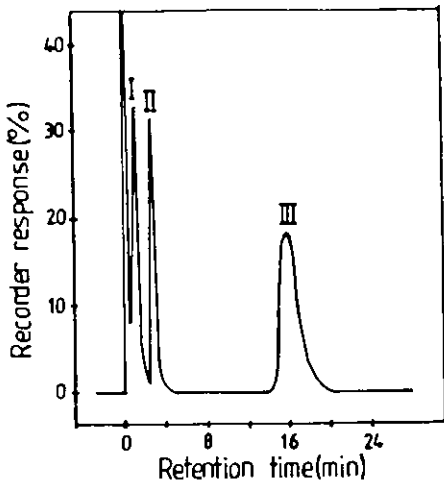


Fig. 2. Gas chromatogram of propanil and its degradation products
I : DCA II : Propanil III : TCAB

濃度인 2000ppm으로 處理한 分解産物을 얻어 構造決定의 試料로 使用하였다.

3. Infra red Spectrophotometer

Propanil 은 Fig. 3에서와 같이 化合物의 構造를 同定하기 위해 pellet으로 製造하여 分析한 IR spectrum에서, 3300cm⁻¹의 band는 -NH group, 1650cm⁻¹의 band는 carbonyl group(-C=O), 1400cm⁻¹의 band는 -CH₂ group, 800cm⁻¹의 band는 -Cl group에 의한 吸收 band들로 作用基를 알 수 있다.

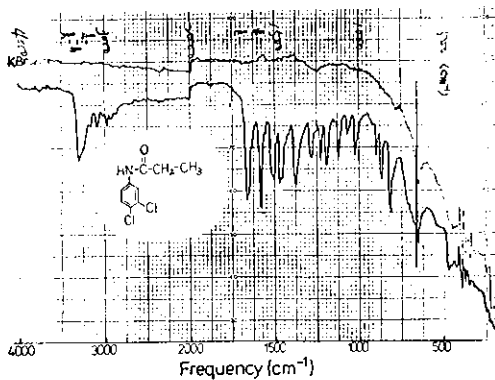


Fig. 3. IR spectrum of propanil (3', 4'-dichloropropionanilide)

DCA는 Fig. 4에서와 같이 3400cm⁻¹의 band는 -NH₂ group, 800cm⁻¹의 band는 -Cl group으로 IR spectrum의 吸收 band들이 나타났다.

4. Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer

NMR spectrum의 (Fig. 5) 各 proton peak는 8.7 δ (-NH), 7.5 δ (aromatic protons), 2.4 δ (-CH₂), 1.2 δ (-CH₃)으로 propanil의 構造를 잘 뒷받침 하고 있다.

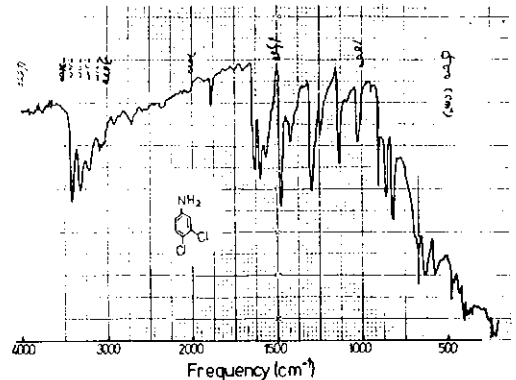


Fig. 4. IR spectrum of DCA (3, 4-dichloroaniline)

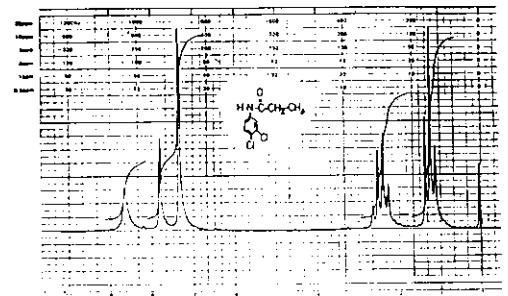


Fig. 5. ¹H-NMR spectrum of propanil (3', 4'-dichloropropionanilide)

NMR spectrum (Fig. 6)의 6.7 δ (aromatic protons)와 3.7 δ (-NH₂)의 peak 또한 DCA의 proton을 잘 나타내고 있다.

이처럼 TLC plate 위에서 分離한 各 分解産物의 GC 保持時間, IR spectrum 및 NMR spectrum의 結果를 볼때 propanil의 主分解産物이 DCA와 TCAB라는 것을 同定할 수 있다. 이때 時

期別로나 分子構造上으로 볼때 TCAB가 propanil의 加水分解産物인 DCA의 縮合産物로 보여진다.

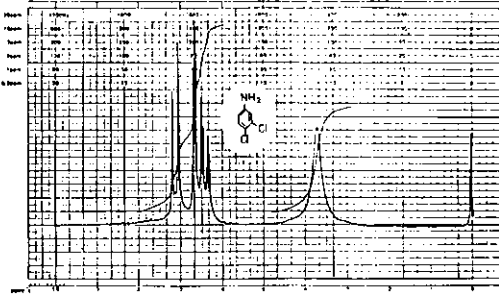


Fig. 6. ^1H -NMR spectrum of DCA (3,4-dichloroaniline)

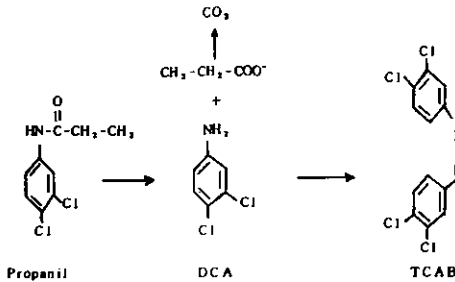


Fig. 7. Proposed pathway of propanil degradation in solution

따라서, propanil은 土壤이나 植物体 内에서와 마찬가지로 溶液 中에서도 Fig. 7에서와 같이 DCA와 TCAB로 分解되는 것으로 思料된다.

摘 要

溶液中 propanil 分解産物의 分離 및 同定을 위해서 2000ppm으로 處理한 후 2週 間隔으로 12週까지 一定한 溫度로 維持시키면서 主分解産物을 調査한 結果는 다음과 같다.

抽出한 混合物로부터 benzene을 展開溶媒로한 TLC에서 分解産物인 DCA와 TCAB를 R_f值 0.65와 0.94에서 分離할 수 있었다.

GC分析은 column 溫度 200°C에서 分離가 可能하지만 定量的 分析에서 DCA는 140°C, TCAB는 250°C로 달리하여 分解經路를 調査하였다.

IR spectrum에서 3400cm⁻¹와 800cm⁻¹의 吸收 band에 依해 DCA의 作用基가 決定되었다.

NMR spectrum에서 6.7δ와 3.7δ의 peak는 DCA의 proton과 一致하였다.

이와 같이 溶液中 混合抽出物로부터 propanil의 主分解産物을 TLC로 分離하여 GC, IR, NMR로 同定한 결과 propanil은 溶液 内에서 DCA를 거쳐서 TCAB로 分解되는 것으로 나타났다.

引用 文 献

1. Audus L. J. : Herbicides, physiology, biochemistry, ecology, Vol. I., Academic Press, New York, 1976, pp. 1-50.
2. Bartha R. and L. M. Bordeleau : 1969. Cell-free peroxidase in soil, Soil Biol. Biochem., 1 : 139-143.
3. Bartha R. : 1968, Biochemical transformations of aniline herbicides in soil, J. Agr. Food Chem., 16 : 602-604.
4. Bordeleau L. M. and R. Bartha : 1971, Ecology of a herbicide transformation : Synergism of two soil fungi, Soil Biol. Biochem., 3, 281-284.
5. Chisaka H. and P. C. Kearney : 1970, Metabolism of propanil in soils, J. Agr. Food Chem., 18 : 854-858.
6. Lanzilotta R. P. and Pramer D. : 1970, Herbicide transformation I. Studies with whole cells of *Fusarium solari*, Appl. Microbiol., 19 : 301-306.
7. Lanzilotta R. P. and D. Parmer : 1970, Herbicide transformation II. Studies with a acylamidase of *Fusarium solari*, Appl. Microbiol., 19 : 307-313.
8. Lieb H. B. and C. C. Still : 1969, Herbicide metabolism in plant : Specificity

- of peroxidases for aniline substrates, *Plant Physiol.*, 44 : 1672 - 1673.
9. Miller G. C., R. Zisook and R. Zepp : 1980, Photolysis of 3, 4 - dichloroaniline in natural waters, *J. Agr. Food Chem.*, 28 : 1053 - 1056.
 10. Moilanen K. W. and D. G. Crosby : 1972, Photodecomposition of 3',4'-dichloropropionanilide (propanil), *J. Agr. Food Chem.*, 20 : 950 - 953.
 11. Smith R. J. and J. Richard : 1974, Response of rice to postemergence treatments of propanil, *Weed Sci.*, 22 : 563 - 568
 12. Still C. C. and O. Kuzirian : 1967. Enzyme detoxication of 3', 4' - dichloropropionanilide in rice and barnyard grass, a factor in herbicides selectivity, *Nature*, 216 : 799 - 800.
 13. Wright S. J. L. and A. Maule : 1982, Transformation of the herbicides propanil and chlorpropham by micro - algae, 13: 253 - 256.
 14. Yih R. Y., D. H. McRae and H. F. Wilson : 1968, Metabolism of 3', 4' - dichloropropionanilide : 3, 4 - Dichloroaniline - lignin complex in rice plants, *Science*, 161 : 376 - 377.
 15. Yih R. Y., H. McRae and H. F. Wilson : 1968, Mechanism of selective action of 3', 4' - dichloropropionanilide, *Plant Physiol.*, 43 : 1291 - 1296.