

# 미생물에 의한 난분해성 유기염소계 오염물질의 분해 —각종 PCBs 및 유기염소계 농약의 분해와 분해산물—

김 찬 조·오 만 진·이 종 수

충남대학교 농과대학 식품가공학과  
(1986년 11월 17일 수리)

## Degradation of Organochlorinated Pollutants by Microorganism —Degradation of PCBs and Organochlorine Pesticides, and Degradation Products—

Chan-Jo Kim, Man-Jin Oh and Jong-Soo Lee

Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chungnam  
National University, Taejeon, Korea

### Abstract

Degradation of polychlorinated biphenyls(PCBs) and organochlorine pesticides by *Alcaligenes aquamarinus* has been studied and also degradation product of PCB-42 was investigated by TLC and GC. The less chlorinated members of PCBs such as Aroclor 1016 was degraded readily by the strain and rates of the microbial degradation of several organochlorine pesticides were found to decrease in the order of p,p'-DDT,  $\gamma$ -BHC and Thiolix. Approximately 40 percent of PCB-42 was degraded when incubated with non-autoclaved soil for 25 days at 25°C. The yellow compound from PCB-42 was tentatively identified as p-chlorobenzoic acid.

### 서 론

전보<sup>1)</sup>에서 PCBs 분해균주의 분리와 분해조건을 보고한 데 이어 선정된 *Alcaligenes* 속균에 의한 각종 PCBs와 BHC, DDT 등의 분해율과 PCB-42를 토양중에 가하여 배양하면서 분해율을 조사하고 TLC 등으로 분해산물을 검정한 결과를 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재료

PCB-42와 p-chlorobenzoic acid 및 p,p'-DDT 등은 Tokyo Kasei사, Aroclor 1016, 1242 및 1254 등의 표준 PCBs는 Foxboro사,  $\gamma$ -BHC는 Wako 화학사, Thiolix는 Polyscience사 등의 제품을 사용하였다. 또한 PCB-42와 각종 PCBs 및 유기염

소계 농약의 표준용액은 각각의 10% acetone용액을 일정하게 희석하여 사용하였다.

#### 2. 방법

1) 각종 PCBs 및 유기염소계 농약의 분해  
염소화도가 자기 다른 Aroclor 1016, 1242 및 1254 등의 PCBs와  $\gamma$ -BHC, p,p'-DDT, Thiolix 등의 유기염소계 농약을 전보<sup>1)</sup>와 같은 방법으로 기본 염류배지에 각각 0.1%씩 첨가하여 살균한 후 선정균주를 접종하여 25°C에서 진탕배양하면서 정기적으로 각각에 대한 분해율을 측정하였다.<sup>2)</sup>

#### 2) 토양중의 PCB-42의 분해

시료의 처리 및 배양: 공장 배수구 부근의 토양 30g을 자연건조시킨 후 121°C에서 60분씩 3회 살균<sup>3)</sup>시킨 것과 건조와 살균처리를 하지 않은 것으로 구분하여 내경 5cm, 길이 15cm의 원통형 유리 병에 넣고 PCB-42의 농도가 0.1%되게 균일하게

첨가시킨 후 대수기의 균체현탁액을 토양 1g당  $1.0 \times 10^7$  농도로 균일하게 접종하였다. 접종한 배양병을 대전지방의 여름 평균기온인  $25^\circ\text{C}$ 와 겨울 평균기온인  $-1^\circ\text{C}$  및 두 기온의 중간온도인  $13^\circ\text{C}$ 에서 배양하면서 25일, 50일 및 100일 후 시료토양 중의 일반성분과 PCB-42의 분해율을 측정하였다.

일반성분 및 PCB-42의 분해율 측정 : 수분과 pH 및 총질소 함량은 상법, 유기물 함량은 Tyurin 법<sup>3)</sup>, PCB-42의 분해율은 전보<sup>1)</sup>에서와 같이 측정하였다.

3) 분해산물의 검토

Biphenyl의 분해에 의한 배지중의 황색물질의 생성능 : 전보<sup>1)</sup>의 기본염류배지에 biphenyl을 0.1% 농도가 되도록 첨가한 후 선정균주를 접종하고  $25^\circ\text{C}$ 로 배양하면서 경시적으로 배양액 일정량을 취하여  $5,000 \times \text{g}$ 로 3분간 원심분리한 후 상정액의 황색도를 spectrophotometer(Model SE 3000, U.K)로 420nm에서 그 흡광도를 측정하여 biphenyl의 분해에 의한 배지중의 황색물질 생성능을 검토하였다.

PCB-42의 분해에 의하여 생성된 황색물질의 최대흡수파장 : 선정균주를 전보<sup>1)</sup>의 분해 최적조건으로 9일간 배양한 후 배지중에 생성된 황색물질을 ethyl acetate로 3회 추출하고 일정량으로 농축시켜 spectrophotometer (Model PU 8800, U.K)로 200~500nm까지 5nm/sec.로 scanning 하여 최대흡수파장을 측정하였다.

PCB-42의 분해산물 : 전보<sup>1)</sup>에서와 같이 선정균주를 분해 최적조건으로 배양하면서 경시적으로 일정량의 배양액을 원심분리하여 상정액을 얻고 그 액을 분액여두에 넣어 ethyl acetate로 3회 추출하고 농축시킨 후<sup>4)</sup> gas chromatography 하여 얻어진 chromatogram의 peak 양상과 표준물질인 PCB-42와 p-chlorobenzoic acid의 chromatogram을 비교하여 분해산물을 검정하였다. 또한 TLC는 상기 농축시료를 silica gel 60을 0.2mm로 입힌 TLC판(Merk사 제품)에 점적하여 전개용매(n-hexane : ethanol : acetic acid = 10 : 2 : 1)로 전개시킨 후 UV light로 발색시켜  $R_f$ 값을 구하여 분해산물을 추정하였다.

유리염소량의 변화 : 선정균주를 분해 최적조건으로 배양하면서 경시적으로 일정량의 배양물을 원심분리하여 상정액과 침전한 세포를 분리한 후 얻은 세포는 0.05N 인산염 완충액(pH 7.0)에 현탁시켜 초음파발생기(Model MDL-GT 170, 일본)로 완전히 파쇄한 액과 위의 상정액 및 대조구가 되

는 원 배지중의 유리염소량을 Standard Method of Chemical Analysis<sup>5)</sup>에 따라 정량, 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 각종 PCBs 및 유기염소계 농약의 분해

1) 각종 PCBs의 분해

분리 선정균<sup>1)</sup> I-5균주에 의하여 Aroclor 1016과 1242 및 1254의 분해를 검토한 결과는 그림 1과 같다.

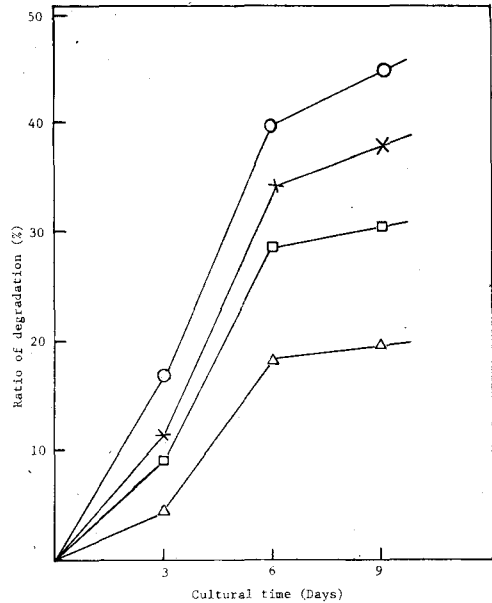


Fig. 1. Degradation curve of various PCBs by I-5 strain

○-○ : Aroclor 1016    □-□ : Aroclor 1242  
 ×-× : PCB-42        △-△ : Aroclor 1254

염소화도가 낮은 PCBs일수록 잘 분해되어 Aroclor 1016은 배양 9일에 약 45%가 분해된 반면에 Aroclor 1254는 20% 이하의 분해율을 나타내었다 이는 Furukawa등<sup>6)</sup>이 염소화도가 낮은 PCBs가 높은 PCBs보다 더 쉽게 분해된다는 보고와 같은 결과이었고 세균이 PCBs를 분해시킬 수 있는 능력은 염소화도가 증가함에 따라 감소한다는 Wong 등<sup>7)</sup>의 보고와도 부합되는 것이다.

2) 각종 유기염소계 농약의 분해

선정균주에 의한  $\gamma$ -BHC와 p,p'-DDT 및 Thiolix 등의 분해를 검토한 결과 그림 2에서와 같이  $\gamma$ -BHC와 p,p'-DDT의 분해율은 배양 9일에 20% 내외이었고 Thiolix는 10% 이하를 보였다. 이는

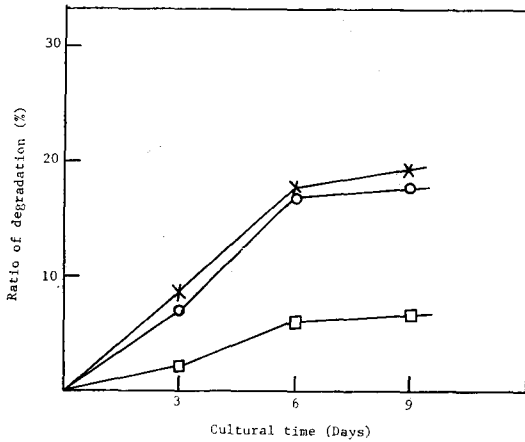


Fig. 2. Degradation curve of various organochlorine pesticide by I-5 strain

○-○ :  $\gamma$ -BHC      □-□ : Thiolix  
 ×-× : pp'-DDT

PCB-42와 Aroclor 1016의 분해율이 40% 이상인 것에 비하면 훨씬 낮은 값이었다

2. 토양중 PCB-42의 분해

시료토양의 일반성분은 표 1에서와 같이 처리간에 큰 차이가 없었으나 유기물함량이 살균처리한 토양에서 낮은 것은 살균하기 전에 건조 및 세별 과정을 거쳤기 때문인 것으로 생각된다. 한편 배양 온도와 시간에 따른 일반성분의 변화와 PCB-42의 분해결과는 그림 3, 4 및 5와 같다.

pH는 각 실험구간에 큰 차이를 보이지 않았고 유기물과 총질소 함량은  $-1^{\circ}\text{C}$ 와  $13^{\circ}\text{C}$ 에 비하여  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 배양할 때 말기에 그 함량이 다소 감소하는 경향이였다. 또한 PCB-42의 분해율은  $25^{\circ}\text{C}$ 에서 배양할 때 가장 높았고 25일까지는 분해율이 증가하였으나 그 이후는 변화가 없었다. 이는 배양 9일에 약 40%의 분해율을 보였던 전보<sup>1)</sup>의 실험결과와 비교하여 볼 때 약 20~30% 낮은 분해율이었는데 이는 시료토양의 조건이 공시균주의

Table 1. Physico-chemical properties of the soil used.

	pH (1 : 5 H <sub>2</sub> O)	Moisture (%)	O.M (%)	T-N (%)	Texture
A	7.9	26	5.59	0.44	CL
B	8.0	25	8.28	0.50	CL

A : autoclaved soil      B : non-autoclaved soil

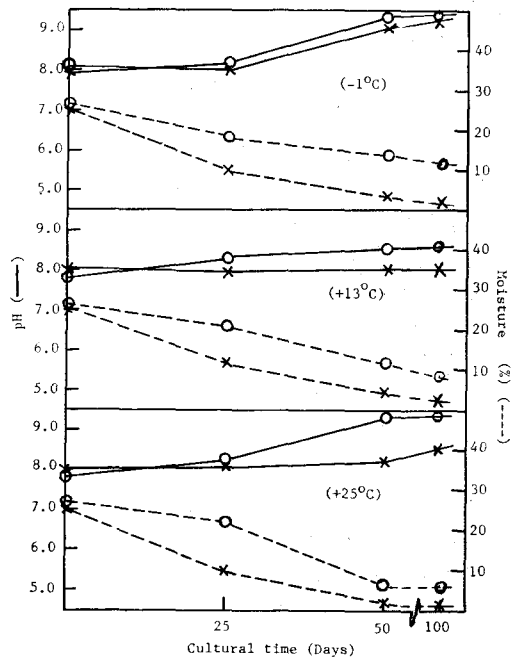


Fig. 3. Changes of pH and moisture content during the culture

○-○ : autoclaved soil  
 ×-× : non-autoclaved soil

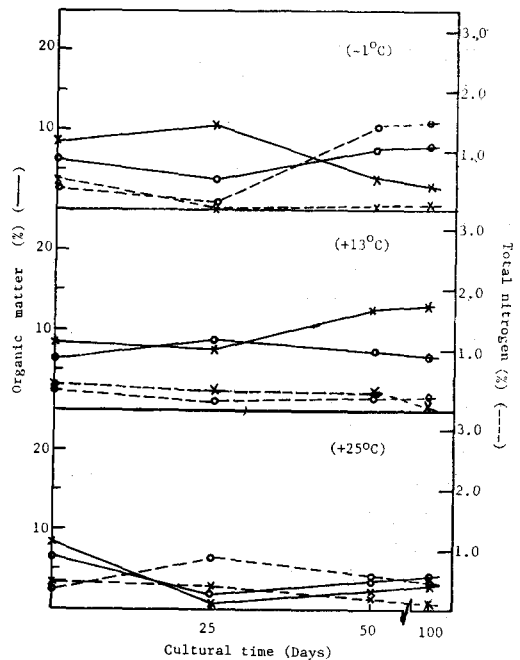


Fig. 4. Changes of organic matter and total nitrogen contents during the culture

○-○ : autoclaved soil  
 ×-× : non-autoclaved soil

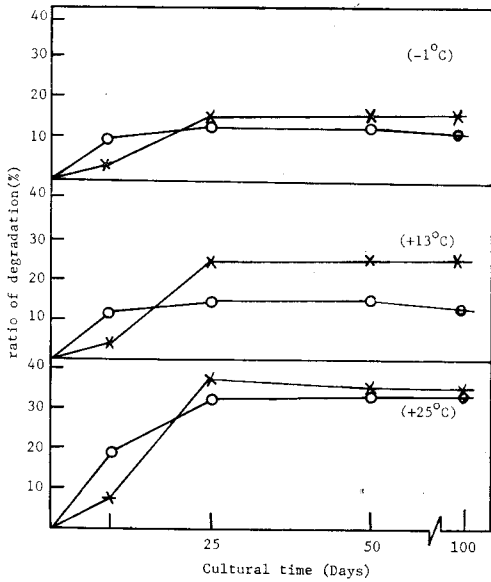


Fig. 5. Degradation curves of PCB-42 during the culture under various soil application  
 ○-○ : autoclaved soil  
 ×-× : non-autoclaved soil

증식에 부적당하기 때문인 것으로 생각된다.

### 3. 분해산물의 검토

1) Biphenyl의 분해에 의한 배지중의 황색물질 생성

PCBs가 분해되면서 중간생성물로 생성되는 황색물질의 2-hydroxy-6-oxo-6-phenyl-2, 4-dienoic acid 생성도를 biphenyl을 이용하여 경시적으로 측정 한 결과 그림 6과 같이 배양 24시간 이후 배지가 황색을 띠기 시작하여 그의 분해를 인정할 수 있었고 5일후부터는 차츰 퇴색되어졌다. 이는 Furukawa 등<sup>4)</sup>이 *Alcaligenes* sp.에 의한 Aroclor 1242로부터 황색생성도를 측정 한 결과와 비교하여 볼 때 생성시간이 다소 늦었고 생성정도도 낮은 결과이었다.

2) PCB-42의 분해에서 생성된 황색물질의 최대 흡수파장

PCB-42의 분해로부터 배지에 생성된 황색물질의 최대 흡수파장은 그림 7과 같이 pH 4,5에서 258nm와 295nm이었다. Furukawa 등<sup>4)</sup>은 4,4'-dichlorobiphenyl로부터 생성된 황색물질의 최대 흡수파장이 pH 1.0~2.0에서 250nm와 330nm이었다고 보고한 바 있다.

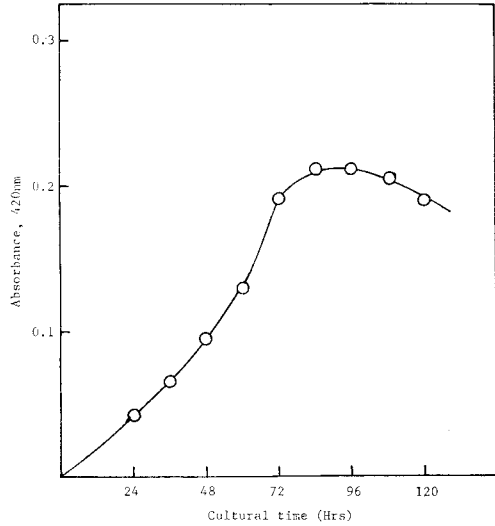


Fig. 6. The rate of yellow color production from biphenyl by I-5 strain

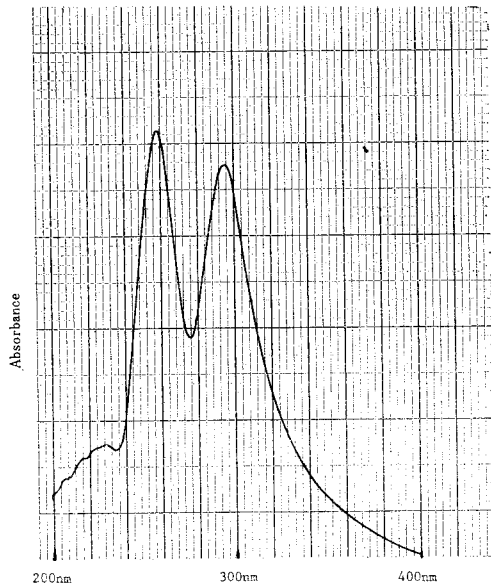


Fig. 7. The absorption spectrum of yellow compounds from PCB-42 by I-5 strain

3) TLC와 GC에 의한 분해산물의 검토

공시균주를 분해 최적조건<sup>1)</sup>으로 5일 및 15일 배양한 후 분해산물을 TLC로 검정한 결과는 그림 8과 같다. PCB-42와 p-chlorobenzoic acid의 R<sub>F</sub>값은 각각 0.87, 0.29이었고 배양 5일에서부터 분해산물인 p-chlorobenzoic acid의 생성을 추정할 수 있었고 배양 15일에는 p-chlorobenzoic acid를 위시한 몇 종의 분해산물이 검출되었으나 동정은 할

수 없었다. Furukawa 등<sup>4)</sup>도 TLC로 Aroclor 1242의 분해산물인 p-chlorobenzoic acid를 검정한 바 있어 같은 대사경로로 분해되어지는 것으로 생각된다. 한편 GC에 의한 분해산물의 검토결과는 그림 9와 같이 배양 20일 후 retention time이 빠른 저비점의 분해산물들이 검출되었다. 이는 Furukawa 등<sup>4)</sup>, Kaiser 등<sup>7)</sup>과 Wong 등<sup>6)</sup>의 배양시간에 따른 Aroclor 1221의 분해실험에서 배양시간이 경과함에 따라 Aroclor 자체의 양은 줄어들고 저비점의 분해산물들이 생성된다는 보고와 유사하였다.

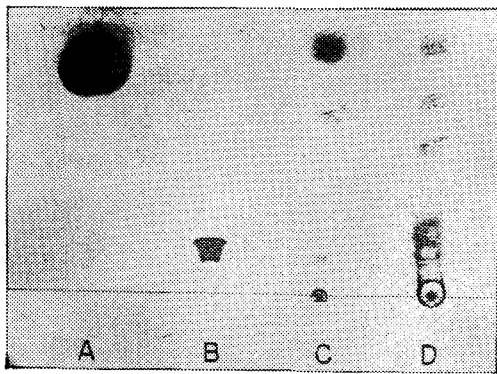


Fig. 8. Silica gel 60 thin-layer chromatogram of the metabolites from PCB-42 for 5 days and 15 days

A: PCB-42                      B: P-chlorobenzoic acid  
C: ethyl acetate extracts after 5 days incubation  
D: ethyl acetate extracts after 15 days incubation

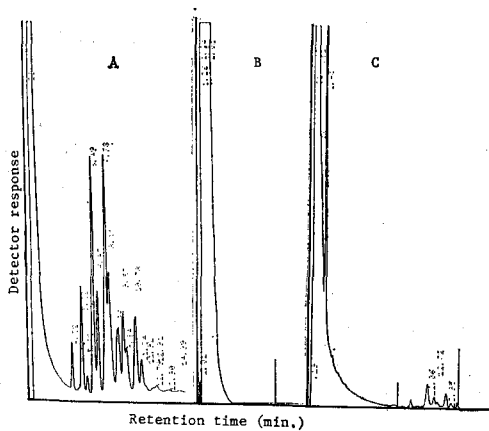


Fig. 9. Changes of gas chromatographic pattern of PCB-42 after incubation for 20 days

(A) PCB-42 standard  
(B) p-chlorobenzoic acid standard  
(C) ethyl acetate extract after 20 days incubation

4) 배양중 유리염소량의 변화

배양시간에 따른 유리염소량의 변화는 그림 10에서와 같이 균체 침전물에서는 완만히 증가하였으나 상정액에서는 6일 후 현저히 증가하는 경향이었고 배양 15일 후 배양액 30ml의 상정액과 균체침전물 중의 유리염소량은 각각 107.3mg 및 54.11mg 이었다.

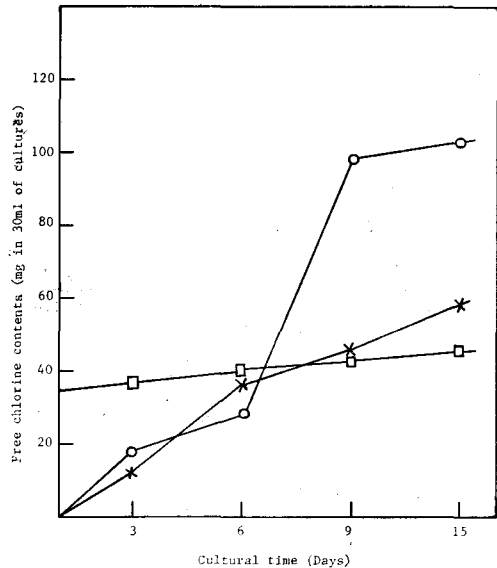


Fig. 10. Change of free chlorine during the culture

○—○: Supernatant of cultures  
×—×: Cell of cultures  
□—□: Control

요 약

*Alcaligenes aquamarinus*에 의한 각종 PCBs와 유기염소계 농약 및 토양중의 PBC-42 분해 등을 검토하고 TLC 등으로 분해산물을 검정한 결과 PCBs에서는 염소화도가 낮은 PCBs가 더 쉽게 분해되었고 유기염소계 농약에서는 p,p'-DDT > γ-BHC > Thiolix 순으로 분해되었다. 토양중의 PCB-42의 분해는 살균하지 않은 토양시료에서 25°C, 25일 배양으로 약 40%가 분해되었다. PCB-42의 분해로 생성된 황색물질의 최대 흡수파장은 pH 4.5에서 258nm와 295nm이었고 분해산물의 일종인 p-chlorobenzoic acid가 TLC와 GC에 의하여 확인되었다.

사 사

본 연구는 1985년도 재단법인 녹십자 연구소의

연구비 지원으로 수행되었으며 재단당국과 관계하시는 분들께 깊은 감사를 드립니다.

### 참 고 문 헌

1. 김찬조, 오만진, 이종수, 손현주, 성장근 : 한국농화학회지, 29(3) : 273 (1986).
2. Venkateswarlu, K., Gowda, T.K.S. and Sethunathan, N.: J. Agr. Food Chem., 25(3) : 533 (1977).
3. 토양화학분석법, 농촌진흥청 농업기술연구소, (1978).
4. Furukawa, K. and F., Matsumura.: J. Agri. Food Chem., 24(2) : 251 (1976).
5. Welcher, F.J.: Standard Methods of Chemical Analysis. D. Van Nostrand Co. 333~334 (1975).
6. Wong, P.T.S. and Kaiser. K.L.E: Bull. Environ. Contamin. & Toxicol., 13(2) : 249 (1975).
7. Kaiser, K.L.E. and Wong, P.T.S.: Bull. Environ. Contamin. & Toxicol., 11 : 291 (1974).