

## 콩과 벼懸濁培養時 PCP 水溶性代謝物の 同定

### 2. PCP glucose conjugates의 分離 및 分析

金弼濟\* · 朴昌奎\*

## Identification of Water Soluble Metabolites of Pentachlorophenol(PCP) in the Suspension Cultures of Soybean and Rice Cells

### 2. Isolation and characterization of PCP glucose conjugates

Pil Je Kim\* and Chang Kyu Park\*

### Abstract

Abstracts From the previous metabolic study of Pentachlorophenol(PCP), PCP was found to be exclusively transformed into  $\beta$ -glucose conjugates of PCP in soybean and rice cell suspension cultures. In order to gather structural information of the glucose conjugate, their aglycons and glycon have been analyzed by GC and GC/MS respectively, after thorough purification by chromatographic techniques.

The glucose conjugates were effectively purified through a 1-butanol extraction followed by Silica gel TLC, Sephadex column chromatography and HPLC. Aglycons of the metabolites were identified as PCP, isomeric mixture of tetrachlorophenol, and tetrachlorocatechol and glycon were identified as glucose, suggesting that there are at least three kinds of glucose conjugates with different phenolic moieties. Under controlled conditions, the glucose conjugates were separated into three HPLC peaks which released respective aglycon upon a hydrolytic treatment. These results give valuable information on the structure of the glucose conjugates such that some PCP-driven chlorophenols, in addition to PCP, are also conjugated with glucose.

**Key words :** *PCP, glucose conjugate, tetrachlorocatechol, chlorophenols*

---

\*서울대학교 농업생명과학대 농화학과

Department of Agricultural Chemistry, College of Agricultural & Life Sciences, Seoul National University, Suwon, Korea.

## I. 서 론

생체 내로 吸收, 移行된 농약은 가수분해, 산화 및 환원반응 등 phase I 반응에 의해 1차적으로 분해, 轉換된다.<sup>1,2)</sup> 이러한 반응중 가장 대표적이라 할 수 있는 산화반응의 경우 약제는 mixed function oxidase(MFO) 등 효소에 의해 모화합물보다 대부분의 경우 독성이 감소되고 極性은 증가된 대사물로 전환된다. 농약의 安全性評價를 위한 대사연구에서 主 관심의 성분은 母化合物과, 효소/비효소적으로 생성된 모화합물의 毒性分解産物(terminal residues)이었으나, 최근에는 後發의 代謝過程에서 생성되는 conjugates와 非抽出性 殘留成分(bound residues, non-extractables)의 생성, 분해 및 생리적 기능 등에 관한 연구가 다양하게 수행되고 있다.<sup>3-8)</sup> 특히 conjugates의 경우 수용성이라는 이유로 殘留分析이나 毒性評價에서 배제되고 있으나 생체 내에서 생성되는 양이 매우 많고, 화학적으로 불안정하여 毒性異物質을 항시라도 遊離할 수 있다는 주장도 제기되고 있다.<sup>9,10)</sup>

농약의 대사시험에서 水溶性分劃에 존재하는 conjugates의 확인은 천연에 존재하는 수많은 수용성 방해성분, conjugates의 화학적 불안정성, 분자량이 비교적 큰 미량의 conjugates구조를 同定할 수 있는 기술의 부족 등의 이유로 많은 어려움이 있어 왔다. 대개의 경우 수용성대사물에 glucosidase, peptidases, sulfatase 등의 효소나, 산, 알칼리 등을 처리하여 conjugates가 가수분해되는 정도로부터 conjugates를 定性的으로 평가하거나 이때 conjugates에서 유리되는 生體異物質을 확인하여 구조를 예측하는 등 간접적인 방법으로 그 구조에 관한 정보를 얻어 왔다.<sup>11-14)</sup>

Glucose conjugates의 경우에도 수많은 약제들이 glucose와 conjugation 반응을 하고, 식물에서 分離되는 천연의 glucoside가 계속 同定될 뿐만 아니라 glycosylation 반응에 관련된 生化學的인 情報가 축적됨에 따라 많은 진전이 있었다.<sup>2,3,9,15)</sup> 주로 수용성의 대사분획에  $\beta$ -glucosidase를 처리하여 間接적으로 식물체 내에서 glucose conjugates의 존재를 예

측하거나, 이 반응에 관여하는 炭水化合物은  $\beta$ -glucose라고 보고하고 있다.<sup>3,12,15)</sup> 또한 glucose conjugates를 추출하여 부분적으로 정제한 다음 加水分解하여 aglycon과 glycon을 분석하여 직접적이지는 않지만 glucose conjugates의 구조를 예측하였다.<sup>13)</sup>

水系를 汚染시키는 페놀류를 대표한다고 할 수 있는 PCP는 현탁배양세포계에서 매우 빠르게 수용성대사물로 전환되고 반응초기의 대사물은 대부분 glucose conjugates( $\beta$ -anomer)로 연구, 보고한바 있다.<sup>16)</sup> 본 연구에서는 glucose conjugates의 구조를 同定하는 첫 단계로 대량세포배양계에서 glucose conjugates를 분리, 정제하고 나아가 이것의 aglycon과 glycon을 분석, 확인하여 glucose conjugate의 구조 확인에 필요한 정보를 확보하고자 하였다.

## II. 材料 및 方法

### 가. 材料

#### 1. 試藥 및 機器

분리 및 정제용 충전제로는 Amberlite XAD-2 (Rohm and Haas)와 Sephadex LH-20 (Pharmacia Chemicals), Florisil(Floridin)를, TLC는 Merck社의 Silicagel HF254 TLC plate(precoated, 250 $\mu$  thick)와 Silicagel HF254 PTLC plate(precoated, 2mm thick)를, 페놀류의 methyl化는 p-toluenesulfonylmethyl nitrosoamide(Aldrich)를 사용하였으며, 이외의 추출, 정제 용매와 현탁배양에 사용한 시약은 전부와 같다.<sup>16)</sup> 기타 標準物質로 사용한 2,3,5,6-tetrachloroanisole (TeCA, 98%), 2,3,4,5-TeCA(98%), Tetrachlorocatechol(98%), 2,3,4-trichlorophenol (TCP, 99%), 2,4,6-TCP(99%), 2,3,6-TCP(99%), 2,4,5-TCP(99%), 2,3,5-TCP(99%)등은 Aldrich社에서, 2,3,4,6-tetrachlorophenol(TeCP)는 일본 동경화성社에서 각각 구입하였다.

동위원소 측정에는 Berthold Model BF-220-23 TLC scanner와 Beckman Model LS100C LSC을, glucose conjugates분리용 HPLC는 Pye Unicam Model 4000을, aglycon분석은 Hewlett Packard Model 5890을, glycon분석은 HP5971A MS검출기가

부착된 GC/MS를 각각 사용하였다.

2. Polychlorinated phenols(PCPs)와 糖의 誘導 體化

Ether에 용해시킨 p-toluenesulfonylmethylnitrosoamide를 ethanolic KOH용액에 滴下시키고 이때 발생되는 diazomethane을 이용하여 PCPs를 methyl화시켰다. 메틸화된 PCPs의 GC/MS spectra로부터 PCPs가 methyl화되고([M-CH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 페놀화합물이며([M-CH<sub>3</sub>-CO]<sup>+</sup>), 염소 수에 따라 다르게 나타나는 abundance effect도 M<sup>-</sup> 등 주요 peak부근의 intensity를 통해 확인할 수 있었다.

α-와 β- form의 D-glucopyranose pentaacetate는 pyridine과 sodium acetate를 각각 촉매로 하여 glucose와 acetic anhydride를 반응시켜 개별적으로 얻었으며, mannose, arabinose, fructose 및 galactose는 유리vial에서 acetic anhydride/pyridine(9 : 1, v/v)와 반응시키고 TLC로 정제하여 그 anomeric mixture를 표준품으로 하였다.

3. 懸濁培養 및 C-14 PCP處理

대두(*Glycine max* Merr.)와 벼(*Oryza sativa* L.) cell의 현탁배양 조건은 전보와 같다.<sup>16)</sup> 다만, 배양 용기를 2L 삼각플라스크로 교체하였으며 여기에 배양액 400ml와 cell 20g을 첨가하여 현탁배양 하였다. 배양액중 PCP의 농도가 1.0ppm, 총방사능은 2.0 μCi가 되도록 대두는 계대배양 5일째, 벼는 8일째에 각각 PCP를 처리하였다.

나. 方法

1. Glucose conjugates 抽出

C-14 PCP를 48시간 처리한 다음 cell을 수확하여 400ml의 chloroform/methanol/water (9.6 : 19.2 : 73.8, v/v)용액을 가해 현탁시키고, waring blender로 5분, 초음파분쇄기로 10분 등 2회 연속 추출하였다.<sup>13,17,18)</sup> 추출액을 200ml로 농축하고 같은 양의 dichloromethane으로 2회 분배하였다. 수용액 층의 pH를 3.0으로 조절한 다음 ethyl acetate 300ml씩 2회, 1-butanol 200ml씩 2회 연속 추출하였다. 각 추출액

의 방사능분포 및 chromatography개요는 Fig. 1과 같다.

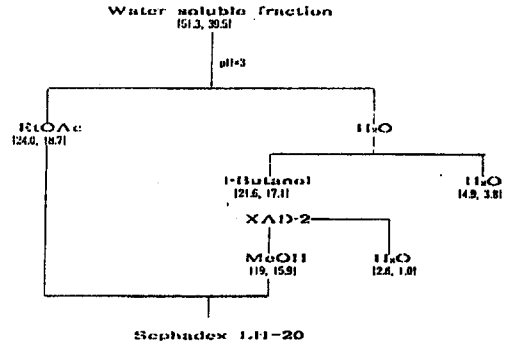


Fig. 1. Extraction and isolation of the major water soluble metabolites of PCP. Numbers in brackets indicate percent radioactivity recovered from soybean (the first number) and rice(the second number) cell suspension cultures.

2. Glucose conjugate의 chromatography

XAD-2 column(2.2 X 45 cm)에 1-butanol 추출물을 농축하여 가하고 분당 5.0ml의 속도로 증류수 400ml와 methanol 600ml로 연속 용출하였다. XAD-2의 methanol 용출액과 대량배양에서 얻은 ethylacetate 추출액을 합하여 농축한 다음 Sephadex LH-20 column(1.2 X 95cm)에서, 그리고 여기서 얻은 crude glucose conjugates를 Sephadex LH-20 column (1.2 X 195cm)에서 연속 정제하였다. 이때 TLC와 LSC를 이용하여 용출부위를 확인하였다.

2회 Sephadex LH-20 chromatography한 glucose conjugate(s) 분획을 PTLC하였다. Conjugates로 확인된 분획을 모아 HPLC(용매계 : methanol/0.5M acetic acid, 6 : 4; column : Lichrosorb/ RP18, 10μm (25cm ~ 4.6mm id)) 하였다. 주입한 대부분의 방사능이 용출되는 것으로 확인된 HPLC 분획(RT; 14-16 min)에 2~3배 량의 증류수를 첨가하였다. Methanol은 감압농축하고, 나머지 잔류물은 동결건조하여 제거한 후 재차 TLC한 것을 glucose conju-

gate(s) 분석용으로 하였다. 한편 수도체(진보 참조)에서 추출한 glucose conjugates는 연속TLC방법으로 부분정제하여 분석에 사용하였다.

3 Glucose conjugates 分析

(1) Aglycons

최종 정제한 glucose conjugates 1~2만 dpm을 취해 질소가스를 이용하여 용매를 제거시키고 sodium acetate buffer에 조제한 β-glucosidase(1mg/ml) 500μ를 가하고, 28°C에서 12시간 처리하였다. 반응이 끝난 다음 250μ의 물을 첨가하고 500μ의 diethylether로 3회 추출하였다. Ether 추출액 중 일부는 TLC(용매계 : n-hexane/diethylether/formic acid, 70 : 30 : 4)로 aglycon을 조사하고, 나머지는 표준 PCPs와 같은 방법으로 methyl化 시켰다. 소형

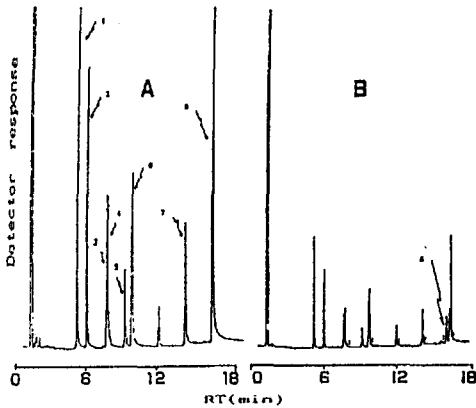


Fig. 2. Gas chromatograms of methylated PCPs(A) and methylated PCPs plus TCC(B). Peak identification: (1) 2,4,6-TCP, (2) 2,3,6-TCP, (3) 2,4,5-TCP, (4) 2,3,4-TCP, (5) 2,3,4-TCP, (6) 2,3,4,6-TeCP+2,3,5,6-TeCP, (7) 2,3,4,5-TeCP, (8) TCC, and (9) PCP. Chromatographic conditions: column, 25m×0.2mm id HP-1, 0.33μm film thickness; temperature programming(°C), hold at 140~ for 2min, rate, 2°C/min(140~ to 170°), hold at 170~ for 5 min; injector, split mode(50 : 1).

정제용 column(1.0 × 15cm)에 활성화시킨 Florisil 1.2g을 채우고 소량의 petroleum ether에 용해시킨 methyl化 aglycons를 가했다. 용리액(diethyl ether/petroleum ether, 6 : 94) 10ml로 용출시켜 ECD가 부착된 GLC로 분석하였다. GC/MS로 구조가 확인된 methyl化 PCPs 표준물질의 RT(Fig. 2)와 비교하여 glucose conjugates의 aglycons을 분석하였다.

(2) Carbohydrate moiety 分析

Glucose conjugate(s)를 2N HCl로 가수분해시킨 후 수용성분획을 凍結乾燥하고 標準糖과 동일한 방법으로 acetyl化 시켰다. 반응용매를 질소가스를 이용하여 제거하고 남은 乾固物을 chloroform에 재용해한 후 증류수로 2회 씻어 주었다. 농축된 반응물을 HPLC(용매계 : n-hexane/isopropanol, 95 : 5 ; column: Lichrosorb/si, 10μm(25cm × 4.6mm id); 용출속도: 1.9ml/min)로 정제하였다. Carbohydrate moiety 분획(RT; 7-13 min)을 FID가 부착된 GLC로 분석하거나 GC/MS로 구조를 확인하였다.

(3) Glucose conjugates의 HPLC

개별 glucose conjugate를 얻기 위해 Lichrosorb/ RP18, 10μm(25cm × 4.6mm id), μBondapak/C18, 10μm(30cm × 4.6mm id), BakerBond/C18, 5μm(25cm × 4.6mm id), 및 Zorbax/ODS, 5μm(25cm × 4.6mm id) 등 逆相 column과 여러 용매계를 사용하여 glucose conjugates의 HPLC 분리를 시도하였다. 용출액의 방사능 조사로 확인된 분획중 glucose conjugate의 aglycon을 (1)과 같은 방법으로 분석하였다.

III. 結果 및 考察

가. Glucose conjugates의 精製

대량배양한 대두 및 벼의 cell 抽出物 수용성분획 중 1-butanol(water sat'd)추출액을 XAD-2 chromatography하는 과정은 수용성이 강한 불순물을 제거하는데 필수적인 것으로 판단되었다. 연이어 conju-

gate(s) 분획을 Sephadex LH-20 chromatography (Fig. 3), preparative TLC 및 HPLC 등으로 精製하였다. 이러한 추출, 분배방식은 천연의 glucoside, glucuronide 및 농약의 conjugates 정제에 사용되는 방법중 한가지이기는 하지만 PCP glucose conjugates의 경우에도 매우 효율적인 정제 수단임을 알 수 있었다.

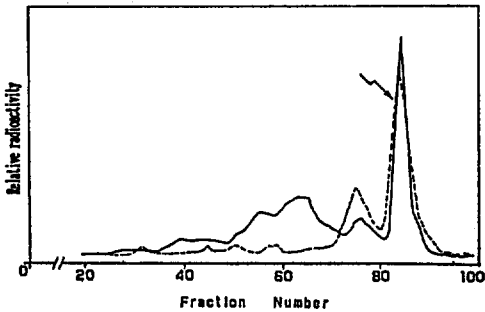


Fig. 3. Partial purification of glucose conjugate(s) from soybean(—) and rice (·····) cells on a Sephadex LH-20 column. Arrow indicates glucose conjugate(s), as proved by TLC and HPLC.

나. Aglycons의 동정

정제한 glucose conjugate(s)와 수도체에서 分離한 glucose conjugate(s)를 β-glucosidase로 가수분해하여 용매분배로 얻은 aglycons을 TLC로 調査하였다 (Fig. 4). PCP를 비롯한 대부분의 aglycons은 R<sub>f</sub>값이 0.5에 近接되어 개별 aglycon 확인은 어렵지만 TCC를 비롯한 몇 개의 aglycon이 존재함을 알 수 있었다. 개별 aglycon을 확인하기 위해 methyl化한 aglycons를 정제하여 GLC하였다(Fig. 5). 표준 methyl化된 PCPs(Fig. 2 참고)와 RT를 비교한 결과 벼 cell(Fig. 5의 A)에서는 PCP, Tetrachlorocatechol (TCC), TeCP isomer, 및 일부 TCP 등이, 수도체 (Fig. 5의 B)의 경우는 2,4,5-TCP, PCP, 2,4,6-TCP 와 TCC 등이 각각에서 분리한 glucose conjugates의 aglycon임을 알 수 있었다. 그리고 대두의 경우 TCC가 많기는 하였지만 aglycon의 종류는 벼와 차

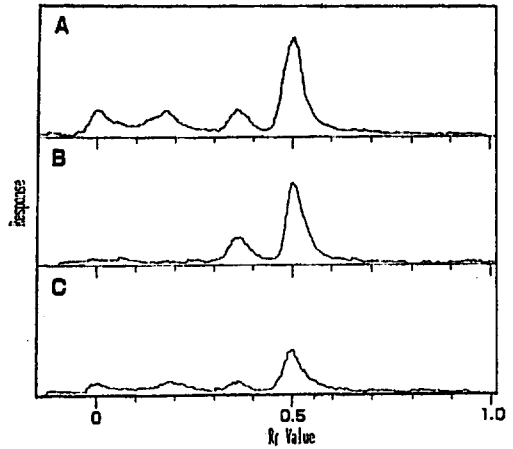


Fig. 4. TLC radiograms showing aglycons released from glucose conjugates by β-glucosidase treatment. Glucose conjugates were isolated from soybean(A), rice(B) cells and rice plants(C).

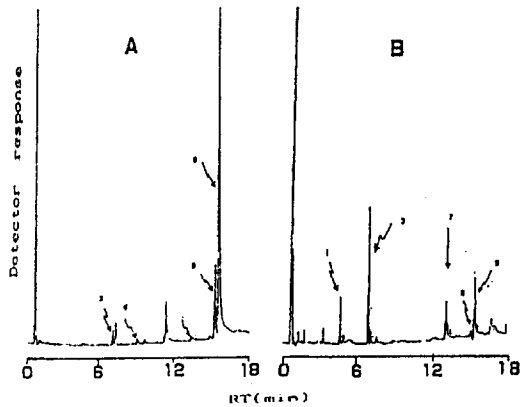


Fig. 5. Gas chromatograms showing aglycons obtained through enzymic hydrolysis and methylation of glucose conjugates from rice cells(A) and rice plants(B). See figure 2 for peak identification and chromatographic conditions.

이가 없었다. 여기서 재고해야 할 사실은 TCC로 확인된 aglycon이 TCC 분자내 2개의 hydroxyl基 中 하나가 이미 methyl化되었을 가능성을 배제할 수

없다는 점이다. 비록 PCP를 장기간 처리한 벼 및 상추에서 이러한 TCC가 생성됨을 보고한 경우는 있으나, Schafer 등의<sup>13)</sup> 결과, 즉 TCC-glucose conjugate와 이것의 aglycon인 TCC의 TLC 성질을 참고할 때 본 연구에서 분리한 glucose conjugates는 methyl化되지 않은 TCC와 conjugation된 것으로 추정되었다.

이와 같이 glucose conjugates가 aglycon이 다른 대사산물로 혼합함을 알 수 있어 여러 종류의 HPLC column을 이용하여 개별 conjugate의 분리를 시도하였다. 그 결과 BakerBond/C<sub>18</sub> column에서

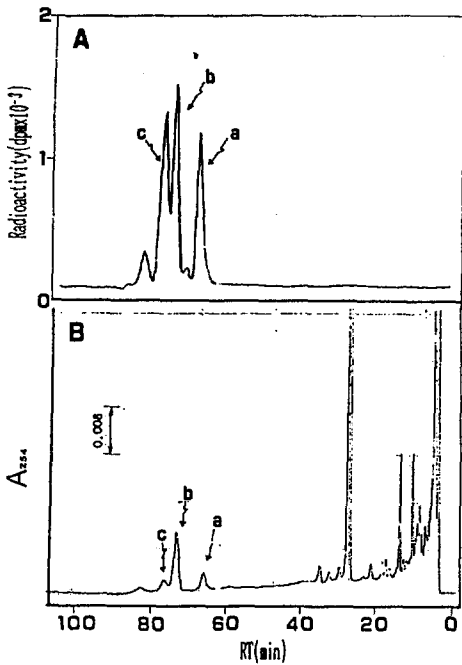


Fig. 6. HPLC analysis of glucose conjugates formed at early stage of metabolism of PCP in rice cells. Chromatographic conditions: BakerBond/C<sub>18</sub>, 5 $\mu$ m(25cm  $\times$  4.6mm id); solvent system, 0.5M acetic acid, methanol(1/1); flow rate, 0.6ml/min. The conjugates were detected either by a LSC(A) or a UV detector(B).

RT가 다른 3개의 peaks를 UV 및 용출액의 방사능 조사로 확인할 수 있었다(Fig. 6). 벼와 대두에서 분리한 conjugates는 서로 비슷한 분리 형태를 확인할 수 있어 각 분획(Fig. 6의 a, b 및 c)에 대하여 aglycon을 확인한 결과 벼에서 얻은 분획 a (RT; 65~67분)의 aglycon은 TCC로, 분획 c (RT; 76~77분)의 경우는 PCP임을 각각 확인하였다(Fig. 7). 그리고 분획 b (RT; 73~74분)의 aglycon(s)는 GLC에서 2,3,4,6-와 2,3,5,6-TeCP를 분리하지 못하여 개별 확인은 곤란하지만 TeCP isomers로 판단하였다.

이상의 결과는 glucose conjugates가 화학적으로 불안정하고<sup>9)</sup> TeCP등 PCP의 유용성 대사물도 대부분 生理活性이 높다는<sup>19,20)</sup> 것을 상기할 때 PCP가 수용성대사물로 전환되는 양상만을 고려하고 PCP의 安全性을 평가하는 것은 다소의 무리가 있음을 시사한다.

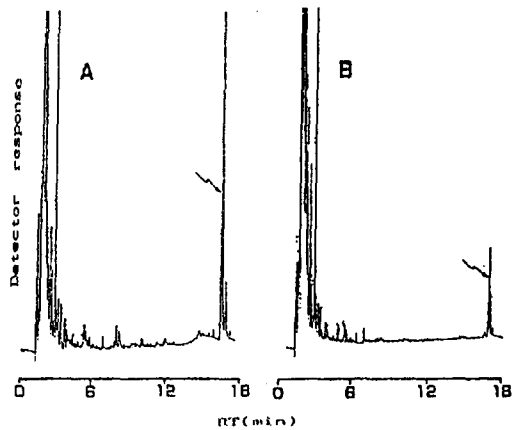


Fig. 7. GLC peaks corresponding to TCC(arrow in A) and PCP(arrow in B) enzymatically released from the fraction a and the fraction c shown in figure 6. See figure 2 for chromatographic conditions.

다. Carbohydrate moiety 同定

Glucose conjugates를 가수분해한 다음 遊離된 糖을 TMS化 또는 acetyl化 유도체를 만들어 GC/

MS로 정성적인 확인을 하거나, 정량하여 conjugates 구조를 간접적으로 추정하는 기본자료로 채택하고 있다.<sup>9,17)</sup> 본 연구에서도 glucose conjugates의 glycon(carbohydrate moiety)의 확인은 aglycons 분석에 사용한 것과 동일한 glucose conjugates를 HCl로 가수분해하고 이때 유리된 glycon을 acetyl화한 다음 GLC와 GC/MS로 조사하였다. 이 결과 GLC 분석에서는 버의 glucose conjugates의 carbohydrate moiety는 모두 glucose로 判斷되었으며(Fig. 8), 대두의 경우도 동일하였다. 그러나 糖 확인에 사용한 標準糖은 각각  $\alpha$ -와  $\beta$ -form으로 되어 있고 GLC 분석에서 arabinose를 除外하고는 RT가 유사하여 glucose 이외의 糖이 conjugation반응에 관여하는지를 정확히 判斷하기 위해서는 GLC 이외의 확인이 필요하였다.

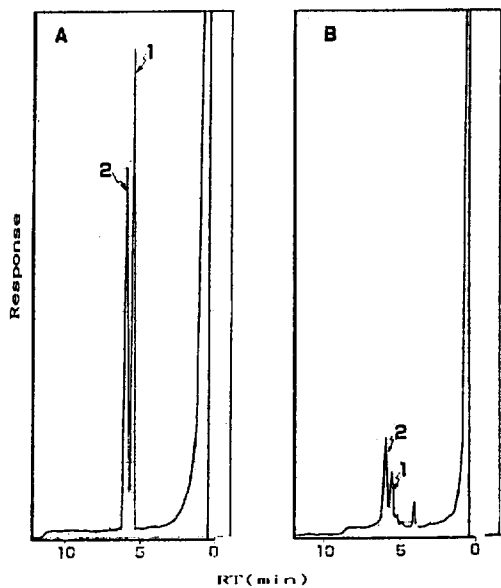


Fig. 8. Acetylated glucose(A) and carbohydrate moiety(B) obtained via acidic hydrolysis and acetylation of glucose conjugates, as analyzed by using GLC. Peak identification: (1)  $\alpha$ -D-glucopyranose pentaacetate, (2)  $\beta$ -D-glucopyranose pentaacetate.

GLC분석에 사용한 것과 동일한 peracetyl화된 glycon을 GC/MS로 분석하였다(Fig. 9). GC/MS분석에서 표준품인 acetyl화된 glucose의  $\alpha$ -와  $\beta$ -form을 분리하지 못했으나 carbohydrate moiety는 glucose 표준품과 MS spectrum이 일치하였다. 각 mass fragment는 pyranose ring이 깨지고(m/e 242), acetyl기(m/e 43)가 연속적으로 떨어지는 것으로 assign할 수 있었다. Glucose conjugates의 carbohydrate moiety는 mannose, fructose 및 galactose 등과 MS spectra 상에서는 거의 유사하였지만 상기 GLC 결과와 함께 생각하여 glucose로 判斷되었으며 glucose를 除外한 다른 單糖류는 GLC와 GC/MS에서 발견되지 않는 것으로 보아 PCP의 conjugation 반응에 관여하지 않는 것으로 判斷되었다.

Glucose는 農藥의 conjugates에서 가장 頻繁히 확인되고 있다. Cell에서 糖供與體인 UDPG의 有效度(availability)가 높고, 또 glycosyltransferase 대부

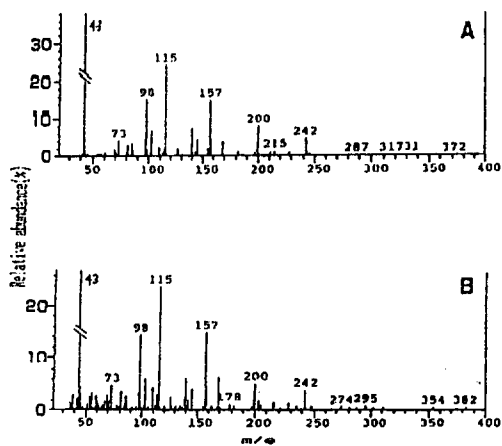


Fig. 9. GC/MS spectra showing the practically identical fragment of acetylated glucose(A) and acetylated carbohydrate moiety(B) described in figure 8. Chromatographic conditions: column, 10m $\times$ 2.65mm id HP-1, 0.53 $\mu$ m film thickness; temperature programming( $^{\circ}$ C), hold at 100 $^{\circ}$  for 5min, rate, 10 $^{\circ}$ C/min(100 $^{\circ}$  to 200 $^{\circ}$ ~), hold at 200 $^{\circ}$  for 10min.

분은 UDPG에 높은 특이성을 갖기 때문에 생체 내에서 약제의 glucose conjugation 반응에서 1次 sugar source는 glucose인 것으로 보고되어 있다.<sup>9)</sup> 그러나 gentibioside 등 complex conjugates 형성 시에는 glucose 이외에도 rhamnose, apiose 등의 糖도 일부 관여가 확인되고 있다.

#### IV. 要 約

水稻栽培環境 및 懸濁培養細胞 조건에서 생성된 PCP의 水溶性代謝物을 확인에 필요한 정보를 확보하기 위해서 이를 여러 chromatography로 충분히 정제한 다음 이것의 aglycons과 glycon(前報에서 β-glucose conjugates인 것으로 추정)을 GC/MS로 분석, 동정하였다.

Glycon, 즉 대사물의 polar부위(endocon)가 glucose임을 확인하므로써 전보에서 효소특이성을 통해 추론한 것을 입증할 수 있었다. 또한 conjugates의 source에 따라 다르기는 하였지만 배양세포에서의 aglycon(exocon)는 주로 PCP, tetrachlorophenol이성체 및 tetra chlorocatechol을, 그리고 수도재배환경에서는 이 외에도 2,4,5- 및 2,4,6-trichlorophenol을 각각 확인할 수 있었다. 이러한 사실은 PCP glucose conjugates의 구조는 PCP뿐만 아니라 이것의 대사물인 Polychlorinated phenols가 개별적으로 glucose와 β-anomeric conjugation을 이루고 있는 것으로 판단할 수 있었다. 그리고, 대사초기에 이미 여러 종류의 aglycon이 생성되는 것으로 보아 PCP자체도 빠르게 PCPs로 전환되는 것을 알 수 있었다.

#### 參考文獻

1. Murthy N. B.K., D.D. Kaufman and G.F. Fries. (1979). Degradation of pentachlorophenol in aerobic and anaerobic soil. J. Environ. Sci. Health. **B14** : 1-14
2. Paulson, G.D. and R.H. Hamillton. (1978). Xe-

- nobiotic metabolism in higher plants : In vitro tissue and cell culture techniques. ACS Symp. Ser. 97. American Chemical Society, Washington.
3. Kaufman, D.D., Still, G.G, Paulson G.D., and Bandal S K. (1976). Bound and conjugated pesticide residues : Pesticide conjugates - glycosides. ACS Symp. Ser. 29. American Chemical Society, Washington.
4. Kovacs M.F. (1986). Regulatory aspects of bound residues(chemistry). *Residue Rev.* **97** : 1-17.
5. Pillmoor J.B. and T.R. Roberts. (1985). Approaches to the study of non-extractable(bound) pesticide residues in plants, Progress in Pesticide Biochemistry and toxicology. **4** : 87-99.
6. Rouchaud J. and J.A. Meyer. (1982). New trends in the studies about the metabolism of pesticides in plants. *Residue Rev.* **82** : 1-35.
7. Sandermann H., D. Scheel, and Th. V.D. Trenck. (1983). Metabolism of environmental chemicals by plants-copolymerization into lignin. *J. Appl. Poly. Sci.* **37** : 407-420.
8. Scheel D., W. Schafer, and H. Sandermann. (1984). Metabolism of pentachlorophenol in cell suspension cultures of soybean(*Glycine max L.*) and wheat(*Triticum aestivum L.*). General results and isolation of lignin metabolites. J. Agric. Food Chem. **32** : 1237-1241.
9. Edwards V.T., A.L. McMinn and A.N. Wright. (1982). Sugar conjugates of pesticides and their metabolites in plants - Current status. Progress in Pesticide Biochemistry. **2** : 71-125
10. Lamourex G.L. and D.S. Frear. (1986). Current problems, trends, and developments in pesticide metabolism in plants in "Pesticide Science and Technology"(R. Greenhalgh and



- T. R. Roberts ed), Blackwell Scientific Publications, Oxford.
11. Arjmand M., R.H. Hamilton, and R.O. Mumm. (1978). Metabolism of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid. Evidence for amino acid conjugates in soybean callus tissue. *J. Agric. Food Chem.* **26** : 1125-1128.
  12. Casterline J.L., N.M. Barnett, and Y.Ku. (1985). Uptake, translocation, and transformation of pentachlorophenol in soybean and spinach plants. *Environmental Research.* **37** : 101-118.
  13. Schafer W. and H. Sandermann. (1988). Metabolism of pentachlorophenol in cell suspension cultures of wheat(*Triticum aestivum* L.) : Tetrachlorocatechol as a primary metabolite. *J. Agric. Food Chem.* **36** : 370-377
  14. Schuphan I., A. Haque and W. Ebing. (1984). Ecochemical assessment of environmental chemicals Part 1 : Standard screening procedure to evaluate chemicals in plant cell cultures. *Chemosphere* **13** : 301-313.
  15. Weiss U.M., P. Moza, I. Scheunert, A. Haque, and F. Korte. (1982). Fate of pentachlorophenol in rice plants under controlled conditions. *J. Agric. Food Chem.* **30** : 1186-1190.
  16. 김 필제, 박 창규. (1992). 大豆 및 벼懸濁培養중 Pentachlorophenol(PCP)의 水溶性代謝物 同定 : I. PCP glucose conjugates의 形成. *한국환경농학회지.* **11**(3) : 215-223
  17. Haque A., I. Scheunert, and F. Korte. (1978). Isolation and identification of a metabolite of C-14 labeled pentachlorophenol in rice plants. *Chemosphere.* **1** : 65-69.
  18. Sandermann H., D. Scheel, and Th. V. D. Trenck. (1984). Use of plant cell cultures to study the metabolism of environmental chemicals. *Ecotoxicol. Environ. Safety.* **8** : 167-182.
  19. Ruckdeschel G. and G. Renner. (1986). Effects of pentachlorophenol and some of its known and possible metabolites on fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* **51** : 1370-1372.
  20. Thomson D.L. and K.L. E. Kaiser. (1982). Quantitative structure-toxicity relationship of halogenated phenols on bacteria. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **29** : 130-136.