

## 멸균법이 atrazine의 분해과정에 미치는 영향

정규혁 · 오승민  
성균관대학교 약학대학

### Influence of Sterilization Methods on Atrazine Assimilation

Kyu-Hyuck Chung and Seung-Min Oh  
College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University

#### ABSTRACT

We investigated the influence of various known sterilization methods on atrazine assimilation. The present study was designed to investigate the effect of autoclaving, sodium azide and mercuric chloride treatment on the assimilation of atrazine in soil and sediment. The sterilization reactor treated with sodium azide resulted in  $^{14}\text{CO}_2$  generation and atrazine was rapidly disappeared from reactor through chemical reaction with sodium azide. These findings seem to indicate that sodium azide sterilization is not recommended for atrazine studies. In sample reactors autoclaved or treated with mercuric chloride,  $^{14}\text{CO}_2$  generation was not detected and most of the disappeared atrazine was found to exist as hydroxyatrazine. These results suggested that autoclaving or mercuric chloride treatment could be effective sterilization methods. However, chemical properties(pH and redox potential) of soil and sediment were altered by any of the sterilization methods applied. So it was suspected that these altered properties could affect distribution and mineralization of atrazine in soil and sediment. In addition, both autoclaving and mercuric chloride treatment have altered  $K_d$  values of hydroxyatrazine more significantly than those of atrazine. Consequently, although autoclaving and mercuric chloride treatment are effective sterilization methods, one must be careful in using them in practice as these methods may cause chemical degradation of both of atrazine and its metabolites and changes in chemical properties of soil and sediment. In conclusion, careful assessment of sterilization methods must be made for the degradation studies of chemicals in soil and sediment in order to minimize possible undesirable chemical degradation of sample and/or changes in physico-chemical properties of soil and sediment by the selected sterilization methods.

**Keywords :** Sterilization methods, Atrazine assimilation

## I. 서 론

최근 비점오염(non-point source)의 문제가 심각해 지면서 이들 오염물질에 대한 관심이 고조되고 있다. 농약은 사용량의 평균 70% 이상이 환경내에 분포되어 변화하면서 생태계에 영향을 미치는 대표적인 비점오염물질(non-point source pollutant)이다. Atrazine을 비롯한 triazine계 제초제는 난분해성일 뿐아니라 사용량이 증가되면서 하천수,<sup>1)</sup> 지하

수<sup>2)</sup> 및 토양<sup>3)</sup>에서 검출되는 등 환경오염과 인체 위해성의 우려가 높아지고 있다. 이에 따라 이들 제초제가 자연계에 노출된 후 거치게 되는 침전, 흡착, 휘산, 분해 등 물리화학적 및 생물학적 변화과정에 대해 많은 연구가 이루어지고 있다.

이러한 연구는 대부분 microcosm을 이용한 오염물질의 분포계수 및 생물학적 분해속도 측정과 분해산물 확인 및 분해경로 추적 등 다양한 실험을 통하여 조사되고 있다. 이들 실험에는 기본적으로 생물학적 분해과정과 화학적 분해과정을 구분하기 위하여 무생물 상태의 조건을 조성하는 것이 필요하게 된다. 환경 실험에서 이러한 목적으로 주로 이용되

\* 이 논문은 성균관대학교의 1995년도 석천연구비에 의하여 연구되었음.

는 멸균법으로는 고압증기 멸균,  $^{60}\text{Co}$  감마선 멸균, 가열멸균, 마이크로파 등의 물리적 방법과 propylene oxide, mercuric chloride, sodium azide, chloroform, antibiotics 등을 사용하는 화학적 방법이 있다.<sup>4)</sup> 이 중 고압증기 멸균법은 자연수나 토양을 배양액으로 이용하는 실험에서 대조실험으로 가장 흔히 사용되는 방법이다. Mercuric chloride는 단백질의 SH기와 결합함에 의해 살균작용을 나타내는 것으로 화학적 방법임에도 불구하고 다른 물리화학적 멸균법과는 달리 토양의 물리적 및 화학적 특성에 영향을 크게 미치지 않는 적절한 멸균법으로 알려져 있다.<sup>5)</sup> Sodium azide는 그람음성균의 성장을 억제시키므로 선충류(nematodes), 균류(fungi) 및 세균류(bacteria)를 사멸시키기 위하여 많이 쓰이는 방법이다.<sup>4,6-10)</sup>

최근 이들 멸균법이 오히려 오염물질의 분해과정에 직·간접적인 영향을 미칠 우려가 제기됨에 따라 Wolf 등<sup>11)</sup>은 멸균법이 토양의 물리화학적 특성에 미치는 영향에 대해 조사한 바 있고 Fletcher와 Kaufman<sup>5)</sup>은 멸균하지 않은 토양과 고압증기 멸균한 토양 및 potassium azide, mercuric chloride 또는 ethylene oxide로 처리한 토양 중의 3-chloroaniline의 분해에 대해 조사하였으며 Ro 등<sup>12)</sup>은 sodium azide가 atrazine과 화학반응을 일으켜 실험결과의 해석에 오류를 가져올 수 있다고 보고한 바 있다.

따라서 멸균법을 미리 검토하여 실험하고자하는 오염물질에 대해 영향이 적은 멸균법을 미리 검토 선정하여 오염물질의 microcosm을 이용한 연구에 적용하는 것이 필요하다. 본 조사에서는 triazine계 제초제의 연구에서 사용될 수 있는 적합한 멸균법을 검토할 목적으로 두 종류의 토양 즉 점토가 많이 함유된 침전토와 silt로 주로 구성된 표층토를 채취하여 slurry상태로 만든 후 화학적 멸균법인 sodium azide법 및 mercuric chloride법과 물리적 멸균법인 고압증기 멸균법을 택하여 멸균시키고 여기에  $^{14}\text{C}$ 로 표지된 atrazine과 표지되지 않은 atrazine을 함유시킨 후 호기성 조건하에서 10주간 배양하면서 반응조내의 물리화학적 특성 변화를 조사하는 한편 이들 멸균법이 atrazine의 분해과정에 미치는 영향을 조사 비교하였다.

## II. 실험방법

### 1. 시료 토양의 채취 및 반응조의 조제와 배양

실험에 사용한 토양은 경기도 수원시 천천동에 소

재한 일월저수지 주변의 0~30 cm 깊이의 표층토 및 물과 토양사이에 퇴적되어 있는 침전토를 채취하여 실험에 사용하였다. 채취한 토양의 pH, redox potential, 유기물질 함량, 수분함량, 입자크기 등의 특성을 실험에 사용하기 전에 조사하였다. 토양 중에 함유된 미생물 수는 물과 토양을 혼합하여 조제한 slurry를 잘 흔들어서 약 15분간 현탁시킨 다음  $10^5$  농도의 토양이 물 중에 함유되도록 단계적으로 희석하여 측정하였다. 1 ml의 희석된 현탁액을 파이펫으로 취하여 petri dish에 넣고 한천배지로 덮은 다음  $25^\circ\text{C}$ 에서 4일간 배양하였다. 4회 반복 실험하여 평균 미생물 수를 측정하였다.

Slurry를 조제하기 위한 혼합비율은 균등한 현탁상태를 유지할 수 있는 최대 비율을 선택하였는데 물과 침전토는 10:1, 표층토는 18:1로 혼합하여 호기성 조건에서 미리 배양하여 평형상태가 되도록 한 후 사용하였다. 멸균 slurry는 sodium azide법, mercuric chloride법 및 고압증기 멸균법으로 각각 멸균시켰다. 즉 1% sodium azide<sup>11)</sup> 또는 0.84 mM mercuric chloride<sup>5)</sup>를 각각 넣어 멸균하거나 103.4 kPa,  $121^\circ\text{C}$ 에서 2시간씩 3번 즉 1일, 2일, 4일에 고압증기 멸균으로 멸균하여 사용하였다.

방사능이 표지되지 않은 atrazine과 고리부분이 방사능으로 표지된 atrazine(specific activity;  $4.5 \mu\text{Ci}/\text{mmole}$ ) 1  $\mu\text{Ci}$ 를 소량의 methanol 1 ml에 녹인 다음 반응조에 넣고  $\text{N}_2$  gas로 methanol을 증발시키고 멸균하지 않은 또는 각각의 멸균법으로 멸균한 slurry를 가하여 0.01  $\mu\text{Ci}$   $^{14}\text{C}$ -atrazine과 10 ppm의 방사능으로 표지되지 않은 atrazine이 함유되도록 하였다. 이 때의 minimum dpm(disintegration per minute)은  $2.2 \times 10^6$ 이었다. 반응조 내의 slurry 표면에  $\text{CO}_2$ 가 함유되지 않은 공기가 접촉할 수 있도록 하여 실내 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 배양하였다.

### 2. 방사능의 측정

배양기간 동안 생성되는  $\text{CO}_2$ 는 20 ml의 1N NaOH용액을 함유한  $\text{CO}_2$  포집병에 포집되도록 하였다.  $\text{CO}_2$  포집병은 2~3일에 한 번씩 교체하였고  $^{14}\text{CO}_2$ 가 포집된 시료 1 ml를 취하여 scintillation vial에 옮기고 여기에 10 ml의 Ultima Gold™ LSC cocktail을 첨가한 후 liquid scintillation spectrophotometer (Packard Tri-Carb<sup>®</sup> 1500)로 포집된  $^{14}\text{CO}_2$ 의 방사능을 측정하였다. 모든 시료는 external standard method를 이용한 quench correction으로 50분까지

측정하였다.

### 3. Atrazine 및 hydroxyatrazine의 추출 및 농도 측정

반응조내의 slurry에 함유된 atrazine을 추출하기 위해 먼저 완전히 혼합된 slurry 5 ml을 취하고 methanol 5 ml를 넣어 5분간 진탕하여 재현탁시켰다. 여기에 5 ml의 포화 NaCl 용액과 25 ml의 D.I. water를 넣은 다음 methylene chloride 5 ml로 3회 추출하였다. Methylene chloride 추출액을 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 무수물로 탈수시킨 다음 40°C에서 증발 건조하였다. 이 잔사를 methanol과 물 혼합액(44:55, HPLC grade)에 다시 녹여 HPLC 분석용 시료로 하였다.

한편 hydroxyatrazine을 추출하기위해 완전히 혼합한 slurry 10 ml을 취하고 95~98°C의 끓는 물에서 25~30초간 가온한 다음 3,000 rpm에서 3분간 원심 분리하였다. 상청액을 취한 다음 잔사에 5 ml의 D.I. water를 가하여 재현탁시키고 동일한 방법으로 추출하였다. 마지막으로 잔사에 0.5M HCl 5 ml를 가하여 재현탁시켜 동일한 방법으로 추출한 다음 0.2N NaOH 용액으로 추출액의 pH를 7.2로 조정하였다. 상청액을 0.45 µm syringe filter (Nalge)로 여과하고 Sep-Pak C<sub>18</sub> cartridge(Waters, No. 20515)에 통과시킨 다음 methanol 2 ml로 용출하여 얻은 분획을 HPLC 분석용 시료로 하였다.

시료는 HP model 1090 Series II(Hewlett Packard Co.) HPLC로 측정하였다. 시료 주입량은 10~100 µl로 하였으며, 이동상은 methanol 농도를 45%에서 65%까지 6분간 물과 gradient하여 사용하였고 유속은 0.7 ml/min으로 하여 240 nm에서 측정하였다. Column은 atrazine과 dealkylated 분해산물 및 그의 hydroxy체들이 모두 분리되는 Nova-Pak C<sub>18</sub> Radial-Pak Cartridge column(4 µm, 5×100 mm, Waters)을 사용하였다.

### 4. Atrazine과 hydroxyatrazine의 분포계수(K<sub>d</sub>) 측정

실험에 사용한 표층토 및 침전토에 대한 atrazine과 hydroxyatrazine의 흡착성을 알아보기 위해 2~10 mg/l농도의 atrazine과 4~14 mg/l농도의 hydroxyatrazine이 함유한 두 종류의 토양 slurry 50 ml를 shaker table(Fisher Scientific)에 놓고 24시간 동안 진탕하여 농도가 평형상태에 도달하도록 한 후 물 층의 atrazine 및 hydroxyatrazine 농도를 측정하였다. 처음에 가한 atrazine 및 hydroxyatrazine 농도와 24시간 후 물 층 농도의 차를 계산하여 표층토 또는 침전토에 흡착된 농도를 구하였다. 실험은 2회 반복하여 평균치를 사용하였다.

물 층에 함유된 atrazine 및 hydroxyatrazine의 농도는 10 ml의 시료를 원심분리한 상청액 5 ml를 terbutylazine을 함유한 내부표준용액 100 µl과 혼합하여 앞에서 기술한 바와 같이 Sep-Pak C<sub>18</sub> cartridge(Waters, No. 20515)를 이용한 solid phase extraction과 HPLC를 이용하여 측정하였다.

## IV. 실험결과 및 고찰

평균법이 오염물질의 분해과정에 미칠 수 있는 영향으로는 평균 정도의 차이와 아울러 반응조내 물리화학적 특성 변화에 따른 오염물질의 분해과정 또는 오염물질 및 생성된 분해산물의 흡착성에 미치는 변화 등을 예상할 수 있다. 본 실험에서는 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 방출량, atrazine 및 분해산물의 농도와 흡착 분포계수의 변화를 조사하였다. 먼저 실험에 사용하기 위해 채취한 표층토 및 침전토의 물리화학적 특성을 측정한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 표층토는 주로 silt로 구성되어 있고 침전토는 주로 점토로 구성되어 있으며 표층토보다 침전토의 유기물질 및 수분함량과 미생물수가 높게 나타났다.

**Table 1.** Physicochemical and Biological Characteristics of Surface Soil and Sediment Samples

	pH	organic matter cont.(%)	moisture cont.(%)	particle size(%)		microorganism population (× 1,000/g)
Surface Soil	6.8	3.32	19.7	sand	39.4	330
				silt	48.9	
				clay	11.7	
Sediment	6.3	5.56	38.5	sand	12.5	1,600
				silt	41.7	
				clay	45.8	

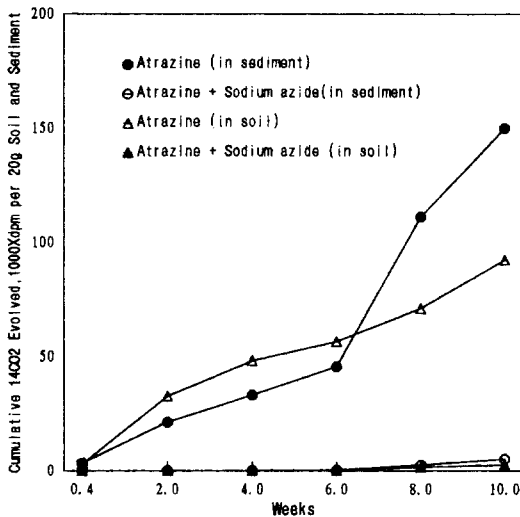
**1. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 방출량의 변화**

Atrazine이 무기질화되면 궁극적으로는 NH<sub>3</sub> 및 CO<sub>2</sub>와 같은 최종 분해산물을 생성하게 된다. Skipper 등<sup>12)</sup>은 <sup>14</sup>C로 고리부분이 표지된 atrazine과 사슬 부분이 표지된 atrazine을 사용한 실험에서 고리 부분의 분해는 화학적 과정보다는 생물학적 과정에 의해 이루어진다고 하였으며 atrazine이 hydroxyatrazine으로 서서히 변화된 후 미생물이 hydroxyatrazine의 고리를 공격하는 분해가 더욱 진행되어 최종산물로서 CO<sub>2</sub>가 생성된다고 하였다. 본 실험에서는 atrazine의 생물학적 분해에 의해 생성되는 CO<sub>2</sub>를 확인하기 위해 고리부분이 표지된 <sup>14</sup>C-a-

trazine을 사용하였다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 평균하지 않은 두 종류의 slurry를 함유한 반응조 모두에서 배양기간이 경과함에 따라 방출된 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 양이 증가하는 것으로 보아 atrazine을 분해하는 미생물이 slurry 중에 존재하는 것으로 판단되었다. 특히 표층토보다 미생물 수가 많은 침전토를 함유한 반응조에서 배양 10주 후에 처음 가한(input) 방사능(<sup>14</sup>C-activity)의 약 7%에 해당하는 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>가 생성되어 표층토를 함유한 반응조에서보다 atrazine의 분해작용이 활발하게 일어나는 것으로 나타났다.

Mercuric chloride법 및 고압증기 멸균법으로 처리한 반응조에서는 Table 2에서 보는 바와 같이 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>의 방출이 나타나지 않아 이들 방법을 atrazine 분해 미생물을 완전 멸균시킬 수 있는 방법임을 알 수 있었다. 그러나 sodium azide법으로 처리한 경우에는 배양 2주 후부터 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>가 미량 검출되기 시작하여 10주 후에는 두 종류의 토양을 함유한 반응조에서 처음에 가한 방사능(<sup>14</sup>C-activity)의 약 0.2%(침전토) 및 0.1%(표층토)가 각각 측정되었다. Wolf 등<sup>4)</sup>은 sodium azide로 처리한 후에도 균류(fungi) 등 일부 미생물이 사멸되지 않는다고 보고한 바 있는데 본 실험에서 sodium azide처리 후 나타난 <sup>14</sup>C-activity로 보아 사멸되지 않은 미생물들이 atrazine을 분해할 수 있는 것으로 판단되었다.



**Fig. 1.** Cumulative <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> evolved during incubation of non-sterile samples and samples treated with sodium azide of soil and sediment with 10 ppm atrazine and <sup>14</sup>C-ring labeled atrazine

**2. Atrazine 및 분해산물의 농도 변화**

멸균이 완전히 이루어져 생물학적 분해가 정지된 경우에도 microcosm 환경 중의 산소, 수분 또는 태양 복사에너지 등 여러 가지 물리화학적 기질이 어느정도 존재하고 있는지 또는 오염물질의 이러한 기

**Table 2.** Cumulative <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> evolved during Incubation of Sterile and Non-Sterile Samples of Soil and Sediment with 10 ppm Atrazine and <sup>14</sup>C-ring labeled Atrazine (unit : dpm)

Weeks	Sediment				Soil			
	Non-sterile	Sodium azide	Autoclave	Mercuric chloride	Non-sterile	Sodium azide	Autoclave	Mercuric chloride
0.4	3424	0	0	0	3022	0	0	0
2.0	21234	56	0	0	22633	35	0	0
4.0	33211	178	0	0	28254	166	0	0
6.0	35642	321	0	0	36541	297	0	0
8.0	181142	9625	0	0	51089	1630	0	0
10.0	510112	20114	0	0	102256	2562	0	0

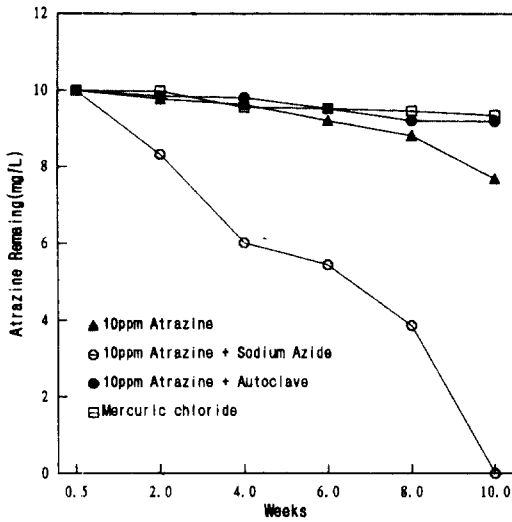


Fig. 2. Atrazine transformation profiles in sterile and non-sterile soil reactor

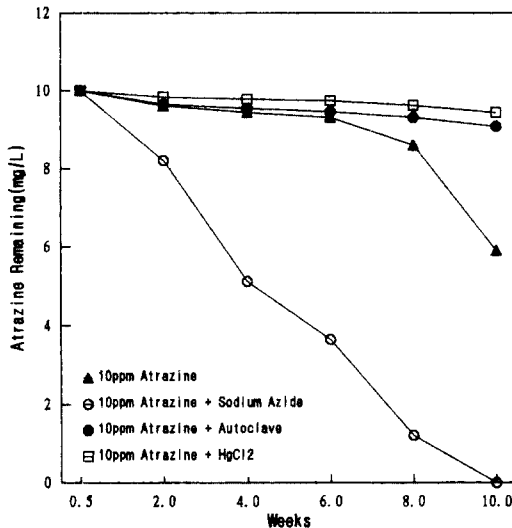


Fig. 3. Atrazine transformation profiles in sterile and non-sterile sediment reactor

질과의 반응성은 어느 정도인지에 따라 분해가 진행되게 된다. 이러한 분해과정이 무생물 상태에서의 물리화학적 분해 반응이다. Hydroxyatrazine은 atrazine의 이러한 무생물적 분해에 의해 생성되는 대표적 부산물이다.

배양기간 동안의 atrazine농도의 변화 및 물리화학적 분해과정에 의해 생성되는 hydroxyatrazine의

Table 3. Formation of Hydroxyatrazine in the Sediment Sample Reactors (unit : mg/l)

Weeks	Non-sterile	Sodium azide	Au-toclave	Mercuric chloride
2	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	0.46	ND
5	ND	ND	0.49	ND
8	ND	ND	0.62	0.33
10	ND	ND	0.77	0.41

- ND : No Detection

농도 변화를 측정된 결과 Fig. 2 및 3에서 보는 바와 같이 멸균하지 않은 두 종류의 slurry를 함유한 반응조에서는 모두 배양기간이 경과함에 따라 atrazine의 농도가 점차 감소하였으며 특히 6주까지의 lag phase이후에 나타난 신속한 감소현상으로 보아 호기성 조건하에서 순치된 atrazine 분해 미생물의 활발한 작용이 추정되었다. 배양기간 동안 화학적 분해산물인 hydroxyatrazine의 생성은 확인되지 않았는데 이는 생성된 hydroxyatrazine이 미생물에 의해 신속히 분해되어 축적이 일어나지 않은 때문으로 사료된다.

고압증기 멸균 및 mercuric chloride로 멸균한 반응조에서는 초기농도의 90%이상이 배양 후 10주에도 검출되는데 Table 3에서 보면 배양기간 동안 감소된 atrazine의 대부분이 물리화학적 분해에 의해 생성되는 hydroxyatrazine으로 존재하고 있음을 알 수 있다. 두 멸균법을 비교하면 고압증기 멸균법을 적용하였을 때 hydroxyatrazine의 생성량이 더 많았다.

한편 sodium azide법에 의해서는 배양기간동안 hydroxyatrazine의 생성없이 atrazine의 신속한 감소현상이 나타나 atrazine이 sodium azide와 공존할 경우 화학 반응을 일으켜 반응물로 전환된다는 Ro 등<sup>11)</sup>의 보고와 같이 이러한 결과에 기인하여 atrazine이 신속히 감소된 것으로 사료된다. 함유된 slurry 종류별로 보면 침전토를 함유한 반응조에서 더욱 이러한 현상이 신속하게 나타나는 경향이 있다.

### 3. Atrazine 및 hydroxyatrazine 흡착성의 변화

자연계 또는 microcosm내의 오염물질의 분포특성은 그 물질의 분해과정에 중요한 역할을 하는 요인이다. 오염물질의 분포 특성은 pH 및 redox potential 등의 물리화학적 성상에 의해 영향을 받게

되므로 멸균법 적용 후 microcosm의 pH 및 redox potential 변화를 관찰하였다. 고압증기 멸균법에 의해서는 멸균법을 적용하지 않은 반응조에 비해 pH가 0.20~0.51 정도 감소되었고 mercuric chloride법에 의해서는 0.70~1.01 정도가 감소되었으며 sodium azide법에 의해서는 0.10~0.76 정도가 증가되었다. Redox potential은 sodium azide를 가했을 때 61~132 mV 정도 감소하였으며 고압증기 멸균법에 의해서는 12~78 mV 정도 증가되었고 mercuric chloride를 가했을 때도 60~114 mV가 증가되었다. 반응조내의 산화·환원 화학종이 서로 평형을 이루고 있다하더라도 pH가 변화되면 redox potential의 변화를 일으키게 되는데<sup>13)</sup> Nernst식에서 보면 이론적으로 25°C에서 pH의 unit당 redox potential은 산화·환원반응에 관여하는 전자에 대한 수소이온의 mole비( $H^+/e^-$ )에 59 mV를 곱한 값만큼 변화된다. 그러나 본 실험 결과에서 보면 redox potential의 변화가 토양의 종류에 따라 다르며 배양기간 동안의 pH의 변화와 일치하지 않는 것으로 보아 redox potential의 변화는 멸균법 적용에 따른 pH 변화와 상응하는 것이 아니라 멸균법에 의해 변화된 토양의 물리화학적 특성에 의한 것으로 추정되므로 토양의 특성이 멸균법에 의해 변화됨을 간접적으로 알 수 있다. 따라서 이러한 토양 특성의 변화로 인하여 atrazine과 그의 대사체의 토양에 대한 흡착성이 변화될 것으로 예상된다.

멸균법에 따라 변화된 물리화학적 특성이 atrazine 및 hydroxyatrazine의 분포에 미치는 영향을 보기위해 토양에 대한 흡착 분포계수(distribution coefficient,  $K_d$ )를 구하여 비교하였다. Atrazine 및 hydroxyatrazine의 표층토 및 침전토에 흡착된 농도와 평형 상태의 물 층의 농도와의 관계를 조사한 결과 직선적 관계가 나타났으므로 다음의 linear isotherm 관계식으로부터 분포계수( $K_d$ )를 구하였다.

$$X=K_d \cdot C$$

**Table 4.** Distribution Coefficients of Atrazine and Hydroxyatrazine on Soil  $K_d$ (ml/g)

	Non-sterile	Sodium azide	Auto-clave	Mercuric chloride
Atrazine	8.38	8.33	8.26	8.39
Hydroxyatrazine	37.6	33.4	29.8	44.2

$X$ =mg atrazine or hydroxyatrazine adsorbed  
1g sediment(mg/g)

$K_d$ =Distribution coefficient(ml/g)

$C$ =Equilibrium aqueous atrazine or hydroxyatrazine concentration(mg/ml)

멸균법에 따른 분포계수의 변화를 보면 Table 4 및 5에서 보는 바와 같이 atrazine의  $K_d$ 값은 멸균법 종류에 따른 현저한 차이가 관찰되지 않았으나 hydroxyatrazine의 경우에는 멸균법 종류에 따른  $K_d$ 값의 차이가 현저하였다. 멸균법 종류별로 보면 mercuric chloride법에 의해서는 두종류의 토양에 대한 hydroxyatrazine의  $K_d$ 값이 멸균하지 않은 경우에 비해 증가하였으며 autoclave법에 의해서는 감소하였다. Mercuric chloride법 및 고압증기 멸균법에 의해서 pH가 모두 감소되었는데 mercuric chloride법의 경우에는 pH감소와 더불어  $K_d$ 값의 증가가 나타나 hydroxyatrazine의 토양에 대한 흡착성은 pH가 감소될수록 증가된다는 보고<sup>14)</sup>와 일치하였으나 고압증기 멸균법에 의해서는 pH가 감소됨에도 불구하고 오히려 hydroxyatrazine의  $K_d$ 값이 감소하였다. 이는 고압증기 멸균법이 토양에 따라서 토양의 표면적(soil surface area)을 감소시키고 토양 중에 함유되어 있는 추출성의 Mn, Ca, Mg의 농도 증가 및 Fe, Cu, Zn, Ni, Pb, Cd의 농도 감소를 일으키는 등 토양의 특성을 변화시킨다고 보고<sup>14)</sup>와 같이 이러한 변화된 특성에 의해 atrazine의 흡착을 감소시킨 것으로 사료된다. Sodium azide법에 의해서도 다른 두 멸균법에 비해 변화량은 매우 적으나 hydroxyatrazine의  $K_d$ 값이 약간 감소되는 현상이 있었다.

따라서 적용하는 멸균법이 변화시킨 토양의 특성은 atrazine보다는 그의 분해산물인 hydroxyatrazine에 대한 흡착성에 많은 영향을 미치게 되므로 멸균법을 사용할 때는 멸균법 적용 후에 미생물의 활동이 정지되었다고 하더라도 화학적 분해과정에 의해 생성되는 hydroxyatrazine생성량과 분포에 영향을 미치게 된다는 것을 고려해야 할 것으로 사료된다.

**Table 5.** Distribution Coefficients of Atrazine and Hydroxyatrazine on Sediment  $K_d$ (ml/g)

	Non-sterile	Sodium azide	Auto-clave	Mercuric chloride
Atrazine	9.31	9.03	8.91	9.42
Hydroxyatrazine	53.2	47.5	44.4	61.3

## V. 결 론

오염물질의 환경내 분포 및 동태 등의 연구에 있어서 생물학적 분해 과정에 대한 대조실험 또는 화학적 분해과정을 실험하기 위한 목적으로 사용하는 멸균법 중 고압증기 멸균법, sodium azide법 및 mercuric chloride법이 atrazine의 분해과정에 미치는 영향을 조사하였다.

Sodium azide을 처리한 반응조에서는 미량의 방사능( $^{14}\text{CO}_2$  activity)이 측정되었으며 atrazine이 화학적 반응생성물로 전환됨에 따라 신속히 감소되어 atrazine 연구의 멸균법으로는 부적합한 것으로 나타났다.

고압증기 멸균법 및 mercuric chloride법을 적용한 반응조에서는 방사능이 측정되지 않아 미생물에 의한 분해가 일어나지 않은 것으로 판단되었으며 10주간의 배양기간 동안 10%이하의 미량의 atrazine의 감소와 그 양에 해당하는 hydroxyatrazine이 생성되어 atrazine이 물리화학적 분해에 의해 hydroxyatrazine으로 전환되었음을 알 수 있었다. Hydroxyatrazine 생성량으로 보아 mercuric chloride법보다 고압증기 멸균법에 의해 물리화학적 분해가 더 많이 일어나는 것으로 나타났다.

분포계수( $K_d$ )의 측정 결과 멸균법이 atrazine보다 분해산물로 생성되는 hydroxyatrazine의 흡착 분포에 많은 영향을 미치는 것으로 나타났으며 mercuric chloride법에 의해서는 hydroxyatrazine의  $K_d$ 값이 멸균하지 않은 반응조에 비해 증가되었고 고압증기 멸균법에 의해서는 감소되었다.

이러한 결과로 보아 환경오염물질 연구에 대한 멸균법을 선정하는데 있어서 멸균효과 뿐 아니라 멸균법이 오염물질 또는 실험 구성성분의 물리화학적 특성에 미치는 영향을 미리 검토하여야 할 것이다.

## 참고문헌

- Pereira, W.E. and Hostettler, F.D. : Nonpoint Source Contamination of the Mississippi River and Its Tributaries by Herbicides, Environ. Sci. Technol. **27**, 1542, 1993.
- Burkart, M.R. and Kolpin, D.W. : Hydrologic and Land-Use Factors Associated with Herbicides and Nitrate in Near-surface Aquifers. J. Environ. Qual., **22**, 646, 1993.
- Weinhold B.J., Sadeghi A.M. and Gish T.J. : Organic Chemicals in the Environment. J. Environ. Qual., **22**, 162, 1993.
- Wolf D.C., Dao T.H., Scott H.D. and Lavy T.L. : Influence of Sterilization Methods on Selected Soil Microbiological, Physical, and Chemical Properties. J. Environ. Qual. **18**, 39~44, 1989.
- Fletcher C.L. and Kaufman D.D. : Effect of Sterilization Methods on 3-Chloroaniline Behavior in Soil. J. Agric. Food Chem. **28**, 667~671, 1980.
- Lichstein H.C. and Soule M.H. : Studies of the Effect of Sodium Azide of Microbic Growth and Respiration. J. Bacteriol. **47**, 221~230, 1944.
- Kelley W.D. and Rodriguez-Kabana R. : Effects of Sodium Azide and Methyl Bromide on Soil Bacterial Populations, Enzymic Activities and Other Biological Variables. Pestic. Sci. **10**, 207~215, 1979.
- Kelley W.D. and Rodriguez-Kabana R. : Effects of Annual Application of Sodium Azide on Soil Fungal Populations with Emphasis on Trichoderma Species. Pestic. Sci. **12**, 235~244, 1981.
- Shin K.S., Youn H.D., Han Y.H., Kang, S.O. and Hah, Y.C. : Purification and Characterization of D-glucose Oxidase from White-rot Fungus Pleurotus Ostreatus. Eur. J. Biochem. **215**(3), 747~752, 1993.
- Satyapal, and Pundir, C.S. : Purification and Properties of an Oxalate Oxidase from eaves of Grain Sorghum Hhybrid CHS-5. Biochim. Biophys. Acta. Int. J. Biochem. Biophys. **1161**(1), 1~5, 1993.
- Ro K.S., Chung K.H. and Robinson J.W. : Chemical Transformation of Atrazine with Sodium Azide. J. Environ. Sci. Health. **A30**(2), 321~332, 1995.
- Skipper H.D., Gilmour C.M. and Furtick W.R. : Microbial versus Chemical Degradation of Atrazine in Soils. Sci. Soc. Amer. Proc., **31**, 653~656, 1967.
- Paul G., Tratnyek and Wolfe N.L. : Oxidation and Acidification of Anaerobic Sediment- Water Systems by Autoclaving. J. Environ. Sci. Qual. **22**, 375~378, 1993.
- Chung K.H., Ro K.S. and Ondrus M.G. : Adsorption and Extraction of Hydroxyatrazine from Wetland Sediment. J. Environ. Sci. Health, **A29**(8), 1577~1586, 1996.