

제초제 Propanil 및 그 분해산물인 DCA(3,4-dichloroaniline)와 Humic Monomer들과의 산화적 짝지움반응

권태동 · 김장익*

경북대학교 농과대학 농화학과

초 록 : 제초제 propanil(3,4'-dichloropropionanilide)과 그 분해산물인 DCA(3,4-dichloroaniline)가 laccase, horseradish peroxidase(HRP) 및 birnessite에 의하여 증대된 oxidative coupling에 의하여 토양 유기물의 구성성분에 병합될 수 있는지를 알기 위하여 토양 유기물의 monomer들과의 반응성을 조사하였다. Propanil 또는 DCA가 단독으로 존재하는 반응조건에서는 산화환원촉매들에 의하여 이들의 전환이 거의 이루어지지 않았거나 상당히 낮은 수준이었다. 그러나 humic monomer들이 있을 때 laccase와 HRP의 경우 propanil은 syringic acid와 DCA는 catechol과 높은 전환율을 나타내었으며, birnessite의 경우 DCA는 protocatechuic acid와 높은 전환율을 나타내었다. DCA의 전환율은 laccase의 경우 catechol과 pH 8.0에서 24시간 동안 반응시킬 때, HRP의 경우 catechol과 pH 3.0에서 2시간 동안 반응시킬 때 가장 높았고, birnessite의 경우 protocatechuic acid와 pH 5.0에서 2시간 동안 반응시킬 때 가장 높았다. Humic monomer의 농도를 증가시킬수록 DCA의 전환율도 증가하였다. Humic monomer 대신 dissolved organic carbon(DOC)이 있을 때 laccase는 DCA를 거의 전환시키지 못 하였으나, HRP는 DCA의 전환율을 크게 증가시켰고, birnessite는 큰 영향을 미치지 않았다. DCA의 전환율은 laccase 단독으로 있을 때 보다 birnessite와 공존할 경우 약 5배 가량 증가된 반면, HRP와 birnessite가 공존할 경우에는 증가되지 않았다.(1998년 6월 3일 접수, 1998년 8월 28일 수리)

서 론

토양 구성성분에 결합되어진 농약의 상당부분은 부식성분 즉, humic acid, fulvic acid 또는 humin과 같은 유기물과 강하게 결합되어 무독화되는 것으로 알려져 왔다.^{1,2)} 토양 환경으로 유입되어진 농약들이 토양 유기물과 결합하여 소위 'bound residue'를 형성하게 되면 유기용매로도 추출되지 않는 비교적 안정한 화합물을 형성하게 된다.^{1,3)} 환경중에 살포되어진 농약이나 이들의 분해산물이 bound residue를 형성하는 기작은 토양내에서 자연적으로 일어나는 부식화 과정⁴⁾과 유사하기 때문에 이러한 원리를 이용하여 토양에 존재하는 유해한 방향족 화합물들을 유기물의 구성성분과 결합시켜 무독화시키고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.⁵⁾

Sarkar 등⁶⁾은 부식물질과 xenobiotics의 결합을 확인하였으며, Klivanov 등⁷⁾은 페놀 및 아닐린 관련 화합물들이 산화환원효소에 의하여 중합되는 것으로 보고한 바 있으며, Bollag 등⁸⁾에 의하면 미생물에 의하여 생성된 산화환원효소의 존재시 oxidative coupling에 의하여 방향족 화합물들의 독성이 감소된다고 보고하였다. 최근 Kim 등^{9,10)}은 산화환원효소에 의하여 토양 유기물의 monomer들이 활성화되면서 생성된 자유라디칼이나 퀴논구조를 가진 중간체들이 이러한 효소에 불활성체인 농약과 반응하여 중합되어지는 기작과 반응산물의 화학구조를 동정하여 토양 유기물이 농약의 무독화에 관여한다는 것을 밝혔다. Shindo 등¹¹⁾은 Mn(IV) oxide와 같은 무기물도 산화환원효소처럼 부식물질과의 결합

함에 관여할 수 있다고 보고하였다.

Amide계에 속하는 제초제 propanil(3,4'-dichloropropionanilide)은 토양중에서 미생물에 의하여 DCA(3,4-dichloroaniline)와 propionic acid로 신속히 가수분해되어, propionic acid는 CO₂로 산화되고, DCA는 토양입자에 흡착되거나 서로 축합되어 TCAB(3,3',4,4'-tetrachloroazobenzene) 또는 diazo 화합물을 형성하여 토양에 장기간 잔류하는 것으로 보고된 바 있다.¹²⁾ 그러나 토양이나 식물체내에 존재하는 당이나 유기산들과 DCA와의 conjugation은 DCA의 독성을 감소시키는 것으로 보고된 바 있으나,¹²⁾ 토양내에서 propanil과 이의 주요 분해산물인 DCA가 부식형성에 관여하는 산화촉매들에 의하여 토양 유기물에 병합(incorporation)되어 bound residue를 형성하는 기작에 대한 보고는 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 토양 환경중에서 산화촉매들에 의하여 제초제 propanil과 이의 분해산물인 DCA가 토양 유기물의 구성성분에 병합될 수 있는지를 밝히기 위하여 토양 유기물의 monomer들과의 반응성을 조사하였다.

재료 및 방법

시약

제초제인 propanil은 순도 99.9%의 표준품을 이용하였으며, 분해산물인 DCA는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였다. 2,6-dimethoxyphenol(DMP), syringaldehyde, syringic acid, vanillin은 Fluka AG(Buchs,

찾는말 : Propanil, DCA, oxidative coupling, laccase, horseradish peroxidase, birnessite, DOC

*연락처자

Switzerland)에서, vanillic acid는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, U.S.A.)에서, catechol은 Fisher Scientific Co.(Fair Lawn, NJ U.S.A.)에서, protocatechuic acid는 Sigma Chemical Co.에서 구입하였고, humic acid는 Stevenson의 방법¹³⁾으로 미국 Humus Products(Richmond, TX, U.S.A.)에서 제공된 Leonardite 토양에서 추출한 것을 사용하였다.

산화촉매

Laccase(*Pyricularia oryzae*, EC 1.10.3.2)와 horseradish peroxidase(HRP, EC 1.11.1.7)는 Sigma Chemical Co.에서 구입하였고, birnessite(manganous manganite or δ -MnO₂)는 McKenzie의 방법¹⁴⁾에 의하여 합성한 것을 사용하였다.

용해성 유기탄소

Leonardite 토양에서 추출된 humic acid와 토양에 탈이온수를 가하여 진탕한 후 원심분리한 상등액을 다시 0.45 μ m nylon filter로 여과하여 고형 불순물을 제거한 후 여기에 녹아 있는 총 유기탄소의 양을 total organic carbon analyzer (Shimadzu TOC-5000A)로 측정하여 dissolved organic carbon (DOC)으로 사용하였다.

Propanil 또는 DCA와 humic monomer들과의 반응

Propanil 또는 DCA와 humic monomer들과의 반응은 laccase의 경우 1.3 units ml⁻¹, HRP의 경우 6.5 units ml⁻¹, 9 mM의 H₂O₂, 그리고 birnessite의 경우 1 mg ml⁻¹를 포함하고 있는 28°C, 0.1 M acetate buffer(pH 3.0~5.0)또는 phosphate buffer(pH 6.0~8.0) 5 ml에 0.5 mM의 propanil이나 1 mM의 DCA가 단독으로 존재하거나 1 mM의 humic monomer들 또는 DOC와 같이 존재하는 반응조건에서 일정시간 진탕배양시켰다. 효소촉매의 경우 효소를 넣지 않은 것과 20분간 끓인 것을, 무기촉매의 경우 birnessite를 넣지 않은 것을 대조구로 사용하였다. 효소의 활성은 25°C, 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0)에서 1 mM의 DMP를 기질로 이용하여 흡광도를 UV spectrophotometer(Hitachi U-2000)로 468 nm에서 측정하였다. Laccase는 1분 동안 0.001의 흡광도를 변화시키는 양을 1 unit로, HRP의 경우에는 10초 동안 0.001의 흡광도의 변화를 야기시키는 양을 1 unit로 정의하였다.

반응물 분석

반응 혼합액에 HCl을 가하여 반응을 정지시키고 0.45 μ m nylon filter로 여과한 후 10 μ l를 HPLC에 주입하여 반응 용액중에 남아 있는 propanil 또는 DCA를 정량분석하였다. 사용한 HPLC는 UV 254 nm, injector는 Rheodyne을 장착한 Waters model 510이었으며, column은 μ -Bondapak C₁₈ (3.9×300 mm, reverse phase), mobile phase는 methanol/water : 70/30(v/v)이었으며, flow rate는 1.0 ml min⁻¹이었다.

결과 및 고찰

Propanil 또는 DCA와 humic monomer들과의 반응성

제조제 propanil 및 이의 분해산물중의 하나인 DCA와 humic monomer들과의 반응성을 산화촉매인 laccase, HRP 및 birnessite를 이용하여 조사한 결과는 Table 1과 같다.

제조제 propanil은 humic monomer들의 존재 유무에 상관없이 산화촉매로 사용된 laccase, HRP 및 birnessite 등에 의하여 전환율이 아주 낮게 나타나 이러한 산화촉매들에는 불활성체임을 알 수 있었다. 그러나 propanil의 분해산물 중의 하나인 DCA의 경우에는 humic monomer들이 없을 때는 5~14% 정도의 비교적 낮은 전환율을 보였으나 humic monomer들이 있을 때는 전환율이 크게 증가되었다. 이러한 결과는 Pal 등¹⁵⁾이 보고한 산화촉매들로서 laccase, tyrosinase 및 birnessite 등을 이용하였을 때 DCA가 단독으로 용액내에 있을 경우 중합에 의한 전환이 거의 일어나지 않았다는 연구결과 및 Tatsumi 등¹⁶⁾이 laccase가 있을 때 chloroaniline 화합물들 단독으로는 반응성이 없었다고 한 연구결과와 유사하며, 또한 Kim 등^{9,10)}이 제조제 bentazon을 laccase 또는 HRP가 존재하는 반응조건에서 bentazon이 단독으로 있을 때 보다 humic monomer와 같이 반응시킬 때 더 높은 전환율을 보인다는 보고와도 유사하게 나타났다.

Laccase, HRP 및 birnessite와 같은 산화촉매들은 phenol 성 기질에서 먼저 전자나 수소이온을 제거하여 quinone 골격을 갖는 free radical성 중간체를 형성하고, 이렇게 생성된 불안정한 중간체들은 더 이상의 효소 개입없이 자동산화반응을 거쳐 서로 중합되어지는 것으로 알려져 있다.⁴⁾ Table 1에서 propanil은 humic monomer의 존재 유무에 상관없이 전환율이 비교적 낮은 반면, DCA의 경우 humic monomer들이 없을 경우에는 전환율이 낮았지만 있을 경우에는 매우 높았다. 이러한 양상은 humic monomer가 산화촉매들에 의해 DCA보다 더 빨리 불안정한 semiquinone과 quinone 골격을 가지는 중간체의 친전자체를 형성하여 DCA와 같이 electron donating 효과를 나타내는 amino 그룹의 친전자성 공격을 benzene ring에 있는 탄소원자에 받게되어 DCA와 humic monomer들이 결합되는 것으로 추측된다. 그러나 propanil의 화학구조에서는 propionyl group으로 인한 입체 장애와 전자끌개로서의 작용이 나타나기 때문에 humic monomer의 친전자체 형성에도 불구하고 propanil과 humic monomer는 거의 결합되지 않는 것으로 사료된다. Humic monomer의 종류에 따라 DCA의 전환율은 차이가 많았으

Table 1. Transformation of propanil and DCA with humic monomers in the presence of a laccase, HRP and birnessite

Humic monomers	% Transformed					
	Propanil			DCA		
	Laccase	HRP	Birnessite	Laccase	HRP	Birnessite
Control	2	6	0	14	7	5
Catechol	2	8	6	80	93	84
Protocatechuic acid	6	7	6	35	90	88
Syringaldehyde	6	10	3	40	88	83
Syringic acid	11	15	2	40	69	43
Vanillic acid	6	14	3	17	22	22
Vanillin	5	14	5	14	36	40

나, 산화촉매들에 의하여 산화되어진 중간체의 공명안정화에 영향을 줄 수 있는 기들이 많은 humic monomer일수록 DCA의 전환율이 증가된 것을 볼 수 있었다. 특히, catechol과 protocatechuic acid가 있을 때 DCA의 전환율은 가장 높았다.

실제 토양 환경중에서 propanil은 신속히 가수분해되어 주요 분해산물인 DCA를 형성하는 것으로 보고된 바 있는데¹⁷⁾ 전형적인 부식 전구물질로 알려진 protocatechuic acid, syringic acid 및 vanillic acid와 propanil 또는 DCA간의 중합반응을 고려하여 볼 때 토양 환경에서 propanil은 먼저 가수분해되어 DCA를 형성한 후 토양에 널리 존재하는 산화촉매들에 의하여 토양 유기물에 병합되어 bound residue를 형성할 것으로 추측된다.

pH에 따른 영향

산화촉매가 있을 때 humic monomer들중 propanil과 반응성이 가장 큰 syringic acid 및 protocatechuic acid를 선발하여 pH 조건을 달리하였을 때의 propanil 전환율을 나타낸 결과는 Fig. 1과 같다. Laccase의 경우 pH가 3.0에서 8.0로 증가함에 따라 propanil의 제거율이 약간 증가되었지만 큰 변화는 없었다. HRP의 경우 pH 3.0에서 propanil의 전환율이 29%로 가장 높았으나 pH가 증가함에 따라 전환율은 약간씩 낮아지는 경향을 보였으나 큰 변화는 없었다. Birnessite를 촉매로 이용하였을 경우 전 pH 범위에서 반응이 거의 없었다.

DCA의 경우 catechol과 protocatechuic acid를 선발하여 서로 다른 pH 조건에서 DCA의 전환율을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다.

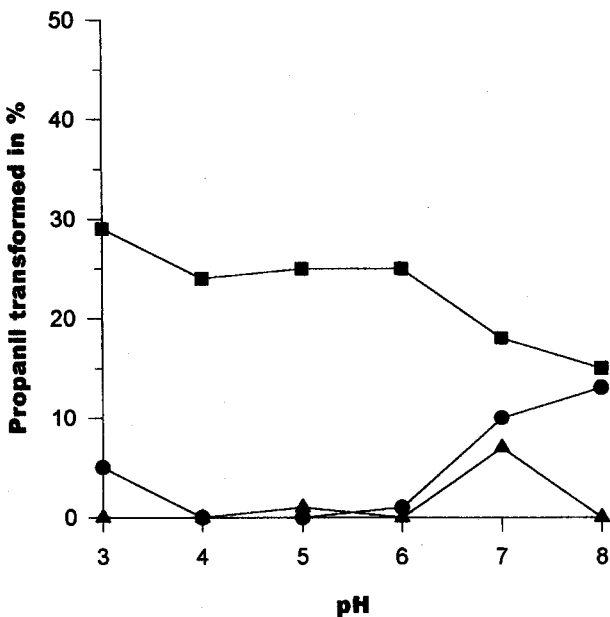


Fig. 1. Transformation of propanil with humic monomer in the presence of oxidative catalysts at different pH values. ●—●, Propanil+syringic acid+laccase; ■—■, Propanil+syringic acid+HRP; ▲—▲, Propanil+protocatechuic acid+birnessite

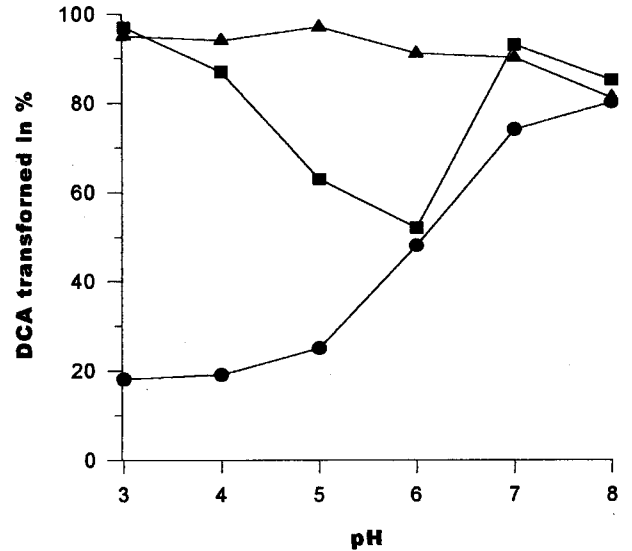


Fig. 2. Transformation of DCA with humic monomer in the presence of oxidative catalysts at different pH values. ●—●, DCA+catechol+laccase; ■—■, DCA+catechol+HRP; ▲—▲, DCA+protocatechuic acid+birnessite

Laccase의 경우 pH가 3.0에서 8.0로 증가함에 따라 DCA의 전환율도 18%에서 80%로 증가하는 경향을 보였다. HRP의 경우 pH 3.0에서 가장 높은 전환율(97%)을 나타내었고 이후 점차 감소하다가 pH 7.0에서 다시 증가(93%)하는 경향을 나타내었다. 같은 산화환원효소인 laccase와 HRP가 pH에 따라 DCA의 전환율이 다르게 나타나는 것은 두 효소의 기질 특이성이나 최적 pH 범위가 다르기 때문에 나타난 결과로 추측된다. Birnessite의 경우 pH 3.0~5.0까지 95~97%정도의 거의 비슷한 DCA 전환율을 나타내었으나, 중성 pH로 감에 따라서는 약간 감소하는 것으로 나타났다. Laccase와 HRP의 경우 pH에 따라 DCA의 전환에 뚜렷한 변화를 나타내었으나 birnessite의 경우 비교적 전 pH 범위에서 고른 전환율을 나타내었다. Shindo와 Huang¹⁷⁾의 실험에서 birnessite에 의한 hydroquinone의 중합반응은 산성조건보다는 중성 pH 부근에서 보다 높게 일어난다고 하였으나, 본 실험에서는 중성에 가까운 pH로 감에 따라 중합반응에 따른 DCA의 전환이 약간 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 protocatechuic acid의 농도에 비해 충분한 birnessite가 가해짐으로 인해 낮은 pH에서 반응 용액내에 Mn²⁺가 산화되지 않고 축적되더라도 birnessite가 지속적으로 protocatechuic acid를 산화시킬 수 있었기 때문인 것으로 사료된다.¹⁸⁾ 특히 Table 1의 결과와 이 결과로부터 propanil과 DCA의 화학구조상 차이는 DCA의 구조에 propionic acid가 들어가 propionanilide가 된 차이밖에 없기 때문에 propionanilide가 됨으로 인하여 propionyl group으로 인한 입체장애와 전자끌개로서의 작용 때문에 propanil이 humic monomer들과 결합을 거의 하지 못하는 것으로 추측된다.

세 가지 산화촉매들 모두 넓은 pH 범위에서 propanil과 DCA를 전환시킬 수 있는 것으로 나타났는데 실제 토양 환경의 pH가 외부 환경조건에 따라 매우 가변적인 면을 고려

한다면 토양 환경중에서도 이러한 반응에 의하여 propanil 이나 DCA가 토양 유기물에 병합되어질 수 있을 것으로 추측된다.

Humic monomer 농도의 영향

Humic monomer가 존재할 때 propanil의 전환율이 가장 크게 나타났던 syringic acid의 농도를 증가시켰을 경우 propanil의 전환율을 나타낸 결과는 Fig. 3과 같다. Syringic acid의 농도를 1 mM에서 10 mM까지 증가시켜도 propanil의 전환율은 큰 변화를 보이지 않았다. 그러나 DCA의 경우에는 전환율이 가장 높았던 catechol 및 protocatechuic acid의 농도를 증가시키에 따라 전환율도 Fig. 3에서와 같이 증가하였다. 이러한 사실로 미루어 볼 때 토양에 존재하는 유기물의 함량이 많을수록 DCA가 더 많이 유기물에 병합되어 bound residue를 형성할 것으로 추측된다.

반응시간의 영향

Humic monomer가 존재할 때 DCA의 전환이 가장 잘 일어나는 조건에서 반응시간이 전환율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 4 및 5와 같다.

Phosphate buffer(pH 8.0)에서 DCA는 catechol과 산화촉매로서 laccase를 이용하였을 경우 10시간까지 시간에 비례하여 일정하게 DCA가 전환됨을 볼 수 있었고 24시간까지 이 반응이 지속되었다(Fig. 4. 참조). 그러나 HRP와 bimesite의 경우에는 15분 안에 DCA가 최고의 전환율을 나타내었다(Fig. 5. 참조). 이러한 결과는 Dec과 Bollag¹⁹이 폐수 속에 포함된 2,4-dichlorophenol을 제거하기 위하여 HRP를 이용하여 최적조건(pH 5.0, HRP 9.5 unit/ml, 5.3 mM H₂O₂)에서 실험한 결과, 15분 안에 거의 전 반응이 종결된 것과 같은 경향으로 나타났다. Laccase와 HRP, bimesite간의 이러한

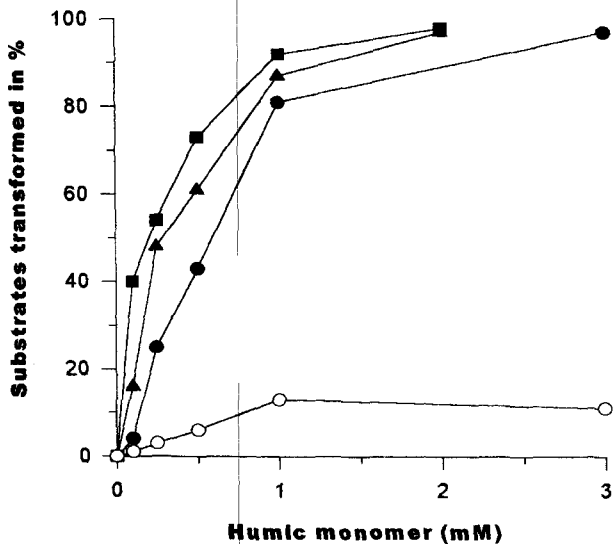


Fig. 3. Effects of humic monomer concentration on the transformation of propanil and DCA by oxidative catalysts. ●—●, DCA+catechol+laccase; ■—■, DCA+catechol+HRP; ▲—▲, DCA+protocatechuic acid+bimesite; ○—○, Propanil+syringic acid+laccase

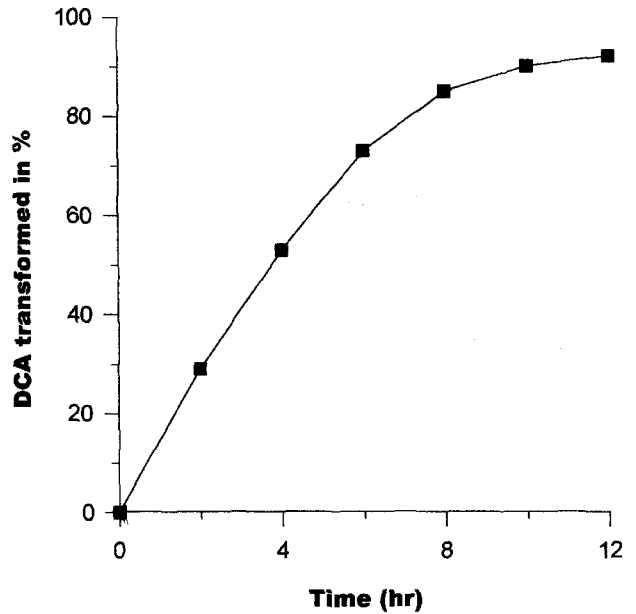


Fig. 4. Reaction of DCA with catechol in the presence of a laccase at different incubation times.

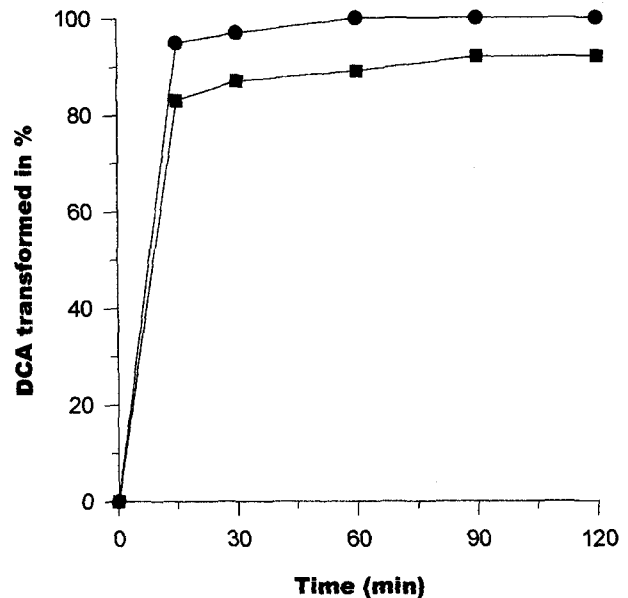


Fig. 5. Reaction of DCA with humic monomers in the presence of oxidative catalysts at different incubation times. ■—■, DCA+catechol+HRP; ●—●, DCA+protocatechuic acid+HRP

반응시간의 차이는 laccase가 humic monomer를 산화시키는 속도가 매우 느린 반면, HRP나 bimesite는 매우 빠르기 때문인 것으로 추측된다.

DOC의 영향

토양 유기물이나 점토광물에 부동화되어 존재하는 산화 환원효소는 금속산화물과 함께 토양내에 존재할 수 있는 humic monomer끼리의 중합에 관여하는 것으로 알려져 있다.²⁰ 그러나 DOC는 부식을 형성하는데 관여하는 산화환원 효소의 활성을 저해하는 것으로 알려져 있다.²¹ Leonardite humic acid 또는 토양으로부터 추출된 서로 다른 근원의

Table 2. Effect of DOC extracted from Leonardite humic acid on the transformation of DCA by oxidative catalysts

DOC concentration (ppm)	DCA transformed in %			
	Sorption	Laccase	HRP	Birnessite
4.8	5	6	69	20
8.4	11	9	79	20
11.5	12	10	78	21
32.6	15	13	50	-

Table 3. Effect of DOC extracted from soil on the transformation of DCA by oxidative catalysts

DOC concentration (ppm)	DCA transformed in %			
	Sorption	Laccase	HRP	Birnessite
4.8	4	3	81	20
11.5	11	10	81	20
32.6	12	11	88	-

Table 4. Reaction of DCA with DOC extracted from different source in the presence of the oxidative catalysts

DOC source	DCA transformed in %					
	Sorption	Laccase	HRP	Birnessite	Laccase+Birnessite	HRP+Birnessite
Leonardite humic acid	12	10	78	21	48	78
Soil	11	10	81	20	48	80

DOC가 존재하는 반응조건에서 DOC가 DCA의 흡착과 산화촉매들의 전환율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

DOC의 농도가 증가함에 따라 DCA의 흡착량도 조금씩 증가하였다. 산화촉매들에 의한 DCA의 전환율은 사용된 촉매에 따라 반응성이 다르게 나타났다. Laccase의 경우 DOC에 의한 흡착량보다 오히려 낮은 전환율을 나타내어 효소의 활성이 DOC에 의하여 저해를 받는 것으로 나타났고, HRP의 경우 laccase에 비해 높은 DCA 전환율을 나타내었으나 DOC의 농도가 증가할수록 전환율의 증가가 둔화되어 고농도의 DOC에서는 저해를 받는 것으로 나타났다. Birnessite의 경우 DOC의 농도에 관계없이 DCA의 전환율이 일정하였다.

토양에서 추출한 DOC를 농도별로 처리한 반응조건에서 DOC에 대한 DCA의 흡착과 산화촉매들에 의한 전환율을 조사한 결과는 Table 3과 같다.

DOC의 농도가 증가할수록 DCA의 흡착량도 조금 증가하였다. 산화촉매가 있을 때, DCA의 전환은 Leonardite humic acid의 경우처럼 laccase의 활성이 저해를 받는 것으로 나타난 반면, HRP의 경우는 DOC 농도가 증가해 감에 따라 DCA 전환율도 증가하는 경향을 보였으며, 고농도의 DOC에서도 활성에 저해를 받지 않는 것으로 나타났다.

실제 토양내에 이러한 산화환원반응을 증대할 수 있는 생물 또는 무기촉매들이 다량 존재하고 있음이 이미 보고된 바 있으며⁹⁾, 실제로 토양 추출액이 존재하는 반응조건에서 humic monomer들간의 중합반응이 확인된 바 있고, 이러한 반응성을 나타내는 효소가 peroxidase임이 밝혀진 바 있으므로,²⁰⁾ 본 실험에서 나타난 이러한 결과는 토양 유기물과 느슨하게 결합하거나 토양 콜로이드와 약하게 결합된 상태로 부동화되어 존재하던 산화환원효소가 추출과정에서 유리되어 DOC와 DCA의 결합반응에 함께 관여하였기 때문인 것으로 추측된다. Birnessite의 경우에도 Leonardite humic acid의 경우와 같은 경향으로 나타났다.

Haworth와 Stevenson²²⁾에 의하면 부식산과 DOC의 구성 물질은 서로 조금씩 다르지만 이들의 작용기는 서로 비슷하기 때문에 본 실험에서 사용한 두 종류의 DOC가 거의

비슷한 반응성을 보인 것으로 사료된다. 산화촉매들이 존재하지 않는 반응조건에서 DOC의 농도에 따라 DCA의 흡착이 다소 증가한 사실은 실제 토양내에 촉매가 관여하지 않는 조건에서 유기물에 대한 xenobiotics의 흡착이 활발히 일어날 수 있다는 것을 시사한다. 그러나 이러한 물리화학적 흡착보다는 유기물에 대한 xenobiotics의 병합이 더 강한 결합을 하는 것으로 알려져 있다.²³⁾

Laccase, HRP 및 birnessite와 같은 산화촉매들이 존재하는 여러 가지 반응조건에서 humic monomer나 DOC와 같은 부식성분과 제초제 propanil이나 DCA와의 중합반응을 종합해 보면, 실제 토양에서 propanil은 미생물에 의하여 우선적으로 DCA로 가수분해되어진 후 산화촉매들에 의하여 토양 유기물에 병합되어 존재할 것으로 추측된다.²⁴⁾

Leonardite humic acid 또는 토양에서 추출한 11.5 mg/l의 DOC가 존재하는 반응용액에서 DOC에 대한 DCA의 binding과 산화촉매들에 의한 DCA의 전환율을 비교한 결과는 Table 4와 같다.

DOC의 근원에 따른 반응성의 차이는 거의 없었다. Laccase는 DOC에 의하여 다소 저해를 받았으나 birnessite와 동시에 존재하는 반응조건에서는 DOC의 근원과 상관없이 약 5배 정도의 DCA 전환율 증가를 보였다. 실제 토양 환경에는 Mn(IV) oxides가 풍부하게 존재하는 것으로 알려져 있는데¹⁷⁾ 본 실험결과로부터 laccase가 MnO₂와 공존하여 존재할 경우에는 단독으로 존재할 경우보다 DCA의 전환율이 더욱 높아질 것으로 예상된다.

참고문헌

- Haider, K. (1990) Evaluation of the binding mechanism of anilazine and its metabolites in soil organic matter, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **53**, 125-137.
- Bollag, J.-M. (1997) New research reveals hoe contaminants can be "locked" into soil, *Environ. Sci. Technol.*, **31**(6), 270A-271A.
- Almendros, G. (1995) Sorptive interaction of pesticide in soils treated with modified humic acids, *European J. Soil Sci.* **46**, 287-301.

4. Atlas, R. M. and R. Bartha (1992) *Microbial Ecology*, The Benjamin/cummings publishing company, Inc., 3rd Ed, p. 246-285.
5. Bollag, J.-M. (1992) Decontaminating soil with enzymes, *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1876-1881.
6. Sarkar, J. M., R. L. Malcolm and J.-M. Bollag (1988) Enzymatic coupling of 2,4-dichlorophenol to stream fulvic acid in the presence of oxidoreductases, *Soil Sci Soc. Am. J.* **52**, 688-694.
7. Klibanov, A. M., B. N. Albert, E. D. Morris and L. M. Felshin (1980) Enzymatic removal of toxic phenols and anilines from waste waters, *J. Appl. Biochem.* **2**, 414-421.
8. Bollag, J. M., K. L. Shuttleworth and D. H. Anderson (1988) Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds, *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 3086-3091.
9. Kim, J.-E., E. Fernandes and J.-M. Bollag (1997) Enzymatic coupling of the herbicide bentazon with humus monomer and characterization of reaction products, *Environ. Sci. Toxicol.*, **31**(8), 2392-2398.
10. Kim, J.-E., J.-C. Wang and J.-M. Bollag (1998) Interaction of reactive and inert chemicals in the presence of oxidoreductase: Reaction of the herbicide bentazon and its metabolites with humic monomers, *Biodegradation*, in press.
11. Shindo, H. and P. M. Huang (1982) Role of Mn(IV) oxide in abiotic formation of humic substance in the environment, *Nature* **298**, 363-365.
12. Marco G. J. and R. A. Novak (1991) Natural product interaction during aniline metabolism including their incorporation in biopolymer, *J. Agric. Food Chem.* **39**, 2101-2109.
13. Stevenson, F. J. (1982) *Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reaction*, John Wiley & Sons, p.26-24, New York, U.S.A.
14. McKenzie, R. M. (1971) The synthesis of birnessite, cryptomelane, and some other oxides and hydroxides of manganese, *Mineral Magazine* **38**, 493-502.
15. Pal, S. and J.-M. Bollag (1994) The role of abiotic and biotic catalysts in the transformation of phenolic compounds through oxidative coupling reactions, *Soil Biol. Biochem.* **26**, 813-820.
16. Tatsumi, K., A. Freyer, R.D. Minard and J.-M. Bollag (1994) Enzymatic-mediated coupling of 3,4-dichloroaniline and ferulic acid: A model for pollutant binding to humic materials, *Environ. Sci. Technol.*, **28**(2), 210-215.
17. Shindo, H. and P. M. Huang (1984) Catalytic effect of manganese(IV), iron(III), aluminum, and silicon oxides on the formation of phenolic polymer, *Soil Sci. Soc. Am. J.* **48**, 927-934.
18. Bollag, J.-M., C. Myers, S. Pal and P. M. Huang (1995) The role of abiotic and biotic catalysts in the transformation of phenolic compounds. In *Environmental Impacts of Soil Component Interactions*, CRC press, Inc., p.299-310, U.S.A.
19. Dec, J. and J.-M. Bollag(1994) Use of plant material for the decontamination of water polluted with phenols, *Biotech & Bioeng.* **44**, 1132-1139.
20. Bollag, J.-M., C.-M. Chen and J. M. Sarkar (1987) Extraction and purification of a peroxidase from soil, *Soil Biol. Biochem.* **19**, 61-67.
21. Sarkar, J. M. and J.-M. Bollag(1987) Inhibitory effect of humic and fulvic acids on oxidoreductases as measured by the coupling of 2,4-dichlorophenol to humic substance, *Sci. Total Environ.* **62**, 367-377.
22. Stevenson F. J. (1994) *Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reaction*, John Wiley & Sons, Inc., New York, U.S.A., 24-58.
23. Mathur, S. P. and H. V. Morley (1975) A biodegradation approach for investigating pesticide incorporation into soil humus, *Soil Sci.* **120**, 238-240.
24. Alexander M. (1994) *Biodegradation and Bioremediation*, Academic Press, Inc., p.149-158, San Diego, U.S.A.

Oxidative Coupling of Herbicide Propanil and Its Metabolite, DCA(3,4-dichloroaniline) to Humic Monomers

Tae-Dong Kwon and Jang-Eok Kim*(Department of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea)

Abstract : The herbicide propanil and its metabolite, DCA were incubated with oxidative catalysts in the presence or absence of humic monomers to evaluate the incorporation of them into humic substances. Propanil and DCA underwent little or no transformation by oxidative catalysts in the absence of humic monomers. In the presence of humic monomers, the most effective co-substrate for transformation of propanil was syringic acid by laccase and HRP, that of DCA was catechol by laccase and HRP, and protocatechuic acid by birnessite. The transformation of DCA was the highest when it was incubated with catechol at pH 8.0 during 24 hrs by laccase, and with catechol at pH 3.0 during 2 hrs by HRP, and with protocatechuic acid at pH 5.0 during 2 hrs by birnessite. The DCA transformation increased with increasing concentration of humic monomers. The transformation of DCA was increased with about 5 times when it was incubated with laccase and birnessite together than laccase alone, but that of it was not effected when it was incubated with HRP and birnessite together. When DCA was incubated with dissolved organic carbon in the presence of oxidative catalysts, the transformation of it was not increased by laccase and birnessite but increased by HRP.

Key words : Propanil, DCA, oxidative coupling, laccase, horseradish peroxidase, birnessite, DOC

*Corresponding author