

# Degradation of Benzenoids by Microorganisms —Carbon Cycles and Pollutants in Nature—

KWON, Young Myung and Yung Chil HAH

(Department of Botany, and Department of Microbiology, Seoul National University)

## 미생물에 의한 벤제노이드의 분해 —탄소순환계를 활용한 환경오염물의 제거—

權寧命 · 河泳七

(서울대학교 자연대 식물학과, 미생물학과)

### 서 언

인구의 증가와 생활의 향상으로 화석연료의 사용량은 매년 증가일로에 있으며, 합성수지와 농약 및 살충제 등의 취급량이 늘어나면서 관련화합물에 의한 환경오염의 문제는 매우 심각한 상태에 처해 있다. 오염의 문제가 중요한 것은 이들 화합물들의 대개가 고등동물로서는 지금까지 접촉해오지 못하였던 새로운 것이어서 결코 이들에 의하여 대사되지 못하는 점이다.

그렇지만 자연에도 이미 동식물에 의하여 합성된 물질에는 특이한 화학구조를 갖고 있어서 대사적으로 불활성인 것으로 취급되

는 것들이 있다. 이러한 화합물들은 다행히 일부 토양미생물에 의해서 대사되고 있는데, 특히 문제가 되고 있는 고리구조물의 분해도 전적으로 이들 미생물에 의하여 수행되고 있는 실정이다.

### 리그닌의 중요성

매년 약  $1.5 \times 10^{10}$ 톤 정도의  $CO_2$ 가 리그닌과 셀룰로오스로 고정되어 식물의 목질부에 축적되며, 이들의 분해는 주로 미생물에 의하여 수행되기 때문에 자연에서 탄소의 순환계가 형성유지 되고 있다.

리그닌은 주로 *p*-coumaryl-coniferyl 및 sinapyl alcohol(Fig. 1)과 같은 방향족화합

STANLEY DAGLEY

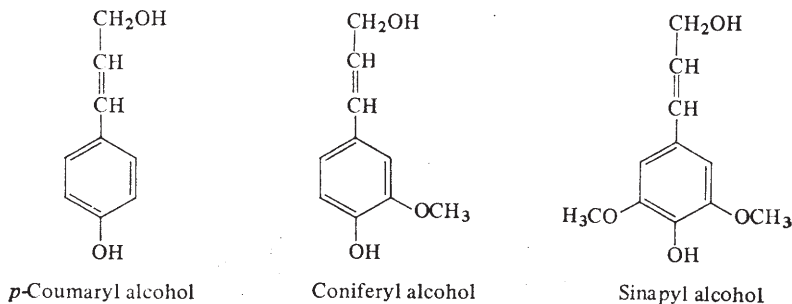


Fig. 1. 리그닌의 중요 구성물의 구조

물들로부터 조직 내에서 효소에 의하여 합성된다. 그러므로 탄소순환을 보다 상세히 알려면 미생물에 의한 벤젠노이드분해에 관한 것을 정확히 알아야 한다. 흔히 곰팡이는 리그닌의 분해에서 초기과정을 담당하며 박테리아는 리그닌에서 유래하는 저분자의 방향족화합물만을 분해한다. 우리의 짐작보다는 훨씬 많은 박테리아들이 고리구조화합물을 대사할 수 있는데<sup>(1,2,3)</sup> 특히 *Pseudomonas*들이 대단한 분해력으로 유기물형태의 탄소를 분해하여 생태계의 탄소순환을 지속시킨다.

리그닌을 구성하고 있는 단위물질들은 여러 가지 에스테르결합과 탄소-탄소결합으로 서로 결합되어 있어서(Fig. 2.) 단백질이나 탄수화물같이 가수분해가 쉽게 일어날 수는 없다. 리그닌은 비용해성이어서 미생물에 의하여서도 쉽게 분해되지 않는다. 이러한 리그닌의 성질과 분해와 이에 관련된 미생물을 분리하는 연구에는 많은 어려움이 있다.

최근에 비교적 간단히 합성되는 coniferyl alcohol의  $-OCH_3$ 와 벤젠고리에 각각  $^{14}C$ 을 표지하고, 이것을 과산화수소와 peroxidase로 중합시켜 인공적인 리그닌을 합성하는데 성공하였다.<sup>(4)</sup> 다행히 이것의 성질이 자연의 것과 매우 비슷하므로 이것을 실험에 사용할 때 방출되는  $^{14}CO_2$ 로 리그닌을 분해하는 균류를 쉽게 분리할 수 있게 되었다. 또한

분자 내에서 분해가 일어나는 위치를 확인할 수 있게 되었다.<sup>(4)</sup> 이러한 연구결과로 부터 리그닌의 분해에 관여하는 효소는 hydroxylase외에도 각종 oxygenase가 관여하며 이들을 찾아내는 방법도 알아내었다.

리그닌분해에 관한 것을 보다 상세히 안다는 것은 생물권에서 일어나는 탄소의 자연적인 순환과정을 보다 정확하게 알게 된다는 것을 의미하며, 동시에 환경오염문제의 해결에도 커다란 도움이 될 것이다. 왜냐하면 생물학적 분해에서 리그닌의 저항적인 성질 때문에 막대한 양의 물질이 이용되기 어렵고, 또 식품, 사료제조, 목재, 제지 및 목축업 등에서 어려운 문제들이 제기되고 있기 때문이다.

#### 생체산화에 있어서 산소의 역할

생물계에서 탄소가 직접 산소와 반응하는 경우는 매우 드물다. 대개 기질에서 수소가 떨어져 NAD(NADP)로 옮겨가는 형태의 산화가 제일 많다. 다만 cytochrome 사슬이 끝나는 마지막 단계까지 묘하게도 산소의 참여없이 산화가 진행되며 제일끝 단계에서 proton과 전자가 산소와 결합하여 물로 된다. 이와같이 산소의 참여가 제한된 것은 전적으로 산소자체의 성질 때문이며, 그 결과로 지구상의 생물이 생존할 수 있는 것이다.

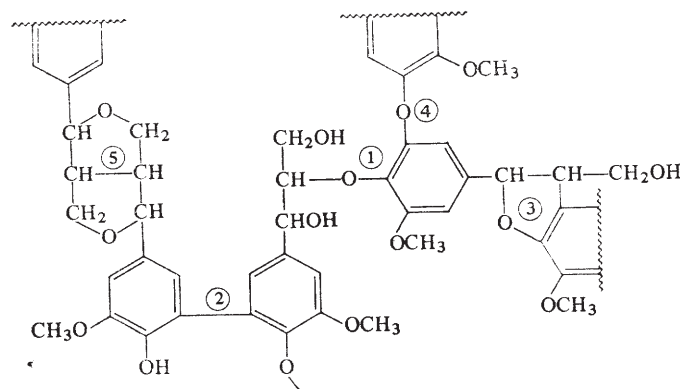


Fig. 2. 리그닌을 구성하고 있는 몇가지 결합의 예들(원내의 숫자는 출현빈도를 표시함. ①이 가장 흔하다.)

유기물질에 대한 산소의 반응성은 매우 낮지만, 적당한 조건이면 산화반응이 일어나고 막대한 에너지가 발생한다. 이와 같은 산소의 성질은 ATP가 수용액에서는 가수분해속도가 매우 느리나 적당한 효소가 있으면 중요한 생리과정에 신속하게 개입될 수 있는 것과 같은 것이다.

산소는 삼중항바닥상태(triplet ground state)로 존재하며 두개의 unpaired electron을 갖고 있어서 분자자체가 상자성(常磁性)을 갖는다. 한편 모든 유기물은 singlet state이어서 산소와의 반응은 spin forbidden이다. 이들 사이에 반응이 일어나려면 산소의 활성화가 필요한데, 그러기 위해서는 방사선을 흡수하여 singlet state가 되든지 또는 효소와 결합해야 한다.

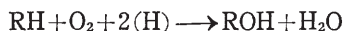
한편 transition element는 *d*-궤도에 한해서 혹은 두 개 이상의 unpaired electron을 갖고 있어서 산소와의 직접반응이 가능하다. 즉, 거의 모든 dioxygenase가 철(Fe)과 유황(S)을 가졌다는 사실에서 알 수 있다. 한편, 산소는 환원형 flavin과도 반응하는데, 이때 flavin은 한 개의 기수전자를 갖는 semiquinone이 될 수 있기 때문이다.<sup>(5)</sup> 물론 이때 중간반응물인 flavin peroxide<sup>(6)</sup>가 같은 spin의 쌍을 가질 것으로 생각된다.

산소가 효소와 결합하여 Fe(II)·O<sub>2</sub>가 되면 전자상태는 Fe(III)·O<sub>2</sub><sup>-</sup> 혹은 Fe(IV)·O<sub>2</sub><sup>2-</sup>가 될 것이다. 확실치는 않으나 일부에서는 oxygenase에 의해서 활성화된 산소는 superoxide인 O<sub>2</sub><sup>-</sup>가 된다는 주장이 있다. 그리고 flavoprotein에서도 superoxide radical이 용액으로 방출되는 것이 xanthine oxidase의 경우 알려졌다<sup>(7)</sup>.

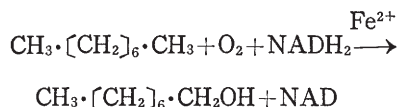
반응성이 강한 산소가 만일 세포의 구성물질과 무작위적인 반응을 한다면 모든 생물

에 위협이 될 것이다. 그래서 호기성생물에 반드시 superoxide dismutase가 있다는 사실은 이 효소가 산소의 독성으로부터 생명을 방어해 주는 본질적인 요소임을 암시하여 주는 것이다. 즉 strict anaerobe에는 이 효소가 없어서 산소와 접촉하면 세포는 즉시 죽는다<sup>(8)</sup>.

산소가 생체내에서 탄소와 반응하기 어렵다고 하지만 히드록시화반응만은 예외이다. 즉, 산소분자에서 한 개의 원자가 기질에 끼여들고 다른 하나는 물로 환원된다. 이때, 환원제는 주로



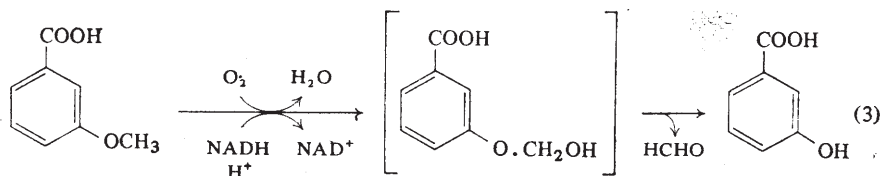
NADH<sub>2</sub>(NADPH<sub>2</sub>)이다. 이러한 반응은 여러가지 hydroxylase, mixed function oxidase 혹은 monooxygenase로 촉매된다<sup>(9,10)</sup>. 그러므로 *n*-hexane에서 배양된 *Pseudomonas acidovorans*의 세포 추출액이 *n*-octane을 *n*-octanol로 산화시킬 수 있으며, 계속된 반응으로



octanoic산이 된다.

이와 같이 *n*-alkane이 식물체 내에서 합성되고 이것이 박테리아의 생장기질로 이용된다. 그래서 소나무의 terpentine으로부터 광학적으로 순수한 *n*-heptane을 쉽게 얻을 수 있다<sup>(11)</sup>.

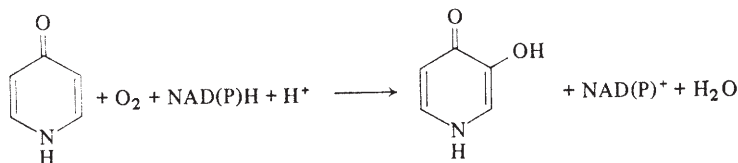
벤젠고리에 직접 붙어있는 -CH<sub>3</sub>는 효소에 의하여 산소와 결합하게 된다<sup>(12,13)</sup>. 아래의 반응식에서 3-methoxybenzoate의 -O-CH<sub>3</sub>(CH<sub>3</sub>가 아니지만)가 *Pseudomonas aeruginosa*의 extract에 의하여 제거되며, 다른 여러가지 자연물에서도 같은 과정으로 대사



가 일어나는 것 같다. 제조제의 하나인 4-chloro-2-methylphenoxy acetate의 에스테르 결합도 같은 기작으로 절단되고, 그 결과 축쇄가 glyoxylate로 방출되는 것 같다<sup>(14)</sup>.

지금까지 분리된 대부분의 hydroxylase는 flavoprotein이며, 이들의 대사적 기능은 이미 존재하는  $-OH$ 의 ortho 위치에 새로운  $-OH$ 를 도입하는 것이다. 그 결과 catechol

이 생성되고 이것은 dioxygenase의 기질이 되어 고리의 분열이 일어난다. 그래서 mellitate(2-hydroxyphenylpropionate)는 2,3-dihydroxyphenylpropionate가 되고, salicylate는 catechol이 되며, 히드록시화는 탈탄산반응을 수반하기 때문에 orcinol은 2,3,5-trihydroxytoluene이 된다.



### 벤젠고리의 분열

방향족고리에 작용하는 hydroxylase는 고리를 분열하는 기능을 갖는 dioxygenase의 기질이 되도록 화합물의 구조를 적절히 바꾸는 일을 한다. 이러한 dioxygenase는 Fe-S를 갖고 있어서 산소의 두 원자를 전부 기질분자에 투입하여 catechol의 ortho 고리분열이나 meta분열을 일으켜 결국 두 가지 생성물을 만든다(Fig. 3). 이들 효소는 비슷한 구조의 화합물을 기질로 이용하는데, 이때 벤젠 고리에는 적어도 두 개의  $-OH$ 가 ortho나 para에 있어야 한다. 그 이유는 고리분열에 필요한 전자의 이동을 가능케 하기 위한 것이라 생각된다. ESR를 사용하여 protocatechuate-4,5-dioxygenase의 경우를 보면<sup>(15,16)</sup> (Fig. 4, (2)), 분해과정에 참여하기 위해서는 기질의 고리분열이 제일 먼저 일어나야 한다는 것이다.<sup>(17,18)</sup> 우리가 중요시 해야 할 것은 이러한 대사계가 어떻게 형성될 수 있는가. 그리고 인간이 합성한 물질은 기존대사계에 의하여 얼마만큼

폭넓게 받아 들여질 것인가에 있는 것이다.

*Pseudomonas*에서는 8가지의 고리분열 dioxygenase가 분리되었는데<sup>(17,18)</sup>, 각 효소가 촉매하는 반응은 Fig. 4.에서 볼 수 있다. 이들 반응들을 보면 화학적으로는 서로 유사하지만 각 반응의 효소는 다른 화합물을 기질로 이용하지 못한다. 다만 효소(2)의 경우는 예외이다. protocatechuate 4,5-oxygenase는 효소(3)과 효소(4)의 기질인 gallate<sup>(19)</sup>와 3-O-methylgallate<sup>(16)</sup>를 모두 산화할 수 있다. 그렇지만 효소(3)과 효소(4)가 protocatechuate를 기질로 이용하는지에 대해서는 효소의 순수분리가 이루어지기 전이어서 알 수 없고, 효소(3)이 효소(4)의 기질인 3-O-methylgallate를 산화시키지 못하는 것은 알려졌다. 효소(3)과 효소(4)는 다같이 inducible하여서 기질의 존재로 효소량이 10배 이상 증가할 수 있다.

Fig.4의 dioxygenase들은 여러 균주에서 찾은 것이며, 이들 효소 모두를 가진 균주는 아직 발견되지 않았다. 그리고 각 효소의 기질도 자연에 유리상태로 있는 것이 아니다. 즉 효소(2)~(5)의 기질은 리그닌과 다

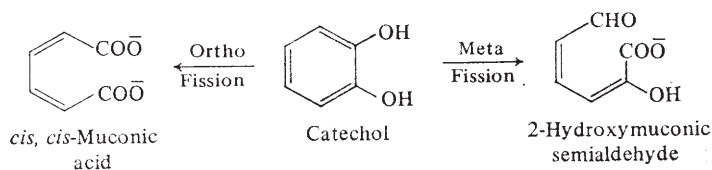


Fig. 3. 서로 다른 Oxygenase에 의한 catechol의 ortho- 및 meta- 분열.

## STANLEY DAGLEY

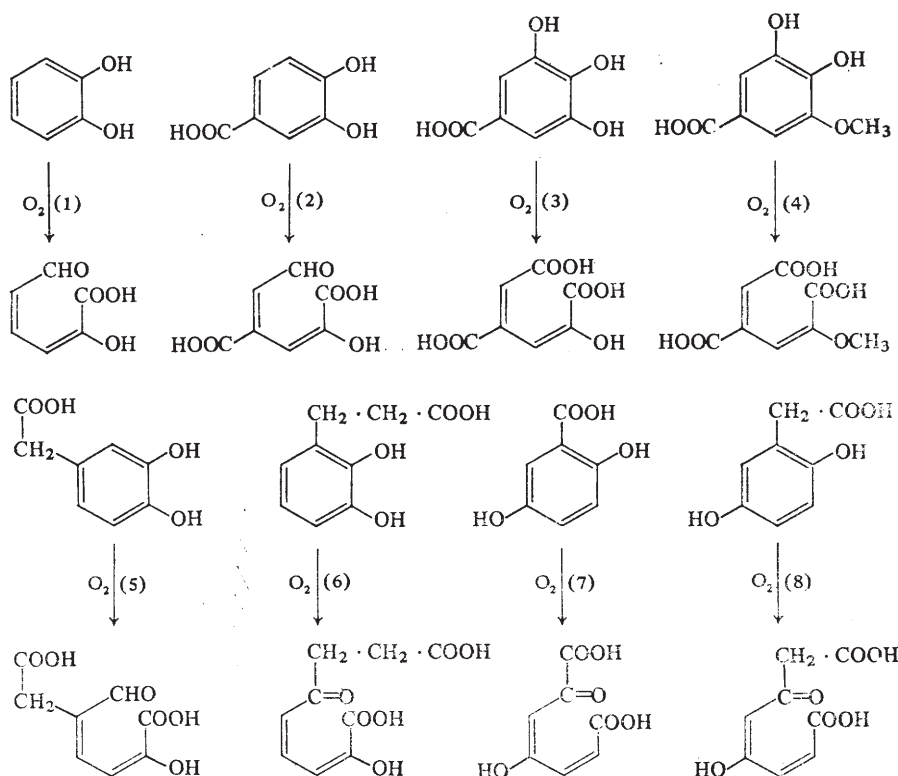


Fig. 4. Dihydro phenol의 meta-분열. 각 반응에서 자기 다른 oxygenase에 의하여, 몇몇 경우 교차반응을 볼 수 있다.

른 자연물의 미생물학적 분해산물에서 찾아볼 수 있고, 효소(1)의 기질인 catechol은 benzoate나 mandelate의 산화에서 생성되며, 효소(6)의 기질은 meibiotate, cinnamate, 또는 hydrocinnamate에서 유래된다. 그리고 효소(8)의 homogentisate는 tyrosine으로부터 합성된다. 이러한 기질의 전구물질은 모두가 자연에 있는데, 해당 효소를 분리하기 위하여 세포를 파괴하면 각종 페놀성물질의 농도가 너무 높아 효소활성이 억제되어 만족한 결과를 얻지 못한다. 그러나 polyvinylpyrrolidone으로 페놀화합물을 제거하는 방법이 개발된<sup>(20)</sup> 이후, 식물효소의 연구는 크게 발전할 것 같다.

기질특이성에 있어서 각 효소들이 서로 중복됨이 거의 없고, Fig. 4의 각 효소들이 서로 다른 군주에서 분리되는 것으로 보아 고리구조화합물의 새로운 분해과정이 형성

되기 위한 첫단계는 해당미생물이 적당한 형태의 dioxygenase를 가져야 하는 일이다. 그러기 위해서는 보다 먼저 잠재성기질과 결합할 수 있는 단백질이 있어야 하며, 또한 철이온과 같이 단백질과 결합할 수 있으면서, 한편 산소를 활성화할 수 있는 간단한 성분도 있어야 한다. 이러한 여건이 구비된 후 진화론적 입장에서 환경에 쉽게 적응할 수 있는 세포들만이 특이성 높은 효소를 갖게 되었을 것이다.

## 고리분열 후의 반응

Fig.4의 dioxygenase로 시작되는 일부 반응과정을 Fig.5에서 다시 볼 수 있다. Catechol 2,3-dioxygenase(효소 1)로 고리분열이 일어난 후 catechol은 Fig. 5의 a와 b의 경로로 대사되는데( $R^1=R^2=H$ 인 때) b

## STANLEY DAGLEY

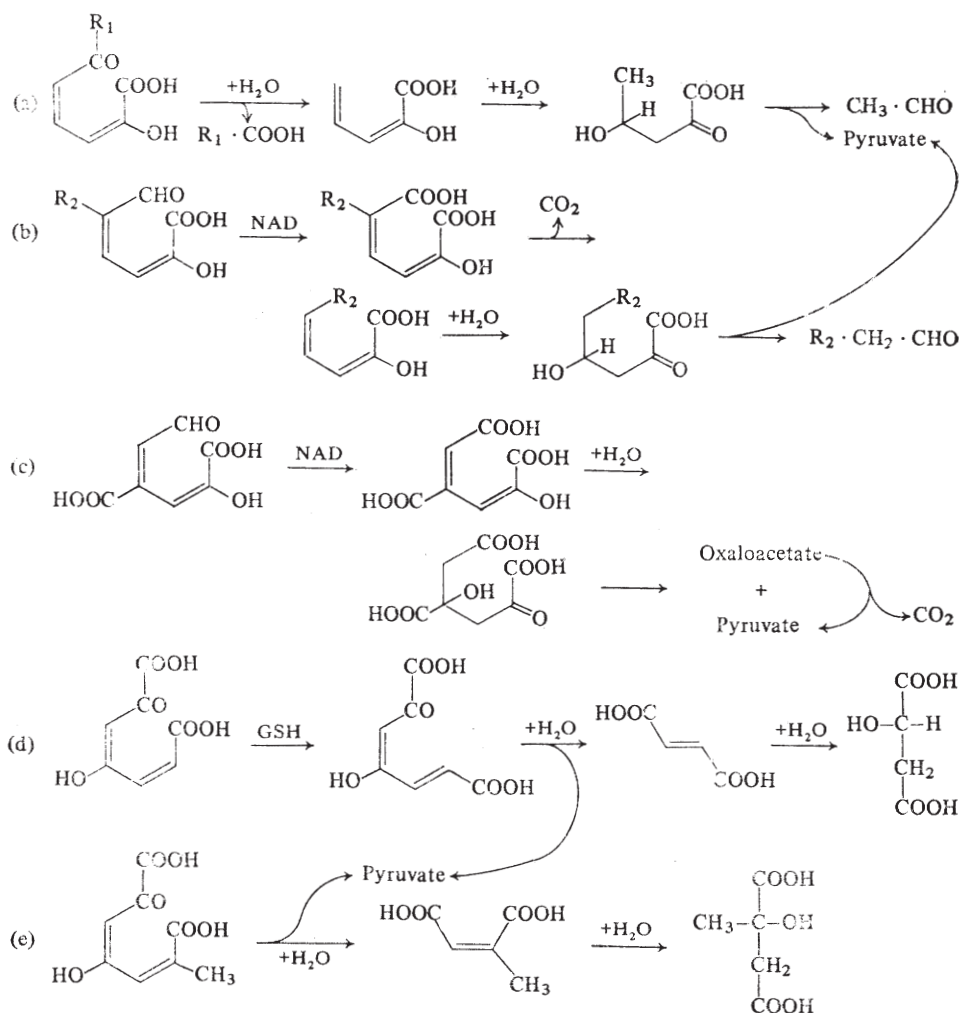


Fig. 5. meta-분열로 생성된 화합물의 분해. 각 반응에서 생성한 고리분열물질들은 a 및 b; catechol c; protocatechuete, d; gentisate, e; 3-methyl gentisate.

의 경로가 더 중요한 것 같다<sup>(21, 22)</sup>. 여기에서 효소가 촉매하는 keto-enol반응<sup>(23)</sup>은 아직 연구중이나 b에서는 탈탄산반응이 먼저 일어나는 것 같다. Fig.4의 효소(1)은 3-, 및 4-methylcatechol과 catechol을 기질로 할 수 있는데, 3-methylcatechol은 주로 Fig.5의 a를 거쳐 분해되고, 4-methylcatechol은 b를 거친다<sup>(22, 24)</sup> ( $\text{R}_1=\text{R}_3=\text{CH}_3$ ). 이 때, a와 b의 효소는 Fig.4의 효소(1)처럼 기질분자의  $-\text{CH}_3$ 를 문제시 하지 않는 것 같다.

Fig.4에서 효소(6)에 의한 고리분열산물

은 a경로로 대사되는데, 여기서는 succinate의 가수분해적인 분해가 일어나며, 이 경우 hydrolase가 기질특이성인지에 대해서는 알지 못한다. 이러한 대사계에서 후반에 속하는 반응들은 catechol을 분해하는데 이용된다. 그러나, 효소(5)에 의한 고리분열산물도 b경로를 거쳐 대사되지만( $\text{R}=\text{CH}_2-\text{C}(\text{OOH})$ ), 여기에 참여하는 효소들의 기질특이성은 매우 높아 catechol이나 protocatechuete로부터 생성된 중간산물들은 기질이 될 수 없다. 그리고 c 경로에서는 protocatechuete 4, 5-dioxygenase<sup>(25, 26)</sup> (Fig. 4, 효소(2))의 산



물이 주로 대사된다. 또한 경로c의 두번째 대사물은 효소(3)의 산물이므로 이 대사계는 gallate를 분해할 수도 있다.

a, b, c의 각 효소들은 높은 기질특이성을 갖고 있어서 3-, 및 4-methylcatechol의 분해산물 이외의 다른 유도체들은 이용하지 못한다. 그러나 일부 효소들은 Fig. 4의 반응(3)과 (6)에서 생성된 물질들을 기질로 이용할 수 있다.

고리구조 화합물의 분해가 여러 대사계에 의한다는 것이 알려진 것은 비교적 근래의 일이다. *Pseudomonas acidovorans*의 어떤 균주는 4-hydroxyphenyl acetate에서 배양될 때 고리의 C-1에서 히드록시화를 일으켜 homogentisate를 만들어 다시 산화시킨다 (Fig. 4, 반응 8). 또 다른 균주에서 밝혀진 것은<sup>(27)</sup> C-3에서 히드록시화가 일어나서 Fig. 4의 효소(5)를 유도하고 생성된 효소(5)에 의하여 pyruvate와 succinic semialdehyde가 된다. 이 경우 Fig. 5의 b를 거치려면  $R=CH_2 \cdot COOH$ 이어야 한다. 한편 *P. acidovorans*는 3-hydroxylase를 갖고 있어, 분해대사계에서 중요한 기능을 하고 있는데 이 균주는 진화과정에서 tyrosine을 생장물질로 이용한 적이 있었을 것이며, 그 결과 homogentisate를 분해할 수 있는 능력을 갖게 되었으며, 한 때는 1-hydroxylase를 사용했던 4-hydroxyphenylacetate의 대사에도 이 효소가 작용하게 되었다고 생각된다.

한편 *P. putida*는 protocatechuate가 있으면 ortho분열을 하는 대사계를 가질 수 있으나, Fig. 4의 효소(2)나 Fig. 5의 c의 meta분열을 하는 효소들은 결코 갖지 못한다. 한편 gallate가 있으면 Fig. 4의 효소 (3)이 유도되고 meta분열에 필요한 모든 효소가 유도되고 기질은 pyruvate로 되고 만다. 즉 protocatechuate(3,4-dihydroxybenzoate)와 gallate(3,4,5-trihydroxybenzoate)는 진화과정에서 서로 다른 시기와 장소에서 각각 독립적으로 세포와 접촉하였음을 알 수 있다. 그러므로 이러한 화합물의 대사계는 구조적인 관련에서 보다는 에너지

원과 연관된 것으로 보는 것이 좋을 것 같다.

## 기존의 대사계와 새로운 화합물의 이용

### 1. 비페닐(Biphenyl)

효소의 기질특이성을 생각할 때, 현존 생물이 지니고 있는 효소들이 인간이 창조한 새로운 화합물을 과연 기질로 이용할 수 있을 것인지, 만약 그렇지 못하다면 앞으로 필요한 돌연변이가 일어날 것인지, 하는 문제들은 현재 당면한 가장 중요한 문제들로서 우선 biphenyl의 경우에서 생각할 수 있을 것 같다.

리그닌의 구조에서도 벤젠고리구조가 직접 서로 결합되어 있어 biphenyl 구조를 형성하고 있지만,  $-OH$ ,  $-OCH$  혹은 다른 원자단을 갖고 있어서 치환기를 갖지 않은 biphenyl이 생물학적으로 합성되기는 매우 어려운 것 같다. 그러나 biphenyl을 탄소원으로 이용하는 미생물이 이미 분리된 바 있어서,<sup>(27, 28, 29, 30)</sup> 보다 "자연적"인 고리화합물의 분해대사계를 구성하는 효소를 찾아내는 것이 무엇보다 중요한 것이다.

현재로는 두 균주에서 각각 다른 대사계가 발견되었는데, 다같이 첫단계에서는 같은 oxygenase로 biphenyl을 cis-2, 3-dihydro-2, 3-dihydroxybiphenyl로 변화시키며<sup>(31)</sup>, 다음 탈수소반응을 거쳐 2, 3-dihydroxybiphenyl을 형성하는 공통단계를 갖는다. 그렇지만 그 다음 단계에서 하나는 2, 3-dihydroxybiphenyl에서 히드록시화한 고리가 Fig. 4의 반응(6)과 비슷한 과정을 지나 고리분열이 일어난 후 결국 benzoate<sup>(28)</sup>와 Fig. 5(R=phenyl)에서 생성되는 물질이 된다. 한편 p-chlorobiphenyl로부터는 4-chlorobenzoate가 생성된다. 그 다음의 경우는 C-3와 C-2 사이가 아니라 C-3과 C-4 사이에서 분열이 일어나 2-hydroxy-3-phenylmuconic semialdehyde가 생긴다<sup>(26)</sup>.

### 2. 다핵 탄화수소화합물(polynuclear hydrocarbons)

비타민 K 및 식물의 황색색소<sup>(31)</sup>와 같은

naphthoquinone들, 특히 anthraquinone 유도체들이<sup>(32)</sup>, 생물계에서 어떻게 분해되는지는 전혀 알려지지 않았지만, 비치환형인 naphthalene과 anthracene의 고리분열에 대하여는 조금 알려진 것이 있다<sup>(33, 34)</sup>. 흔히 유전지대에서는 다핵방향족물질들을 이용하는 박테리아가 분리되는데, anthracene과 naphthalene은 석탄에서 생산되는 중요성분일 뿐만 아니라 잠재성 발암물질임에도 불구하고 인간과 오랫동안 접촉하며 지내왔다는 것은 놀라운 일이라 본다.

Benzopyrene, phenanthrene, anthracene 및 chrysene 등은 고속도로나 공장지대에서 멀리 떨어진 토양에서도 검출이 되는데, 이것은 오염된 공기에서 유래된 것임이 분명하다. 그렇지만 이러한 화합물들이 어떻게 하여 생성되는 것인지는 알 수 없으며 다만 나무나 기타 유기물이 연소할 때 상당량이 생성될 것으로 보인다.

미생물에 의한 이러한 화합물의 대사는 Dioxxygenase에 의한 반응으로 시작하는데, 먼저 *cis*-dihydrodiol이 된 후 다시 *ortho*-dihydric phenal로 되면 또 다른 dioxxygenase에 의하여 고리가 분열된다. 1,2-dihydroxynaphthalene에서 치환된 고리가 분열되면 catechol같이(Fig.5) hydration과 aldol 분열이 일어나서 pyruvate와 salicylate로 된다. Salicylate는 다시 산화하여 catechol이 된 후, *meta* 분열이 일어나 분해된다.

Naphthalene 대사에서는 3개의 고리 중 하나가 dihydroxylation을 거쳐 분열되어 1,2-dihydroxynaphthalene으로 되고, 다음 반응에서 나머지 고리가 각각 분열하며, 결국은 3분자의 pyruvate와 한 분자의 acetaldehyde 및 3분자의 CO<sub>2</sub>가 생성된다<sup>(34)</sup>. 이러한 대사과정에 얼마나 많은 효소가 참여하는 지 또는 다른 *meta*-분열이 있는지는 알지 못하고있다. 그러나 다른 기질특이성에 대한 여러가지 지식을 얻었을 뿐이다.

### 3. Gentisate 대사제

Fig.4에서 본 고리분열효소중에서 치환된 고리에 대하여 반응폭이 큰 것으로는

gentisate 1,2-dioxygenase(효소 7)이 있다. 순수하게 분리된 이 효소는 C-3 또는 C-4에 할로젠이나 -CH<sub>3</sub>로 치환된 gentisate 유도체를 기질로 할 수는 있지만 반응율은 낮아서 gentisate의 24—88% 불과하다<sup>(35)</sup>. 고리가 분열된 후에 일어나는 반응은 박테리아종류에 따라 달라서 현재로서는 두 가지가 알려져 있다. 하나는 Fig.5의 d를 거쳐 maleylpyruvate가 되어 fumarylpyruvate로 되는 것인데<sup>(36, 37)</sup>, 이때 fumarate가 생성된다. 또 다른 대사경로는 이성화가 일어나지 않고 maleylpyruvate에서 maleic산이 생기며, 이것이 hydration되어 D-malate가 된다<sup>(38)</sup>. 이 대사제는 진화가 제대로 진행되지 못한 경우에 형성된 것으로 생각되는데, 그 이유는 “비자연적” 이성체인 D-malate를 Krebs회로에 참여시키기 위해서는 또 다른 반응을 거쳐야 하기 때문이다.

이 반응의 기작에 관하여는 아는 것이 없지만<sup>(39)</sup>, 간단한 racem화 같은 것은 아닌 것 같으며, 앞으로의 연구에서 초기의 이성단계가 어떠한 잇점을 갖는 것인지를 밝혀야 한다. 왜냐하면 독특한 기질특이성을 보이는 이 효소가 여러가지 유도체들의 고리분열을 적절히 수행하지 못하여 세포성장에 영향을 미치기 때문이다.

Maleylpyruvate hydrolase의 기질특이성은 그 폭이 비교적 넓어, 그중에는 이성화 효소를 갖지 못한 미생물이 이용하는 할로젠화합물들도 많이 있다<sup>(39)</sup>. 이러한 현상은 박테리아가 결핍된 효소를 새로 획득하기 보다는 다른 용통성을 발휘한다고 해석된다. D-citramalate는 3-methylgentisate의 고리분열에서 생성되며(Fig. 5 e), 이것과 다른 alkylmalate들은 ATP-Co-A 의존성인 aldolase에 의하여 대사된다<sup>(40)</sup>.

피리딘고리의 분열은 두 가지 방법에 의한다. 이 중의 하나는 대개 gentisate와 catechol의 *meta*-분열과 비슷하다. 2,5-Dihydroxypyridine은 구조상으로 -OH 들이 gentisate에서와 같이 고리를 가로지르고 있어서, *P. fluorescens*에 의하여 대사되면



malate가 되고, <sup>(41)</sup> 이어서 isomerase의 작용을 받아 fumarate로 된다. 또 다른 대사계에서는 4-hydroxypyridine의 히드록시화로 3,4-dihydroxypyridines이 되고 다시 catechol의 meta분열과 비슷하게 C-2와 C-3 사이에서 분열이 일어나 pyruvate와 fumarate로 된다 <sup>(42)</sup>.

#### 4. Cresol과 xylenol의 대사

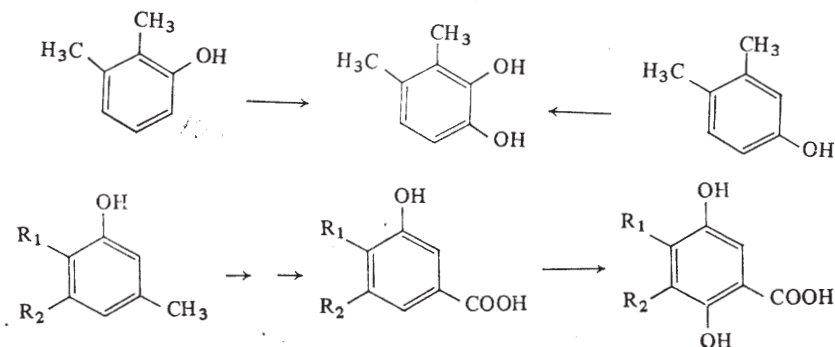
Cresol(methylphenol)과 xylenol(dimethylphenol)은 naphthalen이나 anthracene과 함께 석탄 건류에서 생성된다. 이러한 것들과 산업폐기물에 들어 있는 여러가지 비생물학적 phenol성 화합물의 제거를 위해서는 hydroxylase와 고리분열 dioxygenase의 존재와 반응에 필요한 산소공급이 요구된다. 이 때, 산소공급을 충분하게 하지 않으면 phenol들은 변화되지 않을 뿐 아니라 염소 처리를 한 물을 사용할 경우는 오히려 각종 chlorophenol이 생기게 된다 <sup>(43, 44)</sup>.

Cresol과 phenol은 이용하는 미생물에 의하여 대사경로가 달라진다. *P. testosteroni*가 *p*-cresol(4-methylphenol)에서 배양될 때에는  $-CH_3$ 가  $-COOH$ 로 산화되어 4-hydroxybenzoate가 된다 <sup>(45)</sup>. 이 중간생성물은 다시 protocatechuate가 된 후 Fig. 4의 효소(2)에 의하여 분열이 되고 Fig. 5의 C를 거쳐 대사된다. 그렇지만 xylenol은 같은 균주에 의하여 대사되지 않는다. 그 이유는 또다른  $-CH_3$ 가 있어서 중간산물이 최종단계에 작용하는 효소의 기질이 될 수 없기 때문이다 <sup>(44)</sup>. 한편 *P. putida*의 어떤 균주는 cresol을 산화시킬 때  $-CH_3$ 가 더 있는 경우라도 아무런 차이가 없을 때도 있다. 이

경우에는 cresol의 고리가 제일 먼저 효소의 공격을 받는데 이때  $-CH_3$ (부가적인)는 그대로 남게 된다. 그래서 *p*-cresol은 히드록시화하여 4-methylcatechol이 되고, *o*-, 및 *m*-cresol은 3-methylcatechol이 된다 <sup>(45)</sup>. 그러나 이들은 모두 Fig. 4의 효소(4)로 고리분열을 일으킨 후, Fig. 5의 a나 b를 거쳐 대사되는데, 이 때  $-CH_3$ 는 a를 거쳐서 acetate가 된다. 한편 b에서는 aldol분해가 일어나 propionaldehyde가 생긴다.

3,4-Dimethylcatechol에서  $-CH_3$ 는 가역적으로 자리를 잡게 된다. 그래서 *P. putida*의 어떤 균주는 2,3-xylenol과 3,4-xylenol을 모두 이용할 수 있다. 즉 각각의 화합물은 히드록시화하여 모두가 3,4-dimethylcatechol이 되어서 고리분열반응에 들어가기 때문이다. 그러나 이 효소들은  $-OH$ 에 대하여 2,5-, 나 3,5-,에  $-CH_3$ 가 있는 xylenol을 이용하지는 못한다. 그래서 이러한 화합물은 gentisate 대사제를 갖고 있는 *Pseudomonas*에 의해서 대사된다 <sup>(13)</sup>. 또한  $-OH$ 에 대하여 meta-에  $-CH_3$ 가 있게 되면 대개 gentisate의 치환물로 되는 것이 보통이다. 몇가지 monohydric phenol( $R_1=H, CH_3, C_2H_5$ ;  $R_2=H, CH_3$ )에 관한 연구는 비교적 많은 결과를 가져왔다 <sup>(13)</sup>.

Gentisate 대사제는 지금까지 연구된 고리구조물의 이화작용에서 가장 폭넓은 기질특이성을 보여 주고 있다. 따라서 아래의 반응으로 생성된 gentisate들은 3-methylgentisate(Fig. 5 e)의 의고리분열에서 보이는 반응과 비슷하여 alkyl-치환형의 D-malate가 생기는데, 이들의 Co-A에스테르 화합물은



aldolase에 의하여 분해된다<sup>(40)</sup>.

Cresol과 xylenol 대사에 관한 이와 같은 내용은 일부 자연물의 분해가 미생물에 의하여 진행되며, 또한 산업폐기물의 분해보다 용이하게 진행될 수 있다는 것을 나타내는 것이다.

한편 환경문제란 위치에서 볼 때, 한층 어려운 것은 화석연료와 관계되는 tar의 분해이다. 이에 관련된 문제란 실험을 하는 것부터 어려움이 매우 크며, 리그닌의 경우와 비슷하기 때문에<sup>(4)</sup> 상당한 시간이 소요될 것 같다. 그러나 *Arthrobacter*의 어떤 균주는 유조선 탱크 내의 폐기물인 tar를 생장물질로 이용할 수 있어서<sup>(47)</sup> 이것을 이용한 연구의 전망은 매우 밝다고 본다.

## 맺 음

지금까지 알아본 바와 같이 매년 수억톤의 리그닌을 비롯한 방향족 화합물이 합성되고 또 아들이 자연에서 분해되고 있는데, 우리는 이 내용에 관한 것을 정확히 알고 있지 못한 실정이다. 이것을 지금까지 이러한 문제보다 다른 방면의 문제가 더욱 중요시 되어 왔기 때문이며 결코 해결의 실마리가 없는 것은 아니다. 특히 미생물의 대사계를 정확히 파악하지 못하였고, 또한 환경변화에 따라 이들 대사체가 어떻게 변할 수 있는가에 관하여도 분명한 것을 알지 못하고 있는 실정이다.

그러므로 오늘날 문제가 되고 있는 환경문제에서 우리는 사용량이 점차 증가되고 있는 방향족 화합물이 국부적인 농축현상과 동시에 회석이 일어나는 것을 알 수 있을 뿐 현재에도 막대한 양이 미생물에 의하여 분해되고 있을런지에 관하여는 별로 아는 바가 없다. 그렇지만 앞으로의 보다 조직적인 연구와 지금까지의 부족한 지식이라도 유용하게 활용한다면 오염물을 용이하게 대사하여 분해할 수 있는 여건을 자연에 만들어 놓을 수 있게 될런지도 모르겠다.

## 참 고 문 헌

1. Gray, P.H.H. and H.G. Thornton, 1928, *Centralblatt für Bacteriologie, Parasitankunde und Infektionskrankheiten* 73: 74—96.
2. Crawford, R.L., 1975. *J. Bacteriol.* 121, 531—536
3. Haraguchi, T., 1976. *Kagaku to Seibutsu* 14, 626—632
4. Kirk, T.K., W.J. Connors, R.D. Bleam, W.F. Hackett, and J.G. Zeikus. Works from Forest Product Lab. of the U.S. Dept of Agriculture.
5. Mahler, H.R. and E.H. Cordes, 1971. *Biological Chemistry* and, ed., Harper and Row New York.
6. Massey, V., F. Muller, R. Feldberg, Feldberg, M. Schuman, P. A. Sullivan, L.G. Howell, S.G. Mayhew, R.G. Mathews, and G.P. Foust., 1969. *J. Biol. Chem.* 244, 3999—4006
7. Knowles, R.F., J.F. Gibson, F.M. Pick, and R.C. Bray, 1969. *Biochem. J.* 111, 53—58
8. McCoid, J.M., B.B. Keele, and I. Fiedovich, 1971. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 68, 1024—1027
9. Baptist, J. N., R.K. Gholson, and M.J. Coon, 1963. *Biochim. Biophys. Acta* 69, 40—47
10. Gholson, R.K., J.N. Baptist, and M.J. Coon, 1963. *Biochemistry* 2, 1155—1159
11. Noller, C.R., 1965. *Chemistry of Organic Compounds*, 3rd ed., W.B. Saunders, London
12. Chapman, P.J. and D.J. Hopper, 1968. *Biochem. J.* 10, 491—498
13. Hopper, D.J. and P.J. Chapman, 1971. *Biochem. J.* 122, 527—531
14. Gamar, Y. and J.K. Gaunt., 1971. *Biochem. J.* 122, 19—28
15. Hayashi, O., 1964. Proc. 9th. International Cong. Biochem.
16. Zabinski, R., E. Münck, P.M. Champion, and J.M. Wood, 1972. *Biochemistry* 11, 3212—3219
17. Dagley, S., 1971. *Advan. Microbiol. physiol.* 6, 1—46

18. Chapman, P.J., 1972. *Degradation of Synthetic Organic Molecules in Biosphere* National Academy of Science. Washington, D.C.
19. Tack, B.F., P.J. Chapman, and S. Dagley, 1972. *J. Biol. Chem.* **247**, 6438—6443
20. Loomis, W.D. and J. Battaile, 1961. *Phytochem.* **5**, 423—438
21. Collins worth, W.L., P.J. Chapman, and S. Dagley., 1973. *J. Bacteriol.* **113**, 922—931
22. Sala-Trepat, J.M., K. Marray, and P.G. Williams, 1972. *Eur. J. Biochem.* **28**, 347—356
23. Sala. Teepat, J.M. and W.C. Evans, 1971. *Eur. J. Biochem.* **20**, 400—413
24. Bagly, R.C. and G.J. Wigmore, 1973. *J. Bacteriol.* **113**, 1112—112
25. Dennis, D.A., P.J. Chapman, and S. Dagley, 1972. *J. Biol. Chem.* **247**, 6444—6449
27. Lunt, D. and W.C. Evans, 1970. *Biochem. J.* **118**, 54—559
28. Catelani, D., C. Sorlini, and V. Teccani, 1971. *Experimentia* **27**, 1173—1174
29. Ahmed, M. and D.D. Focht., 1973. *Can. J. Microbiol.* **19**, 47—52
30. Ohmori, T., T. Ikai, Y. Minoda, and K. Yamada, 1973. *Agr. Biol. Chem.* **37**, 1599—1605
31. Gibson, D.T., R.L. Roberts, M.C. Wells, and V.M. Kobal., 1973. *Biochem. Biophys. Res Commun.* **50**, 211—219
32. Robinson, T., 1967. *The Organic Constituents of Higher Plants*, 2nd. ed., Burgess Publ. Co. Minneapolis, Minn.
33. Davies, J.I. and W.C. Evans, 1964. *Biochem. J.* **91**, 251—261
34. Evans, W.C., H.N. Frenley, and E. Griffiths, 1965. *Biochem. J.* **95**, 819—831
35. Blumer, M, 1961. *Science* **134**, 474—475
36. Crawford, R.L., S.W. Hutton, and P.J. Chapman, 1975. *J. Bacteriol.* **121**, 794—799
37. Lack, L., 1959. *Biochim. Biophys. Acta* **34**, 117—123
38. Hopper, D.J., P.J. Chapman, and S. Dagley., 1968. *Biochem. J.* **110**, 798—800
39. Hopper, D.J., P.J. Chapman, and S. Dagley, 1970. *J. Bacteriol.* **104**, 1197—1202
40. Hopper, O.J., P.J. Chapman, and S. Dagley, 1971. *Biochem. J.* **122**, 29—40
41. Behrman, E.J. and R.Y. Stanier, 1957. *J. Biol. Chem.* **228**, 923—945
42. Watson, G.K., C. Houghton, and R.B. Cain., 1974. *Biochem. J.* **140**, 277—292
43. Davis, J. B., 1967. *Petroleum Microbiology*, Elsevier, Amsterdam.
44. Higgins, P.M., 1968. *Develop. Indust. Microbiol.* **9**, 146—159
45. Dagley, S. and M.D. Patel, 1957. *Biochem. J.* **66**, 227—233
45. Bagly, R.C., S. Dagley, and D.J. Gibson, *Biochem. J.* **101**, 293—301
47. Time (magazine), issue of may 21, 1973. p. 60