

미생물을 이용한 농약잔류 분석법 개발

백수봉* · 양창술 · 오연선
건국대학교 농과대학

Development of Microbial Bioassay for Detection of Pesticide Residues

Su Bong Paik*, Chang Sool Yang and Yeon Sun Oh
College of Agriculture, Kon Kuk University, Seoul 133-701, Korea

ABSTRACT : This study was carried out to develop bioassay for detection of pesticide residues in agricultural products by using the soil microbial isolates sensitive to pesticides. One hundred bacterial isolates and eighty five fungal isolates were obtained from soil and their sensitivity to 10 ppm of several pesticides was examined *in vitro*. Five bacterial isolates and three fungal isolates were found sensitive to organochloride fungicide and two fungal isolates sensitive to organocopper fungicide. Among these isolates, B46, B93 and F67 were tested to find out the difference in sensitivity according to the methods of fungicide treatment. All of the isolates were found sensitive to 10 ppm of organochloride fungicides mixed directly in PDA. But they were found insensitive to the fungicide mixed in PDA after filtering through membrane filter. In case of organocopper fungicide, the isolates were found sensitive only when it was treated in PDA. And their sensitivity showed difference among various kinds of organochloride fungicides. B46 and B93 were employed to check the possibility as the agents for detection of the pesticidal residues in twenty eight agricultural products including rice. It was found that all samples had not residues because the samples did not inhibit the growth of isolates. When organochloride fungicides were applied to the above products, it was possible to detect the residues in fruits and vegetables at the concentraion of 10 ppm, but not in starch-rich grains. B46 and B93 were identified as *Bacillus* sp. according to their bacterial characteristics in culture.

Key words : Microbial bioassay, detection, pesticide residues, sensitive, *Bacillus* sp.

농업에서 농약의 광범위한 사용과 오용은 생태계의 파괴 뿐만 아니라 인류에게 해로운 영향을 주게 되었으며 특히 농업생산물의 농약잔류문제는 소비자와 정부는 물론 대중매체의 관심대상이 되어 각 나라에서는 농약에 대한 안전사용기준과 잔류허용량이 설정되고 있는 실정이다. 농산물에 있어서 잔류농약검출은 주로 Gas chromatography, High pressure liquid chromatography, Thin layer chromatography, Mass spectrometry와 같은 높은 기술방법과 값비싼 기기들에 의존하고 있으나 근래에 와서는 신소재로서 실험실에서 손쉽고 비용이 적게드는 새로운 생물검정 기술의 개발에 관심을 가지게끔 되었다.

Skerrit(9)는 의학진단에서 Enzyme immunoassay 법을 응용하여 큰 효과를 얻었으며, Hammock와 Mumma(3)는 농약, 균독소의 검출을 위하여 immunoassay법이 도입될 수 있다고 했다. Jay(4)는 미생물을 이용하여 여러 물질을 검출한 자료를 발표하여 기기분석보다 값싸고 손쉽게 행할수 있다고 했으며, Laroque 와 Neville(6)은 우유속의 항생물질 검출을 위하여 감수성 높은 *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolatis*를 이용하였고, Ko와 Lockwood(5)는 *Bacillus licheiformis*와 *Corynebacterium fasciens*가 10 ppm DDT에서 억제된다고 보고했다.

의학, 공중보건, 위생, 농업 등 화학약품이 사용되는 곳에서는 생물학적 검정법이 개발되어 왔으며 잔류농약의 생물학적 검정도 생물과 화학약품간의 상호작용을 이용하는 것으로 다양한 물질의 양적,

*Corresponding author.

질적 검정에 대해 미생물의 이용이 연구되어 왔다. 자연계에는 많은 미생물이 분포하고 있어 이들 중에서 농약에 감수성이 높은 균주를 선발하여 생물검정으로 손쉽게 검출할 수 있는 방법을 개발하고자 이 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

미생물의 분리. 농약잔류가 없는 전국 17개소의 깊은 산에서 52점의 토양시료를 채집하여 세균 100 균주와 곰팡이 85균주를 분리하였다(Table 1).

세균분리는 공시토양 10 g을 멸균한 pepton water 90 ml에 혼합하고, 여기에서 1 ml를 취해 멸균한 pepton water 9 ml에 다시 혼합하여 계속 10^{-5} 까지 희석하였다. 이 희석액 1 ml를 P.W.A배지(peptone water agar) 10 ml에 부어 25°C에서 2~3일간 배양하여 성상이 다른 균종을 분리하였다.

곰팡이의 분리는 공시토양 10 g을 멸균한 potato water 90 ml에 혼합하고, 여기에서 1 ml를 취해 멸균한 potato water 9 ml에 다시 혼합하여 계속 10^{-3} 까지 희석하였다. 이 희석액 1 ml를 PDA배지(potato dextrose agar) 10 ml에 부어 25°C에서 3~5일간 배양하여 성상이 다른 균종을 분리하였다.

농약에 대한 감수성미생물의 탐색. PDA배지에 유기염소제(chlorothalonil 75% WP), 유기인제(IBP 48% EC), 유기비소제(neoasozin 65% liquid), 유기동제(yonepon 40% WP), 유기황제(isoprothiolane 40

% EC), 헤테로환식질소화합물(procymidone 50% WP), 퀴논제(dithianone 75% WP), 디티오카바메이트제(zineb 70% WP)의 살균제들을 농도별(10, 25, 50 ppm)로 처리하고 여기에다 분리된 세균 100균주, 곰팡이 85균주를 접종하여 25°C에서 2~5일간 배양하여 균종의 생육상황을 조사하였다. 균종이 발육하지 못하거나 생육이 억제되는 균주를 농약에 대한 감수성균주로 판정하였다.

생물검정. *in vitro*에서 유기염소제(chlorothalonil)와 유기동제(yonepon)에 감수성이 높은 균주를 공시하여 농약별(chlorothalonil, yonepon), 농도별(10, 20 ppm)로 직접 PDA배지에 혼합처리, 세균여과지로 여과하여 PDA배지에 혼합처리, PDA배지에 혼합처리하고 멸균처리, 작물에 뿌리고 증류수로 씻은 액을 세균여과지로 여과하여 PDA배지에 혼합처리, 그리고 작물에 뿌리고 증류수로 씻은 액을 PDA배지에 혼합하고 멸균처리 등에 의한 방법으로 처리하여 감수성 정도를 비교하였다. 또 유기염소제 계통(chlorothalonil, triforine, tetradifon, dicofol)을 농도별(10, 20, 50 ppm)로 PDA에 혼합하고 멸균처리한 것과 멸균하지않은 처리방법으로하여 선발된 균주의 감수성 정도를 비교하였다.

농약잔류성 검정. 선발된 B46과 B93균주를 공시하여 시중에서 쌀을 비롯한 28개 농산물을 수집하여 농약잔류량을 조사하였다. 화곡류와 두류는 종실, 채소류는 생잎, 그리고 과일류는 껍질을 살균수와 혼합하여 세계 혼들어 씻은 액을 PDA배지에 혼합

Table 1. Bacteria and fungi isolated from various soil samples

Sample source	No. of samples	No. of bacterial isolates	No. of fungal isolates	
Kyungki	Namhansan	3	4	5
	Youngmunsan	3	7	3
	Sulaksan	3	5	3
	Manisan	3	8	10
	Cheongkyesan	3	5	3
Kangweon	Seolaksan	3	5	10
	Chiaksan	4	5	5
Chungbuk	Weolaksan	3	8	6
	Sokrisan	3	11	7
Chungnam	Deokyusan	3	4	7
	Seolaesan	3	4	7
	Chilgapsan	3	7	3
Kyungbuk	Kumosan	3	3	4
Cheonbuk	Chijangsan	3	9	3
	Jirisan	3	4	3
Jaeju	Hanrasan	2	4	2
Hambuk	Paikdusan	4	7	4
Total	17	52	100	85

멸균 처리하고 공시균주를 접종하여 25°C 항온기에서 배양하였다. 24시간 후 colony의 발육상황을 조사하여 잔류량 유무를 평가하였다. 또 공시농산물에 직접 유기염소제를 잔류량이 10 ppm, 20 ppm이 되도록 뿌리고 24시간 후 위와 같은 방법으로 조작하여 잔류량을 평가하였다.

선발된 균주의 동정. 유기염소제에 감수성인 B46과 B93균주를 동정하기 위하여 Gram염색을 하였고, 배양적 특성을 위하여 온도, pH범위를 조사하였다. 그 이외의 종의 분류를 위해 세균동정기(VITEK: Mcdonnell douglas health system Co.)를 이용(10)하여 생화학적 분해능을 조사하여 Bergey's manual의 분류지침(1)에 따라 동정하였다.

결 과

농약에 대한 감수성 미생물의 탐색

50 ppm의 농도에서 감수성 균주의 선발. 공시한 세균 100균주 중에서 6개 균주가 유기염소제 및 유기동제에 감수성이었고, 1개의 균주가 유기인체에 감수성이었으며, 다른 균주들은 공시농약에 감수성을 나타내지 않았다(Table 2).

곰팡이 85균주 중에서는 5종의 균주만이 유기염소제, 유기동제에서 균총의 생장이 억제되어 감수성으로 나타났고, 다른 공시농약에 감수성을 나타내지 않았다(Table 3).

Table 2. Sensitivity of bacteria isolated from various samples to 50 ppm of eight fungicides

Isolate No.	Fungicides							
	A ^a	B	C	D	E	F	G	H
14	- ^b	+	+	±	+	+	+	+
39	-	+	+	-	+	+	+	+
46	-	±	+	-	+	+	+	+
88	-	+	+	-	+	+	+	+
93	-	+	+	-	+	+	+	+
98	-	+	+	-	+	+	+	+

^aA: Organochloride fungicide (chlorothalonil).
 B: Organophosphorous fungicide (IBP).
 C: Organoarsenic fungicide (neoasozin).
 D: Organocopper fungicide (yonepon).
 E: Organosulfur fungicide (isoprothiolane).
 F: Heterocyclic nitrogen compound (procymidone)
 G: Quinone fungicide (dithianone)
 H: Dithiocarbamate fungicide (zineb)
^b- : Sensitive (0 mm), ± : Slightly sensitive (<1 mm), + : Insensitive (>1 mm).

25 ppm 및 10 ppm의 농도에서 감수성 균주의 선발. 50 ppm 농도에서 감수성이 있는 6종의 세균균주를 다시 25 ppm의 농도에서 검정한 결과 유기염소제에서는 6종의 세균균주가 모두 감수성이었고, 유기동제에서는 5종의 세균만이 감수성이었으며, 유기인제에서는 감수성이었지 않았다(Table 4).

25 ppm농도에서 선발된 감수성세균 균주를 다시 10 ppm의 농도에서 검정한 결과 유기염소에서 5종의 균주가 감수성으로 나타났으나 유기동제에서는 감

Table 3. Sensitivity of fungi isolated from various samples to 50 ppm of eight fungicides

Isolate No.	Fungicides							
	A ^a	B	C	D	E	F	G	H
55	60.0 ^b	0.0	0.0	53.3	0.0	0.0	0.0	0.0
67	53.6	0.0	0.0	46.4	0.0	0.0	0.0	0.0
72	77.8	0.0	0.0	46.7	0.0	0.0	0.0	0.0
75	41.7	0.0	0.0	58.3	0.0	0.0	0.0	0.0
76	41.7	0.0	0.0	56.3	0.0	0.0	0.0	0.0

^aA: Organochloride fungicide (chlorothalonil).
 B: Organophosphorous fungicide (IBP).
 C: Organoarsenic fungicide (neoasozin).
 D: Organocopper fungicide (yonepon).
 E: Organosulfur fungicide (isoprothiolane).
 F: Heterocyclic nitrogen compound (procymidone).
 G: Quinone fungicide (dithianone).
 H: Dithiocarbamate fungicide (zineb).

^bPercent inhibition of mycelial growth

$$= \left(1 - \frac{\text{Mycelial growth of treatment}}{\text{Mycelial growth of control}}\right) \times 100$$

Table 4. Sensitivity of bacteria isolated from various samples to 25 ppm and 10 ppm of chlorothalonil, IBP, and yonepon

Isolate No.	Fungicides					
	A ^a		B		D	
	25	10 ppm	25	10 ppm	25	10 ppm
14	- ^b	+	+	+	+	+
39	-	-	+	+	-	+
46	-	-	+	+	-	+
88	-	-	+	+	-	+
93	-	-	+	+	-	+
98	-	-	+	+	-	+

^aA: Organochloride fungicide (chlorothalonil).
 B: Organophosphorous fungicide (IBP).
 D: Organocopper fungicide (yonepon).
^b- : Sensitive, ± : Slightly sensitive, + : Insensitive.

수성인 것이 없었다(Table 4).

또 50 ppm의 농도에서 감수성이 있는 5종의 곰팡이균주를 다시 25 ppm의 농도에서 검정한 결과 모든 균주가 유기염소제, 유기동제에 대하여 감수성으로 나타났다(Table 5).

25 ppm의 농도에서 감수성으로 선발된 5종의 곰

Table 5. Sensitivity of fungi isolated from various samples to 25 ppm and 10 ppm of chlorothalonil and yonepon

Isolate No.	Fungicides			
	A ^a		D	
	25	10 ppm	25	10 ppm
55	53.3 ^b	46.7	26.7	26.7
67	53.6	42.9	46.4	39.3
72	71.1	35.6	42.2	20.0
75	41.7	8.3	50.0	33.3
76	37.5	8.3	29.2	12.7

^a A : Organochloride fungicide (chlorothalonil).

D : Organocopper fungicide (yonepon).

^b Percent inhibition

$$= \left(1 - \frac{\text{Mycelial growth of treatment}}{\text{Mycelial growth of control}} \right) \times 100$$

Table 6. Sensitivity of microbial isolates by different treatment method to 10 and 20 ppm of chlorothalonil and yonepon

Fungicides	Treatments	Isolates					
		B46		B93		F67	
		10	20 ppm	10	20 ppm	10	20 ppm
Organochloride (Chlorothalonil)	A ^a	-	- ²⁾	-	-	±	-
	B	+	±	+	±	+	+
	C	-	-	-	-	±	-
	D	+	+	+	+	+	+
	E	-	-	-	-	±	-
Organocopper (Yonepon)	A	-	-	-	-	±	±
	B	+	±	+	±	+	-
	C	±	-	±	-	+	-
	D	+	+	+	+	+	-
	E	+	+	+	+	+	-

^a A : Fungicide solution mixed with PDA media.

B : Fungicide solution filtered with membrane filter and then mixed with PDA media.

C : Fungicide solution mixed with PDA media and then sterilized by autoclave.

D : Fungicide solution sprayed on plant and then washed out with distilled water. The solution filtered with membrane filter and mixed with PDA media.

E : Same procedure as treatment D and then sterilized by autoclave.

^b - : Sensitive, ± : Slightly sensitive, + : Insensitive.

팡이균주를 다시 10 ppm농도에서 검정한 결과 유기염소에서 3종의 균주, 유기동제에서는 2종의 균주에서 약간의 감수성으로 나타났다(Table 5).

생물검정

농약의 처리방법에 따른 균주의 감수성. Chlorothalonil을 PDA배지에 20 ppm이 되게 처리한 것, PDA배지에 처리하고 멸균한 것, 작물에 뿌린것을 PDA배지에 처리하고 멸균한것 등에서는 공시균주 모두 감수성으로 나타났고, 세균여과지로 여과하여 PDA 배지 처리에서는 감수성을 나타내지 않았다. 그리고 yonepon 20 ppm에서는 PDA배지 처리한 것과 PDA배지에 처리하고 멸균한 것에서만 감수성이었고, 다른 처리 시험구에서는 감수성을 나타내지 않았다. chlorothalonil 10 ppm에서는 20 ppm에서와 같은 경향이었고, yonepon 10 ppm에서는 PDA배지 처리에서만 감수성이었고, PDA 배지에 처리하고 멸균한 것에서는 다소 감수성이었고 다른 처리에서는 감수성을 나타내지 않았다(Table 6).

유기 염소제 계통의 처리방법에 따른 균주의 감수성. 유기염소제를 PDA에 처리하고 멸균한 것과 멸균하지 않은 경우의 균주의 감수성을 보면 dicofol에서는 멸균함으로써 감수성을 나타내지 않았다 (Table 7).

Table 7. Sensitivity of B46 and B93 isolates to pesticides on different treatment methods *in vitro*

Treatment	Organochloride pesticides	Concentration (ppm)	Isolates	
			B46	B93
Non-sterilizing	chlorothalonil	10	- ^a	-
		20	-	-
		50	-	-
	triforine	10	±	-
		20	±	-
		50	-	-
	tetradifon	10	±	±
		20	-	±
		50	-	-
	dicofol	10	±	-
		20	-	-
		50	-	-
Sterilizing	chlorothalonil	10	-	-
		20	-	-
		50	-	-
	triforine	10	±	±
		20	±	-
		50	-	-
	tetradifon	10	±	±
		20	±	-
		50	-	-
	dicofol	10	+	+
		20	+	+
		50	+	+

^a - : Sensitive, ± : Slightly sensitive, + : Insensitive.

잔류성 검정. 선발된 균주를 가지고 시중에서 쌀을 비롯한 28개 농산물을 수집하여 잔류량을 검정한 결과 잔류량이 검출되지 않았다. 즉 공시된 균주들이 감수성을 나타내지 않았다(Table 8).

별도로, 이들 재료에 유기염소제를 처리하여 검정한 것을 보면 20 ppm 농도에서 쌀, 보리, 밀, 감자, 고구마, 옥수수에서는 감수성을 나타내지 않았고, 다른 농작물에서는 감수성을 나타냈다. 그러나 10 ppm 농도에서는 chlorothalonil의 경우 콩만 제외하고는 같은 경향이었고 triforine은 콩 이외에 토마토, 호박, 쪽갓에서도 감수성을 나타내지 않았다(Table 9).

선발된 세균의 동정. 분리된 B46과 B93은 gram 음성균, 간균이며, 내생포자를 형성하였다. 온도에 대한 성장범위는 20~40°C, pH범위는 B46은 6~11이고, B93은 6~10의 범위를 나타냈다. 그리고 이들의 생리생화학적 특성을 조사한 결과는 Table 10와 같으며, Bergey's manual(1)에 따라 분류동정한 결과 B46과 B93은 *Bacillus*속에 속하였다.

Table 8. Detection of organochloride fungicides residue on crops by B46 and B93 isolates

Samples	Isolates	
	B46	B93
1 <i>Oryza sativa</i>	+ ^a	+
2 <i>Hordeum vulgare</i>	+	+
3 <i>Triticum aestivum</i>	+	+
4 <i>Solanum tuberosum</i>	+	+
5 <i>Ipomoea batatas</i>	+	+
6 <i>Zea mays</i>	+	+
7 <i>Glycine max</i>	+	+
8 <i>Sesamum japonicum</i>	+	+
9 <i>Malus pumila</i>	+	+
10 <i>Pyrus sinensis</i>	+	+
11 <i>Vitis</i> sp.	+	+
12 <i>Citrus</i> spp.	+	+
13 <i>Fragaria chiloensis</i>	+	+
14 <i>Cucumis melo</i>	+	+
15 <i>Lycopersicon esculentum</i>	+	+
16 <i>Cucumis sativus</i>	+	+
17 <i>Cucurbita</i> sp.	+	+
18 <i>Daucus carota</i>	+	+
19 <i>Capsicum annum</i>	+	+
20 <i>Solanum melongena</i>	+	+
21 <i>Lactuca sativa</i>	+	+
22 <i>Spinacia oleracea</i>	+	+
23 <i>Chrysanthemum coronarium</i>	+	+
24 <i>Brassica pekinensis</i>	+	+
25 <i>Brassica oleracea</i>	+	+
26 <i>Raphanus sativus</i>	+	+
27 <i>Allium cepa</i>	+	+
28 <i>Allium fistulosum</i>	+	+

^a + : Insensitive.

고 찰

Shamiyeh와 Johnson(8)은 세균, 방선균, 곰팡이의 총 1,097균주를 배지에서 10 ppm과 25 ppm의 heptachlor에 대한 생장억제를 조사한 결과 세균균주중에서 15%가 10 ppm에서, 63%가 25 ppm에서 생장이 억제되는 것을 밝혔고, Park(7)은 DDT, γ -BHC, dieldrin 및 heptachlor와 같은 유기염소제 농약에 감수성이 높은 미생물을 조사한 결과, 총 520종의 분리 균주중에서 12개 균주가 25 ppm에서 민감하게 나타나는 것을 보고했다.

Duggan(2)에 따르면, 농약중에서 유기염소제는 대부분 토양이나 식물표면에서 분해가 잘 되지 않고 잔류되기 때문에 인류에게 여러 가지 부작용을 가져오게 되므로 잔류농약에 대한 정확하고 간단한 검출방법이 필요하다고 했다. 본 연구결과에서 농약

Table 9. Detection of organochloride fungicides residue on crops by B46 and B93 isolates to organochloride fungicidespread on crops

Samples	Chlorothalonil				Triforine			
	10		20 ppm		10		20 ppm	
	B46	B93	B46	B93	B46	B93	B46	B93
1. <i>Oryza sativa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
2. <i>Hofdeum vulgare</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
3. <i>Triticum aestivum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
4. <i>Solanum tuberosum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
5. <i>Lpomaea batatas</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
6. <i>Zea mays</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
7. <i>Glycine max</i>	+	+	-	-	+	+	-	-
8. <i>Sesamum japonicum</i>	-	-	-	-	±	+	-	-
9. <i>Malus pumila</i>	-	-	-	-	±	+	-	-
10. <i>Pyrus sinensis</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
11. <i>Vitis sp.</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
12. <i>Citrus spp.</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
13. <i>Fragaria chiloensis</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
14. <i>Cucumis melo</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
15. <i>Lycopersicon esculentum</i>	±	±	-	-	+	+	-	-
16. <i>Cucumis sativus</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
17. <i>Cucurbita sp.</i>	-	-	-	-	+	+	-	-
18. <i>Daucus carota</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
19. <i>Capsicum annum</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
20. <i>Solanum melongena</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
21. <i>Lactuca sativa</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
22. <i>Spinacia oleracea</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
23. <i>Chrysanthemum coronarium</i>	±	±	-	-	+	+	-	-
24. <i>Brassica peckinensis</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
25. <i>Brassica oleracea</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
26. <i>Raphanus sativus</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
27. <i>Allium cepa</i>	-	-	-	-	±	±	-	-
28. <i>Allium fistulosum</i>	-	-	-	-	±	±	-	-

° - : Sensitive, ± : Slightly sensitive, + : Insensitive.

의 종류와 농도에 따라 감수성에 차이가 있는것으로 확인되었으며 단지 유기염소제에 대해서만 감수성이 높은 균주가 탐색되었다.

탐색된 균주에 대한 농약잔류분석이용의 가능성을 검토하기 위해서 몇 가지 처리방법을 달리하여 조사해 본 결과 작물에 유기염소제(chlorothalonil)를 뿌린 후, 증류수로 그 잔류량이 10 ppm, 20 ppm이 되게끔 배지에 처리하고 멸균한 시험구에서는 감수성이 있게 나타났고, 유기동제(yonepon) 10 ppm에서는 단지 PDA배지의 처리에서만 감수성으로 나타나고 있어 유기염소제는 열에 안정성이 있고 유기동제는 안정성이 없는 것으로 나타났다.

이와 같은 결과를 기초로 유기염소제 계통의 농약이 열에 안정성이 있는가를 검토한 결과 chloro-

thalonil, triforine, tetradifon은 안정성이 있었고, dicofol은 안정성이 없게 나타나고 있어, 유기염소제의 종류에 따라 차이가 있는것으로 추측된다.

농약에 대한 열의 안정성 비교연구는 공시재료에 많은 미생물이 오염되어 있어 이들이 공시균주와 배지에서 함께 생육되므로 공시재료를 살균할 필요가 있게된다. 이때 잔류농약이 열에 의하여 변화가 일어난다면 정확한 검정이 곤란하게 된다.

선발된 B46과 B93 두 균주를 공시하여 시중에서 쌀을 비롯한 28개 농산물에 대한 농약잔류를 검정한 결과 생장을 억제시키지 못하고 있어 10 ppm 이상의 잔류량은 없는 것으로 판단되었다.

별도로 공시농산물에 유기염소제를 10 ppm 농도로 되게끔 처리하여 농약잔류량을 검정한 결과에서는

Table 10. Biochemical characteristics of isolates B46 and B93

Characteristics	Isolates	
	B46	B93
1. Negative control	- ^a	-
2. Sucrose	-	-
3. Tetrazolium red	+	-
4. Tagatose	-	-
5. Glucose	+	+
6. Inositol	-	-
7. Galactose	-	-
8. Arabinose	-	-
9. Xylose	-	-
10. Mannitol	-	-
11. Raffinose	-	-
12. Salicin	-	-
13. Amygdalin	-	-
14. Inulin	+	-
15. Ribose	-	-
16. Maltose	+	+
17. Trehalose	+	+
18. Palatinose	-	-
19. Sorbitol	-	-
20. N-acetyl-d-glucosamine	+	+
21. Amylopectin	+	+
22. Potassium thiocyanate	+	-
23. 7% NaCl	-	-
24. Mandelic acid	+	+
25. Oleandomycin	-	-
26. Sodium acetate	-	+
27. Arabitol	-	-
28. Polyamidohygrostrepin	+	-
29. Nalidixic acid	-	-
30. Esculin	+	-

^a - : Negative, + : Positive.

전분이 많은 곡류에서는 효과가 없게 나타났고 과실, 채소류에서는 효과가 있게 나타났다. 이와 같은 사실은 공시균주가 전분이 많은배지에서는 생육이 왕성하여 농약에 대한 감수성이 떨어지는 것이 아닌가 추론된다.

이상의 결과에서 분리된 균주는 유기염소계제통 중에서 열에 안정성이 있는 농약에서는 10 ppm 농도까지 그 잔류량을 검정할 수 있다고 보며 농작물 중에서도 과실류와 채소류에 대해서는 잔류량을 검정할 수 있을것으로 본다.

Ko와 Lockwood(5)는 *Bacillus licheniformis*와 *Corynebacterium fasciens*가 각각 10 ppm과 1 ppm의 DDT에서 억제된다고 하였고 Larcque와 Neville(6)는 우유속의 항생물질 검출을 위하여 감수성이 높은

Bacillus strearothermophilus var. *calidolatis*를 분리하였는데 본 연구에서도 B46과 B93균주는 10 ppm의 유기염소제에 생육이 억제되었다. B46과 B93균주는 vitek 자동기기를 이용(10)한 세균학적 특성에 따라 *Bacillus* sp.로 판정할 수 있었으나 종간 구별은 매우 곤란하였다.

요 약

토양 중에 존재하는 미생물 중에서 농약에 대한 감수성이 높은 균주를 선발하여 생물검정으로 농약 잔류를 쉽게 검출할 수 있는 방법을 개발하고자 이 연구를 수행하였다.

토양에서 분리된 세균 100균주와 곰팡이 85균주를 *in vitro*에서 10 ppm농도의 각종 농약에 대한 감수성을 비교한 결과, 세균은 유기염소제에서 5종, 곰팡이는 유기염소제에서 3종, 유기동제에서 2종이 분리되었다.

이들중 세균 B46, B93균주와 곰팡이 F67균주를 처리방법에 따른 감수성 차이를 비교한 결과 10 ppm의 유기염소제를 직접 PDA배지에 처리하고 멸균한 것과 작물에 뿌린 세척액을 PDA배지에 처리하고 멸균한 것에서는 감수성으로 나타났으나 세균여과지로 여과하여 PDA배지 처리에서는 감수성을 나타내지 않았다. 10 ppm 유기동제에서는 PDA배지 처리에서만 감수성이었고 다른 처리에서는 감수성을 나타내지 않았다. 그리고 공시한 유기염소제 종류에 따른 멸균처리에서는 감수성에 차이가 있었다.

선발한 B46과 B93균주를 공시하여 쌀을 비롯한 28개 농산물에 대한 농약잔류량을 조사한 결과는 공시균주들의 생장을 억제시키지 못하여 잔류량이 없는것으로 나타났으며 이들 농산물에 유기염소제를 처리하여 잔류량을 조사한 결과는 10 ppm 농도에서 전분이 많은 곡류에서는 잔류량검정이 불가능했으나 과채류에서는 검정이 가능하였다. 그리고 B46과 B93균주는 세균학적 특성에 따라 *Bacillus* sp.로 동정되었다.

감사의 말씀

이 논문은 1991년도 과학재단 기초연구 지원비로 수행된 연구임을 밝히며 감사드립니다.

참고문헌

1. Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R.

1989. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The Williams and Wilkins Co.
2. Duggan, R. E. and Duggan, M. B. 1973. Pesticide residues in food. In *Environmental pollution by Pesticides*, ed. by C. A. Edwards. pp.334-364. London. Plenum Publishing Company Ltd.
 3. Hammock, B. D. and Mumma, R. O. 1981. Potential of immunochemical technology for pesticide analysis. In *Pesticide Analytical Methodology*, ed. by J. Harvey, Jr. and G. Zweig. pp. 321-352. New York. American Chemical Society Symposium Series 136.
 4. Jay, J. M. 1984. Microbiology assays. In *Modern Methods of Food Analysis*, ed. by K. K. Stewart and J. R. Whitaker. pp. 227-263. Wosport. Connecticut. AVI Publishing Company Inc.
 5. Ko, W. H. and Lockwood, J. L. 1968. Accumulation and concentration of chlorinated hydrocarbon pesticide by microorganisms in soil. *Can. J. Microbiol.* 14: 1075-1078.
 6. Larocque, L. and Neville, G. A. 1986. A practical evaluation of Delvo D multiplate test in screening raw milk for antibiotics. *J. of Food Production*. 49 (Nov.): 868-870.
 7. Park, G. S. 1990. Development of a microbial bioassay for detection of pesticide residues. Presented as a thesis for the degree of master of applied science. The University of New South Wales Department of Food Technology. pp.1-148.
 8. Shamiyeh, N. B. and Johnson, L. F. 1973. Effect of heptachlor on numbers of bacteria, actinomyces and fungi in soil. *Soil Biol. Biochem.* 5: 309-314.
 9. Skerritt, J. H. 1989. Enzyme immunoassay technoaassay application in the production and processing of cereals. In *Biotechnology and the Food Industry*, ed. by P. L. Rogers and G. H. Fleet. pp.117-145. New York. Gordon and Breach Science Publishers.
 10. Smith, S. M., Cundy, K. R., Gilardi, G. L. and Wong, W. 1982. Evaluation of the Auto Microbic System for identification of glucose-nonfermenting Gram-negative rods. *J. Clin. Microbiol.* 15: 302-307.