

제초제 Paraquat의 NAD(H) 산화환원에 대한 영향

김미림* · 최경호¹

대구한의대학교 식품조리영양학부, ¹대구가톨릭대학교 식품영양학과

Received March 29, 2005 / Accepted April 20, 2005

Effect of Herbicide Paraquat on NAD(H)-Redox-cycle. Mi-Lim Kim* and Kyung-Ho Choi¹. Faculty of Cuisine & Nutrition, Daegu Haany University, Kyongsan-si, Kyoungbuk 712-240, Korea, ¹Department of Food Science and Nutrition, Daegu Catholic University, Hayang-eup, Kyongsan-Kun, Kyoungbuk 713-702, Korea – This study was carried out to investigate the effect of herbicide paraquat (1,1-dimethyl-4,4-bipyridilium dichloride) on the electron transport system of the cell. When actively growing cells of bacteria were exposed to the 1.0 mM paraquat, more than 50% of the cells were killed at 0 hour. But specific activities of superoxide dismutase (SOD) were not changed at 0 hour of paraquat treatment. Oxido-reductions of NAD (H) by the suspension of bacterial membtane, rat mitochondria and NAD-dependent dehydrogenase were accelerated by paraquat treatment.

Key words – Paraquat, Redox-cycle, Activation

Paraquat는 1958년 영국 ICI사에서 개발하여 농작물 경작에 전세계적으로 광범위하게 사용되는 비선택성 제초제로 [31] 우리나라에는 1970년에 도입되어 1994년 매출액이 전체 제초제의 22.5%를 차지함으로써 다른 농약류에 비해 빠른 증가를 보이고 있다[1].

Paraquat는 미생물이나 식물, 동물, 인간등에 치명적인 독성을 나타내는 맹독성 농약으로 상업적으로 시판되는 24.5% 용액 12~24ml만 복용하여도 사망하는 것으로 알려진 바[3], 1964년 Ireland와 New Zealand에서 최초로 중독사고가 보고된[5] 이래 현재 까지도 꾸준히 발생되고 있다. 우리나라의 경우 체계적인 통계는 없는 실정이나 몇몇 임상보고에 따르면 70-90%의 높은 사망률을 보이는 것으로 나타나 심각한 보건문제를 발생시키고 있으며 국가에 따라 사망률이 20-75% 정도로 다양하게 나타나고 있다[25]. Paraquat 독성에 관한 연구는 포유류계에서 활발하게 진행되어, 그 기작이 SOD 활성저해에 기인한 superoxide radical 및 지질 과산화물의 축적에 의한 것으로 알려져 있다[6,8,9,12,13,14,16,29]. 그러나 저자의 세균에 대한 paraquat의 독성시험에서, SOD 활성은 대조구와 차이가 없었음에도 불구하고 paraquat 처리 0시간째에 50% 이상의 세균이 사멸된 결과를 얻은 바, SOD에 대한 독작용 이외의 급성독성을 일으킬 수 있는 별개의 독작용을 규명하고자 하였다. 그것은 생체 대사중 대단히 빠르게 영향을 받을 수 있는 부분인 energy대사 관련 system의 저해일 것이며 energy대사 관련 system 중에서도 paraquat에 의해 독작용을 받지 않는 혐기성 세균[18]에 결손되어 있는 cytochrome호흡쇄에 대한 검토가 선행되어야 한다고 판단되었다.

식물에 대한 paraquat의 제초효과는 산소와 광에너지 및

엽록체의 존재하에서만 발현되므로 식물의 잎부분에 직접 살포하여야 하며 그 효과는 단시간 내에 발생된다[7]. 즉 paraquat가 전자전달을 방해함으로써 광합성을 저해하는 것으로 알려져 있으며, 동물체에 있어서의 전자전달계에 대한 저해작용은 NAD⁺로부터 cytochrom 및 산소로 이어지는 호기적 energy 대사를 저해함으로써 짧은 시간에 독작용을 나타낼 수 있을 것이다.

Bader 등[2]은 미생물로부터 추출한 dehydrogenase에 의한 NAD(P)의 환원반응이 paraquat (methyl viologen: MV⁺)를 첨가함으로써 촉진 된다고 보고하였고, Lebertz 등[19]은 *C. thermoaceticum*이 MV⁺를 매개로 하여 NADPH를 재생산할 수 있고 Grupe 등[10]과 Rao 등[27]은 *C. acetobutylicum*에 의한 acetone 및 butanol 발효에 MV⁺⁺를 첨가하면 proton을 흡수하여 산 생성을 억제함으로써 배양액의 pH저하를 방지하므로 butanol 생산력이 증가한다고 보고하였다. 또한 Maeda 등[23]은 malate dehydrogenase에 의한 malic acid생산이 MV⁺에 의해 촉진된다고 하였고, Lee 등[20]과 Park[26]은 paraquat에 의한 SOD의 metallothionein 유도를 보고하였다.

이러한 보고들은 paraquat를 투여하여 일부의 paraquat 내성 미생물의 산화환원 반응을 조절함으로써, 산화환원 반응의 end product의 생산에 유용하게 이용될 수 있음을 나타내고 있다.

그러나, 이러한 paraquat의 전자전달 매체로서의 성질이 세포내 에너지 대사과정 중 연속된 전자전달계로 구성되어 있는 cytochrome 호흡쇄에 미치는 영향에 대해서는 연구가 미흡하다. 에너지대사에 미치는 paraquat의 독작용과 관련하여 Jang[15]은 paraquat 처리한 cytochrome 단백질합성의 이상을 보고하였고 Wenning[30]과 Simon 등[28]은 paraquat가 산화환원반응을 가속화시킨다고 추정하였다. 만약 paraquat가 생체내의 이화작용에서 생성되는 전자의 흐름에 이상을

*Corresponding author

Tel : +82-53-819-1593, Fax : +82-53-819-1272

E-mail : mlk8742@dhu.ac.kr

초래할 수 있다면 paraquat의 급성독성의 기작으로 이해될 수 있을 것이다. 이런 견지에서 본 연구는 전자전달계의 첫 단계인 NAD-dependent dehydrogenase에 의한 전자흐름에 미치는 paraquat의 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

생균수 측정

균체 배양액에 paraquat의 최종농도가 1.0mM이 되도록 처리 후 경시적으로 균체를 취하여 신선한 배지에 $10^5, 10^6, 10^7$ 배로 희석한 것을 평판배지에 도말한 후 37°C에서 24시간 배양하여 colony계측법으로 측정하였다. 공시균으로는 *Escherichia coli* (KCTC 1039)를 사용하였다.

SOD활성 측정

Marklund 등[24]의 방법에 따라 조효소액 0.2 ml에 tris-HCl buffer (50 mM Tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 3.0 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 0.1 ml의 HCl을 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. 효소활성은 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소량은 1단위(unit)로 하였다. 조효소액의 단백질은 Lowry의 phenol 시약법[21]으로 정량하였다.

Mitochondria 분리

정상의 쥐(sprague-dawley종 수컷 흰쥐)로부터 채취한 간 조직을 0.9% saline 용액으로 세척한 후 빙냉한 0.15 M의 KCl용액에서 잘게 절편한 후 teflon glass homogenizer를 사용하여 부피가 10%(w/v)의 간조직 균질액을 만들었다. 이 마쇄 균질액을 600×g에서 10분간 2회 원심분리(4°C, 600×g×10 min)하여 조직의 미마쇄 획분 및 원형질 막 획분을 제거하고 가아제로 여과한 후 2회 원심분리(4°C, 10,000×g×20 min)하여 얻은 침전물을 mitochondria획분으로 하였다. Mitochondria 획분은 ml당 57 mg의 protein을 함유하였다.

세균 원형질막 분리

대수증식 중기의 배양균체를 원심분리(4°C, 3,000×g×30 min)한 후 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)완충액으로 1회 세척하고 Bengis[4] 등의 방법에 따라 원형질막을 분리 하였다. 공시균체를 1 M NaCl, 10% sucrose, 4 mM MgCl₂ 및 50 mM Tris-HCl (pH 8.0)이 함유된 빙냉한 용액으로 2회 세척하고 0.5 M NaCl, 10% glycerol, 50 mM Tris-HCl (pH 8.0) 및 10 µg/ml의 난백 라이소자임(Sigma Co)이 함유된 용액에 현탁시켜 탁도를 2.0으로 조정한 후 30°C에서 30분간 정치한 뒤 0°C에서 초음파 처리(초음파 파쇄기 otake model 5202, 100 watt×12분)하였다. 파쇄된 균체를 원심분리(4°C, 7,000

×g×20 min)하여 집균하고 이것을 동일한 완충액으로 1회 세척하여 원심분리(4°C, 7,000×g×30 min)한 침전을 원형질막 획분으로 하였다.

산화 환원 반응계

Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD[H])의 산화 및 환원에 미치는 paraquat의 영향을 검토하기 위하여 Gutmann [11]의 방법에 따라 반응계를 조성하였다. 즉 glycine buffer (500 mM, pH 9.0)에 10 mM의 NAD⁺와 NADH를 0.2 ml 넣고 효소액으로는 세균 원형질 막과 쥐의 간으로부터 분리한 mitochondria 및 D.lactate dehydrogenase (D.LDH, Sigma), Malate dehydrogenase (MDH, sigma)를 사용하였으며 paraquat (Technical grade)는 최종농도 1 mM이 되게 첨가하여 340 nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. 반응계의 기질로는 10 mM의 것으로 D.LDH반응계는 lactate와 pyruvate를, MDH를 이용한 반응계는 malate와 oxalo acetate를 사용하여 반응액의 총량을 3.2 ml로 하였다. 반응은 U.V.분광광도계(Ultraviolet Spectrophotometer, CECIL)를 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

생균수 및 SOD활성에 미치는 Paraquat의 영향

공시균을 진탕배양하여 경시적으로 생균수 및 SOD비활성을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 생균수는 대조구가 배양 4시간째에 4.58×10^{11} cells/ml로서, 0시간의 200배 이상으로 급속히 증가하였다가 이후로 서서히 감소되었으며, paraquat 처리구도 배양 시간별 생균수의 증가 및 감소 현상이 대조구와 유사하나 대조구에 비해 0시간째에 생균수가 50% 정도로 급격히 사멸 하였고, 4시간째에도 공시균의 증식이 대조구의 0.8%로 현저히 억제되었다.

SOD 비활성은 대조구가 배양 2시간째에 최고치를 나타낸 후 배양시간이 길어짐에 따라 점차적으로 저하되는 결과였으나 paraquat 처리구는 0시간째에는 대조구와 차이가 없었으나 배양 2시간째의 비활성이 대조구의 38.5%로서 대조구에서 가장 큰 폭으로 증가되는 배양 2시간 사이에 가장 큰 폭으로 저하되었다. 그러나 paraquat처리에 의한 생균수 변화와 SOD 비활성과의 관계를 비교해 볼 때 paraquat를 처리한 직후의 생균수는 대조구에 비해 50%로 급격히 저하하였으나 SOD활성은 대조구에 대한 비활성이 100% 존재해 있었다는 결과는 초기의 대단히 빠른 독작용이 SOD활성저해에 기인한 것이 아님을 판단할 수 있다. 그리고 배양 2시간째와 4시간째의 SOD 비활성이 대조구에 비해 38.5%와 34.5%로 상당한 수준의 감소를 보였으나 생균수는 0시간째보다 2시간째와 4시간째로 가면서 어느 정도 증식이 가능하였다는 점은 SOD활성은 저해를 받았으나 그 영향으로 인한 과산화지질의 축적에 의한 세균의 손상은 시간차에 의하여 사멸시킬

Table 1. Changes in the number of viable cell counts and activities of superoxide dismutase of bacteria by paraquat treatment

Time after paraquat treatment (hour)		Specific activity of SOD (unit/mg protein) (% against 0hour)	Viable cell counts (cells/ml)
Control	0	1.177±0.012 ^a (100.0)	(2.14±0.17)×10 ^{9A}
	2	2.268±0.020 ^b (192.7)	(3.95±0.13)×10 ^{11B}
	4	1.968±0.021 ^c (167.2)	(4.58±0.22)×10 ^{11C}
	8	1.306±0.018 ^d (111.0)	(3.87±0.25)×10 ^{11B}
Paraquat	0	1.183±0.013 ^a (100.0)	(1.07±0.10)×10 ^{9E}
	2	0.874±0.018 ^c (38.5)	(3.84±0.10)×10 ^{9F}
	4	0.679±0.029 ^f (34.5)	(3.94±0.07)×10 ^{9F}
	8	0.317±0.037 ^h (24.3)	(3.12±0.20)×10 ^{9G}

Actively growing bacterial cells were cultivated in the presence of 1.0 mM paraquat. Living cell counts assayed by using plate method. Enzyme activity was assayed according to Marklund's method¹⁶⁾ Values indicate mean±SEM. Different letters in same column were significantly different at the level of p<0.05.

수준까지는 도달하지 못한 것으로 판단되며, 이는 Kim 등[17]도 paraquat처리후 4시간째의 균체중 지방함량이 대조구와 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다.

NAD(H)의 산화 및 환원에 미치는 paraquat의 영향

세균 원형질 막 획분과 mitochondria분산액에서의 NADH의 산화에 미치는 paraquat의 영향은 Fig. 1 및 2와 같다. 대조구와 paraquat처리구 간의 경향은 거의 일치하였으나, paraquat처리구의 반응개시점 및 종결점이 낮았으며 반응 graph의 경사도가 대조구에 비해 커서 반응이 가속되는 결과였다.

세균 원형질 막 및 mitochondria의 NADH산화에 미치는 paraquat의 영향을 반응시간에 따라 경시적으로 NADH의 함량 변화로 추적한 결과는 Table 2와 같다. 원형질 막에서

반응개시로부터 5분간의 NADH산화량이 대조구에서는 0.960 mM이었으나 paraquat처리구는 1.200 mM이었으며 5분에서 10분사이의 반응에서는 대조구가 0.117 mM/ml, paraquat처리구가 0.050 mM로서 반응개시 5분간의 초기 산화량이 paraquat처리구가 더 많았다. 이것은 Fig. 1에서의 초기속도 가속화와 일치되는 결과이며 동일시간대에서 산화된 NAD⁺의 함량이 paraquat 처리구가 대조구에 비해 많은 결과로 graph상의 반응 전반에 걸친 paraquat처리구의 가속화 경향과 일치되었다.

Mitochondria에 의한 경우도 반응개시 10분간의 NADH산화량이 대조구는 1.187 mM이었으나 paraquat 처리구는 1.434 mM로서 paraquat처리구의 반응이 가속화되는 경향이었으

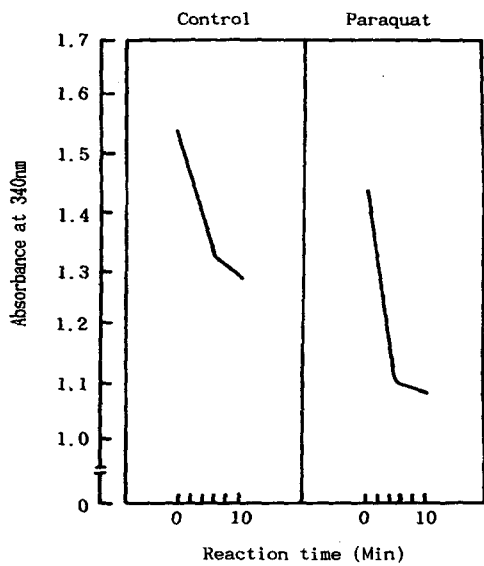


Fig. 1. Effect of paraquat treatment on oxidation of NADH by enzymes associated with bacterial plasma membrane. According to Gutmann-Wahlefeld's method, reaction mixture was composed of NADH, sonicated manbrane suspension and paraquat in glycine buffer.

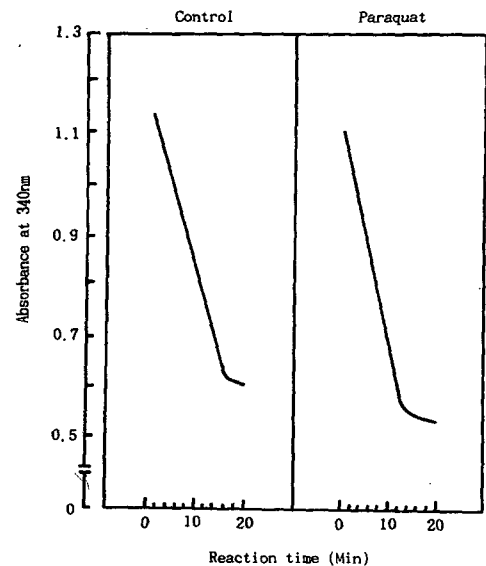


Fig. 2. Effect of paraquat treatment on oxidation of NADH by isolated mitochondria from rat liver. Reaction mixture was composed of NADH, mitochondria and paraquat in glycine buffer. Reaction was carried out at room temperature. Mitochondria was isolated from rat liver.

며 10분에서 15분사이의 반응에서는 대조구의 경우 0.403 mM, paraquat처리구가 0.296 mM로서 반응개시 10분간의 초기속도가 가속되었음이 확인되었다.

Paraquat가 원형질 막 획분과 mitochondria분산액의 crude

한 상태의 enzyme을 이용한 실험에서 NADH의 산화를 저해하는 것이 아니라 오히려 가속시키는 결과에 대한 확인 실험으로 NAD(H) dependent dehydrogenase 중 D-lactate dehydrogenase (D-LDH)를 이용하여 동일한 실험을 행한 결과는 Fig. 3, 4 및 Table 3과 같다.

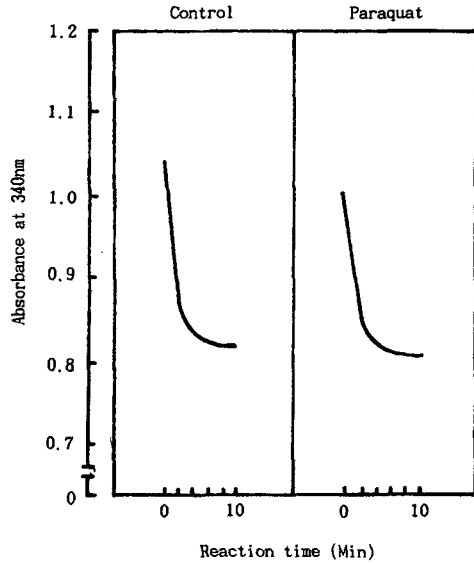


Fig. 3. Effect of paraquat treatment on oxidation of NADH by lactate dehydro genase.

Enzyme reaction was measured by Gutmann-Wahlefeld's method. Reaction mixture was composed of NADH, D-LDH, pyruvate and paraquat in glycine buffer. Reaction was carried out at room temperature.

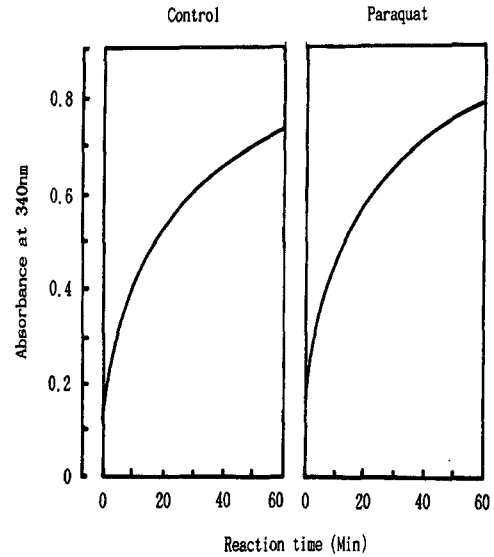


Fig. 4. Effect of paraquat treatment on reduction of NAD⁺ by lactate dehydro genase.

Enzyme reaction was measured by Gutmann-Wahlefeld's method. Reaction mixture was composed of NAD⁺, D-LDH, lactate and paraquat in glycine buffer.

Table 2. Effect of paraquat treatment on oxidation of NADH by plasma membrane and mitochondrial suspensions

(unit: mM NADH)

Reaction time (Min)	Plasma membrane		Mitochondria	
	Control	Paraquat	Control	Paraquat
0	4.826±0.005	4.516±0.028	3.843±0.040	3.440±0.052
5	3.983±0.028	3.366±0.028	3.133±0.005	2.630±0.130
10	3.866±0.028	3.316±0.028	2.656±0.011	2.006±0.125
15	NT*	NT*	2.253±0.005	1.710±0.103

Plasma membrane and mitochondria were prepared from sonic disrupted cells and rat liver cells, respectively. Values in the Table indicate means±SEM. *not tested.

Table 3. Effect of paraquat treatment on oxidation and reduction of nicotinamide adenine dinucleotide by lactate ehydrogenase (unit: mM NADH)

Reaction time(Min)	Lactate $\xrightarrow[\text{NADH}]{\text{NAD}^+}$ Pyruvate		Pyruvate $\xrightarrow[\text{NADH}]{\text{NAD}^+}$ Lactate	
	Control	Paraquat	Control	Paraquat
0	0.393±0.020	0.620±0.010	4.116±0.275	3.666±0.175
2	0.843±0.047	0.903±0.015	3.903±0.196	3.343±0.406
4	1.323±0.048	1.130±0.010	3.886±0.200	3.290±0.402
10	1.373±0.025	1.536±0.032	3.873±0.198	3.276±0.401
15	1.593±0.040	1.736±0.032	NT*	NT*
20	1.753±0.045	1.973±0.025	NT*	NT*

Reaction mixture was composed of NAD⁺ or NADH, D-LDH, and lactate or pyruvate in glycine buffer, as described in the Method. Reaction was carried out at room temperature. *Not tested

Fig. 3에서 NADH의 산화의 경우 대조구와 paraquat간의 반응경향이 거의 일치하였으며 Fig. 4의 환원반응 에서도 paraquat에 의한 반응저해는 없었으며 대조구와 거의 일치된 결과였다. 이러한 D-LDH에 의한 NAD(H)의 산화 및 환원 반응을 반응시간에 따라 경시적으로 NADH의 함량변화로 측정된 결과는 Table 3과 같다. 산화의 경우는 반응개시 2분 후의 NADH산화량이 대조구는 ml당 0.213 mM이었으나 paraquat처리구는 0.323 mM이었으며 4분후에는 대조구가 0.017 mM, paraquat처리구는 0.053 mM의 NADH가 산화되었으며 반응개시 6분경에 산화가 종결되었다. 이 결과는 세균 원형질 막 및 mitochondria에서의 결과와 일치된 경향으로 산화속도 및 산화량이 paraquat처리구가 대조구보다 더

많음을 나타내고 있다. 환원의 경우는 반응 20분간의 NAD⁺의 총 환원량이 대조구는 1.360 mM이었으며 paraquat처리구는 1.353 mM로서 세균 원형질 막 및 mitochondria에서와 같이 paraquat처리구가 가속된 결과였다.

또한 Malate dehydrogenase (MDH)를 이용한 NAD(H) 산화 및 환원반응의 결과는 Fig. 5, 6 및 Table 4와 같다.

Fig. 5에서 NADH의 산화의 경우 대조구와 paraquat간의 반응경향이 거의 일치하였으며 Fig. 6의 환원반응에서도 paraquat에 의한 반응저해는 없었으며 대조구와 거의 일치된 결과였다. 이러한 MDH에 의한 NAD(H)의 산화 및 환원반응을 반응시간에 따라 경시적으로 NADH의 함량변화로 측정된 결과는 Table 4와 같다. 산화의 경우는 반응개시 2분간의 NADH산화량이 대조구는 ml당 0.487 mM, paraquat처리구

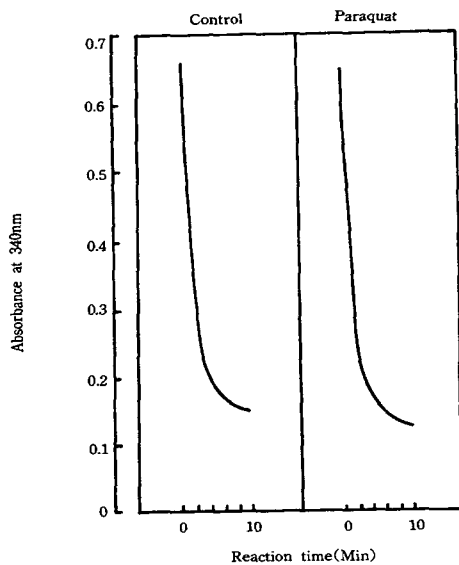


Fig. 5. Effect of paraquat treatment on oxidation of NADH by malate dehydro genase.

Enzyme reaction was measured by Gutmann-Wahlefeld's method. Reaction mixture was composed of NADH, MDH, oxaloacetate and paraquat in glycine buffer. Reaction was carried out at room temperature.

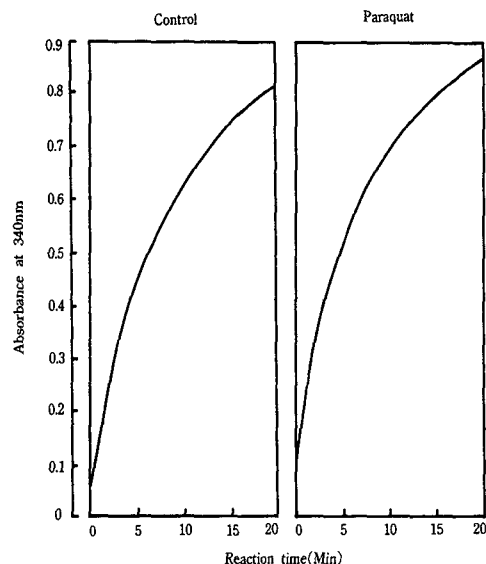


Fig. 6. Effect of paraquat treatment on reduction of NAD⁺ by malate dehydro genase.

Enzyme reaction was measured by Gutmann-Wahlefeld's method. Reaction mixture was composed of NAD⁺, MDH, malate and paraquat in glycine buffer.

Table 4 Effect of paraquat treatment on oxidation and reduction of nicotinamide adenine dinucleotide by malate ehydrogenase (unit: mM NADH/ml)

Reaction time (Min)	$\text{Malate} \xrightarrow[\text{NAD}^+]{\text{NADH}} \text{oxaloacetate}$		$\text{oxaloacetate} \xrightarrow[\text{NADH}]{\text{NAD}^+} \text{Malate}$	
	Control	Paraquat	Control	Paraquat
0	0.291±0.032	0.304±0.018	2.151±0.047	1.601±0.043
2	0.873±0.027	1.136±0.042	1.253±0.053	1.124±0.051
4	1.296±0.045	1.477±0.034	0.762±0.042	0.748±0.048
6	1.652±0.039	1.825±0.025	0.615±0.045	0.557±0.037
8	1.845±0.033	2.081±0.048	0.579±0.033	0.541±0.035
10	2.033±0.047	2.183±0.037	0.579±0.029	0.523±0.046
15	2.397±0.051	2.498±0.046	NT*	NT*

Reaction mixture was composed of glycine buffer, NAD⁺ or NADH, MDH, and malate or oxaloacetate as described in the Method. Reaction was carried out at room temperature. *Not tested

는 0.832 mM로서 대조구가 paraquat처리구에 비하여 산화량이 70%에 불과하여 초기 산화반응이 가속되는 Fig. 5와 일치되었다.

환원의 경우에는 초기 2분간의 NAD⁺의 환원량이 대조구는 0.898 mM이었으며 paraquat처리구는 0.996 mM로서 역시 paraquat처리구가 약간 가속되는 결과였다.

이상의 결과는 4종류의 enzyme에 의한 NAD(H)의 산화 및 환원반응이 paraquat에 의하여 저해되지 아니할 뿐만 아니라 오히려 가속됨을 나타내고 있다. 이는 Liochev등[21]이 paraquat에 의한 NADPH의 산화, 즉 전자의 흐름에 대한 이상을 보고 한 것과 Wenning등[30]과 Simon[28]이 paraquat에 대한 in vitro 실험에서 NADPH로 충전된 microsomal fraction에서 환원형 cytochrom의 증가현상으로부터 paraquat가 산화-환원반응을 가속화시킨다고 추정함을 확인한 결과라 하겠다.

이상의 결과에서 세균 원형질 막과 rat mitochondria 및 NAD-dependent dehydrogenase 중에서 lactate dehydrogenase (D-LDH)와 malate dehydrogenase (MDH)에 의한 NAD의 산화 및 환원은 paraquat에 의해 영향을 받지 않은 결과로서 오히려 대조구에 비하여 가속되는 경향이였다.

요 약

생체세포에 대한 paraquat의 독작용은 superoxide dismutase 활성저해에 기인하는 것으로 알려져 있다. 그러나 세균이 paraquat에 매우 짧은 시간동안의 노출에 의해서도 독작용을 받을 수 있는 것으로 검토됨에 따라 paraquat의 독작용의 하나로서 전자전달에 미치는 영향 중 NAD(H)의 산화 및 환원반응에 미치는 영향을 검토한 결과는 다음과 같다. 공시균의 원형질막 획분, rat mitochondria분산액 및 NAD-dependent dehydrogenase에 의한 산화 및 환원시 paraquat 첨가구에서 반응 Graph의 경사도가 더 컸으며, 반응 개시점 및 종결점이 대조구에 비해 낮은 결과로 반응이 가속화되는 결과를 볼 수 있었다. 반응을 경시적으로 NAD(H)의 함량변화로 검토한 결과에서도 원형질 막 획분과 rat mitochondria 분산액을 이용한 경우에 10분간의 NADH산화량이 대조구는 각각 960 mM, 1,187 mM이었으나 Paraquat 처리구는 각각 1,200 mM, 1,434 mM로 Paraquat 처리구가 반응 가속화 경향을 보였다. NAD(H) dependent dehydrogenase에 의한 NAD(H)의 산화 및 환원 반응에서도 대조구에 비하여 Paraquat 처리구가 초기반응의 가속화 및 총산화량의 증가를 보였다.

참 고 문 헌

1. Agricultural chemical industrial association. 1995. pp182-187. Agrochemical year book.
2. Bader, J., Günther, H., Nagata, S. and Simon, H. 1984. The

- reduction of NAD(P) by methylviologen cation radical catalyzed by different cells, mitochondria and enzymes. "Conden:99992", *Eur. Congr. Biotechnol.* **3(1)**, 371-376.
3. Barceloux D. G. Ellenhorn M. J 1991. Herbicides In. eds. Medical toxicology. pp1464-1468. 1st ed New York.
4. Bengis G. C. and Gromet E. Z. 1979. Purification of the energy transducingadenosin triphosphatase complex from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochem.* **18**, 3577-3581.
5. Bullivant C. M. 1966. Accidental poisoning by paraquat. Report of 2 cases in man. *Br. Med. J.* **1**, 1272-1273
6. Chun, J. C., Lee, H. J., Ma, S. Y., and Kim, S. E. 1997. Physiological responses of *Rhizomania glutinosa* to paraquat and its tolerance mechanism. *Pestic. Biochem. Physiol.* **59**, 51-63.
7. Conning, D.M. and Fletcher, K. 1966. Paraquat and related bipyridyl. *Br. Med. Bull.* **25(3)**, 245-249.
8. Fuerst, E. P. and Norman, M. A. 1997. Interactions of cations with paraquat in leaf sections of resistant and sensitive biotypes of *Coryza bonariensis*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **57**, 181-191.
9. Fuerst, E. P. and Vaughn, K. C. 1990. Mechanisms of paraquat resistance. *Weed Technol.* **4**, 150-156.
10. Grupe, H. and Gottschalk, G. 1990. Clostridium acetobutylicum and the production of solvents, *Gim 90 Conden: 9992 NO:Pt II*, 715-729.
11. Gutmann, H. and Wahlfeld, A. W. 1985. Methods of enzymatic analysis. III. pp1464-1468. Academic Press' Inc. New York and London.
12. Halliwell, B. 1978. Biochemical mechanism accounting for toxic action of oxygen on living organisms : the sky role of superoxide dismutase. *Cell Biol. Int. Rep.* **2**, 113-128.
13. Harvey, B. M. R. and Harper, D. B. 1978. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass : I. uptake, metabolism and translocation of paraquat. *Plant Cell Environ.* **1**, 203-209.
14. Harvey, B. M. R. and Harper, D. B. 1978. Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass : II. role of superoxide dismutase, catalase and peroxidase. *Plant Cell Environ.* **1**, 211-215.
15. Jang, E. J. 1987. Effect of paraquat on energy metabolism of *Bacillus megaterium*. 대구가톨릭대학교 석사학위논문.
16. Khan A. U. 1978. Activated oxygen singlet molecular oxygen and superoxide anion, *Photochem. Photobiol.* **28**, 615-627.
17. Kim, C. S. and Choi, K. H. 1991. Effect of paraquat treatment on fatty acid composition of membrane lipids of *Bacillus megaterium* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Hyosung J. Appl. Sci.* 53-61.
18. Kim, M. L. Park, C. S. and Choi, K. H. 1995. Inhibition of microbial growth by paraquat. *Agri. Chem. Biotechnol.* **38(4)**, 283-288.
19. Lebertz, H., White, H., Beer, A., Güther, H. and Simon, H. 1988. Enzyme activities clostridium thermoaceticum useful for preparative reductions carbon monoxide as an electron donor. *Dechema. Biotechnol. Conf. Coden :99992*, **5(5)**, 369-374.
20. Lee T. B., Park Y. H., Min Y. D. and Choi K. H. 2001. Inducibility of superoxide dismutase and metallothionein in the

- liver and kidney of mice by paraquat with age. *Korean J. Med.* **61(4)**, 430-438.
21. Liochev, S. and Fridovich, I. 1986. Vanate-stimulated oxidation of NAD(P)H by biomembrane is a superoxid e-initiated radical chain reaction, *Arch. Biochem. Biophys.* **250**, 139-145.
 22. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
 23. Maeda, H. and Kajiwara, S. 1985 Malic acid production by an electrochemical reduction system combined with the use of diaphorase and methylviologen. *Biotechnol. Bioeng.* **27(5)**, 596-602.
 24. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidant of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 468-474.
 25. Onyon L. J., Voalns G. N. 1987. The epidemiology and prevention of paraquat poisoning. *Human Toxicol.* **6**, 19-29
 26. Park K. I. 2003. Induction of iron superoxide dismutase by paraquat and iron in *Vitreoscilla* C₁. *Korean j. Biotechnol. Bioeng.* **18(6)**, 517-521.
 27. Rao, G. and Mutharasan, R. 1985. Directed metabolic flow with high butanol yield and selectivity in continuous cultures of clostridium, *Biotechnol. Lett.* **10(5)**, 313-318.
 28. Simon, H., Bader, J., Güther, H., Neumann, S. and Thanos, J. 1984. Biohydrogenation and electromicrobial and electronenzymatic reduction method. **9**, 171-185.
 29. Singh, A. 1978. Interconversion of singlet oxygen and related species. *Photochem. Photobiol.* **28**, 429-433.
 30. Wenning, P. J. and Richard T. D. 1988. The effects of paraquat microsomal oxygen reduction and antioxidant defenses in ribbed mussels and wedge clams, *Mar. Environ. Res.* **24**, 301-305.
 31. Windholz, M. 1983. The merck Index & Co, 10th Edi. USA, No 6894.