

Nonylphenol 분해 미생물 컨소시엄 균주 개발

송 원 · 임근식 · 유대웅 · 박미은¹ · 정은탁² · 김동명¹ · 정용현¹ · 김영목*

부경대학교 식품공학과, ¹부경대학교 생태공학과, ²(주)에스앤티

Isolation of a Nonylphenol-degrading Microbial Consortium

Won Song, Keun-Sick Lim, Dae-Ung Yu, Mi-Eun Park¹, Eun-Tak Jeong²,
Dong-Myung Kim¹, Yong-Hyun Chung¹ and Young-Mog Kim*

Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Department of Ecological Engineering, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

²SNTECH Co., Ltd., Sunnam 463-760, Korea

Nonylphenol (NP), which is well known as an endocrine disrupter, has been detected widely in untreated sewage or waste water streams. Given the necessity of discovering an eco-friendly method of degrading this toxic organic compound, this study was conducted to isolate NP-degrading microorganisms from the aqueous environment. NP-degrading microbes were isolated through NP-containing enrichment culture. Finally, a microbial consortium, SW-3, capable of degrading NP with high efficiency, was selected from the mixture sample. The microbial consortium SW-3 was able to degrade over 99% of 100 ppm NP in the culture medium for 40 days at 25°C. The microbial consortium SW-3 seemed to utilize NP as a carbon source, since NP was the sole carbon source in the culture medium. In order to isolate the NP-degrading bacterium, we further conducted single colony isolation using the microbial consortium SW-3. Four strains isolated from SW-3 exhibited lower NP-degradation efficiency than that of SW-3, suggesting that NP was degraded by the co-metabolism of the microbial consortium. We suggest that the microbial consortium obtained in this study would be useful in developing an eco-friendly bioremediation technology for NP degradation.

Key words: Biodegradation, Endocrine disruptor, Microbial consortium, Nonylphenol

서 론

Nonylphenol은 지난 50년 이상 동안 산업체와 가정에서 비이온 계면활성제와 세제로써 이용된 alkylphenol polyethoxylates(NPnEO)의 분해산물로 하수처리장이나 수질환경 중에서 미생물에 의한 호기적 및 혐기적 분해를 통해 NPnEO의 에톡실기가 점차 분해되어 최종적으로 nonylphenol이 생성된다고 알려져 있다(Giger et al., 1984; Ahel et al., 1994; Fries and Puttmam, 2003; Azevedo et al., 2001). 산업 폐수나 도시 하수처리 공정에서 도시하천 혹은 연안으로 유입되는 nonylphenol은 자연환경 중에서 분해가 잘되지 않는 특징으로 인해 환경오염을 가중시키며 특히 수중생물들에 대한 내분비계 교란물질로서 작용하고 있는 것으로 알려져 있어 수생 환경오염 측면에서 중요한 관심이 되고 있다(Fairchild et al., 1999; Yadetie and Male, 2002; Karels et al., 2003; Hernandez-Raquet et al., 2007). 하지만, 현재 우리나라의 수생 환경 중에 nonylphenol의 잔류량이 어느 정도인지 등에 대한 실태 조사는 체계적으로 이루어져 있지 않고 일부 연구자들에 의해 국지적인 연구가 진행되고 있다. 현재까지 조사를 실시하여 보고된 것으

로는, 마산만에서 검출된 nonylphenol 농도는 113-3890 ng/g dry wt. 로서 해양으로 유입되는 하천에 가까운 지점에서 높게 나타난다고 보고하였고(Khim et al., 1999), 국립환경연구원의 내분비계장애물질에 관한 기초 조사에서는 전국 11개 지점의 하천 저질에서 6.0-119.1 µg/kg 의 농도를 보이는 것으로 보고하였으며(Cho et al., 2004), 시화호 수층의 평균 nonylphenol 농도는 3.6 µg/L 라고 보고하고 있다(Li et al., 2004). 이러한 연구결과는 현재 많은 양의 nonylphenol이 환경 중으로 배출되고 있다는 것을 시사하고 있다. 특히 nonylphenol의 경우 수생환경에서는 미량으로도 수중생물들의 내분비계 교란물질로 작용하기 하기 때문에 수생환경 중의 nonylphenol의 분포에 대한 조사뿐만 아니라 nonylphenol을 환경 친화적인 방법으로 저감화 시키는 기술개발도 필요하다

유해한 난분해성 화학물질들로 오염된 환경을 복원하기 방법으로 생물학적 처리 기법을 이용하여 유기 독성물질을 분해하여 최종적으로 물과 이산화탄소로 무기화 시키는 생물학적 분해 방법이 환경 친화적인 방법으로 인식되고 있다(Ripp et al., 2000; Kim et al., 2007; Kang and Kim, 2007; Lee et al., 2009). 현재 국내외에서 토양 중에 잔류하는 농약, 석유 등의 유해물질에 대한 생물학적인 분해법에 관한 연구가 활발히 진행되어 있다(Kim et al., 2004; Hussain et al., 2007; Shin et al.,

*Corresponding author: ymkim@pknu.ac.kr

2008; Park et al., 2011). 하지만, 수생환경에 잔류하는 난분해성 물질의 제거 및 분해에 대한 연구는 대부분 수생식물을 이용한 화학물질 흡착 및 수생 생태 환경의 복원에 대한 연구이다(Liao and Chang, 2004; Jayaweera and Kasturiarachchi, 2004). 하지만 nonylphenol의 생물학적 분해에 관하여서는 국외에서도 nonylphenol 분해 미생물의 분리에 대한 보고만 되어있는 정도이며 국내에서는 이에 대한 연구가 아직 이루어지고 있지 않다(Tanghe et al., 1999; Fujii et al., 2000; Fujii et al., 2001; Corvini et al., 2004; Junghanns et al., 2005; Shi and Bending, 2007). 이에 본 연구는 수생 환경에 상재하고 있는 수생 미생물을 이용하여 nonylphenol을 환경 친화적 방법으로 처리할 수 있는 생물학적 처리 기술을 개발하기 위하여 먼저 nonylphenol 분해 미생물 균주 탐색을 실시하고 이 균주들을 이용한 nonylphenol 분해 능력을 확인하고 그 특성에 대하여 알아 보기 위하여 연구를 진행하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용한 nonylphenol(Assay >85%)은 Fluka 사(USA)에서 구입하여 사용하였으며, 그 외에 시험에 사용된 시약은 분석용의 특급시약을 구매하여 사용하였다.

균원 시료

Nonylphenol 분해 균주의 분리를 위해 2010년 5월에 부산 소재 인근의 유숙이 느리고 수생식물의 분포가 다양한 하천 및 저류지에서 하수, 저질 시료 및 수생식물의 뿌리를 채취하였다.

균의 분리 및 배양

Nonylphenol 분해 능력이 우수한 균을 선발하기 위해 Fujii et al. (2000, 2001)와 Corvini et al. (2004)의 방법을 참고하여 YNB(yeast nitrogen base without amino acids; Difco, USA) 배지를 사용하여 집식 배양을 실시하였다. 시료의 배양은 하수 시료 1,000 mL을 0.45 μm Omnipore Membrane Filter(ADVANTEC, Japan)로 여과하여 그 필터를 nonylphenol 100 ppm이 포함된 100 mL YNB 배지에 넣고 25°C에서 진탕 배양하였으며, 저질의 경우 시료 10 g에 희석수 90 mL를 가하여 혼합한 후, 거즈로 여과하여 nonylphenol 100 ppm이 포함된 YNB 배지 200 mL에 넣고 25°C, 150 rpm의 조건으로 진탕 배양하였다. 3 차례 계대를 거치며 집식 배양을 하여 nonylphenol을 효과적으로 분해할 수 있는 미생물들을 우점화하고 이 중에서 가장 뛰어난 분해 효과를 나타낸 배양액으로부터 nonylphenol 분해 컨소시엄을 분리하였고, 이후 선발된 컨소시엄으로부터 nonylphenol 분해 단일 균주 분리를 시도하였다. Nonylphenol 분해 단일 균주는 100 ppm의 endosulfan을 첨가한 YNB 한천 배지(상기 YNB배지에 1.5% 한천을 가한 배지)에 선발된 컨소시엄 배양액 100 μL 씩 도말하여 단일 균주를 분리하였다.

Nonylphenol 추출 및 HPLC 분석

균을 배양한 후 배양액에 잔존하는 nonylphenol의 생물학적 분해도는 HPLC(high performance liquid chromatography)로 분석하였다(Fujii et al., 2000). HPLC 분석을 위해 실시한 추출 방법은 다음과 같다. 배양액 1 mL에 탈이온수 4 mL을 첨가하여 희석하고, 여기에 acetonitrile 15 mL을 혼합한 뒤, vortex mixer로 1분간 진탕하여 잔존하는 nonylphenol을 추출 하였다.

추출한 샘플을 0.2 μm filter(DISMIC-25AS, ADVANTEC, Japan)로 여과한 후, HPLC(Flexar HPLC System, PerkinElmer, USA)로 분석하였다. 분석용 column은 CAPCELL PAK C18(SHISEIDO, Japan)을 사용하였으며, mobile phase는 acetonitrile : water(75 : 25, v/v)로 하여 1.0 mL/min의 속도로 분석하였고, UV 검출기로 277 nm에서 검출하였다. 분석 시 사용 용매는 모두 HPLC급을 사용하였다. Nonylphenol의 잔존량은 nonylphenol peak의 감소된 값을 백분율로 환산하여 나타내었다. HPLC 분석 조건은 Table 1에 나타내었다.

Nonylphenol 분해 균주의 생육도 측정

Nonylphenol 분해 균주에 의한 nonylphenol 분해활성과 생육도의 관계를 알아 보기 위하여 분리한 컨소시엄 균주 및 컨소시엄 균주에서 분리한 단일 균주들의 생육도를 측정하였다. 균의 생육도는 100 ppm nonylphenol이 첨가된 YNB 배지에 전 배양액 1%를 접종한 후 25°C에서 150 rpm으로 진탕 배양 하면서 배양액을 5일 간격으로 취하여 흡광도의 변화를 600 nm에서 측정하였다.

분리균의 동정

Nonylphenol을 단일 탄소원으로 첨가한 배지에서 집식 배양을 통해 분리된 균주들 중에서, nonylphenol 분해력이 우수한 분

Table 1. HPLC condition for analysis of nonylphenol

Product	Flexar HPLC System
Manufacturer	PerkinElmer(USA)
HPLC Condition	
Column	CAPCELL PAK C18 Particle size : 5 μm Size : 4.6 mm \times 250 mm SHISEIDO(Japan)
Detection	UV 277 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Mobile phase	(A) Water (B) Acetonitrile
Isocratic	(A) 25% H ₂ O (B) 75% CH ₃ CN
Running time	15 min

리균을 광학현미경과 주사전자현미경(Hitachi S-2400 scanning electron microscope ; Hitachi Ltd., Tokyo, Japan)을 이용하여 형태학적 특징을 확인하였으며, 분리균의 생화학적 특성은 그람 염색 후 그 결과에 따라 VITEK Gram Negative Identification card(GNI+)를 이용하여 균 동정을 실시하였다. 또한, 16S rDNA 염기서열 분석을 통하여 각 균주를 동정하였다.

분리균의 16S rDNA 염기서열 분석을 위하여 분리균의 chromosomal DNA 추출을 Berns and Thomas (1965)가 기술한 일반적인 방법에 따라 시행하였다. DNA 추출을 위해 G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit(iNtRON, Korea)를 사용하였고, 16S rDNA를 증폭하기 위하여 PCR(Polymerase Chain Reaction) 반응에 27F(5'-GTTTGGATCCTGGCTC AG-3'), 1492R(5'-AAGGAGGGGATCCAGCC-3') primer(Takara, Japan)를 사용하였다. PCR 반응은 다음의 조건으로 행하였다. 0.5 µL(2.5 U) Taq polymerase, 5 µL Taq polymerase buffer(10X), 1 µL 10 mM dNTP, 39 µL dH₂O에 20 pmole의 각 primer 2 µL 와, 25 ng의 주형 DNA를 첨가하여 잘 혼합한 후 반응액을 94℃에서 2분간 변성시켰다. 이를 52℃에서 2분간 annealing 한 후 72℃에서 2분간 polymerization 시키고, 다시 94℃에서 2분, 52℃에서 2분, 72℃에서 2분의 cycle을 20회 반복하여 시행하였다. PCR 산물의 염기서열의 결정은 SolGent(Korea)에 의뢰하여 실시하였다. 염기서열 상동성 분석은 미국국립생물정보센터 Data base를 이용하였다(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

결과 및 고찰

Nonylphenol 분해 컨소시엄 균주의 분리

수생환경 중에 잔류하는 nonylphenol의 경우 수생생물에 대한 독성뿐만 아니라 내분비 교란 물질로서 작용하는 독성화합물로 알려져 있다(Yadete and Male, 2002; Karels et al., 2003; Hernandez-Raquet et al., 2007). 이에 본 연구에서는 수생환경 중에서 nonylphenol을 분해할 수 있는 미생물을 분리하기 위하여 nonylphenol이 상대적으로 많이 배출 될 것으로 예상되는 도심 하천을 중심으로 시료를 채취하고(Cho et al., 2004) 집식 배양을 통하여 nonylphenol 분해활성을 나타내는 컨소시엄 균주의 선발을 시도하였다. 본 연구에서는 27주의 컨소시엄 균주를 분리하였으며 이 중 가장 뛰어난 nonylphenol 분해능을 보인 SW-3을 nonylphenol bioremediation을 위한 균주로 최종 선발하고 이 후 연구를 진행하였다(Table 2).

선발된 컨소시엄 균주 SW-3은 도심하천의 저질에서 채취한 시료에서 분리된 컨소시엄 균주로 HPLC를 이용한 nonylphenol의 잔류량 분석 결과, 2주간의 배양 후에 100 ppm의 nonylphenol을 85% 이상 분해하는 것으로 나타났다(Table 2). 이러한 결과는 *Sphingomonas xenophaga* Bayr 균주가 2주간의 배양 후에 90% 이상의 nonylphenol을 분해한다는 보고(Gabriel et al., 2005), *Sphingomonas* sp. TTNP3 균주가 25일

Table 2. Nonylphenol degradation ratio of isolated strains after enrichment culture

Collected area	Sample No.	Source	Remaining ratio (%)
P1	JM-A-1	sewage	89.47
	JM-A-2	sewage	85.22
	JM-A-3	sewage	83.54
	SY-1	mixture	90.16
	SY-2	sludge	92.36
	SY-3	water plant	90.47
	P1-s1	sludge	80.05
	P1-s2	sludge	79.53
	P1-s3	mixture	76.25
P2	SW-1	sewage	21.16
	SW-2	mixture	20.43
	SW-3	mixture	14.62
	OG-1	sludge	31.49
	OG-2	sludge	30.41
	OG-3	sludge	23.18
	p2-a-1	sewage	24.30
	p2-a-2	water plant	29.25
	p2-a-3	mixture	25.07
P3	D-1	mixture	98.11
	D-2	mixture	99.98
	D-3	mixture	99.25
	DC-B-01	water plant	100.00
	DC-B-03	sludge	100.00
	DC-B-M	mixture	100.00
	p3-p1	sewage	99.99
	p3-p2	sludge	97.54
	p3-p3	mixture	99.97

Nonylphenol concentration was measured after 2 weeks incubation.

간의 배양 후에 80% 이상(Corvini et al., 2004) 그리고 수생환경에서 분리한 미생물 컨소시엄 균주가 45일간의 배양 후에 약 70%의 nonylphenol 분해 활성을 나타낸다는 보고(Fujii et al., 2000) 등으로 볼 때, 본 연구에서 분리한 nonylphenol 분해 컨소시엄 균주 SW-3는 뛰어난 nonylphenol 분해활성을 가지는 것으로 판단된다.

Nonylphenol 분해 컨소시엄 균주의 생육도 측정

본 연구에서 분리된 nonylphenol 분해 컨소시엄 균주 SW-3의 nonylphenol 분해활성과 생육도와 관계를 조사하기 위하여 100 ppm의 nonylphenol이 첨가된 YNB 배지에서 배양시간의 경과에 따른 균의 생육도와 nonylphenol 분해활성을 조사하였

다. Fig. 1에 나타난 것처럼, 균수의 증가와 더불어 nonylphenol의 분해가 진행되는 것이 관찰 되었다. 10일 까지의 배양초기에는 균 증식이 서서히 진행되고 이에 더불어 nonylphenol 분해도 서서히 진행되지만 배양 10일과 15일 사이의 급속한 균의 증식과 함께 nonylphenol의 분해도 가속화 되는 것으로 나타났다(Fig. 1). 이러한 결과는 nonylphenol 분해 컨소시엄 균주 SW-3이 nonylphenol을 에너지원으로 이용하기 때문에 균이 증식이 활발해지면서 nonylphenol의 분해가 가속화 된다는 것을 시사한다. 컨소시엄 균주 SW-3은 배양 25일 이후에는 균의 생육속도가 서서히 감소하는데 이는 배지 중의 에너지원인 nonylphenol의 고갈로 판단되며 배양 30일경에 생육정지기에 도달하였다(Fig. 1). 그리고, 균의 생육속도 감소와 더불어 nonylphenol의 분해속도도 서서히 감소되었지만, 배양 40일 후에는 완전히 분해 되었다. 본 연구 결과와 마찬가지로 nonylphenol 분해 균주인 *Sphingomonas* sp. TTNP3균의 경우도 균의 생육에 따른 nonylphenol의 분해와 배지 중의 에너지원인 nonylphenol의 감소에 따른 생육속도 감소가 보고되고 있다 (Corvini et al., 2004).

Nonylphenol 분해 단일 균주의 분리 및 동정

수생환경에서 분리한 nonylphenol 분해 미생물 컨소시엄 균주로부터 nonylphenol 분해 단일 균주의 분리를 위하여 집식 배양을 통하여 선별된 컨소시엄 균주 SW-3을 탄소원으로 nonylphenol만을 함유한 고체평판배지에 도달하여 25℃에서 2주간 배양하였다. 고체 평판배지에서 다수의 독립 콜로니가 생성 되었으며 이중 배지상에서 확연히 다른 배양학적 특성을 나타내는 4종의 독립 콜로니를 획득하였다(결과 미제시).

Nonylphenol을 효과적으로 분해하는 컨소시엄 균주 SW-3에서 순수 분리된 4종의 단일 균주(SW-3-A, B, C 및 D)를 그람

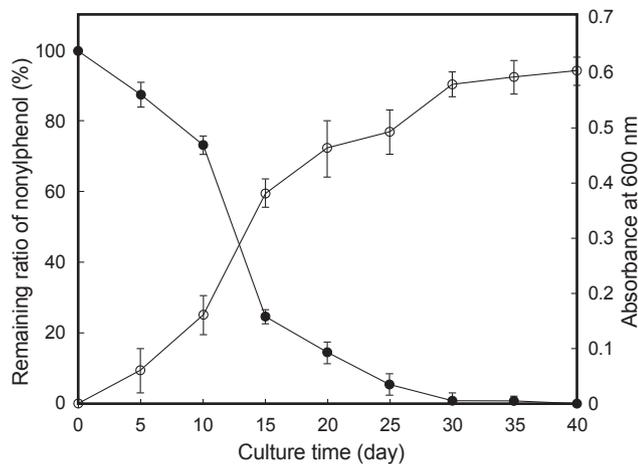


Fig. 1. Biodegradation of nonylphenol by microbial consortium SW-3. Cells were grown in YNB containing 100 ppm nonylphenol. Nonylphenol concentration was determined by HPLC analysis as described in Materials and Methods. ○-○, cell growth; ●-●, remaining ratio of nonylphenol.

Table 3. Biochemical characteristics of isolated strains from nonylphenol- degrading microbial consortium SW-3

Mnemonic	Biochemical test (Substrate name)	Result			
		SW-3-A	SW-3-B	SW-3-C	SW-3-D
APPA	α-phe-proarylamidase	-	-	-	-
ADO	Adonitol	+	+	+	+
PyrA	L-pyrrolydonyl-arylamidase	+	+	-	-
IARL	L-arabitol	-	+	+	+
dCEL	D-cellobiose	+	+	+	+
BGAL	β-galactopyranosidase	+	-	+	+
H ₂ S	H ₂ Sproduction	-	-	-	-
BNAG	β-N-Acetylglucosaminidase	+	-	+	+
AGLTp	Glutamyl-arylamidase pNA	-	-	-	-
dGLU	D-glucose	+	+	+	+
GGT	γ-glutamyltransferase	+	-	-	-
OFF	Fermentative glucose	+	-	+	+
BGLU	β-glucosidase	+	-	-	-
dMAL	D-maltose	+	+	+	+
dMAN	D-mannitol	+	+	+	+
dMNE	D-mannose	+	+	-	-
BXYL	β-xylosidase	+	-	-	-
BAlap	β-alanine arylamidase	-	-	-	-
ProA	L-proline arylamidase pNA	+	+	-	-
LIP	Lipase	-	+	-	-
PLE	Palatinose	+	+	+	+
TyrA	Tyrosine arylamidase	+	+	-	-
URE	Urease	+	-	-	-
dSOR	D-sorbitol	+	+	-	-
SAC	Sucrose	+	+	+	+
dTAG	D-tagatose	-	+	+	+
dTRE	D-trehalose	+	+	+	+
CIT	Citrate(sodium)	+	-	-	-
MNT	Malonate	+	-	-	-
5KG	5-keto-D-gluconate	+	-	-	-
ILATk	L-lactate alkalinisation	+	-	-	-
AGLU	α-glucosidase	-	-	-	-
SUCT	Succinate alkalinisation	+	-	-	-
NAGA	β-N-acetyl-galactosaminidase	+	-	-	-
AGAL	α-galactosidase	+	-	-	-
PHOS	Phosphatase	+	-	+	+
GlyA	Glycine arylamidase	+	+	-	-
ODC	Omithine decarboxylase	-	-	-	-
LDC	Lysine decarboxylase	-	-	-	-
IHISa	L-histidine assimilation	-	-	-	-
CMT	Courmarate	-	-	-	-
BGUR	β-glucuronidase	-	-	-	-
O129R	O/129 resistance	-	-	-	-
GGAA	Glu-gly-arg-arylamidase	-	-	-	-
ImLTa	L-malate assimilation	-	-	-	-
ELLM	Ellman	+	+	-	-
ILATa	L-lactate assimilation	-	-	-	-

염색을 통한 세균학적 특징과 현미경을 사용한 형태학적 특징을 확인한 결과 분리 균주 4종 모두 그람 음성으로 확인되었으며 (결과 미제시), 그람 염색 및 주사전자 현미경을 이용한 분석 결

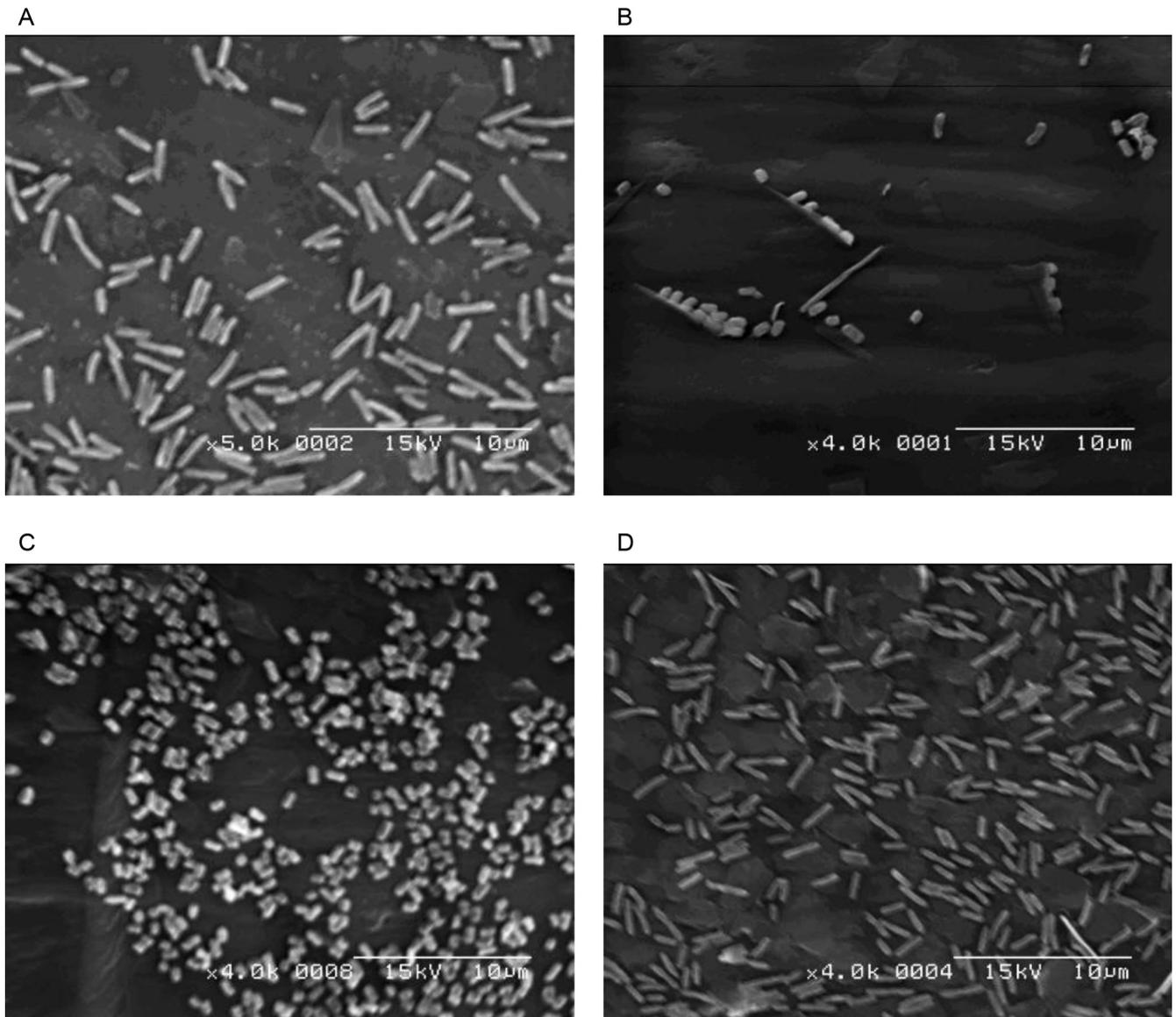


Fig. 2. Scanning electron micrograph of bacterial strains isolated from nonylphenol-degrading microbial consortium SW-3. Scale bar represents 10 μm in length. A, SW-3-A; B, SW-3-B, C, SW-3-C; D, SW-3-D.

과 SW-3-A와 SW-3-D는 간균(桿菌), SW-3-B와 SW-3-C는 단간균(短桿菌)으로 조사되었다(Fig. 2).

분리 균주들의 그람 염색결과에 따라 BioMerieux Vitek Gram negative identification card(GNI+)를 사용하여 실시한 생화학적 특성은 Table 3에 나타내었다. 보다 정확히 분리 균주의 동정을 위하여 PCR을 이용하여 각 분리 균주들의 16S rDNA를 증폭하여 염기서열 상동성 분석을 실시하였다. 상동성을 조사한 결과, SW-3-A는 *Klebsiella* sp. XW721와 99%, SW-3-B는 *Achromobacter* sp. EP17와 99%, SW-3-C는 *Achromobacter* sp. EP17와 100%, 그리고 SW-3-D는 *Raoultella ornithinolytica* strain NB1과 99%로 가장 높은 상동성을 나타내었다(Table 4).

이상의 분리균들의 형태학적 및 생화학적 특성과 16S rDNA 염기서열 분석 결과를 종합하여 분리균 SW-3-A는 *Klebsiella* sp., SW-3-B와 SW-3-C는 *Achromobacter* sp., 그리고 SW-3-D는 *Raoultella* sp.로 동정하고 각 분리균들의 nonylphenol 분해 특성을 조사하였다.

분리된 단일 균주의 nonylphenol 분해 활성

Nonylphenol을 효과적으로 분해하는 컨소시엄 균주 SW-3에서 순수 분리된 4종의 단일 균주의 nonylphenol 분해능을 측정하였다(Fig. 3). Nonylphenol 분해활성은 컨소시엄 균주의 분해활성과 마찬가지로 배지 중의 nonylphenol 잔류량으

Table 4. Identification of strains isolated from nonylphenol-degrading microbial consortium SW-3 by homology search based on 16S rDNA

Strains	Reference	Identity (%)	Accession no.
SW-3-A	<i>Klebsiella</i> sp. XW721	99	EU545402.1
SW-3-B	<i>Achromobacter</i> sp. EP17	99	AM398226.1
SW-3-C	<i>Achromobacter</i> sp. EP17	100	AM398226.1
SW-3-D	<i>Raoultella ornithinolytica</i> strain NB1	99	HM231274.1

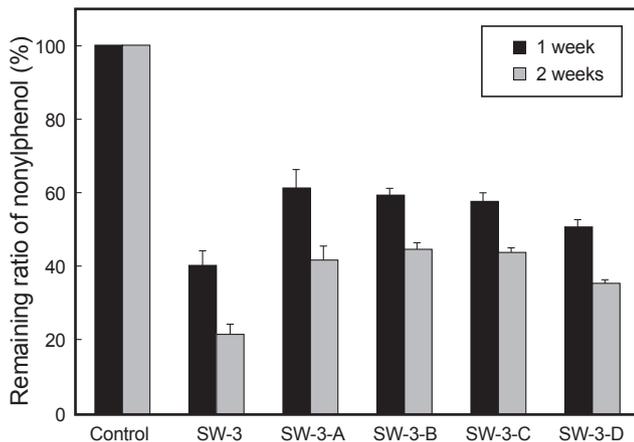


Fig. 3. Biodegradation of nonylphenol by strains isolated from nonylphenol-degrading microbial consortium SW-3. Nonylphenol concentration was determined by HPLC after 1 week and 2 weeks incubation, respectively.

로 판단하였다. 단일 균주의 배양기간은 컨소시엄 균주 SW-3의 nonylphenol 분해 활성이 가장 활발한 것으로 조사되었던 배양 15일차를 기준으로 7일 간격으로 단일 균주에 의한 nonylphenol 분해활성을 조사하였다.

그 결과, 분리된 단일 균주에 의한 nonylphenol의 분해능은, 4종의 균주가 배양 1주차에 약 40-45% 정도의 분해율을 보였고(Fig. 3), 배양 2주차에는 SW-3-A는 60%, SW-3-D는 약 70%의 분해활성을 나타내었다. 반면 SW-3-B와 SW-3-C 균주는 nonylphenol 분해율이 55% 정도를 보여 상대적으로 낮은 분해활성이 관찰 되었다(Fig. 3). 그러나, 단일 균주 모두 nonylphenol분해효과는 컨소시엄 균주 SW-3의 분해활성에는 못 미치는 결과가 나타났다. 이러한 결과는 nonylphenol을 효과적으로 분해하는 consortium A에서 분리한 단일 균주들의 분해활성이 컨소시엄 균주보다도 떨어진다는 Gioia et al. (2008)의 보고와도 일치한다. 본 연구 결과에서 얻어진 컨소시엄 균주 SW-3에 의한 효과적인 nonylphenol 분해는 컨소시엄 안에 존재하는 여러 균주들 간의 상호 작용에 의한 것으로 판단되며 다른 연구자들도 이와 같은 의견을 제시하고 있다(Fuji et al., 2000; Gioia et al., 2008).

향후, 미생물을 이용한 환경 친화적인 nonylphenol 분해 기술을 개발하기 위해서는 nonylphenol 분해 컨소시엄 균주 SW-3로부터 추가적으로 nonylphenol 분해력이 높은 단일 균주들의

탐색과 이들 분해 균주들 간의 다양한 조합을 통한 최적의 균주 조성을 찾아내어 우수한 분해 활성을 가지고 있는 종균제 개발과 nonylphenol 분해 기작에 대한 연구도 필요할 것으로 판단된다.

사 사

“이 논문은 2010년도 부산지역환경기술개발센터의 연구사 업비 지원을 받아 연구되었음(10-2-30-33).”

참고문헌

- Ahel M, Giger W and Koch M. 1994. Behaviour of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I. Occurrence and transformation in sewage treatment. *Water Res* 28, 1131-1142.
- Azevedo DA, Lacorte S, Viana P and Barceló D. 2001. Occurrence of nonylphenol and bisphenol-A in surface waters from Portugal. *J Braz Chem Soc* 12, 532-537.
- Berns KI and Thomas CA. 1965. Isolation of the high molecular DNA from Haemophilus influenzae. *J Mol Biol* 11, 476-490.
- Cho HS, Kim YO, Seol SW and Horiguchi T. 2004. A study on the pollution of nonylphenol in surface sediment in Gwangyang bay and Yeosu sound. *Korean Environ Sci Soc* 13, 567-570.
- Corvini PF, Vinken R, Hommes G, Schmidt B and Dohmann M. 2004. Degradation of the radioactive and non-labelled branched 4(3',5'-dimethyl 3'-heptyl)-phenol nonylphenol isomer by *Sphingomonas* TTNP3. *Biodegradation* 15, 9-18.
- Fairchild WL, Swansburg EO, Arenault JT and Brown SB. 1999. Does an association between pesticide use and subsequent declines in catch of Atlantic salmon(*Salmo salar*) represent a case of endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 107, 349-357.
- Fries E and Puttmann W. 2003. Occurrence and behaviour of 4-nonylphenol in river water of Germany. *J Environ Monit* 5, 598-603.
- Fujii K, Urano N, Kimura S, Nomura Y and Karube I. 2000. Microbial degradation of nonylphenol in some aquatic environments. *Fish Sci* 66, 44-48.
- Fujii K, Urano N, Ushio H, Satomi M and Kimura S. 2001. *Sphingomonas cloacae* sp. nov., a nonylphenol-degrading bacterium isolated from wastewater of a sewage-treatment plant in Tokyo. *Int J Syst Evol Microbiol* 51, 603-610.
- Gabriel FL, Giger W, Guenther K, Kohler HP. 2005. Differential Degradation of Nonylphenol Isomers by *Sphingomonas xenophaga* Bayram. *Appl Environ Microbiol* 71, 1123-1129.
- Giger W, Brunner PH and Schaffner C. 1984. 4-nonylphenol

- in sewage sludge: Accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. *Sci New Ser* 225, 623-625.
- Gioia DD, Salvadori L, Zanaroli G, Coppini E, Fava F and Barberio C. 2008. Characterization of 4-nonylphenol-degrading bacterial consortium obtained from a textile wastewater pretreatment plant. *Arch Microbiol* 190, 673-683.
- Hernandez-Raquet G, Soef A, Delgenes N and Balaguer P. 2007. Removal of the endocrine disrupter nonylphenol and its estrogenic activity in sludge treatment processes. *Water Res* 41, 2643-2651.
- Hussain S, Arshad M, Saleem M and Khalid A. 2007. Biodegradation of alpha- and beta-endosulfan by soil bacteria. *Biodegradation* 18, 731-740.
- Jayaweera MW and Kasturiarachchi JC. 2004. Removal of nitrogen and phosphorus from industrial wastewaters by phytoremediation using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*(Mart.) Solms). *Water Sci Technol* 50, 217-25.
- Junghanns C, Moeder M, Krauss G, Martin C and Schlosser D. 2005. Degradation of the xenoestrogen nonylphenol by aquatic fungi and their laccases. *Microbiol* 151, 45-57.
- Kang MS and Kim YM. 2007. Characterization of Chloroanilines-degrading Bacteria Isolated from Seaside Sediment. *J Korean Fish Sic* 40, 282-287.
- Karels AA, Manning S and Brouwer TH. 2003. Reproductive effects of estrogenic and antiestrogenic chemicals on sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*). *Environ Toxicol Chem* 22, 855-865.
- Khim JS, Kannan K, Villeneuve DL, Koh CH and Giesy JP. 1999. Characterization and distribution of trace organic contaminants in sediment from Masan bay, Korea: 1. Instrumental analysis. *Environ Sci Technol* 33, 4199-4205.
- Kim YM, Park K, Kim WC, Joo GJ, Jeong EM, Kim JE and Rhee IK. 2004. Glutathione-dependent biotransformation of the fungicide chlorothalonil. *J Agric Food Chem* 52, 4192-4196.
- Kim YM, Park K, Kim WC, Shin JH, Kim JE, Park HD and Rhee IK. 2007. Cloning and characterization of a catechol-degrading gene cluster from 3,4-dichloroaniline degrading bacterium *Pseudomonas* sp. KB35B. *J Agric Food Chem* 55, 4722-4727.
- Lee YK, Eom SH, Hwang HJ, Lim KS, Yang JY, Chung YH, Kim DM, Lee MS, Rhee IK and Kim YM. 2009. Cloning and mutational analysis of catechol 2,3-dioxygenase from 3,4-dichloroaniline degrading bacterium *Pseudomonas* sp. KB35B. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 52, 258-263.
- Liao SW and Chang WL. 2004. Heavy metal phytoremediation by water hyacinth at constructed wetlands in Taiwan. *J Aquat Plant Manage* 42, 60-68.
- Li DH, Kim MS, Oh JR and Park JM. 2004. Distribution characters of nonylphenol in the artificial lake Shihwa, Korea and surrounding creeks in Korea. *Chemosphere* 56, 783-790.
- Park ME, Kim YM and Chung YH. 2011. Characterization of organochlorine insecticide endosulfan-degrading bacterium isolated from seaside sediment. *Korean J Fish Aquat Sci* 44, In Press.
- Ripp S, Nivens DE, Ahn Y, Werner C, Jarrell IV, Easter JP, Cox CD, Burlage RS and Saylor GS. 2000. Controlled field release of a bioluminescent genetically engineered microorganism for bioremediation process monitoring and control. *Environ Sci Technol* 34, 846-853.
- Shin JH, Kwak YY, Kim WC, So JH, Shin HS, Park JW, Kim TH, Kim JE and Rhee IK. 2008. Isolation of endosulfan degrading bacteria and their degradation characteristics. *Kor J Environ Agric* 27, 292-297.
- Shi S and Bending GD. 2007. Changes to the structure of *Sphingomonas* spp. communities associated with biodegradation of the herbicide isoproturon in soil. *FEMS Microbiol Lett* 269, 110-116.
- Tanghe T, Dhooge W and Verstraete W. 1999. Isolation of a bacterial strain able to degrade branched nonylphenol. *Appl Environ Microbiol* 65, 746-751.
- Yadete F and Male R. 2002. Effects of 4-nonylphenol on gene expression of pituitary hormones in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquat Toxicol* 58, 113-129.

2011년 4월 15일 접수

2011년 6월 21일 수정

2011년 7월 27일 수리