

## 호소 및 하천에서 환경호르몬 Bisphenol-A의 분해거동에 관한 연구

강 호\* · 신 경 숙 · 김 선 기 · 진 창 숙<sup>1</sup>충남대학교 환경공학과, <sup>1</sup>日本畜産試験場Degradation Behavior of Endocrine Disruptor Bisphenol-A  
in the Lake and StreamHo Kang\*, Kyungsook Shin, Sunki Kim and Changsook Jin<sup>1</sup>*Department of Environmental Eng., Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea**<sup>1</sup>National Institute of Animal Industry, Ministry of Agriculture Forestry and Fisheries 2, Japan*

**Abstract** - Among the biodegradability tests, TOC-HANDAI and OECD method were utilized to examine the degree of biodegradation of endocrine disruptors, Bisphenol A (BPA) and Nonylphenol. Both methods used natural water microcosms and measured their biodegradabilities of BPA and Nonylphenol, in terms of TOC or DOC degradation with time for 28 days. Biodegradabilities for BPA, 73~78% with TOC-HANDAI method and 77~81% with OECD method were obtained respectively at the end of experiment. There was no difference in BPA degradation between two methods. BPA degradation was described by two distinct first order decay rates ( $k_1$  and  $k_2$ ) which could be separated by a simple visual fitting. Most of the initial decay reaction accelerated within 1~7 days with  $k_1$  of 0.24~0.34 day<sup>-1</sup>. And the following another long term first order decay coefficient ( $k_2$ ) showed 0.02~0.05 day<sup>-1</sup> with much flat slope. About 20~25% of initial BPA remained at the end of experiment. It suggests that the remaining TOC components in BPA biodegradation considered to be refractory metabolites of BPA. Nonylphenol at each sampling point was appeared to be mineralized 20~48% of initial TOC concentration. Consequently Nonylphenol seems more recalcitrant against biodegradation. BPA was not detected in the detection limit of ppb in the watershed of Daechung reservoir and Kum river. However 25 ppb concentration of BPA was detected at the influent of industrial wastewater treatment plant in Taejon.

**Key words** : Biodegradability, First order decay coefficient, Bisphenol-A, Nonylphenol, OECD method, Natural water microcosms, TOC-HANDAI method

## 서 론

비스페놀A [2, 2-bis (4-hydroxyphenyl)propane : 이하 BPA]는 아세톤과 2분자의 페놀을 축합탈수시켜 생성시

킨 백색의 화합물이다. BPA는 폴리카보네이트계 및 에폭시계의 플라스틱 및 수지의 제조에 있어서 경화제, 식품보관용기 및 식품보관캔 내부의 도장용 락카의 첨가제등으로 다양하게 사용되고 있다. 미국에서는 EPA의 TSCA (Toxic Substances Control Act) 섹션 4와 8에서 실시한 독성실험결과에 따라 수역으로의 BPA 방출농도를 0.1 ppm 이하로 규제하고 있다 (Dorn *et al.* 1987).

\*Corresponding author: Ho Kang, Tel. 042-821-6675, Fax. 042-822-5610, E-mail. hokang@cnu.ac.kr

BPA는 사람에게 광알레르기성 접촉 피부염을 발생시키며 가장 최근에는 BPA가 인간의 유방암세포배양분석에서 에스트로겐의 역할을 함이 밝혀졌으며, 인간에게 영향을 줄 수 있는 농도는 2~5 ppb라고 보고되어 있다 (Krishnan *et al.* 1993). 또한, EC (유럽공동체)에서는 식품내 BPA 농도를  $3 \text{ mg kg}^{-1}$ 으로 규제하고 있으며, 식품용기등 재질내의 BPA 농도는  $500 \text{ mg kg}^{-1}$ 으로 규제하고 있다. BPA를 사용하는 플랜트에서는 BPA가 함유된 폐수 및 폐기물이 토양이나 수계환경으로 방출되고 있으며, 자연계에 유입된 BPA가 완전히 분해·제거되는데 90년이 걸린다고 보고되어 (Knnak *et al.* 1966)있는 등 BPA를 비롯한 인공합성화학물질들은 화학적으로 안정되어 있으므로 생분해성이 낮아 난분해성물질로 구분되고 있다. 이들 난분해성물질은 생물독성이나 생물농축성이 높아 저농도라고 할지라도 생태계에 미치는 영향이 매우 크다는 특징을 지니고 있다. 따라서 이런 화학물질에 의한 환경오염의 제어에 있어서는 각 화학물질의 생분해성을 조사하고 안전성을 평가하여 자연계내에서의 거동을 예측하는 것이 필요하다. 수환경내에서는 화학물질이 대개 수중미생물에 의해 분해되므로 수중미생물에 의한 생분해성 등을 평가하는 것이 중요하다.

이런 이유로 OECD에서는 화학물질의 생분해성 평가를 위한 실험방법 등을 OECD 가이드북에 정리하여, 이에 준하여 생분해성을 평가하고 있다 (OECD 1981). 현재 화학물질의 생분해성 시험법은 시험목적에 따라 이분해성(易分解性)시험, 본질적 생분해성(本質的 生分解性)시험, 시뮬레이션시험으로 나뉘어진다. 그러나 시뮬레이션 시험을 제외한 시험법은 시험결과와 안정화를 위해 식종균으로 활성슬러지나 그 상등액을 사용하고, 배양액에는 시험물질이외의 여러종류의 영양원을 첨가하여 생육에 필요한 최적조건을 만들어 주므로 엄격한 의미에서 볼 때, 자연수환경내에서의 화학물질의 생분해성을 직접적으로 반영한 것이라 볼 수 없다. 본 연구에서는 순양되지 않은 자연수계내의 미생물원을 그대로 이용하는 시뮬레이션 생분해시험법인 TOC-HANDAI법을 중심으로 환경호르몬인 BPA의 생분해도를 평가하여, 노닐페놀과 비교하는 한편, 그 결과를 OECD에서 공인한 생분해시험법(이하 OECD법)과 비교평가함으로써 수계내에서의 분해거동을 파악하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 생분해평가지점의 기초수질조사 및 BPA검출

물이나 토양에 존재하는 미생물의 생육은 온도, 빛, 수

분, 수소이온농도 등 물리·화학적 환경요인과 함께 성장에 필요한 에너지원 및 각종 무기영양물질에 의해 영향을 받는다. 따라서 유해화학물질의 자연 수환경 중에서 생분해성을 평가하기 위해서는 생분해에 영향을 주는 인자들에 대한 조사가 필요하다. BOD 농도가 큰 부수성(富水性)수계와 BOD 농도가 작은 빈수성(貧水性)수계에서는 미생물군의 구성이 서로 다르므로 생분해속도 및 패턴에 영향을 준다고 사료되므로 생분해조사지점에 대한 기초수질조사가 선행되어야 한다. 이에 본 연구에서는 Table 1에 나타낸 바와 같이 호수와 하천 그리고 그 합류지점을 대표하는 세 지점과, 또한 대청호 수계내 하천 중 오염도의 차이에 근거하여 초강, 논산천, 유구천, 갑천 등 네 지점을 선정하여 2년간 기초수질 조사를 실시하였으며, 각각의 지점에서 미생물원을 채취해 대상 화학물질의 생분해 실험에 이용하였다. 각 시료에 대해서는 현장에서 pH, 수온, DO를 측정하였으며, 그 외 BOD, SS, COD, TP, TN, 생균수는 수질오염 공정시험법(수질오염공정시험법 1998)에 의해 측정하였다. 한편 생분해평가 대상하천 및 댐, 그리고 인근 폐수처리시설의 유입·유출수내의 BPA를 검출하기 위해서 고상마이크로추출법(Solid Phase Micro Extraction; SPME)과 가스크로마토그래피를 이용해 분석하였다(김 2001).

### 2. 대상화학물질

생분해실험에서는 생분해가 비교적 빠르고 쉽게 진행되어 아닐린, 페놀 등과 함께 표준물질로 이용되는 안식향산나트륨(sodium benzoate)를 표준물질로 하여 본 연구의 생분해실험환경의 적합성을 평가하였으며, 환경호르몬물질

Table 1. Location of sampling points

| Trial | Sampling points | Symbol | Location of sampling points                                       |
|-------|-----------------|--------|---|
| 1     | Stream          | A      | Place under Daeduck Bridge of Seogu, Taejon                       |
|       | Reservoir (Dam) | B      | Place in the middle of Daechung Reservoir                         |
|       | Junction        | C      | Place under the Joonchuk Bridge of Chungwonkun, Chungbuk Province |
| 2     | Chogang         | D      | Place under the Chogang Bridge of Yeongdongkun, Chungbuk Province |
|       | Nonsanchon      | E      | Place under the Yangchon Bridge of Nonsankun, Chungnam Province   |
|       | Yougoochon      | F      | Place under the Yougoo Bridge of Kongjukun, Chungnam Province     |
|       | Kabchon         | G      | Place under the Kasuwon Bridge of Seogu, Taejon                   |

인 BPA와 노닐페놀을 공시물질로 하여 실험을 실시하였다. 대상물질의 특성은 Table 2에 나타낸 바와 같다.

3. TOC-HANDAI법

近藤正臣 등(1988)이 개발한 TOC-HANDAI법은 순양되지 않은 자연수중 미생물에 의한 공시물질의 생분해도를 평가하는 시물레이션 방법으로 본 연구에서는 Fig. 1에 나타낸 본래의 TOC-HANDAI法을 4배 Scale-up하여 실험하였다. 즉 4,000 ml의 하천수를 Membrane filter (0.22 μm)로 여과한 후, 이 Filter위에 집균된 미생물을 인공하천수(강 등 1999) 400 ml에 넣고 초음파처리에 의해 현탁시켜 하천수 미생물원을 조제하였다. 21 용량의 삼각플라스크에 880 ml의 인공하천수와 100 ml의 하천수 미생물원을 넣은 후, 초기 TOC 농도가 20 mg l<sup>-1</sup>가 되도록 공시물질의 Stock solution (TOC 1,000 mg l<sup>-1</sup>) 20 ml를 첨가하였다. 이 플라스크를 알루미늄 호일에 싸서 빛을 차단시키고 마개로 덮고 28°C, 120 rpm에서 28일간 진탕배양하였다. 0, 1, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28일 등 총 9회에 걸쳐 각각 10 ml의 시료를 채취하여 TOC Analyzer (DC-180 Model)를 이용하여 분석하였다. 그리고 대조시험으로 유해화학물질을 첨가하지 않은 것을 Blank, 미생물원을 첨가하지 않은 것을 Control로 하여 동일한 방법으로 실험하였다.

4. OECD법

OECD에서 추천하는 이분해성 생분해시험방법인 OECD법은 호기적 조건하에서 진탕배양하면서 28일간 공시물질의 DOC변화를 토대로 생분해성을 평가하는 방법이다(OECD 1981). 21의 삼각플라스크에 11의 인공하천수를 넣고 생분해평가 대상 공시물질인 BPA와 노닐페놀을 20 mgDOC l<sup>-1</sup> 농도가 되도록 첨가하였다. 여기에 각 지점에서 채취한 식종액을 0.5 ml첨가하고 알루미늄 foil로 입구를 덮어 20~25°C에서 28일간 진탕배양

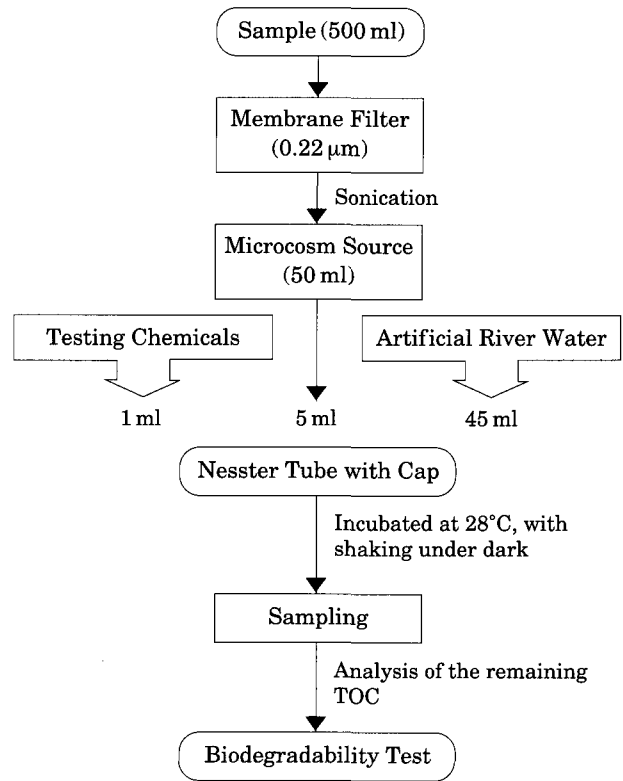


Fig. 1. Procedure for TOC-HANDAI method.

하면서 시간경과에 따른 DOC의 감소패턴을 평가하였다. OECD법은 대부분 0, 7, 14, 21, 28일째에 표본으로 DOC를 측정하는 것이 일반적이나 본 실험에서는 분해가 빠르게 진행되는 배양초기의 분해패턴을 평가하기 위해 1, 2, 3, 5일에 추가로 시료를 채취하여 분석하였다.

5. 분해율 및 생분해속도상수 (k)산정

각 유해물질의 분해율은 다음식에 의해 산정하였으며 TOC-HANDAI법의 경우는 TOC를, OECD법의 경우는

Table 2. Characteristics of hazardous chemicals examined

| Chemicals       | Structure                                  | Use  | Characteristics                            |
|-----------------|--|--|--|
| Bisphenol-A     | <chem>Cc1ccc(cc1)C(C)(O)c2ccc(O)cc2</chem> | epoxy resins, polycarbonate plastics, food can, bottle tops, pipes       | endocrine disruptor                        |
| Nonylphenol     | <chem>Cc1ccc(O)cc1</chem>                  | materials of detergent, pesticide, plastics manufacturing                | endocrine disruptor                        |
| Sodium benzoate | <chem>Cc1ccc(cc1)C(=O)O[Na]</chem>         | antibacterial and antifungal agent materials of dyes and pharmaceuticals | standard chemical of biodegradability test |

DOC를 기준으로 하였다.

$$Dt = \left(1 - \frac{C_t - C_{Bt}}{C_0 - C_{B0}}\right) \times 100 \quad (1)$$

$D_t$  = t시간 경과후의 분해율(%)

$C_0$  = 배양초기 농도

$C_t$  = 배양 t일 경과후 농도

$C_{B0}$  = Blank의 초기농도

$C_{Bt}$  = Blank의 t일 경과후 농도

또한 각 화학물질의 분해속도상수(k)는 대부분의 생분해반응에서와 마찬가지로 1차반응을 가정하였으며 시간에 따른 분해패턴을 고려하여 각 구간별로 세분화하여 다음식에 의해 각 단계별로 Multiple k값을 산정하여 공시물질분해에 있어서 적응기 및 율속단계를 평가하였다.

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (2)$$

$$\text{따라서 } \ln \frac{C}{C_0} = -kt \quad (3)$$

가 된다.

C : TOC 혹은 DOC 농도( $\text{mg l}^{-1}$ )

$C_0$  : 초기농도( $\text{mg l}^{-1}$ )

k : 생분해속도상수( $\text{day}^{-1}$ )

t : 시간(day)

## 결과 및 고찰

### 1. 수질조사 결과

생분해성 평가대상지점의 기초 수질조사결과를 Table 3에 나타내었다. pH는 전 조사지점에서 중성 내지는 약 알칼리성을 나타내었으며, 특히 대청댐 유역의 B지점에서는 8.2~9.2으로 하천의 타조사지점에 비해 높게 조사되었다. 이는 대청호내 조류의 과잉번식으로 인한 pH의 상승에 기인되며 또한 이 시기의 DO 농도가 8.7~10.8  $\text{mg l}^{-1}$ 로 수온에 비해 과포화상태임이 이를 뒷받침하고 있다. 또한 갑천하류인 A지점과, 대청호와 갑천의 합류지점인 C지점에서 BOD, SS의 농도가 다른 지점에 비해 다소 높게 조사되었으나, 대체로 하천수 수질기준 1~2등급 수질을 유지하고 있다. 조사대상 4개의 하천 중에서는 초강(D)과 갑천(G)지점이 논산천(E)과 유구천(F)에 비해 유기물농도가 높아 오염도가 다소 높은 것으로 나타났다. 또한 Colony Forming Unit (CFU)로 표현한 생균수의 경우 조사시기별로는 큰 차이를 보이지 않았으나, 조사지점별로는 갑천하류인 G지점에서는 평균  $1.8 \times 10^6 \text{ cells ml}^{-1}$ 로 가장 높게 조사되었으며, 반면 대청호내 조사지점인 B의 경우는  $1.1 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$ 를 나타내 지점별 생균수의 차이가 비교적 큰 것으로 나타났다.

한편 생분해평가대상하천과 인근 폐수종말처리장의 유입·유출수를 대상으로 고상마이크로추출법에 의해 BPA를 분석한 결과 금강수계내 초강, 논산천, 유구천,

Table 3. Water quality at each sampling point (1999~2000)

| Sampling points | Parameters | pH   | Temp. (°C) | DO ( $\text{mg l}^{-1}$ ) | BOD ( $\text{mg l}^{-1}$ ) | SS ( $\text{mg l}^{-1}$ ) | COD <sub>Mn</sub> ( $\text{mg l}^{-1}$ ) | T-N ( $\text{mg l}^{-1}$ ) | T-P ( $\text{mg l}^{-1}$ ) | CFU (cells $\text{ml}^{-1}$ ) | BPA ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) |
|-----------------|------------|------|------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|------------------------------|
|                 |            | June | A          | 7.6                       | 26.5                       | 8.6                       | 2.6                                      | 8.4                        | 4.2                        | 5.7                           | 0.59                         |
|                 | B          | 8.2  | 25.7       | 8.7                       | 2.3                        | 5.4                       | 4.1                                      | 1.4                        | 0.08                       | $1.1 \times 10^3$             | ND                           |
|                 | C          | 8.1  | 26.7       | 9.3                       | 2.3                        | 7.8                       | 4.6                                      | 4.1                        | 0.09                       | $8.7 \times 10^4$             | ND                           |
| July            | A          | 7.7  | 25.8       | 8.9                       | 2.9                        | 7.0                       | 3.3                                      | 7.1                        | 0.19                       | $3.5 \times 10^5$             | ND                           |
|                 | B          | 9.2  | 26.4       | 10.8                      | 0.9                        | 3.7                       | 1.2                                      | 1.4                        | 0.07                       | $1.0 \times 10^3$             | ND                           |
|                 | C          | 7.9  | 27.5       | 9.1                       | 2.5                        | 6.7                       | 5.1                                      | 3.7                        | 0.5                        | $6.8 \times 10^4$             | ND                           |
| August          | D          | 7.4  | 28.4       | 9.8                       | 2.5                        | 9.5                       | 4.1                                      | 3.8                        | 0.41                       | $1.8 \times 10^3$             | ND                           |
|                 | E          | 7.9  | 28.1       | 9.9                       | 1.2                        | 4.8                       | 1.7                                      | 2.7                        | 0.24                       | $1.7 \times 10^4$             | ND                           |
|                 | F          | 7.2  | 28.6       | 9.4                       | 0.9                        | 7.2                       | 1.2                                      | 2.3                        | 0.14                       | $1.3 \times 10^3$             | ND                           |
|                 | G          | 7.3  | 28.7       | 9.0                       | 2.6                        | 8.4                       | 3.8                                      | 3.9                        | 0.44                       | $1.8 \times 10^6$             | ND                           |
| September       | D          | 9.0  | 21.5       | 10.1                      | 2.0                        | 8.8                       | 4.1                                      | 3.7                        | 0.48                       | $1.2 \times 10^3$             | ND                           |
|                 | E          | 7.8  | 21.6       | 9.7                       | 1.4                        | 8.5                       | 2.1                                      | 2.9                        | 0.09                       | $2.3 \times 10^4$             | ND                           |
|                 | F          | 7.1  | 22.4       | 10.5                      | 1.1                        | 6.7                       | 1.7                                      | 2.7                        | 0.05                       | $1.4 \times 10^3$             | ND                           |
|                 | G          | 7.7  | 22.1       | 9.4                       | 2.4                        | 8.4                       | 4.3                                      | 3.1                        | 0.32                       | $1.9 \times 10^5$             | ND                           |

ND : Not detected under detection limit of ppb

갑천 등 4개의 지천과 대청댐내 조사지점에서는 모두 불검출되었고, 대전 3·4공단의 폐수종말처리장 유입수에서는 평균 25 ppb가 검출되었으며, 폐수처리장을 거친 후 유출수에서는 불검출되었다. 1998년에 실시된 일본의 하천, 댐, 하수처리장의 유입수 및 방류수, 폐기물 매립침출수의 BPA 조사결과에서는 하천 130지점 중 88지점에서 검출되었고, 검출농도는 최고 0.94  $\mu\text{g l}^{-1}$ 였으며, 하수처리장 유입수에서는 35지점 중 32지점에서 검출되었고 최고농도는 4.5  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 로 나타내는 등 대부분의 지점에서 BPA가 검출되었다고 보고된 바 있다(酒井憲司 1999).

한편 국내에서도 환경부가 1998~1999년에 걸쳐 한강분류와 지천에 대한 환경호르몬 및 농약성분등 25종의 유해물질에 대한 기초조사를 실시한 결과 경안천과 왕숙천에서 BPA가 각각 0.068  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , 0.04  $\mu\text{g ml}^{-1}$ 가 검출되었다. 이처럼 국·내외 연구사례를 토대로 볼 때 BPA의 농도는 위해한 수준은 아니지만 자연환경중에 널리 존재함을 알 수 있다. 따라서 지속적인 모니터링이 필요하다고 사료된다.

2. 표준물질의 생분해도를 통한 실험환경평가

본 연구에서는 TOC-HANDAI법과 OECD법을 이용한 환경호르몬물질의 생분해도 평가실험에서 안식향산 나트륨을 표준물질로 사용하였다. 생분해실험에서 표준물질은 28일 이내에 70% 이상의 DOC분해율을 보여야 하며, 분해율이 70% 이하인 경우는 시험이 무효가 되므로 식중원을 바뀌어 재실험을 해야 한다. 안식향산 나트륨의 경우는 TOC-HANDAI법과 OECD법에서 조사대상 전 지점에서 1~2일간의 적응기를 거친 후 신속히 분해되어 초기 5일동안에 80% 이상이 분해되는 것으로 나타났으며 최종적으로 81~87%의 분해율을 나타내었다(Figs. 2, 3). 따라서 안식향산 나트륨은 생분해시험의 표준물질로서 적당한 분해율을 지녔음을 확인할 수 있

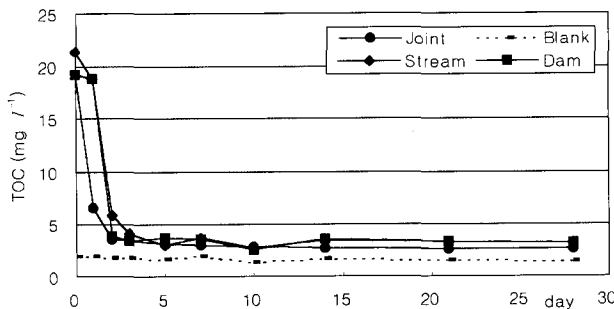


Fig. 2. Biodegradation of sodium benzoate by TOC-HANDAI method.

으며, 본 연구의 생분해실험환경이 생분해평가에 적합하게 유지되었음을 알 수 있다.

3. 비스페놀 A의 생분해도평가

1) TOC-HANDAI법

TOC-HANDAI법에 의한 하천, 댐 및 합류지점에서의 BPA의 분해는 Fig. 4와 같이 0~1일째 약간의 적응기를 거쳐, 5일째까지 신속히 분해가 이루어져 65%의 분해율을 보였다.

댐유입지점(A)의 경우 1~5일 사이에 급속히 분해되다가 5일 이후에는 완만히 분해되었으나 7일 이후에는 거의 분해되지 않았으며, 7일까지의 분해율은 71.2%이었다. 댐(B)지점에서는 0~1일 사이에 급속히 분해되었

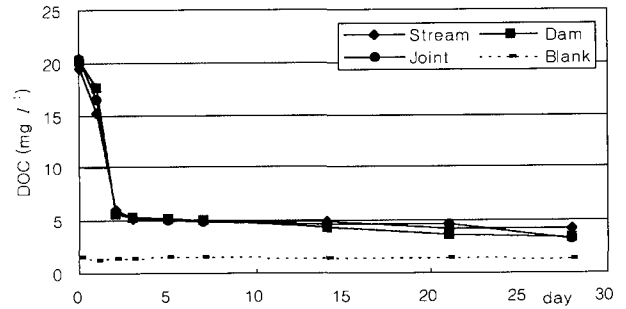


Fig. 3. Biodegradation of sodium benzoate by OECD method.

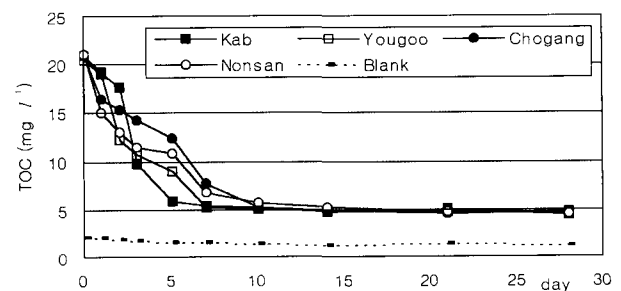
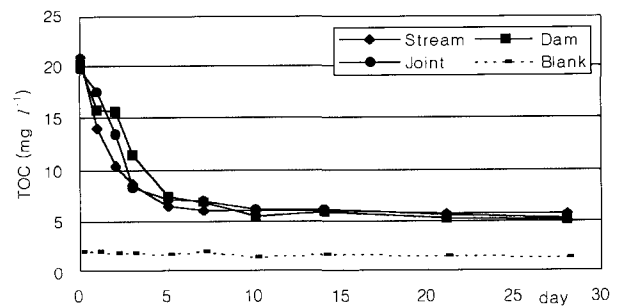


Fig. 4. Biodegradation of BPA by TOC-HANDAI method.

으나 1~2일 사이에 약간의 정체를 보였다. 또한 2~5일 사이에 다시 급속히 분해되다가 5일 이후에는 완만한 분해경향을 보였으며 10일째의 분해율은 73.2%로 그 이후에는 분해되지 않았다. 합류지점(C)에서는 하천(A)와 유사한 분해경향을 보였다. 이 결과로부터 전지점(A, B, C)에서 적응기 없이 곧바로 분해가 시작되나, 최종적으로 약 20~25%의 TOC가 잔존하는 것으로 밝혀졌다.

한편 4곳의 하천을 대상으로 한 실험에서는 갑천(G)를 제외한 초강(D), 논산천(E), 유구천(F)에서 유사한 분해 경향을 보였다. 갑천(G)에서는 0~2일 사이에 완만한 초기분해 후 급속히 분해되다가 5일 이후에 거의 분해가 되지 않았다. 그 외의 지점(D, E, F)에서는 0~1일 사이에 급속히 분해되다가 0~5일 사이에는 완만한 분해양상을 보였으며, 이후 7일째까지는 다시 급속한 분해를 보였으며 10일 이후에는 더 이상 분해되지 않았다. 하천에서도 전 지점(D, E, F, G)에서 적응기 없이 분해되었으며, 최종적으로 약 20~25%의 TOC가 잔존됨이 확인되었다. 이상의 A~G지점의 BPA 생분해평가 결과로부터 BPA는 TOC로 약 20~25%가 잔존되며, 초기 급격한 분해를 보이는 시기와 이후 완만히 분해되는 시기가 존재하였다. 이 결과는 Jin 등(1996)이 일본의 하천을 대상으로 수행한 BPA의 생분해평가 결과와 유사하다.

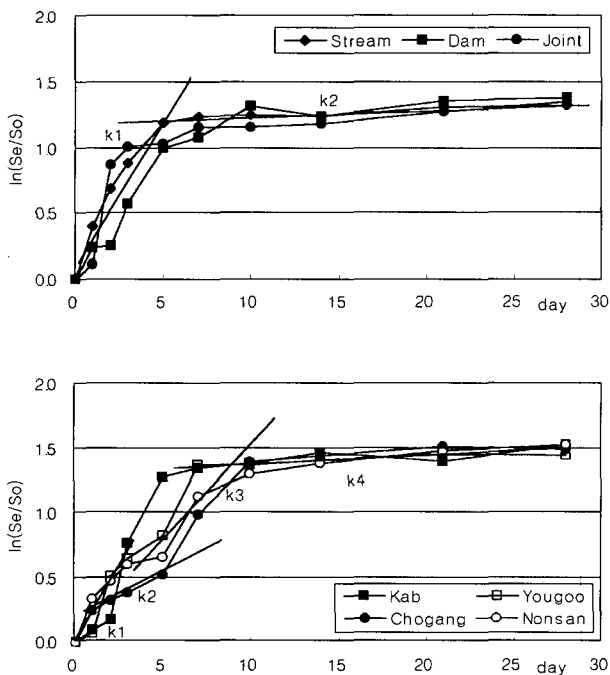


Fig. 5. First order decay rate of BPA by TOC-HANDAI method.

Jin 등(1996)은 본 실험과 동일한 TOC-HANDAI법에 의한 BPA의 생분해시험에서 하천에 따라 3가지 분해과정을 보였으며, 그 중 약 80%가 본 연구결과와 같은 2단계의 분해과정을 보였고, 이때 TOC 농도로 약 20%가 잔존하였다고 보고하였다. 또한 BPA의 분해균인 FJ-4 (Jin et al. 1996) 및 MV1 (Loboa et al. 1992)과 동일한 경로로 분해될 가능성이 시사되었다. FJ-4는 주요 경로를 통해서 BPA를 TOC 농도로 약 85%를 분해·제거하나, 약 15%는 비주요경로를 경유하면서 잔존되며, 잔존하는 중간대사물은 2, 3-bis (4-hydroxyphenol) 1, 2-propanediol과 p-hydroxyphenacyl alcohol이라고 보고한 바 있다. MV1을 분리한 Lobos 등(1992)에 의하면, BPA에 함유되어 있는 탄소 중 60%는 무기화되고, 20%는 세포에 흡수되며, 나머지 20%는 용해성의 대사산물로서 분해되지 않고 잔존한다고 보고하였다. 즉, BPA가 하천수 및 호수 수중의 미생물에 의해, BPA 분해균인 FJ-4 (Jin et al. 1996)나 MV1과 동일한 경로로 분해된다면, TOC 농도로 약 20%의 분해대사물질이 분해되지 않고 잔존할 가능성이 있다.

한편, 위와 같은 생분해패턴을 토대로 산정한 생분해 속도상수 k값은 Table 4와 Fig. 5에 나타낸 바와 같이 지점별 초기 유도기 유무에 따라 여러단계로 세분할 수 있으나, 대체로 초기분해가 빠르게 진행되는 시기의 k1 값은 0.24~0.34 day<sup>-1</sup>의 값을 보였으며, 분해가 서서히 진행되는 시기에서 k2는 0.02~0.05 day<sup>-1</sup>로 분해속도가

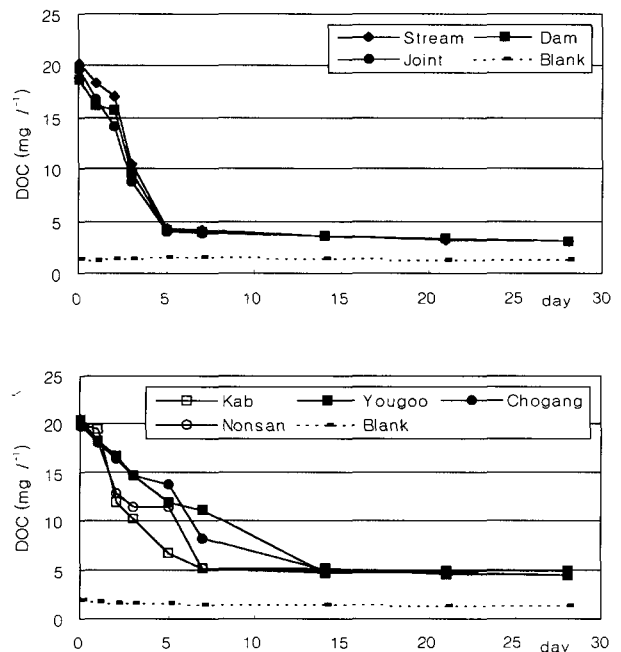


Fig. 6. Biodegradation of BPA by OECD method.

**Table 4.** Biodegradation rate constants (k) of chemicals examined in each sampling point by TOC-HANDAI method

| Site                   | Chemical               | BPA  |                        | Sodium Benzoate                                      |                        | Nonylphenol  |                |
|------------------------|------------------------|--|------------------------|--|------------------------|--|----------------|
|                        |                        | Multiple First-order Decay rate (day <sup>-1</sup> ) | Duration (day)         | Multiple First-order Decay rate (day <sup>-1</sup> ) | Duration (day)         | Multiple First-order Decay rate (day <sup>-1</sup> ) | Duration (day) |
| Trial I                | Stream                 | k <sub>1</sub> = 0.238                               | 0~5                    | k <sub>1</sub> = 0.036                               | 0~5                    | k <sub>1</sub> = 0.085                               | 0~2            |
|                        |                        | k <sub>2</sub> = 0.005                               | 5~28                   | k <sub>2</sub> = 0.008                               | 5~10                   | k <sub>2</sub> = 0.463                               | 2~5            |
|                        |                        |  |                        | k <sub>3</sub> = 0.002                               | 10~28                  | k <sub>3</sub> = 0.014                               | 5~28           |
|                        | Dam                    | k <sub>1</sub> = 0.205                               | 0~5                    | k <sub>1</sub> = 0.033                               | 0~3                    | k <sub>1</sub> = 0.085                               | 0~2            |
|                        |                        | k <sub>2</sub> = 0.058                               | 5~10                   | k <sub>2</sub> = 0.003                               | 3~7                    | k <sub>2</sub> = 0.463                               | 2~5            |
|                        |                        | k <sub>3</sub> = 0.003                               | 10~28                  | k <sub>3</sub> = 0.017                               | 7~14                   | k <sub>3</sub> = 0.014                               | 5~28           |
| Junction               | k <sub>1</sub> = 0.337 | 0~3  | k <sub>1</sub> = 0.030 | 0~3  | k <sub>1</sub> = 0.160 | 0~2  |                |
|                        | k <sub>2</sub> = 0.038 | 3~7  | k <sub>2</sub> = 0.011 | 3~14   | k <sub>2</sub> = 0.420 | 2~5  |                |
|                        | k <sub>3</sub> = 0.009 | 7~28   | k <sub>3</sub> = 0.001 | 14~28  | k <sub>3</sub> = 0.013 | 5~28   |                |
| Kab                    | k <sub>1</sub> = 0.085 | 0~2  | k <sub>1</sub> = 0.130 | 0~3  | k <sub>1</sub> = 0.030 | 0~1  |                |
|                        | k <sub>2</sub> = 0.370 | 2~5  | k <sub>2</sub> = 0.045 | 3~7  | k <sub>2</sub> = 0.220 | 1~7  |                |
|                        | k <sub>3</sub> = 0.010 | 5~28   | k <sub>3</sub> = 0.013 | 7~14   | k <sub>3</sub> = 0.007 | 7~28   |                |
|                        |                        |  | k <sub>4</sub> = 0.000 | 14~28  |                        |  |                |
| Trial II               | Yugoo                  | k <sub>1</sub> = 0.217                               | 0~3                    | k <sub>1</sub> = 0.137                               | 0~3                    | k <sub>1</sub> = 0.108                               | 0~5            |
|                        |                        | k <sub>2</sub> = 0.085                               | 3~5                    | k <sub>2</sub> = 0.009                               | 3~7                    | k <sub>2</sub> = 0.030                               | 5~7            |
|                        |                        | k <sub>3</sub> = 0.275                               | 5~7                    | k <sub>3</sub> = 0.004                               | 7~28                   | k <sub>3</sub> = 0.020                               | 7~14           |
|                        | k <sub>2</sub> = 0.003 | 7~28   |                        |  | k <sub>4</sub> = 0.000 | 14~28  |                |
|                        | Chokang                | k <sub>1</sub> = 0.104                               | 0~5                    | k <sub>1</sub> = 0.108                               | 0~5                    | k <sub>1</sub> = 0.100                               | 0~3            |
| k <sub>2</sub> = 0.174 |                        | 5~10   | k <sub>2</sub> = 0.012 | 5~10   | k <sub>2</sub> = 0.170 | 3~5  |                |
| k <sub>3</sub> = 0.006 |                        | 10~28  | k <sub>3</sub> = 0.001 | 10~28  | k <sub>3</sub> = 0.250 | 5~7  |                |
| Nonsan                 |                        |  |                        |  | k <sub>4</sub> = 0.070 | 7~14   |                |
|                        |                        |  |                        |  | k <sub>5</sub> = 0.009 | 14~28  |                |
|                        | k <sub>1</sub> = 0.240 | 0~2  | k <sub>1</sub> = 0.113 | 0~3  | k <sub>1</sub> = 0.220 | 0~2  |                |
|                        | k <sub>2</sub> = 0.060 | 2~5  | k <sub>2</sub> = 0.040 | 3~5  | k <sub>2</sub> = 0.037 | 2~5  |                |
|                        | k <sub>3</sub> = 0.128 | 5~10   | k <sub>3</sub> = 0.010 | 5~14   | k <sub>3</sub> = 0.400 | 5~7  |                |
|                        | k <sub>2</sub> = 0.012 | 10~28  | k <sub>4</sub> = 0.004 | 14~28  | k <sub>4</sub> = 0.007 | 7~28   |                |

현저히 떨어지는 전형적인 2단계 분해패턴을 나타내었다.

2) OECD법에 의한 BPA의 생분해실험

OECD법에 의한 BPA의 분해는 0~2일째 초기 적응기를 거쳐, 5일째까지 신속히 분해가 이루어져 78% 정도의 분해율을 보였다(Fig. 6).

땀 등 새지점 모두 5일째 까지 신속한 분해율을 보이며 잘 분해되지 않는 용존성 물질의 분해만을 남겨놓은 모습을 보여 TOC-HANDAI법 보다 더 빠른 분해를 보였으며 최종 83~84%의 분해율을 나타내 표준물질인 안식향산나트륨과 유사한 분해패턴을 보였다.

네 지점 하천의 경우 BPA의 분해는 TOC-HANDAI법의 결과와 약간 다른 분해양상을 나타내었다. 초강(D)의 경우 1~3일 사이에 급격히 분해되다가 3~5일째 적응기를 거친 후 7일째 58.24%까지 신속히 분해가 이루어진 다음 천천히 분해되어 최종 77.57%까지 분해되는 것으로 나타났다. 논산천의 경우 2~5일 사이에 적응

기가 나타나며 7일째 5.23 mg l<sup>-1</sup>까지 분해되어 최종 28일째는 77.46%의 분해율을 보였다.

유구천(F)은 적응기없이 분해되어 14일째 76.7%까지 분해되었다. 갑천(G)의 경우도 적응기 없이 곧바로 분해되었다. 그러나 TOC-HANDAI법과 마찬가지로 최종적으로 4.5 mg l<sup>-1</sup>의 TOC가 잔존하여 완전분해되지 않음이 밝혀졌다.

생분해속도상수는 Table 5와 Fig. 7에 나타난 바와 같이 다소 복잡한 분해패턴을 보였으나 TOC-HANDAI법과 마찬가지로 대체로 분해가 신속히 일어나는 5일까지의 k<sub>1</sub>값은 0.29~0.34 day<sup>-1</sup>의 범위를 보였으며, 이후 분해단계에서 k<sub>2</sub>는 0.008~0.02 day<sup>-1</sup>로 초기분해속도의 10% 수준으로 감소하였다.

4. 노닐페놀의 생분해실험

TOC-HANDAI법에 의한 노닐페놀의 생분해패턴은 Fig. 8에 나타난 바와 같이 땀(B)의 경우는 3~7일 사

Table 5. Biodegradation rate constants (k) of chemicals examined in each sampling point by OECD method

| Chemical |                        | BPA   |                        | Sodium Benzoate                                     |                         | Nonylphenol   |                |
|----------|------------------------|---|------------------------|---|-------------------------|---|----------------|
|          |                        | Mutiple First-order Decay rate (day <sup>-1</sup> ) | Duration (day)         | Mutiple First-order Decay rate (day <sup>-1</sup> ) | Duration (day)          | Mutiple First-order Decay rate (day <sup>-1</sup> ) | Duration (day) |
| Trial I  | Stream                 | k <sub>1</sub> = 0.085                              | 0~2                    | k <sub>1</sub> = 0.595                              | 0~2                     | k <sub>1</sub> = 0.110                              | 0~1            |
|          |                        | k <sub>2</sub> = 0.278                              | 2~5                    | k <sub>2</sub> = 0.130                              | 2~3                     | k <sub>2</sub> = 0.015                              | 1~7            |
|          |                        | k <sub>3</sub> = 0.014                              | 5~28                   | k <sub>3</sub> = 0.010                              | 3~28                    | k <sub>3</sub> = 0.003                              | 7~28           |
|          | Dam                    | k <sub>1</sub> = 0.080                              | 0~2                    | k <sub>1</sub> = 0.640                              | 0~2                     | k <sub>1</sub> = 0.075                              | 0~2            |
|          |                        | k <sub>2</sub> = 0.443                              | 2~5                    | k <sub>2</sub> = 0.060                              | 2~3                     | k <sub>2</sub> = 0.008                              | 2~7            |
|          |                        | k <sub>3</sub> = 0.017                              | 5~28                   | k <sub>3</sub> = 0.019                              | 3~28                    | k <sub>3</sub> = 0.014                              | 7~14           |
|          |                        |   |                        |   | k <sub>4</sub> = 0.0007 | 14~28   |                |
| Junction | k <sub>1</sub> = 0.160 | 0~2   | k <sub>1</sub> = 0.640 | 0~2   | k <sub>1</sub> = 0.070  | 0~1   |                |
|          | k <sub>2</sub> = 0.420 | 2~5   | k <sub>2</sub> = 0.060 | 2~3   | k <sub>2</sub> = 0.010  | 1~5   |                |
|          | k <sub>3</sub> = 0.013 | 5~28  | k <sub>3</sub> = 0.019 | 3~28  | k <sub>3</sub> = 0.045  | 5~7   |                |
|          |                        |   |                        |   | k <sub>4</sub> = 0.005  | 7~28  |                |
| Kab      | k <sub>1</sub> = 0.030 | 0~1   | k <sub>1</sub> = 0.250 | 0~1   | k <sub>1</sub> = 0.133  | 0~3   |                |
|          | k <sub>2</sub> = 0.217 | 1~7   | k <sub>2</sub> = 1.120 | 1~2   | k <sub>2</sub> = 0.043  | 3~7   |                |
|          | k <sub>3</sub> = 0.008 | 7~28  | k <sub>3</sub> = 0.066 | 2~7   | k <sub>3</sub> = 0.005  | 7~28  |                |
|          |                        |   | k <sub>4</sub> = 0.000 | 7~28  |                         |   |                |
| Trial II | Yugoo                  | k <sub>1</sub> = 0.103                              | 0~5                    | k <sub>1</sub> = 0.160                              | 0~1                     |   |                |
|          |                        | k <sub>2</sub> = 0.030                              | 5~7                    | k <sub>2</sub> = 0.080                              | 1~2                     | k <sub>1</sub> = 0.117                              | 0~3            |
|          |                        | k <sub>3</sub> = 0.200                              | 7~14                   | k <sub>3</sub> = 0.080                              | 2~7                     | k <sub>2</sub> = 0.020                              | 3~7            |
|          |                        | k <sub>4</sub> = 0.000                              | 14~28                  | k <sub>4</sub> = 0.015                              | 7~28                    | k <sub>3</sub> = 0.003                              | 7~28           |
| Chokang  | k <sub>1</sub> = 0.100 | 0~3   | k <sub>1</sub> = 0.190 | 0~1   |                         |   |                |
|          | k <sub>2</sub> = 0.035 | 3~5   | k <sub>2</sub> = 0.170 | 1~2   | k <sub>1</sub> = 0.120  | 0~3   |                |
|          | k <sub>3</sub> = 0.250 | 5~7   | k <sub>3</sub> = 0.180 | 2~3   | k <sub>2</sub> = 0.020  | 3~7   |                |
|          | k <sub>4</sub> = 0.070 | 7~14  | k <sub>4</sub> = 0.016 | 3~28  | k <sub>3</sub> = 0.004  | 7~21  |                |
|          | k <sub>5</sub> = 0.009 | 14~28   | k <sub>1</sub> = 0.130 | 0~1   |                         |   |                |
| Nonsan   | k <sub>1</sub> = 0.110 | 0~5   | k <sub>2</sub> = 1.240 | 1~2   | k <sub>1</sub> = 0.117  | 0~3   |                |
|          | k <sub>2</sub> = 0.400 | 5~7   | k <sub>3</sub> = 0.100 | 2~7   | k <sub>2</sub> = 0.025  | 3~5   |                |
|          | k <sub>3</sub> = 0.007 | 7~28  | k <sub>4</sub> = 0.010 | 7~28  | k <sub>3</sub> = 0.060  | 5~7   |                |
|          |                        |   |                        |   | k <sub>4</sub> = 0.004  | 7~28  |                |

이에 약간의 정체경향을 나타내었으며, 하천(A) 및 합류지점(C)에서는 14일까지 완만히 분해되었다. 세지점 모두 14일 이후에는 거의 변화가 없었으며, 최종적으로 약 25%만이 분해되었다.

생분해속도상수 k도 지점에 관계없이 k = 0.014 ~ 0.085 day<sup>-1</sup>의 범위의 세구간의 분해양상을 보였다. 하천(D~G)의 경우는 초기에 신속한 분해를 보이다가 4~5일 이후에는 완만한 속도로 분해되어 담과 합류지점에서의 분해양상과는 다소 차이를 보였으며 최종적으로 28일간의 분해율은 43~48%를 나타내었다. 이는 Maki 등(1996)이 오염도가 서로 다른 하천 및 호소수를 이용해 노닐페놀의 생분해도를 평가한 유사한 실험에서 100일간 지점별 분해율이 16~48%의 현저한 차이를 보였다는 연구보고와 일치하는 것으로 노닐페놀의 분해특성이 수계환경요인에 크게 영향을 받고 있다는 것을 시사한다. 한편, OECD법에 의한 노닐페놀의 생분해성평가의 결과도 TOC-HANDAI법과 유사한 분해경향을 보여 노

닐페놀이 BPA나 표준물질인 안식향산나트륨에 비해 생분해도가 현저히 낮은 난분해성물질임을 알 수 있다 (Fig. 9).

한편 Tanghe 등(1998)은 실험실규모의 활성슬러지시스템에서 노닐페놀은 약 70% 이상이 생분해가능하고, 또한 생분해율은 온도와 밀접한 관련이 있음을 밝혔으며, 스위스의 11개 활성슬러지처리시설에서는 노닐페놀이 89~94% 가량 처리된다고 보고한 바 있어 노닐페놀이 생물학적으로 처리가능한 것으로 판단할 수 있으나 노닐페놀은 폐수처리시설의 슬러지나 하천 혹은 호수의 퇴적물에 강하게 흡착되는 성질이 있어 (Jenniffer et al. 1996) 위 연구결과에서 나타난 노닐페놀의 제거량중 상당부분은 생물학적 분해가 아닌 흡착에 의한 슬러지 혹은 퇴적물로의 이동일 가능성이 높다.

또한 노닐페놀은 *Daphnia magna*를 대상으로 한 독성실험 (Comber et al. 1993)에서 24시간과 48시간내의 EC<sub>50</sub>값이 각각 0.3, 0.19 mg l<sup>-1</sup>로 어독성이 비교적 강한



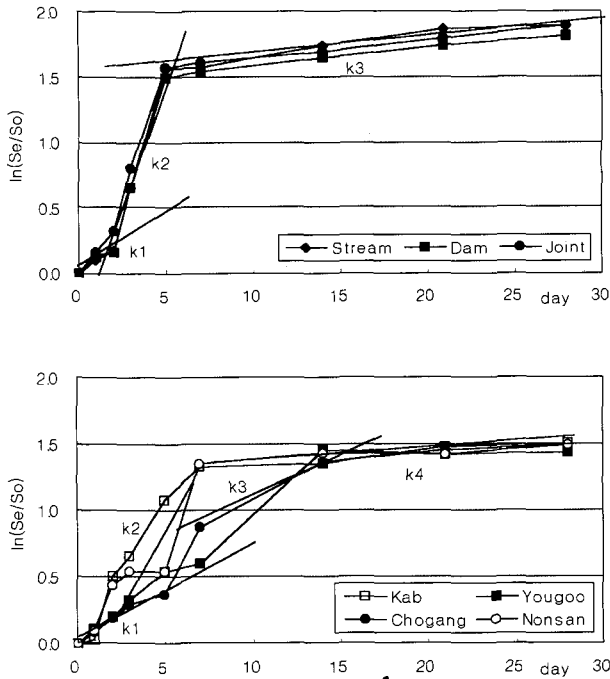


Fig. 7. First order decay rate of BPA by OECD method.

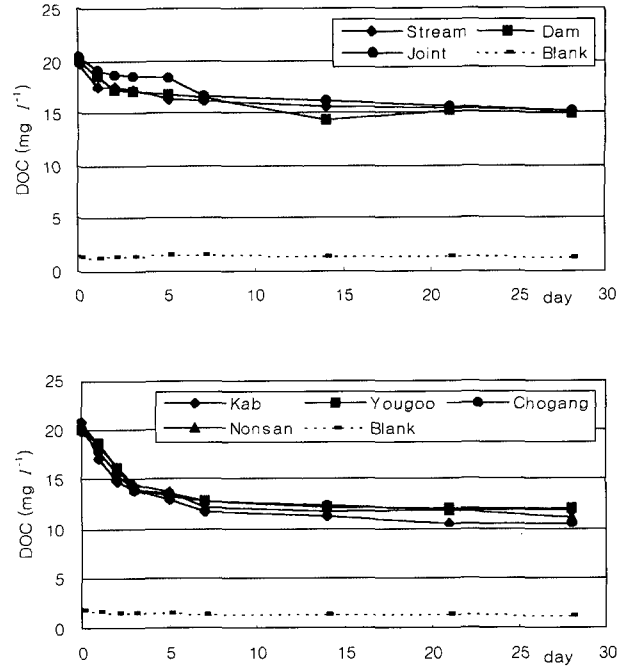


Fig. 9. Biodegradation of nonylphenol by OECD method.

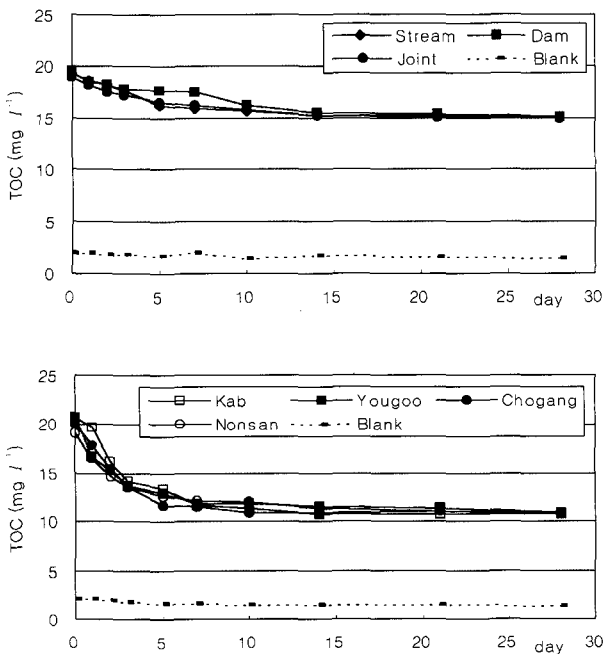


Fig. 8. Biodegradation of nonylphenol by TOC-HANDAI method

화학물질이므로 수계내에서 분해가 잘 되지 않은 노닐 페놀이 하천 혹은 호수로 유입되는 것을 방지하는 한편, 폐수처리시설의 슬러지 및 수계내 퇴적물에 대한 지속

적인 모니터링이 필요하리라 사료된다.

### 5. TOC-HANDAI법과 OECD법의 비교

TOC-HANDAI법은 최초 실험 setting시 순수한 무기물 배양액에 미생물을 식종하여 분해정도를 알아 보는 것이고 OECD는 순수 무기물배양액에 유기성 효모유출물을 첨가한 뒤 미생물을 식종하여 분해정도를 알아보는 것으로 시작부터 미생물의 생육환경이 다르다고 할 수 있다. 본 연구에서 동일한 화학물질을 대상으로 OECD 법과 TOC-HANDAI법을 수행한 결과 TOC-HANDAI법의 경우가 대체로 서서히 분해되는 양상을 보였으나 주 분해기간의 분해속도상수 k값과 공시물질의 최종 분해율은 거의 차이가 없이 일치하는 것으로 나타나 두 방법의 결과는 상호호환하여 사용할 수 있는 것으로 나타났다. 또한 초기조작이 간단하며 인공배양식종원이 아닌 자연환경미생물에 의한 화학물질의 생분해도를 평가하고 HPLC분석과 연계시 분해의 대사경로까지도 파악할 수 있다는 점에서 시물레이션법인 TOC-HANDAI법의 유용성을 확인할 수 있었다.

### 결 론

본 연구는 자연수중의 미생물을 식종원으로 하는 시물레이션 생분해시험법인 TOC-HANDAI법과 이분해성

생분해시험법인 OECD법을 활용하여 자연수환경내에서의 환경호르몬물질인 BPA와 노닐페놀의 생분해성을 비교평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

금강수계내 조사대상 하천과 대청호수내의 조사지점에서 BPA를 분석한 결과 모두 불검출되었다. 단 공단폐수종말처리장 유입수에서 평균 25 ppb가 검출되었으며, 폐수처리장을 거친 후 유출수에서는 불검출되었다. 그러나 기타지역의 하천, 댐, 하수처리장의 유입수 및 방류수, 매립지침출수 등에서 BPA가 검출되었다는 사례가 보고됨에 따라 BPA의 지속적인 모니터링이 필요하다고 사료된다.

표준물질로서 사용된 안식향산나트륨이 시험방법에 관계없이 분해율이 모두 80% 이상을 나타내 표준물질로서 적합함을 확인할 수 있었다.

28일간의 생분해실험에서 TOC-HANDAI법에 의한 BPA분해는 73~78%가 분해되었으며, 분해양상은 대체로 2단계를 거쳐 진행되었다. 즉, 초기 1주일내에는 반응속도( $k_1$ )가  $0.24 \sim 0.34 \text{ day}^{-1}$ 로 아주 빠르게 진행되었고 그 후에는 아주 완만한 분해양상을 나타냈다(이때  $k_2$ 는  $0.02 \sim 0.05 \text{ day}^{-1}$ ).

OECD법에 의한 BPA분해는 TOC-HANDAI법보다 다소 높은 77~81%의 분해율을 나타내었고 초기 일주일내의 생분해속도상수는  $0.29 \sim 0.34 \text{ day}^{-1}$ 로 TOC-HANDAI법보다 더 빠르게 분해되고 있음을 알 수 있다. 이론적으로 생분해는 직선이어야 하나 OECD와 TOC-HANDAI 두 방법에서의 분해양상은 급속히 분해

되는 시기와 그후 완만히 분해되는 시기가 존재함이 밝혀졌다. 이는 BPA가 초기에 미생물에 의해 주요경로를 통해 신속히 분해되면서 중간대사물을 생산해 내기 때문이며, 이 중간대사물은 난분해성으로 수계내 잔존하게 된다. 본 실험에서도 BPA는 자연수계에서 TOC로 약 20~25%가 중간생성물로써 잔존하고 있음을 시사해 주고 있으며 이 중간대사물이 결국 완만한 분해과정에 관여하고 있다. 그러나 이 중간대사물이 수계 생태계에 미치는 영향에 관한 연구는 이루어지지 않고 있어 이에 관한 지속적인 연구가 요구된다.

노닐페놀의 최종 분해도는 TOC-HANDAI법의 경우 20~48%의 분해율을 보였으며  $k$ 값은  $0.001 \sim 0.113 \text{ day}^{-1}$ 의 범위를 보여 완만한 기울기를 나타내었다. OECD법에서도 노닐페놀은 23~46%의 분해율을 보이고 TOC 농도는  $10.7 \sim 15.3 \text{ mg l}^{-1}$ 로 잔존하였다. 이러한 결과로 노닐페놀은 분해가 되지 않는 난분해성 물질로 판명되었으며, 특히 노닐페놀은 수계환경에 따라 분해율에 현저히 차이를 보이는 것으로 밝혀졌다.

동일한 화학물질의 생분해도를 TOC-HANDAI법과 OECD법을 이용해 비교평가한 결과 매우 유사한 값을 나타내어 유해물질의 이분해성시험법에 의한 생분해평가에 있어 두 방법은 상호 호환적으로 이용될 수 있음이 밝혀졌다.

## 적 요

본 연구는 자연수중의 미생물을 식중원으로 하는 TOC-HANDAI법과 OECD생분해법을 활용하여 자연수환경내에서 환경호르몬물질인 비스페놀 A와 노닐페놀의 생분해성을 비교평가하였다. TOC-HANDAI법에 의한 BPA분해는 73~78%이었고 OECD법은 이보다 다소 높은 77~81%를 나타내었다. 두 방법을 통한 BPA의 분해양상은 대체로 2단계를 거쳐 진행되었다. 즉 초기 1주일 이내에는 분해반응속도( $k_1$ )가  $0.24 \sim 0.34 \text{ day}^{-1}$ 로 아주 빠르게 분해되었고, 그 후에는 아주 완만한 분해양상을 나타내었다( $k_2$ 는  $0.02 \sim 0.05 \text{ day}^{-1}$ ). 이는 BPA가 자연수계에서 TOC로 약 20~25%가 중간생성물로 잔존하고 있음을 시사해 주고 있으며, 이 중간대사물이 완만한 분해과정에 기여하고 있다. 수계 환경에 따라 분해율이 현저하게 차이를 보이지만 노닐페놀은 20~48% 정도밖에 분해되지 않는 난분해성 환경호르몬 물질임을 알 수 있다. 한편, 금강수계내 조사대상 하천과 대청호수의 조사지점에서 BPA는 모두 불검출되었다. 그러나 공단폐수종말처리장 유입수에서 평균 25 ppb가 검출되었다.

## 사 사

본 연구는 1998년 한국학술진흥재단 자유공모 과제(과제번호: 1998-001-E01552)로 수행되었습니다.

## 참 고 문 헌

- 강 호, 왕창근, 이진홍, 진창숙, 김은희. 1999. 대청호수계에서 TOC-HANDAI법에 의한 유해화학물질의 생분해성평가. 한국물환경학회지. 15: 161-173.
- 김선기. 2001. 수계내에서 환경호르몬물질의 생분해성 비교평가 및 검출. 충남대학교 석사학위논문.
- 최규철. 1998. 수질오염공정시험법. 동화기술.
- Comber MHI, TD Williams and KM Stewart. 1993. The effects of nonylphenol on *Daphnia magna*. Wat. Res. 27:273-276.
- Dorn PB, CS Chou and J Gentmpo. 1987. Degrdaton of bisphenol A in natual waters. Chemosphere. 16:1501-1507.

- Jeniffer AF and LR Ralph. 1993. Nonylphenol polyethoxy carboxylate metabolites of nonionic surfactants in U.S paper mill effluents, municipal sewage treatment plant effluents and river water. *Environ. Sci. Technol.* 30: 3544-3550.
- Jin CS, M Ike and M Fujita. 1996. Metabolic pathway of bisphenol A by *Pseudomonas aeruginosa* Strain FJ-4. *Japanese Journal of Water Treatment Biology.* 32:199-210.
- Jin CS, H Kang and M Fujita. 1998. Studies on aerobic biodegradation mechanisms of bisphenol A. *Journal of Korean Society of Environmental Engineering.* 20:397-410.
- Jin CS, M Tokuhiko, M Ike and M Fujita. 1996. Biodegradation of bisphenol A by river water microcosms. *Journal of Japan Society on Water Environment.* 19:878-884.
- Kinnak J and L Sullivan. 1996. Metabolism of bisphenol A in the rat. *Toxicology Appl. Pharmacol.* 8:175-184.
- Krishnan AV, P Starhis, SF Permuth, L Tokes and D Feldman. 1993. Bisphenol A; an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrine.* 132:2279-2286.
- Lobos JH, TK Lieb and TM Su. 1992. Biodegradation of bisphenol-A and other bisphenols by a Gram-negative anaerobic bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1823-1831.
- Maki H, M Fujita and Y Fujiward. 1996. Identification of final biodegradation product of nonyl phenol ethoxylate (NPE) by river microbial consortia. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57:881-887.
- OECD. 1981. OECD Guidelines for testing of chemicals. OECD. Paris.
- Tanghe T, G Derviese and W Verstraete 1998. Nonylphenol degradation in lab scale units is temperature dependent. *Water Res.* 32:2889-2896.
- 近藤正臣, 北野大. 1988. 化学物質の水中微生物分解性に関する検討調査. *日本公衆衛生協会.* 5:13-51.
- 酒井憲司, 1999. 下水道における環境ホルモン研究の現状, *下水道協会誌,* 36:34-38.

(Received 24 February 2001, accepted 24 March 2001)