

Styrene dimer (환경호르몬 물질) 분해균주의 분리 및 배양특성

오 경 택 · 류 인 재 · ¹강 창 민 · ²Saido Katsuhiko · † 정 선 용
전남대학교 환경공학과, ¹초당대학교 환경공학과, ²일본대학교 약학부
(접수 : 2004. 8. 2., 게재승인 : 2004. 8. 23.)

Isolation and Cultural Characteristics of Styrene Dimer (Endocrine Disrupter) Biodegrading Microorganism

Kyung-Taek Oh, In-Jae Ryu, Chang-Min Kang¹, Katsuhiko Saido², and Seon-Yong Chung†
Department of Environmental Engineering, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
¹Department of Environmental Engineering, Chodang University, Muan, Channam 534-701, Korea
²College of Pharmacy, NIHON University, 7-7-1 Narashinodai, Funabashi-shi, Chiba 274-8555, Japan
(Received : 2004. 8. 2., Accepted : 2004. 8. 23.)

We examined the culture conditions and degrading characteristics of styrene dimer (endocrine disrupter) using microorganism. The isolated microbe were consisted of 3 kinds of strain. The strains were identified to *Pseudomonas* sp. and *Klebsiella pneumoniae* by API 20E kit, but one was not identified. Single strain was not grown on the C-medium containing styrene dimer. However the complex strain YH3 could grow and we confirmed it by the broth color and O.D_{660nm} (optical density 660 nm). The optimal culture conditions of complex strain YH3 were 35°C, 1,000 ppm (v/v) of styrene dimer and pH 7.0, respectively. In tolerance test against the organic solvents, the complex strain YH3 could grow above log P= 3.1, and could degrade ethyl benzene and 2,4-D, one kind of herbicide. As a result of TLC (Thin Layer Chromatography) analysis, we confirmed that the metabolite of styrene dimer was created by YH3 after 5th day, but not at control samples.

Key Words : Styrene dimer, Endocrine disrupter, biodegradability, log P, TLC analysis

서 론

1999년 현재 우리나라 일반 플라스틱원료의 총생산량은 총 908만 톤으로, 이 중 45%인 408만 톤이 수출되고 있고, 국민 1인당 플라스틱 소비량은 93.64 kg으로 추산하고 있다. (사)한국플라스틱리사이클링협회 (www.replastic.or.kr) 보고에 따르면 저밀도 폴리에틸렌 (LDPE), 고밀도 폴리에틸렌 (HDPE), 폴리염화비닐 (PVC: polyvinyl chloride), 폴리스티렌 (PS), ABS 수지, 폴리프로필렌 (PP) 의 6종으로 구성된 폐플라스틱이 연간 290만톤 배출된다고 한다(1, 2). 또 Park 등(1)은 2000년 기준으로 우리나라 폐플라스틱 배출량이 350만톤에 이른다고 보고하였다.

폴리스티렌은 벤젠과 에틸렌으로부터 에틸벤젠을 만들고

이것을 탈수소해서 스티렌 모노머를 만든 다음 다시 중합시켜서 폴리머로 만드는 3단공정을 거친다. 폴리스티렌은 이런 중합공정을 거쳐 생성된 고분자물질이므로 분해하기 힘들고 한편 분해되어도 2차 오염이 발생한다. 우리나라는 플라스틱 제품 원료로 스티렌 다이머와 스티렌 트리머를 연간 1만 8천톤 정도 사용하고 있다(2). 현재 이들은 방수 도료를 제조한다든가, 열분해를 거쳐 스티로폼 등의 플라스틱을 제조하는데 사용되고 있다.

사용이 끝난 폐폴리스티렌은 대부분이 열분해처리 되고 있다. 열분해의 경우 유화시켜 다시 재활용할 수 있다는 장점이 있지만 유해가스 및 부식가스를 발생하게 되므로 환경적 측면에서 문제가 되고 있다. 일반 도시폐기물중 플라스틱의 함량이 6% 내외일 때까지는 일반적으로 혼합연소가 가능한 것으로 알려져 있으나, 불완전 연소와 유독물질의 발생 등이 문제가 되고 있다. 특히 스티로폼은 열에 의해 새로운 중합체를 형성하거나 또는 열분해를 통해 최종적으로 스티렌 다이머와 트리머, 그리고 모노머로 분해된다. 모노머의 경우 다시 중합과정을 통해 폴리스티렌으로 합성가능하나, 다이머와 트리머의 경우는 폴리스티렌으로 합성되

† Corresponding Author : Department of Environmental Engineering, College of Engineering Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
Tel : +82-62-530-1858, Fax : +82-62-530-0742
E-mail : sychung@chonnam.ac.kr

는 과정에 중간물질로 폴리스티렌수지에 포함되었다가 열을 받으면 다시 용출되기도 한다. 1998년 일본의 국립의약품위생연구소에서 컵라면 용기 등 25종의 일회용 제품에서 환경호르몬인 다이머와 트리머가 1 g당 평균 9,509 μg 검출되었다고 보고하였다. 환경호르몬물질은 인간과 생태계 즉, 야생생물의 면역, 생식, 암 그리고 지적 능력과 행동에 영향을 미칠 수 있다고 보고되고 있다. 따라서 이들 환경호르몬물질의 기존 처리방법의 문제점을 저감시키기 위한 대안적 처리법으로 생물학적 연구가 이루어지고 있으나 아직 미흡한 실정이다(3-7).

본 연구는 환경호르몬 물질인 스티렌 다이머(2,4-diphenyl-1-butene)의 생분해를 위해 자연계로부터 유용미생물을 분리 동정하고, 생장에 미치는 영향인자(기질 농도, 온도, pH)들을 조사하여, 향후 스티렌 다이머의 생분해 특성 연구에 필요한 기초 자료를 확보하는 것이다.

재료 및 방법

균주 분리 및 배양

본 연구에서 사용된 기질인 스티렌 다이머와 스티렌 트리머는 일본대학교 약학부의 Saido Katsuhiko 연구실로부터 공급받아 사용하였다. 스티렌 다이머를 분해하는 균주를 분리하기 위하여 광주·전남지역 30여 지점에서 토양 및 담수시료를 채취하였다. 토양 시료의 경우는 80% 생리식염수를 이용하여 적절히 희석하여 사용하였고, 담수시료는 그 상태로 사용하였다. 이 시료를 0.1% (v/v)의 스티렌 다이머가 포함된 C-배지(8-10)에 호기적 조건으로 35°C, 150 rpm으로 하여 수일 동안 성장시켜 대조균과 비교하여 육안으로 성장이 확인된 균주는 다시 같은 배지에 1.0% (v/v)를 접종하였다. 이와 같은 방법으로 5회 계대배양을 수행하였고, 이중 육안으로 확인하였을 때 생장이 좋은 시험관내의 배양액을 순수분리 기법을 이용하여 Luria-Botani 고체배지(배지 조성: trypton 10 g/l, yeast extract 5 g/l, NaCl 10 g/l, agar 15 g/l, pH 7.0)에 도달한 후 37°C에서 12-24시간 배양시킨 후, colony 특성에 따라 분리하였다. 그리고 계대배양 할 때와 순수분리가 이루어졌을 때 다음 실험에 사용하기 위하여 균주 650 μl 와 멸균시킨 80% glycerol 용액 350 μl 를 eppendorf tube에 넣어 잘 섞어 -70°C의 deep freezer에 냉동 보관하였다. 스티렌 다이머 분해 균주의 분리 및 배양을 위한 배지 조성은 C-배지를 기본배지로 사용하였다. 균의 분리 및 오염도 확인을 위한 배지는 LB 고체배지를 사용하였다. 플라스크 교반배양을 위한 전배양은 50 ml의 시험관에 8 ml C-medium에 0.1% (v/v)의 스티렌 다이머를 각각 주입하고 5일간 35°C, 150 rpm으로 호기배양을 수행하였다. 그 후 육안으로 성장을 확인한 후, 탁도가 생긴 시험관내의 균주를 중심으로 위와 같은 조건으로 계대배양을 수행하였다. 균주의 성장 및 배양 특성조사에서는 500 ml의 삼각 플라스크에 working volume을 150 ml로 하여 위의 조건과 같이 균주의 기질 분해능을 조사하였다.

현미경 관찰 및 동정

분리된 미생물은 Bergy's Manual of Systematic

Bacteriology에 준하여 동정하였다(11). 분리된 미생물을 LB 액체배지에 12시간에서 24시간 정도 배양한 후에 광학현미경(Olympus CX40, Japan)으로 검경하여 운동성과 미생물의 형태를 조사한 후에 그람염색(Gram Stain)을 실시하였다. 분리된 균주의 동정은 장내세균과 그 밖의 그람음성 간균을 동정하기 위한 검사법인 API 20E kit(API 20E Enterobacteriaceae, bioMerieux sa, France)를 사용하여 동정을 하였다. 이 방법은 한 개의 집락을 가지고 23가지의 생화학적 시험을 할 수 있는 작은 시험관 형식으로 되어있다.

유기용매 내성 및 방향족 화합물의 분해능 조사

스티렌 다이머를 분해 균에 대하여 유기용매에 대한 내성을 조사하였다(12). 유기용매 내성조사는 배지(1% (w/v) bacto tryptone, 0.5% bacto yeast extract, 0.1% glucose, 1% NaCl, 0.25% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH 7.0)에 benzene, toluene, xylene, cyclohexane, n-hexane를 1 ml씩 주입한 후, 균주를 각각 0.1 ml 접종하여 35°C, 150 rpm에서 5일간 호기적으로 배양하였다. 5일간의 배양이 끝난 후에는 육안으로 관찰하였다.

방향족 화합물의 분해 양상을 확인하고자 여러 방향족 화합물을 기질로 사용하였다. 실험 조건은 BTEX (benzene, toluene, ethyl benzene, xylene), dichlorobenzene, diphenyl ether, 2,4-D, styrene trimer를 1,000 ppm의 기질농도로 하여 C-배지에 균주 1%를 접종하여 35°C, 150 rpm에서 5일간 호기적으로 진탕 배양하였다. 이 때 스티렌 다이머를 대조균으로 사용하였다. 배양 후, 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Japan)를 사용하여 660 nm에서 흡광도(Optical Density)를 측정하였다.

분석 방법

스티렌 다이머 분해균주의 생장에 있어서 최적 조건을 찾기 위하여 최적 온도, pH 및 기질의 농도를 조사하였다. 균주의 생장은 분광광도계를 이용하여 660 nm에서 O.D.를 측정하였다. 스티렌 다이머의 분해능을 확인하기 위하여 TLC(thin layer chromatography) 분석을 다음과 같은 방법으로 수행하였다. 먼저 sample 전처리 방법으로는 7일간 배양시킨 배양액을 매일 5 ml를 취하여 같은 양의 ethyl acetate를 이용하여 3회 정도 추출 후 ethyl acetate를 휘발시켜 농축시켰다.

회수된 sample의 분해를 TLC profile 방법으로 확인하였다. 전개용매로는 hexane : ethyl acetate = 4 : 1 (v/v)의 혼합용액을 사용하였고 Silicagel 60 F₂₅₄ (Merck) plate를 TLC plate로 사용하였다. 표준액과 시료를 각각 0.5 μl 씩 취하여 TLC plate에 loading하여 전개가 끝난 plate는 UV detector를 통해 254 nm 단파장에서 관찰한 후 좀 더 자세히 관찰하고자 anisaldehyde-sulfuric acid reagent(13)를 분무한 후 80°C에서 약 1-2분간 가열시킨 후 spot을 확인하였다(14).

결과 및 고찰

스티렌 다이머 분해 균주의 순수분리 및 동정

광주·전남지역 30여 지점의 토양 및 담수에서 시료를 채취하여 실험한 결과 한 곳의 sample에서 균의 성장을 확인할

수 있었다. 이 균을 strain YH3이라고 명명하였다. 그러나 순수분리를 하는 과정에서 strain YH3는 단일균이 아닌 복합균으로 구성되어 있었고, 순수분리 결과 strain YH3는 세 가지의 형태학적 특성을 가진 균주들로 구성되어 있었다. 순수분리된 균주를 각각 strain YH31, YH32, YH33으로 명명하였다. LB 고체 배지에서 배양한 다음 전자현미경을 이용하여 검정한 결과, 분리된 strain YH31 및 YH32, YH33의 세포 형태는 각각 구균 및 간균으로 나타났다(Fig. 2). 분리된 균주들 중에서 strain YH31과 YH32는 운동성을 가지고 있었으나, strain YH33은 비운동성으로 조사되었다. strain YH31, YH32, YH33의 형태 및 생리학적 특성 조사를 API 20E kit로 조사한 결과(Table 1), strain YH32는 *Pseudomonas* sp.로, strain YH33은 *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*로 동정되었으나, strain YH31은 수차례의 반복 동정을 실시하였으나 API 20E kit로 동정이 되지 않았다. 따라서 향후 보다 정확한 동정법인 16S rDNA 검색법을 사용하여 동정을 실시할 예정이다.

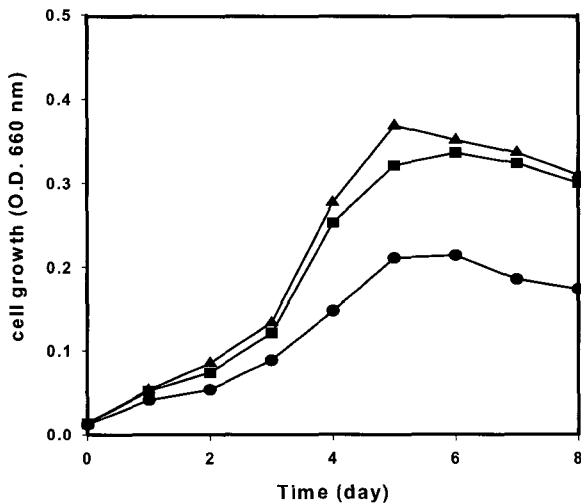


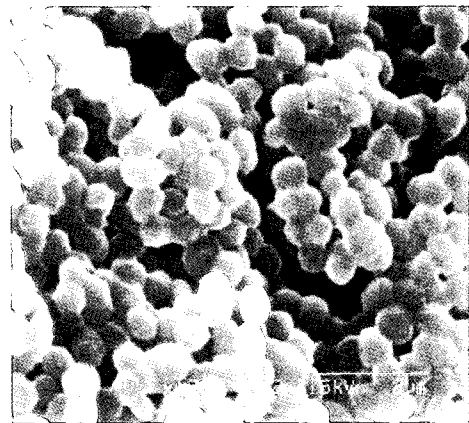
Figure 1. The growth of unisolated strain YH1, YH2, YH3. Styrene dimer as carbon source was added to C-medium at 35°C, pH 7.0, 150 rpm, 8 days, 1.0% (w/v) strain and 1,000 ppm substrate (● : strain YH1, ■ : strain YH2, ▲ : strain YH3).

복합균주 (strain YH31, YH32, YH33)의 스티렌 다이머에 대한 분해특성

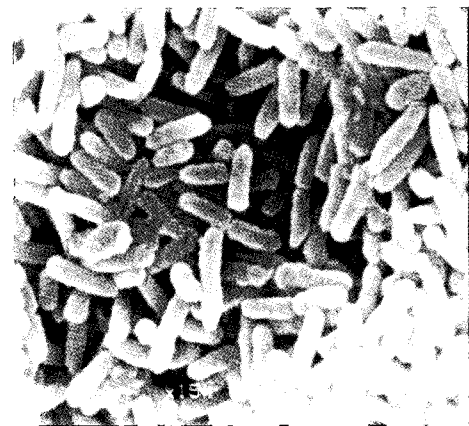
Strain YH31, YH32, YH33을 대상으로 각각 스티렌 다이머에 대한 분해 실험을 수행하였다. 각각의 단일균 또는 두 가지 혼합균 (YH31 + YH32, YH31 + YH33, YH32 + YH33)에 대한 스티렌 다이머 분해 실험을 수행하였으나 균의 생장이 확인되지 않았다(data not shown). 하지만 3가지 균을 혼합하여 사용한 경우에는 배양액의 색상이 노랗게 변하면서 균의 생장이 관찰되었다. 따라서 이후의 실험은 3가지의 균이 혼합된 균주인 strain YH3을 이용하여 수행하였다.

복합균주 strain YH3의 배양최적조건 검색 및 특성조사

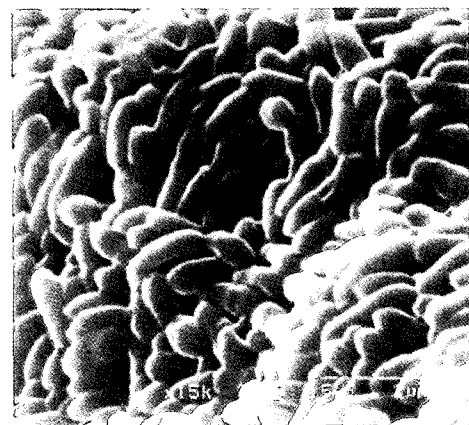
세 가지 단일균의 복합체인 strain YH3의 최적 생장을 조사하고자 C-medium에 스티렌 다이머를 1,000 ppm 첨가하여 균주를 배양하였다.



(A) Strain YH31



(B) Strain YH32



(C) Strain YH33

Figure 2. The morphological observation of complex strain YH3 by SEM.

복합균주의 배양온도를 25°C, 35°C, 45°C, 55°C로 변화시켜 균 생장을 조사하였다(Fig 3-A). 35°C에서 최적의 생장을 나타내어 중온성 미생물(mesophile)의 온도특성을 나타내었고, 온도가 증가할수록 온도에 의한 성장저해를 나타내었다(15).

스티렌 다이머의 초기 기질 농도를 100, 500, 1,000, 2,000 ppm으로 변화시켜 균체 성장 특성을 조사한 결과, 1,000 ppm까지는 농도에 비례하여 균체성장도 증가했다(Fig 3-B). 반면 1,000 ppm 이상에서는 오히려 균체생장이 크게 감소했다. 이는 기질농도가 1,000 ppm 이하에서는 기질농도가 성장 제한요소로 작용하는 반면, 1,000 ppm 이상에서는 스티렌 다

이머 자체의 독성이 축적되어 균 생장이 저해되는 것으로 사료된다.

Table 1. Morphological and physiological characteristics of isolated strains

Characteristics	Isolated strains	
	YH32	YH33
Morphology		
Gram staining	-	-
Shape	Rod	Rod
Mobility	+	-
Flagella	+	-
Physiology		
VP test	+	+
Gelatin liquefaction	-	-
Production of indole	-	-
Utilization of citrate	+	+
Urease	-	+
Arginine dehydrase	+	-
Omithine decarboxylase	-	-
Lysine decarboxylase	-	+
Nitrate reduction	+	+
Production of H ₂ S	-	-
Acid formation		
Glucose	-	+
Mannitol	-	+
Inositol	-	+
Sorbitol	-	+
Rhamnose	-	+
Sucrose	-	+
Melibiose	-	+
Amygdalin	-	+
Arabinose	-	+

+ : Positive, - : Negative.

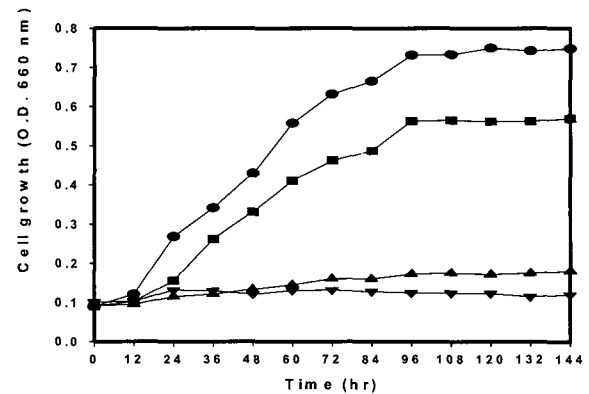
배양 초기의 pH에 따른 스티렌 다이머 분해균주의 성장 특성을 조사한 결과(Fig. 3-C), 중성 조건인 pH 7.0에서 최적의 균주 성장을 보였다. 한편 약산성 영역인 pH 6.0의 경우 pH 8.0의 약알칼리 영역보다 성장저해를 적게 받아, 상대적으로 산성영역에 더 친화성을 나타내었다.

따라서 복합균 YH3의 배양최적조건 검색결과는 35℃, 초기 pH 7.0, 5 days, 기질농도 1,000 pp에서 최적의 성장을 나타내었다.

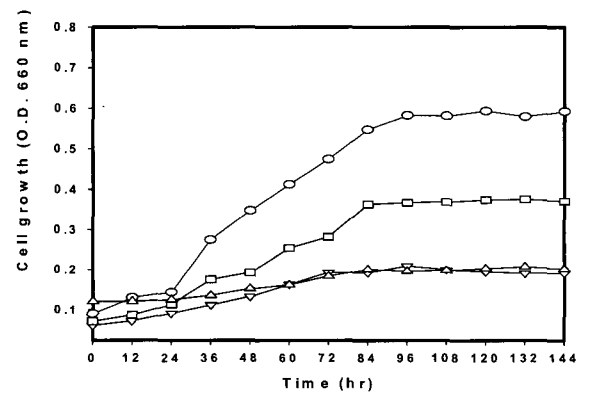
유기용매 내성 및 방향족 화합물의 분해능 조사 결과

스티렌 다이머는 서론에서 언급된 바와 같이 독성이 존재하는 것으로 알려져 있다. 그리고 본 연구에서 균의 생장이 스티렌 다이머 농도에 따라 영향을 받을 수 있다는 사실도 확인되었다. 분리된 균주 YH31, YH32 및 YH33가 독성을 지닌 여러 가지 유기용매에 대하여 내성이 있는지를 확인하고자 실험을 수행하였다(Table 2). 여기서 logP는 log(Po/w) 값으로 어떤 물질의 옥탄올과 물에 대한 용해도의 분배계수를 log값으로 나타낸 것이다(10). 일반적으로 logP값의 수치가 적어질수록 미생물에 대한 독성은 커진다는 것을 의미한다. 내성실험 결과, strain YH31는 logP가 3.2 이상에서, strain YH32는 logP가 3.5 이상에서만 성장 가능한 것으로 나타났다. 또한, strain YH33과 복합균 YH3는 logP가 3.1 이상

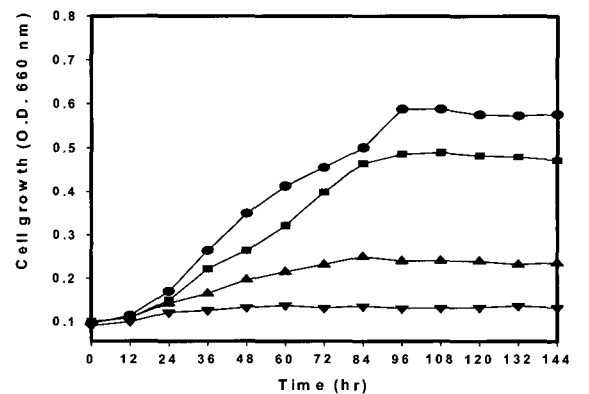
에서 성장하는 것을 알 수 있었다. 복합균 YH3의 내성은 strain YH33의 내성력에 크게 의존하는 것으로 추측된다. Strain YH33는 xylene, cyclohexane 및 n-hexane에 대해 내성을 가지나 benzene, toluene에 대해서는 내성이 없는 것으로 나타났다. 한편 PCB (polychlorinated biphenyl) 분해균인 *Pseudomonas* sp. strain SY5는 logP값이 3.2이상에서 성장하는 것으로 보고된 바 있으나(10), 본 복합균 YH3가 내성이 더 좋은 것으로 확인되었다.



(A) Temperature



(B) Styrene dimer concentration



(C) pH

Figure 3. The effect of temperature, Styrene dimer concentration and pH on cell growth of complex strain YH3 (Temperature; ▲: 25℃, ●: 35℃, ■: 45℃, ▼: 55℃, Styrene dimer concentration; △: 100 ppm, □: 500 ppm, ○: 1,000 ppm, ▽: 2,000 ppm and pH; ▼: pH 5, ■: pH 6, ●: pH 7, ▲: pH 8).

Table 2. Growth of strain YH31, YH32, YH33, complex strain YH3 in the presence of organic solvent

Organic solvents	LogP*	YH31	YH32	YH33	YH3
Benzene	2.0	-	-	-	-
Toluene	2.5	-	-	-	-
Xylene	3.1	-	-	+	+
Cyclohexane	3.2	+	-	+	+
N-Hexane	3.5	+	+	+	+

+ : Growth, - : No growth, Strains are cultured in the presence of organic solvents at 35°C for 5 days, * : LogP means logPo/w, where Po and w are the values representing the solubility of a solvent in octanol and water, respectively.

스티렌 다이머는 벤젠고리를 가지고 있는 방향족 화합물이다. 혼합 균주 YH3의 스티렌 다이머에 관한 분해 경로를 밝히기 전에 다른 방향족 화합물을 분해할 수 있는지 그리고 이들의 분해를 통해 스티렌 다이머의 분해 경로를 예측하고자 실험을 수행하였다. 이 실험 결과(Table 3), strain YH3는 ethyl benzene을 가장 잘 분해할 수 있었고 dichlorobenzene과 제초제의 일종인 2,4-D도 분해할 수 있는 것으로 판명되었다. Ethylbenzene의 분해에 대해서는 *Pseudomonas* sp.가 뛰어난 것으로 이미 알려져 있다(16). 본 연구에서도 혼합균 YH3의 구성체의 하나인 strain YH31가 *Pseudomonas* sp.이기 때문에 이들의 분해가 가능했던 것으로 추측된다. Benzene, toluene, xylene 및 diphenyl ether는 분해가 어려운 것으로 확인되었다. 이들은 난분해성물질로 알려져 있고 특히 독성이 큰 물질이기 때문에 분해가 불가능 했던 것으로 사료된다. 또한, 이러한 물질보다 한 단계 더 중합체인 스티렌 트리머(2,4,6-triphenyl-1-hexene) 역시 분해가 불가능했다. 이는 스티렌 트리머가 스티렌 다이머에 비해 더욱 안정된 화학구조를 가지고 있기 때문인 것으로 사료된다.

Table 3. Growth of complex strain YH3 in the various aromatic compounds

Aromatic compound	Growth
Benzene	-
Toluene	-
Ethyl benzene	++
Xylene	-
Dichlorobenzene	+
Diphenyl ether	-
2,4-D	+
Styrene trimer	-

+ : Growth, - : No growth, Complex strain YH3 is cultured in the presence of aromatic compounds at 35°C for 5 days.

복합균주 YH3에 의한 스티렌 다이머 분해

복합균주인 YH3를 이용한 스티렌 다이머 분해능을 확인하고자 TLC 분석을 수행하였다. TLC 분석의 정확도를 높이기 위하여 기질, 배지 그리고 균주를 각각 대조군으로 하여 1일, 3일, 5일, 7일간 각각 배양하여 추출한 sample을 TLC 분석하였다. TLC 분석결과를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서의 같이 $R_f = 0.66$ 부분의 진한 분홍색 부분이 스티렌 다이머의 spot이고 배양 5일부터 $R_f=0.16$ 부분의 연한 분홍색 부분이 관찰되기 시작하였다(Fig. 4. lane 9, 11). 대조군과 스티렌 다이머와 배지만 넣고 같은 배양조건으로 shaking한 sample에

서 spot이 관찰되지 않았기 때문에 $R_f = 0.16$ 부분의 연한 분홍색 부분은 복합균 YH3에 의한 스티렌 다이머의 분해대사 중간 생산물질이라고 사료된다. 이러한 결과를 바탕으로 향후 스티렌 다이머의 대사과정에서 생산되는 대사산물을 회수하여 GC-MS를 통하여 물질을 정성 및 정량분석을 한다면 흥미로운 결과가 나오리라 기대된다. 그리고 이러한 대사산물들이 환경 중에서 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구도 이들의 분석의 결과에 좌우될 것이라고 사료된다.

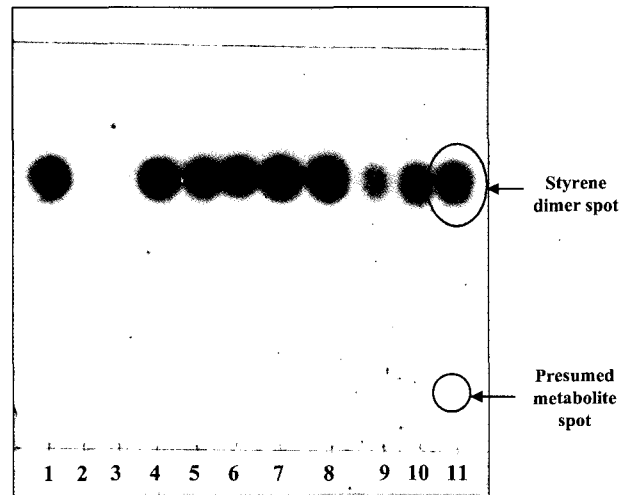


Figure 4. TLC analysis of the culture broth of complex strain YH3 (Lane # 1: styrene dimer (SD) control, 2: complex strain YH3, 3: C-medium control, 4: SD + C-medium (1 day incubation), 5: culture broth (1 day incubation), 6: SD + C-medium (3 day incubation), 7: culture broth (3 day incubation), 8: SD + C-medium (5 day incubation), 9: culture broth (5 day incubation), 10: SD + C-medium (7 day incubation) and 11: culture broth (7 day incubation)).

요 약

본 연구에서는 환경호르몬 물질의 하나인 스티렌 다이머를 분해하는 미생물을 자연계로부터 분리하고자 하였다. 분리결과 스티렌 다이머 분해 능력이 있는 strain YH3를 분리하였다. Strain YH3은 단일균주가 아닌 3종류의 서로 다른 미생물상을 이루고 있었다. 동정을 한 결과 strain YH32는 *Pseudomonas* sp.로, strain YH33은 *Klebsiella pneumoniae*로 동정되었으나, strain YH31은 동정이 되지 않았다. 이들 세 균주는 단일균 혹은 두 종류씩 짝을 지어 배양 하여도 스티렌 다이머를 분해하지 못하였으나 세 균주가 혼합되었을 때는 O.D_{660nm} 값과 색도의 변화를 통해 성장을 확인할 수 있었다. 세 균이 혼합된 복합균주 YH3을 대상으로 균주의 최적 성장 조건을 검토한 결과, 35°C, pH 7.0, 기질 농도 1,000 ppm (v/v)으로 각각 조사되었다. 또한, 유기용매에 대한 내성은 복합균주 YH3는 logP 값이 3.1 이상에서 성장하였고, 방향족화합물인 ethyl benzene과 제초제의 일종인 2,4-D를 분해하였다. 그러나 benzene, toluene, xylene 및 styrene trimer는 분해가 어려운 것으로 확인되었다. 그리고 TLC 분석 결과, 배양 5일째부터 스티렌 다이머의 중간대사산물이 관찰되었다.

감 사

본 연구는 2002년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Park, Y. K., J. S. Kim, J. H. Choi, J. K. Jeon, S. D. Kim, S. S. Kim, J. M. Kim, and K. S. Yoo (2003), Recent Research and Development of Waste Plastics Degradation by Catalytic Pyrolysis, *J. Korea Society of Waste Management* **20**, 565-584.
2. Choi, J. S. (1999), Current Status and Future Prospects for Foam-Styrene Recycling in Korea, *J. of Korea Inst. of Resources Recycling* **8**, 25-32.
3. David, L. K., R. Hartenstein and J. Shutter (1979), Biodegradation of Polystyrene, Poly(methyl methacrylate), and Phenol Formaldehyde, *Appl. Environ. Microbiol.* **38**, 551-553.
4. Robos, J. H., T. K. Leib, and T. M. Su (1992), Biodegradation of Bisphenol A and Other Bisphenols by a Gram-Negative Aerobic Bacterium, *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 1823-1831.
5. Monna, L., T. Omori and T. Kotama (1993), Microbial Degradation of Dibenzofuran, Fluorene, and Dibenzo-p-dioxin by *Staphylococcus auriculans* DBF63, *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 285-289.
6. Maeda, M., S. Y. Chung, E. Song, and T. Kudo (1995), Multiple genes encoding 2,3-dihydrobiphenyl dioxygenase-1,2-dioxygenase in the Gram-positive polychlorinated biphenyl degrading bacterium *Rhodococcus erythropolis* TA421 isolated from a termite ecosystem, *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 549-555.
7. <http://www.me.go.kr> (2004) and <http://www.cjfoodsafety.co.kr/> (2004)
8. Oh, K. T., C. M. Kang, and S. Y. Chung (2003), The optimum culture condition for the increase of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* F722, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 145-148.
9. Oh, K. T. (2004), Degrading characteristics of hydrocarbon and enhancement of biosurfactant production by crude oil-degrading microorganisms, Ph. D. Dissertation, Department of Environmental Engineering, Graduate School Chonnam National University, Gwangju.
10. Na, K. S. (2000), Characterization of PCBs-Degrading Bacteria and Related Genes, M. S. Thesis, Dept. of Environmental Engineering, Graduate School Chonnam National University, Gwangju.
11. Krieg, N. R. (1984), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams & Wilkins.
12. Aono, R., M. Ito, A. Inoue, and K. Horikoshi (1992), Isolation of novel toluene-tolerant strain of *Pseudomonas aeruginosa*, *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**, 145-146.
13. Wagner, H., S. Bladt, and E. M. Iganski (1984), *Plant Drug Analysis*, p299, Springer-Verlag.
14. Hwang, K. A., J. R. Lee, S. J. Kim, Y. S. Kim, and H. J. Ahn (1999), Surface-activity and Environmental Characteristics of Biosurfactant Produced by *Pseudomonas aeruginosa* JRT-4, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**, 159-165.
15. Monod, J. (1949), The growth of bacterial cultures, *Annual Review of Microbiol.*, Annual Reviews, Palo Alto. **3**, 371-383.
16. Lee, K. and D. T. Gibson (1996), Toluene and ethylbenzene oxidation by purified naphthalene dioxygenase from *Pseudomonas* sp. strain NCIB 9816-4, *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 3101-3106.