

## *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1에 의한 고분자 방향족 탄화수소 생분해과정에서 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin의 영향

강지현 · 권계경 · 김상진<sup>†</sup>  
한국해양연구원 해양생명공학연구센터

### Effect of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on Biodegradation of High-Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1

Ji-Hyun Kang, Kae Kyoung Kwon and Sang-Jin Kim<sup>†</sup>

Marine Biotechnology Research Center, KORDI, Ansan P.O. Box 29, 425-600, Korea

#### 요 약

포집력을 지닌 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin( $\beta$ -HPCD)을 비롯한 cyclodextrin계 화합물은 소수성 유기물질의 용해도를 증가시킴으로써 미생물에 의한 분해를 촉진시키나 그 외의 자세한 기작은 알려져 있지 않다. 본 실험에서는  $\beta$ -HPCD 유무에 따라 고분자 PAHs 분해력을 지닌 *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 균주의 pyrene과 benzo[a]pyrene(B[a]P)의 분해정도, 이때의 biomass 변화 및 dioxygenase 활성을 측정함으로써 PAHs 생분해과정에서  $\beta$ -HPCD의 역할을 규명하고자 하였다. 실험구는 균주와 PAHs,  $\beta$ -HPCD의 존재 유무에 따라 8개 조건으로 준비하였으며 각 실험구의 배양기간에 따른 PAHs 분해도와 생체량의 변화를 측정하였다. Pyrene의 경우  $\beta$ -HPCD가 존재함에 따라 분해도가 증진되는 것이 확인되었으며, 특히 B[a]P의 분해에는  $\beta$ -HPCD가 필수요소로 작용하였다. 생체량의 변화는 PAHs의 존재 유무에 영향을 받지 않았고  $\beta$ -HPCD의 존재 유무에 따라 차이를 나타내었다. 또한 US6-1 균주는  $\beta$ -HPCD가 포함된 MM2 무기영양배지에서 전배양 할 때에 ZoBell 배지에서 전배양하는 경우에 비해 catechol-1,2-dioxygenase 효소활성이 높은 것으로 나타났으나 그 값은 빈영양상태에서 배양한 세포의 효소활성과 큰 차이를 보이지는 않았다. 이상의 결과로 볼 때  $\beta$ -HPCD는 PAHs의 이용성을 높여주는 동시에 탄소원으로 이용되어 균주의 생체량 증가에 기여함으로써 PAHs의 분해력을 증진시키지만 dioxygenase 효소활성에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

**Abstract** – Cyclodextrin compounds including 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin( $\beta$ -HPCD) thought to be accelerate the biodegradation of PAHs molecule by increasing solubility of PAHs through detaining PAHs in their's cavity. However, only this mechanism is not sufficient to explain the enhancement of PAHs biodegradation by  $\beta$ -HPCD. To find out possible additional role of  $\beta$ -HPCD in the enhancement of PAHs biodegradation, biodegradation rates of pyrene and benzo[a]pyrene (B[a]P) by a PAHs degrading *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 strain were compared between with and without addition of  $\beta$ -HPCD. Changes of bacterial biomass were also measured simultaneously. In addition catechol 1,2-dioxygenase activity was determined depending on pre-incubation conditions. As a result,  $\beta$ -HPCD accelerate the degradation rate of pyrene by strain US6-1 and especially the  $\beta$ -HPCD amendment was obligatory for the degradation of B[a]P. Bacterial biomass was responsible for  $\beta$ -HPCD, however, PAHs compounds such as pyrene and B[a]P did not contribute to the bacterial biomass. Catechol 1,2-dioxygenase specific activity of US6-1 cells pre-cultured in MM2 medium containing 1%  $\beta$ -HPCD was higher than that of cells pre-cultured in ZoBell medium. The former case also showed similar activity compared to that of cells serially starved in MM2 medium after grown in ZoBell medium. These results imply that the presence of  $\beta$ -HPCD accelerate the degradation of PAHs by increasing the bacterial biomass as well as by increasing the water solubility of PAHs.

**Keywords:** PAHs(방향족 탄화수소 화합물), 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin(2-수산화프로필- $\beta$ -사이클로덱스트린), *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1, catechol 1,2-dioxygenase(카테콜 다이옥시제나제), biodegradation(생분해), pyrene(피렌), benzo[a]pyrene(벤조피렌)

<sup>†</sup>Corresponding author: s-jkim@kordi.re.kr

## 1. 서 론

석유의 주요 구성성분인 다환 방향족 탄화수소(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)는 2개 이상의 벤젠고리가 중합된 방향족 탄화수소를 의미하며 인간활동의 증가와 함께 환경내의 어디나 분포하는 오염물질로서 점차 그 양이 증가하고 있다. 해양 환경에서 PAHs는 유기물, 특히 휴믹 산의 농도가 높은 해양 퇴적 토에 다량 축적된다(Means *et al.* [1980], Schlautman & Morgan [1993]). PAHs는 일반적인 독성 외에도 발암성, 돌연변이 유발성, 유전독성을 지니는 물질로서(Hidelberger[1975]) 내분비계 장애물질(endocrine disruptor, 일명 환경호르몬)로도 알려져 있다. 퇴적 토에 오염된 PAHs 중 고분자 PAHs는 토착미생물에 의한 분해가 어려우므로 오랜 기간동안 잔류하게 되고 생물체내에 축적된 후 먹이사슬을 거쳐 인간에게까지 영향을 줄 수 있다. 따라서 오염된 환경으로부터 PAHs를 제거하는 것은 중요한 관심사가 되어왔으며 저분자의 PAHs로 오염된 토양의 경우에는 생물정화기술의 적용이 유효하지만 고분자 PAHs의 경우에는 미생물에 의한 분해가 느리게 진행되는 것으로 보고되고 있다(Juhasz & Naidu [2000]).

미생물에 의한 PAHs분해가 지연되는 이유로는 물질 자체가 지닌 높은 소수성으로 인해 매우 적은 양만이 물에 용해될 수 있으며 결과적으로 미생물에 의한 이용성이 제한되는 것이 주 원인인 것으로 생각되고 있다(Aitken *et al.* [1998], Bardi *et al.* [2000], Dean-Ross & Cerniglia [1996], Grifoll *et al.* [1995], Schneider *et al.* [1996]). 또한 고분자 PAHs의 경우 단독으로는 탄소 및 에너지원으로 이용될 수 없거나 혹은 구조적인 안정성으로 인해 생물 분해가 지연되기도한다(Juhasz & Naidu[2000]). 따라서 오염된 PAHs를 생물학적 방법으로 정화시키기 위해서는 미생물에 의한 PAHs의 이용성을 향상시키기 위한 기술 개발이 필요하다. Sohn *et al.* [2004]은 PAHs의 생분해 연구과정에서 PAHs 우수 분해 미생물인 *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 균주와 2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin(β-HPCD)을 처리할 경우 benzo[a]pyrene(B[a]P)를 비롯한 고분자 PAHs의 분해율을 향상시킬 수 있음을 확인하였다. β-HPCD를 비롯한 cyclodextrin계 화합물(CDs)은 포도당의 분자수가 6개에서 8개로 증가함에 따라 α, β, γ-CDs로 나눌 수 있으며(Schwartz & Bar[1995]) 그 구조는 친수성인 외부와 도넛의 안쪽과 같은 소수성인 내부구조로 구성되어있다(Song *et al.* [1999]). 소수성과 친수성을 동시에 지니는 물질자체의 구조적 특징으로 인해 CDs는 물에 녹지 않는 비극성 유기화합물을 전환시키거나 benzene, phenol, PAHs 등 소수성인 지속성 유기화합물에 대한 미생물의 이용성을 증가시키는 것으로 보고되고 있다(Bardi *et al.* [2000], Gao *et al.* [1998], Lindsey *et al.* [2003], Schwartz & Bar[1995], Song *et al.*[1999]). 그러나 β-HPCD가 PAHs의 미생물에 의한 이용성만을 증가시킴으로써 분해속도를 증진시키는 것인지 혹은 탄소원이나 보조기질로 작용함으로써 PAHs 분해력을 향상시키는 것인지 그 작용기작은 명확하게 밝혀져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 대표적인 PAHs 화합물인 pyrene과 B[a]P

를 대상으로 하여 β-HPCD 유무에 따라 US6-1 균주에 의한 이들 화합물의 분해정도와 이때의 biomass 변화 및 PAHs 분해에 관여하는 dioxygenase 효소활성의 차이를 살펴봄으로써 PAHs의 생분해과정에서의 β-HPCD의 역할을 규명하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 사용 균주 및 배양 조건

본 연구에 사용된 *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1은 울산만 퇴적토로부터 분리하여 신종으로 분류된 세균으로서 최적성장 조건은 온도 30°C, pH 6.0~7.0, 염도 2.5%이며 2~5 rings 사이의 다양한 PAHs 화합물을 빠른 속도로 분해할 수 있다(Sohn *et al.* [2004]). 실험에 사용된 균주는 최적성장 조건에서 ZoBell 2216e 액체배지에 36시간 전배양한 후 원심분리한 후(3,000×g, 15분) 균체를 회수하였다. 회수된 균체는 MM2 무기영양배지 ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2.38 g; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.02 g; 1 M Phosphate buffer, 0.1 ml; Aged sea water, 750 ml; Distilled water, 250 ml)로 2회 세척시켜 유기물을 제거시킨 후 다시 MM2 무기영양배지에 현탁하여 준비하였다.

### 2.2 β-HPCD 유무에 따른 US6-1균주의 PAHs 생분해도 비교

멸균된 100 ml baffled flask에 dichloromethane(DCM)에 용해시킨 Pyrene과 B[a]P를 각각 최종 10 ppm(w/v)이 되도록 첨가한 후 용매를 완전히 휘발시켰다. 여기에 15 ml MM2 무기영양배지를 첨가하였다. 실험구 조건은 (1) Pyrene+β-HPCD, (2) US6-1 strain+pyrene, (3) US6-1 strain+pyrene+β-HPCD, (4) B[a]P+β-HPCD, (5) US6-1+B[a]P, (6) US6-1+B[a]P+β-HPCD가 되도록 준비하였다. 실험구 조건에 따라 β-HPCD (Celdex, 두래통상)를 최종농도 1%가 되도록 첨가하거나 혹은 첨가하지 않았다. *N. pentaromativorans* US6-1 균주는 660 nm에서 최종 OD=0.1이 되도록 접종하였다. 각 조건별로 2반복으로 실험을 실시하였으며 기질에 따른 분해기간을 고려하여 Pyrene이 첨가된 실험구의 배양기간은 0.5, 1, 2, 3, 4일, B[a]P가 첨가된 실험구는 1, 3, 5, 7일로 하여 30°C에서 120 rpm의 속도로 교반배양하였다. PAHs 추출 및 분석과정은 Kim *et al.*[2004]에 따랐으며 전체 과정은 다음과 같다. 먼저 내부표준 물질로 phenanthrene 5 ppm을 첨가한 다음 동량의 DCM으로 3회 추출하고 농축시킨다. 농축이 끝난 시료는 GC vial(시료 용량 : 1.5 ml)에 옮겨 fused silica capillary column(SPB-1, 30 cm×0.25 mm i.d, supelco)이 장착된 GC-FID(HP 5890 series II)로 분석하였다. 분석시의 온도 조건은 다음과 같다; 150°C에서 1분 유지, 분당 250°C까지 온도 상승, 250°C에서 2.5분간 유지한다. 배양기간 중 *N. pentaromativorans* US6-1 균주에 의한 PAHs의 분해도는 PAHs 화합물과 β-HPCD만을 첨가한 대조구(1, 4)에서의 PAHs 잔류량을 기준으로 상대비율(%)로 표현하였다.

### 2.3 β-HPCD 유무에 따른 US6-1균주의 미생물 생체량변화 비교

US6-1 균주의 Pyrene, B[a]P 분해과정 중 cell biomass 변화를

단백질의 양으로 측정하였다. 실험구는 2.2와 같으며 여기에 pyrene 혹은 B[a]P가 첨가되지 않고  $\beta$ -HPCD에 균주만이 접종된 대조구를 추가하였다. 단백질 정량은 Bradford method에 기초한 단백질 정량 kit(Bio-Rad)를 사용하여 수행하였다. 배양기간별로 5ml의 배양액을 취하여 centrifuge(3,000×g, 15분)시킨 후 상등액을 버리고 세포침전물에 인산염 완충액(pH 7.4) 4 ml를 첨가하였다. 직경 3 mm microtip을 장착한 Ultra sonicator(Vibra cell, U.S.A)로 2분씩 2회 ultrasonication을 실시하여 cell을 파쇄시킨 후 파쇄액 1 ml를 뽑아 4°C에서 centrifuge(8,000×g, 15분)하여 상등액을 취하였다. 유리시험관에 시료 800  $\mu$ l와 dye 200  $\mu$ l를 반응시켜 5분 후에 595 nm에서 분광광도계(UV 2401PC, Shimadzu)로 흡광도를 측정 후 표준곡선에 흡광도를 대입하여 protein 양을 산출하였다.

#### 2.4 Dioxygenase enzyme activity

$\beta$ -HPCD가 US6-1 균주의 PAHs 분해에 관련된 효소활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 전배양조건에 따른 US6-1균주의 dioxygenase 효소활성을 비교하였다. 전배양조건으로는 ZoBell 2216e 배지를 사용하는 경우와  $\beta$ -HPCD 1%가 포함된 MM2 무기배지에 전배양하는 두 가지 조건을 비교하였다. 추가로 빈영양 조건이 효소활성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 ZoBell 2216e 배지에서 전배양시킨 균주를 2일간 MM2 무기배지에서 배양시킨 후의 효소활성을 측정하여 비교하였다. 효소활성 측정과정은 다음과 같다. 균주배양액 중 5 ml를 채취한 다음 2.3의 방법에 따라 cell을 파쇄시켰다. 파쇄액 1 ml를 채취하고 centrifuge(8,000×g, 15분, 4°C 유지)시켜서 상등액을 microtube에 따로 모았다. Microtube에 1.33 mM EDTA/50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) 250  $\mu$ l와 상등액(enzyme aliquot) 500  $\mu$ l, 0.5 mM catechol 250  $\mu$ l을 넣어 반응시킨다(Sanakis *et al.*[2003]). 30분이 지난 후 spectrophotometer (UV 2401PC, Shimadzu)로 260 nm에서 흡광도를 측정하여 생산되는 cis, cis-muicoic acid의 양을 측정하여 enzyme의 활성을 측정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 PAHs(Pyrene, BaP) 분해

Pyrene의 경우  $\beta$ -HPCD를 첨가하지 않은 실험구에서는 배양 12시간까지 lag phase를 보이다가 1일 후 22.4%, 2일 후 22.9%의 분해율을 보인 반면  $\beta$ -HPCD가 첨가된 실험구에서는 배양 12시간 후에 41.7%, 1일 후에는 64.2%의 pyrene을 분해시켰으며 2일 후에는 91.6%의 분해율을 보여  $\beta$ -HPCD가 포함되지 않은 실험구에 비해 2배 이상의 분해율을 나타내었다(Fig. 1a). B[a]P의 경우에는  $\beta$ -HPCD가 첨가된 실험구에서는 배양 1일째까지 28.8%, 4일째 93.6%의 높은 분해율을 나타내었다(Fig. 1b). 그러나  $\beta$ -HPCD가 첨가되지 않은 실험구에서는 실험 최종일까지 유의한 B[a]P 분해가 관찰되지 않았다. 이상의 결과는  $\beta$ -HPCD가 *N. pentaromativorans* US6-1 균주에 의한 pyrene과 B[a]P의 분해를 크게 촉진시킴을 나타내고 있다. 특히 B[a]P가 첨가된 실험구에서는 pyrene이 첨가된 실험구에서와는 달리  $\beta$ -HPCD 존재 유무는 B[a]P 분해의 결정적인 요인으로 작용하였다.

Cyclodextrin 계열의 물질은 toluene 혹은 p-toluic acid와 같은 저분자 aromatic hydrocarbon의 독성을 감소시킴으로써 생분해를 증진시키거나(Schwarz & Bar[1995]), phenanthrene 생분해 증진(Wang *et al.*[1998]), 원유오염 토양에서 분리된 균주에 의한 naphthalene과 anthracene 분해력을 크게 향상시키는 것으로 보고된 바 있다(Bardi *et al.*[2000]). 이와 같은 생분해 증진 효과는 dextrin 계열의 화합물이 소수성인 석유화합물의 용해도를 증진시켜줌으로써 나타나는 것으로 추정하고 있다(Male *et al.*[1995]). 또한 cyclodextrin계열 화합물에 의해 용해되는 PAHs화합물은 다른 화학유화제에 의해 용해되는 PAHs화합물이 생물이용성과 큰 관계를 보이지 않는 것과는 달리 생물이용성이 높은 것으로 보고되었다(Cuypers *et al.*[2002]). 위의 연구결과에서와 같이  $\beta$ -HPCD는 phenanthrene을 비롯한 저분자 PAHs 이외에도 pyrene과 B[a]P 등의 고분자 PAHs의 경우에도 생물이용성을 크게 높여줄 수 있음이 본 연구 결과를 통해 확인되었다. 따라서 기존 연구자들의

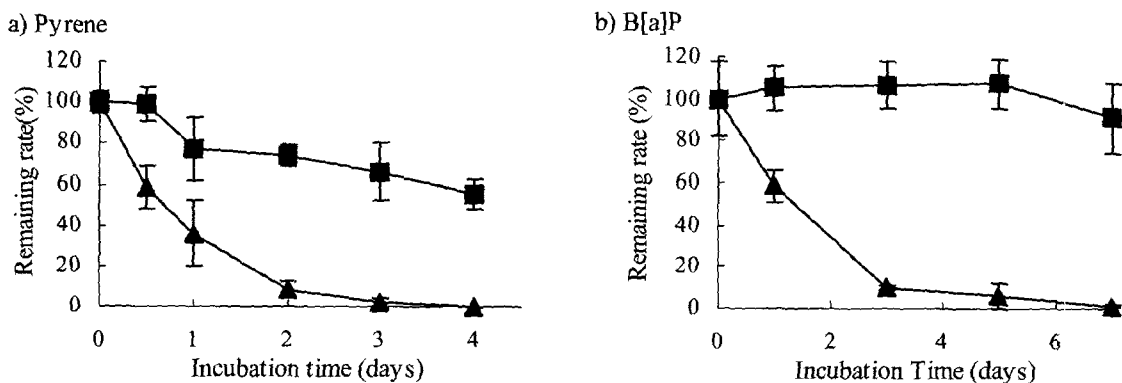


Fig. 1. Effect of  $\beta$ -HPCD on the biodegradation rates of Pyrene (a) and B[a]P (b) by the *N. pentaromativorans* strain US6-1. ■ Pyrene (a) or B[a]P (b)+strain US6-1, ▲ : Pyrene (a) or B[a]P (b)+ $\beta$ -HPCD+strain US6-1.

보고와 본 실험결과를 종합해 볼 때 β-HPCD를 비롯한 cyclodextrin 계열의 화합물은 PAHs 화합물의 분자량이 높아질수록 분해증진 효과가 높아지며 그 이유는 PAHs의 용해도를 증진시켜줌으로써 생물이용성을 높여주기 때문인 것으로 사료된다. 그러나 B[a]P와 같은 5 ring 이상의 PAHs 화합물은 세균의 유일탄소 및 에너지원으로 이용될 수 없다는 기존 보고(Juhasz & Naidu[2000])에 비추어 볼 때 β-HPCD는 PAHs 화합물의 용해도 증진 이외의 역할도 함께 수행할 것으로 추측되어 β-HPCD가 탄소원으로 이용되어 생체량에 영향을 미치는가를 확인하였다.

### 3.2 생체량 변화

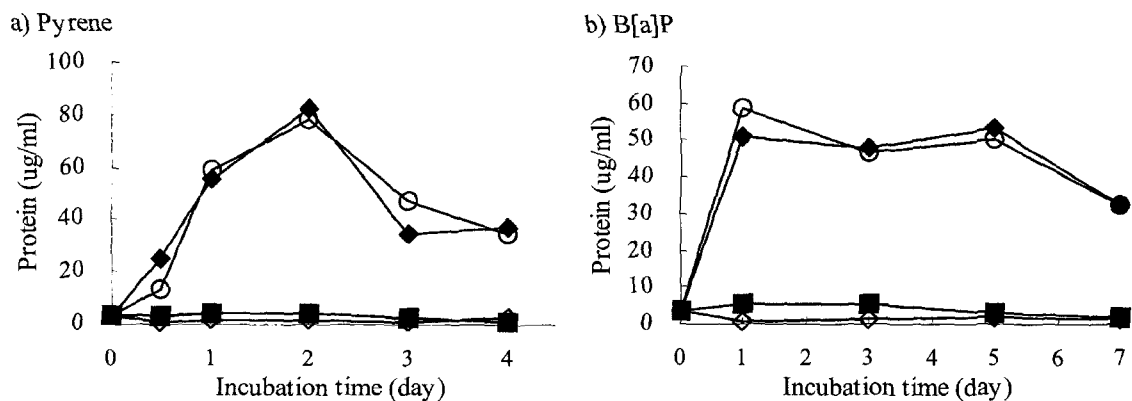
β-HPCD를 비롯한 cyclodextrin 계열의 화합물이 PAHs를 비롯한 소수성 유기화합물의 수용성을 증가시켜주는 것은 많은 연구자들에 의하여 확인되었다. 이때 cyclodextrin 계열의 화합물이 없는 대조구에 비해 생체량이 증가하는 것으로 보고하였으나 이들 물질이 세균의 생체량에 미치는 직접적 영향을 분석한 사례는 없다(Bardi et al.[2000], Schwartz & Bar[1995]). 따라서 본 연구에서는 PAHs 분해과정 중 β-HPCD가 균주의 생체량에 미치는 영향을 분석하였다.

Pyrene의 존재 유무에 관계없이 β-HPCD가 첨가된 실험구에서 시간경과에 따른 US6-1 균주의 biomass는 유사한 값을 보였다(Fig. 2a). Protein의 양은 배양 1일 후에 β-HPCD만 공급된 실험구와 pyrene이 추가된 실험구에서 각각 55.44 μg/ml, 58.63 μg/ml이었으며 가장 높은 값을 나타낸 2일 후에는 각각 78.14 μg/ml, 82.34 μg/ml를 나타내었다. Pyrene이 함께 공급된 실험구에서의 생체량은 3일 후와 4일 후에 각각 34.23 μg/ml, 36.57 μg/ml로 2일 후에 비해 크게 감소하였으며 β-HPCD만 공급된 실험구에서도 유사한 수준으로 감소하였다. 앞서 3.1에서 살펴본 바와 같이 β-HPCD가 첨가되지 않은 실험구에서도 44.7%의 pyrene 분해율을 보였으나 protein 농도는 균주를 접종하지 않은 실험구와 마찬가지로 바탕값에서 변화를 보이지 않았다. *N. pentaromativorans* US6-1 균주와 β-HPCD만 첨가한 실험구와 B[a]P와 β-HPCD를

동시에 첨가한 실험구의 결과 역시 pyrene을 기질로 한 경우와 비슷한 양상을 나타냈다(Fig. 2b). β-HPCD와 B[a]P가 동시에 첨가된 실험구에서는 1일 후에 50.58 μg/ml, 3일 후 47.58 μg/ml, 5일 후 53.13 μg/ml로 비슷한 값을 보이다가 7일 후에 32.18 μg/ml로 감소하였다. β-HPCD만 첨가된 실험구에서는 1일 후 58.63 μg/ml로 가장 높은 값을 나타냈다. 이후 46.75 μg/ml, 50.00 μg/ml로 비슷한 값을 보이다 위의 실험구와 같이 7일 후에 32.32 μg/ml로 감소하였다. β-HPCD가 첨가되지 않은 실험구의 경우에는 균주가 접종되지 않은 실험구와 거의 동일한 값을 나타내었다. 이상의 결과는 β-HPCD가 *N. pentaromativorans* US6-1 균주의 중요한 탄소원으로 이용되어 PAHs 화합물의 분해력을 높여주는 반면 pyrene이나 B[a]P는 균주의 성장탄소원으로 중요하지 않음을 반영하는 것으로 사료된다.

### 3.3 Dioxygenase enzyme activity 결과

방향족 화합물이 세균에 의해 분해되는 과정에는 catechol 1,2-dioxygenase 등의 다양한 dioxygenase가 작용하며 이 효소의 활성 측정을 통해 균주의 방향족 화합물 분해능을 추정할 수 있다(Sanakis et al.[2003]). PAHs 화합물 생분해과정에서 β-HPCD가 균주의 효소활성에도 영향을 미치는지 확인하기 위하여 US6-1 균주의 배양조건에 따른 catechol 1,2-dioxygenase 활성을 측정하였다. ZoBell 2216e 액체배지에서 배양한 세균의 생체량은 632 μg-protein/ml의 생체량을 보인 반면 ZoBell 2216e 액체배지에서 배양된 균체를 MM2 무기배지에서 2일간 빈영양상태로 배양하였을 때의 생체량은 171 μg-protein/ml, MM2 무기배지에 1% 농도의 β-HPCD가 포함된 경우에는 2일간의 배양 후 189 μg-protein/ml의 생체량을 보였다. 각 조건에서의 단위 protein당 catechol 1,2-dioxygenase 활성은 각각 24.11±0.71, 34.41±1.97, 34.78±0.78 Unit/mg-protein(Fig. 3)으로 ZoBell 배지에서 배양된 균체의 경우 상대적으로 낮은 효소활성을 보였다. 그러나 β-HPCD가 포함된 MM2 배지에서 배양된 균주의 효소활성이 ZoBell 배지에서 배양시킨 후 MM2 배지에 빈영양상태로 유지시키는 경우와 비교해서 효소활성에 큰 차



**Fig. 2.** Fluctuation of protein biomass during growth on Pyrene (a) and B[a]P (b). Standard deviation between two replicate was less than 3%. ◇ Pyrene (a) or B[a]P (b)+β-HPCD, ■ Pyrene (a) or B[a]P (b)+strain US6-1 ◆ Pyrene (a) or B[a]P (b)+β-HPCD +strain US6-1. ○ β-HPCD+strain US6-1.

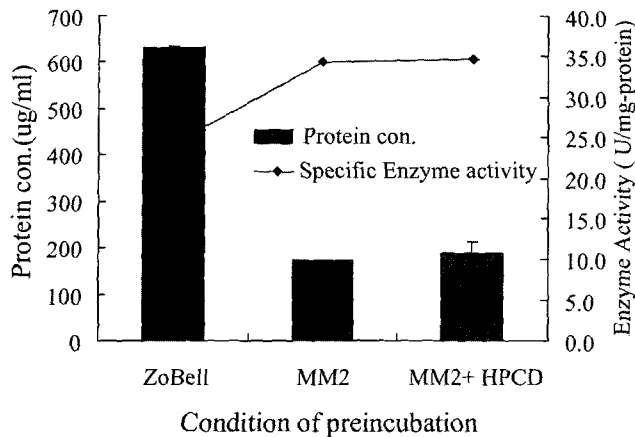


Fig. 3. Comparison of catechol 1,2-dioxygenase activity depending on the pre-incubation conditions.

이를 보이지 않는 것으로 볼 때  $\beta$ -HPCD의 존재가 균주의 dioxygenase 효소활성을 유도하지는 못 하는 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

고분자 PAHs 분해균주 *N. pentaromativorans* US6-1은  $\beta$ -HPCD가 존재할 경우 pyrene, BaP 등의 고분자 PAHs를 보다 빠른 속도로 분해하였다. 특히 BaP 분해의 경우  $\beta$ -HPCD에 의한 증진 효과가 높았다. 한편 PAHs 분해과정에서 세균 생체량은 PAHs의 존재와는 무관하게  $\beta$ -HPCD의 존재 여부에 따라 결정되었다. 한편 전배양조건에 따라 catechol 1,2 dioxygenase 활성을 측정하였을 때  $\beta$ -HPCD는 효소활성 증가에 크게 관여하지 않는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터  $\beta$ -HPCD를 비롯한 cyclodextrin계열의 화합물이 PAHs 분해에 관계된 dioxygenase 효소활성을 유도하지는 않지만 PAHs와 같은 소수성 물질의 용해도를 증가시켜 미생물에 의한 이용성을 증가시킨다는 기존의 보고를 뒷받침하는 한편, 균주의 생체량 증가에 기여함으로써 PAHs와 같은 소수성 유기오염물질의 분해를 촉진시킬 수 있음을 새롭게 확인하였다.

#### 후 기

본 연구는 환경부 “차세대핵심환경기술개발사업”의 지원으로 수행되었습니다.

#### 참고문헌

- [1] Aitken, M.D., W.T. Stringfellow, R.D. Nagel, C. Kazunga, and S.-H. Chen, 1998, “Characteristics of phenanthrene-degrading bacteria isolated from soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbon”, *Can. J. Microbiol.*, 44, 743-752.
- [2] Bardi, L., A. Mattei, S. Steffan, M. Marzona, 2000, “Hydrocarbon degradation by a soil microbial population with  $\beta$ -cyclodextrin as surfactant to enhance bioavailability”, *Enzyme Microb. Technol.*, 27, 709-713.
- [3] Cuypers, C., T. Pancras, T. Grotenhuis, and W. Rulkens, 2002, The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl- $\alpha$ -cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques, *Chemosphere*, 46, 1235-1245.
- [4] Dean-Ross, D., and C.E. Cerniglia, 1996, “Degradation of pyrene by *Mycobacterium flavescens*”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 46, 307-312.
- [5] Gao, S., L. Wang, Q. Huang, and S. Han, 1998, “Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by  $\beta$ -cyclodextrin and carboxymethyl- $\beta$ -cyclodextrin”, *Chemosphere*, 37, 1299-1305.
- [6] Grifoll, M., S.A. Selifnov, C.V. Gatlin, and P.J. Chapman, 1995, “Actions of a versatile fluorene-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 3711-3723.
- [7] Hidelberger, C., 1975, “Chemical carcinogenesis”, *Ann. Rev. Biochem.*, 44, 79-121.
- [8] Juhasz, A.L. and R. Naidu, 2000, “Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene”, *Int. Biodet. Biodeg.*, 45, 57-58.
- [9] Kim, S.-J., K.K. Kwon, J.-H. Hyun, and V.I. Svetashev, 2004, “Bioremediation of PAHs in marine sediment”, *JOST*, 1, 7-13.
- [10] Lindsey, M.E., G. Xu, J. Lu, and M.A. Tarr, 2003, “Enhanced fenton degradation of hydrophobic organics by simultaneous iron and pollutant complexation with cyclodextrins”, *The Science of the Total Environment*, 307, 215-229.
- [11] Male, K.B., R.S. Brown, and J.H.T. Luong, 1995, Enzymatic oxidation of water-soluble cyclodextrin-polynuclear aromatic hydrocarbon inclusion complexes, using lignin peroxidase, *Enzyme Microb. Technol.*, 17, 607-614.
- [12] Means, J.C., J.J. Hassett, S.G. Wood, and W.L. Banwart, 1980, “Sorption properties of polynuclear aromatic hydrocarbons by sediments and soils”, *Environ. Sci. Technol.*, 14, 1524-1528.
- [13] Sanakis, Y., D. Mamma, P. Chrisakopoulos, and H. Stamatis, 2003, “Catechol 1,2-dioxygenase from *Pseudomonas putida* in organic media- an electron paramagnetic study”, *J. Biol. Macromole.*, 33, 101-106.
- [14] Schlautman, M.A., and J.J. Morgan, 1993, “Effects of aqueous chemistry on the binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by dissolved humic materials”, *Environ. Sci. Technol.*, 27, 961-969.
- [15] Schneider, J., R. Grosser, K. Jayasimhulu, W. Xue, and D. Warschawsky, 1996, “Degradation of pyrene, benz[a]anthracene, and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. RJGII-135, isolated from a former coal gasification site”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 13-19.
- [16] Schwartz A. and R. Bar, 1995, “Cyclodextrin-enhanced degradation of toluene and p-toluic acid by *Pseudomonas putida*”,

*Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 2727-2731.

- [17] Sohn, J.H., K.K. Kwon, J.H. Kang, H.B. Jung, and S.-J. Kim, (in press), "*Novosphingobium pentaromativorans* sp. nov., a high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from estuarine sediment", *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*
- [18] Song, W., Q. Huang, L.-S. Wang, 1999, " $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) influence on the biotoxicities of substituted benzene compounds

and pesticide intermediates", *Chemosphere*, 38, 693-698.

- [19] Wang, H.-M., E.M. Marlowe, R.M. Miller-Maier and M.L. Brusseau, 1998, "Cyclodextrin-enhanced biodegradation of phenanthrene", *Environ. Sci. Technol.*, 32, 1907-1912.

---

2004년 2월 19일 원고접수

2004년 7월 25일 수정본 채택