

## 산림 토착 미생물 군집에 미치는 유류 첨가제 노출 농도 및 시간의 영향

조원실 · 조경숙\*<sup>†</sup>

이화여자대학교 환경공학과  
(2008. 9. 22. 접수/2008. 10. 8. 수정/2008. 10. 21. 채택)

## Effect of Exposure Concentration and Time of Fuel Additives on the Indigenous Microbial Community in Forests

Cho, Won-Sil · Cho, Kyung-Suk\*<sup>†</sup>

Department of Environmental Science & Engineering, Ewha Womans University  
(Received September 22, 2008/Revised October 8, 2008/Accepted October 21, 2008)

### ABSTRACT

The toxicity of methyl *tert*-butyl ether (MTBE), *tert*-butyl alcohol (TBA) and formaldehyde (FA) on the indigenous microbial community in forest soil was studied. MTBE, TBA and FA with different concentrations were added into microcosms containing forest soil samples. After 10 and 30 days, total viable cell number and dehydrogenase activity in the microcosms were evaluated. Bacterial communities in the microcosms were also analyzed using a denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Dehydrogenase activity and total viable cell number were decreased according to the increase of MTBE, TBA and FA concentrations ( $P < 0.05$ ). FA toxicity was the highest, but TBA toxicity was the lowest. The results of principal component analysis using DGGE fingerprints showed that the microbial communities contaminated MTBE, TBA and FA were grouped by exposure time not exposure concentration. Dominant species in the microcosms were as follows: *Photobacterium damsela* sub sp. and *Bacillus* sp. KAR28 for MTBE; *Mycobacterium* sp. and Uncultured *Clostridium* sp. for TBA; and Uncultured *Paenibacillaceae* bacterium and *Anxynobacillus*, *Flavithermus* for FA.

**Keywords:** Fuel additives, forest soil, methyl *tert*-butyl ether (MTBE), *tert*-butyl alcohol (TBA) and formaldehyde (FA), microbial activity and structure

### I. 서 론

환경 오염 유발 물질들은 수질, 대기, 토양 등의 다양한 매체를 통해 이동하면서 변화와 변형을 계속하여 인간을 포함한 자연 생태계에 영향을 미치고 있는데, 특히 토양을 매개체로 한 오염물의 거동 및 영향을 수질과 대기를 통한 피해보다 상대적으로 노출 속도가 느리고 전달 경로도 복잡하여 그 조사와 정확한 진단과 조사가 매우 어렵다.<sup>1)</sup> 토양 오염은 그 자체만으로 우려될 뿐 아니라 일단 오염된 토양은 자연 정화가 어렵기 때문에 지표수 및 지하수 오염 등 2차 오염을 유발시키며 이러한 2차 오염은 유동에 의하여 확산된다.<sup>2,14)</sup>

토양 입자 표면에 미생물 미소군체가 발달 할 수 있으며, 유기물이 매우 풍부하므로 미생물 증식에 알맞은 서식처가 된다.<sup>17)</sup> 미생물은 토양 생태계에서 분해자로 중요한 역할을 수행하고 있는데, 주로 유기물의 분해, 영양소 순환 및 토양의 입단화 등에 관여하고 있다. 토양 미생물은 주위의 식물과 밀접한 관계가 있다.<sup>24)</sup> 식물에서 떨어진 잎과 뿌리 등에서 분비된 유기 물질은 토양 미생물 개체 수와 효소 활성을 증가 시키고 물질 흡수가 이뤄진다.<sup>17)</sup> 이 과정에서 산성물질 혹은 알칼리 물질 생성에 의해 풍화가 진행되어 영양 물질이 용출된다. 용출된 영양 물질은 다시 식물에 따라 그 조성 과 활성이 달라진다.<sup>6)</sup> 또한, 토양 미생물은 주위의 물리 화학적 차이에 따라 쉽게 활성이 변한다. 예를 들면, 중금속 이온이 토양에 노출되면 토양 미생물 군집의 물질 대사 능력이 감소하며 고농도의 유기물이 토양에 노출되면 다른 종류의 유기 물질의 분해능이 감소하게 된

<sup>†</sup>Corresponding author : Department of Environmental Science & Engineering, Ewha Womans University  
Tel: 82-2-3277-2393, Fax: 82-2-3277-3275  
E-mail : kscho@ewha.ac.kr

다.<sup>5)</sup> 토양 오염의 주된 원인으로는 유해한 화학물질의 대량 생산과 다양한 폐기물의 기하학적 증가를 들 수 있는데 그 중 가장 심각한 문제를 일으키는 것을 유류에 의한 오염이다.<sup>15)</sup>

유류 첨가제인 MTBE(Methyl *tert*-Butyl Ether)가 토양을 비롯 지하수 오염물질로 부각됨에 따라 이에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 대부분 지하에 매설된 유류 저장 탱크 노후에 의한 유출 혹은 배관이 파손되거나 다른 점오염원으로 유출되면서 EPA 허용 기준을 크게 벗어나는 농도로 검출되고 있다.<sup>16)</sup> 독성물질의 생태 독성을 평가 하기 위해 토양 내 미생물 수, 효소 활성 및 군집 구조 변화 조사와 같은 생물 지표를 이용한 방법이 활용되고 있다.<sup>11)</sup> 토양 미생물에 관한 연구는 일반적으로 미생물의 배양에 기초를 하였으나,<sup>13)</sup> 최근에는 배양 없이 특정 생태계로부터 직접 추출된 DNA를 대상으로 세균 군집의 분포와 기능을 파악하기 위한 여러 분자 생물학적 방법이 시도되고 있다. 특히 PCR amplified 16S rDNA-denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE)는 복합 미생물 군집의 유전적 다양성 분석 등 미생물 생태학적 연구에 광범위하게 적용되고 있다.<sup>8)</sup>

본 연구에서는 산림토양의 토착 미생물 군집에 미치는 MTBE 및 그 대사산물의 노출 농도와 노출 시간에 따른 영향을 파악하고자 생물 지표로 이용되는 탈수소효소 활성 변화와 생균수 변화를 조사하였고 16S rRNA-PCR-DGGE(Denaturing gradient gel electrophoresis)를 이용하여 토양 세균 군집 구조변화를 분석하였다.

## II. 실험 재료 및 방법

### 1. 시료 채취와 Microcosm 준비

토양은 이화여자대학교 내 산림토양을 채취하여(1월 중순) 2 mm 체로 쳐서 사용하였다. 사용한 토양의

Table 1. Characteristics of soil samples

pH	7.1±0.6
Moisture Contents (%)	35.0±0.2
Organic matter Contents (%)	12.2±0.3
CFU (CFU·g-dry soil <sup>-1</sup> )	1.3×10 <sup>6</sup> ±210 <sup>5</sup>
DHA (μg·g-soil <sup>-1</sup> ·day <sup>-1</sup> )	630±89
Clay (0~2 μm) (%)	8
Silt (2~50 μm) (%)	14
Sand (50~2000 μm) (%)	78
Soil texture(USDA)	LS

LS: loamy sand

물리·화학적 특성을 Table 1에 나타내었다. 멸균한 200 ml 혈청병에 시료 35 g과 멸균수 25 ml을 넣고 MTBE, TBA, FA를 주입 한 후 알루미늄 마개로 막고 parafilm으로 단단히 밀봉하였다. 독성물질의 농도 조건은 주입 농도 기준 MTBE는 0, 50, 100, 250, 500, 750 mg/L로 하였으며, TBA는 0, 5,000, 15,000, 20,000, 25,000 mg/L, FA는 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5 mg/L로 하였다. 모든 실험은 3 반복으로 준비하였다. 이 혈청병을 명조건 하에서 16시간, 암조건 하에서 8시간으로 하여 실온(25±2°C)에서 방치 한 후 10, 30 일 후의 샘플을 이용했다.

### 2. 분석조건

탈수소효소 활성 분석은 tetrazolium염이 환원에 의하여 전환된 formazan을 메탄올로 추출하여 비색적량하는 방법을 이용하였다.<sup>11)</sup> 생균수는 단계적 희석법을 이용하여 도달하는 plate counting 방법을 이용하여 측정하였다.<sup>11)</sup>

### 3. 통계처리

모든 분석은 삼반복 수행하여 평균치 값을 계산하였다. 또한, MTBE, TBA 및 FA 주입 농도와 각 microcosm의 토양의 물리·화학·생물학적 특성간의 상관관계를 조사하기 위하여 이변량상관계수(divariate correlation coefficient) 분석을 수행하였다. SPSS 통계 package(ver 12.0)를 이용해 Pearson's 상관계수를 구하였고, 유의차 분석을 하였다.<sup>5)</sup>

### 4. DGGE를 이용한 군집 분석

각각의 토양시료 1 g을 채취하여 토양 시료용 DNA 추출 Kit(Q-Biogene, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출한 후 이 DNA를 template로 하여 PCR(PCR system 2700, Applied biosystem, USA)을 수행하였다. 이때 사용한 primer는 eubacterial 16S rDNAgene primers로 341fGC(5'-CCT ACG GGA GGC AGC AG-3')와 518r(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')이다.<sup>4)</sup> PCR과정을 통해 증폭된 genomic DNA단편을 DGGE(Denaturing gradient gel electrophoresis)로 분석하였다. 얻어진 이미지를 gel Comper II(Applied Maths, Version 3.5)를 이용하여 band matching을 하여 quantity 값을 구할 수 있었다. DGGE gel 상에 나타난 특이적인 band를 골라 sequencing하여 the National Center for Biotechnology Information(NCBI) website의 Basic Local Alignment Search Tool(BLAST) algorithm을 통하여 GenBank database와 비교하였다.<sup>5)</sup>

**Table 2.** Comparison of Shannon diversity index (H')

MTBE (mg/L)	Shannon - Weaver Index (H')	TBA (mg/L)	Shannon - Weaver Index (H')	FA (mg/L)	Shannon - Weaver Index (H')
0	1.74	0	2.89	0	2.87
50	1.90	5,000	2.75	0.3	3.21
100	1.87	10,000	2.23	0.6	3.13
250	1.90	15,000	2.77	0.9	2.45
500	2.44	20,000	2.94	1.2	2.62
750	2.31	25,000	2.14	1.5	2.32

**5. 미생물 다양성 분석**

각 시료의 DGGE fingerprints 간의 유사성을 이용 평가하기 위하여 DGGE 각 band intensity 값을 모든 DGGE band의 intensity 총합으로 나눈 값을 이용하여, 주성분분석(Principal component analysis, PCA)을 수행하였다(SPSS ver. 12.0).<sup>5)</sup>

또한, 각 DGGE band의 intensity를 모든 band의 intensity 총합으로 나눈 값을 이용하여 다음의 공식을 통하여 Shannon-Weaver 지수(H')를 계산하였다.<sup>5)</sup>

$$H' = -\sum p_i \ln p_i$$

여기서 H'는 Shnnon 다양성 지수, p<sub>i</sub>는 DGGE band의 intensity를 모든 band intensity 총합으로 나눈 값을 의미한다.

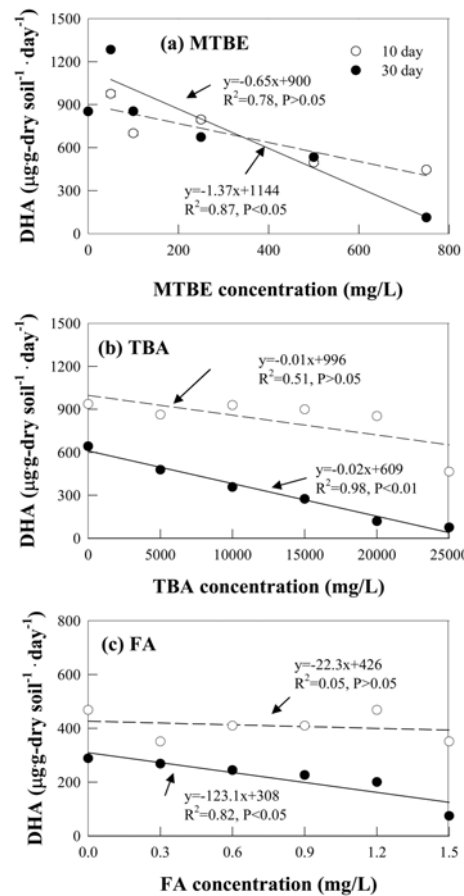
**III. 결과 및 고찰**

**1. 토양 미생물 활성 비교**

탈수소효소(Dehydrogenase activity: DHA)활성 분석은 중금속이나 유기 화합물 등 다양한 환경 오염 배출원에 의한 독성 평가를 위하여 토양 내 존재하는 미생물 활성을 측정하는데 매우 효과적인 방법 중 하나이다.<sup>22)</sup>

Fig. 1은 MTBE와 그 대사산물이 산림 미생물의 탈수소효소 활성에 미치는 영향을 조사한 결과이다. 초기 산림 토양 내 탈수소효소 활성은 630 g · g-dry soil<sup>-1</sup> · day<sup>-1</sup>이었다.

MTBE를 주입한 경우 10일 경과 후, 저농도 조건(100 mg/L)에서 탈수소효소 활성이 증가하는 경향을 나타냈으나 통계분석 결과 유의하지 않았으며(P>0.05), 30일 후 시료에서는 주입농도 증가에 따라 탈수소효소 활성이 감소하였다(P<0.05). TBA와 FA 주입 조건의 경우 10, 30일 경과 후 주입 농도 증가와 시간의 경과에 따라 탈수소효소 활성이 감소하였으며 통계 분석 결과 유의적인 경향을 나타냈다(P<0.05). 독성물질에 대한 노출 10, 30일 경과 후, 각각 독성물질 첨가 농도 증가에 따라 저해 기울기는 FA(125)>MTBE(1.3)>TBA(0.02)



**Fig. 1.** Effect of MTBE, TBA and FA concentrations on dehydrogenases activities in the microcosms after 10 days and 30 days.

순으로 관찰 되었다.

Fig. 2는 MTBE, TBA, FA에 노출 시킨 조건에서 10, 30일 경과 후 토양 내 총 세균수의 변화를 나타낸 것이다.

MTBE 주입 10일 경과 후, 저농도 조건(100 mg/L)에서는 미생물 수가 증가하는 경향을 나타냈으나 통계 분석 결과 유의하지 않았으며(P>0.05), 30일 후 시료에

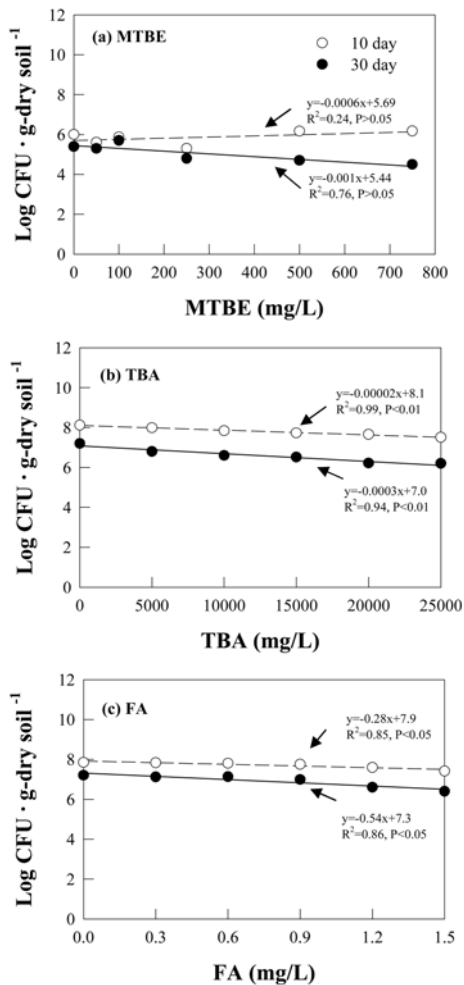


Fig. 2. Effect of MTBE, TBA and FA concentrations on viable cell numbers in the microcosms after 10 days and 30 days.

서는 주입농도 증가에 따라 미생물 수가 감소하였다 ( $P > 0.05$ ). TBA와 FA 주입 조건의 경우 10, 30일 경과 후 주입 농도 증가와 시간의 경과에 따라 미생물 수가 감소하였으며 통계 분석 결과 유의적인 경향을 나타냈다( $P < 0.05$ ). 독성물질에 대한 노출 10, 30일 경과 후, 각각 독성물질 첨가 농도 증가에 따라 저해 기율기는 FA(0.54) > MTBE(0.001) > TBA(0.00003) 순으로 관찰되었다.

실험 결과, 저농도의 MTBE(100 mg/L)가 주입된 조건에서는 10일 경과 후 탈수소효소 활성이 촉진되었고 생균수가 증가 하였다. 생균수 변화와 탈수소 효소활성 두 요인의 상관관계를 살펴 본 결과, 양의 관계인 것으로 나타났으나 통계분석 결과 유의하지 않았다(결과미

제시,  $P > 0.05$ ). 탄소 화합물이 저농도로 유입되었을 때 시간에 따라 미생물에 의해 쉽게 분해되며 이를 이용하는 토양 미생물들이 기질로 이용함으로써 미생물 수가 증가 하고 또 생존하는 미생물 활성을 간접적으로 판단 할 수 있는 탈수소효소 활성 역시 증가한다는 연구결과와 일치했다.<sup>20)</sup>

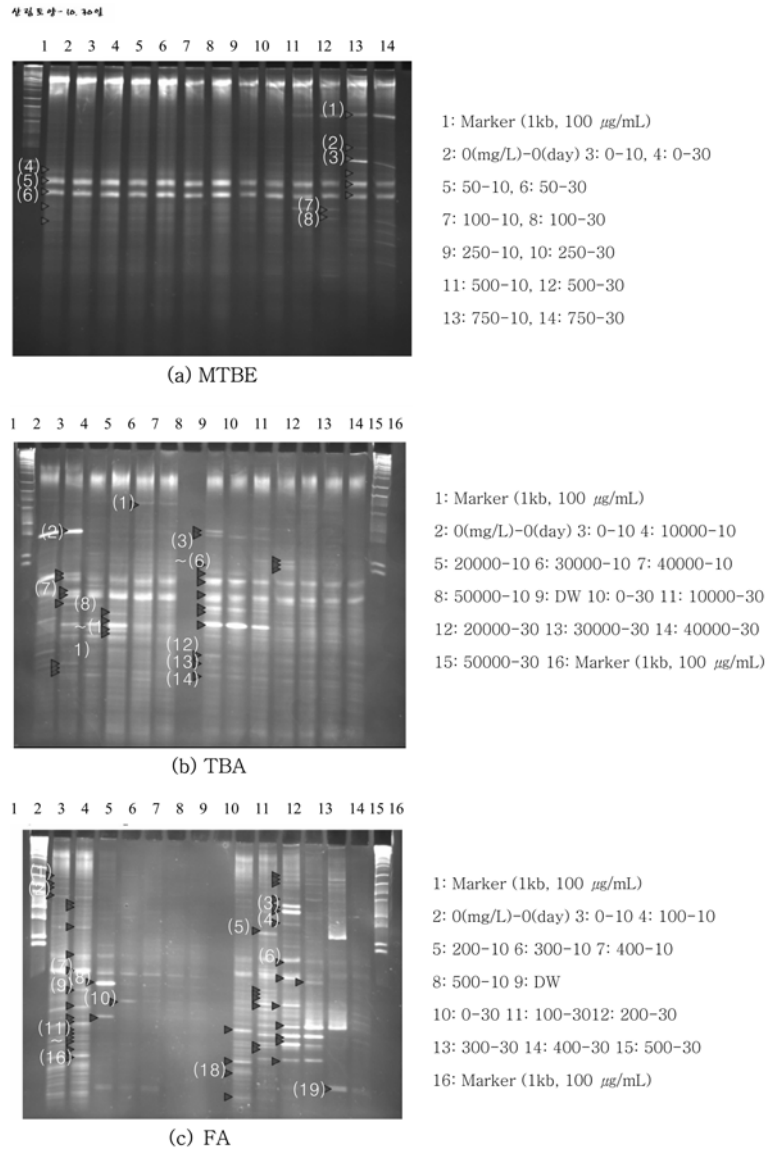
## 2. 미생물 군집 특성 분석

산림 토양에 첨가한 MTBE, TBA, FA의 농도와 배양 시간에 따른 미생물 군집 구조 특성을 DGGE 방법으로 분석한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 또한, 산림 토양 시료를 MTBE를 노출 시킨 경우에는 8개, TBA로 노출 시킨 경우에는 21개, FA로 노출시킨 경우 19개의 band를 잘라 염기 서열을 분석하여 BLAST algorithm을 통하여 GenBank database와 비교, 동정하여 계통발생학적 관계를 Fig. 4에 도시하였다.

MTBE에 노출시킨 경우(Fig. 3(a)), M-1 band의 경우 uncultured bacterium(EF430467)과 93%, M-2, M-4, M-5, M-6, M-8 band의 경우 uncultured bacterium(AJ749800)과 99%, M-3 band의 경우 volatile fungistatic compound를 생산하는 토양 세균으로부터 분리한 *Bacillus sp.* MHS-022(EU558534)와 99%의 유사성을 보였다. M-7 band의 경우 벤젠 오염 지역에서 분리한 균주로 uncultured soil bacterium(AY254985)과 100%의 유사성을 나타냈다.

TBA에 노출된 경우(Fig. 3(b)), T-1, T-10, T-12 band의 경우 식물에 식중된 지역에서 발견되는 *Photobacterium demselae* sub sp.(EU887216)와 100%, T-2 band의 경우 *Bacillus*(EU571204)와 99%, T-3, T-4, T-6, T-7, T-9, T-10 band의 경우, 목초지에서 발견되는 uncultured bacterium(AJ749800)과 100%의 유사성을 나타냈다. T-5 band의 경우 메탄생성세균의 특징을 가졌으며 uncultured *bacterioidetes* bacterium(EU300485)과 98%의 유사성을 나타냈으며, T-8 band의 경우 호기적 조건에서의 산림 토양에서 나타나는 crystalline iron 산화 시 발견되는 특징을 가진 uncultured *Firmicutes* bacterium(EF643623)과 95%의 유사성을 나타냈다. T-11 band의 경우 uncultured bacterium(DQ829107)과 93%, T-13 band의 경우 nitrate, sulfate, ferric ion을 환원 시키는 세균들로 알려진 uncultured *Clostridium sp.*(DQ168157)과 96%의 유사성을 나타냈으며, T-14 band의 경우 PAH로 오염된 산림토양에서 분리한 *Mycobacterium sp.* FI-03019(AY907840)와 100%의 유사성을 나타냈다.

FA에 노출된 경우(Fig. 3(c)), F-1 band의 경우 uncultured *Flavobacteria* bacterium(EU861969)과 99%, F-2



**Fig. 3.** DGGE fingerprints of the forest soil samples contaminated with MTBE (a), TBA (b), and FA (c) after 10 days and 30 days.

band의 경우 토양세균으로 알려진 uncultured bacterium (EU044428)과 93%, F-3 band의 경우 uncultured bacterium(DQ658765)과 97%의 유사성을 나타냈다. F-4, F-7, F-8, F-10, F-12, F-13, F-14, F-17, F-18, F-19 band의 경우 식물이 식종된 지역에서 발견되는 *Photobacterium demselae* sub sp.(AJ749800)와 100%의 유사성을 나타냈으며, F-5 band의 경우 *Ansybacillus flavithermus*(AY672763)와 88%, F-6 band의 경우 uncultured bacterium(EU558534)과 97%의 유사성을 나타냈다. F-9 band의 경우 경작지와 산림 토양에서 분

리한 균주로 유류 오염 지역에서 분리한 uncultured soil bacterium(EU359939)과 98%, F-11 band의 경우 유류로 오염된 지역에서 분리한 uncultured *Desulfito-bacterium* sp.(DQ117470)와 93%의 유사성을 나타냈다. 군집을 구성하는 우점종을 분석한 결과(Fig. 4), gamma-proteobacteria, delta-proteobacteria, *Chloroflexi*, *Actino-bacteria*, *Clostridia*, *Bacilli*로 크게 여섯 그룹을 이뤘으며 산림 토양 시료에서 나오는 균으로 uncultured bacterium이 주로 많이 관찰되었다. 특히, *Clostridium* sp., *Phylobacteriaceae* bacterium, firmicutes에 속하는

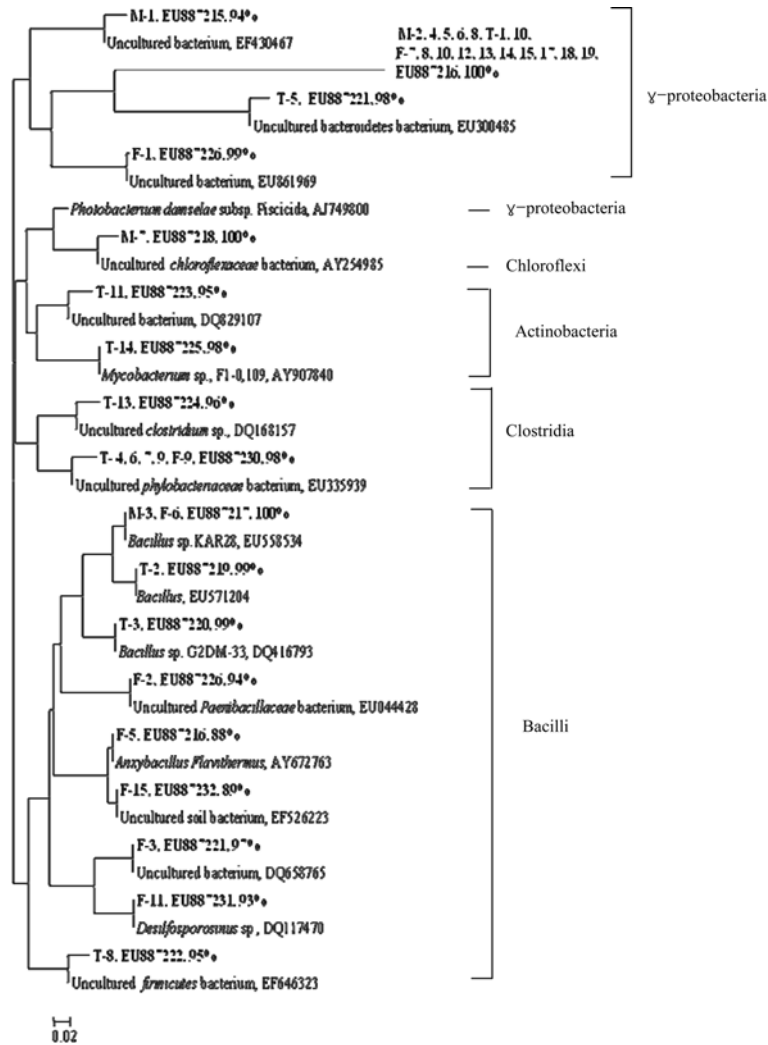
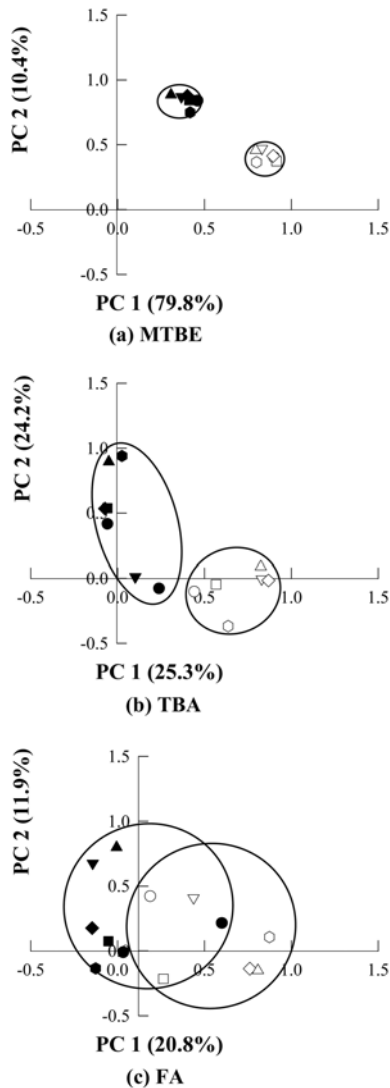


Fig. 4. Phylogenetic tree illustrating the relationship of the clones from the tidal mud samples contaminated with MTBE (M-1~M-8), TBA (T-1~T-14), and FA (F-1~F-19).

균은 *Clostridia*, *Bacillus*로 대표되는 그람양성균으로 이들 균들은 다양한 환경에 분포하는 것으로 알려져 있다.<sup>24,25)</sup> 또한 TBA 노출 시 나타난 *Mycobacterium* sp.의 경우 actinobacteria에 속하는 균주로 증금속이나 유류로 오염된 지역의 토양에서 대사적으로 매우 활성을 나타낼 가능성이 있는 균주로 알려져 있다.<sup>8,25)</sup>

Fig. 5는 MTBE, TBA 및 FA를 첨가하여 인위적으로 30일 동안 오염시킨 갯벌 시료의 DGGE fingerprints를 주성분 분석(principal component analysis, PCA)한 결과이다. 시료가 PC1과 PC2에 따라 그룹화가 이루어지는 것은 시료들 간의 상관관계가 있음을 의미하여,<sup>11)</sup> 여기서 PC1과 PC2는 시료 각각에 작용한 실험 조건

별 요소를 의미한다. MTBE, TBA 및 FA 물질 종류와 첨가 농도, 시료 채취 시기를 달리 했을 때 그 요인들에 의해 시료들이 어떤 상관관계를 가지는지 살펴 보았다. 그 결과, MTBE와 TBA 노출 조건에서는 미생물 군집 그룹이 두 그룹으로 확실히 나뉘는 것을 관찰 할 수 있었으나(10일과 30일) FA 노출 조건에서는 그룹화 되지 않았다. 이는 MTBE와 TBA는 유일 탄소원으로 토착종이 이용되었으나, FA의 경우 등에 의해 FA에 노출될 경우 미생물 효소 활성부위가 직접적으로 불활성화가 됨으로 인해 낮은 농도에서도 쉽게 저해 되는 것으로 판단된다.<sup>3,23)</sup> 또한, 오염물질의 종류와 주입 농도가 미생물 군집에 영향을 미치지만 노출 시



**Fig. 5.** Principal component analysis of MTBE, TBA and FA concentrate after 10 days (open symbols) and 30 days (closed symbols) in the microcosms.

간도 중요한 인자임을 알 수 있었다.

미생물 군집의 다양성 변동을 Shannon 지수를 평가 하였다. MTBE, TBA, FA에 노출된 시료의 30일 경과 후 미생물 다양도(Shannon index)지수는 각각 1.74~2.31, 2.89~2.14, 2.87~2.32로 독성 물질 첨가량이 증가 할수록 모든 토양에서 미생물 다양도와 균종도 지수를 보아 특정물질 농도 증가량에 따른 종다양성 감소는 뚜렷하지 않았다. 미생물 군집에 손상을 일으키지 않은 낮은 수준의 유기 오염 물질 유입 시 미생물 군집의 차이가 거의 없었으며,<sup>9,18,19</sup> crude oil에 오염과

비오염 지역의 근권 미생물 군집 변화를 조사한 결과 오염 site의 미생물 군집의 수가 1/3이상 감소 하였으나 *T. officinale*과 *A. australis*와 같은 내성종이 등장하였으며 탈수소효소 활성이 증가하였다고 보고 하였다.<sup>16)</sup> 또한, 미생물 군집 구성에 있어 기질이 가장 중요하다고 보고 하였으며 미생물 군집 구성과 구조에 변화를 준다고 보고 하였다.<sup>10,21)</sup> 또한 오염물질이 탄소원으로 식물이나 미생물에게 유용한 탄소원으로 이용된다면 그 수와 크기에 긍정적인 영향을 준다고 보고 하였다.<sup>7,16)</sup> 본 연구의 경우 탈수소효소 활성은 농도에 따라 감소 하였으나 생균수는 거의 저해 영향을 받지 않아 위의 연구들과 유사한 결과를 얻었다. 그러나, MTBE, TBA, FA의 주입농도가 각각 750 mg/L, 25,000 mg/L, 1.5 mg/L 높은 농도로 주입되었음에도 미생물 군집 변화가 없었던 것은 물 속에 녹아 들어가는 독성물질 농도들이 불포화 되어 있을 뿐 아니라 토성에 따른 독성물질의 흡착현상 때문인 것으로 판단된다.<sup>12,13,20)</sup>

#### IV. 결 론

산림 토양 내 미생물 군집에 미치는 methyl tert-butyl ether(MTBE)와 그의 대사산물인 tert-butyl alcohol(TBA) and formaldehyde(FA)의 영향을 조사하였다. 서로 다른 농도의 MTBE, TBA 및 FA를 갯벌 토양 microcosm에 넣었다. 10일과 30일 노출 후의 microcosm 내 생물학적 변화를 살피기 위해 총세균수와 탈수소효소 활성 변화를 측정했다. 미생물 군집 구조는 denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) fingerprinting 기법을 이용해 분석하였다. 그 결과, 다양한 농도로 MTBE 및 그 대사산물 노출 후 탈수소효소 활성과 총 세균수는 MTBE, TBA 및 FA 농도가 증가 될수록 감소하였다( $P < 0.05$ ). 산림 토양 미생물 활성에 미치는 독성은 FA의 독성이 가장 컸고 TBA가 가장 작았다. 각 시료의 DGGE fingerprints 결과를 주성분분석을 한 결과 미생물 군집은 MTBE, TBA 및 FA의 농도 보다는 노출시간에 대해 민감하게 영향을 받음을 알 수 있었다. 산림토양에 MTBE, TBA와 FA에 노출 되었을 때 군집을 구성하는 우점종을 분석한 결과, gamma-proteobacteria, *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Clostridia* and *Bacilli*로 그룹을 구성하였다.

#### 감사의 글

본 논문은 2008년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단 지정 차세대바이오환경기술연구센터

(AEBRC, R11-2003-006-06001-0)와 국가지정연구실사업의 지원을 받아 수행된 연구이며(No. R0A-2008-000-20044-0), 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- An, Y. J. : Assessing soil ecotoxicity of Methyl *tert*-butyl ether using earthworm bioassay; closed soil microcosm test for volatile organic compounds. *Environmental Pollution*, **134**, 181-186, 2005.
- Byun, S. H., Ryoo, K. S., Choi, J. H., Kim, Y. G. and Lee, H. S. : Assessment of Environmental Contaminant Levels in Water, Sediments and Adjacent Soils and Spider from Several Stream Sites in Korea. *Korea Journal of Environmental Science*, **17**, 287-296, 2008.
- Cho, K., Park, C., Choi, W. J., Kang, S., Hwang, J. H., and Oh, K. : A study on transport characteristics of MTBE(Methyl *tert*-butyl ether) in soil. *Environmental Engineering Research*, **13**, 51-65, 2008.
- Cho, W. S., Lee, E. H., Shim, E. H., Kim J. S., Ryu, H. W., and Cho, K. S. : Bacterial communities of biofilm sampled from seepage groundwater contaminated with petroleum oil. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, **15**, 952-964, 2005.
- Cho, W. S. and Cho, K. S. : Effect of Methyl *tert*-butyl ether and its metabolites on the microbial activity and diversity in tidal mud sediment. *Korea Journal of Microbiology and Biotechnology*. Inpress.
- Davis, L. C. and Ericson, L. E. : A review of bioremediation and natural attenuation of MTBE. *Environmental Process*, **23**, 243-252, 2004.
- Deeb, R. A., Hu, H. Y., Hanson, J.R., Scow, K. M., and Alvarez-Cohen, L. : Substrate interactions in BTEX and MTBE mixtures by an MTBE-degrading isolate. *Environmental Science & Technology*, **35**, 312-317, 2001.
- Felske, A. and Akkermans, A. D. L. : Spatial homogeneity of abundant bacterial 16S rRNA molecules in in glassland soils. *Microbial Ecology*, **36**, 31-36, 1998.
- Feris, K. P., Hristova, K., Gebreyesus, B., Mackay, D., and Scow, K. M. : A shallow BTEX and MTBE contaminated aquifer supports a diverse microbial community. *Microbial Ecology*, **48**, 589-600, 2004.
- Germion, F. A. and Chatzinotas, H. H. : Comparative 16S rDNA and 16s rRNA sequence analysis indicated tha Actinobacteria might be a dominant part of the metabolically active bacteria in heavy metal-contaminated bulk and rhizosphere soil. *Environmental Microbiology*, **10**, 869-907, 2003.
- Hong, S. H., Park, H. L., Ko, W., Yoo, J. J., and Cho, K. S. : Bioremediation of oil-contaminated soil using an oil-degrading rhizobacterium *Rhodococcus* sp. 412 and *Zea mays*. *Korea Journal of Microbiology and Biotechnology*, **35**, 150-157, 2007.
- Hyun, B. K., Jung, S. J., Song, K. C., Sonn, Y. K., and Jung, W. K. : Relationship Between Soil Water-Stable Aggregates and Physico-chemical Soil Properties, *Korea Journal of Soil Science Society*, **40**, 57-63, 2007.
- Jung, S. S. Y. : (A) Study on adsorption and diffusion transport of MTBE(Methyl tertiary butyl ether) into the soil. Pusan National University, Master degree's. 2004.
- Kim, J. G. and Lee, I. K. : A Survey and Some Heavy Metal Contents of Water and Rice in the Joenbuk Area of Korea. *Korea Journal of Environmental Health*, **32**, 556-559, 2006.
- Kim, Y. A., Lee, Y. H., Lee, D. S., and Seo, M. G. : Comparison of Venting Modes for Bench Scale Treatment of Diesel Contaminated Soil. *Korea Journal of Environmental Health*, **32**, 499-505, 2006.
- Kong, H. Y. and Cho, K. H. : Physicochemical Characteristics and Microbial Activity in the Various Urban Soils). *Korea Journal of Ecology*, **23**, 269-375, 2000.
- Lee, H. M., Kwon, G. S., Lee, J. B., and Lee, J. S. : Crude oil Degradation and Activity of Microorganism Isolated from Soil, *Journal of Environmental Research*, **1**, 129-138, 2001.
- Lin, K., Lee, Y., and Che., C. : Metal toxicity to *Chlorella pyrenoidosa* assessed by a short-term continuous test. *Journal of Hazardous Materials*, **142**, 236-241, 2007.
- Na, Y. E., Bang, H. S., Kim, M. H., Lee, J. T., Ahn, Y. J., and Yoon, S. T. : Toxicity of Organic Waste-contaminated Soil on Earthworm (*Eisenia fetida*), *Korean Society of Soil Science and Fertilizer*, **40**, 51-56, 2007.
- Perez-de-Mora, A., Burgos, P., Madejon, E., and Schlöter, M. : Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals; effects of plant growth and different amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, **38**, 327-341, 2006.
- Savolainen, H., Pfaffli, P., and Elovaara, E. : Biochemical effects of MTBE in extended vapor exposure in rats. *Archives of Toxicology*, **57**, 1995.
- Shen, G., Lu, Y. Zhou, Q. and Hong, J. : Interaction of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals on soil enzyme. *Chemosphere*, **61**, 1175-1182, 2005.
- Squillace, P. J., Pankow, J. K., Kortjes, N. E., and Zoborski, J. S. : Review of the environmental behavior and fate of MTBE. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**, 1836-1844, 1997.
- Yoon, B. J., Kim, S. H., Lee, D. H., and Kang, H. I. : Evaluating the Impacts of Long-Term Use of Agricultural Chemicals on a Soil Ecosystem by Structural Analysis of Bacterial Community. *Korea Journal of Microbiology and Biotechnology*, **39**, 260-266, 2003.
- Yun, J. K., Lee, M. H., and Yang, C. S. : A Case Study of Monitored Natural Attenuation at the Petroleum Hydrocarbon Contaminated Site. *Korea Journal of Soil and Groundwater Environment*, **9**, 38-48, 2004.