하천 저질에서 분리한 Formaldehyde 분해 미생물의 특징

김영목 · 이은우[1] · 김수정[2] · 이명숙[2]*
부경대학교 식품공학과, [1]동의대학교 생명응용학과, [2]부경대학교 미생물학과

Characterization of Formaldehyde-degrading Bacteria Isolated from River Sediment

Young-Mog KIM, Eun-Woo LEE[1], Su-Jeung KIM[2] and Myung-Suk LEE[2]*
Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
[1]Department of Life Biotechnology, Dongeui University, Busan 614-714, Korea
[2]Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

A bacterium growing on formaldehyde as a sole carbon source was isolated by the dilution method from an enrichment culture containing formaldehyde. The isolated strain, YK-32, was identified as *Pseudomonas* sp. by morphological, biochemical, and genetic analyses. *Pseudomonas* sp. YK-32 completely degraded 0.05% formaldehyde within 24 hrs. The isolated strain had a high level of formaldehyde dehydrogenase activity, which is thought to be one of the important factors for formaldehyde degradation, when cells were cultivated in the presence of formaldehyde.

Key words: Bioremediation, Formaldehyde, Formaldehyde dehydrogenase

서 론

많은 현대인들은 사무실, 가정 등의 실내생활공간에서 오랜 시간 생활하게 되는데 일반적으로 실내공기 중에는 일산화탄소, formaldehyde, 부유분진, 질소산화물 등의 여러 가지 오염물질들이 실외보다 높은 수준으로 존재한다 (Lee, 1997). 근래에 들어 각종 건축 및 설비 자재 제조과정에서 유입된 유해물질들이 증기 및 가스의 형태로 장기간 지속적으로 실내공기를 오염시키며, 각종 산업현장에서도 이러한 유해물질이 작업자의 건강에 미치는 영향이 증가하고 있다 (Karlsson and Huber, 1996). 특히, 이와 같은 실내오염인자들 중에서 발암성 및 자극성을 띤 formaldehyde의 유해성이 알려지면서 주요 관리대상으로 다루어지고 있다 (Schoenberg and Mitchell, 1975). Formaldehyde는 물에 잘 용해되는 무색의 자극성 기체 상태의 물질로 250-300℃ 상태에서 공기와 메탄올을 Cu 또는 Ag망 촉매에 통과시킴으로써 제조된다. 이러한 formaldehyde는 주로 일반 주택 및 공공건물에 많이 사용되는 단열재용 건설 재료, 접착제, 장식용 판, 가스난로의 연소과정, 흡연 등을 통해 발생되는 것으로 보고되고 있다 (Shim and Kim, 2006). Formaldehyde는 건축물과 관계된 질병의 직접적인 원인물질로서, 그 농도가 1 ppm 또는 그 이상에서 눈, 코, 목의 이상 증상을 초래하는 것으로 보고되어지고 있으며 (Schoenberg and Mitchell, 1975), 두통, 어지러움, 눈물을 흘리게 되고 장기간 노출된 경우는 피부에 알레르기성 접촉성 피부염 및 습진을, 호흡기에는 기침, 천식, 가래, 만성기관지염 등을 일으키며, 생식기에 대한 영향으로는 자연유산과 저체중아 출산, 임신 중독증 등을 유발하게 된다 (Shim and Kim, 2006). 현재 우리나라에서는 1998년도 대기환경보전법 개정시 formaldehyde를 특정 대기유해물질로 확대 지정했으며 대기 환경보전법상 formaldehyde의 배출허용기준을 모든 배출시설에 대해 2 ppm 이하로 규정하고 있다. 그러나 이러한 규제조치에도 불구하고 밀폐된 작업장과 실내생활공간에서의 formaldehyde에 대한 노출이 빈번히 발생하고 있다 (Shim and Kim, 2006). 현재 유기독성 물질로 오염된 지역의 환경친화적인 복원 방법으로는 미생물 또는 산화제 등을 이용하여 유기독성물질을 분해하여 최종적으로 물과 CO_2로 광물화시키는 분해적 방법 (degradative process)과 산화환원효소 및 catalytic agents를 이용하여 유기독성물질을 oxidative coupling을 통해 polymer를 형성시키거나 humic 물질에 binding시켜 거의 영구히 고정화시켜 무독화 시키는 비분해적 방법 (non-degradative process)이 제시되고 있다. 이중 미생물 또는 미생물이 생산하는 효소를 이용한 생물학적 분해 방법 (bioremediation)이 보다 친환경적인 방법으로 여겨지고 있다 (Na et al., 2001; Kim et al., 2004; Choi et al., 2006; Kim et al., 2007).

본 연구에서는 작업장 및 실내 환경에서 가장 문제가 되고 있는 formaldehyde를 효과적으로 분해 할 수 있는 미생물을 이용한 친환경적인 분해 방법을 이용하여 formaldehyde에 오염된 작업장 및 실내 환경의 가능성 있는 환경 복원 기술을 제시하기 위하여 실시하였다. 이를 위해서 먼저 formaldehyde의 분해력이 높은 미생물의 분리를 시도하였고 그 후 분리된 균을 이용하여 formaldehyde에 대한 분해도를 조사하였다.

*Corresponding author: mslee@pknu.ac.kr

재료 및 방법

사용 균주 및 재료

Formaldehyde 분해능이 우수한 균주를 분리하기 위하여 10 g peptone, 5 g beef extract, 1 g K_2HPO_4, 5 g NaCl, 1 g formaldehyde 및 1 mL trace element [조성, L 당 0.5 g $B(OH)_3$, 0.04 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.2 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 및 0.04 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$]를 증류수 1 L에 녹인 배지를 증균용 배지로 사용하였다. 증균 배양 후 순수 분리를 위해 1 g glucose, 1 mL trace element를 증류수 1 L에 녹이고 여기에 0.04%의 formaldehyde를 첨가한 고체배지를 이용하였으며 formaldehyde는 여과멸균 (0.45 μm) 하여 첨가하였다 (Ryu et al., 1993).

균의 분리 및 배양

0.04% formaldehyde가 첨가된 50 mL의 분리배지에 부산시 기장군 기장읍 하천저질로부터 수집한 진흙을 1 g씩 넣어 30℃에서 3일간 배양한 후 적당히 희석하여 분리배지 plate에 도말하여 다시 30℃에서 3일간 배양하였다. 배양 후 생성된 다양한 colony를 0.04%의 formaldehyde가 첨가된 분해배지에 접종하여 30℃에서 3일간 배양한 후 증식 정도를 조사하여 formaldehyde 분해능이 우수한 균주를 분리하였다.

분리균의 동정

분리균은 형태학적 및 생화학적 분류와 16S rDNA 염기서열 분석을 통하여 동정하였다. Chromosomal DNA의 추출은 Berns and Thomas (1965)가 기술한 일반적인 방법에 따라 행하였고 DNA의 분리 및 조작에 사용한 시약 및 polymerase chain reaction (PCR)을 위한 시약들은 Takara사 (일본)와 Bioneer사 (한국)의 것을 사용하였다. 분리균의 16S rDNA를 증폭하기 위해 PCR 반응에 사용된 DNA oligonucleotide는 Bioneer 사에 의뢰하여 합성하였다. PCR 반응에 사용한 primer는 27f primer (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492r primer (5'-TACCTTGTTACGACTT-3')를 사용하였고 (Dunbar et al., 2000), PCR 반응은 다음의 조건으로 행하였다. 0.5 μL (2.5 U) Taq polymerase, 5 μL Taq polymerase buffer (×10), 4 μL 의 2.5 mM dNTP, 34.5 μL dH_2O에 20 pmol의 각 primer 2 μL와, 2 μL의 주형 DNA를 첨가하여 잘 혼합한 후 반응액을 94℃에서 30초 간 변성시켰다. 이를 55℃에서 30초 간 annealing 한 후 72℃에서 1분 간 polymerization 시키는 과정을 30회 반복 하였다. 이후 PCR 산물의 염기서열을 분석하였다. 염기서열의 상동성 검색은 basic local alignment search tool (http://www.ncbi.nim.nih.gov/BLAST)를 통하여 실시하였다.

분리 균에 의한 formaldehyde의 분해도 측정

분리된 균에 의한 formaldehyde의 감소는 균주를 일정 농도의 formaldehyde가 첨가된 분해배지에 접종하여 배양하면서 조사하였다. 일정한 시간 간격으로 배양액을 무균적으로 꺼내어 0.45 μm 여과막으로 여과한 후 acetylacetone method를 사용하여 다음과 같이 측정하였다. Nash reagent [조성, L당 30 g ammonium acetate, 0.4 mL acetylacetone 및 0.6 mL glacial acetic acid] 2 mL에 배양여액 0.1 mL를 첨가하여 60℃에서 5분 간 배양한 다음 증류수를 넣어 전체 양을 10 mL로 조절한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하여 formaldehyde 분해 정도를 조사하였다 (Lee, 1997).

분리 균주의 formaldehyde dehydrogenase 활성 측정

Formaldehyde의 분해에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려진 formaldehyde dehydrogenase 활성을 조사하였다. 분리된 세균의 formaldehyde dehydrogenase 활성을 알아보기 위해 먼저 조효소액를 준비하였다. 조효소액은 formaldehyde를 함유한 배지에서 배양한 균체를 원심 집균하고 100 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)로 세척하여 동일 buffer에 재현탁한 다음 초음파 세포 파쇄기 (Ultrasonics Ltd.; 영국)로 30초식 2회 파쇄한 후 12,000×g에서 원심분리하여 얻은 상징액을 0.2 μm filter로 여과한 액 (조효소액)을 사용하였다. 조효소액 500 μL에 100 μL의 12.5 mM NAD와 100 μL의 10 mM glutathione을 첨가하여 30초간 배양한 후 formaldehyde를 12.5 mM이 되도록 첨가하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 조효소액의 비활성 (specific activity, Unit)은 1분 안에 1 μmol의 NAD를 환원시킬 수 있는 효소의 양으로 정의하였고 Bradford법 (1976)으로 단백질 농도를 조사하였다.

균주의 증식에 따른 formaldehyde dehydrogenase 활성 측정

0.05%의 formaldehyde가 첨가된 분리배지에 분리균주의 전 배양액을 2% 농도로 접종하여 30℃에서 배양 하면서 일정한 시간마다 배양액을 꺼내어 sonication한 조효소액의 효소 활성을 측정하였다 (Dorsev and Actis, 2003).

결과 및 고찰

Formaldehyde 분해균의 분리

부산시내에 소재하고 있는 하천, 폐수처리장 등에서 저질을 채취하여 0.1% formaldehyde가 첨가된 액체배지에서 집식 배양한 배양액 0.1 mL을 0.04% formaldehyde를 함유하고 있는 고체배지에 도말한 후, 증식이 가능한 균주를 일차적으로 분리하였으며, 이들 중 상대적으로 빠른 증식도가 관찰된 균주 YK-32를 분리하였다. YK-32 균주는 부산시 기장군 기장읍 인근의 하천 저질에서 분리된 균주로 그람염색에서 그람 음성이었고, 간균 (0.9×0.5 μm)으로 조사되었다 (Fig. 1). 분리균 YK-32는 분리배지에 30℃로 배양시 약 3일 만에 지름 0.5-0.7 mm 가량의 엷은 갈색의 원형 콜로니의 형태를 나타내었다.

Formaldehyde 분해균의 동정

분리된 균주를 동정하기 위하여 Biomerieux (France)의 Vitex system을 이용하여 생화학적인 특성 (Table 1)과 PCR을 이용한 16S rDNA 염기서열 분석의 상동성을 분석을 병행하였다 (Table 2). 분리균의 16S rDNA의 염기서열은 *Pseudomonas*

Fig. 1. Scanning electron micrograph of *Pseudomonas* sp. YK-32. Bar indicates 1 μm.

Table 1. Biochemical characteristics of *Pseudomonas* sp. YK-32 using Bio-Merieux VITEX kit. +, positive result or growth; −, negative result or no growth

Medium	Result	Medium	Result
DP-300	+	Raffinose	−
Glucose	+	Sorbitol	−
Growth control	+	Sucrose	−
Acetamide	−	Inositol	−
Esculin	−	Adonitol	−
Plant indican	−	*p*-Coumaric	−
Urea	−	H_2S	−
Citrate	+	ONPG fermentation	−
Malonate	−	RHA	−
Tryptophan	−	L-arabinose	−
Polymicine B	−	Glucose fermentation	−
Lactose	−	Arginine	−
Maltose	−	Lysine	−
Manitol	−	Ornithine	−
Xylose	+	Oxidase	−

sp. Z64-1zhy (accession no. AM411070), *Pseudomonas* sp. Z62-zhy (accession no. AM410621) 등의 Pseudomonas 속에 속하는 균주들과 100%의 상동성을 나타내었다(Table 2). 이러한 결과로부터 분리 선발된 균주는 *Pseudomonas* sp.에 속하는 것으로 판단되어 *Pseudomonas* sp. YK-32로 명명하고 본 실험에 사용하였다. 최근에 물이나 토양 등의 자연계에 폭 넓게 존재하는 것으로 알려져 있는 *Pseudomonas* 속의 여러 균주가 생물학적 분해(bioremediation) 측면에서 그 활용성이 연구되고 있으며 특히 benzene, toluene 및 xylene과 같은 방향족 화합물질을 분해할 수 있는 것으로 보고되고 있다(Ryu et al., 1993; Na et al., 2001; Kim et al., 2007). 이러한 특성은 분리균 *Pseudomonas* sp. YK-32을 이용하여 VOCs (volatile organic compounds) 등의 난분해성 유해물질을 제어할 수 있음을 의미한다.

Pseudomonas sp. YK-32에 의한 formaldehyde의 분해

분리균 *Pseudomonas* sp. YK-32에 의한 formaldehyde 제거 양상을 배양시간별로 관찰하였다. Formaldehyde 초기농도를 약 0.04%로 조절한 배지에 YK-32를 접종하여 배양했을 때 균의 증식이 되면서 formaldehyde가 급격히 분해되어 배양 24시간 만에 formaldehyde가 완전히 분해되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이러한 결과는 분리균 YK-32가 formaldehyde를 에너지원 즉 탄소원으로 이용하여 균 증식에 이용한다는 것을 의미한다.

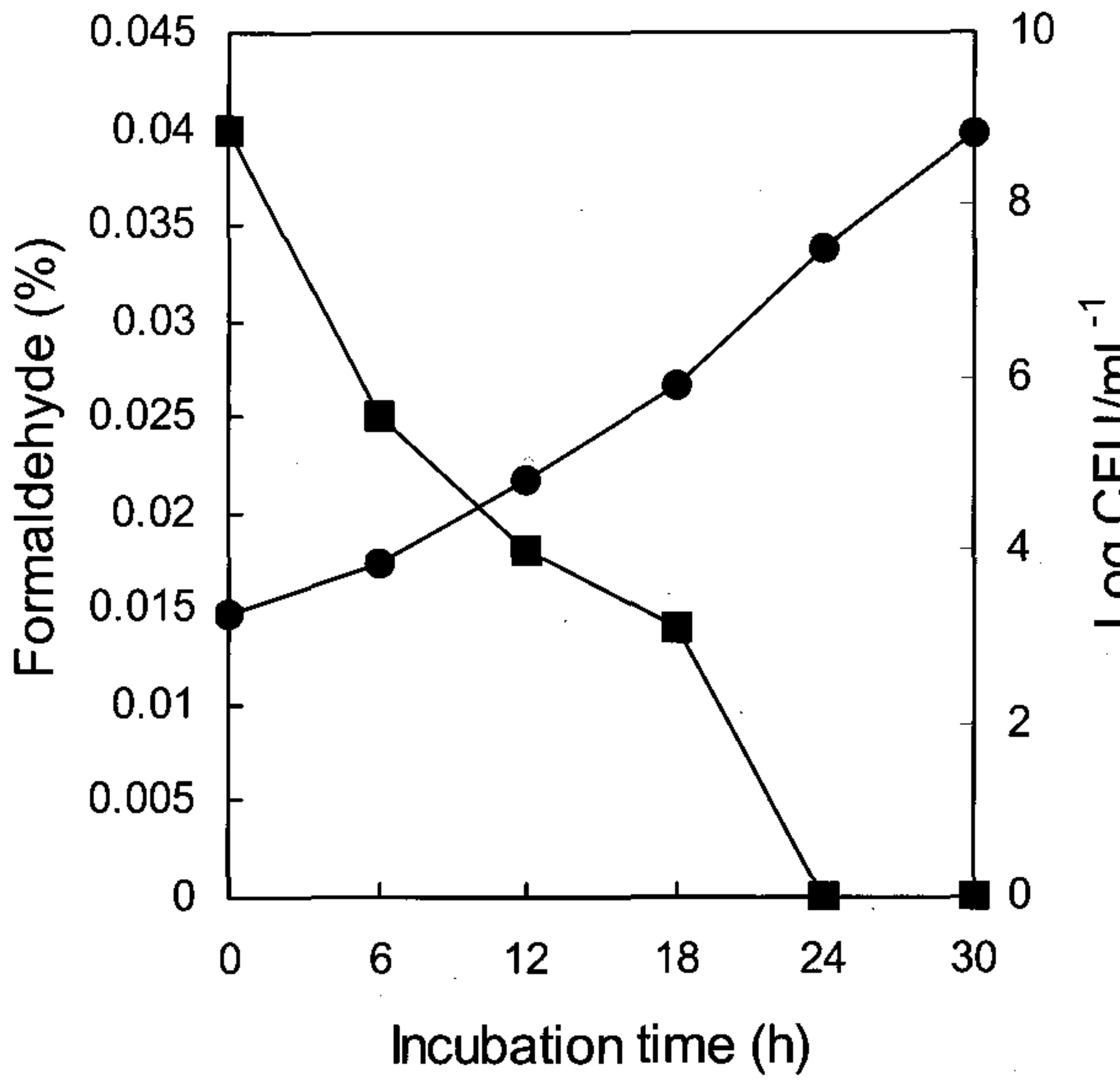

Fig. 2. Formaldehyde degradation by *Pseudomonas* sp. YK-32. Cells were cultured at 30℃ in the presence of 0.04% formaldehyde. -■-, formaldehyde concentration; -●-, viable cell count. Data are the average of duplicate experiments.

Pseudomonas sp. YK-32의 formaldehyde dehydrogenase 활성 측정

세포내에서 formaldehyde는 formaldehyde dehydrogenase의 분해작용에 의해 formate로 전환되고 formate는 다시 formate dehydrogenase의 작용에 의하여 CO_2로 분해되는 것으로 알려져 있다(Dorsev and Actis, 2003). 따라서 분리균 YK-32균주에 의해 formaldehyde가 분해된다는 결과를 보다 정확하게 판단하기 위하여 0.04%의 formaldehyde를 함유하고 있는 배지에서 *Pseudomonas* sp. YK-32를 배양하면서 배양시간에 따른 formaldehyde dehydrogenase 효소활성의 변화를 조사하였다. 그 결과 배양시간에 따른 formaldehyde dehydrogenase 활성의 변화가 관찰되어, 배양시간에 따른 활성의 증가가 관찰 되었다(Table 3). 배양 48시간째에 28.3 Unit의 가장 높은 활성이 관찰되었다. 조효소액의 효소활성은 배양 48시간에 최대 활성에 도달한 후 일정하게 유지된 후 감소되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 formaldehyde가 분리균 YK-32가 가지고 있는 formaldehyde dehydrogenase의 작용에 의해 세포내에서 분해되어 에너지 대사를 거친 후에 최종적으로 CO_2의 형태로 광분해 되는 것을 의미한다. Formaldehyde의 분해에 관여하는 formaldehyde dehydrogenase는 세균에서부터 동물세포에 이르기까지 생체내에 폭 넓게 존재하는 효소로 많은 세균에서도 formaldehyde dehydrogenase의 존재가 보고 되어져 왔다

Table 2. 16S rDNA partial sequence (1,301 bp) and identification of the isolated strain YK-32 by homology search based on 16S rDNA. The PCR was performed as described under Materials and Methods. The sequence data was analyzed via ribosomal database (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST)

1	AGAGTTTGAT	CCTGGCTCAG	ATTGAACGCT	GGCGGCAGGC	CTAACACATG	CAAGTCGAGC	60
61	GGATGACGGG	AGCTTGCTCC	TTGATTCAGC	GGCGGACGGG	TGAGTAATGC	CTAGGAATCT	120
121	GCCTGGTAGT	GGGGGACAAC	GTTTCGAAAG	GAACGCTAAT	ACCGCATACG	TCCTACGGGA	180
181	GAAAGCAGGG	GACCTTCGGG	CCTTGCGCTA	TCAGATGAGC	CTAGGTCGGA	TTAGCTAGTT	240
241	GGTGGGGTAA	TGGCTCACCA	AGGCGACGAT	CCGTAACTGG	TCTGAGAGGA	TGATCAGTCA	300
301	CACTGGAACT	GAGACACGGT	CCAGACTCCT	ACGGGAGGCA	GCAGTGGGGA	ATATTGGACA	360
361	ATGGGCGAAA	GCCTGATCCA	GCCATGCCGC	GTGTGTGAAG	AAGGTCTTCG	GATTGTAAAG	420
421	CACTTTAAGT	TGGGAGGAAG	GGCAGTAAGC	TAATACCTTG	CTGTTTTGAC	GTTACCGACA	480
481	GAATAAGCAC	CGGCTAACTC	TGTGCCAGCA	GCCGCGGTAA	TACAGAGGGT	GCAAGCGTTA	540
541	ATCGGAATTA	CTGGGCGTAA	AGCGCGCGTA	GGTGGTTTGT	TAAGTTGGAT	GTGAAAGCCC	600
601	CGGGCTCAAC	CTGGGAACTG	CATCCAAAAC	TGGCAAGCTA	GAGTACGGTA	GAAGGTGGTG	660
661	GAATTTCCTG	TGTAGCGGTG	AAATGCGTAG	ATATAGGAAG	GAACACCAGT	GGCGAAGGCG	720
721	ACCACCTGGA	CTGATACTGA	CACTGAGGTG	CGAAAGCGTG	GGGAGCAAAC	AGGATTAGAT	780
781	ACCCTGGTAG	TCCACGCCGT	AAACGATGTC	AACTAGCCGT	TGGAATCCTT	GAGATTTTAG	840
841	TGGCGCAGCT	AACGCATTAA	GTTGACCGCC	TGGGGAGTAC	GGCCGCAAGG	TTAAAACTCA	920
921	AATGAATTGA	CGGGGGCCCG	CACAAGCGGT	GGAGCATGTG	GTTTAATTCG	AAGCAACGCG	980
981	AAGAACCTTA	CCAGGCCTTG	ACATGCAGAG	AACTTTCCAG	AGATGGATTG	GTGCCTTCGG	1040
1041	GAACTCTGAC	ACAGGTGCTG	CATGGCTGTC	GTCAGCTCGT	GTCGTGAGAT	GTTGGGTTAA	1100
1101	GTCCCGTAAC	GAGCGCAACC	CTTGTCCTTA	GTTACCAGCA	CGTTATGGTG	GGCACTCTAA	1160
1161	GGAGACTGCC	GGTGACAAAC	CGGAGGAAGG	TGGGGATGAC	GTCAAGTCAT	CATGGCCCTT	1220
1221	ACGGCCTGGG	CTACACACGT	GCTACAATGG	TCGGTACAGA	GGGTTGCCAA	GCCGCGAGGT	1280
1281	GGAGCTAATC	TCACAAAACC	GATCGTAGTC	C 1301			

Reference (accession no.)	Identity (%)
Pseudomonas sp. Z64-1zhy (AM411070)	100
Pseudomonas sp. Z62zhy (AM410621)	100
Pseudomonas sp. J19 (DQ127530)	100
Pseudomonas sp. BCNU171 (DQ229316)	100

Table 3. Formaldehyde dehydrogenase activity according to the growth of *Pseudomonas* sp. YK-32. Cells were cultured at 30℃ in the presence of 0.04% formaldehyde

Incubation time (hr)	Cell growth at OD_{600}	Protein concentration (μg/mL)	Specific activity (Unit)
24	0.538	972.6	23.2
30	0.775	2,207.8	27.2
48	1.356	3,588.0	28.3
60	1.393	3,569.5	28.1
72	1.471	3,357.0	26.9

(Kaulfers and Marquardt, 1991; Ito et al., 1994; Echenique et al., 2001). 본 연구에서 분리된 YK-32 균이 포함되는 *Pseudomonas* 속의 속한 세균 중에는 *Pseudomonas pudita* FDH 라는 균주가 formaldehyde dehydrogenase 활성을 가지고 있는 것으로 보고되었다 (Ito et al., 1994). 하지만, 두 균주에 의해 생산하는 formaldehyde dehydrogenase는 아주 큰 차이점이 있다. *Pseudomonas* sp. YK-32가 생산하는 formaldehyde dehydrogenase의 경우 촉매작용을 하기 위해서 glutathione을 필요로 하지만 *Pseudomonas pudita* FDH의 formaldehyde dehydrogenase는 glutathione 비의존적인 효소이다 (Ito et al., 1994). 또한, 효소 활성도 *Pseudomonas* sp. YK-32가 생산하는 formaldehyde dehydrogenase (비활성 28.3 U)가 *Pseudomonas pudita* FDH의 formaldehyde dehydrogenase (비활성 7.0 U) 보다 상대적으로 더 높았다 (Ito et al., 1994). 현재, 분리균 *Pseudomonas* sp. YK-32에 의한 formaldehyde 분해반응의 기구를 효소학적 측면에서 조사하기 위하여 분리균으로부터 formaldehyde dehydrogenase 유전자 및 관련 유전자의 cloning을 시도하고 있다.

사 사

이 논문은 2007년도 NURI 사업 (해양바이오식의약 전문인력양성사업)의 지원에 의하여 게재된 논문으로 연구비 지원에

감사드립니다.

참 고 문 헌

Berns, K.I. and C.A. Thomas. 1965. Isolation of the high molecular DNA from *Haemophilus influenzae*. J. Mol. Biol., 11, 476-490.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72, 248-254.

Choi, J.H., T.K. Kim, Y.M. Kim, W.C. Kim, K. Park and I.K. Rhee. 2006. Cloning and characterization of a gene cluster for cyclohexanoneol oxidation in *Rhodococcus* sp. TK6. J. Microbiol. Biotechnol., 16, 511-518.

Dorsev, C.W. and L.A. Actis. 2003. Analysis of pVU3695, a plasmid encoding glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase activity and formaldehyde resistance in the *Escherichia coli* VU3695 clinical strain. Plasmid, 51, 116-126.

Dunbar, J., L.O. Ticknor and C.R. Kuske. 2000. Assessment of microbial diversity in four southwestern United States soils by 16S rRNA gene terminal restriction fragment analysis. Appl. Environ. Microbiol., 66, 2943-2950.

Echenique, J.R., C.W. Dorsey, L.C. Patrito, A. Petroni, M.E. Tolmasky and L.A. Actis 2001. *Acinetobacter baumannii* has two genes encoding glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase: evidence for differential regulation in response to iron. Microbiology, 147, 2805-2815.

Ito, K., M. Takahashi, T. Yoshimoto and D. Tsuru. 1994. Cloning and high-level expression of the glutathione-independent formaldehyde dehydrogenase gene from *Pseudomonas putida*. J. Bacteriol., 176, 2983-2941.

Karlsson, E. and U. Huber. 1996. Influence of desorption on the indoor concentration of toxic gases. J. Hazard. Mater., 49, 15-27.

Kaulfers, P.M. and A. Marquardt. 1991. Demonstration of formaldehyde dehydrogenase activity in formaldehyde-resistant *Enterobacteriaceae*. FEMS Microbiol. Lett., 63, 335-338.

Kim, Y.M., K. Park, G.J. Joo, E.M. Jeong, J.E. Kim and I.K. Rhee. 2004. Glutathione-dependent biotransformation of the fungicide chlorothalonil. J. Agric. Food Chem., 52, 4192-4196.

Kim, Y.M., K. Park, G.J. Joo, E.M. Jeong, J.E. Kim and I.K. Rhee. 2007. Cloning and characterization of a catechol-degrading gene cluster from 3,4-dichloroaniline degrading bacterium *Pseudomonas* sp. KB35B. J. Agric. Food Chem., 55, 4722-4727.

Lee, S.I. 1997. A study on airborne concentration of formaldehyde in underground environments in Taegu city. J. Kor. Soc. Environ. Admin., 3, 49-66.

Na, K., S. Kim, M. Kubo and S. Chung. 2001. Cloning and phylogenetic analysis of two diferent bphC genes and bphD gene from PCB-degrading bacterium, *Pseudomonas* sp. strain SY5. J. Microbiol. Biotechnol., 11, 668-676.

Ryu, B.H., B.G. Lim, D.S. Kim and Y.D. Weon. 1993. Continuous degradation of formaldehyde by *Pseudomonas putida* H-5 using rotating disc contactor. Kor. J. Biotechnol. Bioeng., 8, 42-48.

Schoenberg, J.B. and C.A. Mitchell. 1975. Airway disease caused by phenolics (phenol-formaldehyde) resin exposure, Arch. Environ. Health, 30, 572-577.

Shim, S.H. and Y.S. Kim. 2006. Characterization and assessment of indoor air quality in newly constructed apartments-volatile organic compounds and formaldehyde. Kor. J. Environ. Health, 32, 275-281.

2008년 1월 2일 접수
2008년 3월 31일 수리