

Trametes versicolor에 의한 Bisphenol A 생분해의 최적조건

강애리 · 최형태 · 송홍규*

강원대학교 자연과학대학 생명과학부, 강원대학교 생명과학연구소

국내에서 분리된 구름버섯(*Trametes versicolor*)에 의한 내분비계 장애물질 bisphenol A의 생분해 효율을 높이기 위하여 그 생분해 최적조건을 조사하였다. *T. versicolor*는 Yeast extract-Malt extract-Glucose (YMG) 배지에서 12 시간 이내에 50 mg/L bisphenol A를 100% 생분해하며, 5일 동안 선배양 시에는 2시간 이내에 100% 제거하였다. Bisphenol A의 농도가 낮을수록, 온도는 35°C, pH 6에서 생분해율이 가장 높았으며 교반의 영향은 크지 않았다. 최소배지에서는 생분해율이 약간 낮았지만 최적조건은 YMG 배지에서와 유사하였다. 생분해에 관여하는 리그닌 분해효소 laccase의 mediator인 ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt]를 최소 배지에 첨가할 경우 bisphenol A의 생분해가 촉진되었다. 접종물 중 배양 상등액에 대한 균체량의 비율이 높을수록 생분해율이 증가하였는데 그 비율이 50%일 때 폐수에 첨가한 50 mg/L의 bisphenol A가 4일째에 100% 분해되었다. YMG 배지에서 bisphenol A의 생분해에 따라 내분비계 장애효과를 나타내는 에스트로겐 활성은 감소하였다.

Key words □ biodegradation, bisphenol A, estrogenic activity, *Trametes versicolor*

인간을 포함한 많은 동물의 내분비계 기능을 방해하는 것으로 알려진 내분비계 장애물질은 근래 들어 다양한 종류가 지속적으로 자연계에 유입되어 잠재적인 영향이 매우 심각한 문제로 대두되고 있어 그에 따른 연구가 광범위하게 이루어지고 있다(11). 상당수의 내분비계 장애물질은 여성호르몬인 에스트로겐과 유사한 작용을 하여 정상적인 스테로이드 호르몬 수용체와 결합하는 것을 방해한다(6, 19). 내분비계 장애물질 중의 하나인 bisphenol A는 polycarbonates, epoxy resins, phenol resins, polyesters 그리고 polyacrylates의 합성을 위한 재료물질로 사용되는데(3), 두 개의 고리가 연결되어 있는 매우 안정된 구조로 자연적인 분해가 잘 일어나지 않는다. Bisphenol A를 분해한다고 알려진 여러 미생물이 있지만 목재를 분해시키는 담자균류에 속하는 백색부후균(white rot fungi)이 난분해성 물질을 CO₂로 완전히 분해시킬 수 있는 것으로 주목을 받고 있다(5, 20). 백색부후균이 분비하는 리그닌 분해효소가 bisphenol A 분해에 주요 효소로 작용하는데 대표적인 리그닌 분해효소로는 lignin peroxidase (LiP), manganese dependent peroxidase (MnP), laccase 등이 있다(16). 이 리그닌 분해효소들에 의한 분해는 선택적 분해작용을 하는 세균과는 달리 다양한 범주의 난분해성 화합물을 동시에 비특이적으로 분해할 수 있으며, 대상물질이 아닌 영양물질의 고갈에 의해 효소가 유도되므로 이를 환경에 응용하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(4).

본 연구에서는 국내에서 분리된 백색부후균 *Trametes*

*versicolor*을 대상으로 최적 분해조건을 조사하고, 분해활성이 우수한 방법을 조사하여 bisphenol A의 생분해능을 증가시키고자 하였으며, bisphenol A의 생분해에 따른 에스트로겐 활성(estrogenic activity)의 감소를 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양 조건

실험에 사용된 균주인 구름버섯 *Trametes versicolor* 951007-22-5 monokaryon 균주는 강원대학교 생명과학부 미생물생리학실험실에서 분양받았다. *T. versicolor*는 Potato Dextrose Agar (PDA, Difco Lab., USA) 배지에 접종하여 균사체가 평판배지 끝까지 성장하는 약 7일간 30°C에서 배양하였다. PDA 평판배지에서 자란 균주를 마쇄기로 마쇄한 후 YMG (4 g/L Yeast extract, 10 g/L Malt extract, 4 g/L Glucose) 액체배지에 접종하고 30°C 130 rpm에서 5일간 배양하였다. 이 선배양된 균주는 원심분리 (6,140×g, 30 min)하여 균사체를 상등액의 10% (v/v)로 맞춘 뒤 20 ml의 YMG 배지 또는 최소배지 [glucose 10 g/L, KH₂PO₄ 1 g/L, K₂HPO₄ 1 g/L, (NH₄)₂PO₄ 3 g/L, MgSO₄ 0.3 g/L, CaCl₂ 0.1 g/L]에 0.5 ml 접종하여 일정기간 진탕배양하였다.

Bisphenol A 분해의 최적조건

*T. versicolor*를 YMG 배지와 최소배지에 접종한 직후 bisphenol A를 첨가하여 일정 시간 배양한 후, 잔류 bisphenol A를 추출하여 분해능을 비교하였다. 또한 YMG 배지와 최소배지에서 균주를 일정 시간 선배양한 후 bisphenol A를 첨가하고 배

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-33-250-8545, Fax: 82-33-251-3990
E-mail: hgsong@kangwon.ac.kr

양하여 bisphenol A의 생분해 정도를 비교하였다. Bisphenol A의 농도(1, 25, 50, 100 mg/L), 온도(25, 30, 35, 40°C), 배지 초기 pH (4, 5, 6, 7, 8), 교반속도(정지, 80, 130, 200 rpm), 접종물의 선배양 시간(5, 7, 9, 11, 13, 15일)을 달리하고 또한 리그닌 분해효소인 laccase의 mediator인 ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt] 200 μ M과 HBT [1-hydroxy-benzotriazole] 200 μ M을 첨가하여 *T. versicolor*에 의한 bisphenol A의 분해율을 분석하였다.

Bisphenol A (50 mg/L)가 포함된 춘천 하수종말처리장 유입수에 최소배지의 영양분을 첨가하고 *T. versicolor*의 균사체와 상등액의 비율을 10, 20, 30, 40, 50% (v/v)로 달리하여 접종한 후 6일 동안의 분해율을 조사하였다. 폐수는 여과지와 여과막으로 여과하여 다른 미생물에 의한 bisphenol A의 분해를 배제시켰다.

Bisphenol A 추출과 분석방법

분해실험에 사용되었던 bisphenol A가 첨가되었던 배양체를 마쇄기로 1분간 마쇄한 후 10 ml의 methylene chloride를 넣고, extraction shaker (Recipro shaker RS-1, JEIO TECH)에서 300 rpm으로 30분간 잔류 bisphenol A를 추출한 후 원심분리(4°C, 6,140×g, 30 min)를 통해 유기용매층만을 분리하였다. 분리된 유기용매에서 기체크로마토그래프(GC)를 이용하여 bisphenol A의 잔존량을 분석하였으며 GC의 운전조건은 다음과 같다. 영린 GC (M600D, 영린기기, Korea) column, HP-1 (15 m×0.53 mm×5.0 μ m); injector, 275°C; oven, 270°C; detector, 280°C. Chromatogram의 수집과 처리는 Autochro-Win (영린기기, Korea)을 사용하였다.

에스트로겐 활성 측정

*T. versicolor*에 의한 bisphenol A 생분해 과정에서 에스트로겐 활성의 변화는 Nishikawa 등(1999)에 의해 개발된 yeast two-hybrid assay system을 이용하여 측정하였다. Bisphenol A가 첨가된 *T. versicolor* 배양액을 원심분리(6,140×g, 30 min)하여 상등액을 회수하였다. SD 배지[minimal SD base (Clontech, USA) 27.6 g⁻¹, DO Supplement (Clontech, USA) 0.64 g⁻¹]에서 12시간 배양한 yeast transformant Y 190 (200 μ l)를 상등액(12 μ l)이 포함된 SD 배지(800 μ l)에 첨가하고 이 혼합액을 4~12시간(30°C, 150 rpm) 동안 배양한다. 배양된 혼합액 400 μ l를 원심분리(387×g, 2 min)하여 회수된 yeast pellets을 800 μ l의 Z-buffer [0.1 M sodium phosphate (pH 7.0), 10 mM KCl, 1 mM MgSO₄, 0.001% sodium dodecyl sulfate]에 재현탁하면서 16 μ l의 chloroform을 첨가하여 15분 동안 30°C에서 반응시켰다. 시료에 4 mg/ml *o*-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside (160 μ l)를 첨가하여 8시간 이상 반응시킨 후 1 ml의 1 M Na₂CO₃를 첨가하였다. 시료에 나타난 노란색의 β -galactosidase activity는 분광광도계를 이용하여 420/550 nm에서 측정하였다(14).

모든 실험은 triplicate로 수행하였으며 결과는 그 평균치로 나타내었고 편차는 error bar로 표시하였다.

결 과

YMG 배지 내 bisphenol A의 생분해 최적조건

YMG 배지에 *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 넣어 6시간 간격으로 bisphenol A의 잔존량을 조사하였다. 그 결과 *T. versicolor*는 12시간 이내에 bisphenol A를 100% 분해시켰다. YMG 배지에 *T. versicolor*를 접종하여 5일 동안 선배양한 후 bisphenol A 50 mg/L를 첨가한 결과 *T. versicolor*는 bisphenol A를 1시간 동안 56.1%, 2시간에는 100% 분해하였다. Bisphenol A를 1, 25, 50, 100 mg/L의 농도로 첨가하여 생분해율을 조사하였을 때, 6시간 동안 각각 95.7, 56.6, 4.3, 0%의 분해를 나타내었으며 12시간째에는 모든 농도에서 거의 다 제거되었다(Fig. 1). *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 넣고 온도조건을 달리하였을 때 12시간 배양 후 35°C에서 100% 제거되어 분해율이 가장 우수하였다(Fig. 2). YMG 배지의 초기 pH를 달리하여 *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 첨가하여 12시간 배양하였을 때 초기 pH 6에서 bisphenol A가 91% 제거되어 분해율이 가장 우수하였다(Fig. 3). 교반의 영향은 그리 크지 않아 12시간 경과 후 정지배양은 99.4%, 진탕배양은 95.4~98.8%의 분해를 나타내었다. YMG 액체배

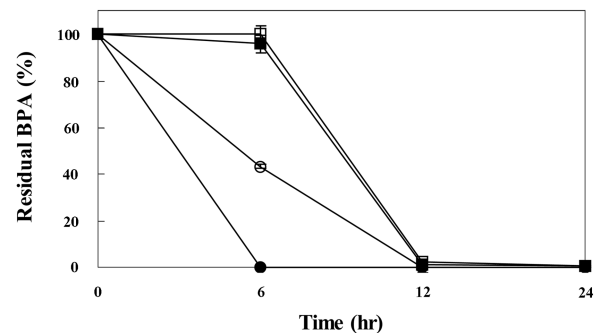


Fig. 1. Degradation of different concentration of bisphenol A (BPA) in YMG medium by *T. versicolor*. Symbols: (●) 1 mg/L (○) 25 mg/L (■) 50 mg/L (□) 100 mg/L

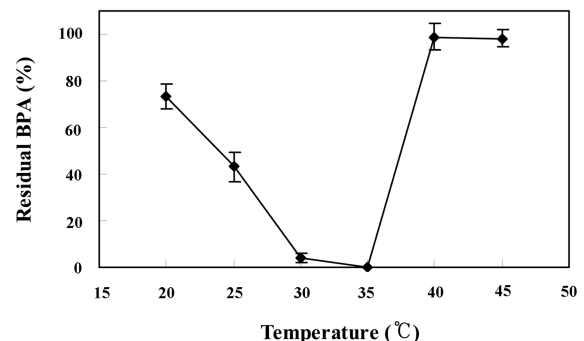


Fig. 2. Degradation of 50 mg/L bisphenol A (BPA) by *T. versicolor* in 12 hr at different temperature when the fungal inocula were added with BPA into YMG medium.

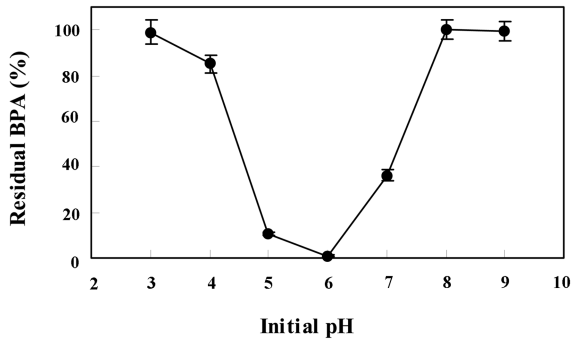


Fig. 3. Degradation of 50 mg/L bisphenol A (BPA) by *T. versicolor* in 12 hr when the fungal inocula were added with BPA into initial pH-adjusted YMG medium.

지에서 *T. versicolor*의 선배양 시간을 달리한 접종원이 생분해에 미치는 영향을 조사하였을 때 7일 선배양 균주 접종 시 bisphenol A가 6시간 만에 100% 분해되어 가장 높은 생분해율을 나타내었다(Fig. 4).

최소배지에서 bisphenol A 생분해 최적조건

최소배지에서 *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 첨가하였을 때 24시간에 49.4%, 36시간 이내에 100% 분해하였다. 그러나 *T. versicolor*를 5일 선배양한 후 bisphenol A 50 mg/L를 첨가한 결과 6시간 배양 이내에 bisphenol A가 100% 분해되었다. *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 넣어 온도와 pH가 bisphenol A 생분해에 미치는 영향을 조사하였을 때 30°C (Fig. 5)와 pH 6 (Fig. 6)에서 분해율이 가장 우수하였다. *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 넣은 후 ABTS 200 µM을 첨가한 경우에는 24시간 이내에 bisphenol A가 100% 분해되었으나 HBT는 24, 36, 48시간 동안 각각 25.2, 96.9, 100%로 mediator를 첨가하지 않았을 때와 비교하여 오히려 낮은 분해율을 보였다.

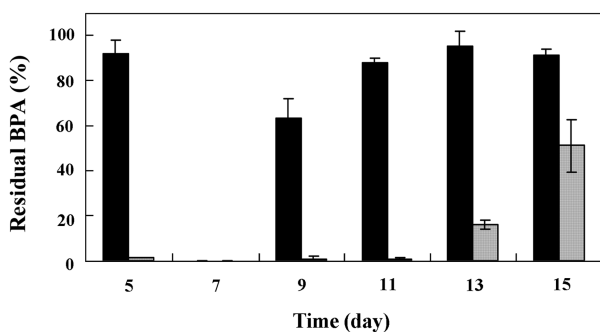


Fig. 4. Degradation of 50 mg/L bisphenol A (BPA) in YMG medium with *T. versicolor* inocula of different period of preincubation. Symbols: incubation time 6 hr (closed bar), 12 hr (hatched bar)

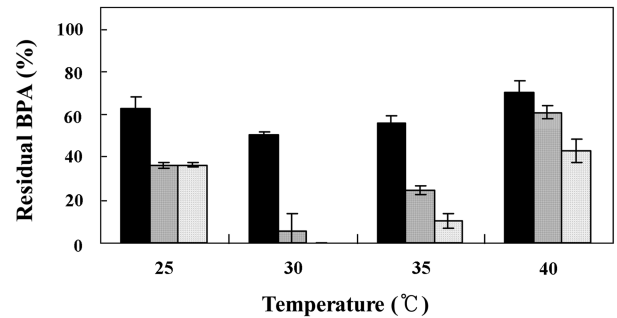


Fig. 5. Degradation of 50 mg/L bisphenol A (BPA) in a minimal medium by *T. versicolor* at different temperature. Symbols: incubation time 24 hr (closed bar), 36 hr (hatched bar), 48 hr (dotted bar)

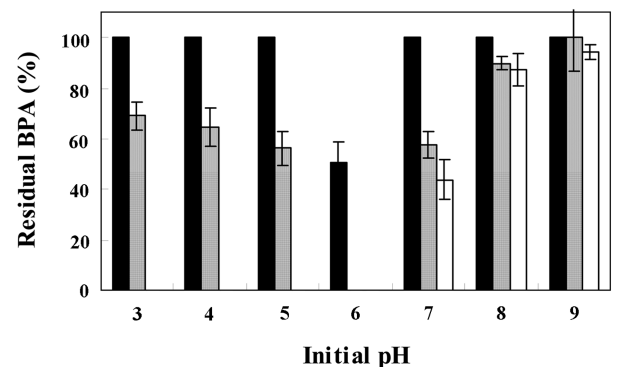


Fig. 6. Degradation of 50 mg/L bisphenol A (BPA) by *T. versicolor* when the fungal inocula were added with BPA into the initial pH-adjusted minimal medium. Symbols: incubation time 1 day (closed bar), 2 day (hatched bar), 3 day (open bar)

폐수에서의 bisphenol A의 생분해

폐수에 최소배지의 영양성분과 bisphenol A 50 mg/L를 첨가한 후 *T. versicolor* 접종물 중 마쇄된 균사체의 비율이 높을수록 bisphenol A의 제거능이 높아져서 50%의 경우 4일 이내에,

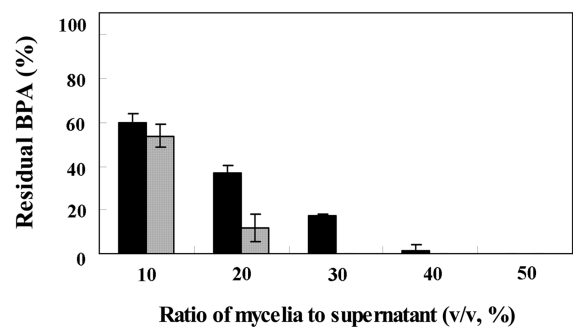


Fig. 7. Biodegradation of 50 mg/L bisphenol A (BPA) by different inocula of *T. versicolor* in the domestic wastewater containing nutrients of the minimal medium. Symbols: 4-day incubation (closed bar), 6-day incubation (hatched bar).

30%의 경우 6일 이내에 bisphenol A가 100% 분해되었다(Fig. 7).

생분해 시 에스트로겐 활성 감소

YMG 배지에서 bisphenol A의 생분해 시 yeast two-hybrid system (14)을 이용하여 에스트로겐 활성을 측정하였는데 1, 25, 50, 100 mg/L bisphenol A 농도에서 6시간째에 에스트로겐 활성이 각각 100, 63.5, 32.4, 15.3%, 12시간 반응 후에는 100, 89.1, 93.1, 62.5%가 각각 감소하였다.

고 찰

백색부후균 중 구름버섯 *Trametes versicolor*는 리그닌뿐만 아니라 다양한 난분해성 방향족 화합물을 효율적으로 분해한다고 보고된 바 있다(13). 본 연구에서 구름버섯 균주 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 첨가하였을 때 YMG 배지에서 *T. versicolor*는 12시간 이내에 bisphenol A를 100% 분해하였으며 최소배지에서는 36시간 이내에 bisphenol A가 100% 분해되었다. 영양물질이 풍부한 YMG 배지에서는 균주의 생장이 빠르기 때문에 최소배지에서보다 생분해율이 높았으며 동일한 현상이 여러 백색부후균에 의한 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) 분해에서도 나타났다(9). 접종과 동시에 bisphenol A를 첨가할 경우 bisphenol A의 독성으로 인하여 균주의 생장이 저해를 받을 수 있기 때문에 균주가 충분히 성장할 수 있도록 5일 선�배양 후 bisphenol A를 첨가할 때에는 YMG 배지에서는 2시간 만에, 최소배지에서는 6시간 이내에 100% 분해되었다. 선�배양 시 bisphenol A의 생분해가 증가되는 현상은 *Irpex lacteus*에서 보고된 바 있으며(18), 구름버섯을 포함한 여러 백색부후균에 의한 TNT 분해 시에도 나타났다(9). *Fusarium sporotrichioide* NFRI-1012에 의해 40 mg/L bisphenol A가 5일 만에 99% 이상 분해되었으며(2), 강에서 분리된 *Streptomyces* sp.은 1 mg/L bisphenol A를 10일 만에 90% 이상 분해하며(8), *Pleurotus ostreatus*는 91.2 mg/L bisphenol A를 12일 동안 80% 분해하였다(5). 이와 비교할 때 *T. versicolor*는 bisphenol A의 분해율이 매우 우수함을 알 수 있다.

백색부후균에 의한 bisphenol A의 생분해에 대한 최적 환경조건을 탐색하기 위해 온도, pH 및 교반 등을 달리하여 생분해율을 조사하였다. Bisphenol A는 농도가 높을수록 그 독성 때문에 생분해율이 감소하였는데 1 mg/L의 경우 6시간 이내에 100% 분해가 일어났으며 100 mg/L의 농도에서도 12시간 후에는 100% 제거되었다(Fig. 1). YMG 배지에서 온도조건을 달리하여 생분해에 미치는 영향을 조사한 결과 35°C에서 분해율이 가장 높게 나타났으며 30°C에서도 거의 유사하였다(Fig. 2). 반면에 최소배지에서는 30°C에서 생분해율이 가장 우수하였으며 35°C에서는 분해율이 30°C에 비해 약간 떨어졌다(Fig. 5). 백색부후균의 리그닌 분해효소인 laccase는 bisphenol A 생분해에 관여한다고 알려졌으며 45°C의 비교적 높은 온도에서 laccase에 의한 bisphenol A의 전환율이 가장 높은 것으로 보고되었는데(10), bisphenol A의 생분해에 있어 최소배지에 비해 짧은 시간 내에

분해가 일어나는 YMG 배지에서는 균체량에 의한 의존도보다는 분비된 laccase에 의존한 분해의 가능성이 높을 것으로 예상된다. 실제로 laccase 활성과 연관된 bisphenol A 분해의 영향을 조사하기 위하여 *T. versicolor*의 laccase 분비 활성이 매우 높은 시기인 배양 7일째 균주를 접종물로 사용하여 *T. versicolor*의 접종과 동시에 bisphenol A 50 mg/L를 첨가하였을 때 6시간 만에 100% 분해되는 매우 높은 분해능을 보였다. 이 결과는 상당량의 균체량을 확보한 후 bisphenol A와 반응시키는 선�배양의 결과와 비교하였을 때에도 분해율의 큰 차이를 보이지 않으며 bisphenol A의 분해에 있어 laccase 활성이 크게 좌우함을 알 수 있다. 백색부후균이 분비하는 리그닌 분해효소로 laccase, manganese-dependent peroxidase (MnP), lignin peroxidase (LiP)가 대표적인 것으로 알려져 있는데(15), YMG 배지에서 *T. versicolor*의 생장 시 MnP와 LiP에 비해 laccase의 분비가 매우 높게 나타났다(결과 미제시).

배지 초기 pH에 따른 영향은 YMG 배지와 최소배지 모두 초기 pH 6의 배지에서 분해율이 가장 우수하였고 pH 7 이상의 조건에서는 생분해율의 급격한 감소를 보였다(Fig. 3 and 6). 백색부후균은 약 산성조건에서 우수한 생장을 보이며, laccase 또한 pH 5에서 bisphenol A의 전환이 우수하다고 조사된 바 있다(10). 초기 pH 6의 배지에 *T. versicolor*를 접종하고 bisphenol A를 첨가하여 일정시간 배양한 뒤 pH를 조사하였을 때 pH 5로 변화되었다. 교반이 생분해에 미치는 영향을 조사하였는데 정치배양과 진탕배양이 큰 차이를 나타내지 않았다. 백색부후균의 생분해는 정치배양에서 효율적이라는 보고도 있으나 진탕배양에서 더 높은 경우도 있기 때문에 균주와 대상물질에 따라 교반이 생분해율에 영향을 미칠 수 있는 것으로 추정된다(7). 200 rpm으로 진탕배양을 하였을 때 균사체가 뭉쳐 자라는 현상이 나타나며, 정치배양을 하였을 경우 균사가 배지 내에 넓게 퍼져 정치 배양 시 균사체의 생장이 더 많이 일어난 듯 보이지만 균사체의 건조 중량을 조사하였을 때 이들 간의 균체량에도 큰 차이가 나타나지 않았다(결과 미제시). Mediator는 laccase에 의해 산화되는 작용범위를 넓혀주는 역할을 하는데(1), 생분해율을 높이기 위하여 laccase의 mediator를 첨가하여 bisphenol A의 분해율을 조사하였을 때 최소배지에서 ABTS가 분해율을 크게 증가시켰으나 HBT 첨가 시에는 오히려 대조군보다 생분해율이 낮았다. ABTS는 *T. versicolor*가 laccase의 활성을 3일까지 2배 가량 높이지만 이후에는 laccase의 활성이 급격히 감소되기 때문에 단시간 내의 laccase와의 반응이 필요한 경우에 이용가능하다.

Bisphenol A는 체내에 유입되어 여성호르몬인 에스트로겐과 유사한 작용을 하여 내분비 기능을 교란시킨다(17). Bisphenol A가 생분해되면 그 에스트로겐 활성도 감소된다고 보고되었는데(21), *T. versicolor*에 의한 bisphenol A 생분해 중 에스트로겐 활성을 측정하였을 때 1 mg/L의 bisphenol A는 6시간 내에 100% 생분해되면서 에스트로겐 활성도 100% 제거되었지만 12시간째에는 높은 농도에서도 잔류 bisphenol A는 없었지만 에스트로겐 활성은 약간 남아있었다. 이는 bisphenol A의 분해산물이 에스트로겐 활성을 나타내기 때문인 것으로 추정되며 내분비계 장애물

질의 제거 시 에스트로겐 활성을 지니는 중간대사물까지 완전히 제거해야할 필요성을 제시하고 있다.

이상과 같은 생분해 기초자료를 실제 오염 환경에 사용할 수 있는지 확인하기 위해 *T. versicolor*에 의한 생분해를 bisphenol A가 포함된 폐수에 직접 적용하여 생분해율을 측정하였다. 이전 실험에서처럼 상등액에 대한 균사체의 비율이 10%일 경우에는 분해율이 그다지 높지 않았는데 이는 폐수 내 성분들에 의해 백색부후균의 성장과 분해효소 분비가 제한되었기 때문인 것으로 추정되었다. 이에 따라 저해현상을 극복하고 단기간에 생장이 일어날 수 있도록 접종물 중 균체량의 비율을 높인 경우, 30%의 비율로 접종하였을 때에는 6일째에, 50%의 경우에는 4일째에 bisphenol A가 100% 분해되었다(Fig. 7). 이런 결과는 선배양 시 생분해능이 촉진되는 현상과 유사하며 일정량 이상의 균사체가 확보된 경우에는 *T. versicolor*가 충분히 추가적으로 성장하며 생분해능을 나타낼 수 있을 것으로 추정된다. 따라서 고정화 백색부후균 반응조 등을 활성슬러지 반응조와 조합을 만들어 이용할 경우 bisphenol A 함유폐수에 적용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 말

본 연구는 환경부 '차세대 핵심환경기술개발사업'으로 지원받은 과제임(과제번호 031-071-030).

참고문헌

- Barreca, A.M., M.F. Fabbrini, C. Galli, P. Gentili, and S. Ljunggren. 2003. Laccase mediated oxidation of a lignin model for improved delignification procedures. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 25, 105-110.
- Chai, W., Y. Handa, M. Suzuki, M. Saito, N. Kato, and C. Horiuchi. 2005. Biodegradation of bisphenol A by fungi. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 120, 175-182.
- Goodson, M., W. Summerfield, and I. Cooper. 2002. Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Addit. Contam.* 19, 796-802.
- Glenn, J.K., L. Akileswaran, and M.H. Gold. 1986. Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. *Arch. Biochem. Biophys.* 251, 688-696.
- Hirano, T., Y. Honda, T. Watanabe, and M. Kuwahara. 2000. Degradation of bisphenol A by the lignin-degrading enzyme, manganese peroxidase, produced by the white-rot basidiomycete. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64, 1958-1962.
- Howdeshell, K.L., A.K. Hotchkiss, J.G. Vandenberg, and F.S. Vom Saal. 1999. Environmental toxins: Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* 401, 763-764.
- Hwang, S.-S. and H.-G. Song. 2000. Biodegradation of pyrene by the white rot fungus, *Irpex lacteus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 10, 344-348.
- Kang, J.H., Y. Katayama, and F. Kondo. 2006. Biodegradation or metabolism of bisphenol A: From microorganisms to mammals. *Toxicology* 217, 81-90.
- Kim, H.-Y. and H.-G. Song. 2000. Comparison of 2,4,6-trinitrotoluene degradation by seven strains of white rot fungi. *Curr. Microbiol.* 41, 317-320.
- Kim, Y.J. and J.A. Nicell. 2006. Impact of reaction conditions on the laccase-catalyzed conversion of bisphenol A. *Biores. Technol.* 97, 1431-1442.
- Krishnan, A.V., P. Stathis, S.F. Permuth, L. Tokes, and D. Feldman. 1993. Bisphenol A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 132, 2279-2286.
- Majcherczyk, A., C. Johannes, and A. Huttermann. 1998. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme Microb. Technol.* 22, 335-341.
- Morgan, P., S.T. Lewis, and R.J. Watkinson. 1991. Comparison of abilities of white-rot fungi to mineralize selected xenobiotic compounds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34, 693-696.
- Nishikawa, J.I., K. Saito, J. Goto, F. Daikayama, M. Matsuo, and T. Nishihara. 1999. New screening methods for chemicals with hormonal activities using interaction of nuclear hormone receptor with coactivator. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 154, 76-93.
- Paszczynski, A. and R.L. Crawford. 1995. Potential for bioremediation of xenobiotic compounds by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biotechnol. Prog.* 11, 368-379.
- Reddy, C.A. 1995. The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants. *Curr. Opin. Biotech.* 6, 320-328.
- Schafer, T., C. Lapp, C. Hanes, J. Lewis, J. Wataha, and G. Schuster. 1999. Estrogenicity of bisphenol A and bisphenol A demethacrylate in vitro. *J. Biomed. Mater. Res.* 45, 192-197.
- Shin, E.-H., H.T. Choi, and H.-G. Song. 2007. Biodegradation of endocrine-disrupting bisphenol A by white rot fungus *Irpex lacteus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17, 1147-1151.
- Shore, L.S. and M. Shemesh. 2003. Naturally produced steroid hormones and their release into the environment. *Pure Appl. Chem.* 75, 1859-1871.
- Spivack, J., T.K. Leib, and J.H. Lobos. 1994. Novel pathway for bacterial metabolism of bisphenol A. *J. Biol. Chem.* 269, 7323-7329.
- Tsutsumi, Y., T. Haneda, and T. Nishida. 2001. Removal of estrogenic activities of bisphenol A and nonylphenol by oxidation enzymes from lignin-degrading basidiomycetes. *Chemosphere* 42, 271-276.

(Received February 19, 2008/Accepted March 5, 2008)

ABSTRACT: Optimization of Bisphenol A Biodegradation by *Trametes versicolor*

Ae-Ri Kang, Hyoung Tae Choi, and Hong-Gyu Song* (Division of Life Sciences, and Research Institute of Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea)

Optimal conditions for the biodegradation of endocrine-disrupting bisphenol A (BPA) were examined for the white rot fungus *Trametes versicolor* isolated in Korea. *T. versicolor* degraded 100% of 50 mg/L bisphenol A during 12 hr in yeast extract-malt extract-glucose (YMG) medium. When BPA was added to the 5-day pre-incubated fungal culture in YMG medium, all BPA was removed in 2 hr. *T. versicolor* could efficiently degrade BPA at 35°C, pH 6 in YMG medium. *T. versicolor* could more easily remove BPA of 1~25 mg/L than that of higher concentrations (50~100 mg/L) in YMG medium. *T. versicolor* degraded 100% of 50 mg/L BPA for 36 h in a minimal medium, which is lower degradation rate than that in YMG medium. Optimal conditions for BPA biodegradation in the minimal medium were similar to those in YMG medium. When BPA (50 mg/L) was added into domestic wastewater, it could be completely removed by *T. versicolor*. During the biodegradation of BPA by *T. versicolor* in YMG medium, its estrogenic activity decreased.