

미생물에 의한 섬유질과 리그닌 유도체의 혐기적 분해

김소자 · 김옥한*

상지전문대학 식품영양과 · 경북대학교 식품공학과*

Anaerobic Microbial Degradation of Lignocellulose and Lignolic Compounds

So-Ja Kim · Uk-Han Kim*

Department of Food and Nutrition, Sangji Junior College

*Department of Food Science and Technology, Kyungpook National University**

ABSTRACT

Lignocellulose and lignolic compounds were absolutely given much weight in the biosphere, and their degradation was essential for continuous biological carbon circulation. whereas aerobic cellulolytic microorganism dissolved the cellulose into their elements in the first stage, strict anaerobic cellulolytic microorganism's role was taken a increasing interest through the recent research.

It was reviewed that anaerobic microbial degradation process of lignocellulose and its derivatives (cellulose, lignin, oligolignol and monoaromatic compound), and function of anaerobic microorganism on the environmental ecology.

I. 서 론

섬유질(lignocellulose)은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌을 주성분으로 하며, 매년 광합성에 의해 재생되는 풍부한 자원으로서 목재 건물량의 약 89~98%를 차지한다. 그러나 셀룰로오스 성분과 결합하고 있는 리그닌 성분은 고난분해성 물질이기 때문에 생물적 탄소순환에 있어서 제한인자로 생각되고 있다. 이와 같은 섬유질의 난분해성은 주로 구조적 양상에 기인하는 것으로서, 이는 셀룰로오스가 고도의 결정화 상태로 존재하고, 리그닌이 셀룰로오스를 감싸고 있어 물리적 장벽 역할을 하고 있으며, 섬유소가 불용성이기 때문에 가수분해 작용이 주로 섬유

소 표면에서만 진행되기 때문이다¹⁾.

최근, 섬유질의 호기적 대사과정에 대해서는 많은 진전이 있었음에도 불구하고 혐기적 조건하에서 섬유질의 미생물에 의한 분해에 관한 관심은 상대적으로 적었다²⁾. 합성 리그닌이 여러가지 상태의 퇴적물에 의해서 분해되지 않는다는 결과를 통해 볼 때 섬유질의 리그닌 성분은 혐기적 조건하에서 분해되지 않는다는 것이 일반적인 생각이다.³⁾ 그러나 지속적인 연구를 통해 적어도 수중생태계에서는 고분자성 리그닌이 아주 느리게 분해되며 이는 환경생태계에서 아주 중요하다는 사실이 밝혀졌다⁴⁾. 리그닌의 호기적 분해는 고도의 산화상태를 필요로 하고 있지만^{2,5,6)}, 리그닌 유도체의 일환성 방향족 화합물의 생

물학적 분해에는 산소가 필요하지 않다는 사실이 지금은 잘 알려져 있다⁷⁻⁹⁾.

한편, 셀룰로오스의 혐기적 분해는 주로 rumen박테리아에 의해 이루어지며¹⁰⁾, 고온 혐기성 세균인 *Clostridium thermocellum*에 의해 분해되어 에탄올, 유기산, 가스를 생성한다는 사실이 밝혀진 이래 많은 연구진들의 관심사였었다^{11,12)}. 대부분의 환경생태계에서는 호기성 미생물이 섬유질의 일차적인 분해자이지만 최근 연구를 통해 볼 때 섬유질 유래의 탄소를 분해하는 절대혐기성 미생물의 역할이 과소 평가되어 왔음에 틀림없다. 그래서 섬유질과 섬유질 유도체인 셀룰로오스, 리그닌, oligolignols, 일환성 방향족 화합물의 혐기적 분해과정과 환경생태계에서 혐기성 미생물이 차지하는 역할에 대하여 고찰해 보고자 한다.

II. 셀룰로오스의 혐기적 분해 및 발효

혐기상태에서 셀룰로오스의 주된 분해산물은 glucose와 cellobiose이며, 계속해서 알콜, 유기산, CO₂, H₂, CH₄등으로 전환된다(Fig. 1).

1979년 섬유질이 셀룰로오스 성분을 방사성 표지화시키는 기술이 도입되기까지는 리그닌과 다른 식물성 다당류와 천연적으로 결합된 셀룰로오스의 분해에 관한 확실한 연구가 불가능한 실정이었다¹³⁾.

Table 1은 절대혐기성 셀룰로오스 분해미생물을 보여 주고 있다¹⁴⁾. 절대혐기적인 생태계에서 자라는 rumen박테리아는 대표적인 섬유질 분해세균이며, 여러 종류의 미생물의 공동작용에 의해 섬유질의 분해 발효는 촉진된다.

가장 대표적인 셀룰로오스 분해 rumen박테리아는 *Ruminococcus albus*, *R. flavifaciens*와 같은 *Rucinococi* 이외에도 *Bacteroides succinogenes*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Evbacterium cellulosolvens*등이 알려져 있다¹⁰⁾. 이들 분해산물로는

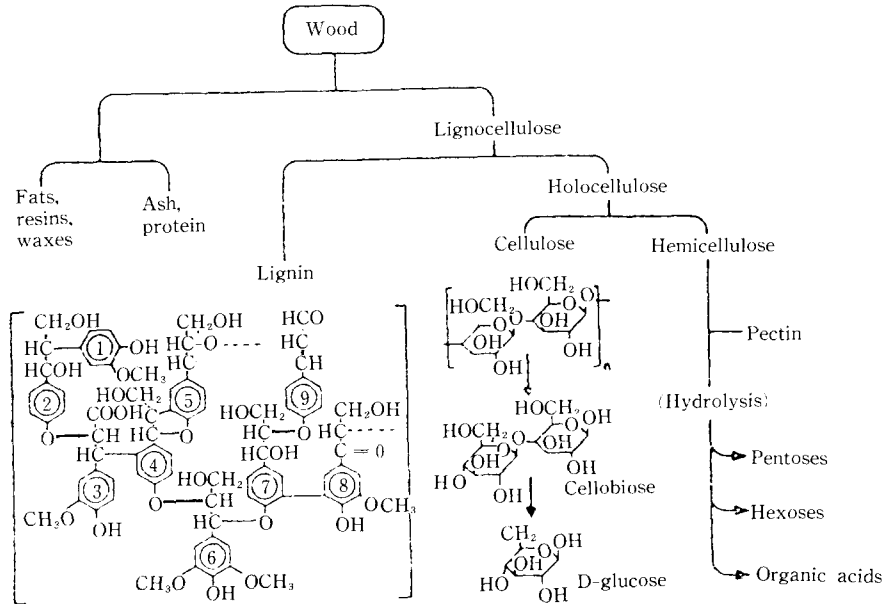


Fig. 1. Major components of wood, including the chemical structures of lignin(model), cellulose, and its hydrolysis products, cellobiose and D-glucose.

Table 1. Some known anaerobic cellulolytic microorganisms

Organism	Fermentation Product	Habitat
<i>Bacteroides succinogenes</i>	Succinate, propionate, acetate, formate	Rumen
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	Lactate, butyrate, acetate, formate, H ₂ , CO ₂	Rumen
<i>Ruminococcus albus</i>	Succinate, acetate, formate, H ₂	Rumen
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Succinate, lactate, acetate, ethanol, formate, H ₂ , CO ₂	
<i>Eubacterium cellulosolvens</i>	Lactate, butyrate, acetate, formate	Rumen
<i>Clostridium thermocellum</i>	Succinate, lactate, acetate, ethanol, formate, H ₂ , CO ₂	Soil, rumen mud, sewage/dairy waste
<i>Clostridium cellobioparum</i>	Lactate, acetate, ethanol, formate, H ₂ , CO ₂	Soil, rumen, lake sediments
<i>Acetivibrio cellulolyticus</i>	Acetate, ethanol, H ₂ , CO ₂	Sewage sludge
<i>Micromonospora propionici</i>	Propionate, acetate	Termites, rumen protozoa
Anaerobic fungi (e.g., <i>Neocallimastix frontalis</i> , <i>Piromonas commuris</i> , <i>Sphaeromonas communis</i>)	Lactate, acetate, ethanol, formate, H ₂ (<i>in vitro</i>), short-chain fatty acids (<i>in vivo</i>), CO ₂	Rumen, horse cecum
Ciliated protozoans (e.g., <i>Diplodinium</i> spp.)	Organic acids, H ₂ , CO ₂	Rumen, termites

succinate, acetate, butyrate, formate, lactate, H₂, CO₂ 등이 포함된다.

일반적으로 미생물이 분비하는 cellulase는 3종류, 즉 exoglucanase(C₁), endoglucanase(C_x), cellobiase로 구성되어 있으나 혐기성 미생물에서 생산되는 cellulase는 복합체로 존재하고 여기에는 친화성인자 (affinity factor)가 있어 효소를 셀룰로오스에 결합시키는 역할을 한다. 균주에 따라 cellulase의 종류 및 특성에는 물론 다소 차이가 있다. 고온 혐기성 *Clostridium thermocellum*이 분비하는 cellulase는 복합체로 존재하며 endoglucanase는 산소에 영향을 받지 않으나 exoglucanase는 산소에 민감한 것이 확인되었으며 열에 대한 안정성이 다른 미생물 유래의 효소보다 훨씬 강하다^{11,12)}.

Fungi는 통상 생육을 위해 산소를 요구하는 것으로 알려져 왔으나 Table 1에서 보는 바와 같이 지금까지 3종류의 절대혐기성 fungi가 셀룰로오스를 분해

하는 것으로 보고되었으며 rumen내에서 주로 섬유질의 일차적인 분해에 관여하는 것으로 추정되고 있다^{13,40)}.

또한 몇몇 원생동물도 rumen내에서 셀룰로오스를 분해하며, 혐기상태인 흰개미의 창자내에서는 셀룰로오스를 분해하는 원생동물과 방사선균 (*Micromonospora propionici*)이 존재하는 것으로 밝혀졌다.¹⁴⁾

한편, 늪이나 습지와 같은 혐기적 수중생태계에서는 셀룰로오스 성분이 아주 느리게 분해되어 CO₂와 CH₄를 생산하며 이는 생물권의 탄소순환에 있어서 아주 중요한 의미를 지닌다고 볼 수 있다⁴⁾.

Ⅲ. 리그닌 유도체인 일환성 방향족 화합물의 혐기적 분해

방향족 화합물의 대사과정은 호기적 과정만 거치

게 된다고 생각했으나 1934년 Boruff와 Buswell이 처음으로 방향족 화합물도 혐기적으로 분해되는 증거를 제시했다¹¹⁾. 이들에 의하면 옥수수대속에 함유된 리그닌의 54%가 600일후에 CO₂와 CH₄로 전환되었다. 또한 Tarvin과 Buswell은 4가지 방향족 화합물 (benzoic acid, phenylacetic acid, phenylpropionic acid, cinnamic acid)이 하수 오폐수에서 완전히 CO₂와 CH₄로 분해된다고 보고한 바 있다. 상세한 대사경로가 밝혀지지는 않았지만 분자상이 산소가 없을 때 일환성 방향족의 혐기적 대사과정은 혐기적인 광대사 과정중에, 황산 또는 질산환원 과정중에, 또는 메탄 발효과정중에 발생하는 것으로 현재까지 알려져 있다.

1. 혐기적 광대사과정, 질산 또는 황산 환원과정에서 일환성 방향족의 분해

광합성 세균중에서 *Rhodospseudomonas palustris*, *R. gelatinosa*, *Rhodocyclus purpureus*, *Rhodospirillum rubrum*과 같은 purple nonsulfur bacteria는 빛이 존재할 때는 광합성을 통해 혐기적으로, 빛이 없을 때는 호흡과정을 통해서 호기적으로 간단한 방향족 화합물을 유일한 탄소원으로 이용할 수 있다³¹⁾. *R. palustris*가 광합성을 통해 생육할 때 benzoate가 산화적으로 분해되는 경로에는 생화학적으로 분자상의 산소에 해당하는 산화제가 관여한다. 또한 방향족 화합물을 분해시킬 때 질산(NO₃)를 N₂로 환원시키는 *Moraxella* sp.가 benzoate를 환원적으로 개환시키는 과정에서도 *R. palustris*의 경우와 동일한 대사중간산물이 존재함이 확인되었다.

2. 메탄 발효과정중 일환성 방향족의 분해

메탄발효균은 혐기상태에서 여러가지 발효균이 생산하는 발효산물인 H₂와 CO₂ 혼합물, formate, methanol, acetate, methylamine, CO 등을 기질로 생육한다. 그러므로 방향족 화합물을 기질로 하여 메탄을 생성하기 위해서는 반드시 혼합배양을 필요로 한다. Benzoic acid를 모델 기질로 하여 메탄 생성조건하에 혼합 배양했을 때 메탄 생성이 확인되었으며 이때 대사중간산물로 acetate가 존재하였다¹⁶⁾. Fig. 2

는 메탄발효과정 중 benzene 고리를 가지는 리그닌 유도체의 여러가지 분해경로를 나타내 주고 있다. 각 화합물들은 각각 기질로써 또는 다른 방향족 화합물의 분해 도중 대사 중간산물로서 존재하는 것이 확인되었다.

Benzoic acid가 하수 슬러지와 양의 rumen 내용물에 의해 대사되는 도중에 생기는 여러가지 중요한 대사중간 산물로는 1-cyclohexene-1-carboxylic acid (compound 8), cyclohexane carboxylic acid (compound 12), adipic acid (compound 23), caproic acid (compound 24), heptanoic acid (compound 26), propionic acid, acetic acid 등이 확인되었다. 그러나 메탄발효시 benzoate의 분해과정은 2-bromoethane-sulfonic acid(BESA) 존재시 저해된다. 메탄생성균에 공통적으로 존재하는 coenzyme M의 구조적 유사체인 BESA는 메탄생성 최종단계에서 methyl 전환반응을 차단함으로써 메탄생성의 저해제로 작용한다¹⁷⁾.

Healy와 Young⁹⁾은 benzoic acid 이외에 다른 일환성 방향족 화합물의 분해에 의한 메탄발효 가능성을 조사한 바 vanillic acid (compound 14), ferulic acid (compound 5), phenol (compound 20), catechol (compound 18), cinnamic acid (compound 14), protocatechuic acid (compound 39), *p*-hydroxybenzoic acid (compound 7), syringic acid (compound 3), syringaldehyde (compound 42)등에서 개환반응이 일어나 CO₂와 CH₄가 생성되었다. Catechol (compound 18)이 CO₂와 CH₄로 대사되는 중간산물은 cis-benzenediol (compound 19), phenol (compound 20)을 거쳐 cyclohexanol (compound 21)까지 환원된 후 cyclohexanone (compound 22)가 되고 이것이 개환반응을 통해 adipic acid (compound 23), caproic acid (compound 24), acetate, succinate, propionate를 생성하게 된다⁸⁾. Syringic acid (compound 30)과 3, 4, 5-trimethoxybenzoic acid (compound 27)의 분해경로는 gallic acid (compound 32)에서 교차하게 되고 gallic acid는 탈탄산반응에 의해 pyrogallol (compound 33)로 변화된다고 생각된다^{18,19)}.

절대혐기성 조건에서 benzoate, ferulic acid, syring-

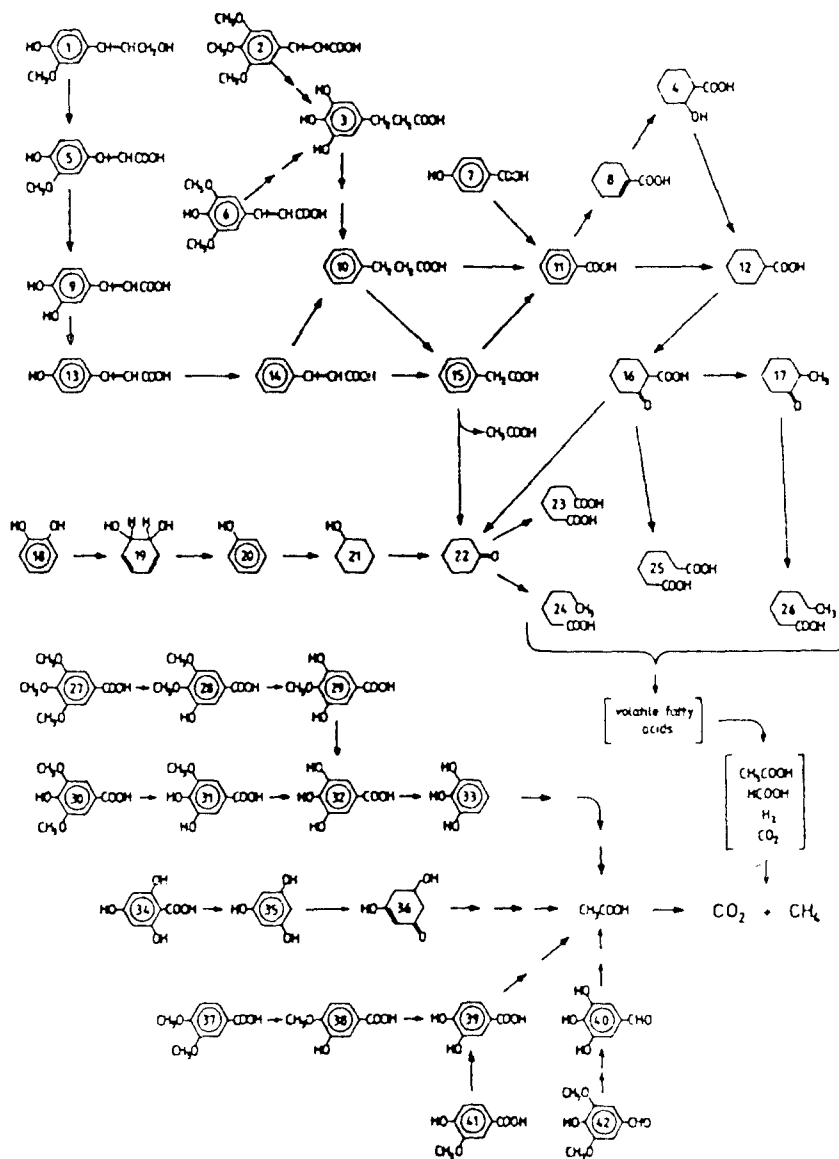


Fig. 2. Summar pathway merging some reported reactions involving the anaerobic metabolism of lignin-derived monoaromatic compounds under methanogenic conditions (HCO_3^- as electron acceptor).

ic acid와 같은 일환성 방향족 화합물이 CO_2 와 CH_4 를 생성하는데에는 demethoxylation, decarboxylation, dehydrogenation반응이 모두 일어날 수 있다. Young과 Rivera²⁰⁾는 도시 하수 슬러지에서 얻은 혼합혐기

배양액에 의해 γ -cresol이 demethylation에 의해 phenol로 변환됨을 최근에 보고했다. Rumen에서 분리한 절대 혐기성 두 세균 *Coprococcus* sp., *Streptococcus bovis*²¹⁾에 의해 phloroglucinol (compound 35)와 같은 일환성

방향족 화합물은 분해되었다. 한편, Shink와 Pfenning¹⁹⁾에 의해 분리된 *Pelobacter acidigallicus*는 gallic acid (compound 32), phloroglucinol (compound 35), pyrogallol (compound 33), 2, 4, 6-trihydroxybenzoic acid (compound 34)를 분해하여 acetate와 CO₂를 생산한다.

최근 Lovley와 Lonergan은 철환원미생물 GS-15에 의해 toluene, phenol, T-cresol이 혐기적 산화과정을 통해 CO₂까지 분해되는 경로를 제시한 바 있다²²⁾. 또한 혐기적 조건하에서 최근 분해 내지는 변환이 가능한 방향족 화합물로 pentachlorophenol과 hexachlorobenzene의 dechlorination반응, flavonoids의 개환반응, chlorophenol, alkylated benzene, 3-chlorobenzoic acid, 4-hydroxybenzoate, pyridine, indole, 2-aminobenzoate, 6-nitrochrysene 등의 분해에 관한 연구가 보고되었다^{23~37)}.

IV. 리그닌 유도체인 oligolignols의 혐기적 분해

일환성 방향족보다는 구조가 복잡한 리그닌 유래의 중합체를 보통 oligomer, lignin fragment 또는 oligolignol이라 부른다. 리그닌 중합체가 분해되는 경로는 아직까지 잘 밝혀지지 않은 상태이며, 호기성 미생물에 의한 리그닌의 대사산물이 CO₂보다 훨씬 복잡하다는 사실이 밝혀진 것도 근래의 일이다. Colberg와 Young³⁸⁾이 oligolignol의 혐기적 미생물 분해에 관해 처음으로 보고했으며, 하수 슬러지를 절대 혐기적 조건에서 집중하여 배양했을 때 가스 생성이 확인되었다^{8,9)}. Lignin fragment의 분자량 크기에 따른 혐기적 분해 정도에 대한 연구 결과가 Fig. 3에 나타나 있다. 분자량 크기가 1,000~1,400인 lignin fragment는 분해 정도가 아주 낮았으나, 분자량 크기가 400~1,000에 속하는 작은 oligolignol 혼합물 (평균 분자량 600)의 25% 이상이 배양 20일 후에 CO₂와 CH₄로 전환됨을 볼 수 있다.

Zeikus 등³⁹⁾의 결과에 의하면 Fig. 3에서 합성된 dilignol화합물은 리그닌 중합체에 가장 흔히 나타나는 결합형태인 arylglycerol-β-aryl ether결합(굵은선 부분)에 의해 두개의 방향족 환이 연결되어 있고, 이

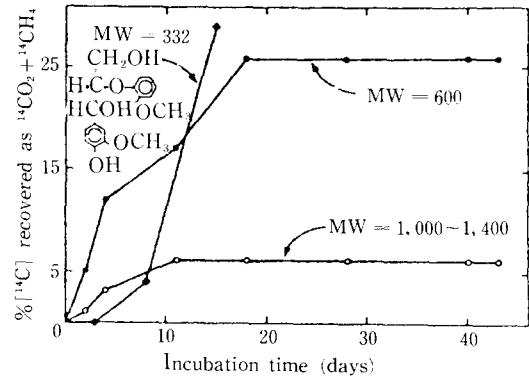


Fig. 3. Anaerobic biodegradation of two [¹⁴C] oligolignol mixtures derived from [¹⁴C-Lignin] Douglas fir and a [¹⁴C]synthetic dilignol model compound containing the aryl-glycerol-β-aryl ether bond (structure shown).

β-aryl ether결합이 혐기적 조건에서도 분해되어 CO₂와 CH₄이 발생된 것으로 보고 있다.

Oligolignol의 혐기적 대사중간산물은 Fig. 2에서 나타낸 일환성 방향족 화합물임이 gas chromatography를 통해서 확인되었다⁹⁾. 이들 대사중간산물은 Fig. 2에서 제시된 대사경로를 통해 계속 대사된다. Colberg와 Young³⁸⁾에 의하면 리그닌 유래의 oligolignol의 분자크기 분포는 호기성 white rot fungi인 *Phanerochaete chrysosporium*에 의한 리그닌 분해산물과 유사하였다.

V. 리그닌 중합체의 혐기적 분해

리그닌 중합체는 rumen이나 흰개미 장내에서 아주 느린 속도로 혐기적으로 분해된다는 사실이 최근 전자현미경을 통해서 확인되었으며⁴⁰⁾, 수중 생태계에서 리그닌의 혐기적 분해는 아주 느리게 진행되나 생물권의 탄소순환에 있어서 아주 중요한 역할을 하고 있다. 늪이나 염습지에서 섬유질이 혐기적으로 분해되는 속도를 호기적으로 분해되는 속도와 비교한 결과가 Table 2에 나타나 있다. 이들은 분해되어

Table 2. Rates of anaerobic biodegradation of specifically radiolabeled lignocelluloses expressed as percentages of observed aerobic rates

Radiolabeled Substrate	% of aerobic mineralization rates	
	[¹⁴ C-Lignin] Lignocellulose	[¹⁴ C-Polysaccharide] Lignocellulose
<i>Spartina alterniflora</i> (salt marsh cord grass)	7.5	8.2
<i>Juncus roemerianus</i> (needlerush)	6.0	3.8
<i>Carex walteriana</i> (freshwater sedge)	33.0	40.2
<i>Rhizophora mangle</i> (red mangrove, leaves)	2.9	4.9
<i>R. mangle</i> (red mangrove, wood)	3.7	12.6

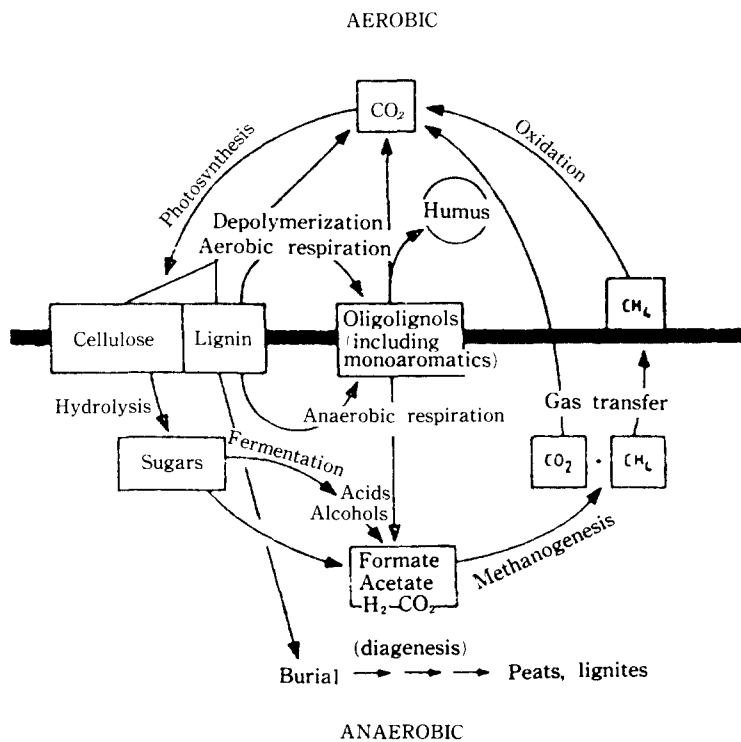


Fig. 4. Biological cycling of lignocellulose-derived carbon.

CO₂와 CH₄를 최종적으로 생산하게 된다⁴¹.

호기적 조건에서 분해되는 속도에 비해 혐기적 조건에서 분해되는 속도가 *Carex walteriana*의 경우에 33~40.2%를 차지하는 결과를 제외하고는 대체로 섬유질이 혐기적 조건에서 아주 느리게 10% 이하가 분해됨을 알 수 있다. 혐기적 조건에서 리그닌 중합체의 분해에 관한 연구가 아주 미흡하기는 하지만 환경생태계에서 복잡한 리그닌성 biomass가 분해되는데 있어서 혐기성 미생물이 차지하는 역할이 아주 클 것이라는 것은 의심할 여지가 없다.

VI. 결 론

생물권은 생성, 전환, 분해과정을 반복하는 복잡한 유기 화합물의 복합체로 구성되어 있으며 그 중에서 섬유질이 차지하는 비중이 절대적이라는 사실은 진술한 바와 같다. 따라서 Fig. 4에서 보는 바와 같이 호기적, 혐기적 과정을 통하여 섬유질이 분해되는 과정은 지구상의 지속적인 생물학적 탄소순환에 있어서 필수적인 것이다. 섬유질이 혐기성 미생물에 의해 분해되는 경로에 관한 연구가 아직 수중 생태계에서 특히 미흡한 실정이지만, 최근 여러 연구를 통해 볼 때 혐기성 미생물은 섬유질과 그 유도체를 분해할 수 있다는 사실은 지금까지 과소 평가되어 왔다고 볼 수 있다.

혐기적 조건에서 난 분해성 물질인 리그닌 중합체 및 그 유도체들이 분해되어 CO₂ 및 CH₄를 생성하는 과정은 탄소순환에 있어서 아주 중요한 몫을 차지하며 이 분야에 관한 계속적인 연구는 환경생태계의 탄소순환에 차지하는 혐기성 미생물의 역할 규명 뿐만 아니라 생물공학적인 응용 분야에도 크게 기여하게 될 것이다.

VII. 참고문헌

1. Fan L. T., Gharpuray, M. M. and Lee, Y. H : *Cellulose hydrolysis*, Springer-Verlag, New York, p.5-9 (1987)
2. Zimmermann, W : *J. Biotechnol.*, 13, 119-130 (1990)
3. Hackett, W., Connors, F., Kirk, T. K. and Zeikus, Z. G. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 43-51 (1977)
4. Benner, R., Maccubbin, A. E. and Hodson, R. E. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 998-1004 (1984)
5. Falson, B. D. and Kirk, T. K. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 1140-1145 (1983)
6. Forney, L. J., Reddy, C. A., Tien, M. and Aust, S. D. : *J. Biol. Chem.*, 257, 11455-11462 (1982)
7. Evans, W. C. : *Nature* (London) 270, 17-22 (1977)
8. Healy, J. B. and Young, L. Y. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 216-218 (1978)
9. Healy, J. B., Jr., and Young, L. Y. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 84-89 (1979)
10. Rasmussen, M. A., Hespell, R. B., White, B. A. and Bothast, R. J. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 890-897 (1988)
11. Kim, U. H., Ha, J. H., Chung, K. T. and Lee, Y. H. : *Kor. Jour. Microbiol.*, 25, 157-164 (1987)
12. Lee, Y. H., Kim, U. H. and Shin, H. D. : *Kor. Jour. Microbiol.*, 25, 297-303 (1987)
13. Crawford, D. L. and Crawford, R. L. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 31, 714-717 (1976)
14. Colberg, G. L. in Zehnder A. J. B. (ed.) : *Biology of anaerobic microorganisms*, Wiley, New York, p. 334-372 (1988)
15. Bauchop, T. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 148-158 (1979)
16. Ferry, J. G. and Wolfe, R. S. : *Arch. Microbiol.*, 107, 33-40 (1976)
17. Grbic'-Galic', D. : *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 1442-1446 (1983)
18. Kaiser, J. P. and Hanselmann, K. W. : *Arch. Microbiol.*, 133, 185-194 (1982)
19. Schink, B. and Pfennig, N. : *Arch. Microbiol.*, 133, 195-201 (1982)
20. Young, L. Y. and Rivera, M. D. : *Water Res.*, 19, 1325-1332 (1985)
21. Patel, T. R., Jure, K. G. and Jones, G. A. :

- Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 1010-1017 (1981)
22. Lovley, D. R. and Lonergan, D. J. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1858-1864 (1990)
 23. Manning, B. W., Campbell, W. L., Franklin, W., Delclos, K. B. and Cerninglia, C. E. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 197-203 (1988)
 24. Genthner, B. R. S., Price, W. A. and Pritchard, P. H. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1466-1471 (1981)
 25. Madsen, E. L., Francis, A. J. and Bollag, J. M. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 74-78(1988)
 26. Kohring, G. W., Zhang, X. and Wiegel, J. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 2735-2737 (1989)
 27. Braun, K. and Gibson, D. T. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 102-107 (1984).
 28. Kohring, G. W., Rogers, J. E. and Wiegel, J. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 348-353 (1989)
 29. Wang, Y. T., Suidan, M. T. and Pfeffer, J. T. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 1058-1060 (1984)
 30. Battersby, N. S. and Wilson, W. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 433-439 (1989)
 31. Merkel, S. M., Eberhard, A. E., Gibson, J. and Harwood, C. S. : *J. Bacteriol.*, **171**, 1-7 (1989)
 32. Shelton, D. R. and Tiedje, J. M. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 840-848 (1984)
 33. Winter, J., Moore, L. H., Dowell, V. R. and Bokkenheuser, V. D. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1203-1208 (1989)
 34. Pathepure, B. Z., Tiedje, J. M. and Boyd, S. A. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 327-330 (1988)
 35. Yokoyama, M. T., Johnson, K. A. and Gierzak, J. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 2619-2624 (1988).
 36. Kuhn, E. P., Zeyer, J., Eicher, P. and Schwarzenbach, R. P. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 490-496 (1988)
 37. Boyd, S. A. and Shelton D. R. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 272-277 (1984)
 38. Colberg, P. J. and Young, L. Y. : *Can. J. Microbiol.*, **28**, 886-889 (1982)
 39. Zeikus, J. G., Wellstein, A. L. and Kirt, T. K. : *FEMS Microbiol. Lett.*, **15**, 193-197 (1982)
 40. Akin, D. E., and Benner R. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**, 1117-1125 (1988)

(1991년 1월 8일 수리)