

Pseudomonas sp. EL-091S에 의한 4-Chlorophenol의 분해 Kinetics

손준석 · 이 건 · 이상준

부산대학교 자연과학대학 미생물학과
(1993년 6월 1일 접수)

Biodegradation Kinetics of 4-Chlorophenol by *Pseudomonas* sp. EL-091S

Jun-Seog Son, Geon Lee and Sang-Joon Lee

Department of Microbiology, College of Natural Science,
Pusan National University
(Manuscript received 1 June 1993)

Abstract

In order to find the most fitted biodegradation model, biodegradation models to the initial 4-chlorophenol concentrations were investigated and had been fitted by the linear regression.

The degrading bacterium, EL-091S, was selected among phenol-degraders. The strain was identified with *Pseudomonas* sp. from the result of taxonomical studies. The optimal condition for the biodegradation was as follows: secondary carbon source, concentration of ammonium nitrate, temperature and pH were 200mg/l fructose, 600 mg/l, 30°C and 7.0 respectively. The highest degradation rate of the 4-chlorophenol was about 58% for 24 hours incubation on the optimal condition.

Biodegradation kinetics model of 5 mg/l 4-Chlorophenol, 10 mg/l 4-chlorophenol and 50 mg/l 4-chlorophenol were fitted the zero order kinetics model, respectively.

Key Words : 4-chlorophenol, *Pseudomonas* sp., zero order kinetics model.

1. 서 론

유기합성화학 공업의 급진적인 발달로 일상생활과 산업생산 과정에서 유기합성물질의 사용량이 급증함에 따라, 자연계에 유입되는 여러가지 탄화수소들이 새로운 환경오염원으로 대두되고 있다. 그중 염화 폐놀은 fungicides, 소독제, 복재보존제로 이용되어 왔으며, 살충제, 제초제, 그리고 염료의 제조과정에서 중간물질로 많이 이용되고 있다(Steiert *et al.*, 1987).

자연환경에 대한 chlorophenol 오염은 주로 하수, 산업폐수, phenoxy acid 계통의 제초제 이용에 따른 분해산물이 주요 원인으로 알려지고 있으며 또한 물의 chlorination 과정에서 phenol과 반응하여 생성되기도 하여 물에 불쾌한 맛과 냄새를 발생시키기도 한다(Fawell and Hunt, 1988).

환경오염물질의 생물학적 분해에 대한 관심이 높아짐에 따라 이들 chlorinated aromatic hydrocarbon의 미생물학적 분해가 점차 주목받게 되었다 (Schwien and Schmidt, 1982; Shimp and Pfaen-

der, 1987). 그동안 국내외적으로 미생물에 의한 염화 방향족탄화수소 분해과정에 대한 연구가 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid(2,4,5-T)와 pentachlorophenol(PCP)을 중심으로 활발히 연구되어 왔다 (Schwien and Schmidt, 1982; Shimp and Pfaender, 1987; Grady, 1990).

본 연구에서는 chlorinated aromatic hydrocarbon 중 4-chlorophenol을 선정하여 미생물에 의한 분해 kinetics 특성을 4-chlorophenol 농도의 양적(量的)인 측면에서 고찰하고자 하였다(Moser, 1985 ; Schmidt *et al*, 1985; Simkins and Alexander, 1984 ; Jones and Alexander, 1986 ; Han and Levenspiel, 1988).

2. 재료 및 방법

2.1. 균주 및 배지

실험에 사용한 균주는 부산과 경남지역의 농약 잔류トイ양인 화훼 및 채소 단지에서 분리한 phenol 분해능이 있는 균주 중에서 4-chlorophenol 분해능이 우수한 균주를 선정하여 공시균으로 사용하였다. 배지는 Rosenberg와 Alexander(1980)의 기본배지를 사용하였다. 기본배지의 조성은 1.6 g K₂HPO₄, 0.4 g KH₂PO₄, 0.5 g NH₄NO₃, 0.2 g MgSO₄ · 7 H₂O, 0.025 g CaCl₂ · 2H₂O, 0.0023 g CaCl₂ · 2H₂O 및 수도물 1000 ml로 하였으며, 탄소원 및 에너지원으로 4-chlorophenol을 여과멸균(0.45 μm, Whatman membrane filter)하여 각 실험에 사용하였다. 또한 기본배지 중의 금속이온 (Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Fe⁺⁺⁺)은 각각의 성분별로 여과멸균하여 배지의 농도에 맞게 무균적으로 첨가하여 사용하였다.

2.2. 분리균의 동정

공시균의 분류 및 동정은 'Manual of Methods for General Bacteriology' (1981)와 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.1' (1984)에 따라서 형태적, 생리적, 생화학적 특성을 조사하여 동정하였다.

2.3. 4-chlorophenol의 정량분석

4-chlorophenol은 정량분석은 Water Associates 사의 HPLC system (Model 510 HPLC Pump, Model 441 UV/Visible Detector, Model 740 Data Module, Injector)을 이용하였다. 측정파장은 280 nm, 컬럼은 μ-Bondapak C-18 그리고 전개용매로는 methanol과 water을 70:30의 비율로 혼합하였으며 유속은 0.7 ml/min로 하여 측정하였다.

2.4. 4-Chlorophenol 농도별에 따른 분해율 조사

4-Chlorophenol 농도의 변화에 따른 분해율 실험을 위해 최소배지에 공시균을 접종하여 30°C에서 180 rpm으로 12시간 동안 진탕배양한 후 기질감소에 따른 분해율을 측정하였다.

2.5. 분해최적조건의 검토

공시균에 의한 최적분해조건을 결정하기 위하여 50 mg/l의 4-chlorophenol를 첨가한 기본배지를 본 실험에 사용하였으며, 250 ml 삼각 플라스크에 80 ml의 배지를 넣어 30°C, pH 7.0에서 180 rpm으로 회전진탕배양하였다.

탄소원의 변화에 따른 영향 : 기본배지에 제 2의 탄소원으로서 쉽게 대사할 수 있는 당과 당알콜들을 200 mg/l 첨가하여 배양하면서 분해율을 측정하였다.

질소원의 변화에 따른 영향 : 기본배지에 최적의 탄소원으로 결정된 탄소원을 200 mg/l 첨가하였으며 질소원으로서는 각종 무기질소원과 유기질소원 500 mg/l을 기존 질소원대신 첨가하여 배양하면서 분해율을 측정하였다.

온도, pH 그리고 질소원의 농도에 따른 반응표면실험 : 상기의 결과 최대의 분해율을 나타내는 최적의 탄소원과 질소원을 최소배지에 첨가하여 온도, pH 그리고 질소원 농도의 3가지 요인에 따른 최적의 분해조건을 추정하기 위하여 중심합성계획법에 의한 반응표면실험(박성현, 1986)을 하였다. 독립변수는 3 가지인 중심합성계획법에 의해 온도, pH 그리고 질소원의 농도를 각각 다른 조합으로 하여 15가지 처리조합으로 구성되는 실험계획을 실시하여 분해율을

2.6. 4-Chlorophenol 분해 kinetics 조사

균주는 무기염배지에 phenol을 50 mg/l을 넣어 한천사면배지에서 계대배양하여 공시균으로 사용하였다. 전배양은 연속배양장치(Bio Flo^R MODEL C 30)에서 무기염배지에 phenol 600 mg/l, 4-chlorophenol 10 mg/l을 첨가하여 1 ml/min의 유속으로 30°C, 180 rpm으로 진탕배양하였다. 본배양에의 접종은 정상상태에 도달한 연속배양장치의 유출된 배양액을 원심분리하여 수거한 균체를 멸균된 0.8% NaCl용액으로 3회 세척하여 접종하였다. 4-Chlorophenol을 5, 10, 50 mg/l 첨가한 기본배지를 250 ml 삼각 플라스크에 80 ml을 넣어, 30°C, pH 7.0에서 180 rpm으로 회전진탕배양하였다. 시간에 따른 기질분해 kinetics 실험을 위해 24 시간 동안 2 시간 간격으로 4-chlorophenol 잔존량을 정량분석하였다.

2.7. 데이터 분석

4-chlorophenol이 유일한 탄소원일때 실험 데이터는 Monod 식으로 분석하였다.

Monod 식은 다음과 같다.

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S} \quad (1)$$

여기서 μ 는 비성장속도, μ_{\max} 는 최대 비성장속도, S 는 유기물의 농도,

K_s 는 half-saturation constant이다.

그리고 단위시간당 미생물 성장율은 식(2)와 같다.

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X \quad (2)$$

여기서 X 는 미생물의 농도, t 는 시간이다.

식 (2)를 식 (1)에 대입하면 식(3)과 같다.

$$\frac{dX}{dt} \cdot \frac{1}{X} = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S} \quad (3)$$

또한 유기물의 제거율은 식(4)와 같다.

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{1}{Y} \cdot \frac{dX}{dt} \quad (4)$$

여기서 Y 는 증식수율계수이며

식(2)를 식(4)에 대입하면 식(5)와 같다.

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{\mu_{\max} \cdot S \cdot X}{Y \cdot (K_s + S)} \quad (5)$$

이용되는 기질이 미생물의 성장에 영향을 미치지 못할 때 또는 미약할 때 미생물의 양은 일정한 상수로 가정할 수 있다. 그리고 증식수율의 값도 일정한 실험조건하에서는 변하지 않으며 배양시간이 경과함에 따라 거의 변하지 않는다고 하면 최대비증식속도, 미생물의 양 그리고 증식수율계수를 일정한 상수 k 로 치환할 수 있으며 식(6)과 같이 된다.

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{k \cdot S}{K_s + S} \quad (6)$$

여기서 k 는 단위시간당 유기물분해율계수이다.

만일 초기기질의 농도(S_0)가 K_s 를 무시할 수 있을 만큼 높은 경우, 그리고 S_0 가 K_s 에 비해 무시할 수 있을 정도로 낮은 경우 그리고 이 두가지 경우가 아닌 경우의 3가지 상태에서의 Simkins, Alexander 그리고 Schmidt등(1985)에 의해 제의된 model(Table 1)들에 적합시켜 4-chlorophenol분해 양상을 조사하였다.

Table 1. Three models for the kinetics of degradation of test substrates which do not support growth of the active organisms^a

| Model and characteristics | Equation and inequalities |
|---------------------------|--|
| I. Zero order | |
| Differential form | $-dS/dt = k_1$ |
| Integral form | $S = S_0 - k_1 t$ |
| Linear form | $S_0 - S = k_1 t$ |
| Derived parameter | $k_1 = \mu_{\max} X_0$ |
| Necessary conditions | $S_0 \gg K_s$ and $X \approx X_{\max}$ |
| II. Michaelis-Menten | |
| Differential form | $-dS/dt = k_2 S / (K_s + S)$ |
| Integral form | $K_s \ln(S/S_0) + S - S_0 = -k_2 t$ |
| Linear form | $\frac{S_0 - S}{t} = K_s \frac{\ln(S/S_0)}{t} + k_2$ |
| Derived parameter | $k_2 = \mu_{\max} X_0$ |
| Necessary condition | $X_0 \approx X_{\max}$ |
| III. First order | |
| Differential form | $-dS/dt = k_3 S$ |
| Integral form | $S = S_0 \exp(-k_3 t)$ |
| Linear form | $\ln(S/S_0) = -k_3 t$ |
| Derived parameter | $k_3 = \mu_{\max} X_0 / K_s$ |
| Necessary conditions | $S_0 \ll K_s$ and $X_0 \approx X_{\max}$ |

^a Terms other than derived parameters are defined in the text.

시간에 따른 kinetics 실험 data는 Table 1의 3가지 model들 즉 zero order, Michaelis-Menten, 그리고 first order models에 선형회귀분석으로 적합시켰다. 그 결과 결정계수(r^2)의 값이 가장 큰 model을 선정하여 가설검정을 위해 유의수준을 1%로 하여 F test와 t test로 검정하였다(박성현, 1986).

3. 결과 및 고찰

3.1. 공시균의 선정

부산과 경남지역의 농약 잔류토양에서 분리한 phenol 분해능이 있는 실험실 보관 균주 중에서 3일 이내에 4-chlorophenol을 25%이상 분해하는 14개의 균주중 분해능이 우수하고 실험목적에 부합되는 EL-091S를 공시균으로 선정하였다.

3.2. 공시균 EL-091S의 동정 및 특성

EL-091S는 그람음성 간균으로 운동성이 있으며, 단일 극성 편모를 갖고 있었고, catalase test, cytochrome oxidase test, H₂S production test, fluorescent pigment production에서는 형광성 색소를 나타내어 양성을 보였다. Urease test, indole production test, VP-MR test, starch hydrolysis test, PHB accumulation test에서는 음성을 나타내었으며 KCN, simmons citrate agar, pH 4.5, pH 9.5, 10°C, 44°C에서 각각 생육하였으나 pH 3.6, 4°C, NaCl 15%와 30%에서는 생육하지 못하였다. Arginine dehydrolase, ornithine과 lysine decarboxylase test에서는 양성을 나타내었으며 oxidation-fermentation test에서는 oxidation을 나타내어 호기적 조건에서 당 이용능을 보였다(Table 2).

이상의 결과를 검토한 결과 EL-091S주는 *Pseudomonas* 속으로 동정되었으며 편의상 *Pseudomonas* sp. EL-091S로 명명하였다.

3.3. 4-Chlorophenol 농도별에 따른 분해율 조사

4-Chlorophenol의 농도에 따른 분해 실험은 기본, 최적배지에서 7 가지 농도별로 하여 12 시간 후에

Table 2. Morphological and physiological characteristics of the strain EL-091S

| Content | Characteristics |
|---------------------------------|-----------------|
| Morphological characteristics | |
| Cell shape | rod |
| Gram staining | - |
| Colony colour on the agar plate | cream |
| Flagellar | single polar |
| Motility | + |
| Endo spore | - |
| Physiological characteristics | |
| Catalase test | + |
| Voges-Proskauer test | - |
| Methyl red test | - |
| Indole test | - |
| Oxidation-Fermentation test | Oxidation |
| Cytochrome oxidase test | + |
| Simmons citrate test | + |
| Growth on the KCN broth | + |
| Lysine decarboxylase test | - |
| Ornithine decarboxylase test | - |
| Arginine dehydrolase test | + |
| Urease test | - |
| H ₂ S production | + |
| Starch hydrolysis | - |
| PHB accumulation | - |
| Fluorescent pigment test | + |
| Carbon sources for growth | |
| Acetic acid | + |
| Oxalic acid | + |
| Lactic acid | + |
| Tyrosin | + |
| Fructose | + |
| Manitol | + |
| Sorbitol | + |
| Ribitol | + |

Symbols : +, positive reaction ; -, negative reaction.

분해율을 측정한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같으며, 최적배지에서는 기본배지에서 보다 고농도 기질에 의한 분해율 저해효과가 약화되었다.

3.4. *Pseudomonas* sp. EL-091S에 의한 4-chlorophenol의 분해최적조건

탄소원의 변화에 따른 영향 : 기본배지에 탄소원들을 200 mg/l 첨가하여 배양하면서 분해율을 측정한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. Xylitol을 제외한 모든 탄소원들은 분해율을 증가시켰으며 그 중 fructose에서 현저한 분해촉진효과가 있었다. 이

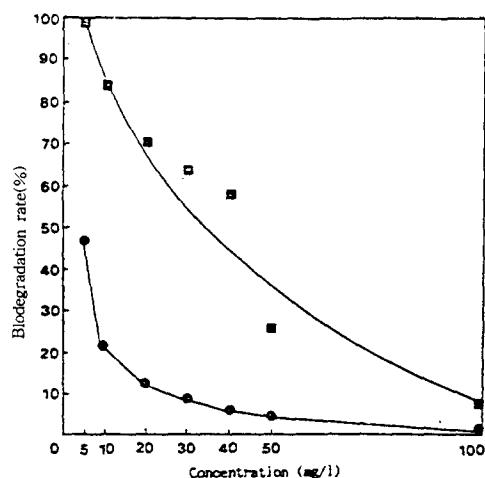


Fig. 1. Substrate inhibition effect at high concentration of 4-chlorophenol.
Symbols : ●—●, minimal medium ; ■—■, optimal medium.

것은 쉽게 대사할 수 있는 탄소원의 첨가가 난분해성 물질의 분해율을 증가시킨다는 Hess *et al.*(1990)의 보고와 일치하였다.

Table 3. Effect of easily metabolizable carbon sources on the biodegradation of 4-chlorophenol by Pseudomonas sp. EL-091S

| Contents | Biodegradation(%) | |
|-----------|-------------------|-------|
| | 12hrs | 24hrs |
| Dextrose | 12 | 22 |
| Arabinose | 12 | 29 |
| Fructose | 27 | 58 |
| Sucrose | 10 | 27 |
| Mannose | 10 | 17 |
| Galactose | 16 | 18 |
| Sorbitol | 11 | 20 |
| Ribitol | 14 | 24 |
| Inositol | 12 | 14 |
| Xylitol | 7 | 8 |
| None | 6 | 9 |

질소원의 변화에 따른 영향 : 최적의 탄소원으로 결정된 fructose를 기본배지에 200 mg/l 첨가한 후 질소원으로서 각종 무기질소원과 유기질소원 500 mg/l을 질소원 대신 첨가하여 배양하면서 분해율을 측정한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. 기본배지에서 사용된 질소원인 NH₄NO₃가 가장 우수한 분해율을 나타내었다.

Table 4. Effect of nitrogen sources on the biodegradation of 4-chlorophenol by Pseudomonas sp. EL-091S

| Contents | Biodegradation(%) | |
|--|-------------------|-------|
| | 12hrs | 24hrs |
| NH ₄ Cl | 24 | 54 |
| NH ₄ NO ₃ | 26 | 56 |
| NH ₂ H ₂ PO ₄ | 23 | 48 |
| KNO ₃ | 10 | 21 |
| NaNO ₂ | 8 | 15 |
| Ammonium Acetate | 10 | 14 |
| Urea | 24 | 33 |
| Bactopeptone | 17 | 20 |
| Polypeptone | 16 | 23 |
| Proteose peptone | 12 | 27 |
| Yeast extract | 2 | 5 |

온도, pH 그리고 질소원의 농도에 따른 반응표면실험 : 상기의 결과 최대의 분해율을 나타내는 최적의 탄소원과 질소원을 기본배지에 첨가하여 온도, pH 그리고 질소원 농도의 3가지 요인에 따른 최적의 분해조건을 추정하기 위하여 중심합성계획법에 의한 반응표면실험을 하였다. 실험조건의 범위는 온도가 10°C~50°C, pH 5.0~9.0 그리고 질소원의 농도는 100~1000 mg/l로 하였다.

반응표면실험을 위한 여러가지 계획법이 있지만 상기의 실험조건 범위내에서 분해율의 반응표면이 곡면으로 표현될 것으로 믿어지기 때문에 반응표면의 추정식이 2차회귀모형식이 적절하다고 판단되어 분해율의 곡면적인 변화를 감지할 수 있는 중심합성계획을 상기의 3가지 요인에 따른 최적결정의 실험법으로 채택하였다. 독립변수가 3가지인 중심합성계획법에 의해 온도, pH, 그리고 질소원의 농도를 각각 다른 조합으로 하여 15가지 처리조합으로 구성되는 실험계획을 실시하여 분해율을 측정하였다. 각 독립변수들의 값은 다음과 같은 변환에 의하여 간략화하였다.

$$\chi_1 = \frac{\text{온도}-30}{20}, \quad \chi_2 = \frac{\text{pH}-7}{2}, \quad \chi_3 = \frac{\text{NH}_4\text{NO}_3\text{농도}-550}{450}$$

반응표면실험 결과를 자료로 하여 최적분해조건을 컴퓨터로 분석하여 추정치를 산출한 결과(Table 5)를 보면, 실험번호 9번이 분해율이 가장 높아 중심합성계획법에 의한 최적분해조건은 온도 30 °C, pH 7, 질소원의 농도는 550 mg/l 이었다. 또한 실험상으로 구한 최적분해조건은 온도 30 °C, pH 7, 질소원의

농도는 600 mg/l으로 나타나 상기의 두 경우를 비교해 보면 온도와 pH 조건은 같고 질소원의 농도에서만 50 mg/l 차이가 나타났으며, 최대의 분해율을 보인 중심점의 분해조건인 30°C, pH 7, NH₄NO₃ 550 mg/l의 조건에서 실제로 실험해본 결과 분해율이 57%로 되어 중심합성계획법에 의해 구한 중심점의 이론적 분해율이 실제 실험값과 같게 나타나 최적분해조건으로 선정되었다. 또한 최적배지조건이 기본배지조건보다 분해율이 향상되는 결과를 보였다.

최적배지에서는 Table 7에서와 같이 모두 zero order model이 가장 적합하였으며 기본배지조건과 최적배지조건 모두 4-chlorophenol의 농도가 낮을수록 신속히 분해되었다.

Simkins(1984) 등의 *Pseudomonas* sp.에 의한 benzoate 자화에 대한 연구에서는 초기 미생물 개체수가 많고 초기 기질농도가 높은 조건에서 Monod, no growth와 zero order model로 분해된다고 하였는데, 본 실험의 최적배지조건에서 나타난 zero order model과 일치하는 결과를 나타내었다.

Table 1에서 보는바와 같이 3 가지 식의 유도과정에서 zero order model은 초기기질의 농도가 K_s값을 무시할 수 있을 정도로 높을 때를 가정하여 유

도한 식인데, 본 실험에서는 오히려 농도가 50 mg/l 보다 상대적으로 낮은 5 mg/l와 10 mg/l에서 분해 model식의 결정계수값이 0.99로 나타나 보다 적합한 model로 적용되고 있었다. 상기의 세 분해 model 전부 결정계수의 유의성이 높고 F 및 t 가설검정에서도 유의성이 높아 분해 model로 선정되었다.

Table 6. Linear regression estimates of kinetic parameters and selected model on minimal medium with different initial substrate concentrations.

| Contents | 4-Chlorophenol concentration | | |
|---|------------------------------|------------------------|------------------------|
| | 5 mg/l | 10 mg/l | 50 mg/l |
| Model | zero order | first order | first order |
| Rate constant | k ₁ = 0.234 | k ₃ = 0.025 | k ₃ = 0.004 |
| Coefficient of determination(r ²) | 0.94 | 0.96 | 0.91 |

또한 Fig. 2는 최적배지조건에서 적합한 4-chlorophenol의 분해 kinetic model에 따른 분해양식을 선형화한 그래프이다. 본 공시균주에 의한 4-chlorophenol의 분해는 Fig 2에서 보는바와 같이 배양

Table 5. Central composite design and the result by three factors in response surface experiment

| No. | Practical independent variables | | | Linear transformed independent variables | | | Biodegradation (24hrs) (%) |
|-----|---------------------------------|----|--|--|----------------|----------------|-------------------------------|
| | Temp.(°C) | pH | NH ₄ NO ₃ (mg/l) | χ ₁ | χ ₂ | χ ₃ | |
| 1 | 10 | 5 | 100 | -1 | -1 | -1 | 13 |
| 2 | 10 | 5 | 1,000 | -1 | -1 | 1 | 13 |
| 3 | 10 | 9 | 100 | -1 | 1 | 1 | 11 |
| 4 | 10 | 9 | 1,000 | 1 | -1 | 1 | 18 |
| 5 | 50 | 5 | 100 | 1 | -1 | -1 | 15 |
| 6 | 50 | 5 | 1,000 | 1 | 1 | -1 | 9 |
| 7 | 50 | 9 | 10 | 1 | 1 | 1 | 13 |
| 8 | 50 | 9 | 1,000 | 1 | 1 | 0 | 12 |
| 9 | 30 | 7 | 550 | 0 | 0 | 0 | 57 |
| 10 | 20 | 7 | 550 | 0.5 | 0 | 0 | 43 |
| 11 | 40 | 7 | 550 | 0.5 | 0 | 0 | 47 |
| 12 | 30 | 6 | 550 | 0 | -0.5 | 0 | 52 |
| 13 | 30 | 8 | 550 | 0 | 0.5 | 0 | 35 |
| 14 | 30 | 7 | 325 | 0 | 0 | -0.5 | 42 |
| 15 | 30 | 7 | 775 | 0 | 0 | 0.5 | 54 |

시간에 따라 일정한 속도로 분해되고 있음을 나타내고 있었다.

Table 7. Linear regression estimates of kinetic parameters and selected model on optimal medium with different initial substrate concentrations

| Contents | 4-Chlorophenol concentration | | |
|---------------------------------------|------------------------------|---------------|---------------|
| | 5 mg/l | 10 mg/l | 50 mg/l |
| Model | zero order | zero order | zero order |
| Rate constant | $k_1 = 0.386$ | $k_1 = 0.488$ | $k_1 = 0.899$ |
| Coefficient of determination(r^2) | 0.99 | 0.99 | 0.98 |

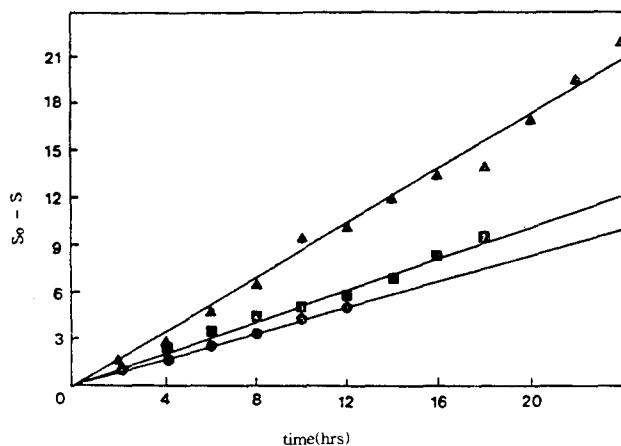


Fig 2. Linear models analysed by linear regression on the optimal medium.

Symbols : ●—●, 5 mg/l : ■—■, 10 mg/l : ▲—▲, 50 mg/l.

요 약

4-Chlorophenol을 생물학적으로 분해능이 있는 *Pseudomonas* sp.를 분리·동정하였다. 4-Chlorophenol의 분해최적조건은 제 2의 탄소원으로 200 mg/l fructose, 질소원으로 550 mg/l NH₄NO₃, pH 7.0, 온도 30℃로서 배양시간이 24시간에 4-chlorophenol은 58% 분해율을 보였다. 최적분해조건에서 4-chlorophenol 이 각각 5 mg/l, 10 mg/l 및 50 mg/l의 3가지 초기농도별 시간에 따른 분해율을 수

식으로 설명할 수 있는 가장 적합한 분해 kinetics model은 모두 zero order model로 나타났다.

참 고 문 헌

- 朴聖炫, 1986, 現代實驗計劃法, 大英社.
- Fawell, J. K. and S. Hunt, 1988, Environmental toxicology: Organic Pollutants, John Wiley & Sons, New York, 196pp.
- Gerhardt, P., R. G. E. Murray, R. N. Costilow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Krieg, and G. B. Phillips, 1981, Manual of Methods for General Bacteriology, American Society for Microbiology, Washington D.C., 5pp.
- Grady, C. P., 1990, Biodegradation of toxic organics: Status and potential, J. Environ. Engin., 116, 805-828.
- Han, K. and O. Levenspiel, 1988, Extended monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition, Biotechnol. and Bioengineering, 32, 430-437.
- Hess, T. F., S. K. Schmidt, J. Silverstein, and B. Howe, 1990, Supplemental substrate enhancement of 2,4-dinitrophenol mineralization by bacterial consortium, Appl. Environ. Microbiol., 56, 1551-1558.
- Jones, S. H. and M. Alexander, 1986, Kinetics of mineralization of phenols in lake water, Appl. Environ. Microbiol., 51, 891-897.
- Krieg, N. R. and J. G. Holt, 1984, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1, The William and Wilkins Co., Baltimore, 140pp.
- Moser, A., 1985, Biotechnology (vol 2) : Fundamentals of biochemical engineering, Verlag Chemie., New York, 243pp.
- Rosenberg, A. and M. Alexander, 1980, Microbial metabolism of 2,4,5-T in soil, J.

- Agaric. Food Chem., 28, 297-302.
- Schmidt, S. K., S. Simkins, and M. Alexander, 1985, Models for the kinetics of bio-degradation of organic compounds not supporting growth, *Appl. Environ Microbiol.*, 50, 323-331.
- Schwien, U. and E. Schmidt, 1982, Improved degradation of monochlorophenols by a constructed strain, *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 33-39.
- Shimp, R. J. and F. K. Pfaender, 1987, Effect of adaptation to phenol on biodegradation of monosubstituted phenols by aquatic microbial communities, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1496-1499.
- Simkins, S. and M. Alexander, 1984, Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density, *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1299-1306.
- Steiert, J. G., J. J. Pignatello, and R. L. Crawford, 1987, Degradation of chlorinated phenols by a pentachlorophenol-degrading bacterium, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 907-910.