

단일배양 및 혼합배양에 의한 Benzene, Phenol 및 Toluene 혼합물의 생분해

이창호 · 오희목 · 권태종¹ · 권기석 · 김성빈 · 고영희 · 윤병대*
한국과학기술연구원 유전공학연구소, ¹건국대학교 미생물공학과

The Biodegradation of Mixtures of Benzene, Phenol, and Toluene by Mixed and Monoculture of Bacteria

Lee, Chang-Ho, Hee-Mock Oh, Tae-Jong Kwon¹, Gi-Seok Kwon, Seong-Bin Kim, Yung-Hee Kho and Byung-Dae Yoon*

Genetic Engineering Research Institute, KIST, P.O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea
¹Department of Microbial Engineering, Kon-Kuk University, Seoul 133-701, Korea

Abstract — The biodegradation of aromatic compounds by mixed and monoculture was investigated in an artificial wastewater containing 500 mg/l of benzene(B), phenol(P), and toluene(T) in various combinations. None of three strains utilized *p*-xylene(X) as a carbon source, but they grew well on *p*-xylene in mixtures with benzene and toluene. In the mixed culture on mixed substrate, the length of lag phase was different depending on the nature of mixture. Cell growths of *Flavobacterium* sp. BEN2 and *Acinetobacter* sp. GEM63 were inhibited in the presence of a 500 mg/l of phenol. When the mixed culture of three strains was cultured in a bench-scale reactor containing artificial wastewater, each of benzene, phenol, and toluene was not detected at 30 hrs, 50 hrs, and 12 hrs after incubation in the treatment. The removal rates of COD_t(total COD) and COD_s(soluble COD) of upper phase after centrifugation during early 50 hrs were ca. 80% and ca. 93.8%, respectively.

방향족 탄화수소는 환경을 오염시키는 혼합된 유기폐수의 주요성분으로서 화학공정 및 석유관련 산업으로부터 발생된다. 이러한 폐수에서의 benzene(B), phenol(P), 및 toluene(T)은 미국 환경청(EPA)에서 규정한 유해독성 화합물(priority pollutant)로서 발생 빈도가 높은 주요 오염물질로 분류되고 있고, 인체 및 생태계에 미치는 독성으로 인하여 우선적 처리 대상이 되고 있다(1, 2). 이러한 독성물질이 포함된 폐수처리는 지금까지 보고된 방법에 따르면 물리적, 화학적, 그리고 생물학적 방법으로 구분할 수 있다. 이 중에서 생물학적 방법은 처리 비용이 상대적으로 낮고, 방향족화합물의 완전 분해가 가능하다(3, 4).

실험실적 연구에서 방향족화합물의 생분해에 대한 생화학적 연구들은 때때로 환경오염이 다양한 유기 혼합물로 구성된 사실을 소홀히 하여 단일 기질(single substrate)에 초점을 두고 있으며(5), 대부분의 경우

밀접하게 연관된 화합물의 좁은 범위에서 분해능을 나타내는 순수배양에 국한된다. 미생물을 이용한 방향족화합물의 분해는 상호보완대사(cometabolism), 경쟁적 저해(competitive inhibition), 기질의 동시이용성(simultaneous utilization) 등(6-8)의 모델이 보고되고 있으나, 자연적 또는 공학적 처리 시스템에서는 구성 유기화합물의 성분에 의해서 이와 같은 대사활성이 억제되기도 한다(9, 10). 산업폐수의 경우 여러가지 방향족화합물이 혼합된 상태로 배출되므로 이들을 동시에 처리해야 하는 것이 필수적이거나, 이들 화합물을 동시에 처리할 수 있는 효율적인 대사 활성을 가지는 미생물이 지금까지 보고된 바 없다. 따라서 방향족화합물의 생물학적 처리를 위해서는 각각에 대하여 활성을 갖는 균주들에 의한 혼합배양이 요구되며, 미생물의 혼합배양에 의한 난분해성 화합물의 분해 또는 무독화에 대한 많은 연구가 보고되었다(4, 11).

본 연구에서는 방향족화합물이 혼합되어 있는 폐수의 생물학적 처리를 위한 시스템 개발의 전단계

Key words: Biodegradation, aromatic compounds, xenobiotics
*Corresponding author

실험으로서 분리균주를 이용하여 단일배양 및 혼합 배양을 통하여 benzene, phenol 및 toluene이 각각 500 mg/l 씩 혼합된 합성폐수에서의 균생육을 조사하였고, 실험실적 규모의 반응조에서 대조구와 처리구의 배양을 통하여 균생육, COD 제거, 기질의 처리능을 조사하여 비교 분석하였다.

재료 및 방법

사용균주

사용균주는 토양, 폐수, 하천수 등의 균원시료로부터 enrichment culture에 의한 screening을 통하여 선별된 균주중에서 benzene, phenol 및 toluene의 각각에 대하여 생육과 분해능이 우수한 균주 즉, *Flavobacterium* sp. BEN2, *Acinetobacter* sp. GEM2, 그리고 *Acinetobacter* sp. GEM63를 사용하였다. 균주는 각각의 화합물이 첨가된 최소배지에 계대배양하여 보존하거나 11% skim milk가 포함된 ampoule에 동결건조하여 4°C에 냉장보관하였다.

합성폐수

합성폐수는 고 등(12)이 사용한 최소배지에 benzene, phenol 및 toluene을 1000 mg/l의 농도로 첨가하여 조제하였다. 즉, 최소배지는 증류수 1l에 NH₄Cl 1.0 g, K₂HPO₄ 4.35 g, NaH₂PO₄ 3.9 g, MgSO₄·7H₂O 0.48 g, CaCl₂ 0.03 g, FeSO₄ 0.01 g, MnCl₂ 0.01 g, CoCl₂ 0.001 g, 그리고 Na₂MoO₄ 0.001 g을 녹인 후 pH는 6.8로 조정하였다. Trace metal 용액은 membrane filter(Millipore; pore size, 0.45 µm)를 이용하여 제균한 후 첨가하였다. 반응조 배양시에는 증류수 대신 지하수를 사용하였다.

배양조건

균의 배양은 액체 최소배지를 250-ml 삼각 플라스크에 50 ml 첨가한 다음 benzene, phenol 및 toluene을 각각 500 mg/l 농도로 첨가한 후 30°C, 125 strokes/min으로 36시간 진탕배양하였다. 단일배양의 경우는 각각의 화합물을 500 mg/l 씩 첨가한 후 종균을 2%(v/v)되게 접종한 후 72시간 진탕배양하면서 시간별 균생육정도를 흡광도로 측정하였다. 혼합배양의 경우는 각각의 기질조합 즉, BP, BT, PT 그리고 BPT를 공급하고 종균을 각각 2%(v/v)되게 접종한 후 72시간 진탕배양하면서 시간별 균생육을 흡광도로 측정하여 기질의 이용성을 관찰하였다.

반응조를 이용한 혼합배양

실험실적 규모의 반응조는 투명 아크릴판을 이용하여 주문제작하였고, 공기는 air pump를 이용하여 공급하였다. 반응조의 운전용량은 3.0 l이며, 회석율을 0.5/day로 매일 동시간에 일정량의 배양액을 제거하고 동량의 합성폐수를 첨가하여 7일 동안 실온(약 20°C)에서 운전하면서 주기적으로 배양액의 흡광도와 COD를 측정하여 일정하게 유지될 때 즉, 반응조가 정상상태에 도달한 다음에 3일 동안 배양을 수행하여 대조구와 처리구의 균생육, COD, pH 변화 및 기질의 제거율을 비교하였다.

균생육 및 COD 측정

균의 생육정도는 분광광도계(Shimadzu UV-160A)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. COD(Chemical Oxygen Demand)는 환경오염 공정시험법(13)에 따라 0.025 N KMnO₄ 용액을 일정량 넣고 30분간 가열반응시킨 다음 소비된 KMnO₄ 양으로부터 산소의 양을 측정하였다.

방향족화합물 분석

배양액에서 시료를 채취하여 membrane filter(Millipore; pore size, 0.2 µm)로 여과한 후 Effendorf tube에 담아 분석에 사용하였다. Benzene, phenol 및 toluene은 fused-silica capillary column과 불꽃이온화검출기를 장착한 gas chromatograph(Varian 3300)로 분석하였다. 분석시 column, injector, detector의 온도는 각기 90°C, 200°C, 250°C 이고, 운반기체는 질소(30 ml/min)를 사용하였다. 시료의 주입량은 1.0 µl이며, benzene, phenol, 및 toluene의 retention time은 각기 1.92분, 3.52분, 2.17분이었다.

결과 및 고찰

사용균주

방향족화합물이 혼합된 폐수처리를 위하여 토양, 폐수, 하천수 등의 균원시료로부터 enrichment culture에 의해 분리된 200여개의 균주중 benzene, phenol 및 toluene이 각각 1000 mg/l 포함된 최소배지에서 균생육과 분해능이 우수한 균주를 최종선별하여 실험에 사용하였으며 각 균주의 특성을 Table 1에 나타내었다. Benzene 분해균주인 *Flavobacterium* sp. BEN2는 benzene의 최대 이용농도가 2000 mg/l이고 최적 pH가 7.0으로 균생육이 배양 24시간에 흡광도가 1.296에 이르는 높은 균체증식을 보였다. Phenol 분해균주인 *Acinetobacter* sp. GEM2는 1000 mg/l의 농도에서 배양초기에 균생육이 타균주에 비해 낮지만

Table 1. Characteristics of selected strains used in mixed and monoculture

Strain	Compound	Optimum temp.(°C) ¹⁾	Optimum pH ²⁾	Maximum conc.(mg/l) ³⁾	Cell growth (A ₆₆₀)	
					24 hrs	48 hrs
<i>Flavobacterium</i> sp. BEN2	Benzene	30	7.0	2000	1.296	1.342
<i>Acinetobacter</i> sp. GEM2	Phenol	30	7.0	1000	0.902	1.404
<i>Acinetobacter</i> sp. GEM63	Toluene	25	6.5	1000	1.019	1.165

¹⁾Examined temperatures were 10, 20, 25, 30, and 37°C. ²⁾Examined pHs were 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, and 8.5. ³⁾Examined concentrations were 500, 1000, 1500, 2000, and 3000 mg/l.

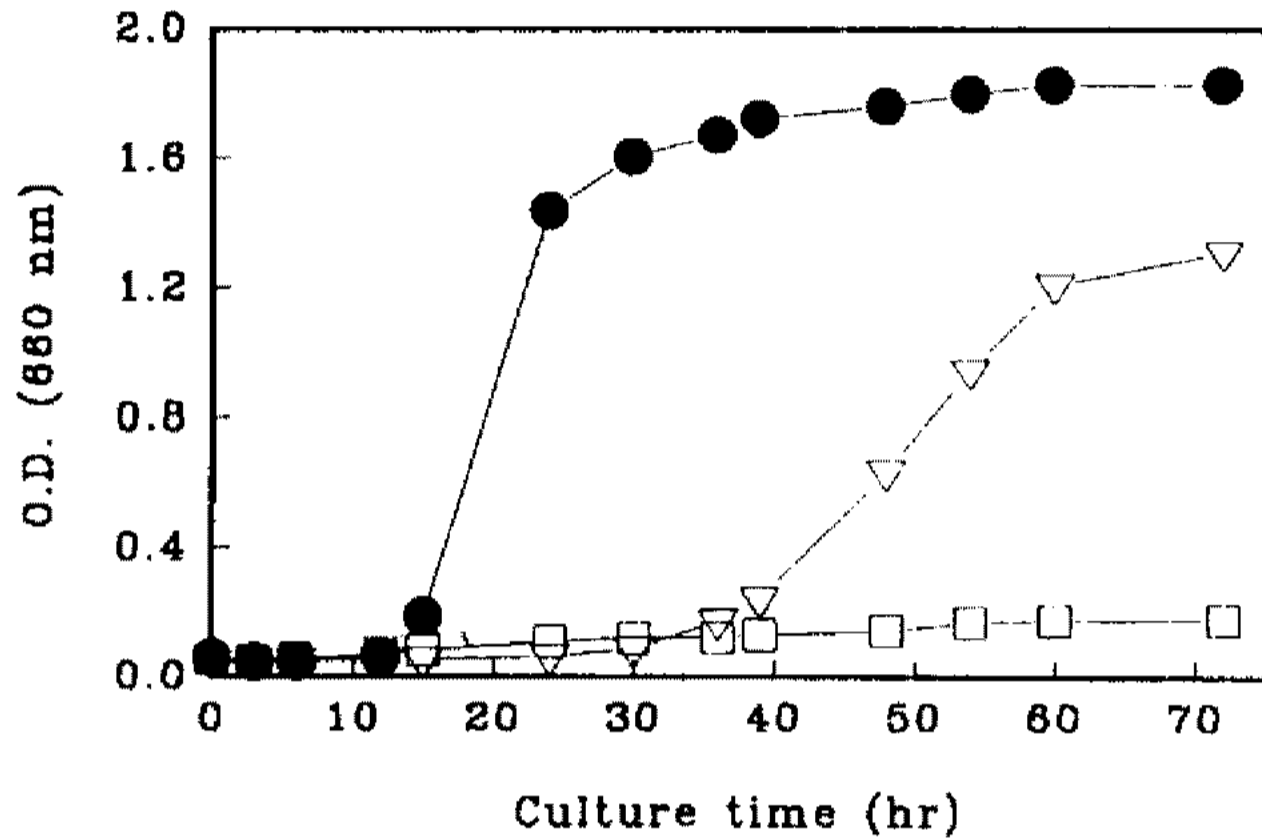


Fig. 1. Growth of *Flavobacterium* sp. BEN2 on mixed compounds.

Minimal medium was contained 500 mg/l of benzene, phenol, and toluene, and 250 mg/l of *p*-xylene.
 ▽, BPT; ●, BTX; □, *p*-Xylene

배양 48시간에 흡광도가 1.404로서 사용균주중에서 가장 높은 균체증식을 나타내었다. Toluene 분해균주인 *Acinetobacter* sp. GEM63는 배양 48시간에 흡광도가 1.213으로 균생육이 비교적 낮았으나 배양최적온도가 25°C로서 실제 폐수처리조에서의 이용성이 높을 것으로 사료된다.

단일배양에 의한 균생육

Benzene, phenol 및 toluene을 500 mg/l 씩 첨가하고, *p*-xylene은 250 mg/l를 첨가한 합성폐수에 각 균주의 종균을 각각 2%(v/v)되게 접종한 후 30°C, 125 strokes/min으로 진탕배양하면서 배양 시간별 균생육을 흡광도로 측정하였다. Benzene 분해균주, *Flavobacterium* sp. BEN2는 BTX 혼합물이 첨가된 합성폐수에서 배양 12시간까지 유도기가 지속되었으나 배양 24시간에는 균생육이 급격히 증가하여 흡광도가 1.44에 이르렀다(Fig. 1). 그러나 *p*-xylene의 경우 배양 72시간까지 흡광도가 0.18로서 균생육이 미약하여, 상기의 결과와는 대조를 보였다. Dalton과 Stirling(14)은 생육에 관계없는 기질의 동시 이용성 즉, 생육기질의 존재하에서 비생육기질의 이용성을 상호보완대

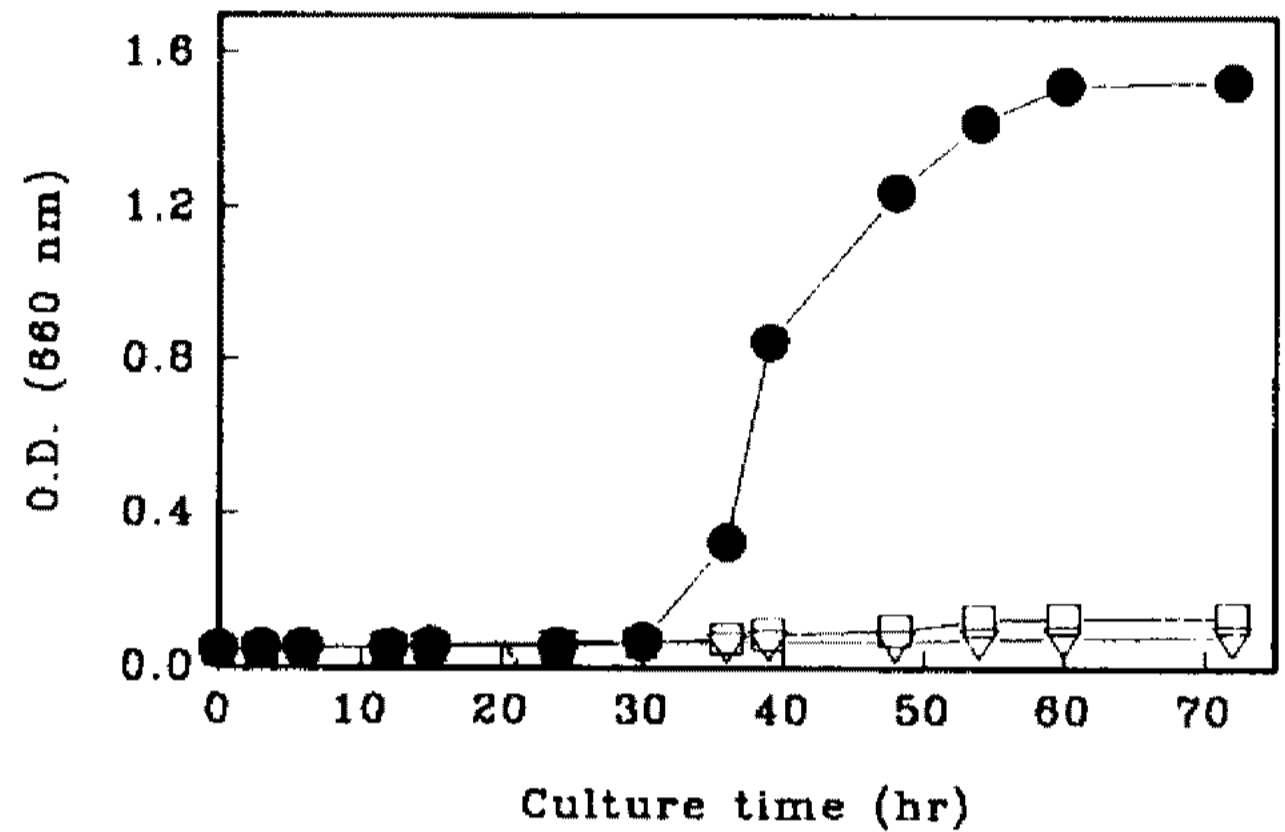


Fig. 2. Growth of *Acinetobacter* sp. GEM2 on mixed compounds.

Minimal medium was contained 500 mg/l of benzene, phenol, and toluene, and 250 mg/l of *p*-xylene.
 ▽, BPT; ●, BTX; □, *p*-Xylene

사로 정의하였다. 따라서 *Flavobacterium* sp. BEN2는 *p*-xylene에 대하여 기질로서의 이용성보다는 내성 또는 상호보완대사에 의한 대사작용으로 추정된다. 또한 BPT의 혼합물의 경우 배양 40시간까지 유도기가 지속되었으나 배양 60시간에는 흡광도가 1.2로서 높은 균체증식을 나타내었다. 유도기가 길어진 것은 phenol에 의해서 균생육이 억제된 것으로 사료된다.

Phenol 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM2는 BTX가 첨가된 합성폐수에서 균생육은 배양 30시간까지 유도기가 지속되었으며, 그 이후에 급격히 균체증식이 증가하여 배양 60시간에 흡광도가 1.53이었다(Fig. 2). 그러나 GEM2 균주는 BPT와 *p*-xylene에는 균생육이 전혀 없어 기질저해(substrate inhibition)로 인한 생육억제로 추정된다.

Toluene 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM63는 BPT 혼합물의 경우 균체증식이 거의 직선적으로 이루어져 배양 33시간만에 정지기에 도달하였으며, 이때 흡광도가 1.1로서 높은 균체 증식을 나타내어 높은 기질 이용성을 보였다(Fig. 3). BTX의 혼합물은 배양 24시간에 정지기에 도달하였으며, 이때 흡광도가 1.06으로 빠른 균체증식을 나타내었으며, *p*-xylene의 경

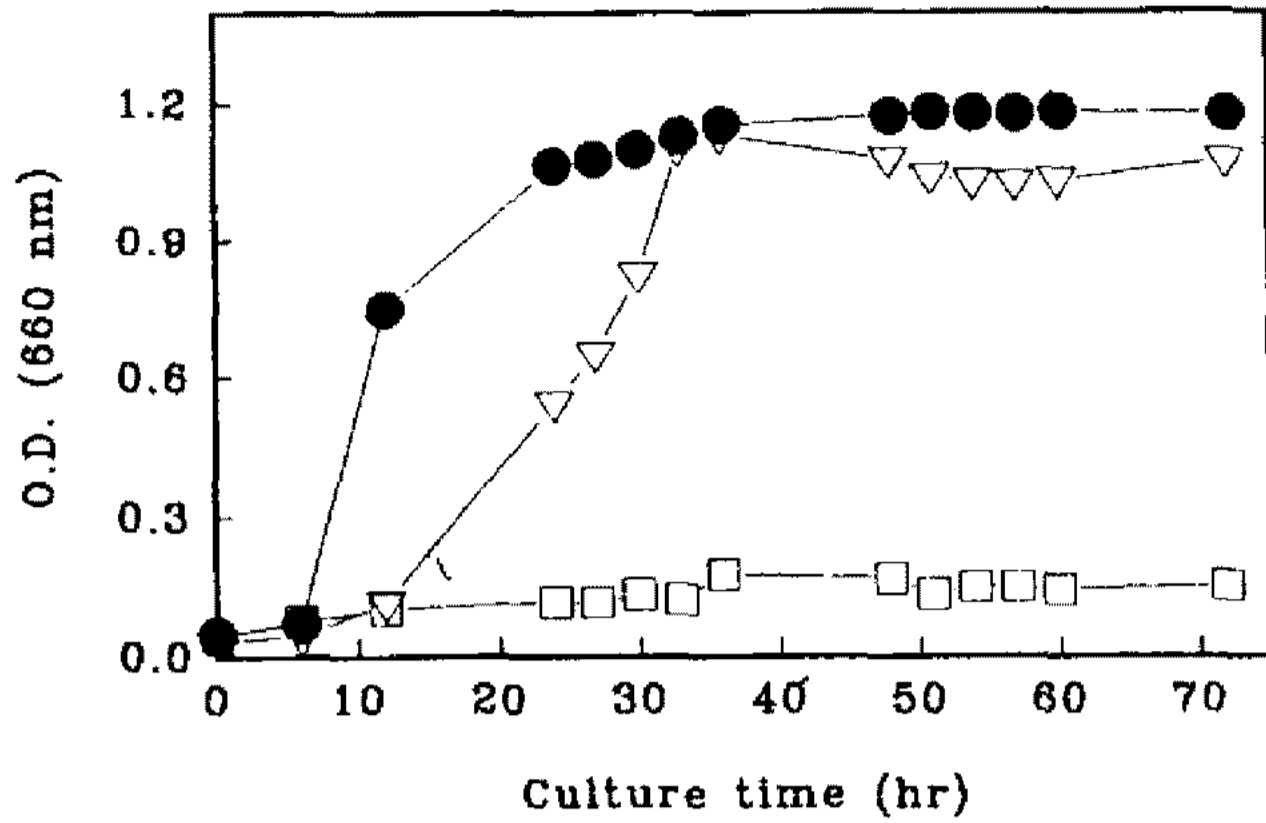


Fig. 3. Growth of *Acinetobacter* sp. GEM63 on mixed compounds. Minimal medium was contained 500 mg/l of benzene, phenol, and toluene, and 250 mg/l of *p*-xylene. ▽, BPT; ●, BTX; □, *p*-Xylene

우에도 미약한 균체증식을 나타내어 기질로서 이용이 가능한 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 benzene의 생분해능이 toluene과 xylene 중 한가지를 첨가함에 따라 증가하였다는 Arvin 등(15)의 보고와 유사하였다.

혼합배양에 의한 균생육

Benzene, phenol 및 toluene에 대한 각각의 분해 균주를 이용하여 기질의 조합(BP, BT, PT)을 통한 혼합배양을 수행하여 균생육을 660 nm에서 흡광도로 측정하여 나타내었다(Fig. 4). Benzene 분해균주, *Flavobacterium* sp. BEN2와 phenol 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM2를 benzene과 phenol이 각각 500 mg/l 씩 첨가된 합성폐수에 종균을 각각 2%(v/v)되게 접종한 후 배양 시간별 균생육을 흡광도로 측정하여 나타내었다(Fig. 4A). Benzene 분해균주, *Flavobacterium* sp. BEN2는 phenol(500 mg/l)에 대하여 전혀 균생육을 못하는 기질저해를 나타내어 phenol의 존재하에서 benzene의 분해를 관찰했다는 Meyer 등(16)의 결과와는 상이하였다. phenol 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM2는 benzene(500 mg/l)에 대하여 유도기는 길었지만 배양 50시간에 정지기에 도달하면서 흡광도가 0.81로서 기질 이용성을 나타내었다. 이들 균주의 BP의 혼합배양시 유도기가 길었지만 배양 60시간에 흡광도가 1.5로서 균체증식이 급격히 증가하였다. 따라서 BP의 혼합배양은 배양시간은 길어지지만 기질 상호간에 내성 또는 이용성을 갖는 것으로 사료된다. Benzene 분해균주, *Flavobacterium* sp. BEN2와 toluene 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM63를 benzene과 toluene을 각각 500 mg/l 씩 합성폐수에 첨가한 뒤 종균을 각각 2%(v/v)되게 접

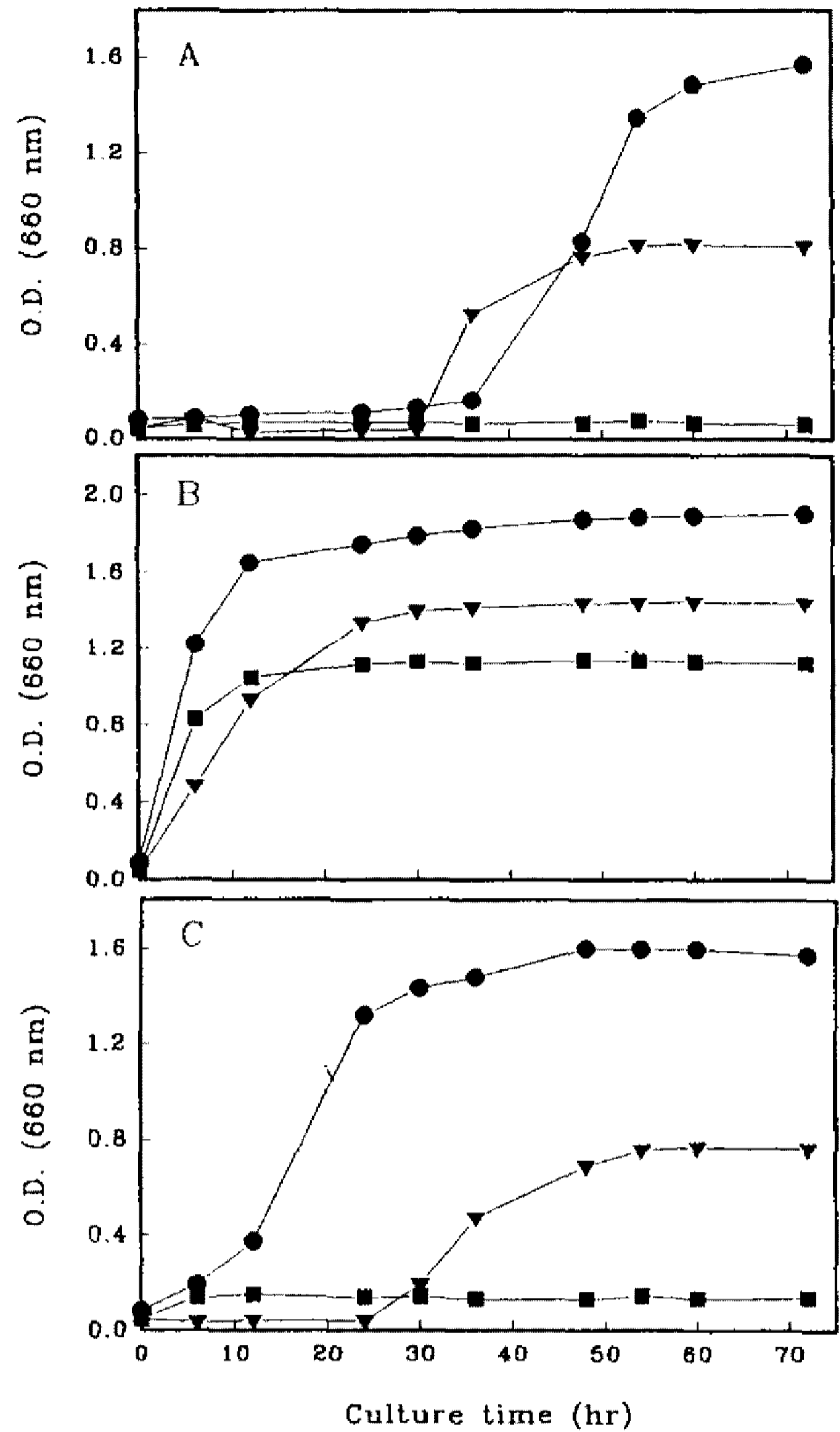


Fig. 4. Growth on mixed substrate (BP, BT, PT) by a mixed culture of selected strains.

A: Mixed culture of *Flavobacterium* sp. BEN2 and *Acinetobacter* sp. GEM2 on mixed compounds of benzene and phenol: ●, BP; ■, BEN2-phenol; ▼, GEM2-benzene
 B: Mixed culture of *Flavobacterium* sp. BEN2 and *Acinetobacter* sp. GEM63 on mixed compounds of benzene and toluene: ●, BT; ▼, BEN2-phenol; ■, GEM2-benzene
 C: Mixed culture of *Acinetobacter* sp. GEM2 and *Acinetobacter* sp. GEM63 on mixed compounds of phenol and toluene: ●, PT; ▼, BEN2-phenol; ■, GEM2-benzene

종한 후 배양 시간별 균 생육을 흡광도로 측정하여 나타내었다(Fig. 4B). Benzene 분해균주, *Flavobacterium* sp. BEN2는 toluene을 toluene 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM63는 benzene을 유일 탄소원으로 500 mg/l 씩 첨가하여 배양하였을 때 모두가 유도기가 없이 급격한 균체증식을 나타내어 각각 배양 24시간, 12시간만에 정지기에 도달하여 흡광도가 1.36, 1.12

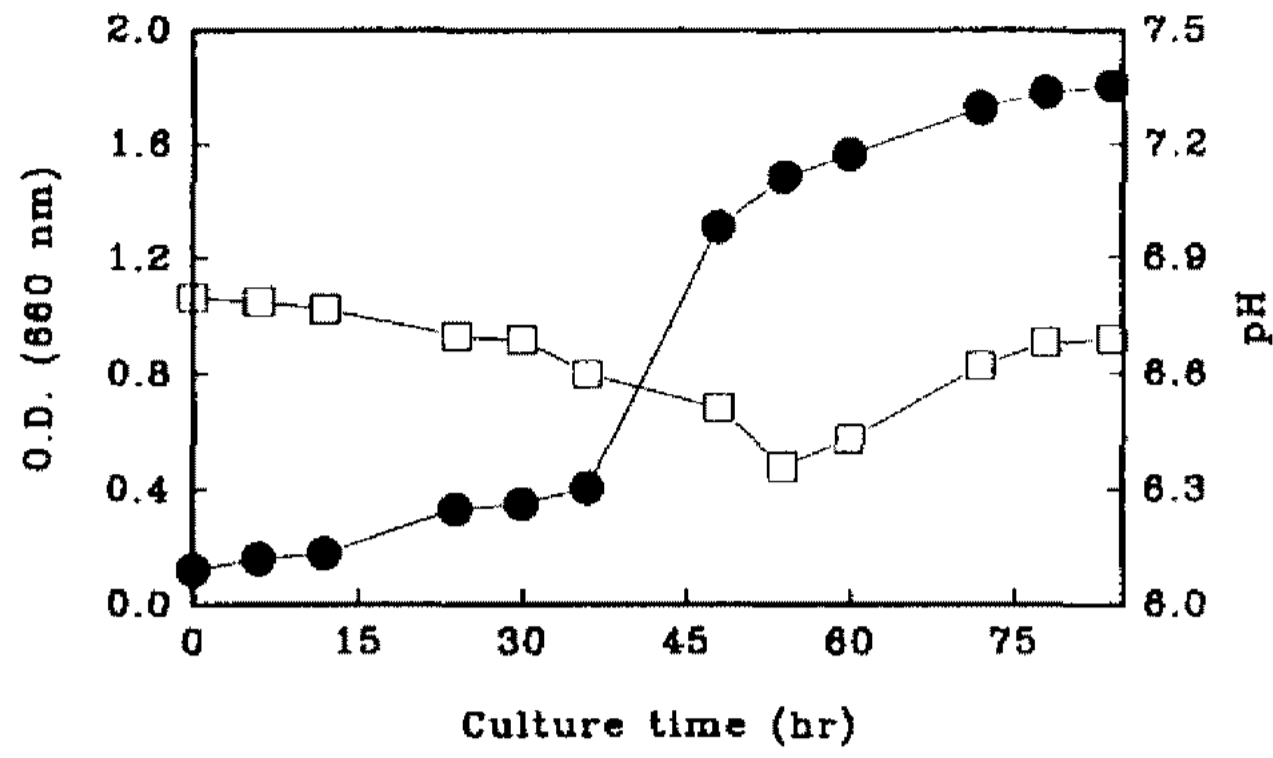


Fig. 5. Time course of cell growth and pH change in a mixed culture containing 500 mg/l of benzene, phenol, and toluene. ●, Cell growth; □, pH

로서 높은 기질 이용성을 나타내었다. 또한 BT 혼합배양시 유도기가 없이 급격한 균생육을 나타내어 배양 12시간만에 정지기에 도달하여 흡광도가 1.65로서 benzene 및 toluene이 포함된 폐수처리에 신속하게 화합물을 제거할 목적에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다. Phenol 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM2와 toluene 분해균주 *Acinetobacter* sp. GEM63를 phenol 및 toluene이 각각 500 mg/l 씩 첨가된 배지에 종균을 각각 2%(v/v)되게 접종한 후 배양 시간별 균생육을 흡광도로 측정하여 나타내었다 (Fig. 4C). Toluene 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM63는 phenol에 대하여 전혀 균생육을 못하는 기질 저해를 나타내었으며, phenol 분해균주인 *Acinetobacter* sp. GEM2는 toluene에 대하여 배양초기에 유도기가 지속되다가 배양 30시간에 급격히 균생육이 증가하여 배양 54시간에 정지기에 도달하여 흡광도가 0.75였다. 따라서 phenol 분해균주, *Acinetobacter* sp. GEM2는 toluene에 대하여 기질 이용성을 갖는 것으로 추정된다. PT의 혼합배양의 경우는 유도기가 없이 급격한 균체증식을 나타내어 배양 48시간에 균체량이 최고에 도달하여 흡광도가 1.6이었다. 따라서 혼합배양에 의해 phenol 및 toluene 분해가 가능한 것으로 추정되며, 이러한 화합물이 포함된 폐수처리에 이들 균주를 효과적으로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

Benzene, phenol 및 toluene을 500 mg/l 씩 첨가한 합성폐수에 종균을 각각 2%(v/v)되게 접종한 후 혼합배양하여 배양 시간별 균생육 및 pH 변화를 나타내었다(Fig. 5). 배양 36시간까지 균생육이 유도기를 지속하다가 배양 54시간에 정지기에 도달하여 흡광도가 1.48이었고, pH는 6.36으로 감소하였다. BPT의 혼합배양시 기질의 이용성은 기질간의 상호작용으로

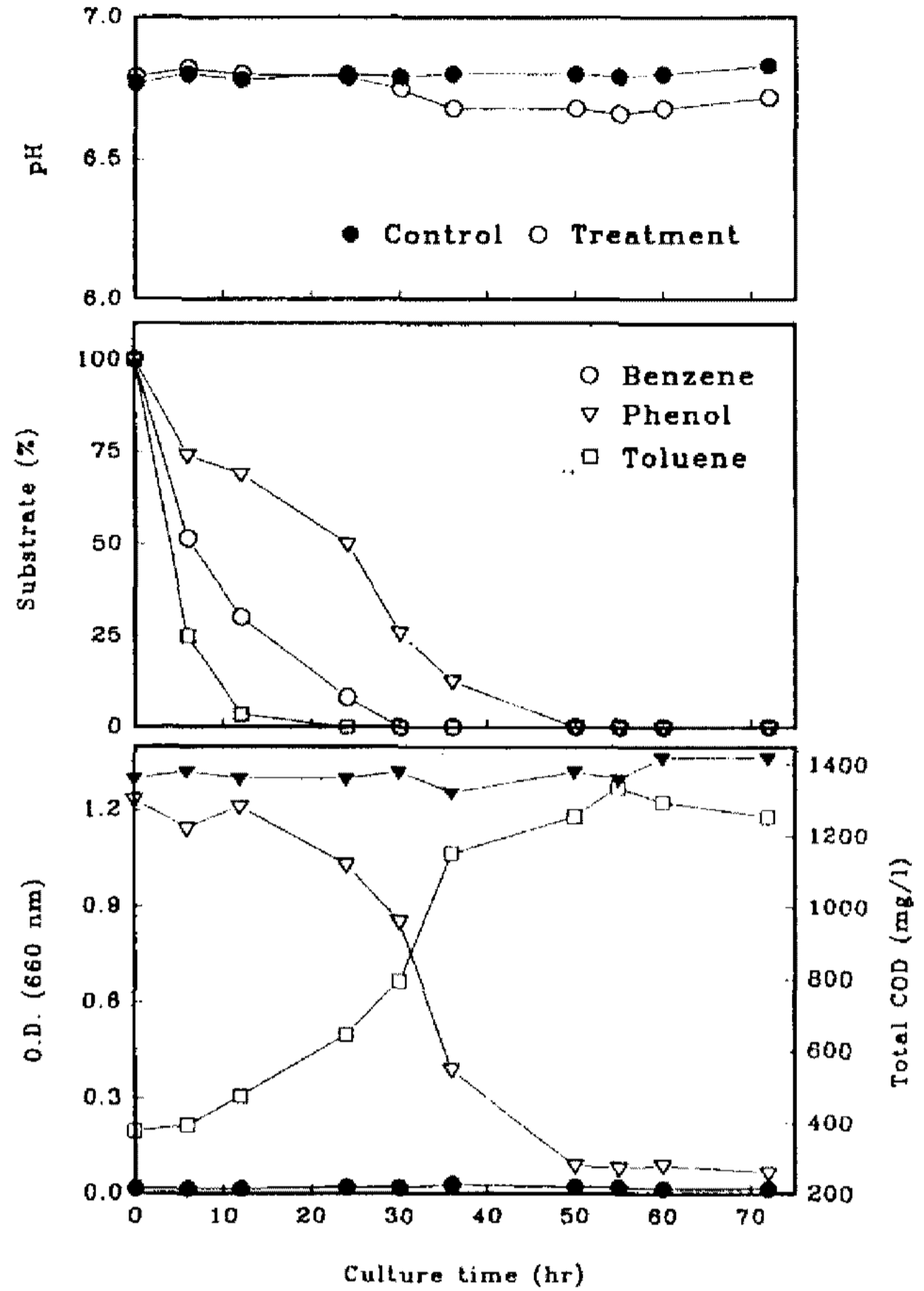


Fig. 6. Profile of benzene, phenol, and toluene utilization and change of cell growth, pH, and COD by mixed cultivation in a bench scale reactor. O.D.: ●, Control; □, Treatment. COD; ▼, Control; ▽, Treatment

인하여 다소 배양 시간은 길어지지만 높은 균생육을 나타내었다. 따라서 BPT가 혼합된 폐수를 분리균주의 혼합배양을 통하여 효과적으로 처리할 수 있을 것으로 사료된다.

반응조를 이용한 혼합배양

반응조에서 혼합균주가 정상상태에 도달한 후 반응기에 benzene, phenol 및 toluene을 각기 1000 mg/l의 농도로 첨가하고 배양 시간에 따르는 대조구와 처리구의 균체증식, pH 및 CODt(total COD)변화, 그리고 화합물의 농도를 조사하여 나타내었다(Fig. 6). 배양시간의 경과에 따라 반응기내 화합물의 농도는 감소하여 benzene은 30시간, toluene은 12시간, 그리고 phenol은 50시간에 처리구에서 검출되지 않았다. Benzene과 toluene은 비중이 낮고, 물에 대한 용해도가 낮으며 휘발성이 강한 물질로서 미생물에 의한 생분해가 어렵고, 폭기과정에서 휘발성유기화합물중 비염소화화합물의 20% 정도가 대기중으로 소멸된다

고 하였다(17, 18). 따라서 방향족 화합물이 혼합된 폐수처리시 휘발성분에 의한 대기오염 방지를 위한 처리 시스템이 추가적으로 필요하다고 사료된다. 대조구에서 배양시간에 따르는 균체증식 및 pH 변화는 없었으며, 처리구에서는 배양초기에 유도기가 없이 서서히 균체량이 증가하여 배양 55시간에 흡광도가 1.27로 최고의 균체량을 나타냈으며, pH는 6.68로서 균생육에 따른 큰 변화는 없었다. 배양시간 경과에 따른 대조구와 처리구의 COD_t 변화는 대조구의 COD_t가 1380~1420 mg/l로서 배양시간에 따라 약간의 증가는 보이나 큰 변화는 없었다. 처리구의 COD_t는 배양후 12시간까지는 변화없이 1300 mg/l 정도로 지속되었으나 배양 24시간부터 급격히 감소하여 배양 50시간에는 260 mg/l로서 COD_t 감소율이 약 80%로서 더 이상의 변화는 없었는데, 이것은 균체증식에 따른 COD_t 부하에 인한 것으로 추정된다. 배양액을 원심 분리하여 상정액을 가지고 COD_s(soluble COD)를 측정 한 결과는 80 mg/l로서 약 93.8%의 제거율을 나타내었다. 따라서 COD_s는 COD_t와는 많은 차이를 보여 균체에 의한 COD 부하를 추정할 수 있었다. 결론적으로 유용균주의 혼합배양에 의하여 BPT 혼합물의 효율적인 처리가 가능하다고 사료되며, 난분해성 물질의 생물학적처리를 위해서는 다양한 균주의 확보가 필수적이며, 혼합균주의 대사기작 및 기질간의 상호 작용에 대한 더 많은 연구가 이루어져야 하겠다.

요 약

Benzene(B), phenol(P), 그리고 toluene(T)을 각각 500 mg/l 포함한 합성폐수에 분리·선별된 단일균주 및 혼합균주를 접종하고 배양하면서 기질 조합에 따른 방향족화합물의 생분해에 대하여 조사하였다. 사용된 세 균주 모두가 탄소원으로서는 *p*-xylene을 이용하지 못하였으나 benzene 또는 toluene과 함께 *p*-xylene을 첨가할 경우에는 균생육이 높았다. 기질조합에 의한 혼합배양시 유도기는 혼합물의 종류에 따라 서로 차이가 있었다. *Flavobacterium* sp. BEN2와 *Acinetobacter* sp. GEM63의 균생육은 500 mg/l의 phenol이 존재할 경우 저해를 받았다. 반응조에서 합성폐수를 이용한 세 균주의 혼합배양을 실시하였을 때, 처리구에서 benzene, phenol, 그리고 toluene은 배양 후 각각 30시간, 50시간, 12시간에 검출되지 않았으며, COD_t의 제거율은 배양 50시간에 약 80%를 나타내었다. 또한 배양액을 원심분리한 후 상정액의 COD_s는 80 mg/l로서 93.8%의 COD 제거율을 나타내었다.

참고문헌

1. Kobayashi, H. and B.E. Rittman. 1982. Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* **16**: 170-173.
2. Stensel, H.D. and S. Reiber. 1983. Industrial wastewater treatment with a new biological fixed-film system. *Environ. Prog.* **2**: 110-114.
3. Lee, J.Y., Y.B. Choi, and H.S. Kim. 1993. Simultaneous biodegradation of toluene and *p*-xylene in a novel bioreactor; Experimental results and mathematical analysis. *Biotechnol. Prog.* **9**: 46-53.
4. Bitzi, U., T. Egli, and G. Hammer. 1991. The biodegradation of mixtures of organic solvents by mixed and monocultures of bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* **37**: 1037-1042.
5. Chang, M.K., T.C. Voice, and C.S. Criddle. 1992. Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of benzene, toluene, and *p*-xylene by two *Pseudomonas* isolates. *Biotechnol. Bioeng.* **41**: 1057-1065.
6. Horvath, R.S. 1972. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature. *Bacteriol. Rev.* **36**: 146-155.
7. Strand, S.E., M.D. Bjelland, and H.D. Stensel. 1990. Kinetics of chlorinated hydrocarbon degradation by suspended cultures of membrane-oxidizing bacteria. *Res. J. Water Pollut. Control. Fed.* **62**: 124-129.
8. Schmidt, S.K. and M. Alexander. 1985. Effects of dissolved organic carbon and second substrates on the biodegradation of organic compounds at low concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**: 822-827.
9. Machado, R.J. and C.P.L. Grady. 1989. Dual substrate removal by an axenic bacterial culture. *Biotechnol. Bioeng.* **33**: 327-337.
10. Scow, K.M., S.K. Schmidt, and M. Alexander. 1989. Kinetics of biodegradation of mixtures of substrates in soil. *Soil Biol. Biochem.* **21**: 703-708.
11. Wiesel, I., S.M. Wubker, and H.J. Rehm. 1993. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by an immobilized mixed bacterial culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **39**: 110-116.
12. 고영희, 하일호, 배경숙. 1988. Naphtalene을 분해하는 *Pseudomonas putida* N3의 분리 및 특성. *산업미생물학회지* **16**: 199-204.
13. 동화기술 편집위원회. 1987. 환경오염공정시험법. 동화기술.
14. Dalton, H. and D.I. Stirling. 1982. Co-metabolism. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B.* **297**: 481-496.
15. Arvin, E., B.K. Jensen, and A.T. Gunderson. 1989.

- Substrate interactions during aerobic biodegradation of benzene. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 3221-3225.
16. Meyer, J.S., M.D. Marcus, and H.L. Bergman. 1984. Inhibitory interactions of aromatic organics during microbial degradation. *Environ. Toxicol. Chem.* **3**: 583-587.
17. Hill, G.A., M.E. Tomusiak, B. Quail, and K.M. Van Cleave. 1991. Bioreactor design effects on biodegradation capabilities of VOCs in wastewater. *Environ. Prog.* **10**: 147-153.
18. Parker, W.J., D.J. Thompson, J.P. Bell, and H. Melcer. 1993. Fate of volatile organic compounds in municipal activated sludge plants. *Water Environ. Res.* **65**: 58-65.

(Received August 16, 1994)