

Enterobacter sp. JE-1에 의한 Congo Red의 생분해

공은진·김종수·이건·이상준·이종근
부산대학교 미생물학과
(1997년 12월 3일 접수)

Biodegradation of Congo Red by *Enterobacter* sp. JE-1

Eun-Jin Kong, Jong-Soo Kim, Geon Lee, Sang-Joon Lee, and Jong-Kun Lee
Dept. of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea
(Manuscript received 3 December 1997)

The bacterial strain JE-1 degrading and utilizing Congo Red as a sole carbon source was isolated from dye-contaminated soil and identified as *Enterobacter* species. *Enterobacter* sp. JE-1 had the highest decolorization ability when it was cultured in the medium containing 0.05% NH_4NO_3 , 0.05% K_2HPO_4 , 0.03% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.025% Congo Red, initial pH 7.0 at 30°C, respectively. *Enterobacter* sp. JE-1 had the relatively high substrate specificity. The dye decolorizing activity was exclusively extracellular. The expected metabolic intermediates of Congo Red by *Enterobacter* sp. JE-1 were analyzed by GC/MS. As a result, metabolic products like hexadecanoic acid, 1,2,3-triphenylcyclopropene, aliphatic hydrocarbons such as hexadecane, heptadecane, octadecane, hexacosane etc., and 1,2-benzenedicarboxylic acid, di-butyl ester were detected. Benzidine did not detected.

Key words : Congo Red, *Enterobacter*, Biodegradation

1. 서론

지난 수 년동안 방광암을 유발하는 발암성 물질인 benzidine을 기본으로 하는 염료가 아시아 지역에서 생산되어지고 있다. 이러한 염료는 분해시 많은 양의 benzidine을 방출하기 때문에 사용을 억제하고 있지만 저렴한 가격때문에 아직도 많이 사용되어지고 있다. 1884년 Bottiger에 의해 benzidine과 naphthionic acid를 coupling시켜서 만든 Congo Red의 발견 이후 수천 톤의 benzidine-based dyes가 사용되어지고 있다 (Johnson et al., 1978).

Azo계 염료의 탈색에 수반되는 첫번째 대사경로는 azo reductase에 의한 azo bridge의 환원으로 이루어지며, 환원된 산물인 aromatic amines는 혐기성 미생물에 의해 분해되지 않는다(Meyer, 1981; Manning et al., 1985). 호기성 미생물이 deamination과 hydroxylation reactions를 통해서 환원된 산물을 산화시킬 수 있다(Idaka et al., 1987).

산화에 의한 azo 결합의 절단의 특징은 배양액 속에 aromatic amines가 축적되어지는 혐기적인 전환 기작과는 다른 중간 산물을 생성하는데 있다(Chung et al., 1992).

호기적인 조건하에서의 염료의 분해율은 염료의 aromatic substitution 형태와 분해 미생물의 종류에 따라서 상당히 달라진다. 그리고 azo계 염료의 탈색과 분해

기작을 알기 위해서는 azo 결합의 최초의 효소적인 전환에 대한 세밀한 정보가 요구된다(Paszczynski et al., 1992).

본 실험에서는 자연계에서 난분해성으로 알려진 Congo Red를 탄소원으로 이용하면서 호기적으로 분해하는 세균을 토양으로부터 분리하여 분류학적 위치를 검토하고 생육 특성, 분해 특성, 기질 특이성 및 산화에 의한 분해 중간대사 산물 등에 대해 연구함으로써 그 응용면을 개발하는데 필요한 기초 자료를 제공하고자 한다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1 분리용 시료 및 배지 조성

Congo Red 분해균을 분리하기 위한 분리용 시료는 염료 오염 지역의 토양을 시료로 사용하였다. 채취한 시료는 건조시킨 다음 멸균수에 현탁하여 30°C에서 하루 동안 진탕 배양한 후 그 상등액을 사용하였다. 이렇게 처리한 각종 시료 1ml를 100ppm Congo Red, 0.05% K_2HPO_4 , 0.02% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05% NH_4Cl , pH 7.3으로 조성된 분리용 배지 10ml에 접종하여 30°C에서 1-2일간 진탕 배양하여 탈색을 보이는 액체 배지로부터 Congo Red 분해균을 순수 분리하였다. 이들 분리균 중에서, Congo Red 분해능 및 제반 특성을 비교 검토하여 Congo Red 분해활성이 높은 JE-1 균을 본 실험에

Table 1. Morphological, cultural, biochemical and physiological characteristics of isolated strain JE-1

Contents	Characteristics
Morphological characteristics	
Shape	Short rod
Size(μm)	0.5~0.7 × 1.0~1.4
Gram stain	Negative
Motility	Negative
Spore	Non-sporeforming
Type of cell division	Simple division
Cultural characteristics	
Colonies	Circular, entire convex and wetted
Colony surface	Smooth
Colony color	Cream
Colony opacity	Opaque
Nutrient broth	Sediment
Biochemical & physiological characteristics	
Catalase	Positive
β-Galactosidase	Positive
Arginine dihydrolase	Negative
Lysine decarboxylase	Positive
Ornithine decarboxylase	Negative
Citrate utilization	Positive
DNase test	Negative
H ₂ S production	Negative
Urease	Positive
Tryptophane deaminase	Negative
Indole production	Positive
Voges-Proskauer test	Positive
Methyl-Red test	Negative
Cytochrome oxidase	Negative
Gelatin liquefaction	Negative
Nitrate reduction	Positive
Nitrite reduction	Negative
Oxidation-fermentation	Fermentation
Growth on MacConkey agar medium	Positive
10% NaCl	Growth
15% NaCl	No growth

사용하였다.

2.2 분리균의 생육도 및 Congo Red 분해율 측정

분리균의 생육도 측정은 UV-VIS spectrophotometer (kontron unikon 930)를 사용하여 660nm에서 측정하였으며, Congo Red 분해능은 배양액을 12,000rpm에서 15분간 원심분리(model HM-160, hanil)한 후 UV-VIS spectrophotometer를 사용하여 495nm에서의 흡광도 감소율(%)로서 나타내었다.

본 실험에 사용된 각 색소는 C. A. S.(chemical abstract service)에 공인된 것으로 편의상 상품명을 사용하였다.

2.3 분리균의 분류 및 동정

분리된 Congo Red 분해균의 분류학상의 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양적, 생화학적 제반 특성을 검토하였으며, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 제 1권(1984), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 제 8판(1974)과 Manual Methods for General Bacteriology(1981)을 참고로 하

여 분류 동정하였다.

2.4 분리균에 의한 Congo Red 분해 최적 조건 검토

분리균의 Congo Red 분해 최적 조건을 알아보기 위하여 다음과 같이 실험하였다. Congo Red 농도, 질소원에 따른 영향, 무기염, 온도, pH, 통기량의 변화에 따른 Congo Red의 분해율을 조사하였다.

2.5 최적 배지 조건하에서 분리균의 생육도 및 Congo Red의 분해율 검토

Congo Red 250ppm이 첨가된 최적 배지 조건하에서 배양 시간별로 균의 생육도 및 색소 분해율을 검토하였다. 또한 배양 시간별에 따른 Congo Red의 점진적인 탈색은 UV-VIS scanning spectra로 조사, 확인하였다.

2.6 Azo계 색소에 대한 기질 특이성 검토

분리균의 azo계 색소에 대한 기질 특이성을 알아보기 위하여 최적 배지에 각종 azo계 색소를 100 ppm씩 첨가하여 30℃, 48시간 배양한 후 각 색소의 최대 흡수파장에서의 흡광도의 감소율(%)로서 분해능을 측정하였다. 기질로 이용한 azo계 색소는 Orange 2G, Methyl Orange, Acid Red 114, Acid Red 71, Methyl Red 등이었다.

2.7 Congo Red 분해 효소에 관한 검토

Congo Red가 첨가된 최적 배지에 분리균을 배양한 후, 균체를 제거한 여액과 균체를 파쇄하고 난 뒤 원심분리하여 얻은 상등액을 각각 Congo Red와 24시간동안 반응시켜 분해능을 측정하였다.

2.8 Congo Red 분해 중간대사 산물의 검정

Manning 등(1985)의 방법을 참조하여 Congo Red 분해 중간대사 산물을 검정하였다. 즉, Congo Red 분해 최적 배지에 분리균을 접종하여 30℃에서 48시간 배양한 후, 원심분리(12,000rpm, 15min)하였다. 얻어진 상등액 각각에 동량의 ethyl acetate와 동량의 ether를 각각 따로 3회 처리하여 분해 중간 산물을 추출한 후, 그 추출액을 감압 농축(univapo 100H)하였다. 그중 2μl를 시료로 사용하여 GC/MS(kratos profile, cross-linked silicone gum column, Ultra-2 50m×0.2mm×0.11μm)로 중간대사 산물을 측정하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

3.1 균주의 동정

분리균인 JE-1을 순수 분리하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 제 1권(1984), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 제 8판(1974)과 Manual methods for general Bacteriology(1981)를 참조하여 형태학적, 배양적, 생화학적 특징을 조사하였고, 그 분류학상의 위치를 검토하였다. 분리균인 JE-1은 그람 음성의 간균으로 포자를 형성하지 않는 세균이었다. 공시균을 nutrient agar plate상에 접종하여 형성된 colony는 중앙부가 볼록한 등근형이었다. Nu-

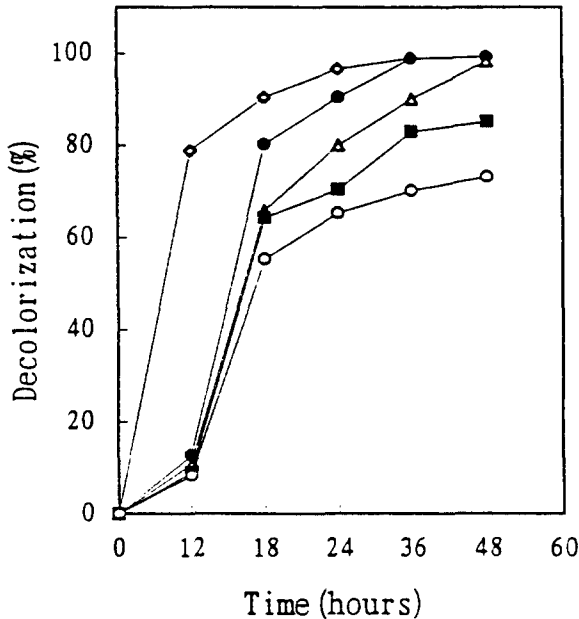


Fig. 1. Effect of Congo Red concentration on the decolorization by *Enterobacter* sp. JE-1.
 -◇-, 0.01%; -●-, 0.025%; -△-, 0.05%; -■-, 0.075%; -○-, 0.1%

trient broth상에서의 생장은 시험관 밑부분에 균체가 모이는 sediment형이었다(Table 1). 탄수화물 이용에 대한 실험결과 glucose, sucrose, lactose, rhamnose, malonate 등은 이용하였으나, inulin, sorbose, caprate 등은 이용하지 못하였다(data 제시하지 않음). 공시균인 JE-1의 생화학적 특성을 검토한 결과, catalase test, β -galactosidase test, lysine decarboxylase test, citrate utilization test, Voges-Proskauer test 등에서는 양성 반응을 나타내었으며, ornithine decarboxylase test, DNase test, H_2S production test, methyl-red test, cytochrome oxidase test 등에서는 음성 반응을 나타내었다. Oxidation-fermentation test에서는 모두 양성 반응을 나타내었고, 10% NaCl에서는 생육하였으나 15% NaCl에서는 생육하지 않았다(Table 1). 본 실험에 사용된 JE-1균은 이상의 여러가지 특성들을 검토해 볼 때 *Enterobacter*속으로 판정되었다.

3.2 분리균에 의한 Congo Red 분해 최적 조건 검토

Congo Red의 분해율을 높이고 분해 소요 시간을 단축시키기 위해 *Enterobacter* sp. JE-1의 Congo Red에 대한 분해 제 조건을 검토한 결과는 다음과 같다.

3.2.1 Congo Red 농도의 영향

분리용 배지에 유일 탄소원으로 Congo Red의 농도를 0.01, 0.025, 0.05, 0.075, 0.1%로 첨가하여 30°C에서 배양시간별로 분해율을 측정된 결과, *Enterobacter* sp. JE-1은 Congo Red 농도 0.075%까지

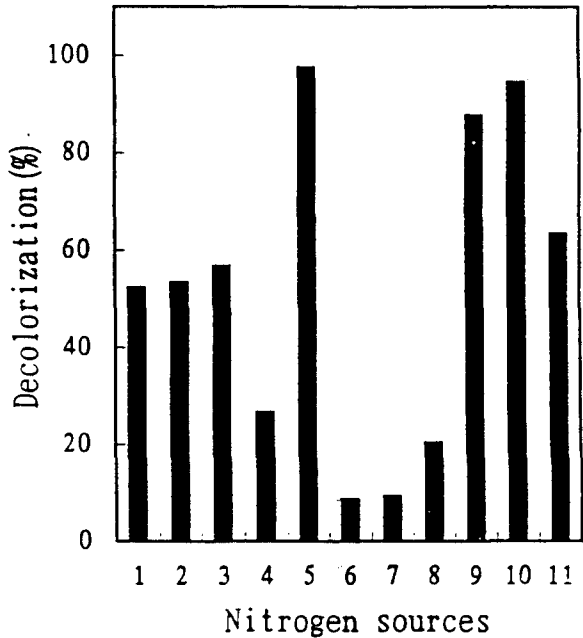


Fig. 2. Effect of nitrogen sources on the decolorization of Congo Red by *Enterobacter* sp. JE-1 for 24 hours.

Dye: 250ppm Congo Red. 1, Yeast extract; 2, Tryptone; 3, Bacto-peptone; 4, Casein; 5, NH_4NO_3 ; 6, $NaNO_3$; 7, KNO_3 ; 8, $NH_4H_2PO_4$; 9, $(NH_4)_2SO_4$; 10, NH_4Cl ; 11, None

는 배양 24시간만에 80%이상의 분해율을 나타내었으며, 농도가 증가함에 따라 염료 분해율이 감소하였다. *Enterobacter* sp. JE-1은 Congo Red 농도 0.01%에서 대체로 빠른 분해율을 보였으나 24시간이 경과하면서 0.025%와 거의 유사한 분해 활성을 보였다. 상기의 실험에서 염료 분해율과 탄소와 질소의 비 등을 고려하여 유일 탄소원으로 첨가되어지는 Congo Red의 최적 농도는 0.025%로 설정하였다(Fig. 1).

3.2.2 질소원의 영향

유일 탄소원으로 0.025% Congo Red가 첨가된 분리용 배지에 각종 무기 질소원과 유기 질소원을 0.05%씩 첨가하여 24시간 배양한 후 Congo Red 분해능을 측정된 결과 *Enterobacter* sp. JE-1은 유기 질소원에서 균의 생육은 뛰어났으나 대체로 50%정도의 저조한 염료 분해율을 나타내었다. 무기 질소원에서는 NH_4NO_3 에서 가장 높은 분해율을 나타내었고, $(NH_4)_2SO_4$ 와 NH_4Cl 에서도 염료 분해율이 높았다. $NH_4H_2PO_4$ 의 경우에는 분해되어 방출되어지는 H^+ 에 의한 배지의 산성화에 의해 분해율이 낮은 것으로 사료된다. 질소원을 따로 첨가하지 않은 경우에도 63.4%의 분해율을 보였다. 따라서 *Enterobacter* sp. JE-1은 Congo Red를 탄소원 및 질소원으로 이용할 수 있음을 알 수 있었다(Fig. 2). 최적 질소원으로는 가장 높은 분해율을 보인 NH_4NO_3 로 정하

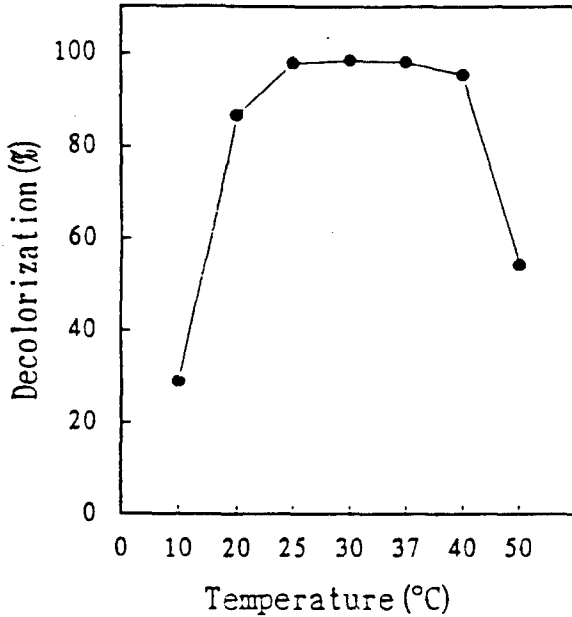


Fig. 3. Effect of temperature on the decolorization of Congo Red by *Enterobacter* sp. JE-1 for 24hours.
Dye : 250ppm Congo Red

였으며 NH_4NO_3 의 농도별 염료 분해율을 조사한 결과 0.05%에서 가장 높은 분해율을 보였다. 질소원이 제한된 조건에서 *Phanerochaete chrysosporium*은 효과적으로 azo계 색소를 분해한다는 보고(Cripps et al., 1990)와 본 실험의 결과는 유사한 것으로 나타났다.

3.2.3 무기염의 영향

0.025% Congo Red, 0.05% NH_4NO_3 , 0.05% K_2HPO_4 를 첨가한 기본 배지에 0.02%의 각종 무기염을 첨가하여 30°C, 24시간 배양한 후, 균의 생육도와 분해율을 측정할 결과, 무기염 중 NaCl과 KCl의 경우 앞서 질소원의 영향에 따른 실험에서 NaNO_3 , KNO_3 의 경우와 마찬가지로 낮은 분해율을 나타내는 것으로 보아 Na^+ , K^+ 이 염료 분해에 저해 효과를 나타내는 것으로 사료된다. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가한 경우 가장 분해율이 높았다(data 제시하지 않음). 따라서 본 실험에서는 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 염료 분해에 가장 효과적인 무기염으로 선택하고, 농도에 따른 분해율을 조사하였다. 0.03%의 농도에서 가장 높은 분해율을 나타내었다(data 제시하지 않음).

3.2.4 온도의 영향

배양 온도가 Congo Red 분해에 미치는 영향을 알아보기 위하여 배양 온도를 10°C에서 50°C까지 단계별로 조절하여 24시간 배양한 결과, 25~40°C에서 90% 이상의 분해율을 보였으며, 45°C 이상의 고온보다 20°C 이하의 저온에서 분해율이 낮게 나타났다(Fig. 3). 분해율과 균의 생육 최적 온도 등을 고려하여 30°C를 Con-

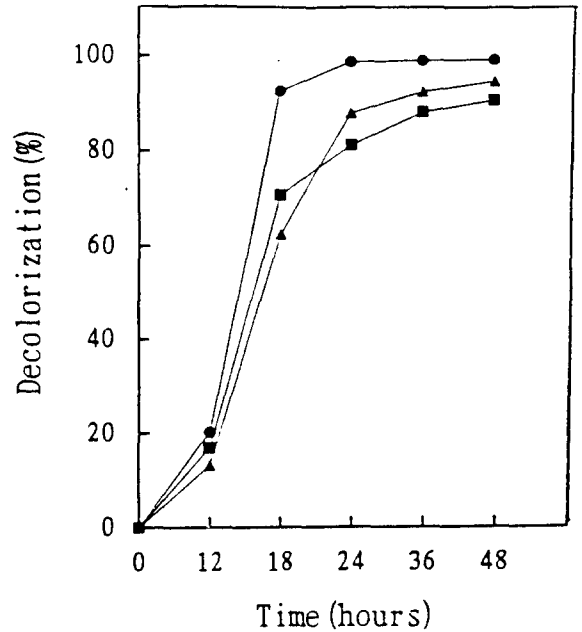


Fig. 4. Effect of aeration on the decolorization of Congo Red by *Enterobacter* sp. JE-1.
Dye:250ppm Congo Red. -●-, Aerobic incubation; -▲-, Anaerobic incubation; -■-, Static incubation

go Red 분해 최적 온도로 설정하여 본 실험을 행하였다. 이는 Vyas 등(1994)의 연구에서 *Phanerochaete chrysosporium* peroxidase의 산화 활성에 고온보다 저온이 저해효과를 나타낸다는 결과와 유사한 것으로 나타났다.

3.2.5 pH의 영향

배지의 pH를 1N의 HCl과 NaOH를 이용하여 pH 5.0~10.0까지 단계별로 조절하여 Congo Red의 분해에 미치는 영향을 검토한 결과, 초발 pH 7.0에서 가장 높은 분해율을 보였으며, 그 외의 pH 영역에서는 분해율이 저조하였다. 산성 영역보다는 알칼리 영역에서의 분해율이 훨씬 낮은 것을 관찰할 수 있었다(data 제시하지 않음).

3.2.6 통기량의 영향

상기의 최적 조건에서 Congo Red 분해에 미치는 통기량의 영향을 검토하기 위하여 진탕 배양, 정지 배양, 험기 배양을 실시한 결과, 진탕 배양시 분해율이 가장 양호하였다. 배양 40시간 후 정지배양, 험기 배양 모두 80% 이상의 분해율을 나타내었다(Fig. 4).

3.3 Congo Red 분해 최적 배지에서의 생육도 및 분해율 측정

이상에서 검토한 *Enterobacter* sp. JE-1균의 Congo Red 분해 최적 배지는 0.025% Congo Red, 0.05%

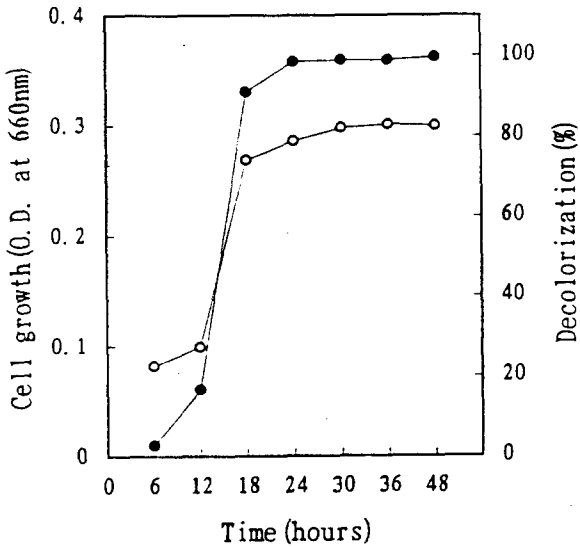


Fig. 5. Curves of the cell growth and decolorization of Congo Red on the optimal medium by *Enterobacter* sp. JE-1.

Dye : 250ppm Congo Red. -○-, Cell Growth; -●-, Decolorization

NH₄NO₃, 0.05% K₂HPO₄, 0.03% MgSO₄ · 7H₂O, pH 7.0의 배지 조성이 가장 효과적인 배지로 선정되었다. 최적 배지상에서 균의 생육도와 Congo Red 분해율을 알아본 결과, 균의 생육과 더불어 분해율도 증가함을 알 수 있었고 대략 18시간 이후에 거의 분해되었다(Fig. 5). 점진적으로 색소가 탈색되는 현상을 보기위한 UV-VIS scanning spectra의 실험 결과, 495nm에서 배양 시간이 경과함에 따라 점점 감소하였으며, 340nm의 파장에서도 배양 시간이 경과함에 따라 점차 감소하였다(Fig. 6).

3.4 Azo계 색소에 대한 기질 특이성 검토

Enterobacter sp. JE-1이 기질로서 이용 가능한 azo계 색소를 검토하기 전에 본 실험에 사용된 색소의 pH 변화, 자연광에 따른 흡광도의 변화를 조사해 본 결과, 자연 분해율은 5% 이하로 큰 변화는 없는 것으로 나타났다. 최적 배지에 각종 azo계 색소를 0.01%씩 첨가하여 30℃에서 48시간 배양한 후, Congo Red 분해능 측정과 동일한 방법으로 각 염료의 최대 흡수 파장에서의 흡광도 감소율(%)을 측정할 결과, Methyl Red, Methyl Orange와 같은 methyl기를 가진 monoazo계 색소에는 비교적 높은 분해 활성을 보였으나 나머지 색소에 대한 분해율은 낮게 나타났다(Table 2).

3.5 Congo Red 분해 효소에 관한 검토

균체 파쇄 여액의 경우에는 Congo Red의 분해가 전혀 일어나지 않았으나, 배양 여액의 경우 분해 활성을 나타내었다. 이로서 *Enterobacter* sp. JE-1에 의한 Congo Red 색소의 분해에 관여하는 효소는 세포외에

Table 2. Decolorization of dyes by *Enterobacter* sp. JE-1

Dyes (0.01%)	Absorption maximum(nm)	Decolorization (%)
Orange 2G	475	50.8
Methyl orange	480	84.8
Acid Red 114	514	40.5
Methyl Red	514	82.9
Acid Red 71	540	52.6

존재함을 알 수 있었다(data 제시하지 않음).

3.6 중간대사 산물의 검토

배양 시간별 UV-VIS overlay scanning spectra는 가시광선대의 최대 흡수 파장에서 점진적으로 감소됨을 관찰할 수 있었고, 이와 더불어 280nm 이하의 파장에서 배양 18시간 후부터 peak가 나타나는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 6). 이것은 배양액 중에 Congo Red 분해 중간 대사 산물로 추정되는 물질이 존재하기 때문일 것으로 사료된다. Congo Red 분해 중간대사 산물을 분석하기 위하여 ethyl-acetate와 ether로 분해 중간대사 산물을 추출하여 GC/MS로 분석한 결과, ethyl acetate로 추출한 경우, hexadecanoic acid, 1,2,3-tri-phenylcyclopropene, 및 hexadecane, heptadecane, octadecane, hexacosane 등 알칸계 탄화수소 화합물로 사료되는 산물이 나타났다(Fig. 7). 대부분의 분해 산물이 다른 미생물이 이용하기 쉬운 알칸계 탄화수소 화합물로서 혼합 배양이나 2 step에 의한 분해를 시도하면 Congo Red가 미생물에 의해 완전히 광물화될 수 있을 것으로 사료된다. 이상의 결과로 추측컨대 *Enterobacter* sp. JE-1은 Congo Red의 벤젠환을 절단하여 탄소원 및 질소원으로 이용하는 것으로 사료된다. 분해 산물을 ethyl acetate로 추출한 경우, 1,2-benzendicarboxylic acid, dibutyl ester로 분석되었다(Fig. 7).

Enterobacter sp. JE-1에 의한 benzidine-based azo계 색소인 Congo Red의 분해 산물로서 분석된 1, 2-benzendicarboxylic acid, dibutyl ester는 1개의 벤젠 고리를 가지며, 쥐의 복강내 주사시 LD₅₀은 3.06ml/kg인 물질로서, 방광암을 유발하는 대표적인 발암원으로 알려진 benzidine보다 독성이 훨씬 약한 것으로 나타났다.

4. 결 론

자연계에서 난분해성 물질이며 잠재적인 발암원인 Congo Red를 유일한 탄소원으로 이용하는 미생물을 폐수의 영향을 받는 토양으로부터 농화 배양에 의해 분리하여, 그 중에서 분해능이 가장 우수한 균인 JE-1을 선별하여 본 실험에 사용하였다. 분리균에 대한 형태학적, 배양적, 생화학적 특징들을 토대로 하여 분류학적 위치를 검토하였고, Congo Red 색소에 대한 제반 분해조건을 검토하였다. 또한 분해에 관여하는 효소에 대한 검토 및 분해 산물을 추정하였으며, 다른 azo계 색소에 대한

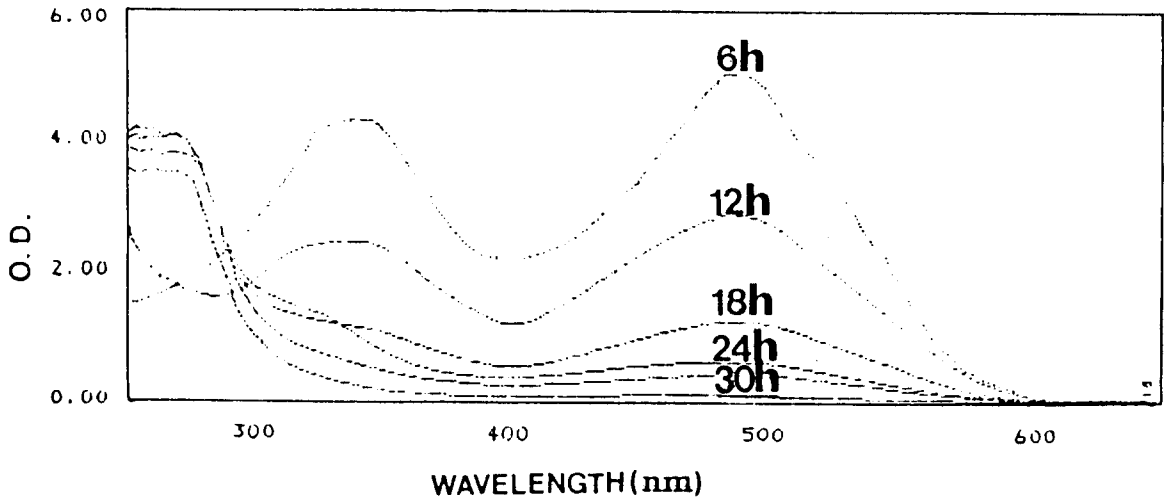


Fig. 6. UV-VIS scanning spectra of the culture filtrates of optimal medium containing Congo Red.

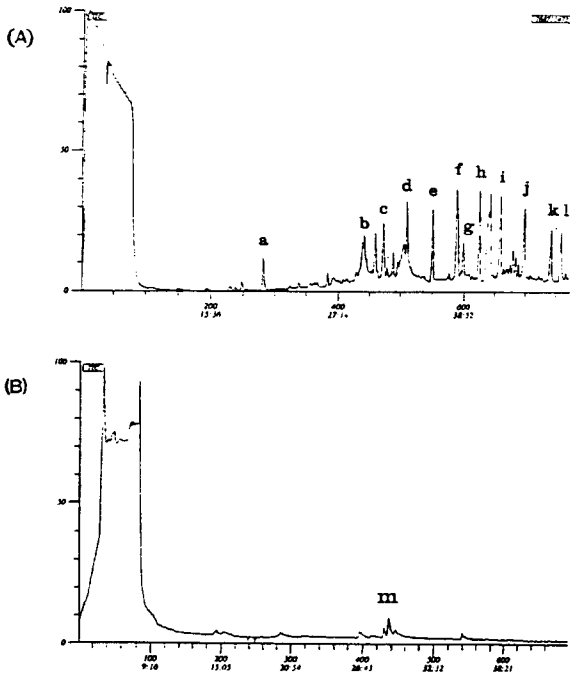


Fig. 7. GC/MS total ion trace of ethyl acetate(A) and ether(B)-extractable metabolites derivatives identified from culture media.

a, hexadecane; b, hexadecanoic acid; c, 5, 7-diisopropyl xanthone-2-carboxylic acid; d, eicosane; e, heptadecane; f, docosane; g, 2-butoxyethanolphosphate; h, pentacosane; i, hexacosane; j, tetra-cosane; k, octacosane; l, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene; m, 1,2-benzenedicarboxylic acid, dibutylester

기질 특이성도 조사하였다.

분리균 JE-1은 형태학적, 배양적, 생화학적 특성들을

통해 *Enterobacter*속으로 동정되었다. Congo Red 분해를 위한 최적 배지 조성은 0.05% NH_4NO_3 , 0.05% K_2HPO_4 , 0.03% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 초발 pH 7.0이며, 이 배지 조성에 250ppm Congo Red를 첨가하여 30°C에서 24시간 진탕 배양하였을 때 99%의 분해율을 나타내었다. *Enterobacter* sp. JE-1은 azo계 색소 중 Methyl Red, Methyl Orange를 분해하였으나 다른 azo계 색소에 대한 분해율이 저조하여 기질 특이성이 강한 것으로 나타났다. *Enterobacter* sp. JE-1에 의한 Congo Red 색소의 분해에 관여하는 효소는 세포외에 존재하였다. *Enterobacter* sp. JE-1 균에 의한 Congo Red 분해 중간대사 산물을 GC/MS로 분석한 결과, hexadecanoic acid, 1,2,3-triphenylcyclopropene, 및 hexadecane, heptadecane, octadecane, hexacosane 등 알칸계 탄화수소 화합물, 그리고 1,2-benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester로 사료되는 산물들이 분석되었다. 이상의 결과로서 benzidine-based azo계 색소인 Congo Red의 분해 중간대사 산물로서 benzidine이 검출되지 않음을 알 수 있었다.

감사의 글

이 연구는 1996년도 부산대학교 학술연구조성비로 이루어진 것입니다. 연구비를 지원해준 부산대학교에 감사드립니다.

참고 문헌

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1, 1984, The William and Wilkins Co., U.S.A.
 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., 1974, The William and Wilkins Co., U.S.A.
 Cripps, C., J. A. Bumpus and A. D. Steven, 1990, Biodegradation of Azo and Heterocyclic Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(4), 1114~1118.

- Chung, K. T., S. E. Stevens, Jr. and C. E. Cerniglia, 1992, The reduction of azo dyes by the intestinal microflora, *Crit. Rev. Microbiol.*, 18(3), 175.
- Idaka, E., T. Ogawa and H. Horitsu, 1987, Oxidative pathway after reduction of *p*-aminobenzene by *Pseudomonas cepacia*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 39, 108.
- Johnson, R. F., A. Aenhausern and H. Zollinger, 1978, Azo dyes, In : Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology 2nd ed., 2, John Wiley & Sons, New York, p.868~910.
- Manning, B. W., C. E. Cerniglia and F. W. Thomas, 1985, Metabolism of Benzidine-Based Azo Dye Direct Black 38 by Human Intestinal Microbiota, *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 10~15.
- Manual of Method for General Bacteriology, 1981, American Society for Microbiology, U.S.A.
- Meyer, U., 1981, Biodegradation of synthetic organic colorants, *FEMS Symp.*, 12, 371.
- Paszczynski, A., M. B. Pasti-Grigsby, S. Goszczynski, R. L. Crawford and D. L. Crawford, 1992, Mineralization of sulfonated Azo Dyes and Sulfanilic Acid by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(11), 3598~3604.
- Vyas, B. R. M., J. Volc and V. Sasek, 1994, Effect of temperature on the production of manganese peroxidase and lignin peroxidase by *Phanerochaete chrysosporium*, *Folia Microbiology*, 39(1), 19.