

## Cyclohexanol 이용성 세균의 분리 및 특성

김태강 · 이인구\*

경북대학교 농과대학 농화학과

**Isolation and Characterization of Cyclohexanol-utilizing Bacteria.** Kim, Tae-Kang and In-Koo Rhee\*. Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea – A bacterium, which can utilize cyclohexanol as a sole source of carbon and energy, was isolated from sludge in sewage of Ulsan Industrial Complex for Petrochemicals, Korea and identified as *Rhodococcus* sp. TK6. The growth conditions of the bacteria were investigated in cyclohexanol containing media. The bacteria utilized cyclohexanol, cyclohexanone, cyclohexane-1,2-diol, cyclopentanol, cyclopentanone, and  $\epsilon$ -caprolactone but not cyclohexane, cyclohexane-1,2-dione, and cyclooctanone. The bacteria were able to utilize alcohols such as ethanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol, 2-propanol, and 2-butanol as well as cyclohexanol, organic acids such as adipate, propionate, butyrate, valerate, *n*-caproate, and 6-hydroxycaproate, and aromatic compounds such as phenol, salicylate, *p*-hydroxybenzoate, and benzoate as a sole source of carbon and energy. Cyclohexanone as a degradation product of cyclohexanol by *Rhodococcus* sp. TK6 was determined with gas chromatography.

**Key words:** cyclohexanol, cyclohexanone, cyclohexane-1,2-diol, *Rhodococcus* sp., cyclohexanol degradation

Cycloparaffin계 화합물은 플라스틱 가소제 및 합성섬유의 원료로서 널리 사용될 뿐만 아니라 미래의 에너지 자원으로 주목을 받고 있는 tar-sand oil 속에도 다량 함유되어 있다[10]. 이들 화합물은 난분해성이고 독성이 강하므로 자연 생태계에 유입되었을 경우 심각한 환경오염을 유발한다[1]. 이들 난분해성 cycloparaffin계 화합물을 잘 분해할 수 있는 미생물을 분리하여 그 생분해 능력을 잘 이용하면 이들 화합물들에 의해 오염된 폐수의 정화에 사용할 수 있으리라 생각된다.

Cycloparaffin계 화합물의 하나인 cyclohexanol은 Norris와 Trudgill[5], Donoghue와 Trudgill[3], Tanaka 등[11]에 의해서 각각 *Nocardia*, *Acinetobacter* 및 *Pseudomonas* 속의 미생물에서 cyclohexanone,  $\epsilon$ -caprolactone 및 6-hydroxycaproate를 거쳐서 adipate로 생분해된다고 보고된 바 있다. 그러나 이들 보고의 대부분은 확산판을 통하여 cyclohexanol을 기체상태로 배지중에 공급하거나 0.1% 이하의 저농도에서 자랄 수 있는 미생물에 의한 것들이다. Cyclohexanol 유도체들에 의해 오염된 폐수의 생물학적 정화에 이용하기 위해서는 다양한 이들 유도체를 이용할 수 있는 폭넓은 분해 스펙트럼을 가진 미생물을 분리하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 cycloparaffin계 화합물의 하나이며 플

라스틱 가소제로 많이 사용되는 cyclohexanol을 잘 분해 할 수 있으며 cycloparaffin 유도체 뿐만 아니라 각종 유기산, 알코올 및 방향족 화합물 등의 다양한 화합물을 유일 에너지원 및 탄소원으로 이용할 수 있는 미생물을 분리하였기에 그 특성을 조사한 바를 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 배지

Cyclohexanol 이용성 세균의 분리를 위해서 0.11% NH<sub>4</sub>Cl, 0.05% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.02% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 및 0.05% yeast extract에 유일 탄소원으로 0.2% cyclohexanol을 액체 상태로 직접 첨가한 배지를 접식 배양에 사용하였으며 분리를 위한 평판배지는 이 배지에 한천을 1.5% 첨가한 고체배지를 사용하였다. 분리균의 배양에는 Table 1에서와 같이 cyclohexanol 액체배지 (이하 COH 배지라 약함)를 사용하였다. 이때 cyclohexanol 및 각종 기질은 살균된 배지에 여과 제균 시킨 후 별도로 첨가하였다. 균의 보존은 한천사면배지에서 1개월마다 계대배양 하면서 4°C에 보관하였다.

#### Cyclohexanol 이용성 세균의 분리 및 동정

20 ml의 분리용 배지를 넣은 100 ml용 삼각 플라스크에 오염된 공단지역의 하천수 및 토양에서 채취한 시료 약 0.1 g을 넣고 30°C에서 1주일간 접식배양시킨 후 평판

\*Corresponding author

Tel. 82-53-950-5718, Fax. 82-53-953-7233  
E-mail: ikrhee@bh.kyungpook.ac.kr

Table 1. Cyclohexanol liquid media for the optimum culture condition (COH media)

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.13%
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.05%
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.2%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02%
Yeast extract	0.05%
Cyclohexanol*	0.4%
pH	7.7

\*Cyclohexanol was added to the media after sterilization.

배양법에 의해 순수 분리하였다. 분리한 균은 형태학적 성질 및 생리학적 성질을 조사하여 Bergey's manual of systematic bacteriology Vol. 2[9]에 따라 분류하여 동정하였다.

#### 배양방법 및 생육도 측정

분리균의 배양조건 및 각종기질의 이용성을 검토하기 위해서 100 ml용 삼각 플라스크에 20 ml의 COH 배지를 넣고 한천 사면으로부터 1 백금이 접종하여 30°C에서 48시간 진탕배양한 종배양액 0.2 ml를 100 ml용 삼각 플라스크에 든 20 ml의 COH 배지에 접종하여 다시 30°C에서 48시간 진탕배양 하였다. 균의 생육도는 600 nm에서의 흡광도를 측정하여 세척균체의 105°C 건조중량으로 환산하여 나타냈다.

#### Hydrazine에 의한 cyclohexanone의 정량

배양액 중의 cyclohexanol로 부터 전환된 cyclohexanone의 정량은 hydrazone의 생성을 이용한 방법으로 행하였다[11]. 즉 배양액을 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 그 상정액 1 ml에 동량의 2,4-dinitrophenyl hydrazine의 2N HCl 포화용액을 가하여 100°C에서 5분간 반응시켜 냉각한 후 생성된 cyclohexanone의 hydrazone을 사염화탄소 5 ml로 추출한 뒤 435 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 cyclohexanone의 농도를 환산하여 나타내었다.

#### Gas chromatography(GC)에 의한 cyclohexanol 및 cyclohexanone의 분리

배양액에서 분리균에 의해 cyclohexanol로 부터 생성된 cyclohexanone을 확인하기 위해 Ohta 등[6]의 방법을 조금 변형시켜 GC를 행하였다. 즉, 배양액을 15,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 그 상정액 1 ml를 채취하여 3 ml 에테르로 추출하여  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 로 탈수시켜 GC (Pye Unicam series 304 chromatograph, Philips사)를 행하였다. Column은 동 회사에서 제조된 PEG20M을 사용하였고 carrier gas( $\text{N}_2$ )의 속도는 21 ml/min이며, column의 온도는 120°C에서 5분이 지난뒤 분당 10°C 증

가시켜 200°C에서 2분간 방치시켰다. 이 때 injector의 온도는 230°C이고 검출기(FID)의 온도는 250°C이었다.

#### 결과 및 고찰

##### Cyclohexanol 이용성 세균의 분리 및 동정

대구 근교, 울산 및 포항의 공단지역 하천과 토양 등지로부터 약 100여점의 시료를 채취하여 집식배양법과 평판 도말배양법에 의해 cyclohexanol을 유일 탄소원 및 에너지원으로 이용할 수 있는 균 8주를 순수 분리하였다. 이 중 서로 다른 종이라 생각되는 균 3주를 선택하여 분리용 배지에서의 생육도를 조사하여 그 중 가장 잘 자라는 균 1주를 공시균으로 선별해서 이하의 실험에 사용하였다. 공시균은 울산 석유화학공단의 하수 오니에서 분리된 것이며 액체 및 고체 영양배지에서 잘 자라고 colony 형태는 circular, convex형으로 불투명하다. 액체배양에서의 균체의 색깔은 유도기에서는 상아(象牙)빛을 띠다가 대수증식기에서는 옅은 오렌지빛으로 변하여 정지기에 들어가서는 전형적인 오렌지빛을 나타낸다. 세포의 형태는 Fig. 1에서와 같이 유도기 및 대수증식기에서는 신장되어 긴 직선 혹은 약간 휘어진 rod형을 이룬다. 그러나, 정지 및 사멸기에서는 긴 rod형이던 것이 절단되어 거의 구형에 가깝게 된다. Gram 염색에서는 양성을 나타내며 반고체배지에서 거의 운동성을 나타내지 않았다. 산생성 실험에서는 초기적 조건에서 포도당과 과당으로부터 산을 생성하였고 젤라틴 및 전분은 분해하지 못하였다. Nitrate를 환원시킬 수 있었으며 catalase를 생산하였다. 그 외 공시균의 여러가지 균학적 성질을 조사한 결과 *Corynebacterium*과 *Rhodococcus* 속의 균과 유사하지만 각종 알코올의 이용성과 색소 생성능에서 후자에

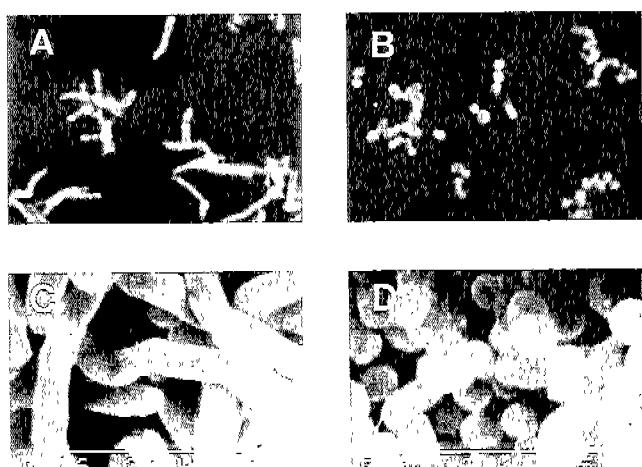


Fig. 1. Microphotograph(A, B at  $\times 1,000$  magnification) and scanning electromicrograph(C, D at  $\times 10,000$  magnification) of *Rhodococcus* sp. TK6 grown at 30°C for 12 hours (A, C) and 3 days (B, D).

더 유사한 것으로 생각되어 *Rhodococcus* sp. TK6로 동정하였다.

#### 배양조건 검토

무기질소원의 영향 분리용 배지에  $\text{NH}_4\text{Cl}$  대신에 각종 무기 질소원을 동일 농도로 가하여 생육도를 비교 조사한 결과 공시균은 질산염이나 암모늄염을 모두 이용할 수 있었고, 이중  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 가 함유된 배지에서 가장 잘 자랐다. 또  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 의 농도별로 생육도를 조사한 결과 10 mM(0.13%) 농도 부근에서 가장 높은 생육도를 나타내었다(데이터 미제시).

초기 pH의 영향 초기 pH가 공시균의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 분리용 배지의 초기 pH를 5.4~9.5 사이로 조절하여 pH별로 공시균의 생육도를 조사하여 보았다. 공시균은 pH 6.5~8.7까지의 비교적 넓은 pH 범위에서 잘 자랄 수 있으며 특히 pH 7.7 부근에서 가장 높은 생육도를 나타내었다(데이터 미제시).

Cyclohexanol 농도의 영향 앞에서 조사한 무기질소원 및 초기 pH의 영향 등을 고려한 최적 배지조건에서 cyclohexanol의 농도를 달리하여 그 생육도를 조사하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이 0.4%까지는 거의 비례적으로 잘 자랐으나, 0.5%에서는 생육도가 급격히 감소하여 거의 군이 자랄 수 없었다. Norris와 Trudgill[5]은 *Nocardia globerula* CL1의 배양에서 확산판을 이용하여 기체상태로 배지에 cyclohexanol을 공급하여 주었고, Donoghue 와 Trudgill[3]은 0.1%의 저농도의 cyclohexanol에서 *Acinetobacter NCIB 9871*을 배양하였다. 그 후 Rhee[8]는 0.4% cyclohexanol을 이용할 수 있는 *Acinetobacter calcoaceticus* C-10을 분리하였고 Kim 등[4]은 0.2%의 cyclohexanol을 이용할 수 있는 *Acinetobacter calcoaceti-*

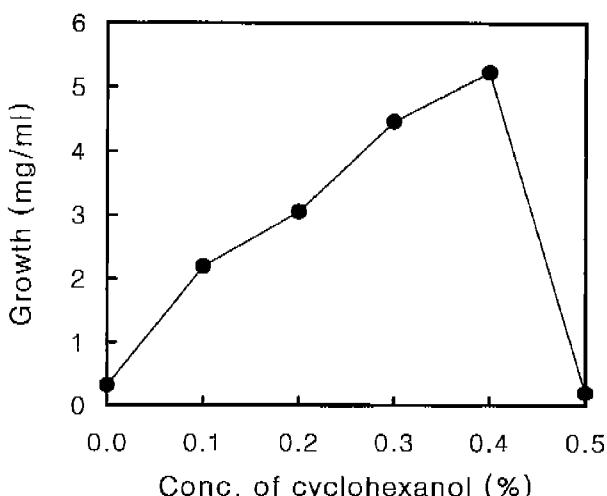


Fig. 2. Effect of cyclohexanol concentration as a sole carbon source on the growth of *Rhodococcus* sp. TK6.  
The bacteria were grown on the COH media at 30°C for 3 days.

*cus* C-15를 분리하였다. 지금까지 알려진 cyclohexanol 이용성 미생물 중에서 0.5%이상의 cyclohexanol에서 자랄 수 있다는 보고는 아직 없다.

Yeast extract의 영향 본 실험에서 균을 분리할 때부터 0.05% yeast extract를 배지 중에 첨가해 주었기 때문에 이 속에 함유된 유기탄소 및 질소를 이용하여 균이 증식한 것이 아닌지 검토하기 위해 COH배지에 yeast extract를 농도별로 가하여 생육도를 조사하였다. 그 결과 0.05%농도까지는 첨가량에 비례하여 증식이 상승하다가 그 이상의 농도에서는 완만한 증가를 나타내었으며 yeast extract를 첨가하지 않았을 경우에도 0.05% 첨가구의 75% 정도의 생육을 보였다(데이터 미제시).

이상의 결과로부터 분리균 *Rhodococcus* sp. TK6가 cyclohexanol을 유일 탄소원으로 이용하기 위한 최적 배지조건을 요약하면 Table 1과 같다.

#### 배양시간에 따른 군의 증식

COH 배지 400 ml를 2 l용 삼각 플라스크에 넣고 종액 2%(8 ml)를 접종하면서 본 군의 생육도 및 cyclohexanol의 분해산물인 cyclohexanone의 소장(消長)을 hydrazine법으로 조사한 결과는 Fig. 3과 같다. 군의 증식은 60시간에 최고에 달하였으며 cyclohexanone은 대수증식기 중기에 가장 많이 검출되다가 72시간째는 거의 대부분 소실되었다. 이런 현상은 본 군에 의해 cyclohexanol로부터 분해되어 생성된 cyclohexanone은 다시 그 다음 대사산물로 분해되기 때문인 것으로 생각된다.

#### 각종 기질의 이용성

지환족 알코올의 이용성 지환족 알코올 및 이들의 대사산물로 예상되는 화합물의 이용성을 조사하여 보았다.

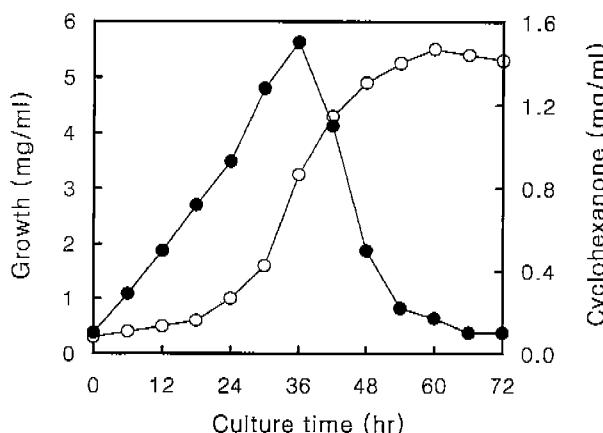


Fig. 3. Growth curve of cyclohexanol utilizing bacteria, *Rhodococcus* sp. TK6 on the COH media at 30°C.  
○—○, growth; ●—●, concentration of cyclohexanone.

**Table 2. Utilization of alicyclic hydrocarbons as a sole carbon source by *Rhodococcus* sp. TK6**

Substrate	Growth (mg/ml)*
0.2% Cyclohexane	0.20
0.2% Cyclohexanol	3.26
0.2% Cyclohexanone	2.79
0.2% Cyclohexane-1,2-diol ( <i>cis, trans</i> mixture)	2.53
0.2% Cyclohexane-1,2-dione	0.06
0.1% $\epsilon$ -Caprolactone	2.18
0.2% Cyclopentanol	1.33
0.2% Cyclopentanone	1.91
0.2% Cyclooctanone	0.78
0.2% Cyclododecanone	0.36
None	0.36

\*The culture conditions were the same as Table 1 except for the addition of alicyclic hydrocarbons.

본 균은 Table 2에서와 같이 cyclohexanol 이외에도 cyclohexanone과  $\epsilon$ -caprolactone 및 cyclohexane-1,2-diol을 이용할 수 있었고, cyclohexane과 cyclohexane-1,2-dione은 이용하지 못했다. 또 단소 한 개가 적은 cyclopentanol과 cyclopentanone은 이용할 수 있었지만, 그보다 더 많은 단소를 가지는 cyclooctanone과 cyclododecanone은 잘 이용하지 못하였다. Cyclohexanol을 이용하는 미생물로는 *Nocardia*[5], *Acinetobacter*[3, 4, 8] 속 등이 있다. Cyclohexanediol의 분해에 관한 연구로는 *Pseudomonas* 속의 균주에 의해 *trans*-cyclohexane-1,2-diol[6] cyclohexane-1,2-dione으로 산화되고 이것은 hydrolase에 의해 분해되어 6-oxocaproate로 분해된다는 사실을 Yugari[13]에 의해 처음으로 보고되었다. 또 Posternak 등[7]은 *Acetobacter suboxydans*가 cyclohexane-1,2-diol을 2-hydroxycyclohexane-1-one으로 전환시킨다고 하였으며, 그 후 Davey와 Trudgill[2]은 *Acinetobacter TD63*에 의해 cyclohexane-1,2-diol[6] 2-hydroxycyclohexane-1-one으로 산화된다고 보고하였다. 본 균은 cyclohexanol과 cyclohexane-1,2-diol을 이용할 수 있으나 cyclohexane-1,2-dione을 이용하지 못하는 것으로 보아 cyclohexane-1,2-diol의 분해는 *Acetobacter suboxydans*와 *Acinetobacter TD63*의 분해 양식을 따를 것으로 추정된다.

유기산 및 방향족 화합물의 이용성 본 균의 각종 유기산 및 방향족 화합물의 이용성을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 본 균은 oxalate 및 maleate를 거의 이용하지 못했으며, 그 이외의 유기산은 대부분 이용할 수 있었다. 그 중에서 특히 butyrate, valerate, *n*-caproate, 6-hydroxycaproate 및 adipate 등을 잘 이용하였다. 또 benzoate, salicylate, phenol 및 *p*-hydroxybenzoate 등의

**Table 3. Utilization of organic acids and aromatic compounds as a sole carbon source by *Rhodococcus* sp. TK6**

Substrate (0.2%)	Growth (mg/ml) <sup>b</sup>
Acetate	1.41
Propionate	1.79
Butyrate	2.73
Valerate	2.91
<i>n</i> -Caproate	2.77
Oxalate	0.40
Citrate	0.99
Succinate	1.61
Adipate	2.39
DL-malate	0.75
Maleate	0.43
Gluconate	0.96
Fumarate	1.46
6-Hydroxycaproate <sup>a</sup>	2.89
Benzoate	2.44
Salicylate	1.78
<i>p</i> -Hydroxybenzoate	1.90
Phenol	1.38
<i>m</i> -Cresol	0.12
Phthalate	0.41
Cyclohexanol	3.25
None	0.40

<sup>a</sup>6-Hydroxycaproate was prepared by hydrolysis of  $\epsilon$ -caprolactone with 1.2 N-NaOH and the equivalent amount in 0.1% 6-hydroxyhexanoate was added to the basal medium.

<sup>b</sup>The culture conditions were the same as Table 1 except for the addition of the organic acids and aromatic compounds.

방향족 화합물을 잘 이용하였으나 *m*-cresol과 phthalate는 잘 이용하지 못하였다. 지금까지 알려진 cyclohexanol 및 cyclohexane-1,2-diol 이용성 세균중 독성이 강한 phenol을 이용할 수 있는 균에 대한 보고는 없다. 그러나 본 분리균은 cyclohexanol 뿐만 아니라 0.2%의 비교적 높은 농도의 phenol[6] 유일 탄소원으로 함유된 배지에서도 잘 자랐다.

지방족 알코올의 이용성 본 균이 어떤 종류의 알코올을 이용할 수 있는 가를 조사해 본 결과 Table 4에서와 같이 methanol, 1-heptanol, 2-methyl-2-propanol 및 2-methyl-2-butanol을 제외한 대부분의 알코올류를 이용할 수 있었다. 본 균은 cyclohexanol 및 cyclohexane-1,2-diol을 비롯한 cycloparaffin계 알코올 이외에 탄소 2개에서 6개 까지의 분자 혹은 직쇄상의 1급 알코올 및 탄소 4개까지의 2급 알코올을 잘 이용할 수 있었으나 2-methyl-2-propanol과 2-methyl-2-butanol 같은 3급 알코올은 이용하지 못하였다. 지금까지 cyclohexanol 및 cyclohexane-1,2-diol 이용성 세균이 알코올류를 이용할 수 있다는 보고는 Kim 등[4]이 분리한 *Acinetobacter*

Table 4. Utilization of aliphatic alcohols as a sole carbon source by *Rhodococcus* sp. TK6

Substrate (0.2%)	Growth (mg/ml)*
Methanol	0.44
Ethanol	1.65
1-Propanol	2.35
1-Butanol	2.82
1-Pentanol	2.93
1-Hexanol	2.53
1-Heptanol	0.21
2-Methyl-1-propanol	2.93
3-Methyl-1-butanol	2.62
2-Propanol	1.87
2-Butanol	2.54
2-Methyl-2-propanol	0.27
2-Methyl-2-butanol	0.58
Ethane-1,2-diol	0.35
Propane-1,2-diol	2.24
Propane-1,3-diol	0.34
Hexane-1,2-diol	2.64
Hexane-1,6-diol	2.90
Cyclohexanol	2.96
None	0.40

\*The culture conditions were the same as Table 1 except for the addition of aliphatic alcohols.

*calcoaceticus* C-15가 ethanol, 1-butanol 및 1-pentanol을 이용한다고 하였고 Tanaka 등[12]이 cyclohexanone 이용성 세균인 *Pseudomonas* 속의 균주가 methanol과 1-hexanol을 제외한 탄소 5개까지의 1급 알코올을 잘 이용할 수 있으나, 2급 및 3급 알코올은 전혀 이용할 수 없다고 하였다. 또 본 균은 propane-1,2-diol, hexane-1,2-diol 및 hexane-1,6-diol은 이용하였으나 ethane-1,2-diol과 propane-1,3-diol은 이용하지 못하였다.

#### 분리균에 의한 cyclohexanol의 산화 생성물 확인

본 균이 cyclohexanol을 탄소원으로 이용하는 과정에서 중간 대사산물로 cyclohexanone을 생성하는지 확인하기 위해 GC로 그 배양 상징액에서의 cyclohexanol과 cyclohexanone의 변화를 조사하여 보았다. 그 결과 Fig. 4에서와 같이 배양 36시간까지 cyclohexanol은 감소하고 cyclohexanone은 상대적으로 증가하였으나 균의 성장이 진행됨에 따라 이들 두 화합물이 점차 소모되어 배양 72시간대에는 두 화합물이 전혀 검출되지 않았다.

이상의 결과는 Fig. 3에서 배양시간에 따른 cyclohexanone의 소장(消長)을 hydrazine법으로 조사한 결과와 일치하며 *Rhodococcus* sp. TK6가 cyclohexanol을 산화시켜 cyclohexanone으로 전환시키는 것을 확인하였고, 생성된 cyclohexanone은 계속 분해되어 탄소원 및

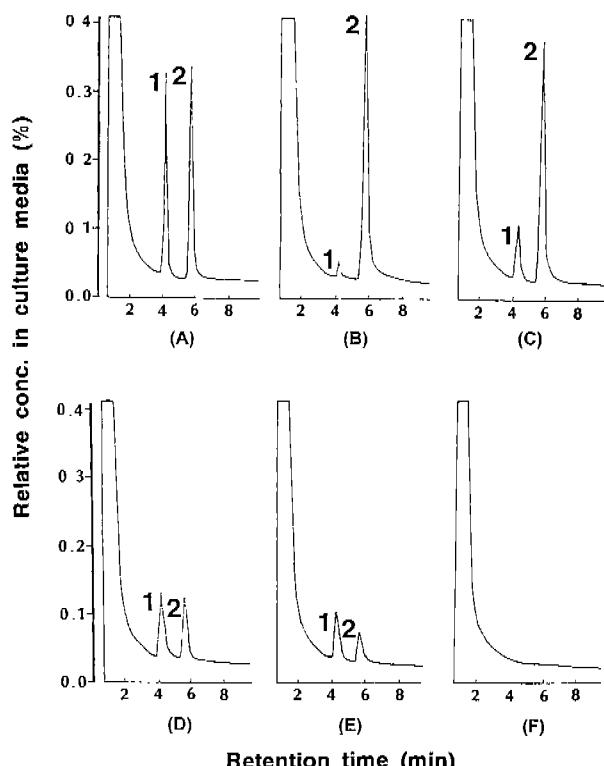


Fig. 4. Identification of cyclohexanone with gas chromatography which was converted from cyclohexanol in culture filtrate by *Rhodococcus* sp. TK6.

A is standard for cyclohexanone (peak 1) and cyclohexanol (peak 2). B, C, D, and F are the culture filtrate at 0, 18, 36, 48, and 72 hours, respectively. The unit of Y-axis represents the relative concentration of cyclohexanol and cyclohexanone in the culture filtrate at B, C, D, E, and F.

에너지원으로 이용됨을 알 수 있었다. 또 본 균은 cyclohexanol의 대사산물인 cyclohexanone을 비롯하여 ε-caprolactone, 6-hydroxycaproate 및 adipate도 잘 이용할 수 있으므로 지금까지 알려진 타 미생물의 cyclohexanol 분해 경로[3, 5, 11]인 cyclohexanone, ε-caprolactone, 6-hydroxycaproate 및 adipate의 과정을 거쳐 분해시키는 대사경로를 가지고 있는 것으로 추측된다.

앞으로 연구를 계속하여 이 균의 cyclohexanol 대사경로를 밝힐과 아울러 분해에 관여하는 효소의 정체 및 특성에 관해 조사해 보고자 한다. 또 이 균은 유독성인 cyclohexanol과 cyclohexanone 뿐만 아니라 각종 알코올류 및 방향족 화합물들을 분해시킬 수 있으므로 석유화학 물질 오염 폐수 처리에 응용할 수 있을 것으로 본다.

#### 요약

울산 석유화학 공업 단지 주변의 하천에서 cyclohexanol 이용성이 우수한 균을 분리하여 *Rhodococcus* sp. TK6로 동정하였다. *Rhodococcus* sp. TK6의 cyclohex-

anol 이용을 위한 최적 배지조건은 0.13%  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , 0.05%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.2%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.02%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.05% yeast extract 및 0.4% cyclohexanol에서 pH 7.7로 조정한 것이었다. 본 균은 2 l용 삼각 플라스크에 이 배지 400 ml를 넣어 30°C에서 진탕배양 하였을 때 72시간 이내에 cyclohexanol 및 산화 생성물인 cyclohexanone을 100% 소모시킬 수 있었다. 이 균은 cyclohexanol, cyclohexanone, cyclohexane-1,2-diol,  $\epsilon$ -caprolactone, cyclopentanol 및 cyclopentanone을 이용할 수 있으나, cyclohexane, cyclohexane-1,2-dione, cyclooctanone 및 cyclododecanone은 이용할 수 없었다. 또 ethanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol, 2-propanol 및 2-butanol 등 각종 알코올류도 잘 이용할 수 있었다. 본 균은 oxalate 및 maleate를 제외한 대부분의 유기산과 *m*-cresol 및 phthalate를 제외한 phenol, salicylate, benzoate 및 *p*-hydroxybenzoate 등의 방향족 화합물을 이용할 수 있었다. GC를 이용하여 *Rhodococcus* sp. TK 6가 cyclohexanol을 cyclohexanone으로 전환시키는 것을 확인하였다.

### 감사의 글

본 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 자유공모과제(1997-001-G00054) 연구비에 의해 수행된 연구의 일부이며 연구비지원에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Browning, E. 1965. *Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents*, pp. 385–388. Elsevier, New York.
- Davey, J. F. and P. W. Trudgill. 1977. The metabolism

- of *trans*-cyclohexane-1,2-diol by an *Acinetobacter* species. *Eur. J. Biochem.* **74**: 115–127.
- Donoghue, N. A. and P. W. Trudgill. 1975. The metabolism of cyclohexanol by *Acinetobacter* NCIB 9871. *Eur. J. Biochem.* **60**: 1–7.
- Kim, K. A., J. S. Park, and I. K. Rhee. 1985. Utilization of cyclohexanol and characterization of *Acinetobacter calcoaceticus* C-15. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **13**: 71–77.
- Norris, D. B. and P. W. Trudgill. 1971. The metabolism of cyclohexanol by *Nocardia globerculata* CL1. *Biochem. J.* **121**: 363–370.
- Ohta, H., H. Fujiwara, and G. Tsuchihashi. 1984. Microbial oxidation of cyclic alcohols to corresponding ketones. *Agric. Biol. Chem.* **48**: 317–322.
- Posternak, T., D. Reymond, and H. Friedli. 1955. Recherches dans la s rie des cyclitols XXII. Configuration et oxydation biochimique de cyclane-diols-1,2. *Helv. Chim. Acta* **38**: 205–212.
- Rhee, I. K. 1980. Isolation and characterization of cyclohexanone utilizing bacteria. *Res. Bull. Hyosung Women's Univ.* **23**: 1197–1210.
- Sneath, P. H. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Speight, J. G. 1970. A structural investigation of the constituents of athabasca bitumen by proton magnetic resonance spectroscopy. *Fuel* **49**: 76–90.
- Tanaka, H., H. Obata, T. Tokuyama, T. Ueno, F. Yoshizako, and A. Nishimura. 1977. Metabolism of cyclohexanol by *Pseudomonas* sp. *Hakkokogaku* **55**: 62–67.
- Tanaka, H., K. Shikata, H. Obata, T. Tokuyama, and T. Ueno. 1977. Isolation and cultural conditions of cyclohexanone-utilizing bacterium. *Hakkokogaku* **55**: 57–61.
- Yugari, Y. 1961. Metabolism of cyclohexanediol-(1,2)-*trans* by soil bacterium. *Biken J.* **4**: 197–207.

(Received January 29, 1999)