

## 석유탈황 미생물 *Desulfovibrio* sp. B5의 생육특성과 성장 Modeling

신철수·김명동·<sup>1</sup>안징우·<sup>2</sup>신평균·†서진호

서울대학교 식품공학과 및 농업생물신소재 연구센터, <sup>1</sup>청강문화산업선문대학 식품공학과,  
<sup>2</sup>한국과학기술연구원 환경연구부

(접수 : 1998. 8. 31., 게재승인 : 1999. 1. 4)

## Characterization and Modeling of Growth Properties of Petroleum Desulfurizing Bacterium *Desulfovibrio* sp. B5

Chul-Su Shin, Myoung-Dong Kim, Jang-Woo Ahn<sup>1</sup>, Pyoung-Kyun Shin,<sup>2</sup> and Jin-Ho Seo†  
Department of Food Science & Technology, Research Center for New Bio-Materials in Agriculture,  
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science & Technology, Chungkang College of Cultural Industries, Icheon 467-810, Korea

<sup>2</sup>Environmental Research Center, Korea Institute of Science and Technology Seoul 130-791, Korea

(Received : 1998. 8. 31., Accepted : 1999. 1. 4)

This study was focused on investigating the growth properties of a sulfate reducing bacterium *Desulfovibrio* sp. B5 which has metabolic ability for desulfurization of petroleum. The optimal temperature and pH for growth of *Desulfovibrio* sp. B5 were 38°C and 6.6-7.0, respectively. Addition of 10% corn steep liquor to the Postgate medium C resulted in 0.79g/L cell concentration, corresponding to a 1.8-fold increase in dry cell mass. Acetate concentrations above 10g/L inhibited cell growth significantly. H<sub>2</sub>S generated from sulfate reduction also inhibited the growth of *Desulfovibrio* sp. B5 at a concentration of 10mM total sulfide. But N<sub>2</sub> gassing relieved the growth inhibition by H<sub>2</sub>S and thereby resulted in a 1.75-fold enhancement in specific growth rate compared with the cultivation without N<sub>2</sub> sparging. The product inhibition of H<sub>2</sub>S was successfully applied to describing the cell growth and lactate consumption pattern of *Desulfovibrio* sp. B5.

Key words : Desulfurization, Petroleum, *Desulfovibrio* sp. B5

### 서론

석유를 비롯한 각종 연료의 사용으로 인해 매년 8천 8백만 톤 이상의 아황산가스(SO<sub>2</sub>)가 대기 등 생태계로 유입된다. 배출된 아황산 가스는 대기오염 뿐 아니라 산성비의 형태로 토양과 담수를 산성화시키는 등 심각한 환경 문제를 야기시키고 있다(1).

석유의 유황 함량은 산지에 따라 0.025~5%(w/w)이고 특히, 매장량이 많은 중농산 석유는 15~30%의 높은 함량을 보이며 S, H<sub>2</sub>S 이외에 약 195종의 유기 유황 성분이 포함되어 있음이 알려져 있다(2, 3). 석유의 유황은 세 가지 종류로 분류될 수 있는데 sulfide류, thiol류 그리고 thiophene류가 있다(4, 5). 이들 중 대부분의 sulfide류와 thiol류는 200°C 이하의 끓는점을 가져서 물리, 화학적 방법으로 쉽게 제거가 가능하지만 thiophene류는 끓는점이 높고 활성이 낮아 제거가 어려워 석유 정제 시 계속

농축되게 된다. 일반적인 탈황방법으로는 저 농도의 황 제거 시 사용되는 흡착제(활성탄, 알루미나)와 촉매가 있으며, 촉매 사용법에는 절촉 탈황법(백토, 보키사이트)과 수소화 정제법(주로 코발트-몰리브덴계나 니켈-코발트-몰리브덴계)이 있다(6). 그러나 이들 화학적 방법에 의한 석유의 탈황에는 고온, 고압의 조건이 필요하므로 많은 비용이 소요되고 석유에 포함된 중금속과 H<sub>2</sub>S의 생성으로 인하여 특수한 촉매의 기능이 지해되며 활성이 낮은 thiophene류의 제거에는 한계를 보이기 때문에 미생물을 이용한 탈황법이 많이 연구되고 있다. 일부 미생물은 석유나 석탄 등에 존재하는 유황 화합물에 선택적으로 작용하여 쉽게 제거할 수 있는 형태로 전환시키는 것이 알려져 있으며 이를 석유의 탈황공정에 이용하기 위하여 다양한 연구가 광범위하게 진행되어 왔다. 탈황 능력이 있는 다양한 균주에 대한 선별과 이들에 의한 유황화합물의 분해경로나 분해산물의 추적 등이 이루어지고 있으며 공학적 측면에서의 접근도 시도되어 *Pseudomonas* sp.의 경우 탈황과 관련된 대사기능이 plasmid에서 기인하는 것으로 알려져 있다(7). 호기성 미생물의 경우 탈황 공정의 적용에 있어서 발효점이 낮은 석유에 산소의 공급이 요구되는 등 위험성을 내포하고 있어서 혐기성 미생물인 황산염 환원균을 이용한

† Corresponding Author, Department of Food Science & Technology, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea  
Tel : 82-331-290-2583, Fax : 82-331-293-4789  
e-mail : jhseo94@plaza.snu.ac.kr  
URL : http://drseo.snu.ac.kr

탈황 공정이 검토되고 있다(8).

황산염 환원 세균은 절대 혐기성 Gram-negative균으로 토양, 담수 및 바다 등 자연계에 넓게 분포하고 있다(11). 호기성 미생물이 전자 전달계에서 최종 전자 수용체로  $O_2$ 를 사용하는데 반하여 황산염 환원세균은 유기화합물이나 수중에서 발생하는 전자의 환원력을 이용하여 sulfate를 sulfide로 환원시킨다(Figure 1). 이들 황산염 환원세균에는 lactate를 산화하여 acetate를 생성하는 불완전 산화균과 이산화탄소로 완전히 산화시키는 완전 산화균이 있다(9-11). 황산염 환원세균의 생리적인 특성 뿐만 아니라 균체에 의하여 발생하여 석유산업에 있어서 장치의 부식을 일으키는 동시에 균체 생육을 저해하는 원인으로 지적되고 있는  $H_2S$ 에 대한 연구도 활발히 진행되고 있는 실정이다. 한편, 황산염 환원세균이 성장하면서 생성하는 extracellular protein이 저장된 석유에서는 불순물의 증가로 귀결되어 석유의 질을 떨어뜨리고 장치의 고장을 유발하는 많은 문제점을 발생시키므로 다양한 배양방법과 배양조건에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(5, 6, 12, 13)

본 연구에서는 석유탈황에 사용되는 황산염 환원세균의 배양 특성 및 균체성장에 영향을 미치는 요인들에 대한 영향을 파악하여 미생물을 이용한 고효율 탈황공정을 개발하기 위한 기초자료를 확보하였다

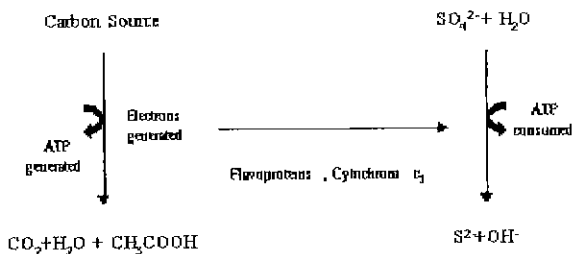


Figure 1 Schematic representation of sulfate reduction by an anaerobic bacterium *Desulfovibrio*.

## 재료 및 방법

### 사용균주

본 연구에서는 석유의 탈황연구에 많이 이용되고 있는 *Desulfovibrio* sp. B5(12, 13)를 한국과학기술연구원 환경연구부에서 제공받아 사용하였다. 탈황능력이 있는 *Desulfovibrio* sp. B5는 토양으로부터 분리되었는데, dibenzothiophene을 분해하여 biphenyl를 주된 산물로 생성하는 능력이 있는 것으로 보고되었다(13)

### 배지 및 배양방법

Postgate medium C(0.5g  $KH_2PO_4$ , 1.0g  $NH_4Cl$ , 4.5g  $Na_2SO_4$ , 0.06g  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.06g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 6g Na-lactate, 1g yeast extract, 0.004g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.3g Na-citrate  $\cdot 2H_2O$  per liter)(11)를 사용하였으며 실험의 목적에 따라 특징성분을 첨가하거나 제거하였다. 배지의 환원상태를 만들기 위하여 배지를 끓여서 용존산소를 제거하였다. 배지의 환원상태를 확인하기 위하여 0.2% resazurin을 1mL/L로 첨가하였다. pH는 살균 직전에 1N HCl과 1N NaOH를 사용하여 6.2-7.9으로 조절하였다. 온도는

30°C를 기초로 하였고 실험목적에 따라 변화시켰다. 50mL의 배지가 주입된 serum vial에 균체를 접종하고 칭온수조에서 정치하여 진배양하였다. 일반적인 발효조에는 과량의 질분이 존재하므로 황산염 세균의 배양 중 발생하는  $H_2S$ 와 결합하여 검은 침전이 발생할 수 있다. 따라서 침전생성을 억제하기 위하여 유리로 제작한 발효조를 사용하였다. 균체 성장에 의하여 발생하는 저해성분인  $H_2S$ 를 제거하기 위하여 발효기와 연결된 주입기를 이용하여 질소가스를 100mL/min의 유속으로 주입하였으며 발효조의 조입부피는 500mL이었다. 배지성분으로서의 가능성을 알아보기 위하여 사용한 corn steep liquor(CSL)는 배지제조 과정에서 불용성의 침전을 일으키므로 50%(v/v)로 희석한 후 2N NaOH를 사용하여 pH를 8.0으로 조절하고 끓여서 불용성 단백질을 침전시킨 다음 7,000×g에서 10분 동안 원심분리 하여 제거하였다. 불용성 단백질이 제거된 CSL은 희석하여 실험목적에 따라 사용하였다

### 분석방법

균체농도는 660nm에서의 흡광도를 측정하고 일정한 환산계수를 곱하여 계산하였다. 배양액 중의 lactate농도를 측정하기 위하여 L-lactate kit(Boehringer Mannheim, Germany)를 사용하였다. Acetate 농도는 gas chromatograph를 사용하여 측정하였다. Chromosorb WAW column(Supelco, USA)을 사용하였고, 이동상으로는 질소가스를 사용하였다. Column의 온도는 180°C였으며, 주입구와 검출기의 온도는 각각 220°C와 240°C였다. Sulfate 농도는 turbidimetric method(14)를 변형하여 정량하였다.

## 결과 및 고찰

### 온도 및 pH의 영향

*Desulfovibrio* sp. B5의 성장 최적온도를 결정하기 위하여 27°C, 30°C, 35°C, 38°C, 40°C 및 45°C에서 배양하였다. 38°C에서 배양하였을 때 최대 균체 농도가 약 0.44g/L로서 30°C에 비하여 약 1.2배 증가하였으며 비성장속도 면에서는 약 2배 증가하였다. 이로써 38°C가 균체 생육을 위한 최적온도임을 알 수 있었다(Table 1). 황산염 세균의 생육 온도는 최고 55°C까지 매우 다양한 분포를 갖는 것으로 알려져 있다(16).

*Desulfovibrio* sp. B5의 배양에 있어서 pH가 미치는 영향을 살펴보기 위하여 1N NaOH와 1N HCl을 이용하여 배지의 초기 pH를 여러 값으로 변화시킨 후 균체성장을 비교하였다. *Desulfovibrio* sp. B5는 낮은 pH에서도 좋은 성장을 보였으나 pH 7.3 이상에서는 성장의 저해가 나타나기 시작하였고 pH 8.0 이상에서는 균체가 거의 성장하지 못하였다. 초기 pH를 7.1로 조절하였을 때 최대 균체농도가 0.44g/L로 가장 높은 값을 보였다.

위의 결과로부터 *Desulfovibrio* sp. B5의 최적 생육조건은 38°C, pH 7.1인 것으로 밝혀졌으며, 이후의 배양에서는 38°C, pH 7.1의 조건에서 균체를 배양하였다

### Sulfite와 corn steep liquor의 첨가효과

Sulfite는 sulfate가 균체에 의하여 환원될 때 2mole의 ATP가 소모되면서 생성되는 중간물로서 이를 이용하면 그만큼의 ATP의 소모를 방지할 수 있으므로 배지에 sulfite를 첨가함으로써 높은 균체 성장이 예상되었다. Sulfite 첨가에 의한 효과를 조사하

Table 1. Effects of temperature and pH on the growth of *Desulfovibrio* sp. B5

	Temperature(°C)						Medium pH					
	27	30	35	38	40	45	6.2	7.1	6.6	7.3	7.5	7.9
Maximum dry cell weight(g/L)	0.33	0.36	0.40	0.44	0.34	0.18	0.36	0.44	0.42	0.32	0.22	0.21

Table 2. Effects of sulfite, corn steep liquor, acetate, and H<sub>2</sub>S on the growth of *Desulfovibrio* sp B5 at 38°C and pH 7.1

	Sulfite(g/L) <sup>a</sup>					Corn steep liquor(%) <sup>b</sup>						
	0	2	4	6	8	1	3	5	10			
Maximum dry cell weight(g/L)	0.40	0.27	0.36	0.36	0.41	0.15	0.49	0.62	0.79			
	Initial acetate(g/L)						H <sub>2</sub> S(g/L)					
	0	2	5	10	20	50	0	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0
Maximum dry cell weight(g/L)	0.48	0.49	0.46	0.38	0.34	0.11	0.37	0.37	0.37	0.35	0.30	0.25

a · Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in the Postgate medium C was replaced with Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>

b · 50% corn steep liquor was pretreated with 2N NaOH to adjust pH at 8.0 and insoluble proteins were removed by centrifugation.

기 위하여 Postgate medium C의 배지성분 중 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 제거하고 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>를 첨가하였다 결과적으로, sulfate를 첨가한 배양과 비교하여 예상되는 ATP 수율 상의 이익만큼 균체 성장을 보이지 못했다(Table 2). 이는 강력한 환원제인 sulfite가 배지 중의 다른 성분과 반응하여 sulfate로 산화되었거나, sulfite 자체가 일반적으로 미생물에 매우 유해한 성분으로 작용하므로(3) ATP 수율상의 효과와 상쇄되었던 것으로 생각되었다.

Corn steep liquor(CSL)은 전분 제조과정에서 생기는 부산물로서 가격이 매우 저렴하고 각종 아미노산 및 비타민이 풍부하다(15,16) CSL에 존재하는 당은 대부분 젖산균에 의해 젖산으로 전환되어 있어서 황산염 환원세균의 배양을 위한 배지로서의 조건을 갖추고 있다. Postgate medium C에는 yeast extract가 chelator, 아미노산, growth factor로서 첨가된다(11). 또한 황산염 환원 세균은 lactate를 탄소원으로 이용하므로 값비싼 배지성분인 yeast extract와 lactate의 대용으로 CSL을 배지성분으로써 사용할 수 있는 가능성을 조사하였다 최대 균체량은 CSL을 10% 첨가한 배지에서 0.79g/L였는데, 이는 Postgate medium C에서의 균체 생성량과 비교하였을 때 약 18배 높은 값이다 이는 CSL에 존재하는 풍부한 아미노산과 growth factor에 의한 영향으로 여겨진다. 위의 결과로부터 CSL이 대체 가능한 배지로서의 충분한 가능성을 가지고 있는 것을 확인할 수 있었지만, CSL를 첨가한 경우에도 lactate를 모두 소모하지 못한 것으로 보아 다른 성장저해 요인이 존재함을 알 수 있었다

**Acetate와 H<sub>2</sub>S에 의한 저해**

Postgate medium C에 acetate를 여러 농도로 주입하고 균체 성장에 미치는 영향을 관찰하였다. 초기에 주입한 acetate의 농도가 5g/L까지는 성장에 미치는 저해가 미약하여 균체의 비성장속도가 모두 0.12hr<sup>-1</sup> 내외로 유지되었지만, 초기 acetate 농도가 10g/L이상인 경우부터 저해가 시작되었다 따라서 lactate의 농도가 6g/L인 Postgate medium C에서는 lactate가 완전히 대사 되

어도 이론적으로 약 33g/L의 acetate가 생성되므로 acetate에 의한 성장저해는 크지 않을 것으로 예상되었다(Table 2).

Acetate는 *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp. 등의 성장을 저해하는 것으로 알려져 있는데 일종의 uncoupler로 작용하여 세포막 안팎의 pH 체계를 교란하는 것으로 추정하고 있다(17) Acetate에 의한 성장저해를 감소시키기 위하여 비성장속도를 조절하여 acetate의 발생을 제어하거나(18) 포도당의 주입속도를 변화시켜 배지중의 acetate의 생성을 억제하려는 시도(19)가 있었다 또한 대장균의 경우는 특정 아미노산의 첨가로 acetate에 의한 저해효과를 줄일 수 있음도 보고되었다(20)

Sulfate의 대사과정에서 발생하는 H<sub>2</sub>S가 균체 성장에 미치는 영향을 검토하기 위하여 Postgate medium C에 H<sub>2</sub>S를 0.5-5.0g/L로 첨가하고 균체 성장을 비교하였다. 초기 H<sub>2</sub>S의 농도가 3g/L이상인 경우 성장저해가 시작되었는데, *Desulfovibrio* sp. B5를 Postgate medium C에서 배양할 때는 첨가하는 sulfate (32mM)가 모두 소비되었으므로 이론적으로 30mM 이상의 H<sub>2</sub>S가 생성되어 균체의 비성장속도를 크게 낮추는 요인으로 작용할 수 있을 것으로 판단되었다. 혐기적 호흡과정에서 생성되는 H<sub>2</sub>S는 균체 성장에 심각한 저해를 주는 것으로 알려져 있으나 연구 결과의 정량적인 해석은 아직 보고되지 않고 있다(21, 22).

**질소가스를 이용한 H<sub>2</sub>S의 제거**

균체 성장 저해물질로 밝혀진 H<sub>2</sub>S를 제거하기 위하여 발효기에 질소가스 주입 장치를 연결하고 100mL/min의 유속으로 가스를 주입하였다. 질소가스 주입에 의한 균체 농도 증가는 질소가스를 주입하지 않은 것에 비하여 약 1.12배 증가하였으며 비성장속도는 약 1.75배 증가하였다. 또한 질소가스를 주입하지 않은 경우는 초기에 주입한 6g/L의 lactate를 모두 소비하지 못하고 균체의 성장이 정지되었지만 질소가스를 주입하였을 때는 초기에 주입한 lactate를 모두 소비하였다(Figure 2). 따라서, 질소가스 주입을 통한 H<sub>2</sub>S의 제거가 균체의 성장에 중요한 인자로 작용함을 알 수 있었다.

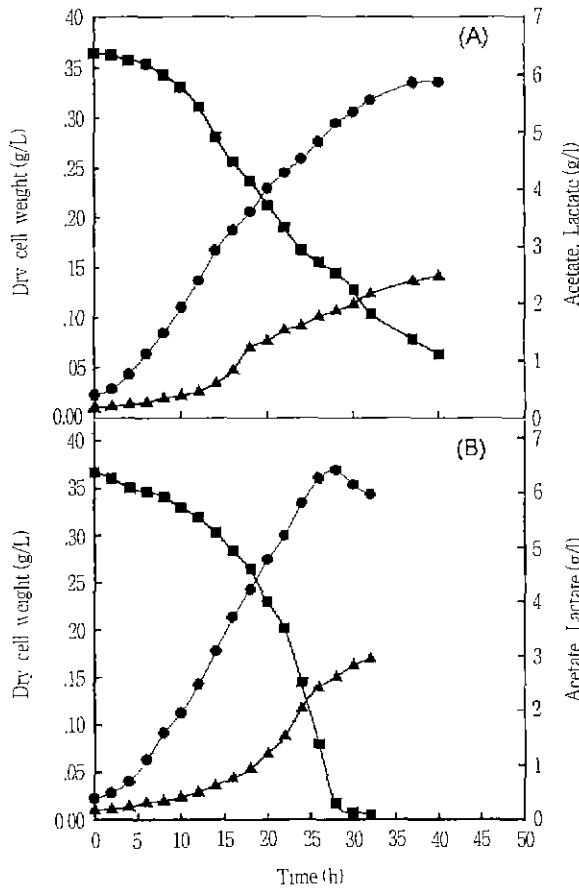


Figure 2. Comparison of cell growth and lactate consumption by an anaerobic bacterium *Desulfovibrio* sp B5(A. control; B. removal of H<sub>2</sub>S by N<sub>2</sub> sparging Symbols : ●, dry cell weight; ■, lactate; ▲, acetate)

회분식 배양에서의 균체성장 modeling

Lactate를 탄소원으로 하였을 때 *Desulfovibrio* sp. B5의 성장을 H<sub>2</sub>S에 의한 product inhibition에 의한 성장 속도식에 적용하였다. H<sub>2</sub>S는 기체상태로도 존재하지만 배양액에 용해되어 H<sub>2</sub>S (soluble), SH<sup>-</sup>, S<sup>2-</sup> 등 다양한 형태로 존재한다. 그러나 어느 형태가 미생물의 성장에 저해요인으로서 작용하는지는 아직 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 균체의 성장과정에서 발생하는 total sulfide를 성장저해 요인으로 산정하기로 하였다. H<sub>2</sub>S는 sulfate 대사에 대하여 1:1의 몰비로 생성되고 sulfate는 다시 lactate에 대하여 2:1의 몰비로 대사되므로 H<sub>2</sub>S농도를 lactate농도로부터 계산할 수 있었다

$$H_2S(g/l) = 0.5 \times \frac{\Delta lactate(g/L)}{MW\ of\ lactate} \times MW\ of\ H_2S \quad (1)$$

회분식 배양에서 성장속도와 기질의 소모속도는 아래 식으로 표현할 수 있고 생성물은 (1)식을 이용하여 total sulfide 농도로 계산하였다

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

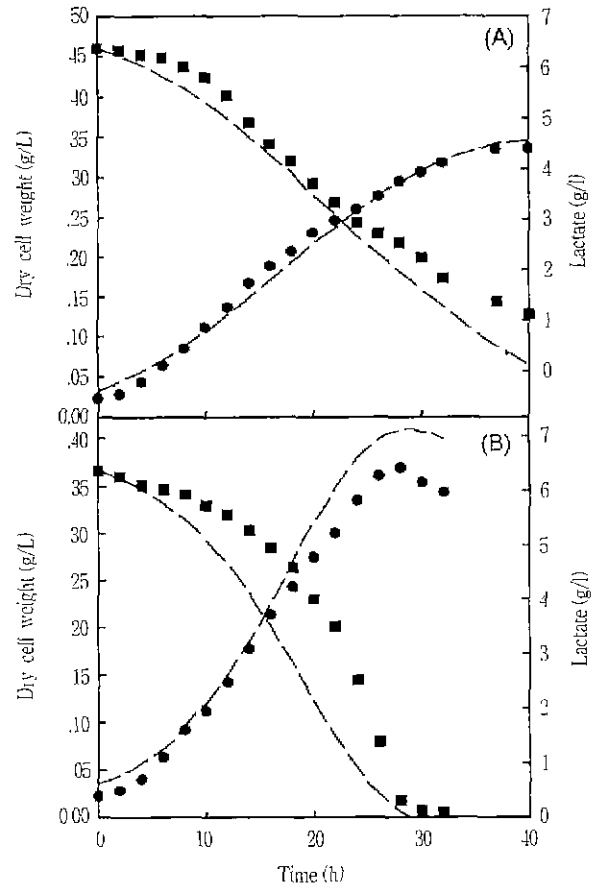


Figure 3. Computer simulation for cell growth and lactate consumption by *Desulfovibrio* sp B5 at 38°C and pH 7.1(A. control; B. removal of H<sub>2</sub>S by N<sub>2</sub> sparging. Dots represent experimental results and dashed line were drawn by computer simulation. Symbols : ●, dry cell weight, ■, lactate).

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{vs}} + m_s X \quad (3)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{1}{1 + \frac{K_S}{S}} \frac{1}{1 + \frac{P}{K_p}} \quad (4)$$

$$P = (S_0 - S) \times 0.1518 \quad (5)$$

이거에서, X는 균체농도(g/L), S는 lactate농도(g/L), μ는 비성장 속도(h<sup>-1</sup>), Y<sub>v/s</sub>는 균체수율(g/g), m<sub>s</sub>는 maintenance coefficient (g/g · h<sup>-1</sup>), P는 sulfide농도(g/L), 그리고 K<sub>s</sub>와 K<sub>p</sub>는 각각 lactate와 sulfide에 의한 저해상수(g/L)이다. Y<sub>v/s</sub>와 m<sub>s</sub>는 Postgate medium C에서 질소가스를 주입하지 않았을 때 회분식 배양에서 균체성장과 기질 소모식으로부터 구하였다. 질소가스를 주입하는 경우는 H<sub>2</sub>S의 농도를 무시하였으나 질소가스를 주입하지 않아서 균체가 H<sub>2</sub>S에 의한 product inhibition을 받으면서 성장할 때는 (1)식을 통하여 H<sub>2</sub>S의 농도를 계산하였다. Modeling에 사용한 값들은 Table 3에 나타내었으며 modeling에 의한 결과와 실험결과를 Figure 3에 나타내었다 H<sub>2</sub>S에 의한 성장저해를 받는 경우는 실험결과와 modeling결과가 잘 일치하는 것을 알 수 있지만 질

Table 3 Parameters used for computer simulation of growth of *Desulfotribrio* sp B5.

Parameters	Values
$\mu_{max}$	0.28 ( $h^{-1}$ )
$K_s$	7.06 (g/L)
$K_p$	0.535 (g/L)
$Y_{x/s}$	0.083 (g/g)
$m_s$	0.30 ( $g/g \cdot h^{-1}$ )

소가스 주입을 통하여  $H_2S$ 를 제거하면서 균체를 배양한 경우에는 전산모사 결과와 실험결과가 다소 차이가 있음을 볼 수 있다. 이러한 결과는 배양초기부터 질소가스를 주입하여도 기질소비로부터 발생하는  $H_2S$ 를 완전히 제거하지 못해서 일정수준 이상의  $H_2S$ 가 배지에 존재하여 균체의 성장을 저해하는 것으로 여겨진다. 그러나 배양조건에 따라  $H_2S$ 의 배지 중에서의 존재형태와 존재형태에 따른 균체에 대한 저해정도가 변할 수 있고 위의 실험에서는 생육저해 인자로서  $H_2S$ 만을 고려하였으므로 정량적인 해석을 위해서는 탄소원인 lactate에 의한 영향을 비롯한 다른 환경인자의 영향도 고려해야 할 것으로 판단된다.

## 요 약

본 연구에서는 석유의 탈황에 이용될 수 있는 미생물인 *Desulfotribrio* sp. B5의 생육특성을 조사하였다. Postgate medium C에서의 생육 최적 온도는  $38^\circ C$ , pH는 6.6~7.0으로 나타났다. Corn steep liquor를 대체 배지성분으로 사용한 결과 0.79g/L의 균체를 얻을 수 있었으며 이는 기존의 결과와 비교하여 약 1.8배 증가한 값이다. Postgate medium C에서 lactate의 대사과정에서 생성되는 acetate는 10g/L 이상에서 성장저해를 유발하였다.  $H_2S$ 는 10mM의 total sulfide 농도에서도 균체성장이 저해되었지만 이는 질소가스 주입으로 해소할 수 있었다. 또한 회분식 배양의 결과와  $H_2S$ 에 의한 product inhibition에 근거한 균체성장의 modeling 결과는 잘 일치하였다.

## 감 사

본 연구는 한국과학기술재단 지정 농업생물신소재 연구센터의 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사의 말씀을 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Andrews, G. F. and J. Maceuga (1982), Bacterial Coal Desulfurization, *Proc Biotech Bioeng. Symp.*, pp. 337-348.
- Malik, K. A. (1978), Microbial Removal of Organic Sulfur from Crude Oil and Environment: Some New Perspectives, *Process Biochemistry*, 13(9), 10-13.
- King, A. D. Jr., J. D. Ponting, D. W. Sanshuck, and K. Mahara (1981), Factors Affecting Death of Yeast by Sulfur Dioxide, *J. Food Protection*, 44(2), 92-97.
- Hartdegen, F. J., J. M. Coburn, and R. L. Roberts (1984), Microbial Desulfurization of Petroleum, *Chem. Eng. Prog.*, 80, 63-67.
- Kim, T. S., H. Y. Kim, and B. H. Kim (1990), Petroleum Desulfurization by *Desulfotribrio desulfuricans* M6 Using Electrochemically Supplied Reducing Equivalent, *Biotech Lett.*, 12(10), 757-760.
- Moon, S. J. and S. K. Ihm (1994), Characteristics of Bi-metallic Cobalt and Molybdenum Catalysts Supported on Activated Carbon or Alumina in Hydrodesulfurization, *Kor. J. Chem. Eng.*, 11(2), 111-118.
- Eckart V., M. Kohler, and W. Hedke (1986), Anaerobe Entschwefelung von Romaschkino-Erdial, *Zbl. Microbiol.*, 141, 291-300.
- David, S. and J. D. Michael (1986),  $H^+$ /ATP Stoichiometry of Proton from *Neurospora crassa* and *Escherichia coli*, *Arch. Biochem. Biophys.*, 248(1), 53-61.
- James M. O. (1984), Hydrogenase, Electrontransfer Proteins and Energy Coupling in the Sulfate Reducing Bacteria *Desulfotribrio*, *Ann. Rev. Microb.*, 38, 551-592.
- 김병홍 (1988), 미생물 생리학, 아카데미서적, 서울.
- Postgate, J. R. (1984), The Sulfate-Reducing Bacteria, 2nd ed., Cambridge Univ. Press, London.
- Kim, T. S., H. Y. Kim, and B. H. Kim (1990), Degradation of Organic Sulfur Compounds and the reduction of Dibenzothiophene to Biphenyl and Hydrogen Sulfide by *Desulfotribrio desulfuricans* M6, *Biotech Lett.*, 12(10), 761-764.
- Kim, T. S., H. Y. Kim, and B. H. Kim (1991), Selection and Characterization of a Dibenzothiophene Degrading Sulfate-Reducing Bacterium Isolated from Soil, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 1(1), 1-5.
- Monticello, D. J. and W. R. Finnerty (1985), Microbial Desulfurization of Fossil Fuels, *Ann. Rev. Microb.*, 39, 371-389.
- Crueger, W. and A. Crueger (1989), Substrates for Industrial Fermentation, *In Biotechnology*, Sinauer Associates Inc., Sunderland, USA.
- Aiba, S., M. Soda, and M. Nagatani (1968), Kinetics of Product Inhibition in Alcohol Fermentation, *Biotechnol. Bioeng.*, 10, 845-849.
- James, B. R. (1991), Resistance of *Streptococcus bovis* to acetate at Low pH: Relationship Between Intracellular pH and Anion Accumulation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57(1), 255-259.
- El-Mansi, E. M. T. and W. H. Holms (1989), Control of carbon flux to acetate excretion during growth of *Escherichia coli* in batch and continuous cultures, *J. Gen. Microbiol.*, 135, 2875-2883.
- Robbins, J. W. Jr. and K. B. Taylor (1989), Optimization of *Escherichia coli* growth by controlled addition of glucose, *Biotechnol. Bioeng.*, 34, 1289-1294.
- Han, K. H., J. Hong, and H. C. Lim (1992), Relieving effects

- of glycine and methionine from acetate inhibition in *Escherichia coli* fermentation, *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 316-324.
21. Montgomery, A. D. and M. J. Mcnerney (1990), Microbiol Control of the Production of Hydrogen Sulfide, *Biotechnol. Bioeng.*, **35**, 533-539
  22. Okabe, S. and W. G. Characklis (1992), Factors Affecting Microbial Sulfate Reduction by *Desulfovibrio desulfuricans* in Continuous Culture: Limiting Nutrients and Sulfide Concentration, *Biotechnol. Bioeng.*, **43**, 267-274.