

## 고정화 *Phanerochaete chrysosporium*을 이용한 다환 방향족 화합물의 분해

서윤수·<sup>1</sup>류원률·김창준·\*장용근·<sup>1</sup>조무환  
한국과학기술원 생물공정연구센터 및 화학공학과, <sup>1</sup>영남대학교 공과대학 응용화학부  
(접수 : 2000. 5. 2., 게재승인 : 2000. 6. 17.)

### Biodegradation of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbon) Using Immobilized Cells of *Phanerochaete chrysosporium*

Yoon Soo Seo, Chang Joon Kim, Yong Keun Chang\*, and Moo Hwan Cho<sup>1</sup>  
Bioprocess Engineering Research Center and Department of Chemical Engineering, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Taejeon 305-701, Korea,  
<sup>1</sup>School of Chemical Engineering & Technology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea  
(Received : 2000. 5. 2., Accepted : 2000. 6. 17.)

This study was aimed to enhance polycyclic aromatic hydrocarbon(PAHs) biodegradation rate by repeated-batch treatment using immobilized cells of *Phanerochaete chrysosporium*. In the repeated-batch operations with 30 mg/L of pyrene, the maximum degradation rate was 6.58 mg/L · day. As the number of batches increased, the concentration of immobilized cells significantly decreased, and the degradation rate and specific activity gradually increased to a maximum value and then decreased. To have PAH degradation activity and cell mass recovered, one batch of cultivation using the growth medium instead of the PAH-degrading medium was carried in the course of repeated-batch operations. This led to a significantly recovered cell mass and degradation activity although the original levels were not achieved. In the repeated-batch operations for degrading anthracene, a similar trend was observed, where the maximum degradation rate was 5.36 mg/L · day. In the repeated-batch operations for simultaneous degrading anthracene and pyrene, the degradation rates were lower than those in separate treatments. The maximum degradation rates of pyrene and anthracene were 4.29 and 4.46 mg/L · day, respectively. Overall, the rate of PAH degradation could be enhanced 2.5-3.0 folds by using immobilized cells compared to the case of using suspended cells.

**Key Words :** PAHs degradation, immobilized *Phanerochaete chrysosporium*, repeated-batch operation

#### 서 론

PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons)는 2개 이상의 벤젠 고리로 이루어진 화합물로 자연계에 널리 분포하며, 돌연변이 및 암을 유발할 수 있는 물질로 알려져 있다.(1, 2). PAHs는 탄소와 수소가 주성분으로 유기물의 연소가 매개되는 과정이면 언제든 발생될 수 있다. 대개 석탄 건류 공정, 화력 발전, 제철 공정, 타이어 및 아스팔트 생산 공정, 석유 정제 공정, 쓰레기 소각 공정 등에서 PAHs가 발생하며 목재 건조제나 의료용 방부제로 이

용되는 creosote, anthracene-oil, coal-tar의 경우에도 PAHs 함량이 높다(3,4).

PAHs는 구조가 매우 안정하여 분해가 힘들뿐만 아니라 물에 대한 용해도가 낮으며 소수성을 띠고 있기 때문에 토양의 유기 성분에 강하게 흡착되어 심각한 토양 오염을 유발하기도 한다(5).

PAHs를 제거하기 위한 물리·화학적 공정은 대부분이 용매를 이용하여 토양층의 PAHs를 제거하는 것으로, 분해가 아닌 단순한 제거라는 근본적인 한계가 있다(6). 따라서, 백색부후균(white-rot fungi) 등의 미생물에 의한 PAHs의 분해에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 백색부후균은 담자균류(basidiomycetes)의 일종으로, 목질성분의 하나인 리그닌을 분해하여 하얗게 썩은 자국을 형성한다고 하여 붙여진 이름이다. 리그닌 분해에 관여하는 효소는 LiPs (lignin peroxidases), MnPs (manganese peroxidases), laccases 등이며 그 기작이 비기질적 특이성을 갖고 있어서 벤젠

\*Corresponding Author : Department of Chemical Engineering, KAIST, Taejeon 305-701, Korea  
Tel : 042-869-3927, Fax : 042-869-8800  
E-mail : ychang@mail.kaist.ac.kr

고리를 가진 다양한 물질들을 기질로 이용할 수 있다. 따라서 PAHs 외에도 PCB (polychlorinated benzene), dioxin, chlorophenol, dye 등 다양한 xenobiotic들을 분해할 수 있다(7). 이들 효소의 분비는 2차 대사에 의한 것으로 질소원의 고갈시 이루어진다(8). 백색부후균은 filamentous fungi로 균사체를 형성하면서 성장하기 때문에 여러 가지 불리한 배양조건을 가지며 PAHs의 분해가 매우 느린 단점도 있다. 그러나, 고정화 세포 시스템을 이용하게 되면 이런 불리한 배양 조건을 극복할 수 있을 뿐만 아니라 높은 세포 농도와 분해 활성을 유지할 수 있기 때문에 경제적인 공정을 실현할 수 있을 것으로 기대된다. 고정화세포 시스템의 이용은 한번 생성된 세포의 반복 사용을 통한 기질사용 효율의 극대화는 물론 사용하고난 세포의 처리에 따르는 환경처리 부담 또한 최소화할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

본 연구에서는 고정화 세포 시스템을 이용하여 PAHs의 분해 속도를 증진시킬 뿐만 아니라 장기 조업의 가능성을 타진하고자 하였다. 벤젠 고리가 3개인 anthracene과 4개인 pyrene을 대상 PAHs로 하였다. 우선 PAHs의 분해능을 높일 수 있는 배양 방법과 고농도의 고정화 세포를 얻는 방법을 확립하였다. 이를 바탕으로 반복회분식 조업을 수행하였으며, 30 mg/L의 pyrene, anthracene 각각을 분해하는 경우와 동시에 분해하는 등의 세 가지 조건에서 실험을 수행하였다. 또한 반복회분식 조업의 결과와 비교하기 위해 현탁회분식 실험도 상기 세 가지 조건에서 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 이용 배지

사용한 균주는 *Phanerochaete chrysosporium* (ATCC 24725)이였으며, glycerol stock 형태로 보관하였다. 실험에 이용한 배지는 3 가지 종류로, 포자형성배지, PAH 분해배지, 성장배지이었다. 포자상태의 균을 고정화에 사용하였는데 다른 연구자들과는 달리 액체배지로부터 고농도의 포자 용액을 얻을 수 있었다. 이때 이용한 배지, 즉 포자형성배지는 본 연구실에서 개발한(9) 배지로 조성은 다음과 같다. Glucose, 80 g/L ; yeast extract, 30 g/L ; urea, 2 g/L ; NaNO<sub>3</sub>, 3 g/L ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 g/L ; KCl, 0.5 g/L ; MgSO<sub>4</sub>, 0.5 g/L ; FeSO<sub>4</sub> (5 g/L), 1 mL/L. PAH 분해배지로는 질소원이 제한된 Tien and Kirk's medium을 사용하였다(10). 이때 질소원인 ammonium tartarate로 농도는 0.2 g/L로서, 이는 하루 이내에 완전히 고갈되는 양이라고 알려져 있다. 한편 반복회분식 실험을 위해 우선 고농도의 고정화세포를 얻어야 하는데 이를 위하여 사용한 성장배지의 조성은 다음과 같다. Glucose, 60 g/L ; yeast extract, 30 g/L ; potato dextrose, 30 g/L.

### 세포고정화 및 실험조건

실험은 모두 flask에서 진행하였으며 고정화 담체인 Celite의 농도는 160 g/L이었다. 250 mL flask에 8 g의 Celite와 10<sup>8</sup>~10<sup>9</sup> spores/mL의 포자용액 50 mL을 넣고 37 °C, 230 rpm에서 2시간 배양함으로써 고정화를 행한 후 상등액만 완전히 뽑아낸 다음 원하는 배지를 넣고 실험하였다.

반복회분식 조업은 일차로 얻어진 고정화세포를 성장배지에서 성장시켜 고농도의 고정화세포를 얻는 단계와, 이를 이용하여 PAH 분해배지에서 PAH를 분해하는 두 단계로 이루어져 있다.

우선 반복회분식 조업을 위한 두 가지 기초실험을 하였다. 첫 번째는 PAH 분해능을 향상시킬 수 있는 배양방법의 탐색으로 고농도 성장시 미량의 PAH를 첨가하였을 때 분해능의 향상여부와, PAH 분해배지에 질소원이 미량 존재하거나 존재하지 않을 경우 분해능의 차이를 알아보았다. 두 번째는 고농도의 고정화세포를 얻는 효율적인 배양방법의 탐색이었다.

분해대상 PAH는 pyrene, anthracene으로 각각을 개별적으로 또는 혼합하여 첨가한 3가지 조건에서 반복회분식 실험을 실시하였는데 각각의 PAH의 농도는 30 mg/L이었다. PAH 농도가 5 mg/L 미만일 때 배지를 교체해 주는 식으로 반복회분식 조업을 하였다.

한편 반복회분식 조업의 결과와 비교하기 위해 현탁회분식 조업을 상기한 바와 마찬가지로 3가지 조건하에서 실시하였으며, 접종을 위해 10<sup>8</sup>~10<sup>9</sup> spores/mL의 포자용액을 배양액의 10% 부피로 넣었다.

### 분석법

균체의 농도는 건조 세포 중량으로 측정하였다. 고정화세포 배양의 경우 세포가 고정화된 세포형태와 고정화되지 않은 유리세포(free-released cell)의 2가지 형태로 존재하므로, 전체세포농도 뿐만 아니라 실제 담체에 고정화된 세포부하량(cell loading)도 구하였다.

Glucose의 농도는 glucose enzyme kit(영동제약)을 이용하여 측정하였다.

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>의 농도는 ion chromatography를 이용하여 측정하였다. 사용 칼럼은 Waters의 IC PAK M/D였으며 mobile phase로는 0.1mM EDTA/0.3mM HNO<sub>3</sub> 용액을 사용하였다. Flow rate는 1.0 mL/min이었다.

PAHs의 농도는 HPLC를 이용하여 측정하였으며, 사용한 칼럼은 Supelcosil LC-PAH column (2.1×250 mm) (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)이었다. 이동상으로는 물과 아세트니트릴 혼합물(30:70)을 사용하였으며 이때 유속은 0.3 mL/min이었다. PAHs의 검출은 UV detector를 이용하였으며 파장은 254nm이었다.

## 결과 및 고찰

### 반복회분식 조업을 위한 기본 실험

우선 PAH 분해 활성이 높은 세포를 배양하는 방법을 확립하기 위한 실험을 수행하였다. 실험은 균체 성장 및 PAH분해의 두 단계로 진행하였으며 성장시에 anthracene과 pyrene을 3 mg/L 넣어준 것과 그렇지 않은 것, 분해 단계에서 질소원인 ammonium tartarate를 전혀 첨가하지 않은 것과 0.2 g/L 넣어준 것의 4가지 경우를 비교하였다. 각각의 경우에서 PAH의 분해 속도 및 세포 농도를 Table 1에 나타내었다. 성장시 PAH를 첨가한 것과 그렇지 않은 경우를 비교해볼 때, 분해속도는 별 차이가 없었으며 오히려 PAH를 첨가한 경우에 분해속도가 약간 느린 것으로 관찰되었다. 따라서 미량의 PAH에 의한 분해활성 유도효과는 없는 것으로 볼 수 있다. 질소원의 경우, 질소원이 없는 것이 있는 것에 비해 분해속도가 다소 높았다. 그러나 반복회분식 조업과 같은 장기조업에 있어서 질소원을 아예 첨가하지 않는 것은 그만큼 균체생장이 불리할 것이므로, 분해속도가 조금 낮아지더라도 질소원을 첨가하여 실험을 수행하였다.

Table 1. Cell concentrations and PAHs degradation rates in various preculture conditions

Preculture condition (added)	Cell concentration (g/L)	Anthracene degradation rate (ppm/day)	Pyrene degradation rate (ppm/day)
	8.12	3.13	3.03
PAH	7.91	3.08	2.98
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	8.71	3.15	2.92
PAH, NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	8.21	2.78	2.67

Table 2. Degradation rates of PAHs

	Suspended-batch operation		Immobilized repeated-batch operation	
	anthracene degradation rate (mg/L · day)	pyrene degradation rate (mg/L · day)	anthracene degradation rate (mg/L · day)	pyrene degradation rate (mg/L · day)
Anthracene degradation	2.15	-	5.36	-
Pyrene degradation	-	2.31	-	6.58
PAHs mixture	1.75	1.64	4.49	4.26

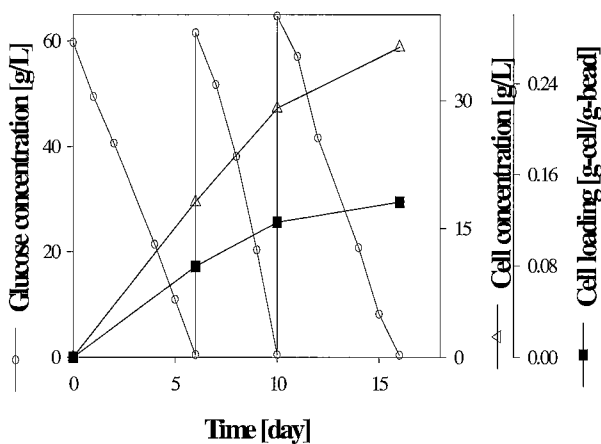


Figure 1. Time profiles of glucose and cell concentrations, and cell loadings

반복회분식 배양의 전 단계로서 고정화세포의 농도를 증가시켜주기 위하여 포자상태의 세포를 Celite에 고정화시킨 후 성장배지에서 3회에 걸쳐 회분식 배양을 수행하였으며 시간에 따른 glucose 농도, 세포농도, 세포부하량의 변화를 Figure 1에 나타내었다. 60 g/L의 glucose를 소모하는데 걸린 시간은 각각의 회분에서 6, 4, 6일이었으며 세포농도는 18, 30, 36 g/L로 증가 폭이 둔화되었다. 세포부하량 역시 마찬가지로 거동을 나타내었다. 본 연구에서 얻은 세포부하량은 Celite에 고정화된 *Penicillium chrysogenum*을 이용한 페니실린 생산공정(11)에서 Gbeyono와 Wang 등이 보고한 500 mg-cell/g-bead보다 상당히 낮은 값이지만 이는 좀 더 세밀한 연구를 통해 보완한다면 해결될 것으로 생각된다. 본 연구의 목적이 고정화세포의 농도를 극대화하는 것은 아니므로, 세포의 농도를 증가시키기 위한 회분실형은 효율적인 배지이용이라는 측면을 고려하여 2차레만 하기로 결정하였다.

Anthracene을 현탁회분식 세포 배양을 통해 분해하는 실험을 수행하였으며, 고정화세포 이용시와 비교해볼 경우 분해속도가

2.5배 정도 향상되었다(Table 2).

반복회분식 조업에 의한 pyrene의 분해

먼저 성장배지에서 2회분간 배양하여 고정화세포의 농도를 높여준 결과, 세포농도는 28.0 g/L이었으며 세포부하량은 109 mg-cell/g-bead이었다. 이후 pyrene을 분해하는 반복회분식 조업을 12회분 수행하였다. Figure 2에 반복회분식 조업시 pyrene 농도의 변화를 나타내었다. 첫 번째 회분에서는 30 mg/L의 pyrene을 분해하는데 6일이 소요되었으며 네 번째 회분에서는 분해속도가 증가하여 4일만에 분해되었다. 한편, 여섯 번째 회분부터는 분해속도가 급격히 감소하여 8일만에 분해가 이루어졌다. 이러한 결과를 바탕으로 고정화세포에 의한 pyrene의 분해속도를 계산하였고 이를 Figure 3에 나타내었다. 분해속도는 증가하다가 감소하는 형태를 나타내었으며 최대분해속도는 6.58 mg/L · day로 뒤에 보여줄 현탁회분식 조업의 결과인 2.31 mg/L · day에 비하여 3배 정도 향상된 값이었다. Figure 4는 각 회분에 따른 세포농도의 변화를 나타내었다. 세포농도는 회분수가 증가함에 따라 급격히 감소하였다. 이는 PAH의 분해조건이 세포의 성장에 불리한 질소원 결핍조건이기 때문인 것으로 판단된다. 한편 분해속도의 증가하다가 감소하는 거동이 세포농도의 변화에서 기인된 것인지 알아보기 위해 단위세포당 분해속도인 specific degradation rate를 구하였으며, 이를 Figure 5에 나타내었다. Specific degradation rate는 꾸준히 증가하다가 다섯 번째 회분 이후부터 두드러진 감소를 보였다. 이는 거둬들인 질소원 결핍 배지에서의 배양을 통해 계속 분해에 적합한 조건이 주어지 세포의 분해능이 증가하였으나, 장기간의 질소원 결핍으로 인해 결국에는 세포의 전체 대사가 감소하였으며 이에 따라 세포의 PAH 분해능이 감소한 것으로 판단된다. 이러한 결론을 바탕으로 세포의 전체적인 활성을 증가시키고자 일곱 번째 회분 이후 다시 성장배지에서 5일간 배양하였다. 그 결과 분해속도, specific degradation rate는 다시 향상되었으며, 앞의 결과와 마찬가지로 증가하다가 감소하는 거동을 보였

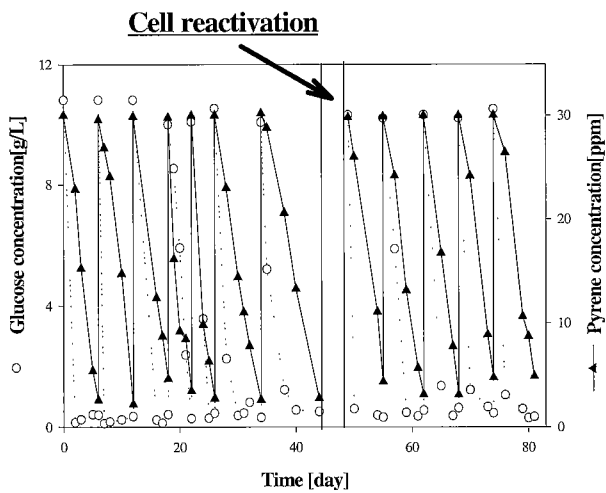


Figure 2. Degradation of pyrene in repeated-batch operations using immobilized cells

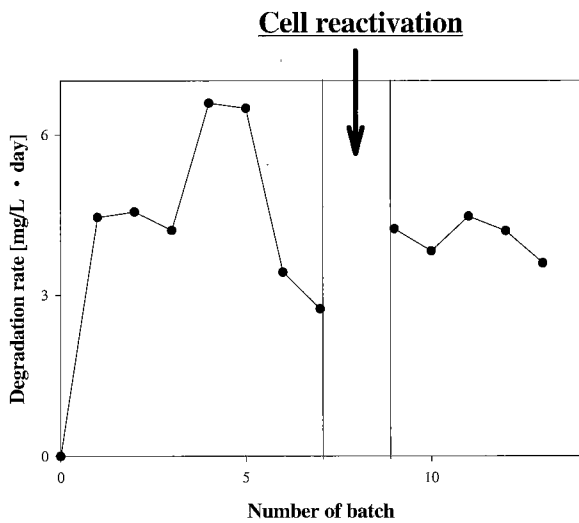


Figure 3. Degradation rates in repeated-batch degradation of pyrene using immobilized cells

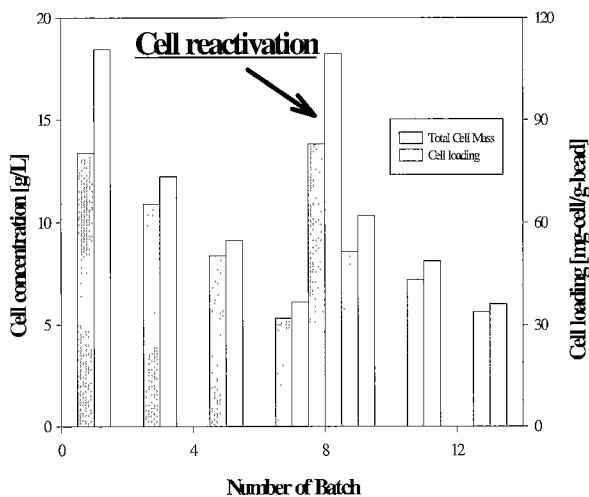


Figure 4. Cell concentrations and cell loadings in repeated-batch degradation of pyrene using immobilized cells

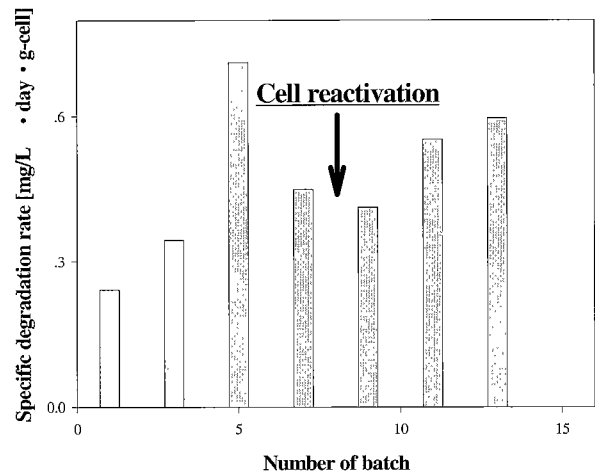


Figure 5. Specific degradation rates in repeated-batch degradation of pyrene using immobilized cells

다. 그러나 분해속도의 경우 이전의 최대값에는 이르지 못하였다. 이는 세포활성의 재생이 부분적으로 가능한 것을 의미하며, 완전한 재생을 위해서 더 나은 배양조건이 필요함을 말해준다. Pyrene의 분해 실험에서도 현탁회분식 세포배양과 고정화세포 배양을 비교하였는데, 고정화 세포배양시 분해속도가 3배정도 까지 향상됨을 나타냈다(Table 2).

**반복회분식 조업을 통한 anthracene의 분해**

대상 PAH를 anthracene으로 바꾸어 앞의 실험과 동일한 조건하에서 10회에 걸친 회분실험을 수행하였다. Figure 6, 7에 각각 anthracene의 농도 변화 및 분해속도의 변화를 나타내었다. Pyrene의 경우와 마찬가지로 회분수가 증가함에 따라 분해속도가 증가, 감소하는 현상을 보였으며 최대분해속도는 5.36 mg/L · day로 현탁회분식 조업의 2.15 mg/L · day에 비하여 2.5배정도 높은 값이다(Table 2). Figure 8, 9에 각각 세포 농도 및 specific degradation rate의 변화를 나타내었다. Pyrene의 경우와 마찬가지로 세포농도는 급격히 감소하였으며 specific degradation rate는 꾸준히 증가하는 형태를 보였다. 하지만 여덟 번째 회분에서의 분해속도와 세

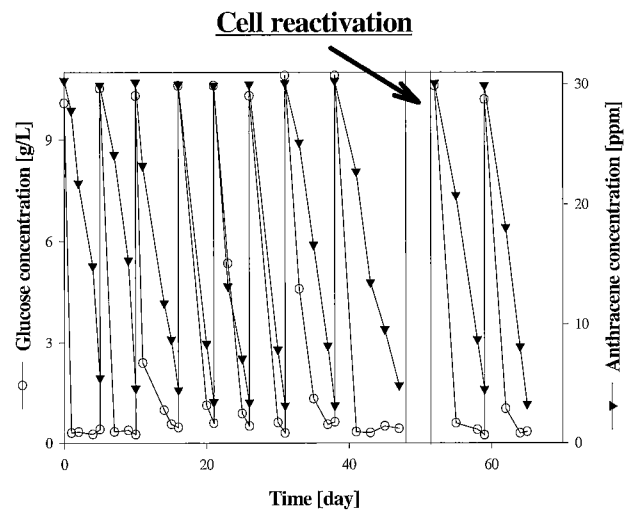


Figure 6. Degradation of anthracene in repeated-batch operations using immobilized cells

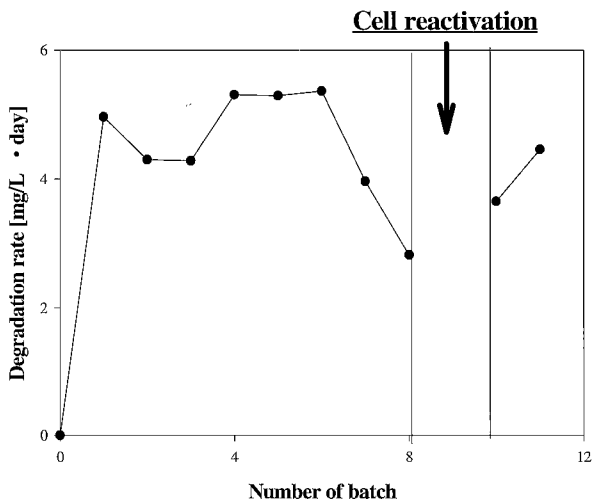


Figure 7. Degradation rates in repeated-batch degradation of anthracene using immobilized cells

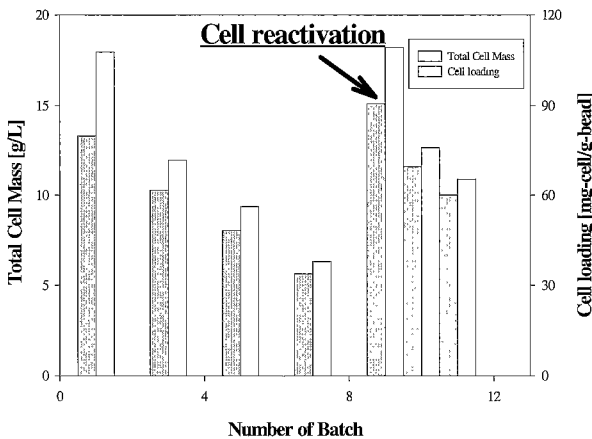


Figure 8. Cell concentrations and cell loadings in repeated-batch degradation of anthracene using immobilized cells

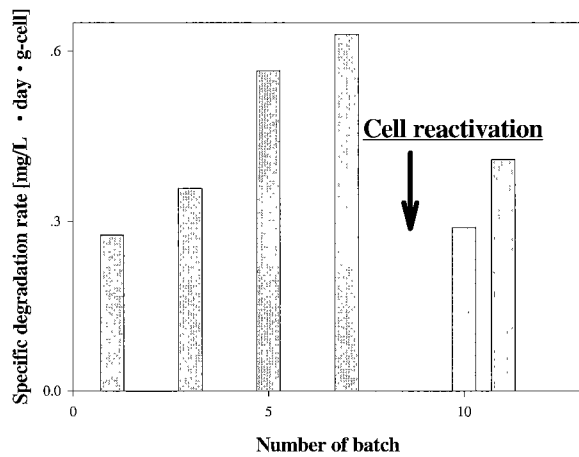


Figure 9. Specific degradation rates in repeated-batch degradation of anthracene using immobilized cells

포농도가 매우 낮았기 때문에 분해속도 및 세포활성의 증가를 도모하고자 성장배지에서 5일간 배양하였다. 물론 specific degradation rate는 증가하는 형태를 보였지만 실제 의미 있는 것

은 분해속도이며, 본 연구의 경우 세포농도를 2 회분마다 구할 수밖에 없었는데 만일 여덟 번째 회분에서의 세포농도가 4.5 g/L 이상이라면 여덟 번째 회분의 specific degradation rate는 일곱 번째 회분에 비해 낮아지게 될 것이다. 성장배지에서 5일간 배양후 분해속도 및 specific degradation rate는 다시 증가하였다. 하지만 이후 2 회분밖에 실험이 이루어지지 않아서 명확한 결론을 내리기는 힘들지만 pyrene의 경우와 비슷한 거동을 보일 것이라고 생각된다.

**반복회분식 조업을 통한 pyrene, anthracene 혼합물의 분해**

Pyrene과 anthracene을 각각 30 mg/L씩 넣어 준 것에는 다른 조건들은 앞의 경우와 같았으며 실험은 7회분간 수행하였다. Figure 10, 11에 각각 PAH의 농도 변화 및 분해속도의 변화를 나타내었다. 또한 Figure 12, 13에는 각각 세포 농도 및 specific degradation rate의 변화를 나타내었다. 분해속도 및 세포농도의 변화 등의 거동은 이전의 pyrene, anthracene 각각을 분해하는 경우와 비슷하였다. 분해속도는 다소 증가하다가 감소하는 양상을 나타내었으며 네 번째 회분에서 최대값을 보였다. 이때 분해속도는 anthracene의 경우 4.49 mg/L · day, pyrene의 경우 4.26 mg/L · day이었다. PAH를 개별적으로 첨가한 경우와 비교할 때 분해속도가 낮았는데, 이는 총 PAH의 농도가 2배로 증가하였으므로 이것이 세포에 독성 또는 저해효과를 미친 결과라고 생각된다. 하지만 앞의 경우에는 pyrene의 최대분해속도가 anthracene의 그것보다 높았는데 혼합첨가한 경우 오히려 anthracene의 최대분해속도가 높은 결과가 나왔다. 이 결과만 놓고 본다면 개별적으로 존재할 때에는 anthracene이 pyrene보다 분해가 덜 용이하며, 혼존할 때에는 anthracene의 존재가 pyrene의 분해를 저해하는 것으로 생각할 수 있다. 이는 Figure 7과 Figure 11을 비교해 볼 때 anthracene의 분해거동은 비슷하였으나, Figure 3과 Figure 11을 비교해 볼 때

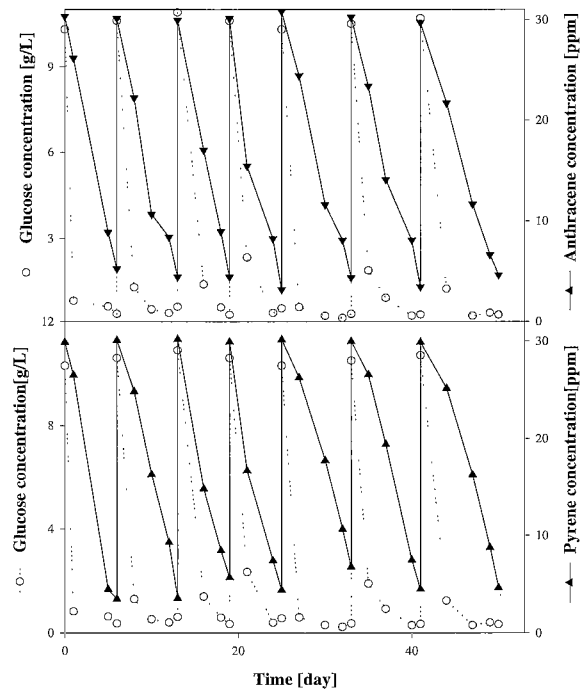


Figure 10. Simultaneous degradation of anthracene and pyrene in repeated-batch operations using immobilized cells

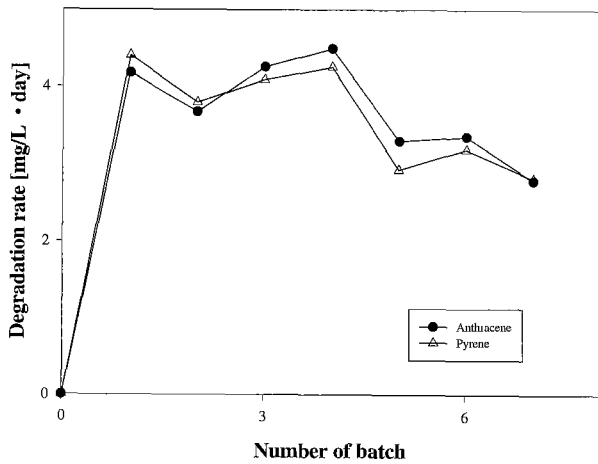


Figure 11. Degradation rates in repeated-batch degradation of anthracene and pyrene using immobilized cells

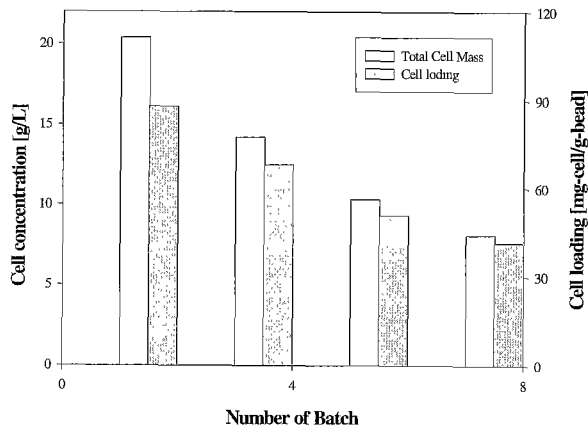


Figure 12. Cell concentrations and cell loadings in repeated-batch degradation of anthracene and pyrene using immobilized cells

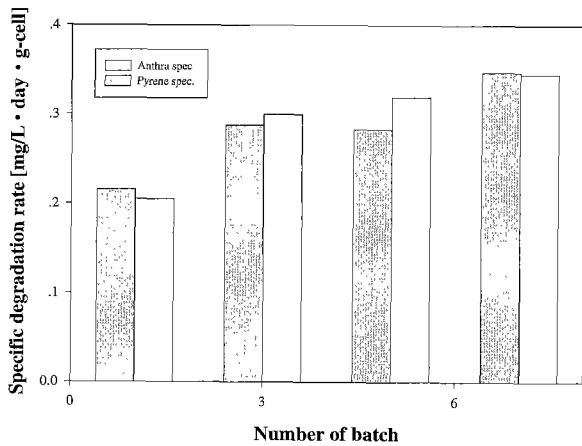


Figure 13. Specific degradation rates in repeated-batch degradation of anthracene and pyrene using immobilized cells

pyrene의 분해속도의 변화거동은 다소 달라진 것으로부터 다시 확인할 수 있다. 그러나 PAH 혼합물 내에서의 정확한 분해기작 및 개개의 PAH가 세포에 미치는 영향에 관한 연구가 거의 없으므로 이러한 결론은 한계가 있다. 본 연구의 결과는 또 다른 관점에서도 상당한 의미가 있을 것으로 생각되는 바, 일반적으로

PAH의 농도가 50 mg/L 이상이 되면 세포에 치명적이라고 알려져 있는데, 본 실험의 경우 농도가 60 mg/L이었음에도 불구하고 분해활성이 크게 저하되지 않았다. 이는 고정화세포의 경우 세포에 치명적인 물질의 영향이 물질전달상의 제약에 의해 완화되었기 때문이라고 생각할 수 있다. 이는, 고정화를 통해 독성물질에 의한 충격부하로부터 세포가 보호될 수 있음을 의미한다.

요 약

본 연구에서는 고정화된 *Phanerochaete chrysosporium*을 이용한 반복회분식 실험을 통해 PAH 분해속도의 향상을 도모하였다. 30 mg/L의 pyrene을 대상으로 한 반복회분식 조업에서의 최대분해속도는 6.58 mg/L · day로 현탁회분식 조업에 비하여 3배정도 높은 값을 보였다. 회분 수가 증가할수록 세포농도는 급격히 감소하였으며, 분해속도 및 specific degradation rate는 서서히 증가하다가 감소하는 형태를 나타내었다. 장기조업에 의하여 낮아진 PAH 분해능 및 세포농도를 회복시키기 위하여 성장배지에서 5일간 배양한 결과, 처음수준까지는 완전히 회복되지는 못했지만, 상당한 수준의 회복이 가능함을 알 수 있었다. 30 mg/L의 anthracene을 분해하는 반복회분식 조업에서도 비슷한 결과가 관찰되었는 바, 최대분해속도는 5.36 mg/L · day로 현탁회분식 조업에 비하여 2.5배정도 증가하였다. 각각 30 mg/L의 pyrene과 anthracene을 동시에 분해하는 반복회분식 조업에서도 비슷한 거동이 관찰되었으며, pyrene, anthracene에 대한 최대분해속도는 각각 4.29, 4.46 mg/L · day로 현탁회분식 조업에 비하여 2.5배정도 향상된 값이었다.

감 사

본 연구는 1999년도 교육부 생물화학공학 학술연구조성비 지원사업(과제번호: 생물화학공학, 1998-020-E3106)에 의한 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Harayama, S. (1997), Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design, *Current Opinion in Biotechnology*, **8**, 268-273
- Cerniglia, C. E. (1993), Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Current Opinion in Biotechnology*, **4**, 331-338
- Field, J. A., E. D. Jong, G. F. Costa and J. A. M. de Bont (1992), Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 2219-2216
- Bogan, B. W. and R. T. Lamar (1995), One-electron oxidation in the degradation of creosote polycyclic aromatic hydrocarbons by *phanerochaete chrysosporium*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2631-2635
- Field, J. A., F. Boelama, H. Baten and W. H. Rulkens (1995), Oxidation of anthracenes in water/solvent mixtures by the white-rot fungus, *Bjerkandera* sp. strain BOS55, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **44**, 234-240
- Neilson, A. H. (1998), PAHs and related compounds, 2nd ed., Springer, Berlin
- Reddy, C. A. (1995), The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **6**, 302-328

8. Dan, L., M. Alic and M. H. Gold (1994), Nitrogen regulation of lignin peroxidase gene transcription, *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 3447-3449
9. Lee, T. H. (1997), Development of two stage continuous fermentation process for cyclosporin A production by using immobilized fungal cell, *Tolyocladium inflatum*, Ph. D. Dissertation, KAIST
10. Tien, M. and T. K. Kirk (1988), Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*, *Meth. Enzymol.*, **161**, 238-249
11. Gbewonyo, K. and D. I. C. Wang (1983), Confining mycelial growth to porous microbeads : a novel technique to alter the morphology of non-newtonian mycelial culture, *Biotechnol. Bioeng.*, **25**, 967-983