Korean J. Environ. Biol. 18(1) : 33~39(2000)

Gordona sp. MS6균주의 dibenzothiophene 탈황능에 미치는 분해산물의 영향

조 경 숙

(이화여자대학교 과학기술대학원 환경학과)

적 요 - 석유탈황용 균주로 분리한 *Gordona* sp. CYKS1균주는 dibenzothiophene (DBT)를 2-hydroxybiphenyl (2-HBP)와 SO_4^{2-}로 분해한다. 본 연구에서는 CYKS1 균주로부터 얻은 석유탈황능이 향상된 돌연변이주인 MS6균주를 이용하여 DBT 분해산물이 DBT 탈황능에 미치는 영향을 조사하였다. MS6균주는 황원으로 Na_2SO_4를 DBT와 함께 배지에 첨가하면 세포성장속도는 첨가되지 않았을 때보다 2배 정도 증가하였다. 그러나, DBT 탈황능은 sulfate에 의해 저해 받았는데, Na_2SO_4를 0.05 g/L 이상 첨가한 조건에서의 DBT 탈황속도는 sulfate를 첨가하지 않은 속도의 약 2/5 수준까지 저하되었다. 최종 대사산물인 2-HBP와 그 유사체인 2,2′-dihydroxybiphenyl (DHBP)을 첨가하지 않은 대조군의 경우 5.0 $\mu mol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$의 DBT 분해속도를 얻을 수 있었으나, 2-HBP와 DHBP 첨가농도가 증가할수록 DBT 탈황속도도 점점 감소하였다. *Gordona* sp. MS6균주의 DBT 탈황능은 2-HBP 0.15 mM, DHBP 0.8 mM 이상 첨가한 조건에서는 완전히 저해받았다.

서 론

가장 중요한 에너지자원 중의 하나인 석유에는 수많은 유기황화합물이 함유되어 있다. 석유를 연소하게되면 유기황화합물들은 SO_2 형태로 대기중으로 방출되어 산성비를 유발하고, 더 나아가 범지구적인 심각한 환경문제를 야기 시키고 있다. 지금까지는 황함유량이 적은 저유황 원유를 정제하여 사용해 왔으나, 저유황 석유의 고갈로 황함유량이 높은 고유황 원유를 사용하지 않으면 안되게 되었다. 또한, 세계 각국에서 석유의 황함유량에 대한 규제치가 점점 더 강화되어 가고 있는 추세이므로, 보다 효율적인 석유 탈황 기술의 개발이 요구되고 있다. 현재, 일반적으로 많이 사용되고 있는 석유 탈황 방법은 석유에 수소를 첨가하여 황화합물을 황화수소의 형태로 제거하는 수첨탈황법 (hydrodesulfurization, HDS)이다. 그러나, HDS방법은 고온·고압에서 운전되기 때문에 장치비와 운전비가 비싸고, 난분해성 유기황화합물인 sulfur heterocycles 등을 탈황할 수 없는 단점이 있다. 따라서, 경제적이고 탈황율이 우수한 생물 탈황 방법 (biodesulfurization, BDS)에 관심이 높아지고 있다(Setti *et al.* 1995).

BDS방법은 탈황 활성을 지닌 미생물을 이용하여 석유중에 함유된 황화합물을 제거하는 방법이다. 석유에 함유되어 있는 황화합물 중에서 HDS로 탈황하기 힘든 황화합물 중의 하나는 dibenzothiophene (DBT)으로, 미생물 탈황에 관한 대부분의 연구는 DBT를 모델 화합물로 사용하여 탈황 특성 및 탈황 활성을 평가하고 있다. Kodama (1973)는 미생물에 의해 DBT가 수용성 물질인 2-hydroxy-2- formyl-benzothiophene으로 분해함을 밝혔다. 이를 Kodama pathway라고 하는데, *Pseudomonas* sp. *Acinetobacter* sp. *Rhizobium* sp. *Cunninghmella elegans*, *Sulfolobus acidocaldarius*와 같은 균주들은 Kodama pathway와 유사한 경로에 의해 DBT를 분해하는 것으로 보고되고 있다(Sagardia *et al.* 1975; Hou & Laskin 1976; Fedorak & Wesrlake 1982; Cork *et al.* 1983; Kargi & Robison 1984; Kargi 1987; Crawford & Gupta 1990; Constanti *et al.* 1992, 1996; Kim *et al.* 1996). 그런데, Kodama pathway에 의해 DBT는 탈황되지 않고 단순히 분해되어 유상에서 제거되는 것이기 때문에, 석유 탈황 공정에는 그다지 바람직하지 않다.

최근 들어, DBT로부터 황만을 선택적으로 SO_4^{2-}의 형태로 산화하는 경로를 갖는 미생물들이 분리되었는데 *Rhodococcus rhodochrous* IGTS8 (Kilbane & Fackowski 1992; Kayser *et al.* 1993), *Rhodococcus erythropolis* D-1 (Izumi *et al.* 1994; Ohshiro *et al.* 1994), *Corynebac-*

terium sp. strain SY1 (Omori *et al.*, 1995)이 바로 그 예이다. 이러한 미생물들은 4S pathway에 의해 DBT를 hydroxybiphenyl (HBP)와 SO_4^{2-}로 분해하여 석유에 함유된 황성분만을 제거하는 것이 가능하다 (Kilbane 1989; Setti *et al.* 1995). 이러한 균주들에 의한 선택적인 유기황의 제거는 석유내 연료가의 손실이 없이 황성분만을 선택적으로 분해하기 때문에 실제 석유 탈황 공정에 적용이 용이하다는 장점을 가진다.

본 연구진은 염색 폐수 처리 슬러지로부터 DBT를 4S pathway에 의해 탈황할 수 있는 균주를 선별한 결과, DBT를 2-hydroxybiphenyl (2-HBP)와 SO_4^{2-}로 분해할 수 있는 *Gordona* sp. CYKS1균주를 분리하였다 (Rhee *et al.* 1998). 본 연구에서는 CYKS1보다 성장속도와 DBT 분해속도가 향상된 돌연변이 균주 MS6를 개발하여, 이 균주의 DBT 탈황능에 미치는 DBT 분해산물의 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 배지

본 연구에서 사용한 최소무기염배지 (MSM)는 황성분이 없는 배지로서 그 조성은 다음과 같다. NH_4Cl 2 g/L, K_2HPO_4 4.5 g/L, NaH_2PO_4 1.5 g/L, $MgCl_2$ 0.2 g/L, $CaCl_2$ 0.02 g/L, trace element solution 1 ml/L, vitamin solution 1 ml/L. Trace element solution의 조성은 $FeCl_2 \cdot 7H_2O$ 2100 mg/L, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 250 mg/L, $NiCl_2$ 24 mg/L, $CuCl_2$ 5 mg/L, $MnCl_2$ 100 mg/L, $ZnCl_2$ 144 mg/L, H_3BO_3 30 mg/L, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 36 mg/L, EDTA 0.01 mg/L이다. Vitamin solution의 조성은 folic acid 2.5 mg/L, riboflavin 200 mg/L, lipoic acid 5 mg/L, biotin 100 mg/L, nicotinic acid 350 mg/L, thiamine Cl_2 300 mg/L, *p*-aminobenzoic acid 200 mg/L, pyridoxal chloride 100 mg/L, Ca^{2+} pamtothenate 100 mg/L, Vit B_{12} 50 mg/L이다. 멸균과정 중 $CaCl_2$와 $MgCl_2$는 다른 물질들과 반응하여 침전을 형성하므로 따로 멸균하여 첨가하였다. MSM에 탄소원으로 별도로 멸균한 glucose를 5 g/L가 되도록 첨가하였다. 또한, 유일황원으로 DBT를 첨가하였는데, DBT는 ethanol에 녹인 100 mM stock을 사용하여 0.3 mM이 되도록 배지에 첨가하였다.

2. 균주

본 연구에서 사용한 균주는 석유탈황을 위해 염색 폐수처리 슬러지로부터 순수 분리한 *Gordona* sp. CYKS1 (Rhee *et al.* 1998)의 돌연변이 균주인 MS6이다.

돌연변이 유도제인 ethylmethanesulfone (EMS)를 0.1이나 0.2 M이 되도록 첨가한 MSM배지에서 0, 2, 4, 6, 7시간동안 돌연변이를 유도하였다. 각 처리 시간별로 돌연변이를 유도한 배양액 0.1 ml를 채취하여 DBT가 도포된 agarose 배지에 도말한 후 30°C에서 5~30일간 배양하였다. 배양기간 동안에 agarose 고체배지에서 생장한 colony의 DBT 분해에 의해서 생성되는 clear zone 면적과 colony 크기를 관찰하여 돌연변이 균주를 선정하였다. 이러한 일련의 과정을 통해 얻은 돌연변이 균주들 중에서 성장과 DBT 탈황능이 우수한 균주를 선정하여 MS6로 명명하였다.

3. MS6균주의 DBT 탈황능에 미치는 vitamin 및 DBT 분해 산물의 영향

MS6균주의 DBT 탈황 활성과 성장속도에 미치는 vitamin 및 분해산물의 영향을 조사하기 위한 실험은 250 ml 삼각 플라스크에 50 ml 배지를 첨가하여 수행되었다. DBT 배지에서 60시간동안 전배양한 MS6균주 배양액을 원심분리 (8000 rpm, 20 min)하여 균체를 회수한 후 pH 7.0의 phosphate buffer에 현탁하였다. 이 균체 현탁액을 이용하여 초기 접종농도는 17.1 mg/L가 되도록 하였다. 원래의 배지 조성대로 비타민용액을 첨가한 것을 대조군으로 하였고, 비타민용액을 뺀 것을 실험군으로 하여 돌연변이 균주 MS6가 성장하고 DBT를 탈황하는데 있어 비타민의 요구도를 조사하였다. 또한, 돌연변이 균주 MS6의 성장과 DBT 탈황능에 미치는 sulfate의 영향을 조사하기 위해 Na_2SO_4를 DBT 배지에 0.01, 0.1, 0.2, 0.5 g/L이 되도록 첨가하였다. 또한, 2-HBP와 2, 2′-dihydroxylbiphenyl (DHBP)가 각각 0~0.2 mM, 0~1 mM 첨가된 배지에서의 MS6균주의 성장과 DBT 탈황 특성을 조사하였다. MS6 균주를 각각의 배지에서 30°C에서 진탕 배양하면서, 12시간마다 배양액을 채취하여 세포 농도, DBT 농도, glucose 농도 등을 분석하였다.

4. 분석

세포 농도는 spectrophotometer (Milton Roy Company, U.S.A.)를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. DBT 농도는 HPLC (Waters, U.S.A.)를 사용하여 측정하였다. 채취한 배양액을 5 N HCl으로 pH 2 정도로 낮춘 후 ethyl acetate를 동일한 부피로 첨가하여 30분간 추출한 후 다시 30분간 정치시켜 상등액 10 μl를 분석하였다. 분석은 UV-VIS 검출기 (Waters 486, U.S.A.)와 역상 C_{18} column (3.9 × 150 mm Nova-Pak, waters, U.S.A.)을 사용하였다. 용매는 100% methanol을 사용하였고, 유속은 0.6 ml/min으로 하였다. Glucose 농도는 glucose analyzer (YSI model 2700, U.S.A.)를 이용하여 분석하였다.

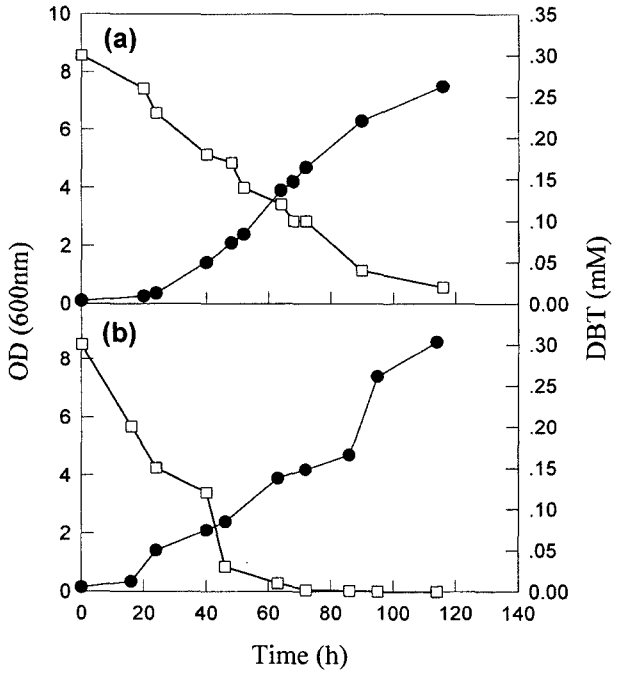

Fig. 1. DBT desulfurization patterns by *Gordona* sp. CYKS1 (a) and *Gordona* sp. MS6 (b).
●, OD (600 nm); □, DBT (mM)

결과 및 고찰

1. 돌연변이 균주 MS6의 특성

MS6균주는 *Gordona* sp. CYKS1균주를 ethylmetanesulfone (EMS)로 돌연변이를 유도하여 얻은 균주이다. 탄소원으로 glucose를 5 g/L, 유일 황원으로 DBT를 0.3 mM 첨가한 배지에서 *Gordona* sp. CYKS1과 돌연변이 균주 MS6를 배양한 결과를 Fig. 1에 도시하였다. CYKS1균주의 경우, 약 24시간 정도의 성장지연기가 관찰되었으나, MS6균주는 성장지연기가 20시간으로 짧았다. 또한, 배양 20시간 후 CYKS1균주의 배양액의 흡광도(600 nm)는 0.26이었으나, MS6균주의 배양액의 흡광도는 0.34로 더 높았다. DBT가 분해되는 특성을 비교해보면, CYKS1 균주는 배양 116시간에 배양액에 잔존하는 DBT농도가 0.02 mM이었으나, MS6균주의 경우 배양 72시간 동안 첨가된 DBT가 완전히 분해되었음을 알 수 있었다.

각각의 균주의 비성장속도, DBT 탈황속도, DBT 탈황수율을 비교한 결과를 Table 1에 제시하였다. Wild type인 CYKS1 균주의 DBT배지에서의 성장 속도는 0.07 h^{-1} 이었으나, 돌연변이 균주 MS6의 비성장속도는 0.09 h^{-1}로, MS6균주의 비성장속도가 CYKS1 균주보다 약 1.3배 정도 빨랐다. 또한, 단위 부피당 단위 시간당 DBT 탈황능을 비교해보면 CYKS1균주는 2.64 μmol · L^{-1} · h^{-1}인데 비해, MS6균주의 경우 3.90 μmol · L^{-1} · h^{-1}로 탈황속도도 1.5배 빨랐다. 균체 건조 중량당 비탈황속도도 CYKS1균주는 0.72 μmol · g-DCW^{-1} · h^{-1}이었으나, MS6균주의 경우는 1.62 μmol · g-DCW^{-1} · h^{-1}로 MS6 균주가 우수함을 알 수 있었다. 소비된 탄소 1 mole당 탈황된 DBT mole수인 탈황수율을 비교해 보면, CYKS1 균주는 0.80 mmol DBT/mole carbon, MS6균주는 1.00 mmol DBT/mole carbon으로, 탈황수율도 MS6균주가 우수함을 알 수 있었다. 이러한 결과로부터, MS6균주는 wild type보다 성장능 뿐만 아니라 DBT 탈황능도 향상된 우수 돌연변이 균주임을 알 수 있었다.

Table 1. Comparison of DBT desulfuriation activity between wild type *Gordona* sp. CYKS1 and its mutant, MS6

	Wild type CYKS1	Mutant MS6
Growth rate (h^{-1})	0.07±0.004	0.09±0.002
DBT degradation rate (μmol · L^{-1} · h^{-1})	2.64±0.11	3.90±0.09
Specific DBT degradation rate (μmol · g-DCW^{-1} · h^{-1})	0.90±0.02	1.62±0.04
Yield (mmol of DBT degraded/mole of carbon)	0.80±0.04	1.00±0.03

2. 비타민의 요구도

MS6 균주의 DBT 탈황활성에 있어서 vitamin의 요구도가 있는지를 조사하였다. Fig. 2에 vitamin을 첨가하거나 첨가하지 않은 배지에서의 MS6균주의 비성장속도와 DBT탈황속도를 도시하였다. 비성장속도는 vitamin 첨가시 0.053 h^{-1}이고, 첨가하지 않은 경우가 0.052 h^{-1}로, vitamin 첨가 여부에 따라 그리 큰 차이를 나타내지는 않았다. 그러나, DBT 탈황속도는 vitamin을 첨가했을 경우, 2.92 μmol · L^{-1} · h^{-1}였고, 첨가하지 않은 경우 2.36 μmol · L^{-1} · h^{-1}로, vitamin을 첨가하면 약 1.2배 정도 탈황속도가 향상되었다. 따라서, vitamin을 첨가하는 것이 DBT 탈황을 위해 바람직할 것으로 사료되었다.

3. Sulfate의 영향

MS6균주는 DBT를 2-HBP와 SO_4^{2-}로 분해하므로, 최종 분해산물인 SO_4^{2-}가 MS6균주의 탈황능에 미치는 영향을 조사하였다. 일반적으로 대부분의 미생물은 DBT와 같은 난분해성 유기황화합물 보다는 SO_4^{2-}와 같은 황화합물에서부터 자신의 생장에 필요한 황원을 우선적으로 사용하려는 경향이 있다. 대부분 DBT와 다른 유기황화

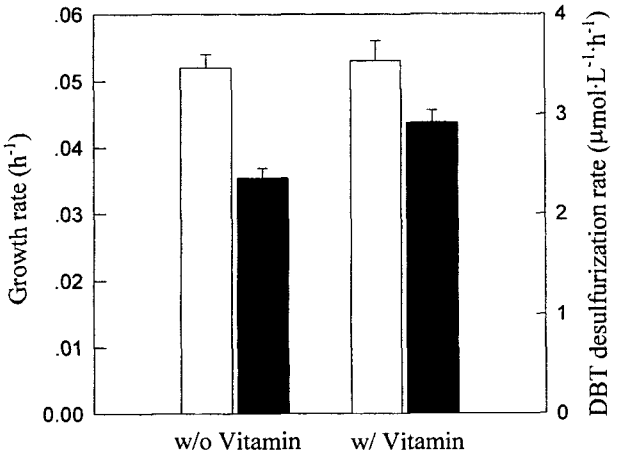

Fig. 2. Specific growth rate and DBT desulfurization rate in medium with or without vitamin.
□, Growth rate (h^{-1}); ■, DBT removal rate (μmol · L^{-1} · h^{-1})

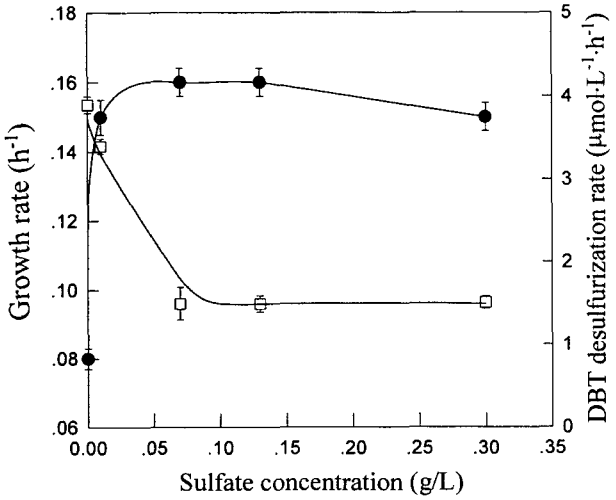

Fig. 3. Specific growth rate and DBT removal rate with different sulfate concentration.
●, Growth rate (h^{-1}); □, DBT removal rate (μmol · L^{-1} · h^{-1})

합물을 탈황할 수 있는 석유탈황균주들의 경우, 배지내 sulfate가 존재할 때 DBT의 탈황능이 저해되는 것으로 보고된 바 있다(Izumi *et al.* 1994; Omori *et al.* 1995; Oshiro *et al.* 1996a, b). 이는 DBT 탈황과 관계된 dsz genes의 발현이 sulfate에 의해 크게 저해 받기 때문이다(Oshiro *et al.* 1996a; Oshiro *et al.* 1997). 그러므로, DBT나 다른 유기황화물들의 탈황과정에서 생성된 sulfate가 모든 균주에 의해 황원으로 전부 다 사용되지 않고 배지에 축적되게 되면 그것은 균주의 탈황활성에 영향을 미치게 된다.

본 연구에서는 MS6균주의 DBT 탈황능에 미치는 sulfate의 영향을 조사하기 위해, DBT와 함께 Na_2SO_4를 농도별로 동시에 첨가한 배지에서의 MS6 균주의 성장속도와 DBT 탈황속도를 조사하여 Fig. 3에 도시하였다. 비성장속도의 경우, sulfate가 첨가되지 않고 DBT만이 황원으로 제공되었을 때 0.08 h^{-1}이었으나, sulfate가 0.01, 0.07, 0.13, 0.3 g/L 첨가되었을 때의 비성장속도는 각각 0.15, 0.16, 0.16, 0.15 h^{-1}로, DBT만을 첨가한 경우보다 약 2배 정도 높았다. 그러나, DBT 탈황속도의 경우, sulfate가 첨가되지 않았을 때는 3.9 μmol · L^{-1} · h^{-1}인데 반해, sulfate 농도별로는 각각 3.3, 1.3, 1.5, 1.5 μmol · L^{-1} · h^{-1}로서 sulfate 농도 0.07 g/L 이상에선 DBT 탈황속도가 약 1/3로 감소하였다. 즉 sulfate를 첨가함으로써 MS6균주의 비성장속도를 증가시킬 수 있었지만, 반면 sulfate 농도가 증가하면 DBT 탈황속도가 감소하였다. 따라서 MS6균주는 성장하는데 있어 황원으로서 DBT보다는 sulfate를 이용하기 쉬우며, 배지내 존재하는 sulfate는 MS6균주의 DBT 분해효소 발현을 억제함을 알 수 있었다.

4. 2-HBP와 DHBP의 영향

앞서 보고되었던 DBT나 그것의 유사체들을 탈황할 수 있는 능력을 갖는 균주들은 2-HBP나 sulfate에 의해 product inhibition을 받는 것으로 알려져 있다(Oshiro *et al.* 1995a, b; Omori *et al.* 1995; Oshiro *et al.* 1996a). 이 중에서 직접적으로 DBT가 분해되면서 생성되는 2-HBP는 거의 양론적으로 전환되고, 대사과정에서 배지에 축적된 2-HBP는 살균제의 주요 성분이기 때문에, 2-HBP의 독성에 의한 탈황균주들의 생장과 DBT 탈황능의 저해를 생각할 수 있다(Oshirio *et al.*, 1995a, b). 그러므로 *Gordona* sp. CYKS1의 돌연변이 균주인 MS6의 DBT 탈황에 미치는 2-HBP의 영향을 조사하는 것이 필요하다.

본 연구에서는 2-HBP와 그것의 유사체인 DHBP에 대한 CYKS1균주의 비성장속도와 DBT 탈황속도를 조사하였다. Fig. 4와 Fig. 5에는 2-HBP와 DHBP를 농도별로 각각 첨가하였을 경우의 성장과 DBT 탈황 경향을 도시하였으며, DBT 탈황 속도와 비성장속도를 Table 2에 제시하였다. 우선 2-HBP의 경우(Fig. 4), 배양액의 흡광도는 DBT만이 첨가된 control이 최대 2.35인데 반해 0.05, 0.1 mM이 첨가된 경우엔 OD가 2.57, 2.50로 약간 증가하였고, 0.15 mM 이상에선 성장이 관찰되지 않았다. 또한 Table 2에 제시한 성장 속도로 비교해 보면 2-HBP가 첨가되지 않았을 때 0.10 h^{-1}이었고, 0.05, 0.1, 0.15 mM로 2-HBP 농도가 높아질수록 비성장속도는

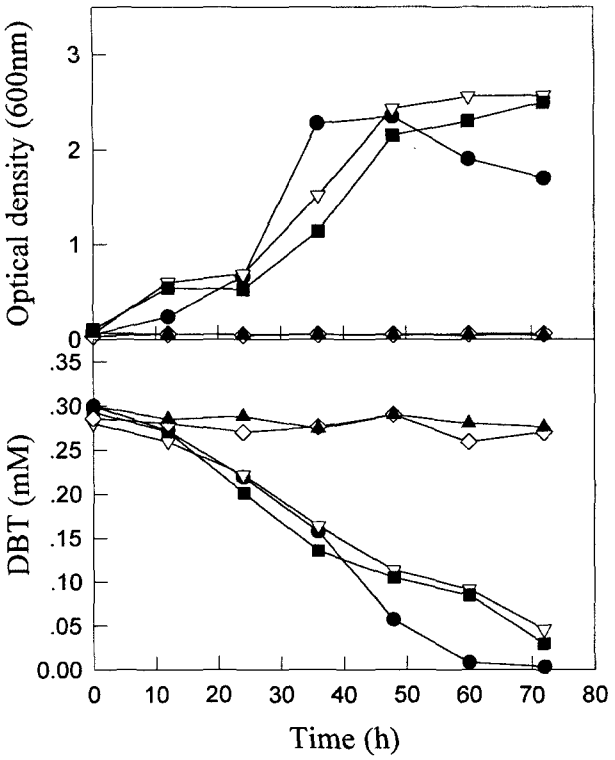

Fig. 4. Effect of 2-HBP concentration on the growth and DBT desulfurization activity of *Gordona* sp. MS6.
●, 0 mM; ▽, 0.05 mM; ■, 0.1 mM; ◇, 0.15 mM; ▲ 0.2 mM

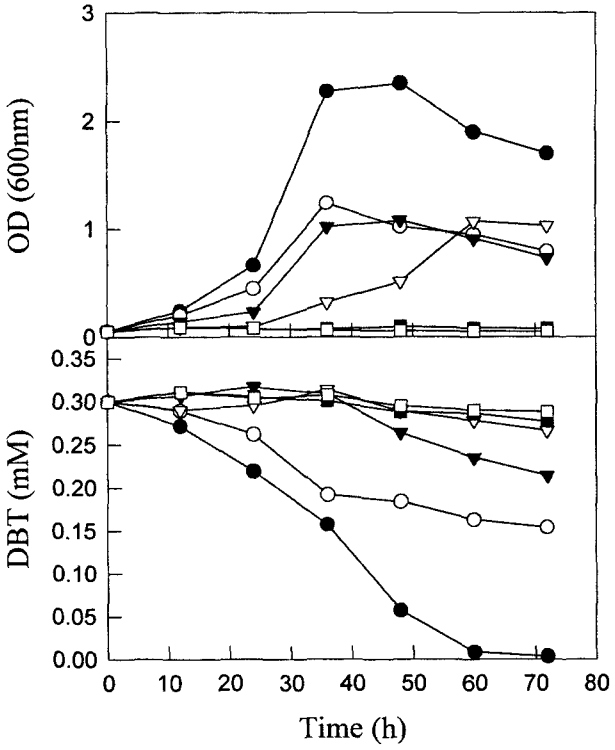

Fig. 5. Effect of 2, 2′-DHBP concentration on the growth and DBT desulfurization activity of *Gordona* sp. MS6.
●, 0 mM; ○, 0.2 mM; ▼, 0.4 mM; ▽, 0.6 mM; ■, 0.8 mM; □, 1.0 mM

0.08, 0.05, 0 h^{-1}으로 점차로 감소하여 2-HBP에 의한 저해 현상을 뚜렷이 확인할 수 있었다. 2-HBP가 0.2 mM까지 첨가되면서 동시에 증가하는 ethanol의 영향을 배제하기 위해 각 조건별로 ethanol의 농도를 1.6 g/L로 일정하게 맞추어 주었다.

DBT 탈황능도 2-HBP가 첨가되지 않은 경우가 72시간에 완전 탈황되었으나, 0.05, 0.1 mM 2-HBP를 첨가한 경우에는 DBT가 각각 0.03, 0.05 mM까지 탈황되었다. 0.15, 0.2 mM 2-HBP를 첨가한 경우에는 DBT 탈황이 관찰되지 않았다(Fig. 4). 단위 시간당 단위 부피당 탈황된 DBT의 mole수로 비교해 보면 2-HBP를 첨가하지 않은 경우의 DBT 탈황속도는 5.0 μmol · L^{-1} · h^{-1}인 반면, 2-HBP의 첨가농도에 따라 각각 3.2, 3.3, 0, 0 μmol · L^{-1} · h^{-1}로 점차 감소하였다. 이러한 결과로부터 2-HBP의 첨가는 MS6 균주의 성장과 DBT 탈황활성을 저해함을 알 수 있었다.

Gordona sp. MS6균주의 성장과 탈황활성에 미치는 DHBP의 영향을 Fig. 5과 Table 2에 제시하였다. DHBP를 첨가하지 않은 경우에 배양액의 흡광도는 최대 OD 2.35까지 증가하는데 비해, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mM로 첨가농도가 증가함에 따라 배양액의 최대 흡광도가 각각 1.24, 1.08, 1.07, 0.10, 0.09로 감소되었다(Fig. 5). 비성장속도도 DHBP 첨가량이 증가할수록 감소하는 경향이 뚜렷하게 나타났으며, DHBP를 0.8 mM 이상 첨가한 경우에는 MS6균주의 성장이 완전히 저해받았다.

DBT 탈황활성의 경우, DHBP를 첨가하지 않은 경우

Table 2. DBT removal rate and growth rate with different 2-HBP and DHBP concentrations

Metabolite	concentration (mM)	DBT removal rate (μmol · L^{-1} · h^{-1})	Growth rate (h^{-1})
2-HBP	0	5.0±0.08	0.10±0.002
	0.05	3.2±0.10	0.08±0.003
	0.10	3.3±0.07	0.05±0.004
	0.15	0	0
	0.20	0	0
DHBP	0	5.0±0.12	0.10±0.004
	0.2	2.5±0.09	0.09±0.003
	0.4	1.2±0.08	0.08±0.005
	0.6	0.4±0.05	0.05±0.002
	0.8	0	0
	1.0	0	0

에는 72시간에 DBT가 완전 분해되었으나, 0.2 mM DHBP가 첨가된 경우에는 배지중의 잔류 DBT 농도는 0.15 mM이었다. 또한 0.4 mM과 0.6 mM DHBP를 첨가한 경우의 DBT 잔류 농도는 각각 0.21, 0.27 mM로 DHBP 첨가 농도가 증가할수록 잔류 DBT 농도가 높았다. DHBP를 0.8 mM 이상 첨가한 경우 DBT 탈황은 관찰되지 않았다(FIg. 5). DBT 탈황속도로 계산하여 비교하면, DHBP가 첨가되지 않은 경우가 5.0 $\mu mol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$이고, 0.2, 0.4, 0.6 mM의 DHBP를 첨가함에 따라 2.5, 1.2, 0.4 $\mu mol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$로 DBT 탈황속도도 감소하였다 (Table 2).

2-HBP와 DHBP는 둘 다 농도가 증가할수록 MS6의 성장과 DBT 탈황능을 저해하였으며, 특히 2-HBP는 MS6균주에 더 큰 독성을 나타냈다. 이러한 결과로부터 (Oshiro *et al.* 1996a, b)이 발표한 바와 같이 biphenyl nucleus에 붙은 hydroxy group이 성장과 DBT 탈황효소를 저해함을 알 수 있었다.

사 사

본 연구를 산업자원부 에너지 기술 개발 사업 연구비에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Constanti M, J Giralt, A Bordons & PR Norris (1992) Interaction of thiophene and acidophilic, thermophilic bacteria. *Appl. Biochem. Biotech.* **34** : 767-776.

Constanti M, J Giralt & A Bordons (1996) Degradation and desulfurization of dibenzothiophene sulfone and other sulfur compounds by *Agrobacterium* MC501 and a mixed culture. *Enzyme Microb. Technol.* **19** : 214-219.

Cork DJ, R Garunas & A Sajjad (1983) Chlorobium limicola forma thiosulfatophilum: Biocatalyst in the production of sulfur and organic carbon from a gas stream containing H_2S and CO_2. *Appl. Environ. Microbiol.* **45** : 913-918.

Crawford DL & KK Gupta (1990) Oxidation of dibenzothiophene by *Cunninghamella elegans*. *Curr. Microbiol.* **21** : 229-231.

Fedorak PM & DWS Weserlake (1982) Microbial degradation of organic compounds in Prudhoe Bay crude oil. *Can. J. Microbiol.* **29** : 291-296.

Hou CT & AI Laskin (1976) Microbial conversion of dibenzothiophene. *Dev. Ind. Microbiol.* **17** : 351-362.

Izumi Y, T Ohshiro, H Ogino, Y Hine & M Shimao (1994) Selective desulfurization of dibenzothiophene by *Rhodococcus erythropolis* D-1. *Appl. Environ. Microbiol.* **60** : 223-226.

Kargi F & JM Robinson (1984) Microbial oxidation of dibenzothiophene by the thermophilic organism Sulfolobus acidocaldarius. *Biotechnol. Bioeng.* **26** : 687-690.

Kargi F (1987) Biological oxidation of thianthrene, thioxanthene and DBT by the thermophilic organism *Sulfolobus acidocaldarius*. *Biotechnol. Lett.* **9** : 478-482.

Kayser KJ, BA Bielaga-Jones, K Jackowski, O Odusan & JJ Kilbane II (1993) Utilization of organosulfur compounds by axenic and mixed cultures of *Rhodococcus rhodochrous* IGTS8. *J. Gen. Microbiol.* **139** : 3123-3129.

Kilbane JJ (1989) Desulfurization of coal: the microbial solution. *Trends Biotechnol.* **7** : 97-101.

Kilbane JJ & K Jackowski (1992) Biodesulfurization of water-soluble coal-derived material by *Rhodococcus rhodochrous* IGTS8. *Biotechnol. Bioeng.* **40** : 1107-1114.

Kim BH, PK Shin, JU Na, DH Park & SH Bang (1996) Microbial petroleum desulfurization. *J. Microbiol. Biotech.* **6** : 299-308.

Kodama K, S Nakatani, K Umehari, K Shimizu, Y Minoda & K Yamada (1973) Microbial conversion of petrosulfur compounds. *Agric. Biol. Chem.* **34** : 1320-1324.

Ohshiro T, Y Hine & Y Izumi (1994) Enzymatic desulfurization of ibenzothiophene by a cell-free system of *Rhodococcus erythropolis* D-1. *FEMS Microbiol. Lett.* **118** : 341-344.

Ohshiro T, T Hirata & Y Izumi (1995a) Microbial desulfurization of dibenzothiophene in the presence of hydrocarbon. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **44** : 249-252.

Ohshiro T, Y Kanbayashi, Y Hine & Y Izumi (1995b) Involvemnet of flavin coenzyme in dibenzothiophene degrading enzyme system from *Rhodococcus erythropolis* D-1. *Biosci, Biotech. Biochem.* **59** : 1349-1351.

Ohshiro T, K Suzuki & Y Izumi (1996a) Regulation of dibenzothiophene degrading enzyme activity of *Rhodococcus erythropolis* D-1. *J. Ferment. Bioeng.* **81** : 121-124.

Ohshiro T, K Suzuki & Y Izumi (1996b) Characterization of dibenzothiophene desulfurization reaction by whole cells of *Rhodococcus erythropolis* H-2 in the presence of hydrocarbon. *J. Ferment. Bioeng.* **82** : 610-612.

Ohshiro T, K Suzuki & Y Izumi (1997) Dibenzothiophene (DBT) degrading enzyme responsible for the first step of DBT desulfurization by *Rhodococcus erythropolis* D-1: Purification and characterization. *J. Ferment. Bioeng.* **83** : 233-237.

Omori T, Y Saiki, K Kasuga & T Kodama (1995) Desulfurization of alkyl and aromatic sulfides and sulfones by dibenzothiophene-desulfurizing *Rhodococcus* sp. Strain SY1. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **59** : 1195-1198.

Rhee SK, JH Chang, YK Chang & HN Chang (1998) Desulfurization of dibenzothiophene and diesel oils by a newly isolated *Gordona* sp. CYKS1. *Appl. Environ. Microbial.* **64** : 2327-2331.

Sagardia F, JJ Rigau, AM Lahoz, F Fuentes, C Lopez & W Flores (1975) Degradation of dibenzothiophene and related compound by a soil *Pseudomonas* in an oil-aqueous environment. *Appl. Microbiol.* **29** : 722-725.

Setti L, G Lanzarini & PG Pifferi (1995) Dibenzothiophene biodegradation by a *Pseudomonas* sp. in model solutions. *Process Biochem.* **30** : 721-728.

Effect of Degradative Products on Dibenzothiophene Desulfurization Activity of *Gordona* sp. MS6

Kyung-Suk Cho

(Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Institute of Science and Technology, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea)

Abstract - *Gordona* sp. MS6, desulfurizing petroleum, can convert dibenzothiophene (DBT) to 2-hydroxybiphenyl (2-HBP) and sulfate. In this study, the effect of DBT degradation product on DBT desulfurization activity was investigated. When Na_2SO_4 and DBT were simultaneously added in the medium sulfur sources, specific growth rate of strain MS6 was doubled compared to not adding Na_2SO_4. But, sulfate inhibited DBT desulfurization rate, furthermore, when 0.05 g/L Na_2SO_4 was supplied DBT desulfurization rate decreased down to 40%. When 2-HBP and its derivative, 2, 2′-dihydroxybiphenyl (DHBP) were not added, DBT desulfurization rate was 5.0 $\mu mol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$. With the increase of 2-HBP and DHBP concentration, DBT desulfurization rate was decreased. No DBT desulfurization activity of *Gordona* sp. MS6 was observed when initial concentration was over 0.15 mM 2-HBP and 0.8 mM DHBP. [*Gordona* sp., Desulfurization, Dibenzothiophene, 2-Hydroxybiphenyl, Sulfate].