

## **Rhodococcus sp. EL-GT에 의한 고농도 페놀의 분해 특성**

박 근 태 · 차 미 선 · 남 귀 숙 · 조 순 자 · 손 흥 주 · 이 건 · 이 상 준  
부산대학교 미생물학과 · 밀양대학교 생물공학과  
(2002년 2월 18일 접수; 2002년 8월 20일 채택)

### **Characterization of Biodegradation of Highly Concentrated Phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT**

Geun-Tae Park, Mi-Sun Cha, Gui-Sook Nam, Sun-Ja Cho,  
Hong-Joo Son, Geon Lee and Sang-Joon Lee

Department of Microbiology, Pusan National University, Busan, 609-735, Korea

Department of Biotechnology, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

(Manuscript received 18 February, 2002; accepted 20 August, 2002)

The isolated strain, *Rhodococcus* sp. EL-GT was able to degrade high phenol concentrations up to 10 mM within 24 hours in the medium consisting of 5.3 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 95 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 18mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 1 mM  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 50  $\mu\text{M}$   $\text{CaCl}_2$ , 0.5  $\mu\text{M}$   $\text{FeCl}_3$ , initial pH 8.0, temperature 30°C in rotary shaker at 200 rpm. This strain was good cell growth and phenol degradation in the alkaline pH range range, and the highest in the pH range of 7 to 9.

The microorganism was able to grow at the various chlorinated phenols, benzene, toluene, and bunker-C oil. As *Rhodococcus* sp. EL-GT was good capable of attachment on the acryl media, it would be used as microorganism to consist of biofilm in wastewater treatment.

Key words : *Rhodococcus* sp., sludge, RBC, biofilm reactor

#### 1. 서 론

과학의 발달과 더불어 발전된 각종 산업기술과 이에 따른 우수한 제품의 대량생산 등 산업전반의 운용과정에서 많은 양의 난분해성 물질을 의도적 혹은 우발적 사고로 자연환경에 유출시킨다. 이렇게 유출되는 물질은 대부분 미생물에 의하여 대사되어 분해되지만, 대량의 오염물질이 배출되거나 독성이 너무 강한 이생물적화합물(xenobiotic compounds)의 유출은 먹이사슬의 파괴 등을 초래하여 자연생태계의 자정능력을 잃어버리게 하고 자연계에 축적된다. 이렇게 축적된 오염물질은 자연을 오염시키고 사람과 동식물 등 모든 생명체에 많은 피해를 입히게 된다. 이러한 대처방안으로 미생물에 의한 독성화합물들의 생분해에 관한 많은 연구가

활발히 이루어지고 있다.<sup>1,2)</sup>

페놀은 다른 합성유기화합물의 기본구조단위 물질로서 널리 상용되는 유기화합물로서 오일정제, 석유화학공업 등에서 대량으로 사용된 후 자연계로 배출될 수 있는 독성이 강한 물질이며 특히 상하수 처리에 있어서 계속적인 관심이 요구되는 물질이다.

페놀제거와 관련하여 많이 보고되고 있는 주요 균주들은 *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Streptomyces setonii*, *Bacillus stearothermophilus*, *Trichosporon cutaneum*, *Candida tropicalis* 등이며 이들은 주로 저농도의 페놀분해가 가능하며 고농도의 페놀분해에 관한 연구는 Chang 등의 *Candida tropicalis*와 몇몇의 회분식 분해에 대한 연구 등을 포함한 몇 편의 보고가 있을 뿐이다.<sup>3~6)</sup>

따라서 자연계에서 분리한 1,000 mg/l 이상의 고농도의 페놀을 분해하는 미생물인 *Rhodococcus* sp. EL-GT는 산업적 응용가치가 매우 높을 것으로 사료되어, 실제의 하·폐수 처리공정에 생물학

Corresponding Author : Sang-Joon Lee, Department of Microbiology Pusan National University, Busan 609-735, Korea

Phone : +82-51-510-2268

E-mail : sangjoon@pusan.ac.kr

적인 제어방법을 적용시키기 위한 기초자료로써 페놀 분해의 최적조건의 검토 및 다양한 기질의 이용능을 조사하였다.<sup>7,8)</sup> 또한 고농도의 독성폐수를 처리하기 위한 방법으로 현재 생물막법에 의한 폐수 처리법에 대한 연구가 많이 이루어지고 있으며,<sup>9-11)</sup> 본 연구에서도 이들의 생물막 형성을 위한 부착능 실험을 실시하여 실제 산업현장에서 응용할 수 있는 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 사용기기

페놀분해의 최적조건 검토를 위한 실험에 사용된 회전진탕배양기는 SI-900R(JEIO TECH, KOREA)와 KMC-8480SR(VISION CO., LTD, KOREA)를 정치배양기는 SAMHWA(SAMHWA CO., KOREA)를 사용하였다.

### 2.2. 사용균주

페놀을 유일탄소원 및 에너지원으로 하여 방향족 화합물의 유출가능성이 높은 부산의 장림공단 인근, 양산 북정지구 및 유상공단 일대의 하천수 및 토양과 장림하수 처리장의 활성슬러지에서 페놀 분해 균주를 검색하여 분리하였다. 분리된 세균중 페놀분해능이 우수한 균은 *Rhodococcus* sp. EL-GT로 동정되었으며 본 연구에 사용하였다.<sup>8)</sup>

### 2.3. 생육도 및 페놀 화합물 분해율 측정

생육도의 측정은 분광광도계를 이용하여 600 nm에서 흡광도로 측정하였다. 페놀의 측정은 colorimetric assay법을 사용하였고,<sup>11)</sup> 염소계 화합물 및 기타 다른 화합물들은 Gas Chromatography 및 흡광도법 또는 생육도를 이용 비교하였다(Table 1, 4).

Table 1. Operating conditions of GC for analysis of chlorinated aromatic compounds

Column	Ultra2 capillary column (0.32 mm×25 m)
Temperature of oven	40 ~ 120°C
Temperature of injector	200°C
Temperature of detector	250°C
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Flow rate	30 ml/min
Detector	ECD

### 2.4. 페놀분해의 최적조건 검토

#### 2.4.1. 전배양 및 본배양 조건

전배양은 250 ml의 삼각 flask에 50 ml의 LB배지를 넣고 균을 1 백금이 접종한 후, 30°C에서 24 시간 동안 200 rpm으로 회전진탕배양하였다. 배양

액 일정량을 취하여 12,000 rpm, 10분 동안 원심분리한 후, 회수한 균을 phosphate buffer(pH 7.0)로 두 번 씻어준 후, 같은 용액에 O.D.가 1.0이 되게 현탁하여 본 배양액의 2%(v/v)가 되도록 접종하였다.

본 배양은 aeration에 의한 영향을 제외하고는 모두 결정되어진 배지조성에 의해 제조된 배지 50 ml를 250 ml 삼각플라스크에 넣고 회전진탕배양기에서 200 rpm의 회전속도로 배양하였다.

#### 2.4.2. 온도의 영향

페놀 농도 10 mM, pH 7.0의 분리용 배지 50 ml를 250 ml 삼각플라스크에 넣은 후 회전진탕배양기에서 배양온도를 10°C부터 50°C까지 단계별로 조정하여 배양하면서 균의 생육도 및 페놀의 분해능을 측정하였다.

#### 2.4.3. pH의 영향

상기의 실험에서 최적으로 결정된 조건으로 맞추어진 분리용 배지 50 ml를 초발 pH 3.0~pH 12.0까지 각각 단계별로 조정하여 250 ml 삼각플라스크에서 넣고 회전진탕배양기에서 배양한 후 생육도와 페놀의 분해능을 측정하였다.

#### 2.4.4. 페놀 농도의 영향

상기 실험으로 결정된 최적조건의 분리용 배지 조성으로 페놀의 농도를 각각 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM이 되게 첨가한 50 ml 배지를 250 ml 삼각플라스크에 넣고, 회전진탕배양기에서 일정시간 배양한 후 생육도와 페놀의 분해능을 측정하였다.

#### 2.4.5. 질소원에 의한 영향

상기의 실험을 통한 최적 조건으로 맞추은 분리용 배지조성에 각종 무기 및 유기 질소원을 첨가하여 질소원의 종류에 따른 생육도와 페놀의 분해능을 측정하였다. 무기질소원은 18 mM을, 유기질소원은 0.2%를 각각 첨가한 50 ml의 배지를 삼각플라스크에 넣은 후 회전진탕배양기에 일정시간 배양하였다.

#### 2.4.6. 무기염의 농도에 의한 영향

상기의 실험으로 결정된 조건에 의한 분리용 배지에 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0~2 mM, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0~200 μM, FeCl<sub>3</sub> 0~2 μM의 농도로 단계별로 조정하여 각각의 생육도와 페놀의 분해능을 측정하였다.

#### 2.4.7. 통기량의 영향

상기의 실험을 통해 결정된 조건에 의한 배지 조성과 배양 조건으로, 250 ml 삼각 플라스크를 사용하여 배지의 양을 각각 25~200 ml까지 넣은 후,

200 rpm으로 24시간 동안 회전진탕배양하여 각각의 생육도와 페놀의 분해능을 측정하였다.

2.5. 최적배지 및 배양조건하에서 공시균주의 생육도 및 페놀 분해

상기 실험에서 결정된 최적배지 및 배양조건에서 일정 시간별로 공시균주의 생육도 및 페놀의 분해능을 검토하였다.

2.6. 공시균주의 방향족 화합물에 대한 기질 특이성 검토

공시균주의 기질특이성을 검토하기 위하여 다양한 방향족 화합물을 최적배지 및 배양 조건에서 유일한 탄소원 및 에너지원으로 첨가한 뒤, 200 rpm으로 회전진탕배양하면서 분해균주의 생육능으로 분해유무를 확인하였다. Benzene과 toluene, xylene은 500 ppm을 첨가하였으며 다른 기질은 모두 100 ppm을 첨가하였다.

2.7. 생물막 폐수처리법을 위한 균주 부착능

생물막법을 이용한 폐수처리법에 본 균주를 응용하고자 생물막 형성의 기초시험을 위한 부착시험을 실시하였다. 2.5 cm×2.5 cm 크기의 아크릴판을 직경 10 cm직경의 petri dish에 고정한 후 균주 농도를  $1.0 \times 10^7$  CFU/ml,  $1.0 \times 10^6$  CFU/ml,  $1.0 \times 10^5$  CFU/ml 농도로 각각 조절하고 액체육즙배지를 10 ml 첨가하여 shaking incubator에서 10분, 3시간, 12시간, 24시간, 48시간 간격으로 부착실험을 진행하였다. 부착된 미생물은 아크릴판을 떼어낸 후 20 ml의 PBS가 있는 원심분리관에 넣었다. Vortex와 sonicator를 사용하여 아크릴 판에 붙어 있는 생물막을 떼어낸 후 미생물이  $10^4$ 에서  $10^8$ 의 범위가 되도록 적당히 희석하였다. 희석된 시료

100  $\mu$ l를 육즙한천평판배지에 도말하고 30 $^{\circ}$ C incubator에서 24시간, 48시간, 72시간 배양하면서 나타나는 집락을 계수하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 페놀 분해 최적 조건

3.1.1. 온도의 영향

페놀 10 mM, pH 7.0의 분리용 배지에 배양온도를 10~50 $^{\circ}$ C까지 단계별로 조정하여 균의 생육도 및 페놀의 분해능을 측정하였다(Fig. 1). 10 $^{\circ}$ C와 45 $^{\circ}$ C 이상에서는 균의 생육 및 분해능이 없었고 20~40 $^{\circ}$ C에서 모두 우수한 생육도와 페놀 분해능을 나타내었다. 생육도와 분해능 및 페놀의 휘발성 등을 고려하여 30 $^{\circ}$ C를 최적 배양온도로 결정하였다.

3.1.2. pH의 영향

페놀 10 mM이 첨가된 분리용 배지의 pH를 1 N HCl과 1 N NaOH를 이용하여 초발 pH를 3.0~12.0까지 단계별로 조절한 후, 균의 생육도 및 페놀 분해능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. pH 5에서부터 pH 12까지 분해능 및 생육을 나타내었으며 pH 7에서 pH 9사이에서 가장 높은 분해능을 나타내었다. 높은 생육도와 페놀 분해능을 보인 pH 8.0을 최적 초발 pH로 결정하였다.

*Rhodococcus* sp. EL-GT는 약산성, 중성 및 알칼리 영역 등 아주 넓은 범위의 pH에서 생육 및 분해가 가능하였고 특히 pH 11~12의 강알칼리에서도 높은 생육과 우수한 페놀 분해능을 보였다. 이러한 실험 결과에 의하면 특히 알칼리성 산업폐수의 처리시 별도의 중화과정을 거치지 않고 바로 적용이 가능할 것으로 보인다. 또한 염소계 화합물은 알칼리영역에서 미생물에 미치는 독성이 산성영

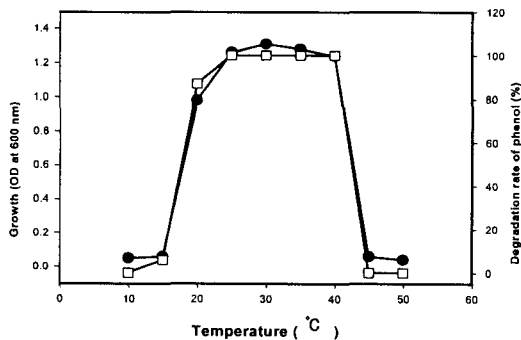


Fig. 1. The effect of temperature on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.

Symbols : -●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

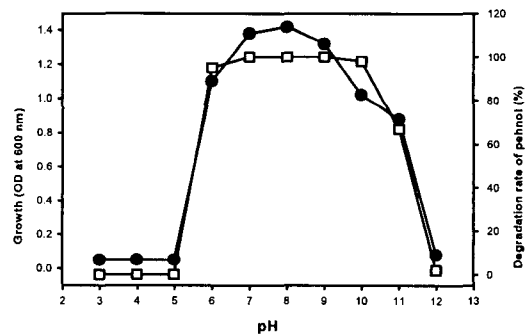


Fig. 2. The effect of pH on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.

Symbols : -●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

역보다 낮으므로, 고농도의 염소계화합물이 함유된 페놀폐수처리에 있어서도 상당한 효과를 보일 것으로 기대되는 균주이다.

3.1.3. 페놀 농도의 영향

배양온도 30℃, 초발 pH 8.0의 배지에 페놀의 농도를 단계별로 조정하여 첨가한 후, 균의 생육도와 페놀 분해능을 측정하여, 그 결과는 Fig. 3과 같다. 10 mM 전후에서 가장 높은 생육도와 페놀 분해능을 나타내었다. 현재 보고되는 있는 일반적인 연구는 주로 5 mM 이하의 농도로 이루어지고 있으며, kinetics에 관한 연구는 200 ppm 이하의 농도에서 실시되었다.<sup>3-6)</sup> *Rhodococcus* sp. EL-GT는 조사된 최적 조건에서 10 mM의 페놀을 24시간만에 완전히 분해하였으며 30 mM에서도 분해능 및 생육도를 보여 연장된 배양시간과 적절한 pH의 조정된다면 고농도의 페놀을 적절히 분해할 수 있는 우수한 균주로 사용이 가능할 것으로 보였다.

3.1.4. 질소원의 영향

무기질소원 18 mM, 유기질소원은 0.2%씩을 각각 첨가하여 배양한후 생육도와 페놀 분해능을 측정 한 결과는 Table 2와 같다. 유기질소원 중에서 malt extract를 제외한 yeast extract, polypeptone, bactopectone의 생육도는 무기질소원보다 우수하였다. 또한 무기질소원 중에서는 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>를 사용했을 때 그 생육과 분해능이 우수했다. 한편 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>와 yeast extract에서 생육도에 차이가 많이 났으나 페놀의 분해능에서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 이것은 yeast extract에 존재하는 다른 탄소원을 페놀과 함께 이용함으로써 더 많은 증식을 할 수 있었던 것으로 생각되며, 경제적인 면을 고려할 때 무기질소원이 더욱 가치가 있으므로 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>를 본

실험의 질소원으로 선정하였으며, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>의 농도 별에 따른 생육도와 페놀 분해능은 Fig. 4와 같다. 질소원의 농도를 10~30 mM사이에서 단계적으로 조절한후 생육도와 분해능을 검토한 결과 16 mM 이상의 농도에서 생육도와 분해능이 우수하였다. 생육도와 분해능을 고려한 결과 앞으로의 고농도의 페놀농도 실험에 있어서는 경제성 등을 감안하여 최적농도는 18 mM로 결정하였다.

3.1.5. 무기염에 의한 영향

MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O는 1~3 mM에서 생육도와 phenol 분해능이 양호하였으며 1 mM을 최적 농도로 결정하였다(Fig. 5). Fig. 6에서와 같이 CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O의 경우, 50 μM~200 μM까지 결과의 차이가 거의

Table 2. Effect of nitrogen sources on the growth of *Rhodococcus* sp. EL-GT

Nitrogen sources (18 mM)	Growth (OD at 600 nm)	Residual phenol (%)
KNO <sub>3</sub>	0.24	82
NaNO <sub>2</sub>	0.32	75
NaNO <sub>3</sub>	0.41	58
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1.28	0
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.02	8
Yeast extract*	1.65	46
Malt extract*	0.12	89
Polypeptone*	1.42	42
Bactopectone*	1.52	48
Tryptone*	1.48	38

\* Organic nitrogen sources were used 2% (w/v).

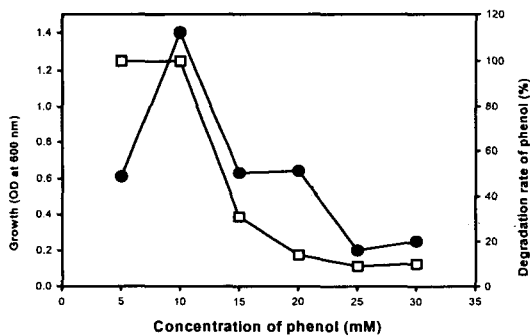


Fig. 3. The effect of concentration of phenol on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.  
Symbols : ●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

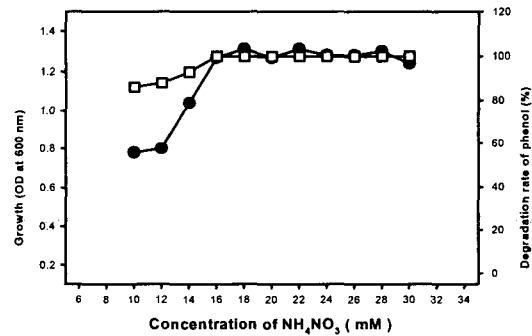


Fig. 4. The effect of concentration of NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.  
Symbols : ●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

*Rhodococcus* sp. EL-GT에 의한 고농도 페놀의 분해 특성

없으므로 50  $\mu\text{M}$ 을 최적 농도로 정하였고,  $\text{FeCl}_3$  역시 0.5  $\mu\text{M}$ ~2.0  $\mu\text{M}$ 까지 차이가 거의 나타나지 않았기 때문에 0.5  $\mu\text{M}$ 을 최적 농도로 결정하였다 (결과 미제시).

3.1.6. Aeration의 영향

Aeration의 영향에 대한 결과 배양액이 50 ml이 하일 때 큰 차이 없이 높은 생육도와 페놀 분해율을 나타내었다. 그러나 100 ml 이상에서 액량이 많아질수록 생육도와 분해율이 점차 감소하였으며 실험의 편의상 최적 배양액은 50 ml로 결정하였다 (Fig. 7).

3.2. 최적배지 및 배양조건에서 생육도 및 페놀 분해

실험결과 *Rhodococcus* sp. EL-GT의 페놀 분해 최적조건은 Table 3과 같다. 이 최적 배지조건에

Table 3. The optimal medium composition and condition

Optimal medium	Content
Phenol	10 mM
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	5.3 mM
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	95 mM
Composition	$\text{NH}_4\text{NO}_3$ 18 mM
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 mM
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 50 $\mu\text{M}$
	$\text{FeCl}_3$ 0.5 $\mu\text{M}$
Condition	pH 8.0 $\pm$ 0.2
	Temperature 30 $^\circ\text{C}$

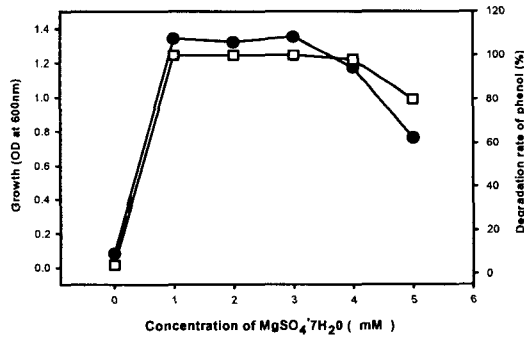


Fig. 5. The effect of concentration of  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.

Symbols : -●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

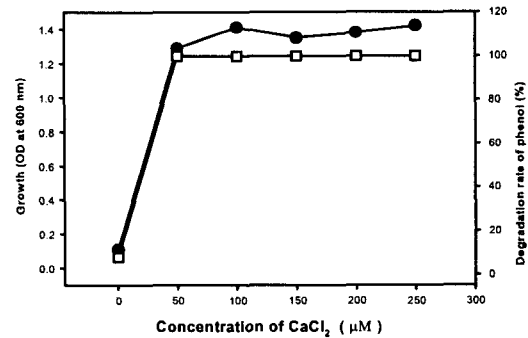


Fig. 6. The effect of concentration of  $\text{CaCl}_2$  on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.

Symbols : -●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

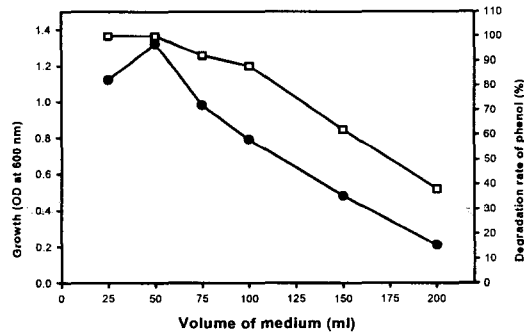


Fig. 7. The effect of aeration on the growth and the degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. EL-GT.

Symbols : -●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

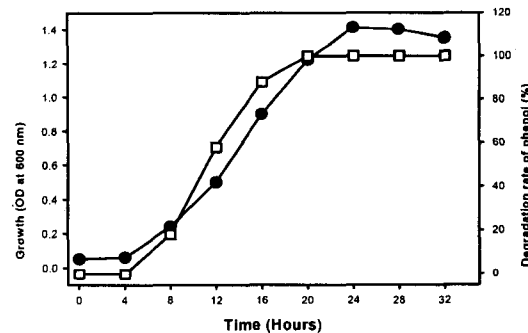


Fig. 8. Time course of phenol degradation and growth on the optimal medium condition by *Rhodococcus* sp. EL-GT.

Symbols : -●-, growth  
-□-, degradation rate of phenol

의한 본 균주의 생육도 및 페놀의 분해능은 Fig. 8과 같으며 24시간 이내에 10 mM의 phenol을 완전히 분해하였다.

따라서 *Rhodococcus* sp. EL-GT는 페놀 분해 및 균체 생육을 위하여 많은 미량원소나 특별한 성장인자를 요구하지 않아 현장적용에 적절한 미생물체제로 사용가능 할 것이다.

3.3. 방향족 화합물들에 대한 기질 특이성 검토

방향족 화합물에 대한 기질 특이성은 Table 4와 같이 조사한 기질 중 대부분의 기질을 분해하여 생육할 수 있었다. 다양한 염소계 페놀화합물을 분해할 수 있었으며, toluene과 benzene에서도 성장하였다. 따라서 본 균주는 페놀과 페놀 치환체 등의 제어에 유용하게 응용될 수 있으리라 생각된다. 특히 Zilli 등이 *Pseudomonas putida*를 이용한 biofilter로 gas 상에서 페놀을 제거한 보고 처럼, 본 균주도 앞으로 biofilter쪽의 연구가 진행된다면 대기의 정화에도 적용될 수 있을 것이다.<sup>13)</sup> 따라서 본 공시 균주는 기질 특이성이 매우 광범위하여 환경정화 및 각종 산업에 매우 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

3.4. 생물막 형성을 위한 균주의 부착능

Fig. 9에서 보는 바와 같이 부착능은 부착시간이

Table 4. Utilization of aromatic compounds as a sole carbon and energy source by *Rhodococcus* sp. EL-GT

Compound	Growth
<i>o</i> -Chlorophenol	+
<i>p</i> -Chlorophenol	+
2,3-Dichlorophenol	+
2,4-Dichlorophenol	-
2,5-Dichlorophenol	+
2,6-Dichlorophenol	+
3,4-Dichlorophenol	+
2,4,5-Trichlorophenol	+
2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	+
2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid	+
Toluene	+
Benzene	+
Xylene	+
Lubricant oil	+
Bunker-C	+

짧을 때는 초기 미생물농도에 영향을 받았으나 12시간 이상에서는 부착미생물수가 거의 안정화되었다. 12시간이면 반응액에서 미생물이 대수증식기 이상의 농도로 증식을 하였으며 또한 박 등의 보고에서와 같이 부착이 더 이상 일어나지 않는 S자형 곡선을 가져가는 것으로 사료되었다.<sup>14)</sup> 이는 24시간이 경과하면서 영양물질의 결핍 등으로 인해 사멸기에 접어드는 미생물의 증가 등으로 인하여 부착능이 약간 감소하였다. 본 연구에서 사용된 *Rhodococcus* sp. EL-GT는 부착능이 우수한 것으로 보아 생물막법을 이용한 고농도의 폐수처리에 이용이 가능할 것이다.

4. 요약

본 연구는 자연계에서 분리 동정된 페놀분해능이 우수한 균주의 최적 페놀 분해 조건과 Biofilm 형성 여부를 조사하는 목적으로 실험을 행하였다. 본 *Rhodococcus* sp. EL-GT는 저농도에서는 물론이고 10 mM 이상의 고농도 페놀의 분해가 가능하였으며 30 mM까지도 분해 및 생육이 이루어졌다. 질소원은 무기질 중 가장 높은 활성을 보인 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>와 yeast extract에서의 결과를 비교해보면 생육도는 차이가 많이 났으나 페놀의 분해능에서는 큰 차이를 나타내지 않아 경제성이 보다 나은 무기질소원인 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>를 질소원으로 선정하였다. 각종무기염에 대한 농도는 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O는 1 mM, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O의 경우 50 μM, FeCl<sub>3</sub>는 0.5 μM을 최적 농도로 결정하였다.

또한 *Rhodococcus* sp. EL-GT는 phenol외에도 다양한 방향족 화합물 및 염소계화합물을 기질로 이용하여 생육함을 알 수 있었다. 분해가 원활이 이루어지는 배양온도의 범위는 20~40℃였으며, 본

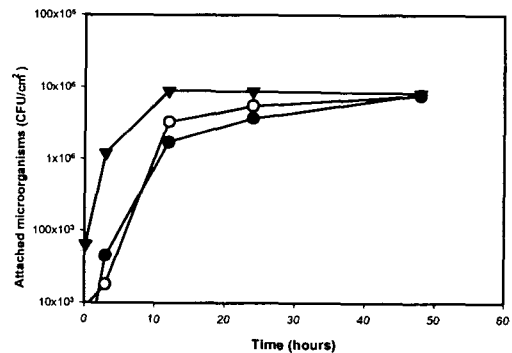


Fig. 9. Effect of initial cell concentration on the *Rhodococcus* sp. attachment with time at 30°C. Symbols : -○-, 1.0×10<sup>5</sup> CFU/ml; -●-, 1.0×10<sup>5</sup> CFU/ml; -▼-, 1.0×10<sup>5</sup> CFU/ml

공시균주의 경우 담체부착능도 우수한 것으로 나타났으므로 생물막법에 의한 폐수처리에도 적용하는 등 차후의 계속된 연구를 통해 산업현장에서의 응용 가능성이 매우 클 것으로 사료된다.

#### 감사의 글

본 연구는 1998년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 수행된 연구의 일부이며 이에 감사를 드립니다(KRF-1998-005-D00022).

#### 참고 문헌

- 1) 박석환, 1999, 환경생태학, 신평문화사.
- 2) Atlas, R. M. and R. Bartha, 1998, Microbial Ecology, 4th, Benjamin/Cummings Science publishing.
- 3) Chang, Y. H., C. T. Li, M. C. Chang, W. K. Shieh, 1998, Batch phenol degradation by *Candida tropicalis* and its fusant, Biotech. Bioeng., 60, 391-395.
- 4) Antai, S. P. and Don. L. Crawford, 1983, Degradation of phenol by *Streptomyces setonii*, Can J. Microbiol., 29, 142-143
- 5) Mordocco, A., C. Keuk, and R. Jenkins, 1999, Continuous degradation of phenol at low concentration using immobilized *Pseudomonas putida*, Enz. Microb. Tech., 25, 530-536.
- 6) Shishido, M. and M. Toda, 1996, Apparents zero-order kinetics of phenol biodegradation by substrate-inhibited microbes at low substrate concentrations, Biotech. Bioeng., 50, 709-717.
- 7) Warhurst, A. M., K. F. Clarke, R. A. Hill, R. A. Holt, and C. A. Fewson, 1994, Metabolism of styrene by *Rhodococcus rhodochrous* NCIMB 13259, Appl. Environ. Microbiol., 60, 1137-1145.
- 8) 박근태, 2000, 단일개체군 및 혼합개체군을 이용한 호기성 생물막에 의한 페놀폐수의 처리, 부산대학교 박사학위 논문.
- 9) Maltseva, O. and P. Opiel, 1997, Monitoring of an Alkaline 2,4,6-trichloro-phenol- degrading enrichment culture by DNA fingerprinting methods and isolation of the responsible organism, haloalkaliphilic *Nocardioides* sp. strain M6, Appl. Environ. Microbiol., 63, 4145-4149.
- 10) Yun, S. I. and Y. Ohta., 1997. Removal of gaseous *n*-valeric acid in the air by *Rhodococcus* sp. 261 immobilized onto ceramic beads, World J. of Microbiol. Biotech., 14, 343-348.
- 11) Eulberg, D., S. Lakner, L. A. Golovleva, and M. Dshlomann, 1998, Characterization of a protocatechuate catabolic gene cluster from *Rhodococcus opacus* 1CP : Evidence for a merged enzyme with 4-carboxymuconolactone-decarboxylating and 3-oxoadipate enol-lactone-hydrolyzing activity, J. Bacteriol., 180, 1072-1081
- 12) Clesceri, L. S., A. E. Greenberg, A. D. Eaton, 1998, Standard methods for examinations of water and wastewater, APHA AWWA WEF.
- 13) Zilli, M., A. Lodi, M. D. Borghi, and G. Ferraiolo, 1993, Phenol removal from waste gases with a biological filter by *Pseudomonas putida*, Biotechnol. Bioeng., 41, 693-699.
- 14) 박영식, 서정호, 송승구, 1998, 미생물 초기 생물막 부착과 성장에 미치는 *Zoogloea ramigera*의 영향, 한국환경과학회지, 7(4), 481-486.