

## Burkholderia sp. D5에 의한 phenanthrene과 pyrene 분해

김태정 · 조경숙\* · 류희욱<sup>1</sup>

이화여자대학교 환경학과, <sup>1</sup>승실대학교 환경화학공학과

Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs)를 분해하는 *Burkholderia* sp. D5를 유류 오염 토양으로 분리하였고, PAHs의 분해특성을 조사하였다. 분리균주는 유일 탄소원으로 phenanthrene(Phe)을 이용하여 생장이 가능하였고, pyrene (Pyr)을 유일 탄소원으로 이용하여 성장하지는 못하였으나 yeast extract(YE)를 공기질로 첨가해 준 조건에서는 Pyr를 분해할 수 있었다. 분리 균주의 PAH 분해속도는 YE, peptone 및 glucose의 첨가에 의해 향상되었으며, 특히 YE 첨가 효과가 가장 우수하였다. 무기염배지(BSM)에 215 mg-Phe/L와 1 g-YE/L를 첨가한 조건에서 *Burkholderia* sp. D5의 비성장속도(0.28/h)와 Phe 분해속도(29.30  $\mu\text{mol/L/h}$ )는 YE를 첨가하지 않은 조건에서 얻은 비성장속도(0.02/h)와 Phe 분해속도(12.00  $\mu\text{mol/L/h}$ )의 각각 10배 및 2배였다. Phe를 기질로 공급한 경우 최대 비성장속도( $\mu_{\text{max}}$ )와 최대 Phe분해속도( $V_{\text{max}}$ )는 각각 0.34 h<sup>-1</sup> 및 89  $\mu\text{mol/L/h}$  이었고, Pyr을 기질로 공급한 경우  $\mu_{\text{max}}$ 와  $V_{\text{max}}$ 는 각각 0.27 h<sup>-1</sup> 및 50  $\mu\text{mol/L/h}$ 이었다. Phe 혹은 Pyr 단독 기질하에서 분해속도와 비교 하였을 때 (29.30  $\mu\text{mol-Phe L/h}$ , 9.58  $\mu\text{mol-Pyr L/h}$ ), 두 기질의 혼합조건에서 Phe와 Pyr 분해속도는 각각 2.20 및 2.18  $\mu\text{mol L/h}$ 로 저하되었다. *Burkholderia* sp. D5 균주는 토양에서 Phe와 Pyr을 분해할 수 있었는데, Phe와 Pyr 분해속도는 각각 20.03 및 1.09  $\mu\text{mol L/h}$  이었다.

**Key words** □ biodegradation, *Burkholderia* sp., PAH, phenanthrene, pyrene

### 서 론

PAHs (Polycyclic aromatic hydrocarbons)는 소수성 유기화합물로 산불, 화산활동 및 석유의 자연적인 유출 등의 자연적 요인에 의해 배출되거나, 석탄이나 석유 등 화석 연료 사용, 석유 시추과정이나 운반 중의 사고 등에 의한 인위적 요인에 의해 배출된다 (10, 11). PAHs는 탄소고리수에 따라 저분자량 PAHs (Low Molecular Weight PAHs)와 고분자량 PAHs (High Molecular Weight PAHs)로 대별된다. 저분자량 PAHs는 4개 미만의 탄소고리로 이루어진 물질을 말하며 상대적으로 물에 대한 용해도가 크고 입자에 대한 친화력이 작아서 입자에 흡착이 잘 되지 않는다. 이 물질들은 급성 독성을 일으키는 것으로 알려져 있으며 naphthalene, phenanthrene 등이 속한다. 고분자량 PAHs는 4개 이상의 탄소고리를 가진 물질을 말하며, 물에 잘 용해되지 않고 입자에 대한 친화력이 매우 높아서 입자상에 잘 흡착된다. 이 물질들은 발암성을 일으킬 가능성이 매우 높은 것으로 알려져 있으며, pyrene, chrysene, fluoranthene 등이 대표적인 화합물이다. PAHs는 돌연변이와 발암을 야기하는 유해물질로서(2), 토양 또는 퇴적물 입자에 흡착되어 있으면 먹이사슬을 통해 생물농축 되면서 육상 및 해양생태계를 파괴하며 인간의 건강과 생명을 위협하는 난분해성 물질이다.

최근에 PAHs로 오염된 토양, 퇴적물 및 지하수를 환경 친화적인 방법으로 복원하기 위해서 생물학적 복원(bioremediation) 방

법이 활용되고 있다(8). 이러한 생물학적 복원방법은 오염물질을 분해하는 생물의 활성을 이용하여 오염된 환경을 정화하는 방법으로서 자연의 정화작용 원리를 공학적으로 활용하는 방법이다. 생물학적 방법은 상온·상압 하에서 조업되기 때문에 물리·화학적 방법에 비해 경제적이고, 2차 오염문제가 발생하지 않는 환경 친화적인 방법이다. 특히, PAHs와 같은 유독물질은 오염된 현장에서 자생하는 미생물에 의한 PAHs 분해 활성이 매우 낮기 때문에 PAH 분해능이 우수한 미생물을 인위적으로 오염 현장에 접종시켜 분해 활성을 향상시키는 bioaugmentation 방법이 활용되고 있다(2, 4, 8). 그러므로 bioaugmentation 방법에 활용할 수 있는 PAH를 효율적으로 분해할 수 있는 유용 미생물자원의 확보가 매우 중요하다.

본 연구에서는 벤젠고리수가 3개 이하인 phenanthrene (Phe)과 같은 저분자 PAHs 화합물 뿐만 아니라, 벤젠고리수가 4개인 pyrene (Pyr)과 같은 고분자 PAHs 화합물을 효과적으로 분해하는 신규의 균주를 순수 분리·동정하여 PAHs 분해 특성을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 배지 및 시약

분리 균주의 PAHs 분해 활성을 측정하기 위해 사용한 배지는 basal salt medium (BSM)으로, 배지조성은 다음과 같다:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.5 g/L;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 9 g/L;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 3 g/L;  $\text{CaCl}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0.01 g/L;  $\text{MgSO}_4$ , 0.15 g/L (pH7.0). 또한, BSM 배지에 yeast extract (YE)를 1 g/L 첨가한 배지(BSM-YE 배지)

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 02-3277-2393, Fax: 02-3277-3275  
E-mail: kscho@ewha.ac.kr

도 이용하였다. Phe 혹은 Pyr을 methanol에 녹여 각각 25 g/L 및 5 g/L stock 용액을 만들었다. PAH stock 용액을 이용하여 BSM 혹은 BSM-YE 배지에 적당한 농도가 되도록 첨가하였다(BSM-PAH 배지, BSM-YE-PAH 배지). BSM-Phe agar plate는 BSM agar plate (15 g agar/L)에 Phe를 acetone에 녹인 용액을 뿌려 만들었다. 본 연구에서는 배지용 시약은 Showa Co. (Japan), PAHs는 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, USA), acetone, methanol, hexane 및 그 외 시약은 Merck Co. (Darmstadt, Germany) 제품을 사용하였다.

### PAHs 분해 균주의 순수 분리 및 동정

BMS 배지 100 ml에 유류저장탱크 주변의 오염토양 10 g과 Phe 1000 mg/L를 첨가하여 30°C, 180 rpm에서 배양하였다. 5-6 일 진탕배양 후 균주의 성장이 관찰되면, 새 배지에 전배양액을 10%(v/v) 접종하여 동일 조건에서 배양하였다. 이러한 계대배양을 10회 반복한 후, 배양액을 희석하여 BSM-Phe agar plate에 도말 한 뒤 30°C 항온기에 넣어 3일 배양하였다. BSM-Phe agar plate에 생육한 집락의 형태적 특성에 따라 7종의 균주를 선별하여, 액상배양을 통해 Phe 분해 활성을 측정하여 Phe 분해 활성이 우수한 D5 균주를 순수 분리하였다.

### 액상 배양계에서 PAHs 분해 특성 조사

분리균주의 PAHs 분해특성 조사실험을 위한 접종원을 다음의 방법으로 준비하였다. 분리 균주를 BSM-YE 배지에서 지수성장기까지 배양한 후(30°C, 180 rpm), 배양액은 원심분리하여(7600 × g, 10 min) 균체를 회수하였다. 회수한 균체를 멸균수로 2회 세정한 후 BSM 배지에 현탁하여 접종원으로 사용하였다. 모든 실험에서 초기 접종 농도는 0.02 g-dry cell weight (DCW)/L가 되도록 하였다.

액상 배양계에서의 분리균주에 의한 PAHs 분해 특성을 조사하기 위해, 4 ml teflon-coated screw cap이 달린 시험관에 액상 배지를 5 ml 넣고 PAH stock 용액을 Phe 혹은 Pye 농도가 215 mg/L가 되도록 첨가하였다. 상기의 방법으로 준비한 접종원을 시험관에 첨가한 후 마개를 이용하여 시험관을 밀폐하였다. 비생물학적 반응에 의한 PAH 분해를 조사하기 위해, 균주를 접종하지 않은 대조군 시험을 동시에 수행하였다. 모든 실험은 2반복으로 진행하였고 배양은 30°C, 180 rpm에서 진탕배양 하였다.

분리균주의 PAH 분해 속도에 미치는 첨가제의 영향을 조사하기 위해 1 g/L의 YE, peptone, tryptone 및 glucose를 BSM-PAH 배지에 첨가하였다. Phe 및 Pyr을 각각 55-760 mg/L 및 43-715 mg/L의 범위로 초기 농도를 설정한 조건에서 분리균주에 의한 PAH 분해 속도를 측정하여 분해속도에 미치는 PAH 농도의 영향 및 속도론적 해석을 수행하였다. Phe와 Pyr를 110 mg/L씩 혹은 215 mg/L씩 BSM-YE 배지에 첨가한 조건에서 Phe 및 Pyr의 분해속도를 측정하여 각각의 PAH의 분해속도에 미치는 영향을 조사하였다.

### 토양내에서의 PAH 분해 조사

오염토양을 제조하기 위한 토양시료는 이화여자대학교 뒷산에

서 채취하였고, 이틀정도 통풍 건조시킨 다음, 600 µm 체로 쳐서 입자크기를 고르게 하였다. 뚜껑 달린 시험관에 토양 1.5 g과 BSM-YE배지 5 mL를 첨가한 다음 120°C에서 30분간 고압멸균 하였다. 이 시험관에 D5 균주 배양액을 접종하고 PAHs 농도가 215 mg/L가 되도록 PAHs stock solution (25000 mg/L)을 첨가하였다. D5 균주를 접종하지 않은 조건의 시험관을 대조군으로 준비하였다. 이들 시험관을 30°C, 180 rpm에서 진탕배양 하였다.

### 분석방법

액상 배양계와 토양실험에서 PAHs 농도분석과 균주 생장의 측정은 다음과 같은 방법을 이용하여 분석하였다. 각 배양시간별로 채취한 시험관에 배양액과 동일액의 hexane을 첨가하고 30분간 잘 교반한 후 실온에 1시간 정도 방치하여 상층 hexane층과 하층 배양액층을 상분리하였다. PAHs가 용존되어 있는 hexane 층은 0.2 µm의 filter로 여과한 후 불꽃이온화검출기가 장착된 가스 크로마토그래피(HP 5890 series II plus, Hewlett Packard Co., USA)를 이용하여 PAHs 농도를 분석하였다. HP-5 (60 m × 0.25 mm × 0.25 µm, J&W Scientific, USA) 칼럼을 이용하였고, 주입부와 검출부 온도는 230°C로 설정하였으며, 오븐 온도는 초기 온도를 45°C에서 1분, 이후 5°C/min으로 100°C까지 승온한 다음 다시 8°C/min으로 320°C까지 승온하고, 5분 동안 등온하여 분석을 하였다. 하층의 배양액을 채취하여 spectrophotometer (Milton-Roy Spectronic 20, USA)를 이용하여 600 nm에서 흡광도(OD)를 측정하였다. OD는 dry cell weight (DCW)로 환산하는데, OD<sub>600nm</sub> = 1일 때 0.43 g-DCW/L이었다.

## 결과 및 고찰

### PAHs 분해균주 분리 및 동정

유류로 오염된 토양을 미생물 분리원으로 이용하여 Phe를 유일 탄소원으로 첨가한 무기염 배지에서 농화배양하여 얻은 배양액으로부터 7종의 Phe 분해 균주를 선별하였다. 7종 균주의 Nap 분해능을 Nap을 유일 탄소원으로 첨가한 배지에서 조사한 결과 모든 균주는 Nap 분해활성을 가지고 있었다. 이 7종의 균주 중에서 Nap 및 Phe 분해능이 우수한 균주인 D5 균주를 선별하였다. 선별 균주를 MIDI Sherlock Microbial Identification System (MIDI Inc., Newark, USA)을 이용하여 phospholipid fatty acid 분석을 통해 동정을 수행한 결과 *Burkholderia* sp.로 동정되었다.

### PAHs 분해 특성

본 연구에서는 분리한 *Burkholderia* sp. D5의 PAHs 분해능에 미치는 YE의 첨가효과를 확인하기 위하여 BSM-Phe 혹은 BSM-YE-Phe 배지에서 Phe 분해특성을 조사하였다(Fig. 1). BSM-Phe 배지에서 D5 균주를 접종하지 않은 대조군의 경우에는 배양시간에 따라 Phe 농도의 변화가 거의 관찰되지 않았다(Fig. 1b).

D5 균주는 Phe를 유일 탄소원으로 첨가한 무기염배지(BSM-Phe 배지)에서 Phe를 분해하면서 성장하였는데, 이는 D5 균주가

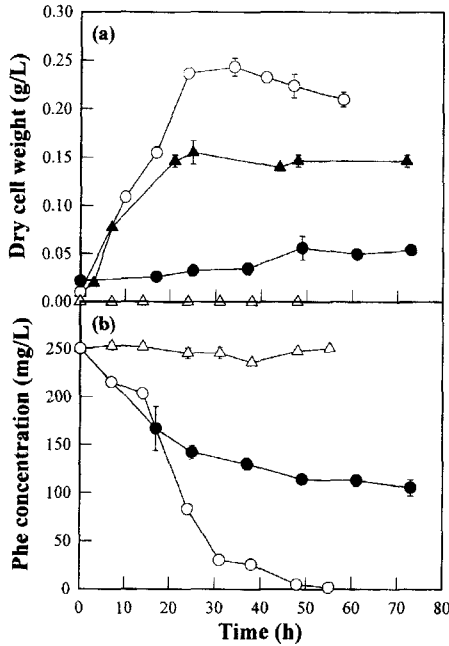


Fig. 1. Phe degradation in basal salts medium without or with 1 g/L yeast extract by strain D5.  $\Delta$ , Abiotic control ;  $\blacktriangle$ , BSM-YE ;  $\circ$ , BSM-YE-Phe ;  $\bullet$ , BSM-Phe

Phe를 탄소원으로 이용함을 의미한다. 이 배지에서 D5균주의 비성장속도( $\mu$ )는 0.02/h, Phe 분해속도는 12.0  $\mu$ mol/L/h 이었다. Phe와 함께 1g/L YE를 첨가한 BSM-YE-Phe 배지에서 D5 균주는 BSM-Phe 배지에서 보다 훨씬 빠른 속도로 성장하였고( $\mu = 0.28/h$ ), 지연기 없이 Phe를 빠른 속도로 분해하였다(29.30  $\mu$ mol/L/h). BSM-YE-Phe 배지에서의 Phe 분해 과정에서 지연기가 존재하지 않는 것으로 보아 D5 균주는 YE와 Phe를 탄소원으로 동시에 이용하는 것으로 사료된다. 또한, 1g/L의 YE 만을 첨가한 배지(BSM-YE 배지)에서 D5 균주는 최대 0.15 g/L까지 성장하였지만, BSM-YE-Phe 배지에서는 최대 0.25 g/L까지 성장하였다. 이러한 결과도 D5 균주가 YE 존재하에서도 Phe를 탄소원으로 이용하여 성장하는 것을 시사한다.

대표적인 고분자량 PAHs인 Pyr을 유일 탄소원으로 첨가한 BSM-Pyr 배지와 BSM-YE-Pyr 배지에서의 D5 균주의 성장과 Pyr 분해 패턴을 Fig. 2에 도시하였다. D5 균주는 BSM-Pyr 배지에서는 Pyr을 분해할 수 없었고 성장도 불가능하였다. 그러나, BSM-YE-Pyr 배지에서는 균주 성장뿐만 아니라 Pyr도 분해되었

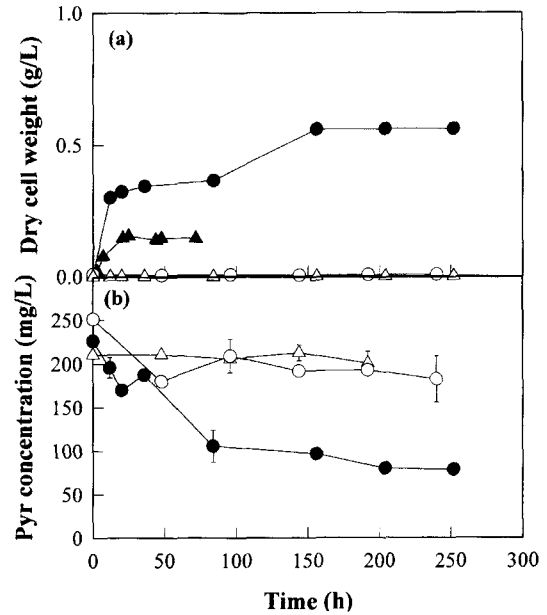


Fig. 2. Pyr degradation in basal salts medium without or with 1 g/L yeast extract by strain D5.  $\Delta$ , control ;  $\blacktriangle$ , BSM-YE ;  $\circ$ , BSM-Pyr ;  $\bullet$ , BSM-YE-Pyr

다. 배양 초기에는 Pyr이 빠른 속도로 분해되었으나, 배양시간이 증가함에 따라 Pyr 분해 속도가 점점 느려졌다. D5 균주는 BSM-YE 배지에서 최고 0.15 g/L까지 성장하였지만, BSM-YE-Pyr 배지에서는 최고 0.56 g/L까지 성장하였다. Pyr-YE배지에서의 증식된 biomass의 양(0.56 g-DCW/L) 중 YE에 증식된 것으로 보이는 0.15 g-DCW/L을 제외한 경우 순수한 Pyr를 이용한 증식량은 0.41 g-DCW/L에 해당되었다.

일반적으로 균주의 성장과 생분해율은 주로 탄소원의 화학구조의 복잡성과 물리화학적 특성에 의해 좌우되는데(9), 저분자량 PAHs가 고분자량 PAHs보다 생분해도가 용이한 것으로 보고되고 있다(3, 5). 본 연구에서는 YE를 첨가함으로써 Pyr과 같은 고분자량 PAHs의 분해가 가능함을 밝힘으로써, YE에 의해 Pyr의 분해능을 유도할 수 있음을 보였다. Pyr 분해능 유도에 미치는 YE의 역할에 대해서는 향후 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Phe 혹은 Pyr를 첨가한 BSM 배지에 YE, peptone, tryptone 및 glucose를 1g/L씩 첨가한 조건에서 D5 균주의 비성장속도와 PAH 분해속도를 측정된 결과를 Table 1에 제시하였다. YE를 첨

Table 1. Comparison of growth and PAH degradation rates in basal salts media supplemented with different additives

Additives	Phenanthrene		Pyrene	
	Specific growth rate (/h)	Phe degradation rate ( $\mu$ mol/L/h)	Specific growth rate (/h)	Pyr degradation rate ( $\mu$ mol/L/h)
None	0.02 $\pm$ 0.00	12.00 $\pm$ 0.00	0	0
Yeast extract	0.28 $\pm$ 0.01	29.30 $\pm$ 0.80	0.19 $\pm$ 0.02	9.58 $\pm$ 0.42
Peptone	0.06 $\pm$ 0.00	20.26 $\pm$ 0.00	N.D.	N.D.
Tryptone	N.D.	N.D.	0.18 $\pm$ 0.00	8.97 $\pm$ 0.31
Glucose	0.06 $\pm$ 0.00	14.19 $\pm$ 0.59	0.11 $\pm$ 0.01	7.12 $\pm$ 0.27

가한 경우가 가장 높은 비성장속도와 PAH 분해속도를 얻을 수 있었으며, YE와 유사한 유기질소화합물인 peptone 혹은 tryptone 을 첨가한 경우가 그 다음으로 높았다. 대표적인 당류인 glucose 를 첨가한 경우에도 성장속도와 PAH 분해속도가 증가하는 효과를 얻을 수 있었다.

상기의 결과로부터 세포증식을 일정한 수준이상으로 촉진시킬 수 있는 YE, peptone, tryptone 및 glucose와 같은 첨가제를 첨가함으로써 균주 성장뿐만 아니라 PAH의 분해를 촉진함을 알 수 있다. 다른 연구자들도 영양소첨가가 PAHs 분해를 향상시킨다고 보고하였다(3). Lethomaki와 Niemela은 토양에 YE를 첨가해주면 PAHs 생분해 속도가 향상됨을 보였고(7), Yuan 등은 혼합 미생물 군집에 의한 PAHs 분해능이 YE 첨가에 의해 증진됨을 보고한 바 있다(11). 또한 토양의 유기 혼합물의 분해를 향상시키는 필수적인 요소임을 밝혀진 바 있다(6). 이들 연구들의 대부분은 혼합배양액을 이용한 PAHs 분해에 대한 영양소들에 대한 영향을 조사한 것이다. 본 연구에서는 순수균인 *Burkholderia* sp. D5의 성장과 Phe분해에 미치는 YE와 같은 첨가제의 효과를 정량적으로 규명하였다.

**속도론적 해석: 최대 PAHs 분해 속도**

Phe 및 Pyr 초기 기질농도를 50-750 mg/L 범위로 첨가한 BSM-YE-PAH 배지에서 Monod equation과 Michaelis-Menten equation을 이용하여 D5 균주의 비성장속도와 PAH 분해속도를 해석하였다(Table 2). BSM-Phe 배지에서 최대 비성장속도와 포화상수가 각각 0.05/h 및 1.5 μmol/L/h로 평가된 것과 비교하여 BSM-YE-Phe 배지에서는 각각 0.34/h 및 0.39 mmol/L로 YE가 첨가된 조건에서 최대 비성장속도가 약 7배 높았다. 또한, Phe의 최대분해속도는 BSM-Phe와 BSM-YE-Phe 배지에서 각각 105와 289 μmol/L/h로, YE가 첨가된 조건에서 약 3배 높았다. 한편, BSM-YE-Pyr 배지에서의 최대 비성장속도와 최대 Pyr분해속도는 각각 0.27/h 및 50 μmol/L/h이었다.

*P. putida*의 경우 Naphthalene을 기질로 하여 속도론적 해석을 수행한 연구가 보고된 바 있지만(1), 본 연구에서와 같이 Phe과 Pyr을 대상으로 속도론적 해석 연구에 관해서는 거의 보고된 적이 없으므로 본 연구에서 얻은 정보는 향후 생물학적 PAH 처리공정을 개발하는데 활용 가능할 것으로 사료된다.

**혼합 PAHs 분해 특성**

Phe과 Pyr을 기질로 동시에 공급한 조건에서 각 PAH 분해속

**Table 2.** Comparison of maximum specific growth rates and PAH degradation rates

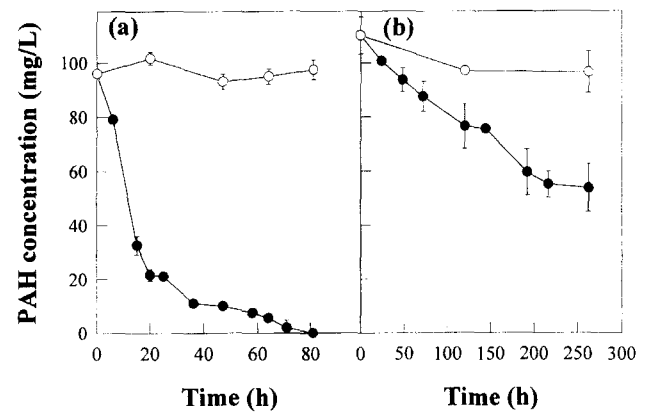
Substrate	Maximum specific growth rate		Maximum PAH degradation rate	
	$m_{max}$ (/h)	$K_s$ (μM)	$V_{max}$ (μmol/L/h)	$K_s$ (μM)
Phe	0.05	1.5	105	8.27
Phe+YE	0.34	0.39	289	15.60
Pyr+YE	0.27	0.39	50	3.20

도를 Table 3에 정리하였다. D5 균주는 Phe과 Pyr을 동시에 분해가 가능하였으나, 혼합 PAHs 조건하에서는 Phe와 Pyr의 분해속도와 세포성장속도 모두 각 PAH를 단독으로 공급한 경우보다 감소하였다. 특히, 혼합조건하에서 Pyr의 분해속도보다는 Phe 분해속도가 크게 감소하였다. Pyrene, fluorene, acenaphthene, anthracene과 같은 다른 PAH 공존에 의해 Phe 분해가 저해 받는 것은 다른 연구자들도 보고한 바 있다(11). Phe와 Pyr의 혼합 기질 조건하에서 D5 균주의 성장속도와 PAH 분해 속도가 저해 받는 이유는 두 종류의 물질이 경쟁적으로 수송을 저해하거나 한 기질의 다른 기질의 대사 효소의 저해제로 작용하기 때문으로 사료되나, 향후 이에 대한 자세한 연구가 필요하다.

한편, D5 균주에 의한 혼합 PAHs 분해속도에 미치는 총 PAHs 농도의 영향은 그리 크지 않은 것으로 사료된다. 즉, Phe/Pyr 첨가량을 각각 110과 215 mg/L씩 첨가한 농도에서도 총 PAHs의 제거속도는 각각 4.26 및 4.38 μmol/L/h로 거의 유사하였다. 각 조건에서의 D5 균주의 비성장속도 또한 각각 0.13과 0.12/h로 거의 유사하였다.

**토양에서 PAHs 분해 특성**

PAHs로 오염된 인공토양 슬러리에에서의 D5 균주에 의한 각 PAH의 분해 특성을 Fig. 3에 도시하였다. 균주를 접종한 soil



**Fig. 3.** Degradation of Phe (a) and Pyr (b) in soil-slurry cultures. ○, Abiotic control; ●, Inoculation with *Burkholderia* sp. D5

**Table 3.** Effect of Phe and Pyr mixture on specific growth rate and PAH degradation rate

Substrate	Specific growth rate (/h)	PAH degradation rate (μmol/L/h)	
		Phe	Pyr
Phe	0.28	29.30	-
Pyr	0.19	-	9.58
Phe+Pyr mixture I (110/110 mg/L)	0.13	2.34	1.92
Phe+Pyr mixture II (215/215 mg/L)	0.12	2.20	2.18

slurry에서 각 PAH의 분해속도를 계산한 결과, Phe와 Pyr 분해 속도는 각각 20.03 및 1.09  $\mu\text{mol/L/h}$  이었다. 이러한 결과는 PAHs로 오염된 토양이나 퇴적물을 처리하는데 본 균주를 사용하는 것이 가능함을 의미한다.

### 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 포항공대 차세대바이오환경기술 연구센터의 연구지원과 두뇌한국 21사업 연구지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Ahn, I.S., W.C. Ghiorse, L.W. Lion, and M.L. Shuler. 1998. Growth kinetics of *Pseudomonas putida* G7 on naphthalene and occurrence of naphthalene toxicity during nutrient deprivation. *Biotechnol. Bioeng.* 59, 587-594.
- Boonchan, S., M.L. Britz, and G.A. Stanley. 2000. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1007-1019.
- Bossert, I.D. and R. Bartha. 1986. Structure-biodegradability relationships of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 37, 490-495.
- Canet, R., J.G. Brinstingl, D.G. Malchlm, J.M. Lopez-Real, and A.J. Beck. 2001. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil. *Biores. Technol.* 76, 113-117.
- Juhasz, A.L., M.L. Britz, and G.A. Stanley. 1997. Degradation of fluoranthene, pyrene, benz[ $\alpha$ ]anthracene and dibenz[ $\alpha$ ]anthracene by *Burkholderia cepacia*. *J. Appl. Microbiol.* 83, 189-198.
- Kästner, M. and B. Mahro. 1996. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 44, 668-675.
- Lethomaki, M. and S. Niemela. 1975. Improving microbial degradation of oil in soil. *Ambio* 4, 126-129.
- Vogel, T.M. 1996. Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. *Curr. Opin. Biotechnol.* 7, 311-316.
- Walton, B.T. and T.A. Anderson. 1988. Structural properties of organic chemicals as predictors of biodegradation and microbial toxicity in soil. *Chemosphere* 17, 1501-1507.
- Wilson, S.C. and K.C. Jones. 1993. Bioremediation of soils contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environ. Poll.* 88, 229-249.
- Yuan, S.Y., S.H. Wei, and B.V. Chang. 2000. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a mixed culture. *Chemosphere* 41, 1463-1468.

(Received October 15, 2003/Accepted November 28, 2003)

### ABSTRACT: Degradation of Phenanthrene and Pyrene by *Burkholderia* sp. D5

Tae Jung Kim, Kyung-Suk Cho\*, and Hee Wook Ryu<sup>1</sup> (Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea, <sup>1</sup>Department of Chemical and Environmental Engineering, Soongsil University, Seoul 156-743, Korea)

*Burkholderia* sp. D5, a polyaromatic hydrocarbons(PAHs)-degrading bacterium, was isolated from oil-contaminated soil. The bacterium could utilize phenanthrene (Phe) as a sole carbon source but could not use pyrene (Pyr). However, the strain could degrade Pyr when a cosubstrate such as yeast extract (YE) was supplemented. The PAH degradation rate of the bacterium was enhanced by the addition of other organic materials such as YE, peptone and glucose. YE was a particularly effective additive in stimulating cell growth as well as PAH degradation. When 1 g-YE/L was supplemented into the basal salt medium (BSM) with 215 mg-Phe/L, the specific growth rate ( $0.28 \text{ h}^{-1}$ ) and Phe-degrading rate ( $29.30 \mu\text{mol/L/h}$ ) were enhanced approximately ten and two times more than those obtained in the BSM with 215 mg-Phe/L, respectively. Through kinetic analysis, the maximum specific growth rate ( $\mu_{\text{max}}$ ) and PAH degrading rate ( $V_{\text{max}}$ ) for Phe were obtained as  $0.34/\text{h}$  and  $289 \mu\text{mol/L/h}$ , respectively. Also,  $\mu_{\text{max}}$  and  $V_{\text{max}}$  for Pyr were  $0.27 \text{ h}^{-1}$  and  $50 \mu\text{mol/L/h}$ , respectively. The degradation rates for each Phe ( $2.20 \mu\text{mol/L/h}$ ) and Pyr ( $2.18 \mu\text{mol/L/h}$ ) were lower in mixture substrates than in a single substrate ( $29.30 \mu\text{mol/L/h}$  and  $9.58 \mu\text{mol/L/h}$ , respectively). *Burkholderia* sp. D5 can degrade Phe and Pyr contained in soil, and the PAH degradation rates in soil were  $20.03 \mu\text{mol/L/h}$  for Phe and  $1.09 \mu\text{mol/L/h}$  for Pyr.