

수질-P8 *Rhodococcus* sp.EL-GT의 페놀 분해특성

이희정¹, 최정순¹, 차미선¹, 이상준¹, 박근태², 박재림³
부산대학교 환경시스템학과, ¹일반대학원 미생물학과,
²(주)엠바이오, ³신라대학교 환경과학과

1. 서론

화학공업의 발달 및 방향족 화합물의 사용이 증가되고 있는데, 이러한 방향족 화합물 질들은 독성이 높고, 화학적으로 안정하여 잘 분해되지 않아 심각한 환경오염의 문제로 자리잡고 있다. 이러한 방향족 물질의 처리는 화학적 산화, 용매추출, 활성탄에 의한 흡착 등의 화학적 방법이 이용되어 왔으나, 근래에는 미생물을 이용한 생물학적 처리가 시도되고 있다.

방향족 화합물들의 독성 및 난분해성은 그것이 벤젠고리를 갖는 구조적 특징 때문인데, 이를 생분해하기 위해서는 벤젠고리가 개환 되어져야 한다. 방향족 화합물의 분해능을 지닌 미생물들은 이 벤젠고리를 개환하여 반응을 촉매하는 효소를 생산한다. 본 실험실에서 분리한 페놀 분해능을 지닌 세균, *Rhodococcus* sp. EL-GT를 이용하여 방향족 화합물질중의 하나인 페놀에 대하여 *Rhodococcus* sp. EL-GT의 분해특성을 알아보고자 한다. 페놀분해에서 세균은 catechol에서 catechol 1,2-dioxygenase을 이용한 *ortho-pathway*와 catechol 2,3-dioxygenase을 이용한 *meta-pathway*의 두 경로로 보고되어진다. 본 실험에서 이용되는 균주의 catechol분해 경로와 효소의 활성을 측정하고 활성을 지닌 효소의 정제와 특성 및 분해효소의 유전학적 특성을 알고자 한다.

2. 재료 및 실험 방법

실험에 사용할 균주는 하수처리장의 활성슬러지에서 분리하여, 페놀 자화성이 우수한 것을 선발하여 Bergey's manual of systematic bacteriology에 따라 분리 동정된 *Rhodococcus* sp. EL-GT를 사용하였다. 균은 인공배지에서 배양(30°C, 48시간, 200rpm)하였다. 인공 배지조성은 5.3mM KH₂PO₄, 32mM Na₂HPO₄, 18mM NH₄NO₃, 1mM MgSO₄ · 7H₂O, 50 μM CaCl₂ · 2H₂O, 0.5 μM FeCl₃에 Phenol 농도는 500mg/ℓ, 750mg/ℓ, 1000mg/ℓ, 1500mg/ℓ, 2000mg/ℓ, 2500mg/ℓ 등으로 하여 배양하였다. 페놀분해도는 Standard Method의 Coloric Metric Assay를 변형하여 측정하였다. catechol 1,2-dioxygenase 활성도 측정은 Hegeman에 따르고, catechol 2,3-dioxygenase의 활성도는 Nozaki의 방법으로 측정하였다. 단백질 농도의 측정은 Bradford의 방법을 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 *Rhodococcus* sp.EL-GT의 페놀분해

Phenol농도별, 온도별, pH별로 측정하여 본 결과 본 균주에 의한 페놀분해능은 30℃, pH 7.0이상에서, 페놀농도 1000mg/l 이하는 24시간만에 모두 분해되었고, 48시간 이후에는 2500mg/l농도까지도 분해가능성을 확인할 수 있었다.

3.2 Catechol 1,2 및 2,3-dioxygenase activity assay

1,2-dioxygenase activity와 2,3-dioxygenase activity는 페놀농도 1000mg/l를 유지하며 생육도(600nm)에서 0.8정도로 균체를 배양하여 측정된 결과는 Table 1.과 같다. 2,3-dioxygenase activity는 전혀 없었고, 1,2-dioxygenase activity은 0.38 unit로 나타났고, catechol 1,2-dioxygenase activity의 specific activity는 균체의 증식과 유사한 대수기에 높게 나타났다. 배지내 페놀농도에 비례하는 활성을 나타내었다. 또한 *Rhodococcus* sp. EL-GT의 페놀분해는 pH7~10 범위에서 효율적이거나, dioxygenase activity은 pH7.6~8.0에서 높은 활성을 나타내었다.

Table 1. Specific enzyme activity of catechol dioxygenase in the culture broth of *Rhodococcus* sp.EL-GT

Catechol dioxygenase	Specific enzyme activity (unit)
Catechol 1,2-dioxygenase	0.38
Catechol 2,3-dioxygenase	0

4. 요약

본 연구는 방향족 화합물질 중 페놀폐수에 대한 생물학적 처리를 위해 본 실험실에서 분리한 페놀분해능이 우수한 *Rhodococcus* sp. EL-GT의 catechol 분해시 1,2-dioxygenase 분해활성이 높은 것으로 보아 분해경로가 *ortho-pathway*임을 알 수 있었다. 향후 *Rhodococcus* sp. EL-GT의 페놀분해 균의 유전학적 연구를 통하여 방향족 화합물의 분해에 보다 우수한 균으로 개발시켜 효율적인 처리에 이용가능성을 예측할 수 있었다.

참 고 문 헌

- 박근태, 2000. 單 · 및 混合 微生物 個體群을 利用한 好氣性 生物膜의 페놀 廢水 處理와 特性, 부산대학교 박사 학위 논문.
- Hegeman. G.D.1966. Synthesis of the enzyme of the mandelate pathway by *Pseudomonas putida*. I. Synthesis of the enzymes by the wild type. J. Bacteriol. 91: 1140-1154
- Nozaki. M. 1970. Metapyrocatechase(*Pseudomonas*). Methods in Enzymology 17A. Academic Press. New York.
- Bradford. M. M.(1976) Anal. Biochem. 72. 248-254