

## Phanerochaete chrysosporium에 의한 Lignin Peroxidase의 생성과 Pentachlorophenol(PCP)의 분해

최수형·송은·구만복·문승현  
광주과학기술원 환경공학과  
(접수 : 1997. 9. 29., 게재승인 : 1998. 3. 30.)

### A Study on Synthesis of Lignin Peroxidase and Degradation of Pentachlorophenol(PCP) by *Phanerochaete chrysosporium*

Sue Hyung Choi, Eun Song, Man Bock Gu, and Seung-Hyeon Moon†  
Dept. of Environmental Science and Engineering, Kwangju Institute of Science &  
Technology, Kwangju 506-712, Korea  
(Received : 1997. 9. 29., Accepted : 1998. 3. 30.)

Experiments for lignin peroxidase production have been conducted by aerobic fermentation of *Phanerochaete chrysosporium* under low shear rate and enriched oxygen environment. The result of flask cultures of white rot fungus indicated that high oxygen concentration and low shear force were essential for enhancement of lignin peroxidase production. Pentachlorophenol was readily degraded by lignin peroxidase produced in nutrient limited flask cultures. Polyurethane foam was found to be an effective immobilization matrix of *P. chrysosporium*.

Key Words : lignin peroxidase, *Phanerochaete chrysosporium*, immobilization, polyurethane foam, pentachlorophenol

#### 서론

Lignin peroxidase는 기존의 화학적 처리방법을 대체하여 lignin을 분해할 수 있는 효소로서, 농업폐기물 또는 임산자원 (woody material)에 포함된 cellulose를 이용하기 위한 전처리 공정에 효율적으로 이용될 수 있다(1,2). 또한 이 효소는 임산자원의 생물공업활용 외에도 제지공업, 난분해성 물질의 분해를 위한 환경공정 등에 다양한 용도를 가지고 있다. 특히 난분해성 물질로 알려진 phenol, chlorophenol, pentachlorophenol(PCP) 등 lignin과 유사한 구조의 방향족 화합물들이 기질의 특성이 낮은 lignin peroxidase에 의해 분해될 수 있음이 밝혀지면서 환경친화적 측면에서 이 효소에 대한 관심이 고조되고 있다(2). Lignin peroxidase에 의해 분해 가능한 물질로 이 외에도 dibenzo(p) dioxins, methoxyphenols, methyl phenol, 2-nitrophenol 등이 있으며 화약제조폐수, 제지폐수, 및 염색폐수처리에도 이용되는 것으로 알려져 있다(3). 또한 lignin peroxidase에 의한 lignin 분해는 최종적으로 CO<sub>2</sub>를 생성하여 가장 안정한 형태의 생물학적 분해가 가능하다(4). 그러나 lignin peroxidase는 그 중요성과 잠재력에도 불구하고 전단력에 약하고 고농도의 산소를 요구

하는 등 발효조건의 어려움으로 인하여 대량생산이 이루어지지 않아 공업적인 활용이 지연되고 있다.(2,4)

Lignin peroxidase는 filamentous 곰팡이인 *P. chrysosporium* (white rot fungi)에 의해 이차대사물로 생산될 수 있음이 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 *P. chrysosporium*의 flask배양을 통하여 lignin peroxidase 생산을 위한 발효조건을 조사하고 생산된 lignin peroxidase를 이용하여 PCP의 분해를 실험하였다. 또한 전단력에 약한 균체의 안정화를 위해 *P. chrysosporium*의 고정화에 대한 연구를 수행하였다. 여러 가지 고정화 방법 중 PCP를 흡착하여 독성을 낮추는 것으로 알려져 있는(5) polyurethane foam을 이용한 *P. chrysosporium*의 고정화 가능성과 효소의 생성을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 균주 및 배지조성

본 연구에서는 *P. chrysosporium*(ATCC 24725)을 lignin peroxidase 생산을 위한 균주로 사용하였으며, glucose-malt extract slants 배지 상에서 37 °C를 유지하며 3~5 일간 포자를 형성하였다. 집중할 포자는 멸균된 물과 혼합한 후 유리섬유로 걸러서 균사를 제거해 주었다. 액체배지에 집중할 포자의 양은 Lamda 12 UV/Vis Spectrometer (Perkin Elmer)를 이용하여 650 nm에서 측정하였다.[1.0 cm<sup>-1</sup>(A<sub>650</sub>) = 5 X 10<sup>6</sup> spores/mL]

기본배지인 질소제한 배지의 조성은 Table 1에 나타난 바와

† Corresponding author : Dept. of Env. Sci. & Eng., K-JIST, Kwangju 506-712, Korea  
Tel : 062-970-2435, Fax : 062-970-2434,  
e-mail : shmoon@kjist.ac.kr

Table 1. Composition of the nutrient.

Stock Reagent (per liter)			
Basal III medium (per liter)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 20 g MgSO <sub>4</sub> , 5 g CaCl <sub>2</sub> , 1 g Trace element solution, 100 mL	Trace element solution (per liter)	MgSO <sub>4</sub> , 3 g
			MnSO <sub>4</sub> , 0.5 g
			NaCl, 1 g
			FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, 0.1 g
			CoCl <sub>2</sub> , 0.1 g
			ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, 0.1 g
			CuSO <sub>4</sub> , 0.1 g
			AlK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·12H <sub>2</sub> O, 10 mg
			H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> , 10 mg
			Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O, 10 mg
Culture composition (per liter)			
Basal III medium (filter sterilized),			100 mL
10 % glucose (autoclaved)			100 mL
0.5 M sodium acetate buffer, pH 4.5 (autoclaved)			100 mL
Thiamin (100 mg/L stock, filter sterilized)			10 mL
Ammonium tartrate (8g/L stock, autoclaved)			25 mL
Veratryl alcohol (40 mM, filter sterilized)			100 mL
Trace element (filter sterilized)			60 mL
1 % tween 80 (autoclaved)			50 mL

같다. 질소-탄소 제한배지에서는 2 g/L의 glucose, 0.2 g/L ammonium tartrate를 사용하였으며 균체농도를 높이기 위한 영양풍부 배지에서는 glucose 10 g/L, ammonium tartrate 1.2 g/L, yeast extract 5 g/L를 사용하였다. 또한 veratryl alcohol 이 veratryl aldehyde로 전환되는 현상을 조사하기 위한 실험에서는 40 mM의 veratryl alcohol을 첨가하여 기질로 이용되도록 하였다. 균주는 39°C 배양기에서 250 mL flask에 함유된 100 mL 배지에서 배양하였으며, flask 배양의 고농도 산소 조건에서는 순수 산소를 하루에 한 번씩 300 cc/min의 속도로 5분간 공급하였다.

#### 효소의 활성도와 veratryl aldehyde의 측정

Lignin peroxidase의 활성도는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 존재 하에 기질인 veratryl alcohol이 veratryl aldehyde로 전환되어 310 nm에서 나타나는 흡광도의 초기 증가속도로 결정하였다 ( $\epsilon_{310} = 9,300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )[6]. 반응 용액으로는 기질용액(0.22 M Na-tartrate pH 2.5 + 3.33 mM veratryl alcohol) 0.45 mL와 배양액 0.5 mL, 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (매일제조) 0.05 mL를 사용하였다. Lignin peroxidase 1 unit는 단위 분당 1  $\mu\text{mol}$ 의 veratryl alcohol을 veratryl aldehyde로 산화시키는 효소의 양으로 정의된다. 배지 중에 형성된 veratryl aldehyde의 양은 균이 제거된 배양액의 310 nm 흡광도 값으로부터 몰흡광계수를 이용하여 계산하였다. 흡광도는 Lamda 12 UV/Vis Spectrometer (Perkin Elmer)를 이용하여 측정하였다.

#### Flask 배양에서 lignin peroxidase에 의한 pentachlorophenol(PCP)의 분해

먼저 2 L의 flask 2개에 500 mL의 영양풍부 배지를 준비한 후  $1.25 \times 10^7$  개의 포자를 접종하여 39°C 배양기에서 30 일 동안 정체상태로 배양했다. 이때 별도의 산소의 주입은 없었으며, 대기 중의 공기만이 산소의 공급원이 되도록 하였다. 30 일 이 지난 후 한 개의 플라스크는 PCP를 함유한 질소 제한배지로 교체하였으며, 나머지 플라스크는 질소원과 탄소원이 고갈된 기존 배지에 PCP를 첨가하였다. 실험에 사용된 PCP는 Sigma 제품을 사용하였으며, hexane에 녹아있는 5,000 ppm의 PCP를 최종 농도가 20 ppm이 되도록 첨가하였다. 적정시기가 지난 후 배지로부터 시료 3 mL를 취하고 필터(0.22  $\mu\text{m}$ )로 여과한 후 hexane 3 mL와 1 M HCl 0.1 mL를 첨가하고 교반한 후 추출 하였다. 추출된 PCP는 GC/ECD(HP 5890 series II plus)로 분석하였다. 칼럼은 HP-5MS (30 m X 0.25 mm X 0.25  $\mu\text{m}$ )을 사용하였고 주입구의 온도는 250°C, 검출기의 온도는 280°C로 지정하였으며 이동가스는 질소를 사용하여 칼럼 유속은 1.97 mL/min로 하였다. 분석 온도는 다음과 같이 설정하였다.

80°C(1 min)----->200°C----->220°C----->280°C(3 min)  
 initial      30°C/min      4°C/min      30°C/min      final

#### *P. chrysosporium*의 polyurethane foam에 의한 고정화

500 mL flask에 100 mL의 영양풍부배지를 준비하고 poly-

urethane foam(광주과학기술원 신소재공학과 제조 ; polypropylene glycol MW 3000 + 10 % NCO)을 2 cm × 2 cm × 1 cm 의 크기로 절단하여 첨가하여 멸균하였다. 멸균된 배지에 2.5 × 10<sup>6</sup>/mL의 spore를 접종하고 150 rpm에서 성장시켰다. 이때 성장 속도를 간접적으로 비교하기 위해 glucose 소모를 측정하였다.

**Polyurethane 담체에 고정화된 곰팡이의 Scanning Electron Microscope(SEM) 관찰**

곰팡이가 polyurethane foam에 고정화되어 있는지를 Scanning Electron Microscope(SEM)을 통해 관찰하였다. PBS 용액(8 g/L NaCl, 0.2 g/L KCl, 1.44 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.24 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.4)으로 담체 표면을 씻어내고 미생물의 형태를 유지하기 위해 미생물의 세포막을 물리적으로 경화시키는 1N NaOH에 녹아있는 3.7 % formaldehyde로 4 °C에서 12 시간동안 처리하였다. 이렇게 처리된 담체는 급격한 탈수를 방지하기 위해 에탄올의 농도를 30 %, 50 %, 70 % 100 %로 높여가면서 15 분씩 담구어 4 °C에서 점차적으로 탈수시켰다. 탈수된 담체는 대기 중에서 충분히 건조시키고 이후 gold coating하여 SEM 관찰을 하였다.

**결과 및 고찰**

**질소제한 배지에서 veratryl alcohol의 전환 (Flask배양)**

Kirk 등은 <sup>14</sup>-C로 표지된 lignin으로부터 분해되어 나오는 <sup>14</sup>-CO<sub>2</sub>를 측정하여 배양배지 내의 lignin peroxidase가 생분해를 일으키는 효소활성의 측정법을 제시한 바 있다(4). 본 실험에서는 이차대사물인 lignin peroxidase를 생산하기 위하여 질소 제한배지에서 곰팡이를 정체식으로 성장시켰다. 배양초기에 유도기질로 첨가하여준 배지성분의 veratryl alcohol이 시간이 경과함에 따라 veratryl aldehyde로 전환되고 있음을 실험방법에서 언급한 대로 확인하였다. 이는 veratryl alcohol이 lignin과 같은 역할로서 효소의 활성을 나타내는 기질로 작용한 것이다. 그 결과 Figure 1에서 보는 바와 같이 배양 10 일까지 큰 변화를 보이지 않다가 15 일에서 26 일 사이에 급격한 veratryl aldehyde의 형성이 나타났으며, 이는 효소 생성시기와 일치할

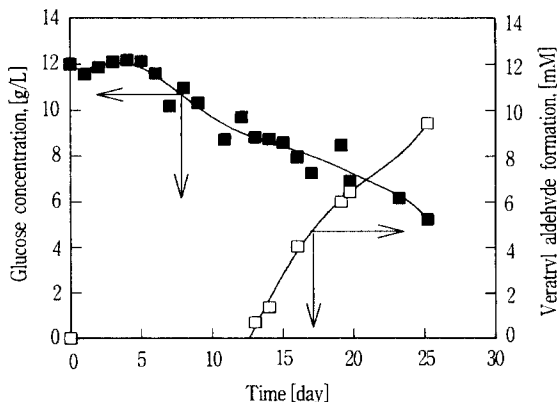


Figure 1. Formation of veratryl aldehyde in the *P. chrysosporium* culture (■ : glucose concentration, □ : veratryl aldehyde concentration)

것으로 보인다. 그러나 이 실험에서 균체의 성장속도가 느리고 효소의 생성이 적어 직접적인 활성도가 측정되지 않았다. 따라서 균체의 확보를 위한 영양배지를 고려하였으며, 또한 이차대사물인 lignin peroxidase의 생산을 촉진하기 위해 질소제한 배지 대신 질소-탄소 동시 제한 배지의 효율을 실험적으로 조사하였다(6).

**Yeast extract의 성장촉진효과**

효소를 생성할 수 있는 충분한 균체를 확보하기 위해서 일단 영양풍부배지에서 성장시킨 후 질소와 탄소가 모두 제한된 배지로 교체하여 많은 양의 균이 효소를 생성하도록 유도하고자 하였다. 본 연구에서는 미생물의 성장에 필요한 질소 및 다양한 무기영양소를 함유하는 yeast extract 5 g/L를 *P. chrysosporium*의 일반적 배양배지로 알려진 potato dextrose broth (100 mL 배지, 250 mL flask)에 첨가하여, 성장속도를 비교하기 위해 배지 속에 남아있는 glucose의 양으로부터 균체의 양을 문헌(7)의 균체수율( $Y_{X/S} = 0.375$ )을 이용하여 계산하였다. 실험 결과 Figure 2에 나타난 바와 같이 yeast extract가 첨가되지 않은 배지에서는 12 일 동안 2.65 g/L의 균체가 성장한 반면, 첨가된 배지에서는 12 일 동안 20 g/L의 glucose가 소모하며 약 7.65 g/L의 균주가 성장하였을 것으로 추정된다. 따라서 성장기 동안 영양풍부 배지에서 균주를 충분히 성장시킨 후 이차대사기에 영양결핍 배지로 교체하여 이차대사물인 lignin peroxidase를 생산하고자 할 때, 기본배지에 yeast extract를 첨가하는 것이 빠른 시간에 많은 양의 균을 얻는데 효율적인 방법임을 확인하였다.

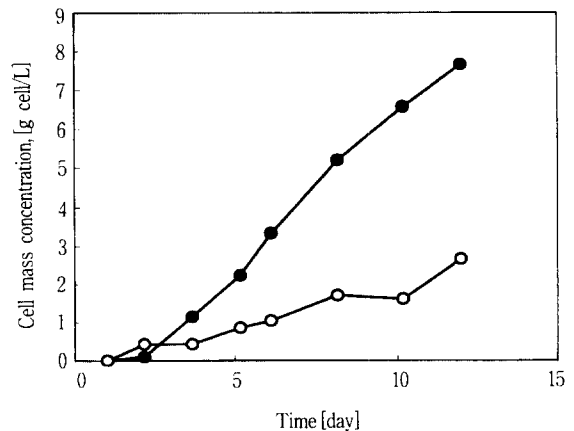


Figure 2. Effect of yeast extract on growth of *P. chrysosporium*. [● : Cell mass concentration with yeast extract, ○ : Cell mass concentration without yeast extract, estimated from glucose consumption with  $Y_{X/S}=0.375$ (7)]

**질소-탄소가 동시에 제한되기 위한 상대농도 (Flask 배양)**

영양풍부 배양을 통해 충분히 확보된 균을 질소와 탄소가 동시에 제한되도록 배지를 교체하기 위해 미량의 질소원을 첨가하고 분석이 용이한 탄소원(glucose)을 첨가하여 소모되는 양을 실험으로 측정하였다. 문헌(6)에 의하면 본 연구에 사용된 배지와 같은 조성에서 약 2일 후에 질소원이 고갈되는 것으로 보고되었다. 실험 결과에 의하면 glucose 소모량

은 Figure 3에서와 같이 4회 실험의 평균값으로 최초 1일에 1.76 g/L, 2일에 2.66 g/L의 감소를 보이는데, 지수성장기에 탄소원의 고갈을 달성하여 이차대사물인 lignin peroxidase의 생산을 촉진하기 위해 본 연구에서는 glucose 초기농도를 2 g/L로 실험을 수행하였다.

**고농도 균주와 고산소 조건에서의 lignin peroxidase의 생산 (Flask 배양)**

선행된 두 실험에서 조사된 내용을 바탕으로 yeast extract 5 g/L가 첨가된 영양풍부배지에서 균을 충분히 성장시킨 후 0.2 g/L ammonium tartrate를 제한된 질소원으로 glucose 2 g/L를 제한된 탄소원으로 하는 배지로 교체하여 효소의 생성을 유도하였다.

본 연구에서는 충분한 산소를 공급하기 위해서 Kirk 등(7)이 제안한 산소전달장치를 도입하여 실험하였다. 이 장치는 고무마개에 2 개의 유리관을 꽂아 하나는 배지와 접촉시켜 air filter를 통과한 산소를 공급하고 다른 한쪽은 배지와 닿지 않게 하여 생성된 이산화탄소를 대기 중으로 방출할 수 있다. 그 결과 Figure 4에서 나타낸 바와 같이 배지전환 후 11 일 쯤부터 효소의 생성을 보이기 시작하였으며 이는 점차 증가하여 27 일째에 30 unit/L로 최대활성을 나타내었다. 30 일째부터는 15 unit/L로 점차 활성도가 감소하였다. 최대활성 이후 효소 활성이 급격하게 감소하는 것은 배지로 방출된 효소가 교반 중 전단력에 의해 활성을 잃기 때문이다. 균체의 성장은 1 - 5 mm의 pellet 형태로 이루어졌으며 pellet의 형성은 전단력에 약한 균체를 보호하여 균체의 성장과 효소의 생성을 증가시켰으며 배지교환과정에서 균체의 손실을 억제하는 효과도 가져왔다. Pellet의 형성과 크기는 교반속도와도 밀접한 관계가 있어 배지의 양에 따라 80 - 120 rpm에서 최적의 pellet을 형성하였다. 또한 pellet의 형성과 효소의 생산증가로 부터 고정화 균체가 효소의 생산에 유리함을 알 수 있었다. 일반적으로 pellet의 크기가 작을수록 산소를 포함한 영양소의 전달이 유리하지만, 전단력으로부터 보호받지 못하는 표면적이 증가하여 효소의 활성이 감소할 수 있다. 따라서 영양소의 전달과 전단력으로부터의 보호가 적절하게 만족되는 최적 pellet 크기가 존재하게 된다.

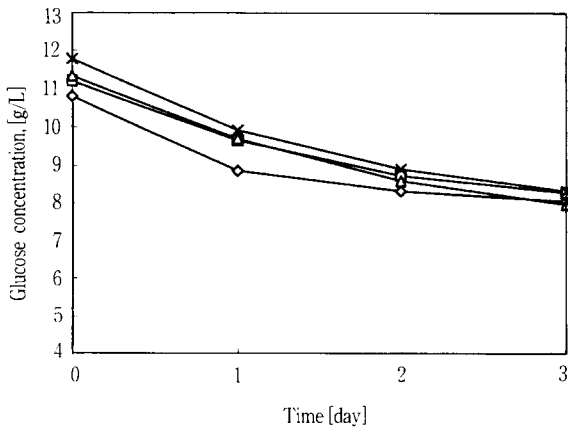


Figure 3. Concentration of glucose in the nitrogen-limited culture of *P. chrysosporium*.

**Flask 배양에서 lignin peroxidase의 PCP 분해**

Lignin peroxidase는 영양성분이 결핍된 상태에서 생성되며 기질의 특이성이 약하여 PCP 등과 같은 여러 오염물질을 분해할 수 있다는 것이 문헌에 보고되어 있다(8,9,10,11,12). PCP는 곰팡이의 성장을 억제하는 물질이므로 본 연구에서는 곰팡이를 영양풍부배지에서 충분히 성장시킨 후 배지를 교체하고 20 ppm의 PCP를 첨가하여 배지내 PCP의 분해를 조사하였다. PCP를 첨가할 때 배지는 질소-탄소 동시 제한 배지와 기본배지인 질소 제한배지 두 종류를 이용하여 비교하였다. PCP가 분해되는 경향은 Figure 5에 나타내었으며, Figure 6과 Figure 7은 시간에 따른 GC/ECD 분석 결과를 보이고 있다. Figure 5를 보면 앞에서 수행한 실험 결과와 같이 lignin peroxidase의 활성도가 높은 질소-탄소 동시 제한배지에서 PCP의 분해 속도가 빨랐으며, Figure 6은 효소의 활성도가 최대가 되는 27 일 이후에 PCP가 완전 분해를 보여 주고 있다. 이 실험 결과를 의하면 두 종류의 배지에서 모두 PCP는 중간체를 형성하나 중간체의 소멸은 다른 경향을 보인다. Figure 6에서 PCP의 중간체는 30일 동안 분

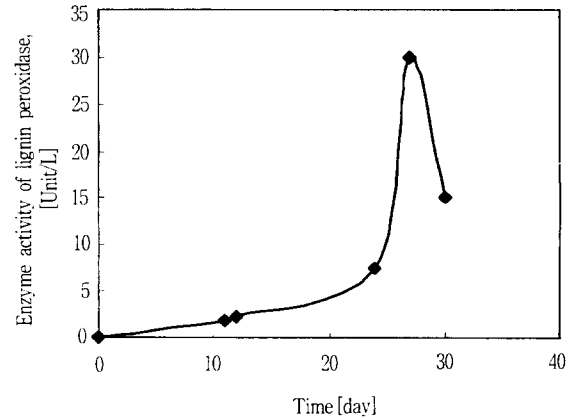


Figure 4. Enzyme activity of lignin peroxidase in carbon-nitrogen limited flask culture followed by enriched cell culture (pure oxygen supply).

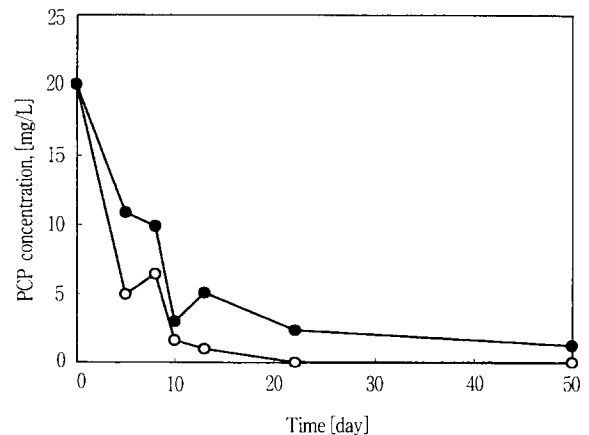


Figure 5. Degradation of PCP in *P. chrysosporium* cultures (○ : in carbon and nitrogen limited flask culture, ● : in nitrogen limited flask culture).

해되지 않고 그 농도가 유지되었다. 그러나 탄소원이 첨가된 질소 제한배지에서 이 중간체는 다시 분해되고 있음이 관찰되었다. 따라서 영양분이 제한된 상태에서 lignin peroxidase의 생성이 촉진되지만 질소원 외의 영양물질이 포함된 기본배지가 PCP의 중간체를 분해시키는 균주의 대사에 유리한 것으로 보인다. Lignin peroxidase에 의한 PCP 산화반응의 대표적인 중간체는 TCBQ (tetrachloro benzoquinone)로 보고되어 있으며(12) 여러 단계의 radical 반응을 거쳐 최종적으로 이산화탄소로 전환된다. PCP는 세포표면에 잘 흡착하는 것으로 알려져 있어서(13) 본 연구에서도 배지 교체 후 초기 PCP의 급격한 감소는 곰팡이 표면에 흡착하기 때문으로 보이지만, 중간체의 생성과 소멸은 PCP가 효소에 의해 단계적으로 분해되고 있음을 확인할 수

있는 현상이다.

**Polyurethane foam에 의한 *P. chrysosporium*의 고정화**

Polyurethane은 PCP를 미생물 이용에 앞서 흡착하여 독성을 낮추어 주는 것으로 알려져 있다(4). 따라서 본 연구에서는 *P. chrysosporium*을 polyurethane 담체에 고정화하여 lignin peroxidase의 생산효율을 조사하였다. 담체로는 공극율이 0.89인 polyurethane foam을 이용하여 곰팡이의 고정화 실험을 수행하였다.

먼저 영양풍부배지에서 polyurethane에 고정화된 곰팡이와 free pellet으로 자라는 곰팡이의 glucose소모를 비교하였는데 Figure 8에 나타난 바와 같이 polyurethane에 고정화 된 경우

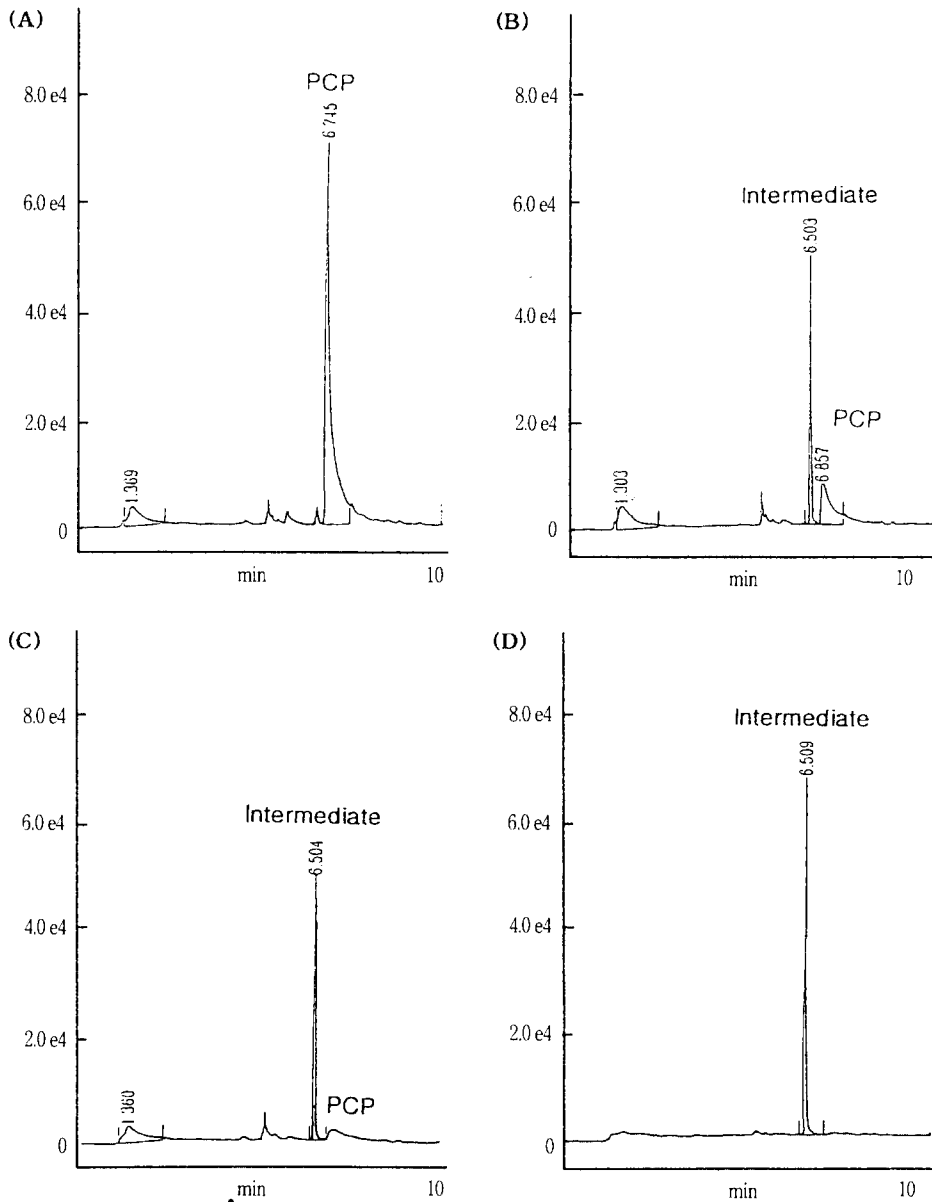


Figure 6. Gas chromatograms of pentachlorophenol and an intermediate in the carbon and nitrogen limited culture [(A):0 day, (B):5 day, (C):10 day, (D):30 day].

가 성장 속도가 빠름을 알 수 있었다. 이는 고정화가 곰팡이를 전단력으로부터 보호하여 안정화시킴으로서 효율적인 성장을 할 수 있도록 유도하였기 때문이다. Polyurethane foam에 고정화된 곰팡이를 SEM을 통해 관찰한 결과 Figure 9와 같이 우수한 접착력을 가지고 성장하고 있음이 확인되었다. Flask culture에 이용된 질소제한 배지에서 polyurethane foam에 고정화시킨 균에 의한 lignin peroxidase의 활성도를 측정된 결과 Figure 10에서 보이는 바와 같이 배양 11일 만에 최대 200 unit/L로 고정화되지 않은 경우에 비하여 7배 정도 증가된 lignin peroxidase가 생성되었다. 따라서 polyurethane 담체는 *P. chrysosporium*의 고정화에 효율적으로 이용될 수 있으며, lignin peroxidase의 수율 개선은 물

론 PCP 분해에 효율적으로 이용될 수 있을 것이다.

## 요 약

*P. chrysosporium*(ATCC 24725)의 flask 배양을 통한 lignin peroxidase의 발효조건을 조사한 결과 yeast extract가 균주의 성장을 촉진시키는 것으로 확인하였으며, 균주를 yeast extract가 첨가된 영양풍부배지에서 성장시킨 후 질소-탄소 제한배지로 옮겨 충분한 산소를 공급하면, pellet 형태의 균체에서 높은 효소생성이 관찰되었다. Pellet의 크기는 접종하는 포자의 양과 교반속도에 의해 결정되었으며 영양소의 전달과 전단력으로부터의 보호가 적절하게 만족되는 최적의

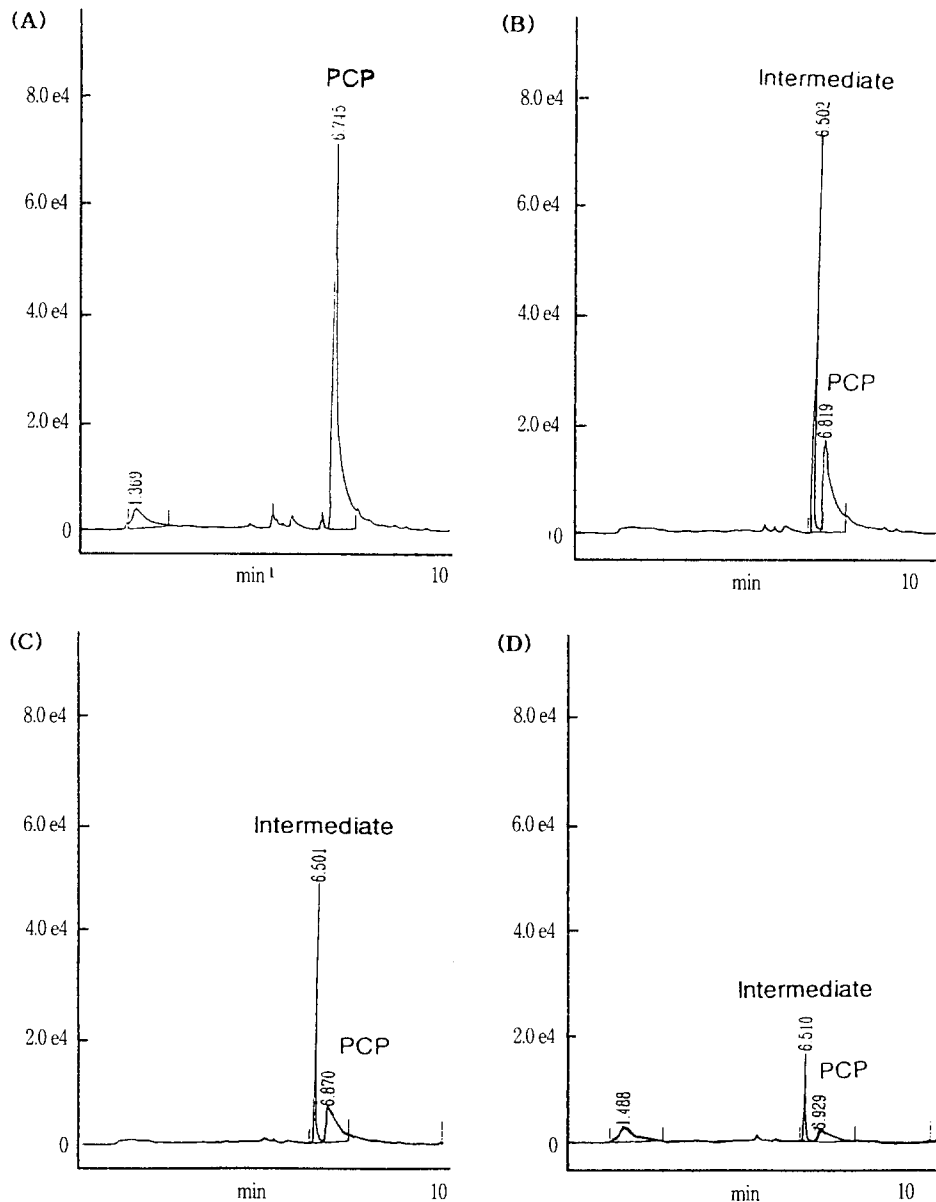


Figure 7. Gas chromatograms of pentachlorophenol and an intermediate in the nitrogen limited culture [(A):0 day, (B):5 day, (C):10 day, (D):30 day].

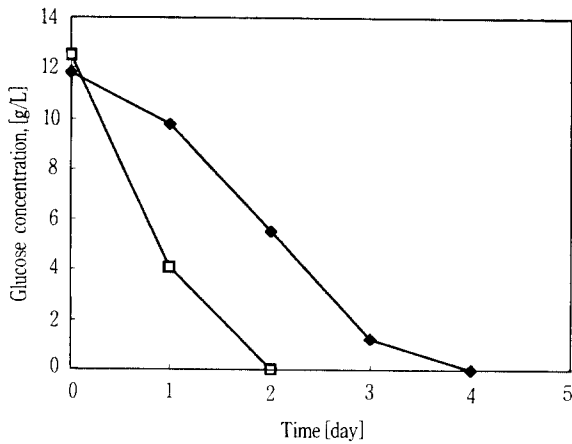


Figure 8. Effect of immobilization with polyurethane on growth of *P. chrysosporium* (♦ : glucose concentration of free pellet □ : glucose concentration of polyurethane immobilized cell).



Figure 9. SEM of *P. chrysosporium* immobilized in polyurethane foam(x400).

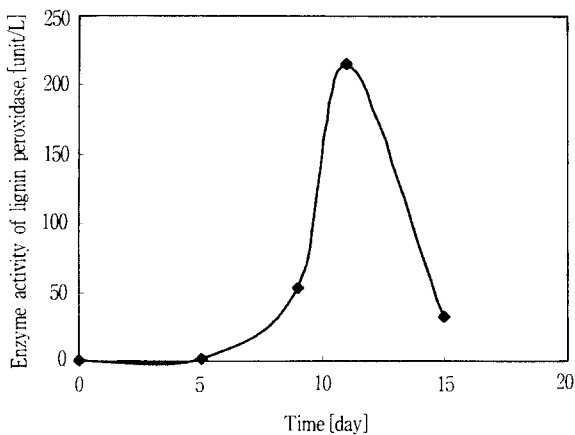


Figure 10. Enzyme activity of lignin peroxidase in the nitrogen limited culture using immobilized cell.

크기는 1 - 5 mm이었다. Lignin peroxidase의 PCP 분해능력은 알아보기 위한 flask 배양 실험에서, 효소 생성이 높은

질소-탄소 동시 제한배지에서 PCP의 분해는 빠르지만, 탄소원을 첨가해 준 질소 제한배지는 PCP의 중간체를 분해하는데 유리함을 확인하였다.

또한 polyurethane foam은 *P. chrysosporium*의 고정화에 효율적인 담체임을 효소활성도와 SEM을 통해 확인하였으며, 성장 속도에 있어서도 pellet형태로 성장하는 액중배양에 비해 효율적인 것으로 나타났다. 고정화시킨 균은 최대 200 unit/L의 lignin peroxidase를 생성하여 고정화되지 않은 경우에 비하여 7배정도 증가된 효소활성도를 보였다.

## 감사의 글

본 연구는 과학재단 우수연구센터인 한국과학기술원 생물공학 연구센터의 연구비 일부 지원으로 수행되었습니다. 또한 polyurethane foam을 제조하여 주신 광주과학기술원 신소재공학과 이재석 교수님께 감사드립니다.

## 참고 문헌

- Knapp, J. S. (1985), Biodegradation of Cellulose and Lignins in Comprehensive Biotechnology, Vol. 4, Murray Moo-Young ed. Permon Press.
- Tien, M. (1987), Properties of Ligninase from *Phanerochaete chrysosporium* and Their Possible Applications, *Critical Reviews Journals in Microbiology* 15, 141-168.
- Aitken, M. D. (1993), Waste Treatment Application of Enzymes : Opportunities and Obstacles, *The Chemical Engineering Journal*, 52, B49-B58.
- Kirk, T. K., E. Schultz, W. J. Connors, L. F. Lorenz, and J. G. Zeikus (1978), Influence of Culture Parameters on Lignin Metabolism by *Phanerochaete chrysosporium*, *Arch. Microbiol.*, 117, 277-285.
- Hu, Z.-C., R. A. Korus, W. E. Levinson, and R. L. Crawford (1994), Adsorption and Biodegradation of Pentachlorophenol by Polyurethane-Immobilized *Flavobacterium*, *Environ. Sci. Technol.* 28, 491-496.
- Tien, M. and T. K. Kirk (1988), Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*, *Methods Enzymol.*, 161, 238-249.
- Ulmer, D., M. Leisola, J. Puhakka, and A. Fiechter (1983), *Phanerochaete chrysosporium* : Growth Pattern and Lignin Degradation, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18, 153-157.
- Tsai, T. S. (1991), Biotreatment of Red water-A Hazardous Waste Stream from Explosive Manufacture-with Fungal system., *Hazardous Waste and Hazardous Materials*, 8, 231-244.
- Kennedy, D. W., S. D. Aust, and J. A. Bumpus (1990), Comparative Biodegradation of Aalkyl Halide Insecticides by the White Rot Fungus, *Phanerochaete chrysosporium* (BKM-F-1767), *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 2347-2353.
- Cripps, C., J. A. Bumpus, and S. D. Aust (1990), Biod-

- egradation of Azo and Heterocyclic Dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 1114-1118.
11. Bogan, B. W. and R. T. Lamer (1996), Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-degrading Capabilities of *Phanerochaete laevis* HHB-1625 and Its Extracellular Ligninolyticenzymes. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 1597-1603.
  12. Chung, N., and Steven D. Aust (1995), Veratryl Alcohol-Mediated Indirect Oxidation of Pentachlorophenol by Lignin Peroxidase, *Arch. Biochem. Biophys.*, **322**, 143-148.
  13. Brandt, S., A.-P. Zeng, and W.-D. Deckwer (1997), Adsorption and Desorption of Pentachlorophenol on Cells of *Mycobacterium chlorophenolicum* PCP-1, *Biotechnol. Bioeng.*, **55**, 480-489.