

복합미생물제재를 이용한 염소화 페놀계 폐수의 생물학적 처리

이완석¹ · 정상욱 · 박찬선 · 윤병대 · 김장억¹ · 오희목*
한국생명공학연구원 환경생물소재연구실, ¹경북대학교 농화학과

Biological Treatment of Wastewater Containing Chlorinated Phenols by a Mixed Culture. Lee, Wan-Seok¹, Sang-Wook Jung, Chan-Sun Park, Byung-Dae Yoon, Jang-Eok Kim¹, and Hee-Mock Oh*. *Environmental Bioresources Laboratory, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon, Korea, ¹Department of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Taegu, Korea* – The biodegradation of chlorinated phenols in an artificial wastewater was investigated using a mixed culture. The mixed culture was composed of 8 microorganisms isolated from the soil contaminated with various chlorinated phenols. *Pseudomonas* sp. BM as a main constituent of a mixed culture was Gram-negative, catalase- and oxidase-positive, and rod-shaped, and did not grow at 41°C. It degraded 99% of initial 500 mg/l of pentachlorophenol (PCP) in the minimal salts medium as a sole source of carbon and energy within 3 days. The degradation efficiency of *Pseudomonas* sp. BM was not affected by the other organic carbon and nitrogen compounds. *Pseudomonas* sp. BM was able to grow in a broad range of pH 5 - 8, and degrade 2,000 mg/l PCP. In the experiment with an artificial wastewater containing chlorinated phenols, the degradation efficiency of the mixed culture was the range of 73% (2,4-dichlorophenol) -96% (2-chlorophenol) during an incubation of 7 days. In a continuous culture experiment, the degradation efficiency of mixed culture plus activated sludge was about 2 times higher than that of the control containing only activated sludge. These results indicate that it is possible to apply the mixed culture to other wastewaters containing chlorinated phenols.

Key words: Biodegradation, chlorinated phenols, pentachlorophenol, *Pseudomonas* sp. BM

염소화 페놀화합물은 농약제조, 섬유산업, 페인트산업, 목재보존제 등에 폭넓게 사용되는 물질로서 생물체에 광범위한 영향력을 미치는 것으로 알려져 있다. 특히 2-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol, 2,4,6-trichlorophenol, pentachlorophenol은 미국 환경보호청에서 지정한 129개의 유해화합물에 포함되어 있다[7]. 염소화 페놀화합물의 분해에 관한 연구로서 Seech 등[21]은 물리화학적 분해를 보고하였고, Häggblom 등[5]은 *Rhodococcus* 및 *Mycobacterium* 종의 미생물을 이용하였으며, MacBain 등[12]은 *Flavobacterium* sp. 및 *Phanerochaete chrysosporium* 균주를 이용한 생분해를 연구하였다. 이외에도 생물학적 분해에 대하여 많은 연구가 수행되었으나 거의 단일 염소화 페놀의 분해 연구에 머물러 있으며, 여러 화합물이 혼재되어 있는 실제 조건에서의 분해 연구는 매우 드문 실정이다[10,16].

환경에 방출되는 다양한 염소화 페놀화합물 중에서 pentachlorophenol (PCP)는 농약, 목재보존제 등 산업적으로 많이 사용되었으며[20], 0.6 mg/l로 대부분의 어류에 치명적이며 페놀에 비해 약 40배의 독성을 보이는 화합물이다. PCP는 다른 염소화 페놀화합물에 비해 높은 염소화 정도로 인하

여 독성이 강하며, 미생물의 이용성을 저하시키기 때문에 생분해율이 매우 낮다고 보고되었다[11]. PCP 등의 염소화 페놀화합물은 일부 토양이나 지하수에 분포하는 것으로 보고되었다[2]. 또한, 실제 산업폐수에는 다양한 종류의 염소화 페놀화합물들이 함께 존재하고 있으며 그 농도 또한 매우 다양하다.

따라서, 본 연구에서는 다양한 염소화 페놀화합물이 함유된 폐수를 생물학적으로 처리하기 위하여 생분해성이 낮고 독성이 강한 PCP를 중심으로 미생물을 이용한 분해를 조사하였다. 또한, 염소화 정도가 서로 상이한 염소화 페놀화합물에 대해 생분해 활성이 있는 미생물을 분리하여 복합미생물제재를 만든 다음 최적 배양 조건을 조사하였다. 그리고 연속배양실험으로 폐수환경조건에서 생분해도를 조사하였다.

재료 및 방법

염소화 페놀 분해균주의 분리

염소화 페놀 분해균주를 분리하기 위한 배지로서 basal salt medium (BSM: K₂HPO₄ 4.35 g, KH₂PO₄ 1.7 g, NH₄Cl 2.1 g, MgSO₄ 0.2 g, MnSO₄ 0.05 g, FeSO₄·7H₂O 0.01 g, CaCl₂·2H₂O 0.03 g, water 1,000 ml)에 염소화 페놀을 1,000 mg/l의 농도로 첨가하여 사용하였다. 2-CP(2-chlorophenol), 4-CP(4-chlorophenol), 2,4-DCP(2,4-dichlorophenol),

*Corresponding author
Tel. 042-860-4321, Fax. 042-860-4598
E-mail: heemock@mail.kribb.re.kr

2,4,5-TCP(2,4,5-trichlorophenol), 2,3,4,6-TCP(2,3,4,6-tetrachlorophenol) 그리고 PCP(pentachlorophenol) 등 6종의 염소화 페놀은 Sigma (USA) 및 Aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였다. 석유화학 공단의 토양과 하천에서 채취한 균원시료 0.1 g을 생리식염수(NaCl 0.85%) 9.9 ml에 현탁시킨 후 200 µl를 염소화 페놀 분해균주 분리용 고체배지에 도말하여 나타나는 집락을 분리하였다. 분리된 균주는 100-ml flask에 유일한 탄소원 및 에너지원으로 500 mg의 염소화 페놀을 포함한 배지에 접종하여 균체성장 및 염소화 페놀화합물 분해능이 우수한 균주를 선별하였다.

분리균주의 동정

균주의 동정은 API 20E system(BioMerieux), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[9] 및 Manual for the Identification of Medical Bacteria[4]에 준하여 형태학적 및 생리·생화학적 특징을 조사하여 수행하였다.

배양방법

염소화 페놀 500 mg/l가 포함된 최소배지 100 ml를 250-ml Erlenmeyer flask에 넣고 분리균주를 백금으로 접종하여 30°C에서 24시간 전 배양하였다. 전 배양액을 12,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 균체를 얻은 다음, 식염수에 2회 세척한 후 접종하였다. 본 배양은 1,000 mg/l의 염소화 페놀이 포함된 최소배지 100 ml를 250-ml Erlenmeyer flask에 넣은 후 균체를 접종하여, 30°C에서 200 rpm으로 진탕 배양하면서, 배양 시간별로 균체생육 및 염소화 페놀 농도 등을 측정하였다. 용해도가 낮은 PCP등은 methanol에 용해시킨 후 가압멸균하여 methanol을 증발시켰으며 비교적 용해도가 높은 염소화 페놀들은 배지에 직접 용해시킨 후 가압멸균하였다. 균체생육에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 초기 pH를 각각 4.0에서 8.0까지 조절하였으며, 다른 유기질소원과 탄소원의 첨가에 따른 영향을 알아보기 위하여 yeast extract, beef extract, malt extract, peptone, tryptone, skim milk extract 등을 0.5 g/100 ml 씩 첨가하여 배양하였다.

현장 폐수의 모델로 제조한 인공폐수는 peptone 6 g, yeast extract 4 g, urea 1 g, NaCl 1 g, K₂HPO₄ 1 g, KCl 0.14 g, CaCl₂ 0.14 g, MgSO₄ 0.1 g를 수도수 1 liter에 녹인 후 pH 7.0 ± 0.2로 조절된 인공폐수를 배양액으로서 사용하였다. BOD 10,000 mg/l로 조절된 인공폐수는 일본하수도협회에서 출간한 하수도공법을 참고하여 조제하였다[6].

균체량 측정

균체량은 분광광도계(Shimadzu UV-160A)를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. 분광광도계를 이용할 수 없는 혼탁한 인공폐수 및 활성 슬러지 첨가시료는 평판도말법으로 균체수를 측정하였다.

염소화 페놀 분석

염소화 페놀의 농도 측정은 시료를 12,000 rpm으로 원심 분리한 후 상등액을 Whatman membrane filter(0.45 µm)를 이용하여 cell을 완전히 제거시킨 후 HPLC(Shimadzu CTO 10A)를 사용하여 측정하였다. HPLC 분석은 Waters C₁₈ reverse-phase column을 사용하였으며 280 nm에서 UV detector로 분석하였다. Mobile phase는 ammonium acetate 0.018 M, acetate 2%가 각각 첨가된 물과 methanol을 20:80(v/v)으로 혼합하여 1 ml/min의 flow rate로 분석하였다.

용존 total organic carbon (TOC) 분석

용존 TOC 농도는 시료를 12,000 rpm으로 원심 분리한 후 상등액을 Whatman membrane filter(0.45 µm)를 이용하여 cell을 완전히 제거시킨 후 TOC 분석기(Shimadzu 5000)로 분석하였다. TOC는 TC(total carbon)에서 IC(inorganic carbon)를 제외한 값으로 산출하였다.

복합미생물제재 제조

복합미생물제재는 ribbon impeller가 부착된 mixer에 탈지강을 넣고 미생물 배양액을 분무하여 교반하면서 흡착시킨 후 2일 동안 고상발효한 다음 상온에서 풍건하여 제조하였다. 사용한 미생물 배양액은 *Pseudomonas* sp. BM과 *Acinetobacterium* sp. BM1 두 종의 균주를 중심으로 염소화 페놀에 분해활성을 나타내는 6종의 균주를 각각 rich medium에서 1일간 배양한 후 혼합하여 사용하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 동정

염소화 페놀을 분해하는 주요 미생물로서 BM 및 BM1의 형태적, 생리적 및 생화학적 특성을 조사한 결과를 Table 1에 나타내었다. BM과 BM1 모두 Gram 음성균으로서 호기성 세균이었으며 운동성을 지니고 있었다. BM 균주는 catalase와 oxidase에 양성이고 D-galactose, maltose, sucrose 등은 탄소원으로 이용하지 못하나 glucose, L-alanine, L-glutamic acid, phenylacetate, D-saccharic acid 등을 탄소원으로 이용 가능하며, 41°C 이상에서는 성장하지 못하는 균주로 판명되었다. 이러한 결과로 BM균주를 *Pseudomonas*로 동정하였고, 최종적으로 *Pseudomonas* sp. BM으로 명명하였다. BM1 균주는 catalase에는 양성, oxidase에는 음성으로 나타났으며 glucose, maltose, xylose, 그리고 sucrose를 모두 이용하지 못하였다. 이러한 결과는 *Acinetobacterium* 과 거의 유사한 특성으로서 최종적으로 *Acinetobacterium* sp. BM1으로 명명하였다.

Table 1. Characterization of strain BM and BM1

Test	Strains	
	BM	BM1
Cell shape	Rod	Short Rod
Motility	+	+
Gram stain	-	-
Catalase	+	+
Oxidase	+	-
Optimum temp.	32°C	30°C
Growth on MacConkey	+	+
Growth in air	+	+
O/F test*	Oxidation	Oxidation
Hydrolysis of gelatine	+	+
Assimilation of		
D-galactose	-	-
Glucose	+	-
Xylose	-	-
Maltose	-	-
L-rhamnose	-	-
Sucrose	-	-
D-trehalose	-	-
Lysine	+	+
Arginine	+	+
L-alanine	+	+
L-glutamic acid	+	+
Phenylacetate	+	+
D-saccharic acid	+	+

*Oxidation-fermentation test

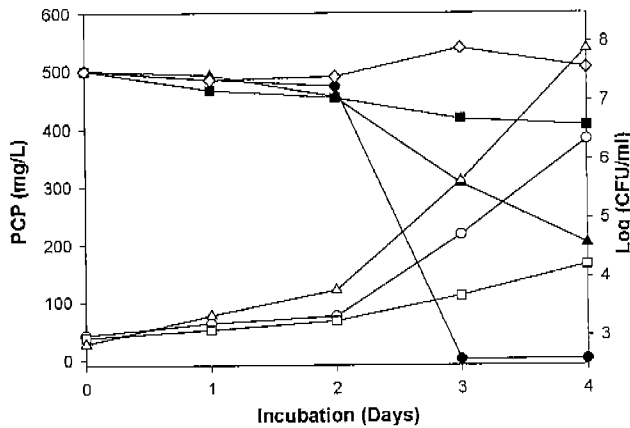


Fig. 1. Biodegradation of pentachlorophenol (PCP) by strain BM and/or BM1 and cell growth.

Symbol: ◇, control; ○, BM; □, BM1; △, BM and BM1; closed symbols, PCP concentration; open symbols, cell growth.

BM 및 BM1 균주에 의한 PCP의 분해

다양한 염소화 페놀 중에서 PCP는 염소화 정도가 제일 높기 때문에 난분해성이며 고독성 화합물이다[19]. 따라서, PCP를 유일 탄소원으로 첨가하여 만든 BSM 액체 배지를

Table 2. Characteristics of a mixed culture complex

Characteristics	Contents
Total viable count	3.2×10^7 CFU/g
Bulk density	0.302 g/cm ³
Water content	27.2%
Particle size	50-100 mesh

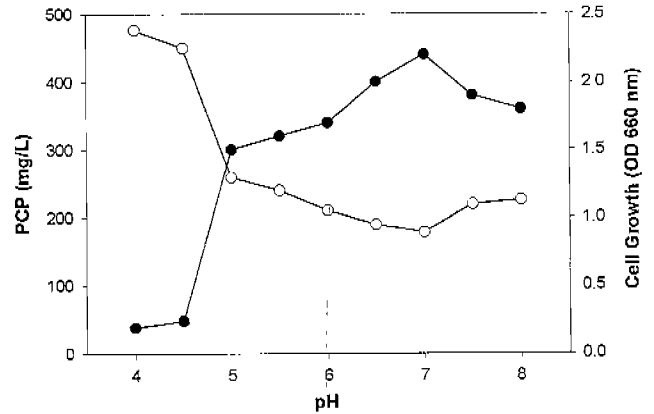


Fig. 2. Effect of pH on PCP biodegradation and cell growth. Initial PCP concentration was 500 mg/L.

Symbol: ○, PCP concentration; ●, cell growth.

사용하여 PCP의 분해시험을 수행한 결과는 Fig. 1과 같다. BM 균주가 단독으로 존재할 때 PCP는 배양 3일 후 99%이상의 분해효율을 보였으나 BM1균주가 단독으로 존재할 때는 배양 3일 약 10%의 분해효율을 보였다. BM균주와 BM1균주를 동시에 처리하였을 때 배양 3일 후 PCP는 약 48%의 분해효율을 나타내었다. 한편, 균체의 성장은 기질의 농도변화와는 달리 두 균주를 동시에 처리하였을 때 가장 높게 나타났다.

PCP 분해효율은 BM균주를 단독으로 처리하였을 때 가장 높게 나타났으나, 균체의 성장은 두 균주를 동시에 처리한 구에서 가장 높게 나타났다. 따라서, PCP가 단독으로 존재하는 경우 분해능이 우수한 BM균주의 단독처리가 다른 균주와의 혼합처리 보다 PCP 분해에 효율적인 것으로 판단된다.

복합미생물제제의 특성

Pseudomonas sp. BM과 *Acinetobacterium* sp. BM1 두 종의 균주를 중심으로 염소화 페놀에 분해활성을 나타내는 6종의 균주를 추가로 혼합하여 조제한 복합미생물제제의 특성은 Table 2에 나타내었다. 복합미생물제제는 3.2×10^7 CFU/g의 균체수를 갖고 있으며, 밀도는 0.302 g/cm³, 수분함량은 27.2%, 그리고 입자크기는 50-100 mesh로 제조하였다.

초기 pH의 영향

PCP 분해시 균체생육을 위한 초기 최적 pH를 조사하기 위하여 pH 4에서 8의 범위에서 배양 4일 후 PCP 농도와

균체 농도를 조사하였다. 복합미생물제제는 pH 5에서 8까지의 넓은 pH 적용 범위를 나타내며, pH 7에서 PCP 분해 및 균체의 생육이 최대에 달했다(Fig. 2). 일반적으로 산업 폐수가 pH 5에서 pH 8사이의 범위에 있음을 고려할 때 현장에서 별도의 pH 조절 없이 본 복합미생물제제를 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

유기탄소 및 질소원의 첨가에 따른 영향

실제 환경에서는 각종 탄소원과 질소원이 존재하는 다양한 성상의 폐수가 방출된다. 따라서, 이들 탄소 및 질소원이 PCP 분해에 미치는 영향을 알아보기 위하여 yeast extract, beef extract, malt extract, peptone, tryptone peptone, skim milk extract 등을 0.5 g/100 ml 씩 첨가하여 복합미생물제제에 의한 PCP의 분해를 조사하였다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 서로 다른 유기탄소 및 질소원을 첨가하였을 때 분해효율이 40%(skim milk extract)에서 48%(malt extract)까지로 나타나 대조구(34%)에 비하여 다소 높았으나 탄소 및 질소원의 종류에 따라서 분해효율의 큰 변화는 없었다. 이는 염소화 페놀화합물이 탄소 및 질소원의 종류가 상이한 폐수에 섞여 나오더라도 염소화 페놀화합물의 분해에는 크게 영향을 미치지 못함을 의미한다. 따라서, 배출원이 상이한 폐수에 광범위한 적용이 가능할 것으로 보인다.

염소화 페놀 농도의 영향

PCP 농도에 따른 복합미생물제제의 분해능 및 균체성장을 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 100 mg/l 이하의 농도에서 PCP는 배양 7일 후 90%이상 분해되었고, 1,000 mg/l에서는 50% 그리고 2,000 mg/l의 고농도에서도 23%정도의 분해활성을 나타내었다. 따라서, 복합미생물제제는 PCP 100 mg/l이하의 낮은 농도에서 배양 7일에 90% 이상의 PCP를 분해하며, PCP 농도가 낮을수록 분해효율은 증가하는 경향을 보였다.

Colores 등[2]은 *Sphingomonas* sp.를 이용하여 PCP를 액체배지에서 500 mg/l, 토양조건에서는 토양 1 g당 1,200 µg의 PCP를 분해할 수 있다고 보고하였으며, Mileski 등[13]은 곰팡이로 분류되는 *Phanerochaete chrysosporium*이 PCP 500 mg/l를 분해하였다고 보고한 바 있다. 이에 비해 본 시험에 사용한 복합미생물제제는 PCP 2,000 mg/l의 높은 농도에서도 분해활성을 나타내었다.

다양한 염소화 페놀의 분해

염소화 페놀화합물 중에서 2-CP, 4-CP, 2,4-DCP, 2,4,5-TCP, 그리고 2,3,4,6-TCP를 대상으로 복합미생물제제의 분해 및 균체성장을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 염소화 페놀화합물에 대한 복합미생물제제의 분해효율은 배양 7일 후 2,4-DCP에서 최저 73%, 2-CP에서 최고 96%로 나타났다.

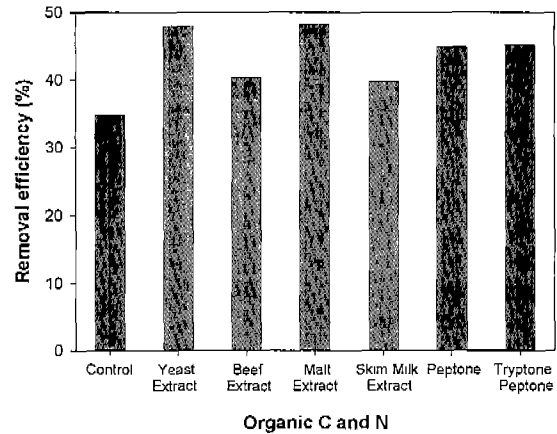


Fig. 3. Effect of organic carbon and nitrogen on the removal efficiency of PCP by a mixed culture. PCP concentration was 500 mg/l. Removal efficiency was measured after 5 days of incubation.

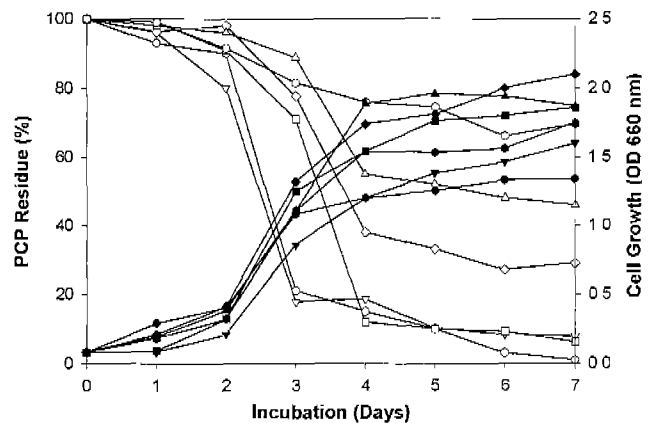


Fig. 4. Effects of PCP concentrations on the PCP degradation and cell growth in an artificial wastewater. Added microorganisms were composed of eight isolates. Symbol: ○, 10 mg/l; ▽, 50 mg/l; □, 100 mg/l; ◇, 500 mg/l; △, 1,000 mg/l; ○, 2,000 mg/l; open symbols, PCP residue; closed symbols, cell growth.

이는 *Pseudomonas* 종이 3-CP, 1,4-DCP, 2,3-DCP, 2,4,6-TCP 등을 분해하지만, 2-CP, 4-CP, 2,4-DCP, 2,4,5-TCP 등은 분해하지 못하는 특성[10]으로 미루어보면, 복합미생물제제를 구성하고 있는 *Acinetobacterium* sp. BM1 및 6종의 동정되지 않은 미생물에 의한 분해활성에 기인하는 것으로 추정된다.

염소화 페놀화합물은 monooxygenase에 의해 chlorocatechol로 전환된 후 분해된다는 사실이 밝혀져 있으며[8], 특히 *Pseudomonas* 종에 의한 PCP의 분해는 monooxygenase에 의해 이루어진다고 보고되었다[3]. 따라서, *Pseudomonas* 속으로 분류된 BM균주 또한 동일한 기작에 의해 PCP를 분해한 것으로 사료된다. 한편, Neilson 등[15]의 발표에 의하면 *Acinetobacterium* 종의 염소화 페놀 분해기작은 *o*-methylate halophenols로 전환시켜 분해하며, 특히, *Acinetobacterium*

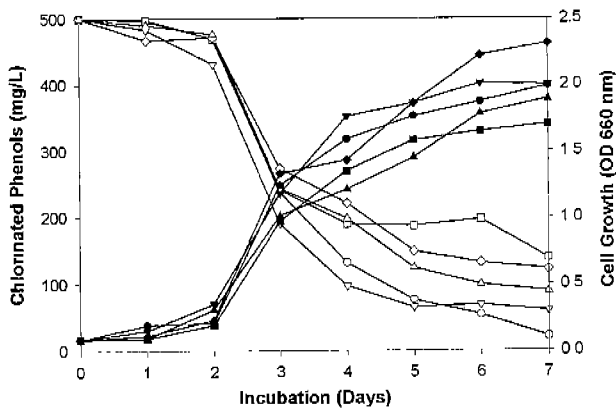


Fig. 5. Effects of chlorinated phenols on the degradation of chlorinated phenols and cell growth in an artificial wastewater. Added micro-organisms were composed of eight isolates. Symbol: ○, 2-CP; ▽, 4-CP; □, 2,4-DCP; ◇, 2,4,5-TCP; △, 2,3,4,6-TCP; open symbols, chlorinated phenols; closed symbols, cell growth.

중은 2염화 및 3염화 페놀에 높은 분해효율을 나타내었다. 이러한 연구결과들을 고려할 때 복합미생물체재를 구성하고 있는 BM, BM1, 기타 6종의 미생물의 분해기능에 의하여 여러 가지 염소화 페놀화합물을 분해할 수 있다고 생각된다.

활성 슬러지의 영향

폐수 처리장에서 복합미생물체재를 사용하기 위하여 인공폐수를 대상으로 폭기조에 존재하는 활성 슬러지와 복합미생물체재가 공존할 경우 PCP 분해를 조사하였다. 활성 슬러지와 복합미생물체재를 단독 또는 혼합 적용하였을시 PCP 분해 및 TOC 변화는 Fig. 6에 나타난 것과 같다.

배양 4일에 활성 슬러지에 의한 PCP 분해효율은 54%에 그쳤으나 활성 슬러지와 복합미생물체재를 함께 처리하였을 때는 약 73%로 1.4배 증가하였다. TOC 제거효율은 활성 슬러지 처리구와 활성 슬러지 및 복합미생물체재 혼합 처리구 모두 약 50%로 차이가 없었다. 즉, 복합미생물체재의 첨가는 PCP 분해효율을 증가시키지만 TOC 농도에는 큰 영향을 미치지 않았다. 이와 같은 결과는 인공폐수에서 PCP에 비해 상대적으로 매우 높은 탄소원의 대부분은 활성 슬러지에 의해 분해되었으며, PCP는 복합미생물체재에 의해 분해되었다는 것을 의미한다.

여러 가지 미생물이 혼재된 상태에 존재할 때 미생물간 발생하는 상호경쟁이 발생할 수 있다고 보고되었다[1,14]. 그러나, 본 연구에서는 활성 슬러지에 복합미생물체재를 추가하더라도 TOC 분해에 큰 영향을 주지 않고 PCP 분해효율이 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 따라서, 난분해성 화합물의 분해에 있어서 복합미생물체재에 의한 분해효율의 증대를 고려해 볼 수 있다.

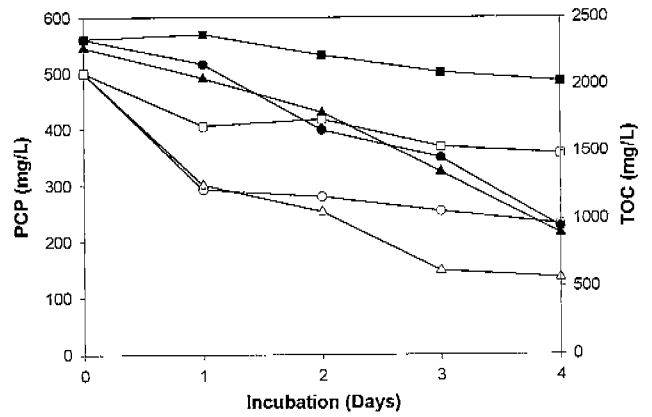


Fig. 6. PCP and TOC degradation by a mixed culture and/or an activated sludge. Symbol: ○, sludge; △, sludge and mixed culture; □, sterile sludge; open symbols, PCP concentration; closed symbols, TOC.

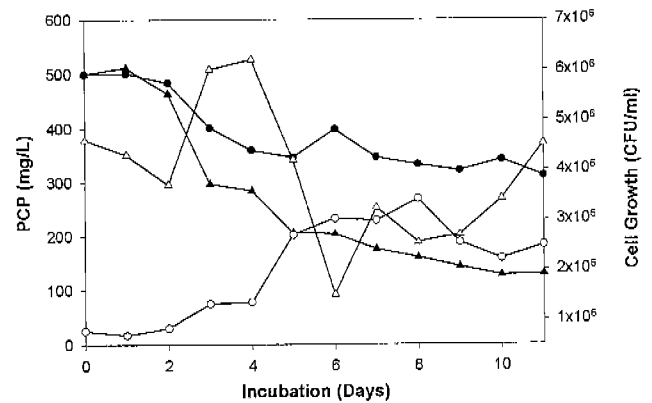


Fig. 7. Biodegradation of PCP by an activated sludge or an activated sludge plus mixed culture. Symbol: ○, sludge; △, sludge and mixed culture; closed symbols, PCP concentration; open symbols, cell growth.

연속배양

인공폐수를 처리하기 위하여 Oh 등[18]이 사용한 폐수처리장의 축소 모델을 사용하여 시험하였다. 반응조내 DO농도는 air blower를 조절하여 2-3 mg/l, 온도는 자동온도조절기를 이용하여 25 ± 2°C 그리고 수리학적 체류시간(HRT)은 24시간으로 유지하였다. 모든 반응조는 제지폐수 슬러지를 첨가하여 시험하였으며 침전조에 쌓인 슬러지의 재이용에 의하여 MLSS농도는 2,000-3,000 mg/l 수준으로 유지하였다.

PCP 500 mg/l을 포함한 인공폐수에 복합미생물체재를 접종하여 11일간 배양하면서 PCP의 농도와 균체량을 측정한다. 결과는 Fig. 7과 같다. PCP 농도는 활성 슬러지만을 첨가한 대조구에서 321 mg/l, 복합미생물체재를 첨가한 구에서는 143 mg/l로 조사되었다. 따라서, 복합미생물체재의 첨가에 의해서 PCP 분해효율은 2.2배 이상 증가하였다. 한편, 배양 초기에 접종한 균체수는 배양 3일에서 4일 사이에 일시적으로 증가했다가 감소하였으나 배양이 진행됨에 따라 6일

이후 다시 증가하였으며, 배양 11일에는 활성 슬러지 단독 처리구의 2.5배로 증가하였다.

고독성 및 고농도에서 미생물의 생육저해를 최소화하고 처리효율을 높이기 위하여 담체 등에 미생물을 고정화하는 연구가 시행되고 있다[16,17,18]. 따라서, 본 연구에 사용된 복합미생물 및 담체를 이용한 재재화는 난분해성 화합물의 분해효율을 높이는 하나의 방법이 될 수 있을 것이다.

요 약

복합미생물제제를 사용하여 인공폐수에서 염소화 페놀화합물의 생물학적 분해를 조사하기 위하여 다양한 염소화 페놀화합물로 오염된 토양에서 8종의 미생물을 분리하였다. 복합미생물제제의 주된 미생물인 *Pseudomonas* sp. BM은 Gram-negative, catalase- 그리고 oxidase-positive, rod 형이며 41°C 이상에서는 성장하지 않았다. *Pseudomonas* sp. BM은 단일 탄소원으로서 PCP(pentachlorophenol) 500 mg/l의 농도로 첨가된 최소배지에서 배양 3일 후에 99%의 분해효율을 보였다. 복합미생물제제에 여러가지 종류의 유기탄소 및 질소원을 첨가한 후 PCP의 분해효율을 관찰하였을 때 큰 차이를 나타내지 못하였다. *Pseudomonas* sp. BM은 pH 5에서 8까지 넓은 적용범위를 가지고 있으나 pH 7에서 가장 좋은 활성을 나타내었으며 2,000 mg/l의 높은 농도에서도 활성을 나타내었다. 종류가 다른 염소화 페놀을 함유한 인공폐수에서 염소화 페놀화합물의 분해시험은 7일간 배양 후 최저 분해효율 73%(2,4-DCP)에서 최대 96%(2-CP)까지 비교적 높은 활성을 보였다. 연속배양 실험에서, 활성 슬러지와 복합미생물제제를 첨가한 것의 PCP 분해효율을 비교해 보았을 때 활성 슬러지만을 첨가한 대조구에 비해 복합미생물제제를 첨가하였을 때는 약 2배의 효과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 다양한 염소화 페놀이 함유된 폐수에 복합미생물제제의 적용이 가능함을 나타낸다.

REFERENCES

1. Bitzi, U., T. Egli, and G. Hammer. 1991. The biodegradation of mixtures of organic solvents by mixed and monocultures of bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* 37: 1037-1042.
2. Colores, G. M., P. M. Radehaus, and S. K. Schmit. 1995. Use of a pentachlorophenol degrading bacterium to bioremediate highly contaminated soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 271-275.
3. Commandeur, L. C. M. and J. R. Parsons. 1994. Biodegradation of halogenated aromatic compounds, pp. 423-458. In C. Ratledge (ed.), *Biochemistry of Microbial Degradation*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
4. Cowan, N. R. and K. J. Steel. 1974. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*, 2nd ed. Cambridge University Press, London.
5. Häggblom, M. M., L. J. Nohynek, and M. S. Salkinoja-Salonen. 1988. Degradation *o*-methylation of chlorinated phenolic compounds by *Rhodococcus* and *Mycobacterium* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 3040-3052.
6. Japanese Sewage Works Association. 1984. *Methods for Sewage Analysis*. Japanese Sewage Works Association, Tokyo.
7. Keith, L. H. and W. A. Telliord. 1979. Priority pollutants: 1 - a perspective view. *Environ. Sci. Technol.* 13: 416-423.
8. Kiyohara, H., T. Hatta, Y. Ogawa, T. Kakuda, H. Yokoyama, and N. Takizawa. 1992. Isolation of *Pseudomonas pikettii* that degrade 2,4,6-trichlorophenol and their dechlorination of chlorophenols. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 1276-1283.
9. Krieh, N. R. and K. J. Steel. 1974. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. The William Willkins Co., Baltimore.
10. Lee, S. -G., B. -D. Yoon, Y. -H. Park, and H. -M. Oh. 1998. Isolation of a novel pentachlorophenol-degrading bacterium, *Pseudomonas* sp. Bu34. *J. Appl. Microbiol.* 85: 1-8.
11. Liu, D. and K. Kwasniewska. 1981. An improved agar plate method for rapid assessment of chemical inhibition to microbial populations. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 289-294.
12. MacBain, A. E., L. Herbert, and J. N. R. Ruddick. 1995. The microbial degradation of chlorophenolic preservative in spent, pressure-treated timber. *Biodegradation* 6: 47-55.
13. Milcski, G. J., J. A. Bumpus, M. A. Jurek, and S. Aust. 1995. Biodegradation of pentachlorophenol by white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2885-2889.
14. Mörsen, A. and H. J. Rehm. 1987. Degradation of phenol by a mixed culture of *Pseudomonas putida* and *Cryptococcus elinovii* adsorbed on activated carbon. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26: 283-288.
15. Neilson, A. H., C. Lindgren, P. A. Hynning, and M. Remberger. 1988. Methylation of halogenated phenols and thiophenols by cell extracts of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 524-530.
16. Oh, H. -M., S. -B. Kim, C. -H. Lee, H. -H. Suh, M. -H. Lee, Y. -H. Kho, and B.-D. Yoon. 1994. Biodegradation of benzene, toluene, and phenol by a mixed culture in semi-continuous culture. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22: 415-422.
17. Oh, H. -M., Y. -H. Ku, K. -H. Ahn, K. -Y. Jang, Y. -H. Kho, G. -S. Kwon, and B.-D. Yoon. 1995. Biological treatment of phenolic industrial wastewater by a mixed culture immobilized on ceramic beads. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 23: 755-762.
18. Oh, H. -M., Y. -H. Ku, K. -H. Ahn, G. -S. Kwon, Y. -H. Kho, T. -I. Mheen, and B. -D. Yoon. 1996. Phenolic wastewater treatment by a mixed culture GE2 immobilized on activated carbon. *J. Microbiol. Biotechnol.* 6: 116-119.
19. Pignatello, J. J., M. M. Martinson, J. G. Steiert, R. E. Carlson, and R. L. Crawford. 1983. Biodegradation and photolysis of pentachlorophenol in artificial freshwater stream. *Appl.*

- Environ. Microbiol.* **46**: 1024–1031.
20. Radehaus, P. M. and S. K. Schmit. 1992. Characterization of a novel *Pseudomonas* sp. that mineralizes high concentrations of pentachlorophenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 2879–2885.
21. Seech, A. G., T. Trevors, and T. L. Bullman. 1991. Biodegradation of pentachlorophenol in soil: the response for physical, chemical, and biological treatments. *Can. J. Microbiol.* **37**: 440–444.

(Received Jan. 10, 2001/Accepted Mar. 17, 2001)