

생물계면활성제를 이용한 Phenanthrene의 생물학적 처리

신경희 · 김경웅*

광주과학기술원 환경공학과

Enhanced Bioremediation of Phenanthrene Using Biosurfactant

Kyung-Hee Shin and Kyoung-Woong Kim*

Kwangju Institute of Science and Technology, Department of Environmental Science and Engineering,
Gwangju 500-712, Korea

This study was carried out 1) to investigate the pH effect on solubilization of phenanthrene by biosurfactant in aqueous system and 2) to evaluate the pH effect on the biodegradation rate of phenanthrene in the presence and the absence of the biosurfactant by phenanthrene degraders. Tween 80, which is a chemically synthesized surfactant, showed greater solubilizing capacity than rhamnolipid. The solubilization capacity can be expressed as a MSR(molar solubilization ratio=moles of organic compounds solubilized per mole of surfactant). The calculated MSR of Tween 80 and rhamnolipid were 0.1449 and 0.0425 respectively. The kinetic study of phenanthrene solubilization by rhamnolipid showed that solubilization mechanism could reach equilibrium within 24 hours. Addition of 240 ppm rhamnolipid solution, which concentration is 4.3 times of Critical Micelle Concentration(CMC), caused 9 times solubility enhancement compared to water solubility. The highest solubilities were detected around a pH range of 4.5-5.5. Changes in apparent solubility with the changes in pH are possibly related to the fact that the rhamnolipid, an anionic surfactant, can form different structures depending on the pH. Two biodegradation experiments were performed in the absence and the presence of rhamnolipid, with the cell growth investigated using a spread plate method. The specific growth rates at pH 6 and 7 were higher than at the other pH, and the HPLC analysis data, for the total phenanthrene loss, confirmed the trends in the μ (specific growth rate) values. In presence of rhamnolipid, maximum μ values shifted from around pH 5 which showed maximum enhancement of solubility in the abiotic experiment, compared to the μ values obtained without the biosurfactant. In this study, the increase in the observed specific grow rate(1.44 times) was not as high as the increase in solubilization(5 times). This was supported by the fact all the solubilized phenanthrene is not bioavailable to microorganisms.

Key words : Biosurfactant; pH; Solubilization; Biodegradation; Phenanthrene

본 연구에서는 생물계면활성제와 비이온계 계면활성제 용액의 pH 변화가 phenanthrene의 용해도 증가에 미치는 영향을 수용액 시스템에서 조사하고자 하였으며, PAHs-분해균주가 phenanthrene을 분해할 경우 이러한 용해도의 변화가 분해균주의 활성과 전체 분해율에 주는 영향을 파악하고자 하였다. 생물계면활성제 rhamnolipid와 비이온계 합성계면활성제 Tween 80의 phenanthrene에 대한 solubilization capacity를 조사하기 위한 회분식 실험의 결과 MSR (Molar Solubilization Ratio)은 각각 0.0425와 0.1449로 나타났으며, 생물계면활성제 첨가로 인한 phenanthrene solubilization 기작이 평형에 도달하기 위한 시간은 24시간 정도로 나타났다. 임계마이셀 농도의 약 4.3배에 해당하는 240 ppm의 생물계면활성제를 첨가하였을 경우, 증류수만을 첨가하였을 경우 용해도보다 약 9배 이상 phenanthrene의 용해도가 증가하였다. 또한, 생물계면활성제의 pH 변화가 phenanthrene solubility에 주는 영향을 살펴본 결과, 가장 높은 용해도를 나타낸 pH는 240 ppm과 2000 ppm의 생물계면활성제를 첨가한 경우 모두 pH 범위 4.5-5.5로 나타났다. 이는 rhamnolipid의 친수성 부분의 음전하 세기가 pH에 따라 달라지는 현상에 기인한 것으로 보여진다. 생물계면활성제가 존재하지 않는 조건에서, pH의 변화가 phenanthrene 분해균주인 CRE7의 생장률과 분해능에 주는 영향을 조사한 결과, 최대 비성장률은 pH 6에서 나타났지만, pH 5-7 범위에서 크게 변화하지 않았다. 이러한 비성장률의 차

*Corresponding author: kwkim@kjist.ac.kr

이가 분해능에 미치는 영향을 확인한 결과, 높은 비성장률은 결과적으로 높은 분해율을 나타내는 것으로 보여졌다. 생물계면활성제를 첨가한 경우, 생물계면활성제를 첨가하지 않은 실험결과에 비교해 볼 때, pH 4를 제외하고 전체적으로 비성장률이 증가한 경향을 보였으며, 전체 분해율도 증가하는 추세를 나타내었다. 생물계면활성제의 첨가로 인해 pH 5에서의 비성장률은 첨가하지 않았을 경우에 비해 약 1.5배 증가하였으며, 이는 생물계면활성제가 phenanthrene의 용해도를 pH 5에서 약 5배이상 증가시킨 것과 비교하여 볼 때, 그 증가폭이 적다고 할 수 있다. 이러한 결과는 생물계면활성제의 첨가로 인해 마이셀 구조안으로 용해되어진 phenanthrene의 경우 분해균주의 접근이 용이하지 않아 분해되기 어렵다는 것을 말해주며, pH에 따라 나타나는 서로 다른 구조의 phenanthrene-rhamnolipid의 집합체는 생물학적 이용도 또한 달라질 수 있음을 의미한다.

주요어 : 생물계면활성제, 용해도, 생분해, 다핵방향족탄화수소

1. 서 론

토양내에 강하게 흡착되어진 소수성 유기물질인 다핵방향족탄화수소(Polynuclear Aromatic Hydrocarbons; 이하 PAHs)는 낮은 농도에서도 독성이 강하며 발암성을 가지고 있는 대표적인 환경오염 물질로 알려져 있고, 특히 비교적 분자량이 작은 PAHs가 디젤과 같은 오염 물질에서 많이 발견되어 진다(Jacob, 1996; Kurt *et al.*, 1993; Wilson and Jones, 1993). 대표적인 PAHs는 naphthalene, phenanthrene, fluoranthene, pyrene 등이며, 이러한 유기오염 물질들은 강한 소수성으로 인해 토양환경으로 유입되었을 때 토양 입자에 강하게 흡착되어진 상태로 존재하게 된다(Karichoff, 1984; Edward *et al.*, 1991).

PAHs로 오염된 토양을 복원할 경우, 대부분의 생화학적 복원공정이 오염물질의 탈착과 수용액상으로의 물질전달을 필요로 하므로, 용해도가 낮은 PAHs의 제거 효율은 매우 낮아지게 된다(Shonali and Richard, 1992; Josee *et al.*, 1997). 따라서, 오염물의 용해도를 증가시키기 위해 계면활성제를 첨가제로 사용하는 기법이 적용되어질 수 있으며, 최근엔 미생물에 의해서 생산되어진 생물계면활성제가 생물학적으로 분해가 쉬운 형태이며 무독성이거나 독성이 적어 생태학적 측면에서도 선호되어지고 있다(Shoham *et al.*, 1983; Zajic *et al.*, 1997).

현재까지는 계면활성제가 첨가제로 사용되었을 경우 그 영향은 부정적이거나 효과적인 결과가 서로 상충되는 상황이며, 미생물에 미치는 독성과 관련되어지는 계면활성제의 구조나 물리화학적 특성 규명에는 아직까지도 많은 연구가 필요한 실정이다(Goudar *et al.*, 1999; Tiehm *et al.*, 1997). 계면활성제의 첨가가 생분해도를 증가시키는 것으로 보여지는 경우에도, 그 분해과정에 있어서의 역할은 아직 명확하지 않다. 예를

들어, 계면활성제와 오염물질간의 경쟁분해(substrate competition), 계면활성제 그 자체의 토양 미생물군에 대한 독성 등으로 인해 저해 효과가 나타날 수 있으며, 이러한 관점에서 볼 때, 계면활성제와 오염물질, 그리고 미생물간의 상호영향을 명확히 밝히는 연구가 요구되어진 다(Laha and Luthy, 1991; Tiehm, 1994).

대부분의 생물계면활성제는 음이온계 계면활성제이며 pKa 값은 5.6 정도로 나타난다. 용액의 pH가 변화함에 따라 생물계면활성제가 임계 마이셀 농도 이상으로 존재할 때 수용액상에서의 그 구조와 크기가 변화할 수 있으며 그 형태에 따라 유기오염물질의 용해도 향상과 생물학적 분해에 미칠 수 있는 영향은 다르다(Champion *et al.*, 1995, Ishigami *et al.*, 1987). 그러나, 이러한 생물계면활성제의 형태변화가 생물학적 처리기법(bioremediation)을 적용하는데 있어 유기물질의 생물학적 분해율(biodegradation rate)에 주는 영향과 생물계면활성제가 토양내로 유입된 후에 어떻게 변화되는지에 관해서는 국내외적으로 아직 규명되지 않았다.

본 연구에서는 생물계면활성제 용액의 pH 변화가 phenanthrene의 용해도 증가에 미치는 영향을 수용액상 시스템에서 조사하고자 하며, PAHs-분해균주를 이용하여 phenanthrene을 분해할 경우 이러한 용해도의 변화가 분해균주의 활성과 전체 분해율에 주는 영향을 파악하고자 한다.

2. 연구방법

2.1. 계면활성제 및 분해균주

본 연구에서는 대표적인 생물계면활성제인 rhamnolipid를 사용하였으며, 이는 *Pseudomonas aeruginosa*에 의해 생성되어진 계면활성제이다. 이러한 rhamnolipid의 임계마이셀 농도(Critical Micelle Concentration,

CMC)는 0.1 mM 정도이며(Bai *et al.*, 1998), Jeneil Biosurfactant Company(WI, USA)에서 구입하여 사용하였다. 분해균주의 성장률을 측정하기 위해 사용한 R2Q agar는 Difco Laboratories(MI, USA)에서, 그 외의 화학물질(phenanthrene, chloroform, methanol, acetonitril, water etc.)은 Aldrich Chemical Co. (WI, USA)과 Fisher Scientific Co. (PA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

Phenanthrene의 분해균주는 *Pseudomonas putida* CRE7을 사용하였으며, 이는 University of Arizona에서 기증받아 사용하였다. 이 균주는 기존의 연구에 따르면, 생물계면활성제를 생성하거나, 탄소원으로 이용하지 않는 것으로 알려져 있다(Zhang *et al.*, 1997).

2.2. Solubilization of phenanthrene

생물계면활성제로 인한 phenanthrene solubilization 기작이 평형에 도달하는 시간을 확인하기 위해, 플라스크를 이용한 회분식 실험을 실시하였다. 유기용매인 chloroform에 일정량의 phenanthrene을 첨가한 후 이 용액을 125 ml flask의 내부에 주입함으로써 phenanthrene layer가 생성되도록 하였다(Zhang *et al.*, 1997). 용매가 휘발되도록 일정시간 방치한 후 30 ppm과 240 ppm rhamnolipid 용액 20 ml와 반응하게 한 후 일정 시간 간격으로 수용액상으로 용해되어 나온 phenanthrene의 농도를 측정하였다.

대표적인 생물계면활성제인 rhamnolipid와 비이온계 계면활성제인 Tween 80의 phenanthrene에 대한 solubilization capacity를 조사하기 위해서 다양한 농도의 계면활성제 용액을 제조하였다. 용액 20 ml와 100 mg의 phenanthrene을 45 ml centrifuge tubes에 주입 후 orbital shaker에서 48 hr 동안 반응시켰다. 교반 종료 후 4000 rpm에서 10분 동안 원심분리 후 상등액 내로 용해되어진 phenanthrene의 양을 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 분석하였다. 또한, pH 변화가 phenanthrene의 solubilization에 미치는 영향을 조사하기 위해서는 240 ppm과 2000 ppm의 rhamnolipid 용액을 제조 후, NaOH와 HCl을 이용하여 용액의 pH를 4~7.5로 조절하여 20 ml씩 주입하였다. 이러한 실험은 centrifuge vial과 플라스크를 이용하여 동시에 실시하였으며, 플라스크를 이용한 실험은 생분해 실험에 적용되어질 농도인 240 ppm의 rhamnolipid 용액에만 적용되었다.

2.3. Biodegradation of phenanthrene

Phenanthrene의 생분해를 실험에서는 두 가지 항목을 조사하였다. 유일 탄소원으로서의 phenanthrene 이용 정도를 알아보기 위해 전체 분해 정도를 측정하였고, phenanthrene을 이용하는 균주의 성장률(growth rate)을 조사하기 위해 표면평판법(spread plate count)을 이용하여 균주 개체수를 측정하였다. 용해기작의 평형 시간을 측정한 실험과 같은 방법으로 플라스크 내에 phenanthrene layer를 만들고, NaOH와 HCl을 이용하여 rhamnolipid를 포함한 또는 포함하지 않은 Mineral Salt Medium(MSM)(Zhang *et al.*, 1997)의 pH를 4~8로 조절 후 20 ml 씩 주입하였다. 균주는 미리 배양한 후, 초기 개체수가 10^6 cfu/ml 정도가 되도록 집중하였고, 150 rpm, 25°C 조건에서 5일 동안 배양하였다. 성장속도를 관찰하기 위해서 일정시간 간격으로 샘플을 채취하여 standard method(APHA *et al.*, 1992)에 따라 표면평판법을 실시하여 개체수를 관찰하였다. Phenanthrene의 전체 분해율은 5일 배양한 용액에 40 ml의 chloroform을 첨가하여 liquid-liquid extraction 후 chloroform 층으로 이동한 phenanthrene의 양을 HPLC를 이용하여 분석하였다. HPLC 분석은 35% water와 65% acetonitrile을 mobile phase로 이용하였고 1 ml/min으로 주입, UV detector를 이용하여 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

대표적인 생물계면활성제 rhamnolipid와 널리 이용되어지고 있는 비이온계 합성계면활성제 Tween 80의 phenanthrene에 대한 solubilization capacity를 알아보기 위한 회분식 실험의 결과 MSR은 각각 0.0425와 0.1449로 나타났다(Fig. 1). 이러한 rhamnolipid의 MSR

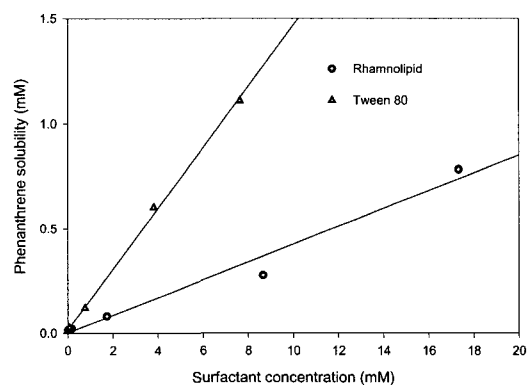


Fig. 1. Solubility of phenanthrene in Tween 80 and rhamnolipid solution.

값은 기존의 연구에서 밝혀진 0.021~0.057 범위에 속하는 값이다(Zhang *et al.*, 1997).

생물계면활성제 첨가로 인한 phenanthrene solubilization 기작이 평형에 도달하기 위한 시간을 살펴본 결과 24시간 정도에 평형에 도달하는 것으로 나타났다. 임계미셀 농도 이하인 30 ppm의 rhamnolipid를 첨가한 경우, 증류수를 첨가한 샘플과 유사한 농도인 1.3~2.3 ppm 정도의 phenanthrene 만이 용해되었다. CMC인 0.1 mM의 4.3배에 해당하는 240 ppm의 rhamnolipid를 첨가한 경우, phenanthrene의 용해도가 9.7까지 약 9배 이상 증가하는 결과를 나타내었다(Fig. 2). 이러한 평형 실험 결과를 바탕으로, 이후 진행되어진 solubilization 실험들은 48시간 반응시킨 후 용해도를 측정하였다.

Rhamnolipid solution의 pH 변화가 phenanthrene solubility에 주는 영향은 두 가지 방법으로 측정되었다. 다양한 pH에서의 용해도를 centrifuge vial과 플라스크를 이용하여 측정하였는데 vial을 이용한 실험결과, 가장 높은 용해도를 나타낸 pH는 240 ppm과 2000 ppm 경

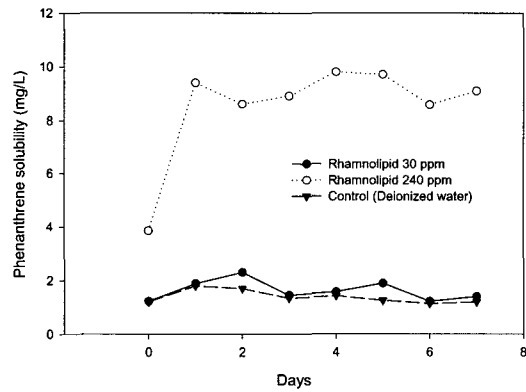


Fig. 2. The Equilibrium time of phenanthrene solubilization in the presence of rhamnolipid.

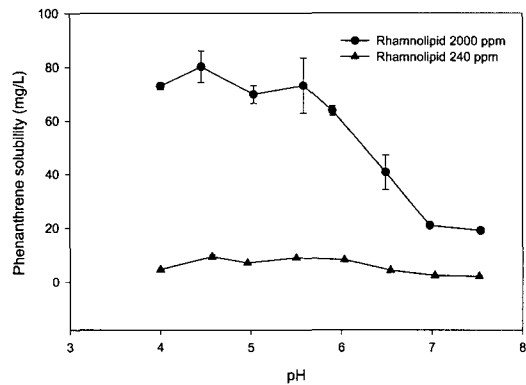


Fig. 3. The Effect of pH on phenanthrene solubility in the presence of rhamnolipid.

우 모두 pH 범위 4~4.5로 나타났다(Fig. 3). 이러한 pH에 따른 용해도의 변화 경향은 flask를 이용한 solubilization 실험에서도 나타나며(Fig. 4), 이는 생분해 실험조건에서도 pH 변화로 인한 용해도의 차이가 나타날 것을 예상할 수 있게 해준다. 두 가지 농도의 경우 모두 최대 용해도는 pH 7에서의 용해도에 비해 4배 정도로 증가하였으며, 이는 rhamnolipid의 친수성 부분의 음전하 세기가 pH에 따라 달라지는 현상에 기인한 것으로 보여진다(Ishigami *et al.*, 1987). Zhang and Miller (1992) 연구결과에 따르면, rhamnolipid는 pH 6 정도에서 lamella 또는 lipid 집합체와 같은 구조를 갖게 되며, pH 6.8 정도에서는 micelle 구조로 변화하게 된다고 한다. 그러나 Champion *et al.*(1995)의 연구 결과에 따르면, pH가 5.5에서 8까지 증가함에 따라, rhamnolipid의 구조는 큰 lamellar sheet에서, vesicle과 micelle구조로 변화한다. 본 실험결과와 기존의 rhamnolipid 구조와 관련된 보고를 고려해 볼 때, rhamnolipid의 phenanthrene에 대한 solubilization capacity는 그 구조가 lamellar, vesicle, micelle로 변화함에 따라 감소하는 것으로 보여진다. 용해 실험 결과, pH 변화로 인한 서로 다른 구조의 생물계면활성제 집합체는 용해능력에서도 큰 차이를 보였으며, 이는 생물학적 이용도(bio-availability)에서도 다른 영향을 줄 것으로 예상된다.

생물계면활성제와 같은 첨가제가 존재하지 않는 조건에서, pH의 변화가 phenanthrene 분해균주인 CRE 7의 성장률과 분해능에 주는 영향을 조사하였다. 분해균주의 성장곡선을 pH에 따라 조사하고, 대수기(exponential phase)의 개체수 변화를 linear regression한 결과로부터 비성장률(specific growth rate)을 계산하였다(Table 1). 최대 비성장률은 pH 6에서 나타났지만, pH 5-7 범위에서 크게 변화하지 않았다. 이러한 비성

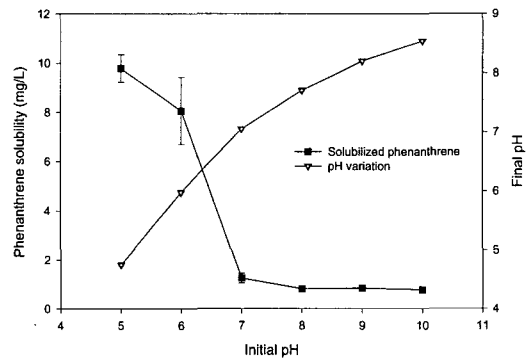


Fig. 4. The Effect of pH on phenanthrene solubility and pH variation during the solubilization by rhamnolipid solution in flask system. (Concentration of rhamnolipid=240 ppm)

Table 1. Specific growth rate in absence of biosurfactant.

pH	4	5	6	7	8
μ^a	0.0895	0.1107	0.116	0.111	0.103
R^b	0.78	0.977	0.961	0.88	0.94

^aspecific growth rate(1/hr)

^bcoefficient of correlation for ordinary linear regression through the exponential phase data

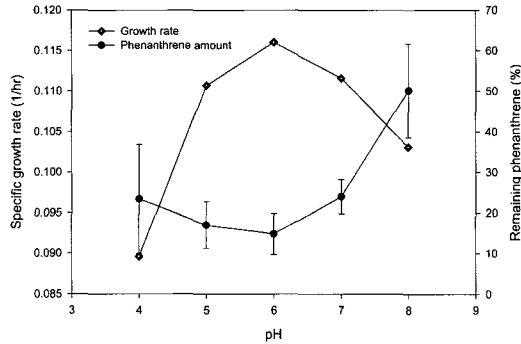


Fig. 5. The Effect of pH on biodegradation of phenanthrene by CRE7 and the growth rate of CRE7 in the absence of rhamnolipid.

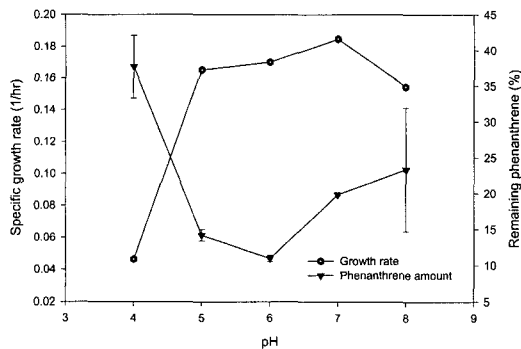


Fig. 6. The Effect of pH on biodegradation of phenanthrene by CRE7 and the growth rate of CRE7 in the presence of rhamnolipid.

장률의 차이가 분해능에 미치는 영향을 확인한 결과, 높은 비성장률은 결과적으로 높은 분해율을 나타내는 것으로 보여졌다(Fig. 5).

생물계면활성제를 첨가한 경우 pH의 변화가 phenanthrene 생분해에 미치는 영향은 Fig. 6에 보여진다. 생물계면활성제를 첨가하지 않은 실험과 같은 방법으로 비성장률을 계산한 결과 pH 4를 제외하고 전체적으로 증가한 경향을 보였으며(Table 2), 전체 분해율도 증가하는 추세를 나타내었다. 첨가제가 존재하지 않았던 분해 실험과는 달리, 최대 비성장률을 나타낸 pH 값은 선행된 용해 실험에서 가장 높은 용해도 값을 가졌던 pH 5로 이동하였다. 생물계면활성제를 첨가한 생

Table 2. Specific growth rate in presence of biosurfactant.

pH	4	5	6	7	8
μ^a	0.0463	0.1652	0.17	0.1848	0.1545
R^b	0.92	0.90	0.93	0.94	0.92

^aspecific growth rate(1/hr)

^bcoefficient of correlation for ordinary linear regression through the exponential phase data

분해 실험에서도, 5일 배양후의 전체 phenanthrene 분해율을 측정된 결과, 가장 높은 비성장률을 나타낸 pH 5에서 가장 높은 분해율을 보였다. Zhang *et al.*(1997)의 연구 결과에 의하면, 계면활성제의 첨가가 소수성 유기물질의 탈착과 용해도는 크게 향상시키지만, 분해능 또는 생물학적 이용도는 좀더 완만하게 증가시킨다고 알려져 있다. 본 연구에서도 pH 5의 경우 생물계면활성제의 첨가로 인해 phenanthrene의 용해도는 MSM만을 첨가하였을 때보다 5배 이상 증가하였지만, 비성장률의 증가는 1.5배 정도이다. 이러한 결과는 생물계면활성제의 첨가로 인해 마이셀 구조안으로 용해되어진 phenanthrene의 경우 분해균주의 접근이 용이하지 않아 분해되기 어렵다는 것을 말해주며, pH에 따라 나타나는 서로 다른 구조의 phenanthrene-rhamnolipid의 집합체는 생물학적 이용도 또한 달라질 수 있음을 의미한다.

4. 요약 및 결론

독성 유기오염 물질인 PAHs는 토양환경으로 유입되었을 때 토양 입자에 강하게 흡착되어진 상태로 존재하게 되며, PAHs로 오염된 토양을 복원할 경우, 용해도가 낮은 PAHs의 제거 효율은 매우 낮아지게 된다. 최근엔 오염물의 용해도를 증가시키기 위해, 생분해도가 높은 생물계면활성제의 첨가하고자 하는 연구가 행해지고 있다. 본 연구결과에 따르면, 생물계면활성제 용액의 pH 변화가 phenanthrene solubility의 변화에 크게 영향을 주는 인자이며, 이는 실제 토양에서의 제거효율이 pH 변화에 따라 차이를 나타낼 수 있음을 의미한다. 또한, pH에 따라 나타나는 서로 다른 구조의 phenanthrene-rhamnolipid의 집합체는 생물학적 이용도 또한 달라질 수 있음을 생분해 실험을 통하여 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 생물계면활성제인 rhamnolipid의 친수성 부분의 음전하 세기가 pH에 따라 달라지는 현상에 기인한 것으로 보여지며, 이를 저온 전자현미경을 이용한 분석이나, size 분포 조사를 통해 생물계면활성제의 구조를 확인하는 연구가 필요

하다고 판단된다.

참고문헌

- APHA, AWWA, and WEF. (1992) Standard method for the examination of water and wastewater, 18th edition. American public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation, Washington, D.C. p. 9/34-9/40.
- Bai, G.Y., Brusseau, M.L. and Miller, R.M. (1998) Influence of cation type, ionic strength, and pH on solubilization and mobilization of residual hydrocarbon by a biosurfactant. *J. of Cont. Hydrol.* v. 30, p. 265-279.
- Champion, J.T., Gilery, J.C. Lamparski, H. Petterer, J. and Miller, R.M. (1995) Electron microscopy of rhamnolipid (biosurfactant) morphology: Effect of pH, cadmium, and octadecane. *J. of Colloid and Interface Science.* v. 170, p. 569-574.
- Edward, D.A., Richard, G.L. and Zhongbao, L. (1991) Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactant solutions. *Environ. Sci. Technol.* v. 25, p. 127-131.
- Goudar, C., Strevett, K. and Grego, J. (1999). Competitive substrate biodegradation during surfactant-enhanced remediation. *J. of Environ. Eng.* December, p. 1142-1148.
- Ishigami, Y., Gama, Y. and Nagahora, H. (1987) The pH-sensitive conversion of molecular aggregated of rhamnolipid biosurfactant. *Chemistry Letters.* v. 5, p. 763-766.
- Jacob, J. (1996) The significance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens. *Pure & Appl. Chem.* v. 68, p. 301-303.
- Josee, F., William, A.J. and Michael, A.A. (1997) Enhanced removal of trapped non-aqueous phase liquids from saturated soil using surfactants solutions. *J. Cont. Hydrol.* v. 24, p. 247-252.
- Karichoff, S.W. (1984) Organic pollutant sorption in aquatic systems. *J. Hydraulic Chem.* v. 110, p. 707-713.
- Kurt, D.P., Linda, M.A. and Walter, J.W. (1993) Enhanced octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipid surfactant (biosurfactant). *Environ. Sci. Technol.* v. 27, p. 2332-2340.
- Laha, S. and Luthy, R.G. (1991) Inhibition of phenanthrene mineralization by nonionic surfactants in soil-water systems. *Environ. Sci. Technol.* v. 25, p. 1920-1930.
- Shoham, Y., Rosenberg, M. and Rosenberg, E. (1983) Bacterial degradation of emulsan. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 46, p. 573-579.
- Shonali, L. and Richard, G.L. (1992) Effects of nonionic surfactants on the solubilization and mineralization of phenanthrene in soil-water systems. *Biotechnol. Bioeng.* v. 40, p. 1367-1372.
- Tiehm, A. (1994) Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons in the presence of synthetic surfactants. *Appl. Environ. Microbiol.* v. 60, p. 258-263.
- Tiehm, A., Stiever, M. Werner, P. and Frimmel, F.H. (1997) Surfactant-Enhanced mobilization and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in manufactures gas plant soil. *Environ. Sci. Technol.* v. 31, p. 2560-2576.
- Wilson, S.C. and Jones, K.C. (1993) Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environ. pollut.* v. 80, p. 229-249.
- Zajic, J.E., Guignard, H. and Gerson, D.F. (1997) Emulsifying and surface active agents from *Corynebacterium hydrocarbocalstus*. *Biotechnol. Bioeng.* v. 19, p. 1258-1301.
- Zhang, Y. and Miller, R. (1992) Enhanced octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipid surfactant (biosurfactant). *Appl. Environ. Microbiol.* v. 58, p. 3276-3282.
- Zhang, Y., Maier, W.J. and Miller, R. (1997) Effect of rhamnolipid on the dissolution, bioavailability, and biodegradation of phenanthrene. *Environ. Sci. Technol.*, v. 31, p. 2211-2217.

2003년 5월 22일 원고접수, 2003년 10월 11일 게재승인.