Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 20, No. 4, 477-482 (1992)

*Acinetobacter calcoaceticus*에 의한 유지와 탄화수소의 분해

고정삼* · 고영환[1] · 김권수 · 양상호[2] · 강경수[1]
제주대학교 농화학과, [1]식품공학과, [2]공동실험실습관

Degradation of Fats, Oils and Hydrocarbons by *Acinetobacter calcoaceticus*

Koh, Jeong-Sam*, Young-Hwan Ko[1], Gwon-Su Kim, Sang-Ho Yang[2] and Kyung-Soo Kang[1]
Dept. of Agricultural Chemistry, [1]Dept. of Food Science and Technology, [2]Research Instrument Center, Cheju National University, Cheju 690-756, Korea

Abstract — A bacterial strain *Acinetobacter calcoaceticus* was examined for its ability to degrade fats, oils and hydrocarbons, and tested for the possibility of application in wastewater treatment. All fats and oils tested were degraded by the strain. About 60% of hexadecane, 26% of fish oil, and 40~54% of vegetable oils were consumed respectively in shaking-flask culture. Saturated fatty acid compositions were about 55% in fish oil and 6~12% in vegetable oils. Increases in cell mass were accompanied with decreases in the concentrations of carbon sources. When jar fermentor in place of shaking-flask was used as a culturing vessel, above 80% of all carbon sources was consumed and yield of cell mass was improved to nearly 1.00. Synthetic wastewaters containing 3% of fat, oil, or hydrocarbon as a sole carbon source were treated sequentially with *A. calcoaceticus* first and then exposed to activated sludge. The concentrations of carbon sources were decreased below 0.06% through the process, and the concentrations of suspended solids were lower than 53 mg/ml. The data imply the potential use of *A. calcoaceticus* in wastewater treatment.

세계적으로 팜유, 대두유를 비롯한 천연유지는 미생물을 이용한 유용물질 및 단세포 단백질의 생산에 이용되어 왔다(1-11). 한편으로는 생활하수 및 식품공장이나 축산물 처리장의 폐수 등에는 다량의 유지성분이 함유되어 있어, 효과적인 제거방법이 검토되어야 할 시점에 있다고 생각된다.

탄화수소도 원유 사용량의 증가와 함께 주변환경을 오염시키는 물질로 대두되었다. 탄화수소의 미생물에 의한 생분해 과정은 그의 조성과 구조의 다양성으로 인하여, 특정 미생물이 분해할 수 있는 탄화수소의 범위는 제한되어 있어 여러 종류의 미생물을 혼합배양하는 것이 폐수 중의 탄화수소를 제거하는 효과적인 방법이라고 볼 수 있다(12). 유지를 구성하는 지방산의 분해와 탄화수소의 분해기작 중에 공통점이 있다는 점을 고려한다면 탄화수소와 유지를 동시에 분해할 수 있는 미생물의 존재도 고려해 볼 수 있다. 유지나 탄화수소는 소수성 물질로서 물 중에 분산이 잘되지 않고 덩어리를 이룬다고 볼적에 미생물이 이들을 효과적으로 분해시키기 위해서는 계면활성이 있는 물질을 분비하거나(13, 14), 세포의 체외구조상에 독특한 구조를 갖고 있어야 되리라 생각된다.

폐수를 정화하는 방법 중 활성오니법은 주로 세균과 원생동물인 여러 종류의 미생물이 상호 유기적으로 작용하여 유기물이 탄산가스와 물로 분해되도록 하고 균체 및 기타 부유물질들은 침강시킨 후에 청정한 상등액을 방류시키는 방법이다(15). 본 연구에서는 *Acinetobacter calcoaceticus*에 의한 유지와 탄화수소의 분해정도를 규명하고, 활성오니법에 의한 폐수의 정화공정에 이 균주의 활용가능성을 검토하였다.

Key words: *Acinetobacter calcoaceticus*, degradation, fats, oils, hydrocarbons wastewater treatment
*Corresponding author

재료 및 방법

미생물 균주

Table 1. Medium composition for the growth of *Acinetobacter calcoaceticus*

Components	Concentration (%, w/v)	Components	Concentration (%, w/v)
Carbon source*	1.0~3.0	$(NH_4)_2SO_4$	0.6
KH_2PO_4	0.4	Na_2HPO_4	0.6
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.001
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001	Corn steep liquor	0.01~0.10
Tween 20	0.2	Agar as needed	1.5

*Fat, oil, hydrocarbon, or mixture of those was used as a carbon source.

Koh(5)에 의해서 분리 동정된 *Acinetobacter calcoaceticus*를 유지와 탄화수소의 분해 실험에 사용하였고, *Bacillus cereus, Rhizobium fredii*, 그리고 *Zoogloea ramigera*는 활성오니를 만드는데 사용하였다.

배지

*A. calcoaceticus*의 기본배지 조성은 Table 1과 같으며, *R. fredii*는 mannitol-glutamate 배지(16), 그리고 *B. cereus*와 *Z. ramigera*는 nutrient agar(또는 broth) 배지를 각각 사용하였다. 배양온도는 *A. calcoaceticus*에 대해서 39℃, 나머지 균주에 대해서는 28℃ 였다.

배양

유지나 탄화수소의 분해 실험은 회분배양 방식으로 삼각 플라스크와 발효조를 사용하였다. 플라스크 배양의 경우 100 m*l* 삼각 플라스크에 배지 10 m*l*(pH 7.0)를 가하여 일정시간 진탕배양한 후 탄소원의 분해정도를 측정하였고, 발효조 배양은 2*l* jar fermentor(MB-C, Iwashiya, 일본)에 배지 1*l*를 넣고, 통기와 교반을 각각 1.0 vvm과 1000 rpm으로 하였다. 전배양액(preculture)을 5% 수준으로 접종하여 일정시간 동안 배양한 후 탄소원의 분해정도를 측정하였다. 배양 중의 pH를 6.8로 유지하기 위하여 5% NaOH를 사용하였다.

균체농도의 측정

배양액 중의 균체 농도는 흡광광도계로 탁도를 읽은 후, 표준곡선으로부터 환산하였다. 유지 및 탄화수소가 소수성인 점을 고려하여 다음과 같은 방법을 사용하였다. 즉, 1 m*l*의 배양액에 증류수 5 m*l*를 가하여 6배로 희석한 후, 희석액 1 m*l*에 dioxane과 ethylacetate의 혼합용매(3 : 2) 5 m*l*를 가하여 균질하게 섞은 후 560 nm에서 흡광도를 읽었다. 표준곡선은 일정량의 균체를 사용하여 상기와 같은 방법으로 흡광도를 읽음으로써 구하였다.

유지와 탄화수소의 농도측정

배양전후의 유지 및 탄화수소의 농도를 측정하기 위하여 Bligh-Dyer법(17)을 다음과 같이 변형하여 사용하였다. 균체 배양액 5 m*l*에 methanol과 chloroform 혼합액(2.45 : 1.21) 18.3 m*l*를 가해서 혼합한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리 후 용매층을 취하여 여기에 12.1 m*l*의 물과 chloroform 혼합액(1.21 : 1.21)을 섞고, 위와 같이 원심분리를 반복하여 용매층을 취하고 질소가스하에서 용매를 휘발시킨 후 105℃에서 건조시켜 중량을 측정하였다.

지방산 조성 분석

시료에 3% HCl-methanol를 가하여 95℃에서 2시간 동안 메칠화(methylation)시키고, petroleum ether로 용해시킨 후 이를 여과하여 시료로 사용하였다. FFAP capillary column(ID 2.22 mm, 25 m)을 사용하여 GC(Pye Unicam 304, 영국)로 지방산을 분석하였다. 분석조건은 시료 0.5 μ*l*를 주입하고, 5℃/min 속도로 180℃까지 온도를 상승시켜 FID로 검출하였고, 표준지방산을 같은 방법으로 분석한 후 비교하여 시료의 지방산 조성을 계산하였다.

폐수정화

*A. calcoaceticus*의 폐수정화 공정에의 이용 가능성을 조사하기 위하여 인위적으로 Table 1과 같은 조성의 폐수를 만들었다. 유지 또는 탄화수소를 함유하는 합성폐수를 1차적으로 *A. calcoaceticus*로 분해한 다음, 2차적으로 그 배양액을 정화하는 2단계 처리법을 시도하였다. 실험에 사용된 폐수처리 장치는 활성오니법(15)에 근거하여 제작한 것으로 폭기조(10*l*)와 1차 침전조(5*l*), 그리고 2차 침전조(5*l*)로 구성

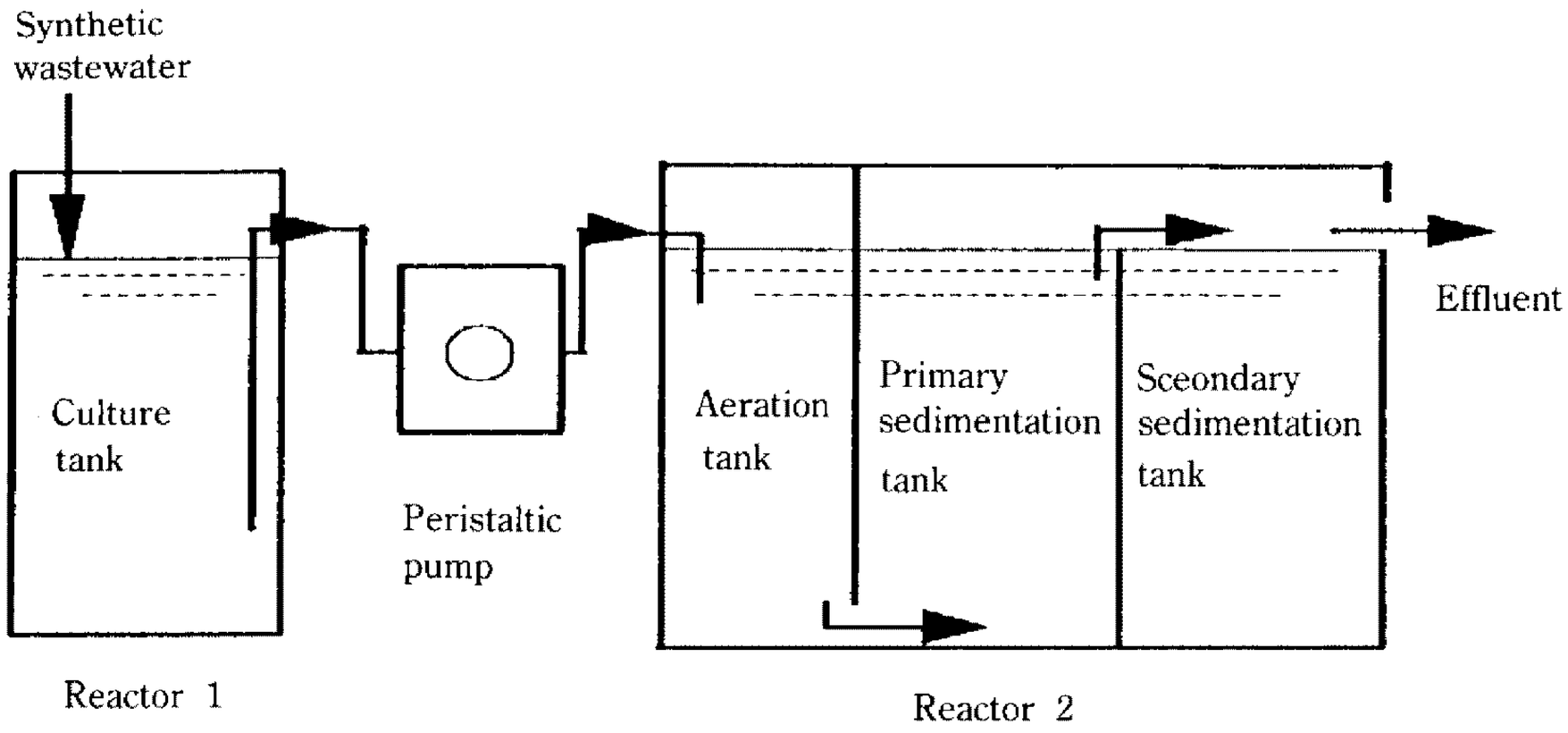

Fig. 1. Scheme of the process for the wastewater treatment.

되어 있으며(Fig. 1), pH 6.0~7.0, 15℃ 내외에서 한달 이상 예비 가동하여 sludge의 생성을 유도하고 유지 및 탄화수소 배양액을 지속적으로 첨가시켜, sludge의 환경 적응을 유도하였다. Sludge의 주요 구성 미생물로는 *R. fredii, B. cereus, Z. ramigera* 등의 세균을 사용하였다. 폐수정화 효과를 보기 위해서 *A. calcoaceticus* 24시간 배양액을 연속적으로 통과시켜(0.2 *l*/hr) 나오는 유출수 중의 부유물질(SS) 및 유지 또는 탄화수소의 농도를 측정하였다.

부유물질(suspended solid)의 측정

폐수 중의 부유물질은 환경오염공정시험법(18)에 따라 시료를 유리섬유(GF/C, Whatman)로 여과하고, 여과 전후의 여지 무게차로부터 부유물질의 함량을 산출하였다.

결과 및 고찰

*A. calcoaceticus*에 의한 유지 및 탄화수소의 분해특성

*A. calcoaceticus*에 의한 유지 및 탄화수소의 분해 및 자화특성을 조사하기 위하여 48시간 삼각 플라스크 진탕배양을 실시한 결과는 Table 2와 같다. 각각의 유지 및 탄화수소를 유일한 탄소원으로 하여 상기 균주를 배양한 결과 탄소원 농도의 감소 및 균체량의 증가를 나타내었다. 탄소원의 분해정도는 어유와 tetradecane을 제외하고 40~60%로 비교적 차이가 없으며, tetradecane의 분해율이 95.44%로 매우 높게 나타난 것은 배양온도가 39℃로 기질 일부가 휘발되어 손실되었기 때문으로 생각된다. 그리고 어유는 다른 식물성 유지에 비하여 분해정도가 매우 낮게 나타났다. 이는 실험에 사용한 식물성 유지 모두가 불포화지방산을 다량으로 함유하고 있는 반면에 어유는 포화지방산을 다량 함유하고 있어서(Table 3) *A. calcoaceticus*에 의한 분해가 어렵기 때문이라고 생각된다. 지금까지 보고된 유지 자화균은 천연유지를 기질로 하였을 경우 지방산이 분해되면서 생기는 불포화지방산을 우선적으로 자화한다고 하였다(5, 7, 9, 10).

진탕배양에 따른 문제점으로 배양 중의 pH 변화 및 산소공급의 불충분을 들 수가 있는데, *A. calcoaceticus*가 pH 변화에 매우 민감하며 호기성 세균인 점(5)을 고려한다면 이로 인하여 생육이 저해되었을 것으로 보인다. 따라서 jar fermentor를 이용하여 배양한 결과(Table 4), 탄소원으로 이용된 모든 유지 및 탄화수소의 분해율이 80% 이상이었고, 균체수율 또한 1.0 g cell/g substrate에 가까웠다. 이는 진탕배양에서 얻은 분해율과 균체수율(Table 2)에 비하면 상당히 높았다. 더구나, 균체증식속도 또한 jar fermentor 배양에서가 진탕배양에서 보다 빠르게 나타났으며, 균체 수율이 1.0 g cell/g substrate에 가까운 것은 다른 세균들의 균체 수율에 비해서도 매우 높은 것으로 유지나 탄화수소를 기질로 하여 균체생산을 시도해 볼 수도 있다는 점을 시사하고 있다.

초기 기질농도가 균체의 생육 및 기질 탄소원의 분해에 영향을 주는 것으로 보이며, 이는 대사산물의 축적이나 배양액의 pH 변화 그리고 영양분의 균형 파괴 등에 기인할 수 있다. 탄소원의 농도를 1.3~1.6%에서 약 그 두배인 3.3~3.7%로 높였을 경우 탄소원의 분해이용은 다소 떨어지는 경향을 나타내었다

Table 2. Growth of *Acinetobacter calcoacticus* on various carbon sources in shaking-culture

Carbon source	Initial conc. (g/*l*)	Final conc. (g/*l*)	Substrate consumed (%)	Cell mass (g/*l*)	Cell yield (g celll/g substrate)
Sesame oil	15.45	7.50	51.46	5.00	0.63
Corn oil	15.24	8.70	42.91	4.73	0.72
Soybean oil	15.16	6.97	53.99	5.35	0.65
Rapeseed oil	16.00	9.48	40.78	5.93	0.91
Fish oil	16.15	11.95	26.00	3.39	0.81
Hexadecane	15.00	6.09	59.37	3.52	0.39
Tetradecane	15.35	0.70	95.44	2.03	0.14

Table 3. Fatty acid compositions of various oils (%)

Fatty acid	Soybean oil	Corn oil	Fish oil	Sesame oil	Rapeseed oil
14 : 0	0.17	–	3.86	–	–
16 : 0	11.73	8.09	49.22	6.26	5.74
18 : 0	–	–	1.96	–	–
18 : 1	26.58	22.44	27.31	49.35	35.53
18 : 2	54.69	69.47	–	42.97	25.11
18 : 3	6.35	–	–	0.36	12.23
Others	0.48	–	17.64	1.07	21.38

Table 4. Growth of *Acinetobacter calcoaceticus* on various carbon sources in a jar fermentor*

Carbon source (2%)	Cultivation time (hr)	Specific growth rate (hr^{-1})	Substrate consumed (%)	Cell yield (g cell/g substrate)
Crude palm olein	7	1.04	92.4	1.00
Crude palm stearin	7	1.04	81.8	1.07
Crude palm oil	8	1.02	86.5	0.97
Refined palm oil	8	1.07	91.0	1.03
Triolein	8	1.10	90.8	1.04
Soybean oil	7	1.04	88.4	1.01
Rapeseed oil	7	1.03	92.3	0.98
n-Hexadecane	24	0.27	84.0	1.10

*Each fermentation was carried out at pH 6.8 and 39℃. The cells were harvested at the stationary phase, and the final cell concentrations were 10~19 g/*l* (dry basis). Specific growth rate was determined during log phase of cell growth.

(Table 5).

유지의 분해능은 유지를 지방산과 글리세롤로 가수분해하는 효소의 존재 여부가 주요 결정인자라고 볼 수 있으며, 탄화수소의 분해능은 탄화수소의 골격에다 분자상의 산소를 도입해주는 산화효소의 존재여부가 주요 결정인자라고 생각된다. 본 실험에 사용한 *A. calcoaceticus*는 유지 가수분해효소인 리파제를 생산한다(9)고 함으로 유지를 지방산과 글리세롤로 가수분해한 다음에 지방산을 β-oxidation의 형태로 분해하면서도 포화지방산보다도 불포화지방산을 선호하는 것으로 생각된다. 그리고 alkane계 탄화수소를 유일한 탄소원으로 이용할 수 있는 것으로 보아 P_{450} monooxygenase도 생산되는 것으로 보인다(19). 즉, 호기적 조건하에서 분자상의 산소가 탄화수소에 도입되어야 하고, 산화가 더 진행되어 궁극적으로 탄산가스와 물로 분해되던지 세포구성분으로 동화될

Table 5. Effect of initial substrate concentration on the utilization of various carbon sources by *Acinetobacter calcoaceticus*

Carbon source	Initial concentration (g/*l*)	Final concentration (g/*l*)	Substrate consumed (%)
Soybean oil	13.50	7.57	43.93
	33.60	19.70	41.37
Corn oil	15.99	9.50	40.59
	33.70	22.30	33.83
Rapeseed oil	13.00	7.95	38.85
	37.00	26.50	28.38

Table 6. Treatment of synthetic wastewater with activated sludge*

Substrate	Substrate concentration (%)		Suspended solid (mg/m*l*)	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Palm oil	0.62	0.06	4,850	50
Rapeseed oil	0.67	0.02	2,290	20
Hexadecane	0.19	0.05	2,090	53
Tetradecane	0.21	0.01	1,730	17

*Synthetic wastewater containing 3% (w/v) of various carbon sources was inoculated with cells of *Acinetobacter calcoaceticus* and incubated at 39℃ for 24 hours with shaking prior to exposure to activated sludge.

수 있기 때문이다. 그러나 이 균주의 탄화수소 분해능은 aliphatic hydrocarbon인 alkane계 화합물에 대해서만 검정되었다. 따라서 이 균주의 효과적인 이용을 위해서는 aromatic, asphaltene, 그리고 resin 계통의 탄화수소에 대한 분해능도 검정이 되어야 할 것이다. 왜냐하면 aromatic hydrocarbon 등 구조상으로 다른 탄화수소들의 분해대사과정은 aliphatic hydrocarbon의 분해대사 과정과 달라서(19) 특정균주가 분해할 수 있는 탄화수소의 범위는 제한되어 있기 때문이다. 김 등에 의한 원유분해 미생물의 분리 연구에서도 alkane계 탄화수소에 대해서만 분해여부가 검정되었고(20), 그와 반면에, *Pseudomonas putida*를 이용한 탄화수소 분해 연구에서는 방향족 화합물에 한정된 실정이다(21).

폐수 정화 효과

유지 또는 탄화수소를 함유하고 있는 폐수를 정화시키기 위하여 *A. calcoaceticus*를 배양하였을 경우, 배양액 중의 균체 및 대사산물 등의 영향으로 탁도가 높고 부유물질의 함량이 높았다. 더구나, 배양액을 오랫동안 정치시켜두더라도 균체침전이 이루어지지 않았다. 그래서 *A. calcoaceticus*를 배양하여 1차적으로 유지성분을 분해시킨 다음, 2차적으로 활성오니법에 준하여 부유물질 및 잔존성분을 제거하는 2단계 정화법을 시도하였다. Table 1과 같은 조성의 합성폐수에 탄소원을 3.0%로 첨가하고 *A. calcoaceticus*를 24시간 진탕배양한 후 Fig. 1과 같은 공정으로 처리했을 때의 정화효과는 Table 6과 같다. 부유물질의 제거효과는 수질환경보전법 시행규칙 제8조에 의한 청정지역의 배출허용기준 50 mg/*l*에 근접하여 좋은 결과를 얻었다. 특히 제주지역은 청정지역으로 설정됨에 따라 농산물 가공공장의 폐기물 및 폐수, 어류양식장의 폐수 뿐만 아니라 평상시 냇가에 물이 흐르지 않아 도시의 생활하수 처리는 다른 지역에 비해 시급히 해결돼야 할 문제로 대두되고 있다. 그리고 처리전의 폐수 중의 유지 및 탄화수소의 농도가 처리전후에 비할 때 10배 정도 차이가 있음을 알 수 있다. 이는 *A. calcoaceticus*를 폐수처리 공정에 활용할 수 있음을 시사하고 있다.

요 약

유지와 탄화수소를 탄소원으로 하여 *Acinetobacter calcoaceticus*를 배양하여 탄소원의 분해와 균체의 생육정도를 측정하고 활성오니법을 이용한 폐수정화에 이 균주의 이용가능성을 검토하였다. 실험에 사용된 모든 유지와 탄화수소가 분해되었다. 삼각플라스크에 의한 진탕배양의 경우 분해율은 어유가 26%로 식물성

유지의 40~54%에 비하여 분해율이 낮게 나타났다. 포화지방산은 어유 중에는 약 55%, 식물성유지 중에는 6~12% 각각 함유되어 있었다. Hexadecane의 분해율은 약 60%로 식물성유지에 비하여 높게 나타났다. 탄소원의 분해에 따라 균체량의 증가가 관찰되었고, jar fermentor 배양에 의하면 모든 탄소원이 80% 이상 분해되었고 균체수율도 1.00% 내외로 개선되었다. 배양조건에 따라 탄소원의 분해율에 영향을 받는다고 볼 수 있으며, 이는 초기 기질농도가 기질 분해율에 영향을 준 결과에서도 증명되었다. 유지 또는 탄화수소를 3% 함유한 인공폐수를 *A. calcoaceticus*로 우선 분해시키고, 그 분해산물을 활성오니법에 의하여 정화를 시도한 결과 탄소원의 농도는 0.06% 이하로, 부유물질농도는 53 mg/m*l* 이하로 각각 저하되어 이 균주를 폐수정화에 이용할 수 있음을 시사하였다.

감사의 말

본 연구는 1990년도 교육부 지원 한국 학술진흥재단의 지방대학 육성과제 학술연구조성비에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드린다.

참고문헌

1. Anderson, R.F., E.G.M. Tornqvist and W.H. Peterson. 1956. Effect of oil in plant fermentation. *Agri. Food Chem.* **4**(6): 556-559.
2. Pan, S.C., S. Bonanno and G.H. Wagman. 1959. Efficient utilization of fatty oils as energy source in penicillin fermentation. *Appl. Microbiol.* **7**: 176-180.
3. Hottinger, H.H., T. Richardson, C.H. Amundson and D.A. Stuiber. 1974. Utilization of fish oil by *Candida lipolytica* and *Geotrichum candidum*. *J. Milk Food Technol.* **37**(9): 463-528.
4. Ikeno, Y., M. Masuda, K. Tanno, I. Oomori and Takahashi. 1975. Citric acid production from various raw materials by yeasts. *J. Ferment. Technol.* **53**(10): 752-756.
5. Koh, J.S., T. Yamakawa, T. Kodama and Y. Minoda. 1985. Rapid and dense culture of *Acinetobacter calcoaceticus* on palm oil. *Agri. Biol. Chem.* **49**(5): 1411-1416.
6. Koh, J.S., T. Yamakawa, T. Kodama and Y. Minoda. 1987. Cell mass production of *Acinetobacter calcoaceticus* in palm oil-limiting chemostat culture. *J. Ferment. Technol.* **65**(2): 229-232.
7. Koh, J.S. 1985. Natural oils and fats as fermentation sources. *Subtrop. Agri. Cheju Natl. Univ.* **2**: 149-161.
8. Koh, J.S. 1986. Estimation of biomass concentration for palm oil fermentation. *Cheju Natl. Univ. J.* **22**: 51-56.
9. Koh, J.S. 1986. Properties of lipases and palm oil assimilating patterns in palm oil fermentation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **14**(6): 473-478.
10. Tan, K.H. and C.O. Gill. 1984. Effect of culture conditions on batch growth of *Saccharomycopsis lipolytica* on olive oil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**: 201-206.
11. Garattini, S., S. Paglialunga and N.S. Scrimshaw ed. 1979. Single cell protein safety for animal and human feeding, Pergamon press.
12. Leahy, J.G. and R.R. Colwell. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiological Reviews* **54**(3): 305-315.
13. Rosenberg, E., A. Zuckerberg, C. Rubinovitz and D.L. Gutnick. 1979. Emulsifier of *Arthrobacter* RGA-1. *Appl. Environ. Microbiol.* **37**(3): 402-408.
14. Cooper, D.G. and D.A. Paddock. 1984. Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**(1): 173-176.
15. 김갑수, 김오식. 1988. 제 1장 활성슬럿지법. 신활성슬럿지법, Pp. 11-14. 녹원출판사. 서울.
16. Sherwood, M.T. 1970. Improved synthetic medium for the growth of *Rhizobium*. *J. Appl. Bacteriol.* **33**: 708-713.
17. Bligh, E.G. and W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917.
18. 환경청. 1983. 환경오염공정시험법. 수질편, 제 7항 부유물질 시험법, Pp. 602-603, 성안당, 서울.
19. Leisinger, T and W. Brunner. 1986. Chapter 14. Pp. 475-513. *In* H.J. Rehm and G. Reed (ed.), *Poorly Degradable Substances in Biotecnnology* Vol. 8.
20. Kim, S.H., C.S. Kim, I.S. Cho, S.Y. Choi, and K.H. Min. 1990. Microbial degradation of alkane components in crude oil. *Kor. J. Microbiol.* **28**(1): 71-75.
21. Lee, G.H., I.S. Choi, K.Y. Park, Y.K. Park, and Y.N. Lee. 1990. Development of versatile strains of *Pseudomonas* degrading various persistent aromatic hydrocarbons. *Kor. J. Microbiol.* **28**(3): 236-242.

(Received May 15, 1992)