

PSEUDOMONAS MANDOSINA BCNU 154에 의한 BTEX 분해

정미연¹·강정환¹·이상희²·정영기³·김용균⁴·주우홍¹

¹창원대학교 생물학과 ·²창원대학교 유전공학연구소·³동의대학교 미생물학과 ·⁴밀양대학교 생물공학과

전화 (055)279-7443, 팩스 (055)279-7449

Abstract

Degradation of aromatic compound by *Pseudomonas mendocina* BCNU 154 has been investigated. The microorganism utilizes xylene, toluene, nitrobenzene, ethylbenzene and cumene. This strain is tolerant to some heavy metals, such as Mn, Cu, Si, and Mo, and resistant to some antibiotics, such as vancomycin, chloramphenicol and ampicillin. The metabolic pathway of toluene in *Pseudomonas mendocina* BCNU 154 is also elucidated.

서론

방향족탄화수소(Aromatic hydrocarbon)는 화학공정 및 석유관련산업으로부터 발생되는 유기폐수의 주요성분이다. 폐수에 함유되어 있는 benzene, toluene, ethylbenzene, xylene(BTEX), cumene, phenol 등은 미국환경청(Environmental Protection Agency ; EPA)에서 규정한 유해성 화합물로 발생빈도가 높고, 인체 및 생태계에 미치는 독성이 크기 때문에 우선 처리대상(priority pollutant)으로 분류되고 있다. 독성물질이 포함된 폐수는 지금까지 보고된 바에 의하면 물리학적 화학적 그리고 생물학적 방법으로 처리될 수 있다. 그중에서 생물학적 처리방법이 처리비용이 상대적으로 적게 들며 방향족화합물의 완전분해가 가능하다는 점에서 주로 사용되고 있다. 본 연구의 목적은 고농도의 방향족화합물에서 생존 가능한 유기용매 내성균주를 공시하여 BTEX, cumene, phenol과 같은 방향족화합물의 생물학적 처리에 응용하고자 한다.

실험재료 및 방법

1. 사용균주 및 배양

본실험에서 사용된 균주는 창원대학교에서 분리보관된 Gram 음성세균인 *Pseudomonas mendocina* BCNU 154 균주를 사용하였다. Modified

Luria-Bertani(LBM) 배지에서 각종 유기용매, 중금속, 항생제에 대한 성장을 조사하였고 분해능과 자화능은 Mineral salt broth(MSB) 배지에 각종 탄소원과 유기용매를 첨가하여 조사하였다.

2. Toluene 분해경로 조사

toluene 분해 과정시 나타나는 산물을 GC-MS(HP 6890/G1723A, Hewlett Packrd, U.S.A)를 이용해서 확인하였다. 이때 사용한 library는 Wiley 275.L를 사용하였다.

결과 및 고찰

본 실험에 사용한 *Pseudomonas mendocina* BCNU 154는 다양한 유기용매가 존재하는 환경에서 성장하는 그람 음성 세균으로 폭넓은 유기용매에 대한 내성을 가지고 있으며 유기용매내에서 유기용매에 대한 내성 형질이 매우 안정적인 것으로 나타났다. 방향족 화합물, 특히 xylene, toluene, nitrobenzene, ethylbenzene, cumene에 대하여 높은 자화능과 분해할 수 있는 능력을 가지고 있음을 확인하였다.

여러가지 carbon source에서의 성장을 조사한 결과(Table1) benzoate(Na⁺)에서 높은 세포성장을 보였다. 공시균주는 다양한 중금속에 대하여 내성을 보이고 있으며, Mn, Cu, Si, Mo에 대하여 높은 내성을 나타내었다. 항생제 vancomycin, chloramphenicol, ampicillin에 대하여도 내성을 보였다.

Toluene 분해산물을 GC-MS 로 분석한 결과 benzaldehyde, benzoic acid 등이 확인되어 *Pseudomonas putida* mt-2 와 동일한 경로로 toluene을 분해함이 확인되었다.

본 연구에 사용된 *Pseudomonas mendocina* BCNU 154 균주는 형질 안전성이 높고 분해력등 기능적인 면에서 우수하므로 유기용매 적응 매카니즘 연구와 환경미생물공학적인 이용에 사용될 수 있는 좋은 생물 소재로서 기대된다.

참고문헌

1. Baggi, G., P. Barbieri, E. Galli, and S. Tollari 1987 Isolation of a *Pseudomonas stutzeri* strain that degrades o-xylene. Appl. Environ Microbiol. 53: 2129-2131.
2. Gibson, D. T., and V. Subramanian 1984 Microbial degradation of aromatic hydrocarbons, p. 181-252. In D. T Gibson(ed), Microbial degradation of organic compounds. Marcel Dekker, New york. N. Y.
3. Barbieri, P., L. Palladino, P. D. Gennare, and E. Galli 1993 Alternative pathways for o-xylene or m-xylene and p-xylene degradation in a *Pseudomonas*

Table 1. 다양한 carbon source에서의 BCNU154 균주의 성장

Carbon source	Amount added (%, w/v)	Cell/ml
Benzyl alcohol	0.1	8×10^9
Benzaldehyde	0.1	9.18×10^7
Benzoate(Na+)	0.1	1.072×10^8
m-Cresol	0.1	no growth
o-Cresol	0.1	no growth
catechol	0.1	2.87×10^9
β -alanine	0.1	2.33×10^7
Yeast Extract+tryptone	0.1	3.41×10^7
phenylalanine	0.1	1.32×10^7
control		1.728×10^7

Table 2. 다양한 중금속에서의 BCNU154 균주의 성장

Heavy methals concentration	Resistant(+) or Sensitive(-)		
	1 ppm	3 ppm	5 ppm
Zn	++	+	-
Mn	+++	+++	++
Al	+	±	-
Cu	+++	+	++
Si	++	++	+++
Pb	+	+	-
Cr	+++	+	±
Mg	+++	+	+
Ag	++	+	+
Hg	+	+	+
Mo	+++	+	++

Table 3. 다양한 항생제에서의 균주성장

농도 ($\mu\text{g/ml}$)	Resistant(+) or Sensitive(-)				
	Vancomycin	Kanamycin	Chloramphenicol	Oxymycin	Ampicilin
5 μg	+++++	-	++++	+	+++
10 μg	++++	-	++++	-	+++
20 μg	++++	-	+++	-	+++
50 μg	++++	-	+++	-	+++

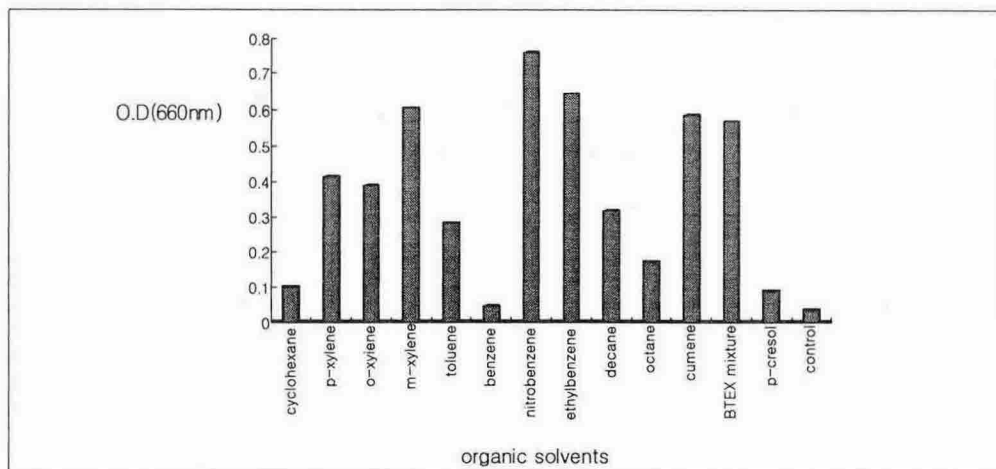


Fig. 1. 다양한 유기용매에서의 자화능