

2,4,4'-Trichloro-2'-Hydroxydiphenyl Ether 분해균의 분리 및 분해특성

한난숙 · 손홍주 · 이 건 · 이상준
부산대학교 미생물학과
(1996년 12월 10일 접수)

Isolation and Degradation Characteristics of 2,4,4'-Trichloro-2'-Hydroxydiphenyl Ether Degrading Bacterium

Nan-Sook Han, Hong-Joo Son, Geon Lee, and Sang-Joon Lee
Department of Microbiology, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea
(Manuscript received 10 December 1996)

The bacterial strains, which utilizes 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether(TCHDPE) as a sole carbon source, were isolated by selective enrichment culture from soil samples of industrial waste deposits. The bacterium that showed the highest biodegradation activity was designated as EL-047R. The isolated strain EL-047R was identified as the genus *Pseudomonas* from the results of morphological, cultural, and biochemical tests. The optimum conditions of medium for the growth and the degradation of TCHDPE were TCHDPE 500 ppm, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1% as the nitrogen source, initial pH 7.0 ± 0.1 , and 37°C , respectively. In this conditions, the degradation rate of TCHDPE was about 97%. *Pseudomonas* sp. EL-047R was tested for resistance to several metal compounds and antibiotics. *Pseudomonas* sp. EL-047R was moderately grown to $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, ZnCl_2 , AgSO_4 , CuSO_4 , and HgCl_2 . This strain was sensitive to rifampicin and kanamycin but resistant to ampicillin, penicillin, tetracyclin and chloramphenicol. *Pseudomonas* sp. EL-047R was grown structurally related compounds and potential metabolites of TCHDPE, and has the stability on TCHDPE biodegradation.

Key words : 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether(TCHDPE), biodegradation, *Pseudomonas* sp.,

1. 서 론

유기합성공업의 발달에 의한 인공화학물의 사용량 증가로 자연환경으로 유입되는 여러가지 polychlorinated hydrocarbon에 의한 환경오염이 심각한 사회문제가 되고 있다. 한편 자연생태계의 미생물중에는 매우 다양한 인공화학물을 탄소원 및 에너지원으로 이용하여

생장하는 능력이 있다는 사실이 밝혀져, 이들 미생물을 이용한 환경오염의 회복이 최근 관심의 초점이 되고 있다(Tulp *et al.*, 1979; Linda *et al.*, 1992).

Diphenyl ether(DE)는 polychlorinated phenols, biphenyls, dibenzo-*p*-dioxins 등과 함께 제조제로 대량 사용되고 있는데, 이

들은 diarily ether linkage를 공통구조로 하는 매우 안정한 화합물로서, 생분해가 어려운 난분해성 물질이며 독성이 강한 환경오염인자로 알려져 있다(Rappe, 1980; Kink and Othmer, 1968). DEs는 1930년 이래 매년 수천톤의 규모로 생산되고 있으며, 환경에 잔존하여 담수 및 해수, 토양을 오염시킨다(Sander *et al.*, 1991; Addison, 1977). 이중 halogenated DEs는 살충제의 일종으로서, 자연환경에서 대량으로 검출되고 있으며 polychlorinated DEs의 경우, chloride의 농도가 증가함에 따라 100일 정도의 반감기를 가지는 것으로 알려져 있다(Niimi, 1986). 다양한 halogenated DEs중에서 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxy-diphenyl ether (TCHDPE)는 쥐의 간세포에 종양을 유발하는 제초제로서, 폐수처리장의 활성오니에서도 발견되고 있다(Perter, 1990).

현재 독성화합물의 분해를 위해서 대부분 화학적 방법이 적용되고 있으나, 이 방법은 오염된 부위에서만 효과가 있는 방법으로서 환경으로 유출된 이후에는 적용할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 따라서 이러한 경우의 처리는 미생물에 의존할 수 밖에 없다(Walsh, 1977). TCHDPE는 제초제로 이용됨으로써 환경으로 대량 방출되기 때문에 이들의 자연환경에서의 분해에는 미생물이 중요한 역할을 담당해야 한다. 즉, 생태계에 오염, 축적되어 새로운 공해물질로 지목되고 있는 TCHDPE를 효율적으로 분해하는 미생물을 분리하고, 이들의 분해능과 분해유전자의 특성을 밝히는 문제는 미생물을 이용한 환경정화의 차원에서 수행되어야 할 중요한 연구과제라 사료된다.

본 연구에서는 TCHDPE를 분해하는 새로운 세균을 자연계로부터 분리하여 그 분류학적 위치를 밝히고, 분해율 증진을 위한 각종 생육인자를 조사하였다. 또한 기질유사체에 대한 분해능 및 분해 안정성 등도 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 분리용 시료 및 배지 조성

2,4,4'-Trichloro-2'-hydroxy-diphenyl ether(TCHDPE) 분해균을 분리하기 위하여

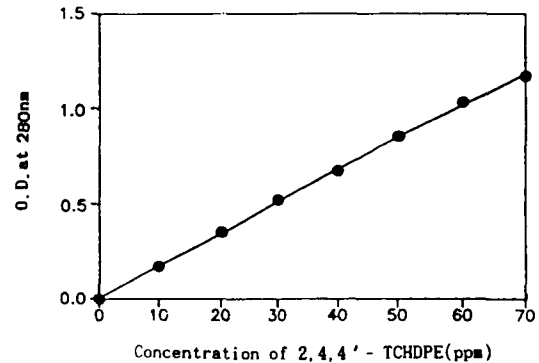


Fig. 1. Standard curve of 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether(TCHDPE).

부산과 경남일대의 공장폐수가 유출되는 하천과 인근의 토양시료를 100여점 채취하여 분리용 시료로 사용하였다. 탄소원 및 에너지원으로 TCHDPE를 이용할 수 있는 균주를 분리하기 위하여 사용된 분리용 배지의 조성은 TCHDPE 0.1 g/l, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 7.0 g/l, KH_2PO_4 2.0 g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5 g/l, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/l, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/l, yeast extract 0.05 g/l(pH 7.0, 180 rpm)이었다.

2.2. TCHDPE 분해균의 분리

각 지역에서 채취한 물은 1ml, 토양은 1g씩 취하여 분리용 배지 10ml를 넣은 시험관에 넣어 잘 현탁한 후, 28℃에서 180 rpm으로 진탕배양하였다. 진탕배양이 끝난 각 시험관으로부터 배양액 0.1ml씩을 취하여 새로운 분리용 배지 10ml를 넣은 시험관에 접종하여, 28℃에서 배양하면서 생육유무를 육안으로 관찰하였다. 이상에서 TCHDPE 분해능이 있는 것으로 판정된 시험관에서 배양액 0.1ml를 취해 1.7%의 한천이 포함된 분리용 고체배지에 도말하여 평판배양을 실시하였다. 평판배지상에 형성된 colony를 1백금이 취하여 다시 분리용 배지 10ml를 넣은 시험관에 접종한 후, 28℃에서 진탕배양하여 분해능 유무를 재확인하여 순수분리하였다.

2.3. 분석방법

분리균의 생육도 측정은 spectrophotometer (UVIKON 930, KONTRON)를 사용하여 578nm에서의 흡광도로써 측정하였다. 분해

2.4.4'-Trichloro-2'-Hydroxydiphenyl Ether 분해균의 분리 및 분해특성

율의 측정은 배양액을 5℃, 10,000rpm에서 10분간 원심분리한 후 배양상등액을 280nm에서의 흡광도로써 측정하였으며 (Hungmihg and Sprinivason, 1989), 표준곡선은 Fig. 1에서 보는바와 같다. 표준곡선에 준한 TCHDPE의 정량범위는 0 ppm에서 70 ppm이었다.

2.4. 금속이온에 대한 내성 조사

금속이온에 대한 내성조사는 metal compound gradient plate method(Gerhardt *et al.*, 1981)를 이용하여 조사하였다. 즉, 멸균된 LB 한천배지를 petri dish의 옆면과 바닥의 교점에 닿도록 plate의 한쪽 가장자리를 높여서 분주하였다. 이것을 굳힌 후, plate를 평평하게 하여 금속이온을 함유하는 LB 한천 10ml을 각각 분주하였다. 이때 금속염은 membrane filter(pore size 0.2 μ m)로 제공한 후, 이미 멸균된 LB 한천배지에 첨가하였다. 한쪽 가장자리는 0mM, 그 반대편은 최고농도가 되는 금속농도구배 평판에 분리균을 금속이온농도가 증가하는 방향으로 도말하였다. 일정시간 배양하여 적당한 내성 level을 결정한 뒤, 금속농도를 각기 다르게 한 농도구배가 없는 금속이온 LB plate에 분리균들을 이식하였다. 30℃에서 3일동안 배양한 후, colony의 성장유무로서 저항성을 조사하였다.

2.5. 항생물질에 대한 저항성 조사

LB 한천배지를 고압멸균하여 45℃로 식힌 뒤 membrane filter(0.45 μ m)로 제공한 각종 항생제 stock solution을 첨가하여 rifampicin, ampicillin, chloramphenicol, kanamycin, penicillin, tetracyclin 등을 각각 5, 50, 34, 50, 50, 30 μ g/ml을 함유하도록 하였다. 이들 평판배지에 분리균을 접종하여 1일간 배양 후, 성장유무를 확인하고 성장을 나타낸 균주에 대해서는 항생제 농도를 각기 다르게 한 LB 배지에서 배양하여 최소저지농도(MIC)를 결정하였다(Gerhardt *et al.*, 1981).

2.6. 분리균의 분류 및 동정

분리균의 분류학상의 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양적, 생리적, 생화학적 제

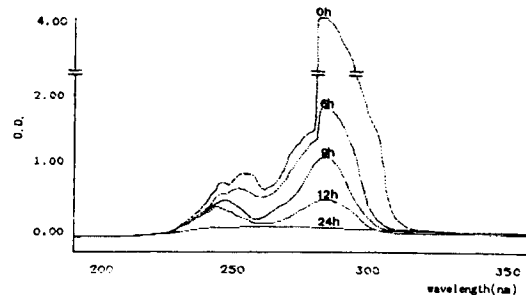


Fig. 2. UV-VIS scanning spectra of the culture filtrate with TCHDPE as a sole carbon source in minimal medium.

특성을 Manual of Methods for General Bacteriology(Gerhardt *et al.*, 1981), Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria(MacFaddin, 1984)에 준하여 조사한 것을 기초로 하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(Krieg and Holt, 1984)에 따라 분류, 동정하였다.

2.7. 분해능에 영향을 미치는 생육인자의 조사

분리균에 의한 TCHDPE의 분해능을 증진시키기 위해 각종 생육인자에 대하여 다음과 같이 실험하였다. 배지의 초발 pH 및 온도의 변화, TCHDPE의 농도변화, 질소원의 변화, 통기량의 변화에 따른 생육도와 분해율을 40시간동안 배양한 후 조사하였다.

2.8. 기질유사체에 대한 분해특성 조사

분리균의 기질유사체에 대한 분해특성을 조사하기 위하여 TCHDPE가 첨가되지 않은 최적배지에 각종 phenol계 화합물들을 각각 100 ppm씩 첨가하여 40시간 배양한 후, 생육도와 분해율을 측정하였다. 분해율은 각 기질유사체들의 최대흡수파장에서의 흡광도로써 측정하였다.

2.9. TCHDPE 분해 안정성 조사

분리균의 TCHDPE 분해 안정성을 Kilbane *et al.*(1982)의 방법으로 조사하였다. 즉, TCHDPE가 포함된 최적배지에서 분리균을 배양한 후, 일정량을 취하여 TCHDPE 대신 2%의 glucose가 포함된 최적배지에 접종하였다. 이것을 일정시간 배양하면서 0, 6,

Table 1. Resistance of screened TCHDPE degrading bacterium to metal compounds

Maxium concentration of metal compounds that allowed bacterial growth of isolated strain EL-047R	
Cd(NO ₃) ₂	5 mM
ZnCl ₂	7 mM
(Ag)SO ₄	0.05 mM
CuSO ₄	9 mM
HgCl ₂	100 µg/ml

Table 2. Antibiotics resistance and minimal inhibitory concentration (MIC) of the isolated EL-047R

Antibiotics	MIC(µg/ml)
Ampicillin	R(> 80)
Chloramphenicol	R(> 50)
Kanamycin	sensitive
Penicillin	R(> 60)
Rifampicin	sensitive
Tetracycline	R(> 40)

12, 18, 24 세대별로 배양액을 취하여 각각 육즙한천 평판배지상에 평판도말한 후, 30℃에서 48시간동안 배양하여 각 육즙한천 평판배지상에 나타난 colony 100 개를 TCHDPE가 첨가된 평판배지상에 tooth-picking하였다. 이 평판배지를 30℃에서 배양하여 생성된 colony의 개수를 확인하여 분해 안정성을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. TCHDPE 분해균의 분리

부산과 경남 지역의 공장폐수가 유출되는 하천의 물과 인근 토양을 시료로 채취하여 분리용 배지에서 진탕배양을 실시한 결과, 18개의 균주를 분리하였다. 분리된 균주의 대부분은 Gram 음성의 세균들이었다. 이 중에서 생육도와 TCHDPE 분해능이 가장 우수한 Gram 음성 단간균인 EL-047R주를 공시균주로 선정하여 실험에 사용하였으며, 분리용 배지에서의 생육도와 분해율을 측정 한 결과, 6시간의 유도기를 거친 후 24시간만에 정지기에 도달하였다. TCHDPE의 분해율은 대수증식기인 6시간에서 20시간 사이에서 가장 높아 EL-047R주의 증식곡선과 비례하고 있음을 알 수 있었으며, 분해율은

90%로 나타났다(미제시). 또한 Fig. 2에서 보는바와 같이 280 nm에서 잔존 TCHDPE의 흡광도가 현저히 낮아지는 것으로 보아 분해가 이루어짐을 확인할 수 있었다.

3.2. 금속이온 및 항생제 내성

분리균의 금속화합물에 대한 내성을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 분리균이 생육가능한 금속이온의 최고농도는 Cd(NO₃)₂ 5mM, ZnCl₂ 7mM, AgSO₄ 0.05mM, CuSO₄ 9mM, HgCl₂ 100µg/ml이었다. 또한 본 균주의 항생제에 대한 내성은 Table 2와 같다. Rifampicin, kanamycin에 의해 생장이 저해되었으나, ampicillin, penicillin, tetracyclin, chloramphenicol에 대해서는 내성을 나타내었다.

3.3. 분리균의 동정

분리균의 형태학적, 배양적, 생화학적 제반 성질을 검토한 결과는 Table 3에서 보는바와 같다. 즉, 본 균주는 끝이 둥근 단간균으로 운동성이 없으며, Gram 음성이었다. Colony는 습기가 많고 중앙부가 볼록한 convex형이었으며, 배양초기에는 크림색을 띄다가 배양시간이 경과하면서 노란색을 띄었고 투명하였다. Catalase, arginine dehydrolase, citrate utilization, acetoin production, MacConkey agar에서의 성장실험에서는 양성을 나타내었고, oxidase, H₂S 생성능, indole test, lysine 및 ornithine dehydroxylase test, β-galactosidase, urease, tryptophane deaminase test에서는 음성 반응을 나타내었다. Oxidation-fermentation test에서는 oxidation을 나타내었다. 이상의 결과를 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 의하여 검토한 결과, 본 균주는

Table 3. Taxonomical characteristic of the isolated strain EL-047R

Contents	Characteristics
<i>Morphological characteristics</i>	
shape	short rod with round ends
cell size(μm)	1.0~1.5 by 1.2~1.8
motility	-
Gram stain	-
type of cell division	simple division
<i>Cultural characteristics</i>	
colonies on nutrient agar	irregular, convex, wetted
colony surface	rough
colony color	pale fluorescent yellow
colony opacity	opaque
hydrolysis of gelatin	-
<i>Biochemical characteristics</i>	
catalase test	+
cytochrome oxidase test	-
oxidation/fermentation test	oxidation
H ₂ S production	-
nitrate reduction	-
β -galactosidase	-
urease	-
indole test	-
decarboxylase test	
lysine	-
ornithine	-
arginine dehydrolase	+
tryptophan deaminase	-
acetoin production	+
citrate utilization	+
growth on MacConkey agar	+
pigment production	+

Pseudomonas 속으로 동정되어, 편의상 *Pseudomonas* sp. EL-047R로 명명하여 실험에 사용하였다.

3.4. 생육 및 분해특성

배지의 초발 pH에 따른 *Pseudomonas* sp. EL-047R의 TCHDPE 분해능을 조사한 결과는 Fig. 3에서 보는바와 같다. 즉, 본 균주는 비교적 넓은 pH 영역에서 생육하였으며, pH 7.0 근방에서 최고의 생육과 분해율을 나타내었다. 분리균의 생육에 가장 적

합한 온도를 결정하기 위한 실험의 결과는 Fig.4와 같이, 25~37°C에서 우수한 생육을 나타내었으며, 특히 37°C에서 최고의 생육 및 분해능을 보였다. 배지에 첨가되는 TCHDPE의 농도에 따른 분리균의 생육특성을 조사한 결과는 Fig. 5에서 보는 바와 같다. 500 ppm의 농도에서 생육이 가장 우수하였으며, 600 ppm 이상의 농도에서는 기질의 독성으로 인하여 생육이 급격히 감소하였다. 각종 무기질소원과 유기질소원을 0.05% 농도로 첨가하여 분리균의 생육과 분해율을

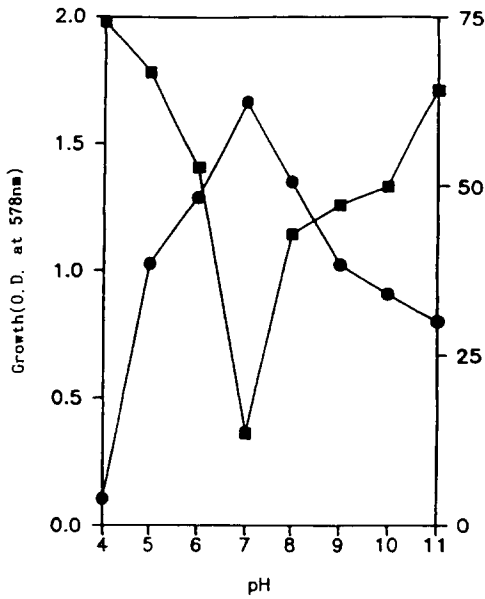


Fig. 3. Effect of pH on the growth and biodegradability of TCHDPE of *Pseudomonas* sp. EL-047R. ●, growth; ■, residual TCHDPE

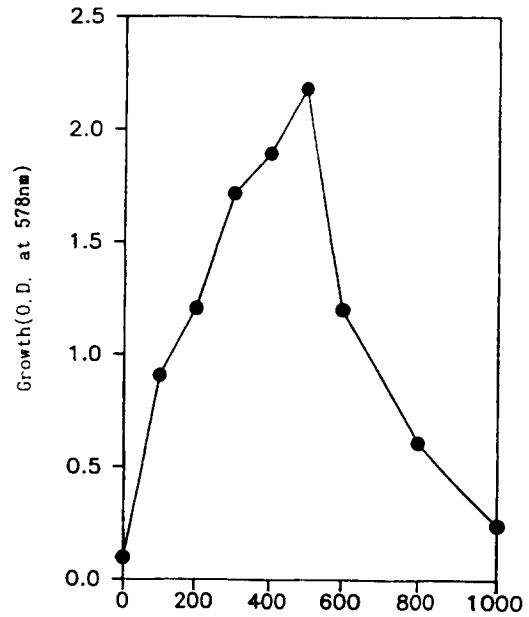


Fig. 5. Effect of TCHDPE concentration on the growth of *Pseudomonas* sp. EL-047R.

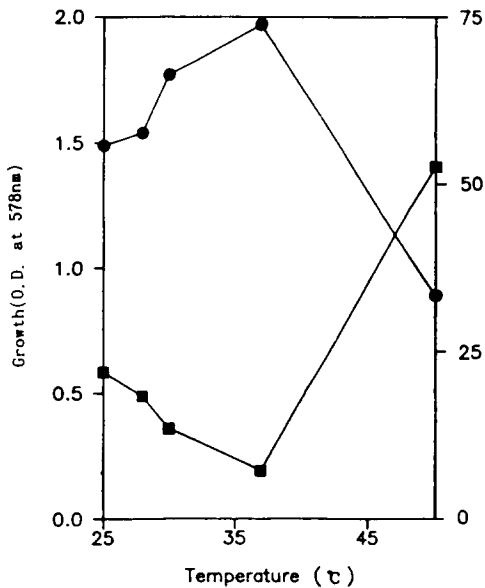


Fig. 4. Effect of temperature on the growth and biodegradability of TCHDPE of *Pseudomonas* sp. EL-047R. ●, growth; ■, residual TCHDPE

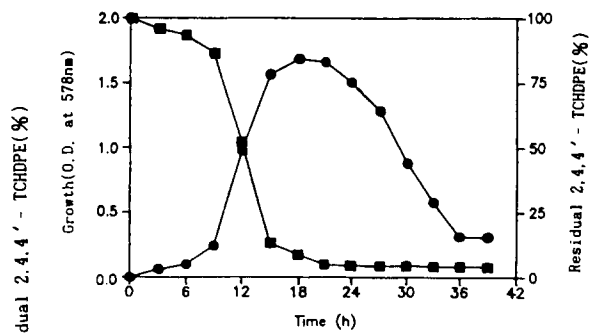


Fig. 6. Growth and biodegradability of TCHDPE on the optimum medium by *Pseudomonas* sp. EL-047R. ●, growth; ■, residual TCHDPE

측정한 결과는 Table 4에서 보는바와 같다. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 및 KNO_3 등이 우수한 생육도와 분해능을 나타내었으며, 유기질소원은 무기질소원에 비해 생육능은 우수하였으나 분해율이 저조하였다. 질소원이 첨가되지 않은 대조구와 비교할때 질소원의 첨가가 본 균주의 생육과 분해에 필수적임을 알 수 있었다.

2,4,4'-Trichloro-2'-Hydroxydiphenyl Ether 분해균의 분리 및 분해특성

Table 4. Effect of nitrogen sources on the growth and biodegradation of *Pseudomonas* sp. EL-047R

Contents	Growth(A ₅₇₈)	Biodegradation(%)
None	0.103	0.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.757	93.9
NH ₄ NO ₃	1.693	91.6
NH ₄ Cl	1.678	88.5
KNO ₃	1.680	91.9
NaNO ₃	0.443	37.2
NaNO ₂	0.859	65.7
CH ₃ COONH ₄	1.187	70.4
Tryptone	1.846	83.8
Polypeptone	1.901	86.1
Bactopeptone	1.777	80.6
Beef extract	1.597	81.6
Yeast extract	1.776	79.8
Malt extract	1.093	70.3
Casamino acid	2.108	88.8
Urea	1.535	83.8

Various nitrogen sources were added at the final concentration of 0.05% to the minimal medium containing 500 ppm TCHDPE as a carbon source.

Table 5. Effect of concentration of (NH₄)₂SO₄ on the growth and biodegradation of *Pseudomonas* sp. EL-047R

Concentration(%)	Growth(A ₅₇₈)	Biodegradation(%)
0.05	1.753	93.6
0.1	1.857	95.7
0.2	1.703	91.9
0.3	1.449	83.4
0.4	1.211	64.0
0.5	0.978	53.7
1.0	0.436	35.1

Table 6. Effect of aeration on the growth and biodegradation of *Pseudomonas* sp. EL-047R

Volume(ml) [*]	Growth(A ₅₇₈)	Biodegradation(%)
50	2.245	94.6
100	1.932	93.3
150	1.749	90.8
200	1.729	78.1
250	1.253	56.4
300	0.968	28.0

* Obtained by varying the amount of medium in the 500 ml shaking flasks and keeping the agitation constant(180 rpm).

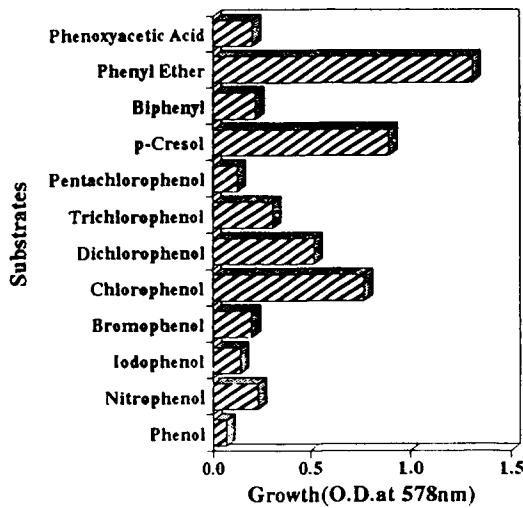


Fig. 7. Growth of *Pseudomonas* sp. EL-047R on various TCHDPE related compounds. ●, growth; ■, residual TCHDPE.

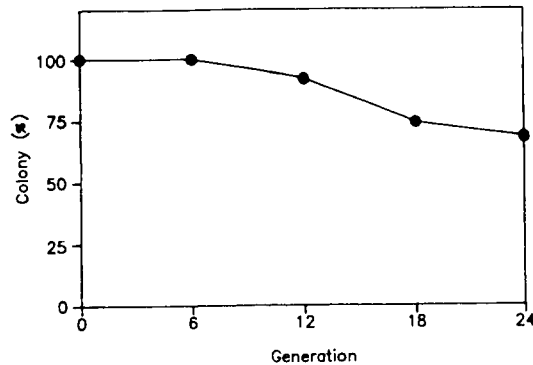


Fig. 8. Stability of TCHDPE degradability by *Pseudomonas* sp. EL-071R.

여러 질소원중에서 가장 높은 분해율을 나타낸 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 본 실험에 사용하였다. 최적 질소원으로 판정된 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 농도에 따른 분리균의 생육도와 분해율을 측정된 결과는 Table 5에서 보는 바와 같다. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 의 농도를 0.05%에서 1.0%까지 단계적으로 조절하여 실험한 결과, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%일때 가장 우수한 생육과 분해능을 나타내었으며, 0.3% 이상의 농도에서 생육도 및 분해능은 저조하였다. 따라서 본 실험에서는 질소원을 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%로 첨가하여 사용하였다. 본

리균의 생육에 가장 적절한 통기량을 찾기 위하여 500ml 진탕플라스크에 배지를 50ml에서 300ml까지 첨가하여 생육도와 분해율을 측정된 결과는 Table 6에서 보는바와 같다. 즉, 본 균주의 생육에는 강한 통기성이 요구되며, 기질의 분해 역시 호기적 조건에서 산화작용에 의하여 진행됨을 알 수 있었다.

상기에서 결정된 TCHDPE의 최적분해조건에서 *Pseudomonas* sp. EL-047R의 생육도와 분해율은 측정된 결과는 Fig. 6에서 보는 바와 같다. 약 6시간의 유도기를 거쳐 최대 정지기인 21시간에는 TCHDPE를 약 97%까지 분해하여 분리용 배지에서보다 생육이 빠르며, 분해율도 6% 정도 향상되었다.

3.5. 기질유사체에 대한 분해특성

Pseudomonas sp. EL-047R의 기질특이성을 조사한 결과는 Fig. 7에서 보는바와 같이 TCHDPE 외의 phenyl ether, p-cresol, dichlorophenol, chlorophenol 등과 같은 다양한 난분해성 물질에도 상당히 높은 생육활성을 보여주었다. 따라서 본 균주는 여러가지 독성물질을 동시에 분해할 수 있는 능력이 있음을 알 수 있었다. 또한 각 기질에 대한 분해능은 halogen 치환기가 많을수록, 치환구조가 복잡할수록 *Pseudomonas* sp. EL-047R에 의한 생분해에 저항성을 나타내었다. 이러한 결과는 Takase *et al.*(1986)의 보고와 일치하였다.

3.6. TCHDPE 분해안정성

Pseudomonas sp. EL-047R의 TCHDPE 분해능에 대한 안정성을 조사한 결과는 Fig. 8에서 보는바와 같다. 즉, glucose가 포함된 액체배지에 본 균주를 접종하여 일정시간 배양하면서 0, 6, 12, 18, 24 세대별로 배양액을 취해 각각 육즙한천 평판배지상에 나타난 단일 colony를 100개씩 취하여 TCHDPE가 함유된 평판배지상에 tooth picking을 실시한 결과, 0 세대에서는 100개의 단일 colony들이, 6 세대후에도 100개의 단일 colony들이, 12 세대후에는 92개, 18 세대후에는 74개, 24 세대후에는 68개의 colony들이 나타났다. 따라서 *Pseudomonas* sp. EL-047R의 TCHDPE 분해능은 비교적 안정한 편이나,

2,4,4'-Trichloro-2'-Hydroxydiphenyl Ether 분해균의 분리 및 분해특성

세대가 경과함에 따라 약간의 분해능이 소실되는 것으로 나타났다. 이것은 *Pseudomonas* sp. EL-047R에 의한 TCHDPE의 분해가 degradative plasmid에 기인하는 것임을 의미한다.

요 약

2,4,4'-Trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether(TCHDPE)를 분해할 수 있는 *Pseudomonas* sp. EL-047R를 토양으로부터 분리, 동정하였다. 본균주는 Cd(NO₃)₂ 5mM, ZnCl₂ 7mM, AgSO₄ 0.05mM, CuSO₄ 9mM HgCl₂ 100µg/ml 이내의 농도에서 생육할 수 있었으며, 또한 rifampicin, kanamycin등에 의해서 생장이 저해되었으나, ampicillin, penicillin, tetracyclin, chloramphenicol 등에 대해서는 내성을 나타내었다. TCHDPE의 최적분해조건은 탄소원으로 TCHDPE 500 ppm, 질소원으로 (NH₄)₂SO₄ 0.1%, pH 7.0±0.1 및 37℃였다. 최적분해조건에서 TCHDPE는 배양 21시간 후, 97%가 분해되었다. *Pseudomonas* sp. EL-047R은 THDDPE와 구조적으로 관련이 있는 각종 난분해성 물질을 분해할 수 있었으며, TCHDPE의 분해능은 다소 안정하였으나, 32 세대후에는 32%의 분해능이 소실되었다.

참 고 문 헌

- Addison, R.F., 1977, Diphenyl ether-another marine environmental contamination, Mar. Pollut., 8, 237-240.
- Gerhardt, P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg and G.B. Phillips, 1981, Manual of Methods for General Bacteriology, American Society for Microbiology, New York.
- Kilbane, J.J., D.K. Chatterjee, J.S. Karns, S.T. Kellogg and A.M. Chakrabarty, 1982, Biodegradation of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid by a pure culture of *Pseudomonas cepacia*, Appl. Environ. Microbiol., 44, 72-78.
- Kink, R.E. and D.F. Othmer, 1968, Encyclopedia of chemical technology Vol. 15, 2nd ed..
- Krieg, N.R. and J.G. Holt, 1984, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Linda, E.G., J.A. Robinson and D.R. Shelton, 1992, Kinetic comparison of seven strains of 2,3-dichlorophenoxyacetic acid degrading bacteria, Appl. Environ. Microbiol., 58, 1027-1030.
- MacFaddin, J.F., 1980, Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Niimi, A.J., 1986, Biological half lives of chlorinated diphenyl ethers in rainbow trout(*Salmo gairdneri*), Aquat. Toxicol., 9, 105-116.
- Perter, F., 1990, Metabolism of dibenzofuran by *Pseudomonas* sp. strain HH69 and the mixed culture HH27, Appl. Environ. Microbiol., 56, 1148-1156.
- Rappe, C., 1980, Chloroaromatic compounds containing oxygen, 1980, Springer-Verlag, Berlin.
- Sander P., R.M. Wittich, P. Fortnagal, H. Wilkes and W. Frank, 1991, Degradation of 1,2,4-trichloro- and 1,2,4,5-tetrachlorobenzene by *Pseudomonas* strains, Appl. Environ. Microbiol., 57, 1330-1440.
- Takase, I., T. Omori and Y. Minoda, 1986, Microbial degradation products from biphenyl-related compounds, Agric. Biol. Chem., 50, 681-686.
- Tulp, M.T.M., G. Sundstrom, L.B.J.M. Martron and O. Hutzinger, 1979, Metabolism of chlorodiphenyl ethers and Irgasan DP 300, Xenobiotica, 9, 65-77.

Walsh, J., 1977, The questions persist where dioxin created a wasteland, Science, 197, 1064-1067.