

Biodegradation of trichloroacetic acid from organic solvent tolerant bacterium, *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106

김종수, 박형철, 조수동*, 이승한**, 김기욱**, 문자영***, 정영기****, 주우홍**
창원대학교 유전공학연구소, 창원대학교 기초과학연구소*, 창원대학교 생물학과**,
창원대학교 보건생화학과***, 동의대학교 미생물학과****
전화 (055) 279-7443, FAX (055) 279-8212

Abstract

Organic solvent tolerant bacterium, *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106 could utilize trichloroacetic acid, monochloroacetic acid, trichloroethylene, *p*-dichlorobenzene as a sole carbon source. But *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106 didn't have tolerance about trichloroacetic acid, monochloroacetic acid, trichloroethylene, *p*-dichlorobenzene. Strain BCNU 106 could utilize to the extend of 30 mM trichloroacetic acid as a sole carbon source on mineral salt medium.

1. 서론

Trichloroacetic acid (TCA)는 polychlorinated xenobiotic compound로서 다년생 목초에 대한 제초제로서 농업적 목적으로부터 그리고 pulp와 제지산업의 표백공장에서부터 TCA를 함유하는 유출물의 방출을 통해서 자연계로 노출된다. TCA는 mice에 암을 일으키는 것으로 보고되고 있다. 따라서 자연계로 TCA의 방출을 줄이고 이미 오염된 토양이나 하수를 정화하기위해 노력하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 TCA 분해능이 있는 *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106를 이용하여 TCA 분해조건 및 분해 특성에 대해서 조사하였고, 다른 polychlorinated xenobiotic compound에 대한 분해능에 대해서도 검토하였다.

2. 실험재료 및 방법

배지조성

Trichloroacetic acid 및 polychlorinated xenobiotic compound에 대한 분해능을 관찰하기 위하여 최소배지인 mineral salts (MS) 배지가 사용하였다. MS 배지의 조성은 solution A (136 g/l KH_2PO_4 , 141.2 g/l Na_2HPO_4), solution B (10.0 g/l nitrilotriacetic acid, 14.45

g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.33 g/l $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 9.25 mg/l $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 99.0 mg/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, metal 44 solution 50.0 ml), metal 44 solution (2.5 g/l EDTA, 1.1 g/l $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.55 g/l $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 5.0 g/l $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.39 g/l $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.25 g/l $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.18 g/l $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)이고, solution C (20% ammonium sulfate) 로 구성하였다.

분석조건

Trichloroacetic acid (TCA) 및 polychlorinated xenobiotic compound에 대한 분해능을 측정하기 위하여 GC를 사용하여 정량분석을 실시하였다. 배양은 기상과 액상의 비가 9:1이 되도록 유지하기 위하여 밀봉가능한 600 ml serum bottle에 MSB medium 60 ml 을 첨가한 후, 각 toluene 및 trichloroacetic acid에 전배양한 균체와 각 화합물을 첨가 하여 Teflon-coated rubber stoppers로 밀봉시켜 37°C에서 150 rpm으로 진탕배양하였다. 배양액은 원심분리하여 배양여액을 분리한 후, 분액깔대기에서 ethylacetate 추출을 실시하였다. Rotary evaporator로 추출액을 감압농축하여 최종적으로 methanol에 용해시켜 GC로 분해능을 측정하였다. 유리 염소량은 Cl^- ion 분석기를 사용하여 분석하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

TCA의 분해능 검토

Pseudomonas savastanoi BCNU 106을 이용하여 mineral salt medium에 trichloroacetic acid를 유일한 탄소원으로 여러 가지 다양한 농도로 공급하여 배양한 결과, 30 mM의 농도까지 탄소원으로 이용하여 생육할 수 있다는 것을 발견하였다. 이러한 TCA 농도는 매우 고농도로서 Yu et al. (1995)이 보고한 *Acinetobacter calcoaceticus*의 분해 및 생육가능한 TCA 농도보다 약 1.5배 높은 농도이다. 또한 이 균주의 경우 mono- 혹은 dichloroacetic acid를 탄소원으로 이용하지 못하는 반면에 본 실험에 사용된 *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106은 mono- 혹은 dichloroacetic acid를 탄소원으로 이용 가능하다.

TCA 및 polychlorinated xenobiotic compound에 대한 분해능 조사

Pseudomonas savastanoi BCNU 106은 mineral salt medium에서 trichloroacetic acid, monochloroacetic acid, trichloroethylene, *p*-dichlorobenzene을 유일한 탄소원으로 이용하여 생육 가능하였다. 그러나 이들 화합물에 대한 내성시험결과 전혀 내성이 없는 것을 알게 되었다.

4. 요약

Pseudomonas savastanoi BCNU 106은 mineral salt medium에서 30 mM trichloroacetic acid의 농도까지 유일한 탄소원으로 이용하여 생육할 수 있다는 것을 발견하였다. 또한 trichloroacetic acid 뿐만 아니라 monochloroacetic acid, trichloroethylene, p-dichlorobenzene을 유일한 탄소원으로 이용 가능하였다. 그러나 이들 화합물에 대한 내성시험결과 전혀 내성이 없는 것을 알게 되었다.

5. 참고문헌

1. Yu, P., T. Welander. "Growth of an aerobic bacterium with trichloroacetic acid as the sole source of energy and carbon." (1995) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol.42, 769-774.
2. Shim, H., D. Ryoo, P. Barbieri, and T.K. Wood."Aerobic degradation of mixtures of tetrachloroethylene, trichloroethylene, dichloroethylenes, and vinyl chloride by toluene-o-xylene monooxygenase of *Pseudomonas stutzeri* OX1" (2001) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol.56, 265-269.

Table 1. Biodegradation of polychlorinated xenobiotic compound by *Pseudomonas savastanoi* BCNU 106

	Growth on MS agar plate	Tolerance on chemicals
Trichloroacetic acid	+	-
Trichloroethylene	+	-
Pentachlorophenol	+	-
p-Dichlorobenzene	+	-
Monochloroacetic acid	+	-
Dichloroacetic acid	+	-

+, Grow; -, not grow.