

*Microbacterium* sp. EL-0112L의 Diaminododecane  
자화에 관한 연구

이 미 연 · 이 상 준

부산대학교 자연과학대학 미생물학과

**Studies on Utilization of Diaminododecane by *Microbacterium*  
sp. EL-0112 L**

**Mi Yeon Lee Sang Joon Lee**

*Department of Microbiology, College of Natural Science,  
Pusan National University*

**ABSTRACT**

Microorganisms capable of utilizing diaminododecane containing amine groups diternally were isolated from the soil by enrichment culture. One strain of these isolated strain, designated as EL-0112L, was selected for this study.

The results of this study were as follows.

1. This isolated strain EL-0112 L was identified as *Microbacterium*, from the results of morphological, cultural, and biochemical tests.

This isolated strain was named temporarily *Microbacterium* sp. EL-0112 L for convenience.

2. *Microbacterium* sp. EL-0112 L was tested for ability to utilize different kinds of substituted alkanes containing cyan, amine, chloro, and thiol groups(monoterminally or diternally substituted) as carbon source.

Pentamethylenediamine, hexamethylenediamine, n-decane, laurylamine, and alkane derivatives containing cyan, chloro, and thiol groups were not utilized by *Microbacterium* sp. EL-0112 L.

3. The alkane derivatives that did not serve as growth substrates were tested further in oxidation tests using resting cell preparation of *Microbacterium* sp. EL-0112 L. Alkane derivatives containing cyan, chloro, thiol groups, and n-decane were oxidized by *Microbacterium* sp. EL-0112 L.

It is possible that this isolated strain is also able to degrade their substituted cou-

nterparts since they are structually similar to diaminododecane. The remarkable substrates that were being oxidized were dichlorododecane, and 1-dodecanethiol.

*Microbacterium* sp. EL-0112L could not oxidize pentamethylenediamine, and hexamethylenediamine.

4. The metabolic products formed from diaminododecane by *Microbacterium* sp. EL-0112L were acid compound containing carboxyl group and not containing amine group. On the thin layer chromatography, Rf values of these metabolic products were different from that of the product formed by *Corynebacterium* sp. EL-0112L. These results suggested the specificity of diaminododecane as carbon source.

## I. 緒 論

미생물의 생육기질로서 탄화수소를 이용하여 균체생산을 하거나 탄화수소계 화합물을 미생물에 의하여 변환시키는 등에 관한 연구는 꾸준히 진행되어 왔다. 특히 생체와 관련되지 않은 탄화수소 화합물에 대한 연구는 주로 n-alkane을 중심으로 연구 보고되었다<sup>1)</sup>.

그후 하나 또는 그 이상의 치환기를 가진 탄화수소의 화학적 합성이 가능해짐에 따라 탄화수소계 제초제, 살충제 및 합성염료 등이 대량 생산되어 그 사용량이 급증하고 있는 실정이라 하겠다<sup>2,3)</sup>. 또한 치환기를 갖지 않은 탄화수소는 미생물에 의해 다소 쉽게 분해되나 이와같이 치환기가 첨가된 alkane유도체들은 생물학적으로 난분해성이 되며 특히 독성과 자극성을 띠기 때문에 제초제, 살충제의 살포나 식물공업의 폐수유출 등으로 인한 환경오염은 실로 심각한 실정이다.

이러한 화합물들은 oxygen, ozone 등과 반응하여 화학적으로 분해가 일어날 수 있으나 그 효율이 낮은 반면 미생물에 의한 분해는 훨씬 효과적인 것으로 알려져 왔다<sup>4)</sup>. 그러므로 이러한 여러가지 치환기를 가진 alkane유도체의 미생물학적 분해에 관한 연구는 많이 진행되어 왔다<sup>5~9)</sup>. 자연환경하에 존재하는 이러한 화합물들을 탄소원, 에너지원 및 중간대사 물

질로 이용하여 산화 분해시킬 수 있는 미생물의 발견은 환경정화 및 미생물 생태학적 측면에서 매우 의의가 있다고 하겠다. 특히 직물공업에 있어서 합성염료로 대량 사용되어 폐수 가운데 유출되는 amine기를 치환기로 가진 alkane 유도체들은 강한 생리활성저해물질로서 발암성이 크게 문제시 되고 있다. 그러나 이러한 화합물의 미생물학적 분해에 관한 연구는 희소한 실정에 있다<sup>10)</sup>. 그러므로 저자들은 생체와 관련되지 않은 long chain alkylamine 중 diaminododecane을 선정하여 이를 자화, 분해할 수 있는 미생물에 대한 일련의 연구로서<sup>11~13)</sup> 토양으로부터 미생물을 분리, 동정하고 alkane유도체들에 대한 자화능과 산화시의 산소소모량을 측정하였으며 diaminododecane 자화시 생성되는 중간생성물에 대해서도 검토하였기에 그 실험 결과를 보고하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 분리용 시료 및 배지조성

분리용 시료로는 부산시내에 분포하고 있는 주유소부근의 토양 50점을 사용하였다. 탄소원 및 에너지원으로 diaminododecane을 이용할 수 있는 균을 enrichment culture technique에 의해 토양으로부터 분리하였으며 배지의 조성은 Table 1에서 보는 바와 같다.

Table 1. Composition of medium for isolation (g/l)

Diaminododecane	2.0	CaCl <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	0.01
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.5	Yeast Extract	0.005
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	1.5	Deionized water	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	4.0		1000 ml
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.01	pH	7.0
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.005		

### 2. Diaminododecane 자화균의 분리 및 공시균의 선정

각지에서 채취한 토양을 충분히 풍진한 후 약 0.5g 을 취하여 분리용 배지 10ml 을 넣은 시험관에 잘 현탁하여 30°C에서 5~7일간 진탕배양하였다. 진탕배양이 끝난 각 시험관으로부터 배양액 0.1ml 씩을 취하여 새로운 분리용 배지 10ml 을 넣은 시험관에 다시 접종하여 30°C에서 5~7일간 진탕배양한 후 diaminododecane 자화능이 있는 것으로 관찰된 시험관에서 배양액 1백금을 취하여 순수분리한 후 다시 분리용 배지 10ml 을 넣은 시험관에 접종한 후 30°C에서 5~7일간 진탕배양하여 diaminododecane 자화성 유무를 재확인하였다. 이와같이 순수분리된 균주를 각각 분리용 배지 100ml 을 넣은 Shaking flask에 배양시켜 생육상태를 측정하여 자화능이 우수한 균주를 본 실험에 사용할 공시균으로 선정하였다.

### 3. 공시균의 분류동정

선정된 공시균의 분류학적 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양학적, 생화학적 제 특성을 검토하였으며 균의 분류동정은 Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 제 8판<sup>14)</sup>과 Komagata의 연구결과<sup>15-19)</sup>를 참고하였다. 세포벽 성분검사는 Staneck<sup>20-22)</sup> 등의 방법에 의하여 실험하였으며 배양학적, 생화학적 제 특성은 Biochemical Tests for Iden-

tification of Medical Bacteriology<sup>23)</sup>에 준하여 실험하였다.

### 4. 생육특성 조사

균의 생육도 측정은 Spectrophotometer 를 사용하여 660nm에서 흡광도로서 측정하였다. Diaminododecane 자화균의 alkane 유도체에 대한 생육특성 조사는 Table 2에 서와 같은 alkane 유도체들을 각각 0.2%씩 분리용 배지에 diaminododecane 대신 첨가한 배지 10ml에 공시균으로 선정된 균주를 접종하여 5~7일간 진탕배양하면서 생육상태를 조사하였다.

Table 2. Chemicals used for the growth test

n-Decane	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> CH <sub>3</sub>
1, 12-Diaminododecane	H <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> NH <sub>2</sub>
1, 10-Diaminododecane	H <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> NH <sub>2</sub>
Laurylamine	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> NH <sub>2</sub>
Pentamethylenediamine	H <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> NH <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O
Hexamethylenediamine	H <sub>2</sub> N(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> NH <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O
1-Chlorodecane	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>2</sub> Cl
1, 10-Dichlorodecane	ClCH <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>2</sub> Cl
Laurylcyanide	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> CN
1, 8-Dicyanoctane	NC(CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CN
1-Dodecanethiol	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> SH
1, 10-Decanedithiol	SH(CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> SH

### 5. Oxidation test

분리균주를 nutrient broth 배지에서 30°C, 48시간 진탕배양한 후 13,000 rpm, 20분간 원심분리하여 관제한 수거하였다. 이 균체를 1/15M phosphate buffer (pH 7.0)로 3회 세척한 후 본 실험에 사용할 resting cell로 하였다. 상기 resting cell을 적당량의 phosphate buffer (pH 7.0)로 현탁하여 30분간 진탕하여 Starvation culture 시킨 후 Warburg's manometer 를 사용하여 Oxygen uptake 를 측정하였다. Oxygen uptake 의 측정은 상기 re-

sting cell 현탁액 2.6ml를 Warburg's manometer의 주실에 넣고 측정하고자 하는 alkane 유도체를 0.1ml씩 측실에 넣고 측정하였다. 또 중앙실에는 0.2ml의 20% KOH 용액을 넣어 발생하는 CO<sub>2</sub>를 흡수하도록 하였으며 water bath의 온도는 30°C로 유지하였다.

6. Diaminododecane 자화균 생성되는 생성물의 검토

분리용 배지 300ml에 공시균으로 선정된 diaminododecane 자화균을 접종한 후 30°C에서 진탕배양하여 early stationary phase가 되었을 때 배양을 종료하고 배양액을 Fig. 1에서 보는 바와 같이 추출하여 산성추출분획을 얻었다. 이 산성추출분획을 TLC plate상에 spots 하고 전개용매로는 i) benzene-1, 4 dioxane-acetic acid (90:25:4, V/V), ii) n-butanol-acetic acid-distilled water (60:25:15, V/V)를 사용하여 상승법으로 전개하였다. 전개가 끝난 후 실온에서 건조시킨 다음 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 분무한 후 가열 발색시켜 생성물의 spots를 확인하였다. 또한 전개가 끝난 TLC pla-

te를 실온에서 건조시킨 다음 ninhydrin, bromphenol blue 등의 발색제로 생성물의 구조적 특성을 조사하였다.

### III. 實驗結果 및 考察

1. Diaminododecane 자화균의 분리 및 공시균의 선정

부산시내 주유소부근의 토양을 증점적으로 채취하여 실험한 결과 대부분의 지역에서 Diaminododecane 자화균이 분리되었으므로 주유소부근의 토양에는 탄화수소 분해능이 있는 미생물이 널리 분포하고 있는 것으로 나타났다. 분리된 균주는 모두 호기성 간균인 gram 양성균이었으며 항산성을 나타내지 않는 비포자형성균으로 coryneform bacteria<sup>14-19)</sup>에 속하였다. 이와같이 본 실험에서 분리된 균주중에는 gram 음성균, 구균 및 yeast 등은 전혀 분리되지 않았고 Coryneform bacteria만 분리되어 탄소원 및 에너지원으로 사용된 diaminododecane의 기질특이성과 토양을 채취한 지역에 있어서의 미생물의 생태학적 특성을 보

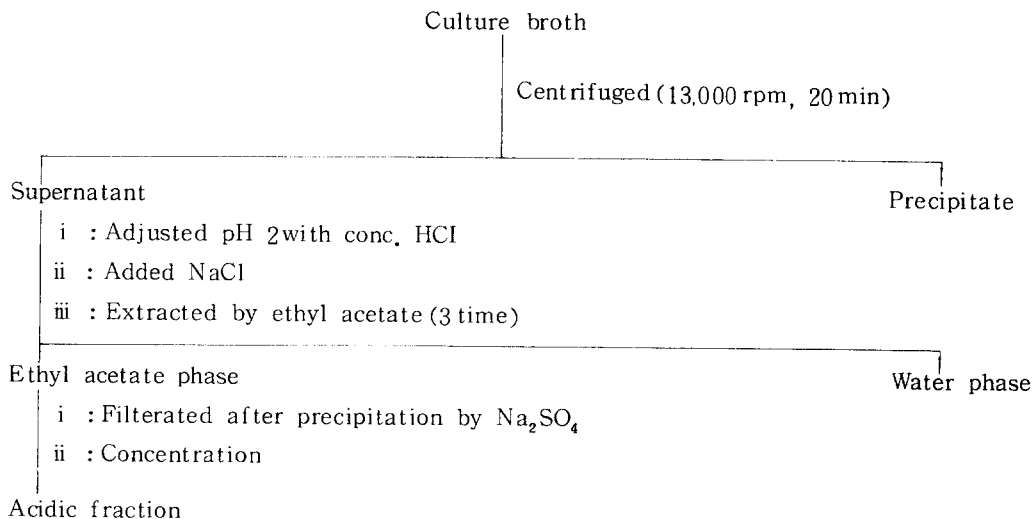


Fig. 1. Isolation of acidic fraction from the culture broth

여주고 있다고 하겠다.

## 2. 공시균의 분류동정

분리균주 30주 가운데 diaminododecane 자화능이 우수하며 본 실험의 목적에 적합하다고 생각되는 분리균주를 공시균으로 선정하였다. 이와같이 공시균으로 선정된 분리균주의 형태학적, 배양학적 및 생화학적 특성을 조사하여 분류학상 위치를 검토한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다.

본 균주는 호기성균으로 끝이 둥근 curved rod shape를 나타내었으며 gram염색에는 강한 양성을 보였고 항산성을 나타내지 않는 비

포자형성균이었다. 운동성은 없었으며 다형성은 분명하게 구별할 수 없었다(Fig. 2).

Cell division에 있어서는 Snapping division을 하였으며 세포벽 성분을 조사한 결과 meso-diaminopimelic acid가 검출되었다. 이상의 결과에서 볼 때 본 균주는 전형적인 coryneform bacteria에 속하는 것으로 사료되었다. 또한 공시균의 탄수화물 발효능에 관한 실험은 phenol red broth 배지상에서 실시하였으며 그 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다.

이상의 실험결과에서 본 실험에서 diaminododecane 자화균으로 분리된 공시균주의 형태

Table 3. Morphological, cultural and biochemical characteristics of strain EL-0112L

Contents	Isolated strain EL-0112L
Spape	Curved rod with rounded ends
Cell size	1-4.5um by 3.0-7.0 um
Motility	Nonmotile
Gram stain	Strongly positive
Spore	Non-spore forming
Acid-fast	Not acid-fast
Pleomorphism	Not distinctive
Type of cell division	Snapping division
Cell wall composition	Meso-diaminopimelic acid
Colonies on nutrient agar	Rough, entire convex, dry
Colonies color	Cream to gray
Colonies surface	Rough surface
Hydrolysis of gelatin	Negative
Catalase	Positive
Oxidase	Positive
Oxidation-Fermentation test	Fermentation
H <sub>2</sub> S Production	Negative
Hemolysis	Negative
Nitrate reduction	Negative
Voges-Proskauer	Negative
Methyl red test	Negative
Indol test	Negative
Lysine decarboxylase	Positive
Urease	Negative

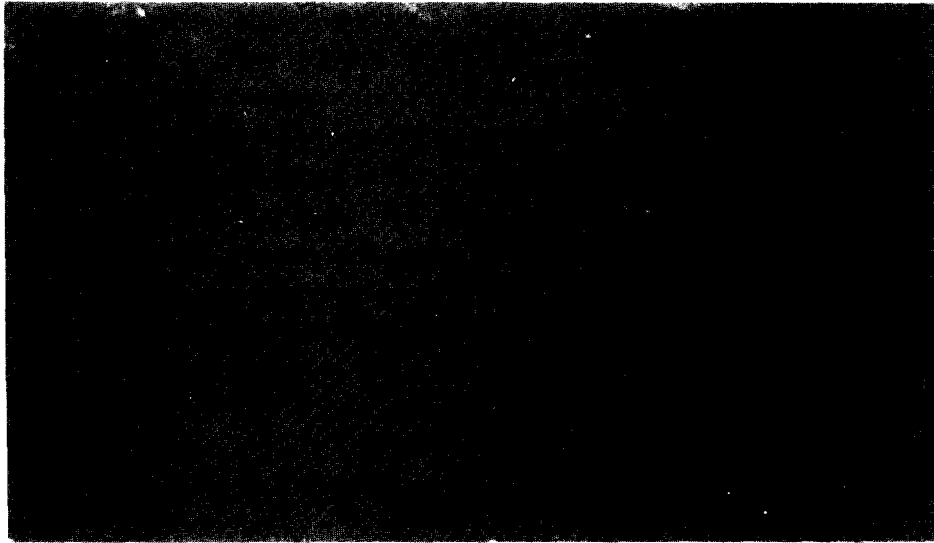


Fig. 2. Photograph of *Microbacterium* sp. EL-0112 Scale line indicates 5 $\mu$ m

Table 4. Test for carbohydrates fermentation

Contents	Isolated strain EL-0112L
Lactose	Negative
Starch	Negative
Sucrose	Negative
Fructose	Positive
Xylose	Positive
Inulin	Negative
Mannitol	Negative
Galactose	Negative
Sorbitol	Negative
Rhamnose	Negative
Dextrose	Positive
Glycerol	Negative
Maltose	Negative

학적 특성은 호기성이며 gram 양성균이고 산성을 나타내지 않으며 포자도 생성하지 않는 간균으로서 전형적인 coryneform bacteria에 속한다고 하겠다. 또한 본 실험에서 분리된 공시균주의 배양학적, 생화학적 특성은 Ber-

gy's Manual of Determinative Bacteriology 제 8판<sup>14)</sup>과 비교 검토한 결과 *Microbacterium* 속에 속하는 것으로 동정되었다. 특히 본 실험에서 분리된 공시균주는 cell wall 조성, cell division type 및 배양학적, 생화학적 특성이 *Microbacterium flavum* ATCC 10340과 유사하나 nutrient broth agar 평판배지에서 colony 상태와 탄수화물로부터 산의 생성유무에 다소의 차이를 보였으므로 본 공시균주는 *Microbacterium flavum*의 근연종으로 생각되며 이후 공시균주를 편의상 *Microbacterium* sp. EL-0112L로 명명하여 본 실험에 사용하였다.

### 3. 생육특성조사

*Microbacterium* sp. EL-0112L을 분리용 배지에서 배양시켜 diaminododecane 자화시의 생육도를 측정한 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같이 약 40시간 정도의 lag phase를 나타내었으며 정지기에 도달되기까지는 약 140시간이 소요되었다. Diaminododecane 자화시

pH의 변화는 초기 pH 7.0으로부터 점차 감소하여 최대 정지기에 이르러서는 5.0으로 감소하여 사멸기까지 계속 유지되었다.

*Microbacterium* sp. EL-0112L의 alkane 유도체에 대한 생육특성을 조사한 결과는 Table 5에서 보는 바와 같다. 본 분리균주는 diaminododecane과 비슷한 구조를 가진 diaminodecane은 탄소원으로 이용할 수 있었으나 diaminododecane보다 탄소수가 짧은 Pentamethylenediamine, hexamethylenediamine 등과 양말단에 amino groups을 갖지 않는 n-decane, laurylamine 등도 탄소원 및 에너지원으로 이용할 수 없었다. 또한 *Microbacterium* sp. EL-0112L은 chloro기, thiol기, cyan기 등을 가진 alkane 유도체들에 대해서도 산화능을 나타내지 않았다.

이와같은 실험결과는 Tulloch<sup>24)</sup> 등이 탄소수가 짧은 탄화수소 화합물일수록 분해가 어렵다고 보고한 바와 일치되었으며 Minoda<sup>25)</sup> 등은 이러한 alkane 유도체들이 미생물의 생육에 유독하거나 미생물 세포내에 chloro기, thiol기, cyan기들에 관련된 대사계가 존재하지 않기 때문이라는 연구보고를 하여 본 실험결과도 이와같은 이유에 기인한 것으로 추측된다.

#### 4. Oxidation test

*Microbacterium* sp. EL-0112L의 oxidation test 결과는 Table 6과 Fig. 4에서 보는 바와 같다.

*Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 탄소원 및 에너지원으로 이용되지 못하는 alkane 유도체들의 대부분이 oxidation작용을 나타내었다. Minoda<sup>25)</sup> 등은 cyanides에 내성을 가진 미생물들이 cyanides를 non-toxic products로 분해하므로서 내성을 가질 수 있다고 보고한 바 있다. 이와같은 실험결과는 이러한 alkane 유도체들이 미생물의 생육에 유독하거나 미생물세포내에 chloro기, thiol기, cyan기 등에 관련된 불완전한 대

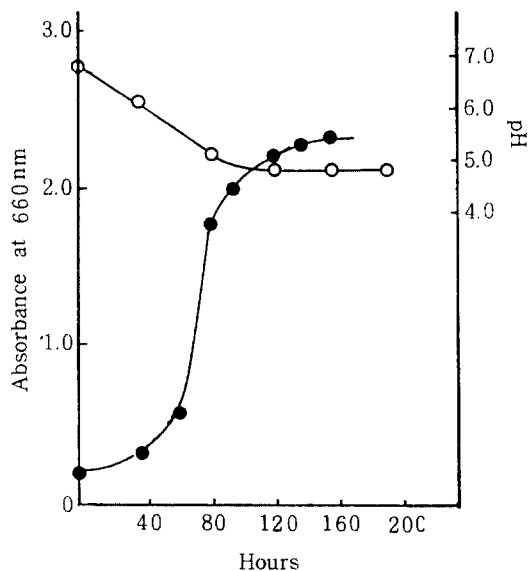


Fig. 3. Growth of *Microbacterium* sp. EL-0112L  
 —●— : Growth, —○— : pH

Table 5. Assimilation of various alkane derivatives

Alkane derivatives	<i>Microbacterium</i> sp. EL-0112L
n-Decane	No growth
Diaminododecane	Good growth
Diaminodecane	Good growth
Laurylamine	no growth
Pentamethylenediamine	no growth
Hexamethylenediamine	No growth
1-Chlorodecane	No growth
1, 10-Dichlorodecane	No growth
Laurylcyanide	No growth
1, 8-Dicyanoctane	No growth
1-Dodecanethiol	No growth
1, 10-Decanedithiol	No growth

사에 기인하여 탄소원 및 에너지원으로는 이용되지 못하나 diaminododecane과 구조적으로 비슷한 alkane 유도체들을 산화하여 non-toxic products로 분해시키므로 내성을 가지는

Table 6. Oxidation test on various alkane derivatives

Alkane derivatives	<i>Microbacterium</i> sp. EL-0112 L
n-Decane	No growth, oxidation only
Diaminododecane	Growth as a sole source of carbon
Laurylamine	No growth, not test
Pentamethylenediamine	No growth, no oxidation
Hexamethylenediamine	No growth, no oxidation
1-Chlorodecane	No growth, oxidation only
1, 10-Dichlorodecane	No growth, oxidation only
Laurylcyanide	No growth, oxidation only
1, 8-Dicyanooctane	No growth, oxidation only
1-Dodecanethiol	No growth, oxidation only
1, 10-Decanedithiol	No growth, oxidation only

것으로 생각된다. 이들 alkane 유도체들 중에서 현저한 oxygen uptake를 나타낸 것은 chloro기를 양말단에 가진 dichlorodecane과 thiol기를 가진 1-dodecanethiol이 있다. 특히 chloro기는 강력한 산화작용을 가진 기로서 이와같은 실험결과는 Lee<sup>3)</sup> 등의 실험결과와 일치하였다. 그러나 pentamethylenediamine과 hexamethylenediamine은 *Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 oxidation되지 못하였다. 이와같은 결과는 Tulloch<sup>24)</sup> 등의 보고와 같이 이들 alkane 유도체들이 diaminododecane과 구조적으로는 비슷하나 carbon chain에 있어서 탄소수가 적기 때문에 oxidation이 일어나지 않아 분해되지 않는 것으로 생각된다.

5. Diaminododecane 자화시 생성되는 생성물의 검토

Diaminododecane 자화시 생성되는 생성물을 검토하기 위하여 Fig. 1에서와 같은 방법으로 산성추출분획을 얻어 TLC한 결과는 Fig. 5에서와 같다.

*Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 diaminododecane이 분해되었음이 확인되었으며 또한 생성물의 Rf value는 0.83, 0.59를 나타

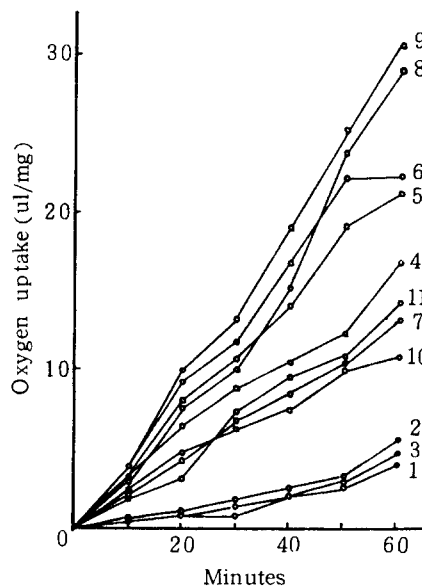


Fig. 4. Oxygen uptake on various alkane derivatives by *Microbacterium* sp. EL-0112 L

1. Endogenous
2. Pentamethylenediamine
3. Hexamethylenediamine
4. Diaminododecane
5. Laurylcyanide
6. 1, 8-Dicyanooctane
7. 1-Chlorodecane
8. 1, 10-Dichlorodecane
9. 1-Dodecanethiol
10. 1, 10-Decanedithiol
11. n-Decane

내었다.

이들 생성물의 구조적 특성을 조사하기 위하여 ninhydrin과 bromphenol blue 등의 발색제로 처리한 결과 ninhydrin에는 음성을 bromphenol blue에는 양성을 나타내었다. 그러므로 *Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 생성된 생성물은 amine기를 가지지 않으나 carboxyl기를 가진 산성화합물임을 알 수 있었다. 이와같은 실험결과에서 diaminododecane이 *Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 자화될 때 최초로 일어나는 oxidation은 omega-oxida-



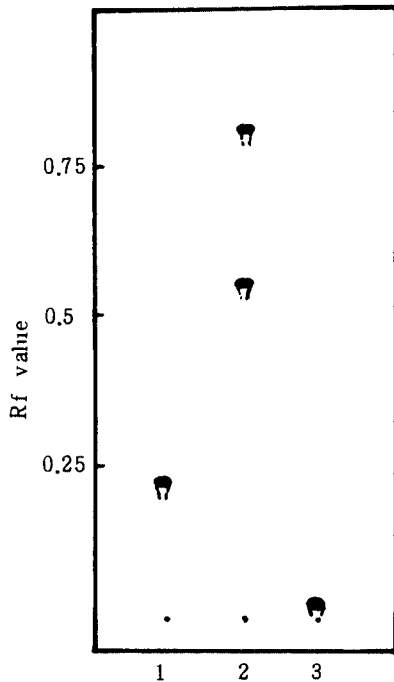


Fig. 5. Thin layer chromatography of acidic fraction from DAD medium (Solvent system: benzen-1, 4-dioxane-acetic acid)  
 1:  $\alpha$ -ketoglutarate  
 2: Acidic fraction from *Microbacterium* sp. EL-0112 L  
 3: Diaminododecane

tion임을 알 수 있었다. 그후 omega-oxidation이 계속되거나 beta-oxidation에 의해 산화되는 것으로 추정되며 이와 전후하여 deamination이 일어나므로 인하여 metabolic product에 amine기가 없는 것으로 생각된다.

본 실험을 종합하여 볼 때 diaminododecane은 미생물에 있어서 탄소원 및 에너지원으로서의 기질특이성을 시사하여 주고 있는 것으로 생각된다.

#### IV. 結 論

Amine group을 양말단에 가진 탄화수소계

화합물인 diaminododecane에 대해 자화능이 우수한 균주 EL-0112L주를 enrichment culture technique에 의해 토양으로부터 순수분리하였다. 이 분리균주의 분류학적 위치, alkane 유도체에 대한 생육특성 및 oxidation test, diaminododecane 자화시 생성되는 metabolic product 등에 대하여 실험한 결과는 다음과 같다.

1. 분리균주 EL-0112L의 형태학적, 배양학적, 생화학적 제 특성을 조사하여 분류학적 위치를 검토한 결과 *Microbacterium* 속으로 동정하였으며 이 분리균주를 편의상 *Microbacterium* sp. EL-0112L로 명명하였다.

2. *Microbacterium* sp. EL-0112L의 alkane 유도체에 대한 생육특성조사에서 diaminododecane과 구조적으로 비슷하나 탄소수가 적은 pentamethylenediamine, hexamethylenediamine 등과 amine기를 갖지 않는 n-decane 및 chloro기, cyan기, thiol기등을 가진 alkane 유도체들은 탄소원 및 에너지원으로 이용되지 못하였다.

3. Oxidation test에 있어서 생육기질로 이용하지 못한 대부분의 alkane 유도체들이 *Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 산화되었다. Oxidation test에 있어서 현저한 oxygen uptake를 나타낸 alkane 유도체는 dichlorodecane과 1-dodecanethiol이었으며 pentamethylenediamine, hexamethylenediamine 등의 alkane 유도체에서는 oxygen uptake도 일어나지 않았다.

4. *Microbacterium* sp. EL-0112L에 의해 diaminododecane으로 부터 생성된 metabolic product는 carboxyl기를 가진 산성화합물이었다.

이상의 결과에서 diaminododecane은 탄소원으로서의 기질 특이성을 시사하여 주고 있었다.

## 参 考 文 献

1. Skryabin, G.K., and Golovleva, L.A.M : Microorganisms in Organic Chemistry, Nauka, Moscow, 225-258, 1976.
2. Alexander, M., and Omori, T. : Bacterial Dehalogenation of Halogenated Alkanes and Fatty Acids, Appl. Environ. Microbiol., **35**, 867-871, 1978.
3. Lee, J.K., and Lee, S.J. : Microbial oxidation of Alkane Derivatives. (part 1) Oxidation of Alkane Derivatives by *Corynebacterium* sp., Korean. J. Microbiol., **21**, 185-190, 1983.
4. R.A. Bailey, H.M. Clarke, J.P. Ferris, S.K. Rause, R.L. Strong : Chemistry of the Environment, Academic press, New York, 1978.
5. Thijsse, G.J.E., and A.C. Vander Linder : n-Alkane Oxidation by a *Pseudomonas*. Studies on the Intermediate Metabolism, J. Microbiol. Serol., **24**, 298, 1958.
6. Foster, J. W., and Kester, A.S. : Diterminal Oxidation of Long-Chain Alkanes by Bacteria, J. Bacteriol., **85**, 859-869, 1963.
7. Kellio, R.E., and McKenna, E.J. : The Biology of Hydrocarbons, Ann. Rev. Microbiol., **19**, 183, 1965.
8. Jones, D.F., and Howe, R. : Microbiological oxidation of Long-Chain Aliphatic Compounds., part 1. Alkanes and Alk-1-enes J. Chem. Soc. (C), 2801-2808, 1968.
9. Pelz, B.F., and Rehm, H.J. : Terminale and subterminale oxidation von n-Alkane durch Schimmepilze., Arch. Mikrobiol., **92**, 153-170, 1973.
10. Yoshimura, K., Machida, S., and Masuda, F. : Biodegradation of Long Chain Alkylamines, JAPCS, July, 238-241, 1980.
11. Lee, J.K., and Lee, S.J. : Studies on Diaminododecane Utilization by Bacteria. (part 1) Studies on Diaminododecane Utilization by *Corynebacterium* sp. DAD 2-2, Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng., **10**, 109-115, 1982.
12. Lee, S.J., and Lee, J.K. : Studies on Diaminododecane Utilization by Bacteria. (part II) Studies on Diaminododecane Utilization by *Corynebacterium* sp. DAD 2-3, Kor. J. Microbiol., **21**, 191-196, 1983.
13. Lee, S.J. and Park, S.H. : Microbial Oxidation of Alkane Derivatives (part 2), Oxidation of Alkane Derivatives by *Nocardia* sp. DAD 10-23-B, J. Sci. PNU, **38**, 255-261, 1984.
14. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology., 8th, ed., The Williams and Wilkins. Co., U.S.A, 1974.
15. Komagata, K., and Yamada, K., and Ogawa : Taxonomic Studies on Coryneform Bacteria I. Division of Bacterial cells., J. Appl. Microbiol., **15**, 243, 1969.
16. Komagata, K., and Yamada, K. : Taxonomic Studies on Coryneform Bacteria II. Principal Amino Acid in the cell Wall and Their Taxonomic Significance., J. Gen. Appl. Microbiol., **16**, 103, 1970.
17. Komagata, K., and Yamada, K : Taxonomic Studies on Coryneform Bacteria

- III. DNA base Composition of Coryneform Bacteria., J. Appl. Microbiol., **16**, 215, 1970.
18. Komagata, K., and Yamada, K.: Taxonomic studies on Coryneform Bacteria IV. Morphological, Cultural, Biochemical, and Physiological Characteristics., J. Gen. Microbiol., **18**, 399, 1972.
  19. Komagata, K., and Yamada, K.: Taxonomic Studies on Coryneform Bacteria V. Classification of Coryneform Bacteria., J. Gen. Appl. Microbiol., **18**, 417, 1972.
  20. Stanek, J.L., and Roberts, G.D.: Simplified Approach to Identification of Aerobic *Actinomycetes* by Thin Layer Chromatography., Appl. Microbiol., **28**, 226, 1974.
  21. Good fellow, M.: Characterization of *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium* and related Taxa., Ann. Soc. Bel. Med. Trop., **53**, 287, 1973.
  22. Gordon, R.E.: Some Strains in search of a Genus *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, J. Gen. Microbiol., **43**, 329, 1966.
  23. Jean F. Mac Faddin: Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteriology. The Williams & Wilkins Co, Baltimore.
  24. Tulloch, A.P., Spencer, J.F. T., Gorin, P. A. J., : The Fermentation of Long - Chain Compounds by *Tolulopsis magnoliae*, Can. J. Chem., **40**, 1326, 1962.
  25. Minoda, Y., Omori, T., and Widanapratirama, S., : Microbial oxidation and Release of Terminal Substituent groups from n-alkanes. Ann. Rep of ICME., **1**, 287, 1978.