Hanguk Nonghwahak Hoechi
(J. Korean Agric. Chem. Soc.)
34(3), 279~286(1991)

難分解性 公害物質 TCAB의 微生物에 依한 分解 : (I)
TCAB 分解菌의 分離 및 同定

李載球 · 任良彬 · 趙容均 · 慶箕性 · 吳慶錫 · 金學南
忠北大學校 農科大學 農化學科

초록 : 우리의 環境 中에서 難分解性 公害物質 TCAB의 微生物에 依한 分解 可能性을 硏究하기 위하여 enrichment technique에 의하여 4種의 微生物을 分離하였다. 이들 菌株들은 *Achromobacter* group VD, *Pseudomonas alcaligenes, Moraxella* spp., 그리고 *Alcaligenes faecalis*로 각각 同定되었다. 또한 이들 微生物들은 MM_2 無機培地에서 TCAB를 唯一한 炭素源으로 利用하였다 (1991년 9월 2일 접수, 1991년 9월 27일 수리).

圃場에 撒布된 農藥은 대개의 境遇 時日이 經過함에 따라 여러가지 作用에 依하여 無毒性 化合物로 서서히 分解되나 어떤 化合物은 그 自體 또는 分解 産物이 環境中에서 母化合物보다 더 有害한 化合物로 轉換되어 食品連鎖(food chain)를 通하여 우리의 健康을 危脅하는 境遇도 종종 있다. 3, 3′, 4, 4′-Tetrachloroazobenzene (TCAB)는 微生物의 作用,[1,2] 光化學的 作用,[3-6] 酵素作用,[1,7] 또는 土壤이 誘發하는 縮合反應[8-11]에 依하여 3, 4-dichloroaniline(3, 4-DCA)로부터 生成되는 azo 化合物이다. 3, 4-DCA는 現在 世界 到處에서 除草劑로 使用하고 있는 propanil(DCPA), diuron, linuron, endavan, swep, benzoylprop-ethyl, neburon, methazole 等이 土壤中에서 分解될 때 生成된다. 또한 TCAB는 propanil, diuron, linuron 그리고 3, 4-DCA의 製劑와 工業試料中에서 確認되었고[12-15] 最高 2900 ppm이나 檢出되었다고 한다.[13]

TCAB는 mouse의 embryo fibroblast와 rat의 hepatocyte에 *in vitro*로 試驗하였을 때 oncogen, mutagen, 그리고 cytotoxin으로서의 可能性을 보임이 確認되었다.[16] 그 外에도 TCAB와 3, 3′, 4, 4′-tetrachloroazoxybenzene (TCAOB)는 arylhydrocarbon hydroxylase를 誘發하는 强力한 能力이 있음이 報告되었고[17] Hill 등[14]은 TCAB의 chloracnegenic potential이 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD)와 비슷하다고 하였으며 또한 TCAB는 TCDD 정도의 porphyrinogenic action도 가지고 있음이 알려졌다.[18] Viswanathan 등[19]은 3, 4-DCA로 處理된 土壤에서 栽培한 보리中에서 TCAB를 檢出하였다고 報告하였고, Worobey[20]는 土壤에 TCAB를 處理한 後 콩을 栽培하였을 때 TCAB 및 TCAOB가 土壤과 植物體에서 檢出되었다고 報告하였다. 著者 등은[21] ^{14}C-TCAB를 土壤에 處理하고 벼를 栽培하였을 때 植物體의 地上部에서 微量의 TCAB가 檢出됨을 確認하였다. TCAB는 물에 극히 難溶性인 非極性 物質로서 대단히 安定한 化合物[22]이므로 우리의 環境中에 長期間 殘留하면서 公害問題를 惹起할 수 있는 可能性이 多分하다. 그러므로 本 報에서는 이와 같이 難分解性의 安定한 化合物이라 하더라도 우리의 環境中 어디엔가는 이것을 炭素源 또는 에너지源으로 利用할 수 있는 微生物이 存在하리라는 假定下에 이와 같은 微生物을 探索 分離하고 同定한 結果를 報告하고자 한다.

材料 및 方法

使用培地

微生物의 分離와 TCAB를 炭素源 또는 에너지源으로 하여 分離된 微生物을 純粹培養하는데 使用한 培地는 無機培地인 MM_2 salt medium으로 그 組成은 Table 1에서 보는 바와 같으며 分離된 微生物의 保管에는 有機培地인 nutrient broth(NB) medium을 使用하였다 (Table 2).

TCAB 分解菌株의 分離

淸州工團 廢水 處理場으로부터 廢水 및 sludge를 採取하여 그 懸濁液을 phosphate buffer(pH 7.0)와 1 : 1로

Key words : TCAB, *Achromobacter* group VD, *Pseudomonas alcaligenes, Moraxella* spp., *Alcaligenes faecalis*, MM_2 salt medium, enrichment technique
Corresponding author : J. K. Lee

混合 稀釋하고, 5,000 rpm에서 10分間 遠心分離하여 上澄液 0.2 ml를 10 ppm TCAB 溶液 1 ml를 被覆시킨 MM_2 寒天培地[23]에 塗抹하고 30±1℃에서 3日間 培養한 後 生長한 colony 7個를 分離하여 分解菌株로 選拔하였다. 上記의 方法으로 分離한 菌株 各各을 單一炭素源으로 TCAB가 30 ppm이 되도록 處理한 MM_2 培地에 接種하여 30±1℃ 진탕기 內에서 培養하면서 每 2週마다 繼代培養을 繼續하였다.

TCAB 分解菌株의 同定

TCAB 分解菌株의 同定은 主로 API 20 NE Kit(API System, La Balme Les Grottes, 38390, Montalieu-Vercieu, France)에 依하여 行하여 졌으며 同定이 確實하지 않은 境遇는 다음과 같은 補完 試驗[24]을 實施하였다.

1) Catalase 試驗

Petri dish의 有機培地에서 培養한 分離菌의 colony에 3% H_2O_2를 2～3방울 떨어뜨렸을 때 氣泡가 發生하면 陽性反應이다.

2) 耐鹽性 試驗

4% NaCl 含有培地 內에서 分離菌株의 生長與否를 알기 위하여 NB 培地에 NaCl을 4%가 되게 넣은 다음 이 培地 5 ml에 分離菌을 接種하여 30℃에서 一週日間 진탕 培養하여 生長을 肉眼으로 觀察하였다.

3) 42℃에서의 生長

NB 培地에 分離菌을 接種하여 42℃의 incubator 內에서 培養하여 그 生長與否를 관찰하였다.

4) Lipase 生産

0.01% $CaCl_2 \cdot H_2O$를 含有한 寒天培地와 Tween 80 (oleic acid ester)을 121℃에서 20分間 各各 殺菌하고 殺菌된 Tween 80을 熔融狀態의 寒天培地에 45～50℃에서 添加하여 最終濃度가 1%(v/v)되도록 한다. 이 培地는 Tween 80이 Petri dish에 均一하게 分散될 때까지 흔들어 준다. 이 培地가 固化된 後 分離菌株를 接種하고 colony周邊에 不透明한 무리(opaque halo)가 생기면 陽性反應이며 顯微鏡으로 보면 이 무리는 Ca비누의 結晶으로 構成되어 있다.

5) 運動性(Motility)

0.4% agar를 含有하는 半固體 培地를 試驗管에 넣고 高壓殺菌한 다음 一直線으로 곧은 白金耳에 分離菌을 묻혀서 寒天培地의 中心部를 찔러 中間 程度까지 넣어 接種하여 30℃의 incubator에서 培養하면서 生長하는 것을 觀察하였다. 이 境遇 運動性인 細菌은 옆으로 移動하여 그 周圍에 混濁한 部分이 擴散될 것이며 非運動性 細菌은 接種線을 따라 生長할 것이다.

6) Arginine 加水 分解(Arginine hydrolysis)

分離菌을 0.033M phosphate buffer(pH 6.8)에 녹여 懸濁液을 만들고 이 懸濁液 4 ml를 取하여 窒素로 5分間 bubbling시킨 後 0.001M L-arginine monohydrochloride 1 ml 넣고 다시 5分間 bubbling시킨 後 마개를 막고 30℃에서 2時間 培養하였다. 이것을 100℃에서 15分間 加熱하고 遠心分離하여 菌體를 除去하고 上澄液中의 arginine을 다음과 같은 方法으로 定量하였다. 즉 上澄液 1 ml를 取하여 3N NaOH 1 ml, developing solution 2 ml, 蒸溜水 6 ml를 넣고 均一하게 섞은 다음 30分 後 arginine을 處理하지 않은 試料를 對照區로 하여 540 nm에서 吸光度를 測定하였다. 여기서 developing solution의 組成은 propanol에 녹인 25% α-naphthol 20 ml와 propanol에 녹인 1% diacetyl 2.5 ml를 섞은 後 propanol을 添加하여 100 ml로 하였고 分離菌을 接種한 試料에서 arginine의 量이 減少하면 陽性反應으로 하였다.

7) Gelatin 加水分解(Gelatin hydrolysis)

0.4% gelatin을 含有한 agar medium에 分離菌을 streaking하고 30℃에서 48 時間 培養한 後 20% HCl(v/v)에 녹인 15% $HgCl_2$ 溶液으로 培地表面을 被覆한 後 colony 周圍에 clear zone이 形成되면 陽性反應으로 하였다.

分離菌株의 最適生長條件 決定

1) 基質 濃度

100 ml 三角 flask에 單一炭素源으로 TCAB를 각각 10,

Table 1. Composition of the MM_2 salt medium

$(NH_4)_2SO_4$	18 mM
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	1 μM
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	100 μM
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1 mM
NaCl	8.5 mM
Na_2HPO_4	10 mM
KH_2PO_4	10 mM
Agar(if added)	20 g/L
pH	7.0

Table 2. Composition of the NB medium

Peptone	5.0 g
Beef extract	3.0 g
Agar	20 g
Distilled water	1L
pH	7.0

30, 50, 100, 200 ppm을 含有하는 MM_2 液體培地 25 ml를 넣고 分離菌株를 各各 接種하여 30℃에서 7日間 培養한 後 600 nm에서 吸光度를 測定하였다.

2) 培養 溫度

위와 같은 方法으로 30 ppm의 TCAB를 含有하는 NB 液體培地에 分離菌株를 接種하고 20, 25, 30, 35, 그리고 42℃에서 24時間 진탕배양한 後 600 nm에서 吸光度를 測定하였다.

3) 最適 pH

30 ppm의 TCAB를 含有하는 NB 液體培地의 pH를 各各 5, 6, 7, 8, 9로 調整하고 分離菌株를 各各 接種한 後 30℃에서 24時間 培養하고 600 nm에서 吸光度를 測定하였다.

透過型 電子顯微鏡(Transmission electron microscope, TEM)에 依한 分離菌株의 內部形態 觀察

TCAB에 長期間 露出시킨 分離菌株의 形態學的인 變化를 다음의 方法에 依하여 TEM으로 觀察하였다. 즉 NB 培地에 接種하여 30℃의 培養器 內에서 48時間 培養한 分離菌을 0.2M phosphate buffer(pH 7.0)로 washing한 後 同 buffer 0.5 ml에 懸濁시키고 45℃의 水浴槽內에서 8% blood agar(Difco) medium 0.5 ml와 均一하게 混合하여 固化시켰다. 이를 약 1 mm^3 정도의 크기로 잘라 0.2M phosphate buffer로 만든 2.5% glutaraldehyde 溶液에서 2時間 前固定하고 同 buffer로 30分間 1回, 20分間 2回 washing한 後 0.2M phosphate buffer에 녹여 만든 1% osmium tetroxide(OsO_4) 溶液에서 2時間 동안 後固定하였다. 이를 graded alcohol series (30, 50, 70, 80, 90, 95% ethanol)에서 각각 10分씩 脫水하고 100% ethanol에서 10分씩 2回 最終 脫水한 後 propylene oxide로 20分間 3回 置換하고 propylene oxide와 Spurr's resin의 比 3 : 1, 1 : 1 그리고 1 : 3에서 각각 30분씩 置換한 後 100% Spurr's resin(pure resin)에서 30分間 2回 置換시켰다. Spurr's resin block을 만들기 위해 capsule에 試料를 넣고 Spurr's resin을 채워 70℃에서 9時間 동안 polymerization시킨 後 ultramicrotome(Model 2088, LKB)으로 超微細 薄片을 만들어 5% uranyl acetate로 15分間, lead citrate로 10分間 染色하여 TEM(EM 109, Carl Zeiss)으로 檢鏡하였다.

走査型 電子顯微鏡(Scanning electron microscope, SEM)에 依한 分離菌株의 外部形態 觀察

NB 培地에 接種하여 30℃의 培養器 내에서 48時間 培養한 각각의 分離菌을 滅菌水에 적당한 濃度로 懸濁시켜 이를 滅菌한 cover glass위에 spoid로 1방울 떨어뜨리고 완전히 乾燥시킨 後 이를 ion coater(Model 570, Hitachi)로 7分間 gold coating하여 SEM(Model S-507, Hitachi)으로 檢鏡하였다.

結果 및 考察

分離菌株의 MM_2 培地上에서의 生長

TCAB를 唯一한 炭素源으로 添加한 MM_2 無機培地와 TCAB를 含有하지 않은 MM_2 無機培地(control)에 위에서 分離한 菌株들을 接種하고 好氣的으로 진탕배양하였을 때 Fig. 1에서 보는 바와 같이 TCAB를 含有하는 培地에서는 모든 菌株들이 旺盛하게 增殖함을 觀察할 수 있으나 TCAB를 含有하지 않은 培地에서는 菌株들이 전혀 生長하지 않아 培地가 透明한 채로 남아 있었다. 이는 分離菌 모두가 TCAB를 炭素源으로 利用하고 있음을 立證하는 것으로 看做된다.

TCAB 分解菌株의 生化學的 特性

TCAB를 含有한 MM_2 寒天培地上에서 生長한 colony 中에서 外觀上으로 서로 다른 菌株 7種을 選拔하고 그 名稱을 isolate I, II, III, IV, V, VI, VII로 하였다. 이들 分離菌株들의 生化學的 特性은 Table 3에서 보는 바와 같다.

分解菌株의 同定

Table 3에서 보는 바와 같이 API 20 NE Kit에 의하여 檢定한 分離菌株들의 生化學的 特性으로 判斷해 볼 때 isolate I, II, III은 同一한 菌株로서 *Achromobacter* group VD에 屬하는 菌株임을 알 수 있다. 또한 isolate IV는 *Pseudomonas testosteroni/alcaligenes*이고 isolate V는 *Moraxella* spp., 그리고 isolate VI와 VII은 *Alcaligenes*

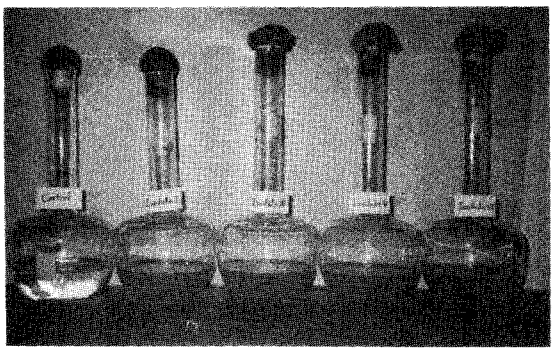

Fig. 1. Growth of isolates in the MM_2 salt medium.

Table 3. Biochemical reactions of the isolates in the test with the API 20 NE Kit

Substrates	Reactions/Enzymes	Isolates						
		1	2	3	4	5	6	7
KNO_3	$NO_3^- \rightarrow NO_2^-$				+	+		
	$NO_3^- \rightarrow N_2$	+	+	+			−	−
Tryptophan	Indole production	−	−	−	−	−	−	−
Glucose	Acidification	−	−	−	−	−	−	−
Arginine	Arginine dihydrolase	−	−	−	−	−	−	−
Urea	Urease	+	+	+	−	−	−	−
Aesculin	Hydrolysis (β-glucosidase)	−	−	+	−	−	−	−
Gelatin	Hydrolysis(protease)	−	−	−	−	−	−	−
p-Nitrophenyl-β-D-galacto-pyranoside	β-Galactosidase	−	−	−	−	−	−	−
Glucose	Assimilation	+	+	+	−	−	−	−
Arabinose	〃	+	+	+	−	−	−	−
Mannose	〃	+	+	+	−	−	−	−
Mannitol	〃	+	+	+	−	−	−	−
N-Acetyl-glucosamine	〃	+	+	+	−	−	−	−
Maltose	〃	+	+	+	−	−	−	−
Gluconate	〃	+	+	+	−	−	−	−
Caprate	〃	+	+	+	+	+	+	+
Adipate	〃	−	−	−	−	−	−	−
Malate	〃	+	+	+	+	−	+	+
Citrate	〃	+	+	+	−	−	+	+
Phenyl-acetate	〃	−	−	−	−	−	+	+
Tetramethyl-p-phenylene diamine	Cytochrome oxidase	+	+	+	+	+	+	+

+ : Positive reaction, − : Negative reaction

Table 4. Complementary tests for the identification of the isolate IV

Characteristic	*Pseudomonas alcaligenes*	*Pseudomonas testosteroni*	Results obtained
Arginine dihydrolase	+	−	+
Growth at 41℃	+	−	+
Gelatin hydrolysis	d*	−	+

*11~89% of strains are positive.

Table 5. Complementary tests for the identification of the isolate V which was uncertain in the test with the API 20 NE Kit

Characteristic	Result*
Shape	Rod
Gram staining	−
Motility	−
Tween 80 hydrolysis (Lipase production)	−
Growth at 42℃	+
Growth in 4% NaCl	+
Catalase	+
Pigment of colonies	−
Flagella	−

*+ : Positive, − : Negative.

*faecalis*로 同定되었다. 또한 isolate IV와 V의 보다 正確한 同定을 위하여 補充 檢定한 結果는 Table 4와 5에서 보는 바와 같다.

Isolate IV는 API 20 NE Kit에 依한 生化學的 特性으로 判斷하면 *Pseudomonas testosteroni/alcaligenes*에 屬한다. 이 菌을 正確히 區分하기 위하여 이와 같은 實驗을 遂行하였다(Table 4). 그 結果 arginine dihydrolase는 陽性反應(positive reaction)이고 41℃에서 生長

하며 gelatin hydrolysis가 陽性(positive)이므로 이 菌株는 *Pseudomonas alcaligenes*로 同定되었다. 여기에서 gelatin hydrolysis는 API 20 NE Kit를 使用했을 때는 negative로 나타났다. 그러나 Table 4에서 보는 바와 같이 菌株의 11~89%가 陽性(positive) 反應을 보이나 나머지는 陰性을 보이는 境遇도 있다. 한편 isolate V는 API 20 NE Kit에 의하여 生化學的 特性을 檢定한 結果 正確한 同定이 不可能하여 Table 5에서 보는 바와 같은 補充 檢定을 通하여 *Moraxella* spp.로 同定하였다(Table 6).

Table 6. Identification of the isolates

Isolates	Identities
I	*Achromobacter* group VD
II	〃
III	〃
IV	*Pseudomonas alcaligenes*
V	*Moraxella* spp.
VI	*Alcaligenes faecalis*
VII	〃

TCAB 分解菌株들의 生長 特性

MM_2 液體 培地를 使用하여 同定된 4種 菌株의 生長特性을 調査한 結果는 그림 2, 3, 4에서 보는 바와 같고 그 生長 最適 條件은 Table 7에 提示되어 있다. 즉 *Achromobacter* group VD로 同定된 isolate I과 isolate III은 生長할 수 있는 pH 範圍가 5~9로 比較的 廣範圍하며 最高 生長이 觀察된 pH는 7.0이었다. *Pseudomonas alcaligenes*로 同定된 isolate IV는 pH 範圍가 7.0~9.0이었고 pH 5~6에서는 生長이 抑制되었다. 한편 *Moraxella* spp.로 同定된 isolate V는 最適 pH 範圍가 6.0~7.0이나 pH 6~9의 範圍에서도 生長이 良好하지만 pH 5에서는 生長이 抑制됨을 觀察할 수 있었고, *Alcaligenes faecalis*로

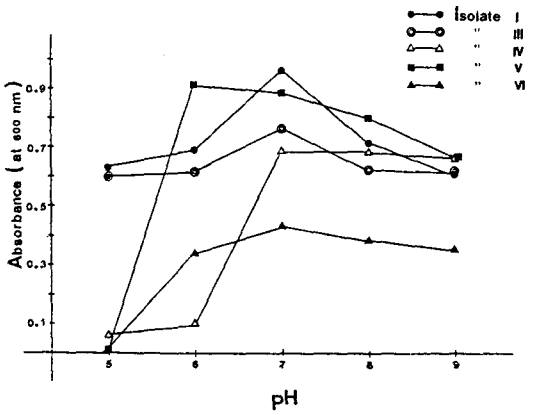

Fig. 2. Effect of pH on the growth of microorganisms isolated.

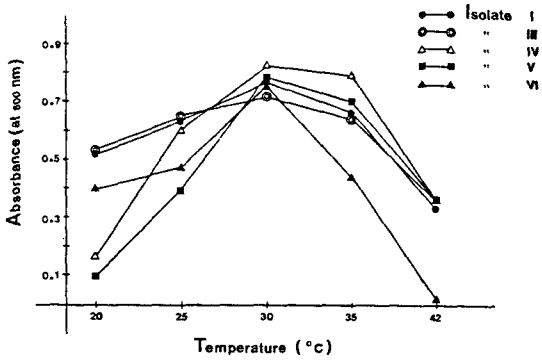

Fig. 3. Effect of temperature on the growth of microorganisms isolated.

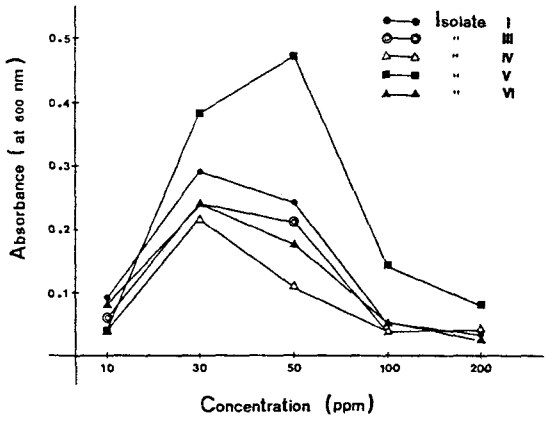

Fig. 4. Effect of TCAB concentration on the growth of the microorganisms isolated.

Table 7. Optimum conditions for the growth of the TCAB-degrading microorganisms isolated

Isolate	Identity	Optimum conditions		
		pH	Temp.(℃)	TCAB conc. (ppm)
I	*Achromobacter* group VD	7	30	30~50
IV	*Pseudomonas alcaligenes*	7~9	30	30
V	*Moraxella* spp.	6	30	50
VI	*Alcaligenes faecalis*	7	30	30

同定된 *isolate VI*은 *pH 6*~9에서는 生長하지만 pH 5에서는 生長이 상당히 抑制됨을 알 수 있다. 分離菌株들의 最適生長 溫度를 보면 isolate I과 III(*Achromobacter* group VD)은 20~42℃에서 生長이 잘되지만 42℃에서는 약간 떨어짐을 알 수 있다.

한편 isolate IV(*Pseudomonas alcaligenes*)는 25~30℃에서는 生長이 잘되지만 20℃와 42℃에서는 生長이 약간 떨어짐을 알 수 있다. 또한 isolate V(*Moraxella* spp.)는 30~35℃에서 生長이 旺盛하고 25℃와 42℃에서는 生長이 減少하고 20℃에서는 生長이 잘되지 않는 것을 알 수 있다. Isolate VI(*Alcaligenes faecalis*)의 境遇는 最適溫度가 30℃이고 특히 42℃에서는 生長이 상당히

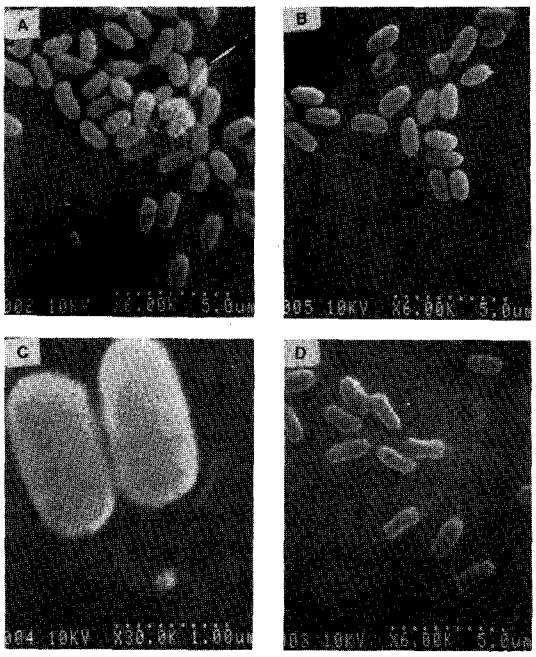

Fig. 5. Pictures of isolates taken with a scanning electron microscope.
A : Isolate I(*Achromobacter* group VD), B, C : Isolate IV(*Pseudomonas alcaligenes*), D : Isolate V(*Moraxella* spp.)

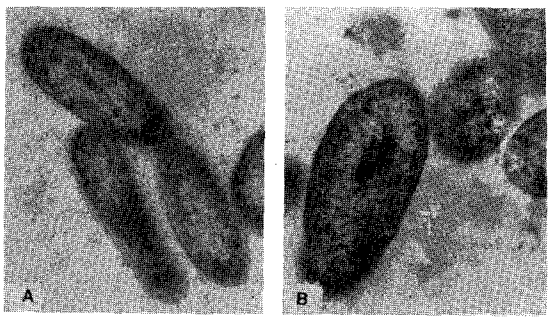

Fig. 6. TEM photographs of the isolate I(*Achromobacter* group VD) before(B) and after(A) exposed to TCAB.

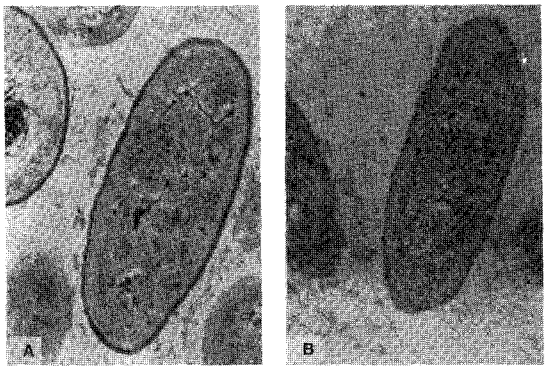

Fig. 7. TEM photographs of the isolate IV(*Pseudomonas alcaligenes*) before (B) and after(A) exposed to TCAB.

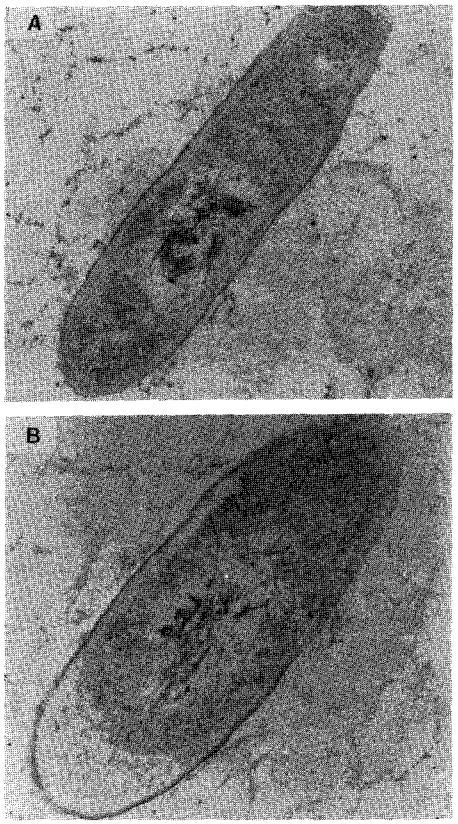

Fig. 8. TEM photographs of the isolate V(*Moraxella* spp.) before(B) and after(A) exposed to TCAB.

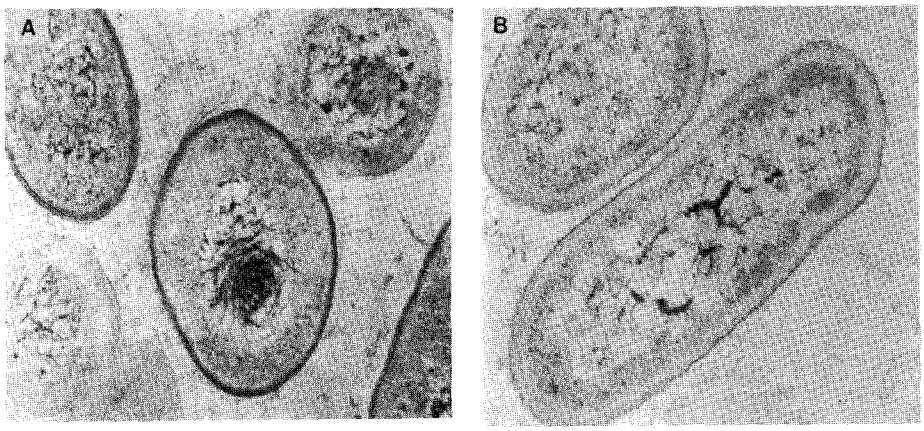

Fig. 9. TEM photographs of the isolate VI(*Alcaligenes faecalis*) before(B) and after(A) exposed to TCAB.

抑制됨을 알 수 있다. 또한 이들 分離菌株들은 대체로 TCAB 基質濃度가 30 ppm일 때 生長이 가장 旺盛하며 따라서 分解能도 이 濃度일 때가 가장 높은 것으로 생각된다.

分離菌株의 外部形態 觀察

SEM으로 觀察한 分離菌株는 그림 5에서 보는 바와 같이 크기는 대체로 길이가 1.3~2 μm이고, 幅이 0.8 μm인 桿菌이었으며 flagella는 觀察할 수 없었다.

分離菌株의 內部形態 觀察

分離菌株의 內部形態를 觀察하고 또한 TCAB에 長期間 露出되었던 分離 菌株의 內部形態變化를 究明하기 위하여 TEM으로 觀察한 結果는 Fig. 6~9에서 보는 바와 같다. 즉 isolate I(*Achromobacter* group VD)과 isolate V(*Moraxella* spp.)에서는 形態學的으로 뚜렷한 變化가 觀察되지 않았으나 isolate IV(*Pseudomonas alcaligenes*)와 isolate VI(*Alcaligenes faecalis*)에서는 細胞膜에 若干의 變化가 있는 것으로 보였다.

謝 辭

本 硏究는 1989年度 文敎部 支援 韓國學術振興財團의 自由公募課題 學術 硏究 助成費에 依하여 隨行되었으며 同 機關에 謝意을 表합니다.

참 고 문 헌

1. Bordeleau, L. M. and Bartha, R. : Can. J. Microbiol., 18 : 1857(1972)
2. Corke, C. T., Bunce, N. J., Beaumont, A. L. and Merrick, R. L. : J. Agric. Food Chem., 27(3) : 644 (1979)
3. Rosen, J. D., Siewierski, M. and Winnett, G. : J. Agric. Food Chem., 18(3) : 494(1970)
4. Mansour, M. and Korte, F. : Chemosphere, 5 : 383 (1976)
5. Miller, G. C., Zisook, R. and Zepp, R. : J. Agric. Food Chem., 28(6) : 1053(1980)
6. Miller, G. C. and Crosby, D. G. : J. Toxicol. Clin. Toxicol., 19(6-7) : 707(1983)
7. Bordeleau, L. M., Rosen, J. D. and Bartha, R. : J. Agric. Food Chem., 20 : 573(1972)
8. Hughes, A. F. and Corke, C. T. : Can. J. Microbiol., 20 : 35(1974)
9. Buser, H. R. and Bosshardt, H. P. : Pestic. Sci., 6 : 35(1975)
10. Pillai, P., Helling, C. S. and Dragun, J. : Chemosphere, 11(3) : 299(1982)
11. Isensee, A. R., Kaufman, D. D. and Jones, G. E. : Weed Science, 30 : 608(1982)
12. Sundstrom, G., Jansson, B. and Renberg, L. : Chemosphere, 7 : 973(1978)
13. Bunce, N. J., Corke, C. T., Merrick, R. L. and Bright, J. H. : Chemosphere, 5 : 283(1979)
14. Hill, R. H., Rollen, Z. J., Kimborough, R. D., Groce, D. F. and Needhfam, L. L. : Arch. Environ. Health, 36(1) : 11(1981)
15. Call, D. J., Brooke, L. T., Kent, R. J., Knuth, M. L., Anderson, C. and Moriarity, C. : Arch. Environ. Contam. Toxicol., 12 : 175(1983)
16. Hsia, M. T. S., Burant, C. F., Kreamer, B. L. and

Schrankel, K. R. : Toxicology, 24 : 231(1982)

17. Poland, A., Glover, E., Kende, A. S., De Camp, M. and Giandomenico, C. M. : Science, 194 : 627(1976)
18. Mensink, J. A. and Strik, J. J. T. W. A. : Bull. Environm. Contam. Toxicol., 28 : 369(1982)
19. Viswanathan, R., Scheunert, I., Kohli, J., Klein, W. and Korte, F. : J. Environ. Sci. Health, B13(3) : 243 (1978)
20. Worobey, B. L. : Chemosphere, 13 : 1103(1984)
21. Lee, J. K. and Kyung, K. S. : Serial No. 572, Subtopic/Poster Code 07B-54 IUPAC, 7th International Congress of Pesticide Chemistry, August 5-10, 1990, Hamburg, Fed. Rep. of Germany
22. Lee, J. K. and Fournier, J. C. : J. Korean Agric. Chem. Soc., 21(2) : 71 (1978)
23. Kiyohara, H., Nagao, K. and Yona, K. : Appl. Environ. Microbiol., 43(2) : 454(1982)
24. Gerhardt, P. et al. : Manual of methods for general bacteriology, American Society for Microbiology (1981)

Microbial degradation of the persistent pollutant TCAB : (I) Isolation and identification of the TCAB-degrading microorganisms

Jae-Koo Lee, Yang-Bin Ihm, Yong-Gyun Cho, Kee-Sung Kyung, Kyeong-Seok Oh and Hak-Nam Kim(Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chung Buk National University, Cheong Ju 360-763, Korea)

Abstract : In order to investigate the possibility of the microbial degradation of the persistent pollutant 3, 3', 4, 4'-tetrachloroazobenzene (TCAB) in our environment, four strains of microorganisms were isolated from industrial wastes by the enrichment technique. They were identified as *Achromobacter* group VD, *Pseudomonas alcaligenes, Moraxella* spp., and *Alcaligenes faecalis,* respectively. These microorganisms utilized TCAB as a sole carbon source in the MM_2 salt medium.