

## 병커-C유 분해미생물의 선발 및 현장 생리적용성 검정

박진희, 김영식, 이태진<sup>1</sup>

삼성에버랜드(주) 지하수토양환경연구실, <sup>1</sup>서울산업대학교 환경공학과  
전화 82-2-6230-3166(e-mail: jh777.park@samsung.com), <sup>1</sup>82-2-970-6614

### ABSTRACT

This study pointed at isolation of bunker-C oil degrading bacteria and then estimation of its degrading capability in environmental conditions. Degradation ratio of the excellent isolate was appeared to 40.5% and 44.7% when the oil was treated to 1% and 5%, respectively. The isolate was identified to *Acinetobacter calcoaceticus* SEBCM. In pH test, high degrading effect was appeared to about 73% at pH 6 and pH 7, and low degrading ratio was 37% at pH 4. Its growth condition at temperature has not large variation in 15°C ~30°C. Quantity of nitrogen for its good growth was ranged of 0.5 g/L~2 g/L. As these results, we realized that this isolate have good activity when treated to 15~30°C of temperature and 6~7 of pH.

### 서론

현재 세계적으로 탄화수소에 의한 토양오염은 심각한 수준에 있다(1,4,5). 그중 다양한 유류 중에서도 병커 C유는 원유를 정제해서 여러 탄화수소 경유 등을 추출한 후 남는 상압잔유 중의 하나로써 각종기계유의 원료로 널리 사용되고 있으며 우리나라 석유제품 소비의 절반 이상을 차지하며 그 용도와 사용량이 꾸준히 증가하고 있다. 하지만 이러한 병커 C유의 사용량 증가는 필연적으로 이로 인한 환경오염(3)을 수반하게 된다. 따라서 본 연구에서는 유류 오염물질을 정화하는 다양한 방법 중에서도 특정 유류에 대해 분해활성을 나타내는 미생물(1,2)을 이용하여 오염물질을 무해화 시키면서 2차 오염물질을 발생시키지 않고 처리비용이 비교적 저렴한 생물학적 처리법에 대해 연구하고자 하였으며 1차년도 연구를 통해 병커 C유와 윤활유를 신속하면서 효과적으로 분해할 수 있는 미생물 균주를 선별할 필요가 있다.

### 재료 및 방법

- 오염토양채취, 우수분해능 균주분리 및 동정

방문지의 토양을 채취하여 밀봉한 상태로 -5℃에서 저온 보관하였고 병커 C유 분해균 선발은 채취한 토양을 탄화수소와 증류수에 첨가시킨 후 영양성이 상이한 4가지 MM을 이용하여 실험을 실시하였다. 탄소원으로는 병커-C유를 처리한 후 비교적 밀도가 높은 균주에 대해 개별 선발하였다. 동정은 BioLog 및 MIDI에 의해 동정하고 명명하였다.

- pH실험 및 온도 실험

Table 1과 같은 조성을 가진 기본배지를 삼각플라스크에 넣고 2N HCl과 NaOH를 이용하여 기본배지의 pH를 4, 6, 7, 8로 조절한 후 균주를 접종하여 균 성장상태와 잔류 유류 농도를 확인하였다. 온도에 따른 균 성장특성을 확인하기 위해 진탕배양기에서의 균주 배양온도를 15℃, 20℃, 25℃, 그리고 30℃로 조절하여 균주를 배양시킨 후 균 성장상태를 확인하였다. 또한 질소원에 대한 영향을 확인하기 위해 Table 1과 같은 배지조성에서 NH<sub>4</sub>Cl의 양을 조절하여 균주를 배양시킨 후 미생물 농도 변화를 확인하였다.

- 밀도측정

UV spectrophotometer를 이용한 미생물 농도 분석은 파장 660nm에서의 흡광도를 측정함으로써 확인하였고 평판계수법은 test tube에 증류수에 시료 0.5mL를 취하여 test tube에 주입한 후 희석된 각각의 test tube에서 시료를 취하여 한천배지에 도말하여 배양시킨 후 균주를 계수하였다.

- 탄화수소 분석

그리고 균주에 의한 유류 분해도는 플라스크의 유류를 10mL의 n-hexane을 첨가시켜 용출한 후 일정량의 시료를 채취하여 Gas Chromatography(ACME 6000 GC)로 분석하였다.

Table 1. composition of mineral media

| component                             | quantity (g/L) |
|---------------------------------------|----------------|
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 9.0            |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>       | 1.5            |
| MgSO <sub>4</sub>                     | 0.2            |
| NH <sub>4</sub> Cl                    | 1.0            |
| FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O | 0.1            |
| CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O | 0.1            |

## 결과 및 고찰

### - 병커 C유 분해

병커 C유 분해 균주 SEBCM을 병크-C유 1%와 5% 함유 미디어에 처리하여 농도 변화를 관찰하여 제거율을 나타내었다(Fig.1). 병커 C유 농도 1%를 주입한 결과, 40.5% 수준으로 감소되었고 5%의 병커 C유에서는 44.7%가 제거되는 것으로 확인되었으며 25°C의 비교적 저온의 조건에서 활성을 검정한 결과 효과적인 분해율을 나타내었다.

### - 세균동정

BioLog의 결과 동정율이 매우 낮아 인정할 수 없었으며 MIDI의 결과 본 미생물은 *A. calcoaceticus* SEBM으로 동정 및 명명하였다.

### - 환경에 따른 성장시험

배양 온도, pH, 그리고 영양배지의 질소원 조성을 변화시키면서 실험을 수행하여 각각의 조건에 대한 성장 및 분해 특성을 확인하였다. pH6과 pH 7에서 분해율이 약 73% 정도로 가장 높게 나타났으며 pH 4에서는 분해율이 저하되어 병커 C유의 약 37% 정도가 미생물 분해에 의해 저감되는 것으로 나타났으며 일정 수준의 미생물 성장도 확인되었다(Fig. 2). pH 4는 일반적인 토양에서는 대단히 낮은 pH라는 점을 고려할 때 *A. calcoaceticus* SEBCM-1은 다양한 pH 조건에서도 생육이 가능하며 일정 수준의 분해력을 가지는 것으로 확인되었다.

본 균은 온도 변화에 관계없이 비슷한 성장정도를 보였다(Fig. 3). 이는 균주를 선발하는 과정에서 저온에서도 성장과 분해가 가능한 균주를 선발하기 위해 15~20°C의 비교적 낮은 온도에서 실험을 수행하였기 때문으로 사료되며 이 실험결과를 통해 *A. calcoaceticus* SEBCM-1은 비교적 넓은 온도 범위에서 왕성한 성장이 가능하며 또한 병커 C유의 분해가 가능할 것으로 판단된다.

본균은 질소원의 주입량이 0.5 g/L~2 g/L 범위에서 미생물 성장이 활발하였으며 0.1 g/L와 4 g/L로 주입했을 경우에는 미생물 성장이 크게 저하되는 것으로 관찰되었다(Fig. 4).

이상의 실험을 통해 환경조건에 따른 본 균의 성장 및 분해특성을 확인하였으며 실험결과 본 균주는 15~30°C 범위에서 온도의 영향을 크게 받지 않으며 중성의 pH인 6~7 사이에서 가장 왕성한 분해력을 보이는 것으로 확인되었다.

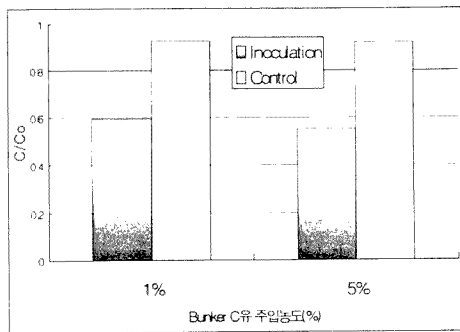


Fig. 1. 주입농도에 따른 벵커 C유 잔류 농도 비교

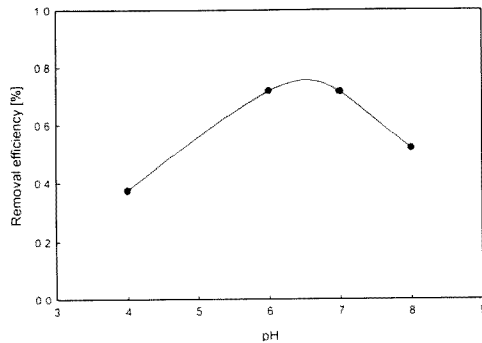


Fig. 2. pH에 따른 *Acinetobacter calcoaceticus* SEBCM-1의 벵커 C유 분해특성

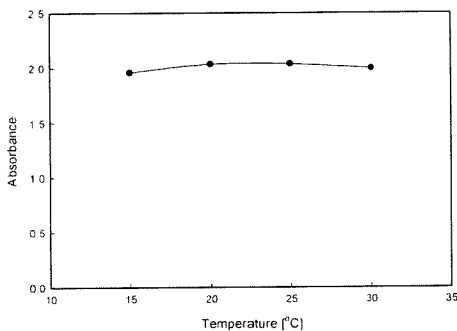


Fig. 3. 온도변화에 따른 *Acinetobacter calcoaceticus* SEBCM-1의 성장특성

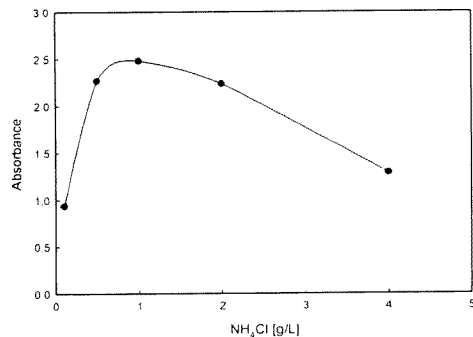


Fig. 4. NH<sub>4</sub>Cl 주입량 변화에 따른 *Acinetobacter calcoaceticus* SEBCM-1의 성장 특성

### 요약

벵커 C유 1-5%가 주입되었을 경우에는 40.5%, 44.7%가 제거되었으며 본 유류분해균주는 *A. calcoaceticus* SEBCM-1로 명명하였다. pH 6과 pH 7에서 분해율이 약 73% 정도로 가장 높게 나타났으며 pH 4에서는 약 37% 정도가 미생물 분해에 의해 저감되는 것으로 나타났다. 본균은 다양한 pH 조건에서도 생육이 가능하며 일정 수준의 분해력을 가지는 것으로 확인되었다. 본균은 비교적 넓은 온도 범위에서 왕성한 성장이 가능하며 분해가 가능할 것으로 판단된다. 본균의 영양분 조성 중 질소원의 주입량은 0.5 g/L~2 g/L 범위에서 미생물 성장이 활발하였으며 0.1 g/L와 4 g/L로 주입했을 경우에는 미생물 성장이 크게 저하되는 것으로 관찰되었다.

### 참고문헌

1. Guanghe Ki et al 2000 Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in polluted soil J. Environ. Sci. Health 35(2): 177-188
2. Kathleen Duncan et al. 1997 Managed bioremediation of soil contaminated with crude oil(soil chemistry and microbial ecology three years later) Applied Biochemistry and Biotechnology 63-65: 879-889
3. Keiji sugiura 1997 Physicochemical properties and biodegradation of crude oil Environ, Sci. Technol. 31:45-51
4. Lyle G. Ehyte et al. 1997 Biodegradation of Petroleum hydrocarbons bt Psychrotrophic *Pseudomonas* strain possessing both alkane(*alk*) and naphthalene(*nah*) catabolic pathways American society for microbiology 63:3719-3723
5. Manzur Ahmed et al. 1999 Effect of biodegradation on Australian permian coal Organic geochemistry 30: 1311-1322