Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.
Vol. 21, No. 1, 74-81 (1993)

저온성 세균 *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1의 원유분해 특성

윤희정 · 김상진[1]* · 민경희
숙명여자대학교 생물학과, [1]한국해양연구소 해양미생물연구실

Crude Oil-degrading Properties of Psychrotrophic Bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1

Yun, Hee-Jeong, Sang-Jin Kim[1]* and Kyung Hee Min
Dept. of Biology, Sookmyung Women's Univ., Seoul 140-742, Korea
Marine Microbiology Lab., Korea Ocean Research &
[1]Development Institute. An San P.O. Box. 29, 425-600, Korea

Abstract — To investigate the oil degrading properties of psychrotrophic bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1 the effects of environmental factors on this bacterium were studied. The optimal environmental conditions for cell growth rate and oil-emulsifying activity were as follows; temperature 15℃, pH 7.5, salt concentration 0~3% and crude oil concentration 0.1%. Additionally the optimal concentration of N and P source for cell growth rate and oil-emulsifying activity were 0.76 mM and 0.057 mM as $(NH_4)_2SO_4$ and K_2HPO_4, respectively. Analysis of remnant oil by gas chromatography showed time dependent oil degradation pattern by *A. calcoaceticus* during cultivation; At 10℃ and 15℃, most alkane peaks were disappeared and it showed large quantities of crude oil were degraded. But at 25℃ alkane compounds in the crude oil were partially degraded even after 120 hours incubation.

육지와 해양의 이용 증가와 아울러 인간 활동이 극대화 되는 현대 산업사회에서의 생태계 오염은 심각한 문제로 대두되고 있으며 그 중 최근 다양한 경로를 통한 유류 오염의 발생이 가장 빈번하고 그 피해 정도도 심각한 문제로서 우리나라 뿐 아니라 전 세계적인 문제로 대두되고 있다(23). 유류오염의 제거는 물리 화학적 방법이 널리 이용되고 있으나 각 방법의 단점과 2차 오염 등의 문제점이 있어 자연계에 다양하게 분포되어 있는 유류분해 세균에 관한 연구가 활발히 진행되어 왔다(16, 12, 10). 유류분해에 관여하는 미생물에는 세균, 방선균, 효모, 균류, 남조류 등 수백 여종이 알려져 있으며(32, 9) 또한 이 미생물 종류의 생리적 특성 및 생태학적인 특성에 대한 많은 보고가 있다(7).

Key words: Psychrotrophic bacteria, *Acinetobacter calcoaceticus*, Decomposition of crude oil, Environmental factor
*Corresponding author

자연생태계에서 온도는 탄화수소의 물리적 상태에 영향을 미칠 뿐 아니라 미생물의 대사과정에도 중요한 환경인자로 작용한다. ZoBell(34)과 Traxler(28)은 0℃ 이하에서도 탄화수소 분해가 일어난다는 보고를 하였고 탄화수소의 분해는 유류가 오염된 생태계의 특성에 따라 5℃ 미만의 낮은 온도에서도 일어날 수 있다고 하였다(7, 29, 3). Colwell *et al.*(11)은 Metula 유류오염 사고 해역에서 원유분해에 관한 연구결과 22℃ 보다 3℃ 의 저온에서 분해가 더 잘 이루어진다고 보고하였고, 또한 극지 해양에서 원유분해 실험결과 유류 분해는 낮은 온도에서도 천천히 일어남을 보고하였다(5, 6). 그러나 수온 20℃ ~30℃ 에서 최적 성장을 나타내는 중온성 유류분해 세균은 연중 5℃ 내외인 해양의 낮은 온도에서는 미생물의 성장이 저해되어 유류분해가 현저히 저하된다(33, 19).

따라서 본 연구에서는 남극 생태계에서 분리 동정한 (1) 유류분해 저온성 세균 *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1의 성장과 유류 분산능에 영향을 미치는 환경요

인에 대한 연구와 원유분해에 미치는 온도의 영향을 gas chromatograph로 확인 실험하였다.

재료 및 방법

균주 및 배지

실험에 사용한 *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1 균주및 사용배지에 관한 자세한 내용은 김과 윤(1)에 기술하였다.

환경 요인에 의한 영향

온도, pH, 염분도, 원유농도, 무기영양 염류와 같은 환경인자가 세균의 성장 및 유류분산도에 미치는 영향을 관찰하기 위한 실험의 배양조건은 원유 액체배지 30 m*l*를 250 m*l* 삼각 flask에 121℃ 에서 15분간 가압 멸균한 후 동일하게 배양한 전배양액 0.6 m*l*를 접종하여 10℃ 에서 96시간 진탕배양(120 rpm)하였다. 유류 분산도는 Reisfield *et al.*(25)의 방법에 따라 540 nm에서의 흡광도 값을 측정하였고 생균수 측정은 배양액을 적절히 희석한 후 ZoBell 2216-E 한천배지에 도말하여 10℃ 에서 7일간 배양하였다. 결과는 petri dish상에 생성된 colony 중 30~300개의 colony를 형성한 petri dish를 선택하여 계수하여 표시하였다.

Table 1. Analytical condition of gas chromatography

Instrument	HP-5890A G.C.(Hewlett Packard)
Injection vol.	1 μ*l*
Column	6 feet(stainless steel column)
Temperature	
Column-Initial	100℃
Column-Final	300℃
Detector	270℃
Injection	200℃
Carrier gas	Nitrogen 40 psi
Hydrogen	20 psi
Air	40 psi
Packing	Silicon 0V-101
Wt(%)	5%
Support	Chromosorb W/Hp
Mesh	60~80
Program rate	5℃ /min
Detector	FID(Flame Ionization Detector)
Attenuation	8
Min. Area	800,000
Chart speed	0.5 cm/min
Recorder	Strip chart recorder

Gas chromatograph(G.C.)에 의한 잔류 원유 성분의 분석

A. calcoaceticus A1-1 균주를 전 배양한 액을 0.1% 원유첨가 액체배지에 균일하게 접종하여 10℃, 15℃, 25℃ 의 온도에서 배양한 후 원유분해능을 G.C.로 비교 분석하였다. 시료 처리 방법은 Bartha and Dibble(8)의 방법과 같이 분액깔대기에 원유 액체 배양액을 넣은 후 2배의 G.C.용 n-hexane을 넣고 여러번 흔들어 유분을 n-hexane층에 옮긴 다음 완전히 층이 분리되도록 정치하여 n-hexane층만 회수하였다. 이와같은 방법을 3회 반복하여 배양액내의 유분을 완전히 옮긴 후, n-hexane층을 회수하여 무수황산나트륨 20 g을 채운 화학 분석용 여지(Whatman No. 1)에 통과시켜 탈수시켰다. 여액은 회전식 진공 증발기를 이용하여 용매를 완전히 제거하고 남은 여액을 검액으로 하였다. G.C는 Hewlett Packard HP-5890A FID을 사용하였고 분석조건은 Table 1과 같다.

결과 및 고찰

세균성장과 유류분산에 미치는 환경요인의 영향

환경적인 요인은 미생물의 성장과 원유분해율에 영향을 미치고 있기 때문에 자연계에서 이러한 환경요인이 원유분해 과정에 매우 중요하다는 사실은 이미 보고된 바 있다(7). 따라서 *A. calcoaceticus* A1-1 균주의 원유분해를 위한 유류분산도 및 세균성장의 최적조건을 살펴보기 위하여 자연환경에서 미생물의 성장과 유화활성도에 제한요인으로 작용할 수 있는 물리화학적인 환경요인에 관해 실험하였다.

온도

탄화수소 분해는 미생물에 의해 0℃ 에서 70℃ 까지 넓은 범위의 온도에서 일어날 수 있다고 이미 발표된 바 있다(34, 20). 이에 본 실험은 *A. calcoaceticus* A1-1의 성장에 미치는 온도의 영향을 알아보기 위해 Fig. 1에 나타난 바와 같이 4, 8, 15, 20, 25, 30, 35℃ 에서 배양하였다. 그 결과 72시간 배양 후 8℃ 에서 가장 높은 성장을 보였으며, 4℃ 에서 96시간만에 stationary phase에 들어갔고, 15℃ 와 20℃ 에서는 각각 48시간, 24시간만에 세균성장이 최고점에 달하였다. 또한 25℃ 에서는 12시간만에 세균이 lag phase 없이 직접 log phase로 성장하다가 24시간 경과 후

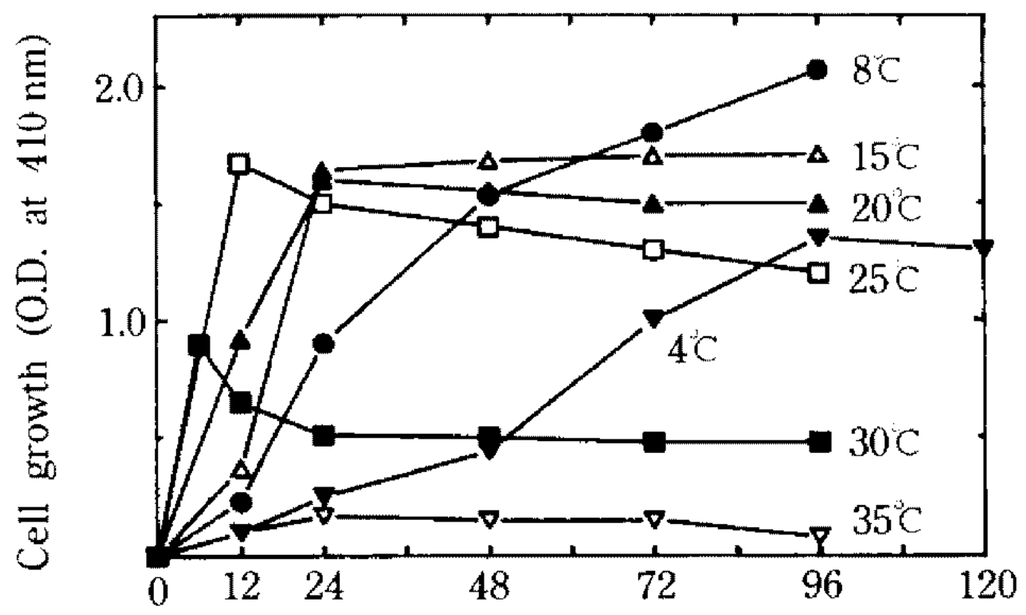

Fig. 1. Effect of incubation temperature on cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1 in ZoBell liquid medium.

부터 성장이 감소함을 관찰할 수 있었다. 한편 30℃에서는 세균성장이 초기에 빠른 성장을 보이나 8℃의 1/2 정도의 성장에 그쳤으며 35℃에서는 72시간 동안 세균성장을 관찰하지 못하였다. 이와같이 높은 온도로 배양했을 때 세균성장이 감소하는 원인은 미생물이 최적수온 이상의 온도에서 대사율이 빠르기는 하지만 성장속도와 cell yield가 낮고 노화 현상이 빠르게 나타난다는 Ordal(24)의 결과와 비교해 볼 때 높은 온도에 의한 세포의 손상 및 빠른 노화현상에 의한 것으로 사료된다. 성장 최적 온도를 정확히 알기 위해서는 각 온도에서의 연속배양을 통해 희석율을 구하여 μ값을 계산해야 한다. 그러나 본 실험에서는 log phase 상태에서 단위시간당 가장 높은 성장율을 나타낸 것을 계산한 결과 비록 8℃에서 72시간 후 세포밀도가 제일 높게 나타났으나 15℃에서 성장율이 제일 높음을 관찰할 수 있었다. 따라서 *A. calcoaceticus* A1-1 균주는 최적 성장온도가 15℃이며 4~30℃ 범위에서 성장하고 있음을 알 수 있었다.

Psychrotrophic bacteria는 Ekelôf(15)에 의해 남극에서 분리되어 알려진 이래 많은 연구가 되어 왔고 mesophilic 세균이 0℃에서도 성장하는 것을 psychrotolerant, mesotrophic이라 하였다. 또한 Morita(21)에 의하면 진정한 psychrophiles 세균은 성장 적정온도가 15℃ 내외이고, 최고 성장온도가 20℃, 최저 성장온도가 0℃ 이하라 정의하였다. 그러나 Stokes (27)은 저온성 세균을 0℃에서 성장하는 세균으로 정의하였으며 facultative psychrophiles의 적정온도는 20℃ 이상이고 obligate psychrophiles은 20℃ 이하로 하였다. 이와같이 여러 학자의 저온성 세균의 정의는 다소 차이가 있지만, Morita(21)에 의한 cardinal temperature가 중요한 요소로 작용한다고 보며, 본 실험

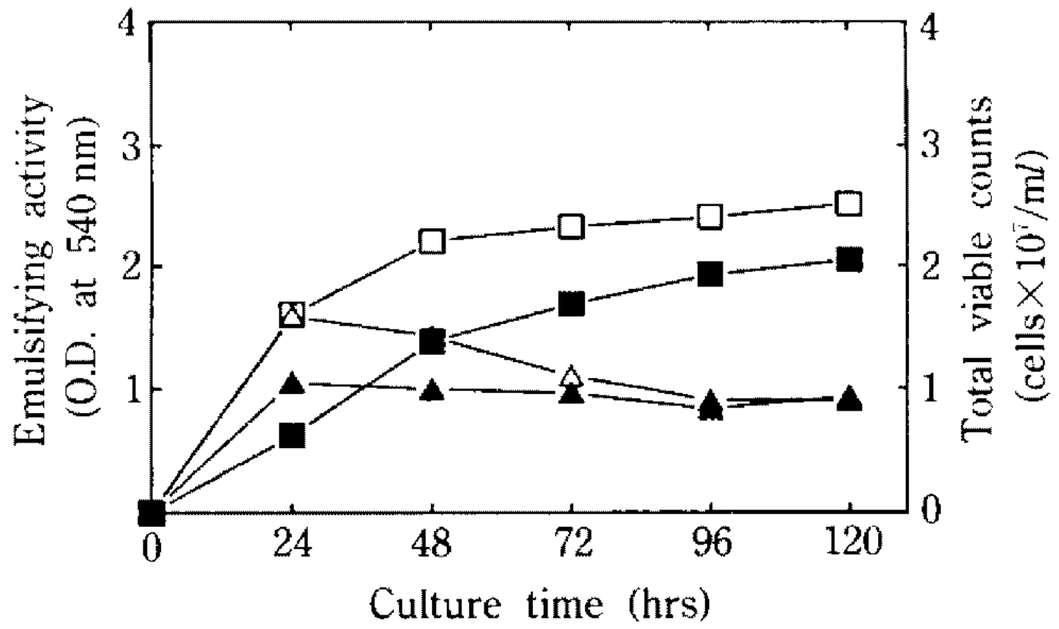

Fig. 2. Effect of incubation temperature on emulsifying activity and cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1 in minimal salts medium containing crude oil.

Total viable counts Emulsifying activity

8℃ □－□ ■－■

12℃ △－△ ▲－▲

균주는 15℃가 최적 성장온도이고, 성장온도 범위는 4~30℃까지 넓은 범위의 온도에서 성장하는 특성을 갖고 있으므로 적정성장온도만을 본다면 psychrophilic 세균으로 볼 수 있으나 성장온도 범위를 살펴보면 Morita(21)의 psychrophilic보다는 psychrotrophic 세균의 정의에 합당한 것으로 사료된다. 따라서 본 실험에 분리된 *A. calcoaceticus* A1-1은 저온성 세균으로서 낮은 온도에서도 유화활성도가 높아 4~30℃ 범위의 생태계에서 유류 분해 과정에 중요한 역할을 할 수 있는 세균으로 사료된다.

유화활성에 대한 실험결과는 Fig. 2에 보는 바와 같이 8℃, 25℃에서 각각 배양하였을 때 25℃에서는 24시간 경과 후 빠른 유화활성과 세균성장을 하다가 온도에 의한 환경적인 제한 요인으로 세균성장이 억제되며 유화활성도가 상승하지 않았다. 반면 8℃에서는 계속적인 세균성장과 유화활성을 나타내며 96시간 경과 후에는 유화활성도가 최고점에 도달함을 관찰할 수 있었다. 이 결과는 상대적인 유화활성도가 낮은 온도에서도 높음을 시사하고 또한 세균성장과 아울러 유화정도는 상관관계가 매우 높음을 알 수 있었다.

Gatellier *et al.*(17)에 의하면 탄화 수소를 분해하는 미생물이 유류와 경계수막에서 작용하게 되므로 낮은 온도로 인해 고체 상태가 되거나 점성이 증가되어 표면적이 감소하게 되면 미생물에 의한 유류분해가 감소되고, Atlas(7)에 의하면 낮은 온도는 탄화수소의 물리적 성질을 결정하는 주된 요인으로 작용하기 때문에 10℃ 이하에서 미생물의 유류분해 속도는 급격히 감소한다고 했다. 그러나 유류 확산 및 분산의

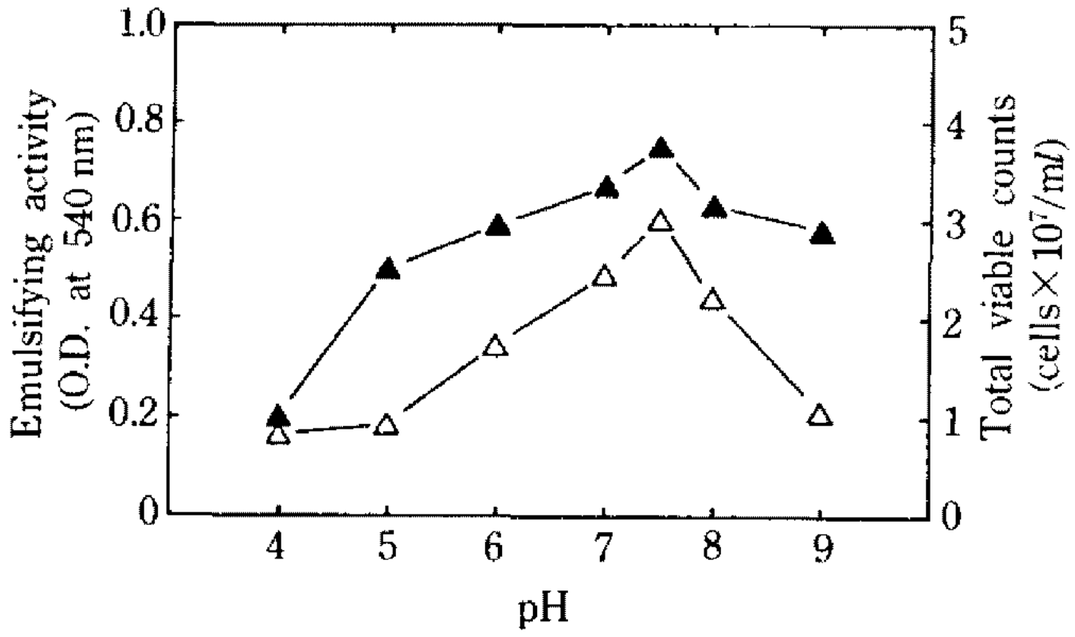

Fig. 3. Effect of pH on emulsifying activity and cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1 in minimal salts medium containing crude oil.
Total viable counts: △－△
Emulsifying activity: ▲－▲

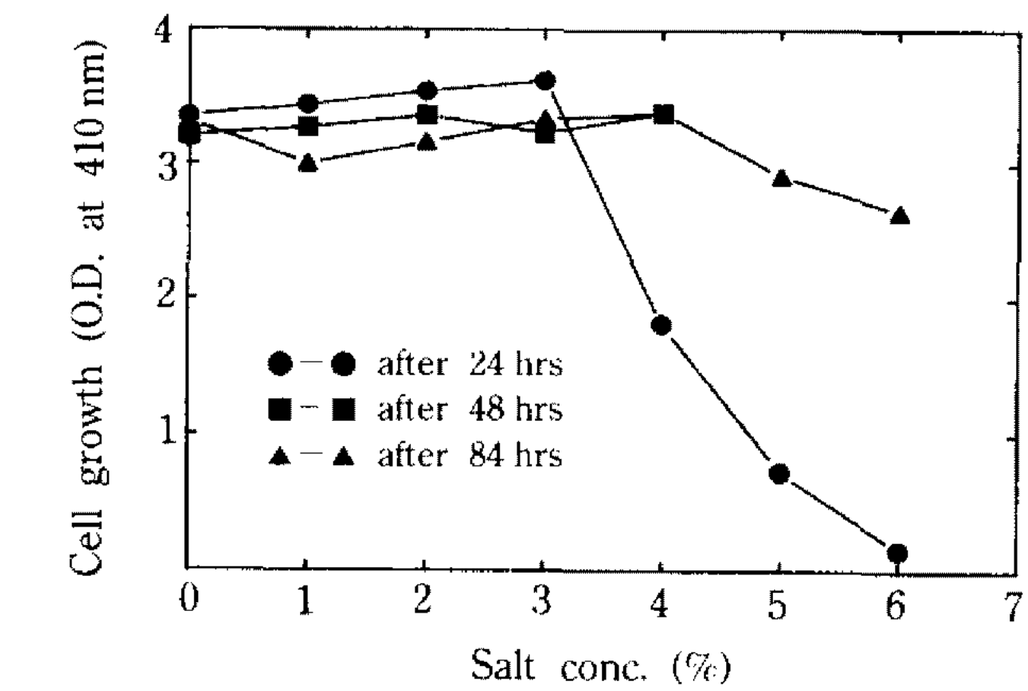

Fig. 4. Effect of salt concentration on cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1.

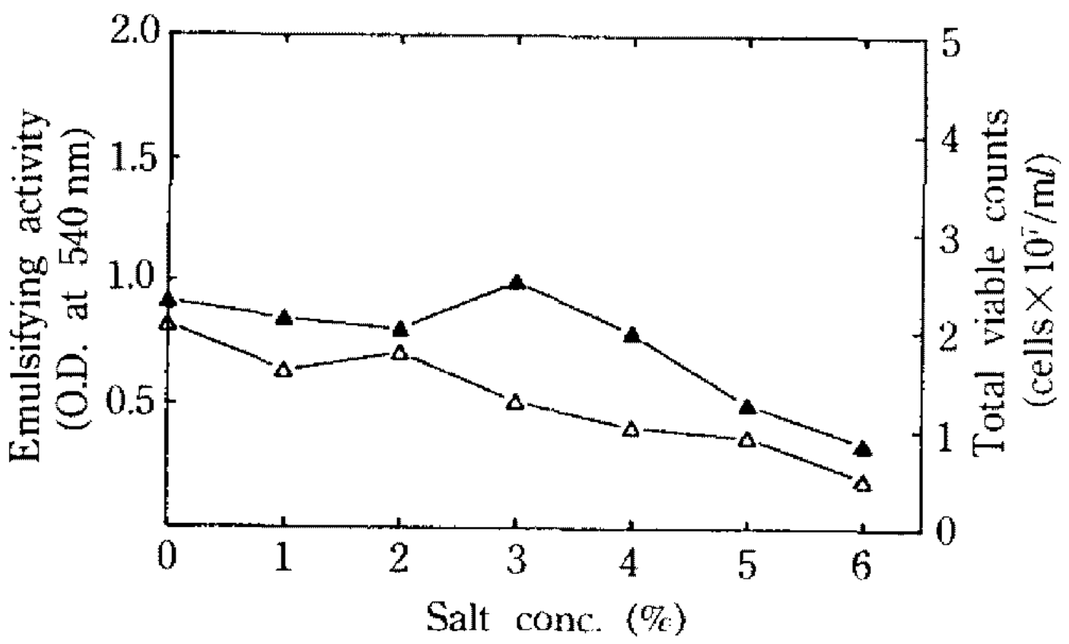

Fig. 5. Effect of salt concentration on emulsifying activity and cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1 in minimal salts medium containing crude oil.
Total viable counts: △－△
Emulsifying activity: ▲－▲

물리적인 악조건에도 불구하고 본 실험결과 낮은 온도에서의 상대적 유화활성도 상승과 높은 세균성장율을 관찰하였고 이는 10℃ 이하의 저온에서도 높은 성장율을 보이는 *A. calcoaceticus* A1-1 세균의 생리적 특성 때문이라 사료된다. 본 실험결과는 저온에서도 탄화수소가 미생물에 의해 분해될 수 있다는 ZoBell (34) 보고를 뒷받침한다.

pH

A. calcoaceticus A1-1에 의한 원유의 유화도와 세균성장에 미치는 pH의 영향을 알아보기 위하여 원유 액체배지 초기 pH를 4, 5, 6, 7, 7.5, 8, 9로 각각 조정한 후 96시간 배양하여 유화도와 생균수를 측정하였다. 그 결과는 pH 7.0～8.0 사이에서 높은 유화도와 세균성장을 나타냈다(Fig. 3).

pH 4～5 범위에서 유화도와 세균성장이 급격히 감소함을 관찰할 수 있는데 이는 pH가 산성인 환경이 세균의 성장을 억제하는 제한요소로서 작용하고 있음을 시사한다. 이상의 결과로 보아 *A. calcoaceticus* A1-1의 성장 최적 pH는 7.5임을 알 수 있고 또한 배지 초기 pH가 7.5일 때 가장 높은 유화활성을 나타냈다.

염분도

염분도는 수계의 모든 생물군집에 중대한 영향을 미치는 환경요인으로 작용한다(26). 따라서 넓은 범위의 염분도에서 *A. calcoaceticus* A1-1에 의한 원유의 유화도와 세균성장에 미치는 영향을 조사하기 위해 0～6% 염분도 범위의 ZoBell 액체 배지와 원유 액체 배지에서 배양한 후 각각의 배양시간 별로 세균성장과 유화활성도를 관찰하였다.

ZoBell 액체 배지에서 24시간 배양 후에는 0～3% 염분도에서만 성장을 보이다가 84시간 배양 후에는 6%의 넓은 범위의 염분도에서 균이 성장함을 관찰할 수 있었다. 이것은 실험균주가 넓은 범위의 염분도에서 내성을 나타냄을 시사한다(Fig. 4). 한편 원유배지에서의 염분도의 영향은 0～3%까지는 유화활성이 높게 나타나지만 4% 이상의 염분도에서 유화활성이 떨어지는 경향을 나타냈다(Fig. 5). 이 결과는 4% 이상의 염분도가 실험균주에 하나의 환경적 억제요인으로 작용하는 것으로 사료된다(18). 따라서 *A. calcoaceticus* A1-1은 넓은 범위의 염분도에서 성장은 가능하나 0～3% 범위에서 높은 유화활성을 나타냄을 알 수 있었다.

원유농도

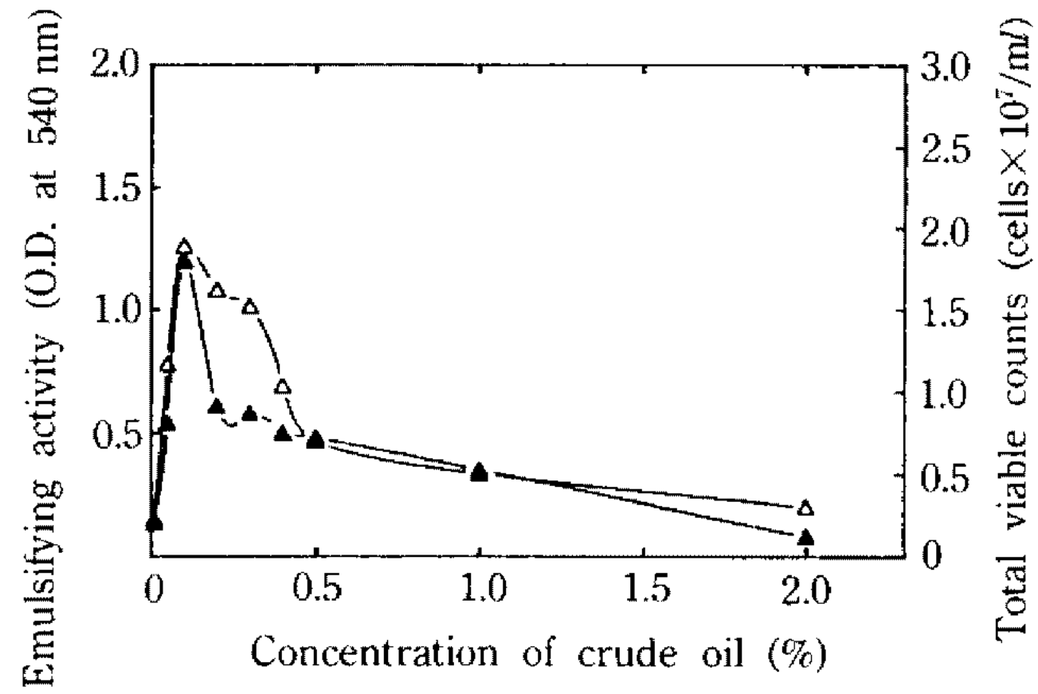

Fig. 6. Effect of the concentration of crude oil on emulsifying activity and cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1 in minimal salts medium.
Total viable counts: △—△
Emulsifying activity: ▲—▲

원유는 미생물의 탄소와 에너지원으로 이용되는 반면 다양한 용해성 독성성분이 포함되어 있어 미생물의 성장을 저해하는 성질을 갖고 있으므로 배지내의 원유농도는 세균의 성장과 유화활성도에 영향을 미친다. 본 실험에서 원유 농도를 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0%(v/v)로 조정하여 최소 액체 배지에 첨가한 후 96시간 배양하여 *A. calcoaceticus* A1-1의 세균 성장과 유화도를 관찰하였다(Fig. 6).

원유농도 0.1%에서 최고의 유화활성과 세균성장을 나타내었고 그 이상의 농도에서는 세균성장 및 유화활성이 떨어지는 결과가 관찰되었다. 이러한 결과는 최적 원유농도 이상에서는 세균성장에 미치는 독성화합물이 많이 포함되어 있어 세균의 성장을 억제하여 유화활성도가 감소하는 것으로 사료된다.

무기영양 염류

Atlas and Bartha(2)는 미생물에 의한 원유분해시 질소 및 인 농도가 중요한 제한 요소로 작용하고, 수계 생태계에서는 질소와 인과 같은 무기영양 물질이 낮은 농도로 분포되어 있어 탄소 이외의 무기영양 물질이 미생물 성장에 제한요인으로 작용한다(30, 9).

질소와 인이 *A. calcoaceticus* A1-1에 미치는 영향을 관찰하기 위해 원유 액체 배지에 $(NH_4)_2S0_4$, K_2HPO_4를 각각 질소원과 인산원으로 농도별로 첨가하여 유화활성과 생균수를 조사하였다. 질소 및 인의 농도는 원유 액체 배지를 기준으로 하여 K_2HPO_4 0.057 mM을 기준으로 $(NH_4)_2S0_4$를 0, 0.76, 3.8, 7.6, 15.2 mM로 첨가하였고 또한 $(NH_4)_2SO_4$ 7.6 mM을 기준으로 하여 K_2HPO_4를 0, 0.006, 0.029, 0.114 mM을 각각 조정하여 첨가하였다.

Table 2. Effect of the concentration of $(NH_4)SO_4$ and K_2HPO_4 on emulsifying activity and cell growth of *A. calcoaceticus* A1-1

Conc. of $(NH_4)SO_4$(mM)	K_2HPO_4 (mM)	Emulsifying activity[1]	Cell growth[2]
0	0	0.06	1.9
0	0.057	0.23	2.2
0.76	0.057	1.02	3.7
3.8	0.057	0.80	3.4
7.6	0.057	0.60	3.2
15.2	0.057	0.65	4.0
7.6	0	0.45	2.5
7.6	0.006	0.56	2.3
7.6	0.029	0.55	3.7
7.6	0.114	0.70	3.7

[1] O.D. at 540 nm
[2] Total viable cell counts($\times 10^7$ CFU/m*l*)

질소, 인 농도에 관한 *A. calcoaceticus* A1-1의 유화활성 및 세균성장 결과는 0.76 mM $(NH_4)_2S0_4$, 0.057 mM K_2HPO_4의 농도에서 최고의 유화도와 생균수를 나타내었다(Table 2). 반면에 질소, 인 중 어느 하나를 제외시키거나 두성분 모두를 제외한 대조구의 경우는 낮은 유화활성도와 생균수를 나타냄으로써 탄화수소의 미생물 분해에 있어 질소와 인 농도가 중요한 제한인자로 작용한다는 보고와 일치함을 알 수 있다(25, 13). 또한 질소 인의 비율은 약 13 : 1로서 Atlas and Bartha(3)의 결과인 10 : 1과 유사한 경향을 나타냈다.

A. calcoaceticus A1-1에 의한 온도별 원유분해 양상

원유-액체 배지에 실험균주 *A. calcoaceticus* A1-1를 접종하지 않은 상태에서 실험구와 같은 조건으로 배양했을시 시간이 지남에 따라 증발 또는 다른 물리적인 요인에 의해 변화하는 양상을 조사하기 위해 각 온도에서 96시간 후 G.C 잔류원유 성분의 분석 결과는 Fig. 7-2과 같이 탄소수 12 이하의 화합물 peak가 현저히 감소한 것을 관찰할 수 있었다. 이 결과는 대조구로서 원유를 직접 GC 분석한 결과(Fig. 7-1)와 비교했을시 C_{12} 이하의 짧은 탄화수소는 휘발성이 강하므로 자연적으로 감소되었을 것으로 추측된다.

원유-액체 배지에 *A. calcoaceticus* A1-1을 배양하여 잔류원유 성분을 비교한 결과 10℃에서 48시간 배양후 n-alkane peaks가 감소하기 시작하였고 120시간

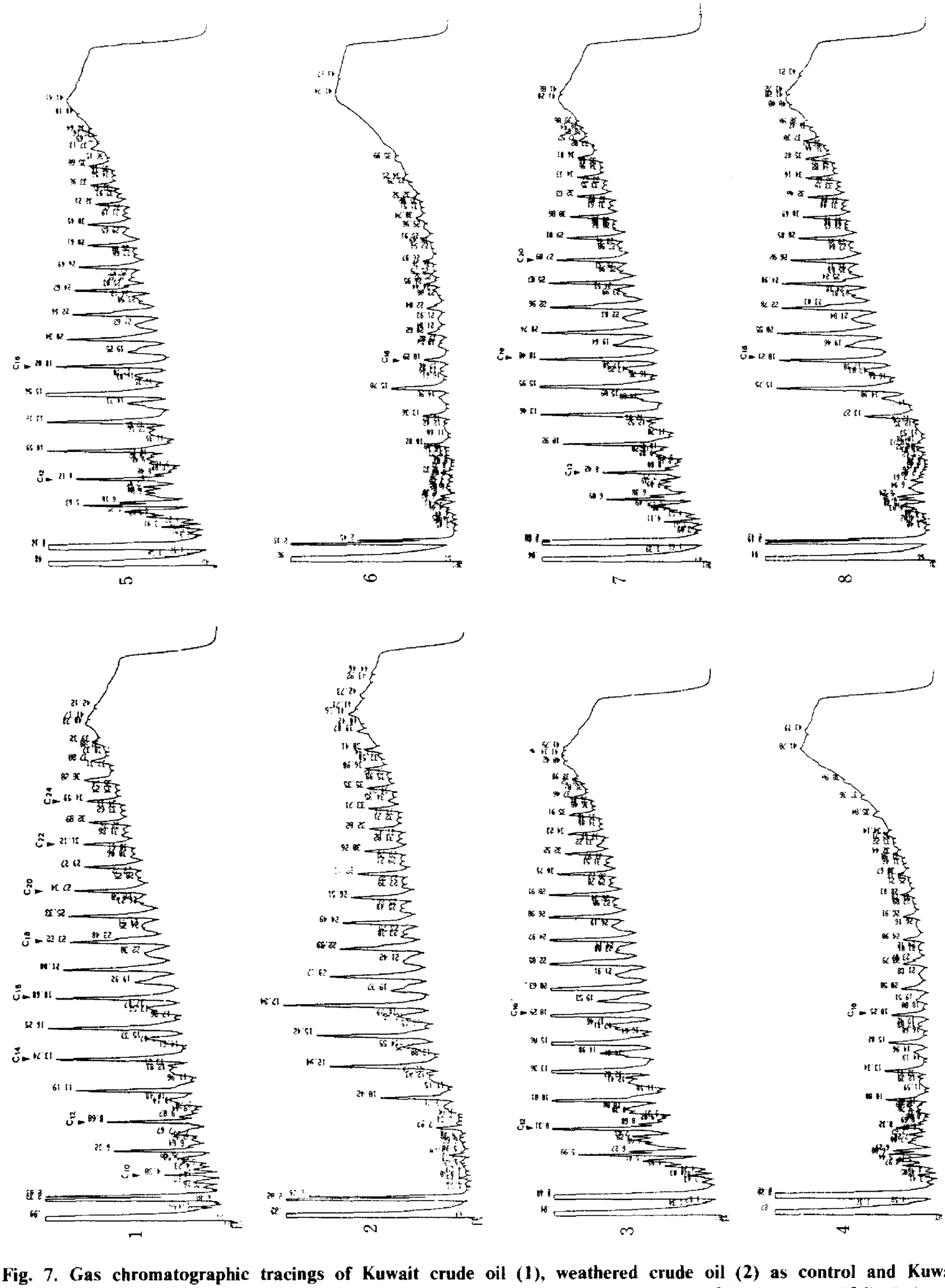

Fig. 7. Gas chromatographic tracings of Kuwait crude oil (1), weathered crude oil (2) as control and Kuwait crude oil after biodegradation by *A. calcoaceticus* A1-1 for 48 hrs and 120 hrs at 10°C (3, 4), at 15°C (5, 6) and at 25°C (7, 8).

배양한 후에는 모든 탄화수소 화합물이 상당량 분해되었다(Fig. 7-3, 4). 15℃의 경우 역시 초기 48시간 배양 후 모든 탄화수소들이 조금 분해된 것으로 관찰되어 10℃의 경우와 유사한 양상을 보였고 120시간 배양 후에는 거의 모든 탄화수소들이 분해되었다(Fig. 7-5, 6). 15℃의 경우 10℃에서 배양한 결과보다 120시간 후 잔류원유 peak가 상대적으로 낮아 *A. calcoaceticus* A1-1 세균은 15℃에서 유류 분해능이 높음을 확인하였다. 한편 잔류원유 성분분석 결과에서 n-alkane peak의 높이가 배양시간에 따라 차이가 남을 알 수 있는데 이 것은 긴사슬 n-alkane 화합물 분해 과정 중 고분자 탄화수소 분해 결과 짧은 사슬의 탄화수소들이 중간산물로 축적됨을 시사한다. 이와 같은 현상은 특히 Fig. 7-6의 C_{15} 화합물 peak에서 관찰할 수 있었고 이에 대한 규명연구가 앞으로 필요하다. 한편 25℃ 경우 초기 배양시 C_{20} 이상 탄화수소들이 분해되기 시작하여 48시간, 96시간 배양 후에도 계속해서 peak가 소량 줄어들었으나 그 이후에는 더 이상의 분해를 관찰할 수 없었다(Fig. 7-7, 8). 이 결과는 최적온도 이상의 온도에서 배양했을 경우 *A. calcoaceticus* A1-1의 성장을 억제함과 아울러 기질인 탄화수소를 이용하지 못함을 시사한다.

원유분해는 배양온도를 달리하였을 경우 원유분해능에 영향을 받고 있음이 여러 학자들에 의해 보고된 바 있다(2, 22, 31). Atlas(4)는 10℃와 20℃와 같이 온도차가 현저한 상태에서 원유분해능에 미치는 영향을 연구한 결과 온도가 높을수록 원유분해가 잘 된다고 발표 하였으나 Dibble과 Bartha(14)에 의하면 20℃ 이상에서는 거의 유사한 분해능이 나타난다고 하였다. 반면에 Colwell *et al.*(11)은 22℃ 보다 3℃ 의 저온에서 분해능이 더 높다고 보고하였다. 일반적으로 미생물에 의한 원유분해는 최적온도 범위가 매우 중요한 역할을 하여 그 범위에서 벗어날 때 원유분해능이 저해되어 큰 영향을 받게 된다. 그러므로 본 실험 결과와 같이 25℃ 보다 10℃와 15℃에서 원유분해도가 높은 것은 실험균주가 낮은 온도에서도 생리적 활성도가 감소하지 않는 저온성 세균이기 때문으로 사료된다. 따라서 앞으로 저온환경에서 빈번히 발생하는 유류오염의 방제 혹은 오염환경 회복에 이와같은 저온성 미생물을 활용하기 위한 연구가 활발히 이루어져야 할 것이다.

요 약

저온성 세균 *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1의 유류분해 특성을 연구하기 위해 환경적 요인에 대한 영향을 살펴보았다. 이 세균의 성장율과 유화활성도에 대한 적정 환경조건은 온도 15℃, pH 7.5, 염분도 0~3%, 원유농도 0.1%로 나타났고 질소원과 인원의 적정농도는 $(NH_4)_2SO_4$, K_2HPO_4 형태로 각각 0.76 mM, 0.057 mM이다. 온도에 따른 *A. calcoaceticus* A1-1의 유류분해 양상을 개스크로마토그라피로 분석한 결과 10℃, 15℃에서 대부분의 탄화수소 피크가 감소되어 상당 정도의 유류 분해를 관찰할 수 있었다. 반면 25℃의 경우에는 120시간 배양한 후에도 원유에 포함된 포화탄화수소 화합물들이 부분적으로만 분해되었다.

참고문헌

1. 김상진, 윤희정. 1993. 저온성 원유분해세균의 분리 동정 및 OCT 프라스미드 특성. 산업미생물학회지 **21**: 66-73.
2. Atlas, R.M. and R. Bartha. 1972. Degradation and mineralization of petroleum in sea water: limitation by nitrogen and phosphorous. *Biotech. Bioeng.* **14**: 309-317.
3. Atlas, R.M. and R. Bartha. 1973. Abundance, distribution and oil biodegradation potential of microorganisms in Raritan bay. *Environ. Pollut.* **4**: 291-300.
4. Atlas, R.M. 1975. Effects of temperature and crude oil composition on petroleum biodegradation. *Appl. Microbiol.* **30**: 396-403.
5. Atlas, R.M. 1977. Studies on petroleum biodegradation in the Arctic. p. 261-269. In D. Wolfe (ed.). *Fates and effects of petroleum hydrocarbons in marine ecosystem and organisms.* Pergamon Press, London.
6. Atlas, R.M., A. Horowitz, and M. Busdosh. 1978. Prudhoe crude oil in arctic marine ice, water and sediment ecosystems: degradation and interactions with microbial and benthic communities. *J. Fish. Res. Board Can.* **35**: 585-590.
7. Atlas, R.M. 1981. Microbial degradations of petroleum hydrocarbons: an environmental perspectives. *Microbiol. Rev.* **45**: 180-209.
8. Bartha, R., and J.T. Dibble. 1976. The effect of iron on the biodegradation of petroleum in sea water. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**: 544-550.
9. Bartha, R., and R.M., Atlas. 1977. The microbiology of aquatic oil spills. *Adv. Appl. Microbiol.* **22**: 225-266.
10. Bossert, I. and R. Bartha. 1984. The fate of petroleum in soil ecosystems. p. 435-474. In M. Atlas (ed.). *Petroleum microbiology.* Macmillan Publi-

shing Co, New York.
11. Colwell, R.R., A.L. Mills, J.D. Walker, P. Garcia-Tello and V. Campos-P. 1978. Microbial ecology studies of the Metula spill in the Strait of Magellan. *J. Fish. Res. Braod Can.* **35**: 573-580.
12. Cooney, J.J. 1984. The fate of petroleum pollutants in freshwater ecosystems. p. 399-434. In M. Atlas (ed.). *Petroleum microbiology*. Macmillan Publishing Co, New York.
13. Cooney, J.J., S.A. Silver and E.A. Beck. 1985. Factors influencing hydrocarbon degradation in the freshwater lakes. *Microb. Ecol.* **11**: 127-137.
14. Dibble, J.T. and R. Bartha. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* **37**: 729-739.
15. Ekelöf, E. 1908. Bakteriologische Studien mit Rand der schwedischen Südpolar Expedition 19 01-1903 *W. Erg. der Schwed. Südpolar Expedition*, 1901-1903, Vol. 4. Bonnier, Stockholm.
16. Floodgate, G. 1984. The fate of petroleum in marine ecosystems. p. 355-398. In M. Atlas (ed.). *Petroleum microbiology*. Macmillan Publishing Co, New York.
17. Gatelier, C.R., J.L. Oudin, P. Fusey, J.C. Lacase and M.L. Priou. 1973. Experimental ecosystems to measure fate of Oil Spills dispersed by surface active products. 497-507. In *Proceedings of Joint Conference on Prevention and Control of Oil Spills*. American Petroleum Institute. Washington. D.C. 497-507.
18. Griffiths, R.P., B.A. Caldwell and R.Y. Morita. 1984. Observations on microbial percent respiration values in arctic and subarctic marine waters and sediments. *Microb. Ecol.* **10**: 151-164.
19. Gunkel, W. 1967. Experimentellökologische Untersuchungen ber die limitierenden Faktoren des mikrobiellen labbaues in marinen Milieu. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* **15**: 210-224.
20. Klug, M.J. and A.J. Markovitz. 1967. Thermophilic bacteria isolated on n-tetradecane. *Nature*.(London) **215**: 1082-1083.
21. Morita, R.Y. 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* **39**: 144-167.
22. Mulkins-Philips, G.J. and J.E. Stewart. 1974. Effect of environmental parameters on bacterial degradation of Bunker C oil, crude oils and hydrocarbons. *Appl. Microbiol.* **28**: 915-922.
23. Olivieri, R., P. Bacchin, A. Robertiello, N. Oddo, L. Degen and A. Tonolo. 1976. Microbial degradation of oil spills enhanced by a slow-release fertilizer. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**: 629-634.
24. Ordal, Z.J. and J.J. Iandolo. 1966. Repair of thermal injury of *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **91**: 134-142.
25. Reisfield, A., E. Rosenberg and D. Gutnik. 1972. Microbial degradation of oil: factors affecting the dispersion in sea water by mixed and pure cultures. *Appl. Microbiol.* **24**: 363-368.
26. Rheinheimer, G. 1981. Microbiologie der gewasser. 3rd. ed. Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. 251.
27. Stokes, J.L. 1963. General biology and nomenclature of psychrophilic bacteria. p. 187-192. In N. E. Gibbons (ed.) Recent progress in microbiology. University of Toronto Press. Toronto.
28. Traxler, R.W. 1973. Bacterial degradation of petroleum materials in low temperature marine environments. p. 163-170. In D.G. Ahearn and S.P. Meyers (eds.). *The microbial degradation of oil pollutants*. Publication no. LSUSG-73-01. Center for Wetland Resources. Louisiana State University. Baton Rouge, Louisiana.
29. Walker, J.D. and R.R. Colwell. 1974. Microbial degradation of model petroleum at low temperatures. *Microb. Ecol.* **1**: 63-95.
30. Ward, D.M. and T.D. Brock. 1976. Environmental factors influencing the rate of hydrocarbon oxidation in temperate lakes. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**: 764-772.
31. Westlake, D.W.S., A. Jobson, R. Phillippe and F.D., Cook. 1974. Biodegradability and crude oil composition. *Can. J. Microbiol.* **20**: 915-928.
32. ZoBell, C.E. 1964. The occurrence, effects and fate of oil polluting the sea. *Adv. Water Poll. Res.* **3**: 85-118.
33. ZoBell, C.E. 1969. Microbial modification of oil in the sea. p. 317-326. In *Proceedings of the Joint Conferences on Prevention and Control of Oil Spills*. American Institute of Petroleum. Washington. D. C.
34. ZoBell, C.E. 1973. Action of microorganisms on hydrocarbons. *Bacteriol. Rev.* **10**: 1-49.

(Received January 7, 1993)