

여수주변해역에서 분리한 유류분해세균 *Pseudomonas* sp. BCK-1의 특성

구 현 서
동명대학 공업화학과

Characterization of Oil Degrading Bacterium *Pseudomonas* sp. BCK-1 Isolated from the Coastal Water of Yosu, Korea

Hoен-Seo KOO

Dept. of Industrial Chemistry, TongMyong College, Busan 608-740, Korea

A marine bacterium having a high oil-degrading activity was isolated from the coastal water of Yosu, Korea, identified as *Pseudomonas* sp. and named *Pseudomonas* sp. BCK-1. The optimal temperature, pH and NaCl concentration for cell growth was 30°C, 7.0 and 3% (w/v), respectively. After cultivation at 30°C, 180 rpm in 250 mL erlenmeyer flask for 72 and 168 hours, 2% (w/v) arabian light crude oil (ACO) and bunker C oil (BCO) which are considered to be hardly biodegradable compounds were degraded 92% (w/w) and 72% (w/w), respectively.

Key words: *Pseudomonas* sp. BCK-1, Arabian light crude oil, Bunker C oil, Biodegradation

서 론

전 세계적으로 유류의 해양 유입량은 연간 약 2,350,000톤으로 이중 15%가 자연적으로 유입되고 있으며, 85%가 유조선 사고, 정유공장, 도시 및 공장 폐수 등과 같은 인위적인 요인에 의하여 오염되고 있다 (John and Cookson, 1995).

해양에 유출된 유류는 물리적 성질 (유류의 비중, 점성, 휘발성 등), 화학적 성질 (유류의 성분), 기상상태 (해양상태, 태양광선, 대기온도 등) 그리고 해수의 성상 (유속, 온도, 박테리아, 용존산소, 부유물질 등) 등에 따라 변한다. 해상의 파괴상태가 정상적인 경우, 자연적인 원유증발은 최초 6시간만에 20%, 72시간만에 29%가 증발되며, 경질유의 경우 온화한 기후조건에서 24시간 이내에 자연적으로 증발하는 것으로 알려져 있으나, 대부분의 유출유는 원유 및 bunker C유와 같은 난 분해성 유류로 자연증발과 경시변화가 느릴 뿐만 아니라 해양생물을 질식사시키고, 복사열을 흡수하여 이들에게 스트레스를 유발시키는 등 자연생태계를 파괴시키는 것으로 보고되고 있다 (Mulkins-Phillips and Stewart, 1974; Atlas, 1981).

이러한 유출유로부터 피해를 최소화시키기 위하여 현재 사용중인 유처리 방법으로는 물리적 방법 (유회수기, 오일펜스, 유흡착제 등)과 화학적 방법 (화학유화제, 유결화제 등) 그리고 생물학적 방법 (bioaugmentation, biofertilizer, biosurfactant)이 있다. 물리적 처리방법의 경우 유회수 능력에 많은 문제점이 제기되고 있으며, 화학적 방법의 경우 대부분이 화학합성유화제로서 독성과 2차 오염을 유발시키며, 생분해능이 떨어지는 단점이 있다 (Zajic and Supplisson, 1972; Georgiou et al., 1990). 그러나 생물학적인 방법의 경우에는 자연환경으로부터 분리한 균주를 이용하여 유출유 처리에 응용하기 때문에 생태계 보호는 물론 무독성 등의 장점

때문에 이 방법들에 관한 연구가 1970년대부터 활발히 진행되고 있다. 실제로 Exxon Valdez호의 유류유출 사고시 Alaska 해안의 자갈이나 모래를 오염시킨 상당량의 hydrocarbon을 *Pseudomonas aeruginosa* 등을 이용하여 제거한 예가 있으며 (Harvey et al., 1990; Bragg et al., 1994), 난 분해성 유류 분해에 관여하는 세균으로는 *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*속 등이 해수 중에 존재하면서 유류분해에 관여하는 것으로 보고되어 있다 (Atlas, 1981).

따라서 본 연구에서는 보다 효율적이며 환경 친화적인 생물학적 유처리 방법을 개발하기 위하여 남해안 유류 오염해역으로부터 난 분해성 유류 분해용 국내 토착세균을 분리하여 이 균주의 생육특성과 유류 분해특성을 조사하였다.

재료 및 방법

유류분해 세균의 분리 및 동정

Screening oil 배지 (비멸균 crude oil, 0.5 g; yeast extract, 5.0 mg; K₂HPO₄, 0.5 mg; (NH₄)₂SO₄, 50 mg)에 우리나라 남해안 유류오염 지역인 전남 여수시 소리도 앞 바다 및 국동항 등지에서 채취한 해수를 50 mL 넣고 실험실로 옮겨 25°C, 180 rpm으로 배양하였다. 시료가 접종된 플라스크는 7일간 배양한 후 유류 분해능이 가장 우수한 플라스크를 선별하였다. 선별된 플라스크 배양액은 121°C에서 10분간 가압 멸균된 screening oil 배지에 2% (v/v) 접종한 후 3일간 배양하였으며, 3일 간격으로 2회 연속 반복 실험을 행하였다. 그 중 유류 분해능이 가장 우수한 배양액을 멸균된 인공해수 (NaCl, 23.4 g; KCl, 0.7 g; MgCl₂ · 6H₂O, 10.6 g; CaCl₂, 1.1 g; Na₂SO₄, 3.9 g; NaHCO₃, 0.2 g; (NH₄)₂SO₄, 1.0 g; K₂HPO₄, 0.01 g; Tris, 6.05 g; D.W., 1.0 L; pH 7.0) (Larsen, H., 1981)로서 희석한 후

희석액 0.1 mL를 PYS배지 (peptone, 5.0 g; yeast extract, 5.0 g; ferric citrate, 0.1 g; NH_4NO_3 , 1.6 mg; Na_2HPO_4 , 8.0 mg; agar, 13 g; sea water, 1.0 L; pH 7.0)에 도말하였다. 도말된 petridish는 30°C에서 24시간 배양하여 단일 colony를 분리하였다. 분리된 colony는 50 mL screening oil 배지에 접종하여 7일간 30°C, 180 rpm으로 진탕 배양하였으며, 그 중 유류 분해능이 가장 우수한 균주를 분리하였다 (Fig. 1). 또한 분리된 균주는 PYS배지에서 18시간 배양한 후 그 배양액 800 μL 에 glycerol 200 μL 를 넣고 혼합하여 -75°C 초저온 냉동고에 보관하여 사용하였다. 균주 동정은 먼저 그람 염색을 통한 형태학적 관찰과 API 20NE kit를 이용한 생화학적 특성을 Bergey's manual of systematic bacteriology를 근거로 조사하였으며, 분리 균의 형태는 전자현미경 (SEM, DSM940A, Germany)으로 촬영하였다.

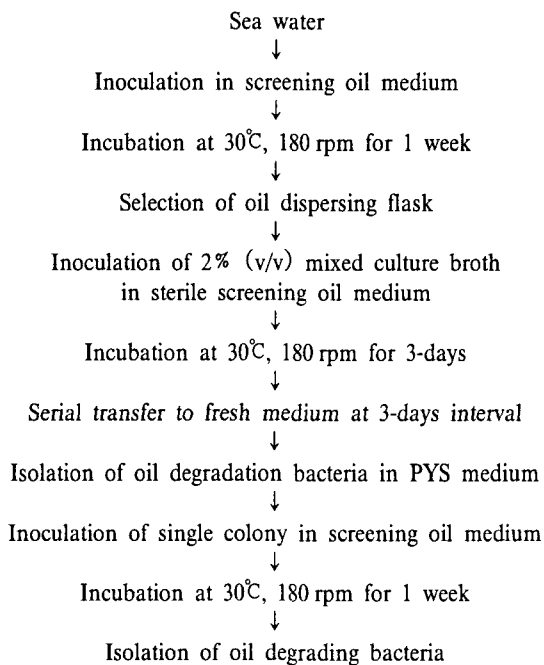


Fig. 1. Isolation method of crude oil degrading marine bacterium.

분리균의 배양조건

유류분해의 최적 질소원을 조사하기 위하여 사용된 배지는 PYS배지로 여기에 peptone을 뺀 YS배지와 yeast extract를 뺀 PS배지를 사용하였으며, 균 접종량은 1% (v/v)로 48시간 동안 배양한 후 균성장과 유화활성도를 측정하였다. 균 성장은 UV/VIS spectrophotometer (Ultrospec 3000, Pharmacia Biothech Co, Sweden)로 610 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 유화활성도는 Rosenberg et al. (1979) 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 유화활성도는 arabian light crude oil (ACO)을 기질로 하여 균주를 배양한 배양액을 원심분리 (15,000 g×10분)한 후, 배양 상층액 1.25 mL에 ACO 기질 0.05 mL와 20 mM Tris-HCl buffer (pH 7.0) 3.7 mL를 넣고, 1분간 vortex로 강하게 교반하여 10분간 정치시킨 후 540 nm

에서 흡광도를 측정하였다. 또한 최적배양온도는 20°C, 25°C, 30°C, 35°C에서 각 온도별 생육특성을 조사하였으며, 균 생육에 영향을 미치는 초기 pH의 영향에 대해서는 PYS 배지의 pH를 3.0~10.0까지 조제하여 사용하였다. NaCl 농도는 YS 배지에 자연해수 대신 인공해수를 이용하여 NaCl을 0~10% (w/v)까지 넣고 실험을 행하였으며, 이들은 각각 30°C에서 180 rpm으로 48시간 배양한 후 균 생육을 측정하였다.

난 분해성 유류의 분해 특성 측정

유류분해능이 우수한 균주를 이용하여 난 분해성 유류인 ACO와 bunker C oil (BCO)을 쌍용정유로부터 구입하여 유류분해 특성을 조사하였다.

(1) Gas chromatography법에 의한 측정

2% (w/v) ACO가 첨가된 멸균된 YS배지 50 mL를 250 mL 삼각플라스크에 넣은 후 14시간 전 배양된 배양액을 1% (v/v) 접종하고, 30°C에서 180 rpm으로 진탕 배양하여, 배양시간별 (24, 48, 72시간)로 하나씩 플라스크를 회수하였다. 회수한 배양액은 50 mL n-hexane을 첨가하여 잔존 유류를 추출하였으며, 추출시료는 무수 Na_2SO_4 를 첨가하여 수분을 제거한 후, gas chromatography (Hewlett Packard 5890 series II)로 분석하였으며, 표준물질로는 Sigma Co. (USA)로부터 구입한 gas chromatography용 hydrocarbons(saturated)을 사용하였다.

분석에 사용된 column은 HP-5 (crosslinked 5% ph-Me silicone; 내경, 0.32 mm; 박막, 0.25 μm ; 길이, 30 m; phase ratio, 320)로 시료량은 1 μL 를 사용하였다. 이동상으로 N_2 가스를 사용하였으며 column에 전달되는 이동상의 분배 비는 100:1로 하였고 검출기는 불꽃이온화 검출기 (FID)를 사용, 공기와 H_2 가스는 30 psi, 20 psi로 흘려주었다. 시료분석을 위하여 injector 및 detector 온도는 150°C와 320°C로 하였으며 column oven의 초기온도는 80°C로 3분간 등은 시킨 후, 분당 4°C씩 215°C까지 승온시켜 분석하였다 (Kim et al, 1997).

(2) Gravimetric 법에 의한 측정

250 mL 삼각플라스크에 2% (w/v) ACO와 BCO가 첨가된 멸균된 YS배지 50 mL를 넣은 후 14시간 전 배양된 배양액을 1% (v/v) 접종하고 30°C에서 180 rpm으로 진탕 배양하였다. 유류의 생분해능을 조사하기 위하여 배양시간별 (24, 48, 72시간)로 50 mL 배양액이 든 250 mL 삼각플라스크를 회수하였다. 회수된 삼각플라스크에 50 mL benzene을 가한 후 잔존 유류를 추출하여 정량 분석에 이용하였다.

측정에 사용된 용기는 먼저 100°C 건조기에서 1시간 건조시켰으며, 0.1 mg까지 정량이 가능한 저울로서 측정하였다. 수분이 제거된 benzene 추출물은 80°C 항온건조기에서 6시간 동안 건조시켜 오일의 생분해율을 다음 식으로부터 구하였다. 이 때 대조군은 멸균된 배지에 2% (w/v)의 ACO와 BCO를 넣고 72시간 동안 균을 접종하지 않은 상태에서 30°C에서 180 rpm으로 진탕한 플라스크에서 n-hexane으로 추출한 시료를 사용하였으며, 시험군은 동일조건에서 1% (v/v)균을 접종하여 배양한 시료를 사용하여 각

각의 잔류오일 량으로부터 생분해율을 구하였다 (Mulkins-Philips and Stewart, 1974).

$$\text{Biodegradation rate of oil (\%)} = \frac{\text{mg of oil (control)} - \text{mg of oil (test)}}{\text{mg of oil (control)}} \times 100$$

결과 및 고찰

유류분해 세균의 분리 및 동정

남해안 유류오염지역 30여곳의 해수를 채취하여 screening oil 배지에 넣고 25°C, 180 rpm으로 1주일간 배양한 결과 대부분 지역의 해수에서 ACO가 분해되었으며, 특히, 배양 2일 만에 ACO가 완전히 분해된 전남 여수시 소리도 유류 유출지역의 해수로부터 유류 분해세균을 분리하였다. 분리된 colony는 다시 screening oil 배지에 접종하여 7일간 배양하여 유류 분해능을 확인하였으며, BCK-1으로 명명하였다. 또한 분리된 BCK-1 균주의 각종 형태, 생리, 생화학적 특성을 조사한 결과 분리된 균주는 그람음성으로, 운동성을 가지며, coccobacilli type으로 cell size는 0.5×1.75 μm, oxidase는 음성반응을 나타내었다 (Table 1). 그 외 여러 가지 특징들을 Table 1과 Fig. 2의 결과를 근거로 동정한 결과 신뢰도 89%의 *Pseudomonas* sp.로 동정되어 *Pseudomonas* sp. BCK-1으로 명명하였다.

Pseudomonas sp. BCK-1 균주의 배양조건

(1) 질소원의 선정

균 성장 및 유류 분해능에 대한 최적 질소원을 확인하기 위하여 2% (w/v) ACO를 기질로 넣고, PYS배지, YS, PS배지로서 yeast extract와 pepton에 대한 이들의 영향을 48시간 동안 조사하였다. 그 결과는 Fig. 3에 나타내었으며, 세 종류의 배지 중 YS 배지를

Table 1. Morphological and biochemical characteristics of marine bacterium *Pseudomonas* sp. BCK-1

Characteristics	Result
Gram stain	(-)
Cell size	0.5×1.75 μm
Cell shape	Coccobacilli
Oxidase	-
Rhamnose	-
N-acetylglucosamine	-
D-ribose	-
Inositol	-
Sucrose	-
Maltose	-
Itaconate	-
Suberate	+
Malonate	-
Acetate	+
D, L-lactate	+
L-alanine	+
5-ketogluconate	-
Glycogen	-
3-hydroxy-benzoate	+
L-serine	-
Mannitol	-
D-glucose	-
Salicine	-
D-melibiose	-
L-fucose	-
D-sorbitol	-
L-arabinose	-
Propionate	+
Caprate	-
Valerate	+
Citrate	-
Histidine	+
2-ketogluconate	-
3-hydroxy-butylrate	+
p-4-hydroxy-benzoate	+
L-proline	+

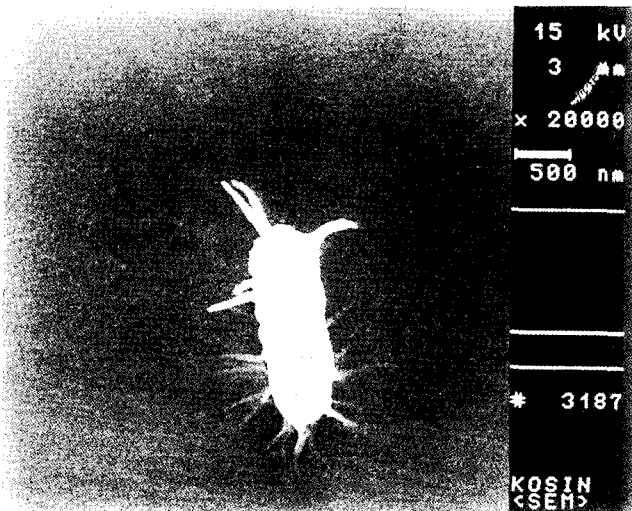


Fig. 2. Scanning electron microscopy photomicrograph of *Pseudomonas* sp. BCK-1 (original magnification approximately ×20,000).

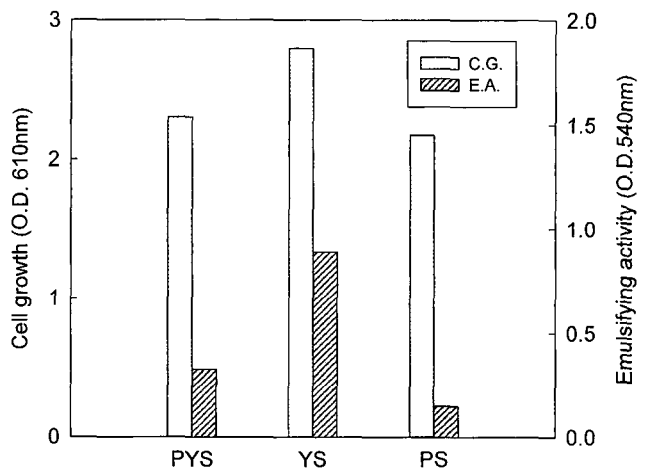


Fig. 3. Effects of culture medium on the cell growth and emulsifying activity of *Pseudomonas* sp. BCK-1 after culture at 30°C for 48 hours. C.G., cell growth; E.A., emulsifying activity.

사용하였을 때, 균 성장과 유화활성에 대한 흡광도 값이 각각 2.7과 0.98로서 다른 배지에 비해 높은 값을 갖는 것으로 확인되어, 이후 실험에서는 YS배지를 사용하여 각종 실험을 행하였다.

(2) 최적배양시간 및 배양온도

최적배양시간 및 배양온도를 확인하기 위하여 균 성장과 배양상층액의 유화활성도를 기준으로 측정하였다. 그 결과 48시간 배양하였을 때 균 성장과 유화활성도가 가장 높았으며 (Fig. 4), 이 시간을 기준으로 배양온도를 20°C, 25°C, 30°C, 35°C에서 각각 실험하였다. 이 중 30°C에서 가장 높은 균 성장과 유화활성을 지님을 확인하였다 (Fig. 5).

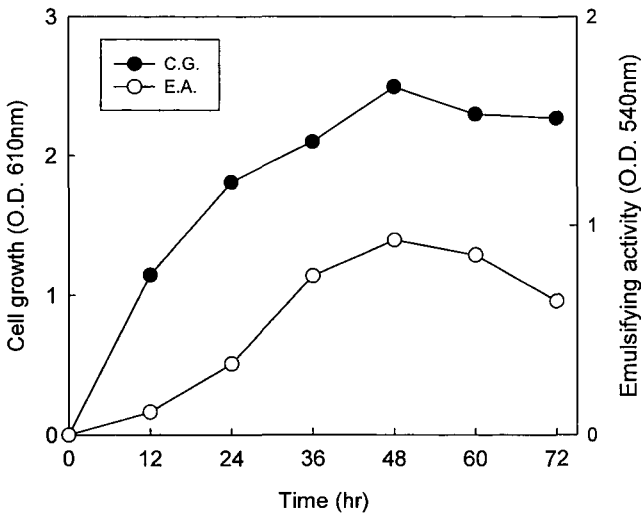


Fig. 4. Changes of cell growth and emulsifying activity of *Pseudomonas* sp. BCK-1 cultured in the YS medium at 30°C. C.G., cell growth; E.A., emulsifying activity.

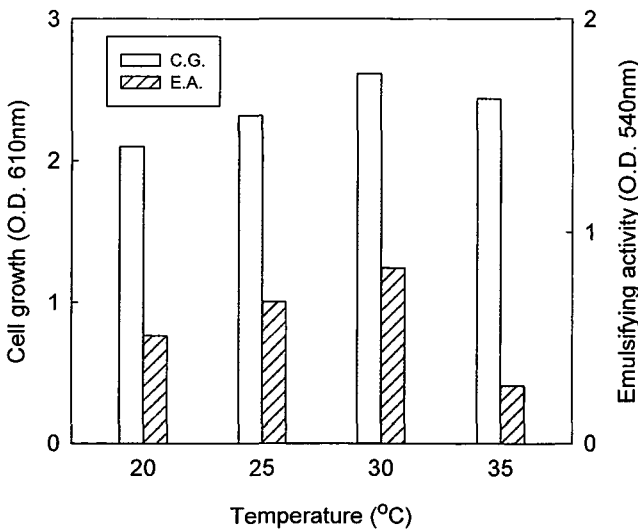


Fig. 5. Effects of temperature on the cell growth and emulsifying activity of *Pseudomonas* sp. BCK-1 in the YS medium after cultured for 48 hours. C.G., cell growth; E.A., emulsifying activity.

(3) 초기 pH의 영향

균 생육에 대한 최적 pH를 구하기 위하여 YS배지의 pH범위를 3.0~10.0까지 조정하여 48시간 배양하였다. 그 결과 최적 초기 pH는 7.0으로서 중성영역에서 가장 높은 균 성장율을 나타냈으며, pH 5.0 미만과 10.0 이상의 영역에서는 균 생육이 급격히 감소하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 6).

(4) NaCl 농도에 대한 영향

일반적으로 NaCl에 대한 균 생육의 영향은 호염성 해양 생균에 대한 판단근거로 자주 활용되고 있다. 이러한 근거를 뒷받침하기 위하여 본 실험을 YS 배지를 이용하였으며, 이 실험을 위하여 자연해수 대신 인공해수를 이용하여 실험하였다. 그 결과 NaCl의 농도 0~1% (w/v)와 10% (w/v)에서는 균 성장이 약간 둔화되었으나, 2~9% (w/v)까지 고른 균 성장을 나타내었고, 최적농도는 3% (w/v)로 호염성 해양 세균임이 확인되었다 (Fig. 7).

배양시간에 따른 난분해성 유류의 생분해 특성

난분해성 유류인 ACO와 황 함량이 1.6%인 BCO를 쌍용정유(주)로부터 구입하였다. ACO와 BCO의 구성성분을 살펴보면, ACO에는 saturates (61%), aromatics (33%), resin (4%), asphaltene (2%)를 함유하고 있는 것으로 보고되고 있으며 (Hirayama et al, 1996), BCO의 경우 비중이 0.8~0.97로서, 황함량 1~3.5%, saturate (34%), aromatics (38%), polar compound (19%), asphaltenes (3~9%), waxes (4~5%)를 함유하는 것으로 보고되고 있다 (Zajic and Supplisson, 1972). 본 실험에서는 난분해 유류인 ACO와 BCO를 기질로 이용하여 배양 시간에 따른 유류의 생분해능을 측정하였다. 측정방법으로는 gas chromatography법과 gravimetric법을 사용하였다. 먼저 gas chromatography를 이용하여 원유속의 61%를 차지하고 있는 paraffine계 탄화수소 (saturates)

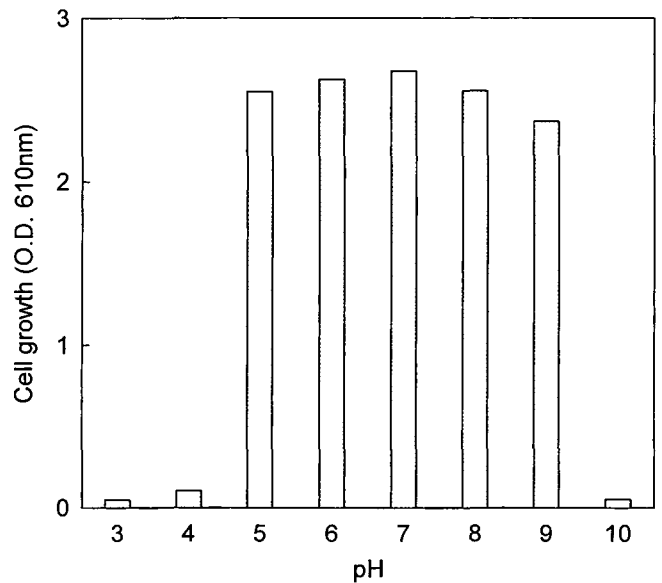


Fig. 6. Effects of pH on the cell growth of *Pseudomonas* sp. BCK-1 in the YS medium after culture for 48 hours. C.G., cell growth; E.A., emulsifying activity.

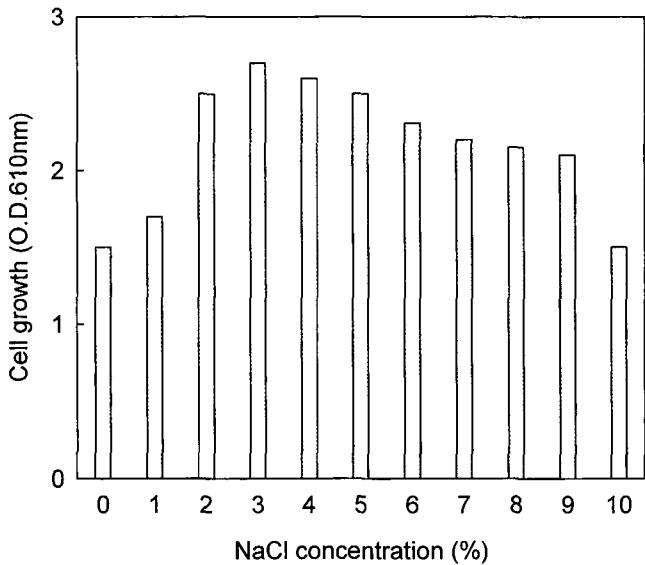


Fig. 7. Effects of NaCl concentrations on the cell growth of *Pseudomonas* sp. BCK-1 in the YS medium after culture for 48 hours. C.G., cell growth; E.A., emulsifying activity.

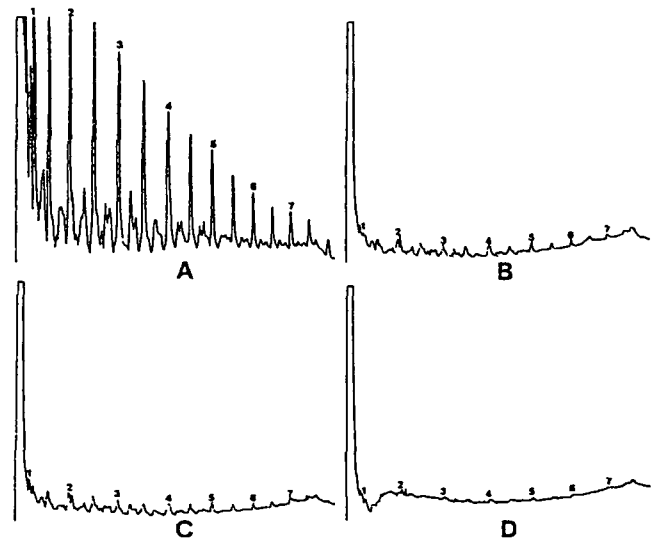


Fig. 8. Gas chromatographic analysis of residual oil from sequential utilization of 2% (w/v) arabian light crude oil by *Pseudomonas* sp. BCK-1. A, saturated fraction of sterile control arabian light crude oil; B, residual oil after 24 hr of incubation; C, residual oil after 48 hr of incubation; D, residual oil after 72 hr of incubation (1, nC_{12} ; 2, nC_{14} ; 3, nC_{16} ; 4, nC_{18} ; 5, nC_{20} ; 6, nC_{22} ; 7, nC_{24}).

를 분석하였다. 그 결과 배양 후 72시간 동안 기질로 사용된 원유 중에 함유된 paraffine계 탄화수소의 carbon chain이 nC_{12} 에서 nC_{24} 까지 거의 대부분이 완전히 분해되었는데 (Fig. 8), 이 결과는 Lee et al. (1997)이 보고한 *Acinetobacter* sp. A54 균주가 1% (v/v) ACO를 완전히 분해하는 시간 (96 h)과 비교해 볼 때, 본 균주의 경우 기질 사용량은 2배로 많으면서 분해시간은 24시간이나 빠른 것으로 확인되어 원유분해능이 이 균주에 비해 훨씬 우수함을 알 수 있었다. 또한 ACO유와 BCO의 전체구성 성분에 대한 생 분해능을 조사하기 위하여 2% (w/v) ACO를 PYS, YS, PS배지에 그리고 2% (w/v) BCO는 YS배지에 첨가하여 배양하였다. ACO의 경우 72시간 배양한 결과 각각의 배지에서 65% (w/w), 92% (w/w), 88% (w/w)씩 분해되어, YS배지에서 가장 분해능이 우수한 것으로 확인되었다 (Fig. 9). 또한 gas chromatography결과에서 보듯이 *Pseudomonas* sp. BCK-1은 기질로 사용하기 쉬운 saturates를 우선적으로 분해하였으며, 배양 72시간 동안의 92% (w/w)의 원유 생분해율은 원유 구성성분 중 saturates 뿐만 아니라 난 분해성인 aromatics, resin, asphalten 등도 일부 분해되는 것으로 추정된다. 난분해성 유류인 BCO에 대한 실험에서는 최적배지인 YS배지에 2% (w/w) BCO를 기질로 하여 168시간 배양시 72% (w/w)가 생분해되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 10). 이 경우에도 ACO처럼, 난 분해성 aromatics와 asphaltenes, polar compound, wax 등이 일부 분해하는 것으로 추정되었다. 특히 MA13 혼합균주를 이용하여 0.125% (w/v) bunker C 유를 기질로 168시간 배양하여 얻은 Mulkins-Phillips and Stewart (1974)의 85%의 생분해율과 비교해 보면, 생분해를 자체로만 비교해 보았을 때는 13% 가량 떨어지나, 기질사용량이 본 균주가 16배 많은 점을 감안하면,

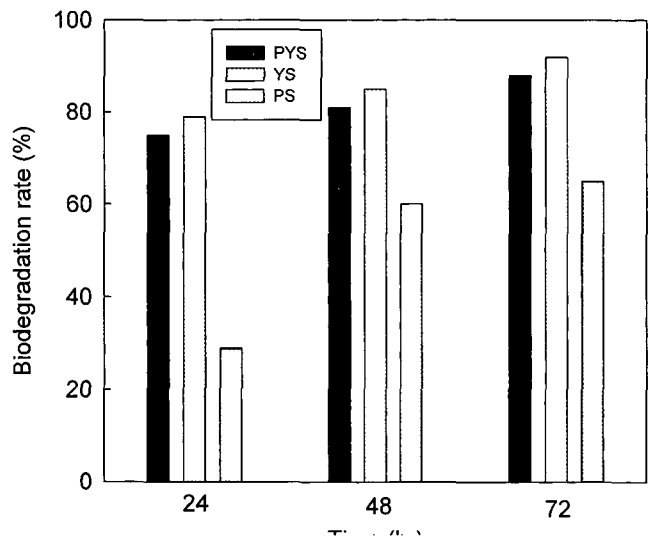


Fig. 9. Biodegradation rate of 2% (w/v) arabian light crude only by *Pseudomonas* sp. BCK-1 cultured in various media at 30°C. PYS, PYS medium; YS, without peptone of PYS medium; PS, without yeast extract of PYS medium.

같은 기간 내 bunker C유의 생 분해율은 본 균주가 훨씬 우수한 것으로 나타났다. 따라서 본 균주가 자연 생태계에 미치는 영향 등을 조사한 후 해양 유출유 처리 등에 이용할 경우 자연 생태계 복원에 크게 기여할 것으로 사료된다.

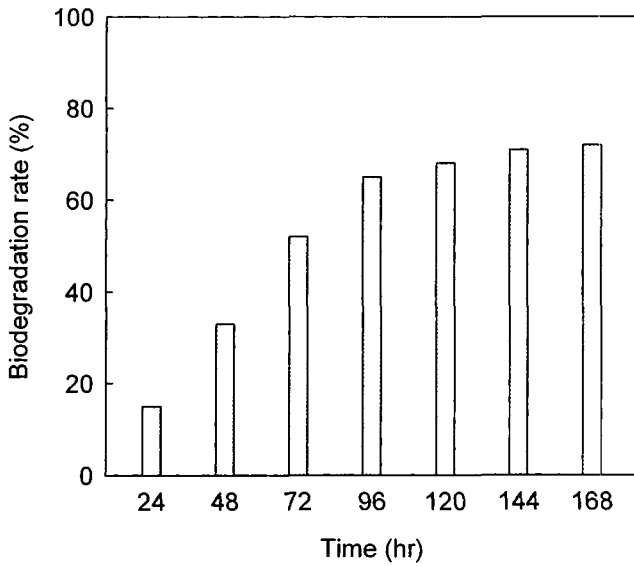


Fig. 10. Biodegradation rate of 2% (w/v) bunker-C oil by *Pseudomonas* sp. BCK-1 cultured in the YS medium at 30°C.

요 약

한국 남해안 유류 오염지역인 전남 여수시 소리도 지역 해수로부터 유류 분해능이 우수한 균주를 선별하여 동정한 결과 *Pseudomonas* sp.로 동정되었으며, *Pseudomonas* sp. BCK-1으로 명명하였다. 균 성장에 대한 최적배양온도, pH, NaCl 농도는 각각 30°C, 7.0, 3% (w/v)였으며, 2% (w/v) arabian light crude oil과 bunker C oil을 기질로 72시간 및 168시간 배양한 결과 arabian light crude oil은 92% (w/w), bunker C oil은 72% (w/w)가 각각 생분해되었다.

사 사

본 연구는 2000년도 동명대학 학술 연구조성비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Atlas, R.M. 1981. Microbial degradations of petroleum hydrocarbon: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.*, 45, 180~209.
- Bragg, J.R., R.C. Prince, E.J. Harner and R.M. Atlas. 1994. Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill. *Nature*, 368, 413~418.
- Georgiou, G., S.C. Lin and M.M. Sharma. 1990. Surface active compounds from microorganisms. *Bio/Technology*, 10, 60~65.
- Harvey, S., I. Elashvili, J.J. Valdes, D. Kamely and A.M. Chakrabarty. 1990. Enhance removal of Exxon Valdez spilled oil from Alaskan gravel by a microbial surfactant. *Bio/Technology*, 8, 228~230.
- Hirayama, S., K. Venkateswaran, H. Toki, S. Komukai, M. Goto, H. Tanaka and M. Ishihara. 1996. Degradation of crude oil by marine bacteria. *J. Mar. Biotechnol.*, 3, 239~243.
- John, T. and Jr. Cookson. 1995. *Bioremediation Engineering (Design and Application)*. McGraw-Hill Inc., New York, pp. 1~25.
- Kim, H.J., B.J. Kim, S.H. Hwang, J.D. Kim, H.W. Lee and J.Y. Kong. 1997. Degradation of crude oil and purification of biosurfactant from marine bacterium *Aeromonas* sp. BES-74. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 12, 443~448.
- Larsen, H. 1981. The family halobacteriaceae. In *The Prokaryotes*. Vol. 1, pp. 976~994.
- Lee, C.H., H.S. Kim, H.H. Suh, S.H. Choi, H.M. Oh and B.D. Yoon. 1997. Microbial degradation of arabian light crude oil by *Acinetobacter* sp. A54. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 25, 520~526.
- Mulkins-Phillips, G.J. and J.E. Stewart. 1974. Effects of environmental parameters on bacterial degradation of bunker C oil, crude oils, and hydrocarbons. *Appl. Microbiol.*, 28, 915~922.
- Rosenberg, E., A. Zuckerberg, C. Rubinovitz and D.L. Gutnick. 1979. Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: Isolation and emulsifying properties. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37, 402~408.
- Zajic, J.E. and B. Supplisson. 1972. Emulsification and degradation of "Bunker-C" fuel oil by microorganisms. *Biotechnol. Bioeng.*, 14, 331~343.

2001년 1월 13일 접수

2001년 3월 15일 수리