

미생물을 이용한 원유 및 원유제품의 분해 특성

오경택 · ¹박귀환 · ¹이정일 · ¹이중기 · 김성준 · ²Kubo Motoki · † 정선용

전남대학교 환경공학과, ¹전남보건환경연구원, ²Department of Bio Science & Technology,
Faculty of Science and Engineering, Ritsumeikan University
전화 (062) 530-1858, FAX (062) 530-1859

Abstracts

Crude oil-degrading microorganisms, *Acinetobacter* sp. A132, *Pseudomonas aeruginosa* F722, and *Acinetobacter calcoaceticus* OM1 were isolated from soil and sea. The optimal temperature of strain A132 and strain F722 on growth isolated from soil was 35°C both, and also their growth were optimized at pH 8 and 9, respectively. The growth of the strains, A132 and F722, showed that crude oil of 2% (w/v) in culture broth in which crude oil was used as carbon and energy sources appeared to be an optimum. Optimal culture conditions of strain OM1 were different from those of the soil microorganisms except for temperature. The growth of strain OM1 was optimized at pH 7 and crude oil of 3.0% (w/v). The degradability to crude oil by strain A132 showed maximum 5.49g/ℓ · day under the conditions of 25°C, NaCl of 1.0% (w/v), and crude oil of 2.0% (w/v). The highest degradability of strain F722 to crude oil was 1.19g/ℓ · day under the culture conditions at 35°C, NaCl 1.0% (w/v), and crude oil of 2.0% (w/v). The degradation characteristics of kerosene (nC_9 - nC_{20}) and diesel (nC_9 - nC_{28}) by strain OM1, and F722 were analyzed by gas chromatography. Strain OM1 degraded more than 95% of kerosene and 75% of diesel for 7 days cultivation. Strain F722 showed degradation of more than 80% to kerosene in 10 days.

서론

원유유출사고로 인한 해안오염과 원유제품 저장 탱크 및 주유소 주변의 오염된 토양을 정화하기 위한 방법으로 미생물을 이용한 생물정화(Bioremediation)법이 도입되기 시작하였다. 생물정화는 환경 중에서 최소한의 적좌(Niche)를 제공하여 미생물의 분해능력을 이용한 오염물질 및 유해한 물질을 분해하여 무독화 시키는 처리기술이다. 그 중에는 오염토양에 산소, 질소, 인, 수분을 공급하여 오염물질을 제거하는 Biostimulation, 오염물질을 제거할 수 있는 미생물을 도입하여 분해효율을 높이는 Bioaugmentation, 그리고 오염된 지역에 관을 뚫어 산소, 영양염, 수분을 공급하여 호기성 미생물의 활성을 높여 분해시간을 단축시키고 공기를 과량 주입하여 독

성이 강한 오염물(방향족화합물)의 휘발을 촉진시켜 도입종 및 재래종의 환경에 대한 부담을 최소화시키는 Bioventing 방법 등이 있다.^{1,2)} 이러한 방법은 물리·화학적 정화방법보다 경제적이고, 환경친화적이다. 또한 미생물에 의하여 오염물질을 CO₂, 물, Biomass로 전환시켜 독성을 감소시킬 수 있다. 본 연구에서는 자연계로부터 분리된 미생물을 이용하여 생물정화^{3,4)}법을 도입하기 위한 기초 연구를 하였다.

재료 및 방법

균주분리 및 배양특성 조사

원유분해 미생물은 C-배지⁵⁾를 사용하여 배양하였다. 원유분해 미생물의 분리와 최적성장조건 및 원유의 분해 특성에 대해서는 선행되어 조사되었다.⁶⁻⁸⁾

GC/FID를 이용한 petroleum hydrocarbons의 분해 특성 조사

원유제품 중에서 등유(Kerosene), 경유(Diesel)를 기질로 사용하여, 배양온도 25°C(해양으로부터 분리된 균주), 35°C(토양으로부터 분리된 균주), 기질농도 1.0%(w/v), NaCl 농도 1.0, 2.0%(w/v), 미생물 접종농도 1%(v/v), pH 8로 하여 배양하여, petroleum hydrocarbons의 분해 pattern을 조사하였다. 원유제품의 분해 특성은 gas chromatography(Varian Star 3400, USA)/flame ionization detector를 이용하여 정량 및 정성 분석을 조사하였다. 추출방법은 국립환경연구원의 토양오염공정시험방법⁹⁾을 기초로 하였고, 분석 조건은 다음과 같다. 사용된 capillary column; Rtx-5, 길이; 60m, 내경; 0.32mm, 박막; 0.25 μ m, 운반가스(N₂); 30ml/min, 컬럼온도; 80°C (1min)-9°C/min-300°C (32.56min).

결과 및 고찰

GC/FID를 이용한 petroleum hydrocarbons의 분해 특성 조사

Strain OM1, F722를 이용하여 등유의 분해 특성을 조사한 결과(Figure 1), strain OM1은 배양을 시작한지 4일만에 탄소수가 9, 18-20인 *n*-alkane을 100% 제거하였고(Figure 1-b), 주입된 등유의 80% 이상의 분해율을 나타내었다. 7일 후에는 초기 peak와 비교하여 전체적으로 분해율이 95% 이상으로 조사되었다(Figure 1-c). 등유에서의 strain OM1의 생체량은 배양초기 10⁵(CFUs/ml)정도였으며, 분해 특성을 조사한 당시에는 10⁹(CFUs/ml)이었고, 사멸기에 접어든 당시의 생체량은 10⁸(CFUs/ml)이었다. 반면에 strain F722는 배양 4일만에 탄소수가 9, 20인 *n*-alkane을 완전하게 분해하였고(Figure 1-d), 주입된 등유의 48%를 제거한 것으로 조사되었다. 배양 10일 후에는 탄소수가 9-11, 18-20인 *n*-alkane은 거의 분해하였으나, 탄소수가 *n*-C₁₂-*n*-C₁₇에 대한 분해율은 45-75%였고(Figure 1-e), 전체 등유의 분해율은 80% 이상으로 조사되었다.

경유의 분해 특성을 strain OM1을 이용하여 조사한 결과(Figure 2), 배양을 시작한지 4일 후에 *n*-C₁₂-*n*-C₂₈ 중 *n*-C₁₈만 제외한 분해율은 85-100%이었고(Figure 2-b), 전체 경유에 대한 분해율은 70% 이상으로 조사되었다. 배양 7일 후 분해율은 75% 이

상으로 조사되었다(Figure 3-c). 배양 4일 후와 배양 7일 후, 분해율의 변화차이에는 큰 변화가 없었다.

요 약

토양으로부터 2종류 그리고 해양으로부터 1종류의 원유 분해 미생물을 분리하였고, 이들을 strain A132, strain F722 그리고 strain OM1으로 각각 명명하였다. 이들 미생물은 *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus*로 각각 동정되었다. Strain A132, F722의 최적 배양 및 분해온도는 35°C 이고, 최적 성장 pH는 각각 8과 9에서 나타났다. 원유를 유일한 탄소원으로 하여 배양을 하였을 때 원유농도 2.0%(w/v)에서 생장이 높았다. 한편, 해양에서 분리된 strain OM1은 pH 7, 원유농도 3.0%(w/v)에서 생장이 높았다. 원유 분해능 조사에서는 Eleuthera (OMAN) 원유를 2.0%(w/v) 기질로 하였을 때, strain A132가 25°C에서 5.49g/ℓ · day의 분해능을 나타내었다. 반면, L-Zakum (AFRICA) 원유에서는 strain F722가 35°C에서 1.19g/ℓ · day의 분해능을 보였다. 등유(nC_9 - nC_{20})와 경유(nC_9 - nC_{28})에 대하여 분해특성을 조사한 결과 strain OM1은 배양 7일 후 95, 75%를 각각 분해하였다. Strain F722는 배양10일 후 80%의 분해율을 나타내었다.

REFERENCES

1. Foght, J., K. Semple, D. W. S. Westlake, S. Blenkinsopp, G. Sergy, Z. Wang, and M. Fingas, "Development of a standard bacterial consortium for laboratory efficacy testing of commercial freshwater oil spill bioremediation agents" (1998), *J. Ind. Microbiol. Biotech.* **21**, 322-330.
2. Eve, R. R., "Bioremediation of Petroleum Contaminated Sites" (1992), p121, C. K. Smoley. Press, New York.
3. Atlas, R. M. and C. E. Cerniglia, "Bioremediation of Petroleum Pollutants Diversity and environmental aspects of hydrocarbon biodegradation" (1995), *BioSci.* **45**, 332-338.
4. Sohrabi, M. and A. Mogharei, "Some aspects of bioremediation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons" (1999), *Afinidad Lvi.* **56**, 307-312.
5. 오경택, 강정훈, 정선용, "원유분해 미생물의 검색 및 배양조건" (1998), 대한환경공학회 '98추계 학술대회, 642.
6. 오경택, 배상옥, 정선용, "기름으로 오염된 토양으로부터 원유분해 미생물의 분리 동정 및 분해특성" (1999), *한국화학공학회*, **5(1)**, 1137-1140.
7. 오경택, 안순주, 김성준, 이용운, 정선용, "토양 및 해양으로부터 원유분해 미생물의 분리 및 특성에 관한 연구" (2000), 대한환경공학회 '2000 춘계학술연구발표회 논문집(II), 83-86.
8. 오경택, 이용운, Motoki Kubo, 정선용, "원유 분해 미생물의 분리, 동정 및 특성"

(2000), 대한환경공학회, 22(10), In press.

9. 국립환경연구원 토양환경과, 土壤汚染公定試驗方法 制·改定 內容 教育資料 (1999).

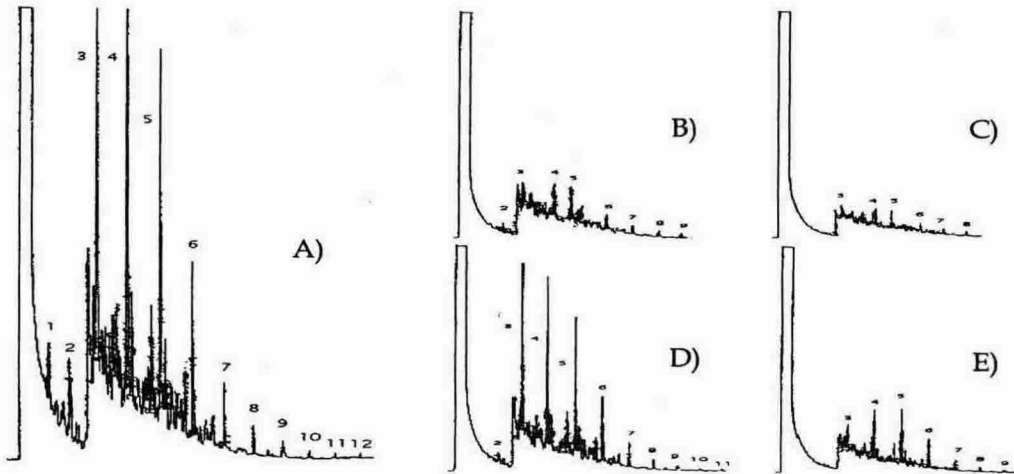


Figure 1. GC/FID analysis of kerosene by *Acinetobacter calcoaceticus* OM1 (NaCl conc. 2.0%(w/v), B, C) and *Pseudomonas aeruginosa* F722 (NaCl conc. 1.0%(w/v), D, E). (A) initiation, (B) after 4days, (C) after 7days, (D) after 4days, (E) after 10days. Peak No.; 1(nC_9)-12(nC_{20})

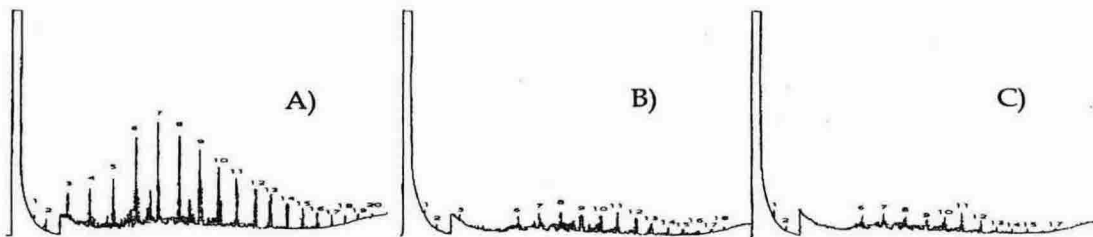


Figure 2. GC/FID analysis of diesel by *Acinetobacter calcoaceticus* OM1. (A) initiation, (B) after 4days, (C) after 7days. Peak No.; 1(nC_9)-20(nC_{28})