

*Pantoea agglomerans*에 의한 Hydroxyapatite의 인산화임원봉, 정 일, 이기영,^{1,2} 김도만^{1,2}, 김시욱³, 박돈희^{1,2}전남대학교 생물화학공학과, 화학공학부¹, 생물산업기술연구소², 조선대학교 환경공학부³

전화(062)530-0232, FAX (062)530-1849

Abstract

This research was compared the amount of phosphate solublized by *Pantoea agglomerans* which can solublize the insoluble phosphate salt hydroxyapatite with the phosphate produced by being treated with various acids. When *P. agglomerans* grows in the HY medium containing potassium dihydrogenphosphate of phosphate source without hydroxyapatite, it consumed 361mg/L phosphate, during 72hours cultivation. When 4% hydroxapatite was treated with 0.01N citric acid and oxalic acid, the amount of solublized phosphate was 702mg/L and 537mg/L more than that by *P.agglomerans*. The maximum amount of solublized phosphate by *P.agglomerans* was 465mg/L after 48 hours cultivation.

서 론

인산은 생물의 성장과 발달에 광범위하게 필요한 주된 물질의 하나로 ATP나 핵산의 구성요소이기도 하며 식물의 성장에 있어서도 필수적으로 요구되는 성분이다. 인산은 산성 토양에서는 철 및 알루미늄 이온, 그리고 알칼리성 토양에서는 칼슘 이온과 재빨리 결합하여, 침전 흡착 등을 통해 난용성 인산염이 된다. 결국에는 식물이 이용할 수 있는 유리 인산은 토양 내에 거의 남아 있지 못하고 불용성 인산만이 남게 되어 지속적인 인산질 비료를 시비해야 하는 악순환이 야기되며, 이는 또 다른 토양 오염의 여지를 남기게 되는 결과를 빚는다.

이러한 이유로 인산 가용화 균을 이용한 환경 친화적인 생물 비료의 개발이 지속적으로 이루어 지고 있다. 이러한 생물 비료의 개발은 미생물에 의해 생산되는 유기산이 난용성 인산염을 가용화 시키는 점을 이용하여 토양 내 유리 인산의 농도를 지속적으로 유지시킬 수 있는 사실에 기인한다.

본 연구에서는 불용성 인산염을 가용화 시킬수 있는 미생물로 알려진 *Pantoea*

*agglomerans*를 이용하여 불용성 인산염인 hydroxyapatite를 가용화능과, 또 이를 각종 유, 무기산으로 처리 하였을때의 가용화능과 비교하였다.

재료 및 방법

1. 사용 균주와 배지

본 실험을 위해 사용한 미생물은 *P. agglomerans*로서 생명공학연구원 유전자원센터 유전자은행에서 분양을 받아 LB배지에서 2-3일 간격으로 계대배양을 하면서 실험에 사용하였다.

2. *P. agglomerans*의 성장에 요구되는 인산의 측정

*P. agglomerans*의 성장에 따른 필요한 인산의 요구량을 확인하기 위하여 변형된 HY배지에 각각 KH_2PO_4 를 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0g/L를 첨가하여 30°C, pH7.0에서 100rpm으로 배양하면서 미생물의 성장량과 pH의 변화 그리고, 미생물이 성장하는데 요구되는 인산의 양을 측정하였다.

3. *P. agglomerans*의 불용성 인산염의 분해

가. 배지 내 hydroxyapatite의 농도

HY 배지에서 불용성 인산염인 hydroxyapatite의 농도가 달라지는 것에 따른 인산 생산의 변화를 알아보기 위하여, HY 배지에 hydroxyapatite를 각각 0, 2, 4, 6, 8g/L를 넣고 *P. agglomerans*를 30°C, pH 7에서 72시간동안 배양하면서 그에 따른 인산의 생성량과 pH의 변화를 살펴보았다.

나. 미생물에 의한 인산의 생산과 산처리 시에서의 인산 생산의 측정

4g/L의 hydroxyapatite가 포함된 HY배지에서 72시간동안 *P. agglomerans*를 배양하면서 생성되는 인산의 양을 0.01N의 산을 동일한 양의 hydroxyapatite에 처리하여 2시간동안 100rpm으로 교반 하면서 생산되는 인산의 양과 비교하였다.

결과 및 고찰

1. 인산농도에 대한 *P. agglomerans*의 성장영향

*P. agglomerans*의 성장은 성장 개시 후 인산의 요구량은 인산원을 KH_2PO_4 로 하였을 때 1.0g/L의 KH_2PO_4 를 가한 배지에서 가장 높은 성장을 보였다. 그리고 인산원의 농도 차이가 균체의 성장에 따른 pH의 변화에 미치는 영향은 보이지 않았다. 또한 균체가 성장함에 따라서 소모하는 인산의 양은 각각의 배지에서 300mg/L에서

361mg/L 정도의 인산을 소모하였다.

2. *P. agglomerans*의 HY 배지에서의 인산염 가용화 정도

*P. agglomerans*의 HY 배지에서의 인산 가용화 정도의 측정을 위해 hydroxyapatite의 농도를 각각 0g, 2g, 4g, 6g, 8g으로 처리한 배지 중 4g/L의 hydroxyapatite를 가한 배지에서 가장 많은 양인 518mg/L 정도의 인산이 생산되었다.

3. *P. agglomerans*의 증식에 따라 생성되는 인산과 산처리를 통해 생성되는 인산의 양의 비교

4g/L의 hydroxyapatite의 농도를 가진 HY배지에서 *P. agglomerans*의 성장에 의해 생성되는 유리 인산의 양은 배양 후 48시간이 지났을 때 465mg/L에서 520mg/L 정도의 양의 유리 인산이 생성되었다. 몇 가지의 유기 및 무기산으로 처리한 결과에서는 시트르산으로 처리한 경우와 옥살산으로 처리한 경우에서만 702mg/L, 537mg/L로서 미생물에 의한 경우보다 높았고 나머지의 시험구에서는 오히려 미생물에 의한 경우보다 낮은 유리 인산 생성능을 보였다.

요약

불용성 인산염인 hydroxyapatite를 분해하여 인산을 생성하는 미생물인 *P. agglomerans*의 성장에 따른 인산의 생성량을 여러 산으로 처리하였을 때와 비교하여 보았다. *P. agglomerans*의 성장에 있어서 필요한 인산의 양은 300mg/L에서 361mg/L 정도의 인산을 소모하였다. 또한 여러 유기 및 무기산으로 4%의 hydroxyapatite를 처리하였을 때에 0.01N의 시트르산과 옥살산으로 처리하였을 때만이 인산의 생성량은 *P. agglomerans*에서 보다 높은 각각 702와 537mg/L이었고 배양후 48시간이 지났을 때 *P. agglomerans*의 유리인산의 최대가용화량은 465mg/L이었다.

참고문헌

1. Rodriguez, Hilda and Reynold Fraga (1999), Phosphate solublizing bacteria and their role in plant growth promotion, *Biotechnology advances*, **17**, 319-339.
2. Kim, Kil Young (1997), Hydroxyapatite solublization and organic acid production by *Enterobacter agglomerans*, *The Journal of Society of Soil Science and Fertilizer*, **30**(2), 189-195.

3. Vassileva, N., M. T. Baca, M. Vassileva, I. Franco, and R. Azocon (1995), Rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on sugar-beet waste medium, *Appl. Microbial Biotechnol.*, **44**, 546-549.
4. Jung Il (2001), A study on phosphate solubilization by using immobilized *Pantoea agglomerans*, M.S. Thesis, Chonnam National University, Kwangju, KOREA.

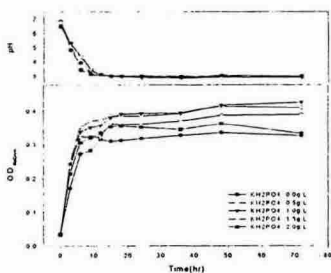


Fig.1 Effects of various initial KH_2PO_4 amount on cell growth and pH changes of *P. agglomerans* during 72 hrs on HY medium at 30°C, pH 7.

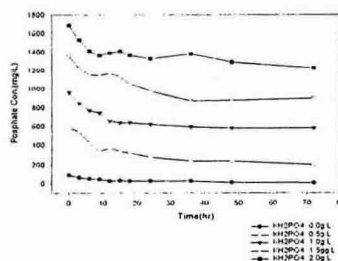


Fig.2 Amount of consumed phosphate of *P. agglomerans* during 72hrs in modified HY medium at 30°C, pH7.

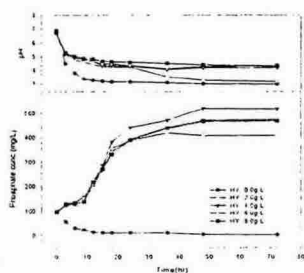


Fig.3 Amount of produced phosphate according to control hydroxyapatite concentration during 72hr culture period in HY medium at 30°C, pH7.

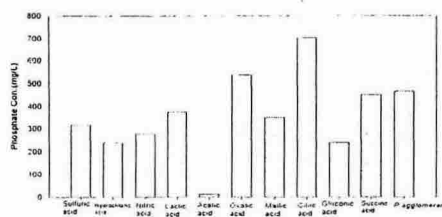


Fig. 4. Comparison of phosphate solubilization by various inorganic and organic acid(0.01N) and *P. agglomerans* for 48hour cultivation.