겔상태의 광합성세균의 탈질특성

조경숙[1], 박경주, 이민규[1], 이병헌[2], 김중균
부경대학교 식품생명공학부 생물공학전공, [1]화학공학부 화학공학전공
[2]환경시스템공학부 환경공학전공,
전화 (051) 620-6186, FAX (051) 620-6180 (김중균)

Abstract

The denitrification characteristics of free- and gel- D photosynthetic bacteria were studied. At various salt concentrations (0, 1, 2, 3.5%), the maximum specific growth rates were found to be 0.22, 0.22, 0.20 and 0.11 h^{-1}, respectively. At lower pH, pH affected the growth significantly. In experiments of PVA beads, the maximum N_2 production rate (dN_2/dt) were calculated to be 0.09-0.10 (D= 0.7cm) and 0.09-0.11(D= 1.0cm) ml/h, respectively, and those per bead were 5 and 5.5 μl/h/bead.

서 론

생활수준이 높아짐에 따라 애완동물에 대한 관심이 높아지고 있다. 그 중 관상어 사육은 유통시장이 명확하지는 않으나 그 규모가 커지고 있음에도 불구하고 관상어, 사료, 수질정화제 등 많은 부분을 외국에서 수입하고 있는 실정이다. 관상어 사육에 있어 가장 중요한 점은 수조의 수질을 깨끗하게 유지하는 것으로서, 수조내 남겨진 사료와 관상어의 배설물에서 발생되는 암모니아, 질산염 및 아질산염이 수질악화의 원인이 되고 있다. 낮은 pH 상태에서는 아질산염이 아질산으로 변형되기도 하는데 저농도에서도 독성을 가지는 아질산염보다 더 많은 독성을 가진다. 따라서, 이러한 오염물질들은 질소화하여 인체에 무해한 gas 상태로 내보내는 수질정화 미생물의 개발이 시급하다. 광합성세균은 단백질이 풍부하여 치어패류의 초기 먹이사료의 첨가제[1)]로서 사용되고 있을 뿐만 아니라 수질정화 능력이 뛰어난 것으로 알려져 있으며[2)], 수질정화 효율을 높이기 위하여 고정화 방법을 통한 광합성세균의 우점화도 시도되고 있다[3)]. 본 연구에서는 수질정화 능력이 뛰어난 것으로 알려진 D회사 광합성세균의 탈질반응 특성을 조사하고, 그 광합성세균의 겔제품에 대한 탈질능력($NO_3^- \rightarrow N_2$)을 측정하여 free-cell 및 PVA담체에 고정화한 광합성세균의 탈질능력, 그리고 다른 탈질미생물에 의한 탈질능력과의 비교 · 평가를 하고자 한다.

재료 및 방법

광합성세균의 탈질능력

먼저, D회사 free 광합성세균의 탈질능력을 syringe technique을 통해 알아보았고, 광합성세균의 호기적 암모니아 산화능력은 1L 가지달린 플라스크에 순수 산소를 주입한 후 일정 시간에 시료를 채취하여 NH_4^+, NO_3^-, NO_3^-, N_2를 IC 및 GC로 분석하였다. Syringe내의 영양배지는 모두 광합성세균 기본배지 (1L당: malate, 1g; casamino acid, 2g; yeast extract, 3g; KNO3, 2g)를 사용하였다. 탈질능력이 뛰어난 다른 균의 탈질능력을 측정하여 비교하고, 복합균의 활용을 위하여 탈질능력이 뛰어난 다른 균과의 상호작용 (저해, 항균 작용 여부)을 검토하였다.

광합성 겔제품의 탈질능력

D회사 광합성세균 겔제품의 탈질능력을 염농도 0 및 3.5% 배지에서 실험하였다. 이때, 초기 배지의 pH는 autoclave 전에 6.5로 맞추었고, 배양은 온도 30℃와 150 rpm에서 실시하였다. 또한, 탈질능력이 뛰어나고 상호간 길항작용이 없는 두 균의 복합균을 만들어 이 복합균에 대한 탈질능력을 조사하였다. 또한, 이 고정화 복합균을 제조하여 이것의 탈질능력도 측정하였다. 고정화는 PVA 및 cellulose triacetate 등의 담체를 이용하여 비-드로 만들고 이 고정화 비-드의 탈질능력을 측정하여 그 가능성을 검토하였다. 이때 사용배지의 염의 농도는 해수농도(3.5% NaCl)로 맞추었고, syringe에 bead를 20개 정도 넣고 전체 부피를 30ml로 하여 실험하였다.

치어 · 패류 사육수 제조에 이용 가능성 여부 조사

Virus 등 질병에서 이길 수 있는 치어 · 패류를 위한 해수 제조에 사용 가능한 지를 알아보기 위하여, 먼저 광합성세균의 염농도 (1, 2, 3.5%)에 따른 성장을 측정하여 비증식속도를 구하였다. 또한, 해수농도 (3.5%)에서의 광합성세균 겔제품, 비-드의 탈질능력을 알아보아 상호 비교하여 보았다.

결과 및 고찰

염농도에 따른 광합성세균의 성장을 파장 400 nm에서 측정하였는데, 약 하루가 지나면 모든 flask에서 발효의 냄새를 맡을 수 있었으며, 탈질이 시작되면 점차적으로 pH가 상승하기 시작하였다. D 광합성세균을 빛을 쬐어주지 않는 상태에서 배양할 경우 균이 stationary phase에 도달한 이후부터 붉은색 pigment를 생산하는 것으로 나타났다. 각 염농도별(0, 1, 2, 3.5%) 평균 최대 비증식 속도는 각각 0.22, 0.22, 0.20, 0.11 h^{-1}로 계산되었다. 또한, 낮은 pH에서 배양할 경우 성장에 상당한 영향을 받음을 알 수 있었다.

냉동보관 되었던 두산 광합성세균 겔제품의 탈질능력을 테스트 했을 때, 반응 100 시간 후에도 1.3 ml 정도만의 N_2 가스가 발생하였고, gel상태는 오래 유지되지 못하고 배지 내에서 빨리 풀려버렸다. 현미경 관찰 결과 냉동보관이 오래될수록 cell 수나 cell activity가 감소함을 알 수 있어 이를 극복할 수 있는 냉동보관법이 필요하였다. PVA를 담체로한 두 크기(평균 직경이 약 0.7cm 및 1.0cm)의 고정화 광합성세균 비-드를 10% 부피비로 실린지에 주입하여 반응시킨 결과 최대 N_2생성율(dN_2/dt)는 각각 0.09-0.10 (직경 0.7cm), 0.09-0.11(직경 1.0cm) ml/h로 계산되었고, 비-드 당 평균 N_2 생성율(dN_2/dt)은 각각 5, 5.5 μl/h/bead이었다. 발생한 가스는 N_2O나 NO 없이 N_2 가스가 대부분임을 GC를 통해 알 수 있었다.

D 광합성세균의 탈질능력는 강한 탈질능력을 보이는 일반세균과 비교하면 그 능력이 떨어지는 것으로 나타났으며, D 광합성세균과 탈질미생물간의 두 균 사이에는 어떠한 길항작용도 없었다.

요 약

본 연구에서는 수질정화능력이 뛰어난 것으로 알려진 D회사의 광합성세균 및 그 겔제품의 탈질특성을 알아 보았고, 실제적용을 위한 해수농도 (3.5% NaCl)에서의 이용 가능성 여부도 알아보았다. 각 염농도별(0, 1, 2, 3.5%) 평균 최대 비증식속도는 각각 0.22, 0.22, 0.20, 0.11 h^{-1} 로 계산되었다. 또한, 낮은 pH에서 배양할 경우 성장에 상당한 영향을 받음을 알 수 있었다. 고정화 비-드의 경우, 최대 N_2생성율(dN_2/dt)는 각각 0.09-0.10 (직경 0.7cm), 0.09-0.11(직경 1.0cm) ml/h로 계산되었고, 비-드 당 평균 N_2 생성율(dN_2/dt)은 각각 5, 5.5 μl/h/bead이었다. D 광합성세균과 탈질미생물간의 두 균 사이에는 어떠한 길항작용도 없었다.

사 사

이 연구는 2002년 연강재단 학술지원사업으로 이루어졌습니다. 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Sasaki K, Tanaka T, Nagai S. Use of photosynthetic bacteria for the production of SCP and chemicals from organic wastes, p. 247-290. In: Martin AM (de). Bioconversion of waste materials to industrial products, 2nd ed. (1998) Blakie Academic & Professional (Chapman & Hall), London, New York, Tokyo.
2. Sawada H, Roger PL. Photosynthetic bacteria in waste treatment. Mixed culture studies with *Rhodopseudomonas capsulata*. (1977) Journal of Fermentation Technology, 55,

311-325.

3. Shen J, Hirayama O. Denitrification of PVA-immobilized denitrifying photosynthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroides*. (1993) Journal of Fermentation and Bioengineering, 75, 43-47.

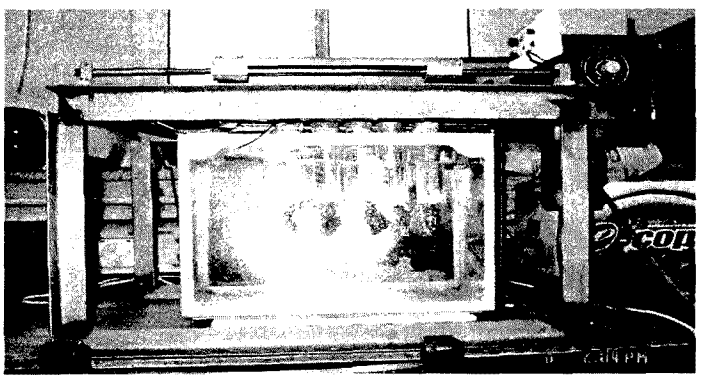

Fig. Shaking syringes in water bath for test of N_2 gas production.

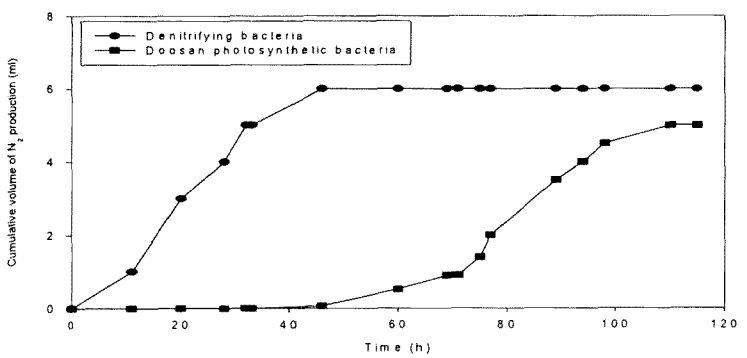

Fig. Profiles of gas production by a denitrifying bacterium and D. phtosynthetic bacterium

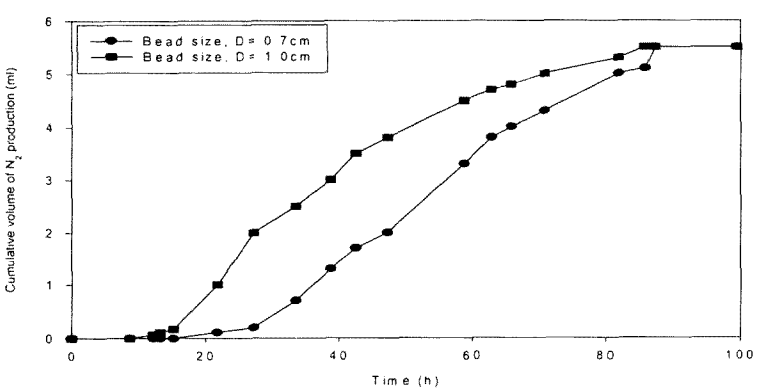

Fig. Profiles of N_2 production by D. phtosynthetic bacteria in the syringe cultivated at 30°C