

세균의 유류 분해능에 미치는 온도와 염분의 영향

오영숙·김상종

서울대학교 자연과학대학 미생물학과

Effect of Temperature and Salinity on the Bacterial Degradability of Petroleum Hydrocarbon

Oh, Young-Sook and Sang-Jong Kim

Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Seoul National University

ABSTRACT: The rate of bacterial degradation of hydrocarbon was estimated for the measurement of the self-purification capacity of the aquatic ecosystem. Strain ND601P-2, selected as petroleum degrading bacteria from Nakdong River Estuary with high degradability of petroleum, transformed 42% of hexadecane to CO_2 or cell materials under the conditions of 25°C, 0.03M NaCl, 167 mg- NH_4^+ /l, 950 mg- PO_4^{3-} /l, 50 mg-hexadecane/l. The mineralization rate was found to be significantly affected by the temperature and the Q_{10} value was 2.2. The optimal salinity of the strain ND601P-2 was 2o/oo. The increased salinity caused the elevation of % respiration value and the prolonged lag phase.

KEY WORDS □ petroleum-degrading bacteria, ^{14}C -hexadecane, degradation rate, temperature, salinity

현대 문명에 있어서 에너지원 및 각종 화학물질의 원료로써 석유 탄화수소가 갖는 중요성은 매우 지대하며 석유에 대한 의존도는 날로 증가하는 추세에 있다. 유류에 의한 해양환경의 오염은 일반적으로 선박의 운항, 유조선 사고, 정유공장 폐수 및 폐유의 유입 등 인간행위에 의한 것을 비롯한 다양한 경로를 통하여 일어나고 있다(Anon, 1975; Anderson & Bissel, 1977).

해양환경에 유입된 유류 오염물질의 제거는 파도, 광선, 바람 등의 물리적 요인이나 생물체에 의한 분해와 같은 자연적인 현상에 의해 이루어지게 된다(Mulkins-Phillips & Stewart, 1974; Atlas, 1981). 그러나 유류에 의한 해양환경의 오염이 날로 심각해지면서 이를 인위적으로 해결하기 위한 여러가지 방안들이 모색되었으며 1946년 ZoBell에 의해 매우 다양한 미생물이 석유 탄화수소의 분해에 관여하며 이러한 미생물이 자연계에 널리 분포하고 있다는 사실이 밝혀진 후 미생물학

적 측면에서의 연구가 본격화 되었다(Floodgate, 1972; Atlas & Bartha, 1973). 특히 해양 생태계에 유입된 석유류의 잔류 기간과 밀접한 관계를 갖는 미생물에 의한 유류 분해속도를 정확히 측정하기 위한 여러 방법들이 모색되었으며(Gurikel, 1968; Caparelo & LaRock, 1975; Ward & Brock, 1978) 그중 ^{14}C -hydrocarbon을 기질로 이용했을 때 미생물의 작용에 의해 세포 물질화되거나 최종 산물인 $^{14}\text{CO}_2$ 로 분해된 양을 측정하여 이를 유류 분해능의 척도로 사용하는 방법이 많이 사용되고 있다(Walker & Colwell, 1976; Pfaender & Bartholomew, 1982).

본 연구에서는 n -[1- ^{14}C] hexadecane을 이용하여 낙동강 하구에서 분리된 세균의 유류 분해능을 측정하였으며 자연계에 존재하는 미생물의 생존도와 활성도에 중요한 제한요인으로 작용하는 온도와 염분이 세균의 유류 분해능에 미치는 영향을 조사하여 해양환경에서의 유류 분해 양상을 파악하

고자 하였다.

재료 및 방법

우수한 유류 분해 세균의 선별

유류 분해 세균으로 낙동강 하구에서 순수 분리된 96개 균주(Oh & Kim, 1987)를 *n*-hexadecane 0.1 ml (Sigma)을 포함하는 MPN 액체배지(Gunkel & Trekel, 1967) 10 ml에 접종하여 1주일간 배양한 후 상대적인 혼탁도를 비교하여 1차적으로 분해능이 높은 균주를 선별하였다. 1차적으로 선별된 균주들을 0.01 ml의 *n*-hexadecane을 포함하는 10 ml MPN 액체배지에 접종한 후 Spectronic 20(Bausch & Lomb)를 이용하여 410 nm에서의 흡광도를 24시간 동안 측정하였다. 이로부터 얻어진 성장곡선을 비교하여 분해능력이 매우 높은 균주를 선별하였다.

실험균주의 사전 배양

Yeast extract (0.01%)와 *n*-hexadecane (0.05%)을 포함하는 MPN 액체배지에 실험균주를 접종하여 25°C의 교반 배양기(150 rpm)에서 24시간 동안 배양한 후 배양액을 원심분리하여 균주를 회수하였다. 회수된 세균은 잔여 유기물을 제거하기 위하여 phosphate-buffered saline으로 두번 세척하였다.

접종 및 배양

온도의 영향을 조사하는 경우에는 MPN 액체배지를 이용하였으며 염분의 영향 조사시에는 MPN 액체배지에 NaCl을 넣어 염분도를 7, 12, 17, 22‰로 맞춘 후 사용하였다. 접종배지를 121°C에서 10분간 습식 멸균한 후 사전 배양에서 얻은 균주를 배지에 혼탁시켜 그 밀도를 $2.0-6.0 \times 10^6$ CFU/ml로 조정하였다. 사용한 배양 용기 300 ml Erlenmeyer flask는 사용전에 산성화시켜 잔여 유기물을 제거한 후 200°C에서 2시간 동안 건열 멸균하였다. 각 배양 용기에 0.1 μ Ci의 *n*-[1-¹⁴C] hexadecane(Amersham)을 넣어주었다. 이는 2 mg의 hexadecane에 해당된다. 균주가 현탁된 배양액을 40 ml씩 넣어준 후 ¹⁴CO₂ 발생량 측정을 위한 배양 용기에는 여과지가 들어 있는 scintillation vial을 용기의 중앙에 위치하도록 한 후 실리콘 마개를 하였으며 세포 물질화 한

hexadecane 양을 측정하기 위한 용기에는 실리콘 마개만을 하였다. 그후 염분 변화시의 분해능을 측정하기 위한 배양 용기는 25°C에서, 온도 변화시의 분해능을 측정하기 위한 배양용기는 5°C, 15°C, 25°C, 35°C에서 배양하였다.

미생물에 의해 분해된 hexadecane 양의 측정

일정한 시간 간격을 두고 방출된 ¹⁴CO₂의 양 및 세포물질화된 hexadecane 양을 측정하였다. 모든 실험에 있어서 측정시간은 4, 8, 14, 20, 26, 32 시간으로 통일하였다. 각 측정시간마다 배양용기를 꺼내어 ¹⁴CO₂ 발생량 측정시에는 1N HCl을 넣어 반응을 중지시킨 후 vial내의 여과지를 ethanolamine으로 적시고 교반 배양기에 넣어 ¹⁴CO₂를 포집하였으며 세포 물질화된 hexadecane 양의 측정시에는 즉시 nitrocellulose membrane filter (0.45 μ m pore size, ϕ 25 mm)로 배양액을 여과하여 반응을 중지시켰다. ¹⁴CO₂의 포집이 끝난 vial이나 여과한 membrane이 들어 있는 vial에는 10 ml의 scintillation cocktail(PPO 10.0g : POPOP 0.25g : Naphthalene 100.0g : Dioxane 1L)을 넣은 후 Packard Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrometer model 3385(Packard Instrument Co., USA)를 이용하여 방사능을 측정하였다. ¹⁴CO₂ 포집에 이용한 방법의 효율을 측정하기 위하여 MPN 액체배지에 균주를 현탁시킨 후 ¹⁴C-bicarbonate(Amersham)를 넣어주고 동일한 조건하에서 ¹⁴CO₂를 포집하여 효율을 계산하였으며 이를 기준으로 포집된 ¹⁴CO₂에 의한 방사능의 양을 보정하였다.

측정된 방사능의 양을 이용하여 미생물에 의해 흡수되거나 CO₂로 분해된 hexadecane의 양을 정량적으로 산출하였다(Table 1).

결 과

우수한 유류 분해 균주의 선별

낙동강에서 분리된 유류 분해 세균중 1차적으로 분해능이 높은 6개의 균주를 선별하였으며 이 균주들을 동일한 hexadecane 농도를 갖는 MPN 배지에서 배양한 결과를 각각의 성장곡선으로 나타내었다(Fig. 1). 본 실험에서 사용한 균주 ND 601P-2는 gram-negative, 간균으로 Entero-

Table 1. Metabolic parameters estimated from the amount of radioactivity of ¹⁴CO₂ evolved or ¹⁴C-hexadecane assimilated during hexadecane oxidation.

parameters	formula
% CO ₂ evolved	$\% \text{CO}_2 = \frac{C_e \cdot C_c}{D} \times 100$
% assimilated	$\% \text{assimilated} = \frac{U_e \cdot U_c}{D} \times 100$
% metabolized	$\% \text{metabolized} = \% \text{CO}_2 + \% \text{assimilated}$
mineralization rate (μg -hexadecane /1/hr)	$\text{min. rate} = \frac{C_e \cdot C_c}{D \cdot t} \times A$
metabolic velocity (μg -hexadecane /1/hr)	$\text{met. vel.} = \frac{[(C_e \cdot C_c) + (U_e \cdot U_c)]}{D \cdot t} \times A$
% respiration	$\% \text{resp.} = \frac{\% \text{CO}_2}{\% \text{CO}_2 + \% \text{assimilated}} \times 100$

C_e; dpm of ¹⁴CO₂ evolved from the culture after incubation

C_c; dpm of ¹⁴CO₂ evolved from the poisoned culture after incubation

U_e; dpm of ¹⁴C in experimental membrane after filtration of the culture

U_c; dpm of ¹⁴C in control membrane after filtration of the poisoned culture

D; dpm of ¹⁴C added in the form of ¹⁴C-hexadecane

t ; incubation time in hours

A; added concentration of hexadecane (ug-HD/1)

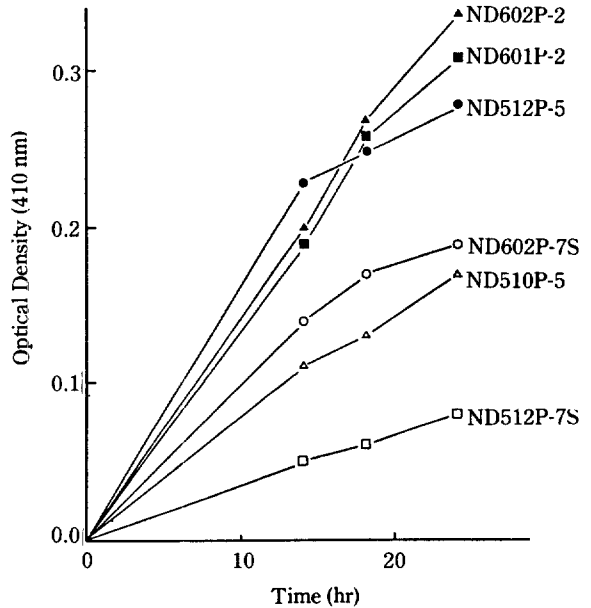


Fig. 1. Growth curves of isolated petroleum-degrading bacteria with relatively high degradation activity of hexadecane. Strain ND601P-2 was selected for the measurement of hydrocarbon biodegradation activity.

bacteriaceae로 동정되었으며 액체 배양시의 크기는 0.6×1.0 μm였다.

온도의 영향

석유 탄화수소의 분해는 매우 광범위한 온도 범위(0°C-70°C)에서 일어날 수 있다고 알려졌다(Klug & Markovetz, 1967; ZoBell, 1973). 본 연구에서는 분리 균주 ND601P-2의 유류 분해능에 미치는 온도의 영향을 알아보기 위하여 5, 15, 25, 35°C에서 유류 분해능을 측정하였다.

시간에 따른 CO₂ 생성 양상을 보면 35°C의 경우 lag phase가 거의 존재하지 않은 반면 25, 15, 5°C에서는 각각 4시간, 14시간, 32시간 이상으로 나타났다(Fig. 2). 배양기간중 %CO₂의 최대값은 35, 25, 15, 5°C에서 각각 27.8, 19.2, 7.2, 0.4%로 35°C와 25°C에서는 14시간, 26시간 배양시 최고값에 도달했으나 15°C, 5°C에서는 긴 lag time으로 인해 32시간 내에는 최고값에 도달하지 못했다. 세균에 의해 흡수되어 세포내 물질로 전환된 hexadecane의 양인 % assimilated의 온도에 따른 변

화 양상은 % CO₂에서와 매우 유사했다(Fig. 3). 35°C의 경우 lag phase 없이 8시간까지 계속 증가하여 최고값 29.8%에 도달하지만 8시간 경과후부터는 급격히 감소하는 양상을 보였다. 25°C의 경우 4시간의 lag phase가 존재한 후 계속적으로 증가하다가 20시간 경과후부터는 일정 수준을 유지하여 최고값 33.1%에 달했다. 15°C의 경우에는 % CO₂에서에 비해 짧은 lag phase를 가지며 32시간까지 계속 증가하여 27.6%라는 최고값을 나타냈다. 5°C의 경우 lag phase가 32시간 이상인 것으로 나타났으며 32시간 경과시 % assimilated는 1.4%에 이르렀다. %CO₂와 assimilated의 합에서 % CO₂가 차지하는 비율, 즉 % respiration의 온도에 따른 변화양상을 Fig. 4에 나타내었다. 각 온도에서의 % respiration은 35, 25, 15°C에서 각각 51.8, 34.8, 18.6%인 것으로 나타났는데 이 결과는 온도가 높아질수록 % respiration이 증가함을 의미한다. Hexadecane이 CO₂로 완전히 분해되는 속도(mineralization rate)는 온도 저하에 따라 매우 급속히 감소했다(Fig. 5). 각 온도에서의 최대 분

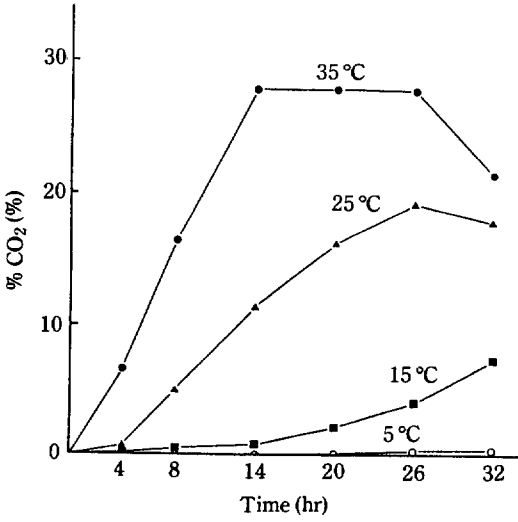


Fig. 2. Effect of varying incubation temperature on ¹⁴CO₂ production during ¹⁴C-hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2.

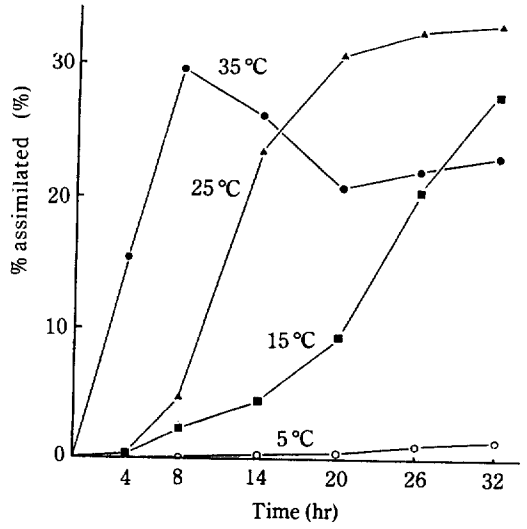


Fig. 3. Effect of varying incubation temperature on assimilation of ¹⁴C-hexadecane during ¹⁴C-hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2.

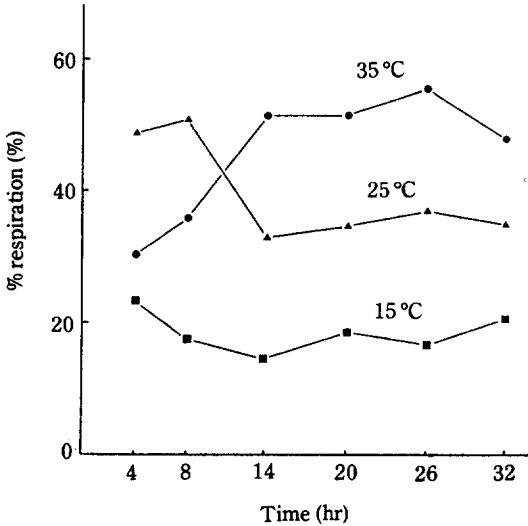


Fig. 4. Effect of varying incubation temperature on respiration percentage during ¹⁴C-hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2.

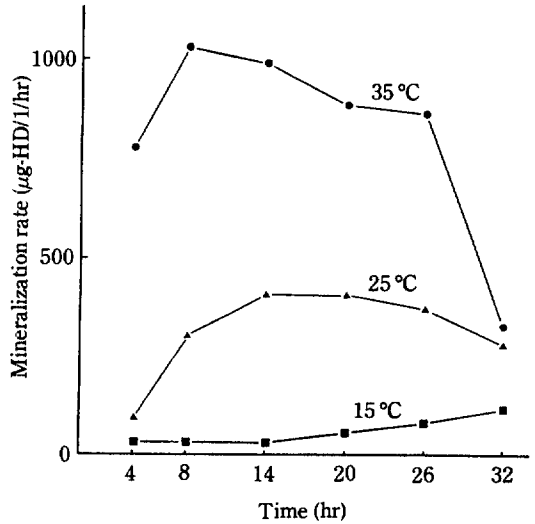


Fig. 5. Effect of varying incubation temperature on the rate of ¹⁴CO₂ production during hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2.

해속도는 35, 25, 15, 5°C에서 각각 1304, 9, 536.8, 273.1, 13.7 µg-hexadecane/1/hr로 측정되었다. 계산된 분해속도의 값을 이용하여 Q₁₀값을 구해보면 15-25°C 구간에서 1.97, 25-35°C 구간에서 2.42로 평균 2.19로 계산되었다. 가장 낮은 온도인 5°C에서의 분해속도는 15°C에서보다 95% 정도 감

소하였는데 이는 5°C에서와 같은 저온에서 미생물에 의한 hexadecane의 분해가 극히 적음을 의미한다.

염분에 의한 영향

낙동강 하구와 같은 생태계에서는 염분이 미생물의 활성도에 미치는 영향이 매우 크다(Ahn,

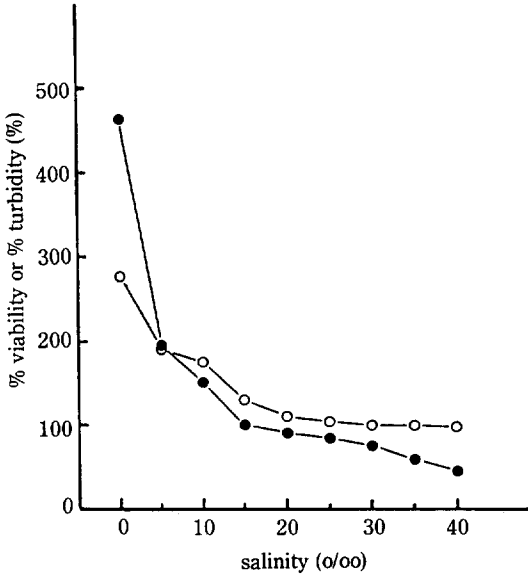


Fig. 6. Effect of salinity on the growth of the isolate ND601P-2 using hexadecane as a sole carbon source. The culture incubated for 36hr at 25°C and the percent turbidity (○) and the percent viability (●) were estimated.

1988). 본 실험에서는 염분을 변화시켰을 때 hexadecane의 분해능의 변화를 조사하였다. 균주 ND601P-2는 25% 이상의 염분에서는 성장이 불가능하며 15% 이상에서는 성장이 거의 일어나지 않았기 때문에 (Fig. 6) 분해능 측정은 2, 7, 12, 17, 22%의 염분에서 수행하였다.

% CO₂의 시간에 따른 변화 양상을 보면 2%에서는 lag phase가 4시간인데 반해 염분이 증가할수록 lag phase가 길어졌으며 14시간까지는 염분이 높을수록 % CO₂가 낮았다 (Fig. 7). 그러나 14시간을 경과하면서 17, 22에서의 % CO₂가 7, 12%에서의 값보다 높은 값을 나타냈으며 26시간 경과후 % CO₂의 크기는 22, 17, 12, 7%의 순으로 염분이 높을수록 높게 나타났다. 반면 % assimilated의 경우에는 모든 배양 구간에 있어서 2%에서의 값이 가장 높았으며 대부분이 20시간 배양시 최대값을 나타냈다 (Fig. 8). % respiration의 경우 염분이 증가할수록 % respiration이 증가하였는데 (Fig. 9) 32시간 배양시 % assimilated는 모두 최대 값에 도달한 반면 % CO₂의 경우 2%을 제외하고는 계속 증가하는 추세라는 것을 고려한다면 실험에서 얻

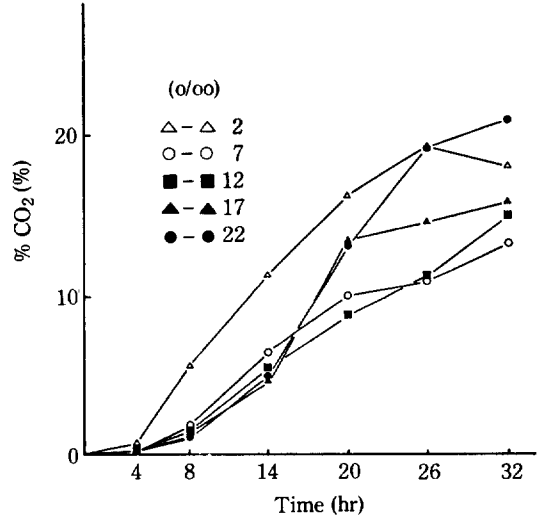


Fig. 7. Effect of salinity on ¹⁴C₂ production during ¹⁴C-hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2. Percent ¹⁴CO₂ (%CO₂) increased as the salinity increased.

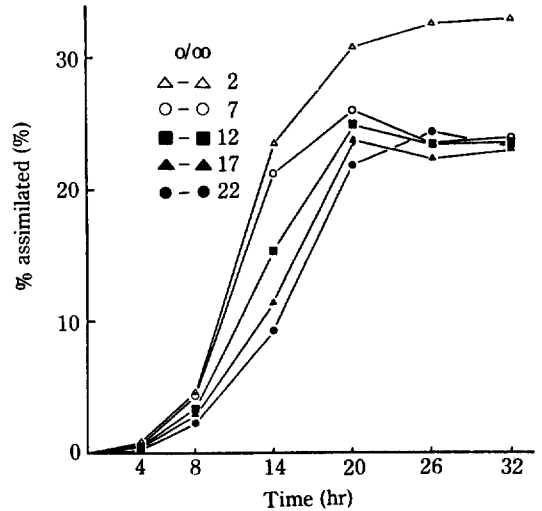


Fig. 8. Effect of salinity on assimilation of ¹⁴C-hexadecane during ¹⁴C-hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2. % assimilated decreased as the salinity increased.

은 값보다 염분 증가시 % respiration의 값이 더 커진다는 것을 알 수 있다.

고 찰

해양환경에서 석유 탄화수소가 분해되기 위해서

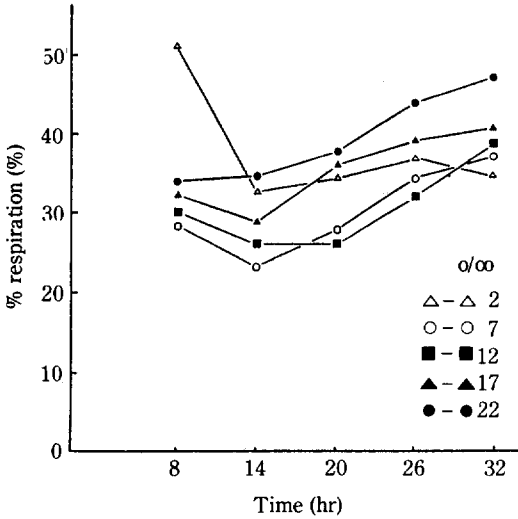


Fig. 9. Effect of salinity on respiration percentage during ^{14}C -hexadecane oxidation by the isolate ND601P-2. % respiration increased as the salinity increased.

는 유류 분해 세균의 존재 외에도 석유 분해에 적합한 온도, 염분도, 영양염류, 용존 산소와 같은 환경 요인들이 필수적인 요건으로 작용한다 (ZoBell, 1969; Ward & Brock, 1976; Cooney *et al.*, 1985).

분리 균주 ND601P-2의 유류 분해능은 온도에 의해 크게 좌우되는 것으로 나타났다. 15-35°C 구간에서 측정된 Q_{10} 값은 평균 2.2로 계산되었는데 이 값은 enriched cultured condition에서 ZoBell (1964)에 의해 측정된 Q_{10} 값의 범위인 2-3에 속하는 값이다. 이외에도 Gibbs 등 (Gibbs *et al.*, 1975; Gibbs & Davis, 1976)은 natural sample의 경우 crude oil을 탄소원으로 사용할 때 2.7의 Q_{10} 값을 얻었다. 분리 균주 ND601P-2의 5°C에서의 분해속도는 15°C에서의 분해속도에 비해 95%가 감소하였다. 10°C 이하에서의 mixed community나 분리된 유류 분해 균주에 의한 유류 분해속도가 10°C 이상에서에 비해 현저히 감소되는 현상은 다른 연구에서도 보고된 바가 있다 (Atlas, 1975; Arhelger *et al.*, 1977). 유류 분해속도가 10°C 이하에서 현저히 감소되는 현상은 다음과 같은 이유로 설명될 수 있다. 첫째, 낮은 온도에서 감소된 미생물의 생리적 활성도에 의한 것이라 할 수 있다. 둘째, 10°C 이하에서 hexadecane은 고체 상

태로 존재하기 때문에 낮은 온도에서는 분해속도가 급격히 감소한다고 볼 수 있다. 석유 탄화수소를 분해하는 미생물은 oil-water의 경계 수막에만 작용하기 때문에 낮은 온도에 의해 고체 상태이거나 점성이 증가되어 표면적이 감소된 석유 탄화수소는 미생물에 의한 분해가 어려워지게 된다. 온도에 의한 석유 탄화수소의 물리적 상태가 낮아진 유류 분해속도와 밀접한 관계를 갖는다는 사실은 Atlas (1981)의 실험에 의해 밝혀졌다. 분리균주 ND601P-2의 유류 분해에 온도가 미치는 영향에 있어서 온도가 증가할수록 lag phase가 감소하여 35°C에서는 거의 존재하지 않았는데 이런 현상은 높은 온도에 의해 생리적 활성도가 증가했기 때문이라고 볼 수 있다. 그러나 35°C에서 % CO_2 의 경우 14시간까지 증가하다가 14시간 이후부터는 일정 수준을 유지하는 반면 % assimilated의 경우에는 8시간 경과후 그 값이 급격히 감소하였다. 이런 현상은 35°C에서 hexadecane이 많이 분해된 사실이 단순히 활성도의 증가에 의한 것이 아니라 높은 온도에 의해 일어난 세포 구성성분의 손상을 회복하는데 소모되는 많은 에너지를 공급하기 위한 metabolic rate의 증가에 의한 것이라고 볼 수 있다. Iandolo와 Ordal (1966)은 높은 온도에서는 1차적으로 세포막에 손상이 일어나 세포 구성물질이 유출되며 세균은 세포막의 손상을 회복하기 위하여 lipid와 같은 세포막 구성물질을 활발히 합성한다는 것을 밝혔다. 이러한 이유 때문에 높은 온도에서 대사 작용이 빠르게 일어나기는 하지만 성장속도와 cell yield가 낮고 노화현상이 빠르게 나타나게 되며 35°C에서 % assimilated의 급격한 감소는 이에 의한 것이라고 설명될 수 있다. 높은 온도에 의한 세포의 손상 및 빠른 노화현상은 % respiration으로도 설명될 수 있는데 일반적으로 온도나 염분과 같은 환경적 요인의 변화, 영양염류의 고갈, 오염물질의 존재 등은 미생물 집단에 대한 stress로 작용하게 되며 stress 요인의 존재 시 % respiration이 증가하게 된다 (Tison & Pope, 1980). 35°C에서의 평균 % respiration은 25°C에서의 값의 1.5배 정도인데 이러한 % respiration의 증가는 35°C라는 온도가 분리 균주 ND601P-2에게 thermal stress로 작용한다는 것을 알 수 있게 한다.

낙동강 하구 생태계에 있어서 염분의 변화는 분리 균주의 유류 분해능에 많은 영향을 미치는 것으로 나타났다. 균주 ND 601P-2가 분리된 점정의 연평균 염분은 2.22 ‰이었으며 분리 균주의 성장이 2 ‰에서 가장 잘 일어나는 것으로 보아 ND 601P-2는 담수성 세균이라 할 수 있다. % assimilated에 있어서 염분이 높아질수록 lag time이 길어졌으며 각 염분도에서의 최대 % assimilated는 유사 수준으로 나타났다. 이런 현상은 염분이 높아질수록 분리 균주가 높은 염분도에 적응하기까지 더 많은 시간이 요구되기 때문이라고 사료되며 안(1988)이 ^{14}C -glucose를 이용하여 염분과 세균의 활성도간의 관계를 관찰한 결과에서도 유사한 현상이 관찰되었다. 염분의 증가에 따른 lag phase의 증가는 % CO_2 의 경우에도 동일하게 나타났다. 그러나 % assimilated에서 lag phase 이후 각 염분에 있어서의 최대값이 유사하였으나 % CO_2 의 경우에는 14시간 배양후 염분이 높아질수록 % CO_2 의 값이 높아졌다. 이런 현상은 염분의 증가시 이에 적응하기 위해 일정 시간이 필요하다는 것 외에도 높은 염분에서 존재하기 위해서는 많은 에너지가 필요함을 의미한다. 즉, 염분에 관계없이 % assimilated의 최대값은 유사한 반면 % CO_2 가 증가하고 균의 성장이 급격히 감소한 결과는 hexadecane의 분해에 의해 생성된 에너지가 균의 성장에 사용된 것이 아니라 악조건하에서의 maintenance energy로 사용되었음을 시사한다.

염분의 변화가 균주 ND 601P-2에게 stress 요인으로 작용한다는 사실은 염분이 증가할수록 높게 나타난 % respiration으로도 설명될 수 있다. 염분에 의한 영향으로 % respiration이 증가한 현상은 많이 보고되어 있는데 (Griffiths & Morita, 1973; Griffiths *et al.*, 1984) 특히 Griffiths와 Morita (1973)의 실험에서 % respiration이 미생물의 성장이 잘 일어나는 염분의 범위에서 가장 낮고 성장 가능 이상 및 이하의 염분에서 매우 높게 나타난 결과는 본 연구에서의 결과와 일치한다. 결국 담수성인 ND 601P-2에 의한 유류 분해는 염분에 의해 심한 영향을 받으며 이런 결과는 낙동강 하구와 같은 지역에서 염분이 유류 분해에 중요한 제한 요인으로 작용할 수 있음을 시사하여 준다.

본 연구에서 사용한 n -[1- ^{14}C] hexadecane은 n -alkane mixture를 대신하여 유류 분해능을 예민하게 측정할 수 있다 (Caparello & LaRock, 1975; Walker & Colwell, 1976). 그러나 n -alkane은 terminal 혹은 subterminal oxidation에 의해 지방산으로 된 후 α -, β -, 또는 ω -oxidation을 통해 CO_2 로 분해될 수 있으므로 n -[1- ^{14}C] hexadecane을 사용하여 본 연구에서 측정된 미생물의 유류 분해능은 상당 정도 과소 평가되었다고 볼 수 있다. 또한 흡수된 hexadecane 양의 측정에 있어서도 hexadecane의 중간 분해산물이 세포 외로 방출될 경우에는 이 양이 측정치로부터 제외될 수 있다는 문제점을 가지고 있다.

적 요

해양환경에 심각한 오염원으로 유입되는 석유 탄화수소에 대한 생태계의 자정 능력을 측정하기 위하여 세균에 의한 유류 분해 능력을 측정하였다. 낙동강 하구에서 분리된 세균중 유류 분해능이 높은 균주로 선택된 ND 601P-2는 25°C, 2‰ NaCl, 167 mg-NH $_4^+$ /l, 950 mg-PO $_4^{3-}$ /l, 50 mg-hexadecane/l의 조건에서 주어진 hexadecane의 42%를 세포내 물질 또는 CO_2 로 전환하였다. 분리 균주 ND 601P-2의 유류 분해능은 온도의 영향을 많이 받았으며 Q_{10} 값은 2.2로 측정되었다. 균주 ND 601P-2의 최적 염분도는 2‰로, 염분도의 증가시 높은 염분도에 대한 적응 기간이 나타났으며 % respiration이 증가하였다.

사 사

본 연구는 1987년도 과학기술처 특정 연구사업비에 의하여 수행되었음.

REFERENCES

1. Ahn, T.Y. 1988. Seasonal variation and salinity effect of microbial heterotrophic ac-

- tivity in the Naktong River Estuary. Ph.D. thesis, Seoul National University., Seoul.
2. Anderson, A. and W. Bissel, 1977. International cooperation for the prevention of Marine Oil Pollution. University of Miami Sea Grant Technical Bulletin no. 33, Coral Gables, Fla.
 3. Annon, 1975. Petroleum in the marine Environment. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
 4. Arhelger, S.D., B.R. Robertson, and D.K. Button. 1977. Arctic hydrocarbon biodegradation. In Fate and effect of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms. (ed. by Wolfe, D.) 270-275. Pergamon Press, Inc., Elmsford, N.Y.
 5. Atlas, R.M. 1975. Effect of temperature and crude oil composition on petroleum biodegradation. *Appl. Microbiol.* **30**: 396-493.
 6. Atlas, R.M. 1981. Microbial degradations of petroleum hydrocarbons: an environmental perspectives. *Microbiol. Rev.* **45**, 180-209.
 7. Atlas, R.M. and R. Bartha. 1973. Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophilic fertilizers. *Environ. Sci. Technol.* **7**, 538-541.
 8. Caparello, D.M. and P.A. LaRock, 1975. A radioisotope assay for the quantification of hydrocarbon biodegradation potential in natural samples. *Microb. Ecol.*, **2**, 28-42.
 9. Cooney, J.J., S.A. Silver, and E.A. Beck, 1985. Factors influencing hydrocarbon degradation in three freshwater lakes. *Microb. Ecol.* **11**, 127-137.
 10. Floodgate, G.D. 1972. Microbial degradation of oil. *Mar. Pollut. Bull.* **3**, 41-43.
 11. Gibbs, C.F. and S.J. Davis, 1976. The rate of microbial degradation of oil in a beach gravel column. *Microb. Ecol.* **3**, 55-64.
 12. Gibbs, C.F., K.B. Pugh, and A.R. Andrews, 1975. Quantitative studies in marine biodegradation of oil. II. Effects of temperature. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **188**, 83-94.
 13. Griffiths, R.P., B.A. Caldwell, and R. Y. Marita, 1984. Observations on microbial percent respiration values in arctic and subarctic marine waters and sediments. *Microb. Ecol.* **10**, 151-164.
 14. Griffiths, R.P. and R.Y. Morita, 1973. Salinity effects on glucose uptake and catabolism in the obligately psychrophilic marine bacterium *Vibrio marinus*. *Mar. Biol.* **23**, 177-182.
 15. Gunkel, W. 1968. Bacteriological investigations of oil polluted sediments from the Cornish coast following the Torrey Canyon disaster. In Field studies council symposium. The biological effects of oil pollution on littoral communities. (ed. by Carthy & Arthur) 115-158. Field studies Council, London.
 16. Gunkel, W. and H.H. Trekel, 1967. Zur Methodik der quantitative Erfassung ölabbauender Bakterien in verölten Sedimenten und Böden, Öl-Wassergemischen, Ölen und teerartigen Substanzen. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* **16**, 336-348.
 17. Iandolo, J.J. and Z.J. Ordal, 1966. Repair of thermal injury of *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* **91**, 134-142.
 18. Klug, M.J. and A.J. Markovetz, 1967. Thermophilic bacteria isolated on n-tetradecane. *Nature* **215**, 1082-1083.
 19. 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.
 20. Oh, Y.S. and S.J. Kim, 1987. Numerical taxonomy of petroleum-degrading bacteria isolated from Naktong River Estuary. *J. Kor. Wat. Pollut. Res. Contr.* **3**, 30-39.
 21. Pfaender, F.K. and G.W. Bartholomew, 1982. Measurement of aquatic biodegradation rates by determining heterotrophic uptake of radiolabelled pollutants, *Appl. Environ. Microbiol.* **44**, 159-164.
 22. Tison, D.L. and D.H. Pope, 1980. Effect of temperature on mineralization by heterotrophic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 584-587.
 23. Walker, J.D. and R.R. Colwell, 1976. Measuring the potential activity of hydrocar-

- bon-degrading bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**, 189-197.
24. Ward, D.M. and T.D. Brock, 1976. Environmental factors influencing the rate of hydrocarbon oxidation in temperature lakes. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**, 764-772.
 25. Ward, D.M. and T.D. Brock, 1978. Hydrocarbon biodegradation in hypersaline environments. *Appl. Environ. Microbiol.* **35**, 353-339.
 26. ZoBell, C.E. 1946. Action of microorganisms on hydrocarbons. *Bac. Teriol. Rev.* **10**, 1-49.
 27. ZoBell, C.E. 1964. The occurrence, effects and fate of oil polluting the sea. *Adv. Water Pollut. Res.* **3**, 85-118.
 28. ZoBell, C.E. 1969. Microbial modification of crude oil in the sea. *In* Processings of Joint Conference on Prevention and control of Oil Spills. 317-326. American Petroleum Institute, Washington.
 29. ZoBell, C.E. 1973. Bacterial degradation of mineral oils at low temperatures. *In* The microbial degradation of oil pollutants (ed. by Ahearn, D.G. and S.P. Meyers) 153-161. Publication no. LSU-SG-73-01, Center for Wetland Resources, Louisiana State University, Baton Rouge.
- (Received Sep. 30, 1988)