

경기만에서 석유분해세균의 분포 및 석유분해능

이정래 · 황열순 · 이기승 · 이건형* · 김상종

서울대학교 자연과학대학 미생물학과
군산대학 생물학과*

서해 경기만의 6개 정점을 대상으로 1990년 3월부터 1991년 10월까지 총 8회에 걸쳐 석유 분해세균의 공간적, 시간적 분포를 조사하였다. 또한, 서로 다른 배양 조건하에서 해양 세균 군집의 석유 분해능도 연구하였다. 연구 기간중, 종속영양세균수와 석유분해세균수는 각각 7,000-108,000 CFU/ml, 0-2,800 MPN/100 ml로 측정되었다. 석유분해세균의 공간적 분포는 석유 탄화수소의 존재에 의하여 심하게 영향을 받는 것으로 나타났다. 실험실내 실험에서, 석유 분해는 배양액에 yeast extract, cell free extract의 첨가 그리고 석유분해세균의 접종에 의하여 증진되었다.

KEY WORDS □ Petroleum-degrading bacteria, Kyeonggi Bay, Distribution, Degradability, Mixed culture

지구 표면의 약 71%를 차지하는 해양은 지구의 기후를 조절하고 있을 뿐만 아니라, 해저에 저장된 수많은 광물자원의 보고이며, 조석 등 무한한 에너지의 원천이다. 해양의 생물량은 4×10^9 톤 정도이며 매년 55×10^9 톤(dry weight) 정도의 일차생산이 일어난다는 것으로 앞으로 인류에게 생활터전과 귀중한 자원을 제공할 수 있는 유일한 곳이라 할 수 있다(8).

해양오염은 1950년대 후반기에 내해에 먼저 그 징조가 나타나 점차로 연안해역으로 확대되었으며, 1960년대 이후에는 외해에서도 오염이 가속화되고 있다. 이러한 해양오염의 주된 원인은 유류오염, 유기물오염, 중금속오염, 기타 난분해성 물질 및 방사성 물질에 의한 오염 등을 들 수 있다. 이들 중 특히 양적인 면에서 해양오염의 주류를 이루면서 최근들어 가장 큰 문제가 되고 있는 것이 유류오염이다.

해양에서의 유류오염은 피해가 심각하여, 연안에서의 유출유나 유폐수에 의한 유류오염은 어장 및 양식장에 대규모의 피해를 줄 뿐만 아니라 생태계를 파괴하고 환경의 쾌적성을 저하시킨다. 이에 대해 해양으로의 유류 유입량을 최대한 감소시키고 해양 사고나 고의적인 폐기를 억제하고자 하는 노력이 전 세계적으로 이루어지고 있으나, 유류에 의한 해양 환경 오염은 날로 심각해지고 있다. 전 세계적으로, 원유의 생산은 1900년의 2천만톤에서 1974년의 28억6천만톤으로 수십배 증가했고, 최근에는 매년 30억톤 이상이 생산되고 있다. 이중 해양에 유입되는 유류의 양은 전 세계적으로 연간 약 320만톤으로 추정된다(14).

자연계에 유출된 유류의 궁극적인 분해와 제거는, 결국 자연 생태계에서 유기물 분해자로서의 역할을

담당하는 종속영양세균 등의 미생물을 통해 이루어진다. 이러한 유류오염 문제를 미생물학적 측면에서 해결하려는 노력은 1946년 ZoBell이 석유탄화수소를 분해하는 미생물이 자연계에 널리 분포하며 또 그 종류가 다양함을 밝힌 이후로 본격화되었다(7, 12).

서해 경기만은 수심이 얇고 조수간만의 차가 크며 주변의 육상 생태계로부터 다양한 유기물에 의해 심하게 오염이 된 곳이다. 특히, 연안에 위치한 공업단지와의 인접함을 왕래하는 선박에 의한 유류오염으로 1989년 경기만에서 탄화수소의 농도는 평균 $0.79 \mu\text{g/l}$ 로 조사되었고, 이는 경기만 생태계에서 다양한 종류의 유류분해세균의 분포에 영향을 미치는 요인으로 작용하고 있다(5).

본 연구에서는 1990년 3월부터 1991년 10월까지 8회에 걸쳐 서해 경기만 일대 생태계에서의 석유분해세균과 종속영양세균의 분포를 조사하였다. 또한 실험실 내에서 연구기간 동안 경기만에서 채집한 시료를 가지고서 배양조건의 변화가 해양세균군집의 유류분해능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다양한 배양 조건하에서의 분해능을 측정하였다.

재료 및 방법

연구대상 지역

본 연구의 조사 대상 지역인 서해 경기만은 수심이 얇고 수온의 연교차가 25°C 정도로 크며 평균 5.7 m의 큰 조수 간만의 차이를 갖는 특이한 해양 환경을 이루고 있다. 또한 9개의 주요 하천으로부터 담수가 유입되고 있으며 연중 수많은 선박들의 왕래, 그리고 인접한 인천 공업단지에서 흘러 나오는 다양한 유기

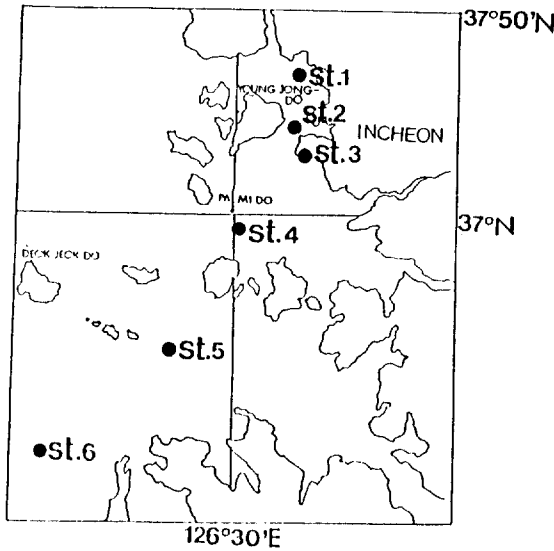


Fig. 1. Map of sampling sites in Kyeonggi Bay.

물에 의해 상시적으로 오염이 되어 있는 지역이다. 조사정점으로 선정된 6개 정점은 위에서 언급된 환경요인들을 고려하여 결정하였다(Fig. 1). 정점 1은 한강하류와 인접한 곳으로 담수에 의한 영향을 알아보기 위하여 선정하였고, 정점 2는 영종도와 인천공업단지 사이에, 정점 3은 인천항내에, 정점 4는 내해와 외해의 중간에 위치한 팔미도 부근에, 그리고 정점 5와 6은 육지로부터의 영향이 비교적 적은 덕적도 부근에 선정하였다.

조사 일정 및 채수 방법

채수는 1990년 3월, 5월, 7월, 10월, 1991년 4월, 5월, 8월, 그리고 10월 에 각각 1회씩 총 8회에 걸쳐 실시하였다. Bach sampler로 표층수는 수면에서 1 m 깊이에서 채수하였으며 저층수는 저토로부터 2-3 m 위의 물을 채수하였다. 정점 3에서는 표층수만을 채수하였다. 채수된 시료는 멸균된 1.8 l polypropylene bottle에 담아 4°C의 저온 상태로 운반하여 분석하였다.

콜로니 생성균수(Heterotrophic bacteria)

배지는 ZoBell's 2216E 한천배지(17)를 사용하여, pour-plate method로 20°C에서 2주간 배양한 후 생성된 콜로니를 계수하였다. 이때 6개월 이상 저장된 숙성해수(Aged seawater)와 증류수를 3:1의 비율로 섞어서 사용하였다.

석유분해 세균수(Petroleum-degrading bacteria)

석유분해 세균의 계수는 MPN(Most probable number) method를 사용하였다. 실험방법 및 배지의 조성은 Gunkel과 Trekel (13)의 방법에 준하였다.

사용한 배양 용기는 20 ml 용량의 투명 유리병으로 접종 시료의 양을 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 ml로 하여 5가지 농도별로 접종하였으며, 각 농도당 3개의 실험

병을 사용하였다. 10 ml/ 접종용 배지는 10배의 농도로 농축하여 1 ml/씩을, 그리고 1 ml/ 이하의 접종용 배지는 본래의 농도대로 10 ml/씩을 배양용기에 넣은 후 oil 0.1 ml/을 첨가하여 121°C에서 15분간 습식멸균하여 사용하였다. oil은 Kuwait crude oil을 사용하였다.

시료가 접종된 실험병은 교반 배양기를 사용하여 120 rpm, 실온에서 1개월간 배양하였다. 배양후 혼탁도를 측정되지 않은 실험병과 비교하였다. 혼탁도의 증가 및 oil층의 제거를 양성반응으로 간주하여 Thomas' simple equation을 이용한 MPN표(6)를 기준으로 유류분해 세균수를 산출하였다.

Yeast extract 첨가에 의한 해양세균군집의 유류 분해능

유류이외에 쉽게 이용될 수 있는 탄소와 에너지원의 존재가 세균군집의 유류 분해능에 미치는 영향을 조사하기 위하여 0.1% yeast extract를 광양만에서 분리한 석유분해세균인 KW10을 자연해수에 접종한 배양 플라스크와 자연해수만을 담은 배양 플라스크에 첨가하여 분해능을 respirometric method에 의하여 비교 측정하였다(9). 이때, 자연해수는 정점 3에서 채수한 시료를 사용하였으며, 석유분해세균은 실험 전에 0.1 %의 yeast extract와 0.05%의 n-hexadecane을 함유한 MPN 액체배지에서 사전배양한 후 약 10⁶ cells/ml의 농도로 접종하였다. 아래의 두 실험에서도 같은 시료와 같은 접종농도를 사용하였다. Cell free extract 첨가에 의한 해양세균군집의 유류 분해능

석유분해세균의 계수를 위하여 사용했던 Oil MPN 배양액중 분해능이 높았던 시료에서 1 ml/을 무균채취하여 이를 다시 석유분해 세균용 MPN 배지에 접종하여 2주일간 배양하였다. 이 배양액을 원심분리(4500 rpm, 15 min)한 후 상등액을 membrane filter로 여과하여 cell free extract를 만든 뒤 1 ml/을 석유분해세균(KW10)을 자연해수에 접종(10⁶ cells/ml)한 배양 플라스크와 자연해수만을 담은 배양플라스크에 첨가하여 분해능을 respirometric method에 의하여 비교측정 하였다.

복합균주 접종에 의한 석유분해능

단일균주와 복합균주에 의한 석유분해능의 차이를 알아보기 위하여 자연해수와 자연해수에 경기만에서 분리한 석유분해세균인 IC8-10, IC8-11 그리고 IC8-12을 접종(10⁶ cells/ml)한 경우 그리고 KW10(10⁶ cells/ml)만을 접종한 경우를 Gas Chromatography를 사용하여 비교하였다.

Respirometric method에 의한 분해능 측정

유류분해능을 측정하기 위하여 유일한 탄소와 에너지원으로 n-[1-¹⁴C]-hexadecane을 공급하여 미생물이 이를 분해하였을때 발생하는 CO₂의 생성정도와 세포내에 동화된 hexadecane의 양으로 분해능을 측정하였다(9).

배양 플라스크에 20 ml/의 배양액(Natural sea

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	$\%CO_2 = \frac{C_c - C_e}{D} \times 100$
%assimilation	$\%assimilation = \frac{U_c - U_e}{D} \times 100$
%metabolized	%metabolized = %CO ₂ + %assimilation

C_e: dpm of ¹⁴CO₂ evolved in experimental filter
 C_c: dpm of ¹⁴CO₂ evolved in control filter
 U_e: dpm of ¹⁴C in experimental membrane for assimilation
 U_c: dpm of ¹⁴C in control membrane for assimilation
 D: dpm of ¹⁴C added in the form of ¹⁴C-hexadecane

water 20 ml, n-[1-¹⁴C]-hexadecane 0.09%(v/v)을 넣어 25°C, 120 rpm에서 48시간 배양하여 방출된 ¹⁴CO₂ 및 동화된 ¹⁴C-hexadecane의 양을 측정하였다. 이때 여과지가 들어 있는 vial을 플라스크의 배양액 위의 공간에 위치시켰으며, 각 플라스크는 발생된 ¹⁴CO₂가 새어나가지 않도록 잘 밀폐하여 배양을 하였다. 배양이 끝난 후에는, CO₂ 흡착제로서 monothanolamine 200 μl를 CO₂ 포집용 vial에 첨가한 후, 교반 배양기(120 rpm)로 6시간 동안 진탕하여 플라스크내의 CO₂를 포집하였다. 이때 배양액에는 2N-HNO₃를 2 ml/넣어 pH를 2이하로 낮추어 증으로서 배양액내의 세균을 고정하고 또 CO₂가 충분히 방출될 수 있도록 하였다. 그후 vial을 꺼내어 10 ml/의 scintillation cocktail(PPO 10g, POPOP 0.25g, naphthalene 100g, dioxane 1 l)을 넣은 후 방사능을 측정하여 방출된 CO₂의 값을 계산하였으며, nitrocellulose membrane filter(0.45 μm porosity, 25 mm diameter)로 배양액을 여과한 후 이것의 방사능을 측정하여 세포내로 동화된 hexadecane의 양을 계산하였다(Table. 1). 방사능은 Packard TriCarb Liquid Scintillation Analyzer를 사용하여 측정하였다.

Gas Chromatography에 의한 분해능 측정

분석에 사용된 Gas Chromatography는 Hewlett Packard 5890A 모델이었고, detector는 TCD를 사용하였다. carrier gas는 He를 사용하였고, flow rate는 30 ml/min으로 하였다.

300 ml 용량의 Erlenmeyer 플라스크에 담긴 100 ml의 배양액(Sea water sample 100 ml, Kuwait crude oil 1 ml, 10% Oleophilic fertilizer)을 2주일간

×10⁴ CFU/ml

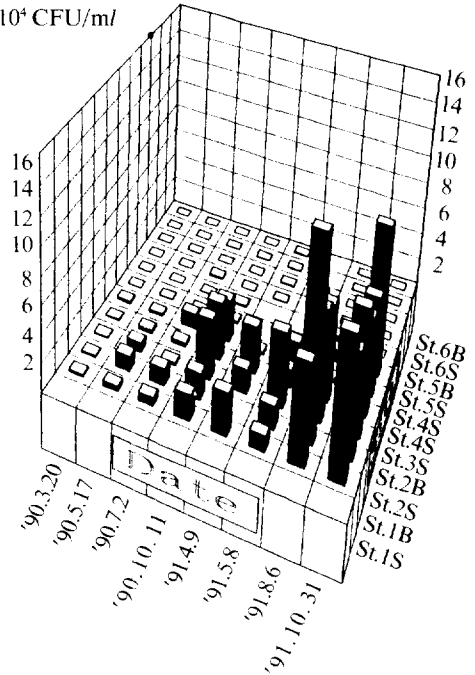


Fig. 2. Regional and seasonal variation of heterotrophic bacteria in Kyeonggi Bay.

배양하여 conc.HCl을 2 ml/첨가한 후, oil잔류분을 추출하였다. 배양액을 분액깔대기에 옮긴 후, 추출용매로 hexane(Fisher, HPLC grade)을 25 ml/첨가, 추출하기를 두번 반복하였다. hexane 10 ml/로 분액깔대기를 세척한 후, 추출액을 Na₂SO₄에 통과시켜 수분을 제거하였다. hexane 10 ml/로 Na₂SO₄를 세척, 헹간 후 Rotatory evaporator에서 Hexane을 제거하였으며, 다시 Hexane 0.3 ml/을 첨가하여, 이중 1 μl를 microsyringe로 취하여 Gas Chromatography로 분석하였다.

Gas Chromatography용 column은 내경 530 μm, 30 m, glass capillary column (crosslinked silicone, film thickness 2.65 μm)을 사용하였다. 온도는 injector 310°C, detector 320°C, initial은 80°C 그리고 final은 300°C로 하였으며, initial time은 1 min, rate는 5°C/min으로 설정하였다.

결과 및 고찰

콜로니 생성균수 및 석유분해 세균수

콜로니 생성균수는 내해에서 높고 외해에서는 낮게 나타났다(Fig.2). 계절별로 보았을 때는 여름인 7월과 8월에 높게 나타났다. 1991년 10월의 4번 정점의 표층에서 108,400 CFU/ml로 최고값을 보여주고 있으

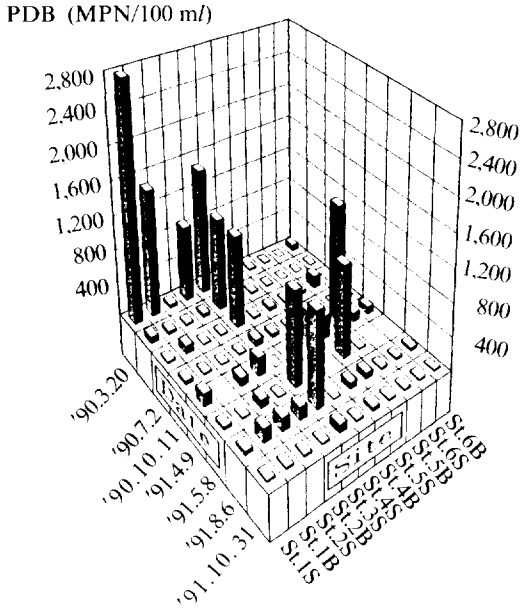


Fig. 3. Reagonal and seasonal variation of petroleum degrading bacteria in Kyeonggi Bay.

Table 2. Analysis of hexadecane degrading activity of sea water and inoculated sea water with 10⁶ cells/ml supplemented with yeast extract(*) and cell free extract(#) . All samples were incubated at 25°C for 48 hours.

Sample	%CO ₂	%assimilation	%metabolism
S.W.	0.06	0.33	0.39
S.W.*	0.02	1.75	1.77
S.W.#	0.49	2.36	2.85
S.W.+ Cells	0.04	0.73	0.77
S.W.*+ Cells	0.48	9.09	9.57
S.W.#+ Cells	1.04	3.72	4.76

며, 최소치는 1990년 5월에 7 CFU/ml로 나타났다. 석유분해세균의 수는 MPN방법을 이용하여 측정하였다(Fig. 3). 전반적으로 수온이 낮은 10월에는 석유분해세균의 수가 감소된 양상을 보이고 있다. 1990년 3월에 내해에서 수가 증가된 것은 이곳에서 유류의 유출이 있었을 가능성을 보여주는 것이며, 1990년 10월에 내해와 외해에서 석유분해세균 수가 증가된 것은 1990년 7월에 있었던 코리아호프호의 석유유출 사고에 의한 영향으로 사료된다. 또한 한 가지 특징적인 점은 정점 3에서 대부분의 조사기간 중 높은 석유분해세균수를 유지하고 있다는 것인데, 이 정점은 선박의 왕래가 빈번한 인천의 해경부두지점으로 만성적인 유류오염의 영향을 받고 있는 곳이기 때문이다.

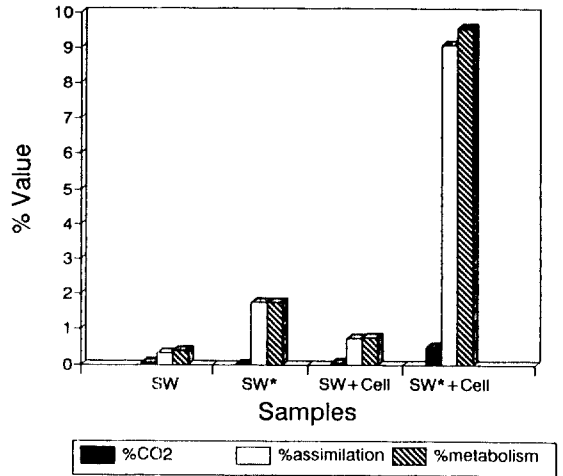


Fig. 4. Analysis of hexadecane degrading activity of sea water and the inoculated sea water with 10⁶ cells/ml supplemented with yeast extract. (SW stands for sea water, * for the addition of yeast extract and Cell for the addition of KW10 inoculum.)

석유분해세균의 시간적 분포는 수온의 영향을 많이 받는 것으로 밝혀졌으며, 실제적으로도 높은 온도에서 석유분해세균들의 활성이 높음을 보여주는 결과가 이미 보고되었다(4). 석유분해세균의 공간적 분포는 오염물질, 특히 유류 오염물질의 존재에 의하여 좌우됨을 알 수 있었다. 더우기 Spearman rank correlation을 이용하여 콜로니 생성균수와 석유분해 세균수의 상호 관련성을 알아본 결과, 99%의 유사도 수준에서 양의 상관관계가 있음을 보여주었다. 결과에서도 알 수 있듯이 석유유출 사고나 유류오염물질의 유입이 발생한 곳에서 높은 석유분해세균수를 보여주는 것으로 보아, 석유분해세균의 측정값으로 그 지역의 유류오염 정도를 가늠하는 것이 가능함을 알 수 있다.

Yeast extract 첨가가 분해능에 미치는 영향

정점 3에서 채수된 해수에 석유분해세균(KW10)을 접종한 것과 접종하지 않은 것. 그리고 이들 각각에 yeast extract를 첨가한 조건 사이의 분해능을 비교하였다. 분해능은 호흡의 결과로 발생된 ¹⁴C₂O₂의 양과 세포내에 흡수되어 있는 ¹⁴C-hexadecane의 양을 기준으로 하여 비교하였다(Table.2).

결과에서 보여주듯이, yeast extract를 첨가하였을때 hexadecane 분해능이 크게 향상되었음을 알 수 있다 (Fig. 4). 해수와 세균을 접종한 각각의 조건에 yeast extract를 첨가하여 48시간 동안 배양한 결과를 보면, 두 조건 모두 % assimilation 값이 증가된 결과를 보여주고 있으며, % metabolism 값은 각각 4.5배, 12.4 배 증가하였다. 이러한 결과로 볼때, 쉽게 이용될 수 있는 탄소와 에너지원이며 다양한 복합 영양소를 포

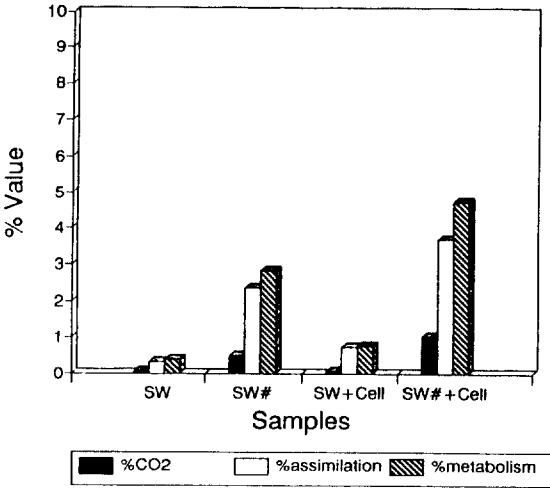


Fig. 5. Analysis of hexadecane degrading activity of sea water and the inoculated sea water with 10^6 cells/ml supplemented with cell free extract. (SW stands for sea water, # for the addition of cell free extract and Cell for the addition of KW10 inoculum.)

합하고 있는 yeast extract가 석유분해세균의 생리적 활성을 높여 석유분해를 촉진시킴을 알 수 있다.

Cell free extract 첨가가 분해능에 미치는 영향

위의 실험과 마찬가지로 정점 3의 자연해수를 배지로 사용하여 세균(KW10)을 접종한 것과 접종하지 않은 것, 그리고 이들 각각에 cell free extract를 첨가한 조건 사이의 분해능을 비교하였다(Table 2).

Yeast extract를 첨가한 경우와 마찬가지로, cell free extract를 첨가하였을 때에도 hexadecane 분해능이 크게 향상되었다(Fig. 5). 자연해수와 세균을 접종한 조건에 cell free extract를 첨가하였을 때, % metabolism 값은 각각 7.3배, 6.2배 증가하였다. 이는 첨가한 cell free extract가 yeast extract가 첨가된 배양액으로부터 얻어진 것이기 때문에 yeast extract를 첨가한 효과를 볼 수 있었고, 또한 세포의 사멸에 의한 DNA, 단백질 그리고 각종 영양소들이 공급되었기 때문으로 보인다. 그러나 무엇보다도 hexadecane 분해능 증가에 기여한 요인은 cell free extract에 들어 있으리라고 생각되는 bioemulsifier에 의한 영향인 것 같다. 석유분해세균의 대다수가 계면활성제를 생산하여 세포 내로 석유탄화수소의 수송을 촉진한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다(15).

복합균주의 접종이 분해능에 미치는 영향

이 실험에서는 우수한 석유분해세균인 KW10과 이 세균이 포함되지 않는 우수한 석유분해능을 보였던 복합균주(IC8-10, IC8-11, IC8-12)사이의 석유분해능을 Gas Chromatography를 통해 비교하였다(Fig. 6).

본 실험에서는 질소와 인의 공급원으로서 Oleo-

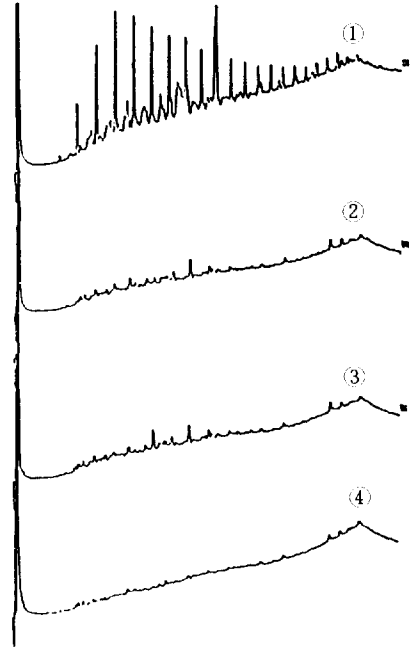


Fig. 6. Gas chromatograms of crude oil biodegradation.

- ① Control(Kuwait crude oil)
- ② Natural sea water
- ③ Natural sea water inoculated with KW10
- ④ Natural sea water inoculated with mixed culture

philic fertilizer를 사용하였고, 탄소원으로는 Kuwait crude oil을 사용하였다. 이 실험에서 사용한 배지는 인천 연안 부두내에 위치한 정점 3에서 채수한 시료를 사용하였다. Control로는 멸균된 해수에 Kuwait crude oil을 첨가하여 같은 기간동안 배양하였다. Gas Chromatogram을 통하여 분해 결과를 살펴보면 자연해수와 단일균주를 접종한 경우 그리고 복합균주를 접종한 경우에서 모두 상당한 분해가 일어났음을 알 수 있다. 그러나, 자연해수와 단일균주를 접종한 경우는 분해정도가 비슷하여 Gas Chromatogram상에서 차이가 거의 나지 않았다. 이는 시료로 사용한 자연해수가 유류에 의해 만성적으로 오염되어 있는 인천 연안 부두에서 채수된 것이기 때문에, 자연 해수 자체에 많은 수의 석유분해세균이 이미 존재하여 해수 자체의 분해능이 높는데 기인하는 것 같다. 복합균주를 접종한 경우를 위의 두 경우와 비교해보면 근소한 차이가 있음을 알 수 있다. Gas Chromatogram상의 % area를 기준으로 석유 분해능을 비교해보면 복합균주를 사용한 경우가 단일균주를 사용한 경우보다 1.6배의 향상된 분해능을 보였다.

석유분해에 있어서 복합균주의 중요성은 이미 많은 연구원들에 의하여 강조되어 석유를 분해하는 실험에 복합균주를 사용하였다. 미국 EPA(Environmental

Protection Agency)의 실험 결과에서도 단일균주보다는 여러가지 탄화수소를 이용할 수 있는 복합균주가 석유 분해능에 있어서 월등하다고 보고되고있다(11).

사 사

본 연구는 1991년도 문교부 대학부설 기초과학연구소 학술연구비 조성 지원 연구로 수행되었음.

참 고 문 헌

1. 김상중, 1986. 석유 탄화수소를 분해하는 미생물에 관한 생태학적 연구. 한국 과학 재단.
2. 김상중, 장광엽, 이건형, 이 윤, 1985. 한국연안해역의 석유분해세균분포에 관한 연구. 환경생물학회지. 3(1), 21-28.
3. 송문섭, 이영조, 조신섭, 김병천, 1989. SAS를 이용한 통계자료분석. 자유 아카데미. 서울.
4. 오영숙, 이지영, 김창완, 김상중, 1990. 한국 수중생태계에서의 미생물에 의한 유류분해. 환경 연보. 서울대학교 환경 안정 연구소. 3, 1-16.
5. 해양경찰대, 1989. Experimental & research report: A study on oil spill and seawater quality in the coastal area of Korea. 해양경찰 대.
6. APHA-AWWA-WPCE. 1989. Standard method for the examination of water and wastewater. 17th ed. AWWA. American public health association. Washington. pp 689-726.
7. Atlas, R.M. and R. Bartha, 1973. Effect of some commercial oil herders, dispersants and bacterial inocular on biodegradation of oil in seawater. pp 283-289. In D.G. Ahcarn and S.P. Meyer(cd), The microbial degradation of oil pollutants. Louisiana State University Publ. no.LSU-SG-73-01. Baton Rouge, La.
8. Barnes, R.S.K. and R.N. Hughes, 1982. An Introduction to Marine Ecology. Blackwell Scientific Publications. London.
9. Caparelo D.M. and LaRock P.A., 1975. A ra-

- dioisotope assay for the quantification of hydrocarbon biodegradation potential in environmental samples. *Microb. Ecol.* 2, 28-42.
10. Cooper, T.G., 1977. The tools of biochemistry. pp 65-135.
11. EPA. Environmental Protection Agency, 1972. Water Quality Criteria. EPA-R3-73-033. Washington, D.G. 594 pp.
12. Floodgate, G.D., 1972. Microbial degradation of oil. *Mar. Pollut. Bull.* 3, 41-43.
13. Gunkel, W. and H. H. Trekel, 1967. Zur Methodik der quantitative Erfassung labbauender Bakterien in ver lten Sedimenten und B den. l-Wassergemischen. ten und teerartigen Substanzen. *Helgol nder wiss. Meeresunters.* 16, 336-348.
14. International Maritime Organization, 1986. Identification of the sources of discharged oil. MEPC 23/ INF 11.
15. Kosaric, N. and Cairns, W.L., 1987. Production of biosurfactants. In Biosurfactant and Biotechnology. pp. 89-120.
16. Kasthuri, V., I. Tokuro, M. Yasuko, T. Haruhisa, H. Eisuke, T. Hiroki. 1991. distribution and biodegradation potential of oil- degrading bacteria in Nortern Japanese coastal waters. *FEMS Microbiology Ecology.* 86, 113-122.
17. Oppenheimer, C.H. and C.E. Zobell, 1952. The growth and viability of sixty three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure. *J. Mar. Res.* 11, 10-18.
18. Walker, J.D. and R.R. Colwell, 1974. Effect of environmental parameters on bacterial degradation of Bunker C oil, crude oils, and hydrocarbons. *Appl. Environ. Microbiol.* 28, 915-922.
19. Walker, J.D. and R.R. Coiwell, 1976. Measuring the potential activity of hydrocarbon-degrading bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 189-197.
20. Zobell, C.E., 1964. *Adv. Wat. Pollut. Res.* 1, 85.

(Received April 7, 1992)

(Accepted April 20, 1992)

ABSTRACT: Distribution and Activity of Petroleum-degrading Bacteria in Kyeonggi Bay, Korea

Lee, Jeong Rae, Yeal-Soon Hwang, Ki-Seung Lee, Geon-Hyoung Lee* and Sang-Jong Kim (Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea, *Department of Biology, College of Natural Sciences, Kunsan National University, Kunsan, 573-360, Korea)

The spatial and temporal distribution of petroleum-degrading bacteria(PDB) was studied at six sampling sites in Kyeonggi Bay of the Yellow Sea from March 1990 to October 1991. In addition, petroleum-degrading potential of natural marine bacterial population was studied at different culture conditions. During the period of study, the heterotrophic bacterial number and PDB number were measured in the range of 7,000-108,400 CFU/ml. 0-2,800 MPN/100 ml, respectively. The spatial distribution of PDB was highly affected by presence of petroleum hydrocarbon. In laboratory experiment, petroleum biodegradation was enhanced by addition of yeast extract, cell free extract, and mixed culture of PDB.