

## Viability test hydrocarbon-degrading bacterium by carriers according to temperature conditions

박진희, 김영식, 여인봉, 박기영

삼성에버랜드주식회사 환경개발사업부 환경R&D센터

### 요약문

미생물 생산은 다양한 산업에 이용되는 핵심산업이다. 그러나 미생물을 장기간 보존하거나 생산 후 현장처리에 상황에 있어 미생물의 활성이 환경 및 각종조건에 따라 장기간 유지되지 못하는 경향이 있다. 따라서, 본 실험에서는 *Pseudomonas putida* SSEoX의 생산 후 시중에서 판매되는 perlite, diatomite, bentonite, zeolite, dolomite, vermiculite 등의 담체를 이용하여 미생물의 생리활성유지를 위한 실험을 자연현상에서 나타날 수 있는 다양한 온도에서 담체의 종류별로 수행하였다. 그 결과 bentonite를 이용한 담체의 경우 5, 20, 30°C에서 40일간 미생물의 밀도가 거의 감소하지 않은 결과로 나타났고 zeolite의 경우 20일 이내의 저온에서 생존율이 높은 것으로 나타났으나 온도의 상승으로 생존율이 현저히 떨어졌다. 또한 Dolomite의 경우 초기 20일 내에서는 20°C에서 생존율이 매우 높았으나 40일 후 생존율이 현저히 감소하였다. 또한 bentonite의 경우 전체적으로 생존율이 거의 감소되지 않았으며 그중 5°C와 20°C에서 생존율이 가장 높았고 30°C에서 30일 후까지는 비교적 적은 감소를 보였으며 40일 이후 비교적 큰 감소율이 있었다. 따라서, 본 실험결과 비교적 낮은 온도에서 bentonite와 vermiculite를 혼합한 담체를 이용한 미생물보존이 가장 우수한 생존유지법이었다.

**Key word** : perlite, diatomite, bentonite, zeolite, dolomite, vermiculite

### 1. 서 론

토양오염정화사업에 미생물을 적용할 시 생산 후 생존유지에 비교적 많은 노력이 부과되며 생산미생물의 현장적용에서 다소 적응성 등에 대한 문제가 제기된다. 이에 따라 미생물 생산 후 미생물의 보존의 기간을 증대할 필요가 있고 또한 미생물의 토양 처리 시 즉 landfarming이나 biopile 등에도 토양 내 유류분해 미생물의 생존율을 높이는 항목도 필수적이라 할 수 있다. 이에 따라, 본 연구에서는 미생물의 생존력을 유지시키기 위하여 필요한 보조재료로 다양한 담체를 이용하여 실험을 수행할 필요성을 느끼게 되었다. 담체의 이용은 실제 현장에서 대량의 미생물이 필요할 시 소규모의 장치로 일정량의 미생물이 생산 후 비교적 장기간 생산 미생물의 보관이 필요하나 미생물은 생산 후 시간의 경과에 따라 생산 미생물의 밀도가 감소한다. 따라서, 미생물생산 후 미생물을 처리하기까지의 기간까지

효율적으로 활성이 있게 유지할 수 있도록 미생물의 보관방법을 개발할 필요가 있으며 사용 되는 담체에 따라 토양처리기간 중 미생물 생리활성유지 효율을 유지할 수 있게 하는 방법으로, 담체가 미생물생육에 미치는 영향을 조사하고 차후 보관 및 처리에 유리하도록 해야겠다.

## 2. 본 론

미생물 준비를 위해 특허 출원 (삼성에버랜드주식회사)된 xylene분해 균주 *Pseudomonas putida* SSEoX를 생육시켜 10<sup>-4</sup>~10<sup>-9</sup>의 밀도로 실험을 수행하였다. 담체 준비는 삼순화학에서 입수한 perlite와 diatomite, bentonite, zeolite, dolomite와 보조적으로 이용되는 vermiculite는 일반품으로 사용하였다. 각각의 담체 재료는 glass bottle에 살균된 diatomite, bentonite, zeolite, dolomite 및 보조적으로 이용되는 vermiculite를 혼합하여 처리하였다. 그 후, 음건으로 보관한 다음 5, 20, 30C에서 배양하여 0, 15일, 30일 45일 60일 간 보관 후 실험에 사용된 *Pseudomonas putida* SSEoX균주를 shaking으로 분리시켜 10x 비율로 희석하여 초기 생존밀도를 측정하고 15일, 30일, 45일 간격으로 밀도수를 측정하여 밀도를 측정하였다.

Table 1. Perlite의 물리성

Chemical contents	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	K <sub>2</sub> O	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	LOI	Humidity	etc.
(%)	81.0	9.0	1.5	1.5	1.8	2.8	5.0	10	
Chemical contents	OM	Ava.P <sub>2</sub> C <sub>5</sub>	K	Ca	Mg	etc.			
(%)	0.1	16	0.40	5.88	1.31				

고형배지경용 배지의 화학성(서울시립대, 1992)

Table 2. Diatomite의 물리성

Chemical contents	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	Na <sub>2</sub> O	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	LOI	Humidity	etc.
(%)	64.0	14.0	1.6	1.0	1.5	3.0,	5.8		

화학식	pH	경 도	밀 도	비 열	결정계/형태
SiO <sub>2</sub> nH <sub>2</sub> O (98%이상)	9~10.5	1.5(응집 상태)	2.5~2.6	0.23cal/g25℃	단사정계/층상구조
비 중	비표면적	내화도	색 상	외 관	C.E.C
1.90~2.35	12~40m <sup>2</sup> /g	SK38	백색, 담녹색, 담갈색	유백색, 플레이크상	80-120me/100g

<http://www.wangpyo.co.kr/>왕표화학

Table 3. Bentonite의 물리성

화학식	결정계/형태	경도	색상
$\text{Na}_{0.66}\text{Si}_8(\text{Al}_{3.34}\text{Mg}_{0.66})\text{O}_{20}(\text{OH})_4$	무정형박판상	1.5-2.0	백색, 회색, 황색, 녹색
C.E.C	pH	물리적 특성	밀도
80-100me/100g	9-11.0	수배 팽윤	2.3-3.0

Chemical contents	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	Na <sub>2</sub> O	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	LOI	Humidity	etc.
(%)	71.0	10.0	1.5	2.2	3.0	2.5	7.0	10.0	

<http://www.wangpyo.co.kr/왕표화학>

Table 4. Zeolite의 물리성

화학식	pH	경도	밀도	결정계/형태			
Chemical contents	SiO <sub>2</sub>	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	MgO	CaO	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	LOI	ETC.
(%)	1.0	0.1	22.0	30.0	0.1	48.0	
$(\text{Na, Ca})_2(\text{Al}_2\text{Si}_3\text{O}_{10})\cdot 8\text{H}_2\text{O}$	7-10	3.5-4.0	2.1-2.2	결정내에는 무수한 통로 및 pore를 보유			

<http://www.wangpyo.co.kr/왕표화학>

Table 5. Dolomite의 물리성

화학식	pH	밀도
$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$	9-10	2.8-2.9
굴절율	경도	색상
1.679-1.681	3.5-4.0	백색, 회색

pH(1:5)	EC (dS/m)	CEC (cmol/kg)	가비중	진비중	총공극율 (%)	3상 분포비율(%)		
			(g/cm <sup>3</sup> )			고상	액상	기상
7.6	0.03	71.6	0.13	2.28	94.04	4.96	46.23	45.81

<http://www.wangpyo.co.kr/왕표화학>

Table 6. Vermiculite의 물리성

pH(1:5)	EC (dS/m)	CEC (cmol/kg)	가비중	진비중	총공극율 (%)	3상 분포비율(%)		
			(g/cm <sup>3</sup> )			고상	액상	기상
7.6	0.03	71.6	0.13	2.28	94.04	4.96	46.23	45.81

### 3. 결과

Zeolite를 처리한 경우 20일 이내에서는 5℃의 저온에서 생존율이 높은 것으로 나타났고 온도가 고온으로 상승되고 일시가 경과함으로 전체적으로 생존율이 부분적으로 저

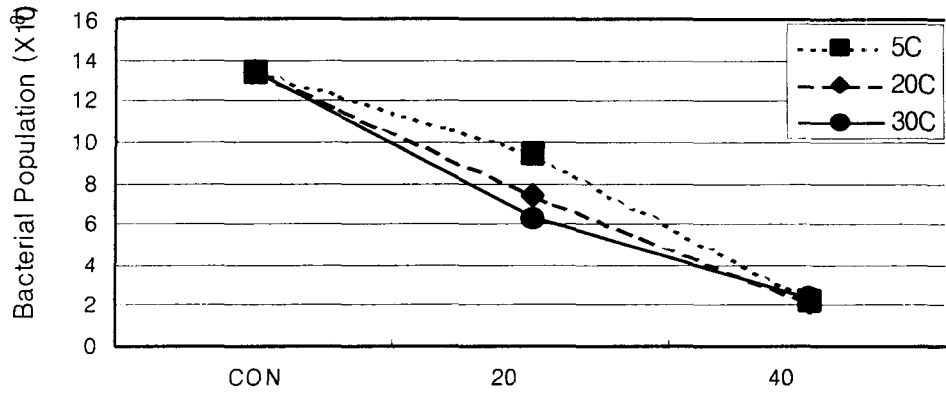


Fig.1. Survival effect of bacteria by zeolite. Bacterial population in each carrier was investigated at 20 days and 40days after inoculation.

하됨을 관찰  
할 수가 있

었다 (그림 1).

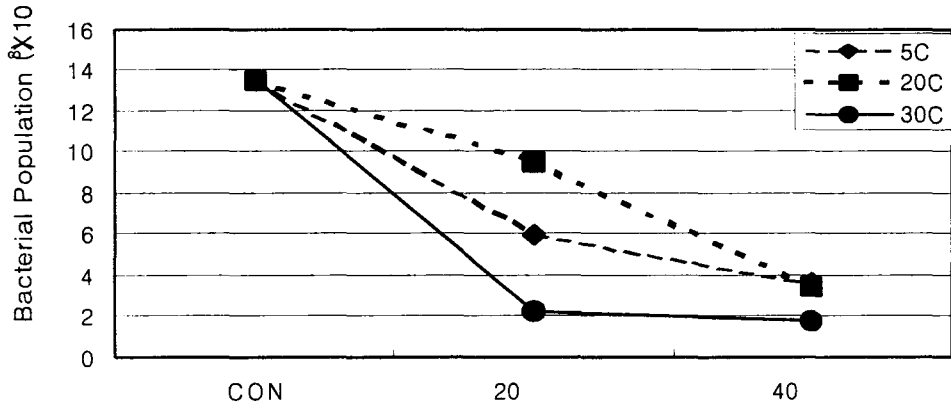


Fig. 2. Survival effect of bacteria by dolomite. Bacterial population in each carer was investigated at 20 days and 40days after inoculation.

Dolomite의 경우 초기 5, 20℃에서 20일 내에서는 생존율이 다소 높았으나 40일 후 생존율이 현저히 감소하였고 30℃에서는 20일 후 급격히 생존율이 감소함을 파악할 수 있었다 (그림 2).

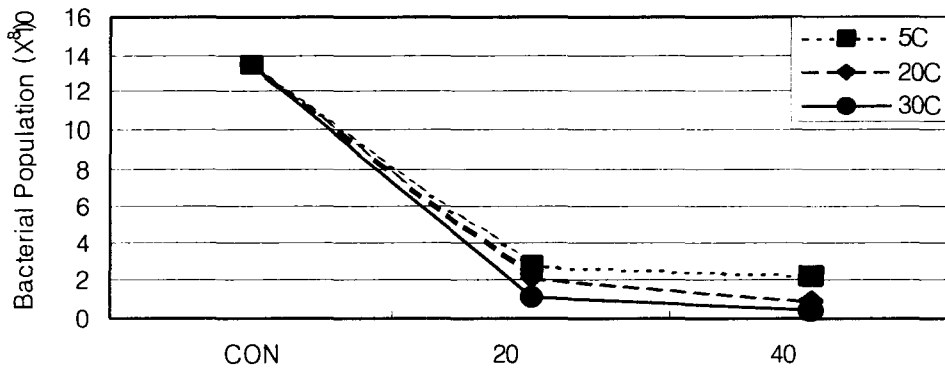


Fig.3. Survival effect of bacteria by perlite1. Bacterial population in each carer was investigated at 20 days and 40days after inoculation

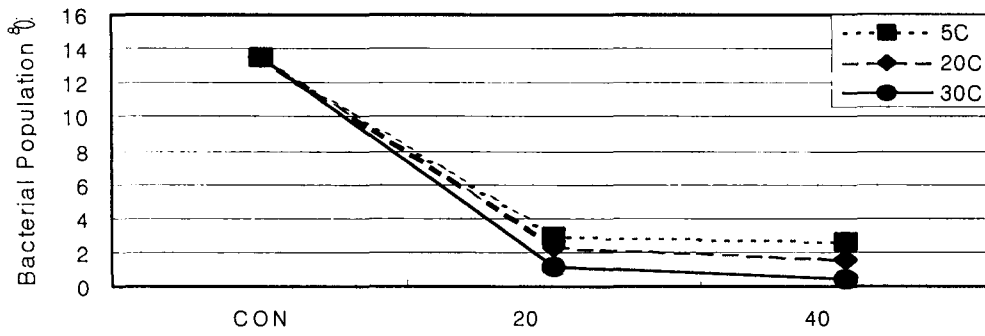


Fig. 4. Survival effect of bacteria by perlite4. Bacterial population in each carer was investigated at 20 days and 40days after inoculation.

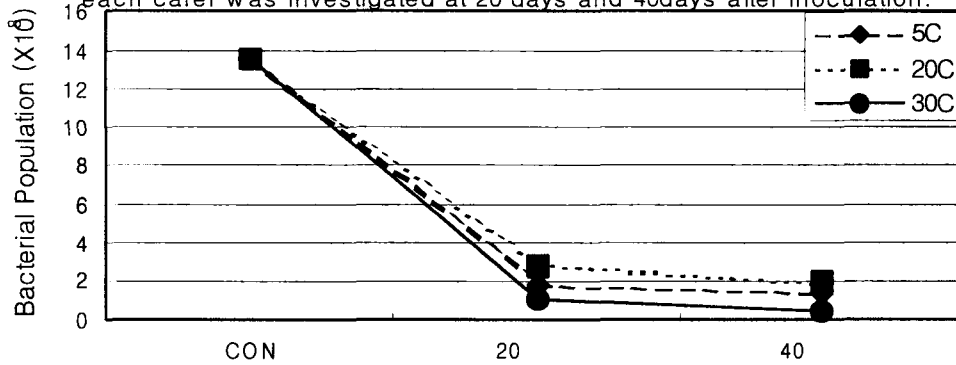


Fig.5. Survival effect of bacteria by perlite7. Bacterial population in each carer was investigated at 20 days and 40days after inoculation.

Perlite는 종류별로 Perlite 1, Perlite 4, Perlite 7 등으로써 실험을 수행하였다. 그 결과 전체적으로 20일 후 급격한 밀도 감소를 보였으며 20일 후부터 40일까지는 밀도 감소율이 매우 적은 결과로 나타났다 (그림 3, 4, 5).

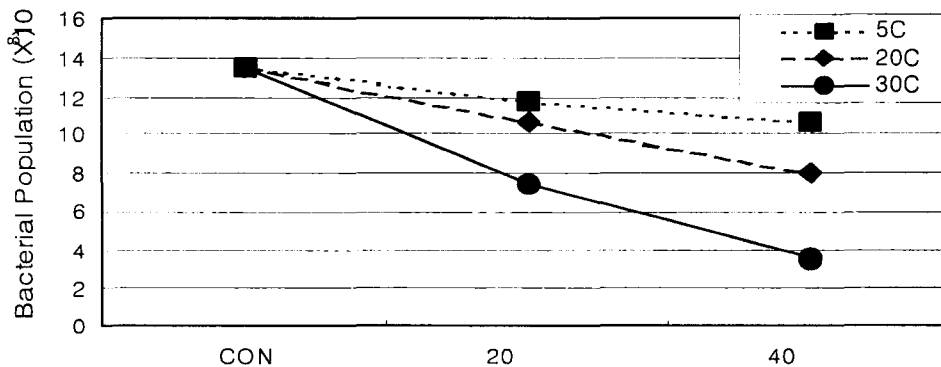


Fig. 6. Survival effect of bacteria by bentonite. Bacterial population in each carer was investigated at 20 days and 40days after inoculation.

Bentonite의 경우 5℃와 20℃에서는 40일 동안 전체적으로 세균의 밀도가 매우 낮은 수준으로 감소하였고 30℃에서는 20℃, 30℃에서 급격히 밀도가 감소하였다 (표 6).

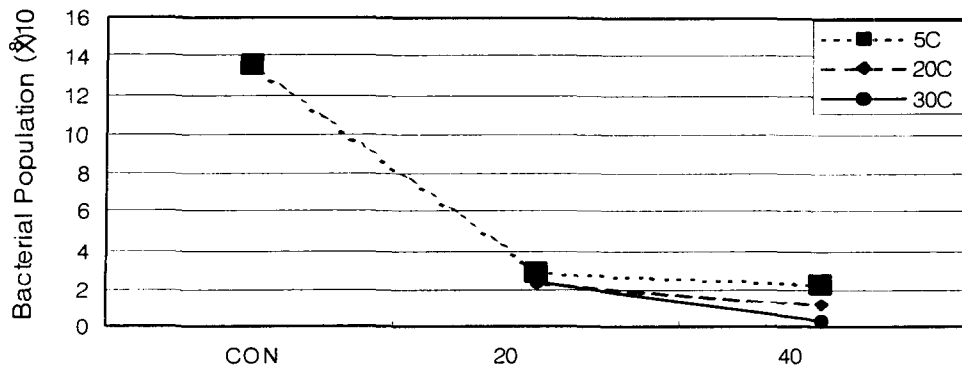


Fig. 7. Survival effect of bacteria by diatonite. Bacterial population in each carer was investigated at 20 days and 40days after inoculation.

Diatonite의 경우 전체온도에서 20일 후 매우 큰 밀도 감수율을 나타내었으며 20일 이후 40일 까지는 밀도감소 폭이 매우 작았다(그림 7).

#### 4) 결 론

본 실험에서 담체의 종류별로 살펴볼 때 전체적으로 큰 밀도의 감소는 나타나지 않았고 다양한 온도의 조건에서는 비교적 낮은 온도에서 생존유지가 양호하였다. 담체의 종류별로는 dolmonite, zeolite, bentnite의 처리구에서 양호한 밀도유지율을 나타내었으며 특히 bentonite의 경우 가장보존효율이 높았다. 따라서 미생물 생산 후 균주의 감소를 나타내지 않는 조건을 위해서는 비교적 낮은 온도에서 bentonite와 vermiculite를 혼합한 담체를 사용함이 가장 효율적인 것이라 판단된다.

#### 5) 참고문헌

1. Anne 2000 Composition of soil microbial communities enriched on a mixture of aromatic hydrocarbons Applied and Environmental microbiology 66; 5282-5289
2. Casida, Jr 1992 Competitive ability and survival in soil of *Pseudomonas* strain 679-2, a Dominant, monobligate bacterial predator of bacteria applied and Environmental microbiology 58:32-37
3. Chem, CI, RT Talyer 1997 Thermophilic biodegradation of BTEX by two consortia of anaerobic bacteria Appl. microbiol.48:121-128
4. Gerda harm et al. 1999 Anarobic oxidation of o-xylene, m-xylene, and homologus akalybenzenes by new types of sulfate reducing bacteria Applied and Environmental microbiology 65; 999-1004
5. Russo et al. 1996 Improved delivery of biocontrol *Pseudomonas* and their antifungal metabolites using alginate polymer All Microbiol Biotechnol 44:740-745
6. Ki-Young Seoung 2000 Effect of Trehalose on the viability of Fluorescent *Pseudomonas*, strain SSL3 Koren J. Soil Sci. 33:292-301