

## 미생물의 토양 투과성에 영향을 미치는 미생물 표면 및 용액 특성

김용미 · 류두현 · 김호영 · 서성원 · 정남희 · 안병구\* · 박준석\*  
전주대학교 환경과학과  
\*(재)자연환경연구소

e-mail: dryoo@jeonju.ac.kr

### 요약문

The bacterial transport in soil media was studied. Nonionic surfactants, enhanced the bacterial transports in soil media. The transport rate in soil column was increased by increasing the number of ethylene oxide in polyoxyethylene oxide surfactants. Ionic strength of solution affected the microbial transport characteristics in soil. The hydrophobicity of cell surface was proved that one of important characteristics on the bacterial transport in soil media.

Key words : transport, bacteria, soil

### 1. 서 론

대부분의 토양은 여러 이온성 물질이 무기 토양입자와 혼재되어 이온강도가 높은 상태이다. 이온 강도는 토성에 따라서도 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 즉, clay를 다량함유하고 있는 토양일수록 이온의 함유량이 높고, 염류화가 진행된 토양이나, 간척지 갯벌과 같이 염분의 농도가 높은 토양일수록 이온강도가 증가한다. 이온강도의 증가에 따른 토양내 물의 투과성에 대한 영향과 독성 test 결과 미생물의 생장에 큰 영향이 없는 것으로 판명된 비이온 계면활성제인 polyethylene oleic acid (POE)계열과 Tween80, 생물 계면활성제인 sophorolipid를 선정하여 수분투과성에 미치는 영향을 살펴보았다.

### 2. 재료 및 방법

부피가 3mL인 플라스틱 syringe에 여과지(2mm)를 간 후 60℃ 24시간 건조된 토양을 1.5g을 넣은 후 멸균하였다. 멸균된 주사기를 건조 오븐에 넣어 습기를 제거하고 균일한 조건으로 유지하였다. LB 배지에서 현탁 배양한 R2(*Acinetobacter sp.*)를 증류수로 세척하고, OD<sub>600</sub> 0.2의 수준이 되도록 현탁 용액을 제조하였다. 현탁액에 조건별로 계면활성제와 NaCl을 미생물과 혼합하여 토양에 투과실험 하였다. 현탁액을 토양 1.5g의 겉보기 부피와 같은 조건에 따라 제조된 미생물 현탁액 1.8ml를 적용시킨 후 30분간 상온에서 청정 상태를 유지하며 접촉시킨 후 중력배수 시켰다. 이 때 배수된 용액과 접촉시킨 후 토양을 일정비율로 증류수로 희석한 후, 희석액을 LB agar 배지에 도말하여 overnight시킨 후 미생물의 콜로니 수를 측정하였다.

### 3. 결 과

#### 3.1 증류수와 비교한 계면활성제의 농도에 따른 투과속도의 변화

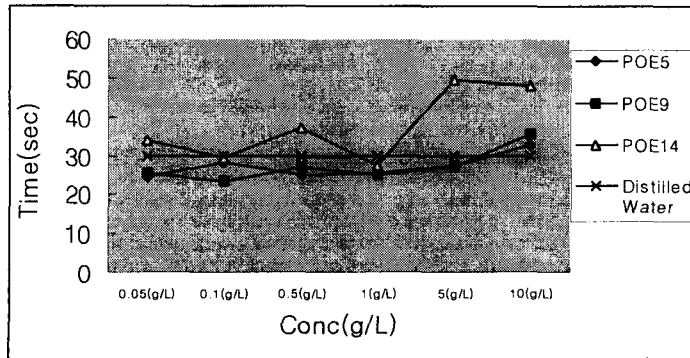


Fig.1 Effect of surfactants on the transport of water in soil column

Note: 1. sonication time = 10 min

2. ratio of soil to added surfactant = 1 : 1 (w:v)

플라스틱 syringe(20ml)에 여과지를 넣은 후 토양시료를 40~70mesh 토양체를 이용하여 선별한 토양 4.5g을 균일한 방법으로 충전하고 5ml의 용액을 넣은 후, syringe 하부에서 여액의 첫 방울이 떨어지는 시간을 측정하여 비교하였다. 증류수첨가와 비교하여 계면활성제를 투입할 때에, 저농도로 첨가할 때에, 토양 매질내 물의 이동속도가 증진되나 10g/l의 고농도를 투입하는 경우 오히려 물의 투과속도가 느린 것을 알 수 있었다. 한편 POE 계열의 계면활성제의 경우 oleic acid mole당 부가된 ethylene oxide의 mole수가 큰 경우 토양내 물의 투과성이 떨어지며, 용액 중에 잔류하는 계면활성제의 양도 증가하는 것으로 밝혀졌다. 즉 계면활성제 분자의 크기가 큰 경우, 토양이 용액의 투과를 저해하게 되므로 적합한 종류와 분자크기의 계면활성제의 선택이 요구된다. 따라서, 계면활성제를 토양 매질내 미생물의 이동속도를 증진시키기 위한 방법으로 사용하는 경우 계면활성제의 종류와 적합한 농도를 유지하는 것이 필요하다.

### 3.2. NaCl의 농도에 따른 투과속도의 변화

Table 1. Effect of ionic strength on the transport of water in soil media

Item	Ionic Strength (M)	Leaching time (sec)
Distilled water		28.5 ± 0.5
0.05M NaCl	0.050	35 ± 0
0.1M NaCl	0.1	37.5 ± 0.5
0.5M NaCl	0.5	42.5 ± 2.5
1M NaCl	1	61 ± 2

토양에 증류수를 통과시키는 것 보다 염분의 농도가 증가함으로써 이온강도가 증가할 수록 토양내 물의 이동속도가 감소하는 것으로 나타났고, 비이온 계면활성제인 POE<sub>14</sub>, Tween80과 생물계면활성제인 sopholipid의 경우, 염분의 농도가 증가하여 이온강도가 커지는 경우 또한 토양내 이동속도가 감소하는 것을 알 수 있다. 즉, 오염토양의 생물학적 복원을 위하여 순수한 물 또는 계면활성제 등 이외에 영양분 등을 혼합하여 적용하는 경우, 미생물의 투과성을 증진시키기 위하여서는 미생물 영양배지의 이온강도를 가능한 한 낮게 유지하여야 한다. 영양배지의 농도를 낮추거나 영양원 중 이온강도를 낮출 수 있는 이온 전하수가 낮은 이온으로 구성된 영양원을 적용시키는 것이 유리한 것으로 판단된다.

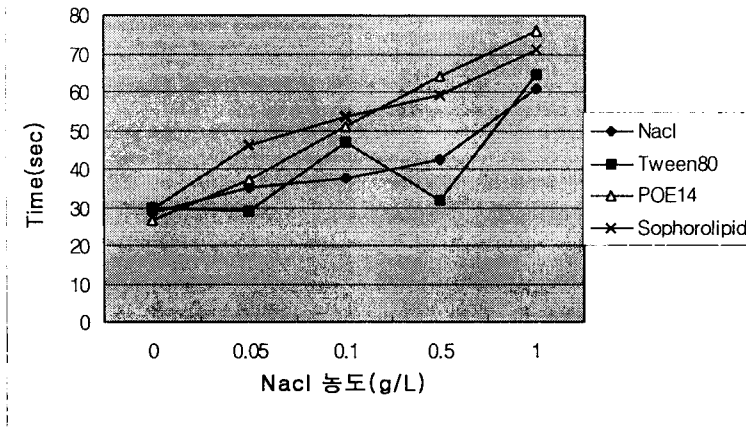


Fig.2 Effect of surfactants and salt on permeability in soil media

- Note : 1. O.D<sub>600</sub> = 0.1  
 2. surfactant concentration = 1g/L  
 3. 0M NaCl = distilled water

### 3.3. 계면활성제 종류에 따른 미생물 투과성의 변화

Table 2. Microbes number in surfactant-added solution, leachate, and soil

	surfactant solution ( $\times 10^4$ )	leachate ( $\times 10^4$ )	soil ( $\times 10^4$ )
PPB	4.5	2.5	64
Sophorolipid(7/12)	0.5	5.5	112
Tween 80	10	1	96.5
SFT-83	1.5	0	88
OA <sub>14</sub>	16.5	0	68.5

- Note : 1. O.D<sub>600</sub> = 0.2  
 2. Test after settling 30 min

토양을 통과한 여액의 미생물 농도는 비이온성 계면활성제를 혼합하는 경우 오히려 감소하였으나 생물계면활성제인 Sophorolipid를 적용하는 경우 통과여액 중 미생물의 농도가 증가하였다.

### 3.4. 계면활성제 농도별 미생물 투과성 변화

Table 3. Microbes number in surfactant-added solution, leachate, and soil

	Leachate ( $\times 10^4$ )	soil ( $\times 10^4$ )
POE <sub>14</sub> 5g/L	61.5	185
POE <sub>14</sub> 1g/L	63.5	682
POE <sub>14</sub> 0.5g/L	58.5	259
POE <sub>14</sub> 0.1g/L	11.5	495
POE <sub>14</sub> 0.05g/L	23.5	359.5
DW(Control)	36	335

- Note: 1. O.D<sub>600</sub> = 0.2  
 2. Test after settling 30 min

POE<sub>14</sub>의 농도를 바꾸어 가며 측정한 토양통과여액의 단위 부피당 미생물의 개체수는 임계미셀 농도(Critical micelle concentration; CMC)보다 작은 영역에서는 계면활성제 농도가 증가함에 따라 감소하다가 CMC 값보다 큰 영역에서는 계면활성제 농도가 증가함에 따라 증가하였다(Table 3). CMC값보다 큰 영역에서는 계면활성제의 농도를 증가시켜도 통과성이 크게 개선되지 않으므로, CMC값의 약 5배인 0.5g/L의 계면활성제(POE<sub>14</sub>)를 적용하는 것이 가장 바람직하며, 이 경우 증류수를 적용하는 경우보다 2배 정도의 토양내 미생물 이동성을 나타내었다.

### 3.5. NaCl의 농도에 따른 투과성의 변화

Table 4. Effect of ionic strength on the surfactant enhanced bacterial transport

NaCl concentration	surfactant	Microbes number in leachate ( $\times 10^4$ )	Microbes number in leachate ( $\times 10^4$ )
0M	Tween80	85	237
0.01M		38	177.5
0.1M		2.5	194
0.5M		-	18
1M		-	-
0M	POE <sub>14</sub>	55.5	225
0.01M		21	336
0.1M		1	210
0.5M		-	-
1M		-	-
control(DW)		32.5	208
POE <sub>5</sub>		33.5	94.5
POE <sub>9</sub>		85	180.5

Note: 1. O.D<sub>600</sub> = 0.2

2. Test after settling 30 min

비이온 계면활성제인 Tween80과 POE<sub>14</sub>의 경우 계면활성제 용액중 염분농도가 증가함에 따라 계면활성제의 첨가에 따른 투과 용액중 포함된 미생물의 개체수가 감소함을 알 수 있다. 즉, 염분이 많이 포함된 염류토, 간척지 갯벌의 생물학적 복원을 위한 미생물을 투입하는 경우, 염분의 제거가 선행되어야 할 것으로 판단된다. 또한 polyethylene oleic acid 계열의 계면활성제인 POE<sub>9</sub>을 사용하는 경우 R2 (*Acinetobacter*)의 토양내 투과성이 가장 좋은 것으로 나타났다.

#### 감사의 글

본 연구는 '2001년도 차세대 핵심환경기술개발사업'의 연구과제로 수행되었으며, 연구비를 지원해주신 환경부에 감사드립니다.