

KURT 지하수 내 혐기성 미생물의 배양 기술 및 응용

오종민, 이승엽, 백민훈

한국원자력연구원, 대전광역시 유성구 대덕대로 1045

ohim@kaeri.re.kr

1. 서론

지구상에 생명체가 처음 존재하기 시작한 후부터 현재에 이르기까지 미생물은 가장 많은 생물량 (biomass)을 차지하였고 지구화학적 원소 순환에 있어 결정적인 영향을 미치는 것으로 여겨지고 있다. 또한 미생물에 의한 광물 용해/형성 작용은 지표하부에서 발생하는 다양한 탄소, 질소, 인 및 황 등의 순환과정에 영향을 미치고, 원소의 광역적, 국지적 거동을 조절하며, 광물을 형성시키고 금속이온을 농집시켜 이차광물을 형성함으로써 대규모 금속광상 형성에 직접적인 원인을 제공하고 있으며 유독성 중금속 또는 유기화합물의 독성이나 이동도를 감소시킬 수 있다. 본 연구에서는 고준위 폐기물 지하처분 연구시설인 KURT (Kaeri Underground Research Tunnel) 지하수 내의 혐기성 미생물의 배양 기술 및 응용에 대해 알아보하고자한다.

2. 지하수의 채취

KURT 지하수 내 존재하는 미생물을 배양하기 위하여 대전 한국원자력연구원 내부에 위치한 방사성 폐기물 처분 연구를 위한 지하연구시설(KURT)내 약 80 m 아래 지하에서 지하수 시료를 채취하였다. 채취 즉시 혐기성 상태를 유지하기 위하여 Head Space없이 고무마개(Lubber Stopper)로 Serum Bottle을 밀봉한 후 실험실로 옮겼다.

3. 미생물 성장배지와 배양

미생물은 배양액의 조성을 다르게 하여 철환원 미생물과 황산염환원 미생물로 나누어 배양하였다. 철환원 미생물을 배양하기 위한 성장배지의 제조방법은 다음과 같다 (Phelps et al., 1989). 2 l 삼각플라스크에 증류수 1 l를 넣고 삼각플라스크를 가열식 자력교반기 (Hot plate & magnetic stirrer)에 올려놓은 다음 stir bar를 돌리면서 Table 1의 시약을 넣어주었다. 시약을 다 넣고 가열을 하여 화학약품을 완전히 용해시켰다. 다음으로 성장배지의 온도가 다시 내려갈 때까지 질소로 퍼징 (purging)을 하였다. 이는 혐기성 상태를 만들어 주기 위함이다. 성장배지를 100 ml씩 나누어 담기위해 125 ml serum bottle을 질소로 퍼징하여 미리 혐기성상태를 만들어 준 뒤 성장배지 100 ml씩을 넣고 산소가 들어가지 않게 밀착해서 마개를 닫았다. 마지막으로 멸균 테잎을 붙이고 압력멸균기를 이용하여 121°C, 100kPa에서 15분간 멸균처리를 하였다. 황산염환원 미생물을 배양하기 위한 성장배지의 제조방법은 다음과 같다. Serum bottle과 해수를 멸균 시켜 Table 2의 시약을 넣고 질소 퍼징을 30분 해준다. 30분이 지나면 Iron Sulfate 5 mM 과 Bicarbonate 5 mM을 첨가하고 1분 후 질소퍼징을 마치고 마개를 닫는다. 이러한 과정을 통해 만든 미생물 성장배지에 지하수 시료를 약 3 ml를 채취하여 Clean Bench에서 접종시켜 Incubator에서 30°C로 배양하면 미생물을 배양시킬 수 있다. 배양 전과 배양 후의 모습은 Fig. 1.에 나타내었다.

Table 1. Components of media for metal reducing bacteria

Component	g(ml)/ ℓ
NaHCO ₃	2.5
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.08
NH ₄ Cl	1.0
MgCl ₂ · 6H ₂ O	0.2
NaCl	10
HEPEs (30 mM)	7.2
Yeast Extract (Difco)	0.5
Trace mineral (x10)	10
Vitamins (x10)	1

Table 2. Components of media for sulfate reducing bacteria

Component	g(ml)/ ℓ
Vitamins (x10)	1
Trace mineral (x10)	10
Resazurin	0.1
Ammonium chloride	0.1 M
Sodium phosphate	0.1 M
Sodium thiosulfate	0.1 M
Sodium sulfite	0.1 M

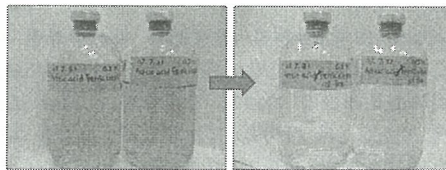


Fig. 1. Reduction of Fe(III)-citrate by metal reducing bacteria enriched from KURT groundwater

4. 결론

이러한 미생물 배양 기술을 이용하여 경주 방폐장이나 향후 건설 될 고준위 방폐장의 장기적인 안전성에 미치는 혐기성미생물-지하매질-핵종원소 간의 상호작용 연구를 통하여 국내 처분시설과 관련된 토착 미생물의 영향에 대한 연구가 가능하다.