

토양 미생물의 2-hydroxypyridine 대사에 미치는
기아상태와 부식산의 영향

황 선 형

공주대학교 환경교육과
공주대학교 과학교육 연구소

**Influence of Starvation and Humic Acid on Soil Microbial
2-Hydroxypyridine Metabolism**

Seonhyeong Hwang

Dept. of Environmental Education, Institute of Science Education, Kongju National University, Kongju

ABSTRACT

In this research, 2-hydroxypyridine(2-HP) metabolic ability of starving *Arthrobacter crystallopoietes* cell and the effect of humic acid on the metabolism of this starving cell were evaluated. 2-HP metabolic ability of exponential phase cell (acclimated cell) was much higher than that of lag phase cell (unacclimated cell) during starvation period. After 3 days of starvation, 2-HP half-life of the acclimated cell was 14 hours and that of the unacclimated cell was 46.5 hours. Humic acid enhanced the stability of 2-HP monooxygenase of starving cell and, after 2 days of starvation, the residual activity rate of this enzyme of the microbial cell starved in humic acid solution was 12% while the rate for control condition was 1.5%. After 14 days of starvation, 2-HP half-life for control condition was 43 hours and that for humic acid condition was 1.25 hour.

Key words : Bioremediation, heterocyclic ring compound, soil microorganism, starvation, humic acid

요 약 문

본 연구에서는 기아상태에 있는 토양 미생물, *Arthrobacter crystallopoietes* cell의 2-hydroxypyridine대사능력의 변화 와 이 미생물의 대사능력에 대한 부식산의 영향에 대해 다루어졌다. 기질 2-HP에 대한 대수기 세포(exponential phase cell)는 적응기 세포(lag phase cell)와 비교할 때 기아상태에 있어서도 더 높은 2-HP 대사능력을 보여 기아상태 3일 후 대수기 세포에서 2-HP 반감기는 14시간으로 나타난 반면 적응기 세포의 경우 46.5시간으로 나타났다. 부식산은 기아상태에서 이 미생물 세포의 유도효소, 2-HP monooxygenase의 안정성을 높여주어 기아시간 2일 후 표준조건에서 기아상태에 있던 미생물의 효소활성이 처음의 1.5%로 남아 있는 반면 0.2% 부식산 용액에서 기아상태로 있던 미생물의 효소활성은 12%까지 남아 있었다. 기아시간 14일 후 까지도 부식산 용액 속에서 기아상태로 있던 이 미생물 세포의 2-HP 대사능력은 표준 조건의 것에 비해 월등히 높아 2-HP 반감기를 비교해 보면 표준 조건의 경우 43시간인 반면 부식산의 경우 1.25시간으로 나타났다.

주제어 : 토양 오염 복원, 토양 미생물, 기아상태, 부식산, 복소 환식 화합물 대사

1. 서 론

토양은 무수한 생물군들의 서식처이며, 재생 자원의 생산과 오염물질의 자연 정화의 장소일 뿐만 아니라 생태계의 형성과 기능의 항상성을 유지시키는 기본적인 필수적인 틀이다. 이러한 토양환경을 건강하게 보호하며 관리해 나가는 것은 우리 인류의 생존에 있어서 매우 중요하다. 산업혁명 이후 인간의 활동에 의한 환경오염은 심각한 상태로 발전해 오고 있으며 특히 토양의 오염은 대기 및 수질 오염과 서로 밀접한 상호 관계를 갖게 되므로 그 제어 방법을 필히 강구해야 한다. 토양은 대기권 및 수권과 다르게 그 구조적인 측면이 기능적 측면만큼이나 복잡하고 다양하므로 오염이 되면 복원시키는 것이 쉽지 않다.

오염된 토양의 복원을 위해 많은 연구가 이루어지고 기술이 개발되고있지만 비용과 효과면에서 만족스럽지 못한 상태에 있다. 현행의 기술들 중 생물학적 처리방법은 오염된 토양에 원래 생존하고 있는 미생물 중에 오염물질을 분해시킬 수 있는 미

생물들의 활성을 높여 주는 방법^{3,15,20}과 이러한 분해성 미생물들이 없을 경우 인위적으로 분해성 미생물을 개발하여 투여하는 방법이 연구되고 있다.^{6,9,12} 생물학적 처리방법은 실험실적으로는 만족스러운 결과를 얻은 연구가 많이 보고되고 있지만 실제 오염지역에서 적용할 경우 성공한 사례가 매우 드물다.² 성공한 경우라 하더라도 오염물질이 저 농도로 될수록 잔여 오염물의 제거가 힘들게 되므로 어느 한계점 이하까지 낮추기가 어렵다.¹¹

토양환경에서 오염물질의 분해가 일어나기 위해서는 토착 미생물이나 개발되어 투여된 미생물이 목표 오염물질을 만나야하며 주변의 환경이 그 미생물의 활성에 맞게 조성되어야 한다. 그러나 대부분 토양환경은 적용된 미생물의 활동에 대해 불리한 조건을 갖고 있으며 미생물들은 기아상태에 돌입하기 쉽다. 토양환경에서 미생물의 생육에 필요한 영양소들은 질과 양에 있어서 변화가 심하며 대부분의 미생물들은 굶주린 상태의 스트레스를 받으며 존재하게되는데, 실제적으로 자연계에 존재하는 많은 종의 미생물들이 영양조건이 양호한 실험실적

상황에서 존재할 때보다 더 작은 크기로 관찰되는 경우가 많다.^{4,5,19,24)} 그러므로 기아상태에 있는 토양 미생물의 생리적 특성과 토양환경을 이루는 요소들과의 관계를 밝히는 것은 생물학적 처리 방법의 성공적인 결과를 얻기 위해 필요한 부분이며, 따라서 본 연구에서는 토양 내에서 미생물들이 굶주림 상태에 있을 때 일어날 수 있는 생리적 변화를 알아 보기 위해 목표 기질에 대한 적응기 전(lag phase)과 후(exponential phase)의 미생물이 기아상태에서 어떠한 대사능력의 차이를 보이는지, 그리고 적응기 후 기아상태에 들어간 미생물의 대사능력이 토양의 부식산에 어떠한 영향을 받는지를 밝히기 위한 실험이 이루어졌다.

2. 실험 재료 및 방법

미생물로는 토양내에 많은 분포를 이루고 있는 *Arthrobacter sp.* 중에 2-HP를 대사할 수 있는 *Arthrobacter crystallopoietes*를^{7,13)} 사용했으며 부식산은 토양으로부터 분리하여 순수하게 결정화 되어진 것을 사용하였다. 기아상태를 유지시키기 위한 매체로는 0.03M 인산칼륨 완충용액이 사용되었다.

2.1 미생물 세포의 배양^{8,14)}

미생물 세포배양을 위해서 peptone mineral salts medium이 다음과 같은 조성으로 사용되었다. 배양액의 조성(무게/부피) : 0.5% peptone, 0.05% yeast extract, 0.1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in 0.03M potassium phosphate buffer (pH 7.0), 1.0% 미량 염류 혼합용액. 배양액은 120°C에서 15분간 살균하여 사용하였다. 위와 같이 조성된 배양액에 *Arthrobacter crystallopoietes*를 접종하여 30°C에서 gyratory 교반기를 이용하여 150 rpm으로

교반하면서 2일간 배양한 후에 5800g에서 10분간 원심 분리(Sorvall RC-5B Refrigerated Superspeed Centrifuge, Du Pont Instruments Co., Wilmington.)를 하여 미생물 세포를 수확하였다. 수확된 미생물 세포는 살균된 0.03M 인산칼륨 완충용액을 사용하여 잔류 배양 액성분을 세척 제거한 후에 사용되었다.

미량 염류 혼합용액의 조성 : 0.2% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.1% $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.05% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in 0.1 N HCl.

2.2 대사 목표물 2-HP에 대한 대수기 상에 있는 미생물 세포의 수확

대사 목표물질에 대한 대수기 상의 미생물을 얻기 위해 peptone mineral salts medium에서 배양되어 세척된 *Arthrobacter crystallopoietes* 세포를 2-HP mineral salts medium에 현탁한 후, 회전속도 150 rpm으로 30°C에서 4일 동안 배양시켰다. 위의 조건으로 배양된 미생물 세포는 원심 분리하여 수확한 후에 살균된 0.03M 인산 칼륨 완충용액을 사용하여 잔여 2-HP mineral salts medium을 세척 제거한 후에 사용하였다.

2-HP mineral salts medium의 조성(무게/부피) : 0.5% 2-HP, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in 0.03M potassium phosphate buffer (pH 7.0), 1.0% 미량 염류 혼합용액.

2.3 기아상태의 조성 및 유지¹⁶⁾

분광 광도계를 이용하여 현탁된 각각의 미생물들의 탁도를 540 nm에서 일정하게 조절한 다음 10 ml를 취하여 0.03M 인산 칼륨 완충용액 250 ml가 담긴 살균된 500ml 삼각 플라스크에 넣고 30°C에서 교반 배양기를 이용하여 150 rpm에서 교반하면서 기아상태를 유지 시켰으며, 토양의 유기성분인 부식산의 영향을 관찰하기 위해서 같은

인산 칼륨 완충용액에 부식산을 0.2%되게 녹여서 같은 조건으로 기아상태를 유지시켰다. 배양이나 기아조건에서나 삼각플라스크는 멸균된 솜으로 입구를 막아서 사용하였다. 기아상태를 유지하면서 일정한 시간 간격을 두고 각 플라스크의 무게를 측정하여 살균된 증류수로 증발에 의해 손실된 수분을 보충해 주었다.

2.4 미생물 세포의 대사에 따른 2-HP의 농도변화 측정

기아상태에 있는 미생물의 대사변화를 관찰하기 위해 일정한 시간간격으로 기아 상태의 미생물들을 수거한 후 인산 칼륨 완충용액으로 세척하여 540 nm에서 흡수도를 1이 되도록 현탁시킨 다음, 이

현탁액 50 ml와 0.025 ml 2-HP stock solution 과 0.5 ml AM stock solution을 혼합하여 30℃에서 150 rpm으로 교반하며 반응시키면서 시간에 따른 2-HP의 농도 변화를 UV/Visible 분광광도계 (Perkin-Elmer Lambda 3 UV/VIS Spectrophotometer, Norwalk)를 이용하여 295 nm에서 측정하였다. 흡수도에 따른 농도의 환산은 표준좌표를 만들어 비교 사용되었다. 이 실험의 전체적인 흐름도는 Fig. 1과 같다.

2-HP stock solution의 조성 : 2.0g 2-HP in 100 ml 0.03M potassium phosphate buffer
 AM stock solution의 조성 : 10g (NH₄)₂SO₄, 1g MgSO₄ · 7H₂O in 100ml potassium phosphate buffer

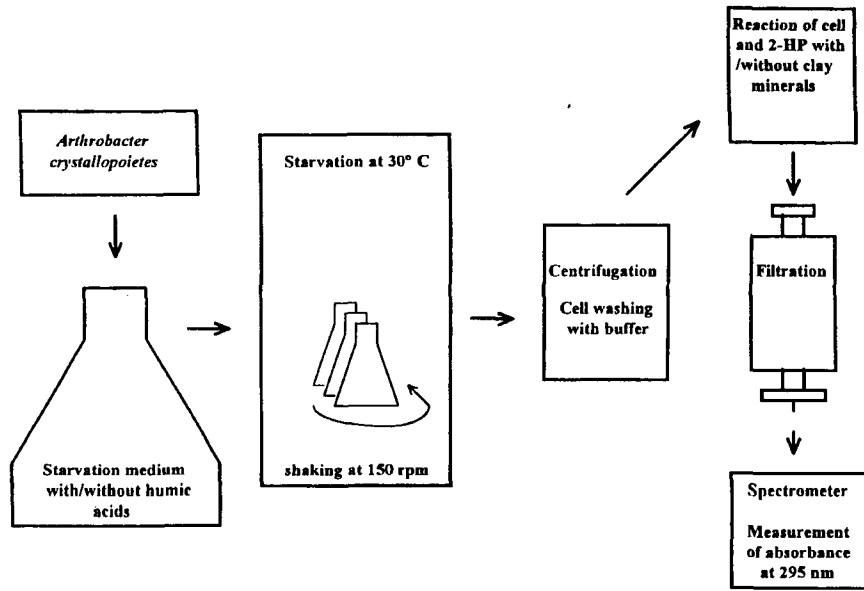


Fig. 1. Diagram for the procedure to measure 2-HP metabolism rate of *Arthrobacter crystallopoietes*

2.5 2-HP monooxygenase 의 활성 변화 측정

방향족 화합물의 미생물에 의한 대사분해는 제 1단계로 monooxygenase나 dioxygenase가 산화

에 관여하는 것으로 밝혀졌다.^{23,25,26)} *Arthrobacter crystallopoietes* 세포에서도 2-HP의 대사는 세포 내에서 유도효소인 2-HP monooxygenase가 형

성된다음 제 1단계로 이 효소작용에 의한 산화가 일어나게 되는데 산화 과정에 관여하는 이 효소의 기작은 간단하지 않으며 세포 밖에서 그 활성변화를 측정하는 것은 매우 어렵다. 따라서 본 실험에서는 산소 전극측정 장치(Rank Brothers Co., Cambridge England)를 이용하여 2-HP salt medium에서 미생물 세포에 의한 산소의 소비량을 측정함으로써 전체 세포의 2-HP monooxygenase의 활성 변화도를 산출하였다. 소

비된 산소의 양은 다음과 같이 계산되었다. 2-HP 대사의 기작은 Fig. 2와 같다.

$$\text{소비된 산소의 양} = [(D/\text{min}) \times (237 \text{ micromole 산소}/\text{l}) \times (\text{측정기에 적용된 시료의 부피})] / \text{시료 현탁액에 존재하는 단백질의 양}(\text{mg})$$

D: 기록용지의 시작지점에서부터 측정선이 이동되어진 거리

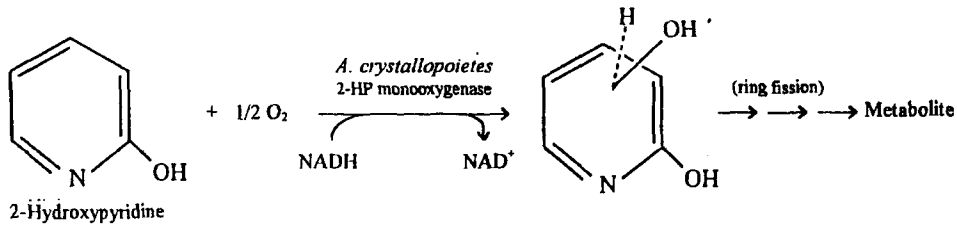


Fig. 2. Diagram for 2-HP metabolism by *A. crystallopoietes*

3. 결과 및 고찰

토양오염 복원을 위해 개발된 미생물을 오염지역에 적용할 때 목표로 하는 오염물질의 제거효율을 높이기 위해 토양에 투입시키기 전에 그 오염물질에 대해 대수기 상태로 만들어서 사용하게 된다. 이러한 상태의 미생물은 세포 내에 그 기질을 분해하기 위한 유도효소들이 생성된 상태에 있으므로 토양으로 투입되어 오염물질을 만났을 때 적응기가 필요 없이 곧바로 대사를 할 수 있게 된다. 그러나 토양 속의 오염물질들은 여러 방향과 장소로 확산되어 퍼져있으며, 적용되어진 미생물들이 이러한 상태의 오염물질과 바로 만날 수 있는 확률은 낮게 제한될 수밖에 없다. 따라서 대부분의 미생물들은 그 목표 오염물질에 대한 기아상태에 돌입하게 되고 투여되기 전에 이미 형성되었던 유도효소들도 분해되어 세포의 생존유지를 위해 쓰이기도 하며

다른 특정 단백질들이 생성되기도 한다.^{10,11,16,18)} 본 연구에서는 이러한 세포내 유도효소인 2-HP monooxygenase에 대한 기아상태의 영향과 토양의 유기성분인 부식산의 영향에 대해 다음과 같은 결과들을 얻게 되었다.

3.1 적응기 상의 세포와 대수기 상의 세포에 대한 기아상태의 영향

Fig. 3에서와 같이 기아상태로 돌입하기 전의 *A. crystallopoietes*의 적응기 상의 세포와 e대수기 상의 세포의 2-HP 대사능력을 살펴보면, 적응기 세포는 2-HP 대사에 대해 대수기 세포의 대사 형태와는 다르게 대사를 위한 유도효소 체계의 형성이 이루어지는 적응시간을 보여주고 있다. 2-HP 농도가 처음 농도의 50%가 되는 시간은 대수기 세포의 경우 0.12시간이며 lag phase cell의 경

우에는 2.75시간으로 나타났다(Fig. 10). 적응기 세포의 2-HP 기질에 대한 적응시간인 1시간 후의 2-HP 감소형태와 대수기 세포에 의한 감소형태를 비교해보면 2-HP 대사속도가 대수기 세포의 경우가 현저하게 빠르게 나타나는데 그 이유는 대수기 세포는 2-HP 대사체계가 이미 충분히 형성되어진 상태에서 저농도인 120 micromole의 기질을 빠르게 대사하는 반면에 적응기 세포는 미생물 세포 개체 수에 비해 낮은 농도로 존재하는 기질로 인하여 2-HP 대사를 위한 효소체계의 형성이 늦어지기 때문으로 해석되어진다.

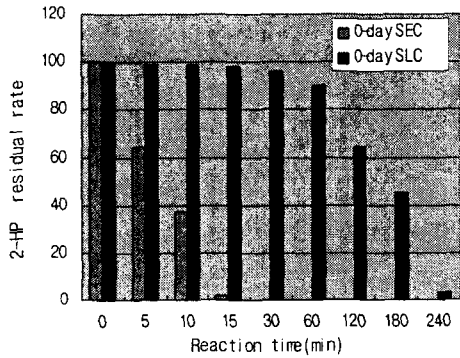


Fig. 3. 2+P metabolism of lag phase cell(SLC) and exponential phase cell(SEC) before starvation.

Fig. 4는 기아상태 1일이 지난 후 적응기 세포와 대수기 세포의 2-HP 대사능력의 변화를 비교한 것이다. 미생물 세포가 기아상태에 돌입하게 되면 자신의 기관들 중 세포를 유지하는데 가장 필요성이 낮은 기관부터 분해를 해서 에너지로 사용하면서 생존하게 되는데¹⁷⁾ 특히 유도효소들은 대상 기질들이 없어지면 세포 내에서 생성이 멈출 뿐만 아니라 기아상태에서는 분해가 일어나 에너지원으로 쓰이게 된다. 기아상태 1일이 지난 후 적응기 세포는 세포기관의 일부분이 분해되어 에너지원으로 이용된 상태에서 2-HP 기질을 만나게 되면 분

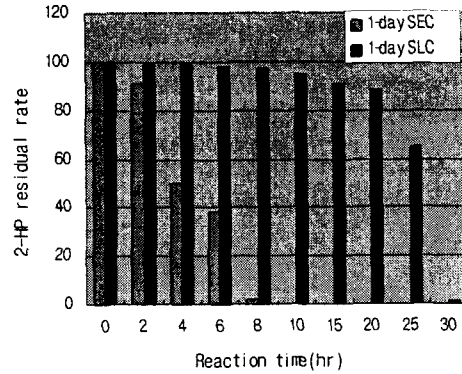


Fig. 4. 2+P metabolism of lag phase cell(SLP) and exponential phase cell(SEC) after 1 day of starvation.

해된 부분의 복원과 유도효소 체계의 형성이 이루어져야 하므로 2-HP대사를 위한 적응 기간이 기아상태 전보다도 더욱 길어질 뿐만 아니라 적응기 후의 대사속도도 기아상태 전의 세포보다 느려지는 형태를 보인다. 이와 같이 기아시간 동안 대수기 세포의 경우에도 유도효소의 분해와 일부의 세포기관이 분해되어 에너지원으로 사용되었을 것으로 추정되며 실제로 유도효소인 2-HP mono-oxygenase의 활성이 기아상태 1일 후 현저하게 감소되었음이 관찰되었다 (Fig. 11). 기아시간 1일 후 2-HP 농도가 처음 농도의 50%가 되는 시간은 대수기 세포의 경우 4시간이며 적응기 세포의 경우에는 26시간으로 나타났다(Fig. 10). 대수기 세포는 세포 내에 유도효소가 에너지원으로 쓰이면서 그 외의 세포기관 손상이 적응기 세포보다 덜 일어났을 것으로 예상되며 기아상태 1일 후 아직 잔존해 있는 유도효소의 활성으로 인하여 2-HP 대사를 위한 세포기관의 복원과 유도효소의 활성복원이 적응기 세포보다 쉽게 이루어지므로 2-HP 대사를 위한 적응기와 대사속도가 적응기 세포보다 현저하게 빠르게 나타나는 것을 볼 수 있다.

Fig. 5는 기아시간 3일 후 적응기 세포와 대수

기 세포의 2-HP 대사능력의 차이를 보여주고 있다. 여기에서 나타난 바와 같이 적응기 세포나 대수기 세포 모두 기아시간이 길어질수록 세포기관의 분해가 더욱 일어나게 되며 따라서 2-HP 대사를 위한 적응기나 대사속도가 기아시간 1일 후 보다 더욱 느려지는 형태를 보이고 있다. 적응기 세포에서 적응기 후의 2-HP 대사속도가 대수기 세포의 대사속도와 거의 같아지는 형태를 볼 수 있는데 그 이유는 기아시간 3일 후의 대수기 세포에서 유도효소인 2-HP monooxygenase가 에너지원으로 쓰여 완전 소멸되었기 때문인 것으로 추정된다. 기아시간 3일 후 2-HP 농도가 처음 농도의 50%가 되는 시간은 대수기 세포의 경우 14시간이며 적응기 세포의 경우에는 46.5시간으로 나타났다(Fig. 10). Fig. 11을 보면 기아시간 3일 후 적응기 세포에서 monooxygenase의 활성도가 완전히 없어진 것을 알 수 있다. 그러나 전체적인 2-HP 대사 형태를 비교해보면 대수기 세포의 2-HP 대사는 장시간의 적응기 없이 이루어지고 있는데 그 원인으로 기아상태에서 세포기관의 분해정도의 차이와 *A. crystallopoietes*의 특성적인 면으로 2-HP 대사를 위한 유전자 체계의 변화에 기인하는 것으로 추정되어진다.

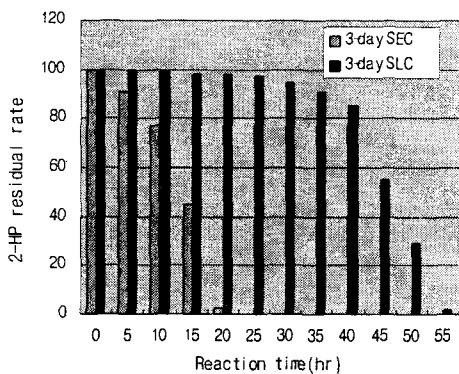


Fig. 5. 2+P metabolism of lag phase cell(SLC) and exponential phase cell(SEC) after 3 days of starvation.

Fig. 6에서 보이는 것과 같이 기아시간 14일 후 적응기 세포의 2-HP 대사 형태는 기아시간 3일 후의 것과 거의 같이 나타났으며 대수기 세포의 경우에는 2-HP 대사를 위한 적응기와 대사속도가 3일 후의 것에 비해 매우 느려져서 적응기 세포의 대사 형태에 근접하는 경향을 나타내고 있다. 기아시간 14일 후 2-HP 농도가 처음 농도의 50%가 되는 시간은 대수기 세포의 경우 22시간이며 적응기 세포의 경우에는 43시간으로 나타났다(Fig. 10). 이러한 현상은 대수기 세포도 계속적인 기아상태를 유지할 때 세포기관의 소모 증가가 일어나므로 발생되어지며, 적응기 세포에서 나타난 것과 같이 어느 한계의 기아시간이 지나면 생존을 위한 가장 기본적인 기관들만 남게 되므로 그 한계점 이상에서의 대사형태는 비슷하게 나타나는 것으로 추정되어진다.

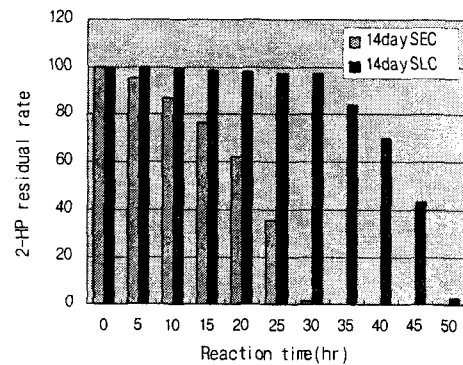


Fig. 6. 2+P metabolism of lag phase cell(SLC) and exponential phase cell(SEC) after 14 days of starvation.

3.2 Starvation medium과 적응기 세포의 2-HP 대사능력의 변화

Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9에서 나타난 바와 같이 부식산 용액에서 기아상태로 있던 미생물 세포는 인산 칼륨 완충용액에서 있던 미생물 세포보다 2-

HP 대사능력이 현저하게 높은 특성을 보이고 있다. 부식산 용액에 있던 미생물도 기아시간에 따라 2-HP 대사능력이 감소하는 형태를 보여주나 14일이 지난 후에도 완충용액에 있던 기아 미생물에 비해 여전히 높은 대사능력을 유지하고 있으며 2-HP 반감기의 변화의 폭도 작게 나타났다(Fig. 10). Fig. 11과 Table 1에서 2-HP monooxygenase 활성변화를 보면 부식산 용액에서 기아상태로 있던 미생물의 효소활성의 감소율은 인산 칼륨 완충용액에서 기아상태로 있던 미생물에 비해 적게 나타났음을 볼 수 있는데, 기아시간 1일 후 부식산 용액에서 기아상태로 있던 미생물은 이 효소활성이 38% 남아있는 반면 완충용액에서 기아상태로 있던 미생물은 17%의 효소활성을 보였

다. 기아시간 3일 이후에는 부식산의 경우 1.3% 낮은 효소활성이 남아 있는 반면 완충용액에서는 효소의 활성이 완전히 소멸된 것으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때 기아기간 동안 부식산이 이 효소의 안정성을 높여준 것으로 해석할 수 있으며 이에 따라 2-HP 대사능력도 높게 나타난 것을 알 수 있다. Fig. 9에서 보는 것과 같이 2-HP monooxygenase의 활성이 완전히 소멸된 기아시간 14일 이후에도 부식산의 경우 여전히 높은 대사능력을 보이고 있는데 그 이유를 밝히기 위해서는 부식산의 구조적인 면과 미생물의 유전자 체계의 상호 관계에서 찾아보아야 할 것으로 생각된다. 부식산은 여러 가지 유기화합물로 이루어진 중합체로 그 구조가 매우 복잡하여 아직 정확한 구조가 밝혀

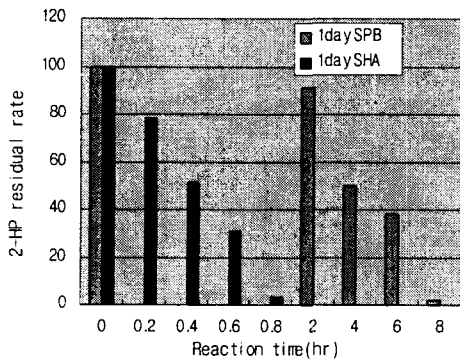


Fig. 7. 2+P metabolism of microbial cells starved in control buffer (SPB) and humic acid solution (SHA) for 1 day.

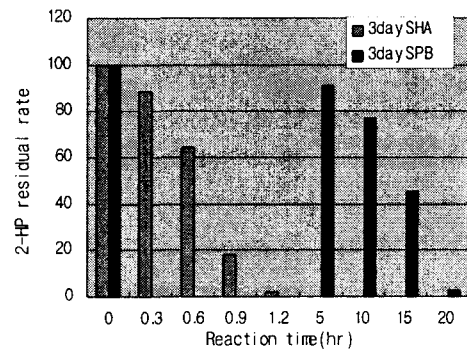


Fig. 8. 2+P metabolism of microbial cells starved in humic acid and control buffer for 3 days.

Table 1. Amount of oxygen consumed (mean ± standard error) by *A. crystallopoietes* in 0.2% 2-HP salt medium (unit : micromoles of oxygen min⁻¹ mg⁻¹ of protein)

Starvation time (day)	Cell starved in humic acid	Cell starved in buffer
0	0.658 ± 0.003	0.658 ± 0.003
1	0.25 ± 0.0007	0.11 ± 0.004
2	0.075 ± 0.002	0.01 ± 0.005
3	0.0085 ± 0.0014	0

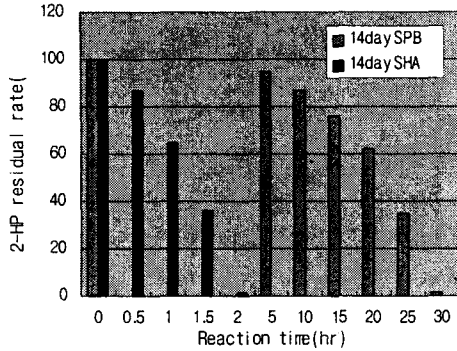


Fig. 9. 2+P metabolism of microbial cells starved in control buffer and humic acid solution for 14 days.

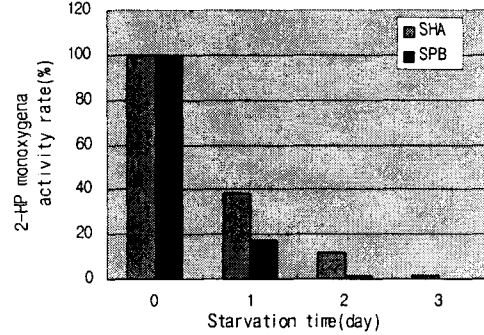


Fig. 11. The effect of starvation medium(SHA:humic acid solution, SPB:potassium phosphate buffer) on 2+P monooxygenase activity rate.

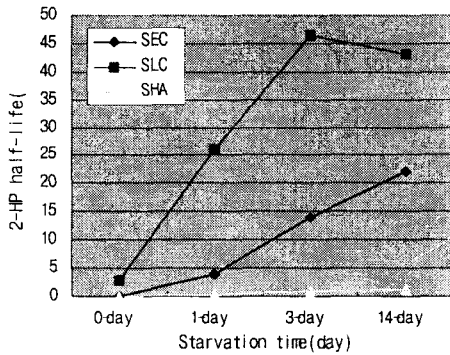


Fig. 10. The change of 2+P half-life for each cell(SLC:lag phase cell, SEC:exponential phase cell, SHA:starving cell in humic acid) during starvation time.

지지 않았다. 부식산의 구성 성분들 중 복소 환식 화합물들이 *A. crystallopoietes*의 2-HP monooxygenase 형성에 관여하는 DNA 체계와 어떤 연관성이 있는지 더욱 연구되어야 할 것으로 본다.

4. 결론

토양 미생물 *A. crystallopoietes*는 기아시간이 경과함에 따라 2-HP 대사능력이 감소할 뿐만 아니라 손상된 세포기관의 복원 때문에 대사를 위한 적응기간도 기아시간에 비례하여 길어진다. 그러나 기아상태에 돌입하기 전의 두 가지 상태인 적응기와 대수기의 미생물 세포를 비교해 보면 기질 2-HP에 대한 미생물의 대수기 세포는 14일 동안의 기아시간이 지난 후에도 적응기 세포에 비해 기질에 대한 대사 반응을 높게 나타내고 있다. 따라서 토양 내에서 미생물이 처할 기아상태를 고려해 볼 때, 미생물을 오염지역에 투여하기 전에 미리 목표 오염물질에 대한 효소 체계를 형성시켜 사용하는 것이 오염 물질의 분해 효과를 높이는 데 바람직하게 생각된다. 또한 기아상태를 통하여 미생물의 크기가 작아지면 매우 협소한 부분까지 침투하여 오염물질을 분해할 수 있을 뿐만 아니라 미생물의 단위 부피당 개체수의 크기가 더 커지게 되므로 오염물질과 접하게되는 표면적이 증가하게되어 분해효과를 높일 수 있으므로 기아상태의 미생물 생리변

화에 대하여 더욱 깊은 연구가 필요하다고 본다.

부식산은 토양 부식질을 이루고 있는 유기성분으로 매우 복잡한 중합체의 구조로 되어 있으며^{21,22)} 본 연구의 결과를 통하여 볼 때 이 유기물질은 *A. crystallopoietes*의 영양소로 쓰이지 않았으며 기아상태에 있는 미생물에 대하여는 2-HP monooxygenase의 안정성을 높여주고 일정 기간의 기아상태가 지난 후 이 효소체계의 활성을 완전히 잃어버린 미생물 세포에 대하여도 그 대사 반응성을 높게 유지시켜주었다. 부식산이 토양환경에 존재하는 다른 종의 미생물들에 대해서도 같은 특성을 보이는지 확실하지 않으며 그 작용 기작을 밝히기 위해 기아상태의 미생물의 세포막 성분과 기능 변화에 미치는 영향과 유전자 체계에 미치는 영향에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 본다.

감사의 글

본 연구는 공주대학교 과학교육 연구소의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Abdul, A.S., Gibson, T.L., and Rai, D.N. "Use of humic acid solution to remove organic contaminants from hydrogeologic system." *Environ. Sci. Technol.* 24(3), pp328-333(1990).
2. Alexander, M., Biodegradation and Bioremediation, Academic Press, London, pp226-247 (1994).
3. Atlas, R.M., and Bartha, R. " Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophilic fertilizers." *Environ. Sci. Technol.* 7, pp538-541 (1973).
4. Bae, H.C., Cota-Robles, E.H., and Casida, L.E. Jr. "Microflora of soil as viewed by transmission electron microscopy." *Appl. Environ. Microbiol.* 46, pp930-940 (1972).
5. Casida, L.E. Jr. "Microorganisms in unamended soil as observed by various forms of microscopy and staining." *Appl. Microbiol.* 27, pp488-495 (1971).
6. Edgehill, R.U. and Finn, R.K. "Microbial treatment of soil to remove pentachlorophenol." *Appl. Environ. Microbiol.* 45, pp1120-1125 (1983).
7. Ensign, J.C. and Rittenberg, S.C. "A crystalline pigment produced from 2-hydroxypyridine by *Arthrobacter crystallopoietes* n. sp." *Archiv fur Mikrobiologie* 47, pp137-153 (1963)
8. Ensign, J.C. and Wolfe, R.S. "Nutritional control of morphogenesis in *Arthrobacter crystallopoietes*." *J. Bacteriol.* 87(4), pp924-932 (1964).
9. Focht, D.D. and Brunner, W. "Kinetics of biphenyl and polychlorinated biphenyl metabolism in soil." *Appl. Environ. Microbiol.* 50, pp1058-1063 (1985).
10. Groat, J.B. and Martin, A. "Synthesis of unique proteins at the onset of carbon starvation in *Escherichia coli*." *J. Ind. Microbiol.* 1, pp69-73 (1986).
11. Jaan, A.J., Dahllof, E., and Kjelleberg, S. "Changes in protein composition of three bacterial isolates from marine waters during short periods of nutrient deprivation." *Appl. Environ. Microbiol.* 52, pp1419-1421 (1986).
12. Jobson, A., McLaughlin, M., Cook, F.D., and Westlake, D.W.S. "Effect of amendments on the microbial utilization of oil applied to soil." *Appl. Microbiol.* 27, pp166-171 (1974).
13. Kolenbrander, P.E. and Weinberger, M. "2-Hydroxypyridine metabolism and pigment

- formation in three *Arthrobacter* species." *J. Bacteriol.* 132(1), pp51-59 (1977).
14. Krulwich, T.A. and Pate, J.L. "Ultrastructural explanation for snapping postfission movements in *Arthrobacter crystallopoietes*." *J. Bacteriol.* 105(1), pp408-412 (1971).
 15. Lindstrom, J.E., Prince, R.C., Clark, J.C., Grossman, M.J., Yeager, T.R., Braddock, J.F., and Brown, E.J. "Microbial populations and hydrocarbon biodegradation potentials in fertilized shoreline sediments affected by the T/V Exxon Valdez oil spill." *Appl. Environ. Microbiol.* 57, pp2514-2522 (1991).
 16. Meganathan, R. and Ensign, J.C. "Stability of enzymes in starving *Arthrobacter crystallopoietes*." *J. Gen. Microbiol.* 94, pp90-96 (1976).
 17. Morita, R.Y. Bioavailability of energy and the starvation state. In S. Kjelleberg(ed.) Starvation in bacteria. Plenum Press, New York. pp1-18 (1993).
 18. Moyer, C.L. and Morita, R.Y. "Effect of growth rate and starvation-survival on cellular DNA, RNA, and protein of a psychrophilic marine bacterium." *Appl. Environ. Microbiol.* 55, pp2710-2716 (1989).
 19. Novitsky, J.A. and Morita R.Y. "Morphological characterization of small cells resulting from nutrient starvation in a psychrophilic marine vibrio." *Appl. Environ. Microbiol.* 32, pp619-622 (1976).
 20. Olivieri, R., Bachin, P., Robertiello, A., Oddo N., Degen, L., and Tonolo, A. "Microbial degradation of oil spills enhanced by slow-release fertilizer." *Appl. Environ. Microbiol.* 31, pp629-634 (1976).
 21. Schintzer, M. Humic substances : Chemistry and reaction. In M. Schnitzer and S.U. Khan(ed.). Soil organic matter, Elsevier Science Publishing Co., New York. pp1-64 (1978).
 22. Stevenson, F.J. Humus Chemistry. John Wiley and Sons, New York, pp443-450 (1982).
 23. Suzuki, M., Hayakawa, T., Shaw J.P., Rekik, M., and Harayama, S. "Primary structure of xylene monooxygenase : similarities to and differences from the alkane hydroxylation system." *J. Bacteriol.* 173, pp1690-1695 (1991).
 24. Torrella, F., and Morita, R.Y. "Microcultural study of bacteria size changes and microcolony and ultramicrocolony formation by heterotrophic bacteria in seawater." *Appl. Environ. Microbiol.* 41, pp518-527 (1981).
 25. Weinberger, M. and Kolenbrander P.E. "Plasmid-determined 2-hydroxypyridine utilization by *Arthrobacter crystallopoietes*." *Can. J. Microbiol.* 25, pp329-333 (1979).
 26. Zylstra, G.J. Molecular analysis of aromatic hydrocarbon degradation. In S.j. Grate (ed.) Molecular environmental biology. CRC Press. Inc. pp83-115 (1994).