

유류 오염 토양으로부터 분리한 디젤 분해 세균 *Pseudomonas* sp. GENECO 1의 분리 및 특성 규명

이종광 · 김무훈 · 박형수*

삼성엔지니어링 기술연구소 경기도 용인시 수지읍 성북리, 449-844

유류 오염 토양으로부터 디젤에 대한 분해능이 있는 균주를 순수분리하였고, 이들 분리 균주의 액체 배양을 통하여 균체 생육과 유화활성이 우수한 균주를 최종적으로 선별하였다. 생리, 생화학적 특성 및 16S rDNA 염기서열 분석을 실시한 결과, *Pseudomonas* sp.로 분류되었으며, *Pseudomonas* sp. GENECO 1으로 명명하였다. Bioscreen C를 이용하여 디젤 분해를 위한 배양 조건을 조사한 결과 최적 배양온도는 30°C, 초기 pH는 7.0로 나타났다. Gas chromatography를 이용한 배양 시간별 잔류 디젤 성분분석 결과 96시간 이내에 1.0%의 디젤을 95% 이상 분해하였다.

Key words □ bioremediation, diesel oil, *Pseudomonas* sp.

전 세계적으로 유류는 중요한 에너지 자원으로서 산업과 가정에서 널리 사용되고 있다. 그러나 많은 양의 원유 또는 정제된 석유 제품들이 생산, 운반, 저장 등의 과정에서 사고 또는 고의적인 방출에 의해서 생태계로 유출되어 커다란 피해를 유발시키고 있다(14, 15). 1946년 ZoBell (19)에 의해 자연계에 매우 다양한 유류 분해 미생물이 분포하고 있다는 사실이 밝혀진 이후 다양한 분리방법(7, 10, 12)이 개발되고 유류 분해 미생물을 확보하게 되어 유류 오염 문제를 미생물학적 측면에서 해결하려는 노력이 계속되어 왔다. 물리·화학적 방법을 이용한 유류 오염 토양의 복원은 경제적 부담과 동시에 2차 오염의 문제를 야기시킬 수 있어 대체방법으로 미생물을 이용한 생물학적 복원기술(bioremediation)의 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 실제적으로 오염현장에 적용되고 있다(2, 3, 6, 11). 일반적으로 유류 오염 토양의 생물학적 복원기술은 영양원(fertilizer) 및 공기를 공급하는 biostimulation 기법과 적응된 탄화수소분해 미생물을 주입하는 bioaugmentation 기법으로 나눌 수 있다(4). 대체적으로 자연생태계는 탄화수소분해 미생물의 다양성을 나타내지만 유류 유입이 없는 경우에는 분해 미생물의 수가 적다(2, 14, 21). 그러나 유류 오염이 발생하게 되면 일반적으로 유류분해 미생물의 수가 증가하게 된다(22). 따라서 유류 오염지역으로부터 분리된 미생물은 오염현장에 가장 잘 적응하여 높은 활성을 나타내며, 2차 오염의 발생을 최소화할 수 있어 유류 오염 토양의 생물학적 처리기술인 bioaugmentation 기법에 유용하게 사용될 수 있다.

본 연구에서는 디젤 저장 탱크의 누출 사고로 오랜 기간 디젤에 오염된 토양의 미생물학적 제어를 위하여 디젤 분해 세균을

오염지역으로부터 직접 분리하였으며, 디젤 분해 세균의 성장 특성과 디젤 분해능에 미치는 환경요인의 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

디젤 분해 균주의 분리

디젤 분해 세균을 분리하기 위하여 디젤 저장 탱크의 누출 사고로 오랜 기간 디젤에 오염된 토양을 토양시료채취기(Geoprobe 540 M)로 채취하여 시료로 사용하였다.

채취된 시료로부터 디젤 분해 세균의 분리는 Baruah 등(7)의 방법을 변형하여 사용하였다. 디젤 분해 평판배지(Bushnell-Haas Broth 3.27 g/l, yeast extract 0.1 g/l, 0.25% Tween 80, 1% diesel oil, agar 18 g/l)에 시료를 접종하고 30°C에서 5일간 배양한 후 배지에 형성된 집락 중 유화활성 및 디젤 분해율이 가장 우수한 균주를 선별하였다.

형태학적 관찰

분리된 균주는 광학현미경(Olympus BS51TR-3200, Japan) 및 주사전자현미경(FE-SEM, HITACHI-S4500II, Japan)을 이용하여 분리균주의 세부적인 형태와 크기 등을 관찰하였다.

분리균주의 동정

균주의 oxidase, catalase test 및 Gram 염색은 Collins 등(8)의 방법을 사용하였다. 기타 생화학적 검사는 API 20NE test strip (BioMerieux Co., France)을 이용하여 실시하였다.

분리세균의 동정을 위하여 16S rDNA gene 분석을 실시하였다. Genomic DNA는 Sambrook 등(19)의 방법을 이용하여 추출하였고, PCR 증폭의 주형으로 사용하였다. 16S rDNA를 증폭하

*To whom correspondence should be addressed.

Tel: 031-260-6040, Fax: 031-260-6008

E-mail: jacob671.park@samsung.com

기 위하여 forward primer 27F (5'-AGACTTTGATCMTGGCTC AG-3')와 reverse primer 1492R (5'-GGTTACCTTTGTACGAC TT-3')을 각각 oligonucleotide primer로 사용하였다.

PCR 반응은 10×Han Omni PCR buffer (GENENMED, Korea), 10mM deoxynucleoside (TaKaRa, Japan)와 10 pmol primer를 각각 첨가하고, 10 ng template DNA와 2.5 unit Han *Taq* polymerase (GENENMED, Korea)를 첨가하여 최종 PCR 반응물을 50 µl로 제조하여 thermal cycler (GeneAmp PCR System 9700, Perkin-Elmer, Norwalk, USA)로 수행하였다.

첫 번째 반응은 94°C에서 7분 동안 DNA를 변성시킨 후, 94°C에서 1분, 58°C에서 1분, 72°C에서 1분 동안 DNA를 증폭하는 반응을 30회 수행하고, 마지막으로 72°C에서 10분 동안 DNA를 증폭한 후 4°C에서 보관하였다. PCR 증폭산물은 QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 정제하였다. 정제된 16S rDNA는 자동염기서열분석기 MegaBACE 1000 (Amersham Biosciences, USA)을 이용하여 직접 염기서열을 분석하였고 NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST network service를 이용하여 염기서열의 계통분류학적 유연관계를 분석하였다(1). 또한 염기서열은 DNASIS MAX 1.0 (MiraiBio, Japan) program을 이용하여 분석하였고, neighbor-joining method (18)를 이용하여 계통수(phylogenetic tree)를 작성하였다.

환경 요인에 의한 영향

온도, pH, 원유농도와 같은 환경인자가 세균의 성장 및 유화활성화에 미치는 영향을 평가하기 위하여 Bioscreen C (LabSystems Co., Finland)을 이용하였다. 균체를 LB (tryptone 10 g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g/l)배지에 접종하고 30°C, 180 rpm에서 24시간 배양한 후 배양액 1 ml을 Eppendorf tube에 넣어 원심분리 (8,000×g)하였다. D.W.로 2번 세척하여 흡광도(O.D. 600 nm) 1로 조정된 균주를 Bioscreen C에 5% 접종하였다. 배양액은 디젤 분해 최소 배지(yeast extract 0.1 g, NH₄NO₃ 1 g, K₂HPO₄ 1.5 g, NaH₂PO₄ 0.2 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.25 g, MnSO₄ · 4H₂O 0.05 g, CaCl₂ · 2H₂O 0.05 g/l) 380 µl를 사용하였으며, 기질로 디젤을 0.2~1% 사용하였다. 유화활성은 흡광도 0.1을 1 unit로 나타내었다.

잔류 디젤성분 분석

전배양액 2%를 1% 디젤이 첨가된 원유액체 배지에 접종하고 30°C, 180 rpm에서 4일간 배양한 후 분리 균주들의 디젤 분해능을 GC 분석을 통해 비교분석하였다. 시료 처리 방법은 Bartha a와 Dibble (5)의 방법과 같이 분액칼대기에 원유 액체 배양액을 넣은 후 2배의 *n*-hexane을 넣고 잘 혼합하여 유분을 *n*-hexane층에 옮긴 다음, 완전히 층이 분리되도록 정치한 후 *n*-hexane층을 회수한다. 이와 같은 과정을 3회 반복하여 배양액 내의 유분을 완전히 *n*-hexane층으로 옮긴 후, *n*-hexane층을 회수하여 무수황산나트륨 20 g을 채운 화학분석용 여지(Whatman No. 1)에 통과시켜 탈수시켰다. 여액은 진공 건조기를 이용하여 용매를 완전히

제거하고 남은 여액을 분석시료로 사용하였다.

GC는 불꽃 이온화 검출기를 장착한 HP-5890 PlusII (Hewlett Packard, USA)를 사용하였으며, DB-5 GC column (30 m × 0.53 mm, 1.5 µm)을 사용하였다. Carrier gas는 질소를 사용하였고, 유속은 13.1 ml/min로 하였다. Column 온도는 2단계로 나누어 승온하였다. 1단계 승온온도는 50~210°C로 분당 8°C씩 증가하였으며, 2단계 승온온도는 210~270°C를 분당 60°C씩 증가하였고, 마지막으로 270°C에서 5분간 온도를 유지하였다. Injector 및 detector 온도는 250°C로 조정된 후 시료 1 µl를 주입하여 분석하였다.

결과 및 고찰

균주 선별

디젤 분해 평판배지를 이용하여 유류 오염토양으로부터 분리된 50여 균주를 디젤 분해 최소 배지가 포함된 Bioscreen C에서

Table 1. Physiological and biochemical characteristics of the isolate, *Pseudomonas* sp. GENECO 1

Substrates	Reaction/Enzyme	Strain GENECO 1
Gram stain		—
Catalase		+
Oxidase		+
Potassium nitrate	Reduction of nitrate to nitrite	+
Tryptophane	Indole production	—
Glucose	Acidification	—
Arginine	Arginine dihydrolase	+
Urea	Urease	—
Esculin	Hydrolysis(β -glucosidase)	—
Gelatin	Hydrolysis(protease)	—
<i>p</i> -Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside	β -galactosidase	—
Glucose	Glucose assimilation	+
Arabinose	Arabinose assimilation	—
Mannose	Mannose assimilation	—
Mannitol	Mannitol assimilation	—
<i>N</i> -acetyl-glu-cosamine	<i>N</i> -acetyl-glucosamine assimilation	—
Maltose	Maltose assimilation	—
Gluconate	Gluconate assimilation	+
Caproate	Caproate assimilation	+
Adipate	Adipate assimilation	+
Malate	Malate assimilation	+
Citrate	Citrate assimilation	+
Phenylacetate	Phenylacetate assimilation	+

3일간 배양한 후 유화활성(OD 540 nm)이 우수한 5개의 균주를 2차적으로 선별하였다. GC를 이용하여 균주의 디젤 분해능을 확인한 결과 디젤 분해능이 가장 우수한 균주 GENECO 1을 최종적으로 선별하였다.

균주의 동정 및 특성

그람 염색한 분리균주 GENECO 1을 광학현미경 및 전자현미경으로 관찰한 결과 그람음성이며 길이는 약 1.7~2.5 μm , 폭은 약 0.4~0.5 μm 인 간균의 형태를 나타내었다(Fig. 1). 분리균주의 생리 생화학적 특성을 확인하기 위하여 API 20NE kit를 사용하여 검사를 실시하였다(Table 1). Catalase, oxidase, arginine dihydrolase 활성은 양성을 나타내었으며, indole 생산능, urease, β -glucosidase, protease, β -galactosidase 활성은 음성으로 판명되

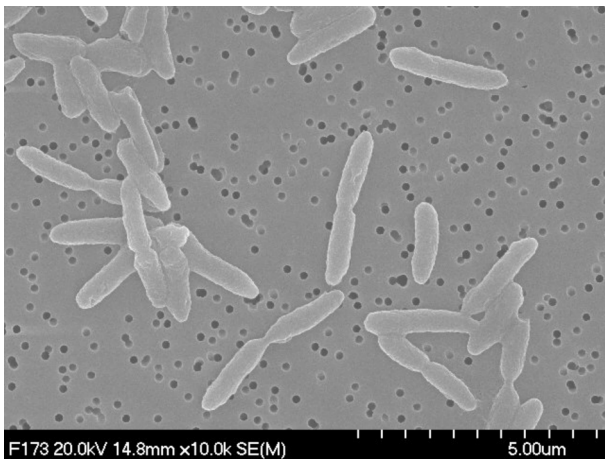


Fig. 1. The SEM image of *Pseudomonas* sp. GENECO1. Bar represents 5 μm .

었다. 탄소원 이용능을 확인한 결과 glucose, gluconate, caproate, adipate, malate, phenylacetate 등은 탄소원으로 이용할 수 있으나 arabinose, mannose, mannitol, *N*-acetyl-glucosamine, maltose 등은 탄소원으로 이용할 수 없었다. 이상의 생리 생화학적 특성을 적용하여 API LAB PLUS software (version 4.0)을 실행한 결과 *Alcaligenes xylooxidans*와 95.8%의 유사도를 나타내었지만, 16S rDNA의 염기서열을 기초로 한 분자계통분석학적 분석에서 분리균주는 *Pseudomonas* 속에 포함된 계통학적 그룹에 속하였으며(Fig. 2), GenBank data base를 이용한 분석 결과에서는 *Pseudomonas* sp. strain 273 (23)과 99%, *Pseudomonas* sp. KIE171-B (9)와 99%의 높은 유사도를 나타내었다. 특히, *Pseudomonas* sp. strain 273과는 API 20NE kit를 사용한 생리 생화학적 검사에서 동일한 특성을 나타내어 분리균주가 *Pseudomonas* 속에 포함된 그룹이라는 것을 재확인하였다. 이러한 결과를 통해 분리균주를 *Pseudomonas* sp. GENECO 1으로 명명하였으며, 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)에 기탁하여, KCCM 10435의 수탁번호를 얻었다.

세균의 성장과 디젤 분해능에 미치는 환경요인 평가

미생물은 서식 환경 및 분해원에 따라서 성장 및 물질 대사에 영향을 받기 때문에 자연계에서 이러한 환경 요인이 유류 분해 과정에 매우 큰 영향을 미친다는 것은 이미 보고된 바 있다(2). 따라서 디젤 분해를 위한 세균 성장의 최적조건을 확인하기 위하여 Bioscreen C를 이용하여 성장의 제한요인으로 작용할 수 있는 온도, pH, 디젤 농도 등의 물리화학적 환경요인을 확인하였다. *Pseudomonas* sp. GENECO 1의 성장에 미치는 온도의 영향을 확인하기 위해 Fig. 3에 나타난 바와 같이 15, 20, 25, 30,

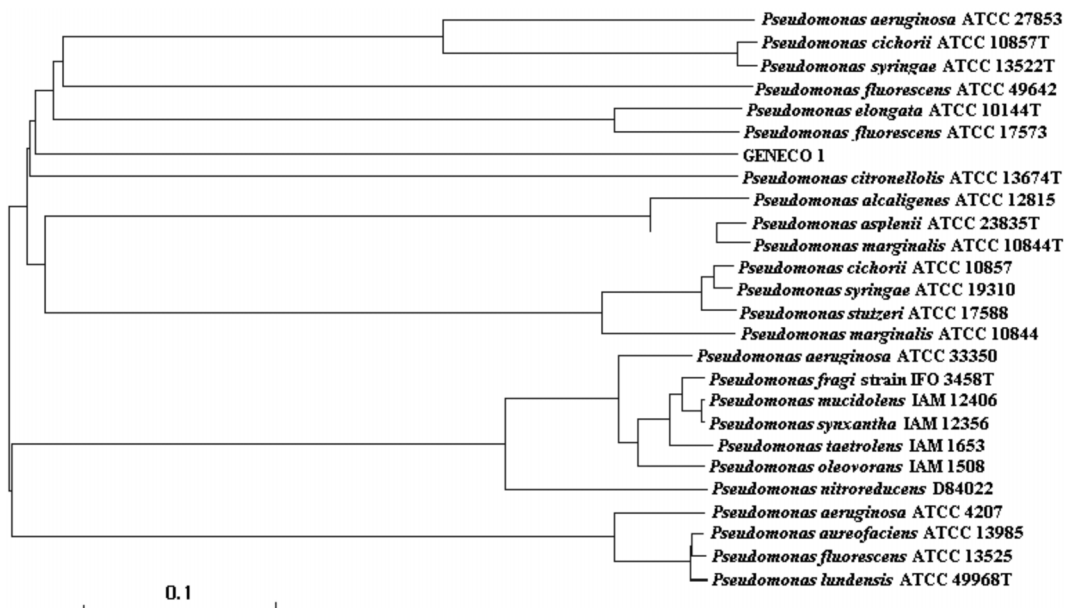


Fig. 2. Phylogenetic tree of *Pseudomonas* sp. GENECO 1 and its closest relatives based on 16S rDNA sequence analysis. The bar represents 0.1 estimated change per nucleotide position.

35°C에서 배양하였다. 그 결과 20~30°C의 온도 범위에서 안정적인 성장을 나타내었으며, 30°C에서 24시간 안에 가장 빠른 안정기(stationary phase)를 나타내었고, 최적의 성장 온도를 나타내었다. 특히 35°C에서는 가장 빠른 사멸기(death phase)를 나타내었으며, 15°C와 함께 가장 낮은 성장능을 나타내었다. 이러한 결과는 API 20NE kit를 사용한 생리 생화학적 검사에서 동일한 특성을 나타내었던 *Pseudomonas* sp. strain 273의 최적 성장 온도가 37°C임(23)을 감안할 때 다소 상이한 결과를 나타내었다. 최

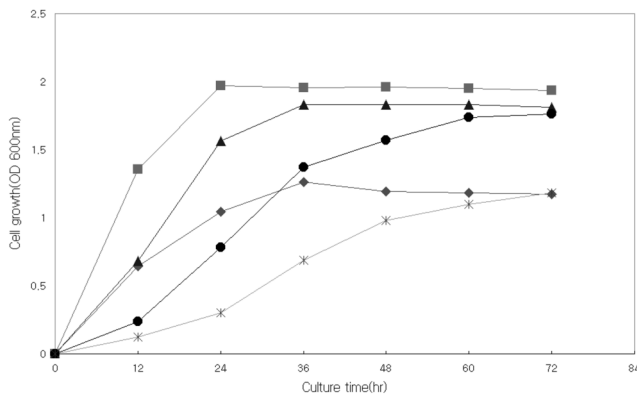


Fig. 3. Effect of incubation temperature on cell growth of strain GENECO 1. ◆, 35°C; ■, 30°C; ▲, 25°C; ●, 20°C; ×, 15°C

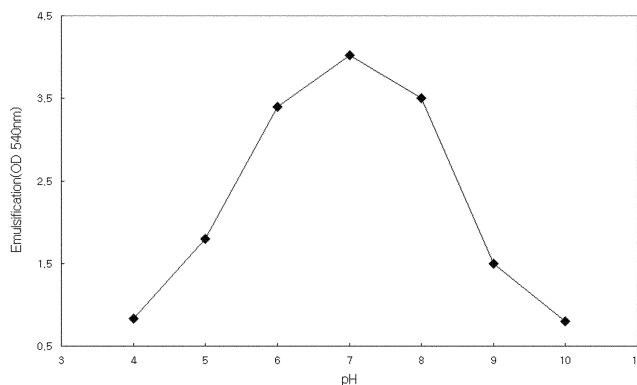


Fig. 4. Effect of pH on the emulsification of diesel oil (1.0%, v/v).

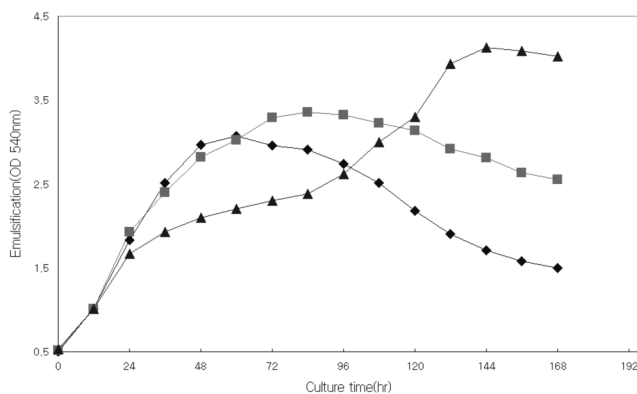


Fig. 5. Effect of diesel oil concentration on the emulsification. ◆, 0.2%; ■, 0.5%; ▲, 1.0%

적의 pH를 확인하기 위하여 디젤 분해 액체배지 초기 pH를 4~10으로 각각 조정 한 후 168시간 배양하여 유화활성을 측정하였다. pH 6~8사이에서 높은 유화활성도를 나타내었으며, pH 7에서 가장 높은 활성을 나타내었다(Fig. 4). 또한 유일 탄소원으로 제공된 디젤의 최적 분해 농도를 확인하기 위하여 디젤 농도를 각각 0.2, 0.5, 1%로 첨가하여 168시간 배양하였다. 그 결과 디젤 농도가 증가함에 따라서 분해농도 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 5). 하지만 적용된 디젤 농도가 낮을수록 분해가 빠르게 나타났다. 디젤 농도 0.2%에서는 60시간에서, 0.5%에서는 84시간에서, 그리고 1%에서는 144시간에서 각각 가장 높은 유화활성도를 나타내었다. 이러한 결과는 디젤 등과 같은 유류 물질이 미생물의 탄소원으로 이용되는 반면 다양한 용해성 독성 성분을 포함하고 있어 미생물의 성장을 저해하는 성질을 가지고 있기 때문에 고농도의 디젤을 분해하기 위한 적응기간이 저농도보다 더 많이 소요되기 때문인 것으로 생각된다. 유류 오염도양으로부터 직접 분리된 *Pseudomonas* sp. GENECO 1 균주의 환경요인에 따른 성장 특성을 감안할 때 다양한 유류 오염도양 환경의 생물학적 복원기법에 적용할 수 있는 미생물 처리제로서의 개발 가능성이 높다고 판단된다.

디젤 분해능

Pseudomonas sp. GENECO 1의 디젤 분해 양상을 확인하기 위하여 GC를 이용한 잔류 디젤 성분분석을 실시하였다. 미생물 첨가한 배지와 첨가하지 않은 대조구를 시간별로 배양한 후 각각의 배지에서 잔류 디젤을 회수하여 디젤 성분별 분해정도를 분석하였다. 디젤 분해균주를 첨가하지 않고 96시간 배양 한 대조구와 비교해 볼 때 균주를 첨가하여 48시간 배양한 후 추출된

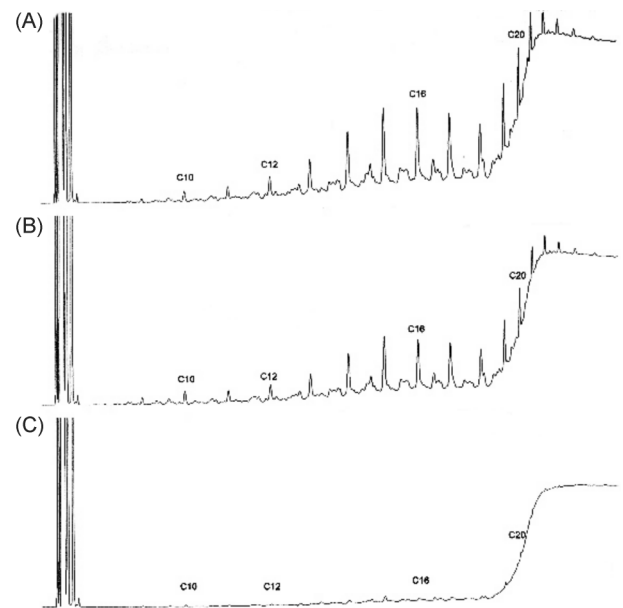


Fig. 6. Gas chromatograms of 1.0%(v/v) treated diesel oil by *Pseudomonas* sp. GENECO 1. (A) Control after shaking for 4 days without bacteria, (B) after growth for 2 days, (C) after growth for 4 days.

잔류 디젤은 탄소수 12 이하의 *n*-alkane peak에서는 변화가 없었으며, 탄소수 12 이상의 *n*-alkane peak가 감소하기 시작하였고, 96시간 배양 후에는 탄소수 12 이하뿐 아니라 12 이상의 모든 탄화수소 화합물이 95% 이상 분해되었다(Fig. 6). 특히, C16 (*n*-hexadecane) 이상의 *n*-alkane peak가 현저히 감소되어 비교적 고분자 탄화수소를 쉽게 이용할 수 있는 것으로 판단된다. Bioscreen C를 이용한 유화활성도 측정 결과와 비교해 볼 때 48시간 이상의 빠른 분해시간이 소요되었는데, 이것은 잔류디젤 성분 분석을 위한 배양조건에 진탕배양의 효과가 반영되었기 때문인 것으로 생각된다.

현재까지 다양한 *Pseudomonas* 속의 미생물들이 유류물질을 포함한 난분해성 물질 대사에 관여한다는 사실이 이미 보고된 바 있다(9, 13, 17, 23). 본 실험에서 사용한 *Pseudomonas* sp. GENECO 1 균주와 생리 생화학적 특성과 16S rDNA의 염기서열이 유사한 *Pseudomonas* sp. strain 273, *Pseudomonas* sp. KIE171-B 균주의 1, 10-dichlorodecane (1, 10-DCD), isopropylamine 등과 같은 난분해성 물질의 분해능을 고려할 때 *Pseudomonas* sp. GENECO 1 균주의 난분해성 물질의 분해능을 확인하기 위한 실험이 진행되어야 하며, 동시에 균주 특성 규명을 위하여 유류 분해 유전자, biosurfactant의 생산 유무, 탄화수소 분해 기작에 관련된 물질 대사 규명 등과 같은 분자생물학적 생화학적 실험이 진행되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 말

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업에 의해 수행되었음.

참고문헌

- Altschul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schafer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller, and D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25, 3389-3402.
- Atlas, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 180-209.
- Atlas, R.M. and R. Bartha. 1992. Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. *Adv. Microb. Ecol.* 12, 287-338.
- Balba, M.T., N. Al-Awadi, and R. Al-Daher. 1998. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assessment and field evaluation. *J. Microbiol. Methods* 32, 165-178.
- Bartha, R. and J.T. Dibble. 1976. The effect of iron on the biodegradation of petroleum in sea water. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 544-550.
- Bartha, R. and R.M. Atlas. 1977. The microbiology of aquatic oil spills. *Adv. Appl. Microbiol.* 22, 225-266.
- Baruah, J.N., Y. Alroy, and R.I. Mateles. 1967. Incorporation of liquid hydrocarbons into agar media. *Appl. Microbiol.* 15, 961.
- Collins, C.H., P.M. Lyne, and J.M. Grange. 1995. Collins and Lyne's Microbiological Methods, 7th ed. Butterworth-Heinemann Ltd. Oxford, U.K.
- de Azevedo Wasch, S.I., J.R. van der Ploeg, T. Maire, A. Lebreton, A. Kiener, and T. Leisinger. 2002. Transformation of isopropylamine to L-alaninol by *Pseudomonas* sp. Strain KIE171 involves *N*-glutamylated intermediates. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2368-2375.
- Alley, J.F. and L.R. Brown. 2000. Use of sublimation to prepare solid microbial media with water-insoluble substrates. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 439-442.
- Kim, M.H. 1995. Microbial characterization for the assessment of the bioremediation potential on MGP soils. *J. Korea Solid Waste Eng. Soc.* 2, 223-230.
- Kiyohara, H., K. Nagao, and K. Yana. 1982. Rapid screen for bacteria degrading water-insoluble, solid hydrocarbons on agar plates. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 454-457.
- McClay, K., S.H. Streger, and R.J. Steffan. 1995. Induction of toluene oxidation activity in *Pseudomonas mendocina* KR1 and *Pseudomonas* sp. strain ENVPC5 by chlorinated solvents and alkanes. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3479-3481.
- McGill, W.B., M.J. Rowell, and D.W.S. Westlake. 1981. Biochemistry, ecology, and microbiology of petroleum compounds in soil, p. 229-296. In E.A. Paul and J.N. Ladd, Soil biochemistry, Vol.4, Dekker, New York.
- Moriarty, F. 1988. Ecotoxicology: the study of pollutants in ecosystems, 2nd ed. Academic Press, London.
- Olivieri, R.P., A. Bacchin, N. Robertiello, L.O. Degen, and A. Tonolo. 1976. Microbial degradation of oil spills enhanced by a slow-release fertilizer. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 629-634.
- Radehaus, P.M. and S.K. Schmidt. 1992. Characterization of a novel *Pseudomonas* sp. that mineralizes high concentrations of pentachlorophenol. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2879-2885.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4, 406-425.
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor.
- ZoBell, C.E. 1946. Action of microorganisms on hydrocarbons. *Bacteriol. Rev.* 10, 1-49.
- ZoBell, C.E. 1969. Microbial modification of oil in the sea, p. 317-326. Proceedings of the joint conferences on prevention and control of oil spills. American Institute of Petroleum, Washington, D.C.
- Walker, J.D., R.R. Colwell, and L. Petrakis. 1976. Biodegradation rates of components of petroleum. *Can. J. Microbiol.* 22, 1209-1213.
- Wischnak, C., F.E. Löffler, J. Li, J.W. Urbance, and R. Müller. 1998. *Pseudomonas* sp. Strain 273, an aerobic α,ω -dichloroalkane degrading bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3507-3511.

(Received February 6, 2003/Accepted May 19, 2003)

ABSTRACT : Isolation and Characterization of Diesel Oil Degrading Bacterium, *Pseudomonas* sp. GENECO 1 Isolated from Oil Contaminated Soil

Jong-Kwang Lee, Moo-Hoon Kim, and Hyung-Soo Park* (Samsung Engineering, R&D Center, Yongin 449-844, Korea)

With the enrichment culture technique, bacterial strains which degrade diesel oil were isolated from soil contaminated with diesel oil. One of the isolates named GENECO 1 showed the highest activity for emulsification of diesel oil as well as the highest growth rate. This strain, GENECO 1, was identified as a *Pseudomonas* sp. based on its biochemical, physiological characteristics and 16S rDNA sequences. The optimal cultural conditions for cell growth and oil emulsifying activity of its culture were as follow; 30°C for temperature, 7.0 for pH. Diesel oil degradation was analysed by the gas chromatography. More than 95% of 1% treated diesel oil were converted into a form no longer extractable by mixed organic solvents after 96 hours incubation.