

아조계 염료 분해능이 우수한 토양 방선균의 분리 및 특성연구

강민진*, 김응수

한국의국어대학교 자연과학대학 환경학과

요약문

본 연구의 목적은 산업활동에 많이 이용되고 환경학적으로 난분해성으로 알려졌으며, 특히 일반적인 미생물에 의한 생분해가 용이하지 않은 대표적인 방향족 화합물인 아조염료의 생분해능이 우수한 방선균을 토양에서 분리하여 그 분해특성을 연구하는데 있다. 본 연구실에서는 용인지역에서 무작위로 채취한 토양에서 방선균들을 분리하고, 이들중 아조계 화합물의 생분해능이 우수한 토양방선균 AD001을 대표적인 아조계화합물인 congored를 model compound로 이용하여 분리해 내었다. 방선균 AD001은 congored가 포함된 agar배지에서 congored를 아주 우수하게 decolorization 시킴이 관찰되었다. 이미 아조염료를 우수하게 분해한다고 알려져 있는 *Streptomyces viridosporus* T7A와 비교 실험을 수행한 결과, *S. viridosporus*는 cellulose를 탄소원으로 사용할 때 확실한 congored의 decolorization을 보인 반면 AD001의 경우 sucrose를 탄소원으로 사용할 때 더욱 뚜렷한 congored의 decolorization 현상이 관찰되었다. 또한 이런 분해특성의 특이성을 관찰하기 위해 구조적으로 상이한 new fuchsin으로 실험한 결과, 염료의 농도를 0.005% 주었을 때 *S. viridosporus*는 성장을 하지 못한 반면 AD001의 경우 배지에 포함된 new fuchsin을 확실하게 decolorization 시킴도 관찰할 수 있었다. 이러한 실험결과는 토양 방선균 AD001이 환경학적으로 아주 유용하게 이용될 수 있음을 제시하고 있다.

I. 서론

인구의 폭발적 증가와 급속한 산업 발달 및 상업구조의 다양화에 의한 환경오염이 날로 심각해지고 있으며, 그 중 폐수의 발생량이 급속도로 증가하고 있을 뿐만 아니라 그 발생물질의 성분이 다양화되는 문제가 초래되었다. 이중 염색공업에 의해서 염색폐수가 하천 및 토양으로 흘러 들어가고, 생물학적으로 난분해성 물질의 농도가 높아져 폐수의 수질은 날로 악화되고 토양의 오염도 심각한 실정이다. 일반적인 염색 폐수처리는 물리·화학적 처리, 생물학적 처리 등이 적용되고 있긴 하지만 폐수내 생물학적으로 분해가 어려운 유기물이 많이 함유되어 있어서 그 처리에 어려움을 겪고 있는 실정이다. 이렇게 문제가 되고 있는 염

색공장이나 섬유 공장폐수에 포함되어 있는 염료는 빛과 세탁에 안정된 화합물질이므로 미생물에 의한 분해가 어렵다. 따라서 이들 염료는 종래의 생물학적 폐수처리시스템에 의해 쉽게 분해되거나 제거되지 않는다. 더욱이 염색공장 및 섬유공장폐수에는 염료 외에 보조약품, 계면활성제등이 포함되어 있어 더욱 처리를 어렵게 하고 있다 (1).

II 연구배경

본 연구에 사용된 아조염료는 직물염색, 음식물 및 화장품첨가제, 실험용 염색시약등으로 광범위하게 사용되는 물질로써, 자연에 존재하는 일반적인 미생물에 의해 쉽게 분해되지 않는 대표적인 난분해성 방향족 화합물이다. 비록 아조염료의 분해에 관한 연구는 white rot fungus인 *Phanerochaete chrysosporium*에서 활발히 진행되고 있으나 (2), 이를 제외한 다른 토양 미생물에서의 연구는 매우 미미한 실정이다. 따라서 본 연구는 이런 대표적인 방향족 화합물인 아조염료를 우수하게 분해하는 대표적인 토양미생물인 방선균을 토양에서 분리하여 그 분해특성을 연구하는 것이다. 방선균은 자연의 여러 다양한 환경에 존재하는 그람 양성 박테리아로서 필라멘트 형태를 띤 대표적인 토양 미생물이다 (3). 방선균은 일반적인 토양에서 분리할 수 있는 미생물의 약 20% 까지를 차지하며, 토양에서 나는 독특한 흙냄새도 방선균이 생성하는 geosmin이라는 휘발성 물질 때문이다 (4). 이러한 방선균은 오래 전부터 미생물을 연구하는 학자들에게 매력적인 연구대상이 되어왔는데 그 가장 큰 이유가 다른 일반 미생물과는 달리 독특한 발생학적 성장주기를 갖고 있으며 이에 따른 형태적 변형을 한다는 것이다. 특히 이런 형태적 변형을 하면서 산업적으로나 의학적으로 유용한 항생제와 같은 2차부산물을 생성하기도 한다 (6). 또한 방선균은 자연에 존재하는 여러 난분해성 방향족 화합물을 포함한 다양한 물질들을 분해하는 탁월한 능력을 가지고 있기 때문에 환경학적으로 매우 유용한 토양 미생물로 인식되어 왔다 (5). 따라서 현재까지 이런 방향족 화합물의 생분해에 관여하는 유용 방선균의 분리 및 그 특성연구가 국외에서는 꾸준히 진행되고 있는 실정이다 (7, 8, 9, 10, 11).

III 연구방법

토양 방선균이 여러 다양한 구조의 난분해성 방향족 화합물의 우수한 분해능을 갖는다는 특성을 이용하여 본 연구실에서는 대표적인 아조계 화합물인 congored를 model compound로 사용하여 아조계 화합물의 생분해능이 우수한 토양방선균을 분리하였다. 용인 지역에서 무작위로 채취한 토양에서 분리한 27가지의 방선균들을 직접 congored가 포함된 agar 배지에서 배양하여 congored의 decolorization을 확인하는 방법으로 분해능이 가장 우수한 방선균을 분리하여 AD001이라 명명 하였다.

IV 결과 및 고찰

Congored를 분해할 수 없는 *Streptomyces lividans*와는 달리, 본 연구실에서 분리한 *Streptomyces* AD001의 주변에서만 congored의 decolorization 현상이 관찰되었으며 이와 같은 결과는 AD001이 특정효소를 세포 밖으로 분비하여 congored를 decolorization시킨다고

예측되어 진다. 이러한 아조 염료의 생분해 기작은 박테리아에서는 처음으로 미국의 Don Crawford 교수가 분리한 *Streptomyces viridosporus* T7A가 갖고 있는 lignin peroxidase로 추정되는 효소에 의해 진행되어 진다고 밝혀져 있다 (12). 이러한 사실을 토대로 본 연구실에서는 *S. viridosporus*와 AD001을 가지고 비교 실험을 수행하였다. *S. viridosporus*의 경우 cellulose를 탄소원으로 이용할 경우 congored를 decolorization시킨다고 보고 되었다(13). 본 실험에서는 *S. viridosporus*와 AD001을 각각 서로 다른 3가지의 탄소원 즉, sucrose, glucose 그리고 cellulose를 주고 congored를 함유한 agar배지에서 배양하였다. 표 1은 3가지의 서로 다른 탄소원을 주었을때의 AD001과 *S. viridosporus*와의 congored의 decolorization의 정도를 비교한 실험결과이다.

표1에서 보듯이, *S. viridosporus*와는 달리 AD001의 경우 sucrose를 탄소원으로 주었을 때 *S. viridosporus*보다 더 확연한 congored의 decolorization 현상을 보였다. 이런 실험결과를 토대로 AD001과 *S. viridosporus*와의 좀 더 확실한 분해능 비교를 위해 congored와 구조적으로 상이한 염료 new fuchsin을 사용하여 실험을 수행하였다. New fuchsin을 model compound로, glucose와 sucrose를 탄소원으로 각각 사용하여 AD001과 *S. viridosporus*를 배양하였다. 그 결과 new fuchsin의 농도가 0.02%와 0.01%인 배지에서 배양하였을때 AD001과 *S. viridosporus* 모두 성장 하지 못하였다. 그러나 new fuchsin의 농도를 0.005%와 0.002%로 낮추어 실험을 수행한 결과 *S. viridosporus*는 여전히 성장을 못했으나, AD001은 방선균의 형태적 변이를 포함한 정상적인 성장을 하며 new fuchsin을 decolorization 시킴이 관찰되었다. 따라서 본 연구실에서 분리한 방선균 AD001은 *S. viridosporus* 보다 아조계화합물 생분해능이 우수하거나, 혹은 이와는 전혀 분해기작이 다른 새로운 extracellular 효소를 갖고 있으리라 추정된다. 현재까지 이러한 연

탄소원 \ 균의 종류	AD 001	<i>S.viridosporus</i> T7A
glucose	10일이 지난후 희미한 decolorization이 관찰됨	10일이 지났을 때 희미한 decolorization이 관찰됨.
cellulose	8일 후부터 decolorization이 관찰됨.	AD001과는 달리 decolorization이 확연히 관찰되지 않음.
sucrose	7일부터 decolorization 시작. 2주 후를 비교했을 때 <i>S.viridosporus</i> 보다 확실한 decolorization이 관찰됨.	AD001보다는 빠른 성장을 보이며 6일후 부터 decolorization이 관찰됨. 2주후 AD001보다는 약한 decolorization이 관찰됨.

< 표 1 > 3가지 탄소원에 따른 congored-decolorization의 비교

구결과를 살펴볼 때 앞으로 토양에서 보다 많은 그리고 우수한 방선균을 분리할 수 있으리라 생각되어 진다. AD001의 경우 일반적인 토양에 분리되어진 방선균의 일종이다. 따라서 특정한 유해물질이나 독성물질로 오염된 지역의 토양에서 방선균을 분리한다면 아마도 더욱 뛰어난 생분해 능력을 가진 우수한 균의 분리가 가능하리라 예측된다.

V 참고문헌

1. 김 동희, (1995). “백색부후균을 이용한 염색폐수처리”, 전남대 석사 학위논문
2. Ramachandra, M., Crawford, D., and Herter, G. 1988. Characterization of an extracellular lignin peroxidase of the lignocellulolytic actinomycete *Streptomyces viridosporus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54:3057-3063.
3. Stainer, R. Y., Ingraham, J. L., Wheelis, M. L. and Painter, P. R. 1986. In the microbial world. Ch24. pp506-519
4. Dorkin, M. 1985. In Developmental biology of the bacteria. Ch3. pp22-49.
5. Crawford, Don. 1988. Biodegradation of agricultural and urban wastes. *Actinomycetes* in biotechnology. Academic press. London.
6. Hopwood, D. A. 1988. Towards an understanding of gene switching in *Streptomyces*, the basis of sporulation and antibiotic production. *Proc. R. Soc. Lond. ser. B235* : 121-138.
7. Kumar, S., Mukerji, K. G., and Lal, R. Molecular aspects of pesticide degradation by microorganisms. *Critical reviews in microbiology.* 22: 1-26.
8. Li, X. and Gao, P. 1996. Isolation and partial characterization of cellulose-degrading strain of *Streptomyces* sp. LX from soil. *Lett. Appl. Microbiol.* 22: 209-213.
9. Shelton, D. R., Khader, S., Karns, J. S. and Pogell, B. M. 1996. Metabolism of twelve herbicides by *Streptomyces*. *Biodegradation.* 7: 129-136.
10. Yee D. C. and Wood, T. K. 1997. 2,4-dichlorophenol degradation using *Streptomyces viridosporus* T7A lignin peroxidase. *Biotechnol. Prog.* 13: 53-59.
11. Zaborina, O., Latus, M., Eberspacher, J., Golovleva, L. A. ,and Lings, F. 1995. Purification and characterization of 6-chlorohydroxyquinol 1,2-dioxygenase from *Streptomyces rochei* 303: Comparison with an analogous enzyme from *Azotobacter* sp. strain GP1. *J. Bacteriol.* 177: 229-234.
12. Crawford, D., Doyle, J., Wang, Z., Hendricks, C., Bentjen, S., Bolton, H., Fredricson,

J., and

Bleakley, B. 1993. Effects of a lignin peroxidase-expressing recombinant *Streptomyces lividans* TK23.1, on biogeochemical cycling and the numbers and activities of microorganisms

in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 508-518.

13. Gurujeyalakshmi, G. and Oriel, P. 1988. Isolation of phenol-degrading *Bacillus stearothermophilus* and partial characterization of the phenol hydroxylase. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 500-502.