

김민주^{*}, 이희숙, 차미선, 손홍주¹, 이건, 이상준
 부산대학교 미생물학과, ¹밀양대학교 생물공학과

1. 서론

주요 에너지원으로 가장 널리 사용되고 있는 유류는 다량의 수요에 따른 생산, 운반, 저장 및 사용과정 중 유출되어 대기 및 토양, 그리고 해양의 심각한 오염물질로 대두되고 있다¹⁾. 현행의 유류오염에 대한 방제기법은 2차 오염물질의 생성 등 문제점이 많이 발생하고 있다. 이러한 유류오염에 있어서 가장 이상적인 방법은 미생물을 이용한 유류의 미생물학적 분해로 많은 연구가 진행되어 왔다^{2~4)}.

현재 사용되고 있는 계면활성제의 대부분은 석유화학공업을 이용하거나 일부는 동·식물의 지질을 이용하여 화학적 합성으로 생산되어 왔다⁵⁾. 그러나 이러한 화학합성 계면활성제는 제조 과정이 복잡하고 자연 생태계에 미치는 독성이 매우 강할 뿐만아니라 난분해성이거나 생물학적 분해가 가능한 물질이라도 대사 중간 산물이 더욱 독성을 야기하고, 대개의 폐수 처리공정이나 상수 처리공정에서도 제거가 되지 않아 심각한 환경오염 문제를 야기하고 있다⁶⁾. 이에 따라 계면활성제 산업에서는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 대체 계면활성제, 환경과 조화를 이루는 계면활성제, 특히 미생물이 생산하는 환경 친화적인 생물 계면활성제의 개발이 필요하게 되었다.

그래서 현재 값비싼 생산단가로 인해 잘 이용되지 못하고 있는 생물계면활성제의 단점을 보완하기 위해서 값싼 재생기질을 이용하여 고성능 유류 분해 균주를 분리하고 생육도를 측정한 후 탄소원에 따른 생육도와 유화활성, 유화활성에 미치는 온도, pH, 염의 영향을 비교하고자 한다.

2. 재료 및 실험 방법

값싼 재생기질을 이용하여 고성능 유화제 생산균주를 분리하기 위해서 우선 폐식용유, 폐윤활유, 폐당밀 및 주정폐액 등과 같은 환경 오염물질을 유화제 생산기질로 선택하여 활성슬러지로부터 고성능 유류 분해 균주를 분리하였다^{7~12)}. 유화제 생산 균주 분리용 배지에 탄소원으로 값싼 재생기질을 첨가하여 활성슬러지로부터 screening을 실시하였다.

유화제 생산 균주만을 분리하기 위해 250ml 삼각 flask에 50ml씩 배지를 분주하고 활성슬러지와 탄소원을 각각 1%씩 접종하여 30℃ rotary shaker에서 농화배양을 실시하였으며, 농화배양이 끝난 배양액 중 1ml을 멸균한 증류수로 희석하여서 Nutrient Agar plate에 도말하였다. 도말한 plate를 30℃ incubater에서 24시간 배양한 후 각각의 단일 colony를 따서 순수 배양하였다.

이렇게 분리된 각각의 균들의 유화활성을 측정하여 우수한 유화활성능을 가지는 균을 선별하여 공시 균주로 선정하였는데, 유화활성은 Girigliano's methods를 사용하여 측정하였다¹³⁾.

공시 균주로 선정된 균의 분류학적 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양학적, 생화학적 제반특성과 배양학적 조건도 조사하였다.

3.결과 및 고찰

하수처리장의 활성슬러지를 시료로 각각의 기질에 따라 농화배양을 실시하였다.

농화배양을 실시한 결과 유화능을 가지고 있는 균주가 폐윤활유에서는 146균주, 주정 폐액은 64균주, 폐식용유는 239균주, 폐당밀에서는 261균주가 분리 되었다. 그 중 유화능이 가장 우수한 균주는 폐식용유에서 분리한 균주였다.

따라서, 유화능이 가장 높은 식용유로부터 분리한 균주를 공시 균주로 선정하고 다음 실험을 실시 하였다.

Strain	carbon source (sbstrate)	emulsifying activity (O.D 540nm)
Em1	acidification soybean oil	1.507
Em2	molasses	0.611
Em3	waste lubricating oil	0.471
Em4	distillery waste	0.348-

table.1 Emulsifying activity of strains in each substrates

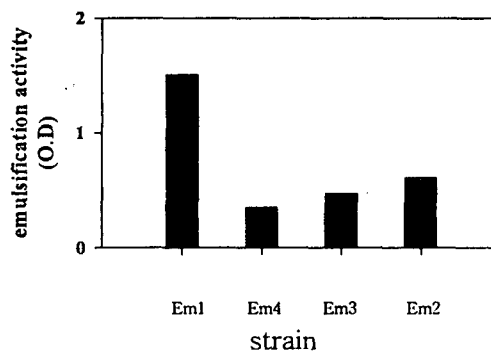


figure.1 Emulsifying activity of strains

4.요약

미생물로부터 생산되는 계면활성제가 합성 계면활성제를 대체 하기 위한 가격결정 요인은 원료, 분리비용, 수율이다. 이중 원료가격은 계면활성제 생산 전체비용의 40-50%를 차지하기 때문에, 값싼 원료를 사용하는 것은 생산가격을 낮추는 최우선의 과제이다.

따라서 생물 계면활성제의 대량생산을 위하여 값싼 재생기질들로부터 생물 계면활성제를 생산하는 고성능 유류제어 미생물을 분리하였다. 분리균주중 유화능이 가장 우수한 균주인 식용유 유래의 균주를 공시균주로 선발하고, 그 균주에대한 분류 동정과 배양조건을 검토하였다.

참고문헌

- Joseph G. Leahy and Rita R. Cowell, 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment, *Microbiological reviews*, 52, 3, 112
- Gutnick, D.L. and E. Rosenberg, 1977, Oil tankers and pollution : a Microbiological approach, *Ann. Rev. Microbiol.*, 31, 379-396.
- Jobson, A., F. D. Cook and D. W. S. Westlake, 1972, Microbial utilization of crude oil, *Appl. Microbiol.*, 23, 1082-1089.
- Cooper, D. G., and Zajic, J. E., and Gerson, D. F., 1979, Production of surface-active lipids by *Corynebacterium lepus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 37, 4-10.
- Kosaric, N., N. C. C. Gray, and W. L. Cairns, 1987, Biotechnology and surfactant Industry, *Biosurfactant and Biotechnology*, 1-45.
- Armin Fiechter, 1992, Biosurfactants : Moving towards industrial application, *Tibtech. Rew.*, 10, 208-217.
- P. Sudhakar Babu Asha Juwarkar, Rajeshkapur, and P. Khanna, Production of Microbial surfactant from industrial wastes.
- Qing-Hua Zhou and Naim Kosaric, 1995, Utilization of canola oil and lactose to produce biosurfactant with *Candida bombicola*, *JAOCS*, 72, 1.
- P. Sudhakar Babu, A. N. Vaidya, A. S. BAL, and P. Khanna, 1996, *Biotechnology Letters*, 18, 3, 263-268.
- M. E. Mercade and M. A. Manresa, 1994, The use of Agroindustrial by-products for biosurfactant production, *JAOCS*, 71, 1.
- R. M. Patel and A. J. Desai, 1997, Biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* GS 3 from molasses, *Letters in Applied Microbiology*, 25, 91-94.
- Dai Kitamoto, Kazuaki Haneishi, Tadaatsu Nakahara and Takeshi Tabachi, 1990, Production of mannosyl erythritol lipids by *Candida antarctica* from vegetable oils, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1, 37-40.
- Cirigliano, M. C. and G. M. Carman, 1985, Purification and characterization of liposan a bioemulsifier from *Candida lipolytica*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 50, 4, 846-850.