

환경일반-P2 The development of high functioning biosurfactant treated with various mutagenesis

이근희*, 차미선, 한창민, 조순자, 손홍주¹, 박연규², 이상준
부산대학교 미생물학과, 밀양대학교 ¹생물공학과, ²환경공학과

1. 서론

계면활성제는 양친매성 즉 친수성과 친유성 부분으로 되어있으며, 서로 섞이지 않는 평형상사이의 계면에서 활성을 나타내는 물질이다. 계면 활성제 중에서 화학적으로 합성된 계면활성제는 종류도 많고 응용 할 수 있는 범위도 넓고 다양하다. 그러나 화학합성 계면활성제는 제조 과정이 복잡하고 자연 생태계에 미치는 독성이 매우 강할 뿐 아니라 난분해성 이거나 생물학적 분해가 가능하여도 대사 중간 산물이 더욱 독성을 야기해 심각한 환경오염 문제를 나타내고 있다. 계면활성제 산업에서는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 대체 계면활성제, 환경과 조화를 이루는 계면활성제, 특히 미생물 유래의 생물계면활성제의 개발이 필요로 하게 되었다. 이러한 생물 계면활성제는 이들이 생산되는 최적조건이 균주의 종류, 사용 기질의 농도와 여러 가지 영양분, 배양조건 등에 따라 각기 다르기 때문에, 합성계면활성제에 비해 종류와 성질이 다양하여 특수용도에 맞는 여러 산업적 용도로 활용할 수 있다.¹⁾

따라서 본 연구에서는 이러한 목적에 부합하는 균주의 선별을 위해 폐기질을 이용하여 먼저 생물계면활성제를 생산하는 균주를 자연계로부터 분리하고, 이 균주에 여러 가지 변이원을 처리하여 유전적 변형을 통한 고기능성 생물계면활성제를 생산하는 새로운 균주의 개발을 시도하였다.

2. 재료 및 실험 방법

토양과 하수 및 슬러지를 시료로 하여 무기염배지 (Carbon source 2%, NaNO₃ 0.1%, K₂HPO₄ 0.03%, KH₂PO₄ 0.001%, MgSO₄ · 7H₂O 0.03%, CaCl₂ · 2H₂O 0.01%, Yeast extract 0.02%, Tryptone 0.02%, pH 7.0, Carbon source : 산패유, 폐당밀, 폐윤활유, 주정폐액)에 접종한 후, 유화활성을 측정하고, 이중 폐식용유를 기질로 하여 유화활성이 가장 우수한 *Pseudomonas aeruginosa* EL-MS 균주를 공시균으로 선정하였다.

이 균주를 이용하여 Tryptic soy broth에서 30°C 대수증식기 초기까지 배양하여 MNNG(N-Methyl-N-Nitro- Nitrosoguanidine), EMS(Ethyl methanesulfonate), UV radiation으로 random mutation²⁾을 유도한 후 37°C water bath에서 250~300rpm으로 20분 배양하였다. 배양 후 상등액을 colded Tryptic soy broth에 희석한 후 원심분리 하여 pellet을 모아 Tryptic soy broth 50ml에 희석하여 30°C overnight 배양하여서, 현탁액

을 cetyltrimethylammonium bromide-methylene blue agar plate에서 dark blue halo를 형성하는 colony를 대상으로 실험을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

MNNG(N-Methyl-N-Nitro- Nitrosoguanidine), EMS(Ethyl methanesulfonate), UV radiation 처리 후 원래 균주와 비교하여 cetyltrimethylammonium bromide-methylene blue agar plate에서 dark holo 형성하는 colony를 대상으로 유화 활성과 표면장력을 측정하여 가장 높은 유화활성을 가지고 낮은 표면 장력을 가진 균주를 선별하였다.

Fig. Cetyltrimethylammonium bromide-methylene blue agar plate selected dark holo colony

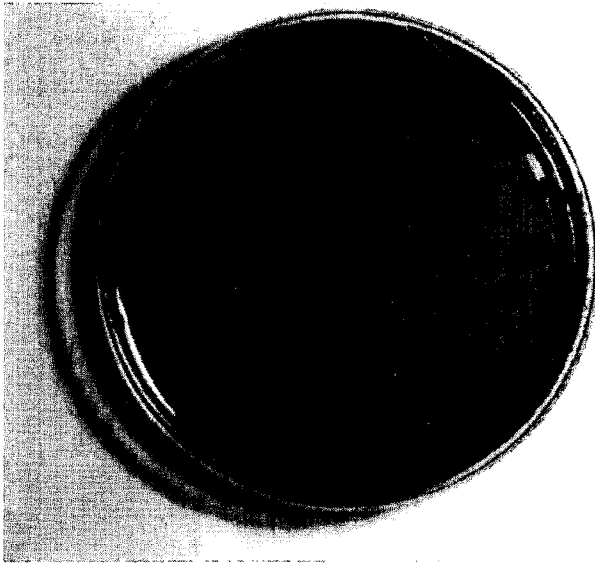


Table. Emulsifying activity of various mutagenesis

	EMS	MNNG	UV 254 lux	UV 365 lux			
1	0.283	35	0.553	69	0.262	103	0.780
2	0.285	36	0.514	70	0.383	104	0.591
3	0.353	37	0.942	71	0.375	105	0.568
4	0.208	38	1.950	72	0.282	106	0.456
5	0.755	39	0.586	73	0.450	107	1.271
6	0.191	40	0.771	74	0.635	108	0.912
7	1.136	41	0.442	75	0.646	109	1.664
8	0.260	42	0.584	76	1.930	110	1.368
9	0.149	43	0.423	77	0.265	111	0.932
10	0.395	44	0.737	78	0.637	112	0.864
11	0.154	45	0.835	79	0.251	113	0.570
12	0.189	46	0.383	80	0.259	114	0.860
13	0.154	47	0.289	81	0.452	115	0.821
14	0.702	48	0.742	82	0.695	116	0.321
15	0.528	49	1.106	83	0.786	117	0.445
16	0.131	50	0.231	84	0.856	118	0.642
17	0.229	51	0.571	85	0.632	119	0.463
18	0.226	52	0.510	86	0.369	120	0.656
19	0.339	53	0.265	87	0.562	121	0.720
20	0.379	54	0.854	88	0.521	122	0.952
21	0.200	55	0.635	89	0.563	123	0.241
22	0.276	56	0.894	90	0.758	124	0.285
23	0.244	57	0.742	91	0.652	125	0.293
24	0.368	58	0.561	92	0.563	126	0.208
25	0.270	59	0.254	93	0.874	127	0.562
26	0.163	60	0.362	94	0.547	128	0.755
27	0.265	61	0.850	95	0.652	129	0.191
28	0.257	62	0.542	96	0.847	130	0.654
29	0.251	63	0.263	97	0.652	131	0.482
30	0.652	64	0.231	98	0.985	132	0.858
31	0.563	65	0.456	99	1.685	133	0.592
32	0.854	66	0.263	100	0.654	134	0.854
33	0.368	67	0.365	101	0.685	135	0.569
34	0.874	68	0.651	102	0.584	136	0.71

4. 요약

생물 계면활성제의 개발을 위해 MNNG(N-Methyl-N-Nitro- Nitrosoguanidine), EMS, UV radiator random mutation을 통해 가장 우수한 biosurfactant 생산 균주를 선별하였는데 MNNG를 처리한 균주가 유화활성 1.950, 표면장력 29.0dyne/cm으로 공시균주인 *Pseudomonas aeruginosa* EL-MS 유화활성 0.456과 표면장력 33.0dyne/cm에 비해 우수하였다.

참 고 문 헌

1. Parkinson, M., Biosurfactants, *Biotech. Adv.*,(1985), vol 3(1), pp. 65~68.
2. Manual of industrial microbiology and biotechnology