

PB5) 퇴비에서 분리한 우모(羽毛) 분해균 *Bacillus pumilis* RS7에 의한 우모분해산물이 식물성장에 미치는 영향

우은옥*, 유은연, 김미아, 김영훈¹, 손홍주², 이상준
부산대학교 미생물학과, ¹BIT 사업단, ²생명응용과학부

1. 서 론

Keratin은 사람의 피부 각질이나 머리카락, 동물의 뼈, 깃털을 이루고 있는 주된 구조 단백질로써, 일반적으로 알려진 protease로는 거의 분해가 되지 않는 난분해성 단백질이다. 이러한 keratin 성 단백질 중 가금류 닭이나 오리 등의 도축 부산물인 우모는 그 배출량이 방대함과 동시에 조단백질의 함량이 85%로 매우 높아 영양적 가치가 뛰어나므로 이를 유용자원으로 이용하기 위한 연구는 지속적으로 이루어지고 있다. 그러나 현재 국내에서는 도축 부산물들이 단순 폐기물로 처리 되거나 일부 물리화학적 방법으로 처리되어 사료로 이용되고 있는 실정이다. 물리 화학적 가공법은 고온, 고압의 상태에서 NaOH 등을 처리하여 분해하는 방법인데 이는 폐수, 악취 등 2차적 환경오염을 발생시키며 처리 비용 또한 매우 높아 경제성이 낮다. 뿐만 아니라 가공 중에 arginine, cystine 등의 특정 아미노산이 파괴되기도 하고 이러한 가공법에 의한 생산물의 동물소화율도 50%이하로 저조해 매우 비효율적이므로 친환경적인 생물학적 처리 기술이 더욱 시급하다고 볼 수 있다. 친환경 처리기술의 대표적 방법은 미생물이 생산하는 keratinase 혹은 keratinolytic protease라는 특이적 protease를 이용하는 것인데 keratin 외에도 여러 난분해성 단백질을 분해할 수 있다고 알려져 있어 화장품 산업이나 제약 산업에까지 이용될 가능성이 높다. 이처럼 keratin 생분해 연구는 keratin 분해산물인 아미노산 이용측면에서뿐만 아니라 keratinase 효소 자체로의 이용에 있어서도 고부가가치를 창출할 수 있어 본 연구에서는 지금까지 주로 50~70°C에서 최적 온도를 가지는 고온성 효소로 알려진 keratinase와는 달리 이용가능성이 높은 중온성 keratinase를 연구하고 그 분해산물의 아미노산 함유량과 더불어 식물 성장에 있어서의 영양적 가치를 조사함을 목적으로 한다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 우모 분해 미생물의 분리와 균주 선정 배지 최적화

경남 일대의 닭 가공 공장과 대규모 양계장 주변의 퇴비화 중인 뉘트짚으로부터 일정량의 시료를 채취하여 skim milk 상에서의 분해에 의한 투명환 크기, native feather 분해능, keratinolytic 활성 측정을 통해 분리균 RS7을 최종 실험 균주로 선정하였다. 또한 기존에 알려진 무기염 배지 조성에서 본 연구에서 분리한 우모분해균주의 최적의 탄소원, 질소원과 각각의 최적농도를 결정하였다.

2.2. 분리균주의 동정

DNA 추출 및 PCR 증폭 등을 통해 16S rDNA의 염기 서열을 분석하고 API kit를 이용하여 생화학적 특성을 검토한 후 각각의 데이터베이스를 이용하여 동정하였다.

2.3. 분리균주에 의한 우모 분해 산물의 아미노산 함량과 물리·화학적 방법에 의한 우모 분해 산물의 아미노산 함량

기존의 물리·화학적 방법에 의한 우모 분해 산물과 생분해에 의한 우모 분해 산물의 영양적 가치를 비교하기 위해 각각의 아미노산 함량을 분석하였다. 동일량의 우모를 넣고 분해가 완료된 배양액을 균체와 분해 잔여물을 제거하기 위해 원심분리(18000 rpm, 30분, 4°C)하여 상등액을 취했다. 우모 분해 산물의 아미노산 함량과 조성을 알아보기 위해 High Speed Amino acid Analyzer (Hitachi사, L-8800)를 이용하여 각각의 아미노산들을 정성 및 정량 분석 하였다.

2.4. 분리균주에 의한 우모 분해 산물의 식물생장에 미치는 영향

일반적으로 우모를 폐기물 처리하거나 재활용 용도로 분해할 때 사용하는 NaOH법에 의한 우모 분해산물과 미생물에 의해 분해된 우모 분해산물의 비료로서의 가치를 비교하기 위해 분해산물 상등액을 취하여 식물에 처리하여 성장율을 비교하여 보았다. 공시작물로는 성장기간이 비교적 짧고 개화여부 단계까지 확인 가능한 작물인 해바라기를 선정 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 탄소원 질소원 최적화

11종의 탄소원과 17종의 질소원에 의해 각각의 keratinolytic activity 값과 native feather 분해능을 통해 분리균주의 최적 탄소원과 질소원, 각각의 농도를 결정하였다.

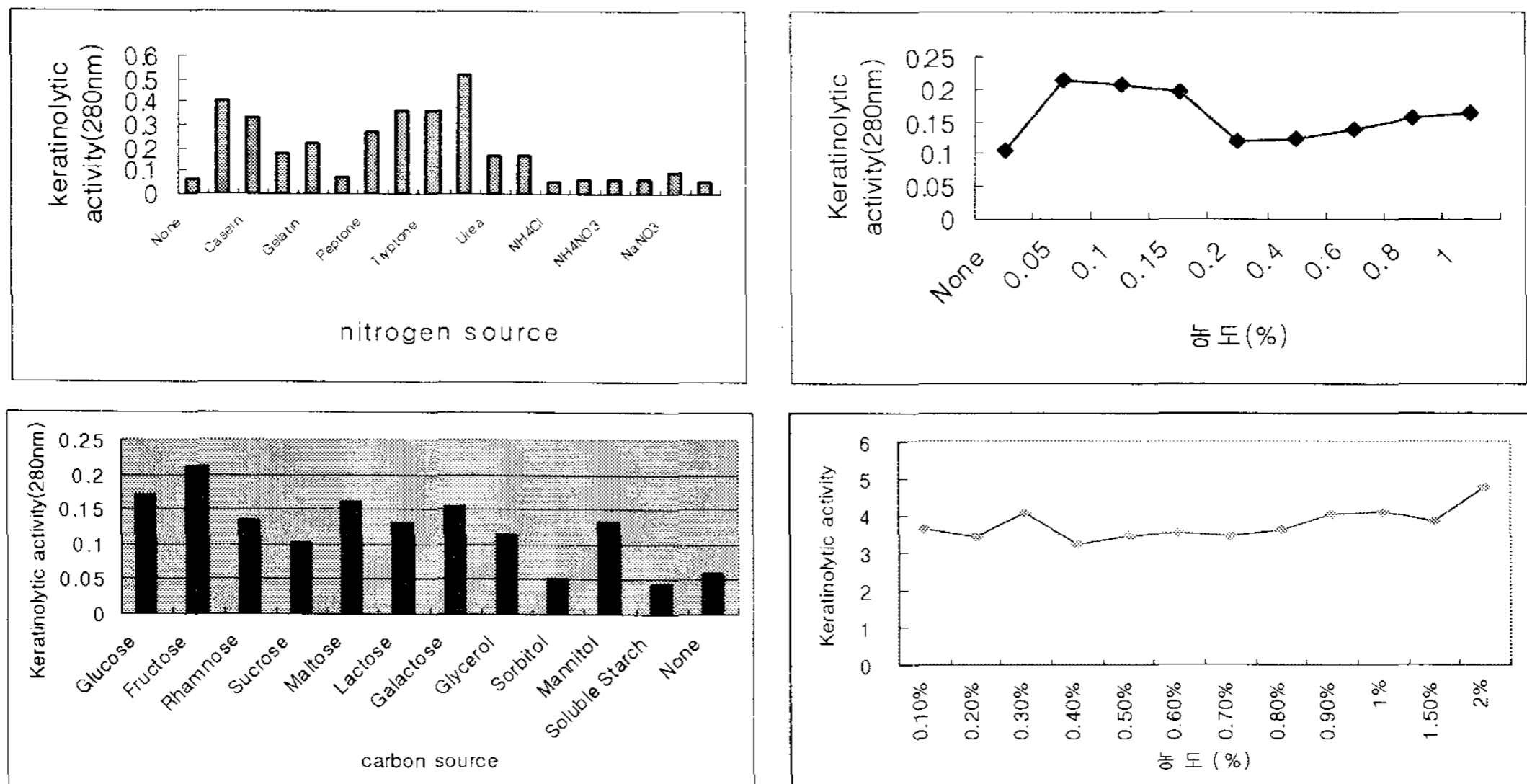


그림 1. 탄소원별 및 질소원별 활성과 결정된 탄소원(fructose)과 질소원(yeast extract)의 농도별 활성 그래프

3.2. 분리된 우모 분해세균의 동정결과

분리 균주의 16S rDNA 부분 염기서열을 NCBI GenBank에 등록된 유사 균주와 비교 분석하여 유전자간 상관성을 알아본 결과, 본 실험균주는 *Bacillus pumilus*와 98%의 상동성을 가지고 있었다. 이러한 결과와 함께 실험균주의 생화학적 특성 등의 결과에 의거하여 본 실험균주는 *B. pumilus*로 동정되었다.

3.3. 분리균주에 의한 우모 분해 산물의 아미노산 함량과 물리·화학적 방법에 의한 우모 분해 산물의 아미노산 함량

우모의 화학적 분해(NaOH법)에 의한 분해산물과 분리균주에 의한 분해산물의 아미노산 분석결과 전체 아미노산 함유량 면에서 미생물에 의한 분해산물의 아미노산 함유량이 4배 가량 많았다.

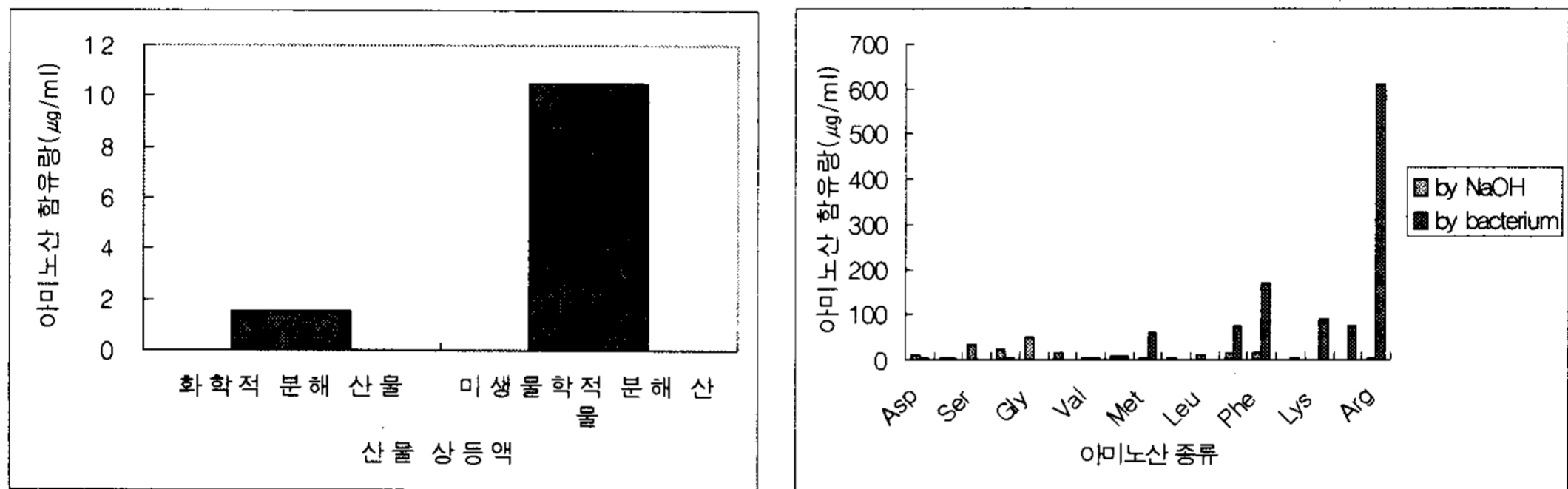


그림 2. 화학적 분해 산물과 미생물학적 분해 산물의 아미노산 함량 비교 그래프

3.4. 분리균주에 의한 우모 분해 산물의 식물생장에 미치는 영향

화학적 분해에 의한 우모 분해 산물과 분리균주에 의한 우모 분해 산물을 각각 해바라기 첫잎 나는 단계부터 매일 5ml 씩 분주하여 35일간의 생장을 결과는 다음 그래프와 같다.

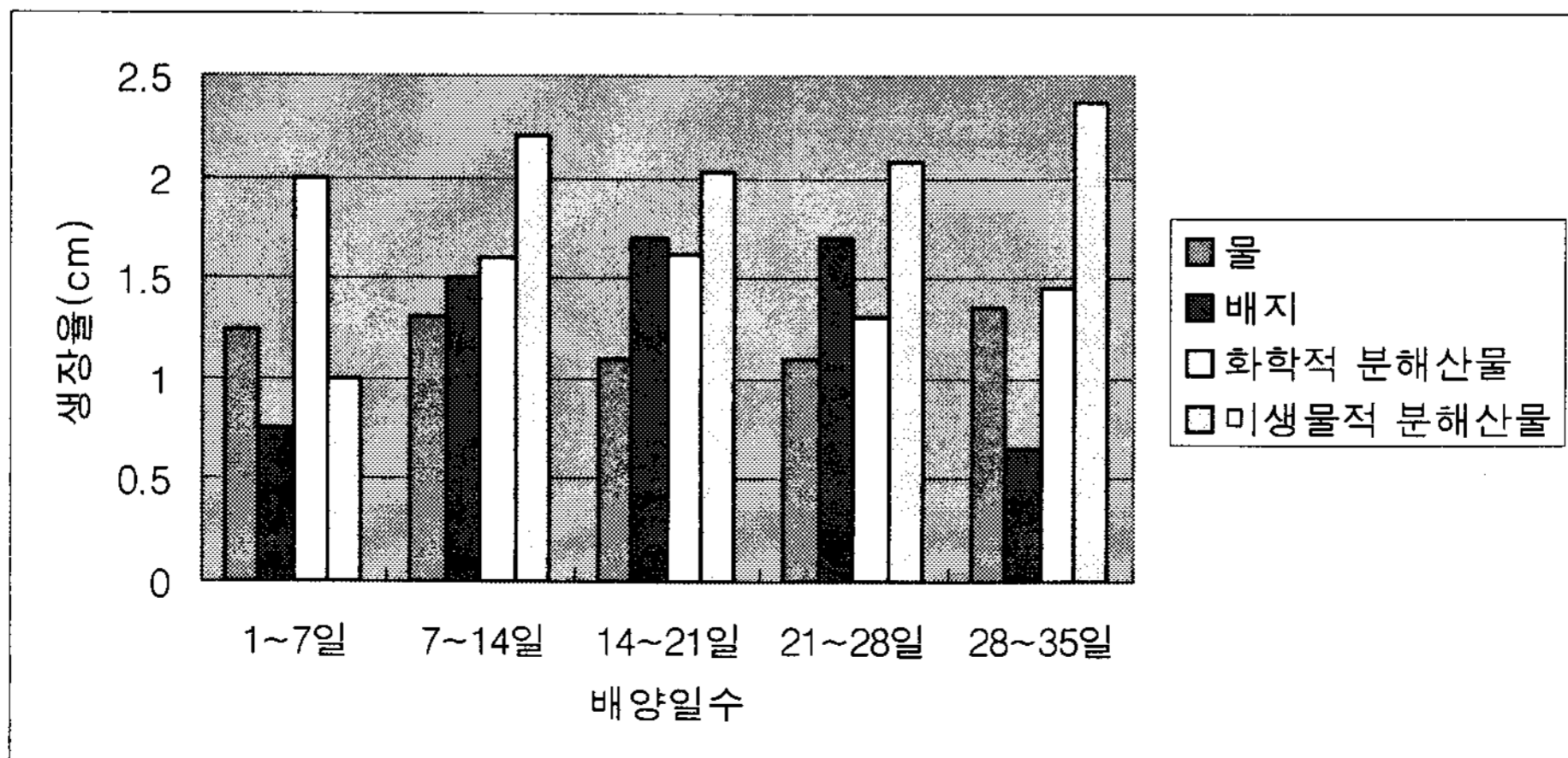


그림 3. 해바라기 생장을

4. 요약

전 세계적으로 방대하게 배출되는 도축 부산물인 우모는 높은 영양적 가치를 가짐에도 불구하고 현재 사용하는 물리화학적 처리법의 여러 단점으로 효율적으로 이용되지 못하고 있는 실정이다. 그 결과 2차 오염을 발생시키지 않는 경제적 방법인 생물학적 처리에 대한 연구의 필요성이 커지고 있다. 본 연구에서는 그러한 방법 중 대표적인 방법으로 미생물이 생산하는 keratinase를 이용한 생분해에 대해 연구를 하기 위해 경남 일대 퇴비화 벚짚에서 keratinolytic protease 생성능이 우수한 균주인 RS7을 분리하였고 생화학적 동정법과 16S rDNA를 이용한 동정결과 *B. pumilus*로 동정되었다. 본 실험에서 분리된 *B. pumilus*는 기존에 활발히 연구되어 있지 않는 균주로써 native feather 분해도가 기존에 알려진 *Bacillus* 속들이 3일 정도에서 분해 완료되는 것과는 달리 36시간~48시간 내에 깃대까지 완전히 분해하였다. 또한 분리 균주의 경제적인 분해능을 토대로 분해산물이 식물 생장에 주는 영향과 아미노산 함유량을 검토한 결과 기존의 화학적 분해에 의한 분해산물보다 아미노산 함유량이 4배가량 많았으며 식물 생장에 있어서도 생장율과 개화시점으로 미루어볼 때 비료로서의 역할을 수행할 수 있었다.

참 고 문 헌

- H. J. Son, Y. G. Kim and Y. K. Park, 2003. Isolation and identification of feather-degrading bacteria for biotechnological applications of keratinaceous protein waste. *Kor. J. Life Sci.* in press.
- Krystyna wawrzekiewicz, J. Lobarzewski and T. Wolski, 1987. Intracellular keratinase of *Trichlophyton gallinae*. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 25: 261-268.
- Shohei Yamamura, Yasutaka Morita, Quamrul Hasan, Kenji Yokoyama and Eiichi Tamiya, 2002. Keratin degradation: a cooperative action of two enzymes from *Stenotrophomonas* sp. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 294: 1138-1143.
- F. Letourneau, V. Soussotte, P. Bressollier, P. Branland and B. Verneuil, 1998. Keratinolytic activity of *Streptomyces* sp. S.K₁₋₀₂: a new isolated strain. *Letters in Applied Microbiology*. 26: 77-80.
- H. Gradisar, S. Kern and J. Friedrich, 1999. Keratinase of *Doratomyces microsporus*. *Appl Micro Biotechnol*. 53: 196-200.
- Regina M. D. B. Santos, Alexandre A. P. Firmino, Cezar M. de Sa and Carlos R. Felix. 1996, Keratinolytic Activity of *Aspergillus fumigatus* Fresenius. *Current Microbiology*. 33: 364-370.
- M. A. El-Naghy, M. S. El-Ktatny, E. M. Fadel-Allah and W. W. Nazeer, 1998. Degradation of chicken feathers by *Chrysosporium georgiae*. *Mycopathologia*. 143: 77-84.
- X Lin, GD Inglis, LJ Yanke and K-J Cheng, 1999. Selection and characterization of feather-degrading bacteria from canola meal compost. *Jurnal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 23:149-153.