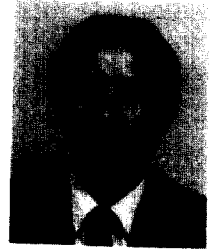


# 호열 혐기성 세균의 산업적 이용 가능성



제일제당 종합연구소 **현형환**

호열 혐기성 세균이라 함은 저온보다는 50°C 이상의 고온에서 최적 생육을 나타내고 산소가 없는 조건에서 자랄 수 있는 세균을 말한다. 그러므로 호열성 세균의 가장 큰 특징은 고온에서 잘 자라기 때문에 생체를 구성하고 있는 성분들이 고온에 내성을 가져야만 할 것이다. 특히 산업적으로 이용될 수 있는 효소나 단백질을 호열성 세균에서 찾는다면 여러가지 이점이 있을 것이다.

첫째, 열에 대한 안정성이 높을 것이므로 공정상의 큰 이점이 될 것이다. 실제로 산업에 이용되고 있는 많은 효소들이 열에 대한 안정성이 큰 것을 필요로 하고 있다. 특히 효소 반응의 경우 반응공정이 긴 것일수록 반응중의 오염이나 효소 변성을 막기 위해 고온에 대한 내성을 필요로 한다. 실제 Amylase, Glucose Isomerase, Xylanase, Cellulase 등 많은 효소들이 열에 대해 더 큰 내성을 가진 효소들을 산업적으로 필요로 하고 있다.

둘째, 열에 대해 안정성을 가지고 있는 효소들이므로 분리정제가 용이하다는 점이다. 경우에 따라서는 단순한 열처리만으로 90% 이상의 정제가 가능하다. 예를 들면 *T. brocki*가 생성하는 Alcohol dehydrogenase의 경우 80°C에서의 열처리만으로 95%의 정제가 이루어진다.

셋째, 고온에서의 발효나 반응이기 때문에 Substrate의 용해도가 높아져서 전처리의 필요가 없을 수 있다.

넷째, 혐기성 세균의 발효 공정상의 이점으로는 산소를 필요로 하지 않기 때문에 왕성한 mixing이나 aeration이 필요치 않기 때문에 utility 절감의 효과가 있으며 고온에서의 발효는 산업적 발효공장의 경우 가장 큰 문제점인 오염의 가능성이 적다는 점이다. 혐기성 발효의 경우 산소를 제거해야 하는 점이 단점으로 지적될 수 있으나 초기 발효 단계에서만 질소 gas에 의한 gassing이 필요할

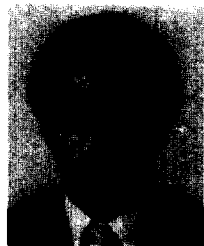
수 있으나 균체의 증식과 함께 CO<sub>2</sub>나 H<sub>2</sub> gas의 발생에 의해 gassing을 필요치 않기 때문에 공정상의 이점이 될 수 있다.

이와같이 호열성 세균으로부터 유용한 단백질을 얻을 경우 많은 이점이 있기 때문에 호열 호기성 세균으로부터의 단백질 이용은 많이 연구되어 왔으나 호열 혐기성 세균에 관해서는 많이 연구되어 있지 않은 것이 현실이다. 그러므로 호열 혐기성 세균은 산업적 응용성이 높은 단백질원으로서의 좋은 재료가 될 수 있을 것이다.

다음으로 호열성 혐기성 발효는 알코올, 유기산, Vitamine, 항생제 등의 정밀화학 분야에서의 이용을 위한 좋은 재료가 될 수 있다. 현재까지는 알코올 회수가 용이하다는 장점이 있어 많은 연구가 진행되어 왔다. Cellulose나 전분 등의 Biomass를 이용한 알코올 발효는 혐기성 발효의 경우 알코올 수율, 회수, 공정상의 이점 등으로 인하여 좋은 연구 결과를 기다리고 있다. 또한 Vitamine, 항생제 등의 정밀화학 분야에서도 아직까지 연구되지 않은 미지의 분야로서 관심의 대상이 되고 있다.

이상과 같이 호열 혐기성 세균은 물리화학적 특성이 우수하여 산업적 이용이 가능한 단백질원으로서 정밀화학 분야에서의 이용원으로서 연구가치가 충분한 분야라 하겠다. 그밖에 혐기성 세균으로서의 단점으로는 균체량이 적고 growth yield가 낮은 점이 있으나 발효공정이 연구, 예를 들면 cell recycle system의 도입 등으로 충분히 극복될 수 있을 것이다. 특히 근래에는 유전자 조작기술을 도입함으로써 Productivity의 향상을 꾀할 수 있어 응용가치가 높아졌으며 호열 혐기성 세균에 대한 유전자 조작 system의 연구 또한 발효공정상의 이점을 이용한 산업적인 응용을 도모할 수 있을 것이다.

# 심층 지하미생물 탐색 현황



한국과학기술원 유전공학센터 유전자은행 박 용 하

심층지하에도 미생물은 존재하고 있는가? 이러한 의문은 현재 미국에서 진행되고 있는 일련의 연구로 인하여 그 해답이 제시되고 있다.

심층미생물 탐색 연구의 시작은 1981년에 시작한 Dept of Energy(DOE)의 심층지하 운반계획(Subsurface Transport : SST) 계획이었다. 이 계획의 주된 목적은 미량금속, 무기화합물 및 방사능원소의 움직임 및 지하지층과 지하수에서의 수문학적 이동을 조절하는 지질화학, 수문학, 생물학적 과정에 대한 기초연구를 하는 것이었다. 여기에서 얻어진 정보는 지하환경에서 물질들이 이동하며 희석되고 있다는 것과 그에 대한 조건들을 제시해 주었다. 당시 많은 국가들이 심층 지하수를 이용하지만, 그에 대한 미생물 분포에 관한 지식은 거의 없었다.

1985년 펜실베이니아 대학에서 DOE 주최로 지하환경에서의 호기적, 혐기적 과정에 대한 세미나(ISIS : Interactive Seminars Series)가 있었다. 이 세미나는 지하환경에서의 미생물 대사에 대한 연구의 상태를 점검하고, 미래의 연구 필요성과 방향을 제시하였다. 이러한 토의과정에서 현장에서의 시료채취의 개시가 제안되었으며, 1986년 2월에 SRL(Savannah River Laboratory)에서 국방관계의 심층지하 시추계획이 결정됨으로서 미생물학적 실험을 위한 시료의 채취가 가능하게 되었다. 그해 5월 공동연구자들이 모여 협의한 후 1986년 6월부터 심층지하의 시료가 각각의 연구자들에게 보내졌다.

그 결과, 지하 300M 지층에서 풍부하고 다양한 미생물 집단이 발견되었으며, 이러한 연구 초기단계의 결과는 지금까지 미생물의 보고가 없었던 낮은 지하 및 지각층에도 생물권이 존재하고 있다는 사실을 증명하였다.

본 연구의 특징은 SRL과 DEO에 의해 주도되

고 있으며, 관계되는 여러 학계의 전문가들로 구성된 복합적인 연구팀에 의해서 진행되고 있다는 점이다. 연구의 우선적 과제는 과연 심층 지하에 미생물이 존재하느냐 하는 점이었는데, 만일 존재한다면 어떠한 조건이 그들을 심층지하에 적응시키고 있느냐 하는 것이었다.

DOE가 초점을 심층지하의 생물권에 맞추게 된 배경으로는 (i) 지하 30에서 수천미터까지의 깊이에서의 기초과학적 정보가 없으므로 국책적 과제로서 조사를 해야할 필요성이 있으며 (ii) 1억이라는 인구가 음료수로서 지하수를 이용하고 있으며, 합중국의 광대한 대수층(aquifer)이 현재 주거지역으로 이용되고 있고, 미래의 에너지 공급처로서 막대한 중요성을 지니고 있으며 (iii) 심층지하라는 접근하기 어려운 조건은 에너지 및 국방활동으로 인한 오염문제가 국토의 장기적인 회복이라는 문제에 직면해 있으며, 2000년대에 있어서 심층지하의 오염문제에 대한 생물공학적인 해결책이 고려되어야하므로 기초과학적 정보기반으로서 연구되어야 할 필요성이 있었다.

깊은 바닷속의 진기한 미생물의 탐색외에도 DOE의 노력은 지표하의 미생물 탐색을 하는데 중요한 첫시도였다. W. Ghiose(Cornell Univ.), D. Balkwill(Florida State Univ), J. Suflita(Univ. Oklahoma), D. White and T. Phelps(Univ. Tennessee), A. Francis(Braokhaven) 등의 미생물, 지질, 수문학자들이 연구팀을 구성하고 있다. DOE의 심층지하 미생물 탐색 연구는 DOE의 Savannah River Lab의 C. Fliermans & J. Corey의 협력을 받아 F. Wobber에 의해 주도되었다. 이 프로그램의 첫번째 목표는 심층지하 미생물의 양과, 역할 그리고 균총을 조사하고, 이런 심층지하에서의 미생물학적 상태를 조절하는 수문 지질학적, 지질화학적 등의 요소를 발견, 탐색하

는 것이다.

DOE의 연구는 2단계로 나뉘어져 수행되고 있는데 그 1단계(1986-1987)로서 지하 자생의 미생물 존재여부, 존재량, 다양성, 군총 및 지하환경에서의 미생물 서식에 영향을 미칠 수 있는 수분학, 지질화학, 물리학적 관계를 밝히는데 역점을 두고 있다. 또한 이들 미생물의 생물분해 능력 및 활동에 대한 기초정보의 입수, 새로운 기초정보에 의한 새로운 생물권의 정의, 시료 채취방법의 재정립 등이 고려되었다. 2단계(1988-1992)로서는 1단계에서 집약된 일련의 과학적 진보 및 정보를 장기간에 걸쳐 연구조사하는 것이다. 즉 심층지하에서의 미생물의 역할 및 생물전환과정 그리고 군총의 구성 속도 및 비율이 여러 지역에 걸쳐 조사되는 2단계의 연구는 지하지층에 있어서 오염의 경감 및 그 경감에 기여할 수 있는 환경적 요인의 결정, 그리고 심층지하의 생태계에 생물공학적으로 처리된 미생물이 뿌려졌을 경우 야기될 수 있는 충격효과 등에 대한 평가에 크게 이바지 할 것으로 기대된다.

### 다양한 미생물 군총

심층지하에서 발견된 현미경과 평판배양으로 확인된 미생물의 수는 침전물 1g당  $10^7$  cell or CFU(colony forming unit)였다. 그 중 가장 많은 세균을 지니고 있는 것은 지하 400m의 깊이에서 물을 많이 있는 Tuscaloosa에서였다. 가장 다양한 미생물 분포를 보인 것은 모래상의 지층으로서 수분이 많이 포함하고 있었으며, 건조한 점토층은 미생물이 가장 적었다.

깊은 지하에서는 다양한 미생물 종류의 활동을 볼 수 있었는데 그들 중에는 glucose, acetate, indole, phenol, 4-methoxybenzoic acid와 같은 유기물을 무기물화 할 수 있는 호기적 종속영양성 세균으로부터 탈황균, 황산염 환원균, 메탄생성 혐기성균까지 있다. 또한 사상균, 원생동물, 포자형성균 및 독립영양세균도 발견되었다.

### 매우 풍부한 호기성균

심층지하의 시료는 높은 환원적, 혐기적인 것과

는 대조적으로, 미생물 활동과 물은 비교적 산화된 상태를 보여주고 있다. 비록 혐기성 미생물이 호기성균과 함께 다양하게 서식은 하고 있으나 호기적 종속영양성균이 지배적이다. 유기물의 무기물화는 혐기적 상태에서 보다 호기적상태에서 더 빨리 진행된다. 지표부터 지하 300m까지는 pore water의 Eh(산화환원 전위)는 200mV 이고, sulfide가 발견되지 않는 사실은 그 물이 화학적으로 환원되어 있지 않고 또한 혐기성균의 대사가 채취된 대부분의 시료에서는 활발하지 못하였다는 것을 시사하고 있다. 게다가 화학적인 분석결과 호기성균이 지닌 quinone의 양이 현저하다는 것을 보여준다. 심층지하로부터 채취한 시료는 지표에서 오염되지 않도록 취급에 주의할 하여야 한다. 채취한 시료는 질소 hood 안에서 무균적으로 취급, 멸균 비닐주머니에 적당량 분주한 후 얼음에 채워져 즉시 연구자에게 보내진다. 지금까지 여러지역의 심층지하로부터의 총 15 시료와 지표로부터의 1시료가 분석되었다.

### 오염원의 배제

Savannah River의 심층지하로부터 분리한 균주들은 Florida State Univ의 D. Balkwill의 지휘 아래 보존되고 있다. 수천개의 심층지하에서 분리한 균주가 dimethyl sulfoxide 같은 동결보호제로 처리되어 -90°C로 보존되고 있다. 분리된 보존 균주들은 연구자가 세출한 연구계획안이 DOE의 검토를 거쳐 통과된 연구자에게 약 1년동안 이용될 수 있다.

상대에는 컴퓨터 검색 database를 설치하여 균주의 분리원, 분리조건, pore water chemistry, 배지, 집락, 세포형태 생리학적 실험결과를 토대로 하여 동정을 할 계획이다. 선택 분리균주는 심층지하 미생물의 항광합체를 이용하여 biomarker로서 심층지하 미생물 생태계의 연구에 응용될 것이다.

비록 무균조작이 시료를 시공공으로부터 채취한 후부터 출공 오염을 방지했다 하더라도 사상균, 장내세균 등이 여러 시료로부터 발견된 것은 의문 사항이다. 시공시의 진흙이 모래의 다공성의 지층으로 들어갈 가능성도 고려되고 있으나 그것들은