

## 난분해성 케라틴 폐기물 처리를 위한 우모 분해 미생물의 분리 및 특성

고태훈 · 정진하 · 이나리 · 정성윤<sup>1)</sup> · 박근태<sup>2)</sup> · 손홍주\*

부산대학교 생명환경화학학과, <sup>1)</sup>대구가톨릭대학교 의생명과학과, <sup>2)</sup>부산대학교 산학협력단  
(2011년 12월 5일 접수; 2011년 12월 21일 수정; 2012년 1월 20일 채택)

## Isolation and Characterization of Duck Feather-Degrading Microorganism for Treatment of Recalcitrant Keratinous Waste

Tae-Hun Go, Jin-Ha Jeong, Na-Ri Lee, Seong-Yun Jeong<sup>1)</sup>,  
Geun-Tae Park<sup>2)</sup>, Hong-Joo Son\*

Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea

<sup>1)</sup>Department of Medical Life Science, Catholic University of Daegu, Daegu 712-784, Korea

<sup>2)</sup>Research & University-Industry Cooperation, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

(Manuscript received 5 December, 2011; revised 21 December, 2011; accepted 20 January, 2012)

### Abstract

We isolated and characterized novel duck feather-degrading bacteria producing keratinase. Twelve strains were isolated from soil and faces at poultry farm, and decayed feathers. They were identified as *Bacillus methylotrophicus*, *Pseudomonas geniculata*, *Pseudomonas hibiscicola*, *Exiguobacterium profundum*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Chryseobacterium indologenes*, *Bacillus thuringiensis*, *Thermomonas koreensis*, respectively, by phenotypic characters and 16S rRNA gene analysis. Generally, the level of keratinase production was not proportional to feather degradation rate. The highest keratinolytic activity was observed in the culture inoculated with *Chryseobacterium indologenes* D27. Although all strains did not degrade human hair, strains tested effectively degraded chicken feather(53.8-91.4%), wool(40.4-93.0%) and human nail (51.0-82.9%). These results suggest that strains isolated could be not only used to improve the nutritional value of recalcitrant feather waste but also is a potential candidate for biotechnological processes of keratin hydrolysis.

**Key Words** : Feather degradation, Keratin, Keratinase, Wool

### 1. 서론

케라틴(keratin)은 도축장, 육가공 산업 및 양계산업에서 발생하는 가금 우모, 동물 피부 잔재물, 털, 뿔,

발톱 및 발굽 등 다양한 부산물의 주요 구성 단백질(Kornilowicz-Kowalska와 Bohacz, 2011)로서, 전 세계적으로 해마다 엄청난 양의 케라틴 폐기물이 발생하고 있다. 예를 들면, 가금의 우모는 연 15만 톤 이상(국내)이, 소와 돼지의 피부 잔재물은 연 12억 piece(세계)가 발생하고 있다(Jeong 등, 2010; Karthikeyan 등, 2007). 케라틴은 수소결합, 소수성 상호작용 및 이황화결합 등으로 이루어진 매우 안정한 난분해성 단

\*Corresponding author : Hong-Joo Son, Department of Life Science and Environmental Biochemistry, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea  
Phone: +82-55-350-5544  
E-mail: shjoo@pusan.ac.kr

백질이므로 자연 상태에서 불용성이고, protease 등 효소적 분해에 대하여 저항성을 가진다(Onifade 등, 1998). 따라서 케라틴의 처리는 다소 어려운 과정이다.

케라틴 중 가금의 우모는 단백질 함량이 높기 때문에 많은 동물 영양학자들의 관심의 대상이 되고 있는데, 현재 케라틴 폐기물, 특히 우모 폐기물은 가압 및 가열 처리 후, NaOH에 의하여 화학적으로 분해시킨 우모분(feather meal)의 형태로 일부 가축의 사료 등으로 이용하고 있다. 그러나 케라틴 폐기물의 물리화학적 처리는 폐수 및 악취 발생으로 인하여 환경오염이 유발되며, 그 처리비용 또한 높아 비경제적이고, 일부 아미노산이 파괴되는 단점이 있는 것으로 알려져 있다(Papadoulos 등, 1986). 따라서 보다 환경친화적이고, 경제적인 우모 처리공정이 필요함을 알 수 있으며, 그 대안으로 가장 큰 주목을 받고 있는 것이 바로 케라틴 분해미생물을 이용하는 것이다(Papadoulos 등, 1986).

케라틴 분해미생물은 구조적으로 매우 콤팩트한 기질을 분해할 수 있는 keratinase 또는 keratinolytic protease라는 효소를 생산할 수 있는 것으로 보고되어 있다(Rao 등, 1998). 최근 미생물유래 keratinase는 질소비료, 화장품 및 생분해성 필름의 개발 등에 응용 가능성이 타진되고 있으며, 광우병 유발 인자인 prion을 분해할 수 있는 잠재적 가능성이 큰 것으로 알려져 있다(Langeveld 등, 2003; Onifade 등, 1998). 따라서 keratinase 활성이 높은 미생물의 분리 및 그 특성 규명은 케라틴 폐기물의 생물학적 처리뿐만 아니라 다양한 용도로 응용을 위해서도 반드시 필요한 연구라고 판단된다. 미국의 경우를 보면, 이미 20년 전부터 우모 케라틴을 미생물학적으로 분해한 후, 그 분해산물을 아미노산 공급원으로 자원화할 수 있는 생물학적 처리법의 개발에 연구를 집중하고 있다(Lin 등, 1992). 지금까지 수행된 케라틴 분해에 대한 연구를 살펴보면, 주로 닭 우모를 분해할 수 있는 미생물에 집중되어 있는데, 몇몇 세균, 방선균 및 균류 등이 보고되어 있다(Langeveld 등, 2003). 본 논문의 저자들도 닭 우모를 분해할 수 있는 미생물의 분리 및 분해 최적 조건에 대한 연구를 수행한 바 있다(Jeong 등, 2010; Park과 Son, 2009; Son 등, 2004).

최근 오리육의 소비량 증가에 따라 오리 우모 발생량도 크게 증가하고 있으나 오리 우모 분해에 대한 연구는 전혀 이루어지지 않고 있으며, 케라틴 분해미생물의 분해 가능한 케라틴 기질의 종류에 대한 연구 역시 극소수에 불과하다. 따라서 본 연구에서는 다양한 시료로부터 오리 우모를 분해할 수 있는 미생물을 광범위하게 분리 및 동정한 후, 그 기질 특이성 등을 조사함으로써 다양한 분야에 응용 가능성이 있는 새로운 토착 미생물 자원을 확보하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 우모케라틴 분해미생물의 분리

경남 일원의 오리 농장과 닭 농장 주변의 토양, 분변 및 폐우모, 가정 샤워실의 배수구에 축적되어 있는 사람의 모발 조각 등을 시료로 채취하였다. 각 시료 1g을 멸균수에 현탁 및 진탕한 후, 단계적으로 희석하여 skim milk 평판배지에 접종하였다. 30℃에서 배양하면서 proteolysis 결과로서 투명대를 형성하는 집락을 선정하여 순수분리하였다. 순수분리된 각 균주는 기질로 오리 우모 0.1%가 첨가된 N 배지 및 NN 배지에 접종하여 30℃, 200 rpm에서 7일 동안 배양한 후, 우모의 분해율을 측정하였다. 최종 실험균주는 분리 균주들의 집락 특성 차이 및 우모 분해율을 고려하여 선정하였다. 이때 사용한 skim milk 평판배지의 조성은 tryptone 1%, yeast extract 0.5%, skim milk 5%, NaCl 0.5% 및 agar 2%(pH 7.5)이었다. N 배지의 조성은 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.03%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.04%, NaCl 0.05%, yeast extract 0.01%(pH 7.0)이었으며, NN 배지는 N 배지에서 yeast extract를 배제시킨 것이었다(Infante 등, 2010).

### 2.2. 우모케라틴 분해미생물의 동정

실험균주들의 집락 특성을 Manual of methods for general bacteriology(Gerhardt 등, 1981)에 의거하여 조사한 후, 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 실시하여 실험균주를 동정하였다. 16S rRNA 유전자를 증폭하기 위하여 사용된 primers는 *E. coli* 16S rRNA gene의 conserved sequence를 기초로 하여 합성된 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') primer

와 1492R(5'-TACGGY TACCTTGTTACGACTT-3') primer이었다(Lane, 1991). 16S rRNA 유전자의 염기 서열을 결정한 후, NCBI GenBank의 database를 통하여 유사균주들과 비교하였다. 또한 염기서열을 Clustal X program을 이용하여 정렬한 후, MEGA 4 프로그램을 이용하여 실험균주의 계통분류학적 위치를 결정하였다.

2.3. 기질 특이성 조사

분해 가능한 케라틴 기질의 종류를 조사하기 위하여 닭 우모, 사람의 모발 및 손발톱, 양모를 사용하였다. 사람의 손발톱은 homogenizer로 마쇄하여 사용하였다. 배지에 각 기질을 0.1%씩 첨가하여 30°C, 200 rpm에서 7일 동안 배양한 후, 분해율을 측정하였다.

2.4. 분석방법

배양액을 13000 rpm, 4°C에서 30분 간 원심분리한 후, 상등액을 조효소액으로 사용하였다. Keratinase 활성은 Wawrzkievicz 등(1987)의 방법에 따라 조제된 keratin powder를 기질로 사용하여 측정하였다. 조효소액 2 ml를 0.06% keratin powder가 함유된 3 ml의 0.1 M phosphate buffer(pH 7.5)에 첨가하여 30°C에서 3시간동안 반응시켰다. 5% trichloroacetic acid 1 ml를 첨가하여 반응을 정지시키고, 13000 rpm에서 30분 동안 원심분리한 후, 상등액의 흡광도를 280 nm에서 측정하였다. Keratinase 활성의 1 unit(U)는 상기 조건에서 시간당 0.01의 흡광도 증가를 나타내는 효소의 양으로 정의하였다.

실험균주에 의한 케라틴 분해율은 케라틴의 건조 무게 감소량을 측정함으로써 정량한 후, % 백분율로 나타내었다. Soluble protein은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 Bradford method(1976)에 의하여 측정하였으며, 균체 생육도는 배양액 중 미분해 케라틴을 Whatman no. 1 여과지를 이용하여 제거한 후, 660 nm에서의 흡광도를 측정하여 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 우모케라틴 분해미생물의 탐색

수집한 각 시료로부터 skim milk 평판배지 상에서 직경 1 cm 이상의 투명환을 생성하는 234 균주를 분

리하였다(Fig. 1). 이들을 우모가 첨가된 NN 배지에 접종하여 배양하면서 우모 분해를 육안으로 확인한 후, 78 균주를 재분리하였다. 최종 실험균주 선정을 위하여 이들 균주를 N 배지 및 NN 배지에 접종하여 7일 동안 배양한 후, 우모의 분해율을 확인하였으며, 그 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다. 분리균주에 따라 우모 분해율은 0-91.5%로 다양하게 나타났으며, 질소원이 첨가된 N 배지와 질소원이 첨가되지 않은 NN 배지에서의 우모 분해율이 비슷한 그룹과 그렇지 않은 그룹으로 구분될 수 있었다. 우모 분해율에 차이가 거의 없는 그룹은 우모 분해효소인 keratinase 생성에 nitrogen repression이 작용하지 않았음을 시사한다(Gupta 등, 2002). 또한 두 배지에서 우모 분해율의 차이가 있는 그룹은 N 배지에서의 분해율이 더 높은 경우와 NN 배지에서 더 높은 경우로 구분될 수 있었다. 이 경우, NN 배지에서의 분해율이 높은 것은 keratinase 생성에 nitrogen repression이 작용했음을, N 배지에서의 분해율이 높은 것은 nitrogen activation이 작용했음을 나타낸다(Gupta 등, 2002; Rao 등, 1998). 실험균주 중, H14 균주는 질소원의 첨가가 keratinase의 생성을 완전히 저해함을 알 수 있었다. 본 실험결과를 고려할 때, 우모 분해미생물의 생리적 특성은 다양한 것으로 판단된다. 분리균주 중, 우모 분해율이 대체로 우수하였던 가정 배수구에 축적된 모발 조각으로부터 분리된 H7, H8, H10, H13 균주, 양계장 주변 토양 및 양계 분변으로부터 분리된 C9, C10, C16, C20, 폐우모로부터 분리된 D13, D14, D38 균주를 최종 실험균주로 선정하였다.

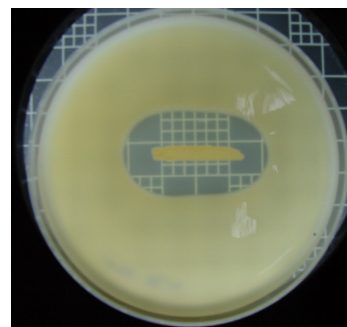


Fig. 1. Photograph showing proteolysis of strain C10 on skim milk agar plate.

Table 1. Feather degradation of isolated strain in feather medium

Strain	Feather degradation(%)		source	Strain	Feather degradation(%)		Source
	N medium	NN medium			N medium	NN medium	
H1	67.5	67.7	Human hair	D1	11.9	26.7	Decayed feather
H2	73.7	58.2		D2	38.9	55.8	
H3	55.2	61.1		D3	44.3	31.2	
H4	49.7	48.0		D4	45.2	51.3	
H5	78.7	41.9		D5	38.7	41.9	
H6	75.0	71.9		D6	31.0	47.5	
H7	91.5	62.0		D7	17.8	39.4	
H8	74.5	74.3		D8	30.3	15.0	
H9	63.5	71.9		D9	49.5	51.3	
H10	18.7	64.8		D10	17.2	21.3	
H11	34.5	58.4		D11	40.4	79.3	
H12	67.0	77.8		D12	56.3	57.6	
H13	77.6	25.5		D13	40.9	83.8	
H14	0.0	14.4		D14	33.3	67.0	
C1	24.6	22.1	D15	49.0	41.5		
C2	25.5	24.2	D16	6.0	17.7		
C3	13.7	25.1	D17	1.5	4.5		
C4	25.1	25.6	D18	24.9	17.8		
C5	13.3	16.3	D19	24.9	20.0		
C6	14.5	15.8	D20	43.8	36.4		
C7	16.5	14.4	D21	36.3	13.5		
C8	17.1	16.4	D22	55.2	46.3		
C9	53.3	78.0	D23	59.7	44.5		
C10	61.4	73.9	D24	51.3	44.8		
C11	37.4	46.5	D25	28.3	44.2		
C12	45.0	45.2	D26	47.8	50.3		
C13	34.3	37.8	D27	80.2	62.1		
C14	29.1	48.0	D28	49.0	51.0		
C15	15.0	11.4	D29	67.5	65.0		
C16	29.7	60.9	D30	16.3	12.9		
C17	18.9	22.3	D31	16.5	36.6		
C18	21.3	12.0	D32	32.0	55.3		
C19	39.4	56.9	D33	32.8	35.5		
C20	4.5	46.2	D34	33.2	36.6		
C21	2.5	12.0	D35	23.9	33.7		
C22	58.2	72.6	D36	53.7	54.7		
C23	10.0	9.1	D37	49.0	59.1		
C24	9.1	16.7	D38	72.1	71.6		
C25	5.9	9.0	D39	26.6	14.9		

### 3.2. 실험균주의 동정

실험균주의 형태학적, 배양적 특성은 Table 2에서 보는 바와 같다. 실험균주들은 간균 또는 단간균의 형태를 가졌으며, C10, C16, D27, H10 및 H13 균주는 그람음성세균, 나머지 균주들은 그람양성세균이었다. 또한 nutrient 평판배지 상에서 균주에 따라 서로 상이

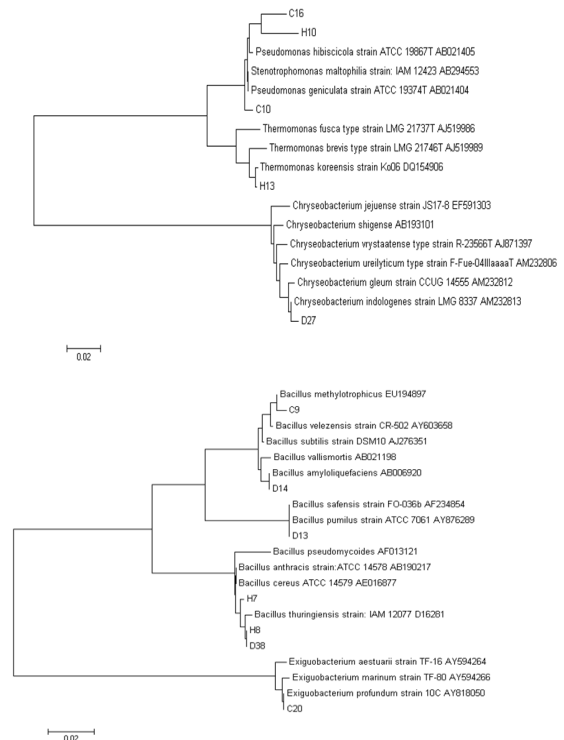
한 모양, 주변부, 투명도, 색깔 등 다양한 집락 특성을 나타내었다.

실험균주를 보다 정확하게 동정하기 위하여 16S rRNA 유전자의 염기서열을 분석하여 NCBI GenBank에 등록된 각 표준균주와 비교한 결과, C9 균주는 *Bacillus methylotrophicus*와 98%, C10 및 H10 균주

**Table 2.** Taxonomical characteristics of isolated strain

Strain	Morphological character			Cultural character						
	Shape	Gram staining	Motility	Form	Elevation	Margin	Viscosity	Swarming	Opacity	Color
C9	Bacilli	+	+	Filamentous	Flat	Filamentous	-	+	Opaque	White
C10	Bacilli	-	-	Circular	Raised	Entire	+	-	Translucent	Yellow
C16	Cocco-bacilli	-	+	Circular	Convex	Entire	+	-	Translucent	Yellow
C20	Cocco-bacilli	+	+	Circular	Umbonate	Entire	-	-	Translucent	Yellow
D13	Bacilli	+	+	Punctiform	Umbonate	Undulate	-	-	Translucent	White
D14	Bacilli	+	-	Circular	Pulvinate	Entire	+	+	Opaque	White
D27	Cocco-bacilli	-	-	Circular	Raised	Entire	+	-	Translucent	Yellow
D38	Bacilli	+	+	Circular	Flat	Lobate	-	-	Opaque	White
H7	Cocco-bacilli	+	+	Circular	Conves	Lobate	-	+	Opaque	White
H8	Bacilli	+	+	Circular	Flat	Lobate	-	-	Opaque	White
H10	Bacilli	-	-	Circular	Convex	Entire	-	-	Opaque	Yellow
H13	Cocco-bacilli	-	-	Circular	Convex	Entire	-	-	Translucent	Brown

는 *Pseudomonas geniculata*와 98% 및 97%, C16 균주는 *Pseudomonas hibiscicola*와 97%, C20 균주는 *Exiguobacterium profundum*와 99%, D13 균주는 *Bacillus pumilus*와 98%, D14 균주는 *Bacillus amyloliquefaciens*와 97%, D27 균주는 *Chryseobacterium indologenes*와 99%, D38, H7 및 H8 균주는 *Bacillus thuringiensis*와 97%, 99% 및 98%, H13 균주는 *Thermomonas koreensis*와 99%의 상동성을 나타내었다. 또한 16S rRNA 유전자의 구조에 근거하여 기존 균주들과의 분자계통학적 유연관계를 파악하기 위하여 계통수를 작성한 결과, 각 실험균주들은 상기에서 언급한 각 표준균주를 포함하는 계통학적 그룹에 포함됨을 알 수 있었다(Fig. 2). 현재 우모를 분해할 수 있는 세균으로 *Bacillus* 속, 특히 *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*가 집중적으로 연구되고 있으며, 그 외 *Chryseobacterium indologenes*, *Vibrio* sp., *Microbacterium* sp., *Lysobacter* sp. 등이 보고되어 있다(Brandelli, 2008). 우모를 분해할 수 있는 *B. methylotrophicus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. thuringiensis*, *Pseudomonas geniculata*, *P. hibiscicola*, *Exiguobacterium profundum*, *Thermomonas koreensis*의 분리에 대한 보고는 본 논문이 최초로, 이것은 환경 중 우모 분해 세균이 매우 다양함을 시사한다.



**Fig. 2.** Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences showing the positions of isolated strains and type strains.

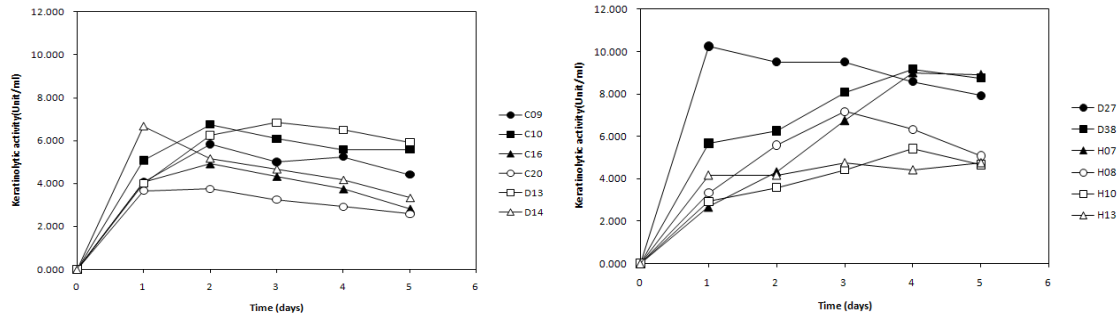


Fig. 3. Time course of keratinolytic activity by isolated strain in selected medium.

### 3.3. 실험균주의 keratinase 활성

배양시간 경과에 따른 우모 분해효소인 keratinase의 활성을 조사하기 위하여 우모 분해에 최적이었던 각 배지에 실험균주를 접종하여 배양하였으며, 그 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. C20, D14, D27 균주는 배양 1일 경, C9, C10, C16 균주는 배양 2일 경, D13, H8, H13 균주는 배양 3일 경, D38, H7, H10 균주는 배양 4일 경 가장 높은 keratinase 활성을 나타내었다. 최대 keratinase 활성을 나타낸 후, 전반적으로 효소활성은 약간 감소하는 경향을 보여주었다. 실험균주 중, *Chryseobacterium indologenes* D27 균주의 keratinase 활성이 가장 높았으며, *Exiguobacterium profundum* C20 균주의 활성이 가장 낮았다. 이러한 결과는 균주에 따라 keratinase 생산 시기가 서로 다르며, 결과적으로 우모 이용 목적에 맞게 적합한 균주를 선택할 수 있음을 의미한다. 본 연구 결과에 의하면, 우모의 분해율과 keratinase 생산량은 반드시 비례하지는 않았는데, 오리 우모는 불용성 기질이며, 또한 각 실험에 사용된 우모의 형태에 따라 keratinase와 기질 간의 접촉이 일정하게 일어나지 않음으로써 이런 현

상이 발생하는 것으로 추정되었다(Son 등, 2004). 그리고 keratinase의 생산량이 많음에도 불구하고 우모 분해율이 높지 않은 이유는 keratinase와 함께 우모케라틴을 효율적으로 분해하는데 필요한 accessory protein이 제거되었거나 그 생산이 억제된 것에 기인한다는 보고가 있다(Singh, 2002). 따라서 향후 이에 대한 보다 추가적인 연구가 필요함을 알 수 있었다.

한편, 각 배지에서 최대 keratinase 활성을 나타낸 시점의 균체 생육도, protein 농도, pH는 Table 3에서 보는 바와 같다. 전반적으로 균체 생육이 높을수록 keratinase 활성은 높았으나 soluble protein의 농도는 keratinase 활성과 반드시 일치하는 것은 아니었다. Soluble protein의 농도는 우모가 분해되었음을 나타내는 간접적인 지표로 이용된다(Onifade 등, 1998). 그러나 앞 실험에서 살펴보았듯이 keratinase 생산량과 우모 분해는 정확하게 일치하지 않았고, 결과적으로 우모 분해의 증거인 soluble protein 농도 역시 비슷한 경향을 나타낸 것으로 판단된다. 한편 배양 후, 배지의 pH는 7.2-7.5의 약알칼리성 범위에 있었다. 우모가 첨가된 배지에 우모 분해세균을 배양함에 따라 배

Table 3. Cell growth, soluble protein and pH in culture of isolated strain

Strain	Growth ( $A_{660}$ )	Protein ( $\mu\text{g/ml}$ )	Final pH	Strain	Growth ( $A_{660}$ )	Protein ( $\mu\text{g/ml}$ )	Final pH
C9	0.085	6.7	7.2	D27	0.180	4.1	7.5
C10	0.102	3.8	7.3	D38	0.167	5.1	7.4
C16	0.061	4.0	7.3	H7	0.255	5.9	7.5
C20	0.047	2.4	7.2	H8	0.159	5.9	7.4
D13	0.057	4.4	7.2	H10	0.080	4.1	7.4
D14	0.093	4.9	7.2	H13	0.057	5.4	7.4

지의 pH가 알칼리성으로 변화되는 것은 우모 기질에 존재하는 disulfide bond가 환원에 의하여 절단되었으며, 나아가 우모 분해산물인 아미노산이나 펩티드가 deamination 반응을 통하여 암모니아로 전환됨에 따라 나타나는 현상으로서, 우모가 분해되었음을 나타내는 또다른 지표이다(Kaul과 Sumbali, 1999).

3.4. 실험균주의 기질 특이성

실험균주에 의하여 분해 가능한 케라틴 기질의 종류를 조사하기 위하여 오리 우모 외 닭 우모, 양모, 사람의 모발 및 손발톱 0.1%를 배지에 첨가하여 7일 동안 배양한 후, 기질의 분해율을 조사한 결과는 Fig. 4

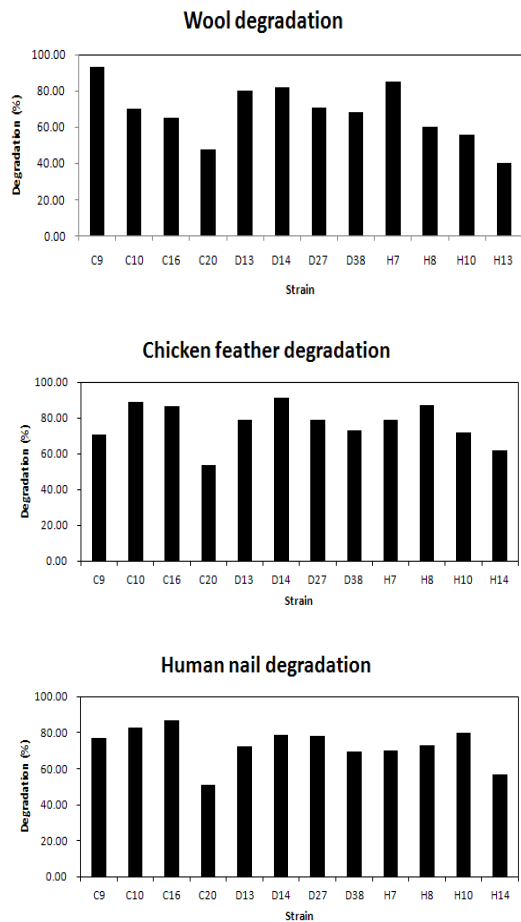


Fig. 4. Degradation of wool, chicken feather and human nail by isolated strain.

에서 보는 바와 같다. 실험균주들은 사람의 모발을 제외한 모든 케라틴 기질을 분해할 수 있었다. 사람의 모발은 모발이 절단되는 현상만 관찰되었으며, 배양 10일이 경과하여도 유의성있는 분해는 이루어지지 않았다(미제시). 닭 우모는 53.8-91.4%, 양모는 40.3-93.0%, 손발톱은 51.0-82.9%의 분해율을 나타내었다. 양모는 전통적으로 이용되는 의복 소재이지만 표면의 소수성이 강하기 때문에 기능성을 부여하기가 어렵고, 세탁이 제한되며, 주름이 형성되는 등의 단점이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위하여 화학적 처리를 시행하고 있으나 그 공정 중 유해물질이 발생하므로 또 다른 문제를 초래한다(Kang 등, 2006). 따라서 최근 keratinase를 처리하여 염색도 향상, 오구 제거 및 부드러운 촉감의 양모를 획득하고자 하는 연구가 진행되고 있다(Infante 등, 2010). 따라서 실험균주들이 생산하는 keratinase는 가금 우모 처리뿐만 아니라 양모의 품질 개선, 손발톱과 같은 성질의 동물의 뿔, 발굽 등의 처리에도 이용 가능성이 높을 것으로 판단된다. Fig. 5는 양모 분해율이 가장 높았던 C9 균주의 양모 분해정도를 보여주는 사진으로, 배양 7일 후 배지에 첨가한 양모가 거의 분해되었음을 알 수 있다.

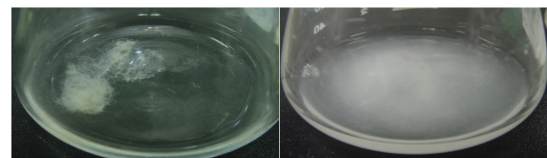


Fig. 5. Photograph showing wool degradation by C9 strain after 0(left) and 7 days(right).

4. 결론

닭 우모케라틴을 분해할 수 있는 미생물에 대한 연구는 매우 많은 편이지만 최근 그 발생량이 증가하고 있는 오리 우모케라틴을 분해할 수 있는 미생물에 대한 연구는 전무할 실정이다. 따라서 본 연구에서는 오리 우모케라틴을 분해할 수 있는 세균을 각종 시료로부터 광범위하게 분리 및 동정하고, 그 기질 특이성을 조사함으로써 다양한 케라틴 폐기물의 응용 가능성을 도출하고자 하였다. 양계장 주변 토양과 분변, 폐우모 및 모발 조각으로부터 오리 우모를 효율적으로 분해

할 수 있는 12 균주를 분리하였으며, 16S rRNA 유전자의 염기서열에 근거하여 각각 *Bacillus methylotrophicus*, *Pseudomonas geniculata*, *Pseudomonas hibiscicola*, *Exiguobacterium profundum*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Chryseobacterium indologenes*, *Bacillus thuringiensis*, *Thermomonas koreensis*로 동정되었다. 전반적으로 이들 실험균주의 keratinase 활성은 다양하게 나타났으며, *Chryseobacterium indologenes* D27 균주가 가장 높은 효소활성을 나타내었다. 우모 분해와 keratinase 활성은 정확하게 비례하지 않았다. 실험균주들의 기질 특이성을 조사한 결과, 닭 우모는 53.8-91.4%, 양모는 40.3-93.0%, 손발톱은 51.0-82.9%의 분해율을 나타내었으나, 사람의 모발은 분해할 수 없었다. 본 실험에서 분리된 케라틴 분해균주들은 우모의 영양적 가치 개선뿐만 아니라 양모의 질 개선, 동물 발굽의 처리 등 다양한 용도로 활용 가능할 것으로 판단된다.

### 감사의 글

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(No. 2010-0023046).

### 참 고 문 헌

- Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Brandelli, A., 2008, Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond, *Food Bioprocess Technol.*, 1, 105-116.
- Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Costilow, R. N., Wester, E. W., 1981, *Manual of methods for general bacteriology*, American Society for Microbiology, New York.
- Gupta, R., Beg, Q. K., Khan, S., Chauhan, B., 2002, An overview on fermentation, downstream processing and properties of microbial alkaline proteases, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 60, 381-395.
- Gupta, R., Ramnani, P., 2006, Microbial keratinases and their prospective applications: an overview, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 70, 21-33.
- Infante, I., Morel, M. A., Ubalde, M. C., Martinez-Rosales, C., Belvisi, S., Castro-Sowinski, S., 2010, Wool-degrading *Bacillus* isolates: extracellular protease production for microbial processing of fabrics, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 26, 1047-1052.
- Jeong, J. H., Lee, N. R., Kim, J. D., Jeon, Y. D., Park, K. H., Oh, D. J., Lee, C. Y., Son, H. J., 2010, Isolation and characterization of feather keratin-degrading bacteria and plant growth-promoting activity of feather hydrolysate, *J. Environ. Sci.*, 19, 1307-1314.
- Kang, S. M., Cha, M. K., Kim, S. J., Kwon, Y. J., 2006, The effect of quality improvement for wool and silk treated with protease produced by *B. subtilis* K-54, *J. Kor. Soc. Cloth. Ind.*, 8, 239-244.
- Karthikeyan, R., Balaji, S., Sehgal, P. K., 2007, Industrial applications of keratins- a review, *J. Sci. Ind. Res.*, 66, 710-715.
- Kaul, S., Sumbali, G., 1999, Production of extracellular keratinase by keratinophilic fungal species inhabiting feathers of living poultry birds (*Gallus domesticus*): A comparison, *Mycopathologia*, 146, 19-24.
- Kornilowicz-Kowalska, T., Bohacz, J., 2011, Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects, *Waste Management*, 31, 1689-1701.
- Lane, D. J., 1991, 16S/23S rRNA sequencing, in: Stackebrandt, E., Goodfellow, M. (eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*, John Wiley and Sons, New York, 115-175.
- Langeveld, J. P. M., Wang, J. J., Van de Wiel, D. F. M., Shih, G. C., Garssen, G. J., Bossers, A., Shih, J. C. H., 2003, Enzymatic degradation of prion protein in brain stem from infected cattle and sheep, *J. Infect. Dis.*, 188, 1782-1789.
- Lin, X., Lee, C. C., Csale, E. S., Shih, J. C. H., 1992, Purification and characterization of a keratinase from a feather-degrading *Bacillus licheniformis* strain, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 3271-3275.
- Onifade, A. A., Al-Sane, N. A., Al-Musallam, A. A., Al-Zarban, S., 1998, Potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms



- and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources, *Biores. Technol.*, 66, 1-11.
- Papadoulos, M. C., El Boushy, A. R., Roodbeen, A. E., Ketelaars, E. H., 1986, Effects of processing time and moisture content on amino acid composition and nitrogen characteristics of feather meal, *Anim. Feed Sci. Technol.*, 14, 279-290.
- Park, G. T., Son, H. J., 2009, Keratinolytic activity of *Bacillus megaterium* F7-1, a feather-degrading mesophilic bacterium, *Microbiol. Res.*, 164, 478-485.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., Deshpande, V. V., 1998, Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62, 597-635.
- Singh, C. J., 2002, Optimization of an extracellular protease of *Chrysosporium keratinophilum* and its potential in bioremediation of keratinic wastes, *Mycopathologia*, 156, 151-156.
- Son, H. J., Park, G. T., Kim, Y. G., 2004, Production of a keratinolytic protease by a feather-degrading bacterium, *Bacillus megaterium* F7-1, *Kor. J. Microbiol.*, 40, 43-48.
- Wawrzekiewicz, K., Lobarzewski, J., Wolski, T., 1987, Intracellular keratinase of *Trichophton gallinae*, *J. Med. Vet. Mycol.*, 25, 261-268.