

환경일반-P12

P. aeruginosa EMS1의 mutagen 처리를 통한 고기능 유화제 생산 균주 개발 및 유전자 확인

이근희*, 한창민, 이준훈, 이경민, 차미선, 이상준
부산대학교 미생물학과

1. 서 론

계면활성제(detergent, surfactant, emulsifier)는 분자 내에 친수성기(hydrophilic group)와 소수성기(hydrophobic group)를 함께 갖는 양친매성 물질(amphipathic substance)로써 수용액상과 기체상 혹은 수용액상과 유기용매상과 같은 두 가지 상의 계면(interface)의 성질을 변화시켜 표면장력과 계면장력을 변화시키는 물질이다.

현재 사용되고 있는 계면활성제의 대부분은 석유화학공업을 이용하거나 일부는 동·식물의 지질을 이용하여 화학적 합성으로 생산되어 왔다. 그러나 이러한 화학합성 계면활성제는 제조 과정이 복잡하고 자연 생태계에 미치는 독성이 매우 강해대개의 폐수 처리공정이나 상수 처리공정에서도 제거가 되지 않아 심각한 환경오염 문제를 야기하고 있다. 이에 따라 계면활성제 산업에서는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 대체 계면활성제, 환경과 조화를 이루는 계면활성제, 특히 미생물이 생산하는 환경친화적인 생물 계면활성제의 개발이 필요하게 되었다.

생물 계면활성제의 대량생산기법 개발 및 시제품 생산을 위해 mutagen 처리를 통한 고기능 유화제 생산 균주 개발하여 다양한 기질을 이용한 유용 생물 계면활성제의 생산에 관한 연구를 하게 되었다.

2. 재료 및 실험 방법

P. aeruginosa EMS1 을 Tryptic soy broth에서 대수 증식기까지 배양 원심 분리하여 cell을 모은다. 모아진 cell을 min A buffer(1% K_2HPO_4 , 0.45% KH_2PO_4 , 0.1% $[NH_4]_2SO_4$, 0.05% Sodium citrate, pH 7.5)로 세척한 후 EMS $30\mu l$ 와 혼합하여 배양한다. 배양액을 원심분리하고, min A buffer 세척한 후 현탁하여 cetyltrimethylammonium bromide-methylene blue agar plate에서 dark blue halo를 형성하는 colony를 대상으로 실험을 실시하였다. 또한 생물계면활성제를 coding하는 유전자를 PCR(polymerase chain reaction)을 통해 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

변이원인 EMS를 처리한 후 cetyltrimethylammonium bromide-methylene blue agar plate에서 dark blue halo를 형성하는 colony들을 대상으로 유화활성 및 표면장력을 측정하여 wild 균주인 *P. aeruginosa* EMS1 보다 우수한 변이주들을 선별하였다. 그 중 유화

활성 및 표면장력에서 가장 우수한 성능을 보인 mutant strain A34 균주를 선택하여 다른 특성들을 조사하였다. 또한 rhamnolipid를 coding하는 유전자인 *rhlRAB* gene을 PCR을 통해 확인하였다.

Table 1. Effect of acidification soybean oil concentration on the surface tension and Fcmc from *P. aeruginosa* EMS1 and mutant strain A34

strain concentration	Surface tension(dyne/cm)		Fcmc	
	EMS1	A34	EMS1	A34
1 %	30	30	6.0	8.0
2 %	30	29	4.3	11.5
3 %	31	30	4.0	7.0
4 %	32	30	2.0	4.0
5 %	33	31	1.8	2.5
6 %	33	32	1.5	2.0
7 %	34	33	1.5	1.9
8 %	36	33	1.5	1.6

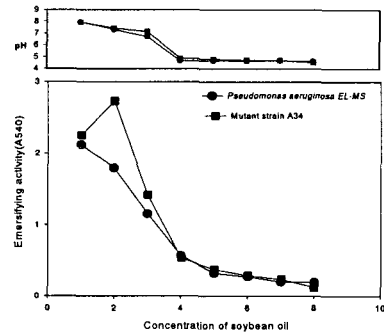


Fig. 1. Effect of acidification soybean oil concentration on the production of biosurfactant.

4. 요약

산폐유의 농도를 1~8% 까지 단계별로 조정하여 *P. aeruginosa* EMS1과 mutant strain A34의 유화활성 및 생육도, 표면장력 등을 서로 비교하였다. *P. aeruginosa*의 경우 1%의 산폐유가 첨가되었을 때 유화활성이 가장 높았으며, 1~3%까지 유화활성이 높게 나타났으며, mutant strain의 경우 2%에서 가장 높은 유화활성 값을 나타내었고, 1~3%까지 유화활성이 높게 유지되었다. *P. aeruginosa* EMS1 및 mutant strain A34 모두 4% 농도에서 가장 높게 나타났다. 표면장력과 biosurfactant의 상대적인 양을 나타내는 Fcmc의 경우 *P. aeruginosa* EMS1 보다 mutant strain A34가 우수하게 나타났다. PCR 결과 *P. aeruginosa* EMS1은 rhamnolipid의 coding 유전자인 *rhlRAB* gene을 가지는 것으로 확인되었다.

참고문헌

- Joseph G. Leahy and Rita R. Cowell, 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment, *Microbiological reviews*, 52, 3, 112.
- Gutnick, 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.