

토양에서 분리한 세균에 의한 Polymeric Biosurfactant의 생산 및 물리화학적 성질에 대한 연구

석 완수*, 임 은경, 손 흥주, 김 전기, 이 상준
부산대학교 자연과학대학 미생물학과

유류에 의한 오염사고는 최근에 들어 여수 SEA PRINCE호 원유유출사고, 부산 제1유일호 화물유 유출사고, 주타제시카 벙커C유 유출사고 등 대형 유류 오염 사고가 연속적으로 발생되고 있으며, 매년 사고 발생 건수도 증가하고 있는 형편이다. 이에 반하여, 유류오염에 대한 방제작업은 오일 펜스의 설치 후, 방정제나 유희수기 등에 의한 기계적 회수 및 흡착제를 사용한 물리적 제거와 유처리제를 이용한 화학적 방제에 치중하고 있다. 그러나 이와같은 물리화학적 인 방제 작업은 난분해성 물질이나 분해가 가능한 물질이라도 2차적인 독성 문제를 일으킴으로서 더욱 심각한 2~3차 환경오염을 유발하게 된다. 이에 미생물을 이용한 방제 작업이 본격적으로 연구되어 왔으며, 일부 선진국에서는 실제 오염된 환경에 적용한 사례가 있으나, 국내외를 막론하고 아직 초보적인 수준에 머물고 있다. 더욱이 화학합성계면활성제를 대체하기 위한 생물계면활성제의 시장이 확대되고 있는 현 시점과 국내의 잦은 해상에서의 유류오염에 즈음하여 해양환경을 정화하기 위한 선행연구로서, 생물계면활성제 생산미생물을 통한 biosurfactant의 정제 및 특성에 관하여 본 연구를 수행하였다.

본 연구에 사용된 *Pseudomonas* sp. EL-012S 균주는 만성적인 유류오염지역으로부터 분리한 biosurfactant 생산 균주로 본 실험실에서 biosurfactant 생산 최적배양 조건을 확립한 균주이다. 본 균주를 최적배양조건에 맞추어 배양한 결과, 정지기에 대량의 biosurfactant를 생산하는 것을 확인하였으며, Cooper et al.(1979)의 방법을 변형하여 산 침전법 및 유기용매 추출법으로 crude biosurfactant를 회수하였다.

Crude biosurfactant를 완전 정제하기 위하여 silica gel column chromatography 및 Sephadex G-15 gel filtration를 실행하여 본 균주가 생산하는 biosurfactant를 완전 정제하였으며, TLC 및 HPLC상에서 다양한 전개용매를

사용하여 단일 물질임을 확인하였다. 또한 각종 생화학적 반응을 이용하여 조성 분석을 실시한 결과 단백질, 당 및 지질 성분을 동시에 소유하고 있는 물질로 추정되었다. 따라서 본 균주에서 생산되는 생물계면활성제는 polymeric biosurfactant 계통인 것으로 사료된다.

이 정제된 biosurfactant의 각종 생화학적 성질을 규명하기 위하여 먼저, UV-spectrometer, FT-IR spectrometry analysis를 행하였으며, alkaline hydrolysis 후 성분분석을 실시한 결과 당과 protein 및 lipid의 물질을 함유하고 있는 것을 확인하였다. 또한, 본 실험에서 정제된 biosurfactant의 분자량을 알아보기 위하여 Sephadex-LH 20 column chromatography를 행하여 본 결과 분자량이 11,000 dalton 정도되는 것으로 밝혀졌다. 이것은 SDS-PAGE의 결과와 동일하였다.

이 정제된 biosurfactant의 상업적 적용가능성을 알아보기 위하여 물리·화학적 특성을 조사한 결과 20 mg/l의 농도에서 표면장력은 27 dyne/cm으로 나타났으며, n-hexadecane에 대해서 조사한 계면장력은 4.5 dyne/cm으로 나타났다. 또한 정제된 biosurfactant는 pH 및 열(온도)에 대단히 안정하였으며, NaCl, calcium ion 등에서도 비교적 안정한 것으로 나타났다. 그외 제 성질 중에서 유화력 및 유화안정도, 기포력 및 그의 안정도, 세정력, 습윤력이 뛰어났다. 따라서 본 균주가 생산하는 계면활성제는 기존의 합성세제를 대체할수 있음은 물론, 유류오염지역에 적용가능성이 있는 것으로 사료된다.