

# *Pseudomonas sp.* EL-A27균주에서 생산된 Biosurfactant의 특성

임은경\*, 김민주, 이희숙, 손홍주<sup>1</sup>, 이건, 이상준  
부산대학교 미생물학과, <sup>1</sup>밀양대학교 생물공학과

## 1. 서론

계면활성제는 섬유, 제지, 사진, 도료, 화장품, 의약품, 농약, 금속, 토목, 건축, 윤활유, 식품, 전자산업 등 여러 산업분야 및 생활 분야에서 유화제, 분산제, 습윤제, 기포제, 소포제, 세정제, 대전방지제, 응집제, 살균제, 보존제 등의 용도로 널리 사용되고 있다. 따라서 그 수요는 날로 증가하고 있으며 무수히 많은 종류의 화학합성 계면활성제들이 새로 개발되고 있다. 대부분의 합성계면활성제는 석유화학공업을 통해 합성되며 일부만이 동식물의 지질로부터 화학적으로 합성되고 있다. 그러나 화학합성 계면활성제는 자연 생태계에 미치는 독성이 매우 강할 뿐 아니라 난분해성으로 인하여 심각한 환경문제가 되고 있으며 최근 계면활성제의 영역이 확장되어 소비량이 늘어남에 따라 환경오염의 문제가 야기되었다. 이에 따라 계면활성제에 산업에서는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 대체 계면활성제, 환경과 조화를 이루는 계면활성제, 특히 미생물 유래의 생체계면활성제의 개발에 관심이 모아지고 있다.

따라서 본 연구에서는 생체계면활성제를 생산하는 미생물로부터 생체계면활성제를 분리하여 그 특성을 조사하고 다른 합성 계면활성제와도 비교해 보고자 한다.

## 2. 재료 및 실험 방법

생체계면활성제를 생산하는 미생물을 분리하기 위하여 시료로써 활성슬러지를 이용하였다. 분리용 배지에 2%의 n-hexadecane을 기질로하여 배양액의 표면장력 감소능을 보이는 균주중에 가장 우수한 균주를 공시균을 선정하였다. 공시균의 생체계면활성제 생산 최적조건을 알아보기 위하여 온도, pH, 탄소원, 질소원 및 각종 무기염의 영향을 조사하였고 ethylacetate를 이용한 유기용매추출법을 통하여 배양액으로부터 생체계면활성제를 추출하였다. 추출된 생체계면활성제의 성분을 조사하기 위하여 생화학적 시험으로 Carbohydrate의 검출을 위해서는 Phenol-sulfuric acid 법과 Anthrone, Diphenylamine reagent등을 사

용하였고 Protein분석을 위해서는 Lowry법, Amino acid 검출을 위해서는 Ninhydrine, lipid분석에는 Rhodamine 6G, esterified fatty acid 분석에는 Hydroxylamine-ferric chloride reagent를 사용하였다. 또한 분리한 생물계면활성제의 cmc와 농도에 따른 표면장력 및 유화능, 그리고 pH, 열에 대한 안정성 및  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ion에 대한 영향, 다른 기질에 대한 유화활성 및 유화안정도, 그리고 합성계면활성제와 표면장력 감소능 및 유화능을 비교하였다.

### 3.결과 및 고찰

공시균으로 선정된 생물계면활성제 생성균주는 동정결과 *Pseudomonas sp.*로 밝혀졌으며, *Pseudomonas sp.* EL-A27로 명명하였다. 공시균의 생물계면활성제 최적조건은 30℃, pH 7.0, n-hexadecane 2%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  3%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2%,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.025%,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.015%였으며 최적 생산배지에서의 생육곡선을 조사한 결과 대수증식기 말기인 배양 90시간째부터 생물계면활성제가 생산됨을 알 수 있었다. 추출된 생물계면활성제의 생화학적 시험결과 carbohydrate와 lipid로 구성된 glycolipid로 나타났다. 분리된 생물계면활성제의 pH에 대한 영향을 조사한 결과 pH가 증가할수록 표면장력의 증가를 보였으며 각 pH에 따른 cmc를 조사한 결과 140~370mg/ℓ으로 역시 pH가 증가할수록 cmc 값도 증가하였다. pH에 따른 유화활성 및 유화안정도를 조사한 결과 pH4에서 가장 우수한 유화능과 유화활성을 보였다. 각각의 pH와 열에 대한 안정성에는 안정한 것으로 나타났으며,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ion에 대해서도 농도가 증가하여도 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 다른 기질에 대한 유화능 검토에서는 배양 기질인 n-hexadecane 보다는 crude oil과 2-methyl-naph-talene에서 높은 유화능을 보였으며 전반적으로 대부분의 기질에서 높은 유화능을 보였다. 다른 유화제와는 유화능 및 표면장력의 조사에서도 생물계면활성제가 비교적 우수한 활성을 나타내었다.

### 4.요약

합성계면활성제를 대체하고자하는 노력의 일환으로 생물계면활성제를 생산하는 미생물을 분리하여, 생산된 계면활성제의 성질을 검토하였다. 본 연구에서 분리한 생물계면활성제는 합성계면활성제에 비해서 낮은 cmc 값을 가지며

표면장력 감소능도 더 우수한 것으로 나타났으며 다른 합성계면활성제와의 비교에서도 뒤지지 않는 유화활성을 나타내었다. 또한 열 및 pH에서도 안정한 것으로 나타났다.

#### 참 고 문 헌

- 최영국 외 2인, 1994, Biosurfactant의 활용 화학공학과 기술 , vol 12, no 1, p37-45
- 이영, 이상엽, 양지원, 박창호, 1996, 생물계면활성제 생물화공, 제 10권, 제2호 p53-63
- Chaplin, M.F., and J.F. Kennedy, 1992 Carbohydrate analysis a practical approach, Monosaccharide, 1-36 IRL Press
- Cirigliano, M. C. and G. M. Carman. 1985. Purification and characterization of liposan a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 4 p 846-850
- Cirigliano, M. C. and G. M. Carman. 1984. Isolation of a bioemulsifier from *Candida lipolytica*. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol 48, no 104, p747-750