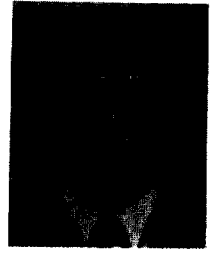


# 계면 활성제 생산 미생물

서울대학교 자연과학대학 미생물학과 김 상 종



계면 활성제는 의약품, 음료, 화장품, 농약, 세제 등에 사용되며 연간 100만톤 이상의 합성 계면 활성제가 산업적으로 사용되고 있다.

자연환경에서도 유류오염이 발생한 해역에 유분 산제로 통칭되는 계면 활성제를 살포하여 해수와 유막간의 계면 장력을 감소시켜 기름덩어리를 미세한 기름방울로 분산시킬 수 있다. 이러한 기름방울은 체적에 대한 표면적의 비를 크게 증가시켜 미생물에 의한 생물분해를 용이하게 만들어 환경오염의 방제효과를 높일 수 있다. 이외에도, 계면 활성제는 탄화수소를 기질로 이용할 수 있는 미생물의 성장을 촉진시켜 탄화수소로부터 여러가지 유용한 산물을 얻을 수 있도록 한다. 그 예로 single cell protein, 여러 종류의 아미노산, alkane transformation products, sugar, polysaccharides, 핵산, vitamin, 색소, flocculating agent 등을 들 수 있다.

생물체에 의해서 생성되는 biosurfactants는 합성 계면 활성제보다 종류와 성질이 다양하고 대부분 생분해가 가능하여, 오염 가능성을 감소시키고, 생물체에 대한 독성이 상대적으로 낮아 산업적으로 효용가치가 높다.

일찌기 식물에서 추출된 gum, lecithin, polysaccharides, alginate 등과 콩 단백질이 계면 활성제로서의 성질을 갖고 있음이 밝혀져 식품 등에 광범위하게 사용되어 왔다. 그밖에 계란에서 추출한 lipoprotein, 유제품 및 혈액, 허파 등 동물체로부터 추출된 계면 활성제도 화장품, 세제, 치약, 껌 등에 다양하게 사용되어 왔다.

미생물에 의해서 생성되는 계면 활성제는 1947년 Zobell(Zobell, C. E. 1947)에 의해 처음 보고되었다. Zobell 등은 해양세균인 *Desulfovibrio hydrocarbonoclasticus*을 oil-sand mixture에 접

종하여 이로부터 oil을 수거하는데 성공하였으며 이러한 사실은 세균에 의해 생성된 계면 활성제의 작용에 의해 가능하다고 생각하였다. 그 이후로 biosurfactant에 대한 연구가 많이 이루어져 1955년 La Riviere는 여러 종류의 세균을 대상으로 계면 활성제의 생성여부를 표면 장력을 저하시키는 정도로 알아 보았다(Table 1). 1961년 Rogovin 등(Rogovin, S. P. et al., 1961)은 *Xanthomonas campestris*가 glucose를 발효하여 xanthan gum을 생성함을 보였으며, emulsifier로서의 기능이 좋음을 밝혔다. Polysaccharide 계열의 biosurfactant는 Husain 등(Husain, I, et al., 1960)이 *Lactobacillus* sp.로부터 얻은 dextran이 좋은 예이다. Arima 등(Arima, K,

**Table 1. Surface tension reduction in cultures of various microorganisms grown in synthetic media containing one single organic compound**

Organism	Mineral medium with	Drop of surface tension in dyn/cm in 7 days
1. <i>Bacillus subtilis</i>	1% glycerol	34
2. <i>Aspergillus niger</i>	1% glycerol	15
3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1% glycerol	21
4. <i>Candida lipolytica</i>	1% glycerol	19
5. <i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	2.1% Na-lactate	21
6. <i>Aerobacter aerogenes</i>	1% glucose	14
7. <i>Mycobacterium phlei</i>	1% glucose	15
8. <i>Acetobacter aceti</i>	1% Na-acetate	14

Adapted from La Riviere, J.W.M., *Antonie van Leeuwenhoek; J. Microbiol. Serol.*, 21, 1, 1955.

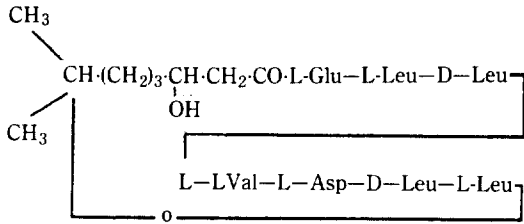


Fig. 1. Structure of surfactin. (Adapted from Kakinuma, A. et al., *Agric. Biol. Chem.*, 33(6), 971, 1969; 33(6), 973, 1969.)

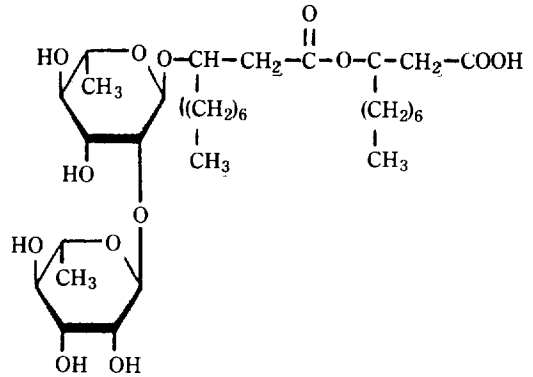


Fig. 3. The R-1 rhamnolipid isolation from *Arthrobacter paraffineus*.

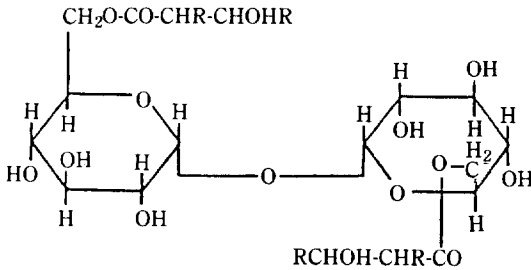


Fig. 2. Structure of cord factor: a diester of trehalose and two mycolic (or corynomycolic) acids.

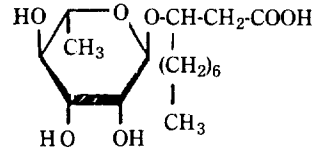


Fig. 4. The R-2 rhamnolipid isolated from *Arthrobacter paraffineus*.

et al., 1968)은 혈액 응고를 제한하는 성질을 갖는 세균의 산물을 분리하다가 *Bacillus subtilis*로부터 peptide-lipid의 결정체를 얻었다. 이는 surfactin이라고도 하는데 혈액 응고의 강력한 저해제 뿐만 아니라 매우 우수한 surfactant임이 밝혀졌다. 0.005%와 같이 낮은 농도에서도 sodium lauryl sulfate나 합성 세제보다 훨씬 높은 계면활성효과를 나타내었다. 이 peptide-lipid를 화학적으로 분석한 결과 1058의 분자량을 갖고있으며 구조는 Fig. 1과 같았다.

탄화수소를 기질로 하여 미생물을 배양하였을 때, 유화물질을 생성하는 미생물로는 *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1(Rosenberg et al., 1979, Zuckerberg et al., 1979, Pines & Gutnick 1986), *Arthrobacter* RAG-1(Rosenberg et al., 1979, Zuckerberg et al., 1979), *Bacillus* sp. IAF 343, *Bacillus cereus* IAF 346(Cooper & Goldenberg, 1987, Cooper et al., 1981), *Corynebacterium* sp. (Gerson & Zajic, 1979), *Torulopsis* sp. (Cooper & Paddock, 1983, 1984), *Candida* sp. (Käppeli & Fiechter, 1977, Cirigliano & Carman, 1985) 등이 보고된 바 있다.

미생물에 의해서 생성되는 surfactants의 대부분은 lipids이다. 이들은 지방산과 같은 탄화수소로 구성된 소수성 부분과 ester, alcohol, phosphate, sugar 등과 같은 친수성 부분의 조합에 의해서 계면 활성제로서의 기능을 갖는다. 효과적인 계면 활성제로서 작용하려면 표면 장력을 30 dyne/cm 이하(증류수의 표면장력이 73 dyne/cm 임)로 낮출 수 있어야 한다.

미생물에 의해서 생성되는 계면 활성제는 크게 다음과 같이 분류된다.

- 1) Carbohydrate-Containing Surfactants ; trehalose lipids, rhamnolipids, sophorose lipids, diglycosyl diglycerides, polysaccharide-lipid complexes,
- 2) Amino Acid-Containing Surfactants ; lipopeptides, ornithine lipids, protein
- 3) Phospholipids ;
- 4) Fatty Acids & Neutral lipids ;

1) Carbohydrate-Containing Surfactants  
미생물에 의해 생성된 계면 활성제의 대부분은 glycolipids이다. 탄화수소 배지에서 배양한 경

**Table 2. Effect of medium on phospholipid distribution in *Micrococcus cerificans*<sup>a,b</sup>**

Phospholipid	Hexadecane		
	Acetate pH 7	pH 7	pH 2
Cardiolipin	14.5	12.9	1.0
Phosphatidylglycerol phosphate	7.7	5.7	Trace
Phosphatidylglycerol	30.6	19.9	12.2
Phosphatidylethanolamine	47.1	61.5	86.8

<sup>a</sup>From Makula and Finnerty (1970).

<sup>b</sup>Percentage of total micromoles of phosphorous per gram (dry wt.).

우 trehalose를 포함하는 glycolipids을 생성하는 미생물로는 *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Norcadia* 등이 있다(Suzuki *et al.*, 1969; Rapp and Wagner, 1976; Anderson & Neuman, 1933). 가장 연구가 많이된 trehalose lipid는 cord factor(Fig. 2)로 mycobacteria에서 처음 발견되었으며, 그외의 미생물에서도 보고된 바 있다(Lederer, 1967; Asselineau, 1966).

Rhamnose와  $\beta$ -hydroxycarboxylic acids를 포함하는 glycolipids는 *Pseudomonas aeruginosa*로부터 분리된 바 있다(Itoh *et al.*, 1971). Edwards 등(Edwards and Hayash, 1965)에 의해 최초로 분석된 rhamnolipid(R-1)는 rhamnose 두 분자와  $\beta$ -hydroxydecanoic acid 두 분자로 이루어져 있다(Fig. 3). 그 이후에 Itoh 등에 의해 두번째 rhamnolipid(R-2)는 구조적으로 R-1과 유사하나 rhamnose unit가 하나이다(Fig. 4). 이로부터 R-2는 R-1의 전구체인 것으로 간주되고 있다.

## 2) Amino Acid-Containing Surfactants

Lipopeptides는 여러 종류의 세균과 효모로부터 분리되었는데, *Bacillus subtilis*에서 생성된 것이 가장 효과적인 계면 활성효과를 나타낸다고 보고되었다. lipopeptides는 surfactin(Arima *et al.*, 1968) 또는 subtilysin(Bernheimer & Avigad, 1970)라고도 한다.

## 3) Phospholipids

Phospholipid는 모든 미생물에서 생성이 되며 두개의 지방산과 한개의 인산기와 ester bond를

하는 glycerol로 구성되어 있다. Phospholipids의 생성량은 배지의 구성에 따라 변화하는데, *Candida tropicalis*의 경우, glucose 배지보다 n-alkanes 배지에서 배양하였을 때 phospholipids을 더 많이 생성하였다(Mishina *et al.*, 1977). *Micrococcus cerificans*(Makula & Finnerty, 1970)의 경우는 Table 2와 같다.

## 4) Fatty Acid and Neutral lipids

지방산과 중성지방도 모든 미생물에서 생성이 되며, 대개 carboxylic acid와 alcohol, ester, monoglycerides, diglycerides, triglycerides을 함유하고 있어 계면 활성을 갖는다.

미생물에 의해서 생성되는 계면 활성제는 매우 다양하며, 그 특성은 사용되는 기질과 배양조건 등에 따라 다르게 된다. 일반적으로 소수성 부분은 대부분 지방산으로 이루어진 탄화수소 사슬이지만, 친수성 부분은 alcohol, ester 등을 비롯하여 인산 또는 황산기와 같이 이온 그룹으로 구성되는 등 다양하다.

대부분의 biosurfactant는 생분해가 가능하며 독성이 없다. 따라서 오염문제를 야기하지 않으며 생물체에 적용가능한 장점을 갖고 있다. 따라서 앞으로 미생물을 이용한 biosurfactant의 개발 및 응용가능성은 매우 높다고 볼 수 있다.

## 참고문헌

1. Anderson, R.J., and Newman, M.S., 1933 *J. Biol. Chem.* **101**, 499-504.
2. Arima, K., Kakinima, A., and Tamura, G., 1968 *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **21**(3), 488.
3. Asselineau, J., 1966 "The Bacterial Lipids" Holden-Day, San Francisco, California.
4. Bernheimer, A.W., Avigad, L.S., 1970 *J. Gen. Microbiol.* **61**: 361.
5. Cirigliano, M.C., G.M. Carman, 1985 *Appl. Env. Microbiol.* **50**: 846.
6. Cooper, D.G., C.R. MacDonald, S.J.B. Duff and N. Kosaic, 1981 *Appl. Env. Microbiol.* **42**: 408.
7. Cooper, D.G., D.A. Paddock, 1983 *Appl. Env.*

- Microbiol.* **46**: 1426.
8. Cooper, D.G., D.A. Paddock, 1984.
  9. Gerson, D.F., J.E. Zajic, 1979 *Antonie van Leeuwenhoek* **45**: 81.
  10. Glassman, H.N., 1949 *Bacteriol. Rev.* **12**: 105.
  11. Husain, I., A.N. Hall and T.K. Walker, 1960 *J. Appl. Bacteriol.* **23**: 1.
  12. Iguchi, I., I. Takeda and M. Ohsana, 1969 *Agric. Biol. Chem.* **33**: 1657.
  13. Itoh, S., H. Honda, F. Tomita and T. Suzuki, 1971 *J. Antibiot.* **24**: 855.
  14. Jones, G.E. and R.L. Starkey, 1961 *J. Bacteriol.* **82**: 788.
  15. Käppeli, O. and A. Fiechter, 1977 *J. Bacteriol.* **131**: 917.
  16. Lederer, E., 1967 *Chem. Phys. Lipids.* **1**: 294.
  17. Makula, R.A., and W.R. Finnerty, 1972 *J. Bacteriol.* **112**: 398.
  18. Mishina, M., M. Isurugi, A. Tanaka, S. Fukui, 1977 *Agric. Biol. Chem.* **41**: 635.
  19. Pines, O. and D. Gutnick, 1986 *Appl. Env. Microbiol.* **51**: 661.
  20. Rapp, P. and F. Wagner, 1976 *Abstr. Pap., Int. Ferment. Symp.*, 56h p. 133.
  21. Rogovin, S.P., R.F. Anderson and M.C. Cadmus, 1961 *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.* **3**: 51.
  22. Rosenberg, E., A. Zuckerberg, C. Rubinovitz and D.L. Gutnick, 1979. *Appl. Env. Microbiol.* **37**: 402.
  23. Suzuki, T., H. Tanaka and S. Itoh, 1974 *Agric. Biol. Chem.* **38**: 557.
  24. Zobell, C.E., 1947 *Oil Gs J.* **46**: 62.
  25. Zuckerberg, A., A. Diver, Z. Peeri, D.L. Gutnick and E. Rosenberg, 1979 *Appl. Env. Microbiol.* **37**: 414.

<32 page에서 계속>

bition에 100 이상 덜 민감한 *proB* 변이주를 만들어 *E. coli* 및 *K. pneumoniae* 등에 도입 발현시켜 야생주보다 내염성이 훨씬 강한 변이주를 얻는데 성공함으로써 내염성이 요구되는 유용미생물에 내염성을 도입시킬 수 있음을 시사해 주고 있다. 내염성이 요구되는 유용미생물로는 간장, 된장 등 장류의 발효 및 숙성에 관여하는 식품미생물 그리고 간척지와 같은 고염농도 토양에서 작물을 재배할 경우 질소고정균 등 농업적으로 유용한 토양미생물 등 다양하다.

### 참고문헌

1. Gochnauer, M.B., G.G. Leppard, P. Komarotot, M. Kates, T. Novitsky and D.J. Kushner (1975). *Can. J. Microbiol.* **21**, 1500.
2. Jakowec, M.W., L.T. Smith, and A.M. Dandekar (1985) *Appl. Environ. Microbiol.* **50**, 441.
3. Larsen, H. (1986) *FEMS Microbiol. Rev.* **39**, 3.
4. LeRudalier, D., A.R. Strom, A.M. Dandekar, L.T. Smith, and R.C. Valentine (1984) *Science* **224**, 1064.
5. Oren, A. (1981) *Kieler Meeresforsch Sonderh.* **5**, 416.
6. Russel, N.J. and M. Kogut (1985) *Microbiol. Sci.* **2**, 345.
7. Tindall, B.J., A.M. Mills and W.D. Grant (1980) *J. Gen. Microbiol.* **116**, 257.
8. Trüper, H.G. and J.F. Imhoff. (1981) The genus *Ectothiorhodospira*, in *The prokaryotes* (Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Trüper, A. Balows and H.G. Schlegel, eds) vol. 1 pp 274-278, Springer-Verlag, Berlin.
9. Wegmann, K. (1986) *FEMS Microbiol. Rev.* **39**, 37.