

Rhodotorula glutinis K-501에 의해 생산된 세포외지질의 생체계면활성제로서의 물리화학적 특성

박 평 규 · ¹채 희 정 · † 김 의 용
서울시립대학교 공과대학 화학공학과, ¹대상(주) 중앙연구소
(접수 : 1997. 9. 23., 게재승인 : 1997. 10. 7.)

Physiochemical Properties of Extracellular Lipid Produced by *Rhodotorula glutinis* K-501 as a Biosurfactant

Pyoung Kyu Park, Hee Jeong Chae¹ and Eui Yong Kim[†]
Dept. of Chemical Engineering, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea
¹R&D Center, Daesang Corp., Icheon, Kyongki-Do 467-810, Korea
(Received : 1997. 9. 23., Accepted : 1997. 10. 7.)

The physiochemical properties of extracellular lipid produced by an oleaginous yeast, *Rhodotorula glutinis* K-501 were examined. From the analytical experiments, it was suggested that the extracellular lipid produced is glycolipidic compound. Critical micelle concentration and minimum surface tension of the extracellular lipid in aqueous solution were 89mg/L and 31dyne/cm, respectively. Surface tension was also constant throughout wide range of pH. The emulsifying abilities and dispersing power of the extracellular lipid were much greater than those of commercial surfactants such as Tween 80 and Triton X-100 by factors of 2-3 and 1.3, respectively.

Key Words : *Rhodotorula glutinis*, extracellular lipid, biosurfactant, surface tension

서 론

계면활성제란 분자 내에 친수성 부분과 친유성 부분을 동시에 가지고 있는 양친매성 분자라는 구조적인 특성에 의해 상간의 계면에 선택적으로 배향하여 계면의 성질을 변화시키는 물질이다. 따라서 표면 및 계면장력에 영향을 주어 유화제, 기포제, 소포제, 침투제, 응집제, 세정제, 습윤제, 분산제, 살균제, 보존제 등의 용도로 다방면에서 널리 쓰이고 있다(1).

현재 사용되고 있는 계면활성제의 대부분은 동식물 지질 또는 석유화학공업의 원료를 이용한 화학 합성법에 의해 생산되고 있다(1). 그러나 화학합성 계면활성제는 자연 생태계에 미치는 독성이 매우 강할 뿐 아니라 난분해성으로 인하여 심각한 환경문제가 야기되면서 이러한 문제점들을 해결할 수 있는 대체 계면활성제, 특히 미생물 유래의 생체계면활성제의 개발이 전세계적으로 활발히 이루어지고 있으며(2,3) 국내에서도 많은 연구들이 진행되고 있다(4-8). 생체계면활성제는 독성이 적고, 생분해가 가능하며, 넓

은 범위의 pH와 온도에서도 안정할 뿐 아니라 다양한 종류의 미생물들에 의해 생합성되기 때문에 화학적 구조가 다양하여 용도에 따른 다양한 특이성을 가지고 있다는 장점이 있다. 한편 화학합성 제품보다 자연으로부터 유래된 천연물을 선호하는 소비자들의 취향도 생체 계면활성제의 개발을 가속화시키고 있다. 예로서, 식품산업에서 유화제로 GMS(glycerol monostearate)와 CMC(carboxymethylcellulose)의 화학 합성물을 사용하던 것이 식물로부터 추출한 lecithin과 arabic gum 등으로 일부 대체되었는데(9) 이들 역시 가공 공정상의 문제 또는 대량생산의 어려움 등으로 인하여 xanthan gum, gellan gum, nisin 등의 미생물 유래 유화제로 대체되고 있는 실정이다(10).

생체계면활성제를 구성하고 있는 친유성 부분은 지방산이며 친수성 부분을 구성하고 있는 물질의 유형에 따라 당지질(glycolipids), 지다당(lipopolysaccharides), 지단백(lipoprotein), 인지질(phospholipids), 당 에스테르(sugar esters) 등으로 분류되며 지방산과 지질 또한 계면활성을 가진다. 성능이 우수한 생체계면활성제의 선정 기준은 표면 또는 계면장력이 낮아야 하는 것이다. 그러나 표면 또는 계면장력의 값이 낮다고 해서 계면활성제로서 모든 용도에 다 적용될 수는 없으며 따라서 특정의 용도에 부합하는지에 대한 고찰이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 *Rhodotorula glutinis* K-501의 배양에

† Corresponding Author : Dept. of Chemical Engineering,
The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea
Tel : 02-210-2530 , Fax : 02-216-0570
E-mail : eykim@scucc.scu.ac.kr

의해 생산된 세포외지질(extracellular lipid)의 생화학적 특성 뿐 아니라 표면장력, 임계미셀농도, 유화도, 유화안정도, 분산력, 기포력 등 물리화학적 성질과 용도를 분석함으로써 생체계면활성제로서의 응용 가능성을 검토하는데 목적이 있다.

재료 및 방법

세포외지질의 생산 및 회수

본 실험에서 세포외지질의 생산을 위해 사용한 균주는 낙엽수 토양에서 분리된 *Rhodotorula glutinis* K-501이었다. 지질 생산을 위한 기본배지의 조성은 sucrose 6%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.12%, MgSO_4 0.075%, KH_2PO_4 0.035%, Na_2HPO_4 0.1%, CaCl_2 0.01%, yeast extract 0.05% 를 사용하였으며 배양 온도는 22°C, pH는 7로 하였다. 배양은 2L Jar fermentor(New Brunswick Scientific Co.)에서 작업용량은 1L, 교반속도는 300rpm, 통기속도는 1 vvm으로 하였다.

세포외지질을 회수하기 위해 배양액 100mL에 petroleum ether와 diethylether의 1:1(v/v) 혼합용매 50mL을 첨가하여 완전 혼합한 후 원심분리하여 균체를 제거하였다. 다음, 용액을 정치시켜 용매상과 수용액상으로 분리시킨 후 분액깔대기를 이용하여 용매상을 회수하였으며, 남은 수용액상에 대해 동일한 용매 추출과정을 수 차례 반복하였다. 그 후 실온에서 회전 진공증발기를 이용하여 용매를 증발 제거시켜 세포외지질을 회수하였다. 정제를 위해 회수된 세포외지질에 chloroform : methanol : H_2O (8:4:3, v/v/v)의 혼합용매를 가하여 완전 혼합한 후 분액깔대기를 이용하여 상을 두 층으로 분리하였고, chloroform층을 취하여 실온에서 회전 진공증발기로 용매를 제거하여 이물질이 제거된 세포외지질을 얻었으며 갈색 시약용기에 질소가스를 충전하여 냉동보관하면서 분석을 위한 시료로 사용하였다.

TLC 분석

생합성된 세포외지질의 성분을 확인하기 위하여 TLC분석을 실시하였다. 정제한 세포외지질 0.6 μL 를 microsyringe로 취하여 110 - 120°C에서 예열된 TLC(Silica gel F₂₅₄ plate, Merck Co.)상에 점적한 후 실온에서 2종류의 용매(chloroform : methanol (50:50, vol%), chloroform : methanol : water(69:27:4, vol%))를 이용하여 전개시켰다. 전개 후 TLC plate를 건조시켰으며 발색법을 이용하여 세포외지질의 성분을 정성분석하였다. 당 성분에 대한 발색 시약은 Hodge등(11)의 방법에 따라 10% anthrone과 phenol-sulfuric acid를, 지질에 대한 발색 시약은 Christie(12)의 방법에 따라 rhodamine B와 iodine vapor를, 아미노산 성분에 대한 발색 시약은 ninhydrin용액(13)을 사용하였다.

세포외지질의 조성 분석

생산된 세포외지질의 지방산 조성을 GC분석하기 위하여 시료를 Morrison등(14)의 방법에 따라 다음과 같이 전처리하였다. 지질 50mg을 screw cap tube에 넣은 후 벤젠 1.5mL과 BF_3 methanolic solution(12 w/v %) 1.5mL을 차례로 가하여 100°C에서 1시간 동안 메틸화 반응을 시켰다. 그 후 hexane 2mL과 증류수 2mL을 첨가하여 완전 혼합시킨 후 정치시켜 상층액인 hexane층을 회수하여 GC분석을 위한 시료로 사용하였다. 지방산 분석을 위한 GC의 분석 조건은 Table 1과 같다. GC분석 시

Table 1. The operating conditions of GC.

| | |
|---------------|--|
| Model | Young-in M600D |
| Detector | Flame ionization detector |
| Column | HP-5 capillary(25mx0.22mmx0.33 μm) |
| Sample size | 0.1 μL |
| Temperature | Injection port 220°C Detection port 280°C Column 170°C(2min), 5°C/min, 270°C(2min) |
| Gas flow rate | N_2 0.77 mL/min H_2 20.2 mL/min Air 345 mL/min |

지방산 표준 시료로 Sigma 제품(No. 189-17)을 사용하였다.

HPLC(HP 1100series, RID, column: sugarpak)로 세포외지질을 구성하고 있는 당의 성분을 분석하였다. 세포외지질 1g을 4N TFA(trifluoroacetic acid) 용액 10mL에 첨가하여 5시간 동안 비등시킨 후, 원심분리하여 얻은 상등액을 분석을 위한 시료로 사용하였다.

세포외지질의 원소 분석

원소분석기(EA 1108 CHNS/O MODE Elemental analyzer, Fisons instruments, U.S.A)를 사용하여 세포외지질의 화학 성분을 분석하였다. 분석 항목은 C, H, O, N, S이었다.

표면장력의 측정

1 - 400mg/L농도의 시료 수용액에 대해 25°C에서 De Nouy tensiometer(Yoshida Co., Japan)를 이용하여 ring method(15)로 표면장력을 측정하였다. 측정에 사용한 platinum-iridium 합금 고리는 측정에 앞서 벤젠, 아세톤, 크롬산의 혼합용액 그리고 증류수의 순으로 세척한 후 가스버너로 이물질을 완전히 제거한 후 사용하였다.

유화도와 유화 안정도의 측정

유화도(emulsifying activity)는 Cirigliano등(16)의 방법을 이용하여 측정하였다. 시료 0.3mg을 10mL의 0.1M sodium acetate buffer(pH 4.0)에 용해시킨 후 유화기질인 hexadecane 0.1mL을 첨가하여 2분간 완전교반하여 유화시켰다. 그 후 10분간 정지시킨 뒤 540nm에서 흡광도를 측정함으로써 유화활성을 측정하였다. 10분 간격으로 100분간 540nm에서 흡광도를 측정하여 초기 유화도에 대한 백분율로 유화 안정도를 나타내었다.

분산력의 측정

분산력의 측정은 Jung등(4)의 방법을 사용하였다. 100mL의 메스실린더에 산화철(Fe_2O_3) 300mg과 시료 100mg을 차례로 첨가한 후 메스실린더를 흔들어 산화철이 잘 분산되도록 하였다. 상온에서 20분간 정지시킨 후 메스실린더 내 현탁물 표면으로부터 일정 깊이(20mL 밑부분)에 있는 시료 2mL를 취하여 증류수를 이용하여 660nm에서 흡광도를 측정하여 분산력을 나타내었다.

기포력의 측정

1g/L 농도의 시료 30mL은 100mL 메스실린더에 담고, 20mL은 피펫에 채운 다음 메스실린더 상단 25cm 되는 지점에 피펫

을 고정시켰다. 피펫 내 시료를 한 방울씩 메스실린더 내로 투하하여 생성된 거품의 높이를 측정하였는데 수 차례 측정 후 정수 자리의 평균값을 취하여 기포력을 나타내었다.

결과 및 고찰

세포외지질의 생화학적 특성

Rhodotorula glutinis K-501에 의해 생합성된 세포외지질의 생화학적 특성을 고찰하기 위하여 TLC분석을 수행하였다. 정제한 세포외지질 0.6 μL를 TLC plate상에 점적 시킨 후 전개 시킨 결과 R_f 값이 chloroform : methanol(50:50, vol%) 용매의 경우 0.4와 1.0, chloroform : methanol : water(69:27:4, vol%) 용매의 경우 0.7과 1.0으로 각각 2종류의 물질로 분리되었다. 전개 후 TLC plate를 건조 시켰으며 발색법을 이용하여 세포외지질의 성분을 정성분석한 결과를 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Detection of the extracellular lipid on TLC.

| Detection reagent | Substrate | Result |
|----------------------|--------------|--------|
| Phenol-sulfuric acid | carbohydrate | + |
| Anthrone | carbohydrate | + |
| Ninhydrin | amino acid | - |
| Rhodoamine B | lipid | + |
| Iodine vapor | lipid | + |

+ : positive, - : negative

2종류의 물질 모두 phenol sulfuric acid의 발색 반응에서는 자주색의 양성반응을 보였으며 anthrone반응에서는 갈색의 양성반응을 보여 당 성분을 함유하고 있는 물질임을 확인할 수 있었다. HPLC를 이용하여 당성분을 확인한 결과 이 물질은 당알코올인 mannitol인 것으로 밝혀졌다. 지질 성분의 검출 시약인 rhodoamine B와 iodine vapor에서도 핑크색과 노란색의 양성반응을 나타내었다. 세포외지질을 구성하고 있는 지방산을 확인하기 위하여 시료를 메틸화 반응을 시킨 후 GC로 분석하였는데 (Figure 1) 그 결과 palmitic acid, palmitoleic acid, linoleic acid, oleic acid, stearic acid, arachidic acid 등이 검출되었다. 한편 지다당(lipopolysaccharide)계 물질일 경우 47% ammonium sulfate로 처리한 후 4℃의 저온 상태를 유지하면 침전되는 것으로 보고되어 있는데(18) 실험을 통해 확인한 결과 침전물이 나타나지 않았으며 아미노산의 검출을 위한 ninhydrin반응에서는 음성반응을 나타내었다.

Parra등(19)의 연구에 따르면 *Pseudomonas aeruginosa*의 배양을 통해 얻은 생체계면활성제의 TLC분석 결과 본 실험에서 사용한 동일한 전개 용매 2종류를 사용하였을 때 R_f값이 각각 0.45와 0.7인 것으로 보고하여 본 실험에서 얻은 값과 동일하였는데 IR과 NMR을 통한 구조분석의 결과 이들이 당지질계 물질임을 밝혀낸 바 있다. 이상의 결과로부터 본 균주가 생산한 세포외지질은 당알코올과 지질이 결합되어 있는 당지질(glycolipid)계 계면활성제인 것으로 판단되었다. 한편 Tulloch 등(20)은 *Rhodotorula* 종이 세포 외 산물로 당지질계 계면활성제를 생합성하며 이들은 glycerol, arabitol, xylitol, mannitol의 당알코올과 지방산으로 구성되어 있음을 보고한 바 있다. 한편 원소분석기를 통해 주요 원소의 중량 조성을 분석한 결과 탄소,

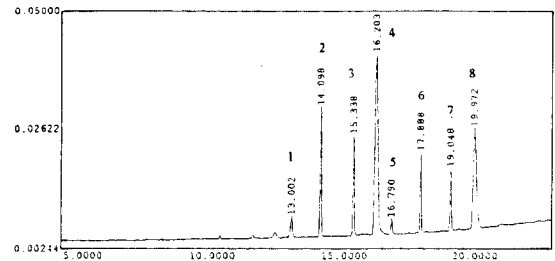


Figure 1 GC chromatogram of extracellular lipid after methylation. 1:palmitic acid, 2:palmitoleic acid, 3:unknown, 4:linoleic acid, 5:oleic acid, 6:stearic acid, 7:unknown, 8:arachidic acid

산소 및 수소 함량은 각각 58.67%, 31.42%, 9.91%이었으며 질소와 황 성분은 없는 것으로 나타났다.

세포외지질의 농도 및 pH에 따른 표면장력의 변화

생합성된 세포외지질의 농도를 1-400mg/L의 범위에서 표면장력을 측정된 결과는 Figure 2와 같다. 세포외지질의 농도가 89mg/L 까지 증가함에 따라 표면장력이 급격히 감소하였으며 그 이상의 농도에서는 일정한 값의 표면장력을 나타내었다. 따라서 *Rhodotorula glutinis* K-501에 의해 생합성된 세포외지질의 임계미셀농도는 89mg/L이었으며 표면장력은 31dyne/cm 의 값을 가졌다. 임계미셀농도는 계면활성제의 효율성을, 표면장력은 계면활성제의 효능성을 나타내는 값으로 이들의 값이 낮을수록 우수한 계면활성제임을 의미한다. Table 3에는 이미 알려져 있는 계면활성제에 대한 CMC와 표면장력의 값을 나타내었다(21, 22). 종류에 따라 차이는 있으나 *Rhodotorula glutinis* K-501에 의해 생합성된 세포외지질 역시 이미 알려져 있는 생체계면활성제의 범주에 속하는 특성을 가졌음을 알 수 있다. 특히 널리 사용되고 있는 화학합성 계면활성제인 LABS(linear alkylbenzene sulfonate)와 SLS(sodium lauryl sulfate)에 비하여 약 6-30 배 작은 CMC 값을 갖는 우수한 특성을 가진 계면활성제인 것으로 조사되었다.

세포외지질을 100mg/L의 농도로 pH 2-10의 완충 용액에 용

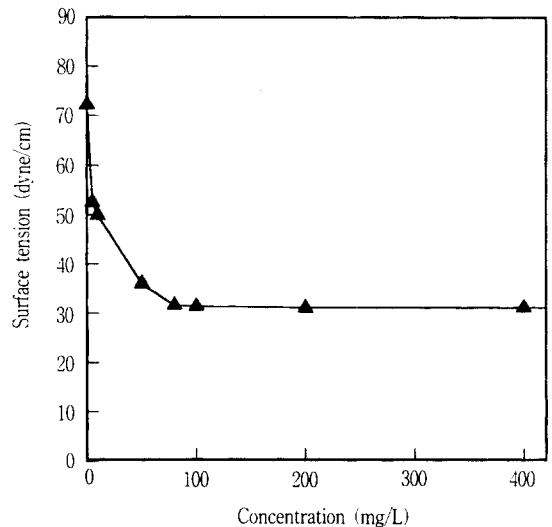


Figure 2. Effect of extracellular lipid concentrations on surface tension.

해시킨 후 pH의 변화에 따른 세포외지질의 표면장력을 측정하였는데 그 결과를 Figure 3에 나타내었다. 전 범위의 pH에 대해 표면장력이 일정한 값을 갖는 것으로 조사되었다. *Nocardia sp.*에 의해 생합성된 계면활성제도 pH에 관계없이 일정한 표면장력을 지니나(23), *Pseudomonas aeruginosa*에 의해 생합성된 rhamnolipid는 pH변화에 따라 표면장력이 급격히 변할 뿐 아니라 CMC의 값도 pH 3에서 5mg/L이나 pH 9에서는 30mg/L으로 pH에 따라 큰 변화를 보이는 것으로 알려져 있는데(24), 이는 rhamnolipid는 이온성 계면활성제이기 때문이다. 그러나 *Rhodotorula glutinis* K-501에 의해 생합성된 세포외지질은 pH의 변화에 무관하게 일정한 CMC의 값을 나타내어 pH의 변화에 영향을 받지 않는 안정적인 계면활성 특성을 나타내었다.

Table 3. Surface active property comparisons of extracellular lipid with other surfactants.

| Surfactant | Producing organism | Surface tension (dyne/cm) | CMC (mg/L) | Reference |
|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|------------|------------|
| Extracellular lipid | <i>Rhodotorula glutinis</i> K-501 | 31 | 89 | this study |
| Pentasaccharide lipid | <i>Nordica corynebacteriodes</i> | 26 | 25 | 21 |
| Trehalose lipid | <i>Rhodococcus erythropolis</i> | 34 | 4 | 21 |
| Rhamnolipid | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 29 | 15 | 22 |
| Sophorose lipid | <i>Torulopsis bombicola</i> | 37 | 82 | 22 |
| Viscosin | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 26.5 | 150 | 21 |
| LABS(linear alkylbenzene sulfonate) | Synthetics | 47 | 300 | 22 |
| SLS(sodium lauryl sulfate) | Synthetics | 37 | 2023-2800 | 22 |

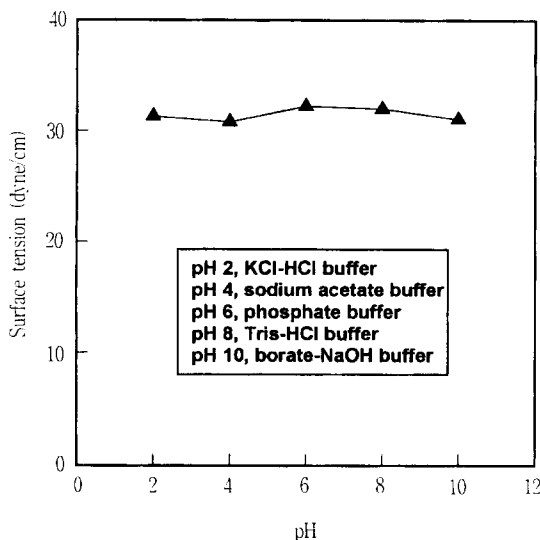


Figure 3 Effect of pH on the surface tension of extracellular lipid produced by *Rhodotorula glutinis* K-501. Samples were prepared by dissolving extracellular lipid in 0.1M buffer as a concentration of 100mg/L.

유화도와 유화 안정도

유화란 서로 섞이지 않는 두 액체가 계면활성제의 작용에 의해 한 액체가 다른 액체 내에 작은 입자 형태로 분산되는 현상을 말하는 것으로 식품, 화장품, 농약, 페인트, 의약품 등에 광범위하게 응용되고 있다. 본 실험에서는 *Rhodotorula glutinis* K-501에 의해 생합성된 세포외지질의 유화도를 기존의 유화제와 비교하기 위하여 유화 기질로 hexadecane을 사용하여 동일한 조건하에서 유화도를 측정하였는데 그 결과를 Table 4에 나타내었다. 세포외지질의 유화도는 화학 계면활성제인 Tween 80이나 Triton X-100보다 약 2~3배 정도 높은 값을 갖는 것으로 조사되었다. 이와 같은 결과는 일반적으로 생체계면활성제가 화학합성 계면활성제보다 CMC값이 낮아 동일 농도의 조건 하에서는 전자가 더 효율성이 높기 때문이라 판단되었다. 한편 Jonson등(25)도 *Rhodotorula glutinis*의 배양 결과 유화도가 높은 물질을 얻었는데 C/N비에 따라 유화도가 변한다고 보고하였다.

세포외지질의 농도에 따른 유화도의 변화를 고찰하였으며 그 결과를 Figure 4에 나타내었다. 세포외지질의 농도가 176mg/L까지 증가함에 따라 유화도도 선형적으로 급격히 증가하였으나 그 이상의 농도에서는 상호간 비선형적인 관계가 있는 것으로 조사되었다. Figure 5에는 pH의 변화에 따른 세포외지질과 Triton X-100, Tween 80의 유화도를 나타내었는데 pH의 변화에 관계없이 일정한 값의 유화도를 가졌다. 한편 온도에 따른

Table 4. Comparison of emulsifying activity of extracellular lipid with commercial products.

| Compounds | Emulsifying activity(OD ₅₄₀) |
|---------------------|--|
| Extracellular lipid | 0.62 |
| Tween 80 | 0.32 |
| Triton X-100 | 0.20 |
| Arabic gum | 0.10 |
| Xanthan gum | 0.16 |
| Gelatin | 0.01 |

* Each sample was used as a concentration of 30mg/L.

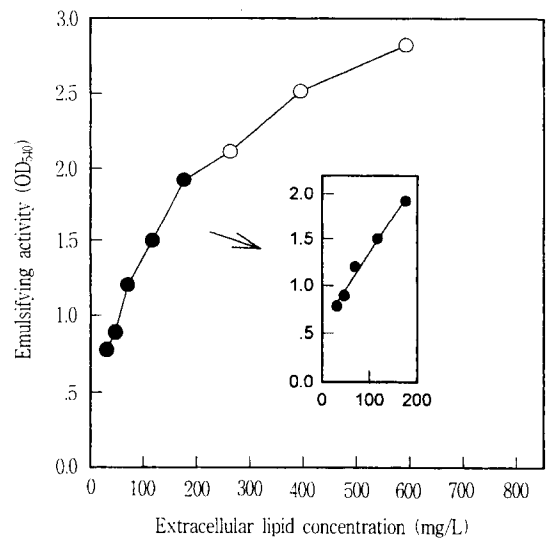


Figure 4. Effect of extracellular lipid concentration on emulsifying activity.

유화도의 변화를 고찰한 결과, 20℃로부터 온도가 올라감에 따라 유화도가 증가되어 40℃에서 최대로 된 후 그 이상의 온도에서는 감소됨을 알 수 있었다.

유화 기질인 hexadecane을 사용하여 시간에 따른 유화 안정도를 고찰하였는데 그 결과는 Figure 6과 같다. 총 6종의 계면활성제에 대해 조사하였는데 대부분의 경우 초반 50분 동안은 불안정한 에멀전을 형성함에 따라 유화도가 다소 감소하였으나 그 이후 24시간 동안 안정한 에멀전이 형성되어 일정한 유화도를 갖는 것으로 나타났다. 세포외지질의 유화 안정도는 51.5%로 나타났는데 이는 문헌(9)에 보고된 *Rhodotorula glutinis*에 의해

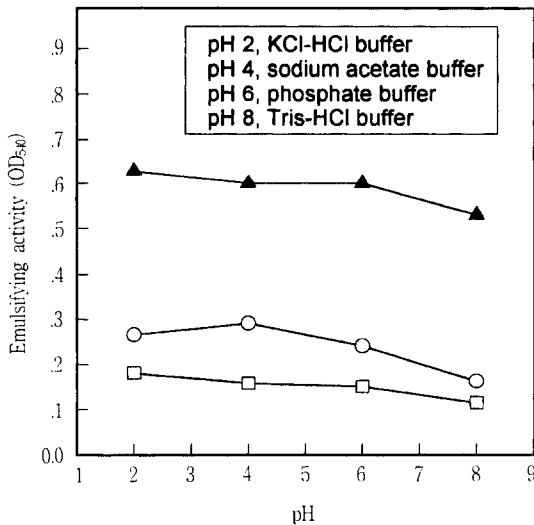


Figure 5. Comparison in emulsifying activities of the extracellular lipid with commercial surfactants at different pHs. Each sample was used as a concentration of 30mg/L. ▲: Triton X-100, ○: Tween 80, ▲: extracellular lipid

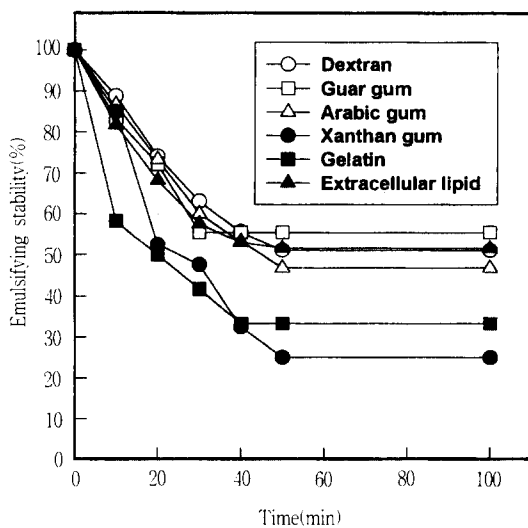


Figure 6. Comparison in emulsifying stability of extracellular lipid with commercial biosurfactants. Each sample was used as a concentration of 30mg/L.

생합성된 계면활성제의 유화 안정도가 51%라는 보고와 일치하는 결과이다. Dextran, guar gum과 arabic gum의 유화 안정도도 이와 유사한 47-55%의 값을 가졌으나 gelatin과 xanthan gum은 각각 33.3%, 25%의 낮은 안정도를 나타내었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 유화제의 용도로서 세포외지질은 매우 우수한 물성을 갖고 있음을 알 수 있었다.

분산력

용매상에서 고체를 분산, 안정화시키는 분산제로서 산업적으로 널리 사용되고 있는 Tween 80과 Triton X-100의 분산력을 본 연구가 생산하는 세포외지질의 분산력과 비교하여 Figure 7에 나타내었다. 세포외지질이 Tween 80, Triton X-100에 비하여 약 1.3배 정도 분산력이 큰 것으로 나타났다.

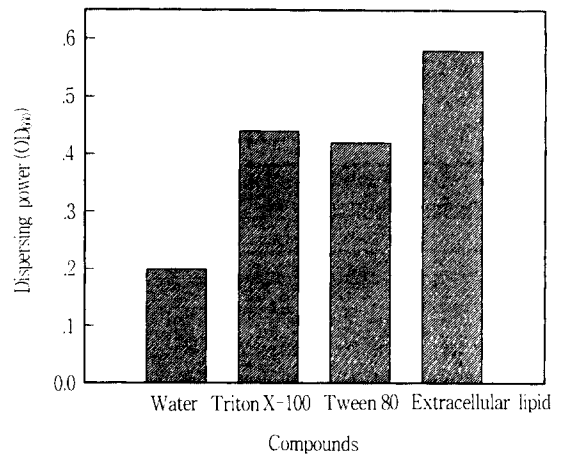


Figure 7. Dispersing power of commercial surfactants and extracellular lipid produced by *Rhodotorula glutinis* K-501. Each sample was used as a concentration of 1000mg/L.

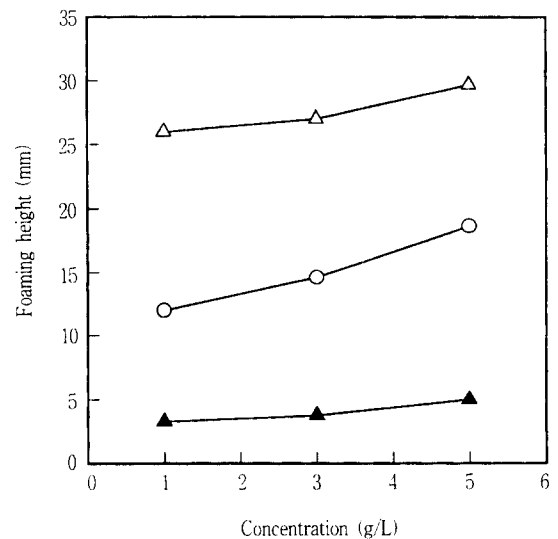


Figure 8. Foaming power on various concentrations of surfactants. Each sample was used as a concentration of 1000mg/L. ▲: Triton X-100, ○: Tween 80, ▲: extracellular lipid

기포력

기포력은 용기 등의 세정 효과, 화재 진압 목적의 포말 형성 등에 폭넓게 응용되고 있다. Figure 8에 나타난 것과 같이 *Rhodotorula glutinis* K-501에 의해 생산된 세포외지질은 Tween 80과 Triton X-100에 비하여 기포력이 매우 낮았다.

요 약

지질 생산 효모인 *Rhodotorula glutinis* K-501이 생산하는 세포외지질(extracellular lipid)의 물리화학적 성질을 조사하여 생체 계면활성제로서의 응용 가능성을 검토하였다. 분석실험 결과 생산된 세포외지질은 당지질계 물질임을 알 수 있었다. 세포외지질의 임계미셀농도와 표면장력은 각각 89mg/L와 31dyne/cm로서 계면활성제로서 매우 우수한 표면활성을 가지고 있었으며 넓은 범위의 pH에서 표면장력의 값은 일정하였다. 상용 계면활성제인 Tween 80과 Triton X-100에 비하여 세포외지질은 각각 2-3배 높은 유화도와 1.3배 높은 분산력을 가지고 있었다.

감 사

본 연구는 1996년도 교육부 학술연구조성비(생물화학공학 B (1)-7)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Kosaric, N., N. C. C. Gray, and W. L. Cairns (1987), *Biotechnology and the Surfactant Industry*, Biosurfactants and Biotechnology(N. Kosaric, W.L. Cairns, and N. C. C. Gray eds.), pp.1-45, Marcel Dekker, Inc., New York.
- Deasi, J. D. and A. J. Deasi (1993), *Production of Biosurfactants*, Biosurfactants: Production, Properties, Application (N. Kosaric ed.), pp. 65-97, Marcel Dekker, New York.
- Georgiou, G., S. C. Lin, and M. M. Sharma (1992), Surface-Active Compounds from Microorganism, *Bio/Technology*, **10**, 60-65.
- Jung, H. K., J. B. Lee, G. B. Yim, and E. K. Kim (1995), Properties of Microbial Surfactant S-acid, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **10**, 71-77.
- Kim, D. W., M. J. Kim, and S. M. Kang (1995), Purification and Properties of Biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa*, *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **23**, 337-345.
- Lee, K. H. (1993), "Carbon Mass Balance Analysis of Biosurfactant, Sophorose Lipid, Fermentation by *Torulopsis bombicola*", Ph.D. Thesis, Dept. of Biotechnology, KAIST, Daejeon.
- Lee, S. J. (1993), "Characteristics of the Rhamnolipid Biosurfactant Prepared with *Pseudomonas sp. 13*", Ph.D. Thesis, Dept. of Chem. Eng., Chun Buk National Univ, Chunjuo.
- Lee, J. M. (1993), The Studies on Biosurfactant Producing by Microorganism, M.S. Thesis, Dept. of Microbiology, Pusan National Univ, Pusan.
- Shepherd, R., J. Rockey, I. W. Sutherland, and S. Roller (1995), Novel Bioemulsifiers from Microorganisms for Use in Foods, *J. Biotechnol.*, **40**, 207-217.
- Roller, S. and I. C. M. Dea (1992), *Biotechnology in the Production and Modification of Biopolymers for Foods*, *CRC Crit. Rev. Biotechnol.*, **12**, 261-277.
- Hodge, J. E. and B. T. Hofreiter (1962), Determination of Reducing Sugars and Carbohydrates, *Methods Carbohydr. Chem.*, **1**, 380-394.
- Christie, W. W. (1982), *Chromatographic and Spectroscopic Analysis of Lipids*, Lipid Analysis(W. W. Christie, ed.), pp. 25-49, Pergamon Press, Oxford.
- Alexander, R. R. and J. M. Griffiths (1993), *Lipids, Basic Biochemical Methods*(R.R. Alexander and J. M. Griffiths, eds.), pp. 152-180, Wiley-Liss, New York.
- Morrison, W. R. and L. M. Smith (1964), Preparation of Fatty Acid Methyl Esters and Dimethylacetals from Lipids with Boron Fluoride-Methanol, *J. Lipid Res.*, **5**, 600-608.
- Cooper, D. G., J. E. Zajic, and D. F. Gerson (1979), Production of Surface-active Lipids by *Corynebacterium lepus*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 4-10.
- Cirigliano, M. C. and G. M. Carman (1985), Purification and Characterization of Liposan, a Bioemulsifier from *Candida lipolytica*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, 846-850.
- Gupta, R. K., K. James, and F. J. Smith (1983), Sucrose Esters and Sucrose Ester/Glyceride Blends as Emulsifiers, *JAOCS*, **60**, 862-869.
- Lee, Y. R. (1994), "Biological Modification of Hydrophobic Group of a Lipopolysaccharide Biosurfactant, Emulsan, Produced by *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1", M.S. Thesis, Dept. of Biotechnology, KAIST, Daejeon.
- Parra, J. L. and J. Guinea (1989), Chemical Characterization and Physicochemical Behavior of Biosurfactant, *JAOCS*, **66**, 141-145.
- Tulloch, A. P. and J. F. T. Spencer (1964), Extracellular Glycolipids of *Rhodotorula* species, The Isolation and Synthesis of 3-D-Hydroxypalmitic and 3-D-Hydroxystearic Acids, *Can. J. Chem.*, **42**, 830-835.
- 김정희, 김필 (1995), 생물계면활성물질의 기초이론, 제5회 정밀화학 심포지움, 한국공업화학회, 1-12.
- Mulligan, C. N. and B. F. Gibbs (1993), Factors Influencing the Economics of Biosurfactants, *Biosurfactants: Production, Properties, Applications*(N. Kosaric, ed.), pp. 329-371, Marcel Dekker, New York.
- Lim, E. J. (1996), "The Studies on Biosurfactant Producing by Microorganism", M.S. Thesis, Dept. of Microbiology, Pusan National Univ, Pusan.
- Yimin, Z. and M. M. Raona (1992), Enhanced Octadecane Dispersion and Biodegradation by a *Pseudoimoras* Rhamnolipid Surfactant(Biosurfactant), *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 3276-3282.
- Johnson, V., M. Singh, and V. S. Saini (1992), Bioemulsifier Production by an Oleaginous Yeast *Rhodotorula glutinis* IIP-30, *Biotechnol. Letters.*, **14**, 487-490.