

생체 계면활성제 Sophorolipid 의 생합성 및 계면 특성

강 참범, 임 경희
중앙대학교 화학공학과

Biosynthesis and Interfacial Properties of Biosurfactant Sophorolipids

Chang Beom Kang, Kyung Hee Lim
Department of Chemical Engineering, Chungang University

서론

계면에 흡착하여 계면의 성질을 현저히 바꾸어주는 물질인 계면활성제는 석유 화학, 섬유, 의학, 화장품, 세제, 식품 등 거의 모든 산업에 쓰인다. 그러나, 90 년대에 접어들면서 그린 라운드로 대표되는 환경 규제의 강화로 인해서 환경 오염의 문제를 최소화하고 보다 나은 기능을 수행할 수 있는 계면활성제의 개발이 요구되었다. 생체 계면활성제는 다양한 구조, 생물학적 친화성, 우수한 생분해성, 낮은 독성을 나타내는 장점이 있어서 화학 합성 계면활성제를 대체할 수 있는 물질이다[1]. 그러나, 가격이 비싸므로 (가) 우수한 종균의 개발, (나) 배지의 개발, (다) 공정의 최적화에 대한 연구를 통하여 가격을 낮출 뿐만 아니라 물리 화학적 및 계면 특성이 우수한 것을 합성할 수 있어야 한다.

본 연구는 배지의 개발 (Media Development) 에 중점을 두고, 보습 효과가 뛰어나 화장품에 쓰일 수 있는 당지질(Glycolipid) 의 일종인 Sophorolipid 를 효모의 변종인 *Torulopsis bombicola* 를 이용하고, 배지에 첨가되는 탄소원에 변화를 주면서 생합성하였다[2, 3, 4, 5, 6].

본 연구에서는 계면 과학적인 지식을 바탕으로 우수한 계면 특성을 갖는 Sophorolipid 를 생합성하는데 초점을 맞추었다. 이를 위해, 생합성된 각각의 Sophorolipid 는 TLC 로 정성 분석을 하였고, 계면 특성을 조사하기 위하여 표면 장력, 계면 장력, CMC (Critical Micelle Concentration) 및 유화력을 측정하였다. LC-Mass 로 합성된 각각의 Sophorolipid 에 대해 조성을 알아내어, 배지에

첨가된 탄소원이 Sophorolipid 의 구조에 끼치는 영향과 Sophorolipid 의 구조와 계면 특성의 연관성을 해석하였다[3, 7, 8, 9].

실험

Sophorolipid 를 생합성하기 위하여 500 ml 플라스크에 배지를 넣고서 *Torulopsis bombicola* ATCC 22214 를 접종하였다. 이 때 배지의 조성은 증류수 1 l 에 KH_2PO_4 1g, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 5g, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 0.4g, $NaCl$ 0.5g, $(NH_4)_2SO_4$ 2.0g, *Yeast Extract* 3.0g, *Sodium Citrate* 5.0g, *Glucose* 100g 이었으며, Shaking incubator 를 사용하여 30 °C, 125 rpm 의 조건에서 배양하였다. 배양이 진행된지 72 시간 후에 식물성 기름, alkane, alcohol, organic acid 등의 이차탄소원을 배지에 첨가시켰으며 총 배양 시간은 160 시간이었다. 배양액은 같은 부피의 ethyl acetate 로 두 번 추출한 후 감압 상태에서 용매를 제거하여 Sophorolipid 를 분리하였다[2, 6, 10]. Sophorolipid 를 정성 분석하기 위하여 TLC (Thin Layer Chromatography) 에 전개시켰으며, 이 때 녹색 띠를 확인하였다. 전개 용매는 $CHCl_3/CH_3OH/H_2O = 65/15/2$ 의 부피비로 이루어졌고, 진단 시약은 anisaldehyde 를 이용하였다[7, 11, 12].

표면 장력은 Wilhelmy plate 를 이용하여 측정하였고, 계면 장력은 decane 과 CMC 수용액의 계면에서 spinning drop method 로 측정하였다. CMC 는 여러 가지의 농도에서 측정된 표면 장력으로부터 계산되었고 유화력은 CMC 의 농도를 가진 수용액에 decane 을 첨가하여 흔들어 준 다음 20°C 의 항온조에 넣고 시간에 따른 거품의 높이를 측정하였다[2, 13, 14].

결과 및 토론

여러 가지의 이차탄소원으로 Sophorolipid 를 합성한 결과 수율은 1 - 2 g/l 정도였으며, 배지의 pH 는 5.8 에서 3.8 정도로 감소하였다. 미생물의 성장은 4 - 10 g/l 로 비교적 좋았으나 수율이 떨어지는 이유는 플라스크로 배양을 하여서 탄소원을 연속적으로 공급해주지 않았기 때문이다. 이차탄소원을 첨가하지 않았을 때는 미생물의 성장이 나쁘고 수율이 낮았으나, 이와 반대로 이차탄소원을 첨가하였을 때는 성장도 잘 되고 수율도 높아졌다. 이차탄소원 중에서도 식물성 기름이 가장 좋은 효과를 나타내었다. 각각의 이차탄소원에서 합성한

Sophorolipid 를 TLC 에 전개시킨 결과 녹색 띠를 확인하였고, 대부분 5~6 가지의 구조를 가진 혼합물로 이루어져 있다는 것을 발견하였다. Fig. 1 에 Sophorolipid 를 TLC 에 전개시킨 그림을 나타내었는데, 전개율 R_f 값이 0.7 정도인 물질이 주된 조성을 이루고 있음을 알 수 있다.

본 실험에서 합성한 Sophorolipid 의 표면 장력은 28~35 mN/m 로서, 일반 계면활성체의 25~40 mN/m 와 비교해볼 때 표면 장력의 저하능은 우수한 편이었다. Sophorolipid 의 CMC 와 decane 과의 계면 장력은 각각 40~150 mg/l 와 1~2 mN/m 이었다. 이들 값은 Sophorolipid 의 계면 특성이 비교적 우수하다는 것을 보여준다. Table 1 과 Fig. 2 에 각각의 이차탄소원에서 합성한 Sophorolipid 의 표면 장력과 CMC 를 나타내었다. 유화력을 측정하기 위하여 CMC 수용액에 같은 부피의 decane 을 첨가하여 흔들어 주고 20 °C 에서 평형에 도달한 후에 시간에 따른 Separation ratio 를 조사하였다. Safflower oil 로 합성한 Sophorolipid 의 경우 처음 30 분간 aqueous phase 가 빨리 분리되다가 그 이후에는 Separation ratio 가 35.57 % 로 거의 일정하게 유지되었다. 그러나, Oleic acid 로 합성한 Sophorolipid 는 5 분 이내에 100 % 가 모두 분리되어 유화력이 좋지 못했다.

$$\text{Separation ratio} = \frac{\text{Height of aqueous phase separated}}{\text{Total height of emulsion}} \times 100$$

Table 1. Interfacial properties of sophorolipid from various carbon sources

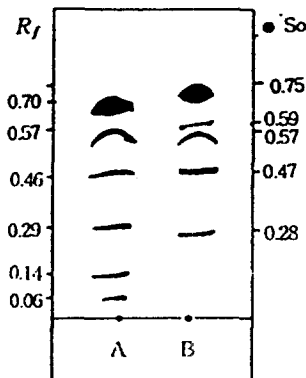


Fig. 1. Comparison of the TLC of sophorolipids from Olive oil (A) and Hexadecane (B).

Second carbon sources	Surface tension (mN/m)	CMC (mg/l)
Safflower oil	35.06	92
Sunflower oil	34.64	105
Olive oil	34.30	91
Apricot oil	34.86	155
Hexadecane	34.65	74
Tetradecane	28.42	78
Cetyl alcohol	33.82	143
Stearyl alcohol	34.73	59
Oleic acid	31.24	82
Stearic acid	34.17	39

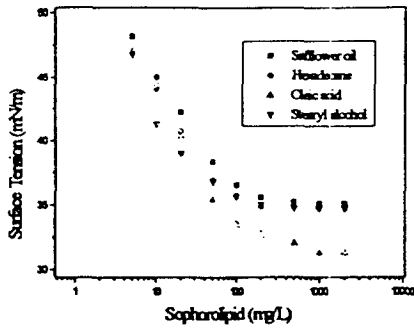


Fig. 2 Surface tension of sophorolipid from various second carbon sources.

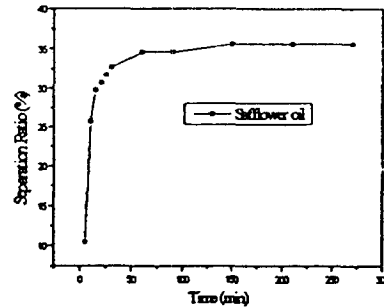


Fig. 3 Separation ratio of emulsion from sophorolipid.

참고 문헌

1. N. Kosaric, " Biosurfactant" Marcel Dekker, Inc. (1993)
2. D. G. Cooper & D. A. Paddock, *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 173 (1984)
3. A. M. Davila, R. Marchal & J. P. Vandecasteele, *Journal of Industrial Microbiology*, **13**, 249 (1994).
4. V. Gobbert, S. Lang & F. Wagner, *Biotech. Lett.*, **6**, 225 (1984)
5. S. Inoue, S. Ito, *Biotech. Lett.*, **4**, 3-8, (1982)
6. Q. H. Zhou, V. Klekner & N. Kosaric, *JAOCS*, **69**, 89 (1992)
7. H.-J. Asmer, S. Lang, F. Wagner & V. Wray, *JAOCS*, **65**, 1460 (1988)
8. R. K. Hommel, O. Stuwert, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **26**, 199 (1987)
9. L. Weber, J. Stach & G. Haufe, *Carbohydrate Research*, **206**, 13 (1990)
10. S. Ito & S. Inoue, *Appl. & Environ. Microbiol.*, **43**, 1278, (1982).
11. CRC Handbook of Chromatography, Chapter : 17, 28
12. O. Stuwert, R. Hommel, *J. Biotech*, **5**, 259 (1987)
13. 김형준, 류정용, 박돈희, 화학공학의 이론과 응용, 1-2, 559 (1995)
14. 황경아, 김윤석, 안호정, 최규석, 공업화학, 6-4, 562 (1995)