

미생물 계면활성제(S-acid)의 특성조사에 관한 연구

정 해 권 · *이 정 복 · *임 건 빈 · 김 은 기

*고려합성(주) 대덕연구소
인하대학교 생물공학과

Properties of Microbial Surfactant S-acid

Hae-Kwon Jung, *Jeong-Bok Lee, *Guhn-Been Yim and Eun-Ki Kim

*Kohap R & D Center

Department of Biological Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

ABSTRACT

Characteristics of S-acid and its derivatives, as biosurfactants, were investigated. Sodium salt of S-acid(S-1Na) effectively decreased the surface tension to near 30 dyne/cm and showed superior dispersing ability than commercial surfactants such as SDS and Tween 80. The emulsion made by S-1Na could be maintained even with increased concentration of calcium ion. Also the penetrating ability of S-1Na was observed as effective as that of LAS. All derivatives of S-acid were degraded by microorganisms much faster than conventional surfactants. Among the derivatives, S-3Na prevented rust formation as effectively as commercial anti-rust agents did.

서 론

현재 식품, 의약품, 세제, 화장품 등 거의 모든 산업에서 쓰이고 있는 계면활성제는 대부분 석유화학 제품을 원료로 사용하여 합성된 화학 계면활성제이다. 이런 계면활성제의 단점, 즉 독성이 있고 생분해가 잘되지 않는 점 등은 사용 후 하천방류시 많은 환경오염문제를 야기시키고 있다(1).

최근 급격히 증가한 환경에의 관심은 국제적으로도 이미 "Green round" 등을 통해 법적인 규제상태에 들어서서 환경에 적합치 않은 제품은 수출조차 못하게 하고 있는 상황이다. 따라서 기존의 계면활성제보다는 독성이 적고 생분해가 잘되는 새로운 계면활성제인 생분해성 계면활성제(Biosurfactant)가 최근 관심의 대상이 되고 있다.

생분해성 계면활성제는 효소, 미생물 등에 의해서

생산이 될 수 있으며 미생물 계면활성제(Microbial Surfactant)는 일반적으로 Glycolipid, Lipopeptide, Phospholipid, Fatty Acid 등으로 분류된다(2). 미생물 계면활성제는 독성(어독성 및 피부독성)이 적고, 생분해가 잘되고 비교적 간단한 배양과정 및 단순한 원료, 예를 들면, 포도당, hydrocarbon, 식물성 기름 등을 이용해서 쉽게 생산된다는 장점 이외에 화학적으로는 합성이 어려운 특수한 구조를 가지고 있다는 특성이 있다. 이러한 장점을 가진 미생물 계면활성제는 최근 미국, 캐나다 등지에서 원유의 삼차회수, 수송관을 통한 장거리 수송시 점도저하용 및 원유탱커 청소용 등 석유산업부문에 Glycolipid 계통의 미생물 계면활성제가 쓰이고 있으며(3), 일본에서는 Glycolipid 계통의 Sophorose lipid가 이미 상업화되어化粧품의 원료로 쓰이고 있다(4). 미생물 계면활성제 이외에도 유럽에서는 Alkylpolygly-

cosides, Starch-based surfactants 등의 환경적합세제인 소위 “Green detergents”가 세제 등의 용도로 상업화되어 있다. 또한 인체를 대상으로 하는 식품, 의약품, 화장품 등의 유화제로써 Carbohydrate ester 등의 계면활성제가 쓰이고 있는 추세이어서 이에 대한 수요는 계속 증가할 것으로 판단된다(5).

S-acid(Spiculisporic acid)는 곰팡이인 *Penicillium spiculisporum*으로부터 포도당을 기질로 하여 생산된다(6). S-acid는 배양 중 불용성 결정 형태의 O-acid로 배양액 내에 존재하며 이 O-acid는 가열에 의하여 S-acid 형태로 전환되어 S-acid를 직접 이용하거나 유도물질을 생산할 수 있다. S-acid의 장점으로는 배양에 의해 50~100g/l 이상의 고농도로 생산되며 산성용액 내에서 불용성결정형태가 되어 분리가 수월하여 생산물 분리에 드는 비용을 절감할 수 있다. S-acid는 소수성 부분으로 n-decyl 부분을, 친수성 부분으로는 두 개의 카르복실기와 한 개의 락톤링을 가지는 구조적 특이성을 가지고 있다(7)(Fig. 1). 이러한 구조적 특이성 때문에 S-acid는 유화분산제, 세제, 방청제, 대전방지제, 수처리제, 윤활제, 색소, 합성수지 방면으로 그 응용이 기대되고 있다(8).

이러한 미생물 계면활성제의 성공적인 산업화를 위해서는 두 가지 요건 즉, 생산가격을 낮추는 것과 기존의 계면활성제가 가지지 못하는 특수용도를 찾는 것이 필수이다. 그러나, 이러한 미생물 계면활성제는 아직 구체적인 생산경로조차 밝혀져 있지 않고 가격 경쟁면에서도 화학 계면활성제보다 약하므로 미생물 계면활성제의 생산에 관여하는 여러 인자 등

을 조사하고 최적의 조건을 찾아서 생산성을 극대화해야함이 과제로 남아 있다. 이에 관해서는 앞서의 논문에서 언급하였다(9). 본 연구에서는 미생물 계면활성제인 S-acid 만의 특수한 용도를 개발할 목적으로 S-acid의 유도체를 만들고 각각의 성질을 측정하여 계면활성제로서의 용도를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

S-acid 및 유도체

배양액을 여과하여 균체와 O-acid만을 모은 다음 S-acid를 분리하기 위하여 증류수를 가한 후 약 100℃에서 40분간 가열을 하였다. 용액상태의 O-acid를 여과하여 균체와 분리한 후 재결정화를 통하여 S-acid를 얻었다. S-acid의 나트륨염 및 헥실아민염은 S-acid를 에틸알콜로 용해시킨 후 적정곡선을 바탕으로 정해진 양의 NaOH 또는 헥실아민을 가한 후 회전 진공 증발기를 이용하여 결정화시켰다(10).

화학 계면활성제

S-acid 및 그 나트륨염과 헥실아민염과의 성능비교를 위해 사용했으며 생분해 세척제인 EP-680, WS-1000과 외국에서 수입된 생분해 방청제인 GB 및 절삭유용 유화제인 A, B 계면활성제는 (주)범우화학에서 기증받았으며 기타 다른 계면활성제인 LAS, AS 등은 무궁화유지(주)에서 기증받은 것을 이용하였다.

측정 방법

표면장력, 세척력

일정온도에서 Surface tension meter(Fisher Surface Tensiomat model 21, U. S. A.)를 이용하여 측정하였다. 세척력의 측정시 오염포는 EMPA116을 사용하였으며 먼저 오염포의 처음광도를 Chromameter(Minolta, Japan)를 이용, 측정하고, 각 시료 0.1%를 제조하여 세척력 측정장치에 넣은 후 오염포를 넣은 후 26℃에서 120rpm, 10분 동안 세척력 측정장치를 운전하였다. 평균 오염포를 건조기에서 말린 후 Chromameter에 의해 광도를 측정하였다. 세척력은 $(L_2 - L_1) / (65 - L_1) \times 100$, (L_2 : 세척 후 광도, L_1 : 세척 전 광도)로 계산하였다.

대전방지력, 기포력

대전방지력은 정전기 측정장치(Spatiron-M, Japan)를 이용하였다. 먼저 각 시료(0.1%)를 제조하

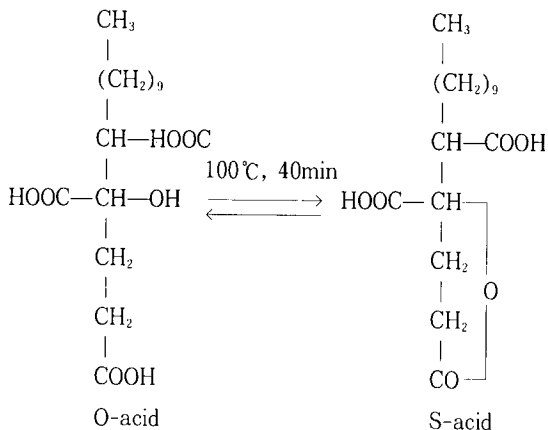


Fig. 1. Relationship between S-acid & O-acid.

고(단, LAS와 혼합시는 LAS:시료=9:1), 폴리메스테르친을 약 10분간 담갔다. 5분간 탈수, 건조 후 책받침으로 5번 문질러 정전기를 발생시켜 생성된 정전기 측정하였다(5회 반복 후 평균치 사용).

기포력의 측정은 1%, 0.5%(W/V)의 시료를 메스실린더에 30ml를 채운 후 25cm 높이에 피펫을 고정시킨 후 20ml를 낙하, 생성된 거품을 읽었다.

분산력

100ml 메스실린더에 각각 0.3g의 Fe_2O_3 와 0.6%의 시료를 넣었다. 그 후 일정속도로 각 메스실린더를 흔들며 Fe_2O_3 가 골고루 분산되도록 하여 상온에서 정체시켰다. 일정시간 경과 후 메스실린더 상단 20ml 밑부분에서 2ml씩 취하여 25ml 증류수로 희석시킨 후 660nm에서 투광도를 측정하여 분산력을 나타내었다. 분산력이 좋을수록 Fe_2O_3 가 분산상태로 남아 있어서 빛의 투과가 약하였다.

유화력

증류수에서의 유화력측정은 각 시료(0.5%, 0.1%, 0.05%) 15ml와 olive oil 15ml를 sonifier(Branson Model 450, USA)로 4분간 유화를 시킨 후 2시간 동안 메스실린더에 정치시킨 후 생성된 유화층의 높이를 측정, 유화율을 계산하였다. 칼슘 이온 존재하에서의 유화력 측정은 각 시료 0.5% 15ml, 칼슘 표준용액, olive oil 15ml를 50ml test 시험관에 넣은 후 sonifier를 위와 같은 조건으로 유화를 시킨 후 24시간 동안 메스실린더에 정치시킨 후 생성된 유화층의 높이를 측정, 유화율을 계산하였다.

침투력, 용해도, 생분해도, 방청력

침투력은 각 시료 0.5%, 0.25%, 0.1%를 500ml 메스실린더에 넣은 후 순모면사(3×10 cm)의 한쪽 끝에 클립을 끼우고 메스실린더에 넣어서 수면 아래로 떨어지기 시작하는 시간을 측정하였다. 용해도는 25℃에서 유기 용매에 0.5%로 용해시킨 다음 눈으로 용해된 정도를 표현하였다. 생분해도 측정은 각 시료 200ppm을 seed와 함께 BOD병에 넣은 후 7일 동안 2일 간격으로 용존산소농도를 산소전극을 이용하여 측정하여 생분해도의 척도로 삼았다(11). 방청력의 측정은 100ml 플라스크에 각 시료 50ml(100ppm)와 못(7g)을 넣고 30℃ incubator에 넣어 3시간 후 생성된 녹을 철 이온 정량법(한국 공업 규격)에 따라 정량하였다.

결과 및 고찰

표면장력 저하는

S-acid의 Sodium salt는 O-acid 형태에서 중화되며 세 개의 카르복실기가 중화된 개수에 따라 S-1Na(1개), S-2Na(2개)로 표시하고 세 개가 모두 중화된 것을 S-3Na(3개)로 표시하였다. Table 1에는 각각의 표면장력을 표시하였다. S-2Na, S-3Na보다 S-1Na가 더 좋은 표면장력 저하능력을 보이고 있으며 특히 S-1Na는 30dyne/cm 부근의 뛰어난 표면장력 저하능을 보이고 있다. 현재 산업적으로 이용되고 있는 생분해 세척제와 유사한 표면장력 저하능을 보이고 있다. GB 방청제의 표면장력 저하능은 없는 것으로 나타나서 계면활성이 없이 방청의 역할을 하는 것으로 판단된다.

세척력

각각의 S-acid의 나트륨염 및 헥실아민염과 현재 상업용 세제 중 가장 좋은 세척력을 보이는 LAS와 세척력을 비교하였다. Fig. 2에서 보듯이 S-2, S-3Na의 경우 LAS 보다는 좋은 세척력을 보이지 않았으나 19% 정도의 비교적 양호한 세척력을 보였다. 일반적으로 미생물 계면활성제가 세척력이 떨어진다는 것을 감안한다면 미생물 계면활성제 중에서는 상당히 좋은 세척력을 가진다고 할 수 있다. 또한 S-acid나 다른 헥실아민염에서는 세척력이 떨어지는

Table 1. Surface tensions of sodium salts of S-acid.

Sample	Concentration (w/v %)	Surface tension (dyne/cm)
S-1Na	0.5	36
	1	32
	2	31.6
S-2Na	0.5	44.2
	1	43.1
	2	36
S-3Na	0.5	45.7
	1	41.5
	2	40.3
EP-680*	1	32.5
	2	33.4
WS-1000*	1	38.1
	2	37.2

*: Commercial, biodegradable surfactants.

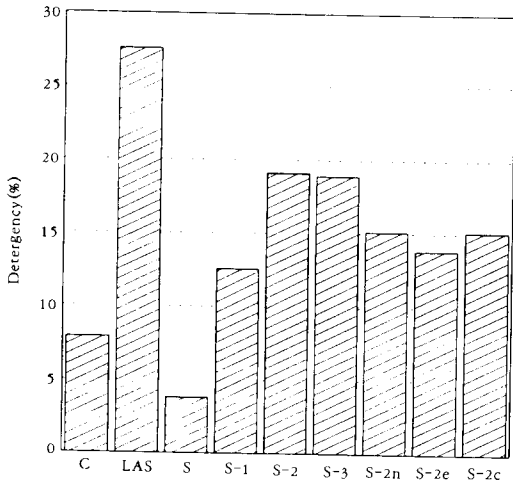


Fig. 2. Detergency of various S-acid derivatives.

C : Tap water S : S-acid S-1 : S-1 Na
 S-2 : S-2 Na S-3 : S-3 Na
 S-2n : S-2 Normal hexylamine
 S-2e : S-2 Ethyl hexylamine
 S-2c : S-2 Cyclo hexylamine
 LAS : Linear Alkyl Benzene Sulfate

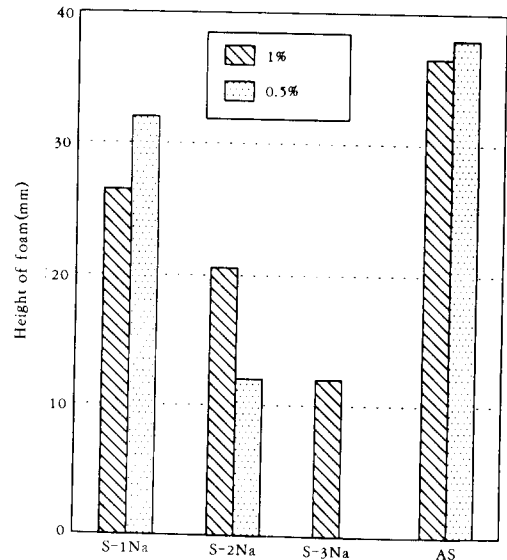


Fig. 3. Foaming power of surfactants.

AS* : Alkyl Sulfate

Table 2. Antistatic power.

Sample	Charge generated(kv)
Water	4.7
LAS*	4.8
S-1Na	4.7
S-2Na	4.7
S-3Na	4.5
LAS+S-1Na	6.3
LAS+S-2Na	8
LAS+S-3Na	6.2
DSDM**	0

LAS* : Linear Alkylbenzene Sulfonate

DSDM** : Distearyl Dimethyl ammonium chloride

데 이것은 물에서 거의 용해되지 않았기 때문이라고 판단된다.

대전방지력

대전방지제는 세탁과정에서 발생하는 정전기 때문에 의복착용시 발생하는 불쾌감이나 방적공정에서의 방적 저해현상을 방지하기 위해 첨가된다. 따라서 세척력이 있고 동시에 대전방지효과가 있다면 따로

대전방지제를 첨가할 필요가 없게 된다. 앞에서 S-acid의 나트륨염이 세척력이 크게 떨어지지 않으므로 세제의 효과와 함께 대전방지제로서 동시에 사용될 수 있는가를 조사하였다. Table 2에서 보듯이 현재 대전 방지제로 쓰이는 양이온 계면활성제인 DSDM은 정전기가 발생되지 않은 반면 S-1, S-2, S-3Na의 경우 물만을 사용한 경우와 별 차이가 없었으며 LAS와 병행하여 사용할 때는 오히려 정전기가 더 발생되어서 S-acid의 대전방지력은 거의 없는 것으로 보여진다. 이는 S-acid 역시 음이온 계면활성제이므로 대전시 음전하를 띠는 Polyester와의 반발력 때문이라고 생각된다.

기포력

기포형성능력은 세척증진효과, 화재진압목적의 포말형성 등 계면활성제의 대표적인 특징이다. Fig. 3에는 S-1Na, S-2Na, S-3Na와 화학 계면활성제인 AS와의 기포력을 비교하였다. S-1Na가 S-2Na, S-3Na보다는 좋은 기포력을 보이고 있으나 AS보다는 좋지않은 효과를 보이고 있다. 효모에서 생산되는 미생물 계면활성제인 Sophorolipid의 경우 표면장력이 S-acid와 유사하나 거품이 발생되지 않은 것으로 보아 단순히 표면장력의 저하에 의해 거품이 발생한다고 보기는 어렵다(12).

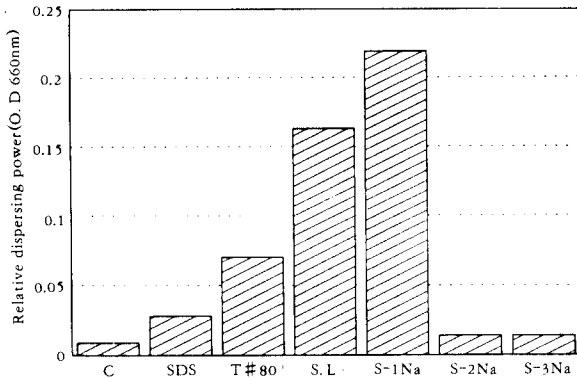


Fig. 4. Dispersing power.

C : Control(water) T #80 : Tween 80
S. L. : Sophorolipid Dodecyl Sulfate

Table 3. Emulsification power.

Sample	Concentration(%)	Degree of emulsion(%)
S-1Na	0.05	83
	0.1	100
	0.5	100
S-2Na	0.05	0
	0.1	0
	0.5	93
S-3Na	0.05	0
	0.1	96.7
	0.5	100
SDS*	0.05	96.7
	0.1	100
	0.5	100
T-80**	0.05	0
	0.1	0
	0.5	96.7

SDS* : Sodium Dodecyl Sulfate

T-80** : Tween 80

분산력

분산력은 용매상에 주로 고체를 분산, 안정화시키는 능력으로 섬유산업, 토목, 건축, 페인트, 의약품 등 모든 산업분야에 쓰이고 있다. Fig. 4에는 S-acid의 나트륨염과 Sophorolipid, 화학 계면활성제인 SDS, Tween 80과 비교하여 분산력을 나타내었다. S-1Na와 Sophorolipid가 SDS나 Tween 80보다 훨씬 좋은 분산력을 보이고 있으며 반면 S-2Na와 S-3Na의 경우는 분산능력이 약한 것으로 나타났다.

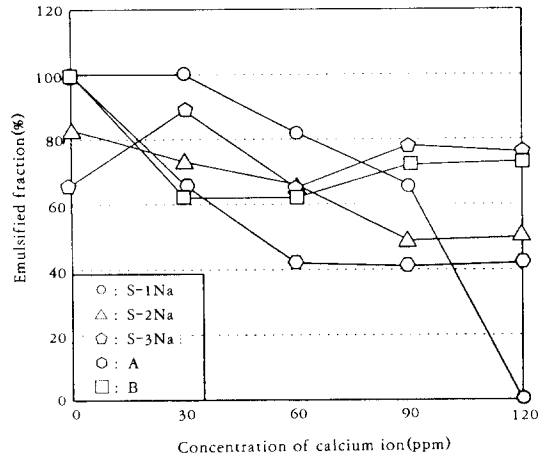


Fig. 5. Stability of emulsion with calcium ions.

A, B : commercial products(from Bumwoo Chemicals Co. Ltd.)

유화력

유화는 액체에 다른 액체를 균일하게 분산시키는 과정으로 식품, 윤활유, 의약 등에서 요구되는 중요한 성질이다. Table 3에는 증류수를 사용하였을 경우, S-acid의 나트륨 염과 SDS, Tween 80의 상대적인 유화력 비교를 나타내었다. S-1Na와 S-3Na, SDS가 그 중 좋은 유화력을 보이고 있다. 어떤 농도 이상에서 유화능이 급격히 증가하는 것은 유화능이 마이셀 형성과 밀접한 관계가 있기 때문으로 판단한다. 실제 공업용으로 유화제를 사용시 증류수를 사용하지 않고 공업용수를 사용하게 되며 이 경우 공업용 수속에 있는 칼슘이온 때문에 유화능력이 떨어지게 된다. 예를 들면 절삭유에 첨가하는 유화제의 경우, 공업용수 사용시 유화층이 분리되는 경우가 종종 관찰되어 산업계에서 문제점이 되고 있다. S-acid의 경우 두 개의 카르복실기와 칼슘이온이 결합하기 때문에 칼슘 존재 하에서도 유화능을 보일 것으로 판단하여 칼슘의 농도를 변화시키면서 유화능을 조사하였다. Fig. 5에서 보듯이 S-1Na, S-2Na, S-3Na 모두 칼슘이온이 증가해도 급격한 유화능 저하를 보이고 있지 않다. 반면, A 계면활성제의 경우 칼슘이온의 증가에 따라 유화능이 급격히 감소하는 현상을 보이고 있다.

침투력, 용해성

침투능력은 어떤 물질이 섬유와 같은 물체의 속으로 침투하는 정도를 나타내는 것으로 예를 들면 섬유

Table 4. Penetrating power.

Sample	Concentration(%)	Required time(sec.)
water	—	4292
LAS	0.5	0
	0.25	0
S-1Na	0.1	1
	0.5	0
S-2Na	0.25	1
	0.1	4
	0.5	5
S-3Na	0.25	22
	0.1	82
	0.5	28
S-3Na	0.25	74
	0.1	124

Table 5. Solubility of S-acid.

Solvent	Solubility
Ethyl alcohol	Soluble, Dispersed
Methyl alcohol	Soluble, Dispersed
Benzene	Insoluble
Acetone	Insoluble
Cyclo hexylamine	Insoluble
Petroleum ether	Insoluble
n-butanol	Dispersed

유의 염색 등과 같은 공정에 첨가되는 계면활성제의 중요한 성질이다. Table 4는 각 농도에의 S-acid의 나트륨염과 LAS의 침투력 비교를 나타내었다. LAS와 S-1Na가 좋은 침투력을 나타내었으며 S-2Na와 S-3Na 역시 양호한 침투력을 보이고 있다. 용해성은 사용하려는 계면활성제가 어떤 용매에 쉽게 용해되는가를 보여주고 있다. Table 5는 S-acid의 각 유기용매 내에서의 용해도를 보여주고 있다. S-acid는 에틸알코올, 메틸알코올, 부탄올 등 주로 알코올에서 잘 용해된다는 것을 알 수 있었다.

생분해도

사용된 계면활성제가 사용 후 하천방류시 어느 정도 빨리 분해되는가는 수질보호의 차원에서 심각하게 고려되어야 한다. 본 실험실에서는 미생물 계면활성제인 Sophorolipid를 포함한 비누 및 일반 계면활성제에 대한 분해측정방법을 보고하였고 (11) 본 연구에서도 같은 방법으로, 즉 용존산소의 소비속도를 비교한 방법으로 S-acid의 생분해도를 측정하였

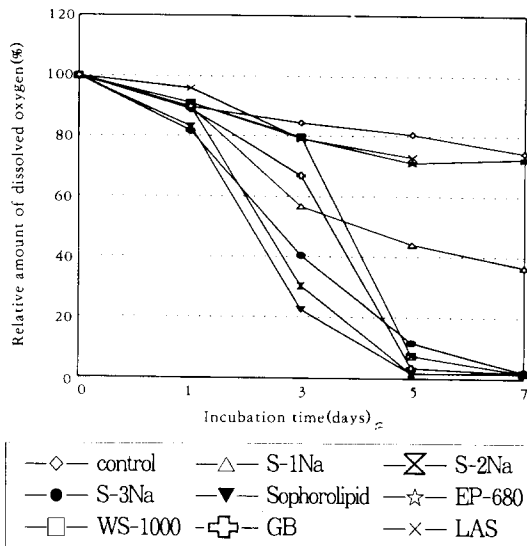


Fig. 6. Degradation of various S-acid derivatives and other surfactants. EP, WS, GB : Commercial products

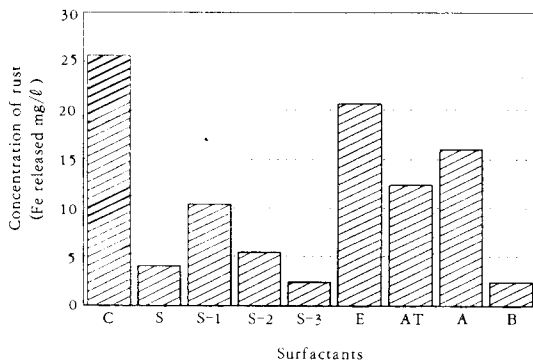


Fig. 7. Effectiveness of S-acid derivatives and other surfactants on the prevention of rust-formation. C : tap water E : EDTA-4Na, S : S-acid, AT : ATMP(Amino Tris Methyl Phosphoric acid), S-1 : S-1Na, A, B : Commercial products, S-2 : S-2Na, S-3 : S-3Na

다. Fig. 6은 각 S-acid의 나트륨염과 Sophorolipid, 현재 산업적으로 이용되고 있는 생분해 세척제 및 방청제와의 생분해 비교를 나타내고 있다. Sophorolipid, S-2Na, S-3Na, WS-1000, GB 세척제가 가장 생분해가 잘 되는 것으로 나타났으며 특히 Sophorolipid, S-2Na, S-3Na는 다른 시료보다도 훨씬

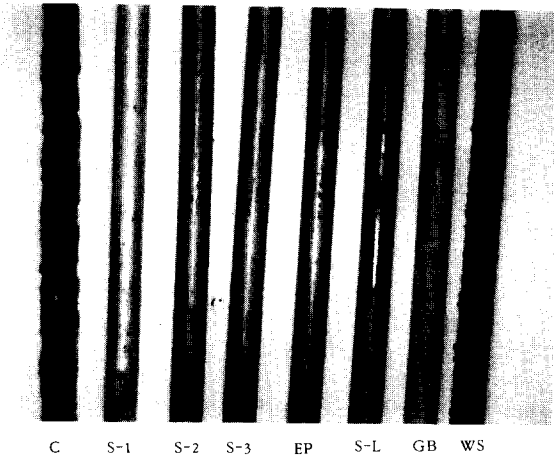


Fig. 8. Surfaces of nails treated by various surfactants(concentration : 200ppm).
 C : Control(water only), S-1 : S-1Na, S-2 : S-2Na, S-3 : S-3Na, S-L : Sophorolipid EP, GB, WS : Commercial surfactants

빨리 분해된다는 것을 알 수 있었다. 또한 EP-680은 7일이 지나도 거의 분해가 되지않는다는 것을 알 수 있었다.

방청력

계면활성제의 방청력은 금속표면에 계면활성제가 흡착하여 산소와의 접촉을 차단함으로써 나타나고 철강산업 등등에서 많이 사용된다. Fig. 7에는 S-acid 및 그 나트륨 유도체, 수처리제로 이용되고 있는 ATMP, EDTA, 또한 현재 절삭유에 유화제로 쓰이고 있는 계면활성제인 A, B 계면활성제의 방청 효과를 발생된 녹의 양을 측정, 비교하였고 Fig. 8에는 이때 사용된 못의 표면을 보여주고 있다. 수처리제인 ATMP, EDTA 등은 용존되어 있는 이가이온을 주로 침전시키는 능력만이 있기 때문에 방청의 효과는 나타나지 않은 것으로 판단된다. 반면 S-acid 및 그 나트륨염 등은 상업적으로 쓰이고 있는 B 계면활성제와 유사하게 상당히 뛰어난 방청효과를 나타내었다.

요 약

*Penicillium spiculisporum*으로부터 생산한 S-acid와 그의 유도체를 만들고 이들의 계면활성제로서의 특성을 살펴 보았다. S-1Na 염이 우수한 표면장력

저하능 (31.6dyne/cm)과 기존의 SDS, Tween 80을 증가하는 분산능력을 보였다. 또한 칼슘 존재 하에서도 유화능력을 유지할 수 있었고 침투력에서도 기존의 LAS와 유사한 결과를 보였다. 반면 대전방지 능력은 거의 없었고 세척력은 LAS의 70%를 보였다. 생분해측면에서는 모든 유도체가 기존의 계면활성제보다 월등히 빨리 분해되었으며 방청력면에서는 S-3Na 염이 기존의 방청제와 유사한 우수한 결과를 보였다.

감 사

본 연구는 고려합섬(주)의 지원과 인하대학교 교내연구비(1994)에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. R. D. Swisher(1987), Surfactant Biodegradation(Surfactant Science Series, **18**, 751-898, Marcel Dekker, N. Y).
2. C. A. Mulligan and B. F. Gibbs(1990), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **47**, 23.
3. E. Roselbery, A. Zuckerberg, C. Rubinowitz and P. I. Gutnick(1979), *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 402.
4. N. Kosaric, W. Carins and N. C. Gray(1987), *Biosurfactants and Biotechnology*, Ch 2., Marcel Dekker Inc, N. Y.
5. R. K. Gupta, K. Janus and F. J. Smith(1983), *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **60**, 862.
6. T. Tabuki, I. Nakamura and H. Kobayashi (1977), *J. Ferm. Technol.*, **55**, 37.
7. T. Tabuki, I. Nakamura E. Higashi and H. Kobayashi(1977), *J. Ferm. Technol.*, **55**, 43.
8. Y. Ishigami, Y Gama and S. Yamazaki(1987) *Yukagaku*, **36**, 490.
9. 김원경 · 김은기(1992) 한국생물공학회지, **7**, 102.
10. Y. Ishigami, S. Yamazaki and Y. Gama (1983), *J. Colloid. Interface Science*, **94**, 131.
11. 김영환 · 정해권 · 김은기 · 윤태일(1993), 한국생물공학회지, **8**, 364.
12. 김원경 · 김은기(1992), 한국생물공학회지, **7**, 107.