

## Biosurfactant 생산 효모 *Rhodotorula* sp. G-1의 분리 및 Biosurfactant 생산

강상모\* · 이철수 · 김영찬  
건국대학교 공과대학 미생물공학과

### Isolation of Biosurfactant-Producing Yeast *Rhodotorula* sp. G-1 and the Biosurfactant Production.

Sang-Mo Kang\*, Chul-Su Lee and Yong-Cham Kim Department of Microbiological Engineering, Konkuk University, Seoul 133-070, Korea – Some microorganisms including yeasts produce surface tension-decreasing biosurfactants. The strain G-1, the best producer of biosurfactant, was isolated from the soil and identified as *Rhodotorula* sp., which was not described any report. The *Rhodotorula* sp. G-1 produced biosurfactant from vegetable oils, but failed to produce it from n-alkane or carbohydrate. Yeast extract was found to be more effective for the biosurfactant production as nitrogen source than any other inorganic nitrogen source. The composition of the optimal medium contained the following components: soybean oil 4%, glucose 2%, yeast extract 0.5%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 5%, CaCl<sub>2</sub> 0.01%, NaCl 0.01%, pH 6.0. The surface tension activity was increased to 14% when, at first, the culture broth was fermented with only soybean oil as carbon source, and after 90 hours, feeded glucose, than that of glucose and soybean oil added to it simultaneously. The maximum yield of the biosurfactant was about 15 g/l by, after 90 hours, the feeding method of glucose.

계면활성제는 그 분자내에 친수성기와 소수성기가 공존하고 있는 양친매성(兩親媒性) 물질로, 물에 용해되어 표면에 있는 물분자의 결합을 약화시키며, 농도가 증가함에 따라 micelle을 형성하게 된다. 과거에 주로 세제에 국한되어 이용되었던 계면활성제는, 현재는 각종 산업분야에서 유화제, 분산제, 침투제, 습윤제 등의 여러 가지 용도로 사용되며 매년 그 사용량이 증가 추세에 있다(1).

그러나 합성계면활성제 사용 증가에 따른 독성과 난분해성에 의해 환경오염 문제가 심각하게 대두됨에 따라 세계 각국에서는 이의 사용규제를 법률로 정하는 한편, 대체 계면활성제의 개발에도 관심을 기울이고 있다.

최근들어 대체 계면활성제로 기존의 계면활성제에 비하여 많은 장점을 가지고 있는 미생물 계면활성제(microbial surfactant, biosurfactant)에 대한 관심이 점차 고조되고 있는데 biosurfactant는 종래의 합성계면활성제와는 달리 생물체에서 생산되는 물질이므로 생분해도가 우수하며 독성이 적고, 다양한 화학구조와 각 구조마다 특이성이 있어 세제, 식품 및 음료 석유관련 제품, 의약품, 화장품 공업, 페인트 공업 등에서 광범위한 용도를 가지고 있다(2).

이러한 응용성과 장점을 가지고 있는 미생물 계면활성제는 기름에 오염된 탱크의 처리, 전자기판의 3차 세척용 등으로 상품화되어 사용되고 있다(3, 4). 이외에

도 에너지 활용 방안으로 기존의 방법으로는 채취할 수 없었던 지구 전체 매장량의 2/3에 달하는 양의 원유 회수를 위하여 유총내에 biosurfactant 배양액을 주입하여 회수하는 enhanced oil recovery, 유총내에 혐기성 미생물인 *Desulfovibrio* sp., *Clostridium* sp.을 직접 넣어 배양하는 microbial enhanced oil recovery에 관한 연구와 송유관을 통한 원유의 이송시에 emulsan을 이용하여 에너지를 절약하는 작업도 이미 진행 중이다(1). 미생물이 생산하는 biosurfactant는 세균, 방선균, 효모 등의 다양한 미생물에서 fatty acids, glyceride, phospholipids, lipopeptide 그리고 항생물질(antibiotics)의 형태로 생산된다(1).

본 연구는 합성계면활성제의 독성과 환경오염 등의 문제점을 해결해 줄 뿐만 아니라 다양한 이용 가능성을 가진 biosurfactant의 경제적인 실용 가치를 높이기 위하여 생산량이 많은 균주를 선별하였고 이것을 동정하고 최적 생산 조건을 설정하였다.

### 재료 및 방법

#### 생산균주의 분리 및 선별

주유소나 자동차 정비업소 등 유류(油類)와 관련이 많은 지역을 중심으로 각 지역에서 채취한 토양을 일반적인 3단 회석법으로 회석한 후 원유 20 μl를 도말한 YM agar plate에 다시 균원 시료 혼탁액을 도말하여 30°C에서 2~3일간 배양한 후, 생성된 집락이 도말 원유에 대하여 투명환을 보이는 균주를 대상으로 1차적으로 선별하였다. 1차 선별한 20주의 균주를 다시 bio-

\*Corresponding author.

Key words: Biosurfactant, *Rhodotorula* sp., C/N ratio

surfactant 생산 액체배지(yeast extract 0.1%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 5%, CaCl<sub>2</sub> 0.01%, NaCl 0.01%, vegetable oil 4%, pH 6.0)에 1백금이 접종하고 30°C, 250 rpm에서 3일간 진탕배양한 후 배양액을 원심분리하여 얻은 상징액을 비표면장력계를 이용하여 표면장력을 측정하였고 균체의 증식도와 활성이 우수한 균주를 최종 선별하였다.

### Cell growth의 측정

배양액을 3,500 rpm에서 20분 동안 원심분리하여 상징액을 버리고 남은 균체를 증류수로 세척하였다. 세척한 균체는 희석 배율에 따라 spectrophotometer를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하고 각 O.D.에 해당하는 cell 수는 Hemacytometer(depth 0.1 mm, 1/400 mm<sup>2</sup>)을 이용하여 정하였다. 각 수치는 cell number ( $\times 10^8$  cell/unit)로 나타내었다.

### 효모의 동정

YM 배지 상에서 25°C로 2일간 배양한 후 각 균에 대하여 Lodder의 방법(5)과 Kreger-Van Rij의 방법(6), Barnett 등(7)의 Yeast characteristics and identification, 長谷川武治의 微生物의 分類와 同定(8)에 준하였다.

### 배양 조건의 선정

Biosurfactant를 생산하기 위한 최적 배양 조건의 선정은 통기성이 좋은 500 ml Sakaguchi flask에 앞의 biosurfactant 생산 액체배지를 조성의 기본으로 하여 생산과 물성에 큰 영향을 미치는 탄소원, 질소원 및 인산염, 배양시간 등을 변화시켜 가면서 각종 인자에 따른 활성 차이를 관찰하였다. 제조한 액체배지는 121°C에서 멸균한 후 1일간 YM 액체 배지에서 배양한 전배양액을 1% 접종하고 30°C에서 250 rpm으로 약 3일 이상 왕복진탕배양하였다. 배양이 끝난 후 cell growth, pH, 표면장력을 측정하여 최적 배양조건을 선정하였다.

### Surface tension 측정

Biosurfactant 활성을 측정하기 위하여 surface tension을 측정하였다. 배양액을 원심분리하고 상징액만을 취해 n-hexane으로 잔류 지질을 제거하고 한국공업표준규격의 합성세제 시험방법(9, 23)에 명시되어 있는 비표면장력계를 이용하여 측정하고 비표면장력 계산법으로 계산하였다.

### Biosurfactant 생산량 측정

배양액내에 존재하는 biosurfactant의 완전한 회수를 위하여 pH를 낮추어 용해도 차이로 침전하는 침전물을 n-hexane으로 세척한 후 무게를 재어 biosurfactant 생산량으로 하였다. 이 때 배양액상에 남아 회수되지

않은 부분은 ethylacetate와 chloroform으로 추출, 감압증류하여 무게를 측정하였다.

### Relative activity의 계산

상대적인 활성의 계산은 biosurfactant 생산 액체배지에서 3일간 배양한 배양액을 취해 surface tension을 측정하였다. 이 때의 낙하 방울수 48방울을 활성 100, 증류수의 낙하 방울수 73방울을 활성 0으로 하여 배양액의 낙하 방울수를 측정하여 상대적으로 계산하였다.

### 결과 및 고찰

#### Biosurfactant의 생산 균주의 분리 및 동정

원유 도말배지에서 투명환을 보이는 균주 중에서 20종의 균주를 선택하여 액체배양시 가장 활성이 좋은 균주 G-1을 분리하였다. 분리된 균주는 Lodder의 방법(5)과 Kreger-Van Rij의 방법(6), Barnett 등(7)의 Yeast characteristics and identification, 長谷川武治의 微生物의 分類와 同定(8)에 따라 형태적, 배양학적, 생리적인 특징을 조사하였고 결과는 Table 1과 같다.

이 균주를 현미경하에서 경시적으로 관찰한 결과 크기는 (3~5.5×6~10)μm 정도로 평균적인 효모의 크기에 비하여 약간 작은 효모였고 형태는 short oval형이었다. Colony 전체는 β-caroteine 색소에 의해 분홍색을 띠었고 이는 배지와는 관계없이 언제나 일정한 색을 나타내었다. Colony의 형태는 circular, margin은 entire, elevation은 convex형이었다. 내부적인 형태로 ascospore는 형성하지 않았고 pseudomycelium도 보이지 않았다. 25~30°C에서 가장 잘 자랐으나 37°C 이상에서는 잘 자라지 못하는 특성을 보였으며, 각종 당에 대한 발효성 시험에서도 발효성을 보이지 않았다. 생화학적인 시험에서는 arbutin 분해능과 citrate의 이용성이 있었으며 urea를 가수분해하였다. 10% NaCl, 5% glucose을 함께 첨가한 배지에서도 잘 자랐다. 반면, 전분 유사물질은 형성하지 못하였고 0.01% cycloheximide, 1% acetic acid에서는 생육하지 못하였다. 각종 당을 이용한 당 자화성 시험에서 glucose, D-melibiose, maltose, adonitol, sorbitol, D-mannose, D-mannitol, saccharose에 대한 자화성은 있었고 lactose, trehalose, soluble starch, rhamnose, inositol에 대한 자화성은 없었다. 위의 결과로 미루어 본 균주는 불완전 효모에 속하는 *Rhodotorula muciliginosa*나 그 근연균으로 동정되었다. 따라서 분리균 G-1은 *Rhodotorula* sp. G-1으로 명명하였으며, 이 균은 지금까지 biosurfactant 생산균으로는 보고된 바 없는 새로운 biosurfactant 생산균이다.

**Biosurfactant 생산을 위한 최적 배양조건의 검토**  
**탄소원의 영향** Biosurfactant 생산에 미치는 탄소원

**Table 1. Morphological, cultural and physiological characteristics of the isolated strain G-1**

Characteristics	Strain G-1
Morphological characteristics	
Cell form	ovodial to globose
Ascospore	-
Colony colour	pink
Aerobes	+
Size	(3~5.5×6~10)µm
Buding type	multiful
Culture characteristic	
Growth on 10% NaCl	+
Growth on 5% glucose	+
Growth on 1% methanol	+
Growth on 1% ethanol	+
Growth on 20°C, 25°C, 30°C	+
Growth on 37°C, 42°C	-
Growth on 1% acetic acid	-
Physiological characteristics	
Citrate growth	-
Arbutin test	+
Urease hydrolysis	+
Fermentation characteristic	-
Other utilization characteristics	
Lycine	+
Creatine	-
Starch formation	-
Free of N	-
0.01% cyclohexamide	-
Arabinose	V
Dextrin	-
Soluble starch	-
D-Lactose	-
D-Trehalose	-
Glucose	+
D-Melibiose	+
Maltose	+
Adonitol	+
Inositol	-
Sorbitol	+
D-Fructose	+
D-Galactose	-
D-Mannose	+
D-Mannitol	+
D-Xylose	V
L-Rhamnose	-
Saccharose	+
Myo inositol	-

+: Positive, -: Negative, V: Variable, ND: Not detected

의 영향을 조사하기 위하여 biosurfactant 생산 액체배지에서 vegetable oil 대신에 carbohydrate, hydrocarbon, 유지 등 각종 탄소원을 1%씩 첨가하고 YM broth에서 하루동안 배양한 전배양액을 접종하여 30°C, 250 rpm에서 4일간 배양한 후, 활성을 조사한 결과는 Table 2와 같다. Glucose나 n-alkan에서는 활성을 거의 보이지 않았으나 soybean oil, olive oil 등 식물성 유지류에서는 높은 활성을 나타내었다. 본 균주가 생산하는 biosurfactant는 유도성 물질인 것을 알 수 있으며, 앞에서 보고(24)한 것처럼 *Rhodotorula* sp. G-1가 분비하는 biosurfactant는 *Candida* sp.가 분비하는 glycolipid 계열의 물질로, 표면활성과 유화력을 갖는 biosurfactant를 이용하여 식물성 유지류를 자화한다고 생각된다.

Kitamono(10, 11), Uchida 등(12)의 보고에서 biosurfactant 생산균주인 *Candida* sp.가 glucose나 n-alkan은 이용하지 못했으나 soybean oil에서는 높은 활성을 보였다는 것과는 *Rhodotorula* sp. G-1은 일치하나 *Torulopsis bombicola*에서 n-alkane이 탄소원일 경우 가장 활성이 높았다는 Cooper 등(13, 14)의 보고와는 상이하였다.

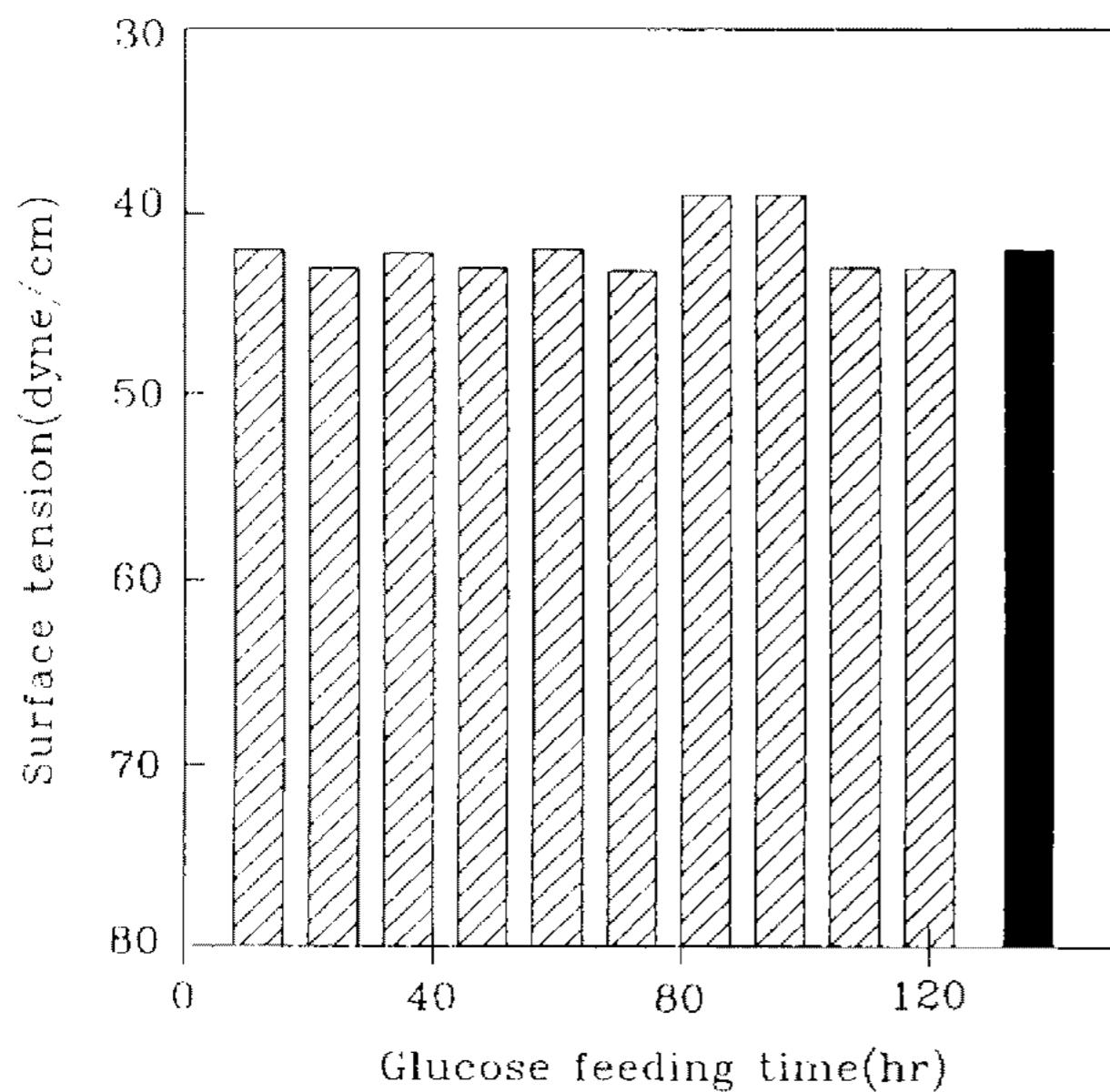
한편 최적 탄소원으로 밝혀진 soybean oil에 glucose를 복합 첨가한 경우 더욱 활성이 증가함을 관찰할 수 있었으며, 가장 활성이 우수한 경우는 soybean oil 4%, glucose 2% 첨가시로 soybean oil과 glucose의 비는 2 : 1이었다(Table 3). Table 3과 같이 탄소원은 혼합비에 의해 생산량에 변화를 초래할 뿐만 아니라 탄소원의 첨가 시간에 따라서도 생산량에 변화가 나타났다. 즉 biosurfactant 생산 액체배지에서 soybean oil의 함량을 4%로 하고 첨가시 glucose 농도를 2% 되도록 배양기간중 1회 첨가할 때, 배양시간에 따라, 84~96시간 사이에 glucose를 공급한 경우, 처음부터 2가지 탄소원을 동시에 첨가하여 배양한 것(43 dyne/

**Table 2. Effects of carbon source on the biosurfactant activity**

Source	Final pH	Cell growth ( $\times 10^8$ cell/ml)	Surface tension (dyne/cm)	Relative activity (%)
None	6.3	0.02	73	0.0
Glucose	4.5	3.54	72	4.0
Sucrose	3.8	3.25	73	0.0
Mannose	4.2	2.30	73	0.0
Arabinose	4.1	2.50	73	0.0
Soybean oil	4.5	3.89	48	100.0
Olive oil	4.3	3.56	53	80.0
Decane	-	0.001	73	0.0
Hexadecane	-	0.001	73	0.0

**Table 3. Effects of carbon to oil ratio on the biosurfactant activity**

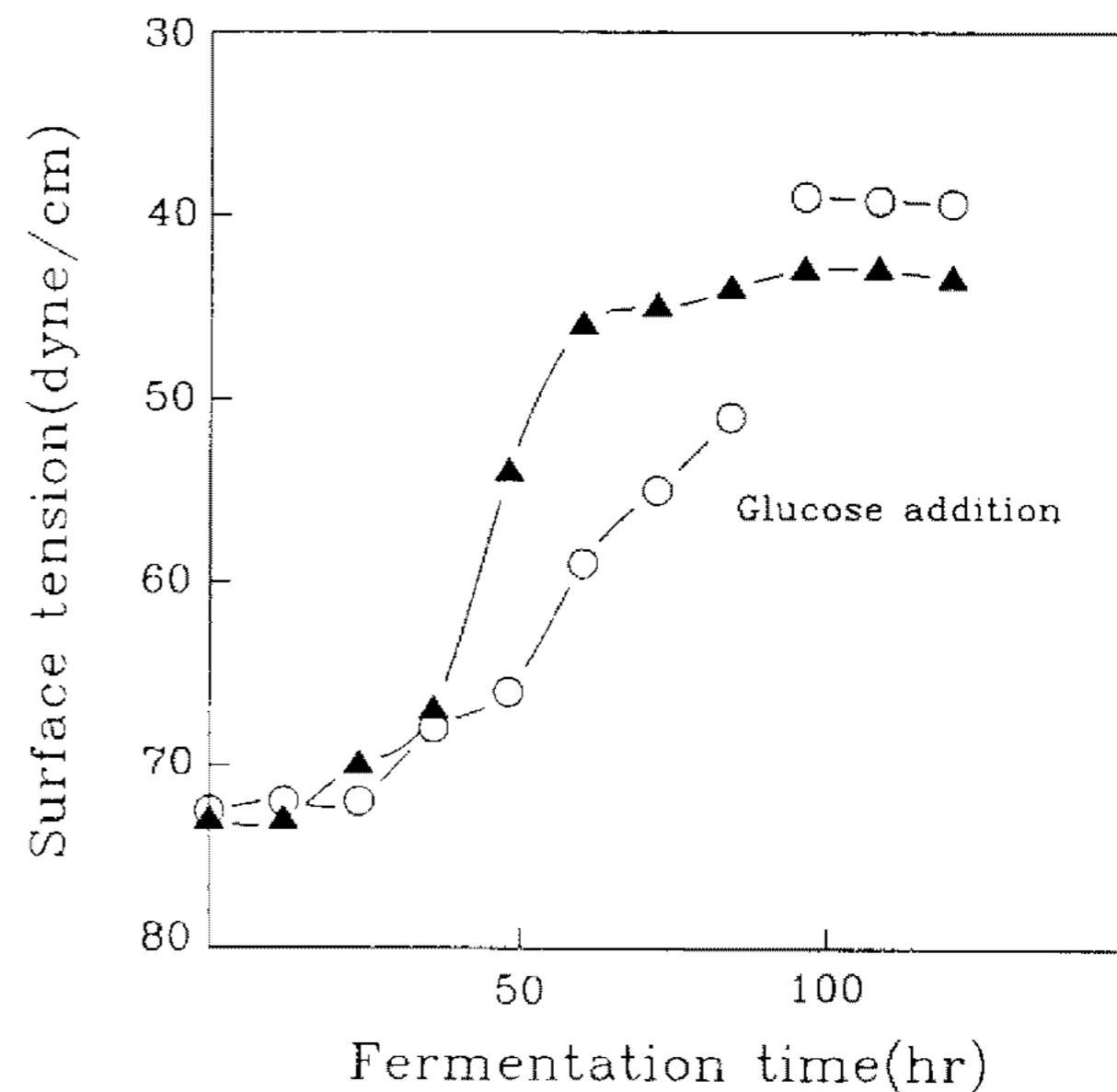
Oil : glucose	Final pH	Cell growth ( $\times 10^8$ cell/ml)	Surface tension (dyne/cm)	Relative activity (%)
0 : 2	3.85	3.14	72	4.0
1 : 2	4.46	3.54	48.4	98.4
1 : 1	4.37	3.25	45.9	108.4
2 : 1	4.45	2.78	43.0	120.0
2 : 0	4.95	2.50	48.3	98.8



**Fig. 1. Effect of feeding time of carbon source.**  
Symbols: (■) glucose and soyben oil were added to the culture broth simultaneously; (▨) at first, fermentation with only soybean oil, and some times later, addition glucose.

cm)에 비하여 surface tension 활성이 16% 증가(39 dyne/cm)하였다(Fig. 1). 이 때 배지의 glucose는 거의 소모된 상태였다. Soybean oil과 glucose의 첨가 순서를 바꾸었을 때에도 동일한 결과를 얻을 수 있었다. Fig. 2는 soybean oil과 glucose을 동시에 넣고 배양한 것과 soybean oil을 먼저 넣고 각 배양시간 후 glucose를 공급하여 배양한 것의 배양시간에 따른 surface tension 활성의 변화를 비교한 것이다. Soybean oil만 첨가하여 배양한 경우 soybean oil과 glucose의 동시 첨가에 비하여 surface tension 활성이 전체적으로 떨어졌으나 glucose를 배양 84시간 후에 공급함으로 제 2의 탄소 원에 의해 surface tension 활성이 증가함을 보여주고 있다.

Biosurfactant는 친수성의 당부위와 소수성 fatty acid 부위를 가지고 있는 glycolipid이며 이를 효과적으로 합성하기 위해서는 한 종류의 지질 탄소원과 다른 당질



**Fig. 2. Time course of surface tension activity.**  
Symbols: (▲) glucose and soyben oil were added to the culture broth simultaneously; (○) at first, fermentation with only soybean oil, and after 84 hr, addition glucose.

탄소원을 혼합하여 첨가해주는 것이 생산에 효과적이라고 생각되며, 효과적인 biosurfactant 생산을 위해서는 하나의 탄소원이 고갈될 무렵에 다른 탄소원을 넣어 주는 것이 더욱 biosurfactant 합성을 유도하는데 도움을 주리라 본다.

이러한 결과는 Kitamono 등(10, 11)의 보고에서 2가지 탄소원을 넣어 주었을 때 활성이 높았고 Kim 등(3), Cooper 등(13, 14)이 초기에 탄소원을 먼저 넣어 주고 90시간 이 후 나머지 탄소원을 공급하였을 경우 surface tension 활성이 약 30% 증가하였다는 보고와 유사한 결과였다.

**질소원의 영향** 본 균주의 활성에 미치는 질소원의 영향을 검토하였다. Glucose가 2% 함유된 biosurfactant 생산 액체배지에서 yeast extract 대신 여러 가지 질소원을 첨가하였다. Table 4가 그 결과이며 무기질소원보다 유기질소원에서 cell 증식이나 surface tension 활성이 좋았으며 yeast extract 0.5%의 농도에서 가장 좋은 활성을 보였다. Biosurfactant 생산시 질소원의 농도에 따라서 활성이 매우 민감하게 변하였는데 yeast extract의 경우에도 1% 농도에서는 활성이 급격히 감소함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Cooper 등(2, 13-15), Hedeki 등(10), Itoh 등(17)이 biosurfactant 생산시 yeast extract가 가장 우수한 질소원이었으며 최적 농도가 0.5%라는 보고와 일치하는 것이다. 반면, Kim 등(3, 4)의 peptone이 가장 좋았다는 보고와는 상이하였다.

*Rhodotorula* sp. G-1의 경우 질소원으로 yeast extract에서 가장 surface tension 활성이 좋았던 것은 yeast extract에는 질소원 뿐만 아니라 기타 효모의 세포 구성성분이 함유되어 있어 이것이 균 생육을 증진시켜

**Table 4. Effects of nitrogen source on the biosurfactant activity**

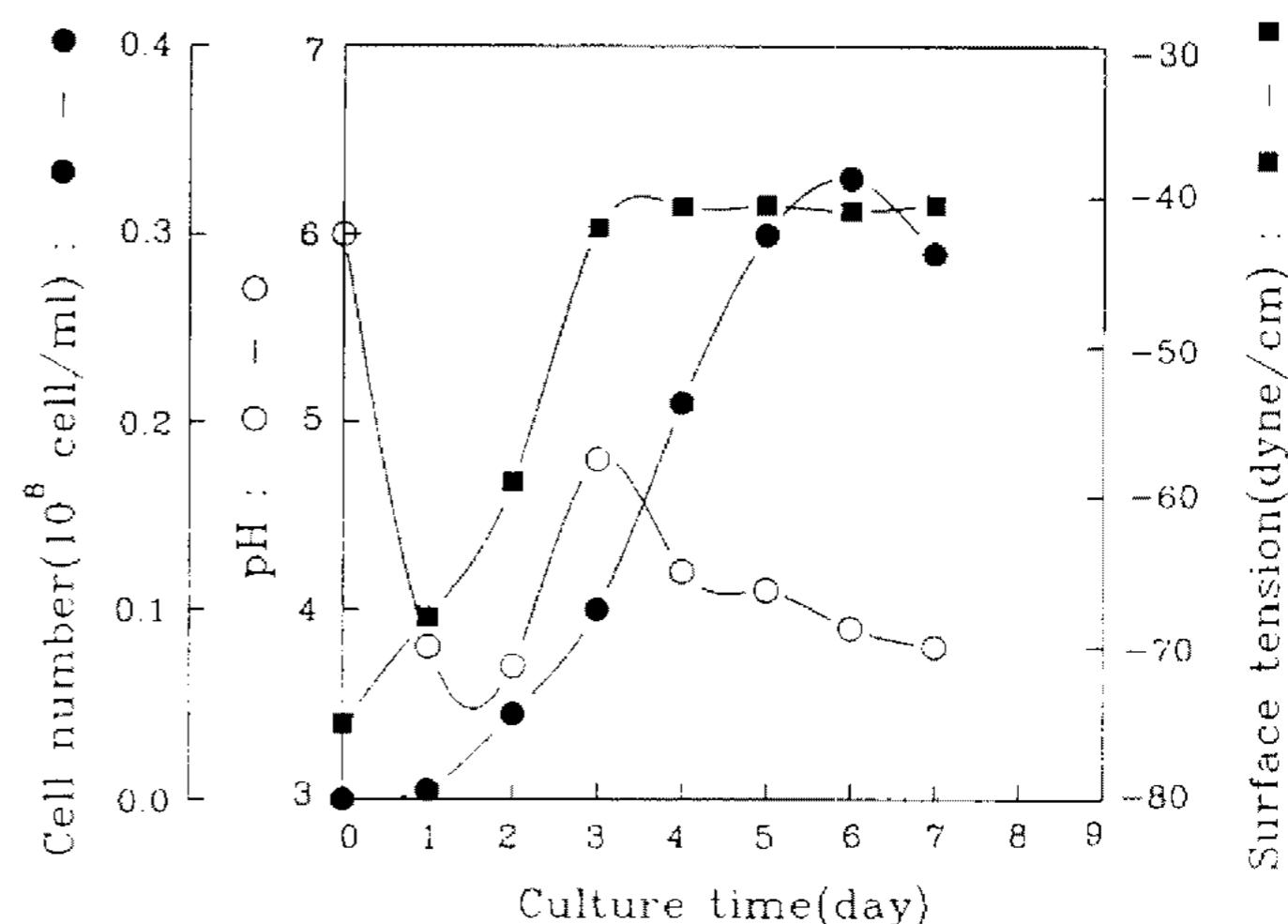
Nitrogen source	Final pH	Cell growth ( $\times 10^8$ cell/ml)	Surface tension (dyne/cm)	Relative activity (%)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	2.83	2.78	67	24.0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2.62	2.32	72	4.0
$\text{Na}_2\text{NO}_3$	2.56	4.47	68	20.0
Yeast nitrogenbase	2.26	1.78	72	4.0
Peptone	4.27	4.75	69	12.0
Malt extract	4.03	3.63	72	4.0
Yeast extract concentration (%)				
0.05	3.18	2.35	56	68.0
0.1	3.86	2.74	43	120.0
0.5	4.78	3.24	41.6	125.6
1.0	4.89	3.79	72	4.0

**Table 5. Effects of phosphate on the biosurfactant activity**

Phosphate concentration (%)	Final pH	Cell growth ( $\times 10^8$ cell/ml)	Surface tension (dyne/cm)	Relative activity (%)
0.05	5.12	3.23	42.0	124.0
0.1	5.42	3.52	41.6	125.6
0.2	5.97	3.23	42.2	123.4
0.4	6.16	3.87	43.0	120.0
1.0	6.70	3.33	43.5	118.0
2.0	7.01	3.56	53.2	79.2

biosurfactant 생산도 증가되었다고 생각된다. 그러나 yeast extract가 1%일 때는 오히려 surface tension 활성이 줄었는데 이 때는 배지에 영양이 풍부하므로 탄소원의 영양에서 밝혀진 바와 같이 증식을 하기 위해 굳이 유도성인 biosurfactant를 생산할 필요가 없었기 때문이라고 생각된다. 그리고 유기질소원이 무기질소원보다 활성에 중요한 영향을 미치는 원인은 Evans 등 (18)이 해당작용에 관여하는 관련 효소 중에 phosphofructokinase와 pyruvate kinase가 유기질소원을 사용하였을 때 활성이 높아지기 때문이라고 밝혔는데 이와 관련이 있을 것으로 보인다.

**인산염의 영향** 본 균주의 surface tension 활성에 미치는 인산염 농도의 영향을 검토하였다. 그 결과는 Table 5에 있으며, biosurfactant 생산 액체배지에 함유된 인산염 농도가 가장 좋았다. Table 5와 같이 0.1%의 인산염 농도에서 가장 좋은 활성을 나타내었다. 이는 인산염이 0.2 mg/l 이하의 농도에서 최대로 biosurfactant를 생산한다는 Santos 등(20)의 *Rhodococcus* sp.

**Fig. 3. Effect of culture time.**

균주 경우의 보고와는 비슷하나 인산염이 제한된 배지에서 biosurfactant의 생산의 증대가 일어난다는 Mulligan 등(22)의 *Arthrobacter paraffineus* 균주 경우의 보고와는 상이한 결과였다.

**pH에 의한 영향** 본 균주의 surface tension 활성에 미치는 pH의 영향을 검토하기 위하여 biosurfactant 생산 액체배지에서 glucose가 2% 함유되고 yeast extract가 0.5%로 수정된 배지를 pH를 3~11까지 변화시켜 초기 pH의 영향을 조사한 결과 pH 6으로 제조된 배지에서 가장 좋은 활성을 볼 수 있었다(41.5 dyne/cm). 즉 biosurfactant 생산 액체 배지의 pH가 가장 좋았다. 이는 Parra 등(21), Mulligan 등(22)의 보고와 일치하였다.

**배양시간에 의한 영향** 상기 최적배지 조성으로 설정된 soybean oil 4%, glucose 2%, yeast extract 0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.1%,  $\text{MgSO}_4$  0.5%,  $\text{CaCl}_2$  0.01%,  $\text{NaCl}$  0.01% pH 6의 결과를 종합하여 1일부터 7일까지 균주의 증식, pH, 표면장력을 측정하였다. pH는 배양시간과 더불어 약간씩 감소하여 pH 4.3까지 떨어졌고 surface tension 활성은 균주의 증식과 더불어 급격히 증가하여 3일 후에 최대에 이르렀다. 그 이후에는 균체의 증식과는 관계없이 일정한 활성을 유지하였으며(41.6 dyne/cm), Fig. 3에 그 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 Kitamono 등(10, 11)의 *Candida* sp.가 3일 후 활성이 최대가 된다는 보고와는 일치하였으나, Cooper 등(2)의 *Torulopsis bombicola*가 late stationary phase인 7일 후에 활성이 가장 우수하였다는 보고와는 상이하였다.

한편, 처음에는 탄소원으로 soybean oil만을 첨가하여 배양하다가 glucose를 90시간만에 공급한 경우 처음부터 soybean oil과 glucose를 동시 첨가한 것에 비하여 생산량이 역시 증가하였는데 14% 증가(38 dyne/cm)를 보였다. 이러한 방법으로 5일간 배양하여 회수한 biosurfactant 양은 15.0 g/l였는데 이는 *Torulopsis bombicola*

탱크배양으로 생산한 sophorolipid의 90 g/l에 비하면 적은 양이나, 이 후 균주의 개량이나 fed-batch 배양 등의 배양방법을 개선함으로 더 높은 생산성 증대를 얻을 수 있으리라 생각된다.

## 요 약

미생물 기원의 계면활성제(microbial-surfactant, bio-surfactant)를 생산하는 균주를 찾기위해 여러 지역의 토양에서 생산균주를 분리, 동정하였고 이 균주의 발효생산 최적 조건을 검토하였다. 서울과 근교의 주유소 주변 토양에서 20여 균주를 분리하였으며 이들 중 배양액의 표면장력을 가장 많이 저하시켜 다른 균주에 비하여 상대적으로 활성이 좋은 G-1 균주를 분리하였다. 이 균주의 형태학적 및 배양학적인 특성에 의해 동정한 결과 아직까지 biosurfactant 생산균이라고 알려진 바가 없는 새로운 효모인 *Rhodotorula* sp. G-1로 동정되었다. 이 균주의 최적 biosurfactant 생산 조건은 탄소원인 soybean oil 4%, glucose 2%, yeast extract 0.5%, 인산 염농도 0.1%, pH 6.0, 30°C에서 3일간 진탕배양했을 때 surface tension 활성이 가장 높았다. 그리고 처음에는 탄소원으로 soybean oil만을 첨가하여 배양하다가 glucose를 90시간만에 공급한 경우 처음부터 soybean oil과 glucose를 동시에 첨가한 것에 비하여 surface tension 활성이 14% 증가함을 알 수 있었다. 이렇게 하여 biosurfactant 양은 15.0 g/l 농도로 얻을 수 있었다.

## 참고문헌

- Kasaric, N. and W.L. Carins. 1987. *Biosurfactant and biotechnology*. 1-120. Marcel Dekker Inc. New York.
- Cooper, D.G. and J.E. Zajic. 1988. Surface-Active Compound from Microorganism. *Advances in Applied Microorganism*. **26**: 229-253.
- Kim, W.K. and E.K. Kim. 1992. *Candida bombicola*로부터 미생물 계면활성제 생산시 관여 인자에 관한 연구. *Korean j. Biotechnol. Bioeng.* **7**: 102-106.
- Kim, W.K. and E.K. Kim. 1992. *Candida bombicola*로부터 생산되는 미생물계면활성제의 응용. *Korean j. Biotechnol. Bioeng.* **7**: 107-111.
- Lodder, J. 1972. *The Yeast*. *Rhodotorula*, 1187-1221. North-Holland publishing company. Amsterdam.
- Kreger-van Rij Groningen N.J.W. 1984. *The Yeast*. 1-102. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam.
- Barnett, J.A., R.W. Payne, and D. Yarrow. 1983. Yeast characteristics and identification. Pp. 58. Cambridge University Press. London.
- 長谷川武治. 1984. 微生物の分類と同定. 學會出版センナ: 57-82.
- 한국공업규격 합성세제 시험법. 1991. KSM 2707, 가2709-1991: 1-59. 한국공업표준협회 발행.
- Kitamono, D. and S. Akiba. 1990. Extracellular accumulation of mannosyl erythritol lipids by a strain of *Candida antarctica*. *Agri. Biol. Chem.* **54**(1): 31-36.
- Kitamono, D. and S. Akiba. 1990. Production of mannosylerythritol lipid by *Candida antarctica* from vegetable oils. *Agri. Biol. Chem.* **54**(1): 37-40.
- Uchida, Y., R. Tsuchiya, M. Chino, and J. Hirano. 1989. Extracellular accumulation of mono- and Di-succinoyl trehalose lipids by a strain of *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Agri. Biol. Chem.* **53**(3): 757-763.
- Cooper, D.G. and D. A. Paddock. 1984. Production of a biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**(3): 173-176.
- Cooper, D.G. and J. E. Jajic. 1979. Production of Surface-Active Lipids of *Corynebacterium lepus*. *Applied and Environ. Microbiol.* **37**(1): 4-10.
- Cooper, D.G. and D. A. Paddock. 1983. *Torulopsis petterphilum* and surface activity. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**(6): 1426-1429.
- Hedeki, A. and C.R. Macdonald. 1981. Surface-active lipids from *Nocardia erythropolis* grown hydrocarbons. *Applied envioron. Microbiol.* **41**(3): 117-123.
- Itoh, S. and T. Suzuki. 1980. Growth on N-alkanes: Inhibition by the lactonic sophorolipid produced by *Torulopsis bombicola*. *Agri. Biol. Chem.* **44**(9): 2221-2223.
- Evans, C.H. and C. Ratledge. 1984. Phosphofructokinase and regulation of the flux of carbon from glucose to lipid in the oleaginous yeast *Rodosporidium toruloides*. *J. General Microbiol.* **130**: 3251-3264.
- Esders, T.W. and R.J. Right. 1972. Glycosyl- and acey-ltransefrase involved in the biosynthesis of glycolipids from *Candida bogoriensis*. *The J. Biological chemistry*. **247**(1): 1375-1386.
- Santos, F.O. 1990. Improved method for the isolation of biosurfactant glycolipid *Rhodococcus* sp. strain H13-A. *Applied envioron. Microbiol.* **56**(5): 1494-1496.
- Trincone, T., B. Nicolaus, and M. De Rosa. 1990. The glycolipid of *Halobacterium sodomense*. *J. General Microbiol.* **136**: 2327-2331.
- Mulligan, C.N. and B.F. Gibbs. 1985. Production of biosurfactant by *Arthrobacter paraffineus*. *Appl. enviorm. Microbiol.* **47**: 166-175.
- 강상모, 김대원, 김혜자. 1994. Biosurfactant를 생산하는 *P. aeruginosa* KK-7의 분리 및 biosurfactant의 생산. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **22**: 92-98.
- 이철수, 이병옥, 강상모. 1995. *Rhodotorula muciliginosa* G-1에서 생산되는 biosurfactant의 정체 및 물리적 성질.

(Received 30 July 1995)