생체 계면 활성제의 구조와 특성

Biosurfactants: Their Structures and Properties

林 京 熙

중앙 대학교 공과 대학 화학 공학과

계면 및 재료 연구실

1995년 11월 16일

목 차

1. 서언

2. 생체 계면 활성제의 정의, 생성 방법 및 종류

3. 생체 계면 활성제의 구조

3-1. 지질 (Lipids)

3-2. 지방산 (Fatty Acids)

3-3. 당지질 (Glycolipids)

3-4. 지단백(Lipoproteins)/리포펩티드(Lipopeptides)

3-5. 지다당(Lipopolysaccharides)

3-6. 인지질 (Phospholipids)

3-7. 당에스테르 (Sugar Esters)

4. 생체 계면 활성제의 특성

4-1. 생물학적 특성

4-2. 물리·화학적 특성

4-3. 계면 특성

참고 문헌

1. 서언

계면 활성제는 식품, 의약품, 화장품, 세제, 섬유, 금속, 고분자, 도료 등 산업 전반에 걸쳐서 폭넓게 사용되고 있으며, 요즈음에는 이의 영역이 확장되어서 microelectronics, 자기 기록 매체, 고급 전지, 최신 분리 기술, 배기 가스 중 탄화 수소의 제어, 전자 인쇄용 액체 인화제 등의 개발과 연구에도 활용되고 있다.[1] 이와 같은 추세를 반영하여 미국에서는 계면 활성제 산업이 괄목할 만한 성장을 이루었다. 1980 년 대에는 300 %가 성장하였으며, 1989 년 한 해에는 14%의 성장율을 기록하며 총 매출액이 36억 5천만 달라 (2조 9천억 원)에 이르렀고 전 세계적으로는 76억 파운드가 생산되었다.

그러나 계면 활성제의 영역이 확장되면서 계면 활성제에 대한 새로운 기준이 제시되었다. Green Round의 여파로 환경에 관한 규제가 강화되면서 계면 활성제가 수질 오염에 미치는 영향을 최소화 하고 환경 친화성 물질이 되도록 하는 것이었다. 따라서 계면 활성제 산업에서는 "*Mild, Green, and Clean*"이라는 구호 아래 환경과 조화를 이루는 계면 활성제, 더 나아가서는 특정한 성질을 나타내는 기능성 계면 활성제의 개발과 생산을 유도하게 되었다. 이와 같은 추세는 환경 문제가 심각해 짐에 따라 점차 강화되어 질 것이므로 계면 활성제를 주조로 하는 산업계도 이에 상응하는 대책을 마련하여야 할 것이다. 생체 계면 활성제 (biosurfactants)는 이와 같은 점에서 비추어 볼 때 환경에 해를 끼치지 않을 뿐만 아니라 환경의 일부라는 점에서 앞으로 이 분야의 연구와 개발에 더욱 많은 노력을 기울여야 할 것으로 전망된다.

생체 계면 활성제의 구조는 매우 다양하다. 이것은 생체 계면 활성제의 친유성 (지방산의 탄화 수소 사슬)과 친수성 (알코올, 카르복실기, phosphate, 탄수 화물 등)을 이루는 성분들이 많은 화합물을 포괄하고 있다. 더우기 이들이 배합될 경우에 더욱 많은 구조가 나타날 수 있다는 점은 쉽게 이해될 수 있다. 생체 계면 활성제 생합성에는 박테리아, 곰팡이, 효모, 효소 등이 쓰이는데 이들이 생체 계면 활성제를 생성하는 경로가 다양하여 여러 다른 구조를 갖게할 뿐만 아니라, 이제까지 알려지지 않은 특정한 기능을 갖는 생체 계면 활성제를 얻을 수 있는 여지도 갖게 해준다.

생체 계면 활성제의 구조를 이것의 물리 화학적, 생화학적, 계면 과학적 성질과 관련짓지 않을 수 없다. 현재에는 구조와 특성 간의 관계에 있어서 많은 부분이 알려져 있지 않지만 앞으로의 연구 결과에 따라서 이에 대한 이해가 깊어질 것으로 생각된다. 이러한 점을 염두에 두고 생체 계면 활성제의 다양한 구조와 특성을 살펴 보고자 한다.

2. 생체 계면 활성제의 정의, 생성 방법 및 종류

생체 계면 활성제의 정의는 이 술어를 이루는 생체(bio)와 계면 활성제(surfactant) 각각의 의미로부터 살펴 보는 것이 타당하다고 생각된다. 먼저 계면 활성제에 대해서 간단히 살펴 보자.

계면 활성제는 양친매성 즉 친수성(親水性) 부분과 친유성(親油性) 부분으로 되어 있으며, 서로 섞이지 않는 평형상(equilibrium phases) 사이의 계면에서 활성을 나타내는 물질이다. 이와 같이 계면 활성제는 양친매성 구조와 계면 성질로 정의된다. 여기에서 말하는 계면 성질 또는 계면 활성은 계면(표면) 장력 강하와 micelle을 이루는 최초의 농도인 임계 micelle 농도 (CMC, critical micelle concentration)를 의미한다. 이런 성질은 계면 활성제의 양친매성 구조와 독립적이지 않으며 오히려 이런 구조로 인해서 야기된다. 표면 장력 강하는 계면 활성제가 계면에 흡착되어서 일어나며 micelle의 형성은 친매성의 회합에 의해서 일어난다. 따라서 계면 활성제의 성능에 대해서 이야기 할 때에는 반드시 표면 장력 강화와 CMC를 언급하여야 하며 전자를 effectiveness, 후자를 efficiency라고 한다.[2] 일반적으로 계면 활성제로서 성능이 좋은 것은 CMC는 매우 작고, 표면 장력은 30 mN/m (계면 장력은 1 mN/m) 정도로 낮출 수 있는 것을 말한다.

생체 계면 활성제의 다른 하나의 단어인 "생체"의 의미는 생체 계면 활성제의 정의에서 쉽게 이해될 수 있다. 문헌에서는 보편적으로 생체 계면 활성제란 (가) 양친매성을 갖는 천연물이거나 (나) 천연물을 기질(substrate)로 하여 미생물이나 효소의 작용에 의하여 생성된 (양친매성) 화합물을 일컫는다. 따라서 "생체"란 천연물, 미생물, 효소와 관련된 사항임을 알 수 있다. 생체 계면 활성제의 두 가지 정의 중에서 요즈음에는 후자의 정의를 채택하는 경향이 있다. 생체 계면 활성제의 친유성 부분은 지방산의 긴 탄화 수소 사슬이며 친수성 부분은 천연 지질의 알코홀기 혹은 에스테르기, 지방산 혹은 아미노산의 카르복실기, 인지질의 인산기, 당지질의 탄수화물 등이다.

그 이유는 아직 정확히 알려져 있지 않으나 미생물이 대사 물질로서 생체 계면 활성제를 생성하는 것은 오래 전부터 알려져 왔다. Mioshi[3]는 1895 년에 미생물에 의해서 탄화 수소가 분해되는 것을 처음으로 관찰하였다. 이와 같은 사실이 더욱 주목받은 것은 바다에 유출된 기름을 생분해에 의해서 처리하고자 하는 노력으로부터 비롯되었다. 탄화수소를 기질로 하여 이를 분해하고 대사 물질로 생체 계면 활성제를 얻는 것은 매력적인 일이 아닐 수 없다. 미생물이 성장할 수 있는 기질은 탄소, 질소, 인 등이 제공될 수 있는 원천으로서 탄화 수소, 당류, 동물油, 식물油, 질산염, 인산염 등 참으로 많다. 많은 미생물은 이와 같은 기질에서 성장할 때 여러 종류의 생체 계면 활성제를 생성한다. 이들

은 효모, 곰팡이, 박테리아 등인데 박테리아가 가장 많이 사용되며, 요즈음에는 lipase와 같은 효소를 사용하기도 한다. 생체 계면 활성제의 합성에 사용되는 미생물과 효소의 예를 표1에 나타내었다.

미생물은 부피에 대한 면적의 비가 크고 여러 가지 기질을 통한 다양한 생화학적 경로를 제공해 주기 때문에 생체 계면활성제 합성에 사용될 수 있는 좋은 대상이다. 미생물에 의한 생체 계면 활성제의 생성 방법은 미생물과 생체 계면 활성제의 성질에 따라 좌우되지만 대체로 다음과 같은 발효 과정들이다.[4]

(가) 성장 세포에 의한 생성 (Growth-associated production)

이 경우에는, 그림 1a에 나타낸 바와 같이, 기질의 이용, 성장 및 생체 계면 활성제의 생성이 평행적으로 일어난다. 즉 생체 계면 활성제가 세포의 성장기에 생성된다. 생체 계면 활성제의 생성에 탄소원이 매우 중요한 역할을 하며, 탄소원으로는 n-alkane, glycerol, glucose, ethanol, lactose, oilve oil 등 여러 가지가 있다. 이들 탄소원 중에서는 특정한 미생물에 대하여 효율적인 것이 있는데, *Pseudomonas* spp. 박테리아를 이용한 rhamnolipid (당지질계 생체 계면 활성제)의 합성에서는 n-alkane이 가장 효과적이었으며 특히 탄소 사슬의 길이가 중요한 변수인 것으로 알려졌다.

(나) 제한 성장하의 생성 (Production under growth-limiting conditions)

성장 배지에서 한, 두 원소의 농도를 제한하였을 때 생체 계면 활성제의 생성이 상당히 증가하는 경우가 있다. 그림 1b에서는 질소원을 넣어 주었을 때 생체 계면 활성제의 농도가 현저히 증가함을 보여 주고 있다. *Pseudomonas aeruginosa* 박테리아에 의한 rhamnolipid의 생합성에서는 질소원의 농도를 제한함으로써 rhamnolipid가 세포의 성장 휴지기에 많이 생성될 수 있었다.

(다) 휴식 세포에 의한 생성 (Production by resting cells)

이 경우에는 생합성에 사용되는 세포를 생체 계면 활성제를 생성하는 단계에서 거두어 들여서 그 상태로 유지한다. 따라서 세포가 기질을 사용하여 증식을 하지 않고 생체 계면 활성제를 생산하도록 하는 것이다 (그림 1c). *Pseudomonas* sp.에 의한 rhamnolipid, *Torulopsis bombicola*에 의한 sophorolipid, *Ustilago maydis*에 의한 cellobiose lipid, *Rhodococcus erythropolis*에 의한 trehalose tetraester 등이 이 방법으로 생합성되기도 한다.

이와 같이 미생물과 효소를 이용하여 얻은 생체 계면 활성제는 종류가 매우 많아서 이를 분류하는 것이 간단하지는 않을 것이다. 그러나 이들을 생화학적 성질이나 사용된 기질에 따라서 대략 (가) 지질(Lipids), (나) 지방산(Fatty acids), (다) 당지질

표 1. 생체 계면 활성제 합성에 이용되는 미생물과 효소

박테리아	효모	곰팡이	효소
Acinetobacter	*Candida*	*Ustilago*	*Lipase*
Agrobacterium	*Torulopsis*	*Shizinella*	*Glycosidase*
Arthrobacter	*Endomycopsis*		*Phospholipase*
Bacillus			
Brevibacterium			
Corynebacterium			
Gluconobacter			
Micrococcus			
Micromonospora			
Mycobacterium			
Norcadia			
Pseudomonas			
Rhodococcus			
Streptomyces			
Thiobacillus			

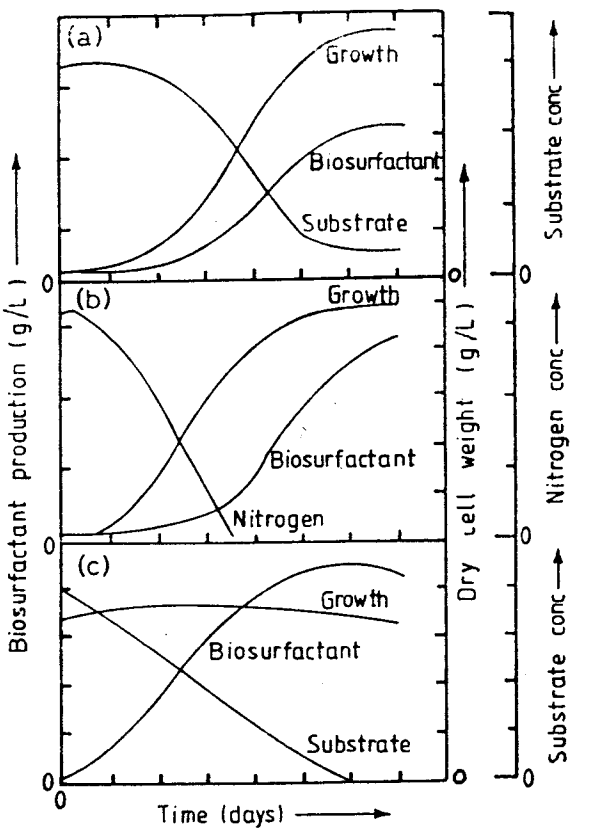


그림 1. 생체 계면 활성제 생성 pattern. (a) 성장 세포에 의한 생성, (b) 제한 성장하의 생성, (c) 휴식 세포에 의한 생성.

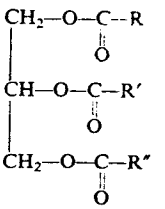
(Glycolipids), (라) 지단백(Liporpoteins)/리포펩타이드(Lipopeptides), (마) 지다당(Lipopolysaccharides), (바) 인지질(Phospholipids), (사) 당에스테르 (Sugar esters)의 8가지로 나눌 수 있다. 이들은 구조가 서로 다르며 물리·화학적 및 생화학적 성질에서도 차이를 나타낸다. 이들의 구조와 성질을 살펴보기로 한다.

3. 생체 계면 활성제의 구조

3-1. 지질 (Lipids)

지질을 정확히 정의하기란 어렵지만, 천연으로 존재하는 고분자량 에스테르 화합물을 지칭하는 것으로 볼 수 있다. 더 정확히는 에테르나 클로로포름과 같이 극성이 낮은 유기 용매에 의해서 세포로부터 추출되는, 물에 녹지 않는 물질을 말한다.[5] 지질은 지방(fats), 기름(oils), 왁스, 스테로이드, 테르펜(terpenes) 등을 포괄하는데, 이 중에서 지방이 가장 중요하게 취급됨으로 지질은 곧 지방으로 생각되어 진다.

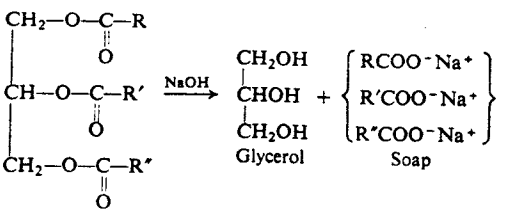
지방은 글리세롤(glycerol)의 카르복실산 에스테르 즉 글리세라이드(glyceride)를 말한다. 좀 더 정확히 말하면 아래와 같은 구조식을 갖는 triacylglycerol 이다.



A triacylglycerol
(A glyceride)

지방은 세 개의 지방산 ($R-COOH$, $R'-COOH$, $R''-COOH$)이 같지 않은 경우가 보통이다. 지방은 카르복실산의 종류가 다양하므로 많은 종류가 있으며 이의 특성은 지방을 이루는 지방산에 의해서 결정된다.

지방은 산, 알코올, 비누, 세제 등의 원료로서 엄청난 양이 공업에 쓰인다. 지방이 계면 활성제와 밀접한 관련이 있는 것은 비누와 세제이다. 지방을 가수 분해 하면 글리세롤과 염이 생성되는데 이 때 생성되는 염 중에서 Na-염을 비누라 부른다.



A glyceride
(A fat)

지방의 가수 분해에 의한 비누의 합성은 가장 오래된 화학 합성의 하나이다. 이미 고대 로마 시저의 시대에 독일 지방의 한 부족인은 나무를 태운 재에서 얻은 잿물과 염소 기름을 함께 끓여서 비누를 얻었는데 이 방법은 요즈음의 비누 대량 생산 방법과 거의 유사하다. 비누는 화장품, 치료제, 사치품으로 간주되어 오다가 100 년 전부터 일반 세제로 사용되기 시작하였으나 금세기 들어서는 화학 합성 세제 (detergent)에 밀려서 이의 화려한 위치를 잃어 가고 있다.

Detergent는 비누와 같이 양친매성 구조를 가지고 있는 물질이다. 지방으로부터 얻어진 직쇄형 1급 알코올 중에서 C_8와 C_{10} 알코올은 octyl phthalate와 같이 가소제를 만드는데 사용되고 $C_{12} - C_{18}$ 알코올은 detergent를 만드는데 사용된다.[5] 그러나 요즈음에는 동물 지방의 가격이 상대적으로 비싸서 이를 사용하지 않고 원유 정제 부산물로부터 만들고 있다.

3-2. 지방산 (Fatty Acids)

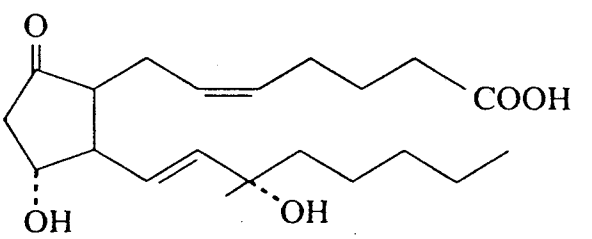
지방산은 원래 동·식물의 기름에서 분리된 카르복실산을 지칭하는 것이었으나 오늘날에는 탄소수가 $C_8 - C_{22}$ 인 직쇄형 카르복실산을 말한다.[5] 이들을 화학식으로 표시하면 다음과 같다.

$$CH_3-(CH_2)_n-COOH \quad (n = 6-20)$$

위 구조에서 알 수 있듯이 친유성 부분은 탄화 수소 사슬, $CH_3-(CH_2)_n-$, 이고 친수성 부분은 카르복실기, $-COOH$, 이다. 통상적으로 많이 쓰이는 지방산을 표2에 나타내었다. 지방산은 표2에서와 같이 탄소 수가 짝수인데 이것은 지방산의 생합성에서는 아세테이트기로부터 탄소가 2개 씩 붙기 때문에 발생하는 자연적인 결과이다.

지방산은 포화산 뿐만 아니라 불포화산으로도 존재하는데 이 때 불포화 결합은 하나 이상일 수 있다. 불포화 지방산 중에서 가장 보편적인 것이 oleic acid, linoleic acid, linolenic acid 인데 이 들 산에서의 이중 결합은 거의 틀림없이 좀 더 불안정한 cis 형태를 이루고 있다. 이와 같은 기하학적 모양은 생물학적으로 아주 중요한 의미를 갖는다. 불포화 지방산의 탄소 사슬이 이중 결합 부분에서 구부러져서 다른 분자와 기하학적으로 잘 맞추어 지지 않기 때문에 cis형 불포화 지방산은 용융점이 낮다.

TABLE 2 Examples of Common Fatty Acids

Acid	Structure
Saturated fatty acids	
Acetic acid	CH_3COOH
Propionic acid	CH_3CH_2COOH
Butyric acid	$CH_3(CH_2)_2COOH$
Caproic acid	$CH_3(CH_2)_4COOH$
Decanoic acid	$CH_3(CH_2)_8COOH$
Lauric acid	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$
Myristic acid	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
Palmitic acid	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
Stearic acid	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
Arachidic acid	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$
Behenic acid	$CH_3(CH_2)_{20}COOH$
Lignoceric acid	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$
Monoenoic fatty acids	
Oleic acid	$CH_3(CH_2)_7CH{=}^{cis}CH(CH_2)_7COOH$
Dienoic fatty acid	
Linoleic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH{=}^{cis}CHCH_2)_2(CH_2)_6COOH$
Trienoic fatty acids	
α-Linolenic acid	$CH_3CH_2(CH{=}^{cis}CHCH_2)_3(CH_2)_6COOH$
γ-Linolenic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH{=}^{cis}CHCH_2)_3(CH_2)_3COOH$
Tetraenoic fatty acid	
Arachidonic acid	$CH_3(CH_2)_4(CH{=}^{cis}CHCH_2)_4(CH_2)_2COOH$
Unusual fatty acids	
Tariric acid	$CH_3(CH_2)_{10}C{\equiv}C(CH_2)_4COOH$
Lactobacillic acid	$CH_3(CH_2)_5CH(CH_2)CH(CH_2)_9COOH$
Prostaglandin (PGE_2)	

3-3. 당지질 (Glycolipid)

당지질은 이름이 의미하고 있듯이 지질(脂質, lipid)에 당(糖, glyco)이 결합된 것이다. 다시 말하면 당지질은 탄수 화물과 사슬이 긴 aliphatic acid (또는 hydroxy aliphatic acid) 가 결합된 것이다. 당지질은 생체 계면 활성제 중에서 가장 흔히 발견되는 것이며, 박테리아의 세포막에 존재하는 glycosyl diglyceride 는 가장 보편적인 당지질이다. 당지질은 생체 계면 활성제로도 여러 종류의 미생물을 사용하여 가장 많이 연구 되었다.

당지질계의 생체 계면 활성제는 결합되는 지질의 종류와 당류만큼 많은 종류가 있을 수 있으나 많이 연구되는 것으로는 trehalose lipid, rhamnolipid, sophorose lipid, cellobiose lipid 등이다. 이들의 생합성에 사용된 미생물을 표3에 나타내었다.

Sophorose lipid는 그림 2에서와 같이 이당류인 sophorose, β-D-Glc*p*-(1→2)-D-Glc, 에 지질이 결합된 것이다. Sophorose lipid는 이들이 결합된 형태에 따라 락톤형 (그림 2a, 2c, 2d)과 非락톤형 (그림 2b)로 나뉘어 진다. 락톤형은 C1′ (1′ 탄소 자리를 의미함, 2d 참조)와 C4′′에 지질이 결합되어 고리 형태의 구조를 이룬 것이며, 非락톤형은 C1′에 지질이 결합된 구조를 가진다. Sophorose lipid (SL)에는 치환될 수 있는 세 개의 알킬기 R_1 (C6′), R_2 (C6′′), R_3 (지방 탄소 사슬의 $-COOR_3$의 형태)가 있는데 이들은 수소(*H*), 메틸기(*Me*), 아세틸기(*Ac*) 중의 하나이다. 이 세 알킬기가 *H*, *Me*, *Ac*로 치환된 모습에 따라 다음과 같은 sophorose lipid (SL)의 구조 12 가지 (SL-1 부터 SL-12)가 나타난다.

SL-1: $R_1 = R_2 = Ac$

SL-2 와 SL-8: $R_1 = H$, $R_2 = Ac$

SL-3 와 SL-9: $R_1 = R_2 = H$

SL-4 와 SL-10: R_1 = 고리로 연결됨 , $R_2 = H$

SL-5 와 SL-11: $R_1 = H$, $R_2 = Ac$, $R_3 = H$

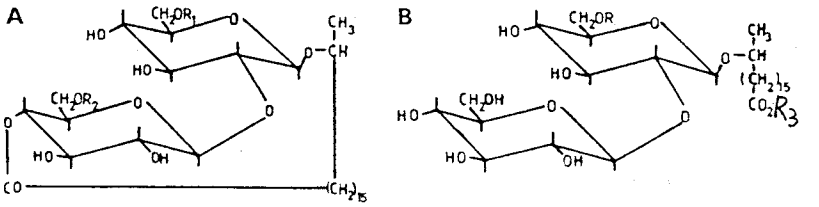
SL-6 와 SL-8: $R_1 = H$, $R_2 = Ac$, $R_3 = H$

SL-7: $R_1 = R_2 = Ac$, 지방 탄소 사슬에 이중 결합이 있슴

非락톤형 구조의 SL-6를 SL의 acidic form 이라고 부르고 $R_3 = Me$ 인 것을 methyl-SL 이라고 부른다. SL-4(-10)은 C1′와 C6′′가 지질과 결합하여 고리를 형성함으로 다른 락톤형 SL과 다른점을 나타낸다. SL 중 SL-1, SL-7, SL-2(-8) 은 Tulloch 등

표3 미생물에 의한 당지질계 생체 계면 활성제

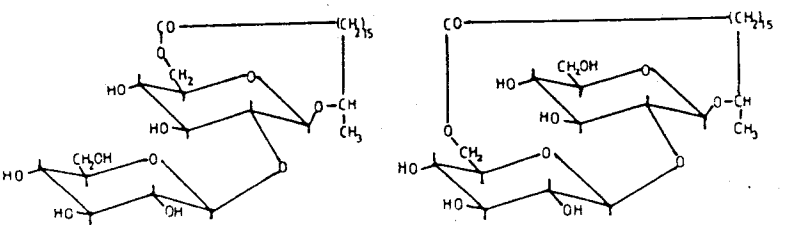
Biosurfactants	Organisms (genus) or Enzymes
Trehalose mycolates	*Arthrobacter paraffineus,*
	Mycobacterium phlei,
	Rhodococcus erythropolis
Trehalose esters	*Mycobacterium fortitum*
	Mycobacterium smegmatis
	Mycobacterium paraffineus
	Micromonospora spp.
	Rhodococcus erythropolis
Mycolates of mono-, di-,	*Corynobacterium diphtheriae*
and trisaccharides	*Mycobacterium smegmatis*
	Arthrobacter spp.
Sophorolipids	*Torulopsis bombicola*
	Torulopsis petrophilum
	Torulopsis apicola
	Candida bogroriensis
	Bacillus subtilis
	Cornebacterium lepus
	Rhodococcus erythropolis
	Mycobacterium,
	Pseudomonas,
Cellobiose lipids	*Ustilago maydis*
	Ustilago zeae
Rhamnolipids	*Pseudomonas spp.*
	Arthrobacter,
	Corynebacterium,
	Norcadia,



SL-1 $R_1=R_2=Ac$
SL-2 and-8 $R_1=H$ $R_2=Ac$
SL-3 and-9 $R_1=R_2=H$

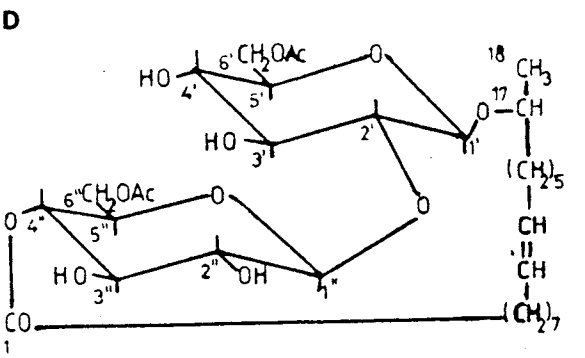
SL-5 and-11 R=Ac
SL-6 R=H

C



SL-4 의 구조

D



SL-7 의 구조

그림 2. Sophorose lipid 의 구조

[6]이 glucose/octadecane 을 기질로 사용한 배양에서, SL-3(-9), SL-4(-10), SL-5(-11)은 Asmer 등[7]이 glucose/oleic acid 를 기질로 사용한 배양에서 그 구조를 확인하였다.

Trehalose lipid는 이당류인 trehalose (그림 3a) 에 지질이 결합한 것이다 (그림 3b). 이들의 예로서 trehalose dicorynomycolate 와 trehalose tetraester를 그림 3c 와 3d에 나타내었다. 이 두 trehalose lipid는 박테리아인 *Arthrobacter* sp 를 사용하여 얻어졌다.[8,9] Trehalose tetraester의 구조에 있어서 succinate 그룹의 정확한 위치는 최근까지 잘 알려져 있지 않았으나 요즈음에 화학적 방법 (hydroboration, acidic hydrolysis) 와 NMR (^{1}H, 1D & 2D COSY) 분석에 의해서 succinate 그룹이 C2 에 붙는 것이 밝혀졌고, 고자력장 NMR 분석에서 이것이 확인되었다.[10-12] C2′, C3, C4에 결합하는 지방산은 octanonic (37.8 %), nonanoic (5.7 %), decanoic (53.3 %) 이며 나머지 3 %는 undecanoic, lauric, myristic 이다. C6 와 C6′ 에 mycolic acid가 결합한 trehalose lipid는 *Mycobacterium, Nocardia, Corynebacterium* 박테리아의 세포벽의 구조에 관계한다.

Pseudomonas 박테리아류는 성장 제한 조건에서 음이온성 rhamnolipid를 상당량 생성하는 것으로 알려져 있다.[13] 생성된 rhamnolipid는 단당류인 L-rhamnose (그림 4a) 에 β-hydroxydecanoic acid가 결합된 것이다. L-rhamnose 하나에 β-hydroxydecanoic acid 하나와 둘이 결합된 구조를 각각 rhamnolipid 2 (RL-2)와 rhamnolipid 1 (RL-1)이라 하고, L-rhamnose 둘에 β-hydroxydecanoic acid 하나와 둘이 결합된 구조를 각각 rhamnolipid 4 (RL-4)와 rhamnolipid 3 (RL-3)이라 한다 (그림 4b). 미생물 배양으로부터 얻어지는 이 생체 계면 활성제는 대부분이 RL-3 (90 %) 와 RL-1 (10 %) 이고 RL-2 와 RL-4 는 미량 존재한다.[14]

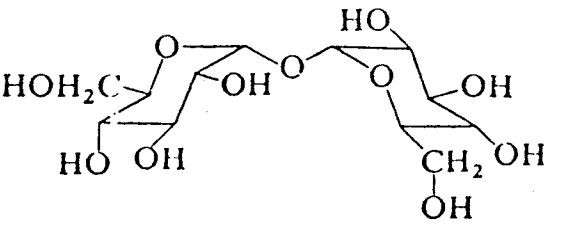
Cellobiose lipid는 이당류인 cellobiose에 지질이 결합된 것이다 (그림 5). 이 생체 계면 활성제는 옥수수의 깜부기에서 채취되는 곰팡이인 *Ustilago* 를 이용하여 생성된다.[15-17] *Ustilago maydis* 를 glucose를 탄소원으로 하여 배양했을 때 친유성 가지는 대부분이 C_6 지방산이며, coconut oil을 탄소원으로 하였을 때는 C_6 지방산 (37 %), C_{12} 지방산 (27 %), C_{14} 지방산 (16 %)이 주성분이다.

3-4. 지단백(Lipoproteins)/리포펩타이드(Lipopeptides)

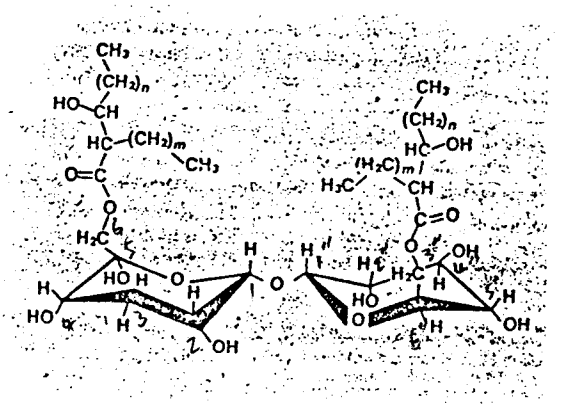
이 부류에 속하는 생체 계면 활성제는 항생 작용과 같은 생물학적 및 생화학적인 특성을 이용할 수 있는 잠재력이 인식되어서 많이 연구되고 있다.

*Bacillus licheniformis*에 의해서 생성되는 리포펩타이드[18,19]는 iturin 그룹의 iturin, mycosubtilin, bacillomycin 이거나 락톤形의 surfactin, esperin, polypeptin 등이

A

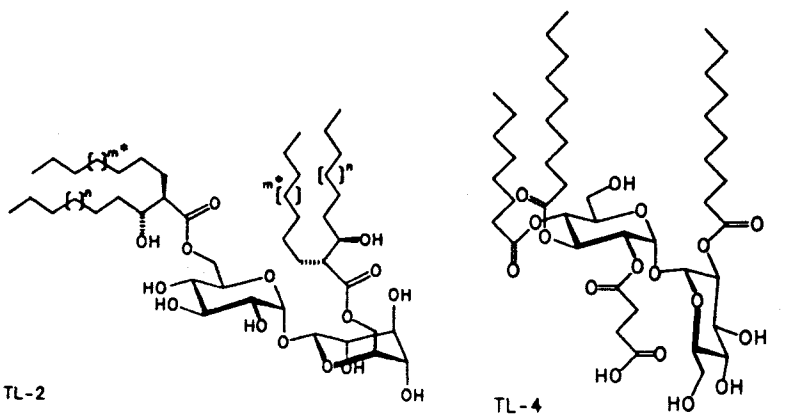


Trehalose



B

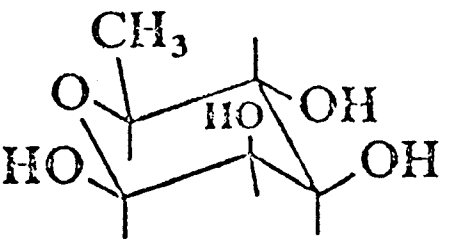
Trehalose Lipid (TL)



Trehalose dicorynomycolate (TL-2) 와 Trehalose tetraester (TL-4)

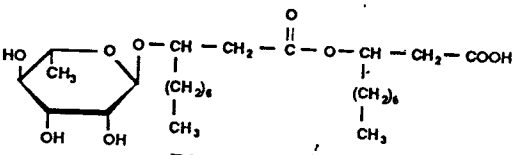
그림 3. Trehalose 와 trehalose lipid 의 구조

A

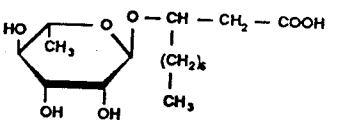


β-L-Rhamnose

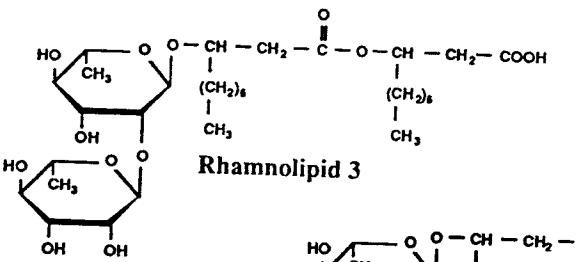
B



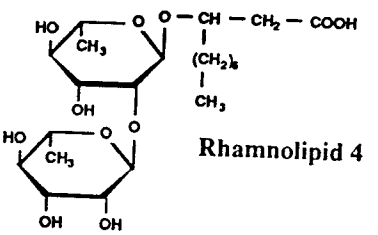
Rhamnolipid 1



Rhamnolipid 2



Rhamnolipid 3

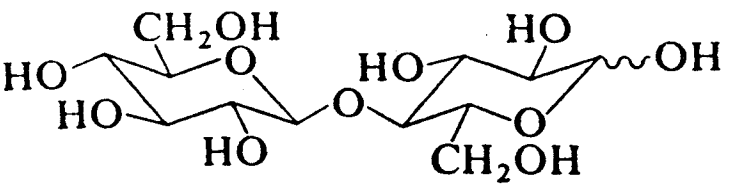


Rhamnolipid 4

그림 4. Rhamnolipid 의 구조

cellobiose

A



B

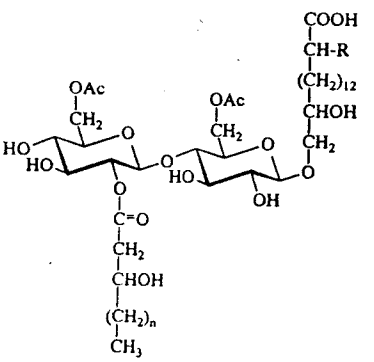


그림 5. Cellobiose 와 cellobiose lipid 의 구조

다.[20] 이 들 중에서 surfactin 의 구조를 그림 6a에 나타내었다. Iturin 그룹과 락톤形의 리포펩타이드는 유사한 구조를 가지고 있다. 친수성 부분은 7개의 아미노산으로 된 cyclic peptide 이며[21] 이 부분이 지방산과 hydroxy 혹은 ester 결합으로 연결되어 있다. Surfactin의 7개 아미노산은 Glutamic acid, Valine, Aspartic acid 와 4개의 Leucine 이며 친유성 부분은 C_{14} 지방산이다. Surfactin은 항생 작용 뿐만 아니라 계면 활성도 나타내는 물질이어서[22,23] 리포펩타이드 중에서 가장 많이 연구되었다. Surfactin은 생화학적인 연구에도 사용될 수 있는데 이는 혈액의 응고와 단백질의 denaturization 을 억제하는 능력이 있기 때문이다. Surfactin은 또한 土炭의 탈수에도 사용될 수 있다.

Streptomyces fradiae 에 의해서 생성되는 락톤形 리포펩타이드[24]는 그림 6b에서와 같이 8개의 아미노산이 고리를 이루고 이 부분이 3개의 아미노산과 아민에 결합되어 있는 구조를 갖는다. 이 구조에서의 X, Y 와 R 은 여러 종류의 아미노산과 탄화 수소로 치환될 수 있어서 이에 따라 여러 다른 구조가 나타난다. 이와 같은 생체 계면 활성제는 항박테리아 작용이 있어서 가축의 사료에 첨가하여 사용할 수 있다.[25,26]

리포펩타이드는 락톤形 구조 이외에 cyclic 구조를 나타낸다. *Empedobacter halabium, Fusarium roseum, Halicoma ambiens* 등에 의하여서는 cyclodepsipeptide 인 empedopeptin 이 생성된다. 후자의 미생물에 의해서 생성되는 traposin A 와 traposin B[27] 를 그림 6c 와 6d에 나타내었다.

Aspergillus sydowi 에 의해서 생성되는 mulundocandin[28,29]은 enchinocandin 의 일종이며 이의 구조는 그림 6e에서와 같다. 이 생체 계면 활성제는 항곰팡이 및 항효모 작용이 있는 것으로 알려져 있다.

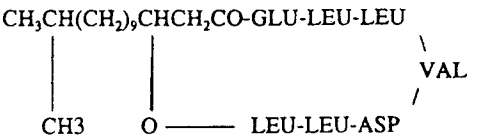
이외에도 여러 미생물을 이용하여 다양한 구조의 리포펩타이드가 합성되고 있으며 이의 예를 표4에 나타내었다.

3-5. 지다당 (Lipopolysaccharides)

지다당은 일반적으로 다당류(polysaccharide)가 지질에 공유 결합한 구조를 갖는다. 이 때 결합된 지질을 lipid A 라고 부르며, 다당류 부분은 O-antigen (혹은 O-specific) 과 중심 올리고당류 (core oligosaccharide) 부분으로 나뉘어진다. Lipid A 부분은 O-antigen 사슬과 hydrophobic interaction에 의하여 박테리아의 세포 외막의 바깥 쪽으로 배향되어 있다.

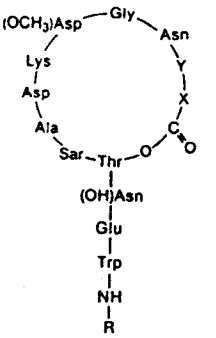
지다당의 한 예로서 emulsan의 구조를 그림 7에 나타내었다. Emulsan 의 repeating unit 는 3개의 서로 다른 glycolipid 되어 있는 heterolipopolysaccharide 이다. Repeating

A



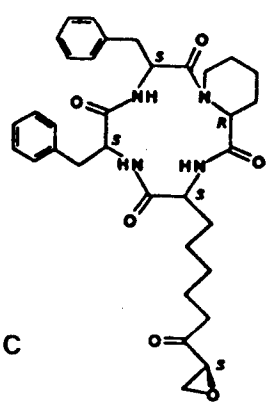
Surfactin

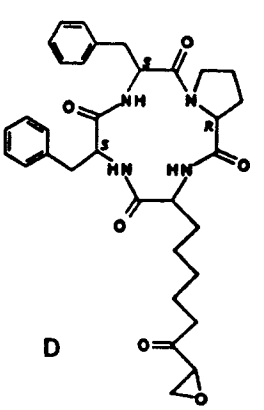
B



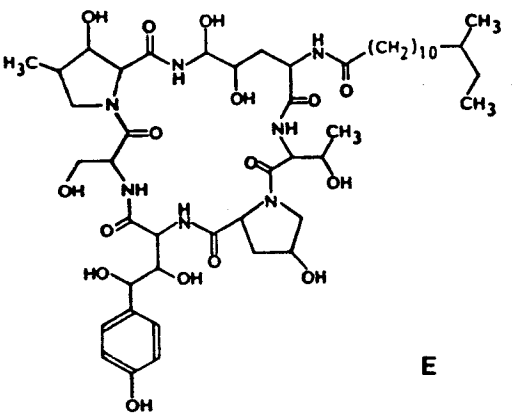
Factor	X	Y	R
A	Ile	Glu	8-Methylnonanoyl (iC_{10})
A_1	Ile	Glu	*n*-Decanoyl (nC_{10})
B	Ile	3-MethylGlu	*n*-Decanoyl (nC_{10})
B_1	Ile	3-MethylGlu	8-Methylnonanoyl (iC_{10})
C	Val	3-MethylGlu	8-Methyldecanoyl (aC_{11})
D	Ile	Glu	8-Methyldecanoyl (aC_{11})
E	Ile	3-MethylGlu	8-Methyldecanoyl (aC_{11})
F	Val	Glu	8-Methylnonanoyl (iC_{10})

A lactonic lipopeptide from *Streptomyces fradiae*





Trapsin A and Trapsin B



Mulundocandin

그림 6. Lipopeptides

표 4. Lipopeptides and Lipoproteins Produced by Microorganisms Other than *Bacillus* sp.

Organism	Composition
Mycobacterium fortuitum	Lipophilic part: C_{20} or C_{22} fatty acids Hydrophilic part: 9 AA (3 LVal; 2 L Thr; LAla; LPro; 2 MeLeu)
Mycobacterium paratuberculosis	Lipophilic part: C_{26} fatty acid; Hydrophilic part: 9 AA (LPhe, DPhe, LAla, LLeu, Llle)
Nocardia asteroides	Lipophilic part: β-OH C_{20} fatty acids Hydrophilic part: 7 AA (2 LThr, LVal, LPro, LAla, DAla, D-allolle)
Corynebacterium lepus	Lipophilic part: C_{13}–C_{24} (25%) fatty acid, Corynomycolic acid (75%); Hydrophilic part: 13 different AA
Streptomyces canus *S. violaceus*	Lipophilic part: 3-ai C_{13}, 3-i C_{12} fatty acid; Hydrophilic part: 10 AA
Serratia marescens	Lipophilic part: 2 β-OH C_{10} fatty acid Hydrophilic part: 2 LSer
Pseudomonas fluorescens	β-OH-C_{10}-LLeu-DGlu Dallo Thr DVal
Pseudomonas viscosa	Llle-DSer-LLeu-DSer-LLeu
P. rubescens *Thiobacillus thiooxidans* *Rhodopseudomonas spheroides* *Streptomyces sioyaensis*	Lipophilic part: β-OH fatty acids Hydrophilic part: Ornithin
Agrobacterium tumefaciens	Lipophilic part: β-OH fatty acids Hydrophilic part: Lysin
Gluconobacter cerinus	Lipophilic part: β-OH fatty acids; Hydrophilic part: Taurin and Ornithin
Candida petrophilum	Peptide (Glu, Asp, Ala und Leu) + non-identified fatty acids
Acinetobacter calcoaceticus	Protein lipid
Pseudomonas fluorescens	Carbohydrate-protein-complex with a minor lipid part (M.W. 300 kDa)
Corynebacterium hydrocarboclastus	Protein-lipid-carbohydrate-complex
Pseudomonas aeruginosa	Protein-like activator MW ca. 14,300 (147 AA)
Candida lipolytica	Carbohydrate-protein-complex; (ca. 27.6 kDa)

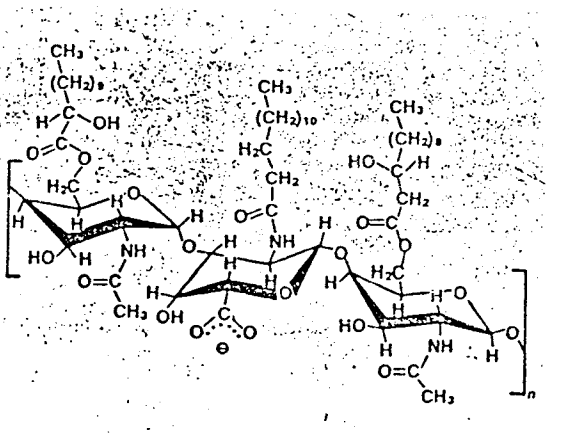


그림 7 Emulsan

unit 의 수에 따라 분자량이 달라질 수 있으며 대개 10^6 정도로 매우 크다. 이것은 생체 계면 활성제 중에서 유일하게 상업화되어 있는 것이며, 해상에 유출된 기름의 처리, 기름 용기의 세척 및 원유 회수 (enhanced oil recovery, EOR) 등에 쓰인다. EOR의 경우에는 emulsan 이 계면 활성은 없지만 에멀젼 입자의 농도가 매우 높아도 에멀젼의 구조가 바뀌어지지 않게 한다.

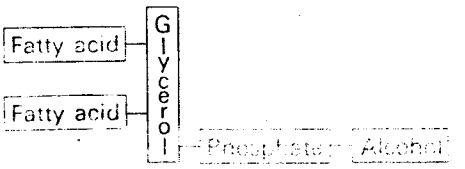
3-6. 인지질 (Phospholipids)

인지질은 membrane lipid 의 하나로서 glycolipid, cholesterol 과 같이 모든 살아있는 미생물의 세포막을 형성하는데 참여한다.[31] 인지질은 glycerol, sphingosine, 혹은 보다 복잡한 알코올로부터 유도된다. Glycerol 로부터 유도된 phospholipid 를 phosphoglyceride라고 하는데 이것이 가장 중요함으로 이의 구조에 대하여 살펴보기로 한다.

Phosphoglyceride는 glycerol 뼈대에 phosphorylated alcohol 과 2개의 지방산이 결합되어 있는 구조 (그림 8a)로 되어 있다.[31] Phosphate 그룹은 phosphatidate 이며 알코올 부분은 serine, ethanolamine, choline, glycerol, inositol 등이다. 이들로 이루어진 phosphoglycerides 의 구조를 그림 8b에 나타내었다.

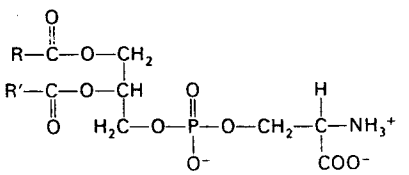
인지질은 두 가지 경로를 통하여 얻어진다. 하나는 박테리아를 이용하는 것이고 다른 하나는 효모 (또는 다른 진핵 세포)를 이용하는 것이다. 박테리아에 의해서는 주로 phosphatidylserine 과 phosphatidylethanolamine 이 생성되고 phosphatidylcholine 은 생성되지 않는 것으로 알려졌다. 효모에 의해서는 중요한 중간체인 diacylglycerol 을 생성

A

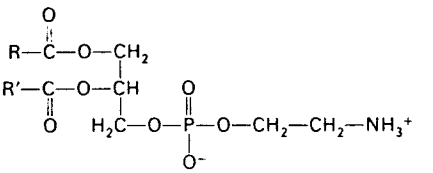


Components of a phosphoglyceride

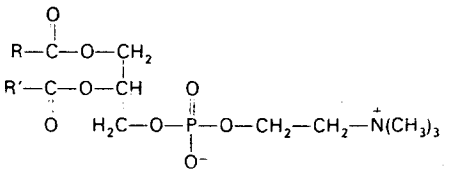
B



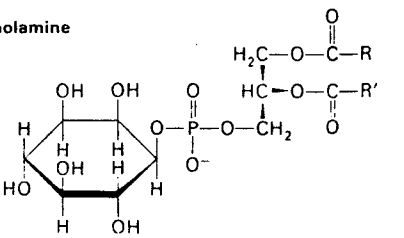
Phosphatidyl serine



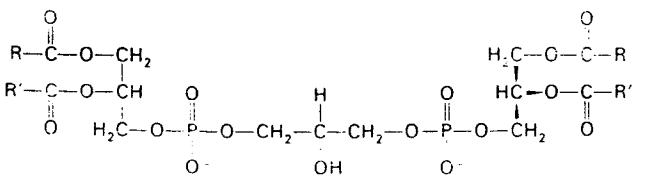
Phosphatidyl ethanolamine



Phosphatidyl choline



Phosphatidyl inositol



Diphosphatidyl glycerol (Cardiolipin)

그림 8. Phospholipids

하며 이것이 phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine 으로 전환될 수 있다.

Phospholipid의 C1 혹은 C2 위치에 acyl 그룹이 없는 인지질을 lysophospholipids 라고 하는데 phosphoglycerides 보다 계면 활성이 좋은 것으로 알려졌다. 이런 계통의 하나인 lysolecithin 은 유화제로써 상업적으로 쓰이고 있다.

Phospholipid는 계면 활성제로서 뿐만 아니라 liposome (phospholipid vesicle)을 만드는데 사용될 수 있다. 인지질은 순하고 피부에 자극을 주지 않아서 화장품과 의약품에 유용하게 쓰일 수 있다. Liposome 은 피부를 통하여 침투할 수 있으며 특정한 피부 층에 도달하게 할 수 있으므로 liposome 내부에 활성 물질을 집어 넣어 피부를 통하여 흡수시키면 효과적이라는 것이 밝혀졌다.[32] Liposome의 이와 같은 성질과 더불어 liposome을 제조하는데 사용될 수 있는 새로운 물질이 등장하여서 liposome 은 향장과 의약 산업에서 더욱 중요하게 될 것이다.

3-7. 당에스테르 (Sugar Esters)

Sucrose 는 잘 규명된 화학 물질 중의 하나이며 자연에서 흔히 발견된다. Glucose 는 녹말로부터 손쉽게 얻을 수 있다. 이 두 당류는 재활용 자원에서 값싸게 얻을 수 있어서 환경 문제 해결에 크게 기여할 뿐만 아니라 생체 계면 활성제의 가격도 낮추어 줌으로 경쟁력을 제고시켜 줄 수 있다. 이와 같은 당류와 긴 탄소 사슬을 가진 지방산과의 에스테르 화합물은 계면 활성제로 사용될 수 있다. 당에스테르의 하나인 sucrose ester 의 구조를 그림 9에 나타내었다.

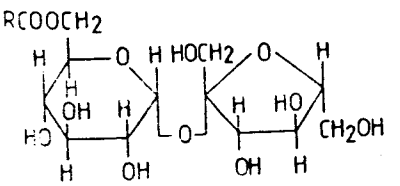


그림 9. Sucrose monoester ($RCOOCH_2$ 는 지방산과의 ester 결합을 나타냄).

당에스테르는 transesterification 에 의해서 만들어질 수 있다.[33] 효소인 pancreatic lipase 를 사용하여 6-O-acylmonosaccharide 를 얻을 수 있었으며, *Candida cylindracea* lipase 에 의해서는 sugar diester 의 C6 위치가 가수분해 되어서 C_2 와 C_3 monoester 가 얻어졌다.[34] 당류 뿐만 아니라 당알코올로 부터도 lipase 에 의하여 ester 가 얻어진

다.[35] *Chromobacterium viscosum* 의 pancreatic lipase 와 lipase 가 triglycerides 와 hexitol 의 transesterification 에 사용되어 92 %의 sugar monoester를 생성하였다. 이런 방법으로 얻은 sorbitol monoester 의 계면 활성이 상업적으로 많이 쓰이는 sorbitan monoester 의 계면 활성보다 우수한 것으로 조사되었다.

당에스테르는 순하며 피부나 눈에 자극성과 독성이 적고 또한 거의 전 영역의 HLB 값을 나타내므로 화장품에 이용될 수 있는, 잠재력이 큰 화합물이다.

4. 생체 계면 활성제의 특성

화학 합성 계면 활성제의 광범위한 사용과 생태계에 대한 이의 영향으로 말미암아 계면 활성제의 독성과 생물학적 조사가 필요하였다. 지난 15 년간 많은 관심을 불러 일으킨 생체 계면 활성제가 종래의 화학 계면 활성제를 전적으로 대체할 수 있으므로 생체 계면 활성제에 대해서도 이와 같은 조사가 이루어져야 한다.

생체 계면 활성제는 계면 과학 분야에서 보다는 생물 관련 분야에서 보다 많은 연구가 행하여져서 양친매성 구조를 갖는 물질을 생체 계면 활성제로 보는 경향이 있다. 그러나 계면 활성제는 effectiveness 와 efficiency 로 표시되는 계면 활성을 나타내어야 한다. 특히 생체 계면 활성제가 이용되는 측면에서 보면, 즉 화장품, 의약품, 식품, 세제, 폐유 처리 등에 이용되려면 에멀젼과 같은 콜로이드 분산계를 이루어야 하므로 계면 활성은 중요하지 않을 수 없다. 이러한 점을 고려하여 생체 계면 활성제의 생물학적, 물리·화학적 및 계면 특성을 살펴보기로 한다.

4-1. 생물학적 특성

생합성된 여러 종류의 glycolipid는 항생 작용을 나타낸다. 이들 중 어떤 것은 박테리아 피부의 皮脂샘 (sebaceous glands)을 공격하여 호흡을 방해함으로서 항박테리아 작용을 나타내기도 한다.[36] Rhamnolipid 의 RL-1 과 RL-3 의 혼합물은 농도 35 $\mu g/ml$ (minimum inhibitory concentration, MIC) 에서 *B. subtilis* 의 성장을 억제하였으며, antibacterial, mycoplasmicidal, antiviral 작용을 나타내는 rhamnolipid 는 pesticide로 사용될 수 있다. *R. erythropolis* 에 의해서 생성된 succinyl-trehalose lipid 의 LD_{50} 은 herpes simplex virus 에 대해서는 11 $\mu g/ml$, influenza virus 에 대해서는 33 $\mu g/ml$ 이므로[37,38] 항바이러스 기능을 효과적으로 수행할 수 있다. Trehalose lipid 중 2,2′,3,3′-tetra-O-alkyl- α, α'-trehalose 는 항암 작용이 있는 것으로 보고되었다.

그림 6에 소개된 lipopeptides 는 모두 항생 작용을 나타낸다. Surfactin 은 혈액 응고를 억제하고 적혈구를 용해시키며 어떤 박테리아의 spheroplast 와 원형질체를 용해시킨다.[39,40] Surfactin 은 또한 *Mycobacterium* 屬의 미생물의 성장을 억제하며 (MIC = 5000 $\mu g / ml$), pyrrolnitrin 과 함께 사용하면 *Tricophyton mentagrophytes* 에 대하여 항곰팡이 작용을 나타낸다.[41] Iturin A, bacillomycin, mycosubtilin 은 항곰팡이제로 사용될 수 있으며, bacillomycin-F 는 *Aspergillus niger* 와 *Saccharomyces cerevisiae* 에 대하여 항박테리아 작용을 한다. Trapoxin A 와 B 는 항암 작용이[27], mulundocandin 은 항곰팡이와 항효모 작용[28]을 나타낸다. 이 외에도 많은 종류의 lipopeptide 가 항생 작용 등 여러 생물학적 작용을 나타낸다.

Phospholipid 는 허파 꽈리의 공기/액체 계면에서 발견되는데, 이 생체 계면 활성제의 작용으로 허파 꽈리가 쭈그러 들지 않아야 정상적인 호흡을 할 수 있다. 조산아 중에는 이 생체 계면 활성제가 부족하여 호흡 곤란으로 사망하는 경우가 있는데 이를 sudden infants death syndrome 이라고 한다. 이와 같은 경우에는 bovine-based surfactant 를 흡입케 하여 치료한다.

4-2. 물리 · 화학적 특성

Glycolipid 는 일반적으로 유기 용매에 녹는 경우가 있으나 물에는 매우 소량 용해될 뿐이다. Trehalose-6,6′-dicorynomycolates 는 클로로포름에, trehalose tetraester 는 클로로포름/메탄올 혼합물에 녹는다. Rhamnolipid RL-1 과 RL-3 는 메탄올, 클로로포름, 에틸아세테이트, 에틸에테르에 용해되지만 n-hexane에는 용해되지 않는다. [42] Sucrose lipid 는 상온에서는 n-hexane, 에테르, 클로로포름에, 조금 높은 온도에서는 아세톤과 메탄올에 용해된다.

Surfactin 은 알칼리 수용액, 메탄올, 에탄올, 아세톤, 에틸아세테이트, 클로로포름, 클로로메탄, 아세트산에 용해되지만 물, 헥산, petroleum ether 에는 용해되지 않는다.

생체 계면 활성제는 여러 분야에서 이용될 수 있으므로 이의 반응성과 안정성이 중요하지 않을 수 없다. 화학 반응으로는 glycolipid 에 대하여 구조 판명의 목적으로 가수분해, 산화 반응, 에스테르화 반응이 조사되었는데 아무런 어려움이 없이 진행되었으며, 안정도에 대하여는 현재로서는 자료가 미미하다.

4-3. 계면 특성

생체 계면 활성제의 계면 특성은 이미 언급한 바와 같이 CMC 와 표면(계면) 장력으

로 살펴 볼 수 있다. CMC 가 작으면 효과적(effective)이고 표면 장력이 30 mN/m (계면 장력이 1 mN/m) 정도 이면 효율적(efficient)인 생체 계면 활성제라 할 수 있다. 생체 계면 활성제의 CMC 와 표면(계면) 장력의 예를 표5에 실었다. 표5에 나타난 생체 계면 활성제는 CMC 가 1 - 200 ppm 로서 비교적 낮은 값을 나타내므로 효과적이라고 할 수 있으나, 표면(계면) 장력의 관점에서는 rhamnolipid가 효율적이라고 할 수 있다. Rhamnolipid 는 이와 같이 계면 활성이 좋아서 Exxon사의 Valdez호에 의해서 원유가 유출 되었을 때 이를 처리하는데 사용되었다.

Surfactin도 표면 장력이 27 mN/m, 계면 장력이 1 mN/m[43]로서 우수한 계면 활성을 나타내어서, surfactin의 생물학적 특성과 더불어 이의 활용이 기대된다.

참고 문헌

1. M. J. Milton, Ed., *Surfactants in Emerging Technology*, Surfactant Science Series, Vol. 26, Marcell Dekker, New York, 1987.
2. M. J. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 2nd ed., Wiley, New York, 1989.
3. E. Beersteacher, *Petroleum Microbiology*, Elsevier, Houston, 1954.
4. J. D. Desai and A. J. Desai, in *Biosurfactants and Biotechnology,* Surfactant Science Series, Vol. 48, Marcell Dekker, New York, 1993, pp 65-97.
5. R. T. Morrison and R. N. Boyd, *Organic Chemistry*, Allyn and Bacon, Bosten, 1973.
6. A. P. Tulloch, A. Hill, and J. F. T. Spencer, *Can J. Chem.*, **46**, 3337 (1968).
7. H. J. Asmer, S. Lang, F. Wagner, and V. Wray, *JAOCS*, **65**, 1460 (1988).
8. D. Schulz, A. Passeri, M. Schmidt, S. Lang, F. Wagner, V. Wray, and W. Gunkel, *Z. Naturforsch*, **46c**, 197 (1991).
9. A. Passeri, S. Lang, F. Wagner, and V. Wray, *Z. Naturforsch*, **46c**, 204 (1991).
10. P. Rapp, H. Block, V. Wray, and F. Wagner, *J. Gen. Microbiol.*, **115**, 491 (1979).
11. F. Ristau and F. Wagner, *Biotechnol. Lett.*, 5, 95 (19831).
12. J. S. Kim, M. Powalla, S. Lang, F. Wagner, H. Lunsdorf, and V. Wray, *J. Biotechnol.*, **13**, 257 (1990).
13. C. Syldatk, S. Lang, U. Matulovic, and F. Wagner, *Z. Naturforsch*, **40c**, 65 (1985).

14. C. Syldatk, Ph. D. Thesis, U. Stuttgart, 1990.
15. R. U. Lemieux, J. A. Thorn, H. Bauer, *Can J. Chem.*, **31**, 1054 (1953).
16. S. S. Bhattacharjee, R. H. Haskins, P. A. Gorin, *Carbohydrate Res.*, **13**, 232 (1970).
17. B. Frantz, S. Lang, and F. Wagner, *Biotechnol. Lett.*, **11**, 757 (1986).
18. S. Lang and F. Wagner, in *Biosurfactants and Biotechnology,* Surfactant Science Series, Vol. 48, Marcell Dekker, New York, 1993, pp 251-268.
19. K. Jenny, V. Deltriev, and O. Kappeli, in *Biosurfactants and Biotechnology,* Surfactant Science Series, Vol. 48, Marcell Dekker, New York, 1993, pp 136-156.
20. H. Umezawa, T. Takita, and T. Shiba, *Bioactive Peptides Produced by Microorganisms,* Halsted Press, Tokyo, 1978.
21. K. Kakinuma, A. Oachida, T. Shima, H. Sugino, M. Isono, G. Tamura, and K. Arima, *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 1669 (1969).
22. K. Arima, K. Kakinuma, and G. Tamura, *Biochem. Biophys. Res. Commun..*, **31**, 488 (1968).
23. A. W. Bernheimer, and L. S. Avigad, *J. Gen. Microbiol.*, **61**, 361 (1970).
24. D. S. Fukuda, M. Debono, R. M. Molloy, and J. S. Mynderse, *J. Antibiot.*, **43**, 594 (1990).
25. Lilly, U. S. patent No. EP 337-331 (1988).
26, F. T. Counter et al, *J. Antibiot.*, **43**, 616 (1990).
27. H. Itazaki et al, *J. Antibiot.*, 43, 1524 (1990).
28. K. Roy, T. Mukhopadhyay, G. C. S. reddy, K. R. Desikan, and B. N. Ganguli, *J. Antibiot.*, **40**, 275 (1987).
29. T. Mukhopadhyay, B. N. Ganguli, H. W. Fehlhaber, H. Kogler, and L. Vertesy, *J. Antibiot.*, **40**, 281 (1987).
30. E. Rosenberg, A. Zuckerberg, C. Rubinovitz, and D. L. Gutnick, *Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 402 (1979).
31. L. Stryer, *Biochemistry*, 3rd. ed., Freeman, New York, 1988.
32. H. Lautenschlarger, *Cosmet. Toilet.*, **105**, 89 (1990).
33. N. Desai, *Cosmet. Toilet.*, **105**, 99 (1990).
34. M. Therisod and A. M. Kilbanov, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 3977 (1987).
35. J. Chopineau, F. D. McCafferty, M. Therisod and A. M. Kilbanov, *Biotechnol.*

Bioeng., **31**, 208 (1988).

36. S. Lang, E. Katsiwela, and F. Wagner, *Fat Sci. Technol.*, **91**, 363 (1989).
37. Y. Uchida, R. Tsuchiya, M. Chino, J. Hirano, and T. Tabuchi, *Agr. Biol. Chem.*, **53**, 757 (1989).
38. Y. Uchida, S. Misawa, T. Nakahara, and T. Tabuchi, *Agr. Biol. Chem.*, **53**, 765 (1989).
39. A. W. Bernheimer and L. S. Avigad, *J. Gen. Microbiol.*, **61**, 361 (1970).
40. K. Kakinuma, H. Hori, M. Isono, G. Tamura, and K. Arima, *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 971 (1969).
41. K. Arima, G. Tamura, and A. Kasinuma, DE-OS 1803 987 (1968).
42. S. Itoh, H. Honda, F. Tomoto, and T. Suzuki, *J. Antibiot.*, **24**, 855 (1971).
43. D. G. Cooper, C. R. MacDonald, S. J. B. Duff, and N. Kosaric, *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 408 (1986).